

# Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

“Αμπελουργία – Οινολογία”

## Θέμα εργασίας 1<sup>ου</sup> εξαμήνου:

« Μορφολογικές, βιοχημικές και ανατομικές διεργασίες κατά την πορεία ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών. Παράγοντες που τις επηρεάζουν. (θερμοκρασία και ηλιακή ακτινοβολία)»

Καραμολέγκου Μαργαρίτα

Αθήνα, 2007

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:

Εισαγωγή .....	3
Χαρακτηριστικά του άνθους .....	3
Γονιμοποίηση – Καρπόδεση .....	4
Μορφολογικά χαρακτηριστικά της ράγας .....	6
<i>A) Φλοιός :</i> .....	8
<i>B) Σάρκα:</i> .....	9
<i>Γ) Γύαρτα:</i> .....	9
Αγγειακή δομή του καρπού .....	12
Ανάπτυξη της ράγας .....	13
<i>Φάση I:</i> .....	14
<i>Φάση II:</i> .....	16
<i>Φάση III:</i> .....	16
Φυσιολογικές και βιοχημικές αλλαγές κατά την πορεία ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών .....	19
<i>A) Βάρος των ραγών.</i> .....	19
<i>B) Νερό</i> .....	24
<i>Γ) Σάκχαρα.</i> .....	26
<i>Δ) Οργανικά οξέα.</i> .....	33
<i>E) Αζωτούχα συστατικά.</i> .....	36
<i>ΣΤ) Φαινολικά συστατικά</i> .....	37
<i>Z) Αρωματικά συστατικά</i> .....	41
<i>H) Συσσωρευση των κατιόντων</i> .....	43
<i>Θ) Φυτοορμόνες</i> .....	44
<i>Ι) Αναπνοή – Διαπνοή</i> .....	49
<i>Κ) Αγγειακή δομή της ράγας</i> .....	51
Επίδραση της θερμοκρασίας στην πορεία ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών .....	52
Επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας στην πορεία ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών .....	56
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:</b> .....	59

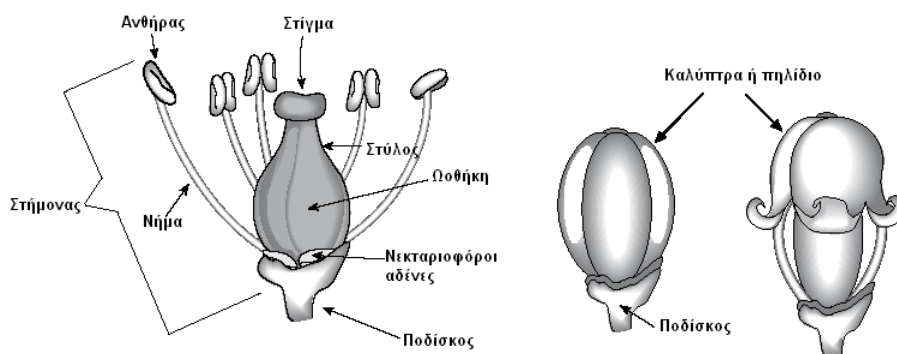
## Εισαγωγή

Η άμπελος ανήκει στην οικογένεια των Αμπελίδων (Ampelidae, Ampelidaceae, Vitaceae) η οποία υπάγεται στην τάξη των Ramnales, στο φύλο των Terebinthales-Rubiales και περιλαμβάνει το γένος *Vitis* στο οποίο υπάγονται τα υπογένη *Euvitis* και *Muscandinia*.

Είναι θαμνώδες φυτό, συνήθως αναρριχώμενο, με έλικες απλές ή διακλαδιζόμενες. Οι έλικες εκφύονται στους κόμβους, αντίθετα από τα φύλλα, τα οποία είναι 3λοβα ή 5λοβα. Τα άνθη είναι πολύγαμα-δίοικα ή ερμαφρόδιτα και διατάσσονται σε βοτρυώδεις ταξιανθίες οι οποίες βρίσκονται στους κόμβους, αντίθετα από τα φύλλα. Τέλος ο καρπός της αμπέλου είναι ράγα και εντάσσεται στους μη-κλιμακτηριακούς καρπούς.

## Χαρακτηριστικά του άνθους

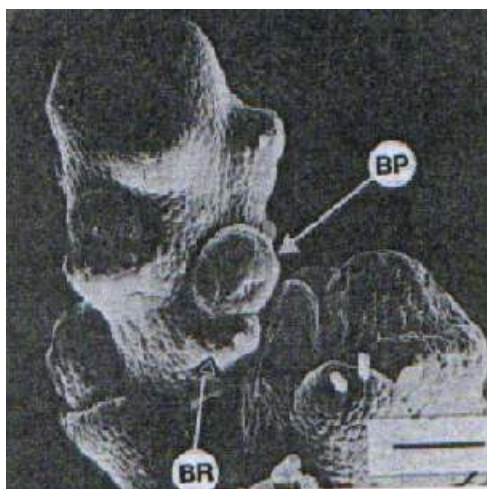
Τα άνθη των ποικιλιών του είδους *V. vinifera* είναι ερμαφρόδιτα, δηλαδή φέρουν και τα αρσενικά και τα θηλυκά όργανα αναπαραγωγής. Το κάθε άνθος φέρει πέντε στήμονες, οι οποίοι αποτελούνται από το νήμα και τους δίχωρους ανθήρες. Ο ύπερος αποτελείται από τη δίχωρη, αποειδούς σχήματος ωθήκη (η οποία αποτελείται από δύο καρπόφυλλα (σπάνια τρία)), τον παχύ και κοντό στύλο και το σαρκώδες και υγρό στίγμα. Επίσης το άνθος αποτελείται από τον ποδίσκο (με τον οποίο προσφύεται στο βοτρυδίο), τον κάλυκα και την στεφάνη. Τα πέταλα της στεφάνης είναι ενωμένα μεταξύ τους και σχηματίζουν την καλύπτρα ή το πηλίδιο. Μεταξύ των πετάλων και των στημόνων βρίσκονται πέντε νεκταριοφόροι αδένες οι οποίοι μετά την καρπόδεση ξηραίνονται αλλά παραμένουν προσκολλημένοι πάνω στη ράγα.



**Εικόνα 1:** Απεικόνιση ενός ερμαφρόδιτου άνθους. (Dokoozlian, 2002)

## Γονιμοποίηση – Καρπόδεση

Ανάλογα με την ποικιλία, κάθε λανθάνων οφθαλμός αποτελείται από περισσότερες από τρεις ανθικές καταβολές και κάθε καταβολή αποτελείται από μερικές χιλιάδες άνθη (~2000). Από αυτά, το 70-80% , υπό κανονικές συνθήκες αποτυγχάνουν να γονιμοποιηθούν και τελικά πέφτουν (Mullins *et al.*, 1990).



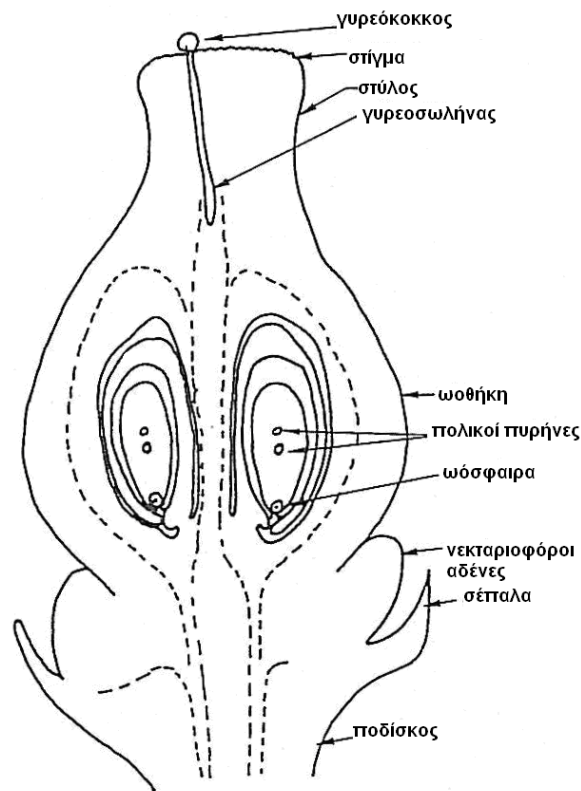
(α)



(β)

**Εικόνα 2:** (α) Απεικόνιση των ανθικών καταβολών εντός του λανθάνοντα οφθαλμού. BP: πρωταρχικό ανθικό μερίστωμα, BR: πρωταρχικό βράκτιο φύλλο, (Mullins., 1990), (β) ταξιανθία πριν την πτώση των πηλιδίων.

Η γονιμοποίηση της ωοθήκης χαρακτηρίζεται ως διπλή. Πιο αναλυτικά, μετά την επικάλυψη του γυρεόκοκκου στο στίγμα του υπέρου, ο γυρεόκοκκος απορροφά νερό από το στιγματικό υγρό, διογκώνεται και προβάλλει οτγυρεοσωλήνα διαμέσω των πόρων της εξωτερικής μεμβράνης του. Ο γυρεοσωλήνας έπειτα, αυξάνεται με ταχύ ρυθμό και, δια του στύλου, φθάνει στην ωοθήκη. Όταν ο γυρεοσωλήνας φθάσει στην ωοθήκη, εισχωρεί και εναποθέτει τους δύο πυρήνες του στον εμβρυόσακκο. Έπειτα, ο ένας πυρήνας γονιμοποιεί την ωόσφαιρα και σχηματίζει το ζυγωτό (έμβρυο) ενώ ο δεύτερος πυρήνας συγχωνεύεται με το δευτερογενή πυρήνα του εμβρυόσακκου. Έτσι, η σπερματική βλάστη αναπτύσσεται σε γίγαρτο το οποίο περιλαμβάνει το ενδοσπέρμιο και το έμβρυο. (Σταυρακάκης, 1999).



**Εικόνα 3:** Απεικόνιση της ανάπτυξης του γυρεοσωλήνα και των μερών του άνθους.  
(Πηγή: Reynier, 1997)

Στην περίπτωση της εξ ερεθισμού παρθενοκαρπίας (π.χ. Κορινθιακή σταφίδα), η γονιμοποίηση δεν είναι εφικτή γιατί από την μία, η ανάπτυξη της σπερματικής βλάστης διακόπτεται κατά τη διάρκεια της άνθισης και από την άλλη, ο εμβρυόσακκος παρουσιάζει ανωμαλίες στην ανάπτυξή του με αποτέλεσμα την ολική ή μερική καταστροφή των πυρήνων. Για το σχηματισμό των αγίγαρων αυτών ραγών αρκεί ο "ερεθισμός" που προκαλείται από την γύρη που επικάθεται στο στίγμα του υπέρου.

Στην περίπτωση της στενοσπερμοκαρπίας (π.χ. Σουλτανίνα), ενώ η επικονίαση και η γονιμοποίηση γίνονται κανονικά μετά την άνθιση, η ανάπτυξη του εμβρύου σταματά λόγω της πύρωσης αυτού. Η περίπτωση αυτή μη φυσιολογικής γονιμοποίησης οφείλεται στα παρακάτω φαινόμενα: μετά την είσοδο των πυρήνων του γυρεόκοκκου, ο ένας ενώνεται με την ωόσφαιρα, προς το σχηματισμό του ζυγωτού, και ο δεύτερος ενώνεται με το δευτερογενή πυρήνα του εμβρυόσακκου. Στην συνέχεια όμως, το ζυγωτό παραμένει αδρανές και μετά από διάστημα περίπου 30 ημερών νεκρώνεται ενώ ο ενδοσπερμικός πυρήνας παρουσιάζει σειρά διαιρέσεων με αποτέλεσμα την αύξηση σε μέγεθος και αριθμό των κυττάρων του σπερματικού πυρήνα. (Pearson, 1932. Πηγή: Σταυρακάκης, 1999).

Υπάρχει και μια τρίτη περίπτωση μη φυσιολογικής γονιμοποίησης η οποία καταλήγει στη δημιουργία ραγών με γίγαρτα κενά εμβρύου (π.χ. Τσαούσι). Στην περίπτωση αυτή, το έμβρυο είναι κατεστραμμένο και το ενδοσπέρμιο είναι συρρικνωμένο. (Σταυρακάκης, 1999).

Ο όρος 'καρπόδεση' χρησιμοποιείται για την περιγραφή του φαινομένου της γονιμοποίησης του άνθους και της εξέλιξης αυτού σε καρπό. Έτσι, λοιπόν τα στάδια άνθιση-επικονίαση-γονιμοποίηση-ανάπτυξη της σπερματικής βλάστης σε γίγαρτο αποτελούν την φυσιολογική καρπόδεση. (Σταυρακάκης, 1999). Ο όρος αυτός είτε αναφέρεται στο ποσοστό των ανθέων που τελικά θα γονιμοποιηθούν και θα δώσουν καρπούς (συνήθως είναι το 20-30%) είτε στις φυσιολογικές διεργασίες που συμμετέχουν στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης των ραγών. Η καρπόδεση ολοκληρώνεται μέσα σε δύο με τρεις εβδομάδες μετά τη άνθιση. Η διαδικασία της καρπόδεσης χαρακτηρίζεται από i) τη συνεχόμενη διαίρεση των κυττάρων του περικαρπίου και ii) την παρεμπόδιση της δράσης των γιββερελλινών στην βάση του ποδίσκου της ράγας (παρεμπόδιση της καρπόπτωσης). (Mullins *et al.*, 1990).

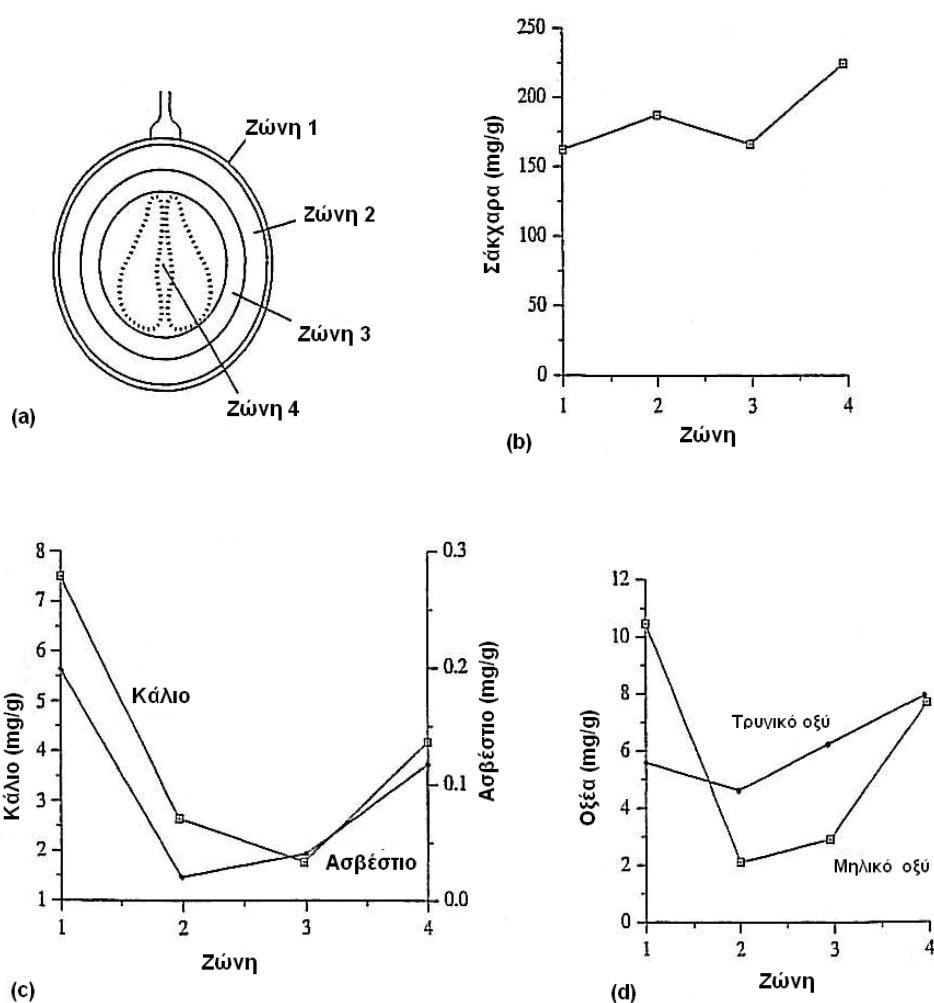
### **Μορφολογικά χαρακτηριστικά της ράγας**

Η ράγα προέρχεται αποκλειστικά από την ανάπτυξη των ιστών της νουκέλλου της ωοθήκης. Είναι γνήσια ράγα, δηλαδή σαρκώδης καρπός που φέρει μη-αποσχιζόμενο, και σε όλο το βάθος του, σαρκώδες περικάρπιο και περιλαμβάνει δύο συγκαρπικά καρπόφυλλα. Το κάθε καρπόφυλλο αποτελείται από δύο ανάτροπους σπερματικές βλάστες, διατεταγμένες σε αξονική θέση, οι οποίες κατά την ωρίμανση μετατρέπονται σε γίγαρτα.

Υπάρχει πληθώρα βιβλιογραφικών αναφορών στην ονοματολογία των ιστών της ράγας. Σύμφωνα με την Pratt (1971), ο καρπός αποτελείται από το περικάρπιο και τα γίγαρτα. Το περικάρπιο είναι το τμήμα του καρπού από την εξωτερική επιφάνειά του μέχρι τα γίγαρτα και αποτελείται από 5 μέρη: α) την επιδερμίδα, β) το υπόδερμα, γ) το εξωτερικό τοίχωμα, δ) το εσωτερικό τοίχωμα και ε) την εσωτερική επιδερμίδα η οποία γειτονεύει με τα γίγαρτα. Οι Viala και Pechoutre (1910) χαρακτηρίζουν την επιδερμίδα ως επικάρπιο, το κεντρικό τμήμα του καρπού ως μεσοκάρπιο και την εσωτερική επιδερμίδα ως ενδοκάρπιο. (Πηγή: Mullins *et al.*, 1990). Σύμφωνα με τον Fournioux (1982) ο καρπός αποτελείται από 3 κύρια τμήματα: α) το περικάρπιο ή

φλοιό που αποτελείται από την εφυμενίδα, την επιδερμίδα και το υπόδερμα , β) το μεσοκάρπιο ή τη σάρκα και γ) το ενδοκάρπιο ή εσωτερικό στρώμα της σάρκας. (Πηγή: Mullins *et al.*,1990). Από την άλλη ο Guillon (1905) αναφέρει ότι ο φλοιός αποτελεί το επικάρπιο και η σάρκα αποτελεί το μεσοκάρπιο και το ενδοκάρπιο. Κατά τον Ribereau-Gayon *et al.* (1998), το περικάρπιο χωρίζεται στο εξωκάρπιο (φλοιός), το μεσοκάρπιο (σάρκα) και το ενδοκάρπιο (η περιοχή γύρω από τα γίγαρτα).

Αν χωρίσουμε τη ράγα σε τέσσερις ζώνες, η σύσταση του κάθε τμήματος περιγράφεται από τα κάτωθι σχεδιαγράμματα:



**Εικόνα 4:** Ανάλυση των κυριότερων συστατικών εντός της ράγας. Τα αποτελέσματα είναι εκφρασμένα σε mg/g νωπού βάρους. a) ζώνες της ράγας, b) σάκχαρα, c) κατιόντα και d) οξέα. (Possner και Kliewer,1985).

Έτσι, σύμφωνα με την εικόνα 2, ο φλοιός (δηλαδή η ζώνη 1) είναι φτωχός σε σάκχαρα ενώ είναι πλούσιος σε οξέα και κατιόντα. Αντίθετα, το μεσοκάρπιο (δηλαδή οι ζώνες 2 και 3) είναι φτωχό σε οξέα και κατιόντα και πλούσιο σε σάκχαρα. Τέλος,

το ενδοκάρπιο (ζώνη 4) περιέχει τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σακχάρων ενώ είναι πλουσιότερο σε κατιόντα και οξέα συγκριτικά με το μεσοκάρπιο.

Αναλυτικά, για το κάθε μέρος της ράγας ισχύουν τα παρακάτω:

#### A) Φλοιός :

Ο φλοιός αποτελεί το 5-10% του συνολικού βάρους της ράγας. Οι Considine και Knox (1979, 1981) περιγράφουν το φλοιό της ράγας ως ένα δερματώδες σύστημα που περιλαμβάνει την εφυμενίδα (η οποία καλύπτεται από την κηρώδη ανθηρότητα), την εξωτερική επιδερμίδα του περικαρπίου (η οποία αποτελείται από ισοδιαμετρικά κύτταρα ίδιου μεγέθους με τα εξωτερικά κύτταρα του μεσοκαρπίου) και το κολλεγχυματικό υπόδερμα. Επίσης, αποτελείται από ιστούς που είναι πλουσιότεροι σε βιταμίνη C από την σάρκα και που αποτελούνται από ουσίες που συνεισφέρουν σημαντικά στο χρώμα, στο άρωμα και στη γεύση. (Mullins *et al.*, 1990).

Η εφυμενίδα καλύπτεται από ένα λεπτό στρώμα κηρώδων λεπίων που αποκαλείται κέρινη ή κηρώδης ανθηρότητα. Ο σχηματισμός της κηρώδους ανθηρότητας αρχίζει 3 εβδομάδες μετά την άνθιση, με την εμφάνιση μικρών, απλών, υδρόφοβων κηρώδων πλακών των οποίων το μέγεθος, ο αριθμός και η πολυπλοκότητά τους αυξάνει καθώς οι ραγές ωριμάζουν. Το πάχος τους κυμαίνεται από 1,6 – 3,8 μm και μειώνεται ελαφρώς κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών. Ο κηρός αυτός αποτελείται κυρίως από ολεανικό οξύ (79%) και από μαλακό κηρό ο οποίος αποτελείται από μεγάλης αλύσσου αλκοόλες, λιπαρά οξέα, ίχνη εστέρων, αλδεΐδες και παραφίνες. Η κηρώδης ανθηρότητα συμβάλλει στην ελκυστικότητα της ράγας, παρεμποδίζει την απώλεια νερού από τις ράγες, ενισχύει την άμυνα κατά των εγκαυμάτων που προκαλούνται από τις ηλιακές ακτίνες, συμβάλλει στην αντοχή τους από προσβολές από παθογόνα και έντομα, συντελεί στην ταχεία απομάκρυνση της βροχής και συγκρατεί τους ζυμομύκητες. Επίσης, περιέχει συστατικά με μεγάλη θρεπτική αξία για τους ζυμομύκητες.

Η επιδερμίδα αποτελείται από μία ή δύο στοιβάδες εφαπτόμενων, επιμηκυμένων κυττάρων και είναι το στρώμα του φλοιού στο οποίο περιέχονται αρωματικές και πρόδρομες αρωματικές ενώσεις, χαρακτηριστικές της κάθε ποικιλίας.

Το υπόδερμα αποτελείται από 6 – 10 στοιβάδες κυττάρων, από τις οποίες οι 2-3 πρώτες περιέχουν τις ανθοκυάνες ή τις φλαβόνες, χρωστικές στις οποίες οφείλεται το χρώμα των ερυθρών και των λευκών σταφυλιών αντιστοίχως. Το υπόδερμα περιλαμβάνει δύο ευδιάκριτες περιοχές: την εξωτερική, η οποία αποτελείται από



ορθογώνια κύτταρα, και η εσωτερική περιοχή, η οποία αποτελείται από πολυγωνικά κύτταρα.

Τα κύτταρα του φλοιού έχουν ευδιάκριτο και ενεργό μεταβολισμό ο οποίος συμπεριλαμβάνει πολλές βιοχημικές και φυσιολογικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών. Αποτελείται κυρίως από νερό (75-80%) ενώ υπάρχουν ακόμα ταννίνες (1-2%), μονομερείς κατεχίνες και ελάχιστη ποσότητα σακχάρων. Επιπλέον, είναι πλούσιος σε αδιάλυτες πηκτίνες, σε κυτταρίνη και σε πρωτεΐνες, καθώς επίσης και σε οξέα όπως είναι το τρυγικό, το μηλικό και το κιτρικό οξύ. Τέλος, ο φλοιός των ραγών φέρει στομάτια των οποίων η συχνότητα και η εμφάνιση αποτελεί αμπελογραφικό χαρακτηριστικό. Συνήθως ο αριθμός τους κυμαίνεται μεταξύ 25 - 40 ανά ράγα. Η δραστηριότητα των στοματίων μειώνεται κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών. Τέλος, ο αριθμός των στοιβάδων του φλοιού και το μέγεθός τους αποτελεί χαρακτηριστικό της κάθε ποικιλίας.

### **B) Σάρκα:**

Η σάρκα αποτελείται από παρεγχυματικά κύτταρα τα οποία αποτελούνται από κυτταρικές κύστες που περιέχουν το κυτταρικό χυμό. Ο κυτταρικός χυμός αποτελεί το 64-90% του βάρους των ραγών. Η σάρκα απαρτίζεται από τα κύτταρα του μεσοκαρπίου και από τα κύτταρα της εξωτερικής και εσωτερικής στοιβάδας του ενδοκαρπίου. Αποτελείται από 20-30 περίπου στοιβάδες, κατά πλειονότητα, μεγάλων πενταγωνικών ή εξαγωγικών κυττάρων. Τα τοιχώματα των κυττάρων των πρώτων κύριων στοιβάδων (κυρίως στις ποικιλίες οινοποίησης) είναι λεπτά και εύθραυστα με αποτέλεσμα να δημιουργείται κάτω από το φλοιό μια πλήρη ζώνη υγρού.

