

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΕΞΟΔΟ
ΑΠΟ ΤΟΝ ΕΝΔΟΛΗΘΑΡΓΟ ΟΦΘΑΛΜΩΝ ΦΙΣΤΙΚΙΑΣ»**



Διπλωματική του μεταπτυχιακού φοιτητή

Στέφανου Ματάκια

Αθήνα 2015

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ

**«Μελέτη της επίδρασης διαφόρων παραγόντων στην έξοδο από τον
ενδολήθαργο οφθαλμών φιστικιάς»**

Διπλωματική του μεταπτυχιακού φοιτητή:

Στέφανον Ματάκια

Εξεταστική επιτροπή:

- **Ρούσσος Πέτρος, Επίκουρος Καθηγητή Γ.Π.Α**
- **Τσαντίλη Ελένη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γ.Π.Α**
- **Μπινιάρη Αικατερίνη, Επίκουρη Καθηγήτρια Γ.Π.Α**

Αθήνα 2015

Ευχαριστίες

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που με βοήθησαν να φέρω εις πέρας την διπλωματική μου εργασία:

- Τον επιβλέποντα καθηγητή μου, τον κύριο Πέτρο Ρούσσο, που μου εμπιστεύτηκε το θέμα και ήταν δίπλα μου όποτε είχα ανάγκη
- Τον διδακτορικό φοιτητή Θανάση Τσαφούρο, για τον χρόνο που αφιέρωσε στο να με βοηθήσει να φέρω εις πέρας τις οδηγίες του πρωτοκόλλου
- Τον προπτυχιακό φοιτητή Μιχάλη Στεφανάκη, για την βοήθεια που πρόσφερε υλοποιώντας τις δειγματοληψίες
- Τον προπτυχιακό φοιτητή Στάθη Ντάνο για την βοήθεια που πρόσφερε στην υλοποίηση των στατιστικών αναλύσεων

Πίνακας Περιεχομένων

Περίληψη	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1°: Εισαγωγή	8
1.1)Η φιστικιά.....	8
1.1.1)Καταγωγή και εξάπλωση της φιστικιάς	8
1.1.2)Σημασία της φιστικιάς για την Ελλάδα	9
1.1.3)Βοτανικά χαρακτηριστικά της φιστικιάς.....	9
1.1.4) Οι καρποί	11
1.1.5) Ποικιλίες	11
Α) Ελληνικές θηλυκές ποικιλίες	11
Αιγήνης.....	11
Νυχάτη.....	11
Φουντουκάτη	11
Ποντίκης.....	12
Β) Εξεικές θηλυκές ποικιλίες.....	12
Kerman.....	12
Bronte-Red Aleppo-Trabonella.	12
Sfax.	12
Joley.....	12
1.1.6) Οικολογικές απαιτήσεις της φιστικιάς.....	13
1.1.6.1) Κλίμα	13
1.1.6.2) Τεδαφος	13
1.2) Λήθαργος	14
1.2.1) Στάδια του λήθαργου οφθαλμών	14
1.2.2) Παράγοντες που άμεσα ή έμμεσα εμπλέκονται με το λήθαργο οφθαλμών	16

1.2.3) Ο ρόλος των ορμονών.....	17
1.2.4) Οι πολυαμίνες	19
1.2.4.1) Σύνθεση κυριότερων πολυαμινών	20
Πουτρεσκίνη	20
Καταβερίνη	20
Σπερμιδίνη	20
Σπερμίνη.....	21
1.2.4.2) Ο ρόλος των πολυαμινών στον λήθαργο.....	21
1.2.5) Οι φαινολικές ενώσεις.....	23
1.2.5.1) Η βιοσύνθεση των φαινολικών ενώσεων	24
1.2.5.2) Η δομή των φαινολικών ενώσεων	25
1.2.5.3) Κατάταξη φαινολικών ενώσεων.....	26
Φλαβονοειδή	26
Μη φλαβονοειδή	28
1.2.5.4) Ο ρόλος των φαινολικών ενώσεων στο λήθαργο	31
1.2.6) Η επίδραση των εξωτερικών παραγόντων στο λήθαργο οφθαλμών ...	32
1.2.7) Οι φυσιολογικές ανάγκες που εξυπηρετεί ο λήθαργος οφθαλμών και τα οφέλη που προσφέρει.....	35
1.2.8) Τρόποι διακοπής του ληθάργου των οφθαλμών.....	36
1.3) Ανασκόπηση βιβλιογραφίας.....	37
1.3.1) Ουσίες που προωθούν την διακοπή του ληθάργου.....	37
1.3.1.1) Dormex (Υδρογονούχος κυαναμίδη)	37
1.3.1.2) Erger	39
1.4) Σκοπός του πειράματος	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	42
2.1) Τόπος διεξαγωγής του πειράματος.....	42

2.2) Φυτικό υλικό	43
2.3) Χρόνος περάτωσης του πειράματος	43
2.4) Πείραμα.....	43
2.5) Επεμβάσεις.....	44
2.6) Δειγματοληψία	44
2.7) Αναλύσεις φαινολικών, αντιοξειδωτικής ικανότητας και πολυαμυνών	45
Φαινολικά	45
Αντιοξειδωτική ικανότητα.....	46
Πολυαμίνες.....	46
2.8) Στατιστική επεξεργασία.....	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3º:ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	48
3.1) Ολικά φαινολικά	50
3.2) Φλαβονοειδή.....	51
3.3) Φλαβανολες.....	52
3.4) Ορθοδιφαινολες.....	53
3.5) DPPH.....	54
3.6) FRAP.....	55
3.7) Ελεύθερες και διαλυτές δεσμευμένες πολυαμίνες (ΕΔΔ).....	57
3.8) Αδιάλυτες δεσμευμένες πολυαμίνες (ΑΔ)	62
3.9) Ολικές πολυαμίνες	67
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4) Συζήτηση.....	73
4.1) Φαινολικές ενώσεις.....	74
4.2) Αντιοξειδωτική ικανότητα.....	76
4.3) Πολυαμίνες	77
Βιβλιογραφία	81
Ηλεκτρονική βιβλιογραφία	81
Έντυπα.....	81

Περίληψη

Η φιστικιά ανήκει στην οικογένεια των Anacardiaceae, στο γένος *Pistacia* και το είδος *vera* (*Pistacia vera*). Η καλλιέργεια της φιστικιάς θεωρείται από τις σημαντικότερες στην Ελλάδα. Η φιστικιά ευδοκιμεί σε περιοχές με μακρό, θερμό και ξηρό θέρος και ήπιους χειμώνες καθώς οι απαιτήσεις της σε μονάδες ψύχους είναι περίπου 1000 ώρες σε θερμοκρασία μικρότερη από τους 7° C.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας ήταν η μελέτη των βιοχημικών αλλαγών που συμβαίνουν κατά την διακοπή του ληθάργου εντός των οφθαλμών, με ή χωρίς την εφαρμογή ουσιών που προωθούν την διακοπή του ληθάργου. Χρησιμοποιήθηκαν ενήλικα δέντρα φιστικιάς, της ποικιλίας «Ποντίκης». Στα δέντρα αυτά, πραγματοποιήθηκε εξωγενής εφαρμογή με ψεκασμό χημικών σκευασμάτων. Τα χημικά σκευασμάτα αυτά ήταν το «Dormex» (υδρογονούχος κυαναμίδη) που δρα, κυρίως με σκοπό την διακοπή της περιόδου ανάπαυσης το χειμώνα (λήθαργο οφθαλμών) και το μίγμα από τα σκευασμάτα «Erger» (6 l/hl) και «Activ Erger» (8 l/hl) που προωθούν την διακοπή του ληθάργου οφθαλμών. Το Dormex προκάλεσε διακοπή του ληθάργου 20 μέρες μετά τον ψεκασμό ενώ το Erger προκάλεσε διακοπή του ληθάργου 40 μέρες μετά τον ψεκασμό, ενώ οι οφθαλμοί του αψέκαστου μάρτυρα εμφάνισαν σημάδια διακοπής ληθάργου σε 52 ημέρες μετά τον ψεκασμό.

Από τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας φαίνεται ότι, η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών, φλαβονοειδών, φλαβανολών αυξομειώνεται κατά την διάρκεια του ληθάργου ενώ μετά την διακοπή του ληθάργου η συγκέντρωση τους μειώνεται. Από την άλλη μεριά, η συγκέντρωση των ορθοδιφαινολών, και η αντιοξειδωτική ικανότητα αυξομειώνονται κατά την διάρκεια του ληθάργου ενώ μετά την διακοπή του ληθάργου η συγκέντρωση τους αυξάνεται. Όσο αφορά τις πολυαμίνες, οι ελεύθερες συν τις διαλυτές δεσμευμένες, οι αδιάλυτες δεσμευμένες και οι ολικές αυξομειώνονται κατά την διάρκεια του ληθάργου ενώ μετά την διακοπή του ληθάργου η συγκέντρωση τους μειώνεται.

Εισαγωγή

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1°: Εισαγωγή

1)Η φιστικιά

1.1.1)Καταγωγή και εξάπλωση της φιστικιάς

Η φιστικιά (*Pistacia vera L.*) ανήκει στην οικογένεια Anacardiaceae και είναι ένα από τα αρχαιότερα καλλιεργούμενα καρποφόρα δέντρα (περίπου το 1700 π.Χ.). Σχετικά με την καταγωγή της και την προέλευση της έχουν διατυπωθεί πολλές θεωρίες και διάφορες απόψεις. Πολλοί ιστορικοί συγγραφείς πιστεύουν ότι η φιστικιά κατάγεται από την κεντρική Ασία, όπου βρέθηκαν μεγάλες εκτάσεις με αυτοφυή δέντρα σε περιοχές γνωστές σήμερα ως Ιράν, Τουρκμενιστάν και Αφγανιστάν ενώ άλλοι Ευρωπαίοι εξερευνητές πίστευαν ότι η πατρίδα της φιστικιάς ήταν η Συρία. Στην αρχαία Ελλάδα, υπάρχουν αναφορές από τον Θεόφραστο (300 π.Χ.) στο έργο του «Περί φυτών ιστορία» περιγράφει το φιστίκι ως ένα καρπό που θυμίζει το αμύγδαλο, αλλά με πιο νόστιμη γεύση. Ο Διοσκουρίδης τον 1ο αιώνα μΧ αναφέρει ότι τα φιστίκια από τη Συρία έχουν και φαρμακευτικές ιδιότητες, ενώ ο ποιητής Νίκανδρος είναι ο πρώτος που θα “βαφτίσει” το δέντρο της φιστικιάς «πιστακιά», από την περσική λέξη «πίστα» που σημαίνει φιστίκι ή φιστικιά (εξού και το σημερινό pistachio της Αγγλικής, pistache της Γαλλικής κοκ). Στην λεκάνη της Μεσογείου η καλλιέργεια της φιστικιάς εισήχθη κατά προσέγγιση στις αρχές τις προχριστιανικής περιόδου (από τον Πλίνιο μαθαίνουμε ότι, κατά το τέλος της βασιλείας του αυτοκράτορα Τιβέριου, περί το 30 μ.Χ., το φιστίκι εισήχθη από τη Συρία στην Ιταλία, τη Γαλλία και την Ισπανία και από εκεί στη Σικελία, το Αλγέρι και την Τύνιδα). Σήμερα η φιστικιά καλλιεργείται σε περιοχές της Ασίας (Λίβανο, Παλαιστίνη, Συρία, Ιράν, Ινδία, Τουρκία), στην νότιο Ευρώπη (Ελλάδα, Ιταλία, Κύπρος), στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (Καλιφόρνια), Αφρική σε περιοχές δηλαδή όπου το κλίμα είναι ζεστό και ξηρό (Χητζανίδου et al., 2007).

Στην σύγχρονη Ελλάδα, ήδη από το 1856 φυτεύονται ορισμένες φιστικιές στη Ζάκυνθο και στον Πύργο Ηλείας. Η συστηματική καλλιέργεια της φιστικιάς ξεκίνησε

γύρω στο 1860 στην Αττική (Δημόσιο δενδροκομείο 1869). Αρχικά η καλλιέργεια της φιστικιάς περιορίστηκε στην Αττική, και στην νήσο Αίγινα. Αργότερα (1950) η καλλιέργεια της φιστικιάς επεκτείνεται στην Βοιωτία, Κορινθία, Εύβοια και Φθιώτιδα, ενώ στην συνέχεια (1968) επεκτείνεται στην κεντρική και βόρεια Ελλάδα (Θεσσαλία, Χαλκιδική, Ροδόπη) στην Κρήτη και στις Κυκλαδες.

1.1.2)Σημασία της φιστικιάς για την Ελλάδα

Στην Ελλάδα, οι συστηματικοί φιστικεώνες καταλαμβάνουν μια έκταση 39.669 στρεμμάτων. Καλλιεργείται σε αρκετούς νομούς της χώρας μας, μεταξύ των οποίων στην Βοιωτία, Κορινθία, Εύβοια αλλά και στην κεντρική και βόρεια Ελλάδα και στα νησιά (Στατιστική Επετηρίδα Ελλάδος, 2011).

Η Ελλάδα είναι η πρώτη χώρα στην Ευρώπη στην παραγωγή φιστικιών και έκτη στον κόσμο. Η παγκόσμια παραγωγή ανέρχεται σε 120.000 τόνους με το Ιράν να έχει τη μεγαλύτερη παραγωγή στον κόσμο και να ακολουθούν οι Η.Π.Α., η Τουρκία και η Συρία (Production of Yearbook, FAO., 2011). Στην Ελλάδα υπολογίζεται ότι παράγεται ετησίως το 15% της συνολικής παραγωγής (12.500 τόνους ετησίως.) (Στατιστική Επετηρίδα Ελλάδος, 2010).

Στην Ελλάδα καλλιεργείται μία από τις καλύτερες ποικιλίες στον κόσμο, η Αιγινίτικη με τα περίφημα φιστίκια Αιγίνης. Σε μικρότερο βαθμό καλλιεργείται η ποικιλία Νυχάτη ενώ σποραδικά απαντάει η ποικιλία Φουντουκάτη.

1.1.3)Βοτανικά χαρακτηριστικά της φιστικιάς

Η φιστικιά (επιστ. Πιστακία η γνησία, *Pistacia vera* L.) είναι δικοτυλήδονο, δίοικο φυλλοβόλο δέντρο και βραδείας ανάπτυξης. Ανήκει στην τάξη των Σαπινδωδών, της οικογένειας των Ανακαρδιοειδών και του γένους Πιστακία (Σύστημα κατά Cronquist, 1981). Καλλιεργείται για τους καρπούς της, τα φιστίκια που θεωρείται ως το πιο εύγευστο ακρόδρυο. Το ύψος του δέντρου φτάνει τα 10 μέτρα (συνήθως 6-9 μέτρα) με πλούσια διακλάδωση. Η βλάστηση αρχίζει να εκπτύσσεται από τα τέλη Μάρτη και η ανάπτυξη της ολοκληρώνεται στα τέλη του Απρίλη με τα μέσα Μάη (Ποντίκης, Ειδική δενδροκομία, 1987).

Ο κορμός και τα κλαδιά του έχουν σταχτί χρώμα που με την πάροδο του χρόνου γίνεται σκοτεινότερο.

Το ριζικό σύστημα είναι ισχυρό και μπορεί να φτάσει σε βάθος τα 3 μέτρα και πλάτος μέχρι 6-8 μέτρα.

Τα φύλλα του είναι δερματώδη και σύνθετα με περιττό αριθμό φυλλαρίων που φέρονται κατ' εναλλαγή.

Οι οφθαλμοί διακρίνονται σε ξυλοφόρους και απλούς ανθοφόρους. Οι ξυλοφόροι οφθαλμοί βρίσκονται πλάγια ή επάκρια των βλαστών και οι απλοί ανθοφόροι πάντοτε πλάγια.

Οι ταξιανθίες της φιστικιάς σχηματίζουν τσαμπιά από μικρά άνθη. Οι φιστικιές είναι αρσενικά και θηλυκά δέντρα, με τα αρσενικά να ανθίζουν νωρίτερα. Συγκεκριμένα τα αρσενικά δέντρα της φιστικιάς κατατάσσονται σε τρεις τύπους (Α,Β,Γ). Τα αρσενικά δέντρα τύπου Α, ένα μεγάλο ποσοστό των ανθέων τους ανθίζουν πολύ νωρίτερα από τα άνθη των θηλυκών δέντρων (το τελευταίο πενθήμερο Μαρτίου), με επακόλουθο να χάνεται μεγάλη ποσότητα γύρης. Στα αρσενικά δέντρα τύπου Β, μέρος των ανθέων τους πρωϊμότερα, μέρος δε αυτών ανθίζουν μαζί με τα άνθη των θηλυκών δέντρων (τέλη Μαρτίου-αρχές Απριλίου), ενώ στα αρσενικά δέντρα τύπου Γ (το πρώτο δεκαήμερο του Απριλίου) μέρος των ανθέων ανθίζουν μαζί με τα άνθη των θηλυκών δέντρων, ενώ τα υπόλοιπα άνθη ανθίζουν μετά την άνθηση των θηλυκών δέντρων. Σε περιοχές όπου η άνθηση των θηλυκών δέντρων δεν καλύπτεται από εκείνη του τύπου Γ, ενδείκνυται η χρήση ενός άλλου τύπου αρσενικού δέντρου (τύπος Δ), που ανθίζει οψιμότερα του τύπου Γ (Ποντίκης, Ειδική δενδροκομία, 1987). Ο καρπός του δέντρου έχει μήκος 1-2 εκατοστά και το περικάρπιο είναι δερματώδες και έχει πράσινο χρώμα, ενώ το εσωτερικό (ενδοκάρπιο) είναι ξυλώδες και σκληρό. Όταν ωριμάσει το περικάρπιο τότε γίνεται ωχρό, σχίζεται και πέφτει αφήνοντας το ενδοκάρπιο που με τη σειρά του ανοίγει αφήνοντας να φανεί η εσωτερική ψίχα. Αυτή έχει χρώμα πράσινο και περιβάλλεται από λεπτό φλοιό ρόδινου χρώματος (περισπέρμιο). Οι καρποί της φιστικιάς σχηματίζουν ολόκληρα τσαμπιά. Οι καρποί, συνήθως, δεν ωριμάζουν όλοι μαζί. Τα κριτήρια ωριμότητας των καρπών είναι:

- Η εύκολη αποκόλληση του περικαρπίου τους από το ξυλοποιημένο ενδοκάρπιο
- Η εύκολη απόσπαση των καρπών με ελαφρύ τίναγμα.

1.1.4) Οι καρποί

Τα φιστίκια είναι από τους καλύτερους ποιοτικά και πιο νόστιμους ξηρούς καρπούς. Είναι μεγάλης θρεπτικής αξίας, πλούσια σε βιοτίνη, πρωτεΐνες και ανόργανα άλατα. Καταναλώνονται ψημένα με αλάτι, είτε νωπά ανάλατα. Χρησιμοποιούνται και στη ζαχαροπλαστική (παγωτά, πάστες, μαντολάτα κλπ..) και στην αλλαντοποιία (μορταδέλες, πηχτές).

1.1.5) Ποικιλίες

Ποικιλίες θηλυκές

A) Ελληνικές θηλυκές ποικιλίες

Αιγάνης.

Είναι αρκετά παραγωγική ποικιλία, με πολύ καλής ποιότητας καρπούς των οποίων το άνοιγμα των καρπών φθάνει μέχρι το 95%. Ο φλοιός έχει κιτρινοπράσινο χρώμα με έντονη κόκκινη απόχρωση κατά τα 2/3 της επιφάνειας του. Σαν δέντρο είναι μέσου έως μεγάλου μεγέθους με πλαγιόκλαδη βλάστηση και φλοιό ανοιχτού σταχτή χρώματος

Νυχάτη.

Είναι παραγωγική ποικιλία με μεγάλους καρπούς αλλά, μέτριας ποιότητας. Οι ανοικτοί καρποί είναι περίπου 50%. Ο φλοιός έχει κιτρινοπράσινο χρώμα με έντονη κόκκινη απόχρωση κατά τα 1/3 της επιφάνειας του. Σαν δέντρο είναι μέσου έως μεγάλου μεγέθους με ορθόκλαδη βλάστηση.

Φουντουκάτη.

Είναι παραγωγική ποικιλία, μέτριας ποιότητας με ανοικτούς καρπούς 40-50%. Ο φλοιός έχει κιτρινοπράσινο χρώμα, με λευκά φακίδια και με ελαφρά ροζ-κόκκινη απόχρωση. Σαν δέντρο είναι μέσου έως μεγάλου μεγέθους με πλαγιόκλαδη, μάλλον, βλάστηση και φλοιό σταχτή χρώματος.

Ποντίκης.

Είναι παραγωγική, πολύ καλής ποιότητας με ανοικτούς καρπούς 90-98%. Ο καρπός της έχει μεγάλο μέγεθος (25X16 mm) και σχήμα επιμήκες-ωοειδές με ισχυρή κύρτωσης της νωτιαίος ραφής προς το σημείο πρόσφυσης με τον ποδίσκο. Ο φλοιός έχει κιτρινοπράσινο χρώμα, με ελαφρά ροζ απόχρωση κατά τα 1/3 της επιφάνειας του, στο σημείο που το βλέπει ο ήλιος. Το σπέρμα έχει το σχήμα του καρπού, με τον φλοιό του έντονα βυσσινή κατά τα 2/3 της επιφάνειας του, είναι γευστικό, τραγανό και με έντονα πράσινες κοτυληδόνες. Το σχήσιμο του ξυλοποιημένου ενδοκαρπίου του καρπού είναι ισχυρό και σε μήκος περίπου ίσο με τα 3/4 του μήκους του. Το ποσοστό των ανοικτών καρπών κυμαίνεται από 90-98% σε συνθήκες Αττικής. Το μέσο ποσοστό των κούφιων καρπών κυμαίνεται από 5-10%. Σαν δέντρο είναι μέσου μεγέθους με ορθόκλαδη βλάστηση και φλοιό ανοιχτού σταχτή χρώματος. Η άνθιση καθώς και η ωρίμανση των καρπών είναι οψιμότερη κατά 10-15 μέρες από την ποικιλία ‘Αιγήνης’.

B) Εενικές θηλυκές ποικιλίες

Kerman.

Είναι παραγωγική ποικιλία, καλής ποιότητας με ποσοστό ανοικτών καρπών άνω του 80%. Έχει όμως την τάση να παράγει μεγάλο αριθμό κούφιων καρπών (21-24%). Σαν δέντρο είναι μέσου έως μεγάλου μεγέθους με ζωηρή, ορθόκλαδη βλάστηση.

Bronte-Red Aleppo-Trabonella.

Το μικρό μέγεθος των καρπών και η μικρή παραγωγικότητα των δέντρων είναι παράγοντες αποτρεπτικοί για την καλλιέργειά αυτής της ποικιλίας.

Sfax.

Έχει μικρούς καρπούς, αλλά έχει υψηλό ποσοστό ανοιχτών καρπών (άνω του 85%), καλής ποιότητας.

Joley.

Έχει μικρούς καρπούς, αλλά έχει υψηλό ποσοστό ανοιχτών καρπών (άνω του 88%) και μικρό ποσοστό κούφιων καρπών.

1.1.6) Οικολογικές απαιτήσεις της φιστικιάς

1.1.6.1) Κλίμα

Η φιστικιά είναι ξηροφυτικό φυτό, ικανό να αντέχει σε μεγάλη ξηρασία. Η ψηλή υγρασία επηρεάζει αρνητικά την ανάπτυξη της. Ευδοκιμεί καλύτερα σε περιοχές με ήπιους χειμώνες, αρκετά ψυχρούς για την διακοπή του ληθάργου των οφθαλμών και μακρό, θερμό ($25\text{-}37,5^{\circ}\text{C}$) και ξηρό θέρος για την ωρίμανση των καρπών της. Ευδοκιμεί άριστα σε κλίμα ζεστό και ξηρό που επηρεάζεται από τη θάλασσα. Αντέχει χαμηλές θερμοκρασίες, κατά την ληθαργική περίοδο μέχρι και -20°C (Ποντίκης, 1987). Αναπτύσσεται καλά μέχρι υψόμετρο 650 μέτρα και δεν πρέπει να φυτεύεται σε άνω των 800μ υψόμετρο, γιατί οι θερμοκρασίες κατά το θέρος δεν είναι επαρκείς για την κανονική ανάπτυξη του σπέρματος (αν και απαντάται και μέχρι και 1000 μέτρα υψόμετρο). Για την ομαλή διακοπή του ληθάργου τόσο των θηλέων όσο και των αρρένων δένδρων απαιτούνται 1000 ώρες με θερμοκρασία κάτω των 7 βαθμών. Υψηλή συσσώρευση ψύξης προκάλεσε αύξηση του ποσοστού της ανθοφορίας, ενώ ανεπαρκή συσσώρευση ψύξης αύξησε την απαίτηση θερμότητας για την διακοπή του ληθάργου (Salhi et al., 2014). Θερμοί χειμώνες επιτείνουν το φαινόμενο της πρωτανδρίας λόγω ανώμαλης διακοπής του ληθάργου. Καιρός υγρός και βροχερός την άνοιξη επηρεάζει την επικονίαση και μειώνει την καρπόδεση. Παράλληλα οι δε συχνές βροχοπτώσεις κατά το καλοκαίρι και οι υγρές συνθήκες πριν ή κατά την περίοδο της συγκομιδής ευνοούν την ανάπτυξη ασθενειών και υποβαθμίζουν την ποιότητα των καρπών. Ακόμα ο υγρός και ο ζεστός καιρός κατά τη βλαστική περίοδο των δένδρων ευνοεί την ανάπτυξη μυκητολογικών ασθενειών.

1.1.6.2) Έδαφος

Η φιστικιά προσαρμόζεται σε ποικιλία εδαφών, προτιμά τα σχετικώς βαθιά, καλά αποστραγγιζόμενα, μέσης σύστασης ξηρά ή ελαφρά και αμμοπηλώδη εδάφη, με υψηλή περιεκτικότητα σε ανθρακικό ασβέστιο. Ανέχεται όμως ελαφρώς τα όξινα, αλκαλικά ή αλατούχα εδάφη. Δεν ανέχεται τα εδάφη που δεν αποστραγγίζονται καλά. Νόστιμα φιστίκια παράγονται σε εδάφη που στραγγίζουν εύκολα, ασβεστώδη και με μέση σύσταση εδάφη.

1.2) Λήθαργος

Ο λήθαργος οφθαλμών (αγγλ. Bud dormancy) είναι το φαινόμενο κατά το οποίο παρατηρείται προσωρινή διακοπή των εμφανών διεργασιών της αύξησης ή και των μεταβολικών δραστηριοτήτων υγιών φυτικών ιστών ή οργάνων. Το φαινόμενο αυτό εμφανίζεται την περίοδο του χειμώνα (τέλη φθινοπώρου-αρχες χειμώνα). Κατά την διάρκεια της λήθαργικής περιόδου δεν αναπτύσσεται κανονική βλάστηση, ακόμη και με την επικράτηση ευνοϊκών συνθηκών για την βλάστηση.

Έχουν αναπτυχθεί πολλές θεωρίες σχετικά με τον λήθαργο. Αρχικά είχε επικρατήσει η θεωρεία ότι η είσοδος των οφθαλμών (καρποφόρων δέντρων) σε λήθαργο προκαλείται από την φωτοπερίοδο, όπως συμβαίνει σε άλλα δέντρα, αλλά σύμφωνα με επόμενες έρευνες αποδείχτηκε ότι η θεωρεία αυτή δεν ευσταθεί απόλυτα.

