

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού

Διδακτορική Διατριβή

Βλάχος Ε. Χρήστος

**«Διερεύνηση δυναμικού ποικιλιών σόργου για εγχώρια
αιιφορική παραγωγή βιοκαυσίμων»**

Επιβλέπων Καθηγητής: Σκαράκης Ν. Γεώργιος

ΑΘΗΝΑ, Μάρτιος 2013

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού

Διδακτορική Διατριβή

Βλάχος Ε. Χρήστος

«Διερεύνηση δυναμικού ποικιλιών σόργου για εγχώρια
αιιφορική παραγωγή βιοκαυσίμων»

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Σκαράκης Γεώργιος, Καθηγητής Γ.Π.Α. (Επιβλέπων)

Καραμάνος Ανδρέας, Καθηγητής Γ.Π.Α. (Μέλος)

Δέρκας Νικόλαος, Επ. Καθηγητής Γ.Π.Α. (Μέλος)

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Σκαράκης Γεώργιος, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Καραμάνος Ανδρέας, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Δέρκας Νικόλαος, Επ. Καθηγητής Γ.Π.Α.

Μπεμπέλη Πηνελόπη, Καθηγήτρια Γ.Π.Α.

Παπαδάκης Γεώργιος, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Αραβανόπουλος Φίλιππος, Καθηγητής Α.Π.Θ.

Φλεμετάκης Εμμανουήλ, Επ. Καθηγητής Γ.Π.Α.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ξεκινώντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Σκαράκη Ν. Γεώργιο για την ανάθεση του θέματος, τις πολύτιμες συμβουλές και την επιστημονική υποστήριξη που μου παρείχε καθ'όλη τη διάρκεια αυτών των τεσσάρων και πλέον ετών. Πάνω απ' όλα όμως, θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την ηθική στήριξη και τις ατελείωτες ώρες που αφιέρωσε για την παρούσα μελέτη.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στα μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής κ. Καραμάνο Ανδρέα και κ. Δέρκα Νικόλαο, για τις αναμφισβήτητα πολύτιμες και στοχευμένες παρεμβάσεις, οι οποίες συνέβαλαν ουσιαστικά στην πληρέστερη ολοκλήρωση της μελέτης μου.

Επίσης, ευχαριστώ τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, κα Μπεμπέλη Πηνελόπη, κ. Παπαδάκη Γεώργιο και κ. Αραβανόπουλο Φίλιππο, για το χρόνο που αφιέρωσαν ώστε να μελετήσουν την παρούσα διατριβή και ιδιαίτερα τον κ. Φλεμετάκη Εμμανουήλ, ο οποίος με καθοδήγησε σε θέματα σχετικά με τις ομικές τεχνολογίες. Συνεχίζοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό του εργαστηρίου Βελτίωσης Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού του Γ.Π.Α., καθώς και το προσωπικό του αγροκτήματος του Γ.Π.Α. στην περιοχή της Κωπαΐδας για τη βοήθεια που μου παρείχαν, συμβάλλοντας ουσιαστικά στο πειραματικό και εργαστηριακό μέρος της διατριβής μου.

Σε αυτό το σημείο, θα ήθελα ιδιαιτέρως να ευχαριστήσω τη συνάδελφο Παυλή Ουρανία για την επιστημονική στήριξη που μου παρείχε σε θέματα σχετικά με τις ομικές τεχνολογίες και τις πάντα εύστοχες παρατηρήσεις, όπως και το συνάδελφο Μαριόλη Νικόλαο για την πολύτιμη βοήθεια κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων αγρού και την ανιδιοτελή συμπαράσταση. Τόσο η Ράνια όσο και ο Νίκος στάθηκαν στο πλευρό μου και υπήρξαν ακούραστοι συνοδοιπόροι καθ' όλη τη διάρκεια του διδακτορικού μου.

Και επειδή η στήριξη από επιστημονικής άποψης δεν αποτελεί το αποκλειστικό ζητούμενο για την ολοκλήρωση ενός διδακτορικού, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη σύντροφο μου Κωνσταντίνα Δανάη Καντερέ, η οποία αποτέλεσε πολύτιμο αρωγό στην προσπάθεια μου να φέρω εις πέρας το δύσκολο αυτό έργο.

Τέλος, μια απλή ευχαριστία δεν θα ήταν αρκετή ώστε να εκφράσω αυτό που αισθάνομαι για τη στήριξη της οικογένειάς μου. Ήταν όλοι τους παρόντες σε κάθε μου βήμα και ο καθένας με τον τρόπο του συνέβαλε ώστε να κλείσω αυτόν τον κύκλο, στηρίζοντας με τόσο ηθικά όσο και πρακτικά.

Βλάχος Ε. Χρήστος

Αθήνα, Μάρτιος 2013

Στην οικογένεια μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	1
ABSTRACT.....	3
1. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	4
1.1 Βοτανική ταξινόμηση του γένους <i>Sorghum</i>	4
1.2 Προέλευση- Εξέλιξη	6
1.3 Η γενετική βελτίωση του σόργου	7
1.3.1 Βελτίωση πληθυσμών	8
1.3.2 Δημιουργία και βελτίωση καθαρών σειρών.....	9
1.3.3 Δημιουργία υβριδίων.....	10
1.3.4 Πρόγραμμα μετατροπής σόργου	12
1.3.5 Βελτίωση επιθυμητών χαρακτηριστικών.....	13
1.4 Εκτίμηση γενετικών παραμέτρων.....	28
1.4.1 Συντελεστής Κληρονομικότητας	28
1.4.2 Αλληλεπίδραση γονοτύπου- περιβάλλοντος.....	28
1.4.3 Σχετικοί συντελεστές από την ανάλυση διακύμανσης.....	30
1.5 Καταβολισμός ζαχάρων γλυκού σόργου μετασυλλεκτικά	31
1.6 Παραγωγή βιοκαυσίμων- Εκπομπές αερίων θερμοκηπίου	36
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	39
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	40
2.1 Πειραματισμός αγρού.....	40
2.1.1 Μετρήσεις- Εργαστηριακές αναλύσεις.....	41
2.1.2 Εκτίμηση Παραγωγής Βιοαιθανόλης	42
2.1.3 Επεξεργασία Δεδομένων.....	43
2.2 Εκτίμηση γενετικών παραμέτρων.....	43

2.3 Μεταβολομική ανάλυση	45
2.3.1 Επεξεργασία δεδομένων	46
2.4 Μεταγραφομική ανάλυση	46
2.4.1 Απομόνωση ολικού RNA	46
2.4.2 Ποσοτικός και ποιοτικός προσδιορισμός του εξαγόμενου RNA	47
2.4.3 Αντίδραση αντίστροφης μεταγραφής (RT) για τη σύνθεση συμπληρωματικού DNA (cDNA).....	47
2.4.4 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο, qRT-PCR.....	48
2.4.5 Επεξεργασία Δεδομένων.....	50
2.5 Ανάλυση εκπομπών αερίων θερμοκηπίου	50
2.5.1 Εκπομπές αερίων θερμοκηπίου κατά τη φάση της καλλιέργειας.....	50
2.5.2 Τυπικές εκπομπές κατά τη φάση της καλλιέργειας.....	53
2.5.3 Τυπικές εκπομπές μετά τη φάση της καλλιέργειας.....	53
2.5.4 Μείωση εκπομπών GHG από τη χρήση της βιοαιθανόλης.....	54
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	55
3.1 Πειραματισμός αγρού	55
3.2 Εκτίμηση γενετικών παραμέτρων	62
3.3 Μεταβολομική ανάλυση.....	65
3.3.1 Μεταβολομική ανάλυση φύλλων	65
3.3.2 Μεταβολομική ανάλυση στελεχών.....	70
3.4 Μεταγραφομική ανάλυση	76
3.4.1 Μεταγραφομική ανάλυση φύλλων.....	76
3.4.2 Μεταγραφομική ανάλυση στελεχών	80
3.5 Ανάλυση εκπομπών αερίων θερμοκηπίου	84
3.5.1 Εκπομπές αερίων θερμοκηπίου κατά τη φάση της καλλιέργειας.....	84
3.5.3 Τυπικές εκπομπές κατά τη φάση της καλλιέργειας.....	87

3.5.4 Μείωση Εκπομπών GHG	88
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	90
4.1 Αξιολόγηση του παραγωγικού δυναμικού των ποικιλιών σόργου	90
4.2 Γενετικές παράμετροι	94
4.3 Μεταβολομική ανάλυση	96
4.4 Μεταγραφομική ανάλυση	99
4.5 Ανάλυση εκπομπών αερίων θερμοκηπίου	103
5. ΣΥΝΟΨΗ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΩΝ	107
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	109
Παράρτημα Ι.....	121

ΕΙΚΟΝΕΣ- ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ- ΣΧΗΜΑΤΑ

Εικόνα 1.1. Σχηματική απεικόνιση της παραγωγής υβριδίων σόργου χρησιμοποιώντας το μηχανισμό της γονιδιοκυτταροπλασματικής αρρενοστεριότητας. Η σειρά Α αποτελεί το θηλυκό γονέα σε όλες τις διασταυρώσεις

Εικόνα 1.2. Εμπορική παραγωγή ενός υβριδίου καρποδοτικού σόργου

Εικόνα 1.3. Χρωματισμός εντεριώνης και κεντρικών νεύρων φύλλων ενός BMR (αριστερά) και ενός κοινού σόργου (δεξιά)

Διάγραμμα 3.2. Σχετική έκφραση των συνθασών της φωσφορικής σακχαρόζης ανά στάδιο (1,2,3) σε φύλλα των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)

Διάγραμμα 3.1. Σχετική έκφραση των συνθασών της σακχαρόζης ανά στάδιο (1,2,3) σε φύλλα των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)

Διάγραμμα 3.3. Σχετική έκφραση των β-φρουκτοφουρανοσιδασών ανά στάδιο (1,2,3) σε φύλλα των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)

Διάγραμμα 3.4. Σχετική έκφραση των συνθασών της σακχαρόζης ανά στάδιο (1,2,3,4) σε στελέχη των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)

Διάγραμμα 3.5. Σχετική έκφραση των συνθασών της φωσφορικής σακχαρόζης ανά στάδιο (1,2,3,4) σε στελέχη των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)

Διάγραμμα 3.6. Σχετική έκφραση των β-φρουκτοφουρανοσιδασών ανά στάδιο (1,2,3,4) σε στελέχη των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)

Σχήμα 3.1. Μέσοι όροι περιεκτικότητας ζαχάρων και στερεών διαλυτών στα στελέχη των ποικιλιών

Σχήμα 3.2. PCA για τα στάδια δειγματοληψιών (Α,Β) και τους μεταβολίτες (Γ,Δ) στα φύλλα των ποικιλιών Sugar Graze(Α,Γ) και Urja (Β,Δ)

Σχήμα 3.3. PCA για τα στάδια δειγματοληψιών (Α,Β) και τους μεταβολίτες (Γ,Δ) στα στελέχη των ποικιλιών Sugar Graze(Α,Γ) και Urja (Β,Δ)

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1.1. Ανάλυση διακύμανσης γονοτύπων σε ένα περιβάλλον

Πίνακας 1.2. Ανάλυση διακύμανσης γονοτύπων σε διάφορα περιβάλλοντα

Πίνακας 2.1. Ποικιλίες σόργου ανά πειραματικό αγρό

Πίνακας 2.2. Ζεύγη εκκινήτων για qRT-PCR

Πίνακας 2.3. Κατανάλωση πετρελαίου ανά καλλιεργητική φροντίδα

Πίνακας 3.1. Αποτελέσματα Κωπαΐδας 2008

Πίνακας 3.2. Αποτελέσματα Οινόης 2008

Πίνακας 3.3. Αποτελέσματα Κωπαΐδας 2009

Πίνακας 3.4. Αποτελέσματα Κωπαΐδας 2010

Πίνακας 3.5. Αποτελέσματα Κωπαΐδας 2012

Πίνακας 3.6. Συνδυασμένη ανάλυση 2008-2010

Πίνακας 3.7. Γενετικές παράμετροι για την περιοχή της Κωπαΐδας κατά το 2008

Πίνακας 3.8. Γενετικές παράμετροι για την περιοχή της Οινόης κατά το 2008

Πίνακας 3.9. Γενετικές παράμετροι για την περιοχή της Κωπαΐδας κατά το 2009

Πίνακας 3.10 Γενετικές παράμετροι για την περιοχή της Κωπαΐδας κατά το 2010

Πίνακας 3.11. Γενετικές παράμετροι για την περιοχή της Κωπαΐδας κατά το 2012

Πίνακας 3.12. Γενετικές παράμετροι για τη συνδυασμένη ανάλυση στα τέσσερα περιβάλλοντα

Πίνακας 3.13. Μεταβολίτες που ανιχνεύθηκαν σε φύλλα των δύο ποικιλιών

Πίνακας 3.14. Μεταβολίτες που ανιχνεύθηκαν σε στελέχη των δύο ποικιλιών

Πίνακας 3.15. Σχετική έκφραση των γονιδίων-στόχων στα φύλλα της ποικιλίας Sugar Graze

Πίνακας 3.16. Σχετική έκφραση των γονιδίων-στόχων στα φύλλα της ποικιλίας Urja

Πίνακας 3.17. Σχετική έκφραση των γονιδίων-στόχων στα στελέχη της ποικιλίας Sugar Graze

Πίνακας 3.18. Σχετική έκφραση των γονιδίων-στόχων στα στελέχη της ποικιλίας Urja

Πίνακας 3.19. Εκπομπές N₂O

Πίνακας 3.20. Συνολικές εκπομπές ανά μονάδα επιφανείας

Πίνακας 3.21. Συνεισφορά των επί μέρους εκπομπών επί των συνολικών εκπομπών κατά τη φάση της καλλιέργειας

Πίνακας 3.22. Τυπικές εκπομπές GHG

Πίνακας 3.23. Μείωση εκπομπών GHG

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το σόργο (*Sorghum bicolor* L. Moench) αποτελεί ένα από τα πλέον σημαντικά σιτηρά σε παγκόσμιο επίπεδο και μία πολλά υποσχόμενη καλλιέργεια για την ελληνική γεωργία. Περιλαμβάνει διαφορετικούς τύπους οι οποίοι δύνανται να έχουν πολλαπλές χρήσεις. Το γεγονός ότι το σόργο αποτελεί φυτό υψηλής φωτοσυνθετικής δυνατότητας ενώ παράλληλα παρουσιάζει μειωμένες απαιτήσεις σε εισροές το καθιστά ως ένα από τα πιο σημαντικά φυτά και για την παραγωγή βιοκαυσίμων. Με δεδομένη την υποχρέωση όλων των κρατών-μελών της ΕΕ να καλύψει το 10% των καυσίμων για τις μεταφορές με βιοκαύσιμα, καθίσταται αναγκαία η αξιολόγηση των καταλληλότερων πρώτων υλών για την παραγωγή βιοαιθανόλης και στη χώρα μας.

Για το σκοπό αυτό αξιολογήθηκαν ποικιλίες γλυκού και χορτοδοτικού σόργου, σόργου του Σουδάν και σόργου υψηλής βιομάζας ως προς το παραγωγικό τους δυναμικό και τη δυνατότητα οικονομικά βιώσιμης και αειφορικής παραγωγής βιοαιθανόλης. Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε σε πέντε πειραματικούς αγρούς, τέσσερα στην Βοιωτία (2008-10 & 2012) και ένα στον Έβρο (2008). Παράλληλα, διερευνήθηκε η δυνατότητα αξιοποίησης του διαθέσιμου γενετικού υλικού για την ανάπτυξη βελτιωτικού προγράμματος για τη δημιουργία εγχώριων ποικιλιών.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι ποικιλίες γλυκού σόργου παρουσίασαν τη μεγαλύτερη καταλληλότητα για παραγωγή βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς με εξαιρετική προοπτική για αξιοποίηση τους και για παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς. Αντίστοιχα καλά παραγωγικά αποτελέσματα έδωσαν και αρκετές ποικιλίες χορτοδοτικού τύπου καθώς και τύπου υψηλής βιομάζας, οι οποίες όμως ενδείκνυται για παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς και βιοαερίου.

Από τη ανάλυση της διαχρονικής μεταβολής των ζαχάρων με 'ομικές' τεχνικές προέκυψε ότι δεν υφίσταται μεταβολή των ολικών ζυμώσιμων ζαχάρων στα στελέχη όταν αυτά συγκομίζονται ένα μήνα μετά το άριστο στάδιο (μαλακή ζύμη) ή ακόμα και όταν συγκομιστούν στο στάδιο αυτό και παραμείνουν στον αγρό επί ένα μήνα. Με τον τρόπο αυτό μπορεί να διευρυνθεί ο χρόνος τροφοδοσίας πρώτης ύλης στις αντίστοιχες βιομηχανικές μονάδες. Προέκυψε επίσης πληθώρα δεδομένων της διακύμανσης των μεταβολιτών σε φύλλα και στελέχη του γλυκού σόργου παρέχοντας χρήσιμο υπόβαθρο για περαιτέρω μελέτες της ανάπτυξης, παραγωγικότητας και βελτίωσης του σόργου στο πλαίσιο προσέγγισης βιολογίας συστημάτων.

Ο προσδιορισμός των παραμέτρων που υπεισέρχονται στην αξιολόγηση των κριτηρίων αειφορίας της παραγόμενης βιοαιθανόλης υπέδειξε ότι οι ποικιλίες γλυκού σόργου ικανοποιούν δυνάμει τα κριτήρια αυτά στο μέγιστο δυνατό βαθμό.

Η εκτίμηση των σχετικών γενετικών παραμέτρων στο υλικό που μελετήθηκε, κατέδειξε τη δυνατότητα επιτυχούς διεξαγωγής βελτιωτικού προγράμματος για τη δημιουργία υψηλοαποδοτικών ποικιλιών σόργου, κατάλληλες για τις αγροκλιματικές συνθήκες της χώρας.

ABSTRACT

Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) constitutes one of the most important cereal crops globally, with a highly promising potential for Greek agriculture. There are many cultivated types of sorghum appropriate for multiple uses. Being a highly photosynthesizing C4 species, also characterized by low input demands for its production, renders the crop as exceptionally attractive candidate feedstock for bioethanol production. Given the EU members' obligation for substituting a 10% of bioethanol for gasoline in transportation, the assessment of suitable feedstocks for bioethanol production in our country is of imperative importance.

To this purpose, several varieties of various sorghum types, sweet and forage sorghum, high biomass sorghum and Sudan sorghum, were thoroughly evaluated for their yield potential as well as their suitability for an economically viable and sustainable bioethanol production. The evaluation included five experimental fields, four in the Boeotia region (2008-10 & 2012) and one in the Evros region (2008). At the same time, the possibility of exploiting the available genetic material to develop a local sorghum breeding program has been investigated.

According to the findings of this study, sweet sorghum varieties proved the most suitable for the production of first generation bioethanol along with an excellent perspective for the production of second generation bioethanol in one step. Simultaneously, such varieties would comply best to the sustainability criteria for bioethanol as soon expected to be set by EU. Comparably satisfactory production was obtained from varieties of the forage and high biomass sorghum types which though were suggested as better suited for the production of second generation bioethanol and biogas.

Stem profiling at the transcriptome and metabolome level throughout pre- and post-harvest stages of sweet sorghum revealed the possibility of delaying harvesting one month after the optimum stage of soft dough, or even harvesting at that stage and stem piling on the field for one month, without worthwhile sugar losses thus allowing a longer period for feedstock supply to the industrial plants. Also, metabolomic analysis on leaves and stems provided useful background information for further studies concerning growth, development and genetic improvement of sweet sorghum employing system biology approaches.

Genetic parameters evaluated for genetic material in hand, suggested the possibility of exploiting this material to successfully develop a breeding program aiming at producing sorghum varieties particularly suited to the agroclimatic conditions of the country.

1. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

1.1 Βοτανική ταξινόμηση του γένους *Sorghum*

Το γένος *Sorghum* αποτελείται από 25 είδη (διπλοειδή και πολυπλοειδή), με αριθμό χρωμοσωμάτων $2n = 10, 20, 30$ ή 40 τα οποία ταξινομούνται στα υπογένη *Sorghum*, *Heterosorghum*, *Chaetosorghum*, *Parasorghum* και *Stiposorghum* (Garber, 1950; Lazarides et al., 1991). Στο υπογένος *Sorghum* ανήκουν όλοι οι τύποι του καλλιεργούμενου σόργου (*S. bicolor* L. Moench), τα υποείδη *drummondii* και *verticillifolium* ή αλλιώς *S. bicolor* spp. *arundinaceum*, καθώς και τα γηγενή είδη της Αφρικής και της Ν. Ασίας *S. halepense* και *S. propinquum* (de Wet, 1978; Lazarides et al., 1991). Τα υπογένη *Heterosorghum* και *Chaetosorghum* είναι μονοτυπικά και αποτελούνται από τα είδη *S. macrospermum* και *S. laxiflorum* Bailey αντίστοιχα, τα οποία κατάγονται από την Αυστραλία και την περιοχή του Ν. Ειρηνικού. Τα είδη του υπογένους *Parasorghum* κατάγονται από την Ασία, ενώ το υπογένος *Stiposorghum* αποτελείται από 10 είδη τα οποία κατάγονται από τη Β. Αυστραλία (Lazarides et al., 1991).

Τα υπογένη ταξινομούνται περαιτέρω σε αυτοφυή και καλλιεργούμενα. Στην πρώτη κατηγορία κατατάσσονται τα παρακάτω είδη (de Wet, 1978):

- *S. halepense* (Linn.) Pers.: Πολυετή, δυσεξόντωτα ζιζάνια με καλά αναπτυγμένα ριζώματα, τα οποία απαντούν σε όλες τις εύκρατες περιοχές του κόσμου. Διαχωρίζονται σε χαμηλά φυτά με μικρές ταξιανθίες και στενό φυλλικό έλασμα, τα οποία καταλαμβάνουν το δυτικό κομμάτι της ζώνης εξάπλωσης τους (*S. halepense*) και σε εύρωστα φυτά με μεγάλες ταξιανθίες και πλατύτερα ελάσματα, τα οποία καταλαμβάνουν το ανατολικό τμήμα (*S. miliaceum*). Στις ΗΠΑ η τυχαία διασταύρωση του είδους με το καλλιεργούμενο σόργο δημιούργησε ένα από τα πλέον επίμονα ζιζάνια με την κοινή ονομασία βέλιουρας, ενώ στην Αργεντινή η αντίστοιχη διασταύρωση είχε σαν αποτέλεσμα το *S. almum* (Parodi, 1943).
- *S. propinquum* (Kunth) Hitchc.: Πρόκειται για πολυετές εύρωστο ζιζάνιο, με έμμονα ριζώματα. Τα στελέχη του είναι ευθυτενή και παρουσιάζουν έντονη ανάπτυξη με ύψος έως και 5 m.
- *S. bicolor* spp. *drummondii* και *S. bicolor* spp. *verticillifolium*: Ετήσια ζιζάνια που χαρακτηρίζονται από ψηλά στελέχη.

Το καλλιεργούμενο σόργο υποδιαιρείται σε 5 βασικούς τύπους (Harlan and de Wet, 1972), όπως φαίνεται παρακάτω:

Bicolor: Οι καρποί του είναι επιμήκεις, σε μερικές περιπτώσεις ωοειδείς, ενώ είναι σχεδόν συμμετρικοί ως προς το ραχιαίο τους τμήμα. Τα φυτά αυτού του τύπου χαρακτηρίζονται από χαλαρές ταξιανθίες και μακριά λέπυρα, τα οποία καλύπτουν τους ώριμους καρπούς εξ' ολοκλήρου ή κατά τα 3/4, αφήνοντας ακάλυπτο το κορυφαίο τους τμήμα.

Kafir: Χαρακτηρίζονται από σφαιρικούς καρπούς, οι οποίοι είναι σχεδόν συμμετρικοί. Οι ταξιανθίες είναι ως επί το πλείστον συμπαγείς ή ημισυμπαγείς, ενώ τα λέπυρα ποικίλουν σε μήκος και είναι βραχύτερα των καρπών. Σε αυτό τον τύπο βασίστηκε η παραγωγή υβριδίων καρποδοτικού σόργου, κατά την οποία φυτά τύπου *kafir* χρησιμοποιήθηκαν ως σειρές- διατηρητές των αρρενόστειρων γονέων.

Durra: Οι καρποί αυτού του τύπου είναι σφαιρικοί και ωοειδείς, ενώ η βάση τους χαρακτηρίζεται ως σφηνοειδής. Οι ταξιανθίες είναι συμπαγείς και τα λέπυρα παρουσιάζουν μια χαρακτηριστική εγκάρσια πτύχωση στο μεσαίο τους τμήμα. Ο τύπος *durra* είναι επίσης γνωστός με την ονομασία '*milo*' και αποτέλεσε την πηγή του αρρενόστειρου κυτταροπλάσματος που χρησιμοποιήθηκε κατά την παραγωγή υβριδίων.

Caudatum: Σε αυτόν τον τύπο, οι καρποί είναι ασύμμετροι, επίπεδοι έως κοίλοι από τη μία πλευρά, ενώ προεξέχουν και είναι στρογγυλοί από την άλλη. Οι ταξιανθίες ποικίλουν από χαλαρές έως συμπαγείς ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες στην περιοχή καλλιέργειας, ενώ τα λέπυρα καλύπτουν περίπου το ήμισυ των καρπών. Ο τύπος *caudatum* έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στα σύγχρονα βελτιωτικά προγράμματα σόργου.

Guinea: Οι καρποί είναι πεπλατυσμένοι και κατά την ωρίμανση σχηματίζουν γωνία 90 μοιρών με τα λέπυρα, τα οποία έχουν μήκος ίσο ή μεγαλύτερο των καρπών και οι ταξιανθίες είναι χαλαρές. Ο τύπος αυτός είναι σπάνιος και όχι ιδιαίτερα σημαντικός. Ο διαχωρισμός του γένους ολοκληρώθηκε με την αναγνώριση 10 ενδιάμεσων τύπων, οι οποίοι προέκυψαν από το συνδυασμό των 5 παραπάνω αρχικών τύπων. Η περαιτέρω ταξινόμηση βασίστηκε στα χαρακτηριστικά των σταχυδίων και των ταξιανθιών, η έκφραση των οποίων επηρεάζεται ελάχιστα από το περιβάλλον. Με τον τρόπο αυτό η ταξινόμηση έγινε πιο αξιόπιστη, ξεπερνώντας αδιέξοδα παλαιότερων μελετών, οι οποίες βασίστηκαν σε φαινοτυπικά γνωρίσματα, που χαρακτηρίζονται από χαμηλό συντελεστή κληρονομικότητας (Snowden, 1936). Έτσι, η προτεινόμενη ταξινόμηση των Harlan and de Wet (1972), παρά το γεγονός ότι βασίστηκε αποκλειστικά σε μορφολογικά χαρακτηριστικά θεωρείται ως η πλέον αξιόπιστη και γι' αυτό το λόγο χρησιμοποιείται ακόμα και σήμερα.

Στην πορεία της γενετικής βελτίωσης του σόργου, η φαινοτυπική αξιολόγηση του γενετικού υλικού επέτρεψε την αναγνώριση σημαντικών χαρακτηριστικών (π.χ. ανθεκτικότητα σε εχθρούς και ασθένειες, αντοχή σε τοξικά μέταλλα, κυτταροπλασματική αρρενοστεριότητα κ.α.) τα οποία στη συνέχεια ενσωματώθηκαν με επιτυχία στις σύγχρονες ποικιλίες. Παρ' όλα αυτά, ο συγκεκριμένος τρόπος αξιολόγησης παρουσίαζε σημαντικούς περιορισμούς, καθώς αρκετά συχνά ήταν δύσκολο να διευκρινιστεί εάν η φαινοτυπική παραλλακτικότητα οφειλόταν σε γενετικούς ή περιβαλλοντικούς παράγοντες (Dahlberg, 2000). Για να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί, οι πιο πρόσφατες προσπάθειες ταξινόμησης του γένους και των ειδών βασίστηκαν σε μελέτες σε μοριακό επίπεδο, καθώς διατυπώθηκαν αμφιβολίες για το διαχωρισμό του γένους από εξελικτικής απόψεως στους 5 τύπους (Sprangler et al., 1999; Dillon et al., 2001). Πιο συγκεκριμένα, ο Sprangler (2003) χρησιμοποιώντας μοριακούς δείκτες RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), και δεδομένα αλληλούχησης, διαχώρισε το γένος *Sorghum* σε 3 διαφορετικούς τύπους με μόλις 13 είδη, ενώ οι Dillon et al. (2004) συνδύασαν τα δεδομένα των αλληλουχιών ITS1 και ndhF και δημιούργησαν ένα φυλογενετικό δένδρο κατά το οποίο το γένος *Sorghum* χωρίστηκε σε τρεις ευδιάκριτους κλάδους. Σε μεταγενέστερες μελέτες (Price et al., 2005) το γένος *Sorghum* διαχωρίστηκε σε δύο ομάδες βάσει του μεγέθους του γονιδιώματος και του αριθμού των χρωμοσωμάτων. Η πρώτη ομάδα χαρακτηρίστηκε από μεγάλο μέγεθος γονιδίωμα και χρωμοσώματα με απλοειδή αριθμό χρωμοσωμάτων $x=5$ ($2n=10, 20, 30$ και 40), ενώ η δεύτερη ομάδα από μικρό μέγεθος γονιδίωμα και χρωμοσώματα, με απλοειδή αριθμό χρωμοσωμάτων $x=10$ ($2n=20$ και 40).

Το είδος *S. bicolor* χαρακτηρίζεται από έντονη παραλλακτικότητα και περιλαμβάνει όλους τους τύπους καλλιεργούμενου σόργου. Έτσι, ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη ποικιλία, η παραγωγή προορίζεται για παραγωγή καρπού (καρποδοτικό σόργο), ζαχάρων (γλυκό σόργο) και βιομάζας (υψηλής βιομάζας, χορτοδοτικά υβρίδια σόργου, υβρίδια Sudangrass x *Sorghum*) (Saballos, 2008).

1.2 Προέλευση- Εξέλιξη

Οι περιοχές της υποσαχάριας και Β.Α. Αφρικής θεωρούνται τα κέντρα καταγωγής και εξημέρωσης του σόργου (de Wet and Harlan, 1971). Τα κύρια κέντρα καταγωγής τοποθετούνται στην Αιθιοπία και το Σουδάν, καθώς εκεί παρατηρήθηκε η πιο έντονη παραλλακτικότητα, ενώ οι περιοχές της Ινδίας και της Κίνας αποτελούν δευτερογενή κέντρα καταγωγής. Τέλος, η Αυστραλία, η Ν.Α. Ασία και λοιπές περιοχές της Αφρικής θεωρούνται ως τριτογενή κέντρα καταγωγής (Lazarides et al., 1991). Η επικρατούσα

εκδοχή για τους προγόνους του καλλιεργούμενου σόργου υποστηρίζει ότι αυτό προήλθε από τα είδη *S. bicolor ssp. verticillifolium* και *S. bicolor ssp. drummondii* στην ήπειρο της Αφρικής και από τα είδη *S. halepense* και *S. propinquum* στην Ασία.

Η εξημέρωση του σόργου ξεκίνησε στη Ν.Δ. Αιθιοπία γύρω στο 5000 π.Χ. από όπου εξαπλώθηκε στην υπόλοιπη Αφρική, την Κίνα και την Ινδία μέχρι το 2000 π.Χ. (Doggett, 1976). Στις ΗΠΑ το σόργο μεταφέρθηκε μέσω του δουλεμπορίου κατά το 19^ο αιώνα, ενώ η συστηματική καλλιέργεια ξεκίνησε λίγο πριν το 1900 στις νότιες πολιτείες.

1.3 Η γενετική βελτίωση του σόργου

Το σόργο ανήκει στην κατηγορία των κυρίως αυτογονιμοποιούμενων φυτών, με ποσοστά σταυρογονιμοποίησης που μπορούν να ανέλθουν έως και 30% (Saballos, 2008). Η γενετική βελτίωση του σόργου, όπως και σε όλα τα φυτικά είδη, βασίστηκε αρχικά στην επιλογή πληθυσμών ή φυτών με επιθυμητά χαρακτηριστικά από τους ίδιους τους παραγωγούς, αποτελέσματα τυχαίων διασταυρώσεων ή γενετικών μεταλλάξεων που συνέβαιναν στους αγρούς παραγωγής. Η επιλογή και εξάπλωση του νέου γενετικού υλικού άλλαξε ριζικά την καλλιέργεια του σόργου καθώς τα επιθυμητά γνωρίσματα που επιλέχθηκαν αφορούσαν το μειωμένο ύψος φυτών (μέσω της επιλογής φυσικών μεταλλάξεων για γονίδια νανισμού), ή την πρωιμότητα καθώς και τα φυτά με ανορθωμένη φόβη (Smith and Frederiksen, 2000).

Η μεγαλύτερη αλλαγή στον τομέα της βελτίωσης του σόργου έλαβε χώρα στις αρχές του 20^{ου} αιώνα. Η ενασχόληση εκπαιδευμένων βελτιωτών με τη συγκεκριμένη καλλιέργεια έφερε δραστικές αλλαγές καθώς, ακολουθώντας τεχνικές βελτίωσης, οι οποίες είχαν αναπτυχθεί κυρίως για αυτογονιμοποιούμενα είδη, παράχθηκαν αρκετές καθαρές σειρές που καλλιεργήθηκαν σε εμπορική κλίμακα. Το 1956 δημιουργήθηκε η πρώτη εμπορική ποικιλία-υβρίδιο σόργου με διαδικασίες, οι οποίες αναπτύχθηκαν αρχικά στον αραβόσιτο (*Zea mays* L). Με τον τρόπο αυτό, κατέστη εφικτή η παραγωγή και εμπορική διάθεση ποικιλιών σόργου υψηλών αποδόσεων στις αναπτυγμένες χώρες.

Επειδή το σόργο καλλιεργείται υπό τη μορφή καθαρών σειρών σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες ακόμα και σήμερα, συνεχίζεται η βελτιωτική προσπάθεια προς την κατεύθυνση αυτή με διάφορες μεθόδους επιλογής από γενετικά διαχωριζόμενους πληθυσμούς, αποτέλεσμα σχεδιασμένων διασταυρώσεων. Οι καθαρές σειρές που παράγονται αξιολογούνται τελικά σε διατοπικό και διαχρονικό πειραματισμό για τα αγρονομικά τους χαρακτηριστικά και διατίθενται στους παραγωγούς. Αντίθετα, όταν ο στόχος είναι η παραγωγή ποικιλιών-υβριδίων, για

καλλιέργεια σε αναπτυγμένες γεωργικά περιοχές, η διαδικασία παραγωγής καθαρών σειρών γίνεται παράλληλα με αξιολόγηση της συνδυαστικής τους ικανότητας ώστε να αποτελέσουν τους κατάλληλους γονείς των ποικιλιών-υβριδίων. Η βελτίωση των πληθυσμών-πηγών των παραπάνω καθαρών σειρών αποτελεί καθοριστικό παράγοντα και στην περίπτωση του σόργου, λόγω του αναπαραγωγικού τους συστήματος βασίστηκε κυρίως σε επαναλαμβανόμενη επιλογή με αξιοποίηση της γενετικής αρρενοστεριότητας. Η πορεία της βελτίωσης του σόργου και οι τεχνικές βελτίωσης που έχουν κυρίως χρησιμοποιηθεί παρουσιάζονται παρακάτω.

1.3.1 Βελτίωση πληθυσμών

Η βελτίωση των πληθυσμών του σόργου, είτε αυτοί προορίζονται για αυτούσια καλλιέργεια είτε ως πηγές καθαρών σειρών για την παραγωγή υβριδίων, στοχεύει στη συγκέντρωση επιθυμητών αλληλόμορφων που ελέγχουν ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά και παράλληλα στη διατήρηση της γενετικής παραλλακτικότητας σε ικανοποιητικά επίπεδα που θα επιτρέπουν την περαιτέρω βελτίωση τους. Προς το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε κυρίως η τεχνική της επαναλαμβανόμενης επιλογής, η οποία απαιτεί μεγάλο αριθμό διασταυρώσεων, πρακτική απόλυτα αδιέξοδη με βάση την κλασική τεχνική αποστημόνωσης. Το εμπόδιο αυτό ξεπεράστηκε με την αναγνώριση του συστήματος γενετικής αρρενοστεριότητας στο σόργο. Οι Doggett and Eberhart (1968) και Doggett (1972) πρότειναν τη χρήση της επαναλαμβανόμενης επιλογής αξιοποιώντας τη γενετική αρρενοστεριότητα, με αποτέλεσμα να αυξηθούν σημαντικά οι πιθανότητες ενσωμάτωσης επιθυμητών γνωρισμάτων ανά κύκλο επιλογής μέσω του γενετικού ανασυνδυασμού. Η εφαρμογή της μεθόδου σε ελεύθερα επικονιαζόμενους πληθυσμούς σόργου (OP) έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα σε ότι αφορά την επιλογή για συγκεκριμένα χαρακτηριστικά και ιδιαίτερα για αυξημένη απόδοση.

Η προαναφερθείσα βελτίωση των πληθυσμών βασίστηκε στο φαινότυπο ατομικών φυτών (φαινοτυπική ή μαζική επαναλαμβανόμενη επιλογή), κυρίως όμως σε επιλογή φυτών με βάση την απόδοση απογονικών τους οικογενειών. Οι τύποι των οικογενειών που αξιολογούνται δύνανται να είναι ημιθαλικές, ομοθαλικές ή S1 οικογένειες (Hallauer et al., 1988). Η διατήρηση της γενετικής παραλλακτικότητας σε ικανοποιητικά υψηλά επίπεδα επιτυγχάνεται με τις διασταυρώσεις των επιλεγόμενων φυτών (κυρίως ως αυτογονιμοποιημένος σπόρος) σε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς και ισόποση συμμετοχή σπόρου για τη δημιουργία του νέου πληθυσμού.

Χαρακτηριστικά στα οποία στοχεύει η βελτίωση των πληθυσμών σόργου αφορούν την απόδοση, την ποιότητα, την ανθεκτικότητα έναντι βιοτικών και αβιοτικών

καταπονήσεων, την προσαρμοστικότητα κ.α. Η αξιοποίηση της μεθόδου για την αύξηση της απόδοσης των πληθυσμών και άμεση χρήση τους από τους παραγωγούς, δίδει ιδιαίτέρως ενθαρρυντικά αποτελέσματα κυρίως στους πρώτους κύκλους των επιλογών. Παρ' όλα αυτά έχει διαπιστωθεί ότι η πρόοδος αυτή συνηθέστατα δεν αντανακλάται στην απόδοση πληθυσμιακών υβριδίων (Rattunde et al., 1997). Το γενετικό υλικό που προκύπτει από τη βελτίωση πληθυσμών σόργου κυριότατα υπόκειται σε αυτογονιμοποίηση, ώστε να παραχθούν οι καθαρές εκείνες σειρές, που θα αποτελέσουν τους γονείς ποικιλιών υβριδίων. Η αξιοποίηση της γενετικής αρρενοστεριότητας, όπως προαναφέρθηκε, απαιτεί τη μέριμνα για την εξάλειψη υπολειπόμενων αλληλόμορφων που πιθανόν προϋπήρχαν στις επιλεχθείσες σειρές. Η συνήθης πρακτική, πριν ξεκινήσει η παραγωγή των καθαρών σειρών, αφορά τη διασταύρωση των βελτιωμένων πληθυσμών με κάποια σειρά 'elite', ώστε να παραχθεί υλικό όσο το δυνατόν πιο όμοιο με τις υπάρχουσες καθαρές σειρές και ταυτόχρονα να περιέχει νέους και πιθανά επιθυμητούς συνδυασμούς γονιδίων. Κατά τη βελτίωση των πληθυσμών, και ανεξάρτητα από την τεχνική που χρησιμοποιείται, το γενετικό υλικό πρέπει να μετατραπεί σε καθαρές σειρές, ώστε να είναι ευχερής η αξιοποίησή του από τον εκάστοτε ερευνητή (Rooney, 2004).

1.3.2 Δημιουργία και βελτίωση καθαρών σειρών

Η δημιουργία καθαρών σειρών αποτελεί κρίσιμο στάδιο ενός βελτιωτικού προγράμματος καθώς χαρακτηρίζονται από υψηλή ομοζυγωτία, η οποία είναι απαραίτητη τόσο για την παραγωγή ποικιλιών-σειρών όσο και ποικιλιών-υβριδίων. Οι κύριες μέθοδοι βελτίωσης που χρησιμοποιούνται κατά την παραγωγή καθαρών σειρών είναι η γενεαλογική επιλογή, η μαζική βελτίωση, η αναδιασταύρωση και η καταγωγή από μεμονωμένους σπόρους. Η F1 γενεά αυτογονιμοποιείται δίνοντας την F2, πρακτική η οποία επαναλαμβάνεται κατά τις επόμενες 2 έως 4 γενεές, ώστε να παραχθούν ομοιόμορφες σειρές. Στη συνέχεια χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι επιλογής για συγκεκριμένα αγρονομικά χαρακτηριστικά και ανθεκτικότητα σε καταπονήσεις. Η κατάλληλη γενεά για την επιλογή συγκεκριμένων χαρακτηριστικών εξαρτάται από την κληρονομικότητα των χαρακτηριστικών. Χαρακτηριστικά με υψηλό συντελεστή κληρονομικότητας (ωριμότητα, χρώμα σπόρου, ύψος κλπ) μπορούν να επιλεχθούν σε πρώιμες γενεές, ενώ η επιλογή για χαρακτηριστικά χαμηλής κληρονομικότητας (απόδοση, αντοχή στην ξηρασία κλπ) επιτελείται σε μεταγενέστερες γενεές. Την παραγωγή μιας ομόμεικτης σειράς ακολουθεί η πειραματική αξιολόγηση της. Σε προγράμματα που έχουν ως σκοπό την παραγωγή υβριδίων οι καθαρές σειρές υποβάλλονται σε εκτίμηση της συνδυαστικής τους

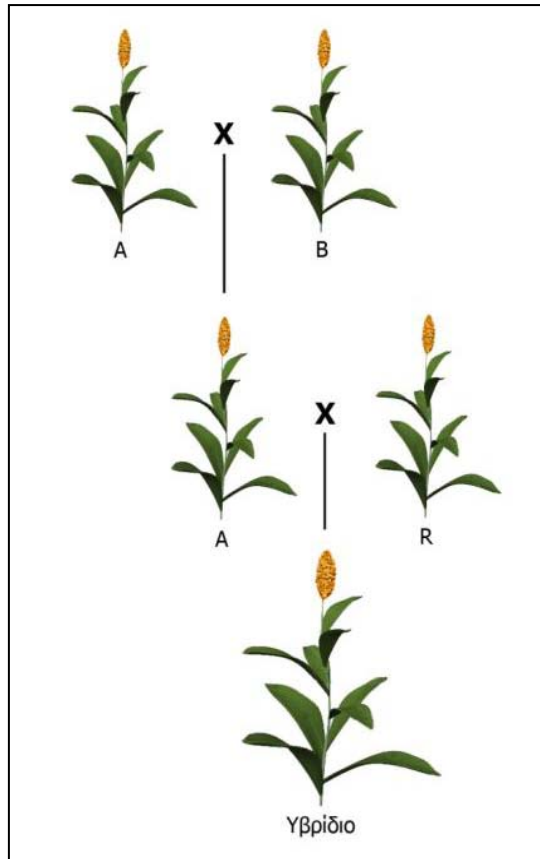
ικανότητας, κριτήριο καταλληλότητας ώστε να αποτελέσουν τους γονείς των υποψηφίων εμπορικών ποικιλιών-υβριδίων.

1.3.3 Δημιουργία υβριδίων

Η αποδοτικότητα του καρποδοτικού σόργου κατά τη δεκαετία του '40 θεωρήθηκε πως έφτασε στο υψηλότερο δυνατό επίπεδο, ενώ περαιτέρω βελτιώσεις με τις κλασικές μεθόδους κρίθηκαν από οριακές έως ανέφικτες. Το φαινόμενο της ετέρωσης ήταν γνωστό στους επιστήμονες από το 1924 όταν και δημιουργήθηκαν τα πρώτα υβρίδια αραβοσίτου. Οι αυξημένες αποδόσεις των υβριδίων σόργου παρατηρήθηκαν το 1937 με τη δημιουργία των πρώτων υβριδίων χρησιμοποιώντας τη μέθοδο του ευνουχισμού με ζεστό νερό (Karper and Quinby, 1937). Ωστόσο, η μαζική παραγωγή υβριδίων ξεκίνησε με την ανακάλυψη και χρησιμοποίηση της γονιδο-κυτταροπλασματικής αρρενοστειρότητας, η οποία οδήγησε σε αύξηση των αποδόσεων κατά 300% από το 1950 έως το 1990 (Stephens and Holland, 1954).

Η παραγωγή υβριδίων σόργου μέσω της κυτταροπλασματικής αρρενοστειρότητας βασίστηκε στο συνδυασμό του αρρενόστειρου κυτταροπλάσματος με γονίδια που εδράζονται στο πυρηνικό γονιδίωμα, τα οποία είτε διατηρούν την αρρενοστειρότητα είτε επαναφέρουν τη γονιμότητα. Η αξιοποίηση της βασίστηκε στο συνδυασμό του αρρενόστειρου κυτταροπλάσματος A που βρέθηκε σε σόργο τύπου '*milo*' και των πυρηνικών γονιδίων (*rf*) που βρέθηκαν στον τύπο *Kafir* που σε υπολειπόμενη μορφή δεν αναιρούν την αρρενοστειρότητα (Sleper and Poelhman, 2006).

Το σύστημα της κυτταροπλασματικής αρρενοστειρότητας που χρησιμοποιείται εκτενέστερα είναι αυτό του A1 κυτταροπλάσματος. Για τη δημιουργία των υβριδίων απαιτούνται μία κυτταροπλασματικά αρρενόστειρη σειρά (A), μία σειρά-διατηρητής (B) που είναι γενετικά όμοια της αρρενόστειρης σειράς A αλλά με κανονικό κυτταρόπλασμα και ομοζύγωτη για τα υπολειπόμενα γονίδια που δεν αναιρούν την αρρενοστειρότητα (*rfrf*) και μία σειρά επικονιαστή (R), η οποία χαρακτηρίζεται από γονίδια επαναφοράς της γονιμότητας σε κυρίαρχη μορφή (*Rf Rf*).



Εικόνα 1.1. Σχηματική απεικόνιση της παραγωγής υβριδίων σόργου χρησιμοποιώντας το μηχανισμό της γονιδιοκυτταροπλασματικής αρρενοστεριότητας. Η σειρά A αποτελεί το θηλυκό γονέα σε όλες τις διασταυρώσεις



Εικόνα 1.2. Εμπορική παραγωγή ενός υβριδίου καρποδοτικού σόργου

Η σειρά B ονομάζεται διατηρητής καθώς αποτελεί το δότη γύρης για τη διατήρηση της αρρενόστειρης σειράς A. Η παραγωγή των υβριδίων απαιτεί μια ακόμα διασταύρωση της σειράς A με τη σειρά R που έχει ως σκοπό την επαναφορά της γονιμότητας (Εικόνα 1.1). Τόσο η εμπορική παραγωγή των υβριδίων όσο και η διατήρηση της σειράς A (διασταύρωση με σειρά B), επιτυγχάνονται σπέρνοντας 2- 6 γραμμές με φυτά της σειράς R ή B αντίστοιχα για κάθε 12-18 γραμμές της σειράς A (Εικόνα 1.2) (Rooney and Smith, 2000).

1.3.4 Πρόγραμμα μετατροπής σόργου

Οι πρώτες ποικιλίες σόργου που εισήχθησαν στις ΗΠΑ προήλθαν από την Αφρική δεν ήταν προσαρμοσμένες στις νέες συνθήκες: χαρακτηρίζονταν από μεγάλο βιολογικό κύκλο, μεγάλο ύψος, ευπάθεια στο πλάγιασμα, και χαμηλές αποδόσεις. Η εύρεση των γονιδίων που ευθύνονται για τα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά αποτέλεσε το έναυσμα για την παραγωγή ποικιλιών χωρίς τα παραπάνω ανεπιθύμητα γνωρίσματα. Μελέτες που διεξήχθησαν πριν την έναρξη του προγράμματος μετατροπής του σόργου έδειξαν πως κάποια από τα καταχωρημένα δείγματα γενετικού υλικού σόργου ήταν φωτοσυνθετικά ουδέτερα (Quinby and Karper, 1947), ενώ η διάρκεια του βιολογικού κύκλου καθορίζονταν από τουλάχιστον 3 γονίδια (*Ma1*, *Ma2* και *Ma3*), τα οποία ήλεγχαν την αντίδραση στη φωτοπερίοδο και επακόλουθα την έναρξη της άνθησης. Επιπρόσθετα, το ύψος των φυτών αποδείχθηκε πως ελέγχεται από 4 γονίδια (*Dw1*, *Dw2*, *Dw3*, *Dw4*) διαφορετικών γενετικών θέσεων τα οποία κληρονομούνται ανεξάρτητα. Η γνώση του τρόπου κληρονομής των παραπάνω χαρακτηριστικών αποτέλεσε τη βάση της μετατροπής μη προσαρμοσμένων σειρών (Quinby and Karper, 1961; Quinby, 1967).

Το πρόγραμμα μετατροπής ξεκίνησε το 1963 και αξιοποίησε χαμηλού ύψους και φωτοσυνθετικώς ουδέτερα δείγματα καταχωρημένου γενετικού υλικού. Η σειρά-δότης BTx406 αποτέλεσε την πηγή των επιθυμητών χαρακτηριστικών, τα οποία ενσωματώθηκαν στο εξωτικό υλικό. Η διασταύρωση επιτεύχθηκε σε περιβάλλον μικρών ημερών και κατόπιν το γενετικό υλικό μεταφέρθηκε σε περιβάλλον μεγάλων ημερών όπου επιλέχθηκαν τα φυτά με τα επιθυμητά γνωρίσματα (χαμηλό ύψος, πρωιμότητα). Ο νέος σπόρος σπάρθηκε εκ νέου στο πρώτο περιβάλλον όπου αναδιασταυρώθηκε με το εξωτικό υλικό. Μετά από συνολικά 5 αναδιασταυρώσεις, το κυτταρόπλασμα ήταν κατά 99,4% όμοιο με αυτό του εξωτικού γονέα πλην των γονιδίων που ευθύνονταν για τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου και το ύψος, γονιδίων που προήλθαν από το γονέα-δότη. Με τον τρόπο αυτό κατέστη εφικτή η χρήση γονιδίων επιθυμητών χαρακτηριστικών, τα οποία απαντούσαν σε πάνω από 1000 σειρές καταχωρημένου εξωτικού καρποδοτικού σόργου. Από το 1963 μέχρι και

σήμερα, έχουν κυκλοφορήσει πάνω από 750 σειρές, οι οποίες προήλθαν από το παραπάνω πρόγραμμα μετατροπής (Rooney and Smith, 2000).

1.3.5 Βελτίωση επιθυμητών χαρακτηριστικών

Το σόργο μπορεί να καλλιεργηθεί σε πλήθος περιβαλλόντων- περιοχών και για το λόγο αυτό η βελτίωση του πρέπει να είναι στοχευμένη και να αποσκοπεί στην καταλληλότητα για τις εκάστοτε συνθήκες. Οι παραγωγοί επιθυμούν υβρίδια υψηλής και σταθερής παραγωγικότητας, τα οποία παράλληλα χαρακτηρίζονται από καλή προσαρμοστικότητα. Επίσης, η χρονικά απρόβλεπτη εμφάνιση βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων επιτάσσει μια γενικότερη αντοχή έναντι των παραγόντων αυτών που επιφέρουν απομείωση της απόδοσης της καλλιέργειας. Προς αυτή την κατεύθυνση, οι βελτιωτές σόργου αξιοποιούν κατά κύριο λόγο άγριο γενετικό υλικό που παρουσιάζει τα επιθυμητά χαρακτηριστικά, με σκοπό την ενσωμάτωση τους σε εμπορικές ποικιλίες- υβρίδια (Rooney, 2004). Η βελτίωση του σόργου γίνεται κυρίως μέσω της κλασσικής γενεαλογικής επιλογής και κάποιες παραλλαγές αυτής (Rooney and Smith, 2000; Jordan et al., 2004).

Η αξιοποίηση των γενετικών χαρτών που προέκυψαν από την εφαρμογή διαφόρων τύπων μοριακών δεικτών συνέβαλε στη χαρτογράφηση 35 κύριων γονιδίων, τα οποία εξηγούν μεγάλο ποσοστό της παραλλακτικότητας για σημαντικά γνωρίσματα όπως π.χ., το ύψος του στελέχους, η διάρκεια του βιολογικού κύκλου και η ανθεκτικότητα στην τοξικότητα αργιλίου (Mace and Jordan, 2010). Η ανάπτυξη της γονιδιωματικής και των σχετικών τεχνολογιών μεγάλης κλίμακας τα τελευταία χρόνια, κατέστησε εφικτή τη σύνδεση διαφόρων γνωρισμάτων με τα υπεύθυνα γονίδια. Επιστέγασμα των παραπάνω προσεγγίσεων αποτέλεσε η αλληλούχηση του γονιδιώματος του σόργου. Η ανάλυση των πρώτων 730 Mb του γονιδιώματος με ταυτόχρονη τοποθέτηση του 98% των γονιδίων στα αντίστοιχα χρωμοσώματα απέδειξε ότι ο γενετικός ανασυνδυασμός περιορίζεται κυρίως στο 1/3 του γονιδιώματος με τη διάταξη και την πυκνότητα των γονιδίων να είναι αντίστοιχη αυτών του ρυζιού (*Oryza sativa* L.), το γονιδίωμα του οποίου έχει χαρτογραφηθεί πλήρως. Η ολοκλήρωση της χαρτογράφησης του σόργου αναμένεται να δώσει σημαντικές πληροφορίες για το ρόλο πολλών γονιδίων (Paterson et al., 2010).

Η ραγδαία ανάπτυξη των σχετικών γονιδιωματικών προσεγγίσεων και τεχνολογιών (συμπεριλαμβανομένων των πλατφορμών φαινοτύπησης μεγάλης κλίμακας), αναμένεται να διαδραματίσει με βεβαιότητα σημαντικό ρόλο στην επιλογή και ενσωμάτωση επιθυμητών γνωρισμάτων κατά τα πρώιμα στάδια επιλογής, αυξάνοντας έτσι την αποτελεσματικότητα των βελτιωτικών προγραμμάτων σόργου όπως εξάλλου αναμένεται να συμβεί και στα υπόλοιπα φυτικά είδη.

Απόδοση

Η απόδοση αποτελεί ένα περίπλοκο χαρακτηριστικό, το οποίο επηρεάζεται σημαντικά από την αθροιστική δράση πληθώρας γονιδίων. Η επίτευξη της μέγιστης δυνατής βιομάζας εξαρτάται από ένα σύνολο σχετικών γνωρισμάτων, όπως το ύψος των φυτών, η φωτοπεριοδική ευαισθησία και η διάρκεια του βιολογικού κύκλου (Wallace and Yan, 1998).

Το ύψος των φυτών καθορίζεται από το μήκος και τον αριθμό των μεσογονατίων που αναπτύσσονται μέχρι την έναρξη της άνθησης. Ο ρυθμός ανάπτυξης μεσογονατίων δεν διαφέρει ιδιαίτερα μεταξύ των διαφόρων γονοτύπων και έτσι ο πλέον καθοριστικός παράγοντας του ύψους είναι το μήκος των μεσογονατίων διαστημάτων. Η μελέτη της κληρονομικότητας του ύψους οδήγησε στην ανακάλυψη 4 γονιδίων νανισμού (*Dw1*, *Dw2*, *Dw3*, *Dw4*) που σχετίζονται ισχυρά, όπως προαναφέρθηκε, τόσο με το μήκος των μεσογονατίων διαστημάτων όσο και με τη διάρκεια της βλαστητικής περιόδου. Τα *Dw* γονίδια είναι μερικώς κυρίαρχα για το ύψος, ενώ η συνδυασμένη επίδραση τους είναι αθροιστική. Γονότυποι με κυρίαρχους *Dw* αλληλόμορφους σε όλους τους γονιδιακούς τόπους δύνανται να φτάσουν ύψος 4 m, ενώ ποικιλίες με υπολειπόμενους αλληλόμορφους σε όλους τους γονιδιακούς τόπους φτάνουν μόλις τα 0.45 έως 0.60 m. Παρ' όλα αυτά, το τελικό ύψος των φυτών επηρεάζεται επιστατικά και από άλλες γονιδιακές θέσεις, η ύπαρξη των οποίων έχει αποδειχθεί από πολλούς μελετητές μέσω αναλύσεων ποσοτικών γνωρισμάτων (QTL) (Lin et al., 1995; Brown et al., 2008).

Η φωτοπεριοδική ευαισθησία και επακόλουθα η διάρκεια του βιολογικού κύκλου παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην επίτευξη υψηλών αποδόσεων. Η μετάβαση από το βλαστητικό στο αναπαραγωγικό στάδιο αποτελεί προϊόν της επίδρασης μικρών ημερών. Έτσι, η άνθηση γονοτύπων τροπικής καταγωγής σε εύκρατα περιβάλλοντα όπου η διάρκεια της φωτοπεριόδου είναι μεγαλύτερη των 12 ωρών, είναι αδύνατη. Η προσαρμογή του σόργου σε αυτά τα περιβάλλοντα οφείλεται, όπως έχει ήδη αναφερθεί, στην επιλογή φωτοπεριοδικά ουδέτερων φυτών που αποτελούν προϊόν τυχαίων μεταλλάξεων. Στις μεταλλάξεις αυτές οφείλεται η ανακάλυψη τεσσάρων γονιδίων (*Ma1*, *Ma2*, *Ma3*, *Ma4*), τα οποία ελέγχουν το ύψος των φυτών. Τα *Ma* γονίδια έχουν χρησιμοποιηθεί εντατικά εφόσον ο συνδυασμός σε υπολειπόμενη μορφή παράγει φωτοσυνθετικά ουδέτερα φυτά. Οι Rooney and Aydin (1999) περιέγραψαν την ύπαρξη δύο γονιδιακών θέσεων (*Ma5* και *Ma6*), οι οποίοι προσδίδουν στα φυτά το χαρακτηριστικό της φωτοπεριοδικής ευαισθησίας εξαιτίας της οποίας τα φυτά χαρακτηρίζονται από παρατεταμένη βλαστητική ανάπτυξη και αυξημένες αποδόσεις σε βιομάζα.