Η σάρκα περιέχει νερό (65 – 80%), σάκχαρα (10 -30%) και οργανικά οξέα, ανόργανα συστατικά, αζωτούχες ουσίες, πηκτινικές ύλες, αρωματικές ουσίες και ταννίνες. Στις βάφτρες ποικιλίες υπάρχουν και χρωστικές ουσίες εντός της σάρκας.

### **Γ) Γίγαρτα:**

Τα γίγαρτα είναι τα όργανα αναπαραγωγής της αμπέλου. Προέρχονται από την γονιμοποίηση της σπερματικής βλάστης ενώ το έμβρυο από την ανάπτυξη του εμβρυόσακκου. Όπως προαναφέρθηκε παραπάνω, η ωοθήκη αποτελείται από δύο καρπόφυλλα και το κάθε καρπόφυλλο από δύο σπερματικές βλάστες. Συνεπώς, ο αριθμός των γιγάρτων κυμαίνεται από 0 έως 4. Οι περιπτώσεις στις οποίες έχουμε ανάπτυξη αγιγάρτων ραγών ή ραγών με γίγαρτα τα οποία στερούνται εμβρύων

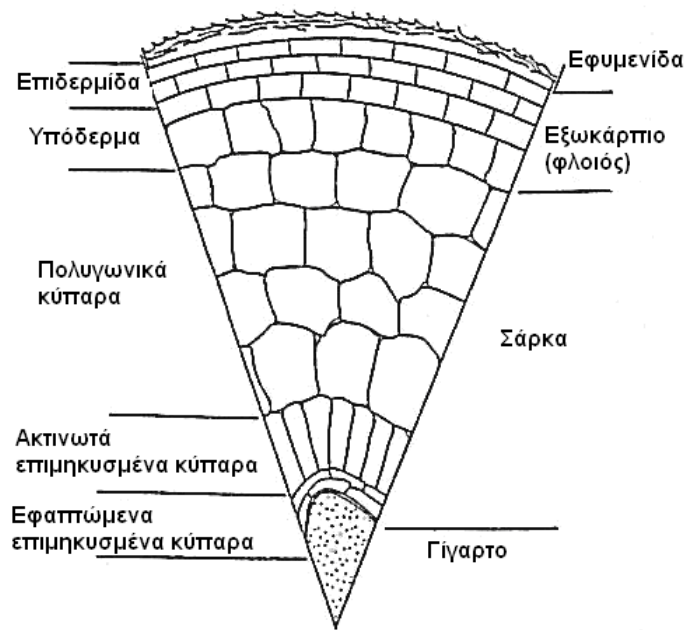
οφείλονται στο φαινόμενο της εξ ερεθισμού παρθενοκαρπίας και στο φαινόμενο της στενοσπερμοκαρπίας αντίστοιχα.

Τα γίγαρτα αποτελούνται από το οξύ μέρος, το οποίο καλείται ράμφος, και από το ωοειδές τμήμα, το οποίο καλείται σώμα. Το σώμα διαιρείται από ένα αυλάκι σε δύο λοβούς. Κάνοντας μία τομή στο γίγαρτο παρατηρούμε ότι αυτό αποτελείται από ένα ζωντανό τμήμα το οποίο καλείται σάρκα ή ιστός, το οποίο εξωτερικά προστατεύεται από το κέλυφος. Στο εσωτερικό της σάρκας του γιγάρτου και προς το μέρος του ράμφους βρίσκεται το έμβρυο.

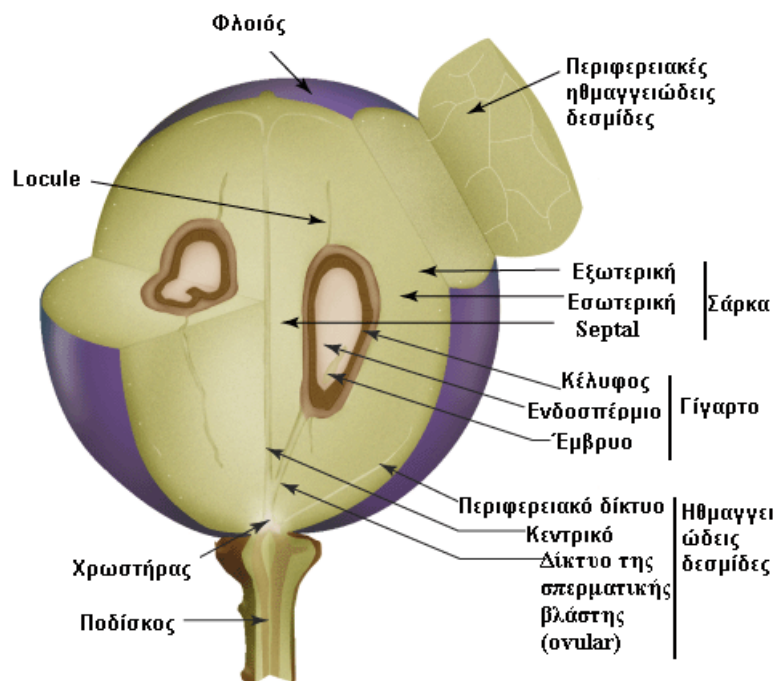
Το κέλυφος του γιγάρτου αποτελείται από τρία στρώματα: το εξωτερικό, το μεσαίο και το εσωτερικό στρώμα. Το εξωτερικό στρώμα είναι μαλακό, αποτελεί το φλοιό του γιγάρτου και περιέχει κόκκους αμύλου και ραφίδες οξαλοξικού ασβεστίου. Το μεσαίο στρώμα είναι το σκληρό τμήμα του γιγάρτου, είναι αδιαπέραστο από το νερό και συνίσταται από 2-3 στοιβάδες κυττάρων τα οποία έχουν πολύ παχιά τοιχώματα. Επίσης, είναι πλούσιο σε ταννίνες. Το στρώμα αυτό αποτελεί τον κερατοειδή ιστό. Το εσωτερικό στρώμα του κελύφους περιέχει λίγο άμυλο και αποτελείται από 2-3 στοιβάδες κυττάρων με μαλακά τοιχώματα.

Τα γίγαρτα αποτελούν το 10% του βάρους των ραγών. Γενικά, είναι πλούσια σε φαινολικά συστατικά (ταννίνες και μονομερείς κατεχίνες) τα οποία συνεισφέρουν στις ταννίνες του κρασιού (5-8%). Επιπλέον περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις ελαιωδών ουσιών (10%) και λιγότερες συγκεντρώσεις ρητινωδών συστατικών. Επίσης αποτελούν έδρα σχηματισμού φυτορρυθμιστικών ουσιών. Έχει σημειωθεί ότι οι εγγίγαρτες ποικιλίες περιέχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις αυξητικών ουσιών και αμψισικού οξέος σε σχέση με τις αγίγαρτες. Η διαπίστωση αυτή δικαιολογεί το γεγονός ότι στις εγγίγαρτες ποικιλίες παρατηρείται μεγαλύτερος ρυθμός αύξησης του μεγέθους των ραγών κατά την αρχική τους φάση ανάπτυξης και εντονότερη επίσχεση του ρυθμού αύξησης κατά την φάση II.

Γενικά, το μέγεθος και η σύνθεση των ραγών επηρεάζεται από την παρουσία των γιγάρτων: όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των γιγάρτων τόσο μεγαλύτερου όγκου είναι η ράγα με συγκριτικά μικρότερες συγκεντρώσεις σε σάκχαρα και νιτρώδη συστατικά αλλά με μεγαλύτερα επίπεδα οξύτητας.



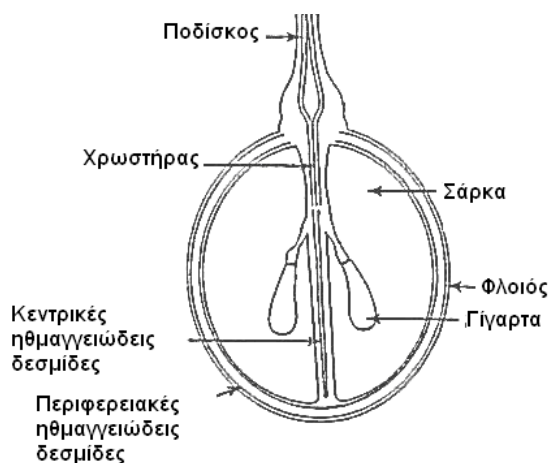
Εικόνα 5: Οι διάφοροι ιστοί της ράγας στην ωρίμανση. (Πηγή: Ribereau-Gayon *et al*,1998).



Εικόνα 6: Δομή της ώριμης ράγας (Κουτρουμίδης) (Πηγή: Kennedy, 2002).

## Αγγειακή δομή του καρπού

Ο ποδίσκος του υπό ανάπτυξη άνθους έχει 5 ή 6 ηθμαγγειώδεις δεσμίδες οι οποίες διαχωρίζονται σε αγωγά στοιχεία που τροφοδοτούν τα μέρη του άνθους και σε αγωγά στοιχεία που τροφοδοτούν την ωοθήκη. Οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες που τροφοδοτούν την ωοθήκη δημιουργούν ένα περίπλοκο δίκτυο από αγγεία μέσα στην ράγα. Το δίκτυο αυτό αποτελείται από τρεις κατηγορίες ηθμαγγειωδών δεσμίδων εκ των οποίων οι δύο, δηλαδή οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες που τροφοδοτούν τα γίγαρτα και οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες που τροφοδοτούν τον πλακούντα, προέρχονται από τις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες του ενδοκαρπίου (septum). Οι ηθμαγγειώδεις δεσμίδες και το παρέγχυμα που τις περιβάλλει κοντά στο σημείο του ποδίσκου καλούνται "χρωστήρας". Η τρίτη κατηγορία αποτελείται από αρκετές διακλαδώσεις περιφερειακών ή επιφανειακών δεσμίδων οι οποίες βρίσκονται στο σημείο συνένωσης του επικαρπίου και του μεσοκαρπίου, δηλαδή στο σημείο συνένωσης του εξωτερικού τοιχώματος και του εσωτερικού τοιχώματος του περικαρπίου. (Mullins *et al.*, 1990). Οι περιφερειακές αυτές ηθμαγγειώδεις δεσμίδες ενώνονται με τις κεντρικές δεσμίδες όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα 5:



**Εικόνα 7:** Αγγειακή δομή του καρπού. (Πηγή: Ribereau-Gayon *et al.*, 1998)

## Ανάπτυξη της ράγας

Μετά την καρπόδεση, παρατηρούνται διάφορες μορφολογικές, βιοχημικές και ανατομικές μεταβολές που συμβάλλουν στην ανάπτυξη και ωρίμανση των ραγών. Η ανάπτυξη χαρακτηρίζεται από μια αύξηση του όγκου των ραγών συνοδευόμενη από την εξέλιξη των φυσικών χαρακτηριστικών (χρώμα, σφριγηλότητα) και της χημικής σύνθεσης των ραγών (σάκχαρα, οξέα, φαινολικά συστατικά). Το μέγεθος των ραγών αυξάνεται περίπου κατά 4000 φορές. Ο αριθμός των κυττάρων, κατά την πορεία ανάπτυξης της ράγας, αυξάνεται κατά 3-4 φορές ενώ ο όγκος των κυττάρων αυξάνεται περίπου κατά 300 φορές. Ο όγκος του περικαρπίου αυξάνεται από 10% με 20% (του όγκου της ράγας στη φάση της άνθισης) μέχρι 50% (στη φάση της ωρίμανσης). (Mullins *et al.*, 1990). Συνοπτικά παρατηρούνται τα εξής φαινόμενα:

- αύξηση του όγκου των ραγών,
- αλλαγές στη δομή του φλοιού, της σάρκας και των αγγείων,
- ενεργοποίηση των μεταβολικών μονοπατιών,
- ταχεία συσσώρευση των σακχάρων,
- μείωση της οξύτητας και αύξηση του pH.

Στις εγγίγαρτες ποικιλίες, ο ρυθμός ανάπτυξης των ραγών ακολουθεί μια διπλή σιγμοειδή καμπύλη (εικόνα 6), δηλαδή ο ρυθμός ανάπτυξης των ραγών χωρίζεται σε τρεις φάσεις οι οποίες καθορίστηκαν χρησιμοποιώντας ως παραμέτρους τον όγκο ή βάρος, την διάμετρο και το μήκος των ραγών. (Ribereau-Gayon *et al.*, 1998). Οι τρεις φάσεις που παρατηρούνται είναι οι εξής:

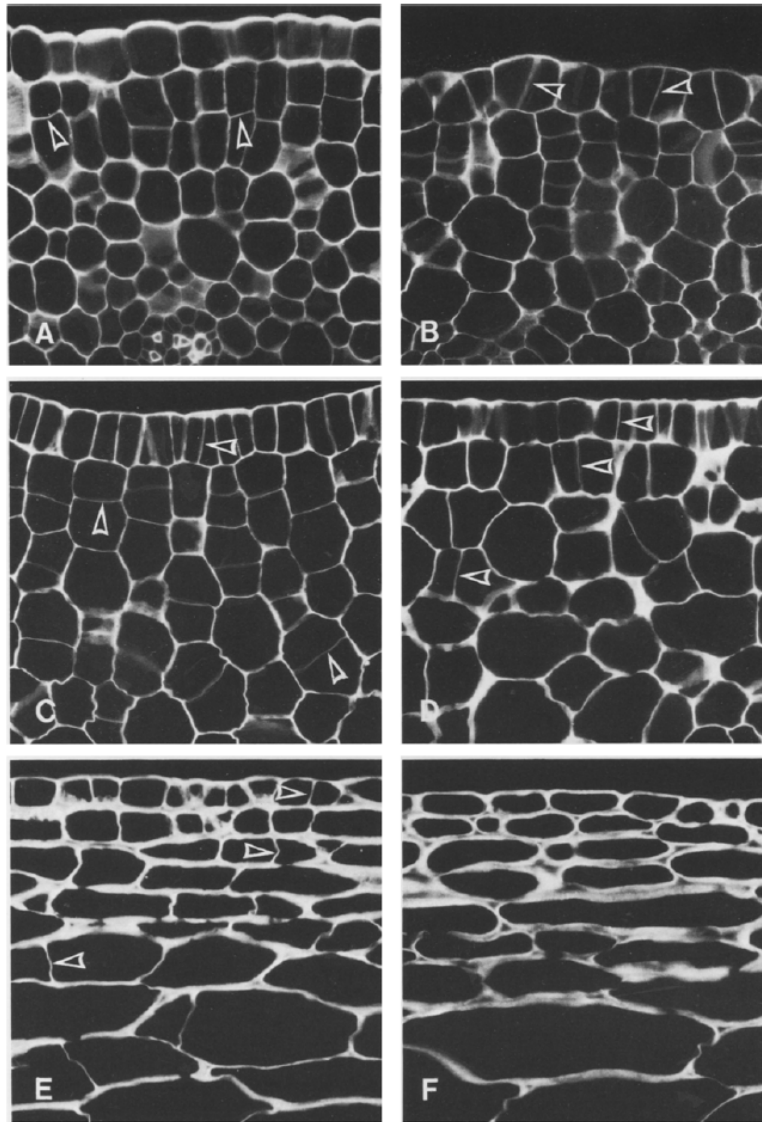
- Φάση I ή περίοδος ταχύτατης ανάπτυξης η οποία χαρακτηρίζεται από έντονη κυτταροδιαίρεση.
- Φάση II ή περίοδος επίσχεσης του ρυθμού ανάπτυξης (lag phase) κατά την οποία μειώνεται ο ρυθμός αύξησης και ανάπτυξης των ραγών και αυξάνεται ο ρυθμός ανάπτυξης των γιγάρτων και
- Φάση III ή περίοδος ταχύτατης ανάπτυξης όπου ο ρυθμός αύξησης των ραγών ακολουθεί ανοδική πορεία μέχρι την ωρίμανση αυτών.

Στις αγίγαρτες ποικιλίες οι παραπάνω φάσεις δεν είναι ευδιάκριτες λόγω της μικρής διάρκειας της φάσης II (λόγω της απουσίας των γιγάρτων).

Αναλυτικά για την κάθε φάση ισχύουν τα εξής:

- **Φάση I:**

Κατά την φάση αυτή παρατηρούνται υψηλές συγκεντρώσεις αυξινών και χαμηλές συγκεντρώσεις παρεμποδιστών της αύξησης ουσιών. Ξεκινάει αμέσως μετά την άνθιση, διαρκεί 40–60 ημέρες και χαρακτηρίζεται από μια περίοδο 2-3 εβδομάδων γρήγορης κυτταρικής διαίρεσης η οποία συνοδεύεται από μια επιμήκυνση των κυττάρων. Οι περισσότερες κυτταρικές διαιρέσεις στο περικάρπιο γίνονται 5 – 10 ημέρες μετά την άνθιση. Η κυτταρική διαίρεση ξεκινάει αρχικά στον πλακούντα και στο εσωτερικό περικάρπιο (7 – 11 ημέρες μετά την άνθιση), έπειτα στο εξωτερικό περικάρπιο και τέλος στην επιδερμίδα και στο υπόδερμα (32 – 40 ημέρες μετά την άνθιση). (Mullins *et al.*, 1990). Οι Considine και Knox (1981) αναφέρουν ότι από την 2<sup>η</sup> μέχρι την 7<sup>η</sup> ημέρα τα επιδερμικά κύτταρα επιμηκύνονται ακτινωτά ενώ τα κύτταρα που βρίσκονται στο υπόδερμα συνεχίζουν να σχηματίζουν ισημερινή πλάκα η οποία αρχικά έχει κατεύθυνση παράλληλη με την επιφάνεια του φλοιού. Τη 10<sup>η</sup> ημέρα η κατεύθυνση των ισημερινών πλακών των κυττάρων του υποδέρματος είναι ίδια με την κατεύθυνση των ισημερινών πλακών των επιδερμικών κυττάρων. Μετά την 27<sup>η</sup> ημέρα, περίπου, ολοκληρώνονται οι κυτταρικές διαιρέσεις. Κατά το στάδιο αυτό έχει αυξηθεί ο όγκος των κυττάρων ενώ παράλληλα τα κύτταρα έχουν επιμηκυνθεί ακτινωτά. Επίσης οι Considine και Knox αναφέρουν ότι το πάχος του φλοιού έχει αυξηθεί κατά 10 φορές. Κατά την 38<sup>η</sup> ημέρα, τα επιδερμικά κύτταρα έχουν αυξηθεί αρκετά σε διάσταση ενώ έχουν διαφοροποιηθεί 6-7 στρώματα κολλεγχυματικών κυττάρων στο υπόδερμα.



**Εικόνα 8:** Υπόδειγμα της ανάπτυξης και της κυτταρικής διαίρεσης σε εγκάρσια τομή σε ράγα της ποικιλίας “Gordo”. **A:** Στάδιο της άνθισης. Διάμετρος της ωοθήκης 1,17mm. Τα βέλη δείχνουν τις πρόσφατες κυτταρικές διαιρέσεις των κυττάρων που βρίσκονται στο υπόδερμα. **B:** 2<sup>η</sup> ημέρα. Η διάμετρος του περικαρπίου είναι 1,32 mm. **C:** 4<sup>η</sup> ημέρα. Η διάμετρος του περικαρπίου είναι 1,57 mm. **D:** 10<sup>η</sup> ημέρα. Η διάμετρος του περικαρπίου είναι 3,84 mm. **E:** 27<sup>η</sup> ημέρα. Η διάμετρος του περικαρπίου είναι 10,5 mm. Στο στάδιο αυτό παρατηρείται μια αύξηση του πάχους του κυτταρικού τοιχώματος **F:** 38<sup>η</sup> ημέρα. Η διάμετρος του περικαρπίου είναι 14,2mm. Στο στάδιο αυτό παρατηρείται μια αύξηση του πάχους των επιμηκυσμένων ακτινωτά κυττάρων καθώς και μια μεγάλη αύξηση του όγκου αυτών. (Considine και Knox, 1981)

Οι ραγές είναι σφιχτές ενώ το χρώμα τους είναι πράσινο λόγω της παρουσίας της χλωροφύλλης. Παρ’ ότι οι ραγές παρουσιάζουν φωτοσυνθετική δραστηριότητα, τα προϊόντα της φωτοσύνθεσης αυτής δεν αρκούν για τη θρέψη της ράγας (τα φύλλα αποτελούν την κυριότερη πηγή των απαιτούμενων συστατικών για την ανάπτυξη

της). Η συγκέντρωση των σακχάρων είναι χαμηλή ενώ παρατηρείται μια συσσώρευση οργανικών οξέων και έντονη αναπνευστική δραστηριότητα. (Mullins *et al.*, 1990). Επίσης, συσσωρεύονται τα υδροξικιναμωνικά οξέα καθώς και μικροστοιχεία, κατιόντα και αρωματικά συστατικά τα οποία επηρεάζουν σημαντικά την ποιότητα των ραγών και του οίνου (Conde *et al.*, 2007).

Κατά το τέλος της φάσης αυτής, τα γίγαρτα έχουν σχεδόν αποκτήσει το τελικό τους μέγεθος ενώ η ανάπτυξη του εμβρύου δεν έχει ακόμα ολοκληρωθεί (η ανάπτυξη του εμβρύου δεν ακολουθεί την διπλή σιγμοειδή καμπύλη της ανάπτυξης του περικαρπίου). (Mullins *et al.*, 1990).

- **Φάση II:**

Η φάση αυτή χαρακτηρίζεται από την παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων παρεμποδιστών της αύξησης ουσιών και μικρών συγκεντρώσεων υποκινητών της αύξησης. Ξεκινάει 35 – 80 ημέρες μετά την άνθιση και διαρκεί 7 – 40 ημέρες. Η διάρκεια του ρυθμού επίσχεσης της ανάπτυξης των ραγών εξαρτάται από την ποικιλία (πρώιμη ή όψιμη, εγγίγαρτη ή αγίγαρτη), τον χρόνο άνθισης, τον ανταγωνισμό μεταξύ των οργάνων του πρέμνου και των περιβαλλοντικών συνθηκών. Για παράδειγμα, όψιμες, εγγίγαρτες ποικιλίες παρουσιάζουν μια ευκρινή και μεγάλης διάρκειας φάση II ενώ στις πρώιμες και παρθενοκαρπικές ποικιλίες η φάση αυτή είναι ελάχιστα ευκρινής. Συνεπώς, το μήκος της διάρκειας της φάσης αυτής καθορίζει το αν μια ποικιλία θα είναι πρώιμη ή όψιμη.

Κατά την διάρκεια της φάσης II παρατηρείται ταχεία ανάπτυξη του εμβρύου το οποίο προς το τέλος της φάσης αυτής αποκτά το τελικό του μέγεθος. Οι ράγες, από την άλλη, αρχίζουν να γίνονται πιο μαλακές ενώ οι χλωροπλάστες αρχίζουν να αποδιοργανώνονται σε πλαστίδια. Τέλος, η συγκέντρωση των οργανικών οξέων (οξύτητα) φθάνει στο μέγιστο (περίπου 0,27M). (Mullins *et al.*, 1990)

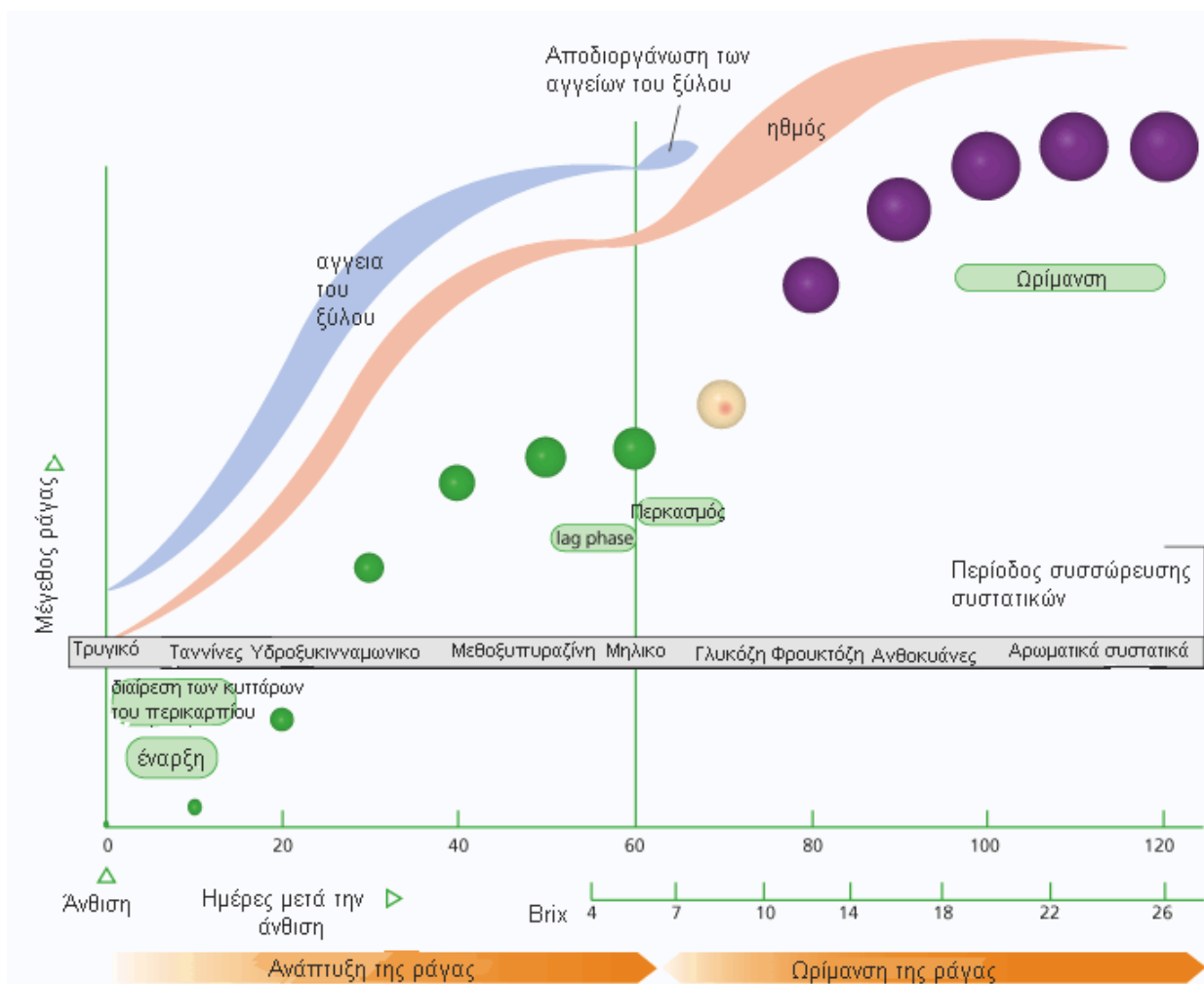
- **Φάση III:**

Η φάση III διαρκεί 35-55 ημέρες και χαρακτηρίζεται από μια ταχεία αλλαγή της εμφάνισης και της δομής των ραγών. Κατά τη φάση αυτή παρατηρείται αύξηση του μεγέθους των ραγών (λόγω της επιμήκυνσης των κυττάρων), μείωση της σφριγυλότητας των ραγών και αύξηση της περιεκτικότητας σε γλυκόζη, φρουκτόζη, ελεύθερα αμινοξέα (κυρίως αργινίνη και προλίνη), πρωτεΐνες και ολικό άζωτο. Οι συγκεντρώσεις των αμμωνιακών και των οργανικών οξέων (κυρίως του μηλικού



οξέως) μειώνονται, αποικοδομείται η χλωροφύλλη (που βρίσκεται στο φλοιό) ενώ παρατηρείται συσσώρευση των ανθοκυανών, των χρωστικών και των αρωματικών συστατικών. Επίσης παρατηρείται μείωση της αναπνευστικής δραστηριότητας και αύξηση της δραστηριότητας κάποιων ενζύμων π.χ. της συνθετάσης της φωσφορικής σακχαρόζης, της συνθετάσης της σακχαρόζης και της εξοκινάσης. (Mullins *et al.*, 1990).

