

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ
Π.Μ.Σ. "ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ"
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ "ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑ & ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ"

Μεταπτυχιακή Διατριβή

**Μελέτη της ανθεκτικότητας τεσσάρων ποικιλιών λεμονιάς στο ψύχος και
επεμβάσεις άμβλυνσης της καταπόνησης**

της

Ασημίνας Γεωργίας Θ. Καρύδα



ΑΘΗΝΑ 2019

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ
Π.Μ.Σ. "ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ"
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ "ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑ & ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ"

Μεταπτυχιακή Διατριβή

**Μελέτη της ανθεκτικότητας τεσσάρων ποικιλιών λεμονιάς στο ψύχος και
επεμβάσεις άμβλυσης της καταπόνησης**

της

Ασημίνας Γεωργίας Θ. Καρύδα

Επιβλέπων Καθηγητής: Πέτρος Α. Ρούσσο

ΑΘΗΝΑ 2019

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ
Π.Μ.Σ. "ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ"
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ "ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑ & ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ"

Μεταπτυχιακή Διατριβή

**Μελέτη της ανθεκτικότητας τεσσάρων ποικιλιών λεμονιάς στο ψύχος και
επεμβάσεις άμβλυσης της καταπόνησης**

της

Ασημίνας Γεωργίας Θ. Καρύδα

Επιβλέπων Καθηγητής: Πέτρος Α. Ρούσσο

Εξεταστική Επιτροπή:

Ρούσσο Πέτρος, Αναπληρωτής Καθηγητής

Παπαδάκης Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής

Τζουτζούκου Χρυσούλα, Λέκτορας

ΑΘΗΝΑ 2019

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα της μεταπτυχιακής μου εργασίας, Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Πέτρο Ρούσσο, ο οποίος με την πολύτιμη υποστήριξη και καθοδήγησή του συνέβαλλε στην περάτωση αυτής. Επίσης, θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ και για την εμπιστοσύνη και τη συμπαράσταση που μου έδειξε από την αρχή της συνεργασίας μας, η οποία ξεκίνησε πριν από έξι χρόνια, όταν συμφώνησε να είναι ο επιβλέπων καθηγητής της προπτυχιακής μου μελέτης.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Παπαδάκη Ιωάννη και την Λέκτορα κα. Τζουτζούκου Χρυσούλα, οι οποίοι δέχτηκαν να συμμετέχουν στην τριμελή επιτροπή αξιολόγησης της μεταπτυχιακής μου εργασίας, καθώς και για το χρόνο που αφιέρωσαν στην ανάγνωση και διόρθωσή της.

Τις ευχαριστίες μου θα ήθελα να εκφράσω και στους υποψήφιους διδάκτορες, Ντάνο Ευστάθιο και Τσαφούρο Αθανάσιο, οι οποίοι με βοήθησαν σε διάφορες φάσεις της πειραματικής διαδικασίας.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω και στην οικογένειά μου για την υποστήριξή της και τη βοήθεια που μου έχει προσφέρει όλα αυτά τα χρόνια, για την εκπλήρωση των στόχων μου.

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	4
Περίληψη.....	6
Abstract	8
1. Εισαγωγή.....	10
1.1. Γενικά.....	10
1.2. Ιστορικά δεδομένα.....	10
1.3. Οικονομική σημασία	11
1.4. Ποικιλίες λεμονιάς	12
1.5. Ψύχος.....	13
1.5.1. Ψύχος, παγετός και επίδραση αυτών στα εσπεριδοειδή.....	13
1.5.2. Επίδραση του ψύχους στις παραμέτρους που μελετήθηκαν στο παρόν πείραμα.....	14
1.6. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας.....	16
1.7. Σκοπός εργασίας.....	19
2. Υλικά και μέθοδοι.....	20
2.1. Τόπος διεξαγωγής του πειράματος.....	20
2.2. Φυτικό Υλικό.....	20
2.3. Σκευάσματα.....	21
2.4. Πειραματικό Σχέδιο.....	22
2.5. Επεμβάσεις.....	22
2.6. Δειγματοληψία	23
2.7. Μετρήσεις-Αναλύσεις	24
2.7.1. Μετρήσεις σε νωπό φυτικό ιστό (φύλλα).....	24
2.7.2. Αναλύσεις σε ξηρό φυτικό ιστό (φύλλα).....	26
2.8. Εκτίμηση της ζημίας των δενδρυλλίων.....	27
2.9. Στατιστική Ανάλυση	28
3. Αποτελέσματα	29
3.1. Σύγκριση μεταξύ των ποικιλιών, όσον αφορά την αντοχή τους στο ψύχος.....	29
3.2. Σύγκριση μεταξύ της αποτελεσματικότητας των σκευασμάτων στην αντοχή στο ψύχος των ποικιλιών που μελετήθηκαν	34
4. Συζήτηση - Συμπεράσματα	39
Βιβλιογραφία.....	44

Περίληψη

Στόχος της παρούσας έρευνας ήταν η μελέτη της ανθεκτικότητας τεσσάρων ποικιλιών λεμονιάς (*Citrus limon* L.), ‘Αδαμοπούλου’, ‘Μαγληνή’, ‘Meyer’ και ‘Eureka’, στο ψύχος, καθώς και η μελέτη της αποτελεσματικότητας τριών εμπορικών σκευασμάτων (Antiheat, Bluestim και Fitomaat) στην ανθεκτικότητα αυτών στο ψύχος. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν νεαρά δενδρύλλια δύο ετών, τα οποία ήταν εμβολιασμένα στο υποκείμενο *Citrus volkameriana*. Τρία δενδρύλλια από κάθε ποικιλία εκτέθηκαν στους -3°C , -5°C και -7°C για διάστημα δύο ωρών σε σκοτάδι (διαφορετικά δενδρύλλια ανά θερμοκρασία), σε ψυκτικό θάλαμο, ενώ επιλέχθηκαν και τρία δενδρύλλια ως μάρτυρες (M), τα οποία παρέμειναν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Επιπλέον, κάθε σκεύασμα, σε συνδυασμό με προσκολλητική ουσία, εφαρμόστηκε διαφυλλικά σε τρία δενδρύλλια ανά ποικιλία, ενώ στα δενδρύλλια, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες (M), έγινε διαφυλλική εφαρμογή μόνο με την προσκολλητική ουσία. Τα δενδρύλλια τοποθετήθηκαν ανά ποικιλία σε ψυκτικό θάλαμο, όπου εκτέθηκαν στους -6°C για δύο ώρες σε σκοτάδι. Μετά τη συμπλήρωση των δύο ωρών, ελήφθησαν τυχαία φύλλα προκειμένου να εκτιμηθούν η συγκέντρωση των χλωροφυλλών (CHLa, CHLb και ολικές CHLs) και του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), η διαρροή ηλεκτρολυτών (EL), η οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών (TBARS), η ζημία από το ψύχος με τη δοκιμασία του τετραζολίου (TTC), που βασίζεται στη χρώση των ζωντανών ιστών, η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ορθοδιφαινόλες, φλαβονοειδή, φλαβανόλες, φλαβόνες και φλαβονόλες, η αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP, DPPH, ABTS) και οι συγκεντρώσεις του ασκορβικού οξέος και της προλίνης. Τέλος, πραγματοποιήθηκε εκτίμηση της ζημίας των δενδρυλλίων από το ψύχος.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων, που αφορούσαν τη μελέτη της αντοχής των ποικιλιών στο ψύχος, έδειξαν αυξημένη συγκέντρωση CHLa στους -3°C και του συνόλου των χλωροφυλλών (CHLa, CHLb και ολικές CHLs) στους -7°C στην ποικιλία ‘Αδαμοπούλου’, ενώ αυξημένη βρέθηκε η συγκέντρωση CHLb στους -7°C και στην ποικιλία ‘Eureka’. Όσον αφορά τη συγκέντρωση του H_2O_2 , αυτή βρέθηκε αυξημένη στο μάρτυρα και στους -3°C στην ποικιλία ‘Eureka’ και στο μάρτυρα και τους -7°C στην ποικιλία ‘Meyer’. Αυξημένη ήταν η συγκέντρωση του H_2O_2 στους -7°C και στην ποικιλία ‘Μαγληνή’, στην οποία σημειώθηκε και η υψηλότερη τιμή TBARS, στους -5°C και -7°C . Την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ορθοδιφαινόλες, φλαβονοειδή, φλαβόνες και φλαβονόλες είχε η ποικιλία ‘Eureka’

στο μάρτυρα, τους -3°C και τους -7°C , ενώ στους -3°C , τόσο η ποικιλία 'Αδαμοπούλου' όσο και η 'Eureka' είχαν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικές φλαβονόλες. Επιπλέον, στους -5°C η ποικιλία 'Eureka' παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές ολικών ορθοδιφαινολών, φλαβονολών, φλαβονοειδών, φλαβονών και φλαβονολών. Η ποικιλία 'Eureka' είχε τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα στο μάρτυρα, τους -3°C και τους -7°C και στις τρεις μεθόδους υπολογισμού (FRAP, DPPH, ABTS) και στους -5°C με τη μέθοδο της DPPH. Αυξημένη ήταν στην 'Eureka' και η συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος στο μάρτυρα, τους -5°C και τους -7°C , ενώ στην ποικιλία 'Αδαμοπούλου' παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη συγκέντρωση προλίνης, σε όλες τις επεμβάσεις που πραγματοποιήθηκαν. Τέλος, από την εκτίμηση της ζημίας στα δενδρύλλια, με βάση την αναβλάστησή τους, στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στην ποικιλία 'Αδαμοπούλου' στους -7°C . Δεν παρατηρήθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές, όσον αφορά τις υπόλοιπες παραμέτρους που μετρήθηκαν.

Από τις μετρήσεις, που πραγματοποιήθηκαν για τη σύγκριση της αποτελεσματικότητας μεταξύ των σκευασμάτων στην αντοχή των ποικιλιών στο ψύχος, παρατηρήθηκε αύξηση στο σύνολο των χλωροφυλλών (CHLa, CHLb και ολικές CHLs) από την επέμβαση με το σκεύασμα Fitomaat στην ποικιλία 'Meyer'. Η επέμβαση με το Fitomaat αύξησε και την αντιοξειδωτική ικανότητα της ποικιλίας 'Αδαμοπούλου', στη μέτρηση αυτής με τις μεθόδους των FRAP και DPPH. Όσον αφορά την εκτίμηση της ζημίας των δενδρυλλίων με βάση την αναβλάστησή τους, τα σκευάσματα Bluestim και Fitomaat είχαν ως αποτέλεσμα τα λιγότερα συμπτώματα, από την έκθεση των δενδρυλλίων στους -6°C , στην ποικιλία 'Αδαμοπούλου'. Δεν παρατηρήθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές, όσον αφορά τις υπόλοιπες παραμέτρους που μετρήθηκαν.

Συμπερασματικά, η ποικιλία 'Αδαμοπούλου' φαίνεται να παρουσιάζει την μεγαλύτερη ευπάθεια στο ψύχος, ενώ μόνο οι επεμβάσεις με τα σκευάσματα Bluestim και Fitomaat βελτίωσαν την ανθεκτικότητα αυτής στο ψύχος.

Επιστημονική περιοχή:

Εργαστήριο Δενδροκομίας Γ.Π.Α.

Λέξεις κλειδιά:

Λεμονιά, ψύχος, εμπορικά σκευάσματα, αναβλάστηση, αντοχή.

Abstract

The object of the present research was the investigation of cold tolerance of four lemon cultivars (*Citrus limon* L.), ‘Adamopoulou’, ‘Maglini’, ‘Meyer’ and ‘Eureka’, as well as the study of the efficacy of three commercial formulations (Antiheat, Bluestim and Fitomaat) on inducing cold tolerance. For this aim, two-year old trees, grafted on *Citrus volkameriana* rootstock, were used. Three trees of each variety were exposed at -3°C , -5°C και -7°C in a refrigeration chamber for 2 hours, in darkness (different trees per temperature), while three trees were used as controls (M), which remained at ambient temperature. Moreover, each formulation, in combination with an adjuvant, was applied foliarly to three trees per variety, whereas in the trees, which were used as controls, foliar application was conducted using only water with the adjuvant. Trees were then placed per each cultivar in the refrigeration chamber, where they were exposed at -6°C for 2 hours, in darkness. After the two hour period was completed, random leaves were taken to evaluate the concentration of chlorophylls (CHLa, CHLb and total CHLs) and hydrogen peroxide (H_2O_2), electrolyte leakage (EL), lipid peroxidation (TBARS), cold injury by the use of triphenyl tetrazolium chloride (TTC), total phenols, o-diphenols, flavanols, flavonoids, flavones and flavonols, antioxidant capacity (FRAP, DPPH, ABTS), ascorbic acid and proline concentration. Finally, the cold injury of trees was also estimated after a one month period under ambient conditions.

In ‘Adamopoulou’ variety the results showed an increased concentration of CHLa at -3°C and of total chlorophylls (CHLa, CHLb and total CHLs) at -7°C , while in ‘Eureka’ increased concentration of CHLb at -7°C was found. Hydrogen peroxide (H_2O_2) concentration was found increased in control and at -3°C in ‘Eureka’ variety, in control and -7°C at ‘Meyer’ and in control and -7°C in ‘Maglini’ variety. ‘Maglini’, also, had the highest TBARS at -5°C and -7°C . In ‘Eureka’ variety, in control, -3°C and -7°C , the results showed an increased concentration of total phenols, o-diphenols, flavonoids, flavones and flavonols, while both ‘Adamopoulou’ and ‘Eureka’ cultivars, had the highest concentration of total flavanols at -3°C . Moreover, ‘Eureka’ had the highest concentration of total o-diphenols, flavanols, flavonoids, flavones and flavonols at -5°C . The results showed an increased antioxidant capacity of ‘Eureka’ under control conditions, at -3°C and at -7°C (FRAP, DPPH, ABTS) and at -5°C (DPPH). Regarding the concentration of ascorbic acid, it was increased in ‘Eureka’ variety in control, -5°C and -7°C , while in ‘Adamopoulou’ the highest proline

concentration was found in all treatments carried out. By the estimation of cold injury of trees, based on their revival, statistically significant difference was observed in 'Adamopoulou' variety at -7°C . No other statistically significant difference was observed regarding the other parameters measured.

Fitomaat was the formulation founded to increase the chlorophylls concentration (CHLa, CHLb and total CHLs) in 'Meyer', while the same formulation increased the antioxidant capacity (FRAP, DPPH) of 'Adamopoulou'. By the estimation of cold injury of trees, based on their revival, Bluestim and Fitomaat formulations resulted in fewer symptoms after the exposure of trees to -6°C , in 'Adamopoulou' variety. No other statistically significant difference was observed regarding the other parameters measured.

In conclusion, 'Adamopoulou' seems to have the greatest vulnerability against cold among the other varieties, while only Blustim and Fitommat improved its cold tolerance.

Scientific area:

Pomology Lab of A.U.A.

Key words:

Lemon, cold, commercial formulations, revival, tolerance.

1. Εισαγωγή

1.1. Γενικά

Τα εσπεριδοειδή ή ξινόδενδρα αποτελούν μία από τις σημαντικότερες δενδρώδεις καλλιέργειες σε παγκόσμια κλίμακα, κυρίως λόγω των αυξημένων αποδόσεων και της διατροφικής τους αξίας (Baldwin, 1993; Liu et al, 2012). Τα πιο γνωστά είδη εσπεριδοειδών με εμπορική σημασία είναι τα πορτοκάλια, τα limes, τα γκρέιπφρουτ, τα μανταρίνια και τα λεμόνια (Liu et al., 2012).