Το αδελφωμα αποτελεί ένα ακόμα χαρακτηριστικό που δύναται να επηρεάσει σημαντικά τις τελικές αποδόσεις. Αρκετοί γονότυποι σόργου έχουν τη δυνατότητα να αδελφώνουν σε μεγάλο βαθμό, ειδικά σε συνθήκες μειωμένων πυκνοτήτων σποράς, και να αυξάνουν έτσι τις υπό άλλες συνθήκες χαμηλές αποδόσεις. Επομένως, το αδελφωμα είναι ιδιαίτερα επιθυμητό όταν η απόδοση σε βιομάζα αποτελεί το κύριο ζητούμενο. Αντίθετα, στην περίπτωση του καρποδοτικού σόργου, το αδελφωμα κρίνεται ως ανεπιθύμητο ειδικά όταν οι φόβες των αδερφιών παρουσιάζουν καθυστερημένη ωρίμανση. Οι Hart et al. (2001) προσδιόρισαν δύο QTLs, τα οποία συνδέονται με την ικανότητα αδελφώματος και εξηγούν από 48.9 έως 65.5% της παραλλακτικότητας για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό ανεξαρτήτως περιβάλλοντος. Η μειωμένη περιβαλλοντική επίδραση στην έκφραση των γονιδιακών αυτών θέσεων καθιστά τη χρήση τους σε βελτιωτικά προγράμματα ιδιαίτερα χρήσιμη.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό που εξετάσθηκε εκτενώς και συνδέεται άμεσα με τις τελικές αποδόσεις είναι η αντοχή στο πλάγιασμα που διαχωρίζεται σε πλάγιασμα στελεχών και ριζών. Γενικά, έχει αποδειχθεί πως το χαρακτηριστικό stay-green συνδέεται ισχυρά με το πλάγιασμα. Γονότυποι, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από το συγκεκριμένο γνώρισμα, διατηρούν τη δομή των ιστών του στελέχους αρκετά μετά την έκπτυξη και ωρίμανση της φόβης, ισχυροποιώντας έτσι την αντοχή σε ενδεχόμενα πλαγιασμάτα. Το stay-green χαρακτηριστικό συνδέεται ισχυρά με συγκριμένους γονιδιακούς θέσεις (QTLs), καθιστώντας έτσι εύχρητη την ενσωμάτωση του κατά την παραγωγή ποικιλιών (Hausmann et al., 2002; Harris et al., 2007).

Η απόδοση σε σπόρο επηρεάζεται ισχυρά από το τελικό ύψος των φυτών. Έχει παρατηρηθεί πως υψηλοί τύποι σόργου εναποθέτουν περισσότερο από 50% της παραγόμενης ξηρής βιομάζας στα στελέχη και έτσι ένα μόνο μέρος αυτής εναποτίθεται στη φόβη μετά την εμφάνιση της, σε αντίθεση με τους χαμηλοϋψείς τύπους σόργου. Η παραγωγή σπόρου σχετίζεται αρνητικά με την παραγωγή βιομάζας παρά το γεγονός ότι κατά καιρούς έχουν παραχθεί γονότυποι διπλής χρήσης, οι οποίοι εμφανίζουν αυξημένες αποδόσεις τόσο σε σπόρο όσο και σε βιομάζα (Reddy et al., 2007).

Αντοχή σε βιοτικές καταπονήσεις

Οι βιοτικές καταπονήσεις περιλαμβάνουν προσβολές από εχθρούς, όπως μυκητολογικές ασθένειες, έντομα και ζιζάνια. Το σύνολο των πληροφοριών για τις συγκεκριμένες καταπονήσεις αφορά κυρίως την καλλιέργεια του καρποδοτικού σόργου. Μέχρι στιγμής έχουν καταγραφεί πάνω από 100 είδη παθογόνων και εντόμων, τα οποία προσβάλλουν το σόργο. Παρά το γεγονός ότι η πλειοψηφία των συγκεκριμένων εχθρών δύναται να καταπολεμηθεί μέσω καλλιεργητικών τεχνικών και

εφαρμογών φυτοπροστατευτικών προϊόντων, η στοχευμένη βελτίωση για ανθεκτικότητα σε βιοτικές καταπονήσεις αποτελεί την πλέον αποτελεσματική και αιεφορική μέθοδο προστασίας της καλλιέργειας σε ποικίλα περιβάλλοντα (Rooney, 2004; Saballos, 2008).

Τόσο οι μυκητολογικές ασθένειες όσο και οι εντομολογικοί εχθροί μπορούν μεμονωμένα ή σε συνδυασμό να προκαλέσουν σημαντικές οικονομικές απώλειες (Thakur et al., 1997). Η αντοχή σε κάποιο βιοτικό παράγοντα είναι δυνατό να συμπεριληφθεί σε ένα βελτιωτικό πρόγραμμα, εφόσον χαρακτηρίζεται από μία δεδομένη κληρονομήσιμη πηγή ανθεκτικότητας, το κατάλληλο περιβάλλον που θα επιτρέψει την αναγνώριση του συμπτώματος του εκάστοτε εχθρού- παθογόνου και μία αποτελεσματική στρατηγική βάσει της οποίας θα παραχθεί γενετικό υλικό, το οποίο θα εμφανίζει το επιθυμητό γνώρισμα. Τα παθογόνα μπορεί να κατηγοριοποιηθούν βάσει του μέρους του φυτού, το οποίο προσβάλλουν και διαχωρίζονται σε αυτά που προσβάλλουν τη φόβη, τα φύλλα, τα στελέχη και σε μερικές περιπτώσεις ολόκληρο το φυτό.

Μυκητολογικές ασθένειες- εντομολογικοί εχθροί που προκαλούν πλάγιασμα

Η αντοχή στο πλάγιασμα αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά, καθώς μπορεί να προκαλέσει ανεπανόρθωτες ζημιές στην παραγωγή. Οι μυκητολογικές ασθένειες μακροφομίνα (*Macrophomina phaseolina*), φουζαρίωση (*Fusarium moniliforme*) και ανθράκωση (*Colletotrichum graminicola*), ευθύνονται για τη σήψη των στελεχών και κατ' επέκταση για το πλάγιασμα των φυτών. Έχει αποδειχθεί πως ο μύκητας *M. phaseolina* συνδέεται ισχυρά με την αντοχή στην υδατική καταπόνηση. Για το λόγο αυτό, το χαρακτηριστικό stay-green, το οποίο συνδέεται με την παρατεταμένη διατήρηση των ιστών του φυτού, επάγει και αντοχή στο συγκεκριμένο μύκητα. Αντίθετα οι μύκητες *F. moniliforme* και *C. graminicola* δεν συνδέονται με την αντοχή στην υδατική καταπόνηση και έτσι ακολουθείται η κλασική μέθοδος αξιολόγησης των γονοτύπων για ανθεκτικότητα στα παθογόνα, μέσω του εμβολιασμού και της παρακολούθησης της πορείας της ασθένειας. Οι Bramel- Cox et al. (1988) και Tessa et al. (2004) απέδειξαν πως η ευαισθησία τόσο στο μύκητα *M. phaseolina* όσο και στον *F. moniliforme* κληρονομείται πολυγονιδιακά (ποσοτικό χαρακτηριστικό) με ένα ιδιαίτερα πολύπλοκο μηχανισμό. Η αξιολόγηση δειγμάτων καταχωρημένου γενετικού υλικού, υπέδειξε αρκετούς γονότυπους με ικανοποιητική ανθεκτικότητα και στα δύο παθογόνα. Ο τρόπος κληρονόμησης των δύο παραπάνω ανθεκτικοτήτων απαιτεί περαιτέρω έλεγχο και αξιολόγηση των γονοτύπων σε μεταγενέστερες γενιές.

Η ανθράκωση δύναται να μειώσει τόσο την ανάπτυξη του φυτού όσο και την τελική του απόδοση. Η εύρεση γονιδίων ανθεκτικότητας θεωρείται αναγκαία για την προστασία καλλιεργειών που προορίζονται για παραγωγή βιομάζας. Οι προσβολές είναι συνηθέστερες σε θερμές και υγρές περιοχές. Μέχρι σήμερα, έχουν ανακαλυφθεί αρκετές πηγές ανθεκτικότητας και κάποιες από αυτές έχουν αξιοποιηθεί από αρκετά βελτιωτικά προγράμματα. Παρ' όλα αυτά, η έντονη ποικιλομορφία (πολυάριθμοι βιότυποι) που παρουσιάζει το συγκεκριμένο παθογόνο, καθιστά απαραίτητη την αξιοποίηση περισσότερων πηγών ανθεκτικότητας, με σκοπό τη δημιουργία ανθεκτικών ποικιλιών αξιοποιώντας κλασσικές και μοριακές τεχνικές γονιδιακής πυραμίδωσης. Με τον τρόπο αυτό, είναι εφικτή η καταπολέμηση της συγκεκριμένης ασθένειας, μετά από ενδεχόμενη αλλαγή της σύστασης των πληθυσμών του μύκητα (Casela et al., 1992). Ο Wiltse (1998) συνδύασε δεκατρείς διαφορετικές πηγές ανθεκτικότητας στην ανθράκωση, ώστε να ελεγχθούν οι γενετικές συσχετίσεις μεταξύ των διαφόρων γονοτύπων και παρουσίασε τουλάχιστον πέντε διαφορετικές πηγές ανθεκτικότητας στο υπό μελέτη γενετικό υλικό, ενώ πιο πρόσφατα ο αριθμός των πηγών ανθεκτικότητας αυξήθηκε σε έξι (Mehta et al., 2000). Κατά τη βελτίωση του σόργου για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίδεται έτσι ώστε το βελτιωμένο υλικό να αξιολογείται διατοπικά και για αρκετές φυλές του παθογόνου.

Σήψεις σπόρου

Οι μύκητες που δύνανται να προσβάλλουν τους σπόρους είναι πολυάριθμοι. Οι βασικότεροι από αυτούς είναι οι *F. moniliforme sensu lato* και *Curvularia lunata*, οι οποίοι ευνοούνται από θερμά και υγρά κλίματα. Μέχρι στιγμής έχουν ανακαλυφθεί και περιγραφεί λεπτομερώς αρκετές πηγές ανθεκτικότητας, ενώ αρκετά χαρακτηριστικά έχουν συσχετιστεί με την ανθεκτικότητα τους συγκεκριμένους μύκητες, όπως γονότυποι με testa και υψηλή περιεκτικότητα σε τανίνες, υαλώδες ενδοσπέρμιο, σκληρούς σπόρους, λεπτό μεσοκάρπιο, κηρώδη επιφάνεια, ερυθρό περικάρπιο (παρουσία φλαβονοειδών), χαλαρή δομή φόβης και πρωτεΐνες με αντιμυκητιακές ιδιότητες. Τα παραπάνω χαρακτηριστικά συνέβαλαν στην παραγωγή ποικιλιών με καλύτερη ποιότητα σπόρου, αλλά δεν προσέφεραν απόλυτη ανθεκτικότητα έναντι των παθογόνων (Waniska et al., 1992; Esole et al., 1993; Rodriguez-Herrera et al., 1999). Η ανθεκτικότητα για τους μύκητες σπόρων θεωρείται ποσοτικό χαρακτηριστικό με την ειδική και γενική συνδυαστική ικανότητα των συστατικών της διακύμανσης της ανθεκτικότητας να είναι εξίσου σημαντικές (Dabholkar and Baghel, 1980). Οι Rodriguez-Herrera et al. (2000), ανέφεραν διαφορετικές αθροιστικές, κυριαρχικές και επιστατικές επιδράσεις σε διαφορετικά

περιβάλλοντα, με αποτέλεσμα η επιλογή ανθεκτικότητας σε συγκεκριμένο περιβάλλον να μην εξασφαλίζει διατοπική ανθεκτικότητα. Η ανακάλυψη γονιδιακών θέσεων, οι οποίες ευθύνονται για την αντοχή στις συγκεκριμένες ασθένειες, είναι μείζονος σημασίας. Οι Klein et al. (2001) αναγνώρισαν αρκετά QTLs, τα οποία εξηγούν συνολικά έως και 45%της φαινοτυπικής παραλλακτικότητας. Η μελέτη των ποσοτικών γνωρισμάτων σε διαφορετικά περιβάλλοντα δεν έδωσε σταθερή έκφραση, καταδεικνύοντας την ισχυρή αλληλεπίδραση περιβάλλοντος και γονοτύπου για τη συγκεκριμένη ανθεκτικότητα. Γενικά, κατά τη βελτίωση για ανθεκτικότητα σε σήψεις σπόρων, ο συνδυασμός μοριακών μεθόδων (αναλύσεις ποσοτικών γνωρισμάτων, μοριακοί δείκτες κ.α.) και κλασικών προσεγγίσεων βελτίωσης είναι απαραίτητος, ώστε να σημειωθεί ικανοποιητική πρόοδος. Προς αυτή την κατεύθυνση, ερευνάται η γενετική τροποποίηση της καρύωσης μέσω της οποίας, θα επαχθεί η ανθεκτικότητα για το υπό μελέτη γνώρισμα (Rooney, 2004).

Περονόσπορος

Ο περονόσπορος στο σόργο προκαλείται από το μύκητα *Peronosclerospora sorghii* και αποτελεί μία ιδιαιτέρως διαδεδομένη ασθένεια. Οι προσβολές από το συγκεκριμένο μύκητα επηρεάζονται ισχυρά από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Όπως και για άλλα παθογόνα, έχουν βρεθεί αρκετές πηγές ανθεκτικότητας, οι οποίες όμως βασίζονται στις κατά τόπους φυλές του παθογόνου. Το γεγονός αυτό οδηγεί συχνά σε αδυναμία καταπολέμησης του μύκητα λόγω αλλαγών στη σύσταση του πληθυσμού της φυλής. Η κληρονομηση της ανθεκτικότητας στον περονόσπορο είναι ολιγογονιδιακή και ο αριθμός των γονιδίων κυμαίνεται από ένα έως έξι (Reddy et al., 1992).

Ανθράκωση

Αποτελεί μία εκ των σημαντικότερων ασθενειών που προσβάλλουν το σόργο και προκαλείται από το μύκητα *Sporisorium relianum*. Στα πλαίσια διαφόρων βελτιωτικών προγραμμάτων έχουν συμπεριληφθεί πηγές ανθεκτικότητας για αρκετές από τις φυλές του συγκεκριμένου μύκητα. Η κληρονομηση του χαρακτηριστικού της ανθεκτικότητας για το συγκεκριμένο παθογόνο ποικίλει από κυρίαρχη έως υπολειπόμενη ανάλογα με την πηγή ανθεκτικότητας που χρησιμοποιείται. Στο παρελθόν, οι Cao et al. (1988) παρουσίασαν την ανθεκτικότητα στο *S. relianum* ως ποσοτικό χαρακτηριστικό με αθροιστικές, κυριαρχικές και επιστατικές γονιδιακές επιδράσεις.

Εργοτίαση

Προκαλείται από το μύκητα *Claviceps africana*, η ανάπτυξη του οποίου ευνοείται από ψυχρές και υγρές συνθήκες προσβάλλοντας τις φόβες κατά το στάδιο της άνθησης. Η ευαισθησία στην εργοτίαση αποτελεί χαρακτηριστικό των αρρενόστειρων σειρών δυσχεραίνοντας έτσι την παραγωγή των υβριδίων. Δύναται να προκαλέσει σημαντική μείωση των αποδόσεων και για το λόγο αυτό η ανθεκτικότητα στην ασθένεια αυτή αποτελεί μείζονος σημασίας γνώρισμα. Πηγές ανθεκτικότητας διάφορης έντασης έχουν εντοπιστεί σε αρκετά δείγματα καταχωρημένου καλλιεργούμενου και άγριου γενετικού υλικού (Dahlberg, 2000; Reed et al., 2002). Η κληρονομικότητα του χαρακτηριστικού της ανθεκτικότητας στην εργοτίαση κυμαίνεται από 0 έως 60% αναλόγως του περιβάλλοντος δυσχεραίνοντας έτσι την προσπάθεια για παραγωγή μιας σειράς σόργου με διατοπική ανθεκτικότητα (Mateo, 2003).

Παρασιτικά ζιζάνια

Το μοναδικό είδος παρασιτικού ζιζανίου που έχει καταγραφεί να προσβάλλει την καλλιέργεια του σόργου είναι το *Striga hermonthica*. Το χαρακτηριστικό της ανθεκτικότητας στο συγκεκριμένο ζιζάνιο έχει χαρακτηριστεί τόσο ως ποιοτικό όσο και ως ποσοτικό και η κληρονομήση του θεωρείται ιδιαίτερα πολύπλοκη. Ο μηχανισμός που έχει περιγραφεί και αποτελεί ίσως τον καλύτερο τρόπο αντιμετώπισης του ζιζανίου, αφορά ποικιλίες που απελευθερώνουν ουσίες, οι οποίες δεν επιτρέπουν τη βλάστηση των σπόρων του παρασίτου (Ejeta et al., 1997). Πρόσφατες μελέτες ποσοτικών γνωρισμάτων υπέδειξαν πέντε γονιδιακές θέσεις που εξηγούν από 23 έως 40% της φαινοτυπικής παραλλακτικότητας της ανθεκτικότητας. Η αξιολόγηση του γενετικού υλικού κατέδειξε πως οι παραπάνω γονιδιακοί θέσεις είχαν αρκετά καλή έκφραση σε πλήθος περιβαλλόντων (Hausmann et al., 2004).

Εντομολογικοί εχθροί

Τα έντομα που δύνανται να προσβάλλουν φυτά σόργου είναι πολυάριθμα και χαρακτηρίζονται από έντονη τοπική εμφάνιση, καθώς η ανάπτυξη τους επηρεάζεται άμεσα από τις κλιματικές συνθήκες. Τέτοια έντομα είναι τα *Atherigona soccata*, *Sipha flava*, *Blissus leucopterus*, *Spodoptera frugiperda*, *Rhopalsiphum maidis* και διάφορα είδη Κολεόπτερων. Σε αντίθεση με τα παραπάνω έντομα, τα είδη *Stenodiplosis sorghicola* και *Schizaphis graminum* αφορούν το σύνολο της ζώνης παραγωγής του σόργου, καθώς προκαλούν σημαντικές οικονομικές καταστροφές. Το *S. sorghicola* αποτελεί το πλέον επιζήμιο έντομο παγκοσμίως καθώς τρέφεται με την υπό ανάπτυξη καρύοψη των σπόρων. Η ανθεκτικότητα στο *S. sorghicola* αποτελεί ποσοτικό χαρακτηριστικό, το οποίο επηρεάζεται ισχυρά από την αλληλεπίδραση γονοτύπου-

περιβάλλοντος. Ελέγχεται από άγνωστο αριθμό μερικώς κυρίαρχων γονιδίων, ενώ στα υβρίδια εκφράζεται μόνο αν και οι δύο γονείς κατέχουν το γνώρισμα (Agrawal et al., 1988). Σχετικές μελέτες αναφέρουν πως η επίδραση της γενικής και ειδικής συνδυαστικής ικανότητας είναι σημαντική (Agrawal et al., 1988), ενώ κατά τους Sharman et al. (1996) το χαρακτηριστικό της ανθεκτικότητας χαρακτηρίζεται ως πρωταρχικά αθροιστικό. Έχουν ήδη παραχθεί ποικιλίες με ικανοποιητική ανθεκτικότητα στις οποίες και οι δύο γονείς του υβριδίου είναι ανθεκτικοί (Sleper and Roelhman, 2006).

Το *S. graminum* αποτελεί ένα σχετικά νέο έντομο του δυτικού ημισφαιρίου, το οποίο χαρακτηρίζεται από πολυάριθμους βιότυπους. Ο πρώτος βιότυπος που αναγνωρίστηκε ονομάστηκε C και αντιμετωπίστηκε στα μέσα της δεκαετίας του 70 μέσω της ενσωμάτωσης γονιδίων ανθεκτικότητας, τα οποία ήταν κυρίαρχα ή μερικώς κυρίαρχα (Peterson et al., 1994). Η εμφάνιση νέων βιοτύπων οδήγησε στη δημιουργία ποικιλιών, με κυριαρχική ή επιστατική κληρονομηση του γνωρίσματος, ανάλογα με τους διάφορους βιότυπους. Οι αναλύσεις ποσοτικών γνωρισμάτων στα πλαίσια της βελτίωσης για ανθεκτικότητα στο συγκεκριμένο έντομο κατέδειξε την ύπαρξη πολλαπλών υπεύθυνων γονιδιακών θέσεων (Agrama et al., 2002).

Μία άλλη κατηγορία εντόμων που προκαλεί σοβαρά προβλήματα είναι οι προνύμφες των Λεπιδοπτέρων, οι οποίες τρέφονται ορύσσοντας τα στελέχη. Τα τελευταία χρόνια έγιναν προσπάθειες δημιουργίας γενετικά τροποποιημένων ποικιλιών μέσω της αξιοποίησης της Bt τοξίνης για ανθεκτικότητα στην κατηγορία των εντόμων αυτών. Παρά το γεγονός ότι η συγκεκριμένη προσέγγιση είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική, ιδιαίτερη μέριμνα πρέπει να δοθεί, ώστε να αποφευχθεί ενδεχόμενη μετακίνηση των γονιδίων ανθεκτικότητας στα ιδιαίτερα διαδεδομένα άγρια συγγενικά είδη του σόργου (Ejeta and Grenier, 2005).

Αντοχή σε αβιοτικές καταπονήσεις

Οι αβιοτικές καταπονήσεις αφορούν παράγοντες που σχετίζονται με τις επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες (κλίμα, επάρκεια νερού, έδαφος κ.α.) και σε ιδιαίτερα αντίξοες συνθήκες οι αποδόσεις κυμαίνονται μόλις μεταξύ του 5 και 15% του μέγιστου παραγωγικού δυναμικού (Kramer and Boyer, 1995). Γενικά, οι αβιοτικές καταπονήσεις χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες που σχετίζονται με την επάρκεια σε νερό, τις επικρατούσες θερμοκρασίες και τα επίπεδα των θρεπτικών ουσιών στο έδαφος. Το γεγονός ότι το σόργο καλλιεργείται κυρίως σε ακραία από υδατικής απόψεως περιβάλλοντα καθιστά την υδατική ανεπάρκεια ως το σημαντικότερο παράγοντα των αβιοτικών καταπονήσεων.

Υδατική καταπόνηση

Το σόργο αποτελεί ένα από τα πλέον ανθεκτικά φυτά στην υδατική καταπόνηση. Η καλλιέργεια του τοποθετείται συνήθως σε περιοχές όπου το νερό αποτελεί έναν από τους κατ' εξοχήν περιοριστικούς παράγοντες και καλείται να ανταπεξέλθει σε περιόδους ακραίων συνθηκών. Για την παραγωγή ίσης ποσότητας βιομάζας απαιτεί κατά το 1/3 λιγότερο νερό σε σχέση με τον αραβόσιτο (Καραμάνος, 1999; Pedersen and Rooney, 2004). Για το λόγο αυτό, πολλά βελτιωτικά προγράμματα στρέφονται στην περαιτέρω βελτίωση του συγκεκριμένου χαρακτηριστικού, με σκοπό τη σταθεροποίηση της απόδοσης. Οι πρώτες προσπάθειες των βελτιωτών αφορούσαν τη μείωση του βιολογικού κύκλου (μέθοδος διαφυγής), έτσι ώστε μέσω της παραγωγής πρώιμων ποικιλιών να αποφευχθούν οι καταπονήσεις σε μεταγενέστερα στάδια της καλλιέργειας (Smith and Frederiksen, 2000). Η υδατική καταπόνηση διακρίνεται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τα στάδια ανάπτυξης της καλλιέργειας: GS1, GS2 και GS3 (Pauli et al., 1964). Το GS1 στάδιο ξεκινά από τη βλάστηση και ολοκληρώνεται κατά την έναρξη της αναπαραγωγικής φάσης (έκπτυξη φόβης), το GS2 εμπεριέχει την αναπαραγωγική φάση (έκπτυξη φόβης έως ολοκλήρωση άνθησης), ενώ το GS3 διαρκεί από την έναρξη γεμίσματος των σπόρων έως τη φυσιολογική ωρίμανση τους. Έχει αποδειχθεί ότι η αντίδραση των φυτών στην υδατική καταπόνηση ανά στάδιο καλλιέργειας ελέγχεται από διαφορετικούς γενετικούς μηχανισμούς (Rosenow et al., 1997).

Η ανθεκτικότητα στην υδατική καταπόνηση κατά το GS1 στάδιο αποτελεί ισχυρά κληρονομήσιμο γνώρισμα, το οποίο ελέγχεται από αθροιστικές γονιδιακές επιδράσεις. Όμως, η καταπόνηση στο στάδιο αυτό δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την καλλιέργεια του σόργου, καθώς τα επίπεδα της εδαφικής υγρασίας επηρεάζουν τη βλαστικότητα των σπόρων πολύ λιγότερο απ' ό,τι οι θερμοκρασίες εδάφους (Wenzel, 1991). Αντίθετα, η περιορισμένη επάρκεια νερού κατά τα μεταγενέστερα στάδια ανάπτυξης του φυτού επηρεάζει ισχυρότερα τις τελικές αποδόσεις. Η ανθεκτικότητα στην υδατική καταπόνηση κατά το στάδιο GS2 έχει αξιολογηθεί από αρκετά βελτιωτικά προγράμματα. Η αξιολόγηση της κληρονομικότητας του συγκεκριμένου χαρακτηριστικού έχει υποκειμενικό χαρακτήρα, καθώς σχετίζεται με ένα μεγάλο αριθμό φαινοτυπικών χαρακτηριστικών. Η αξιολόγηση ενός πληθυσμού ανασυνδυασμένων καθαρών σειρών (RILs) για την υδατική καταπόνηση κατά το GS2 στάδιο κατέδειξε έξι QTLs, οι οποίες εξηγούσαν σχεδόν το 40% της συνολικής φαινοτυπικής παραλλακτικότητας της απόδοσης (Tuinstra et al., 1996). Αντίστοιχα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν και από τους Kebede et al. (2001) μέσω της αναγνώρισης τεσσάρων QTLs, τα οποία ήλεγχαν την αντίδραση στη συγκεκριμένη καταπόνηση, χωρίς όμως να παρουσιάζεται διατοπική

επαναληψιμότητα. Γενικά, έχουν αναγνωρισθεί αρκετές πηγές ανθεκτικότητας, οι οποίες μπορεί να χρησιμοποιηθούν σε βελτιωτικά προγράμματα. Κατά το τρίτο στάδιο ανάπτυξης του φυτού (GS3) η ανθεκτικότητα στην υδατική καταπόνηση έχει ερευνηθεί εκτενώς, καθώς συνδέεται άμεσα με το μειωμένο γέμισμα και τις χαμηλές αποδόσεις σε σπόρο. Παράλληλα, η αυξημένη μετακίνηση υδατανθράκων προς τη φόβη κατά το στάδιο του γεμίσματος δύναται να προκαλέσει πλάγιασμα των φυτών με τα όσα αρνητικά συνεπάγεται. Οι πηγές ανθεκτικότητας στην υδατική καταπόνηση κατά το GS3 στάδιο είναι περιορισμένες. Η ανακάλυψη του χαρακτηριστικού stay-green ήταν ιδιαίτερης σημασίας, καθώς η ενσωμάτωση του δημιουργεί ιδιαίτερος ανθεκτικά φυτά (Rosenow et al., 1997). Οι γονότυποι με το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό είναι λιγότερο ευπαθείς στο πλάγιασμα, ανθεκτικότεροι σε προσβολές από το μύκητα *M. phaseolina*, διατηρούν τη φυλλική επιφάνεια πράσινη για μεγαλύτερο διάστημα καθώς και τη συγκέντρωση των υδατανθράκων σε υψηλότερα επίπεδα (Mahalakshmi and Bidinger, 2002). Ο Tuinstra (1997) ανέφερε δεκατρία QTLs τα οποία συνδέονταν με το χαρακτηριστικό stay-green, εκ των οποίων μόνο δυο ήταν διατοπικά σταθερά. Οι Crasta et al. (1999) αναγνώρισαν επτά QTL που σχετίζονταν με το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό, εκ των οποίων τρία παρουσίασαν σταθερότητα μεταξύ διαφορετικών περιβαλλόντων και εξήγησαν μέχρι και 42% της συνολικής φαινοτυπικής παραλλακτικότητας.

Γενικά, η αναγνώριση και αξιοποίηση γονιδιωματικών περιοχών, οι οποίες ευθύνονται για την ανθεκτικότητα στην υδατική καταπόνηση, αποτελεί ιδιαίτερα δύσκολο εγχείρημα. Ο συνδυασμός μοριακών τεχνικών (αναλύσεις ποσοτικών γνωρισμάτων, επιλογή μέσω μοριακών δεικτών) και κλασικών μεθόδων βελτίωσης αποτελεί την πλέον αξιόπιστη προσέγγιση (Rooney, 2004), ενώ η διατοπική αξιολόγηση των γονοτύπων κρίνεται ως απαραίτητη για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων (Rosenow et al., 1997).

Άλλα φυσιολογικά χαρακτηριστικά, τα οποία συνδέονται άμεσα με την ανθεκτικότητα στην υδατική καταπόνηση, είναι η οσμωτική ρύθμιση, η ρύθμιση της διαπνοής, το εκτεταμένο ριζικό σύστημα και το κηρώδες επίχρισμα. Μέχρι στιγμής, η αξιοποίηση των παραπάνω χαρακτηριστικών στη διαδικασία επιλογής δεν έχει αποδώσει σημαντικά σε πρακτικό επίπεδο, λόγω της ισχυρής περιβαλλοντικής επίδρασης που καθιστά την ακριβή αξιολόγηση τους ιδιαίτερα επισφαλής.

Θερμοκρασιακή καταπόνηση

Οι θερμοκρασίες στη ζώνη καλλιέργειας του σόργου δύνανται να ανέλθουν σε ακραία υψηλά επίπεδα, απαγορευτικά για την καλλιέργεια οποιουδήποτε άλλου σιτηρού και για το λόγο αυτό οι μηχανισμοί που επάγουν ανθεκτικότητα έχουν μελετηθεί εκτενώς.

Παράλληλα, οι χαμηλές θερμοκρασίες αποτελούν επίσης περιοριστικό παράγοντα για την καλλιέργεια του σόργου προκαλώντας μειωμένη βλαστικότητα των σπόρων, περιορισμένη δυνατότητα σύνθεσης χλωροφύλλης και καχεκτική πρώτη ανάπτυξη των φυτών (McWilliams et al., 1979).

Οι αυξημένες θερμοκρασίες συμπίπτουν με την έλλειψη επαρκούς εδαφικής υγρασίας και για το λόγο αυτό οι πρώτες προσπάθειες των βελτιωτών σε ότι αφορά τις θερμοκρασιακές καταπονήσεις σχετίστηκαν με τη βελτίωση της ανθεκτικότητας στις υψηλές θερμοκρασίες. Οι Jordan and Sullivan (1982) αξιολόγησαν μία σειρά γονοτύπων ως προς την ανθεκτικότητα τους στις αυξημένες θερμοκρασίες και την ξήρανση (desiccation), χωρίς να παρατηρείται κάποια συσχέτιση μεταξύ των δύο χαρακτηριστικών. Τα αποτελέσματα της έρευνας κατέδειξαν τη διαφοροποίηση των υδατικών και θερμοκρασιακών καταπονήσεων και το διακριτό τρόπο κληρονομησης τους. Γενικά, το χαρακτηριστικό της ανθεκτικότητας στις υψηλές θερμοκρασίες παρουσιάζει αρκετά μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα τόσο σε νεαρά όσο και σε μεταγενέστερα στάδια του σόργου (Sullivan, 1972; Sullivan and Ross, 1979). Η αξιολόγηση της ανθεκτικότητας έχει επιχειρηθεί μέσω του φθορισμού της χλωροφύλλης, η οποία αυξάνεται με την αύξηση των θερμοκρασιών και με τη μέθοδο των φυλλικών δίσκων, χωρίς όμως να έχουν αξιοποιηθεί πρακτικά από βελτιωτικά προγράμματα (Peacock, 1982). Θα πρέπει να σημειωθεί γενικότερα ότι, όπως παρατηρείται και στην περίπτωση της υδατικής καταπόνησης, η βελτίωση της ανθεκτικότητας σε καταπονήσεις υψηλών θερμοκρασιών, δεν έχει τα αναμενόμενα αποτελέσματα λόγω της ασυνέπειας μεταξύ εργαστηριακών μεθόδων αξιολόγησης και της αντίδρασης των γονοτύπων υπό συνθήκες αγρού. Επίσης, ένας ακόμα παράγοντας που δυσχεραίνει τη βελτίωση του συγκεκριμένου χαρακτηριστικού είναι το γεγονός ότι, κατά την αξιολόγηση των γονοτύπων στον αγρό, ο διαχωρισμός μεταξύ θερμοκρασιακής και υδατικής καταπόνησης είναι ιδιαίτερα δυσχερής.

Η βελτίωση της ανθεκτικότητας σε χαμηλές θερμοκρασίες έχει αποτελέσει αντικείμενο αρκετών μελετών. Μέχρι στιγμής, έχουν εντοπισθεί αρκετές πηγές ανθεκτικότητας που αφορούν κυρίως τα αναπαραγωγικά στάδια (άνθηση έως ωρίμανση). Οι συγκεκριμένες πηγές έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε εμπορικές ποικιλίες, οι οποίες καλλιεργούνται σε περιοχές που αρχικά θεωρούνταν οριακές για την καλλιέργεια του σόργου (Peacock, 1982; Singh, 1985). Επίσης, έχουν αναγνωρισθεί αρκετές πηγές ανθεκτικότητας σε χαμηλές θερμοκρασίες κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυτών, η κληρονομηση των οποίων είναι ιδιαίτερος πολύπλοκη και ασθενής. Η βελτίωση των γονοτύπων ως προς το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό έχει επιτευχθεί μέσω της επαναλαμβανόμενης επιλογής, σημειώνοντας αύξηση της φυτρωτικής ικανότητας των σπόρων κατά 2,8% ανά κύκλο

επιλογής (Bacon et al., 1986). Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα των έως τώρα μελετών, η γενική συνδυαστική ικανότητα σε ότι αφορά τη ζωηρότητα των φυταρίων υπό χαμηλές θερμοκρασίες, είναι σημαντικότερη της αντίστοιχης ειδικής κατά την παραγωγή υβριδίων και αυτό εξηγεί την αποτελεσματικότητα των κλασικών βελτιωτικών μεθόδων για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό (Yu and Tuinstra, 2001).

Θρεπτική καταπόνηση

Όπως προαναφέρθηκε, το σόργο προορίζεται κυρίως για περιοχές όπου επικρατούν ακραίες περιβαλλοντικές, αλλά και ιδιαίτερες εδαφικές συνθήκες. Έχει παρατηρηθεί πως η έλλειψη φωσφόρου και οι τοξικότητες αργιλίου (σε όξινα εδάφη), αλάτων και σιδήρου (σε αλκαλικά εδάφη) δύνανται να ζημιώσουν την καλλιέργεια του σόργου. Η τοξικότητα αργιλίου και η τοξικότητα σε υπερεπάρκεια αλάτων έχουν μελετηθεί διεξοδικά. Το σόργο θεωρείται αρκετά ανθεκτικό στις αυξημένες συγκεντρώσεις αλάτων ειδικά κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης, ενώ παρουσιάζει έντονη παραλλακτικότητα μεταξύ διαφόρων γονοτύπων για το συγκεκριμένο γνώρισμα (Taylor et al., 1975). Παρά το γεγονός ότι είναι ένα ποσοτικό χαρακτηριστικό με υψηλό συντελεστή κληρονομικότητας, δεν έχει αποτελέσει ιδιαίτερα σημαντικό στόχο των βελτιωτικών προγραμμάτων. Αντίθετα, η ανθεκτικότητα σε υψηλές συγκεντρώσεις αργιλίου έχει μελετηθεί εκτενέστερα καθώς αποτέλεσε περιοριστικό παράγοντα για την καλλιέργεια του σόργου σε πολλές περιοχές (Sanchez and Logan, 1992). Η προσπάθεια αξιολόγησης γονοτύπων έγινε αρχικά σε συνθήκες θερμοκηπίου, ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή ομοιομορφία και τα αποτελέσματα να είναι αξιόπιστα (Malavolta et al., 1981). Παρά το γεγονός ότι η συσχέτιση μεταξύ αποτελεσμάτων υπό συνθήκες θερμοκηπίου και αγρού ήταν υψηλή, παρατηρήθηκαν κάποιες εξαιρέσεις, οι οποίες κατέτειναν στην άποψη ότι τα εργαστηριακά αποτελέσματα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για μια αρχική αξιολόγηση γονοτύπων (Duncan et al., 1983). Το χαρακτηριστικό της ανθεκτικότητας σε υπερεπάρκεια αργιλίου αποτελεί ποσοτικό επίσης χαρακτηριστικό, του οποίου όμως η κληρονομικότητα είναι ιδιαίτερος πολύπλοκη και σε στενή σχέση με το περιβάλλον αξιολόγησης. Κατά το παρελθόν, αρκετά βελτιωτικά προγράμματα κατάφεραν να δημιουργήσουν ποικιλίες ανθεκτικές στο Al. Συγκεκριμένα, οι Duncan et al. (1983) παρήγαγαν δυο γονοτύπους με αυξημένη διατοπική ανθεκτικότητα, οι οποίοι παράλληλα χαρακτηρίζονταν και από αξιόλογα αγρονομικά χαρακτηριστικά, ενώ οι Waskom et al. (1990) δημιούργησαν με την αξιοποίηση της σωματοκλωνικής παραλλακτικότητας, οι οποίες παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη ανθεκτικότητα από την αρχική καθαρή σειρά.

Χορτοδοτικό σόργο

Το χορτοδοτικό σόργο αποτελεί το σημαντικότερο ίσως τύπο σόργου. Καλλιεργείται σε πολύ μεγαλύτερο εύρος περιβαλλόντων απ' ό,τι το καρποδοτικό και το ενδιαφέρον για τη βελτίωση των χαρακτηριστικών του έχει αυξηθεί λόγω της χρήσης του ως ενσίρωμα αλλά και λόγω της παραγωγής των BMR (Brown midrib) υβριδίων. Μελέτες έχουν δείξει πως το ενσίρωμα που παράγεται από τα χορτοδοτικά σόργο είναι αντίστοιχο του αραβοσίτου (Pedersen and Rooney, 2004). Τα χαρακτηριστικά, για τα οποία έχει επιχειρηθεί βελτίωση, αφορούν την αυξημένη απόδοση, την ποιότητα της κτηνοτροφής και την ανθεκτικότητα σε παθογόνα. Στην κατηγορία των χορτοδοτικών σόργων ανήκουν υβρίδια *S. bicolor*, υβρίδια υψηλής βιομάζας (high biomass), καθαρές σειρές σόργου του Σουδάν (*S. sudanense*) και υβρίδια σόργου με σόργο του Σουδάν (*S. bicolor* x *S. sudanense*). Τα δύο πρώτα χρησιμοποιούνται κυρίως για παραγωγή ενσιρώματος, ενώ τα υπόλοιπα για βόσκηση ή χλωρά νομή (Rooney, 2004). Η παραγωγή υβριδίων χορτοδοτικού σόργου, όπως και αυτή του καρποδοτικού, αξιοποιεί την κυτταροπλασματική αρρενοστεριότητα με τη διαφορά ότι ο γονέας επαναφοράς της γονιμότητας (R) είναι κάποιο χορτοδοτικό σόργο.

Τόσο η απόδοση όσο και η ποιότητα αποτελούν ποσοτικά χαρακτηριστικά, τα οποία παρουσιάζουν πολύπλοκη κληρονομηση. Αρκετοί ερευνητές έχουν καταδείξει τη σημασία της γενικής συνδυαστικής ικανότητας, που αντανακλά αθροιστική δράση γονιδίων, με σκοπό τη βελτίωση των συγκεκριμένων χαρακτηριστικών (Dangi and Paroda, 1978; Pedersen et al., 1982) προτείνοντας την απευθείας επιλογή ως τη βέλτιστη λύση. Αν και υπάρχουν αρκετές ομοιότητες με τη βελτίωση του καρποδοτικού σόργου, εδώ δίδεται έμφαση στη χρήση επικονιαστών με καλή συνδυαστική ικανότητα για μία σειρά χαρακτηριστικών, όπως πλούσια φυλλική επιφάνεια, ανώτερη ποιότητα κτηνοτροφής, δυνατότητα αναβλάστησης και έντονο αδελφωμα.

Κατά την παραγωγή χορτοδοτικών σόργων, ο θηλυκός γονέας έχει συνήθως σε υπολειπόμενη μορφή τους τρεις εκ των τεσσάρων αλληλόμορφων που ελέγχουν το ύψος (dw_1 Dw_2 dw_3 dw_4) και για το λόγο αυτό ο άρρην γονέας θα πρέπει να κατέχει τους αλληλόμορφους σε κυρίαρχη μορφή, ώστε οι παραγόμενες ποικιλίες να έχουν το επιθυμητό ύψος, όπως και όλα τα αναφερθέντα επιθυμητά χαρακτηριστικά. Οι Rooney and Aydin (1999) παρουσίασαν για πρώτη φορά την παραγωγή χορτοδοτικών υβριδίων με ενσωματωμένο το χαρακτηριστικό της φωτοσυνθετικής ευαισθησίας. Τα παραχθέντα υβρίδια υψηλής βιομάζας έχουν τη δυνατότητα να παρατείνουν τη βλαστητική ανάπτυξη και δεν ανθίζουν παρά μόνο όταν η διάρκεια της ημέρας μειωθεί κάτω των 12 ωρών. Με τον τρόπο αυτό, αντιμετωπίστηκε το πρόβλημα που είχε παρατηρηθεί σε κλασικές ποικιλίες χορτοδοτικών σόργων, των οποίων η

ποιότητα βιομάζας έφθινε σημαντικά μετά το πέρας της άνθησης. Το χαρακτηριστικό της φωτοσυνθετικής ευαισθησίας ελέγχεται από δύο γονίδια, τα οποία αλληλεπιδρούν μέσω διπλής κυριαρχικής επιστατικής δράσης.

Το χαρακτηριστικό BMR (καστανόχρους χρωματισμός του κεντρικού νεύρου των φύλλων) αποτελεί ένα φαινοτυπικό γνώρισμα, το οποίο περιγράφηκε αρχικά από τους Porter et al. (1978). Ελέγχεται από έναν υπολειπόμενο αλληλόμορφο που εμπλέκεται επίσης στο βιοχημικό μονοπάτι παραγωγής της λιγνίνης. Για το λόγο αυτό, τα υβρίδια BMR παρουσιάζουν σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά λιγνίνης βελτιώνοντας τόσο τη γευστικότητα όσο και την πεπτικότητα της κτηνοτροφής. Από τις πολυάριθμες γονιδιακές θέσεις που έχουν περιγραφεί και συνδέονται με το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό, τρεις (οι bmr_6 , bmr_{12} και bmr_{18}) είναι αυτές που έχουν αξιοποιηθεί για την παραγωγή εμπορικών ποικιλιών, με ενσωμάτωση τους στους επικονιαστές. Το γεγονός ότι το χαρακτηριστικό BMR εκφράζεται στην υπολειπόμενη μορφή του, απαιτεί την ομοζυγωτία του και στους δύο γονείς (Rooney, 2004). Εκτός του χρώματος των κεντρικών νεύρων των φύλλων, η μακροσκοπική διάκριση των υβριδίων BMR, γίνεται και μέσω της χαρακτηριστικής καστανής απόχρωσης της εντεριώνης του στελέχους (Εικόνα 1.3).



Εικόνα 1.3. Χρωματισμός εντεριώνης και κεντρικών νεύρων φύλλων ενός BMR (αριστερά) και ενός κοινού σόργου (δεξιά)

Γλυκό Σόργο

Οι ποικιλίες γλυκού σόργου χαρακτηρίζονται από στελέχη με αυξημένη περιεκτικότητα σε ζάχαρα, φυτά μεγάλου ύψους και υψηλές αποδόσεις. Τα ζυμώσιμα ζάχαρα που απαντούν στα στελέχη του γλυκού σόργου απαρτίζονται κατά κύριο λόγο από σακχαρόζη (περίπου 89%), απλά ζάχαρα όπως η γλυκόζη και η φρουκτόζη (περίπου 8%) και ένα μικρό (περίπου 3%) ποσοστό αμύλου (Sherwood, 1923). Στο παρελθόν, τα ζάχαρα του στελέχους αξιοποιούνταν κυρίως από τη βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή γλυκαντικών ουσιών. Τα τελευταία χρόνια, η έντονη ανάπτυξη της βιομηχανίας παραγωγής βιοκαυσίμων και η αναζήτηση για νέες ενεργειακές καλλιέργειες αύξησε το ενδιαφέρον για την καλλιέργεια του γλυκού σόργου με στόχο την παραγωγή βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς από τα ζάχαρα του στελέχους. Οι πρώτες προσπάθειες βελτίωσης του γλυκού σόργου έγιναν μέσω διασταυρώσεων άγριου υλικού με γηγενείς γονότυπους της Ινδίας και οδήγησαν στη δημιουργία ποικιλιών με υπέρτερα χαρακτηριστικά, όπως η απόδοση των στελεχών, η αυξημένη περιεκτικότητα σε διαλυτά στερεά και μέτριες αποδόσεις σε σπόρο (Rajvanshi and Nimbkar, 1996). Η γενεαλογική επιλογή αποτελεί την κυριότερη μέθοδο βελτίωσης του γλυκού σόργου και χρησιμοποιείται για χαρακτηριστικά, όπως η απόδοση σε χυμό, η περιεκτικότητα σε διαλυτά στερεά και η απόδοση σε βιομάζα (Rooney, 2004). Η επαναλαμβανόμενη επιλογή με παράλληλη αξιοποίηση κυτταροπλασματικά αρρενόστειρων σειρών έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς στην παραγωγή ετερωτικών υβριδίων (Srinivasa Rao et al., 2009). Οι προσπάθειες για βελτίωση της ζαχαροπεριεκτικότητας των στελεχών αφορά κυρίως τη συνολική συγκέντρωση των ζαχάρων ανεξάρτητα από τη σχετική σύστασή τους. Η μελέτη της συγκέντρωσης σε διαλυτά στερεά απέδειξε την ύπαρξη ιδιαίτερα αυξημένης παραλλακτικότητας μεταξύ των ποικιλιών. Η ύπαρξη πολλών γονιδίων με αθροιστική δράση, τα οποία επηρεάζουν τη συνολική ζαχαροπεριεκτικότητα έχει προταθεί σε προηγούμενες μελέτες (Li et al., 2004). Στην ύπαρξη της αθροιστικής δράσης των γονιδίων αυτών κατέτεινε το γεγονός ότι κατά τη διασταύρωση ενός γλυκού με ένα μη γλυκό σόργο οι απόγονοι τους χαρακτηρίζονται από ενδιάμεση ζαχαροπεριεκτικότητα. Τα αποτελέσματα ερευνών για το γλυκό σόργο ήταν αντίστοιχα αυτών για το ζαχαροκάλαμο (*Saccharum officinarum* L.), στο οποίο η ζαχαροπεριεκτικότητα φαίνεται να επηρεάζεται από πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (Ming et al., 2002). Κατά την παραγωγή υβριδίων γλυκού σόργου, σημαντικό ρόλο παίζει επομένως η γενική συνδυαστική ικανότητα, η οποία συσχετίζεται ισχυρά με την αυξημένη απόδοση των γονικών σειρών και με αυτό τον τρόπο καθίσταται ευχερής η αναγνώριση και επιλογή των γονέων των υβριδίων μέσω της επιλογής για αυξημένη ζαχαροπεριεκτικότητα και βιομάζα (Selvi and Palanisamy, 1990). Η μελέτη QTL για το

χαρακτηριστικό της ζαχαροπεριεκτικότητας αποκάλυψε δύο γονιδιακές θέσεις (qSC-D και qSC-G) που εξηγούν το 25% της φαινοτυπικής παραλλακτικότητας όπου συνεδράζονται τα χαρακτηριστικά της συνολικής απόδοσης και της απόδοσης σε χυμό. Έτσι, η απόδοση σε ζάχαρα δύναται να βελτιωθεί παράλληλα με την απόδοση σε στελέχη (Murray et al., 2008). Επίσης, η ανακάλυψη γονιδιακών θέσεων που συνδέονται με διαφορετικά χαρακτηριστικά έδειξε ότι τα άμεσα ζυμώσιμα ζάχαρα των στελεχών δύναται να αυξηθούν π.χ. και με την επιλογή για απόδοση σε σπόρο (Yun-long et al., 2006; Murray et al., 2008).

1.4 Εκτίμηση γενετικών παραμέτρων

1.4.1 Συντελεστής Κληρονομικότητας

Η κληρονομικότητα ορίζεται ως το ποσοστό της φαινοτυπικής παραλλακτικότητας ενός γνωρίσματος που οφείλεται σε γενετικά αίτια. Εκτιμάται με δύο διαφορετικούς συντελεστές κληρονομικότητας ανάλογα με το είδος της γενετικής διακύμανσης (ολική ή αθροιστική) που λαμβάνεται υπόψη κατά τον υπολογισμό του. Ο υπό την ευρεία έννοια συντελεστής (H), που είναι επαρκής στην περίπτωση καθαρών σειρών, κλώνων ή μονογονοτυπικών υβριδίων, δίδει το βαθμό κατά τον οποίο η φαινοτυπική διακύμανση (V_P) εξαρτάται από την ολική γενετική διακύμανση (V_G) (δηλαδή την αθροιστική, την κυριαρχική και την επιστατική), όπως φαίνεται παρακάτω:

$$H = \frac{V_G}{V_P}$$

Ο υπό τη στενή έννοια αντίστοιχος συντελεστής κληρονομικότητας (h^2) δίδει το βαθμό κατά τον οποίο η φαινοτυπική διακύμανση εξαρτάται από την αθροιστική γενετική διακύμανση (V_A), που αποτελεί το τμήμα της σταθεροποιήσιμης-κληρονομήσιμης γενετικής διακύμανσης. Η αθροιστική γενετική διακύμανση ορίζεται και ως η διακύμανση των βελτιωτικών τιμών μεταξύ των ατόμων του πληθυσμού:

$$h^2 = \frac{V_A}{V_P}$$

Ο συντελεστής κληρονομικότητας υπό στενή έννοια έχει μεγαλύτερη πρακτική αξία, καθώς δύναται να εκτιμήσει την αναμενόμενη γενετική πρόοδο από επιλογή σε διαχωριζόμενους πληθυσμούς (Hallauer et al., 1988; Bernardo, 2002).

1.4.2 Αλληλεπίδραση γονοτύπου- περιβάλλοντος

Η επίδραση του περιβάλλοντος δύναται να επηρεάσει την έκφραση τόσο των ποσοτικών όσο και των ποιοτικών γνωρισμάτων. Για το λόγο αυτό, είναι απαραίτητος ο διατοπικός και διαχρονικός πειραματισμός του γενετικού υλικού κατά τη

δημιουργία νέων ποικιλιών. Ο αριθμός των περιβαλλόντων, στα οποία κρίνεται απαραίτητος ο έλεγχος του γενετικού υλικού, εξαρτάται από το μέγεθος της αλληλεπίδρασης μεταξύ γονοτύπου και περιβάλλοντος, η οποία αποτυπώνεται μέσω των διακυμάνσεων του υπό μελέτη γνωρίσματος σε διαφορετικά περιβάλλοντα (Bernardo, 2002). Ο παράγοντας περιβάλλον ορίζεται ως το σύνολο των μη γενετικών επιδράσεων, οι οποίες επηρεάζουν τη φαινοτυπική τιμή ενός γονοτύπου. Η περιβαλλοντική επίδραση μπορεί να προκαλείται από φυσικά ή χημικά χαρακτηριστικά του εδάφους, κλιματικούς παράγοντες όπως η βροχόπτωση, η θερμοκρασία και η ηλιοφάνεια, και τέλος από βιοτικούς παράγοντες καταπόνησης. (Comstock and Moll, 1963). Κατά την εκτίμηση των γενετικών παραμέτρων σε μελέτες που αφορούν την αλληλεπίδραση γονοτύπου- περιβάλλοντος, στην περίπτωση διαφόρων τοποθεσιών σε μονοετή πειραματισμό οι τοποθεσίες αυτές αποτελούν το περιβάλλον; στην περίπτωση διατοπικού και διαχρονικού πειραματισμού ως περιβάλλοντα θεωρούνται οι συνδυασμοί τοποθεσιών-ετών

Η φαινοτυπική τιμή ενός γονοτύπου i , ο οποίος αξιολογείται σε j περιβάλλοντα με k επαναλήψεις, μπορεί να υπολογισθεί ως:

$$P_{ijk} = \mu + g_i + t_j + (gt)_{ij} + e_{ijk}$$

όπου μ ο μέσος όρος του συνόλου των γονοτύπων, g_i η επίδραση του γονοτύπου i , t_j η επίδραση του περιβάλλοντος j , $(gt)_{ij}$ η αλληλεπίδραση του γονοτύπου i με το περιβάλλον j και e_{ijk} το πειραματικό σφάλμα.

Η γονοτυπική επίδραση g_i ορίζεται ως ο μέσος ενός γονοτύπου για όλα τα περιβάλλοντα από τον οποίο αφαιρείται ο γενικός μέσος όπως φαίνεται παρακάτω:

$$g_i = P_{i..} - \mu$$

Αντίστοιχα προσδιορίζεται και η επίδραση του περιβάλλοντος, κατά την οποία από το μέσο ενός περιβάλλοντος αφαιρείται ο γενικός μέσος:

$$t_j = P_{.j.} - \mu$$

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, η αλληλεπίδραση γονοτύπου- περιβάλλοντος υπολογίζεται ως:

$$(gt)_{ij} = P_{ij.} - g_i - t_j - \mu$$

Εφόσον, οι αλλαγές του t_j δεν προκαλούν αλλαγές στο g_i ή στο gt_{ij} στο κάθε περιβάλλον, ο παράγων t_j δύναται να αφαιρεθεί από το πρότυπο εκτίμησης της φαινοτυπικής τιμής. Με τον τρόπο αυτό η διακύμανση (V_p) της τιμής αυτής, προσαρμοσμένης για την επίδραση του κάθε περιβάλλοντος, δίδεται ως:

$$V_p = V_G + V_{GE} + V_\epsilon$$

όπου V_G η διακύμανση που οφείλεται στους γονότυπους, V_{GE} η διακύμανση της αλληλεπίδρασης γονοτύπου x περιβάλλον και V_ϵ είναι η εντός του περιβάλλοντος διακύμανση του σφάλματος. Οι τιμές t_j αποτελούν τις επιδράσεις μιας κατηγορικής

μεταβλητής όπως είναι και οι επαναλήψεις. Επομένως, το άθροισμα $V_{GE} + V_E$ αφορά τη συνολική διακύμανση από μη γενετικούς παράγοντες.

Μια ανάλυση διακύμανσης για πολλά περιβάλλοντα, ποσοτικοποιεί γενικώς το μέγεθος της εμφανιζόμενης V_{GE} , αλλά δεν ποσοτικοποιεί το μέγεθος της αλληλεπίδρασης γονοτύπου- περιβάλλοντος που αφορά τον κάθε γονότυπο χωριστά (Bernardo, 2002).

Η ανάλυση της διακύμανσης γονοτύπων που αξιολογήθηκαν σε ένα ή σε διαφορετικά περιβάλλοντα εμφανίζεται στους πίνακες 1.1 και 1.2 αντίστοιχα.

Πίνακας 1.1. Ανάλυση διακύμανσης γονοτύπων σε ένα περιβάλλον

Πηγή παραλλακτικότητας	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσα τετράγωνα	ΘΣΜΤ
Επαναλήψεις	$r-1$		
Γονότυποι	$n-1$	MT_G	$V_E + r V_G$
Σφάλμα	$(r-1)(n-1)$	$MT_{\sigma\text{φαλμ.}}$	V_E

Πίνακας 1.2. Ανάλυση διακύμανσης γονοτύπων σε διάφορα περιβάλλοντα

Πηγή παραλλακτικότητας	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσα τετράγωνα	ΘΣΜΤ
Περιβάλλον (E)	$e-1$		
Επαναλήψεις/E	$(r-1)e$		
Γονότυποι	$n-1$	MT_G	$V_E + r V_{GE} + r e V_G$
Γονότυποι x E	$(n-1)(e-1)$	MT_{GE}	$V_E + r V_{GE}$
Σφάλμα	$(n-1)(r-1)e$	$MT_{\sigma\text{φαλμ.}}$	V_E

Όπου e ο αριθμός των περιβαλλόντων, r ο αριθμός των επαναλήψεων σε κάθε περιβάλλον και n ο αριθμός των γονοτύπων.

1.4.3 Σχετικοί συντελεστές από την ανάλυση διακύμανσης

Η μελέτη της γενετικής παραλλακτικότητας διευκολύνεται με τη χρήση σχετικών συντελεστών.

Γενετικός συντελεστής παραλλακτικότητας

Είναι η γενετική τυπική απόκλιση εκφραζόμενη ως ποσοστό του μέσου όρου και επιτρέπει τη σύγκριση της γενετικής παραλλακτικότητας διαφορετικών γνωρισμάτων (Al-Jibouri et al., 1958).

$$GCV = \frac{s_G}{\bar{Y}} 100\% = \frac{\sqrt{V_G}}{\bar{Y}} 100\%$$

Φαινοτυπικός συντελεστής παραλλακτικότητας

Ο φαινοτυπικός συντελεστής παραλλακτικότητας εκφράζει τη φαινοτυπική τυπική απόκλιση σαν ποσοστό του μέσου όρου και υπολογίζεται ως εξής:

$$PCV = \frac{s_{GE}}{\bar{Y}} 100\% = \frac{\sqrt{V_P}}{\bar{Y}} 100\%$$

1.5 Καταβολισμός ζαχάρων γλυκού σόργου μετασυλλεκτικά

Τα στελέχη του γλυκού σόργου χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε σακχαρόζη και δευτερευόντως σε γλυκόζη και φρουκτόζη. Η περιεκτικότητα αυτή σε άμεσα ζυμώσιμα ζάχαρα καθιστά το γλυκό σόργο ιδιαίτερα κατάλληλη πρώτη ύλη για παραγωγή βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς από το χυμό των στελεχών αυτών (Hansen and Ferraris, 1985).

Το σημαντικότερο πρόβλημα για τη χρήση του γλυκού σόργου στην παραγωγή βιοαιθανόλης αφορά την εποχικότητα της παραγωγής: μονάδες που βασίζονται αποκλειστικά σε γλυκό σόργο, καλούνται να αξιοποιήσουν τεράστιους όγκους πρώτης ύλης σε μικρό χρονικό διάστημα (τους 2 έως 2.5 μήνες της συγκομιδής). Το γεγονός αυτό καθιστά την όλη διαδικασία οικονομικά ασύμφορη λόγω του υπερμεγέθους απαιτούμενου εξοπλισμού των μονάδων (Jenkins, 1981). Για το λόγο αυτό, η τάση αξιοποίησης του γλυκού σόργου για την παραγωγή βιοαιθανόλης είναι η χρησιμοποίηση του ως εποχικά συμπληρωματική πρώτη ύλη σε μονάδες επεξεργασίας πολλαπλών πρώτων υλών.

