

ΑΝΩΤΑΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΑΘΗΝΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ
Διευθυντής: ΗΛΙΑΣ Δ. ΔΕΚΑΖΟΣ

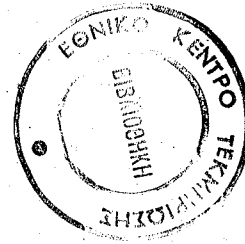
**ΕΝΖΥΜΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ ΒΕΡΙΚΟΚΚΩΝ
ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΩΡΙΜΟΤΗΤΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑ
ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΤΙΚΗ ΖΩΗ ΤΩΝ ΦΡΕΣΚΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ**

ΧΡΥΣΟΥΛΑ ΤΖΟΥΤΖΟΥΚΟΥ-ΚΑΜΙΝΑΡΙΔΗ
Επιστημονικής Συνεργάτιδας ΑΓΣΑ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
που υποβλήθηκε στην Ανωτάτη Γεωπονική Σχολή Αθηνών

ΑΘΗΝΑ 1988

ΑΝΩΤΑΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΑΘΗΝΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ
Διευθυντής: ΗΛΙΑΣ Δ. ΔΕΚΑΖΟΣ



**ΕΝΖΥΜΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ ΒΕΡΙΚΟΚΚΩΝ
ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΩΡΙΜΟΤΗΤΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑ
ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΤΙΚΗ ΖΩΗ ΤΩΝ ΦΡΕΣΚΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ**

ΧΡΥΣΟΥΛΑ ΤΖΟΥΤΖΟΥΚΟΥ-ΚΑΜΙΝΑΡΙΔΗ
Επιστημονικής Συνεργάτιδας ΑΓΣΑ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
που υποβλήθηκε στην Ανωτάτη Γεωπονική Σχολή Αθηνών

ΑΘΗΝΑ 1988

Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από την Ανωτάτη Γεωπονική
Σχολή Αθηνών δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.
(Ν. 5343/1932, άρθρον 202 παρ. 2)

Αφιερώνεται στους
γονείς μου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία διεξήχθη στο Εργαστήριο Δενδροκομίας της Ανωτάτης Γεωπονικής Σχολής Αθηνών και στο R. Russell Agricultural Research Center (U.S.D.A) της πολιτείας Γεωργίας των Η.Π.Α. καθώς και τα εργαστήρια των Hort Science και Food Science Departments του Πανεπιστημίου της Γεωργίας (University of Georgia).

Ευχαριστώ θερμά τον Καθηγητή και Διευθυντή του Εργαστηρίου Δενδροκομίας κ. Η. Δεκάζο, εισηγητή του θέματος αυτού, για τη συνεχή παρακολούθηση και ενθάρρυνση, για τη βοήθεια και τις πολύτιμες συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας μου και για τη συμβολή του στην πληρέστερη παρουσίασή της. Ιδιαίτερα τον ευχαριστώ για το ειλικρινές ενδιαφέρον, συμπαράσταση και βοήθεια που μου παρείχε για να μεταβώ στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής όπου ολοκλήρωσα σημαντικό μέρος της πειραματικής μου εργασίας.

Θερμά επίσης ευχαριστώ τους κ. Χαρίλδο Παπαϊωάννου, Αναπληρωτή Καθηγητή του Εργαστηρίου Μορφολογίας και Φυσιολογίας Φυτών της ΑΓΣΑ και κ. Παναγιώτη Ρόδη, Λέκτορα του Εργαστηρίου Γεωργικών Βιομηχανιών της ΑΓΣΑ, μέλη της Συμβουλευτικής Επιτροπής για τις πολύτιμες παρατηρήσεις και τις χρήσιμες οδηγίες και υποδείξεις τους.

Θεωρώ ιδιαίτερη υποχρέωσή μου να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον κ. Russell Pressey ειδικό ενζυμολόγο στο R. Russell Agricultural Research Center στο εργαστήριο του οποίου κατά κύριο λόγο εργάστηκα, για τη συστηματική και μεθοδική καθοδήγηση καθώς και την πολύτιμη και πολύπλευρη βοήθεια που μου παρείχε καθ' όλο το διάστημα της εργασίας μου στις Η.Π.Α.

Επιθυμώ επίσης να ευχαριστήσω τους κ. Max Vines, καθηγητή στο Hort Science Department στο Πανεπιστήμιο της Γεωργίας και κ. R. Wilson για τη βοήθειά τους στην εκτέλεση ορισμένων μερών της εργασίας αυτής.

Ευχαριστώ τους κ. Δημήτρη Παπανικολάου και κ. Ελένη Μανωλοπούλου, Γεωπόνους Τεχνολόγους Τροφίμων του Ινστιτούτου Τεχνολογίας Τροφίμων στη Λυκόβρυση Αττικής για την καλή συνεργασία τους.

Ευχαριστώ επίσης όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Δενδροκομίας για την κατανόηση και τη βοήθεια που μου παρείχαν, ιδιαίτερα όσον αφορά την εκτέλεση των εργαστηριακών ασκήσεων στους φοιτητές κατά τη διάρκεια της απουσίας μου με εκπαιδευτική άδεια στο εξωτερικό.

Ιδιαίτερες και θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον παραγωγό κ. Γεώργιο Λειβαδίτη για την παραχώρηση δέντρων από το κτήμα του επί σειρά ετών, αφιλοκερδώς και την οικογένειά του για τη συμπαράσταση και βοήθειά τους στη συγκομιδή και μεταφορά των καρπών.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά όλους εκείνους που με οποιοδήποτε τρόπο βοήθησαν στην εκτέλεση της εργασίας αυτής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	5
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
1. Σκοπός της εργασίας	11
2. Ωρίμανση των καρπών	12
2.1. Τρόποι ωρίμανσης των καρπών	14
2.1.1. Κλιμακτηριακοί καρποί	15
2.1.2. Μη κλιμακτηριακοί καρποί	17
2.2. Δομικές και βιοχημικές αλλαγές κατά την ωρίμανση	17
2.2.1. Αλλαγές στη δομή του κυττάρου	18
2.2.2. Αλλαγές στους υδατάνθρακες	19
2.2.3. Αλλαγές στα οξέα	20
2.2.4. Αλλαγές στις πρωτεΐνες	21
2.2.5. Αλλαγές στο χρώμα	22
2.2.5.1. Λιποδιαλυτές χρωστικές	22
2.2.5.2. Υδατοδιαλυτές χρωστικές	23
2.2.6. Αλλαγές στα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος	24
2.2.6.1. Δομή του κυτταρικού τοιχώματος	25
2.2.6.2. Πηκτίνες και πηκτινολυτικά ένζυμα	28
2.2.6.3. Ημικυτταρίνες και ημικυτταρινολυτικά ένζυμα	34
2.2.6.4. Κυτταρίνες και κυτταρινολυτικά ένζυμα	36
2.3. Εσωτερικός έλεγχος της ωρίμανσης	37
2.3.1. Αιθυλένιο	37
2.3.1.1. Φυσιολογία της δράσης του αιθυλενίου	38
2.3.1.2. Ανταγωνιστές αιθυλενίου	43
2.4. Εξωτερικός έλεγχος της ωρίμανσης	44
2.4.1. Επίδραση της θερμοκρασίας	44
2.4.2. Ελεγχόμενες ατμόσφαιρες	45
2.4.3. Επίδραση της ατμοσφαιρικής πίεσης	47
2.4.4. Ψεκασμοί και εμβαπτίσεις	48
2.4.4.1. Μυκητοκτόνα και εντομοκτόνα	48
2.4.4.2. Παράγοντες επιβράδυνσης ή επιτάχυνσης της ωρίμανσης	48

	Σελ.
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	51
1. Φυτικό υλικό	51
2. Πειραματικός σχεδιασμός	52
2.1. Αύξηση των καρπών	52
2.2. Επεμβάσεις πριν τη συλλογή	53
2.3. Δειγματοληψία-Συλλογή-Μεταφορά	53
2.4. Προκαταρκτικοί χειρισμοί των δειγμάτων	55
2.5. Επεμβάσεις μετά τη συλλογή	56
2.6. Αποθήκευση	57
2.6.1. Αποθηκευτικοί χώροι-Συνθήκες	57
2.6.2. Δειγματοληψία από την αποθήκη	57
2.7. Κωδικοποίηση των επεμβάσεων πριν και μετά τη συλλογή	58
2.8. Οργανοληπτικό τέρστ δοκιμαστών	59
3. Πειραματικές μέθοδοι	65
3.1. Συνεκτικότητα	65
3.2. Συνολικά διαλυτά στερεά	65
3.3. Ολική ογκομετρούμενη οξύτητα	66
3.4. Χρώμα	66
3.5. Αιθυλένιο	67
3.6. Ένζυμα	69
3.6.1. Παραλαβή του ενζυμικού εκχυλίσματος	69
3.6.2. Μέτρηση δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης (PG).....	70
3.6.3. Μέτρηση δραστηριότητας της β-γαλακτοζιδάσης	72
3.6.4. Διαχωρισμός της πολυγαλακτουρονάσης....	72
3.6.5. Προσδιορισμός των δύο μορφών της πολυγαλακτουρονάσης (PG-I και PG-II).....	74
3.6.6. Διαχωρισμός της β-γαλακτοζιδάσης	74
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	77
1. Ανάπτυξη και ωρίμανση των καρπών	77
1.1. Αύξηση των καρπών	77
1.2. Μεταβολή των ποιοτικών παραμέτρων των καρπών κατά τη διάρκεια της αύξησης και ωρίμανσης..	77
1.2.1. Συνεκτικότητα	79
1.2.2. Συνολικά διαλυτά στερεά	79

	Σελ.
1.2.3. Ολική ογκομετρούμενη οξύτητα και PH....	82
1.2.4. Χρώμα	82
1.3. Έκλυση αιθυλενίου	90
1.4. Μεταβολή της δραστηριότητας των ενζύμων κατά τη διάρκεια της αύξησης και ωρίμανσης	90
1.4.1. Πολυγαλακτουρονάση	90
1.4.2. β-Γαλακτοζιδάση	92
2. Αποθήκευση των καρπών	96
2.1. Ποικιλία Harlayne.....	96
2.1.1. Μεταβολή των διαφόρων ποιοτικών παραμέτρων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης	96
2.1.1.1. Συνεκτικότητα.....	96
2.1.1.2. Συνολικά διαλυτά στερεά (°Brix)	98
2.1.1.3. Ολική ογκομετρούμενη οξύτητα και PH	100
2.1.1.4. Χρώμα	103
2.1.2. Έκλυση αιθυλενίου	106
2.1.3. Μεταβολή της δραστηριότητας των ενζύμων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης	108
2.1.3.1. Πολυγαλακτουρονάση	108
2.1.3.2. β-Γαλακτοζιδάση	114
2.1.4. Οργανοληπτικό τεστ δοκιμαστών	117
2.2. Ποικιλία Μπεμπέκου	117
2.2.1. Μεταβολή των διαφόρων παραμέτρων ποιότητας και ενζύμων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης	117
3. Διαχωρισμός και προσδιορισμός των ενζύμων.....	123
3.1. Πολυγαλακτουρονάση (PG)	123
3.1.1. Διαχωρισμός της PG στο στάδιο 1	123
3.1.2. Διαχωρισμός της PG στο στάδιο 4	124
3.1.3. Διαχωρισμός της PG στο στάδιο 7	124
3.1.4. Προσδιορισμός των μορφών PG-I και PG-II.	127
3.1.5. Χαρακτηριστικά των PG-I και PG-II	127
3.1.5.1. Επίδραση του PH	127
3.1.5.2. Επίδραση του ασβεστίου (διαφόρων συγκεντρώσεων) και άλλων δισθενών κατιόντων μετάλλων.	128
3.1.5.3. Προσδιορισμός του μοριακού βάρους	128

	Σελ.
3.2. β-Γαλακτοζιδάση	130
3.2.1. Διαχωρισμός της β-γαλακτοζιδάσης στο στάδιο 1.....	130
3.2.2. Διαχωρισμός της β-γαλακτοζιδάσης στο στάδιο 3.....	131
3.2.3. Διαχωρισμός της β-γαλακτοζιδάσης στο στάδιο 7.....	131
3.2.4. Μεταβολή των μορφών G-I, G-II και G-III κατά την ανάπτυξη και ωρίμανση των καρπών	136
3.2.5. Χαρακτηριστικά των G-I, G-II και G-III και της β-γαλακτοζιδάσης	136
3.2.5.1. Επίδραση του pH επί των G-I, G-II και G-III.	136
3.2.5.2. Επίδραση δισθενών κατιόντων μετάλλων επί της β-γαλακτοζιδάσης	137
3.2.5.3. Προσδιορισμός του μοριακού βάρους	137
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	139
1. Ανάπτυξη και ωρίμανση των καρπών-Επίδραση του aminoethoxyvinylglycine (AVG) και aminoxyacetic acid (AOA)	139
1.1. Αύξηση των καρπών	139
1.2. Μεταβολή των διαφόρων ποιοτικών παραμέτρων, αιθυλενίου και ενζύμων κατά τη διάρκεια της αύξησης και ωρίμανσης των καρπών	141
1.2.1. Συνολικά διαλυτά στερεά	141
1.2.2. Ολική ογκομετρούμενη οξύτητα	142
1.2.3. Λόγος συνολικών διαλυτών στερεών προς οξέα	143
1.2.4. Χρώμα	143
1.2.5. Συνεκτικότητα- Ένζυμα-Αιθυλένιο	145
1.3. Επίδραση του aminoethoxyvinylglycine (AVG) επί της ωρίμανσης των καρπών	155
2. Αποθήκευση των καρπών - Επίδραση AVG και AOA	157
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	165
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	167
SUMMARY	171
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	175

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Σκοπός της εργασίας

Η μείωσή της συνεκτικότητας και το μαλάκωμα της σάρκας είναι από τις πιο σημαντικές αλλαγές που συνδέονται με την ωρίμανση πολλών καρπών, (Pressey 1977).