Η λεμονιά (*Citrus limon* (L) Burm.) είναι γνωστή με τις ονομασίες limone (Ιταλία), limon (Ισπανία) και citron (Γαλλία). Όπως και για τα υπόλοιπα εσπεριδοειδή, το μεγαλύτερο μέρος της καλλιέργειας της εκτείνεται γύρω από τη ζώνη του Ισημερινού, καλύπτοντας τροπικές και υποτροπικές περιοχές (Ποντίκης, 2003; Liu et al., 2012) σε γεωγραφικά πλάτη από 35° βόρεια έως 35° νότια, με το μεγαλύτερο μέρος της καλλιέργειας και παραγωγής να συγκεντρώνονται σε περιοχές του Βορείου Ημισφαιρίου (Liu et al., 2012). Σε γεωγραφικά πλάτη, όπου επικρατούν συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και υγρασίας, οι καρποί της αποκτούν μεγάλο μέγεθος, το οποίο είναι ανεπιθύμητο για την αγορά, είναι ευαίσθητοι σε παθήσεις του φλοιού και δε συντηρούνται εύκολα (Ποντίκης, 2003).

1.2. Ιστορικά δεδομένα

Η πραγματική καταγωγή της λεμονιάς είναι άγνωστη, ωστόσο οι ερευνητές πιστεύουν ότι πιθανόν αποτελεί υβρίδιο της κιτριάς (*Citrus medica*). Οι πρώτες καταγραφές του είδους ήταν στη Νοτιοανατολική Ασία (Goodrich, 2003; Liu et al., 2012) και πιο συγκεκριμένα στη Μιανμάρ και τη Βόρεια Κίνα. Από εκεί, εισήχθη στην Περσία και τη Μέση Ανατολή, όπου και καθιερώθηκε τον 12^ο αιώνα π. Χ. (Goodrich, 2003). Ένα γλυπτό, στο οποίο παριστάνονται καρποί λεμονιάς, φανερώνει την ύπαρξη της στην Ελληνιστική περίοδο. Επιπλέον, διάφορα ψηφιδωτά και τοιχογραφίες από τη Ρωμαϊκή περίοδο, συμπεριλαμβανομένου ενός ψηφιδωτού από το Τούσκουλο, το οποίο χρονολογείται περίπου το 100 μ. Χ., αποδεικνύουν ότι η λεμονιά ήταν γνωστή και στους Ρωμαίους (Spiegel-Roy and Goldschmidt, 1996).

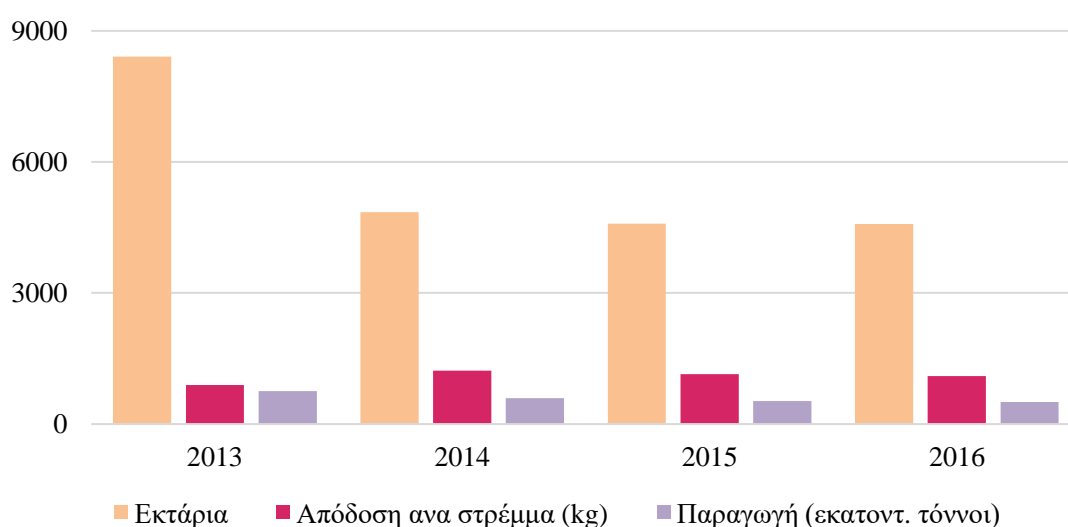
Από το 500 έως και το 1300 μ. Χ. η λεμονιά εξαπλώθηκε σε περιοχές όπως η Ευρώπη, από διαδοχικά κύματα εισβολών και ταξιδευτών - μουσουλμανικούς στρατούς, Άραβες εμπόρους, σταυροφόρους και άλλους, που κινούνταν κατά μήκος των εμπορικών δρόμων (Moore, 2001). Πιο συγκεκριμένα, περίπου το 1150 μ. Χ., οι Άραβες μετέφεραν τη λεμονιά στην Ισπανία και τη Βόρεια Αφρική (Spiegel-Roy and

Goldschmidt, 1996; Goodrich, 2003), ενώ το 1493, στο δεύτερο ταξίδι του, ο Κολόμβος τη μετέφερε από τη Μεσόγειο στο Νέο Κόσμο. Εκεί διαδόθηκε από την Αιτή μέσω των Δυτικών Ινδιών και στη συνέχεια στη Νότια και τη Βόρεια Αφρική. Καλλιέργειες υπήρχαν στη Φλόριντα από το 1500 μ. Χ., ενώ στα μέσα του 18^{ου} αιώνα μ. Χ. εγκαταστάθηκε στα φυτώρια του Mission Gardens στην Καλιφόρνια και τη Μπάχα Καλιφόρνια (Goodrich, 2003).

1.3. Οικονομική σημασία

Η καλλιέργεια των εσπεριδοειδών είναι μεγάλης οικονομικής σημασίας για τη χώρα μας, αφού αποτελούν κύρια καλλιέργεια πολλών περιοχών της Ελλάδας και η παραγωγή τους καταλαμβάνει κατ' έτος τη δεύτερη θέση μετά την ελιά. Τα λεμόνια κατέχουν την τρίτη θέση στην ετήσια εγχώρια παραγωγή εσπεριδοειδών, μετά τα πορτοκάλια και τα μανταρίνια. Η καλλιέργειά τους εντοπίζεται στους νομούς Λακωνίας, Αργολίδας, Άρτας, Χανίων, Κορινθίας, Ηλείας, Αχαΐας και Αιτωλοακαρνανίας, όπου συντελείται ο κύριος όγκος της παραγωγής (Βασιλακάκης, 2004). Όπως γίνεται φανερό στο διάγραμμα 1.3.1., τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μείωση των εκτάσεων καλλιέργειας και της παραγωγής στη χώρα μας, σε αντίθεση με την απόδοση ανά στρέμμα, η οποία παρουσιάζει αυξητικές τάσεις.

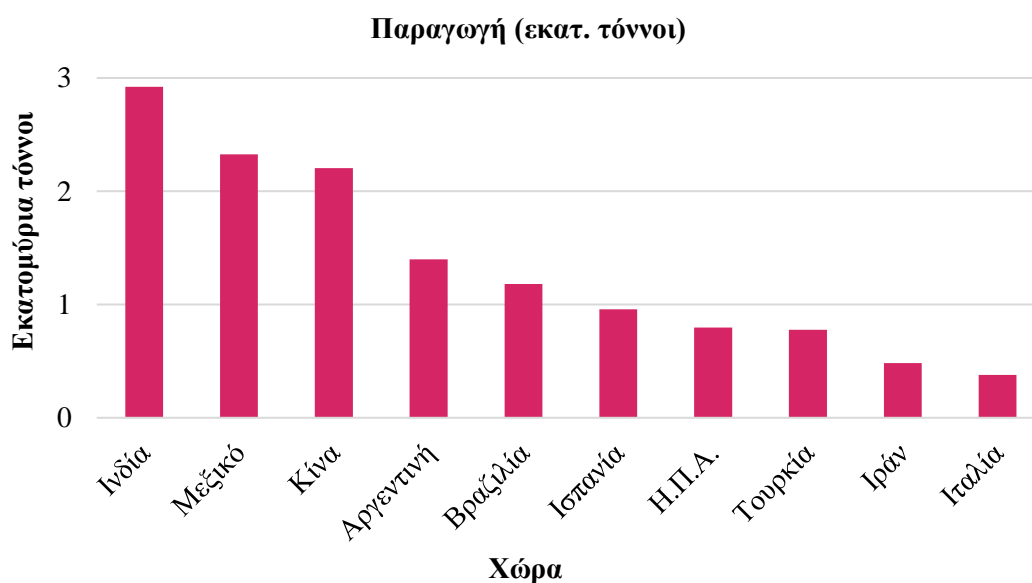
Διάγραμμα 1.3.1. Εκτάσεις καλλιέργειας, απόδοση ανά στρέμμα και παραγωγή λεμονιών για τα έτη 2013, 2014, 2015 και 2016 στην Ελλάδα.



Πηγή: Faostat (www.fao.org)

Οι παραμεσόγειες χώρες παράγουν και εξάγουν σημαντικές ποσότητες εσπεριδοειδών. Όσον αφορά τα λεμόνια, πρώτη χώρα παραγωγής είναι η Ισπανία και ακολουθεί η Τουρκία (Βασιλακάκης, 2004). Σε παγκόσμιο επίπεδο, η Ινδία αποτελεί την κύρια χώρα παραγωγής, ενώ ακολουθούν το Μεξικό, η Κίνα, η Αργεντινή, η Βραζιλία, η Ισπανία, οι Ηνωμένες Πολιτείες, η Τουρκία, το Ιράν και τελευταία η Ιταλία, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 1.3.2.

Διάγραμμα 1.3.2. Κύριες χώρες παραγωγής λεμονιών σε παγκόσμιο επίπεδο.



Πηγή: Faostat (www.fao.org)

1.4. Ποικιλίες λεμονιάς

Οι ποικιλίες της λεμονιάς κατατάσσονται σε δύο ομάδες. Από τις ομάδες αυτές, η μία περιλαμβάνει τις κοινές, όξινες ποικιλίες, ενώ η άλλη τις γλυκές ή χαμηλής οξύτητας ποικιλίες (Moore, 2001; Ποντίκης, 2003). Ιδιαίτερη έμφαση θα δοθεί στις ποικιλίες που μελετώνται στο παρόν πείραμα και οι οποίες είναι οι εξής: Αδαμοπούλου, Μαγληνή, Meyer και Eureka.

- ❖ Αδαμοπούλου: καλλιεργείται σε μικρή έκταση στη χώρα μας (Ποντίκης, 2003), ενώ προωθείται κυρίως για την παραγωγή καλοκαιρινού λεμονιού (Βασιλακάκης, 2004).
- ❖ Μαγληνή: η ονομασία της οφείλεται στο λείο φλοιό της (Ποντίκης, 2003). Αποτελεί τη βάση της λεμονοπαραγωγής στη χώρας μας, καθώς καταλαμβάνει το 55% της συνολικής παραγωγής (Βασιλακάκης, 2004).

- ❖ Meyer: πρόκειται για υβρίδιο μεταξύ λεμονιάς και κιτριάς. Χαρακτηρίζεται από χαμηλή οξύτητα, ενώ ο καρπός της μοιάζει περισσότερο με πορτοκάλι (Spiegel-Roy and Goldschmidt, 1996; Ποντίκης, 2003). Σε σύγκριση με άλλες ποικιλίες λεμονιάς, εμφανίζει υψηλότερη ανθεκτικότητα στο ψύχος και καλύτερη προσαρμοστικότητα. Το είδος αυτό βρέθηκε κοντά στο Πεκίνο και εισήχθη στις Ηνωμένες Πολιτείες το 1908, ως καλλωπιστικό φυτό. Καλλιεργείται κυρίως στη Φλόριντα, το Τέξας, τη Νέα Ζηλανδία και τη Νότια Αφρική (Ποντίκης, 2003).
- ❖ Eureka: η ποικιλία αυτή παρουσιάζει ευαισθησία στο ψύχος. Κατάγεται από το Los Angeles της Καλιφόρνια και προέκυψε από μία ομάδα σποροφύτων, τα οποία προήλθαν από σπόρους καρπού Ιταλικής προελεύσεως, το 1858. Το 1824 η ποικιλία εισήχθη στην Ελλάδα και πλέον καλλιεργείται εμπορικά στην Κορινθία, την Αργολίδα και σε άλλα λεμονοπαραγωγικά κέντρα της χώρας (Ποντίκης, 2003).

1.5. Ψύχος

1.5.1. Ψύχος, παγετός και επίδραση αυτών στα εσπεριδοειδή

Ως «ψύχος», στη δενδροκομία, ορίζονται οι χαμηλές θερμοκρασίες, μεταξύ 2°C και 7°C, που επικρατούν κατά τη διάρκεια του έτους και κυρίως αργά το φθινόπωρο και το χειμώνα και νωρίς την άνοιξη (ανοιξιάτικοι παγετοί) (Ποντίκης, 1997).

Το κλίμα αποτελεί έναν άκρως σημαντικό παράγοντα στην επιλογή της εγκατάστασης μίας καλλιέργειας εσπεριδοειδών, αφού είναι εκείνο που καθορίζει πλήθος παραγόντων, όπως η ποιότητα των καρπών. Οι θερμοκρασίες κάτω των 0°C, ιδιαίτερα όταν διαρκούν για μεγάλο χρονικό διάστημα, θεωρούνται επικίνδυνες, διότι τα αποτελέσματα που προξενούν είναι καταστροφικά, όχι μόνο για την παραγωγή, αλλά πολλές φορές και για τα δένδρα. Η ζημία στο δένδρο μπορεί να εκδηλωθεί με ζημία στα φύλλα, νέκρωση νεαρών ή ετήσιων βλαστών, νέκρωση βραχιόνων ή και ολόκληρου του δένδρου. Επιπρόσθετα, οι ψυχροί και μεγάλης έντασης άνεμοι μπορεί να προκαλέσουν ζημιά στα δένδρα και επηρεάζουν αρνητικά τους καρπούς, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά (Mathaba et al., 2013).

Ως «παγετός» ορίζεται το πάγωμα υπερψυχόμενου υγρού επί της επιφάνειας του φυτού, στους μεσοκυττάριους χώρους και στα κυτταρικά τοιχώματα (Ποντίκης, 1997). Οι παγετοί μπορούν να διακριθούν σε ελαφρούς, μέτριους και ισχυρούς.

Ελαφρείς θεωρούνται όταν η θερμοκρασία κυμαίνεται από 0°C έως -2°C, είναι οι πιο συχνοί, διάρκειας περίπου 6 ωρών και προκαλούν ζημιές την άνοιξη. Μέτριοι, όταν η θερμοκρασία κυμαίνεται από -2°C έως -4°C, είναι λιγότερο συχνοί, διάρκειας 6-10 ωρών και προκαλούν σοβαρές ζημιές στους βλαστούς. Τέλος, ισχυροί είναι όταν η θερμοκρασία πέσει κάτω από τους -4°C και μπορεί να είναι καταστρεπτικοί. Οι ζημιές που υφίστανται τα εσπεριδοειδή από παγετούς εξαρτώνται από την δριμύτητα του παγετού, την ποικιλία και το υποκείμενο, την έκθεση του οπωρώνα, τη φυσιολογική κατάσταση και το στάδιο ανάπτυξης των δένδρων (Βασιλακάκης, 2004).