Η συγκομιδή του γλυκού σόργου γίνεται με διάφορες μεθόδους. Οι πιο διαδεδομένες πρακτικές αφορούν τη συγκομιδή ακέραιων στελεχών, τον τεμαχισμό των στελεχών ανά 20 έως 40 cm και τον ψιλοτεμαχισμό με μηχανές συγκομιδής κτηνοτροφικών φυτών (Lingle, 2010). Η αδυναμία αποθήκευσης της πρώτης ύλης έγκειται στο γεγονός ότι μετά τη συγκομιδή, τα ζάχαρα των στελεχών καταβολίζονται προκαλώντας σημαντικές απώλειες. Οι παράγοντες που συμβάλλουν στον καταβολισμό των ζαχάρων είναι χημικοί, βιοχημικοί και σε αρκετές περιπτώσεις βιοτικοί (Lingle et al., 2012). Ο ρυθμός καταβολισμού των ζαχάρων επηρεάζεται έντονα τόσο από τις επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες όσο και από τη μέθοδο συγκομιδής. Οι απώλειες ζαχάρων κατά την αποθήκευση τεμαχισμένων στελεχών γλυκού σόργου ανέρχονται σε 14% κατά την πρώτη μέρα, ενώ φτάνουν το 50% μετά

από οκτώ ημέρες. Αντίθετα, κατά την αποθήκευση ακέραιων στελεχών για οκτώ ημέρες δεν παρατηρήθηκαν απώλειες ζαχάρων (Eiland et al., 1982). Η περαιτέρω μελέτη του μετασυλλεκτικού καταβολισμού των ζαχάρων έδειξε πως η αποθήκευση ακέραιων στελεχών για περισσότερες από διακόσιες ημέρες τόσο υπό αερόβιες όσο και υπό αναερόβιες συνθήκες εφαρμόζοντας διάφορους χειρισμούς, δεν έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα, καθώς στις περισσότερες των περιπτώσεων, η ζαχαροπεριεκτικότητα μηδενίστηκε ή μειώθηκε σημαντικά. Μοναδική εξαίρεση, αποτέλεσε η εφαρμογή προπιονικού οξέος σε στελέχη που εν συνεχεία αποθηκεύτηκαν υπό αναερόβιες συνθήκες, όπου τα ζάχαρα μειώθηκαν στο 34% της αρχικής περιεκτικότητας (Jasberg et al., 1983). Ομοίως, η αποθήκευση ακέραιων στελεχών διαφόρων ποικιλιών για διάστημα δεκαέξι ημερών δεν παρουσίασε σημαντικές ποιοτικές απώλειες (Coleman and Stokes, 1964). Επίσης οι Eiland et al. (1983) παρουσίασαν την υπεροχή της συγκομιδής ακέραιων και τεμαχισμένων (μήκους 60 cm) στελεχών έναντι των ψιλοτεμαχισμένων, καθώς επτά ημέρες μετά την αποθήκευση τα συνολικά ζάχαρα δεν μειώθηκαν, αποτελέσματα που επιβεβαιώθηκαν και από τον Broadhead (1972). Τέλος, οι Lingle et al. (2012) κατέδειξαν την υπεροχή του συστήματος συγκομιδής τεμαχίων μήκους 20 και 40 cm λόγω της μικρής απώλειας ζαχάρων μετά από τέσσερις ημέρες αποθήκευσης και της ευκολίας μεταφοράς του συγκομισμένου προϊόντος έναντι των ακέραιων στελεχών. Αντίθετα, η μείωση της περιεκτικότητας των ζαχάρων είναι ταχύτερη (1 έως 2 ημέρες) με τη μέθοδο του ψιλοτεμαχισμού, πρακτική εφαρμόσιμη μόνο σε περιπτώσεις που η επεξεργασία της πρώτης ύλης αναμένεται να γίνει λίγες ώρες μετά τη συγκομιδή. Παρά το γεγονός ότι η συνολική ζαχαροπεριεκτικότητα δεν φθίνει σημαντικά κατά τη συγκομιδή ακέραιων ή τεμαχισμένων στελεχών, η σύσταση των ζαχάρων παρουσιάζει διακυμάνσεις. Συγκεκριμένα, 48 ώρες μετά τη συγκομιδή, η σακχαρόζη εμφανίζει πτωτική πορεία, ενώ οι μονοζαχαρίτες αυξάνονται διατηρώντας τη συνολική ζαχαροπεριεκτικότητα σταθερή (Hansen and Ferraris, 1985).

Μεταβολομική ανάλυση (Metabolomics)

Τα τελευταία χρόνια, στο πλαίσιο της λειτουργικής γονιδιωματικής, έχουν αναπτυχθεί αρκετές μέθοδοι (μεταβολομική, πρωτεομική, μεταγραφομική) μέσω των οποίων διευκολύνεται και ισχυροποιείται σημαντικά η περιγραφική ανάλυση των φυσιολογικών γνωρισμάτων (Sanchez et al., 2008). Ο μεταβολισμός των φυτών μπορεί να χαρακτηριστεί ως μία πηγή σημάτων, τα οποία ρυθμίζουν μεταγραφικές, μεταφραστικές και μετα-μεταφραστικές διεργασίες των φυτών (Zuther et al., 2007). Η μεταβολομική αποτελεί μία προσέγγιση, μέσω της οποίας επιτυγχάνεται η ταυτόχρονη αποτίμηση των επιπέδων ενός μεγάλου αριθμού μεταβολιτών και

παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον κατά τη φαινοτυπική και διαγνωστική ανάλυση των ανωτέρων φυτών (Fernie and Schauer, 2008). Οι μεταβολίτες είναι το τελικό προϊόν των κυτταρικών διεργασιών και συνιστούν την απόκριση βιολογικών συστημάτων σε γενετικές και περιβαλλοντικές αλλαγές (Fiehn, 2002). Η ανάλυση του μεταβολικού προφίλ των φυτών παρέχει σημαντικές πληροφορίες για ένα μεγάλο εύρος μεταβολιτών, αποτελώντας το συνδετικό κρίκο μεταξύ της έκφρασης των γονιδίων και του μεταβολικού προφίλ, ενώ ταυτόχρονα διευκολύνει τη μελέτη πολύπλοκων αλληλεπιδρώντων μηχανισμών που εμπλέκονται σε κυτταρικά μεταβολικά μονοπάτια (Kim et al., 2007). Η μεταβολομική ανάλυση επιτυγχάνεται με τη χρήση διαφόρων τεχνολογιών, όπως η υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μαζών (HPLC-MS), η αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μαζών (GC-MS) και ο πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (NMR) (Sanchez et al., 2008). Η GC-MS αποτελεί την πλέον διαδεδομένη μέθοδο λόγω των σε σύντομο χρόνο παραγόμενων αξιόπιστων αποτελεσμάτων (Fiehn, 2002). Το πλεονέκτημα της μεταβολομικής ανάλυσης έναντι άλλων προσεγγίσεων (μεταγραφομική, πρωτεομική, γενετική) είναι η σταθερή χημική ταυτότητα των μεταβολιτών, καθώς η ταυτοποίηση γονιδίων και πρωτεϊνών δύναται να παρερμηνευθεί λόγω σημειακών μεταλλάξεων στην αλληλουχία. Για το λόγο αυτό, η μεταβολομική αποτελεί ένα αξιόπιστο εργαλείο κατά τη σύγκριση του μεταβολικού προφίλ διαφόρων φυτών (Debrosses et al., 2005).

Η μεταβολομική έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε μελέτες που αφορούν τη θρεπτική αξία των φυτών, όπως η περιεκτικότητα του αραβοσίτου σε πρωτεΐνες, έλαια και προβιταμίνη Α, της πατάτας (*Solanum tuberosum* L.) και του ρυζιού σε άμυλο και της ντομάτας (*Solanum lycopersicum* L.) σε καροτενοειδή, κ.α., παρέχοντας πληροφόρηση για την κατανόηση των μηχανισμών που ελέγχουν τα παραπάνω γνωρίσματα (Fernie and Schauer, 2008). Η συνεισφορά της μεταβολομικής είναι επίσης τεράστιας σημασίας για την κατανόηση κυτταρικών διεργασιών που σχετίζονται με βιοτικές (μύκητες, έντομα), αβιοτικές καταπονήσεις (υδατική καταπόνηση, καταπόνηση αλατότητας) καθώς και για συγκρίσεις συγγενικών ειδών (καλλιεργούμενων και άγριων ειδών). Τέλος, η μεταβολομική μπορεί να απαντήσει σε ερωτήματα σχετικά με την ασφαλή χρήση και αξία καθώς και την απαιτούμενη ουσιαστική ισοδυναμία των γενετικά τροποποιημένων ποικιλιών καλλιεργούμενων φυτών (Fiehn et al., 2000; Fiehn, 2002; Cramer et al., 2007; Kim et al., 2007; Du et al., 2010).

Οι μηχανισμοί που συνδέονται με την υδατική καταπόνηση έχουν διερευνηθεί σε συγκεκριμένα φυτικά είδη μέσω του μεταβολικού προφίλ. Οι Gigon et al. (2004) μελέτησαν την αντίδραση του φυτού-μοντέλου *Arabidopsis thaliana* σε διάφορα επίπεδα υδατικής καταπόνησης. Παρατηρήθηκε πως φυτά με ανθεκτικότητα στην

υδατική καταπόνηση είχαν φύλλα με αυξημένη συγκέντρωση σε λιπαρά οξέα, τα οποία συνδέονται με τη συγκεκριμένη ανθεκτικότητα. Αντίστοιχα, η μεταβολομική ανάλυση σε φύλλα και ρίζες δύο ποικιλιών του λειμώνιου είδους *Lolium perenne* L. παρουσίασε διαφορές μεταξύ της ανθεκτικής και της ευαίσθητης στην υδατική καταπόνηση ποικιλίας: παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων των λιπαρών οξέων στην ευαίσθητη καθώς και σημαντική αύξηση των ζαχάρων στην ανθεκτική ποικιλία (Foito et al., 2009).

Σε μεταβολίτες που ανιχνεύτηκαν σε φύλλα και καρπούς με τη μεταβολομική ανάλυση, βασίστηκε και η σύγκριση καλλιεργούμενη ντομάτας και άγριων συγγενικών ειδών. Η σύγκριση αφορούσε τους συγκεκριμένους μεταβολίτες, η ποσότητα των οποίων συνδέθηκε με ανθεκτικότητα σε αβιοτικές καταπονήσεις. Συνολικά, αξιολογήθηκαν 71 και 82 μεταβολίτες φύλλων και καρπών αντίστοιχα και παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές σε οργανικά οξέα, ζάχαρα και αμινοξέα. Το γεγονός ότι τα υπό μελέτη είδη διασταυρώνονται εύκολα, καθιστά την ανάλυση του μεταβολικού προφίλ ακόμα πιο σημαντική, καθώς διευκολύνει την αξιολόγηση των επιθυμητών γνωρισμάτων στα είδη αυτά και στις μεταξύ τους διασταυρώσεις (Schauer et al., 2005).

Οι αβιοτικές καταπονήσεις αποτελούν ίσως τη σημαντικότερη κατηγορία καταπονήσεων, οι οποίες δύνανται να ζημιώσουν τις καλλιέργειες και να προκαλέσουν ανυπολόγιστες οικονομικές καταστροφές. Η μελέτη των μηχανισμών ανθεκτικότητας σε αβιοτικές καταπονήσεις μέσω του μεταβολικού προφίλ μπορεί να συμβάλει σημαντικά στη βελτίωση της ανθεκτικότητας των φυτών στις καταπονήσεις αυτές. Οι Kim et al. (2007) εφάρμοσαν διάφορα επίπεδα αλατότητας σε καλλιέργεια κυττάρων του είδους *A. thaliana* και ανέλυσαν το μεταβολικό προφίλ για τα διάφορα επίπεδα. Αναφέρθηκε αυξομείωση αρκετών μεταβολιτών (αρωματικά αμινοξέα, αιθανολαμίνη, σακχαρόζη κ.α.), οι οποίοι συνδέονται με την καταπόνηση αυξημένης αλατότητας. Η επίδραση της αλατότητας μελετήθηκε επίσης στην καλλιέργεια του ρυζιού με τις ανθεκτικές σε αυξημένα επίπεδα αλατότητας ποικιλίες να παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα σε φρουκτόζη και αμινοξέα όπως η γλυκίνη, η φαινυλανίνη, το γλουταμινικό οξύ και η γλουταμίνη (Zuther et al., 2007). Οι Cramer et al. (2007) μελέτησαν το μεταβολικό προφίλ φυτών αμπέλου, τα οποία υπέστησαν υδατική καταπόνηση και καταπόνηση αλατότητας, ώστε να ερευνηθούν τα μεταβολικά μονοπάτια που εμπλέκονται στις συγκεκριμένες καταπονήσεις. Η έλλειψη εδαφικής υγρασίας επηρέασε την ανάπτυξη των νεαρών βλαστών περισσότερο απ' ό,τι η περίσσεια αλάτων, ενώ μεταβολίτες, όπως η γλυκόζη, το μαλικό οξύ και η προλίνη εμφάνισαν σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις σε φυτά που υπέστησαν υδατική καταπόνηση.

Επίσης, η σύγκριση των μεταβολικών προφίλ συμβατικών και γενετικά τροποποιημένων γονοτύπων του είδους *A. thaliana* έδειξε σημαντική διαφοροποίηση στο επίπεδο αρκετών μεταβολιτών (Fiehn et al., 2000).

Όπως προαναφέρθηκε, η μεταβολομική ανάλυση δύναται να συμβάλει και στην αναγνώριση μεταβολιτών, οι οποίοι εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα έναντι βιοτικών καταπονήσεων. Οι Du et al. (2010) μελέτησαν φυτάρια σόργου διαφορετικών ποικιλιών που προσβλήθηκαν από το μύκητα *Colletotrichum sublineolum*. Η σύγκριση των μεταβολικών προφίλ έδειξε σημαντικές διαφορές, με τις ανθεκτικές ποικιλίες να έχουν αυξημένες συγκεντρώσεις στο φλαβονοειδές λουτεολίνη που αναστέλλει δραστικά τη βλάστηση των σπορίων του μύκητα, και τις ευαίσθητες ποικιλίες να παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα του φλαβονοειδούς απιγενίνη, η οποία δεν εμφανίζει αντίστοιχα ισχυρή μυκητοκτόνο δράση.

Μεταγραφομική ανάλυση (Transcriptomics)

Η μεταγραφομική μελετά το σύνολο του μεταγραφικού περιεχομένου (μεταγράφημα) ενός βιολογικού δείγματος, επιτρέποντας την ανίχνευση μεταβολών στο επίπεδο του μεταγραφήματος και την ανακάλυψη και μελέτη μηχανισμών που σχετίζονται με την ποσοτική παραλλακτικότητα των γνωρισμάτων (Fernie and Schauer, 2008). Το μεταγράφημα αντιπροσωπεύει μία ολοκληρωμένη ομάδα γονιδίων, τα οποία εκφράζονται υπό ορισμένες συνθήκες. Το μεταγραφικό περιεχόμενο ενός κυττάρου αποτελείται από το αγγελιαφόρο RNA (mRNA), αποτέλεσμα της έκφρασης των γονιδίων. Το μεταγράφημα μπορεί να είναι ιδιαίτερα πολύπλοκο και να περιέχει εκατοντάδες χιλιάδες διαφορετικών mRNA, η αναγνώριση των οποίων καθώς και η σχετικής τους ποσοτικοποίηση σε έναν οργανισμό, μπορεί να γίνει με διαφορετικές μεθόδους. Η πλέον άμεση, αφορά τη μετατροπή του mRNA σε συμπληρωματικό DNA (cDNA) για τη δημιουργία cDNA βιβλιοθηκών και την επακόλουθη αλληλούχηση των κλώνων που περιέχονται σε αυτές. Οι συγκρίσεις μεταξύ των cDNA αλληλουχιών και των γονιδιωματικών αλληλουχιών επιτρέπει την ανίχνευση των γονιδίων που μεταγράφονται. Παρά το γεγονός ότι η συγκεκριμένη προσέγγιση είναι εφικτή και επιπλέον παρέχει σαφήνεια για την έκφραση γονιδίων, παρουσιάζει το μειονέκτημα ότι είναι απαιτητική τόσο χρονικά όσο και τεχνικά. Προκειμένου να καταστεί αποτελεσματικότερη η ανάλυση των μεταγραφημάτων, έχουν σχετικά πρόσφατα αναπτυχθεί νέες τεχνικές, όπως η SAGE (serial analysis of gene expression) και οι μικροσυστοιχίες (microarrays). Η μέθοδος SAGE, απομονώνει μικρά κομμάτια αλληλουχιών (12 bp), τα οποία συμβάλουν στην ταχεία ταυτοποίηση του υπό μελέτη μεταγραφήματος. Η μέθοδος των μικροσυστοιχιών, που βασίζεται στον υβριδισμό των νουκλεϊκών οξέων, επιτρέπει τη μαζική και σε ένα βήμα ταυτοποίηση και

ποσοτικοποίηση των μεταγραφημάτων αυξάνοντας έτσι δραματικά την αποτελεσματικότητα της ανάλυσης έκφρασης των γονιδίων σε επίπεδα mRNA και της ταυτοποίησης βιοχημικών μονοπατιών που υπεισέρχονται στη διαμόρφωση των διαφόρων γνωρισμάτων (Brown, 2010).

Η μεταγραφομική όπως και η μεταβολομική αποτελούν πλέον σημαντικότερα εργαλεία στη διαδικασία γενετικής βελτίωσης των φυτών (Kapsetaki et al., 2004).

1.6 Παραγωγή βιοκαυσίμων- Εκπομπές αερίων θερμοκηπίου

Τα ορυκτά καύσιμα αποτέλεσαν κατά το παρελθόν τη μοναδική πηγή ενέργειας λόγω της υψηλής διαθεσιμότητας και των χαμηλών τους τιμών. Τα τελευταία χρόνια, τα περιορισμένα αποθέματα, οι συνεχώς αυξανόμενες τιμές και οι αυξημένες εκπομπές ρύπων κατά την κατανάλωση τους οδήγησαν στην αναζήτηση νέων αειφόρων και φιλικών προς το περιβάλλον πηγών ενέργειας. Το διοξείδιο του άνθρακα αποτελεί ίσως το σημαντικότερο αέριο θερμοκηπίου, το οποίο αυξάνεται ανεξέλεγκτα κατά την καύση ορυκτών καυσίμων, συμβάλλοντας έτσι στην επιδείνωση του φαινομένου του θερμοκηπίου και επακόλουθα στην υπερθέρμανση του πλανήτη. Ένα μεγάλο τμήμα των εκπεμπόμενων αερίων ρύπων οφείλονται στις μεταφορές και αναμένεται σημαντική αύξηση την επόμενη τριακονταετία. Οι ανανεώσιμες πηγές ενέργειας δύνανται να συμβάλλουν σημαντικά στη μείωση τόσο των καταναλισκομένων ορυκτών καυσίμων όσο και των εκπεμπόμενων αερίων του θερμοκηπίου (Σκαράκης κ.α., 2008; Naik et al., 2010)

Η Ευρωπαϊκή Ένωση θέσπισε την οδηγία 28/2009 σχετικά με την προώθηση της χρήσης ενέργειας από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, σύμφωνα με την οποία τόσο οι καλλιέργειες όσο και τα παραχθέντα από αυτές βιοκαύσιμα, υποχρεούνται να πληρούν συγκεκριμένα κριτήρια αειφορίας. Στα πλαίσια της οδηγίας έχουν οριστεί τα όρια των εκπεμπόμενων αερίων θερμοκηπίου κατά τη φάση της καλλιέργειας, η ελάχιστη επιτυγχάνομενη μείωση αερίων θερμοκηπίου από τη χρήση των βιοκαυσίμων (35%) και οι στόχοι χρήσης ανανεώσιμων πηγών ενέργειας σε επίπεδο χωρών. Βάσει της οδηγίας, η Ελλάδα υποχρεούται να καλύψει το 18% της συνολικά καταναλισκόμενης ενέργειας από ανανεώσιμες πηγές μέχρι το 2020 (EC, 2009). Ειδικά για τα βιοκαύσιμα (βιορευστά) προβλέπεται να αντικαταστήσουν υποχρεωτικά το 10% των ορυκτών καυσίμων που καταναλώνονται στις μεταφορές.

Η βιοαιθανόλη αποτελεί ένα εκ των σημαντικότερων βιοκαυσίμων και δύναται να αντικαταστήσει τη συμβατική βενζίνη. Παράγεται κυρίως στη Βόρεια, Κεντρική και Νότια Αμερική με μερίδια 44 και 35% της παγκόσμιας παραγωγής. Στην Ευρώπη, η αξιοποίηση της βρίσκεται σε χαμηλότερα επίπεδα, αλλά η παραγωγή της αναμένεται

να αυξηθεί δραστικά τα αμέσως επόμενα χρόνια με βάση την οδηγία 28/2009, η οποία έθεσε σαφείς κανονισμούς σχετικά με την προώθηση και παραγωγή των βιοκαυσίμων (Pilgrim, 2009). Τα πλεονεκτήματα της βιοαιθανόλης είναι αρκετά και συνοψίζονται στα παρακάτω: α) είναι αποδοτικότερη της βενζίνης (υψηλότερος αριθμός οκτανίων και υψηλή θερμοκρασία εξάτμισης), β) παρουσιάζει χαμηλή ατμοσφαιρική φωτοχημική αντίδραση, γ) η πιθανότητα δημιουργίας αιθαλομίχλης λόγω της καύσης της, είναι χαμηλότερη αυτής της βενζίνης δ) είναι λιγότερο τοξική από τα ορυκτά καύσιμα και ε) είναι βιοαποικοδομήσιμη, ελαχιστοποιώντας έτσι τους κινδύνους οικολογικών καταστροφών (Srinivasa Rao et al., 2009). Η παραγωγή της γίνεται μέσω της αλκοολικής ζύμωσης των υδατανθράκων που απαντούν σε ζαχαρούχες (ζαχαροκάλαμο, γλυκό σόργο, ζαχαρότευτλα κ.α.), αμυλούχες (σιτάρι, αραβόσιτος, καρποδοτικό σόργο κ.α.) και λιγνοκυτταρινούχες πηγές (ξύλο, υπολείμματα καλλιεργειών κ.α.) (Σκαράκης κ.α., 2008; Naik et al., 2010). Στις ΗΠΑ, το άμυλο των καρπών του αραβόσιτου και του σόργου αποτελεί την κύρια πρώτη ύλη, ενώ στη Βραζιλία η παραγωγή βιοαιθανόλης βασίζεται στην αξιοποίηση του ζαχαροκάλαμου.

Το γλυκό σόργο αξιοποιείται ως αποκλειστική πρώτη ύλη από αρκετές μονάδες παραγωγής βιοαιθανόλης στην Ινδία. Γενικά, αποτελεί μία εναλλακτική πρώτη ύλη παραγωγής βιοαιθανόλης και έχει μελετηθεί εκτενώς λόγω των πλεονεκτημάτων που απορρέουν από την καλλιέργεια του, όπως οι υψηλές αποδόσεις σε βιομάζα, τα υψηλής περιεκτικότητας σε ζυμώσιμα ζάχαρα στελέχη και οι μειωμένες εισροές (Rooney et al., 2007; Saballos, 2008; Stefaniak et al., 2012). Οι αποδόσεις του γλυκού σόργου σε βιοαιθανόλη πρώτης γενιάς κρίνονται ως ιδιαίτερα αξιόλογες. Έχουν καταγραφεί, σε πειραματικό επίπεδο, ιδιαίτερα υψηλές αποδόσεις (560 έως 800 λίτρων βιοαιθανόλης/στρ), οι οποίες είναι αντίστοιχες ή ανώτερες των αποδόσεων από ζαχαροκάλαμο και διπλάσιες αυτών από αραβόσιτο (Amorim et al., 2009; Bennett and Anex, 2009).

Η τήρηση των κριτηρίων αειφορίας είναι καίριας σημασίας τόσο κατά την καλλιεργητική φάση μιας ενεργειακής καλλιέργειας όσο και κατά την τελική μείωση εκπομπών που απορρέουν από την παραγωγή και κατανάλωση του βιοκαυσίμου κατόπιν υποκατάστασης του αντίστοιχου ορυκτού καυσίμου. Για το λόγο αυτό, οι ενεργειακές απαιτήσεις των καλλιεργειών και τα εκπεμπόμενα αέρια θερμοκηπίου (GHG) αποτέλεσαν το αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνών, ώστε να εξαχθούν συμπεράσματα για την αειφορία των καλλιεργειών και των παραγόμενων βιοκαυσίμων.

Οι Maraseni et al. (2009) διεξήγαγαν μια συγκριτική ανάλυση των εκπεμπόμενων αερίων θερμοκηπίου μεταξύ χωρών για την καλλιέργεια του ρυζιού και παρουσίασαν

ένα εύρος εκπομπών μεταξύ 549.5 και 1773.4 kg CO₂e/ha ανάλογα με τις καλλιεργητικές εισροές. Σε μία αντίστοιχη μελέτη, οι εκπομπές αερίων θερμοκηπίου σε καλλιέργεια βάμβακος (*Gossypium hirsutum* L.) στην Αυστραλία κυμάνθησαν από 1274 έως 4841 kg CO₂e/ha, με το συνολικό τους όγκο να επηρεάζεται κυρίως από τον παράγοντα άρδευση (Maraseni et al., 2010).

Η καλλιεργητική τεχνική και οι επί μέρους εργασίες επηρεάζουν σημαντικά τους εκπεμπόμενους ρύπους. Έχει αποδειχθεί πώς η λίπανση μπορεί να συμβάλει έως και 50% στις συνολικές εκπομπές, ενώ το σύστημα κατεργασίας εδάφους μπορεί να επηρεάσει την τελική μείωση εκπομπών από 9 έως 13% (Kim and Dale, 2005; Rathke and Diepenbrock, 2006). Οι Wang et al. (2007) διεξήγαγαν ανάλυση κύκλου ζωής για διάφορες μεθόδους παραγωγής βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς από αραβόσιτο και παρουσίασαν ένα εύρος μείωσης εκπομπών από 28 έως 52%.

Η καταναλισκόμενη ενέργεια κατά την καλλιέργεια του γλυκού σόργου για παραγωγή βιοαιθανόλης έχει μελετηθεί σε περιορισμένο βαθμό. Η απαιτούμενη ενέργεια ανά μονάδα επιφάνειας, δύναται να κυμανθεί από 8.7 έως 13.8 GJ/ha για καλλιέργεια χαμηλών εισροών και 10.2 έως 19.1 GJ/ha για καλλιέργεια κανονικών εισροών (Venturi and Venturi, 2003; Suman et al., 2006). Επίσης, η απαιτούμενη ενέργεια για παραγωγή ενός τόνου βιοαιθανόλης από γλυκό σόργο ανέρχεται σε 21.5 GJ για χαμηλές και 23.8 GJ για υψηλές ποσότητες εφαρμοζόμενων λιπάνσεων (Monti and Venturi, 2003). Οι Li et al. (2010) αξιολόγησαν μία σειρά καλλιεργειών ως προς την ενδεχόμενη αξιοποίηση τους ως πηγές βιοαιθανόλης. Το γλυκό σόργο αποτέλεσε μία από τις ιδανικότερες λύσεις για την επιζητούμενη μείωση εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) στην Κίνα μέχρι το 2030.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα διατριβή είχε ως σκοπό τη συστηματική μελέτη ποικιλιών σόργου διαφόρων τύπων (γλυκό σόργο, χορτοδοτικό σόργο, σόργο υψηλής βιομάζας και σόργο του Σουδάν) σε εκτεταμένο πειραματισμό, ειδικά σχεδιασμένο για να μελετήσει τις ποικιλίες των τύπων αυτών σε διαφορετικά περιβάλλοντα και να εμφανίσει την πιθανή αλληλεπίδραση ποικιλίας- περιβάλλοντος. Μόνο με τον τρόπο αυτό είναι δυνατό να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την παραγωγικότητα και σταθερότητα των υπό μελέτη ποικιλιών για αξιοποίηση τους στην παραγωγή βιοαιθανόλης.

Με δεδομένη την έντονη εποχικότητα της παραγωγής του σόργου, στόχο αποτέλεσε επίσης ο προσδιορισμός των βέλτιστων σταδίων αξιοποίησης της παραγόμενης βιομάζας, ώστε να διευρυνθεί η διαθεσιμότητα πρώτης ύλης για τις μονάδες επεξεργασίας της και να καταστεί οικονομικά βιώσιμη η παραγωγή βιοαιθανόλης. Στο πλαίσιο αυτό, κρίθηκε αναγκαία η μελέτη της διαχρονικής μεταβολής των ζαχάρων και άλλων μεταβολιτών με 'ομικές' τεχνικές, σε συγκεκριμένα προ- και μετασυλλεκτικά στάδια.

Με δεδομένη επίσης την ανάγκη συμμόρφωσης με τα κριτήρια αειφορίας που έχουν θεσπιστεί από την ΕΕ για την αποδοχή ενός βιοκαυσίμου, σχετικός στόχος της μελέτης ήταν η λεπτομερής ανάλυση των εκπομπών αερίων ρύπων από την καλλιέργεια των διαφόρων τύπων του σόργου, καθώς και ο υπολογισμός της επιτυγχανόμενης μείωσης αερίων του θερμοκηπίου από την αντικατάσταση της βενζίνης με αντίστοιχη ποσότητα βιοαιθανόλης που θα παραχθεί από τους συγκεκριμένους τύπους ποικιλιών.

Τέλος, η συστηματική προαναφερθείσα πειραματική αξιολόγηση των διαφόρων ποικιλιών σόργου, στόχο επίσης είχε την αξιόπιστη εκτίμηση των γενετικών εκείνων παραμέτρων που είναι απαραίτητες για τον ορθολογικό σχεδιασμό προγραμμάτων γενετικής βελτίωσης για τη δημιουργία ποικιλιών σόργου που θα είναι προσαρμοσμένες στις εδαφοκλιματικές συνθήκες της χώρας μας.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Πειραματισμός αγρού

Ο πειραματισμός έλαβε χώρα στο αγρόκτημα του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στην περιοχή Κωπαΐδα Βοιωτίας κατά τα έτη 2008- 10 και 2012 και στην περιοχή Οινόη Έβρου το 2008. Εφαρμόσθηκε το σχέδιο των τυχαιοποιημένων πλήρων ομάδων (Τ.Π.Ο) με τέσσερις επαναλήψεις, και οι αποστάσεις σποράς ανήλθαν σε 75 και 17 cm μεταξύ και επί των γραμμών αντίστοιχα. Οι πειραματικοί αγροί στην περιοχή της Κωπαΐδας κατά τα έτη 2008-2010 και στην περιοχή της Οινόης το 2008, περιελάμβαναν πειραματικά τεμάχια τριών γραμμών και μήκους πέντε μέτρων. Στον πειραματικό αγρό της Κωπαΐδας το 2012, τα πειραματικά τεμάχια ήταν τεσσάρων γραμμών και μήκους πέντε μέτρων.

Οι καλλιεργητικές φροντίδες που επιτελέσθηκαν αποσκοπούσαν στην απρόσκοπτη ανάπτυξη των φυτών. Η σπορά πραγματοποιήθηκε με χειροκίνητη σπαρτική μηχανή ενώ η εδαφοκατεργασία περιελάμβανε εφαρμογή άροσης, δισκοσβαρνίσματος και καλλιεργητή. Η βασική λίπανση εφαρμόσθηκε παράλληλα με τη σπορά και ανήλθε σε 60 kg/στρ με λίπασμα 15-15-15 (N-P-K) (9 μονάδες για όλα τα μακροστοιχεία) και 50 kg/στρ με λίπασμα 27-7-4 (N-P-K) (13.5, 3.5 και 2 μονάδες N, P και K αντίστοιχα) για τους πειραματικούς αγρούς της Κωπαΐδας και Οινόης αντίστοιχα. Κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου, οι πληθυσμοί των ζιζανίων ελέγχθηκαν με μηχανικά μέσα. Συνολικά, έγιναν τρεις αρδεύσεις με τη μέθοδο του καταιονισμού, ενώ όπου κρίθηκε απαραίτητο έγινε μία ελαφριά άρδευση αμέσως μετά τη σπορά. Το γενετικό υλικό που αξιολογήθηκε κατ' έτος και ανά πειραματικό αγρό φαίνεται στον πίνακα 2.1. Η συγκομιδή έγινε χειρωνακτικά κατά το στάδιο της μαλακής ζύμης κατά το οποίο η περιεκτικότητα των στελεχών σε ζάχαρα μεγιστοποιείται (Hoffmann-Thoma et al., 1996). Στην περιοχή της Κωπαΐδας συγκομίστηκαν τέσσερα μέτρα της μεσαίας γραμμής κατά τα έτη 2008-10 και δύο μέτρα των δύο μεσαίων γραμμών το 2012, ενώ η συγκομιδή στον πειραματικό αγρό της Οινόης αφορούσε πέντε μέτρα της μεσαίας γραμμής ανά πειραματικό τεμάχιο. Το 2012 και αποκλειστικά για την ποικιλία Nicole εφαρμόσθηκαν δύο κοπές εντός της καλλιεργητικής περιόδου ώστε να ελεγχθεί η δυνατότητα αναβλάστησης. Η πρώτη κοπή επιτελέσθηκε στο 50% της άνθησης, όπου η βιομάζα βρίσκεται ποιοτικά στο ανώτερο επίπεδο, ενώ η δεύτερη κοπή εφαρμόσθηκε στο στάδιο της μαλακής ζύμης.

Πίνακας 2.1. Ποικιλίες σόργου ανά πειραματικό αγρό

Τύπος	Ποικιλίες	Κωπαΐδα	Οινόη	Κωπαΐδα	Κωπαΐδα	Κωπαΐδα
		2008	2008	2009	2010	2012
Χορτοδοτικό Σόργο	6010	✓	✓	✓	✓	
	6011	✓	✓	✓	✓	
	6012	✓	✓	✓	✓	
	7013	✓	✓	✓	✓	
	23000	✓	✓	✓	✓	
	BMR 333	✓	✓	✓	✓	
	Honey Graze	✓	✓	✓	✓	
	PR849F					✓
	11004					✓
	11006					✓
Γλυκό Σόργο	Urja	✓	✓	✓	✓	✓
	Keller	✓		✓	✓	
	Sugar Graze	✓	✓	✓	✓	✓
	Dale	✓				
	Della	✓				
	Topper 76-6	✓				
	M 81 E	✓		✓	✓	
Σόργο	11001					✓
Βιομάζας	11005					✓
Σόργο του Σουδάν	Nicole			✓	✓	✓

2.1.1 Μετρήσεις- Εργαστηριακές αναλύσεις

Κατά τη συγκομιδή μετρήθηκαν οι στρεμματικές αποδόσεις των στελεχών (kg/στρ) και η περιεκτικότητα των στελεχών σε διαλυτά στερεά (1g/100g χυμού- Brix). Η εργαστηριακή ανάλυση των δειγμάτων περιελάμβανε την εκτίμηση της περιεκτικότητας των στελεχών σε αναγωγικά και μη αναγωγικά ζάχαρα και την περιεκτικότητα των στελεχών σε υγρασία. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ζαχάρων έγινε με τη μέθοδο του 3,5-δινιτροσαλικυλικού οξέος (3,5-DNS) (Miller, 1959). Η παρασκευή ενός λίτρου διαλύματος 3,5 DNS γίνεται ως εξής:

- Δημιουργείται διάλυμα 200 ml νερού και 16 g άνυδρου NaOH στο οποίο κατόπιν ανάδευσης προστίθενται 500 ml νερού
- Στη συνέχεια προστίθενται 10 g άνυδρου DNS και 402.74 g ένυδρου τρυγικού καλονατρίου τμηματικά (Potassium sodium tartate)

- Το διάλυμα αναδεύεται για τουλάχιστον 10 min έως ότου αποκτήσει διάφανο χρώμα
- Τέλος γίνεται ογκομέτρηση και συμπληρώνεται νερό μέχρι τη συμπλήρωση ενός λίτρου

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις των αναγωγικών και μη αναγωγικών ζαχάρων ως εξής: 15 g ομογενοποιημένου στελέχους μεταφέρθηκε σε κωνική φιάλη η οποία περιείχε 100 ml απιονισμένου νερού και τοποθετήθηκαν για 45 λεπτά σε υδατόλουτρο στους 60°C. Καθ' όλη τη διάρκεια παραμονής των κωνικών φιαλών στο υδατόλουτρο γινόταν ανάδευση και ακολούθησε παραλαβή του χυμού και μέτρηση του τελικού όγκου. Ο χυμός αραιώθηκε με απιονισμένο νερό σε αναλογία 1/10, ενώ στη συνέχεια 0.5 ml χυμού και 0.5 ml DNS διαλύματος αναμείχθηκαν και θερμάνθηκαν σε θερμοκρασία βρασμού. Προστέθηκαν 4 ml απιονισμένου νερού και τα δείγματα φωτομετρήθηκαν μέσω φασματοφωτόμετρου (Spectrophotometer Hitachi, U-2001) σε ακτινοβολία μήκους κύματος 540 nm. Η μέτρηση των μη αναγωγικών ζαχάρων έγινε μέσω της μεθόδου της όξινης υδρόλυσης κατά την οποία 20 ml υδροχλωρικού οξέος (HCl) προστέθηκαν σε 1 ml χυμού. Το δείγμα θερμάνθηκε για 5 λεπτά στους 90°C και ακολούθησε προσθήκη 50 ml υδροξειδίου του καλίου (KOH, 5N). Στη συνέχεια, 0.5 ml του προκύπτοντος διαλύματος αναμείχθηκε με 0.5 ml διαλύματος DNS. Όπως και κατά τη μέτρηση των αναγωγικών ζαχάρων, προστέθηκαν 4 ml απιονισμένου νερού και ακολούθησε φωτομέτρηση του τελικού διαλύματος. Ο υπολογισμός των ζαχάρων που περιέχονταν σε κάθε δείγμα έγινε μέσω των τιμών απορρόφησης και της καμπύλης αναφοράς γλυκόζης. Η καμπύλη αναφοράς κατασκευάστηκε με φωτομέτρηση των διαλυμάτων που προέκυψαν από την προσθήκη αντιδραστηρίου DNS σε διαλύματα γλυκόζης γνωστής συγκέντρωσης (0, 0.5, 1, 1.5 και 2 mg/ml). Η υπολογισθείσα περιεκτικότητα των ζαχάρων αφορούσε περιεκτικότητα βάρους κατά βάρους (% w/w).

Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των στελεχών σε υγρασία, έγινε με τοποθέτηση 20 g ομογενοποιημένου δείγματος στους 90°C για 3 μέρες και στη συνέχεια τα δείγματα ζυγίστηκαν ώστε να εκτιμηθεί το ποσοστό υγρασίας.

2.1.2 Εκτίμηση Παραγωγής Βιοαιθανόλης

Η εκτίμηση της θεωρητικά παραγόμενης βιοαιθανόλης βασίστηκε στη στρεμματική απόδοση σε ζάχαρα, ο υπολογισμός της οποίας έγινε ως εξής:

$$\text{Απόδοση ζαχάρων (kg/στρ)} = \text{Απόδοση στελεχών (kg/στρ)} \times \text{Περιεκτικότητα ζαχάρων (\%)} =$$

Ακολούθησε η μετατροπή των ζαχάρων σε αιθανόλη μέσω του συντελεστή μετατροπής 51.1%, ενώ κατά την εκτίμηση της τελικής απόδοσης σε βιοαιθανόλη συνυπολογίστηκε και η αποδοτικότητα των μονάδων παραγωγής βιοαιθανόλης, η οποία ανέρχεται σε 90 με 93% (Ingledew, 2009). Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε η πυκνότητα της βιοαιθανόλης (0.794 kg/m^3) ώστε τα χιλιόγραμμα να μετατραπούν σε λίτρα :

$$\text{Απόδοση βιοαιθανόλης (l/στρ)} = \frac{[\text{Απόδοση ζαχάρων (kg/στρ)} \times 51.1\% \times 90\%]}{0.794 \text{ (kg/m}^3\text{)}}$$

2.1.3 Επεξεργασία Δεδομένων

Η στατιστική ανάλυση έγινε ξεχωριστά για τα αποτελέσματα του κάθε πειραματικού αγρού μέσω του στατιστικού λογισμικού JMP (v.8). Τα δεδομένα της απόδοσης των στελεχών, της περιεκτικότητας των στελεχών σε υγρασία, Brix και ζάχαρα και οι αποδόσεις σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη των ποικιλιών, υπεβλήθησαν σε έλεγχο κανονικότητας της κατανομής των μετρήσεων και ομοιογένειας των διακυμάνσεων. Ακολούθησε ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA) για κάθε χαρακτηριστικό ξεχωριστά ενώ ο έλεγχος των διαφορών έγινε μέσω της δοκιμασίας του Tukey. Επίσης, τα δεδομένα των ετών 2008-10 υποβλήθηκαν σε συνδυασμένη ανάλυση για τις ποικιλίες Urja, Sugar Graze, BMR 333, 23000, 6010, 6011, 6012 και Honey Graze λαμβάνοντας υπόψη το συνδυασμό τοποθεσίας και έτους ως περιβάλλον, όπως έχει ήδη οριστεί (Bernardo, 2002). Έτσι, τα δεδομένα των πειραματικών αγρών της περιοχής της Οινόης (2008) και της περιοχής της Κωπαΐδας για τα έτη 2008-10 θεωρήθηκαν ως 4 ξεχωριστά περιβάλλοντα.

2.2 Εκτίμηση γενετικών παραμέτρων

Οι γενετικές παράμετροι για κάθε πειραματικό αγρό ξεχωριστά, περιελάμβαναν τη περιβαλλοντική διακύμανση (V_E), τη γονοτυπική διακύμανση (V_G), τη φαινοτυπική διακύμανση (V_P) το συντελεστή κληρονομικότητας υπό ευρεία έννοια (H) το γενετικό συντελεστή παραλλακτικότητας (GCV) και το φαινοτυπικό συντελεστή παραλλακτικότητας (PCV). Οι υπολογισμοί των ανωτέρω παραμέτρων, που έγινε επί τη βάση του μέσου όρου ενός παράγοντα, στηρίχθηκαν στις τιμές των μέσων τετραγώνων (MT) των πηγών παραλλακτικότητας με βάση τη θεωρητική τους σύσταση (Πίνακας 1.1):

$$V_E = MT_{\sigma\phi\acute{\alpha}\lambda\mu\alpha\tau\omicron\varsigma}$$

$$V_G = \frac{MT_G - MT_{\sigma\phi\lambda\mu\alpha\tau\omicron\varsigma}}{r}$$

$$V_P = \frac{MT_G}{r}$$

$$H = \frac{V_G}{V_P} 100\%$$

$$GCV = \frac{\sqrt{V_G}}{\bar{Y}} 100\%$$

$$PCV = \frac{\sqrt{V_P}}{\bar{Y}} 100\%$$

Όπου r , E , και \bar{Y} ο αριθμός των επαναλήψεων, ο αριθμός των περιβαλλόντων και ο μέσος όρος του πειράματος αντίστοιχα.

Οι υπολογισμός των παραμέτρων V_E , V_G , $V_{G \times E}$, V_P , H , GCV και PCV για τα αποτελέσματα της συνδυασμένης ανάλυσης, έγινε με βάση τη θεωρητική σύσταση των μέσων τετραγώνων των γονοτύπων, των περιβαλλόντων, της αλληλεπίδρασης γονοτύπου x περιβάλλον (Πίνακας 1.2):

$$V_G = \frac{MT_G - MT_{\sigma\phi\lambda\mu.}}{r * E}$$

$$V_P = V_G + \frac{V_{G \times E}}{E} + \frac{V_E}{r * E}$$

$$V_{G \times E} = \frac{MT_{G \times E} - MT_{\sigma\phi\lambda\mu.}}{r}$$

Όπου r , E , και \bar{Y} ο αριθμός των επαναλήψεων, ο αριθμός των περιβαλλόντων και ο μέσος όρος του πειράματος.

2.3 Μεταβολομική ανάλυση

Για να μελετηθεί το μεταβολικό προφίλ του γλυκού σόργου, δύο υψηλοαποδοτικές ποικιλίες γλυκού σόργου (Urja και Sugar Graze), με παραπλήσιο βιολογικό κύκλο και καλά προσαρμοσμένες στις ελληνικές συνθήκες, καλλιεργήθηκαν στο αγρόκτημα του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Οι χειρισμοί που εφαρμόστηκαν αφορούσαν τη συγκομιδή σε διαφορετικά στάδια του βιολογικού κύκλου. Πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία φύλλων και στελεχών α) πριν το στάδιο της μαλακής ζύμης και κατά τη διάρκεια του γεμίσματος των σπόρων (στάδιο 1) β) κατά τον άριστο χρόνο συγκομιδής και συγκεκριμένα κατά το στάδιο της μαλακής ζύμης (στάδιο 2), γ) ένα μήνα μετά το πέρας του σταδίου μαλακής ζύμης (στάδιο 3) και δ) ένα μήνα μετά το πέρας του σταδίου της μαλακής ζύμης αποκλειστικά για δείγματα στελεχών, από φυτά τα οποία είχαν συγκομισθεί και εναποτεθεί στο χωράφι κατά το στάδιο της μαλακής ζύμης (στάδιο 4). Ελήφθησαν 4 δείγματα από κάθε χειρισμό για ανάλυση. Αμέσως μετά τη συγκομιδή, τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε καταψύκτη (-80°C) ώστε να ελαχιστοποιηθούν ενδεχόμενες μετασυλλεκτικές αλλαγές στο μεταβολικό προφίλ. Ακολούθησε η απομόνωση των μεταβολιτών μέσω του πρωτοκόλλου που περιγράφεται παρακάτω: Δείγματα στελεχών και φύλλων λειοτριβήθηκαν και 50 mg ιστού μεταφέρθηκαν σε erpendorf το οποίο περιείχε 400 μl mastermix (395 μl μεθανόλης, 5μl ριβιτόλης). Ακολούθησε ανάμιξη (vortex) του δείγματος και τοποθέτηση αυτού σε μηχανικό αναδευτήρα για 15 λεπτά στους 70°C ώστε να επιτευχθεί όσο το δυνατόν πιο αντιπροσωπευτικό δείγμα μεταβολιτών. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 200 μl χλωροφόρμιου, το μίγμα αναμίχθηκε και τοποθετήθηκε στο μηχανικό αναδευτήρα για 5 λεπτά στους 37°C. Κατόπιν, προστέθηκαν 400 μl νερού (dd H₂O) και το δείγμα αναμίχθηκε εκ νέου. Ακολούθησε φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στις 13000 στροφές ώστε να απομακρυνθούν τα φυτικά θραύσματα και κατόπιν 100 ml από το υπερκείμενο μεταφέρθηκαν σε νέο erpendorf. Τελευταίο βήμα της μεθόδου αποτέλεσε η εξάτμιση του νερού των δειγμάτων με αέριο άζωτο. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε για 24 φυλλικά δείγματα, 32 δείγματα στελεχών, και 16 δείγματα χωρίς την προσθήκη ιστού (blanks).

Τα δείγματα αναλύθηκαν με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας (GC) με τη χρήση του Agilent 6890GC συζευγμένου με το φασματογράφο μάζας (MS) Agilent 5973 MSD. Η ταυτοποίηση που ακολούθησε έγινε μέσω του λογισμικού AMDIS το οποίο περιλαμβάνει βιβλιοθήκες οι οποίες περιέχουν φάσματα και δείκτες δέσμευσης για ένα μεγάλο εύρος μεταβολιτών που απαντώνται σε πληθώρα φυτικών οργανισμών. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως λόγος μεταξύ της περιοχής του μεταβολίτη στόχου προς την περιοχή του μεταβολίτη αναφοράς (ριβιτόλη) και παρουσιάστηκαν σε σχέση με το νωπό βάρος των δειγμάτων

2.3.1 Επεξεργασία δεδομένων

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε μέσω του στατιστικού λογισμικού JMP (v.8) και αφορούσε τη σύγκριση του επιπέδου των ανιχνευθέντων μεταβολιτών στα υπό μελέτη στάδια. Προς αυτή την κατεύθυνση, έγιναν δοκιμές του t μεταξύ των σταδίων 1-2 και 2-3 για τους μεταβολίτες που ανιχνεύθηκαν στα φύλλα ενώ για τους μεταβολίτες των στελεχών έγιναν επιπλέον συγκρίσεις μεταξύ των σταδίων 2-4 και 3-4. Ακολούθησε ανάλυση κυρίων συνιστωσών (PCA) σε φύλλα και στελέχη των δύο ποικιλιών για τα στάδια δειγματοληψίας και τους ανιχνευθέντες μεταβολίτες μέσω του λογισμικού Multibase (Microsoft office excel Add-in).

2.4 Μεταγραφομική ανάλυση

2.4.1 Απομόνωση ολικού RNA

Η μεταγραφομική ανάλυση έγινε σε δείγματα που συγκομίστηκαν όπως περιγράφηκε και κατά τη μεταβολομική ανάλυση, για τις δύο ποικιλίες γλυκού σόργου με τον κάθε χειρισμό να αποτελείται από 3 επαναλήψεις. Η απομόνωση του mRNA επετεύχθη μέσω του RNeasy plant mini kit (Qiagen) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή όπως φαίνεται στα παρακάτω βήματα:

1. Αρχικά, καθορίστηκε το ποσό του φυτικού υλικού με ζύγιση 100 mg ιστού για κάθε δείγμα. Τα δείγματα λειοτριβήθηκαν παρουσία υγρού αζώτου
2. Στη συνέχεια, η σκόνη μεταγγίστηκε σε σωλήνες erpendorf των 2 ml
3. Σε κάθε σωλήνα προστέθηκαν 450 μl ρυθμιστικού διαλύματος RLT και ακολούθησε ανάδευση (vortex)
4. Τα δείγματα επώαστηκαν στους 56°C για 1-3 min ώστε να διευκολυνθεί η διάρρηξη του περιεχόμενου ιστού
5. Τα λύματα μεταφέρθηκαν σε QIAshredder spin column (lilac), των 2 ml και φυγοκεντρήθηκαν για 2 min στη μέγιστη ταχύτητα
6. Το υπερκείμενο μεταφέρθηκε προσεκτικά σε νέους σωλήνες erpendorf χωρίς να διαταραχθεί το υποκείμενο-ίζημα
7. Προστέθηκαν 0,5 όγκου αιθανόλης (96- 100%) και ακολούθησε ανάδευση
8. Τα δείγματα (650 μl) μεταφέρθηκαν σε RNAeasy spin column (pink), σε erpendorf των 2 ml και φυγοκεντρήθηκαν για 15 sec στις 10.000 rpm. Τα λύματα απομακρύνθηκαν
9. Προστέθηκαν 700 μl ρυθμιστικού διαλύματος RW1 και έγινε φυγοκέντρωση για 15 sec στις 10.000 rpm. Τα λύματα απομακρύνθηκαν
10. Ακολούθησε προσθήκη 500 μl ρυθμιστικού διαλύματος RPE και φυγοκέντρωση για 15 sec στις 10.000 rpm. Τα λύματα απομακρύνθηκαν

11. Επαναπροστέθηκαν 500 μ l ρυθμιστικού διαλύματος RPE και έγινε φυγοκέντρηση για 2 min στις 10.000 rpm
 12. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε νέα erpendorf των 2 ml και φυγοκεντρήθηκαν για 1 min
 13. Έγινε μεταφορά σε erpendorf των 1.5 ml και προστέθηκαν 30- 50 μ l RNase-free H₂O. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 1 min στις 10.000 rpm
- Τέλος, το RNA που απομονώθηκε αποθηκεύτηκε στους -80°C.

2.4.2 Ποσοτικός και ποιοτικός προσδιορισμός του εξαγόμενου RNA

Η καταλληλότητα του εξαγόμενου RNA για περαιτέρω αναλύσεις ελέγχθηκε φωτομετρικά με το όργανο Nanodrop ND-1000 Spectrophotometer που επιτρέπει τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης και της καθαρότητας του RNA μέσω της οπτικής πυκνότητας του δείγματος στα 230, 260 και 280 nm. Η καθαρότητα ενός δείγματος εκτιμάται από τους λόγους OD₂₆₀/OD₂₈₀ και OD₂₆₀/OD₂₃₀. Τιμές 1.8-2.0 και 0.5 αντίστοιχα καταδεικνύουν ικανοποιητική καθαρότητα δείγματος.

2.4.3 Αντίδραση αντίστροφης μεταγραφής (RT) για τη σύνθεση συμπληρωματικού DNA (cDNA)

Ακολούθησε *in vitro* μετατροπή του RNA σε cDNA μέσω της αντίδρασης της αντίστροφης μεταγραφής (Reverse Transcription) όπως περιγράφεται ακολούθως:

1. Σε erpendorf προστέθηκαν 2-10 μ g ολικού RNA, 1 μ l oligo dT (500 μ g/ml), 1 μ l μείγμα dNTPs (10 mM) και dd H₂O έως τελικού όγκου 12 μ l
2. Τα δείγματα αποδιατάχθηκαν στους 65°C για 5 min, όπου και πραγματοποιήθηκε ο υβριδισμός του εκκινήτη με το RNA. Το δείγμα μεταφέρθηκε άμεσα σε πάγο για να διατηρηθεί σε μονόκλωνη κατάσταση
3. Ακολούθησε σύντομη φυγοκέντρηση και προστέθηκαν 4 μ l 5x First-Strand Buffer, 1 μ l (40unit/ml) RNaseOUT και 2 μ l 0.1 M DTT
4. Έγινε ήπια ανάδευση του περιεχομένου των erpendorf και ακολούθησε προθέρμανση στους 42°C για 2 min, ενώ στη συνέχεια προστέθηκε 1 μ l (200 units) αντίστροφης μεταγραφάσης (SuperScript II RT, Invitrogen)
5. Το μείγμα επώαστηκε στους 42°C για 50 min και τέλος, έγινε απενεργοποίηση του ενζύμου με θέρμανσή του στους 70°C για 15 min

Το cDNA που προέκυψε χρησιμοποιήθηκε ως μήτρα για τη διεξαγωγή αντιδράσεων ποσοτικής PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης) σε πραγματικό χρόνο (qRT-PCR).

2.4.4 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο, qRT-PCR

Κατά την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (qRT-PCR) το mastermix περιείχε 5 μ l SYBR Green, 0.2 μ l για κάθε εκκινητή και 3.6 μ l H₂O, ενώ η ποσότητα cDNA που χρησιμοποιήθηκε ανήλθε σε 1 μ l.

Οι συνθήκες της αντίδρασης περιείχαν τα ακόλουθα στάδια: έναν κύκλο αρχικής αποδιάταξης στους 95 °C για 3 λεπτά, 40 κύκλους συνιστώμενους από αποδιάταξη στους 95 °C για 0.6 λεπτά και υβριδισμό στους 60 °C για 1 λεπτό.

Το επίπεδο έκφρασης του γονιδίου της πολύ-ουμπικουϊνίνης (*SbUb*, TC114172) χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικός μάρτυρας για την κανονικοποίηση των διαφορών στην ποσότητα του παραγόμενου cDNA από τα διάφορα δείγματα. Η ποσότητα μεταγραφήματος του γονιδίου- στόχου (X) υπολογίστηκε σε σχέση με την ποσότητα μεταγραφήματος του εσωτερικού μάρτυρα *SbUb* (U) [ως $(1+E)^{-\Delta Ct}$, όπου το ΔCt υπολογίζεται ως $(Ct^X - Ct^U)$ και E η αποτελεσματικότητα της PCR].

Πίνακας 2.2. Ζεύγη εκκινητών για qRT-PCR

Γονίδιο- Στόχος	Αριθμός καταχώρησης	Εκκινητής	Αλληλουχία Εκκινητή (5'→3')	Μέγεθος προϊόντος (bp)
Συνθάση Σακχαρόζης [EC:2.4.1.13]	SORBI_01g033060	F R	CTTCCACATTGACCCGTACCA GAATCCGTCTGGCACTTCTCA	77
Συνθάση Σακχαρόζης [EC:2.4.1.13]	SORBI_01g035890	F R	GCCATGACCTGTGGACTTCCTA AGCCCGAGATTCCATGCTCTA	78
Συνθάση Σακχαρόζης [EC:2.4.1.13]	SORBI_04g038410	F R	GCTGGACTGCAACGCATCTAT CCATACATTGACCCCATGTTCA	79
Συνθάση Φωσφ/κής Σακχαρόζης [EC:2.4.1.14]	SORBI_03g043900	F R	CCAAAAAGGTGAAAACGGTCG AGTACATGATGTGGCACCGGA	74
Συνθάση Φωσφ/κής Σακχαρόζης [EC:2.4.1.14]	SORBI_04g005720	F R	AACATCCCCGCAAACAGGAT CCGATGATGTTTGAGCTGTCTG	82
Συνθάση Φωσφ/κής Σακχαρόζης [EC:2.4.1.14]	SORBI_09g028570	F R	CATCACTGTGGTTGTCTGGTGA TAGTTTTGTGCACG CCTCCA	70
β-φρουκτοφουρανοσιδάση [EC:3.2.1.26]	SORBI_0067s002010	F R	CAAAACCATCGCACTCAGGA GTACACCCTCGACAAGATGCAC	90
β-φρουκτοφουρανοσιδάση [EC:3.2.1.26]	SORBI_0067s002110	F R	TCGTCTCTGAACCCAAACCTG TCGATCAAGCTTCTCAGCGAT	94
β-φρουκτοφουρανοσιδάση [EC:3.2.1.26]	SORBI_01g008910	F R	ACGGCTCTACGTGTTCAACAAC ACCGCATCTCGTACGCATT	70
β-φρουκτοφουρανοσιδάση [EC:3.2.1.26]	SORBI_03g047060	F R	AAAGCTTCGGTGGAGGTGGTA ATACATGCGAGTGCCACCATC	85
β-φρουκτοφουρανοσιδάση [EC:3.2.1.26]	SORBI_06g023760	F R	CGTCAAAGCAAATCCGTCAAG AGAGAACTCGCTTCATACGGCC	71
β-φρουκτοφουρανοσιδάση [EC:3.2.1.26]	SORBI_06g031910	F R	GCGAGTGTCATGTCTGACGAT TACATCTCGCTGTGGCAGATGT	70
β-φρουκτοφουρανοσιδάση [EC:3.2.1.26]	SORBI_06g031930	F R	CTTCTCATGTGCACCGACCTAA ATGGTCTCGTGCTCCTCTACGT	103
Πολύ-ουμπικουιτίνη	TC114172	F R	GTCGTTTAAGCTGCCGCTGTA CACTGACTCATGACACCAACCA	100

Στη συνέχεια, επιλεχθήκαν γονίδια που σχετίζονται με τη σύνθεση και αποδόμηση της σακχαρόζης μέσω της βάσης δεδομένων Kegg (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomics). Με βάση την αλληλουχία των επιλεγμένων γονιδίων σχεδιάστηκαν 13 ζεύγη εκκινητών μέσω του λογισμικού Primer express (Πίνακας 2.2).

2.4.5 Επεξεργασία Δεδομένων

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεταγραφομικής ανάλυσης έγινε με τη χρήση του στατιστικού λογισμικού JMP (v.8) και αφορούσε τη σύγκριση των επιπέδων της σχετικής έκφρασης των 13 υπό μελέτη γονιδίων- στόχων τόσο στα φύλλα όσο και στα στελέχη για τα 4 στάδια δειγματοληψίας. Όπως και κατά τη μεταβολομική ανάλυση, έγιναν δοκιμές του t μεταξύ των σταδίων 1-2 και 2-3 για τα φύλλα, ενώ έγιναν επιπλέον συγκρίσεις μεταξύ των σταδίων 2-4 και 3-4 για τα στελέχη.

2.5 Ανάλυση εκπομπών αερίων θερμοκηπίου

2.5.1 Εκπομπές αερίων θερμοκηπίου κατά τη φάση της καλλιέργειας

Το σύνολο των GHG ανά μονάδα επιφάνειας (στρ) υπολογίστηκαν σε g ισοδυνάμων εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα (CO₂e). Κατά τη φάση της καλλιέργειας οι εκπομπές διακρίνονται σε αυτές που παράγονται από την κατανάλωση ορυκτού καυσίμου (πετρέλαιο) λόγω χρήσης του ελκυστήρα, την κατανάλωση ηλεκτρικής ενέργειας για τις αρδεύσεις, τη λίπανση και τα εκπεμπόμενα οξείδια του αζώτου (N₂O) ως επακόλουθα της αζωτούχου λίπανσης.