Από οπωροκομική πλευρά, η συνεκτικότητα αποτελεί ένα σπουδαίο καθοριστικό παράγοντα της ποιότητας των καρπών που συγκομίζονται και έτσι επηρεάζει τους τρόπους συγκομιδής και χειρισμού του προϊόντος, κατά τη διάθεσή του στην αγορά. Επί πλέον, προ- και μετασυλλεκτικοί χειρισμοί εκτιμώνται με βάση τη συνεκτικότητα και για μια ποικιλία καρπών αποτελεί ένα πρακτικό και αξιόπιστο δείκτη ωριμότητας, (Huber 1983).

Το μαλάκωμα, αναμφισβήτητα, αντανακλά σε αλλαγές στα κυτταρικά τοιχώματα των ιστών των καρπών, καθώς ο καρπός προχωρεί από την ωρίμανση στο γήρας. Όταν η διαδικασία αυτή αρχίσει στον ώριμο καρπό, η περίοδος που η υφή του είναι αποδεκτή είναι μικρή, ακόμη και με χρήση ψύξης ή αποθήκευση σε ελεγχόμενες ατμόσφαιρες. Από την άλλη πλευρά όμως, υπάρχει και η απαίτηση για παράταση της περιόδου διάθεσης των καρπών. Έτσι θεωρήθηκε απαραίτητο να γίνει μια προσπάθεια κατανόησης των μηχανισμών που οδηγούν στο μαλάκωμα των καρπών, που θα βοηθήσει στη βελτίωση των μεθόδων ελέγχου της ωρίμανσης και πρόληψης του μαλακώματος πέραν ενός αρίστου σταδίου.

Για το λόγο αυτό και επειδή οι δομικές αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στους καρπούς είναι αποτέλεσμα κύρια της υδρόλυσης του κυτταρικού τοιχώματος λόγω της δράσης των ενζύμων, (Huber 1983), στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν.

- Η μεταβολή των διαφόρων παραμέτρων ποιότητας και κυρίως της συνεκτικότητας κατά τη διάρκεια της αύξησης και ωρίμανσης καρπών βερικόκων των Ποικιλιών Τίρυνθας και Μπεμπέκου.
- Η δραστηριότητα των ενζύμων της πολυγαλακτουρονάσης και β-γαλακτοζιδάσης στα διάφορα στάδια ωριμότητας, ο διαχωρισμός τους σε ισοένζυμα ή μορφές ενζύμων, ο προσδιορισμός και οι ιδιότητές τους.
- Η έκλυση του αιθυλενίου (ορμόνη-ωρίμανσης των καρπών)

- Προ - και μετασυλλεκτικές επεμβάσεις με ουσίες παρεμποδιστικές της δράσης του αιθυλενίου. Επίδραση αυτών επί της ωρίμανσης των καρπών και της αποθηκευτικής τους ζωής
- Επίδραση της αποθήκευσης επί της ποιότητας των καρπών.
- Παράταση της αποθηκευτικής ζωής των καρπών.

2. Ωρίμανση των καρπών

Οι φανερές αλλαγές που λαμβάνουν χώρα κατά την ωρίμανση των καρπών ήσαν από παλιά γνωστές στον άνθρωπο, αλλά κάποια κατανόηση των φυσιολογικών αλλαγών που συμβαίνουν μόνο πρόσφατα άρχισε να γίνεται.

Η κατανόηση των διαδικασιών ωρίμανσης είναι πρωταρχικής σημασίας τόσο για τη βελτίωση της ποιότητας όσο και για την πρόληψη εκτεταμένης απώλειας κατά τη διάρκεια της παραγωγής, αποθήκευσης και εμπορίας των καρπών.

Ένας κανονικός καρπός είναι η ώριμη ωοθήκη ενός άνθους, περιλαμβάνοντας τα σπέρματα ή σπέρματα και κάποιο μέρος του άνθους που μπορεί να συνδέεται στενά με την ώριμη ωοθήκη. Πριν αρχίσει η ωρίμανση ο καρπός περνάει από τα στάδια της κυτταρικής διαίρεσης, της επιμήκυνσης των κυττάρων και της ωριμότητας και κατόπιν ακολουθεί το γήρας, τελική κατάρρευση και θάνατος.

Κάθε μία από αυτές τις περιόδους επηρεάζει ή επηρεάζεται από τις αλλαγές που συμβαίνουν κατά την ωρίμανση. Αν και σε αυτό το κεφάλαιο ασχολούμαστε ιδιαίτερα με την διαδικασία ωρίμανσης καρπού, αυτή η διαδικασία θα πρέπει να εξεταστεί σαν μέρος μιας συνέχειας αλληλοεξαρτώμενων γεγονότων που συμβαίνουν στην ιστορία ζωής του οργάνου.

Εδώ θα πρέπει να αναφερθεί τι ορίζεται σαν γήρας και τι σαν ωρίμανση του καρπού.

Γήρας ενός φυτικού οργάνου μπορεί να οριστεί σαν το τελικό στάδιο της οντογένεσής του, όπου μια σειρά ουσιαστικών, μη αντιστρεπτών μεταβολών συμβαίνει, που τελικά οδηγεί στην κυτταρική αποδόμηση και το θάνατο. Η ωρίμανση περιλαμβάνει μια σειρά αλλαγών που συμβαίνουν, έτσι ώστε η υφή και η σύνθεση του ανώριμου καρπού να αλλάζει και να γίνεται κατάλληλος για βρώση.

Οι πιο εμφανείς αλλαγές που συμβαίνουν όταν ο καρπός ωρι-

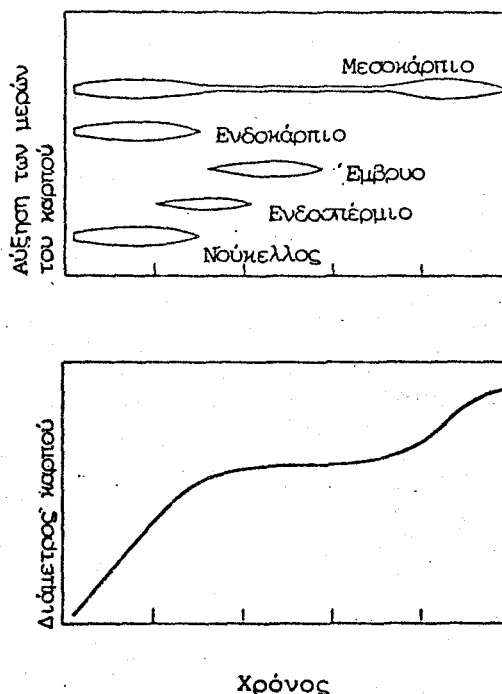
μάσει, είναι οι αλλαγές στις χρωστικές, υφή, αρωματικά συστατικά καθώς και στα ορμονικά επίπεδα, αναπνοή και κυτταρική οργάνωση.

Πολλοί καρποί έχουν ένα τρόπο (pattern) αύξησης, που ακολουθεί μια απλή σιγμοειδή καμπύλη. Υπάρχει μια αρχική φάση αργής αύξησης που χαρακτηρίζεται από ενεργή κυτταρική διαίρεση, ακολουθεί μια περίοδος της κύριας αύξησης του μεγέθους, νωπού και ξηρού βάρους και μια τελική με μειωμένο ρυθμό αύξησης οπότε και η ωρίμανση συνήθως αρχίζει. Στους καρπούς που ακολουθούν απλή σιγμοειδή καμπύλη αύξησης, ο καρπός γίνεται ώριμος, κατά τη διάρκεια της τελικής φάσης της αργής αύξησης. Εξαίρεση αποτελεί το avocado, όπου η κυτταρική διαίρεση μπορεί να συνεχίζεται κατά τη διάρκεια όλης της ζωής του καρπού και η αύξηση συνεχίζει όλο το χρονικό διάστημα που ο καρπός μένει πάνω στο δέντρο. Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του avocado είναι ότι η ωρίμανση παρεμποδίζεται στο δέντρο και συμβαίνει μόνο μετά τον αποχωρισμό. Απλή σιγμοειδή καμπύλη, παρουσιάζουν οι καρποί μήλα, αχλάδια, τομάτα, ανανάς, πορτοκάλια, πεπόνια, φράουλες κλπ. Επίσης υπάρχουν καρποί που ακολουθούν πιο σύνθετο τρόπο αύξησης με διπλή (Coombe 1976) ή ακόμη και τριπλή σιγμοειδή καμπύλη αύξησης. (Pratt και Reid 1974). Στις περιπτώσεις αυτές υπάρχουν δύο ή τρεις γρήγορες φάσεις αύξησης, που διακόπτονται από μία ή δύο περιόδους μικρής ή καθόλου αύξησης. Τριπλή σιγμοειδή καμπύλη παρουσιάζει το ακτινίδιο. Η διπλή σιγμοειδής καμπύλη ακολουθείται από πολλούς καρπούς περιλαμβανομένων των πυρηνοκάρπων (βερίκοκκα, ροδάκινα κλπ) σύκων, σταφυλιών κλπ. Οι δύο γρήγορες φάσεις αύξησης ορίζονται σαν περίοδοι I και III, ενώ η αργή φάση που τις διακόπτει ορίζεται σαν περίοδος II. Η ωρίμανση αρχίζει κατά τη διάρκεια της περιόδου III, περίπου προς το τέλος για τα πυρηνόκαρπα ενώ για τα σταφύλια προς την αρχή (Bollard 1970 και Coombe 1973). Στα σταφύλια περίπου το 40% της συνολικής αύξησης γίνεται στην περίοδο III, ενώ στα ροδάκινα περισσότερο από το 80% γίνεται σ' αυτή την περίοδο. Έτσι είναι φανερό, ότι στους καρπούς με διπλή σιγμοειδή καμπύλη αύξησης η ενεργή διόγκωση των κυττάρων είναι συνδεδεμένη με τη διαδικασία ωρίμανσης.

Στα πυρηνόκαρπα οι δύο περίοδοι της γρήγορης αύξησης συνδέονται με την αύξηση των διαφορετικών ιστών.

Για παράδειγμα, στην περίοδο I, παρατηρείται έντονη κύτ-

ταρική διαίρεση, γρήγορη ανάπτυξη και αύξηση της ωθηκής, του νουκέλλου και των περιβλημάτων των σπερμάτων, μικρή ανάπτυξη του εμβρύου και του ενδοσπερμίου. Στην περίοδο II, αναπτύσσεται το έμβρυο και το ενδοσπέρμιο και παράλληλα ξυλοποιείται το ενδοκάρπιο ενώ στην περίοδο III λαμβάνει χώρα η αύξηση του ιστού του μεσοκαρπίου που τελικά γίνεται βρώσιμο (σχήμα 1). Η αύξηση αυτή οφείλεται στη διόγκωση των κυττάρων του καρπού και όχι στην αύξηση του αριθμού των κυττάρων.



Σχήμα 1. Αύξηση των καρπών των βερίκοκκων σε σχέση με την αύξηση των διαφόρων μερών του καρπού (Crane 1969)

2.1. Τρόποι ωρίμανσης των καρπών

Λόγω των διαφορών της προέλευσης των κυττάρων που τελικά συνιστούν το εδώδιμο μέρος του καρπού, καθώς και των διαφορών στη βοτανική προέλευση και στους τρόπους της αύξησης των διαφόρων καρπών, ίσως δεν εκπλησσει το γεγονός ότι υπάρχουν διαφορετικοί τρόποι συμπεριφοράς κατά την ωρίμανση.

2.1.1. Κλιμακτηριακοί καρποί

Οι Kidd και West 1920, έκαναν την πρώτη μεγάλη συνεισφορά όσον αφορά τους τρόπους συμπεριφοράς των καρπών κατά την ωρίμανση. Έδειξαν ότι η έναρξη των ορατών αλλαγών της ωρίμανσης στα μήλα, συνοδεύεται από μια έξαρση στο ρυθμό της αναπνοής. Οι Kidd και West 1920, χρησιμοποίησαν τον όρο "κλιμακτηριακή αναπνοή" για να περιγράψουν αυτό που είδαν σαν κριτική φάση στη ζωή του καρπού. Σε καρπούς μήλων που είχαν κοπεί από το δένδρο, ο ρυθμός της αναπνοής πέφτει σε μια ελάχιστη τιμή (κλιμακτηριακό minimum) αρχίζει να αυξάνεται την εποχή της έναρξης της ωρίμανσης σε μια κορυφή (κλιμακτηριακή κορυφή) περίπου διπλάσια της ελάχιστης τιμής και μετά μειώνεται αργά. Η άριστη ποιότητα των καρπών συμπίπτει με την κλιμακτηριακή κορυφή.

Οι Kidd και West 1920, είδαν την κλιμακτηριακή αναπνοή σαν την κριτική φάση που ξεχωρίζει τις διεργασίες της ωριμότητας που σχετίζονται με την αύξηση, από την έναρξη των ουσιαστικών μη αντιστρεπτών αλλαγών του γήρατος. Στα επόμενα χρόνια έγινε φανερό ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των τροπικών και εύκρατων φυτών, ακολουθούσαν παρόμοιο τρόπο κλιμακτηριακής αύξησης της αναπνοής κατά την ωρίμανση. Η έκταση και η ταχύτητα της αύξησης ποικίλλει ανάλογα με τη θερμοκρασία και από καρπό σε καρπό. Στην μπανάνα σε κανονική θερμοκρασία ωρίμανσης η αύξηση που ανήκουν και αυτά στους κλιμακτηριακούς καρπούς μπορεί να είναι μόνο 30% (Reid 1975).