Πιο αναλυτικά, τα διάφορα όργανα των εσπεριδοειδών ζημιώνονται στις παρακάτω θερμοκρασίες:

- ❖ Τα άνθη κατά το στάδιο της πλήρους άνθησης στους -1,6°C,
- ❖ Οι καρποί κατά το πρώτο στάδιο ανάπτυξής τους στους -1,1°C,
- ❖ Οι πράσινοι καρποί στους -2,2°C,
- ❖ Οι ώριμοι καρποί στους -3,3°C,
- ❖ Η βλάστηση στους -5,5°C και
- ❖ Το ξύλο στους -5,5°C.

Η ανθεκτικότητα στο ψύχος των διάφορων καλλιεργούμενων ειδών εσπεριδοειδών συγκριτικά και κατά αύξουσα σειρά έχει ως εξής: κιτριά, λιμεττία, λεμονιά, βοτρυόκαρπος, πορτοκαλιά, μανταρινιά, κουμκουάτ και τρίπτερη πορτοκαλιά (GAIApedia, 2013).

Η εφαρμογή διαφόρων σκευασμάτων μπορεί να επηρεάσει την ευαισθησία των δένδρων σε τραυματισμό από παγετό (Yelenosky, 1979), πιθανώς λόγω της επίδρασής τους στην ανάπτυξη και τη φυσιολογία αυτών. Τα υγιή, μη καταπονημένα δένδρα τείνουν να παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντοχή στον παγετό από εκείνα που εκτίθενται σε έντονη καταπόνηση (Syvertsen and Smith, 1983). Εντούτοις, η σχετικά μέτρια καταπόνηση, όπως αυτή που προκαλείται από την ξηρασία (Yelenosky, 1979), τις χαμηλές θερμοκρασίες εδάφους ή την αλατότητα, πιθανόν να βελτιώνει την ανθεκτικότητα στο ψύχος (Syvertsen and Yelenosky, 1988).

1.5.2. Επίδραση του ψύχους στις παραμέτρους που μελετήθηκαν στο παρόν

πείραμα

Η επίδραση του ψύχους διαφέρει στις διάφορες παραμέτρους, που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη. Σε έρευνες, που έχουν διεξαχθεί σε διάφορα φυτικά είδη, αποδείχθηκε ότι το ψύχος προκαλεί μείωση στη συγκέντρωση των

χλωροφυλλών (Hasani et al., 2013; Tian et al., 2016; Manolopoulou and Varzakas, 2016). Πιο συγκεκριμένα, το ψύχος προωθεί την αποικοδόμηση των χλωροφυλλών από τα ένζυμα υπεροξειδάση και λιποξυγενάση, με αποτέλεσμα τη μείωση της έντασης του πράσινου χρώματος των φύλλων και το σταδιακό τους κιτρίνισμα (Murcia et al., 2000). Αντιθέτως, η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) στα φύλλα αυξάνεται κατά την επικράτηση χαμηλών θερμοκρασιών στο περιβάλλον ανάπτυξης των φυτών (Okuda et al., 1991) και φαίνεται να σχετίζεται με την παράλληλη αύξηση της οξειδωσης των λιπιδίων των μεμβρανών (TBARS) (Labudda, 2013).

Η διαρροή ηλεκτρολυτών (electrolyte leakage - EL) από τα φύλλα αυξάνεται στις χαμηλές θερμοκρασίες (Nesbitt et al., 2002; Wongsheree et al., 2009). Η παράμετρος αυτή αναλύεται εκτενώς σε πειράματα διερεύνησης του τραυματισμού των φυτών από το ψύχος. Πιο συγκεκριμένα, εκτιμάται η αλλαγή της ηλεκτρικής αγωγιμότητας σε διάλυμα του δείγματος, η οποία προκαλείται λόγω διάχυσης των ηλεκτρολυτών από τα τραυματισμένα κύτταρα (Nesbitt et al., 2002).

Πρωτικές τάσεις παρατηρούνται σε χαμηλές θερμοκρασίες και στον υπολογισμό της ζημίας από το ψύχος με τη δοκιμασία του τετραζολίου (TTC) (Kang and Saltveit, 2002). Η χρώση με TTC (triphenyl tetrazolium chloride) χρησιμοποιείται για να μετρηθεί η βιωσιμότητα των φυτικών ιστών μετά την έκθεσή τους στο ψύχος, καθώς και σε άλλες καταπονήσεις. Τα ζωντανά φυτικά κύτταρα παράγουν προϊόν με χρώμα κόκκινο της καρμίνης ή κερασοκόκκινο φορμαζάν, σε αντίθεση με τα νεκρά φυτικά κύτταρα. Κατόπιν, μπορεί να εκτιμηθεί η βιωσιμότητα των ιστών με υποκειμενική ταξινόμησή τους σε ζώντες ή νεκρούς, με βάση την όψη του ερυθρού χρώματος ή να εξαχθεί το φορμαζάν και να ποσοτικοποιηθεί με φασματοφωτόμετρο (Nesbitt et al., 2002).

Τα επίπεδα των ολικών φαινολικών, φλαβονοειδών, φλαβονολών και φλαβονών συνήθως εμφανίζουν μικρή αύξηση σε καταστάσεις καταπόνησης από χαμηλές θερμοκρασίες (Meng et al., 2015; Liu et al., 2018). Η αύξηση των ενώσεων αυτών φαίνεται να σχετίζεται με την αύξηση της διαρροής ηλεκτρολυτών (Chalker-Scott et al., 1989). Ανάλογη αύξηση παρατηρείται και στην οξειδωτική ικανότητα των φύλλων (Vera-Guzmána et al., 2019).

Συσσώρευση ελεύθερης προλίνης παρατηρείται συχνά σε φυτά που υπόκεινται σε περιβαλλοντικές καταπονήσεις και συνήθως σχετίζεται με την εμφάνιση αυξημένης ανθεκτικότητας αυτών στο ψύχος. Οι πιθανοί ρόλοι της

προλίνης είναι η προστασία των κυτταρικών μεμβρανών και η ρύθμιση των ενζύμων (Stefl et al., 1978; Yelenosky, 1979). Όσον αφορά τα εσπεριδοειδή, η προλίνη είναι ένα από τα κύρια αμινοξέα, που συναντάται σε αφθονία στους ιστούς, αποτελώντας σημαντικό διαλυτό απόθεμα αζώτου στα φύλλα τους (Stewart, 1961). Σε πειράματα έκθεσης εσπεριδοειδών σε χαμηλές θερμοκρασίες, η προλίνη ήταν ένα από τα τρία αμινοξέα που αυξήθηκαν στα φύλλα, αποτρέποντας τον τραυματισμό αυτών ακόμη και σε θερμοκρασίες -6°C και -7°C (Yelenosky, 1979).

1.6. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας

Μελετώντας την παγκόσμια βιβλιογραφία, γίνεται φανερό πως η αντοχή στο ψύχος, καθώς και οι συνέπειες αυτού σε διάφορες παραμέτρους, έχουν μελετηθεί και αξιολογηθεί αρκετές φορές σε είδη του γένους *Citrus*, μεταξύ αυτών και της λεμονιάς.

Σε μία από αυτές τις μελέτες, που πραγματοποιήθηκε σε νεαρά δένδρα πορτοκαλιάς (*Citrus sinensis* L. Obs. cv. Valencia) και βοτρυόκαρπου (*Citrus paradisi* Macfad cv. Star Ruby), τα οποία ήταν εμβολιασμένα σε διάφορα υποκείμενα, ερευνήθηκε η συσσώρευση ελεύθερης προλίνης στα φύλλα, κατά τη διάρκεια βαθμιαίας έκθεσης των δένδρων στο ψύχος, υπό συνθήκες παρουσίας και απουσίας φωτός. Παρατηρήθηκε αύξηση της ελεύθερης προλίνης στα φύλλα, τόσο της πορτοκαλιάς, όσο και του βοτρυόκαρπου, κατά τη διάρκεια της έκθεσης αυτών στο ψύχος, ανεξαρτήτως υποκειμένου. Η συσσώρευση της προλίνης συνοδεύτηκε κι από αντίστοιχη συσσώρευση σακχάρων. Ο ρυθμός συσσώρευσης προλίνης ήταν μεγαλύτερος στα παλαιά φύλλα. Επιπροσθέτως, στα φύλλα των δένδρων βοτρυόκαρπου, τα οποία βρίσκονταν απουσία φωτός κατά τη διάρκεια της ψυχρής καταπόνησης, δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στη συγκέντρωση της προλίνης ή των σακχάρων και ο βαθμός ανθεκτικότητας στο ψύχος ήταν μικρότερος σε σχέση με τα δένδρα, που ήταν εκτεθειμένα στο φως κατά τη διάρκεια της επέμβασης. Συμπερασματικά, η συσσώρευση προλίνης και σακχάρων δε φαίνεται να σχετίζεται με το βαθμό ανθεκτικότητας στο ψύχος στις καλλιέργειες εσπεριδοειδών (Yelenosky, 1979).

Σε πείραμα που πραγματοποίησαν οι Kushad and Yelenosky (1987) σε τρία είδη εσπεριδοειδών: νεραντζιά (*Citrus aurantium* L.), πορτοκαλιά (*Citrus sinensis* L.) ποικιλίας 'Valencia' και κιτριά (*Citrus jambhiri* Lush.), μετρήθηκαν οι διακυμάνσεις του ποσοστού των πολυαμινών πουτρεσκίνη, σπερμιδίνη και σπερμίνη, κατά τη

διάρκεια τριών εβδομάδων έκθεσης σε ψύχος (15,6°C την ημέρα και 4,4°C τη νύχτα) και υψηλές θερμοκρασίες (32,2°C την ημέρα και 21,1°C τη νύχτα). Οι μεταβολές στη συγκέντρωση των πολυαμινών συγκρίθηκαν με τη συγκέντρωση ελεύθερης προλίνης, το ποσοστό νεκρού ξύλου και το ποσοστό φυλλικής νέκρωσης. Τα δεδομένα που εξάχθηκαν έδειξαν άμεση σχέση μεταξύ της αυξημένης συγκέντρωσης σπερμιδίνης και της ψυχρής καταπόνησης των δένδρων. Η συγκέντρωση της ελεύθερης προλίνης ήταν 3 έως 6 φορές υψηλότερη στα εγκλιματισμένα δένδρα, σε σύγκριση με τα μη-εγκλιματισμένα. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν, επιπλέον, ότι στα εγκλιματισμένα δένδρα, η απόλυτη ποσότητα και όχι η αναλογία αύξησης της ελεύθερης προλίνης έχει μεγαλύτερη βαρύτητα στην πρόβλεψη της ικανότητάς τους να επιβιώσουν από καταπονήσεις ψύχους.

Σε άλλη έρευνα σε δένδρα πορτοκαλιάς (*Citrus sinensis* L.), ποικιλίας 'Valencia', μελετήθηκαν οι εποχιακές διακυμάνσεις της αντοχής στο ψύχος, των διαλυτών σακχάρων, της περιεκτικότητας σε νερό και του οσμωτικού δυναμικού των φύλλων, ώστε να προσδιοριστεί η ικανότητα εγκλιματισμού των δένδρων στο ψύχος, σε συνθήκες οπωρώνα. Κατά την περίοδο του χειμώνα, η περιεκτικότητα σε νερό και το οσμωτικό δυναμικό των φύλλων μειώθηκαν περίπου στο 20% με 25%, ενώ τα διαλυτά σάκχαρα αυξήθηκαν κατά 100%. Ταυτοχρόνως, η αντοχή στο ψύχος αυξήθηκε από τους 2,8°C στους -3,8°C. Από τα ευρήματα της έρευνας, προτάθηκαν δύο μηχανισμοί αύξησης της αντοχής στο ψύχος. Ο πρώτος στηρίζεται στην οσμωτική ρύθμιση, που προκαλείται από τη χαμηλή θερμοκρασία, ενώ ο δεύτερος μηχανισμός βασίζεται στην αύξηση της κυτταρικής αντοχής των φύλλων στο πάγωμα του νερού, μέσω της συσσώρευσης των σακχάρων (Yelenosky & Guy, 1989).

Το 2002, δένδρα μανταρινιάς (*Citrus unshui* Marc.) της ποικιλίας 'Owari', εγκλιματισμένα και μη-εγκλιματισμένα στο ψύχος, εκτέθηκαν σε πέντε διαφορετικές χαμηλές θερμοκρασίες, σε ηλεκτρονικά ελεγχόμενο θάλαμο, από τους Nesbitt et al. Υπολογίστηκε η επιβίωση ολόκληρου του δένδρου και έγινε σύγκριση με τα αποτελέσματα της ανάλυσης των τραυματισμών από το ψύχος σε τέσσερα φύλλα και το βλαστό. Ο εγκλιματισμός των δένδρων σε θαλάμους ανάπτυξης στους 20°C την ημέρα και 10°C τη νύχτα, για 14 ημέρες και ακολούθως στους 15°C την ημέρα και 4°C τη νύχτα, μέχρι τη συμπλήρωση 21 ημερών, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ποσοστού επιβίωσης κατά 81% και 80% στα φύλλα και το βλαστό, αντίστοιχα, όταν αυτά εκτέθηκαν σε χαμηλές θερμοκρασίες μέχρι τους -8°C. Αναλύσεις, που πραγματοποιήθηκαν στα φύλλα, έδειξαν θετική συσχέτιση μεταξύ της διαρροής

ηλεκτρολυτών και της συσσώρευσης φαινολικών ουσιών με το ποσοστό επιβίωσης, ωστόσο η ανάλυση TTC δεν ανίχνευσε κάποια αλλαγή στους φυλλικούς ιστούς.

Είναι πλέον γνωστό, από αρκετές μελέτες, πως τα τετραπλοειδή φυτάρια εσπεριδοειδών και οι ρίζες τους είναι πιο ανεκτικά σε αβιοτικές καταπονήσεις από τα αντίστοιχα διπλοειδή. Σκοπός της μελέτης των Oustric et al. (2017), ήταν να ελεγχθεί αν η χρήση των τετραπλοειδών υποκειμένων μπορεί να βελτιώσει την αντοχή των σπορόφυτων στο ψύχος. Χρησιμοποιήθηκαν δένδρα μανταρινιάς της ποικιλίας 'Κλημεντίνη' (*Citrus clementina* Hort. ex. Tan), εμβολιασμένα σε διπλοειδείς και τετραπλοειδείς ρίζες του υποκειμένου *Carrizo citrange* (*Citrus sinensis* Osb × *Poncirus trifoliata* L. Raf.), ονομαζόμενα C/2xCC και C/4xCC, αντίστοιχα και πραγματοποιήθηκε σύγκριση των φυσιολογικών και βιοχημικών αποκρίσεων από την έκθεσή τους σε χαμηλές θερμοκρασίες. Στα C/4xCC φυτά παρατηρήθηκε μικρότερη μείωση της καθαρής φωτοσύνθεσης, της στοματικής αγωγιμότητας, του φθορισμού χλωροφύλλης, των επιπέδων αμύλου και χαμηλότερα επίπεδα διαρροής μαλονιοδιαλδεϋδης και ηλεκτρολυτών σε σύγκριση με τα C/2xCC φυτά. Η ενεργότητα της καταλάσης (CAT), της υπεροξειδάσης του ασκορβικού (APOX) και της αναγωγάσης του δεϋδροασκορβικού (DHAR), ήταν υψηλότερη στα C/4xCC φυτά, ενώ τα επίπεδα των χλωροφυλλών, της προλίνης, του ασκορβικού οξέος και του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) δεν παρουσίασαν σημαντικές μεταβολές μεταξύ των C/4xCC και C/2xCC φυτών, καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Συνοπτικά, από τα αποτελέσματα γίνεται φανερό ότι το τετραπλοειδές υποκείμενο *Carrizo citrange* βελτιώνει την αντοχή στο ψύχος της κοινής Κλημεντίνης.