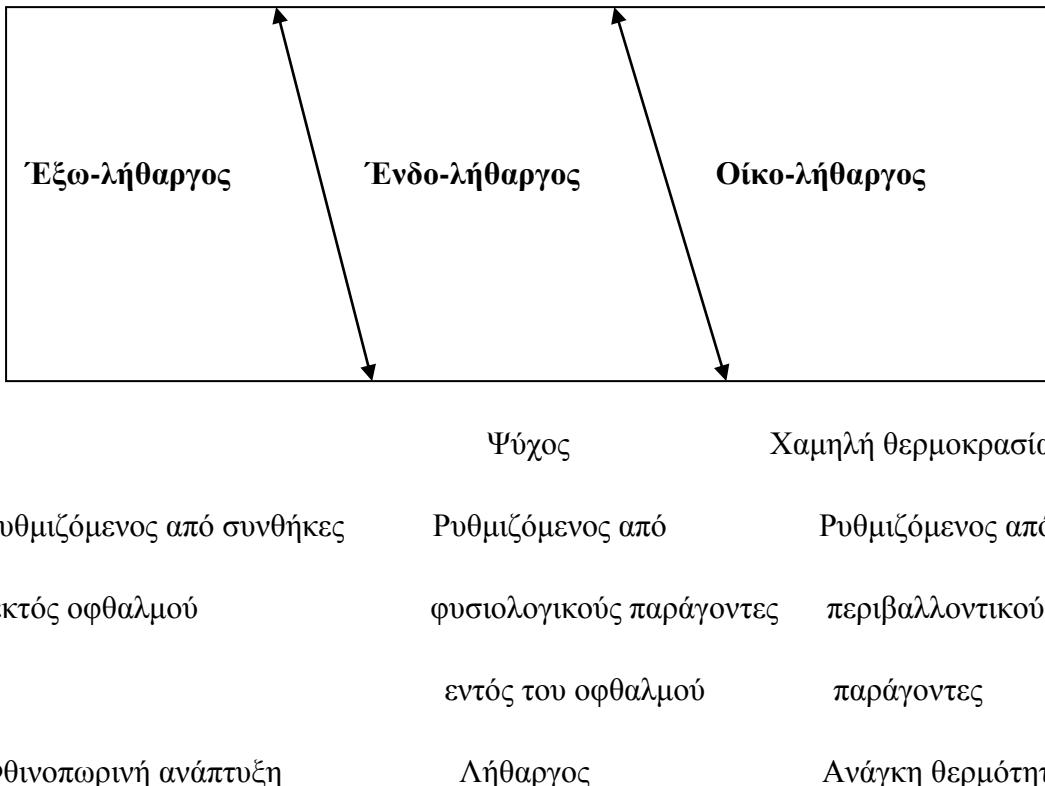
1.2.1) Στάδια του λήθαργου οφθαλμών

Οι Lang et. al. (1985) καθόρισαν τα στάδια του λήθαργου. Τα στάδια αυτά είναι:

- Έξω-λήθαργος (παραλήθαργος): Η διακοπή της βλάστησης οφείλεται σε φυσιολογικούς παράγοντες, που εμφανίζονται σε κάποιο άλλο σημείο του δέντρου (κυριαρχία κορυφής).
- Ένδο-λήθαργος: Η διακοπή της βλάστησης οφείλεται σε παράγοντες που απαντούν ενδογενώς στους οφθαλμούς των καρποφόρων δέντρων
- Οίκο-λήθαργος: Η διακοπή της βλάστησης οφείλεται σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες.

Στον παρακάτω πίνακα (1.1) παρουσιάζονται τα στάδια του ληθάργου:

Πίνακας 1.1: Τα στάδια του ληθάργου.



Τα στάδια του ληθάργου είναι δύσκολο να διακριθούν γιατί δεν υπάρχει ένα καλό φυσιολογικό στάδιο που να οριοθετεί τις διάφορες περιόδους. Για παράδειγμα οι οφθαλμοί της μηλιάς συνεχίζουν να αναπτύσσονται καθόλη την διάρκεια του χειμώνα ενώ οι οφθαλμοί της ροδακινιάς διαφοροποιούν τα ανθικά μέρη κατά την διάρκεια του ληθάργου (Ποντίκης, 1987). Η ανάπτυξη των οφθαλμών κατά την διάρκεια του χειμώνα εξαρτάται από την ποικιλία. Έρευνες αποδεικνύουν ότι μερικές ποικιλίες βερικοκιάς, κερασιάς, αχλαδιάς και ροδακινιάς δεν αναπτύσσουν ή αναπτύσσουν πολύ λίγο τους οφθαλμούς τους μετά από περίοδο ψύχους (Felker and Robitaille, 1985). Στην ροδακινιά η μείωση της γύρης χρησιμοποιείται ως δείκτης του τέλους της ληθαργικής περιόδου ενώ στην κερασιά η μείωση της γύρης δεν μπορεί να συσχετιστεί με το ψύχος (Ποντίκης, 1987).

Το αναπνευστικό δυναμικό των οφθαλμών αυξάνει καθόλη την διάρκεια του χειμώνα. Όταν η αναπνοή των οφθαλμών, που λαμβάνονται καθόλη την διάρκεια του χειμώνα από τον οπωρώνα, μετρηθεί στο εργαστήριο, ο υπολογισθείς ρυθμός της αναπνοής αντιπροσωπεύει ένα δυναμικό μόνο, γιατί οι περιβαλλοντικές συνθήκες στον οπωρώνα περιορίζουν σημαντικά την αναπνοή (Ποντίκης, 1987).

1.2.2) Παράγοντες που άμεσα ή έμμεσα εμπλέκονται με το λήθαργο οφθαλμών

Ο λήθαργος οφθαλμών είναι μια σύνθετη φυσιολογική διεργασία και υπάρχει μια ασάφεια σε ότι αφορά τον ακριβή τρόπο δράσης των εμπλεκόμενων παραγόντων. Μάλιστα τα διάφορα είδη φυτών είναι προσαρμοσμένα σε διαφορετικά περιβάλλοντα, με συνέπεια να αντιδρούν με διαφορετικό τρόπο, ή διαφορετική ένταση, στους παράγοντες του περιβάλλοντος και τις αλλαγές που γίνονται.

Σήμερα, υπάρχουν κάποιες κατευθύνσεις στην έρευνα του ληθάργου οφθαλμών που λίγο ή περισσότερο ισχύουν για τα περισσότερα φυτά ενώ παράλληλα διεξάγονται πολλά πειράματα σε παγκόσμια κλίμακα, εστιασμένα σε ένα φυτικό είδος ή οικογένεια κάθε φορά. Κάθε παράγοντας μπορεί να επηρεάζει τη μία, και τις δύο ή καμία από τις δύο διεργασίες (είσοδος στον λήθαργο, έξοδος από τον λήθαργο) ή να τις επηρεάζει σε διαφορετική κατεύθυνση.

Σε γονιδιακό επίπεδο, πρόσφατες έρευνες έδειξαν την λειτουργία γονιδίων και γονιδιακών δικτύων που ρυθμίζουν των λήθαργο των οφθαλμών. Μια ομάδα τέτοιων γονιδίων είναι οι DORMANCY-ASSOCIATED MADS-box (DAM) που ανακαλύφθηκαν σε έρευνες που πραγματοποιήθηκαν σε οφθαλμούς σε Ιαπωνικά βερίκοκα και ροδάκινα [*P. Mume* Siebold & Zucc και *P. persica* (L.) Batsch]. Πράγματι οι μελέτες έδειξαν ότι το γονιδιακό δίκτυο PmDAM6 δρα ανασχετικά προς την ανάπτυξη των φυτών. Συγκεκριμένα, είχαμε μικρή μείωση των γονιδίων, DORMANCY-ASSOCIATED MADS-box (DAM), ταυτόχρονα με την διακοπή του ληθάργου (Bai et al., 2013). Τα γονίδια αυτά εκφράζονται κατά κύριο λόγο στις άκρες βλαστών και στους οφθαλμούς σε χαμηλές θερμοκρασίες (Horvath et al., 2010). Άλλη ομάδα τέτοιων γονιδίων είναι το EARLY BUD-BREAK 1 (EBB1). Εντοπίστηκε σε βλαστούς και σε φύλλα διαφόρων δέντρων. Αποδείχτηκε, μέσω πειραμάτων, ότι το γονίδιο EBB1, κωδικοποιεί ένα γονίδιο (APETALA 2/Ethylene) που αποκρίνεται σαν παράγοντας μεταγραφής. Επίσης, αποδείχτηκε ότι αύξηση του γονιδίου EBB1 προκάλεσε νωρίτερο άνοιγμα των οφθαλμών, ενώ μείωση οδήγησε σε καθυστέρηση της διακοπής του ληθάργου. Τέλος, το γονίδιο αυτό δεν εντοπίστηκε κατά την διάρκεια του ληθάργου αλλά λίγο πριν την διακοπή του ληθάργου. Άλλα

γονίδια που ανιχνεύτηκαν κατά την διάρκεια του ληθάργου είναι τα είναι dehydrins, GAST1, LTI65, NAC, HTA8, HTA12 and RAP2.12-like proteins (Falavigna et al., 2014).

1.2.3) Ο ρόλος των ορμονών

Η επικρατέστερη αντίληψη, σχετικά με τον λήθαργο, είναι ότι τόσο η είσοδος σε αυτόν όσο και η έξοδος πρέπει να ελέγχεται μέσω ενδογενούς ή ενδογενών φυσιολογικών μηχανισμών, οι οποίοι ρυθμίζουν τον μεταβολισμό των κυττάρων των ιστών κατά την ενεργό βλάστηση και την διάρκεια του ληθάργου. Πιο συγκεκριμένα, ο μηχανισμός αυτός θεωρείται ότι βασίζεται σε μια ισορροπία μεταξύ των προωθητικών και των παρεμποδιστικών ουσιών της βλάστησης. Τα επίπεδα των οποίων επηρεάζονται από αλλαγές των παραγόντων του περιβάλλοντος αλλά και από το γενετικό υπόβαθρο του είδους και της ποικιλίας (Κουτέπας, 1983).

Από τα πρώτα χρόνια έρευνας πάνω στο λήθαργο, οι επιστήμονες άρχισαν να ψάχνουν χημικούς παράγοντες που με τον ένα ή άλλο τρόπο συνδέονταν με το φαινόμενο αυτό. Οι πρώτες έρευνες περιστράφηκαν γύρω από χημικούς αναστολείς/παρεμποδιστές και απέδειξαν ότι κατά την διάρκεια του ληθάργου παρεμποδιστές συσσωρεύονται στα λέπια των οφθαλμών και εμποδίζουν την έκπτυξη των οφθαλμών. Οι Bennet-Clark και Kefford (1953) με την χρήση χρωματογραφίας επί χάρτου, για τον διαχωρισμό ουσιών, απέδειξαν την παρουσία μιας ζώνης παρεμποδισμού με Rf μεταξύ 0,4 και 0,9 και ονόμασαν την ουσία “inhibitor β”. Ο παρεμποδισμός που προκαλείται από την ουσία αυτής της ζώνης, αποδείχτηκε ότι έχει σχέση με την έναρξη και τέλος του ληθάργου οφθαλμών. Όμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν από τον Kawase (1961) ο οποίος διαπίστωσε σχέση μεταξύ των ληθάργων των οφθαλμών νεαρών φυτών σημύδας (*Betula pubescens* Eh) και των ενδογενών παρεμποδιστικών ουσιών. Σε επόμενες έρευνες οι Okhuma et al. (1963) κατάφεραν την απομόνωση της κρυσταλλικής μορφής μιας ουσίας, από νεαρούς καρπούς βάμβακος, την οποία και ονόμασαν “abscisin II” και περιέγραψαν μερικές από τις χημικές και φυσιολογικές ιδιότητες της. Παράλληλα οι Robinson et al. (1963), μελετώντας το “inhibitor β”, απέδειξαν ότι πρόκειται για την δράση μιας απλής ουσίας και όχι συνέργια πολλών παρεμποδιστικών ουσιών, οι οποίες έχουν

όμοιες τιμές Rf. Οι ερευνητές κατέληξαν στην απομόνωση της ορμόνης “Dormin”. Οι Cornforth et al., 1965, συμπέραναν ότι οι δυο αυτές ουσίες (dormin και abscisin II) ταυτίζονταν, και στην συνέχεια μελετήθηκε η χημική σύνθεση και ο συντακτικός τύπος καθώς και η φυσιολογία της ουσίας. Σήμερα, την ουσία αυτή, την ονομάζουμε αμπισισικό οξύ (ABA). Έχει, επίσης, ονομαστεί και ορμόνη της καταπόνησης, διότι συντίθεται σε μέρη του φυτού που δέχονται υδατικές και όχι μόνο καταπονήσεις. Ο Milborrow (1967) διατύπωσε την θεωρία ότι το αμπισισικό οξύ (ABA) είναι η περισσότερο δραστική ουσία του “inhibitor β”.

Οι μελέτες κατέληξαν πως οι υψηλές συγκεντρώσεις αμπισισικού οξέος (ABA) πριν το λήθαργο προκαλούν αυτή την κατάσταση. Πιο συγκεκριμένα καθυστερεί την έκπτυξη των οφθαλμών της μηλιάς και αν εκχυθεί στους οφθαλμούς, μπορεί να εμποδίσει την έκπτυξη των οφθαλμών της κερασιάς. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση του αμπισισικού οξέος (ABA) σχετίζεται αρνητικά με την έκπτυξη των οφθαλμών στην μηλιά, βυσσινιά και ροδακινιά.

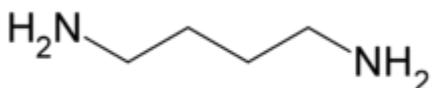
Νεότερες έρευνες όμως ανέτρεψαν αυτά τα συμπεράσματα και το αμπισισικό οξύ (ABA) μάλλον δεν έχει σχέση αιτίου-αποτελέσματος με το λήθαργο. Πιο συγκεκριμένα στην μηλιά η συγκέντρωση αμπισισικού οξέος αυξήθηκε με την έναρξης της ανοιξιάτικης βλάστησης. Έρευνες απέδειξαν ότι η σημαντικότερη δράση του αμπισισικού οξέος (ABA) είναι ο έλεγχος των στομάτων και άρα του συστήματος διαχείρισης ύδατος που κάθε φυτό ενσωματώνει (Κουτέπας, 1983).

Εκτός από το αμπισισικό οξύ (ABA), η εμπλοκή και η δράση των γιββερελλινών (GAs) στον έλεγχο του ληθάργου των φυτικών οργάνων και ιστών, είχε γίνει φανερή από πολύ παλιά από τις παρατηρήσεις του Hemberg (1949). Νεότερες έρευνες έδειξαν ότι η συγκέντρωση των ενδογενών γιββερελλίνων παρέμενε χαμηλή κατά την διάρκεια του ληθάργου των οφθαλμών κονδύλων γεώμηλων, ενώ αντίθετα η συγκέντρωση τους αυξήθηκε μέχρι και 30 φορές λίγο πριν την βλάστηση των οφθαλμών.

Οι λοιπές ομάδες φυτοορμονών δεν έχουν σημαντική επίδραση στο λήθαργο, ενώ οι περισσότερες ενισχύουν το δυναμικό για βλάστηση.

1.2.4) Οι πολυαμίνες

Οι πολυαμίνες είναι αλειφατικές οργανικές ενώσεις που περιέχουν δυο ή περισσότερες πρωτοταγείς αμινομάδες $-NH_2$. Στην ομάδα των πολυαμινών ανήκουν συνθετικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται σαν πρώτες ύλες στην χημική βιομηχανία, όπως 1,3-διαμινοπροπάνιο $[H_2N-(CH_2)_3-NH_2]$ και εξαμεθυλενοδιαμίνη $[H_2N-(CH_2)_6-NH_2]$, αλλά περιλαμβάνει επίσης πολλές ουσίες που παίζουν σημαντικό ρόλο σε ευκαρυωτικά και προκαρυωτικά κύτταρα, όπως η πουτρεσκίνη $[H_2N-(CH_2)_4-NH]$ (Εικόνα 1.1),



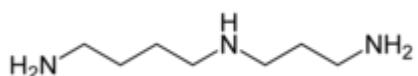
Εικόνα 1.1. Η πουτρεσκίνη.

Η καταβερίνη $[H_2N-(CH_2)_5-NH_2]$ (Εικόνα 2),



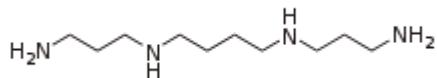
Εικόνα 1.2. Η καταβερίνη.

Η σπερμιδίνη $[H_2N-(CH_2)_4-NH(CH_2)_3-NH_2]$ (Εικόνα 3),



Εικόνα 1.3. Η σπερμιδίνη.

και η σπερμίνη $[H_2N-(CH_2)_3-NH(CH_2)_4-NH(CH_2)_3-NH_2]$ (Εικόνα 4).



Εικόνα 1.4. Η σπερμίνη.

1.2.4.1) Σύνθεση κυριότερων πολυαμινών

Πουτρεσκίνη:

Η πουτρεσίνη συντίθεται βιολογικά με δύο διαφορετικούς τρόπους (και στις δύο περιπτώσεις η σύνθεση της πουτρεσκίνης ξεκινά από την ουσία αργινίνη) (Εικόνα 5).

- Στην μια περίπτωση, η αργινίνη μετατρέπεται σε αγματίνη, με μια αντίδραση που καταλύεται από το ένζυμο αποκαρβοξυλάση αργινίνης (ADC). Στη συνέχεια η αγματίνη μετατρέπεται σε N-carbamoylputrescine από αγματίνη υδροξυλάση υμινο (AIH). Τέλος, η N-carbamoylputrescine μετατρέπεται σε πουτρεσκίνη.
- Στη δεύτερη περίπτωση, η αργινίνη μετατρέπεται σε ορνιθίνη και στη συνέχεια η ορνιθίνη μετατρέπεται σε πουτρεσκίνη από την αποκαρβοξυλάση ορνιθίνης (ODC).

Καταβερίνη:

Η καταβερίνη συντίθεται από την λυσίνη σε μια αντίδραση (ενός σταδίου) με τη δράση της λυσίνης δεκαρβοξυλάσης (LDC) (Εικόνα 1.6).



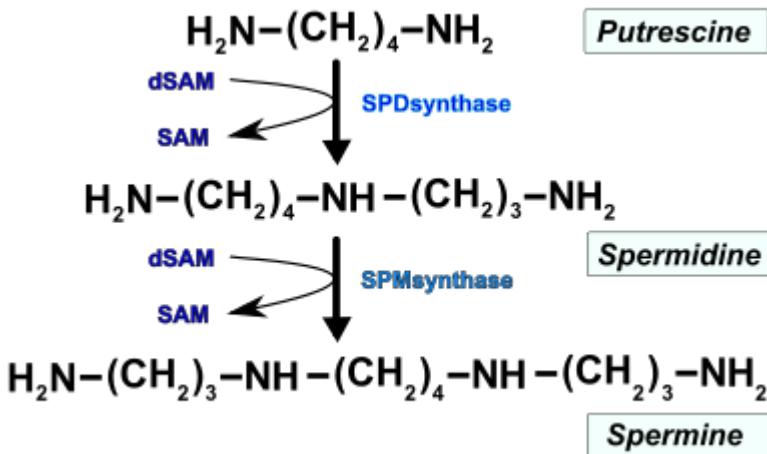
Εικόνα 1.6. Η σύνθεση της καταβερίνης.

Σπερμιδίνη:

Η σπερμιδίνη συντίθεται από την πουτρεσκίνη αντιδρώντας με μια αμινοπροπυλική ομάδα (SAM). Η αντίδραση καταλύεται από την συνθετάση σπερμιδίνης.

Σπερμίνη:

Η σπερμίνη συντίθεται από την αντίδραση της σπερμιδίνης με την SAM και τη δράση της συνθετάση σπερμίνης (Εικόνα 1.7).



Εικόνα 1.7. Η σύνθεση της πουτεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης.

1.2.4.2) Ο ρόλος των πολυαμινών στον ληθαργό

Έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες σχετικά με την επίδραση των πολυαμινών στο φαινόμενο του ληθάργου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η διαθεσιμότητα πολυαμινών (κυρίως η διαθεσιμότητα της πουτρεσκίνης) επηρεάζουν καθοριστικά την διακοπή του ληθάργου και την περεταίρω εξέλιξη των οφθαλμών.

Συγκεκριμένα, οι Wang et al., (1985), μελέτησαν τα επίπεδα των πολυαμινών, σε οφθαλμούς κερασιάς (*Prunus avium*), κατά την διακοπή του ληθάργου σε ποικιλίες πρώιμης ανθοφορίας (*Prunus avium* L. cv. Coeur de Pigeon) και σε ποικιλίες όψιμης ανθοφορίας (*Prunus serrulata* Lindl. cv. Kwanzan). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι όψιμες ποικιλίες κερασιάς περιέχουν υψηλότερα επίπεδα των ελεύθερων πολυαμινών από τις πρώιμες ποικιλίες. Κατά την διάρκεια του ληθάργου, στις πρώιμες ποικιλίες τα επίπεδα συγκεντρώσεων των ελεύθερων πολυαμινών βρίσκονταν σε χαμηλό επίπεδο αλλά αυξήθηκαν με αργό και σταθερό ρυθμό. Αντιθέτως τα επίπεδα των ελεύθερων πολυαμινών στις όψιμες ποικιλίες παρέμειναν σε σταθερά υψηλά επίπεδα.

Κατά την μετάβαση, από την κατάσταση του ληθάργου στην ενεργή κατάσταση, παρατηρήθηκε, και στις δύο ποικιλίες, απότομη αύξηση των επιπέδων των πολυαμινών η οποία στην συνέχεια μειώθηκε.

Οι Rey et al., (1994) πραγματοποίησαν μελέτες σχετικά με τις μεταβολές των επιπέδων των ενδογενών πολυαμινών που προσδιορίστηκαν στα φύλλα και σε οφθαλμούς ώριμων δέντρων φουντουκιάς (*Corylus avellana* L.) κατά την διάρκεια του ληθάργου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υψηλά επίπεδα συγκεντρώσεων σπερμιδίνης και σπερμίνης εντοπίστηκαν κατά την διάρκεια της ταχείας ανάπτυξης των βλαστών και των φύλλων. Αντιθέτως, χαμηλά επίπεδα συγκεντρώσεων σπερμιδίνης και σπερμίνης, με ταυτόχρονη αύξηση των επιπέδων πουτρεσκίνης, εντοπίστηκαν κατά την διάρκεια του λήθαργου οφθαλμών.

Παρόμοια αποτελέσματα βρήκαν και οι Kakkar and Nagar (1997) που μελέτησαν τις αλλαγές σε ενδογενείς πολυαμίνες στο τσάι (*Camellia sinensis* L.) κατά την διάρκεια του ληθάργου των οφθαλμών και μετά το τέλος του ληθάργου. Χρησιμοποιήθηκαν βλαστοί από δύο κλώνους τσαγιού (T-78 και UPASI-9). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υψηλά επίπεδα πουτρεσκίνης και αντίστοιχα χαμηλά επίπεδα σπερμιδίνης και σπερμίνης παρατηρήθηκαν κατά την διάρκεια του ληθάργου. Αντίθετα, υψηλά επίπεδα σπερμιδίνης και σπερμίνης παρατηρήθηκαν με το τέλος του ληθάργου. Μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της ελεύθερης και συζευγμένης μορφής των πολυαμινών παρατηρήθηκε μόνο για την πουτρεσκίνη. Τα επίπεδα των πολυαμινών ήταν γενικά χαμηλότερα στους βλαστούς του κλώνου UPASI-9 σε σχέση με τον κλώνο T-78.

Οι Santanen et al., (2007), δημοσίευσαν ένα άρθρο σχετικά με τα επίπεδα των πολυαμινών, στους οφθαλμούς του φυτού της φλαμουριάς (*Tilia cordata* L.), κατά την διάρκεια του ληθάργου αλλά και κατά την έξοδο από τον λήθαργο (Αύγουστο – Μάιο). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, πριν από τον λήθαργο (φθινόπωρο), η σπερμιδίνη ήταν η κυρίαρχη πολυαμίνη, ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή. Τα επίπεδα των συγκεντρώσεων της δεσμευμένης μορφής της σπερμιδίνης ήταν μεγαλύτερα από της ελεύθερης μορφής της σπερμιδίνης. Στην συνέχεια συσσωρεύτηκαν πολυαμίνες, τόσο δεσμευμένης μορφής όσο και ελεύθερης μορφής, αρχικά στην εσωτερική επιφάνεια και αργότερα στην εξωτερική επιφάνεια των οφθαλμών. Τα επίπεδα των πολυαμινών παρέμειναν σταθερά κατά την έναρξη του ληθάργου. Τα επίπεδα των πολυαμινών, δεσμευμένης μορφής, προστάτευαν τους

οφθαλμούς από τις χαμηλές θερμοκρασίες. Στην συνέχεια είχαμε ραγδαία αύξηση της πουτρεσκίνης και της σπερμιδίνης, ελεύθερης μορφής, με ταυτόχρονη μείωση των πολυαμινών δεσμευμένης μορφής με το τέλος του ληθάργου και την έναρξη της ανάπτυξης.

Οι Mohamed et al., (2011), μελέτησαν, κατά την διάρκεια του ληθάργου, την επίδραση του υδρογονούχου κυαναμιδίου (Dormex) στις ελεύθερες πολυαμίνες σε οφθαλμούς αμπελιού (*Vitis Vinifera L. Superior Seedless*). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η εφαρμογή του υδροκυανιμιδίου προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης της πουτρεσκίνης (κατά 77% σε σχέση με τον μάρτυρα), της σπερμιδίνης (κατά 19% σε σχέση με τον μάρτυρα) ενώ και η σπερμίνη αυξήθηκε αλλά με αργότερο ρυθμό. Μετά τον λήθαργο παρατηρήθηκε μια απότομη μείωση της συγκέντρωσης της πουτρεσκίνης ενώ η συγκέντρωση της σπερμιδίνης παρέμεινε σταθερή και η συγκέντρωση της σπερμίνης συνέχισε να αυξάνεται. Η δράση της σπερμιδίνης και της σπερμίνης εντοπίζεται μετά τον λήθαργο καθώς προκαλούν το ερέθισμα για την σύνθεση πρωτεΐνών που είναι απαραίτητα για την εξέλιξη και την ανάπτυξη του κυττάρου (Igarashi and Kashiwagi 2000).

Οι Wang και Faust, (2014), μελέτησαν τα επίπεδα των πολυαμινών σε οφθαλμούς μηλιάς (*Malus domestica* Borkh), κατά την διάρκεια του χειμερινού ληθάργου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα επίπεδα συγκεντρώσεων της πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης αυξήθηκαν σημαντικά σε οφθαλμούς που είχαν συμπληρώσει τις απαιτούμενες ώρες ψύχους. Ακόμη οι αναστολείς της βιοσύνθεσης των πολυαμινών [α -difluoromethylarginine (DFMA) ή α -difluoromethylornithine (DFMO)], όταν συμπληρωθούν οι ώρες ψύχους, δεν προκαλούν αναστολή της διακοπής του ληθάργου (όπως αρχικά είχε αποδειχτεί). Τέλος οι μελέτες έδειξαν ότι οι πολυαμίνες σχετίζονται περισσότερο με την ανάπτυξη των βλαστών και την ανάπτυξη των οφθαλμών παρά με τη διαφοροποίηση και το άνοιγμα του οφθαλμού.