Εκπομπές GHG ορυκτού καυσίμου

Οι εργασίες κατά τις οποίες καταναλώθηκε ορυκτό καύσιμο λόγω χρήσης ελκυστήρα, αφορούν την άροση, τη χρήση καλλιεργητή και δισκοσβάρνας καθώς και τη μηχανική ζιζανιοκτονία. Για να υπολογισθεί η συνολική ποσότητα του καταναλισκόμενου πετρελαίου (kg/στρ), λήφθηκε υπόψη η αποδοτικότητα (h/στρ), η υποδύναμη του ελκυστήρα (90-130 hp) για κάθε καλλιεργητική φροντίδα και η σύσταση του εδάφους η οποία θεωρήθηκε ως μέση. Οι τιμές κατανάλωσης των ελκυστήρων, όπως φαίνονται στον πίνακα 2.3, υπολογίστηκαν με βάση τα παραπάνω χαρακτηριστικά από τις σχετικές αντιπροσωπείες.

Πίνακας 2.3. Κατανάλωση πετρελαίου ανά καλλιεργητική φροντίδα

Εργασία	Κατανάλωση (l/στρ)
Άρροση	4
Δισκοσβάρνισμα	1.5
Καλλιεργητής	1.5
Σπορά + Λίπανση	0.8
Σκάλισμα	1.5
Συγκομιδή	3

Ακολούθησε μετατροπή των λίτρων πετρελαίου σε χιλιόγραμμα μέσω της δεδομένης πυκνότητας του καυσίμου (832 kg/m^3) και στη συνέχεια υπολογίστηκε η συνολικά καταναλισκόμενη ενέργεια (E_{diesel}) σε MJ/στρ, λαμβάνοντας υπόψη την ελάχιστη θερμογόνο δύναμη (least heating value) του πετρελαίου ($\text{LHV}_{\text{diesel}}$). Για τον πληρέστερο υπολογισμό των εκπομπών GHG και την όσο το δυνατόν καλύτερη προσομοίωση των πραγματικών καλλιεργητικών πρακτικών, η κατανάλωση πετρελαίου αφορούσε και τις εργασίες της σποράς, λίπανσης και συγκομιδής όταν αυτές γίνονται μηχανικά.

$$E_{\text{Diesel}} = \text{Συνολική κατανάλωση (l/στρ)} \times \text{LHV}_{\text{diesel}} \text{ (MJ/l)}$$

Με βάση τη συνολικά καταναλωθείσα ενέργεια, υπολογίστηκαν οι αντίστοιχες εκπομπές (E_{mDiesel}) λαμβάνοντας υπόψη τον παράγοντα εκπομπών του πετρελαίου ($87.64 \text{ g CO}_2\text{e/MJ}$) από τον πίνακα καθορισμένων τιμών του πρωτόκολλου υπολογισμού εκπομπών GHG (έκδοση 4b) του εγχειρήματος της Ευρωπαϊκή Ένωσης (ΕΕ) με ονομασία BioGrace (BioGrace, 2012), το οποίο πραγματεύεται τον υπολογισμό των αερίων θερμοκηπίου κατά την παραγωγή βιοκαυσίμων εντός της ΕΕ σύμφωνα με την ευρωπαϊκή νομοθεσία 28/2009 (EC, 2009).

Εκπομπές GHG από τη χρήση ηλεκτρικής ενέργειας

Οι παράμετροι που λήφθηκαν υπόψη ώστε να υπολογισθεί η καταναλωθείσα ενέργεια κατά την άρδευση με καταιονισμό ($E_{\text{Αρδευση}}$), είναι η υποδύναμη της αρδευτικής αντλίας (HP) σε KW, η διάρκεια άρδευσης (H) της μονάδος επιφάνειας σε ώρες (h) και ο αριθμός των αρδεύσεων (n) εντός της καλλιεργητικής περιόδου (Romanelli and Milan, 2005).

$$E_{\text{Αρδευση}} = \text{HP (KW)} \times 3.6^* \text{ (MJ KW}^{-1} \text{ h}^{-1}\text{)} \times \text{H (h/στρ)} \times n$$

*όπου 3.6 το ενεργειακό περιεχόμενο ενός KW

Ο υπολογισμός των αντίστοιχων εκπομπών αερίων θερμοκηπίου από την άρδευση ($E_{m_{\text{Άρδευση}}}$) γίνεται μέσω του παράγοντα εκπομπών (128.25 g CO₂e) για την παραγωγή 1 MJ ηλεκτρικού ρεύματος μέσης τάσης.

$$E_{m_{\text{Άρδευση}}} = E_{\text{Άρδευση}} \times 128.25 \text{ (g CO}_2\text{e)}$$

Εκπομπές GHG λίπανσης

Ο υπολογισμός των εκπομπών αερίων θερμοκηπίου για την παραγωγή των χρησιμοποιηθέντων λιπασμάτων έγινε με βάση την εφαρμοζόμενη ποσότητα (kg/στρ) και τις προκαθορισμένες τιμές εκπομπών κατά την παραγωγή 1 kg λιπάσματος, οι οποίες ανέρχονται σε 5917.2, 1013.5 και 579.2 g CO₂e/kg για N, P και K αντίστοιχα (BioGrace, 2012) όπως φαίνεται παρακάτω:

$$\text{Εφαρμογή N: } E_{m_N} = \text{Ποσότητα (kg/στρ)} \times 5917.2 \text{ (g CO}_2\text{e/kg)}$$

$$\text{Εφαρμογή P: } E_{m_P} = \text{Ποσότητα (kg/στρ)} \times 1013.5 \text{ (g CO}_2\text{e/kg)}$$

$$\text{Εφαρμογή K: } E_{m_K} = \text{Ποσότητα (kg/στρ)} \times 579.2 \text{ (g CO}_2\text{e/kg)}$$

Το άθροισμα των επί μέρους εκπομπών υπολογίστηκε σε g CO₂e/στρ και αποτέλεσε το σύνολο των εκπομπών λόγω εφαρμογής λίπανσης ($E_{m_{\text{Λίπανση}}}$) κατά τη φάση της καλλιέργειας.

N₂O εκπομπές GHG

Οι εκπομπές των οξειδίων του αζώτου ($E_{m_{\text{N}_2\text{O}}}$) προέρχονται από την εφαρμογή της αζωτούχου λίπανσης και χαρακτηρίζονται ως άμεσες (εξάτμιση) και έμμεσες (NH₃ και NO₃). Οι υπολογισμοί έγιναν μέσω του πρωτόκολλου υπολογισμού των αερίων θερμοκηπίου της BioGrace το οποίο λαμβάνει υπόψη τις οδηγίες που θεσπίστηκαν στο πλαίσιο του ΟΗΕ από διακυβερνητική επιτροπή σχετικά με την κλιματική αλλαγή (IPCC, 2006). Τα στοιχεία τα οποία απαιτούνται για τον υπολογισμό των εκπομπών N₂O είναι η απόδοση σε βιομάζα (kg/στρ), η υγρασία της παραγόμενης βιομάζας (%) και η εφαρμοζόμενη ποσότητα αζωτούχου λίπανσης (BioGrace, 2012).

Εκπομπές GHG από την παραγωγή του σπόρου σποράς

Η εκτίμηση των εκπομπών αερίων θερμοκηπίου που προκύπτουν από το σπόρο σποράς ($E_{m_{\text{Σπόρος}}}$), γίνεται μέσω ενός συντελεστή ο οποίος λαμβάνει υπόψη την επιπλέον έκταση που απαιτείται για την παραγωγή του. Ο παραπάνω συντελεστής αποτελεί το λόγο της εφαρμοζόμενης ποσότητας σπόρου σποράς και της τελικής απόδοσης σε σπόρο ανά μονάδα επιφάνειας:

$$Em_{\text{Σπόρος}} = \text{Ποσότητα σπόρου σποράς (kg)} / \text{Απόδοση σε σπόρο (kg)}$$

Συνολικές εκπομπές GHG

Οι συνολικές εκπομπές (Em_{Sum}) προκύπτουν από το λόγο του αθροίσματος των επί μέρους προαναφερθέντων εκπομπών προς τον παράγοντα εκπομπών λόγω παραγωγής του σπόρου σποράς όπως φαίνεται παρακάτω:

$$Em_{\text{Sum}} = (Em_{\text{Diesel}} + Em_{\text{Αρδευση}} + Em_{\text{Λίπανση}} + Em_{\text{N}_2\text{O}}) / Em_{\text{Σπόρος}}$$

2.5.2 Τυπικές εκπομπές κατά τη φάση της καλλιέργειας

Ο υπολογισμός των τυπικών εκπομπών προκύπτει από την αναγωγή των συνολικών εκπομπών στη μονάδα ενέργειας του παραγόμενου βιοκαυσίμου (MJ). Απαραίτητη προϋπόθεση αποτελεί ο υπολογισμός της ενέργειας της παραγόμενης βιοαιθανόλης μέσω της απόδοσης σε βιοαιθανόλη και του ενεργειακού περιεχομένου της, που ανέρχεται σε 21 MJ/l:

$$E_{\text{Βιοαιθανόλη}} \text{ (MJ)} = \text{Βιοαιθανόλη (l/στρ)} \times 21 \text{ (MJ/l)}$$

Τέλος, λαμβάνοντας υπόψη τις συνολικές εκπομπές (Em_{Sum}) υπολογίστηκαν οι τυπικές εκπομπές:

$$\text{Τυπικές Εκπομπές (g CO}_2\text{e/MJ)} = Em_{\text{Sum}} \text{ (g CO}_2\text{e/στρ)} / E_{\text{Βιοαιθανόλη}} \text{ (MJ)}.$$

2.5.3 Τυπικές εκπομπές μετά τη φάση της καλλιέργειας

Για την εκτίμηση των συνολικών τυπικών εκπομπών καθ' όλη την παραγωγική διαδικασία, λήφθηκαν επίσης υπόψη οι εκπομπές αερίων θερμοκηπίου κατά α) τη μεταφορά της πρώτης ύλης προς τη μονάδα παραγωγής βιοαιθανόλης (για μέση απόσταση 50 km), β) τη βιομηχανική διαδικασία παραγωγής της βιοαιθανόλης και γ) τη μεταφορά και διανομή της βιοαιθανόλης (για μέση απόσταση 300 km). Οι τυπικές εκπομπές για τις προαναφερθείσες μεταφορές υπολογίστηκαν μέσω του πρωτόκολλου υπολογισμού αερίων θερμοκηπίου της BioGrace ενώ οι αντίστοιχες εκπομπές για την παραγωγή της βιοαιθανόλης από το εγχειρίδιο εκτίμησης αερίων θερμοκηπίου κατά την παραγωγή βιοκαυσίμων του Υπουργείου Βιομηχανίας, Ενέργειας και Τουρισμού της Ισπανίας το οποίο είναι διεθνώς αποδεκτό (IDEA, 2011).

2.5.4 Μείωση εκπομπών GHG από τη χρήση της βιοαιθανόλης

Η αειφορία ενός βιοκαυσίμου για τις μεταφορές, κρίνεται από την επιτυγχανόμενη ποσοστιαία (%) μείωση εκπομπών όταν αυτό αντικαθιστά αντίστοιχη ποσότητα ορυκτού καυσίμου στη λειτουργία του κινητήρα. Ο υπολογισμός στην περίπτωση της βιοαιθανόλης γίνεται από τη σύγκριση των εκπομπών που προκύπτουν από τη χρήση βενζίνης και βιοαιθανόλης. Οι εκπομπές από την καύση της βενζίνης υπολογίζονται ως εξής:

$$\text{Εκπομπές βενζίνης (g CO}_2\text{e)} = \text{Ενεργειακό περιεχόμενο (MJ/l)} \times \text{Εκπομπές ρύπων (g CO}_2\text{e/MJ)}$$

Ενώ αντίστοιχα υπολογίζονται και οι εκπομπές κατά την παραγωγή της βιοαιθανόλης:

$$\text{Εκπομπές βιοαιθανόλης (g CO}_2\text{e)} = \text{Ενεργειακό περιεχόμενο (MJ/l)} \times \text{Υπολογισθείσες εκπομπές ρύπων (g CO}_2\text{e/MJ)}$$

Το ενεργειακό περιεχόμενο των ορυκτών καυσίμων και βιοκαυσίμων καθώς και εκπομπές GHG που προκύπτουν κατά την παραγωγή της βενζίνης ορίζονται από την οδηγία 28/2009 της ΕΕ (EC, 2009).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Πειραματισμός αγρού

Απόδοση στελεχών

Οι αποδόσεις των ποικιλιών στην Κωπαΐδα το 2008 διέφεραν σημαντικά σε λίγες περιπτώσεις. Συγκεκριμένα, οι αποδόσεις των ποικιλιών γλυκού σόργου Dale και Urja ήταν σημαντικά υψηλότερες της χορτοδοτικής ποικιλίας 6010 (Πίνακας 3.1). Η αντίστοιχη σύγκριση στην Οινόη, έδωσε σημαντικά μεγαλύτερες αποδόσεις για τις ποικιλίες γλυκού σόργου Urja και Sugar Graze έναντι των χορτοδοτικών ποικιλιών 6011, 6012, 23000, 7013, 6010 και Honey Graze (Πίνακας 3.2). Στην περιοχή της Κωπαΐδας, η ποικιλία Urja απέδωσε σημαντικά υψηλότερα από τις ποικιλίες 6010 και Honey Graze το 2009 (Πίνακας 3.3), ενώ το 2010 η ποικιλία Urja απέδωσε σημαντικά υψηλότερα από τις ποικιλίες 6011, Nicole, 23000, 6012, 6010, Honey Graze και 7013 (Πίνακας 3.4). Τέλος, η σύγκριση των αποδόσεων των στελεχών το 2012, παρουσίασε σημαντικά αυξημένες αποδόσεις για τις ποικιλίες Urja, Sugar Graze, 11001 και Nicole έναντι των ποικιλιών 11004 και PR849. (Πίνακας 3.5).

Υγρασία στελεχών

Η σύγκριση των ποικιλιών ως προς την περιεκτικότητα των στελεχών σε υγρασία παρουσίασε ελάχιστες σημαντικές διαφορές. Συγκεκριμένα, στην περιοχή της Κωπαΐδας το 2008 και 2009, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ το 2008 στην περιοχή της Οινόης οι χορτοδοτικές ποικιλίες BMR 333, 6010 και Honey Graze εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά υγρασίας σε σύγκριση με την ποικιλία γλυκού σόργου Urja (Πίνακες 1,2 και 3, Παράρτημα Ι). Αντίστοιχα ήταν και τα αποτελέσματα για τον πειραματικό αγρό της Κωπαΐδας το 2010, όπου οι ποικιλίες BMR 333, Honey Graze και 7013 εμφάνισαν υψηλότερα ποσοστά υγρασίας από την ποικιλία Urja (Πίνακας 4, Παράρτημα Ι). Τέλος, τα ποσοστά υγρασίας των στελεχών στην Κωπαΐδα το 2012 ήταν σημαντικά αυξημένα για τις ποικιλίες 11001, 11005 και Nicole σε σύγκριση με τις ποικιλίες PR849 και 11006 (Πίνακας 5, Παράρτημα Ι).

Ολικά στερεά διαλυτά στελεχών

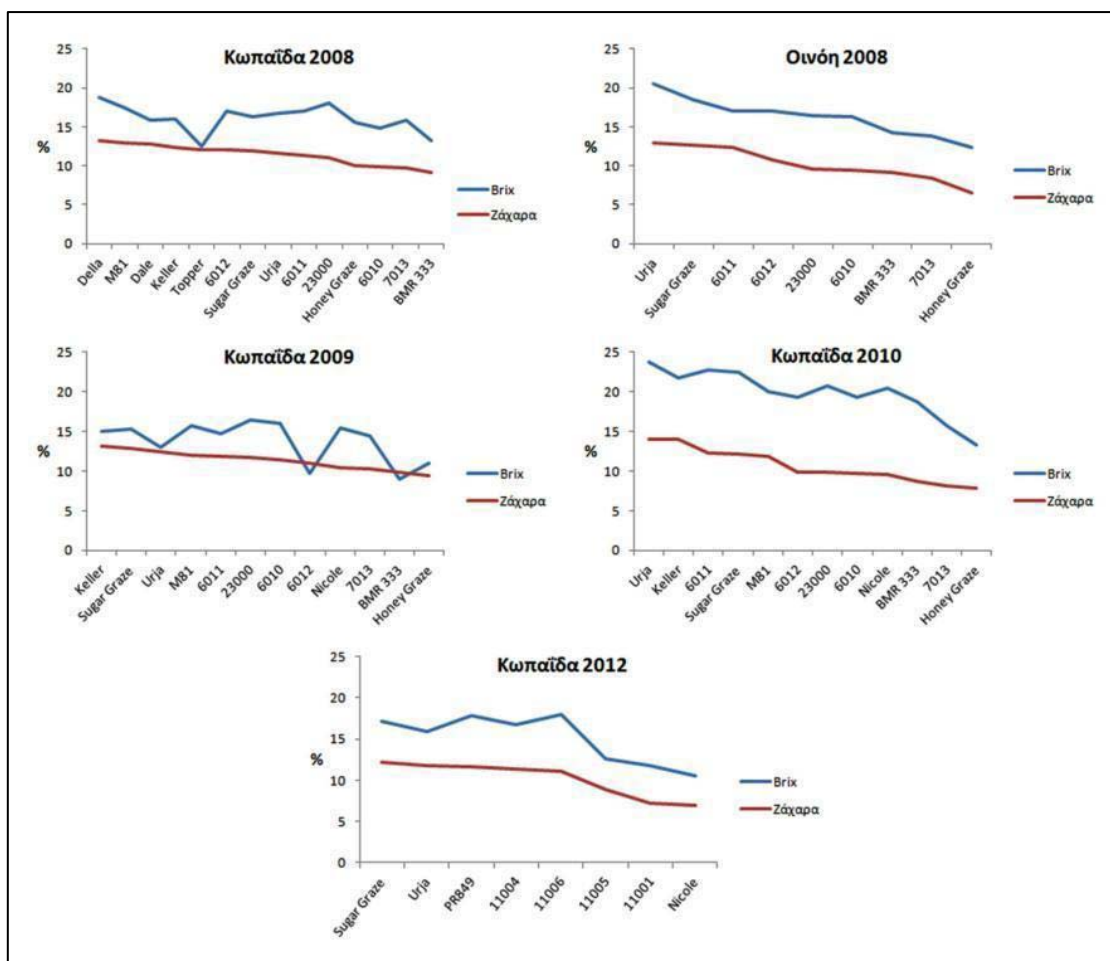
Η σύγκριση των ποικιλιών ως προς την περιεκτικότητα σε στερεά διαλυτά δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές στην περιοχή της Κωπαΐδας κατά τα έτη 2008 και 2009 (Πίνακες 1 και 3 Παράρτημα Ι). Στους πειραματικούς αγρούς της Οινόης και της Κωπαΐδας το 2010 η ποικιλία Urja παρουσίασε την υψηλότερη συγκέντρωση Brix, ενώ η ποικιλία Honey Graze τη χαμηλότερη συγκέντρωση αντίστοιχα (Πίνακες 2 και 4, Παράρτημα Ι). Τέλος, οι ποικιλίες Urja, Sugar Graze, 11006, 11004 και PR849,

παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα από τις ποικιλίες 11001, Nicole και 11005 στην Κωπαΐδα το 2012 (Πίνακας 5, Παράρτημα Ι).

Περιεκτικότητα σε ζάχαρα

Η περιεκτικότητα των στελεχών σε ζάχαρα στην περιοχή της Κωπαΐδας το 2008 υπήρξε ικανοποιητική για όλες τις ποικιλίες και κυμάνθηκε από 9.1 έως 13.3%. Η σχετική σύγκριση, κατέδειξε σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα για την ποικιλία Della σε σχέση με τις ποικιλίες BMR 333, 7013 και 6010 (Πίνακας 3.1). Την ίδια καλλιεργητική περίοδο στην περιοχή της Οινόης, τα ζάχαρα κυμάνθηκαν από 6.6 έως 12.9%, με τις ποικιλίες Urja, Sugar Graze και 6011 να παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα από τις BMR 333, 23000, 7013, 6010 και Honey Graze (Πίνακας 3.2). Η αντίστοιχη σύγκριση για το έτος 2009 στην περιοχή της Κωπαΐδας, κατέδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών Keller και Honey Graze, με το εύρος της περιεκτικότητας των ζαχάρων για όλες τις ποικιλίες να κυμαίνεται από 9.4 έως 13.1% (Πίνακας 3.3). Κατά το έτος 2010, οι ποικιλίες Urja και Keller παρουσίασαν σημαντικά ανώτερη περιεκτικότητα σε ζάχαρα από τις ποικιλίες BMR 333, Nicole, 6010, Honey Graze και 7013, με το συνολικό εύρος να κυμαίνεται από 7.9 έως 14% (Πίνακας 3.4). Τέλος, η σύγκριση της ζαχαροπεριεκτικότητας των στελεχών για το έτος 2012 στην περιοχή της Κωπαΐδας κατέδειξε σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις για τις ποικιλίες Sugar Graze, Urja, PR849, 11004 και 11006 έναντι των ποικιλιών 11005, 11001 και Nicole (Πίνακας 3.5).

Τα δεδομένα της περιεκτικότητας των στελεχών σε ζάχαρα συσχετίστηκαν με τα αντίστοιχα δεδομένα των στερεών διαλυτών, έτσι ώστε να ελεγχθεί εάν και κατά πόσο είναι εφικτή η εξαγωγή αξιόπιστων συμπερασμάτων σχετικά με το επίπεδο της ζαχαροπεριεκτικότητας των στελεχών μέσω των μετρήσεων των στερεών διαλυτών. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν σημαντικές συσχετίσεις για όλους τους πειραματικούς αγρούς σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0.01$, με τους δείκτες συσχέτισης (r) να ανέρχονται σε 0.81 για την περιοχή της Οινόης το 2008 και 0.36, 0.41, 0.59 και 0.89 στην περιοχή της Κωπαΐδας το 2008, 2009, 2010 και 2012 αντίστοιχα. Τα ποσοστά της ζαχαροπεριεκτικότητας των στελεχών και της περιεκτικότητας σε στερεά διαλυτά παρουσιάζονται στο σχήμα 3.1.



Σχήμα 3.1. Μέσοι όροι περιεκτικότητας ζαχάρων και στερεών διαλυτών στα στελέχη των ποικιλιών

Απόδοση σε ζάχαρα και βιοιθανόλη

Η θεωρητική απόδοση σε βιοιθανόλη εκτιμήθηκε μέσω της απόδοσης σε ζάχαρα και του συντελεστή μετατροπής ζαχάρων σε βιοιθανόλη (51.1%). Για το λόγο αυτό, τα αποτελέσματα των συγκρίσεων των αποδόσεων των ποικιλιών σε βιοιθανόλη είναι αντίστοιχα με αυτά των ζαχάρων. Το 2008, η υψηλότερη απόδοση σε ζάχαρα και βιοιθανόλη στην περιοχή της Κωπαΐδας υπολογίσθηκε για την ποικιλία Dale η οποία διέφερε σημαντικά από τις ποικιλίες Honey Graze και 6010 (Πίνακας 3.1). Κατά το έτος 2008 στην περιοχή της Οινόης, οι ποικιλίες Urja και Sugar Graze παρουσίασαν τις υψηλότερες αποδόσεις οι οποίες ανήλθαν σε 1776 kg/στρ ζαχάρων και 1029 l/στρ βιοιθανόλης και 1766 kg/στρ ζαχάρων και 1023 l/στρ βιοιθανόλης αντίστοιχα (Πίνακας 3.2). Στην περιοχή της Κωπαΐδας το 2009, η ποικιλία Urja παρουσίασε σημαντικά υψηλότερες αποδόσεις από τις ποικιλίες 7013, 6010 και Honey Graze ενώ στην ίδια περιοχή το 2010, οι ποικιλίες Urja, Sugar Graze, Keller και M81-E παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερες αποδόσεις από τις ποικιλίες Nicole, 23000,

6012, 6010, Honey Graze και 7013 (Πίνακες 3.3 και 3.4). Τέλος, η σύγκριση των ανωτέρω χαρακτηριστικών για το έτος 2012 στην περιοχή της Κωπαΐδας κατέδειξε σημαντική ανωτερότητα των ποικιλιών Sugar Graze και Urja, οι αποδόσεις των οποίων σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη ανήλθαν σε 1166 και 675 kg/στρ και 1144 και 663 kg/στρ αντίστοιχα (Πίνακας 3.5).

Πίνακας 3.1. Αποτελέσματα Κωπαΐδας 2008

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)	Ζάχαρα (%)	Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)	Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)	
Dale	7714	12.8	1019	590	A
Urja	7857	11.6	916	531	AB
M81-E	5952	12.9	774	448	ABC
Della	5667	13.3	745	431	ABC
Sugar Graze	6238	11.9	740	429	ABC
6012	6381	12.0	736	426	ABC
Topper 76-6	5591	12.1	675	391	ABC
Keller	5191	12.3	653	378	ABC
BMR 333	6667	9.1	599	347	ABC
23000	4571	11.0	522	302	ABC
6011	4286	11.4	490	284	ABC
7013	4571	9.7	443	257	ABC
Honey Graze	3238	10.0	322	187	BC
6010	2191	9.9	220	127	C
M.O.	5437	12.0	632	366	
F	*	**	*	*	
ΕΣΔ	5122.0	3.3	689.2	399.2	
ΣΠ (%)	37.3	11.4	43.2	43.2	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Πίνακας 3.2. Αποτελέσματα Οινόης 2008

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)	Ζάχαρα (%)	Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)	Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)	
Urja	13933	12.9	1776	1029	A
Sugar Graze	13933	12.7	1766	1023	A
6011	8400	12.3	1030	596	B
6012	9367	10.7	1003	581	B
BMR 333	10700	9.1	984	570	BC
23000	9600	9.6	910	527	BC
7013	7933	8.4	653	378	BC
6010	6233	9.4	594	344	BC
Honey Graze	7400	6.6	492	285	C
Μ.Ο.	10013	10.2	1023	593	
F	**	**	**	**	
ΕΣΔ	4280.9	2.6	496.4	287.5	
ΣΠ (%)	18.3	10.5	20.2	20.2	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Πίνακας 3.3. Αποτελέσματα Κωπαΐδας 2009

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)	Ζάχαρα (%)	Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)	Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)	
Urja	8229	12.5	1034	599	A
Keller	7381	13.1	976	565	AB
Sugar Graze	7010	12.8	898	520	ABC
M81-E	6581	12.0	780	452	ABC
BMR 333	7029	9.9	704	408	ABC
23000	5752	11.7	671	389	ABC
6012	4648	11.0	519	301	ABC
Nicole	4514	10.4	468	271	ABC
6011	3543	11.9	422	244	ABC
7013	3576	10.3	368	213	BC
6010	2876	11.4	324	188	C
Honey Graze	2838	9.4	275	159	C
Μ.Ο.	5331	11.4	620	359	
F	*	*	**	**	
ΕΣΔ	4800.9	3.6	628.2	363.9	
ΣΠ (%)	36.2	12.8	40.8	40.8	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Πίνακας 3.4. Αποτελέσματα Κωπαϊδας 2010

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)	Ζάχαρα (%)	Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)	Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)	
Urja	10017	14.0	1388	804	A
Sugar Graze	9200	12.1	1120	649	AB
Keller	7458	14.0	1041	603	ABC
M81-E	8733	11.9	1034	599	ABC
BMR 333	9067	8.7	777	450	BCD
6011	5883	12.3	714	414	CD
Nicole	6717	9.5	621	360	DE
23000	6058	9.8	595	344	DE
6012	5600	9.9	562	326	DE
6010	4750	9.7	462	267	DE
Honey Graze	3892	7.9	309	179	E
7013	3867	8.2	309	179	E
M.O.	6770	10.9	744	431	
F	**	**	**	**	
ΕΣΔ	2690.8	4.2	379.5	219.8	
ΣΠ (%)	16	16	20.5	20.5	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Πίνακας 3.5. Αποτελέσματα Κωπαϊδας 2012

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)	Ζάχαρα (%)	Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)	Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)	
Sugar Graze	9508	12.2	1166	675	A
Urja	9725	11.8	1144	663	A
11006	7400	11.1	822	476	B
11001	8900	7.2	644	373	BC
11005	7216	8.9	643	373	BC
Nicole	8292	6.9	570	330	BC
11004	4892	11.4	558	323	BC
PR849	4358	11.6	507	294	C
M.O.	7536	10.1	757	438	
F	**	**	**	**	
ΕΣΔ	2648.1	1.9	308.3	178.6	
ΣΠ (%)	15	8.1	17.2	17.2	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Η συνδυασμένη ανάλυση της παραλλακτικότητας για τα δεδομένα των τεσσάρων περιβαλλόντων κατέδειξε ιδιαίτερα σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας

P <0.01 μεταξύ των ποικιλιών για τα χαρακτηριστικά της απόδοσης των στελεχών, της ζαχαροπεριεκτικότητας, της περιεκτικότητας σε υγρασία και στερεά διαλυτά, καθώς και των αποδόσεων σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη. (Πίνακας 3.6 και Πίνακας 6, Παράρτημα Ι).

Πίνακας 3.6. Συνδυασμένη ανάλυση 2008-2010

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)	Ζάχαρα (%)	Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)	Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)	
Urja	10009	12.7	1278	740	A
Sugar Graze	9095	12.4	1131	655	A
BMR 333	8366	9.2	766	444	B
6012	6499	10.9	705	408	B
23000	6496	10.5	674	390	B
6011	5528	12.0	664	385	B
7013	4987	9.1	443	257	C
6010	4013	10.1	400	232	C
Honey Graze	4342	8.5	350	202	C
Μ.Ο.	6593	10.6	712	413	
F (Ποικιλιών)	**	**	**	**	
F (Ποικ. x Περιβ.)	ns	ns	**	**	
ΕΣΔ	1062.9	1.03	134.9	78.2	
ΣΠ (%)	23	13.9	27	27	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Ο έλεγχος της αλληλεπίδρασης ποικιλιών- περιβάλλοντος παρουσίασε ισχυρά σημαντικές διαφορές (P<0.01) για τα χαρακτηριστικά της απόδοσης σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη και της περιεκτικότητας σε υγρασία. Η αντίστοιχη αλληλεπίδραση για τα στερεά διαλυτά ήταν επίσης σημαντική (P=0.05-0.01). Αντίθετα, δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές για τα χαρακτηριστικά της απόδοσης σε στελέχη και τη ζαχαροπεριεκτικότητα (Πίνακας 3.6 και Πίνακας 6, Παράρτημα Ι).

Οι ποικιλίες Urja, Sugar Graze και BMR 333 απέδωσαν σημαντικά υψηλότερα των υπολοίπων, σε ότι αφορά την απόδοση των στελεχών. Η περιεκτικότητα σε υγρασία παρουσίασε σημαντικές διαφορές μόνο μεταξύ της BMR 333 και των Urja και 23000. Σε ότι αφορά την περιεκτικότητα σε ζάχαρα, οι ποικιλίες Urja και Sugar Graze εμφάνισαν την υψηλότερη περιεκτικότητα διαφέροντας σημαντικά από τις ποικιλίες 6010, 7013, BMR 333 και Honey Graze. Αντίστοιχα υπήρξαν και τα αποτελέσματα της σύγκρισης των ποικιλιών ως προς τη συγκέντρωση των στερεών διαλυτών. Τέλος, η αποδόσεις σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη των ποικιλιών Urja και Sugar Graze, ως μέσος

όρος των τεσσάρων περιβαλλόντων παρουσίασαν αποδόσεις σημαντικά υψηλότερες των υπολοίπων ποικιλιών (Πίνακας 3.6 και Πίνακας 6, Παράρτημα Ι).

3.2 Εκτίμηση γενετικών παραμέτρων

Οι εκτιμήσεις των γενετικών παραμέτρων από τα ατομικά πειράματα παρουσιάζονται στους πίνακες 3.7, 3.8, 3.9, 3.10 και 3.11. Ο συντελεστής κληρονομικότητας (H) κυμάνθηκε από 61.2 έως 95.1% για την απόδοση σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη, από 59.1 έως 93.5% για την απόδοση των στελεχών, από 6.8 έως 97.3% για τα Brix, από 61.1 έως 96.4% για τη περιεκτικότητα των στελεχών σε ζάχαρα, και από 37.3 έως 86.9% για τη περιεκτικότητα των στελεχών σε υγρασία.

Πίνακας 3.7. Γενετικές παράμετροι για την περιοχή της Κωπαΐδας κατά το 2008

Γνώρισμα	V_{ϵ}	V_G	V_P	H	GCV	PCV
				%		
Απόδοση στελεχών	4112013	1486570	2514573	59.1	22.4	29.2
Υγρασία	10.9	1.8	4.5	39.6	1.8	2.9
Brix	8.7	0.8	2.9	26.0	5.4	10.7
Ζάχαρα	1.7	1.3	1.7	75.4	10.0	11.5
Απόδοση σε Ζάχαρα	74446	29344	47956	61.2	27.1	34.6
Απόδοση σε Βιοαιθανόλη	24976	9844	16088	61.2	27.1	34.6

Πίνακας 3.8. Γενετικές παράμετροι για την περιοχή της Οινόης κατά το 2008

Γνώρισμα	V_{ϵ}	V_G	V_P	H	GCV	PCV
				%		
Απόδοση στελεχών	3172482	6591623	7384744	89.3	26.4	28.0
Υγρασία	4.7	3.2	4.4	73.3	2.4	2.8
Brix	2.3	5.7	6.3	90.9	14.8	15.5
Ζάχαρα	1.1	4.3	4.5	93.7	20.3	21.0
Απόδοση σε Ζάχαρα	42653	206446	217110	95.1	44.4	45.6
Απόδοση σε Βιοαιθανόλη	14311	69259	72836	95.1	44.4	45.6

Πίνακας 3.9. Γενετικές παράμετροι για την περιοχή της Κωπαΐδας κατά το 2009

Γνώρισμα	V_{ϵ}	V_G	V_P	H	GCV	PCV
				%		
Απόδοση στελεχών	3739363	2673229	3608070	74.1	30.7	35.6
Υγρασία	34.5	5.1	13.8	37.3	3.1	5.1
Brix	24.3	0.4	6.5	6.8	4.8	18.5
Ζάχαρα	2.1	0.8	1.4	61.1	8.1	10.3
Απόδοση σε Ζάχαρα	64029	52459	68467	76.6	36.9	42.2
Απόδοση σε Βιοιθανόλη	21479	17601	22970	76.6	36.9	42.2

Πίνακας 3.10 Γενετικές παράμετροι για την περιοχή της Κωπαΐδας κατά το 2010

Γνώρισμα	V_{ϵ}	V_G	V_P	H	GCV	PCV
				%		
Απόδοση στελεχών	1174662	4207065	4500731	93.5	30.3	31.3
Υγρασία	6.8	3.7	5.4	68.5	2.7	3.2
Brix	2.8	8.2	8.9	92.2	14.4	15.0
Ζάχαρα	2.9	3.8	4.6	84.0	18.4	20.0
Απόδοση σε Ζάχαρα	23369	108579	114421	94.9	44.3	45.5
Απόδοση σε Βιοιθανόλη	7841	36428	38389	94.9	44.3	45.5

Πίνακας 3.11. Γενετικές παράμετροι για την περιοχή της Κωπαΐδας κατά το 2012

Γνώρισμα	V_{ϵ}	V_G	V_P	H	GCV	PCV
				%		
Απόδοση στελεχών	1280741	3726163	4046348	92.1	25.6	26.7
Υγρασία	4.1	6.8	7.8	86.9	3.6	3.8
Brix	0.9	8.5	8.7	97.3	19.4	19.6
Ζάχαρα	0.7	4.4	4.6	96.4	20.8	21.1
Απόδοση σε Ζάχαρα	16893	64966	69189	93.9	33.7	34.8
Απόδοση σε Βιοιθανόλη	5668	21797	23213	93.9	33.7	34.8

Ο γενετικός συντελεστής παραλλακτικότητας (GCV) κυμάνθηκε από 22.4 έως 30.7% για τη απόδοση των στελεχών, από 1.8 έως 3.6% για την περιεκτικότητα των στελεχών σε υγρασία, από 4.8 έως 19.4% για τα Brix, από 8.1 έως 20.8% για την περιεκτικότητα των στελεχών ζάχαρα και από 27.1 έως 44.4% για την απόδοση σε ζάχαρα και βιοιθανόλη. Τέλος, ο φαινοτυπικός συντελεστής παραλλακτικότητας (PCV) κυμάνθηκε από 26.7 έως 35.6% για την απόδοση των στελεχών, 2.8 έως 5.1% για την

περιεκτικότητα των στελεχών σε υγρασία, 10.7 έως 19.6% για την περιεκτικότητα των στελεχών σε διαλυτά στερεά, 10.3 έως 21.1% για την περιεκτικότητα των στελεχών σε ζάχαρα και 34.6 έως 45.6% για τα χαρακτηριστικά της απόδοσης σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη (Πίνακες 3.7-3.11).

Οι εκτιμήσεις των γενετικών παραμέτρων από τη συνδυασμένη ανάλυση για τα τέσσερα περιβάλλοντα παρουσιάζονται στον πίνακα 3.12.

Πίνακας 3.12. Γενετικές παράμετροι για τη συνδυασμένη ανάλυση στα τέσσερα περιβάλλοντα

Γνώρισμα	V_{ϵ}	V_G	V_{GE}	V_P	H	GCV	PCV
					%		
Απόδοση στελεχών	2293830	4398465	97599	4566230	96.3	31.8	32.4
Υγρασία	11.5	0.8	3.3	2.4	35.0	1.2	2.1
Brix	7.8	3.1	1.8	4.1	76.9	10.9	12.4
Ζάχαρα	2.2	2.1	0.2	2.3	92.5	13.8	14.4
Απόδοση σε Ζάχαρα	36971	95152	12207	100514	94.7	43.3	44.5
Απόδοση σε Βιοαιθανόλη	12404	31922	4095	33721	94.7	43.3	44.5

Οι συντελεστές κληρονομικότητας (H) παρουσιάζονται ιδιαίτερα υψηλοί για τις αποδόσεις σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη, καθώς και για την απόδοση των στελεχών και την περιεκτικότητά τους σε διαλυτά στερεά και ζάχαρα. Συγκεκριμένα, ο συντελεστής κληρονομικότητας για τα παραπάνω χαρακτηριστικά κυμάνθηκε από 76.9 έως 96.3% με την υψηλότερη τιμή να εκτιμάται για το χαρακτηριστικό της απόδοσης των στελεχών. Αντίθετα, το χαρακτηριστικό της περιεκτικότητας των στελεχών σε υγρασία εμφάνισε χαμηλό συντελεστή κληρονομικότητας (35%).

Οι διαφορές μεταξύ του γενετικού (GCV) και φαινοτυπικού συντελεστή (PCV) παραλλακτικότητας, όπως εκτιμήθηκαν από τη συνδυασμένη ανάλυση, υπήρξαν μικρές για όλα τα γνωρίσματα. Ο γενετικός συντελεστής παραλλακτικότητας για τα χαρακτηριστικά που εμφάνισαν υψηλό συντελεστή κληρονομικότητας κυμάνθηκε από 10.9 έως 43.3% ενώ αντίστοιχα ο φαινοτυπικός συντελεστής παραλλακτικότητας από 12.4 έως 44.5%. Αντίθετα, οι δύο συγκεκριμένοι δείκτες παρέμειναν σε χαμηλά επίπεδα (1.2 και 2.1 για GCV και PCV αντίστοιχα) για το χαρακτηριστικό της περιεκτικότητας των στελεχών σε υγρασία το οποίο όπως προαναφέρθηκε παρουσίασε χαμηλό συντελεστή κληρονομικότητας (Πίνακας 3.12).

3.3 Μεταβολομική ανάλυση

3.3.1 Μεταβολομική ανάλυση φύλλων

Οι διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ως προς τους μεταβολίτες που ανιχνεύθηκαν στα φύλλα ήταν μικρές, καθώς από τους 133 συνολικά μεταβολίτες που ανιχνεύθηκαν οι 122 ήταν κοινοί και για τις δύο ποικιλίες. Στις ποικιλίες Sugar Graze και Urja ανιχνεύθηκαν 122 και 133 μεταβολίτες αντίστοιχα, οι διαφορές των οποίων περιγράφηκαν ως λόγοι σε σχέση με το στάδιο 2 (στάδιο αναφοράς) και ακολούθησε σύγκριση των επιπέδων των μεταβολιτών μεταξύ των σταδίων 1-2 και 2-3 (Πίνακας 3.13).

Οι παραπάνω συγκρίσεις, για την ποικιλία Sugar Graze, κατέδειξαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στο επίπεδο 29 μεταβολιτών, οι οποίοι ανήκουν στις κατηγορίες των ζαχάρων, πολυολών, αμινοξέων, οργανικών οξέων, αζωτούχων ουσιών και άλλων. Πιο συγκεκριμένα, σημαντικές μεταβολές καταγράφηκαν στη συγκέντρωση 16 και 19 μεταβολιτών κατά τη μετάβαση από το στάδιο 1 στο 2 και από το στάδιο 2 στο 3 αντίστοιχα.

Στην κατηγορία των ζαχάρων παρατηρήθηκαν σημαντικές μειώσεις στα επίπεδα των μεταβολιτών D(+)-αλτρόζη, D-γλυκόζη, D-(+)-μελεζιτόζη, ισομαλτόζη και σακχαρόζη πριν ή μετά τον άριστο χρόνο συγκομιδής. Αντίθετα, το επίπεδο της D-λυξόζης παρουσιάστηκε αυξημένο κατά το στάδιο 1 όπως και αυτό της μαλτόζης (σχεδόν 72 φορές υψηλότερη συγκέντρωση) που μειώθηκε στα επόμενα στάδια. Από την κατηγορία των πολυολών, το επίπεδο της D-μαννιτόλης ήταν σημαντικά μειωμένο κατά το στάδιο 1, ενώ αυξημένο στα μεταγενέστερα στάδια.

Σε αντίθεση με τις παραπάνω κατηγορίες μεταβολιτών, τα επίπεδα των οποίων εμφανίστηκαν μειωμένα είτε πριν είτε μετά τον άριστο χρόνο συγκομιδής, οι συγκεντρώσεις των αμινοξέων στα αντίστοιχα στάδια παρουσίασαν σημαντικές αυξήσεις. Συγκεκριμένα, η Β-αλανίνη και η L-ασπαραγίνη αυξήθηκαν κατά το στάδιο 3 ενώ το ασπαρτικό οξύ και η L-θρεονίνη κατά το στάδιο 1. Επίσης, η L-ομοσερίνη παρουσίασε αυξημένη συγκέντρωση κατά τη μετάβαση από το στάδιο 1 στο στάδιο 3, αντίστοιχα με τις συγκεντρώσεις των οργανικών οξέων κιτρομηλικό, κιτρικό και D-μηλικό. Αντίθετα, τα επίπεδα του μαλαμικού οξέος ήταν σημαντικά αυξημένα κατά το στάδιο 1, με τη συγκέντρωση του συγκεκριμένου μεταβολίτη να μηδενίζεται μετά το στάδιο 2. Στην ίδια κατηγορία μεταβολιτών, τα επίπεδα του βλεννικού και πυρουβικού οξέος παρουσιάστηκαν μειωμένα πριν και μετά το στάδιο 2, ενώ οι συγκεντρώσεις του τρυγικού και γλυκερικού οξέος μειώθηκαν σημαντικά στο στάδιο 3.

Τα επίπεδα των λιπαρών οξέων αραχιδικό και καπρικό ανιχνεύθηκαν μειωμένα κατά το στάδιο 1, με το τελευταίο να παρουσιάζει σημαντική αύξηση στο στάδιο 3. Η

πλειοψηφία των αζωτούχων ουσιών παρουσιάστηκε αυξημένη πριν και μετά τον άριστο χρόνο συγκομιδής. Συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις της αδενίνης, του 1-μέθυλο-νικοτιναμίδιου και της L-μιμοσίνης καταγράφηκαν 7, 4 και 10 φορές αντίστοιχα ανώτερες κατά το στάδιο 3 σε σχέση με το στάδιο 2.

Τέλος, η συγκέντρωση των μεταβολιτών D-λυξοσιλαμίνης, λακτοβιονικού οξέος και φαίνυλο-b-γλυκοπυρανοσιδίου μεταβλήθηκαν σημαντικά τόσο πριν όσο και μετά το ιδανικό στάδιο συγκομιδής.

Οι συγκρίσεις των επιπέδων συγκέντρωσης των μεταβολιτών μεταξύ των σταδίων για την ποικιλία Urja κατέδειξαν σημαντικές μεταβολές για 29 μεταβολίτες, με τις 22 να αφορούν τη σύγκριση των σταδίων 1- 2 και τις 13 τη σύγκριση των σταδίων 2 και 3. Στην κατηγορία των ζαχάρων, η D-λυξόζη, λακτόζη και σακχαρόζη μειώθηκαν τόσο πριν όσο και μετά το στάδιο 2. Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις της D-(+)τρεχαλόζης, φρουκτόζης, ισομαλτόζης, ραφινόζης και μαλτόζης παρουσιάστηκαν αυξημένες κατά το στάδιο 1. Οι πολυόλες γλυκερόλη και μυο-ινοσιτόλη ήταν σημαντικά αυξημένες κατά το στάδιο 1.

Σε αντίθεση με την ποικιλία Sugar Graze, οι συγκεντρώσεις των αμινοξέων ήταν σημαντικά μειωμένες πριν και μετά το ιδανικό στάδιο συγκομιδής. Τα επίπεδα της L-ασπαραγίνης και L-ομοσερίνης ήταν μειωμένα στο στάδιο 1 ενώ η L-γλουταμίνη και L-προλίνη μειώθηκαν κατά τη μετάβαση στο στάδιο 3.

Από την κατηγορία των οργανικών οξέων το DL-3-αμινο-βουτυρικό οξύ παρουσιάστηκε σημαντικά αυξημένο πριν και μετά το στάδιο 2 ενώ οι συγκεντρώσεις του οξαλικού, γλυκερικού και φωσφογλυκολικού οξέος ήταν μειωμένες. Επίσης, το επίπεδο συγκέντρωσης του DL-4-υδρόξυλο-μανδελικό οξέος ήταν σημαντικά μειωμένο κατά το στάδιο 1 ενώ αντίθετα οι συγκεντρώσεις των μεταβολιτών πιπεκολικό, πυρουβικό και σικιμικό οξύ ήταν σημαντικά αυξημένες κατά το πρώτο στάδιο και μειώνονταν στα μεταγενέστερα στάδια.

Στην κατηγορία των φωσφορικών αλάτων, το φωσφορικό οξύ παρουσιάστηκε σημαντικά μειωμένο στο στάδιο 1 ενώ από την κατηγορία των αζωτούχων ουσιών τα επίπεδα συγκέντρωσης του 1-μέθυλο-νικοτιναμίδιου και του κουινικού οξέος έβαιναν μειούμενα μέχρι το στάδιο 3. Τέλος, οι συγκεντρώσεις της λακτόνης, του γουλονικού οξέος και της N-εθυλογλυκίνης εμφανίστηκαν σημαντικά μειωμένες τόσο πριν όσο και μετά τον άριστο χρόνο συγκομιδής, ενώ η N-μεθυλαλανίνη ήταν σημαντικά μειωμένη στο στάδιο 3.

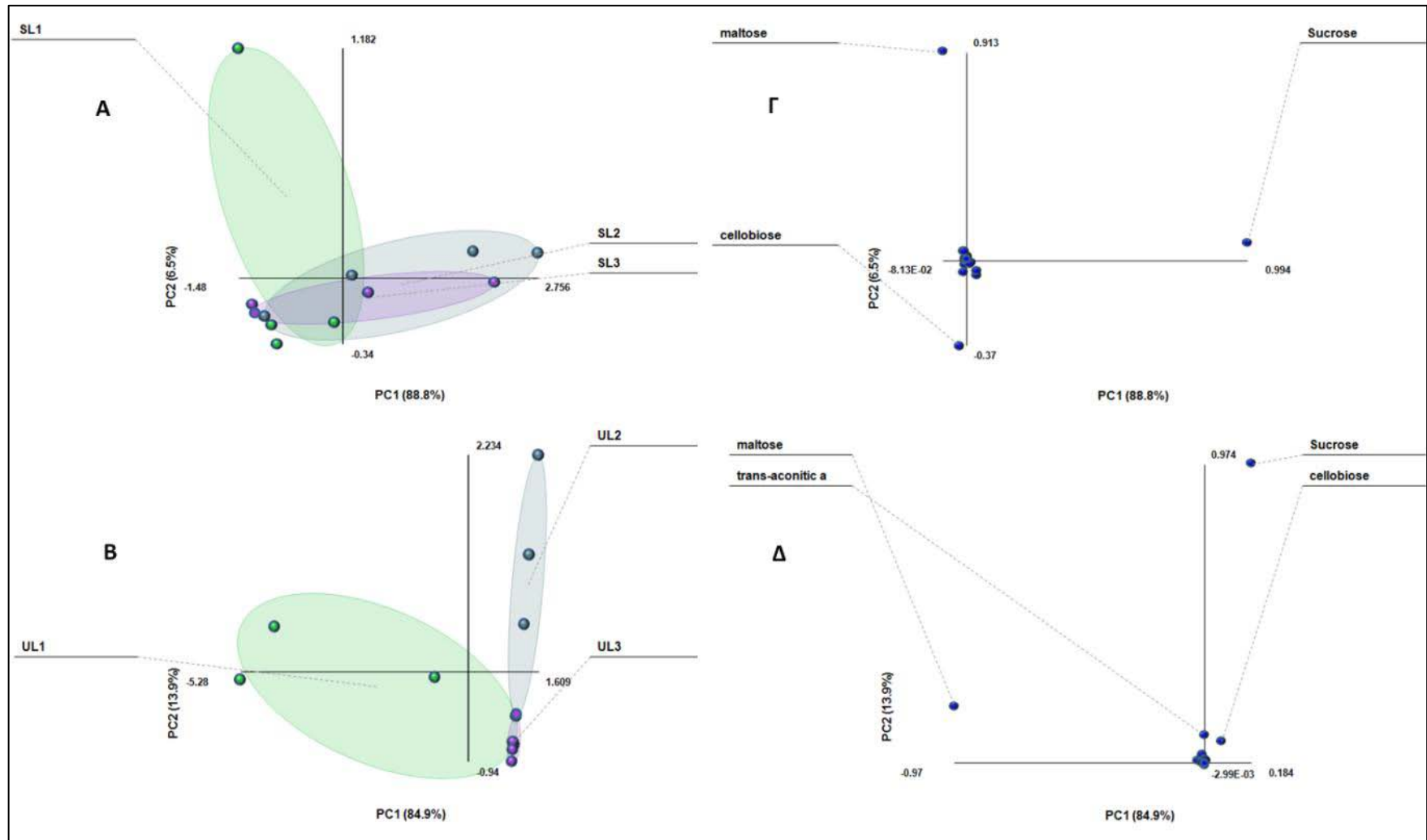
Πίνακας 3.13. Μεταβολίτες που ανιχνεύθηκαν σε φύλλα των δύο ποικιλιών

Ακολούθησε πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση με τη μέθοδο των κυρίων συνιστωσών (PCA) για την ομαδοποίηση των σταδίων δειγματοληψίας σε σχέση με τους μεταβολίτες (Σχήμα 3.2). Για την ποικιλία Sugar Graze, η PCA πέτυχε μέτριο διαχωρισμό των σταδίων δειγματοληψίας, με την πρώτη συνιστώσα να εξηγεί το 88.8% της παραλλακτικότητας. Η ομαδοποίηση των σταδίων δειγματοληψίας κατέδειξε μέτριο διαχωρισμό μεταξύ των σταδίων 1 και 2, 3, ενώ η ομαδοποίηση των σταδίων 2 και 3 δεν έδωσε σαφή διαχωρισμό. Η δεύτερη συνιστώσα της PCA εξήγησε το 6.5% της παραλλακτικότητας με τα αποτελέσματα να μη διαφέρουν από αυτά της πρώτης συνιστώσας.

Επίσης, η PCA χρησιμοποιήθηκε έτσι ώστε να εντοπιστούν οι μεταβολίτες που παραλλάσσουν σημαντικά στα διάφορα στάδια, με τους πλέον σημαντικούς να ανήκουν στην κατηγορία των ζαχάρων. Η πρώτη συνιστώσα της PCA επηρεάστηκε κατά κύριο λόγο από τη σακχαρόζη, ενώ η δεύτερη από τους μεταβολίτες μαλτόζη και κελλοβιόζη.

Όσον αφορά την ποικιλία Urja, η ανάλυση κυρίων συνιστωσών πέτυχε ικανοποιητικό διαχωρισμό μεταξύ των σταδίων δειγματοληψίας. Η πρώτη συνιστώσα εξήγησε το 84.9% της παραλλακτικότητας, με το στάδιο 1 να διαχωρίζεται ικανοποιητικά από τα μεταγενέστερα στάδια δειγματοληψίας, ενώ τα στάδια 2 και 3 παρουσίασαν μέτριο διαχωρισμό. Η δεύτερη συνιστώσα εξήγησε το 13.9% της παραλλακτικότητας επιτυγχάνοντας καλύτερο διαχωρισμό μεταξύ των σταδίων δειγματοληψίας.

Η PCA για τον προσδιορισμό των εντονότερα μεταβαλλόμενων μεταβολιτών υπέδειξε τη σακχαρόζη και την κελλοβιόζη για την πρώτη συνιστώσα, και τη μαλτόζη και τρανσ-ακονιτικό οξύ για τη δεύτερη.



Σχήμα 3.2. PCA για τα στάδια δειγματοληψιών (A,B) και τους μεταβολίτες (Γ,Δ) στα φύλλα των ποικιλιών Sugar Graze(A,Γ) και Urja (B,Δ)

3.3.2 Μεταβολομική ανάλυση στελεχών

Στα στελέχη ανιχνεύθηκαν 121 μεταβολίτες εκ των οποίων οι 117 ήταν κοινοί και για τις δύο ποικιλίες. Συγκεκριμένα, ανιχνεύθηκαν 117 και 118 μεταβολίτες για τις ποικιλίες Sugar Graze και Urja αντίστοιχα, οι οποίοι ανήκουν στις κατηγορίες των ζαχάρων, πολυολών, αμινοξέων, οργανικών οξέων, φωσφορικών αλάτων, αζωτούχων ουσιών και άλλων. Οι μεταβολές όπως και στην αντίστοιχη ανάλυση των φύλλων περιγράφηκαν ως λόγοι προς το στάδιο 2 (στάδιο αναφοράς), ενώ ακολούθησε σύγκριση των επιπέδων των μεταβολιτών μεταξύ των σταδίων 1-2, 2-3 και 2-4. Συμπληρωματικά, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των σταδίων 3 και 4 ώστε να ελεγχθούν οι διαφορές στις συγκεντρώσεις των μεταβολιτών μεταξύ των σταδίων αυτών (Πίνακας 3.14).

Οι συγκρίσεις για την ποικιλία Sugar Graze, κατέδειξαν σημαντικές μεταβολές για 42 συστατικά εκ των οποίων 10, 24 και 24 αφορούσαν τη μετάβαση από το στάδιο 1 στο 2, 2 στο 3 και 2 στο 4 αντίστοιχα. Όπως αναμενόταν, κατά τη μετάβαση από το στάδιο 2 στα στάδια 3 και 4, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές σε αρκετά συστατικά της κατηγορίας των ζαχάρων. Η D-αλλόζη παρουσίασε σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις και στα στάδια 3 και 4 ενώ η μελιβιόζη και η ραφινόζη παρουσίασαν σημαντική αύξηση στο στάδιο 4. Αντίθετα, η συγκέντρωση της D-(+)τρεχαλόζης ήταν μειωμένη τόσο πριν όσο και μετά τον άριστο χρόνο συγκομιδής. Οι μεταβολές στο επίπεδο της φρουκτόζης αφορούσαν μείωση στο στάδιο 3 και αύξηση στο στάδιο 4.

Στην κατηγορία των αμινοξέων σημαντικές διαφοροποιήσεις καταγράφηκαν για τα συστατικά ασπαρτικό οξύ, DL-ισολευκίνη, γλυκίνη, L-ασπαραγίνη, L-γλουταμικό οξύ, L-γλουταμίνη, L-προλίνη L-σερίνη, L-θρεονίνη, φαινυλανίνη και τυροσίνη, με τις πιο σημαντικές μεταβολές να αφορούν την L-γλουταμίνη και τη φαινυλανίνη οι συγκεντρώσεις των οποίων παρουσιάστηκαν αυξημένες. Επίσης, ιδιαίτερως αυξημένες παρουσιάστηκαν οι συγκεντρώσεις του συστατικού τυροσίνη (σχεδόν 110 φορές) στο στάδιο 3. Αντίθετα, οι μεταβολίτες DL-ισολευκίνη, L-γλουταμικό οξύ και L-θρεονίνη παρουσιάστηκαν σημαντικά μειωμένοι στο στάδιο 4.

Από την κατηγορία των οργανικών οξέων, σημαντικά αυξημένα επίπεδα καταγράφηκαν για τα συστατικά 4-υδροξυ-κινναμικό οξύ, κιτρομηλικό οξύ, σικιμικό οξύ και D-σακχαρικό οξύ στο στάδιο 3, με το τελευταίο να παρουσιάζει ιδιαίτερως αυξημένη συγκέντρωση (σχεδόν 185 φορές). Επίσης, το ιτακονικό οξύ όπως και το πυρουβικό οξύ βρεθήκαν σημαντικά αυξημένα στα στάδια 3 και 4, ενώ το μηλεϊνικό και βλεννικό οξύ αυξήθηκαν σημαντικά κατά το στάδιο 4. Αντίθετα, το οξαλικό οξύ μειώθηκε σημαντικά στα στάδια 3 και 4, ενώ το D-μηλικό και το φουμαρικό οξύ παρουσίασαν σταδιακή αύξηση στα μεταγενέστερα στάδια.

Από την κατηγορία των λιπαρών οξέων, το 4-γουανιδοβουτυρικό οξύ βρέθηκε σημαντικά μειωμένο στα στάδια 1 και 4, ενώ στην κατηγορία των αζωτούχων ουσιών οι πιο σημαντικές μεταβολές παρουσιάστηκαν στα επίπεδα της αλλαντοΐνης τα οποία ήταν αυξημένα στα στάδια πριν και μετά το στάδιο της μαλακής ζύμης με τις πιο σημαντικές αυξήσεις να παρουσιάζονται στα στάδια 1 και 4. Στην ίδια κατηγορία μεταβολιτών, η πουτρεσκίνη και το κουνικό οξύ παρουσιάστηκαν αυξημένα στο στάδιο 3 ενώ η αδενοσίνη παρουσίασε σημαντικά χαμηλές συγκεντρώσεις στο στάδιο 1.

Επίσης, σημαντικές αυξήσεις παρουσιάστηκαν για το 2-κετο-L-γουλονικό και το κιτρακονικό οξύ στα στάδια 3 και 4, ενώ το πυρόλινο-2-καρβοξυλικό οξύ βρέθηκε σημαντικά αυξημένο στο στάδιο 4. Τέλος, η συγκέντρωση των μεταβολιτών αρμπουτίνη, ισοπρόπυλο-b-D-1-θειογαλαντοπυρανοσίδιο, λακτοβιονικό οξύ, λουμαζίνη και μέθυλο-b-D-γαλακτοπυρανοσίδιο μεταβλήθηκαν σημαντικά σε τουλάχιστον ένα στάδιο είτε πριν είτε μετά τον άριστο χρόνο συγκομιδής.

