

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΥΠΟΔΟΜΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΟΦΘΑΛΜΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΑΝΘΟΦΟΡΙΑΣ ΣΤΗ ΡΟΔΙΑ – ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΖΩΤΟΥΧΟΥ
ΛΙΠΑΝΣΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΠΟΦΟΡΙΑ ΤΗΣ**



**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Γ. ΜΕΛΕΤΗΣ
ΓΕΩΠΟΝΟΣ MSc**

ΑΘΗΝΑ 2019

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΥΠΟΔΟΜΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΟΦΘΑΛΜΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΑΝΘΟΦΟΡΙΑΣ ΣΤΗ ΡΟΔΙΑ – ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΖΩΤΟΥΧΟΥ
ΛΙΠΑΝΣΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΠΟΦΟΡΙΑ ΤΗΣ**

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Γ. ΜΕΛΕΤΗΣ
ΓΕΩΠΟΝΟΣ MSc

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Επιβλέπων

Βέμμος Σταύρος, Καθηγητής ΓΠΑ

Μέλη

Παπαδάκης Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

Χωριανοπούλου Στυλιανή, Επίκουρος Καθηγήτρια ΓΠΑ

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Ρούσσος Πέτρος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Παπαδάκης Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

Χωριανοπούλου Στυλιανή, Επίκουρος Καθηγήτρια ΓΠΑ

Χατζησαββίδης Χρήστος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΔΠΘ

Ασημακοπούλου Άννα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ

Δρογούδη Παυλίνα, Διευθύντρια Ερευνών Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης και Φυτογενετικών
Πόρων, ΤΦΟΔΝ, ΕΛΓΟ – ΔΗΜΗΤΡΑ

Χατζηδημητρίου Μαριάννα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2019

AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS
SCHOOL OF AGRICULTURAL PRODUCTION, INFRASTRUCTURE AND ENVIRONMENT
DEPARTMENT OF CROP SCIENCE
LABORATORY OF POMOLOGY

**A STUDY OF FLOWER BUD DIFFERENTIATION AND FLOWERING IN
POMEGRANATE – EFFECT OF NITROGEN FERTILIZATION ON
FRUIT PRODUCTION**



DOCTORAL THESIS
KONSTANTINOS G. MELETIS
AGRONOMIST MSc

ATHENS 2019

Ευχαριστίες

Θα ήθελα προσωπικά να ευχαριστήσω για τη πραγματοποίηση της μελέτης αυτής:

Τον κ. Βέμμο Σταύρο, επιβλέποντα καθηγητή της διδακτορικής διατριβής, Καθηγητή Εργαστηρίου Δενδροκομίας, τους επίκουρους καθηγητές και μέλη της Τριμελούς Επιτροπής κ. Παπαδάκη Ιωάννη από το Εργαστήριο Δενδροκομίας και την κα Χωριανοπούλου Στυλιανή από το Εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών για την εμπιστοσύνη, στήριξη, παροχή βοήθειας και τις χρήσιμες συμβουλές κατά τη διεξαγωγή της παρούσας διατριβής.

Τον κ. Φασσέα Κωνσταντίνο, Καθηγητή για τη φιλοξενία του και τη βοήθειά του στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας. Τον κ. Αϊβαλάκι Γεώργιο, Καθηγητή Εργαστηρίου Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών για την υποστήριξη στο προσωπό μου, τη συνεργασία και την πολύτιμη βοήθειά του.

Τον κ. Τσανικλίδη Γεώργιο, ερευνητή Δ' στο Τμήμα Αμπέλου, Λαχανοκομίας, Ανθοκομίας και Φυτοπροστασίας (ΕΛΓΟ – ΔΗΜΗΤΡΑ) για τη βοήθειά του και τη συνεργασία καθώς και για την αμέριστη συμπαράστασή του.

Το υπόλοιπο διδακτικό προσωπικό και τους συναδέλφους μου του Εργαστηρίου Δενδροκομίας, καθώς και τα μέλη της Επταμελούς Επιτροπής τη Διευθύντρια Ερευνών κα Δρογούδη Παυλίνα από το ΤΦΟΔΝ (ΕΛΓΟ – ΔΗΜΗΤΡΑ) και τους αναπληρωτές καθηγητές κα Ασημακοπούλου Άννα από το Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου, κ. Ρούσσο Πέτρο από το Εργαστήριο Δενδροκομίας του ΓΠΑ, την κα Χατζηδημητρίου Μαριάννα από το ΓΠΑ και τον κ. Χατζησαββίδη Χρήστο από το ΔΠΘ.

Επίσης, τους: κ. Μουστάκα, Νικόλαο Καθηγητή, κ. Οιχαλιώτη Κωνσταντίνο, Αναπληρωτή Καθηγητή, κα Ιωάννου Δάφνη, ΕΔΙΠ και τον κ. Δάλλα Στυλιανό για την συμπαράσταση και βοήθειά τους στο Εργαστήριο Εδαφολογίας και Γεωργικής Χημείας, καθώς ήμουν ευπρόσδεκτος για ότι και αν χρειαζόμουν.

Ακόμη, το συνάδελφο κ. Τουτούλη Σταύρο για τη διάθεση του πειραματικού αγρού στο Γεράκι Λακωνίας για τη διεξαγωγή του πειράματος λίπανσης και τη διάθεση των απαραίτητων γεωργικών εφοδίων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου και τον αδερφό μου για την αμέριστη υποστήριξη, υπομονή και συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής των πειραμάτων και εκπόνησης της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Περιεχόμενα	
Περίληψη	12
Abstract.....	15
Εισαγωγή	18
Καταγωγή – Εξάπλωση	19
Περιοχές καλλιέργειας – Προοπτικές εξάπλωσης της καλλιέργειας της ροδιάς	19
Βοτανικά χαρακτηριστικά	22
Εδαφοκλιματικές συνθήκες – Νερό άρδευσης	24
Κριτήρια επιλογής ποικιλίας	26
Παραγωγική ζωή – αποδόσεις	26
Λίπανση	26
Λίπανση νεαρών δένδρων.....	27
Λίπανση παραγωγικών δένδρων.....	27
Ωρίμανση – Κριτήρια συγκομιδής.....	27
Πολλαπλασιασμός	28
Αγενής πολλαπλασιασμός	28
Εγγενής πολλαπλασιασμός	29
Κυριότερα προβλήματα της καλλιέργειας της ροδιάς στην Ελλάδα	30
Κυριότερες καλλιεργούμενες ποικιλίες στην Ελλάδα	33
Βιβλιογραφία	38
Μέρος 1ο: Μελέτη της διαφοροποίησης οφθαλμών και της ανθοφορίας στη ροδιά	41
Κεφάλαιο 1: Μελέτη της διαφοροποίησης οφθαλμών και της ανθοφορίας – καρπόδεσης στη ροδιά.....	42
1. Εισαγωγή	42
1.1 Διαφοροποίηση ανθοφόρων οφθαλμών	42
Η διαφοροποίηση οφθαλμών στα διάφορα καρποφόρα δένδρα.....	45
1.2 Άνθηση – επικονίαση – καρπόδεση στη ροδιά	50

2. Υλικά και μέθοδοι.....	52
2.1 Φυτικό υλικό.....	52
2.2 Προκαταρκτικό πείραμα.....	52
2.2.1 Μονιμοποιητικό διάλυμα FAA.....	53
2.2.2 Μικροτόμηση με κρυοστάτη	53
2.2.3 Παραφίνωση	54
2.2.4 Μικροτόμηση	55
2.2.5 Τομές με ξυράφι	55
2.3 Πείραμα 1	55
2.3.1 Δειγματοληψία οφθαλμών για τη μελέτη της μορφολογίας και έναρξης διαφοροποίησης.....	55
2.3.2 Μελέτη της μορφολογίας ανθέων, προσδιορισμός του ποσοστού γόνιμων ανθέων και της καρπόδεσης	56
2.3.3 Μελέτη της καμπύλης ανάπτυξης των καρπών.....	56
2.4 Πειραματικό σχέδιο και στατιστική επεξεργασία	56
2.5 Πείραμα 2	57
2.5.1 Δειγματοληψία οφθαλμών για τη μελέτη της μορφολογίας και έναρξης διαφοροποίησης.....	57
2.5.2 Μελέτη της μορφολογίας ανθέων, προσδιορισμός του ποσοστού γόνιμων ανθέων και της καρπόδεσης	57
2.5.3 Μελέτη της καμπύλης ανάπτυξης των καρπών.....	58
2.6 Πειραματικό σχέδιο και στατιστική επεξεργασία	58
3. Αποτελέσματα.....	59
Πείραμα 1	59
3.1 Μελέτη της μορφολογίας των οφθαλμών, των σταδίων διαφοροποίησης και εξέλιξης της ανθοφορίας (2015)	59
3.2 Προσδιορισμός του ποσοστού γόνιμων ανθέων και του ποσοστού καρπόδεσης στους τρεις γονότυπους ροδιάς.....	69
Πείραμα 2	70
3.3 Μελέτη της μορφολογίας των οφθαλμών και των σταδίων διαφοροποίησης και εξέλιξης της ανθοφορίας το 2016	70
3.4 Γενικές παρατηρήσεις στον τρόπο καρποφορίας της ροδιάς	86

3.5 Προσδιορισμός του ποσοστού γόνιμων ανθέων σε τρεις γονότυπους ροδιάς	89
3.6 Καμπύλη ανάπτυξης καρπών	91
4. Συζήτηση.....	92
4.1 Διαφοροποίηση οφθαλμών – Ανθοφορία.....	92
4.2 Καρπόδεση - ανάπτυξη καρπών	100
5. Συμπεράσματα.....	102
Βιβλιογραφία	104
Κεφάλαιο 2: Μελέτη των συγκεντρώσεων των σακχάρων, της έκφρασης γονιδίων ανθογένεσης και της δράσης ενζύμων, υπεύθυνων για τη σύνθεση της σακχαρόζης, σε βλαστικά και αναπαραγωγικά όργανα της ροδιάς	
1. Εισαγωγή	113
1.1 Σκοποί της μελέτης.....	116
2. Υλικά και μέθοδοι	117
Πείραμα 3	117
2.1 Φυτικό υλικό και συνθήκες καλλιέργειας	117
2.2 Δειγματοληψία φυτικών ιστών.....	117
2.3 Απομόνωση και καθαρισμός ολικού RNA από τους φυτικούς ιστούς	119
2.4 Έλεγχος της ποιότητας του παραλαμβανόμενου RNA	119
2.5 Υδρόλυση DNA των δειγμάτων	120
2.6 Παρασκευή cDNA.....	120
2.7 Ημιοσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).....	121
2.8 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (qPCR).....	122
2.9 Προσδιορισμός της δραστηριότητας της UGPάσης.....	125
2.10 Προσδιορισμός της δραστηριότητας SPS	125
2.11 Στατιστική ανάλυση	126
2.12 Προσδιορισμός διαλυτών σακχάρων με τη μέθοδο υγρής χρωματογραφίας.....	126
3. Αποτελέσματα.....	127
3.1 Συσσώρευση κύριων σακχάρων σε οφθαλμούς και ωοθήκες των ανθέων	127
3.2 Συσσώρευση μεταγραφημάτων <i>SPS</i> , <i>UGPase</i> και <i>APETALA 2</i>	129

3.3 Ενζυμική δραστηριότητα της SPS και της UGPase σε αναπαραγωγικές και βλαστοφόρες κορυφές, ωοθήκες και ληθαργούντες οφθαλμούς ροδιάς	132
4. Συζήτηση.....	133
5. Συμπεράσματα.....	136
Βιβλιογραφία	138
Μέρος 2^ο: Επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στην ανόργανη θρεπτική κατάσταση και στην καρποφορία δένδρων ροδιάς.....	146
Κεφάλαιο 3.....	147
1. Εισαγωγή	147
1.1 Κατάταξη θρεπτικών στοιχείων στα φυτά – Πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά	147
1.2 Διαγνωστικές μέθοδοι των θρεπτικών αναγκών σε δενδροκαλλιέργειες.....	148
1.3 Μορφές αζώτου στο έδαφος – Κύκλος του αζώτου στο έδαφος	150
1.4 Εδαφικές απώλειες του αζώτου	151
1.5 Ο ρόλος του αζώτου στα οπωροφόρα δένδρα	152
1.6 Η λίπανση της ροδιάς	154
Λίπανση κατά την εγκατάσταση της φυτείας	154
Λίπανση νεαρών δένδρων με άζωτο	154
Λίπανση παραγωγικής φυτείας.....	155
1.7 Λίπανση αζώτου στη ροδιά – Ανασκόπηση βιβλιογραφίας.....	155
Εδαφική εφαρμογή λιπασμάτων στη ροδιά	155
Διαφυλλική εφαρμογή ιχνοστοιχείων στη ροδιά	158
1.8 Σκοποί της μελέτης.....	160
2. Υλικά και μέθοδοι.....	161
2.1 Εισαγωγή	161
2.2 Εδαφική ανάλυση	161
2.2.1 Προσδιορισμός του pH στο έδαφος	162
2.2.2 Προσδιορισμός κοκκομετρικής σύστασης του εδάφους (Μέθοδος Βουγιούκου)	162
2.2.3 Προσδιορισμός της οργανικής ουσίας στο έδαφος κατά «Walkley – Black».....	163
2.2.4 Προσδιορισμός ολικών ανθρακικών αλάτων στο έδαφος (Μέθοδος κατά «Bernard»)	164

2.2.5 Προσδιορισμός της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και ηλεκτρικής αντιστάσεως στο έδαφος.....	164
2.2.6 Προσδιορισμός της ικανότητας ανταλλαγής κατιόντων (ΙΑΚ) στο έδαφος (Μέθοδος οξικού νατρίου)	164
2.2.7 Προσδιορισμός ανταλλάξιμων κατιόντων Na, K, Ca, Mg (Μέθοδος οξικού αμμωνίου)	165
2.2.8 Προσδιορισμός διαθέσιμου εδαφικού φωσφόρου (Μέθοδος «Olsen»)	165
2.2.9 Προσδιορισμός του ολικού αζώτου στο έδαφος (Μέθοδος «Kjeldahl»)	166
2.3 Πείραμα 4	167
2.3.1 Μετρήσεις και βιοχημικές αναλύσεις στους καρπούς.....	167
2.3.2 Μέτρηση διαστάσεων καρπών	169
2.3.3 Μέτρηση βάρους καρπών, φλοιών και δρυπών	169
2.3.4 Μέτρηση της χυμοπεριεκτικότητας των καρπών	169
2.3.5 Μέτρηση του χρώματος φλοιού των καρπών.....	169
2.3.6 Μέτρηση της περιεκτικότητας του χυμού σε διαλυτά στερεά συστατικά.....	170
2.3.7 Μέτρηση του pH του χυμού	170
2.3.8 Μέτρηση της ολικής ογκομετρούμενης οξύτητας.....	170
2.3.9 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών ενώσεων.....	171
2.3.10 Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας	171
2.3.11 Προσδιορισμός ασκορβικού οξέος.....	172
2.3.12 Προσδιορισμός διαλυτών σακχάρων στο χυμό ροδιού με HPLC	173
2.3.13 Προσδιορισμός της καρποφορίας.....	174
2.4 Φυλλοδιαγνωστική	174
2.4.1 Δειγματοληψία φύλλων	174
2.4.2 Χειρισμός δειγμάτων στο εργαστήριο	174
2.4.3 Καύση των δειγμάτων για τον προσδιορισμό των περισσότερων θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα (εκτός N και B).....	175
2.4.4 Προσδιορισμός Καλίου και Νατρίου στα φύλλα	175
2.4.5 Προσδιορισμός Ca, Mg και ιχνοστοιχείων (Mn, Fe, Zn, Cu) στα φύλλα	175
2.4.6 Προσδιορισμός φωσφόρου στα φύλλα.....	175
2.4.7 Προσδιορισμός N με τη μέθοδο Kjeldahl στα φύλλα	176
2.4.8 Προσδιορισμός βορίου στα φύλλα	177

2.5 Πειραματικό σχέδιο και στατιστική ανάλυση	178
2.6 Πείραμα 5	178
2.6.1 Υλικά και μέθοδοι	178
2.6.2 Δειγματοληψία φύλλων και καρπών	179
2.7. Πειραματικό σχέδιο και στατιστική ανάλυση	179
3. Αποτελέσματα.....	180
3.1 Αποτελέσματα εδαφικής ανάλυσης.....	180
Πείραμα 4	181
3.2 Συγκεντρώσεις μακροστοιχείων στα φύλλα (έτος 2014)	181
3.3 Συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων στα φύλλα (έτος 2014).....	183
Σύγκριση των τιμών των θρεπτικών στοιχείων στις δύο ημερομηνίες συλλογής το 2014 ανεξάρτητα από την επέμβαση	184
3.4 Χαρακτηριστικά καρπών.....	185
3.5 Αποτελέσματα συσχετίσεων μεταξύ των διαφόρων παραμέτρων το 2014.....	191
3.6 Πείραμα 5	194
3.6.1 Συγκεντρώσεις μακροστοιχείων στα φύλλα (έτος 2015)	194
3.6.2 Συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων στα φύλλα (έτος 2015).....	195
3.6.3 Χαρακτηριστικά καρπών.....	196
3.6.4 Αποτελέσματα συσχετίσεων μεταξύ των διαφόρων παραμέτρων το 2015.....	201
4. Συζήτηση.....	204
4.1 Εδαφική ανάλυση	204
4.2 Επίδραση της λίπανσης αζώτου στη συγκέντρωση των θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα της ροδιάς	205
4.3 Επίδραση του αζώτου στην παραγωγή και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών.	211
5. Συμπεράσματα.....	219
Βιβλιογραφία	221
Κατάλογος Εικόνων	231
Κατάλογος Διαγραμμάτων	234
Κατάλογος Πινάκων	237

Περίληψη

Η καλλιέργεια της ροδιάς είναι ανερχόμενη στην Ελλάδα, αφού η καλλιεργούμενη έκταση πολλαπλασιάστηκε από το 2005 και μετά. Σε αυτό συνέβαλε σημαντικά η έρευνα που ανέδειξε τις ευεργετικές ιδιότητες του ροδιού στην ανθρώπινη υγεία και αύξησε το ενδιαφέρον των καταναλωτών. Με την αύξηση και εντατικοποίηση της καλλιέργειας όμως, αναδείχθηκαν πολλά και σημαντικά προβλήματα. Τα κυριότερα από αυτά ήταν η έλλειψη φυτωριακού υλικού, η επιλογή της κατάλληλης ποικιλίας, η φυτοπροστασία, η εμπορία, η θρέψη-λίπανση, τα προβλήματα καρπόδεσης και η έλλειψη βασικών γνώσεων όπως αυτό της διαφοροποίησης ανθοφόρων οφθαλμών και του τρόπου καρποφορίας.

Για τους λόγους αυτούς στο πρώτο μέρος της παρούσας διατριβής μελετήθηκε ο χρόνος έναρξης της διαφοροποίησης οφθαλμών στη ροδιά, τα διάφορα στάδια διαφοροποίησης και ανθοφορίας, η γονιμότητα των ανθέων, τα ποσοστά καρπόδεσης και η παραγωγικότητα σε δύο ποικιλίες, τη *Wonderful* και την *Acco* και στο γονότυπο *Περσεφόνη*. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο δενδροκομείο του ΓΠΑ σε δύο συνεχόμενα χρόνια (2015 και 2016). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όλοι οι οφθαλμοί στο στάδιο του ληθάργου είχαν βλαστικές μόνο καταβολές παρά τις μικρές διαφορές που παρατηρήθηκαν σε σχήμα και μέγεθος που όμως δεν είναι πάντα ορατές με γυμνό οφθαλμό. Η βλάστηση προηγήθηκε αρκετά της ανθοφορίας. Η έναρξη της διαφοροποίησης ανθοφόρων οφθαλμών συμπίπτει με το φούσκωμα και την έναρξη έκπτυξης αυτών και ολοκληρώνεται στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των ανθοφόρων οφθαλμών.

Η διαφοροποίηση όμως συνεχίζεται και κατά τη διάρκεια της βλάστησης σε βραχεία ή μεγάλου μήκους τρέχουσα βλάστηση που συμβαίνει πολύ αργότερα και αφού η βλάστηση πάρει ένα μέγιστο μήκος. Η μελέτη έδειξε ότι υπάρχουν 7 διακριτά στάδια διαφοροποίησης – ανθοφορίας, από την εμφάνιση των πρώτων ανθικών καταβολών (σεπάλων) μέχρι την καρπόδεση. Τα στάδια διακρίθηκαν ανάλογα με την εμφάνιση των διαφόρων ανθικών μερών και τις αλλαγές σε χρώμα και μέγεθος αυτών. Ο χρόνος και τρόπος διαφοροποίησης διαφέρει από τα περισσότερα φυλλοβόλα και αειθαλή καρποφόρα δένδρα, αφού συμπληρώνεται σε μία βλαστική περίοδο. Τα άνθη και οι καρποί προέρχονται είτε από λογχοειδή που βρίσκονται σε βλαστούς δύο ετών ή μεγαλύτερης ηλικίας, είτε από βλαστούς ενός έτους πλάγιους ή επάκριους. Τα άνθη φέρονται σε πολύ μικρό βλαστό με λίγα φύλλα ή χωρίς φύλλα που βρίσκονται πάνω σε λογχοειδή ή στην κορυφή βλάστησης (μικρής ή μεγάλης) που προέρχεται από οφθαλμούς που βρίσκονται στα

πλάγια βλάστησης ηλικίας 1 έτους. Δύο τύποι ανθέων βρέθηκαν και στους τρεις γονότυπους που μελετήθηκαν, τα ερμαφρόδιτα - γόνιμα (μακρόστυλα) και τα άγονα (βραχύστυλα). Η έναρξη της ανθοφορίας προηγείται στα λογχοειδή και στους μικρούς βλαστούς που προέρχονται από οφθαλμούς στα πλάγια βλαστών 1 έτους και ακολουθεί αυτή στους μεγάλους βλαστούς της τρέχουσας βλάστησης. Η διάρκεια της ανθοφορίας από την εμφάνιση των πρώτων καταβολών ανθέων (σεπάλων) μέχρι την πλήρη άνθηση ήταν περίπου ένας μήνας. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών γονοτύπων στο χρόνο έναρξης της βλάστησης και της ανθοφορίας ούτε στη διαδικασία διαφοροποίησης. Το ποσοστό των γόνιμων ανθέων και της καρπόδεσης διέφερε σημαντικά μεταξύ των τριών γονοτύπων με την *Περσεφόνη* να υστερεί σημαντικά έναντι των δύο ποικιλιών. Τα ποσοστά γόνιμων ανθέων και καρπόδεσης διέφεραν μεταξύ των δύο χρόνων της μελέτης και μάλιστα εντός της ίδιας ποικιλίας. Η καμπύλη ανάπτυξης των καρπών ακολουθεί την απλή σιγμοειδή καμπύλη με τάση γραμμικής ανάπτυξης και με μικρές διαφορές μεταξύ των τριών γονοτύπων.

Στο δεύτερο κεφάλαιο μελετήθηκε η δραστικότητα των SPS (sucrose phosphate synthase) και UGPase (UDP-glucose pyrophosphorylase) που είναι ένζυμα κλειδιά για τη σύνθεση της σακχαρόζης, οι συγκεντρώσεις των κυριότερων διαλυτών σακχάρων και η έκφραση μεταγραφικού γονιδίου *APETALA 2*, που έχει βρεθεί ότι είναι υπεύθυνο για την ανθική επαγωγή σε ορισμένα είδη φυτών. Η μελέτη έγινε σε δένδρα του γονότυπου *Περσεφόνη* που βρίσκονται στο δενδροκομείο του ΓΠΑ το 2016. Οι μετρήσεις έγιναν σε βλαστοφόρες (VA) και αναπαραγωγικές (RA) κορυφές, στις ωοθήκες (OV) αγονιμοποιητών-κλειστών ανθέων, καθώς και σε ληθαργούντες οφθαλμούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ληθαργούντες οφθαλμοί είχαν πολύ υψηλότερη συγκέντρωση μετακινούμενων σακχάρων και κύρια της μαννιτόλης αλλά μικρότερες συγκεντρώσεις μη μετακινούμενων σακχάρων σε σχέση με τα υπόλοιπα όργανα της ροδιάς. Η πολύ αυξημένη συγκέντρωση μαννιτόλης στους ληθαργούντες οφθαλμούς δείχνει ότι το κύριο αποθησαυριστικό σάκχαρο στους οφθαλμούς της ροδιάς είναι η μαννιτόλη. Οι βλαστοφόρες κορυφές έδειξαν υψηλότερη δραστικότητα των SPS και UGPase από ότι η ωοθήκη και οι αναπαραγωγικές κορυφές. Οι ληθαργούντες οφθαλμοί εμφάνισαν πολύ μικρότερη δραστικότητα της UGPase από τους υπόλοιπους ιστούς που μελετήθηκαν, αντίθετα οι τιμές της SPS ήταν ελαφρώς μικρότερες.

Το γονίδιο *APETALA 2*, η έκφραση του οποίου βρέθηκε αυξημένη στις αναπαραγωγικές κορυφές και τις μη γονιμοποιημένες ωοθήκες, δείχνει την πιθανή εμπλοκή του στα στάδια μετάβασης από τη βλαστική στην αναπαραγωγική φάση της ροδιάς (στάδια έναρξης και διαφοροποίησης). Αντίθετα, η μηδενική έκφρασή του στους ληθαργούντες οφθαλμούς δημιουργεί το ερώτημα για το αν στο στάδιο αυτό έχει πραγματοποιηθεί η ανθική επαγωγή (flower induction) στους οφθαλμούς της ροδιάς. Μελλοντική έρευνα στηριζόμενη στην έκφραση του γονιδίου *APETALA 2* ή και άλλων ανθογόνων γονιδίων μπορεί να προσδιορίσει το χρόνο ανθικής επαγωγής στη ροδιά.

Το άζωτο αποτελεί συστατικό των πρωτεϊνών, των αμινοξέων, των νουκλεϊκών οξέων, των ενζύμων και κατά συνέπεια είναι το κύριο στοιχείο των ζωντανών κυττάρων, αυξάνει την παραγωγικότητα των φυτών και βελτιστοποιεί την ποιότητα των προϊόντων που παράγονται από τα φυτά. Για τους λόγους αυτούς μελετήθηκε στο δεύτερο μέρος η επίδραση διαφόρων δόσεων αζωτούχου λίπανσης στα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών και στη θρεπτική κατάσταση της ροδιάς ποικιλίας *Wonderful*. Τα πειράματα έλαβαν χώρα σε εμπορικό οπωρώνα στο Γεράκι Λακωνίας για δύο συνεχόμενα έτη (2014 και 2015). Δοκιμάστηκαν οι πιο κάτω έξι επεμβάσεις αζώτου: Μάρτυρας (84g N/φυτό), +50 g/φυτό, +100 g/φυτό, +200 g/φυτό, +300 g/φυτό και +500 g/φυτό. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπήρξε σημαντική επίδραση των διαφορετικών δόσεων αζώτου στις συγκεντρώσεις του αζώτου και των υπόλοιπων θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα της ροδιάς. Οι διαφορετικές δόσεις αζώτου επηρέασαν ορισμένα μόνο από τα χαρακτηριστικά των καρπών. Το 2014, η υψηλότερη επέμβαση με άζωτο (+500 g/φυτό), αύξησε την παραγωγικότητα, το βάρος των καρπών και των καρπιδίων και τη χυμοπεριεκτικότητα, συγκρινόμενη με τις χαμηλότερες επεμβάσεις αζώτου. Η επίδραση αυτή όμως δεν διατηρήθηκε το 2015. Δεν υπήρξε σημαντική επίδραση του αζώτου στα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά, στο pH, την ολική οξύτητα, τις ολικές φαινολικές ενώσεις, την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα, το ασκορβικό οξύ και τα ολικά και μεμονωμένα σάκχαρα για κανένα από τα δύο έτη.

Λέξεις – κλειδιά: Ρόδια, διαφοροποίηση οφθαλμών, άνθηση, καρπόδεση, σάκχαρα, ένζυμο SPS, ένζυμο UGPase, *APETALA2*, *SPS1*, *SPS2*, άζωτο, θρέψη, θρεπτικά στοιχεία, παραγωγικότητα, ποιότητα καρπών.

Abstract

The cultivation of the pomegranate has steadily been increasing in Greece since 2005. Research has greatly contributed to highlighting the benefits of the pomegranate in human health and increased consumer interest. However, many problems have emerged from increased and intensified cultivation. The main such problems are the lack of planting material, the choice of appropriate variety, plant protection, marketing, nutrition-fertilization, fruit growing problems and a lack of basic knowledge such as flower bud differentiation and fruiting.

For these reasons, the first part of this thesis studied the timing of flower bud initiation, the various stages of differentiation and flowering, flower fertility, the percentage of fruit setting and productivity in two pomegranate varieties: Wonderful and Acco, and the Persephone clone. The experiments were carried out at the AUA orchard in two consecutive years (2015 and 2016). The results showed that all dormant buds had only primordial vegetative tissue, despite small differences in shape and size which were not always visible to the naked eye. Vegetative growth of shoots markedly preceded flowering. Flower bud initiation coincided with bud swelling and breaking, and was complete in the early stages of growth of flowering buds. However, flower bud initiation and differentiation continued during shoot development and more flowers appeared on the current shoots (short or long ones). The study showed there to be seven distinct stages of differentiation–flowering, from the appearance of the first flowering primordial sepals to fruit setting. The stages were distinguished according to the appearance of different floral parts and changes in their color and size. The timing and mode of differentiation was found to differ from those of most deciduous and evergreen fruit trees, since it is completed in one growth season (period). Flowers were borne on very small stems with few leaves or without leaves, mainly on spur shoots or on top of small current shoots derived from lateral buds on one-year-old shoots or on the top of long current shoots. Two types of flowers were found: Hermaphrodite, which are fertile (long-styled); and male unfertile (short-styled). The onset of flowering on spur shoots preceded that on long current shoots. The flowering period from the appearance of the first floral primordia to full bloom was about 1 month. No significant differences were found between Wonderful, Acco and Persephone in the onset of vegetative growth, flowering, and bud differentiation. The percentage of fertile flowers and fruit setting differed significantly between the three, with those for Persephone being significantly lower than the two varieties. The

percentage of fertile flowers and fruit setting differed between the two years of the study and indeed within the same variety. The fruit growth curve followed a simple sigmoidal curve with a linear growth trend and with small differences between the three genotypes.

The second chapter studied the activity of sucrose phosphate synthase (SPS) and UDP-glucose pyrophosphorylase (UGPase), which are key enzymes for sucrose synthesis, concentrations of major soluble sugars, and expression of *APETALA2* transcriptional gene, found to be responsible for floral induction of certain plant species. The study was conducted on the Persephone genotype in 2016, and measurements were made on vegetative and reproductive shoot apices, in ovaries of closed non-pollinated flowers, and in dormant buds. The results showed that dormant buds had a much higher concentration of transported sugars, predominantly mannitol, but lower concentrations of non-transported sugars than the other organs of the pomegranate trees. The very high concentration of mannitol in dormant buds indicates that the main stored sugar in the buds of pomegranate is mannitol. Vegetative shoot apices had higher SPS and UGPase activity than did the ovary and reproductive shoot apices. Dormant buds had much lower UGPase activity than the other studied tissues, but SPS values were slightly lower. *APETALA2* gene expression was found to be elevated in reproductive shoot apices and non-pollinated ovaries, indicating its possible involvement in transition from the vegetative to the reproductive phase of the pomegranate (stages of flower bud initiation and differentiation). Its lack of expression in dormant buds raises the question of whether flower bud induction has actually begun at this stage. Future research based on the expression of *APETALA2* gene and other floral induction genes may define the time of flower bud induction in the pomegranate.

Nitrogen is a component of proteins, amino acids, nucleic acids and enzymes and is therefore the main element of living cells. It increases plant productivity and optimizes the quality of plant products. For these reasons, the effect of different doses of nitrogen fertilization on the quantitative and qualitative characteristics of fruit and on the nutritional status of the pomegranate cv. *Wonderful* was studied in the second part. The experiments were carried out on a commercial orchard in Geraki Lakonia for two consecutive years (2014 and 2015). The following six nitrogen treatments were tested: Control (84 g N/tree), +50 g/tree, +100 g/tree, +200 g/tree, +300 g/tree and +500 g/tree. The results showed that there was no significant effect of the different doses of nitrogen on the nutritional status, nor on nitrogen concentration in

pomegranate leaves. The different doses of nitrogen affected some of the characteristics of the fruit. In 2014, the highest nitrogen dose (+500 g/plant) increased productivity, fruit and aril weight, and juice content compared to lower nitrogen treatments. However, this effect was not maintained in 2015. There was no significant effect of nitrogen on total soluble solids, pH, total acidity, total phenolic compounds, total antioxidant capacity, ascorbic acid, total and individual sugars for either of the two years.

Key – words: Pomegranates, bud differentiation, anthesis, fruit setting, sugars, SPS enzyme, UGPase enzyme, *APETALA2*, *SPS1*, *SPS2*, nitrogen, nutrition, nutrients, productivity, fruit quality.

Εισαγωγή

Η επιστημονική ονομασία της ροδιάς είναι *Punica granatum L.* και ανήκει στην οικογένεια *Punicaceae*. Σύμφωνα με την παράδοση, η επιστημονική ονομασία της ροδιάς προήλθε από την αρχαία φοινικική πόλη Punica που βρίσκονταν στη Βόρεια Αφρική όπου οι ρωμαϊκές λεγεώνες κατά την πορεία τους εναντίον της Καρχηδόνας (3^{ος} αιώνας π.Χ.), όταν εισήλθαν στην πόλη αυτή συνάντησαν ροδιές των οποίων οι καρποί είναι πλούσιοι σε σπέρματα (*granatum*). Αναφορές για τη ροδιά υπάρχουν σε αιγυπτιακούς πάπυρους, στην Παλαιά Διαθήκη με το όνομα *rimmon*, στο Κοράνι, στην ελληνική και ρωμαϊκή ιστορία καθώς και στην ελληνική μυθολογία. Από την ελληνική μυθολογία μέχρι και σήμερα, τα ρόδι ήταν σύμβολο ζωής και γονιμότητας. Στην Ελλάδα, τα ρόδια ήταν γνωστά από την αρχαιότητα, υπάρχουν αναφορές από τον Όμηρο (2 φορές στην Οδύσσεια), από τον Αριστοτέλη και τον Ηρόδοτο. Ο Θεόφραστος (300 π.Χ.) αναφέρει τη ροδιά στην Ελλάδα ως δένδρο ή θάμνο που φέρει πολύτιμους καρπούς (Βασιλακάκης, 2004). Στον Όμηρο, η ροδιά αναφέρεται ως «αγλαόκαρπος», ο δε Αίσωπος την προσωποποιεί, κάνοντας την να μαλώνει με την μηλιά και το βάτο για το ποιο φυτό παράγει τους πιο όμορφους καρπούς (Γάτσιος, 2010). Τα ρόδια θεωρούνταν τροφή των νεκρών, διότι όταν τρέφονταν οι νεκροί με τα ρόδια ξεχνούσαν τον πάνω κόσμο. Επίσης, ο Πλούτωνας λέγεται ότι «κόκκον ροιάς έδωκε φαγείν» στην Περσεφόνη σύμφωνα με τον Ομηρικό «Ύμνον εις Δήμητραν» για να ξεχνά τον επάνω κόσμο (Γάτσιος, 2010). Ευρήματα ροδιών που προέρχονται από την αρχαία Ελλάδα έχουν ανακαλυφθεί στον ανάκτορο της Κνωσού (17^ο αιώνα π.Χ.). Συχνότερες απεικονίσεις ροδιού παρουσιάζονται στη Μυκηναϊκή τέχνη κατά τον 13^ο και 14^ο π.Χ. αιώνα, ενώ γύρω στο 1200 π.Χ. χρονολογούνται σπόροι ροδιάς που βρέθηκαν σε ανασκαφές της Κύπρου και της Τίρυνθας (Αργολίδα) (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Ακόμη, σε ανασκαφές στην αρχαία Κόρινθο ανακαλύφθηκαν τέσσερις καρποί ροδιάς ηλικίας 2500 ετών (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Υπάρχουν αναφορές ότι η ροδιά χρησιμοποιήθηκε ως έμβλημα της στολής διαφόρων στρατών. Το 1925, καθιερώθηκε η φλογοφόρος ροδιά ως έμβλημα του μάχιμου αξιωματικού και ήταν χρυσόπλεκτο στον ελληνικό στρατό και αργυρόπλεκτο στην ελληνική χωροφυλακή (Εγκυκλοπαίδεια Ήλιος, τόμος ΙΣΤ).

Καταγωγή – Εξάπλωση

Η ροδιά προέρχεται από την Περσία σύμφωνα με αναφορές από πολλούς επιστήμονες. Άλλοι θεωρούν ότι κατάγεται από τη Β. Ινδία και εξαπλώθηκε στον υπόλοιπο κόσμο. Είναι ιθαγενές είδος της Δυτικής ή Νότιας Ασίας απ' όπου εισήχθη και καλλιεργείται στις παραμεσόγειες περιοχές. Η καλλιέργεια της ροδιάς απαντάται στην Περσία, στο Αφγανιστάν, στις Ινδίες, στο Τουρκεστάν, στην Υπερκαυκασία, στο Μαρόκο, στη Τυνησία, στην Αίγυπτο, στο Ισραήλ, στην Ισπανία, στην Ιταλία, στην Αλγερία, στην Τουρκία και στην Πορτογαλία. Σε μικρότερο βαθμό καλλιεργείται στη χώρα μας, στη Βουλγαρία και τη Γαλλία και σε άλλες χώρες στους κήπους σπιτιών κ.ά. Η ροδιά καλλιεργείται επίσης στις ΗΠΑ (ερημικές περιοχές της Αριζόνας και της Νότιας Καλιφόρνιας) και στην Αργεντινή.

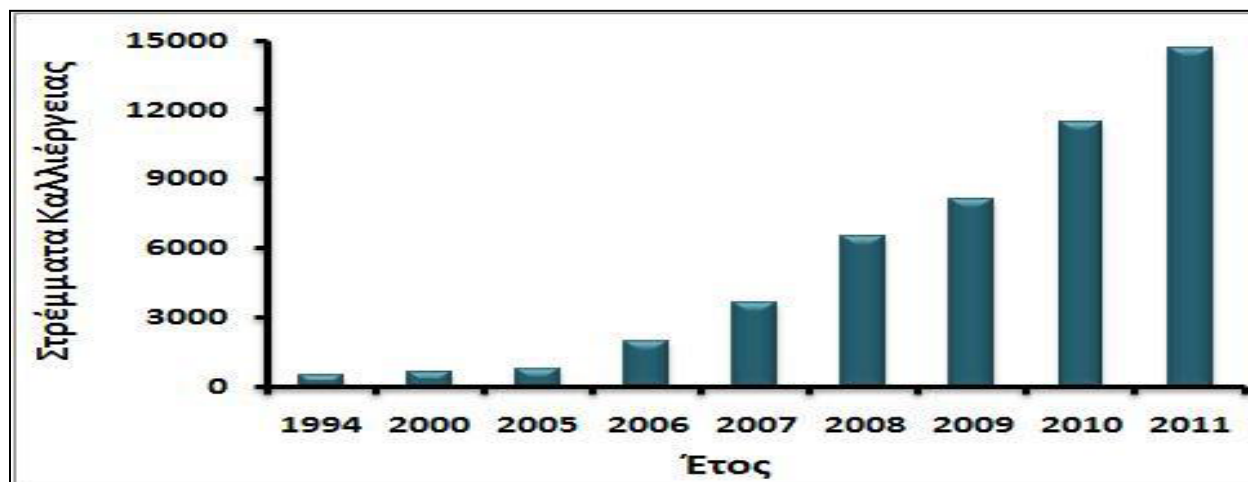
Τα τελευταία χρόνια αναπτύσσεται ραγδαία η καλλιέργεια της ροδιάς στην Ελλάδα και σε άλλες Μεσογειακές χώρες.

Περιοχές καλλιέργειας – Προοπτικές εξάπλωσης της καλλιέργειας της ροδιάς

Στην Αμερική, τα ΜΜΕ συνέβαλαν τα τελευταία χρόνια ώστε το ρόδι να γίνει γνωστό στο ευρύ κοινό λόγω των φαρμακευτικών ιδιοτήτων που παρουσιάζει. Η δημοσιότητα που έλαβε, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση κατανάλωσης χυμού ροδιών, προϊόντων με βάση το ρόδι αλλά και την αύξηση εγκατάστασης οπωρώνων ροδιάς για την κάλυψη της ζήτησης.

Η καλλιέργεια της ροδιάς άρχισε να επεκτείνεται στην Ελλάδα, διότι υπήρχε έλλειψη τόσο στην Ελληνική όσο και στη διεθνή αγορά για να καλυφθούν οι ανάγκες του καταναλωτικού κοινού. Άρχισαν να παρασκευάζονται πολλά προϊόντα όπου χρησιμοποιούνταν το ρόδι, ακόμη έγιναν γνωστές οι ευεγερτικές ιδιότητές του στην ανθρώπινη υγεία. Καινούρια προϊόντα που είχαν ως βάση το ρόδι είναι μαρμελάδες, χυμός συμπυκνωμένος και μη, κατεψυγμένα σπέρματα, σιρόπια και οινόπνευμα από ρόδια. Άλλες χρήσεις του ροδιού είναι η παρασκευή ζελέδων, ηδυπότων, αναψυκτικών, προσθετικά γιαουρτιών και παγωτών. Άλλος ένας σημαντικός παράγοντας για την εξάπλωση και τη συστηματική καλλιέργεια ήταν οι ευνοϊκές εδαφοκλιματικές συνθήκες που επικρατούν στη χώρα μας. Οι κυριότεροι νομοί καλλιέργειας ροδιάς σε εμπορική κλίμακα είναι

αυτοί της Αργολίδας, του Κιλκίς, της Ξάνθης, της Θεσπρωτίας, της Αιτωλοακαρνανίας, της Λάρισας και της Πέλλας. Σε πολλές περιοχές της χώρας, η καλλιέργεια αυξάνεται δυναμικά τα τελευταία χρόνια. Αρχικά, το 10% των δένδρων ήταν σε οπωρώνες και το 90% διάσπαρτο. Το 1994, η καλλιεργούμενη έκταση της ροδιάς ήταν λιγότερο από 1000 στρέμματα, το 2008 ξεπέρασε τα 6000 στρέμματα, το 2011 ήταν περίπου 15000 στρέμματα και σήμερα (2018) εκτιμάται περίπου στα 30000 στρέμματα.



Διάγραμμα 1. Μεταβολή της καλλιεργούμενης έκτασης της ροδιάς. Πηγή: ΥΠΑΑΤ

Οι κυριότερες χώρες που αναπτύσσεται η καλλιέργεια της ροδιάς είναι οι εξής: Ιράν, Τουρκία, Αφγανιστάν, Πακιστάν, Ινδία, Αρμενία, Γεωργία, Τατζικιστάν, Ιορδανία, Αίγυπτος, Ιταλία, Τυνησία, Αζερμπαϊτζάν, Λιβύη, Λίβανος, Ισραήλ, Σουδάν, Μιανμάρ, Μπαγκλαντές, Μαυριτανία, Μαρόκο, Κύπρος, Ισπανία, Ελλάδα, Γαλλία, Κίνα, Ιαπωνία, ΗΠΑ (Γάτσιος, 2010).

Πίνακας 1. Παγκόσμια παραγωγή ροδιών

α/α	Χώρα	Παραγωγή (τόννοι)	Ποσοστό (%)
1	Ινδία	1.200.000	53,33
2	Ιράν	650.000	28,89
3	ΗΠΑ	100.000	4,44
4	Τουρκία	75.000	3,33
5	Ισπανία	60.000	2,67
6	Ισραήλ	20.000	0,89
7	Λοιπές χώρες	145.000	6,44
	Σύνολο	2.250.000	100,00

Πηγή: Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013**Πίνακας 2. Κυριότερες χώρες καλλιέργειας της ροδιάς και η καλλιεργούμενη έκταση τους.**

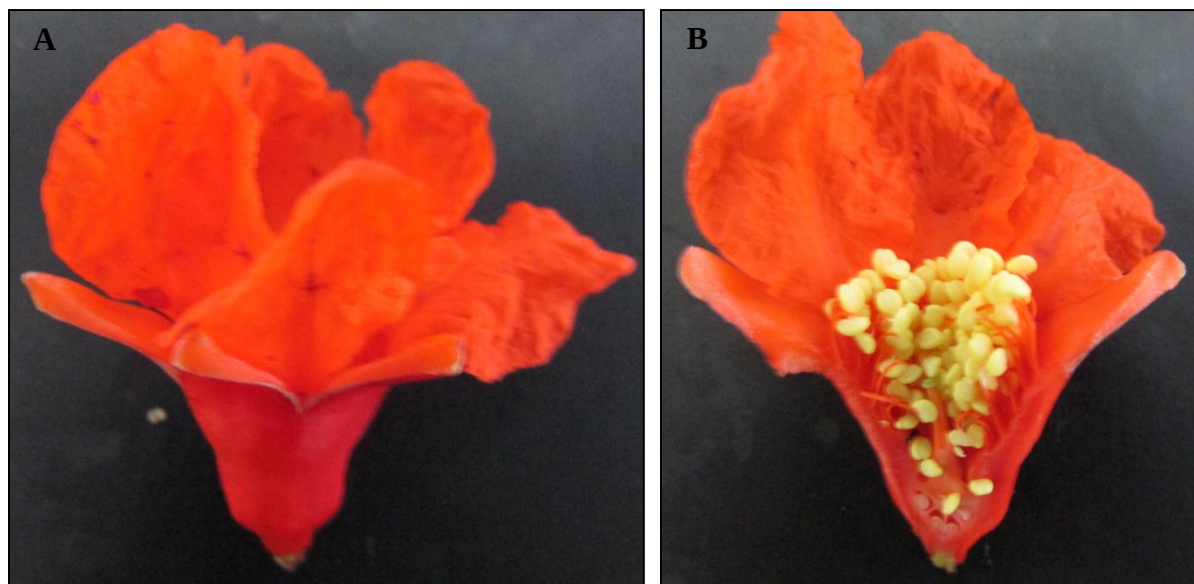
α/α	Χώρα	Έκταση (στρέμματα)
1	Ιράν	637.733
2	Ινδία	547.755
3	ΗΠΑ	140.000
4	Τουρκία	85.000
5	Ισπανία	30.000

Πηγή: Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013

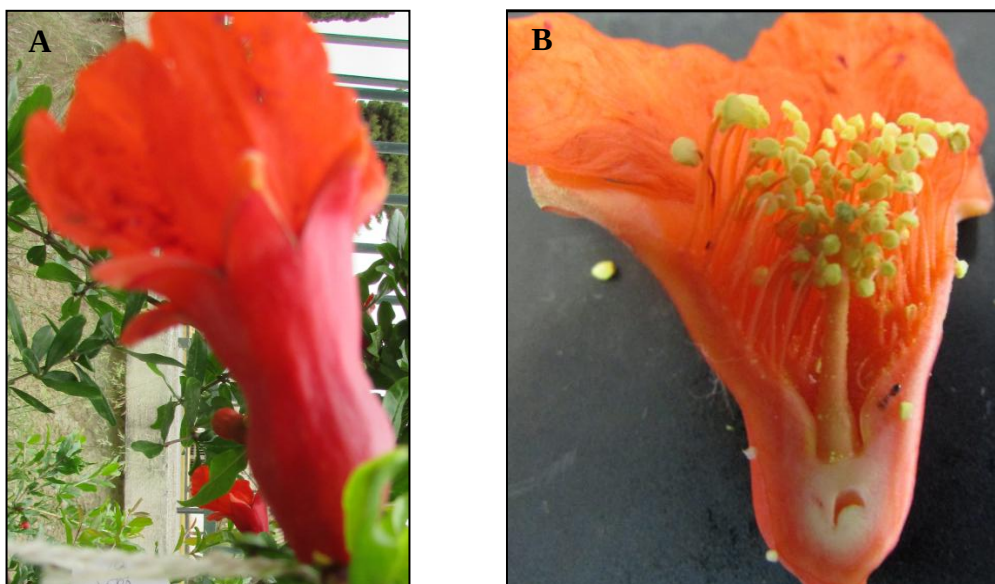
Βοτανικά χαρακτηριστικά

Είναι φυλλοβόλο δένδρο με ύψος 5 – 7 μ. (Holland et al., 2009) ή θάμνος ανάλογα με τις ανάγκες διαμόρφωσης του καλλιεργητή. Στην Ινδία, υπάρχουν ροδιές που είναι αείφυλλες (Levin, 2006; Holland et al., 2009; Babu, 2010). Στην Ελλάδα ήταν γνωστή από τα παλιά χρόνια με τα ονόματα: ρόα, ροιά, σίδη ή σίδα. Ζει μέχρι και 200 χρόνια (Hodgson, 1917) και η παραγωγική της διάρκεια είναι 30 – 50 έτη. Η ρίζα της ροδιάς είναι ισχυρή. Ο κορμός της διακλαδίζεται χαμηλά δημιουργώντας επιμήκεις μεγάλους βλαστούς. Σχηματίζει παραφυάδες, οι οποίες πρέπει να αφαιρούνται. Οι βλαστοί της ροδιάς αρχικά αναπτύσσονται κατακόρυφα, έπειτα αποκτούν κρεμοκλαδή εμφάνιση και καταλήγουν σε αγκάθια. Τα φύλλα είναι μικρά, γυαλιστερά, δερματώδη με λογχοειδές σχήμα και αντίθετη διάταξη, επιμήκη μήκους 2 – 8 cm. Κατά την έκπτυξή τους έχουν κόκκινο χρώμα που εξελίσσεται σε σκούρο πράσινο (Holland et al., 2009). Η διάκριση των οφθαλμών της ροδιάς γίνεται σε ξυλοφόρους και μικτούς οφθαλμούς και φέρονται πλάγια σε βλαστούς ή σε μικρού μήκους όργανα ανά δύο σε κάθε διακλάδωση ή γόνατο (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Η έκπτυξη των ξυλοφόρων οφθαλμών προηγείται των ανθοφόρων και παρατηρείται τους μήνες Μάρτιο με Απρίλιο δίνοντας βλάστηση που φέρει ξυλοφόρους ή μικτούς οφθαλμούς. Οι μικτοί οφθαλμοί εκπτύσσονται τον Απρίλιο - Μάιο, δίνοντας βραχεία βλάστηση με ή χωρίς φύλλα και σχηματισμό ανθέων επάκρια. Η ροδιά έχει άνθη μεγάλα ζωηρά κόκκινου ή πορτοκαλί – κόκκινου και λευκού χρώματος ανάλογα με την ποικιλία. Εκπτύσσονται στις μασχάλες των φύλλων είτε μονήρη είτε σε ομάδες των 3 – 5 ανθέων στις κορυφές των κλαδίσκων (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Έχουν πολύ μικρό ποδίσκο και πολύ σκληρό, σαρκώδη κάλυκα που αποτελείται από 5 – 8 παχιά και σαρκώδη σέπαλα συνενωμένα μεταξύ τους (Γάτσιος, 2010; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Τα άνθη φέρουν μεγάλο αριθμό στημόνων. Το σχήμα των πετάλων είναι στρογγυλό. Ο στύλος είναι μεμονωμένος και στην κορυφή φέρει πεπλατυσμένο στίγμα. Η διάκριση των ανθέων γίνεται με βάση το μήκος του στύλου σε μακρόστυλα και σε βραχύστυλα. Τα μακρόστυλα άνθη είναι ερμαφρόδιτα και γόνιμα και ο στύλος τους βρίσκεται στο ίδιο επίπεδο ή εξέρχεται του ύψους των ανθέρων, είναι κυλινδρικού σχήματος και βρίσκονται σε μεγαλύτερης ηλικίας βλάστησης (βλαστούς παρελθόντος έτους). Τα βραχύστυλα άνθη είναι άγονα και έχουν πολύ βραχύ στύλο και το επίπεδο του στύλου είναι χαμηλότερο από το ύψος των ανθέρων. Συγκριτικά με τα μακρόστυλα έχουν μικρότερο μέγεθος, κωνικό σχήμα με κυλινδροκωνική βάση και

αναπτύσσονται κύρια σε ετήσιους βλαστούς. Μετά την έκπτυξη των φύλλων έπεται η έκπτυξη ανθέων και συμβαίνει την περίοδο Απριλίου – Ιουνίου.



Εικόνα 1. Άγονο άνθος (Α) και τομή άγονου άνθους (Β) ροδιάς.



Εικόνα 2. Γόνιμο άνθος (Α) και τομή γόνιμου άνθους (Β) ροδιάς.

Υπάρχουν αναφορές ότι η διάκριση των ανθέων γίνεται σε 3 τύπους: αρσενικά, ερμαφρόδιτα και ενδιάμεσα (Stover and Mercure, 2007; Holland et al., 2009; Wetzstein et al., 2011; Abubakar et al., 2013). Συνήθως το 60 – 70% του συνολικού αριθμού των ανθέων είναι άγονα (αρσενικά) (Mars, 2000) . Οι περισσότερες ποικιλίες ροδιάς είναι αυτογόνιμες. Ερευνητικά δεδομένα όμως

τα τελευταία χρόνια έδειξαν ότι η σταυρογονιμοποίηση αυξάνει το ποσοστό καρπόδεσης. Τα άνθη της ροδιάς εμφανίζονται σε 2 – 3 κύματα. Το ποσοστό καρπόδεσης είναι μεγαλύτερο σε άνθη που προέρχονται από το πρώτο κύμα ανθοφορίας και παράγονται καλύτερης ποιότητας καρποί. Η επικονίαση των ανθέων πραγματοποιείται κυρίως από τα έντομα και δευτερευόντως σε μικρότερο ποσοστό από τον άνεμο. Ο καρπός είναι το ρόδι και σχηματίζεται επάκρια και κατά μήκος των ετήσιων βλαστών. Το ρόδι χαρακτηρίζεται συγκάρπιο ή σίδιο, είναι σφαιρικού σχήματος ή ελαφρώς πεπλατυσμένο, με διάμετρο 5 – 8 εκατοστά και μέσο βάρος 200 – 400g (Γάτσιος, 2010; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Υπάρχουν και ποικιλίες που το βάρος τους υπερβαίνει τα 500 g. Ο κάλυκας μοιάζει με στέμμα και βρίσκεται απέναντι από το βραχύ ποδίσκο. Το περίβλημα του καρπού είναι σκληρό με δερματώδες περικάρπιο. Το χρώμα του φλοιού των καρπών είναι πράσινο αρχικά πριν την ωρίμανση και αποκτά χρώμα έντονο ερυθρό, κόκκινο με κίτρινο ανάλογα με την ποικιλία κατά την ωρίμανση. Το μεσοκάρπιο αποτελείται από μεμβρανώδη, σπογγώδη ιστό με παχιά λευκοκίτρινα τοιχώματα και χωρίζεται συνήθως σε εννέα χώρους που περικλείουν τα καρπίδια (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Κάθε καρπίδιο αποτελείται από ένα σκληρό πυρήνα που περιβάλλεται από χυμώδη σάρκα λευκοκίτρινου, ρόδινου ή ερυθρού χρώματος, με γλυκιά ή υπόξινη γεύση (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Κάθε καρπός, κατά μέσο όρο, φέρει 660 – 800 καρπίδια (δρύπες) (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013) και συνιστούν το εδώδιμο τμήμα του καρπού. Τα καρπίδια αντιπροσωπεύουν περίπου το 52 % του συνολικού βάρους του καρπού (Βασιλακάκης, 2004). Δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του χρώματος του φλοιού και του χρώματος των δρυπών, το χρώμα τους μπορεί να είναι διαφορετικό ή παρόμοιο επηρεαζόμενο από την ποικιλία (Holland et al., 2009).

Εδαφοκλιματικές συνθήκες – Νερό άρδευσης

Η ροδιά δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις όσον αφορά τον τύπο και τη σύσταση του εδάφους. Καταλληλότερα εδάφη για την ικανοποιητική ανάπτυξη των ροδιών χωρίς προβλήματα είναι τα μέσης σύστασης, βαθιά, καλά στραγγιζόμενα, δηλαδή, αμμοαργιλώδη εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα σε οργανική ουσία, pH 5,5 – 7,0 και διαθεσιμότητα νερού άρδευσης. Η ανθεκτικότητα της ροδιάς στα άλατα μπορεί να συγκριθεί με αυτή της ελιάς, της αμπέλου και της φυσιτικής και είναι υψηλότερη από αυτή των περισσότερων πυρηνοκάρπων και των γιγαρτοκάρπων. Δεν πρέπει να εγκαθίσταται σε εδάφη με ηλεκτρική αγωγιμότητα που ξεπερνά

τα 10 mS/cm. Θετικά αποτελέσματα ως προς την παραγωγικότητα παρουσιάζει η καλλιέργεια της ροδιάς σε ιζηματογενή και πλησίον των ποταμών εδάφη.

Χαρακτηρίζεται ως δένδρο εύκρατων και υποτροπικών περιοχών, με ήπιους χειμώνες και μακρά ξηρά και θερμά καλοκαίρια. Οι ανάγκες της ροδιάς σε ψύχος είναι μικρές για τη διακοπή του ληθάργου των οφθαλμών της παρότι είναι φυλλοβόλο δένδρο. Συγκεκριμένα, χρειάζεται 150 – 200 ώρες $<4,5^{\circ}\text{C}$ και 200 – 700 ώρες $<7^{\circ}\text{C}$ (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Η ροδιά ευρισκόμενη σε λήθαργο κατά τη διάρκεια του χειμώνα παρουσιάζει ανθεκτικότητα μέχρι τους -11°C και ευαισθησία στους φθινοπωρινούς και ανοιξιάτικους παγετούς. Οι ποικιλίες όμως μπορεί να διαφέρουν σημαντικά στην ανθεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες. Τα νεαρά δένδρα είναι πιο ευαίσθητα από τα μεγαλύτερης ηλικίας. Σε ψυχρότερες περιοχές, η ροδιά δεν καρποφορεί εξαιτίας ζημιάς από παγετούς. Σε ξηρό κλίμα, η ροδιά αναπτύσσεται ικανοποιητικά με επάρκεια αρδευτικού νερού. Οι υψηλές θερμοκρασίες το καλοκαίρι προάγουν την ωρίμανση, την άριστη γεύση, τον καλό χρωματισμό και την υψηλή ποιότητα καρπών. Το σχίσσιμο των ροδιών αποτελεί ένα από τα κυριότερα προβλήματα της καλλιέργειας. Τα αίτια του σχισίματος είναι πολλά και περιγράφονται με λεπτομέρεια πιο κάτω.

Οι ανάγκες των ροδιών σε αρδευτικό νερό είναι παρόμοιες με εκείνες των εσπεριδοειδών (Zekri, 2012; Sheets et al., 1994). Οι ανάγκες αυτές μπορεί να καλύπτονται από τις βροχοπτώσεις και από την εφαρμοζόμενη άρδευση. Κρίσιμες περίοδοι για τη διαθεσιμότητα νερού άρδευσης θεωρούνται αυτές της επικονίασης, της γονιμοποίησης των ανθέων και τα πρώτα στάδια μετά την καρπόδεση (Still, 2006). Επίσης, το χρονικό διάστημα στα τελευταία στάδια της ωρίμανσης του καρπού όπου αποκτούν το τελικό τους μέγεθος και αναπτύσσονται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Sheets et al., 1994). Η εναλλαγή άρδευσης με έλλειψη νερού ή μακρές περίοδοι ξηρασίας που έπονται βροχών οδηγούν στο σχίσσιμο των καρπών. Είναι σημαντικό να διατηρείται σταθερή η εδαφική υγρασία για να αποφευχθεί το σχίσσιμο των καρπών. Οι ετήσιες υδατικές ανάγκες της ροδιάς υπολογίζονται σε 1250 – 1500 mm ύψους βροχής. Όταν οι βροχοπτώσεις δεν είναι επαρκείς πρέπει οι οπωρώνες ροδιάς να αρδεύονται κάθε 7 – 10 ημέρες περίπου ή και πιο συχνά ανάλογα με το έδαφος.

Κριτήρια επιλογής ποικιλίας

Τα κριτήρια που πρέπει να ληφθούν υπόψιν για την επιλογή της κατάλληλης ποικιλίας είναι τα εξής:

1. Κατεύθυνση παραγωγής, δηλαδή αν προορίζεται για χυμοποίηση ή για επιτραπέζια χρήση. Συνήθως για χυμοποίηση προτιμώνται γλυκόξινες ποικιλίες, ενώ οι γλυκές για νωπή κατανάλωση.
2. Αντοχή των καρπών σε εχθρούς, ασθένειες και μετασυλλεκτικούς χειρισμούς.
3. Αντοχή σε χειμερινούς και ανοιξιάτικους παγετούς κατά την ανθοφορία και καρπόδεση.
4. Γνώση της αγοράς για την οποία ο παραγωγός είναι διατεθειμένος να διαθέσει το παραγόμενο προϊόν, ώστε να εξασφαλίσει υψηλή εμπορική αξία. Η αγορά απαιτεί συγκεκριμένα χαρακτηριστικά για το μέγεθος των καρπών, το πάχος του φλοιού, τα σάκχαρα, την οξύτητα, το μέγεθος των δρυπών και σπερμάτων καθώς και τον ωραίο χρωματισμό εσωτερικά και εξωτερικά.

Παραγωγική ζωή – αποδόσεις

Η παραγωγική διάρκεια της ροδιάς ξεκινά από το 3^ο έτος και φτάνει μέχρι τα 25 – 30 έτη, οπότε αρχίζει η μείωση της απόδοσης (Θερίος και Δημάση – Θεριού, 2013). Σύμφωνα με το Βασιλακάκη (2004), η παραγωγική ζωή της φυτείας διαρκεί 30 – 50 χρόνια και τα δένδρα ζουν μέχρι 200 – 300 χρόνια (Levin, 2006). Οι αποδόσεις επηρεάζονται από τους εδαφοκλιματικούς παράγοντες και την ηλικία των δένδρων. Ένας οπωρώνας με ροδιές ηλικίας 8 – 10 ετών έχει απόδοση 1,8 – 3 τόννους/στρέμμα εμπορεύσιμους καρπούς, δηλαδή η πλήρης παραγωγή ανά δένδρο ανέρχεται στα 40 – 50 kg (Θερίος και Δημάση – Θεριού, 2013). Αναφέρονται όμως και περιπτώσεις με παραγωγή μέχρι και 4 τόννους/στρέμμα.

Λίπανση

Η λίπανση της ροδιάς διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο για την ανάπτυξη της καλλιέργειας. Η ροδιά έχει ανάγκη από μακροστοιχεία (N, P, K, Ca, Mg) και ιχνοστοιχεία (Mn, Zn, Fe, Cu, B). Το άζωτο είναι σημαντικό θρεπτικό στοιχείο για την καλλιέργεια της ροδιάς και πρέπει να εφαρμόζεται σε λελογισμένα επίπεδα για την αποφυγή διαφόρων προβλημάτων που προκύπτουν από την εφαρμογή περίσσειας συγκέντρωσης αζώτου. Τα προβλήματα που προκύπτουν από το

υπερβολικό άζωτο είναι τα εξής: Αυξημένη βλαστική ανάπτυξη σε βάρος της καρποφορίας και κατά συνέπεια την εμφάνιση καρποπτώσεων, αύξηση λαιμάργων βλαστών, προάγει το σχίσσιμο των καρπών και δημιουργεί αυξημένη ευαισθησία στους παγετούς.

Λίπανση νεαρών δένδρων

Κατά την εγκατάσταση της καλλιέργειας είναι απαραίτητο να γίνει ενσωμάτωση χωνεμένης κοπριάς στο έδαφος σε ποσότητα 1000 – 2000 kg/στρέμμα, 300 g/δένδρο K_2SO_4 και 500 g/δένδρο υπερφωσφορικού λιπάσματος (Βαχαμίδης και Βέμμος, 2009; Γάτσιος, 2010; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Τα νεαρά δένδρα μέχρι το 3^ο – 4^ο έτος λιπαίνονται με 80 – 150 g αζώτου/ δένδρο κάθε έτος σε 3 – 4 δόσεις με την πρώτη στα μέσα της άνοιξης, όταν η βλάστηση έχει αποκτήσει ύψος 15 – 20 εκατοστά (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013).

Λίπανση παραγωγικών δένδρων

Μετά το 4^ο έτος, οι ανάγκες σε λίπανση είναι διαφορετικές και εξαρτώνται από την καρποφορία του προηγούμενου έτους και την ηλικία των δένδρων σε συνδυασμό με τη φυλλοδιαγνωστική. Εφαρμόζονται 200 – 400 g N/δένδρο/έτος, η λίπανση με K και P γίνεται κάθε 2 – 3 έτη, με 150 – 200 g/δένδρο (Δρογούδη κ.ά., 2007; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Στην περίπτωση των σύνθετων λιπασμάτων τύπου 11 – 15 – 15, η ποσότητα που χορηγείται είναι 15 – 60 kg/στρ. Συχνά παρατηρείται έλλειψη ψευδαργύρου, η οποία διορθώνεται με ψεκασμό κατά τη χειμερινή περίοδο ή με διαφυλλικό ψεκασμό (Βασιλακάκης, 2004).

Ωρίμανση – Κριτήρια συγκομιδής

Οι περισσότερες ποικιλίες ροδιών συγκομίζονται τέλη Σεπτεμβρίου με μέσα Οκτωβρίου, όταν έχει πραγματοποιηθεί η ωρίμανση των καρπών και γίνεται με χρήση ειδικών ψαλιδιών ώστε να μην μένουν υπολείμματα και τραυματίζεται ο φλοιός των καρπών. Υπάρχουν όμως και πρώιμες ποικιλίες που ωριμάζουν από τα τέλη Αυγούστου και όψιμες ποικιλίες που ωριμάζουν τέλη Οκτωβρίου-αρχές Νοεμβρίου. Ο χρόνος ωρίμανσης και συγκομιδής επηρεάζεται από την τοποθεσία και τις εδαφοκλιματικές συνθήκες καλλιέργειας. Η συγκομιδή πραγματοποιείται νωρίς το πρωί και αργά το απόγευμα με τη θερμοκρασία περιβάλλοντος να είναι χαμηλή. Η συγκομιδή δεν πρέπει να καθυστερεί χρονικά ώστε να μην αρχίσουν οι βροχές που υποβαθμίζουν την ποιότητα και προκαλούν το σχίσσιμο των καρπών. Η καρπική περίοδος (ανάπτυξη των καρπών) που είναι το διάστημα από την πλήρη άνθηση μέχρι τη συγκομιδή των

καρπών (ωρίμανση) διαρκεί 135 – 165 ημέρες (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Η καρπική περίοδος αποτελεί και ένα κριτήριο συγκομιδής για την κάθε ποικιλία. Άλλο ένα κριτήριο για τη συγκομιδή είναι ο χρωματισμός του φλοιού εξωτερικά, αρχικά τα ρόδια είναι πράσινα πριν την ωρίμανση και αυτό οφείλεται στη χλωροφύλλη, η οποία διασπάται καθώς χρωματίζονται κόκκινα. Πολλές φορές η απόχρωση αυτή είναι μεταλλική, ενώ ταυτόχρονα δίνουν την εντύπωση σκληρού σώματος, όταν πιέζει κανείς τα ρόδια με τα δακτυλά του (Γάτσιος, 2010; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Επίσης προκαλείται ένας μεταλλικός ήχος μετά από ένα ελαφρύ χτύπημα των ώριμων καρπών. Η χρήση του διαθλασίμετρου αποτελεί ένα πρόσθετο κριτήριο για την συγκομιδή καρπών προσδιορίζοντας τα διαλυτά στερεά συστατικά (ΔΣΣ) στο χυμό των ροδιών. Η ποικιλία *Wonderful* για παράδειγμα θεωρείται ώριμη και έτοιμη για συγκομιδή, όταν τα διαλυτά στερεά συστατικά του χυμού φτάσουν στο 15 – 17% (Βασιλακάκης, 2004; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Στο εργαστήριο, γίνεται προσδιορισμός της ολικής οξύτητας (ΟΟ) του χυμού με τιτλοδότηση των ελεύθερων οξέων με NaOH (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Όταν η τιμή της ΟΟ είναι <1%, η ποικιλία κατατάσσεται στις γλυκές, όταν η τιμή της 1 – 2% στις γλυκόξινες και όταν η τιμή είναι >2% στις ξινές ποικιλίες. Η αναλογία ΔΣΣ/ΟΟ αποτελεί επίσης κριτήριο συγκομιδής που θα πρέπει όμως να προσδιοριστεί ξεχωριστά για την κάθε ποικιλία.

Πολλαπλασιασμός

Ο πολλαπλασιασμός της ροδιάς γίνεται αγενώς και εγγενώς. Ο εγγενής πολλαπλασιασμός γίνεται με σπέρματα, αν και δεν προτιμάται διότι τα φυτά που θα προκύψουν είναι ανομοιόμορφα από το μητρικό φυτό, καθυστερούν να ξεπεράσουν το στάδιο της νεανικότητας και εισέρχονται όψιμα σε καρποφορία. Χρησιμοποιείται στη γενετική μηχανική για την ανέρευση γονιδίων αντοχής σε αντίξοες συνθήκες ή εχθρούς του φυτού (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Ο κυριότερος τρόπος πολλαπλασιασμού είναι ο αγενής που γίνεται με μοσχεύματα φυλλοφόρα ή σκληρού ξύλου, ‘*in vitro*’ πολλαπλασιασμό και παραφυάδες. Τα φυτά που προκύπτουν αγενώς παρουσιάζουν ομοιομορφία με το μητρικό φυτό.

Αγενής πολλαπλασιασμός

1. Μοσχεύματα σκληρού ξύλου: Κόβονται βλαστοί διαμέτρου 0.5 cm και μήκους 15 – 20 cm από το άνω τμήμα τους το μήνα Δεκέμβριο. Στρωματώνονται 2 μήνες με προσανατολισμό οριζόντιο ή κατακόρυφο σε σωρούς άμμου με τη βάση προς τα πάνω

για να ευνοηθεί η ριζοβολία. Το Φεβρουάριο γίνεται εγκατάσταση στο φυτώριο, αφού προηγηθεί κατεργασία του εδάφους ή σε υπόστρωμα ριζοβολίας. Σύμφωνα με τους Θεριό και Δημάση – Θεριού, 2013, στα τέλη του χειμώνα (Φεβρουάριο με Μάρτιο) τα μοσχεύματα λαμβάνονται από βλαστούς ηλικίας 1 – 2 ετών, προτού αρχίσουν να κυκλοφορούν οι χυμοί και αμέσως ακολουθεί η διαδικασία της ριζοβολίας χωρίς στρωμάτωση. Η βάση των ξυλοποιημένων μοσχευμάτων εμβαπτίζεται σε διάλυμα ινδολυλοβουτυρικού οξέος (IBA) συγκέντρωσης 2000 ppm, μέχρι του ύψους 1.5 cm από τη βάση. Στη συνέχεια τα μοσχεύματα τοποθετούνται σε ριζωτήριο με χαμηλή θερμοκρασία περιβάλλοντος και θέρμανση του υποστρώματος ριζοβολίας για να προαχθεί η ριζοβολία και όχι η έκπτυξη οφθαλμών. Αφού ριζοβολήσουν, μεταφυτεύονται στο φυτώριο για να διατεθούν μετά από ένα χρόνο στους παραγωγούς.

2. Φυλλοφόρα μοσχεύματα: Οι βλαστοί που προορίζονται για φυλλοφόρα μοσχεύματα έχουν μήκος 15 cm και φέρουν μικρό αριθμό φύλλων και λαμβάνονται από την κορυφή των βλαστών αλλά και γενικότερα από το σύνολο του βλαστού και χαρακτηρίζονται από μια σχετική σκληρότητα. Η βάση του μοσχεύματος εμβαπτίζεται σε ορμόνη ριζοβολίας (IBA 2000 ppm) αφού προηγηθεί η εμβάπτιση ολόκληρου του βλαστού σε μυκητοκτόνο. Το υπόστρωμα που χρησιμοποιείται για τη ριζοβολία είναι μίγμα τύρφης – περλίτη σε αναλογία 1:1. Στη συνέχεια, τοποθετούνται σε πάγκο υδρονέφωσης και θα παραμείνουν για 40 ημέρες περίπου μέχρι να ριζοβολήσουν. Ακολουθεί η σκληραγώγηση των έρριζων μοσχευμάτων με την παραμονή τους στο χώρο της υδρονέφωσης.

Εγγενής πολλαπλασιασμός

Τα σπέρματα που προορίζονται για σπορά λαμβάνονται από πλήρως ώριμους καρπούς. Αφαιρείται η σάρκα που τα περιβάλλει, γίνεται πλύσιμο με απεσταγμένο νερό πολλές φορές και στέγνωμα για μια εβδομάδα στους 20° C. Αποθηκεύονται στους 4° – 6° C. Οι σπόροι για να διακόψουν το λήθαργο, πρέπει να εκτεθούν σε χαμηλές θερμοκρασίες. Γίνεται στρωμάτωση των σπόρων σε υγρό περλίτη και τοποθετούνται σε συνθήκες ψύξης <7° C για ένα μήνα (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Ακόμη, οι σπόροι επεξεργάζονται για 15 δευτερόλεπτα με πυκνό H₂SO₄, ξεπλένονται καλά πολλές φορές και στρωματώνονται για 2 μήνες.

Στα σπορόφυτα γίνεται εμβολιασμός με τις επιθυμητές ποικιλίες διότι φέρουν χαρακτηριστικά που δεν είναι επιθυμητά, όπως έχουν αναφερθεί παραπάνω. Τα σπορόφυτα χρησιμοποιούνται ως υποκείμενα και οι κυριότεροι τρόποι εμβολιασμού είναι οι εξής:

- ❖ Εγκεντρισμοί: Διακρίνονται σε δύο είδη που μπορούν να εφαρμοστούν στη ροδιά και είναι ο σχιστός και ο υπόφλοιος, γίνονται το μήνα Μάρτιο σε μεγάλης διαμέτρου υποκείμενα.
- ❖ Ενοφθαλμισμοί: Ο ασπιδωτός με όρθιο T και ο πλακίτης είναι τα δύο είδη ενοφθαλμισμών που εφαρμόζονται στη ροδιά, τους μήνες Αύγουστο – Σεπτέμβριο.

Κυριότερα προβλήματα της καλλιέργειας της ροδιάς στην Ελλάδα

Τα κυριότερα προβλήματα της καλλιέργειας της ροδιάς είναι:

- ❖ Προβλήματα επικονίασης-καρπόδεσης. Η ροδιά φέρει γόνιμα και άγονα άνθη, αλλά χαρακτηρίζεται από μεγάλο ποσοστό άγονων ανθέων. Οι περισσότερες ποικιλίες της ροδιάς είναι αυτογόνιμες, με τελευταίες έρευνες να δείχνουν ότι υπάρχουν θετικά αποτελέσματα και από τη σταυρογονιμοποίηση. Η σταυρογονιμοποίηση με άνθη άλλης ποικιλίας, οδηγεί σε καλύτερη καρπόδεση και την παραγωγή καλύτερης ποιότητας των καρπών. Το ποσοστό καρπόδεσης με αυτογονιμοποίηση φτάνει μέχρι το 45% (Βασιλακάκης, 2004; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Η μειωμένη καρπόδεση οφείλεται στην αυξημένη υγρασία του εδάφους την περίοδο της άνθησης λόγω υπερβολικής άρδευσης. Η υπερβολική αζωτούχος λίπανση έχει ως αποτέλεσμα την μεγάλη βλαστική ανάπτυξη και ανταγωνίζεται την ανθοφορία με συνέπεια την πτώση των ανθέων. Όταν υπάρχει συνδυασμός των δύο παραπάνω αιτίων, το φαινόμενο της ανθόρροιας είναι εντονότερο. Η έλλειψη αζώτου που οφείλεται σε υπερβολικά ποτίσματα ή υπερβολικές βροχοπτώσεις παρατηρείται κυρίως αν το άζωτο βρίσκεται στο έδαφος σε νιτρική μορφή. Το αυστηρό κλάδεμα έχει ως αποτέλεσμα την ανισορροπία βλάστησης και ανθοφορίας (Γάτσιος, 2010).
- ❖ Η καρπόπτωση σε νεαρής ηλικίας δένδρα είναι έντονη και παρατηρείται μετά από συγκεκριμένες καλλιεργητικές πρακτικές. Οι υπερβολικές αρδεύσεις και η εφαρμογή υπερβολικής αζωτούχου λίπανσης μεμονωμένα ή σε συνδυασμό λόγω του ανταγωνισμού

που αναπτύσσεται μεταξύ της αυξημένης βλάστησης και καρποφορίας οδηγούν σε καρπόπτωση. Η εναλλαγή ξηρασίας με πλούσιες αρδεύσεις ή βροχές οδηγεί σε πτώση των καρπών καθώς και οι προσβολές από έντομα (Θερίος και Δημάση – Θεριού, 2013).

- ❖ Καστανός μεταχρωματισμός του καρπού εμφανίζεται στο φλοιό του, μετά τη συλλογή των καρπών κατά τη συντήρηση σε ακατάλληλες συνθήκες οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα σε ψυκτικούς θαλάμους.
- ❖ Εσωτερικό καφέτιασμα ή κατάρρευση συνοδεύεται από την εμφάνιση νεκρωτικών κηλίδων (βαθουλώματα) και αποχρωματισμός του φλοιού εξωτερικά και εσωτερικά με καφέτιασμα και κιτρίνισμα των σπερμάτων. Τα συμπτώματα οφείλονται στη μεγάλη διάρκεια συντήρησης σε θερμοκρασία χαμηλότερη των 5 – 6°C και τη μεταφορά των καρπών στους 20°C (Δρογούδη κ.ά., 2012).
- ❖ Το σχίσσιμο των καρπών είναι το σημαντικότερο φυσιολογικό πρόβλημα που προκαλεί υποβάθμιση της ποιότητας των καρπών. Τα αίτια που το προκαλούν είναι τα εξής:
 - α) Η άμεση έκθεση των καρπών στην ηλιακή ακτινοβολία προκαλεί σκλήρυνση και νέκρωση τμήματος του φλοιού και οδηγεί σε σχίσσιμο του καρπού. Το πρόβλημα αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί με σκίαση των καρπών με χρήση διχτυών σκίασης ή εφαρμογή καολινίτη.
 - β) Στην τροφοπενία βορίου οφείλεται το σχίσσιμο των νεαρών καρπών. Για να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα αυτό, γίνονται διαφυλλικοί ψεκασμοί με βόριο αφού προηγηθεί φυλλοδιαγνωστική και εντοπιστεί η έλλειψη βορίου.
 - γ) Κάποιες ποικιλίες τείνουν να παρουσιάζουν ευαισθησία και κάποιες άλλες όχι, στο σχίσσιμο των καρπών ανεξάρτητα από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες (Holland et al., 2009).
 - δ) Απότομη εναλλαγή της εδαφικής υγρασίας, μετά από παρατεταμένη ξηρασία ακολουθεί υπερβολική άρδευση ή ισχυρή βροχόπτωση προκαλεί σχίσσιμο των καρπών (Day and Wilkins, 2011). Διατηρώντας σταθερή την εδαφική υγρασία, περιορίζουμε το αίτιο αυτό.
 - ε) Προσβολές από εχθρούς (έντομα, τρωκτικά, πτηνά) και ασθένειες οδηγούν σε σχίσσιμο των καρπών.
 - στ) Όψιμη συγκομιδή καρπών λόγω υπερωρίμανσης οδηγεί σε σχίσσιμο των καρπών.

- ❖ Η σκουριά εμφανίζεται με καφέτιασμα και σκλήρυνση του φλοιού των αναπτυσσόμενων καρπών, τα συμπτώματα αυτά μοιάζουν με προσβολή από ακάρεα. Τα ρόδια είναι ακατάλληλα για πώληση ως νωπό προϊόν (Δρογούδη κά, 2012).
- ❖ Ζημιές από παγετό, όταν επικρατούν χαμηλές θερμοκρασίες εμφανίζεται σχίσσιμο του φλοιού στη νότια πλευρά του κορμού του δένδρου, κοντά στο έδαφος. Θερμοκρασία -11°C κατά τη διάρκεια του ληθάργου το χειμώνα μπορεί να προκαλέσει ζημιά. Τα δένδρα χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη ευπάθεια στον παγετό, την περίοδο πριν το λήθαργο το φθινόπωρο και κατά τη διάρκεια της έκπτυξης οφθαλμών την άνοιξη. Μέθοδοι αντιπαγετικής προστασίας είναι η επιλογή κατάλληλης περιοχής του οπωρώνα, επιλογή ανθεκτικών ποικιλιών σε παγετόπληκτες περιοχές, μειωμένες αζωτούχες λιπάνσεις το φθινόπωρο, ύπαρξη ανεμοφρακτών, εγκατάσταση ανεμομικτών, ασβέστωμα του κορμού για να μειώνεται η διαφορά της θερμοκρασίας μεταξύ ημέρας και νύχτας και οι κοπές ζιζανίων γιατί συμβάλλουν στη μείωση της θερμότητας στο έδαφος.
- ❖ Προβλήματα φυτωριακού υλικού – επιλογή ποικιλίας, τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί η ζήτηση σε πολλαπλασιαστικό υλικό και οι ανάγκες αυτές δεν μπόρεσαν να καλυφθούν από τα φυτώρια. Η έλλειψη πιστοποίησης του φυτωριακού υλικού έχει ως αποτέλεσμα τη διακίνηση και εγκατάσταση διαφόρων ποικιλιών με μη επιθυμητά χαρακτηριστικά στον ίδιο οπωρώνα και την εισαγωγή ξένων ποικιλιών χωρίς να είναι γνωστή η προσαρμοστικότητά τους στο ελληνικό περιβάλλον. Απόρροια των παραπάνω αιτιών είναι υποβάθμισμένη ποιότητα καρπών και μειωμένες αποδόσεις με συνέπεια τη μείωση των εσόδων και τον αποκλεισμό των ελληνικών ροδιών από τις αγορές του εξωτερικού. Ακόμη, ο μικρός αριθμός ελληνικών ποικιλιών κυρίως και η απουσία δεδομένων αξιολόγησης και προσαρμοστικότητας στις ελληνικές περιβαλλοντικές συνθήκες οδήγησε στην εγκατάσταση ακατάλληλων ποικιλιών στους οπωρώνες.
- ❖ Προβλήματα φυτοπροστασίας σχετίζονται με την ύπαρξη και διάδοση αρκετών μυκητολογικών ασθενειών που ευνοούνται σε περιοχές με υψηλή σχετική υγρασία όπως φυτόφθορα, βοτρύτης, αλτερνάρια και άλλες, η εμφάνιση αρκετών εντομολογικών και άλλων ζωϊκών εχθρών όπως μελίγκρα, αλευρώδης, μύγα της Μεσογείου, ψευδόκοκκος, τετράνυχος, κάμπια (σποντόπτερα) κ.ά.
Το κυριότερο όμως πρόβλημα για τους καλλιεργητές ήταν και είναι η έλλειψη εγκεκριμένων φυτοφαρμάκων για την καταπολέμηση των εχθρών και ασθενειών.

- ❖ Προβλήματα εμπορίας αφορούν το κόστος παραγωγής και τις σχετικά χαμηλές τιμές πώλησης. Δυσκολίες στην απορρόφηση της παραγωγής λόγω μη καλής οργάνωσης της τυποποίησης, της συσκευασίας, της διάθεσης και η σχετικά κακή ποιότητα καρπών (π.χ. σχίσσιμο, σκουριές και ηλιοεγκαύματα), περιορίζουν τις εξαγωγές.
- ❖ Προβλήματα που οφείλονται στην έλλειψη τεχνογνωσίας λόγω του περιορισμένου αριθμού επιστημονικών δεδομένων όσον αφορά τις καλλιεργητικές πρακτικές που πρέπει να ακολουθηθούν για την καλλιέργεια της ροδιάς και σχετίζονται με τη λίπανση, την άρδευση, την καταπολέμηση ασθενειών, το κλάδεμα κ.ά.

Κυριότερες καλλιεργούμενες ποικιλίες στην Ελλάδα

Οι σπουδαιότερες ελληνικές ποικιλίες είναι οι εξής:

Ερμιόνη

Είναι αξιόλογη ποικιλία, παραγωγική και μεσοπρώιμη με γλυκιά γεύση, με καρπίδια μεγάλου μεγέθους με έντονο κόκκινο χρώμα και υψηλή περιεκτικότητα χυμού. Ο καρπός έχει μεγάλο μέγεθος, κόκκινο χρώμα και μαλακά σπέρματα. Είναι κατάλληλη για επιτραπέζια χρήση και για χυμοποίηση. Καλλιεργείται από πολύ παλιά στην περιοχή της Ερμιόνης Αργολίδας.



Εικόνα 3. Καρποί ποικιλίας *Ερμιόνης*.

Γονότυπος *Περσεφόνη*

Ο γονότυπος αυτός είναι μεσοπρώιμης ωρίμανσης με γλυκιά γεύση, έχει μέσο έως μεγάλο βάρος καρπών και υψηλή περιεκτικότητα σε χυμό. Προέρχεται από την ποικιλία *Ερμιόνη*. Έχει πολύ καλή εμφάνιση και συμμετρική διάταξη καρπιδίων. Κατάλληλη για επιτραπέζια χρήση και για χυμοποίηση.



Εικόνα 4. Καρποί γονότυπου *Περσεφόνης*.

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται οι παρακάτω ποικιλίες, χωρίς να είναι γνωστό αν είναι διαθέσιμες από τους φυτωριούχους:

Γλυκιά Πατρών

Είναι ποικιλία με μεγάλο καρπό και μικρά καρπίδια. Ο φλοιός των καρπών είναι χρωματιστός και τα ρόδια ωριμάζουν τον Αύγουστο – Σεπτέμβριο.