Όσον αφορά τη μελέτη ενώσεων που αυξάνουν την ανθεκτικότητα στο ψύχος, το 1987, οι Mauk et al., εκτίμησαν το σύνολο των χλωροφυλλών (χλωροφύλλη α, χλωροφύλλη β και ολικές χλωροφύλλες) και τις ολικές διαλυτές πρωτεΐνες στα φύλλα δένδρων ηλικίας 1,5 έτους, δύο υποκειμένων εσπεριδοειδών (*Poncirus trifoliata* L. Raf. και *Citrus aurantium* L.), τα οποία εκτέθηκαν σε φωτοπερίοδο 12 ωρών (ημέρα/ νύχτα), υπό συνθήκες χαμηλών θερμοκρασιών (16°C/ 5°C), σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών, για χρονικό διάστημα 5 εβδομάδων. Τα δένδρα ψεκάζονταν δύο φορές την εβδομάδα με ένα από τα ακόλουθα διαλύματα των 100μM: ναφθαλινοξικό οξύ (NAA), πακλοβουτραζόλη (PBZ), βενζυλαδενίνη (BA), αμπισικό οξύ (ABA), γιββερελλικό οξύ (GA₃), διάλυμα ιχνοστοιχείων (N, P, K, S, Ca, Mg) και διάλυμα βενζυλαδενίνης με ιχνοστοιχεία (BA+). Ο ψεκασμός με NAA, PBZ, ABA και GA₃ μείωσαν τη συγκέντρωση του συνόλου των χλωροφυλλών και

των ολικών διαλυτών πρωτεϊνών και στα δύο υποκείμενα, ενώ αντίθετα αποτελέσματα επέφεραν οι ψεκασμοί με το διάλυμα των ιχνοστοιχείων και το ΒΑ+. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η εφαρμογή ρυθμιστών ανάπτυξης επηρεάζει φυσιολογικούς παράγοντες, που σχετίζονται με τη λειτουργία της φυλλικής επιφάνειας και την ανοχή των εσπεριδοειδών στο ψύχος.

Οι Eissenstat et al. (1991), μελέτησαν τις επιδράσεις των αυξημένων επιπέδων όζοντος στην ανάπτυξη και την αντοχή στον παγετό πλατύφυλλων-αιθαλών δένδρων εσπεριδοειδών. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν δένδρα βοτρυόκαρπου (*Citrus paradisi* L.) ποικιλίας 'Ruby Red', εμβολιασμένα σε υποκείμενα λεμονιάς 'Volkamer' (*Citrus volkameriana* Ten. & Pasq.) και πορτοκαλιάς (*Citrus aurantium* L.). Τα δένδρα εκτέθηκαν σε όζον σε θαλάμους για 4 μήνες το 1988 και για 8 μήνες, σε δεύτερο πείραμα, το 1989. Αποδείχθηκε ότι η χρόνια έκθεση στο όζον επηρεάζει στο ελάχιστο την αντοχή των εσπεριδοειδών στο ψύχος.

Εδαφική εφαρμογή πακλοβουτραζόλης (PBZ), σε διάφορες συγκεντρώσεις, πραγματοποιήθηκε σε δένδρα μανταρινιάς, πορτοκαλιάς, βοτρυόκαρπου και λεμονιάς. Όλα τα είδη παρουσίασαν ευαισθησία στην πακλοβουτραζόλη, η οποία προκάλεσε ανάπτυξη βραχύτερων και παχύτερων ριζών, ενώ βραχύτερη ήταν και η ανάπτυξη του κορυφαίου μεριστώματος. Οι μεταβολές, που προκλήθηκαν στην ανάπτυξη, είχαν ως αποτέλεσμα μεγαλύτερες αναλογίες ρίζας-βλαστού, ενώ αύξηση παρατηρήθηκε και στις συγκεντρώσεις του αζώτου, του ασβεστίου, του βορίου, του σιδήρου και του μαγγανίου στα φύλλα όλων των ειδών. Ωστόσο, η εφαρμογή πακλοβουτραζόλης σε σπορόφυτα εσπεριδοειδών δεν επηρέασε την αντοχή αυτών σε καταπονήσεις ψύχους έως τους $-6,7^{\circ}\text{C}$. Από τα αποτελέσματα του πειράματος, η πακλοβουτραζόλη φαίνεται να αποτελεί έναν δυνητικά χρήσιμο ρυθμιστή αύξησης των νάνων εσπεριδοειδών, χωρίς να επιδρά στην αντοχή τους στο ψύχος (Yelenosky et al., 1995).

1.7. Σκοπός εργασίας

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας ήταν να μελετηθεί η ανθεκτικότητα τεσσάρων ποικιλιών λεμονιάς (*Citrus limon* L.), 'Αδαμοπούλου', 'Μαγληνή', 'Meyer' και 'Eureka', στο ψύχος, καθώς και η μελέτη της αποτελεσματικότητας τριών εμπορικών σκευασμάτων (Antiheat, Bluestim και Fitomaat) στην ανθεκτικότητα αυτών στο ψύχος.

2. Υλικά και μέθοδοι

2.1. Τόπος διεξαγωγής του πειράματος

Η πειραματική μελέτη διεξήχθη σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών στο εργαστήριο Δενδροκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Γ.Π.Α.), τη χρονική περίοδο από τις 14 Φεβρουαρίου 2017 έως τις 21 Μαρτίου 2017.



Εικόνα 1. Θάλαμος ελεγχόμενων συνθηκών στο Εργαστήριο Δενδροκομίας του Γ.Π.Α. (προσωπικό αρχείο).

2.2. Φυτικό Υλικό

Για τη διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 96 νεαρά δενδρύλλια δύο ετών, τεσσάρων ποικιλιών λεμονιάς, τα οποία ήταν στο σύνολό τους εμβολιασμένα στο υποκείμενο *Citrus Volkameriana*. Τα δενδρύλλια ήταν χορηγία των φυτωρίων "Σαλής Σωτήριος Κ.". Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν 24 δενδρύλλια από κάθε μία από τις τέσσερις ποικιλίες που επιλέχθηκαν για το πείραμα και οι οποίες ήταν οι εξής:

- Αδαμοπούλου
- Μαγληνή
- Meyer
- Eureka

2.3. Σκευάσματα

Τα εμπορικά σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν στο παρόν πείραμα είναι τα Antiheat, Bluestim και Fitomaat.

➤ Το Antiheat είναι ένα διαφυλλικό λίπασμα, το οποίο περιέχει ιχνοστοιχεία σε χηλική μορφή με EDTA, που διευκολύνει την πρόσληψη αυτών από το φύλλωμα. Πιο συγκεκριμένα, τα ιχνοστοιχεία που περιέχει είναι βόριο (B - 0,38%), χαλκός (Cu - 0,10%), σίδηρος (Fe - 3,5%), μαγνήσιο (Mg - 0,83%), μόλυβδος (Mo - 0,06%) και ψευδάργυρος (Zn - 0,48%). Μπορεί να εφαρμοστεί, είτε διαφυλλικά, είτε μέσω των συστημάτων άρδευσης (υδρολίπανση). Ο πιο αποτελεσματικός τρόπος για την εφαρμογή του είναι 2-3 ημέρες πριν τις αναμενόμενες χαμηλές θερμοκρασίες. Το Antiheat προσφέρει προστασία από την καταπόνηση από ψύχος, καθώς μειώνει το σημείο πήξης του νερού των διάφορων φυτικών ιστών. Επιπλέον, προωθεί τη σύνθεση πρωτεϊνών και αμινοξέων, που σχετίζονται με την αντοχή στο ψύχος, αυξάνοντας την αντοχή των φυτών για χρονικό διάστημα περίπου 15 ημερών, οπότε χρειάζεται εκ νέου εφαρμογή του σκευάσματος. Δεν πρέπει να συνδυάζεται με ορυκτέλαια και σκευάσματα αλκαλικής αντίδρασης.

➤ Το εμπορικό σκεύασμα Bluestim κυκλοφορεί με τη μορφή υδατοδιαλυτής σκόνης, ενώ η σύνθεσή του είναι γλυκίνη-βεταΐνη σε ποσοστό 97%. Εφαρμόζεται με διαφυλλικό ψεκασμό, ενώ για την καλύτερη απορρόφηση και διείσδυσή του στη φυλλική επιφάνεια, είναι απαραίτητη η χρήση προσκολλητικών σκευασμάτων. Ως καλύτερος χρόνος ψεκασμού θεωρούνται οι πολύ πρωινές ή απογευματινές ώρες, όταν επικρατούν συνθήκες υψηλής σχετικής υγρασίας. Το Bluestim δρα στα φυτά ως οσμωλύτης, ελέγχοντας την οσμωτική ισορροπία στο εσωτερικό των φυτικών ιστών και κυττάρων. Αυτή η φυσική άμυνα που προσφέρει στα φυτά τα βοηθά να ανταπεξέλθουν σε συνθήκες αβιοτικών καταπονήσεων (ακραίες συνθήκες θερμοκρασίας, αλατότητας και έλλειψης νερού).

➤ Το Fitomaat είναι ένα βιολογικό σκεύασμα, το οποίο στη σύνθεσή του περιέχει γλυκίνη-βεταΐνη (80% w/w), προλίνη (10% w/w) και αντιοξειδωτικά (0,5% w/w). Η σύνθεσή του προωθεί την αντοχή των φυτών σε ακραίες συνθήκες θερμοκρασίας, ρυθμίζοντας την υδατική ισορροπία των κυττάρων. Εφαρμόζεται με διαφυλλικό ψεκασμό, ενώ συνδυάζεται με τα περισσότερα λιπάσματα και φυτοπροστατευτικά σκευάσματα.

2.4. Πειραματικό Σχέδιο

Το πειραματικό σχέδιο που ακολουθήθηκε, στο παρόν πείραμα, ήταν οι τυχαιοποιημένες πλήρεις ομάδες. Χρησιμοποιήθηκαν τρία δενδρύλλια ανά ποικιλία και ανά επέμβαση, ώστε να περιορίσουμε την παραλλακτικότητα που οφείλεται στο δένδρο.

2.5. Επεμβάσεις

Στην παρούσα ερευνητική εργασία εφαρμόστηκαν δύο ομάδες επεμβάσεων. Η πρώτη εξ αυτών αφορούσε την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας των τεσσάρων ποικιλιών λεμονιάς που επιλέχθηκαν στο ψύχος, ενώ η δεύτερη τη μελέτη της αποτελεσματικότητας τριών εμπορικών σκευασμάτων στην ανθεκτικότητα αυτών στο ψύχος.

Όσον αφορά την πρώτη ομάδα, συνολικά εφαρμόστηκαν τέσσερις επεμβάσεις, μία από τις οποίες αποτέλεσε το μάρτυρα. Τρία δενδρύλλια από κάθε ποικιλία εκτέθηκαν στους -3°C , -5°C και -7°C για χρονικό διάστημα δύο ωρών σε σκοτάδι (διαφορετικά δενδρύλλια ανά θερμοκρασία), ενώ επιλέχθηκαν και τρία δενδρύλλια ως μάρτυρες, τα οποία παρέμειναν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Σε κάθε επέμβαση η θερμοκρασία του θαλάμου μειωνόταν σταδιακά κατά $1,5 - 2^{\circ}\text{C}$ ανά ώρα, για την αποφυγή πρόκλησης άμεσης καταπόνησης από την απότομη έκθεση στο ψύχος. Μετά το πέρας της παραμονής στην εκάστοτε κατώτατη θερμοκρασία, αυτή αυξήθηκε σταδιακά μέχρι τη θερμοκρασία περιβάλλοντος.



Εικόνα 2. Συμπτώματα ζημίας στα φύλλα ως αποτέλεσμα της έκθεσης των δενδρυλλίων στο ψύχος (προσωπικό αρχείο).

Στη θερμοκρασία στην οποία παρουσιάστηκαν τα πιο έντονα συμπτώματα καταπόνησης από το ψύχος (επιλέχθηκαν οι -6°C , λόγω καταστροφής της ποικιλίας Αδαμοπούλου στους -7°C) εφαρμόστηκαν τέσσερις επεμβάσεις, μία εκ των οποίων αποτέλεσε το μάρτυρα. Οι δοσολογίες των σκευασμάτων, που εφαρμόστηκαν, ήταν οι εξής:

- Fitomaat - 10 g / 10 L
- Antiheat – 40 mL / 10 L
- Bluestim – 50 g / 10 L

Κάθε σκεύασμα, σε συνδυασμό με προσκολλητική ουσία, εφαρμόστηκε διαφυλλικά σε τρία δενδρύλλια ανά ποικιλία, ενώ στα δενδρύλλια, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες, έγινε διαφυλλική εφαρμογή μόνο με την προσκολλητική ουσία. Ο ψεκασμός πραγματοποιήθηκε δύο ημέρες πριν από την έκθεση των δενδρυλλίων στη χαμηλή θερμοκρασία. Τα δενδρύλλια τοποθετήθηκαν ανά ποικιλία σε ψυκτικό θάλαμο, όπου εκτέθηκαν στους -6°C για δύο ώρες σε σκοτάδι. Η θερμοκρασία του θαλάμου μειωνόταν σταδιακά κατά $1,5 - 2^{\circ}\text{C}$ ανά ώρα, για την αποφυγή πρόκλησης ακραίας καταπόνησης από την απότομη έκθεση στο ψύχος, ενώ μετά το πέρας της παραμονής στην κατώτατη θερμοκρασία, αυτή αυξήθηκε σταδιακά μέχρι τη θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Μετά από το πέρας των επεμβάσεων τα δενδρύλλια τοποθετήθηκαν στο δενδροκομείο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Γ.Π.Α.), σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ώστε να συσχετιστεί η ανθεκτικότητα της κάθε ποικιλίας, με βάση την αναβλάστηση αυτής κατά την άνοιξη - καλοκαίρι, καθώς και να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητα των σκευασμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στην ανθεκτικότητα της κάθε ποικιλίας στο ψύχος, σε σχέση με τους παράγοντες οι οποίοι μετρήθηκαν.

2.6. Δειγματοληψία

Μετά τη συμπλήρωση των δύο ωρών στην εκάστοτε κατώτατη θερμοκρασία, ελήφθησαν τυχαία τρία φύλλα ανά δενδρύλλιο και ανά ποικιλία, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν νωπά για την εκτίμηση των εξής παραγόντων:

- Συγκέντρωση χλωροφυλλών (CHLa, CHLb και ολικές CHLs)
- Διαρροή ηλεκτρολυτών (EL)
- Οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών (TBARS)
- Συγκέντρωση υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2)

- Ζημία από το ψύχος με τη μέθοδο του τετραζολίου (TTC)

Επιπλέον, ελήφθησαν εφτά φύλλα ανά δενδρύλλιο και ανά ποικιλία, τα οποία τοποθετήθηκαν ξεχωριστά ανά επέμβαση και ανά επανάληψη και τα οποία, αφού λιοφυλλιώθηκαν και λειοτριβήθηκαν, αποθηκεύτηκαν στον καταψύκτη του εργαστηρίου για περαιτέρω αναλύσεις, οι οποίες αφορούσαν την εκτίμηση των εξής παραγόντων:

- Περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά
- Περιεκτικότητα σε ολικές ορθοδιφαινόλες
- Περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή
- Περιεκτικότητα σε ολικές φλαβανόλες
- Περιεκτικότητα σε ολικές φλαβόνες και φλαβονόλες
- Αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP, DPPH, ABTS)
- Συγκέντρωση ασκορβικού οξέος
- Συγκέντρωση προλίνης

2.7. Μετρήσεις-Αναλύσεις

Για την πραγματοποίηση των μετρήσεων, στο παρόν πείραμα, χρησιμοποιήθηκαν τα εξής εργαστηριακά όργανα:

- Ζυγός ακριβείας
- Ultra Turrax
- Φυγόκεντρος
- Περιστροφικός αναδευτήρας
- Κλίβανος
- Υδατόλουτρο
- Αντλία κενού

2.7.1. Μετρήσεις σε νωπό φυτικό ιστό (φύλλα)

❖ Συγκέντρωση χλωροφυλλών (CHLa, CHLb και ολικές CHLs)

Η εκτίμηση της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών βασίστηκε στο πρωτόκολλο των Roussos et al. (2010). Για τη μέτρηση χρησιμοποιήθηκε το φωτόμετρο Unicam Helios γ.