Η μεταβολομική ανάλυση στα στελέχη της ποικιλίας Urja, κατέδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των σταδίων 1-2, 2-3 και 2-4 για 16, 12 και 25 μεταβολίτες αντίστοιχα. Όπως στην ποικιλία Sugar Graze, έτσι και για την Urja παρουσιάστηκαν σημαντικές μεταβολές σε αρκετούς μεταβολίτες της κατηγορίας των ζαχάρων. Η D-αλλόζη παρουσίασε μειωμένα επίπεδα στο στάδιο 4, ενώ η μαλτόζη και η σακχαρόζη παρουσίασαν μειωμένα επίπεδα στα στάδια 1 και 3. Αντίθετα, σημαντική αύξηση συγκεντρώσεων βρέθηκε στα επίπεδα της D-μαννόζης πριν και μετά το στάδιο 2, ενώ η μελιβιόζη παρουσιάστηκε αυξημένη στο στάδιο 3. Επίσης, κατά το στάδιο 4 παρουσιάστηκε σημαντική άνοδος των συγκεντρώσεων της D-γλυκόζης, φρουκτόζης και ραφινόζης.

Στην κατηγορία των πολυολών, η μυο-ινοσιτόλη αυξήθηκε σημαντικά στα στάδια 3 και 4, ενώ τα αμινοξέα γλυκίνη και L-λευκίνη μειώθηκαν κατά το στάδιο 3 σε αντίθεση με τις συγκεντρώσεις των L-ασπαραγίνη και L-θρυπτοφάνη οι οποίες αυξήθηκαν. Κατά το στάδιο 4, η Β-αλανίνη, DL-ισολευκίνη, L-μεθειονίνη, φαινυλανίνη, τυροσίνη και τρανσ-3-υδροξυ-L-προλίνη παρουσίασαν σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις, ενώ το επίπεδο της L-λυσίνης μειώθηκε.

Από την κατηγορία των οργανικών οξέων, οι συγκεντρώσεις του 4-υδροξυ-κινναμικού, D-μηλικού και βλεννικού οξέος μειώθηκαν στο στάδιο 3, ενώ σημαντικές διαφοροποιήσεις παρουσιάστηκαν στα επίπεδα του βενζοϊκού οξέος, κιτρομηλικού οξέος, D-μηλικού οξέος, σικιμικού οξέος και ουρικού οξέος κατά το στάδιο 4. Για την ίδια κατηγορία μεταβολιτών, αυξημένες συγκεντρώσεις καταγράφηκαν για το 4-γουανιδοβουτυρικό (31 φορές) και το μυριστικό οξύ (4 φορές) κατά το στάδιο 4.

Οι συγκεντρώσεις των 6-φωσφορική-D-γλυκόζη και Ο-φωσφοκολαμίνη της κατηγορίας των φωσφορικών αλάτων βρέθηκαν μειωμένες στο στάδιο 1, ενώ όσον αφορά την κατηγορία των αζωτούχων συστατικών οι μεταβολίτες αλλαντοΐνη, L-νορλευκίνη, N-ακέτυλο-D-γλυκοζαμίνη και κουνικό οξύ παρουσίασαν σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις μετά τον άριστο χρόνο συγκομιδής. Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις των b-κυανο-L-αλανίνης, πουτρεσκίνης και ουρίας παρουσιάστηκαν μειωμένες στο στάδιο 1 με την ουρία να αυξάνεται στο στάδιο 3.

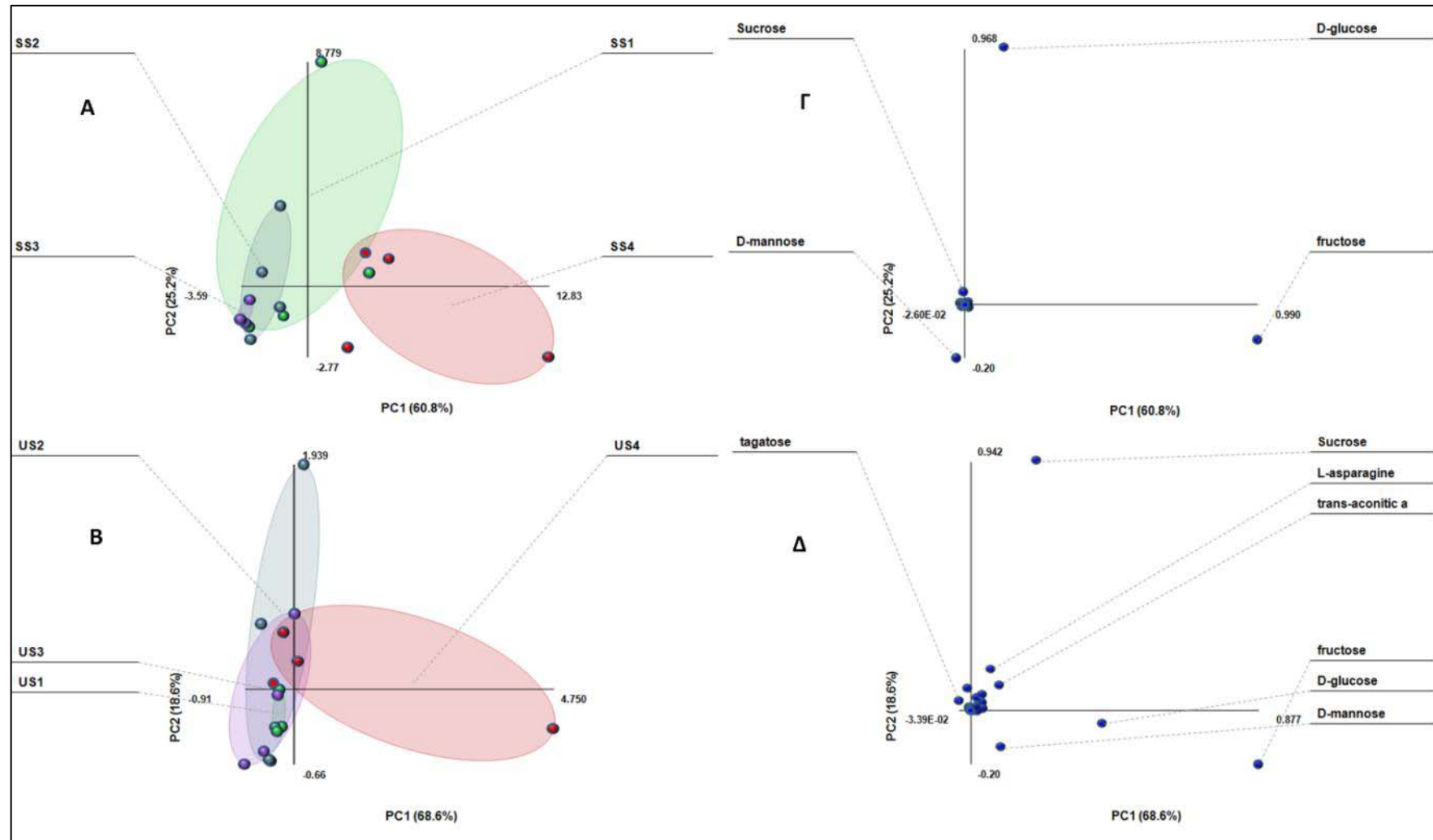
Τέλος, η ακετόλη, η λουμαζίνη, το μέθυλο-b-D-γαλακτοπυρανοσίδιο, η προυετίνη, το σουλφοξείδιο-L-μεθειονίνης και το ισοπρόπυλο-b-D-1-θειογαλαντοπυρανοσίδιο μεταβλήθηκαν σημαντικά πριν και μετά τον άριστο χρόνος συγκομιδής. Οι συγκεντρώσεις των δύο τελευταίων μεταβολιτών παρουσιάστηκαν σημαντικά αυξημένες στα στάδια 3 και 4.

Πίνακας 3.14. Μεταβολίτες που ανιχνεύθηκαν σε στελέχη των δύο ποικιλιών

Η PCA των μεταβολιτών στα στελέχη της ποικιλίας Sugar Graze, πέτυχε ικανοποιητικό διαχωρισμό μεταξύ των σταδίων δειγματοληψίας. Η πρώτη συνιστώσα εξήγησε το 60.8% της παραλλακτικότητας και παρείχε μέτριο διαχωρισμό μεταξύ των τεσσάρων υπό μελέτη σταδίων. Το στάδιο 4 διαφοροποιήθηκε ικανοποιητικά ενώ τα στάδια 1, 2 και 3 δεν παρουσίασαν σαφή διαχωρισμό. Η δεύτερη συνιστώσα εξήγησε το 25.2% της παραλλακτικότητας και παρείχε επαρκή διαφοροποίηση μόνο για το στάδιο 3. Παράλληλα, η PCA κατέδειξε την άμεση εξάρτηση των ζαχάρων από τα διάφορα στάδια δειγματοληψίας. Σύμφωνα με την πρώτη συνιστώσα, μεγαλύτερες μεταβολές παρουσίασαν η φρουκτόζη και D-γλυκόζη, ενώ σύμφωνα με τη δεύτερη η σακχαρόζη και η D-μαννόζη.

Όσον αφορά τα στελέχη της ποικιλίας Urja, η PCA δεν έδωσε σαφή διαχωρισμό μεταξύ των σταδίων δειγματοληψίας. Η πρώτη συνιστώσα εξήγησε το 68.6% της παραλλακτικότητας χωρίς να παρέχει διακριτή διαφοροποίηση των σταδίων δειγματοληψίας, ενώ η δεύτερη εξήγησε το 18.6% της παραλλακτικότητας διαχωρίζοντας ικανοποιητικά μόνο το στάδιο 1.

Επίσης, από την PCA προέκυψαν ως σημαντικότεροι οι μεταβολίτες σακχαρόζη, L-ασπαραγίνη, τρανσ-ακονιτικό οξύ, φρουκτόζη, D-γλυκόζη και D-μαννόζη για την πρώτη συνιστώσα και αντίστοιχα, η ταγκατόζη για τη δεύτερη (Σχήμα 3.3).



Σχήμα 3.3. PCA για τα στάδια δειγματοληψιών (A,B) και τους μεταβολίτες (Γ,Δ) στα στελέχη των ποικιλιών Sugar Graze(A,Γ) και Urja (B,Δ)

3.4 Μεταγραφομική ανάλυση

Με στόχο τη μελέτη της ποσοτικής έκφρασης σημαντικών γονιδίων που υπεισέρχονται στο μεταβολισμό των ζαχάρων, αναλύθηκαν τα μεταγραφήματα των γονιδίων: συνθάση της σακχαρόζης, συνθάση της φωσφορικής σακχαρόζης και β-φρουκτοφουρανοσιδάση.

3.4.1 Μεταγραφομική ανάλυση φύλλων

Στα φύλλα της ποικιλίας Sugar Graze, το επίπεδο συσσώρευσης του μεταγραφήματος δύο γονιδίων- στόχων παρουσιάστηκε σημαντικά μειωμένο κατά το πρώτο στάδιο ενώ κατά το τρίτο στάδιο, όλα τα υπό μελέτη γονίδια παρουσίασαν σημαντική αύξηση (Πίνακας 3.15). Αντίστοιχα, στα φύλλα της ποικιλίας Urja όλα τα γονίδια παρουσίασαν σημαντικά μειωμένη έκφραση τόσο πριν όσο και μετά τον άριστο χρόνο συγκομιδής (Πίνακας 3.16).

Στην ποικιλία Sugar Graze ειδικότερα, οι συνθάσες της σακχαρόζης (αριθμοί καταχώρησης: SORBI_01g033060, SORBI_01g035890 και SORBI_04g038410) παρουσιάστηκαν αυξημένες από 4 έως 6 φορές στο στάδιο 3. Στην ίδια κατηγορία γονιδίων, η ποικιλία Urja εμφάνισε μεγιστοποίηση των επιπέδων έκφρασης κατά το στάδιο 2, με τη συγκέντρωση των μεταγραφημάτων να κυμαίνεται σε παρόμοια επίπεδα πριν και μετά τον άριστο χρόνο συγκομιδής.

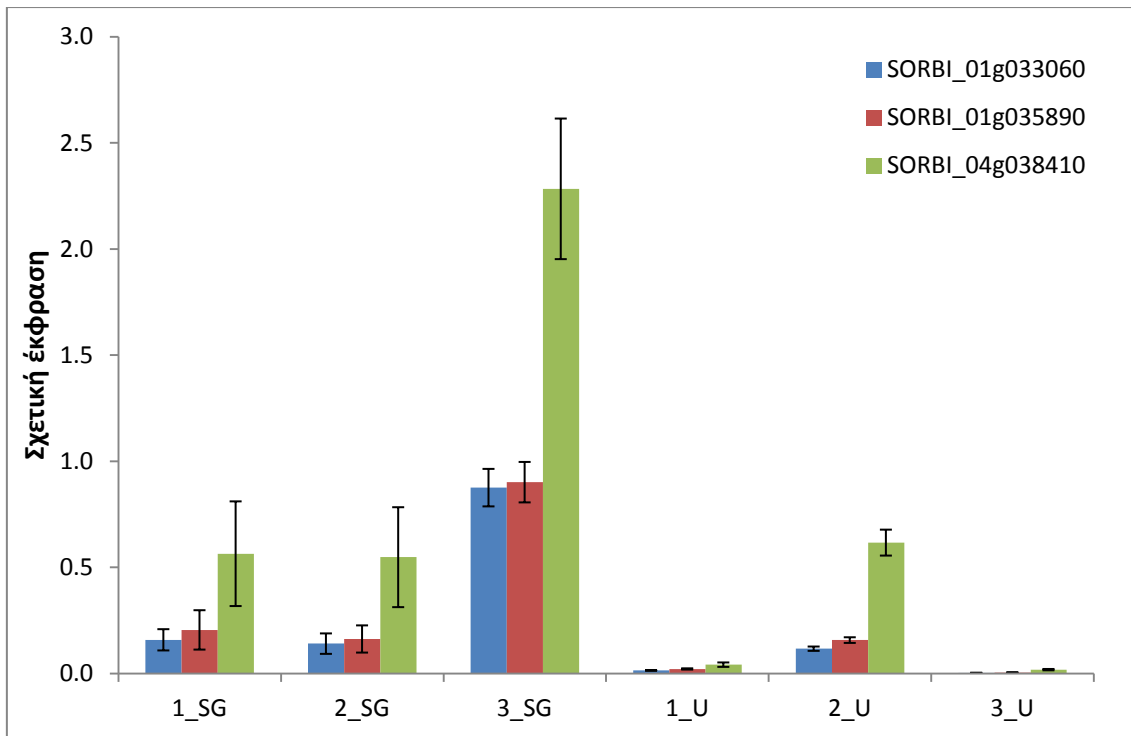
Τα γονίδια- στόχοι της κατηγορίας των συνθασών της φωσφορικής σακχαρόζης (αριθμοί καταχώρησης SORBI_03g043900, SORBI_04g005720 και SORBI_09g028570) όπως επίσης και των β-φρουκτοφουρανοσιδασών (αριθμοί καταχώρησης SORBI_0067s002010, SORBI_0067s002110, SORBI_01g008910, SORBI_03g047060, SORBI_06g023760, SORBI_06g031910 και SORBI_06g031930) εμφάνισαν παρόμοια αποτελέσματα και για τις δύο υπό μελέτη ποικιλίες, με την έκφραση τους να μεγιστοποιείται κατά τα στάδια 3 και 2 για την ποικιλία Sugar Graze και την Urja αντίστοιχα (Διαγράμματα 3.1- 3.3).

Πίνακας 3.15. Σχετική έκφραση των γονιδίων-στόχων στα φύλλα της ποικιλίας Sugar Graze

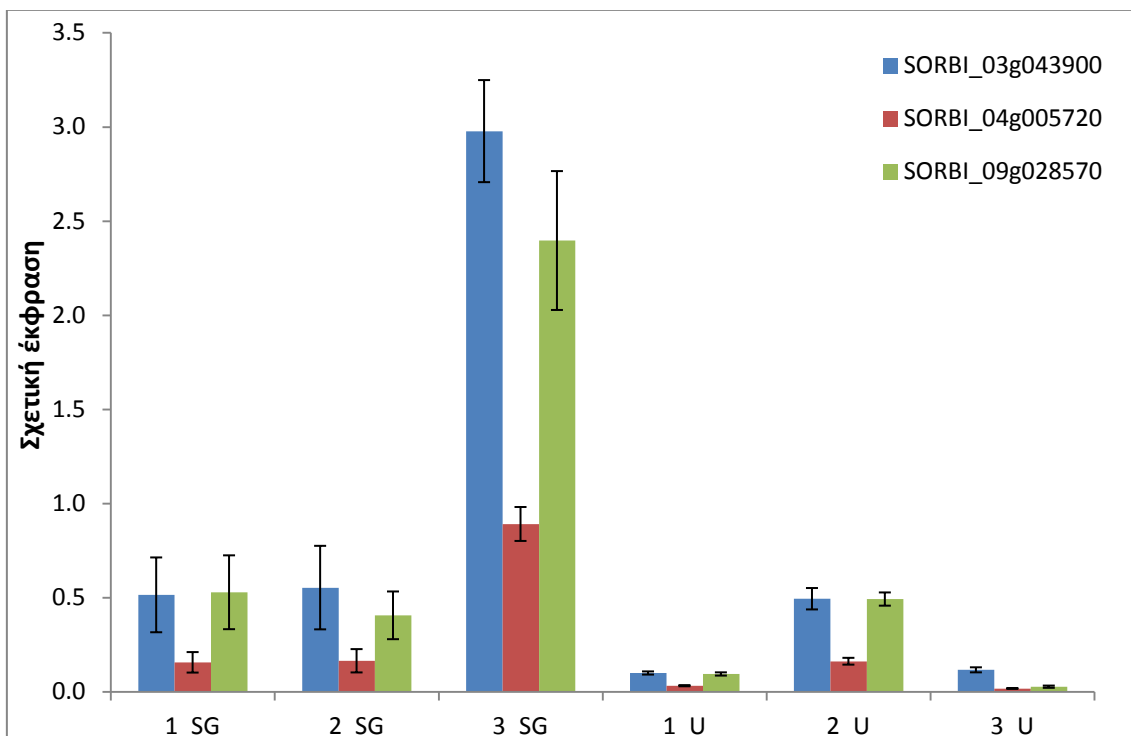
	Στάδιο						t-tests	
	1		2		3		2-1	2-3
	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση		
Συνθάση σακχαρόζης	0.1586	0.0501	0.1405	0.0482	0.8756	0.0884	0.45	<0.001
Συνθάση σακχαρόζης	0.2053	0.0928	0.1625	0.0641	0.9014	0.0953	0.27	<0.001
Συνθάση σακχαρόζης	0.5643	0.2466	0.5479	0.2354	2.2837	0.3312	0.89	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.5151	0.1986	0.5536	0.2218	2.9777	0.2710	0.70	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.1567	0.0544	0.1650	0.0619	0.8914	0.0901	0.77	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.5288	0.1961	0.4063	0.1267	2.3966	0.3687	0.14	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.7308	0.3375	0.7295	0.3287	4.4122	0.4242	0.99	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.3456	0.1546	0.5627	0.2500	2.9115	0.3586	0.04	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.2073	0.0851	0.3400	0.1249	1.5604	0.1380	0.02	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.3388	0.1145	0.4781	0.1835	2.0970	0.2039	0.07	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.0674	0.0151	0.3201	0.1493	0.8557	0.1931	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.2313	0.0942	0.2843	0.1233	1.7871	0.1750	0.32	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.0519	0.0124	0.3057	0.1319	2.1345	0.2587	<0.001	<0.001

Πίνακας 3.16. Σχετική έκφραση των γονιδίων-στόχων στα φύλλα της ποικιλίας Urja

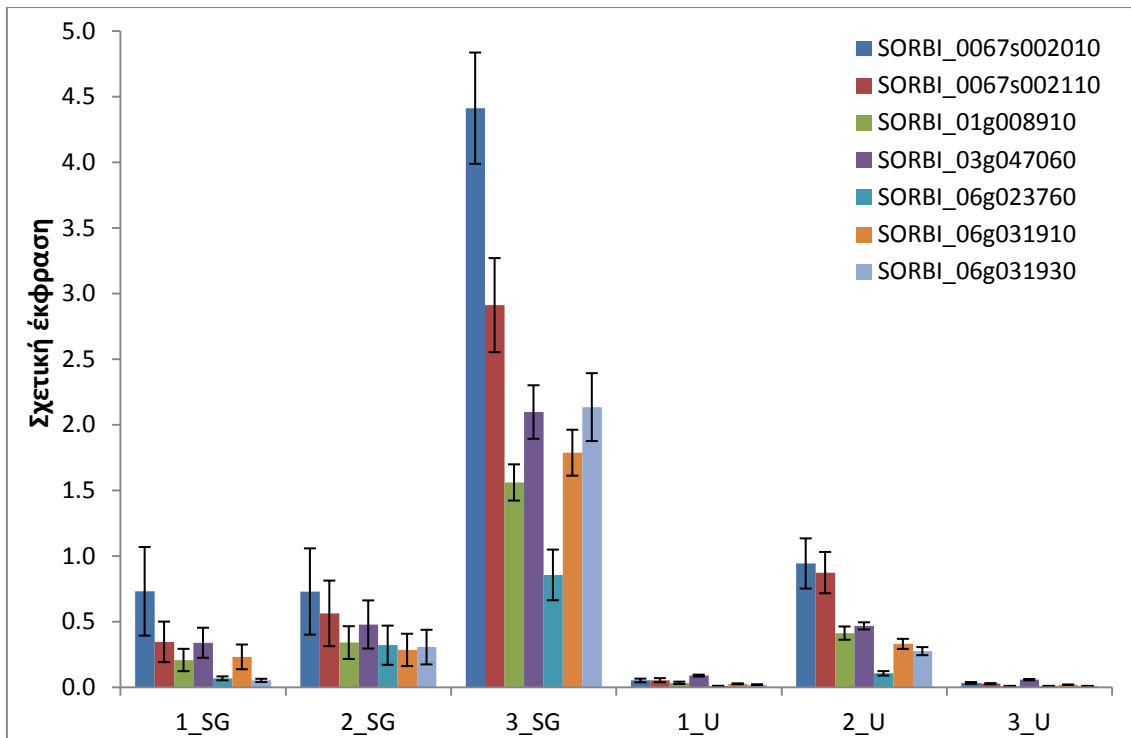
	Στάδιο						t-tests	
	1		2		3		2-1	2-3
	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση		
Συνθάση σακχαρόζης	0.0143	0.0013	0.1167	0.0102	0.0029	0.0004	<0.001	<0.001
Συνθάση σακχαρόζης	0.0212	0.0029	0.1572	0.0133	0.0042	0.0006	<0.001	<0.001
Συνθάση σακχαρόζης	0.0414	0.0104	0.6166	0.0611	0.0180	0.0032	<0.001	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.1001	0.0084	0.4945	0.0568	0.1169	0.0133	<0.001	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.0325	0.0031	0.1625	0.0181	0.0180	0.0024	<0.001	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.0949	0.0086	0.4927	0.0351	0.0273	0.0060	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.0516	0.0139	0.9429	0.1914	0.0327	0.0066	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.0538	0.0154	0.8734	0.1574	0.0272	0.0039	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.0333	0.0090	0.4123	0.0506	0.0094	0.0011	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.0887	0.0074	0.4674	0.0271	0.0576	0.0050	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.0094	0.0017	0.1059	0.0169	0.0091	0.0012	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.0260	0.0035	0.3304	0.0383	0.0189	0.0022	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.0187	0.0038	0.2749	0.0307	0.0091	0.0012	<0.001	<0.001



Διάγραμμα 3.1. Σχετική έκφραση των συνθασών της σακχαρόζης ανά στάδιο (1,2,3) σε φύλλα των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)



Διάγραμμα 3.2. Σχετική έκφραση των συνθασών της φωσφορικής σακχαρόζης ανά στάδιο (1,2,3) σε φύλλα των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)



Διάγραμμα 3.3. Σχετική έκφραση των β -φρουκτοφουρανοσιδασών ανά στάδιο (1,2,3) σε φύλλα των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)

3.4.2 Μεταγραφομική ανάλυση στελεχών

Η μεταγραφομική ανάλυση στα στελέχη της ποικιλίας Sugar Graze κατέδειξε σημαντικά μειωμένη έκφραση δύο γονιδίων-στόχων στο στάδιο 1, ενώ όλα τα υπό μελέτη γονίδια παρουσίασαν σημαντική μείωση κατά το στάδιο 3. Αντίθετα, κατά το στάδιο 4 όλα τα γονίδια εμφανίστηκαν σημαντικά αυξημένα σε σχέση με τα στάδια 2 και 3 (Πίνακας 3.17). Η αντίστοιχη ανάλυση για την ποικιλία Urja, υπέδειξε πέντε γονίδια η έκφραση των οποίων μειώθηκε σημαντικά στο στάδιο 3, ενώ όλα τα γονίδια παρουσίασαν σημαντική αύξηση κατά τα στάδια 1 και 4 (Πίνακας 3.18).

Οι συνθέσεις της σακχαρόζης για τα στελέχη της ποικιλίας Sugar Graze παρουσίασαν παρόμοια επίπεδα έκφρασης για τα στάδια 1 και 2. Η συγκέντρωση εμφανίστηκε μειωμένη στο στάδιο 3 ενώ ακολούθησε μία αύξηση (2 έως 4.5 φορές) στο στάδιο 4. Όσον αφορά την ποικιλία Urja, η έκφραση της συγκεκριμένης κατηγορίας γονιδίων παρουσιάστηκε 2.5 έως 10.5 φορές μειωμένη στο στάδιο 1 απ' ότι στον άριστο χρόνο συγκομιδής. Κατά το στάδιο 3, η έκφραση παρέμεινε σε αντίστοιχα επίπεδα με αυτά του σταδίου 2, ενώ αυξήθηκε σημαντικά (2 έως 8.5 φορές) κατά το στάδιο 4.

Η σχετική έκφραση των γονιδίων της κατηγορίας των συνθασών της φωσφορικής σακχαρόζης, παρουσίασε μείωση κατά τη μετάβαση από το στάδιο 1 στο στάδιο 3 ενώ αυξήθηκε σημαντικά στο στάδιο 4 και για τις δύο ποικιλίες.

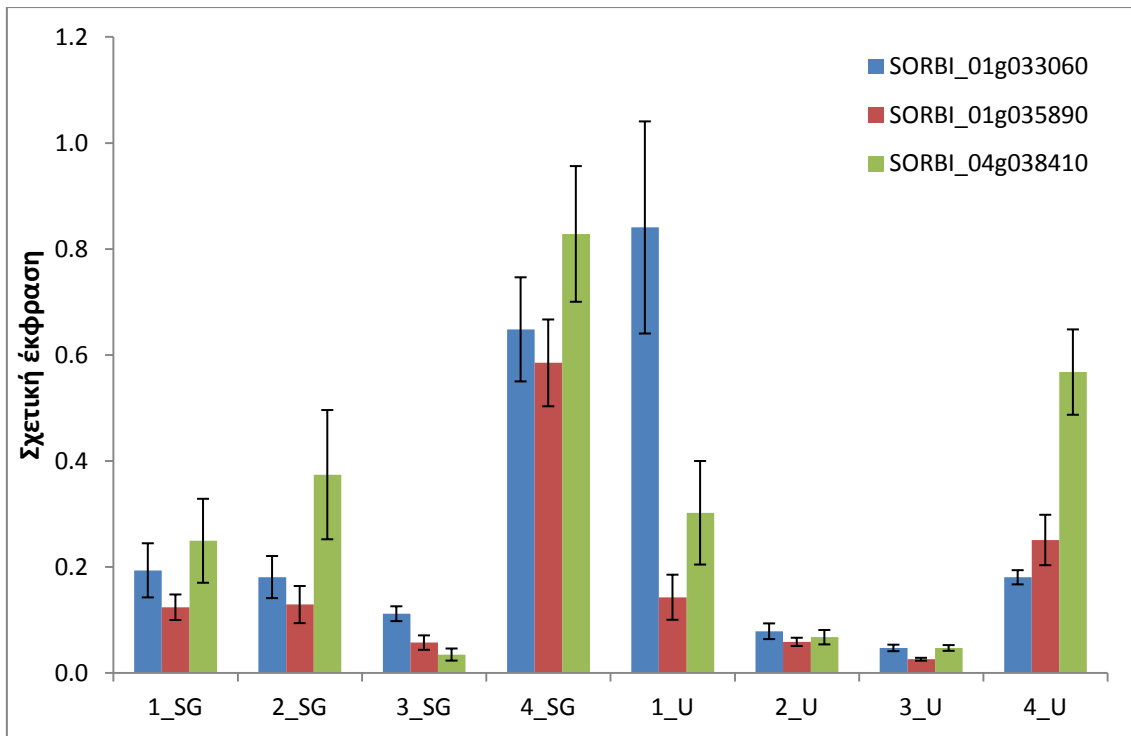
Η πορεία της σχετική έκφρασης των γονιδίων της κατηγορίας των β-φρουκτοφουρανοσιδασών ήταν διαφορετική για τις δύο ποικιλίες. Τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων στην Sugar Graze παρουσίασαν αύξηση κατά τη μετάβαση από το στάδιο 1 στο στάδιο 2 και στη συνέχεια μειώθηκαν στο στάδιο 3, ενώ η έκφραση των γονιδίων αυξήθηκε περισσότερο από 2 φορές στο στάδιο 4. Στην ποικιλία Urja παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων έκφρασης (3.5 φορές) κατά το στάδιο 2 με παρόμοια επίπεδα στο στάδιο 3, ενώ παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση (5.5 φορές) κατά το στάδιο 4 (Διαγράμματα 3.4- 3.6).

Πίνακας 3.17. Σχετική έκφραση των γονιδίων-στόχων στα στελέχη της ποικιλίας Sugar Graze

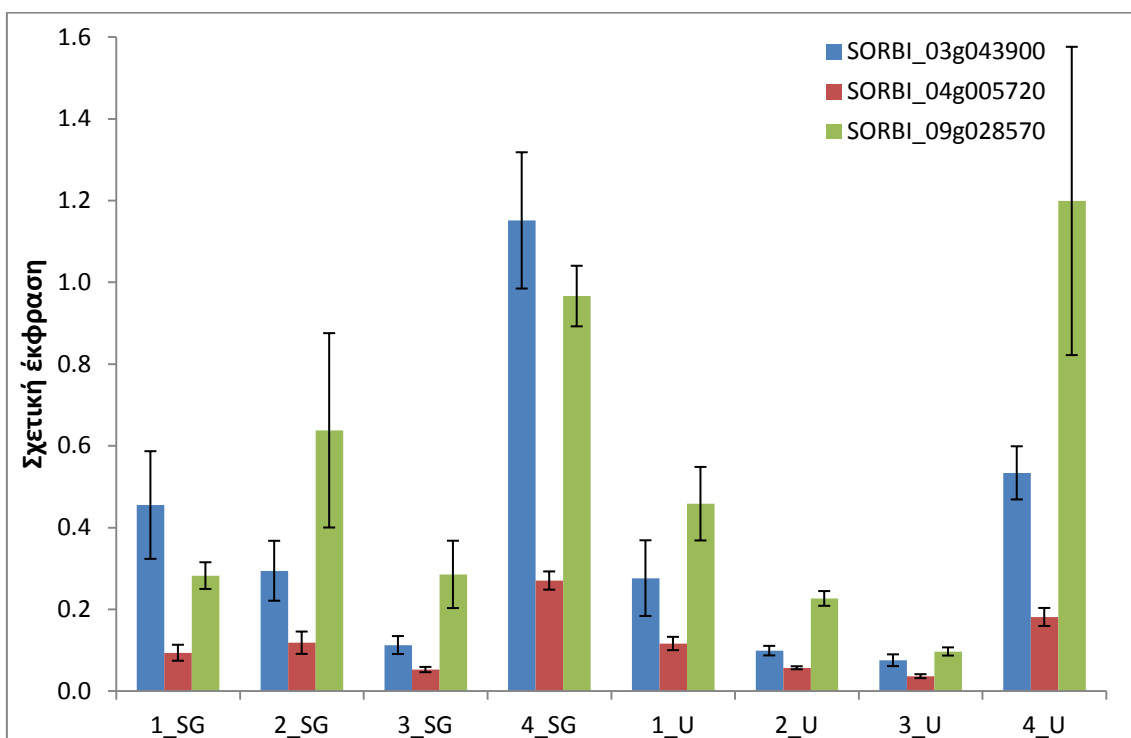
	Στάδιο											
	1		2		3		4		t-test			
	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	2-1	2-3	2-4	3-4
Συνθάση σακχαρόζης	0.1939	0.0511	0.1811	0.0397	0.1120	0.0140	0.6485	0.0982	0.56	<0.001	<0.001	<0.001
Συνθάση σακχαρόζης	0.1243	0.0241	0.1293	0.0350	0.0575	0.0136	0.5852	0.0819	0.73	<0.001	<0.001	<0.001
Συνθάση σακχαρόζης	0.2496	0.0792	0.3743	0.1219	0.0350	0.0114	0.8285	0.1280	0.02	<0.001	<0.001	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.4551	0.1317	0.2943	0.0733	0.1126	0.0219	1.1514	0.1667	0.01	<0.001	<0.001	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.0938	0.0195	0.1183	0.0273	0.0527	0.0064	0.2704	0.0223	0.04	<0.001	<0.001	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.2824	0.0327	0.6379	0.2377	0.2854	0.0824	0.9663	0.0741	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.3728	0.0996	0.3424	0.0862	0.0295	0.0063	0.9398	0.1417	0.50	<0.001	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.2686	0.0658	0.3200	0.1085	0.0396	0.0116	0.7964	0.0794	0.24	<0.001	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.2811	0.0729	0.5793	0.2271	0.0401	0.0099	1.2664	0.1110	0.00	<0.001	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.2739	0.0758	0.3970	0.1198	0.0878	0.0132	1.1224	0.0939	0.02	<0.001	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.0269	0.0096	0.1192	0.0610	0.0124	0.0047	0.2728	0.0612	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.2003	0.0530	0.2836	0.0985	0.0358	0.0102	0.8385	0.0781	0.04	<0.001	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.2184	0.0611	0.2038	0.0693	0.0390	0.0115	0.8292	0.1193	0.64	<0.001	<0.001	<0.001

Πίνακας 3.18. Σχετική έκφραση των γονιδίων-στόχων στα στελέχη της ποικιλίας Urja

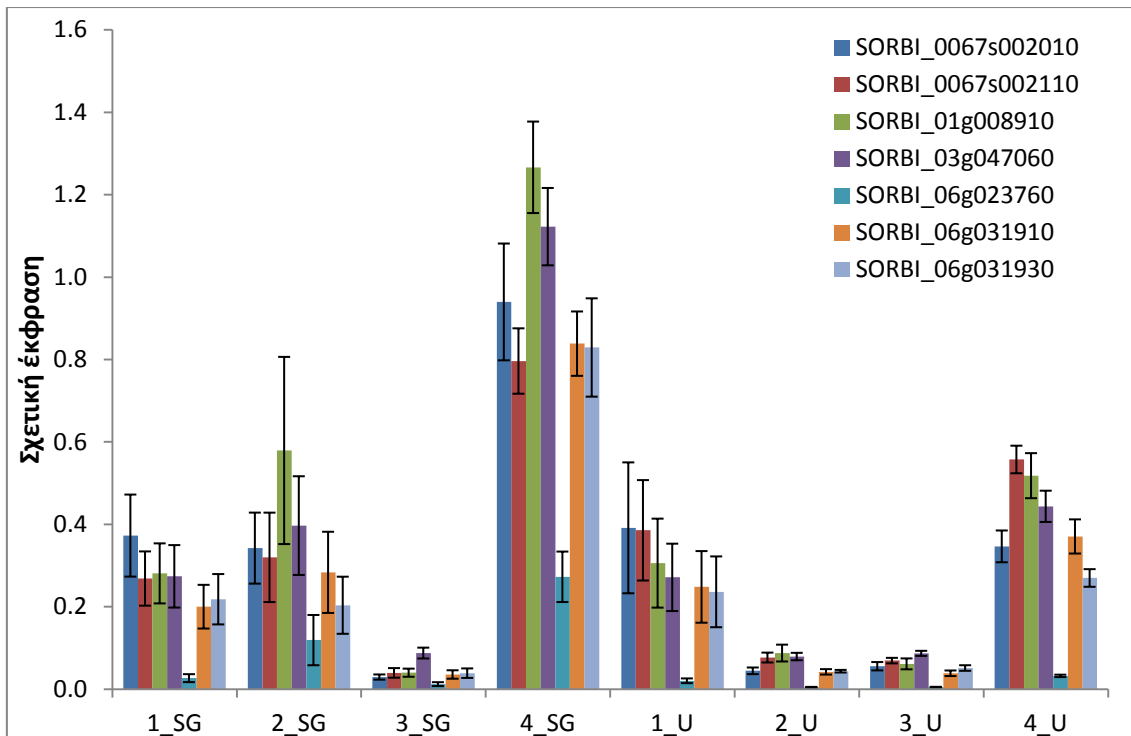
	Στάδιο											
	1		2		3		4		t-test			
	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	Σχετική Έκφραση	Τυπική απόκλιση	2-1	2-3	2-4	3-4
Συνθάση σακχαρόζης	0.8407	0.2001	0.0789	0.0148	0.0475	0.0061	0.1808	0.0134	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Συνθάση σακχαρόζης	0.1431	0.0425	0.0589	0.0078	0.0261	0.0027	0.2511	0.0476	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Συνθάση σακχαρόζης	0.3024	0.0977	0.0677	0.0136	0.0474	0.0054	0.5678	0.0805	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.2763	0.0926	0.0989	0.0117	0.0754	0.0144	0.5338	0.0650	<0.001	0.00	<0.001	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.1164	0.0163	0.0569	0.0037	0.0364	0.0048	0.1813	0.0220	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Συνθάση φωσφ/κής σακχαρόζης	0.4584	0.0899	0.2266	0.0180	0.0969	0.0100	1.1989	0.3771	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.3916	0.1588	0.0447	0.0080	0.0558	0.0101	0.3466	0.0386	<0.001	0.02	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.3856	0.1218	0.0768	0.0120	0.0695	0.0067	0.5575	0.0335	<0.001	0.13	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.3060	0.1079	0.0878	0.0204	0.0615	0.0132	0.5182	0.0546	<0.001	0.01	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.2714	0.0818	0.0793	0.0090	0.0870	0.0061	0.4438	0.0379	<0.001	0.05	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.0205	0.0057	0.0047	0.0009	0.0051	0.0008	0.0324	0.0029	<0.001	0.38	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.2483	0.0869	0.0421	0.0066	0.0387	0.0068	0.3707	0.0414	<0.001	0.29	<0.001	<0.001
β-φρουκτοφουρανοσιδάση	0.2363	0.0859	0.0437	0.0032	0.0514	0.0068	0.2699	0.0214	<0.001	0.01	<0.001	<0.001



Διάγραμμα 3.4. Σχετική έκφραση των συνθασών της σακχαρόζης ανά στάδιο (1,2,3,4) σε στελέχη των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)



Διάγραμμα 3.5. Σχετική έκφραση των συνθασών της φωσφορικής σακχαρόζης ανά στάδιο (1,2,3,4) σε στελέχη των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)



Διάγραμμα 3.6. Σχετική έκφραση των β-φρουκτοφουρανοσιδασών ανά στάδιο (1,2,3,4) σε στελέχη των ποικιλιών Sugar Graze (SG) και Urja (U)

3.5 Ανάλυση εκπομπών αερίων θερμοκηπίου

3.5.1 Εκπομπές αερίων θερμοκηπίου κατά τη φάση της καλλιέργειας

Οι εκπομπές από την κατανάλωση ορυκτού καυσίμου λόγω της χρήσης του ελκυστήρα ανήλθαν σε 38.7 kg CO₂e/στρ για όλα τα έτη, καθώς η εδαφοκατεργασία ήταν κοινή για όλους τους πειραματικούς αγρούς.

Για τις αρδεύσεις καταναλώθηκε ηλεκτρικό ρεύμα. Οι εκπομπές για όλα τα έτη στην περιοχή της Κωπαΐδας ανήλθαν σε 60.9 kg CO₂e/στρ (τρεις αρδεύσεις) ενώ για την περιοχή της Οινόης, οι αντίστοιχες εκπομπές για τέσσερις αρδεύσεις ανήλθαν σε 81.3 kg CO₂e/στρ.

Οι εκπομπές N₂O εξαρτώνται από την απόδοση της εκάστοτε ποικιλίας, την υγρασία των στελεχών και την ποσότητα της αζωτούχου λίπανσης. Οι ποσότητες των N₂O, σε ισοδύναμα διοξειδίου του άνθρακα (CO₂e), παρουσιάζονται στον πίνακα 3.19.

Πίνακας 3.19. Εκπομπές N₂O

Ποικιλία	Εκπομπές N ₂ O (kg CO ₂ e/στρ)				
	2008 ¹	2008 ²	2009	2010	2012
Dale	-	49.5	-	-	-
Urja	70.9	49.2	49.8	45.6	47.1
M81-E	-	50.4	50.4	48.3	-
Della	-	50.7	-	-	-
Sugar Graze	71.8	50.4	50.4	47.7	47.7
6012	76.3	50.4	52.5	51.0	-
Topper 76-6	-	51.3	-	-	-
Keller	-	51.3	49.2	48.3	-
BMR 333	76.0	50.7	51.0	48.3	-
23000	75.4	51.3	50.7	50.1	-
6011	76.9	51.9	53.0	50.1	-
7013	77.5	51.6	52.2	52.8	-
Honey Graze	78.4	52.8	53.3	52.8	-
6010	79.0	54.2	53.0	51.9	-
Nicole	-	-	51.0	49.8	49.2
11001	-	-	-	-	49.5
11004	-	-	-	-	51.3
11005	-	-	-	-	50.1
11006	-	-	-	-	48.6
PR849	-	-	-	-	51.6

¹Οινόη Έβρου, ²Κωπαΐδα Βοιωτίας

Οι εκπομπές λόγω της εφαρμογής λίπανσης για όλα τα έτη στην περιοχή της Κωπαΐδας ανήλθαν σε 53.3, 91.2 και 52.1 kg CO₂e/στρ για τα στοιχεία άζωτο, φώσφορο και κάλιο αντίστοιχα. Στον πειραματικό αγρό της Οινόης, οι εκπομπές υπολογίστηκαν σε 79.9 kg CO₂e/στρ για το άζωτο, 35.5 kg CO₂e/στρ για το φώσφορο και 11.6 kg CO₂e/στρ για το κάλιο.

Οι εκπομπές λόγω της χρήσης σπόρου σποράς συνεκτιμώνται μέσω του αντίστοιχου συντελεστή, ο οποίος είναι κοινός για όλους τους υπό μελέτη πειραματικούς αγρούς και ανέρχεται σε 1.003, λαμβάνοντας υπόψη τη χρησιμοποιούμενη ποσότητα σπόρου για τη σπορά (0.9 kg/στρ) και τη θεωρητική απόδοση των ποικιλιών κατά τη σποροπαραγωγή τους. Η απόδοση αυτή προσδιορίστηκε στα 300 kg/στρ περίπου για τις υπό μελέτη ποικιλίες.

Οι συνολικές εκπομπές κυμάνθηκαν από 276.3 έως 284.3 kg CO₂e/στρ για την περιοχή της Οινόης το 2008, και από 217 έως 222.1 kg CO₂e/στρ, 217 έως 221.2 kg CO₂e/στρ, 213.4 έως 220.6 kg CO₂e/στρ και 214.9 έως 219.4 kg CO₂e/στρ το 2008, 2009, 2010 και 2012 στην περιοχή της Κωπαΐδας (Πίνακας 3.20).

Πίνακας 3.20. Συνολικές εκπομπές ανά μονάδα επιφανείας

Ποικιλία	Συνολικές Εκπομπές (kg CO ₂ e/στρ)				
	2008 ¹	2008 ²	2009	2010	2012
Dale	-	217.3	-	-	-
Urja	276.3	217.0	217.6	213.4	214.9
M81-E	-	218.2	218.2	216.1	-
Della	-	218.5	-	-	-
Sugar Graze	277.1	218.2	218.2	215.5	215.5
6012	281.6	218.2	220.3	218.8	-
Topper 76-6	-	219.1	-	-	-
Keller	-	219.1	217.0	216.1	-
BMR 333	281.3	218.5	218.8	216.1	-
23000	280.7	219.1	218.5	217.9	-
6011	282.2	219.7	220.9	218.5	-
7013	282.8	219.4	220.0	220.6	-
Honey Graze	283.7	220.6	221.2	220.6	-
6010	284.3	222.1	220.9	219.7	-
Nicole	-	-	218.8	217.6	217.0
11001	-	-	-	-	217.3
11004	-	-	-	-	219.1
11005	-	-	-	-	217.9
11006	-	-	-	-	216.4
PR849	-	-	-	-	219.4

¹Οινόη Έβρου, ²Κωπαΐδα Βοιωτίας

Λαμβάνοντας υπόψη τις επί μέρους εκπομπές GHG, υπολογίστηκε η συνεισφορά (%) των επί μέρους κατηγοριών εκπομπών επί των συνολικών εκπομπών κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής φάσης. Προς αυτή την κατεύθυνση, λήφθηκαν υπόψη οι μέσοι όροι των υπό μελέτη ποικιλιών για τις N₂O και συνολικές εκπομπές κάθε πειραματικού αγρού. Η συνεισφορά των εκπομπών GHG λόγω κατανάλωσης πετρελαίου για όλους τους πειραματικούς αγρούς κυμάνθηκε από 13.7 έως 17.8% ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά για τα εκπεμπόμενα GHG που προήλθαν από την εφαρμογή των αρδεύσεων κυμάνθηκαν από 27.8 έως 28.9%. Η συνεισφορά των εκπομπών GHG επί των συνολικών, λόγω της εφαρμογής της λίπανσης, κυμάνθηκε από 24.3 έως 28.4%, 1.3 έως 4.2% και 0.4 έως 2.4% για τα στοιχεία N, P, και K αντίστοιχα. Τέλος, η συνεισφορά των εκπομπών N₂O ανήλθε από 22.7 έως 27%. Τέλος, η μικρότερη συνεισφορά επί του συνόλου των εκπομπών κατά τη φάση της καλλιέργειας, εκτιμήθηκε για τη χρήση του σπόρου σποράς με ποσοστό μόλις 0.3% (Πίνακας 3.21).

Πίνακας 3.21. Συνεισφορά των επί μέρους εκπομπών επί των συνολικών εκπομπών κατά τη φάση της καλλιέργειας

Έτος	Em _{Diesel}	Em _{Αρδευση}	Em _N	Em _P	Em _K	Em _{N2O}	Em _{seed}
2008 ¹	13.7	28.9	28.4	1.3	0.4	27.0	0.3
2008 ²	17.7	27.8	24.3	4.2	2.4	23.3	0.3
2009	17.6	27.8	24.3	4.2	2.4	23.4	0.3
2010	17.8	28.0	24.5	4.2	2.4	22.9	0.3
2012	17.8	28.1	24.5	4.2	2.4	22.7	0.3

¹Οινόη Έβρου, ²Κωπαΐδα Βοιωτίας

3.5.3 Τυπικές εκπομπές κατά τη φάση της καλλιέργειας

Οι τυπικές εκπομπές στον πειραματικό αγρό της Οινόης κυμάνθηκαν από 12.5 έως 46.4 g CO₂e/MJ, ενώ στην περιοχή της Κωπαΐδας οι αντίστοιχες εκπομπές κυμάνθηκαν από 17.2 έως 81.4 g CO₂e/MJ, 17 έως 64.8 g CO₂e/MJ, 12.4 έως 57.5 και 15.1 έως 34.9 g CO₂e/MJ για τα έτη 2008, 2009, 2010 και 2012 αντίστοιχα (Πίνακας 3.22).

Οι ποικιλίες του γλυκού σόργου, παρουσίασαν γενικά τις χαμηλότερες τυπικές εκπομπές, ενώ οι υψηλότερες εκτιμήθηκαν για τις χορτοδοτικές ποικιλίες. Η ποικιλία Urja εμφάνισε τις χαμηλότερες τυπικές εκπομπές το 2008 στην περιοχή της Οινόης και κατά τα έτη 2009-10 στην περιοχή της Κωπαΐδας. Τέλος, η ποικιλία Dale στον πειραματικό αγρό της Κωπαΐδας το 2008 και η ποικιλία Sugar Graze το 2012, παρουσίασαν τις χαμηλότερες τυπικές εκπομπές. Ικανοποιητικά επίσης ήταν τα επίπεδα για τις ποικιλίες Dale, M81-E και Della. Οι μέσοι όροι για όλους τους πειραματικούς αγρούς ανήλθαν σε 15.9 g CO₂e/MJ_{Βιοαιθανόλης} για την ποικιλία Urja, 18.4 g CO₂e/MJ_{Βιοαιθανόλης} για την ποικιλία Sugar Graze, 20.7 g CO₂e/MJ_{Βιοαιθανόλης} για την ποικιλία M81-E, 17.2 g CO₂e/MJ_{Βιοαιθανόλης} για την ποικιλία Dale και 23.6 g CO₂e/MJ_{Βιοαιθανόλης} για την ποικιλία Della.

Οι υψηλότερες τυπικές εκπομπές εκτιμήθηκαν για τις ποικιλίες Honey Graze στον πειραματικό αγρό της Οινόης, 6010 και Honey Graze στην περιοχή της Κωπαΐδας κατά τα έτη 2008 και 2009-10 αντίστοιχα, ενώ το 2012 οι υψηλότερες τυπικές εκπομπές εκτιμήθηκαν για την ποικιλία PR849.

Πίνακας 3.22. Τυπικές εκπομπές GHG

Ποικιλία	Τυπικές Εκπομπές (g CO ₂ e/MJ _{βιοαιθανόλης})				
	2008 ¹	2008 ²	2009	2010	2012
Dale	-	17.2	-	-	-
Urja	12.5	19.1	17.0	12.4	15.1
M81-E	-	22.7	22.5	16.8	-
Della	-	23.6	-	-	-
Sugar Graze	12.6	23.7	19.6	15.5	14.9
6012	22.6	23.9	34.2	31.4	-
Topper 76-6	-	26.2	-	-	-
Keller	-	27.0	17.9	16.7	-
BMR 333	23.0	29.4	25.0	22.4	-
23000	24.9	33.8	26.2	29.5	-
6011	22.1	36.1	42.2	24.6	-
7013	34.9	39.9	48.1	57.5	-
Honey Graze	46.4	55.2	64.8	57.5	-
6010	38.6	81.4	54.9	38.3	-
Nicole	-	-	37.6	28.2	30.6
11001	-	-	-	-	27.2
11004	-	-	-	-	31.6
11005	-	-	-	-	27.3
11006	-	-	-	-	21.2
PR849	-	-	-	-	34.9

¹Οινόη Έβρου, ²Κωπαΐδα Βοιωτίας

3.5.4 Μείωση Εκπομπών GHG

Η μείωση των εκπομπών στην περιοχή της Οινόης για το έτος 2008 κυμάνθηκε από 31.1 έως 57.6%, ενώ στην περιοχή της Κωπαΐδας από 3.7 έως 54% το 2008, 16.7 έως 54.2% το 2009, 22.4 έως 57.8% το 2010 και 40.2 έως 55.8% το 2012. Όπως αναμενόταν, η υψηλότερη μείωση εκπομπών παρατηρήθηκε για τις ποικιλίες που παρουσίασαν τις χαμηλότερες τυπικές εκπομπές (Πίνακας 3.23).

Η ποικιλία Urja παρουσίασε την υψηλότερη μείωση εκπομπών GHG στους πειραματικούς αγρούς του 2009 και 2010, ενώ παρουσίασε εξίσου υψηλή μείωση εκπομπών με την ποικιλία Sugar Graze στην περιοχή της Οινόης το 2008. Κατά τα έτη 2008 και 2012 στην περιοχή της Κωπαΐδας, οι σημαντικότερες μειώσεις εκπομπών εκτιμήθηκαν για τις ποικιλίες Dale και Sugar Graze αντίστοιχα.

Πίνακας 3.23. Μείωση εκπομπών GHG

Ποικιλία	Μείωση εκπομπών (%)				
	2008 ¹	2008 ²	2009	2010	2012
Dale	-	54.0	-	-	-
Urja	57.6	52.5	54.2	57.8	55.6
M81-E	-	49.7	49.8	54.3	-
Della	-	49.0	-	-	-
Sugar Graze	57.6	48.9	52.1	55.3	55.8
6012	49.7	48.8	40.7	42.9	-
Topper 76-6	-	47.0	-	-	-
Keller	-	46.3	53.4	54.4	-
BMR 333	49.4	44.4	47.9	49.9	-
23000	48.0	41.0	46.9	44.3	-
6011	50.2	39.2	34.4	48.2	-
7013	40.1	36.2	29.8	22.4	-
Honey Graze	31.1	24.3	16.7	22.4	-
6010	37.3	3.7	24.4	37.5	-
Nicole	-	-	38.0	45.4	43.5
11001	-	-	-	-	46.2
11004	-	-	-	-	42.7
11005	-	-	-	-	46.1
11006	-	-	-	-	50.9
PR849	-	-	-	-	40.2

¹Οινόη Έβρου, ²Κωπαΐδα Βοιωτίας

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα διατριβή επικεντρώθηκε στη συστηματική μελέτη πολλών κατηγοριών ποικιλιών σόργου με βάση εκτεταμένο πειραματισμό, ειδικά σχεδιασμένο για να μελετήσει τις ποικιλίες, διάφορα περιβάλλοντα και την αλληλεπίδραση των δύο αυτών παραγόντων. Μόνο με τον τρόπο αυτό είναι δυνατό να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την παραγωγικότητα και σταθερότητα των ποικιλιών, καθώς και τους κατάλληλους καλλιεργητικούς χειρισμούς που θα επιτρέψουν τη βιώσιμη και αειφορική παραγωγή βιοκαυσίμων. Παράλληλα, η συστηματική αυτή αξιολόγηση εξασφαλίζει μια αξιόπιστη εκτίμηση των γενετικών εκείνων παραμέτρων που είναι απαραίτητες για τον ορθολογικό σχεδιασμό προγραμμαμάτων γενετικής βελτίωσης για παραγωγή σχετικών ποικιλιών σόργου προσαρμοσμένων στις εδαφοκλιματικές συνθήκες της χώρας μας.

4.1 Αξιολόγηση του παραγωγικού δυναμικού των ποικιλιών σόργου

Το παραγωγικό δυναμικό και η προσαρμοστικότητα ορισμένων ποικιλιών σόργου αξιολογήθηκε υπό ελληνικές συνθήκες κατά το παρελθόν αποσπασματικά. Οι Dercas et al. (1994) μελέτησαν σε ένα περιβάλλον την αντίδραση της ποικιλίας Keller σε τέσσερα επίπεδα άρδευσης και δύο επίπεδα N λίπανσης, με τις αποδόσεις βιομάζας να ξεπερνούν τους 10 t/στρ. Οι Sakellariou- Makrantonaki et al. (2007) αξιολόγησαν επίσης στην ίδια ποικιλία και σε ένα περιβάλλον την επίδραση μεθόδων άρδευσης στην απόδοση βιομάζας και ανέφεραν αποδόσεις των 14.8 και 13.8 t/στρ για τη μέθοδο υπόγειας και συμβατικής στάγδην άρδευσης αντίστοιχα. Πιο πρόσφατα, οι Vasilakoglou et al. (2011) αξιολόγησαν σε δύο έτη, τέσσερις ποικιλίες γλυκού (Keller, M81-E, Urja και Topper 76-6), μία καρποδοτικού (NK-300) και μία χορτοδοτικού (Susu) σόργου υπό συνθήκες αυξημένης αλατότητας και μειωμένης άρδευσης. Οι αποδόσεις σε βιομάζα υπό συνθήκες μέτριας αλατότητας και 210 mm άρδευσης ανήλθαν σε 9.7, 8.9, 8.7, 7.8, 4.7 και 3 t/στρ για τις ποικιλίες Urja, Sugar Graze, M81-E, Topper 76-6, NK-300 και Susu αντίστοιχα.

Όπως έχει ήδη περιγραφεί, η πειραματική αξιολόγηση στη μελέτη μας διεξήχθη σε τέσσερα περιβάλλοντα. Όσον αφορά την απόδοση σε στελέχη, οι ποικιλίες γλυκού σόργου υπερετερούσαν σε όλα τα περιβάλλοντα. Ιδιαίτερα, οι ποικιλίες Urja, Sugar Graze, Keller και M81-E απέδωσαν πολύ ικανοποιητικά. Σημαντικές επίσης αποδόσεις παρουσίασαν και οι ποικιλίες Dale και Della, οι οποίες όμως αξιολογήθηκαν σε ένα περιβάλλον (Κωπαΐδα 2008), λόγω αδυναμίας εφοδιασμού με αξιόπιστο υλικό των ποικιλιών αυτών και επομένως οι αποδόσεις για τις ποικιλίες αυτές παρατίθενται μόνο για λόγους ενδεικτικούς, καθώς εμπεριέχουν αλληλεπίδραση ποικιλίας-

περιβάλλοντος. Το ίδιο ισχύει και για την ποικιλία Torper 76-6 η οποία, παρά τη σχετικά ικανοποιητική απόδοση που παρουσίασε, δεν αξιολογήθηκε περαιτέρω λόγω της εμφανούς μειωμένης προσαρμοστικότητας (έντονη κάμψη στελεχών). Εξ ίσου ικανοποιητικές αποδόσεις, παρουσίασαν αρκετές από τις χορτοδοτικές ποικιλίες στην Κωπαΐδα το 2008 και 2009. Οι ποικιλίες σόργου υψηλής βιομάζας που αποτελούν το πλέον πρόσφατο αποτέλεσμα γενετικής βελτίωσης του σόργου και αξιολογήθηκαν για πρώτη φορά στη χώρα μας (Κωπαΐδα 2012), υπήρξαν εξ ίσου παραγωγικές σε στελέχη με αυτές του γλυκού σόργου. Και στην περίπτωση αυτή, η αξιολόγηση μόνο σε ένα περιβάλλον καθιστά τις αποδόσεις αυτές ενδεικτικές και απαιτείται άμεσος περαιτέρω πειραματισμός σε περισσότερα περιβάλλοντα ώστε να επαληθευθεί το καλό τους παραγωγικό δυναμικό σε στελέχη. Η ακριβής εκτίμηση του δυναμικού αυτού είναι ιδιαίτερα σημαντική εφόσον, με βάση σχετικό πειραματισμό στις ΗΠΑ (Stefaniak et al., 2012), οι ποικιλίες αυτές αναμένεται να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο ιδιαίτερα στην παραγωγή βιοαερίου και στην παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερη γενιάς. Τέλος, και η ποικιλία Nicole (σόργο του Σουδάν), εμφάνισε καλό δυναμικό και δύναται να αποτελέσει κατάλληλη πρώτη ύλη για παραγωγή βιοαερίου ιδιαίτερα σε συστήματα πολλαπλής κοπής.