Τανάγρας

Πολύ παραγωγική ποικιλία με μεγάλους καρπούς με χονδρό φλοιό κόκκινου χρώματος και ερυθρά καρπίδια. Η ωρίμανση των καρπών γίνεται τον μήνα Οκτώβριο.

Πολίτικη

Οι καρποί έχουν μέσο βάρος 500 – 600 γρ. Ο φλοιός είναι λεπτός και γίνεται ξανθοκίτρινος, τα καρπίδια είναι μετρίου μεγέθους και κόκκινου χρώματος. Έχει μικρή συντηρησιμότητα και είναι εκλεκτή ποικιλία.

Καράβελος

Έχει γλυκιά γεύση και μικρά σπέρματα. Οι καρποί της είναι μεγάλου μεγέθους με πρασινωποί ως ρόδινοι. Τα καρπίδια έχουν σκούρο κόκκινο χρώμα. Θεωρείται εκλεκτή ποικιλία.

Χίου

Οι καρποί είναι χρωματιστοί μεγάλου μεγέθους. Οι δρύπες είναι ερυθρού χρώματος και χυμώδεις, μικρού μεγέθους. Ωριμάζει τον μήνα Οκτώβριο.

Ανδρομάχη

Επιλογή του Ινστιτούτου Φυλλοβόλων Δένδρων Νάουσας (ΙΦΔΝ). Προτείνεται για δοκιμαστικές φυτεύσεις. Είναι γλυκιά ποικιλία, έχει μεγάλο μέγεθος καρπού με καλό επίχρωμα στο φλοιό. Οι σπόροι είναι σχετικά σκληροί (ημίσκληροι) με έντονο κόκκινο χρώμα. Ο χυμός είναι γλυκός, με μεγάλη συγκέντρωση ανθοκυανών και υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα. Παρουσιάζει μεγάλη αντοχή στο σχίσσιμο των καρπών.

Καλλίστη

Επιλογή του Ινστιτούτου Φυλλοβόλων Δένδρων Νάουσας (ΙΦΔΝ) και βρέθηκε στην Ίμβρο. Είναι γλυκιά ποικιλία. Έχει παρόμοια χαρακτηριστικά με την Ισπανική ποικιλία *‘Mollar de Elche’*. Έχει μέτριο έως μεγάλο μέγεθος καρπού (352 γραμμάρια περίπου, μέσο βάρος), τα καρπίδια έχουν ροζ-κόκκινο χρώμα. Θετικό χαρακτηριστικό της ποικιλίας αυτής είναι η ύπαρξη μαλακού σπέρματος, ενώ στα αρνητικά η χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα και το ροζ χρώμα των καρπιδίων.

Στην Ελλάδα δεν υπάρχουν καθορισμένες και μελετημένες καθαρές ποικιλίες ροδιάς και αυτές που έχουν αναφερθεί παραπάνω είναι πληθυσμοί ή γονότυποι (Βαχαμίδης και Βέμμος, 2009; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Εξαίρεση αποτελούν οι ποικιλίες *Ανδρομάχη* και *Καλλίστη* που μελετήθηκαν στο ΙΦΔΝ, αλλά δεν φυτεύτηκαν σε εμπορικούς οπωρώνες αν και ζήτησαν και προμηθεύτηκαν πολλαπλασιαστικό υλικό αρκετοί παραγωγοί. Ο λόγος είναι ότι οι παραπάνω επιλογές υστερούν εξωτερικά και δεν παρουσιάζουν το αψεγάδιαστο χρώμα που επιθυμεί ο καταναλωτής.

Γονότυπος 11010

Μικρό μέγεθος καρπών με εντυπωσιακό κόκκινο χρώμα και μέσης σκληρότητας σπέρματα. Παρουσιάζει ως δένδρο, αντοχή στον παγετό. Έχει μελετηθεί στο ΙΦΔΝ.

Γονότυπος 11006

Έχει μεγάλο μέγεθος καρπού, κίτρινου χρώματος. Είναι ξινός γενότυπος με μέσης σκληρότητας σπέρματα. Έχει μελετηθεί στο ΙΦΔΝ.

Οι κυριότερες ξένες ποικιλίες που καλλιεργούνται στην Ελλάδα περιγράφονται πιο κάτω.

Wonderful

Προήλθε από τη Φλόριντα των ΗΠΑ (1896). Έχει πορτοκαλοκόκκινα άνθη, μεγάλου μεγέθους καρπούς πεπλατυσμένους με ερυθρό ως βαθύ ιώδες χρωματισμό (Larue, 1980; Heflebower and Morris, 2013). Τα καρπίδια έχουν έντονο κόκκινο χρώμα και μέσης σκληρότητας σπέρματα. Ο φλοιός είναι μέσου πάχους και ο κάλυκας είναι μέσου μήκους (Hodgson, 1917). Ωριμάζει Σεπτέμβριο με Οκτώβριο (όψιμη ποικιλία). Προσαρμόζεται σε διάφορες εδαφοκλιματικές συνθήκες και είναι κατάλληλη για χυμοποίηση (Stover and Mercure, 2007). Έχει γλυκόξινη έως ξινή γεύση. Ο καρπός της αμερικάνικης *Wonderful* είναι σκληρότερος και τείνει να πραγματοποιείται σε μικρότερο βαθμό η μηχανική εξαγωγή των καρπιδίων σε σχέση με αυτούς που καλλιεργούνται στα ισραηλινά αγροκτήματα, με τις διαφορές αυτές να οφείλονται στις διακυμάνσεις των καλλιεργητικών συνθηκών (Holland et al., 2009).



Εικόνα 5. Καρποί ποικιλίας *Wonderful*.

Granada

Νεότερη ποικιλία, κατάγεται από τη Καλιφόρνια (1966), προέκυψε από τη μεταλλαγή οφθαλμού της *Wonderful* αλλά ωριμάζει ένα μήνα νωρίτερα από τη *Wonderful* (υπό δοκιμή στην Ελλάδα).

Καλύτερη μετασυλλεκτική συμπεριφορά σε σύγκριση με τη *Wonderful*. Το δένδρο είναι πανομοιότυπο με αυτό της *Wonderful* (Heflebower and Morris, 2013).

Acco

Κατάγεται από το Ισραήλ και αποτελεί την κυριότερη πρώιμη ποικιλία που εξάγεται από τη χώρα αυτή. Γλυκιά έως ημίγλυκη, μικρό έως μέσο μέγεθος καρπού (300 – 400g), καρπίδια και φλοιός κόκκινου χρώματος. Έχει μαλακά σπέρματα και είναι σχετικά ανθεκτική στο ψύχος. Κατάλληλη για επιτραπέζια χρήση και για χυμοποίηση. Ένα μειονέκτημά της είναι η μη μεγάλη διάρκεια συντήρησης.



Εικόνα 6. Καρποί ποικιλίας *Acco*.

Mollar de Elche

Καλλιεργείται στην Ισπανία. Χαρακτηρίζεται από μεγάλο μέγεθος καρπού, ροζ χρώμα καρπιδίων και μαλακά σπέρματα και έχει πράσινο – ροζ χρώμα φλοιού. Μειονεκτήματα της ποικιλίας αυτής είναι η ευπάθεια στα ηλιοκαύματα και το ροζ χρώμα του καρπού και των καρπιδίων. Δεν είναι γνωστό αν έχει εισαχθεί ακόμη στη χώρα μας.

Στο Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων Νάουσας, στο Ινστιτούτο Ελιάς και Υποτροπικών Φυτών Χανίων, στο σταθμό Γεωργικής Έρευνας Ρόδου και στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών υπάρχουν πειραματικές συλλογές με περίπου 40 γονότυπους. Το Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων Νάουσας έχει παρουσιάσει σπουδαία αποτελέσματα από τη μελέτη των γονοτύπων 11006, 11021, 11010, 11015, 11041 και την επιλογή των ποικιλιών *Ανδρομάχη* και *Καλλίστη*. Στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών υπάρχουν οι εξής γονότυποι: 11010, *Ερμιόνη*, 11006, 11009, 11029, 11021, *Wonderful*, *Acco*, *Pluto*, *SP1*, *Περσεφόνη*, *Ψυλλάκης*, *Λαμίας*. Οι ποικιλίες

που προωθούνται στην Ελλάδα είναι οι αμερικάνικες *Wonderful* και *Granada*, η Ισραηλινή *Acco*, η ελληνική ποικιλία *Ερμιόνη* και ο γονότυπος *Περσεφόνη*.

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Abubakar, A.R., Ashraf, N., and Ashraf, M. (2013). Effect of plant biostimulants on Growth, Chlorophyll Content, Flower Drop and Fruit Set of Pomegranate Cv. Kandhari Kabuli”. International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology **6**(2): 305-309.
- Agehara, S. (2017). Pomegranate Fertilization Overview and Future Projects. University of Florida, IFAS extension.
http://www.crec.ifas.ufl.edu/extension/pomegranates/pdfs/2017_FPAGM17_Agehara.pdf
- Assaf, R., Bar-Ya’akov, I., Dagan, M., Fahima, M., and Hatib, K. (1991). Pomegranate floral biology and trials to increase productivity. Alon Hanotea **45**: 461-471.
- Babu, D. (2010). Floral biology of pomegranate (*Punica granatum* L.). Pomegranate **4**: 45-50.
- Day, K.R., and Wilkins, E.D. (2011). Commercial pomegranate (*Punica granatum* L.) production in California. Acta Horticulturae, **890**: 275-286.
- Heflebower, R., and Morris, R. (2013). Pomegranate, Fruit of the Desert. All Current Publications, **324**.
https://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?referer=https://scholar.google.com/&httpsredir=1&article=1322&context=extension_curall
- Hodgson, R.W. (1917). The pomegranate. Bulletin No. 276. University of California press Berkley University of California publications.
- Holland, D., Hatib, K., and Bar-Ya’akov, I. (2009). Pomegranate: Botany, horticulture, breeding. Horticultural Reviews, **35**: 127-191.

- Kader, A.A. (2006). Postharvest biology and technology of pomegranates, 211–220. In: N.P. Seeram, R.N. Schulman, and D. Heber (eds.), *Pomegranates: ancient roots to modern medicine*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.
- Kader, A., Chordas, A., and Elyatem, S. (1984). Responses of pomegranates to ethylene treatment and storage temperature. *California Agriculture*, **38**(7): 14-15.
- LaRue, J. (1980). Growing pomegranates in California. Department of Agriculture and Natural Resources Leaflet, **2459**.
- Levin, G.M. (2006). Pomegranate roads: a Soviet botanist's exile from Eden. B.L. Baer (ed.), Floreat Press, Forestville, CA: 15–183.
- Mars, M. (2000). Pomegranate plant material: Genetic resources and breeding, a review. *Options Méditerranéennes*, **42**(A): 55-62.
- Nalawadi, U., Farooqui, A., Dasappa, R., Gubraiah, S., and Nalini, A. (1973). Studies on the floral biology of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Mysore Journal of Agricultural Sciences*.
- Pal, R., Babu, K. D., Singh, N., Maity, A., and Gaikwad, N. (2014). Pomegranate Research in India—Status and future challenges. *Progressive Horticulture*, **46**(2): 184-201.
- Still, D.W. (2006). Pomegranates: A botanical perspective, 199-209. In: N.P. Seeram, R.N. Schulman, and D. Heber (eds.). *Pomegranates: Ancient roots to modern medicine*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Stover, E.W., and Mercure, E.W. (2007). The pomegranate: a new look at the fruit of paradise. *HortScience*, **42**(5):1088–1092.
- Sheets, M., Du Bois, M., and Williamson, J. (1994). *The Pomegranate*1.
<https://www.growables.org/information/TropicalFruit/documents/PomegranateEdis.pdf>
- Wetzstein, H.Y., Ravid N., Wilkins, E. and Pinheiro Martinelli, A. (2011). A morphological and histological characterization of bisexual and male flower types in pomegranate. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **136**(2): 83 – 92.

Zekri, M. (2012). Pomegranate Nutrition. University of Florida, IFAS extension. http://www.crec.ifas.ufl.edu/extension/pomegranates/pdfs/Zekri_Mongi%20_Nutrition.pdf

Ελληνική βιβλιογραφία

Βασιλακάκης, Μ. (2004). Γενική και Ειδική Δενδροκομία. Εκδόσεις. Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.

Βαχαμίδης, Π.Α. και Βέμμος, Σ. (2009). Η ροδιά και η καλλιέργειά της. Γεωργία – Κτηνοτροφία, **2**: 30-39.

Γάτσιος, Κ. (2010). Η ροδιά: Καλλιέργεια, χρήσεις, φαρμακευτικές ιδιότητες. Εκδόσεις. Αγρότυπος, Αθήνα.

Δρογούδη, Π., Βασιλακάκης, Μ., Θωμίδης, Θ., Ναβροζίδης, Ε. και Παντελίδης, Γ. (2012). Εγχειρίδιο για την καλλιέργεια της ροδιάς. Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων Ναουσας, ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ.

Δρογούδη Π., Γ. Παντελίδης, Α. Μαγγανάρης (2013). Ρυθμός έκπτυξης των ανθέων και ποσοστά καρπόδεσης στις ποικιλίες ροδιάς "Wonderful" και "Ερμιόνη". Προφορική Ανακοίνωση 26ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών, Καλαμάτα 15-18 Οκτωβρίου 2013, 205-209.

Δρογούδη, Π., Τσιπουρίδης Κ., και Πανταζής Σ. (2007). Η καλλιέργεια της ροδιάς. Γεωργία – Κτηνοτροφία **1**: 24-29.

Θερίος, Ι. και Δημάση – Θεριού Κ. (2013). Ειδική Δενδροκομία – Φυλλοβόλα Οπωροφόρα Δένδρα. Εκδόσεις. Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.

Πασσάς, Ι.Δ. Νεώτερον Εγκυκλοπαιδικόν Λεξικόν Ηλίου, Ελλάς, Τόμος ΙΣΤ. Εκδόσεις.

Έκδοσις της Εγκυκλοπαιδικής Επιθεωρήσεως Ήλιος .

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (ΥΠΑΑΤ). www.minagric.gr

Μέρος 1ο: Μελέτη της διαφοροποίησης οφθαλμών και της ανθοφορίας στη ροδιά

Κεφάλαιο 1: Μελέτη της διαφοροποίησης οφθαλμών και της ανθοφορίας – καρπόδεσης στη ροδιά

1. Εισαγωγή

1.1 Διαφοροποίηση ανθοφόρων οφθαλμών

Ο ρόλος των οφθαλμών είναι σημαντικός για τη βλαστική και αναπαραγωγική ανάπτυξη των δένδρων (Rajaei and Yazdanpanah, 2015). Οι οφθαλμοί βάσει της προέλευσής τους και τη θέση στο βλαστό διακρίνονται σε τερματικούς (κορυφής) και πλευρικούς. Με βάση τη λειτουργία τους διακρίνονται σε βλαστοφόρους αν σχηματίζουν βλάστηση με την εκπτυξή τους και σε αναπαραγωγικούς (ανθοφόρους) αν παράγουν άνθη ή ταξιανθίες (απλοί ανθοφόροι) ή μικτούς αν περιέχουν καταβολές βλαστών και ανθέων. Επίσης, με βάση τη δραστηριότητά τους διακρίνονται σε ενεργούς ή ληθαργούντες και τέλος με βάση την κάλυψη τους ή όχι σε φολιδωτούς και σε γυμνούς (Ryugo, 1988). Η διαφοροποίηση των οφθαλμών και η άνθηση σε μια καλλιεργητική περίοδο είναι συνήθως μοναδικές (μία φορά το χρόνο) και διαφέρουν για τα περισσότερα οπωροφόρα δένδρα. Υπάρχουν όμως και εξαιρέσεις όπου σε μία καλλιεργητική περίοδο υπάρχουν δύο ή περισσότερες ανθοφορίες όπως για παράδειγμα σε ορισμένα είδη εσπεριδοειδών. Η διαφοροποίηση των οφθαλμών χαρακτηρίζεται από εμφανείς ανατομικές μεταβολές οι οποίες οφείλονται σε ενδογενείς (γενετικούς) και σε εξωγενείς (περιβαλλοντικούς) παράγοντες. Η θρεπτική κατάσταση των φυτών, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η φωτοπερίοδος, η ποιότητα του φωτός, η εαρινοποίηση και η υγρασία καθώς και οι γενετικοί παράγοντες επηρεάζουν την ανάπτυξη και την ανθοφορία των φυτών (Abbott, 1935; Engin and Unal, 2007; Li et al., 2010; Palanichamy et al., 2011; Palanichamy et al., 2012). Στην πραγματικότητα, η διαφοροποίηση των βλαστικών καταβολών σε αναπαραγωγικές (ανθικές) καταβολές είναι το κρίσιμο πρώτο βήμα για την αναπαραγωγική φάση που καθορίζει την ένταση της άνθησης και της καρποφορίας (Sreekumar et al., 2014). Σε αυτό το πλαίσιο, η μετάβαση στην ανθική φάση είναι βασικός παράγοντας καθορισμού της παραγωγικότητας των οπωροφόρων δένδρων (Sreekumar et al., 2014). Η μετάβαση από την νεανικότητα στην αναπαραγωγική φάση της ζωής των φυτών είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που επηρεάζεται από πληθώρα ενδογενών και εξωγενών παραγόντων. Σε τροπικές και υποτροπικές καλλιέργειες όπως το μάνγκο, εκτός της φωτοπεριόδου, η θερμοκρασία ημέρας και νύχτας ρυθμίζει την ανθική μετάβαση και την έναρξη της ανθογένεσης, ενώ η υγρασία και η θρεπτική κατάσταση

των φυτών παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο (Palanichamy et al., 2011; Palanichamy et al., 2012). Οι χαμηλές θερμοκρασίες ημέρας και νύχτας την περίοδο εμφάνισης ανθέων του μάνγκο αποτελούν κρίσιμο παράγοντα για τη διαφοροποίηση των ανθέων, οι οποίες ποικίλλουν από τόπο σε τόπο και σε κάποιο βαθμό διαφέρουν οι ανάγκες τους ανάμεσα σε ποικιλίες που αναπτύσσονται σε ίδιες κλιματικές συνθήκες (Palanichamy et al., 2012). Τα ώριμα φύλλα λαμβάνουν την άριστη χαμηλή θερμοκρασία η οποία μπορεί να διαφέρει για το κάθε γονότυπο και συνθέτουν έναν προαγωγό άνθησης που είναι υπεύθυνος για την μετατροπή του ακραίου μεριστώματος από βλαστικό σε ανθικό. Σύμφωνα με τους Saito et al. (2015) στο ιαπωνικό αχλάδι μετά από επαρκείς χαμηλές θερμοκρασίες, οι οφθαλμοί εξέρχονται από την κατάσταση ενδοληθάργου και μετά από υψηλές θερμοκρασίες αναπτύσσονται κανονικά οι ανθοφόροι οφθαλμοί κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου – άνοιξης όπου δραματικές φυσιολογικές αλλαγές λαμβάνουν χώρα στους οφθαλμούς κατά το λήθαργο.

Ο λήθαργος των οφθαλμών συνιστά ένα φυσικό μηχανισμό για την αντιμετώπιση των αντίξοων χειμερινών συνθηκών τόσο των φυλλοβόλων οπωροφόρων δένδρων όπως η αχλαδιά, η μηλιά, η κερασιά, η δαμασκηλιά, η βερικοκιά, η ροδιά όσο και των ακρόδρυων όπως η καρυδιά, η αμυγδαλιά και η φυστικιά στην εύκρατο ζώνη (Παντελίδης κά., 2018). Επίσης, είναι ζωτικός ο ρόλος του ληθάργου, διότι καθορίζει την ποιότητα έκπτυξης οφθαλμών, την ανθοφορία και την καρποφορία (Beauvieux et al., 2018). Οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν προσωρινή αναστολή της ορατής ανάπτυξης κατά το λήθαργο. Διακρίνονται κύρια δύο τύποι ληθάργου: 1) Εσωτερικός λήθαργος (endodormancy) όπου ικανοποιούνται οι απαιτήσεις σε ψύχος για τη διάσπαση του ληθάργου, οι οποίες διαφέρουν μεταξύ των ειδών και ποικιλιών και 2) οικολήθαργος (ecodormancy) όπου απαιτούνται υψηλότερες θερμοκρασίες για την έξοδο από το στάδιο αυτό (Παντελίδης κά., 2018). Επομένως, απαιτούνται επαρκείς χαμηλές και μετά υψηλές θερμοκρασίες για την έναρξη έκπτυξης και ανάπτυξης των οφθαλμών (Faust et al., 1997; Beauvieux et al., 2018; Παντελίδης κά., 2018). Στη βιβλιογραφία αναφέρεται και ένας τρίτος τύπος ληθάργου, ο παραλήθαργος ή σχετική παρεμπόδιση, όπως για παράδειγμα η μη έκπτυξη πλάγιων οφθαλμών στους βλαστούς λόγω παρεμπόδισης από ορμόνες που παράγονται στην κορυφή των βλαστών (κυριαρχία κορυφής).

Η διαφοροποίηση των ανθοφόρων οφθαλμών στα περισσότερα φυλλοβόλα δένδρα συμβαίνει κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού ή νωρίς το φθινόπωρο αλλά πάντως πριν από την

άνοιξη κατά την οποία οι οφθαλμοί ανοίγουν και ακολουθεί η άνθηση και η καρπόδεση (Imani and Mehr – Abadi, 2012). Στα περισσότερα από αυτά τα είδη στην εύκρατη ζώνη ή στις μεσογειακές κλιματολογικές συνθήκες, από τη στιγμή που ξεκινά η διαφοροποίηση υπάρχει συνεχής ανάπτυξη των αναπαραγωγικών οργάνων μέχρι να ανθίσουν την επόμενη άνοιξη (Tufts and Morrow, 1925).

Η διαδικασία της ανθοφορίας (flowering process) ή διαφορετικά η διαδικασία μετατροπής των βλαστικών καταβολών σε ανθικές και η άνθηση στα ενήλικα ανώτερα φυτά διακρίνεται σε τέσσερα στάδια: 1. Εισαγωγή (επαγωγή) ανθοφόρου οφθαλμού (flower bud induction ή floral induction), 2. Έναρξη διαφοροποίησης (flower bud initiation), 3. Διαφοροποίηση ανθοφόρου οφθαλμού (flower bud differentiation) και 4. άνθηση (anthesis). Για να ανθίσουν οι οφθαλμοί θα πρέπει να έχει ολοκληρωθεί η διαδικασία της διαφοροποίησης όλων των ανθικών μερών, επομένως θα πρέπει να έχουν ολοκληρωθεί τα τρία πρώτα στάδια της διαφοροποίησης. Στο πρώτο και σημαντικό στάδιο της ‘εισαγωγής’ ή ‘επαγωγής’ (flower bud induction) συντελούνται οι αρχικές αλλαγές που προωθούν την μετάβαση από τη βλαστική στην αναπαραγωγική φάση (παραγωγή ανθικών καταβολών). Στο στάδιο αυτό, οι νέες παραγόμενες πρωτεΐνες φαίνεται να εκκινούν την έκφραση της ανθικής φάσης. Η διαδικασία της ‘εισαγωγής’ συνδέεται με περιβαλλοντικούς παράγοντες και έχει ως αποτέλεσμα τα μεριστωματικά κύτταρα να σχηματίσουν αναπαραγωγικούς ιστούς (δομές) (Valiente and Albrigo, 2004). Στη διάρκεια της περιόδου αυτής το ερέθισμα της εισαγωγής (induction stimulus) είναι διακριτό στα φύλλα και οι γόνοι που είναι υπεύθυνοι για την ανάπτυξη ανθικών καταβολών ενεργοποιούνται (Valiente and Albrigo, 2004). Το δεύτερο στάδιο (flower bud initiation) περιλαμβάνει και ανατομικές και ιστολογικές μετατροπές (αλλαγές) των βλαστικών μεριστωμάτων σε ανθικά μεριστώματα (Davenport, 1990). Στο ίδιο στάδιο εμπλέκονται βιοχημικές και φυσιολογικές μεταβολές που εκκινούνται από το ερέθισμα του πρώτου σταδίου “floral induction”. Δηλαδή αφορά κύρια βιοχημικές και φυσιολογικές μεταβολές στο μερίστωμα της κορυφής του οφθαλμού ώστε η δομή του να μετατραπεί από βλαστική σε αναπαραγωγική. Οι μεταβολές στο στάδιο αυτό περιλαμβάνουν και αλλαγές στη συγκέντρωση σε θρεπτικά στοιχεία και ορμόνες καθώς και στον πρωτεϊνικό μεταβολισμό εντός του οφθαλμού. Μολονότι, στο στάδιο αυτό δεν διακρίνονται μορφολογικές αλλαγές στο μικροσκόπιο (Davenport, 1990; Hanke et al., 2007). Το τρίτο και τελευταίο στάδιο αφορά τη διαφοροποίηση οφθαλμών (flower differentiation). Στο στάδιο αυτό

υπάρχουν ιστολογικές και μορφολογικές αλλαγές στο μερίστωμα που είναι ορατές στο μικροσκόπιο οπότε και ολοκληρώνεται με το σχηματισμό όλων των ανθικών καταβολών (the primordia of floral organs). Το τελευταίο αυτό στάδιο καλείται και “evocation”, Davenport (1990). Ο χρόνος της έναρξης της διαφοροποίησης (flower bud initiation) διαφέρει μεταξύ των ειδών και επηρεάζεται άμεσα από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Η ακολουθούμενη διαδικασία διαφοροποίησης των οφθαλμών και ο ρυθμός διαφοροποίησης επηρεάζονται επίσης από τις κλιματικές συνθήκες (Guardiola, 1997). Στη διεθνή βιβλιογραφία και από τους περισσότερους συγγραφείς δεν αναφέρονται τα τρία αυτά διακριτά στάδια της διαφοροποίησης. Απλά αναφέρονται στο αρχικό στάδιο της εισαγωγής ή επαγωγής (flower induction) και στη συνέχεια στο ‘flower initiation’ που γίνονται και μορφολογικές αλλαγές και επομένως συμπίπτει με το τρίτο στάδιο της διαφοροποίησης. Αυτό δημιουργεί κάποια σύγχυση μεταξύ των ερευνητών, για το λόγο αυτό θα ακολουθήσουμε την διάκριση στα 3 στάδια όπως προαναφέρθηκε.

Η διαφοροποίηση οφθαλμών στα διάφορα καρποφόρα δένδρα

Στα πυρηνόκαρπα η εισαγωγή των ανθοφόρων οφθαλμών (flower induction) συντελείται τέλος άνοιξης ή το καλοκαίρι του προηγούμενου της ανθοφορίας χρόνου και η διαφοροποίηση ολοκληρώνεται αργότερα προς το τέλος καλοκαιριού ή το φθινόπωρο. Για τα περισσότερα μάλιστα είδη (ροδακινιά, αμυγδαλιά, βερικοκιά και δαμασκηνιά) η διαφοροποίηση ξεκινά τον Ιούλιο ή Αύγουστο και ολοκληρώνεται τον Αύγουστο ή αργότερα και σε ορισμένες περιπτώσεις ολοκληρώνεται λίγο πριν την άνθηση (Ποντίκης, 1996). Η διαδικασία μάλιστα των ανατομικών και μορφολογικών αλλαγών κατά τη διαφοροποίηση έχει μελετηθεί για τα περισσότερα είδη πυρηνοκάρπων. Για παράδειγμα, η μορφολογική διαδικασία της διαφοροποίησης των ανθοφόρων οφθαλμών της αμυγδαλιάς (*Prunus amygdalus*) ξεκινά με αλλαγές στο μέγεθος και στο σχήμα του βλαστικού κορυφαίου μεριστώματος λαμβάνοντας ευρεία μορφή, χαμηλό θόλο κατά τη μετάβαση από βλαστικό σε αναπαραγωγικό μερίστωμα (Lamp et al., 2001; Imani and Mehr – Abadi, 2012). Συγκεκριμένα το αρχικό στάδιο αφορά βλαστοφόρους οφθαλμούς (προαναπαραγωγικό στάδιο – στάδιο 0), μετά γίνεται η μετάβαση στην αναπαραγωγική κατάσταση αυξάνοντας το μέγεθος του μεριστώματος (στάδιο 1), ακολουθεί η έναρξη της ανθογένεσης με διεύρυνση, επιμήκυνση της κορυφής και εμφάνιση βράκτιων φύλλων (στάδιο 2), έπεται η έναρξη εμφάνισης καταβολών πέντε σεπάλων (στάδιο 3), μετά η έναρξη εμφάνισης πέντε καταβολών πετάλων (στάδιο 4), η εμφάνιση πολυάριθμων καταβολών των στημόνων

(στάδιο 5), στη συνέχεια η μεταβατική έναρξη των προκαρπόφυλλων με ολοκλήρωση της εμφάνισης των στημόνων και δημιουργία κοιλότητας στην κορυφή (στάδιο 6) και τέλος η έναρξη εμφάνισης των καρπόφυλλων στο κέντρο της κορυφής (στάδιο 7) (Lamp et al., 2001). Ένα άλλο παράδειγμα είναι αυτό της κερασιάς και ροδακινιάς. Σύμφωνα με τους Engin και Unal (2007), θα ήταν ιδιαιτέρως χρήσιμο να γνωρίζουμε την έναρξη της ανθογένεσης και τις αναπτυξιακές αλλαγές που συμβαίνουν για να γίνει επιλογή του κατάλληλου χρόνου για τις διάφορες καλλιεργητικές εργασίες στα είδη αυτά των δένδρων. Παρατήρησαν μάλιστα ότι η έναρξη της διαφοροποίησης οφθαλμών στις κερασιές και στις ροδακινιές συμβαίνει τον Ιούλιο και η μετάβαση των οφθαλμών από τη βλαστική στην αναπαραγωγική φάση χαρακτηρίζεται από αλλαγή του σχήματος της κορυφής των οφθαλμών από τη διεύρυνση στην κυρτότητα, έπειτα την παραγωγή καταβολών ανθέων και τη διαφοροποίηση μερών των ανθέων. Παρόμοιες παρατηρήσεις, ως προς την περίοδο και τα στάδια διαφοροποίησης των οφθαλμών στην κερασιά έχουν παρουσιαστεί και από τους Guimond et al. (1998) και Koutinas et al. (2010). Για την κερασιά μάλιστα από παρατηρήσεις σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο βρέθηκε ότι η πρώτη ένδειξη σχηματισμού ανθικών καταβολών εμφανίστηκε 4 εβδομάδες μετά την πλήρη άνθηση (Π.Α.) ενώ η πρώτη ένδειξη διαφοροποίησης 7 εβδομάδες πριν την Π.Α. και η διαφοροποίηση ολοκληρώνεται 20 εβδομάδες μετά την Π.Α. προς το τέλος καλοκαιριού (Χατζηχαρίσης και Καζαντζής, 2014). Οι χρόνοι εμφάνισης των διαφόρων σταδίων διαφοροποίησης επηρεάζονται από την ποικιλία, τις κλιματικές συνθήκες, τις καλλιεργητικές φροντίδες και τη θρεπτική και φυσιολογική κατάσταση των δένδρων. Σε ένα άλλο πυρηνόκαρπο είδος τη βερικοκιά βρέθηκε ότι η διαφοροποίηση των οφθαλμών ξεκίνησε περί τα μέσα Αυγούστου και διήρκησε έξι με επτά μήνες πριν την άνθηση (Julian et al., 2010). Επίσης, οι ίδιοι ερευνητές, παρατήρησαν ότι σε μικρούς βλαστούς (τα λογχοειδή), οι οφθαλμοί εξελίσσονται διαρκώς ενώ σε μεγάλους βλαστούς, η ανάπτυξη των οφθαλμών έχει αλλάξει δεδομένου ότι οι περισσότεροι από τους μισούς οφθαλμούς δεν αναπτύσσονται περαιτέρω και συνεπώς πέφτουν. Οι Németh et al. (2008) παρατήρησαν ότι η έναρξη της διαφοροποίησης οφθαλμών στη βερικοκιά εξελίσσεται τέλη Ιουλίου με μέσα Σεπτεμβρίου και συνεχίζεται μέχρι τις πρώτες ψυχρές ημέρες, με τα σέπαλα, τα πέταλα, την ωοθήκη, το στέλεχος και τις αρχικές καταβολές των στημόνων να διακρίνονται από τα τέλη του φθινοπώρου και διέκριναν την όλη διαδικασία σε πέντε αναπτυξιακά στάδια. Στο πρώτο στάδιο ξεκινά η ανθογένεση στο βλαστικό κορυφαίο μερίστωμα κάτω από το τμήμα του κελύφους (εξωτερικό περίβλημα που αποτελείται από λέπια), η ανάπτυξη του οποίου

επιβραδύνεται για κάποιο χρονικό διάστημα, μετά το κωνικό μερίστωμα γίνεται επίπεδο και μετασχηματίζεται σε ανθικό μερίστωμα (αναπαραγωγική φάση), το επόμενο στάδιο είναι η εμφάνιση σεπάλων και η εξέλιξή τους και διαρκεί πέντε με δέκα ημέρες εξαρτώμενο από την ποικιλία, έπεται ο σχηματισμός των πετάλων, ακολουθούμενος από την ταχεία ανάπτυξη στημόνων και τον αργό σχηματισμό των καρπόφυλλων (Németh et al., 2008).

Στα μηλοειδή (μηλιά και αχλαδιά), η έναρξη διαφοροποίησης των ανθοφόρων οφθαλμών συμβαίνει από τα μέσα Ιουνίου μέχρι αρχές Αυγούστου (Jonkers, 1979). Για το λόγο αυτό οι μήνες Ιούνιος – Ιούλιος είναι καθοριστικοί στα μηλοειδή γιατί η διαφοροποίηση των οφθαλμών συμπίπτει με την ανάπτυξη των καρπών που δρουν ανταγωνιστικά στη διαφοροποίηση. Αντίθετα στα περισσότερα πυρηνόκαρπα η διαφοροποίηση ξεκινά αργότερα (Ιούλιο) όταν οι καρποί έχουν συλλεχθεί. Ο ρόλος των υδατανθράκων και των ορμονών είναι πολύ σημαντικός για τη διαφοροποίηση των οφθαλμών στα μηλοειδή. Έτσι θα πρέπει οι βλαστοί να έχουν μία ελάχιστη συγκέντρωση υδατανθράκων και θρεπτικών στοιχείων για να ξεκινήσει η διαφοροποίηση (Jonkers, 1979). Τα σπέρματα των καρπών δρουν ανταγωνιστικά γιατί παράγουν γιββερελλίνες που δρουν ανταγωνιστικά στη διαφοροποίηση. Αντίθετα έχει βρεθεί ότι οι κυτοκινίνες ευνοούν τη διαφοροποίηση. Επίσης η επάκρεια θέση των καρπών έχει ανασχετική επίδραση στους οφθαλμούς κάτω από αυτούς. Οι ταχυφυείς βλαστοί (λεπτοκλάδια κ.ά.) ασκούν ανταγωνιστική δράση και μειώνουν τη διαφοροποίηση. Το κορυφολόγημα στην περίπτωση αυτή μπορεί να αυξήσει το ποσοστό της διαφοροποίησης (Ποντίκης, 1994).

Στα μηλοειδή επίσης έχουν διευκρινιστεί και τα στάδια διαφοροποίησης των ανθοφόρων οφθαλμών. Στην αχλαδιά για παράδειγμα, η διαφοροποίηση οφθαλμών ξεκινά με το κορυφαίο μερίστωμα να μεγεθύνεται και να αποκτά κυλινδρικό σχήμα υποδηλώνοντας την αλλαγή από τη βλαστική στην ανθική κατάσταση, έπεται ο σχηματισμός καταβολών των σεπάλων, πετάλων, ανθήρων και των ωοθηκών με την έναρξη της ανθογένεσης να συμβαίνει αργά τον Ιανουάριο στο Ν. Ημισφαίριο (που αντιστοιχεί στον Ιούλιο του Β. Ημισφαιρίου) για τις ποικιλίες *Packham* και *Housui* σε υποτροπικές περιοχές του Ρίο της Βραζιλίας (Marafon et al., 2007). Σύμφωνα με τον Bergh (1985) στη μηλιά cv.*Starking* στη Νότια Αφρική, ξεκίνησε η μετάβαση από τη βλαστική στην αναπαραγωγική φάση την πρώτη εβδομάδα του Ιανουαρίου παρατηρώντας ότι η κορυφή του οφθαλμού έγινε επίπεδη και περιβάλλονταν από φύλλα και καταβολές βράκτιων φύλλων, ακολούθησε η εμφάνιση καταβολών σεπάλων, πετάλων, στημόνων και καρπόφυλλων.

Οι Koutinas et al. (2010) βρήκαν ότι η πρώτη ορατή ένδειξη μετάβασης από τη βλαστική στην αναπαραγωγική κατάσταση στη μηλιά ήταν η διεύρυνση και η κυρτότητα των κορυφών των οφθαλμών αλλά παρατήρησαν στο στερεοσκόπιο λίγο αργότερα την εμφάνιση βράκτιων φύλλων και τα υπόλοιπα στάδια να είναι παρόμοια όπως περιγράφηκαν από τον Bergh (1985). Η έναρξη όμως της διαφοροποίησης ξεκινά το καλοκαίρι όπως προαναφέρθηκε. Συγκεκριμένα, από πειράματα που πραγματοποίησαν οι Tufts and Morrow (1925) στη μηλιά cv. *Gravenstein* στην περιοχή της Καλιφόρνιας βρήκαν ότι η έναρξη της διαφοροποίησης ξεκίνησε στις 11 Ιουνίου.

Σε μια άλλη ομάδα φυλλοβόλων, τα ακρόδρυα, η διαφοροποίηση των οφθαλμών ξεκινά την άνοιξη ή το καλοκαίρι αλλά ολοκληρώνεται την επόμενη άνοιξη λίγο πριν την ανθοφορία. Στη θηλυκή φιστικιά για παράδειγμα η διαφοροποίηση ξεκινά τέλη Απρίλη – αρχές Μάη, σταματά από αρχές Ιουλίου μέχρι Σεπτέμβριο, συνεχίζεται τον Οκτώβριο με το σχηματισμό καταβολών του υπέρου και ολοκληρώνεται το Μάρτιο (Ποντίκης, 1996). Στην καρυδιά οι ιουλοφόροι οφθαλμοί διαφοροποιούνται νωρίς κατά τη βλαστική περίοδο. Η διαφοροποίηση αρχίζει 25 – 30 ημέρες μετά την έναρξη της βλάστησης και ολοκληρώνεται τον Αύγουστο ενώ στους μικτούς ξεκινά τον Ιούνιο και ολοκληρώνεται 3 – 5 εβδομάδες πριν την έκπτυξη των οφθαλμών την επόμενη άνοιξη (Ποντίκης, 1996).

Στα αειθαλή καρποφόρα δένδρα (ελιά και εσπεριδοειδή) είναι επίσης γνωστή η διαδικασία της διαφοροποίησης των ανθοφόρων οφθαλμών. Στην ελιά ο χρόνος της διαφοροποίησης των οφθαλμών έχει βρεθεί να είναι διαφορετικός από διάφορες μελέτες. Οι Morettini (1958) και Hartman (1951) αναφέρουν ότι συντελείται 40 – 60 ημέρες πριν την ανθοφορία. Οι Almeida (1964) και Πανέτσος (1958) βρήκαν ότι συμβαίνει 90 ημέρες πριν την ανθοφορία. Οι διαφορές αυτές (εκτός των άλλων) μπορεί να οφείλονται και σε διαφορετικές ποικιλίες που μελετήθηκαν αλλά και το διαφορετικό περιβάλλον. Νεότερες έρευνες όμως έδειξαν ότι η εισαγωγή ανθοφόρων οφθαλμών αρχίζει τον Ιούνιο πριν τη σκλήρυνση του πυρήνα, φαινόμενο που είναι παρόμοιο με αυτό των φυλλοβόλων δένδρων (Rallo and Martin, 1991; Pinney and Polito, 1990). Η διαφοροποίηση όμως στην ελιά ολοκληρώνεται αργά το φθινόπωρο ή το χειμώνα και εξαρτάται από την ποικιλία αλλά και πολλούς ακόμη περιβαλλοντικούς και θρεπτικούς παράγοντες και κύρια τη θερμοκρασία. Για την ελιά είναι γνωστό ότι χαμηλές θερμοκρασίες το χειμώνα (θερμοκρασίες 10 – 13 °C) είναι ευνοϊκές για τη διαφοροποίηση και το φαινόμενο αυτό καλείται εαρινοποίηση. Η διάρκεια μάλιστα των χαμηλών θερμοκρασιών διαφέρει ανάλογα με

τις απαιτήσεις των ποικιλιών (1500 – 2000 ώρες με ανώτατη θερμοκρασία 16 °C). Η εναλλαγή υψηλών και χαμηλών θερμοκρασιών επίσης ευνοεί τη διαφοροποίηση. Άλλες συνθήκες είναι η εδαφική υγρασία. Έλλειψη υγρασίας κατά την περίοδο από έναρξη σχηματισμού ανθικών καταβολών μέχρι την καρπόδεση επιδρά αρνητικά στη διαφοροποίηση. Ο ρόλος των θρεπτικών στοιχείων και κύρια του αζώτου, καλίου και βορίου είναι επίσης σημαντικός. Η καλή θρεπτική κατάσταση και κύρια στα πιο πάνω θρεπτικά στοιχεία ευνοεί τη διαφοροποίηση (Θεριός, 2005; Ποντίκης, 2000). Το φως (φωτοπερίοδος, σκίαση), οι οργανικές ουσίες, το φορτίο του δένδρου, η εποχή συλλογής των καρπών και η ποικιλία παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των οφθαλμών της ελιάς (Θεριός, 2005; Ποντίκης, 2000).

Εσπεριδοειδή. Γενικά επικρατεί η άποψη ότι η διαφοροποίηση λαμβάνει χώρα λίγες εβδομάδες πριν την άνθηση. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι στα περισσότερα είδη εσπεριδοειδών η έναρξη της διαφοροποίησης ανθοφόρων οφθαλμών συμβαίνει περί τα μέσα του χειμώνα (Abbott, 1935). Εξάιρεση αποτελούν ορισμένες ποικιλίες λεμονιάς και του είδους *C. madurensis* Lour. οι οποίες ανθοφορούν όλες τις εποχές και επομένως η διαφοροποίηση προηγείται της κάθε ανθοφορίας (Nambu, 1934). Στην περίπτωση αυτή η διαφοροποίηση των ανθικών μερών αρχίζει με το φούσκωμα και την έκπτυξη των οφθαλμών. Στην Ιαπωνία αρχικά υπέθεσαν ότι σημαντική περίοδος για την εισαγωγή της διαφοροποίησης (floral induction) είναι ο Νοέμβριος (Iwasaki, 1959). Νεότερες έρευνες (Inoue, 1989a; Inoue, 1990b) έδειξαν ότι σε φυτά μανταρινιάς ποικιλίας *satsuma* (*C. unshiu* Marcow) είχαν σχηματίσει ανθικά όργανα μέχρι τον Οκτώβριο – Νοέμβριο. Τα φυτά αναπτύχθηκαν στην ύπαιθρο και υποβλήθηκαν σε υψηλές θερμοκρασίες (Inoue, 1989a). Όμως σε δένδρα της ίδιας ποικιλίας που αναπτύσσονται στον αγρό δεν παρατηρήθηκε διαφοροποίηση οφθαλμών εκτός αν υποβληθούν σε υψηλές θερμοκρασίες. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η εισαγωγή ανθοφόρου οφθαλμού (floral induction) συμβαίνει το φθινόπωρο και είναι ορατή είτε το φθινόπωρο είτε το χειμώνα και αφού τα δένδρα υποβληθούν σε υψηλές θερμοκρασίες οπότε οι οφθαλμοί εκπτύσσονται και ανθίζουν.

Οι Zou et al. (2017) αναφέρουν ότι η διαφοροποίηση οφθαλμών στη τζίτζιφιά πραγματοποιήθηκε σε έξι με επτά στάδια ανάλογα με την ποικιλία τα οποία είναι τα εξής: προδιαφοροποίηση, έναρξη διαφοροποίησης, διαφοροποίηση σεπάλων, διαφοροποίηση πετάλων, διαφοροποίηση στημόνων και τέλος διαφοροποίηση του υπέρου. Στη φράουλα, η διαφοροποίηση οφθαλμών ξεκινά με το βλαστικό μερίστωμα από επίπεδο να μεγεθύνεται και να

γίνεται κυρτό, γίνονται ορατές οι καταβολές των σεπάλων και πετάλων, η έναρξη εμφάνισης των στημόνων και των καρπόφυλλων (Taylor et al., 1997).

Το θέμα της διαφοροποίησης των οφθαλμών στη ροδιά δεν έχει μελετηθεί ιδιαίτερα και δεν είναι ακόμη γνωστό για παράδειγμα ο χρόνος έναρξης της διαφοροποίησης που θα ήταν χρήσιμος για να προσδιορίζουμε την επόμενη καρποφορία και το χρόνο των κατάλληλων και έγκαιρων καλλιεργητικών επεμβάσεων. Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι υπάρχουν λίγες μόνο αναφορές σχετικές με το σχηματισμό ανθοφόρων οφθαλμών και ανθέων στη ροδιά. Οι Holland et al. (2009) σε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας αναφέρουν ότι η εμφάνιση των πρώτων ανθικών μερών γίνεται ένα μήνα περίπου μετά την έκπτυξη των πρώτων οφθαλμών (βλαστοφόρων) ενώ η διάρκεια της ανθοφορίας μέχρι την πλήρη άνθηση επίσης διαρκεί περίπου ένα μήνα. Ο Babu (2010) διακρίνει 12 στάδια ανάπτυξης του άνθους με μόνο κριτήριο την μεταβολή του βάρους του. Οι Rajaei και Yazdanpanah (2015) αναφέρουν ότι η ‘στροφή’ από την φυλλική δομή (φύλλο) σε αναπαραγωγική (με πρώτα τα σέπαλα) παραμένει άγνωστη, δηλαδή η διαδικασία (μηχανισμός) της εισαγωγής και έναρξης διαφοροποίησης είναι ακόμη άγνωστη. Άλλοι ερευνητές ασχολήθηκαν κύρια με την αναπαραγωγική ανάπτυξη και τις καλλιεργητικές πρακτικές (Levin, 1978; Martinez et al., 2000; Wetzstein et al., 2011a; Wetzstein et al., 2013; Rajaei and Yazdanpanah, 2015).

1.2 Άνθηση – επικονίαση – καρπόδεση στη ροδιά

Τα άνθη της ροδιάς είναι δύο ειδών, τα γόνιμα (ερμαφρόδιτα) και τα άγονα (άρρενα) με την αναλογία τους να επηρεάζει την απόδοση και γενικότερα την παραγωγικότητα (Wetzstein et al., 2011a). Υπάρχουν όμως και αναφορές και για ένα ενδιάμεσο τύπο ανθέων (Stover and Mercure, 2007; Holland et al., 2009; Babu, 2010; Wetzstein et al., 2011a; Abubakar et al., 2013). Η έκφραση του τύπου των ανθέων είναι ασταθής και εξαρτάται από την εποχή και το χρόνο άνθησης (Wetzstein et al., 2011a), από την ποικιλία καθώς και περιβαλλοντικούς παράγοντες (Chandra et al., 2010). Έχει βρεθεί ότι ένα ποσοστό της γύρης είναι άγονο και ανέρχεται στο 6 – 20% στα ερμαφρόδιτα και 14 – 28% στα αρσενικά άνθη (Holland et al., 2009). Το μέγεθος και η γονιμότητα της γύρης διαφέρει ανάλογα με την ποικιλία και την εποχή (Holland et al., 2009). Το ποσοστό των αρσενικών ανθέων αναφέρεται ότι κυμαίνεται από 60 – 70%, εξαρτώμενο από την ποικιλία και την εποχή (Mars, 2000; Holland et al., 2009; Wetzstein et al., 2011b).

Υπάρχουν όμως ποικιλίες με υψηλή αναλογία γόνιμων/άγονων ανθέων και κατά συνέπεια υψηλότερη παραγωγικότητα των δένδρων (Babu, 2010). Οι Holland et al. (2009) και Babu (2010), αναφέρουν ότι από μελέτες που πραγματοποίησαν οι Assaf et al. (1991), το ποσοστό των ερμαφρόδιτων ανθέων σε Ισραηλινές ποικιλίες κυμάνθηκε από 43% μέχρι 66%. Οι Nalawadi et al. (1973) αναφέρουν ότι σε μερικές τοπικές ποικιλίες της Ινδίας το ποσοστό ερμαφρόδιτων ανθέων κυμάνθηκε από 53% μέχρι 80%. Επίσης, οι Gozlekci και Kaynak (2000) βρήκαν ότι στην ποικιλία *Hicaznar* στην Τουρκία το ποσοστό ερμαφρόδιτων ανθέων κυμάνθηκε από 78 – 86%. Στην Ελλάδα, πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικούς γονότυπους και βρέθηκε πως διέφερε το ποσοστό των γόνιμων ανθέων από 15 μέχρι 45% (Μαγγανάρης κ.ά., 2012).

Η ποιότητα των ανθέων έχει μελετηθεί και φαίνεται να έχει σχέση με την επιτυχή ή όχι καρπόδεση στη ροδιά. Στη μελέτη των Wetzstein et al. (2013) βρέθηκε ότι το μέγεθος των ανθέων και η ανάπτυξη της σπερματικής βλάστης σχετίζεται με τον τύπο και τη θέση των ανθέων και παρατήρησαν ότι τα μεμονωμένα και τερματικά άνθη ήταν μεγαλύτερα από τα πλευρικά άνθη. Επιπλέον, βρήκαν ότι τα πλευρικά άνθη είχαν φτωχή ανάπτυξη σπερματικής βλάστης, επηρεάζοντας αρνητικά την καρποφορία σε αυτόν τον τύπο άνθους, αποδεκνύοντας έτσι, ότι η ποιότητα ανθέων επηρεάζει την παραγωγή και το μέγεθος των καρπών της ροδιάς. Σε άλλη μελέτη βρέθηκε ότι όσο μεγαλύτερο ήταν το μέγεθος των ανθέων τόσο μεγαλύτερο ήταν και το ποσοστό καρπόδεσης (Wetzstein et al., 2011a).

Τα άνθη που προέρχονται από το πρώτο κύμα, τέσσερις με πέντε εβδομάδες μετά την έναρξη της ανθοφορίας, παρουσιάζουν υψηλό ποσοστό καρπόδεσης (90%) και παράγουν καρπούς καλύτερης ποιότητας (Mars, 2000; Chandra et al., 2010). Η ροδιά είναι κυρίως δένδρο αυτογονιμοποιούμενο αλλά μπορεί να είναι και σταυρογονιμοποιούμενο (Mars, 2000; Chandra et al., 2010). Με τη σταυρογονιμοποίηση βρέθηκε ότι αυξήθηκε το ποσοστό καρπόδεσης (Derin and Eti, 2001; Babu, 2010) με την επικονίαση να πραγματοποιείται κυρίως από έντομα και επιπρόσθετα από τον άνεμο (Babu, 2010). Το ποσοστό καρπόδεσης με αυτογονιμοποίηση φτάνει μέχρι το 45%. Επιπρόσθετα, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, μειωμένη καρπόδεση στη ροδιά παρατηρείται λόγω υπερβολικής εδαφικής υγρασίας ή/και υπερβολικής αζωτούχου λίπανσης, η οποία δρα ανασταλτικά στην ανθοφορία ευνοώντας τη βλαστική ανάπτυξη των δένδρων (Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Τέλος, το αυστηρό κλάδεμα έχει αρνητική

επίδραση στην καρπόδεση, με συνέπεια τη μείωση της παραγωγικότητας (Heflebower and Morris, 2013).

Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι ορισμένα από τα σημαντικά προβλήματα στην καλλιέργεια της ροδιάς είναι τα προβλήματα καρπόδεσης και καρπόπτωσης που συνδέονται άμεσα με την παραγωγικότητα του δένδρου. Επίσης όπως αναφέρθηκε προηγούμενα, δεν είναι ακόμη γνωστός ο χρόνος και τα στάδια διαφοροποίησης των ανθοφόρων οφθαλμών που συνδέεται με τον προγραμματισμό των καλλιεργητικών εργασιών στη ροδιά.

Για το λόγο αυτό οι σκοποί της εργασίας ήταν: α) Η μελέτη της ανατομίας των οφθαλμών και ο προσδιορισμός του χρόνου έναρξης της διαφοροποίησης οφθαλμών στη ροδιά β) Ο προσδιορισμός του χρόνου έκπτυξης των ανθοφόρων οφθαλμών και τα διάφορα στάδια διαφοροποίησης των ανθικών μερών και της ανθοφορίας γ) Η μελέτη της γονιμότητας των ανθέων, τα ποσοστά καρπόδεσης και η παραγωγικότητα σε τρεις γονότυπους ροδιάς που είναι οι γνωστές δύο ποικιλίες, *Wonderful* και *Acco* και ο γονότυπος *Περσεφόνη*. Οι ποικιλίες αυτές περιγράφονται στη γενική εισαγωγή της διατριβής.

2. Υλικά και μέθοδοι

2.1 Φυτικό υλικό

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε δένδρα ροδιάς που καλλιεργούνται στον πειραματικό οπωρώνα του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, το 2015 και το 2016. Ο γονότυπος *Περσεφόνη* ήταν τεσσάρων ετών ενώ οι ποικιλίες *Wonderful* και *Acco* ήταν πέντε ετών κατά το έτος έναρξης των πειραμάτων. Χρησιμοποιήθηκαν 3 δένδρα/ποικιλία. Όλα τα πειραματικά δένδρα δέχτηκαν τις ίδιες καλλιεργητικές πρακτικές. Δόθηκε έμφαση στη μελέτη του ελληνικού γονότυπου συγκριτικά με τις ξένες ποικιλίες.

2.2 Προκαταρκτικό πείραμα

Λήφθηκαν δείγματα οφθαλμών για μονιμοποίηση από αρχές Νοεμβρίου 2013 έως τέλος Μαρτίου του 2014 για τις ποικιλίες *Wonderful*, *Acco* και το γονότυπο *Περσεφόνη* από το Δενδροκομείο ΓΠΑ, με σκοπό α) τη μελέτη της ανατομίας και μορφολογίας των οφθαλμών β)

τον προσδιορισμό του χρόνου έκπτυξης των οφθαλμών και γ) να εντοπιστούν οι θέσεις των διαφόρων τύπων των οφθαλμών (βλαστοφόροι, ανθοφόροι). Τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας, προκειμένου να πραγματοποιηθούν οι τομές σε οφθαλμούς των ποικιλιών *Wonderful*, *Acco* και *Περσεφόνη* και διατηρούνταν σε μονιμοποιητικό διάλυμα FAA, η παρασκευή του οποίου περιγράφεται παρακάτω. Οι τομές αυτές, έγιναν σε ψυκτικό μικροτόμο και η παρατήρησή τους θα γινόταν σε οπτικό μικροσκόπιο. Δυστυχώς λόγω του μικρού μεγέθους των οφθαλμών ήταν πολύ δύσκολη η κοπή λεπτών τομών που θα χρησιμοποιούνταν στη συνέχεια για παρατήρηση. Για το λόγο αυτό η μέθοδος κρίθηκε ανεπιτυχής. Στη συνέχεια δοκιμάστηκε μια εναλλακτική μέθοδος στα δείγματα μονιμοποιημένων οφθαλμών των προαναφερθεισών ποικιλιών ροδιάς. Τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Μορφολογίας και Φυσιολογίας Φυτών και εμβαπτίστηκαν σε παραφίνη. Πραγματοποιήθηκαν πάλι τομές με τη χρήση μικροτόμου και στη συνέχεια παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο χωρίς και πάλι την ύπαρξη θετικών αποτελεσμάτων για τη μελέτη των οφθαλμών. Πιθανόν να οφείλεται στο μικρό μέγεθος των οφθαλμών και τη λεπτότητα του ιστού. Τελικά αποφασίστηκε να εφαρμοστεί μια απλή μέθοδος που συνίστατο στην εφαρμογή τομών με το χέρι και τη χρήση ξυραφιού. Στη συνέχεια ακολουθούσε παρατήρηση των τομών στο στερεοσκόπιο και πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας. Η μέθοδος αυτή ήταν αποτελεσματική για παρατηρήσεις σε οφθαλμούς, την έκπτυξη των οφθαλμών και σε όλα τα στάδια εξέλιξης της διαφοροποίησης οφθαλμών – ανθοφορίας μέχρι και την καρπόδεση.

2.2.1 Μονιμοποιητικό διάλυμα FAA

Για την παρασκευή 1L μονιμοποιητικού διαλύματος FAA χρησιμοποιήθηκαν: 50 mL φορμόλης (40%), 50 mL οξικού οξέος και 900 mL αιθανόλης (70%) και ακολούθησε ανάδευση για την ανάμειξη των διαλυμάτων.

2.2.2 Μικροτόμηση με κρυοστάτη

Αφού παρέμειναν δύο ημέρες μετά τη συλλογή τους οι οφθαλμοί στο μονιμοποιητικό διάλυμα FAA, ξεπλύθηκαν με απεσταγμένο νερό και ακολούθησε μικροτόμηση σε κρυοστάτη (Ψυκτικός μικροτόμος, Leica CM 1850).

2.2.3 Παραφίνωση

Αρχικά, μετά την αφαίρεση των φυτικών ιστών από διάλυμα FAA για την αφαίρεση του νερού ακολουθήθηκαν τα εξής βήματα με την εμβάπτιση σε αιθανόλη:

1. 50% αιθανόλη για μια ώρα
2. 75% αιθανόλη για μια ώρα
3. 80% αιθανόλη για μια ώρα
4. 90% αιθανόλη για μια ώρα
5. 95% αιθανόλη για μια ώρα
6. 100% αιθανόλη για μια ώρα

Το 6^ο στάδιο επαναλαμβάνεται άλλες δύο φορές. Έπειτα, ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία εμβάπτισης για την αφαίρεση της αλκοόλης:

1. 25% ξυλένιο και 75% αιθανόλη για μια ώρα
2. 50% ξυλένιο και 50% αιθανόλη για μια ώρα
3. 75% ξυλένιο και 25% αιθανόλη για μια ώρα
4. 100% ξυλένιο για μια ώρα

Το 4^ο στάδιο επαναλαμβάνεται άλλες 2 φορές.

Στο επόμενο στάδιο χρησιμοποιήθηκε παραφίνη (pellets) στα δείγματα με ξυλένιο και η προσθήκη γίνονταν μία προς μία μέχρι να αρχίσουν να πήζουν. Αφού αρχίσει η διαδικασία της πήξης τοποθετούνται σε θερμαντική πλάκα (hot plate) και συνεχίζεται η προσθήκη παραφινών μία προς μία μέχρι να αρχίσουν να διαλύονται και οι τελευταίες παραφίνες. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν τα δείγματα ως είχαν στο φούρνο για μια ημέρα στους 60° C. Την επόμενη μέρα αφαιρέθηκε η παραφίνη με το ξυλένιο από τα δείγματα του φυτικού ιστού και έγινε προσθήκη παραφίνης η αλλαγή της οποίας πραγματοποιούνταν πρωί και μεσημέρι. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε για 2 – 3 ημέρες, με τέτοιο τρόπο, ώστε να διατηρείται η παραφίνη σε ρευστή μορφή. Τοποθετήθηκαν τα καλούπια σε πάγο ώστε να παγώσουν και έγινε προσθήκη ζεστής παραφίνης που φέρεται και ο φυτικός ιστός μέχρι να πήξει στο καλούπι από τη βάση προς την επιφάνεια και παραμένουν τα δείγματα για μιάμιση ώρα. Έπεται η μικροτόμηση.

2.2.4 Μικροτόμηση

Κάθε δείγμα τοποθετήθηκε σε χειροκίνητο μικροτόμο (Leica microsystems, Wetzlar Germany) και πραγματοποιήθηκαν τομές πάχους 10μm. Ακολούθησε επιλογή των τομών σε οπτικό μικροσκόπιο (Carl Zeiss Microscopy, Göttingen Germany). Οι επιλεγμένες τομές τοποθετήθηκαν στις αντικειμενοφόρους. Σε αυτές προστέθηκε μικρή ποσότητα αποσταγμένου – αποστειρωμένου νερού κατά τέτοιο τρόπο ώστε οι τομές να επιπλέουν στις αντικειμενοφόρους. Έπειτα τοποθετήθηκαν σε θερμαινόμενη πλάκα στους 42 °C. Μετά την πάροδο 10 min το νερό αφαιρέθηκε προσεκτικά με απορροφητικό χαρτί και οι αντικειμενοφόροι παρέμειναν στους 42 °C για 48h για να εξατμιστεί το νερό και να προσκολληθούν οι τομές στις αντικειμενοφόρους.

2.2.5 Τομές με ξυράφι

Πραγματοποιήθηκαν επιμήκεις τομές με ξυράφι και παρατηρήσεις των τομών σε στερεοσκόπιο Olympus SZX12. Παράλληλα λαμβάνονταν φωτογραφίες των τομών και ολόκληρων οφθαλμών και ανθέων με σύστημα ψηφιακής κάμερας Olympus DP71.

2.3 Πείραμα 1

Στο πρώτο πείραμα μελετήθηκαν: α) Η μορφολογία και ανατομία των ανθοφόρων οφθαλμών β) Τα διάφορα στάδια έκπτυξης και διαφοροποίησης των οφθαλμών γ) στη συνέχεια τα διάφορα στάδια ανθοφορίας, καρπόδεσης και ανάπτυξης των καρπών. Για τη μελέτη της ανατομίας και διαφοροποίησης οφθαλμών λαμβάνονταν δείγματα οφθαλμών από τα πειραματικά δένδρα των τριών ποικιλιών σε διάφορα χρονικά διαστήματα. Η διαδικασία που ακολούθηθηκε περιγράφεται αναλυτικά πιο κάτω.

2.3.1 Δειγματοληψία οφθαλμών για τη μελέτη της μορφολογίας και έναρξης

διαφοροποίησης

Αρχικά, συλλέχθηκαν οφθαλμοί τον Ιανουάριο 2015 προτού εκπτυχθούν με σκοπό τη διερεύνηση ύπαρξης ανθικών καταβολών στους οφθαλμούς. Από το Φεβρουάριο του ίδιου έτους άρχισε η συλλογή ληθαργούντων οφθαλμών δύο φορές εβδομαδιαίως και από τους 3 τρεις γονότυπους. Από την έκπτυξη των οφθαλμών και μετά μέχρι και τα τέλη Μαΐου λαμβάνονταν δείγματα από λογχοειδή και κορυφές της τρέχουσας βλάστησης που προήλθε από βλαστους 1 έτους. Οι κορυφές αυτές ήταν είτε αναπαραγωγικές (έδιναν άνθη) ή βλαστικές μη αναπαραγωγικές. Η μορφολογία και ανατομία τους παρατηρήθηκε σε στερεοσκόπιο στο

Εργαστήριο Εδαφολογίας (Novex, Zoom Stereo, RZ-Range) και φωτογραφήθηκε με σύστημα ψηφιακής κάμερας (Cmex, Cmos Camera).

2.3.2 Μελέτη της μορφολογίας ανθέων, προσδιορισμός του ποσοστού γόνιμων ανθέων και της καρπόδεσης

Στον ίδιο πειραματικό αγρό του ΓΠΑ όπου έγιναν οι προηγούμενες παρατηρήσεις και στα ίδια πειραματικά δένδρα τοποθετήθηκαν ετικέτες (1/άνθος) στις 18/5/2015. Για τις παρατηρήσεις αυτές χρησιμοποιήθηκαν 3 δένδρα/γονότυπο. Τα άνθη αυτά χρησιμοποιήθηκαν για παρατηρήσεις της μορφολογίας των ανθέων, τον προσδιορισμό των γόνιμων και άγονων καθώς και το ποσοστό της καρπόδεσης είχαν προέλθει από το 1^ο κύμα άνθησης. Οι ημερομηνίες καταγραφής των πιο πάνω παρατηρήσεων για το έτος 2015 ήταν 22/5/2015, 26/5/2015 και 2/6/2015. Τα άνθη χωρίστηκαν σε βραχύστυλα (κωνικά) που ήταν τα άγονα και σε μακρόστυλα (κυλινδρικά) που ήταν τα γόνιμα, βάσει της εξωτερικής μορφολογικής τους εμφάνισης και του μεγέθους του στύλου. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε η καταγραφή των γόνιμων ανθέων και του ποσοστού της καρπόδεσης. Η καρπόδεση υπολογίστηκε με βάση το συνολικό αριθμό ανθέων. $\text{Καρπόδεση \%} = (\text{αριθμός καρπών} / \text{σύνολο ανθέων}) \times 100$ και μετρήθηκε στις 2/6/2015.

2.3.3 Μελέτη της καμπύλης ανάπτυξης των καρπών

Για τη μελέτη της καμπύλης ανάπτυξης των καρπών χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια πειραματικά δένδρα του προηγούμενου πειράματος (τρία δένδρα ανά γονότυπο, τρεις γονότυποι). Ύστερα από την τοποθέτηση ετικετών σε 10 μικρούς καρπούς/δένδρο πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της διαμέτρου και του μήκους των καρπών. Οι μετρήσεις λήφθηκαν με τη χρήση ψηφιακού παχύμετρου ακριβείας σε mm (HGM Digital Caliper). Οι ημερομηνίες καταγραφής των διαστάσεων των καρπών, για το έτος 2015 ήταν 8/6/2015, 15/6/2015, 23/6/2015, 1/7/2015, 7/7/2015, 14/7/2015, 20/7/2015, 27/7/2015 και 6/8/2015. Η πλήρης άνθηση σημειώθηκε στις 26/5/2015 και επομένως οι παραπάνω ημερομηνίες αντιστοιχούν σε 14, 21, 29, 37, 43, 50, 56, 63 και 73 ημέρες μετά την πλήρη άνθηση.

2.4 Πειραματικό σχέδιο και στατιστική επεξεργασία

Το πειραματικό σχέδιο ήταν πλήρως τυχαιοποιημένο, με 3 επαναλήψεις (δένδρα) ανά ποικιλία. Εφαρμόστηκε σε τρεις γονότυπους *Wonderful*, *Acco* και *Περσεφόνη* ήταν μονοπαραγοντικό πείραμα με επίδραση την ποικιλία. Η στατιστική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε με τη χρήση

του SPSS για τον προσδιορισμό των ποσοστών γόνιμων ανθέων και καρπόδεσης. Σημαντικές διαφορές προσδιορίστηκαν με one-way ANOVA, Duncan's multiple range test σε επίπεδο σημαντικότητας $p \leq 0.05$.

2.5 Πείραμα 2

Το πείραμα αυτό ήταν επανάληψη του 1^{ου} πειράματος και επομένως μελετήθηκαν: α) Η μορφολογία και ανατομία των ανθοφόρων οφθαλμών β) Τα διάφορα στάδια έκπτυξης και διαφοροποίησης των οφθαλμών γ) Στη συνέχεια τα διάφορα στάδια ανθοφορίας, καρπόδεσης και ανάπτυξης των καρπών.

Για τη μελέτη της ανατομίας και διαφοροποίησης οφθαλμών λαμβάνονταν δείγματα οφθαλμών από τα πειραματικά δένδρα των τριών ποικιλιών σε διάφορα χρονικά διαστήματα.

2.5.1 Δειγματοληψία οφθαλμών για τη μελέτη της μορφολογίας και έναρξης διαφοροποίησης

Αρχικά, συλλέχθηκαν οφθαλμοί τον Ιανουάριο 2016 προτού εκπτυχθούν με σκοπό τη διερεύνηση ύπαρξης ανθικών καταβολών στους οφθαλμούς. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι η ίδια που πραγματοποιήθηκε με τη διεξαγωγή του 1^{ου} πειράματος το έτος 2015. Από το Φεβρουάριο 2016 άρχισαν να παρατηρούνται και να λαμβάνονται ληθαργούντες οφθαλμοί δύο φορές εβδομαδιαίως και από τους 3 τρεις γονότυπους και από την έκπτυξη των οφθαλμών και μετά μέχρι τα τέλη Μαΐου λαμβάνονταν αναπαραγωγικές κορυφές (από λογχοειδή και τρέχουσα βλάστηση) και παράλληλα λαμβάνονταν δείγματα και βλαστικών μη αναπαραγωγικών κορυφών για σύγκριση με τις αναπαραγωγικές. Η ανατομία τους παρατηρήθηκε σε στερεοσκόπιο Olympus SZX12 και φωτογραφήθηκε με σύστημα ψηφιακής κάμερας Olympus DP71, στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας.

2.5.2 Μελέτη της μορφολογίας ανθέων, προσδιορισμός του ποσοστού γόνιμων ανθέων και της καρπόδεσης

Στον ίδιο πειραματικό αγρό του ΓΠΑ όπου έγιναν οι προηγούμενες παρατηρήσεις και στα ίδια πειραματικά δένδρα τοποθετήθηκαν ετικέτες (1/άνθος) στις 9/5/2016. Για τις παρατηρήσεις αυτές χρησιμοποιήθηκαν 3 δένδρα/γονότυπο. Τα άνθη αυτά χρησιμοποιήθηκαν για παρατηρήσεις της μορφολογίας των ανθέων, τον προσδιορισμό των γόνιμων και άγονων καθώς και το ποσοστό της καρπόδεσης είχαν προέλθει από το 1^ο κύμα άνθησης. Οι ημερομηνίες καταγραφής των πιο πάνω παρατηρήσεων για το έτος 2016 ήταν οι ημερομηνίες 23/5/2016,

30/5/2016 και 6/6/2016. Τα άνθη χωρίστηκαν σε βραχύστυλα (κωνικά) που ήταν τα άγονα και σε μακρόστυλα (κυλινδρικά) που ήταν τα γόνιμα, βάσει της εξωτερικής μορφολογικής τους εμφάνισης και του μεγέθους του στύλου. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε η καταγραφή των γόνιμων ανθέων και του ποσοστού της καρπόδεσης. Η καρπόδεση υπολογίστηκε με βάση το συνολικό αριθμό ανθέων όπως και στο προηγούμενο πείραμα και τον τύπο: Καρπόδεση $\% = (\text{αριθμός καρπών} / \text{σύνολο ανθέων}) \times 100$ και μετρήθηκε στις 6/6/2016.

2.5.3 Μελέτη της καμπύλης ανάπτυξης των καρπών

Για τη μελέτη της καμπύλης ανάπτυξης των καρπών χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια πειραματικά δένδρα του προηγούμενου πειράματος (τρία δένδρα ανά γονότυπο, τρεις γονότυποι). Ύστερα από την τοποθέτηση ετικετών σε 10 μικρούς καρπούς/δένδρο πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της διαμέτρου και του μήκους των καρπών. Οι μετρήσεις λήφθηκαν με τη χρήση ψηφιακού παχύμετρου ακριβείας σε mm (HGM Digital Caliper). Για το έτος 2016 οι ημερομηνίες παρατηρήσεων και καταγραφής των διαστάσεων των καρπών, ήταν 23/5/2016, 30/5/2016, 6/6/2016, 13/6/2016, 23/6/2016, 29/6/2016, 5/7/2016, 12/7/2016, 19/7/2016, 26/7/2016, 2/8/2016, 8/8/2016 και 14/8/2016. Η πλήρης άνθηση σημειώθηκε στις 16/5/2016 και επομένως οι παραπάνω ημερομηνίες αντιστοιχούν σε 8, 15, 22, 29, 39, 45, 51, 58, 65, 72, 79, 85 και 91 ημέρες μετά την πλήρη άνθηση.

2.6 Πειραματικό σχέδιο και στατιστική επεξεργασία

Το πειραματικό σχέδιο ήταν πλήρες τυχαιοποιημένο, με 3 επαναλήψεις (δένδρα) ανά ποικιλία. Εφαρμόστηκε σε τρεις γονότυπους *Wonderful*, *Acco* και *Περσεφόνη*, ήταν μονοπαραγοντικό πείραμα με μόνο παράγοντα την επίδραση της ποικιλίας. Η στατιστική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του SPSS για τον προσδιορισμό του αριθμού γόνιμων ανθέων, του ποσοστού (%) γόνιμων ανθέων, του ποσοστού καρπόδεσης και του αριθμού καρπών. Σημαντικές διαφορές προσδιορίστηκαν με one-way ANOVA, Duncan's multiple range test σε επίπεδο σημαντικότητας $p \leq 0.05$.

3. Αποτελέσματα

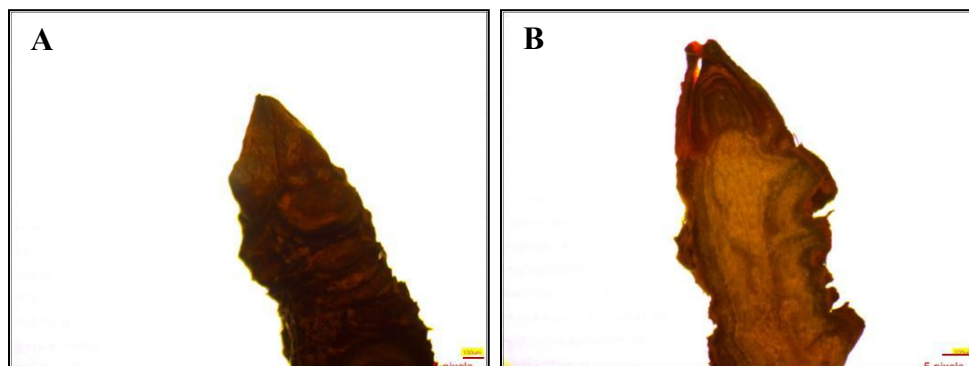
Πείραμα 1

3.1 Μελέτη της μορφολογίας των οφθαλμών, των σταδίων διαφοροποίησης και εξέλιξης της ανθοφορίας (2015)

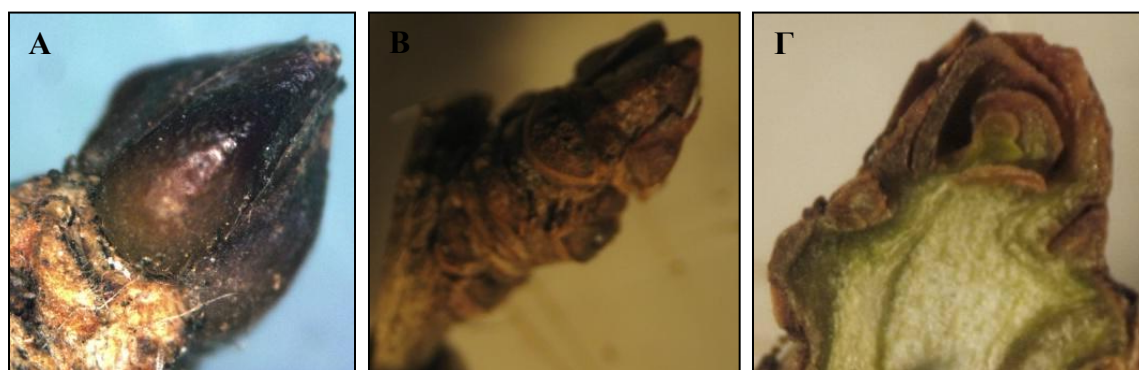
Περιγράφονται τα πιο πάνω στάδια στο γονότυπο *Περσεφόνη*. Παρόμοιες όμως αλλαγές και στάδια εξέλιξης της βλάστησης και των σταδίων ανθοφορίας παρατηρήθηκαν και στις άλλες δύο ποικιλίες που μελετήθηκαν.

Τη χειμερινή περίοδο και συγκεκριμένα στις 14/01/2015 στα πειραματικά δένδρα παρατηρήθηκαν πολυάριθμοι, λείοι, ανοικτού γκρι χρώματος βλαστοί. Από την πρώτη δειγματοληψία ληθαργούντων οφθαλμών (02/02/2015) ήταν διακριτά εξωτερικά, τέσσερα σχετικά σκληρά και σκούρου καφέ χρώματος λέπια (Εικόνα 7Α και 7Β). Τις τελευταίες μέρες του Φεβρουαρίου έγιναν ορατές αλλαγές στους οφθαλμούς με ορισμένους από τους ληθαργούντες οφθαλμούς να φουσκώνουν και να παρατηρείται σταδιακό άνοιγμα των λεπιών (Εικόνες 8Α – 8Γ). Εκτός των μικρών αυτών αλλαγών οι ληθαργούντες οφθαλμοί επικρατούσαν ακόμη πάνω στα δένδρα. Στις ημερομηνίες αυτές δεν παρατηρήθηκε καμμία ένδειξη διαφοροποίησης (δεν φαίνονταν καμμία ανθική καταβολή). Όλοι οι ληφθέντες οφθαλμοί από τα δένδρα είχαν την ίδια ανατομική – μορφολογική εμφάνιση εξωτερικά και εσωτερικά, μακροσκοπικά αλλά και σε παρατηρήσεις επιμήκων τομών στο στερεοσκόπιο. Οι οφθαλμοί ήταν πολύ μικρού μεγέθους και είχαν κωνικό σχήμα που είναι συνήθως η μορφή των βλαστοφόρων (ξυλοφόρων) οφθαλμών και διακρίνονταν καταβολές φύλλων (Εικόνες 7Β, 8Β και 8Γ).

Λήθαργος



Εικόνα 7. Οφθαλμός ροδιάς σε λήθαργο (Α) του γονότυπου *Περσεφόνη* (14/01/2015) και σε τομή (Β). Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 µm.



Εικόνα 8. Οφθαλμός ροδιάς σε λήθαργο (τέλος Φεβρουαρίου) του γονότυπου *Περσεφόνη* πριν την έναρξη ανοίγματος των λεπιών (Α) και κατά το άνοιγμα των λεπιών (Β) και τομή ληθαργούντος οφθαλμού κατά το άνοιγμα των λεπιών (Γ).

Παρατηρήσεις κατά και μετά την έξοδο των οφθαλμών από το λήθαργο

Η έκπτυξη των πρώτων οφθαλμών το έτος 2015 σημειώθηκε νωρίς το Μάρτιο (5/3/2015) για το γονότυπο *Περσεφόνη* (Εικόνες 9Α και 9Β). Στα μέσα Μαρτίου (15/3/2015) παρατηρήθηκε κόκκινο χρώμα στο φύλλωμα και προχωρημένη βλαστική ανάπτυξη των εκπτυγμένων οφθαλμών. Την ίδια ημερομηνία εμφανίστηκαν και οι πρώτοι ανθοφόροι οφθαλμοί (στάδιο 1), πολύ μικροί και στρογγυλοί με κόκκινο χρωματισμό (περίπου 10 ημέρες από την έναρξη της βλάστησης). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκαν οι πρώτες καταβολές ανθοφόρων οφθαλμών σε λογχοειδή (που βρίσκονταν σε βλαστούς ηλικίας 2 – 3 ετών) και στα πλάγια βλαστών 1 έτους. Παρατηρήσεις στο στερεοσκόπιο έδειξαν τις πρώτες καταβολές σεπάλων. Οι οφθαλμοί αυτοί εξελίχθηκαν τις επόμενες ημέρες και έγιναν παρατηρήσεις στο στερεοσκόπιο που έδειξαν την εξέλιξη αυτών σε διάφορα στάδια με την εμφάνιση αρχικά των σεπάλων και στη συνέχεια των άλλων μερών του άνθους. Τα στάδια αυτά περιγράφονται πιο κάτω.

Τέλη Μαρτίου (30/3/2015), το φύλλωμα έγινε σταδιακά πράσινο και συνεχίστηκε η περαιτέρω ανάπτυξη του, ενώ εξακολουθούσαν να συνυπάρχουν εκπτυγμένοι βλαστοφόροι οφθαλμοί με κόκκινη κορυφή (Εικόνες 10Α και 10Β). Στο ίδιο διάστημα εμφανίζονταν σταδιακά και νέοι ανθοφόροι οφθαλμοί από λογχοειδή και τα πλάγια βλαστών 1 έτους. Μακροσκοπικές παρατηρήσεις και με τη χρήση του στερεοσκοπίου που έγιναν στους πρώτους ανθοφόρους οφθαλμούς πάνω σε λογχοειδή έδειξαν την εξέλιξή τους στα πιο κάτω διαφορετικά στάδια.

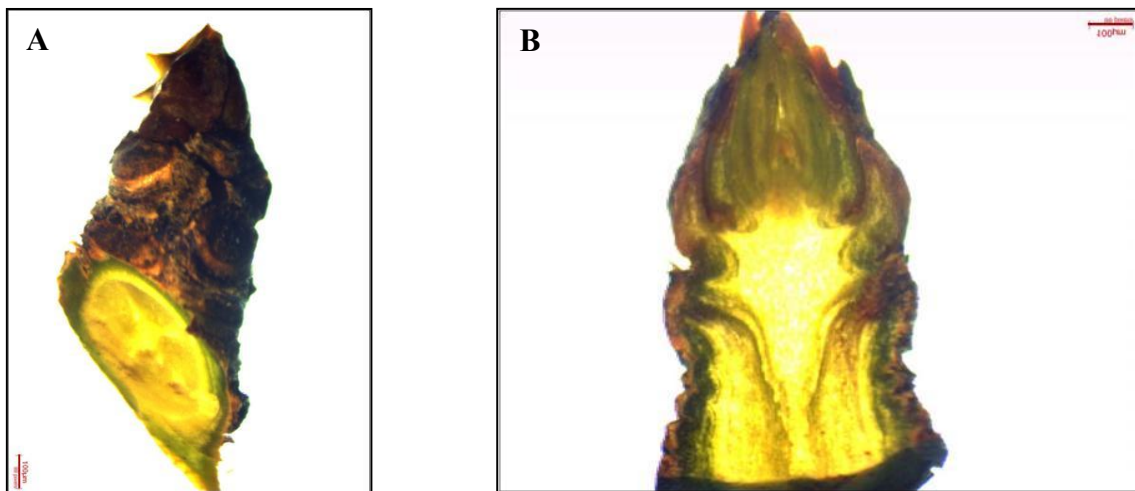
Στην κορυφή ορισμένων οφθαλμών που βρίσκονταν σε λογχοειδή βλάστηση ή στα πλάγια βλαστών 1 έτους υπήρξαν σημαντικές αλλαγές. Με το φούσκωμα των οφθαλμών εμφανίστηκαν στρογγυλού σχετικά σχήματος κορυφές (αντί του κωνικού των βλαστοφόρων οφθαλμών) με ορατά τα σέπαλα (κλειστός κάλυκας). Οι οφθαλμοί αυτοί εξελίχθηκαν είτε σε μεμονωμένα άνθη είτε σε πολύ μικρή βλάστηση με λίγα φύλλα και στην κορυφή ένα ή περισσότερα άνθη. Παρόμοιες αλλαγές συνέβησαν και σε ορισμένους οφθαλμούς που βρίσκονταν στα πλάγια βλαστών 1 έτους. Αυτή η αλλαγή σηματοδοτεί την πρώτη εμφάνιση ανθικών καταβολών δηλαδή των σεπάλων (σταδιο 1 διαφοροποίησης). Μετά την ολοκλήρωση των διαφόρων σταδίων διαφοροποίησης και την πλήρη άνθηση των πρώτων αυτών ανθέων εμφανίστηκαν οι πρώτες ανθικές καταβολές στην τρέχουσα βλάστηση. Περίπου 40 ημέρες από την έναρξη διαφοροποίησης των πρώτων ανθοφόρων οφθαλμών σε λογχοειδή και στα πλάγια βλαστών 1 έτους (Εικόνες 18Α – 18Γ). Οι βλαστοί τρέχουσας βλάστησης είχαν μήκος που κυμάνθηκε περίπου από τα 5 – 20cm.