❖ **Διαρροή ηλεκτρολυτών (EL)**

Η εκτίμηση της διαρροής των ηλεκτρολυτών πραγματοποιήθηκε με το αγωγιμόμετρο Consort C533, σύμφωνα με το τροποποιημένο πρωτόκολλο του Saltveit (2005).

❖ **Οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών (TBARS)**

Για τη μέτρηση των TBARS χρησιμοποιήθηκε το φωτόμετρο Unicam Helios γ, με βάση το τροποποιημένο πρωτόκολλο των Chararzadeh et al. (2004).

❖ **Συγκέντρωση υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂)**

Η μέτρηση της συγκέντρωσης του H₂O₂ πραγματοποιήθηκε με το φωτόμετρο Unicam Helios γ, σύμφωνα με τη μέθοδο των Fang et al. (2001).

❖ **Ζημία από το ψύχος με τη μέθοδο του τετραζολίου (TTC)**

Ο προσδιορισμός της ζημίας από το ψύχος με τη μέθοδο TTC, που βασίζεται στη χρώση των ζωντανών ιστών, έγινε με το φωτόμετρο Unicam Helios γ, σύμφωνα με τη μέθοδο των Steponkus και Lanphear (1967).



Εικόνες 3 και 4. Μετρήσεις σε νερό φυτικό ιστό (φύλλα) (προσωπικό αρχείο).

2.7.2. Αναλύσεις σε ξηρό φυτικό ιστό (φύλλα)

❖ Περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ορθοδιφαινόλες, φλαβανόλες, φλαβονοειδή, φλαβόνες και φλαβονόλες

Ο υπολογισμός της περιεκτικότητας σε ολικά φαινολικά και ορθοδιφαινόλες έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο των Roussos και Pontikis (2001), σε ολικές φλαβανόλες σύμφωνα με τους Arnous et al. (2002), σε ολικά φλαβονοειδή με βάση το τροποποιημένο πρωτόκολλο των Bamdad et al. (2006) και σε ολικές φλαβόνες και φλαβονόλες σύμφωνα με τους Porona et al. (2004). Για όλες τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε το φωτόμετρο Unicam Helios γ.

❖ Αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP, DPPH, ABTS)

Η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας πραγματοποιήθηκε με το φωτόμετρο Unicam Helios γ, με τρεις διαφορετικές μεθόδους. Για τις μεθόδους των FRAP και DPPH εφαρμόστηκε το πρωτόκολλο των Klimczak et al. (2007), ενώ για τη μέθοδο της ABTS χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο των Re et al. (1999).

❖ Συγκέντρωση ασκορβικού οξέος

Για την εκτίμηση της συγκέντρωσης του ασκορβικού οξέος εφαρμόστηκε το τροποποιημένο πρωτόκολλο των Klein και Perry (1982), ενώ οι μετρήσεις έγιναν στο φωτόμετρο Unicam Helios γ.



Εικόνα 5. Εκτίμηση της συγκέντρωσης του ασκορβικού οξέος σε ξηρό φυτικό ιστό (φύλλα) (προσωπικό αρχείο).

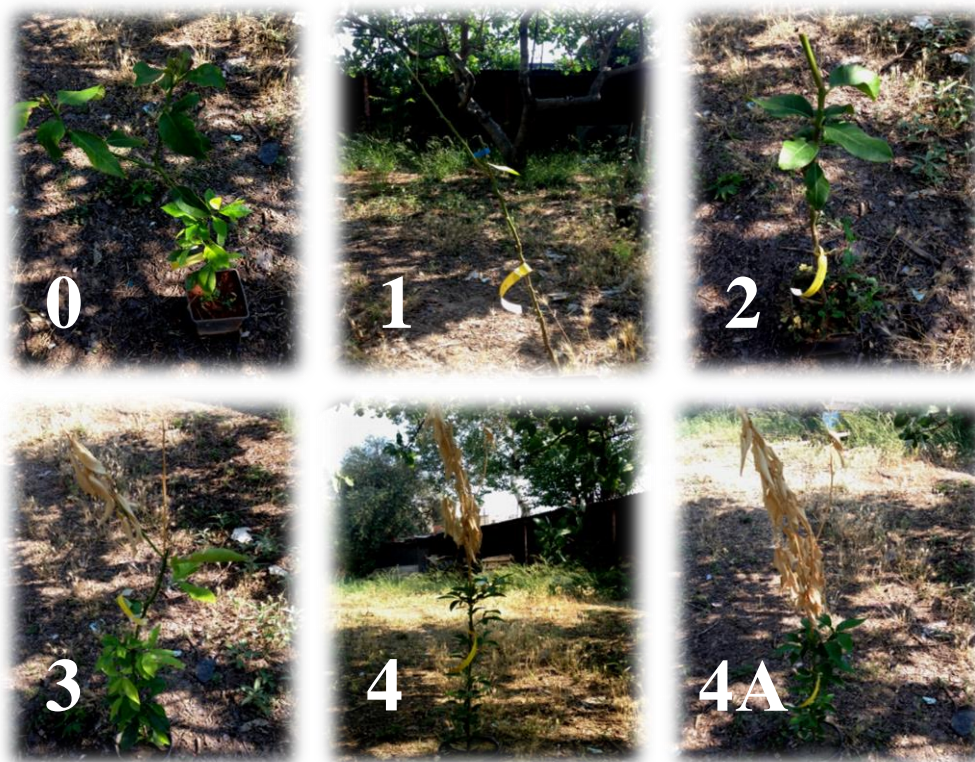
❖ Συγκέντρωση προλίνης

Η εκτίμηση της συγκέντρωσης της προλίνης πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Bates et al. (1973), με το φωτόμετρο Unicam Helios γ.

2.8. Εκτίμηση της ζημίας των δενδρυλλίων

Ο προσδιορισμός της ζημίας των δενδρυλλίων, τα οποία μετά το τέλος του πειράματος μεταφέρθηκαν στο δενδροκομείο του Γ.Π.Α., με βάση την αναβλάστησή τους, πραγματοποιήθηκε στις 30 Μαΐου 2017. Η εκτίμηση της ζημίας έγινε με βάση κλείδα, η οποία παρατίθεται παρακάτω:

- **0** – κανένα σύμπτωμα
- **1** – δεν υπάρχουν ξερά κλαδιά, όμως το δένδρο έχει αποφυλλωθεί
- **2** – ξερά κλαδιά σε ποσοστό < 25% του δένδρου
- **3** – ξερά κλαδιά σε ποσοστό 25 – 50% του δένδρου
- **4** – ξερά κλαδιά σε ποσοστό > 50% του δένδρου
- **4A** – αναβλάστηση του υποκειμένου
- **5**- το δένδρο ξεράθηκε εντελώς



Εικόνες 6 έως 11. Εκτίμηση της ζημίας των δενδρυλλίων με βάση την αναβλάστησή τους. Οι αριθμοί που αναγράφονται στις εικόνες αφορούν την κλείδα που αναγράφεται παραπάνω (προσωπικό αρχείο).

2.9. Στατιστική Ανάλυση

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση διασποράς (ANOVA) ως μονοπαραγοντικό πείραμα. Οι σημαντικές διαφορές, όσον αφορά τις μετρούμενες μεταβλητές μεταξύ των επεμβάσεων, προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα StatGraphics Centurion XVI.I.

3. Αποτελέσματα

3.1. Σύγκριση μεταξύ των ποικιλιών, όσον αφορά την αντοχή τους στο ψύχος

Στον Πίνακα 3-1-1 παρατηρείται αυξημένη συγκέντρωση CHLa στους -3°C και του συνόλου των χλωροφυλλών (CHLa, CHLb και ολικές CHLs) στους -7°C στην ποικιλία 'Αδαμοπούλου', ενώ αυξημένη βρέθηκε η συγκέντρωση CHLb στους -7°C και στην ποικιλία 'Eureka'. Αντιθέτως, η ποικιλία 'Μαγληνή' είχε μειωμένη συγκέντρωση CHLa στους -3°C και -7°C , ενώ παρατηρείται και χαμηλή συγκέντρωση της CHLb και των ολικών CHLs στους -7°C , τόσο στην ποικιλία 'Μαγληνή' όσο και στην 'Meyer'.

Πίνακας 3-1-1. Επίδραση του ψύχους στη συγκέντρωση των χλωροφυλλών (CHLa, CHLb και ολικές CHLs).

Επεμβάσεις	CHLa	CHLb	Ολικές CHLs	CHLa	CHLb	Ολικές CHLs
	M			-3°C		
Αδαμοπούλου	0,93 a	0,38 a	1,31 a	0,74 b	0,28 a	1,02 a
Μαγληνή	0,89 a	0,39 a	1,28 a	0,38 a	0,18 a	0,56 a
Meyer	0,69 a	0,34 a	1,03 a	0,61 ab	0,30 a	0,91 a
Eureka	0,78 a	0,37 a	1,16 a	0,40 ab	0,18 a	0,58 a
	-5°C			-7°C		
Αδαμοπούλου	0,83 a	0,35 a	1,18 a	1,45 b	1,10 b	2,54 b
Μαγληνή	0,71 a	0,31 a	1,02 a	0,66 a	0,30 a	0,97 a
Meyer	0,90 a	0,41 a	1,30 a	0,83 ab	0,39 a	1,22 a
Eureka	0,53 a	0,24 a	0,77 a	0,92 ab	0,90 b	1,82 ab

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Η συγκέντρωση της χλωροφύλλης a (CHLa), της χλωροφύλλης b (CHLb) και των ολικών χλωροφυλλών (ολικές CHLs) εκφράζεται σε $\mu\text{g CHLa}/\text{mg N.B.}$, $\mu\text{g CHLb}/\text{mg N.B.}$ και $\mu\text{g CHLs}/\text{mg N.B.}$ αντίστοιχα.

Η συγκέντρωση του H_2O_2 , όπως φαίνεται στον Πίνακα 3-1-2, βρέθηκε αυξημένη στο μάρτυρα στις ποικιλίες 'Meyer' και 'Eureka', στους -3°C στην ποικιλία 'Eureka' και στους -7°C στις ποικιλίες 'Μαγληνή' και 'Meyer'. Τη χαμηλότερη συγκέντρωση H_2O_2 είχε η ποικιλία 'Αδαμοπούλου' στο μάρτυρα και στους -7°C και η ποικιλία 'Μαγληνή' στους -3°C . Αύξηση παρατηρήθηκε και στη συγκέντρωση των TBARS στους -5°C και -7°C στην ποικιλία 'Μαγληνή', με τη χαμηλότερη συγκέντρωση να σημειώνεται, στις αντίστοιχες θερμοκρασίες, στην ποικιλία 'Αδαμοπούλου'.

Πίνακας 3-1-2. Επίδραση του ψύχους στη διαρροή ηλεκτρολυτών (EL), την οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών (TBARS) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂).

Επεμβάσεις	M			-3°C		
	EL	TBARS	H ₂ O ₂	EL	TBARS	H ₂ O ₂
Αδαμοπούλου	26,67 a	65,49 a	35,80 a	48,87 a	77,73 a	48,20 a
Μαγληνή	30,63 a	82,55 a	75,70 ab	27,63 a	86,92 a	61,93 a
Meyer	36,07 a	72,61 a	82,40 b	22,37 a	60,73 a	66,83 ab
Eureka	31,07 a	82,20 a	91,60 b	59,03 a	87,54 a	98,10 b
		-5°C			-7°C	
Αδαμοπούλου	24,73 a	58,65 a	46,60 a	89,13 a	66,38 a	43,40 a
Μαγληνή	30,87 a	87,32 b	69,57 a	75,40 a	101,77 b	109,20 b
Meyer	29,93 a	71,46 ab	73,07 a	77,07 a	76,23 ab	125,17 b
Eureka	36,40 a	82,40 ab	84,23 a	89,05 a	97,63 ab	81,00 ab

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Η διαρροή ηλεκτρολυτών (EL) εκφράζεται σε %EL.

Η οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών (TBARS) εκφράζεται σε nMol/mg N.B.

Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) εκφράζεται σε μMol/mg N.B.

Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε, όσον αφορά την εκτίμηση της ζημίας από το ψύχος με τη μέθοδο TTC, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 3-1-3.

Πίνακας 3-1-3. Εκτίμηση της ζημίας από το ψύχος με τη μέθοδο του τετραζολίου (TTC).

Επεμβάσεις	% TTC		
	-3°C	-5°C	-7°C
Αδαμοπούλου	106,74 a	96,54 a	27,77 a
Μαγληνή	86,63 a	97,15 a	43,45 a
Meyer	111,81 a	113,07 a	52,33 a
Eureka	102,30 a	112,20 a	46,89 a

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (M), καθώς και στους -3°C, την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ορθοδιφαινόλες, φλαβανοειδή, φλαβόνες και φλαβονόλες παρουσιάζει η ποικιλία 'Eureka', με την ποικιλία 'Αδαμοπούλου' να έχει τη χαμηλότερη τιμή ολικών φαινολικών στο μάρτυρα, όπως παρατηρείται και στον Πίνακα 3-1-4. Επίσης, στους -3°C, οι ποικιλίες 'Αδαμοπούλου' και 'Eureka' έχουν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικές φλαβονόλες, με την ποικιλία 'Μαγληνή' να παρουσιάζει τη χαμηλότερη περιεκτικότητα μεταξύ των ποικιλιών. Επιπλέον, την

υψηλότερη περιεκτικότητα παρουσιάζει η ποικιλία 'Eureka' σε ολικές φλαβανόλες στους -5°C , σε ολικά φαινολικά στους -7°C και σε ολικές ορθοδιφαινόλες, φλαβονοειδή, φλαβόνες και φλαβονόλες, τόσο στους -5°C όσο και στους -7°C . Στους -5°C , οι ποικιλίες 'Αδαμοπούλου' και 'Meyer' είχαν τη χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ολικές ορθοδιφαινόλες, φλαβόνες και φλαβονόλες, ενώ η 'Meyer', καθώς και η ποικιλία 'Μαγληνή', είχαν τη μικρότερη περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή. Τέλος, στους -7°C η ποικιλία 'Αδαμοπούλου' είχε τις χαμηλότερες τιμές στα ολικά φαινολικά, τις ολικές ορθοδιφαινόλες και τα ολικά φλαβονοειδή, με τη 'Μαγληνή' να παρουσιάζει, επίσης, χαμηλή περιεκτικότητα στους δύο τελευταίους παράγοντες.

Πίνακας 3-1-4. Εκτίμηση της επίδρασης του ψύχους στην περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ολικές ορθοδιφαινόλες, ολικές φλαβανόλες, ολικά φλαβονοειδή και ολικές φλαβόνες και φλαβονόλες.