Κατά τη διάρκεια της περιόδου 1920 ως 1930, αρκετοί ερευνητές έδειξαν ότι το αιθυλένιο μπορεί να προάγει την ωρίμανση των καρπών. Αποδείχτηκε ότι χειρισμός του ανώριμου καρπού με αιθυλένιο, μπορούσε να προάγει και την έναρξη της κλιμακτηριακής αναπνοής και τις άλλες αλλαγές κατά την ωρίμανση. Ο Gane 1934, έδειξε ότι το αιθυλένιο παραγόταν σαν φυσικό προϊόν του μεταβολισμού. Τώρα έχει αποδειχτεί ότι όλοι οι καρποί που παρουσιάζουν κλιμακτηριακό τρόπο ωρίμανσης, παράγουν μικρά ποσά αιθυλενίου κατά τη διάρκεια της ζωής τους (Burg 1962, Pratt και Goeschl 1969, Gane 1934, Burg και Thimann 1959, και Burg 1965). Υπάρχει συνήθως μια κορυφή παραγωγής αιθυλενίου κατά τη διάρκεια της άνθησης και κατόπιν μια πτώση σε χαμηλό επίπεδο που διατηρείται στον καρπό μέχρι το χρόνο έναρξης της ωρίμανσης.

Μετά ο ρυθμός παραγωγής αυξάνει σημαντικά, πριν ή κατά το χρόνο που η κλιμακτηριακή αναπνοή και οι αλλαγές της ωρίμανσης αρχίζουν, και φθάνει σε μία κορυφή. Έπειτα η παραγωγή του διατηρείται σε σχετικά υψηλό ρυθμό κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Μια αύξηση του αιθυλενίου συνήθως ακολουθείται από μια αύξηση στην αναπνοή των καρπών όπως στα μήλα που παρουσιάζουν κλιμακτήριο (απότομη αύξηση της αναπνοής πριν την ωρίμανση), αλλά εξαιρέσεις αυτού του κανόνα έχουν αναφερθεί.

Η ικανότητα των ιστών των καρπών να ανταποκρίνονται στην παρουσία αιθυλενίου σε ίχνη που εφαρμόστηκε εξωτερικά ή αναπτύχθηκε εσωτερικά ώστε να παράγουν αιθυλένιο αυτοκαταλυτικά, είναι χαρακτηριστικό των κλιμακτηριακών καρπών. Και επειδή οι διεργασίες ωρίμανσης με την είσοδο στην κλιμακτήριο είναι γρήγορες και δεν μπορούν να επιβραδυνθούν θα πρέπει να λαμβάνεται ιδιαίτερη πρόνοια όσον αφορά το χρόνο συγκομιδής των καρπών αυτών. Αν μείνουν πάνω στο δέντρο να ωριμάσουν και μπουκ στην κλιμακτήριο, δεν μπορούν να συντηρηθούν μετά την κοπή, γιατί κανένα μέσο συντήρησης δεν μπορεί να σταματήσει την εξέλιξη της κλιμακτηρίου. Για τον λόγο αυτό οι κλιμακτηριακοί καρποί πρέπει να συγκομίζονται νωρίς και τα μέτρα συντήρησής τους θα πρέπει να εφαρμόζονται πριν την είσοδό τους στην κλιμακτήριο.

Χειρισμός με αιθυλένιο μικραίνει την περίοδο που απαιτείται μετά τη συγκομιδή για την κλιμακτηριακή αύξηση χωρίς να επηρεάσει το ρυθμό της αναπνοής στην κλιμακτηριακή κορυφή. Αυτή η σμίκρυνση της προκλιμακτηριακής περιόδου παρουσιάζει μία περίπου λογαριθμική συσχέτιση με τη συγκέντρωση του αιθυλενίου που εφαρμόζεται.

Είναι προφανές πλέον, ότι η αύξηση του ρυθμού της αναπνοής είναι μία από τις αλλαγές στο μεταβολισμό που συμβαίνουν στη κρίσιμη περίοδο της ανάπτυξης του καρπού, που είναι η κλιμακτήριος. Ο Rhodes 1970, όρισε την κλιμακτήριο σαν μια "περίοδο στην οντογένεση ορισμένων καρπών, που κατά τη διάρκειά της μια σειρά βιοχημικών αλλαγών αρχίζει από την αυτοκαταλυτική παραγωγή του αιθυλενίου, σημαδεύει την αλλαγή από την αύξηση στο γήρας, περιλαμβάνει μια αύξηση στην αναπνοή και οδηγεί στην ωρίμανση".

2.1.2. Μη κλιμακτηριακοί καρποί

Το 1940, έγινε φανερό ότι όλοι οι καρποί δεν είχαν το χαρακτηριστικό τρόπο ωρίμανσης των τυπικών κλιμακτηριακών καρπών και ο Biale 1960 ξεχώρισε μια ομάδα καρπών που δεν παρουσίαζαν ούτε αύξηση στην αναπνοή, ούτε επιταχυνόμενη παραγωγή αιθυλενίου κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Τυπικό παράδειγμα στην κατηγορία αυτή αποτελούν τα εσπεριδοειδή.

Η ανταπόκριση στο ρυθμό της αναπνοής που παρατηρήθηκε, σχετιζόταν με τον λογάριθμο της συγκέντρωσης του αιθυλενίου που εφαρμόζοταν. Αυτή η κατάσταση καθαρά διαφέρει από τους κλασικούς κλιμακτηριακούς καρπούς, όπου το αιθυλένιο που εφαρμόζεται εξωτερικά επιταχύνει το χρόνο έναρξης της αύξησης της αναπνοής, χωρίς να αλλάζει την έντασή της. Η ουσιαστική διαφορά μεταξύ κλασικών κλιμακτηριακών καρπών και μη κλιμακτηριακών, οφείλεται στις σχετικές δυνατότητές τους να παράγουν αιθυλένιο αυτοκαταλυτικά σαν αντίδραση της συσσώρευσης μέσα στους ιστούς πολύ χαμηλών επιπέδων αιθυλενίου. Από άλλα πειράματα όμως (Rhodes 1970, Cooper et al 1968, Maxie et al 1965 και Eaks 1970), έγινε γνωστό ότι κάτω από διάφορες συνθήκες στρές, και σε διάφορα στάδια της αύξησης τους τα εσπεριδοειδή έχουν την ικανότητα να παράγουν αρκετό αιθυλένιο, ώστε να ερεθίσουν την αύξηση της αναπνοής. Αυτή όμως η ικανότητα δεν εκδηλώνεται στην κανονική ωρίμανση και ιδιαίτερα η απλή παρουσία μικροποσοτήτων αιθυλενίου δεν είναι ικανή από μόνη της να ερεθίσει μεγάλη αυτογενή παραγωγή αιθυλενίου.

2.2. Δομικές και Βιοχημικές αλλαγές κατά την ωρίμανση

Τα ορατά σημεία της ωρίμανσης είναι οι αλλαγές στο χρώμα, υφή, γεύση και άρωμα του καρπού που οδηγούν στην κατάσταση που ο καρπός είναι κατάλληλος για βρώση και καθορίζονται από αλλαγές στη δομή και το μεταβολισμό του ιστού του καρπού. Η ωρίμανση περιλαμβάνει πολύπλοκες αλλαγές στο μεταβολισμό του καρπού, όπου περιλαμβάνονται και οι αναβολικές και οι καταβολικές διαδικασίες. Νέοι τρόποι μεταβολισμού παρουσιάζονται που μπορεί να οδηγούν για παράδειγμα στην παραγωγή νέων χρωστικών ή νέων αρωματικών ουσιών. Επιπρόσθετα, συμβαίνουν και διεργασίες αποδομής σαν κι αυτές που περιλαμβάνονται στην αντιστροφή των χλωροπλα-

στών σε χρωμοπλάστες και στις αλλαγές στη συνοχή μεταξύ των κυττάρων που οδηγούν στο μαλάκωμα του ιστού. Αυτές οι μεταβολικές αλλαγές μπορεί να σημαίνουν και αλλαγές στη δραστηριότητα των ενζύμων in vivo και η αλλαγή στη δραστηριότητα μπορεί να οφείλεται στη σύνθεση, αποδόμηση, ελευθέρωση, ενεργοποίηση ή αδρανοποίηση αυτών των ενζύμων. Αυτές οι αλλαγές τουλάχιστον στους κλιμακτηριακούς καρπούς πρέπει να θεωρούνται σε σχέση με τις αλλαγές στην αναπνοή και στην παραγωγή του αιθυλενίου.

2.2.1. Αλλαγές στη δομή του κυττάρου

Το εδώδιμο μέρος του σαρκώδους μέρους του καρπού συντίθεται συνήθως από παρεγχυματικά κύτταρα, που συχνά είναι μεγάλου μεγέθους. Τα κύτταρα των ώριμων καρπών συγκαταλέγονται ανάμεσα στα μεγαλύτερα κύτταρα που απαντώνται στα φυτά και το μέγεθός τους κυμαίνεται συνήθως από 150 ως 700 μμ. στο μήκος (Coombe 1976). Τα κύτταρα της σάρκας των καρπών συχνά έχουν πολυπλοειδή πυρήνα. Στα βερίκοκκα συγκεκριμένα ο βαθμός πολυπλοειδίας δείχτηκε ότι αυξάνεται κατά την ανάπτυξη και φθάνει στο 64 για τον ώριμο καρπό (Mizrahi et al 1975). Η αύξηση αυτή, μπορεί να είναι ένας παράγοντας που καθορίζει το μεγάλο μέγεθος των κυττάρων του καρπού (Coombe 1976). Αυτά τα κύτταρα έχουν μεγάλη περιεκτικότητα σε νερό και συσσωρεύουν οργανικές ουσίες όπως σάκχαρα και οργανικά οξέα.

Η μελέτη της δομής των κυττάρων των καρπών κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης αποδείχτηκε δύσκολη λόγω του μεγάλου μεγέθους τους και του υψηλού περιεχομένου τους σε οργανικά οξέα και άλλα συστατικά που ενδεχόμενα καταστρέφονται λόγω της λεπτής δομής τους. Οι κυριότερες δομικές αλλαγές συμβαίνουν στα πλαστίδια. Διάφοροι ερευνητές όπως οι Spruiell και Harris 1968 και Rhodes και Woolton 1967 έδειξαν τις μεταβολές που συμβαίνουν στους χλωροπλάστες ώστε να σχηματιστούν οι χρωμοπλάστες.

Άλλα κυτταρικά συστατικά παρουσιάζουν λιγότερο σημαντικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Όλα τα οργανίδια (εκτός των πλαστιδίων) που παρατηρήθηκαν στο κυτόπλασμα σε ανώριμες τομάτες παρατηρήθηκαν επίσης και στον ώριμο καρπό. Σ' αυτά τα οργανίδια περιλαμβάνονται τα μιτοχόνδρια, σώματα golgi, ριβοσώματα, ενδοπλασμικό δίκτυο, μικροσώματα και σταγόνες λίπους.

Ιδιαίτερα τα μιτοχόνδρια διατηρούν τη δομή τους κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και αυτή η δομή διατηρείται μέχρι αργά στο γήρας των καρπών, οπότε αρχίζει ο εκφυλισμός όλων των άλλων κυτταρικών οργανιδίων.

2.2.2. Αλλαγές στους υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες, που θα μπορούσε να αναμένεται ότι αποτελούν την κύρια πηγή ενέργειας κατά την αναπνοή, πράγματι δείχνουν αξιοσημείωτες μεταβολές που θα συζητηθούν για μερικούς αντιπροσωπευτικούς καρπούς. Οι Kidd και West 1930, έδειξαν ότι περίπου το 16-20% των υδατανθράκων που αποθηκεύονται στα μήλα, χρησιμοποιούταν από τους μύκητες κατά την αποθήκευση των καρπών στους 2,5°, 10° ή 22,5°C. Ο Fidler 1951, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα από τα μήλα θα μπορούσε να υπολογιστεί για την συνδυασμένη απώλεια υδατανθράκων και οξέων. Ο Hulme 1958, βρήκε ότι το ποσοστό του αμύλου στο νωπό βάρος καρπού μήλου αυξάνει μέχρι ένα μέγιστο κατά τη διάρκεια της αύξησης στο δένδρο και μειώνεται έτσι ώστε κατά τη συγκομιδή ελάχιστο άμυλο υπάρχει. Μετά τον αποχωρισμό των μήλων από το δένδρο στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας, αρχίζει η κλιμακτηριακή αύξηση της αναπνοής και το άμυλο που παραμένει εξαφανίζεται σχετικά γρήγορα, ενώ τα σάκχαρα παραμένουν σε υψηλό επίπεδο ή μπορεί ακόμη και να αυξηθούν. Αυτό προϋποθέτει ότι μαζί με το άμυλο υπάρχουν και άλλες πηγές σακχάρων. Δεδομένα πάνω στις ημικυτταρίνες στα μήλα δείχνουν μια ελαφρά, σταθερή μείωση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης με πιθανή ελευθέρωση σακχάρων. Μια σχέση μεταξύ υδατανθράκων και μεταβολισμού των οξέων έχει προταθεί από τους Krotkov et al 1951 και Fidler 1951.