1.2.5) Οι φαινολικές ενώσεις

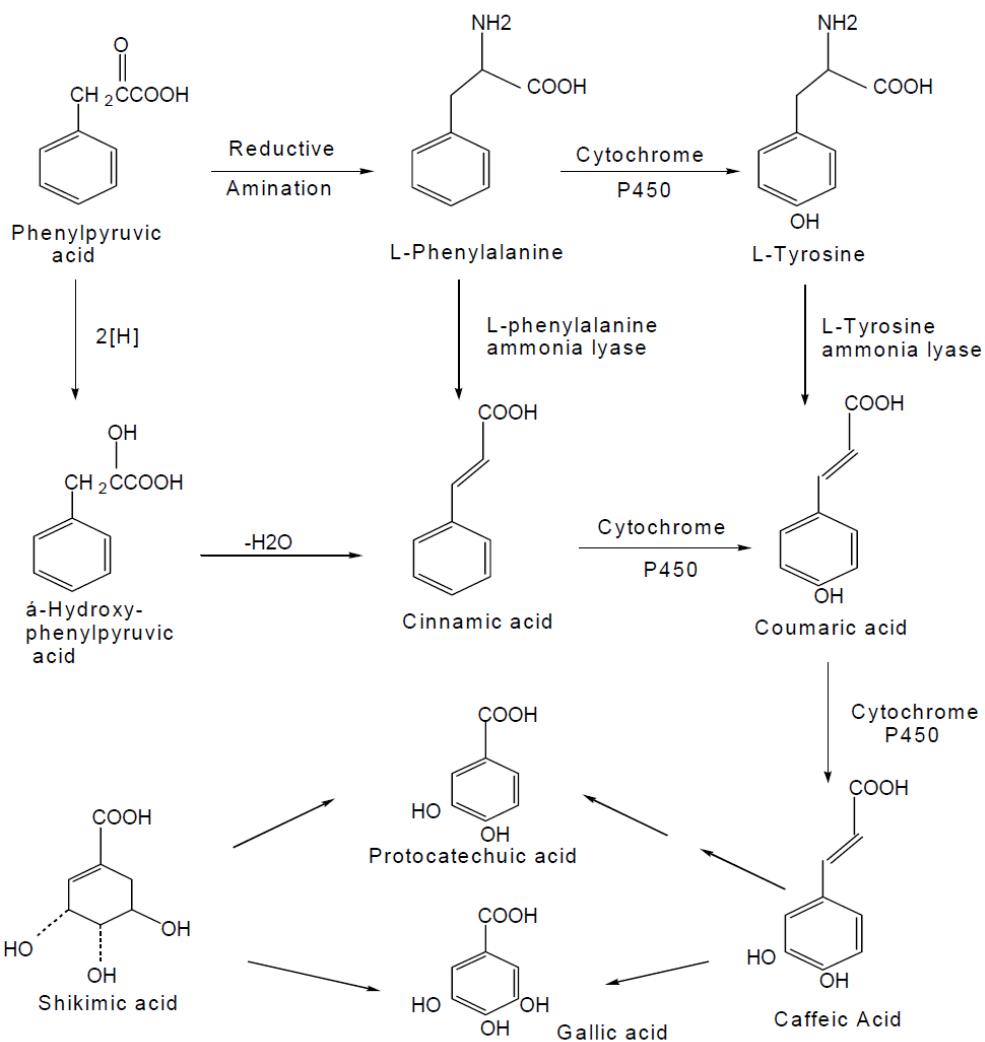
Οι φαινολικές ενώσεις είναι ενώσεις που ανήκουν στα φυσικά αντιοξειδωτικά και είναι μία πολύ μεγάλη τάξη ενώσεων. Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν μία από τις κύριες ομάδες δευτερογενών μεταβολιτών. Αποτελούνται από ενώσεις με μεγάλη

ποικιλία όσον αφορά τη δομή και λειτουργικότητά τους. Ο γενικός ορισμός περιλαμβάνει τις ενώσεις που περιέχουν μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες σε ένα βενζολικό δακτύλιο. Όμως, με τον ορισμό αυτό περιλαμβάνονται και άλλες ενώσεις. Έτσι, προτιμάται ένας ορισμός με βάση τη βιοσύνθεση αυτών των ενώσεων. Κάποια συστατικά όπως το κιναμμωνικό οξύ αναφέρονται ως φαινολικά συστατικά, αν και δεν περιέχουν υδροξυλομάδα σε βενζολικό δακτύλιο. Οι φαινολικές ενώσεις είναι πολύ δραστικές, λόγω του όξινου χαρακτήρα των υδροξυλικών ομάδων και των πυρηνόφιλων ιδιοτήτων των φαινολικών δακτυλίων.

1.2.5.1) Η βιοσύνθεση των φαινολικών ενώσεων

Υπάρχει ένας περιορισμένος αριθμός από μεταβολικά μονοπάτια, μέσω των οποίων συντίθενται οι πολυφαινόλες. Οι δύο κύριες πηγές βιοσύνθεσης των πολυφαινολών είναι το σικιμικό οξύ και το πολυκετίδιο (Morton et al., 2000). Η σύνθεση των φαινολικών οξέων γίνεται με αναγωγική αμίνωση του καρβονυλίου του φαινυλοπυρουβικού οξέος προς το αμινοξύ φαινυλαλανίνη. Η φαινυλαλανίνη ή τυροσίνη υφίσταται απαμίνωση με τη δράση της λυάσης φαινυλαλανίνης-αμμωνίας (Phenylalanine ammonia lyase, PAL) ή της λυάσης της τυροσίνης-αμμωνίας (Tyrosine ammonia lyase, TAL) αντίστοιχα. Ακολουθεί υδροξυλίωση ρυθμιζόμενη από το κυτόχρωμα P450 προς κιναμικό οξύ, ενώ υδροξυλιώσεις του κιναμικού οξέος στις παρά- με μετά-θέσεις του φαινολικού δακτυλίου οδηγούν σε υδροξυλιωμένα παράγωγά του (Morton et al., 2000) (Σχήμα 1.1). Ο Α δακτύλιος των φλαβονοειδών προέρχεται από ένα πολυκετίδιο ή από ένα μόριο ρεσοκινόλης ή φλωρογκλουσινόλης που προέρχεται από το οξικό οξύ, το οποίο χαρακτηρίζεται από 2 μόρια υδροξυλίου (OH) στις θέσεις 5 και 7, ενώ ο Β δακτύλιος προέρχεται από το σικιμικό οξύ (Ross και Kasum, 2002).

Σχήμα 1.1. Βιοσύνθεση φαινολικών οξέων.



1.2.5.2) Η δομή των φαινολικών ενώσεων

Η δομή των φαινολικών ενώσεων ποικίλει και έτσι μπορούμε να συναντήσουμε απλές φαινολικές ενώσεις όπως φαινολικά οξέα με έναν ανθρακικό σκελετό 6 ατόμων άνθρακα, μέχρι σύνθετες φαινολικές ενώσεις αποτελούμενες από πολυμερισμένα μόρια όπως είναι οι ταννίνες. Οι φαινολικές ενώσεις είναι παράγωγα του βενζολίου με ένα ή περισσότερα υδροξύλια στον φαινολικό δακτύλιο και κατατάσσονται ανάλογα με την δομή του ανθρακικού σκελετού (Manach *et al.*, 2004).

1.2.5.3) Κατάταξη φαινολικών ενώσεων

Οι φαινολικές ενώσεις διακρίνονται σε φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή (Παπαγεωργίου, 2005).

Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή αποτελούν τη μεγαλύτερη τάξη των φαινολικών ενώσεων (Manach et al., 2004). Οι ενώσεις αυτές περιέχουν φαινολικά υδροξύλια συνδεδεμένα στους δακτύλιους (Εικόνα 1.9).



Εικόνα 1.9. Γενική δομή των φλαβονοειδών.

Η τάξη των φλαβονοειδών αποτελείται από τις παρακάτω οικογένειες: φλαβόνες, ισοφλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβανόλες, φλαβανόνες, ανθοκυανίνες και προανθοκυανιδίνες που διαφέρουν κυρίως στον ετεροκυκλικό C-δακτύλιο (Heim et al., 2002). Όλες οι οικογένειες των φλαβονοειδών προέρχονται από ένα κοινό βιοσυνθετικό δρόμο. Επιπλέον μετατροπές γίνονται σε διάφορα στάδια με αποτέλεσμα μεταβολές στην έκταση της υδροξυλίωσης, της μεθυλίωσης, το διμερισμό και τη γλυκοσυλίωση. Στις φλαβονόλες ανήκει και η κερκετίνη που είναι η κυριότερη φλαβονόλη στη διατροφή μας.

Τα φλαβονοειδή μπορεί να είναι μονομερή, διμερή ή ολιγομερή. Οι πολυμερείς ενώσεις ονομάζονται ταννίνες και ανάλογα με τη δομή τους διαχωρίζονται σε συμπυκνωμένες και υδρολυόμενες ταννίνες.

Τα φλαβονοειδή περιλαμβάνουν:

- Συμπυκνωμένες ταννίνες: γνωστές και ως προανθοκυανιδίνες. Είναι πολυμερή των φλαβανοειδών (προανθοκυανιδίνες). Βρίσκονται στο κρασί, ιδιαίτερως στο κόκκινο κρασί.

- Υδρολυόμενες ταννίνες: Ένα μόριο σακχάρου (κυρίως γλυκόζη) ή πολυσακχαρίτη, με πολλά υδροξύλια εστεροποιημένα με φαινολικά οξέα (κυρίως γαλλικό ή ελλαγικό οξύ). Περιέχουν συνήθως γαλλικό οξύ εστεροποιημένο με υδατάνθρακα (Παπαγεωργίου, 2005).
- Ανθοκυανιδίνες-Ανθοκυανίνες: Η πιο διαδεδομένη ομάδα των φλαβονοειδών χρωστικών είναι οι ανθοκυανίνες. Είναι υδατοδιαλυτά μόρια που βρίσκονται κυρίως στο χυμοτόπιο, στους επιδερμικούς ιστούς των λουλουδιών και των φυτών. Η κάθε μια από αυτές μπορεί να μετατρέπεται γρήγορα σε άλλες ταυτομερείς μορφές. Ανάλογα με το pH, τη θερμοκρασία και τη δομή (βαθμός ακετυλίωσης, μεθυλίωσης, αριθμός OH στο μόριο) της ανθοκυανίνης επικρατεί η μία ή η άλλη μορφή. Οι ανθοκυανίνες είναι υπεύθυνες κατά κύριο λόγο για το πορφυρό, ερυθρό, πορτοκαλί, κυανό και ιώδες χρώμα στα άνθη, στους καρπούς, στα φύλλα και καμιά φορά στο περίβλημα των σπόρων.

Στην εικόνα 1.10 δίνεται η δομή των φλαβονοειδών (Heim et al., 2002).

Γενική δομή	Φλαβονοειδές	Υποκαταστάτες
 Φλαβανόλες (Κατεχίνες)	(+)-Κατεχίνη (-)-Επικατεχίνη 3-Γαλλοϋλο-επι- κατεχίνη	3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 5,7,3',4'-OH, 3- γαλλικό
 Φλαβόνες	Χροσίνη Απιγενίνη Λουτεολίνη 4',7-διγλυκοσίδιο- λουτεολίνης	5,7-OH 5,7,4'-OH 5,7,3'-OH, 4'-OH 5,4'-OH, 4',7- γλυκόζη
 Φλαβονόλες	Καμφερόλη Κερκετίνη Μυρικετίνη Ταμαριξετίνη	3,5,7,4'-OH 3,5,7,3', 4'-OH 3,5,7,3', 4',5'-OH 3,5,7,3',-OH, 4'-OCH ₃
 Διδροφλαβόνες (Φλαβονόνες)	Ναρινγενίνη Ναρινγίνη Ταξιφολίνη Εσπεροδίνη	5,7,4'-OH 5, 4'-OH, 7-ραμνογλυκόζη 3,5,7,3',4'-OH 5,7,3',4'-OH
 Ισοφλαβόνες	Γενιστίνη Γενιστεΐνη Δαιδζίνη Δαιδζεΐνη	5,4'-OH, 7-γλυκόζη 5,7,4'-OH 4'-OH, 7-γλυκόζη 7,4'-OH
 Ανθοκυανιδίνες	Απιγενιδίνη Κυανιδίνη	5,7,4'-OH 3,5,7,4'-OH, 3,5-OCH ₃

Εικόνα 1.10. Δομή των φλαβονοειδών.

(Heim et al., 2002)

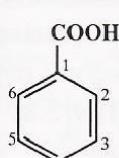
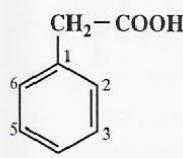
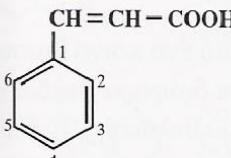
Μη φλαβονοειδή

Τα μη φλαβονοειδή περιλαμβάνουν:

- Φαινολικά οξέα και τις παράγωγες αλδεύδες: Βενζοικά οξέα, C6-C1: π-υδροξυβενζοικό οξύ, βανιλλικό οξύ, γαλλικό οξύ, συριγγικό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ. Βενζαλδεύδες, C6-C1, με αλδευδομάδα στη θέση της καρβοξυλομάδας: βανιλίνη, συριγγική αλδεύδη Κιναμμομάρκα οξέα, C6-

C3:κιναμμωμικό οξύ, p-κουμαρικό οξύ, καφεικό οξύ, φερουλικό οξύ Κιναμμωμικές αλδεύδες, C6-C3, με αλδευδομάδα στη θέση της καρβοξυλομάδας: σιναπαλδεύδη. Τα φαινολικά οξέα αποτελούν την δεύτερη πιο διαδεδομένη κατηγορία των φαινολικών ενώσεων, τα οποία ανευρίσκονται σχεδόν σε όλα τα φυτικά τρόφιμα (Manach et al., 2004). Στην τάξη αυτή ανήκουν τα υδροξυ-παράγωγα του βενζοϊκού οξέος, τα παράγωγα του φαινυλοξικού οξέος και τα παράγωγα του κινναμωνικού οξέος. Κυριότερος αντιπρόσωπος των παραγώγων αυτών είναι το καφεϊκό οξύ, που βρίσκεται στον καφέ εστεροποιημένο με την 5-OH του κινικού οξέος και ονομάζεται χλωρογενικό οξύ (Παπαγεωργίου, 2005). Ευρέως διαδεδομένα φαινολικά οξέα είναι και το κουμαρικό οξύ, το φερουλικό οξύ, το γαλλικό οξύ, το βανιλικό οξύ και το σιναπικό οξύ (Manach et al., 2004).

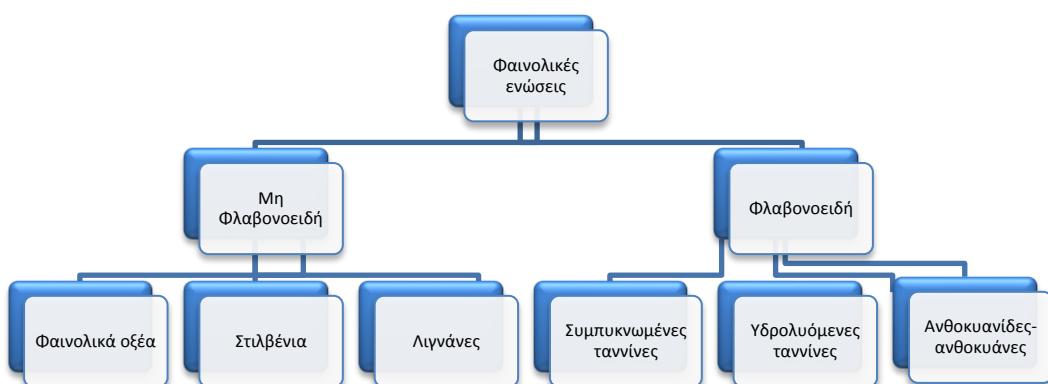
Στην εικόνα 1.11 δίνεται η δομή των φαινολικών οξέων.

Γενική δομή	Υδροξυ-παράγωγα	Υποκαταστάτης
 Βενζοϊκό οξύ	Υδροξυβενζοϊκό οξύ Βανιλλικό οξύ Συρινγκικό οξύ Πρωτοκατεχικό οξύ Γαλλικό οξύ	4-OH 4-OH, 3-OCH ₃ 4-OH, 3,5-OCH ₃ 3,4-OH 3,4,5-OH
 Φαινυλοξικό οξύ	π-Υδροξυφαινυλοξικό οξύ Ομοβανιλικό οξύ	4-OH 4-OH, 3-OCH ₃
 Κινναμωμικό οξύ	o-Κουμαρικό οξύ π-Κουμαρικό οξύ Καφεϊκό οξύ Φερουλικό οξύ Σιναπικό οξύ Χλωρογενικό οξύ Ροσμαρινικό οξύ	2-OH 4-OH 3,4-OH 4-OH, 3-OCH ₃ 4-OH, 3,5-OCH ₃ Εστέρας του καφεϊκού με κινικό οξύ Διμερές του καφεϊκού οξέος

Εικόνα 1.11. Δομή των φαινολικών οξέων.

(Παπαγεωργίου, 2005)

- **Στιλβένια:** Τα στιλβένια(trans-ρεσβερατρόλη, cis-ρεσβερατρόλη) είναι φαινολικές ενώσεις που αποτελούνται από δυο βενζοικούς δακτυλίους που συνδέονται μέσω μιας αλυσίδας δύο ατόμων άνθρακα (C6-C2-C6). Βρίσκονται σε μικρές ποσότητες στα φυτά και στα τρόφιμα ως μονομερή στιλβένια, είτε ως διμερή, τριμερή ή πολυμερή, οι λεγόμενες βινιφερίνες (Cassidy et al., 2000). Συντίθενται από ένα εύρος φυτών τα οποία δεν καταναλώνονται συχνά από τον άνθρωπο ή από μη βρώσιμα μέρη φυτών κι εντοπίζονται συχνότερα στη ρίζα, στα φύλλα και στο φλοιό. Το πιο κοινό είναι η trans-ρεσβερατρόλη, η οποία έχει απομονωθεί από το κρασί και το φλοιό των κόκκινων ποικιλιών του σταφυλιού και έχει πλήθος βιολογικών ιδιοτήτων (Manach et al., 2004).
- **Λιγνάνες:** Ανήκουν στα φυτοοιστρογόνα. Είναι λιγότερο μελετημένα λόγω της δυσκολίας στην απομόνωσή τους, ποσοτικοποίησή τους και ανάλυσή τους από τις διάφορες πηγές. Οι λιγνάνες έχουν απομονωθεί σε ανθρώπινο πλάσμα όσο και σε ανθρώπινα ούρα. Στα τρόφιμα τα συναντάμε σε μικρά ποσοστά. Στο παχύ έντερο μεταβολίζονται σε διάφορες ουσίες που είναι γνωστές για την δράση τους ως ανταγωνιστές των οιστρογόνων (Manach et al., 2004).



Εικόνα 1.12. Σχηματική απεικόνιση κατάταξης φαινολικών ενώσεων.

1.2.5.4) Ο ρόλος των φαινολικών ενώσεων στο λήθαργο

Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές έρευνες σχετικά με την επίδραση των φαινολικών ενώσεων στο φαινόμενο του ληθάργου. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων παρουσιάζει μια διακύμανση. Αυξάνονται πριν τον λήθαργο και στην συνέχεια μειώνονται, δρώντας αντιστρόφως ανάλογα με την ανάπτυξη και έκπτυξη των οφθαλμών.

Συγκεκριμένα, ο Thakur, (1976), μελέτησε την ετήσια διακύμανση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών σε οφθαλμούς σφενδάμου (*Acer saccharum* Marsh) με χρωματογραφία χάρτου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το φθινόπωρο η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών (κυρίως φερουλικό, βανιλικό, π-κουμαρικό και καφεϊκό οξύ) ήταν μεγαλύτερη από ότι τον χειμώνα και την άνοιξη.

Ο Benkeblia, (2003), πραγματοποίησε πείραμα, χρησιμοποιώντας βολβούς κρεμμυδιών (*Allium cepa* L.) που τοποθέτησε σε θάλαμο ψύξης (0°) και μετά αποθήκευσε στους 20° σε σκοτάδι, κατά την διάρκεια του ληθάργου και μελέτησε την διακύμανση των ολικών φαινολικών σε οφθαλμούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών αυξήθηκε (από 0,17 σε 0,2 mg/g FW) κατά την διάρκεια των πρώτων πέντε βδομάδων και στην συνέχεια μειώθηκε σε 0,15 mg/g., κατά την διάρκεια των τριών τελευταίων βδομάδων όταν οι βολβοί άρχισαν να φυτρώνουν.

Οι Szecskó et al., (2004), πραγματοποίησαν πειράματα σε υποκείμενα δαμασκηνιάς (*Prunus domestica* L.). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι φαινολικές ενώσεις εμφάνισαν μια εποχιακή διακύμανση. Συγκεκριμένα, το επίπεδο της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων ήταν χαμηλό κατά την διάρκεια του Σεπτέμβριου, στην συνέχεια αυξήθηκε, φτάνοντας στην μέγιστη τιμή τον Νοέμβρη, μετά μειώθηκε (κατά την διάρκεια του Δεκέμβρη), αυξήθηκε μέχρι το τέλος Ιανουαρίου και τέλος η συγκέντρωση των φαινολικών μειώθηκε τον Φεβρουάριο.

1.2.6) Η επίδραση των εξωτερικών παραγόντων στο λήθαργο οφθαλμών

Πολλές φορές ο λήθαργος προκαλείται από διάφορους φυσικούς παράγοντες. Όπως επίσης, ο λήθαργος μπορεί να ανασταλεί από φυσικούς παράγοντες. Κάθε φυτικό είδος παρουσιάζει συγκεκριμένες φυσικές συνθήκες που είναι τα άριστα γι' αυτό επίπεδα, για τους περισσότερους παράγοντες και ανάλογα με τον παράγοντα έχει ένα μέγιστο κι ένα ελάχιστο όριο στο οποίο μπορεί να ευδοκιμήσει.

Ο σπουδαιότερος εξωτερικός παράγοντας που επηρεάζει και ελέγχει τον λήθαργο των οφθαλμών των πολυετών φυτών είναι το μήκος της μέρας (φωτοπερίοδος). Έρευνες έδειξαν ότι οι μικρού μήκους ημέρες προκαλούν ανάσχεση της βλάστησης και λήθαργο των οφθαλμών του *Chenopodium album* L. και αυξάνουν συγχρόνως τα επίπεδα των παρεμποδιστικών ουσιών, ενώ μειώνουν εκείνα των αυξητικών στα φύλλα του ίδιου φυτού. Συγκεκριμένα, η φωτοπεριοδική επαγωγή του ληθάργου οφθαλμών στα πολυετή φυτά παρουσιάζει κοινά με τα φαινόμενα του φωτοπεριοδισμού στα ποώδη φυτά. Γενικά τα φύλλα και τα λέπια των οφθαλμών, στα διάφορα φυτά, αποτελούν τους δέκτες φωτοπεριοδικής επαγωγής ή τα κέντρα σχηματισμού παρεμποδιστικών ουσιών (Moore, 1979). Το αντίθετο παρατηρείται υπό καθεστώς μεγάλου μήκους ημερών. Η παρεμπόδιση της βλάστησης των οφθαλμών, η οποία παρατηρείται όταν τα φύλλα διατηρούνται σε μικρού μήκους ημέρες, αποδεικνύει την μεταφορά των παρεμποδιστικών ουσιών από τα φύλλα στους οφθαλμούς. Οι Eagles and Wareing (1963, 1964) χρησιμοποιώντας ουσίες, που απομόνωσαν από τα φύλλα του φυτού *Betula pubescens* Ehrh. (είδος σημύδας), διατηρούμενα σε ημέρες μικρού μήκους πέτυχαν την επαγωγή ληθάργου οφθαλμών σε φυτάρια του ίδιου είδους, διατηρούμενα σε μεγάλου μήκους ημέρες. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξε ο Kawase (1961). Οι Wareing και Saunders (1971) ανέπτυξαν την ιδέα ότι ο ετήσιος κύκλος της βλάστησης και του ληθάργου ρυθμίζεται από την ισορροπία μεταξύ ενδογενών παρεμποδιστών και των γιβερελλίνων και φαίνεται, πιθανόν, ότι η επαγωγή του ληθάργου επιφέρεται από τα υψηλά επίπεδα παρεμποδιστικών ουσιών και χαμηλά επίπεδα γιββερελλίνων, ενώ το αντίθετο ισχύει μετά το τέλος του ληθάργου. Επίσης έχει αναφερθεί ότι οι γιββερελλίνες αυξάνουν σε πολλούς φυτικούς ιστούς και όργανα κατά την διάρκεια του ληθάργου (όπου

επικρατούν συνθήκες ψύχουνς ή μακράς φωτοπεριόδου). Οι συνθήκες αυτές προωθούν την σύνθεση γιββερελλίνων ή προκαλούν την υδρόλυση τους (από δεσμευμένες μορφές). Συμπερασματικά, από τα περισσότερα είδη που έχουν μελετηθεί, οι μεγάλου μήκους ημέρες προωθούν την βλάστηση σε αντίθεση με τις μικρού μήκους ημέρες που επιφέρουν διακοπή της βλάστησης και επαγωγή του λήθαργου των οφθαλμών.

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας, που επηρεάζει τον λήθαργο είναι η θερμοκρασία. Οι Chandler et. al., (1937) και Lamb (1948) αναφέρουν ότι η διακύμανση της θερμοκρασίας από 0° C - 7.2° C είναι αποτελεσματική για ψύξη. Έρευνες έδειξαν ότι οι διακοπτόμενες θερμές περίοδοι εξουδετέρωναν την επίδραση του ψύχουνς. Οι Erez και Lavee, 1971, ήταν οι πρώτοι που χρησιμοποίησαν την ιδέα των μονάδων ψύχουνς, δια των οποίων λαμβάνεται υπόψη η διαφορετικοί επίδραση των διαφόρων θερμοκρασιών. Οι Richardson et al., (1974) βελτίωσαν την ιδέα και ανέπτυξαν το μοντέλο των μονάδων ψύχουνς (Πίνακας 1.1). Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, οι θερμοκρασίες 2.5° C - 9.1° C είναι αποτελεσματικές μονάδες ψύχουνς ενώ θερμοκρασίες κάτω από 1.4° C ή μεταξύ 12.5° C - 15.9° C θεωρούνται αναποτελεσματικές μονάδες ψύχουνς. Με την χρήση της μεθόδου των μονάδων ψύχουνς, υπολογίζουμε με μεγάλη ακρίβεια τον χρόνο που τα δέντρα είναι ικανά να δώσουν βλάστηση. Με άλλα λόγια υπολογίζουμε το θερμικό καθεστώς που τα δέντρα έχουν απολύτως ανάγκη για να διακόψουν τον λήθαργο και να εκπτύξουν τους οφθαλμούς τους.

Στον παρακάτω πίνακα εμφανίζεται η μετατροπή των θερμοκρασιών σε αντίστοιχες μονάδες ψύχουνς.

Πίνακας 1.2. Μετατροπή των θερμοκρασιών σε αντίστοιχες μονάδες ψύχους.

Θερμοκρασία (°C)	Μονάδα ψύχους
1.4	0.0
1.5-2.4	0.5
2.5-9.1	1.0
9.2-12.4	0.5
12.5-15.9	0.0
16.0-18.0	- 0.5
18.1-21.0	- 1.0
21.1-23.0	- 2.0

Πηγή: Richardson et al., (1974) και Shaltout και Unrath (1983)

Το ψύχος είναι απαραίτητο μόνο σε σχετικά θερμές περιοχές, όπου οι ψυχρές ώρες λαμβάνουν χώρα σε μικρό βαθμό. Συχνά περιοχές απαλλαγμένες από χειμωνιάτικες θερμοκρασίες παγετού έχουν επαρκές ψύχος γιατί παρατηρούνται επαρκώς μεγάλες περίοδοι με θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 3° C – 9° C (Ποντίκης, Ειδική δενδροκομία, 1987).

Οι ανάγκες σε ψύχος των διαφόρων ειδών καρποφόρων δέντρων διαφέρουν σημαντικά. Η διακύμανση των αναγκών σε ψύχος είναι μεγάλη, όπως παρατηρείται και στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 1.3)

Πίνακας 1.3. Διακυμάνσεις αναγκών σε ψύχος διαφόρων καρποφόρων ειδών.

Είδη	Ανάγκες ψύχους (ώρες πάνω από 7°C)
Μηλιά	200-2000
Βερικοκιά	250-900
Ευρωπαϊκή δαμασκηνιά	700-1700
Ιαπωνική δαμασκηνιά	500-1500
Ροδακινιά	200-1100
Κυδωνιά	50-400
Βυσσινιά	600-1500
Αχλαδιά	500-1000
Αμυγδαλιά	180-350 (αλλά σε θερμοκρασίες 10-14 °C 500-1000)
Καρυδιά	500-1500
Φιστικιά	1000
Κερασιά	500-1300

Πηγή:Chandler et al., (1937)

1.2.7) Οι φυσιολογικές ανάγκες που εξυπηρετεί ο λήθαργος οφθαλμών και τα οφέλη που προσφέρει

Η σημασία αυτής του ληθάργου των οφθαλμών είναι μεγάλη και δεν αφορά ένα ή λίγα χαρακτηριστικά. Ανάλογα με το πώς και πότε εμφανίζεται ο λήθαργος οφθαλμών σε ένα φυτικό είδος, διαμορφώνεται και ένα είδος στρατηγικής επιβίωσης

και διαμόρφωσης πλεονεκτημάτων. Από την οικολογία γνωρίζουμε πως επιβιώνει ο πιο προσαρμοσμένος, ευέλικτος και ισχυρός. Σε αυτή την πορεία μεγάλο ρόλο παίζει και ο λήθαργος οφθαλμών, που δίνει στα φυτά δυνατότητες προσαρμογής κι ευελιξίας απέναντι στα διάφορα φυσικά περιβάλλοντα (Vegis, 1964).