Σύμφωνα με τη συνδυασμένη ανάλυση των τεσσάρων περιβαλλόντων, οι ποικιλίες Urja και Sugar Graze ήταν αυτές που παρουσίασαν σημαντικά υψηλές αποδόσεις στελεχών, παρουσιάζοντας καλή προσαρμοστικότητα και σταθερότητα, ενώ αντίστοιχα υψηλές και σταθερές αποδόσεις παρουσίασε και η χορτοδοτική ποικιλία BMR333. Η ικανοποιητική σταθερότητα των ποικιλιών ως προς το συγκεκριμένο γνώρισμα, αντανακλάται και στην απουσία σημαντικής αλληλεπίδρασης ποικιλίας-περιβάλλοντος.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης σχετικά με τις αποδόσεις στελεχών διαφόρων τύπων σόργου, καταδεικνύουν την υψηλή παραγωγικότητα ορισμένων ποικιλιών υπό τις συνθήκες της χώρας. Οι αποδόσεις μάλιστα που παρατηρήθηκαν θεωρούνται ως ιδιαίτερα ικανοποιητικές, συγκρινόμενες με αντίστοιχες αποδόσεις σε περιοχές όπου το σόργο αποτελεί διαχρονικά μία παραδοσιακή καλλιέργεια. Στις ΗΠΑ για παράδειγμα έχουν καταγραφεί αποδόσεις οι οποίες για ποικιλίες γλυκού σόργου και υψηλής βιομάζας ανήλθαν σε περίπου 10 t/στρ και σε 8 t/στρ περίπου για ποικιλίες χορτοδοτικού τύπου (Rooney et al., 2007). Στην Ινδία επίσης, όπου κατά κύριο λόγο καλλιεργούνται ποικιλίες γλυκού σόργου, οι αποδόσεις των στελεχών κυμαίνονται από 5 έως 10 t/στρ (Srinivasa Rao et al., 2009).

Η περιεκτικότητα των στελεχών σε υγρασία κατά τη συγκομιδή αποτελεί σημαντικό γνώρισμα, καθώς επηρεάζει τις αποδόσεις σε χυμό και τελικά τις στρεμματικές αποδόσεις σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη (Corn, 2009). Η μελέτη της περιεκτικότητας των

στελεχών σε υγρασία, παρουσίασε ελάχιστες και μη σταθερές σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών όπως εμφανίστηκε από τη σημαντική αλληλεπίδραση ποικιλιών- περιβάλλοντος, επιβεβαιώνοντας ότι το συγκεκριμένο γνώσιμα επηρεάζεται σημαντικά από τις επικρατούσες κλιματικές και καλλιεργητικές συνθήκες. Αν και το συγκεκριμένο γνώρισμα δεν έχει μελετηθεί επαρκώς, τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με τα ευρήματα των Felderhoff et al. (2012) που μελέτησαν γενετικές θέσεις, που ελέγχουν την κληρονομικότητα του γνώρισματος: μελετήθηκαν διατοπικά 185 RILs σόργου, οι οποίες προήλθαν από διασταύρωση γλυκού και καρποδοτικού σόργου με τα αποτελέσματα τους να διαφέρουν ανάλογα με το περιβάλλον. Συμπερασματικά, είναι φανερό ότι το γνώρισμα της περιεκτικότητας των στελεχών σε υγρασία έχει πολύπλοκο τρόπο κληρονομικότητας απαιτώντας περαιτέρω μελέτη.

Η περιεκτικότητα των στελεχών σε ζάχαρα παρουσιάστηκε αυξημένη κυρίως στις ποικιλίες του γλυκού σόργου (11.6 έως 14%). Οι σημαντικές διαφορές όμως ήταν ελάχιστες, καθώς οι περισσότερες ποικιλίες εμφάνισαν παρόμοια περιεκτικότητα (10% περίπου). Τα αποτελέσματα της συνδυασμένης ανάλυσης κατέδειξαν τη σταθερή υπεροχή των ποικιλιών γλυκού σόργου Urja και Sugar Graze, καθώς και των χορτοδοτικών 6011 και 6012.

Σχετικές παλαιότερες μελέτες για το συγκεκριμένο γνώρισμα αξιολόγησαν κατά κύριο λόγο ποικιλίες γλυκού τύπου. Οι Dalianis et al. (1995) μελέτησαν ποικιλίες γλυκού σόργου σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας, με τα αποτελέσματα να είναι αντίστοιχα με αυτά της παρούσας μελέτης. Συγκεκριμένα, η ποικιλία Keller παρουσίασε ιδιαίτερα καλή προσαρμογή, με την περιεκτικότητα σε ζάχαρα να κυμαίνεται από 9 έως 13.2%. Ανάλογα ικανοποιητικές περιεκτικότητες σε ζάχαρα αναφέρονται σε σχετικές μελέτες στην Ινδία, όπου τα ποσοστά για το συγκεκριμένο γνώρισμα κυμαίνονται από 10 έως 15% αναλόγως της ποικιλίας γλυκού σόργου (Almodares and Serahi, 1996).

Η μελέτη της περιεκτικότητας των στελεχών σε ζάχαρα και στερεά διαλυτά παρουσίασε σημαντικά θετική συσχέτιση σε όλους τους πειραματικούς αγρούς. Η παραπάνω σχέση μελετήθηκε στο παρελθόν με παρόμοια αποτελέσματα. Οι Tsuchihashi and Goto (2004) ανέφεραν συντελεστή συσχέτισης μεταξύ περιεκτικότητας ζαχάρων και Brix $r=0.95$. Αντίστοιχα, κατά την αξιολόγηση εννέα ποικιλιών γλυκού σόργου για τα δύο ανωτέρω χαρακτηριστικά, ανέφεραν $r=0.91$, προτείνοντας την παρακάτω γραμμική συσχέτιση για εκτίμηση ζαχαροπεριεκτικότητας μέσω του Brix: $y=-0.3728+0.8111 \times \text{Brix}$ (Liu et al., 2008).

Γίνεται αντιληπτό, ότι όταν δεν διατίθεται σχετικός εξοπλισμός για εργαστηριακές αναλύσεις μεγάλης κλίμακας, η περιεκτικότητα σε Brix μπορεί για πρακτικούς λόγους

να αποτελέσει μια ταχεία και αρκούντως ικανοποιητική εκτίμηση της συνολικής ζαχαροπεριεκτικότητας των στελεχών. Ειδικότερα, όταν πρόκειται για ποικιλίες γλυκού σόργου, οι διαχρονικές μετρήσεις των στερεών διαλυτών με διαθλασίμετρο, παρέχουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τον άριστο χρόνο συγκομιδής.

Όπως αναμενόταν, η αξιολόγηση των ποικιλιών τόσο για απόδοση σε ζάχαρα όσο και για θεωρητική απόδοση σε βιοαιθανόλη έδωσε όμοια αποτελέσματα, καθώς τα δύο αυτά γνωρίσματα αποτελούν παράγωγα της απόδοσης σε στελέχη και περιεκτικότητα σε ζάχαρα. Οι ποικιλίες που παρουσίασαν ικανοποιητικές αποδόσεις ανήκαν κατά κύριο λόγο στην κατηγορία του γλυκού σόργου που συνδυάζουν υψηλή απόδοση στελεχών και ζαχαροπεριεκτικότητας. Με εξαίρεση την Κωπαΐδα το 2008 και 2009, όπου οι αποδόσεις των στελεχών όλων των ποικιλιών κυμάνθηκαν σε χαμηλά επίπεδα, η απόδοση σε βιοαιθανόλη των ποικιλιών γλυκού σόργου ήταν σημαντικά ανώτερη των ποικιλιών άλλων τύπων σόργου. Οι πιο εντυπωσιακές αποδόσεις σε βιοαιθανόλη καταγράφηκαν στον πειραματικό αγρό της Οινόης για τις ποικιλίες Urja και Sugar Graze, καθώς ανήλθαν σε 1028 και 1023 l/στρ αντίστοιχα. Η συνδυασμένη ανάλυση, έδωσε σημαντικά μεγαλύτερες αποδόσεις σε βιοαιθανόλη για τις ποικιλίες Urja και Sugar Graze (740 και 655 l/στρ αντίστοιχα). Λαμβάνοντας δε υπόψη τη κυτταρινούχα βιομάζα που απομένει από τα στελέχη μετά τη σύνθλιψη για την εξαγωγή του χυμού, η συνολική ποσότητα θα μπορούσε να ανέλθει σε 850 έως 740 l/στρ εάν οι ποικιλίες αυτές χρησιμοποιούνταν απευθείας για την παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς (Σκαράκης κ.α., 2008)

Όπως συνέβη και για την απόδοση σε στελέχη, οι ιδιαίτερα ικανοποιητικές αποδόσεις σε βιοαιθανόλη που καταγράφηκαν στους πειραματικούς αγρούς των περιοχών Οινόης και Κωπαΐδας, συμφωνούν με τις μελέτες υπό ελληνικές συνθήκες που προαναφέρθηκαν: οι Vasilakoglou et al. (2011), εκτίμησαν τη θεωρητικά παραγόμενη βιοαιθανόλη από τις ποικιλίες Urja, Sugar Graze και M-81E σε 762, 653 και 545 l/στρ αντίστοιχα, ενώ οι Sakellariou- Makrantonaki et al. (2007) εκτίμησαν την παραγωγή βιοαιθανόλης για την ποικιλία Keller, λαμβάνοντας υπόψη διάφορους συντελεστές μετατροπής σακχαρόζης σε βιοαιθανόλη, από 588 έως 1060 l/στρ.

Είναι φανερό ότι το γλυκό σόργο προσαρμόζεται πολύ καλά στις ελληνικές συνθήκες και οι θεωρητικές αποδόσεις σε βιοαιθανόλη υπερέρχουν αυτών που έχουν αναφερθεί σε περιοχές όπου το σόργο είναι επίσης καλά προσαρμοσμένο και καταλαμβάνει παραδοσιακά σημαντικές εκτάσεις. Για παράδειγμα, οι μεγαλύτερες θεωρητικές αποδόσεις βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς από γλυκό σόργο δεν ξεπέρασαν 405 l/στρ στην Κίνα (Zhao et al., 2009). Αντίστοιχα στις ΗΠΑ, ανάλογα με τις επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες, οι αποδόσεις κυμάνθηκαν από 213 έως 570 l/στρ με τις υψηλότερες εξ αυτών στις νότιες πολιτείες (Kim and Dale, 2005; Zegada-Lizarazu and

Monti, 2012). Τέλος, οι αντίστοιχες αποδόσεις στην Ινδία κυμαίνονται από 281 έως 405 l/στρ (Prasad et al., 2007).

4.2 Γενετικές παράμετροι

Οι συντελεστές κληρονομικότητας (H) των γνωρισμάτων που εκτιμήθηκαν για τους πέντε πειραματικούς αγρούς (2008-10 και 2012), δύνανται να χαρακτηριστούν από υψηλοί έως ιδιαιτέρως υψηλοί για τα χαρακτηριστικά της απόδοσης των στελεχών, τη ζαχαροπεριεκτικότητα, και τις αποδόσεις σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη. Οι αντίστοιχοι συντελεστές για την περιεκτικότητα σε διαλυτά στερεά κυμάνθηκαν από χαμηλοί έως πολύ υψηλοί, ενώ για το χαρακτηριστικό της περιεκτικότητας των στελεχών σε υγρασία από μέτριοι έως πολύ υψηλοί. Ο χαρακτηρισμός του συντελεστή κληρονομικότητας βασίστηκε στην κατάταξη που προτάθηκε από τους Hallauer et al. (1988), κατά τους οποίους δείκτες κληρονομικότητας υπό ευρεία έννοια μεγαλύτεροι του 70%, 50-70%, 30-50% και μικρότεροι του 30% χαρακτηρίζονται ως πολύ υψηλοί, υψηλοί, μέτριοι και χαμηλοί αντίστοιχα.

Οι συντελεστές κληρονομικότητας των υπό μελέτη γνωρισμάτων κατά τη συνδυασμένη ανάλυση που παρέχει μια γενική εικόνα, ήταν ιδιαιτέρως υψηλοί για την απόδοση σε στελέχη (96.3%), την περιεκτικότητα σε Brix (76.9%), τη ζαχαροπεριεκτικότητα (92.5%) και τις αποδόσεις σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη (94.7%). Αντίθετα, ο συντελεστής κληρονομικότητας για την υγρασία των στελεχών ήταν μέτριος και ανήλθε σε 35%.

Η αξιολόγηση του συντελεστή κληρονομικότητας σε ποσοτικά χαρακτηριστικά 52 γονοτύπων γλυκού σόργου από τους Tomar et al. (2012), έδωσε αποτελέσματα που συμφωνούν με αυτά της παρούσας μελέτης: οι συντελεστές κληρονομικότητας για την απόδοση σε στελέχη, την περιεκτικότητα των στελεχών σε Brix και την απόδοση σε βιοαιθανόλη, ήταν 79.2, 61 και 93.1% αντίστοιχα. Οι Murray et al. (2008), μελέτησαν 176 RILs σόργου, που προήλθαν από τη διασταύρωση ποικιλιών γλυκού και καρποδοτικού σόργου. Οι συντελεστές κληρονομικότητας ήταν υψηλοί για την περιεκτικότητα των στελεχών σε Brix (65%) και ζάχαρα (56%), καθώς και για τις αποδόσεις σε ζάχαρα (62%) και στελέχη (71%). Σε αντίστοιχη μελέτη 436 RILs σόργου από διασταύρωση δύο καθαρών σειρών καρποδοτικού και γλυκού σόργου, ο συντελεστής κληρονομικότητας για τη ζαχαροπεριεκτικότητα των στελεχών εκτιμήθηκε σε 63% (Zou et al., 2011).

Ο συντελεστής κληρονομικότητας υπό την ευρεία έννοια, παρέχει σημαντικές πληροφορίες για τη δυνατότητα επιλογής υπέρτερων γονοτύπων βάσει της φαινοτυπικής απόδοσης (Prasad et al., 2001; Habib et al., 2005). Έτσι, χαρακτηριστικά

που παρουσιάζουν υψηλούς δείκτες κληρονομικότητας διευκολύνουν την αξιόπιστη επιλογή με σκοπό την περαιτέρω βελτίωση επιθυμητών γνωρισμάτων (Deeralakshmi and Ganesamurthy, 2007). Με δεδομένο ότι ο συντελεστής κληρονομικότητας αποτελεί χαρακτηριστικό συγκεκριμένου γενετικού υλικού και συγκεκριμένου περιβάλλοντος, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης παρέχουν αισιόδοξες προοπτικές για την διεξαγωγή σχετικού προγράμματος γενετικής βελτίωσης ποικιλιών σόργου για παραγωγή βιοαιθανόλης, αξιοποιώντας το γενετικό υλικό που αξιολογήθηκε.

Ο γενετικός (GCV) και ο φαινοτυπικός (PCV) συντελεστής παραλλακτικότητας για τους πειραματικούς αγρούς της Οινόης το 2008 και της Κωπαΐδας το 2009-10-12 εκτιμήθηκαν σε αντίστοιχα επίπεδα για όλα τα υπό μελέτη γνωρίσματα. Αντίθετα, στους πειραματικούς αγρούς της Κωπαΐδας το 2008 και το 2009 οι δύο συντελεστές παρουσίασαν σημαντικές διαφορές για την απόδοση των στελεχών, την περιεκτικότητα των στελεχών σε Brix και τις αποδόσεις σε ζάχαρα και βιοαιθανόλη.

Ο PCV παρουσιάστηκε σταθερά μεγαλύτερος του GCV για όλα τα γνωρίσματα και στους πέντε πειραματικούς αγρούς. Γενικά, υπολογίστηκαν σταθερά υψηλοί GCV και PCV για τα χαρακτηριστικά των αποδόσεων σε στελέχη, ζάχαρα και βιοαιθανόλη, μέτριοι έως υψηλοί για την περιεκτικότητα των στελεχών σε ζάχαρα και Brix και σταθερά χαμηλοί για την περιεκτικότητα των στελεχών σε υγρασία σε όλες τις τοποθεσίες πειραματισμού.

Η εκτίμηση του GCV και του PCV για τα αποτελέσματα της συνδυασμένης ανάλυσης δεν κατέδειξε σημαντικές διαφορές για κανένα γνώρισμα. Όπως και κατά την εκτίμηση των αντίστοιχων συντελεστών για κάθε πειραματικό αγρό ξεχωριστά, ο PCV παρουσίασε μία ελαφρά υπεροχή για όλα τα υπό μελέτη χαρακτηριστικά. Οι GCV και PCV ήταν υψηλοί για τα γνωρίσματα των αποδόσεων σε στελέχη, ζάχαρα και βιοαιθανόλη, μέτριοι για τις περιεκτικότητες σε ζάχαρα και Brix και χαμηλοί για την περιεκτικότητα των στελεχών σε υγρασία.

Οι Habib et al. (2005) εκτίμησαν τις αντίστοιχες γενετικές παραμέτρους διαφόρων γνωρισμάτων σε γονοτύπους ρυζιού. Όπως και στην παρούσα μελέτη, ο PCV ήταν σταθερά ανώτερος του GCV παρουσιάζοντας ελαφρά (1-2%) έως σημαντική υπεροχή έναντι του GCV (3% και άνω) για κάποια από τα υπό μελέτη γνωρίσματα. Οι συντελεστές φαινοτυπικής και γενετικής παραλλακτικότητας που εκτιμήθηκαν από 10 έως 20% χαρακτηρίστηκαν ως μέτριοι, ενώ αυτοί που ξεπέρασαν το 20% ως υψηλοί. Σε παρόμοια μελέτη για τα συστατικά της απόδοσης του αραβοσίτου, οι Alvi et al. (2003), εκτίμησαν τους συντελεστές αυτούς σε αντίστοιχα επίπεδα που ποικίλουν ανάλογα με τα υπό μελέτη γνώρισμα.

Οι υψηλοί GCV και PCV για τα χαρακτηριστικά των αποδόσεων σε στελέχη και βιοαιθανόλη και οι αντίστοιχοι μέτριοι συντελεστές για την περιεκτικότητα των στελεχών σε Brix, που εκτιμήθηκαν στην παρούσα μελέτη συμφωνούν επίσης με αντίστοιχες εκτιμήσεις των GCV και PCV από τους Tomar et al. (2012).

Μικρές διαφορές μεταξύ των GCV και PCV, όπως και ο υψηλός συντελεστής κληρονομικότητας (H), υποδεικνύουν τη χαμηλή επίδραση του παράγοντα περιβάλλον στο υπό μελέτη γνώρισμα, ενώ αντίθετα, μεγάλες διαφορές υπέρ του PCV, όπως και χαμηλός συντελεστής κληρονομικότητας επιβεβαιώνουν την έντονη επίδραση περιβάλλοντος (Alvi et al., 2003).

Επίσης, ο Burton (1952) πρότεινε πως χαρακτηριστικά τα οποία παρουσιάζουν υψηλούς συντελεστές κληρονομικότητας και ταυτόχρονα υψηλούς συντελεστές γενετικής παραλλακτικότητας δύνανται να επιλεγούν ευχερέστερα, παρέχοντας πληροφορίες για την αναμενόμενη πρόοδο της επιλογής. Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, γίνεται κατανοητό, πως ενδεχόμενη επιλογή υπέρτερων γονοτύπων θα μπορούσε να γίνει επιλέγοντας ταυτόχρονα για γονοτύπους που χαρακτηρίζονται από υψηλή απόδοση στελεχών και υψηλή περιεκτικότητα στελεχών σε ζάχαρα, μεγιστοποιώντας έτσι τη θεωρητικά αναμενόμενη απόδοση της βιοαιθανόλης.

4.3 Μεταβολομική ανάλυση

Η μεταβολομική ανάλυση αξιοποιήθηκε ώστε να καταγραφούν πιθανές σημαντικές αλλαγές στα επίπεδα των μεταβολιτών και ειδικότερα εκείνων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των ζαχάρων κατά την ανάπτυξη του γλυκού σόργου. Το μεταβολικό προφίλ των φύλλων αναλύθηκε σε τρία διακριτά στάδια, ενώ αυτό των στελεχών και σε ένα επιπλέον στάδιο που αφορούσε τα στελέχη που συγκομίστηκαν κατά το στάδιο της μαλακής ζύμης και εναποτέθηκαν στον αγρό για 30 ημέρες, ώστε να ελεγχθεί ο μετασυλλεκτικός καταβολισμός της σακχαρόζης.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το στάδιο της μαλακής ζύμης κατά το οποίο η περιεκτικότητα των στελεχών σε ζάχαρα μεγιστοποιείται, αποτελεί το ιδανικό στάδιο συγκομιδής. Για το λόγο αυτό, τα επίπεδα των μεταβολιτών εκφράστηκαν ως λόγοι προς το στάδιο αυτό (στάδιο 2). Η ανάλυση του μεταβολικού προφίλ του γλυκού σόργου κατά τη μετάβαση από το προσυλλεκτικό σε μεταγενέστερα στάδια, παρουσίασε διαφορές στα επίπεδα αρκετών μεταβολιτών σε φύλλα και στελέχη. Οι σημαντικότερες μεταβολές καταγράφηκαν για μεταβολίτες που ανήκουν στις κατηγορίες των ζαχάρων, αμινοξέων και οργανικών οξέων που συνεισφέρουν ως πηγές ενέργειας σε φυσιολογικές διεργασίες, όπως η φωτοσύνθεση, η βιοσύνθεση

πρωτεϊνών και η αναπνοή των φυτών. Συγκεκριμένα, τα ζάχαρα λειτουργούν ως πηγή άνθρακα παρέχοντας την απαραίτητη ενέργεια για την ανάπτυξη του φυτού, ενώ τα αμινοξέα ως πηγή του αζώτου, η οποία επάγει την ανάπτυξη. Τέλος, τα οργανικά οξέα παίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο σε κυτταρικό επίπεδο, καθώς εμπλέκονται σε αρκετά βιοχημικά μονοπάτια, όπως η παραγωγή ενέργειας, η δημιουργία πρόδρομων ενώσεων για την παραγωγή αμινοξέων και η προσαρμογή των φυτών σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα.

Το μεταβολικό προφίλ των φύλλων της ποικιλίας Sugar Graze κατά το στάδιο της μαλακής ζύμης, παρουσίασε αυξημένες συγκεντρώσεις αρκετών μεταβολιτών που ανήκουν στην κατηγορία των ζαχάρων, συμπεριλαμβανομένης και της σακχαρόζης, η οποία αποτελεί το σημαντικότερο μεταβολίτη. Εξαιρέση αποτέλεσαν η D-λυξόζη και η μαλτόζη, τα επίπεδα των οποίων ήταν υψηλά κατά το στάδιο 1. Η ιδιαίτερα σημαντική αύξηση της μαλτόζης, η οποία αποτελεί προϊόν της αποσύνθεσης του αμύλου, σε συνδυασμό με τα μειωμένα επίπεδα σε σακχαρόζη, οφείλεται στη μετατροπή της δεύτερης σε άμυλο κατά το γέμισμα των σπόρων (Smith and Frederiksen, 2000). Η συγκέντρωση της σακχαρόζης στα φύλλα της Urja, μεγιστοποιήθηκε επίσης κατά το στάδιο της μαλακής ζύμης. Παρ' όλα αυτά, αρκετοί μεταβολίτες της κατηγορίας των ζαχάρων είχαν υψηλά επίπεδα στο στάδιο 1, με μόνη εξαίρεση τη λακτόζη η οποία μεγιστοποιήθηκε στο στάδιο της μαλακής ζύμης. Η μαλτόζη στην Urja, όπως και στην Sugar Graze, παρουσίασε αυξημένα επίπεδα κατά το πρώτο στάδιο. Οι πολυόλες, αντίστοιχα με τα ζάχαρα παρουσίασαν σημαντικές μεταβολές σε συγκεκριμένα στάδια. Η D-μαννιτόλη κατά τη μετάβαση από το στάδιο 1 προς το στάδιο 3 έβαινε συνεχώς μειούμενη στα φύλλα της Sugar Graze ενώ η μυο-ινοσιτόλη ακολούθησε αντίθετη πορεία στα φύλλα της Urja. Σχετικές μελέτες έχουν δείξει πως τέτοιες μεταβολές οφείλονται στο γεγονός ότι η D-μαννιτόλη, σε αντίθεση με τη μυο-ινοσιτόλη, αποτελεί ένα από τα βασικά προϊόντα της φωτοσύνθεσης στα ώριμα φύλλα του γλυκού σόργου (Stoor et al., 1996). Στα φύλλα της Sugar Graze, παρατηρήθηκε πως αυξημένα επίπεδα ζαχάρων κατά το στάδιο της μαλακής ζύμης, συνδυάζονται με μειωμένες συγκεντρώσεις πολλών αμινοξέων, όπως το ασπαραγικό οξύ, η b-αλανίνη, η L-ασπαραγίνη, η L-θρεονίνη και η L-ομοσερίνη, με την τελευταία να παρουσιάζει ακόμα χαμηλότερες συγκεντρώσεις στο στάδιο 3. Αντίθετα, η μείωση των επιπέδων των ζαχάρων κατά το στάδιο της μαλακής ζύμης στην ποικιλία Urja, συνδυάστηκε με αύξηση των επιπέδων αρκετών αμινοξέων όπως η L-ασπαραγίνη, L-γλουταμίνη, L-ομοσερίνη και L-προλίνη. Η παρατηρηθείσα αντίστροφη πορεία στην ποσότητα των παραπάνω μεταβολιτών, αποτελεί ένδειξη της βιοσύνθεσης αμινοξέων απαραίτητων στην ανάπτυξη κατά τα πρώιμα στάδια, που ακολουθείται από τη σύνθεση ζαχάρων εις βάρος των αμινοξέων κατά το στάδιο της μαλακής ζύμης. Στα

μετέπειτα στάδια, παρατηρείται απώλεια ζαχάρων που οφείλεται σε υδρόλυση καθώς και αυξημένη ποσότητα αμινοξέων που πιθανότατα οφείλεται σε αποδόμηση πρωτεϊνών. Παράλληλα με την αύξηση των αμινοξέων, ορισμένα οργανικά οξέα, όπως το α-κετογλουταρικό, κιτρικό και D-μηλικό οξύ εμφανίζονται αυξημένα στο στάδιο της μαλακής ζύμης καθώς και στο στάδιο 3.

Τα αποτελέσματα της PCA για τα φύλλα, κατέδειξε μέτριο διαχωρισμό μεταξύ των διαφόρων σταδίων. Η PCA για τη Sugar Graze διαχώρισε ικανοποιητικά μόνο το στάδιο 1, ενώ στην περίπτωση της Urja τα τρία στάδια διαφοροποιήθηκαν ικανοποιητικά. Επιπλέον, αποδείχθηκε πως τα ζάχαρα συνεισέφεραν περισσότερο κατά το διαχωρισμό των υπό μελέτη σταδίων. Η σακχαρόζη, η μαλτόζη και η κελλοβιόζη αποτέλεσαν τους κυριότερους μεταβολίτες για τη Sugar Graze, ενώ τα τρία αυτά ζάχαρα καθώς και το τρανσ-ακονιτικό οξύ για την Urja.

Όπως αναμενόταν, η συγκέντρωση της σακχαρόζης στα στελέχη μεγιστοποιήθηκε στο στάδιο της μαλακής ζύμης και για τις δύο ποικιλίες, ενώ τα επίπεδα της δεν διαφοροποιήθηκαν σημαντικά στα δύο μεταγενέστερα στάδια (3 και 4). Το αποτέλεσμα αυτό τονίζει τη δυνατότητα της συγκομιδής των στελεχών ακόμα και ένα μήνα μετά το ιδανικό στάδιο αλλά και τη δυνατότητα συγκομιδής στο στάδιο αυτό και εναπόθεσης στον αγρό χωρίς να παρατηρούνται σημαντικές απώλειες σακχαρόζης και στις δύο περιπτώσεις. Στη δεύτερη περίπτωση, τα στελέχη συγκομίστηκαν ακέραια μιας και αποτελεί την ιδανικότερη συγκομιδή (Eiland et al., 1982; Lingle et al., 2012). Γίνεται κατανοητό πως τόσο η συγκομιδή αρκετά μετά τον άριστο χρόνο συγκομιδής, όσο η συγκομιδή στο κατάλληλο στάδιο και εναπόθεση των στελεχών στον αγρό για τουλάχιστον 30 ημέρες δεν επιδρούν σημαντικά στην τελική απόδοση σε βιοαιθανόλη. Παρά το γεγονός ότι τα επίπεδα, της D-γλυκόζης και φρουκτόζης, σημείωσαν σημαντικές μεταβολές μεταξύ των σταδίων, οι αλλαγές αυτές δεν επηρέασαν σημαντικά τη συγκέντρωση της σακχαρόζης, καταδεικνύοντας τη μειωμένη σημασία των συγκεκριμένων αλλά και άλλων μονοσακχαριτών στα στάδια 3 και 4. Άλλωστε, σύμφωνα με αρκετές μελέτες, η συνεισφορά της σακχαρόζης επί των συνολικών ζαχάρων είναι ιδιαίτερος σημαντική και δύναται να ανέλθει περίπου στο 90% (Sherwood, 1923; Saballos, 2008).

Όπως προαναφέρθηκε κατά τη μεταβολομική ανάλυση των φύλλων, οι μεταβολές στα επίπεδα των αμινοξέων και των οργανικών οξέων πιθανότατα σχετίζονται με το ρυθμό βιοσύνθεσης και αποδόμησης των ζαχάρων τόσο ως διακριτών όσο και ως ταυτόχρονα λειτουργούντων διεργασιών.

Η PCA για τα στελέχη των ποικιλιών, κατέδειξε σημαντικές διαφορές στους μεταβολίτες στα διάφορα στάδια. Στην Sugar Graze προέκυψε σχετικά ικανοποιητικός διαχωρισμός μεταξύ των σταδίων 3 και 4, ενώ τα στάδια 1 και 2 δεν

διαφοροποιήθηκαν. Αντίθετα, στην Urja, διακρίθηκαν ικανοποιητικά μόνο τα δείγματα του σταδίου 1. Η φρουκτόζη, D-γλυκόζη, D-μαννόζη και σακχαρόζη αποτέλεσαν τους πλέον μεταβαλλόμενους μεταβολίτες για την ποικιλία Sugar Graze, ενώ για την ποικιλία Urja η σακχαρόζη, η L-ασπαραγίνη, το τρανσ-ακονιτικό οξύ, η φρουκτόζη, η D-γλυκόζη, η D-μαννόζη και η ταγκατόζη.

Τα φύλλα και τα στελέχη του γλυκού σόργου, παρουσίασαν σημαντικές συγκεντρώσεις ζαχάρων κατά την ανάπτυξη. Παρ' όλα αυτά, αξίζει να σημειωθεί πως οι μεταβολές στα επίπεδα των μεταβολιτών παρουσίασαν ανακολουθίες μεταξύ των δύο υπό μελέτη ποικιλιών. Οι διαφορές αυτές δύναται πιθανότατα να αποδοθούν στο μέγεθος της φόβης, η οποία επηρεάζει ισχυρά την πορεία της συγκέντρωσης των ζαχάρων. Οι Lingle et al. (1987) μελέτησαν τη συγκέντρωση υδατανθράκων στα στελέχη της ποικιλίας γλυκού σόργου Rio και παρατήρησαν πως το μικρό μέγεθος της φόβης δεν αποτελεί ισχυρό ανταγωνιστή κατά τον επιμερισμό των υδατανθράκων στο φυτό. Έτσι γίνεται αντιληπτό πως οι διαφορές μεταξύ των ποικιλιών είναι πολύ πιθανό να οφείλονται στις μικρού μεγέθους φόβες της ποικιλία Urja σε αντίθεση με τις συγκριτικά μεγαλύτερες της ποικιλίας Sugar Graze. Συνολικά, η σύγκριση των επιπέδων των μεταβολιτών για κάθε στάδιο των δύο ποικιλιών, κατέδειξε πως η χρονική ρύθμιση του μεταβολισμού της σακχαρόζης, παρουσιάζει σημαντική γονοτυπική εξάρτηση.

4.4 Μεταγραφομική ανάλυση

Η ανάλυση στοχευμένων μεταγραφημάτων εφαρμόστηκε σε φύλλα και στελέχη του γλυκού σόργου έτσι ώστε να ελεγχθεί η ρύθμιση του μεταβολισμού της σακχαρόζης στο επίπεδο της γονιδιακής έκφρασης. Τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα και σχετίζονται με τη σύνθεση ή τον καταβολισμό της σακχαρόζης, όπως η συνθάση της σακχαρόζης, η συνθάση της φωσφορικής σακχαρόζης και η β-φρουκτοφουρανοσιδάση, υπολογίστηκαν μέσω της qRT-PCR σε τρία διακριτά στάδια της ανάπτυξης του γλυκού σόργου για τα φύλλα και ένα επιπλέον στάδιο για τα στελέχη, όπως περιγράφηκε στη μεταβολομική ανάλυση.

Έχει ήδη αναφερθεί ότι η σακχαρόζη στα φύλλα των δύο ποικιλιών, μεγιστοποιείται κατά το στάδιο της μαλακής ζύμης, και η τάση αυτή επιβεβαιώνεται για την Urja από την παρατηρηθείσα αύξηση των επιπέδων της συνθάσης της σακχαρόζης. Αντίθετα, τα επίπεδα της συνθάσης της σακχαρόζης στα φύλλα της Sugar Graze μεγιστοποιήθηκαν κατά το στάδιο 3, καθώς φαίνεται πως το μεγάλο μέγεθος φόβης της ποικιλίας αυτής, επιτρέπει τη συνέχιση σύνθεσης της σακχαρόζης σε στάδια μεταγενέστερα της μαλακής ζύμης. Ο ρόλος του συγκεκριμένου ενζύμου κατά τη

σύνθεση της σακχαρόζης, μελετήθηκε στο παρελθόν σε φύλλα σόργου. Οι Hoffmann et al. (1996), έδειξαν πως οι συνθάσες της σακχαρόζης δρουν ως καταλύτες κατά την παραγωγή σακχαρόζης από ουριδινοδιφωσφορο- γλυκόζη (UDP-γλυκόζη) και φρουκτόζη ώστε να παραχθεί η απαραίτητη ενέργεια για την αναπνοή των υπό ανάπτυξη κυττάρων.

Τα γονίδια που κωδικοποιούν τη συνθάση της φωσφορικής σακχαρόζης παρουσίασαν επίσης σημαντική επαγωγή κατά τα στάδια 2 και 3 για τις ποικιλίες Urja και Sugar Graze αντίστοιχα. Τα συγκεκριμένα ένζυμα έχουν ερευνηθεί εκτενώς σε ανώτερα φυτά και έχει αποδειχθεί πως δρουν ως καταλύτες προς την παραγωγή σακχαρόζης (Huber and Huber, 1996), ενώ στο ζαχαροκάλαμο και τον αραβόσιτο ο ρόλος τους συνδέεται με την παραγωγή σακχαρόζης μέσω της επανασύνθεσής της (Hatch, 1964; Matsui, 1985; Thom and Maretzki, 1985; Lingle, 1987).

Όσον αφορά τα γονίδια των β-φρουκτοφουρανοσιδασών, παρατηρήθηκε σημαντική επαγωγή κατά τα στάδια 2 και 3 για τις ποικιλίες Urja και Sugar Graze αντίστοιχα. Η δράση των β-φρουκτοφουρανοσιδασών, συνδέεται με την παραγωγή εξοζών οι οποίες είναι απαραίτητες κατά την ανάπτυξη των διαφόρων ιστών του φυτού (Lingle, 1987). Από τα παραπάνω, φαίνεται πως οι διαδικασίες της παραγωγής και καταβολισμού της σακχαρόζης λαμβάνουν χώρα παράλληλα.

Όπως κατά την ανάλυση του μεταγραφήματος στα φύλλα, έτσι και στα στελέχη, το επίπεδο της σακχαρόζης μεγιστοποιήθηκε κατά το στάδιο της μαλακής ζύμης και στις δύο ποικιλίες. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τη συνθάση της σακχαρόζης στη Sugar Graze, παρουσίασαν σχετικά χαμηλή έκφραση στα στάδια 1 και 2, και περαιτέρω σημαντική μείωση στο στάδιο 3. Αντίθετα, η έκφραση της συνθάσης της σακχαρόζης στην ποικιλία Urja, παρουσιάστηκε αυξημένη στο στάδιο 1 και μειώθηκε στα στάδια 2 και 3. Όπως αναμενόταν, η έκφραση των συγκεκριμένων γονιδίων παρατηρήθηκε αυξημένη στο στάδιο 4 και των δύο ποικιλιών. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν και με προηγούμενη μελέτη όπου αναφέρθηκε ότι οι συνθάσες της σακχαρόζης σε αποθησαυριστικούς ιστούς, όπως τα στελέχη του σόργου, δρουν αντίθετα απ' ότι στα φύλλα και ουσιαστικά καταλύουν την αποδόμηση της σακχαρόζης σε UDP-γλυκόζη και φρουκτόζη (Qazi et al., 2012). Αντίστοιχα, τα γονίδια που επάγουν τις συνθάσες της φωσφορικής σακχαρόζης παρουσίασαν σημαντικά αυξημένη έκφραση στο στάδιο 4 και στις δύο ποικιλίες. Δεδομένου ότι στο στάδιο 4 δεν αναμένεται σύνθεση σακχαρόζης, η αυξημένη παρατηρηθείσα έκφραση των συνθασών της φωσφορικής σακχαρόζης δεν δύναται να ερμηνευθεί επακριβώς, γεγονός για το οποίο απαιτούνται περαιτέρω μελέτες. Το εύρημα αυτό όμως, σε συνδυασμό με τα χαμηλά επίπεδα έκφρασης των συγκεκριμένων γονιδίων κατά τα πρώτα στάδια, θα μπορούσε να αποδοθεί στο ότι η συνθάση της φωσφορικής σακχαρόζης μπορεί να μη συνεισφέρει

στη σύνθεση και αποθήκευση της σακχαρόζης, όπως υποστηρίχθηκε από παλαιότερη μελέτη (Lingle, 1987).

Τα γονίδια που επάγουν τις β-φρουκτοφουρανοσιδάσες παρουσίασαν σχετικά χαμηλή έκφραση στα στάδια 1,2 και 3, ενώ όπως αναμενόταν η έκφραση τους ήταν ιδιαίτερα υψηλή στο στάδιο 4 και των δύο ποικιλιών. Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει πως χαμηλά επίπεδα ιμπερτασών, κατηγορία στις οποίες ανήκουν οι β-φρουκτοφουρανοσιδάσες, σχετίζονται με την παύση της ανάπτυξης των στελεχών στο ζαχαροκάλαμο και τον αραβόσιτο (Hatch and Glasziou, 1963; Setter and Meller, 1984). Όσον αφορά το γλυκό σόργο, η μείωση των επιπέδων ιμπερτασών συνδέεται με την παύση της ανάπτυξης των μεσογονάτιων διαστημάτων καθώς και με αυξημένα επίπεδα σακχαρόζης (Lingle, 1987). Η συγκέντρωση των συγκεκριμένων ενζύμων κυμαίνεται επίσης σε χαμηλά επίπεδα πριν και κατά τη διάρκεια της σύνθεσης της σακχαρόζης, γεγονός που αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την έναρξη της ανόδου των συγκεντρώσεων της σακχαρόζης (Tarpley et al., 1994). Αντίστοιχη έκφραση με τα γονίδια που επάγουν τα ένζυμα των β-φρουκτοφουρανοσιδασών, παρουσίασαν και τα γονίδια των συνθασών της σακχαρόζης σε όλα τα υπό μελέτη στάδια. Το γεγονός αυτό έχει παρατηρηθεί και από άλλους μελετητές, σύμφωνα με τους οποίους, τα συγκεκριμένα δύο γονίδια παίζουν ίσως το σημαντικότερο ρόλο κατά τον καταβολισμό της σακχαρόζης (Tarpley et al., 1994).

Ο συνδυασμός των δεδομένων της μεταβολομικής και μεταγραφομικής ανάλυσης, υποδεικνύει πως οι αλλαγές που παρατηρήθηκαν στα επίπεδα αρκετών ζαχάρων ελέγχονται σε μεταγραφικό επίπεδο από σχετικά γονίδια. Η αυξημένη έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα υπεύθυνα για τον καταβολισμό της σακχαρόζης, οδηγεί σε χαμηλές συγκεντρώσεις σακχαρόζης στα στελέχη του γλυκού σόργου. Ειδικότερα, μειωμένα επίπεδα σακχαρόζης συνδυάστηκαν με αυξημένη έκφραση των γονιδίων που επάγουν τα ένζυμα των συνθασών της σακχαρόζης και των β-φρουκτοφουρανοσιδασών, με τις δεύτερες να συνδυάζονται επίσης με αυξημένες συγκεντρώσεις των υδρολυμένων παραγώγων τους όπως η D-γλυκόζη και η φρουκτόζη.

Σύγκριση σταδίων μετά τη μαλακή ζύμη

Το μεταβολικό και μεταγραφικό προφίλ των σταδίων 3 και 4, αξιολογήθηκε έτσι ώστε να αποκαλυφθούν πιθανές διαφορές κατά τον καταβολισμό των ζαχάρων. Με δεδομένο ότι το γλυκό σόργο χαρακτηρίζεται από έντονη εποχικότητα, πέραν του ερευνητικού ενδιαφέροντος, η μελέτη αυτή αναμένεται να συνεισφέρει σημαντικά στην αποτελεσματικότερη αξιοποίηση της καλλιέργειας για παραγωγή βιοαιθανόλης με τη διεύρυνση της περιόδου συγκομιδής.

Τα επίπεδα των μεταβολιτών της κατηγορίας των ζαχάρων στα στάδια 3 και 4, παρουσίασαν σημαντικές διαφορές σε αρκετές περιπτώσεις. Η σακχαρόζη που αποτελεί τον κυριότερο μεταβολίτη, δεν παρουσίασε σημαντικές μεταβολές, παρά το γεγονός ότι τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων του καταβολισμού της παρουσίασαν ανακολουθίες για τα δύο στάδια. Συγκεκριμένα, τα γονίδια που κωδικοποιούν τη συνθάση της σακχαρόζης και τις β-φρουκτοφουρανοσιδάσες, παρουσίασαν ιδιαιτέρως αυξημένα επίπεδα έκφρασης στο στάδιο 4, χωρίς όμως να καταγράφεται ταυτόχρονη μείωση στη συγκέντρωση της σακχαρόζης. Η απουσία μεταβολής των επιπέδων της σακχαρόζης είναι πιθανό να οφείλεται στο ότι οι σχετικές διεργασίες αποδόμησης δεν έχουν εκκινήσει ακόμη ή στο ότι τα γονίδια που ελέγχουν τις διαδικασίες αυτές υπόκεινται σε μετα-μεταγραφική ρύθμιση κατά το στάδιο 4. Οι συγκεντρώσεις της D-γλυκόζης και φρουκτόζης εμφανίστηκαν αυξημένες στο στάδιο 4, παραπέμποντας σε διεργασίες υδρόλυσης της σακχαρόζης. Το ότι η υδρόλυση αυτή δεν οδηγεί σε χαμηλά επίπεδα σακχαρόζης, δύναται να αποδοθεί στη μειωμένη συνεισφορά των D-γλυκόζης και φρουκτόζης στα ολικά ζάχαρα του γλυκού σόργου. Θα μπορούσε επίσης να υποτεθεί ότι τα γονίδια που κωδικοποιούν τη συνθάση της φωσφορικής σακχαρόζης είναι δυνατόν να υδρολύουν και παράλληλα να επανασυνθέτουν σακχαρόζη στο στάδιο 4.

Στη μελέτη αυτή, χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά συνδυασμένη μεταβολομική και μεταγραφομική ανάλυση με σκοπό τη διερεύνηση των πολύπλοκων μοριακών και βιοχημικών αλληλεπιδράσεων που ελέγχουν το μεταβολισμό της σακχαρόζης, όπως και άλλων μεταβολιτών σε κρίσιμα στάδια της καλλιέργειας του γλυκού σόργου. Πέραν των εμφανών χρονικών μεταβολών στη σύσταση των μεταβολιτών, τα αποτελέσματα της μελέτης διέκριναν τις ποικιλίες Sugar Graze και Urja ως προς το μεταβολικό τους προφίλ, υποδεικνύοντας πως οι μεταβολές αυτές και ο ιδιαίτερου ενδιαφέροντος καταβολισμός της σακχαρόζης παρουσιάζουν σημαντική γονοτυπική εξάρτηση. Επίσης, ο συνδυασμός της μεταβολομικής και μεταγραφομικής ανάλυσης παρέχει ενδείξεις πως ο καταβολισμός της σακχαρόζης ελέγχεται σε μεταγραφικό επίπεδο, παρά το γεγονός ότι σε ορισμένες περιπτώσεις παρουσιάζονται αποκλίσεις που οφείλονται πιθανώς σε μετα-μεταγραφικούς μηχανισμούς.

Η σύγκριση των σταδίων 3 και 4, παρουσίασε ανάλογα επίπεδα συγκέντρωσης σακχαρόζης, καταδεικνύοντας την αποτελεσματικότητα και των δύο προσεγγίσεων συγκομιδής. Βέβαια, η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου συγκομιδής επηρεάζεται σημαντικά από περιβαλλοντικούς και καλλιεργητικούς παράγοντες. Ιδιαίτερη έμφαση πρέπει να δοθεί σε ποικιλίες οι οποίες έχουν την ικανότητα να παράγουν σημαντικές ποσότητες σπόρου. Το γεγονός αυτό, είναι δυνατόν να συμβάλλει είτε σε επιπλέον παραγωγή βιοαιθανόλης μέσω της αξιοποίησης του αμύλου των σπόρων, είτε στην

αξιοποίηση του σπόρου ως κτηνοτροφή, αυξάνοντας έτσι σημαντικά το εισόδημα των παραγωγών.

4.5 Ανάλυση εκπομπών αερίων θερμοκηπίου

Η βιοαιθανόλη αποτελεί το σημαντικότερο βιοκαύσιμο μεταφορών παγκοσμίως και η παραγωγή της αναμένεται να καλύψει ένα μεγάλο ποσοστό των στόχων που έχουν τεθεί από την ΕΕ και αφορούν την αντικατάσταση της βενζίνης από βιοαιθανόλη σε ποσοστό 10% μέχρι το έτος 2020. Το σόργο αποτελεί μία από τις πλέον υποσχόμενες πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοαιθανόλης και για το λόγο αυτό ο έλεγχος της τήρησης των κριτηρίων αειφορίας που έχουν τεθεί από την ΕΕ αποτελεί καίριας σημασίας προσέγγιση, ώστε να γίνεται αποδεκτό το παραγόμενο συγκεκριμένο βιοκαύσιμο (EC, 2009).

Στα πλαίσια της ανάλυσης των εκπομπών GHG υπολογίστηκε η συνεισφορά (%) των επί μέρους κατηγοριών εκπομπών επί των αντίστοιχων συνολικών (g CO₂e/στρ) της καλλιέργειας. Η εκτίμηση των μέσων όρων για όλους τους πειραματικούς αγρούς κατέδειξε πως οι εκπομπές που προκύπτουν από την κατανάλωση ηλεκτρικής ενέργειας για τις αρδεύσεις, την ενέργεια παραγωγής των αζωτούχων λιπασμάτων, την κατανάλωση ορυκτών καυσίμων για τις καλλιεργητικές φροντίδες και τις εκπομπές N₂O λόγω της N λίπανσης συνεισφέρουν περισσότερο στις τελικές εκπομπές, με τα ποσοστά να ανέρχονται σε 28.1%, 25.5%, 16.9% και 23.9% αντίστοιχα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτά, η άρδευση και η αζωτούχος λίπανση θεωρούνται ως τις πλέον σημαντικές καθώς δύνανται να αποτελέσουν έως και το 77.2% των συνολικών εκπομπών. Σε μια αντίστοιχη μελέτη, οι Vlachos et al. (2013) εκτίμησαν τη συνεισφορά των επί μέρους κατηγοριών εκπομπών επί των συνολικών, για ελαιούχες καλλιέργειες οι οποίες δύνανται να αποτελέσουν την πρώτη ύλη για παραγωγή βιοντίζελ στην Ελλάδα. Τα αποτελέσματα από τη μελέτη αυτή συμφωνούν πλήρως με τα αποτελέσματα της παρούσας ανάλυσης για τη βιοαιθανόλη, καθώς οι εκπομπές λόγω των εφαρμογών των N λιπάνσεων συμμετείχαν επί των συνολικών εκπομπών κατά 57% για την καλλιέργεια του ηλίανθου (*Helianthus annuus* L.), 68% για την καλλιέργεια της ελαιοκράμβης (*Brassica napus* L.) και 47% για την καλλιέργεια της σόγιας (*Glycine max* L.). Τα αντίστοιχα ποσοστά για τις εφαρμογές των αρδεύσεων ανήλθαν σε 25, 16 και 34%. Παρόμοια συνεισφορά εκτιμήθηκε για την καλλιέργεια βάμβακος στην Αυστραλία, όπου η κατανάλωση ηλεκτρικού ρεύματος για τις αρδεύσεις και η πρακτική της N λίπανσης αποτέλεσαν τους σημαντικότερους παράγοντες, συμμετέχοντας κατά 27.5 και 63.1% στις τελικές εκπομπές αντίστοιχα (Maraseni et al., 2010).

Οι εκπομπές λόγω κατανάλωσης ορυκτού καυσίμου μόνο για τη χρήση ελκυστήρα κατά την εφαρμογή των διαφόρων καλλιεργητικών φροντίδων, δεν φαίνεται να επηρεάζουν ισχυρά τις τελικές εκπομπές (Maraseni et al., 2010; Vlachos et al., 2013). Στις περιπτώσεις που και η άρδευση γίνεται μέσω της κατανάλωσης ορυκτού καυσίμου, όπως για δεδομένα καλλιεργειών ρυζιού και ηλίανθου οι αντίστοιχες εκπομπές εμφανίζονται ιδιαίτερος αυξημένες (Maraseni et al., 2009; Cotana et al., 2010).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι τυπικές εκπομπές εκφράζουν τις συνολικές εκπομπές GHG κατά την καλλιεργητική φάση αναγόμενες σε MJ παραγόμενης βιοαιθανόλης. Κατά την παραγωγή βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς από τα ζυμώσιμα ζάχαρα των στελεχών του σόργου, οι τυπικές εκπομπές επηρεάζονται ισχυρά από το παραγωγικό δυναμικό των ποικιλιών. Όπως αναμενόταν, οι χαμηλότερες τυπικές εκπομπές καταγράφηκαν για ποικιλίες οι οποίες ανήκουν στην κατηγορία των γλυκών σόργων καθώς συνδυάζουν υψηλή απόδοση και ζαχαροπεριεκτικότητα στελεχών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, οι ποικιλίες γλυκού σόργου Urja, Sugar Graze και δευτερευόντως η M81, αποτέλεσαν τις ιδανικότερες ποικιλίες για παραγωγή βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς λόγω των συγκριτικά χαμηλότερων τυπικών εκπομπών οι μέσοι όροι των οποίων κυμάνθηκαν από 15.9 έως 23.6 g CO₂e/MJ_{βιοαιθανόλης}.

Σχετικές τυπικές εκπομπές έχουν εκτιμηθεί στα πλαίσια διάφορων μελετών. Οι de Vries et al. (2010) μελέτησαν τις τυπικές εκπομπές από εννέα ενεργειακές καλλιέργειες που προορίζονται για την παραγωγή βιοαιθανόλης και βιοντίζελ. Το γλυκό σόργο και το ζαχαροκάλαμο για παραγωγή βιοαιθανόλης και η σόγια για παραγωγή βιοντίζελ παρουσίασαν τις συγκριτικά χαμηλότερες τυπικές εκπομπές. Τα εκπεμπόμενα GHG κατά την παραγωγή του γλυκού σόργου ανήλθαν στα 22 g CO₂e/MJ_{βιοαιθανόλης} περίπου, αναδεικνύοντας την καταλληλότητα της καλλιέργειας αυτής για παραγωγή βιοαιθανόλης. Στο πλαίσιο της κατάρτισης της εθνικής έκθεσης εκπομπών αερίων θερμοκηπίου για τις πρώτες ύλες παραγωγής βιοκαυσίμων και βιορευστών ανά περιοχή (NUTS 2), σύμφωνα με την οδηγία 28/2009 της ΕΕ, υπολογίστηκαν οι τυπικές εκπομπές κατά τη φάση της καλλιέργειας αραβόσιτου σίτου (*Triticum* sp.) και ζαχαροτεύτλων (*Beta vulgaris* L.) για παραγωγή βιοαιθανόλης υπολογίστηκαν κατά μέσο όρο σε 19.8, 22.3 και 20.4 g CO₂e/MJ_{βιοαιθανόλης} αντίστοιχα (Μη δημοσιευμένα αποτελέσματα εργαστηρίου Βελτίωσης Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού του Γ.Π.Α.). Αν και οι παραπάνω τυπικές εκπομπές εμφανίζονται ως αντίστοιχα χαμηλές με αυτές του γλυκού σόργου της παρούσας μελέτης, πρέπει να τονισθεί ότι αυτό οφείλεται στην απομείωση μέρους των εκπομπών λόγω των υποπροϊόντων τους. Στην περίπτωση που η απομείωση αυτή δεν συμπεριληφθεί, οι

εκπομπές από τρεις αυτές καλλιέργειες θα ήταν σημαντικά υψηλότερες. Στη χώρα μας επίσης, οι Vlachos et al. (2013) υπολόγισαν τις τυπικές εκπομπές από την καλλιέργεια ηλίανθου, ελαιοκράμβης και σόγιας για παραγωγή βιοντίζελ σε 53.8, 57.6 και 65.5 g CO₂e/MJ_{βιοντίζελ} αντίστοιχα.

Η επιτυγχανόμενη ποσοστιαία μείωση των εκπομπών GHG προκύπτει από τη σύγκριση του βιοαιθανόλης με αντίστοιχη ποσότητα της βενζίνης που αντικαθιστά. Όπως αναμενόταν, οι υψηλότερες μειώσεις εκπομπών GHG (%) εκτιμήθηκαν για τις ποικιλίες γλυκού σόργου οι οποίες παρουσίασαν τις χαμηλότερες τυπικές εκπομπές. Οι ποικιλίες Urja, Sugar Graze και M81 εμφάνισαν τις υψηλότερες μειώσεις εκπομπών με τους μέσους όρους για όλα τα έτη πειραματισμού να κυμαίνονται από 49 έως 55.5%. Οι Wang et al. (2007) συνέκριναν διάφορα συστήματα παραγωγής βιοαιθανόλης, βάσει της αποδοτικότητας των μονάδων παραγωγής και εκτίμησαν τις μειώσεις εκπομπών από 28 έως 52% ανάλογα με την εφαρμοζόμενη μέθοδο. Σε μία αντίστοιχη μελέτη, οι Liska et al. (2009) εκτίμησαν τις μειώσεις εκπομπών που προκύπτουν από την παραγωγή βιοαιθανόλης από αραβόσιτο, με τις εκπομπές να παρουσιάζονται μειωμένες από 48 έως 59% ανάλογα με την τεχνολογία παραγωγής που εφαρμόστηκε. Επίσης, οι Kim and Dale (2005) υπολόγισαν τη μείωση εκπομπών κατά την παραγωγή βιοαιθανόλης από αραβόσιτο βάσει του συστήματος κατεργασίας του εδάφους. Το εύρος των διακυμάνσεων ανήλθε από 32 έως 54% και 40 έως 41% για τα συστήματα της συμβατικής κατεργασίας και ακατεργασίας αντίστοιχα.

Η ΕΕ μέσω της οδηγίας 28/2009 έχει ορίσει σαφή όρια όσον αφορά τις τυπικές εκπομπές που προκύπτουν κατά την παραγωγή των βιοκαυσίμων από συγκεκριμένες ενεργειακές καλλιέργειες. Τα ανώτερα όρια που έχουν θεσπισθεί κατά την παραγωγή βιοαιθανόλης για πρώτες ύλες όπως το ζαχαρότευτλο, το σιτάρι και ο αραβόσιτος ανέρχονται σε 12, 23 και 20 g CO₂e/MJ_{βιοαιθανόλης} αντίστοιχα (EC, 2009), ενώ στις σχετικές λίστες της οδηγίας δεν συμπεριλαμβάνεται το σόργο λόγω της έως σήμερα απουσίας αξιοποίησης του στις χώρες της ΕΕ. Αντίστοιχα, η ελάχιστη μείωση εκπομπών όπως αυτή αναφέρεται στην οδηγία 28/2009 κατά την παραγωγή βιοαιθανόλης από τις παραπάνω πρώτες ύλες ανέρχεται σε 52% για την καλλιέργεια του ζαχαρότευτλου, 16% για την καλλιέργεια του σίτου και 49% για την καλλιέργεια του αραβόσιτου (δεν περιλαμβάνεται μείωση εκπομπών για παραγωγή βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς από σόργο).

Λαμβάνοντας υπόψη τόσο τα προκαθορισμένα όρια των τυπικών εκπομπών κατά την καλλιεργητική φάση όσο και τις κατώτερες τιμές μείωσης των εκπομπών GHG των παραπάνω πρώτων υλών που προορίζονται για παραγωγή βιοαιθανόλης, γίνεται αντιληπτό ότι τα αποτελέσματα του γλυκού σόργου είναι ιδιαίτερως ενθαρρυντικά. Μάλιστα, αν συνυπολογιστεί το γεγονός ότι κατά την εκτίμηση των τυπικών

εκπομπών δεν λήφθηκε υπόψη κάποιο είδος επιμερισμού των εκπομπών στα προκύπτοντα υποπροϊόντα (στελέχη μετά τη σύνθλιψη, σπόρος), γίνεται αντιληπτό ότι οι υπολογισθείσες τιμές δύνανται να μειωθούν ακόμα περισσότερο, καθιστώντας το γλυκό σόργο ιδανική συμπληρωματική πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς σε μονάδες που αξιοποιούν πολλαπλές πρώτες ύλες.

Περαιτέρω μείωση των τυπικών εκπομπών και αύξηση της μείωσης εκπομπών (%) δύνανται να επιτευχθεί μέσω της βελτιστοποίησης της καλλιεργητικής τεχνικής. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι η άρδευση και η N λίπανση αποτελούν τους παράγοντες που ως επί των πλείστον επηρεάζουν τις τελικές εκπομπές, είναι προφανές ότι απαιτείται τροποποίηση των σχετικών καλλιεργητικών πρακτικών ώστε να μειωθούν οι απαιτούμενες εισροές.

Τέλος, πέραν του προσδιορισμού της καταλληλότητας ποικιλιών διαφόρων τύπου σόργου για την παραγωγή βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς, τα δεδομένα της παρούσας μελέτης, παρέχουν σαφή και χρήσιμη πληροφόρηση για την υψηλή καταλληλότητα των ποικιλιών γλυκού σόργου για παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς από την πλήρη αξιοποίηση της βιομάζας. Το ίδιο ισχύει και για ορισμένες από τις χορτοδοτικές και ποικιλίες υψηλής βιομάζας οι οποίες όπως προαναφέρθηκε δύνανται να αποτελέσουν επίσης καλή πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαερίου.

5. ΣΥΝΟΨΗ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΩΝ

Από τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής προέκυψαν σημαντικά συμπεράσματα, χρήσιμα τόσο σε πρακτικό όσο και ακαδημαϊκό επίπεδο.