Τα στάδια διαφοροποίησης – ανθοφορίας, από την εμφάνιση των πρώτων ανθικών καταβολών μέχρι και την αρχική καρπόδεση, διακρίνονται σε επτά (7) και χαρακτηρίζονται από τις αλλαγές στις ανθικές καταβολές και τα διάφορα μέρη του άνθους καθώς και την αύξηση του μεγέθους τους (Πίνακας 3). Ακολουθεί η αναλυτική περιγραφή των επτά σταδίων όπως παρατηρήθηκαν μακροσκοπικά αλλά και από το στερεοσκόπιο για το γονότυπο *Περσεφόνη*. Το στάδιο 1 χαρακτηρίζεται από την έκπτυξη ανθοφόρων οφθαλμών με ορατές τις πρώτες ανθικές καταβολές που είναι ο κλειστός κάλυκας (ενωμένα σέπαλα) χωρίς να διακρίνονται άλλες ανθικές καταβολές (Εικόνες 11Α και 11Β, Πίνακας 3). Το χρώμα του κλειστού κάλυκα ήταν πράσινο. Ακολουθεί το στάδιο 2, με πιο εμφανείς πλέον τις καταβολές σεπάλων καθώς και την εμφάνιση των πρώτων καταβολών στημόνων και υπέρου (Εικόνες 12Α και 12Β, Πίνακας 3). Τα μικρά κλειστά άνθη είχαν κυρίαρχο χρώμα το πράσινο και την εμφάνιση κόκκινου χρώματος στην κορυφή τους. Έπεται το στάδιο 3, το οποίο χαρακτηρίζεται από την αυξημένη ανάπτυξη του μικρού άνθους,

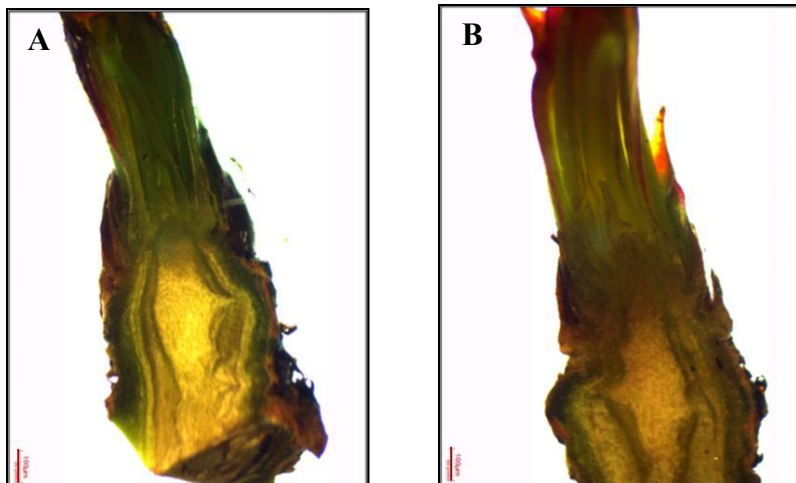
την εμφάνιση μεγαλύτερων καταβολών σεπάλων και στημόνων και το σχηματισμό καταβολών ανθήρων. Επίσης, ο ύπερος είναι μεγαλύτερου μεγέθους και φαίνονται οι χώροι της ωοθήκης ενώ δεν διακρίνονται ακόμη καταβολές πετάλων. Το χρώμα εξωτερικά είναι κόκκινο. (Εικόνα 13, Πίνακας 3). Στη συνέχεια διακρίνεται το στάδιο 4 με ακόμη αυξημένο μέγεθος του μικρού κλειστού άνθους, των σεπάλων, του ύπερου και των στημόνων, ενώ εμφανίζονται και οι καταβολές πετάλων. Στο στάδιο αυτό, θεωρούμε ότι έχει σχεδόν ολοκληρωθεί η διαφοροποίηση όλων των ανθικών μερών (Εικόνες 14A και 14B, Πίνακας 3). Η μετάβαση από το στάδιο 1 μέχρι και το στάδιο 4 πραγματοποιείται σε μικρό χρονικό διάστημα (λίγες ημέρες). Ακολουθεί το στάδιο 5, το οποίο χαρακτηρίζεται από ακόμη αυξημένο μέγεθος κλειστού ακόμη άνθους και των ανθικών μερών και προχωρημένη ανάπτυξη πετάλων που είναι διπλωμένα στο εσωτερικό του άνθους λίγο πριν την άνθηση. Παρατηρείται εξόγκωση του κλειστού άνθους με τάση να παίρνει σφαιρικό σχήμα. Το κλειστό άνθος αποκτά εξωτερικά έντονο κόκκινο χρώμα (Εικόνες 15A και 15B, Πίνακας 3). Το επόμενο στάδιο 6 είναι αυτό της πλήρους άνθησης, τα άνθη έχουν ανοίξει και αποκτήσει το τελικό τους μέγεθος. Στο στάδιο αυτό παρατηρήθηκε αλλαγή του χρώματος των ανθήρων και του στύλου από ανοικτό κίτρινο χρώμα σε σκούρο κίτρινο. Φαίνεται ολόκληρη η στεφάνη που αποτελείται από 5 πέταλα. Η διάρκεια από το στάδιο 4 μέχρι την πλήρη άνθηση διαρκεί περισσότερο χρόνο από ότι τα 4 πρώτα στάδια. Η διάρκεια αυτή εκτιμήθηκε από 15 έως 25 ημέρες. Ακολουθεί η μάρανση και η πτώση των πετάλων, οι ανθίρες αποκτούν γκριζο-κίτρινο χρώμα και το τερματικό μέρος του στύλου μαραίνεται. Επίσης, εξωτερικά το άνθος από κόκκινο έγινε ανοιχτό πορτοκαλί (Εικόνες 16A και 16B, Πίνακας 3). Μετά την πτώση των πετάλων ακολουθεί το στάδιο 7, όπου παρατηρείται η αρχική καρπόδεση και η γονιμοποιημένη ωοθήκη έχει αναπτυχθεί σε μέγεθος και διακρίνεται η διόγκωση της βάσης του μικρού καρπού. Έπεται ο μαρασμός των στημόνων και η μεταβολή του χρώματος στο φλοιό του καρπού από πορτοκαλο-κόκκινο σε πρασινο-καφέ (Εικόνες 17A και 17B, Πίνακας 3). Η πλήρης άνθηση σημειώθηκε στις 36 ημέρες περίπου από την εμφάνιση των πρώτων καταβολών ανθέων σε λογχοειδή και στα πλάγια βλαστών 1 έτους. Η έναρξη διαφοροποίησης στην τρέχουσα βλάστηση στο γονότυπο *Περσεφόνη* σημειώθηκε περίπου 40 ημέρες από την έναρξη της πρώτης εμφάνισης καταβολών ανθέων σε λογχοειδή και στα πλάγια βλαστών 1 έτους.

Όμοια ήταν τα στάδια διαφοροποίησης και ανθοφορίας για τις ποικιλίες *Acco* και *Wonderful* καθώς και η ημερομηνία έκπτυξης των βλαστοφόρων οφθαλμών (5/03/2015). Συνοπτικά, για

την ποικιλία *Acco* η έναρξη καταβολών ανθέων απο λογχοειδή και στα πλάγια βλαστών 1 έτους παρατηρήθηκε 7 ημέρες από την έναρξη της βλάστησης και η αντίστοιχη από την τρέχουσα βλάστηση στις 36 ημέρες περίπου από την έναρξη πρώτης εμφάνισης καταβολών ανθέων σε λογχοειδή και στα πλάγια βλαστών 1 έτους, ενώ η πλήρης άνθηση καταγράφηκε στις 32 ημέρες από την έναρξη πρώτης εμφάνισης καταβολών ανθέων σε λογχοειδή και στα πλάγια βλαστών 1 έτους. Για την ποικιλία *Wonderful*, η έναρξη καταβολών ανθέων από λογχοειδή συνέβη στις 10 ημέρες από την έναρξη της βλάστησης, η αντίστοιχη από την τρέχουσα βλάστηση ήταν περίπου 40 ημέρες από την έναρξη της πρώτης εμφάνισης καταβολών ανθέων σε λογχοειδή και στα πλάγια βλαστών 1 έτους. Η πλήρης άνθηση σημειώθηκε 36 ημέρες περίπου από την εμφάνιση των πρώτων καταβολών ανθέων σε λογχοειδή και στα πλάγια βλαστών 1 έτους. Ο γονότυπος *Περσεφόνη* και η ποικιλία *Wonderful* συμβάδιζαν ως προς τον αριθμό ημερών για τα στάδια εξέλιξης της ανθοφορίας, αντίθετα η ποικιλία *Acco* ήταν λίγο πιο πρόωμη.



Εικόνα 9. Εκπτυγμένος βλαστοφόρος οφθαλμός του γονότυπου *Περσεφόνη* κατά ημερομηνία 5/3/2015 (Α: ολόκληρος και Β: σε τομή). Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 µm.



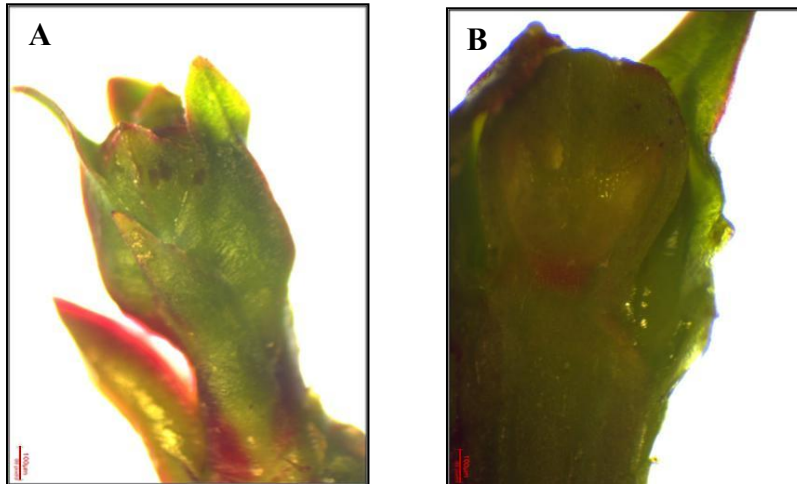
Εικόνα 10. Τομές εκπτυγμένων βλαστοφόρων οφθαλμών του γονότυπου *Περσεφόνη* 16/3/2015. Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm .

Πίνακας 3. Στάδια διαφοροποίησης – ανθοφορίας σε λογχοειδή ροδιάς γονότυπου ‘Περσεφόνη’ το 2015.

Στάδιο	Περιγραφή
Λήθαργος	Όλοι οι οφθαλμοί βρίσκονται σε λήθαργο. Διακρίνονται τέσσερα λέπια χρώματος σκούρου καφέ.
Έκπτυξη βλαστοφόρων	Κατά την έξοδο από το λήθαργο, οι οφθαλμοί φουσκώνουν με σταδιακό άνοιγμα των λεπιών. Οι βλαστοφόροι εκπτύσσονται ενώ οι ανθοφόροι βρίσκονται σε λήθαργο.
Στάδιο 1	Φούσκωμα ανθοφόρων οφθαλμών – Έκπτυξη των ανθοφόρων – Έναρξη διαφοροποίησης. Διακρίνονται οι πρώτες καταβολές σεπάλων (κλειστός κάλυκας) που έχει πράσινο χρώμα.
Στάδιο 2	Εμφάνιση εκτός των σεπάλων και των πρώτων καταβολών στημόνων και υπέρου. Εσωτερικά έχει ανοίξει ο κάλυκας. Στα μικρά κλειστά άνθη κυριαρχεί εξωτερικά το πράσινο χρώμα και εμφανίζεται μερικώς κόκκινο χρώμα στην κορυφή.
Στάδιο 3	Αυξημένη ανάπτυξη του μικρού άνθους. Εμφάνιση μεγαλύτερων καταβολών σεπάλων και στημόνων, σχηματισμός καταβολών ανθήρων, Εμφάνιση μεγαλύτερου υπέρου και χώρων ωοθήκης (δεν φαίνονται καταβολές πετάλων). Το χρώμα εξωτερικά είναι κόκκινο.
Στάδιο 4	Αυξημένο μέγεθος του μικρού κλειστού άνθους και επομένως σε σέπαλα, ύπερο και στήμονες και ανθήρες, έναρξη εμφάνισης πετάλων. Στο στάδιο αυτό έχει σχεδόν ολοκληρωθεί η διαφοροποίηση όλων των ανθικών μερών.
Στάδιο 5	Παρατηρείται εξόγκωση του κλειστού άνθους με τάση να παίρνει σφαιρικό σχήμα. Αυξημένο μέγεθος κλειστού άνθους και όλων των ανθικών μερών προχωρημένη ανάπτυξη πετάλων (λίγο πριν την άνθηση). Το κλειστό άνθος αποκτά εξωτερικά έντονο κόκκινο χρώμα.
Στάδιο 6	Πλήρης άνθηση. Τα άνθη απέκτησαν το τελικό τους μέγεθος παρατηρήθηκε αλλαγή του χρώματος των ανθήρων και του στύλου από ανοικτό κίτρινο χρώμα σε σκούρο κίτρινο και η προβολή των πετάλων εξωτερικά του άνθους.
Στάδιο 7	Αρχική καρπόδεση. Η γονιμοποιημένη ωοθήκη του μικρού καρπού έχει αναπτυχθεί σε μέγεθος και παρατηρείται διόγκωση της βάσης του. Έπεται ο μαρασμός των στημόνων και η μεταβολή του χρώματος στο φλοιό του καρπού από πορτοκαλο-κόκκινο σε πρασινο-καφέ.

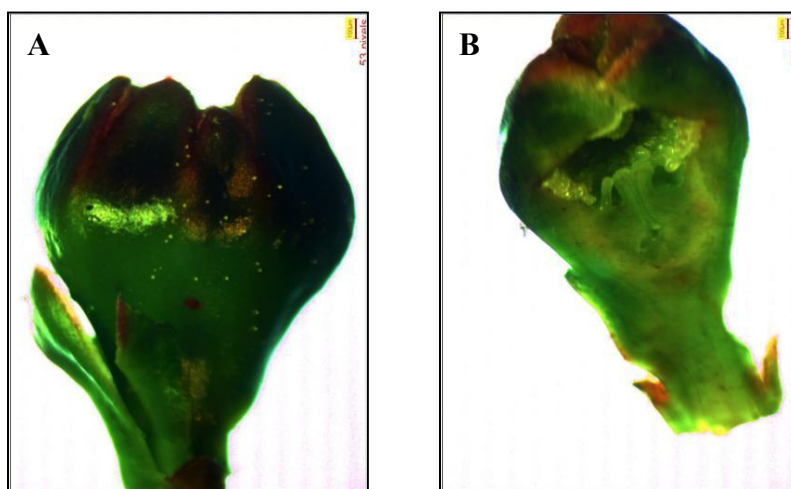
Στάδια εξέλιξης ανθοφόρων οφθαλμών πάνω σε λογχοειδή του γονότυπου *Περσεφόνη*, το 2015

Στάδιο 1



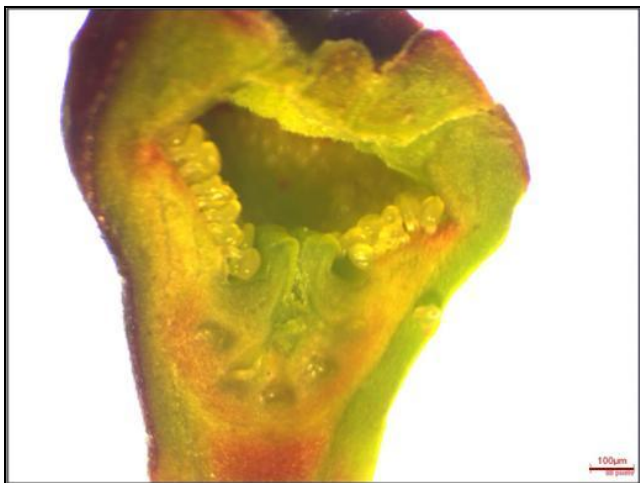
Εικόνα 11. Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με διακριτά μόνο τα σέπαλα χωρίς να είναι διακριτά τα υπόλοιπα ανθηκά όργανα. Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm .

Στάδιο 2



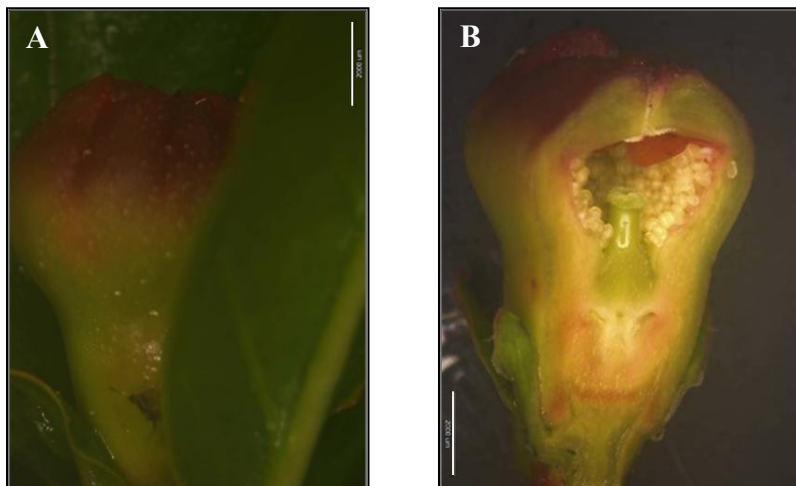
Εικόνα 12. Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με εμφάνιση σεπάλων, και καταβολών στημόνων και υπέρου. Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm .

Στάδιο 3



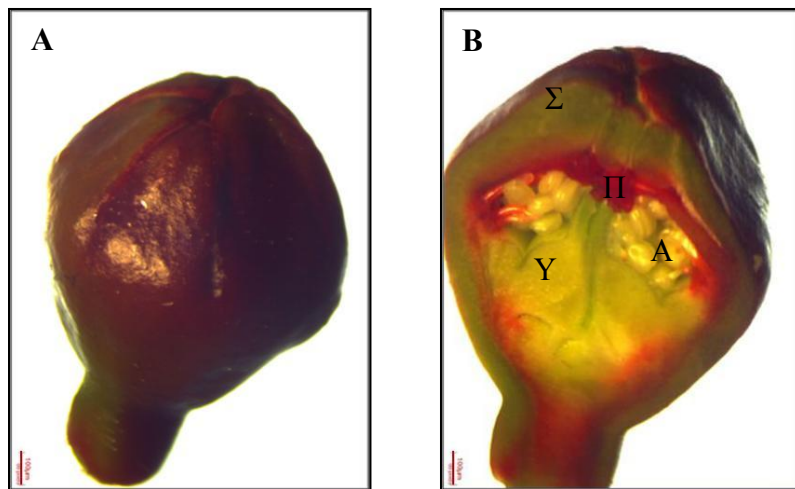
Εικόνα 13.Κλειστό άνθος σε τομή με εμφάνιση αυξημένου μεγέθους σεπάλων, στημόνων και υπέρου. Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm.

Στάδιο 4



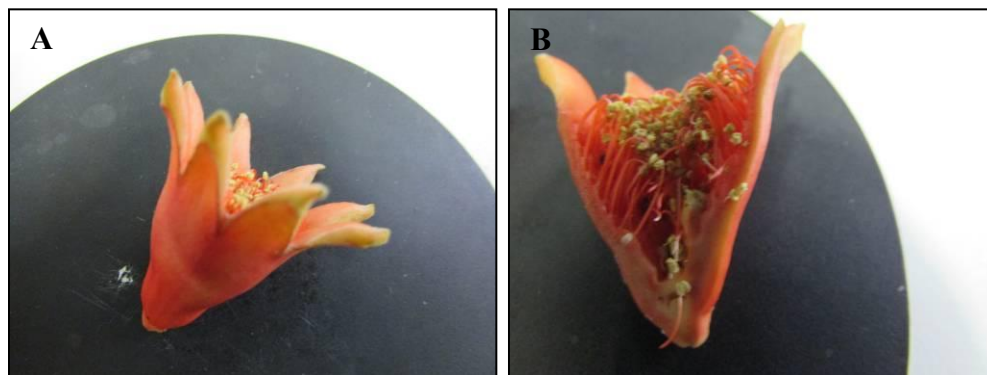
Εικόνα 14.Κλειστό άνθος A: ολόκληρο και B: σε τομή με την εμφάνιση σεπάλων, στημόνων με ανθήρες, καλά ανεπτυγμένου υπέρου και πετάλων. Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 μm.

Στάδιο 5



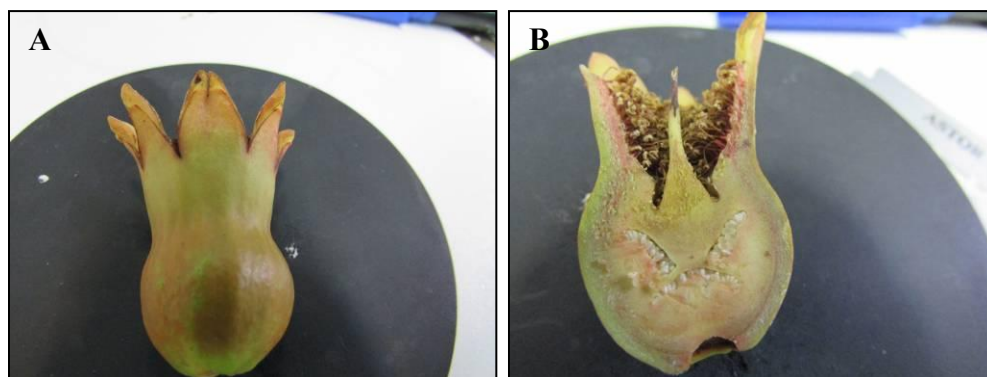
Εικόνα 15.Αυξημένο μέγεθος κλειστού άνθους και ανθικών μερών (όπου Α: ανθήρες, Π: πέταλα, Σ: στέπαλα και Υ: ύπερος) Α: ολόκληρο και Β: σε τομή. Η μπάρα ισοδυναμεί με 1000 μm .

Στάδιο 6



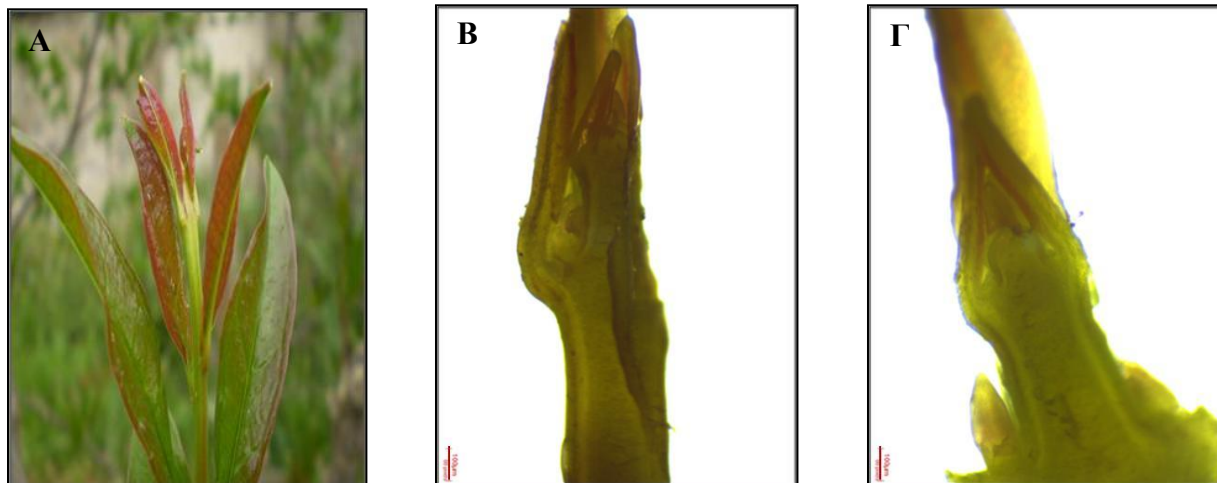
Εικόνα 16.Ανοικτό άγονο άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή.

Στάδιο 7



Εικόνα 17.Μικρός καρπός Α: ολόκληρος και Β: σε τομή.

Έναρξη διαφοροποίησης σε αναπαραγωγικές κορυφές (τρέχουσα βλάστηση) στο γονότυπο *Περσεφόνη*



Εικόνα 18. Αναπαραγωγική κορυφή σε βλαστό τρέχουσας βλάστησης ολόκληρη (Α) και σε τομή (Β) και (Γ). Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 µm.

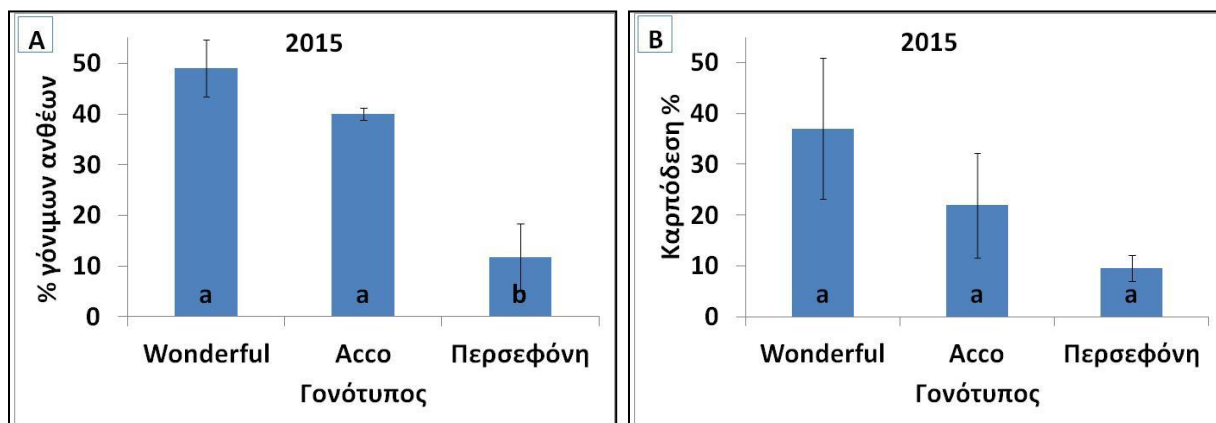
3.2 Προσδιορισμός του ποσοστού γόνιμων ανθέων και του ποσοστού καρπόδεσης στους τρεις γονότυπους ροδιάς

Τα αποτελέσματα (Πίνακας 4) έδειξαν ότι η ποικιλία *Wonderful* είχε το υψηλότερο ποσοστό γόνιμων ανθέων και έφτασε στο 49.07% στις 2/6/2015. Στατιστικά σημαντικά μικρότερο ποσοστό γόνιμων ανθέων παρατηρήθηκε στο γονότυπο *Περσεφόνη* σε σχέση με τους άλλους δύο γονότυπους (11.81%), ενώ η ποικιλία *Acco* είχε ενδιάμεσο ποσοστό γόνιμων ανθέων (39.95%). Ομοίως, υψηλό ποσοστό καρπόδεσης καταγράφηκε στις 2/6/2015 στην ποικιλία *Wonderful* και η τιμή της έφτασε το 37.04%, ενώ το μικρότερο ποσοστό καρπόδεσης σημειώθηκε στο γονότυπο *Περσεφόνη* (9.60%). Η ποικιλία *Acco* παρουσίασε ενδιάμεσο ποσοστό καρπόδεσης που ήταν 21.94% χωρίς όμως να παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των γονοτύπων (Πίνακας 4, Διάγραμμα 2).

Πίνακας 4. Επίδραση της ποικιλίας στο ποσοστό γόνιμων ανθέων και στην καρπόδεση (2015).

	Αριθμός γόνιμων ανθέων	% γόνιμων ανθέων	Καρπόδεση (%)	Αριθμός καρπών
Γονότυπος	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE
<i>Wonderful</i>	9,00±2,52a	49,07±5,63a	37,04±13,83a	7,00±3,61a
<i>Acco</i>	6,67±0,33a	39,95±1,23a	21,94±10,31a	3,67±1,76a
<i>Περσεφόνη</i>	1,33±0,33b	11,81±6,61b	9,60±2,54a	1,03±0,56a

Σημείωση: Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι κάθε γονότυπου που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan's multiple range test, $p \leq 0,05$).



Διάγραμμα 2. Ποσοστό γόνιμων ανθέων (Α) και ποσοστό καρπόδεσης (Β) για τους γονότυπους *Wonderful*, *Acco* και *Περσεφόνη* για τα έτος 2015. Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι κάθε γονότυπου που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan's multiple range test, $p \leq 0,05$).

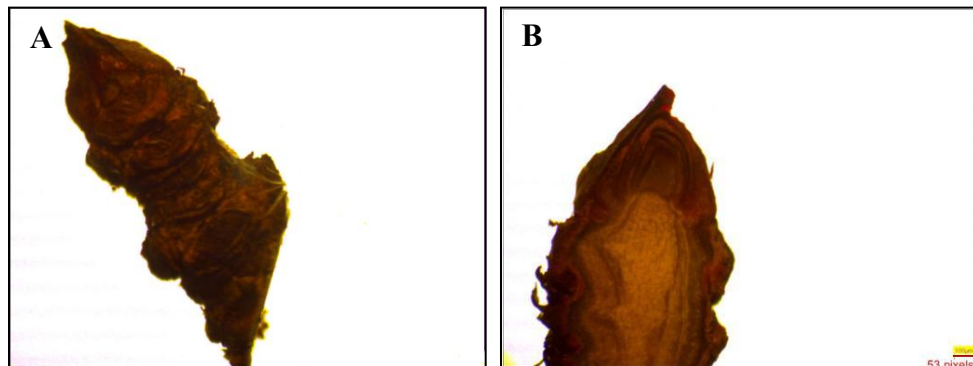
Πείραμα 2

3.3 Μελέτη της μορφολογίας των οφθαλμών και των σταδίων διαφοροποίησης και εξέλιξης της ανθοφορίας το 2016

Τον Ιανουάριο του 2016 η μορφολογική κατάσταση των βλαστών και των οφθαλμών των τριών γονοτύπων ροδιάς ήταν παρόμοια με αυτή που περιγράφηκε προηγούμενα τον Ιανουάριο του 2015. Στα τέλη Φεβρουαρίου όμως γίνονται ορατές αλλαγές με ορισμένους από τους

ληθαργούντες οφθαλμούς (Εικόνες 19Α και 19Β) να γίνονται κωνικοί, να φουσκώνουν και να παρατηρείται η έναρξη σταδιακού ανοίγματος των λεπιών. Παρά τις μικρές αυτές αλλαγές, οι περισσότεροι οφθαλμοί ήταν ακόμη σε λήθαργο. Επίσης, από τις παρατηρήσεις που έγιναν στο στερεοσκόπιο όλοι οι ληφθέντες οφθαλμοί που ήταν σε λήθαργο είχαν την ίδια ανατομική και μορφολογική εμφάνιση (Εικόνες 19Α και 19Β).

Λήθαργος

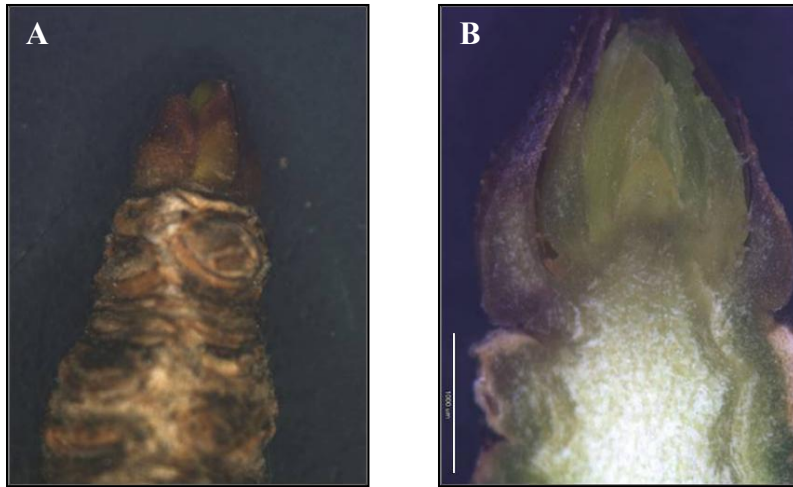


Εικόνα 19.Οφθαλμός σε λήθαργο (Α: ολόκληρος και Β: σε τομή). Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm .

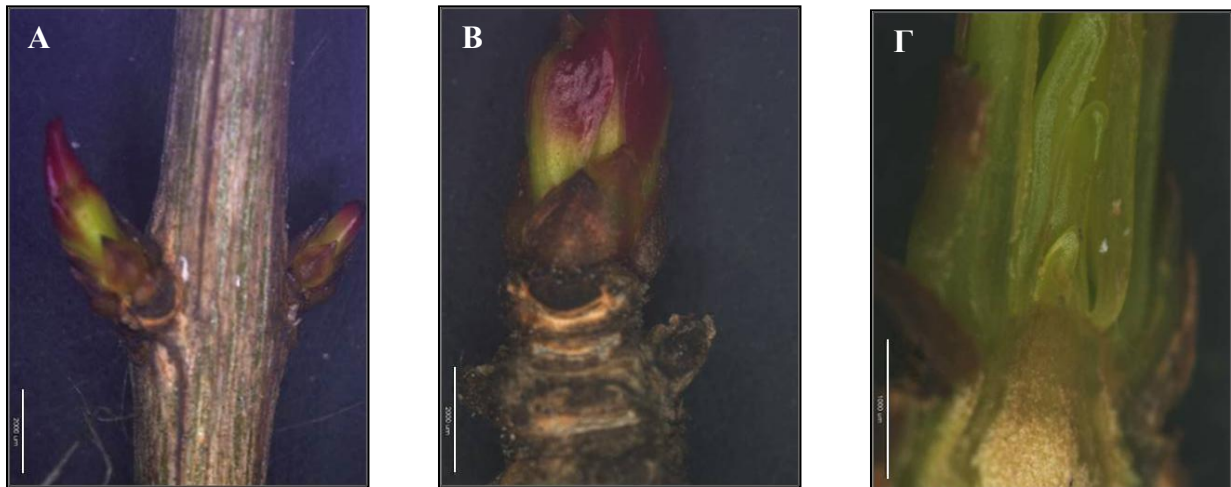
Παρατηρήσεις στο στάδιο έκπτυξης και ανάπτυξης βλαστοφόρων οφθαλμών

Τα στάδια αυτά θα περιγραφούν αναλυτικά στο γονότυπο *Περσεφόνη* και στην ποικιλία *Acco*. Παρόμοιες όμως ήταν οι αλλαγές και τα διάφορα στάδια και στην ποικιλία *Wonderful*. Η έκπτυξη των πρώτων βλαστοφόρων οφθαλμών το έτος 2016 σημειώθηκε μετά τα μέσα Φεβρουαρίου (22/2/2016) και για τους τρεις γονότυπους (Εικόνες 20Α, 20Β, 21Α - 21Γ, 22Α, 22Β, 23Α και 23Β). Επίσης, την ίδια ημερομηνία υπήρχαν ορισμένοι εκπτυγμένοι οφθαλμοί σε δένδρα του γονότυπου *Περσεφόνη* που εμφάνισαν κόκκινο χρώμα στο φύλλωμα (Εικόνες 21Α και 21Β). Το κόκκινο χρώμα στο νεαρό φύλλωμα επικρατούσε και αργότερα στις 9/3/2016. Αντίστοιχα για την ποικιλία *Acco* το κόκκινο χρώμα ήταν κυρίαρχο στο φύλλωμα στις 2/3/2016. Την ίδια ημερομηνία (2/3/2016), στο γονότυπο *Περσεφόνη* εμφανίστηκαν οι πρώτοι ανθοφόροι οφθαλμοί (στάδιο 1), πολύ μικρού μεγέθους, κόκκινου χρωματισμού και στρογγυλού σχήματος (10 ημέρες από την έναρξη της βλάστησης).

A) Στάδιο έκπτυξης και ανάπτυξης βλαστοφόρων οφθαλμών του γονότυπου *Περσεφόνη*

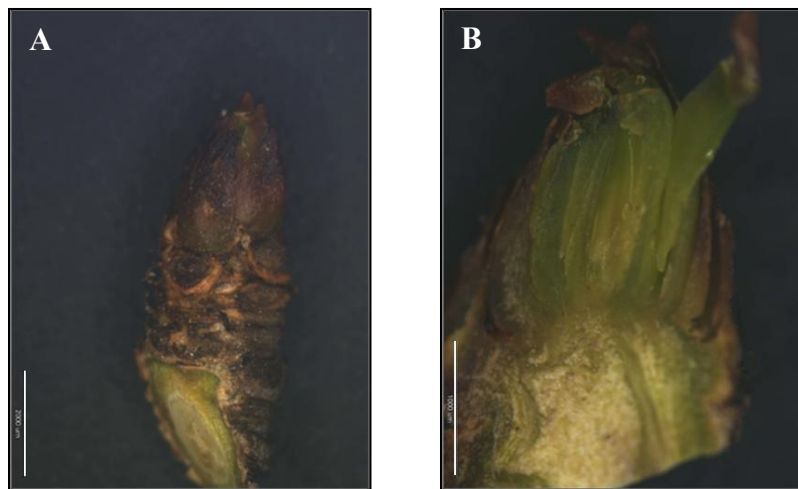


Εικόνα 20. Έναρξη έκπτυξης βλαστοφόρου οφθαλμού στις 22/2/2016 (A: ολόκληρος και B: σε τομή). Η μπάρα ισοδυναμεί με 1000 µm.

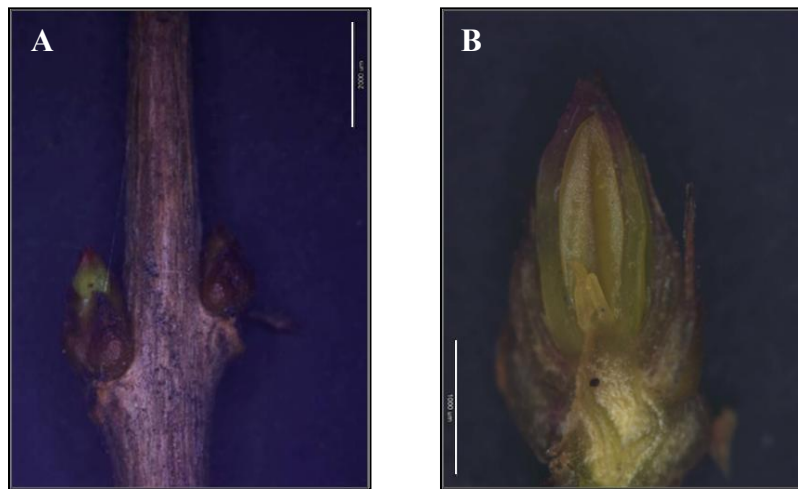


Εικόνα 21. Εκπτυγμένος βλαστοφόρος οφθαλμός A: πάνω στο βλαστό, B: ολόκληρος μετά την κοπή από το βλαστό και Γ: σε τομή. Διακρίνεται επίσης η κόκκινη κορυφή (22/2/2016). Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000, 2000 και 1000 µm, αντίστοιχα για τις εικόνες A, B και Γ.

B) Στάδιο έκπτυξης και ανάπτυξης βλαστοφόρων οφθαλμών της ποικιλίας Acco



Εικόνα 22. Έναρξη έκπτυξης βλαστοφόρου οφθαλμού στις 22/2/2016 (A: ολόκληρος και B: σε τομή). Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 και 1000 μm , αντίστοιχα για τις εικόνες A και B.



Εικόνα 23. Εκπτυγμένος βλαστοφόρος οφθαλμός A: πάνω στο βλαστό, B: σε τομή. Διακρίνεται επίσης η κόκκινη κορυφή (22/2/2016). Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 και 1000 μm , αντίστοιχα για τις εικόνες A και B.

Στάδια διαφοροποίησης – ανθοφορίας στο γονότυπο *Περσεφόνη* και στην ποικιλία *Acco* (2016)

Τα διάφορα στάδια ήταν παρόμοια με αυτά που περιγράφηκαν για το 2015. Οι πρώτοι ανθοφόροι οφθαλμοί στο γονότυπο *Περσεφόνη* (όπως προαναφέρθηκε) έγιναν διακριτοί 10 περίπου ημέρες μετά την έναρξη βλάστησης των βλαστοφόρων οφθαλμών και βρίσκονταν πάνω σε λογχοειδή και στα πλάγια βλαστών ηλικίας 1 έτους. Στην ποικιλία *Acco*, οι πρώτοι μικροί στρογγυλού σχήματος ανθοφόροι οφθαλμοί εμφανίστηκαν περίπου 7 ημέρες από την έναρξη της βλάστησης και επίσης πάνω σε λογχοειδή ή στα πλάγια βλαστών ηλικίας 1 έτους. Όμως, πριν την εμφάνιση του σταδίου 1, το 2016, κατέστη δυνατόν να παρατηρηθεί και ένα

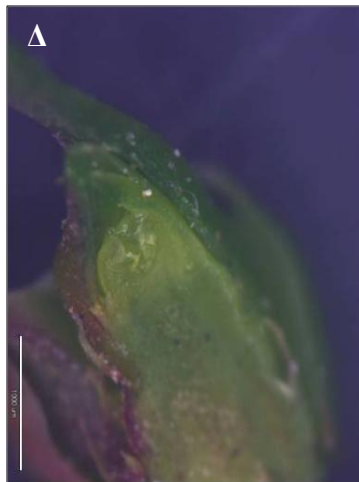
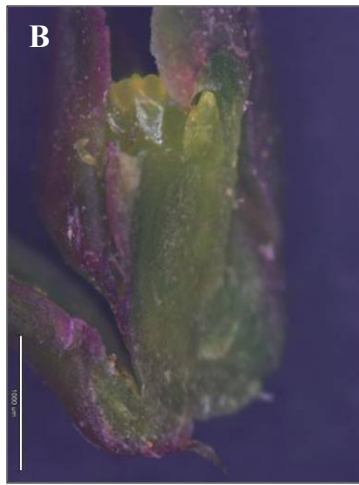
προγενέστερο στάδιο που δείχνει πιθανόν την έναρξη διαφοροποίησης ανθικών καταβολών σε οφθαλμούς πάνω σε λογχοειδή. Οι εικόνες 24Α – 24Δ του γονότυπου *Περσεφόνη* δείχνουν την πιθανή ανθική οργανογένεση (έναρξη διαφοροποίησης) από λογχοειδή βλάστηση. Αργότερα άρχισαν να γίνονται εμφανή μικρά κλειστά άνθη σε λογχοειδή του γονότυπου *Περσεφόνη* (Εικόνες 25Α και 25Β) και στην ποικιλία *Acco* (Εικόνα 38). Τα στάδια διαφοροποίησης – ανθοφορίας, από την εμφάνιση μικρών κλειστών ανθέων μέχρι και την αρχική καρπόδεση πάνω σε λογχοειδή, έχουν περιγραφεί αναλυτικά στο πείραμα 1 (2015) και ήταν επίσης επτά (7). Τα στάδια αυτά χαρακτηρίζονται αρχικά από την εμφάνιση ανθικών καταβολών σεπάλων, στημόνων, υπέρου και πετάλων καθώς και από την αύξηση του μεγέθους των μικρών ανθέων και των ανθικών μερών. Επίσης, παρατηρήθηκαν παρόμοιες αλλαγές στο χρώμα εξωτερικά καθώς και στα όργανα των ανθέων εσωτερικά (Πίνακας 3, Εικόνες 24 – 35).

Εκτός των παρατηρήσεων στα άνθη που προήλθαν από τα λογχοειδή, έγιναν παρατηρήσεις και στην εξέλιξη ανθικών καταβολών και ανθέων πάνω σε τρέχουσα βλάστηση που προήλθε από κανονικούς βλαστούς. Στους βλαστούς αυτούς (τρέχουσα βλάστηση), οι ανθικές καταβολές εμφανίστηκαν στην κορυφή τους και γι' αυτό καλούνται αναπαραγωγικές κορυφές, σε αντίθεση με τις βλαστικές κορυφές. Έτσι, 35 ημέρες περίπου από την εμφάνιση ανθικών καταβολών από λογχοειδή και τα πλάγια βλαστών ηλικίας 1 έτους, παρατηρήθηκε έναρξη διαφοροποίησης ανθοφόρων οφθαλμών σε αναπαραγωγικές κορυφές για το γονότυπο *Περσεφόνη* (Εικόνες 36Α – 36Γ), ενώ για την ποικιλία *Acco* παρατηρήθηκαν 33 ημέρες μετά την εμφάνιση των πρώτων ανθικών καταβολών σε λογχοειδή (Εικόνες 45Α και 45Β).

Η πλήρης άνθηση στο γονότυπο *Περσεφόνη* καταγράφηκε στις 32 ημέρες από την εμφάνιση των πρώτων ανθικών καταβολών από λογχοειδή και τα πλάγια βλαστών ηλικίας 1 έτους (στάδιο 1) και στην ποικιλία *Acco* 30 ημέρες μετά την εμφάνιση των πρώτων ανθικών καταβολών. Παρόμοια ήταν τα στάδια διαφοροποίησης – ανθοφορίας και για την ποικιλία *Wonderful*. Η εμφάνιση των πρώτων ανθικών καταβολών από λογχοειδή βλάστηση και τα πλάγια βλαστών 1 έτους για την ποικιλία αυτή καταγράφηκε στις 10 ημέρες μετά την έναρξη της βλάστησης, η εμφάνιση ανθικών καταβολών από την τρέχουσα βλάστηση σημειώθηκε στις 35 ημέρες μετά και η πλήρης άνθηση σημειώθηκε 32 ημέρες μετά την εμφάνιση των πρώτων ανθοφόρων οφθαλμών από λογχοειδή και τα πλάγια βλαστών ηλικίας 1 έτους, ημερομηνίες που ήταν ίδιες με αυτές του γονότυπου *Περσεφόνη*.

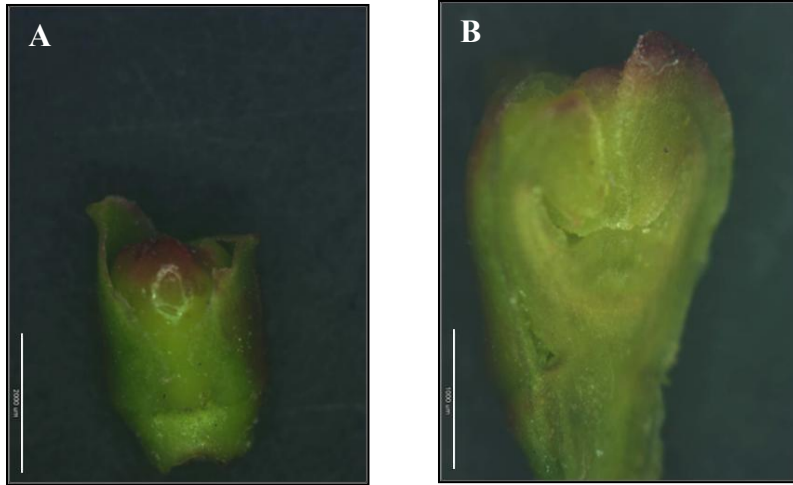
Στάδια εξέλιξης ανθοφόρων οφθαλμών σε λογχοειδή του γονότυπου *Περσεφόνη*

Πρωταρχικό στάδιο (έναρξη διαφοροποίησης)



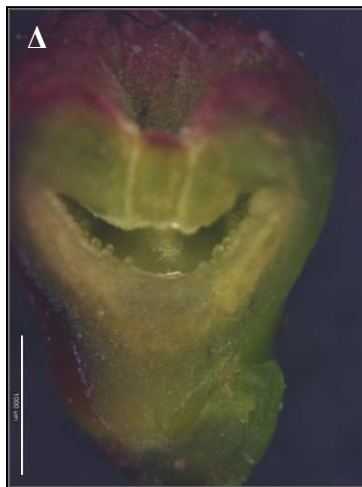
Εικόνα 24. Έναρξη έκπτυξης ανθοφόρων οφθαλμών, πιθανή έναρξη διαφοροποίησης (Α,Γ): ολόκληροι οφθαλμοί και Β, Δ: σε τομές). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000, 1000, 5000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α, Β, Γ και Δ.

Στάδιο 1



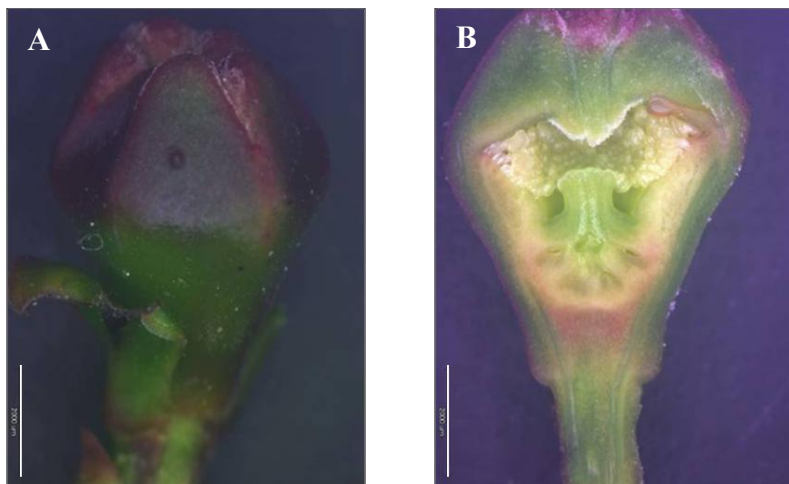
Εικόνα 25. Κλειστό άνθος (Α) ολόκληρο και Β σε τομή. Φαίνονται μόνο τα σέπαλα (κλειστός κάλυκας). Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 και 1000 μm , αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.

Στάδιο 2



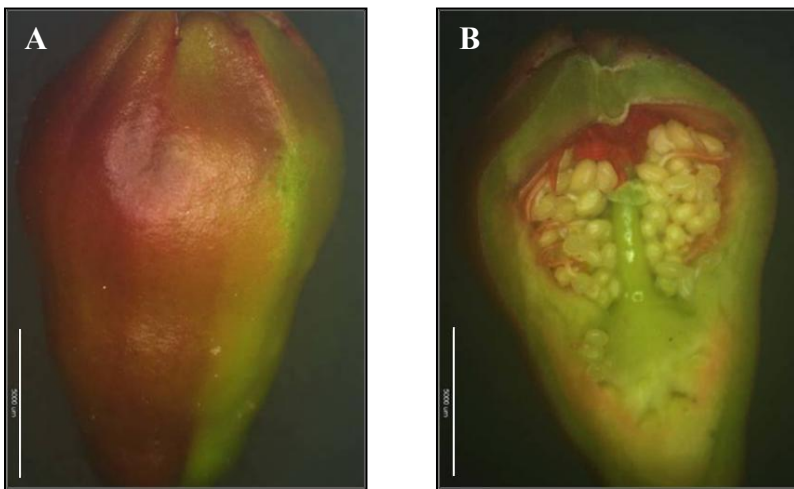
Εικόνα 26.Κλειστά άνθη Α, Γ: ολόκληρο και Β, Δ: σε τομές με εμφάνιση σεπάλων που είναι ανοικτά εσωτερικά, καθώς και καταβολές στημόνων και υπέρου. Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000, 1000, 2000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α, Β, Γ και Δ.

Στάδιο 3

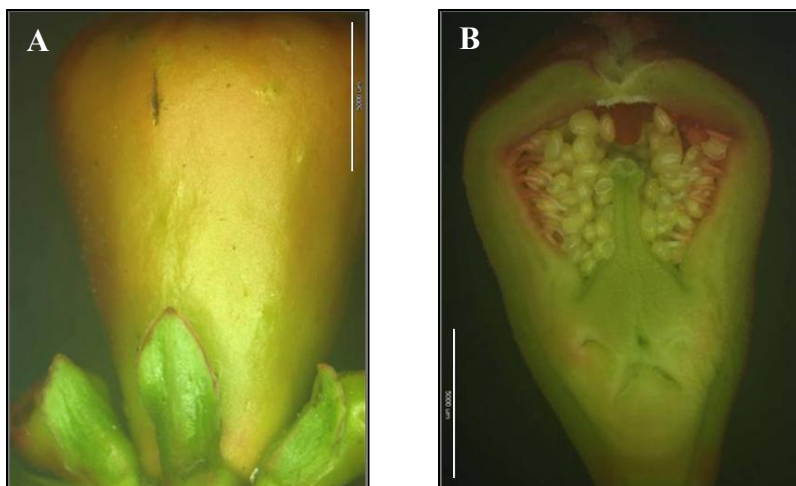


Εικόνα 27.Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με εμφάνιση αυξημένου μεγέθους σεπάλων, καταβολών στημόνων, και υπέρου. Έναρξη σχηματισμού ανθήρων. Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 μm .

Στάδιο 4

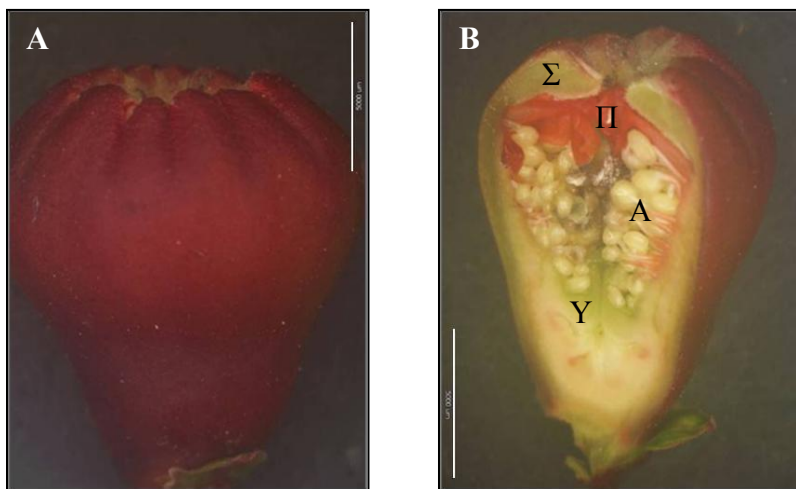


Εικόνα 28.Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με την εμφάνιση όλων των ανθικών μερών και για πρώτη φορά των πετάλων, καλά ανεπτυγμένος ύπερος και στην κορυφή φαίνεται το στίγμα. Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm .



Εικόνα 29.Καταβολές 4 – 5 κλειστών ανθέων από λογχοειδές με ένα κυρίαρχο γόνιμο άνθος (Α) και Β: σε τομή κλειστού άνθους με την εμφάνιση πετάλων, ανεπτυγμένος στύλος και στην κορυφή το στίγμα (στάδιο 4). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm .

Στάδιο 5

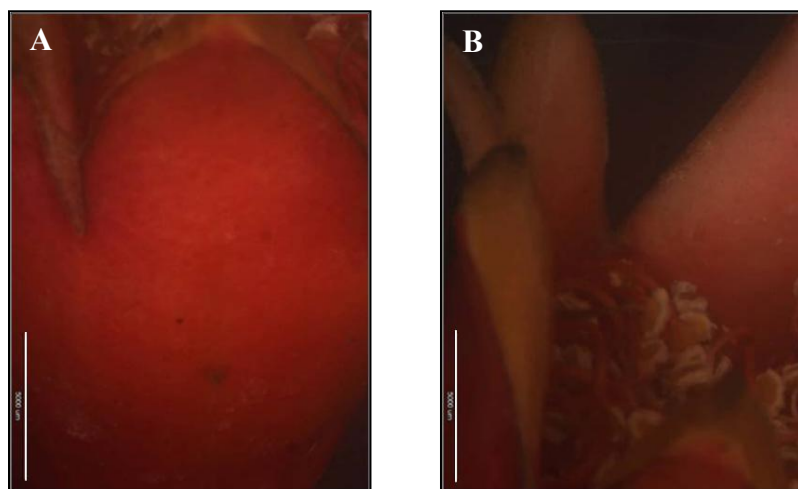


Εικόνα 30.Αυξημένο μέγεθος κλειστού άνθους και ανθικών μερών (όπου Α: ανθήρες, Π: πέταλα, Σ: σέπαλα και Υ: ύπερος) Α: ολόκληρο και Β: σε τομή. Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm .

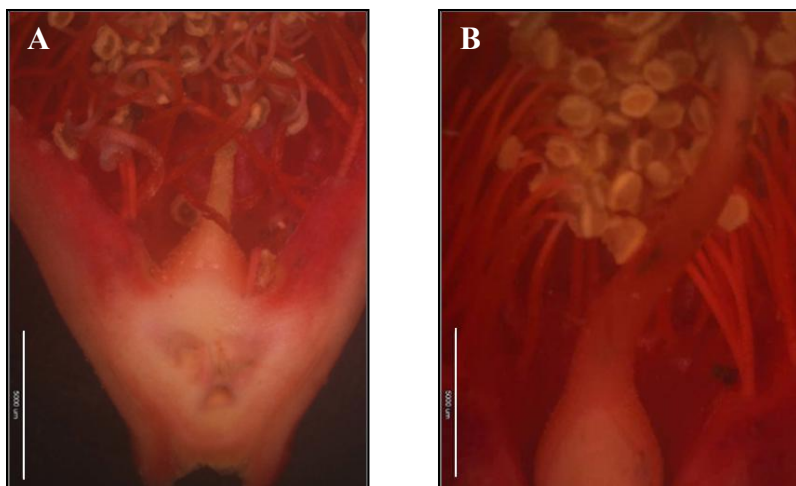


Εικόνα 31.Στύλος και στίγμα (Α), χώροι ωοθήκης (Β), στήμονας με διακριτά νήμα και ανθήρα (Γ). Η μπάρα των εικόνων είναι εκφρασμένη σε 1000, 5000 και 1000 μm , αντίστοιχα για τις εικόνες Α, Β και Γ.

Στάδιο 6

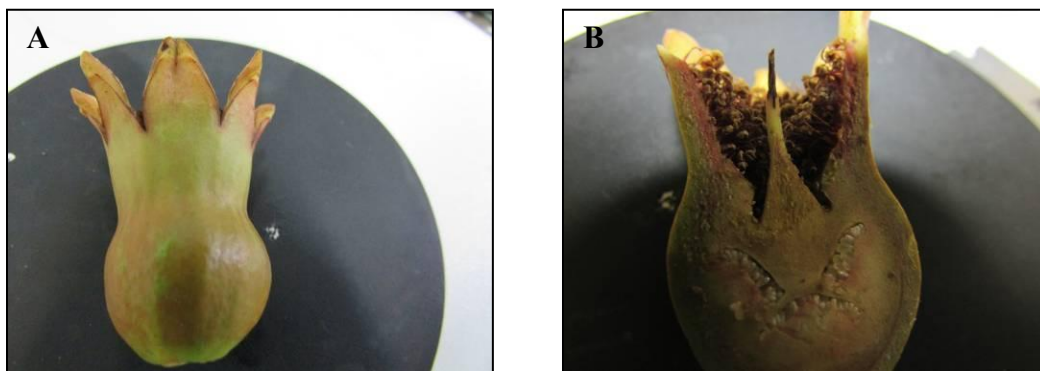


Εικόνα 32.Ανοικτό άνθος (Α) με διακριτούς στήμονες και ανθήρες (Β). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm .

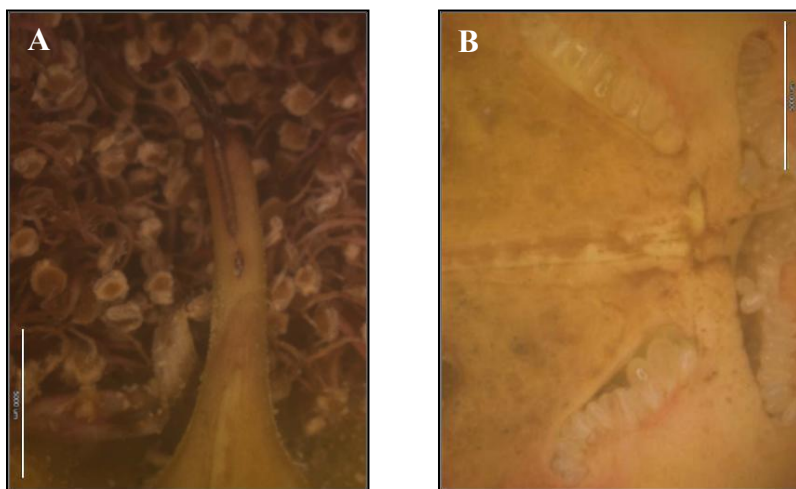


Εικόνα 33.Τομές άγονου άνθους (Α) και τομή γόνιμου άνθους (Β). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm .

Στάδιο7



Εικόνα 34.Μικρός καρπός (Α: ολόκληρος και Β: σε τομή).



Εικόνα 35.Μικρός καρπός σε τομή (Α: στύλος και στήμονες και Β: χώροι ωοθήκης με ωοθήκες). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm .

Έναρξη διαφοροποίησης σε αναπαραγωγικές κορυφές (τρέχουσα βλάστηση) του γονότυπου *Περσεφόνη*



Εικόνα 36. Αναπαραγωγική κορυφή σε βλαστό τρέχουσας βλάστησης (A: ολόκληρη, B: μετά την αφαίρεση φύλλων και Γ: σε τομή). Η μπάρα των εικόνων είναι εκφρασμένη σε 5000, 2000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες A, B και Γ.

Στάδια εξέλιξης ανθοφόρων οφθαλμών σε λογχοειδή ποικιλίας *Acco*

Στάδιο 1



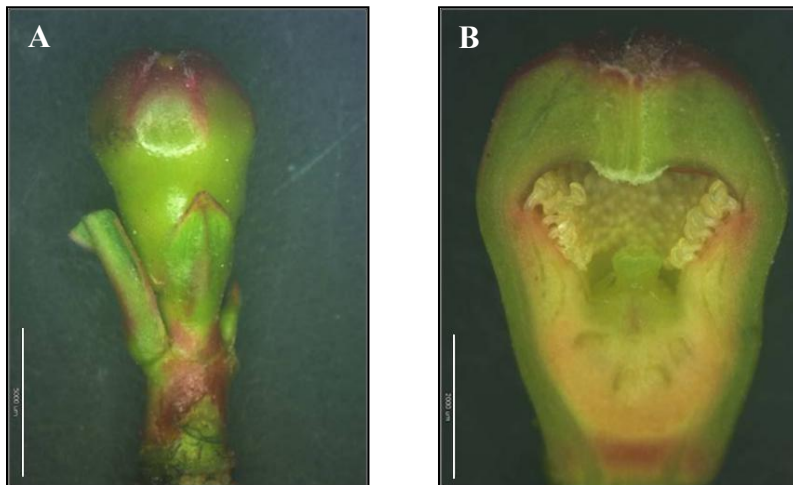
Εικόνα 37. Τομή μικρού άνθους με εμφανή μόνο τα σέπαλα (κλειστός κάλυκας) χωρίς να είναι διακριτές οι υπόλοιπες καταβολές ανθέων.

Στάδιο 2



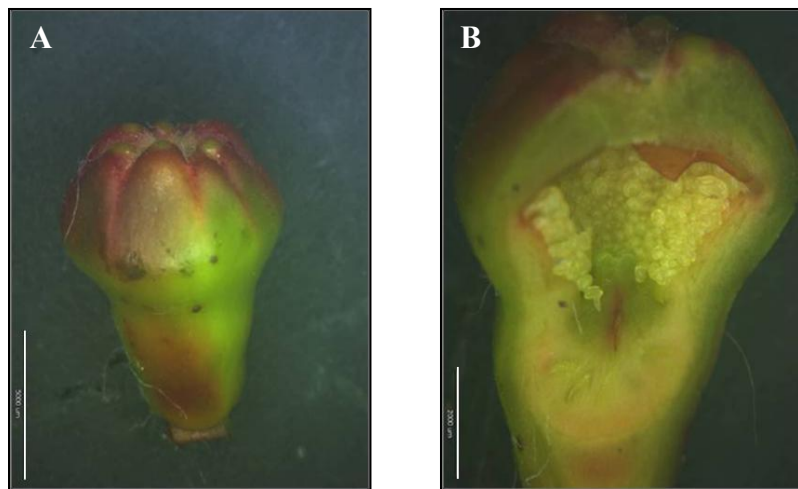
Εικόνα 38.Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με εμφάνιση σεπάλων, πρώτων καταβολών στημόνων και υπέρου. Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 και 1000 μm , αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.

Στάδιο 3



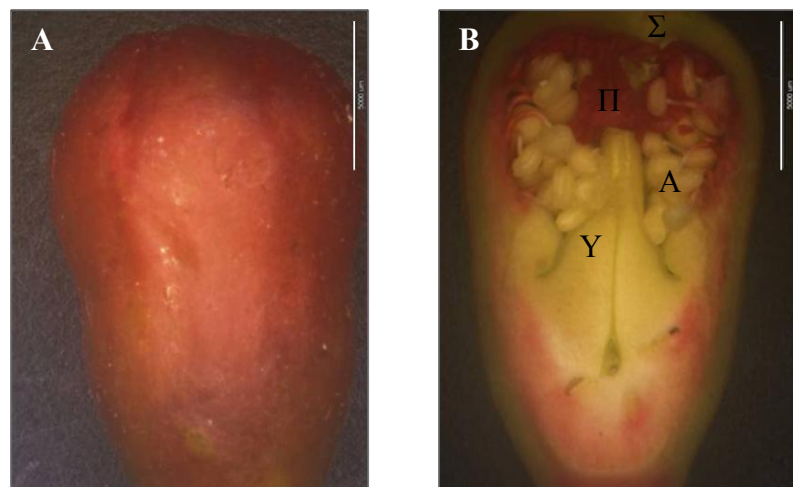
Εικόνα 39.Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με εμφάνιση αυξημένου μεγέθους σεπάλων, υπέρου και στημόνων με έναρξη σχηματισμού ανθήρων. Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 και 2000 μm , αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.

Στάδιο 4



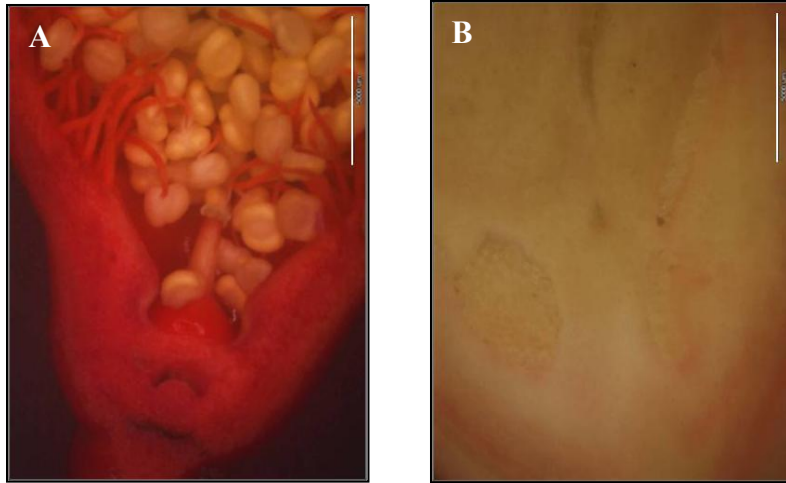
Εικόνα 40.Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με την εμφάνιση σεφάλων, υπέρου, στημόνων με πιο ανεπτυγμένους τους ανθήρες και πρόσθετα την εμφάνιση των πετάλων. Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 και 2000 μm , αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.

Στάδιο 5



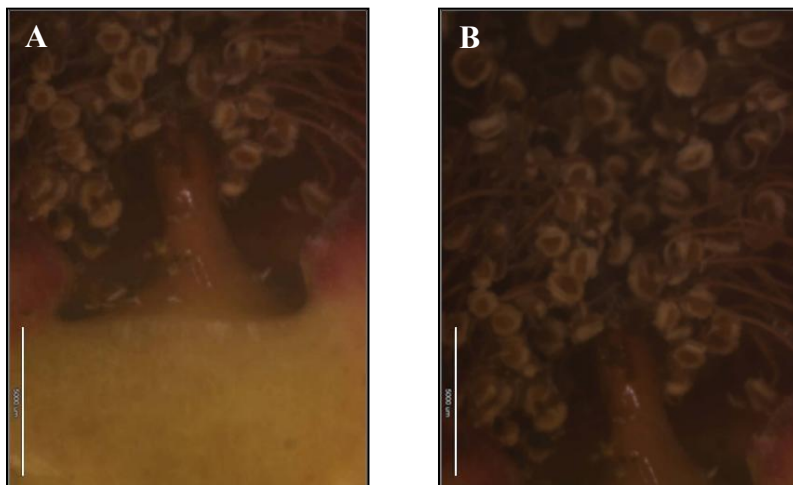
Εικόνα 41.Αυξημένο μέγεθος κλειστού άνθους και ανθικών μερών (όπου Α: ανθήρες, Π: πέταλα, Σ: σέφαλα και Υ: ύπερος) Α: ολόκληρο και Β: σε τομή. Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm .

Στάδιο 6



Εικόνα 42. Πλήρης άνθηση, τομές άγονων ανθέων (Α, Β). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm .

Στάδιο 7

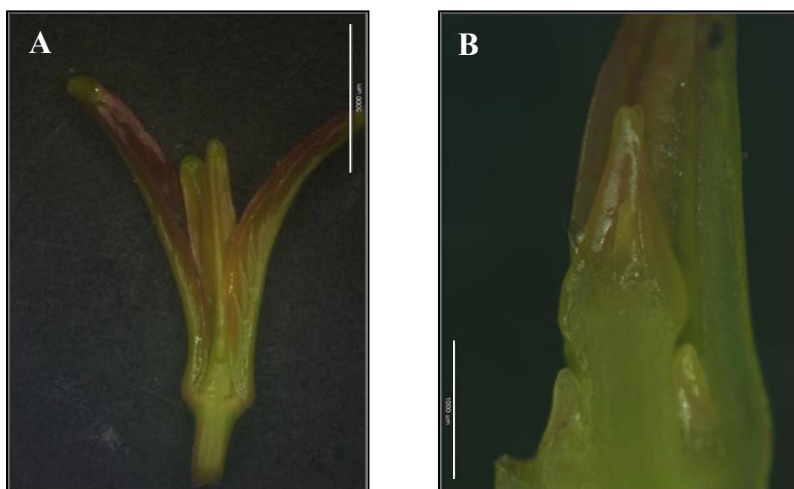


Εικόνα 43. Τομές μικρού καρπού (Α, Β). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm .



Εικόνα 44.Μικρός καρπός (Α: ολόκληρο και Β: σε τομή).

Έναρξη διαφοροποίησης σε αναπαραγωγικές κορυφές (τρέχουσα βλάστηση) της ποικιλίας *Acco*

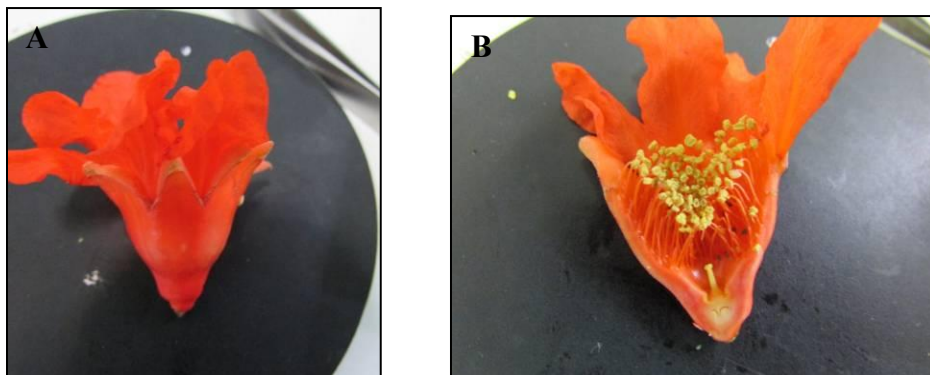


Εικόνα 45.Αναπαραγωγική κορυφή σε τρέχουσα βλάστηση (Α: ολόκληρη και σε Β: σε τομή). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 και 1000 μm , αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.

3.4 Γενικές παρατηρήσεις στον τρόπο καρποφορίας της ροδιάς

1. Οι παρατηρήσεις της μελέτης αυτής έδειξαν ότι σε όλα τα πειραματικά δένδρα υπήρχαν δύο διακριτά είδη ανθέων τα μακρόστυλα (ερμαφρόδιτα) και βραχύστυλα (άγονα) άνθη (Εικόνες 2Α, 2Β, 46Α και 46Β). Στη μεγάλη διάρκεια της ανθοφορίας συνυπήρχαν διαφορετικά στάδια ανοικτών και κλειστών ανθέων (Εικόνες 50, 51Α και 51Β). Στην περίπτωση πολλών ανθέων μαζί (ανθοταξία) τα γόνιμα άνθη παρατηρούνται συνήθως στο ακραίο μερίστωμα (κορυφή του

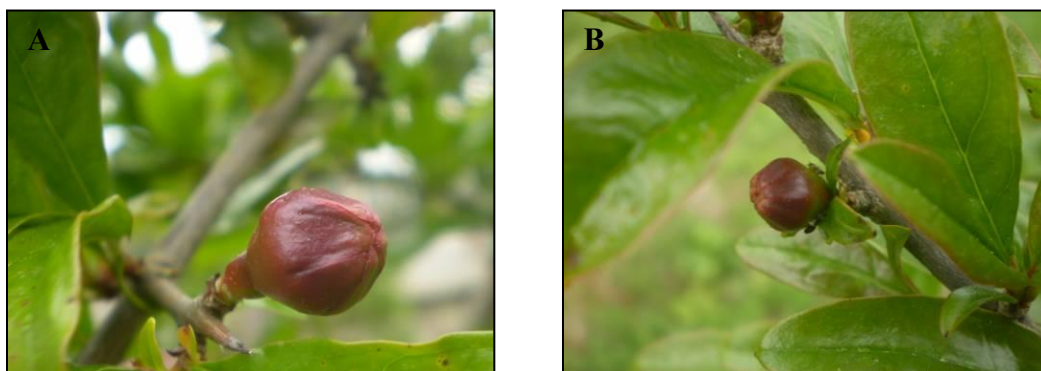
βλαστού), ενώ αναπτύσσονται και 2 – 4 κλειστά άνθη πλευρικά του τερματικού άνθους (Εικόνα 29Α).



Εικόνα 46. Άγρονο άνθος (Α: ολόκληρο και Β: σε τομή).

2. Τα άνθη φέρονται σε λογχοειδή βλάστηση (Εικόνες 47Α και 47Β) ή σε τρέχουσα μικρή βλάστηση που προήλθε από οφθαλμούς που βρίσκονταν στα πλάγια βλαστών 1 έτους. Επίσης άνθη φέρονται και σε μεγάλου μήκους τρέχουσα βλάστηση (Εικόνες 49Α και 49Β) και διακρίθηκαν οι παρακάτω περιπτώσεις:

- α. Άνθη σε πολύ μικρό βλαστό με λίγα φύλλα ή χωρίς φύλλα που βρίσκονται κύρια πάνω σε λογχοειδή (Εικόνες 47Α και 47Β)
- β. Μεμονωμένα άνθη, σε ζεύγη ή πολλά μαζί σε τρέχουσα βλάστηση (μικρή ή μεγάλη) ή πάνω σε λογχοειδή (Εικόνες 48Α, 48Β και 50)
- γ. Όταν είναι περισσότερα από 2 άνθη συνήθως το κορυφαίο θα είναι γόνιμο (Εικόνες 48Α και 48Β).



Εικόνα 47. Κλειστό άνθος (μεμονωμένο) σε λογχοειδή βλάστηση (Α: χωρίς φύλλα και Β: με λίγα φύλλα).



Εικόνα 48.Κλειστό άνθος (κυρίαρχο) σε τρέχουσα βλάστηση συνοδευόμενο από τουλάχιστον δύο μικρότερα στα πλάγια (Α και Β).



Εικόνα 49.Αναπαραγωγικές κορυφές τρέχουσας βλάστησης (Α) και άνθη στην κορυφή τρέχουσας βλάστησης, ποικιλίας Acco (Β) στις 25/4/2016.

3. Σχεδόν σε όλα τα στάδια ανθοφορίας (μέχρι και την πλήρη άνθηση) σε όλα τα πειραματικά δένδρα συνυπήρχαν διάφορα στάδια ανθοφορίας. Αυτό ήταν αποτέλεσμα του διαφορετικού χρόνου έναρξης διαφοροποίησης των ανθοφόρων οφθαλμών πάνω σε λογχοειδή και στα πλάγια των βλαστών 1 έτους και στη συνέχεια από τις αναπαραγωγικές κορυφές (Εικόνες 50Α, 51Α, 51Β).



Εικόνα 50.Συνύπαρξη κλειστών ανθέων διαφορετικών σταδίων και ανοικτών ανθέων ροδιάς του γονότυπου *Περσεφόνη* (Α) στις 25/4/2016.



Εικόνα 51.Συνύπαρξη κλειστών και ανοικτών ανθέων ροδιάς ποικιλίας *Wonderful* στις 25/4/2016 (Α, Β).

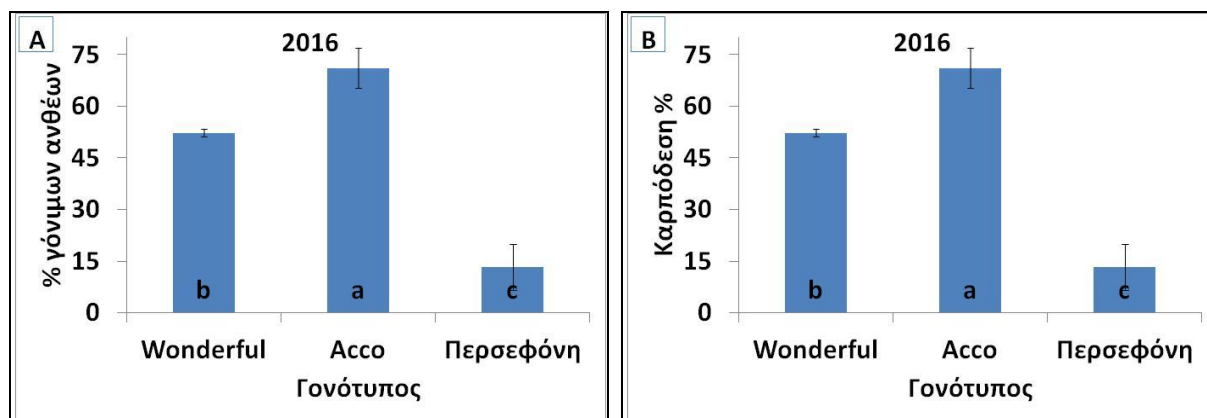
3.5 Προσδιορισμός του ποσοστού γόνιμων ανθέων σε τρεις γονότυπους ροδιάς

Τα αποτελέσματα (Πίνακας 5) έδειξαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών γονοτύπων τόσο στον αριθμό γόνιμων ανθέων και καρπών όσο και στο ποσοστό της καρπώδεσης. Στις 6/6/2016, η ποικιλία *Acco* έφερε σημαντικά υψηλότερο αριθμό γόνιμων ανθέων αλλά και ποσοστό γόνιμων ανθέων (71.11%). Παρόμοια, είχε υψηλότερο ποσοστό καρπώδεσης (71.11%) και αριθμό καρπών. Έπεται, σε αριθμό γόνιμων ανθέων, ποσοστό γόνιμων ανθέων (52.22%), ποσοστό καρπώδεσης (52.22%) και αριθμό καρπών η ποικιλία *Wonderful*, ενώ ο γονότυπος *Περσεφόνη* εμφάνισε σημαντικά μικρότερο αριθμό γόνιμων ανθέων, ποσοστό γόνιμων ανθέων (13.33%), ποσοστό καρπώδεσης (13.33%) και αριθμό καρπών (Πίνακας 5, Διάγραμμα 3).

Πίνακας 5. Επίδραση της ποικιλίας στον αριθμό γόνιμων ανθέων, στο ποσοστό γόνιμων ανθέων, στην καρπόδεση και στον αριθμό καρπών (2016).

	Αριθμός γόνιμων ανθέων	%γόνιμων ανθέων	Καρπόδεση (%)	Αριθμός καρπών
Γονότυπος	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE
<i>Wonderful</i>	15,67±0,33b	52,22±1,11b	52,22±1,11b	15,67±0,33b
<i>Acco</i>	21,33±1,76a	71,11±5,88a	71,11±5,88a	21,33±1,76a
<i>Περσεφόνη</i>	4,00±2,00c	13,33±6,67c	13,33±6,67c	4,00±2,00c

Σημείωση: Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι κάθε γονότυπου που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan's multiple range test, $p \leq 0,05$).



Διάγραμμα 3. Ποσοστό γόνιμων ανθέων (Α) και ποσοστό καρπόδεσης (Β) για τους γονότυπους *Wonderful*, *Acco* και *Περσεφόνη* για τα έτος 2016. Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι κάθε γονότυπου που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan's multiple range test, $p \leq 0,05$).

Για το ποσοστό γόνιμων ανθέων και την καρπόδεση, εκτός της στατιστικής ανάλυσης ανά έτος με παράγοντα την ποικιλία, πραγματοποιήθηκε πρόσθετα ανάλυση διακύμανσης για τα δύο χρόνια μαζί (2015 και 2016) με δύο παράγοντες, το χρόνο και την ποικιλία. Τα αποτελέσματα φαίνονται στους πιο κάτω πίνακες που δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο χρόνων, μεταξύ των ποικιλιών καθώς και στην αλληλεπίδραση χρόνου*ποικιλίας, για το % γόνιμων ανθέων αλλά και για την καρπόδεση.

1. %γόνιμων ανθέων

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Έτος	1	641,9784	641,9784	8,1719	0,0144*
Ποικιλία	2	6638,4572	3319,229	42,2514	<,0001*
Έτος*Ποικιλία	2	832,8026	416,4013	5,3005	0,0224*
Error	12	942,7084	78,56		
C. Total	17	9055,9466			

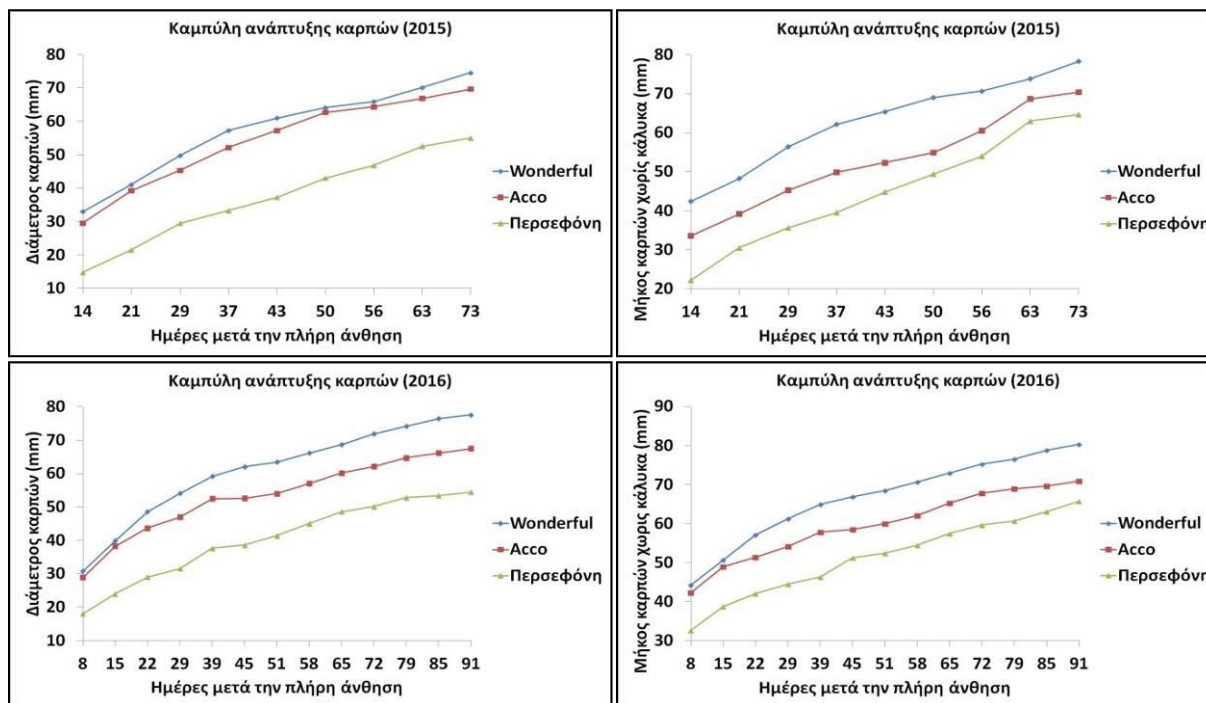
2. %Καρπόδεση

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Έτος	1	2318,1219	420,50000	12,0667	0,0046*
Ποικιλία	2	4664,2673	1159,061	12,1396	0,0013*
Έτος*Ποικιλία	2	1675,8785	2332,134	4,3618	0,0377*
Error	12	2305,311	192,11		
C. Total	17	10963,579			

3.6 Καμπύλη ανάπτυξης καρπών

Η καμπύλη ανάπτυξης των καρπών και στους τρεις γονότυπους της ροδιάς και για τα δύο έτη πλησιάζει την απλή σιγμοειδή καμπύλη με μικρή τάση για γραμμική ανάπτυξη. Επίσης, η

ποικιλία *Wonderful* ακολουθούμενη από την ποικιλία *Acco* παρουσιάζει μεγαλύτερη διάμετρο και μήκος καρπού, ενώ ο γονότυπος *Περσεφόνη* παρουσιάζει τις μικρότερες διαστάσεις και για τα δύο έτη.



Διάγραμμα 4. Καμπύλες ανάπτυξης καρπών στους γονότυπους *Wonderful*, *Acco* και *Περσεφόνη* για τα έτη 2015 και 2016.

4. Συζήτηση

4.1 Διαφοροποίηση οφθαλμών – Ανθοφορία

Ο κύριος σκοπός της μελέτης αυτής ήταν ο προσδιορισμός του χρόνου έκπτυξης των ανθοφόρων οφθαλμών και τα διάφορα στάδια διαφοροποίησης και ανθοφορίας της ροδιάς. Η ροδιά είναι γνωστό ότι ανήκει στα φυλλοβόλα καρποφόρα δένδρα, υπάρχουν όμως και ποικιλίες που συμπεριφέρονται ως αειθαλή δένδρα στις Ινδίες και άλλες χώρες (Babu, 2010; Holland et al., 2009). Είναι μάλιστα γνωστό ότι στην εύκρατη ζώνη που συμπεριφέρεται ως φυλλοβόλος θάμνος ή δένδρο παρουσιάζει πάνω από μία ανθοφορία (2-3 κύματα ανθοφορίας) ενώ μεμονωμένα άνθη εμφανίζονται ακόμη και το φθινόπωρο κυρίως σε νεαρά δένδρα. Αντίθετα σε υποτροπικές περιοχές οι αειθαλείς ποικιλίες ανθοφορούν όλο το χρόνο (Hayes, 1957; Holland et

al., 2009; Babu, 2010; Chandra et al., 2010; Da Silva, 2013). Ο χρόνος έναρξης και η διαφοροποίηση των ανθοφόρων οφθαλμών έχει ιδιαίτερη σημασία για τον προσδιορισμό του τρόπου καρποφορίας και τον προγραμματισμό των καλλιεργητικών φροντίδων στα καρποφόρα δένδρα.

Το φαινόμενο της διαφοροποίησης (μετατροπής βλαστικών καταβολών σε ανθοφόρες) έχει διεξοδικά μελετηθεί στα περισσότερα φυλλοβόλα και αειθαλή καλλιεργούμενα δένδρα. Το αντικείμενο αυτό αναλυτικά περιγράφηκε στην ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. Από τα δεδομένα αυτά προκύπτει ότι στα περισσότερα φυλλοβόλα οπωροφόρα δένδρα η διαφοροποίηση των ανθοφόρων οφθαλμών (εισαγωγή ή επαγωγή – έναρξη – διαφοροποίηση) και η άνθηση ολοκληρώνονται σε δύο βλαστικές περιόδους. Αρχικά η εισαγωγή και η έναρξη της διαφοροποίησης συντελούνται την πρώτη βλαστική περίοδο (κυρίως καλοκαίρι – φθινόπωρο) και το τελευταίο στάδιο της διαφοροποίησης των ανθικών μερών ολοκληρώνεται από το τέλος καλοκαιριού μέχρι και τις αρχές της άνοιξης, ανάλογα με το είδος του δένδρου και ακολουθεί η άνθηση την άνοιξη. Η ολοκλήρωση των τριών πρώτων σταδίων της διαφοροποίησης είναι απαραίτητη προϋπόθεση για να ακολουθήσει η άνθηση την ερχόμενη άνοιξη (Ποντίκης, 1996; Imani and Mehr – Abadi, 2012; Valiente and Albrigo, 2004).