Τα σάκχαρα αυξάνουν σταθερά μέχρι και πέραν του χρόνου που τα μήλα βρίσκονται στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας. Εκτός από τις πρώτες εβδομάδες της ανάπτυξης και στα μήλα και στα αχλάδια το σάκχαρο που κυριαρχεί είναι η φρουκτόζη, ενώ μικρότερα ποσά γλυκόζης και σακχαρόζης είναι παρόντα.

Στα πυρηνόκαρπα το άμυλο εναποτίθεται στα χλωροφυλλούχα κύτταρα του καρπού, ενώ στα γιγαρτόκαρπα και στη μπανάνα σε όλα τα κύτταρα της σάρκας. Η σχετική αναλογία των διαφόρων σακχά -

ρων ποικίλλει στους διάφορους καρπούς. Στα κεράσια και σταφύλια για παράδειγμα, επικρατούν τα αναγωγικά σάκχαρα ενώ στα βερίκοκκα, ροδάκινα, δαμάσκηνα επικρατεί η σακχαρόζη.

Οι αλλαγές στους υδατάνθρακες στα τροπικά και υποτροπικά φυτά είναι παρόμοιας φύσης (Biale 1960). Οι μπανάνες που συγκομίζονται πριν γίνουν βρώσιμες κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης παρουσιάζουν μείωση στο άμυλο και αύξηση στη φρουκτόζη, γλυκόζη και σακχαρόζη. Επειδή οι ημικυτταρίνες μειώνονται αυτή την περίοδο, έχουν κάποια σημασία σαν αποθησαυριστικοί υδατάνθρακες για τον μεταβολισμό της μπανάνας. Στο μετακλιμακτηριακό στάδιο, παρατηρείται μια μείωση στα σάκχαρα, ιδιαίτερα στη σακχαρόζη για να καλυφθούν πιθανόν αναπνευστικές ανάγκες. Παρόμοιες αλλαγές στους υδατάνθρακες συμβαίνουν και στο mango.

2.2.3. Αλλαγές στα οξέα

Τα οργανικά οξέα είναι μεταξύ των κυρίων κυτταρικών συστατικών, που υφίστανται μεταβολές κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των καρπών. Μελέτες πάνω στα οργανικά οξέα που αναφέρονται στα φρέσκα και κονσερβοποιημένα βερίκοκκα έχουν γίνει από τους Anet και Reynolds 1955. Το μηλικό και κιτρικό οξύ έχουν ταυτοποιηθεί σαν τα κύρια οξέα και μαζί και τα δύο αποτελούν το 90% της συνολικής οξύτητας των βερίκοκκων.

Οι Anet και Reynolds 1955 επίσης διαπίστωσαν την παρουσία μικρών ποσοτήτων κινικού (quinic) και ηλεκτρικού (succinic) οξέος. Ο Hoos et al 1956, παρατήρησαν μάλιστα ότι το σύνολο των τιμών για το μηλικό και κιτρικό οξύ υπερκάλυπτε τη συνολική οξύτητα του καρπού.

Οι Agarwal και Date 1966, έδειξαν ότι στα ινδικά βερίκοκκα δεν υπάρχει μηλικό παρά μόνο κιτρικό οξύ. Αργότερα, οι Souty et al 1969 βρήκαν ότι τα κύρια οργανικά οξέα τεσσάρων ποικιλιών βερίκοκκων ήταν τα : κινικό (quinic) και σικιμικό (shikimic) ηλεκτρικό (succinic), γλυκολικό (glycolic), μηλικό (malic) και κιτρικό (citric).

Στα μήλα ο Hulme et al 1963, πρότεινε ένα ειδικό ρόλο για το μηλικό οξύ όσον αφορά τις αναπνευστικές αλλαγές που συμβαί-

νουν κατά την ωρίμανση. Το μπλικό οξύ είναι το κύριο οξύ στα ώριμα μήλα αν και το L-κινικό οξύ είναι κυρίαρχο στους νέους καρπούς. Διαφορές στην περιεκτικότητα σε οξέα αναφέρθηκαν επίσης μεταξύ των εξωτερικών και εσωτερικών μερών του καρπού.

Το ασκορβικό οξύ ή βιταμίνη C, συντίθεται ενεργά από τη γλυκόζη κατά την ωρίμανση στα βερίκοκκα, τις φράουλες και πολλούς άλλους καρπούς.

Αξίζει να αναφερθεί ότι μερικά από τα αρωματικά οξέα (έχουν αρωματικό δακτύλιο) έχουν αντιβακτηριακές και αντιμυκητολογικές ιδιότητες και ίσως συμμετέχουν στη διαμόρφωση της αντίστασης των φυτικών ιστών στις διάφορες ασθένειες.

2.2.4. Αλλαγές στις πρωτεΐνες

Η περιεκτικότητα σε άζωτο του ώριμου καρπού είναι πολύ χαμηλή (λιγότερο από 80mg/100gr νεπού βάρους στα μήλα και τα αχλάδια). Σ' αυτούς τους καρπούς το μισό από το άζωτο αυτό μπορεί να ανήκει στις πρωτεΐνες. Ακόμη και καρποί με σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες όπως η μπανάνα, ούκο, avocado κλ. περιέχουν μόνο 1.2-1.7gr πρωτεΐνης/100 gr εδώδιμου μέρους. Ο Hulme et al 1963, ανέφεραν ότι στα μήλα μια μικρή αύξηση σε πρωτεΐνη συνοδεύει πάντοτε την κλιμακτηριακή αύξηση στην αναπνοή, είτε αυτή λαμβάνει χώρα πάνω στο δένδρο είτε όχι και ότι η αύξηση σε πρωτεΐνη συχνά εξακολουθεί, αν και με μειωμένο ρυθμό, αφού έχει φθάσει στην κορυφή. Η ίδια συμπεριφορά παρατηρείται στα αχλάδια (Hansen 1967 και Hansen και Blanpied 1968. Στις μπανάνες όμως (Sacker 1966, και Brady et al 1970) δεν παρατηρείται αλλαγή στο πρωτεϊνικό περιεχόμενο και μια μείωση (16% ± 3.7) σημειώθηκε στο avocado (Wong 1967). Οι Biale και Young 1971 καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η συνολική πρωτεΐνη συνδέεται με την ωρίμανση στο avocado. Οι Davies και Cocking 1965, 1967, βρήκαν ότι η πρωτεΐνη αυξάνει στην τομάτα κατά τη διάρκεια της κλιμακτηρίου και μειώνεται κατά τα επόμενα στάδια της ωρίμανσης.

Τα ελεύθερα αμινοξέα και αμίδια που είναι παρόντα εξαρτώνται από τους καρπούς και το βαθμό ωριμότητας.

Στα βερίκοκκα, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, τα ποσά του ασπαρτικού και γλουταμινικού οξέος καθώς και της ασπαργίνης μειώνονται, ενώ η σερίνη και η βαλίνη αυξάνουν. Το ασπαρτικό και γλουτονικό οξύ μειώνονται επίσης στα αχλάδια Williams που ωριμάζουν στους 15°C. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου η προλίνη αυξάνει εντυπωσιακά και η λυσίνη εμφανίζεται στο τέλος της ωρίμανσης.

2.2.5. Αλλαγές στο χρώμα

Αξιοσημείωτες αλλαγές στο χρωματισμό των καρπών συνοδεύουν συνήθως την κλιμακτηριακή αύξηση στην αναπνοή.

2.2.5.1. Λιποδιαλυτές χρωστικές

Στους καρπούς τα πρώτα σημάδια της ωρίμανσης είναι η εξαφάνιση του πράσινου χρώματος που οφείλεται στη μετάβαση από τους χλωροπλάστες που είναι πλούσιοι σε πράσινες χρωστικές, τις χλωροφύλλες, στους χρωμοπλάστες πλούσιους σε κόκκινες ή κίτρινες καρωτινοειδείς χρωστικές. Η εξαφάνιση των χλωροφυλλών, γίνεται σταδιακά, με τη βοήθεια των χλωροφυλλασών που εμφανίζονται κυρίως στην κλιμακτήριο. Η δράση της χλωροφυλλάσης προκαλεί υδρολυτική διάσπαση του μορίου της χλωροφύλλης σε φυτόλη και πορφυρινικό δακτύλιο. Κατά τις τελευταίες φάσεις της ωρίμανσης των καρπών γίνεται μεγάλη σύνθεση καρωτινοειδών. Μερικοί πιστεύουν ότι τα υλικά που προκύπτουν από τη διάσπαση των χλωροφυλλών, χρησιμοποιούνται στην βιοσύνθεση των καρωτινοειδών. Η άποψη όμως αυτή δεν ενισχύεται από τα ποσοτικά δεδομένα, αφού οι ποσότητες των καρωτινοειδών που συντίθενται είναι πολύ μεγαλύτερες από τις ποσότητες των χλωροφυλλών που αποδομούνται.

Τα καρωτινοειδή διαφέρουν ποιοτικά και ποσοτικά στους διάφορους καρπούς ανάλογα με το είδος τους, συνήθως όμως επικρατεί ποσοτικά το β-καρωτίνη (Jugalwala et al 1963, Loesche 1950, Workman 1963 και Miller et al 1940). Ο Brockmann 1933, έδειξε ότι σε ξηρά βερίκοκκα η κύρια χρωστική είναι το β-καρωτίνη και ακολουθούν σε μικρότερα ποσά το λυκοπίνη και μια ουσία σαν το γ-καρωτίνη. Ο Joyce 1954, ανέφερε ότι τα βερίκοκκα περιέχουν εκτός από τα παραπάνω πολύ μικρότερα ποσά των πολυ-cis μορφών των χρωστικών. Ο Curl 1959, έδειξε ότι το 88% των συ-

νολικών καρωτινοειδών στα βερίκοκκα είναι υδατάνθρακες, με περίπου 6% μονόλες, 3% διόλες και μικρότερα ποσά από μονοεποξειδικές, διεποξειδικές διόλες και πολυόλες. Το β-κρωτίνιο αποτελεί το 60% των συνολικών καρωτινοειδών. Καθένα από τα φυτοένιο (phytoene), φυτοφλουένιο (phytofluene), γ-κρωτίνιο, λυκοπίνιο, κρυπτοξανθίνη και λουτεΐνη αποτελούν το 2% ή περισσότερο των συνολικών καρωτινοειδών. Επίσης άλλα 18 συστατικά είναι παρόντα σε μικρότερα ποσά. Μέρος του γ-κρωτινίου και λυκοπινίου ανακτήθηκαν από τον Curl 1959 σαν πολυ-cis ισομερή περιλαμβάνοντας προ-γ-κρωτίνιο και 3 πολυ-cis λυκοπίνια. Τα 5,8-εποξειδία αποκτήθηκαν σε μεγαλύτερες ποσότητες από τα 5,6-εποξειδία πράγμα που σημαίνει ότι η ισομερίωση των 5,6-εποξειδίων και 5,8-εποξειδίων λαμβάνει χώρα σε αξιοσημείωτο βαθμό κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των βερίκοκκων.

Τα κρωτίνια συναντώνται επίσης στο mango, πορτοκάλι, μπανάνα κλπ. Στην τομάτα επικρατεί το ισομερές του κρωτινίου, το λυκοπίνιο που έχει χρώμα κόκκινο. Οι ξανθοφύλλες είναι παράγωγοι αλκοόλες των κρωτινίων και αυξάνονται με την πρόοδο της ωρίμανσης (μπανάνα, πορτοκάλι, ανανάς κλπ).

2.2.5.2. Υδατοδιαλυτές χρωστικές

Αλλαγές κατά την ωρίμανση επίσης συμβαίνουν και σε χρωστικές που συμβάλλουν σοβαρά στο χρωματισμό του καρπού αλλά βρίσκονται στα χυμοτόπια των επιδερμικών κυττάρων. Αυτές είναι οι υδατοδιαλυτές φαινόλες χρωστικές, οι ανθοκυάνες, που είναι υπεύθυνες για τον κόκκινο και μπλέ χρωματισμό πολλών καρπών. Το κόκκινο επίχρωμα στα βερίκοκκα, ροδάκινα μήλα κλπ. που αναπτύσσεται στην επιδερμίδα των καρπών κάτω από την επίδραση του φωτός, οφείλεται στις ανθοκυάνες.

Οι ανθοκυάνες είναι γλυκοζίτες και το μόριό τους αποτελείται από ένα αρωματικό φαινολικό παράγωγο που λέγεται ανθοκυανιδίνη και ένα σάκχαρο. Οι έξι κύριες ανθοκυανιδίνες που βρίσκονται στους καρπούς και απαντούν συνήθως σαν 3-γλυκοζίτες είναι οι α.πελαργονιδίνη ($R=R'=H$), β.κυανιδίνη ($R=OH, R'=H$), γ.πεονιδίνη ($R=OCH_3, R'=H$), δ.δελφιδίνη ($R=R'=OH$), ε.πετουνιδίνη ($R=OH, R'=OCH_3$) και στ. μαλβιδίνη ($R=R'=OCH_3$) (Van Buren 1970). Το χρώμα των ανθοκυανών είναι κόκκινο σε όξινο pH, αλ-

λά φαίνεται απίθανο, ότι το τοπικό pH είναι ο κύριος παράγοντας στο καθορισμό του χρώματος των καρπών που περιέχουν ανθοκυάνες (Ribereau-Gayon 1972). Μάλλον, αλληλεπίδραση μεταξύ ανθοκυανών και άλλων άχρωμων φαινολικών χρωστικών και μεταξύ ανθοκυανινών και μεταλλικών ιόντων μπορεί να είναι σπουδαία για το μπλέ χρώμα των καρπών με όξινο χυμό. Υπάρχουν σχετικά λίγες μελέτες για τις αλλαγές στο επίπεδο των ενζύμων της βιοσύνθεσης των ανθοκυανών (Aoki et al 1970) κατά την ωρίμανση, αλλά φαίνεται πιθανό ότι το ένζυμο λυάση της αμμωνιο-φαινυλαλανίνης μπορεί να παίζει κάποιο σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση της βιοσύνθεσης των ανθοκυανών στα μήλα (Faragher et al 1977). Στις υδατοδιαλυτές χρωστικές ανήκουν επίσης και οι φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβονόνες και φλαβανόλες.