Η δεύτερη ανάγκη που εξυπηρετείται είναι ο συγχρονισμός με τις εποχές. Τα διάφορα φυτικά είδη, σε μια καθορισμένη περιοχή, βλασταίνουν συγκεκριμένη ευνοϊκή περίοδο. Αυτό ως αποτέλεσμα μειώνει σημαντικά το ποσοστό των φυτικών ειδών που θα άνθιζαν σε λάθος εποχή και με αποτέλεσμα να καταστραφεί γρήγορα το φυτό. Επίσης, τα φυτά που θα φυτρώσουν την ίδια εποχή, αναμένεται και να ανθίσουν μαζί, οπότε ευνοείται η παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού.

Πρακτικά ο λήθαργος των οφθαλμών θεωρείται ως ένας μηχανισμός αποφυγής των ζημιών που μπορεί να προκληθούν στα δέντρα από τις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα. Επίσης, ο λήθαργος των οφθαλμών αποτελεί και ένα μηχανισμό προσαρμοστικότητας των φυτικών ειδών στα διάφορα φυσικά περιβάλλοντα.

1.2.8) Τρόποι διακοπής του ληθάργου των οφθαλμών

Υπάρχουν αρκετοί τρόποι με τους οποίους μπορούμε να διακόψουμε τον λήθαργο. Οι πιο σημαντικοί είναι οι εξής:

- Η απομάκρυνση των λεπιών των οφθαλμών: Η απομάκρυνση των λεπιών των οφθαλμών προτρέπει τους οφθαλμούς σε έκπτυξη, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα λέπια των οφθαλμών αποτελούν περιοχή παρεμποδιστών στον οφθαλμό. Η απομάκρυνση των λεπιών των οφθαλμών στις πρωϊανθείς ποικιλίες κατά την άνοιξη έχει μικρή επίδραση στην έκπτυξη των οφθαλμών, ενώ αντιθέτως η ίδια ενέργεια στις οιψειμανθείς και πολύ οψιμανθείς ποικιλίες έχει μεγάλη επίδραση στην έκπτυξη των οφθαλμών.
- Η τεχνική της αποφύλλωσης: Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται κυρίως στις τροπικές περιοχές για καλλιέργεια καρποφόρων δέντρων της εύκρατης ζώνης, όπου η αποφύλλωση γίνεται 3 εβδομάδες μετά τη συγκομιδή.
- Η εξωγενής εφαρμογή γιββερελλίνων μειώνει τις ανάγκες ψύχους.

- Τεχνητή βροχή πάνω από την κόμη του δέντρου: Η τεχνητή διαβροχή των οφθαλμών σε συνδυασμό με την φυσική βροχή των χειμώνα αυξάνουν σημαντικά την ανάπτυξη των οφθαλμών, που δεν έχουν δεχθεί επαρκές ψύχος.

Υπάρχουν αρκετές ενώσεις που χρησιμοποιούνται υπό μορφή ψεκασμού για την διακοπή του ληθάργου (Erez et al., 1971) (πίνακας 1.3).

Πίνακας 1.4. Συστατικά που προκαλούν τεχνητή διακοπή του ληθάργου των καρποφόρων δέντρων.

Συστατικό	Συγκέντρωση	Παρατηρήσεις
DNOC	1.5% σε ορυκτά έλαια - υπό μορφή χειμερινού ψεκασμού	
KNO₃	2-5%	Προάγει το άνοιγμα περισσότερων ανθοφόρων οφθαλμών
Θειουρία	2% δυο εβδομάδες πριν την έκπτυξη των οφθαλμών	Προάγει το άνοιγμα περισσότερων βλαστοφόρων οφθαλμών
BA	500 ppm	Περιορισμένη βλάστηση
GA	50-200 ppm	Πιο αποτελεσματική στην βυσσινιά και ροδακινιά

Συχνά δεν χρησιμοποιείτε ένα συστατικό αλλά συνδυασμός συστατικών για την διακοπή του ληθάργου. Τέτοιοι συνδυασμοί είναι:

- KNO₃ + Θειουρία
- Θειουρία + DNOC
- DNOC + GA

1.3) Ανασκόπηση βιβλιογραφίας

1.3.1) Ουσίες που προωθούν την διακοπή του ληθάργου

1.3.1.1) Dormex (Υδρογονούχος κυαναμίδη)

Το Dormex είναι μια ένωση που χρησιμοποιείται σε αμπελώνες και οπωρώνες με σκοπό την διακοπή του ληθάργου και να προκαλέσει πιο ομοιόμορφη βλάστηση και νωρίτερα εκπτυσσόμενους οφθαλμούς. Είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό, συγκρινόμενο με διάλυμα νιτρικού καλίου (KNO_3) και ορυκτέλαιου (πείραμα που πραγματοποιήθηκε σε μηλιές της ποικιλίας “Anna” από τους Rady et al., 2012). Η εφαρμογή ενός προϊόντος, όπως το Dormex, είναι απαραίτητη σε περιοχές όπου επικρατούν ήπιοι χειμώνες με αποτέλεσμα τα φυτά να μην συμπληρώνουν τις αναγκαίες ώρες ψύχους, βέβαια η καλύτερη στιγμή για να εφαρμοστεί το προϊόν μπορεί να διαφέρει από περιοχή σε περιοχή ανάλογα με το κλίμα, από είδος σε είδος και από ποικιλία σε ποικιλία εντός του ίδιου είδους. Ακόμη η εφαρμογή του Dormex μπορεί να αυξήσει τον αριθμό των εκπτυσσόμενων οφθαλμών, οι οποίοι, με τη σειρά τους, οδηγούν σε μια σημαντική αύξηση των αποδόσεων της καλλιέργειας. Επιπλέον το Dormex έχει την ικανότητα να μεταθέτει την άνθιση των φυτικών στελεχών σε πρωιμότερη χρονική στιγμή. Αντό έχει σαν αποτέλεσμα, η απόδοση της συγκομιδής να γίνεται νωρίτερα. Το χημικό σκεύασμα Dormex είναι τοξικό ως προς τις μέλισσες και μπορεί να προκαλέσει πολλά προβλήματα σε άλλες καλλιέργειες.

Οι Raffo et al., (2014), σε πείραμα που πραγματοποίησαν σε κεράσια της ποικιλίας “New Star”, χρησιμοποίησαν Dormex 4%. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όχι μόνο προκαλεί την διακοπή του ληθάργου αλλά και προκαλεί πρωίμηση της ανθοφορίας και ωρίμανσης του καρπού.

Οι Ghrib και Mimoun, (2014), πραγματοποίησαν πείραμα σε ώριμες φιστικιές. Χρησιμοποίησαν χημικό σκεύασμα Dormex 4%. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι είχαμε διακοπή του ληθάργου σε 20 μέρες και προώθηση της ανθοφορίας. Επίσης είχαμε βελτίωση της απόδοσης αλλά και της ποιότητας των καρπών. Τέλος, παρατηρήθηκε ότι το χημικό σκεύασμα Dormex δεν είχε επίδραση τόσο στην ανάπτυξη των βλαστών όσο και στην ανάπτυξη της φυλλικής επιφάνειας.



Εικόνα 1.13. Οφθαλμός φιστικιάς στο στάδιο του ληθάργου που έχει γίνει εφαρμογή με Dormex.

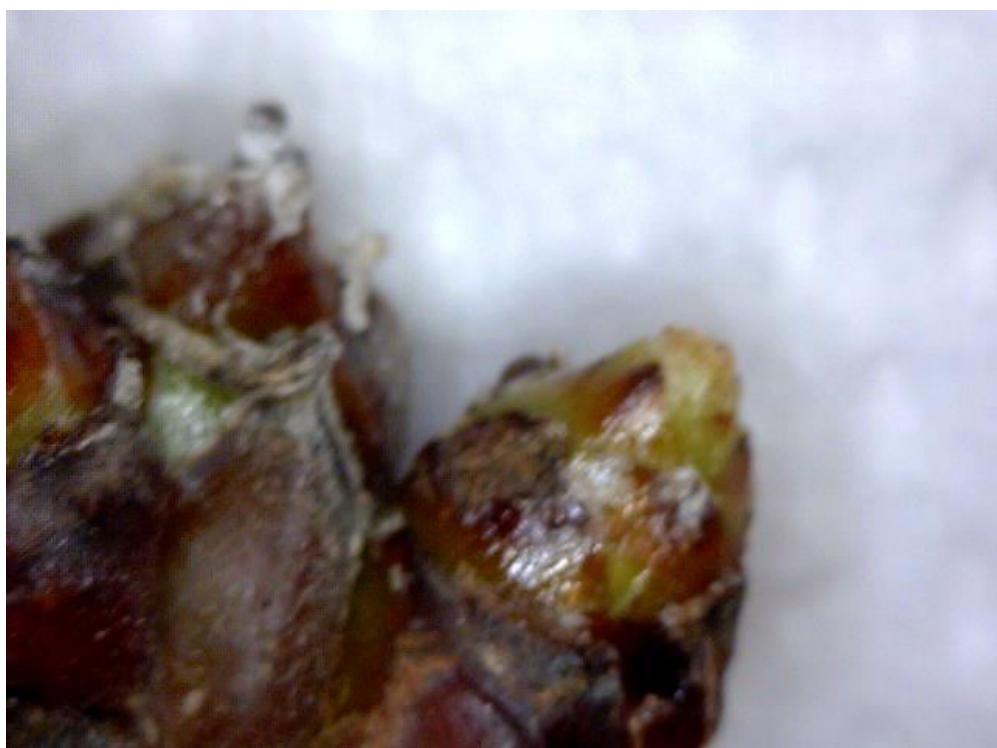
1.3.1.2) Erger

Το Erger (προηγούμενη ονομασία ERGER G / ERGER K, ERGER) είναι ένα χημικό σκεύασμα που περιέχει έναν διεισδυτικό επιφανειοδραστικό παράγοντα που είναι αναμεμιγμένο με νιτρικό ασβέστιο $[Ca(NO_3)_2]$ επιτρέποντας στην πηγή αζώτου να διεισδύσει στο εξωτερικό στρώμα του φλοιού για να προωθήσει την διακοπή του ληθάργου οφθαλμών. Το Erger διεγείρει φυσικά το φυτό βελτιώνοντας φυσικά την διακοπή του ληθάργου οφθαλμών. Το Erger χρησιμοποιείται σε περιοχές όπου επικρατούν ήπιοι χειμώνες με αποτέλεσμα τα φυτά να μην συμπληρώνουν τις αναγκαίες ώρες ψύχουνς. Είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό και προωθεί την πρώιμη άνθηση που συχνά συνοδεύεται από πρωιμότερη συγκομιδή. Ακόμη είναι ασφαλές, εξαιρετικά καινοτόμο και εύκολο στη χρήση. Τέλος χρησιμοποιείται στις καλλιέργειες μήλων με ικανοποιητικά αποτελέσματα, ενώ τελευταία έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται, σε δοκιμαστική μορφή, σε μερικές ποικιλίες ακτινιδίων (κίτρινες και πράσινες ποικιλίες).

Οι Petri et al., (2008), σε πείραμα που πραγματοποίησαν σε μηλιές χρησιμοποιώντας το χημικό σκεύασμα Erger. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η εφαρμογή του χημικού σκευάσματος Erger είχε σαν αποτέλεσμα την διακοπή του ληθάργου (κυρίως στους πλευρικούς οφθαλμούς). Ακόμη, η εφαρμογή του Erger, είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση του μεγέθους των φύλλων.

Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Hawerroth et al., (2010), σε πείραμα που πραγματοποίησαν σε δυο ποικιλίες μηλιάς (Imperial Gala, Suprema), χρησιμοποίησαν μίγμα Erger (3,5%) και CaNO₃(7%). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το μίγμα προκάλεσε διακοπή του ληθάργου 60 μέρες μετά τον ψεκασμό. Ακόμη το μίγμα δεν είχε καμία επίδραση στην άνθηση και στην καρπόδεση. Τέλος παρατηρήθηκε ότι το μέσο βάρος των καρπών ήταν μεγαλύτερο από το μέσο βάρος των καρπών του μάρτυρα.

Οι Henradez et al., (2011), σε πείραμα που πραγματοποίησαν, σε ακτινίδια (*Actinidia deliciosa* L.) χρησιμοποιώντας το Erger, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το χημικό σκεύασμα Erger προωθεί την διακοπή του ληθάργου, περίπου 50 μέρες μετά την εφαρμογή του. Ακόμη προωθεί την ανθοφορία και τον σχηματισμό ταξιανθιών.



Εικόνα 1.2. Οφθαλμός φιστικιάς στο στάδιο του ληθάργου που έχει γίνει εφαρμογή με Erger.

1.4) Σκοπός του πειράματος

Σκοπός του πειράματος ήταν η μελέτη των αλλαγών που συμβαίνουν κατά την διακοπή του ληθάργου, σε επίπεδο βιοχημικό, εντός των οφθαλμών, με ή χωρίς την εφαρμογή ουσιών που προωθούν την διακοπή του ληθάργου.

Πιο αναλυτικά, μελετήθηκαν οι πολυαμίνες (ελεύθερες συν διαλυτές δεσμευμένες αλλά και αδειάλυτες δεσμευμένες), τα ολικά φαινολικά και αντιοξειδωτική ικανότητα (με την μέθοδο της DPPH και FRAP), εντός των οφθαλμών, κατά την διάρκεια του ληθάργου και κατά την έξοδο από αυτών των οφθαλμών. Επίσης μελετήθηκαν οι πολυαμίνες (ελεύθερες συν διαλυτές δεσμευμένες και αδιάλυτες δεσμευμένες), τα φαινολικά (ολικά) και αντιοξειδωτική ικανότητα (με την μέθοδο της DPPH και FRAP), εντός των οφθαλμών, κατά την διακοπή του ληθάργου σε δέντρα στα οποία είχε γίνει εξωγενής εφαρμογή με Dormex (υδρογονούχος κυαναμίδη) και το μίγμα από τα σκευάσματα Erger (6 l/hl) και Activ Erger (8 l/hl).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1) Τόπος διεξαγωγής του πειράματος

Για την περάτωση του πειραματικού μέρους της μεταπυχιακής μελέτης συλλέχθηκαν οφθαλμοί από ενήλικα δέντρα φιστικιάς, που καλλιεργήθηκαν σε οπωρώνα φιστικιάς στο δενδροκομείο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (το πειραματικό σχέδιο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το τυχαιοποιημένες πλήρεις ομάδες).



Εικόνα 2.1. Οπωρώνας Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

2.2) Φυτικό υλικό

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε, για την περάτωση του πειράματος ήταν οφθαλμοί από ενήλικα δέντρα φιστικιάς της ποικιλίας Ποντίκης.



Εικόνα 2.2. Οφθαλμός φιστικιάς.

2.3) Χρόνος περάτωσης του πειράματος

Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν τον χειμώνα του 2013, ενώ τα πειράματα και οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν το καλοκαίρι του 2014.

2.4) Πείραμα

Από τον οπωρώνα του Γεωπονικού Πανεπιστήμιου Αθηνών επελέγησαν 10 ενήλικα δέντρα φιστικιάς (ποικιλία Ποντίκης), με αποστάσεις φύτευσης 5 μέτρα. Από αυτά τα δέντρα επιλέχτηκαν 3 βραχίονες (1 βραχίονας για τον μάρτυρα, 1 βραχίονας για τον ψεκασμό με Dormex και 1 βραχίονας για τον ψεκασμό με Erger). Ο ψεκασμός πραγματοποιήθηκε στα τέλη Ιανουαρίου (συγκεκριμένα στις 23 Ιανουαρίου), περίπου 50-52μέρες πριν την αναμενόμενη έκπτυξη, με την χρήση ψεκαστήρα πλάτης. Ο όγκος ψεκασμού ήταν περίπου 40-50 l/στρέμμα. Η θερμοκρασία στον οπωρώνα ήταν περίπου στους 17° C. Μετά τον ψεκασμό δεν έβρεξε για τουλάχιστον 24 ώρες.

2.5) Επεμβάσεις

Ο ψεκασμός πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τις παρακάτω ουσίες, που σαν σκοπό έχουν την προώθηση της διακοπής του ληθάργου των οφθαλμών.

- Υδρογονούχος κυαναμίδη, Dormex (δόση 4 l/hl) + μη ιονικός διαβρεχτής (προσκολιτικό) Rhino(δόση 100 ml/hl)
- Erger 6 l/hl + Activ Erger 8 l/hl

2.6) Δειγματοληψία

Η δειγματοληψία βλαστών άρχισε να πραγματοποιείται από τα τέλη Νοεμβρίου (18/11/2013), όπου συλλέγονταν συνολικά 10 βλαστοί, ανά επανάληψη (συνολικά 7 επαναλήψεις), από τα δέντρα ανά 7-10 ημέρες, μέχρι τα τέλη Ιανουαρίου (20/01/2014). Τα δείγματα αυτά αποτελούν ουσιαστικά τον μάρτυρα, για να εξεταστεί η πορεία μεταβολών κατά την διάρκεια του ενδοληθάργου. Από τους 10 αυτούς βλαστούς, λαμβάνονται οφθαλμοί από, τουλάχιστον, 7 βλαστούς και τοποθετούνται στην κατάψυξη (- 20^o C). Οι υπόλοιποι βλαστοί τοποθετούνται μέσα σε ειδικό θάλαμο (24^o C), με την βάση τους βυθισμένη σε νερό, για μια εβδομάδα. Μετά το πέρας της εβδομάδας μετρήθηκε το ποσοστό έκπτυξης των οφθαλμών και καταγράφηκε η ημερομηνία έναρξης έκπτυξης των οφθαλμών. Μετά τις εφαρμογές των σκευασμάτων στον οπωρώνα (τέλη Ιανουαρίου), πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες ανθοφόρων οφθαλμών ανά 10 μέρες, από 10-12 βλαστούς ανά επανάληψη (6 επαναλήψεις συνολικά) ξεχωριστά ανά επέμβαση. Από αυτούς τους 10-12 βλαστούς, λαμβάνονται οφθαλμοί από, τουλάχιστον, 7 βλαστούς και τοποθετούνται στην κατάψυξη ενώ οι υπόλοιποι βλαστοί τοποθετήθηκαν στον θάλαμο με την βάση τους βυθισμένη σε νερό για την ίδια εκτίμηση (ξεχωριστά ανά επέμβαση).

Στους οφθαλμούς που συλλέχτηκαν μετρήθηκαν: τα ολικά φαινολικά, αντιοξειδωτική ικανότητα (εκφρασμένη με την μέθοδο της FRAP και της DPPH) και οι πολυαμίνες (ελεύθερες και διαλυτές δεσμευμένες και αδιάλυτες δεσμευμένες).

2.7) Αναλύσεις φαινολικών, αντιοξειδωτικής ικανότητας και πολυναμινών

Οι βλαστοί αποθηκεύονται στον καταψύκτη (- 20° C). Αφού λειοφυλιθούν και λειοτρυβιθούν ζυγίζονται 100 mg (2 επαναλήψεις), με την χρήση ζυγού ακριβείας. Προσθέτουμε 3 ml Methanol (100%) και στην συνέχεια τα τοποθετούμε στο υδατόλουτρο (40° C), για περίπου 30 λεπτά. Έπειτα τα φυγοκεντρούμε (4000 rpm), για 6 λεπτά και παίρνουμε το υπερκείμενο. Προσθέτουμε 3 ml Methanol (100%) και επαναλαμβάνουμε την διαδικασία. Το υπερκείμενο που θα πάρουμε την δεύτερη φορά το χρησιμοποιούμε για την μέτρηση των ολικών φαινολικών, φλαβανόλων, ορθοδιφαινολών, φλαβανόλων και αντιοξειδωτικής ικανότητας (εκφρασμένη με την μέθοδο της DPPH και της FRAP).

Φαινολικά

Μέτρηση ολικών φιανολικών:

Η μέτρηση των ολικών φαινολικών πραγματοποιήθηκε με το φωτόμετρο Unicam Hellios γ, με την μέθοδο των Roussos et al., (2011). Η συγκέντρωση των ολικών φιανολικών προσδιορίστηκε με πρότυπη ένωση το γαλλικό οξύ και εκφράστηκε σε mg ισοδύναμα γαλλικού οξέος ανά g ξηρού βάρους ιστού.

Μέτρηση φλαβονοειδών:

Η μέτρηση των φλαβονοειδών πραγματοποιήθηκε με το φωτόμετρο Unicam Hellios γ, με την μέθοδο των Roussos et al., (2011). Η συγκέντρωση των φλαβονοειδών προσδιορίστηκε με πρότυπη ένωση την κατεχείνη και εκφράστηκε σε mg ισοδύναμα κατεχείνης ανά g ξηρού βάρους ιστού.

Μέτρηση ορθοδιφενολών:

Η μέτρηση των ορθοδιφαινολών πραγματοποιήθηκε με το φωτόμετρο Unicam Hellios γ, με την μέθοδο των Roussos et al., (2011). Η συγκέντρωση των ορθοδιφενολών προσδιορίστηκε με πρότυπη ένωση το καφεϊκό οξύ και εκφράστηκε σε mg ισοδύναμα καφείκου οξέος ανά g ξηρού βάρους ιστού.

Μέτρηση ολικών φλαβανόλων:

Η μέτρηση των φλαβανόλων πραγματοποιήθηκε με το φωτόμετρο Unicam Hellios γ, με την μέθοδο των Roussos et al., (2011). Η συγκέντρωση των ολικών φλαβανόλων προσδιορίστηκε με πρότυπη ένωση κατεχείνη και εκφράστηκε σε mg ισοδύναμα κατεχείνης ανά g ξηρού βάρους ιστού.

Αντιοξειδωτική ικανότητα

Μέτρηση DPPH:

Η μέτρηση της DPPH πραγματοποιήθηκε με το φωτόμετρο Unicam Hellios γ, με την μέθοδο των Roussos et al., (2011). Η συγκέντρωση της DPPH προσδιορίστηκε με πρότυπη ένωση trolox και εκφράστηκε σε mg ισοδύναμα trolox ανά g ξηρού βάρους ιστού.

Μέτρηση FRAP:

Η μέτρηση της FRAP πραγματοποιήθηκε με το φωτόμετρο Unicam Hellios γ με την μέθοδο των Roussos et al., (2011). Η συγκέντρωση της FRAP προσδιορίστηκε με πρότυπη ένωση trolox και εκφράστηκε σε mg ισοδύναμα trolox ανά g ξηρού βάρους ιστού.

Πολυαμίνες

Μέτρηση ελεύθερων και διαλυτών δεσμευμένων πολυαμινών:

Για τον προσδιορισμό της συγκεντρώσεις των διαλυτών αδέσμευτων πολυαμινών χρησιμοποιήθηκε η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC) με βάση την μέθοδο των Roussos et al., (2011). Συγκεκριμένα οι πολυαμίνες, των οποίων προσδιορίστηκε η συγκέντρωση είναι:

- Η ποντρεσκίνη (Put)
- Η σπερμιδίνη (Spd)
- Η σπερμίνη (Spm)

Ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας σαν εσωτερικό πρότυπο την εξαδιαμίνη (Hexanediamine).

Μέτρηση των αδιάλυτων δεσμευμένων πολυαμινών:

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ελεύθερων πολυαμινών χρησιμοποιήθηκε η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC) με βάση την μέθοδο των Roussos et al., (2011). Συγκεκριμένα οι πολυαμίνες, των οποίων προσδιορίστηκε η συγκέντρωση είναι:

- Η πουτρεσκίνη (Put)
- Η σπερμιδίνη (Spd)
- Η σπερμίνη (Spm)

Ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας σαν εσωτερικό πρότυπο την εξαδιαμίνη (Hexanediamine).

2.8) Στατιστική επεξεργασία

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση διασποράς (ANOVA) ως διπαραγοντικό πείραμα (με παράγοντες το χρόνο δειγματοληψίας μετά τις εφαρμογές των σκευασμάτων και τις επεμβάσεις με τα σκευάσματα) για το χρονικό διάστημα από τις εφαρμογές των σκευασμάτων μέχρι τη διακοπή του ληθάργου. Για το χρονικό διάστημα από την έναρξη του πειράματος μέχρι και την εφαρμογή των σκευασμάτων (επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας στα βιοχημικά χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν).

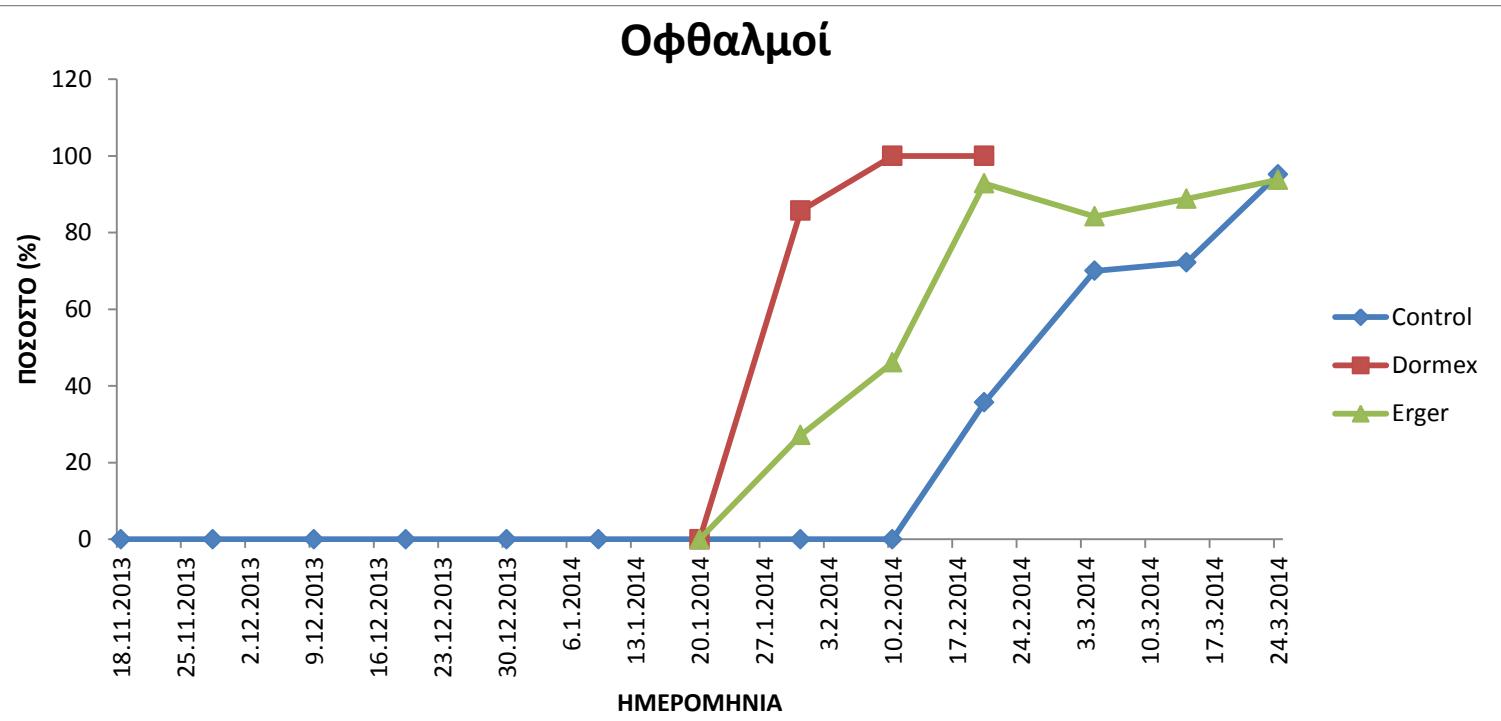
Για την διευκόλυνση της στατιστικής ανάλυσης, το πείραμα διαιρέθηκε σε 3 φάσεις

- 1 φάση: Το πείραμα είναι μονοπαραγοντικό, όπου έχουμε τις μετρήσεις μόνο του μάρτυρα.
- 2 φάση: Το πείραμα είναι διπαραγοντικό, όπου έχουμε τις μετρήσεις του μάρτυρα, Dormex, Erger στην μονάδα του χρόνου.
- 3 φάση: Το πείραμα είναι διπαραγοντικό, όπου έχουμε τις μετρήσεις του μάρτυρα και του Erger στην μονάδα του χρόνου.