Στα κυριότερα αειθαλή καλλιεργούμενα δένδρα (ελιά, εσπεριδοειδή), επίσης έχει μελετηθεί διεξοδικά η διαφοροποίηση των ανθοφόρων οφθαλμών καθώς και τα διάφορα στάδια ανθοφορίας. Στην ελιά συγκεκριμένα η εισαγωγή ανθοφόρων οφθαλμών (παρόμοια με τα φυλλοβόλα δένδρα) ξεκινά τον Ιούνιο – Ιούλιο λίγο πριν τη σκλήρυνση του πυρήνα (Rallo and Martin, 1991; Pinney and Polito, 1990). Η διαφοροποίηση όμως στην ελιά ολοκληρώνεται το φθινόπωρο ή το χειμώνα (Pinney and Polito, 1990; Πανέτσος, 1958). Στα εσπεριδοειδή έχει βρεθεί ότι στα περισσότερα είδη η επαγωγή (εισαγωγή) διαφοροποίησης ανθοφόρων οφθαλμών συμβαίνει περί τα μέσα του χειμώνα λίγες εβδομάδες πριν την άνθηση (Abott, 1935). Όμως, σε ορισμένες ποικιλίες λεμονιάς που ανθοφορούν όλες τις εποχές η διαφοροποίηση προηγείται της κάθε ανθοφορίας (Nambu, 1934) και αρχίζει με το φούσκωμα και την έκπτυξη των οφθαλμών.

Η διαφοροποίηση των οφθαλμών στη ροδιά έχει ελάχιστα μελετηθεί και μόνο σε μία πρόσφατη εργασία των Rajaei και Yazdanpanah (2015). Τα αποτελέσματα της δικής μας μελέτης έδειξαν ότι οι ληθαργούντες οφθαλμοί της ροδιάς είχαν όλοι (ανεξαρτήτου θέσεως) την ίδια ανατομία εσωτερικά. Συγκεκριμένα όλοι οι οφθαλμοί πριν την έκπτυξη, αν και έδειξαν μικρές διαφορές

στο σχήμα και μέγεθος (Εικόνα 52), ήταν ξυλοφόροι (βλαστοφόροι) αφού μόνο καταβολές φύλλων υπήρχαν και καμία ένδειξη ανθικών καταβολών δεν ήταν εμφανής σε στερεοσκόπιο και μικροσκόπιο (Εικόνες 7Α, 7Β, 8Α – 8Γ, 19Α, 19Β, 20Α και 20Β).



Εικόνα 52.Ληθαργούντες οφθαλμοί ροδιάς

Οι παρατηρήσεις αυτές (ότι όλοι οι οφθαλμοί είναι ξυλοφόροι αρχικά) στους τρεις γονότυπους που μελετήθηκαν συμφωνούν με αυτές άλλων ερευνητών (Melgarejo et al., 1997; Holland et al., 2009; Rajaei and Yazdanpanah, 2015). Ακόμη και μετά την έκπτυξη των πρώτων οφθαλμών που έδωσαν βλάστηση, οι εναπομείναντες σε λήθαργο οφθαλμοί είχαν αρχικά τουλάχιστον βλαστικές καταβολές. Αυτό είναι σε πλήρη αντίθεση με τα υπόλοιπα φυλλοβόλα καρποφόρα δένδρα και την ελιά όπου την εποχή αυτή (χειμώνα – αρχές άνοιξης) έχουν πλήρως διαφοροποιημένους ανθοφόρους οφθαλμούς (Jonkers, 1979; Lamp et al., 2001; Engin and Unal, 2007; Koutinas et al., 2010; Ποντίκης, 2000; Βασιλακάκης, 2004; Θεριός, 2005).

Στη συνέχεια, περίπου 7-10 ημέρες μετά την έκπτυξη των βλαστοφόρων οφθαλμών, εμφανίστηκαν οι πρώτες ανθικές καταβολές (στάδιο 1) πάνω σε λογχοειδή ή ακόμη και στα πλάγια βλαστών 1 έτους. Πολύ αργότερα (περίπου 30-40 ημέρες μετά την εμφάνιση των πρώτων ανθικών καταβολών στα λογχοειδή) ακολούθησε η εμφάνιση ανθικών καταβολών στην κορυφή τρέχουσας βλάστησης (βλάστηση μήκους περίπου 5-20 cm) που προήλθε κυρίως από τα πλάγια βλαστών 1 έτους πλάγιων ή επάκριων.

Σε πρόσφατη μελέτη, οι Rajaei and Yazdanpanah (2015) αναφέρουν ότι παρατήρησαν δύο είδη οφθαλμών στη ροδιά. Το ένα είδος ήταν λεπτοί (στενοί) με δυνατότητα παραγωγής μόνο βλάστησης. Το δεύτερο είδος ήταν πιο φαρδείς (πλατιοί) που έδιναν αρχικά βλάστηση και στη

συνέχεια περνούσαν στην αναπαραγωγική φάση με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός ή περισσοτέρων ανθέων. Και τα δύο είδη οφθαλμών, όμως, είχαν αρχικά βλαστικές καταβολές και μόνον μετά το φούσκωμα και την αρχική έκπτυξη των πλατιών οφθαλμών παρατήρησαν αλλαγή της βλαστικής σε αναπαραγωγική φάση. Οι παρατηρήσεις αυτές συμφωνούν με τα ευρήματα της μελέτης αυτής στην οποία οι πρώτες ανθικές καταβολές (σέπαλα) βρέθηκαν στο φούσκωμα και την έκπτυξη των οφθαλμών. Οι Rajaei και Yazdanpanah (2015) αναφέρουν στα συμπεράσματά τους ότι η διαδικασία της μεταστροφής από την βλαστική κατάσταση (φύλλα) στην αναπαραγωγική (σέπαλα) που συνέβη στη διάρκεια της ανάπτυξης του βλαστού παραμένει άγνωστη.

Η εμφάνιση των πρώτων ανθικών καταβολών (σέπαλα) και στη συνέχεια όλων των ανθικών καταβολών προέκυψε κύρια κατά τρεις τρόπους. Ο πρώτος ήταν από οφθαλμούς πάνω σε λογχοειδή όπου η εμφάνιση των ανθικών καταβολών ήταν άμεση με την παραγωγή ανθέων (ένα ή περισσότερα) χωρίς τη μεσολάβηση βλάστησης ή στην κορυφή μικρής βλάστησης (με λίγα φύλλα) (Εικόνες 47A, 47B, 48A και 48B). Ο δεύτερος τρόπος ήταν από οφθαλμούς προηγούμενης βλάστησης, ηλικίας 1 έτους (μικρής ή μεγάλης) που έδωσε αρχικά μία μικρή βλάστηση και στη συνέχεια στην κορυφή της εμφανίστηκαν ανθικές καταβολές. Ο τρίτος τρόπος ήταν πάλι από οφθαλμούς βλαστών ηλικίας 1 έτους που όμως ανέπτυξαν μεγάλη τρέχουσα βλάστηση (πάνω από 5 εκατοστά) και στις οποίες τα άνθη εμφανίστηκαν πολύ αργότερα από αυτά των προηγούμενων περιπτώσεων (Εικόνες 18A – 18Γ, 36A – 36Γ, 45A, 45B, 49A και 49B). Στην περίπτωση αυτή, δηλαδή στην τρέχουσα αναπαραγωγική βλάστηση, παράγονταν συνήθως περισσότερα από ένα άνθη με το κορυφαίο να είναι κυρίαρχο (Εικόνες 49A και 49B).

Η διάκριση των διαφορετικών σταδίων διαφοροποίησης – ανθοφορίας με βάση την σταδιακή εμφάνιση των διάφορων ανθικών καταβολών με τη χρήση στερεοσκοπίου δεν είχαν προηγούμενα μελετηθεί και ήταν παρόμοια και για τους τρεις γονότυπους που μελετήθηκαν. Οι πρώτες ενδείξεις αλλαγής των βλαστικών καταβολών σε αναπαραγωγικές σημειώθηκαν και για τις τρεις ποικιλίες με το φούσκωμα των οφθαλμών (Εικόνες 24A – 24Δ) και σηματοδοτεί το στάδιο έναρξης διαφοροποίησης. Σε αυτό συμφωνούν και οι Rajaei και Yazdanpanah (2015) καθώς και οι Porter and Wetzstein (2014) που καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η έναρξη διαφοροποίησης (flower initiation) σχετίζεται με την έναρξη της βλάστησης. Το πρώτο στάδιο αλλαγής της βλαστικής σε αναπαραγωγική φάση ήταν η εμφάνιση των σεφάλων (στάδιο 1,

εικόνες 11A, 11B, 25A, 25B και 37) χωρίς να φαίνονται άλλες ανθικές καταβολές. Ακολούθησαν κατα σειρά τα στάδια 2 – 5 με την εμφάνιση και εξέλιξη των υπόλοιπων ανθικών μερών και τέλος την πλήρη άνθηση και καρπόδεση (στάδια 6 και 7, αντίστοιχα). Πρέπει να τονιστεί ότι στο στάδιο 4 όλα τα ανθικά μέρη είχαν πλήρως διαφοροποιηθεί (Εικόνες 14A, 14B, 28A, 28B, 29B, 40A και 40B). Στη βιβλιογραφία δεν υπάρχει αντίστοιχη εργασία για σύγκριση των σταδίων αυτών. Ο Babu (2010) διέκρινε 12 στάδια με βάση το βάρος των ανθέων ενώ οι Melgarejo et al. (1997) παρατήρησαν 12 κύρια φαινολογικά στάδια, από το λήθαργο των οφθαλμών μέχρι την πτώση των φύλλων που όμως συμπεριέλαβαν και στάδια εξέλιξης της βλάστησης. Τέλος, οι Manju et al. (2015) στηριζόμενοι σε μακροσκοπικές παρατηρήσεις εξωτερικά, διέκριναν 5 στάδια ανάπτυξης των οφθαλμών από τη στιγμή που εμφανίζονται τα μικρά-κλειστά άνθη μέχρι την πλήρη άνθηση. Επομένως, δεν μπορεί να γίνει σύγκριση με τα στάδια που βρέθηκαν στη δικιά μας μελέτη που στηρίζονται κύρια στην εμφάνιση των διαφορετικών ανθικών καταβολών και μερών του άνθους εσωτερικά. Εκτιμάται μάλιστα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης μας, ότι τα 4 πρώτα στάδια μπορεί να θεωρηθούν και στάδια διαφοροποίησης, ενώ το προηγούμενο από αυτά πρωταρχικό στάδιο μπορεί να θεωρηθεί ως έναρξη διαφοροποίησης. Το γεγονός όμως ότι εμφανίζονται ανθικές καταβολές, και μάλιστα σταδιακά, πάνω σε τρέχουσα βλάστηση και μετά την αρχική έκπτυξη των οφθαλμών και την ανάπτυξη της βλάστησης, δείχνει ότι διαφοροποίηση ανθοφόρων οφθαλμών συνεχίζεται και συμβαίνει και κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης της βλάστησης ή τον τερματισμό της ανάπτυξης αυτής.

Οι παρατηρήσεις μας έδειξαν ότι στη ροδιά προηγήθηκε η βλάστηση (έκπτυξη βλαστοφόρων οφθαλμών) από την ανθοφορία, φαινόμενο που επίσης είναι αντίθετο με αυτό που συμβαίνει στα περισσότερα φυλλοβόλα δένδρα όπου συνήθως προηγείται η έκπτυξη των ανθοφόρων οφθαλμών. Η έκπτυξη των πρώτων βλαστοφόρων οφθαλμών συνέβη σε διαφορετική ημερομηνία τα δύο χρόνια που μελετήθηκε δηλαδή στις 5/3/2015 και στις 22/2/2016, αντίστοιχα. Και τις δύο όμως χρονιές η έκπτυξη των πρώτων ανθοφόρων (με την εμφάνιση των πρώτων ανθικών καταβολών, στάδιο 1) συνέβη 7-10 ημέρες μετά τη βλάστηση των πρώτων ξυλοφόρων και για τα δύο έτη διεξαγωγής πειραμάτων (2015 και 2016), ανάλογα με το γονότυπο. Τα αποτελέσματα αυτά δεν συμφωνούν απόλυτα με αυτά των Holland et al. (2009) και Da Silva et al. (2013) που αναφέρουν ότι η διάρκεια αυτή είναι περίπου ένας μήνας. Στη συνέχεια η έναρξη εμφάνισης ανθικών καταβολών από την τρέχουσα βλάστηση κυμάνθηκε από

36-40 ημέρες από την εμφάνιση των πρώτων ανθοφόρων οφθαλμών είτε από λογχοειδή είτε από τα πλάγια βλαστών ηλικίας 1 έτους, ενώ το 2016 πραγματοποιήθηκε από 33-35 ημέρες μετά την εμφάνιση των καταβολών στα λογχοειδή, ανάλογα με το γονότυπο. Η γρηγορότερη έκπτυξη των βλαστοφόρων οφθαλμών το 2016 σε σχέση με το 2015 μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές θερμοκρασίες που επικράτησαν τους μήνες που προηγήθηκαν. Συγκεκριμένα, το 2015 από τον Ιανουάριο μέχρι και το Μάρτιο οι μέσες μηνιαίες θερμοκρασίες ήταν γενικά χαμηλότερες από τις αντίστοιχες του 2016 (Πίνακας 6). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι οι υψηλότερες θερμοκρασίες το χειμώνα και το Μάρτιο μπορεί να προωμίζουν την ανθοφορία. Τον Μάρτιο και τον Απρίλιο του 2016, η θερμοκρασία ήταν υψηλότερη από τον αντίστοιχους μήνες του 2015 με αποτέλεσμα να πραγματοποιηθεί γρηγορότερα η ανάπτυξη των κλειστών ανθέων, ενώ το Μάιο και για τα δύο πειραματικά έτη, η θερμοκρασία ήταν παρόμοια, με συνέπεια να μην υπάρχει αξιοσημείωτη διαφορά στο χρόνο διάρκειας της ανθοφορίας.

Πίνακας 6. Μέσες μηνιαίες θερμοκρασίες για τα δύο πειραματικά έτη 2015 και 2016.

Μήνας	Μέσες θερμοκρασίες °C	
	2015	2016
Νοέμβριος	15,5	13,6
Δεκέμβριος	9,6	7,4
Ιανουάριος	8,5	9,2
Φεβρουάριος	8,4	13,1
Μάρτιος	10,7	12,3
Απρίλιος	14,7	18,5
Μάιος	20,8	20,0

Παρόμοια αποτελέσματα της επίδρασης της θερμοκρασίας αναφέρονται και από τους Rajaei και Yazdanpanah (2015) για τα πειραματικά έτη 2009 και 2010, οι οποίοι παρατήρησαν ότι η έκπτυξη των οφθαλμών συνέβη νωρίς το Μάρτιο του 2009, αλλά το 2010 συνέβη στα μέσα Φεβρουαρίου. Επίσης, οι παραπάνω ερευνητές αναφέρουν ότι οι βροχοπτώσεις το 2010 ήταν πολύ χαμηλότερες από τις μέσες ετήσιες βροχοπτώσεις στο Shiraz του Ιράν (325 mm), σημειώνοντας ότι η μειωμένη υγρασία σε συνδυασμό με την αύξηση της θερμοκρασίας συγκριτικά με το προηγούμενο έτος είχε ως αποτέλεσμα την έξοδο από το λήθαργο 2 εβδομάδες νωρίτερα.

Μικρές μόνο διαφορές παρατηρήθηκαν στο χρόνο έκπτυξης των βλαστοφόρων και ανθοφόρων οφθαλμών μεταξύ των τριών ποικιλιών τις δύο χρονιές που μελετήθηκαν. Το γεγονός ότι τα πρώτα ανθικά μέρη που εμφανίστηκαν ήταν τα σέπαλα συμπίπτει με τα αποτελέσματα των Rajaei και Yazdanpanah (2015) καθώς και οι Porter and Wetzstein (2014) που διέκριναν στο ίδιο στάδιο τις πρώτες ανθικές καταβολές σεπάλων σε Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (ΗΜΣ).

Πρόσθετα στην εργασία αυτή μελετήθηκε ξεχωριστά η διαφοροποίηση ανθοφόρων οφθαλμών στα λογχοειδή και στην τρέχουσα βλάστηση της ροδιάς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η έναρξη της διαφοροποίησης προηγείται κατά μεγάλο χρονικό διάστημα (33-40 ημέρες) στα λογχοειδή από ότι στην τρέχουσα βλάστηση (Εικόνες 47A, 47B, 48A και 48B). Η διαφοροποίηση στην τρέχουσα βλάστηση καθυστερεί πιθανόν γιατί προηγείται η ανάπτυξη του βλαστού και ακολουθεί η διαφοροποίηση.

Η διάρκεια της ανθοφορίας από το στάδιο 1 μέχρι την πλήρη άνθηση διήρκεσε 32 - 36 ημέρες το 2015 και 30 – 32 ημέρες το 2016, ανάλογα με το γονότυπο. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με αυτά που αναφέρονται από τους Mars, 2000; Holland et al., 2009; Babu, 2010; Da Silva et al., 2013 ότι η διάρκεια της ανθοφορίας διαρκεί περίπου ένα μήνα. Ο Chandra et al. (2010) αναφέρουν ως διάρκεια ανθοφορίας 14 – 28 ημέρες. Η Δρογούδη κ.ά. (2012) αναφέρουν 1 – 2 μήνες και η Δρογούδη κ.ά., (2013) παρατήρησε ότι η διάρκεια της ανθοφορίας ήταν 52 ημέρες. Πιθανόν όμως οι συγγραφείς αυτοί να αναφέρονται συνολικά στη διάρκεια ανθοφορίας και όχι από το στάδιο 1 μέχρι την πλήρη άνθηση συγκεκριμένων ανθέων.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δείχνουν ότι η έναρξη της διαφοροποίησης στη ροδιά, δηλαδή η πρώτη αλλαγή βλαστικού μεριστώματος σε αναπαραγωγικό σηματοδοτείται με την

παραγωγή των καταβολών σεπάλων. Αυτό είναι σε συμφωνία με όλα τα καρποφόρα δένδρα, δηλαδή ότι οι πρώτες ανθικές καταβολές είναι τα σέπαλα. Αυτό πιθανόν συμβαίνει γιατί τα σέπαλα, σαν όργανα, έχουν πολλές ομοιότητες με τα φύλλα. Ο σχηματισμός των καταβολών σεπάλων δίνει πιθανόν το ερέθισμα για τον σχηματισμό των άλλων ανθικών καταβολών. Συνήθως, στα περισσότερα φυλλοβόλα δένδρα η σειρά σχηματισμού και εμφάνισης των ανθικών καταβολών είναι σέπαλα, πέταλα, στήμονες, ύπερος (Verheij, 1996 στη μηλιά; Imani and Abadi, 2012 στην αμυγδαλιά; Engin and Unal, 2007 σε κερασιά και ροδακινιά; Chun-hao, 2018 στην αχλαδιά; Valiente and Albrigo, 2004 στα εσπεριδοειδή; Ποντίκης, 2000 και Πανέτσος, 1958 στην ελιά). Στη ροδιά η μόνη διαφορά που προέκυψε στη σειρά αυτή ήταν η εμφάνιση των πετάλων που ήταν στο τέλος. Πιθανόν όμως αυτό να οφείλεται στον τρόπο παρατήρησης των ανθικών καταβολών που ήταν μόνο στο στερεοσκόπιο.

Το γεγονός ότι στη ροδιά η έναρξη της διαφοροποίησης συμπίπτει με την έναρξη της βλάστησης είναι τελείως διαφορετικό από αυτό που συμβαίνει στα περισσότερα φυλλοβόλα δένδρα στα οποία η διαφοροποίηση ξεκινά την προηγούμενη βλαστική περίοδο και έχει ολοκληρωθεί πριν την έκπτυξη των ήδη διαφοροποιημένων οφθαλμών (Jonkers, 1979; Guimond et al., 1998; Lamp et al., 2001; Engin and Unal, 2007; Németh et al., 2008; Koutinas et al., 2010; Imani and Mehr – Abadi, 2012; Ποντίκης, 1996). Το φαινόμενο όμως αυτό είναι παρόμοιο με αυτό των εσπεριδοειδών και κύρια ορισμένων ποικιλιών λεμονιάς και του είδους *C. madurensis* Lour. (Nambu, 1934). Στις ποικιλίες αυτές, η διαφοροποίηση των ανθικών μερών αρχίζει με το φούσκωμα και την έκπτυξη των οφθαλμών που είναι όμοιο με αυτό που συμβαίνει στη ροδιά. Θα πρέπει μάλιστα να προστεθεί ότι ο τρόπος καρποφορίας (μεμονωμένα άνθη ή ανθοταξίες, διάφοροι τύποι βλαστών κ.λ.π.) που βρέθηκαν στη ροδιά είναι παρόμοια με αυτά που αναφέρονται στον τρόπο καρποφορίας της λεμονιάς (Nambu, 1934).

Το φαινόμενο της συνέχισης της ανθοφορίας το καλοκαίρι και το φθινόπωρο, μετά το πρώτο και κύριο κύμα ανθοφορίας της άνοιξης ήταν αισθητό και τις δύο χρονιές των πειραμάτων. Στις περιπτώσεις αυτές τα άνθη ήταν λιγότερα πάνω στα δένδρα, ενώ μεμονωμένα άνθη εκπύχθηκαν ακόμη και το φθινόπωρο. Οι καρποί όμως που προήλθαν δεν ήταν δυνατόν να ολοκληρώσουν την ανάπτυξη τους και παρέμεναν μικροί μη εμπορεύσιμοι. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται περισσότερο σε νεαρά δένδρα και αναφέρεται και από άλλους συγγραφείς (Holland et al., 2009; Babu, 2010; Δρογούδη κ.ά., 2013). Τα άνθη στην περίπτωση αυτή προέρχονταν από τρέχουσα

βλάστηση, γεγονός που επίσης αποδεικνύει ότι η διαφοροποίηση των ανθοφόρων ξεκινά και ολοκληρώνεται με την άνθηση την ίδια εποχή της βλάστησης των οφθαλμών.

4.2 Καρπόδεση - ανάπτυξη καρπών

Καρπόδεση

Το ποσοστό (%) γόνιμων ανθέων και της καρπόδεσης διέφερε σημαντικά μεταξύ των τριών γονοτύπων που μελετήθηκαν. Το 2015, η ποικιλία *Wonderful* παρουσίασε το υψηλότερο ποσοστό γόνιμων ανθέων από τους δύο άλλους γονότυπους. Το 2016 όμως, τα υψηλότερα ποσοστά εμφανίστηκε στην ποικιλία *Acco*. Ο γονότυπος *Περσεφόνη* σημείωσε τα χαμηλότερα ποσοστά γόνιμων ανθέων και στα δύο πειραματικά έτη. Αυτό μπορεί μερικώς να οφείλεται στο ότι τα δένδρα ήταν ένα χρόνο νεότερα από τις δύο ποικιλίες. Οι Martinez et al. (2000) μελέτησαν σε τρεις κλώνους *PTO8*, *CRO1* και *ME14* προερχόμενους από την Ισπανία, το ποσοστό ερμαφρόδιτων ανθέων για δύο έτη. Την πρώτη χρονιά το ποσοστό ερμαφρόδιτων ανθέων για τους κλώνους *PTO8*, *CRO1* και *ME14* ήταν 9%, 13,80% και 47,80%, αντίστοιχα, ενώ για το δεύτερο έτος ήταν 45,2%, 20,7% και 60,1%. Τα αποτελέσματα αυτών σε συνδυασμό με αυτά της δικής μας μελέτης δείχνουν ότι το ποσοστό των γόνιμων ανθέων διαφέρει όχι μόνο μεταξύ των ποικιλιών και κλώνων αλλά και στην ίδια ποικιλία σε διαφορετικά έτη βλάστησης. Το φαινόμενο αυτό αξίζει ιδιαίτερης μελέτης αφού το ποσοστό των γόνιμων ανθέων σχετίζεται άμεσα με το ποσοστό καρπόδεσης και την παραγωγικότητα των δένδρων. Τα ποσοστά ερμαφρόδιτων ανθέων που βρέθηκαν για τους τρεις γονότυπους *Wonderful*, *Acco* και *Περσεφόνη* που κυμάνθηκαν από 12% μέχρι 71%, είναι παρόμοια με αυτά που βρέθηκαν από τους Martinez et al. (2000) και ήταν 9,0-60,1%. Οι Drogoudi et al. (2012) βρήκαν ότι το ποσοστό ερμαφρόδιτων ανθέων για την *Καλλίστη* ήταν 37,6% και για τους κλώνους *11005*, *11019*, *11021* τα ποσοστά ήταν 63,8%, 13,4%, 16,7% αντίστοιχα. Τα ποσοστά αυτά είναι επίσης παρόμοια με αυτά της παρούσας μελέτης. Οι Holand et al. (2009) αναφέρουν ότι το ποσοστό των γόνιμων ανθέων κυμαίνεται από 43-66% στις Ισραηλινές ποικιλίες, στις Ινδικές από 53-80% ενώ ο Babu (2010) αναφέρει ποσοστά 25-53,8%. Οι Chandra et al., (2010) αναφέρουν ότι το ποσοστό των ερμαφρόδιτων ανθέων στη ροδιά εξαρτάται από την ποικιλία, την εποχή άνθησης και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Επίσης, η ηλικία των δένδρων επηρεάζει το ποσοστό των γόνιμων ανθέων (Martinez et al., 2000; Wetzstein et al., 2011a). Επομένως οι μεγάλες διαφορές στο ποσοστό των γόνιμων ανθέων μεταξύ των ποικιλιών αλλά και των διαφορετικών μελετών μπορεί να αποδοθεί σε όλους αυτούς τους παράγοντες.

Κατά το πρώτο έτος της μελέτης η ποικιλία *Wonderful* παρουσίασε το υψηλότερο ποσοστό καρπόδεσης ακολουθούμενη από την ποικιλία *Acco* ενώ ο γονότυπος *Περσεφόνη* είχε το χαμηλότερο ποσοστό (12%). Το 2016 όμως η ποικιλία *Acco* είχε το υψηλότερο ποσοστό καρπόδεσης και ο γονότυπος *Περσεφόνη* πάλι το μικρότερο (13,3%). Το υψηλότερο ποσοστό καρπόδεσης των δύο ξένων ποικιλιών σε σύγκριση με την *Περσεφόνη* οφείλεται και στο υψηλό ποσοστό γόνιμων ανθέων σε σχέση με τον ελληνικό γονότυπο. Η Δρογούδη κ.ά. (2013) βρήκαν ποσοστό καρπόδεσης 47% για τις ποικιλίες *Ερμιόνη* και *Wonderful* και 16-52% για τοπικούς κλώνους. Το αποτέλεσμα για την ποικιλία *Wonderful* είναι παρόμοιο με αυτό της δικής μας μελέτης (37-52%). Ο Babu (2010) αναφέρει ότι το ποσοστό καρπόδεσης διαφέρει μεταξύ των ποικιλιών και ότι βρέθηκε 21% περίπου για Ιαπωνικές ποικιλίες και 5-7,3% σε ορισμένες Ινδικές ποικιλίες. Αναφέρει επίσης ότι σε πειράματα τεχνητής επικονίασης, η αυτεπικονίαση έδωσε 46% καρπόδεση ενώ η σταυρεπικονίαση 68%, που δείχνει τη σημασία της σταυρεπικονίασης στην αύξηση της παραγωγικότητας. Οι Abdel Sattar και Mohamed (2017) αναφέρουν ποσοστά καρπόδεσης που κυμάνθηκαν από 47-79,6%. Στη περίπτωση όμως αυτή η καρπόδεση υπολογίστηκε με βάση τον αριθμό των ερμαφρόδιτων ανθέων και όχι το συνολικό που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη αυτή. Οι Wetzstein et al. (2013) αναφέρουν ότι το ποσοστό καρπόδεσης επηρεάζεται σημαντικά από το μέγεθος των ανθέων και παρατήρησαν στην ποικιλία *Wonderful*, καλλιεργούμενη στην Καλιφόρνια, το ποσοστό καρπόδεσης ξεπερνούσε το 90% για μεγάλα άνθη, για μικρά άνθη το ποσοστό καρπόδεσης ήταν 20% ή λιγότερο, ενώ για άνθη ενδιάμεσου μεγέθους ήταν 51% και 62% εξαρτώμενο από την κατηγοριοποίηση των ανθέων βάσει του πλάτους ή μήκους, αντίστοιχα. Επίσης, αναφέρουν ότι οι καλλιεργητικές πρακτικές συμπεριλαμβανομένων της αζωτούχου λίπανσης, του κλαδέματος, της εποχής συγκομιδής και των βροχοπτώσεων – αρδεύσεων επηρεάζουν την ποιότητα ανθέων και την ικανότητα καρπόδεσης στα οπωροφόρα δένδρα. Σε προηγούμενη μελέτη τους οι Wetzstein et al. (2011a) παρατήρησαν ότι το μέγεθος των ερμαφρόδιτων ανθέων στην ποικιλία *Wonderful* ποικίλλει.

Ανάπτυξη καρπών

Ο γονότυπος *Περσεφόνη* είχε μικρότερη διάμετρο και μήκος καρπού χωρίς κάλυκα και για τα δύο έτη συγκριτικά με τις ξένες ποικιλίες. Το 2015, η διάμετρος του καρπού της ποικιλίας *Wonderful* ήταν ελαφρώς υψηλότερη από την αντίστοιχη της ποικιλίας *Acco*. Οι τρεις γονότυποι παρουσίασαν διαρκή ανάπτυξη από την καρπόδεση μέχρι την ωρίμανση. Οι Sarikhani et al. (2014) παρατήρησαν σε 4 ιρανικές ποικιλίες ροδιού, ταχεία αύξηση ως προς το μέγεθος καρπών

τις πρώτες οκτώ εβδομάδες μέχρι τα μέσα Ιουλίου, με την ανάπτυξη να συνεχίζεται με αργότερο ρυθμό μέχρι το στάδιο ωρίμανσης. Οι ίδιοι ερευνητές αλλά και Karimi et al. (2015) και Al-Yahyal et al. (2009) διέκριναν δύο φάσεις ανάπτυξης των καρπών της ροδιάς, μία ταχεία αύξηση μέχρι πενήντα ημέρες μετά την πλήρη άνθηση και μία σταδιακή αύξηση μέχρι τη συγκομιδή των καρπών. Οι Al-Yahyal et al. (2009) μελέτησαν 4 τοπικές ποικιλίες του Ομάν και αναφέρουν σε δύο ποικιλίες από αυτές που μελέτησαν σημειώθηκε μικρή αλλαγή στο δείκτη σχήματος του καρπού εκφρασμένο ως σφαιρικότητα και σε δύο σφαιρικές ποικιλίες κατέγραψαν σταθερή μείωση της σφαιρικότητας κατά την ανάπτυξη των καρπών.

Η καμπύλη ανάπτυξης του καρπού παρουσίασε μικρές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών αλλά και μεταξύ των δύο χρόνων που μετρήθηκαν. Η καμπύλη ανάπτυξης ακολουθεί την απλή σιγμοειδή με τάση σε ορισμένες περιπτώσεις να είναι γραμμική. Οι Gozlekci και Kayak (2000) αναφέρουν ότι η καμπύλη ανάπτυξης των καρπών στη ροδιά είναι απλή σιγμοειδής. Οι Fawole και Opara (2013) σε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, αναφέρουν επίσης ότι η καμπύλη ανάπτυξης των καρπών της ροδιάς χαρακτηρίζεται συνήθως από την απλή σιγμοειδή καμπύλη. Συμπληρώνουν όμως, ότι η καμπύλη ανάπτυξης εξαρτάται από την ποικιλία και υπάρχουν δεδομένα από ορισμένους ερευνητές που βρήκαν και γραμμική ανάπτυξη των καρπών και ειδικά για την ποικιλία *Wonderful*. Επομένως, οι καμπύλες ανάπτυξης που βρέθηκαν στη μελέτη αυτή συμφωνούν γενικά με τα υπάρχοντα στη βιβλιογραφία δεδομένα και οι μικρές διαφορές οφείλονται στις διαφορετικές ποικιλίες αλλά πιθανόν και σε διαφορετικές συνθήκες ανάπτυξης των καρπών.

5. Συμπεράσματα

1. Όλοι οι οφθαλμοί στο στάδιο του ληθάργου έχουν βλαστικές μόνο καταβολές παρά τις μικρές διαφορές που παρατηρήθηκαν σε σχήμα και μέγεθος που όμως δεν είναι πάντα ορατές με γυμνό οφθαλμό.
2. Η ανάπτυξη της βλάστησης προηγείται της ανθοφορίας. Με την έκπτυξη των οφθαλμών παρατηρείται κόκκινο χρώμα στη βλάστηση, το οποίο σταδιακά γίνεται πράσινο.
3. Η έναρξη της διαφοροποίησης ανθοφόρων οφθαλμών συμπίπτει με το φούσκωμα και την έναρξη έκπτυξης αυτών και ολοκληρώνεται στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των ανθοφόρων οφθαλμών.

4. Η μελέτη έδειξε ότι υπάρχουν 7 διακριτά στάδια διαφοροποίησης – ανθοφορίας, από την εμφάνιση των πρώτων ανθικών καταβολών (σεπάλων) μέχρι την καρπόδεση. Τα στάδια διακρίθηκαν ανάλογα με την εμφάνιση των διαφόρων ανθικών μερών και τις αλλαγές σε χρώμα και μέγεθος αυτών.
5. Ο χρόνος και τρόπος διαφοροποίησης διαφέρει από τα περισσότερα φυλλοβόλα και αειθαλή καρποφόρα δένδρα αφού συμπληρώνεται σε μία βλαστική περίοδο.
6. Τα άνθη και οι καρποί προέρχονται είτε από λογχοειδή που βρίσκονται σε βλαστούς δύο ετών ή μεγαλύτερης ηλικίας είτε από βλαστούς ενός έτους πλάγιους ή επάκριους.
7. Τα άνθη φέρονται σε πολύ μικρό βλαστό με λίγα φύλλα ή χωρίς φύλλα που βρίσκονται πάνω σε λογχοειδή ή στην κορυφή πολύ μικρής βλάστησης που προέρχεται από κανονική βλάστηση ηλικίας 1 έτους ή στην κορυφή μεγάλης τρέχουσας βλάστησης.
8. Δύο τύποι ανθέων βρέθηκαν και στις τρεις ποικιλίες που μελετήθηκαν τα ερμαφρόδιτα - γόνιμα (μακρόστυλα) και τα άγονα (βραχύστυλα).
9. Τα άνθη είναι είτε μεμονωμένα κυρίως πάνω σε λογχοειδή είτε σε ζεύγη ή πολλά μαζί στην κορυφή τρέχουσας βλάστησης που προέρχεται από βλαστούς 1 έτους ή λογχοειδή.
10. Όταν είναι περισσότερα από 2 άνθη συνήθως το κορυφαίο είναι το κυρίαρχο και δίνει καρπό, υπάρχουν όμως και περιπτώσεις ανάπτυξης περισσότερων καρπών από ένα οφθαλμό.
11. Η διάρκεια της ανθοφορίας από την εμφάνιση των πρώτων καταβολών ανθέων (σεπάλων) μέχρι την πλήρη άνθηση είναι περίπου ένας μήνας.
12. Δεν παρατηρήθηκαν μεγάλες διαφορές μεταξύ των τριών γονοτύπων στο χρόνο έναρξης της βλάστησης και της ανθοφορίας ούτε στη διαδικασία διαφοροποίησης.
13. Το ποσοστό των γόνιμων ανθέων και της καρπόδεσης διέφερε σημαντικά μεταξύ των τριών γονοτύπων, με το γονότυπο *Περσεφόνη* να υστερεί σημαντικά έναντι των δύο καλλιεργούμενων ποικιλιών.
14. Το ποσοστό των γόνιμων ανθέων και της καρπόδεσης διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο χρόνων της μελέτης και μάλιστα εντός της ίδιας ποικιλίας.
15. Η καμπύλη ανάπτυξης των καρπών ακολουθεί την απλή σιγμοειδή καμπύλη με τάση γραμμικής ανάπτυξης και με μικρές διαφορές μεταξύ των τριών γονοτύπων.

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Abbott, C.E. (1935). Blossom – bud differentiation in citrus trees. *American Journal of Botany*, **22**(4): 476-485.
- Abdel-Sattar, M., and Mohamed,Y.I. (2017). Pomegranate Trees Productivity in Response to Three Levels of Irrigation and Slow or Fast Nitrogen Release Fertilizer as Well as Their Combinations. *Journal Plant Production*, **8**(8): 813- 820.
- Abubakar, A. R., Ashraf, N., and Ashraf, M. (2013). Effect of plant biostimulants on fruit cracking and quality attributes of pomegranate cv. Kandhari kabuli. *Scientific Research and Essays*, **8**(44): 2171-2175.
- Almeida, F.J. (1964) Quelques carences alimentaires de l’ Olivier au Portugal. *Inf. Oleic. Int.*, **25**: 13-20.
- Al-Yahyai, R., Al-Said, F., and Opara, L. (2009). Fruit growth characteristics of four pomegranate cultivars from northern Oman. *Fruits*, **64**(6): 335-341.
- Anderson, J.V., Horvath, D.P., Chao, W S., and Foley, M.E. (2010). Bud dormancy in perennial plants: a mechanism for survival Dormancy and resistance in harsh environments. Springer: 69-90.
- Assaf, R., Bar-Ya’akov, I., Dagan, M., Fahima, M., and Hatib, K. (1991). Pomegranate floral biology and trials to increase productivity. *Alon Hanotea*, **45**: 461-471.
- Babu, D. (2010). Floral biology of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Pomegranate*, **4**: 45-50.
- Beauvieux, R., Wenden, B., and Dirlewanger, E. (2018). Bud dormancy in perennial fruit tree species: a pivotal role for oxidative cues. *Frontiers in plant science*, **9**.
- Bergh, O. (1985). Morphogenesis of *Malus domestica* cv. Starking flower buds. *South African Journal of Plant and Soil*, **2**(4): 187-190.

- Chandra, R., Jadhav, V.T., and Sharma, J. (2010). Global scenario of pomegranate (*Punica granatum* L.) culture with special reference to India. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 7-18.
- Chun-Hao, W., Qiang, W., Ming-yan, L., Xing-kai, Y., Ming-he, L., and Mao-jun, Z. (2018). Study on Morphological Differentiation and Characteristics of Flower Bud in ‘Danhua’ Pear. *Journal of Plant Physiology and Pathology*, **6**(4): 1-7.
- Cui, S.-M., Sasada, Y., Sato, H., and Nii, N. (2004). Cell structure and sugar and acid contents in the arils of developing pomegranate fruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, **73**(3): 241-243.
- Da Silva, J.A.T., Rana, T.S., Narzary, D., Verma, N., Meshram, D.T., and Ranade, S.A. (2013). Pomegranate biology and biotechnology: a review. *Scientia horticulturae*, **160**: 85-107.
- Davenport, T. (1990). Citrus flowering. *Horticultural Reviews*, **12**: 349-408.
- Derin, K., and Eti, S. (2001). Determination of pollen quality, quantity and effect of cross pollination on the fruit set and quality in the pomegranate. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **25**(3): 169-173.
- Drogoudi, P., Pantelidis, G., and Manganaris, A. (2012). Morphological and physiological characteristics in pomegranate cultivars with different yields. *Options Méditerranéennes*, **103**: 67-69.
- Engin, H., and Ünal, A. (2007). Examination of flower bud initiation and differentiation in sweet cherry and peach by scanning electron microscope. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **31**(6): 373-379.
- Faust, M., Erez, A., Rowland, L. J., Wang, S. Y., and Norman, H. A. (1997). Bud dormancy in perennial fruit trees: physiological basis for dormancy induction, maintenance, and release. *HortScience*, **32**(4): 623-629.
- Fawole, O.A., and Opara, U.L. (2013). Developmental changes in maturity indices of pomegranate fruit: A descriptive review. *Scientia horticulturae*, **159**: 152-161.

- Gozlekcİ, S., and Kaynak, L. (2000). Physical and chemical changes during fruit development and flowering in pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivar Hicaznar grown in Antalya region. *Options Méditerranéennes, Séminaires Méditerranéens*, **42(A)**: 79-85.
- Guardiola, J. L. (1997). Overview of flower bud induction, flowering and fruit set. *Citrus flowering and fruit short course*, 5-21.
- Guimond, C.M., Andrews, P.K., and Lang, G.A. (1998). Scanning electron microscopy of floral initiation in sweet cherry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **123(4)**: 509-512.
- Hanke, M.-V., Flachowsky, H., Peil, A., and Hättasch, C. (2007). No flower no fruit—genetic potentials to trigger flowering in fruit trees. *Genes, Genomes and Genomics*, **1(1)**: 1-20.
- Hartman, H.T. (1951). Time of floral differentiation in the olive in California. *Botanical Gazette*, **112**:323-327.
- Hayes, WB. (1957). *Fruit Growing in India*. 3rd Edition, Vanguard Press, Allahabad, India.
- Heflebower, R., and Morris, R. (2013). *Pomegranate, Fruit of the Desert*.
- Holland, D., Hatib, K., and Bar-Ya'akov, I. (2009). Pomegranate: botany, horticulture, breeding. *Horticultural Reviews*, **35**: 127-191.
- Imani, A., and Mehr-Abadi, S.M. (2012). Floral differentiation and development in early, middle and late blooming almond cultivars. *African Journal of Microbiology Research*, **6(25)**: 5301-5305.
- Inoue, H. (1989a). Differentiation and development of flower buds in satsuma mandarins under different temperature conditions. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, **58(1)**: 75-82.
- Inoue, H. (1990b). Effects of temperature on bud dormancy and flower bud differentiation in satsuma mandarin. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, **58(4)**: 919-926.

- Iwasaki, T. (1959). Studies on the differentiation and development of the flower bud in citrus. Bull. Tokai-Kinki Agricultural Experiment Station of Horticulture, **5**: 1-76.
- Jonkers, H. (1979). Biennial bearing in apple and pear: a literature survey. *Scientia horticultrae*, **11**(4): 303-317.
- Julian, C., Herrero, M., and Rodrigo, J. (2010). Flower bud differentiation and development in fruiting and non-fruiting shoots in relation to fruit set in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Trees*, **24**(5): 833-841.
- Kardailsky, I., Shukla, V.K., Ahn, J.H., Dagenais, N., Christensen, S.K., Nguyen, J.T., Chory, J., Harrison, M.J., and Weigel, D. (1999). Activation tagging of the floral inducer FT. *Science*, **286**: 1962-1965.
- Karimi, H.R., and Mirdehghan, S.H. (2015). Effects of Self, Open, and Supplementary Pollination on Growth Pattern and Characteristics of Pomegranate Fruit. *International Journal of Fruit Science*, **15**(4): 382-391.
- Kardailsky, I., Shukla, V.K., Ahn, J.H., Dagenais, N., Christensen, S.K., Nguyen, J.T., Chory, J., Harrison, M.J., and Weigel, D. (1999). Activation tagging of the floral inducer FT. *Science*, **286**(5446): 1962-1965.
- Kobayashi, Y., Kaya, H., Goto, K., Iwabuchi, M., and Araki, T. (1999). A Pair of Related Genes with Antagonistic Roles in Mediating Flowering Signals. *Science*, **286**(5446): 1960-1962.
- Koutinas, N., Pepelyankov, G., and Lichev, V. (2010). Flower induction and flower bud development in apple and sweet cherry. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, **24**(1): 1549-1558.
- Lamp, B.M., Connell, J.H., Duncan, R.A., Viveros, M., and Polito, V.S. (2001). Almond flower development: floral initiation and organogenesis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **126**(6): 689-696.
- Levin, G.M. (1978). The floral biology of pomegranate (*Punica granatum* L.) in southwest Turkmenistan. *Turkmenistan SSR Ylymlar Akademijasynyn Habarlary Biologik Ylymlaryn*, **5**: 31- 38.

- Li, B., Xie, Z., Zhang, A., Xu, W., Zhang, C.-X., Liu, Q., Liu, C., and Wang, S. (2010). Tree growth characteristics and flower bud differentiation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) under different climate conditions in China. *Horticultural Science*, **37**: 6-13.
- Manju, I.B., Rawat, S.S., and Thakur, N. (2015). Studies on floral biology in pomegranate cv. Ganesh and Kandhari under valley conditions of sprinagar (Garhwal) (Bearing habit, time and duration of flowering, bud development, flower characters and anthesis). *International journal of Research in Applied Natural and Social Sciences*, **5**(3): 41-46.
- Marafon, A., Herter, F., Hawerroth, F., and Silva, A.D. (2007). Floral bud initiation and development of three pear tree (*Pyrus* sp.) cultivars in two subtropical regions during the summer period. Paper presented at the VIII International Symposium on Temperate Zone Fruits in the Tropics and Subtropics, **872**.
- Mars, M. (2000). Pomegranate plant material: Genetic resources and breeding, a review. *Options Méditerranéennes*, **42**(A): 55-62.
- Martinez, J., Melgarejo, P., and Hernandez, F. (2000). Study of the floral morphology of the pomegranate clones: PTO8, CRO1 and ME14. *Options Méditerranéennes*, **42**(A): 105-113.
- Melgarejo, P., Martinez - Valero, R., Guillamón, J., and Amoros, M. M. (1997) Phenological stages of the pomegranate tree (*Punica granatum* L.). *Annals of applied biology*, **130**(1): 135-140.
- Moreno, P.M. (2005). Pomegranate tree: Description and use. <http://www.ueresgen29.unifi.it/ds2.htm>.
- Morettini, A. (1958). The biology of fertilization in olive cultivars and its practical importance. *Italian Agriculture*, **94**:1103-1116.
- Nalawadi, U., Farooqui, A., Dasappa, R., Gubraiah, S., & Nalini, A. (1973). Studies on the floral biology of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Mysore Journal of Agricultural Sciences*, **7**: 213-225.

- Nambu, H. (1934). The flowering habit and the fruit bud formation in Citrus. *Studia Citrologia*, **5**: 21-32.
- Németh, S., Szalay, L., and Remenyi, M. (2008). Flower bud differentiation in apricot. *International Journal of Horticultural Science*, **14**: 19-21.
- Nishikawa, F. (2013). Regulation of floral induction in citrus. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, **82**(4): 283-292.
- Palanichamy, V., Mitra, B., Saleh, A.M., and Sankar, P.D. (2011). Studies on fruit-bud differentiation in Mango (*Mangifera indica*). *Research in Plant Biology*, **1**(4).
- Palanichamy, V., Reddy, N., Babu, S., Sevaraj, S., Mitra, A., and Mitra, B. (2012). Determination of time period of fruit bud differentiation and the associated histological and biochemical changes in mango hybrids. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, **3**(2): 271-290.
- Pinney, K. and Polito, V.S. (1990). Flower initiation in Manzallino olive. *Acta Horticulturae*, **286**: 203-205.
- Porter, J., and Wetzstein, H.Y. (2014). The biology of pomegranates: All about flowers, fruit and arils. https://crec.ifas.ufl.edu/extension/pomegranates/pdfs/Porter_2014.pdf
- Rajaei, H., and Yazdanpanah, P. (2015). Buds and leaves in pomegranate (*Punica granatum* L.): Phenology in relation to structure and development. *Flora*, **214**: 61-69.
- Rallo, L. and Martin G.C. (1991). The role of chilling in releasing olive floral buds from dormancy. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences*, **116**:1058-1062.
- Rohde, A., and Bhalerao, R.P. (2007). Plant dormancy in the perennial context. *Trends in plant science*, **12**(5): 217-223.
- Ryugo, K. (1988). *Fruit Culture - Its Science and Art*. Wiley, New York.
- Saito, T., Tuan, P.A., Katsumi-Horigane, A., Bai, S., Ito, A., Sekiyama, Y., Hiroshi O., and Moriguchi, T. (2015). Development of flower buds in the Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*) from late autumn to early spring. *Tree physiology*, **35**(6): 653-662.

- Samach, A., Onouchi, H., Gold, S. E., Ditta, G. S., Schwarz-Sommer, Z., Yanofsky, M. F., and Coupland, G. (2000). Distinct roles of CONSTANS target genes in reproductive development of Arabidopsis. *Science*, **288**(5471): 1613-1616.
- Sarikhani, H., Valipour, M., and Chehregani, R.A. (2014). Fruit growth and patterns of lignification in the seeds of four Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **89**(3): 268-272.
- Sreekumar, P.M., Salimath, M., Ramu, S.V., and Udayakumar, M. (2014). Current Status of Flowering Control: Will it Provide Options for Chemical Regulation of Flowering? Paper presented at the Souvenir, National Seminar-cum-Workshop on Physiology of Flowering in Perennial Fruit Crops.
- https://www.researchgate.net/profile/Vinod_Singh40/publication/285592038_Souvenir-Physiology_of_Flowering_in_Perennial_Fruit_Crops/links/5661353e08ae418a7866b187/Souvenir-Physiology-of-Flowering-in-Perennial-Fruit-Crops.pdf
- Stover, E., and Mercure, E. W. (2007). The pomegranate: a new look at the fruit of paradise. *HortScience*, **42**(5): 1088-1092.
- Taylor, D., Atkey, P., Wickenden, M., and Crisp, C. (1997). A morphological study of flower initiation and development in strawberry (*Fragaria x ananassa*) using cryo-scanning electron microscopy. *Annals of applied biology*, **130**(1): 141-152.
- Tufts, W., and Morrow, E. (1925). Fruit-bud differentiation in deciduous fruits. *Hilgardia*, **1**(1): 1-14.
- Valiente, J.I., and Albrigo, L.G. (2004). Flower bud induction of sweet orange trees [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]: effect of low temperatures, crop load, and bud age. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **129**(2): 158-164.
- Verheij, F.A. (1996). Morphological and physiological aspects of the early phases of flower bud formation of apple. PhD Thesis, University of Wageningen.
- Weigel, D., and Nilsson, O. (1995). A developmental switch sufficient for flower initiation in diverse plants. *Nature*, **377**(6549): 495.

- Wetzstein, H.Y., Ravid, N., Wilkins, E., and Martinelli, A.P. (2011a). A morphological and histological characterization of bisexual and male flower types in pomegranate. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **136**(2): 83-92.
- Wetzstein, H.Y., Zhang, Z., Ravid, N., and Wetzstein, M.E. (2011b). Characterization of attributes related to fruit size in pomegranate. *HortScience*, **46**(6): 908-912.
- Wetzstein, H.Y., Yi, W., Porter, J.A., and Ravid, N. (2013). Flower position and size impact ovule number per flower, fruitset, and fruit size in pomegranate. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **138**(3): 159-166.
- Zou, F., Duan, J., Xiong, H., Yuan, D., Zhang, L., and Niu, G. (2017). Flower Bud Differentiation and Development of ‘Jinsi No. 4’ Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) in Hunan Province of Southern China. *The Open Biotechnology Journal*, **11**(1).

Ελληνική βιβλιογραφία

- Βασιλακάκης, Μ. (2004). Γενική και Ειδική Δενδροκομία. Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.
- Δρογούδη, Π., Βασιλακάκης, Μ., Θωμίδης, Θ., Ναβροζίδης, Ε. και Παντελίδης, Γ. (2012). Εγχειρίδιο για την καλλιέργεια της ροδιάς. Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων Ναουσας, ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ.
- Θεριός, Ι. (2005). Ελαιοκομία. Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.
- Θεριός, Ι. και Δημάση – Θεριού Κ. (2013). Ειδική Δενδροκομία – Φυλλοβόλα Οπωροφόρα Δένδρα. Εκδ. Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.
- Μουλούλης, Θ. (1980). Στοιχεία καλλιέργειας Εσπεριδοειδών, σελ. 17. Δοκίμιο για τους φοιτητές της Α.Γ.Σ.Α.
- Πανέτσος, Χ. (1958). Συμβολή εις την μελέτην της βιολογίας του άνθους της ελιάς (*Olea europea* L.). Διδακτορική διατριβή (Α.Γ.Σ.Α.).

- Παντελίδης, Γ., Δρογούδη, Π. και Βασιλακάκης, Μ. (2018). Χειμερινός λήθαργος φυλλοβόλων οπωροφόρων και ακρόδρυων δένδρων: Επιπτώσεις μειωμένου ψύχους στην παραγωγικότητα και πρακτικές αντιμετώπισης: 1-13. <https://pomologyinstitute.gr/wp-content/uploads/2018/11/file5b29e39db87909.30886173.pdf>
- Ποντίκης, Κ. (1993). ΕΣΠΕΡΙΔΟΕΙΔΗ. Εκδόσεις Α. Σταμούλης, Αθήνα-Πειραιάς.
- Ποντίκης, Κ. (1994). Ειδική Δενδροκομία. Μηλοειδή, Τόμος πρώτος. Εκδόσεις Α. Σταμούλης, Αθήνα-Πειραιάς.
- Ποντίκης, Κ. (1996). Ειδική Δενδροκομία. Ακρόδρυα-Πυρηνόκαρπα-Λοιπά Καρποφόρα. Τόμος δεύτερος. Εκδόσεις Α. Σταμούλης, Αθήνα-Πειραιάς.
- Ποντίκης, Κ. (2000). Ειδική Δενδροκομία. Ελαιοκομία, Τόμος τρίτος. Εκδόσεις Α. Σταμούλης, Αθήνα.
- Χατζηχαρίσης, Ι και Καζαντζής, Κ. (2014). Η κερασιά και η καλλιέργειά της. Εκδόσεις Αγρότυπος, Αθήνα.

Κεφάλαιο 2

Μελέτη των συγκεντρώσεων των σακχάρων, της έκφρασης γονιδίων ανθογένεσης και της δράσης ενζύμων, υπεύθυνων για τη σύνθεση της σακχαρόζης, σε βλαστικά και αναπαραγωγικά όργανα της ροδιάς

Αναλυτικότερα μελετήθηκαν οι συγκεντρώσεις των διαλυτών σακχάρων, η δράση των ενζύμων UGPase (UDP-glucose pyrophosphorylase) και SPS (sucrose phosphate synthase), που είναι ένζυμα κλειδιά για τη σύνθεση της σακχαρόζης, καθώς και η έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την ανθογένεση (ανθική επαγωγή ή flower induction) σε ληθαργούντες οφθαλμούς, στις αναπτυσσόμενες αναπαραγωγικές και βλαστοφόρες κορυφές των νέων βλαστών καθώς και σε μη γονιμοποιημένες ωοθήκες των ανθέων της ροδιάς.

1. Εισαγωγή

Οι οφθαλμοί της ροδιάς αναπτυσσόμενοι είτε οδηγούν στο σχηματισμό ανθέων είτε παραμένουν βλαστοφόροι και δίνουν νέα βλάστηση (κανονική ή λογχοειδή). Τα άνθη μπορεί να είναι ερμαφρόδιτα (γόνιμα) ή αρσενικά (άγονα) με διακριτή μορφολογία μετά την ανάπτυξή τους (Holland et al., 2009). Κατά την αναπαραγωγική ανάπτυξη των φυτών συμβαίνουν πολύπλοκες μορφολογικές και φυσιολογικές διαδικασίες που ελέγχονται από ενδογενείς και περιβαλλοντικούς παράγοντες (Bernier et al., 1993; Gibson, 2005; Hanke et al., 2007). Η ανάπτυξη των ανθέων πραγματοποιείται σε δύο φάσεις: α) η μετατροπή από τη βλαστική (βλαστικό μερίστωμα) στην αναπαραγωγική ανάπτυξη (ανθικό-αναπαραγωγικό μερίστωμα) β) η οργανογένεση για την παραγωγή ανθέων. Μια ομάδα γονιδίων φαίνεται ότι επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό κυρίως την επαγωγή της διαφοροποίησης αναπαραγωγικών οργάνων οδηγώντας κατ' επέκταση στην παραγωγή λειτουργικών ανθέων (Duclos and Bjorkman, 2008; Wils and Kaufmann, 2016).

Στα φυτά *Arabidopsis* και *Antirrhinum* έγιναν μελέτες για την κατανόηση του μοριακού μηχανισμού της ανθογένεσης. Στα φυτά, τα περισσότερα ρυθμιστικά γονίδια κωδικοποιούν

πρωτεΐνες που σχετίζονται με τη μεταφορά σήματος (Ρουμπελάκη – Αγγελάκη, 2003). Για την απομόνωση και το χαρακτηρισμό όλων ή ορισμένων γονιδίων που συμμετέχουν στην ανθογένεση και την ανάπτυξη ανθικών οργάνων έχουν χρησιμοποιηθεί μεταλλάγματα που εμφανίζουν αδυναμία έκφρασης (loss of function) μίας από τις παρακάτω λειτουργίες, δηλαδή αδυναμία μετατροπής του βλαστικού μεριστώματος σε ανθικό, αδυναμία δημιουργίας ανθέων και αδυναμία δημιουργίας συγκεκριμένων ανθικών μερών. Στο στάδιο της επαγωγής (flower induction) συμμετέχουν γονίδια όπως αυτό έχει προκύψει από τη γενετική ανάλυση των μεταλλαγμάτων. Σημαντικό ρόλο στην ανθογένεση φαίνεται να παίζουν γονίδια που κωδικοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες (που ρυθμίζουν τη μεταγραφή του DNA σε mRNA, επηρεάζοντας την έκφραση σειράς γονιδίων), συγκεκριμένα, έχει τεκμηριωθεί η εμπλοκή μεταγραφικών παραγόντων που περιέχουν το ενεργό κέντρο MADS (MADS – box) που συνδέεται άμεσα στο DNA (Ρουμπελάκη – Αγγελάκη, 2003). Στην *Arabidopsis*, τα γονίδια *AG20* (*AGAMOUS LIKE 20*), *AP1* (*APETALA 1*) και *LFY* (*LEAFY*) εκφράζονται κατά τη μετατροπή του βλαστικού μεριστώματος σε ανθικό, ενώ στο φυτό *Antirrhinum*, το γονίδιο *FLO* είναι αντίστοιχο με το *LFY* του φυτού *Arabidopsis*. Το *AG20* φαίνεται να παίζει τον ρόλο του γονιδίου – κεντρικού διακόπτη αφού επάγεται από περισσότερους εξωγενείς ή/και ενδογενείς παράγοντες που συμμετέχουν στα διάφορα μονοπάτια στη διαδικασία της επαγωγής (flower induction) (Ρουμπελάκη – Αγγελάκη, 2003). Η έκφραση του γονιδίου αυτού προκαλεί έκφραση του *LFY* και στη συνέχεια προκαλεί έκφραση του *AP1* και η έκφραση του *AP1* επάγει πάλι την έκφραση του *LFY* (Ρουμπελάκη – Αγγελάκη, 2003). Βασιζόμενοι στα παραπάνω έγιναν μελέτες και σε διαφορετικά φυτικά είδη. Η υπερέκφραση του *Arabidopsis LFY* βρέθηκε σε πρώιμης ανθοφορίας ρύζι, καπνό και σε υβρίδιο λεύκης (aspen) (Weigel and Nilsson, 1995; He et al., 2000). Επιπρόσθετα, το *LFY* χρησιμοποιείται για την επιτάχυνση της ολοκλήρωσης του σταδίου της νεανικότητας στα εσπεριδοειδή και την σταδιακή είσοδο των δενδρυλλίων στην φάση της αναπαραγωγικής ωριμότητας (Peña et al., 2001). Η υπερέκφραση του *AP1* βρέθηκε σε πρώιμης ανθοφορίας διαγονιδιακά εσπεριδοειδή (Peña et al., 2001) και στην τομάτα (Ellul et al., 2004). Επίσης, στη μηλιά μελετήθηκε μία σειρά γονιδίων, γνωστών για τη σχέση τους με την ανθική επαγωγή, για τον προσδιορισμό της έναρξης της αναπαραγωγικής φάσης σε μοριακό επίπεδο (Hättasch et al., 2008). Για το λόγο αυτό μελέτησαν τα γονίδια *MdCOL1*, *MdCOL2*, *MdFT*, *MdSOC1*, *MdMADS2*, *MdMADS5*, *MdTFL1-1* and *MdTFL1-2* σε βλαστικές κορυφές την άνοιξη και αρχές καλοκαιριού και η ποσοτικοποίηση έγινε με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

πραγματικού χρόνου (quantitative real-time PCR). Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι το επίπεδο μεταγραφής αυτών των γονιδίων ήταν μέγιστο προς το τέλος Απριλίου κατά τη διάρκεια της άνθησης των ήδη διαμορφωμένων, από το προηγούμενο έτος, ανθοφόρων οφθαλμών. Στη συνέχεια υπήρξε μία μεγάλη αύξηση στην έκφραση των γονιδίων *AFL2* και *MdMADS2*, που άρχισε στις 22 Μαΐου, και ακολούθησε μια αύξηση της έκφρασης *MdFT* και *AFL1* που συνέβη μια εβδομάδα αργότερα (Hättasch et al., 2008). Με βάση τα δεδομένα αυτά οι ίδιοι ερευνητές εισηγήθηκαν ότι η αυξημένη μεταγραφή (transcription) ή έκφραση των γονιδίων αυτών προς το τέλος Μαΐου σηματοδοτεί το ‘flower induction’. Τέλος, το επίπεδο μεταγραφής των γονιδίων *MdSOC1*, *MdTFL1-1* και *MdTFL1-2* αυξήθηκε προς το τέλος Ιουνίου, εύρημα που υποδεικνύει ότι τα γονίδια αυτά εμπλέκονται στο ‘flower initiation’, στάδιο το οποίο έπεται του πρώτου σταδίου (flower induction).

Τα σάκχαρα όπως και μια σειρά άλλοι μεταβολίτες έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκονται στον μετασχηματισμό των οφθαλμών σε ανθοφόρους είτε από αλληλεπιδράσεις σακχάρων/ορμονών είτε από την επίδραση στην έκφραση των γονιδίων, που σχετίζονται άμεσα με την έναρξη της ανθογένεσης και την ανάπτυξη των ανθέων ή/και των ταξιανθιών (Matsoukas, 2014). Η σακχαρόζη είναι το κύριο φωτοσυνθετικό προϊόν που εξάγεται από τα φύλλα και συμμετέχει σε αρκετές μεταβολικές διαδικασίες τροφοδοτώντας με άνθρακα, ενέργεια και δομικές μονάδες που χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση αμύλου, τριγλυκεριδίων, πολυπεπτιδίων και συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος, όπως είναι η κυτταρίνη και η καλλόζη, τα οποία είναι σημαντικά για το σχηματισμό των οργάνων των φυτών (Francis and Halford, 2006; Rounis et al., 2015). Η σακχαρόζη συντίθεται στο κυτόπλασμα από την πυροφωσφορυλάση της UDP-γλυκόζης (UGPase), τη συνθάση της φωσφοροσακχαρόζης (SPS) και τη συνθάση της σακχαρόζης (SuSy) (Dai et al., 2011; Ahmed et al., 2018). Ωστόσο, η SuSy εκτός από το τελικό στάδιο της βιοσύνθεσης σακχαρόζης καταλύει επίσης τη διάσπαση του σακχάρου, ανάλογα με τις μεταβολικές απαιτήσεις (Chen et al., 2012; Lemoine et al., 2013; Rounis et al., 2015). Υπάρχουν ισχυρά στοιχεία που υποδηλώνουν ότι τα επίπεδα της σακχαρόζης λειτουργούν ως σήμα στα φυτά ρυθμίζοντας μια σειρά μεταβολικών και φυσιολογικών διεργασιών (Heyer et al., 2004; Bernier and Périlleux, 2005; Xing et al., 2015), επιπλέον έχει τεκμηριωθεί ότι στα φυτά mRNAs και ένζυμα συντίθενται *de novo* όταν τα επίπεδα του σακχάρου αυτού υπερβαίνουν ένα συγκεκριμένο όριο (Tognetti et al., 2013). Η ανθοφορία είναι μία από τις πολλές φυσιολογικές διαδικασίες στα φυτά που επηρεάζεται από σήματα που σχετίζονται με τη συγκέντρωση της

σακχαρόζης (Francis and Halford, 2006; Rounis et al., 2015). Η χορήγηση σακχαρόζης μπορεί να διασώσει φαινοτύπους μεταλλαγμένων φυτών που ο χρόνος άνθισης έχει επιμηκυνθεί ή ακυρωθεί μέσω του ελέγχου της έκφρασης γονιδίων, όπως τα *LEAFY* και *APETALA 2*, που αποδεδειγμένα συνδέονται με την ανθική επαγωγή (Ohto et al., 2001), αλλά επίσης μπορεί να επιταχύνει την έκπτυξη των οφθαλμών ακόμη και στο σκοτάδι (Rabot et al., 2012). Συγκεκριμένα, για την ιμβερτάση και τα ισοένζυμα της που εντοπίζονται στο κυτταρικό τοίχωμα, έχουν προταθεί συγκεκριμένοι ρόλοι στην παραγωγή σημάτων που ρυθμίζουν την φυσιολογία φυτικών οργάνων αλλά και συμμετοχή στην αλληλεπίδραση ορμονών και σακχάρων που παράγονται από την δραστηριότητα του ενζύμου και σχετίζονται με την ανάπτυξη (Sherson et al., 2003; Lara et al., 2004; Ruan et al., 2010). Επιπλέον, η δραστηριότητα βασικών ενζύμων του μεταβολισμού της σακχαρόζης (συμπεριλαμβανομένων των SuSy και Inv), έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη των οφθαλμών μετά τη διαμόρφωσή τους (Ito et al., 2002). Στους ιστούς που καταναλώνουν ενέργεια που προέρχεται από προϊόντα της φωτοσύνθεσης (sink tissues), η δραστηριότητα της SPS συσχετίστηκε με τη συσσώρευση αμύλου, την αποθήκευση πρωτεϊνών και τη βιοσύνθεση της κυτταρίνης (Weber et al., 1997; Cheng and Chourey 1999; Babb and Haigler 2001; Ruan, 2014), διαδικασίες ζωτικής σημασίας για την αναπαραγωγική ανάπτυξη. Στην τομάτα, η δημιουργία διαγονιδιακών φυτών στα οποία είχε εισαχθεί επιπλέον γονίδιο της SPS, προερχόμενο από τον αραβόσιτο, οδήγησε σε σημαντικά υψηλότερο αριθμό ταξιανθιών και γρηγορότερη άνθηση (Micallef et al., 1995). Επιπλέον, η πυροφωσφορυλάση της UDP – γλυκόζης (UGPase) βρέθηκε να δρα ρυθμιστικά τόσο στις φάσεις βλαστικής ανάπτυξης όσο στις φάσεις παραγωγής και ανάπτυξης αναπαραγωγικών οργάνων του *Arabidopsis thaliana* (Park et al., 2010). Αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν σαφώς τη σημασία τόσο της SPS όσο και της UGPase για την ανάπτυξη των ανθέων. Ωστόσο, εκτός από τη σημασία της σακχαρόζης, τα δεδομένα σχετικά με τη μεταβολική σύνθεση σακχαρόζης στην ανάπτυξη βλαστοφόρων και αναπαραγωγικών μεριστωμάτων είναι ελλιπή.

1.1 Σκοποί της μελέτης

Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι τα σάκχαρα και ειδικά η σακχαρόζη παίζει σημαντικό ρόλο στην επαγωγή σχηματισμού ανθικών καταβολών σε ορισμένα φυτικά είδη. Επίσης, έχουν μελετηθεί γονίδια που είναι υπεύθυνα για την ανθική επαγωγή σε ορισμένα φυτά. Αντίθετα, δεν βρέθηκαν στοιχεία για τα πιο πάνω σημαντικά θέματα στη ροδιά, ενώ παραμένουν άγνωστοι οι χρόνοι που συμβαίνει αρχικά το ‘flower induction’ (ανθική επαγωγή)

και ακολούθως τα ‘flower initiation’ (έναρξη ανθογένεσης) και ‘flower differentiation’ (διαφοροποίηση ανθοφόρων οφθαλμών).

Σκοποί επομένως της εργασίας αυτής ήταν η μελέτη: α) της ενζυμικής δραστηριότητας των ενζύμων SPS και UGPase και της συγκέντρωσης των κυριότερων σακχάρων στις βλαστοφόρες (VA) και αναπαραγωγικές (RA) βλαστικές κορυφές, στις ωοθήκες (OV) αγονιμοποίητων-κλειστών ανθέων καθώς και σε ληθαργούντες οφθαλμούς της ροδιάς, και β) της έκφρασης μεταγραφικών γονιδίων, και ειδικά του γονιδίου *APETALA2*, που έχουν βρεθεί ότι είναι υπεύθυνα για την ανθική επαγωγή σε ορισμένα είδη φυτών, στα πιο πάνω αναφερόμενα όργανα της ροδιάς, προκειμένου να ληφθούν πληροφορίες σχετικά με την ανθική επαγωγή και τη διαφοροποίηση οφθαλμών στη ροδιά.

2. Υλικά και μέθοδοι

Πείραμα 3

2.1 Φυτικό υλικό και συνθήκες καλλιέργειας

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε δέντρα ροδιάς τεσσάρων ετών του γονότυπου "*Περσεφόνη*" που βρίσκονται σε πειραματικό οπωρώνα του δενδροκομείου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η "*Περσεφόνη*" είναι μια επιλογή κλώνου της ποικιλίας "*Ερμιόνη*" με πολύ καλά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Οι μέσες θερμοκρασίες στην περιοχή του δενδροκομείου για το 2014 ήταν 13,7 °C το Νοέμβριο και 11,3 °C για το Δεκέμβριο, το 2015 ήταν 8,5 °C τον Ιανουάριο, 8,4 °C τον Φεβρουάριο, 10,7 °C το Μάρτιο, 14,7 °C τον Απρίλιο και 20,8 °C τον Μάιο. Σε όλα τα πειραματικά δένδρα εφαρμόστηκαν οι ίδιες καλλιεργητικές φροντίδες (κλάδεμα, λίπανση, πότισμα και έλεγχος των ζιζανίων).

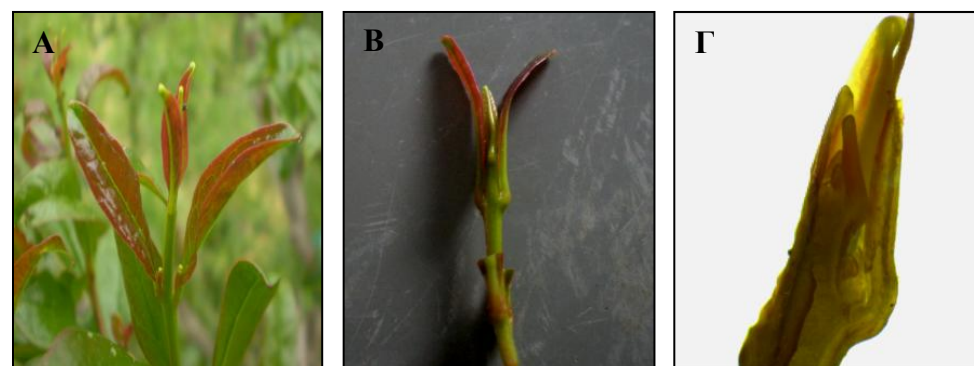
2.2 Δειγματοληψία φυτικών ιστών

Οι οφθαλμοί σε λήθαργο συλλέχθηκαν το Φεβρουάριο (20/2/2015) από τη βάση της ετήσιας βλάστησης (Εικόνα 53). Μετά την έξοδο από το λήθαργο των οφθαλμών, τα δένδρα παρατηρούνταν τουλάχιστον δύο φορές την εβδομάδα για τον προσδιορισμό του χρόνου δειγματοληψίας. Οι αναπαραγωγικές κορυφές λήφθηκαν από την τρέχουσα βλάστηση, τερματικών ή πλευρικών βλαστών (Εικόνα 54), οι βλαστοφόρες κορυφές λήφθηκαν από τα πλάγια βλαστών 1 έτους και από λογχοειδή βλάστηση (Εικόνα 55). Οι ωοθήκες λήφθηκαν από

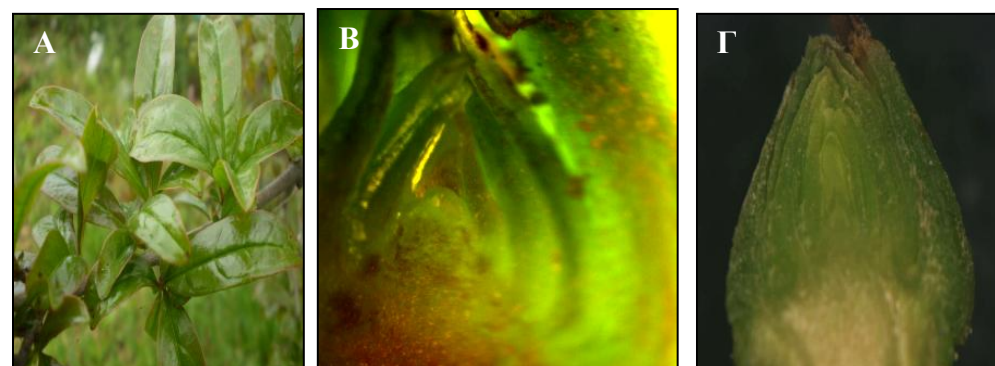
αγονιμοποίητα κλειστά άνθη και συλλέχθηκαν ταυτόχρονα με τις κορυφές τον Απρίλιο (15/4/2015). Αμέσως μετά τη συλλογή των αναπαραγωγικών και των βλαστοφόρων κορυφών, τα αναπτυσσόμενα φύλλα αφαιρέθηκαν προσεκτικά. Η συλλογή δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στις 10:00 π.μ. περίπου. Η ανατομία των VA, RA και κλειστών ανθέων εξετάστηκε με στερεοσκόπιο Olympus SZX12 και φωτογραφήθηκε με σύστημα ψηφιακής κάμερας Olympus DP71. Όλα τα δείγματα διατηρήθηκαν στους -80 °C μέχρι την περαιτέρω ανάλυση, όπως περιγράφεται παρακάτω.



Εικόνα 53. Οφθαλμός σε λήθαργο στις 20/2/2015 (Α: σε ετήσιο βλαστό, Β: ολόκληρος και Γ: σε τομή).



Εικόνα 54. Αναπαραγωγική κορυφή στις 15/4/2015 (Α: στην κορυφή τρέχουσας βλάστησης Β: ολόκληρη μετά την αφαίρεση φύλλων και Γ: σε τομή).



Εικόνα 55. Βλαστοφόρα κορυφή στις 15/4/2015 (Α: από πλάγια τρέχουσα βλάστηση, Β: σε τομή και Γ: σε τομή).

Χρησιμοποιήθηκαν 200 mg φυτικού ιστού από όλα τα παραπάνω όργανα, λειοτριβήθηκαν με υγρό άζωτο και ακολούθησαν οι παρακάτω διαδικασίες:

2.3 Απομόνωση και καθαρισμός ολικού RNA από τους φυτικούς ιστούς

Κατά την απομόνωση του ολικού RNA από τους φυτικούς ιστούς της ροδιάς ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο που προτείνεται από την εταιρία Qiagen για την απομόνωση φυτικού RNA (RNeasy Plant Mini Kit) (Qiagen, Hilden Germany) και για την παρασκευή του αντιδραστηρίου.

2.4 Έλεγχος της ποιότητας του παραλαμβανόμενου RNA

Μετά την παραλαβή του RNA ελέγχθηκε η ποιότητά του μέσω ηλεκτροφόρησης TAE (Tris Acetic Acid EDTA) σε πηκτή αγαρόζης 1,5% με φορμαμίδιο (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). Για την προετοιμασία 30ml πηκτής χρησιμοποιήθηκαν 30ml 1X Tank ρυθμιστικού διαλύματος στο οποίο προστέθηκαν 300mg αγαρόζης και τοποθετήθηκαν σε φούρνο μικροκυμάτων για 1min. Ακολούθησε προσθήκη 0,75 μl βρωμιούχου αιθιδίου και η πηκτή αφέθηκε να κρυώσει πριν τοποθετηθεί στη συσκευή ηλεκτροφόρησης. Το μίγμα της ηλεκτροφόρησης συνίστατο από 5μl δείγματος RNA και 15μl διαλύματος αποδιάταξης RNA, το οποίο θερμάνθηκε στους 65 °C για 5 λεπτά και ψύχθηκε σε πάγο για άλλα 5 λεπτά, πριν φορτωθεί στην πηκτή. Η τάση που εφαρμόστηκε ήταν 70V για 20min.

Διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν

50X Tank ρυθμιστικό διάλυμα

Για την παρασκευή του χρησιμοποιήθηκαν 2M Tris HCl, 50mM EDTA (Sigma – Aldrich, St. Louis USA) και έγινε ρύθμιση του pH στο 7,0.

10X Ρυθμιστικό διάλυμα φόρτωσης του δείγματος

Για την παρασκευή του χρησιμοποιήθηκαν 50 mM Tris-HCl και ρύθμιση του pH στο 7,6, 60% Γλυκερόλη (MP biochemicals, Ohio USA), 0,25% κυανού της βρωμοφαινόλης και 1μl χρωστική SYBR safe DNA gel stain (Invitrogen, Eugene USA).

Διάλυμα αποδιάταξης RNA

Σε αποστειρωμένο erppendorf τοποθετούνται: 600μl φορμαμίδιο, 2400μl απεσταγμένου H₂O και 100μl 10X Ρυθμιστικό Διάλυμα φόρτωσης του δείγματος.

2.5 Υδρόλυση DNA των δειγμάτων

Κατά την απομόνωση του RNA με το RNeasy Plant Mini Kit, παρατηρήθηκε μετά την ηλεκτροφόρηση TAE του μετουσιωμένου δείγματος, ύπαρξη γενωματικού DNA. Για το λόγο αυτό ακολούθησε μια επιπλέον μέθοδος υδρόλυσης του DNA, και χρησιμοποιήθηκαν τα αντιδραστήρια DNάσης (Takara, Otsu Shiga Japan) παρουσία του παρεμποδιστή RNase (Qiagen, Hilden Germany) για προστασία του δείγματος. Ακολουθήθηκαν οι οδηγίες του παρασκευαστή.

Ακολούθησε καθαρισμός του RNA με χρήση φαινόλης (Sigma – Aldrich, St. Louis, USA) και χλωροφορμίου (Serva, Haidelberg Germany).

Το καθαρισμένο RNA κατακάθισε ως ίζημα με χρήση (CH₃COONa 3M pH=5,2) (Sigma – Aldrich, St. Louis USA).

Μετά την αντίδραση PCR και την ηλεκτροφόρηση TAE, η παρουσία μόνο των εκκινητών της τουμπουλίνης (Tub) δείχνει εάν έχει υδρολυθεί πλήρως το DNA. Η ποιότητα του RNA που έχει παραληφθεί μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο Nanodrop (Thermo, Wilmington USA) όπου μετρήθηκε η απορρόφηση στα 260 nm και ο λόγος απορροφήσεων στα 260/280 nm.

Διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν

10X Ρυθμιστικό διάλυμα DNάσης

Παρασκευάστηκε με 400mM Tris-HCl και ρύθμιση pH στο 8,0), 100mM MgSO₄ και 10mM CaCl₂.

2.6 Παρασκευή cDNA

Μετά τον έλεγχο της ποιότητας του RNA, ακολούθησε η παρασκευή cDNA. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν τα διαλύματα σύνθεσης cDNA (AffinityScript Multi Temperature cDNA Synthesis Kit) (Stratagene, Santa Clara USA). Κατά τη διαδικασία αυτή,

γίνεται σύνθεση cDNA από τα τμήματα του RNA που περιέχουν αλληλουχία πολυ-A (mRNA). Χρησιμοποιήθηκαν 2 μl καθαρισμένου RNA με τη χρήση αντίστροφης μεταγραφάσης στους 42 °C για 5 min και στους 55 °C για 60 λεπτά χρησιμοποιώντας ολιγονουκλεοτίδια – εκκινητές που αποτελούνται αποκλειστικά από δεοξυθυμιδίνη (oligo(dT)).

Το cDNA φυλάσσεται στους -20 °C. Η ποσοτικοποίηση έγινε με αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου χρησιμοποιώντας εκκινητές συμβικουιτίνης (qPCR).

2.7 Ημιποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)

Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) αποτελεί την πλέον εξειδικευμένη και ευαίσθητη μέθοδο ενισχύσεως ακολουθιών DNA και RNA, *in vitro* ή και *in situ*. Η αντίδραση προϋποθέτει την ύπαρξη δύο ολιγονουκλεοτιδίων, που έχουν την ικανότητα να υβριδίζουν στις συμπληρωματικές αλυσίδες DNA ή cDNA, τα οποία δρουν ως εκκινητές της σύνθεσης της αλυσίδας του DNA. Η σχεδίαση των εκκινητών είναι τέτοια, ώστε η σύνθεση της αλυσίδας του DNA να γίνεται προς την κατεύθυνση του άλλου. Η σύνθεση γίνεται με τη δράση μιας θερμοανθεκτικής DNA πολυμεράσης, παρουσία των απαραίτητων νουκλεοτιδίων καθώς και ιόντων Mg^{+2} .

Οι ακριβείς συνθήκες πραγματοποίησης μιας τυπικής αντίδρασης PCR προσαρμόστηκαν στις απαιτήσεις του συγκεκριμένου πειράματος. Η θερμοκρασία υβριδισμού των εκκινητών εξαρτάται από τη θερμοκρασία τήξεως των εκκινητών (T_m). Σε ειδικό σωλήνα eppendorf (500 ή 100 μl) προστέθηκαν τα παρακάτω:

Αντιδραστήρια για PCR

Χρησιμοποιήθηκαν μήτρα cDNA 1μl, εμπρόσθιος εκκινητής 1,6μl (0,016nmole), ανάστροφος εκκινητής 1,6μl (0,016nmole), μίγμα dNTPs (10mM το καθένα) (HT Biotechnology) 1μl, 10X ρυθμιστικό διάλυμα PCR (Kapa) 5μl, KapaTaq DNA πολυμεράση (5u/μl) 1μl και απεσταγμένο H_2O 40μl.

Συνθήκες αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης

1. Αρχική αποδιάταξη 96 °C για 2'
2. Αποδιάταξη: 95 °C για 30''

3. Υβριδισμός εκκινητών: 58 °C για 30’’

4. Επιμήκυνση: 72 °C για 30’’

Τα στάδια 2-4 επαναλαμβάνονται για 25-35 κύκλους.

5. Τελική επέκταση 72 °C για 2’

Η συσκευή PCR (θερμοκυκλοποιητής) που χρησιμοποιήθηκε ήταν Crea Con T-cy.

2.8 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (qPCR)

Οι αντιδράσεις qPCR, πραγματοποιήθηκαν στη Stratagene MX 3005P (Stratagene, Santa Clara USA), χρησιμοποιώντας αντιδραστήρια της Kapa Biosystems. Κάθε σωλήνας περιείχε 2 µl cDNA, ποσοτικοποιημένο και αραιωμένο (περίπου 100 ng), ενώ προστίθενται και τα αντιδραστήρια με τις αναλογίες που προτείνονται από την εταιρία Kapa Biosystems (Kapa, Woburn USA).

Κάθε σωλήνας περιείχε:

Αντιδραστήριο	Όγκος σε µl	Συγκέντρωση μητρικού δ/τος (stock solution)
H ₂ O ελεύθερο RNάσης	6,1	
Εμπρόσθιος εκκινητής (Forward primer)	1	10 µM
Ανάστροφος εκκινητής (Reverse primer)	1	10 µM
Kapa RYBR Fast qPCR Master mix (2X) (μίγμα αντιδραστηρίων εταιρίας Kapa)	10	
KSF Rox Low (χρωστική)	0,4	
cDNA (δείγμα)	1,5	100 ng/µl
Τελικός όγκος αντίδρασης	20	

Τα βήματα της αντίδρασης ήταν:

1. Αρχικό βήμα ενεργοποίησης 3 λεπτά στους 95 °C

2. Αποδιάταξη DNA στους 95 °C 3’’

3. Υβριδισμός 30'' στους 60 °C
4. Επέκταση 11'' στους 72 °C

Τα βήματα 2 και 4 επαναλαμβάνονται 45 φορές.

5. 1 λεπτό στους 95 °C. Το στάδιο αυτό και τα επόμενα πραγματοποιούνται για την απομάκρυνση των μη εξειδικευμένων διμερών που σχηματίζουν οι εκκινητές.

Τερματισμός αντίδρασης

6. 30'' στους 55 °C
7. 30'' στους 95 °C
8. Τελική φάση αντίδρασης 3' στους 25 °C

Ως ένζυμο αναφοράς τόσο για την ημιποσοτική όσο και για την πραγματικού χρόνου αντίδραση πολυμεράσης ήταν η Τουμπουλίνη (Tub).

Εξειδικευμένοι εκκινητές για κάθε γονίδιο σχεδιάστηκαν για τα γονίδια *APETALA 2*, *UGPase*, *Tubuline*, *SPS1* και *SPS2* (Πίνακας 7) χρησιμοποιώντας το λογισμικό *Beacon Designer v 7.01* (Premier biosoft, Palo Alto USA) από συντηρημένες περιοχές των γονιδίων μελετώντας κατατεθειμένες ακολουθίες από τον *Eucalyptus grandis* και *Vitis vinifera* που εντοπίστηκαν μετά από έρευνα και έλεγχο στις βάσεις δεδομένων του NCBI (National Center for Biotechnology Information).