- Το εμπορικά διαθέσιμο γενετικό υλικό ποικιλιών γλυκού σόργου διαθέτει σε υψηλό βαθμό τα χαρακτηριστικά της παραγωγικότητας και σταθερότητας που επιτρέπουν την αξιοποίηση του στη χώρα μας, ως πρώτη ύλη σε κατάλληλες βιομηχανικές μονάδες παραγωγής βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς. Παράλληλα, οι ποικιλίες γλυκού σόργου θα αποτελούσαν, λόγω και της υψηλής ζαχαροπεριεκτικότητας, εξαιρετική πρώτη ύλη και για την παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς από τη ζύμωση τόσο των ζαχάρων όσο και του λιγνοκυτταρινούχου κλάσματος της βιομάζας. Συγκεκριμένες μάλιστα ποικιλίες που χαρακτηρίζονται και από υψηλή απόδοση σε σπόρο θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν υπό την έννοια του βιοδιυλιστηρίου για ταυτόχρονη παραγωγή βιοαιθανόλης και κτηνοτροφής.
- Οι αποδόσεις βιομάζας που παρατηρήθηκαν τόσο στα χορτοδοτικά όσο και στα σόργα υψηλής βιομάζας, καθιστούν τις σχετικές ποικιλίες κατάλληλες για παραγωγή βιοαερίου καθώς και βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς από την ολική αξιοποίηση της βιομάζας.
- Από την ανάλυση ζαχάρων και μεταβολιτών σε στελέχη του γλυκού σόργου που συγκομίστηκαν κατά το άριστο στάδιο (μαλακή ζύμη) και ένα μήνα αργότερα, καθώς και σε στελέχη που συγκομίστηκαν στο άριστο στάδιο και παρέμειναν στον αγρό για ένα μήνα μετά τη συγκομιδή, προέκυψε ότι τα επίπεδα της σακχαρόζης (που αποτελεί το βασικότερο παράγοντα παραγωγής βιοαιθανόλης) παραμένουν σταθερά. Το γεγονός αυτό παρέχει ευελιξία ως προς το χρόνο συγκομιδής, διευρύνοντάς τον και επιτρέποντας την τροφοδοσία των μονάδων επεξεργασίας με πρώτη ύλη για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.
- Τα πολυπληθή δεδομένα από τη διαχρονική ανάλυση του μεταβολικού προφίλ του σόργου (στελεχών και φύλλων), παρέχουν ιδιαίτερα χρήσιμη βάση για περαιτέρω μελέτη των φυσιολογικών διεργασιών που σχετίζονται με τα διάφορα στάδια ανάπτυξης του φυτού. Ο συνδυασμός των δεδομένων αυτών

με επιπλέον δεδομένα μεταγραφομικής ανάλυσης θα επιτρέψει την ολοκληρωμένη μελέτη των διεργασιών (βιολογία συστημάτων).

- Παρά το γεγονός ότι δεν έχουν ακόμα θεσπισθεί από την ΕΕ κριτήρια αειφορίας για την παραγωγή βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς από γλυκό σόργο, η σύγκριση με υπάρχοντα κριτήρια για άλλες καλλιέργειες (όπως σίτου, αραβόσιτου και ζαχαροτεύτλων), υποδεικνύει σαφώς την αειφορία της παραπάνω παραγωγής στη χώρα μας.
- Η εκτίμηση των γενετικών παραμέτρων για το συγκεκριμένο υλικό που μελετήθηκε, επιτρέπει αισιόδοξες προβλέψεις για τη δυνατότητα ανάπτυξης βελτιωτικού προγράμματος δημιουργίας ποικιλιών σόργου, οι οποίες θα είναι παραγωγικά αξιόλογες και καλά προσαρμοσμένες στις αγροκλιματικές ιδιαιτερότητες της χώρας μας.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agrama H. A., G. E. Wilde, J. C. Reese, L. R. Campbell and M. R. Tuinstra (2002).** Genetic mapping of QTLs associated with greenbug resistance and tolerance in *Sorghum bicolor*. *Theoretical and Applied Genetics* **104**: 1373-1378.
- Agrawal B. L., C. V. Abraham and L. R. House (1988).** Inheritance of resistance to midge, *Contarinia sorghicola* Coq. in sorghum, *Sorghum bicolor* L. Moench. *Insect Science and its Applications* **9**: 43-45.
- Al-Jibouri H., P. Miller and H. Robinson (1958).** Genotypic and environmental variances and covariances in an upland cotton cross of interspecific origin. *Agronomy Journal* **50**: 633-636.
- Almodares A. and A. Sepahi (1996).** Comparison among sweet sorghum cultivars, lines and hybrids for sugar production. *Annals of Plant Physiology* **10**: 50-55.
- Alvi M. B., M. Rafique, M. S. Tariq, A. Hussain, T. Mahmood and M. Sawwar (2003).** Character association and path coefficient analysis of grain yield and yield components maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* **6**(2): 136-138.
- Amorim H. V., L. C. Basso and M. L. Lopes (2009).** Sugar cane juice and molasses, beet molasses and sweet sorghum: Composition and usage. In Ingledew W. M., Kelsall D. R., Austin G. D. and Kluhspies C. (eds.) *The Alcohol Textbook: A reference for the beverage, fuel and industrial alcohol industries*. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Bacon R. K., R. P. Cantrell and J. D. Axtell (1986).** Selection for seedling cold tolerance in grain sorghum. *Crop Science* **26**: 900-903.
- Bennett A. S. and R. P. Anex (2009).** Production, transportation and milling costs of sweet sorghum as a feedstock for centralized bioethanol production in the upper Midwest. *Bioresources Technology* **100**: 1595-1607.
- Bernardo R. (2002).** *Breeding for Quantitative Traits in Plants*. Stemma Press. Woodbury, Minnesota, USA.
- BioGrace (2012).** GHG calculations- version 4b. (www.biograce.net, last accessed 17/11/2012)
- Bramel-Cox P. J., J. S. Stein, D. M. Rodgers and L. E. Clafin (1988).** Inheritance of resistance to *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid and *Fusarium moniliforme* Sheldon in sorghum. *Crop Science* **28**: 37-40.
- Broadhead D. M. (1972).** Effects of stalk chopping on leaf removal and juice quality of Rio sweet sorghum. *Agronomy Journal* **64**: 306-308.
- Brown P. J., W. L. Rooney, C. Franks and S. Kresovich (2008).** Efficient mapping of plant height quantitative trait loci in a sorghum association population with introgressed dwarfing genes. *Genetics* **180**: 629-637.
- Brown T. A. (2010).** *Gene cloning and DNA analysis: An introduction*. Wiley-Blackwell. Oxford, UK.
- Burton G. W. (1952).** Quantitative inheritance in grasses. Proceedings of the 6th International Grassland Congress, Pennsylvania, Pa, USA. pp.277-283

- Cao R. H., X. L. Wang, J. H. Ren and C. H. Nan (1988).** The resistance of sorghum to head smut and its inheritance. *In* Suzuki S. (eds.) *Crop Genetic Resources of East India*. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy.
- Casela C. R., A. S. Ferreira and R. E. Schaffert (1992).** Physiological races of *Colleotrichum gramminicola* in Brazil. *In* W.A.J. d. M., Frederiksen R. A. and Bengston G. D. (eds.) *Sorghum and Millets Diseases: A second World Review*. ICRISAT, Patancheru (A.P.), India, pp. 209-212.
- Coleman O. H. and I. E. Stokes (1964).** Storage studies of sorgo. *Technical Bulletin No. 1307, Mississippi Agricultural Experiment Station*.
- Comstock R. E. and R. H. Moll (1963).** Genotype- environment interactions. *In* Hanson W. D. and Robinson H. F. (eds.) *Statistical Genetics and Plant Breeding*. NAS-NRC, Washington, D.C., USA.
- Corn R. J. (2009).** Heterosis and composition of sweet sorghum. PhD thesis. Department of Soil and Crop Sciences, Texas A&M University, College Station, TX.
- Cotana F., M. Barbanera and F. Fantozzi (2010).** Life cycle assessment of sunflower and rapeseed cultivation for biodiesel production. Proceedings of the 10th Congresso Nazionale, Sviluppo Sostenibile, Tutela dell' Ambiente e della Salute Umana, Atti, Perugia, Italy, CIRIAF. pp.301-306
- Cramer G. R., A. Ergul, J. Grimplet, R. L. Tillett, E. A. R. Tattersall, M. C. Bohlman, D. Vincent, J. Sonderegger, J. Evans, C. Osborne, D. Quilici, K. A. Schlauch, D. A. Schooley and J. C. Cushman (2007).** Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. *Functional and Integrative Genomics* **7**: 111-134.
- Crasta O. R., W. W. Xu, D. T. Rosenow, J. E. Mullet and H. T. Nguyen (1999).** Mapping of post- flowering drought resistance traits in grain sorghum: association between QTLs influencing premature senescence and maturity. *Molecular and General Genetics* **262**: 579-588.
- Dabholkar A. R. and S. S. Baghel (1980).** Inheritance resistance to grain mould of sorghum. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* **40**: 472-476.
- Dahlberg J. A. (2000).** Classification and characterization of Sorghum. *In* Smith C. W. and Frederiksen R. A. (eds.) *Sorghum: Origin, History, Technology and Production*. John Wiley, New York, USA, pp. 99- 130.
- Dalianis C., C. Sooter and M. Christou (1995).** Sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) biomass productivity sugar yields and ethanol potential in Greece. Proceedings of the 8th European Biomass Conference "Biomass for Energy, Environment, Agriculture and Industry", Oxford, UK, Pergamon Press. pp.622-628
- Dangi O. P. and R. S. Paroda (1978).** Combining ability analysis for yield and its components in forage sorghum. *Indian Journal of Agricultural Science* **48**: 287-290.
- de Vries S., G. W. J. van de Ven, M. K. van Ittersum and K. E. Giller (2010).** Resource use efficiency and environmental performance of nine major biofuel crops, processed by first-generation conversion techniques. *Biomass and Bioenergy* **34**: 588-601.
- de Wet J. M. J. (1978).** Systematics and evolution of Sorghum Sect. Sorghum (Gramineae). *American Journal of Botany* **65**(4): 477-484.
- de Wet J. M. J. and J. R. Harlan (1971).** The origin and domestication of *Sorghum bicolor*. *Economic Botany* **25**: 128-135.

Debrosses G. G., J. Kopka and M. Udvardi (2005). *Lotus japonicus* Metabolic Profiling. Development of Gas Chromatography-Mass Spectrometry Resources for the Study of Plant-Microbe Interactions. *Plant Physiology* **137**: 1302-1318.

Deepalakshmi A. J. and K. Ganesamurthy (2007). Studies on genetic variability and character association in kharif sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Indian Journal of Agricultural Science* **41**(3): 177-182.

Dercas N. P., C. S. Panoutsou, D. D. Dalianis and C. A. Sooter (1994). Sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) response to four irrigation and two nitrogen fertilization rates. Proceedings of the 8th European biomass conference "Biomass for energy, environment, agriculture and industry", Oxford, UK, Pergamon Press. pp.629-639

Dillon S. L., P. K. Lawrence and R. J. Henry (2001). The use of ribosomal ITS to determine phylogenetic relationships within *Sorghum*. *Plant Systematics and Evolution* **230**: 97-110.

Dillon S. L., P. K. Lawrence, R. J. Henry, L. Ross, H. J. Price and J. S. Johnston (2004). *Sorghum laxiflorum* and *S. macrospermum*, the australian native species most closely related to the cultivated *S. bicolor* based on ITS1 and *ndhF* sequence analysis of 25 sorghum species. *Plant Systematics and Evolution* **249**: 233-246.

Doggett H. (1972). Recurrent selection in sorghum populations. *Heredity* **28**: 9-29.

Doggett H. (1976). Sorghum. In Simmonds N. W. (eds.) *Evolution in Crop Plants*. Longman, Essex, UK, pp. 112-117.

Doggett H. and S. A. Eberhart (1968). Recurrent selection in sorghum. *Crop Science* **8**: 119-121.

Du Y., H. Chu, M. Wang, I. K. Chu and C. Lo (2010). Identification of flavone phytoalexins and a pathogeninducible flavone synthase II gene (*SbFNSII*) in sorghum. *Journal of Experimental Botany* **61**(4): 983-994.

Duncan R. R., R. B. Clark and P. R. Furlani (1983). Laboratory and field evaluations of sorghum for response to aluminum and acid soil. *Agronomy Journal* **75**: 1023-1026.

EC (2009). Directive 2009/28/EC of The European Parliament and of The Council of 23 April 2009 on the promotion of the use of energy from renewable sources and amending and subsequently repealing Directives 2001/77/ EC and 2003/30/EC. *Official Journal of the European Union* **140**: 16-62.

Eiland B. R., J. E. Clayton and W. L. Bryan (1982). Losses of fermentable sugars in sweet sorghum during storage. *Sugar Journal* **45**: 17-21.

Eiland B. R., J. E. Clayton and W. L. Bryan (1983). Reducing fermentable sugar losses in stored sweet sorghum. Paper 83-3065, Summer meeting American Society Engineers. Bozeman, MT, USA.

Ejeta G., L. G. Butler, D. E. Hess, T. Obilana and B. V. S. Reddy (1997). Breeding for Striga resistance in sorghum. Proceedings of the International Conference on Genetic Improvement of Sorghum and Pearl Millet, Lubbock, TX, USA, INTSORMIL. pp.504-516

Ejeta G. and C. Grenier (2005). Sorghum and its weedy hybrids. In Gressel J. (eds.) *Crop Fertility and Volunteerism*. CRC Press, Taylor and Francis Group, USA, pp. 123-135.

Esele J. P., R. A. Frederiksen and F. R. Miller (1993). The association of genes controlling caryopsis traits with grain mold resistance in sorghum. *Phytopathology* **83**: 490-495.

Felderhoff T. J., S. C. Murray, P. E. Klein, A. Sharma, S. Hamblin, S. Kresovich, W. Vermerris and W. L. Rooney (2012). QTLs for energy-related traits in a sweet × grain sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] mapping population. *Crop Science* **52**(5): 2040-2049.

Fernie A. R. and N. Schauer (2008). Metabolomics- assisted breeding: a viable option for crop improvement. *Trends in Genetics* **25**(1): 39-48.

Fiehn O. (2002). Metabolomics- the link between genotypes and phenotypes. *Plant Molecular Biology* **48**: 155-171.

Fiehn O., J. Kopka, P. Dormann, T. Altmann, R. N. Trethewey and L. Willmitzer (2000). Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nature Biotechnology* **18**: 1157-1161.

Foito A., S. L. Byrne, T. Shepherd, D. Stewart and S. Barth (2009). Transcriptional and metabolic profiles of *Lolium perenne* L. genotypes in response to a PEG-induced water stress. *Plant Biotechnology Journal* **7**: 719-732.

Garber E. D. (1950). Cytotaxonomic studies in the Genus Sorghum. *University of California Publications in Botany* **23**: 283-362.

Gigon A., A.-R. Matos, D. Laffray, Y. Zuily-Fodil and A.-T. Pham-Thi (2004). Effect of Drought Stress on Lipid Metabolism in the Leaves of *Arabidopsis thaliana* (Ecotype Columbia). *Annals of Botany* **94**: 345-351.

Habib S. H., M. K. Bashar, M. Khalequzzaman, M. S. Ahmed and E. S. M. H. Rashid (2005). Genetic analysis and morpho-physiological selection criteria for traditional biroin bangladesh rice gennplasm. *Journal of Biological Sciences* **5**(3): 315-318.

Hallauer A. R., M. J. Carena and J. B. Miranda Fihlo (1988). Quantitative genetics in maize breeding. Iowa State University Press. Ames, USA, 663 p.

Hansen R. W. and R. Ferraris (1985). Post-harvest changes in fermentable sugars in sweet sorghum (*Sorghum bicolor* cv. Wray). *Journal of the Science of Food and Agriculture* **36**: 557-560.

Harlan J. R. and J. M. J. de Wet (1972). A simplified classification of cultivated sorghum. *Crop Science* **12**(2): 172-176.

Harris K., P. K. Subudhi, A. K. Borrell, D. R. Jordan, D. Rosenow, H. T. Nguyen, P. Klein, R. Klein and J. mullet (2007). Sorghum stay-green QTL individually reduce post-flowering drought-induced leaf senescence. *Journal of Experimental Botany* **58**(2): 327-338.

Hart G. E., K. F. Schertz, Y. Peng and N. H. Syed (2001). Genetic mapping of *Sorghum bicolor* (L.) Moench QTLs that control variation in tillering and other morphological characters. *Theoretical and Applied Genetics* **103**: 1232-1242.

Hatch M. D. (1964). Sugar accumulation by sugarcane storage tissue: The role of sucrose phosphate. *Biochemical Journal* **93**: 521-526.

Hatch M. D. and K. T. Glasziou (1963). Sugar accumulation cycle in sugar cane. II. Relationship of invertase activity to sugar content and growth rate in storage tissue of plants grown in cotrolled environments. *Plant Physiology* **38**: 344-348.

- Hausmann B., V. Mahalakshmi, B. Reddy, N. Seetharama, C. Hash and H. Geiger (2002).** QTL mapping of stay green in two sorghum recombinant inbred populations. *Theoretical and Applied Genetics* **106**(133-142).
- Hausmann B. I. G., D. E. Hess, G. O. Omany, R. T. Folkertsma, B. V. S. Reddy, M. Kayentao, H. G. Welz and H. H. Geiger (2004).** Genomic regions influencing resistance to the parasitic weed *Striga hermonthica* in two recombinant inbred populations of sorghum. *Theoretical and Applied Genetics* **109**: 1005-1016.
- Hoffmann-Thoma G., K. Hinkel, P. Nicolay and J. Willenbrink (1996).** Sucrose accumulation in sweet sorghum stem internodes in relation to growth. *Physiologia Plantarum* **97**: 277-284.
- Huber S. C. and J. L. Huber (1996).** Role and regulation of sucrose-phosphate synthase in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **47**: 431-444.
- IDEA (2011).** Evaluacion del balance de gases de efecto invernadero en la produccion de biocarburantes, Estudios Tecnico PER 2011-2020.
- Inglede W. M. (2009).** Yeasts: Physiology, nutrition and ethanol production. In Inglede W. M., Kelsall D. R., Austin G. D. and Kluhspies C. (eds.) *The Alcohol Textbook* (5th edition). Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- IPCC (2006).** Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme. In Eggleston H. S., Buendia L., Miwa K., Ngara T. and Tanabe K. (eds.) *N₂O emissions from managed soils, and CO₂ emissions from lime and urea application*. IGES, Hayama, Japan.
- Jasberg B. K., R. R. Montgomery and R. A. Anderson (1983).** Preservation of Sweet Sorghum Biomass. *Biotechnology and Bioengineering Symposium* **13**: 113-120.
- Jenkins D. M. (1981).** *Cereal Foods World* **26**: 612-615.
- Jordan D. R., Y. Z. Tao, I. D. Godwin, R. G. Henzell, M. Cooper and C. L. McIntyre (2004).** Comparison of identity by descent and identity by state for detecting genetic regions under selection in a sorghum pedigree breeding program. *Molecular Breeding* **14**: 441-454.
- Jordan W. R. and C. Y. Sullivan (1982).** Reaction and resistance of grain sorghum to heat and drought. Proceedings of the International Symposium on Sorghum, Patancheru, (A.P.), India, ICRISAT. pp.131-142
- Kapsetaki M., M. Vytova, A. Petraki, O. Koutita, G. Dialinas, N. Panopoulos, G. N. Skaracis and D. Kafetzopoulos (2004).** Development of DNA microarrays for the identification of new molecular markers to be exploited in sugarbeet breeding. Proceedings of the 6th IIRB Congress, Brussels, Belgium.
- Karper R. E. and J. R. Quinby (1937).** Hybrid vigor in sorghum. *Journal of Heredity* **28**: 83-91.
- Kebede H., P. K. Subudhi, D. T. Rosenow and H. T. Nguyen (2001).** Quantitative trait loci influencing drought tolerance in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Theoretical and Applied Genetics* **103**: 266-276.
- Kim J. K., T. Bamba, K. Harada, E. Fukusaki and A. Kobayashi (2007).** Time-course metabolic profiling in *Arabidopsis thaliana* cell cultures after salt stress treatment. *Journal of Experimental Botany* **58**(3): 415-424.

Kim S. and B. E. Dale (2005). Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **38**(7): 803-807.

Klein R. R., R. Rodriguez-Herrera, J. A. Scheulter, P. E. Klein, Z. H. Yu and W. L. Rooney (2001). Identification of genomic regions that affect grain mold incidence and other traits of agronomic importance in sorghum. *Theoretical and Applied Genetics* **102**: 307-319.

Kramer P. J. and J. S. Boyer (1995). Water Relations of Plants and Soils. Academic Press. New York, USA.

Lazarides M., J. B. Hacker and M. H. Andrew (1991). Taxonomy, cytology and ecology of indigenous Australian sorghums (*Sorghum* Moench: Andropogoneae: Poaceae). *Australian Systematic Botany* **4**(4): 591-635.

Li G., W. Gu and K. Chapman (2004). Sweet Sorghum. China Agricultural Science and Technology Press. Beijing, China.

Li H., L. Wang and L. Shen (2010). Potential CO₂ emission reduction by development of non-grain-based bioethanol in China. *Environmental Management* **46**: 555-645.

Lin Y. R., K. F. Schertz and P. A.H. (1995). Comparative analysis of QTLs affecting plant height and maturity across poaceae, in reference to an interspecific sorghom population. *Genetics* **141**: 391-411.

Lingle S. E. (1987). Sucrose metabolism in the primary culm of sweet sorghum during development. *Crop Sci.* **27**(6): 1214-1219.

Lingle S. E. (2010). Opportunities and challenges of sweet sorghum as a feedstock for biofuel. In Eggleston G. (eds.) Sustainability of the sugar and sugar-ethanol industries. American Chemical Society, Washington, USA, pp. 177-188.

Lingle S. E., L. T. Thomas, R. Hrvoje and D. L. Boykin (2012). Post-harvest changes in sweet sorghum I: Brix and Sugars. *Bioenergy Resources* **5**: 158-167.

Liska A. J., H. S. Yang, V. R. Bremer, T. J. Klopfenstein, D. T. Walters, G. E. Erickson and K. G. Cassman (2009). Improvements in life cycle energy efficiency and greenhouse gas emissions of corn-ethanol. *Journal of Industrial Ecology* **13**(1): 58-74.

Liu R., J. Li xia and F. Shen (2008). Refining bioethanol from stalk juice of sweet sorghum by immobilized yeast fermentation. *Renewable Energy* **33**: 1130-1135.

Mace E. S. and D. R. Jordan (2010). Location of major effect genes in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Theoretical and Applied Genetics* **121**: 1339-1356.

Mahalakshmi V. and F. R. Bidinger (2002). Evaluation of stay-green sorghum germplasm lines at ICRISAT. *Crop Science* **42**: 965-974.

Malavolta E., F. D. Nogueira, I. P. Oliveira, L. Nakayama and I. Eimori (1981). Aluminum tolerance in sorghum and bean- methods and results. *Journal of Plant Nutricion* **3**: 687-694.

Maraseni T. N., G. Cockfield and J. Maroulis (2010). An assessment of greenhouse gas emissions: implications for the Australian cotton industry. *The Journal of Agricultural Science, Cambridge* **148**: 501-510.

Maraseni T. N., S. Mushtaq and J. Maroulis (2009). Greenhouse gas emissions from rice farming inputs: a cross-country assessment. *The Journal of Agricultural Science, Cambridge* **147**: 117-126.

Mateo R. A. (2003). Evaluation and heritability of ergot resistance derived from sorghum germplasm IS8525. Texas A&M University, College Station, TX, USA.

- Matsui T. (1985).** Seasonal changes of the activities of sucrose synthetase and sucrose phosphate synthetase in sugarcane. *Technical Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagawa University* **36**: 117-125.
- McWilliams J. R., W. Manokaran and T. Kipnis (1979).** Adaptation to chilling stress in sorghum *In* Lyons M., Graham D. and Raison J. R. (eds.) *Low Temperature Stress in Crop Plants*. Academic Press, New York, USA, pp. 491-505.
- Mehta P. J., S. D. Collins, W. L. Rooney, R. A. Frederiksen and R. R. Klein (2000).** Identification of different sources of genetic resistance to anthracnose in sorghum. *International Sorghum and Millets Newsletter* **41**: 51-54.
- Miller G. L. (1959).** Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* **31**(3): 426-428.
- Ming R., Y. Wang, X. Draye, P. Moore, J. Irvine and A. Paterson (2002).** Molecular dissection of complex traits in autopolyploids: mapping QTLs affecting sugar yield and related traits in sugarcane. *Theoretical and Applied Genetics* **105**: 332-345.
- Monti A. and G. Venturi (2003).** Comparison of the energy performance of fibre sorghum, sweet sorghum and wheat monocultures in northern Italy. *European Journal of Agronomy* **19**: 35-43.
- Murray S. C., W. L. Rooney, S. E. Mitchell, A. Sharma, P. E. Klein, J. E. Mullet and S. Kresovich (2008).** Genetic improvement of sorghum as a biofuel feedstock: OTL for stem and leaf structural carbohydrates. *Crop Science* **48**: 2180-2193.
- Murray S. C., A. Sharma, W. L. Rooney, P. E. Klein, J. E. Mullet, S. E. Mitchell and S. Kresovich (2008).** Genetic improvement of sorghum as a biofuel feedstock: I. QTL for stem sugar and grain nonstructural carbohydrates. *Crop Science* **48**: 2165-2179.
- Naik S. N., V. V. Goud, P. K. Rout and A. K. Dalai (2010).** Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **14**: 578-597.
- Parodi L. R. (1943).** Una nueva especie de Sorghum cultivada en la Argentina. *Revista Argentina de Agronomia* **10**: 361-372.
- Paterson A. H., J. E. Bowers, R. Bruggmann, I. Dubchak, J. Grimwood, H. Gundlach, G. Haberer, U. Hellsten, T. Mitros, A. Poliakov, J. Schmutz, M. Spannagi, Tang, X. Wang, T. Wicker, A. K. Bharti, J. Chapman, F. A. Feltus, U. Gowik, I. V. Grigoriev, E. Lyons, C. A. Maher, M. Martis, A. Narechania, R. P. Ojillar, B. W. Penning, A. A. Salamov, Y. Wang, L. Zhang, N. C. Carpita, M. Freeling, A. R. Gingle, C. T. Hash, B. Keller, P. Klein, S. Kresovich, M. C. McCann, R. Ming, D. G. Peterson, Mehboob-ur-Rahman, D. Ware, P. Westhoff, K. F. X. Mayer, J. Messing and D. S. Rokhsar (2010).** The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses. *Nature* **457**: 551-556.
- Pauli A. W., F. C. Stickler and J. R. Lawless (1964).** Developmental phases of grain sorghum as influenced by variety, location and planting date. *Crop Science* **4**: 10-13.
- Peacock J. M. (1982).** Response and tolerance to temperature stress. Proceedings of the International Symposium on Sorghum, Patancheru (A.P.), India, ICRISAT. pp.143-159
- Pedersen J. F., H. J. Gorz, F. A. Haskins and W. M. Ross (1982).** Variability for quality and agronomic traits in forage sorghum hybrids. *Crop Science* **22**: 853-856.
- Pedersen J. F. and W. L. Rooney (2004).** Sorghum. *In* Mosher L. E., Burton B. L. and Sollenberger L. E. (eds.) *Warm-Season (C4) Grasses*. ASA/CSSA/SSSA, Madison, WI, USA.

- Peterson G. C., G. L. Teetes and B. B. Pendleton (1994).** Resistance to the sorghum midge in the United States. *International Sorghum and Millets Newsletter* **35**: 48-63.
- Pilgrim C. (2009).** Status of the worldwide fuel alcohol industry. In Ingledew W. M., Kelsall D. R., Austin G. D. and Kluhsbies C. (eds.) *The Alcohol Textbook: A reference for the beverage, fuel and industrial alcohol industries*. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Porter K. S., J. D. Axtell, V. L. Lechtenberg and V. F. Colenbrander (1978).** Phenotype, fiber composition and in vitro dry matter disappearance of chemically induced *brown midrib* mutants of sorghum. *Crop Science* **18**: 205-208.
- Prasad B., A. K. Patwary and P. S. Biswas (2001).** Genetic variability and selection criteria in fine rice (*Oryza sativa* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* **4**(10): 1188-1190.
- Prasad S., A. Singh, N. Jain and H. C. Joshi (2007).** Ethanol production from sweet sorghum syrup for utilization as automotive fuel in India. *Energy and Fuels* **21**: 2415-2420.
- Price H. J., S. L. Dillon, G. Hodnett, W. L. Rooney, L. Ross and J. S. Johnston (2005).** Genome evolution in the genus *Sorghum* (Poaceae). *Annals of Botany* **95**(1): 219-227.
- Qazi H. A., S. Paranjpe and S. Bhargava (2012).** Stem sugar accumulation in sweet sorghum – Activity and expression of sucrose metabolizing enzymes and sucrose transporters. *Journal of Plant Physiology* **169**: 605-613.
- Quinby J. R. (1967).** The maturity genes of *Sorghum*. In Norman A. G. (eds.) *Advances in Agronomy*. Academic Press, New York, USA.
- Quinby J. R. and R. E. Karper (1947).** The effect of short photoperiod on sorghum varieties and first generation hybrids. *Journal of Agricultural Research* **75**: 295-300.
- Quinby J. R. and R. E. Karper (1961).** Inheritance of duration of growth in the milo group of sorghum. *Crop Science* **1**: 8-10.
- Rajvanshi A. K. and N. Nimbkar (1996).** Sweet sorghum R&D at the NARI. Proceedings of the First European Seminar on Sorghum for Energy and Industry, Toulouse, France.
- Rathke G.-W. and W. Diepenbrock (2006).** Energy balance of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) cropping as related to nitrogen supply and preceding crops. *European Journal of Agronomy* **24**: 35-44.
- Rattunde H. F., E. Weltzien, P. J. Bramel-Cox, K. D. Kofoid, C. Hash, W. Shripprack, J. W. Stenhouse and T. Presterl (1997).** Population improvement of pearl millet and sorghum: current research, impact and issues for implementation. Proceedings of the International Conference on Genetic Improvement of Sorghum and Pearl Millet, INTSORMIL. pp.188–212
- Reddy B., S. Ramesh, P. S. Reddy, A. A. Ashok Kumar, K. K. Sharma and S. M. Karuppan Chetty (2007).** Sweet sorghum: Food, feed, fodder and fuel crops. International crops research institute for the semi- arid tropics. Patancheru, Andhra Pradesh, India.
- Reddy B. S., S. Reddy, L. K. Mughogho, Y. D. Narayana, K. D. Nicodemus and J. W. Stenhouse (1992).** Inheritance patterns of downy mildew resistance in advanced generations of sorghum. *Annals of Applied Biology* **121**: 249-255.

Reed J. D., M. R. Tuinstra, N. W. McLaren, K. D. Kofoid, N. W. Ochanda and L. E. Clafin (2002). Analysis of combining ability for ergot resistance in grain sorghum. *Crop Science* **42**: 1818-1823.

Rodriguez-Herrera R., W. L. Rooney, D. T. Rosenow and R. A. Frederiksen (2000). Inheritance of grain mold resistance in grain sorghum without a pigmented testa. *Crop Science* **40**: 1573-1578.

Rodriguez-Herrera R., R. D. Waniska and W. L. Rooney (1999). Antifungal proteins and grain mold resistance in sorghum with a non-pigmented testa. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **47**: 4802-4806.

Romanelli T. L. and M. Milan (2005). Energy balance methodology and modeling of supplementary forage production for cattle in Brazil. *Scientia Agricola* **62**(1): 1-7.

Rooney W. L. (2004). Sorghum improvement- Integrating traditional and new technology to produce improved genotypes. *Advances in Agronomy* **83**: 37-109.

Rooney W. L. and S. Aydin (1999). Genetic control of a photoperiod sensitive response in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Crop Science* **39**: 397-400.

Rooney W. L., J. Blumenthal, B. Bean and J. E. Mullet (2007). Designing sorghum as a dedicated bioenergy feedstock. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* **1**: 147-157.

Rooney W. L. and C. W. Smith (2000). Techniques for developing new cultivars. In Smith C. W. and Frederiksen R. A. (eds.) *Sorghum: Origin, History, Technology and Production*. John Wiley, New York, USA, pp. 329-348.

Rosenow D. T., G. Ejeta, L. E. Clark, M. L. Gilbert, R. G. Henzell, A. K. Borrell and R. C. Muchow (1997). Breeding for pre- and post flowering drought stress resistance in sorghum. Proceedings of the International Conference on Genetic Improvement of Sorghum and Pearl Millet, Lincoln, NE, USA, INTSORMIL. pp.400-411

Saballos A. (2008). Development and utilization of sorghum as a bioenergy crop. In Vermerris W. (eds.) *Genetic Improvement of Bioenergy Crops*. Springer, New York, USA, pp. 211-248.

Sakellariou-Makrantonaki M., D. Papalexis, N. Nakos and I. K. Kalavrouziotis (2007). Effect of modern irrigation methods on growth and energy production of sweet sorghum (var. Keller) on a dry year in Central Greece. *Agricultural Water Management* **90**: 191-189.

Sanchez D. H., M. R. Siahpoosh, U. Roessner, M. Udvardi and J. Kopka (2008). Plant metabolomics reveals conserved and divergent metabolic responses to salinity. *Physiologia Plantarum* **132**: 209-219.

Sanchez P. A. and T. J. Logan (1992). Myths and science about the chemistry and fertility of soils in the tropics. In Lal R. and Sanchez P. A. (eds.) *Myths and Science of Soils in the Tropics*. SSSA, Madison, WI, USA, pp. 35-46.

Schauer N., D. Zamir and A. R. Fernie (2005). Metabolic profiling of leaves and fruit of wild species tomato: a survey of the *Solanum lycopersicum* complex. *Journal of Experimental Botany* **56**(410): 297-307.

Selvi B. and S. Palanisamy (1990). Heterosis and combining ability for grain yield in sweet sorghum. *Madras Agricultural Journal* **77**: 493-496.

Setter T. L. and V. H. Meller (1984). Reserve carbohydrate in maize stem. [¹⁴C] Glucose and [¹⁴C]sucrose uptake characteristics. *Plant Physiology* **75**: 617-622.

- Sharma H. C., C. V. Abraham, P. Bidyasagar and J. W. Stenhouse (1996).** Gene action for resistance to sorghum midge, *Contarinia sorghicola*. *Crop Science* **36**: 259-265.
- Sherwood S. P. (1923).** Starch in sorghum juice. *Indian Engineering Chemistry* **15**: 727-728.
- Singh S. P. (1985).** Sources of cold tolerance in grain sorghum. *Canadian Journal of Plant Science* **65**: 251-257.
- Sleper D. A. and J. M. Poelhman (2006).** Breeding sorghum. *In* Breeding Field Crops. Iowa State Press, Ames, USA, pp. 297-315.
- Smith C. W. and R. A. Frederiksen (2000).** History of cultivar development in the United States: From "Memoirs of A.B. Maunder- Sorghum Breeder". *In* Smith C. W. and Frederiksen R. A. (eds.) Sorghum: Origin, History, Technology and Production. John Wiley, New York, USA, pp. 191-224.
- Snowden J. D. (1936).** The cultivated races of sorghum. Adlard and Son. London, UK, 274 pp.
- Spangler R., B. Zaitchik, E. Russo and E. Kellogg (1999).** Andropogoneae evolution and generic limits in *Sorghum* (Poaceae) using *ndhF* sequences. *Systematic Botany* **24**(2): 267-281.
- Spangler R. E. (2003).** Taxonomy of *Sarga*, *Sorghum*, and *Vacoparis* (Poaceae: Andropogoneae). *Australian Systematic Botany* **16**: 279-299.
- Srinivasa Rao P., S. S. Rao, N. Seetharama, A. V. Umakath, P. Sanjana Reddy, B. V. S. Reddy and C. L. L. Gowda (2009).** Sweet sorghum for biofuel and strategies for its improvement. Information Bulletin No 77. ICRISAT. Patancheru, India.
- Stefaniak T. R., J. A. Dahlberg, B. W. Bean, N. Dighe, E. J. Wolfrum and W. L. Rooney (2012).** Variation in biomass composition components among forage, biomass, sorghum-sudangrass and sweet sorghum types. *Crop Science* **52**: 1949-1954.
- Stephens J. C. and R. F. Holland (1954).** Cytoplasmic male-sterility for hybrid sorghum seed production. *Agronomy Journal* **46**: 20-23.
- Stoop J. M. H., J. D. Williamson and D. M. Pharr (1996).** Mannitol metabolism in plants: a method for coping with stress. *Trends in Plant Science* **1**: 139-144.
- Sullivan C. Y. (1972).** Mechanisms of heat and drought resistance in grain sorghum and methods of measurement. *In* Rao N. G. P. and House L. R. (eds.) Sorghum in the Seventies. Oxford and IBH Publishing, New Delhi, India, pp. 247-263.
- Sullivan C. Y. and W. M. Ross (1979).** Selecting for drought and heat resistance in grain sorghum. *In* Mussell H. and Staples R. C. (eds.) Stress Physiology in Crops Plants. Wiley- Interscience, New York, USA, pp. 263-281.
- Suman M., M. Singh and B. L. Suman (2006).** Source of energy input and output for sustainable sorghum cultivation. *Indian Journal of Crop Science* **1**(1-2): 135-137.
- Tarpley L., S. E. Lingle, D. M. Vietor, D. L. Andrews and F. R. Miller (1994).** Enzymatic control of nonstructural carbohydrate concentrations in stems and panicles of sorghum. *Crop Sci.* **33**: 446-452.
- Taylor R. M., E. F. J. Young and R. L. Rivera (1975).** Salt tolerance in cultivars of grain sorghum. *Crop Science* **15**: 734-735.

Tessa T., M. R. Tuinstra and L. E. Claflin (2004). Estimation of combining ability for resistance to Fusarium stalk rot in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Crop Science* **44**: 1195-1199.

Thakur R. P., R. A. Frederiksen, D. S. Murty, B. V. S. Reddy, R. Bandyopadhyay, L. M. Giorda, G. N. Odvody and L. E. Claflin (1997). Breeding for disease resistance in sorghum. Proceedings of the International Conference on Genetic Improvement of Sorghum and Pearl Millet, Lubbock, TX, USA, INTSORMIL. pp.303-315

Thom M. and A. Maretzki (1985). Group translocation as a mechanism for sucrose transfer into vacuoles from sugarcane cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **82**: 4697-4701.

Tomar S. S., S. Sivakumar and K. Ganesamurthy (2012). Genetic variability and heritability studies for different quantitative traits in sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] genotypes. *Electronic Journal of Plant Breeding* **3**(2): 806-810.

Tsuchihashi N. and Y. Goto (2004). Cultivation of sweet sorghum and determination of its harvest time to make use as the raw material for fermentation practical during rainy season in dryland of Indonesia. *Plant Production Science* **7**: 442-448.

Tuinstra M. R., E. M. Grote, P. B. Goldsborough and G. Ejeta (1996). Identification of quantitative trait loci associated with preflowering drought tolerance in sorghum. *Crop Science* **36**: 1337-1344.

Tuinstra M. R., E. M. Grote, P. B. Goldsborough and G. Ejeta (1997). Genetic analysis of post- flowering drought tolerance and components of grain development in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Molecular Breeding* **3**: 439-448.

Vasilakoglou I., K. Dhima, N. Karagiannidis and T. Gatsis (2011). Sweet sorghum productivity for biofuels under increased soil salinity and reduced irrigation. *Field Crops Research* **120**: 38-46.

Venturi P. and G. Venturi (2003). Analysis of energy comparison for crops in European agricultural systems. *Biomass and Bioenergy* **25**: 235-255.

Vlachos C. E., N. A. Mariolis and G. N. Skaracis (2013). A comparative greenhouse gas emission analysis of oilseed crops for biodiesel production in Greece. *The Journal of Agricultural Science, Cambridge*: in press.

Wallace D. H. and W. Yan (1998). Plant breeding and whole-system crop physiology: improving adaption, maturity and yield. CAB International. Wallingford, UK.

Wang M., M. Wu and H. Huo (2007). Life cycle energy and greenhouse gas emission impacts of different corn ethanol plant types. *Environmental Research Letters* **2**: 13p.

Waniska R. D., G. A. Forbes, R. Bandyopadhyay, R. A. Frederiksen and W. L. Rooney (1992). Cereal chemistry and grain mold resistance. In de Milliano W. A. J., Frederiksen R. A. and Bengston G. D. (eds.) *Sorghum and Millets Diseases: A Second World Review*. ICRISAT, Patancheru (A.P.), India.

Waskom R. M., D. R. Miller, G. E. Hanning, R. R. Duncan, R. L. Voight and M. W. Nabors (1990). Field evaluation of tissue culture derived sorghum for increased tolerance to acid soils and drought stress. *Canadian Journal of Plant Science* **70**: 997-1004.

Wenzel W. G. (1991). The inheritance of drought resistance characteristics in grain sorghum seedlings. *South African Journal of Plant and Soil Science* **8**: 169-171.

- Wiltse C. C. (1998).** A survey of anthracnose resistant sorghum germplasm lines to identify additional resistance genes. M.S. thesis. Texas A&M University, College Station, TX, USA.
- Yu J. and M. R. Tuinstra (2001).** Genetic analysis of seedling growth under cold temperature stress in grain sorghum. *Crop Science* **41**: 1438-1443.
- Yun-long B., Y. Seiji, I. Maiko and C. Hong-wei (2006).** QTLs for sugar of stalk in sweet sorghum. *Agricultural Sciences in China* **5**(10): 736-744.
- Zegada-Lizarazu W. and A. Monti (2012).** Are we ready to cultivate sweet sorghum as a bioenergy feedstock? A review on field management practices. *Biomass and Bioenergy* **40**: 1-12.
- Zhao Y. L., A. Dolat, Y. Steinberger, X. Wang, A. Osman and G. H. Xie (2009).** Biomass yield and changes in chemical composition of sweet sorghum cultivars grown for biofuel. *Field Crops Research* **111**: 55-64.
- Zou G., S. Yan, G. Zhai, Z. Zhang, J. Zou and Y. Tao (2011).** Genetic variability and correlation of stalk yield-related traits and sugar concentration of stalk juice in a sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) population. *Australian Journal of Crop Science* **5**(10): 1232-1238.
- Zuther E., K. Koehl and J. Kopka (2007).** Comparative metabolome analysis of the salt response in breeding cultivars of rice. In Jenks M. A., Hasegawa P. M. and Mohan S. (eds.) *Advances in Molecular Breeding Towards Drought and Salt Tolerant Crops*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Καραμάνος Α. (1999).** Τα σιτηρά των θερμών κλιμάτων. Εκδόσεις Παπαζήση. Αθήνα.
- Σκαράκης Γ. Ν., Ν. Ε. Κορρές and Ο. Ι. Παυλή (2008).** Εγχειρίδιο Ενεργειακών Καλλιεργειών. ΥΠ.Α.Α.Τ. Αθήνα, Ελλάδα, σελ. 155.

Παράρτημα Ι

Πίνακας 1. Αναλυτικά αποτελέσματα Κωπαΐδας 2008

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)	Υγρασία (%)	Brix (%)	Ζάχαρα (%)	Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)	Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)
Dale	7714	A	74.1	A	15.8	A
Urja	7857	A	73.9	A	16.8	A
M81-E	5952	AB	71.4	A	17.5	A
Della	5667	AB	71.3	A	18.8	A
Sugar Graze	6238	AB	72.6	A	16.3	A
6012	6381	AB	73.0	A	17.0	A
Topper 76-6	5591	AB	74.9	A	12.5	A
Keller	5191	AB	73.2	A	16.0	A
BMR 333	6667	AB	75.6	A	13.3	A
23000	4571	AB	68.0	A	18.0	A
6011	4286	AB	71.6	A	17.0	A
7013	4571	AB	71.2	A	15.8	A
Honey Graze	3238	AB	70.4	A	15.5	A
6010	2191	B	75.3	A	14.8	A
M.O.	5437		72.8		16.4	
F	*	ns		ns		**
ΕΣΔ	5122.0		8.3		7.4	
ΣΠ (%)	37.3		4.5		18.5	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Πίνακας 2. Αναλυτικά αποτελέσματα Οινόης 2008

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)		Υγρασία (%)		Βrix (%)		Ζάχαρα (%)		Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)		Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)	
Urja	13933	A	71.1	B	20.5	A	12.9	A	1776	A	1029	A
Sugar Graze	13933	A	73.6	AB	18.5	AB	12.7	A	1766	A	1023	A
6011	8400	BC	74.4	AB	17.0	ABC	12.3	A	1030	B	596	B
6012	9367	BC	75.2	AB	17.0	ABC	10.7	AB	1003	B	581	B
BMR 333	10700	AB	77.3	A	14.3	CD	9.1	BC	984	BC	570	BC
23000	9600	BC	73.1	AB	16.5	BC	9.6	B	910	BC	527	BC
7013	7933	BC	76.2	AB	13.8	CD	8.4	BC	653	BC	378	BC
6010	6233	C	76.3	A	16.3	BC	9.4	B	594	BC	344	BC
Honey Graze	7400	BC	77.3	A	12.3	D	6.6	C	492	C	285	C
M.O.	10012.5		71.1		16.2		10.2		1023		593	
F	**		**		**		**		**		**	
ΕΣΔ	4280.9		5.2		3.6		2.6		496.4		287.5	
ΣΠ (%)	18.3		2.9		9.4		10.5		20.2		20.2	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Πίνακας 3. Αναλυτικά αποτελέσματα Κωπαΐδας 2009

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)		Υγρασία (%)		Brix (%)		Ζάχαρα (%)		Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)		Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)	
Urja	8229	A	76.8	A	13	A	12.5	AB	1034	A	599	A
Keller	7381	AB	71.8	A	15	A	13.1	A	976	AB	565	AB
Sugar Graze	7010	AB	75.4	A	15.25	A	12.8	AB	898	ABC	520	ABC
M81-E	6581	AB	74.5	A	15.75	A	12.0	AB	780	ABC	452	ABC
BMR 333	7029	AB	78.3	A	9	A	9.9	AB	704	ABC	408	ABC
23000	5752	AB	71.6	A	16.5	A	11.7	AB	671	ABC	389	ABC
6012	4648	AB	76.5	A	9.75	A	11.0	AB	519	ABC	301	ABC
Nicole	4514	AB	66.3	A	15.5	A	10.4	AB	468	ABC	271	ABC
6011	3543	AB	74.8	A	14.75	A	11.9	AB	422	ABC	244	ABC
7013	3576	AB	68.4	A	14.5	A	10.3	AB	368	BC	213	BC
6010	2876	B	69.4	A	16	A	11.4	AB	324	C	188	C
Honey Graze	2838	B	71.7	A	11	A	9.4	B	275	C	159	C
M.O.	5331		73.9		13.6		11.4		620		359	
F	*		ns		ns		*		**		**	
ΕΣΔ	4800.9		14.6		12.2		3.6		628.2		363.9	
ΣΠ (%)	36.2		8		35.6		12.8		40.8		40.8	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Πίνακας 4. Αναλυτικά αποτελέσματα Κωπαΐδας 2010

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)		Υγρασία (%)		Brix (%)		Ζάχαρα (%)		Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)		Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)	
Urja	10017	A	67.7	B	23.8	A	14.0	A	1388	A	804	A
Sugar Graze	9200	AB	72.1	AB	22.5	AB	12.1	AB	1120	AB	649	AB
Keller	7458	ABCD	68.5	AB	21.8	AB	14.0	A	1041	ABC	603	ABC
M81-E	8733	ABC	73.3	AB	20.0	AB	11.9	ABC	1034	ABC	599	ABC
BMR 333	9067	AB	74.3	A	18.8	BC	8.7	BC	777	BCD	450	BCD
6011	5883	DEF	72.4	AB	22.8	AB	12.3	AB	714	CD	414	CD
Nicole	6717	BCDE	72.0	AB	20.5	AB	9.5	BC	621	DE	360	DE
23000	6058	CDEF	70.4	AB	20.8	AB	9.8	ABC	595	DE	344	DE
6012	5600	DEF	73.6	AB	19.3	BC	9.9	ABC	562	DE	326	DE
6010	4750	EF	73.8	AB	19.3	BC	9.7	BC	462	DE	267	DE
Honey Graze	3892	F	74.5	A	13.3	D	7.9	C	309	E	179	E
7013	3867	F	74.8	A	15.8	CD	8.2	BC	309	E	179	E
M.O.	6770		67.7		20.2		10.9		744		431	
F	**		*		**		**		**		**	
ΕΣΔ	2690.8		6.5		4.1		4.2		379.5		219.8	
ΣΠ (%)	16		3.6		8.4		16		20.5		20.5	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Πίνακας 5. Αναλυτικά αποτελέσματα Κωπαΐδας 2012

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)		Υγρασία (%)		Βrix (%)		Ζάχαρα (%)		Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)		Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)	
Sugar Graze	9508	A	73.1	ABC	17.1	A	12.2	A	1166	A	675	A
Urja	9725	A	72.0	BC	15.9	A	11.8	A	1144	A	663	A
11006	7400	AB	69.3	C	18.0	A	11.1	A	822	B	476	B
11001	8900	A	77.5	A	11.8	B	7.2	BC	644	BC	373	BC
11005	7216	AB	75.1	AB	12.6	B	8.9	B	643	BC	373	BC
Nicole	8292	A	74.9	AB	10.5	B	6.9	C	570	BC	330	BC
11004	4892	BC	71.5	BC	16.8	A	11.4	A	558	BC	323	BC
PR849	4358	C	70.0	C	17.8	A	11.6	A	507	C	294	C
Μ.Ο.	7536		72.9		15.1		10.1		757		438	
F	**		**		**		**		**		**	
ΕΣΔ	2648.1		4.8		2.3		1.9		308.3		178.6	
ΣΠ (%)	15		2.8		6.5		8.1		17.2		17.2	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Πίνακας 6. Αναλυτικά αποτελέσματα συνδυασμένης ανάλυσης 2008-2010 (4 περιβάλλοντα)

Ποικιλία	Απόδοση στελεχών (kg/στρ)		Υγρασία (%)		Brix (%)		Ζάχαρα (%)		Απόδοση σε Ζάχαρα (kg/στρ)		Απόδοση σε βιοαιθανόλη (l/στρ)	
Urja	10009	A	72.4	BC	18.5	A	12.7	A	1278	A	740	A
Sugar Graze	9095	A	73.4	ABC	18.1	A	12.4	AB	1131	A	655	A
BMR 333	8366	A	76.4	A	13.8	CD	9.2	EF	766	B	444	B
6012	6499	B	74.6	AB	15.8	ABCD	10.9	BCD	705	B	408	B
23000	6496	B	70.8	C	17.9	AB	10.5	CDE	674	B	390	B
6011	5528	BC	73.3	ABC	17.9	AB	12.0	ABC	664	B	385	B
7013	4987	BC	72.6	ABC	14.9	BCD	9.1	EF	443	C	257	C
6010	4013	C	73.7	ABC	16.6	ABC	10.1	DEF	400	C	232	C
Honey Graze	4342	C	73.5	ABC	13.0	D	8.5	F	350	C	202	C
M.O.	6593		73.4		16.3		10.6		712		413	
F (Ποικιλιών)	**		**		**		**		**		**	
F (Ποικ. x Περιβάλλον)	ns		**		*		ns		**		**	
ΕΣΔ	1062.9		2.4		1.9		1.0		134.9		78.2	
ΣΠ (%)	23		4.6		17.2		13.9		27		27	

*Σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P= 0.05- 0.01

**Υψηλώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο P<0.01

Πίνακας 7. PCA φύλλων της ποικιλίας Sugar Graze: Scores

Στάδιο	Επανάληψη	PC1 (88.8%)	PC2 (6.5%)	PC3 (2.5%)
1	1	-0.94	-0.35	-0.33
1	2	-0.13	-0.23	-0.37
1	3	-1.48	1.18	-0.14
1	4	-1.01	-0.25	-0.19
2	1	1.84	0.13	0.17
2	2	-1.11	-0.21	0.34
2	3	2.76	0.13	0.12
2	4	0.12	0.01	0.24
3	1	0.36	-0.08	-0.06
3	2	-1.29	-0.14	0.33
3	3	2.14	-0.02	-0.22
3	4	-1.26	-0.18	0.10

Πίνακας 8. PCA φύλλων της ποικιλίας Urja: Scores

Στάδιο	Επανάληψη	PC1 (84.9%)	PC2 (13.9%)	PC3 (0.7%)
1	1	-0.79	-0.06	-0.09
1	2	-4.50	0.45	-0.04
1	3	-5.29	-0.09	0.06
1	4	1.04	-0.78	0.25
2	1	1.40	1.20	-0.23
2	2	1.61	2.23	0.03
2	3	1.10	-0.47	0.42
2	4	1.28	0.48	0.29
3	1	1.03	-0.74	-0.29
3	2	1.01	-0.83	-0.20
3	3	1.00	-0.95	-0.04
3	4	1.09	-0.44	-0.17

Πίνακας 9. PCA στελεχών της ποικιλίας Sugar Graze: Scores

Στάδιο	Επανάληψη	PC1 (60.8%)	PC2 (25.2%)	PC3 (12.9%)	PC4 (0.8%)
1	1	-3.11	-1.59	-1.15	-0.25
1	2	0.72	8.78	0.40	0.03
1	3	3.27	0.54	-1.24	0.06
1	4	-1.29	-1.13	1.79	-0.96
2	1	-1.48	-0.82	2.17	0.61
2	2	-2.43	0.52	1.66	0.57
2	3	-1.45	3.12	1.45	0.24
2	4	-3.04	-2.06	1.59	0.82
3	1	-3.09	-0.53	-2.02	0.20
3	2	-3.31	-1.45	-1.64	-0.26
3	3	-3.55	-1.33	-2.09	-0.12
3	4	-3.59	-1.28	-2.23	0.06
4	1	4.33	1.11	-1.72	-0.24
4	2	12.83	-2.77	-0.81	0.53
4	3	2.14	-2.42	4.67	-0.66
4	4	3.05	1.31	-0.85	-0.64

Πίνακας 10. PCA στελεχών της ποικιλίας Urja: Scores

Στάδιο	Επανάληψη	PC1 (68.6%)	PC2 (18.6%)	PC3 (4.5%)	PC4 (3.6%)	PC5 (2.3%)	PC6 (1.2%)
1	1	-0.22	-0.33	-0.18	-0.03	-0.09	-0.28
1	2	-0.35	-0.33	-0.25	0.25	0.25	-0.05
1	3	-0.31	-0.38	1.00	-0.19	0.19	-0.04
1	4	-0.27	-0.01	-0.08	0.19	0.16	-0.07
2	1	-0.43	-0.63	-0.18	0.14	0.10	-0.01
2	2	-0.46	-0.62	-0.10	0.28	0.21	0.19
2	3	-0.61	0.57	0.03	-0.01	-0.13	-0.22
2	4	0.18	1.94	0.26	0.28	0.06	0.13
3	1	-0.30	-0.06	-0.09	0.23	-0.08	0.40
3	2	0.01	0.65	-0.04	0.06	-0.01	-0.27
3	3	-0.56	-0.56	0.46	-0.28	-0.29	0.09
3	4	-0.91	-0.66	-0.13	-0.01	-0.15	-0.03
4	1	0.07	0.24	-0.24	-0.16	-0.63	0.09
4	2	-0.19	0.48	-0.40	-0.91	0.35	0.12
4	3	4.75	-0.36	0.01	0.00	0.01	-0.01
4	4	-0.40	0.06	-0.07	0.15	0.05	-0.04

Πίνακας 11. PCA φύλλων της ποικιλίας Sugar Graze: Loadings

Metabolites	PC1 (88.8%)	PC2 (6.5%)	PC3 (2.5%)
1-methyl nicotinamide	0.000005	-0.000016	-0.000024
2-keto-L-gulonic acid	0.000389	-0.000747	0.003404
4,8-dihydroxyquinoline-2-carboxylic acid	-0.000001	-0.000001	-0.000006
4-guanidinobutyric acid	0.000437	0.000661	0.000998
4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid	0.000002	-0.000012	-0.000011
4-hydroxybenzyl cyanide	-0.000005	0.000009	-0.000039
4-hydroxycinnamic acid	0.000000	-0.000055	-0.000127
4-hydroxyphenylacetic acid	0.000002	-0.000002	-0.000009
6-deoxyD-glucose	-0.000058	0.000097	-0.000607
acetol	-0.000018	-0.000110	-0.000015
adenine	-0.000105	0.000800	-0.003842
adenosine	-0.000187	-0.000660	0.004282
a-ketoglutaric acid	-0.000096	0.001161	0.000734
arabitol	-0.000017	-0.000002	0.000024
arachidic acid	0.000023	-0.000011	0.000045
arbutin	0.000016	0.000020	0.000049
aspartic acid	-0.000519	0.001889	-0.007372
b-alanine	-0.000015	0.000353	-0.000276
benzoic acid	-0.000002	0.000021	0.000131
caffeic acid	0.000001	0.000003	0.000015
capric acid	-0.000004	-0.000018	0.000020
cellobiose	-0.023042	-0.378836	-0.811005
citraconic acid	0.000067	0.000027	0.000177
citramalic acid	0.000081	-0.000143	0.000084
citric acid	0.001112	-0.004100	-0.001132
D (+)altrose	0.000831	0.001523	0.003271
D-(+) trehalose	0.000101	-0.000125	0.002779
D-(+)-melezitose	-0.000114	-0.000193	-0.000917
D-allose	0.000014	-0.000044	-0.000078
D-glucose	0.037427	-0.072705	0.231333
D-glucose-6-phosphate	-0.000198	0.000169	-0.001495
DL-3-aminoisobutyric acid	0.000013	-0.000023	-0.000577
DL-4-hydroxymandelic acid	-0.000024	0.000000	0.000214
DL-glyceraldehyde	-0.000008	-0.000041	-0.000115
DL-isoleucine	0.000016	-0.000136	-0.000142
D-lyxose	-0.000331	-0.004137	-0.010767
D-lyxosylamine	-0.000633	0.004225	-0.006111
D-malic acid	0.010842	-0.019614	0.035323
D-mannitol	0.000647	-0.000476	0.000764
D-mannose	-0.006007	0.036135	-0.022981
D-saccharic acid	-0.000411	0.001161	0.002183
D-sorbitol	-0.000054	0.000237	-0.000051
D-threitol	0.000010	-0.000032	-0.000057

Πίνακας 11. (Συνέχεια)

Metabolites	PC1 (88.8%)	PC2 (6.5%)	PC3 (2.5%)
ferulic acid	0.000013	0.000021	0.000069
fructose	0.019140	-0.013988	0.148337
fumaric acid	0.000003	0.000060	-0.000081
galactinol	-0.009581	0.039380	-0.128063
galacturonic acid	0.000274	-0.001755	-0.000701
gluconic acid	-0.001491	-0.000366	-0.016785
gluconic acid lactone	0.000152	-0.000079	-0.000652
glyceric acid	-0.003484	-0.001662	-0.043593
glycerol	0.000298	0.002723	-0.017480
glycerol 1-phosphate	-0.000475	0.002368	-0.002978
glycine	0.000717	0.003045	-0.008942
glycolic acid	-0.001237	-0.004819	-0.010639
iminodiacetic acid	-0.000088	0.000127	-0.000264
isomaltose	-0.010144	-0.059619	0.349228
isopropyl b-D-1-thiogalactopyranoside	0.000380	0.000376	-0.000121
itaconic acid	-0.000201	-0.001046	-0.002618
L-(+) lactic acid	-0.000257	0.000360	0.001411
lactobionic acid	0.005227	0.005644	0.032674
lactose	0.000002	-0.000007	-0.000012
lactulose	0.000240	-0.000183	-0.000282
L-alanine	0.003924	0.011377	-0.005593
L-asparagine	0.000163	-0.000208	-0.000233
leucrose	0.000018	0.000155	-0.000207
L-glutamic acid	-0.000670	-0.002346	-0.015505
L-glutamine	0.000349	0.001191	-0.000055
L-homoserine	0.000031	-0.000035	-0.000062
L-lysine	-0.000012	0.000102	-0.000058
L-methionine	0.000001	0.000022	0.000012
L-methionine sulfoxide	-0.000002	-0.000004	0.000006
L-mimosine	0.000005	0.000092	-0.000066
L-norleucine	0.000025	0.000111	-0.000352
loganin	-0.000113	0.000454	0.001388
L-proline	-0.000092	0.000521	-0.000235
L-pyroglutamic acid	-0.000081	-0.000712	-0.002049
L-serine	0.000274	0.002172	0.000586
L-threonine	-0.000458	0.002289	-0.004712
L-tryptophan	-0.000014	-0.000045	0.000155
L-valine	0.000001	0.000192	-0.001289
maleamic acid	-0.000014	0.000027	-0.000120
maleic acid	0.000030	-0.000448	0.001660
malonic acid	-0.000041	-0.000188	-0.000729
maltose	-0.081359	0.913102	-0.269018
maltotriose	-0.000044	0.000231	-0.000820

