

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



Πτυχιακή εργασία

**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΩΝ (C-VALUES)
ΣΕ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Vitis vinifera* L.**

Αναστασία Μάρκου

Λεμεσός, 2023

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Πτυχιακή εργασία

**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΩΝ (C-VALUES) ΣΕ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΤΟΥ
ΕΙΔΟΥΣ *Vitis vinifera* L.**

της

Αναστασία Μάρκου

Επιβλέπων Καθηγητής

Δρ. Νικόλαος Νικολουδάκης

Λεμεσός, 2023

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright © Αναστασία Μάρκου, 2023

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της πτυχιακής εργασίας από το Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών,
Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου
δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του
Τμήματος.

Θα ήθελα αρχικά να εκφράσω τις ιδιαίτερες μου ευχαριστίες προς τον Δρ. Νικόλαο Νικολουδάκη ως επιβλέποντα της παρούσας πτυχιακής μου μελέτης. Τον ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αλλά και για όλες τις χρήσιμες συμβουλές που μου παρείχε, την καθοδήγηση, και που ήταν εξ αρχής δίπλα μου για την επίτευξη και υλοποίηση της πτυχιακής εργασίας. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους/συμφοιτητές μου οι οποίοι με στήριξαν με κάθε τρόπο σε όλη την διάρκεια των σπουδών μου δίνοντας μου δύναμη να συνεχίσω τους στόχους μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το γένος *Vitis* ανήκει στη οικογένεια των Αμπελιδών (*Vitaceae* ή *Ampelidaceae*). Συγκεκριμένα, περιλαμβάνει δύο υπο-γένη, το υπο-γένος *Euvitis* και το υπο-γένος *Muscadinia*. Επίσης σε ολόκληρο τον κόσμο καλλιεργούνται περισσότερες από 9000 ποικιλίες. Στην παρούσα πτυχιακή χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της κυτταρομετρίας ροής (FCM) όπου είναι μία τεχνική η οποία χρησιμοποιείται για τη μελέτη εκατοντάδων-χιλιάδων κυτταρικών χαρακτηριστικών ανά δευτερόλεπτο και είναι η τεχνική που επιλέγεται για αναλύσεις υψηλής απόδοσης λόγω ακρίβειας μετρήσεων και ταχύτητας. Ο στόχος διεξαγωγής της έρευνας αυτής ήταν η ανάλυση του γονιδιώματος και της πολυπλοειδίας των κυττάρων αμπελιού και πως επηρεάζουν σε αυτό οι παρεμποδιστικοί παράγοντες (μεταβολίτες, τανικό οξύ).

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν φύλλα (ώριμα και νεαρά) από 12 ποικιλίες αμπελιού και από φυτό ντομάτας που ήταν ο μάρτυρας για την παρούσα μελέτη, γιατί το πυρηνικό της περιεχόμενο είναι γνωστό και δεν περιέχει μεταβολίτες που παρεμβαίνουν στην ποιότητα των μετρήσεων. Προσδιορίστηκε ότι το μέσο γονιδιωματικό μέγεθος 1C για τους διαφορετικούς γονοτύπους ποικίλλει σημαντικά, κυμαινόμενο από 0.578 pg για την ποικιλία Ασύρτικο έως 0.594 pg για την ποικιλία Λευκάδα. Ακόμη ο χαμηλότερος συντελεστής παραλλακτικότητας (CV) σε όλες τις καταχωρήσεις ανιχνεύθηκε στην την ποικιλία *Othlamo* (2.293) και ο υψηλότερος στην ποικιλία *Pinot Noir* (3.44).

Λέξεις κλειδιά: κυτταρομετρία ροής , μεταβολίτες , τανικό οξύ , γονιδιωματικό μέγεθος , συντελεστής παραλλακτικότητας

ABSTRACT

The genus *Vitis* belongs to the Ampelid family (Vitaceae or Ampelidaceae). Specifically, it includes two sub-genera, the sub-genus *Euvitis* and the sub-genus *Muscadinia*. Also, more than 9000 varieties are cultivated throughout the world. In this thesis, the flow cytometry (FCM) method was used, since it is a technique that is used to study hundreds-thousands of cell characteristics per second, and is the technique chosen for high-throughput analyzes due to the accuracy of measurements and speed. The aim of conducting this research was to analyze the genome and polyploidy of grapevine cells and how the inhibitory factors (metabolites, tannic acid) affect it.

The plant material used were leaves (ripe and young) from 12 vine varieties and from a tomato plant that was the control for the present study because its nuclear content is known and does not contain interfering metabolites. It was determined that the average 1C genomic size for the different genotypes varies significantly, ranging from 0.578 pg for the variety Assyrtiko to 0.594 pg for the variety Lefkada. Additionally, the lowest coefficient of variation (CV) in all entries was detected in the variety Othello (2.293) and the highest in the variety Pinot Noir (3.44).