Πίνακας 7. Αλληλουχίες εκκινητών (primers) για πειράματα της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (qPCR).

Nucleotide sequence	Primer code	Όνομα γονιδίου
GAAGTGGGAAGATGGGAGTC	APETALA 2 Forward	APETALA2
TGCACGAATTCTTCCTTGGT	APETALA 2 Reverse	
ATGGATTGACATTTCTTGAC	UGPase Forward	UDP-glucose pyrophosphorylase
TACTGGCTCTGATTAAAAGT	UGPase Reverse	
TCTTCAGGCCCGACAACCTTC	TUBULINE Forward	TUBULINE
GTATCGGACACCTTGGG	TUBULINE Reverse	
AAGATGGTGATATGGATGG	SPS1 Forward	Sucrose Phosphate Synthase ισοένζυμο 1
ACTTGTGCTTGACATTTTCAT	SPS1 Reverse	
GACTACCGTTGGGGTTG	SPS2 Forward	Sucrose Phosphate Synthase ισοένζυμο 2
AAGTATGAGATGCAATG	SPS2 Reverse	

Η σχετική έκφραση του γονιδίου υπολογίστηκε με τον τύπο

$$\frac{Εκφρ.ΓονιδίουX}{Εκφρ.Tub} = \frac{eff_{Tub}^{Ct.Tub}}{eff_{ΓονιδίουX}^{Ct.ΓονιδίουX}}$$

όπου eff = αποτελεσματικότητα της αντίδρασης, που υπολογίζεται από τα αποτελέσματα της αντίδρασης και μέσω του προγράμματος LinRegPCR (Ramakers et al., 2003). Τα δεδομένα αναλύθηκαν βάσει της μεθόδου του Pfaffi (2001).

Για κάθε ζεύγος εκκινητών παράχθηκε μόνο ένα προϊόν ενίσχυσης. Ο έλεγχος για το παραπάνω έγινε ελέγχοντας τις αναφορές που προκύπτουν κατά την διάρκεια της αντίδρασης και καταγράφονται από το λογισμικό MXPro της εταιρίας Stratagen.

2.9 Προσδιορισμός της δραστηριότητας της UGPάσης

Για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της UGPάσης έγιναν ελάχιστες τροποποιήσεις της μεθόδου των Sergeeva and Vreugdenhil (2002). Χρησιμοποιήθηκε 1 g φυτικού ιστού, το οποίο ψύχθηκε και λειοτριβήθηκε με υγρό άζωτο και αναμείχθηκε με 1 mL με ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης που περιείχε 150 mM Tris – HCl και έγινε ρύθμιση του pH στο 7,5, 0,04% BSA, 4mM γλουταθειόνη, 8% PVP (MP Biochemicals, Eschwege Germany), 30 % (w/v) γλυκερόλη (Sigma – Aldrich, St. Louis, USA), 0,2 % Triton X και 40 mM DTT (Sigma – Aldrich, St. Louis, USA). Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 13,000 g για 15 λεπτά στους 2 °C. Το υπερκείμενο συλλέχθηκε και φιλτραρίστηκε. Στη συνέχεια, λήφθηκαν 700 μ L ρυθμιστικού διαλύματος αντίδρασης που περιείχε 100 mM Tris – HCl με ρύθμιση του pH στο 7,5, 1 mM EDTA DTT (Sigma – Aldrich, St. Louis, USA), 5 mM $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1% BSA 20 μ L διφωσφόγλυκόζη, 0,9 mM PPi και 5 mM UDP – γλυκόζη και προστέθηκαν σε 300 μ L υπερκείμενου. Το διάλυμα χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της δραστηριότητας της UGPάσης. Το διάλυμα παρέμεινε σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 60 °C για 10 λεπτά και προστέθηκε δεύτερο διάλυμα αντίδρασης (1mM NAD, 1 u/mL φωσφογλυκομουτάση (PGM) και 1 u/mL 6 αφυδρογονάση της φωσφογλυκόζης G6PDH). Στη συνέχεια, τα δείγματα διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 340 nm σε φασματοφωτόμετρο (Shimadzu, UV 160 A spectrophotometer, Tokyo, Japan), σε UV – κυβέττες (Ratiolab, Dreich Germany). Ο μάρτυρας που χρησιμοποιήθηκε δεν περιείχε UDP – γλυκόζη στο πρώτο διάλυμα αντίδρασης.

2.10 Προσδιορισμός της δραστηριότητας SPS

Για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας SPS έγιναν ελάχιστες τροποποιήσεις της μεθόδου των Babb and Haigler (2001). Χρησιμοποιήθηκε 1 g φυτικού ιστού, το οποίο ψύχθηκε και λειοτριβήθηκε με υγρό άζωτο και αναμείχθηκε με 1 mL ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης που περιείχε 50 mM Tris – HCl και ρύθμιση του pH στο 7,5, 0,02% BSA, 2 mM γλουταθειόνη, 4 % PVP (MP Biochemicals, Eschwege Germany), 15 % (w/v) γλυκερόλη (Sigma – Aldrich, St. Louis, USA), 0,1 % Triton X και 20 μ M Na_2SO_3 και ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 13,000 g για 15 λεπτά στους 2 °C. Το υπερκείμενο συλλέχθηκε και φιλτραρίστηκε. Από αυτό, χρησιμοποιήθηκαν 200 μ L για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας SPS και αναμείχθηκαν με

400 μL απεσταγμένο H_2O και 400 μL του διαλύματος αντίδρασης που περιείχε 50 mM Hepes–NaOH ρυθμίστηκε το pH στο 7,5 (Sigma-Aldrich, St. Louis USA), 8 mM UDP-γλυκόζη (Sigma-Aldrich, St. Louis USA), 4 mM 6-P-φρουκτόζη (Sigma-Aldrich, St. Louis USA), 20 mM γλυκόζη-6-P (Sigma-Aldrich, St. Louis USA), 10 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, St. Louis USA), 1 mM EDTA, 0,4 mM EGTA (Sigma-Aldrich, St. Louis USA) και 0,04 % Triton-X. Τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 40 °C για 1 ώρα και προστέθηκαν 200 μL KOH 1M. Έπειτα, θερμάνθηκαν για 10 λεπτά στους 100 °C και προστέθηκαν 800 μL HCl 1M. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση στις 13,000 g για 15 λεπτά στους 2 °C. Μετά την προσθήκη 40 μL 1% ρεσορκινόλη σε 30 % HCl, τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 80 °C για 10 λεπτά και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 520 nm με φασματοφωτόμετρο (Shimadzu, UV 160 A spectrophotometer, Tokyo, Japan), σε UV – κυβέττες (Ratiolab, Dreich Germany). Ο μάρτυρας που χρησιμοποιήθηκε δεν περιείχε UDP – γλυκόζη και 6-P-φρουκτόζη στο διάλυμα αντίδρασης.

2.11 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με το Statgraphics Centurion (Statpoint Technologies, Warrenton, USA). Σημαντικές διαφορές προσδιορίστηκαν με one-way ANOVA (μεταξύ των διαφόρων σταδίων VA, RA, OV) και post hoc συγκρίσεις με ελάχιστο ποσοστό σημαντικότητας ($p \leq 0.05$).

2.12 Προσδιορισμός διαλυτών σακχάρων με τη μέθοδο υγρής χρωματογραφίας

Ο προσδιορισμός των διαλυτών σακχάρων έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο των Vemmos (1999) και Roussos et al. (2010). Ζυγίστηκαν 30 mg λυοφυλιωμένου φυτικού ιστού και προστέθηκαν 1,5 mL νερού HPLC (Merck – Darmstadt, Germany). Ακολούθησε ανακίνηση στη συσκευή vortex. Το εκχύλισμα τοποθετήθηκε για 90 δευτερόλεπτα στα 400 watt σε φούρνο μικροκυμάτων και ακολούθησε φυγοκέντρωση στα 4400 g για 5 λεπτά. Στη συνέχεια συλλέχτηκε το υπερκείμενο και η διαδικασία επαναλήφθηκε για μία ακόμη φορά. Έπειτα, τα δύο υπερκείμενα ενώθηκαν. Ακολούθως, προστέθηκαν 10 mg ενεργού άνθρακα για την απομάκρυνση χρωστικών στο διάλυμα. Στη συνέχεια το διάλυμα ανακινήθηκε στη συσκευή vortex και φυγοκεντρήθηκε στα 4400 g για 5 λεπτά. Τα υπερκείμενα διαλύματα των δειγμάτων φιλτραρίστηκαν με φίλτρο σύριγγας 0,22 μm διαμέτρου πόρων.

Τέλος, έγινε η ανάλυση των σακχάρων με τη μέθοδο υγρής χρωματογραφίας. Για την ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε αντλία HPLC (Waters 510) σε στήλη Agilent Ca²⁺, με κινητή φάση νερό HPLC στους 80 °C και ροή 0,6ml/min. Η ανίχνευση των σακχάρων έγινε με ανιχνευτή δείκτη διάθλασης RI (HP 1047A). Η επεξεργασία των χρωματογραφημάτων έγινε με το πρόγραμμα PeakSimple Chromatography Data System, SRI model 302. Για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των σακχάρων έγιναν καμπύλες αναφοράς με πρότυπες ουσίες σακχαρόζης, γλυκόζης, φρουκτόζης και μαννιτόλης σε συγκεντρώσεις από 31,25, 62,5, 125, 250, 500 και 1000 mg/L.

3. Αποτελέσματα

3.1 Συσσώρευση κύριων σακχάρων σε οφθαλμούς και ωοθήκες των ανθέων

Τα αποτελέσματα των σακχάρων δείχνουν ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων οργάνων ως προς τις συγκεντρώσεις των μεμονωμένων αλλά και των ολικών σακχάρων που βρέθηκαν στους διάφορους ιστούς (Πίνακας 8). Στις ωοθήκες η συνολική συσσώρευση σακχάρων (συγκέντρωση ολικών σακχάρων) ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με αυτή των βλαστοφόρων κορυφών και με αυτή των αναπαραγωγικών κορυφών. Επίσης, οι ωοθήκες εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερη συγκέντρωση τόσο γλυκόζης όσο και φρουκτόζης (μη μετακινούμενα σάκχαρα) από τους δύο τύπους βλαστικών κορυφών. Ωστόσο η συγκέντρωση της φρουκτόζης ήταν σημαντικά υψηλότερη στις αναπαραγωγικές από αυτή των βλαστοφόρων κορυφών. Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις της σακχαρόζης και της μαννιτόλης (μετακινούμενα σάκχαρα) ήταν σημαντικά χαμηλότερες στις ωοθήκες από αυτές στις βλαστοφόρες και αναπαραγωγικές κορυφές οι οποίες είχαν παρόμοιες μεταξύ τους συγκεντρώσεις (Πίνακας 8).

Πίνακας 8. Συγκεντρώσεις σακχάρων στους φυτικούς ιστούς. Βλαστοφόρες κορυφές (VA), αναπαραγωγικές κορυφές (RA) και αγονιμοποίητες ωοθήκες ανθέων (OV) ροδιάς.

Είδος σακχάρου (% ξ.β.)	VA	RA	OV
Σακχαρόζη	1,32±0,17 a	1,28±0,17 a	0,85±0,11 b
Γλυκόζη	2,46±0,11 b	2,57±0,25 b	3,78±0,45 a
Φρουκτόζη	0,62±0,01 c	3,06±0,21 b	5,77±0,08 a
Μαννιτόλη	2,35±0,05 a	2,42±0,30 a	1,46±0,01 b
Ολικά σάκχαρα	6,75±0,21 c	9,33±0,47 b	11,86±0,47 a
Μετακινούμενα σάκχαρα	3,67±0,18 a	3,70±0,34 a	2,31±0,11 b
Μη μετακινούμενα σάκχαρα	3,08±0,11 c	5,63±0,33 b	9,55±0,45 a

Σημείωση: Σε κάθε γραμμή, οι μέσοι όροι ($\pm$ SE) που σημειώνονται με το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους με $p \leq 0.05$ (Duncan's multiple range test, $n=4$).

Οι μετρήσεις των σακχάρων στους ληθαργούντες οφθαλμούς έδειξαν ότι περιέχουν τα ίδια είδη σακχάρων με όλους τους υπόλοιπους ιστούς αλλά με διαφορετικές γενικά συγκεντρώσεις (Πίνακας 9). Ειδικότερα οι οφθαλμοί είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις μη μετακινούμενων σακχάρων (φρουκτόζης και γλυκόζης) και ελαφρώς χαμηλότερες συγκεντρώσεις σακχαρόζης από όλους τους άλλους ιστούς (βλαστοφόρες κορυφές, αναπαραγωγικές κορυφές και ωοθήκες).

Αντίθετα, είχαν πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις μαννιτόλης και μετακινούμενων σακχάρων από τους άλλους ιστούς.

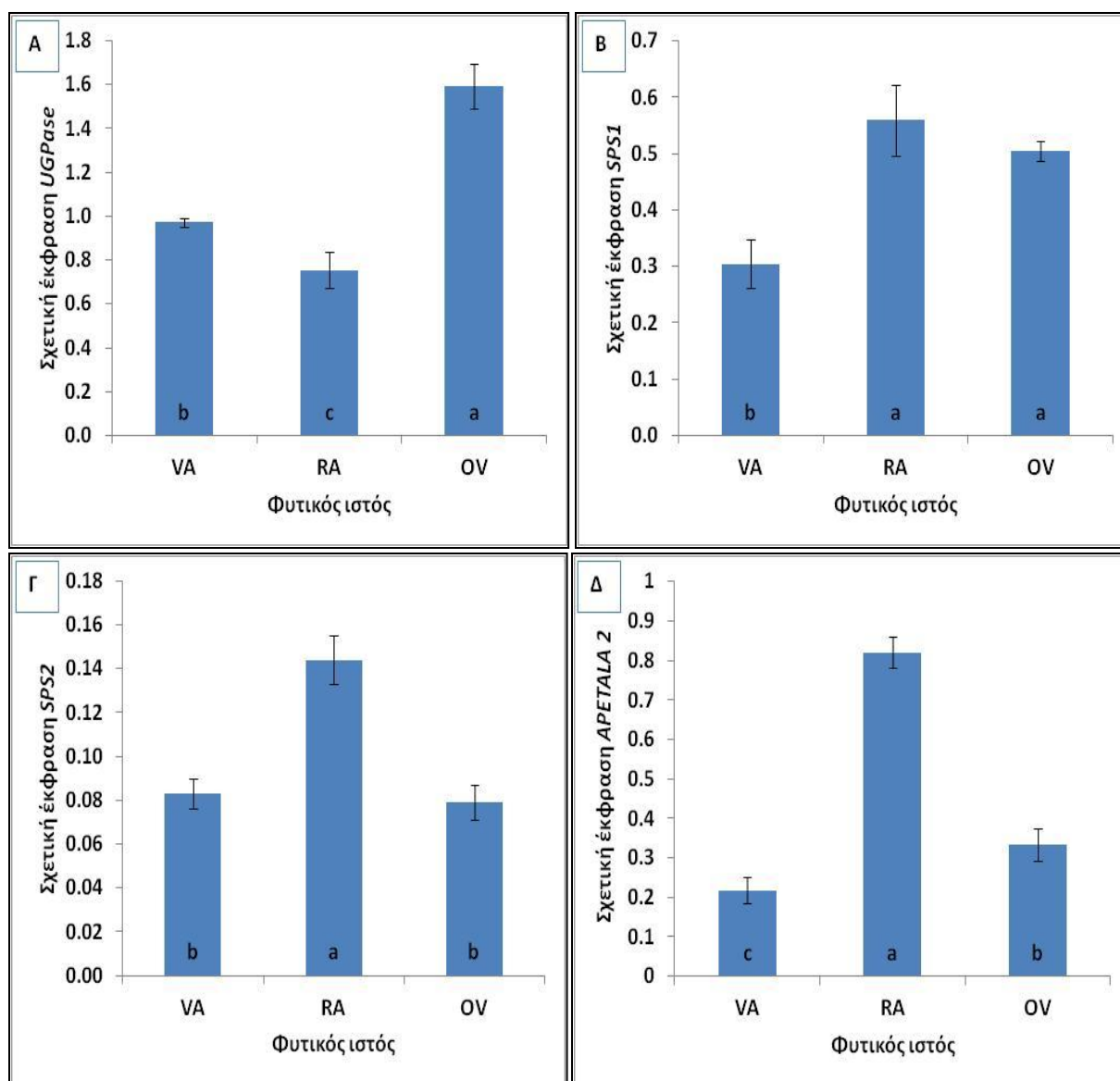
Πίνακας 9. Συγκεντρώσεις σακχάρων σε ληθαργούντες οφθαλμούς ροδιάς (n=4).

Είδος σακχάρου	Συγκέντρωση(% ξ.β.)
Σακχαρόζη	0,77±0,16
Γλυκόζη	1,17± 0,11
Φρουκτόζη	0,61±0,12
Μαννιτόλη	4,41±0,67
Ολικά σάκχαρα	6,96±0,71
Μετακινούμενα σάκχαρα	5,18±0,68
Μη μετακινούμενα σάκχαρα	1,78±0,16

3.2 Συσσώρευση μεταγραφημάτων *SPS*, *UGPase* και *APETALA 2*

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η *UGPase* παρουσίασε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα συσσώρευσης μεταγραφημάτων στις OV, ενώ η έκφραση του γονιδίου ήταν σημαντικά υψηλότερη στις VA από ότι στις RA (Διάγραμμα 5Α). Από τα δύο γονίδια που κωδικοποιούν ισοένζυμα της *SPS* που μελετήθηκαν σε όλους τους φυτικούς ιστούς βρέθηκαν τα εξής αποτελέσματα. Η έκφραση του *SPS1* έφτασε στο ανώτατο όριο στις ωοθήκες και

παρατηρήθηκαν συγκρίσιμα επίπεδα μεταγραφημάτων στις αναπαραγωγικές κορυφές, ενώ στις βλαστοφόρες κορυφές ήταν σημαντικά χαμηλότερα τα επίπεδα γονιδιακής έκφρασης σε σχέση με την ωοθήκη και τις αναπαραγωγικές κορυφές (Διάγραμμα 5B). Για το γονίδιο που κωδικοποιεί το ισοένζυμο SPS2, η έκφραση κορυφώθηκε στις αναπαραγωγικές κορυφές που ήταν σημαντικά υψηλότερη από τους δύο άλλους ιστούς (VA και OV) στους οποίους η έκφραση για το SPS2 δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ τους (Διάγραμμα 5Γ). Τέλος, η έκφραση του γονιδίου *APETALA 2* κορυφώθηκε στις αναπαραγωγικές κορυφές που ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με τους ιστούς VA και OV ενώ οι ωοθήκες παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη έκφραση από τις βλαστοφόρες κορυφές (Διάγραμμα 5Δ).

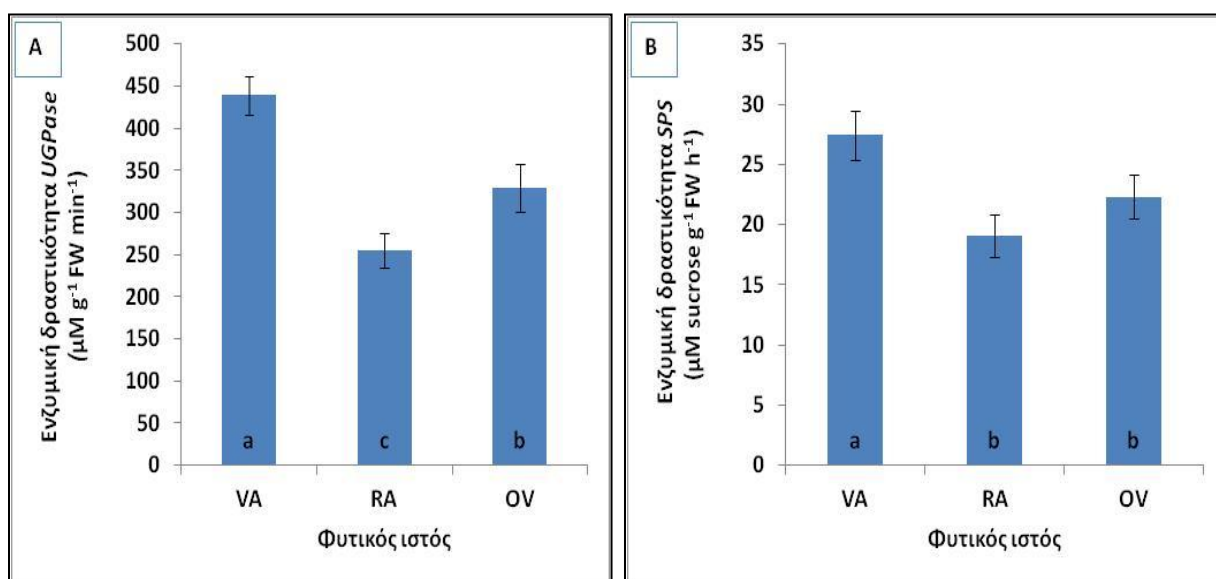


Διάγραμμα 5. Σχετική έκφραση (A) *UGPase*, (B) *SPS 1*, (Γ) *SPS 2*, (Δ) *APETALA 2* σε βλαστοφόρες κορυφές (VA), αναπαραγωγικές κορυφές (RA) και ωοθήκες (OV) ροδιάς. Οι μέσοι όροι ($\pm$ SE) που σημειώνονται με το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους με $p \leq 0,05$ (Duncan's multiple range test, $n=3$).

Οι αντίστοιχες μετρήσεις στους ληθαργούντες οφθαλμούς έδειξαν ότι η σχετική έκφραση της *UGPase*, με τιμή 0,018, ήταν πολύ μικρότερη σε σχέση με όλους τους άλλους ιστούς, με τιμές 0,7-1,7 περίπου (Πίνακας 10, Διάγραμμα 5A). Αντίθετα, η έκφραση του *SPS1* ήταν παρόμοια με αυτή των RA και OV και μεγαλύτερη από αυτή των VA (Πίνακας 10, Διάγραμμα 5B). Η έκφραση του *SPS2* με τιμή 0,024, ήταν πολύ μικρότερη από αυτή των άλλων ιστών με τιμές από 0,08-0,15, ενώ δεν εκφράστηκε καθόλου το γονίδιο *APETALA 2* (Πίνακας 10, Διαγράμματα 5Γ και 5Δ).

3.3 Ενζυμική δραστηριότητα της SPS και της UGPase σε αναπαραγωγικές και βλαστοφόρες κορυφές, ωοθήκες και ληθαργούντες οφθαλμούς ροδιάς

Οι δραστηριότητες τόσο της SPS όσο και της UGPase ακολούθησαν συγκρίσιμα μοτίβα στα μελετούμενα όργανα. Η δραστηριότητα των SPS και UGPase κορυφώθηκε στις βλαστικές κορυφές, ακολούθησε αυτή της ωοθήκης που είχε υψηλότερη δραστηριότητα απ' ότι οι αναπαραγωγικές κορυφές, ωστόσο, για τη δραστηριότητα της SPS δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ RA και OV (Διαγράμματα 6A και 6B). Οι αντίστοιχες τιμές δραστηριότητας της UGPase στους ληθαργούντες οφθαλμούς ήταν πολύ μικρότερες σε σχέση με τους υπόλοιπους ιστούς που μελετήθηκαν ενώ οι τιμές της SPS ελαφρώς μικρότερες (Πίνακας 10, Διαγράμματα 6A και 6B).



Διάγραμμα 6. Ενζυμική δραστηριότητα (A) UGPase και (B) SPS σε βλαστοφόρες κορυφές (VA), αναπαραγωγικές κορυφές (RA) και ωοθήκες (OV) ροδιάς. Οι μέσοι όροι ($\pm$ SE) που σημειώνονται με το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους με $p \leq 0.05$ (Duncan's multiple range test, $n=3$).

Πίνακας 10. Σχετική έκφραση *UGPase*, *SPS 1*, *SPS 2*, *APETALA 2* καθώς και η ενζυμική δραστηριότητα *SPS* και *UGPase* σε ληθαργούντες οφθαλμούς (n=3).

Παράμετρος	Ληθαργούντες οφθαλμοί
Σχετική έκφραση <i>UGPase</i>	0,018±0,001
Σχετική έκφραση <i>SPS 1</i>	0,505±0,075
Σχετική έκφραση <i>SPS 2</i>	0,024±0,005
Σχετική έκφραση <i>APETALA 2</i>	0,000±0,000
Ενζυμική δραστηριότητα <i>SPS</i> (μM sucrose/gNB*1hr)	14,8±1,11
Ενζυμική δραστηριότητα <i>UGPase</i> (μM/min*g NB)	140,0±11,00

4. Συζήτηση

Τα διαλυτά σάκχαρα που βρέθηκαν στους διάφορους ιστούς της ροδιάς στη μελέτη αυτή (σακχαρόζη, μαννιτόλη, γλυκόζη και φρουκτόζη), ποιοτικά ήταν ίδια με αυτά που βρέθηκαν σε βλαστούς ροδιάς στην περίοδο ληθάργου σε πέντε ποικιλίες ροδιάς (Δρογούδη κ.ά, 2016) καθώς και στο χυμό των ροδιών που βρέθηκαν στην εργασία αυτή αλλά και σε πολλές άλλες εργασίες (Cui et al., 2004; Dafny – Yalin et al., 2010; Carbonell – Barrachina et al., 2012; Fawole and Opara 2013; Mphahlele et al. 2016). Στους ληθαργούντες οφθαλμούς το κυρίαρχο σάκχαρο ήταν το αλκοολο – σάκχαρο μαννιτόλη και κατά δεύτερο λόγο η γλυκόζη, ενώ η σακχαρόζη ήταν σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις από αυτές της μαννιτόλης (Πίνακας 9). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι από τα μετακινούμενα αλλά και αποταμιευόμενα στους ιστούς της ροδιάς σάκχαρα κατά τη διάρκεια του ληθάργου, η μαννιτόλη ήταν το κυρίαρχο σάκχαρο. Αντίθετα στις αναπτυσσόμενες κορυφές και την ωοθήκη υπερτερούν γενικά τα μη μετακινούμενα σάκχαρα (Πίνακας 8).

Οι συγκεντρώσεις όμως των σακχάρων εμφάνισαν σημαντικές διαφορές και μεταξύ των δύο τύπων βλαστικών κορυφών (βλαστοφόρων-VA και αναπαραγωγικών-RA) που μελετήθηκαν και της ωοθήκης (OV). Αυτές οι διαφορές μπορούν να αποδοθούν στις διαφορές στο δυναμικό προσέλκυσης θρεπτικών στοιχείων (sink power) καθώς και στις διαφορές στην ενδογενή

βιοσύνθεση, στο μεταβολισμό των σακχάρων και στη διάσπαση του αμύλου. Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί λειτουργούν ταυτόχρονα και ειδικά στα αναπτυσσόμενα όργανα και σε ενεργά μεριστώματα με υψηλούς ρυθμούς αύξησης (Lastdrager et al., 2014). Επιπλέον, οι VA και RA ακόμα και όταν έχουν αποφυλλωθεί, είναι φωτοσυνθετικά ενεργά όργανα (Rounis et al., 2015; Lastdrager et al., 2014; Sawicki et al., 2015). Οι συγκεντρώσεις όλων των κυριότερων σακχάρων ήταν μέγιστες στις OV και ειδικότερα οι συγκεντρώσεις των μη μεταφερόμενων σακχάρων γλυκόζης και φρουκτόζης ήταν σημαντικά υψηλότερες από εκείνες που ανιχνεύτηκαν σε VA και RA. Αυτά τα αποτελέσματα μπορούν να αποδοθούν στο συνδυασμένο αποτέλεσμα του υψηλότερου δυναμικού προσέλκυσης θρεπτικών στοιχείων (sink power) των OV που κινητοποιούν υψηλότερα ποσοστά φωτοσυνθετικών προϊόντων, καθώς και στη δραστικότητα των ιμβερτάσων. Οι ιμβερτάσες είναι γνωστό ότι είναι κρίσιμα ένζυμα ειδικά για όργανα με αυξημένες μεταβολικές ανάγκες, για κυτταρική διαίρεση και μεγέθυνση κυττάρων που απαιτούν υψηλά επίπεδα διαθέσιμων εξοζών, όπως στην περίπτωση των OV (Ruan et al., 2010; Lemoine et al., 2013). Σε αρκετά ετερότροφα όργανα, όπως στα αναπτυσσόμενα άνθη και καρπούς, η απαιτούμενη σακχαρόζη μεταφέρεται μέσω του ηθμού, και κατόπιν διασπάται από τις ιμβερτάσες και τη συνθάση της σακχαρόζης (SuSy) ώστε να είναι διαθέσιμα απλούστερα σάκχαρα που χρησιμοποιούνται για να ικανοποιηθούν οι ενεργειακές ανάγκες των ταχέως αναπτυσσόμενων οργάνων όπως των νεαρών καρπών (Zanor et al., 2009). Επιπλέον έχει αναφερθεί ότι το ενζυμικό σύστημα διάσπασης σακχαρόζης (Susy και ιμβερτάσες) είναι μέρη του μηχανισμού παραγωγής σημάτων που επηρεάζουν τη ρύθμιση της σακχαρόζης στα ετερότροφα όργανα, ώστε εφόσον προκύψει έλλειμμα σε απλά σάκχαρα να αναπληρώνεται με επιπλέον μεταφορά σακχαρόζης μέσω του ηθμού (Koch, 2004).

Ωστόσο, εκτός από το σύστημα διάσπασης της σακχαρόζης, οι παρατηρήσεις σχετικά με τη συσσώρευση μεταγραφημάτων και ενζυμική δραστικότητα των SPS1 και UGPase καταδεικνύουν ότι εκτός από τη μεταφερόμενη σακχαρόζη, μια ποσότητα παράγεται τοπικά και δυνητικά επηρεάζει τον σχηματισμό του βέλτιστου περιβάλλοντος για την ανάπτυξη των νεαρών καρπών (Wang et al., 1993; Ruan, 2014). Παρομοίως, στην περίπτωση των αναπτυσσόμενων ωοθηκών, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τόσο σε VA όσο και σε RA, η σακχαρόζη πιθανόν μεταφέρεται πρωτίστως μέσω του ηθμού όπως γίνεται σε όλα τα φυτά (Truernit, 2001). Και οι δύο VA και RA είναι ετερότροφα όργανα και απαιτούν συνεχή παροχή φωτοσυνθετικών προϊόντων για την αύξηση και ανάπτυξη τους (Rolland et al., 2002). Ωστόσο, όπως στην

περίπτωση των αναπτυσσόμενων καρπών, απαιτείται μια ακριβής ενδογενής ρύθμιση των σακχάρων που απαιτούνται για τη βέλτιστη ανάπτυξη και για τον ακριβή χρονικό προσδιορισμό της έκπτυξης των οφθαλμών και της βλαστικής και της ανθικής ανάπτυξης των φυτών. Έχει τεκμηριωθεί ότι, αφενός, η ανεπαρκής παροχή σακχάρων μπορεί να μειώσει την έκπτυξη των οφθαλμών, ενώ από την άλλη πλευρά η υπερβολική αφθονία σακχάρων μπορεί επίσης να επηρεάσει αρνητικά το χρόνο έκπτυξής τους, όπως έχει παρατηρηθεί σε οφθαλμούς του *Arabidopsis* μετά από εξωγενείς εφαρμογές σακχάρων (Garcia-Luis et al., 1995; Zhou et al., 1998; Rolland et al., 2002). Επιπρόσθετα, οι διαφορές στη βιοσύνθεση σακχαρόζης υποδηλώνουν ότι υφίστανται ορισμένες διαφορές στη φυσιολογία μεταξύ των δύο κύριων τύπων μεριστωματικών κορυφών στις ροδιές. Η αυξημένη ενζυμική δραστηριότητα τόσο της UGPase όσο και της SPS στις VA υποδηλώνει αυξημένη εσωτερική παραγωγή σακχαρόζης συγκριτικά με τις RA, αυτό μπορεί να είναι ένας από τους παράγοντες που οδηγούν στην υψηλότερη συσσώρευση σακχαρόζης σε VA. Για το SPS έχει αποδειχθεί μια σύνδεση μεταξύ του ρυθμού φωτοσύνθεσης και της ενζυμικής δραστηριότητας στον αραβόσιτο (Kalt-Torres et al., 1987). Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η ρύθμιση της UGPase στους οφθαλμούς της ροδιάς είναι συγκρίσιμη με αυτή της SPS. Οι φωτοσυνθετικά ενεργές VA παρουσίασαν υψηλότερες δραστηριότητες για τα ένζυμα UGPase και SPS. Ωστόσο, η μεταγραφή τόσο της SPS, όσο και της UGPase δεν ακολούθησε το πρότυπο της δραστηριότητας των ενζύμων. Αυτή η παρατήρηση είναι ίσως το αποτέλεσμα των μετά – μεταφραστικών τροποποιήσεων που υποβάλλονται τόσο σε SPS όσο και σε UGPase πριν από την ενεργοποίηση των ενζύμων (Huber et al., 1992, Martz et al., 2002). Περίπλοκοι μηχανισμοί του SPS ρυθμίζουν την ενζυμική δραστηριότητα που συντονίζει την μετά – μεταφραστική ενεργοποίηση του ενζύμου (Hendriks et al., 2003). Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι σε ληθαργούντες οφθαλμούς τα επίπεδα των σακχάρων (εκτός της μαννιτόλης), η μεταγραφή και η δραστηριότητα των SPS και UGPase ήταν στις περισσότερες περιπτώσεις σημαντικά χαμηλότερες σε σύγκριση με όλα τα άλλα μελετούμενα όργανα, επιβεβαιώνοντας ότι σε αυτά τα όργανα ο μεταβολικός ρυθμός ήταν σημαντικά μειωμένος (Πίνακες 9 και 10).

Για να αποκτηθεί μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα σχετικά με την εξέλιξη κυρίως των βλαστοφόρων και αναπαραγωγικών κορυφών, μελετήθηκε και η έκφραση του γονιδίου *APETALA 2* σε όλα τα εξεταζόμενα όργανα. Η έκφραση κορυφώθηκε στις RA, με σημαντικά χαμηλότερη συσσώρευση μεταγραφημάτων στις OV και ακόμη χαμηλότερη έκφραση στις VA,

ενώ η έκφραση του γονιδίου σε ληθαργούντες οφθαλμούς ήταν μηδενική (Πίνακας 10). Αυτά τα αποτελέσματα είναι σύμφωνα με τις παρατηρήσεις των Southerton et al. (1998) στον *Eucalyptus globulus*, οι οποίοι βρήκαν ισχυρή έκφραση του γονιδίου *ELF1* (γονίδιο σχετιζόμενο με την έναρξη της ανθογένεσης και την ανάπτυξη ανθέων στον ευκάλυπτο) στις ανθικές καταβολές και κατά τη διάρκεια ανάπτυξης των αναπαραγωγικών οργάνων και αδύναμη έκφραση σε νεαρά φύλλα.

Τα αποτελέσματα για το γονίδιο *APETALA 2* και ειδικότερα, η αυξημένη μεταγραφή (transcription) ή έκφραση των γονιδίων αυτών στο συγκεκριμένο στάδιο των αναπαραγωγικών κορυφών της ροδιάς, εισηγούνται ότι τα γονίδια αυτά εμπλέκονται στα τελευταία στάδια της ανθογένεσης, δηλαδή τα στάδια της έναρξης ανθογένεσης ('flower initiation') και της διαφοροποίησης ανθοφόρων οφθαλμών ('flower differentiation'). Επίσης η μεγάλη αυτή αύξηση της έκφρασης του γονιδίου στις αναπαραγωγικές κορυφές πιθανόν να σηματοδοτεί τα δύο αυτά τελικά στάδια της διαφοροποίησης. Αντίθετα, λόγω της μηδενικής έκφρασης του *APETALA 2* στους ληθαργούντες οφθαλμούς στο στάδιο που πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία δεν τεκμηριώνεται ότι λαμβάνουν χώρα διαδικασίες που σχετίζονται με την διαφοροποίηση αναπαραγωγικών μεριστωμάτων.

Περισσότερη όμως έρευνα απαιτείται για την εύρεση πιθανόν άλλων γονιδίων που συνδέονται με την ανθική επαγωγή ('flower induction') καθώς και το χρόνο έκφρασης αυτών που να προσδιορίζει και την έναρξη της ανθικής επαγωγής στη ροδιά. Για παράδειγμα στη μηλιά βρέθηκε έκφραση των γονιδίων ανθικής επαγωγής κατά το σχηματισμό των ανθοφόρων οφθαλμών από την προηγούμενη της ανθοφορίας χρονιά (Hättasch et al., 2008).

5. Συμπεράσματα

Τα κύρια σάκχαρα που βρέθηκαν σε όλα τα βλαστικά και αναπαραγωγικά όργανα της ροδιάς ήταν η μαννιτόλη, η γλυκόζη, η σακχαρόζη και η φρουκτόζη αν και με διαφορετικές συγκεντρώσεις. Οι ληθαργούντες οφθαλμοί είχαν πολύ υψηλότερη συγκέντρωση μετακινούμενων σακχάρων και κύρια της μαννιτόλης σε σχέση με τα υπόλοιπα όργανα της ροδιάς που μελετήθηκαν (βλαστοφόρες κορυφές, αναπαραγωγικές κορυφές, ωοθήκες αγονιμοποίητων ανθέων). Αντίθετα είχαν μικρότερες συγκεντρώσεις μη μετακινούμενων σακχάρων σε σχέση με τα άλλα όργανα. Η πολύ αυξημένη συγκέντρωση μαννιτόλης στους

ληθαργούντες οφθαλμούς δείχνει ότι το κύριο αποθησαυριστικό σάκχαρο στους οφθαλμούς της ροδιάς είναι η μαννιτόλη.

Η μεταφορά της σακχαρόζης που παράγεται μέσω της φωτοσύνθεσης από τα φύλλα, παράλληλα με την ενδογενή σύνθεση του σακχάρου στα αναπτυσσόμενα όργανα πιθανόν συνδιαμορφώνουν την ισορροπία των υδατανθράκων στα όργανα αυτά. Επιπρόσθετα, καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των βλαστοφόρων, αναπαραγωγικών κορυφών και των ληθαργούντων οφθαλμών, υπογραμμίζοντας τις διαφορές στις απαιτήσεις των υδατανθράκων για τη βέλτιστη ανάπτυξη των οργάνων αυτών.

Το γονίδιο *APETALA 2*, η έκφραση του οποίου βρέθηκε αυξημένη στις αναπαραγωγικές κορυφές και τις μη γονιμοποιημένες ωοθήκες δείχνει την πιθανή εμπλοκή του στα τελικά στάδια μετάβασης από τη βλαστική στην αναπαραγωγική φάση της ροδιάς. Αντίθετα, η μηδενική έκφρασή του στους ληθαργούντες οφθαλμούς δημιουργεί το ερώτημα για το αν στο στάδιο αυτό έχει γίνει η έναρξη της ανθικής επαγωγής (flower induction) στους οφθαλμούς της ροδιάς. Χρειάζεται πρόσθετη έρευνα σε μοριακό επίπεδο με τη μελέτη και άλλων γονιδίων που συνδέονται με την ανθική επαγωγή ώστε να προκύψουν τελικά συμπεράσματα για το χρόνο έναρξης της ανθικής επαγωγής ('flower induction').

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Ahmed, M., Shahid, A.A., Akhtar, S., Latif, A., ud Din, S., Fanglu, M., Rao, AQ, Sarwar, M.B., Husnain, T., and Xuede, W. (2018). Sucrose synthase genes: a way forward for cotton fiber improvement. *Biologia* **73**: 703.
<https://doi.org/10.2478/s11756-018-0078-6>
- Babb, V.M., and Haigler, C.H. (2001). Sucrose phosphate synthase activity rises in correlation with high-rate cellulose synthesis in three heterotrophic systems. *Plant Physiology*, **127**(3):1234-1242
- Bernier, G., Havelange, A., Houssa, C., Petitjean, A., and Lejeune, P. (1993). Physiological signals that induce flowering. *The plant cell*, **5**(10):1147-1155.
- Bernier, G., and Périlleux, C. (2005). A physiological overview of the genetics of flowering time control. *Plant Biotechnology Journal*, **3**(1):3-16.
- Carbonell- Barrachina, A., Calín- Sánchez, A., Bagatar, B., Hernández, F., Legua, P., Martínez-Font, R. and Melgarejo, P. (2012). Potential of Spanish sour-sweet pomegranates (cultivar C25) for the juice industry. *Food Science and Technology International*, **18**(2): 129-138.
- Chen, A., He, S., Li, F., Li, Z., Ding, M., Liu, Q., and Rong, J. (2012). Analyses of the sucrose synthase gene family in cotton: structure, phylogeny and expression patterns. *BMC Plant Biology*, **12**(1):85-102.
- Cheng, W.H., and Chourey, P.S. (1999). Genetic evidence that invertase-mediated release of hexoses is critical for appropriate carbon partitioning and normal seed development in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, **98**:485-495.
- Corbesier, L., Lejeune, P., and Bernier, G. (1998). The role of carbohydrates in the induction of flowering in *Arabidopsis thaliana*: comparison between the wild type and a starchless mutant. *Planta*, **206**(1): 131-137.

- Cui, S.-M., Sasada, Y., Sato, H., and Nii, N. (2004). Cell structure and sugar and acid contents in the arils of developing pomegranate fruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, **73**(3): 241-243.
- Dai, N., Cohen, S., Portnoy, V., Tzuri, G., Harel-Beja, R., Pompan-Lotan, M., Carmi, N., Zhang, G., Diber, A., Pollock, S. et al. (2011). Metabolism of soluble sugars in developing melon fruit: a global transcriptional view of the metabolic transition to sucrose accumulation. *Plant Molecular Biology*, **76**: 1-18.
- Dafny-Yalin, M., Glazer, I., Bar-Ilan, I., Kerem, Z., Holland, D. and Amir, R. (2010). Color, sugars and organic acids composition in aril juices and peel homogenates prepared from different pomegranate accessions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**(7): 4342-4352.
- Duclos, D.V., and Björkman, T. (2008). Meristem identity gene expression during curd proliferation and flower initiation in *Brassica oleracea*. *Journal of Experimental Botany* **59**(2):421-433.
- Ellul, P., Angosto, T., García-Sogo, B., García-Hurtado, N., Martín-Trillo, M., Salinas, M., Moreno, V., Lozano, R., and Martínez-Zapater, J. M. (2004). Expression of *Arabidopsis* APETALA1 in tomato reduces its vegetative cycle without affecting plant production. *Molecular Breeding*, **13**(2): 155-163.
- Fawole, O.A. and Opara, U.L. (2013). Developmental changes in maturity indices of pomegranate fruit: A descriptive review. *Scientia Horticulturae*, **159**: 152-161.
- Francis, D., and Halford, N.G. (2006). Nutrient sensing in plant meristems. *Plant Molecular Biology* **60**(6): 981-993.
- Garcia – Luis, A., Fornes, F., and Guardiola, J.L. (1995). Leaf carbohydrates and flower formation in *Citrus*. *Journal of American Society for Horticultural Science*, **120**(2): 222–227.

- Gibson, S.I. (2005). Control of plant development and gene expression by sugar signaling. *Current Opinion in Plant Biology* **8**(1): 93-102.
- Hanke, M., Flachowsky, H., Peil, A., and Hättasch, C. (2007). No flower no fruit - genetic potentials to trigger flowering in fruit trees. *Genes, Genomes, Genomics*, **1**(1): 1-20.
- Hättasch, C., Flachowsky, H., Kapturska, D., and Hanke, M.-V. (2008). Isolation of flowering genes and seasonal changes in their transcript levels related to flower induction and initiation in apple (*Malus domestica*). *Tree physiology*, **28**(10): 1459-1466.
- He, Z., Zhu, Q., Dabi, T., Li, D., Weigel, D., and Lamb, C. (2000). Transformation of rice with the *Arabidopsis* floral regulator *LEAFY* causes early heading. *Transgenic research*, **9**(3): 223-227.
- Hendriks, J.H.M., Kolbe, A., Gibon, Y., Stitt, M., and Geigenberger, P. (2003). ADP-glucose pyrophosphorylase is activated by posttranslational redox-modification in response to light and to sugars in leaves of *Arabidopsis* and other plant species. *Plant Physiology*, **133**(2): 838-849.
- Heyer, A.G., Raap, M., Schroeder, B., Marty, B., and Willmitzer, L. (2004). Cell wall invertase expression at the apical meristem alters floral, architectural, and reproductive traits in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, **39**(2): 161-169.
- Holland, D., Hatib, K., and Bar-Ya'akov, I. (2009). Pomegranate: botany, horticulture, breeding. *Horticultural Reviews*, **35**: 127-191.
- Huber, J.L., Huber, S.C., Campbell, W.H., and Redinbaugh, M.G. (1992). Reversible light/dark modulation of spinach leaf nitrate reductase activity involves protein phosphorylation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **296**(1): 58-65.
- Ito, A., Hayama, H., and Kashimura, Y. (2002). Sugar metabolism in buds during flower bud formation: a comparison of two Japanese pear [*Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nak.] cultivars possessing different flowering habits. *Scientia Horticulturae*, **96**: 163-175.

- Kalt-Torres, W., Kerr, P.S., Usuda, H., and Huber, S.C. (1987). Diurnal changes in maize leaf photosynthesis. I. Carbon exchange rate, assimilate export rate, and enzyme activities. *Plant Physiology*, **83**(2): 283-288.
- Kleczkowski, L. A., Geisler, M., Ciereszko, I., and Johansson, H. (2004). UDP-glucose pyrophosphorylase. An old protein with new tricks. *Plant Physiology*, **134**(3): 912-918.
- Koch, K.E. (2004). Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, **7**(3): 235-246.
- Lara, M.E.B., Garcia, M.C.G., Fatima, T., Ehness, R., Lee, T.K., Proels, R., et al. (2004). Extracellular invertase is an essential component of cytokinin-mediated delay of senescence. *The Plant Cell*, **16**(5): 1276-1287.
- Lastdrager, J., Hanson, J., and Smeekens, S. (2014). Sugar signals and the control of plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, **65**(3): 799-807.
- Lemoine, R., La Camera, S., Atanassova, R., Dédaldéchamp, F., Allario, T., Pourtau, N., Bonnemain, J.L., Laloi, M., Coutos-Thévenot, P., Maurousset, L. et al. (2013). Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. *Frontiers in Plant Science*, **4**: 1-21.
- Martz, F., Wilczynska, M., and Kleczkowski, L.A. (2002). Oligomerization status, with the monomer as active species, defines catalytic efficiency of UDP-glucose pyrophosphorylase. *Biochemical Journal*, **367**(1): 295-300.
- Matsoukas, I.G. (2014). Interplay between sugar and hormone signaling pathways modulate floral signal transduction. *Frontiers in Genetics*, **5**: 218.
<https://dx.doi.org/10.3389%2Ffgene.2014.00218>
- Meletis K., Tsaniklidis G., Aivalakis G. and Vemmos S., (2016). The transcription of *Apetala* in conjunction with genes coding for crucial enzymes of the sucrose biosynthesis (UGPase and SPS) in pomegranate buds and flowers. 67th Panhellenic Conference of the Hellenic Society for Biochemistry and Molecular Biology (HSBMB), Ioannina 25th – 27th November.

- Meletis K., Tsaniklidis G., Aivalakis G. and Vemmos S. (2017). Sucrose metabolism in buds and flowers of pomegranate trees. 68th Panhellenic Conference of the Hellenic Society for Biochemistry and Molecular Biology (HSBMB), Athens 10th – 12th November.
- Meletis, K., Tsaniklidis, G., Papadakis, I. E., and Vemmos, S. N. (2019). Sucrose synthesis in Unpollinated ovaries of pomegranate (*Punica granatum* L.), as well as, in reproductive and vegetative shoot apices. *Biologia*, **74**(2): 111-117. <https://doi.org/10.2478/s11756-018-0154-y>
- Micallef, B.J., Haskins, K.A., Vanderveer, P.J., Roh K.S., Shewmaker, C.K., and Sharkey, T.D. (1995). Altered photosynthesis, flowering and fruiting in transgenic tomato plants that have an increased capacity for sucrose synthesis. *Planta*, **196**(2): 327-334.
- Mphahlele, R.R., Caleb, O.J., Fawole, O.A. and Opara, U.L. (2016). Effects of different maturity stages and growing locations on changes in chemical, biochemical and aroma volatile composition of ‘Wonderful’ pomegranate juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **96**(3): 1002-1009.
- Ohto, M., Onai, K., Furukawa, Y., Aoki, E., Araki, T., and Nakamura, K. (2001). Effects of sugar on vegetative development and floral transition in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **127**(1): 252-261.
- Park, J.I., Ishimizu, T., Suwabe, K., Sudo, K., Masuko, H., Hakoziaki, H., Nou, I.S., Suzuki, G., and Watanabe, M. (2010). UDP-glucose pyrophosphorylase is rate limiting in vegetative and reproductive phases in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiology*, **51**(6): 981-996.
- Peña, L., Martín-Trillo, M., Juárez, J., Pina, J. A., Navarro, L., and Martínez-Zapater, J. M. (2001). Constitutive expression of *Arabidopsis* LEAFY or APETALA1 genes in citrus reduces their generation time. *Nature biotechnology*, **19**(3): 263.
- Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR. *Nucleic acids research*, **29**(9): e45-e45.

- Rabot, A., Henry, C., Ben Baaziz, K., Mortreau, E., Azri, W., Lothier, J., et al. (2012). Insight into the role of sugars in bud burst under light in the rose. *Plant and Cell Physiology*, **53**(6): 1068-1082.
- Ramakers, C., Ruijter, J.M., Deprez, R.H. L., and Moorman, A.F. (2003). Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data. *Neuroscience letters*, **339**(1): 62-66.
- Rolland, F., Moore, B., and Sheen, J. (2002). Sugar sensing and signaling in plants. *The Plant Cell*, **14**: S185-S205.
- Rolland, F., Baena-Gonzalez, E., and Sheen, J. (2006). Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. *The Annual Review of Plant Biology*, **57**: 675-709.
- Rounis, V., Skarmoutsos, K., Tsaniklidis, G., Nikoloudakis, N., Delis, C., Karapanos, I., and Aivalakis G (2015). Seeded and parthenocarpic cherry tomato fruits exhibit similar sucrose, glucose, and fructose levels, despite dissimilarities in UGPase and SPS gene expression and enzyme activity. *Journal of Plant Growth Regulation*, **34**(1): 47–56.
- Roussos, P. A., Denaxa, N.-K., Damvakaris, T., Stournaras, V., and Argyrokastritis, I. (2010). Effect of alleviating products with different mode of action on physiology and yield of olive under drought. *Scientia Horticulturae*, **125**(4): 700-711.
- Ruan, Y.L., Jin, Y., Yang, Y.J., Li, G.J., and Boyer J.S. (2010). Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant*, **3**(6): 942-955.
- Ruan, Y.L. (2014). Sucrose metabolism: gateway to diverse carbon use and sugar signaling. *Annual Review Plant Biology*, **65**: 33-67.
- Sarafi, E., Chatzissavvidis, C., and Therios, I. (2017). Response of two pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars to six boron concentrations: Growth performance, nutrient status, gas exchange parameters, chlorophyll fluorescence, and proline and carbohydrate content. *Journal of Plant Nutrition*, **40**(7): 983-994.

- Sawicki, M., Jacquens, L., Baillieul, F., Clément, C., Vaillant-Gaveau, N., and Jacquard, C. (2015). Distinct regulation in inflorescence carbohydrate metabolism according to grapevine cultivars during floral development. *Physiology Plantarum*, **154**(3): 447-467.
- Sergeeva, L.I., and Vreugdenhil, D. (2002). In situ staining of activities of enzymes involved in carbohydrate metabolism in plant tissues. *Journal of Experimental Botany*, **53**(367): 361-370.
- Sherson, S.M., Alford, H.L., Forbes, S.M., Wallace, G., and Smith, S.M. (2003). Roles of cell-wall invertases and monosaccharide transporters in the growth and development of *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, **54**(382): 525-531.
- Southerton, S.G., Strauss, S.H., Olive, M.R., Harcourt, R.L., Decroocq, V., Zhu, X., Llewellyn, D.J., Peacock, W.J., and Dennis, E.S. (1998). *Eucalyptus* has a functional equivalent of the *Arabidopsis* floral meristem identity gene *LEAFY*. *Plant Molecular Biology*, **37**(6): 897-910.
- Tognetti, J.A., Pontis, H.G., and Martinez-Noel, G.M (2013). Sucrose signaling in plants: A world yet to be explored. *Plant Signaling and Behavior*, **8**(3):e23316.
- Truernit, E. (2001). Plant physiology: the importance of sucrose transporters. *Current Biology*, **11**(5): R169-R171.
- Vemmos, S.N. (1999). Carbohydrate content of inflorescent buds of defruited and fruiting pistachio (*Pistachia vera* L.) branches in relation to biennial bearing. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **74**(1): 94-100.
- Wang, F., Sanz, A., Brenner, M.L., and Smith, A. (1993). Sucrose synthase, starch accumulation, and tomato fruit sink strength. *Plant Physiology*, **101**(1): 321-327.
- Weber, H., Borisjuk, L., Heim, U., and Wobus, U. (1997). Sugar import and metabolism during seed development. *Trends in Plant Science*, **2**(5): 169-174.
- Weigel, D., and Nilsson, O. (1995) A developmental switch sufficient for flower initiation in diverse plants. *Nature*, **377**(6549): 495.

- Wils, C.R., and Kaufmann, K. (2016). Gene-regulatory networks controlling inflorescence and flower development in *Arabidopsis thaliana*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, **1860**(1): 95-105.
- Xing, L.B., Zhang, D., Li, Y.M., Shen, Y.W., Zhao, C.P., Ma, J.J. et al. (2015). Transcription profiles reveal sugar and hormone signaling pathways mediating flower induction in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Plant and Cell Physiology*, **56**(10): 2052–2068.
- Zanor, M.I., Osorio, S., Nunes-Nesi, A., Carrarib, F., Lohse, M. et al (2009). RNA interference of LIN5 in *Solanum lycopersicum* confirms its role in controlling Brix content, uncovers the influence of sugars on the levels of fruit hormones and demonstrates the importance of sucrose cleavage for normal fruit development and fertility. *Plant Physiology*, **150**(3): 1204-1218.
- Zhou, L., Jang, J.C., Jones, T.L., and Sheen, J. (1998). Glucose and ethylene signal transduction crosstalk revealed by an *Arabidopsis* glucose-insensitive mutant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **95**(17): 10294-10299.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Δρογούδη, Π., Βέμμος, Σ.Ν. και Τσιάντας, Π. (2016). Αλλαγές στην αντοχή οφθαλμών και βλαστών ροδιάς σε χαμηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια διαφορετικών φαινολογικών σταδίων. Πρακτικά 27ου Συνεδρίου της ΕΕΕΟ. Τόμος **17**(Α): σελ. 112-116.
- Μαγγανάρης, Α., Βλάχου, Φ., Νικολαΐδης, Ν., Παντελίδης, Γ. και Δρογούδη, Π. (2012). Μελέτη της βιολογίας του άνθους σε επιλεγμένους κλώνους ροδιάς. Πρακτικά 25ου Συνεδρίου της ΕΕΕΟ: σελ. 196-198
- Ρουμπελάκη–Αγγελάκη, Κ. (2003). Φυσιολογία φυτών – από το μόριο στο περιβάλλον. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης: ISBN 960-524-168-4.
- Τσανικλίδης, Γ. (2013). Φυσιολογικός και βιοχημικός χαρακτηρισμός του μεταβολισμού του ασκορβικού οξέος σε ένσπερμους παρθενοκαρπικούς τύπους τομάτας τύπου cherry. Διδακτορική διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας.

**Μέρος 2^ο: Επίδραση της αζωτούχου λίπανσης
στην ανόργανη θρεπτική κατάσταση και στην
καρποφορία δένδρων ροδιάς**

Κεφάλαιο 3

1. Εισαγωγή

Η θρέψη αποτελεί ζωτικής σημασίας παράγοντα για την ανάπτυξη των φυτών. Η ανάπτυξη των φυτών εξαρτάται από ορισμένους παράγοντες όπως είναι το είδος της καλλιέργειας, ο τύπος των εδαφών και οι περιβαλλοντικές συνθήκες (Hoagland, 1947; Villora et al., 2004). Τα πράσινα φυτά και ορισμένοι μικροοργανισμοί λαμβάνουν μέρος στην πρόσληψη ιόντων από το περιβάλλον. Τα διάφορα φυτικά είδη διαφέρουν όχι μόνο στο ρυθμό με τον οποίο απορροφούν τα διαθέσιμα θρεπτικά στοιχεία αλλά και με τον τρόπο που τα διανέμουν σε διαφορετικά όργανα στο φυτό (Villora et al., 2004). Η ανισορροπία ενός θρεπτικού στοιχείου προκαλεί διαταραχές του μεταβολισμού που εκδηλώνεται με ορατά συμπτώματα όταν παρατηρείται έλλειψη του στοιχείου αυτού ή περίσσεια (τοξικότητα). Ένας καθοριστικός παράγοντας που σχετίζεται με την ανισορροπία των θρεπτικών στοιχείων είναι η ηλικία των φυτών, η οποία επηρεάζει την απόδοση των καλλιεργειών λόγω της μεταβολής της θρεπτικής κατάστασης σε διάφορους φυτικούς ιστούς και όργανα (Villora et al., 2004).

1.1 Κατάταξη θρεπτικών στοιχείων στα φυτά – Πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά

Σύμφωνα με τους Στυλιανίδη κ.ά. (2002), τα χημικά στοιχεία μπορούν να διακριθούν σε τρεις κατηγορίες, ανάλογα με την σημασία τους για τα φυτά:

1. Απαραίτητα στοιχεία για όλα τα φυτά που δεν είναι δυνατή η υποκατάστασή τους από άλλα στοιχεία.
2. Στοιχεία για τα οποία δεν έχει καθορισθεί ο φυσιολογικός τους ρόλος στα φυτά με ακρίβεια.
3. Στοιχεία με άγνωστο φυσιολογικό ρόλο για τα φυτά, όπως είναι το νάτριο, το πυρίτιο, το κοβάλτιο, το βανάδιο και το νικέλιο, που έχουν αποδειχθεί ωφέλιμα για ορισμένα φυτά.

Ανάλογα με τις συγκεντρώσεις των θρεπτικών στοιχείων που απαιτούνται από τους φυτικούς ιστούς και όχι από τη σπουδαιότητά τους για την ανάπτυξη των φυτών διακρίνονται σε: α) μακροστοιχεία: N, P, K, S, Ca, Mg, C, H, O και β) μικροστοιχεία: Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, B, Cl και Ni. Τα θρεπτικά στοιχεία μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με τη βιοχημική συμπεριφορά και το φυσιολογικό τους ρόλο στα φυτά σε 4 ομάδες, σύμφωνα με τους Mengel και Kirkby (1982), όπως αναφέρεται από τους Στυλιανίδη κ.ά. (2002):

Η 1^η ομάδα περιλαμβάνει τα στοιχεία C, H, O, N, S τα οποία αποτελούν κύρια συστατικά οργανικών ενώσεων, συμμετέχουν σε ενζυμικές αντιδράσεις και ο μεταβολισμός τους γίνεται με οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις. Η 2^η ομάδα συνίσταται από τα στοιχεία P, B, Si τα οποία συμμετέχουν στο σχηματισμό εστέρων με αλκοολικές ομάδες. Οι φωσφορικοί εστέρες συμμετέχουν σε αντιδράσεις μεταφοράς και χρησιμοποίησης της ενέργειας. Στην 3^η ομάδα ανήκουν τα στοιχεία K, Na, Ca, Mg, Mn, Cl τα οποία ρυθμίζουν την ωσμωτική πίεση, τη δράση των ενζύμων και την περατότητα των μεμβρανών. Ακόμη, εξουδετερώνουν τα οργανικά οξέα. Στην 4^η ομάδα ανήκουν τα στοιχεία Fe, Cu, Zn, Mo τα οποία λαμβάνουν μέρος σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις με τη μεταφορά των ηλεκτρονίων.

Τα θρεπτικά στοιχεία προσλαμβάνονται από το έδαφος ως ιόντα (ανιόντα ή κατιόντα). Εξαίρεση αποτελούν τα στοιχεία C, O και H, τα οποία προσλαμβάνονται από τον ατμοσφαιρικό αέρα και το νερό. Ο άνθρακας με τη μορφή του διοξειδίου του άνθρακα και το οξυγόνο με τη μοριακή μορφή. Τα ιχνοστοιχεία Fe, Zn, Cu, Mo προσλαμβάνονται σε μικρές ποσότητες από το εδαφικό διάλυμα και ως χηλικές ενώσεις. Το pH του εδάφους επηρεάζει την απορρόφηση ιόντων όπου αναπτύσσεται το ριζικό σύστημα των φυτών (Θερίος, 2005). Η πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και η ανάπτυξη των φυτών εξαρτάται και από γενετικούς παράγοντες. Διαφορετικές ποικιλίες παρουσιάζουν διαφορετική ικανότητα στην πρόσληψη οποιουδήποτε θρεπτικού στοιχείου κάτω από διαφορετικές συνθήκες φωτός, θερμοκρασίας και υγρασίας (Villora et al., 2004). Τα θρεπτικά στοιχεία ως προς την ευκολία ή τη δυσκολία κίνησής τους μέσω του ηθμού διακρίνονται σε ευκίνητα και σε δυσκίνητα. Συγκεκριμένα, τα στοιχεία N, P, K και Mg χαρακτηρίζονται ευκίνητα και τα συμπτώματα έλλειψης εκδηλώνονται στα παλαιά φύλλα, ενώ δυσκίνητα είναι τα Ca, S, Fe, Zn, Cu, B, Mn και Mo και τα συμπτώματα τροφопενιών εκδηλώνονται στην κορυφή των βλαστών και τα νεότερα φύλλα. Για τους παραπάνω λόγους είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος σαν κύρια πηγή τροφοδοσίας των φυτών καθώς και στα ίδια τα φυτά.

1.2 Διαγνωστικές μέθοδοι των θρεπτικών αναγκών σε δένδροκαλλιέργειες

Η έγκαιρη διάγνωση των αναγκών των φυτών σε θρεπτικά στοιχεία αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα γεωργικά προβλήματα. Οι σπουδαιότερες μέθοδοι για τον προσδιορισμό της θρεπτικής κατάστασης των φυτών είναι οι ακόλουθες:

1. Η εδαφική ανάλυση
2. Η ανάλυση φυτικών ιστών (φυτοανάλυση, φυλλοδιαγνωστική)

3. Μακροσκοπική παρατήρηση ορατών συμπτωμάτων έλλειψης ή περίσσειας στα διάφορα μέρη των φυτών.

Σύμφωνα με τον Chapman (1960), ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε θρεπτικά στοιχεία θα πρέπει να βασίζεται στις δύο προαναφερθείσες επιστημονικές μεθόδους (ανάλυση εδάφους και φύλλων) και συμπληρωματικά στην παρατήρηση ορατών συμπτωμάτων έλλειψης ή τοξικότητας επί των φυτών.

Η ανάλυση του εδάφους χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της γονιμότητας του εδάφους. Με την ανάλυση του εδάφους πραγματοποιείται η εκτίμηση των αναγκών σε θρεπτικά στοιχεία πριν την εγκατάσταση μιας καλλιέργειας στον αγρό αλλά και ανά τακτά χρονικά διαστήματα, μετά την εγκατάστασή της. Επίσης, βοηθά στον καθορισμό του προγράμματος λίπανσης που θα ακολουθηθεί. Από την εδαφική ανάλυση μπορεί να προκύψει ότι τμήματα του ίδιου αγρού ίσως έχουν διαφορές στην περιεκτικότητα θρεπτικών στοιχείων ή/και σε άλλες εδαφικές παραμέτρους και επομένως διαφορετικές ανάγκες σε λίπανση. Με την ανάλυση εδάφους γίνεται έγκαιρη εκτίμηση της περιεκτικότητας θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος για την αποφυγή τροφοπενιών και την πρόληψη λάθους χειρισμών που σχετίζονται με τη χρησιμοποίηση υπερβολικών ή μικρών ποσοτήτων λιπάσματος. Για την σωστή ανάλυση εδάφους πρέπει να ληφθούν υπόψη η εποχή δειγματοληψίας εδάφους, π.χ. πριν την εφαρμογή λιπασμάτων και πριν την περίοδο διαδοχικών βροχοπτώσεων διότι πραγματοποιείται έκπλυση ορισμένων στοιχείων. Ακόμη και το βάθος της δειγματοληψίας, το οποίο καθορίζεται από το είδος της καλλιέργειας. Επιπρόσθετα, η λήψη αντιπροσωπευτικών δειγμάτων και οι σωστοί χειρισμοί πριν και κατά την ανάλυσή τους στο εργαστήριο επηρεάζουν τα αποτελέσματα της ανάλυσης και την αξιοπιστία τους (Cameron et al., 1971; Franzen and Cihacek, 1998).

Με την ανάλυση φυτικών ιστών και συγκεκριμένα με τη φυλλοδιαγνωστική πετυχαίνουμε την έγκαιρη διάγνωση έλλειψης θρεπτικών στοιχείων, τοξικότητας ή γενικότερα μιας ανισόρροπης θρέψης και γίνεται εκτίμηση της συνολικής θρεπτικής κατάστασης (Fageria et al., 1994). Επίσης, προσδιορίζονται ποσοτικά τα θρεπτικά στοιχεία που απομακρύνθηκαν από την καλλιέργεια για την αντικατάστασή τους προκειμένου να διατηρηθεί η γονιμότητα του εδάφους αλλά και τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της λίπανσης που εφαρμόστηκε (Fageria et al., 1994). Για την ορθή διενέργεια της φυλλοδιαγνωστικής και την κατάλληλη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της είναι σημαντικό να γνωρίζουμε την ποικιλία, την ηλικία, το είδος και την εποχή λήψης του φυτικού ιστού, τις κλιματικές συνθήκες, την αντιπροσωπευτικότητα του

δείγματος, την παραγωγικότητα και την εποχιακή μεταβολή των κρίσιμων συγκεντρώσεων καθώς και την αλληλεπίδραση των θρεπτικών στοιχείων (Chapman, 1960; Fageria et al., 1994). Σύμφωνα με τον Στυλιανίδη κ.ά. (2002), πέραν των προαναφερθέντων παραγόντων, πρέπει να ληφθούν υπόψη το κλάδεμα του δένδρου και κατ' επέκταση η ζωηρότητα των δένδρων. Η εκδήλωση ορατών συμπτωμάτων μπορεί να διαγνωσθεί εύκολα από έναν έμπειρο άτομο. Ωστόσο, η δυσκολία έγκειται στην πιθανότητα εκδήλωσης συμπτωμάτων λόγω ταυτόχρονης ανεπάρκειας θρεπτικών στοιχείων, τοξικότητας από φυτοφάρμακα και ιολογικών ασθενειών, έτσι ώστε να μην καθίσταται ασφαλής η διάγνωση.

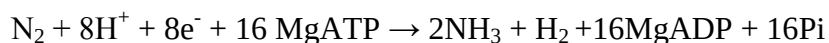
1.3 Μορφές αζώτου στο έδαφος – Κύκλος του αζώτου στο έδαφος

Η περιεκτικότητα σε άζωτο στα ανόργανα επιφανειακά εδάφη κυμαίνεται από 0,02 – 0,5% και με μέση αντιπροσωπευτική τιμή το 0,15% για τα καλλιεργούμενα εδάφη, με την οργανική ουσία του εδάφους να περιέχει 5% άζωτο (Στυλιανίδης κ.ά., 2002). Το άζωτο βρίσκεται σε ανόργανες και οργανικές μορφές στο έδαφος. Οι ανόργανες μορφές του αζώτου διακρίνονται σε αέρια (N_2 , N_2O , NO , NO_2 και NH_3) και σε ιόντα (NO_3^- , NO_2^- και NH_4^+). Τα ιόντα (NO_3^- , NO_2^- και NH_4^+) παράγονται από την ανοργανοποίηση της οργανικής ουσίας του εδάφους ή από την προσθήκη αζωτούχων λιπασμάτων, με τις τρεις αυτές μορφές αζώτου να αποτελούν το 2 – 3% του ολικού αζώτου στο έδαφος. Τα αέρια N_2O και NO είναι οι μορφές αζώτου που χάνονται με την απονιτροποίηση. Το οργανικό άζωτο του εδάφους βρίσκεται με τη μορφή των πρωτεϊνών, αμινοξέων, αμινοσακχάρων, πουρινών και πυριμιδίνων.

Η μέση περιεκτικότητα αζώτου στον ατμοσφαιρικό αέρα είναι περίπου 78% (v/v). Από την αποσύνθεση διαφόρων οργανισμών και από τη δέσμευση του ατμοσφαιρικού αζώτου από τα βακτήρια προέρχεται το άζωτο των εδαφικών συστατικών, διαμορφώνοντας το βιογεωχημικό κύκλο του αζώτου με αμφίδρομη αλληλεπίδραση του εδάφους, του αέρα και των οργανισμών (Ρουμπελάκη – Αγγελάκη, 2003). Οι διαδικασίες που συμβαίνουν κατά το βιογεωχημικό κύκλο του αζώτου είναι οι εξής: βιομηχανική, ατμοσφαιρική και η βιολογική δέσμευση καθώς και η πρόσληψη από τα φυτά, η ακινητοποίηση στο έδαφος, η αμμωνιοποίηση, η νιτροποίηση, η μετατροπή σε ορυκτή μορφή, η εξαέρωση, η δέσμευση των αμμωνιακών ιόντων από τα εδαφικά σωματίδια, η απονιτροποίηση και τελικά η απόπλυση του από το έδαφος με αντίστοιχη μεταφορά στη θάλασσα και τους υπόγειους υδροφορείς (Ρουμπελάκη – Αγγελάκη, 2003; Θεριός, 2005). Ο κύκλος του αζώτου περιλαμβάνει τη μετατροπή των οργανικών μορφών του αζώτου σε NH_4^+ και NO_3^- (ανοργανοποίηση) με την μετατροπή αρχικά σε NH_4^+

(αμμωνιοποίηση). Η χρήση των παραπάνω ιόντων από φυτά και μικροοργανισμούς αποτελεί την αφομοίωση και ακινητοποίηση, με το άζωτο να επιστρέφει στην ατμόσφαιρα με τη βιολογική απονιτροποίηση, ολοκληρώνοντας τον κύκλο (Στυλιανίδης κ.ά., 2002).

Συγκεκριμένα, το ανόργανο άζωτο εισέρχεται στην τροφική αλυσίδα και στους διάφορους οργανισμούς αποκλειστικά μέσω των φυτών και επιστρέφει στο περιβάλλον με την αποδόμησή του. Συναντάται στο έδαφος κυρίως υπό τη μορφή νιτρικών ιόντων και λιγότερο υπο μορφή αμμωνιακών ιόντων. Τα αμμωνιακά ιόντα προέρχονται από την αποδόμηση φυτικών ή ζωικών υπολειμμάτων και μετατρέπονται τάχιστα σε νιτρικά με την οξείδωσή τους από βακτήρια νιτροποίησης. Το άζωτο ως αέριο δεσμεύεται με φυσικές διεργασίες, όπως είναι η ατμοσφαιρική και η βιολογική δέσμευση. Για να πραγματοποιηθεί η δέσμευση του ατμοσφαιρικού αζώτου πρέπει να σχηματιστεί νιτρικό οξύ (HNO_3), νιτρικά (NO_3^-) ή αμμωνιακά ιόντα (NH_4^+). Η ατμοσφαιρική δέσμευση του αζώτου πραγματοποιείται με α) φωτοχημικές αντιδράσεις (το οξείδιο του αζώτου (NO) αντιδρά με το όζον (O_3) και παράγεται νιτρικό οξύ (HNO_3) και β) ηλεκτρικές εκκενώσεις (οι υδρατμοί αντιδρούν με το οξυγόνο και παράγονται ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου ($\text{OH}\cdot$), ιόντα υδρογόνου και άτομα οξυγόνου. Τα άτομα οξυγόνου αντιδρούν με το μοριακό άζωτο και σχηματίζεται νιτρικό οξύ που μεταφέρεται με τη βροχή στη γη) (Ρουμπελάκη – Αγγελάκη, 2003). Στη βιολογική δέσμευση του αζώτου απαιτείται συμμετοχή ενζύμων που είναι αποκλειστικά διαθέσιμα σε βιολογικά συστήματα (προκαρυώτες, μέλη βακτηριακών ταξών όπως τα κυανοβακτήρια, οι ακτινομύκητες και τα α-πρωτεοβακτήρια και ζουν είτε ελεύθερα στο έδαφος είτε συμβιώνουν με ορισμένα φυτά). Το ατμοσφαιρικό άζωτο μετατρέπεται σε αμμωνία, προερχόμενη από τη βιολογική δέσμευση του αζώτου από βακτήρια που ζουν ελεύθερα στο έδαφος συνεισφέροντας άμεσα στη θρέψη με άζωτο των καλλιεργούμενων φυτών (συμβιωτική βιολογική αζωτοδέσμευση) (Ρουμπελάκη – Αγγελάκη, 2003). Η αντίδραση που πραγματοποιείται είναι η παρακάτω:



Η παραπάνω αντίδραση καταλύεται από τη νιτρογενάση (ένζυμο), ευαίσθητη στο οξυγόνο. Συνεπώς, τα βακτήρια εξασφαλίζουν αναερόβιο περιβάλλον, έτσι ώστε η νιτρογενάση να διατηρεί την ενεργότητα και την αζωτοδεσμευτική ικανότητα.

1.4 Εδαφικές απώλειες του αζώτου

Οι απώλειες του αζώτου οφείλονται στην έκπλυση των νιτρικών στα υπόγεια νερά, στην απονιτροποίηση και στην εξαέρωση σε αμμωνία στην ατμόσφαιρα, οι οποίες μπορούν να

ελεγχθούν με τις κατάλληλες καλλιεργητικές πρακτικές. Αυτές οι πρακτικές αφορούν την προσθήκη αζωτούχων λιπασμάτων σε σωστές δοσολογίες ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του εδάφους και το κλίμα, την περίοδο πρόσληψης από την καλλιέργεια ή τμηματικής εφαρμογής (δόσεις) έτσι ώστε να αποφευχθεί ή τουλάχιστον να περιοριστεί η έκπλυση. Επίσης, η εφαρμογή αζωτούχων λιπασμάτων βραδείας απελευθέρωσης, η οποία πλεονεκτεί στη:

- Μείωση της απώλειας N με έκπλυση και επιφανειακή απορροή.
- Μείωση της βιολογικής και χημικής ακινητοποίησης του N.
- Μείωση της απώλειας N ως NH_3 , ή με απονιτροποίηση (Θεριός, 2005).

Σύμφωνα με το Θεριό (2005), η σύνθεση του λιπάσματος και τα φυσικά, βιολογικά και χημικά χαρακτηριστικά του συστήματος έδαφος – φυτό όπου εφαρμόζεται το λίπασμα καθορίζουν την ταχύτητα καθώς και τον τρόπο απελευθέρωσης του N. Επίσης, κατηγοριοποιεί τα βραδείας απελευθέρωσης λιπάσματα σε 4 είδη, που είναι τα ακόλουθα:

1. Υδατοδιαλυτά λιπάσματα που περιέχουν NH_4^+ ή NO_3^- όπου η διαλυτοποίηση ρυθμίζεται από κάποιο παράγοντα όπως είναι η επικάλυψη.
2. Λιπάσματα με μικρή υδατοδιαλυτότητα που περιέχουν σε διαθέσιμη μορφή το N.
3. Λιπάσματα περιορισμένης υδατοδιαλυτότητας, στα οποία η μικροβιακή δράση καθιστά διαθέσιμο το άζωτο στο φυτό (ureaform, oxamide).
4. Υδατοδιαλυτά ή σχετικής υδατοδιαλυτότητας λιπάσματα που μέσω της σταδιακής διάσπασής τους απελευθερώνουν το άζωτο (guanylurea).

1.5 Ο ρόλος του αζώτου στα οπωροφόρα δένδρα

Ένα από τα βασικά θρεπτικά στοιχεία για την ανάπτυξη των φυτών είναι το άζωτο (Crawford, 1995; Hirel et al., 2007; Krouk et al., 2010; Leghari et al., 2016; Abdel – Sattar and Mohamed, 2017). Το άζωτο αποτελεί συστατικό των πρωτεϊνών, των αμινοξέων, των νουκλεϊκών οξέων, των ενζύμων και κατά συνέπεια είναι το κύριο στοιχείο των ζωντανών κυττάρων (Bianco et al., 2015; Abdel – Sattar and Mohamed, 2017). Το άζωτο αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για την ανάπτυξη των φυτών (Walley et al., 2002). Θεωρείται απαραίτητο διότι ευνοεί τη βλαστική ανάπτυξη, αυξάνει την παραγωγικότητα των φυτών και βελτιστοποιεί την ποιότητα των προϊόντων που παράγονται από τα φυτά (Mickelson et al., 2003; Ullah et al., 2010; Leghari et al., 2016).

Όταν βρίσκεται σε ικανοποιητικό επίπεδο στα φυτά προσδίδει σκούρο πράσινο χρώμα, προάγει το σχηματισμό φύλλων και το σχηματισμό άλλων βλαστικών μερών και επίσης διεγείρει

το σχηματισμό ριζών (Leghari et al., 2016). Ακόμη, υποβοηθά την πρόσληψη άλλων θρεπτικών στοιχείων, όπως του καλίου και του φωσφόρου, ελέγχοντας συνολικά την ανάπτυξη των φυτών. Στην έλλειψη αζώτου οφείλεται η μειωμένη ανάπτυξη των φυτών, η εμφάνιση χλωρώσεως στα φύλλα και στο βλαστό καθώς και η εμφάνιση κόκκινων ή μωβ στιγμάτων στα φύλλα. Τα συμπτώματα εμφανίζονται στα κατώτερα φύλλα που είναι μεγαλύτερης ηλικίας (Bianco et al., 2015). Σύμφωνα με τους Στυλιανίδη κ.ά. (2002), εκτός από τα ορατά και μη ή λιγότερα ορατά, συμπτώματα εμφανίζονται μέσω φυσιολογικών ανωμαλιών ανθέων, καρπών και βλαστών και εκδηλώνονται με την ανεπάρκεια αζώτου. Η υπερβολική λίπανση με άζωτο έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της βλαστικής ανάπτυξης σε βάρος της παραγωγικότητας, την παραγωγή χαμηλότερης ποιότητας καρπών καθώς και καρποπτώσεις.

Το άζωτο προσλαμβάνεται από τα δένδρα ως νιτρικό ή αμμωνιακό (Στυλιανίδης κ.ά., 2002). Τα ιόντα αμμωνίου μετά την είσοδό τους στο δένδρο, υφίστανται γρήγορες μεταβολές, γιατί και μικρές συγκεντρώσεις αυτών δρουν τοξικά. Αντίθετα, τα νιτρικά ιόντα, ενώ μπορούν να συγκεντρώνονται μέσα στο δένδρο χωρίς να προκαλούν βλάβες σ' αυτό, ωστόσο, πριν ενσωματωθούν στις διάφορες οργανικές ενώσεις, πρέπει να αναχθούν σε αμμωνιακή μορφή (Στυλιανίδης κ.ά., 2002). Οι ρίζες των φυτών απορροφούν οργανικές ενώσεις αζώτου μικρού μοριακού βάρους, όπως αμινοξέα και πεπτίδια (Paungfoo – Lonhienne et al., 2008; Krouk et al., 2010) και ακόμη της οργανικής ένωσης της ουρίας (Crawford, 1995). Ωστόσο, υπάρχουν πολυάριθμοι παράγοντες που επηρεάζουν την αποδοτικότητα χρήσης των λιπασμάτων του N, όπως είναι η ηλικία των φυτών, τα χαρακτηριστικά της καλλιέργειας, ο τύπος των εδαφών και οι κλιματικοί παράγοντες (Schulten and Schnitzer, 1998; Walley et al., 2002; Hirel et al., 2007). Είναι γνωστό ότι το άζωτο αλληλεπιδρά με τα υπόλοιπα θρεπτικά στοιχεία (P, K, Ca, Mg, Mn, B, Zn, Fe, Cu) και συγκεκριμένα υπάρχει θετική συσχέτιση από την αυξημένη χορηγούμενη αζωτούχο λίπανση με τα στοιχεία Mg και Mn, ενώ αρνητική συσχέτιση με τα υπόλοιπα επτά θρεπτικά στοιχεία, όπως έχουν προκύψει από τον προσδιορισμό τους με φυλλοδιαγνωστική (Στυλιανίδης κ.ά. 2002).

Για τη ροδιά έχει παρατηρηθεί ότι υπερβολική ή όψιμη λίπανση με άζωτο μπορεί να προκαλέσει όψιμη και παρατεταμένη βλάστηση (ευαίσθητη σε ζημιές από παγετούς), καθυστέρηση της ωρίμανσης και εμφάνισης του χρώματος των καρπών, να μειώσει την επόμενη παραγωγή και την ποιότητα των καρπών. Γι' αυτό πρέπει να αποφεύγεται η λίπανση αζώτου από τέλος Αυγούστου και μετά (Holland et al., 2009).

1.6 Η λίπανση της ροδιάς

Τα μέχρι σήμερα επιστημονικά δεδομένα (πειράματα λίπανσης) είναι περιορισμένα για τη ροδιά. Μεγάλο πρόβλημα όμως αποτελεί και η έλλειψη δεδομένων φυλλοδιαγνωστικής. Δεν έχουν ακόμη μελετηθεί διεξοδικά οι βέλτιστες τιμές στα φύλλα της ροδιάς που να ανταποκρίνονται στην καλή θρεπτική κατάσταση των δένδρων και να χρησιμοποιηθούν στην πράξη ως τιμές αναφοράς (Dhillon et al., 2011; Kashyap et al., 2012). Από τα μέχρι τώρα δεδομένα είναι γνωστό ότι τα πιο σημαντικά θρεπτικά στοιχεία για τη ροδιά είναι κατά σειρά τα μακροστοιχεία άζωτο, κάλιο, φωσφόρος, ασβέστιο και μαγνήσιο και ακολουθούν τα μικροστοιχεία ή ιχνοστοιχεία ψευδάργυρος, βόριο, σίδηρος και μαγγάνιο (Dhillon et al., 2011; Mohammad et al., 2011; Kashyap et al., 2012; Mohamed et al., 2014; Hamouda et al., 2015; Hamouda et al., 2016).

Για τον προσδιορισμό των λιπαντικών αναγκών θα πρέπει να προηγηθούν η ανάλυση του εδάφους και η φυλλοδιαγνωστική, λαμβάνοντας υπόψη τις βέλτιστες τιμές των ανόργανων θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος και στα φύλλα της ροδιάς (Zekri, 2012). Παράλληλα, θα πρέπει να ληφθούν υπόψη οι πιο κάτω παράγοντες. Η ηλικία των δένδρων, το αναμενόμενο φορτίο καρπών (παραγωγή), τα προηγούμενα πειραματικά δεδομένα και τυχόν προηγούμενη εμπειρία και ποσότητες που χρησιμοποιήθηκαν τα προηγούμενα χρόνια (Θεριός, 2005; Obaid and Al-Hadethi, 2013; Mohamed et al., 2014). Γενικά, η λίπανση στη ροδιά διακρίνεται στις πιο κάτω περιπτώσεις.

Λίπανση κατά την εγκατάσταση της φυτείας

Η λίπανση αυτή σκοπεύει στη βελτίωση της γονιμότητας του εδάφους με την αναπλήρωση των θρεπτικών στοιχείων και της οργανικής ουσίας. Συνιστώνται 1-2 τόνοι κοπριά/στρέμμα ή εναλλακτικά 3-5 κιλά/δένδρο κοπριά, 500 γραμμάρια απλό φωσφορικό και 300 γραμμάρια θειϊκό κάλιο, αναπροσαρμοζόμενα βάσει των αποτελεσμάτων της εδαφικής ανάλυσης (Βαχαμίδης και Βέμμος, 2009; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013).

Λίπανση νεαρών δένδρων με άζωτο

1ος χρόνος→80-100 γραμμάρια άζωτο σε 3-4 δόσεις (1η δόση στα μέσα της άνοιξης όταν τα φυτά έχουν ύψος 15-20 εκατοστά) (Δρογούδη κ.ά., 2007; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013).

Το 2ο και 3ο χρόνο χορηγούνται 120-150 γραμμάρια αζώτου σε 2-3 δόσεις (1η δόση αργά το χειμώνα). Συνιστάται η προσοχή στην νεανική φάση των φυτών να αποφεύγεται η υπερβολική αζωτούχος λίπανση γιατί μπορεί να καθυστερήσει την είσοδο των φυτών στην καρποφορία και να μειώσει την αντοχή των φυτών στο ψύχος του χειμώνα (Δρογούδη κ.ά., 2007; Βαχαμίδης και

Βέμμος, 2009; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Στην Αμερική συνιστούν την εφαρμογή 1,0 – 1,5 κιλά λίπασμα τύπου 8-8-8 ή παρόμοιας σύνθεσης λιπάσματος σε δύο δόσεις αρχές άνοιξης και αρχές καλοκαιριού (Sheets et al., 1994).

Λίπανση παραγωγικής φυτείας

Η ροδιά θεωρείται δένδρο απαιτητικό σε άζωτο. Μετά το 5^ο χρόνο απαιτούνται 200-400 γραμμάρια ανά φυτό κάθε χρόνο περίπου (Δρογούδη κ.ά., 2007; Θεριός και Δημάση – Θεριού, 2013). Η δοσολογία εξαρτάται από τη καρποφορία του προηγούμενου χρόνου, το μέγεθος του δένδρου και το τύπο του εδάφους (Βαχαμίδης και Βέμμος, 2009). Αρχικά συνιστούσαν, ενδεικτικά την εφαρμογή 20 κιλά N/στρέμμα, 12-20 κιλά K και 6 κιλά P (Δρογούδη κ.ά., 2012). Όλες οι πιο αναφερόμενες τιμές θρεπτικών στοιχείων αποτελούν καθαρές μορφές αυτών.