2.2.6. Αλλαγές στα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος

Μερικές από τις αξιοσημείωτες μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των καρπών είναι αυτές που συμβαίνουν στο κυτταρικό τοίχωμα και μάλιστα η μείωση της συνεκτικότητας της σάρκας (μαλάκωμα) για τους σαρκώδεις καρπούς, όπου ανήκουν και τα βερίκοκκα, σχετίζεται με αυτές (Biale 1960b, Hulme 1958, Joslyn 1962, Ulrich 1958).

Τα κυτταρικά τοιχώματα δεν εμφανίζουν ρήξη κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης (Reeve 1959). Στα ροδάκινα συγκεκριμένα ο σαρκώδης ιστός αποτελείται από χαλαρά συνδεδεμένα παρεγχυματικά κύτταρα που αυξάνουν σε μέγεθος από την περιφέρεια προς το εσωτερικό. Το μεσοκάρπιο αυξάνει με γρήγορη επιμήκυνση των κυττάρων. Διαστήματα μεταξύ των κυττάρων απαντώνται συχνά. Το πάχος των κυτταρικών τοιχωμάτων αυξάνει κατά τη διάρκεια της αύξησης από 0.5μ. μετά την ολοκλήρωση της διαίρεσης των κυττάρων, μέχρι 1μ. κατά τη διάρκεια της σκλήρυνσης του πυρήνα (Reeve 1959, Pressey 1977). Η αύξηση στο πάχος του κυτταρικού τοιχώματος εξακολουθεί να παρατηρείται και στις επόμενες φάσεις της αύξησης των κυττάρων και φθάνει μια μέγιστη τιμή περίπου 2μ. στους καρπούς που αρχίζουν να ωριμάζουν. Κατά τη

διάρκεια της ωρίμανσης που ακολουθεί, τα κυτταρικά τοιχώματα μειώνονται σε πάχος.

Για τους δύο διαφορετικούς τύπους ροθακίων τα συμπύρηνια και τα εκπύρηνια, οι Addoms et al 1930 ανέφεραν διαφορές στο πάχος των κυτταρικών τοιχωμάτων, αλλά ο Reeve 1959 (Pressey 1977) δεν μπόρεσε να το επιβεβαιώσει και παρατήρησε ότι τα κυτταρικά τοιχώματα μειώνονται σε πάχος στον ίδιο βαθμό και για τους δύο τύπους.

Καλλίτερη κατανόηση όμως του μαλακώματος (softening) των καρπών, προϋποθέτει γνώση της δομής του κυτταρικού τοιχώματος.

2.2.6.1. Δομή του κυτταρικού τοιχώματος

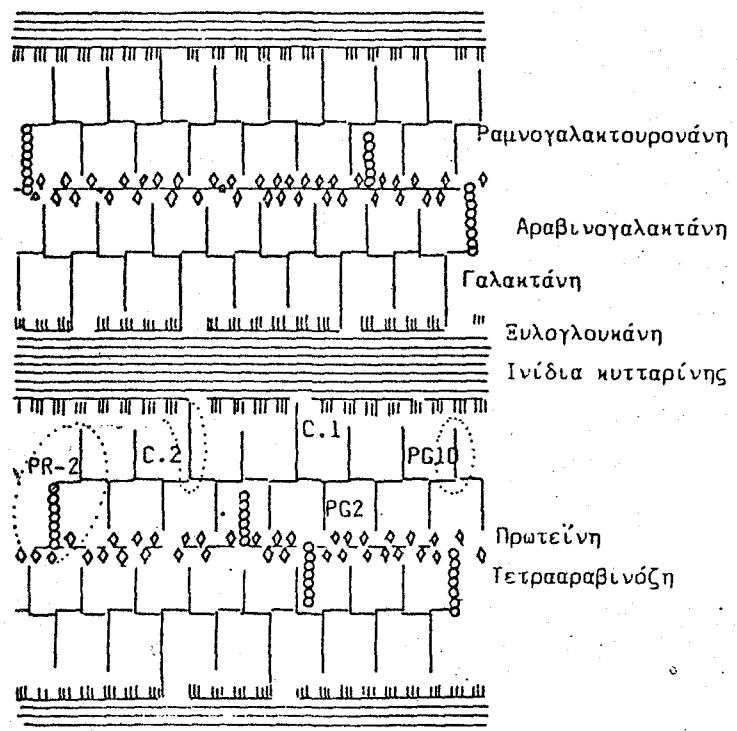
Πολλές εργασίες έχουν γίνει και αρκετές απόψεις έχουν διατυπωθεί για τη δομή και σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος (Albersheim 1976, Monro et al 1976, Lamport 1978, Aspinall 1980, Darvill et al 1980).

Ο Lamport 1970, πρότεινε ένα υπόδειγμα κυτταρικού τοιχώματος βασισμένος σε πειραματικά δεδομένα. Σύμφωνα με το υπόδειγμα αυτό τα μικροϊνίδια της κυτταρίνης ενώνονται με το σύμπλοκο των πολυσακχαριτών και γλυκοπρωτεϊνών του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος, μέσω γαλακτανών και αραβανών, με τη συμβολή των παρακρυσταλλικών περιοχών. Οι γαλακτάνες συνδέουν τις παρακρυσταλλικές περιοχές με τις αραβάνες. Οι αραβάνες συνδέονται με τα υπόλοιπα συστατικά που σχηματίζουν ένα σκελετό. Στο τμήμα των αραβανών υπάρχουν δεσμοί ασταθείς σε όξινο περιβάλλον και στο όριο μεταξύ γαλακτανών και αραβανών δεσμοί ασταθείς σε αλκαλικό περιβάλλον.

Μια νεώτερη απόδοση της δομής του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος έγινε από την ερευνητική ομάδα του Albersheim (Keestra et al 1973) και φαίνεται στο σχήμα 2.

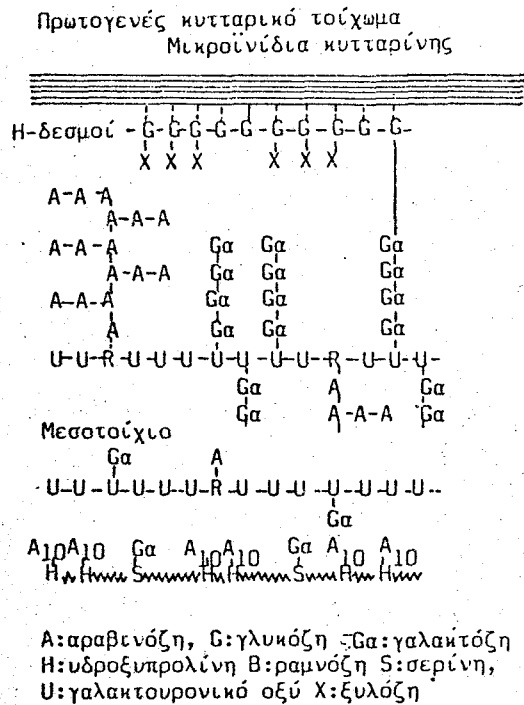
Οι Talmadge et al 1973 και Bauer et al 1973, έδωσαν ερευνητικά δεδομένα πάνω σε καλλιεργημένα κύτταρα συκομουριάς (*Ad-pseudoplatanus*) σε σχέση με το κυτταρικό τοίχωμα. Σύμφωνα με το σχήμα 2 τα ινίδια της κυτταρίνης φέρουν πλευρικά ξυλογλουκάνες που ενώνονται με γαλακτάνες και αραβάνες. Αυτές

συνδέονται με μια αλυσίδα ραμνογαλακτουρονάνης, συμμετέχοντας σαν πλευρικές αλυσίδες. Η ραμνογαλακτουρονάνη, οι αραβάνες και οι γαλακτάνες συγκροτούν τους πηκτινικούς πολυσακχαρίτες. Η ραμνογαλακτουρονάνη είναι η κύρια αλυσίδα (ο σκελετός) των πηκτινικών πολυμερών, ενώ οι αραβάνες και οι 4-συνδεδεμένες γαλακτάνες είναι οι πλευρικές αλυσίδες τους. Ο σκελετός της ραμνογαλακτουρονάνης συνδέεται με το πρωτεϊνικό τμήμα του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος μέσω αραβινογαλακτανών. Αυτές φέρουν δεσμούς (Akiyama et al 1983, Albersheim 1965, Νιαβής 1977) και είναι προσαρτημένες σε μονάδες σερίνης του τοιχώματος. Οι πρωτεΐνες του τοιχώματος φέρουν τετρααραβινοζίδια, προσαρτημένα με γλυκοζιδικό δεσμό σε μονάδες υδροξυπρολίνης. Φέρουν επίσης και μονάδες σερίνης που δεν είναι συνδεδεμένες με άλλες μονάδες σακχάρων. Οι περιοχές σε κύκλο δείχνουν κλάσματα του τοιχώματος που απελευθερώνονται με δράση αποδομητικών ενζύμων.



Σχήμα 2. Μοντέλο δομής του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος συκομουριάς [Albersheim (Keegstra et al 1973)].

Υπόδειγμα δομής κυτταρικού τοιχώματος καρπών έχει προταθεί μόνο για τα μήλα από τους Knee 1975 και Knee και Bartley 1981 (σχήμα 3). Η γαλλόζη, μια β-1,3 γλυκομένη πιθανόν να βρίσκεται στους ιστούς των καρπών (Dekazos 1972). Μελέτες πάνω στο κυτταρικό τοίχωμα σε αχλάδια (Ahmed και Labavitch 1980) έδειξαν μεγάλη ομοιότητα μεταξύ των κυτταρικών τοιχωμάτων των καρπών, και των κυτταρικών τοιχωμάτων από άλλους ιστούς.



Σχήμα 3. Υπόδειγμα δομής κυτταρικού τοιχώματος μήλων (Knee 1975, Knee και Bartley, 1981).

Οι αλλαγές επομένως στη συνεκτικότητα των καρπών (μαλάκωμα) κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, είναι αποτέλεσμα των αλλαγών στη δομή και τη σύσταση των κυτταρικών τοιχωμάτων τους. Τα κύτταρα των καρπών είναι συχνά μεγάλα παρεγχυματικά κύτταρα με μεγάλα διαστήματα αέρα μεταξύ τους. Αλλαγές στο βαθμό επαφής μεταξύ των κυττάρων καθώς και στη δομή των κυτταρικών

τοιχωμάτων, επηρεάζουν τη συνεκτικότητα.

Οι πολυσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματος διακρίνονται από την άποψη της χημικής τους σύστασης σε πηκτίνες, κυτταρίνες και ημικυτταρίνες.

2.2.6.2. Πηκτίνες και πηκτινολυτικά ένζυμα

Οι πηκτινικοί πολυσακχαρίτες απαντούν σε μεγάλο ποσοστό στον παρεγχυματικό ιστό του μεσοκαρπίου και έχουν τύχει μεγαλύτερης προσοχής σε σχέση με το μαλάκωμα των καρπών από τα άλλα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος. Οι λόγοι που οδήγησαν στο ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την πηκτίνη είναι η κυριαρχία της στο μεσοτοίχιο (middle lamella), το σχετικά υψηλό επίπεδο της πηκτίνης στους περισσότερους καρπούς και πάνω από όλα η εμφάνιση της υδατοδιαλυτής πηκτίνης που συνοδεύει το μαλάκωμα πολλών καρπών.

Η διαλυτοποίηση των πηκτινών απαντάται στα μήλα (Bartley 1976), αχλάδια (Jermyn et al 1956), ροδάκινα (Appleman et al 1926, Postlmayr 1956, Shewfelt 1965), τομάτες (Kertesz 1951) και άλλους καρπούς. Η περιεκτικότητα σε διαλυτή πηκτίνη στα μήλα αυξάνει περισσότερο από τρεις φορές ενώ η συνεκτικότητα μειώνεται από τα 4.8 στα 3.4 Kg (Bartley 1976). Οι αλλαγές στις πηκτίνες σε αχλάδια που ωριμάζουν είναι παρόμοιες με τα μήλα. Η αναλογία των διαλυτών πηκτινών είναι πολύ χαμηλή σε ανώριμα αχλάδια, αλλά αυξάνει αξιοσημείωτα με την ωρίμανση. Ο Kertesz 1951, βρήκε μια κατ'ευθείαν σχέση ανάμεσα στην ωρίμανση και τη διαλυτή πηκτίνη στα αχλάδια και πρότεινε τη χρήση των διαλυτών πηκτινών σαν δείκτη ωριμότητας. Εν τούτοις, υπάρχει διαφωνία για το αν η πηκτίνη διαλυτοποιείται στις τομάτες. Ο Woodman - see et al 1959, δεν επιβεβαίωσαν προηγούμενους ισχυρισμούς για διαλυτοποίηση της πηκτίνης στις τομάτες.