Παρ' όλο που η φάση I είναι πολύ σημαντική για την τελική ποιότητα της ράγας, κατά την δεύτερη περίοδο ταχείας ανάπτυξης (φάση III) παρατηρείται μια μαζική συσσώρευση διαφόρων συστατικών, με κυρίαρχα τη γλυκόζη και τη φρουκτόζη, λόγω της ενεργοποίησης των βιοχημικών αντιδράσεων εντός των ραγών κατά την φάση αυτή. Η μαζική αυτή συσσώρευση των διαφόρων συστατικών είναι εξίσου πολύ σημαντική για την ανάπτυξη και την ποιότητα της ράγας. (Conde *et al.*, 2007).



**Εικόνα 9:** Η πορεία ανάπτυξης των ραγών. Παρουσιάζονται επίσης οι χρόνοι συσσώρευσης των διαφόρων συστατικών της ράγας. (Πηγή: Kennedy, 2002).

Σε αντιστοιχία με τις τρεις παραπάνω φάσεις ανάπτυξης των ραγών, η ανάπτυξη αυτών μπορεί επίσης να διακριθεί σε τρία στάδια με βάση τις μεταβολές της υφής, της περιεκτικότητας των ραγών σε μεταβολίτες και του ρυθμού αύξησης των ραγών. Τα στάδια αυτά είναι τα εξής (Reynier, 1997):

- Το στάδιο της πράσινης ράγας.

Το στάδιο αυτό εκτείνεται από την καρπόδεση μέχρι την έναρξη ωρίμανσης των ραγών. Αντιστοιχεί με τις φάσεις I και II της ανάπτυξης των ραγών. Κατά την διάρκεια του σταδίου αυτού, οι ράγες είναι πράσινες, σκληρές, με μεγάλη περιεκτικότητα σε οργανικά οξέα και με μικρή περιεκτικότητα σε σάκχαρα. Παρατηρείται, τέλος, μια ταχεία αύξηση του μεγέθους ενώ η ράγα αναπτύσσεται και συμπεριφέρεται ως ενεργό φωτοσυνθετικό όργανο, ως όργανο - καταναλωτής (καθώς είναι κέντρο προσέλκυσης στοιχείων που συντίθενται στα φύλλα λ.χ. σάκχαρα και μηλικό οξύ) και ως παραγωγικό όργανο (λόγω της μικρής φωτοσυνθετικής δραστηριότητας που παρουσιάζει, παράγονται οργανικά οξέα με κυρίαρχα το τρυγικό οξύ και το μηλικό οξύ).

- Το στάδιο της ωρίμανσης.

Αρχίζει με το γυάλισμα των ραγών (περκασμό, véraison) και εκτείνεται μέχρι την ωρίμανση των ραγών. Χαρακτηρίζεται ως μια περίοδο γρήγορης εξέλιξης των φυσικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών της ράγας. Το στάδιο αυτό αντιστοιχεί με τη φάση III της ανάπτυξης των ραγών. Έτσι, η ράγα χάνει προοδευτικά το πράσινο χρώμα και τη σκληρότητά της ενώ παράλληλα εμφανίζονται οι διάφορες χρωστικές επί του φλοιού. Η ράγα, στο στάδιο αυτό, λειτουργεί κυρίως ως αποθηκευτικό όργανο.

- Το στάδιο της υπερωρίμανσης.

Κατά τη διάρκεια του σταδίου αυτού, η ράγα συρρικνώνεται ενώ η χημική της σύνθεση εξελίσσεται υποκύπτοντας παράλληλα στις επιθέσεις μυκήτων (π.χ. *Botrytis cinerea*). Επίσης, η ράγα, εξαιτίας των απωλειών νερού, παρουσιάζει μια φαινομενική αύξηση των σακχάρων και μείωση του όγκου της ενώ συγχρόνως συνεχίζεται η μείωση της οξύτητας.

## **Φυσιολογικές και βιοχημικές αλλαγές κατά την πορεία ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών**

Όπως προαναφέρθηκε ανωτέρω, κατά τα διάφορα στάδια της ανάπτυξης των ραγών παρατηρούνται μεταβολές τόσο στη μορφή των ραγών όσο και στην περιεκτικότητα αυτών σε διάφορους μεταβολίτες. Οι περισσότερες μεταβολές που συμβαίνουν από το στάδιο II στο στάδιο III πραγματοποιούνται μέσα σε 24 – 48 ώρες και είναι οι εξής (Mullins *et al.*, 1990):

- μαλάκωμα της ράγας,
- αύξηση του όγκου της ράγας,
- συσσώρευση των εξοζών,
- μείωση της οξύτητας,
- αύξηση του pH,
- αύξηση του αναπνευστικού πηλίκου (RQ),
- εμφάνιση του χρώματος στους φλοιούς (περκασμός),
- αύξηση της συγκέντρωσης της αργινίνης και της προλίνης.

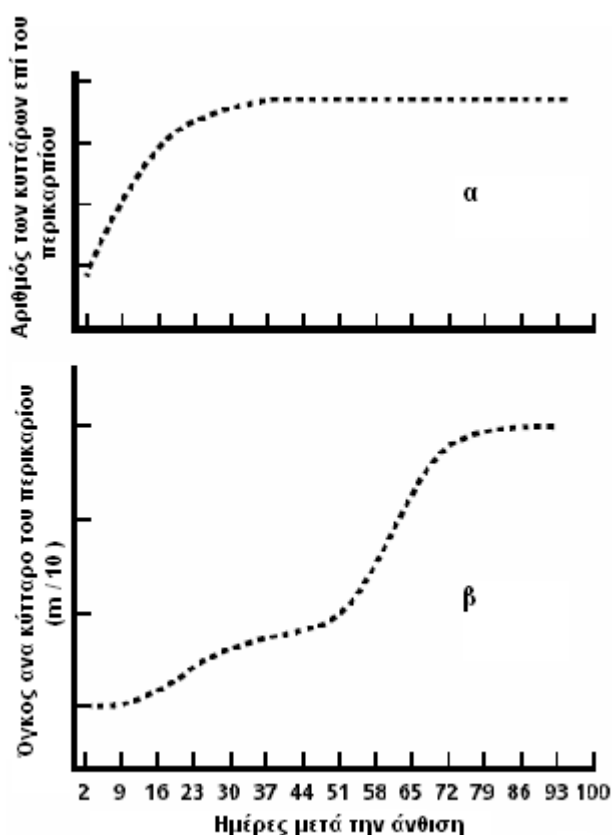
### **A) Βάρος των ραγών.**

Κατά την διάρκεια των φάσεων I και III παρατηρείται μια γρήγορη αύξηση του βάρους των ραγών η οποία κατά την φάση II γίνεται με πιο ασθενείς ρυθμούς. Το εν δυνάμει βάρος ή μέγεθος των ραγών ελέγχεται από τρεις βασικούς παράγοντες: τον αριθμό των κυττάρων, τον όγκο των κυττάρων και την συγκέντρωση των ολικών στερεών διαλυτών (σάκχαρα).

Ο αριθμός των κυττάρων της ράγας αυξάνεται κατά τις τρεις πρώτες εβδομάδες μετά την άνθιση. Πέραν της περιόδου αυτής δεν παρατηρείται περαιτέρω κυτταρική διαίρεση. Επίσης, ο αριθμός των κυτταρικών διαιρέσεων πριν την άνθιση είναι ο πρωταρχικός καθοριστικός παράγοντας του αριθμού των κυττάρων ανά ράγα. Μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στην ποικιλία "Σουλτανίνα" έδειξαν ότι η ράγα αποτελούταν προσεγγιστικά από 200,000 κύτταρα πριν την άνθιση και 600,000 κύτταρα κατά την περίοδο του τρυγητού. Σε αυτό το παράδειγμα, ο τελικός αριθμός των κυττάρων ανά ράγα αυξήθηκε κατά 17 φορές πριν την άνθιση και λιγότερο από δυο φορές μετέπειτα.

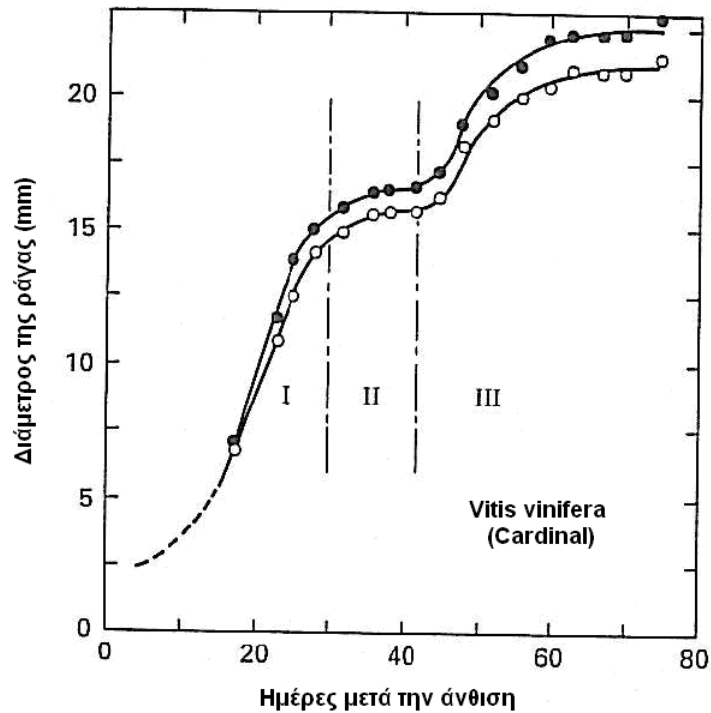
Ο όγκος των κυττάρων αυξάνεται περίπου 300 φορές μεταξύ της άνθισης και του τρυγητού ενώ η συγκέντρωση των ολικών στερεών διαλυτών ανά μονάδα

κυτταρικού όγκου τετραπλασιάζεται κατά την διάρκεια της ίδιας περιόδου.(Dokoozlian, 2002)



**Εικόνα 10:**Μεταβολη α) του αριθμού των κυττάρων ανα ράγα, β)του όγκου των κυττάρων των ραγών της ποικιλίας "Σουλτανίνα". (Πηγή: Dokoozlian, 2002).

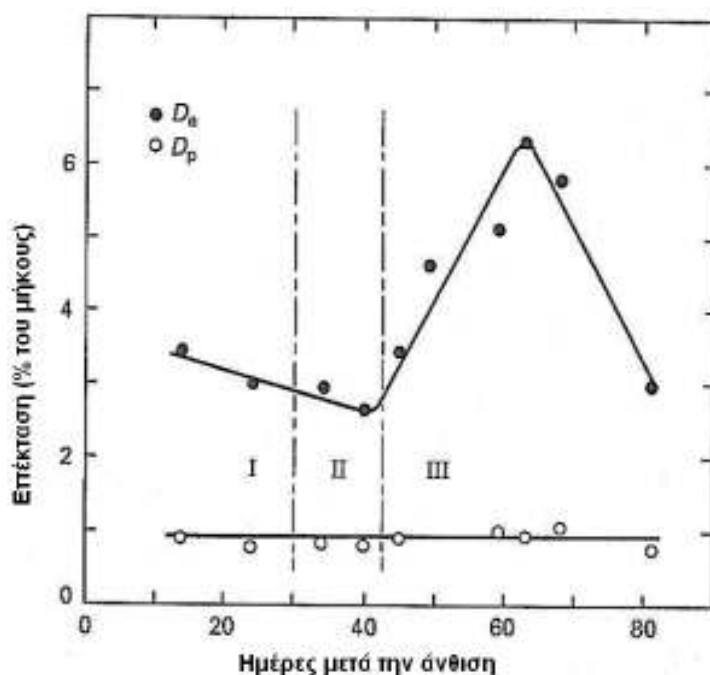
Είναι πιθανόν ότι η συνέχιση της αύξησης των ραγών κατά τη φάση III συνδέεται με την αύξηση του όγκου αυτών, με το υδατικό δυναμικό (το οποίο αποτελεί την κινητήρια δύναμη της διόγκωσης των κυττάρων) και με την αύξηση της ικανότητας επιμήκυνσης του κυτταρικού τοιχώματος. Η συσσώρευση των σακχάρων κατά τη φάση αυτή οδηγεί στην τεράστια μείωση του ωσμωτικού δυναμικού. Αυτό υποδηλώνει ότι το υδατικό δυναμικό μεταξύ του ηθμού και του υπό ανάπτυξη περικαρπίου διαφέρει κατά τον περκασμό. Επιπλέον, ο ρυθμός αύξησης της ράγας, σε αυτό το στάδιο, αυξάνεται πιθανόν λόγω της αύξησης της συσσώρευσης νερού εντός της ράγας. (Mullins *et al.*, 1990).



**Εικόνα 11:** Οι μεταβολές της διαμέτρου των ραγών. Οι μετρήσεις έγιναν σε δυο επαναλήψεις (κλειστοί και ανοικτοί κύκλοι) για 70 ημέρες μετά την άνθιση. Τα I, II και III αναφέρονται στις τρεις φάσεις ανάπτυξης των ραγών. (Matthews *et al.* 1987) (Πηγή: Mullins *et al.*, 1990).

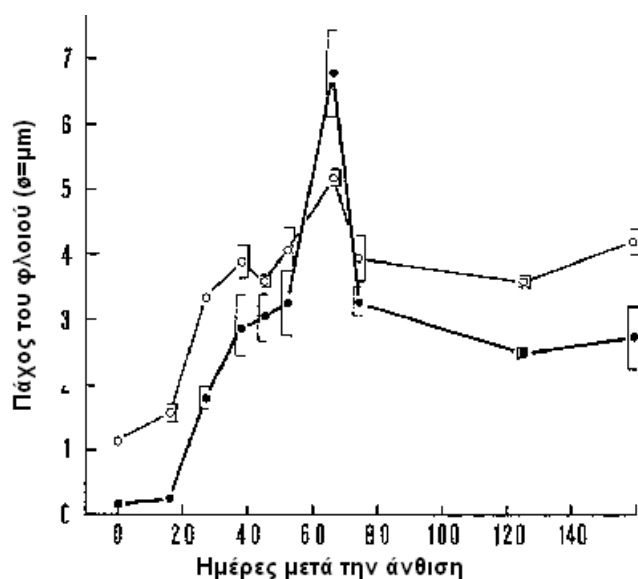
Μεταβολές του κυτταρικού τοιχώματος:

Η σφριγυλότητα των ραγών αρχίζει να μειώνεται με γοργούς ρυθμούς λίγες ημέρες μετά την έναρξη της ανάπτυξης. Η αύξηση του μεγέθους των ραγών φαίνεται να περιορίζεται από την μικρή ικανότητα ανάπτυξης των κυττάρων του επιδερμικού συστήματος του φλοιού. Πειραματικές παρατηρήσεις έδειξαν ότι σε ράγες στις οποίες είχε αφαιρεθεί ο φλοιός, ο ρυθμός ανάπτυξης τους ήταν διπλάσιος του μάρτυρα. Αυτό αποδεικνύει ότι ο ρυθμός αύξησης του μεγέθους του μεσοκαρπίου είναι σημαντικά υψηλότερος με τον αντίστοιχο ρυθμό του φλοιού. (Mullins *et al.*, 1990). Επίσης οι Mullins *et al.* (1990) αναφέρουν ότι η αύξηση του μεγέθους συσχετιζόταν προσωρινά με μια γρήγορη αύξηση της ικανότητας της πλαστικής επέκτασης των ιστών του φλοιού.



**Εικόνα 12:** Ελαστική ( $D_e$ ) και πλαστική ( $D_p$ ) επέκταση των επιδερμικών ιστών των ραγών της ποικιλίας “Cardinal”. (Matthews *et al.* 1987) (Πηγή: Mullins *et al.*, 1990)

Η φάση της επίσχεσης του ρυθμού ανάπτυξης μπορεί να αντιπροσωπεύει μια ασυνήθιστη μορφή ανάπτυξης κατά την οποία ο ρυθμός ανάπτυξης των κυττάρων του φλοιού μειώνεται ενώ αυξάνεται η χαλαρότητα του φλοιού. Οι Considine και Knox (1981) παρατήρησαν ότι στην ποικιλία “Gordo” η εξωτερική επιφάνεια της ράγας αυξήθηκε κατά 400 φορές κατά την φάση I και 1,6 φορές επιπλέον κατά την φάση III.



**Εικόνα 13:** Μεταβολή του πάχους κυτταρικού τοιχώματος μεταξύ της δεύτερης και τρίτης κυτταρικής στοιβάδας ( $\bullet$ ) και της εφυμενίδας ( $\circ$ ) (Considine και Knox, 1979)

Το μαλάκωμα των ραγών κατά την διάρκεια του σταδίου της ωρίμανσης οφείλεται σε αλλαγές που επισυμβαίνουν στα βασικά δομικά συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος. Στην αρχή της ανάπτυξης των ραγών το κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος είναι η κυτταρίνη. Από την άλλη, το στάδιο του περκασμού χαρακτηρίζεται από μια σημαντική αύξηση της βιοσύνθεσης των πηκτινών σε τέτοιο βαθμό που σε κάποιες ποικιλίες αποτελούν το κυριότερο συστατικό. Επίσης, η ενυδάτωση του κυτταρικού τοιχώματος, η οποία χαρακτηρίζεται από μια διόγκωση, ευνοείται από την αύξηση του λόγου  $K^+/Ca^{2+}$  με αποτέλεσμα οι πηκτίνες να είναι λιγότερο συνδεδεμένες με το ασβέστιο.

Οι πηκτίνες εξασφαλίζουν μια ασθενική συνοχή των κυτταρινών. Η ωρίμανση συνοδεύεται από την διαλυτοποίηση αυτών λόγω της επίδρασης διαφόρων παραγόντων. Συντίθενται από τον πολυμερισμό του γαλακτουρονικού οξέως και των διαφόρων οζών (ραμνόζη, γαλακτόζη και αραβινόζη). Αρχικά, η μεθυλεστεράση της πηκτίνης (PME) ελευθερώνει τις όξινες ομάδες του γαλακτουρονικού οξέως, με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης της μεθανόλης. Οι ελεύθερες όξινες ομάδες του εναπομείναντα γαλακτουρονικού οξέως προσβάλλονται και από άλλες ενζυμικές δραστηριότητες: από την δράση των πολυγαλακτορουνασών και την δράση των λυασών των πηκτινών. Παρ' όλο που οι μεθυλεστεράσες των πηκτινών εντοπίζονται επί τω πλείστω στους φλοιούς των ραγών, όλα αυτά τα ένζυμα είναι επίσης δραστήρια και στην σάρκα. Το γεγονός αυτό εξηγεί την μείωση των ολικών πηκτινικών συστατικών κατά την πορεία της ωρίμανσης. Στην ωρίμανση, η συγκέντρωση των πηκτινών εντός των ραγών είναι πολύ χαμηλή. Το φαινόμενο αυτό συνοδεύεται από μια αύξηση των διαλυτών πηκτινικών μορίων. (Ribereau-Gayon *et al*, 1998).

Η Nunan (1999) παρατήρησε ότι κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών, οι συγκεντρώσεις των υδατοδιάλυτων πηκτινών και των πρωτεϊνών πλούσιων σε υδροξυπρολίνες αυξηθήκαν ενώ μειώθηκε η συγκέντρωση της γαλακτάνης/αραβινογαλακτάνης-I. Προτείνει, επίσης, ότι οι αλλαγές της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος σε πολυσακχαρίτες οφείλεται σε ένζυμα που συμμετέχουν στη διαδικασία του μαλακώματος της ράγας. Διαπίστωσε, λοιπόν, ότι η δράση της β-γαλακτοσιδάσης και η δράση της α-γαλακτοσιδάσης αυξάνονταν σημαντικά καθώς η ράγα γινόταν λιγότερο σφιχτή. Η β-γαλακτοσιδάση μπορεί να είναι το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για την μείωση της γαλακτάνης εντός του κυτταρικού τοιχώματος κατά την διαδικασία του μαλακώματος της ράγας. Από την

άλλη, η δράση της μεθυλεστεράσης της πηκτίνης παραμένει σχετικά χαμηλή κατά την πορεία ωρίμανσης. Η πολυγαλακτουρονάση, η γαλακτανάση, η κυτταρίνη και η ξυλογλουκανάση είχαν μικρή ή καθόλου δραστηριότητα στις ώριμες ράγες. Οι Yakushiji *et al.* (2001) παρατήρησαν ότι η συγκέντρωση της κυτταρίνης μειώθηκε κατά την ωρίμανση, παρουσιάζοντας μια ταχεία μείωση μεταξύ των σταδίων πριν του περκασμού μέχρι τον περκασμό. Οι πηκτίνες και οι ημικυτταρινικοί πολυσακχαρίτες μειώθηκαν κατά την ίδια χρονική περίοδο καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η μείωση της σφριγηλότητας των ραγών που παρατηρείται κατά την πορεία ωρίμανσης οφείλεται σε διεργασίες αποπολυμερισμού των πηκτινών και των ξυλογλουκανικών μορίων και μείωσης των ποσοστών της ημικυτταρίνης και της κυτταρίνης. Τέλος, οι Robinson *et al.* (1997) παρατήρησαν αυξημένη την δράση της χιτινάσης από την έναρξη της ωρίμανσης μέχρι το τέλος αυτής.

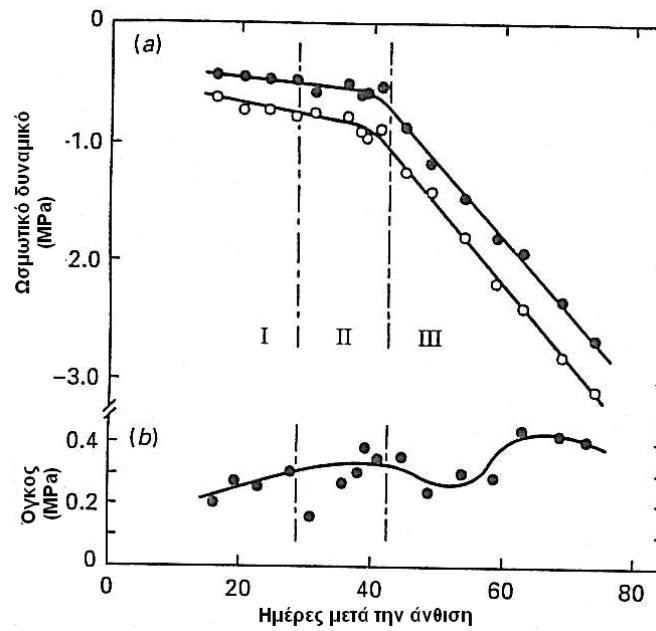
### **B) Νερό.**

Οι ράγες απαιτούν ένα σημαντικό ποσοστό νερού για την ανάπτυξη και αύξηση τους καθώς το νερό αποτελεί το 70 – 80% του νεπού βάρους των ραγών κατά τον τρυγητό. Η αύξηση του όγκου των ραγών είναι πρωταρχικά αποτέλεσμα της συσσώρευσης του νερού. Συνεπώς, για την ορθή ανάπτυξης της ράγας απαιτείται σωστή αναλογία μεταξύ του νερού και των διαλυτών συστατικών που μεταφέρονται μέσω των ηθμαγγειωδών δεσμίδων. Ομοίως, υποστηρίζεται από τους Matthews και Shackel (2005) ότι κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών πρέπει να επικρατεί ένα ευνοϊκό ολικό υδατικό δυναμικό μεταξύ της ράγας και των άλλων οργάνων του πρέμνου. Η σχέση αυτή ρυθμίζεται από το ωσμωτικό δυναμικό και την διαπνοή.