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση διασποράς με τις σημαντικές διαφορές να προσδιορίζονται σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey HSD σε επίπεδο σημαντικότητας $a=0.05$. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα StatGraphics Centurion XVI.I.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρήθηκε ότι πριν από τον ψεκασμό όλοι οι οφθαλμοί βρίσκονται σε λήθαργο. Μετά τον ψεκασμό παρατηρήθηκε, ότι το Dormex προώθησε νωρίτερα την διακοπή του ληθάργου από το Erger και τον μάρτυρα. Συγκεκριμένα, μόλις στην πρώτη δειγματοληψία το ποσοστό οφθαλμών, που έχουν διακόψει τον λήθαργο, είναι στο 85%, ενώ στην δεύτερη δειγματοληψία όλοι οι οφθαλμοί έχουν διακόψει τον λήθαργο. Αντίστοιχα για το Erger παρατηρήθηκε, ότι από την πρώτη δειγματοληψία το ποσοστό των οφθαλμών που έχουν διακόψει το λήθαργο, είναι στο 30% και στην τρίτη δειγματοληψία το ποσοστό των οφθαλμών που έχουν διακόψει το λήθαργο είναι 93%.



Διάγραμμα 3.1. Ποσοστό οφθαλμών που διακόπτουν τον λήθαργο.

Πίνακας 3.1. Επίδραση του χρόνου και των επεμβάσεων στις συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών, φλαβονοειδών, φλαβανολών, ορθοδιφαινολών, DPPH, FRAP.

Μετρούμενες Παράμετροι	Χρόνος	Επέμβαση	Χρόνος x Επέμβαση
2 φάση			
Ποσοστό έκπτυξης (%)			
Ολικά φαινολικά	*	*	**
Φλαβονοειδή	ns	***	***
Φλαβανόλες	ns	**	*
Ορθοδιφαινόλες	ns	ns	*
DPPH	ns	ns	ns
FRAP	**	ns	**
3 φάση			
Ποσοστό έκπτυξης (%)			
Ολικά φαινολικά	*	***	*
Φλαβονοειδή	ns	***	***
Φλαβανόλες	***	***	***
Ορθοδιφαινόλες	*	***	*
DPPH	ns	ns	*
FRAP	*	**	ns

ns: not significant *: p < 0,05; ** : p< 0,01; *** : p< 0,001.

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι στην δεύτερη φάση ο χρόνος δειγματοληψίας επηρέασε σημαντικά την συγκέντρωση των ολικών φαινολικών και την αντιοξειδωτική ικανότητα μετρούμενη με την μέθοδο της FRAP. Ο παράγοντας επέμβαση, αντίστοιχα, επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών, των φλαβονοειδών και των φλαβανολών. Η αλληλεπίδραση χρόνου δειγματοληψίας και επέμβασης επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις των ολικών

φαινολικών, των φλαβονοειδών, των φλαβανολών, των ορθοδιφαινολών και την αντιοξειδωτική ικανότητα μετρούμενη με την μέθοδο της FRAP.

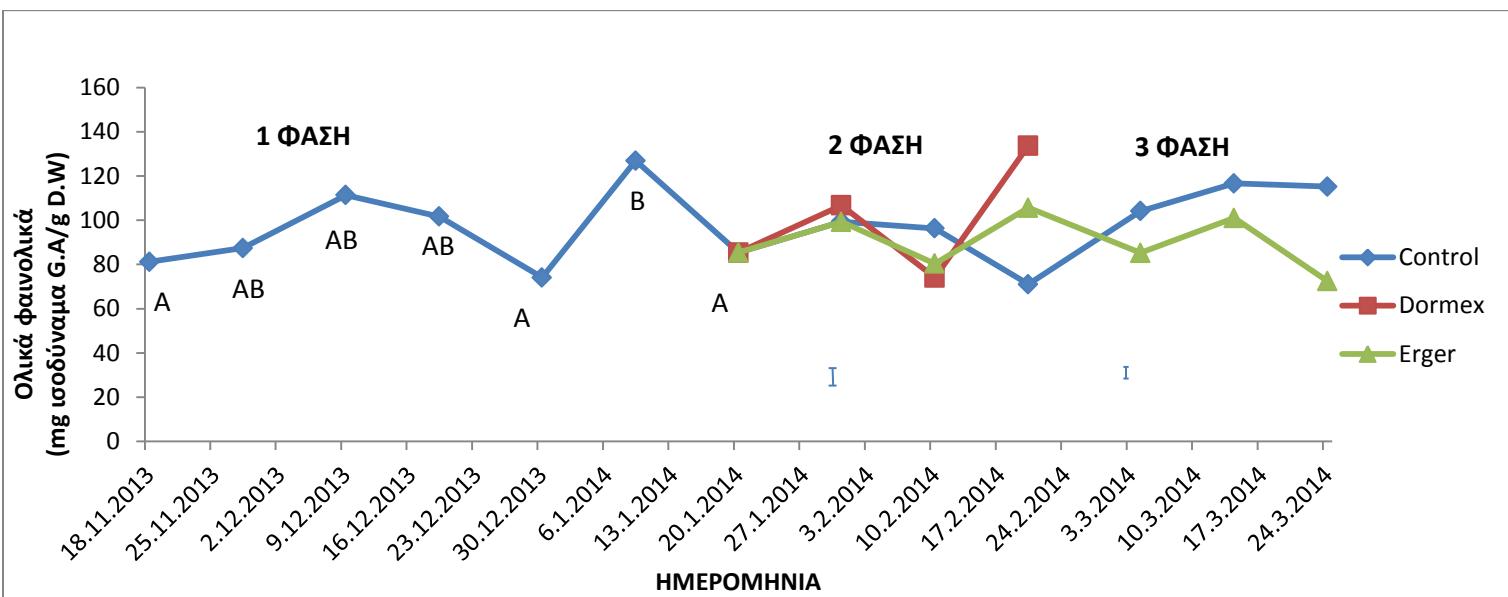
Στην τρίτη φάση ο χρόνος δειγματοληψίας επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών, των φλαβανολών, των ορθοδιφαινολών και την αντιοξειδωτική ικανότητα μετρούμενη με την μέθοδο της FRAP. Ο παράγοντας επέμβαση επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών, των φλαβονοειδών, των φλαβανολών, των ορθοδιφαινολών και την αντιοξειδωτική ικανότητα μετρούμενη με την μέθοδο της FRAP. Η αλληλεπίδραση χρόνου δειγματοληψίας και επέμβασης επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών, τα φλαβονοειδών, των φλαβανολών, των ορθοδιφαινολών και την αντιοξειδωτική ικανότητα μετρούμενη με την μέθοδο της DPPH.

3.1) Ολικά φαινολικά

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών παρουσιάζει μια αύξηση κατά την έκτη δειγματοληψία (μεταξύ 6/1 και 13/1), η οποία διαφέρει σημαντικά από την πρώτη (18/11) και την πέμπτη δειγματοληψία (30/12).

Στην δεύτερη φάση, η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών, είναι υψηλότερη κατά την τρίτη δειγματοληψία. Υψηλότερη συγκέντρωση ολικών φαινολικών παρατηρείται στους οφθαλμούς που δέχτηκαν επέμβαση με Dormex, ιδιαίτερα κατά την τελευταία δειγματοληψία (17/2).

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών παρατηρείται στον μάρτυρα, ενώ παρουσιάζει μια αύξηση κατά την δεύτερη δειγματοληψία, ανεξαρτήτου επέμβασης. Την υψηλότερη συγκέντρωση ολικών φαινολικών παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα κατά την τελευταία δειγματοληψία, ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger το ίδιο χρονικό διάστημα.



Διάγραμμα 3.2. Μεταβολή των ολικών φαινολικών κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν.

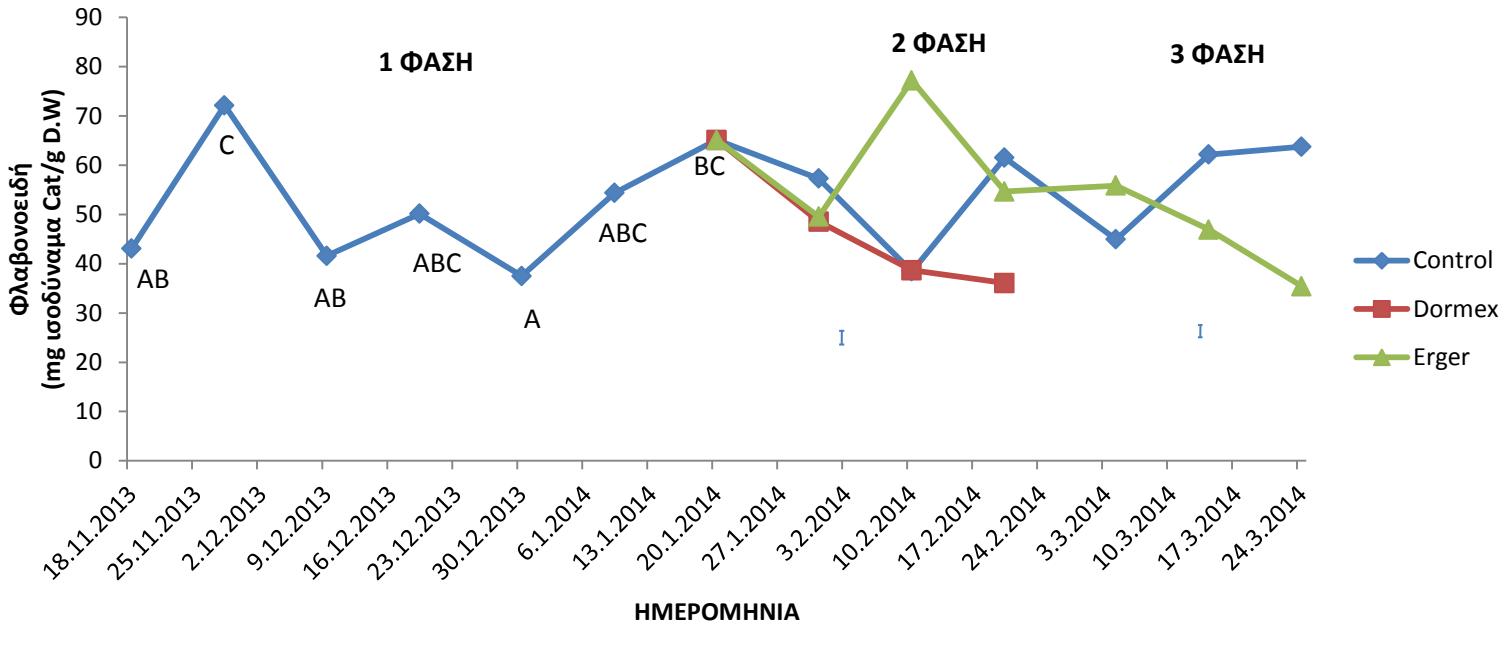
G.A:γαλλικό οξύ. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

3.2) Φλαβονοειδή

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση των φλαβονοειδών παρουσιάζει μια αύξηση κατά τις 25/11 (δεύτερη δειγματοληψία), η οποία διαφέρει σημαντικά από την πρώτη (18/11) και την τρίτη δειγματοληψία (2/12).

Στην δεύτερη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση φλαβονοειδών παρατηρείται στους οφθαλμούς που δέχτηκαν επέμβαση με Erger, ιδιαίτερα κατά την δεύτερη δειγματοληψία (10/2), ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Dormex, κατά την τρίτη δειγματοληψία.

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση των φλαβονοειδών παρατηρείται στον μάρτυρα. Την υψηλότερη συγκέντρωση φλαβονοειδών παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα κατά την τελευταία δειγματοληψία, ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger το ίδιο χρονικό διάστημα.



Διάγραμμα 3.3. Μεταβολή των φλαβανοειδών κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν.

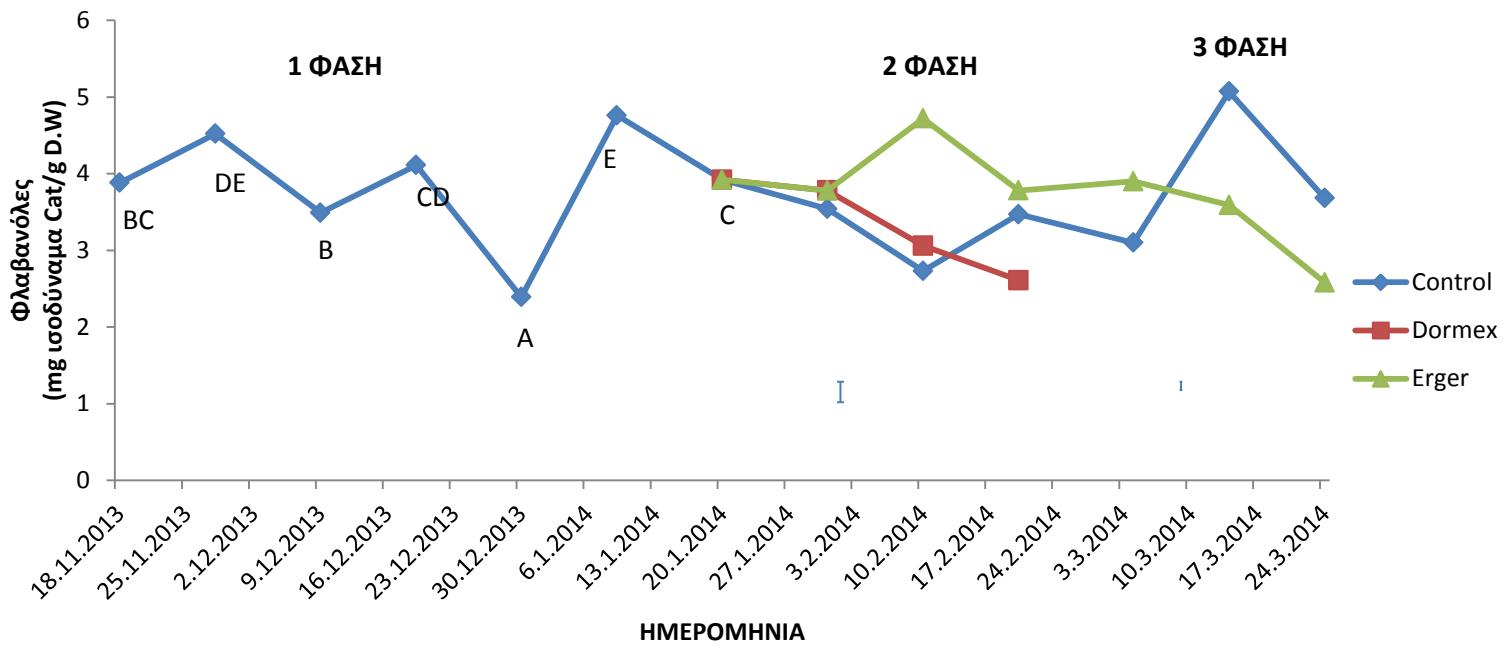
Cat:κατιχείνη. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

3.3) Φλαβανολες

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση των φλαβανόλων παρουσιάζει μια αύξηση κατά την έκτη δειγματοληψία (μεταξύ 6/1 και 13/1), η οποία διαφέρει σημαντικά από την πέμπτη δειγματοληψία (30/12).

Στην δεύτερη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση των φλαβανόλων παρατηρείται στους οφθαλμούς που δέχτηκαν επέμβαση με Erger, ιδιαίτερα κατά την δεύτερη δειγματοληψία (10/2), ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δεν δέχτηκαν επέμβαση το ίδιο χρονικό διάστημα.

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση των φλαβανόλων παρατηρείται στον μάρτυρα, ενώ παρουσιάζει μια αύξηση κατά την δεύτερη δειγματοληψία, ανεξαρτήτου επέμβασης. Την υψηλότερη συγκέντρωση φλαβανόλων παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα κατά την δεύτερη δειγματοληψία, ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger κατά την τρίτη δειγματοληψία.



Διάγραμμα 3.4. Μεταβολή των φλαβανολών κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν.

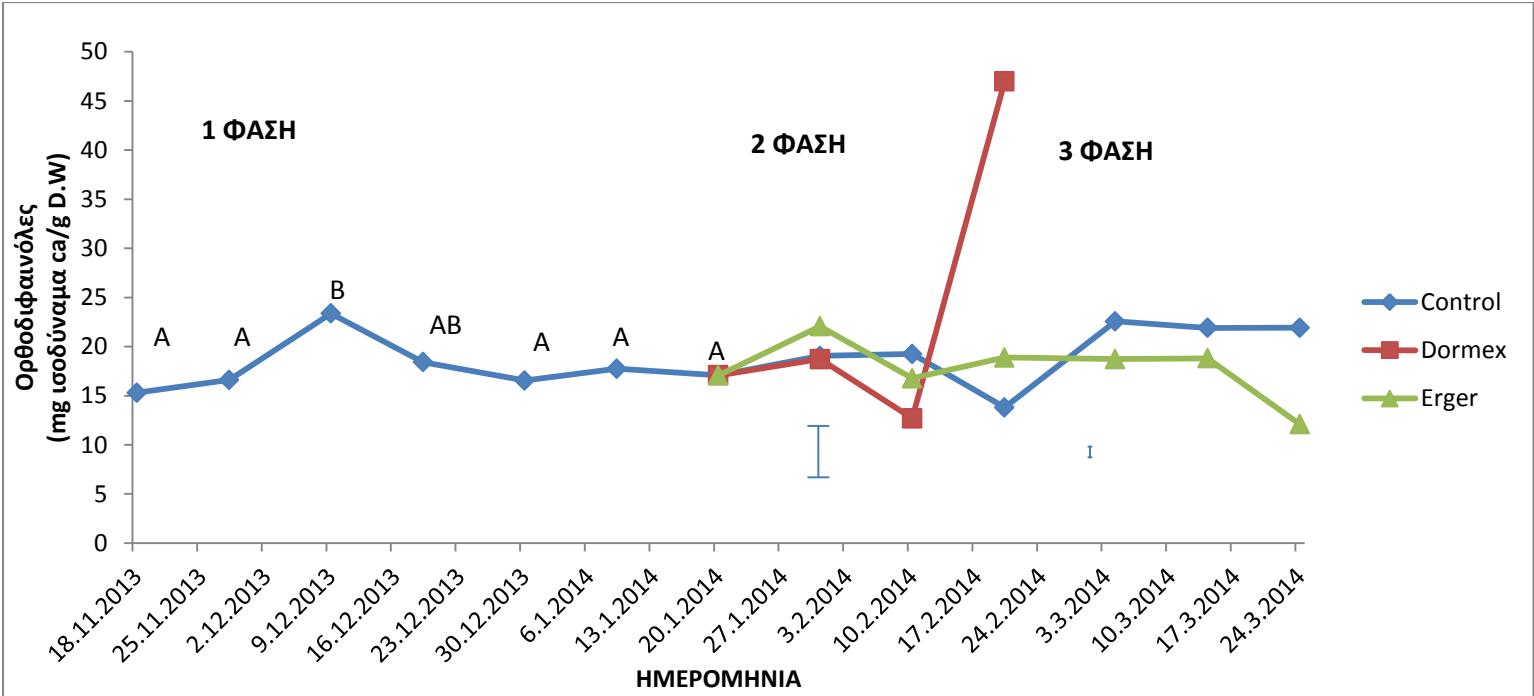
Cat: κατιχείνη. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

3.4) Ορθοδιφαινολες

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση των ορθοδιφαινολών παρουσιάζει μια αύξηση κατά τις 9/12 (τρίτη δειγματοληψία) και διαφέρει σημαντικά από τις αρχικές και τελικές δειγματοληψίες.

Στην δεύτερη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση των ορθοδιφαινολών παρατηρείται κατά τις 17/2 (τρίτη δειγματοληψία).

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση των ορθοδιφαινολών παρατηρείται στον μάρτυρα, ενώ παρουσιάζει μια αύξηση κατά την πρώτη δειγματοληψία, ανεξαρτήτου επέμβασης. Την υψηλότερη συγκέντρωση ορθοδιφαινολών παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα κατά την τελευταία δειγματοληψία, ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger το ίδιο χρονικό διάστημα.



Διάγραμμα 3.5. Μεταβολή των ορθοδιφαινολών κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν.

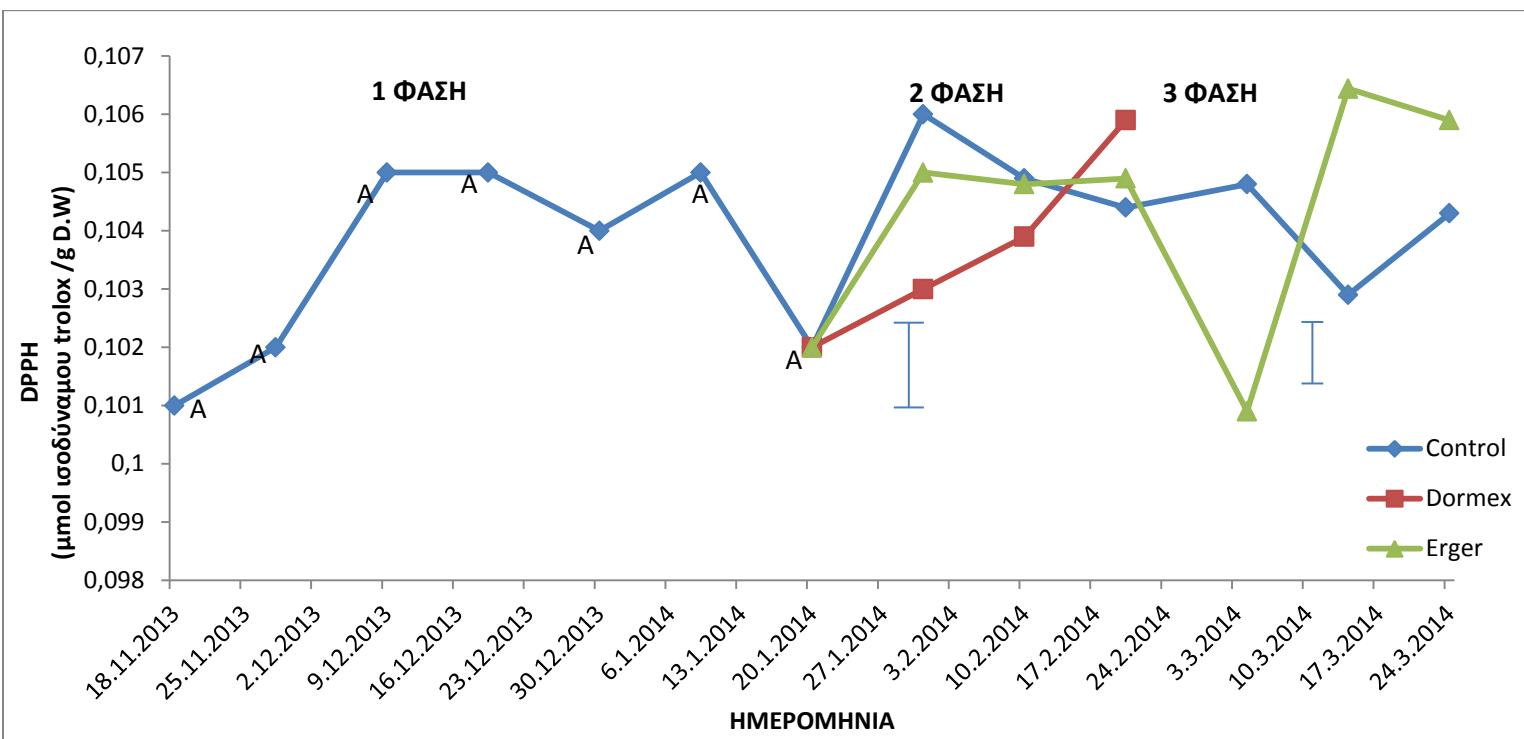
Σα:καφείκο οξύ. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

3.5) DPPH

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η αντιοξειδωτική ικανότητα (εκφρασμένη με την μέθοδο της DPPH) παρουσιάζει μια αύξηση κατά τις 9/12 (τρίτη δειγματοληψία) και δεν διαφέρει σημαντικά από τις υπόλοιπες δειγματοληψίες.

Στην δεύτερη φάση, η DPPH δεν διαφέρει σημαντικά.

Στην τρίτη φάση η DPPH παρουσιάζει μια αύξηση κατά την δεύτερη δειγματοληψία, ανεξαρτήτου επέμβασης.



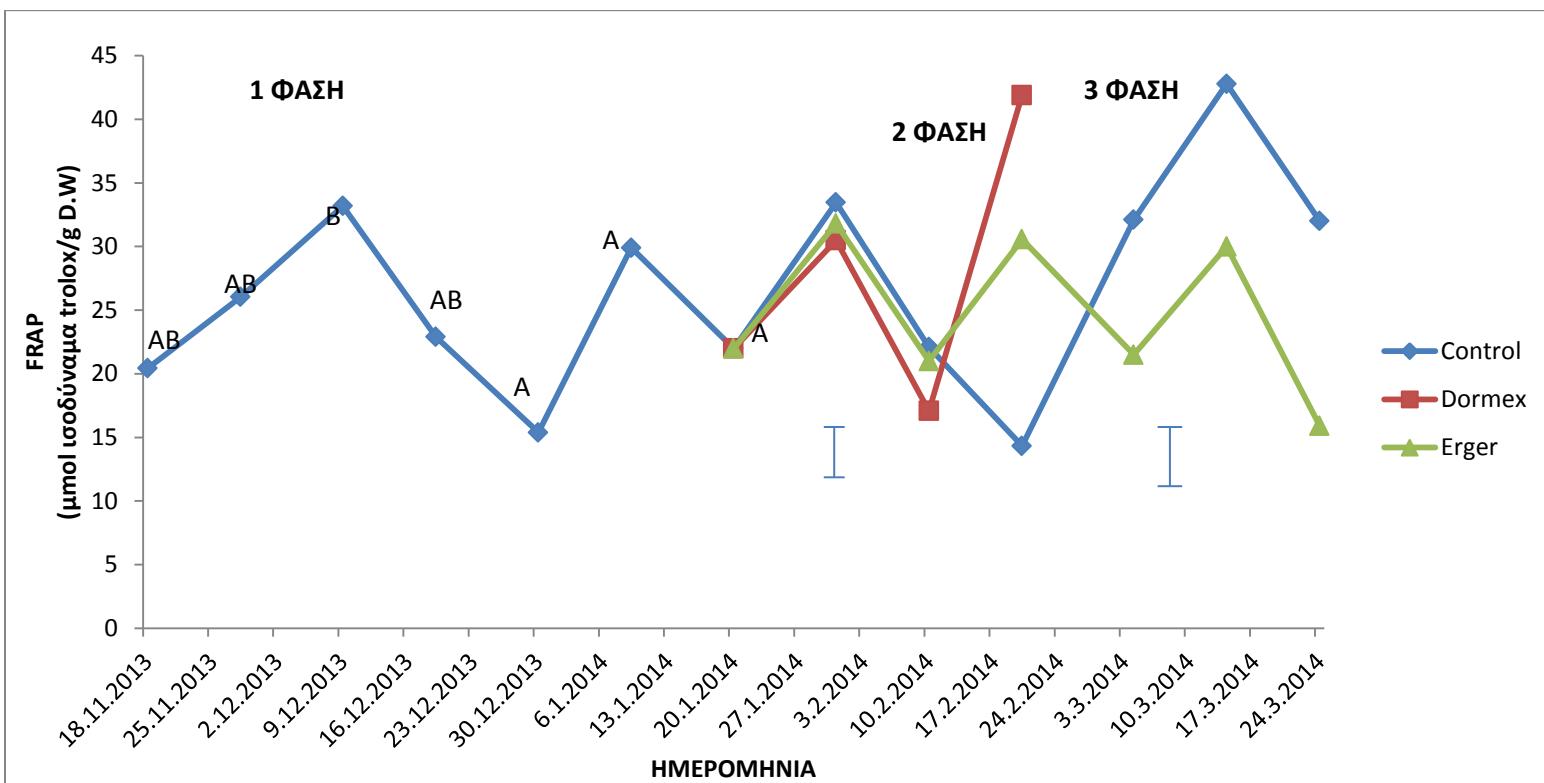
Διάγραμμα 3.6. Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας (εκφρασμένη με την μέθοδο της DPPH) κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

3.6) FRAP

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρήθηκε, ότι στην πρώτη φάση, η αντιοξειδωτική ικανότητα (εκφρασμένη με την μέθοδο της FRAP) παρουσιάζει μια αύξηση κατά τις 9/12 (τρίτη δειγματοληψία) και διαφέρει σημαντικά από την πρώτη (18/11), δεύτερη (25/11) και την τέταρτη δειγματοληψία (16/12).