1.7 Λίπανση αζώτου στη ροδιά – Ανασκόπηση βιβλιογραφίας

Εδαφική εφαρμογή λιπασμάτων στη ροδιά

Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αρκετές μελέτες για την επίδραση της αζωτούχου λιπάνσεως μεμονωμένα στην ανάπτυξη και καρποφορία της ροδιάς καθώς και τις αναγκαίες ποσότητες αζώτου για την καλλιέργεια της ροδιάς και τη σωστή ανάπτυξή της. Αρκετές όμως μελέτες εξετάζουν συνδυασμένα την επίδραση του αζώτου με άλλα μακροστοιχεία ή και ιχνοστοιχεία. Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από διάφορα πειράματα λίπανσης που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα και αφορούν τη λίπανση της ροδιάς.

Οι Mohamed et al. (2014) εφάρμοσαν οκτώ διαφορετικές επεμβάσεις συνδυάζοντας N, P και K σε δένδρα ροδιάς cv. *Wonderful* στην περιοχή Μίνια της Αιγύπτου και βρήκαν ότι τα 300g N + 100 g P₂O₅ (44 g P) + 100 g K₂O/δένδρο (83 g K) προάγουν την παραγωγικότητα των δένδρων. Οι Kashyap et al. (2012) εφάρμοσαν εικοσιπέντε διαφορετικές επεμβάσεις αζώτου και καλίου σε δένδρα ροδιάς cv. *Ganesh*, συμπεραίνοντας ότι το άριστο επίπεδο αυτών είναι τα 500 g αζώτου και 500 g καλίου (600 g K₂O) ανά δένδρο και ανά έτος, το οποίο αποτελεί το ανώτερο επίπεδο συγκρινόμενο με τα υπόλοιπα εφαρμοζόμενα επίπεδα αζώτου και καλίου. Το επίπεδο αυτό μάλιστα ενισχύει την καρπόδεση, την παραγωγικότητα και την ποιότητα καρπών. Οι Mohammad et al. (2011) χρησιμοποίησαν σε πέντε επεμβάσεις πλήρες συνιστώμενο λίπασμα, όπως αναφέρουν που περιελάμβανε άζωτο, φώσφορο και κάλιο και συγκεκριμένα σε ποσότητες 300 – 225 – 225 g/δένδρο αντίστοιχα, εκ των οποίων ορισμένες επεμβάσεις συνδυάστηκαν με ιχνοστοιχεία όπως βόριο, ψευδάργυρο και σίδηρο και συμπέραναν ότι η ισορροπημένη λίπανση

βελτιώνει την παραγωγικότητα και βοηθά στον έλεγχο του σχισίματος των καρπών, εφόσον εφαρμόζονται παράλληλα οι κατάλληλες αρδευτικές πρακτικές. Επίσης, οι Dutta Ray et al. (2014) χρησιμοποίησαν τέσσερα επίπεδα αζώτου με τη μορφή ουρίας και οργανικού λιπάσματος και την εφαρμογή 100 g P_2O_5 (44 g P) και 100 g K_2O (83 g K) σε όλες τις επεμβάσεις συμπεριλαμβανόμενου του μάρτυρα. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών έδειξαν ότι η εφαρμογή 300 g αζώτου/δένδρο σε συνδυασμό με την προσθήκη 1kg οργανικού λιπάσματος (neem cake) έδωσαν υψηλότερο βαθμό διαλυτών στερεών συστατικών ($^{\circ}$ Brix), υψηλότερη συγκέντρωση ολικών σακχάρων και του ασκορβικού οξέος, μεγαλύτερη παραγωγικότητα και μικρότερη ολική οξύτητα. Επίσης, παρατήρησαν ότι η παραγωγικότητα αυξήθηκε σημαντικά για τα διαφορετικά επίπεδα αζώτου. Οι Gill et al. (2013) ερεύνησαν την επίδραση διαφορετικών επιπέδων αζώτου, φωσφόρου και καλίου στη φυτική ανάπτυξη, την παραγωγικότητα και των συγκεντρώσεων τους στα φύλλα ροδιάς στην cv.*Kadhari* σε υποτροπικές συνθήκες. Στο πείραμα που πραγματοποίησαν σε υποτροπικές συνθήκες στην Ινδία εφάρμοσαν διαβαθμισμένες δόσεις με άζωτο, 0, 100 200 ή 300 g ανά φυτό, P_2O_5 0, 50, 100 ή 150 g ανά φυτό (0, 22, 44, 66 g P αντίστοιχα), και K_2O 0, 200 ή 300 g ανά φυτό (0, 166, 249 g K αντίστοιχα), στο έδαφος. Πρόσθετα, εφάρμοσαν βασική λίπανση με κοπριά (FYM) 20 kg/φυτό το Δεκέμβριο, ενώ στο μάρτυρα χρησιμοποιήθηκε μόνο κοπριά. Παρατήρησαν ότι η μέγιστη αύξηση της φυτικής ανάπτυξης και παραγωγικότητας καταγράφηκε όταν οι ροδιές δέχτηκαν επέμβαση με NPK σε αναλογία 300:50 P_2O_5 :100 g K_2O ανά φυτό (300:22:83 g N, P, K αντίστοιχα). Επίσης βρήκαν ότι στην δοσολογία 200: 50 P_2O_5 :100 g K_2O ανά φυτό (200:22:83 g N, P, K αντίστοιχα) παρουσιάστηκε η μέγιστη αναλογία ΔΣΣ:ΟΟ και η υψηλή δόση καλίου βελτίωσε το χρώμα των καρπών και αύξησε το πάχος του φλοιού, το βάρος των δρυπών και το βάρος των καρπών. Οι Abdel – Sattar και Mohamed (2017) παρατήρησαν ότι ο συνδυασμός ταχείας και βραδείας απελευθέρωσης λιπάσματος αζώτου (δηλαδή ουρία επικαλυμμένη με φώσφορο PCU 37%), με διαφορετικά επίπεδα υγρασίας στο έδαφος, αύξησε την παραγωγή των δένδρων ροδιάς cv.*Manfalouty* σε περιοχή της Αλεξάνδρειας της Αιγύπτου και μπορεί να μειώσει το ρυθμό και τον αριθμό των επεμβάσεων στο έδαφος κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου. Σύμφωνα με τους Dhillon et al. (2011) οι δοσολογίες 300 g αζώτου, 100 g P_2O_5 (44 g P) και 200 g K_2O /δένδρο (166 g K) έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματα στο μέσο βάρος καρπού, την παραγωγή/δένδρο και την ποιότητα του καρπού. Οι Sheikh και Manjula (2006) πραγματοποίησαν πείραμα λίπανσης στην Karnataka της Ινδίας με συνδυασμό αζώτου,

φωσφόρου και καλίου 400:200:200 g από μία μέχρι τέσσερις δόσεις για το άζωτο και το κάλιο και μία για το φώσφορο. Η πρώτη επέμβαση έγινε σε μία δόση (1η εβδομάδα του Μαρτίου), η δεύτερη επέμβαση σε δύο δόσεις (1η εβδομάδα Μαρτίου, 1η εβδομάδα Μαΐου), η τρίτη σε τρεις δόσεις (1η εβδομάδα Μαρτίου, 1,5 μήνες αργότερα και 1,5 μήνες αργότερα) και η τέταρτη σε τέσσερις δόσεις (1^η εβδομάδα Μαρτίου και οι υπόλοιπες με μεσοδιάστημα 1 μήνα με την τελευταία δόση να εφαρμόζεται τον Ιούνιο). Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι η τέταρτη επέμβαση με τις τέσσερις δόσεις έδωσε καλύτερα αποτελέσματα στην αύξηση της φυλλικής επιφάνειας, της συγκέντρωσης αζώτου και καλίου στα φύλλα, τον αριθμό καρπών/δένδρο, τη συνολική παραγωγή/δένδρο και το μέσο βάρος καρπών. Η ίδια επέμβαση (4 δόσεις) έδωσε επίσης υψηλότερη συγκέντρωση ασκορβικού οξέος, ενώ η χυμοπεριεκτικότητα και τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά ήταν υψηλότερα στην τρίτη επέμβαση με τις τρεις δόσεις.

Σύμφωνα με τους Holland et al. (2009), σε πειράματα λίπανσης που πραγματοποίησαν σε ροδιές στο Ισραήλ διαπίστωσαν ότι η λίπανση μέσω αρδευτικού συστήματος (υδρολίπανση) ήταν πιο αποτελεσματική από την επιφανειακή λίπανση και άρδευση. Πρακτικά, συνιστούν 20 κιλά αζώτου, 30 kg K_2O (24,9 kg K) και 6 kg P_2O_5 (2,58 P kg) στο στρέμμα κάθε χρόνο. Το άζωτο να εφαρμόζεται σε δόσεις από την έναρξη της βλάστησης μέχρι δύο εβδομάδες πριν τη συγκομιδή με υδρολίπανση, με μια επιπλέον λίπανση αζώτου να εφαρμόζεται μετά τη συγκομιδή σε πρώιμες ποικιλίες ροδιάς. Προτείνουν το κάλιο να εφαρμόζεται την περίοδο της άρδευσης και για το φώσφορο να εφαρμόζεται σε δύο δόσεις, η πρώτη στην έναρξη της βλάστησης και η άλλη στο τέλος της ανάπτυξης του καρπού, πάλι μέσω δικτύου υδρολίπανσης σε μορφή φωσφορικού οξέος (H_3PO_4). Η δεύτερη δόση χρησιμεύει για τις ανάγκες των δένδρων και για τον καθαρισμό από άλατα του δικτύου άρδευσης. Επίσης, ως εναλλακτική λύση συνιστούν την εφαρμογή ενός σύνθετου λιπάσματος με την κατάλληλη περιεκτικότητα στα τρία θρεπτικά στοιχεία (N, P, K) που μπορεί να περιέχει και άλλα θρεπτικά στοιχεία, στην ίδια περίοδο που περιγράφηκε για το άζωτο. Σε περιπτώσεις έλλειψης καλίου συνιστούν διαφυλλική εφαρμογή με χλωριούχο ήθεικό κάλιο. Αναφέρουν επίσης ότι σε πειράματα εφαρμογής διαφυλλικών ψεκασμών με ψευδάργυρο, μαγγάνιο και σίδηρο αυξήθηκε η παραγωγή/δένδρο και η χυμοπεριεκτικότητα των καρπών. Οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν ότι σε πειράματα λίπανσης αζώτου (από άλλους ερευνητές), η σχέση βάρος καρπιδίων/βάρος καρπού αυξήθηκε με τις αυξανόμενες δόσεις αζώτου γραμμικά, ενώ τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά στο χυμό δεν

επηρεάστηκαν. Τέλος, η εφαρμογή καλίου αύξησε το βάρος καρπού αυξάνοντας σημαντικά την απόδοση (Holland et al., 2009).

Διαφυλλική εφαρμογή ιχνοστοιχείων στη ροδιά

Οι Obaid και Al-Hadethi (2013) αναφέρουν ότι ορισμένα μικροστοιχεία (Mn, Zn και Fe) δεσμεύονται εύκολα σε αλκαλικά εδάφη και δεν είναι διαθέσιμα για τα φυτά. Στις περιπτώσεις αυτές, η εφαρμογή από τα φύλλα αποτελεί ιδανική λύση για την εφαρμογή σιδήρου, ψευδαργύρου και μαγγανίου, όταν γίνεται τον κατάλληλο χρόνο, αναφέροντας άλλους ερευνητές που εφαρμόζοντας διαφυλλικά ψευδάργυρο και μαγγάνιο πέτυχαν αύξηση στην καρπόδεση, στην τελική παραγωγή και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών. Στο πείραμά τους, οι Obaid και Al-Hadethi, (2013) βρήκαν ότι η διαφυλλική εφαρμογή 1,5 – 3,0% θειϊκού ψευδαργύρου συνδυαστικά με 40 – 60 mg/L θειϊκού μαγγανίου αύξησαν την καρπόδεση και την παραγωγικότητα των δένδρων, γεγονός που το απέδωσαν, εκτός των άλλων, στην αύξηση της χλωροφύλλης και της φυλλικής επιφάνειας. Η εφαρμογή των πιο πάνω διαφυλλικών ψεκασμών πραγματοποιήθηκε δύο φορές, την τελευταία εβδομάδα του Μαΐου και την πρώτη του Ιουνίου, για δύο συνεχή έτη. Αναφέρουν μάλιστα ότι η εφαρμογή Mn (βαρύ μέταλλο) στο έδαφος είναι προβληματική και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως είναι το pH του εδάφους, για το λόγο αυτό προτείνουν να εφαρμόζεται σε ιοντική ή χηλική μορφή μέσω διαφυλλικής λίπανσης. Στη μελέτη τους οι Khorsandi et al. (2009) αναφέρουν ότι η έλλειψη ψευδαργύρου είναι συνήθης στις καλλιεργούμενες ροδιές στο Ιράν, στην Ινδία και στις ΗΠΑ και χρησιμοποίησαν 5 kg ψευδαργύρου ανά εκτάριο για κάθε ψεκασμό (0,4%) σε μορφή $ZnSO_4$. Πραγματοποίησαν δύο ψεκασμούς με $ZnSO_4$ (συνολικά 30 kg $ZnSO_4$ ανά εκτάριο) και παρατήρησαν ότι οι ψεκασμοί δεν αύξησαν σημαντικά την παραγωγή, αλλά μείωσαν την παραγωγή των μη εμπορεύσιμων καρπών με αντίστοιχη αύξηση των εμπορεύσιμων καρπών, βελτίωσαν την ποιότητα των καρπών αυξάνοντας την περιεκτικότητά τους σε χυμό και το ξηρό βάρος αυτών.

Σύμφωνα με τους Hasani et al. (2012), η εφαρμογή μαγγανίου ($MnSO_4$) σε επίπεδα 0,3% και 0,6% αύξησαν τη παραγωγικότητα, το βάρος 100 δρυπών, τη διάμετρο των καρπών, τα ΔΣΣ, τη χυμοπεριεκτικότητα, την αναλογία δρυπών/φλοιού, το δείκτη ανθοκυανών και τη φυλλική επιφάνεια. Οι ίδιοι ερευνητές βρήκαν επίσης ότι η εφαρμογή ψευδαργύρου ($ZnSO_4$) αύξησε σημαντικά τα ΔΣΣ, την αναλογία ΔΣΣ/ΟΟ, τη χυμοπεριεκτικότητα και τη φυλλική επιφάνεια. Επιπρόσθετα, παρατήρησαν ότι η εφαρμογή θειϊκού ψευδαργύρου διαφυλλικά αύξησε

σημαντικά τη συγκέντρωση ψευδαργύρου αλλά μείωσε τη συγκέντρωση μαγγανίου και φωσφόρου στα φύλλα. Οι διαφυλλικοί ψεκασμοί μαγγανίου αύξησαν σημαντικά τη συγκέντρωση μαγγανίου και αζώτου στα φύλλα και επηρέασαν ανταγωνιστικά τη συγκέντρωση του ψευδαργύρου και του χαλκού στα φύλλα. Οι ερευνητές αυτοί συμπέραναν ότι ο κατάλληλος διαφυλλικός συνδυασμός για τη βελτίωση των περισσότερων χαρακτηριστικών που μέτρησαν στην έρευνά τους ήταν 0,6% MnSO_4 + 0,3% ZnSO_4 . Οι Ramezani et al. (2009) πραγματοποίησαν διαφυλλικούς ψεκασμούς με ουρία (0%, 0,5%, 1,0% και 2,0%) και χλωριούχο ασβέστιο (0%, 2,0% και 4,0%) καθώς και συνδυασμό αυτών σε ροδιές cv. *Malase – Yazdi* σε δύο χρονικές περιόδους (κατά την πλήρη άνθηση και ένα μήνα μετά την πλήρη άνθηση). Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις ουρίας 1% και 2% αύξησαν σημαντικά το μέγεθος των καρπιδίων, το μήκος και τη διάμετρο των καρπών. Οι επεμβάσεις του χλωριούχου ασβεστίου 2% και 4% αύξησαν σημαντικά το μέσο βάρος των καρπών και τη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος. Επιπλέον, ο συνδυασμός των δύο ουσιών σε οποιαδήποτε συγκέντρωση που εφαρμόστηκε αύξησε τα διαλυτά στερεά συστατικά στο χυμό των καρπών. Ο ψεκασμός κατά την πλήρη άνθηση με τα υψηλότερα επίπεδα των επεμβάσεων (2%) μείωσε την ογκομετρούμενη οξύτητα, ενώ όταν έγινε ένα μήνα μετά την άνθηση δεν επηρέασε την ογκομετρούμενη οξύτητα. Οι Hamouda et al. (2015) σε δένδρα ροδιάς cv. *Manfalouty* στην περιοχή Ismailia της Αιγύπτου μελέτησαν την επίδραση διαφυλλικών ψεκασμών καλίου, μαγνησίου και μαγγανίου και συνδυασμούς μαγγανίου με κάλιο ή μαγνήσιο στην παραγωγικότητα, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών και την περιεκτικότητα σε θρεπτικά στοιχεία φύλλων και καρπών για δύο έτη. Οι διαφυλλικοί ψεκασμοί έγιναν τρεις φορές, με την 1^η μέσα Μαρτίου, τη 2^η τον Απρίλιο και την 3^η τον Ιούνιο, με συγκεντρώσεις 10000 ppm, 4000 ppm και 1600 ppm καλίου, μαγνησίου και μαγγανίου, αντίστοιχα, σε θειϊκές μορφές. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όλες οι επεμβάσεις αύξησαν σημαντικά το νωπό και ξηρό βάρος των καρπών συγκρινόμενες με τον μάρτυρα. Οι παραπάνω διαφυλλικοί ψεκασμοί, καθώς και συνδυασμός αυτών, αύξησαν σημαντικά τις συγκεντρώσεις των μακροστοιχείων (N, P, K, Ca και Mg) και των μικροστοιχείων (Fe, Mn, Zn και Cu) στα φύλλα, στο φλοιό των καρπών και στα καρπίδια. Βρήκαν επίσης υψηλότερη παραγωγικότητα, μέσο βάρος καρπών και διαστάσεις καρπών όταν ψεκάστηκαν με κάλιο συγκέντρωσης 10000 ppm και μαγγάνιο συγκέντρωσης 1600 ppm. Οι Hamouda et al. (2016) σε δένδρα ροδιάς cv. *Manfalouty* στην περιοχή Ismailia της Αιγύπτου μελέτησαν την επίδραση διαφυλλικών ψεκασμών με θειϊκές μορφές σιδήρου, μαγγανίου και ψευδάργυρου στην

παραγωγικότητα, στην ποιότητα και στην περιεκτικότητα σε θρεπτικά στοιχεία καρπών και φύλλων για δύο έτη. Οι διαφυλλικοί ψεκασμοί πραγματοποιήθηκαν τρεις φορές (1^η μέσα Μαρτίου, 2^η Απρίλιο και 3η Ιούνιο) με συγκεντρώσεις για το σίδηρο 500 ppm και 1000 ppm, για το μαγγάνιο 800 ppm και 1600 ppm και για το ψευδάργυρο 1000 ppm και 2000 ppm. Οι επεμβάσεις είχαν θετική επίδραση στο νωπό και ξηρό βάρος των καρπών, στις διαστάσεις των καρπών, την παραγωγικότητα και τον όγκο χυμού/καρπό. Οι ίδιες επεμβάσεις βελτίωσαν και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του χυμού (ολικά διαλυτά στερεά συστατικά, ογκομετρούμενη οξύτητα, ολικά σάκχαρα, ανθοκυάνες, βιταμίνη C), πάντα σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Βρήκαν επίσης ότι οι παραπάνω ουσίες αύξησαν τις συγκεντρώσεις όλων των μακροστοιχείων (N, P, K, Ca και Mg) και ιχνοστοιχείων (Fe, Mn, Zn και Cu) στα φύλλα, στο φλοιό των καρπών και στα καρπίδια. Η επέμβασηθειικού ψευδαργύρου συγκέντρωσης 2000 ppm (για τα δύο έτη) έδωσε τις υψηλότερες τιμές στην παραγωγικότητα, το μέσο βάρος καρπών, των διαστάσεων των καρπών καθώς και ορισμένων ποιοτικών χαρακτηριστικών του χυμού, όπως τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά, ολικά σάκχαρα και ανθοκυάνες.

1.8 Σκοποί της μελέτης

Όπως φαίνεται από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, τα δεδομένα για την επίδραση της αζωτούχου λίπανσης, στην παραγωγικότητα, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών και την θρεπτική κατάσταση των δένδρων της ροδιάς είναι περιορισμένα. Ειδικότερα όσον αφορά την ποικιλία “Wonderful”, που αποτελεί σήμερα την κυριότερη καλλιεργούμενη ποικιλία στην Ελλάδα, δεν βρέθηκαν δεδομένα για τις ανάγκες της σε άζωτο ή την επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών της στις ελληνικές συνθήκες. Για τους λόγους αυτούς, οι σκοποί της παρούσας μελέτης ήταν:

1. Η επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στην καρποφορία, στα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών.
2. Η επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στη θρεπτική κατάσταση της ροδιάς ποικιλίας “Wonderful”.

2. Υλικά και μέθοδοι

2.1 Εισαγωγή

Τα πειράματα έλαβαν χώρα σε εμπορικό οπωρώνα ροδιάς 112 στρεμμάτων (Εικόνα 56), στο Γεράκι Λακωνίας και οι αναλύσεις των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν στα Εργαστήρια Δενδροκομίας και Εδαφολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Το 4^ο πείραμα πραγματοποιήθηκε το 2014 (Φεβρουάριος 2014 – Οκτώβριος 2014) και το 5^ο το 2015 (Φεβρουάριο 2015 – Οκτώβριο 2015). Οι αποστάσεις φύτευσης των πειραματικών δένδρων ήταν 3Χ4 μέτρα. Ο πειραματικός αγρός ήταν νοτίου προσανατολισμού με μικρή κλίση (<2%).



Εικόνα 56. Πειραματικός αγρός ροδιάς στο Γεράκι Λακωνίας.

2.2 Εδαφική ανάλυση

Πριν την έναρξη των πειραμάτων 4 και 5 πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία εδάφους και ακολούθησαν οι σχετικές αναλύσεις.

Η δειγματοληψία εδάφους πραγματοποιήθηκε αρχές Φεβρουαρίου 2014 σε διάφορα σημεία του

πειραματικού αγρού σε βάθη 0 – 30 cm και 30 – 60 cm με τη χρήση δειγματολήπτη. Τα εδαφικά δείγματα που συλλέχθηκαν, αναμείχθηκαν σε ένα τελικό δείγμα (ένα για το βάθος 0 – 30 cm και ένα για το βάθος 30 – 60 cm). Έπειτα, τοποθετήθηκαν σε πλαστικές σακούλες και μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Μετά από μία εβδομάδα παραμονής σε θερμοκρασία δωματίου, τα παραπάνω δείγματα ξηράθηκαν και ακολούθησαν οι αναλύσεις.

Πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των εξής εδαφικών παραμέτρων:

- Κοκκομετρική σύσταση του εδάφους
- Οργανική ουσία
- Ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (ΙΑΚ)
- Συγκεντρώσεις ανταλλαξιμών κατιόντων Ca, Mg, K, N
- Ανθρακικά άλατα
- pH
- Ηλεκτρική αγωγιμότητα και ηλεκτρική αντίσταση
- Ολικό άζωτο
- Εδαφικός φώσφορος

2.2.1 Προσδιορισμός του pH στο έδαφος

Τοποθετήθηκαν 20 g εδάφους σε ποτήρι ζέσεως, έπειτα έγινε προσθήκη 20 mL απιονισμένου νερού. Κάθε 10 λεπτά πραγματοποιούνταν ανάδευση του αιωρήματος για το χρονικό διάστημα μιας ώρας. Ακολούθησε ο προσδιορισμός του pH με τη βοήθεια πεχαμέτρου (Consort C 5010 pH Meter).

2.2.2 Προσδιορισμός κοκκομετρικής σύστασης του εδάφους (Μέθοδος Βουγιούκου)

Ζυγίστηκαν 50 g λειοτριβμένου και κοσκινισμένου εδάφους και τοποθετήθηκαν στο κύπελλο του αναμείκτη. Προστέθηκαν 40 mL μεταφωσφορικού νατρίου (Calgon) και απιονισμένο νερό μέχρι 5 cm κάτω από το χείλος του κυπέλλου. Ακολούθησε ανάδευση για 5 – 8 λεπτά στον αναμείκτη. Το περιεχόμενο του κυπέλλου μεταφέρθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο Βουγιούκου και τοποθετήθηκε το ειδικό πυκνόμετρο (ASTM – 152H). Συμπληρώθηκε ο όγκος με απιονισμένο νερό μέχρι τα 1130 mL. Έπειτα πραγματοποιήθηκε καλή ανάμειξη του περιεχομένου και τοποθετήθηκε σε σταθερό σημείο ο κύλινδρος και έγινε προσθήκη αμυλικής

αλκοόλης για την απομάκρυνση αφρών. Η πρώτη ένδειξη του πυκνομέτρου και του θερμομέτρου λήφθηκε μετά από 40 δευτερόλεπτα και αντιστοιχούσε στο άθροισμα ιλύος και αργίλου, καθώς η άμμος είχε καθιζήσει. Το δείγμα έμεινε σε ηρεμία και η δεύτερη ένδειξη από το πυκνόμετρο και το θερμοόμετρο που λήφθηκε μετά από δύο ώρες αντιστοιχούσε στο σύνολο της αργίλου, αφού και η ιλύς είχε καθιζήσει. Για τον υπολογισμό της κοκκομετρικής σύστασης του εδάφους χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω τύποι:

Διόρθωση τιμών του πυκνομέτρου λόγω θερμοκρασίας

$$T = (\text{Θερμοκρασία αιωρήματος} - 20\text{ }^{\circ}\text{C}) \times 0,3$$

$$\Delta = \text{Ένδειξη πυκνομέτρου} + T - \text{Μάρτυρας (Διορθωμένη ένδειξη του πυκνομέτρου)}$$

$$\text{Ιλύς + Άργιλος (\%)} = \frac{\text{Διορθωμένη 1η ένδειξη}}{50} \times 100$$

$$\text{Άμμος (\%)} = 100 - (\text{Ιλύς (\%)} + \text{Άργιλος (\%)})$$

$$\text{Άργιλος ()} = \frac{\text{Διορθωμένη 2η ένδειξη}}{50} \times 100$$

2.2.3 Προσδιορισμός της οργανικής ουσίας στο έδαφος κατά «Walkley – Black»

Ζυγίστηκε 1 g εδάφους και μεταφέρθηκε σε κωνική φιάλη των 500 mL. Με τη βοήθεια προχοΐδας έγινε προσθήκη 10 mL διαλύματος 1 N $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ και 20 mL H_2SO_4 και ακολούθησε ανάδευση. Το δείγμα έμεινε σε ηρεμία για 30 λεπτά. Έπειτα έγινε προσθήκη 200 mL απιονισμένου νερού και 10 mL H_3PO_4 . Στη συνέχεια προστέθηκαν 10 – 12 σταγόνες δείκτη διφαινυλαμινοσουλφονικού βαρίου και πραγματοποιήθηκε τιτλοδότηση με δισθενήθειικό σίδηρο ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) μέχρι το χρώμα να αλλάξει απότομα σε πράσινο.

$$\text{Ολική οργανική ουσία} = (T - T') \times N \times 0,39 \times \frac{0,78}{B}, \text{ όπου}$$

T: τα καταναλωθέντα mL του δισθενούς θειικού σιδήρου που χρησιμοποιήθηκαν στην τιτλοδότηση του δείγματος.

T': τα καταναλωθέντα mL του δισθενούς θειικού σιδήρου που χρησιμοποιήθηκαν στην τιτλοδότηση του μάρτυρα.

N: η κανονικότητα του δισθενούς θειικού σιδήρου.

B: βάρος του εδαφικού δείγματος σε g.

2.2.4 Προσδιορισμός ολικών ανθρακικών αλάτων στο έδαφος (Μέθοδος κατά «Bernard»)

Ζυγίστηκε 1 g εδάφους και τοποθετήθηκε σε κωνική φιάλη. Έπειτα, τοποθετήθηκε στην κωνική μία κυψελίδα γεμισμένη μέχρι τα $\frac{3}{4}$ με HCl 1 M, έτσι ώστε να μην έρθει σε επαφή με το εδαφικό μείγμα για να μη χαθεί η ποσότητα του εκλυόμενου CO₂. Ακολούθησε πωμάτισμα της φιάλης και έγινε ανάδευση μέχρι η στάθμη του νερού του ογκομετρικού σωλήνα της συσκευής Bernard σταμάτησε να κατεβαίνει περαιτέρω, οπότε και λήφθηκε η σχετική ένδειξη. Λήφθηκε μέριμνα κατά την ανάδευση ώστε η στάθμη του νερού στη χοάνη και στον ογκομετρικό κύλινδρο να βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο. Τα ολικά ανθρακικά άλατα υπολογίστηκαν από τον τύπο:

Ισοδύναμο CaCO₃ = $k \times \frac{V}{G}$, όπου k: σταθερά που λαμβάνει συγκεκριμένες τιμές ανάλογα με την εποχή.

V: ο όγκος του εκλυόμενου CO₂ σε mL.

G: βάρος του εδαφικού δείγματος σε g.

2.2.5 Προσδιορισμός της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και ηλεκτρικής αντιστάσεως στο έδαφος

Ζυγίστηκαν 100 g εδάφους και τοποθετήθηκαν σε πλαστικά μπουκαλάκια. Με τη βοήθεια προχοϊδας και νερού, το εδαφικό δείγμα ήρθε σε κατάσταση κορεσμού (πάστα εδάφους). Γεμίστηκε το κύπελλο του αγωγιμόμετρου με την πάστα, προσέχοντας να μην εγκλωβιστούν φυσαλίδες αέρα και λήφθηκαν οι ενδείξεις της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και ηλεκτρικής αντιστάσεως.

2.2.6 Προσδιορισμός της ικανότητας ανταλλαγής κατιόντων (ΙΑΚ) στο έδαφος (Μέθοδος οξικού νατρίου)

Ζυγίστηκαν 5 g εδάφους και τοποθετήθηκαν σε πλαστικά μπουκαλάκια των 50 mL. Έγινε προσθήκη 3 φορές από 33 mL CH₃COONa 1 N, πωματίστηκαν τα μπουκαλάκια και έγινε μηχανική ανακίνηση για 5 λεπτά. Έποταν φυγοκέντρωση του δείγματος για τρία λεπτά στις 2500 rpm. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε άλλες δύο φορές. Το υπερκείμενο αφαιρέθηκε και κρατήθηκε το ίζημα όπου τοποθετήθηκαν 33 mL ισοπροπυλικής αλκοόλης και πωματίστηκαν τα μπουκαλάκια για να πραγματοποιηθεί πεντάλεπτη μηχανική ανακίνηση. Μετά έγινε φυγοκέντρωση του δείγματος για τρία λεπτά στις 2500 rpm. Στη συνέχεια αφαιρέθηκε το υπερκείμενο έγινε προσθήκη 33 mL CH₃COONH₄ 1 N και πραγματοποιήθηκε πεντάλεπτη

μηχανική ανακίνηση. Ακολούθησε φυγοκέντρωση του δείγματος για τρία λεπτά στις 2500 rpm. Τέλος, το υπερκείμενο διηθήθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL. Η διαδικασία επαναλήφθηκε δύο φορές και συμπληρώθηκε ο όγκος με απιονισμένο νερό. Πραγματοποιήθηκε μέτρηση στο φλογοφωτόμετρο (PGI 2000 Flame Photometer, PG Instruments Ltd), το οποίο βαθμονομήθηκε με τη χρήση πρότυπων αραιωμένων διαλυμάτων νατρίου. Υπολογίστηκε βάσει του παρακάτω τύπου:

$$I.A.K \text{ (meq/100 γεδάφους)} = \frac{\text{μέτρηση φλογοφωτόμετρου} \times \frac{\text{τελικός όγκος (mL)}}{\text{βάρος δείγματος (g)}}}{230}$$

2.2.7 Προσδιορισμός ανταλλάξιμων κατιόντων Na, K, Ca, Mg (Μέθοδος οξικού αμμωνίου)

Ζυγίστηκαν 5 g εδάφους και τοποθετήθηκαν σε πλαστικά μπουκαλάκια των 100 mL. Προστέθηκαν 50 mL οξικού αμμωνίου ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$, 1 N, pH= 7,0). Τα μπουκαλάκια πωματίστηκαν και έγινε μηχανική ανακίνηση για 10 λεπτά. Στη συνέχεια, έγινε φυγοκέντρωση του δείγματος για 3 λεπτά στις 2500 rpm. Το υπερκείμενο συλλέχθηκε και διηθήθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL. Η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε ακόμη μια φορά και έπειτα συμπληρώθηκε η ογκομετρική φιάλη με απιονισμένο νερό. Η μέτρηση Na και K έγινε στο φλογοφωτόμετρο (PGI 2000 Flame Photometer, PG Instruments Ltd) μετά από βαθμονόμηση και μέτρηση πρότυπων αραιωμένων διαλυμάτων νατρίου και καλίου. Η μέτρηση Ca και Mg πραγματοποιήθηκε στην ατομική απορρόφηση σε φλόγα ακετυλενίου και υποξειδίου του αζώτου (N_2O) αφού είχε προηγηθεί αραιώση 2:250 και μέτρηση πρότυπων αραιωμένων διαλυμάτων τους.

Υπολογίστηκαν από τον τύπο:

$$\text{Na, K, Ca, Mg (ppm)} = \frac{\text{ένδειξη οργάνου} \times \text{τελικός όγκος (mL)} \times \text{αραιώση (αν έχει γίνει)}}{\text{βάρος εδαφικού δείγματος (g)}}$$

2.2.8 Προσδιορισμός διαθέσιμου εδαφικού φωσφόρου (Μέθοδος «Olsen»)

Ζυγίστηκαν 5 g εδάφους, προστέθηκαν 0,5 g ενεργού άνθρακα, στη συνέχεια έγινε προσθήκη 100 mL NaHCO_3 0,5 M και πραγματοποιήθηκε μηχανική ανακίνηση για τριάντα λεπτά. Ακολούθησε τρίλεπτη φυγοκέντρωση στις 3500 rpm και διήθηση του αιωρήματος με ηθμό (Whatman N° 40) σε κωνική φιάλη. Η ανάπτυξη χρώματος κατά Murphy – Riley έγινε ως εξής: Σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL μεταφέρθηκαν 5 mL εκχυλίσματος, προστέθηκαν 10 mL απιονισμένου νερού και 10 mL ασκορβικού οξέος και συμπληρώθηκε μέχρι τελικού όγκου με

απιονισμένο νερό. Έπειτα, από 20 λεπτά ηρεμίας αναπτύσσεται μπλε χρώμα και πραγματοποιήθηκε μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 880 nm (Helios γ , Unicam, UK). Η περιγραφή της παρασκευής του διαλύματος Murphy – Riley έγινε όπως περιγράφεται παρακάτω. Χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας μια φιάλη χωρίς να περιέχει το εκχύλισμα εδάφους. Υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$\text{Διαθέσιμος } P \text{ (ppm)} = \frac{\text{μάρτυρας} - \text{ένδειξη}}{145,5} \times \frac{\text{όγκος NaHCO}_3 \text{ (mL)}}{\text{όγκος για την ανάπτυξη χρώματος (mL)}} \times \frac{\text{τελικός όγκος διαλύματος (mL)}}{\text{βάρος δείγματος (g)}}$$

2.2.9 Προσδιορισμός του ολικού αζώτου στο έδαφος (Μέθοδος «Kjeldahl»)

Ζυγίστηκαν 2 g εδάφους και μεταφέρθηκαν στη φιάλη καύσης της Kjeldahl και προστέθηκαν 20 mL πυκνού H_2SO_4 και σαλικυλικού (25 g σαλικυλικού σε 1 L πυκνού H_2SO_4). Έγινε τοποθέτηση των φιαλών στη συσκευή καύσης (Foss Tecator 2006 BD6) και έναρξη της καύσης. Προστέθηκε 1 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Με την ορατή έκλυση ατμών έγινε προσθήκη ταμπλέτας σεληνίου. Πραγματοποιήθηκε η καύση του δείγματος για περίπου 1 ώρα μέχρι το δείγμα να γίνει διαυγές (ελαφρώς πράσινο). Αφού ψύχθηκαν οι φιάλες έγινε απόσταξη στη συσκευή (UDK 132, Semiautomatic Distillation Unit, Velp Scientifica) και προσθήκη 30 mL νερού και 130 mL 8 N NaOH και τοποθετήθηκαν στη συσκευή. Σε κωνική φιάλη τοποθετήθηκαν 100 mL βορικού οξέος 20% w/v για την παραλαβή της αμμωνίας κατά την απόσταξη από τη συσκευή (UDK 132, Semiautomatic Distillation Unit, Velp Scientifica). Όταν ολοκληρώθηκε η απόσταξη έγινε προσθήκη στο δείγμα 10 – 12 σταγόνες δείκτη και πραγματοποιήθηκε τιτλοδότηση με HCl 0.05 N.

Για την παρασκευή του δείκτη χρησιμοποιήθηκαν 0,35 g bromocresol green σε 10 mL αλκοόλης σε κωνική φιάλη των 250 mL, μετά έγινε προσθήκη 10 mL NaOH 0,1 N, 22 mL 1 % poncean 4R και τέλος προστέθηκαν 0,75 g νιτροφαινόλης μετά τη διάλυσή της σε 5 mL αλκοόλης. Στη συνέχεια, συμπληρώθηκε η κωνική φιάλη μέχρι τελικού όγκου με απιονισμένο νερό. Ο υπολογισμός του ολικού αζώτου έγινε βάσει του τύπου:

$$\text{Ολικό N (\%)} = \frac{(\text{mL HCl} - 0,2) \times 0,05 \times 14 \times 100}{\text{βάρος εδαφικού δείγματος (g)} \times 1000}$$

2.3 Πείραμα 4

Το πείραμα έγινε σε εμπορικό οπωρώνα στο Γεράκι Λακωνίας. Χρησιμοποιήθηκαν 96 δένδρα, ηλικίας 4 ετών, της ποικιλίας “Wonderful”. Αρχικά, σε όλα τα πειραματικά δένδρα εφαρμόστηκε το σύνθετο λίπασμα 12 – 11 – 18 (το 12% σε ολικό N αντιστοιχούσε σε 7% αμμωνιακό και 5% νιτρικό, 11% P₂O₅ και 18% K₂O) και σε δοσολογία 700 g/δένδρο ήτοι 84 g N ανά δένδρο που αποτέλεσε και την 1^η επέμβαση (Μάρτυρας). Η εφαρμογή του σύνθετου λιπάσματος για το 2014 έγινε στις 28 Φεβρουαρίου. Στη συνέχεια εφαρμόστηκαν πρόσθετα 5 επεμβάσεις αζώτου ως εξής: 2^η επέμβαση προσθήκη 50g N/δένδρο σε μία δόση, 3^η επέμβαση 100g N/δένδρο σε μία δόση, 4^η 200g N/δένδρο σε δύο δόσεις (100 + 100), στην 5^η 300g N/δένδρο σε τρεις δόσεις (100 + 100 + 100) και στην 6^η 500g N/δένδρο σε τρεις δόσεις (200 + 200 + 100). Στις επεμβάσεις που έγινε προσθήκη N σε δόσεις με λίπασμα νιτροθειϊκής αμμωνίας τύπου 26 – 0 – 0 – 13S (το 26% σε ολικό N αντιστοιχούσε σε 18,5% αμμωνιακό και 7,5% νιτρικό), το χρονικό διάστημα εφαρμογής της κάθε δόσης από την προηγούμενη ήταν 20 ημέρες, με την πρώτη δόση να εφαρμόζεται 29/03/2014. Η 2^η δόση ήταν στις 17 Απριλίου και η 3^η δόση στις 7 Μαΐου.

Για τη μελέτη της θρεπτικής κατάστασης των δένδρων πραγματοποιήθηκαν δύο δειγματοληψίες φύλλων, η πρώτη έγινε στις 13/06/2014 και η δεύτερη στις 22/07/2014. Προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις μακροστοιχείων και ιχνοστοιχείων, όπως περιγράφονται αναλυτικά πιο κάτω. Για τη μελέτη των ποσοτικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών πραγματοποιήθηκε μία δειγματοληψία ώριμων καρπών. Στη διάρκεια του πειράματος τα φυτά δέχτηκαν όλες τις απαραίτητες καλλιεργητικές πρακτικές για τη διατήρηση της ευρωστίας και καλής υγείας των φυτών που συμμετείχαν στα πειράματα.

Στο πείραμα αυτό μελετήθηκε η επίδραση διαφόρων ποσοτήτων αζώτου α) στην θρεπτική κατάσταση των πειραματικών δένδρων β) στα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των καρπών και του χυμού και γ) στην καρποφορία της ροδιάς ποικιλίας *Wonderful*. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε περιγράφεται αναλυτικά πιο κάτω.

2.3.1 Μετρήσεις και βιοχημικές αναλύσεις στους καρπούς

Για τις παρακάτω μετρήσεις – αναλύσεις πραγματοποιήθηκε μία συλλογή καρπών από τα πειραματικά δένδρα.

Η συγκομιδή των καρπών έγινε ως ακολούθως:

Έγινε συλλογή ώριμων υγιών καρπών και αντιπροσωπευτικών της ποικιλίας. Ο προσδιορισμός της πλήρους ωρίμανσης έγινε βάσει του χρωματισμού των καρπών και των καρπιδίων, τα γευστικά χαρακτηριστικά και το δείκτη ωριμότητας όπως έχει περιγραφεί από τους Fawole and Opara (2013a) για την ποικιλία “Wonderful”. Συγκεκριμένα, αναφέρουν ότι για την ποικιλία “Wonderful” η οξύτητα πρέπει να είναι λιγότερο από 1,85% και τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά μεταξύ 15,0 – 17,0 °Brix, με τα δεδομένα αυτά να αποτελούν δείκτη ωριμότητας των συγκομιζόμενων καρπών της ποικιλίας. Όπως προαναφέρθηκε, στον πειραματικό αγρό υπήρχαν 4 σειρές, κάθε σειρά περιελάμβανε 5 επεμβάσεις αζώτου και μία με τη βασική λίπανση που αποτελούσε το μάρτυρα (συνολικά 6 επεμβάσεις). Κάθε επέμβαση/σειρά αποτελούνταν από 4 δένδρα. Από την κάθε σειρά συλλέχθηκαν 10 καρποί/δένδρο (40 καρποί/επέμβαση). Συνολικά, συλλέχθηκαν 160 καρποί/επέμβαση. Οι καρποί μετά τη συλλογή τους, ταξινομημένοι κατά επέμβαση και σειρά μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Δενδροκομίας του ΓΠΑ και τοποθετήθηκαν σε ψυγείο μέχρι να πραγματοποιηθούν οι αναγκαίες μετρήσεις και αναλύσεις.

Για την κάθε σειρά, χρησιμοποιήθηκαν οι 10 καρποί/επέμβαση για τη μέτρηση των διαστάσεων, του βάρους και των παραγόντων του χρώματος του φλοιού κάθε καρπού. Από τους 10 καρπούς/επέμβαση, επιλέχθηκαν 4 καρποί/σειρά/επέμβαση, οι οποίοι αποφλοιώθηκαν και αφαιρέθηκαν τα καρπίδια με το χέρι και ζυγίστηκε το βάρος του φλοιού κάθε καρπού. Από τους παραπάνω 4 καρπούς, ζυγίστηκαν 100 g καρπιδίων από κάθε καρπό, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για χυμοποίηση με τη χρήση εργαστηριακού μπλέντερ (Waring Commercial Lab Blender) και τον υπολογισμό της χυμοπεριεκτικότητας. Επιπλέον, από το χυμό των καρπιδίων (βάρους 100 g) προσδιορίστηκαν τα διαλυτά στερεά συστατικά, το pH και η ογκομετρούμενη οξύτητα. Ο προσδιορισμός των παραπάνω μετρήσεων γίνονταν την ίδια ημέρα με την αποφλοιώση των καρπών. Ένα μέρος του χυμού, τοποθετούνταν σε πλαστικούς σωλήνες falcon των 50 mL και διατηρούνταν στον καταψύκτη μέχρι να πραγματοποιηθεί ο προσδιορισμός του ασκορβικού οξέος και των ολικών διαλυτών σακχάρων. Ακόμη, 5 mL χυμού προσθέτονταν σε 20 mL μεθανόλης 100% σε πλαστικούς σωλήνες falcon των 50 mL και διατηρούνταν στον καταψύκτη για τη μέτρηση των ολικών φαινολικών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Για το 4^ο πείραμα πραγματοποιήθηκε μία συγκομιδή πλήρως ώριμων καρπών στις 30/9/2014 και προσδιορίστηκαν οι πιο κάτω παράμετροι:

- Βάρος
- Διαστάσεις (μήκος, διάμετρος)
- Χυμοπεριεκτικότητα
- Οι παράγοντες L^* , a^* , b^* , C^* (Chroma) και h° (hue angle) του χρώματος (στο φλοιό των καρπών)

Στο χυμό προσδιορίστηκαν τα εξής:

- Τα διαλυτά στερεά συστατικά
- Η ολική οξύτητα
- Το pH
- Η συγκέντρωση ολικών φαινολών
- Η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα
- Η συγκέντρωση ασκορβικού οξέος
- Η συγκέντρωση των σακχάρων

Οι τρόποι των μετρήσεων και αναλύσεων περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω.

2.3.2 Μέτρηση διαστάσεων καρπών

Για τη μέτρηση των διαστάσεων των καρπών χρησιμοποιήθηκε ψηφιακό παχύμετρο ακριβείας δεύτερου δεκαδικού ψηφίου σε mm (HGM, Digital Caliper 0 -150 mm). Οι διαστάσεις που μετρήθηκαν ήταν το μήκος καρπού με και χωρίς κάλυκα καθώς και η διάμετρος του καρπού.

2.3.3 Μέτρηση βάρους καρπών, φλοιών και δρυπών

Οι καρποί, οι φλοιοί και οι δρύπες ζυγίστηκαν σε ψηφιακό ζυγό ακριβείας δεύτερου δεκαδικού ψηφίου σε g (Kern 470, Kern and Sohn, GmbH, Germany).

2.3.4 Μέτρηση της χυμοπεριεκτικότητας των καρπών

100 g δρυπών ζυγίστηκαν και χυμοποιήθηκαν με μπλέντερ εργαστηρίου (Waring Commercial Lab Blender). Έπειτα πραγματοποιήθηκε φιλτράρισμα με τουλπάνι και ζυγίστηκε ο χυμός για τον υπολογισμό της χυμοπεριεκτικότητας και εκφράστηκε σε g χυμού/ 100 g καρπιδίων.

2.3.5 Μέτρηση του χρώματος φλοιού των καρπών

Η μέτρηση του χρώματος στο εξωτερικό μέρος του φλοιού έγινε με τη χρήση χρωματόμετρου (Minolta CR – 300, Japan) με τρεις αριθμητικές παραμέτρους μέτρησης του φωτός L^* , a^* , b^*

που αποτελούν καλές προσεγγίσεις των τιμών x , y , z του διεθνούς συστήματος CIE (Commission Internationale De L' Eclairage). Η παράμετρος L^* μετρά την φωτεινότητα σε μια κλίμακα από 0 (μαύρο) ως 100 (λευκό). Στον οριζόντιο άξονα, οι θετικές τιμές της a^* εκφράζουν κόκκινο χρώμα και οι αρνητικές πράσινο. Στον κατακόρυφο άξονα, οι θετικές τιμές της b^* εκφράζουν το κίτρινο χρώμα και οι αρνητικές το μπλε. Επίσης, η παράμετρος C^* (Chroma) εκφράζει τη σχέση μεταξύ της έντασης και της φωτεινότητας της απόχρωσης και η παράμετρος h° (hue angle) εκφράζει την απόχρωση του κυρίαρχου χρώματος (χρoιά) μετριέται σε μοίρες. Όταν η χρoιά είναι κόκκινη (0°), κίτρινη (90°), πράσινη (180°) και μπλε (270°). Οι τιμές των C^* και h° υπολογίζονται βάσει των τιμών των a^* και b^* με τους τύπους: $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ και $h^\circ = \tan^{-1} (b^* / a^*)$. Οι μετρήσεις του χρώματος του φλοιού πραγματοποιήθηκαν στο μέσο του καρπού και σε τρία διαφορετικά σημεία και στη συνέχεια η τελική τιμή υπολογίστηκε ως ο μέσος όρος των τριών μετρήσεων.

2.3.6 Μέτρηση της περιεκτικότητας του χυμού σε διαλυτά στερεά συστατικά

Τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά στο χυμό προσδιορίστηκαν με ψηφιακό διαθλασίμετρο (HANNA, HI96801, USA) και εκφράστηκαν σε $^\circ\text{Brix}$. Λήφθηκε μία σταγόνα χυμού και τοποθετήθηκε στο διαθλασίμετρο. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε τρεις φορές για το χυμό των ροδιών και υπολογίστηκε από το μέσο όρο των τριών ενδείξεων.

2.3.7 Μέτρηση του pH του χυμού

Το pH του χυμού προσδιορίστηκε με τη συνεχή ανάδευση 10 mL χυμού σε ποτήρι ζέσεως και λαμβάνοντας την ένδειξη του πεχαμέτρου (Consort C 5010 pH Meter).

2.3.8 Μέτρηση της ολικής ογκομετρούμενης οξύτητας

Στα 10 mL χυμού που προσδιορίστηκε αρχικά το pH, έπειτα έγινε προσδιορισμός της οξύτητας με τιτλοδότηση με διάλυμα 0,1 N NaOH μέχρι το pH να γίνει 8,1 και καταγράφηκε ο όγκος του διαλύματος NaOH που καταναλώθηκε. Η ογκομετρούμενη οξύτητα εκφράστηκε σε g κιτρικού οξέος ανά 100 mL χυμού. Υπολογίστηκε με τον παρακάτω τύπο:

$$\text{Κιτρικό οξύ (\% w/v)} = \frac{N_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}} \times \epsilon q w_{\text{κιτρικού οξέος}}}{V_{\text{δείγματος}} \times 10} \quad \text{όπου:}$$

N_{NaOH} : κανονικότητα NaOH

V_{NaOH} : ο όγκος NaOH που καταναλώθηκε σε mL

$E_{\text{FW}_{\text{κιτρικού οξέος}}}$: γραμμοϊσοδύναμα κιτρικού οξέος
(Μοριακό βάρος/ισοδύναμα ανά mole) = $(192,12/3) = 64,04$

$V_{\text{δείγματος}}$: ο χυμός που χρησιμοποιήθηκε σε mL

2.3.9 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών ενώσεων

Για τον προσδιορισμό τους προηγήθηκε η εκχύλιση των φαινολικών ουσιών στο χυμό ροδιού ως εξής:

Χρησιμοποιήθηκαν 5 mL χυμού με 20 mL μεθανόλης 100%. Από το σύνολο των 25 mL του εκχυλίσματος, ένα μέρος χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών ενώσεων και το υπόλοιπο για τον προσδιορισμό της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών ενώσεων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος όπως αυτή περιγράφεται από τους Roussos και Pontikis (2001). Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιείται το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών ενώσεων σε εκχύλισμα χυμού ροδιών με μεθανόλη. Αναλυτικά, η μέθοδος που ακολουθήθηκε έχει ως εξής: Χρησιμοποιήθηκαν 3,95 mL απεσταγμένου νερού όπου προστέθηκαν 50 μL εκχυλίσματος του κάθε δείγματος και ακολούθησε καλή ανάδευση με συσκευή vortex. Προστέθηκαν 250 μL αντιδραστηρίου Folin – Ciocalteu. Ακολούθησε ανάδευση (vortex) και προσθήκη μετά από ένα λεπτό 750 μL 20% w/v Na_2CO_3 . Τέλος, ακολούθησε ανάδευση πάλι (vortex) και τα δείγματα παρέμειναν σε ηρεμία για δύο ώρες. Η απορρόφηση μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο (Helios γ, Unicam, UK) σε μήκος κύματος 760 nm. Για την καμπύλη αναφοράς των πρότυπων διαλυμάτων παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα με συγκέντρωση ταννικού οξέος από 1000 mg/L έως 31,25 mg/L.

2.3.10 Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας

Χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι:

α) Μέθοδος DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Στη μέθοδο αυτή 50 μL εκχυλίσματος χυμού ροδιού με μεθανόλη όπως έχει περιγραφεί παραπάνω τοποθετήθηκαν σε πλαστικό σωλήνα falcon των 15 mL και προστέθηκαν 5 mL μεθανολικού διαλύματος DPPH 0,004%. Η απορρόφηση των διαλυμάτων του DPPH μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο (Helios γ, Unicam, UK) στα 517 nm μετά την πάροδο μίας ώρας ώστε η τιμή απορρόφησης να είναι σταθερή. Κατά το χρόνο επώασης τα διαλύματα παρέμειναν στο

σκοτάδι. Σύμφωνα με τους Tepe et al. (2005) λήφθηκε και η απορρόφηση μεθανολικού διαλύματος DPPH (Μάρτυρας).

β) Μέθοδος ABTS 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο ABTS ακολουθήθηκε η διαδικασία όπως έχει περιγραφεί από τους Re et al. (1999) με ελάχιστες τροποποιήσεις. Το ABTS συγκέντρωσης 7 mM τοποθετήθηκε σε μικρό φιαλίδιο (vial) και διαλύθηκε σε νερό. Έπειτα, έγινε ανάμειξη του ABTS 7 mM με 2,45 mM υπερθειικού καλίου. Μετά την ανάμειξη λαμβάνει χώρα αντίδραση και παράγεται το ριζικό κατιόν $ABTS^+$, το οποίο τοποθετείται στο σκοτάδι 12 – 16 ώρες μέχρι τη χρήση. Το $ABTS^+$ διάλυμα διαλύθηκε σε μεθανόλη μέχρι να αποκτήσει απορρόφηση $0,700 \pm 0,020$ στα 734 nm. Σε 3 mL αραιωμένου $ABTS^+$ προστέθηκαν 30 μ L εκχυλίσματος (Re et al., 1999). Ο χρόνος επώασης ήταν 6 λεπτά στο σκοτάδι μετά την αρχική ανάμειξη. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε $ABTS^+$. Η απορρόφηση μετρήθηκε στα 734 nm με φασματοφωτόμετρο (Helios γ, Unicam, UK).

Και στις δύο μεθόδους, για τον υπολογισμό των ολικών αντιοξειδωτικών τα αποτελέσματα των μετρήσεων συγκρίθηκαν με την πρότυπη καμπύλη trolox (6-υδροξυ-2,5,7,8-τετραμεθυλχρωμαν-2-καρβοξυλικό οξύ) που είναι υδατοδιαλυτό ανάλογο της βιταμίνης E και εκφράστηκαν σε μ mol ισοδύναμων trolox ανά mL καθαρού χυμού (μ mol TE/mL). Οι μετρήσεις των ολικών αντιοξειδωτικών πραγματοποιήθηκαν τρεις φορές.

2.3.11 Προσδιορισμός ασκορβικού οξέος

Ο προσδιορισμός έγινε με τη μέθοδο Bajaj και Kaur (1981). Με θέρμανση διαλύθηκαν 5% w/v μολυβδαινικού αμμωνίου σε απεσταγμένο νερό. Στη συνέχεια, διαλύθηκαν 0,05 M ένυδρου οξαλικού οξέος και 0,2 mM EDTA σε 1 L απεσταγμένου νερού με ταυτόχρονη θέρμανση. Το διάλυμα αυτό παρασκευάζονταν πριν από κάθε μέτρηση. Παρασκευάστηκε επίσης διάλυμα 5% v/v θειικού οξέος σε νερό. Στη συνέχεια έγινε παρασκευή διαλύματος που περιελάμβανε 15 g μεταφωσφορικού οξέος, 40 mL οξικού οξέος και 200 mL απεσταγμένου νερού με διαρκή ανάδευση, ακολούθησε φιλτράρισμα και μεταφορά σε ογκομετρική φιάλη των 500 mL όπου συμπληρώθηκε με απεσταγμένο νερό μέχρι του τελικού όγκου. Το παραπάνω διάλυμα διατηρούνταν στο ψυγείο μέχρι 3 ημέρες. Τέλος, παρασκευάστηκε διάλυμα L – ασκορβικού οξέος (0,1% w/v) σε διάλυμα οξαλικού οξέος και EDTA (standard).

Για την πρότυπη καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν επτά ογκομετρικές φιάλες των 25 mL. Στις έξι από αυτές προστέθηκαν 0,1 mL, 0,2 mL, 0,3 mL, 0,4 mL, 0,5 mL και 0,6 mL L –

ασκορβικού οξέος σε διάλυμα οξαλικού οξέος και EDTA (standard). Σε κάθε φιάλη προστέθηκαν ακόμη 5 mL διαλύματος 0,05 M ένυδρου οξαλικού οξέος και 0,2 mM EDTA, 0,5 mL διαλύματος μεταφωσφορικού οξέος – οξικού οξέος, 1 mL θειϊκού οξέος (5% v/v), 2 mL μολυβδαινικού αμμώνιου (5% w/v) και συμπλήρωση μέχρι τελικού όγκου με απεσταγμένο νερό. Στην έβδομη φιάλη που χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας προστέθηκαν τα διαλύματα που περιγράφονται παραπάνω εκτός του L – ασκορβικού οξέος (0,1% w/v) σε διάλυμα οξαλικού οξέος και EDTA.

Ο προσδιορισμός του ασκορβικού οξέος στο χυμό του ροδιού έγινε ως εξής: Σε 45 mL 0,05 M ένυδρου οξαλικού οξέος και 0,2 mM EDTA προστέθηκαν 5 mL χυμού ροδιού. Από το διάλυμα αυτό μεταφέρθηκαν 5 mL σε ογκομετρικές των 25 mL, 0,5 mL μεταφωσφορικού οξέος – οξικού οξέος, 1 mL θειϊκού οξέος (5% v/v) και 2 mL μολυβδαινικού αμμώνιου (5% w/v) και έγινε συμπλήρωση μέχρι του τελικού όγκου με απεσταγμένο νερό. Μετά από 15 λεπτά, μετρήθηκε η απορρόφηση στα 760 nm, τόσο στο χυμό του ροδιού όσο και στα πρότυπα διαλύματα με φασματοφωτόμετρο (Helios γ , Unicam, UK).

2.3.12 Προσδιορισμός διαλυτών σακχάρων στο χυμό ροδιού με HPLC

Για τον προσδιορισμό των σακχάρων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος σύμφωνα με τους Vemmos, (1999) και Roussos et al. (2010) στο χυμό του ροδιού χρησιμοποιήθηκαν 1 mL χυμού και προστέθηκε σε 9 mL νερού HPLC. Ακολούθησε ανάδευση σε vortex. Από το παραπάνω διάλυμα λήφθηκε 1 mL και έγινε προσθήκη 3 mL νερού HPLC. Στη συνέχεια, έγινε πάλι ανάδευση με vortex. Η τελική αραίωση που πραγματοποιήθηκε ήταν 1:40. Έγινε φιλτράρισμα με φίλτρο σύριγγας διαμέτρου πόρων 0,22 μm. Τέλος, πραγματοποιήθηκε η ανάλυση των σακχάρων με τη μέθοδο υγρής χρωματογραφίας που περιγράφεται συνοπτικά πιο κάτω. Για την ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε αντλία HPLC (Waters 510) σε στήλη Agilent Ca^{2+} , με κινητή φάση νερό HPLC στους 80 °C και ροή 0,6 ml/min. Η ανίχνευση των σακχάρων έγινε με ανιχνευτή δείκτη διάθλασης RI (HP 1047A). Η επεξεργασία των χρωματογραφημάτων έγινε μέσω ειδικού προγράμματος στον υπολογιστή (PeakSimple Chromatography Data System, SRI model 302). Για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των σακχάρων έγιναν καμπύλες αναφοράς με πρότυπες ουσίες σακχαρόζη, γλυκόζη, φρουκτόζη και μαννιτόλη σε συγκεντρώσεις (62,5 mg/L, 125 mg/L, 250 mg/L, 500 mg/L και 1000 mg/L) .

2.3.13 Προσδιορισμός της καρποφορίας (συνολικό βάρος καρπών/δένδρο)

Η συνολική καρποφορία των δένδρων εκτιμήθηκε ως εξής: Ζυγίστηκαν όλοι οι καρποί/δένδρο που συγκομίστηκαν για τις αναλύσεις των ποιοτικών χαρακτηριστικών καρπών και χυμού (Α) και προσδιορίστηκε το μέσο βάρος αυτών. Μετρήθηκε ο αριθμός των εναπομεινάντων καρπών/δένδρο και εκτιμήθηκε το συνολικό βάρος τους πολλαπλασιάζοντας με το μέσο βάρος του καρπού/δένδρο (Β). Υπολογίστηκε το άθροισμα (Α+Β)/δένδρο που ήταν το συνολικό βάρος καρπών/δένδρο.

2.4 Φυλλοδιαγνωστική

2.4.1 Δειγματοληψία φύλλων

Η σωστή δειγματοληψία αποτελεί βασική προϋπόθεση για τη λήψη ορθών αποτελεσμάτων για τη συλλογή αντιπροσωπευτικών δειγμάτων. Για τα περισσότερα φυλλοβόλα, όπως και η ροδιά κατάλληλη εποχή δειγματοληψίας είναι το καλοκαίρι, διότι οι συγκεντρώσεις των περισσότερων θρεπτικών στοιχείων είναι σχετικά σταθερές. Λήφθηκαν από το μέσο της νέας βλάστησης μη καρποφόρων βλαστών περιφερειακά 1 – 4 φύλλα/βλαστό και συνολικά έγινε συλλογή 80 – 100 ώριμων φύλλων. Από την κάθε σειρά πάρθηκε ένα δείγμα/επέμβαση/σειρά και συνολικά 4 δείγματα/επέμβαση. Τα φύλλα τοποθετήθηκαν σε πλαστικές σακούλες μέσα σε φορητό ψυγείο που περιείχε ξηρό πάγο και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο, προκειμένου να αναλυθούν.

2.4.2 Χειρισμός δειγμάτων στο εργαστήριο

Στο εργαστήριο, τοποθετήθηκαν σε ψυγείο με θερμοκρασία 2 – 4 °C για 2 – 3 ημέρες μέχρι να ξεκινήσει η διαδικασία ανάλυσής τους. Τα φύλλα πλύθηκαν με νερό βρύσης και ξεπλύθηκαν 2 φορές με απεσταγμένο νερό. Τοποθετήθηκαν σε απορροφητικό χαρτί για την απομάκρυνση του νερού. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε χάρτινες σακούλες ή γυάλινα ποτήρια ζέσεως και μεταφέρθηκαν σε κλίβανο στους 70 °C για 48 ώρες. Η πλήρης ξήρανση ελέγχεται με τη ζύγιση ορισμένων δειγμάτων σε διαδοχικές ημέρες. Το βάρος των δύο αυτών ζυγίσεων πρέπει να είναι το ίδιο. Η λειοτρίβηση έγινε με χειροκίνητο γουδί, έτσι ώστε η σκόνη που παράχθηκε να είναι λεπτή.

2.4.3 Καύση των δειγμάτων για τον προσδιορισμό των περισσότερων θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα (εκτός N και B).

Ζυγίστηκαν 0,5 g σκόνης, τοποθετήθηκαν σε χωνευτήριο πορσελάνης ή πυριτίου (κάψα) και έπειτα τοποθετήθηκαν σε κλίβανο υψηλών θερμοκρασιών. Η θερμοκρασία ανέβηκε σταδιακά μέχρι τους 550 °C, όπου τα δείγματα παρέμειναν για 4 ώρες μέχρι να γίνει πλήρης καύση της οργανικής ουσίας. Μετά την ολοκλήρωση της καύσης, σε κάθε κάψα που περιείχε την τέφρα, έγινε προσθήκη 5 mL πυκνού HNO_3 και ξεπλύθηκαν με 10 mL απεσταγμένου νερού. Τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε ογκομετρικές φιάλες των 50 mL, αφού πέρασαν από ηθμό (Whatman N°40) που ήταν τοποθετημένος σε χωνί για την απομάκρυνση τυχόν στερεών υπολειμμάτων. Τέλος, συμπληρώθηκε η ογκομετρική φιάλη με απεσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή των 50 mL. Τα διαλύματα μεταφέρθηκαν σε πλαστικά μπουκαλάκια και συντηρήθηκαν στο ψυγείο μέχρι να πραγματοποιηθεί η ανάλυση των θρεπτικών στοιχείων εκτός του αζώτου και του βορίου.

2.4.4 Προσδιορισμός Καλίου και Νατρίου στα φύλλα

Τα διαλύματα που έγινε ο προσδιορισμός καλίου και νατρίου είχαν προέλθει από τη διαδικασία της ξηρής καύσης όπως περιγράφεται παραπάνω. Ο προσδιορισμός αυτών των θρεπτικών στοιχείων έγινε με τη χρήση φλογοφωτόμετρου (PGI 2000 Flame Photometer, PG Instruments Ltd).

2.4.5 Προσδιορισμός Ca, Mg και ιχνοστοιχείων (Mn, Fe, Zn, Cu) στα φύλλα

Οι συγκεντρώσεις των θρεπτικών στοιχείων ασβεστίου και μαγνησίου καθώς και οι συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων όπως το μαγγάνιο, ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος και ο χαλκός προσδιορίστηκαν με την ατομική απορρόφηση. Τα διαλύματα είχαν προέλθει από την ξηρή καύση όπως έχει περιγραφεί η διαδικασία παραπάνω.

2.4.6 Προσδιορισμός φωσφόρου στα φύλλα

Για τον προσδιορισμό του φωσφόρου στο εκχύλισμα των φύλλων χρησιμοποιήθηκε η χρωματική μέθοδος των Murphy – Riley και περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω. Αρχικά παρασκευάστηκαν τα τρία διαλύματα ως εξής:

- Αντιδραστήριο Α που είναι διάλυμα H_2SO_4 . Για την παρασκευή του σε ογκομετρική φιάλη του 1 L τέθηκαν 55,5 mL πυκνού H_2SO_4 και προστέθηκε απεσταγμένο νερό μέχρι το ήμισυ του όγκου της φιάλης.
- Αντιδραστήριο Β που είναι υδατικό διάλυμα μολυβδαινικού αμμωνίου. Για την παρασκευή του διαλύθηκαν 4,8 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ tetra hydrate σε περίπου 100 mL θερμού απεσταγμένου νερού.
- Αντιδραστήριο Γ που είναι υδατικό διάλυμα αντιμονυλοτρυγικού καλίου. Για την παρασκευή του διαλύθηκαν σε 100 mL θερμού απεσταγμένου νερού 0,1097 g $\text{KSbOC}_4\text{H}_4\text{O}_6$.

Τα αντιδραστήρια Β και Γ προστέθηκαν στη φιάλη με το αντιδραστήριο Α και συμπληρώθηκε με απεσταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή για τη συμπλήρωση του 1 λίτρου. Το μίγμα αυτό αποτελεί το αντιδραστήριο Murphy – Riley. Είναι σταθερό και διατηρείται επ' αόριστον όταν τοποθετείται σε σκούρα φιάλη και φυλάσσεται σε θερμοκρασία 4 °C.

- Παρασκευή διαλύματος L – ασκορβικού οξέος: Διαλύθηκαν 0,4 g ασκορβικού οξέος σε 100 mL αντιδραστηρίου Murphy – Riley. Το διάλυμα αυτό δε διατηρείται επί μακρόν, παρασκευάζεται στον απαιτούμενο όγκο κάθε φορά που πραγματοποιείται η μέτρηση.

Σε ογκομετρικές φιάλες των 50 mL μεταφέρθηκε μέρος του εκχυλίσματος με τον απαιτούμενο προς προσδιορισμό P, συνήθως 2 mL. Στη συνέχεια έγινε προσθήκη 3 – 4 σταγόνες του δείκτη νιτροφαινόλης 1%. Πραγματοποιήθηκε εξουδετέρωση όξινου pH (ρύθμιση στο 7) με την προσθήκη με προχοΐδα NaOH 1 N έως ότου το χρώμα έγινε σταθερά κίτρινο. Έγινε προσθήκη 10 mL L – ασκορβικού οξέος, πραγματοποιήθηκε ανάδευση και συμπλήρωση της φιάλης μέχρι τη χαραγή. Το διάλυμα έμεινε σε ηρεμία για περίπου 20 λεπτά προκειμένου να αναπτύξει χρώμα κυανό. Τελικά πραγματοποιήθηκε η μέτρηση με φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 880 nm (Helios γ, Unicam, UK).

2.4.7 Προσδιορισμός N με τη μέθοδο Kjeldahl στα φύλλα

Διαδικασία καύσης

Ζυγίστηκαν 0,5 g σκόνης φύλλων και τοποθετήθηκαν σε ειδικές φιάλες της συσκευής καύσης. Προστέθηκαν 20 mL διαλύματος H_2SO_4 – σαλικυλικού. Το διάλυμα αυτό παρασκευάστηκε διαλύοντας 25 g σαλικυλικού σε 1 L πυκνού H_2SO_4 . Τέθηκε σε λειτουργία η συσκευή καύσης

(Foss Tecator 2006 BD6) ώστε να θερμανθεί στους 420 °C. Αφού η συσκευή καύσης διατήρησε τη θερμοκρασία στους 420 °C, προστέθηκε σε κάθε δείγμα περίπου 1 g Na₂SO₃ και μία ταμπλέτα Se και τα δείγματα τοποθέτησαν στη συσκευή καύσης (Foss Tecator 2006 BD6). Τα δείγματα παρέμειναν για μία ώρα σε κατάσταση βρασμού. Στη συνέχεια παρέμειναν για λίγο χρονικό διάστημα προκειμένου να κρυώσουν.

Διαδικασία απόσταξης

Τέθηκε σε λειτουργία η συσκευή απόσταξης (UDK 132, SemiAutomatic Distillation Unit, VELP SCIENTIFICA). Καθένα δείγμα μεταφέρθηκε και τοποθετήθηκε στην ειδική συσκευή στη μία θέση και στην άλλη θέση τοποθετήθηκε μια κωνική φιάλη που περιείχε 100 mL H₃BO₃ 2%. Στο κάθε δείγμα η συσκευή πρόσθεσε αρχικά 30 mL απεσταγμένο νερό και στη συνέχεια 100 mL NaOH 8 N που είχαμε παρασκευάσει στη φιάλη του δείγματος και ξεκίνησε η απόσταξη. Κατά τη διαδικασία παραλήφθηκε αμμωνία στη φιάλη του βορικού οξέος. Η απόσταξη διήρκεσε 4 λεπτά. Κατά την τελευταία φάση της τιτλοδότησης ακολουθείται η πιο κάτω διαδικασία:

Στη φιάλη που περιείχε βορικό οξύ με την εγκλωβισμένη αμμωνία, προστέθηκαν 10 – 12 σταγόνες δείκτη αζώτου. Αναδεύοντας, τιτλοδοτήσαμε με HCl 0,05 N μέχρι να παρατηρηθεί αλλαγή χρώματος από πράσινο με κυανό ανάλογα με την ποσότητα αζώτου που υπήρχε στο δείγμα μέχρι να πάρει πορτοκαλί χρώμα.

2.4.8 Προσδιορισμός βορίου στα φύλλα

Ζυγίστηκαν 0,5 g σκόνης σε πυρίμαχες κάψες. Τοποθετήθηκαν σε κλίβανο υψηλών θερμοκρασιών στους 500 °C για 5 ώρες. Αφού είχαν κρυώσει έγινε προσθήκη 10 mL HCl 0,1 N ανά κάψα. Έγινε ανάδευση με ράβδο και έπειτα διήθηση με ηθμό (Whatman N°40). Η διαδικασία είναι η εξής: Σε πλαστικούς σωλήνες προστέθηκαν με τη σειρά 2 mL διηθήματος – εκχυλίσματος, 4 mL ρυθμιστικού διαλύματος Α και τέλος 4 mL διαλύματος azomethine. Έγινε ανάδευση σε Vortex. Το διάλυμα παρέμεινε σε ηρεμία 30 – 45 λεπτά και μετρήθηκε η απορρόφηση σε φασματοφωτόμετρο στα 420 nm (Helios γ , Unicam, UK). Για την καμπύλη αναφοράς ακολουθήθηκε η παραπάνω διαδικασία αλλά αντί των 2 mL εκχυλίσματος από το δείγμα, προστέθηκαν 2 mL από τα standards B (0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 ppm B). Για την παρασκευή τους, διαλύθηκαν 0,114 g H₃BO₃ σε 1L 0,1 N HCl και αραιώθηκαν ανάλογα. Το ρυθμιστικό διάλυμα Α περιείχε 400 mL απεσταγμένου νερού, 250 g οξικό αμμώνιο, 15 g Na₂EDTA και 125

mL οξικό οξύ. Για την παρασκευή του διαλύματος αζομεθίνης διαλύθηκαν σε 100 mL απεσταγμένου νερού 0,45 g azomethine – H και 1 g L – ascorbic acid.

2.5 Πειραματικό σχέδιο και στατιστική ανάλυση

Το πειραματικό σχέδιο ήταν αυτό των πλήρως τυχαιοποιημένων ομάδων. Ο πειραματικός αγρός αποτελούνταν από τέσσερις σειρές. Κάθε σειρά περιείχε όλες τις επεμβάσεις N (6 επεμβάσεις). Κάθε ομάδα (επανάληψη) ήταν μια σειρά δένδρων στην οποία η κάθε επέμβαση αποτελείτο από τέσσερα δένδρα και οι επεμβάσεις πραγματοποιήθηκαν όπως έχουν περιγραφεί παραπάνω. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (one – way ANOVA). Για τη σύγκριση των μέσων όρων μεταξύ των επεμβάσεων αζώτου χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο – δοκιμή Duncan's multiple range test για επίπεδο πιθανότητας $p \leq 0,05$. Επίσης, προσδιορίστηκε ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ ορισμένων ζευγών παραμέτρων που μελετήθηκαν, προκειμένου να ελεγχθεί η ύπαρξη γραμμικής συσχέτισης μεταξύ τους, για επίπεδα πιθανότητας $p \leq 0,01$ και $p \leq 0,05$. Επίσης, πραγματοποιήθηκε Student's t-test με $p \leq 0,05$ για τη σύγκριση των μέσων όρων των συγκεντρώσεων των θρεπτικών στοιχείων μεταξύ των επεμβάσεων αζώτου για τις δύο δειγματοληψίες φύλλων που πραγματοποιήθηκαν. Συνολικά, η στατιστική επεξεργασία και ανάλυση των δεδομένων έγινε με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος SPSS.

2.6 Πείραμα 5

2.6.1 Υλικά και μέθοδοι

Το πείραμα αυτό αποτελεί ουσιαστικά επανάληψη του πειράματος 4. Επομένως, οι σκοποί του ήταν παρόμοιοι με αυτούς του 4^{ου} πειράματος. Δηλαδή η επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στην καρποφορία, στα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών και του χυμού τους καθώς και τη θρεπτική κατάσταση της ροδιάς cv. *Wonderful* από την εφαρμογή των ίδιων επεμβάσεων αζώτου όπως και στο 4^ο πείραμα. Επίσης, στο 5^ο πείραμα (2015) εφαρμόστηκε το ίδιο σύνθετο λιπάσμα 12 – 11 – 18 (το 12% σε ολικό N αντιστοιχούσε 7% σε αμμωνιακό και 5% σε νιτρικό, 11% P_2O_5 και 18% K_2O) και σε δοσολογία 700 g/δένδρο ήτοι 84 g N ανά δένδρο που αποτέλεσε και την 1^η επέμβαση (Μάρτυρας) έγινε στις 2 Μαρτίου. Στη συνέχεια εφαρμόστηκαν πρόσθετα 5 επεμβάσεις αζώτου ως εξής: 2^η επέμβαση προσθήκη 50g N/δένδρο σε μία δόση, 3^η επέμβαση 100g N/δένδρο σε μία δόση, 4^η 200g N/δένδρο σε δύο

δόσεις (100 + 100), στην 5^η 300g N/δένδρο σε τρεις δόσεις (100 + 100 + 100) και στην 6^η 500g N/δένδρο σε τρεις δόσεις (200 + 200 + 100). Η 1^η δόση εφαρμόστηκε για το 2015, στις 28 Μαρτίου. Το μεσοδιάστημα εφαρμογής των δόσεων ήταν 20 ημέρες με λίπασμα νιτροθειϊκής αμμωνίας τύπου 26 – 0 – 0 – 13S (26% ολικό N αντιστοιχούσε σε 18,5% αμμωνιακό και 7,5% νιτρικό). Η 2^η δόση ήταν στις 17 Απριλίου και η 3^η δόση στις 7 Μαΐου. Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε ώστε να χρησιμοποιηθούν τα ίδια δένδρα με την αντίστοιχη επέμβαση αζώτου που είχαν χρησιμοποιηθεί την προηγούμενη χρονιά (2014). Επίσης, τα δένδρα δέχτηκαν τις ίδιες αναγκαίες καλλιεργητικές πρακτικές για τη διατήρηση της καλής υγείας τους.

2.6.2 Δειγματοληψία φύλλων και καρπών

Στο πείραμα αυτό πραγματοποιήθηκε μία συλλογή φύλλων στις 3/8/2015 και δύο δειγματοληψίες ώριμων καρπών που έγιναν ως εξής: Οι καρποί αμέσως μετά τη συλλογή τους, μετρήθηκαν, κατηγοριοποιήθηκαν κατά επέμβαση, σειρά και δένδρο και μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Δενδροκομίας του ΓΠΑ, όπου τοποθετήθηκαν σε ψυγεία μέχρι να πραγματοποιηθούν οι αναγκαίες μετρήσεις και αναλύσεις. Για κάθε επέμβαση, χρησιμοποιήθηκαν οι 10 καρποί/δένδρο για τη μέτρηση των διαστάσεων, του βάρους και των παραγόντων του χρώματος του φλοιού κάθε καρπού. Από τους 10 καρπούς/δένδρο/επέμβαση, επιλέχθηκαν 4 καρποί/δένδρο/επέμβαση, οι οποίοι αποφλοιώθηκαν και αφαιρέθηκαν τα καρπίδια με το χέρι και ζυγίστηκε το βάρος του φλοιού κάθε καρπού.

Η 1^η συγκομιδή έλαβε χώρα στις 30/9/2015 και η 2^η στις 10/10/2015. Η συνολική καρποφορία προσδιορίστηκε από το άθροισμα των καρπών που συλλέχθηκαν κατά τις δύο συγκομιδές που πραγματοποιήθηκαν (δεν υπήρχαν εναπομείναντες καρποί στα δένδρα). Οι διαδικασίες των μετρήσεων και των αναλύσεων σε φύλλα, καρπούς και χυμό που διενεργήθηκαν ήταν παρόμοιες με αυτές του 4^{ου} πειράματος και περιγράφονται αναλυτικά παραπάνω.

2.7. Πειραματικό σχέδιο και στατιστική ανάλυση

Ακολουθήθηκαν το ίδιο πειραματικό σχέδιο και στατιστική ανάλυση με το 4^ο πείραμα.

3. Αποτελέσματα

3.1 Αποτελέσματα εδαφικής ανάλυσης

Πίνακας 11. Αποτελέσματα εδαφικής ανάλυσης εδαφικού δείγματος (0-30 cm, 30-60 cm).

Χαρακτηριστικά εδάφους	Βάθος εδάφους (0 – 30 cm)	Βάθος εδάφους (30 – 60 cm)
Αγωγιμότητα (μmhos/cm)	1672	1420
Αντίσταση (Ohms)	637	703
pH	7,65 Ελαφρά αλκαλικό	7,76 Ελαφρά αλκαλικό
N%	0,092	0,042
P (μg/g)	23,163	22,590
K (μg/g)	195	68
Na (μg/g)	66	70
Ca (μg/g)	2609,4	2104
Mg (μg/g)	140	90
I.A.K. (meq/100g εδάφους)	14,985	11,739
Οργανική ουσία %	2,886	4,641
Ανθρακικά άλατα (CaCO ₃ %)	18,766	38,95
Κοκκομετρική σύσταση	Άμμος %: 30,3 Άργιλος %: 31,0 Ιλύς %: 38,7 (CL) (Αργιλοπηλώδες Clay Loam)	Άμμος %: 17,4 Άργιλος %: 27,7 Ιλύς %: 54,9 (SiCL) (Ιλυοαργιλοπηλώδες Silty Clay Loam)

Σύμφωνα με τον πίνακα 11, τα αποτελέσματα της εδαφικής ανάλυσης του κτήματος που πραγματοποιήθηκαν τα Πειράματα 4 και 5, έδειξαν τα εξής:

(α) Για το βάθος εδάφους 0 – 30 cm, η αγωγιμότητα ήταν 1672 μmhos/cm, η αντίσταση ήταν

637 Ohms, το pH ήταν 7,65, οι συγκεντρώσεις του αζώτου, του φωσφόρου, του καλίου, του νατρίου, του ασβεστίου και του μαγνησίου ήταν 0,092%, 23,163 μg/g, 195 μg/g, 66 μg/g, 2609,4 μg/g και 140 μg/g, αντίστοιχα. Η I.A.K. ήταν 14,985 meq/100 g εδάφους, η οργανική ουσία ήταν 2,886% και τα ανθρακικά άλατα ήταν 18,766%. Αναφορικά με την κοκκομετρική σύσταση, βρέθηκαν 30,3% άμμος, 31,0% άργιλος και 38,7% ιλύς για το ίδιο βάθος εδάφους.

(β) Για το βάθος εδάφους 30 – 60 cm, η αγωγιμότητα ήταν 1420 μmhos/cm, η αντίσταση ήταν 703 Ohms, το pH ήταν 7,76, οι συγκεντρώσεις του αζώτου, του φωσφόρου, του καλίου, του νατρίου, του ασβεστίου και του μαγνησίου ήταν 0,042%, 22,590 μg/g, 68 μg/g, 70 μg/g, 2104 μg/g και 90 μg/g, αντίστοιχα. Η I.A.K. ήταν 11,739 meq/100 g εδάφους, η οργανική ουσία ήταν 4,641% , τα ανθρακικά άλατα ήταν 38,95% και τέλος, βρέθηκαν 17,4% άμμος, 27,7% άργιλος και 54,9% ιλύς.

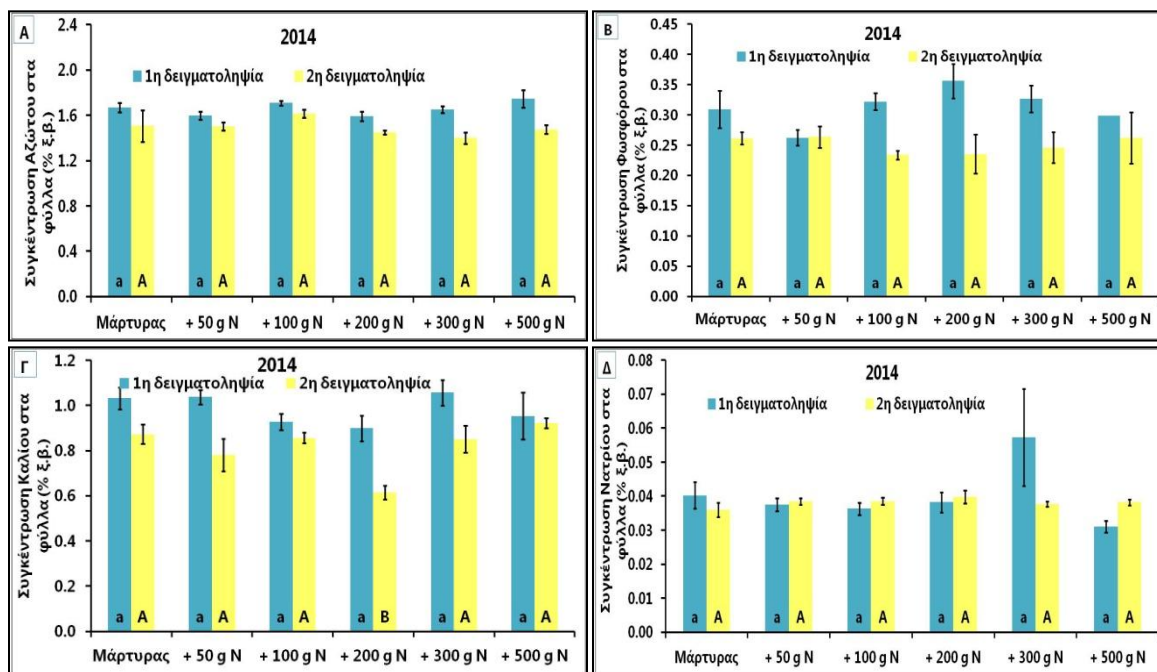
Πείραμα 4

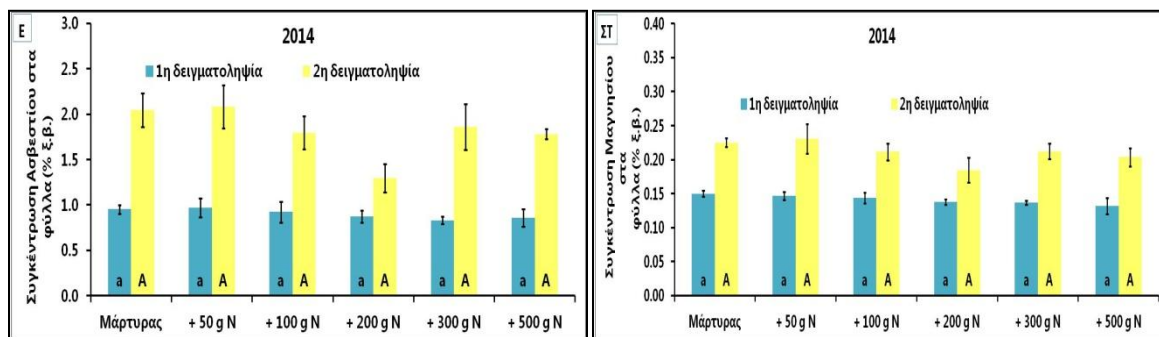
3.2 Συγκεντρώσεις μακροστοιχείων στα φύλλα (έτος 2014)

Οι συγκεντρώσεις του αζώτου στην πρώτη δειγματοληψία φύλλων ήταν υψηλότερες συγκριτικά με τις συγκεντρώσεις της δεύτερης δειγματοληψίας. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων αζώτου σε καμία από τις δύο δειγματοληψίες φύλλων (Διάγραμμα 7Α). Οι συγκεντρώσεις του φωσφόρου στα φύλλα στην πρώτη δειγματοληψία ήταν υψηλότερες συγκριτικά με τις συγκεντρώσεις στα φύλλα της δεύτερης δειγματοληψίας. Όπως και στη περίπτωση του αζώτου, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση του φωσφόρου στα φύλλα όσο αυξάνονταν οι χορηγούμενες ποσότητες του αζώτου (Διάγραμμα 7Β). Η συγκέντρωση του καλίου στα φύλλα ήταν στατιστικώς σημαντικά μικρότερη σε σύγκριση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις μόνο στη δεύτερη δειγματοληψία και στην επέμβαση των +200 g αζώτου. Πρόσθετα, οι συγκεντρώσεις καλίου στην πρώτη δειγματοληψία για τις επεμβάσεις με +100 g και +200 g αζώτου ήταν μικρότερες συγκριτικά με τις υπόλοιπες επεμβάσεις αζώτου και τον μάρτυρα, χωρίς όμως οι διαφορές να είναι στατιστικά σημαντικές (Διάγραμμα 7Γ). Όπως και στα προηγούμενα στοιχεία, οι συγκεντρώσεις του καλίου στη δεύτερη δειγματοληψία ήταν χαμηλότερες από της πρώτης για όλες τις επεμβάσεις αζώτου.