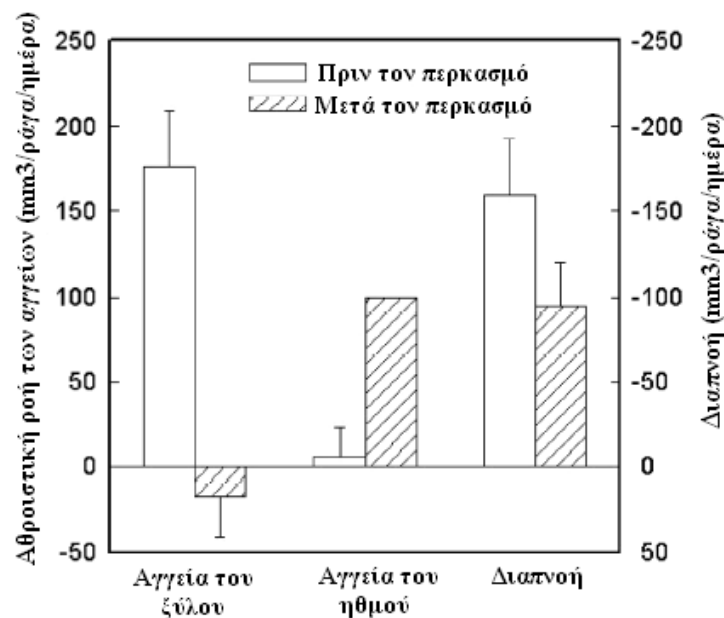
Σύμφωνα με τον Keller (2005), η συγκέντρωση των ραγών σε νερό φθάνει σε μια μέγιστη τιμή πριν τον περκασμό. Έπειτα μειώνεται περίπου στο 80% κατά την ωρίμανση ενώ στο στάδιο της υπερωρίμανσης η περιεκτικότητα σε νερό φθάνει μέχρι 70%. Αυτή η μείωση συσχετίζεται με την αποδιοργάνωση των αγγείων του ξύλου τα οποία διοχέτευαν τις ράγες με νερό. Πριν από το στάδιο του περκασμού, οι μεγαλύτερες ποσότητες νερού εισέρχονται στις ράγες, κυρίως, μέσω των αγγείων του ξύλου και, σε λιγότερο βαθμό, μέσω των αγγείων του ηθμού. Όμως, λίγο μετά τον περκασμό, τα αγγεία του ξύλου αποδιοργανώνονται με αποτέλεσμα τα αγγεία του ηθμού να γίνονται οι κύριες οδοί μεταφοράς νερού εντός των ραγών. Οι Matthews και Shackel (2005) αναφέρουν ότι η αλλαγή αυτή της μεταφοράς του νερού πιθανόν



να οφείλεται στις διαφορετικές ανάγκες της ράγας σε νερό από τα υπόλοιπα όργανα του πρέμνου.



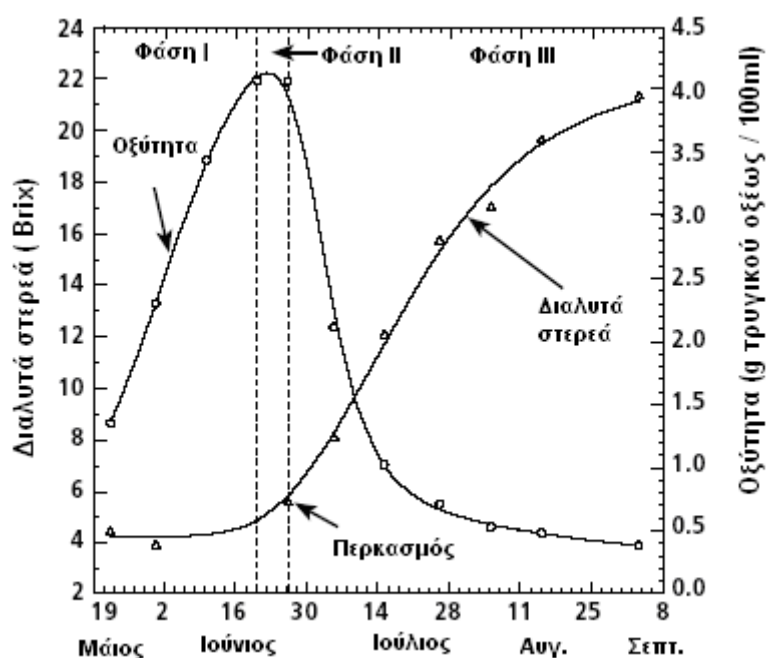
**Εικόνα 14:** Οι υδατικές σχέσεις κατά την πορεία ωρίμανσης των ραγών. a) υδατικό δυναμικό (μαύροι κύκλοι) και το ωσμωτικό δυναμικό (ανοιχτοί κύκλοι), b) αύξηση του όγκου. (Matthews *et al.* 1987) (Πηγή: Mullins *et al.*, 1990)



**Εικόνα 15:** Υπολογισμός της ολικής ροής εντός των αγγείων και της διαπνοής πριν και μετά τον περκασμό. (Matthews και Shackel, 2005)

### Γ)Σάκχαρα.

Τα σάκχαρα παρέχουν τον ανθρακικό σκελετό πολλών συστατικών όπως είναι τα οργανικά οξέα και τα αμινοξέα. Τα σάκχαρα προέρχονται είτε από τα φύλλα είτε, σε μικρότερο βαθμό, από τα μη-φωτοσυνθετικά όργανα (π.χ. ρίζα και τα σκελετικά μέρη). Από την έναρξη της ανάπτυξης μέχρι το στάδιο του τρυγητού οι ράγες αποτελούν τον κυριότερο πόλο έλξης των σακχάρων που παράγονται κυρίως στα φύλλα μέσω της φωτοσύνθεσης. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ράγες αποτελούν ένα ισχυρότατο πόλο έλξης θρεπτικών συστατικών κυρίως αμέσως μετά τον περκασμό. Κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης των ραγών, τα σάκχαρα αποτελούν το 2% του νωπού βάρους των ραγών ενώ κατά την ωρίμανση μέχρι τον τρυγητό, το ποσοστό αυτό μπορεί να φθάσει μέχρι (ή και περισσότερο) 25%. (Dokoozlian, 2002).



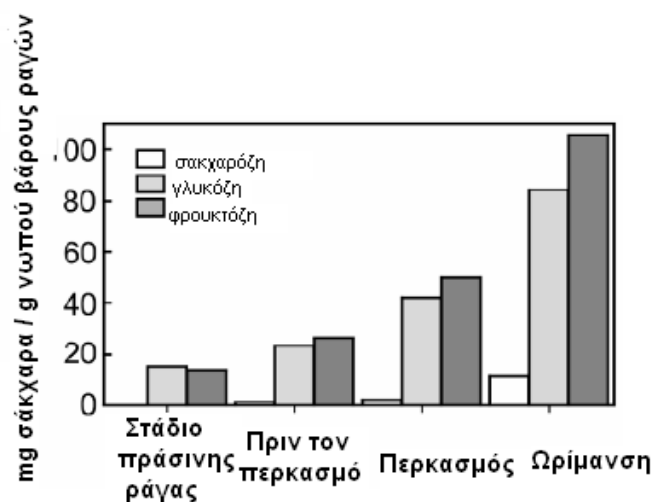
**Εικόνα 16:** Μεταβολή των διαλυτών στερεών ( $^{\circ}$ Brix) και της οξύτητας στην ποικιλία "Σουλτανίνα" κατά την πορεία ανάπτυξης. Τα διαλυτά στερεά παράμειναν χαμηλά κατά τη φάση I, αυξήθηκαν κατά γραμμικό τρόπο κατά τη φάση II μέχρι τη φάση III. Από την άλλη, η οξύτητα αυξήθηκε ταχέως κατά τη φάση I, φθάνοντας σε μια μέγιστη τιμή προς το τέλος της περιόδου αυτής. Η οξύτητα ελάχιστα μεταβλήθηκε κατά την φάση II ενώ μειώθηκε ταχέως κατά τη φάση III. (Πηγή: Dokoozlian, 2002)

Μέχρι το στάδιο του περκασμού, η σακχαρόζη χρησιμοποιείται για την παραγωγή της απαιτούμενης για τη ανάπτυξη των ραγών ενέργειας και στην σύνθεση των διαφόρων οργανικών οξέων. (Keller, 2005). Η ταχεία συσσώρευση των σακχάρων παρατηρείται κατά την έναρξη της ωρίμανσης συνοδευόμενη από την έναρξη του μαλακώματος των ραγών. Πράγματι, 20 ημέρες μετά τον περκασμό, η περιεκτικότητα των εξοζών εντός των ραγών φθάνει στο 1 M ενώ η σχέση

γλυκόζη:φρουκτόζη είναι περίπου 1. Αυτή η δραματική αύξηση της συγκέντρωσης των σακχάρων κατά την φάση III δεν μπορεί να αποδοθεί σε μια αύξηση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας των ραγών (καθώς δεν υπάρχουν χλωροπλάστες) αλλά στις υπάρχουσες σχέσεις ανταγωνισμού μεταξύ των υπό ανάπτυξη ραγών και των άλλων υπό ανάπτυξη οργάνων του πρέμνου, οι οποίες είναι υψίστης σημασίας για την ανάπτυξη των ραγών. Οι Davies και Robinson (1996) επισημαίνουν ότι στις ποικιλίες “Shiraz” και “Riesling” παρατηρήθηκε μια αύξηση της συγκέντρωσης των ολικών διαλυτών συστατικών 8-9 εβδομάδες μετά την άνθιση και ότι τα κύρια διαλυτά συστατικά ήταν η γλυκόζη και η φρουκτόζη. Όμως, από την 8<sup>η</sup> εβδομάδα και μετέπειτα, το επίπεδο των σακχάρων μειώθηκε τόσο ώστε κατά το στάδιο της ωρίμανσης, δηλαδή τη 10<sup>η</sup> εβδομάδα μετά την άνθιση, η συγκέντρωση των σακχάρων στην ποικιλία “Shiraz” κυμάνθηκε περίπου στα 20 g/100 g νωπού βάρους ραγών και 14,9 g/100 g νωπού βάρους ραγών στην ποικιλία “Riesling”.

Η γλυκόζη και η φρουκτόζη αποτελούν το 99% ή και περισσότερο των υδατανθράκων που βρίσκονται στον χυμό και το 12% - 17% του νωπού βάρους των ώριμων ραγών. Στις πράσινες ράγες, και συγκεκριμένα κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης, η γλυκόζη αποτελεί το 85% της συνολικής περιεκτικότητας των σακχάρων. Ομοίως, κατά τον περκασμό η γλυκόζη υπερτερεί ελάχιστα της φρουκτόζης αλλά όχι στο βαθμό που υπερέχει στο στάδιο της πράσινης ράγας. Στις ώριμες ράγες, τα ποσοστά της γλυκόζης και της φρουκτόζης είναι σχεδόν ισόποσα, με μια μικρή υπεροχή της φρουκτόζης. Τέλος κατά την υπερωρίμανση οι συγκεντρώσεις της φρουκτόζης ξεπερνούν τις συγκεντρώσεις της γλυκόζης. Η πιο πιθανή ερμηνεία του φαινομένου αυτού αναφέρεται στην ενζυματική μετατροπή της γλυκόζης σε φρουκτόζη με ενδιάμεσο προϊόν τη σορβιτόλη. (Mullins *et al.*, 1990).

Η γλυκόζη και η φρουκτόζη είναι περισσότερο ή λιγότερο ομοιόμορφα καταμερισμένες μέσα στη ράγα. Παραταύτα, λίγο πριν την έναρξη της ωρίμανσης, ο φλοιός και η περιοχή γύρω από τα γίγαρτα χαρακτηρίζονται από σημαντικά υψηλότερα ποσοστά εξοζών σε σχέση με τους ιστούς που βρίσκονται ανάμεσα τους (μεσοκάρπιο).



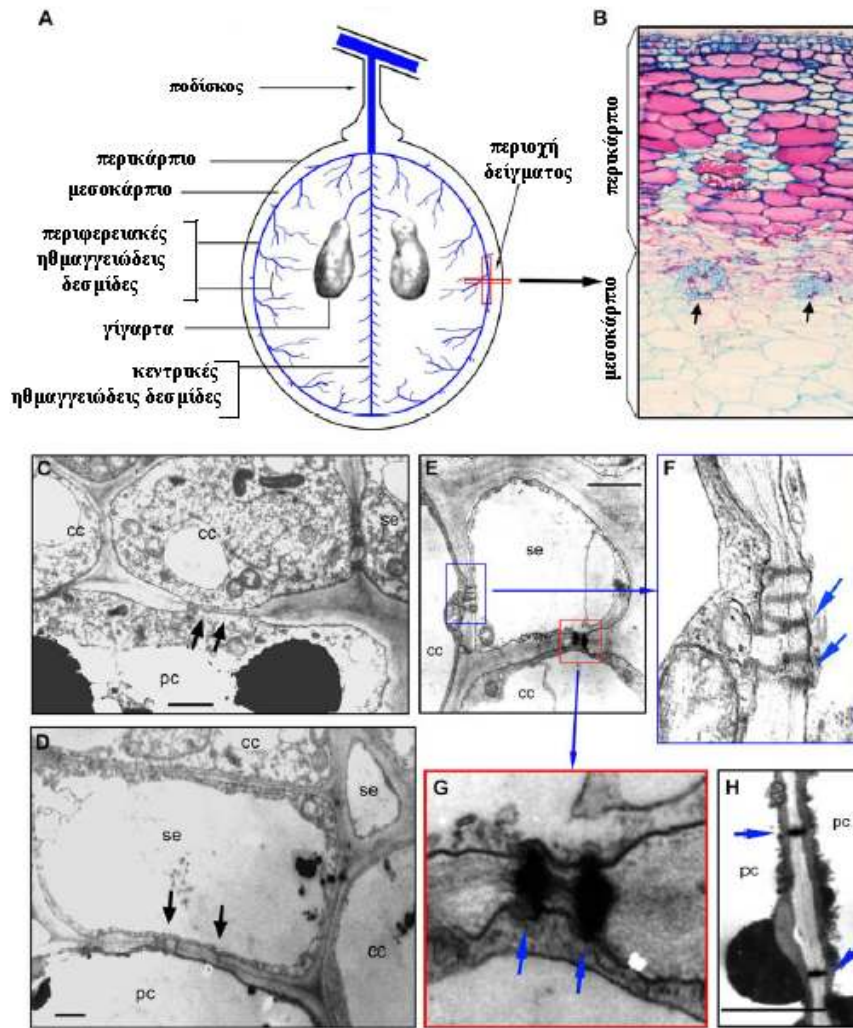
**Εικόνα 17:** Συγκέντρωση των σακχάρων στα διάφορα στάδια ανάπτυξης των ραγών. (Conde *et al.* 2007).

Εκτός από την γλυκόζη και φρουκτόζη, υπάρχουν κι άλλα σάκχαρα αλλά σε μικρότερα ποσοστά όπως είναι η σακχαρόζη (λιγότερο από 0,1% σε ώριμες ράγες), η ραφινόζη, η σταχυόζη, η μελιβιόζη, η γαλακτόζη και η μαλτόζη. Ομοίως οι πεντόζες, κυρίως η αραβινόζη και ίχνη της ξυλόζης, εμφανίζονται σε μικρά ποσοστά στις ώριμες ράγες (0,3 – 1,0 g/L χυμού). Πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι οι ποικιλίες του είδους *V. vinifera* περιέχουν λιγότερη σακχαρόζη (0,019% - 0,6%) σε σχέση με τα είδη *V. rotundifolia* ή *V. labrusca* (0,2%-5%). Επιπλέον η περιεκτικότητα της σακχαρόζης είναι χαμηλότερη στην σάρκα από ότι στο φλοιό και στο αγγειακό σύστημα της ράγας.

Τα περισσότερα σάκχαρα των ραγών συντίθενται στο μεσόφυλλο των ώριμων φύλλων μέσω της φωτοσύνθεσης. Έπειτα, μέσω των αγγείων του ηθμού μεταφέρονται στις ράγες, κυρίως υπό την μορφή της σακχαρόζης, είτε με συμπλαστική μεταφορά (μέσω των πλασμοδεσμών και των συμπλαστών) είτε με αποπλαστική (μέσω των αποπλαστών, δηλαδή των εξωκυττάρων χώρων). Η μεταφορά της σακχαρόζης από τον ηθμό εντός της ράγας γίνεται με διάφορους μηχανισμούς. Έχει προταθεί ότι οι συμπλαστικές ενώσεις, μέσω του συμπλάστη, μεταξύ των κυττάρων του μεσοκαρπίου και των στοιχείων του ηθμού παραμένουν για αρκετό διάστημα κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών. Παρ' όλ' αυτά, στον ηθμό, αρκετή επιφάνεια της πλασματικής μεμβράνης είναι ικανή να υποστηρίξει την ανταλλαγή των συστατικών αποπλαστικά. (Boss and Davies, 2001, Πηγή: Conde *et al.* 2007). Οι υψηλές συγκεντρώσεις των σακχάρων που βρίσκονται στους

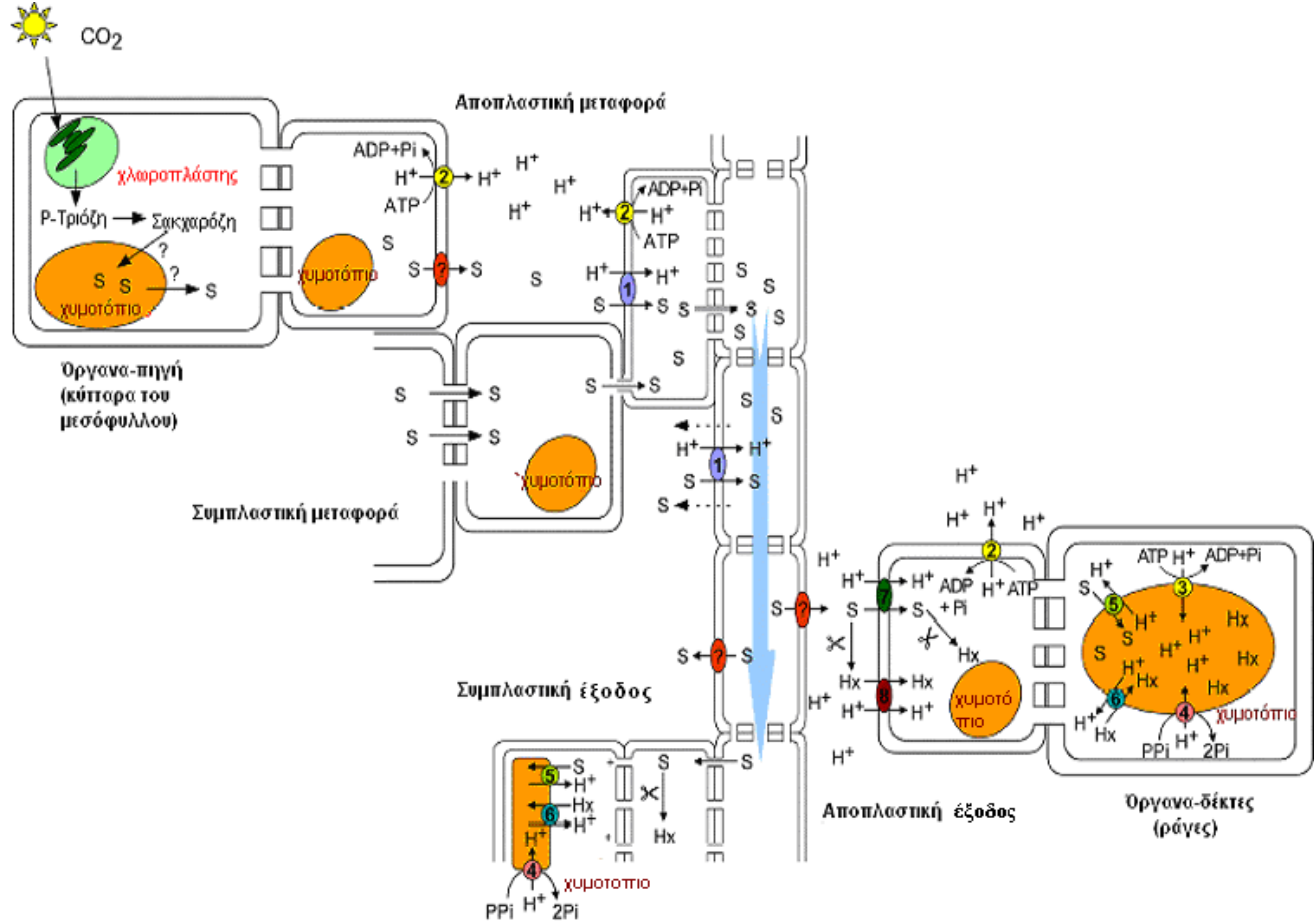
αποπλάστες των ραγών και η ευαισθησία στην μεταφορά τους εντός των περιοχών του ηθμού ενισχύουν την θεωρία της μεταφοράς των σακχάρων από τον ηθμό στις ράγες μέσω των αποπλαστών. (Patrick, 1997).

Επίσης, παρατηρήθηκε ότι κατά την έναρξη της ωρίμανσης, η μεταφορά των σακχάρων από τον ηθμό στις ράγες γίνεται αποπλαστικά και όχι συμπλαστικά όπως γίνεται κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης της ράγας. Πειράματα των Zhang *et al.* (2006) έδειξαν ότι τα στοιχεία του ηθμού είναι προφανώς συνδεδεμένα συμπλαστικά, μέσω των πλασμοδεσμών και ότι περιβάλλονται από παρεγχυματικά κύτταρα κατά την πορεία ανάπτυξης της ράγας. Παρ' όλ' αυτά, ένα μικρό ποσοστό των πλασμοδεσμών φαίνεται ότι "μπλοκάρεται" κατά το στάδιο της ωρίμανσης. Επίσης, παρατήρησαν ότι η έξοδος των συστατικών από τον ηθμό στις ράγες από συμπλαστική γίνεται αποπλαστική κατά την πορεία ωρίμανσης. Η μετατροπή αυτή γίνεται κατά ή λίγο μετά την έναρξη ωρίμανσης. Σημαντικό γεγονός που επιβεβαιώνει την παραπάνω μεταβολή είναι ότι η έκφραση και η δράση των ιμβερτασών που βρίσκονται στα κυτταρικά τοιχώματα αυξάνεται κατά την έναρξη της ωρίμανσης και φθάνει σε μια μέγιστη τιμή προς το τέλος της ωρίμανσης.



**Εικόνα 18:** Δομή της ράγας. **A:** αγγειακή δομή της ράγας, **B:** ανατομικό τμήμα του περικαρπίου και του μεσοκαρπίου της ράγας, **C:** εγκάρσια τομή της περιφερειακής ηθμαγγειώδους δεσμίδας στην αρχή της φάσης I (10 ημέρες μετά την άνθιση). Τα βέλη δείχνουν τους πλασμοδεσμούς μεταξύ των CC και των PC, **D:** εγκάρσια τομή της περιφερειακής ηθμαγγειώδους δεσμίδας στην αρχή της φάσης. Τα βέλη δείχνουν τους πλασμοδεσμούς μεταξύ των SE και των PC, **E:** Δύο διαφορετικές μορφές πλασμοδεσμών μεταξύ των SE και των PC, **F:** μη-μπλοκαρισμένοι πλασμοδεσμοί, **G:** μπλοκαρισμένοι πλασμοδεσμοί, **H:** μπλοκαρισμένοι πλασμοδεσμοί μεταξύ δύο PC. Η κλίμακα των εικόνων C μέχρι H είναι 1μm. CC: συνοδά κύτταρα, PC: κύτταρα ηθμώδους παρεγχύματος, SE: ηθμοσωλήνας. (Zhang *et al.*, 2006).

Η έξοδος της σακχαρόζης από τα αγγεία του ηθμού και η παραλαβή και κατανομή της διαμέσω της πλασματικής μεμβράνης και του τονοπλάστη των κυττάρων της σάρκας γίνεται με τη βοήθεια δύο μεταφορέων πρωτεϊνικής φύσεως που εδράζουν στην μεμβράνη. Οι μεταφορείς αυτοί είναι ένας μονοσακχαρίτης, ο MST, και ένας δισακχαρίτης, ο DST. (Conde *et al.*, 2007). Οι Manning *et al.* (2001) επισημαίνουν ότι και οι μεταφορείς *VvSUC11* και *VvSUC12* χρίζουν ιδιαίτερης σημασίας στην μεταφορά των σακχάρων από τον ηθμό στις ράγες κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης.