Επεμβάσεις	Ολικά Φαινολικά	Ολικές Ορθοδιφαινόλες	Ολικές Φλαβανόλες	Ολικά Φλαβονοειδή	Ολικές Φλαβόνες και Φλαβονόλες
M					
Αδαμοπούλου	16,30 a	11,03 a	0,66 a	4,42 a	14,21 a
Μαγληνή	23,42 ab	14,47 a	0,53 a	5,44 a	16,37 a
Meyer	25,31 ab	12,03 a	0,47 a	4,74 a	13,96 a
Eureka	29,43 b	21,34 b	0,64 a	8,46 b	25,89 b
-3°C					
Αδαμοπούλου	19,24 a	12,67 a	0,76 b	4,78 a	15,56 a
Μαγληνή	22,80 a	14,56 a	0,45 a	5,38 a	16,97 a
Meyer	23,93 a	12,92 a	0,55 ab	5,06 a	17,67 a
Eureka	32,94 b	22,35 b	0,81 b	8,66 b	25,91 b
-5°C					
Αδαμοπούλου	22,38 a	11,95 a	0,74 a	5,26 ab	15,51 a
Μαγληνή	20,67 a	14,01 ab	0,47 a	4,86 a	16,98 ab
Meyer	22,64 a	13,28 a	0,49 a	5,22 a	16,73 a
Eureka	31,01 a	21,26 b	1,15 b	9,25 b	26,09 b
-7°C					
Αδαμοπούλου	18,12 a	11,40 a	0,68 a	4,75 a	14,52 a
Μαγληνή	22,32 ab	14,43 a	0,74 a	4,91 a	16,30 a
Meyer	26,53 ab	16,21 ab	0,52 a	5,70 ab	19,22 a
Eureka	31,03 b	21,19 b	0,88 a	8,80 b	26,59 b

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ορθοδιφαινόλες, φλαβανόλες, φλαβονοειδή, φλαβόνες και φλαβονόλες εκφράζεται σε mg/g N.B.

Η ποικιλία ‘Eureka’ εμφάνισε την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα και με τις τρεις μεθόδους υπολογισμού που χρησιμοποιήθηκαν (FRAP, DPPH, ABTS), τόσο στο μάρτυρα, όσο και στους -3°C και -7°C , ενώ και στους -5°C είχε την υψηλότερη τιμή με τη μέθοδο της DPPH (Πίνακας 3-1-5). Αντιθέτως, η ποικιλία ‘Αδαμοπούλου’ είχε τη μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα στο μάρτυρα, με τις μεθόδους των FRAP και ABTS, στους -5°C με τη μέθοδο της DPPH, όπως και η ποικιλία ‘Meyer’ και στους -7°C και με τις τρεις μεθόδους υπολογισμού (FRAP, DPPH και ABTS). Στους -7°C παρόμοια αποτελέσματα εμφάνισε και η ποικιλία ‘Μαγληνή’ με τις μεθόδους των FRAP και DPPH.

Πίνακας 3-1-5. Εκτίμηση της επίδρασης του ψύχους στην αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP, DPPH, ABTS).

Επεμβάσεις	FRAP	DPPH	ABTS	FRAP	DPPH	ABTS
	M			-3°C		
Αδαμοπούλου	75,86 a	102,61 a	80,26 a	84,33 a	105,90 a	98,92 a
Μαγληνή	93,28 ab	132,93 a	101,60 ab	97,98 a	149,15 a	105,88 a
Meyer	94,98 ab	120,84 a	111,02 ab	99,42 a	128,16 a	108,05 a
Eureka	122,79 b	221,03 b	116,27 b	127,59 b	245,73 b	138,52 b
	-5°C			-7°C		
Αδαμοπούλου	85,30 a	136,00 a	103,49 a	78,20 a	124,77 a	100,81 a
Μαγληνή	85,03 a	152,44 ab	112,62 a	83,03 a	148,94 a	112,85 ab
Meyer	95,70 a	131,98 a	104,97 a	110,33 ab	158,69 ab	116,50 ab
Eureka	126,33 a	252,72 b	138,41 a	124,29 b	258,45 b	139,55 b

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα και για τις τρεις μεθόδους υπολογισμού (FRAP, DPPH και ABTS) εκφράζεται σε $\mu\text{mol Trolox/g N.B.}$

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3-1-6, τόσο στο μάρτυρα, όσο και στους -5°C και -7°C , η ποικιλία ‘Eureka’ παρουσίασε την υψηλότερη συγκέντρωση ασκορβικού οξέος, με τις ποικιλίες ‘Αδαμοπούλου’ και ‘Μαγληνή’ να έχουν τη χαμηλότερη συγκέντρωση στο μάρτυρα και τους -7°C και την ποικιλία ‘Meyer’ στους -5°C .

Πίνακας 3-1-6. Επίδραση του ψύχους στη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος.

Επεμβάσεις	mg/g N.B.			
	M	-3°C	-5°C	-7°C
Αδαμοπούλου	0,82 a	0,89 a	1,21 ab	0,77 a
Μαγληνή	0,77 a	1,18 a	1,17 ab	1,11 a
Meyer	1,30 ab	1,00 a	1,11 a	1,20 ab
Eureka	1,92 b	2,02 a	1,66 b	1,87 b

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Σε όλες τις επεμβάσεις του πειράματος, η ποικιλία ‘Αδαμοπούλου’ είχε την υψηλότερη συγκέντρωση προλίνης, ενώ τη χαμηλότερη συγκέντρωση είχε η ποικιλία ‘Eureka’ όπως παρατηρείται και στον πίνακα 3-1-7. Χαμηλή συγκέντρωση είχαν, επίσης, η ποικιλία ‘Μαγληνή’ στους -5°C και η ποικιλία ‘Meyer’ στους -7°C.

Πίνακας 3-1-7. Επίδραση του ψύχους στη συγκέντρωση της προλίνης.

Επεμβάσεις	mg/g N.B.			
	M	-3°C	-5°C	-7°C
Αδαμοπούλου	7,78 b	7,40 c	9,00 b	8,11 b
Μαγληνή	5,15 ab	5,05 ab	5,58 a	6,15 ab
Meyer	6,36 ab	6,07 bc	6,16 ab	4,79 a
Eureka	3,80 a	3,92 a	4,37 a	4,58 a

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Στον Πίνακα 3-1-8, η μόνη στατιστικά σημαντική διαφορά που παρατηρείται είναι στους -7°C, στην ποικιλία ‘Αδαμοπούλου’, η οποία παρουσίασε τη μεγαλύτερη ζημία από το ψύχος, με βάση την αναβλάστησή της.

Πίνακας 3-1-8. Εκτίμηση της ζημίας στα δενδρύλλια, με βάση την αναβλάστησή τους.

Επεμβάσεις	Κλείδα εκτίμησης ζημίας			
	M	-3°C	-5°C	-7°C
Αδαμοπούλου	0 a	0 a	0 a	4,5 b
Μαγληνή	1 a	0 a	0 a	0 a
Meyer	0 a	0 a	1 a	0 a
Eureka	0 a	0 a	1 a	1 a

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Η αυθαίρετη κλείδα εκτίμησης της ζημίας αναγράφεται στην Ενότητα 2.7. "Εκτίμηση της ζημίας των δενδρυλλίων".

**3.2. Σύγκριση μεταξύ της αποτελεσματικότητας των σκευασμάτων στην
αντοχή στο ψύχος των ποικιλιών που μελετήθηκαν**

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3-2-1, στην ποικιλία ‘Meyer’ παρατηρήθηκε αύξηση στο σύνολο των χλωροφυλλών (CHLa, CHLb και ολικές CHLs) από την επέμβαση με το σκεύασμα Fitomaat, με τη χαμηλότερη συγκέντρωση να εμφανίζεται από την εφαρμογή του σκευάσματος Antiheat, ενώ χαμηλή ήταν η συγκέντρωση της CHLa και των ολικών CHLs και στο μάρτυρα στην ποικιλία ‘Meyer’.

Πίνακας 3-2-1. Επίδραση του ψύχους στη συγκέντρωση των χλωροφυλλών (CHLa, CHLb και ολικές CHLs).

Επεμβάσεις	CHLa	CHLb	Ολικές CHLs	CHLa	CHLb	Ολικές CHLs
	Αδαμοπούλου			Μαγληνή		
Μάρτυρας	1,08 a	0,47 a	1,54 a	0,62 a	0,28 a	0,91 a
Antiheat	1,47 a	0,61 a	2,08 a	0,50 a	0,22 a	0,72 a
Bluestim	0,81 a	0,34 a	1,14 a	0,62 a	0,27 a	0,89 a
Fitomaat	1,15 a	0,49 a	1,65 a	0,64 a	0,29 a	0,93 a
	Meyer			Eureka		
Μάρτυρας	0,71 a	0,37 ab	1,09 a	0,46 a	0,23 a	0,68 a
Antiheat	0,69 a	0,34 a	1,03 a	0,66 a	0,32 a	0,98 a
Bluestim	0,83 ab	0,40 ab	1,23 ab	0,56 a	0,27 a	0,84 a
Fitomaat	1,18 b	0,57 b	1,74 b	0,49 a	0,27 a	0,75 a

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Η συγκέντρωση της χλωροφύλλης a (CHLa), της χλωροφύλλης b (CHLb) και των ολικών χλωροφυλλών (ολικές CHLs) εκφράζεται σε $\mu\text{g CHLa}/\text{mg N.B.}$, $\mu\text{g CHLb}/\text{mg N.B.}$ και $\mu\text{g CHLs}/\text{mg N.B.}$ αντίστοιχα.

Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε στη διαρροή ηλεκτρολυτών, την οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών και το υπεροξειδίο του υδρογόνου μεταξύ των σκευασμάτων, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 3-2-2.

Πίνακας 3-2-2. Επίδραση του ψύχους στη διαρροή ηλεκτρολυτών (EL), την οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών (TBARS) και το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂O₂).

Επεμβάσεις	EL	TBARS	H ₂ O ₂	EL	TBARS	H ₂ O ₂
	Αδαμοπούλου			Μαγληνή		
Μάρτυρας	87,53 a	74,66 a	293,13 a	61,30 a	86,81 a	112,23 a
Antiheat	91,40 a	71,25 a	234,77 a	65,53 a	85,00 a	82,67 a
Bluestim	95,03 a	71,79 a	262,77 a	70,13 a	89,03 a	88,60 a
Fitomaat	70,63 a	73,47 a	261,40 a	89,80 a	88,30 a	90,20 a
	Meyer			Eureka		
Μάρτυρας	83,65 a	72,43 a	142,83 a	34,30 a	86,10 a	128,50 a
Antiheat	69,43 a	73,38 a	173,67 a	49,00 a	74,67 a	131,50 a
Bluestim	65,50 a	71,30 a	163,47 a	64,00 a	78,42 a	142,93 a
Fitomaat	50,35 a	64,56 a	163,17 a	85,70 a	79,19 a	181,07 a

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Η διαρροή ηλεκτρολυτών (EL) εκφράζεται σε %EL.

Η οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών (TBARS) εκφράζεται σε nMol/mg N.B.

Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) εκφράζεται σε μMol/mg N.B.

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3-2-3, καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των σκευασμάτων, όσον αφορά την εκτίμηση της ζημίας από το ψύχος με τη μέθοδο TTC.

Πίνακας 3-2-3. Εκτίμηση της ζημίας από το ψύχος με τη μέθοδο του τετραζολίου (TTC).

Επεμβάσεις	% TTC			
	Αδαμοπούλου	Μαγληνή	Meyer	Eureka
Antiheat	72,59 a	117,07 a	67,09 a	93,88 a
Bluestim	158,55 a	90,05 a	117,83 a	87,32 a
Fitomaat	106,88 a	110,77 a	96,17 a	45,23 a

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Όσον αφορά την επίδραση του ψύχους στην περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ορθοδιφαινόλες, φλαβανόλες, φλαβονοειδή, φλαβόνες και φλαβονόλες, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 3-2-4.

Πίνακας 3-2-4. Εκτίμηση της επίδρασης του ψύχους στην περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ολικές ορθοδιφαινόλες, ολικές φλαβανόλες, ολικά φλαβονοειδή και ολικές φλαβόνες και φλαβονόλες.

Επεμβάσεις	Ολικά	Ολικές	Ολικές	Ολικά	Ολικές
	Φαινολικά	Ορθοδιφαινόλες	Φλαβανόλες	Φλαβονοειδή	Φλαβόνες και Φλαβονόλες
Αδαμοπούλου					
Μάρτυρας	13,91 a	8,38 a	0,62 a	3,56 a	13,79 a
Antiheat	14,82 a	8,96 a	0,62 a	3,90 a	14,48 a
Bluestim	16,50 a	9,22 a	0,61 a	4,07 a	15,57 a
Fitomaat	17,81 a	10,50 a	0,72 a	4,64 a	16,89 a
Μαγληνή					
Μάρτυρας	23,47 a	13,39 a	0,67 a	5,36 a	17,71 a
Antiheat	28,16 a	16,11 a	1,03 a	6,98 a	21,59 a
Bluestim	21,09 a	13,53 a	0,57 a	5,02 a	19,06 a
Fitomaat	24,46 a	12,95 a	0,79 a	5,49 a	16,49 a
Meyer					
Μάρτυρας	21,29 a	11,44 a	0,48 a	4,36 a	16,38 a
Antiheat	18,81 a	9,83 a	0,43 a	3,93 a	14,29 a
Bluestim	20,16 a	10,53 a	0,45 a	4,09 a	14,50 a
Fitomaat	17,94 a	9,95 a	0,45 a	4,03 a	15,07 a
Eureka					
Μάρτυρας	28,50 a	17,84 a	1,15 a	8,26 a	24,00 a
Antiheat	26,91 a	19,08 a	0,86 a	8,24 a	26,20 a
Bluestim	27,15 a	18,64 a	0,73 a	7,84 a	25,98 a
Fitomaat	29,16 a	20,04 a	0,80 a	9,00 a	26,55 a

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ορθοδιφαινόλες, φλαβανόλες, φλαβονοειδή, φλαβόνες και φλαβονόλες εκφράζεται σε mg/g N.B.

Στον Πίνακα 3-2-5 παρατηρείται αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας στην ποικιλία 'Αδαμοπούλου' από την επέμβαση με το σκεύασμα Fitomaat, ενώ τη μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα εμφανίζει ο μάρτυρας, με τις μεθόδους υπολογισμού FRAP και DPPH.

Πίνακας 3-2-5. Εκτίμηση της επίδρασης του ψύχους στην αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP, DPPH, ABTS).

Επεμβάσεις	FRAP	DPPH	ABTS	FRAP	DPPH	ABTS
	Αδαμοπούλου			Μαγληνή		
Μάρτυρας	62,71 a	56,14 a	85,68 a	103,05 a	119,88 a	120,89 a
Antiheat	73,95 ab	76,19 ab	96,18 a	123,41 a	173,97 a	149,65 a
Bluestim	82,16 ab	92,34 ab	109,88 a	97,66 a	129,31 a	119,98 a
Fitomaat	86,62 b	105,14 b	111,08 a	104,87 a	149,80 a	126,88 a
	Meyer			Eureka		
Μάρτυρας	101,47 a	92,73 a	107,25 a	148,37 a	211,80 a	130,99 a
Antiheat	96,68 a	92,56 a	112,50 a	153,77 a	215,49 a	140,23 a
Bluestim	97,53 a	101,77 a	111,70 a	144,93 a	231,85 a	142,57 a
Fitomaat	89,94 a	87,90 a	106,45 a	162,14 a	248,55 a	148,11 a

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα και για τις τρεις μεθόδους υπολογισμού (FRAP, DPPH και ABTS) εκφράζεται σε $\mu\text{mol Trolox/g N.B.}$

Στον Πίνακα 3-2-6 δεν παρατηρείται καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος, μεταξύ των επεμβάσεων.