Οι συγκεντρώσεις του νατρίου στην πρώτη και τη δεύτερη δειγματοληψία φύλλων δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά για όλες τις επεμβάσεις (Διάγραμμα 7Δ). Στην πρώτη δειγματοληψία φύλλων, καταγράφηκε η υψηλότερη συγκέντρωση νατρίου στην επέμβαση των +300 g αζώτου. Στη 2^η δειγματοληψία φύλλων, οι συγκεντρώσεις του νατρίου παρέμειναν ουσιαστικά αμετάβλητες.

Οι συγκεντρώσεις ασβεστίου και μαγνησίου δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ των επεμβάσεων σε καμία από τις δύο δειγματοληψίες. Αντίθετα, όμως, από τα τρία κύρια θρεπτικά στοιχεία (N, P, K), οι συγκεντρώσεις των ασβεστίου και μαγνησίου αυξήθηκαν σημαντικά στη δεύτερη δειγματοληψία φύλλων για όλες τις επεμβάσεις (Διαγράμματα 7Ε και 7ΣΤ).



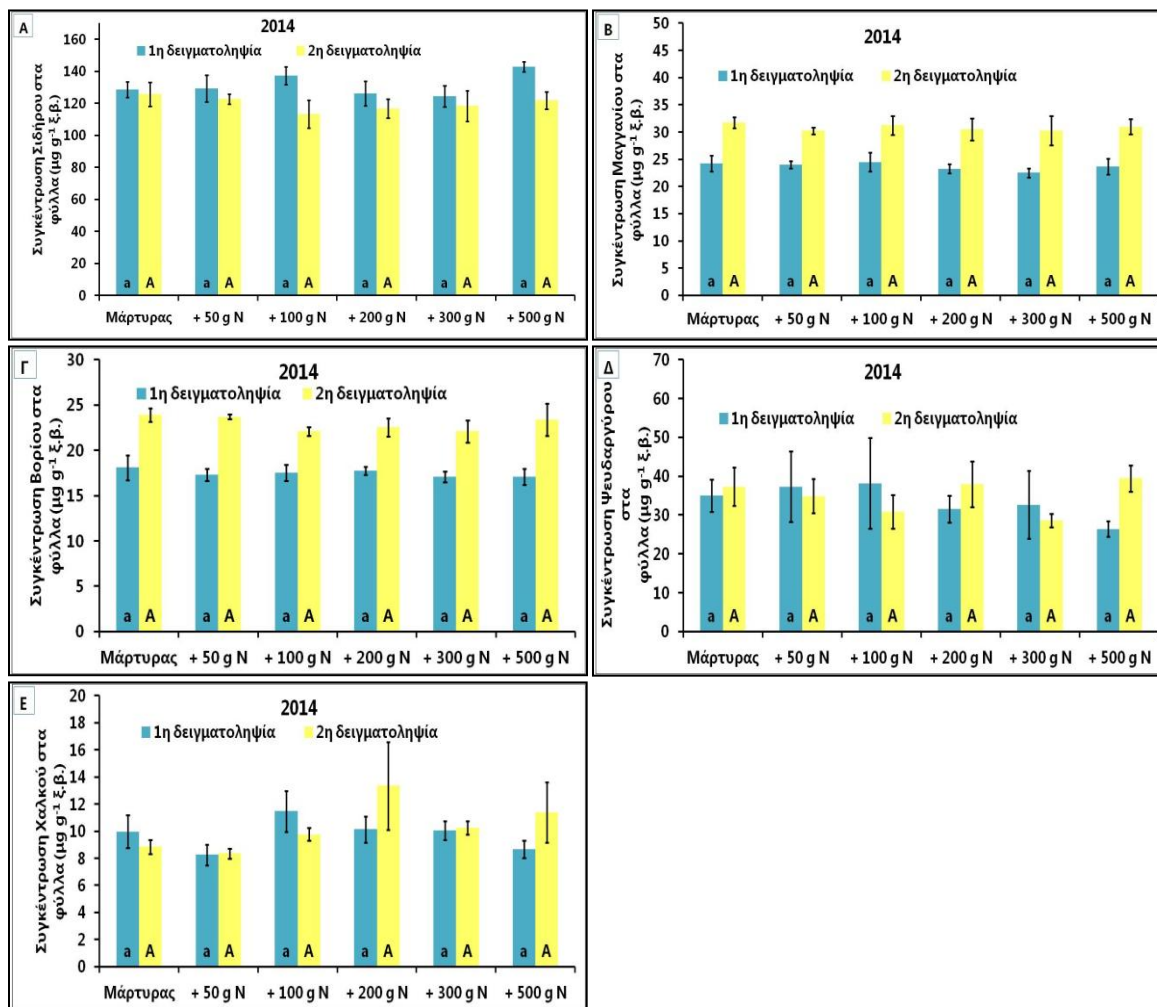


Διάγραμμα 7. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στις συγκεντρώσεις των στοιχείων N (A), P (B), K (Γ), Na (Δ), Ca (E) και Mg (ΣΤ) στα φύλλα της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” κατά τις δύο δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν (13/06/2014 και 22/07/2014). Για κάθε ανόργανο στοιχείο και δειγματοληψία, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).

3.3 Συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων στα φύλλα (έτος 2014)

Οι συγκεντρώσεις σιδήρου στην πρώτη δειγματοληψία φύλλων ήταν συγκριτικά υψηλότερες με τις αντίστοιχες της δεύτερης δειγματοληψίας φύλλων χωρίς να παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων επεμβάσεων του αζώτου (Διάγραμμα 8Α). Οι συγκεντρώσεις, όμως, του σιδήρου στην πρώτη συλλογή φύλλων ήταν σχετικά υψηλότερες στις επεμβάσεις των +100 g και +500 g αζώτου, ενώ στη δεύτερη συλλογή φύλλων σημειώθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στον μάρτυρα και στις επεμβάσεις των +50 g και +500 g αζώτου. Αντίθετα με το σίδηρο, οι συγκεντρώσεις μαγνησίου ήταν υψηλότερες στη δεύτερη συλλογή φύλλων από τις αντίστοιχες της πρώτης συλλογής φύλλων (Διάγραμμα 8Β). Οι συγκεντρώσεις του μαγνησίου στην πρώτη αλλά και στη δεύτερη δειγματοληψία δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των επεμβάσεων. Παρόμοια αποτελέσματα με αυτά του μαγνησίου βρέθηκαν και για τις συγκεντρώσεις βορίου που ήταν υψηλότερες στη δεύτερη δειγματοληψία και δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των επεμβάσεων (Διάγραμμα 8Γ). Οι συγκεντρώσεις του ψευδαργύρου και για τις δύο δειγματοληψίες φύλλων δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ των δύο δειγματοληψιών φύλλων, για την ίδια επέμβαση αζώτου (Διάγραμμα 8Δ). Στην πρώτη δειγματοληψία φύλλων, οι συγκεντρώσεις ψευδαργύρου ήταν υψηλότερες στις επεμβάσεις με +50 g και +100 g αζώτου, ενώ στη δεύτερη δειγματοληψία ήταν υψηλότερες συγκεντρώσεις στις επεμβάσεις με +200 g και +500 g αζώτο χωρίς όμως οι διαφορές να είναι στατιστικά σημαντικές ούτε μεταξύ όλων των επεμβάσεων. Παρόμοια και οι συγκεντρώσεις του

χαλκού δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των επεμβάσεων και για τις δύο δειγματοληψίες φύλλων (Διάγραμμα 8Ε). Στην πρώτη δειγματοληψία φύλλων, η συγκέντρωση του χαλκού ήταν υψηλότερη στην επέμβαση με +100 g αζώτου, ενώ στη δεύτερη δειγματοληψία ήταν υψηλότερες οι συγκεντρώσεις στις επεμβάσεις των +200 g και +500 g αζώτου.



Διάγραμμα 8. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του Ν στις συγκεντρώσεις των στοιχείων Fe (Α), Mn (Β), B (Γ), Zn (Δ) και Cu (Ε) στα φύλλα της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” κατά τις δύο δειγματοληψίες (13/06/2014 και 22/07/2014). Για κάθε ανόργανο στοιχείο και δειγματοληψία, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).

Σύγκριση των τιμών των θρεπτικών στοιχείων στις δύο ημερομηνίες συλλογής το 2014 ανεξάρτητα από την επέμβαση

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης παρουσιάζονται στον πίνακα 12.

Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις των περισσότερων θρεπτικών στοιχείων (N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn και B) μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} δειγματοληψίας φύλλων και μόνο σε τρία στοιχεία (Na, Zn και Cu) δεν υπήρξε σημαντική διαφορά. Συγκεκριμένα τα θρεπτικά στοιχεία N, P, K, Fe και Mn παρουσίασαν σημαντικά μικρότερες τιμές στη 2^η συλλογή φύλλων ενώ τα στοιχεία Ca, Mg και B παρουσίασαν υψηλότερες τιμές.

Πίνακας 12. Στατιστική ανάλυση σύγκρισης των συγκεντρώσεων των θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα της ποικιλίας ροδιάς *Wonderful* κατά τις δύο δειγματοληψίες (13/6/2014 και 22/7/2014) (αποτελέσματα 2014).

	Δειγματοληψίες φύλλων, το έτος 2014	
	Means±SE	
Συγκεντρώσεις θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα	1 ^η	2 ^η
N%	1,66±0,023a	1,49±0,023b
P%	0,31±0,01a	0,25±0,01b
K%	0,98±0,026a	0,82±0,026b
Na%	0,04±0,02a	0,04±0,02a
Ca%	0,9±0,065b	1,81±0,065a
Mg%	0,141±0,005b	0,211±0,005a
Fe µg/g	131,63±2,675a	119,74±2,675b
Mn µg/g	23,58±0,551a	20,83±0,551b
B µg/g	17,49±0,364b	22,95±0,364a
Zn µg/g	33,52±2,333a	34,83±2,333a
Cu µg/g	9,76±0,572a	10,33±0,572a

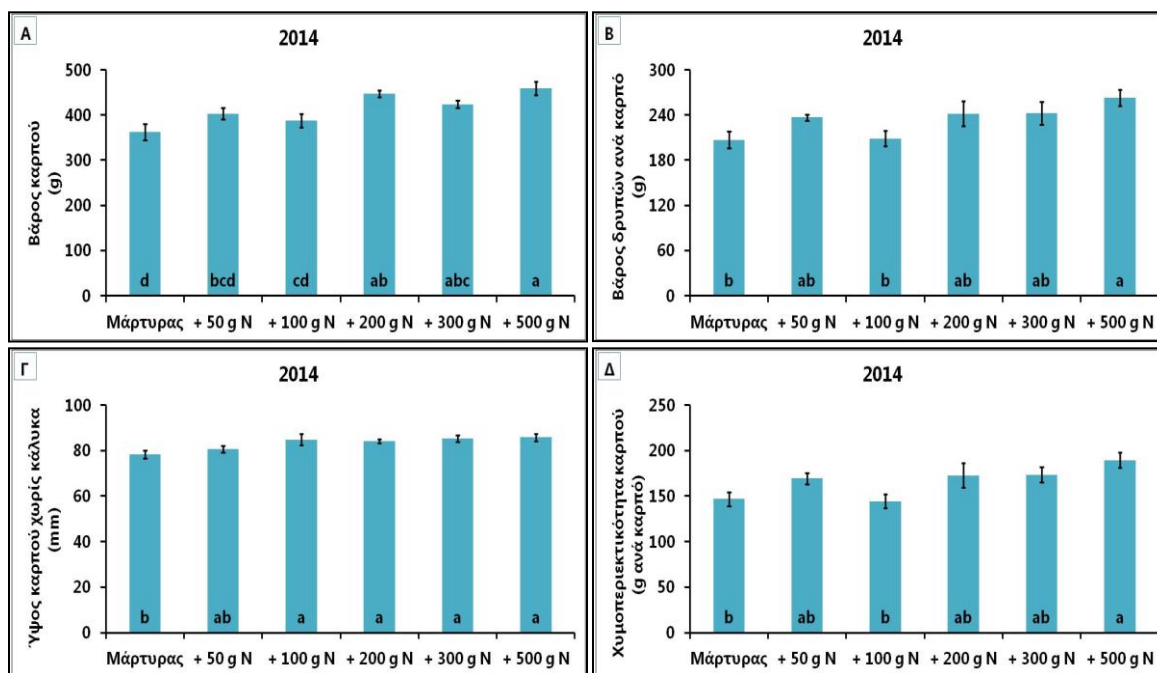
Σημείωση: Για κάθε ανόργανο στοιχείο και δειγματοληψία, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Student's t-test, $p \leq 0,05$).

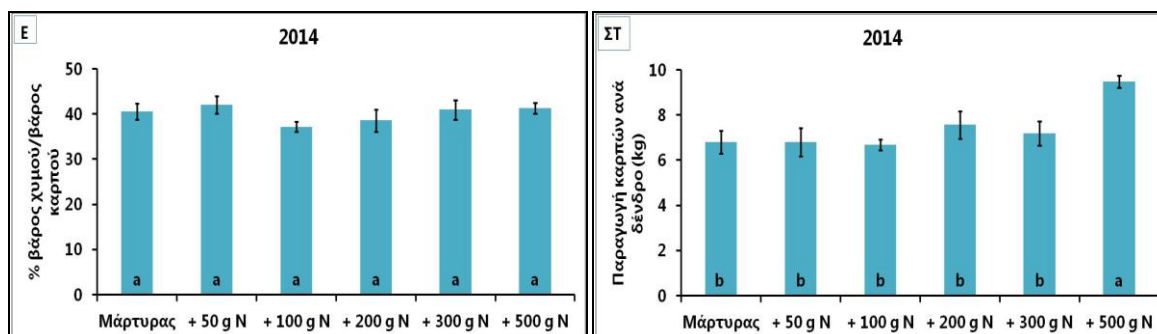
3.4 Χαρακτηριστικά καρπών

Το βάρος των ώριμων καρπών διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των επεμβάσεων (Διάγραμμα 9Α). Η υψηλότερη δόση αζώτου (+500 g) παρουσίασε την υψηλότερη μέση τιμή

βάρους καρπού (459 g), που ήταν, μάλιστα, σημαντικά υψηλότερη από τις επεμβάσεις του μάρτυρα, +50 g N και +100 g N. Παρόμοια, το βάρος των καρπιδίων (δρυπών) ανά καρπό ήταν σημαντικά υψηλότερο στην επέμβαση +500 g N συγκριτικά με τον μάρτυρα και την επέμβαση +100 g N (Διάγραμμα 9B).

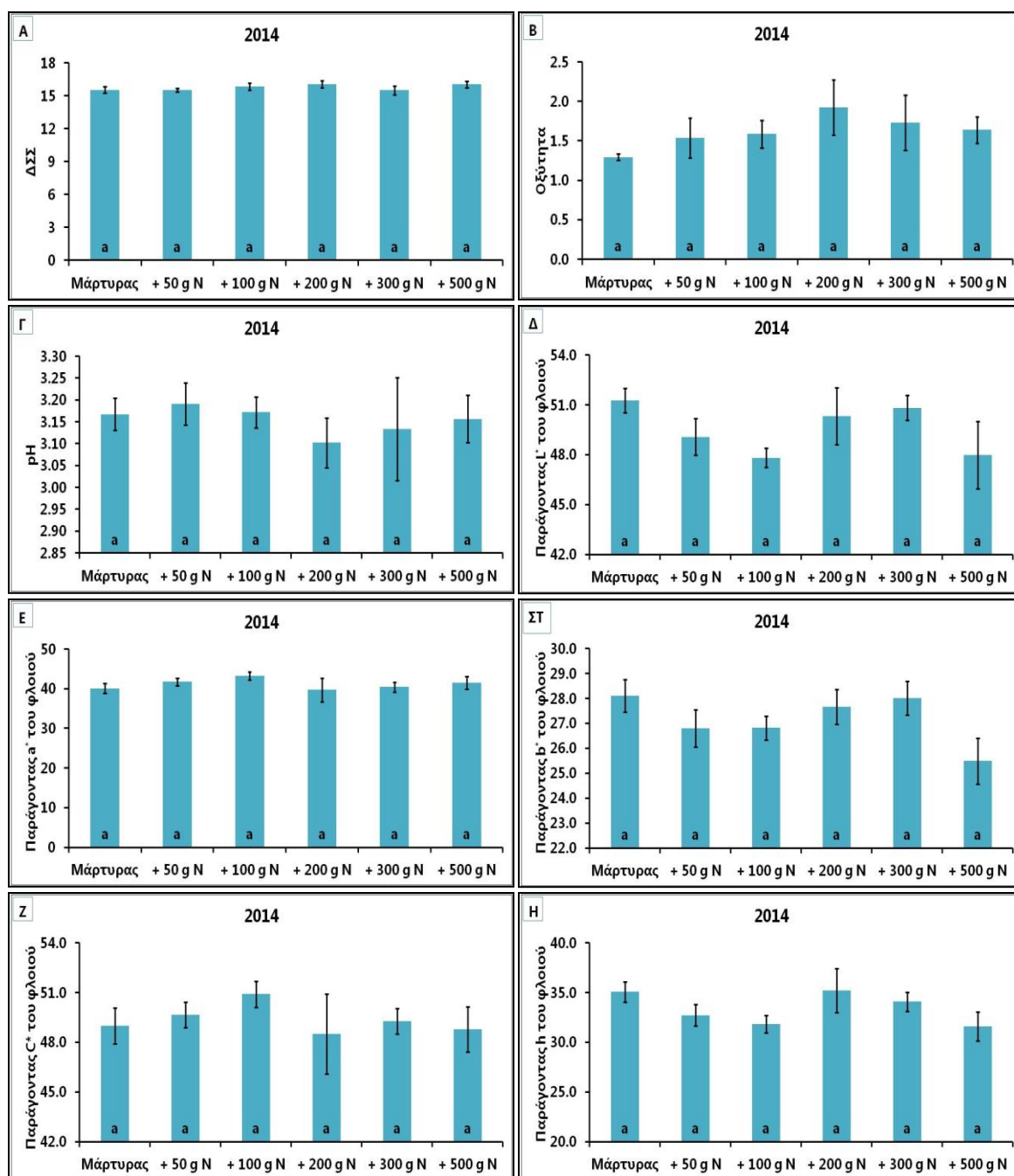
Το μήκος καρπού χωρίς τον κάλυκα ήταν σημαντικά μικρότερο στον μάρτυρα συγκριτικά με τις περισσότερες επεμβάσεις αζώτου (+100 g N έως +500 g N), χωρίς να έχουν καταγραφεί σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων αζώτου (Διάγραμμα 9Γ). Το διάγραμμα 9Δ δείχνει ότι η επέμβαση +500 g N είχε την υψηλότερη χυμοπεριεκτικότητα του καρπού (βάρος χυμού/καρπό) και σημαντικά διαφορετική από τον μάρτυρα και την επέμβαση +100 g N, αλλά ήταν παρόμοια με τις υπόλοιπες επεμβάσεις του αζώτου. Αντίθετα, οι επεμβάσεις αζώτου δεν επηρέασαν την % βάρος χυμοπεριεκτικότητα του καρπού (Διάγραμμα 9Ε). Το ολικό βάρος καρπών/δένδρο ήταν σημαντικά υψηλότερο στην υψηλότερη επέμβαση αζώτου +500 g N σε σχέση με τις άλλες επεμβάσεις (Διάγραμμα 9ΣΤ).





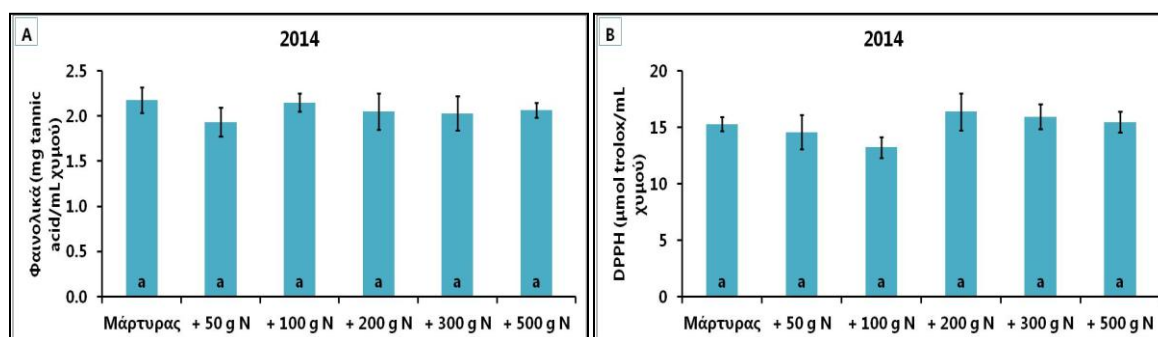
Διάγραμμα 9. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του Ν στο βάρος καρπού (Α), στο βάρος δρυπών ανά καρπό (Β), στο μήκος του καρπού χωρίς τον κάλυκα (Γ), στην ποσότητα χυμού ανά καρπό (Δ), στη χυμοπεριεκτικότητα (Ε) και στην παραγωγικότητα των δένδρων (ΣΤ) της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” (αποτελέσματα 2014). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).

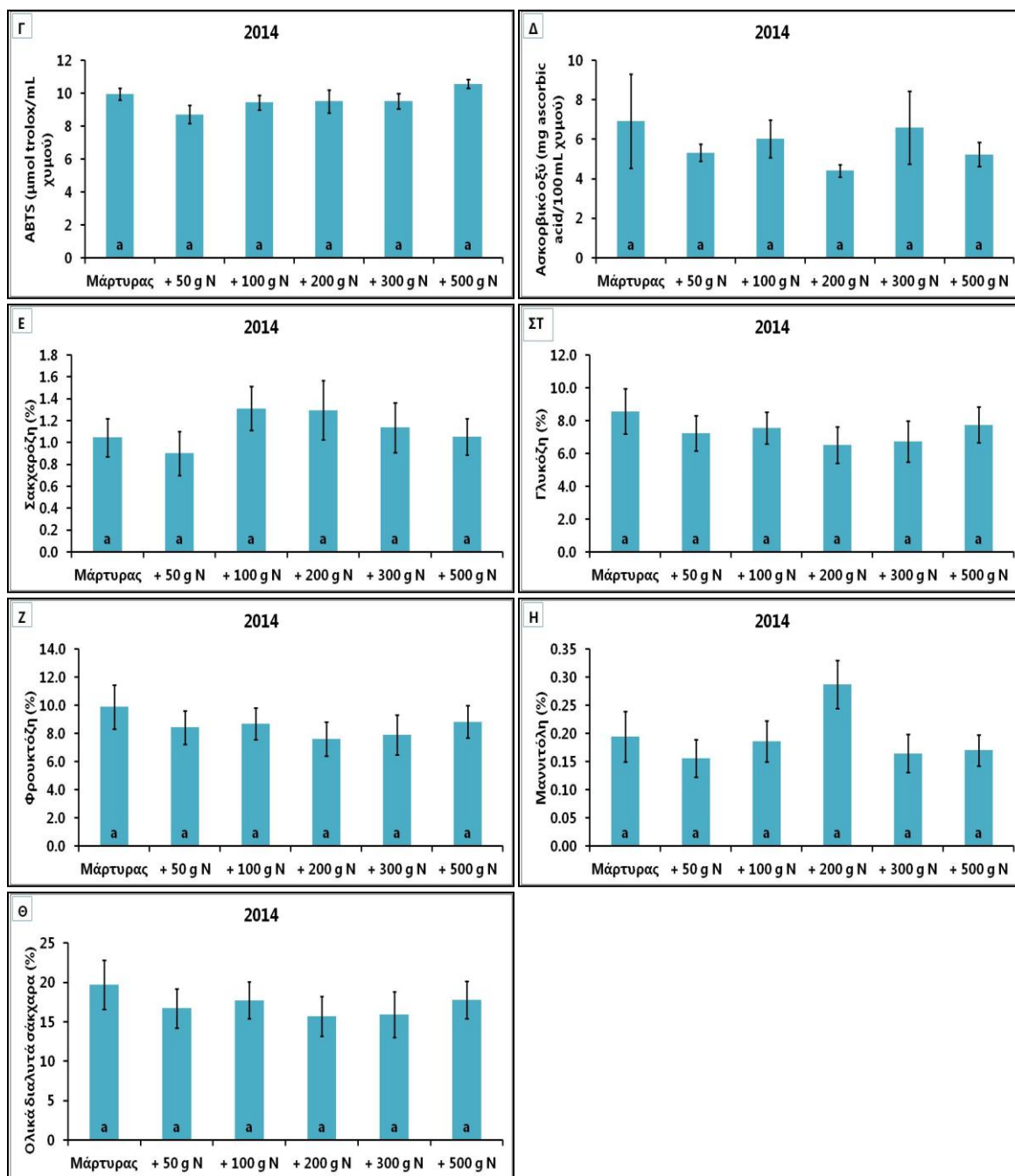
Τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά και η ογκομετρούμενη οξύτητα (Διαγράμματα 10Α και 10Β) δεν επηρεάστηκαν από τις διαφορετικές δόσεις αζώτου. Οι τιμές για τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά κυμάνθηκαν από 15,5 – 16 °Brix και η ολική οξύτητα κυμάνθηκε από 1,3 – 2,0 g κιτρικού οξέος/100 mL χυμού. Η επέμβαση +200 g N είχε υψηλότερη οξύτητα συγκριτικά με τις υπόλοιπες επεμβάσεις του αζώτου. Επίσης, για τις διάφορες δόσεις αζώτου δεν επηρεάστηκε το pH του χυμού (Διάγραμμα 10Γ), με τη μικρότερη τιμή (3,1) να σημειώνεται στην επέμβαση +200 g N. Οι τιμές του pH ήταν αντιστρόφως ανάλογες της οξύτητας. Παρόμοια με την οξύτητα, τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά και το pH, οι παράγοντες χρώματος του φλοιού L^* , a^* , b^* , C^* και h δεν επηρεάστηκαν από τις διαφορετικές επεμβάσεις με άζωτο που πραγματοποιήθηκαν (Διαγράμματα 10Δ – 10Η) και κυμάνθηκαν από 47,8 – 51,3, 39,7 – 43,2, 25,5 – 28,1, 48,5 – 50,9 και 31,6 – 35,2, αντίστοιχα. Ο παράγοντας όμως L^* του φλοιού είχε σχετικά μικρότερες τιμές στις επεμβάσεις +100 g N και +500 g N. Οι παράγοντες a^* και C^* του φλοιού παρουσίασαν λίγο υψηλότερη τιμή στην επέμβαση +100 g N, ενώ στις υπόλοιπες επεμβάσεις του αζώτου οι τιμές ήταν σχεδόν παρόμοιες, ενώ οι παράγοντες b^* και h του φλοιού παρουσίασαν υψηλότερες τιμές στο μάρτυρα και τις επεμβάσεις +200 g N και +300 g N. Επίσης, βρέθηκε στην υψηλότερη δόση αζώτου +500 g N η χαμηλότερη σχετικά τιμή στον παράγοντα b^* .



Διάγραμμα 10. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά του χυμού (Α), στην ογκομετρούμενη οξύτητα του χυμού (Β), στο pH του χυμού (Γ) και στους παράγοντες χρώματος L* (Δ), a* (Ε), b* (ΣΤ), C* (Ζ) και h (Η) του φλοιού καρπών της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” (αποτελέσματα 2014). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).

Στα ολικά φαινολικά (1,94 – 2,18 mg ταννικού οξέος/mL χυμού), αν και δεν βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων, η χαμηλότερη τιμή παρατηρήθηκε στην επέμβαση +50 g N (Διάγραμμα 11Α). Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα προσδιορίστηκε με δύο μεθόδους, την DPPH και την ABTS (Διαγράμματα 11Β και 11Γ). Σε καμία από τις δύο μεθόδους δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων. Οι τιμές κυμάνθηκαν από 13,23 – 16,39 $\mu\text{mol trolox/mL}$ χυμού και 8,71 – 10,57 $\mu\text{mol trolox/mL}$ χυμού, αντίστοιχα, για τις προαναφερόμενες δύο μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν. Υψηλότερες σχετικά συγκεντρώσεις ασκορβικού οξέος (Διάγραμμα 11Δ) βρέθηκαν στο μάρτυρα και στις επεμβάσεις +100 g N και +300 g N, χωρίς ωστόσο να διαφέρουν σημαντικά από τις υπόλοιπες επεμβάσεις του αζώτου. Γενικότερα, οι τιμές κυμάνθηκαν από 4,41 – 6,93 mg ασκορβικού οξέος/100 mL χυμού. Οι συγκεντρώσεις των μεμονωμένων μετακινούμενων (σακχαρόζης και μαννιτόλης) καθώς και των μη μετακινούμενων (γλυκόζη και φρουκτόζη) σακχάρων δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές για τις διάφορες επεμβάσεις αζώτου. Η συγκέντρωση της σακχαρόζης βρέθηκε υψηλότερη στις επεμβάσεις +100 g N και + 200 g N και η τιμή της κυμάνθηκε από 0,9 – 1,31% (Διάγραμμα 11Ε). Η γλυκόζη και η φρουκτόζη (Διαγράμματα 11ΣΤ και 11Ζ) είχαν επίσης παρόμοια συμπεριφορά, με τις υψηλότερες τιμές να παρατηρούνται στον μάρτυρα και στην επέμβαση +500 g N, με τις τιμές τους να κυμαίνονται από 6,52 – 8,57% και 7,61 – 9,89%, αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις της μαννιτόλης κυμάνθηκαν μεταξύ 0,16 και 0,29%, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων (Διάγραμμα 11Η). Τέλος, στον μάρτυρα και στις επεμβάσεις +100 g N και +500 g N, τα ολικά διαλυτά σάκχαρα (15,7 – 19,7%) ήταν αυξημένα σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις χωρίς, όμως, οι διαφορές να είναι στατιστικά σημαντικές μεταξύ των χειρισμών του αζώτου (Διάγραμμα 11Θ).





Διάγραμμα 11. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στα φαινολικά του χυμού(Α), στην αντιοξειδωτική ικανότητα του χυμού (μέθοδος DPPH) (Β), στην αντιοξειδωτική ικανότητα του χυμού (μέθοδος ABTS) (Γ), στη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος του χυμού (Δ), στη συγκέντρωση της σακχαρόζης του χυμού (Ε), στη συγκέντρωση της γλυκόζης του χυμού (ΣΤ), στη συγκέντρωση της φρουκτόζης του χυμού (Ζ), στη συγκέντρωση μαννιτόλης του χυμού (Η) και στη συγκέντρωση των ολικών σακχάρων του χυμού (Θ) της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” (αποτελέσματα 2014). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).

3.5 Αποτελέσματα συσχετίσεων μεταξύ των διαφόρων παραμέτρων το 2014

Ανεξάρτητα των εφαρμοζόμενων δόσεων αζώτου, βρέθηκε ότι: α) Δεν βρέθηκαν σημαντικές γραμμικές συσχετίσεις μεταξύ των συγκεντρώσεων του αζώτου στα φύλλα και αυτών των λοιπών ανόργανων στοιχείων, ανεξάρτητα από το χρόνο δειγματοληψίας των φύλλων, β) Το βάρος του καρπού παρουσίασε θετική σημαντική συσχέτιση με το βάρος του φλοιού ($r=0,753^{**}$), τη διάμετρο ($r=0,735^{**}$), το ύψος του καρπού χωρίς κάλυκα ($r=0,901^{**}$) και με το ύψος του καρπού με κάλυκα ($r=0,883^{**}$) (Πίνακας 13), γ) Η σακχαρόζη παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη γλυκόζη ($r=0,671^{**}$), τη φρουκτόζη ($r=0,679^{**}$) και τα ολικά διαλυτά σάκχαρα ($r=0,721^{**}$) (Πίνακας 14), δ) Το pH εμφάνισε θετική συσχέτιση με το λόγο ΔΣΣ/ΟΞΕΑ ($r=0,795^{**}$), ενώ εμφάνισε αρνητική συσχέτιση με την ογκομετρούμενη οξύτητα ($r=-0,793^{**}$) (Πίνακας 15), ε) Η χυμοπεριεκτικότητα (g χυμού/καρπό) παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσότητα καρπών ανά δένδρο (kg καρπών/δένδρο) ($r=0,578^{*}$) και με την ποσότητα χυμού ανά δένδρο (kg χυμού/δένδρο) ($r=0,755^{**}$) (Πίνακας 16), και στ) Τα ολικά φαινολικά παρουσίασαν θετική συσχέτιση με την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα και με τις δυο μεθόδους προσδιορισμού τους, τη DPPH ($r=0,572^{**}$) και τη ABTS ($r=0,597^{**}$) (Πίνακας 17).

Πίνακας 13. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ του βάρους και άλλων παραμέτρων του καρπού αυτού, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2014).

	Βάρος καρπού	Βάρος φλοιού	Διάμετρος	Ύψος καρπού χωρίς κάλυκα	Ύψος καρπού με κάλυκα
Βάρος καρπού	1	0,753**	0,735**	0,901**	0,883**
Βάρος φλοιού	0,753**	1	0,735**	0,719**	0,768**
Διάμετρος	0,927**	0,735**	1	0,838**	0,862**
Ύψος καρπού χωρίς κάλυκα	0,901**	0,719**	0,838**	1	0,904**
Ύψος καρπού με κάλυκα	0,883**	0,768**	0,862**	0,904**	1

n=96, συμπεριλήφθηκαν όλα τα φυτά (4 σειρές με 6 επεμβάσεις και κάθε επέμβαση αποτελείται από 4 δένδρα), με * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

Πίνακας 14. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της σακχαρόζης και των άλλων σακχάρων του χυμού των ροδιών, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2014).

	Σακχαρόζη	Γλυκόζη	Φρουκτόζη	Ολικά διαλυτά σάκχαρα
Σακχαρόζη	1	0,671**	0,679**	0,721**
Γλυκόζη	0,671**	1	0,998**	0,997**
Φρουκτόζη	0,679**	0,998**	1	0,998**
Ολικά διαλυτά σάκχαρα	0,721**	0,997*	0,998**	1

n=96, συμπεριλήφθηκαν όλα τα φυτά (4 σειρές με 6 επεμβάσεις και κάθε επέμβαση αποτελείται από 4 δένδρα), με * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

Πίνακας 15. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ του pH του χυμού και των άλλων παραμέτρων του χυμού, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2014).

	pH	Ογκομετρούμενη οξύτητα	ΔΣΣ/ΟΞΕΑ
pH	1	-0,793**	0,795**
Ογκομετρούμενη οξύτητα	-0,793**	1	-0,966**
ΔΣΣ/ΟΞΕΑ	0,795**	-0,966**	1

n=96, συμπεριλήφθηκαν όλα τα φυτά (4 σειρές με 6 επεμβάσεις και κάθε επέμβαση αποτελείται από 4 δένδρα), με * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

Πίνακας 16. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της ποσότητας χυμού ανά καρπό και της ποσότητας καρπών και χυμού ανά δένδρο, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2014).

	Χυμοπεριεκτικότητα (g χυμού/ καρπό)	kg καρπών/ δένδρο	Kg χυμού/ δένδρο
Χυμοπεριεκτικότητα (g χυμού/ καρπό)	1	0,578*	0,755**
kg καρπών/ δένδρο	0,578*	1	0,901**
Kg χυμού/ δένδρο	0,755**	0,901**	1

n=96, συμπεριλήφθηκαν όλα τα φυτά (4 σειρές με 6 επεμβάσεις και κάθε επέμβαση αποτελείται από 4 δένδρα), με *p≤0,05, **p≤0,01, ***p≤0,001.

Πίνακας 17. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ των φαινολικών και των δύο μεθόδων ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2014).

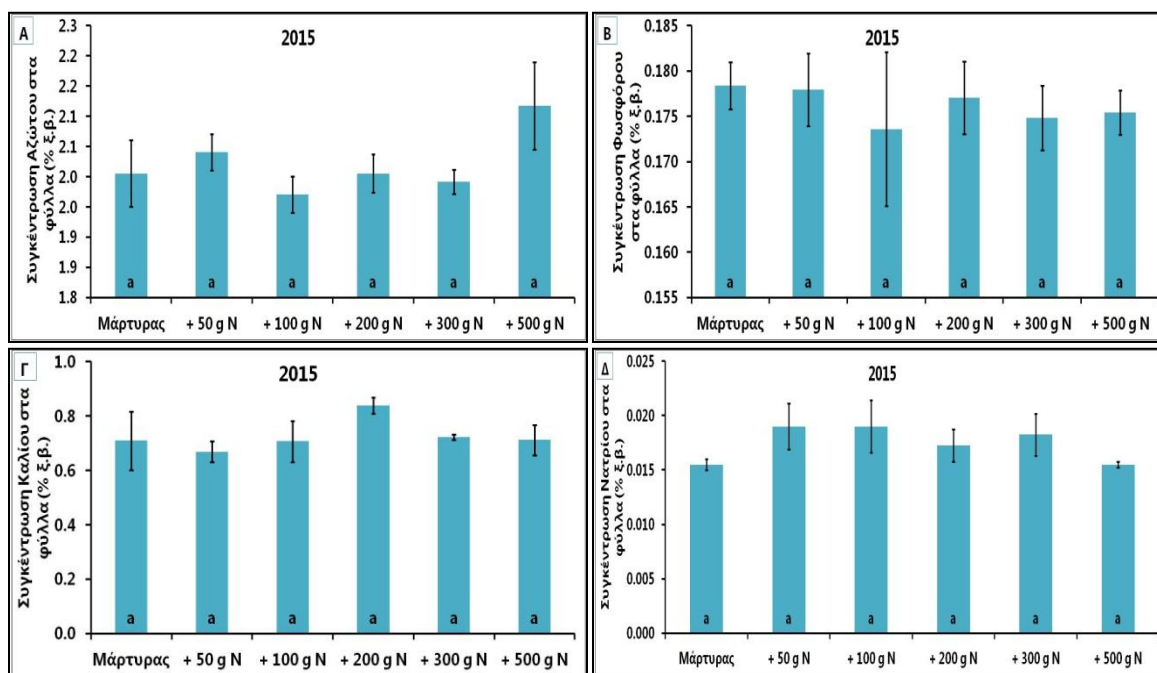
	Ολικά φαινολικά	Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (μέθοδος DPPH)	Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (μέθοδος ABTS)
Ολικά φαινολικά	1	0,572**	0,597**
Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (μέθοδος DPPH)	0,572**	1	0,611**
Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (μέθοδος ABTS)	0,597**	0,611**	1

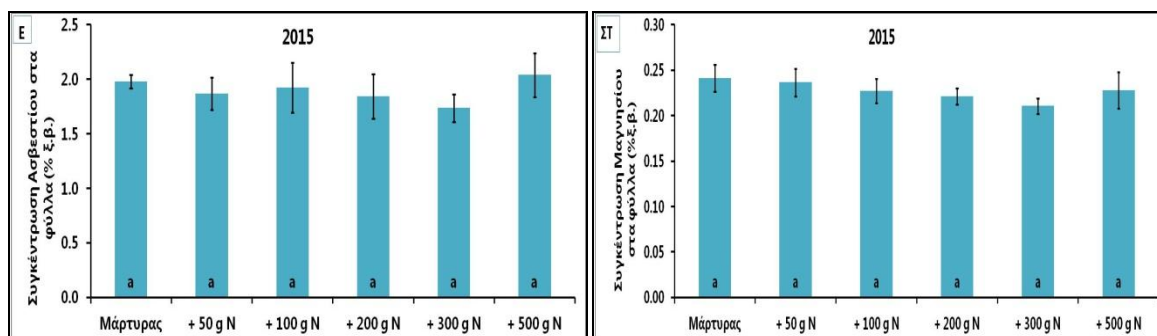
n=96, συμπεριλήφθηκαν όλα τα φυτά (4 σειρές με 6 επεμβάσεις και κάθε επέμβαση αποτελείται από 4 δένδρα), με *p≤0,05, **p≤0,01, ***p≤0,001.

3.6 Πείραμα 5

3.6.1 Συγκεντρώσεις μακροστοιχείων στα φύλλα (έτος 2015)

Στις συγκεντρώσεις όλων των μακροστοιχείων στα φύλλα δεν βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων επεμβάσεων αζώτου και του μάρτυρα (Διαγράμματα 12Α-12ΣΤ). Οι συγκεντρώσεις του αζώτου στα φύλλα ήταν υψηλότερες στις εφαρμογές των +50 g και +500 g άζωτο (Διάγραμμα 6Α). Η μικρότερη συγκέντρωση φωσφόρου στα φύλλα παρατηρήθηκε στην επέμβαση με τα +100 g άζωτο (Διάγραμμα 12Β). Στο κάλιο, βρέθηκε υψηλότερη συγκέντρωση στα φύλλα στην επέμβαση +200 g αζώτου (Διάγραμμα 12Γ). Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις νατρίου σημειώθηκαν στις επεμβάσεις με +50 g , +100 g και +300 g άζωτο (Διάγραμμα 12Δ). Παρόμοιες, ήταν οι συγκεντρώσεις του ασβεστίου και του μαγνησίου στα φύλλα (Διαγράμματα 12Ε και 12ΣΤ) για όλες τις επεμβάσεις αζώτου και τον μάρτυρα, με λίγο υψηλότερη συγκέντρωση ασβεστίου να καταγράφεται στην επέμβαση με +500 g αζώτου.

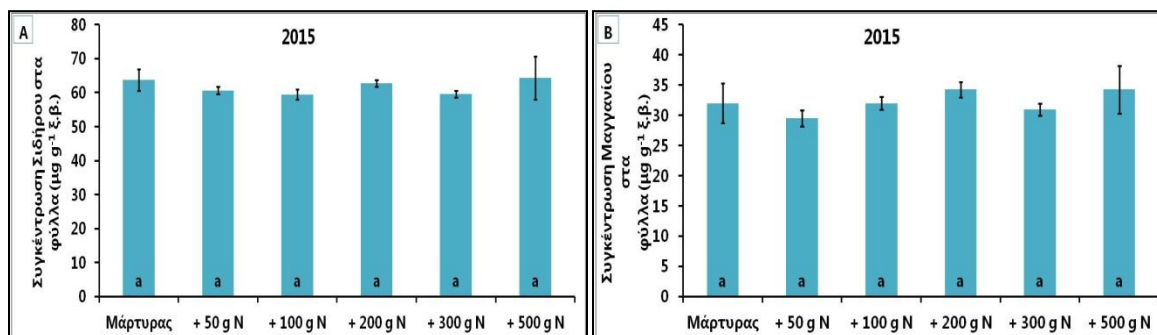


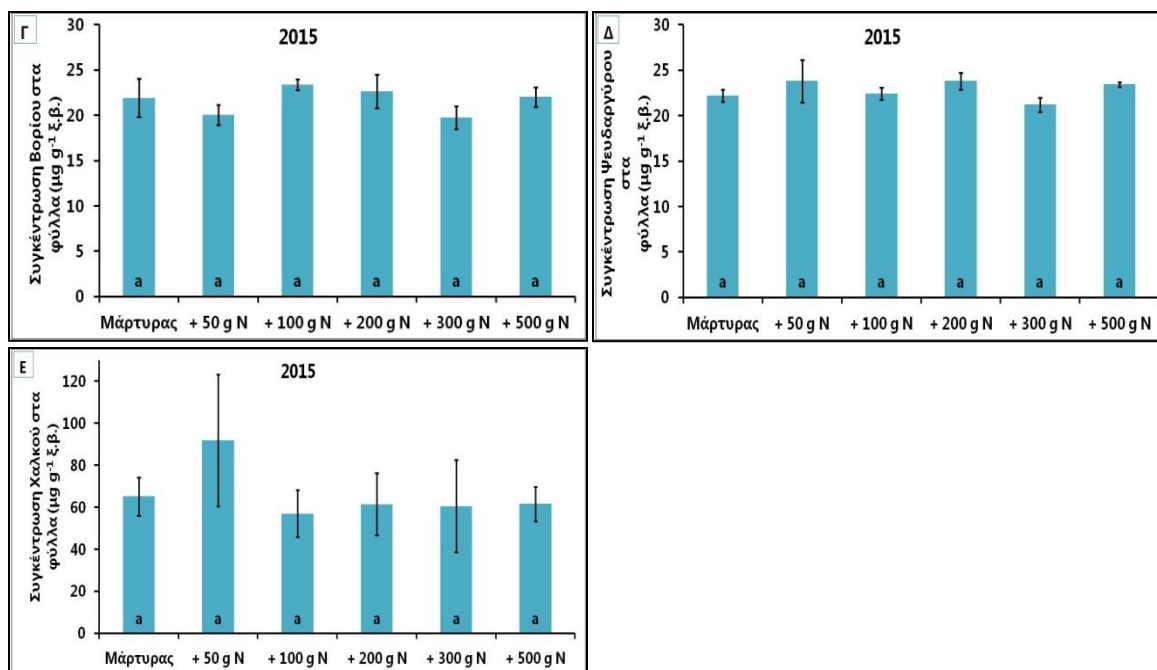


Διάγραμμα 12. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στις συγκεντρώσεις των στοιχείων N (Α), P (Β), K (Γ), Na (Δ), Ca (Ε) και Mg (ΣΤ) στα φύλλα της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” κατά τη δειγματοληψία (3/08/2015). Για κάθε ανόργανο στοιχείο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).

3.6.2 Συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων στα φύλλα (έτος 2015)

Παρόμοια με τις συγκεντρώσεις των μακροστοιχείων, οι διαφορές στις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων στα φύλλα δεν ήταν στατιστικώς σημαντικές μεταξύ των επεμβάσεων και του μάρτυρα. Οι συγκεντρώσεις του σιδήρου στα φύλλα ήταν παρόμοιες (Διάγραμμα 13Α), ανεξάρτητα από τη δόση εφαρμογής του αζώτου. Στο μαγγάνιο βρέθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στον μάρτυρα και στις επεμβάσεις των +200 g N και +500 g N (Διάγραμμα 13Β). Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις βορίου στα φύλλα (Διάγραμμα 13Γ) καταγράφηκαν στον μάρτυρα, στις επεμβάσεις με +100 g N, +200 g N και +500 g N, ενώ οι συγκεντρώσεις του ψευδαργύρου στα φύλλα (Διάγραμμα 13Δ) ήταν υψηλότερες στον μάρτυρα, στις επεμβάσεις των +50 g N, +200 g N και +500 g N. Η υψηλότερη συγκέντρωση χαλκού στα φύλλα βρέθηκε στην επέμβαση με +50 g αζώτου (Διάγραμμα 13Ε).



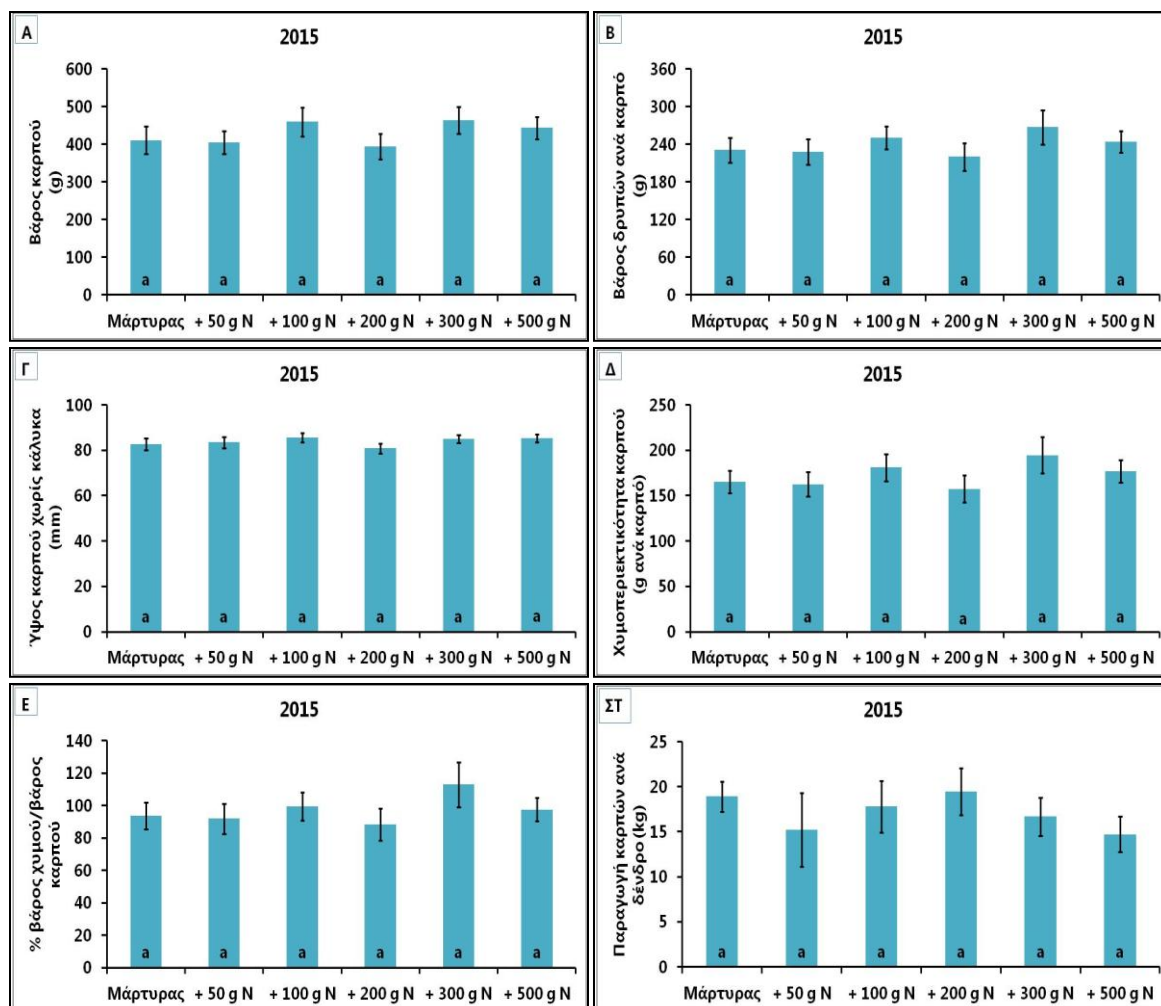


Διάγραμμα 13. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στις συγκεντρώσεις των στοιχείων Fe (Α), Mn (Β), B (Γ), Zn (Δ) και Cu (Ε) στα φύλλα της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” κατά τη δειγματοληψία (03/08/2015). Για κάθε ανόργανο στοιχείο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).

3.6.3 Χαρακτηριστικά καρπών

Το βάρος των ώριμων καρπών δε διέφερε σημαντικά μεταξύ των επεμβάσεων (Διάγραμμα 14Α). Η επέμβαση +300 g άζωτο παρουσίασε την υψηλότερη τιμή βάρους καρπού (463 g), ακολούθησαν η δόση +100 g άζωτο (459 g) και η υψηλότερη δόση αζώτου +500 g (443 g). Το βάρος των καρπιδίων (δρυπών) ανά καρπό παρουσίασε παρόμοια τάση με το βάρος των ώριμων καρπών (Διάγραμμα 14Β).

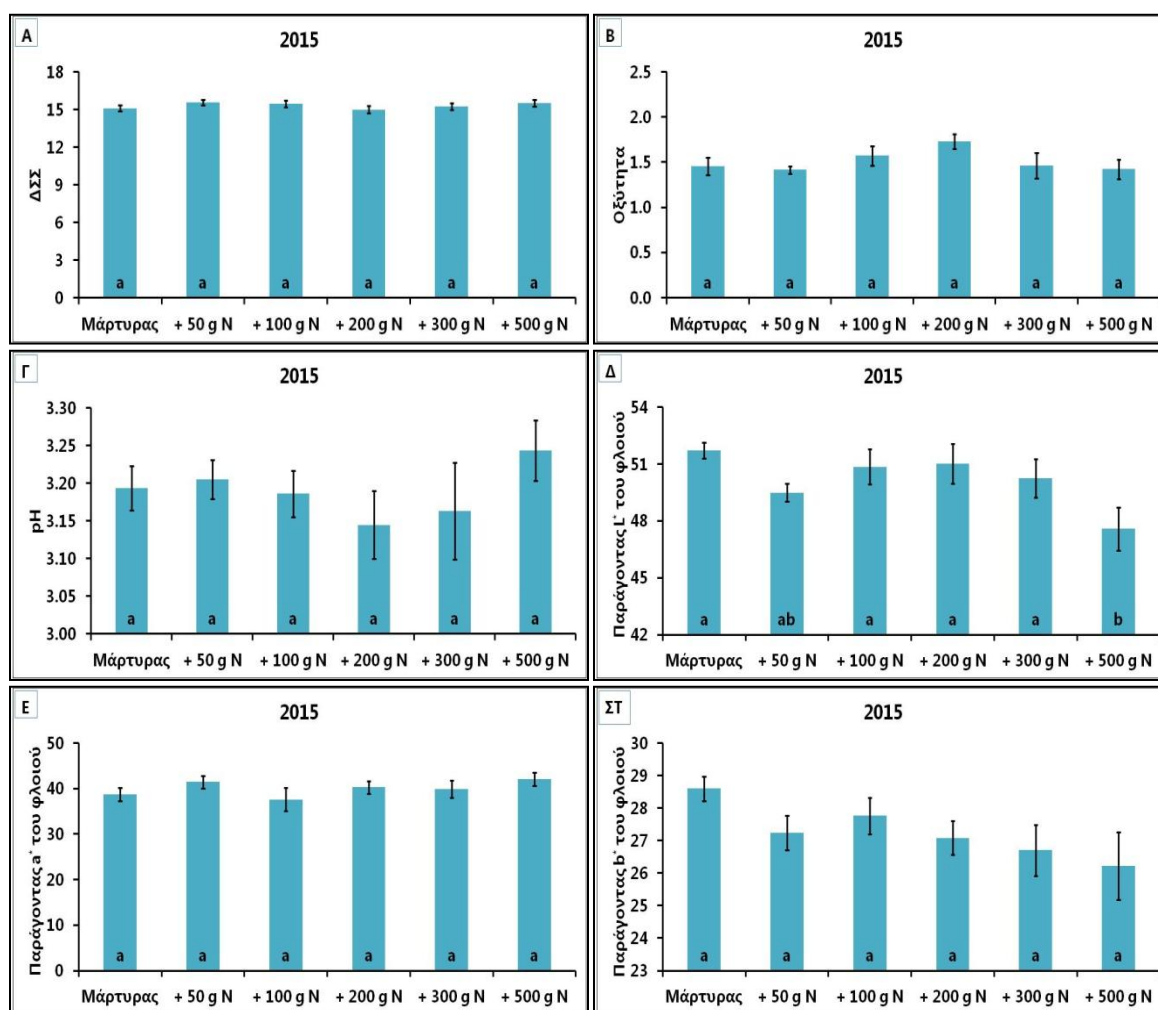
Το μήκος καρπού χωρίς κάλυκα δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων αζώτου και του μάρτυρα (Διάγραμμα 14Γ). Η χυμοπεριεκτικότητα του καρπού (βάρος χυμού/καρπό) είχε υψηλότερη τιμή στην επέμβαση +300 g N που όμως δε διέφερε σημαντικά από τις υπόλοιπες επεμβάσεις αζώτου και τον μάρτυρα. Οι επεμβάσεις αζώτου δεν επηρέασαν την % κατά βάρος χυμοπεριεκτικότητα του καρπού (Διάγραμμα 14Ε). Το ολικό βάρος καρπών/δένδρο (που εκφράζει την παραγωγικότητα) ήταν υψηλότερο στην επέμβαση +200 g άζωτο/δένδρο (Διάγραμμα 14ΣΤ), χωρίς ωστόσο να υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων του αζώτου και του μάρτυρα.

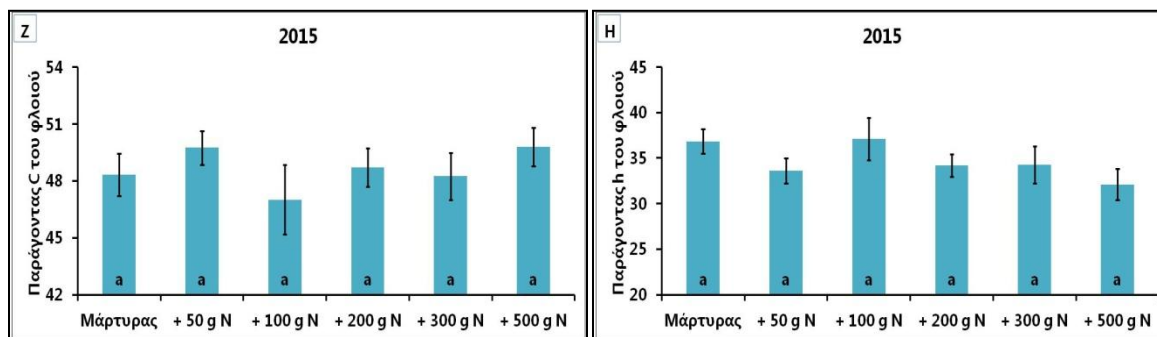


Διάγραμμα 14. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στο βάρος καρπού (Α), στο βάρος δρυπών ανά καρπό (Β), στο μήκος του καρπού χωρίς τον κάλυκα (Γ), στην ποσότητα χυμού ανά καρπό (Δ), στη χυμοπεριεκτικότητα (Ε) και στην παραγωγικότητα των δένδρων (ΣΤ) της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful”, (αποτελέσματα 2015). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).

Τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά και η ογκομετρούμενη οξύτητα (Διαγράμματα 15Α και 15Β) δεν επηρεάστηκαν από τις διαφορετικές δόσεις αζώτου. Οι τιμές για τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά κυμάνθηκαν από 15,0 – 15,6 °Brix και η ολική οξύτητα από 1,4 – 1,7 g κιτρικού οξέος/100 mL χυμού. Η επέμβαση +200 g N εμφάνισε υψηλότερη οξύτητα συγκριτικά με τις υπόλοιπες επεμβάσεις του αζώτου. Επίσης, οι δόσεις αζώτου που χορηγήθηκαν στις ροδιές δεν επηρέασαν σημαντικά το pH του χυμού (Διάγραμμα 15Γ), με τη μικρότερη τιμή να σημειώνεται στην επέμβαση +200 g N. Ο παράγοντας χρώματος L* του φλοιού (47,6 – 51,7)

ήταν στατιστικά σημαντικά μικρότερος στην υψηλότερη δόση αζώτου +500 g N συγκριτικά με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, πλην της +50 g N (Διάγραμμα 15Δ). Οι υπόλοιποι παράγοντες χρώματος του φλοιού a^* , b^* , C^* και h δεν επηρεάστηκαν από τις διαφορετικές επεμβάσεις με άζωτο που πραγματοποιήθηκαν (Διαγράμματα 15Ε – 15Η), με εύρος τιμών 37,6 – 42,1, 26,2 – 28,6, 47,0 – 49,8 και 32,1 – 37,1, αντίστοιχα. Οι παράγοντες a^* και C^* του φλοιού παρουσίασαν λίγο υψηλότερη τιμή στην επέμβαση +500 g N και ακολουθούσε η επέμβαση +50 g N, ενώ οι παράγοντες b^* και h του φλοιού παρουσίασαν υψηλότερες τιμές στο μάρτυρα και την επέμβαση +100 g N.

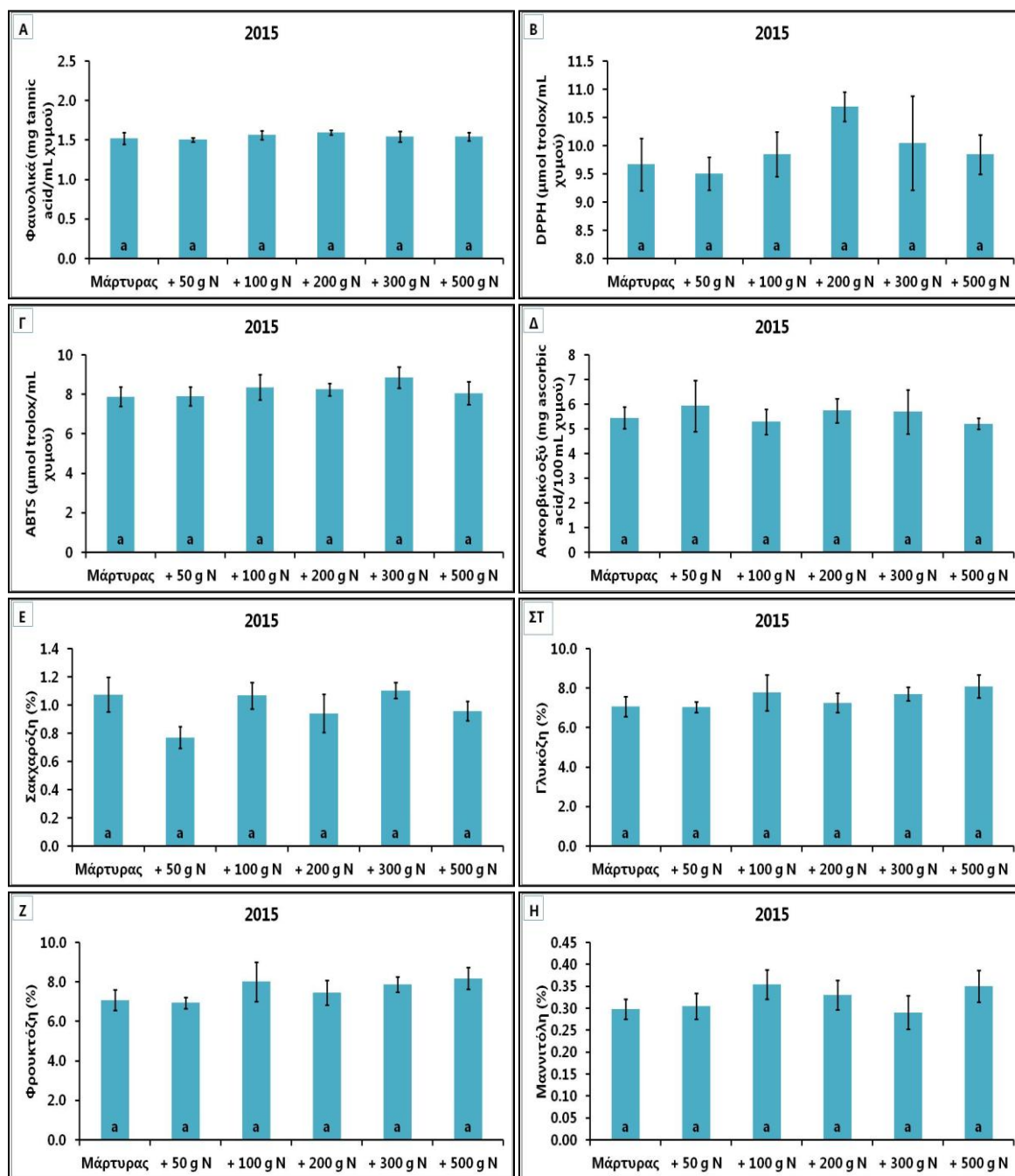


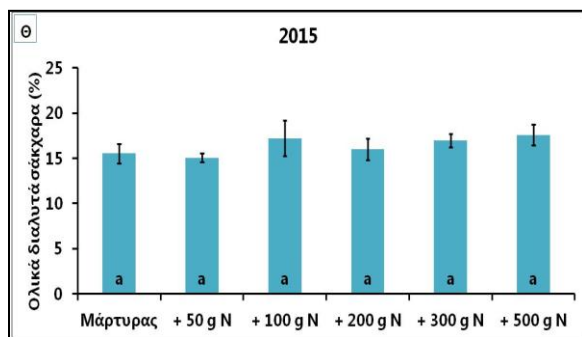


Διάγραμμα 15. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά του χυμού (A), στην ογκομετρούμενη οξύτητα του χυμού (B), στο pH του χυμού (Γ) και στους παράγοντες χρώματος L* (Δ), a* (Ε), b* (ΣΤ), C* (Ζ) και h (Η) του φλοιού καρπών της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” (αποτελέσματα 2015). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).

Τα ολικά φαινολικά συστατικά του χυμού δεν παρουσίασαν στατιστικές σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων και κυμάνθηκαν από 1,5 – 1,6 mg ταννικού οξέος/mL χυμού με την χαμηλότερη τιμή να παρατηρείται στην επέμβαση +50 g N (Διάγραμμα 16Α). Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα προσδιορίστηκε με δύο μεθόδους την DPPH και την ABTS (Διαγράμματα 16Β και 16Γ). Ανεξάρτητα από τη μέθοδο προσδιορισμού της, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικές σημαντικές διαφορές μεταξύ των χειρισμών του αζώτου. Γενικότερα, οι τιμές της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας κυμάνθηκαν από 9,51 – 10,71 $\mu\text{mol trolox/mL}$ χυμού (μέθοδος DPPH) και 7,9 – 8,9 $\mu\text{mol trolox/mL}$ χυμού (μέθοδος ABTS). Υψηλότερες συγκεντρώσεις ασκορβικού οξέος (Διάγραμμα 16Δ) βρέθηκαν στις επεμβάσεις +50 g N, +200 g N και +300 g N, χωρίς ωστόσο να διαφέρουν σημαντικά από τις υπόλοιπες επεμβάσεις του αζώτου. Γενικότερα, οι συγκεντρώσεις κυμάνθηκαν από 5,21 – 5,93 mg ασκορβικού οξέος/100 mL χυμού. Οι συγκεντρώσεις των μεμονωμένων μετακινούμενων (σακχαρόζη και μαννιτόλη) και μη μετακινούμενων (γλυκόζη και φρουκτόζη) σακχάρων δεν παρουσίασαν στατιστικές σημαντικές διαφορές για τις διάφορες επεμβάσεις αζώτου. Η συγκέντρωση της σακχαρόζης βρέθηκε υψηλότερη στις επεμβάσεις +300 g N, +100 g N και στον μάρτυρα και κυμάνθηκε από 0,77 – 1,1 % (Διάγραμμα 16Ε). Η γλυκόζη (7,04 – 8,09%) και η φρουκτόζη (6,94 – 8,18%) (Διαγράμματα 16ΣΤ και 16Ζ) είχαν παρόμοια συμπεριφορά, με τις υψηλότερες τιμές να παρατηρούνται στις επεμβάσεις +500 g N, +100 g N και +300 g N. Η μαννιτόλη (0,29 – 0,35%) βρέθηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην επέμβαση +100 g N

(Διάγραμμα 16Η). Τέλος, στις επεμβάσεις +500 g N, +100 g N και +300 g N, τα ολικά διαλυτά σάκχαρα ήταν αυξημένα (όχι σημαντικά) σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις, με εύρος τιμών 15,06 – 17,58% (Διάγραμμα 16Θ).





Διάγραμμα 16. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του Ν στα φαινολικά του χυμού (Α), στην αντιοξειδωτική ικανότητα του χυμού (μέθοδος DPPH) (Β), στην αντιοξειδωτική ικανότητα του χυμού (μέθοδος ABTS) (Γ), στη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος του χυμού (Δ), στη συγκέντρωση της σακχαρόζης του χυμού (Ε), στη συγκέντρωση της γλυκόζης του χυμού (ΣΤ), στη συγκέντρωση της φρουκτόζης του χυμού (Ζ), στη συγκέντρωση μαννιτόλης του χυμού (Η) και στη συγκέντρωση των ολικών σακχάρων του χυμού (Θ) της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” (αποτελέσματα 2015). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).

3.6.4 Αποτελέσματα συσχετίσεων μεταξύ των διαφόρων παραμέτρων το 2015

Ανεξάρτητα των εφαρμοζόμενων δόσεων αζώτου, βρέθηκαν ότι: α) Η συγκέντρωση του αζώτου στα φύλλα παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση του σιδήρου ($r=0,582^{**}$) (Πίνακας 18), β) Το βάρος του καρπού παρουσίασε θετική σημαντική συσχέτιση με το βάρος του φλοιού ($r=0,910^{**}$), τη διάμετρο ($r=0,916^{**}$), το ύψος του καρπού χωρίς κάλυκα ($r=0,929^{**}$) και με το ύψος του καρπού με κάλυκα ($r=0,780^{**}$) (Πίνακας 19), γ) Η σακχαρόζη παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη γλυκόζη ($r=0,336^{*}$), τη φρουκτόζη ($r=0,427^{**}$) και τα ολικά διαλυτά σάκχαρα ($r=0,455^{**}$) (Πίνακας 20), δ) Το pH εμφάνισε θετική συσχέτιση με το λόγο ΔΣΣ/ΟΞΕΑ ($r=0,566^{**}$) και αρνητική συσχέτιση με την ογκομετρούμενη οξύτητα ($r=-0,582^{**}$) (Πίνακας 21), ε) Η χυμοπεριεκτικότητα (g χυμού/καρπό) παρουσίασε θετική συσχέτιση με την ποσότητα καρπών ανά δένδρο (kg καρπών/δένδρο) ($r=0,444^{*}$) και με την ποσότητα χυμού ανά δένδρο (kg χυμού/δένδρο) ($r=0,759^{**}$) (Πίνακας 22) και στ) Τα ολικά φαινολικά παρουσίασαν θετική συσχέτιση με την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα και με τις δυο μεθόδους προσδιορισμού τους τη DPPH ($r=0,756^{**}$) και τη ABTS ($r=0,358^{*}$) (Πίνακας 23).

Πίνακας 18. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του αζώτου στα φύλλα και της συγκέντρωσης σιδήρου της συλλογής φύλλων (αποτελέσματα 2015).

	Συγκέντρωση αζώτου στα φύλλα	Συγκέντρωση σιδήρου στα φύλλα
Συγκέντρωση αζώτου στα φύλλα	1	0,582**
Συγκέντρωση σιδήρου στα φύλλα	0,582**	1

n=96, συμπεριλήφθηκαν όλα τα φυτά (4 σειρές με 6 επεμβάσεις και κάθε επέμβαση αποτελείται από 4 δένδρα), με * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

Πίνακας 19. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ του βάρους και άλλων παραμέτρων του καρπού, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2015).

	Βάρος καρπού	Βάρος φλοιού	Διάμετρος	Ύψος καρπού χωρίς κάλυκα	Ύψος καρπού με κάλυκα
Βάρος καρπού	1	0,910**	0,916**	0,929**	0,780**
Βάρος φλοιού	0,910**	1	0,857**	0,856**	0,651**
Διάμετρος	0,916**	0,857**	1	0,851**	0,751**
Ύψος καρπού χωρίς κάλυκα	0,929**	0,856**	0,851**	1	0,868**
Ύψος καρπού με κάλυκα	0,780**	0,651**	0,751**	0,868**	1

n=96, συμπεριλήφθηκαν όλα τα φυτά (4 σειρές με 6 επεμβάσεις και κάθε επέμβαση αποτελείται από 4 δένδρα), με * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

Πίνακας 20. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της σακχαρόζης και των άλλων σακχάρων του χυμού των ροδιών, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2015).

	Σακχαρόζη	Γλυκόζη	Φρουκτόζη	Ολικά διαλυτά σάκχαρα
Σακχαρόζη	1	0,336*	0,427**	0,455**
Γλυκόζη	0,336*	1	0,967**	0,983**
Φρουκτόζη	0,427**	0,967**	1	0,993**
Ολικά διαλυτά σάκχαρα	0,455**	0,983**	0,993**	1

n=96, συμπεριλήφθηκαν όλα τα φυτά (4 σειρές με 6 επεμβάσεις και κάθε επέμβαση αποτελείται από 4 δένδρα), με * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

Πίνακας 21. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ του pH του χυμού και των άλλων παραμέτρων του χυμού, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2015).

	pH	Ογκομετρούμενη οξύτητα	ΔΣΣ/ΟΞΕΑ
pH	1	-0,582**	0,566**
Ογκομετρούμενη οξύτητα	-0,582**	1	-0,939**
ΔΣΣ/ΟΞΕΑ	0,566**	-0,939**	1

n=96, συμπεριλήφθηκαν όλα τα φυτά (4 σειρές με 6 επεμβάσεις και κάθε επέμβαση αποτελείται από 4 δένδρα), με * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

Πίνακας 22. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της ποσότητας χυμού ανά καρπό και της ποσότητας καρπών και χυμού ανά δένδρο, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2015).

	Χυμοπεριεκτικότητα (g χυμού/ καρπό)	kg καρπών/ δένδρο	Kg χυμού/ δένδρο
Χυμοπεριεκτικότητα (g χυμού/ καρπό)	1	0,444*	0,759**
kg καρπών/ δένδρο	0,444*	1	0,691**
Kg χυμού/ δένδρο	0,759**	0,691**	1

n=96, συμπεριλήφθηκαν όλα τα φυτά (4 σειρές με 6 επεμβάσεις και κάθε επέμβαση αποτελείται από 4 δένδρα), με * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

Πίνακας 23. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ των φαινολικών και των δύο μεθόδων ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2015).

	Ολικά Φαινολικά	Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (μέθοδος DPPH)	Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (μέθοδος ABTS)
Ολικά Φαινολικά	1	0,756**	0,358*
Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (μέθοδος DPPH)	0,756**	1	ns
Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (μέθοδος ABTS)	0,358*	ns	1

n=96, συμπεριλήφθηκαν όλα τα φυτά (4 σειρές με 6 επεμβάσεις και κάθε επέμβαση αποτελείται από 4 δένδρα), με * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

4. Συζήτηση

4.1 Εδαφική ανάλυση

Το έδαφος του πειραματικού αγρού βάσει του pH χαρακτηρίζεται ως ελαφρά αλκαλικό και για τα δύο βάθη δειγματοληψίας (0 – 30 cm και 30 – 60 cm) (Πίνακας 11). Με βάση την κοκκομετρική σύσταση, το έδαφος σε βάθος εδάφους 0 – 30 cm χαρακτηρίζεται αργιλοπηλώδες, ενώ για το βάθος 30 – 60 cm χαρακτηρίζεται ιλυοαργιλοπηλώδες. Σύμφωνα με τον Μουστάκα (2011), ανάλογα με την περιεκτικότητα του εδάφους σε άζωτο (% ξ.β.) με τη μέθοδο Kjeldahl, προκύπτουν οι παρακάτω κλάσεις:

- Μικρότερες από 0,1% N (πολύ χαμηλής κλάσης),
- 0,1 – 0,2% N (χαμηλής κλάσης),
- 0,2 – 0,5% N (μέσης κλάσης),
- 0,5 – 1,0% N (υψηλής κλάσης),
- Μεγαλύτερες από 1% N (πολύ υψηλής κλάσης).

Επίσης, αναφέρει ότι η περιεκτικότητα των εδαφών σε άζωτο κατά μέσο όρο είναι 0,15%. Με βάση τα παραπάνω, το έδαφος του πειραματικού αγρού και για τα δύο βάθη δειγματοληψίας

(0,04 - 0,09 % N) χαρακτηρίζεται ως πολύ χαμηλής κλάσης σε άζωτο, με την περιεκτικότητα του σε άζωτο να είναι, μάλιστα, κάτω του συνηθισμένου μέσου όρου των καλλιεργούμενων εδαφών.

Η οργανική ουσία στα εδαφικά δείγματα ήταν χαμηλή ως μέση, (2,89 - 4,64%) λαμβάνοντας υπόψιν το εύρος τιμών 2 - 4 (% ξ.β.) αξιολογείται ως χαμηλή και όταν είναι μεταξύ 4 - 10% είναι μέση, με βάση τις μετρήσεις κατά τη μέθοδο Walkley – Black που παρουσιάζονται από τον Μουστάκα (2011). Επίσης, αναφέρει ότι όταν η συγκέντρωση του φωσφόρου είναι υψηλότερη των 15 $\mu\text{g/g}$ χαρακτηρίζεται υψηλή και είναι απίθανη η ανταπόκριση στη φωσφορική λίπανση, ενώ χαρακτηρίζεται μέση όταν λαμβάνει τιμές μεταξύ 5 - 15 $\mu\text{g/g}$ με πιθανή ανταπόκριση στη λίπανση. Ο Θεριός (2005) αναφέρει ότι το επίπεδο φωσφόρου στο έδαφος (μέθοδος εκχύλισης Olsen) είναι υψηλό όταν η συγκέντρωσή του ξεπερνά τα 10 $\mu\text{g/g}$. Επομένως, το έδαφος του πειραματικού αγρού περιείχε υψηλή συγκέντρωση φωσφόρου (22,6 - 23,2 $\mu\text{g/g}$). Το έδαφος των οποίων η IAK κυμαίνεται από 15 – 25 meq/100g εδάφους χαρακτηρίζεται μέση (κανονικό έδαφος) και είναι ικανοποιητικό για τη γεωργία, ενώ όταν η IAK λαμβάνει τιμές μεταξύ των 5 – 15 meq/100g εδάφους χαρακτηρίζεται χαμηλή (Μουστάκας, 2011). Άρα το έδαφος είχε χαμηλή IAK (11,74-14,99 meq/100g εδάφους). Σύμφωνα με τον Μουστάκα (2011), όταν το ασβέστιο στο έδαφος βρίσκεται σε συγκέντρωση υψηλότερη των 10 meq/100g εδάφους (2000 $\mu\text{g/g}$) κρίνεται υψηλό, το μαγνήσιο όταν βρίσκεται μεταξύ 0,5 – 4 meq/100g εδάφους (61 - 488 $\mu\text{g/g}$) κρίνεται μέσο και το κάλιο όταν κυμαίνεται από 0,2 – 0,6 meq/100g εδάφους (78,2 – 234,6 $\mu\text{g/g}$) χαρακτηρίζεται μέσο, ενώ όταν λαμβάνει τιμή χαμηλότερη από 0,2 meq/100g (78,2 $\mu\text{g/g}$) εδάφους θεωρείται χαμηλό. Το έδαφος και για τα δύο βάθη δειγματοληψίας ως προς τη συγκέντρωση του ασβεστίου αξιολογείται ότι περιέχει υψηλή συγκέντρωση (2104 – 2609,4 $\mu\text{g/g}$) και ως προς τη συγκέντρωση του μαγνησίου ότι περιέχει μέση συγκέντρωση (90 - 140 $\mu\text{g/g}$). Ως προς το κάλιο, το έδαφος χαρακτηρίζεται ότι περιέχει από χαμηλή ως μέση συγκέντρωση (68-195 $\mu\text{g/g}$).

4.2 Επίδραση της λίπανσης αζώτου στη συγκέντρωση των θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα της ροδιάς

Είναι γνωστό ότι το άζωτο είναι ίσως το σημαντικότερο από τα θρεπτικά στοιχεία για την ανάπτυξη και καρποφορία των καρποφόρων δένδρων. Οι σημαντικότεροι λόγοι είναι ότι αποτελεί συστατικό των πρωτεϊνών, των νουκλεονικών οξέων και ενζύμων. Η επίδραση όμως

της λίπανσης του αζώτου εξαρτάται από το έδαφος της καλλιέργειας (σύσταση σε άζωτο, περιεχόμενη οργανική ουσία και γενικά τη γονιμότητα του εδάφους), τη θρεπτική κατάσταση των φυτών που εφαρμόζεται, την ηλικία τους, την ποσότητα του αζώτου που εφαρμόζεται και τη μέθοδο εφαρμογής του (Abdel-Sattar and Mohamed, 2017).

Ειδικά για τη ροδιά, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, το άζωτο παίζει σημαντικό ρόλο στην καρπόδεση, στην ανάπτυξη των καρπών, επηρεάζει την ποιότητα αυτών, ρυθμίζει το μέγεθος της βλάστησης και επηρεάζει την αντοχή των φυτών στις χαμηλές θερμοκρασίες. Υπερβολικό άζωτο επηρεάζει αρνητικά την ποιότητα των καρπών και δημιουργεί ζωνή βλάστηση σε βάρος της καρποφορίας και καθυστερεί την ωρίμανση των καρπών (Holland et al. 2009; Zekri, 2012).

Η συγκέντρωση των θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα επηρεάζεται από ορισμένες παραμέτρους, όπως είναι καλλιεργητικοί (λίπανση, το κλάδεμα, άρδευση κ.ά.), περιβαλλοντικοί και φυσιολογικοί παράγοντες (Baligar et al., 2001; Στυλιανίδης κ.ά., 2002). Ακόμη, η ηλικία των φύλλων και η θέση τους στα δένδρα (Singh and Singh, 2002), όπως και το είδος του φυτικού ιστού, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες (υγρασία του εδάφους, θερμοκρασία, φως), η ποικιλία και η εποχή επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις των ανόργανων θρεπτικών στοιχείων (Στυλιανίδης κ.ά., 2002; Θεριός, 2005). Οι Villora et al. (2004) θεωρούν απαραίτητη τη γνώση των σημείων συλλογής του φυτικού ιστού και την εποχή δειγματοληψίας του για τον προσδιορισμό των θρεπτικών στοιχείων. Ο Θεριός (2005) αναφέρει ότι στα φυλλοβόλα οπωροφόρα δένδρα, τα φύλλα από αιχμές ή από το μέσο των ετήσιων βλαστών είναι κατάλληλα για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των θρεπτικών στοιχείων και έχει παρατηρήσει ότι ορισμένα στοιχεία παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις την άνοιξη, οι οποίες μειώνονται κατά το θέρος, με την κατάλληλη περίοδο δειγματοληψία φύλλων να είναι η περίοδος Ιουνίου – Ιουλίου για τα περισσότερα οπωροφόρα δένδρα καθώς παρατηρούνται ελάχιστες μεταβολές των θρεπτικών στοιχείων. Ακόμη, αναφέρει ότι το άζωτο, ο ψευδάργυρος, ο φωσφόρος και το κάλιο λαμβάνουν τη μέγιστη συγκέντρωση στα φύλλα, όταν αποκτούν το πλήρες μέγεθός τους, αντίθετα το μαγνήσιο, το μαγγάνιο, το νάτριο και το χλώριο αυξάνονται ελαφρά με την πάροδο του χρόνου ή παραμένουν σχετικά σταθερά κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου. Η συγκέντρωση του ασβεστίου στα φύλλα αυξάνει, με το μέγιστο επίπεδο να καταγράφεται λίγο πριν από τη φυλλόπτωση το φθινόπωρο. Επίσης, σημειώνει ότι από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες η επαρκής εδαφική υγρασία αυξάνει τη βλάστηση με συνέπεια τη μείωση της περιεκτικότητας του

αζώτου λόγω της αύξησης του ξηρού βάρους. Οι Baligar et al. (2001) διατυπώνουν την άποψη ότι η ηλιακή ακτινοβολία έχει άμεση επίδραση στη φωτοσύνθεση, η οποία με τη σειρά της ασκεί επίδραση στα φυτά για τη ζήτηση θρεπτικών στοιχείων.