Στην δεύτερη φάση η FRAP είναι υψηλότερη κατά την τρίτη δειγματοληψία.

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη FRAP παρατηρείται στον μάρτυρα. Την υψηλότερη FRAP παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα κατά την δεύτερη δειγματοληψία, ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger κατά την τρίτη δειγματοληψία.



Διάγραμμα 3.7. Μεταβολή της αντοξειδωτικής ικανότητας (εκφρασμένη με την μέθοδο της FRAP) κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

3.7) Ελεύθερες και διαλυτές δεσμευμένες πολυαμίνες (ΕΔΔ)

Πίνακας 3.2. Επίδραση του χρόνου και των επεμβάσεων στις συγκεντρώσεις των ελεύθερων και διαλυτών δεσμευμένων πολυαμινών.

Ελεύθερες και Διαλυτές Δεσμευμένες Πολυαμίνες	Χρόνος	Επέμβαση	Χρόνος x Επέμβαση
		2 φάση	
Put	*	*	*
Spd	*	*	*
Spm	ns	ns	ns
Σύνολο	***	ns	ns
		3 φάση	
Put	*	*	*
Spd	*	*	*
Spm	*	**	**
Σύνολο	*	*	*

ns: not significant *: p < 0,05; ** : p< 0,01; *** : p< 0,001.

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι στην δεύτερη φάση ο χρόνος δειγματοληψίας επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης, καθώς και το άθροισμα πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης. Οι επεμβάσεις, αντίστοιχα, επηρέασαν σημαντικά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης και της σπερμιδίνης. Υπήρξε σημαντική αλληλεπίδραση όσον αφορά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης και της σπερμιδίνης.

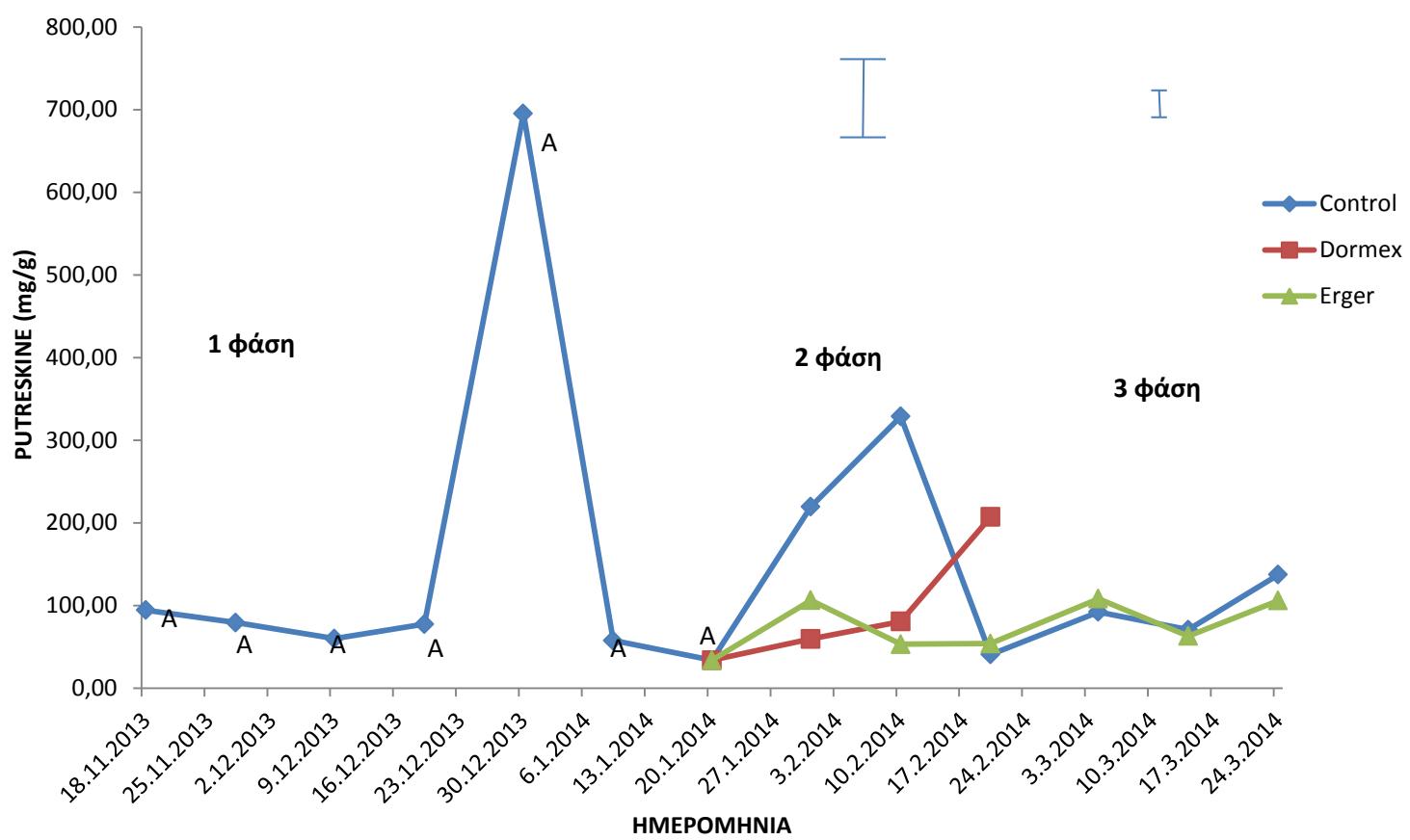
Στην τρίτη φάση ο χρόνος δειγματοληψίας επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης, της σπερμίνης καθώς και το άθροισμα πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης. Οι επεμβάσεις επηρέασαν σημαντικά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης, της σπερμίνης καθώς και το

άθροισμα πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης. Υπήρξε σημαντική αλληλεπίδραση όσον αφορά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης, της σπερμίνης καθώς και το άθροισμα πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση της πουτρεσκίνης, στις ελεύθερες και διαλυτές δεσμευμένες πολυαμίνες, παρουσιάζει μια αύξηση κατά τις 30/12 (πέμπτη δειγματοληψία) και δεν διαφέρει σημαντικά από τις υπόλοιπες δειγματοληψίες.

Στην δεύτερη φάση, η συγκέντρωση της πουτρεσκίνης, στις ελεύθερες και διαλυτές δεσμευμένες πολυαμίνες, είναι υψηλότερη κατά την δεύτερη δειγματοληψία. Υψηλότερη συγκέντρωση πουτρεσκίνης παρατηρείται στους οφθαλμούς του μάρτυρα, ιδιαίτερα κατά την δεύτερη δειγματοληψία (10/2).

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση της πουτρεσκίνης, στις ελεύθερες και διαλυτές δεσμευμένες πολυαμίνες, παρατηρείται στον μάρτυρα, ενώ παρουσιάζει μια αύξηση κατά την πρώτη δειγματοληψία, ανεξαρτήτου επέμβασης. Την υψηλότερη συγκέντρωση πουτρεσκίνης παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα κατά την τελευταία δειγματοληψία, ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger στην δεύτερη δειγματοληψία (17/3).

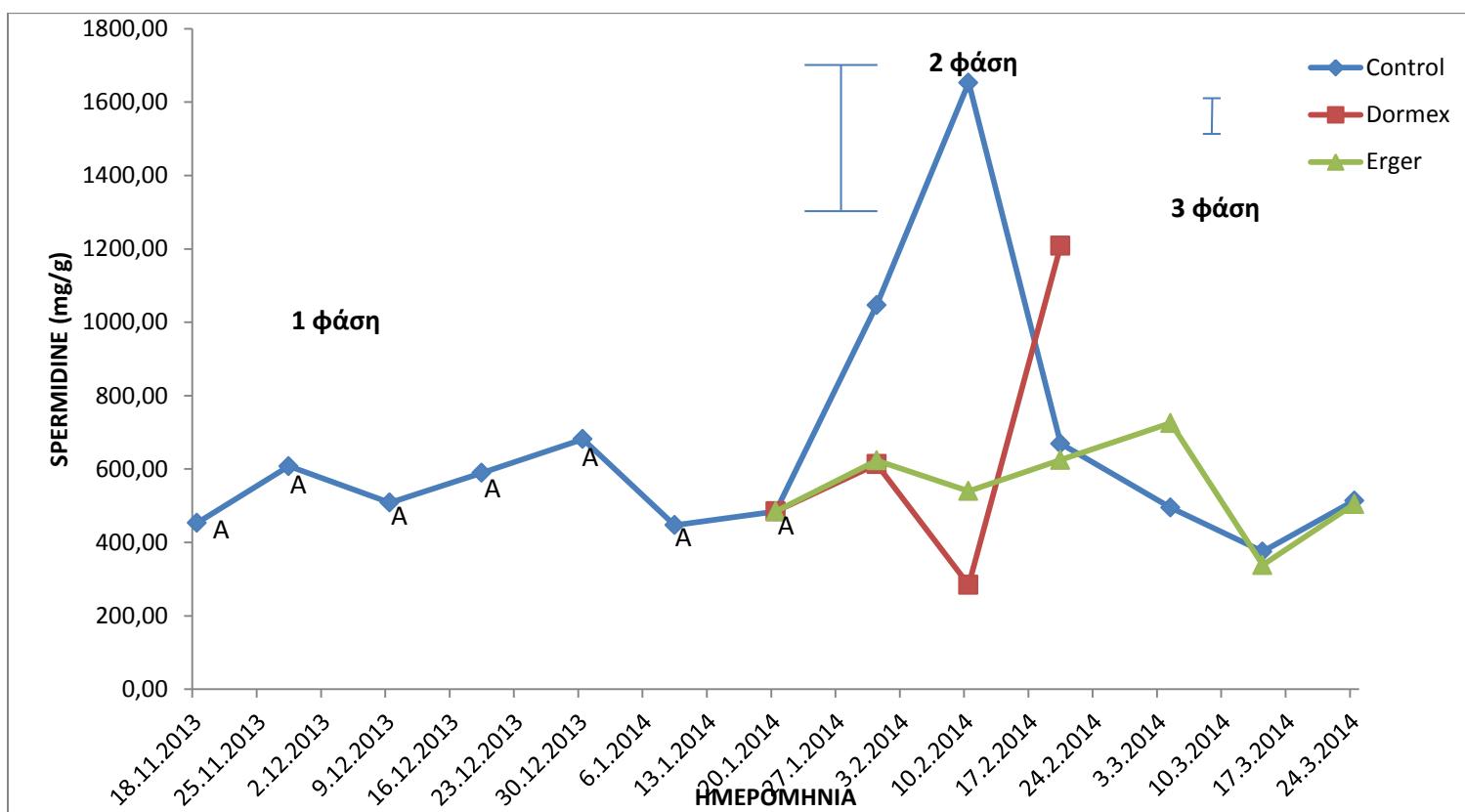


Διάγραμμα 3.8. Μεταβολή της πουτρεσκίνης (ΕΔΔ πολυαμινές) κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση της σπερμιδίνης, παρουσιάζει μια αύξηση κατά τις 30/12 (πέμπτη δειγματοληψία) και δεν διαφέρει σημαντικά από τις υπόλοιπες δειγματοληψίες.

Στην δεύτερη φάση, η συγκέντρωση της σπερμιδίνης, είναι υψηλότερη κατά την δεύτερη δειγματοληψία. Υψηλότερη συγκέντρωση σπερμιδίνης παρατηρείται στους οφθαλμούς του μάρτυρα, ιδιαίτερα κατά την δεύτερη δειγματοληψία (10/2).

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση της σπερμιδίνης, παρατηρείται στους οφθαλμούς που δέχτηκαν επέμβαση με Erger. Την υψηλότερη συγκέντρωση σπερμιδίνης παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger κατά την πρώτη δειγματοληψία.

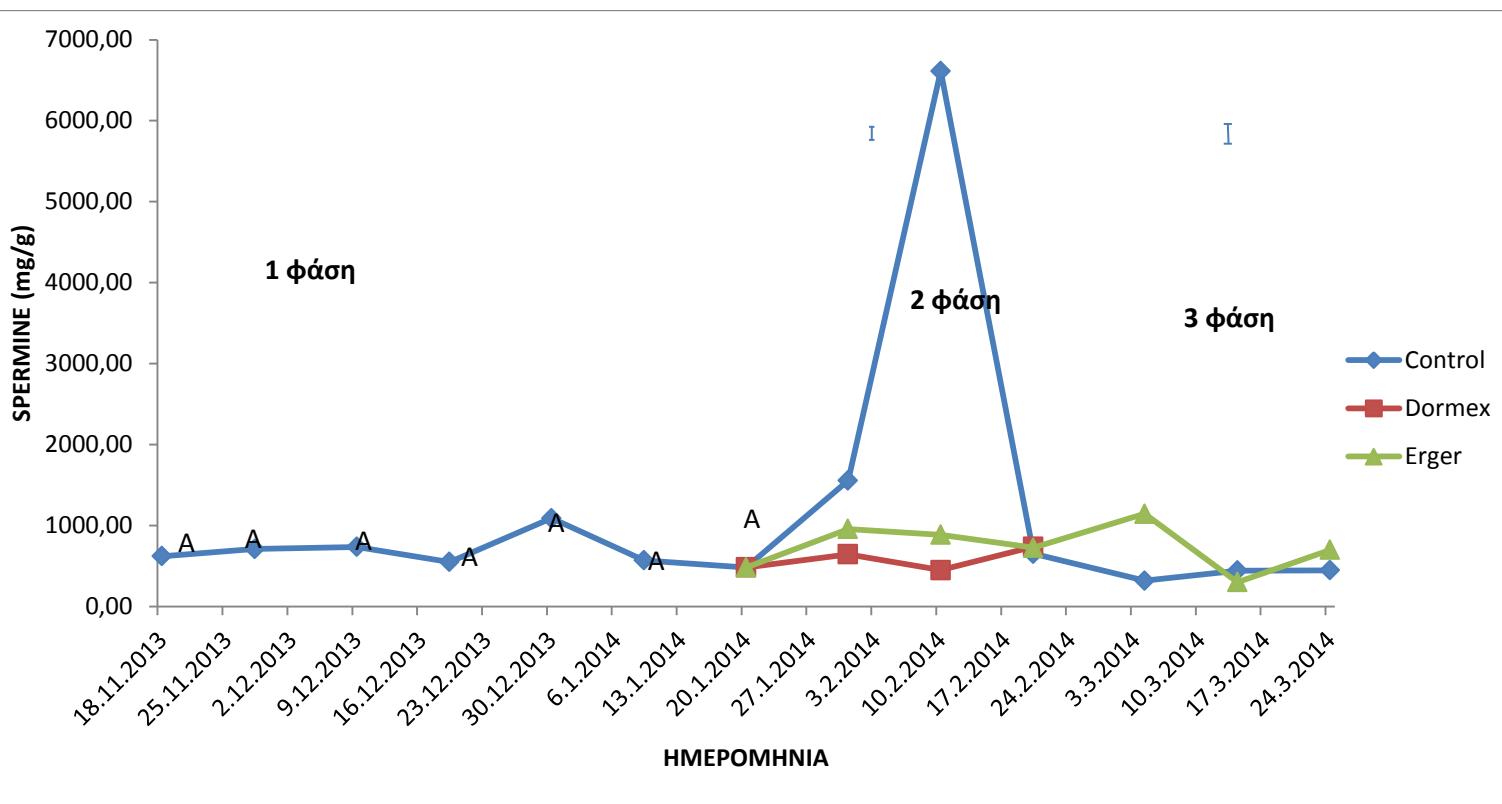


Διάγραμμα 3.9. Μεταβολή της σπερμιδίνης (ΕΔΔ πολυαμίνες) κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση της σπερμίνης, δε παρουσιάζει σημαντικές μεταβολές.

Στην δεύτερη φάση, η συγκέντρωση της σπερμίνης, στις δεσμευμένες πολυαμίνες, δεν διαφέρει σημαντικά.

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση της σπερμίνης, στις δεσμευμένες πολυαμίνες, παρατηρείται στους οφθαλμούς που δέχτηκαν επέμβαση με Erger. Την υψηλότερη συγκέντρωση σπερμίνης παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger κατά την πρώτη δειγματοληψία, ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα το ίδιο χρονικό διάστημα.



Διάγραμμα 3.10. Μεταβολή της σπερμίνης (ΕΔΔ πολυαμινές) κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

3.8) Αδιάλυτες δεσμευμένες πολυαμίνες (ΑΔ)

Πίνακας 3.3. Επίδραση του χρόνου και των επεμβάσεων στις συγκεντρώσεις των αδιάλυτων και δεσμευμένων πολυαμινών.

Αδιάλυτες	Χρόνος	Επέμβαση	Χρόνος x Επέμβαση
Δεσμευμένες			2 φάση
Πολυαμίνες			
Put	*	*	*
Spd	***	ns	***
Spm	*	*	*
Σύνολο	**	**	**
3 φάση			
Put	*	*	*
Spd	*	*	*
Spm	**	*	*
Σύνολο	**	*	*

ns: not significant *: p < 0,05; ** : p< 0,01; *** : p< 0,001.

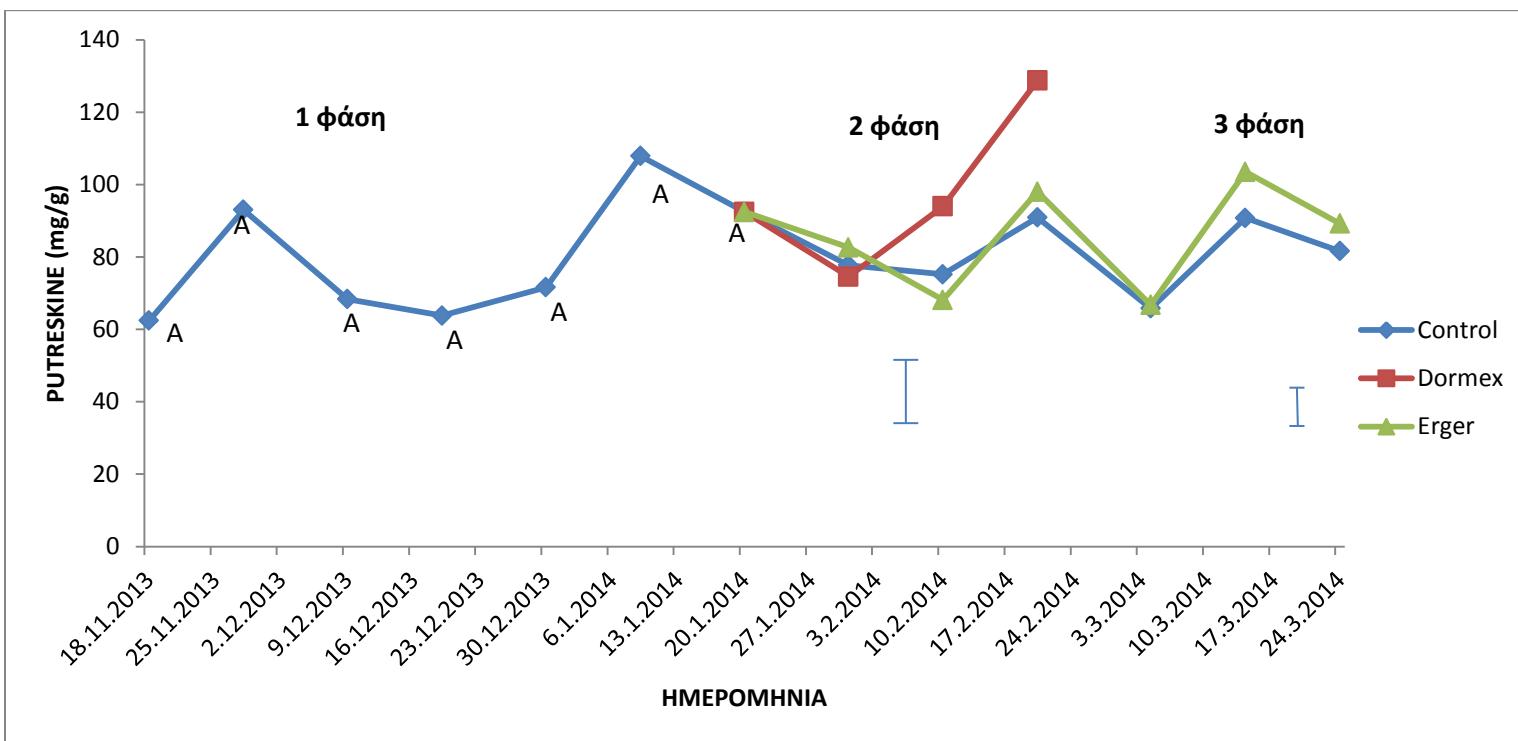
Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι στην δεύτερη φάση ο χρόνος δειγματοληψίας επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης, της σπερμίνης, καθώς και το άθροισμα πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης. Οι επεμβάσεις, αντίστοιχα, επηρέασαν σημαντικά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμίνης, καθώς και το άθροισμα πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης. Υπήρξε σημαντική αλληλεπίδραση όσον αφορά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης, της σπερμίνης, καθώς και το άθροισμα πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης, της σπερμίνης, καθώς και το άθροισμα πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης.

Στην τρίτη φάση ο χρόνος δειγματοληψίας επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης, της σπερμίνης καθώς και το άθροισμα πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης. Οι επεμβάσεις επηρέασαν σημαντικά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης, της σπερμίνης καθώς και το άθροισμα πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης. Υπήρξε σημαντική αλλεπίδραση όσον αφορά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης, της σπερμίνης καθώς και το άθροισμα πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση της πουτρεσκίνης, στις αδιάλυτες δεσμευμένες πολυαμίνες, δεν παρουσιάζει σημαντικές μεταβολές στο χρόνο.

Στην δεύτερη φάση, η συγκέντρωση της πουτρεσκίνης, στις αδιάλυτες δεσμευμένες πολυαμίνες, είναι υψηλότερη κατά την τρίτη δειγματοληψία. Υψηλότερη συγκέντρωση πουτρεσκίνης παρατηρείται στους οφθαλμούς που δέχτηκαν επέμβαση με Dormex, ιδιαίτερα κατά την τελευταία δειγματοληψία (17/2).

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση της πουτρεσκίνης, στις αδιάλυτες δεσμευμένες πολυαμίνες, παρατηρείται στους οφθαλμούς που δέχτηκαν επέμβαση με Erger. Την υψηλότερη συγκέντρωση πουτρεσκίνης παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger κατά την δεύτερη δειγματοληψία (17/3), ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα αλλά και οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger κατά την πρώτη δειγματοληψία (3/3).

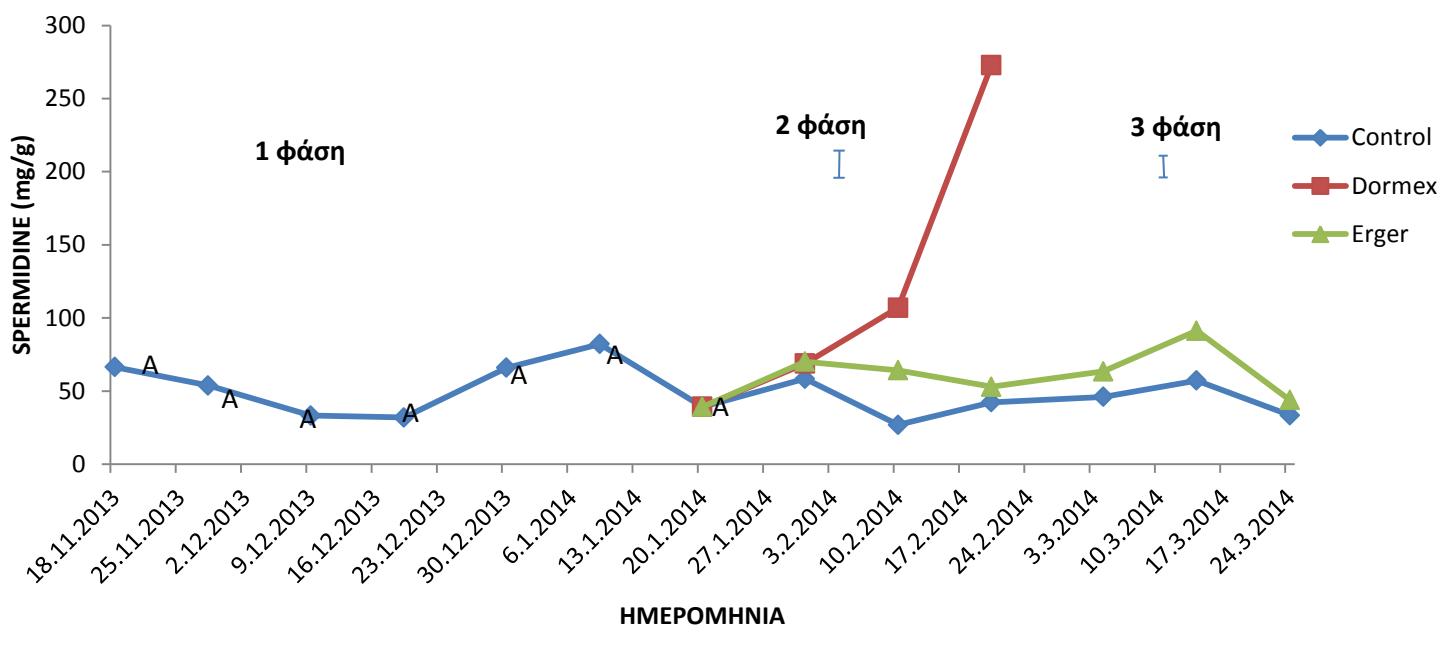


Διάγραμμα 3.11. Μεταβολή της πουτρεσκίνης (ΑΔ πολυαμίνες) κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση της σπερμιδίνης, παρουσιάζει μια αύξηση κατά την έκτη δειγματοληψία (μεταξύ 6/1 και 13/1) χωρίς όμως να διαφέρει σημαντικά από τις υπόλοιπες δειγματοληψίες.

Στην δεύτερη φάση η συγκέντρωση της σπερμιδίνης, στις αδιάλυτες δεσμευμένες πολυαμίνες, είναι υψηλότερη κατά την τρίτη δειγματοληψία ιδιαίτερα σε οφθαλμούς που δέχθηκαν επέμβαση με Dormex.

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση της σπερμιδίνης, στις αδιάλυτες δεσμευμένες πολυαμίνες, παρατηρείται στους οφθαλμούς που δέχτηκαν επέμβαση με Erger. Την υψηλότερη συγκέντρωση σπερμιδίνης παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger κατά την δεύτερη δειγματοληψία, ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα κατά την τελευταία δειγματοληψία.