Πίνακας 3-2-6. Επίδραση του ψύχους στη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος.

Επεμβάσεις	mg/g N.B.			
	Αδαμοπούλου	Μαγληνή	Meyer	Eureka
Μάρτυρας	0,71 a	0,69 a	0,58 a	1,13 a
Antiheat	0,99 a	1,12 a	0,52 a	1,12 a
Bluestim	0,90 a	1,05 a	0,31 a	1,29 a
Fitomaat	0,92 a	1,22 a	0,28 a	1,46 a

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Δεν παρατηρείται καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση της προλίνης, μεταξύ των επεμβάσεων, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 3-2-7.

Πίνακας 3-2-7. Επίδραση του ψύχους στη συγκέντρωση της προλίνης.

Επεμβάσεις	mg/g N.B.			
	Αδαμοπούλου	Μαγληνή	Meyer	Eureka
Μάρτυρας	5,88 a	6,19 a	4,98 a	3,85 a
Antiheat	6,27 a	5,06 a	4,65 a	4,32 a
Bluestim	6,73 a	5,27 a	4,90 a	3,95 a
Fitomaat	6,16 a	5,22 a	4,94 a	3,45 a

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3-2-8, η μόνη στατιστικά σημαντική διαφορά που σημειώθηκε είναι στην ποικιλία 'Αδαμοπούλου'. Τα σκευάσματα Bluestim και Fitomaat είχαν ως αποτέλεσμα τα λιγότερα συμπτώματα, από την έκθεση των δενδρυλλίων στους -6°C, ενώ η μεγαλύτερη ζημία σημειώθηκε από την εφαρμογή του Antiheat.

Πίνακας 3-2-8. Εκτίμηση της ζημίας στα δενδρύλλια, με βάση την αναβλάστησή τους.

Επεμβάσεις	Κλείδα εκτίμησης ζημίας			
	Αδαμοπούλου	Μαγληνή	Meyer	Eureka
Μάρτυρας	3 ab	1 a	0 a	0 a
Antiheat	4 b	1 a	1 a	0 a
Bluestim	1 a	1 a	0 a	0 a
Fitomaat	1 a	2 a	0 a	0 a

Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης, ακολουθούμενοι από το ίδιο γράμμα, δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$.

Η αυθαίρετη κλείδα εκτίμησης της ζημίας αναγράφεται στην Ενότητα 2.7. "Εκτίμηση της ζημίας των δενδρυλλίων".

4. Συζήτηση - Συμπεράσματα

Η έκθεση σε χαμηλές θερμοκρασίες δεν προκαλεί την ίδια επίδραση σε όλα τα φυτικά είδη. Ορισμένα φυτικά είδη παρουσιάζουν ευαισθησία στην καταπόνηση ψύχους, η οποία μπορεί να οδηγήσει ακόμη και σε αποπληξία. Ωστόσο, υπάρχουν φυτικά είδη, τα οποία έχουν καλύτερη απόκριση στο ψύχος και αναπτύσσουν μηχανισμούς αντοχής σε αυτό. Η απόκτηση αντοχής σχετίζεται με μεταβολές στην περιεκτικότητα των μεταβολιτών και της κυτταρικής σύστασης. Οι αλλαγές αυτές ουσιαστικά σηματοδοτούν την απόκριση των φυτικών κυττάρων σε ένα ερέθισμα και, πιο συγκεκριμένα, στην έκθεση στη χαμηλή θερμοκρασία. Οι αλλαγές στη θερμοκρασία γίνονται αντιληπτές από ένα σύνολο αισθητήριων μηχανισμών, που δρουν στα φυτά, ενεργοποιώντας σε ορισμένα από αυτά μηχανισμούς άμυνας στην καταπόνηση.

Η λεμονιά (*Citrus limon* L.), ένα από τα σημαντικότερα υπό καλλιέργεια οπωροφόρα δένδρα, παρουσιάζει ευαισθησία σε αρκετές περιβαλλοντικές καταπονήσεις, συμπεριλαμβανομένου και του ψύχους. Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε η ανθεκτικότητα στο ψύχος τεσσάρων ποικιλιών λεμονιάς και συγκεκριμένα των 'Αδαμοπούλου', 'Μαγληνή', 'Meyer' και 'Eureka'. Επιπροσθέτως, αξιολογήθηκε η επίδραση τριών εμπορικών σκευασμάτων (Antiheat, Bluestim και Fitomaat) στην ανθεκτικότητα των παραπάνω ποικιλιών λεμονιάς στο ψύχος. Από τα αποτελέσματα του πειράματος συμπεραίνονται τα εξής:

- ❖ Όσον αφορά τη συγκέντρωση των χλωροφυλλών, παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση CHLa στους -3°C και του συνόλου των χλωροφυλλών (CHLa, CHLb και ολικές CHLs) στους -7°C στην ποικιλία 'Αδαμοπούλου', ενώ αυξημένη βρέθηκε η συγκέντρωση CHLb στους -7°C και στην ποικιλία 'Eureka', η οποία παρουσιάζει ευαισθησία στο ψύχος. Η αύξηση της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών έρχεται σε αντίθεση με πληθώρα ερευνών σε διάφορα φυτικά είδη, στις οποίες αποδείχθηκε ότι το ψύχος προκαλεί υποβάθμιση της συγκέντρωσης αυτών, οδηγώντας σε απενεργοποίηση του φωτοσυνθετικού μηχανισμού (Hasani et al., 2013; Manolopoulou and Varzakas, 2016; Tian et al., 2016). Ωστόσο, η αύξηση αυτή θα μπορούσε να δικαιολογηθεί λόγω της αφυδάτωσης, η οποία προκαλείται από τη μείωση της ποσότητας και του ρυθμού απορρόφησης νερού από τη φυλλική επιφάνεια και της κρυσταλλοποίησης του εναπομείναντος νερού εντός των φυτικών

κυττάρων, κατά την έκθεση των φυτών σε χαμηλές θερμοκρασίες (Beck et al., 2007; Kenji and Yasuomi, 2014).

- ❖ Σχετικά με τη συγκέντρωση του H_2O_2 , αυτή βρέθηκε αυξημένη στο μάρτυρα και στους $-3^\circ C$ στην ποικιλία 'Eureka', επιβεβαιώνοντας την ευαισθησία της στο ψύχος. Η ίδια παράμετρος παρατηρήθηκε υψηλή στους $-7^\circ C$ και στις ποικιλίες 'Meyer' και 'Μαγληνή', οδηγώντας στο συμπέρασμα, πως και οι δύο αυτές ποικιλίες επηρεάζονται από το ψύχος, ωστόσο σε χαμηλότερη θερμοκρασία. Αυξημένη συγκέντρωση H_2O_2 μετά από καταπόνηση στο ψύχος έχει παρατηρηθεί και σε προηγούμενο πείραμα, σε φύλλα σιταριού, με την αύξηση αυτή να οφείλεται στη μεταφορά και αντίδραση ηλεκτρονίων με μόρια οξυγόνου εντός των κυττάρων, με αποτέλεσμα την παραγωγή H_2O_2 (Okuda et al., 1991). Επιπλέον, πρόγραμμα χορήγησης H_2O_2 σε φασόλια οδήγησε στην επαγωγή υψηλής αντοχής των φυτών στο ψύχος (Yu et al., 2002). Τα παραπάνω αποτελέσματα θα μπορούσαν να εξηγήσουν το μηχανισμό αύξησης της συγκέντρωσης H_2O_2 στα φύλλα των υπό εξέταση ποικιλιών λεμονιάς του παρόντος πειράματος. Επιπρόσθετα, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η αυξημένη τιμή στη συγκέντρωση H_2O_2 συνήθως σχετίζεται και με την αύξηση στην τιμή των TBARS (Labudda, 2013). Πράγματι, το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε και στη συγκεκριμένη μελέτη, με υψηλότερη τιμή TBARS να επιδεικνύει η ποικιλία 'Μαγληνή' στους $-5^\circ C$ και $-7^\circ C$.
- ❖ Προκειμένου να αξιολογηθούν οι αντιοξειδωτικές αντιδράσεις της ποικιλίας ομφαλοφόρων πορτοκαλιών 'Thomson', εμβολιασμένη σε διαφορετικά υποκείμενα, από την έκθεσή της σε χαμηλές θερμοκρασίες, διεξήχθη ένα παρόμοιο με το παρόν πείραμα. Τα δενδρύλλια εκτέθηκαν σε θερμοκρασίες $9^\circ C$, $6^\circ C$, $3^\circ C$, $0^\circ C$, $-3^\circ C$, $-6^\circ C$ και $25^\circ C \pm 2^\circ C$ (τα δενδρύλλια, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες), ενώ τα υποκείμενα, στα οποία ήταν εμβολιασμένα τα δενδρύλλια, ήταν η νεραντζιά, το *Carrizo citrange* και η τρίπτερος πορτοκαλιά. Η έκθεση στις χαμηλές θερμοκρασίες αύξησε τη διαρροή ηλεκτρολυτών (EL) και την αντιοξειδωτική ικανότητα, αυξάνοντας τη δραστηριότητα ενζύμων, όπως της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD), της υπεροξειδάσης του ασκορβικού (APOX) και της καταλάσης (CAT) σε άλλα πειράματα (Tajvar et al., 2011). Αύξηση της διαρροής ηλεκτρολυτών παρατηρήθηκε και σε άλλο πείραμα ψυχρής καταπόνησης, που

πραγματοποιήθηκε σε μανταρίνια ποικιλίας ‘Satsuma’ (Nesbitt et al., 2002), αποτέλεσμα που έρχεται σε αντίθεση με αυτό της παρούσας έρευνας, στην οποία δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στην παράμετρο EL, μεταξύ των ποικιλιών. Τα σημεία διαρροής ηλεκτρολυτών μπορεί να προκύψουν, είτε από περιοχές των μεμβρανών, που παρουσιάζουν διαφορές στη δομή, λόγω των φάσεων μετάβασης (από κρυσταλλική ή υγρή μορφή σε μορφή gel ή στερεή) των λιπιδίων των μεμβρανών, μετά από έκθεση σε χαμηλές θερμοκρασίες, είτε από καταστροφή των μεμβρανών. Η ελάχιστη διακύμανση των τιμών διαρροής, σε συνδυασμό με υψηλές συγκεντρώσεις λιπιδίων, υποδηλώνει αναστρέψιμες ή ασήμαντες βλάβες των μεμβρανών, που οφείλονται σε αλλαγές των βιοφυσικών τους ιδιοτήτων (Campos et al., 2003), γεγονός που θα μπορούσε να δικαιολογήσει την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών στην παράμετρο EL.

- ❖ Αυξημένη βρέθηκε και η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ορθοδιφαινόλες, φλαβανόλες, φλαβονοειδή, φλαβόνες και φλαβονόλες. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με το συμπέρασμα των Chalker-Scott et al. (1989), ότι υπάρχει κάποια σχέση συναγωνισμού μεταξύ της διαρροής ηλεκτρολυτών και των φαινολικών ενώσεων. Ωστόσο, σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε φυτά πετούνιας (*Petunia x hybrida*) και πιπεριάς (*Capsicum annuum* L.), παρατηρήθηκε συσσώρευση φαινολικών ουσιών, η οποία συνοδεύτηκε με αντίστοιχη αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας (Pennycooke et al., 2005; Κορ et al., 2010). Η αύξηση αυτή οφείλεται στη συσσώρευση αρκετών δευτερογενών μεταβολιτών, που περιλαμβάνουν φαινόλες, κατά τη διάρκεια ψυχρής καταπόνησης στα φυτά, με σκοπό την άμβλυνση των συμπτωμάτων που προκύπτουν από αυτήν (Pennycooke et al., 2005). Στο παρόν πείραμα, την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά είχε η ποικιλία ‘Eureka’ στο μάρτυρα, στους -3°C και τους -7°C , ενώ στους -3°C , τόσο η ποικιλία ‘Αδαμοπούλου’ όσο και η ‘Eureka’ είχαν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικές φλαβανόλες. Επιπλέον, στους -5°C η ποικιλία ‘Eureka’ παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές ολικών ορθοδιφαινολών, φλαβανολών, φλαβονοειδών, φλαβονών και φλαβονολών.
- ❖ Παρόμοια με το πείραμα των Tajvar et al. (2011), αυξητική τάση σημειώθηκε στο παρόν πείραμα και στην αντιοξειδωτική ικανότητα, η οποία, όπως προαναφέρθηκε, σχετίζεται θετικά με τη συσσώρευση φαινολικών ουσιών

(Pennycooke et al., 2005; Κορ et al., 2010). Η ποικιλία 'Eureka' είχε τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα στο μάρτυρα, τους -3°C και τους -7°C και στις τρεις μεθόδους υπολογισμού (FRAP, DPPH, ABTS) και στους -5°C με τη μέθοδο της DPPH.

- ❖ Το ασκορβικό οξύ εμπλέκεται στους μηχανισμούς άμυνας των φυτών (Arrigoni et al., 1981; Ioannidi et al., 2009). Επομένως, η συσσώρευση του ασκορβικού οξέος και η έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με αυτό, αποτελούν απόκριση σε διάφορες καταπονήσεις, συμπεριλαμβανομένης της έκθεσης σε χαμηλές θερμοκρασίες (Ioannidi et al., 2009), γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του παρόντος πειράματος, όπου βρέθηκε αυξημένη η συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος στους -5°C και τους -7°C , στην ποικιλία 'Eureka'.
- ❖ Η ελεύθερη προλίνη αυξήθηκε σε φύλλα δένδρων πορτοκαλιάς (*Citrus sinensis* L. Osb. cv. Valencia) και βοτρυόκαρπου (*Citrus paradisi* Macfad cv. Star Ruby), εμβολιασμένα σε ένα ευρύ φάσμα υποκειμένων εσπεριδοειδών, κατά τη διάρκεια ψυχρής καταπόνησης (Yelenosky, 1979). Επιπλέον, στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται πως η προλίνη παίζει προσαρμοστικό ρόλο στη διαμεσολάβηση της οσμωτικής ρύθμισης και στην προστασία των υποκυτταρικών δομών σε καταπονημένα φυτά (Ashraf and Foolad, 2007). Στην παρούσα έρευνα, η υψηλότερη συγκέντρωση προλίνης παρατηρήθηκε στην ποικιλία 'Αδαμοπούλου', σε όλες τις επεμβάσεις που πραγματοποιήθηκαν. Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι οι επεμβάσεις επηρέασαν περισσότερο τις ποικιλίες 'Eureka' και 'Αδαμοπούλου'.
- ❖ Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε, όσον αφορά την εκτίμηση της ζημίας από το ψύχος με τη μέθοδο TTC. Ωστόσο, στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η συγκεκριμένη μέθοδος χαρακτηρίζεται αναποτελεσματική στην εκτίμηση της ζημίας των φύλλων, λόγω της δυσκολίας ερμηνείας της ποικιλότητας των συμπτωμάτων μεταξύ αυτών (Nesbitt, 2002).
- ❖ Τέλος, από την εκτίμηση της ζημίας στα δενδρύλλια με βάση την αναβλάστησή τους, στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στην ποικιλία 'Αδαμοπούλου' στους -7°C . Το γεγονός αυτό αποδεικνύει ότι είναι η πιο ευαίσθητη ποικιλία λεμονιάς, από τις τέσσερις ποικιλίες που ερευνήθηκαν,

καθώς επέδειξε τα μεγαλύτερα προβλήματα αναβλάστησης, μετά την έκθεσή της στη χαμηλότερη θερμοκρασία.