Οι αλλαγές στη διαλυτότητα της πηκτίνης είναι πιο εμφανείς στα εκπύρνηνα ροδάκινα. Ο Postlmayr et al 1956, βρήκαν ότι 5% της ξηράς ουσίας ανώριμων ροδακίνων της ποικιλίας Fay Elberta ήταν πηκτίνη, της οποίας το ένα τέταρτο ήταν υδατοδιαλυτή. Στην ωρίμανση η περιεκτικότητα σε πηκτίνη μειώνεται στο 4.1%, αλλά η αναλογία της υδατοδιαλυτής πηκτίνης αυξάνεται στο 71% της συνολικής. Αντίθετα στα συμπύρνηνα ροδάκινα (ποικιλία

Halford), η ωρίμανση συνοδεύεται από μείωση της συνολικής πηκτινής από 4.4 στο 3.8%, αλλά η περιεκτικότητα σε διαλυτή πηκτινή παραμένει σχετικά σταθερή. Ο Shewfelt et al 1971, έδειξαν ότι η ωρίμανση των ροδακίνων συνοδεύεται όχι μόνο από τη διαλυτοποίηση της πηκτινής, αλλά επίσης από τη μείωση στα μοριακά βάρη. Σε μια ακόμη εργασία στα ροδάκινα, ο Pressey et al 1971 βρήκαν ότι η περιεκτικότητα σε συνολική πηκτινή των Elberta και Red Haven ροδακίνων δεν αλλάζει σημαντικά κατά το μαλάκωμα των καρπών, ενώ η διαλυτή πηκτινή αυξάνεται απότομα. Ανάλυση της διαλυτής πηκτινής χρησιμοποιώντας διήθηση μέσα από πηκτή (gel filtration) από τους ίδιους ερευνητές, έδειξε ότι τα μοριακά βάρη της πηκτινής μειώνονται προοδευτικά κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Επίσης υπάρχει μια ένδειξη για αύξηση στην περιεκτικότητα σε ελεύθερο γαλακτουρονικό οξύ, σε ροδάκινα που ωριμάζουν μετά τον αποχωρισμό τους από το δένδρο (Ash et al 1954).

Η πολυπλοκότητα της πηκτινής φαίνεται να δίνει αρκετές πιθανότητες για ενζυμική δράση που οδηγεί στη διαλυτοποίηση. Από τη μια πλευρά, η ελευθέρωση των μορίων της πηκτινής μπορεί να αντιπροσωπεύει σπάσιμο των δεσμών της σε άλλα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος. Το σπάσιμο μπορεί να περιλαμβάνει τελικά τμήματα των αλυσίδων της γαλακτουρονάνης ή υδρόλυση των πολυμερών που συνδέονται με τις αλυσίδες (Labavitch 1981, Pressey 1977. Υπάρχει ένδειξη ότι αυτή μπορεί να είναι η περίπτωση στα μήλα, επειδή η πηκτινή δεν εμφανίζεται να διασπάται κατά τη διάρκεια της διαλυτοποίησης. Από την άλλη πλευρά, η πηκτινή μπορεί να διαλυτοποιείται με υδρόλυση των αδιάλυτων μακρομορίων. Σ'αυτή την περίπτωση, η υδρόλυση μπορεί να συμβαίνει στις αλυσίδες της αύξησης της διαλυτότητας των πηκτινών των καρπών που ωριμάζουν είναι η χαλάρωση της συνεκτικότητας του ιστού του μεσοκαρπίου, ώστε βαθμιαία οι ώριμοι καρποί να παίρνουν τη γνωστή μαλακή υφή τους (Pressey 1977, Worth 1967). Οι πηκτινές αν και αποτελούν καθολικής διάδοσης συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων, εν τούτοις παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές όσον αφορά την περιεκτικότητά τους στους διάφορους φυτικούς ιστούς, αλλά και μεταξύ των διαφόρων στρώσεων στα κυτταρικά τοιχώματα των ιδίων κυττάρων. Γενικότερα όμως, τα κύτταρα που βρίσκονται σε αύ-

ξηση χαρακτηρίζονται και από την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πηκτίνες και από το ότι οι πηκτίνες αυτές παρουσιάζουν μεγάλο βαθμό μεθοξυλίωσης (Northcote 1972, Pilnik et al 1970, Preston 1974, Rees et al 1969, Shewfelt et al 1971, Worth 1967).

Τα ένζυμα που επενεργούν επί των πηκτινών είναι δύο ειδών οι πηκτινεστεράσες και οι πολυγαλακτουρονάσες.

Πηκτινεστεράσες. Οι πηκτινεστεράσες καταλύουν την υδρόλυση των μεθυλεστέρων στην πηκτίνη. Είναι πολύ εξειδικευμένες για τους μεθυλεστέρες και τους εστέρες όπως απαντούν στις πηκτίνες και δεν υδρολύουν άλλους εστέρες καθώς και τους μεθυλεστέρες σε βραχεία αλυσίδα γαλακτουρανών. Το ένζυμο ενεργοποιείται με δισθενή κατιόντα ή μονοσθενή κατιόντα σε υψηλές συγκεντρώσεις. Η άριστη περιοχή pH είναι από 5 ως 8 και επηρεάζεται από τα κατιόντα (Pressey 1977). Η δράση των πηκτινεστερασών στις πηκτίνες παράγει ελεύθερες καρβοξυλομάδες (Deuel et al 1958) δείχνοντας ότι η υδρόλυση των εστέρων λαμβάνει χώρα γραμμικά. Σε λεπτομερείς μελέτες στον τρόπο δράσης της πηκτινεστεράσης της τομάτας, οι Lee και Macmillan 1970 έδειξαν ότι ενεργεί και στο αναγωγικό άκρο και στις εσωτερικές τοποθεσίες σε πηκτινικές αλυσίδες με υψηλό βαθμό εστεροποίησης.

Οι πηκτινεστεράσες απαντούν συχνά σε διάφορα μέρη των ανώτερων φυτών περιλαμβανομένων των καρπών. Ο Kertesz 1938 βρήκε ότι οι τομάτες αποτελούν ιδιαίτερα μια πλούσια πηγή του ενζύμου. Η δραστηριότητα είναι υψηλή σε πράσινες τομάτες και σύμφωνα με τον Kertesz, αυξάνει περίπου 4 φορές κατά την ωρίμανση. Αυτό μπορεί να σημαίνει ότι το μαλάκωμα μπορεί να σχετίζεται με την υψηλή δραστηριότητα της πηκτινεστεράσης. Εν τούτοις, ο Hamson 1952 ανέφερε ότι η πηκτινεστεράση βρίσκεται σε ανώτερο επίπεδο στις συνεκτικές παρά στις μαλακές ποικιλίες. Οι Hall και Dennison 1960, δεν βρήκαν σημαντική συσχέτιση μεταξύ συνεκτικότητας και πηκτινεστεράσης. Επί πλέον ο Hobson 1963 παρατήρησε μόνο μια αύξηση κατά 40% στην πηκτινεστεράση κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης στις τομάτες και μάλιστα σε αντίθεση με τον Hamson βρήκε ότι η συνεκτικότερη από δύο ποικιλίες τομάτας περιείχε λιγότερη πηκτινεστεράση. Η σύγχυση αυτή σχετικά με την πηκτινεστεράση της τομάτας, πιθανόν να οφείλεται κατά ένα μέρος, στο ότι μπορεί να συνίσταται από περισσότερα

του ενός ένζυμα (Pressey και Avants 1972). Ο αριθμός των πηκτινεστερασών και των σχετικών επιπέδων τους κυμαίνεται ανάλογα με την ποικιλία της τομάτας και το στάδιο ωριμότητας. Ένα από τα ένζυμα εμφανίζεται να είναι το κύριο στις περισσότερες ποικιλίες. Ο Delinsee 1976, διαχώρισε έξι τουλάχιστον ένζυμα από τα οποία το ένα ήταν το κυρίαρχο σε όλα τα δείγματα. Οι Pressey και Avants 1982b δεν παρατήρησαν καμμία σχέση μεταξύ της πηκτινεστεράσης και της συνεκτικότητας σε "Long Keeper" τομάτες.

Στους περισσότερους καρπούς το ένζυμο είναι παρόν στα ανώριμα στάδια και εμφανίζεται να παραμένει σχετικά σταθερό κατά την ωρίμανση. Δεν είναι εμφανής επομένως κανένας ρόλος του ενζύμου για το μαλάκωμα των καρπών. Επίσης, άμεσος ρόλος της πηκτινεστεράσης για τη διαλυτοποίηση της πηκτίνης δεν είναι εμφανής, επειδή μόνο μία μείωση στην εστεροποίηση δεν αναμένεται να αυξήσει τη διαλυτότητα. Αντίθετα, μια αύξηση στις ελεύθερες καρβοξυλομάδες θα οδηγούσε σε μεγαλύτερη αντίδραση με το Ca^{2+} και σε μειωμένη διαλυτότητα. Η πηκτινεστεράση όμως, πρέπει να προηγείται της διάσπασης της πηκτίνης από την πολυγαλακτουρονάση και με αυτό τον τρόπο η πηκτινεστεράση θα μπορούσε να ασκήσει ρύθμιση κατά την πορεία του μαλακώματος των καρπών. Κρίνοντας από το ότι δεν υπάρχει ένα σταθερό πρότυπο διακύμανσης του ενζύμου, η ρύθμιση της πηκτινεστεράσης πιθανόν να περιλαμβάνει μηχανισμό άλλο από τις αλλαγές στη συγκέντρωση του ενζύμου. Το γεγονός επίσης, ότι η πηκτίνη δεν είναι ποτέ τελείως μη εστεροποιημένη στις τόματες για παράδειγμα, ακόμη και αν η πηκτινεστεράση είναι πάντοτε παρούσα, εισηγείται ότι δρουν άλλοι ρυθμιστικοί μηχανισμοί.

Πολυγαλακτουρονάσες. Η πολυγαλακτουρονάση πρώτα ανιχνεύτηκε στις ώριμες τομάτες που παραμένουν η πλουσιότερη φυτική πηγή του ενζύμου.

Η πολυγαλακτουρονάση (PG) δρα σε μη εστεροποιημένα μόρια πηκτίνης και διασπά τους δεσμούς μεταξύ των γαλακτουρονικών οξέων στην πηκτίνη. Η απόδειξη για τον ρόλο της αυτό, προήλθε από μελέτες με *rin mutant* τομάτες όπου ο πολύ περιορισμένος βαθμός μαλακώματος σχετίζεται με πολύ μικρή περιεκτικότητα σε πολυγαλακτουρονάση σε σύγκριση με τις κανονικές ποικιλίες (Buscher et al 1975).

Δύο μορφές πολυγαλακτουρονάσης έχουν βρεθεί στους καρπούς. Η εξωπολυγαλακτουρονάση, που δρα ελευθερώνοντας μονομερή γαλακτουρονικού οξέος αρχίζοντας από το μη αναγωγικό άκρο του μορίου και η ενδοπολυγαλακτουρονάση που δρα σπάζοντας τις αλυσίδες των πηκτινών με τυχαίο τρόπο. Στα ροδάκινα και οι δύο μορφές πολυγαλακτουρονάσης υπάρχουν και οι Pressey και Avants 1973, βρήκαν ότι η ενδοπολυγαλακτουρονάση ήταν δυνατόν να καταλύσει την ελευθέρωση των υδατοδιαλυτών (αλλά 70% αδιάλυτων στην αλκοόλη) πηκτινών από απομονωμένα και πλυμένα παρασκευάσματα κυτταρικών τοιχωμάτων από ροδάκινα, ενώ η εξωπολυγαλακτουρονάση ήταν μη ενεργή σε τέτοια διαλυτοποίηση. Αυτοί πρότειναν ότι στα ροδάκινα η ενδοπολυγαλακτουρονάση ήταν υπεύθυνη για τη διαλυτοποίηση των μορίων της πηκτίνης, προσβάλλοντας τυχαία εσωτερικές περιοχές των μακρών αλυσίδων της πηκτίνης και αυξάνοντας έτσι τη διαλυτότητά τους. Ο ρόλος της εξωπολυγαλακτουρονάσης ήταν η παραπέρα διάσπαση, βήμα προς βήμα, των διαλυτοποιημένων μορίων πηκτίνης, που οδηγούσε στην εμφάνιση ελεύθερου γαλακτουρονικού οξέος στα ώριμα ροδάκινα. Αυτός ο δευτερεύων ρόλος της εξωπολυγαλακτουρονάσης δεν είναι σαφής και είναι αβέβαιο πόσο σημαντική θα ήταν μια τέτοια παραπέρα διάσπαση των διαλυτοποιημένων μορίων της πηκτίνης, για τη συνεκτικότητα του καρπού που ωριμάζει. Ενώ η διαλυτοποίηση των πηκτινών κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης μπορεί να λαμβάνει χώρα και με την απουσία των πηκτινολυτικών ενζύμων, όπως για παράδειγμα συμβαίνει με τις φράουλες (Neal 1965, Barnes et al 1976, Pilnik et al 1970) και τα κεράσια, σε πολλούς καρπούς η διαλυτοποίηση συνδέεται στενά με την εμφάνιση της πολυγαλακτουρονάσης

Οι αλλαγές στη συνεκτικότητα της σάρκας και τη διαλυτότητα της πηκτίνης, ιδιαίτερα αναφέρονται για εκπύρηννα ροδάκινα που ωριμάζουν. Οι Shewfelt et al 1971, έδειξαν ότι η πηκτίνη δεν διαλυτοποιείται μόνο, αλλά και τα μοριακά βάρη των διαλυτών κλασμάτων βαθμιαία μειώνονται, προτείνοντας ότι η ωρίμανση των ροδακίνων συνοδεύεται από διάσπαση της πηκτίνης. Οι Pressey et al 1971, επιβεβαίωσαν ότι η μείωση στα μοριακά βάρη των πηκτινών συμβαίνει και κατά την ωρίμανση στο δέντρο και κατά την ωρίμανση μετά τη συγκομιδή.