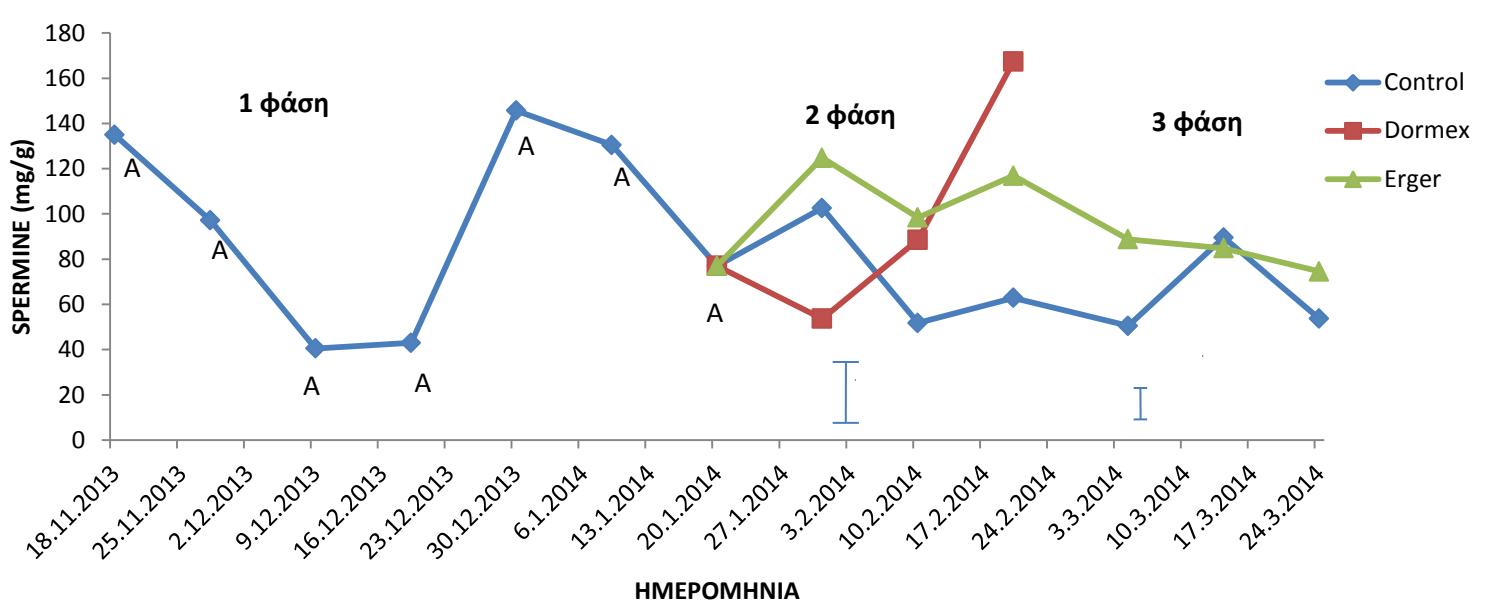


Διάγραμμα 3.12. Μεταβολή της σπερμιδίνης (ΑΔ πολυαμίνες) κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση της σπερμίνης, στις αδιάλυτες δεσμευμένες πολυαμίνες, παρουσιάζει μια αύξηση κατά τις 30/12 (πέμπτη δειγματοληψία), αλλά δεν διαφέρει σημαντικά από τις υπόλοιπες δειγματοληψίες.

Στην δεύτερη φάση, η συγκέντρωση της σπερμίνης, στις αδιάλυτες δεσμευμένες πολυαμίνες, είναι υψηλότερη κατά την τρίτη δειγματοληψία, ιδιαίτερα στους οφθαλμούς που δέχτηκαν επέμβαση με Dormex.

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση της σπερμίνης, παρατηρείται στους οφθαλμούς του μάρτυρα. Την υψηλότερη συγκέντρωση σπερμίνης παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα κατά την δεύτερη δειγματοληψία, ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα κατά την πρώτη δειγματοληψία.



Διάγραμμα 3.13. Μεταβολή της σπερμίνης (ΑΔ πολυαμινές) κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

3.9) Ολικές πολυαμίνες

Πίνακας 3.4. Επίδραση του χρόνου και των επεμβάσεων στις συγκεντρώσεις των ολικών πολυαμινών.

Ολικές Πολυαμίνες	Χρόνος	Επέμβαση	Χρόνος x Επέμβαση
2 φάση			
Put	*	*	*
Spd	*	*	*
Spm	ns	ns	ns
Σύνολο	**	***	ns
3 φάση			
Put	*	*	*
Spd	*	*	*
Spm	*	**	**
Σύνολο	*	*	*

ns: not significant *: p < 0,05; ** : p< 0,01; *** : p< 0,001.

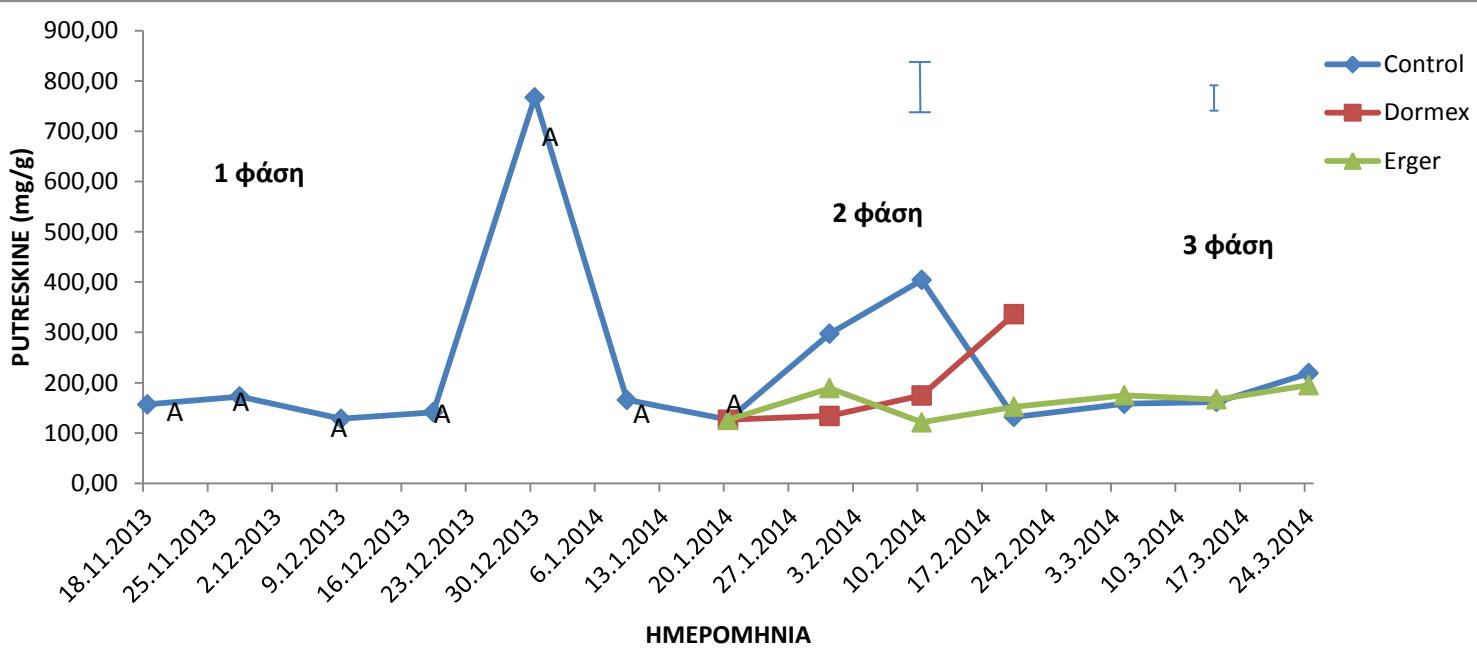
Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι στην δεύτερη φάση ο χρόνος δειγματοληψίας επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης, καθώς και τις ολικές πολυαμίνες. Οι επεμβάσεις, αντίστοιχα, επηρέασαν σημαντικά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης, καθώς και ολικές πολυαμίνες. Υπήρξε σημαντική αλληλεπίδραση όσον αφορά τις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης και της σπερμιδίνης.

Στην τρίτη φάση τόσο ο χρόνος δειγματοληψίας όσο οι επεμβάσεις και η αλληλεπίδρασή τους επηρέασαν σημαντικά όλες τις μετρούμενες πολυαμίνες.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση της ολικής πουτρεσκίνης, παρουσιάζει μια αύξηση κατά τις 30/12 (πέμπτη δειγματοληψία), αλλά δεν διαφέρει σημαντικά από τις υπόλοιπες δειγματοληψίες.

Στην δεύτερη φάση, η συγκέντρωση της ολικής πουτρεσκίνης, είναι υψηλότερη κατά την δεύτερη δειγματοληψία. Υψηλότερη συγκέντρωση πουτρεσκίνης παρατηρείται στους οφθαλμούς του μάρτυρα, ιδιαίτερα κατά την δεύτερη δειγματοληψία (10/2).

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση της ολικής πουτρεσκίνης, παρατηρείται στο μάρτυρα. Την υψηλότερη συγκέντρωση πουτρεσκίνης παρουσιάζουν οι οφθαλμοί του μάρτυρα κατά την τελευταία δειγματοληψία.

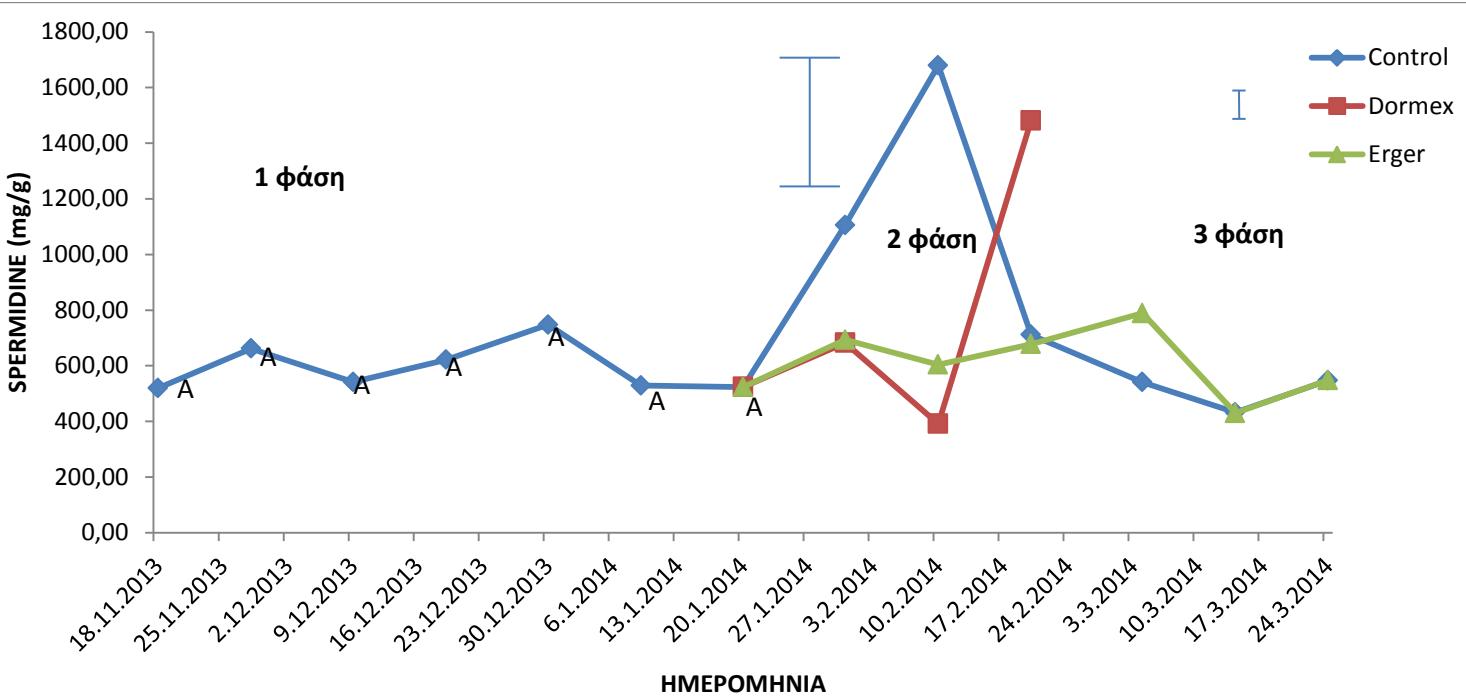


Διάγραμμα 3.14. Μεταβολή της πουτρεσκίνης (ολικές πολυαμίνες) κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση της ολικής σπερμιδίνης, δεν παρουσιάζει σημαντικές μεταβολές.

Στην δεύτερη φάση, η συγκέντρωση της σπερμιδίνης, είναι υψηλότερη κατά την δεύτερη δειγματοληψία. Υψηλότερη συγκέντρωση σπερμιδίνης παρατηρείται στους οφθαλμούς που δεν δέχτηκαν επέμβαση, ιδιαίτερα κατά την δεύτερη δειγματοληψία (10/2).

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση της σπερμιδίνης, παρατηρείται στους οφθαλμούς που δέχτηκαν επέμβαση με Erger. Την υψηλότερη συγκέντρωση σπερμιδίνης παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger κατά την πρώτη δειγματοληψία.

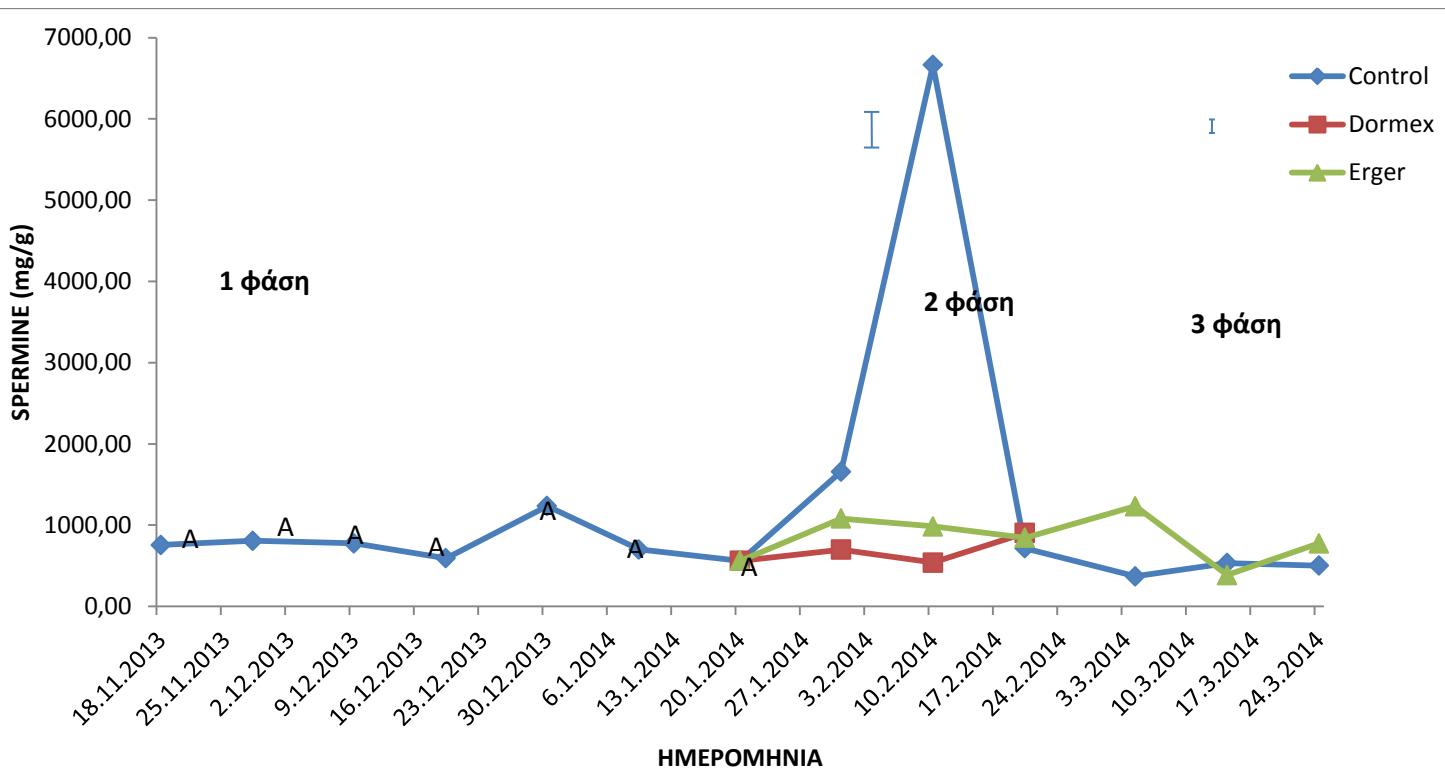


Διάγραμμα 3.15. Μεταβολή της σπερμιδίνης (ολικές πολυαμίνες) κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται, ότι στην πρώτη φάση, η συγκέντρωση της ολικής σπερμίνης, δεν παρουσιάζει σημαντικές μεταβολές.

Στην δεύτερη φάση, η συγκέντρωση της ολικής σπερμίνης, δεν διαφέρει σημαντικά.

Στην τρίτη φάση, η υψηλότερη συγκέντρωση της ολικής σπερμίνης, παρατηρείται στους οφθαλμούς που δέχτηκαν επέμβαση με Erger. Την υψηλότερη συγκέντρωση σπερμίνης παρουσιάζουν οι οφθαλμοί που δέχτηκαν επέμβαση με Erger κατά την πρώτη δειγματοληψία, ενώ την χαμηλότερη παρουσιάζουν οι οφθαλμοί δέχτηκαν επέμβαση με Erger κατά την δεύτερη δειγματοληψία.



Διάγραμμα 3.16. Μεταβολή της σπερμίνης (ολικές πολυαμίνες) κατά τη διάρκεια του ενδοληθάργου και της εξόδου από αυτόν. Οι μπάρες είναι το τυπικό σφάλμα της ανάλυσης διασποράς των παραγοντικών πειραμάτων.



Εικόνα 3.1. Η διαφορά της διακοπής του ληθάργου στον μάρτυρα, στο Dormex και στο Erger σε δέντρο φιστικιάς.



Εικόνα 3.2. Κλάδος δέντρου φιστικιάς που δεν έχει δεχτεί επέμβαση, 20/3/2014.



Εικόνα 3.3. Κλάδος δέντρου φιστικιάς που έχει δεχτεί επέμβαση με Erger, 20/3/2014.



Εικόνα 3.4. Κλάδος δέντρου φιστικιάς που έχει δεχτεί επέμβαση με Dormex, 20/3/2014.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4) Συζήτηση

Είναι γενικά αποδεκτό ότι ο λήθαργος των οφθαλμών προστατεύει τους οφθαλμούς από αντίξοες συνθήκες και δίνει στα φυτά την δυνατότητα της προσαρμογής και της επιβίωσης (Vergis, 1964). Για τη διακοπή του ληθάργου των οφθαλμών και κατ' επέκταση την έναρξη της βλάστησης, είναι απαραίτητη η έκθεση των φυτών σε χαμηλές θερμοκρασίες. Σε περιοχές με ήπιους χειμώνες, όπου τα δέντρα δεν καλύπτουν τις ανάγκες τους σε ψύχος, χρησιμοποιούνται φυσικές ή χημικές ουσίες που προωθούν την διακοπή του ληθάργου.

Στο παρόν πείραμα εξετάστηκαν παράγοντες, όπως είναι οι φαινολικές ενώσεις, οι πολυαμίνες και η αντιοξειδωτική ικανότητα, που ενδεχομένως επηρεάζουν την είσοδο και την έξοδο των οφθαλμών από το λήθαργο, σε ενήλικες φιστικιές της ποικιλίας Ποντίκης. Για την διακοπή του ληθάργου έγινε εφαρμογή των σκευασμάτων Dormex και Erger, 52 ημέρες πριν την αναμενόμενη έκπτυξη των οφθαλμών.

Το Dormex προκάλεσε τη διακοπή του ληθάργου μόλις 20 μέρες μετά την εφαρμογή της. Σε παρόμοια αποτέλεσμα κατέληξαν οι Ghrab et al.- (2014), με πείραμα που πραγματοποίησαν σε ώριμες φιστικιές και έγινε εφαρμογή του Dormex 50 ημέρες πριν την αναμενόμενη έκπτυξη των οφθαλμών, και προκάλεσε την πλήρη διακοπή του ληθάργου και έκπτυξη των οφθαλμών 20 ημέρες μετά την εφαρμογή του. Επίσης σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Rahemi et al.- (2004), οι οποίοι πραγματοποιώντας πείραμα σε φιστικιές της ποικιλίας Ahmad-aghaei, χρησιμοποιώντας το Dormex 4 και 8 εβδομάδες πριν την αναμενόμενη έκπτυξη των οφθαλμών, προκάλεσαν τη διακοπή του ληθάργου και την έκπτυξη των οφθαλμών 15-20 μέρες μετά τους ψεκασμούς.

Από την άλλη πλευρά, το Erger προκάλεσε τη διακοπή του ληθάργου 40 μέρες μετά την εφαρμογή του. Το αποτέλεσμα αυτό συμπίπτει και με το αποτέλεσμα του πειράματος των Pereira et al.- (2011), οι οποίοι εφάρμοσαν το Erger σε δένδρα αχλαδιάς καταφέρνοντας έτσι τη διακοπή του ληθάργου και έκπτυξη των οφθαλμών 40 μέρες μετά τους ψεκασμούς.

4.1) Φαινολικές ενώσεις

Στον μάρτυρα, κατά την διάρκεια του ληθάργου η συγκέντρωση των φλαβονοειδών αυξάνεται απότομα και στην συνέχεια παρατηρήθηκε μια αυξομείωση και μετά την διακοπή του ληθάργου απέκτησε μια σταθερή τιμή (Διάγραμμα 3.3). Σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε Dormex παρατηρήθηκε, ότι η συγκέντρωση των φλαβονοειδών μειώνεται καθ' όλη την διάρκεια του ληθάργου και κατά τη διακοπή αυτού (Διάγραμμα 3.3). Σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε Erger παρατηρήθηκε, ότι αυξάνεται απότομα, στην συνέχεια αρχίζει να μειώνεται σταδιακά και μετά την έκπτυξη των οφθαλμών αποκτά μια σταθερή τιμή (Διάγραμμα 3.3). Παρατηρήθηκε ότι, κατά τη διακοπή του ληθάργου η συγκέντρωση αυτών μειώνεται, πρώτα στο Dormex και αργότερα στο Erger ίσως ως αποτέλεσμα της επίδρασης των δύο σκευασμάτων στο χρόνο εξόδου από το λήθαργο.

Όσον αφορά, την συγκέντρωση των φλαβανολών παρατηρήθηκε, για τον μάρτυρα, ότι κατά την διάρκεια του ληθάργου η συγκέντρωση των φλαβανολών δεν ήταν σταθερή αλλά αυξομειώνεται, έπειτα αυξάνεται απότομα μέχρι την έκπτυξη των οφθαλμών, οπότε μειώνεται και πάλι (Διάγραμμα 3.4). Σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε Dormex παρατηρήθηκε, ότι μειώνεται καθ' όλη την διάρκεια του ληθάργου και κατά τη διακοπή αυτού (Διάγραμμα 3.4). Παρατηρήθηκε ότι, κατά τη διακοπή του ληθάργου η συγκέντρωση αυτών μειώνεται, πρώτα στο Dormex και αργότερα στο Erger ίσως ως αποτέλεσμα της επίδρασης των δύο σκευασμάτων στο χρόνο εξόδου από το λήθαργο. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν οι Bregoli et al.- (2006), με πείραμα που πραγματοποιήθηκε σε ροδακινιές (*Prunus persica* L.) και χρησιμοποιήθηκε το Dormex. Τέλος, σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε Erger παρατηρήθηκε, ότι αυξάνεται απότομα και στην συνέχεια αρχίζει σταδιακά να μειώνεται και να αποκτά χαμηλότερη τιμή από την τιμή του μάρτυρα (Διάγραμμα 3.4).

Όσον αφορά, την συγκέντρωση των ορθοδιφαινολών παρατηρήθηκε, για τον μάρτυρα, ότι κατά την διάρκεια του ληθάργου η συγκέντρωση των ορθοδιφαινολών δεν ήταν σταθερή αλλά αυξομειώνεται και στην συνέχεια αποκτά σταθερή τιμή (Διάγραμμα 3.5). Σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε Dormex παρατηρήθηκε, ότι αρχικά, μειώνεται και στην συνέχεια αυξάνεται απότομα (Διάγραμμα 3.5). Από

την άλλη πλευρά, για το Erger, αρχικά αυξάνεται και στην συνέχεια μειώνεται με σταθερό ρυθμό και αποκτά χαμηλότερη τιμή από την τιμή του μάρτυρα (Διάγραμμα 3.5). Παρατηρήθηκε ότι, η συγκέντρωση αυτών αυξάνει στο Dormex, ίσως ως αποτέλεσμα της επίδρασης του Dormex στο χρόνο εξόδου από το λήθαργο. Από την άλλη πλευρά, ο ψεκασμός με το Erger δε φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά τη συγκέντρωσή τους.

Τέλος, για την συγκέντρωση των ολικών φαινολικών παρατηρήθηκε, για τον μάρτυρα, ότι κατά την διάρκεια του ληθάργου η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών δεν ήταν σταθερή αφού αυξομειώνονταν, ώσπου αποκτά μια σταθερή τιμή (Διάγραμμα 3.2). Σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε Dormex παρατηρήθηκε, ότι αυξομειώνεται με μεγαλύτερο ρυθμό από τον μάρτυρα και τελικά αποκτά την μέγιστη τιμή της με την έκπτυξη των οφθαλμών (17/2) (Διάγραμμα 3.2). Από την άλλη πλευρά, Σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε Erger παρατηρήθηκε, ότι αυξομειώνεται και τελικά, αποκτά χαμηλότερη τιμή από την τιμή του μάρτυρα (Διάγραμμα 3.2). Ο ψεκασμός με τα σκευάσματα δε φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά τη συγκέντρωσή τους. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν οι Rady et al.- 2014 πραγματοποιώντας πείραμα σε μηλιές (*Malus Domestica* Borkh CV ‘Anna’), στις οποίες έγινε εφαρμογή με εκχύλισμα κρεμμυδιού (200 ml), κατά την διάρκεια του ληθάργου. Ακόμη, οι Benkeblia et al.- (1999), παρατήρησαν, σε οφθαλμούς κρεμμυδιού (*Allium cepa* L.) την αρνητική επίδραση των φαινολικών στην έκπτυξη των οφθαλμών. Σε πείραμα του Benkeblia (2003), παρατηρήθηκε, σε βολβούς κρεμμυδιού (*Allium cepa* L.), ότι η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών, κατά την διάρκεια του ληθάργου αυξομειώνεται ενώ πριν από το φύτρωμα μειώνεται. Ακόμη οι Pakkish et al.- (2009) παρατήρησαν, σε ποικιλίες φιστικιάς, ότι οι φαινολικές ενώσεις αυξήθηκαν κατά την διάρκεια του ληθάργου και στην συνέχεια, σταδιακά μειώθηκαν, αποκτώντας χαμηλή συγκέντρωση.

Αυτή η αυξημένη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών, που παρατηρείται κατά την διάρκεια του ληθάργου μπορεί να αποδοθεί σε αύξηση ενδογενών παραγόντων, οι οποίοι προκαλούν αναστολή της έκπτυξης των οφθαλμών. Αντίστοιχα, η μείωση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών, πιθανόν να αποτελεί μέρος του μηχανισμού εκείνου και των μεταβολών, που οδηγούν στην έκπτυξη των οφθαλμών (Wang et al.,

1991). Μελέτες δείχνουν, ότι πολλές από τις φαινολικές ενώσεις είναι συζευγμένες με άλλα μόρια. Πολλές από αυτές, εμφανίζονται ως γλυκοζίτες, που συνδέονται με μονοσακχαρίτες ή δισακχαρίτες (Codignola et al., 1988). Η μείωση των ολικών φαινολικών μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι, μετά την έκπτυξη των οφθαλμών, τα ολικά φαινολικά μπορεί να υδρολύονται σε συστατικά (σάκχαρα, οργανικά οξέα), απαραίτητα για την ανάπτυξη του φυτού. Η μείωση των ολικών φαινολικών, που παρατηρείται μετά την έκπτυξη των οφθαλμών, μπορεί να μας οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι, οι φαινολικές ενώσεις παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία των οφθαλμών κατά την διάρκεια του ληθάργου (Pakkish et al., 2009). Ακόμη οι Sagí και Garay (1961), έδειξαν ότι οι φαινολικές ενώσεις δρουν ανταγωνιστικά με την ορμόνη IAA (αυξίνη: ινδο-3-οξικό οξύ) κάτι που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι μείωση των φαινολικών ουσιών αμβλύνει τον ανταγωνισμό με τις αυξίνες και μπορεί με αυτόν τον τρόπο να συνδέονται με τη διακοπή του ληθάργου και την έκπτυξη των οφθαλμών.