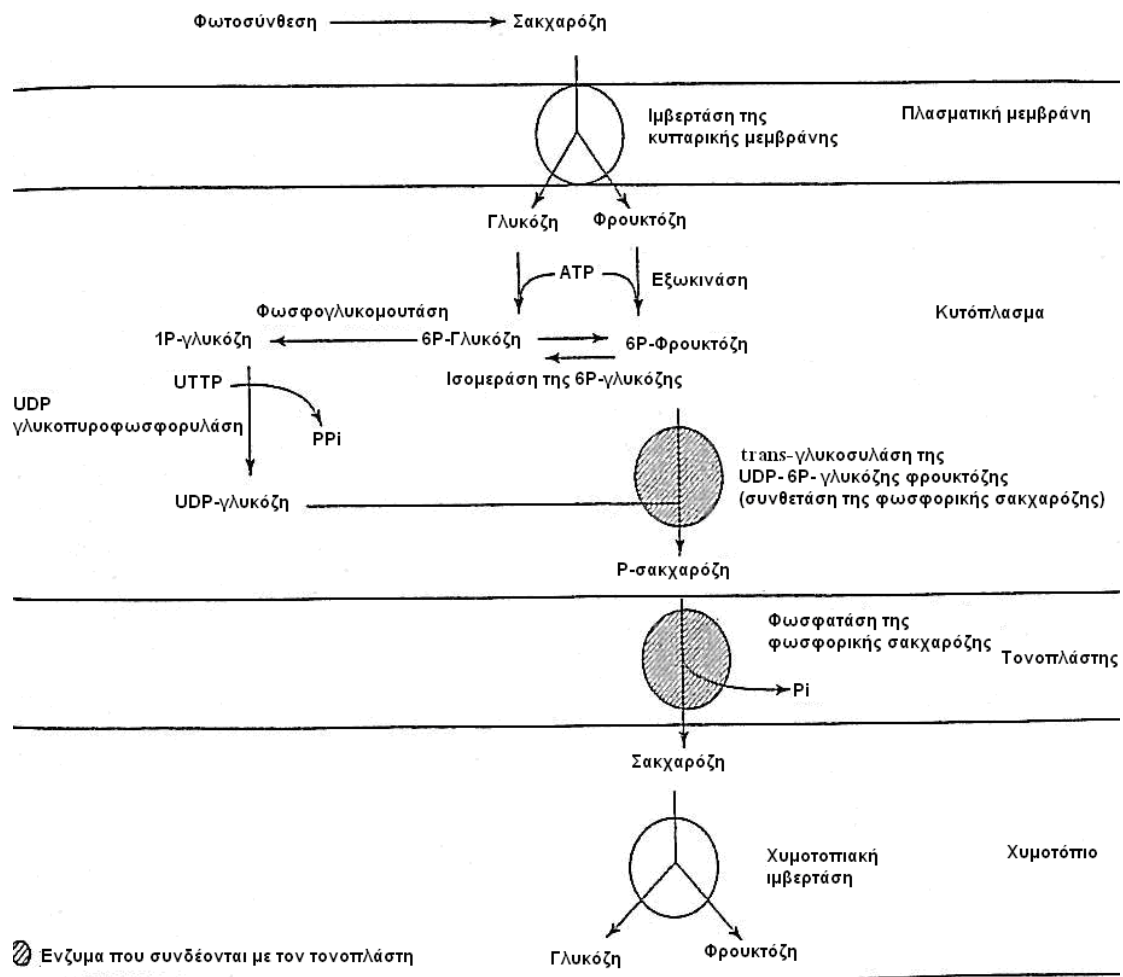
**Εικόνα 19: Μεταφορά των σακχάρων διαμέσω του ηθμού.** Από το σημείο σύνθεσης των σακχάρων εντός του μεσόφυλλου, η σακχαρόζη μπορεί να μεταφερθεί εντός του ηθμοσωλήνα και των συνοδών κυττάρων του ηθμού είτε μέσω των πλασμοδεσμών είτε μέσω του αποπλάστη. Η αποπλασμική μεταφορά απαιτεί την έξοδο της σακχαρόζης από το μεσόφυλλο ή από το αγγειακό παρέγχυμα και την επανείσοδό της στον ηθμό. Λόγω της υδροστατικής πίεσης το περιεχόμενο του ηθμού κατευθύνεται προς τα όργανα πόλους. Η παθητική έξοδος της σακχαρόζης μπορεί να γίνει όπως δείχνουν τα βέλη. Η επαναπρόσληψή της γίνεται διαμέσω του ηθμού. Η αποπλασμική έξοδος της σακχαρόζης από τον ηθμό απαιτεί η ύπαρξη ενός μεταφορέα της σακχαρόζης (ο οποίος δεν έχει ακόμα ταυτοποιηθεί) εντός του οργάνου-δέκτη. Η μεταφορά της σακχαρόζης και των άλλων διαλυτών στερεών εντός των οργάνων-πόλων μπορεί να γίνει και μέσω των πλασμοδεσμών ή των μεταφορέων της σακχαρόζης. Αντί των πλασμοδεσμών και των μεταφορέων, τα κύτταρα εντός των οργάνων-πόλων λαμβάνουν τις εξόζες που προέρχονται από την υδρόλυση της σακχαρόζης από μια ιμπερτάση του αποπλάστη. Το αγγειακό σύστημα μεταφοράς μπορεί να περιέχει σακχαρόζη/ $H^+$  αντιμεταφορείς. (1) Πηγή σακχαρόζης/ $H^+$  συμμεταφορέα, (2)  $H^+$  ATPase της πλασματικής μεμβράνης, (3)  $H^+$  ATPase του τονοπλάστη, (4) πυροφωσφατάση, (5) σακχαρόζη/ $H^+$  αντιμεταφορέα, (6) εξόζη/ $H^+$  αντιμεταφορέα, (7) πόλος σακχαρόζη/ $H^+$  αντιμεταφορέα, (8) εξόζη/ $H^+$  συμμεταφορέα,  $\nabla$  ιμπερτάση. (Πηγή: Conde *et al.*, 2007).

Μέσα στις ράγες, η σακχαρόζη υδρολύεται, με τη βοήθεια της ιμπερτάσης της σακχαρόζης, σε γλυκόζη και φρουκτόζη. Στα κυτταρικά τοιχώματα υπάρχουν δύο τύποι ιμπερτασών, η *GIN 1* και η *GIN 2*. Οι ιμπερτάσεις αυτές εκφράζονται στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των ραγών ενώ η δραστηριότητά τους μειώνεται με την έναρξη συσσώρευσης των σακχάρων. (Boss and Davies, 2001. Πηγή: Conde *et al.* 2007). Οι Davies και Robinson (1996) παρατήρησαν ότι στις ποικιλίες “Shiraz” και “Riesling” η δράση των ιμπερτασών ήταν χαμηλή κατά την άνθιση αλλά αυξήθηκε κατά τις φάσεις I και II φθάνοντας σε μια μέγιστη τιμή. Έπειτα ξαναμειώθηκε αλλά

αυξήθηκε ξανά φθάνοντας σε μια δεύτερη μέγιστη τιμή (μικρότερη όμως της αρχικής μέγιστης τιμής) 16 εβδομάδες αργότερα. Επισημαίνουν επίσης ότι η παρατηρούμενη μείωση της δράσης των ιμβερτασών κατά το στάδιο της ωρίμανσης πιθανόν να οφείλεται στην αύξηση του βάρους των ραγών. Αξιοσημείωτο είναι επίσης το γεγονός ότι η έναρξη της δράσης των ιμβερτασών προηγήθηκε της φάσης της γρήγορης συσσώρευσης των εξοζών.

Για να δράσουν οι ιμβερτάσεις απαιτείται η παρουσία μεταφορέων, οι οποίοι είναι μονοσακχαρίτες. Στην πλασματική μεμβράνη των κυττάρων των ράγων έχουν εντοπιστεί 6 μεταφορείς, οι οποίοι αποκαλούνται *VnHT*. Ο *VnHT1* εκφράζεται στα όργανα που αποτελούν πόλους έλξης θρεπτικών συστατικών, όπως είναι τα νεαρά φύλλα και οι ράγες. Στις ράγες παρουσιάζει μέγιστη δραστηριότητα πριν τον περκασμό, δηλαδή πριν την έναρξη της συσσώρευσης των εξοζών, ενώ μια μικρή έκφραση της δραστηριότητας του *VnHT1* παρατηρείται κατά το τέλος της ωρίμανσης. (Terrier *et al.*, 2005. Πηγή: Conde *et al.* 2007). Οι Conde *et al.* (2007) παρατήρησαν ότι η πρωτεΐνη *VnHT1* βρίσκεται σε αφθονία στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των ραγών ενώ δεν εμφανίζεται στις ώριμες ράγες. Από την άλλη, η έκφραση του *VnHT2* στις ώριμες ράγες είναι αδύνατη και σχετίζεται με τον περκασμό ενώ η έκφραση του *VnHT6* είναι ισχυρή κατά την πορεία ωρίμανσης και ομοίως σχετίζεται με τον περκασμό. Οι μηχανισμοί με τους οποίους μεταφέρονται τα σάκχαρα εντός των ραγών δεν είναι απόλυτα διευκρινισμένοι καθώς είναι αρκετά περίπλοκοι. Η έκφραση των MSTs και DSTs επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως είναι το φως, το νερό, η συγκέντρωση του σιδήρου, οι προσβολές από μύκητες και βακτήρια και από τις ορμόνες. Από την άλλη, η κατανόηση των μεταφορέων των εξοζών και της σακχαρόζης είναι υψίστης σημασίας. Οι Vignault *et al.* (2005) παρατήρησαν ότι ο *VnHT1* παρουσιάζει μέγιστη δραστηριότητα εντός των αγγείων του ηθμού. Από την άλλη, οι Conde *et al.* (2007) επισημαίνουν ότι η υψηλή ικανότητα μεταφοράς συστατικών του *VnHT1* μπορεί να εμπλέκεται στην παροχή ενέργειας κατά την φάση της έντονης κυτταρικής διαίρεσης και ανάπτυξης, όταν τα επίπεδα των σακχάρων που μεταφέρονται αποπλαστικά είναι χαμηλά, ενώ κατά την ωρίμανση μάλλον συμμετέχουν άλλοι μηχανισμοί μεταφοράς των σακχάρων. Όμως, οι μηχανισμοί μεταφοράς των σακχάρων χρίζουν εκτενέστερης μελέτης και επιβεβαίωσης.





**Εικόνα 20:** Βιοχημικός μεταβολισμός κατά την είσοδο και τη συσσώρευση των σακχάρων εντός του κυττάρου της σάρκας. (Ribereau-Gayon *et al*,1998)

#### 4) Οργανικά οξέα.

Το τρυγικό και το μηλικό οξύ αποτελούν το 90% ή και περισσότερο της ολικής οξύτητας. Άλλα οργανικά οξέα που βρίσκονται σε διάφορες αλλά χαμηλές συγκεντρώσεις είναι το κιτρικό οξύ (5-10% της ολικής οξύτητας), το φουμαρικό οξύ, το οξικό οξύ, το γλυκολικό οξύ, το γαλακτικό οξύ, κ.α.. Η σχέση μεταξύ των συγκεντρώσεων του τρυγικού και του μηλικού οξέος ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία. Παρά την στενή χημική τους ομοιότητα, το τρυγικό και το μηλικό οξύ επιδεικνύουν ευκρινή διαφορετικά συστήματα συσσώρευσης κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών και συνδέονται με διαφορετικά βιοσυνθετικά και μεταβολικά μονοπάτια. Το τρυγικό και το μηλικό οξύ συντίθενται κυρίως στις ράγες από πρόδρομες υδροκαρβονικές ενώσεις. Η μείωση των οξέων αυτών επηρεάζεται έντονα από τη θερμοκρασία. Υψηλές θερμοκρασίες (> 30 °C) προκαλούν ταχύτερη μείωση

του μηλικού οξέος το οποίο οξειδώνεται ευχερέστερα του τρυγικού οξέος κατά την αναπνοή. Άλλοι μηχανισμοί που οδηγούν στην μείωση της οξύτητας είναι i) το αραίωμα αυτών λόγω της αύξησης του όγκου, ii) αύξηση του αναπνευστικού πηλίκου από 1,0 πριν τον περκασμό (υποδηλώνοντας την χρήση των υδατανθράκων ως πηγή ενέργειας) σε 1,4 στην ωρίμανση (υποδηλώνοντας την χρήση των καρβοξυλικών οξέων ως πηγή ενέργειας), iii) στην αναστολή της σύνθεσής τους και iv) μετατροπή των οξέων σε σάκχαρα. (Mullins *et al.*, 1990).

#### Τρυγικό οξύ:

Οι ράγες είναι ο μόνος καρπός ο οποίος περιέχει σημαντικές συγκεντρώσεις τρυγικού οξέος. Στις ράγες, το τρυγικό οξύ απαντάται ως L-(+)-στερεοϊσομερές. Φαίνεται ότι συντίθεται από την γλυκόζη μέσω των οξέων γαλακτουρονικό, γλυκουρονικό και ασκορβικό. Πριν το στάδιο του περκασμού, η συσσώρευση του τρυγικού οξέος αυξάνεται λόγω της έντονης κυτταρικής διαίρεσης ενώ έπειτα, κατά την ωρίμανση, μειώνεται. Έτσι, στον περκασμό η συγκέντρωση του τρυγικού οξέως είναι 150 mM ενώ στην ωρίμανση είναι 25-75 mM (3,8 – 11,3 g/L). Η μείωση αυτή πιθανολογείται ότι οφείλεται στην αύξηση της αναπνευστικής δραστηριότητας. (Mullins *et al.*, 1990).

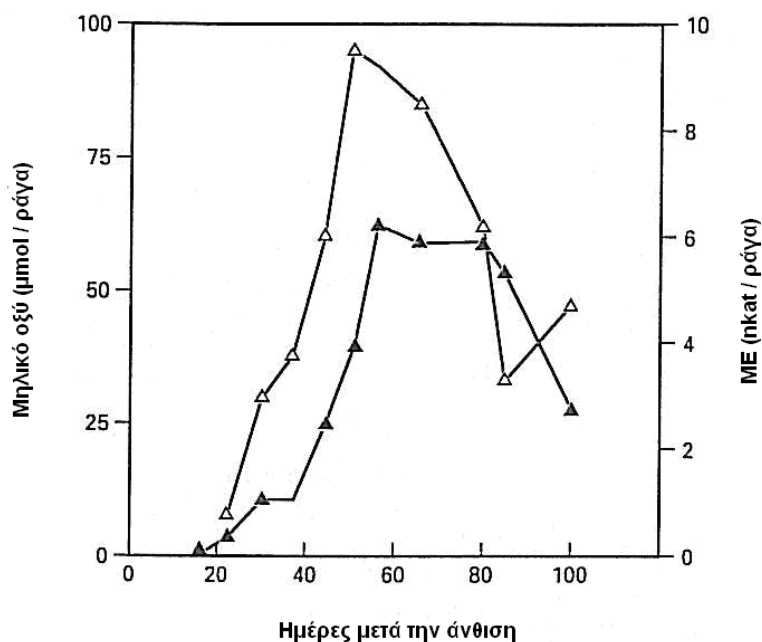
#### Μηλικό οξύ:

Το μηλικό οξύ είναι ο ένας πολύ ενεργός παράγοντας του μεταβολισμού των ραγών και έχει ένα σημαντικό ρόλο στις αναβολικές αντιδράσεις, όπως λ.χ. στην σκοτεινή φάση της αναγωγής του CO<sub>2</sub> καθώς και στον καταβολισμό των οξέων κατά τη ανάπτυξη των ραγών. Στις ράγες απαντάται ως L-(-)-στερεοϊσομερές και συντίθεται από την γλυκόζη μέσω του πυροσταφυλικού οξέος. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από το μηλικό ένζυμο. Κατά τη φάση I, η συγκέντρωση του μηλικού οξέος φθάνει μέχρι τα 15 mg/g του νωπού βάρους των ραγών ή 95 μmol/ράγα. Κατά τον περκασμό παρατηρείται μείωση της παραπάνω συγκεντρώσεως στα 2-3 mg/g του νωπού βάρους των ραγών. (Mullins *et al.*, 1990). Οι Conde *et al.* (2007) παρατήρησαν ότι η αποικοδόμηση του μηλικού οξέως επισυμβαίνει παράλληλα με την συσσώρευση των σακχάρων 6-9 εβδομάδες μετά την άνθιση. Το γεγονός αυτό τους οδήγησε στο συμπέρασμα ότι το μηλικό οξύ είτε μετατρέπεται σε γλυκόζη και φρουκτόζη είτε χρησιμοποιείται ως πηγή ενέργειας και υδατανθράκων για την αναπνοή. Οι Ruffner

και Hawker (1977) εκτίμησαν ότι ποσοστό σακχάρων λιγότερο από 5% παράγεται μέσω το μηλικού οξέως. (Πηγή: Mullins *et al.*, 1990)

Από την άλλη οι Mullins *et al.*, (1990) αναφέρουν ότι η μείωση του μηλικού οξέως κατά την ωρίμανση των ραγών φαίνεται ότι οφείλεται στην αποικοδόμηση αυτού είτε από το NADP-συνένζυμο του μηλικού οξέως (τόσο το NADP-συνένζυμο του μηλικού οξέως όσο και το μιτοχονδριακό NAD-ένζυμο του μηλικού οξέως συμμετέχουν στη σύνθεση και αποικοδόμηση του μηλικού οξέως κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών), είτε από την αύξηση της αναπνευστικής δραστηριότητας, είτε (σε μικρότερη έκταση) από την δράση της καρβοξυκινάσης του φωσφοενυλοπυροσταφυλικού οξέως. Έχει παρατηρηθεί ότι η μείωση του μηλικού οξέως λόγω της αναπνευστικής δραστηριότητας αυξάνεται από 37% στο στάδιο της πράσινης ράγας, σε 90% στην ωρίμανση.

Επίσης το μηλικό ένζυμο (ME) συμμετέχει σημαντικά στην μείωση του μηλικού οξέως. Μέγιστη δραστηριότητα του ενζύμου αυτού παρατηρείται όταν η συγκέντρωση του μηλικού οξέως μειώνεται ταχύτατα. Το μηλικό οξύ εντοπίζεται στο κέντρο της ράγας κατά την ανάπτυξη των γιγάρτων ενώ κατά την ωρίμανση εντοπίζεται στους περιφερειακούς ιστούς της ράγας. Τέλος, διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της αύξησης της συγκέντρωσης των σακχάρων και της μείωσης της συγκέντρωσης του μηλικού οξέως. (Mullins *et al.*, 1990)



**Εικόνα 21:** Αλλαγές του μηλικού οξέως (ανοιχτοί κύκλοι) και του μηλικού ενζύμου (μαύροι κύκλοι). (Matthews *et al.*, 1984) (Πηγή: Mullins *et al.*, 1990)

### pH:

Το pH του χυμού των ραγών είναι σχετικά σταθερό κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης, παραμένοντας κοντά στη τιμή 2,5. Στην συνέχεια, αυξάνεται κατά την ωρίμανση, καθώς σχηματίζονται ανιόντα οξέων και μειώνεται η συγκέντρωση του μηλικού οξέως. Για παράδειγμα, στην ποικιλία "Σουλτανίνα" το pH του χυμού των ραγών στο στάδιο του τρυγητού κυμαίνεται μεταξύ των τιμών 3,5 και 3,9. (Dokoozlian, 2002).

### E) Αζωτούχα συστατικά.

Εντός των ραγών, τα αζωτούχα συστατικά απαντώνται είτε στις ανόργανες μορφές τους ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  και  $\text{NO}_2^-$ ) είτε στις οργανικές μορφές τους (ελεύθερα αμινοξέα, πρωτεΐνες κ.α.). Η μεταφορά των αζωτούχων συστατικών γίνεται υπό την μορφή κατιόντων αμμωνίου και αμινοξέων. Τα αμινοξέα αντιπροσωπεύουν το 90-95% των αζωτούχων συστατικών που εισέρχονται εντός των ραγών, με κυρίαρχο την γλουταμίνη η οποία αντιπροσωπεύει το 50% των αζωτούχων συστατικών.

Το κύριο μονοπάτι αφομοίωσης των αζωτούχων συστατικών από τις ράγες είναι μέσω της ένωσης των αμμωνιακών κατιόντων με το  $\alpha$ -κετογλουταρικό οξύ. Η ένωση αυτή πραγματοποιείται παρουσία των ενζύμων συνθετάση της γλουταμίνης και αφυδρογονάση της γλουταμίνης. Άλλα αμινοξέα συντίθενται κατά την μεταφορά των αζωτούχων ενωμένων με το γλουταμινικό οξύ.

Στις ράγες που δεν έχουν ωριμάσει ακόμα, το ποσοστό των αμμωνιακών κατιόντων είναι περισσότερο από το 50% του συνόλου των αζωτούχων συστατικών. Κατά την πορεία της ωρίμανσης, η συγκέντρωση των αζωτούχων συστατικών αυξάνεται λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης των αμμωνιακών αλάτων, των αμινοξέων και των πρωτεϊνών. Παρ' όλ' αυτά, η συγκέντρωση των πρωτεϊνών είναι σε χαμηλά επίπεδα ενώ μόνο ίχνη νιτρικών απαντώνται. Μετά τον περκασμό, οι συγκεντρώσεις των αμμωνιακών αλάτων μειώνονται ενώ αυξάνονται οι συγκεντρώσεις των οργανικών μορφών. Πιο αναλυτικά, τα κατιόντα  $\text{NH}_4^+$  αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 80% του συνόλου των αζωτούχων συστατικών πριν τον περκασμό ενώ μετά την ωρίμανση, η συγκέντρωσή τους μειώνεται σε 5-10%. (Conde *et al.*, 2007). Τα ελεύθερα αμινοξέα αυξάνονται κατά 2-5 φορές κατά την διάρκεια της ωρίμανσης, πλησιάζοντας τα 2-8 g/L σε ισοδύναμα λευκίνης.

Τα περισσότερα αζωτούχα συστατικά που βρίσκονται στο περικάρπιο είναι υπό την μορφή των αμινοξέων. Στις ώριμες ράγες, περισσότερο από το 50% των ολικών αζωτούχων συστατικών είναι ελευθέρως αμινοξέα. Μετά τον περκασμό, οι συγκεντρώσεις της αργινίνης και της προλίνης αυξάνονται ραγδαίως (2-6 φορές), με αποτέλεσμα να είναι τα κυρίαρχα αμινοξέα των περισσότερων ποικιλιών. Συγκεκριμένα, η αργινίνη αντιπροσωπεύει το 6-44% του ολικού αζώτου του χυμού. Υπάρχει στενή σχέση μεταξύ της αργινίνης και των άλλων αζωτούχων συστατικών. Για παράδειγμα, οι συγκεντρώσεις της προλίνης μπορούν να αυξηθούν κατά την πορεία ωρίμανσης 25-30% λόγω της μετατροπής της αργινίνης σε προλίνη. (Ribereau-Gayon *et al*, 1998). Επίσης, ο Keller (2005) υποστηρίζει ότι η συσσώρευση της προλίνης συσχετίζεται με τις αλλαγές που παρατηρούνται στο ωσμωτικό δυναμικό λόγω της συσσώρευσης των σακχάρων.

Η διαδικασία της ωρίμανσης συνοδεύεται με μια έντονη πρωτεϊνοσύνθεση. Η συγκέντρωση του πρωτεϊνικού διαλύματος φθάνει σε ένα μέγιστο πριν την πλήρη ωρίμανση και έπειτα μειώνεται μέχρι το τέλος της ωρίμανσης. Η συγκέντρωση του χυμού σε πρωτεΐνες κυμαίνεται μεταξύ 1,5 με 100 mg/L. Η περιεκτικότητα των αδιάλυτων πρωτεϊνών, μεγάλου μοριακού βάρους, που βρίσκονται συχνά στα κυτταρικά τοιχώματα του φλοιού είναι υψηλή από την αρχή μέχρι το τέλος της πορείας ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών. (Ribereau-Gayon *et al*, 1998).

### **ΣΤ) Φαινολικά συστατικά.**

Τα φαινολικά συστατικά είναι δευτερεύοντα προϊόντα του καταβολισμού των σακχάρων. Η συγκέντρωσή τους εξαρτάται από το φως, τη θερμοκρασία, το μέγεθος του βλαστού και της φυλλικής επιφάνειας. Χρίζουν ιδιαίτερης σημασίας καθώς συνεισφέρουν σημαντικά στο χρώμα, στη γεύση και στο άρωμα των ραγών και των παραγόμενων οίνων και προστατεύουν τις ράγες από την υπερϊώδη ακτινοβολία. Για παράδειγμα τα υδροξυκινναμωνικά οξέα συμμετέχουν σε αντιδράσεις καφετιάσματος (browning) και είναι πρόδρομες ενώσεις των αρωματικών φαινολών. Τα πιο σημαντικά φαινολικά συστατικά είναι οι κατεχίνες (δηλαδή η (+)-κατεχίνη, (-)-επικατεχίνη και η (-)-επικατεχίνη του 3-ο-γαλλικού οξέως, οι οποίες ανήκουν στις μονομερείς 3-φλαβανόλες), οι ταννίνες, οι ανθοκυάνες, το καφταρικό οξύ και το κουταρικό οξύ. (Conde *et al.*, 2007).

Τα φαινολικά συστατικά καλύπτουν μια μεγάλη ομάδα στοιχείων που αποτελούνται από ένα ή περισσότερους υδροξυλομένους αρωματικούς δακτυλίους.

Για παράδειγμα το κουμαρικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το φερουλικό οξύ και το βανιλλικό οξύ είναι σχετικά απλές φαινολικές ενώσεις ενώ οι ταννίνες είναι πιο πολύπλοκες. Τα φαινολικά συστατικά χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τα φλαβονοειδή και τα μη-φλαβονοειδή συστατικά. Στα φλαβονοειδή συστατικά ανήκουν οι προανθοκυανιδίνες (ταννίνες), ανθοκυάνες και τα μονομερή των 3-φλαβονολών. Οι ταννίνες (ή οι προανθοκυανιδίνες) είναι πολυμερή των 3-φλαβονολών ενώ οι ανθοκυάνες είναι ανθοκυανιδίνες ενωμένες με ένα ή περισσότερα μόρια σακχάρων. Τα μη-φλαβονοειδή συστατικά βρίσκονται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, με εξαίρεση τα υδροξυκινναμονικά οξέα (π.χ. το καφαρικό και το κουταρικό οξύ). (Conde *et al.*, 2007).