Απόδειξη για διάσπαση της πηκτίνης (προφανώς ενζυμική) παράλληλα με τη διαλυτοποίηση, έχει αναφερθεί για πολλούς καρπούς (Pressey et al 1971, Shewfelt et al 1971, Wallner et al 1975, Ahmed et al 1980a, Huber 1983). Η στενή σχέση μεταξύ της διαλυτοποίησης της πηκτίνης, του μαλακώματος των καρπών και της δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης δείχτηκε καθαρά στη μελέτη ενός αριθμού ποικιλιών συμπυρήνων και εκπυρήνων ροδάκινων από τους Pressey και Avants 1978. Και οι δύο τύποι ροδακίνων έδειξαν χαμηλές ποσότητες διαλυτών πηκτινών πριν την ωρίμανση και το μαλάκωμα. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, η συνεκτικότητα μειώθηκε πιο γρήγορα στις εκπύρνες ποικιλίες, συνοδευόμενη από μια μεγαλύτερη αύξηση στην ποσότητα των διαλυτών πηκτινών, σε σύγκριση με τις συμπύρνες. Οι διαφορές στη συνεκτικότητα και τη διαλυτότητα των πηκτινών, ήταν προφανώς αντανάκλαση της πολυγαλακτουρονάσης που ήταν παρούσα και στις δύο ποικιλίες. Οι εκπύρνες ποικιλίες περιείχαν δύο πολυγαλακτουρονάσες που μόνο η μία μπορούσε να μετρηθεί ιξωδομετρικά. Το άλλο ένζυμο ήταν προφανώς μια εξωπολυγαλακτουρονάση. Οι συγγραφείς εισηγήθηκαν ότι το εξωένζυμο μπορεί να ήταν υπεύθυνο για τη μικρή αύξηση στις διαλυτές πηκτίνες που παρατηρήθηκε στις συμπύρνες ποικιλίες και ότι η απουσία σημαντικών επιπέδων ενδοπολυγαλακτουρονάσης πιθανόν εξηγούσε την μη ικανότητα των συμπυρήνων να διαλυτοποιήσουν ποσότητες πηκτινών μεγαλύτερες από ίχνη. Είναι ενδιαφέρον ότι παρά την παρουσία και ενδο- και εξωπολυγαλακτουρονάσης στις εκπύρνες ποικιλίες, η συνολική πηκτινή δεν άλλαζε κατά την ωρίμανση. Επειδή οι πηκτίνες είχαν παρασκευαστεί από αδιάλυτα στην αλκοόλη εκχυλίσματα, ένα θα μπορούσε να αναμένεται, ότι αν το εξωένζυμο είχε συνεισφορά στη διάσπαση της πηκτίνης *in vivo*, τότε το επίπεδο της συνολικής πηκτίνης θα έπρεπε να είχε μειωθεί.

Στα αχλάδια (Pressey και Avants 1976), υπάρχουν επίσης δύο πολυγαλακτουρονάσες που είναι παρόμοιες με αυτές των ροδακίνων με την εξαίρεση ότι η εξωπολυγαλακτουρονάση, δρά μόνο αποτελεσματικά σε μεγάλο μοριακού βάρους υποστρώματα. Στη τομάτα (Wallner and Bloom 1977) υπάρχει μια ενδοπολυγαλακτουρονάση που μπορεί να διαλυτοποιήσει τις πηκτίνες σε παρασκευασμάτα κυτταρικών τοιχωμάτων *in vitro*. Αργότερα οι Tu-

cker et al 1980 βρήκαν δύο τύπους ενδοπολυγαλακτουρονάσης σε καρπό τομάτας που ωριμάζει και είναι πιθανόν αυτά τα ισοένζυμα να αντιπροσωπεύουν τα ισοένζυμα που αναφέρθηκαν από τους Pressey και Avants 1973b, 1972. Οι Zainon και Brady 1982, επιβεβαίωσαν ότι δύο ενδοπολυγαλακτουρονάσες υπήρχαν στον καρπό της τομάτας. Οι Pressey και Avants 1982a ανέφεραν μια άλλη μοριακή μορφή πολυγαλακτουρονάσης με ορισμένες ιδιότητες σε τομάτες. Επίσης οι Rexoná - Benkoná et al 1977, βρήκαν τρεις μοριακές μορφές ενδοπολυγαλακτουρονάσης. Οι Tucker et al 1981, ανέφεραν την παρουσία ενός θερμοσταθερού παράγοντα που in vitro είχε την ικανότητα να μετατρέπει τη μια ενδοπολυγαλακτουρονάση της τομάτας σε άλλο ισοένζυμο.

Τα μήλα (Bartley 1978) περιέχουν μόνο μία πολυγαλακτουρονάση, μια εξωπολυγαλακτουρονάση και δεν υπάρχει απόδειξη για την παρουσία ενδοπολυγαλακτουρονάσης. Εν τούτοις, η εξωπολυγαλακτουρονάση των μήλων είναι δυνατόν να διασπάσει παρασκευάσματα κυτταρικών τοιχωμάτων, ελευθερώνοντας και μικρού μοριακού βάρους υπολείμματα πηκτινών. Σ' αυτή την κατάσταση, η αντίδραση διαλυτοποίησης εξαρτάται από τη ρήξη των δεσμών μεταξύ των πηκτινών και άλλων δομικών συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος μάλλον παρά από την εκτεταμένη διάσπαση των αλυσίδων της πηκτίνης.

2.2.6.3. Ημικυτταρίνες και ημικυτταρινολυτικά ένζυμα

Οι ημικυτταρίνες είναι συνήθως άμορφα και χαρακτηρίζονται από ποικιλία στη σύσταση, στον τρόπο σύνδεσης και στην ύπαρξη ή μη διακλαδώσεων. Τα μονομερή που μπορούν να ληφθούν μετά από υδρόλυση είναι η μαννόζη, η γαλακτόζη, η αραβινόζη, η ξυλόζη, η γλυκόζη κ.ά. (Aspinall 1980, Bauer et al 1973).

Η μεγάλη ποικιλία των ημικυτταρινών του κυτταρικού τοιχώματος οφείλεται σε διαφορές ως προς την ομοιογένεια, τη σύσταση, το βαθμό πολυμερισμού και την ύπαρξη ή μη διακλαδώσεων (Darvill et al 1980a, Darvill et al 1980b). Ο βαθμός πολυμερισμού είναι συνήθως 50-800, αλλά κυμαίνεται σημαντικά ανάλογα με την πηγή. Μια β-1,4 ξυλόνη με πλευρικές αλυσίδες γλυκουρονικού οξέος έχει απομονωθεί από κυτταρικά τοιχώματα αχλαδιού και μια σύμπλοκη γλυκάνη από καρπό mango (Darvill et al 1980a).

Dey et al 1984). Μια ξυλογλουκάνη παρόμοια με την ξυλογλουκάνη των καλλιεργημένων κυττάρων συκομουριάς (Bauer et al 1973) έχει εντοπιστεί στο τοίχωμα του παρεγγύματος αχλαδιών (Ahmed et al 1980). Δεν υπάρχουν όμως επαρκείς ενδείξεις ότι η αποδόμηση των ημικυτταρινών συνεισφέρει στην αποδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος που οδηγεί στο μαλάκωμα κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των καρπών.

Δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα για τη δράση των ημικυτταρινολυτικών ενζύμων και δεν υπάρχουν σαφή συμπεράσματα για τη δράση και την συνεισφορά τους στις μεταβολές του κυτταρικού τοιχώματος κατά την ωρίμανση και το μαλάκωμα των καρπών.

Δεν έχουν ανιχνευτεί ένζυμα, που να αποδομούν αλυσίδες ημικυτταρινικών πολυμερών σε ιστούς καρπών που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα (π.χ. Ξυλανάση). Διαπιστώνεται όμως δραστηριότητα ενζύμων που διασπούν δεσμούς μεταξύ δομικών μονάδων των ημικυτταρινικών πολυμερών όπως π.χ. β-D ξυλοζιδάση (Ahmed et al 1980).

Ένζυμα της κατηγορίας αυτής που έχει αναφερθεί ότι υπάρχουν στους φυτικούς ιστούς είναι οι α- και β- γαλακτοζιδάσες και γλυκοζιδάσες (Wallner και Walker 1975, Pharr et al 1976, Yamaki και Kakiuchi 1979, Ahmed και Labavitch 1980b) η β-μαννοζιδάση (Pharr et al 1976, Ahmed και Labavitch 1980b), μαννανάση και Ξυλανάση (Yamaki και Kakiuchi 1979), β-ξυλοζιδάση και β-1,3 γλουκανάση (Wallner και Walker 1975, Hinton και Pressey 1980). Επτά διαφορετικές γλυκοζιδάσες βρέθηκαν σε καρπούς τομάτας (Nakagawa et al 1980). Η δραστηριότητα των ενζύμων αυτών γενικά, παραμένει μάλλον σταθερή κατά την ωρίμανση, με μικρή αύξηση (20%) για την β-γαλακτοζιδάση. Επτά γλυκοζιδάσες βρέθηκαν σε κυτταρικά τοιχώματα αχλαδιών "Bartlett" με τις α-γαλακτοζιδάση και α-μαννοζιδάση να αυξάνουν δύο και πέντε φορές αντίστοιχα κατά το μαλάκωμα (Ahmed και Labavitch 1980b). Έχει αναφερθεί η παρουσία της β-1,3 γλουκανάσης, μερικές φορές σε πολλαπλή μορφή, σε ποικιλία καρπών λαχανικών (π.χ. καρρότα, τεύτλα), με τη δραστηριότητα να αυξάνει ελαφρά στα ροδάκινα και τις τομάτες παράλληλα με το μαλάκωμα (Hinton και Pressey 1980) και η μεγαλύτερη δραστηριότητα παρατηρήθηκε μετά το μαλάκωμα.

- 36 -

Τρεις μοριακές μορφές β-γαλακτοζιδάσης έχουν βρεθεί σε τομάτες που ωριμάζουν (Pressey 1982). Η αύξηση στη δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης της τομάτας (Wallner και Walker 1975) οφείλεται μόνο σε ένα από τα ισοένζυμα, που έχει τη δυνατότητα να διασπά ένα πολυμερές γαλακτάνης που προερχόταν από κυτταρικά τοιχώματα τομάτας. Μια β-γαλακτοζιδάση από μήλα, διασπά επίσης ένα πολυμερές γαλακτάνης (Bartley 1974, 1977).

Υπάρχει κάποια αμφιβολία για τη σπουδαιότητα της β-1,3-γλουκανάσης και β-γαλακτοζιδάσης στο μαλάκωμα της τομάτας σε μελέτες αποδόμησης των κυτταρικών τοιχωμάτων *in vitro* (Wallner και Bloom 1977, Themmen et al 1982). *In vitro* αντιδράσεις όπου χρησιμοποιούνταν απομονωμένα κυτταρικά τοιχώματα και ενζυμικά εκχυλίσματα από καρπούς που περιέχουν β-γαλακτοζιδάση και β-1,3 γλουκανάση έδειξαν μόνο ότι η D-γαλακτουρονάση λαμβάνει μέρος στην αποδόμηση των τοιχωμάτων.

2.2.6.4. Κυτταρίνες και κυτταρινολυτικά ένζυμα

Η κυτταρίνη είναι ένας σημαντικός παράγοντας της υφής των καρπών, λόγω της αφθονίας της σε ιστούς καρπών και του βασικού ρόλου της στη δομή του κυτταρικού τοιχώματος (Albersheim 1976, Albersheim 1965, Aspinall 1980, Darvill et al 1980, Preston 1974). Οι Kertesz et al, βρήκαν ότι η ποσότητα της κυτταρίνης έχει σχέση με την αρχική συνεκτικότητα των φρεσκοκομμένων καρπών μήλων, αλλά κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το μαλάκωμα που ακολουθεί δεν οφείλεται σε αλλαγές της κυτταρίνης.

Ο Bartley 1976, διαπίστωσε ότι η κυτταρινική γλυκόζη των κυτταρικών τοιχωμάτων μήλων, δεν αλλάζει με την ωρίμανση. Αντίθετα στα ροδάκινα, οι Nightingale et al 1930, παρατήρησαν μείωση της κυτταρίνης, όπως συμβαίνει και με τα αχλάδια (Jermyn και Isherwood 1956).

Οι αλλαγές όμως στην ποσότητα της κυτταρίνης μπορεί να είναι λιγότερο σημαντικές από τις αλλαγές στο μοριακό προανατολισμό των μικροϊνιδίων. Ο Sterling 1961, μελέτησε τη φυσική κατάσταση της κυτταρίνης σε ώριμα ροδάκινα με τεχνικές ακτίνων -X και βρήκε ότι τα ινίδια της κρυσταλλικής κυτταρίνης

αυξάνουν σε διάμετρο κατά την ωρίμανση. Ο Sterling 1961 (Pressey 1977) απέδωσε τη διόγκωση σε χαλάρωση μάλλον, παρά σε σχηματισμό νέων μικροϊνιδίων και παρατήρησε ότι η περιορισμένη αποδόμηση-χαλάρωση της κυτταρίνης δεν μπορεί να θεωρηθεί ότι συνεισφέρει πολλά στο μαλάκωμα των ροδακίνων (Dey και Brinson 1984).