Keywords: flow cytometry (FCM), metabolites, tannic acid (TA), genomic size, coefficient of variation (CV)

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Contents

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	iv
ABSTRACT.....	vi
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ.....	viii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	ix
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	x
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	xii
ΑΠΟΔΟΣΗ ΟΡΩΝ	xiii
1 Εισαγωγή	1
1.1 Φυτικό υλικό	1
1.1.1 Το γένος <i>Vitis</i>	1
1.1.2 Το είδος <i>Vitis vinifera</i> L.	2
1.1.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά.....	2
1.1.4 Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις.....	4
1.1.5 Ποικιλίες <i>Vitis Vinifera</i>	5
1.2 Βιολογία κυττάρου/Κυτταρομετρία ροής	14
1.2.1 Κυτταρικός κύκλος.....	14
1.2.2 Αρχή λειτουργίας κυτταρομετρίας ροής (Flow Cytometry)	16
1.2.3 Χρήσεις της κυτταρομετρίας ροής	20
1.3 Σκοπός του πειράματος.....	20
2 Μεθοδολογία Έρευνας.....	21
2.1 Φυτικό Υλικό	21
2.1.1 Συλλογή Δειγμάτων.....	21
2.1.2 Μάρτυρας που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα	21
2.2 Διαλύματα	22
2.3 Πειραματική Διαδικασία.....	22
2.3.1 Ρυθμίσεις Flow Cytometer	23
3 Αποτελέσματα.....	25
4 Συζήτηση	30
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	32

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Πίνακας 1: Sorbitol Buffer (pH8.0)	22
Πίνακας 2: Αποτελέσματα μετρήσεων της πρώτης μέρας.....	27
Πίνακας 3:Αποτελέσματα μετρήσεων της δεύτερης μέρας.....	27
Πίνακας 4: Αποτελέσματα μετρήσεων της τρίτης μέρας.....	28
Πίνακας 5: Αποτελέσματα μέσω μετρήσεων.....	28

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Εικόνα 1: Shiraz.....	5
Εικόνα 2: Shiraz.....	5
Εικόνα 3: Ασύρτικο.....	6
Εικόνα 4: Ασύρτικο.....	6
Εικόνα 5: Sauvignon Blanc.....	7
Εικόνα 6: Sauvignon Blanc.....	7
Εικόνα 7: Chardonnay.....	8
Εικόνα 8: Chardonnay.....	8
Εικόνα 9: Riesling.....	9
Εικόνα 10 : Riesling.....	9
Εικόνα 11: Pinot Noir.....	9
Εικόνα 12: Pinot Noir.....	9
Εικόνα 13: Grenache.....	10
Εικόνα 14: Cabernet Sauvignon.....	11
Εικόνα 15: Cabernet Sauvignon.....	11
Εικόνα 16: Αγιωργίτικο.....	12
Εικόνα 17: Αγιωργίτικο.....	12
Εικόνα 18: Λευκάδα.....	12
Εικόνα 19: Όφθαλμο.....	13
Εικόνα 20: Μωροκανέλλα.....	14
Εικόνα 21: Φάσεις του κυτταρικού κύκλου και απεικόνιση του ποσοστού τους σε σωματικά κύτταρα.....	15
Εικόνα 22: Αρχή λειτουργίας και οπτικά μέρη του κυτταρομετρητή ροής.....	17
Εικόνα 23: Διαδικασία ανάλυσης πυρηνικού περιεχομένου.....	23
Εικόνα 24: Ο κυτταρομετρητής ροής BD Accuri C6 που χρησιμοποιήθηκε.....	24
Εικόνα 25: Ρυθμίσεις του κυτταρομετρητή ροής.....	24

Εικόνα 26: Ανάλυση πυρήνων με τη μέθοδο κυτταρομετρίας ροής και χρώσης με PI.....	26
Εικόνα 27: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις για τις τιμές C στη συλλογή αμπέλου που εξετάστηκε.....	29
Εικόνα 28: Boxplot και τιμές 1C values που ακολουθούν κανονική κατανομή.....	30

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

CV: Coefficient of Variation/ Συντελεστής παραλλακτικότητας

FSC: Σήματα πρόσθιας σκέδασης

PI: Propidium iodine

SSC: Σήματα πλάγιας σκέδασης

εικ: Εικόνα

Κλπ: Και τα λοιπά

π.χ.: Για παράδειγμα

ΑΠΟΔΟΣΗ ΟΡΩΝ

Coefficient of Variation – CV	Συντελεστής παραλλακτικότητας
C-Value	Γονιδίωμα
C-Values	Τιμές πυρηνικού περιεχομένου
Debris	Κυτταρικά υπολείμματα
Eppendorf Tubes®	Σωληνάρια
Events	Γεγονότα
Flow chamber	Θάλαμος Ροής
Flow Cytometry	Κυτταρομετρία ροής
Fluidics	Σύστημα ρευστών
Gate	Όριο
Gating	Οριοθέτηση
Growth room	Θάλαμος ανάπτυξης
Interrogation Point	Περιοχή ανάκρισης
Landraces	Τοπικοί πληθυσμοί
Linear	Γραμμική κλίμακα
List mode	Αρχείο
Sample	Δείγμα
Sheath fluid	Υγρό περιβλήματος
Sheath tank	Δοχείο
Slow	Μικρή
Hydrodynamic focusing	Υδροδυναμική εστίαση