Οι Kennedy *et al.* (2001) αναφέρουν ότι οι προανθοκυανιδίνες είναι πολυμερή φλαβονοειδή συστατικά που εντοπίζονται στους ιστούς του φλοιού, των γιγάρτων και του βλαστού. Ο φλοιός περιέχει επίσης και άλλα φλαβονοειδή συστατικά περιλαμβανομένων των ανθοκυανών και των φλαβονολών. Επισημαίνουν, επίσης, ότι ανάπτυξη των ραγών συσχετίζεται με την αύξηση του πολυμερισμού των προανθοκυανιδινών και με την αύξηση της αναλογίας των διαφόρων υπομονάδων της (-)επικατεχίνης. Πιο αναλυτικά, καθώς εξελίσσεται η ανάπτυξη των ραγών, αυξάνεται και ο αριθμός των ανθοκυανών που είναι ενωμένες με τα διάφορα κλάσματα των προανθοκυανιδινών.

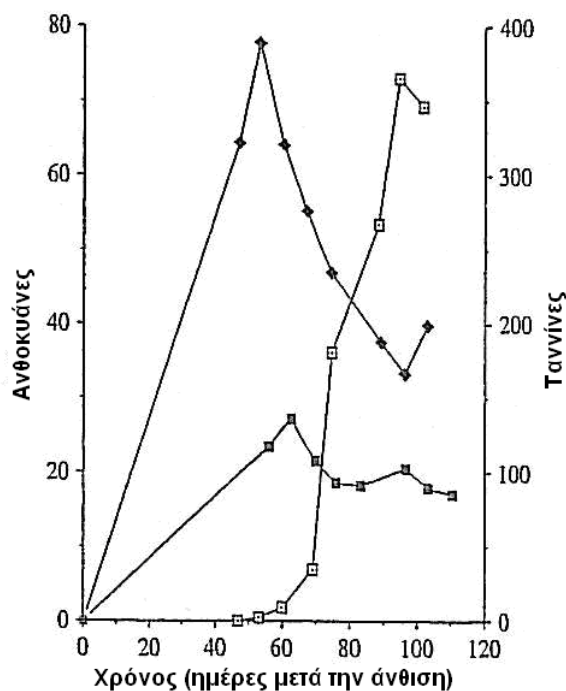
Στις ερυθρές ποικιλίες, οι ανθοκυάνες αρχίζουν να συσσωρεύονται στους φλοιούς περίπου 2 εβδομάδες πριν την εμφάνιση του χρώματος. Οι συγκεντρώσεις τους αυξάνονται κατά την ανάπτυξη των ραγών αλλά, όπως και με τις ταννίνες, φθάνουν σε μια μέγιστη τιμή και έπειτα μειώνονται κατά τη στιγμή της ωρίμανσης. (Ribereau-Gayon *et al.*, 1998). Ο Adams (2006) παρατήρησε ότι η συσσώρευση των ανθοκυανών που βρίσκονται στο φλοιό έγχρωμων ποικιλιών ξεκινάει στο στάδιο του περκασμού.

Η βιοσύνθεση των φαινολικών συστατικών ενεργοποιείται με την έναρξη της ανάπτυξης των ραγών. Συνεπώς, η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών αυξάνεται κατά την διάρκεια της φάσης αυτής. Οι Considine και Knox (1979) παρατήρησαν ότι στα χυμοτόπια των κυττάρων που βρίσκονται περιφερειακά του μεσοκαρπίου, η συγκέντρωση των πολυφαινολών μειώνεται κατά την 26<sup>η</sup> ημέρα. Από την άλλη, στα χυμοτόπια των κυττάρων που βρίσκονται στις πρώτες 6-7 στοιβάδες του φλοιού, η παρατηρούμενη σχετική μείωση της συγκεντρώσης των πολυφαινολών οφείλεται στην αύξηση του όγκου των κυττάρων αυτών.

Η γρήγορη αύξηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών συστατικών κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης της ράγας συνοδεύεται από μια σταθερή μείωση της αύξησης κατά την ωρίμανση. Παρ' όλ' αυτά, η συγκέντρωση των ολικών φαινολών στο φλοιό των έγχρωμων ποικιλιών αυξάνεται μέχρι τον περκασμό και έπειτα παρουσιάζει μικρή μείωση μέχρι τα τελευταία στάδια της ωρίμανσης. Για παράδειγμα, οι ταννίνες, οι οποίες προέρχονται από τον πολυμερισμό των φλαβονολών, φθάνουν σε μια μέγιστη συγκέντρωση στα γιγάρτα πριν τον περκασμό. Έπειτα μειώνονται ταχέως σε χαμηλότερες και σχετικά σταθερές συγκεντρώσεις όταν τα γιγάρτα είναι ώριμα. Οι Kennedy *et al.* (2000) παρατήρησαν ότι στην ποικιλία "Cabernet sauvignon" τα φαινολικά συστατικά των γιγάρτων μειώθηκαν δραματικά κατά την ωρίμανση. Συγκεκριμένα, τα μονομερή των φλαβαν-3-ολών μειώθηκαν κατά 90% ενώ οι προανθοκυανιδίνες μειώθηκαν κατά 60%. Ομοίως ο Adams (2006) παρατήρησε ότι στα γιγάρτα της ποικιλίας "Cabernet sauvignon" η συγκέντρωση των ταννινών μειώθηκε κατά την πορεία ωρίμανσης. Επίσης αναφέρει ότι η συγκέντρωση των ταννινών που βρίσκονται στο υπόδερμα του φλοιού άλλαξε πολύ λίγο από τον περκασμό μέχρι την εποχή του τρυγητού. Παραταύτα, οι ταννίνες αυτές φαίνεται ότι σχηματίζονται στα πρωταρχικά στάδια της ανάπτυξης των ραγών και να μεταβάλλεται η συγκέντρωσής τους πολύ λίγο μετά τον περκασμό σε επίπεδο ράγας. Στον περκασμό, οι συγκεντρώσεις των ταννινών στους φλοιούς είναι ήδη υψηλές (μερικές φορές αντιστοιχούν περισσότερο από το μισό της συγκέντρωσης στην φάση της ωρίμανσης).

Φαίνεται ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της συσσώρευσης των φαινολικών συστατικών και των διαλυτών σακχάρων. Πειράματα των Pirie και Mullins (1980) έδειξαν ότι στην ποικιλία "Shiraz", η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών του φλοιού ήταν χαμηλή 3-4 εβδομάδες πριν την έναρξη της ωρίμανσης ενώ τα επίπεδα των διαλυτών σακχάρων στο φλοιό αυξήθηκαν κατά την έναρξη της φάσης III. Τα επίπεδα των ολικών φαινολών και των ανθοκυανών αυξήθηκαν ταχέως περίπου μία εβδομάδα μετά την έναρξη της συσσώρευσης των διαλυτών σακχάρων.

Στις λευκές ποικιλίες, οι συγκεντρώσεις των φαινολικών οξέων που έχουν εστεροποιηθεί με το τρυγικό οξύ, των 3-φλαβονολών και των ολιγομερών προανθοκυανιδινών είναι υψηλές στην αρχή της ανάπτυξης των ραγών ενώ κατά την ωρίμανση μειώνονται σε ελάχιστες τιμές.



**Εικόνα 22:**Εξέλιξη των φαινολικών συστατικών. (Τα αποτελέσματα είναι εκφρασμένα σε mg/gr ξηρού βάρους) □ ανθοκυάνες του φλοιού ◆ ταννίνες του φλοιού ■ ταννίνες των γιγάρτων (Darne, 1991) (Πηγή: Ribereau-Gayon *et al*,1998)

Η συγκέντρωση των ολικών υδροξικιναμωνικών οξέων (ανά ράγα) στους ιστούς του μεσοκαρπίου φθάνει σε μια μέγιστη τιμή πριν τον περκασμό, έπειτα μειώνεται και καθώς η ράγα πλησιάζει προς την πλήρη ωρίμανση, η συγκέντρωσή τους σταθεροποιείται. Ο Adams (2006) αναφέρει στην ποικιλία “Cabernet sauvignon” τα κύτταρα του μεσοκαρπίου της σάρκας είναι πλούσια σε υδροξικιναμωνικά οξέα τα οποία κατά την πορεία ανάπτυξης παρουσίασαν μια μέγιστη τιμή πριν τον περκασμό ενώ στην συνέχεια μειώθηκαν ώσπου σταθεροποιήθηκαν σε μια τιμή όταν η ράγα ήταν ώριμη.

Η L-φαινυλαλανίνη αμμωνία-λυάση (PAL) είναι το ένζυμο που συμμετέχει στην απομόνωση του  $\text{NH}_3$  από την L-φαινυλαλανίνη με προϊόν το trans-κινναμωνικό οξύ και είναι το πρώτο ένζυμο που συμμετέχει στο μεταβολικό μονοπάτι των διαφόρων φαινολικών συστατικών. Η PAL βρίσκεται στα επιδερμικά στρώματα των κυττάρων του φλοιού και στα γιγάρτα. Η δραστηριότητα της PAL εντός των γιγάρτων είναι υψηλή κατά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης, μειώνεται μετά τον περκασμό και φθάνει σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στην ωρίμανση. Από την άλλη, η δραστηριότητα της PAL στον φλοιό είναι πολύ υψηλή κατά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης ενώ, μετά τον περκασμό, μειώνεται. Στις έγχρωμες ποικιλίες, η



δραστηριότητά της αυξάνεται πάλι μετά τον περκασμό. Φαίνεται ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της δραστηριότητας της PAL και της έντασης του χρώματος.

Η δραστηριότητα της σύνθεσης της χαλκόνης, η οποία είναι ένα ειδικό ένζυμο που συμμετέχει στο μονοπάτι βιοσύνθεσης των φλαβονοειδών, αυξάνεται ταχέως κατά τον περκασμό και μειώνεται απότομα αμέσως μετά. (Ribereau-Gayon *et al.*, 1998).

Η δραστηριότητα της οξειδάσης των πολυφαινολών ποικίλει κατά την περίοδο ωρίμανσης. Παρουσιάζει χαμηλή δραστηριότητα την πρώτη βδομάδα πριν τον περκασμό και μια αυξημένη δραστηριότητα μετέπειτα.

Από τη δράση των ενζύμων αναγωγή της λευκοανθοκυανιδίνης (LAR) και η αναγωγή της ανθοκυανιδίνης (ANR) παράγονται τα μονομερή των 3-φλαβανόλων τα οποία είναι απαραίτητα για τον σχηματισμό των προανθοκυανιδινών. Συμφωνά με τα πειράματα των Bogs *et al.* (2005), τα άνθη ήταν πλούσια σε προανθοκυανιδίνες, των οποίων η συσσώρευση στους φλοιούς και στα γίγαρτα συνεχίστηκε κατά την πορεία ωρίμανσης. Πιο αναλυτικά, η συσσώρευση των προανθοκυανιδινών ξεκίνησε τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης των ραγών και ολοκληρώθηκε με την έναρξη της ωρίμανσης. Ο ρυθμός της συσσώρευσης επηρεάζεται από την συγκέντρωση των ενζύμων LAR και ANR.

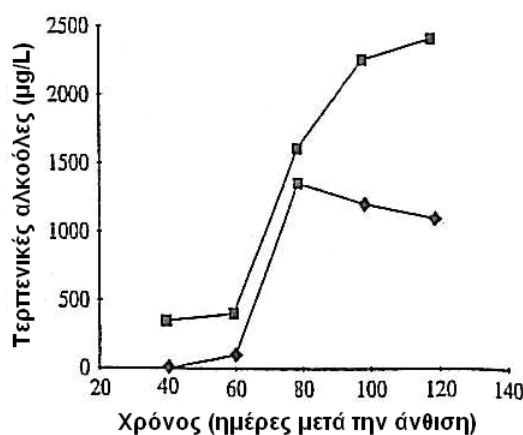
### **Z) Αρωματικά συστατικά.**

Το άρωμα είναι ιδιαίζουσας σημασίας για την ποιότητα του σταφυλιού. Το χαρακτηριστικό άρωμα των σταφυλιών της κάθε ποικιλίας οφείλεται κυρίως στα τερπένια, με κυρίαρχες τις μονοτερπενοειδής ενώσεις, τα C<sub>13</sub>-νορισοπρενοειδή, τις μεθοξυπυραζίνες και σε άλλες χημικές ενώσεις όπως λ.χ. σε ενώσεις του θείου. Για παράδειγμα, η ομάδα των ποικιλιών *Μοσχάτο* είναι ίσως η πιο αρωματική του είδους *V. vinifera*. Το άρωμά τους οφείλεται σε μονοτερπενοειδή και συγκεκριμένα στην λιναλόλη, στη γεναδιόλη, στη νερόλη, στην κιτρονελλόλη, στην α-τερπινεόλη και στη χορτιενόλη. (Conde *et al.*, 2007).

Τα αρωματικά αυτά συστατικά βρίσκονται κυρίως στο φλοιό των ραγών και η σύνθεσή τους καταλύεται από το συνένζυμο A (CoA). Παρ' όλο που οι πρόδρομες ουσίες τους βρίσκονται στα φύλλα, η σύνθεσή τους και η ανάπτυξή τους γίνεται εντός των ραγών. (Mullins *et al.*, 1990)

Τα επίπεδα των ελεύθερων και των δεσμευμένων μονοτερπενοειδών αυξάνονται κατά την πορεία ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών. Συγκεκριμένα, οι

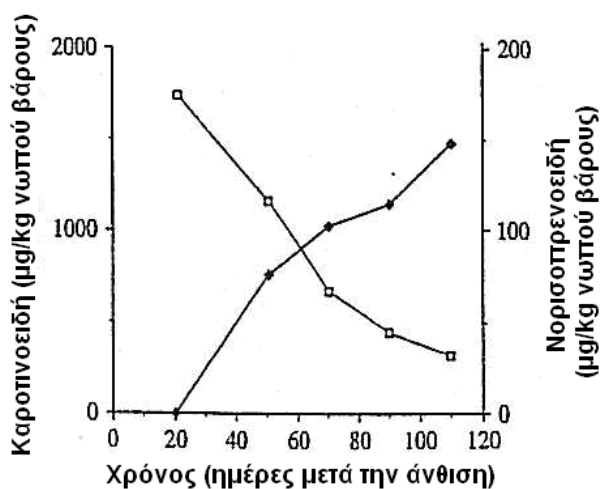
δεσμευμένες μορφές είναι σε αφθονία κατά το στάδιο της πράσινης ράγας (250-500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  νωπού βάρους) ενώ οι ελεύθερες μορφές απαντώνται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (30-90  $\mu\text{g}/\text{kg}$  νωπού βάρους). Κατά τη φάση της ωρίμανσης, παρ' όλο που αυξάνονται οι συγκεντρώσεις τόσο των δεσμευμένων όσο και των ελεύθερων μορφών, οι δεσμευμένες ξεπερνούν κατά πολύ τις ελεύθερες μορφές. Εξαιρέση αποτελεί η λιναλόλη, της οποίας οι ελεύθερες μορφές ξεπερνούν τις συγκεντρώσεις των δεσμευμένων κατά την φάση αυτή. Στην υπερωρίμανση, οι συγκεντρώσεις των δεσμευμένων ενώσεων συνεχίζουν να αυξάνονται ενώ η συσσώρευση των ελεύθερων ενώσεων σταματάει ή και μειώνεται. Για παράδειγμα, οι συγκεντρώσεις της ελεύθερης λιναλόλης και της  $\alpha$ -τερπενιόλης μειώνονται κατά την φάση της υπερωρίμανσης. Αυτή η εξέλιξη των τερπενοειδών ενώσεων δείχνει ότι αποθηκεύονται υπό την μορφή των δεσμευμένων μορφών. (Ribereau-Gayon *et al.*, 1998).



**Εικόνα 23:** Εξέλιξη των τερπενικών αλκοολών κατά την πορεία ωρίμανσης των ραγών της ποικιλίας "Μοσχάτο" ◆ ελεύθερες τερπενοειδείς ενώσεις ■ δεσμευμένες τερπενοειδείς ενώσεις (Bayonove, 1993) (Πηγή: Ribereau-Gayon *et al.*, 1998)

Οι συγκεντρώσεις των καροτινοειδών (λουτεΐνη,  $\beta$ -καροτίνη, νεοξανθίνη κ.α.) μέσα στην ράγα κυμαίνονται από 15 μέχρι σχεδόν 2500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  νωπού βάρους και εντοπίζονται κυρίως στο φλοιό ο οποίος είναι 2 με 3 φορές πιο πλούσιος από τη σάρκα. Κατά την ωρίμανση, παρατηρείται μείωση των συγκεντρώσεων των καροτινοειδών και αύξηση των συγκεντρώσεων των μοριακών προϊόντων των καροτινοειδών (π.χ. των νορισοπρενοειδών). (Ribereau-Gayon *et al.*, 1998). Έτσι κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης, συσσωρεύονται στην ράγα έχοντας ως κύριο ρόλο την προστασία των ραγών από οξειδωτικό στρες, ενώ μετά τον περκασμό αποθηκεύονται

υπό μορφή αρωματικών συστατικών λ.χ. υπό μορφή β-δαμασκηνόνης και β-ιονόνης.(Keller, 2005).



**Εικόνα 24:** Εξέλιξη των καροτινοειδών και των C<sub>13</sub> νορισοπρενοειδών κατά την πορεία ωρίμανσης των ραγών της ποικιλίας "Μοσχάτο" ◆ καροτινοειδή ■ νορισοπρενοειδή (Bayonove,1993) (Πηγή: R.Ribereau-Gayon *et al*,1998)

#### **H) Συσσωρευση των κατιόντων.**

Τα αγγεία του ξύλου μεταφέρουν την πλειονότητα των κατιόντων σε αναλογία με τον ποσοστό του νερού που διαπνέεται από τις ράγες. Οι ράγες είναι πλούσιες σε κάλιο (Κ) το οποίο είναι ένα από τα πιο σημαντικά μακροστοιχεία για την ανάπτυξη και αύξηση των ραγών αλλά και των άλλων οργάνων του πρέμνου. Η κύρια πηγή Κ για το πρέμνο είναι το έδαφος, από όπου απορροφάται από τις ρίζες και μεταφέρεται μέσω των αγγείων του ξύλου στα διάφορα όργανα του πρέμνου. Όμως, το Κ είναι από τα ελάχιστα κατιόντα που μεταφέρονται και μέσω των αγγείων του ηθμού. Έτσι, μετά τον περκασμό, παρατηρείται μια απότομη αύξηση της συγκέντρωσης του Κ εντός των ραγών λόγω της πρόσθετης μεταφοράς του Κ από τα φύλλα προς τις ράγες.

Το Κ έχει ρόλο-κλειδί στην φυσιολογία της αμπέλου γιατί (1) συμμετέχει στην δραστηριοποίηση των ενζύμων, (2) έχει τον μέγιστο έλεγχο της διαφοράς δυναμικού εντός των περιοχών της πλασματικής μεμβράνης, το οποίο με την σειρά του επηρεάζει την εισαγωγή των διαφόρων κατιόντων, ανιόντων και σακχάρων εντός των κυττάρων και την έξοδο άλλων συστατικών από αυτά και (3) συμμετέχει στην ρύθμιση του ωσμωτικού δυναμικού και συνεπώς των υδατικών σχέσεων εντός του πρέμνου και της διατήρησης της σπαργής, του όγκου και της ανάπτυξης των οργάνων του φυτού.

Εντός του ηθμού, επιτρέπει την μεταφορά των σακχάρων από τα φύλλα στις ράγες. Κατά την φάση I, τα κύτταρα διαιρούνται και επιμηκύνονται με έντονους ρυθμούς, με αποτέλεσμα κατά την περίοδο αυτή το K να διαδραματίζει ένα πολύ σημαντικό ρόλο ως ρυθμιστής του ωσμωτικού δυναμικού. Μετά τον περκασμό, οι ράγες συνεχίζουν να επιμηκύνονται λόγω της αύξησης της συσσώρευσης των σακχάρων εντός των κυττάρων. Στην φάση αυτή το K μπορεί να παίζει ένα δευτερεύοντα, αλλά σημαντικό ρόλο στην συσσώρευση των σακχάρων. Συνεπώς κατά την ωρίμανση, η συγκέντρωση του καλίου αυξάνεται ανάλογα με την αύξηση της συσσώρευσης των σακχάρων.

Ένα άλλο σημαντικό στοιχείο είναι το ασβέστιο (Ca). Η συγκέντρωσή του φθάνει σε ένα μέγιστο κατά τον περκασμό και παραμένει σταθερή ή μειώνεται κατά το στάδιο της ωρίμανσης. Συχνά, η συσσώρευση του ασβεστίου διακόπτεται κατά την έναρξη την ωρίμανσης λόγω της μείωσης της αναπνευστικής δραστηριότητας και του αριθμού των στοματιών. Το Ca ενισχύει την αντίσταση των ραγών κατά του μύκητα *Botrytis cinerea*. Ομοίως, το μαγνήσιο, το οποίο είναι συστατικό της χλωροφύλλης, βρίσκεται στα ίδια επίπεδα με το ασβέστιο. Έτσι λοιπόν, οι συγκεντρώσεις του ασβεστίου και του μαγνησίου ανά λίτρο χυμού μειώνονται κατά την πορεία ωρίμανσης. (Conde *et al.*, 2007).

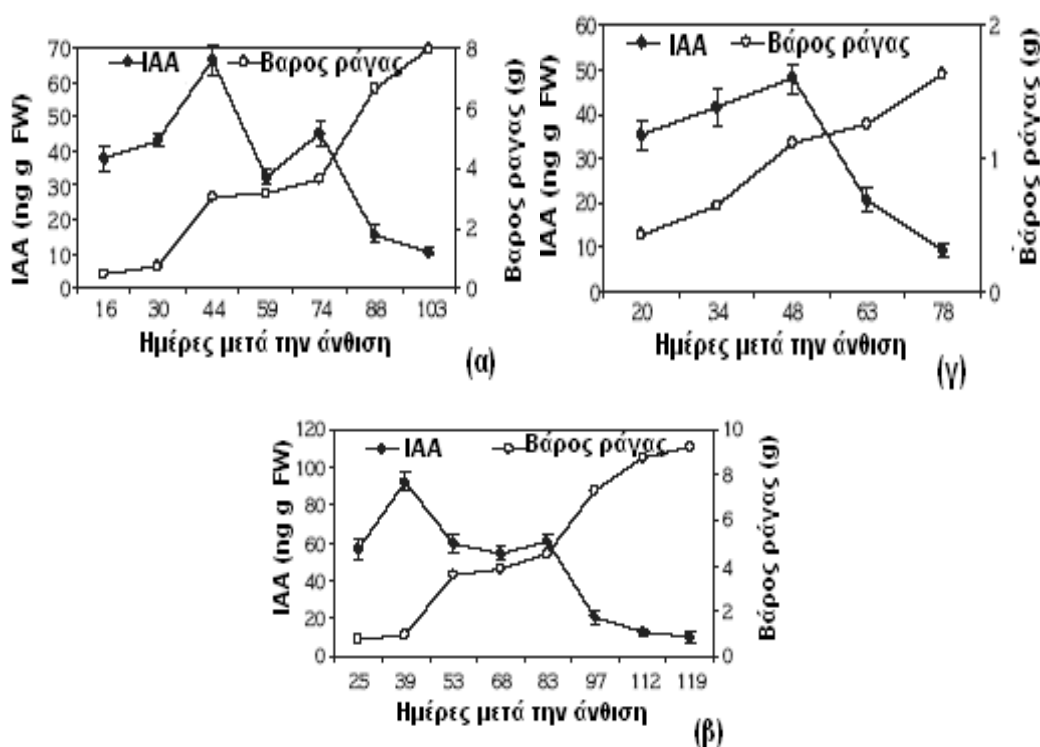
Η συγκέντρωση των μεταλλικών στοιχείων (Zn, Cu, Mn κ.α.) πιθανόν να μειώνονται κατά την πορεία ωρίμανσης. Οι συγκεντρώσεις των ανόργανων ανιόντων (θειούχα, φωσφορικά, χλωριούχα κ.α.) συνεχίζουν να αυξάνονται με την αύξηση των κατιόντων, αλλά η δημιουργία συμπλόκων των φωσφορικών π.χ. με το μαγνήσιο γίνεται με μικρότερους ρυθμούς κατά τον περκασμό. (Ribereau-Gayon *et al.*, 1998).

### **Θ) Φυτοορμόνες.**

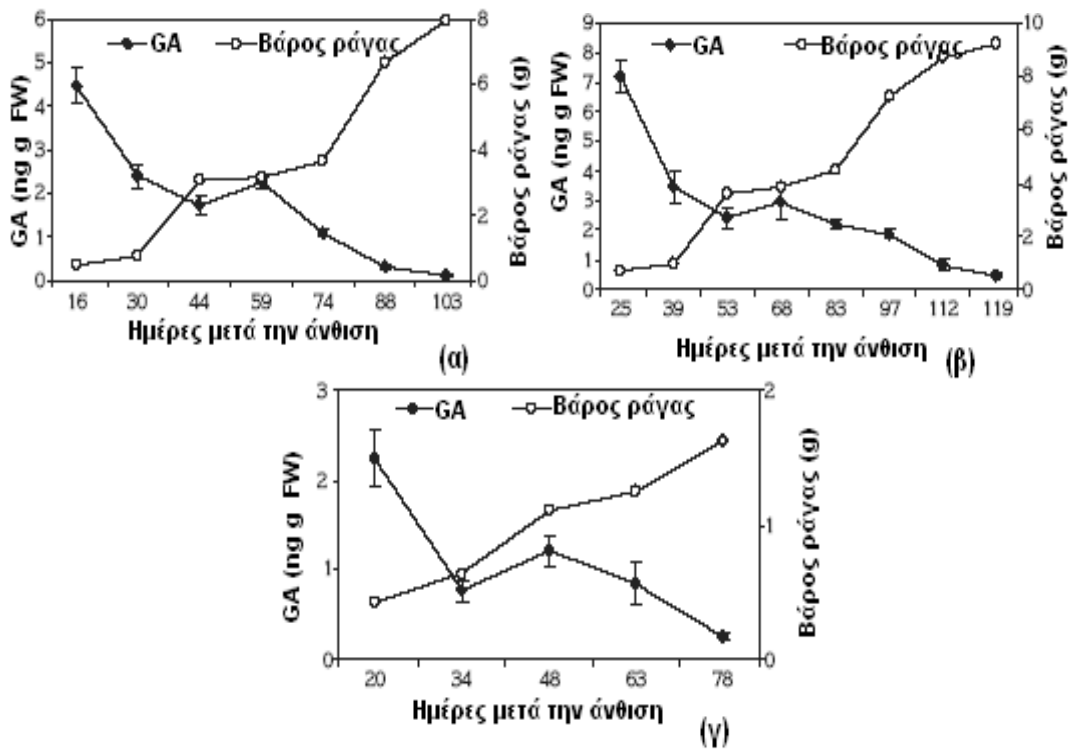
Οι φυτοορμόνες συμβάλλουν σημαντικά στην ανάπτυξη και αύξηση της ράγας. Τα πρώτα στάδια ανάπτυξης της ράγας, δηλαδή από την γονιμοποίηση μέχρι την καρπόδεση, επηρεάζονται από τις αυξίνες, τις κυτοκινίνες και τις γιββερρελίνες οι οποίες προωθούν την κυτταρική διαίρεση και επιμήκυνση. (Conde *et al.*, 2007).