Στην παρούσα μελέτη εφαρμόστηκαν στο έδαφος διάφορες δόσεις αζώτου για δύο συνεχή χρόνια (2014 – 15) σε σχετικά νεαρά δένδρα ροδιάς ηλικίας 4 – 5 ετών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις του αζώτου στα φύλλα των δένδρων δεν επηρεάστηκαν σημαντικά, όπως ήταν αναμενόμενο, λόγω και των αυξημένων δόσεων N που εφαρμόστηκαν. Και στις δύο χρονιές όμως (ειδικά το 2015) η υψηλότερη δόση αζώτου (+500 g/δένδρο) είχε σχετικά υψηλότερη συγκέντρωση από όλες τις άλλες επεμβάσεις (Διαγράμματα 7A και 12A). Οι τιμές μάλιστα των συγκεντρώσεων του N στα φύλλα ήταν για όλες τις επεμβάσεις στο εύρος των άριστων τιμών (1,5 - 2% ξ.β.) όπως αυτές αναφέρονται από τους Holland et al. (2009) και Zekri (2012). Είναι σχετικά δύσκολο να εξηγηθεί η μη αύξηση του αζώτου στα φύλλα με την αύξηση των δόσεων N στη λίπανση. Η νεαρή ηλικία των δένδρων, η σχετικά μικρή παραγωγή και το γεγονός ότι προστέθηκαν στη βασική λίπανση +84 g N/δένδρο, αποτελούν υποψήφιους παράγοντες εξήγησης της μη αύξησης του αζώτου στα φύλλα. Το επιπλέον N που χορηγήθηκε πιθανόν καταναλώθηκε στην βλαστική ανάπτυξη των δένδρων ή δεν απορροφήθηκε από το ριζικό σύστημα. Οι Mohamed et al. (2014) χορήγησαν από 100, 200, 300 και 400 g N/δένδρο δόσεις αζώτου και βρήκαν μια γραμμική αύξηση της συγκέντρωσης αζώτου στα φύλλα της ροδιάς από 1,70% στη δόση των 100 g N/δένδρο στα 2,00% περίπου για τη δόση των 400 g N/δένδρο. Η αύξηση αν και ήταν σημαντική, δεν ήταν θεαματική σε απόλυτους αριθμούς. Οι Gill et al. (2013) βρήκαν ότι οι δόσεις 200 και 300 g N/δένδρο αύξησαν σημαντικά τη συγκέντρωση αζώτου στα φύλλα της ροδιάς σε σχέση με το μάρτυρα (0 g N/δένδρο) αλλά δεν υπήρξε διαφορά μεταξύ των δύο συγκεντρώσεων αζώτου. Τα τελευταία αποτελέσματα είναι παρόμοια με αυτά της παρούσας μελέτης στο ότι οι διάφορες δόσεις αζώτου δεν έδωσαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση αζώτου στα φύλλα. Επίσης, παρατήρησαν ότι οι διάφορες δόσεις αζώτου που εφαρμόστηκαν δεν επηρέασαν τις συγκεντρώσεις των άλλων στοιχείων που μετρήθηκαν.

Αντίθετα, παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των συγκεντρώσεων του αζώτου και όλων των θρεπτικών στοιχείων από την πρώτη στη δεύτερη δειγματοληψία (Πίνακας 12). Τα επίπεδα των μακροστοιχείων θρεπτικών στοιχείων (N, P, K, και Fe) στα φύλλα της ροδιάς μειώθηκαν σημαντικά στη δεύτερη δειγματοληψία (22 Ιουλίου, 2014) σε σχέση με την 1^η δειγματοληψία

(13 Ιουνίου, 2014) (Πίνακας 12). Η μείωση αυτή πιθανόν οφείλεται στις μεγαλύτερες ανάγκες και κατανάλωση των θρεπτικών αυτών στοιχείων για την ανάπτυξη των δένδρων αλλά κυρίως των αναπτυσσόμενων καρπών. Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις του ασβεστίου του μαγνησίου, μαγγανίου και βορίου ήταν υψηλότερες τον Ιούλιο σε σχέση με τον Ιούνιο (Πίνακας 12). Αυτό πιθανόν οφείλεται στην αυξημένη απορρόφηση και συσσώρευση των στοιχείων αυτών στα μεγαλύτερης ηλικίας φύλλα. Είναι μάλιστα γνωστό ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του ασβεστίου στα φύλλα σχετίζεται και με τη γήρανση των φύλλων. Παρόμοιες μεταβολές αυτών των θρεπτικών στοιχείων έχουν αναφερθεί στις φυσιτικές (Vemmos, 1999), ο οποίος βρήκε ότι οι συγκεντρώσεις N, P και Zn ήταν υψηλότερες τον Απρίλιο – Μάιο (στα νεαρά φύλλα) και μειώθηκαν τον Ιούνιο – Ιούλιο, ενώ το ασβέστιο, το μαγνήσιο και το μαγγάνιο είχαν χαμηλές τιμές την άνοιξη και αυξήθηκαν κατά το καλοκαίρι. Σε άλλα φυλλοβόλα οπωροφόρα δένδρα, όπως η μηλιά, κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου όσον αφορά την κατάσταση του αζώτου τα δένδρα έχουν σχετικά υψηλή συγκέντρωση στα νεαρά φύλλα και στη συνέχεια με την ανάπτυξη της φυλλικής επιφάνειας και την ωρίμανση των φύλλων και κατά την ανάπτυξη των καρπών, η συγκέντρωση του αζώτου μειώνεται βαθμιαία για να εξασφαλιστεί η ανάπτυξη της ποιότητας των καρπών και η ωριμότητα του ξύλου (Cheng, 2013). Στις ροδακινιές, η συγκέντρωση του αζώτου μειώνεται σταδιακά κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου (Rufat and Dejong, 2001). Τέλος, παρόμοιες μεταβολές των θρεπτικών στοιχείων με αυτές της ροδιάς έχουν βρεθεί και στην ελιά. Από σχετική μελέτη έχει βρεθεί ότι τα στοιχεία N, P, K και Zn μειώθηκαν με την ηλικία των φύλλων ενώ αυτά των Ca, Mg και Mn αυξήθηκαν (Fernández – Escobar et al. 1999). Ορισμένες διαφορές υπήρξαν ως προς τα στοιχεία Fe και B όπου οι συγκεντρώσεις του Fe αυξήθηκαν στα ώριμα φύλλα της ελιάς, ενώ στη ροδιά μειώθηκαν. Αντίθετα, αν και οι συγκεντρώσεις του B αυξήθηκαν στα ώριμα φύλλα της ροδιάς, μειώθηκαν σε αυτά της ελιάς.

Μετά από σύγκριση των απόλυτων τιμών των συγκεντρώσεων των θρεπτικών στοιχείων με άλλες σχετικές μελέτες βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις των περισσότερων μακροστοιχείων (P, K, Mg και Ca) στα φύλλα στη μελέτη αυτή για το πειραματικά έτη 2014 και 2015 ήταν πολύ χαμηλότερες σε σχέση με αυτές των Mohamed et al. (2014), για την ίδια ποικιλία *Wonderful*. Εξαίρεση ήταν το άζωτο που είχε παρόμοιες τιμές συγκέντρωσης με τη μελέτη αυτή για το πειραματικό έτος 2014, ενώ για το 2015 οι τιμές ήταν υψηλότερες στην παρούσα μελέτη. Στη μελέτη των Gill et al. (2013), στην ποικιλία ροδιών *Kandhari*, οι συγκεντρώσεις του αζώτου στα

φύλλα ήταν σε παρόμοια επίπεδα με αυτά που καταγράφηκαν στη μελέτη αυτή για το 2015, ενώ οι τιμές του 2014 ήταν μικρότερες από αυτές των Gill et al. (2013). Οι συγκεντρώσεις P και K που βρέθηκαν στη μελέτη μας ήταν χαμηλότερες και για τα δύο έτη από αυτές των Gill et al. (2013). Οι Hamouda et al. (2014) μελέτησαν τη θρεπτική κατάσταση σε 8 αιγυπτιακές ποικιλίες ροδιάς και βρήκαν μεγάλες διαφορές στις συγκεντρώσεις όλων των θρεπτικών στοιχείων μεταξύ των ποικιλιών. Για παράδειγμα η συγκέντρωση του N κυμάνθηκε μεταξύ 1,85 – 3,06% του P μεταξύ 0,12 – 0,16% και του K μεταξύ 1,50 – 1,90%. Οι τιμές του K και N ήταν πολύ υψηλότερες από αυτές της δική μας μελέτης ενώ του P ήταν πολύ μικρότερες.

Ορισμένα μικροστοιχεία, όπως ο ψευδάργυρος και το μαγγάνιο είναι πολύ σημαντικά για τα ρόδια και η έλλειψη των στοιχείων αυτών είναι το πιο κοινό πρόβλημα για τις ροδιές. Έτσι, διαφυλλική λίπανση των παραπάνω στοιχείων κρίθηκε επωφελής για την ποιότητα των καρπών (Khorsandi et al. 2009; Obaid and Hadethi, 2013). Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων Zn και Mn ήταν χαμηλότερες και για τα δύο πειραματικά έτη σε σύγκριση με αυτές των Mohamed et al. (2014). Αντίθετα η συγκέντρωση του Fe στα φύλλα ήταν υψηλότερη από τις αντίστοιχες τιμές των Mohamed et al. (2014). Οι Mohammad et al. (2011) μελέτησαν τη θρεπτική κατάσταση των ροδιών και οι τιμές που βρήκαν για τις συγκεντρώσεις των θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα για τα στοιχεία N, P, Zn, Fe ήταν μικρότερες σε σύγκριση με αυτές της μελέτης μας. Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις K και Mn ήταν υψηλότερες συγκριτικά με τα δύο έτη διεξαγωγής πειραμάτων αυτής της μελέτης. Επίσης, η συγκέντρωση του Cu στη μελέτη μας ήταν υψηλότερη το 2014 και χαμηλότερη το 2015 σε σχέση με τις συγκεντρώσεις στη μελέτη των Mohammad et al. (2011). Η τιμή του βορίου παρουσίασε ποικίλλες τιμές στη μελέτη των Mohammad et al. (2011). Οι Thokchom et al. (2018) βρήκαν υψηλές συγκεντρώσεις αζώτου, σιδήρου, μαγγανίου και ψευδαργύρου στα φύλλα όταν το επίπεδο του χορηγούμενου αζώτου ήταν υψηλό και έγινε αυστηρό κλάδεμα, ενώ μειώθηκαν τα επίπεδα του χαλκού, του φωσφόρου, του ασβεστίου και του μαγνησίου.

Επίσης, οι συγκεντρώσεις των μακροστοιχείων και ιχνοστοιχείων στα φύλλα και για τα δύο έτη διεξαγωγής πειραμάτων συγκρίθηκαν με τα άριστα επίπεδα για τη ροδιά, όπως έχουν περιγραφεί από το Zekri (2012), τα περισσότερα θρεπτικά στοιχεία βρέθηκαν εντός των ορίων των άριστων συγκεντρώσεων. Τα άριστα επίπεδα που προτείνονται από το Zekri (2012) ήταν τα ακόλουθα: 1,5 – 2% N, 0,1 – 0,2% P, 0,6 – 0,8% K, 0,7 – 1,5% Ca, 0,3 – 0,4% Mg, 20 – 70 ppm Mn, 40 – 70 ppm Zn, 60 – 120 ppm Fe, 10 – 20 ppm B και 10 – 20 ppm Cu. Εξαίρεση αποτέλεσαν τα

στοιχεία μαγνήσιο και ψευδάργυρος που βρέθηκαν χαμηλότερα, τα στοιχεία βόριο, ασβέστιο και χαλκός για το έτος 2015 που ήταν υψηλότερα, ενώ το 2014 το βόριο και το ασβέστιο βρέθηκαν υψηλότερα κατά τη δεύτερη μόνο δειγματοληψία και ο σίδηρος και στις δύο δειγματοληψίες φύλλων, σε σχέση με τα άριστα προαναφερθέντα επίπεδα των θρεπτικών στοιχείων. Επίσης, οι Holland et al. (2009) αναφέρουν ότι από μελέτη επισκόπησης 4 οπωρώνων ροδιάς στο Ισραήλ οι τιμές των θρεπτικών στοιχείων που βρέθηκαν ήταν οι ακόλουθες: 1,99% N, 0,22% P, 1,07% K, 2,97% Ca, 0,25% Mg, 0,02% Na, 0,76% Cl, 23 ppm B, 75 ppm Fe, 33 ppm Mn, 11 ppm Cu. Συγκρίνοντας τις συγκεντρώσεις των θρεπτικών στοιχείων με αυτές που έχουν αναφερθεί από τους Holland et al. (2009) βρέθηκαν τα εξής: Το άζωτο, το κάλιο, το ασβέστιο, το μαγνήσιο και το βόριο ήταν χαμηλότερα και για τα δύο έτη. Ο φωσφόρος, το νάτριο και ο σίδηρος παρουσίασαν υψηλότερες τιμές για τις δύο δειγματοληψίες του 2014 και χαμηλότερες για το 2015, το μαγγάνιο βρέθηκε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις για τις δύο συλλογές φύλλων του 2014 και το 2015 οι συγκεντρώσεις ήταν ελαφρώς χαμηλότερες με ορισμένες να προσεγγίζουν την τιμή που αναφέρουν οι Holland et al. (2009). Αντίστροφα, οι συγκεντρώσεις του χαλκού ήταν χαμηλότερες ή προσέγγιζαν τις τιμές που αναφέρουν Holland et al. (2009) για τις δειγματοληψίες φύλλων του 2014, ενώ το 2015 οι τιμές μας ήταν κατά πολύ υψηλότερες.

Όπως έχει αναφερθεί και στην εισαγωγή του κεφαλαίου μπορεί να υπάρχουν αλληλεπιδράσεις των θρεπτικών στοιχείων με το άζωτο. Στο άζωτο οφείλεται η ενίσχυση της βλάστησης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη συγκέντρωση σε θρεπτικά στοιχεία (Στυλιανίδης κ.ά., 2002). Συγκρίνοντας τις συγκεντρώσεις των θρεπτικών στοιχείων τα δύο πειραματικά έτη 2014 και 2015, παρατηρούμε ότι το 2015 οι συγκεντρώσεις N, Mg και Mn ήταν υψηλότερες από αυτές του 2014, ενώ οι συγκεντρώσεις των στοιχείων P, K, Na, Fe και Zn ήταν χαμηλότερες το 2015. Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω κατά τους Στυλιανίδη κ.ά (2002), υπάρχει θετική συσχέτιση του αζώτου με το μαγνήσιο και το μαγγάνιο, επηρεάζοντας αρνητικά το φωσφόρο, το κάλιο, το ασβέστιο, το βόριο, το ψευδάργυρο, το σίδηρο και το χαλκό. Στην παρούσα μελέτη, για το έτος 2015, βρέθηκε ότι η συγκέντρωση αζώτου είχε θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση σιδήρου στα φύλλα (Πίνακας 18). Αντίθετα δεν υπήρξε καμιά συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων του αζώτου και των υπόλοιπων θρεπτικών στοιχείων. Τα παραπάνω αποτελέσματα δε συμφωνούν με τα ευρήματα των Στυλιανίδη κ.ά (2002). Αντίθετα, η θετική συσχέτιση αζώτου – σιδήρου συμφωνεί με τα αποτελέσματα του Leese (1976) στη ροδακινιά, όπως αυτά αναφέρονται στην εργασία των Singh και Singh (2002), όπου η εφαρμογή των αζωτούχων λιπασμάτων αύξησε τη

συγκέντρωση του N, Fe, Cu, Mn και Zn στα φύλλα, ενώ μείωσε τις συγκεντρώσεις του K, Ca, Mg και B.

4.3 Επίδραση του αζώτου στην παραγωγή και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών

Από τα χαρακτηριστικά των καρπών που μετρήθηκαν, το βάρος των καρπών αυξήθηκε σημαντικά στις επεμβάσεις +200, +300 και +500 g N/δένδρο το 2014, ενώ το 2015 οι ίδιες επεμβάσεις παρουσίασαν μεγαλύτερο βάρος χωρίς να είναι σημαντικά διαφορετικό από μικρότερες επεμβάσεις N. Η αύξηση όμως του βάρους δεν ήταν ανάλογη με την αύξηση των δόσεων του N αφού οι τιμές του βάρους ήταν παρόμοιες μεταξύ των συγκεντρώσεων +200, +300 και +500 gN/δένδρο. Παρόμοια αύξηση προκάλεσαν οι ίδιες επεμβάσεις N και στο βάρος των καρπιδίων. Υπήρξε θετική γραμμική συσχέτιση του βάρους των καρπών με το βάρος του φλοιού, το μήκος του καρπού με κάλυκα και το μήκος του καρπού χωρίς κάλυκα (Πίνακας 13 και 19). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με των Prasad και Mali (2003), οι οποίοι βρήκαν ότι αυξήθηκε το βάρος καρπών σε επεμβάσεις από 350 μέχρι 500 g άζωτο ανά φυτό, αλλά μειώθηκε με περαιτέρω αύξηση του αζώτου στα 750 g ανά φυτό. Οι Dhillon et al. (2011) βρήκαν ότι το βάρος των καρπών αυξήθηκε με αύξηση των δόσεων αζώτου πάνω από 40 g/ φυτό/έτος ηλικίας, αλλά παραπέρα αύξηση του αζώτου δεν αύξησε το βάρος. Επίσης, οι Mohamed et al. (2014) βρήκαν ότι με την αύξηση του αζώτου από 100 g/φυτό σε 300 g/φυτό αυξήθηκε σημαντικά το βάρος και οι διαστάσεις των καρπών, αλλά περαιτέρω αύξησή του δεν είχε καμμία επίδραση στο βάρος των καρπών. Τέλος, οι Dutta Ray et al. (2014), χρησιμοποιώντας λίπανση αζώτου 100, 200, 300 και 400 g/φυτό στην ποικιλία *Ganesh*, βρήκαν μια αναλογική αύξηση του βάρους του καρπού από 157,9 g για τα 100 g N στα 188,6 g για τα 400 g N/φυτό. Τα αποτελέσματα αυτά δεν συμφωνούν με αυτά της παρούσας μελέτης.

Όσον αφορά τις τιμές του βάρους και του μήκους των καρπών, τα αποτελέσματα είναι παρόμοια με αυτά που έχουν παρουσιάσει για την ίδια ποικιλία cv. *Wonderful* οι Mohamed et al. (2014). Οι Weerakkody et al. (2010) παρατήρησαν ότι υπάρχει γραμμική αύξηση (από την καρπόδεση και μετά) του βάρους των καρπών στην ποικιλία *Wonderful* στην Αυστραλία και το μέγιστο βάρος των καρπών που μετρήθηκε ήταν 675 g, 14 εβδομάδες μετά την καρπόδεση. Οι Pantelidis et al. (2012) βρήκαν ότι το βάρος των καρπών στην ποικιλία *Wonderful* στη Β. Ελλάδα ήταν 474 g. Στην μελέτη αυτή, το βάρος βρέθηκε μικρότερο σε σύγκριση με των Weerakkody et al. (2010) και λίγο μικρότερο από αυτό που βρήκαν οι Pantelidis et al. (2012) για τα δύο έτη. Συγκεκριμένα, το 2014 το εύρος των τιμών ήταν 363 - 459 g/καρπό με τη

μικρότερη τιμή να απαντάται στο μάρτυρα και τη μέγιστη στην υψηλότερη δόση αζώτου. Το 2015, το βάρος των καρπών κυμάνθηκε από 394 – 463 g, με τη μικρότερη τιμή του να καταγράφεται στην επέμβαση με +200 g άζωτο και τη μεγαλύτερη στη δόση των +300 g αζώτου.

Η χυμοπεριεκτικότητα των καρπών, το 2014 ήταν υψηλότερη στην επέμβαση με +500 g άζωτο που όμως διέφερε σημαντικά μόνο με τον μάρτυρα και την επέμβαση των +100 g/δένδρο, ενώ για το 2015 η υψηλότερη τιμή καταγράφηκε στην επέμβαση με +300 g άζωτο/δένδρο χωρίς να υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων. Η αυξημένη χυμοπεριεκτικότητα στις επεμβάσεις αυτές πιθανόν να οφείλεται στο μεγαλύτερο βάρος καρπών. Οι Abdel – Sattar και Mohamed (2017) σε σχετική μελέτη τους βρήκαν ότι με αύξηση από 200 g σε 400 g λιπάσματος αζώτου βραδείας αποδέσμευσης ανά δένδρο αυξήθηκε ο όγκος του χυμού. Οι Mohamed et al. (2014) σε πειράματα λίπανσης N σε συνδυασμό με K και P βρήκαν ότι αυξάνοντας τη λίπανση αζώτου από τα 100 μέχρι τα 300 g N/δένδρο αυξήθηκε και η χυμοπεριεκτικότητα από 35% στα 43% αντίστοιχα, περαιτέρω όμως αύξηση της δόσης N στα 400 g N/δένδρο δεν οδήγησε σε αύξηση της περιεκτικότητας των καρπών σε χυμό. Επίσης οι Dutta Ray et al. (2014) σε πείραμα με διαφορετικές δόσεις N βρήκαν μια σημαντική αύξηση της χυμοπεριεκτικότητας από τα 100 g N/δένδρο μέχρι τα 400 g N/δένδρο, από τα 62,1% στα 72,1% αντίστοιχα. Οι Dhillon et al. (2011) στηριζόμενοι και σε εργασίες άλλων ερευνητών αναφέρουν ότι η χυμοπεριεκτικότητα βρέθηκε υψηλότερη σε λίπανση με χαμηλότερα επίπεδα N, P και K ενώ κατά άλλους ότι η ποσότητα του εφαρμοζόμενου αζώτου επιδρά θετικά στη χυμοπεριεκτικότητα μέχρι ενός σημείου.

Η παραγωγικότητα (ολικό βάρος καρπών/δένδρο) το 2014 ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη στην επέμβαση με την υψηλότερη δόση αζώτου (+500 g N/δένδρο), χωρίς να υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των άλλων επεμβάσεων (Διάγραμμα 9ΣΤ). Η αυξημένη παραγωγή μπορεί να οφείλεται στο μεγαλύτερο βάρος των καρπών παρά στον αριθμό καρπών/δένδρο (τα δεδομένα δεν παρουσιάζονται), ο οποίος ήταν παρόμοιος για όλες τις εφαρμοζόμενες δόσεις αζώτου το 2014. Αντίθετα, το 2015 η επέμβαση των +500 g N/δένδρο είχε τη χαμηλότερη παραγωγικότητα, που ήταν το έτος αυτό υψηλότερη για την επέμβαση με +200 g άζωτο/δένδρο, χωρίς όμως να υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές συγκριτικά με τις υπόλοιπες επεμβάσεις ούτε μεταξύ των υπολοίπων επεμβάσεων (Διάγραμμα 14ΣΤ). Επίσης, το 2015 παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της παραγωγικότητας, που υπερδιπλασιάστηκε σε

όλες τις επεμβάσεις με εξαίρεση αυτή των +500 g N/δένδρο που αυξήθηκε λιγότερο. Η μειωμένη απόδοση της επέμβασης αυτής το 2015 πιθανόν να οφείλεται σε αρνητική επίδραση της αυξημένης λίπανσης με άζωτο που δημιουργήσε ζωνή βλάστηση (μακροσκοπικές παρατηρήσεις) σε βάρος της καρποφορίας. Τα αποτελέσματα δείχνουν επίσης ότι δεν υπάρχει αναλογική αύξηση της παραγωγής με την αύξηση της αζωτούχου λίπανσης. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στη μικρή ηλικία των δένδρων και στη χρήση της βασικής λίπανσης που περιείχε 84 g N/δένδρο και άλλα θρεπτικά στοιχεία. Επίσης, στη σχετικά καλή θρεπτική κατάσταση των πειραματικών δένδρων. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν μερικώς με αυτά των Mohamed et al. (2014), οι οποίοι βρήκαν στην ίδια ποικιλία ότι η εφαρμογή 300 g N/φυτό είχε τη μεγαλύτερη παραγωγή συγκρινόμενη με τις μικρότερες επεμβάσεις (100 και 200 g N/φυτό), ενώ μια περαιτέρω αύξηση στα 400 g N/φυτό δεν αύξησε σημαντικά την παραγωγή/δένδρο. Οι Kashyap et al. (2012) σε μελέτη τους στην ποικιλία στη *Ganesh*, βρήκαν υψηλότερη παραγωγικότητα και για τα δύο έτη πειραμάτων στην επέμβαση με 500 g/φυτό η οποία κυμάνθηκε από 10,58 – 14,94 kg καρπών/φυτό σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις αζώτου (250, 375, 625 και 750 g N/φυτό) αποτελέσματα που συμφωνούν με αυτά της μελέτης μας για το 2014. Η αύξηση της δόσης αζώτου πάνω από τα 500 g/φυτό μείωσε την παραγωγικότητα. Αντίθετα, δεν συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Dutta Ray et al. (2014) που χρησιμοποίησαν 4 διαφορετικές επεμβάσεις αζώτου (100, 200, 300 και 400 g N/φυτό) στην ποικιλία *Ganesh* και βρήκαν μια αναλογική αύξηση της παραγωγής με την αύξηση της δόσης του αζώτου και την μέγιστη τιμή έδωσε η εφαρμογή 400 g N/φυτό σε σχέση με τις άλλες επεμβάσεις αζώτου. Οι Gill et al. (2013) βρήκαν την μέγιστη παραγωγικότητα (21,74 kg/φυτό) με την εφαρμογή 300 g N/φυτό, η οποία αποτελούσε και τη μέγιστη εφαρμοσθείσα ποσότητα αζώτου και μάλιστα με μικρή διαφορά από την επέμβαση των 200 g/φυτό. Οι Abdel – Sattar και Mohamed (2017) μελέτησαν 3 δόσεις αζώτου με χρήση λιπάσματος βραδείας αποδέσμευσης (200, 300 και 400 g N/φυτό) σε σύγκριση με τη δόση 700 g N/φυτό ταχείας αποδέσμευσης στην ποικιλία *Manfalouty*. Τα αποτελέσματα τους έδειξαν ότι όλες οι επεμβάσεις βραδείας αποδέσμευσης έδωσαν υψηλότερη παραγωγή από την επέμβαση της ταχείας αποδέσμευσης. Η παραγωγή/δένδρο αυξήθηκε με την αύξηση της δόσης αζώτου και επομένως τη μέγιστη παραγωγή (40,5 kg/δένδρο) έδωσε η δόση των 400 g N/φυτό.

Τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά, το pH και η ογκομετρούμενη οξύτητα του χυμού δεν επηρεάστηκαν από τις διάφορες επεμβάσεις αζώτου. Και στα δύο έτη της μελέτης,

χαμηλότερο pH και υψηλότερη ογκομετρούμενη οξύτητα καταγράφηκε στα +200 g αζώτου. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με αυτά των Dhillon et al. (2011), οι οποίοι βρήκαν ότι δεν υπήρχε καμμία επίδραση στην οξύτητα του χυμού με την εφαρμογή διαφορετικών επιπέδων αζώτου, ενώ τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά ήταν υψηλότερα στη δόση με 40 g/φυτό/έτος ηλικίας και περαιτέρω αύξηση του αζώτου είχε ως αποτέλεσμα τη μείωσή τους. Οι Mohamed et al. (2014) μελετώντας μεταξύ άλλων και τα πιο πάνω χαρακτηριστικά του χυμού με την επίδραση διάφορων δόσεων N (100, 200, 300 και 400 g N/φυτό) σε συνδυασμό με διάφορες δόσεις P και K στην ποικιλία *Wonderful*, βρήκαν ότι οι τιμές τους αυξήθηκαν αναλογικά από τη δόση των 100 μέχρι και αυτή των 300 g N/φυτό και μειώθηκαν στη μεγαλύτερη δόση N (400 g N/φυτό). Οι τιμές των ολικών διαλυτών στερεών συστατικών στη μελέτη τους (11,9 – 14,0 °Brix) ήταν μικρότερες από αυτές της παρούσας μελέτης, ενώ η οξύτητα ήταν υψηλότερη (2,21 – 3,12%) από τις αντίστοιχες τιμές της παρούσας μελέτης. Οι Kashyap et al. (2012) βρήκαν στην ποικιλία *Ganesh* ότι τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά αυξήθηκαν σημαντικά στην επέμβαση με 500 g/φυτό περίπου στα 16 °Brix και για τα δύο έτη της μελέτης τους, ενώ η παραπέρα αύξηση της δόσης του αζώτου μείωσε τα °Brix με την ελάχιστη τιμή να σημειώνεται στη μέγιστη δόση N που ήταν τα 750 g/φυτό και για τα δύο έτη της μελέτης τους. Όσον αφορά την οξύτητα, οι ίδιοι ερευνητές παρατήρησαν ότι στην μέγιστη δόση N (750 g/φυτό) παρουσιάστηκε η υψηλότερη τιμή, ενώ η ελάχιστη τιμή οξύτητας στη μικρότερη δόση N (250 g/φυτό). Οι Fawole και Opara (2013a) αναφέρουν για την ποικιλία *Wonderful* ότι η οξύτητα στους ώριμους καρπούς πρέπει να είναι λιγότερο από 1,85% και τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά μεταξύ 15,0 – 17,0 °Brix, με τα δεδομένα αυτά να αποτελούν δείκτη ωριμότητας των συγκομιζόμενων καρπών της ποικιλίας. Τα αποτελέσματα για τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά της παρούσας μελέτης (°Brix) συμφωνούν με αυτά που αναφέρουν οι Holland et al. (2009) ότι τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά του χυμού δεν επηρεάζονται από τις αυξανόμενες δόσεις αζώτου.

Το χρώμα αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την αγοράς και τις προτιμήσεις των καταναλωτών σε φρούτα, συμπεριλαμβανόμενων και των ροδιών (Holland et al., 2009). Επίσης, οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του χρώματος του φλοιού των καρπών και του χρώματος των καρπιδίων (Holland et al., 2009). Οι παράγοντες L*, a*, b*, C* και h του φλοιού των καρπών για το 2014 δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων (Διάγραμμα 10), αντίθετα το 2015 παρατηρήθηκαν στατιστικές

σημαντικές διαφορές στο χρώμα αλλά μόνο στον παράγοντα χρώματος του φλοιού L^* με την επέμβαση των +500 g N/φυτό (υψηλότερη δόση) να εμφανίζει τη χαμηλότερη τιμή (Διάγραμμα 15). Το αποτέλεσμα αυτό πιθανόν να οφείλεται ότι οι καρποί ήταν εκτεθειμένοι στην ηλιακή ακτινοβολία και επίδραση των υψηλών δόσεων αζώτου στο χρώμα των καρπών. Επομένως, οι καρποί ήταν περισσότερο σκούροι καθώς ο παράγοντας L^* χρώματος του φλοιού σχετίζεται με τη φωτεινότητα. Οι Nuncio-Jáuregui et al. (2014) αναφέρουν ότι η ανατολική έκθεση των ροδιών στον ήλιο έχει ως αποτέλεσμα χαμηλότερο L^* πιο σκούρα χρώματα και ταυτόχρονα υψηλότερη τιμή a^* που σχετίζεται με το πράσινο-κόκκινο χρώμα και χαμηλότερη τιμή b^* που σχετίζεται με μπλε-κίτρινο χρώμα. Ο συνδυασμός αυτός οδηγεί σε έντονο κόκκινο χρώμα που προκύπτει από το συνδυασμό κόκκινων και μπλε αποχρώσεων. Επίσης, παρατήρησαν οι παραπάνω ερευνητές ότι κατά την ωρίμανση οι παράγοντες L^* , b^* και h μειώθηκαν, ενώ αυξήθηκαν οι παράγοντες χρώματος a^* και C^* του φλοιού των καρπών. Ωστόσο, δεν υπάρχουν μελέτες σχετικές με την επίδραση του αζώτου στους παράγοντες του χρώματος του φλοιού των καρπών ώστε να γίνουν συγκρίσεις.

Μία από τις επιθυμητές μεταβολές στα ρόδια είναι η απώλεια της στυπτικότητας, η οποία συμβαίνει κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των καρπών και οφείλεται κυρίως στην πτώση των φαινολικών ενώσεων κατά την ωρίμανση (Al – Maiman and Ahmad, 2002; Kulkarni and Aradhya, 2005). Σύμφωνα με τους Kulkarni και Aradhya (2005), μείωση 54,5% συμβαίνει στα ολικά φαινολικά κατά τη διάρκεια του αρχικού σταδίου σχηματισμού των καρπών σε διάστημα 20 – 40 ημερών μετά την καρπόδεση. Η μείωση αυτή συνεχίζεται μέχρι την 140^η ημέρα όπου οι καρποί θεωρούνται πλήρως ώριμοι. Οι Weerakkody et al. (2010) βρήκαν πτώση 50% στα φαινολικά σε ώριμους καρπούς το πρώτο έτος μελέτης στη ροδιά cv. *Wonderful*, ενώ τη δεύτερη χρονιά οι φαινολικές ενώσεις αρχικά αυξήθηκαν τις πρώτες δέκα εβδομάδες μετά την καρπόδεση και στη συνέχεια μειώθηκαν απότομα.

Στην παρούσα μελέτη τα ολικά φαινολικά μετρήθηκαν σε ώριμους καρπούς. Στα ολικά φαινολικά και για τα δύο έτη μελέτης, οι χαμηλότερες τιμές παρουσιάστηκαν στην επέμβαση με τα +50 g άζωτο/δένδρο. Γενικά, όμως δεν βρέθηκαν στατιστικές σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων του αζώτου. Οι ολικές φαινολικές ουσίες σε πλήρως ώριμους καρπούς της ποικιλίας *Wonderful* όπως αναφέρονται στη μελέτη των Mphahlele et al. (2014) κυμάνθηκαν από 202,36 – 288,02 mg GAE/100 mL χυμού (mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος/100 mL) σε τρεις διαφορετικές περιοχές της Ν. Αφρικής. Στην μελέτη αυτή για το έτος 2014, τα ολικά φαινολικά

έλαβαν τιμές από 1,94 – 2,18 mg TAE/mL χυμού (mg ισοδυνάμων ταννικού οξέος/100 mL) με τη χαμηλότερη τιμή να είναι μικρότερη από αυτές των Mphahlele et al. (2014) και υπόλοιπες τιμές εντός του εύρους τιμών και η μέγιστη τιμή βρέθηκε στον μάρτυρα και για το 2015 κυμάνθηκαν από 1,5 – 1,6 mg TAE/mL χυμού, οι οποίες ήταν χαμηλότερες από το εύρος τιμών που βρήκαν Mphahlele et al. (2014) στη μελέτη τους με τη μέγιστη τιμή να έχει καταγραφεί στην επέμβαση με +200 g άζωτο. Αρκετές μελέτες υποστηρίζουν ότι σημαντική μείωση των φαινολικών ουσιών στα ρόδια συμπίπτει με απότομη μείωση των αντιοξειδωτικής ικανότητας του χυμού κατά τη διάρκεια ανάπτυξης των καρπών (Borochoy–Neori et al., 2009; Weerakkody et al., 2010; Fawole and Opara, 2013a). Αυτό το αποδίδουν σε πλήθος φυσιολογικών, βιοχημικών και δομικών μεταβολών που συμβαίνουν κατά την ωρίμανση των καρπών και των κλιματικών συνθηκών της περιοχής (Fawole and Opara, 2013b), οι οποίες έχουν ως συνέπεια την οξείδωση των πολυφαινολών (Amiot et al., 1995; Kulkarni and Aradhya, 2005; Shwartz et al., 2009; Fawole and Opara, 2013b).

Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα με τη μέθοδο DPPH ήταν χαμηλότερη το 2014 στην επέμβαση με τα +100 g αζώτου και το 2015 στην επέμβαση με τα +50 g άζωτο. Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα με τη μέθοδο ABTS ήταν χαμηλότερη το 2014 στην επέμβαση με τα +50 g άζωτο, ενώ το 2015 ήταν χαμηλότερη στην επέμβαση με τα +50 g άζωτο και στον μάρτυρα. Και στα δύο χρόνια της μελέτης, όμως, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων του αζώτου στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα σε καμία από τις δύο μεθόδους. Επίσης τα αποτελέσματα έδειξαν υψηλότερες τιμές όταν προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο DPPH. Ακόμη, σημειώθηκε θετική συσχέτιση των ολικών φαινολικών με την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα και για τις δυο μεθόδους προσδιορισμού της, για τα δύο πειραματικά έτη (Πίνακες 19 και 23). Στη μελέτη των Pantelidis et al. (2012), η αντιοξειδωτική ικανότητα στην ποικιλία *Wonderful* προσδιορίστηκε με τη μέθοδο DPPH και η τιμή της ήταν 124,8 mg ασκορβικού οξέος/100 mL χυμού. Στους υπόλοιπους γονότυπους που μελετήθηκαν από τους παραπάνω ερευνητές, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα κυμάνθηκε από 60,2 – 139,4 mg ασκορβικού οξέος/100 mL χυμού. Οι Drogoudi et al. (2005) μελέτησαν την αντιοξειδωτική ικανότητα σε είκοσι γονότυπους ροδιάς και βρήκαν ότι κυμάνθηκε από 10 – 25 mM ισοδύναμα ασκορβικού οξέος. Οι Gundodogdu και Yilmaz (2012) μελέτησαν την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα σε χυμό 16 ποικιλιών και γονοτύπων, ευρέως καλλιεργούμενων στην Τουρκία, με τη μέθοδο ABTS και βρήκαν εύρος τιμών από 6,45 – 14,67 mmol TE/L. Από τον προσδιορισμό της

ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο ABTS για τη μελέτη μας που πραγματοποιήθηκε τα έτη 2014 – 2015 προέκυψε ότι βρέθηκαν στο εύρος τιμών όπως αναφέρεται παραπάνω στην έρευνα των Gundodogdu και Yilmaz (2012).

Οι Al – Maiman and Ahmad, (2002) αναφέρουν ότι στην ποικιλία *Taifi*, η συγκέντρωση ασκορβικού οξέος σημείωσε ταχεία ελάττωση στο χυμό ροδιού κατά τα αρχικά στάδια ωρίμανσης των καρπών και περαιτέρω σταδιακή πτώση μέχρι την πλήρη ωρίμανση των καρπών (Kulkarni και Aradhya, 2005). Στην παρούσα μελέτη, το ασκορβικό οξύ μετρήθηκε σε ώριμους καρπούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χαμηλότερη τιμή καταγράφηκε στην επέμβαση με τα +200 g N/δένδρο για το 2014, ενώ το 2015 στην επέμβαση με τα +500 g αζώτου χωρίς όμως να υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων του αζώτου. Οι Kashyap et al. (2012) βρήκαν ότι το ασκορβικό οξύ από τις διάφορες επεμβάσεις με άζωτο (250, 375, 500, 625 και 750 g/φυτό) και για τα δύο έτη πειραμάτων τους ήταν χαμηλότερο στην επέμβαση με 250 g N/φυτό (15,80 mg/100 g καρπού) και την υψηλότερη τιμή η μεγαλύτερη δόση N (16,35 mg/100 g καρπού). Οι τιμές αυξάνονταν με την αύξηση της δόσης N με σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων αν και οι απόλυτες τιμές τους δεν ήταν πολύ διαφορετικές. Οι Dutta Ray et al. (2014) στη σχετική μελέτη τους βρήκαν ότι δεν υπήρξε σημαντική διαφορά μεταξύ των 4 διαφορετικών επεμβάσεων αζώτου (100, 200, 300 και 400 g N/δένδρο) που χρησιμοποίησαν ούτε μεταξύ αυτών και του μάρτυρα (χωρίς άζωτο). Οι τιμές του κυμάνθηκαν από 20,63 (μάρτυρας) μέχρι 20,99 mg ασκορβικού οξέος/100 ml χυμού που είναι πολύ μεγαλύτερες από αυτές της παρούσας μελέτης που κυμάνθηκαν από 4,5 μέχρι 7,0 mg ασκορβικού οξέος/100 ml χυμού και στα δύο χρόνια που μετρήθηκαν. Οι διαφορές αυτές μπορεί να οφείλονται στη διαφορετική ποικιλία *Ganesh* που χρησιμοποίησαν ή ακόμη και στις εδαφοκλιματικές συνθήκες της περιοχής.

Από τις μετρήσεις των σακχάρων στο χυμό των καρπών βρέθηκαν τα ακόλουθα σάκχαρα: η σακχαρόζη, η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η μαννιτόλη. Συγκριτικά, βρέθηκαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στο χυμό των ροδιών τα μη μετακινούμενα σάκχαρα, δηλαδή η γλυκόζη και η φρουκτόζη. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με αυτά που αναφέρονται από Fawole και Opara (2013a) και των Mphahlele et al. (2016). Οι Carbonell – Barrachina et al. (2012) βρήκαν ότι η παρουσία σακχαρόζης και μαλτόζης ήταν σε μικρές συγκεντρώσεις. Οι Cui et al. (2004) αναφέρουν ότι εντόπισαν σε ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις τη σακχαρόζη. Η φρουκτόζη ήταν σε υψηλότερα επίπεδα από τη γλυκόζη στην αρχή της ωρίμανσης των καρπών

και όσο προχωρούσε η ωρίμανση των ροδιών τα επίπεδα των ανωτέρων σακχάρων έγιναν παρόμοια. Οι Dafny – Yalin et al. (2010) αναφέρουν ότι εντόπισαν στο χυμό ροδιών ως κυρίαρχα σάκχαρα τη γλυκόζη και τη φρουκτόζη, με τη σακχαρόζη και τη μαλτόζη σε μικρότερες συγκεντρώσεις. Επομένως, γενικά τα αποτελέσματα για τα περιεχόμενα είδη σακχάρων στο χυμό συμφωνούν με τις περισσότερες προηγούμενες μελέτες. Όλες οι τιμές των συγκεντρώσεων για τα σάκχαρα (μεμονωμένα ή ολικά), δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων N και για τα δύο έτη διεξαγωγής των πειραμάτων. Τα αποτελέσματα της μελέτης συμφωνούν μερικώς με αυτά των Kashyap et al. (2012) που βρήκαν ότι τα σάκχαρα, μετακινούμενα και μη, παρουσίασαν υψηλότερη τιμή στην επέμβαση με 500 g άζωτο και κυμάνθηκαν μεταξύ 10,53 – 11,46 %, για τα δύο έτη πειραμάτων στη cv. *Ganesh*. Η παραπέρα όμως αύξηση της δόσης του αζώτου στα 625 και 725 g N/δένδρο μείωσε τη συγκέντρωση των διαλυτών σακχάρων. Τη μείωση αυτή απέδωσαν στην αραιώση των στερεών συστατικών και των σακχάρων με αύξηση των διαστάσεων των καρπών. Οι Gill et al. (2013) ανέφεραν ότι τις υψηλότερες συγκεντρώσεις μη μετακινούμενων σακχάρων προέκυψαν στην επέμβαση με 200 g N/δένδρο. Οι Mohamed et al. (2014) βρήκαν ότι τα ολικά σάκχαρα είχαν υψηλότερη τιμή στη δόση με 300 g N/δένδρο και οι τιμές κυμαίνονταν από 10,5 % για την επέμβαση των 100 g N/δένδρο μέχρι 12,2 % για την επέμβαση των 300 g N/δένδρο. Παραπέρα όμως αύξηση της δόσης του αζώτου (400 g N/δένδρο) μείωσε τη συγκέντρωση των ολικών σακχάρων. Παρόμοια αποτελέσματα βρήκαν και για τα μη μετακινούμενα σάκχαρα που σημείωσαν υψηλότερη τιμή στην επέμβαση με τα 300 g N/δένδρο και για τα δύο έτη πειραμάτων στην ποικιλία *Wonderful*. Οι Dutta Ray et al. (2014) κατέγραψαν υψηλότερη τιμή στα ολικά σάκχαρα στην επέμβαση των 1000 g οργανικού λιπάσματος (neem cake) σε συνδυασμό με 300 g άζωτο. Από τις χρησιμοποιηθείσες τιμές αζώτου/δένδρο (100, 200, 300 και 400 g N/δένδρο) στην ερευνά τους, την υψηλότερη τιμή σακχάρων έδωσε η δόση των 400 g N/δένδρο. Η διαφορετική επίδραση του αζώτου στη συγκέντρωση των σακχάρων στα διάφορα πειράματα και σε σχέση με αυτή της παρούσας μελέτης πιθανόν να οφείλεται στις διαφορετικές ποικιλίες, το διαφορετικό έδαφος και τα επίπεδα του αζώτου σε αυτό, καθώς και στις κλιματικές συνθήκες και άλλους παράγοντες, όπως η θρεπτική κατάσταση των φυτών και η άρδευση.

Οι απόλυτες τιμές των ολικών διαλυτών σακχάρων της παρούσας μελέτης ήταν παρόμοιες με αυτές που αναφέρουν οι Fawole και Opara (2013a) (12-16%) αλλά σχετικά

υψηλότερες από αυτές άλλων ερευνητών που αναφέρθηκαν προηγούμενα (Dutta Ray et al. 2014; Mohamed et al. 2014, Gill, et al. 2013).

5. Συμπεράσματα

Τα συμπεράσματα που εξάγονται από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν είναι τα εξής:

- ☞ Δεν υπήρχε καμμία σημαντική επίδραση των διαφορετικών δόσεων αζώτου στις συγκεντρώσεις του αζώτου και των υπόλοιπων θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα της ροδιάς, εξαίρεση αποτέλεσε η σημαντική μείωση του κάλιου στα +200 g αζώτου στη δεύτερη συλλογή φύλλων για το έτος 2014.
- ☞ Οι διαφορετικές δόσεις αζώτου επηρέασαν ορισμένα μόνο από τα χαρακτηριστικά των καρπών της ροδιάς της ποικιλίας *Wonderful*.
- ☞ Το 2014, η υψηλότερη επέμβαση με άζωτο (+500 g/φυτό), αύξησε την παραγωγικότητα, το βάρος των καρπών και των καρπιδίων και τη χυμοπεριεκτικότητα, συγκρινόμενη με τις χαμηλότερες επεμβάσεις αζώτου. Η επίδραση αυτή όμως δεν διατηρήθηκε το δεύτερο χρόνο (2015), ενώ είχε επιρροή στο χρώμα των καρπών.
- ☞ Δεν υπήρξε καμμία επίδραση του αζώτου στα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά, στο pH, την ολική οξύτητα, τις ολικές φαινολικές ενώσεις, την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα, το ασκορβικό οξύ και τα ολικά και μεμονωμένα σάκχαρα και για τα δύο έτη προσδιορισμού των παραμέτρων αυτών.
- ☞ Σαν γενικό συμπέρασμα προκύπτει ότι η επιπλέον αύξηση της δόσης του αζώτου πέραν των 84 g/δένδρο (της βασικής λίπανσης) στο συγκεκριμένο κτήμα και ποικιλία δεν είχε σημαντική θετική επίδραση στη θρεπτική κατάσταση των δένδρων, ούτε στην παραγωγή και τα περισσότερα ποιοτικά χαρακτηριστικά των δένδρων με εξαίρεση την μερική επίδραση της δόσης των +500 g N το 2014 στην παραγωγικότητα των δένδρων.
- ☞ Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν μερικώς με ορισμένες από τις προηγούμενες μελέτες που αφορούσαν την επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών και του χυμού.
- ☞ Αντίθετα δεν συμφωνούν με άλλες μελέτες που έχουν δείξει κάποιες επιδράσεις παρόμοιων δόσεων αζώτου στην παραγωγικότητα και ορισμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών.

- ☞ Χρειάζεται περισσότερης διάρκειας μελέτη και σε δένδρα μεγαλύτερης ηλικίας για την εξαγωγή τελικών συμπερασμάτων σχετικά με την επίδραση του αζώτου στην παραγωγή και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών.

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Abdel-Sattar, M., and Mohamed,Y.I. (2017). Pomegranate Trees Productivity in Response to Three Levels of Irrigation and Slow or Fast Nitrogen Release Fertilizer as Well as Their Combinations. *Journal Plant Production*, **8**(8): 813- 820.
- Al-Maiman, S. A., and Ahmad, D. (2002). Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. *Food Chemistry*, **76**(4): 437- 44.
- Amiot, M. J., Tacchini, M., Aubert, S. Y., and Oleszek, W. (1995). Influence of cultivar, maturity stage, and storage conditions on phenolic composition and enzymic browning of pear fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**(5): 1132-1137.
- Bajaj, K., and Kaur, G. (1981). Spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in vegetables and fruits. *Analyst*, **106**(1258): 117-120.
- Baligar,V.C., Fageria, N.K., and He, Z.L. (2001). Nutrient use efficiency in plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **32**(7- 8): 921- 950.
- Bianco, M.S., Cecílio-Filho, A.B., and De Carvalho, L.B. (2015). Nutritional status of the cauliflower cultivar ‘Verona’grown with omission of out added macronutrients. *PloS one*, **10**(4): e0123500.
- Borochoy-Neori, H., Judeinstein, S., Tripler, E., Harari, M., Greenberg, A., Shomer, I., and Holland, D. (2009). Seasonal and cultivar variations in antioxidant and sensory quality of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*, **22**(3): 189-195.
- Cameron, D., Nyborg, M., Toogood, J., and Lavery, D. (1971) Accuracy of field sampling for soil tests. *Canadian Journal of Soil Science*, **51**(2): 165-175.
- Carbonell- Barrachina, A., Calín- Sánchez, A., Bagatar, B., Hernández, F., Legua, P., Martínez-Font, R., and Melgarejo, P. (2012). Potential of Spanish sour–sweet pomegranates

- (cultivar C25) for the juice industry. *Food science and technology international*, **18**(2): 129-138.
- Chapman, H. D. (1960). Leaf and soil analysis in citrus orchards. University of California Division of Agricultural Sciences, Manual **25**.
- Cheng, L. (2013). Optimizing Nitrogen and Potassium Management to Foster Apple Tree Growth and Cropping Without Getting 'Burned'. *New York Fruit Quarterly*, **21**(1): 21-24.
- Crawford, N.M. (1995). Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *The plant cell*, **7**(7): 859.
- Cui, S.M., Sasada, Y., Sato, H., and Nii, N. (2004). Cell structure and sugar and acid contents in the arils of developing pomegranate fruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, **73**(3): 241-243.
- Dafny- Yalin, M., Glazer, I., Bar-Ilan, I., Kerem, Z., Holland, D., and Amir, R. (2010). Color, Sugars and Organic Acids Composition in Aril Juices and Peel Homogenates Prepared from Different Pomegranate Accessions. *Journal of agricultural and food chemistry*, **58**(7): 4342-4352.
- Dhillon, W.S., Gill, P.P.S., and Singh, N.P. (2011). Effect of nitrogen, phosphorus and potassium fertilization on growth, yield and quality of pomegranate 'Kandhari'. *Acta horticulturae*, **890**: 327- 332.
- Drogoudi, P.D., Tsipouridis, C., and Michailidis, Z. (2005). Physical and chemical characteristics of pomegranates. *HortScience*, **40**(5): 1200-1203.
- Dutta Ray, S.K., Takawale, P.V., Chatterjee, R., and Hnamte, V. (2014). Yield and quality of pomegranate as influenced by organic and inorganic nutrients. *The Bioscan*, **9**(2): 617-620.
- Fageria, N.K., Baligar, V.C., and Jones, C.A. (1994). Diagnostic techniques for nutritional disorders. *Growth and Mineral Nutrition of Field Crops*. Marcel Dekker: 83- 134.

- Fawole, O.A., and Opara, U.L. (2013a). Developmental changes in maturity indices of pomegranate fruit: A descriptive review. *Scientia horticulturae*, **159**: 152-161.
- Fawole, O.A., and Opara, U.L. (2013b). Seasonal variation in chemical composition, aroma volatiles and antioxidant capacity of pomegranate during fruit development. *African Journal of Biotechnology*, **12**(25).
- Fernandez-Escobar, R., Moreno, R., and Garcia-Creus, M. (1999). Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate-bearing cycle. *Scientia horticulturae*, **82**(1-2): 25-45.
- Franzen, D., and Cihacek, L. (1998). Soil Sampling as a Basis for Fertilizer Application.
- Gill, P., Kumar, M., Singh, N.P., and Dhillon, W.S. (2013). Studies on macronutrient fertilization in pomegranate under sub – tropical plains. *Journal of Horticultural Science*, **8**(2): 172-175.
- Gundogdu, M., and Yilmaz, H. (2012). Organic acid, phenolic profile and antioxidant capacities of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars and selected genotypes. *Scientia horticulturae*, **143**: 38-42.
- Hamouda, H., Ibrahim, G., and Hafez, O. M. (2014). Nutritional status, fruit quality and volatile compounds in eight Egyptian pomegranate cultivars. *British Journal of Applied Science and Technology*, **4**(22): 3263.
- Hamouda, H., Elham, Z.A.M., and Nagwa, G. (2015). Nutritional Status and Improving Fruit Quality by Potassium, Magnesium and Manganese Foliar Application in Pomegranate Shrubs. *International Journal of ChemTech Research*, **8**(6): 858- 867.
- Hamouda, H.A., Khalifa, R.K.M., El- Dahshouri, M.F., and Zahran, N.G. (2016). Yield, fruit quality and nutrients content of pomegranate leaves and fruit as influenced by iron, manganese and zinc foliar spray. *International Journal of PharmTech Research*, **9**(3): 46-57.

- Hasani, M., Zamani, Z., Savaghebi, G., and Fatahi, R. (2012). Effects of zinc and manganese as foliar spray on pomegranate yield, fruit quality and leaf minerals. *Journal of soil science and plant nutrition*, **12**(3): 471- 480.
- Hirel, B., Le Gouis, J., Ney, B., and Gallais, A. (2007). The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of Experimental Botany*, **58**(9): 2369- 2387.
- Hoagland, D.R. (1947). *Fertilizers, soil analysis and plant nutrition*. California, Agricultural Experiment Station.
- Holland, D., Hatib, K., and Bar-Ya'akov, I. (2009). Pomegranate: botany, horticulture, breeding. *Horticultural Reviews*, **35**(2): 127 – 191.
- Kashyap, P., Pramanick, K., Meena, K., and Meena, V. (2012). Effect of N and K application on yield and quality of pomegranate cv. Ganesh under rainfed conditions. *Indian Journal of Horticulture*, **69**(3): 322- 327.
- Khorsandi, F., Yazdi, F. A., and Vazifehshenas, M. R. (2009). Foliar zinc fertilization improves marketable fruit yield and quality attributes of pomegranate. *International Journal of Agriculture and Biology*, **11**(6): 766- 770.
- Krouk, G., Crawford, N.M., Coruzzi, G.M., and Tsay, Y.F. (2010). Nitrate signaling: adaptation to fluctuating environments. *Current opinion in plant biology*, **13**(3): 265- 272.
- Krouk, G., Ruffel, S., Gutierrez, R.A., Gojon, A., Crawford, N.M., Coruzzi, G.M., and Lacombe, B. (2011). A framework integrating plant growth with hormones and nutrients. *Trends in plant science*, **16**(4): 178- 182.
- Kulkarni, A.P., and Aradhya, S.M. (2005). Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food chemistry*, **93**(2): 319- 324.

- Leece, D. (1976). Diagnostic leaf analysis for stone fruit: Effects of fertilizer nitrogen, phosphorus, and potassium on leaf composition of peach. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **16**(82): 775- 779
- Leghari, S.J., Wahocho, N.A., Laghari, G.M., HafeezLaghari, A., MustafaBhabhan, G., HussainTalpur, K., Bhutto, T.A., Wahocho, S.A., and Lashari, A.A. (2016). Role of nitrogen for plant growth and development: a review. *Advances in Environmental Biology*, **10**(9): 209- 219.
- Liu, C.-W., Sung, Y., Chen, B.-C., and Lai, H.- Y. (2014). Effects of nitrogen fertilizers on the growth and nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *International journal of environmental research and public health*, **11**(4): 4427- 4440.
- Masclaux-Daubresse, C., Daniel-Vedele, F., Dechorgnat, J., Chardon, F., Gaufichon, L., and Suzuki, A. (2010). Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. *Annals of botany*, **105**(7): 1141- 1157.
- Mengel, K., and Kirkby, E.A. (1982). *Principles of Plant Nutrition*. 3rd Edition. International Potash Institute, Warblafen- Bern Switzerland.
- Mickelson, S., See, D., Meyer, F.D., Garner, J.P., Foster, C.R., Blake, T.K., and Fischer, A.M. (2003). Mapping of QTL associated with nitrogen storage and remobilization in barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves. *Journal of Experimental Botany*, **54**(383): 801- 812.
- Milošević, T., and Milošević, N. (2011). Diagnose apricot nutritional status according to foliar analysis. *Plant, Soil and Environment*, **57**: 301-306.
- Mohamed, M.A., Ibrahiem, H.I.M., and Omar, M.O.A. (2014). Selecting the best N, P and K levels for the newly introduced Wonderful pomegranate trees grown under Minia region. *Word Rural Observation*, **6**(4): 23- 29.
- Mohammad, G., Ahmed, N., Marri, A.S., Bugti, G.A., Ahmed, M., and Anjum, J. (2011). Effect of balanced fertilization on pomegranate (*Punica granatum*), fruit cracking and production. *Balochistan Journal of Agricultural Science*, **11**(2): 63-69.

- Mphahlele, R.R., Stander, M.A., Fawole, O.A., and Opara, U.L. (2014). Effect of fruit maturity and growing location on the postharvest contents of flavonoids, phenolic acids, vitamin C and antioxidant activity of pomegranate juice (cv. Wonderful). *Scientia horticulturae*, **179**: 36-45.
- Mphahlele, R.R., Caleb, O.J., Fawole, O.A., and Opara, U.L. (2016). Effects of different maturity stages and growing locations on changes in chemical, biochemical and aroma volatile composition of 'Wonderful' pomegranate juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **96**(3): 1002-1009.
- Murphy, J., and Riley, J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, **27**: 31-36.
- Näsholm, T., Kielland, K., and Ganeteg, U. (2009). Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist*, **182**(1): 31- 48.
- Nuncio-Jáuregui, N., Calín-Sánchez, A., Carbonell-Barrachina, A., and Hernández, F. (2014). Changes in quality parameters, proline, antioxidant activity and color of pomegranate (*Punica granatum* L.) as affected by fruit position within tree, cultivar and ripening stage. *Scientia horticulturae*, **165**: 181-189.
- Obaid, E., and Al- Hadethi, M. (2013). Effect of foliar application with manganese and zinc on pomegranate growth, yield and fruit quality. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants*, **5**(1): 41-45.
- Olsen, S.R. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate: United States Department of Agriculture, Washington.
- Ouzounis, T., and Lang, G.A. (2011). Foliar applications of urea affect nitrogen reserves and cold acclimation of sweet cherries (*Prunus avium* L.) on dwarfing rootstocks. *HortScience*, **46**(7): 1015-1021.

- Pantelidis, G., Drogoudi, P., and Manganaris, A. (2012). Physico-chemical and antioxidant properties of pomegranate genotypes in Greece Paper presented at the II International Symposium on the Pomegranate, **103**: 335-337
- Paungfoo-Lonhienne, C., Lonhienne, T.G.A., Rentsch, D., Robinson, N., Christie, M., Webb, R.I., Gamage, H.K., Carroll, B.J., Schenk, P.M., and Schmidt, S. (2008). Plants can use protein as a nitrogen source without assistance from other organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**(11): 4524-4529.
- Prasad, R.N., and Mali, P.C. (2003). Effect of different levels of nitrogen on quality characters of pomegranate fruit cv. Jalore Seedless. *Scientia horticulturae*, **8**: 35-39.
- Rafiq, M.A., Ali, A., Malik, M.A., and Hussain, M. (2010). Effect of fertilizer levels and plant densities on yield and protein contents of autumn planted maize. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, **47**(3): 201- 208.
- Ramezani, A., Rahemi, M., and Vazifehshenas, M.R. (2009). Effects of foliar application of calcium chloride and urea on quantitative and qualitative characteristics of pomegranate fruits. *Scientia horticulturae*, **121**(2): 171-175.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, **26**(9- 10): 1231-1237.
- Roussos, P., and Pontikis, C. (2001). Phenolic compounds in olive explants and their contribution to browning during the establishment stage in vitro. *Gartenbauwissenschaft*, **66**(6): 298-303.
- Roussos, P.A., Denaxa, N.-K., Damvakaris, T., Stournaras, V., and Argyrokastritis, I. (2010). Effect of alleviating products with different mode of action on physiology and yield of olive under drought. *Scientia horticulturae*, **125**(4): 700-711.
- Rufat, J., and DeJong, T.M. (2001). Estimating seasonal nitrogen dynamics in peach trees in response to nitrogen availability. *Tree physiology*, **21**(15): 1133-1140.

- Schulten, H.-R., and Schnitzer, M. (1998). The chemistry of soil organic nitrogen: a review. *Biology and Fertility of Soils*, **26**(1): 1-15.
- Sheets, M., Du Bois, M., and Williamson, J. (1994). The Pomegranate1.
<https://www.growables.org/information/TropicalFruit/documents/PomegranateEdis.pdf>
- Sheikh, M., and Manjula, N. (2006). Effect of split application of N and K on growth and fruiting in Ganesh pomegranate (*Punica granatum* L.). Paper presented at the I International Symposium on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits, **818**: 213-218.
- Singh, D., and Singh, R. (2002). Nitrogen nutrition of peach- a review. *Agricultural reviews – Agricultural research communications centre India*, **23**(1): 46-52.
- Shwartz, E., Glazer, I., Bar-Ya'akov, I., Matityahu, I., Bar-Ilan, I., Holland, D., and Amir, R. (2009). Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of two commercially important pomegranate accessions. *Food Chemistry*, **115**(3): 965-973.
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., and Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food chemistry*, **90**(3): 333-340.
- Thokchom, R., Sharma, D., and Thakur, K. (2018). Effect of Rejuvenation Pruning and Nitrogen Levels on Leaf Nutrient Status of Old and Senile Apricot (*Prunus armeniaca* L.) cv. New Castle Trees. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **7**(1): 2492-2500.
- Ullah, M.A., Anwar, M., and Rana, A.S. (2010). Effect of nitrogen fertilization and harvesting intervals on the yield and forage quality of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) under mesic climate of Pothowar plateau. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, **47**(3): 231-234.

- Vemmos, S.N. (1999). Carbohydrate content of inflorescent buds of defruited and fruiting pistachio (*Pistacia vera* L) branches in relation to biennial bearing. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **74**(1): 94-100.
- Villora, G., Moreno, D.A., and Romero, L. (2004). Crop quality under adverse conditions: importance of determining the nutritional status. In *Production Practices and Quality Assessment of Food Crops*, Springer: 59-78.
- Walley, F., Yates, T., Van Groenigen, J.-W., and Van Kessel, C. (2002). Relationships between soil nitrogen availability indices, yield, and nitrogen accumulation of wheat. *Soil Science Society of America Journal*, **66**(5): 1549-1561.
- Weerakkody, P., Jobling, J., Infante, M.M.V., and Rogers, G. (2010). The effect of maturity, sunburn and the application of sunscreens on the internal and external qualities of pomegranate fruit grown in Australia. *Scientia horticulturae*, **124**(1): 57-61.
- Zekri, M. (2012). Pomegranate Nutrition. University of Florida, IFAS extension. http://www.crec.ifas.ufl.edu/extension/pomegranates/pdfs/Zekri_Mongi%20Nutrition.pdf

Ελληνική βιβλιογραφία

- Ασημακόπουλος, Ι. (2005). Εργαστηριακές ασκήσεις των μαθημάτων Γονιμότητα εδάφους – Αναλύσεις φυτών και εδαφών – Αξιολόγηση αποτελεσμάτων – Λιπάσματα- Λιπάνσεις, Αθήνα.
- Βαχαμίδης, Π.Α. και Βέμμος, Σ. (2009). Η ροδιά και η καλλιέργειά της. *Γεωργία – Κτηνοτροφία*, **2**: 30-39.
- Γασπαράτος, Δ., Καβασίλης, Σ. και Γιαννακοπούλου, Φ. (2011). Ασκήσεις γενικής εδαφολογίας, Αθήνα.
- Δρογούδη, Π., Τσιπουρίδης Κ. και Πανταζής Σ. (2007). Η καλλιέργεια της ροδιάς. *Γεωργία – Κτηνοτροφία* **1**: 24-29.

- Δρογούδη, Π., Βασιλακάκης, Μ., Θωμίδης, Θ., Ναβροζίδης, Ε. και Παντελίδης, Γ. (2012). Εγχειρίδιο για την καλλιέργεια της ροδιάς. Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων Ναουσας, ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ.
- Θεριός, Ι. (2005). Ανόργανη θρέψη και λιπάσματα. Εκδ. Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.
- Θεριός, Ι. και Δημάση – Θεριού Κ. (2013). Ειδική Δενδροκομία – Φυλλοβόλα Οπωροφόρα Δένδρα. Εκδ. Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.
- Μελέτης, Κ., Βέμμος, Σ. και Παπαδάκης Ι. (2016). Επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στη θρεπτική κατάσταση των φύλλων, στην παραγωγή και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών της ροδιάς. Πρακτικά 27ου Πανελλήνιου Επιστημονικού Συνεδρίου της Ελληνικής Εταιρείας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών, Βόλος, **17(A)**: 299-302
- Μουστάκας, Ν. (2011). Σημειώσεις – Αναλύσεις φυτών – Εδαφών – Αξιολόγηση αποτελεσμάτων, Αθήνα.
- Ρουμπελάκη–Αγγελάκη, Κ. (2003). Φυσιολογία Φυτών–από το μόριο στο περιβάλλον. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης: ISBN 960-524-168-4.
- Στυλιανίδης, Δ., Σιμώνης, Α. και Συργιαννίδης, Γ. (2002). Θρέψη – Λίπανση Φυλλοβόλων Οπωροφόρων Δένδρων. Εκδ. Σταμούλη, Αθήνα.

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1. Άγονο άνθος (Α) και τομή άγονου άνθους (Β) ροδιάς.....	23
Εικόνα 2. Γόνιμο άνθος (Α) και τομή γόνιμου άνθους (Β) ροδιάς.....	23
Εικόνα 3. Καρποί ποικιλίας <i>Ερμιόνης</i>	33
Εικόνα 4. Καρποί γονότυπου <i>Περσεφόνης</i>	34
Εικόνα 5. Καρποί ποικιλίας <i>Wonderful</i>	36
Εικόνα 6. Καρποί ποικιλίας <i>Acco</i>	37
Εικόνα 7. Οφθαλμός ροδιάς σε λήθαργο (Α) του γονότυπου <i>Περσεφόνη</i> (14/01/2015) και σε τομή (Β). Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm.	60
Εικόνα 8. Οφθαλμός ροδιάς σε λήθαργο (τέλος Φεβρουαρίου) του γονότυπου <i>Περσεφόνη</i> πριν την έναρξη ανοίγματος των λεπιών (Α) και κατά το άνοιγμα των λεπιών (Β) και τομή ληθαργούντος οφθαλμού κατά το άνοιγμα των λεπιών (Γ).	60
Εικόνα 9. Εκπτυγμένος βλαστοφόρος οφθαλμός του γονότυπου <i>Περσεφόνη</i> κατά ημερομηνία 5/3/2015 (Α: ολόκληρος και Β: σε τομή). Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm.	63
Εικόνα 10. Τομές εκπτυγμένων βλαστοφόρων οφθαλμών του γονότυπου <i>Περσεφόνη</i> 16/3/2015. Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm.	64
Εικόνα 11. Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με διακριτά μόνο τα σέπαλα χωρίς να είναι διακριτά τα υπόλοιπα ανθικά όργανα. Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm.	66
Εικόνα 12. Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με εμφάνιση σεπάλων, και καταβολών στημόνων και υπέρου. Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm.	66
Εικόνα 13. Κλειστό άνθος σε τομή με εμφάνιση αυξημένου μεγέθους σεπάλων, στημόνων και υπέρου. Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm.	67
Εικόνα 14. Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με την εμφάνιση σεπάλων, στημόνων με ανθήρες, καλά ανεπτυγμένου υπέρου και πετάλων. Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 μm.	67
Εικόνα 15. Αυξημένο μέγεθος κλειστού άνθους και ανθικών μερών (όπου Α: ανθήρες, Β: πέταλα, Σ: σέπαλα και Υ: ύπερος) Α: ολόκληρο και Β: σε τομή. Η μπάρα ισοδυναμεί με 1000 μm.	68
Εικόνα 16. Άνοικτο άγονο άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή.	68
Εικόνα 17. Μικρός καρπός Α: ολόκληρος και Β: σε τομή.	68
Εικόνα 18. Αναπαραγωγική κορυφή σε βλαστό τρέχουσας βλάστησης ολόκληρη (Α) και σε τομή (Β) και (Γ). Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm.	69
Εικόνα 19. Οφθαλμός σε λήθαργο (Α: ολόκληρος και Β: σε τομή). Η μπάρα ισοδυναμεί με 100 μm.	71
Εικόνα 20. Έναρξη έκπτυξης βλαστοφόρου οφθαλμού στις 22/2/2016 (Α: ολόκληρος και Β: σε τομή). Η μπάρα ισοδυναμεί με 1000 μm.	72
Εικόνα 21. Εκπτυγμένος βλαστοφόρος οφθαλμός Α: πάνω στο βλαστό, Β: ολόκληρος μετά την κοπή από το βλαστό και Γ: σε τομή. Διακρίνεται επίσης η κόκκινη κορυφή (22/2/2016). Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000, 2000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α, Β και Γ.	72
Εικόνα 22. Έναρξη έκπτυξης βλαστοφόρου οφθαλμού στις 22/2/2016 (Α: ολόκληρος και Β: σε τομή). Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.	73

Εικόνα 23.Εκπτυγμένος βλαστοφόρος οφθαλμός Α: πάνω στο βλαστό, Β: σε τομή. Διακρίνεται επίσης η κόκκινη κορυφή (22/2/2016). Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.....	73
Εικόνα 24.Έναρξη έκπτυξης ανθοφόρων οφθαλμών, πιθανή έναρξη διαφοροποίησης (Α,Γ): ολόκληροι οφθαλμοί και Β, Δ: σε τομές). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000, 1000, 5000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α, Β, Γ και Δ.	75
Εικόνα 25.Κλειστό άνθος (Α) ολόκληρο και Β σε τομή. Φαίνονται μόνο τα σέπαλα (κλειστός κάλυκας). Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.	76
Εικόνα 26.Κλειστά άνθη Α, Γ: ολόκληρο και Β, Δ: σε τομές με εμφάνιση σεπάλων που είναι ανοικτά εσωτερικά, καθώς και καταβολές στημόνων και υπέρου. Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000, 1000, 2000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α, Β, Γ και Δ.	77
Εικόνα 27.Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με εμφάνιση αυξημένου μεγέθους σεπάλων, καταβολών στημόνων, και υπέρου. Έναρξη σχηματισμού ανθήρων. Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 μm.....	78
Εικόνα 28.Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με την εμφάνιση όλων των ανθικών μερών και για πρώτη φορά των πετάλων, καλά ανεπτυγμένος ύπερος και στην κορυφή φαίνεται το στίγμα. Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm.....	78
Εικόνα 29.Καταβολές 4 – 5 κλειστών ανθέων από λογχοειδές με ένα κυρίαρχο γόνιμο άνθος (Α) και Β: σε τομή κλειστού άνθους με την εμφάνιση πετάλων, ανεπτυγμένος στύλος και στην κορυφή το στίγμα (στάδιο 4). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm.	79
Εικόνα 30.Αυξημένο μέγεθος κλειστού άνθους και ανθικών μερών (όπου Α: ανθήρες, Β: πέταλα, Σ: σέπαλα και Υ: ύπερος) Α: ολόκληρο και Β: σε τομή. Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm.	79
Εικόνα 31.Στύλος και στίγμα (Α), χώροι ωοθήκης (Β), στήμονας με διακριτά νήμα και ανθήρα (Γ). Η μπάρα των εικόνων είναι εκφρασμένη σε 1000, 5000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α, Β και Γ.....	80
Εικόνα 32.Ανοικτό άνθος (Α) με διακριτούς στήμονες και ανθήρες (Β). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm.	80
Εικόνα 33.Τομές άγονου άνθους (Α) και τομή γόνιμου άνθους (Β). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm.	81
Εικόνα 34.Μικρός καρπός (Α: ολόκληρος και Β: σε τομή).	81
Εικόνα 35.Μικρός καρπός σε τομή (Α: στύλος και στήμονες και Β: χώροι ωοθήκης με ωοθήκες). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm.	81
Εικόνα 36.Αναπαραγωγική κορυφή σε βλαστό τρέχουσας βλάστησης (Α: ολόκληρη, Β: μετά την αφαίρεση φύλλων και Γ: σε τομή). Η μπάρα των εικόνων είναι εκφρασμένη σε 5000, 2000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α, Β και Γ.	82
Εικόνα 37.Τομή μικρού άνθους με εμφανή μόνο τα σέπαλα (κλειστός κάλυκας) χωρίς να είναι διακριτές οι υπόλοιπες καταβολές ανθέων.	82

Εικόνα 38.Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με εμφάνιση σεπάλων, πρώτων καταβολών στημόνων και υπέρου. Η μπάρα ισοδυναμεί με 2000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.	83
Εικόνα 39.Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με εμφάνιση αυξημένου μεγέθους σεπάλων, υπέρου και στημόνων με έναρξη σχηματισμού ανθήρων. Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 και 2000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.	83
Εικόνα 40.Κλειστό άνθος Α: ολόκληρο και Β: σε τομή με την εμφάνιση σεπάλων, υπέρου, στημόνων με πιο ανεπτυγμένους τους ανθήρες και πρόσθετα την εμφάνιση των πετάλων. Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 και 2000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.	84
Εικόνα 41.Αυξημένο μέγεθος κλειστού άνθους και ανθικών μερών (όπου Α: ανθήρες, Π: πέταλα, Σ: σέπαλα και Υ: ύπερος) Α: ολόκληρο και Β: σε τομή. Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm.	84
Εικόνα 42. Πλήρης άνθηση, τομές άγονων ανθέων (Α, Β). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm...	85
Εικόνα 43.Τομές μικρού καρπού (Α, Β). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 μm.	85
Εικόνα 44.Μικρός καρπός (Α: ολόκληρο και Β: σε τομή).	86
Εικόνα 45.Αναπαραγωγική κορυφή σε τρέχουσα βλάστηση (Α: ολόκληρη και σε Β: σε τομή). Η μπάρα ισοδυναμεί με 5000 και 1000 μm, αντίστοιχα για τις εικόνες Α και Β.	86
Εικόνα 46.Άγονο άνθος (Α: ολόκληρο και Β: σε τομή).	87
Εικόνα 47.Κλειστό άνθος (μεμονωμένο) σε λογχοειδή βλάστηση (Α: χωρίς φύλλα και Β: με λίγα φύλλα).	87
Εικόνα 48.Κλειστό άνθος (κυρίαρχο) σε τρέχουσα βλάστηση συνοδευόμενο από τουλάχιστον δύο μικρότερα στα πλάγια (Α και Β).	88
Εικόνα 49.Αναπαραγωγικές κορυφές τρέχουσας βλάστησης (Α) και άνθη στην κορυφή τρέχουσας βλαστησης, ποικιλίας <i>Acco</i> (Β) στις 25/4/2016.	88
Εικόνα 50.Συνύπαρξη κλειστών ανθέων διαφορετικών σταδίων και ανοικτών ανθέων ροδιάς του γονότυπου <i>Περσεφόνη</i> (Α) στις 25/4/2016.	89
Εικόνα 51.Συνύπαρξη κλειστών και ανοικτών ανθέων ροδιάς ποικιλίας <i>Wonderful</i> στις 25/4/2016 (Α, Β).	89
Εικόνα 52.Ληθαργούντες οφθαλμοί ροδιάς.....	94
Εικόνα 53.Οφθαλμός σε λήθαργο στις 20/2/2015 (Α: σε ετήσιο βλαστό, Β: ολόκληρος και Γ: σε τομή).	118
Εικόνα 54.Αναπαραγωγική κορυφή στις 15/4/2015 (Α: στην κορυφή τρέχουσας βλάστησης Β: ολόκληρη μετά την αφαίρεση φύλλων και Γ:σε τομή).	118
Εικόνα 55. Βλαστοφόρα κορυφή στις 15/4/2015 (Α: από πλάγια τρέχουσα βλάστηση, Β: σε τομή και Γ:σε τομή).	118
Εικόνα 56.Πειραματικός αγρός ροδιάς στο Γεράκι Λακωνίας.....	161

Κατάλογος Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1. Μεταβολή της καλλιεργούμενης έκτασης της ροδιάς. Πηγή: ΥΠΑΑΤ	20
Διάγραμμα 2. Ποσοστό γόνιμων ανθέων (Α) και ποσοστό καρπόδεσης (Β) για τους γονότυπους <i>Wonderful</i> , <i>Acco</i> και <i>Περσεφόνη</i> για τα έτος 2015. Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι κάθε γονότυπου που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan's multiple range test, $p \leq 0,05$).	70
Διάγραμμα 3. Ποσοστό γόνιμων ανθέων (Α) και ποσοστό καρπόδεσης (Β) για τους γονότυπους <i>Wonderful</i> , <i>Acco</i> και <i>Περσεφόνη</i> για τα έτος 2016. Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι κάθε γονότυπου που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan's multiple range test, $p \leq 0,05$).	90
Διάγραμμα 4. Καμπύλες ανάπτυξης καρπών στους γονότυπους <i>Wonderful</i> , <i>Acco</i> και <i>Περσεφόνη</i> για τα έτη 2015 και 2016.	92
Διάγραμμα 5. Σχετική έκφραση (Α) <i>UGPase</i> , (Β) <i>SPS 1</i> , (Γ) <i>SPS 2</i> , (Δ) <i>APETALA 2</i> σε βλαστοφόρες κορυφές (VA), αναπαραγωγικές κορυφές (RA) και ωοθήκες (OV) ροδιάς. Οι μέσοι όροι ($\pm SE$) που σημειώνονται με το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους με $p \leq 0,05$ (Duncan's multiple range test, $n=3$).	131
Διάγραμμα 6. Ενζυμική δραστηριότητα (Α) <i>UGPase</i> και (Β) <i>SPS</i> σε βλαστοφόρες κορυφές (VA), αναπαραγωγικές κορυφές (RA) και ωοθήκες (OV) ροδιάς. Οι μέσοι όροι ($\pm SE$) που σημειώνονται με το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους με $p \leq 0,05$ (Duncan's multiple range test, $n=3$).	132
Διάγραμμα 7. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του Ν στις συγκεντρώσεις των στοιχείων Ν (Α), Ρ (Β), Κ (Γ), Να (Δ), Ca (Ε) και Mg (ΣΤ) στα φύλλα της ποικιλίας ροδιάς “ <i>Wonderful</i> ” κατά τις δύο δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν (13/06/2014 και 22/07/2014). Για κάθε ανόργανο στοιχείο και δειγματοληψία, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan's multiple range test, $p \leq 0,05$).	183
Διάγραμμα 8. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του Ν στις συγκεντρώσεις των στοιχείων Fe (Α), Mn (Β), Β (Γ), Zn (Δ) και Cu (Ε) στα φύλλα της ποικιλίας ροδιάς “ <i>Wonderful</i> ” κατά τις δύο δειγματοληψίες (13/06/2014 και 22/07/2014). Για κάθε ανόργανο στοιχείο και δειγματοληψία, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan's multiple range test, $p \leq 0,05$).	184
Διάγραμμα 9. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του Ν στο βάρος καρπού (Α), στο βάρος δρυπών ανά καρπό (Β), στο μήκος του καρπού χωρίς τον κάλυκα (Γ), στην ποσότητα χυμού ανά καρπό (Δ), στη χυμοπεριεκτικότητα (Ε) και στην παραγωγικότητα των δένδρων (ΣΤ) της ποικιλίας ροδιάς “ <i>Wonderful</i> ” (αποτελέσματα 2014). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan's multiple range test, $p \leq 0,05$).	187
Διάγραμμα 10. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του Ν στα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά του χυμού (Α), στην ογκομετρούμενη οξύτητα του χυμού (Β), στο pH του χυμού (Γ) και στους παράγοντες χρώματος L^* (Δ), a^* (Ε), b^* (ΣΤ), C^* (Ζ) και h (Η) του φλοιού καρπών	

της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” (αποτελέσματα 2014). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).	188
Διάγραμμα 11. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στα φαινολικά του χυμού(A), στην αντιοξειδωτική ικανότητα του χυμού (μέθοδος DPPH) (B), στην αντιοξειδωτική ικανότητα του χυμού (μέθοδος ABTS) (Γ), στη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος του χυμού (Δ), στη συγκέντρωση της σακχαρόζης του χυμού (E), στη συγκέντρωση της γλυκόζης του χυμού (ΣΤ), στη συγκέντρωση της φρουκτόζης του χυμού (Ζ), στη συγκέντρωση μαννιτόλης του χυμού (Η) και στη συγκέντρωση των ολικών σακχάρων του χυμού (Θ) της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” (αποτελέσματα 2014). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).	190
Διάγραμμα 12. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στις συγκεντρώσεις των στοιχείων N (A), P (B), K (Γ), Na (Δ), Ca (E) και Mg (ΣΤ) στα φύλλα της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” κατά τη δειγματοληψία (3/08/2015). Για κάθε ανόργανο στοιχείο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).	195
Διάγραμμα 13. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στις συγκεντρώσεις των στοιχείων Fe (A), Mn (B), B (Γ), Zn (Δ) και Cu (E) στα φύλλα της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” κατά τη δειγματοληψία (03/08/2015). Για κάθε ανόργανο στοιχείο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).	196
Διάγραμμα 14. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στο βάρος καρπού (A), στο βάρος δρυπών ανά καρπό (B), στο μήκος του καρπού χωρίς τον κάλυκα (Γ), στην ποσότητα χυμού ανά καρπό (Δ), στη χυμοπεριεκτικότητα (E) και στην παραγωγικότητα των δένδρων (ΣΤ) της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful”, (αποτελέσματα 2015). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).	197
Διάγραμμα 15. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά του χυμού (A), στην ογκομετρούμενη οξύτητα του χυμού (B), στο pH του χυμού (Γ) και στους παράγοντες χρώματος L* (Δ), a* (E), b* (ΣΤ), C* (Ζ) και h (Η) του φλοιού καρπών της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful” (αποτελέσματα 2015). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan’s multiple range test, $p \leq 0,05$).	199
Διάγραμμα 16. Επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων του N στα φαινολικά του χυμού (A), στην αντιοξειδωτική ικανότητα του χυμού (μέθοδος DPPH) (B), στην αντιοξειδωτική ικανότητα του χυμού (μέθοδος ABTS) (Γ), στη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος του χυμού(Δ), στη συγκέντρωση της σακχαρόζης του χυμού (E), στη συγκέντρωση της γλυκόζης του χυμού (ΣΤ), στη συγκέντρωση της φρουκτόζης του χυμού (Ζ), στη συγκέντρωση μαννιτόλης του χυμού (Η) και στη συγκέντρωση των ολικών σακχάρων του χυμού (Θ) της ποικιλίας ροδιάς “Wonderful”	

(αποτελέσματα 2015). Για κάθε παράμετρο, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Duncan's multiple range test, $p \leq 0,05$).
..... 201

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. Παγκόσμια παραγωγή ροδιών	21
Πίνακας 2. Κυριότερες χώρες καλλιέργειας της ροδιάς και η καλλιεργούμενη έκταση τους.....	21
Πίνακας 3. Στάδια διαφοροποίησης – ανθοφορίας σε λογχοειδή ροδιάς γονότυπου ‘Περσεφόνη’ το 2015.....	64
Πίνακας 4. Επίδραση της ποικιλίας στο ποσοστό γόνιμων ανθέων και στην καρπόδεση (2015).70	
Πίνακας 5. Επίδραση της ποικιλίας στον αριθμό γόνιμων ανθέων, στο ποσοστό γόνιμων ανθέων, στην καρπόδεση και στον αριθμό καρπών (2016).....	90
Πίνακας 6. Μέσες μηνιαίες θερμοκρασίες για τα δύο πειραματικά έτη 2015 και 2016.	97
Πίνακας 7. Αλληλουχίες εκκινητών (primers) για πειράματα της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (qPCR).	124
Πίνακας 8. Συγκεντρώσεις σακχάρων στους φυτικούς ιστούς. Βλαστοφόρες κορυφές (VA), αναπαραγωγικές κορυφές (RA) και αγωνιμοποίητες ωοθήκες ανθέων (OV) ροδιάς.....	128
Πίνακας 9. Συγκεντρώσεις σακχάρων σε ληθαργούντες οφθαλμούς ροδιάς (n=4).	129
Πίνακας 10. Σχετική έκφραση <i>UGPase</i> , <i>SPS 1</i> , <i>SPS 2</i> , <i>APETALA 2</i> καθώς και η ενζυμική δραστηριότητα <i>SPS</i> και <i>UGPase</i> σε ληθαργούντες οφθαλμούς (n=3).	133
Πίνακας 11. Αποτελέσματα εδαφικής ανάλυσης εδαφικού δείγματος (0-30 cm, 30-60 cm).....	180
Πίνακας 12. Στατιστική ανάλυση σύγκρισης των συγκεντρώσεων των θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα της ποικιλίας ροδιάς Wonderful κατά τις δύο δειγματοληψίες (13/6/2014 και 22/7/2014) (αποτελέσματα 2014).....	185
Πίνακας 13. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ του βάρους και άλλων παραμέτρων του καρπού αυτού, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2014).	192
Πίνακας 14. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της σακχαρόζης και των άλλων σακχάρων του χυμού των ροδιών, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2014).	192
Πίνακας 15. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ του pH του χυμού και των άλλων παραμέτρων του χυμού, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2014).	192
Πίνακας 16. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της ποσότητας χυμού ανά καρπό και της ποσότητας καρπών και χυμού ανά δένδρο, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2014).....	193
Πίνακας 17. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ των φαινολικών και των δύο μεθόδων ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2014).....	193
Πίνακας 18. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της συγκέντρωσης του αζώτου στα φύλλα και της συγκέντρωσης σιδήρου της συλλογής φύλλων (αποτελέσματα 2015).	202
Πίνακας 19. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ του βάρους και άλλων παραμέτρων του καρπού, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2015).	202

Πίνακας 20. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της σακχαρόζης και των άλλων σακχάρων του χυμού των ροδιών, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2015).	203
Πίνακας 21. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ του pH του χυμού και των άλλων παραμέτρων του χυμού, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2015).	203
Πίνακας 22. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ της ποσότητας χυμού ανά καρπό και της ποσότητας καρπών και χυμού ανά δένδρο, αλλά και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2015).....	203
Πίνακας 23. Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r) μεταξύ των φαινολικών και των δύο μεθόδων ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και των παραμέτρων αυτών μεταξύ τους (αποτελέσματα 2015).....	204