- ❖ Από τα τρία σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν, προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση και η αποτελεσματικότητά τους στην αντοχή των ποικιλιών στο ψύχος, τα σκευάσματα Bluestim και Fitomaat κρίθηκαν ότι έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματα. Συγκεκριμένα για το Fitomaat, αυτό επέδρασε θετικά στο σύνολο των χλωροφυλλών (CHLa, CHLb και ολικές CHLs) στην ποικιλία ‘Meyer’ και στην αντιοξειδωτική ικανότητα της ποικιλίας ‘Αδαμοπούλου’, κατά την εκτίμηση αυτής με τις μεθόδους των FRAP και DPPH, αποτελέσματα που μπορούν να εξηγηθούν από τη σύνθεση του σκευάσματος (Glycine-Betaine 80% w/w, Proline 10% w/w, Antioxidants 0,5% w/w). Η γλυκίνη-βεταΐνη βρίσκεται σε αφθονία στους χλωροπλάστες, όπου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία και ρύθμιση των μεμβρανών των κυττάρων, διατηρώντας τη φωτοσυνθετική ικανότητα των φύλλων (Ashraf and Foolad, 2007). Όσον αφορά την εκτίμηση της ζημίας των δενδρυλλίων με βάση την αναβλάστησή τους, τα σκευάσματα Bluestim και Fitomaat είχαν ως αποτέλεσμα τα λιγότερα συμπτώματα, από την έκθεση των δενδρυλλίων στους -6°C , στην ποικιλία ‘Αδαμοπούλου’, που κρίθηκε και η πιο ευπαθής, ενώ η μεγαλύτερη ζημία σημειώθηκε από την εφαρμογή του Antiheat.

Εν κατακλείδι, η ποικιλία ‘Αδαμοπούλου’ κρίθηκε η πιο ευαίσθητη στο ψύχος, ενώ από τα τρία σκευάσματα που δοκιμάστηκαν ως προς την επίδρασή τους στην αντοχή των ποικιλιών, τα Bluestim και Fitomaat κρίθηκαν αποτελεσματικότερα. Παρότι η εφαρμογή τους δεν επηρέασε πολλές από τις υπό μέτρηση παραμέτρους, τα δύο αυτά σκευάσματα είχαν θετικά αποτελέσματα στην αναβλάστηση των δενδρυλλίων της ‘Αδαμοπούλου’, αφού παρατηρήθηκαν τα λιγότερα συμπτώματα ζημίας από το ψύχος, από την έκθεση αυτών στους -6°C .

Περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη για την καλύτερη κατανόηση της επίδρασης του ψύχους στη φυσιολογία των δένδρων λεμονιάς και, όσο το δυνατόν, τη βελτίωση των υπό καλλιέργεια ποικιλιών. Επιπροσθέτως, η μελέτη της επίδρασης των μεταβολών της θερμοκρασίας στη φυσιολογία και ανάπτυξη των εσπεριδοειδών θα μπορούσε να έχει μεγάλο οικονομικό αντίκτυπο στους εσπεριδοκαλλιεργητές, σε περιοχές καλλιέργειας που πλήττονται συχνά από παγετούς και που εμφανίζουν ασταθείς και χαμηλές θερμοκρασίες κατά τη χειμερινή περίοδο.

Βιβλιογραφία

Ξένη βιβλιογραφία

1. Stewart I. (1961). Nitrogen transformation in citrus trees. *The Soil and Crop Science Society of Florida Proceedings*. 21: 272-282.
2. Steponkus L. Peter and Lanphear F. O. (1967). Refinement of the Triphenyl Tetrazolium Chloride Method of Determining Cold Injury. *Plant Physiology*. 42: 1423-1426.
3. Bates L. S., Waldren R. P. and Teare I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
4. Stefl M., Trcka I. and Vratny P. (1978). Proline biosynthesis in winter plants due to exposure to low temperatures. *Biologia Plantarum*. 20: 119-128.
5. Yelenosky G. (1979). Accumulation of Free Proline in Citrus Leaves during Cold Hardening of Young Trees in Controlled Temperature Regimes. *Plant Physiology*. 64: 425-427.
6. Arrigoni Oreste, Dipierro Silvio and Borraccino Giuseppe (1981). Ascorbate Free Radical Reductase, a Key Enzyme of the Ascorbic Acid System. *FEBS Letters*. 125: 242-244.
7. Klein B. P. and Perry A. K. (1982). Ascorbic Acid and Vitamin A Activity in Selected Vegetables from Different Geographical Areas of the United States. *Journal of Food Science*. 47: 941-945.
8. Syvertsen J. P. and Smith Jr. M. L. (1983). Environmental stress and seasonal changes in proline concentration of citrus tissues and juice. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 108: 861-866.
9. Kushad M. and Yelenosky G. (1987). Evaluation of Polyamine and Proline Levels during Low Temperature Acclimation of Citrus. *Plant Physiology*. 84: 692-695.
10. Mauk C. S., Bausher M. G. and Yelenosky G. (1987). Physiological effects of temperature and growth regulators on foliar chlorophyll, soluble protein and cold hardiness in Citrus. *Plant Growth Regulation*. 5: 141-154.
11. Syvertsen J. P. and Yelenosky G. (1988). Salinity can enhance freeze tolerance of citrus rootstock seedlings by modifying growth, water relations and mineral nutrition. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 113: 889-893.

12. Chalker-Scott L., Fuchigami L. H. and Harber R. M. (1989). Spectrophotometric measurement of leached phenolic compounds as an indicator of freeze damage. *Journal of American Social Horticultural Science*. 114: 315-319.
13. Yelenosky G. and Guy C. L. (1989). Carbohydrate Accumulation in Leaves and Stems of 'Valencia' Orange at Progressively Colder Temperatures. *Botanical Gazette*. 1: 13-17.
14. Eissenstat D. M., Syvertsen J. P., Dean T. J., Yelenosky G. and Johnson J. D. (1991). Sensitivity of frost resistance and growth in citrus and avocado to chronic ozone exposure. *New Phytologist*. 118: 139-146.
15. Okuda T., Matsuda Y., Yamanaka A. and Sagisaka S. (1991). Abrupt Increase in the Level of Hydrogen Peroxide in Leaves of Winter Wheat is Caused by Cold Treatment. *Plant Physiology*. 97: 1265-1267.
16. Baldwin E. A. (1993). Biochemistry of Fruit Ripening. *Springer Netherlands*. ISBN: 978-94-010-1584-1.
17. Yelenosky G., Vu J. C. V. and Wutscher H. K. (1995). Influence of paclobutrazol in the soil on growth, nutrient elements in the leaves and flood/freeze tolerance of Citrus rootstock seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation*. 14: 129-134.
18. Spiegel-Roy Pinhas and Goldschmidt E. Eliezer (1996). Biology of Citrus. *Cambridge University Press*. ISBN: 0-521-33321-0.
19. Re Roberta, Pellegrini Nicoletta, Proteggente Anna, Pannala Ananth, Yang Min and Rice-Evans Catherine (1999). Antioxidant Activity applying an improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26: 1231-1237.
20. Murcia M. A., López-Ayerra B., MartínezTomé M. and García-Carmona F. (2000). Effect of industrial processing on chlorophyll content of broccoli. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80: 1447-1451.
21. Fang Wei-Ching, Wang Jen-Wu, Chi Lin Chuan and Kao Ching Heui (2001). Iron induction of lipid peroxidation and effects on antioxidative enzyme activities in rice leaves. *Plant Growth Regulation*. 35: 75-80.
22. Moore A. Gloria (2001). Oranges and lemons: clues to the taxonomy of Citrus from molecular markers. *TRENDS in Genetics*. 17: 536-540.

23. Roussos P. A. and Pontikis C. A. (2001). Phenolic Compounds in Olive Explants and their Contribution to Browning During the Establishment Stage in vitro. *Gartenbauwissenschaft*. 66: 298-303.
24. Arnous Anis, Makris P. Dimitris and Kefalas Panagiotis (2002). Correlation of Pigment and Flavanol Content with Antioxidant Properties in Selected Aged Regional Wines from Greece. *Journal of Food Composition and Analysis*. 15: 655-665.
25. Kang H. M. and Saltveit M. E. (2002). Effect of chilling on antioxidant enzymes and DPPH-radical scavenging of high- and low-vigour cucumber seedling radicles. *Plant, Cell and Environment*. 25: 1233-1238.
26. Nesbitt M. L., Ebel R. C., Findley D., Wilkins B., Woods F. and Himelrick D. (2002). Assays to Assess Freeze Injury of Satsuma Mandarin. *Horticultural Science*. 37: 871-877.
27. Yu C. W., Murphy T. M., Sung W. W. and Lin C. H. (2002). H₂O₂ treatment induces glutathione accumulation and chilling tolerance in mung bean. *Functional Plant Biology*. 29: 1081-1087.
28. Campos Paula Scotti, Quartin Virginia, Ramalho José Cochicho and Nunes Maria Antonieta (2003). Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. Plants. *Journal of Plant Physiology*. 160: 283-292.
29. Goodrich R. (2003). Citrus fruits: Lemons. *Encyclopedia of Food Science and Nutrition (Second Edition)*. p. 1354-1359.
30. Chaparzadeh Nader, D' Amico Maria Lucia, Khavari-Nejad Ramazan-Ali, Izzo Riccardo and Navari-Izzo Flavia (2004). Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*. 42: 695-701.
31. Popova P. Milena, Bankova S. Vassya, Bogdanov Stefan, Tsvetkova Iva, Naydenski Christo, Marcazzan Gian Luigi and Sabatini Anna-Gloria (2004). Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin. *Apidologie*. 38: 306-311.
32. Pennycooke C. Joyce, Cox Sam and Stushnoff Cecil (2005). Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia x hybrida*). *Environmental and Experimental Botany*. 53: 225-232.

33. Saltveit E. Mikal (2005). Influence of heat shocks on the kinetics of chilling-induced ion leakage from tomato pericarp discs. *Postharvest Biology and Technology*. 36: 87-92.
34. Bamdad Fatemeh, Kadivar Mahdi and Keramat Javad (2006). Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. *International Journal of Food Science and Technology*. 41: 20-27.
35. Ashraf M. and Foolad M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*. 59: 206-216.
36. Beck H. Erwin, Fettig Sebastian, Knake Claudia, Hartig Katja and Bhattarai Tribikram (2007). Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. *Journal of Biosciences*. 32: 501-510.
37. Klimczak Inga, Malecka Maria, Szlachta Mirosława and Gliszczyńska-Świgło Anna (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20: 313-322.
38. Ioannidi Eugenia, Kalamaki S. Mary, Engineer Cawas, Pateraki Irene, Alexandrou Dimitris, Mellidou Ifigeneia, Giovannonni James and Kanellis K. Angelos (2009). Expression profiling of ascorbic acid-related genes during tomato fruit development and ripening and in response to stress conditions. *Journal of Experimental Botany*. 60: 663-678.
39. Wongsheree T., Ketsa S. and van Doornb W. G. (2009). The relationship between chilling injury and membrane damage in lemon basil (*Ocimum x citriodourum*) leaves. *Postharvest Biology and Technology*. 51: 91-96.
40. Koç Esra, İşlek Cemil and Üstün A. Sülün (2010). Effect of Cold on Protein, Proline, Phenolic Compounds and Chlorophyll Content of Two Pepper (*Capsicum annum* L.). *Gazi University Journal of Science*. 23: 1-6.
41. Roussos A. Peter, Denaxa Nikoleta-Kleio, Damvakaris Theodoros, Stournaras Vasileios and Argyrokastritis Ioannis (2010). Effect of alleviating products with different mode of action on physiology and yield of olive under drought. *Scientia Horticulturae*. 125: 700-711.

42. Tajvar Y., Ghazvini R. F., Hamidoghli Y. and Sajedi R. H. (2011). Antioxidant changes of Thomson navel orange (*Citrus sinensis*) on three rootstocks under low temperature stress. *Horticulture, Environment and Biotechnology*. 52: 576-580.
43. Liu YuQiu, Heying Emily and Tanumihardjo A. Sherry (2012). History, Global Distribution and Nutritional Importance of Citrus Fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 11: 530-545.
44. Hasani Z., Pirashti H., Yaghoubian Y. and Nouri M. Z. (2013). Comparative effects of cold air and cold water stress of chlorophyll parameters in rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Farming and Allied Sciences*. 2: 918-921.
45. Mathaba N., Bertling I. and Bower J. P. (2013). Chilling injury in citrus fruit: A Holistic View. *Acta Horticulturae*. 1007: 103-110.
46. Labudda M. (2013). Lipid peroxidation as a biochemical marker for oxidative stress during drought. An effective tool for plant breeding. *Warsaw University of Life Sciences, Poland*.
47. Kenji Miura and Yasuomi Tada (2014). Regulation of water, salinity and cold stress responses by salicylic acid. *Frontiers in Plant Science*. 5: 1-12.
48. Meng Chen, Zhang Song, Deng Yong-Sheng, Wang Guo-Dong and Kong Fan-Ying (2015). Over expression of a tomato flavanone 3-hydroxylase-like protein gene improves chilling tolerance in tobacco. *Plant Physiology and Biochemistry*. 96: 388-400.
49. Manolopoulou E. and Varzakas T. (2016). Effect of Temperature in Color Changes of Green Vegetables. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 1: 10-17.
50. Tian D., Fen L., Jiangang L., Mengli K., Jingfen Y., Xingqian Y. and Hong L. D. (2016). Comparison of different cooling methods for extending shelf life of postharvest broccoli. *International Journal of Agriculture and Biological Engineering*. 9: 178-185.
51. Oustric J., Morillon R., Luro F., Herbette S., Lourkisti R., Giannettini J., Berti L. and Santini J. (2017). Tetraploid Carrizo citrange rootstock (*Citrus sinensis* Osb. × *Poncirus trifoliata* L. Raf.) enhances natural chilling stress tolerance of common Clementine (*Citrus clementina* Hort. ex. Tan). *Journal of Plant Physiology*. 214: 108-115.

52. Liu H., Jiang W., Cao J. and Ma L. (2018). A combination of 1-methylcyclopropene treatment and intermittent warming alleviates chilling injury and affects phenolics and antioxidant activity of peach fruit during storage. *Scientia Horticulturae*. 229: 175-181.
53. Vera-Guzmána A. M., Aispuro-Hernández E., Vargas-Arispuroa I., Osunaa M. I. and Téllez M. A. (2019). Expression of antioxidant-related genes in flavedo of cold-stored grapefruit (*Citrus paradisi* Macfad cv. Rio Red) treated with pectic oligosaccharides. *Scientia Horticulturae*. 243: 274-280.

Ελληνική βιβλιογραφία

1. Ποντίκης Α. Κωνσταντίνος (1997). Γενική Δενδροκομία. *Εκδόσεις Αθανάσιος Σταμούλης*. ISBN: 960-351-145-5.
2. Ποντίκης Α. Κωνσταντίνος (2003). Ειδική Δενδροκομία Τόμος Δ΄ Εσπεριδοειδή. *Εκδόσεις Αθανάσιος Σταμούλης*. ISBN: 960-730-660-0.
3. Βασιλακάκης Μιλτιάδης (2004). Γενική και Ειδική Δενδροκομία. *Εκδόσεις Γαρταγάνη*. ISBN: 960-7013-27-1.

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

4. www.faostat.fao.org
5. www.scholar.google.gr
6. <http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/index.php>