Οι Baydar και Harmankaya (2004) μελέτησαν στις ποικιλίες Çavuş, Italia και Perlette τις αλλαγές των συγκεντρώσεων των ενδογενών ορμονών κατά την πορεία της ανάπτυξης και της ωρίμανσης των ραγών. Και στις τρεις ποικιλίες, στα αρχικά στάδια ανάπτυξης παρατηρήθηκε μια αύξηση της συγκεντρώσεως του IAA παρουσιάζοντας μια μέγιστη τιμή τις πρώτες 38-50 ημέρες μετά την άνθιση και στην συνέχεια είχε μια

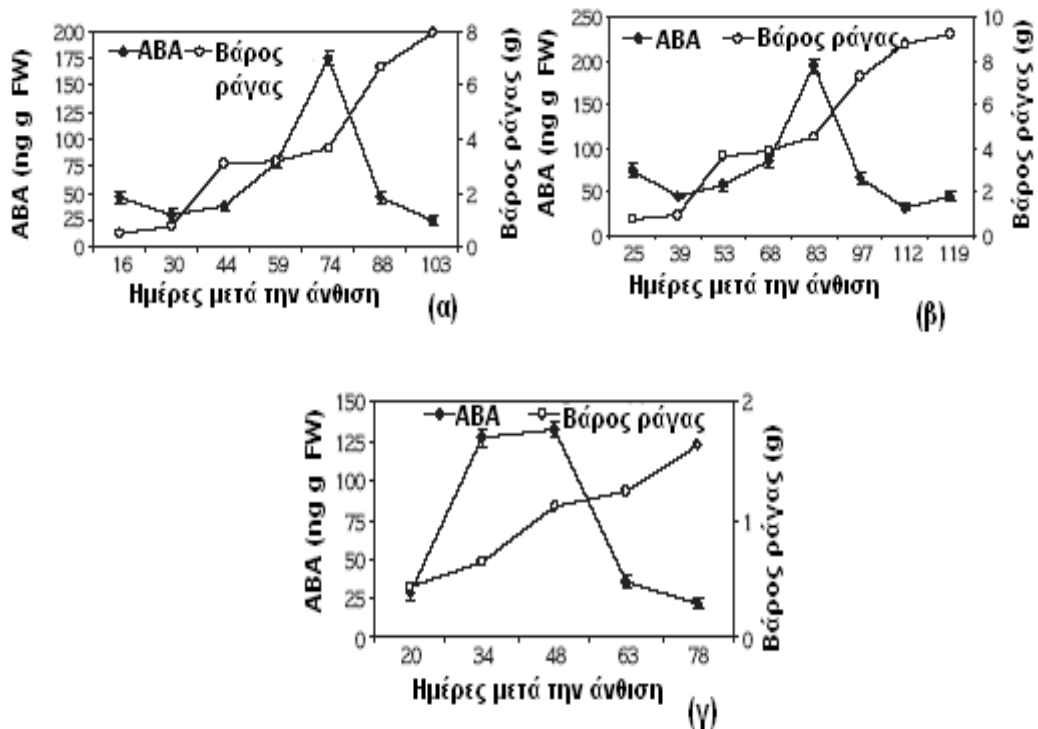
πτωτική τάση. Στις ποικιλίες Çanvus και Italia η μείωση αυτή διακόπηκε από μια δεύτερη κορυφή που παρατηρήθηκε την 75<sup>η</sup> και 85<sup>η</sup> ημέρα μετά την άνθιση. Οι συγκεντρώσεις των γιββερελλινών μειώθηκαν ραγδαίως στις φάσεις I και II, έπειτα παρουσίασαν μια μικρή αύξηση για μικρό χρονικό διάστημα και στην συνέχεια μειώθηκαν ξανά σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Τέλος, σε όλες τις ποικιλίες οι συγκεντρώσεις του αμψισικού οξέως έφτασαν σε μια μέγιστη τιμή κατά την έναρξη της ωρίμανσης (φάση III) και έπειτα άρχισαν να μειώνονται ξανά κατά την ωρίμανση.



**Εικόνα 25:** Μεταβολή του βάρους και της συγκέντρωσης του IAA στις ποικιλίες (α) Çanvus, (β) Italia και (γ) Perlette κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών. (Baydar και Harmankaya, 2004).



Εικόνα 26: Μεταβολή του βάρους και της συγκέντρωσης της GA<sub>3</sub> στις ποικιλίες (α) Çanuz, (β) Italia και (γ) Perlette κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών. (Baydar και Harmankaya, 2004).



Εικόνα 27: Μεταβολή του βάρους και της συγκέντρωσης του ABA στις ποικιλίες (α) Çanuz, (β) Italia και (γ) Perlette κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών. (Baydar και Harmankaya, 2004).

Πιο αναλυτικά, για την κάθε ορμόνη ισχύουν τα εξής:

#### Αυζίνες:

Κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης των ραγών (φάση I), κατά την διάρκεια των κυτταρικών διαιρέσεων, η συγκέντρωση του ινδαλοξικού οξέος (IAA) αυξάνεται, φθάνει σε μια μέγιστη τιμή στη φάση II και έπειτα μειώνεται κατά την φάση III. (Mullins *et al.*, 1990).

#### Κυτοκινίνες:

Οι κυτοκινίνες επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την ανθική επαγωγή και την ανάπτυξη των ραγών. Η δραστηριότητά τους είναι υψηλή κατά τις πρώτες ημέρες της φάσης I αλλά μειώνεται σε χαμηλότερα επίπεδα πριν την έναρξη της ωρίμανσης. (Mullins *et al.*, 1990).

#### Γιββερελλίνες:

Στις εγγίγαρτες ποικιλίες, η δραστηριότητα των γιββερελλινών είναι υψηλή κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης των ραγών και παραμένει υψηλή για περίπου τρεις εβδομάδες, έπειτα μειώνεται σε πολύ χαμηλά επίπεδα και αυξάνεται ξανά μετά από δύο εβδομάδες. Στην συνέχεια, μειώνεται ξανά. Η μείωση αυτή διαρκεί μέχρι το τέλος της ωρίμανσης. Η συγκέντρωση των γιββερελλινών συσχετίζεται με τον αριθμό των γιγάρτων. Ράγες που φέρουν τρία γίγαρτα έχουν πενταπλάσια ποσότητα γιββερελλινών (κυρίως κατά τη δεύτερη αύξηση της δραστηριότητά τους) συγκριτικά με τις ράγες που φέρουν μόνο ένα. Στις αγίγαρτες ποικιλίες, η δραστηριότητα των γιββερελλινών ακολουθεί την ίδια πορεία με αυτή των εγγίγαρτων με τη διαφορά ότι η πρώτη μείωση και η δεύτερη αύξηση της συγκέντρωσης τους επισυμβαίνουν νωρίτερα. (Mullins *et al.*, 1990).

#### Αμπισικό οξύ:

Η μείωση της συγκέντρωσης των αυξινών και η αύξηση της συγκέντρωσης του ABA συσχετίζονται με την έναρξη της ωρίμανσης. Οι υψηλές συγκεντρώσεις του ABA παράγονται πιθανότατα από τα γίγαρτα με σκοπό την προώθηση της ανάπτυξης του εμβρύου. Οι Pirie και Mullins (1976) παρατήρησαν ότι μια καθυστερημένη συσσώρευση του ABA οδηγεί στην καθυστέρηση της συσσώρευσης των εξοζών. Έχει παρατηρηθεί επίσης, ότι η συγκέντρωση του αμπισικού οξέως εντός των γιγάρτων είναι αυξημένη κατά τις πρώτες ημέρες της φάσης I αλλά μειώνεται και παραμένει σε χαμηλά επίπεδα κατά τις φάσεις II και III.

Ομοίως οι Coombe και Hale (1973) παρατήρησαν ότι τα επίπεδα του αμπισικού οξέως αυξάνονται στην αρχή της φάσης III από 33 ng σε 490 ng/ράγα μέσα σε 15 ημέρες ενώ μετά ξαναμειώνονται μέσα σε λίγες ημέρες. Επίσης, παρατήρησαν ότι η έναρξη και ο ρυθμός ωρίμανσης συσχετίζεται θετικά από τις συγκεντρώσεις του ABA ενώ οι Farmahan και Pandey (1976) υποστηρίζουν ότι το ABA πιθανότατα ενεργοποιεί τους μηχανισμούς μεταφοράς των διαφορών μεταβολιτών από τα φύλλα στις ράγες.

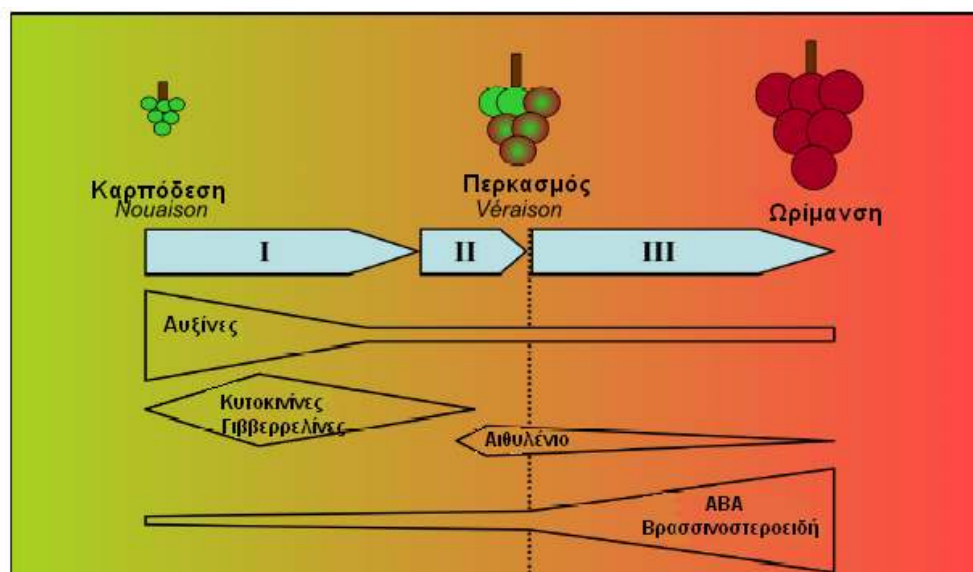
#### Αιθυλένιο:

Παρ' όλο που ο καρπός της αμπέλου εντάσσεται στους μη κλιμακτιριακούς καρπούς, πολλοί μελετητές παρατήρησαν χαμηλών συγκεντρώσεων έκλυση αιθυλενίου από τις ράγες. Η έκλυση του αιθυλενίου από τις ράγες μειώνεται κατά την διάρκεια της φάσης II μέχρι την έναρξη της συσσώρευσης των σακχάρων (φάση III) και έπειτα παραμένει σταθερή σε χαμηλά επίπεδα (0,05  $\mu\text{g/L}$ ). (Mullins *et al.*, 1990).

Πειράματα των Tesniere *et al.* (2004) στην ποικιλία “Cabernet sauvignon” έδειξαν ότι το αιθυλένιο κατέχει ένα σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση των ραγών. Μία από τις σημαντικές μοριακές αλλαγές εντός των ραγών που οφείλονται στην επίδραση του αιθυλενίου είναι η ρύθμιση της δράσης του ενζύμου *ADH* (δεοξυδρογενάση της αλκοόλης) κατά την έναρξη της ωρίμανσης. Επίσης το αιθυλένιο ρυθμίζει την έκφραση και το βαθμό αντιγραφής του *VvADH2*.

Από την άλλη, ο Chervin *et al.* (2006) επισημαίνουν ότι το αιθυλένιο συσχετίζεται με την συσσώρευση των σακχάρων. Πειράματά τους με την ποικιλία “Cabernet sauvignon” έδειξαν ότι οι ράγες που είχαν μεταχειριστεί με 1-μεθυλκυκλοπροπένιο (το οποίο είναι ειδικός αναστολέας των υποδοχέων του αιθυλενίου) παρουσίασαν μικρότερη συσσώρευση σακχαρόζης σε σχέση με τις ράγες-μάρτυρα. Η μείωση αυτή της συσσώρευσης συσχετίστηκε από τους Chervin *et al.* με την μείωση της συσσώρευσης του RNA δύο μεταφορέων της σακχαρόζης, των *SUC11* και *SUC12*, των οποίων η έκφραση εκδηλώθηκε τα μέγιστα στο στάδιο του περκασμού όταν τα σάκχαρα άρχισαν να συσσωρεύονται εντός των ραγών.





**Εικόνα 28:** Η πορεία των ορμονών κατά την πορεία ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών. (Coombe, 2001) (Πηγή: Conde *et al.*, 2007).

### Δ) Αναπνοή – Διαπνοή

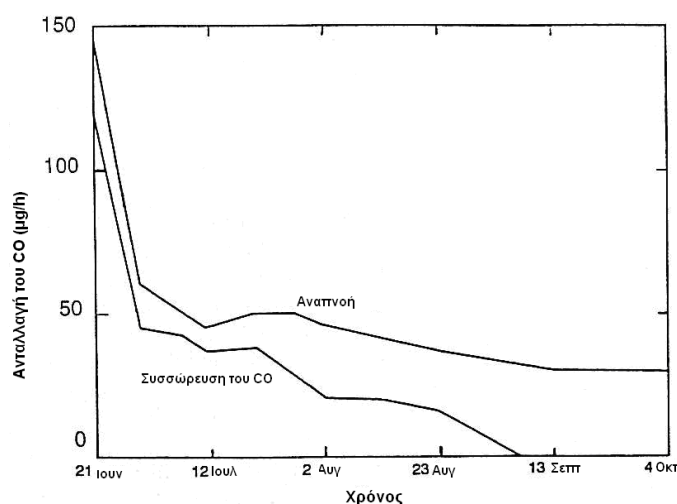
Κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης, οι ράγες έχουν την ικανότητα να φωτοσυνθέτουν και να παράγουν πολύ μικρές ποσότητες σακχάρων. Ο ρυθμός της φωτοσύνθεσης στην ράγα είναι πολύ μικρός και σπανίως καλύπτει τις ανάγκες των ραγών σε προϊόντα της φωτοσύνθεσης απαραίτητα για την ανάπτυξή τους. Ο ρυθμός της αναπνοής φθάνει σε ένα μέγιστο στα αρχικά στάδια ανάπτυξης των ραγών και έπειτα μειώνεται. (Mullins *et al.*, 1990).

Σύμφωνα με τον Ribereau-Gayon *et al.* (1998), η ένταση της αναπνοής αυξάνεται κατά την φάση I λόγω της αυξημένης κυτταρικής διαίρεσης. Έπειτα, παραμένει σχετικά σταθερή μέχρι την ωρίμανση ενώ δεν παρουσιάζει καμία αύξηση κατά την ωρίμανση. Πριν τον περκασμό, η σάρκα αλλά κυρίως τα γίγαρτα είναι υπεύθυνα για την αναπνοή ενώ κατά την περίοδο της ωρίμανσης η αναπνευστική δραστηριότητα είναι εντονότερη στους φλοιούς. Το αναπνευστικό πηλίκο (δηλαδή η σχέση μεταξύ του CO<sub>2</sub> που ελευθερώνεται και του οξυγόνου που καταναλώνεται) αλλάζει κατά τον περκασμό υποδεικνύοντας μια αλλαγή στο αναπνευστικό υπόστρωμα.

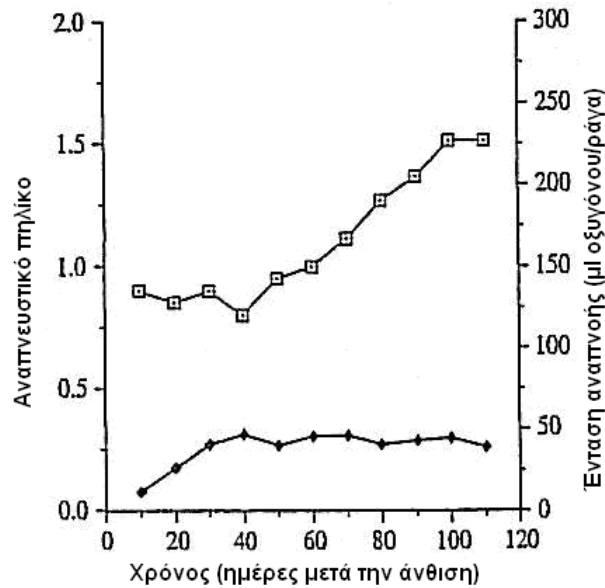
Κατά το στάδιο της πράσινης ράγας, το αναπνευστικό πηλίκο παραμένει κοντά στο 1. Στην πραγματικότητα, το αναπνευστικό πηλίκο του περικαρπίου στις πράσινες ράγες είναι κοντά στο 1 ενώ των γιγάρτων είναι κοντά στο 0,7. Τα γίγαρτα είναι πλούσια σε λιπαρά οξέα τα οποία αποτελούν πιθανότατα το αναπνευστικό υπόστρωμα. Από την άλλη, στο περικόρπιο η τιμή του αναπνευστικού πηλίκου

οφείλεται στην καύση κυρίως των σακχάρων αλλά και των οργανικών οξέων. Μετά τον περκασμό, το αναπνευστικό πηλίκο αυξάνεται φθάνοντας μέχρι 1,5 προς το τέλος της ωρίμανσης. Έτσι, μπορεί να υποστηριχθεί ότι τα οργανικά οξέα χρησιμοποιούνται ως αναπνευστικό υπόστρωμα κατά την πορεία ωρίμανσης των ραγών. (Ribereau-Gayon *et al*, 1998).

Οι ράγες χάνουν μικρά ποσοστά νερού προς την ατμόσφαιρα μέσω της διαπνοής. Η συχνότητα των φακιδίων και των στοματίων πάνω στις ράγες είναι χαμηλή και το άνοιγμα αυτών επηρεάζεται και από την πυκνότητα της κηρώδους ανθηρότητας. Η ένταση της διαπνοής επηρεάζεται από τις μεταβολές της θερμοκρασίας, την ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας καθώς και από την αύξηση της διάχυσης του νερού προς τη ατμόσφαιρα με αποτέλεσμα να μειώνεται από περίπου  $20 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$  (στο στάδιο της πράσινης ράγας) σε  $6 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$  (στην ωρίμανση). (Mullins *et al.*, 1990).



**Εικόνα 29:** Αλλαγές της συσσωρευσης του φωτοσυνθετικού CO<sub>2</sub> και του ρυθμού αναπνοής κατά την πορεία ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών. (Matthews *et al.* 1963) (Πηγή: Mullins *et al.*, 1990)



**Εικόνα 30:**Αλλαγές στην αναπνοή κατά την πορεία ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών. □ ρυθμός αναπνοής ◆ αναπνευστικό πηλίκο (Harris *et al.* 1971) (Πηγή: R.Ribereau- Gayon *et al.*,1998).

### **K) Αγγειακή δομή της ράγας**

Μελέτες έδειξαν ότι τα αγγεία του ξύλου μέσα στη ράγα διακόπηκαν με την έναρξη της φάσης III, προτείνοντας ότι τα αγγεία αποδιοργανώνονται κατά την αύξηση του μεγέθους της ράγας. Επίσης τα κύτταρα του φλοιού γίνονται πιο λεπτά κατά τη φάση III. Η λέπτυνση αυτή των κυττάρων συνδυαζόμενη με τη εξαφάνιση των αγγείων του ξύλου υποδηλώνει ότι η βιοσύνθεση των δομικών πολυμερών να μην ξαναρχίζει με τη δεύτερη αύξηση της ανάπτυξης των ραγών. (Mullins *et al.*, 1990).

Οι Keller *et al.* (2006) παρατήρησαν ότι τα αγγεία του ξύλου διατηρούσαν την ικανότητα μεταφοράς του νερού και των διαφόρων διαλυτών ουσιών κατά την ωρίμανση ενώ προτείνουν ότι η αποπλαστική έξοδος του νερού από τον ηθμό παράλληλα με την συσσώρευση των διαλυτών συστατικών στον αποπλάστη των κυττάρων της ράγας μπορεί να ευθύνονται για την μείωση της μεταφοράς του νερού μέσω των αγγείων του ξύλου. Τα αγγεία του ξύλου μπορεί να χρησιμεύουν στην επιστροφή της περίσσειας νερού (που μεταφέρεται μέσω του ηθμού) προς στις ρίζες. Επίσης, μέσω των αγγείων του ηθμού εισέρχονται στη ράγα τα σάκχαρα, τα διάφορα κατιόντα και άλλα συστατικά.

## **Επίδραση της θερμοκρασίας στην πορεία της ανάπτυξης και της ωρίμανσης των ραγών**

Ο ρυθμός της ανάπτυξης και αύξησης των ραγών επηρεάζεται άμεσα από τη θερμοκρασία. Υψηλές θερμοκρασίες επιδρούν αρνητικά στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Κατά τη διάρκεια του σταδίου της πράσινης ράγας, οι άριστες θερμοκρασίες κυμαίνονται μεταξύ 20-25°C. Υψηλότερες θερμοκρασίες (>35°C) οδηγούν στην μείωση του ρυθμού ανάπτυξης και στην μείωση του όγκου των ραγών κατά τον τρυγητό. (Dokoozlian, 2002). Ομοίως, κατά το στάδιο της ωρίμανσης, η θερμοκρασία επηρεάζει την ένταση της μετανάστευσης των διαφόρων συστατικών και συνεπώς, έμμεσα, την ανάπτυξη των κυττάρων. Άριστη θερμοκρασία στη φάση αυτή είναι οι 20°C. Πολύ υψηλές θερμοκρασίες, έστω και για μικρό χρονικό διάστημα, μεταβάλλουν μη-αντιστρεπτά τη συσσώρευση των σακχάρων. (Ribereau-Gayon *et al*, 1998). Οι Sepulveda και Kliewer (1986) διαπίστωσαν ότι στις ποικιλίες “Chardonnay” και “Chenin blanc” οι θερμοκρασίες ημέρας/νύχτας 40°C/20°C ευνοούν τη συσσώρευση των σακχάρων στα άλλα όργανα των πρέμων εις βάρος των ραγών, οι οποίες λάμβαναν πολύ μικρά ποσοστά σακχάρων (περίπου 2,5%) συγκριτικά με τον μάρτυρα (25 °C /15 °C).

Όπως αναφέρουν οι Mullins *et al*. (1990), πειράματα των Hale και Buttrose (1974) με την ποικιλία “Cabernet Sauvignon” έδειξαν ότι η ευαισθησία της ανάπτυξης των ραγών στις μεταβολές της θερμοκρασίας εξαρτιόταν από το στάδιο της ανάπτυξης. Τα πρέμνα υποβλήθηκαν σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες 18/13°C, 25/20°C και 35/30°C. Όταν τα πρέμνα αναπτύχθηκαν σε συνεχόμενες μέτριες συνθήκες η διάρκεια της φάσης I ήταν 46 ημέρες, της φάσης II ήταν 15 ημέρες ενώ της φάσης III ήταν 28 ημέρες.

Κατά την διάρκεια της φάσης I, η ανάπτυξη των ραγών επηρεαζόταν θετικά από τη θερμοκρασία, αλλά σε συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών η ανάπτυξη των αναστελλόταν. Επίσης, η διάρκεια της φάσης I ήταν αντιστρόφως ανάλογη της θερμοκρασίας. Η διάρκεια της φάσης II ήταν ελάχιστη σε μέσες συνθήκες ενώ αυξανόταν δραματικά σε υψηλές θερμοκρασίες. Η διάρκεια της φάσης II επιδείκνυε την μέγιστη ευαισθησία στις μεταβολές της θερμοκρασίας και καθόριζε τον αριθμό των ημερών που απαιτούνταν για την ολοκλήρωση της ωρίμανσης των ραγών. Η διάρκεια της φάσης III δεν φαινόταν να επηρεαζόταν σημαντικά από τις μεταβολές

της θερμοκρασίας. Γενικά, υψηλές θερμοκρασίες αύξησαν την περίοδο ωρίμανσης των ραγών.