4.2) Αντιοξειδωτική ικανότητα

Αντίθετα με τα αποτελέσματα των φαινολικών ενώσεων, η αντιοξειδωτική ικανότητα παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα κατά την διάρκεια του ληθαργού, ενώ αυξανόταν μετά την διακοπή του ληθάργου και την έκπτυξη των οφθαλμών.

Συγκεκριμένα, για την αντιοξειδωτική ικανότητα (μετρημένη με την μέθοδο της DPPH) παρατηρήθηκε, για τον μάρτυρα, ότι κατά την διάρκεια του ληθάργου η αντιοξειδωτική ικανότητα αυξομειώνεται (Διάγραμμα 3.6). Σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε το Dormex, παρατηρήθηκε, ότι αυξάνεται καθ' όλη την διάρκεια του ληθάργου (Διάγραμμα 3.6). Τέλος, σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε το Erger παρατηρήθηκε, ότι αυξομειώνεται επίσης (Διάγραμμα 3.6). Παρατηρήθηκε ότι, κατά τη διακοπή του ληθάργου αυξάνει, πρώτα στο Dormex και αργότερα στο Erger ίσως ως αποτέλεσμα της επίδρασης των δύο σκευασμάτων στο χρόνο εξόδου από το λήθαργο.

Από την άλλη πλευρά, η αντιοξειδωτική ικανότητα (μετρημένη με την μέθοδο της FRAP), για τον μάρτυρα, κατά την διάρκεια του ληθάργου αυξομειώνεται (Διάγραμμα 3.7). Σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε Dormex, αυξομειώνεται και τελικά αυξάνεται απότομα (Διάγραμμα 3.7). Τέλος, για το Erger παρατηρήθηκε, ότι

αυξομειώνεται (Διάγραμμα 3.7). Παρατηρήθηκε ότι, κατά τη διακοπή του ληθάργου η συγκέντρωση αυτών αυξάνει, πρώτα στο Dormex και αργότερα στο Erger ίσως ως αποτέλεσμα της επίδρασης των δύο σκευασμάτων στο χρόνο εξόδου από το λήθαργο, δεικνύοντας ότι η αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας πιθανόν να σχετίζεται με διεργασίες που οδηγούν στη διακοπή του ληθάργου.

Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν οι Bartolini et al.- (2006), πραγματοποιώντας πείραμα σε βερικοκιές (*Prunus armeniaca* L.). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, κατά την διάρκεια του ληθάργου, η αντιοξειδωτική ικανότητα ήταν σε χαμηλά επίπεδα, αλλά στην συνέχεια, με το τέλος του ληθάργου και την έκπτυξη των οφθαλμών αυξήθηκε. Αντιθέτως, οι Szalay et al.- (2005), σε πείραμα που πραγματοποίησαν σε ροδακινιές (*Prunus persica* L.) κατέληξαν σε αντίθετα αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, η αντιοξειδωτική ικανότητα αυξήθηκε κατά την διάρκεια του ληθάργου ενώ μετά το τέλος του ληθάργου και την έκπτυξη των οφθαλμών μειώθηκε.

4.3) Πολυαμίνες

Από τα αποτελέσματα παρατηρήθηκε, ότι η συγκέντρωση της διαλυτής (ελεύθερης και δεσμευμένης) πουτρεσκίνης, στο μάρτυρα, αρχικά έχει σταθερή τιμή, ενώ στην συνέχεια αυξομειώνεται αποκτώντας σταθερή τιμή με την διακοπή του ληθάργου και την έκπτυξη των οφθαλμών (Διάγραμμα 3.8). Για την συγκέντρωση της σπερμιδίνης, παρατηρήθηκε ότι, αρχικά αυξομειώνεται ενώ στην συνέχεια αυξάνεται απότομα και τελικά, αυξομειώνεται και πάλι (Διάγραμμα 3.9). Για την συγκέντρωση της σπερμίνης, παρατηρήθηκε ότι, αυξάνεται απότομα και τελικά, αποκτά και πάλι σταθερή τιμή (Διάγραμμα 3.10).

Αντίστοιχα, σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε Dormex η συγκέντρωση της διαλυτής (ελεύθερης και δεσμευμένης) πουτρεσκίνης, αρχικά έχει χαμηλή τιμή ενώ στην συνέχεια αυξάνεται (Διάγραμμα 3.8). Για την συγκέντρωση της σπερμιδίνης αρχικά παρατηρήθηκε χαμηλή τιμή ενώ στην συνέχεια αυξήθηκε (Διάγραμμα 3.9). Η συγκέντρωση της σπερμίνης παραμένει σταθερή (Διάγραμμα 3.10). Οι Mohamed et al.- (2011), μελέτησαν, κατά την διάρκεια του ληθάργου, την επίδραση του Dormex στις πολυαμίνες σε οφθαλμούς αμπελιού (*Vitis Vinifera* L. *Superior Seedless*). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η εφαρμογή του Dormex προκάλεσε αύξηση της

συγκέντρωσης της πουτρεσκίνης (κατά 77% σε σχέση με τον μάρτυρα), της σπερμιδίνης (κατά 19% σε σχέση με τον μάρτυρα) ενώ και η σπερμίνη αυξήθηκε λίγο. Μετά τον λήθαργο παρατηρήθηκε μια απότομη μείωση της συγκέντρωσης της πουτρεσκίνης ενώ η συγκέντρωση της σπερμιδίνης παρέμεινε σταθερή σε υψηλά επίπεδα και η συγκέντρωση της σπερμίνης συνέχισε να αυξάνεται.

Τέλος, σε οφθαλμούς στους οποίους εφαρμόστηκε το Erger η συγκέντρωση της διαλυτής (ελεύθερης και δεσμευμένης) πουτρεσκίνης, αυξομειώνεται αποκτώντας χαμηλότερη τιμή από την τιμή της συγκέντρωσης για τους οφθαλμούς του μάρτυρα (Διάγραμμα 3.8). Η συγκέντρωση της σπερμιδίνης, αυξομειώνεται αποκτώντας παρόμοια τιμή με την τιμή της συγκέντρωσης του μάρτυρα (Διάγραμμα 3.9). Η συγκέντρωση της σπερμίνης, παραμένει σταθερή και φαίνεται ότι η χρήση του Erger δεν επηρεάζει την συγκέντρωση της σπερμίνης, αποκτώντας υψηλότερη τιμή από την τιμή της συγκέντρωσης για τους οφθαλμούς που δεν δέχτηκαν επέμβαση (Διάγραμμα 3.10).

Για τις αδιάλυτες πολυαμίνες, η συγκέντρωση της πουτρεσκίνης, για το μάρτυρα, δεν παρατηρήθηκαν συστηματικές μεταβολές καθόλη την διάρκεια του ληθάργου (Διάγραμμα 3.11). Για την συγκέντρωση της σπερμιδίνης παρατηρήθηκε ότι, δεν παρατηρήθηκαν συστηματικές μεταβολές καθόλη την διάρκεια του ληθάργου (Διάγραμμα 3.12). Για την συγκέντρωση της σπερμίνης, παρατηρήθηκε ότι, αρχικά μειώνεται ενώ στην συνέχεια αυξομειώνεται (Διάγραμμα 3.13).

Αντίστοιχα, για το Dormex οι συγκεντρώσεις των αδιάλυτων πολυαμινών αυξάνονται (Διάγραμμα 3.11, Διάγραμμα 3.12, Διάγραμμα 3.13). Η αύξηση που παρατηρήθηκε στις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης, της σπερμιδίνης και της σπερμίνης πιθανώς να οφείλεται στην χρήση του Dormex.

Τέλος, για το Erger η συγκέντρωση της αδιάλυτης πουτρεσκίνης, αυξομειώνεται αποκτώντας υψηλότερη τιμή από την συγκέντρωση για τους οφθαλμούς που δεν δέχτηκαν επέμβαση (Διάγραμμα 3.11). Η συγκέντρωση της σπερμιδίνης, αυξομειώνεται αποκτώντας παρόμοια τιμή με την συγκέντρωση για τους οφθαλμούς που δεν δέχτηκαν επέμβαση (Διάγραμμα 3.12). Η συγκέντρωση της σπερμίνης,

αυξομειώνεται αποκτώντας υψηλότερη τιμή από την τιμή της συγκέντρωσης για τους οφθαλμούς που δεν δέχτηκαν επέμβαση (Διάγραμμα 3.13).

Για τις ολικές πολυαμίνες, στο μάρτυρα, παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωση της πουτρεσκίνης, αυξάνεται απότομα ενώ στην συνέχεια αυξομειώνεται αποκτώντας σταθερή τιμή με την διακοπή του ληθάργου και την έκπτυξη των οφθαλμών (Διάγραμμα 3.14). Η συγκέντρωση της σπερμιδίνης, αυξάνεται απότομα, ενώ στην συνέχεια αυξομειώνεται (Διάγραμμα 3.15). Η συγκέντρωση της σπερμίνης, αυξάνεται απότομα ενώ στην συνέχεια, αποκτά και πάλι σταθερή τιμή (Διάγραμμα 3.16).

Αντίστοιχα, για το Dormex η συγκέντρωση της ολικής πουτρεσκίνης, αρχικά έχει χαμηλή τιμή ενώ στην συνέχεια αυξάνεται (Διάγραμμα 3.14). Για την συγκέντρωση της σπερμιδίνης αρχικά παρατηρήθηκε χαμηλή τιμή ενώ στην συνέχεια αυξήθηκε (Διάγραμμα 3.15). Η συγκέντρωση της σπερμίνης παρέμεινε σταθερή (Διάγραμμα 3.16). Η αύξηση που παρατηρήθηκε στις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης-σπερμιδίνης πιθανώς να οφείλεται στην χρήση του Dormex, ενώ δεν φαίνεται να επηρεάζει την συγκέντρωση της σπερμίνης.

Τέλος, για το Erger η συγκέντρωση της ολικής πουτρεσκίνης, αυξομειώνεται αποκτώντας χαμηλότερη τιμή από την τιμή της συγκέντρωσης για τους οφθαλμούς του μάρτυρα (Διάγραμμα 3.14). Η συγκέντρωση της σπερμιδίνης, αυξομειώνεται αποκτώντας παρόμοια τιμή με την τιμή της συγκέντρωσης για τους οφθαλμούς του μάρτυρα (Διάγραμμα 3.15). Η συγκέντρωση της σπερμίνης, παραμένει σταθερή, αποκτώντας υψηλότερη τιμή από την τιμή της συγκέντρωσης για τους οφθαλμούς του μάρτυρα (Διάγραμμα 3.16). Η αυξομείωση που παρατηρήθηκε στις συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης-σπερμιδίνης πιθανώς να οφείλεται στην χρήση του Erger, ενώ δεν φαίνεται να επηρεάζει την συγκέντρωση της σπερμίνης.

Τα αποτελέσματα συμφωνούν με τα αποτελέσματα του πειράματος των Mohamed et al.- (2010), σε αμπέλι (*Vitis Vinifera L.*). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, κατά την διάρκεια του ληθάργου, έχουμε αύξηση της συγκέντρωσης της πουτρεσκίνης και της σπερμιδίνης και μείωση της συγκέντρωσης της σπερμίνης. Αντίθετα μετά την διακοπή του ληθάργου παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης της πουτρεσκίνης, η συγκέντρωση της σπερμιδίνης παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα ενώ η συγκέντρωση της

σπερμίνης είχε μια ελαφριά αύξηση. Ακόμη οι Rey et al.,- (1994) σε πείραμα που πραγματοποίησαν σε φουντουκιά (*Corylus avellana* L.) παρατήρησαν ότι, κατά την διάρκεια του ληθάργου, οι συγκεντρώσεις της πουτρεσκίνης και της σπερμιδίνης αυξήθηκαν, ενώ η συγκέντρωση της σπερμίνης μειώθηκε. Το αντίθετο παρατηρήθηκε μετά την διακοπή του ληθάργου. Παρόμοια αποτελέσματα παρατήρησαν και οι Kakkar και Nagar (1997) που μελέτησαν τις αλλαγές σε πολυαμίνες στο τσάι (*Camellia sinensis* L.) κατά την διάρκεια του λήθαργου οφθαλμών και μετά το τέλος του ληθάργου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υψηλά επίπεδα πουτρεσκίνης και αντίστοιχα χαμηλά επίπεδα σπερμιδίνης και σπερμίνης παρατηρήθηκαν κατά την διάρκεια του λήθαργου. Αντίθετα, υψηλά επίπεδα σπερμιδίνης και σπερμίνης και χαμηλά επίπεδα πουτρεσκίνης παρατηρήθηκαν με το τέλος του ληθάργου.

Αυτή η αύξηση που παρατηρείται, κατά την διάρκεια του ληθάργου, στην συγκέντρωση της πουτρεσκίνης και της σπερμιδίνης μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι παίζουν κάποιο ρόλο στη διακοπή του ληθάργου των οφθαλμών ενώ αναφέρεται ότι η πουτρεσκίνη, φαίνεται, να επηρεάζει την ανοχή των φυτών στις χαμηλές θερμοκρασίες, ενώ η σπερμιδίνη, φαίνεται, να επηρεάζει τον εγκλιματισμό των φυτών στις χαμηλές θερμοκρασίες (Shen et al., 2000). Από την άλλη μεριά, η σπερμίνη και η σπερμιδίνη εμπλέκονται σε ενεργές διεργασίες ανάπτυξης, εξαιτίας της ικανότητας τους να διεγείρουν το DNA, το RNA, καθώς και την σύνθεση πρωτεϊνών για την δημιουργία νέων κυττάρων (Igarashi et al., 2000). Τέλος η σπερμίνη και η σπερμιδίνη προκαλεί την συνέχεια της ενεργής ανάπτυξης των οφθαλμών και χρησιμοποιεί σάκχαρα και άζωτο, που προέρχονται από την υδρόλυση της προλίνης, της πουτρεσκίνης και του αμύλου (Mohamed et al., 2010).

Βιβλιογραφία

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

<http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CE%B9%CF%83%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%B9%CE%AC>

<http://farmingpistachios.blogspot.gr/>

<http://www.back-to-nature.gr/2013/01/pistacia-vera.html>

<http://www.alzchem.com/en/markets-products/agriculture/dormex>

<http://texnologosgeponos.blogspot.gr/2014/07/pistacia-vera.html>

Νάνος Γιώργος, 2013. Σημειώσεις προπτυχιακού μαθήματος <<Ειδικά θέματα δενδροκομίας 1>>. Γεωπονικών Επιστημών Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας:
<http://www.agr.uth.gr/files/labs/dendrokomoias/dendrI1.pdf>

Παπαδάκης Ιωάννης, Σημειώσεις προπτυχιακού μαθήματος <<Δενδροκομία>>.

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών:

<https://sites.google.com/site/treeghrizoume/genika-themata/lethargos-ophthalmon>

Πέτρος Ρούσσος, Σημειώσεις προπτυχιακού μαθήματος <<Δενδροκομίας>>.

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών:

<http://www.hua.gr/roussos/Roussos/pdf/Printing%20Lessons/Semester%205%20Lessons.pdf>

Χητζανίδου Αννέτα, HP Coulon, Πανταβός Στράτος, Αληφαντή Ελένη και Νίκος. Οι δρόμοι της φιστικιάς:

<http://pistaches.eu/el/%CE%B9%CF%83%CF%84%CE%BF%CF%81%CE%AF%CE%B1/>

Έντυπα

Arja Santanen and Liisa Kaarina Simola. (2007). Polyamine levels in buds and twigs of *Tilia cordata* from dormancy onset to bud break. *Trees*, 21(3), 337-344.

Bai, Saito, Sakamoto, Ito, Fujii, Moriguchi. (2013). Transcriptome analysis of japanese pear (*pyrus pyrifolia nakai*) flower buds transitioning through endodormancy. *Plant and Cell Physiology*, 54(7), 1132-1151.

Bartolini, S., Zanol, G.C., Viti, R. (2006). Changes in antioxidant compounds in flower buds of two apricot cultivars during winter season. *Acta Horticulturae*, 701, 69-74.

Benkeblia, N. (2003). Low temperature and breaking of dormancy effects on respiration rate, sugars, phenolics and peroxidase activity changes in inner buds of onion *Allium cepa L.* *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, 53 (1), 16-20.

Benkeblia, N., Selselet-Attou, G. (1999). Effects of low temperatures on changes in oligosaccharides, phenolics and peroxidase in inner bud of onion *Allium cepa L.* during break of dormancy. *Acta Agriculturae Scandinavica - Section B Soil and Plant Science*, 49 (2), 98-102.

Benkeblia. (2003). Low temperature and breaking of dormancy effects on respiration rate, sugars, phenolics and peroxidase activity changes in inner buds of onion (*Allium cepa L.*). *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, 53(1), 16-20.

Bennet-Clark, T.A. and N.P. Kefford. (1953). Chromatography of growth substances in plant extracts. *Nature*, 171, 645-647.

Bregoli, A.M., Nardozza, S., Andreotti, C., Magnani, R., Corelli-Grappadelli, L., Masia, A., Costa, G. (2006). Relationship between biometric and physiological parameters, application time and flower bud abscission induced by a dormancy breaking agent in peach. *Acta Horticulturae*, 713, 191-196.

Chandler, W.H., M.H. Kimball, G.L. Phillips, W.P. Tufts and G.P. Weldon. (1937). Chilling requirements for opening buds on deciduous orchard trees and some other plants in California. *Calif. Agr. Expt. Sta. Bul*, 611 pp.

Codignola, A., M. Maffel and M. Fieschi, 1988. Phenols and bud dormancy. *New Phytol.*, 110, 473-477.

Cornforth, J.W., B.V. Milborrow, and G. Ryback, 1965. Synthesis of (+) – abscisic acid II. *Nature (London)*, 206, 715.

David P. Horvath, Sibum Sung, Donghwan Kim, Wun Chao, James Anderson. (2010). Characterization, expression and function of DORMANCY ASSOCIATED MADS-BOX genes from leafy spurge. *Plant Molecular Biology*, 73(1-2), 169-179.

Davies, P.J. (1995) *Plant Hormones – Physiology – Biochemistry and molecular Biology*, Kluwer Academic Publishers.

Dormex directions for use table, page 1-4, june 2008.

Eagles, C.F. and P.F. Wareing. (1963). Dormancy regulators in woody plants. Experimental induction of dormancy in *Betula pubescens*. *Nature*, 199, 874-875.

Eagles, C.F. and P.F. Wareing. (1964). The role of growth substances in the regulation of bud dormancy. *Physiol. Plant*, 17, 679-709.

Erez, A. And S. Lavee. (1971). The effect of climatic conditions on dormancy development of peach bud. I. Temperature. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*, 96, 711-714.

Falavigna, Porto, Buffon, Margis-Pinheiro, Pasquali, Revers. (2014). Differential Transcriptional Profiles of Dormancy-Related Genes in Apple Buds. *Plant Molecular Biology Reporter*, 32(4), 796-813.

Hatem Ben Mohamed, Ahmedou M. Vadel, Jan M. C. Geuns, Habib Khemira. (2011). Effects of hydrogen cyanamide on antioxidant enzymes activity, proline and polyamine contents during bud dormancy release in Superior Seedless grapevine buds. *Physiol Plant*.

- Hatem Ben Mohamed, Ahmedou M. Vadel, Jan M.C. Geuns, Habib Khemira, 2010. Biochemical changes in dormant grapevine shoot tissues in response to chilling: Possible role in dormancy release. *Scientia Horticulturae*, 124 (4), 440-447.
- Hawerroth, F.J., Petri, J.L., Leite, G.B. (2010). Erger and calcium nitrate concentration for budbreak induction in apple trees. *Acta Horticulturae*, 872, 239-244.
- Hemberg, T. (1949). Growth-inhibiting substances in terminal buds of *Fraxinus*. *Physiol. Plant*, 2, 37-44.
- Hernández, G., Craig, R.L. (2011). Effects of alternatives to hydrogen cyanamide on commercial kiwifruit production. *Acta Horticulturae*, 913, 357-364.
- Hopkins, W.G. (1995) Introduction to Plant Physiology. John Wiley & sons inc.
- Kakkar R.K. , Nagar P.K. (1997). Distribution and changes in endogenous polyamines during winter dormancy in tea (*Camellia sinensis* L.). *Journal of Plant Physiology*, 151(1), 63–67.
- Kawase, M. (1966). Growth inhibiting substance and bud dormancy in woody plants. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci*, 89, 752-757.
- Lamb, R.C. (1948). Effect of temperature above and below freezing on the breaking of rest in Latham raspberry. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci*, 51, 313-315.
- Lang, G.A. (1996) Plant Dormancy – Physiology – Biochemistry and molecular Biology. CAB int.
- Lang, G.A., J.D. Early, N.J. Arroyave, R.L Darnell, G.C. Martin and G.W.Stutte. (1985). Dormacy: Toward a reduced, universal, terminology. *HortScience*, 20, 809-811.

Lawrence and Stephen A. (2004). Amines: synthesis, properties and applications. Cambridge University Press, 64 pp.

Manuel Rey,Carmen Díaz-Sala and Roberto Rodríguez. (1994). Comparison of endogenous polyamine content in hazel leaves and buds between the annual dormancy and flowering phases of growth. *Physiologia Plantarum*, 91(1), 45–50.

Milborrow, B.V. (1967). The indentification of (+) - Abscisin II, (+) – Dorminin plants and measurment of its concentrations. *Planta (Berl)*, 76, 93-113.

Mohamed A. Seif El-Yazal, Mostafa M. Rady. (2012). Changes in nitrogen and polyamines during breaking bud dormancy in “Anna” apple trees with foliar application of some compounds. *Scientia Horticulturae*, 136, 75-80.

Mohamed Ghrab, Mehdi Ben Mimoun. (2014). Effective hydrogen cyanamide (DORMEX®) application for bud break, flowering and nut yields of Pistachio trees cv. mateur warm growing areas. Cambridge journals, 50(3), 398-406

Moore, T.E. (1979). Biochemistry and Physiology of plant Hormones. Springer-Verlag N.Y. Inc, 274 pp.

Ohkuma, K., J.L.Lyon, F.T. Addicott and O.E. Smith. (1963). Abscisin II , an abscission accelerating substance from young cotton fruits. *Science*, 142, 1592-1593.

Pakkish Zahra, Rahemi Majid and Baghizadeh Amin. 2009. Seasonal Changes of Peroxidase, Polyphenol Oxidase Enzyme Activity and Phenol Content During and after Rest in Pistachio (*Pistacia vera L.*) Flower Buds. *World Applied Sciences Journal*, 6 (9), 1193-1199.

Pereira, N., Oliveira, C.M., Mota, M., Sousa, R.M. (2011). Evaluation of five dormancy breaking agents to induce synchronized flowering in 'Rocha' pear. *Acta Horticulturae*, 909, 423-428.

- Petri, J.L., Berenhauser Leite, G., Putti, G.L. (2008). Apple tree budbreak promoters in mild winter conditions. *Acta Horticulturae*, 774, 291-296.
- Raffo, Mañueco, Candan, Santagni, Menni. (2014). Dormancy breaking and advancement of maturity induced by hydrogen cyanamide: A strategy to improve profits in sweet cherry production. *Acta Horticulturae*, 1020, 497-502.
- Rahemi, M. , Asghari, H. (2004). Effect of hydrogen cyanamide (dormex), volk oil and potassium nitrate on budbreak, yield and nut characteristics of pistachio (*Pistacia vera L.*). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79 (5), 823-827.
- Raven P. Evert R. and Eichorn S. (1986) *Biology of Plants*, 4th edition. Worth Publishers, inc.
- Richardson, E.A., S.D. Seelay and D.R. Walker. (1974). A model for estimating the completion of rest For Redhaven and Eiberta peach trees. *HortScience*, 9, 331-332.
- Robinson, P.M., P.F. Wareing and T.H. Thomas. (1963). Isolation of the inhibitor varying with photoperiod in *Acer Pseudoplatanus*. *Nature*, 199, 875-876.
- Sági F. and Garay A. S.. (1961). nteraction of Indoleacetic Acid Oxidase, Phenol Content, and Gibberellic Acid in the Photoperiodically Controlled Growth of *Lupinus albus L.* *Physiologia Plantarum*, 14(3), 488-496.
- Salhi, Ben Mimoun, Ghrab. (2014). Chilling and heat requirements for flowering of the main pistachio tunisian cultivar 'Mateur'. *Acta Horticulturae*, 1028, 117-122.
- Seif El-Yazal, M.A., Rady, M.M. (2014). Exogenous onion extract hastens bud break, positively alters enzyme activity, hormone, amino acids and phenol contents, and improves fruit quality in 'Anna' apple trees. *Scientia Horticulturae*, 169, 154-160.

- Shaltout, A.D. and C.R. Unrath. (1983). Rest completion model for Starkrimson Delicious apples. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 108 (6), 957-961.
- Shen W., Nada K., Nachibana S., 2000. Involvement of polyamines in the chilling tolerance of cucumber cultivars. *Plant Physiol.*, 124, 431–439.
- Shiow Y. Wang and Miklos Faust. (2014). Changes in Polyamine Content during Dormancy in Flower Buds of 'Anna' Apple. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 139(5).
- Srivenugopal KS and Adiga PR. (1981). Enzymic conversion of agmatine to putrescine in *Lathyrus sativus* seedlings. Purification and properties of a multifunctional enzyme (putrescine synthase), 256(18), 9532–9541.
- Szalay, L. , Hegedus, A., Stefanovits-Bányai, É. (2005). Presumable protective role of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes against freezing stress in peach (*Prunus persica*L./Batsch). *Acta Biologica Szegediensis*, 49(1-2), 121-122.
- Szecskó, Hrotkó, Stefanovits-Bányai. (2004). Phenolic compounds, bud dormancy, and rooting ability of plum hardwood cuttings. *Acta Horticulturae*, 658, 679-687.
- Thakur M. L. . (1776). Phenolic Growth Inhibitors Isolated from Dormant Buds of Sugar Maple (*Acer saccharum* Marsh). *Oxford Journals Science & Mathematics Journal of Experimental Botany*, 28(4), 795-803.
- Wang S. Y., Faust M. and Steffens G. L.. (1985). Metabolic changes in cherry flower buds associated with breaking of dormancy in early and late blooming cultivars. *Physiologia Plantarum*, 65(1), 89–94.
- Wareing, P. and P.F. Saunders. (1971). Hormones and Dormancy. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 22, 261-288.
- Waring, P.F. and P.F. Saundes. (1971). Hormones and dormancy. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 22, 261-288.

Winter chilling and dormancy breakers explained july2010.

Yamane. (2014). Regulation of bud dormancy and bud break in Japanese apricot (*Prunus mume* Siebold & Zucc.) and Peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: A summary of recent studies. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 83(3), 187-202.

Yordanov, Ma, Strauss, Busov. (2014). EARLY BUD-BREAK 1 (EBB1) is a regulator of release from seasonal dormancy in poplar trees. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 111(27), 10001-10006.

Βαρδαβάκης Μ. και Ζούζουλας Δ. (2003) Μορφολογία & Ανατομία των φυτών. Εκδόσεις Ζήτη.

ΒΕΛΙΤΣΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, 2009. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΚΑΙ ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥΣ ΚΑΦΕΔΕΣ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΑΓΟΡΑΣ. Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων του Α'ΤΕΙ Θεσσαλονίκης.

Γεωργιάδου Μαρια, 2009. <<Μελέτη του προβλήματος των αφλατοξινών σε κελυφωτά φιστίκια>>. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων.

Λόλας, Π. (2005) Φυσιολογία φυτού – Σημειώσεις. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος.

Ποντίκης Κωνσταντίνος. (1987). Ειδική Δενδροκομία.

Ποντίκης Κωνσταντίνος. (1997). Γενική Δενδροκομία.

Τσέκος, I.B. (2004) Φυσιολογία φυτών – Το κύτταρο ως ενεργητικό σύστημα-φαινόμενα μεταφοράς-μεταβολισμός-αύξηση και ανάπτυξη-μοριακή φυσιολογία. Εκδοτικός οίκος Αδελφών Κυριακίδη α.ε.