Πίνακας 11. (Συνέχεια)

Metabolites	PC1 (88.8%)	PC2 (6.5%)	PC3 (2.5%)
melibiose	-0.000158	0.000101	-0.001105
methyl-b-D-galactopyranoside	-0.001844	-0.009724	-0.021676
mucic acid	0.000047	-0.000034	0.000343
myo-inositol	-0.002484	-0.008663	-0.070820
myristic acid	-0.000084	0.000303	-0.000107
N-acetyl-D-glucosamine	-0.000929	0.005974	-0.007233
N-ethylglycine	-0.000252	-0.001071	-0.002670
nicotinic acid	-0.000020	0.000017	-0.000141
N-methylalanine	0.000020	0.000003	-0.000001
N-methylglutamic acid	-0.000002	-0.000004	0.000005
O-phosphocolamine	-0.000008	0.000042	0.000026
oxalic acid	0.003095	0.004117	0.006068
palatinitol	0.000331	-0.000350	0.000020
palatinose	0.000586	0.016107	-0.023167
Phenylalanine	-0.000011	-0.000098	-0.000332
phenyl-b-glucopyranoside	-0.000022	0.000100	-0.000073
phosphoric acid	-0.004701	-0.018138	-0.044178
pipecolic acid	-0.000004	0.000469	-0.000217
porphine	-0.000166	0.000004	0.000238
prunetin	0.000001	-0.000009	0.000089
putrescine	-0.000022	0.000277	0.000130
pyrrole -2-carboxylic acid	0.000000	0.000009	-0.000006
pyruvic acid	0.000084	0.001139	0.000226
quinic acid	-0.001186	0.004367	-0.007167
Raffinose	-0.008126	0.034925	-0.091959
ribonic acid-gamma-lactone	-0.000025	-0.000098	-0.000166
sedoheptulose anhydride monohydrate	0.000509	-0.002202	0.004066
shikimic acid	-0.000146	0.000939	0.000049
sophorose	-0.000023	-0.000095	-0.000213
spermidine	0.000004	-0.000009	0.000111
succinic acid	-0.000658	-0.004908	-0.006181
Sucrose	0.994544	0.071277	-0.058651
tagatose	0.011800	-0.016674	0.071202
talose	-0.000305	-0.001546	-0.003794
tartaric acid	-0.000392	0.001787	-0.012756
threose	-0.000013	-0.000092	-0.000217
thymine	-0.000003	-0.000008	-0.000007
trans-3-hydroxy-L-proline	-0.000002	-0.000007	0.000042
trans-aconitic acid	0.036075	-0.052042	0.156739
tyrosine	-0.000021	0.000051	-0.000481
uracil	0.000003	-0.000007	-0.000007
uric acid	0.000009	-0.000001	-0.000001

Πίνακας 12. PCA φύλλων της ποικιλίας Urja: Loadings

Metabolites	PC1 (84.9%)	PC2 (13.9%)	PC3 (0.7%)
1-methyl nicotinamide	-0.000007	0.000015	0.000049
2-keto-L-gulonic acid	0.000287	-0.000618	-0.007398
3-hydroxy-3-methylglutaric acid	0.000018	0.000009	0.000038
4,8-dihydroxyquinoline-2-carboxylic acid	0.000000	-0.000001	-0.000003
4-guanidinobutyric acid	0.000195	0.001403	0.006396
4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid	0.000002	0.000009	0.000042
4-hydroxybenzyl cyanide	-0.000027	0.000000	0.000144
4-hydroxycinnamic acid	-0.000002	-0.000006	0.000003
4-hydroxyphenylacetic acid	-0.000001	0.000005	0.000095
6-deoxyD-glucose	-0.000023	0.000010	-0.000063
6-phosphogluconic acid	0.000032	-0.000003	0.000143
acetol	-0.000008	-0.000045	-0.000206
acetyl-L-serine	0.000007	0.000017	0.000054
adenine	-0.000250	0.000462	0.004133
adenosine	0.000013	-0.000058	-0.000421
a-ketoglutaric acid	-0.000041	0.000369	-0.000112
arabitol	0.000005	0.000003	-0.000027
arachidic acid	-0.000003	0.000074	0.000041
arbutin	-0.000017	0.000005	-0.000034
aspartic acid	-0.000733	0.000072	-0.000933
b-alanine	-0.000088	0.000204	0.001491
behenic acid	0.000001	0.000005	-0.000003
benzoic acid	-0.000017	0.000033	0.000292
caffeic acid	0.000003	-0.000007	-0.000015
capric acid	-0.000003	0.000013	0.000040
cellobiose	0.068072	0.069121	0.806645
citraconic acid	-0.000015	0.000254	0.000923
citramalic acid	-0.000014	-0.000009	0.000028
citric acid	0.000853	0.002441	0.012932
cytosine	-0.000007	0.000023	0.000012
D (+)altrose	-0.000062	0.000217	0.006654
D-(+) trehalose	-0.000708	0.000438	0.002552
D-(+)-melezitose	-0.000044	0.000019	0.000528
D-allose	0.000013	-0.000076	-0.000057
D-glucose	0.007044	0.009038	-0.000158
D-glucose-6-phosphate	-0.000013	0.000567	0.005245
DL-3-aminoisobutyric acid	0.000011	-0.000130	-0.000347
DL-4-hydroxymandelic acid	0.000019	-0.000005	-0.000157
DL-glyceraldehyde	-0.000005	-0.000002	-0.000060
DL-isoleucine	-0.000004	0.000017	-0.000211
D-lyxose	-0.001015	0.000346	0.011987
D-lyxosylamine	-0.000061	0.000755	-0.004282

Πίνακας 12. (Συνέχεια)

Metabolites	PC1 (84.9%)	PC2 (13.9%)	PC3 (0.7%)
D-malic acid	-0.013154	0.011838	0.067595
D-mannitol	0.001036	-0.002994	-0.015211
D-mannose	-0.026616	0.009140	0.024695
D-saccharic acid	0.000190	0.000427	0.002346
D-sorbitol	0.000009	0.000138	0.000614
D-threitol	0.000029	-0.000135	-0.001024
ferulic acid	-0.000001	0.000002	0.000087
fructose	-0.011056	0.011801	-0.161535
fumaric acid	-0.000037	0.000019	0.000207
galactinol	-0.009736	0.027660	0.102631
galacturonic acid	0.001065	0.001243	0.003246
gluconic acid	0.002629	0.004484	0.010068
gluconic acid lactone	-0.000004	0.000159	0.001061
glyceric acid	-0.002117	0.001724	0.029044
glycerol	-0.000639	-0.001224	-0.000414
glycerol 1-phosphate	-0.002025	-0.000060	0.002156
glycine	-0.001520	-0.000032	0.011797
glycolic acid	0.000022	0.000324	0.002438
iminodiacetic acid	0.000073	0.000614	0.006748
isomaltose	-0.007949	0.002661	0.030987
isopropyl b-D-1-thiogalactopyranoside	0.000024	0.000374	0.000561
itaconic acid	-0.000260	0.000513	0.006791
L-(+) lactic acid	-0.000218	-0.000582	0.001750
lactitol	0.000013	0.000012	-0.000243
lactobionic acid	0.002759	0.001313	0.011027
lactose	0.000191	0.000204	-0.001377
lactulose	0.000550	0.000593	0.003943
L-alanine	0.000976	0.012899	0.075742
L-ascorbic acid	0.000009	0.000004	-0.000055
L-asparagine	0.000490	0.000414	0.007684
leucrose	0.000020	-0.000028	-0.000699
L-glutamic acid	0.001073	0.007868	0.062951
L-glutamine	0.000207	0.001538	0.013096
L-homoserine	0.000019	-0.000070	0.000511
L-leucine	-0.000029	-0.000003	-0.000034
L-lysine	0.000042	0.000200	0.000470
L-methionine	0.000001	0.000028	0.000038
L-mimosine	0.000008	0.000009	0.000315
L-norleucine	0.000060	0.000241	0.000524
loganin	-0.000259	0.000385	0.004800
L-proline	-0.000008	0.000637	0.002759
L-pyroglutamic acid	-0.000156	-0.000334	0.002935
L-serine	0.000229	0.002400	0.007882

Πίνακας 12. (Συνέχεια)

Metabolites	PC1 (84.9%)	PC2 (13.9%)	PC3 (0.7%)
L-threonine	-0.000568	0.000851	0.008624
L-tryptophan	0.000047	-0.000043	-0.000903
L-valine	0.000005	0.000456	0.001031
maleamic acid	-0.000036	0.000014	0.000290
maleic acid	-0.000083	0.000006	0.001039
malonic acid	-0.000032	0.000051	-0.000345
maltose	-0.979757	0.187217	0.032572
maltotriitol	-0.000038	0.000074	0.000192
maltotriose	-0.000631	0.000107	0.002176
melibiose	-0.000346	0.000263	0.002385
methyl-b-D-galactopyranoside	-0.000427	-0.001553	0.003663
mucic acid	-0.000039	0.000120	0.000841
myo-inositol	-0.004334	0.007440	0.034960
myristic acid	-0.000045	0.000017	0.000692
N-acetyl-D-glucosamine	-0.001217	0.001501	0.001359
N-ethylglycine	0.000369	-0.000475	0.011787
nicotinic acid	-0.000011	0.000027	0.000045
N-methylalanine	-0.000017	0.000004	0.000041
N-methylglutamic acid	0.000001	-0.000002	-0.000015
O-phosphocolamine	0.000002	0.000010	0.000054
orotic acid	0.000001	0.000002	0.000004
oxalic acid	-0.000697	0.011702	0.015904
palatinitol	0.000462	-0.000057	0.000832
palatinose	-0.009024	0.005149	-0.012228
Phenylalanine	-0.000001	0.000009	-0.000002
phenyl-b-glucopyranoside	-0.000137	0.000024	0.000436
phosphoglycolic acid	-0.000001	0.000003	0.000004
phosphoric acid	0.000134	0.002140	0.012465
pipecolic acid	-0.000182	0.000106	0.000831
porphine	-0.000447	0.000175	-0.000322
prunetin	0.000000	0.000011	-0.000010
putrescine	0.000043	0.000040	0.000186
pyrrole -2-carboxylic acid	0.000000	-0.000001	0.000004
pyruvic acid	-0.000185	-0.000142	-0.000550
quinic acid	-0.003504	0.001532	0.007834
Raffinose	-0.010753	0.004492	0.047673
ribonic acid-gamma-lactone	0.000004	0.000189	-0.000008
ribose	0.000000	-0.000002	0.000012
sedoheptulose anhydride monohydrate	-0.000068	-0.001899	-0.009420
shikimic acid	-0.000977	0.000422	0.001550
sophorose	-0.000039	-0.000052	-0.000197
spermidine	0.000009	0.000017	0.000060
succinic acid	0.000570	0.002830	0.018825

Πίνακας 12. (Συνέχεια)

Metabolites	PC1 (84.9%)	PC2 (13.9%)	PC3 (0.7%)
Sucrose	0.184289	0.974689	-0.116175
tagatose	0.001099	-0.000554	0.110091
tartaric acid	0.000441	0.002708	0.006390
threose	-0.000001	0.000007	-0.000060
thymine	-0.000002	-0.000010	0.000105
trans-3-hydroxy-L-proline	0.000003	0.000016	0.000057
trans-aconitic acid	-0.000435	0.091539	0.512733
tyrosine	0.000056	0.000451	0.001160
uracil	0.000003	0.000025	0.000005
urea	-0.000002	-0.000006	-0.000071
uric acid	0.000037	0.000123	-0.000528

Πίνακας 13. PCA στελεχών της ποικιλίας Sugar Graze: Loadings

Metabolites	PC1 (60.8%)	PC2 (25.2%)	PC3 (12.9%)	PC4 (0.8%)
2-keto-L-gulonic acid	0.000663	0.000188	-0.000989	-0.009582
4,8-dihydroxyquinoline-2-carboxylic acid	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
4-guanidinobutyric acid	-0.000137	0.000037	-0.000014	0.000269
4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid	-0.000002	-0.000004	-0.000002	-0.000017
4-hydroxycinnamic acid	-0.000022	-0.000006	-0.000032	-0.000048
4-hydroxyphenylacetic acid	-0.000002	0.000002	-0.000002	-0.000015
5-hydroxy-L-tryptophan	0.000000	0.000000	0.000001	-0.000009
6-phosphogluconic acid	-0.000005	-0.000004	-0.000014	0.000006
acetol	-0.000016	0.000295	0.000214	-0.000106
adenosine	-0.000019	-0.000009	-0.000030	-0.000007
α-ketoglutaric acid	-0.000011	-0.000007	-0.000030	-0.000023
allantoin	0.001445	0.000659	-0.003130	-0.002998
arabitol	-0.000001	-0.000002	0.000000	0.000032
arachidic acid	0.000000	0.000005	0.000022	-0.000093
arbutin	0.000020	-0.000022	0.000023	-0.000072
aspartic acid	-0.003332	-0.000881	-0.003675	0.004465
β-alanine	-0.000036	-0.000013	-0.000056	0.000017
β-cyano-L-alanine	-0.000039	-0.000040	-0.000106	-0.000113
behenic acid	0.000000	0.000001	0.000001	-0.000009
benzoic acid	-0.000012	0.000004	0.000001	-0.000050
caffeic acid	0.000001	0.000001	0.000002	-0.000004
capric acid	0.000001	-0.000001	0.000007	-0.000024
cellobiose	-0.000014	-0.000007	-0.000017	-0.000036
citraconic acid	0.000036	0.000041	0.000092	-0.000934
citramalic acid	-0.000004	0.000007	-0.000020	0.000002
citric acid	0.004788	-0.001173	0.003410	0.003272
citrulline	0.000000	0.000000	0.000001	-0.000006
D (+)altrose	0.000007	-0.000053	-0.000142	-0.000222
D-(+) trehalose	0.001855	-0.000034	0.005055	0.038663
D-(+)-melezitose	0.000133	-0.000107	0.000153	-0.001339
D-allose	0.000024	0.000028	-0.000173	-0.000825
D-glucosaminic acid	0.000002	-0.000002	0.000003	-0.000006
D-glucose	0.134431	0.968786	0.193196	-0.075377
D-glucose-6-phosphate	-0.000037	0.000045	0.000104	0.000516
DL-4-hydroxymandelic acid	0.000000	0.000001	-0.000001	0.000002
DL-isoleucine	-0.000052	-0.000047	0.000001	-0.000329
D-lyxose	0.000042	-0.000037	0.000044	-0.000320
D-lyxosylamine	0.000030	0.000014	-0.000057	0.000011
D-malic acid	0.016019	-0.011373	-0.020583	-0.110323
D-mannitol	0.000019	0.000001	-0.000025	-0.000096
D-mannose	-0.026045	-0.200055	0.970404	-0.127890
D-saccharic acid	-0.000023	-0.000018	-0.000067	-0.000003

Πίνακας 13. (Συνέχεια)

Metabolites	PC1 (60.8%)	PC2 (25.2%)	PC3 (12.9%)	PC4 (0.8%)
ferulic acid	0.000001	-0.000006	-0.000013	-0.000034
fructose	0.990094	-0.136377	0.000789	0.017126
fumaric acid	0.000002	0.000000	-0.000005	-0.000028
galactinol	0.000034	-0.000032	-0.000131	-0.000451
galacturonic acid	-0.000077	-0.000047	-0.000137	-0.000091
gluconic acid	0.000224	-0.000149	0.000310	0.000245
gluconic acid lactone	-0.000006	-0.000008	0.000034	0.000160
glyceric acid	0.000015	-0.000029	-0.000024	-0.000017
glycerol	0.000909	0.000060	0.003267	0.003410
glycerol 1-phosphate	-0.000001	-0.000004	-0.000012	0.000049
glycine	-0.000092	-0.000045	-0.000059	-0.001465
glycolic acid	0.000038	-0.000006	0.000081	0.000241
iminodiacetic acid	-0.000016	-0.000009	-0.000005	0.000058
isomaltose	0.000102	0.000191	0.000033	-0.000574
isopropyl b-D-1-thiogalactopyranoside	0.001868	-0.000059	-0.000855	0.001458
itaconic acid	0.000030	0.000041	0.000019	-0.001285
L-(+) lactic acid	-0.000249	-0.000411	0.000294	-0.001471
lactobionic acid	-0.000022	-0.000024	-0.000038	-0.000028
L-alanine	-0.000036	-0.000006	0.000080	-0.000376
L-asparagine	-0.007901	-0.007090	-0.018385	-0.014639
L-glutamic acid	-0.001272	-0.001243	-0.002897	0.003076
L-glutamine	-0.000997	-0.000865	-0.003096	-0.000646
L-histidine	-0.000012	-0.000010	-0.000034	0.000014
L-homoserine	-0.000003	0.000008	-0.000002	-0.000004
L-leucine	0.000002	-0.000008	-0.000057	0.000110
L-lysine	-0.000022	-0.000020	-0.000063	-0.000023
L-methionine	-0.000009	0.000003	-0.000020	-0.000005
L-methionine sulfoxide	-0.000001	-0.000001	-0.000002	0.000001
L-mimosine	0.000000	0.000000	-0.000001	-0.000007
L-norleucine	-0.000073	-0.000026	-0.000065	-0.000465
L-proline	0.004011	-0.002084	0.003786	-0.043236
L-pyroglutamic acid	-0.000277	0.000262	0.000112	-0.003344
L-serine	-0.000929	-0.000364	-0.001036	-0.000984
L-threonine	-0.000551	-0.000075	-0.000617	-0.000414
L-tryptophan	0.000045	0.000022	0.000004	-0.000615
lumazine	0.000001	0.000000	-0.000004	-0.000013
L-valine	-0.000291	-0.000141	-0.000551	-0.000656
maleamic acid	0.000000	0.000000	0.000000	-0.000001
maleic acid	0.000053	-0.000031	-0.000125	-0.000080
malonic acid	-0.000003	-0.000003	0.000001	0.000011
maltose	0.000010	0.000026	-0.000027	0.000016
melibiose	0.000290	0.000153	-0.000102	-0.001428
methyl-b-D-galactopyranoside	-0.000942	0.000307	-0.001952	0.002091

Πίνακας 13. (Συνέχεια)

Metabolites	PC1 (60.8%)	PC2 (25.2%)	PC3 (12.9%)	PC4 (0.8%)
mucic acid	0.000025	0.000020	-0.000004	-0.000380
myo-inositol	-0.000526	-0.000435	-0.001405	-0.000807
myristic acid	-0.000008	-0.000007	-0.000022	-0.000019
N-acetyl-D-glucosamine	0.012799	0.004651	0.007310	-0.025235
N-ethylglycine	-0.000008	-0.000011	0.000056	0.000257
nicotinic acid	0.000001	0.000003	0.000001	0.000004
O-phosphocolamine	-0.000005	-0.000003	-0.000007	0.000032
oxalic acid	-0.000655	-0.000446	-0.000026	0.004602
palatinitol	0.000009	-0.000005	-0.000008	-0.000009
palatinose	0.000277	0.000007	-0.000123	-0.000646
Phenylalanine	-0.000001	-0.000005	-0.000002	-0.000028
phosphoric acid	-0.001225	-0.000491	-0.001028	-0.000714
pipecolic acid	-0.000012	-0.000024	-0.000055	-0.000347
porphine	-0.000018	0.000095	0.000044	-0.000102
prunetin	0.000000	0.000001	0.000000	0.000002
putrescine	-0.000003	-0.000004	-0.000014	-0.000016
pyrrole -2-carboxylic acid	0.000004	-0.000002	0.000015	-0.000067
pyruvic acid	-0.000001	-0.000004	0.000002	-0.000096
quinic acid	-0.000541	-0.000386	-0.000872	-0.000629
Raffinose	0.011868	-0.005042	-0.000028	-0.005841
ribose	-0.000004	0.000004	0.000016	0.000024
sedoheptulose anhydride monohydrate	0.007554	0.000448	-0.000714	-0.019079
shikimic acid	-0.000169	-0.000110	-0.000118	0.000224
sophorose	0.000268	0.000035	0.000008	-0.000499
spermidine	-0.000003	-0.000002	-0.000007	-0.000002
succinic acid	-0.000035	-0.000007	0.000032	0.000275
Sucrose	-0.004452	0.050588	0.126731	0.939979
sucrose-6-phosphate	-0.000001	-0.000001	-0.000001	-0.000001
tagatose	-0.012866	0.002833	0.060486	0.277018
talose	-0.000037	-0.000033	-0.000102	-0.000092
tartaric acid	0.000048	-0.000019	-0.000016	0.000153
thymine	-0.000002	-0.000002	0.000000	-0.000032
trans-3-hydroxy-L-proline	0.000000	0.000000	0.000001	0.000006
trans-4-hydroxy-L-proline	0.000001	-0.000001	0.000005	-0.000024
trans-aconitic acid	-0.005476	0.005330	0.018438	0.019357
tyrosine	-0.000063	-0.000050	-0.000181	0.000044
uracil	-0.000001	0.000000	0.000004	-0.000014
urea	0.000000	-0.000005	0.000011	-0.000035
uric acid	0.000001	0.000000	0.000002	-0.000016

Πίνακας 14. PCA στελεχών της ποικιλίας Urja: Loadings

Metabolites	PC1 (68.6%)	PC2 (18.6%)	PC3 (4.5%)	PC4 (3.6%)	PC5 (2.3%)	PC6 (1.2%)
2-keto-L-gulonic acid	0.003593	-0.000988	-0.000065	0.000405	0.000360	-0.000595
4,8-dihydroxyquinoline-2-carboxylic acid	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	-0.000003
4-guanidinobutyric acid	-0.008335	0.077671	-0.266515	-0.766223	0.465260	0.295791
4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid	0.000000	0.000001	-0.000006	-0.000005	-0.000030	0.000008
4-hydroxycinnamic acid	0.000015	0.000099	-0.000011	-0.000030	0.000116	-0.000007
4-hydroxyphenylacetic acid	-0.000002	0.000016	0.000040	0.000018	0.000018	0.000033
acetol	-0.000144	-0.000479	-0.000532	0.000834	0.000688	0.000168
adenine	-0.000001	-0.000001	-0.000003	0.000011	-0.000006	0.000055
adenosine	0.000128	0.000095	-0.000295	-0.000412	-0.000578	0.001104
a-ketoglutaric acid	-0.000002	-0.000001	-0.000007	0.000025	-0.000014	0.000129
allantoin	0.002236	-0.000469	0.000152	-0.000189	-0.000856	-0.000217
arachidic acid	-0.000026	0.000105	0.000012	0.000038	0.000033	0.000118
arbutin	0.000137	0.000129	0.000172	-0.000200	-0.000431	0.000106
aspartic acid	0.036200	0.028665	-0.005613	-0.044871	-0.052578	0.071657
b-alanine	-0.000142	0.001016	-0.002783	-0.008968	0.005673	0.002865
b-cyano-L-alanine	0.000083	0.000941	-0.000657	-0.001948	-0.002346	0.001241
behenic acid	0.000000	0.000001	-0.000002	-0.000007	0.000004	0.000003
benzoic acid	-0.000001	0.000154	-0.000062	-0.000421	0.000146	0.000037
caffeic acid	0.000003	0.000004	0.000008	0.000005	-0.000003	0.000000
capric acid	-0.000010	0.000000	0.000012	-0.000034	-0.000035	0.000085
cellobiose	-0.000075	-0.000415	-0.000905	-0.000212	-0.000881	-0.005400
citraconic acid	0.000173	0.000330	0.000552	-0.000128	-0.000023	0.000486
citramalic acid	0.000030	-0.000015	0.000006	-0.000012	0.000076	-0.000042
citric acid	0.019620	0.050116	0.034089	0.048326	0.145742	0.015037
citrulline	0.000001	0.000048	0.000175	-0.000387	-0.000268	-0.000313
cytosine	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	-0.000003
D (+)altrose	-0.000261	-0.000541	0.000435	-0.000336	-0.001365	-0.000844
D-(+) trehalose	0.000241	-0.000753	0.001934	-0.000561	-0.002116	0.003286
D-(+)-melezitose	0.000126	0.000325	-0.000773	-0.000937	-0.000620	0.001927
D-allose	-0.000008	-0.000044	-0.000057	0.000048	0.000045	-0.000007
D-glucosaminic acid	0.000015	-0.000003	-0.000033	-0.000076	0.000022	0.000016
D-glucose	0.401908	-0.050563	-0.439570	0.099290	0.150638	-0.297998
D-glucose-6-phosphate	0.000602	0.000726	0.000509	-0.000890	-0.001865	0.000509
DL-3-aminoisobutyric acid	-0.000196	0.001658	-0.005562	-0.016542	0.010170	0.006145
DL-4-hydroxymandelic acid	0.000005	0.000008	0.000005	0.000005	-0.000003	0.000011
DL-isoleucine	-0.000122	0.002289	-0.002901	-0.005456	-0.007734	0.004123
D-lyxose	0.000365	0.000129	0.000047	0.000957	-0.000596	0.000994
D-lyxosylamine	-0.000028	0.000076	-0.000043	0.000001	-0.000180	-0.000886
D-malic acid	0.021888	0.017049	-0.013256	0.023564	0.040428	-0.011720
D-mannitol	0.000062	0.000103	-0.000060	-0.000245	-0.000030	0.000432
D-mannose	0.093581	-0.141112	0.820996	-0.285010	0.071026	-0.052013
D-saccharic acid	-0.000047	0.000185	0.000080	0.000295	-0.000417	0.000704

Πίνακας 14. (Συνέχεια)

Metabolites	PC1 (68.6%)	PC2 (18.6%)	PC3 (4.5%)	PC4 (3.6%)	PC5 (2.3%)	PC6 (1.2%)
ferulic acid	-0.000018	0.000046	0.000010	-0.000091	-0.000073	-0.000010
fructose	0.877247	-0.202510	0.085676	-0.026011	-0.026300	0.074867
fumaric acid	-0.000005	0.000016	0.000000	-0.000018	0.000000	-0.000003
galactinol	0.000351	0.000075	-0.000626	-0.001120	-0.000020	0.001541
galacturonic acid	-0.000388	0.001027	-0.001778	-0.000520	-0.000132	0.004647
gluconic acid	0.000029	-0.000203	-0.000287	0.000467	0.002055	-0.003034
gluconic acid lactone	-0.000004	-0.000020	-0.000025	0.000023	0.000027	-0.000005
glyceric acid	0.000118	0.000176	-0.000118	-0.000135	-0.000339	0.000283
glycerol	0.001708	0.006789	-0.007851	-0.020106	0.010543	0.020206
glycerol 1-phosphate	0.000152	0.000062	0.000240	0.000179	0.000189	-0.000483
glycine	0.001177	0.003577	-0.001671	-0.004552	-0.000018	0.007077
glycolic acid	0.000043	-0.000038	-0.000302	0.000348	0.000188	0.000062
iminodiacetic acid	-0.000106	-0.000022	0.000105	-0.000518	0.000284	0.000321
isomaltose	-0.000474	0.001746	-0.003590	-0.013777	0.007035	0.001528
isopropyl b-D-1-thiogalactopyranoside	0.003632	-0.000825	-0.000234	-0.001192	-0.001241	-0.000558
itaconic acid	0.000482	0.000983	0.001010	0.000931	0.000140	0.003137
L-(+) lactic acid	0.000722	0.000809	0.000548	-0.003944	-0.001131	-0.002059
lactobionic acid	-0.000003	0.000006	-0.000046	-0.000069	0.000038	0.000004
L-alanine	-0.000356	0.000755	0.002286	-0.001309	0.000567	-0.000893
L-asparagine	0.062519	0.154353	-0.135164	-0.404125	-0.811237	-0.035469
leucrose	-0.000034	-0.000120	-0.000590	0.000044	-0.001650	0.000697
L-glutamic acid	0.018806	0.002245	0.040485	-0.037589	-0.064405	0.014662
L-glutamine	0.039029	0.006064	-0.026063	-0.165638	-0.160585	0.155792
L-histidine	-0.000261	-0.000080	-0.000525	0.001107	-0.001629	0.004259
L-homoserine	-0.000004	0.000064	-0.000127	-0.000420	0.000231	0.000077
L-leucine	0.000391	0.000481	-0.000966	-0.001009	-0.002981	0.002111
L-lysine	-0.000698	0.003805	-0.000755	-0.002329	-0.000348	0.000631
L-methionine	0.000159	0.000722	-0.001720	-0.003780	-0.002244	0.000770
L-methionine sulfoxide	-0.000026	0.000026	-0.000144	-0.000409	0.000061	-0.000149
L-mimosine	-0.000001	0.000000	0.000016	-0.000035	0.000004	0.000022
L-norleucine	0.000042	0.002609	-0.006118	-0.010344	-0.014290	0.009580
loganin	0.000065	-0.000016	-0.000007	-0.000006	-0.000040	0.000006
L-ornithine	-0.000023	-0.000040	-0.000071	0.000148	-0.000143	0.000752
L-proline	0.015556	0.005585	-0.037322	-0.059298	-0.090554	0.045698
L-pyroglutamic acid	-0.004203	0.007996	-0.054171	-0.062421	-0.000735	0.028884
L-serine	-0.002233	0.001021	0.018933	-0.054134	-0.008522	-0.012204
L-threonine	-0.000639	0.005073	-0.003032	-0.023068	-0.009650	0.010035
L-tryptophan	0.000179	0.000040	-0.000578	0.000257	-0.000593	0.003712
lumazine	-0.000005	0.000007	-0.000009	-0.000080	0.000047	-0.000019
L-valine	0.000099	0.003516	-0.003917	-0.012283	-0.003042	0.008945
maleamic acid	0.000000	0.000000	-0.000001	0.000004	-0.000002	0.000021
maleic acid	0.000087	-0.000017	-0.000057	0.000066	-0.000121	0.000010
malonic acid	-0.000015	-0.000025	-0.000011	-0.000087	-0.000025	0.000110

Πίνακας 14. (Συνέχεια)

Metabolites	PC1 (68.6%)	PC2 (18.6%)	PC3 (4.5%)	PC4 (3.6%)	PC5 (2.3%)	PC6 (1.2%)
maltitol	-0.000011	-0.000013	-0.000034	0.000033	0.000009	-0.000112
maltose	-0.000879	0.002510	-0.000852	0.000279	-0.002793	-0.012105
maltotriose	-0.000010	0.000032	0.000022	-0.000007	-0.000055	-0.000195
melibiose	-0.000067	-0.000123	0.000042	0.000268	-0.000099	-0.000260
methyl-β-D-galactopyranoside	0.004980	0.003605	0.000712	-0.006703	0.009383	0.006415
mucic acid	0.000049	0.000135	0.000119	0.000167	0.000009	0.000014
myo-inositol	0.003757	0.001143	-0.005777	-0.004841	-0.005238	0.024560
myristic acid	-0.000054	0.000053	-0.000284	-0.000737	-0.001188	0.001010
N-acetyl-D-glucosamine	0.015542	-0.005078	0.003991	-0.004576	-0.000335	-0.018438
nicotinic acid	0.000008	-0.000004	-0.000021	-0.000015	0.000034	0.000002
N-methylalanine	-0.000009	-0.000024	-0.000020	-0.000001	-0.000045	-0.000014
N-methylglutamic acid	-0.000004	0.000034	0.000015	0.000006	0.000015	-0.000071
O-phosphocolamine	0.000145	0.000092	-0.000078	-0.000233	-0.000357	0.000175
oxalic acid	0.001920	0.002942	-0.007320	-0.006192	-0.003804	0.022567
palatinitol	-0.000007	-0.000006	-0.000035	-0.000094	-0.000037	0.000015
palatinose	-0.000009	0.000094	-0.000021	0.000088	-0.000074	-0.000408
Phenylalanine	0.000062	-0.000034	-0.000045	0.000128	0.000071	0.000089
phosphoric acid	0.035836	0.056980	0.007515	-0.100413	-0.034565	0.012714
pipecolic acid	-0.000008	0.000020	-0.000083	-0.000266	0.000064	0.000031
porphine	0.000062	0.000184	-0.000122	-0.000134	0.000163	0.000332
prunetin	0.000002	0.000006	0.000001	0.000001	-0.000011	0.000041
putrescine	0.000062	0.000081	-0.000092	-0.000229	-0.000708	0.000383
pyruvic acid	-0.000002	-0.000005	0.000063	-0.000032	0.000035	-0.000003
quinic acid	0.000158	-0.000297	-0.000683	0.000830	-0.004566	0.002314
Raffinose	0.021911	-0.004530	-0.011911	-0.013590	-0.027550	0.026033
ribose	-0.000005	-0.000025	-0.000016	0.000058	0.000067	0.000113
sedoheptulose anhydride monohydrate	0.015542	0.007567	0.009990	0.011809	0.004814	0.006579
shikimic acid	-0.000091	-0.000227	0.000147	0.000427	0.000226	0.000044
sophorose	-0.000022	-0.000064	0.000099	-0.000036	-0.000044	-0.000049
spermidine	-0.000015	0.000038	-0.000058	0.000113	-0.000305	0.000578
succinic acid	0.000094	0.000398	-0.000321	-0.000691	0.000222	0.000661
Sucrose	0.201814	0.942825	0.158314	0.062060	0.115782	-0.119682
sucrose-6-phosphate	0.000051	0.000077	-0.000039	-0.000362	0.000181	0.000251
tagatose	-0.033955	0.035696	0.042765	-0.012740	-0.084807	-0.023083
talose	-0.000128	0.000959	-0.002353	-0.003254	0.000024	-0.000918
tartaric acid	-0.000063	0.000034	-0.000177	0.000452	0.000261	-0.000320
thymine	-0.000001	-0.000004	-0.000012	0.000015	0.000023	-0.000009
trans-3-hydroxy-L-proline	0.000020	-0.000001	-0.000024	-0.000020	-0.000081	0.000028
trans-aconitic acid	0.087424	0.095800	0.008190	0.311786	-0.079248	0.873025
tyrosine	0.001250	0.003209	-0.012401	-0.010437	-0.058530	0.024196
uracil	-0.000003	-0.000003	0.000025	-0.000036	-0.000028	-0.000064
urea	-0.000015	0.000025	-0.000046	0.000217	-0.000087	0.000924
uric acid	0.000017	0.000065	-0.000213	-0.000672	0.000333	0.000283

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΚΠΟΜΠΩΝ ΑΕΡΙΩΝ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟΥ									
Εκπομπές κατά την καλλιεργητική φάση (g CO ₂ /στρ)									
Πετρέλαιο									
Εργασία	Κατανάλωση (l/στρ)								
Άρση	4								
Διακοσβάρνισμα	1.5								
Καλλιεργητής	1.5								
Σπορά + Λίπανση	0.8								
Σκόλισμα	1.5								
Συγκομιδή	3								
Σύνολο (l/στρ)	12.3	Καταναλωθείσα Ενέργεια (MJ/στρ)				Εκπομπές			
Σύνολο (kg/στρ)	10.23	441.07				38655.21			
Άρδευση									
MJ/ KW ⁻¹ h ⁻¹	Ισχύς (KW)	Ώρες	Αρ. Αρδύσεων	Έκταση (στρ)					
3.6	44	1	4	1					
					Καταναλωθείσα Ενέργεια (MJ/στρ)		633.6		
					Εκπομπές		81259.2		
Εισροές									
	Ποσότητα (kg/στρ)	Εκπομπές							
N	13.5	79882.2							
P ₂ O ₅	3.5	3547.25							
K ₂ O	2	1158.4							
Σύνολο		84587.85							
Σπόρος σποράς									
	Σπόρος Σποράς (kg/στρ)	Απόδοση σε σπόρο (kg/στρ)			Συντελεστής Εκπομπών Σπόρου Σποράς				
Γλυκό Σόργο	0.9	300.0			1.003				
Ποικιλία									
	Συνολικές Εκπομπές (g CO ₂ /στρ)								
Urja	276252.54								
Sugar Graze	277149.22								
6011	282230.42								
6012	281632.63								
BMR 333	281333.74								
23000	280735.95								
7013	282828.21								
6010	284322.68								
Honey Graze	283724.89								
Τυπικές Εκπομπές κατά την καλλιεργητική φάση (g CO ₂ e/MJ)									
Ποικιλία	Απόδοση σε βιοαιθανόλη (kg/στρ)	Ενέργεια βιοαιθανόλης (MJ/στρ)	Τυπικές Εκπομπές						
Urja	816.675	22050.23	12.53						
Sugar Graze	812.3	21932.10	12.64						
6011	473.525	12785.18	22.07						
6012	461.15	12451.05	22.62						
BMR 333	452.3	12212.10	23.04						
23000	418.275	11293.43	24.86						
7013	300.15	8104.05	34.90						
6010	273.1	7373.70	38.56						
Honey Graze	226.45	6114.15	46.40						
Τυπικές Εκπομπές μετά τη φάση της καλλιέργειας (g CO ₂ e/MJ)									
Μεταφορά πρώτης ύλης (50 km)		0.51							
Παραγωγή βιοαιθανόλης		39.51							
Μεταφορά βιοαιθανόλης (300 km)		1.1							
Ανεφοδιασμός		0.44							
Σύνολο		41.56							
Συνολικές Τυπικές Εκπομπές (g CO ₂ e/MJ)									
Ποικιλία									
Urja	54.09								
Sugar Graze	54.20								
6011	63.63								
6012	64.18								
BMR 333	64.60								
23000	66.42								
7013	76.46								
6010	80.12								
Honey Graze	87.96								

Ποικιλία	Συντελεστής μετατροπής σε g CO ₂ e	N ₂ O εκπομπές (kg/στρ)	N ₂ O εκπομπές (g CO ₂ e/στρ)
Urja	29800	2.38	70924
Sugar Graze	29800	2.41	71818
6011	29800	2.58	76884
6012	29800	2.56	76288
BMR 333	29800	2.55	75990
23000	29800	2.53	75394
7013	29800	2.6	77480
6010	29800	2.65	78970
Honey Graze	29800	2.63	78374

Εικόνα 1. Υπολογισμός τυπικών εκπομπών στον πειραματικό αγρό της Οινόης το 2008

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΚΠΟΜΠΩΝ ΑΕΡΙΩΝ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟΥ									
Εκπομπές κατά την καλλιεργητική φάση (g CO ₂ /στρ)									
Πετρέλαιο									
Εργασία	Κατανάλωση (l/στρ)								
Άρσση	4								
Διασκοβάρνισμα	1.5								
Καλλιεργητής	1.5								
Σπορά + Λίπανση	0.8								
Σφάλισμα	1.5								
Συγκομιδή	3								
Σύνολο (l/στρ)	12.3	Καταναλωθείσα Ενέργεια (MJ/στρ)				Εκπομπές			
Σύνολο (kg/στρ)	10.23	441.07				38655.21			
Αρδευση									
MJ/ KW ¹ h ¹	Ισχύς(ΚW)	Ώρες	Αρ. Αρδεύσεων	Έκταση (στρ)	Καταναλωθείσα Ενέργεια (MJ/στρ)		Εκπομπές		
3.6	44	1	3	1	475.2		60944.4		
Εισροές									
	Ποσότητα (kg/στρ)	Εκπομπές							
N	9	53254.8							
P ₂ O ₅	9	9121.5							
K ₂ O	9	5212.8							
Σύνολο		67589.1							
Σπόρος σποράς									
	Σπόρος Σποράς (kg/στρ)	Απόδοση σε σπόρο (kg/στρ)	Συντελεστής Εκπομπών Σπόρου Σποράς						
Γλυκό Σόργο	0.9	300.0	1.003						
Ποικιλία									
	Συνολικές Εκπομπές (g CO ₂ /στρ)								
Dale	217306.68								
Urja	217007.79								
MB1	218203.37								
Della	218502.26								
Sugar Graze	218203.37								
6012	218203.37								
Topper	219100.05								
Keller	219100.05								
BMR 333	218502.26								
23000	219100.05								
6011	219697.84								
7013	219398.94								
Honey Graze	220594.52								
6010	222088.99								
Τυπικές Εκπομπές κατά την καλλιεργητική φάση (g CO ₂ e/MJ)									
Ποικιλία	Απόδοση σε Βιοαιθανόλη (kg/στρ)	Ενέργεια Βιοαιθανόλης (MJ/στρ)	Τυπικές Εκπομπές						
Dale	468.65	12653.55	17.17						
Urja	421.275	11374.43	19.08						
MB1	355.975	9611.33	22.70						
Della	342.45	9246.15	23.63						
Sugar Graze	340.425	9191.48	23.74						
6012	338.45	9138.15	23.88						
Topper	310.25	8376.75	26.16						
Keller	300.125	8103.38	27.04						
BMR 333	275.375	7435.13	29.39						
23000	239.875	6476.63	33.83						
6011	235.15	6079.05	36.14						
7013	203.75	5501.25	39.88						
Honey Graze	148.1	3998.70	55.17						
6010	101.1	2729.70	81.36						
Τυπικές Εκπομπές μετά τη φάση της καλλιέργειας (g CO ₂ e/MJ)									
Μεταφορά πρώτης ώλης (50 km)		0.51							
Παραγωγή βιοαιθανόλης		39.51							
Μεταφορά βιοαιθανόλης (300 km)		1.1							
Ανεφοδιασμός		0.44							
Σύνολο		41.56							
Συνολικές Τυπικές Εκπομπές (g CO ₂ e/MJ)									
Ποικιλία									
Dale	58.73								
Urja	60.64								
MB1	64.26								
Della	65.19								
Sugar Graze	65.30								
6012	65.44								
Topper	67.72								
Keller	68.60								
BMR 333	70.95								
23000	75.39								
6011	77.70								
7013	81.44								
Honey Graze	96.73								
6010	122.92								

Εικόνα 2. Υπολογισμός τυπικών εκπομπών στον πειραματικό αγρό της Κωπαΐδας το 2008

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΚΠΟΜΠΩΝ ΑΕΡΙΩΝ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟΥ				
Εκπομπές κατά την καλλιεργητική φάση (g CO ₂ / στρ)				
Πετρέλαιο				
Εργασία	Κατανάλωση (l/ στρ)			
Άρωση	4			
Διασκοσβάρισμα	1.5			
Καλλιεργητής	1.5			
Ίσπαρά + Λίπανση	0.8			
Σφάλισμα	1.5			
Συγκομιδή	3			
Σύνολο (l/ στρ)	12.3	Καταναλωθείσα Ενέργεια (MJ/ στρ)	Εκπομπές	
Σύνολο (kg/στρ)	10.23	441.07	38655.21	
Άρδευση				
MJ/ KW ¹ h ¹	Ιπποδύναμη (KW)	Ώρες	Αρ. Αρδύσεων	Έκταση (στρ)
3.6	44	1	3	1
Καταναλωθείσα Ενέργεια (MJ/ στρ)				475.2
Εκπομπές				60944.4
Εισροές				
	Ποσότητα (kg/ στρ)	Εκπομπές		
N	9	53254.8		
P ₂ O ₅	9	9121.5		
K ₂ O	9	5212.8		
Σύνολο		67589.1		
Ίσπαράς σποράς				
	Ίσπαράς (kg/στρ)	Απόδοση σε σπόρο (kg/στρ)	Συντελεστής Εκπομπών Ίσπαράς	
Γλυκό Ίσργο	0.9	300.0	1.003	
Ποικιλία				
	Συνολικές Εκπομπές (g CO ₂ /στρ)			
Urja	217605.58			
Keller	217007.79			
Sugar Graze	218203.37			
MB1	218203.37			
BMR 333	218801.15			
23000	218502.26			
6012	220295.62			
Nicole	218801.15			
6011	220893.41			
7013	219996.73			
6010	220893.41			
Honey Graze	221192.31			
Τυπικές Εκπομπές κατά την καλλιεργητική φάση (g CO ₂ e/MJ)				
Ποικιλία	Απόδοση σε βιοαιθανόλη (kg/στρ)	Ενέργεια βιοαιθανόλης (MJ/ στρ)	Τυπικές Εκπομπές	
Urja	475.475	12837.83	16.95	
Keller	448.825	12118.28	17.91	
Sugar Graze	412.775	11144.93	19.58	
MB1	358.875	9689.63	22.52	
BMR 333	323.95	8746.65	25.02	
23000	308.475	8328.83	26.23	
6012	238.525	6440.18	34.21	
Nicole	215.425	5816.48	37.62	
6011	194.05	5239.35	42.16	
7013	169.4	4573.80	48.10	
6010	148.925	4020.98	54.94	
Honey Graze	126.35	3411.45	64.84	
Τυπικές Εκπομπές μετά τη φάση της καλλιέργειας (g CO ₂ e/MJ)				
Μεταφορά πρώτης ύλης (50 km)		0.51		
Παραγωγή βιοαιθανόλης		39.51		
Μεταφορά βιοαιθανόλης (300 km)		1.1		
Ανεφοδιασμός		0.44		
Σύνολο		41.56		
Συνολικές Τυπικές Εκπομπές (g CO ₂ e/MJ)				
Ποικιλία				
Urja	58.51			
Keller	59.47			
Sugar Graze	61.14			
MB1	64.08			
BMR 333	66.58			
23000	67.79			
6012	75.77			
Nicole	79.18			
6011	83.72			
7013	89.66			
6010	96.50			
Honey Graze	106.40			

Ποικιλία	Συντελεστής μετατροπής σε g CO ₂ e	N ₂ O εκπομπές (kg/ στρ)	N ₂ O εκπομπές (g CO ₂ e/ στρ)
Urja	29800	1.67	49766
Keller	29800	1.65	49170
Sugar Graze	29800	1.69	50362
MB1	29800	1.69	50362
BMR 333	29800	1.71	50958
23000	29800	1.7	50660
6012	29800	1.76	52448
Nicole	29800	1.71	50958
6011	29800	1.78	53044
7013	29800	1.75	52150
6010	29800	1.78	53044
Honey Graze	29800	1.79	53342

Εικόνα 3. Υπολογισμός τυπικών εκπομπών στον πειραματικό αγρό της Κωπαΐδας το 2009

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΚΠΟΜΠΩΝ ΑΕΡΙΩΝ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟΥ									
Εκπομπές κατά την καλλιεργητική φάση (g CO ₂ /στρ)									
Πετρέλαιο									
Εργασία	Κατανάλωση (l/στρ)								
Άρωση	4								
Διακοσβάρνισμα	1.5								
Καλλιεργητής	1.5								
Σπορά + Λίπανση	0.8								
Σκάσιμο	1.5								
Συγκομιδή	3								
Σύνολο (l/στρ)	12.3	Καταναλωθείσα Ενέργεια (MJ/στρ)			Εκπομπές				
Σύνολο (kg/στρ)	10.23	441.07			38655.21				
Άρδευση									
MJ/ KW ¹ h ¹	Ισχύς (KW)	Ώρες	Αρ. Άρδευσεων	Έκταση (στρ)	Καταναλωθείσα Ενέργεια (MJ/στρ)				
3.6	44	1	3	1	475.2				
					Εκπομπές				
					60944.4				
Εισροές									
	Ποσότητα (kg/στρ)	Εκπομπές							
N	9	53254.8							
P ₂ O ₅	9	9121.5							
K ₂ O	9	5212.8							
Σύνολο		67589.1							
Σπόρος σποράς									
	Σπόρος Σποράς (kg/στρ)	Απόδοση σε σπόρο (kg/στρ)	Συντελεστής Εκπομπών Σπόρου Σποράς						
Γλυκό Σόργο	0.9	300.0	1.003						
Ποικιλία									
	Συνολικές Εκπομπές (g CO ₂ /στρ)								
Urja	213421.06								
Sugar Graze	215513.32								
Keller	216111.11								
MB1	216111.11								
BMR 333	216111.11								
6011	218502.26								
Nicole	217605.58								
23000	217904.47								
6012	218801.15								
6010	219697.84								
Honey Graze	220594.52								
7013	220594.52								
Τυπικές Εκπομπές κατά την καλλιεργητική φάση (g CO ₂ e/MJ)									
Ποικιλία	Απόδοση σε Βιοαιθανόλη (kg/στρ)	Ενέργεια Βιοαιθανόλης (MJ/στρ)	Τυπικές Εκπομπές						
Urja	638.1	17228.70	12.39						
Sugar Graze	515.15	13909.05	15.49						
Keller	478.95	12931.65	16.71						
MB1	475.275	12832.43	16.84						
BMR 333	357.15	9643.05	22.41						
6011	328.375	8866.13	24.64						
Nicole	285.6	7711.20	28.22						
23000	273.425	7382.48	29.52						
6012	258.5	6979.50	31.35						
6010	212.35	5733.45	38.32						
Honey Graze	142.05	3835.35	57.52						
7013	142.05	3835.35	57.52						
Τυπικές Εκπομπές μετά τη φάση της καλλιέργειας (g CO ₂ e/MJ)									
Μεταφορά πρώτης ύλης (50 km)		0.51							
Παραγωγή βιοαιθανόλης		39.51							
Μεταφορά βιοαιθανόλης (300 km)		1.1							
Ανεφοδιασμός		0.44							
Σύνολο		41.56							
Συνολικές Τυπικές Εκπομπές (g CO ₂ e/MJ)									
Ποικιλία									
Urja	53.95								
Sugar Graze	57.05								
Keller	58.27								
MB1	58.40								
BMR 333	63.97								
6011	66.20								
Nicole	69.78								
23000	71.08								
6012	72.91								
6010	79.88								
Honey Graze	99.08								
7013	99.08								

Εικόνα 4. Υπολογισμός τυπικών εκπομπών στον πειραματικό αγρό της Κωπαΐδας το 2010

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΚΠΟΜΠΩΝ ΑΕΡΙΩΝ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟΥ									
Εκπομπές κατά την καλλιεργητική φάση (g CO ₂ / στρ)									
Πετρέλαιο									
Εργασία	Κατανάλωση (l/ στρ)								
Άρωση	4								
Διακοσβάρνισμα	1.5								
Καλλιεργητής	1.5								
Σπορά + Λίπανση	0.8								
Σκάσιμο	1.5								
Συγκομιδή	3								
Σύνολο (l/ στρ)	12.3	Καταναλωθείσα Ενέργεια (MJ/ στρ)			Εκπομπές				
Σύνολο (kg/στρ)	10.23	441.07			38655.21				
Άρδευση									
MJ/ KW ⁻¹ h ⁻¹	Ιπποδύναμη (KW)	Ώρες	Αρ. Άρδευσεων	Έκταση (στρ)					
3.6	44	1	3	1	Καταναλωθείσα Ενέργεια (MJ/ στρ)		475.2		
					Εκπομπές		60944.4		
Εισροές									
	Ποσότητα (kg/ στρ)	Εκπομπές							
N	9	53254.8							
P ₂ O ₅	9	9121.5							
K ₂ O	9	5212.8							
Σύνολο		67589.1							
Σπόρος σποράς									
	Σπόρος Σποράς (kg/στρ)	Απόδοση σε σπόρο (kg/στρ)	Συντελεστής Εκπομπών Σπόρου Σποράς						
Γλυκό Σόργο	0.9	300.0	1.003						
Ποικιλία									
	Συνολικές Εκπομπές (g CO ₂ /στρ)								
11001	217306.68								
11004	219100.05								
11005	217904.47								
11006	216410.00								
PR849	219398.94								
Nicole	217007.79								
Sugar Graze	215513.32								
Urja	214915.53								
Τυπικές Εκπομπές κατά την καλλιεργητική φάση (g CO ₂ e/MJ)				Τυπικές Εκπομπές μετά τη φάση της καλλιέργειας (g CO ₂ e/MJ)					
Ποικιλία	Απόδοση σε Βιοαιθανόλη (kg/στρ)	Ενέργεια Βιοαιθανόλης (MJ/ στρ)	Τυπικές Εκπομπές	Μεταφορά πρώτης ύλης (50 km)		0.51			
11001	296.1	7994.03	27.18	Παραγωγή βιοαιθανόλης		39.51			
11004	256.6	6927.53	31.63	Μεταφορά βιοαιθανόλης (300 km)		1.1			
11005	295.9	7989.30	27.27	Ανεφοδιασμός		0.44			
11006	378.2	10211.40	21.19	Σύνολο		41.56			
PR849	233.0	6291.68	34.87						
Nicole	262.3	7082.78	30.64						
Sugar Graze	536.2	14476.73	14.89						
Urja	526.3	14210.10	15.12						
Συνολικές Τυπικές Εκπομπές (g CO ₂ e/MJ)									
Ποικιλία									
11001	68.74								
11004	73.19								
11005	68.83								
11006	62.75								
PR849	76.43								
Nicole	72.20								
Sugar Graze	56.45								
Urja	56.68								

Ποικιλία	Συντελεστής μετατροπής σε g CO ₂ e	N ₂ O εκπομπές (kg/ στρ)	N ₂ O εκπομπές (g CO ₂ e/ στρ)
11001	29800	1.66	49468
11004	29800	1.72	51256
11005	29800	1.68	50064
11006	29800	1.63	48574
PR849	29800	1.73	51554
Nicole	29800	1.65	49170
Sugar Graze	29800	1.6	47680
Urja	29800	1.58	47084

Εικόνα 5. Υπολογισμός τυπικών εκπομπών στον πειραματικό αγρό της Κωπαΐδας το 2012

Μείωση Εκπομπών (%)					
	Καύσιμο	MJ/l	Εκπομπές (g CO ₂ e/MJ)	Εκπομπές (g CO ₂ e)	Μείωση Εκπομπών
	Βενζίνη	32	83.8	2681.6	
Ποικιλία					
Urja	Βιοαιθανόλη	21	54.09	1135.85	57.64
Sugar Graze	Βιοαιθανόλη	21	54.20	1138.13	57.56
6011	Βιοαιθανόλη	21	63.63	1336.33	50.17
6012	Βιοαιθανόλη	21	64.18	1347.76	49.74
BMR 333	Βιοαιθανόλη	21	64.60	1356.54	49.41
23000	Βιοαιθανόλη	21	66.42	1394.79	47.99
7013	Βιοαιθανόλη	21	76.46	1605.65	40.12
6010	Βιοαιθανόλη	21	80.12	1682.50	37.26
Honey Graze	Βιοαιθανόλη	21	87.96	1847.26	31.11

Εικόνα 6. Υπολογισμός μείωσης εκπομπών στον πειραματικό αγρό της Οινόης το 2008

Μείωση Εκπομπών (%)					
	Καύσιμο	MJ/l	Εκπομπές (g CO ₂ e/MJ)	Εκπομπές (g CO ₂ e)	Μείωση Εκπομπών
	Βενζίνη	32	83.8	2681.6	
Ποικιλία					
Dale	Βιοαιθανόλη	21	58.73	1233.41	54.00
Urja	Βιοαιθανόλη	21	60.64	1273.41	52.51
M81	Βιοαιθανόλη	21	64.26	1349.52	49.67
Della	Βιοαιθανόλη	21	65.19	1369.03	48.95
Sugar Graze	Βιοαιθανόλη	21	65.30	1371.29	48.86
6012	Βιοαιθανόλη	21	65.44	1374.20	48.75
Topper	Βιοαιθανόλη	21	67.72	1422.03	46.97
Keller	Βιοαιθανόλη	21	68.60	1440.56	46.28
BMR 333	Βιοαιθανόλη	21	70.95	1489.90	44.44
23000	Βιοαιθανόλη	21	75.39	1583.18	40.96
6011	Βιοαιθανόλη	21	77.70	1631.70	39.15
7013	Βιοαιθανόλη	21	81.44	1710.27	36.22
Honey Graze	Βιοαιθανόλη	21	96.73	2031.26	24.25
6010	Βιοαιθανόλη	21	122.92	2581.32	3.74

Εικόνα 7. Υπολογισμός μείωσης εκπομπών στον πειραματικό αγρό της Κωπαΐδας το 2008

Μείωση Εκπομπών (%)					
	Καύσιμο	MJ/l	Εκπομπές (g CO ₂ e/MJ)	Εκπομπές (g CO ₂ e)	Μείωση Εκπομπών
	Βενζίνη	32	83.8	2681.6	
Ποικιλία					
Urja	Βιοαιθανόλη	21	58.51	1228.72	54.18
Keller	Βιοαιθανόλη	21	59.47	1248.82	53.43
Sugar Graze	Βιοαιθανόλη	21	61.14	1283.91	52.12
M81	Βιοαιθανόλη	21	64.08	1345.66	49.82
BMR 333	Βιοαιθανόλη	21	66.58	1398.08	47.86
23000	Βιοαιθανόλη	21	67.79	1423.68	46.91
6012	Βιοαιθανόλη	21	75.77	1591.10	40.67
Nicole	Βιοαιθανόλη	21	79.18	1662.73	37.99
6011	Βιοαιθανόλη	21	83.72	1758.13	34.44
7013	Βιοαιθανόλη	21	89.66	1882.85	29.79
6010	Βιοαιθανόλη	21	96.50	2026.40	24.43
Honey Graze	Βιοαιθανόλη	21	106.40	2234.36	16.68

Εικόνα 8. Υπολογισμός μείωσης εκπομπών στον πειραματικό αγρό της Κωπαΐδας το 2009

Μείωση Εκπομπών (%)					
	Καύσιμο	MJ/l	Εκπομπές (g CO ₂ e/MJ)	Εκπομπές (g CO ₂ e)	
	Βενζίνη	32	83.8	2681.6	
Ποικιλία					Μείωση Εκπομπών
Urja	Βιοαιθανόλη	21	53.95	1132.90	57.75
Sugar Graze	Βιοαιθανόλη	21	57.05	1198.14	55.32
Keller	Βιοαιθανόλη	21	58.27	1223.71	54.37
M81	Βιοαιθανόλη	21	58.40	1226.42	54.27
BMR 333	Βιοαιθανόλη	21	63.97	1343.39	49.90
6011	Βιοαιθανόλη	21	66.20	1390.30	48.15
Nicole	Βιοαιθανόλη	21	69.78	1465.37	45.35
23000	Βιοαιθανόλη	21	71.08	1492.61	44.34
6012	Βιοαιθανόλη	21	72.91	1531.09	42.90
6010	Βιοαιθανόλη	21	79.88	1677.45	37.45
Honey Graze	Βιοαιθανόλη	21	99.08	2080.60	22.41
7013	Βιοαιθανόλη	21	99.08	2080.60	22.41

Εικόνα 9. Υπολογισμός μείωσης εκπομπών στον πειραματικό αγρό της Κωπαΐδας το 2010

Μείωση Εκπομπών (%)					
	Καύσιμο	MJ/l	Εκπομπές (g CO ₂ e/MJ)	Εκπομπές (g CO ₂ e)	
	Βενζίνη	32	83.8	2681.6	
Ποικιλία					Μείωση Εκπομπών
11001	Βιοαιθανόλη	21	68.74	1443.62	46.17
11004	Βιοαιθανόλη	21	73.19	1536.94	42.69
11005	Βιοαιθανόλη	21	68.83	1445.53	46.09
11006	Βιοαιθανόλη	21	62.75	1317.81	50.86
PR849	Βιοαιθανόλη	21	76.43	1605.06	40.15
Nicole	Βιοαιθανόλη	21	72.20	1516.17	43.46
Sugar Graze	Βιοαιθανόλη	21	56.45	1185.38	55.80
Urja	Βιοαιθανόλη	21	56.68	1190.37	55.61

Εικόνα 10. Υπολογισμός μείωσης εκπομπών στον πειραματικό αγρό της Κωπαΐδας το 2012