Παρατήρησαν επίσης ότι οι χαμηλές θερμοκρασίες δεν είχαν καμία επίδραση στο τελικό βάρος των ραγών παρόλο που η έναρξη του περκασμού παρουσίασε μια καθυστέρηση. Σε μέτριες θερμοκρασίες υπήρχε μια έντονη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης κατά την έναρξη της φάσης III συγκριτικά με την επίδραση υψηλότερων και χαμηλότερων θερμοκρασιών. Επίσης, σε μέτριες θερμοκρασίες η εμφάνιση του χρώματος ήταν πιο γρήγορη. Η ανάπτυξη του χρώματος επηρεαζόταν αρνητικά κυρίως από τις υψηλές θερμοκρασίες. Υψηλές θερμοκρασίες κατά τις φάσεις II και III γενικά μείωναν τους °Brix, ενώ φαίνεται ότι η θερμοκρασία είχε μικρή επίδραση στη φάση I. Υψηλές θερμοκρασίες στην φάση III μείωσαν τους °Brix μόνο όταν οι θερμοκρασίες ήταν υψηλές στις φάσεις I και II. Αλλαγές στις θερμοκρασίες μετά τον περκασμό είχαν μικρή επίδραση στον όγκο των ραγών και στην συσσώρευση των σακχάρων αλλά οι τελικοί °Brix ήταν αντιστρόφως ανάλογοι της θερμοκρασίας. Παρομοίως, η οξύτητα ήταν χαμηλή όταν σε ένα ή περισσότερα στάδια επικρατούσαν υψηλές θερμοκρασίες. Η οξύτητα ήταν υψηλή όταν στις φάσεις I και II η θερμοκρασία ήταν χαμηλή ή σε μέτρια επίπεδα καθώς και όταν κατά την φάση III η θερμοκρασία ήταν χαμηλή. Επιπλέον, οι θερμοκρασίες που επικρατούσαν και στα άλλα στάδια του βλαστικού κύκλου επηρέασαν την σύσταση των ραγών. (Mullins *et al.*, 1990). Γενικά, οι °Brix αυξάνουν ελαφρώς καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται μέχρι τους 30°C.

Οι Buttrose *et al.* (1971) πειραματίστηκαν με την ποικιλία “Cabernet sauvignon” σε θερμοκρασίες 20°C και 30°C κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών. Παρατήρησαν ότι η συγκέντρωση του μηλικού οξέως ήταν μεγαλύτερη στους 20 °C ενώ δεν παρατήρησαν διαφορές στην συγκέντρωση των σακχάρων, στον όγκο των ραγών και στην συγκέντρωση του τρυγικού οξέως στις διάφορες επεμβάσεις. Παρ’ όλ’ αυτά, παρατηρήθηκε μία μικρή αύξηση των ολικών διαλυτών στερεών (~1,5° Brix) στους 30°C. Τέλος διαπίστωσαν ότι η συγκέντρωση της προλίνης ήταν χαμηλότερη στους 20°C από ότι στους 30°C ενώ τα υπόλοιπα αμινοξέα δεν επηρεάστηκαν από την θερμοκρασία.

Η συγκέντρωση του μηλικού οξέως επηρεάζεται αρκετά από θερμοκρασίες 15 - 40°C, ενώ είναι μικρότερη σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες. Μελέτες του Kliewer (1977), έδειξαν ότι το pH του χυμού συσχετίζεται με τις συνθήκες των θερμοκρασιών που επικρατούν και ότι η ολική οξύτητα και η συγκέντρωση του μηλικού οξέως

συσχετίζονται αρνητικά με τα επίπεδα της θερμοκρασίας. Πιο αναλυτικά, η συσσωρευση του μηλικού οξέως ευνοείται από θερμοκρασίες μεταξύ των 20°C και 25°C. Σε υψηλές θερμοκρασίες η μιτοχονδριακή δεοξυδρογενάση (NAP) του μηλικού οξέως συμμετέχει στην αποικοδόμηση του μηλικού οξέως ενώ το συνένζυμο της NADP του μηλικού οξέως δρα σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Το συνένζυμο της NADP του μηλικού οξέως είναι υπεύθυνο για την μετατροπή του οξαλοξικού οξέως σε μηλικό. Ομοίως, αύξηση της δραστηριότητας του μηλικού ενζύμου παρατηρείται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 46°C. Από την άλλη, η καρβοξυλάση του φωσφοενυλοπυροσταφυλικού οξέως έχει άριστη θερμοκρασία τους 38°C ενώ σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 38°C παρατηρείται μια ταχεία μείωση της δραστηριότητάς της. Ομοίως οι Lakso και Kliewer (1975) παρατήρησαν ότι στις ώριμες ράγες της ποικιλίας “Carignan” η καρβοξυλάση του φωσφοενυλοπυροσταφυλικού οξέως (PEP) δρα άριστα σε θερμοκρασία των 38°C περίπου ενώ το μηλικό ένζυμο παρουσιάζει μέγιστη δραστηριότητα μεταξύ των θερμοκρασιών 10-46°C.

Η θερμοκρασία επηρεάζει επίσης τη σύνθεση των φαινολικών συστατικών. Υψηλές θερμοκρασίες διεγείρουν τις μεταβολικές αντιδράσεις ενώ χαμηλές θερμοκρασίες περιορίζουν την μετανάστευση αυτών των συστατικών. Από την άλλη, σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες οι ράγες παραμένουν πράσινες. Μελέτες έδειξαν ότι πολύ υψηλές θερμοκρασίες κατά την περίοδο της ωρίμανσης μειώνουν ή παρεμποδίζουν τελείως την δράση των ενζύμων κλειδιά που είναι υπεύθυνα για την σύνθεση των ανθοκυανών με αποτέλεσμα τον ασθενή χρωματισμό του φλοιού των ραγών. (Hashim-Buckey, 2006). Στις λευκές ποικιλίες, αυτή η μη-φυσιολογική ανάπτυξη του χρώματος αποκαλείται “pink berry”. Η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών επηρεάζεται επίσης και από την θερμοπερίοδο.

Η θερμοκρασία ασκεί επίσης πολύ σημαντική επίδραση στα αρωματικά συστατικά. Το αρωματικό δυναμικό ορισμένων λευκών ποικιλιών εκφράζεται εξ ολοκλήρου μόνο σε δροσερά κλίματα όπου η περίοδος της ωρίμανσης είναι αργή και μεγάλης διάρκειας. Σε δροσερές περιοχές, και κυρίως σε σκιαζόμενες ράγες, οι συγκεντρώσεις της μεθοξυπυραζίνης μπορούν να φθάσουν σε τιμές που δημιουργούν αρνητικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Αντιθέτα, ζεστά κλίματα μπορεί να οδηγήσουν σε υψηλές συγκεντρώσεις ορισμένων φαινολικών συστατικών σε ορισμένες λευκές ποικιλίες π.χ. “Riesling”, τα οποία οδηγούν στην ανάπτυξη

αρνητικών αρωμάτων κατά την παλαίωση του κρασιού. (Ribereau-Gayon *et al.* 1998).

Η θερμοκρασία ημέρας και η θερμοκρασία νύχτας έχουν παρόμοια επίδραση στην πορεία ανάπτυξης των ράγων, αλλά η θερμοκρασία ημέρας επηρεάζει περισσότερους τομείς της ωρίμανσης. Η συσσώρευση της προλίνης επηρεάζεται κυρίως από τις θερμοκρασίες νύχτας. (Mullins *et al.*, 1990).

Οι Kliewer και Torres (1972) παρατήρησαν ότι στις ποικιλίες “Cardinal”, “Pinot noir” και “Tokay” οι ράγες τους ωρίμασαν σε θερμοκρασίες ημέρας/νύχτας 15°C/15°C παρουσίασαν καλύτερη ανάπτυξη χρώματος από τις ράγες που ωρίμασαν σε θερμοκρασίες ημέρας/νύχτας 35°C/15°C, 35°C/25°C ή 15°C/25°C. Παρ’ όλ’ αυτά, οι ράγες που αναπτύχθηκαν σε θερμοκρασίες ημέρας/νύχτας 15°C/25°C είχαν σημαντικά μεγαλύτερη συγκέντρωση ανθοκυανών συγκριτικά με τις ράγες που ωρίμασαν σε υψηλές θερμοκρασίες ημέρας (35°C), ανεξαρτήτως θερμοκρασιών νύχτας. Από την άλλη, οι ράγες των ποικιλιών “Cardinal” και “Pinot noir” που αναπτύχθηκαν σε θερμοκρασίες ημέρας/νύχτας 35°C/25 ή 30°C είχαν σημαντικά μεγαλύτερη συγκέντρωση ανθοκυανών συγκριτικά με τις ράγες που ωρίμασαν σε θερμοκρασίες ημέρας/νύχτας 35°C/15 ή 10°C. Όταν η θερμοκρασία ημέρας ήταν 35°C τότε παρεμποδίστηκε τελείως ο σχηματισμός των ανθοκυανών στις ράγες της ποικιλίας “Tokay” ανεξαρτήτως θερμοκρασιών νύχτας. Επίσης, στην ποικιλία “Tokay” παρεμποδίστηκε ο σχηματισμός των ανθοκυανών σε θερμοκρασίες ημέρας/νύχτας 25°C/30°C ενώ μειώθηκε το χρώμα των ραγών της ποικιλίας “Cabernet sauvignon” συγκριτικά με τις ράγες που ωρίμασαν σε θερμοκρασίες νύχτας 15°C και 20°C.

Συνεπώς, οι θερμοκρασίες επηρεάζουν πολύ σημαντικά πολλές βιοχημικές διεργασίες που επισυμβαίνουν κατά την πορεία ανάπτυξης των ραγών. Για παράδειγμα, η αποικοδόμηση του μηλικού οξέως επισπεύδεται σημαντικά σε ζεστό καιρό καθώς η δραστηριότητα του μηλικού ενζύμου αυξάνεται σταθερά σε θερμοκρασίες 10 °C και 46 °C. Από την άλλη, η θερμοκρασία δεν επηρεάζει άμεσα τις συγκεντρώσεις του τρυγικού οξέως. Το υψηλό αναπνευστικό πηλίκιο, που παρατηρείται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 35 °C, αρχικά αποδίδεται στην αναπνευστική οξείδωση του τρυγικού οξέως, αλλά σε τέτοιες θερμοκρασίες αυτή η δραστηριότητα αντιστοιχεί περισσότερο στα φαινόμενα ζύμωσης που συμβαίνουν μέσα στην ράγα. (Ribereau-Gayon *et al.* 1998). Τέλος, η απότομη αύξηση της

θερμοκρασίας κατά την πορεία ανάπτυξης και ωρίμανσης των ραγών προκαλεί θερμικά τραύματα ή εγκαύματα (Hashim-Buckey, 2006).

### **Επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας στην πορεία της ανάπτυξης και της ωρίμανσης των ραγών**

Η ηλιακή ακτινοβολία αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα της σύνθεσης των ανθοκυανών, αλλά η επίδραση της είναι λιγότερο ευκρινής σε σχέση με τις επιδράσεις της θερμοκρασίας. Οι άριστες συνθήκες φωτοσύνθεσης κυμαίνονται σε τιμές ηλιακής ακτινοβολίας περίπου  $700 \text{ E/m}^2/\text{s}$ . Χαμηλής εντάσεως ηλιακή ακτινοβολία οδηγεί στη μείωση του βάρους των ραγών, των  $^{\circ}\text{Brix}$ , του pH και της συγκεντρώσεως της προλίνης ενώ προκαλεί αύξηση της ολικής οξύτητας και των συγκεντρώσεων του μηλικού οξέως και της αργινίνης. Ομοίως, η ηλιακή ακτινοβολία επιδρά στην συσσώρευση των φαινολικών συστατικών και στην PAL, η οποία αποτελεί ένα φωτοεπαγωγικό ενζυμικό σύστημα. Επίσης, η εφαρμογή σκίασης στα πρώτα στάδια ανάπτυξης επιφέρει οψίμινση της ωρίμανσης των ραγών σε κάποιες ποικιλίες. (Ribereau-Gayon *et al*, 1998).

Οι Mullins *et al.* (1990) αναφέρουν ότι πειράματα του Dokoozlian (1990) με τις ποικιλίες “Cabernet sauvignon” και “Pinot noir” έδειξαν ότι η ορατή ακτινοβολία επαυξάνει την ανάπτυξη των ραγών και την συσσώρευση των σακχάρων και των ανθοκυανών. Τα αποτελέσματα αυτά παρατηρήθηκαν σε πολύ χαμηλές εντάσεις, περίπου σε 1-10% της ακτινοβολίας. Τόσο χαμηλές εντάσεις παρατηρούνται όταν η κόμη του πρέμνου είναι πολύ πυκνή. Οι επιδράσεις της ποιότητας της ηλιακής ακτινοβολίας στην ανάπτυξη των ραγών παρατηρήθηκαν κυρίως όταν η σκίαση εφαρμόστηκε στα αρχικά στάδια ανάπτυξης. Η σκίαση στη φάση III δεν είχε καμία επίδραση στην συσσώρευση των σακχάρων ή στην ανάπτυξη αλλά μείωσε την αποικοδόμηση του μηλικού οξέως και την σύνθεση των ανθοκυανών.

Οι Crippen και Morrison (1986) παρατήρησαν ότι στην ποικιλία “Cabernet sauvignon”, οι ράγες που ήταν εκτεθειμένες στο ηλιακό φως είχαν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις σε τρυγικό οξύ, μηλικό οξύ, γλυκόζη και φρουκτόζη. Όμως δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές όταν τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ανά ράγα. Επίσης, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των σκιαζόμενων και των εκτεθειμένων στην ηλιακή ακτινοβολία ραγών στις



συγκεντρώσεις του καλίου, στην τρυγική οξύτητα και στα διαλυτά στερεά. Τέλος, παρατήρησαν ότι οι ράγες που βρίσκονταν στις σκιαζόμενες πλευρές της φυλλικής επιφάνειας του πρέμνου είχαν σημαντικά μεγαλύτερο βάρος από τις ράγες που ήταν εκτεθειμένες στο ηλιακό φως. Οι διαφορές αυτές οφείλονται στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις νερού εντός των σκιαζόμενων ραγών.

Ο Kliewer (1977) παρατήρησε ότι όταν οι ράγες της ποικιλίας “Emperor” υποβλήθηκαν σε θερμοκρασίες ημέρας/νύχτας 37°C/32°C δεν σχηματίστηκαν ανθοκυάνες είτε σε χαμηλή ένταση φωτός (9,5% ηλιακή ακτινοβολία) είτε σε υψηλή ένταση φωτός (66,5% ηλιακή ακτινοβολία). Σε θερμοκρασία 20,3 °C ένα σημαντικό ποσοστό ανθοκυανών σχηματίστηκε τόσο σε χαμηλή ένταση φωτός τόσο και σε υψηλή. Σε υψηλή ένταση φωτός και σε θερμοκρασία ημέρας/νύχτας 37°C /32°C τα διαλυτά στερεά συστατικά δεν ξεπέρασαν τα 12,9 °Brix ενώ σε θερμοκρασία 20,3 °C έφτασαν τα 21°Brix. Όταν όμως τα πρέμνα από υψηλή ένταση φωτός και θερμοκρασία ημέρας/νύχτας 37°C /32°C εκτέθηκαν σε χαμηλή ένταση φωτός και θερμοκρασία 20,3°C, παρατηρήθηκε μία ταχεία συσσώρευση των σακχάρων και παράλληλα σχηματίστηκε ένα μικρό ποσοστό ανθοκυανών. Τέλος η συγκέντρωση των ανθοκυανών μειώθηκε κατά 59% σε διάστημα 20 ημερών όταν τα πρέμνα από υψηλή ένταση φωτός και θερμοκρασία 20,3°C εκτέθηκαν σε υψηλή ένταση φωτός και θερμοκρασία ημέρας/νύχτας 37°C /32°C.

Επίσης, ο Kliewer (1977) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η συγκέντρωση των ανθοκυανών ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε ράγες που ωρίμασαν υπό συνθήκες υψηλής εντάσεως φωτός και θερμοκρασίας 20,3°C από τις ράγες που ωρίμασαν υπό συνθήκες χαμηλής εντάσεως φωτός και θερμοκρασίας 20,3°C. Επίσης, η συγκέντρωση των διαλυτών στερεών συστατικών και των ανθοκυανών ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε ράγες που έλαβαν το 15% της ηλιακής ακτινοβολίας από τις ράγες που δέχθηκαν το 54% ή το 100% αυτής. Ο σχηματισμός των ανθοκυανών δεν ήταν εφικτός σε απουσία φωτός ενώ οι °Brix δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των τιμών 15%, 3% και 0% της ηλιακής ακτινοβολίας.

Οι Razungles *et al.* (1998) αναφέρουν ότι όταν οι ράγες της ποικιλίας “Syrah” εκτέθηκαν σε ηλιακή ακτινοβολία πριν τον περκασμό ήταν πλουσιότερες σε καροτινοειδή από τις ράγες που βρίσκονταν υπό σκιά. Παρ’όλ’ αυτά, μετά τον περκασμό, το ηλιακό φως προκάλεσε την μείωση αυτών των συστατικών. Επίσης το ηλιακό φως μετέβαλλε την σχέση μη-εποξυξανθοφυλλών/εποξυξανθοφυλλών. Τέλος

παρατήρησαν ότι το ηλιακό φως αύξησε την συγκέντρωση των μονοτερπενοειδών ενώσεων και των ανθοκυανών.

Πρόσφατα πειράματα εφαρμογής σκίασης στην ποικιλία “Cabernet sauvignon” έδειξαν ότι η ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας επηρεάζει την ανάπτυξη των ραγών, τη συσσώρευση των σακχάρων, τη συγκέντρωση του μηλικού οξέως, την ολική οξύτητα, τις ανθοκυάνες, τις ολικές φαινόλες και τα αμμωνιακά άλατα. Ο βαθμός της επίδρασης στους παραπάνω παράγοντες επηρεάζεται από την σχέση ερυθρή : υπέρυθη ακτινοβολία (R:FR) (Mullins *et al.*, 1990)

## **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:**

1. **Adams O.D. (2006):** Phenolics and ripening in grape berries. (From the ASEV Phenolics Symposium). *American Journal of Enology and Viticulture*, **57:3:249-256**.
2. **Baydar Gokturk Nilgun, Harmankaya Nihat, (2004):** Changes in Endogenous Levels during the ripening of Grape Cultivars Having Different Berry Set Mechanisms. *Turk. J. Agric. For.*, **29:205-210**.
3. **Bogs J., Downey M.O., Harvey J.S., Ashton A.R., Tanner G.J., Robinson S.P., (2005):** Proanthocyanidin synthesis and expression of genes encoding leucoanthocyanidin reductase and anthocyanidin reductase in developing grape berries and grapevine leaves. *Plant Physiology* **139:652-663**
4. **Buttrose M.S., Hale C.R., Kliewer W.M., (1971):** Effect of temperature on the composition of “Cabernet sayvignon” berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, **22:2:71-75**.
5. **Chervin Chr., Terrier N., Ageorges A., Ribes F., Kuapunyakoon T., (2006):** Influence of ethylene on sucrose accumulation in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, **57:4:511-513**.
6. **Conde C., Silva P., Fontes N., Dias A.C.P., Tavares R.M., Sousa M.J., Agasse A., Derlot S. and Gerós H. (2007):** Biochemical Changes throughout Grape Berry Development and Fruit and Wine Quality. *Global Science Books, Food 1 (1)*, 1-22.
7. **Considine J.A. and Knox R.B. (1981):** Tissue origins, cell lineages and patterns of cell division in the developing dermal systems of the fruit of *Vitis vinifera* L. *Planta*, **151: 403-412**.
8. **Considine J.A. and Knox R.B. (1979):** Development and histochemistry of the cells, cells walls and cuticle of the dermal system of fruit of the grape, *Vitis vinifera* L. *Protoplasma*, **99:347-365**.
9. **Coombe B.G. and Hale C.R. (1973):** The hormone content of grape berries and the effects of growth substance treatments. *Plant Physiology*, **51: 629-634**.

10. **Crippen D. David Jr. and Morrison C.J., (1986):** The Effects of Sun Exposure on the Compositional Development of Cabernet Sauvignon Berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, **37:4:235-242**
11. **Davies Chr., Robinsin P.S., (1996):** Sugar accumulation in grape berries. Cloning of two putative vacuolar invertase cDNAs and their expression in grapevine tissues. *Plant Physiology*, **111:275-283**.
12. **Dokoozlian N.K., (2002):** Table grape berry growth and development: A Review, *Grape Notes*, #March-April 2002#
13. **Guillon T.M., (1905):** Étude générale de la vigne: historique, les vignobles et les crus, anatomie et physiologie, sol et climat., Masson, Paris.
14. **Hashim-Buckey J., (2006):** Grapes suffering from heat wave. *Western Farm Press*. (18/7/2006).
15. **Keller M., Smith J.P., Bondada B.R., (2006):** Ripening grape berries remain hydraulically connected to the shoot. *Journal of Experimental Botany*, **57:2577-2587**.
16. **Keller M., (2005):** Grape ripening and determination of grape maturity, *Proceedings of the 33<sup>rd</sup> Annual New York Wine Industry Workshop*, pp 119-124.
17. **Kennedy J.A., (2002):** Understanding Grape Berry Development. *Practical winery and vineyard magazine*.
18. **Kennedy J.A., Hayasaka Y., Vidal St., Waters J.E., Jones P.Gr. (2001):** Composition of Grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **49:5348-5355**.
19. **Kennedy J.A., Matthews A.M., Waterhuse L.A., (2000):** Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. *Phytochemistry*, **55:77-85**.
20. **Kliwer W.M., (1977):** Influence of temperature, solar radiation and nitrogen on coloration and composition of “Emperor” grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, **28:2:96-103**
21. **Kliwer W.M., Torres E.R., (1972):** Effect of controlled day and night temperatures on grape coloration. (abstract). *American Journal of Enology and Viticulture*, **23:2:71-77**.
22. **Lakso A.N., Kliwer W.M., (1975):** The influence of temperature on malic acid metabolism in grape berries. I.Enzyme responses. *Plant Physiology*, **56:370-372**.

23. **Manning K., Davies C., Bowen C.H., White J.P., (2001):** Functional characterization of two ripening-related sucrose transporters from grape berries. *Annals of Botany*, **87**:125-129.
24. **Matthews M.A., Shackel K.A., (2005):** Growth and transport in fleshy fruit. In: Holbrook M.N., Zwieniecki A.M., eds. *Long distance transport system in plants*.
25. **Mullins G.M., Bouquet Al. and Williams E.L., (1990):** Biology of grapevine., Cambridge University Press, USA.
26. **Nunan K., (1999):** Cell wall metabolism in developing grape berries. (Ph.D. These).
27. **Patrick J.W., (1997):** Phloem unloading: Sieve element unloading and post-sieve element transport. (Abstract). *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **48**:191-222.
28. **Pratt C., (1971):** Reproductive anatomy in cultivated grapes. A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, **22**: 92-109.
29. **Pirie A.J.G. and Mullins M.G., (1980):** Concentration of phenolics in the skin of grape berries during fruit development and ripening.(Abstract), *American Journal of Enology and Viticulture*, **31**:1:34-36.
30. **Pirie A.J.G. and Mullins M.G., (1976):** Changes in anhocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate and abscisic acid. *Plant Physiology*, **58**:468-472.
31. **Possner D.R.E., Kliwer W.M. (1985):** The localization of acids, sugars, potassium and calcium in developing grape berries. *Vitis*, **24**:229-240.
32. **Razungles A., Baumes L.R., Dufour Cl., Sznaper N.Cl., Bayonove L.Cl., (1998):** Effect of sun exposure on carotenoids and C<sub>13</sub>-norosopenoids glycosides in “Syrah” derries. (*Vitis vinifera* L.), *Sciences des aliments*, **18**:361-373
33. **Reynier Al., 1997:** Manuel de Viticulture (7<sup>e</sup> edition). Technique et Documentation, Paris.
34. **Ribereau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B. and Lonvaud Al., (1998):** Handbook of Enology, Volume 1, The Microbiology of Wine and Vinifications.
35. **Robinson P.S., Jacobs K.A, Dry B.I, (1997):** A class IV chitinase is highly expressed in grape berries during ripening. *Plant Physiology*, **114**:3: 771-778

36. Sepúlveda G., Kliewer W.M., (1986): Effect of high temperature on grapevines ( *Vitis vinifera* L.).II. Distribution of soluble sugars. (Abstract). *American Journal of Enology and Viticulture*, **37:1**:20-25.
37. Tesniere C., Pradal M., El-Kereamy A., Torregrosa L., Chatelet Ph., Roustan P.J., Chervin Chr., (2004): Involvement of ethylene signalling in a non-climacteric fruit: new elements regarding the regulation of *ADH* expression in grapevine. *Journal of Experimental Botany*, **55:406**:2235-2240.
38. Yakushiji H., Sakurai N. and Morinaga K., (2001): Changes in cell-wall polysaccharides from the mesocarp of grape berries during veraison. *Physiologia Plantarum*, Volume III, Number 2.
39. Vignault C., Vachaud M., Cakir B., Glissant D., Dedaldechamp F., Buttner M., Atanassova R., Fleurat-Lessard P., Lemoine R., Derlot S., (2005): *VvHT1* encodes a monosaccharide transporter expressed in the conducting complex of the grape berry phloem. *Journal of Experimental Botany*, **56**:1409-1418.
40. Zhang X.Y., Wang X.L., Wang X.F., Xia G.H., Pan Q.H., Fan R.Ch., Wu F.Q., Yu X.Ch., Zhang D.P., (2006): A shift of phloem unloading from symplasmic to apoplasmic pathway is involved in developmental onset of ripening in grape berry. *Plant Physiology*, **142**: 220-232.
41. Σταυρακάκης N.M., (1999): Ειδική Αμπελουργία, ΙΙ: Φυσιολογία και Οικολογία της αμπέλου.