Η πρώτη αναφορά για την κυτταρινάση σε ανώτερα φυτά έγινε από τον Tracy 1960, που μέτρησε δραστηριότητα στον καπνό και άλλα φυτά. Πολλοί ερευνητές (Dickinson και McCollum 1964, Hall 1963, Sobotka και Watada 1971, Hobson 1968 κ.ά) κατά τον Pressey 1977, αναφέρονται στις κυτταρινάσες της τομάτας σε σχέση με το μαλάκωμα. Οι απόψεις τους διαφέρουν σημαντικά και αυτό ίσως οφείλεται στην πολυπλοκότητα της κυτταρινάσης (Hobson 1968).

Η κυτταρινάση δεν ανιχνεύτηκε στα πράσινα ροδάκινα, αλλά η δραστηριότητά της εμφανίστηκε κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης (Hinton και Pressey 1974). Η αύξηση της κυτταρινάσης παρουσίασε ένα μέγιστο, πριν η συνεκτικότητα των ροδακίνων μειωθεί σημαντικά. Αυτό μπορεί να υποθέσει ότι η κυτταρινάση, όχι μόνο μπορεί να συμμετέχει στο μαλάκωμα των ροδακίνων, αλλά και στο ξεκίνημα της διαδικασίας του μαλακώματος.

2.3. Εσωτερικός έλεγχος της ωρίμανσης

2.3.1. Αιθυλένιο

Το αιθυλένιο είναι μια απλούστατη ολεφίνη που υφίσταται σε αέρια κατάσταση κάτω από κανονικές συνθήκες. Ο Gane 1934 έδωσε τη χημική απόδειξη ότι το αιθυλένιο παράγεται από ώριμα μήλα και ότι διεγείρει την αναπνευστική κλιμακτήριο και τις διεργασίες της ωρίμανσης. Ποσοτικές μετρήσεις έδειξαν ότι η παραγωγή του αερίου που παράγεται από καρπούς στο χώρο αποθήκευσης ακολουθεί ανάλογο τρόπο μεταβολής με την πορεία της αναπνευστικής δραστηριότητας των καρπών. Ο Hansen 1942, παρατήρησε ότι η κλιμακτηριακή αύξηση της αναπνοής, συνέπιπτε χρονικά με τη μεγάλη έξαρση παραγωγής του αιθυλενίου σε αχλάδια. Με τη

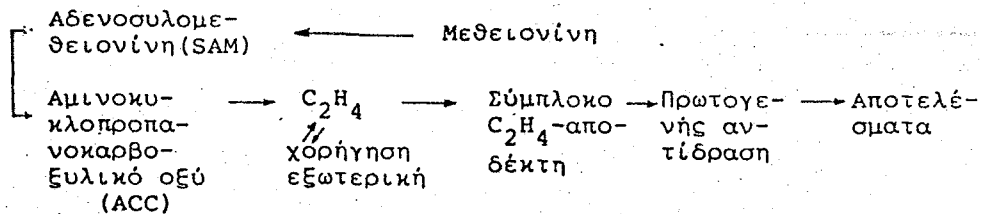
βελτίωση των τεχνολογικών μεθόδων και κυρίως της αεριοχρωματογραφίας έγινε ευκολότερη η παρακολούθηση της παραγωγής του αιθυλενίου σε σχέση προς την πορεία της αναπνευστικής κλιμακτηρίου και διαπιστώθηκε ότι η συσχέτιση των δύο αυτών γεγονότων δεν ήταν η ίδια σε όλους τους καρπούς.

Η έκλυση αυτή του αιθυλενίου από τους καρπούς βρέθηκε ότι μειώνεται σημαντικά από την επίδραση των χαμηλών θερμοκρασιών και τη χαμηλή τάση του οξυγόνου. Γίνεται λοιπόν φανερό, ότι οι μεταβολές των διαφόρων συστατικών των καρπών που οδηγούν στην ωρίμανση, πρέπει να σχετίζονται με την παραγωγή και αποβολή από τα κύτταρα των καρπών του αιθυλενίου και μάλιστα κατά τα πρώτα στάδια εισαγωγής της αναπνευστικής κλιμακτηρίου ή λίγο αργότερα.

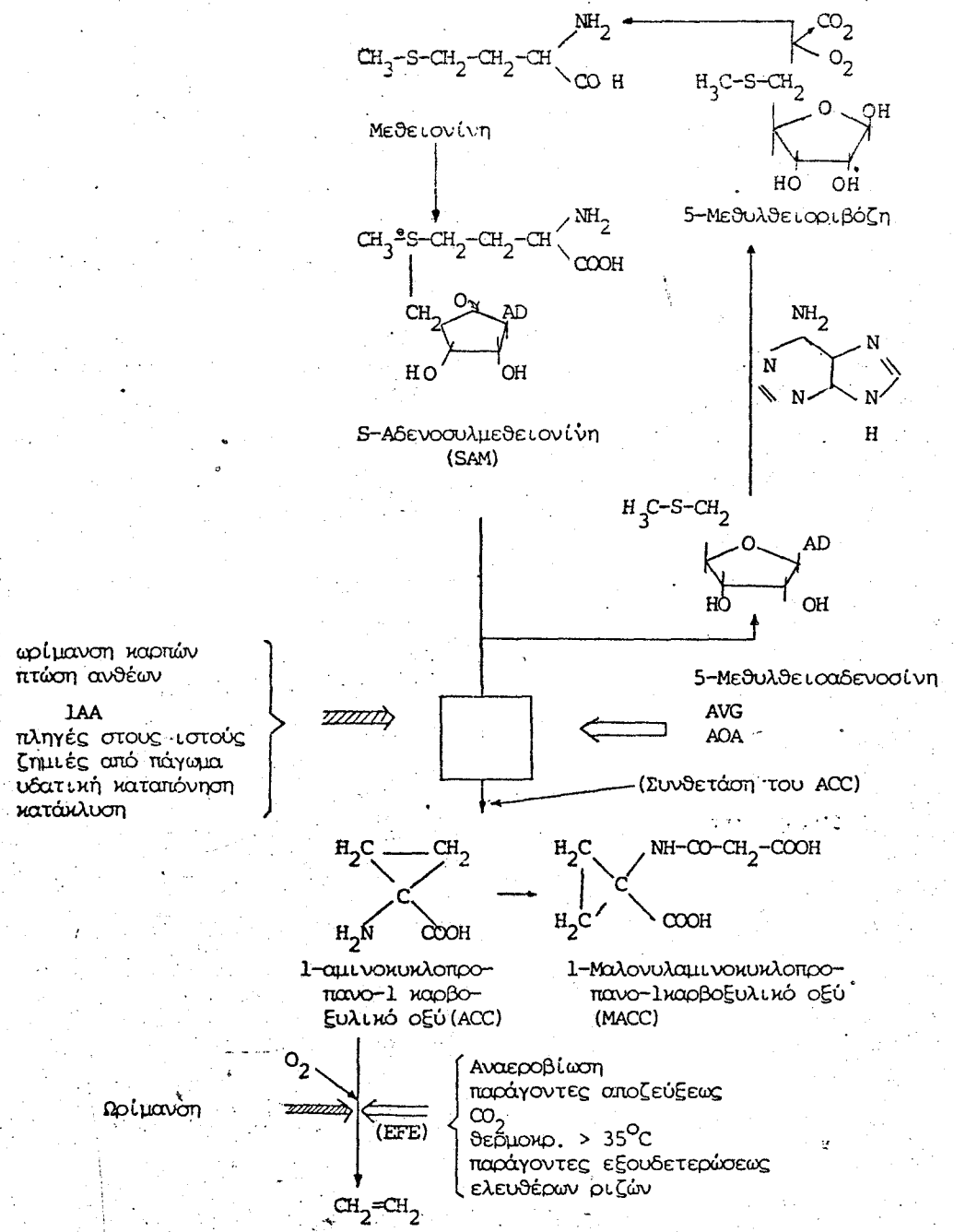
2.3.1.1. Φυσιολογία της δράσης του αιθυλενίου

Η συσχέτιση της παραγωγής του αιθυλενίου και της αναπνευστικής κλιμακτηρίου της ωρίμανσης, θα μπορούσε να δώσει στο αιθυλένιο το ρόλο του παράγοντα που εισάγει τις διεργασίες αυτές και προκαλεί επομένως την κλιμακτήριο τουλάχιστον για τις περιπτώσεις εκείνες των καρπών όπου η μεγάλη έκλυση του αερίου αυτού συμπίπτει με την έναρξη του φαινομένου όπως έδειξε ο Hansen. Από τα δεδομένα όμως και άλλων ερευνητών αποδείχτηκε ότι η μεγάλη έκλυση του αιθυλενίου, σε άλλους καρπούς προηγείται και σε άλλους έπεται της κλιμακτηρίου. Οι Burg και Thiemann 1959, ανέφεραν ότι η παραγωγή του αιθυλενίου, εντοπίζεται στα ωσμωτικά ενεργά κύτταρα του καρπού, ενώ οι Lieberman και Graft 1961, σε ιστούς πλούσιους σε μιτοχόνδρια. Επιπλέον είναι γνωστό ότι καρποί με τραύματα εμφανίζουν αυξημένη παραγωγή αιθυλενίου με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της ωρίμανσης και τη μεγαλύτερη ευπάθεια σε μύκητες. Σήμερα δέχονται ότι το αιθυλένιο που βιοσυντίθεται από τα φυτικά κύτταρα, ή χορηγείται εξωτερικά, ασκεί την επίδρασή του όπως στην περίπτωση και των άλλων ορμονών με το σχηματισμό ενός ενεργοποιημένου συμπλόκου που με τη σειρά του πυροδοτεί μια πρωτογενή αντίδραση. Η τελευταία προκαλεί μια αλυσίδα αντιδράσεων και μεταβολών, που ο-

δηγούν στην παραγωγή μιας ποικιλίας προϊόντων. Δέχονται δηλαδή, την ενέργεια του αιθυλενίου σαν ένα μηχανισμό σκανδάλης στην πυροδότηση των διεργασιών ωρίμανσης των καρπών, χωρίς όμως να έχει διευκρινιστεί αν η εμφάνιση της αναπνευστικής κλιμακτηρίου, συνεπάγεται και την αύξηση της παραγωγής αιθυλενίου, ή αντίθετα η παραγωγή του αιθυλενίου προηγείται και προκαλεί την ένταση της αναπνευστικής κλιμακτηρίου. Με βάση την παραδοχή της ύπαρξης ενός αποδέκτη του αιθυλενίου και του σχηματισμού του ενεργοποιημένου συμπλόκου, τα γεγονότα από τη βιοσύνθεση του αιθυλενίου ή τη χορήγησή του εξωτερικά, μέχρι τη λήψη των αποτελεσμάτων του, μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:



(Κατά Yang 1985)



Σχήμα 4. Η βιοσύνθεση του αιθυλενίου και τα σημεία της μεταβολικής ακολουθίας όπου είναι δυνατή η επίδραση θετικών ή αρνητικών παρεμβάσεων. \Rightarrow : επαγωγή σύνθεσης του ενζύμου, \Leftarrow παρεμπόδιση της αντίδρασης (Yang, 1980).

Οι Adams και Yang 1979, έδωσαν την αλληλουχία βιοσύνθεσης του αιθυλενίου σε καρπούς μήλων που ωριμάζουν που αποδείχτηκε καθολικής ισχύος για όλους τους καρπούς. Οι πρόσφατες αντιλήψεις αυτής της μεταβολικής ακολουθίας παραγωγής και ρυθμίσεων δίνονται στο Σχήμα 4. Σ'αυτή την αλληλουχία, κεντρικό ρόλο κατέχει το 1-αμινο-κυκλοπροπανο-1 καρβοξυλικό οξύ (ACC) που συντίθεται από την S-αδενοσυλμεθειονίνη (SAM) με το ένζυμο "συνθετάση του ACC". Το ένζυμο αυτό φαίνεται ότι αποτελεί το κεντρικό σημείο του ελέγχου της βιοσύνθεσης του αιθυλενίου και απαιτεί την παρουσία φωσφορικής πυριδοξάλης για μεγαλύτερη δραστηριότητα. Η δράση του παρεμποδίζεται ισχυροτάτα από την παρουσία του αμινο-οξυ-οξικού οξέος (AOA) και του L-2α-αμινο-4(2-αμινοαιθοξυ-trans-3βουτενοϊκού οξέος (AVG) παραγόντων που είναι γνωστοί σαν παρεμποδιστές των ενζύμων με φωσφορική πυριδοξάλη. Η μετατροπή της 3-αδενοσυλμεθειονίνης (SAM) σε ACC είναι και η καθοριστική της ταχύτητας βιοσύνθεσης του αιθυλενίου. Το ένζυμο μετατροπής του ACC σε αιθυλένιο (EFE) αν και θεωρείται ευρύτατης διάδοσης μέσα στους φυτικούς ιστούς των ριζών, βλαστών, φύλλων, ανθέων και καρπών, δεν έχει ταυτοποιηθεί ακόμη, αλλά είναι γνωστό ότι είναι ασταθές και είναι συνδεδεμένο με τις μεμβράνες των κυττάρων. Πρόσφατα, οι Hoffman και Yang 1980, προσδιόρισαν τη στάση του ACC μέσα στους καρπούς, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, σε κλιμακτηριακούς καρπούς αβοκάνο, μπανάνες και τομάτες. Προκλιμακτηριακά, η στάθμη του ACC ήταν σε πολύ χαμηλό επίπεδο, αλλά μία μαζική παραγωγή αυτού παρατηρήθηκε λίγο πριν από τη μεγάλη έκλυση του αιθυλενίου.

Η εξωτερική χορήγηση ACC σε άγουρα μήλα (προκλιμακτηριακά), είχε μικρή μόνο επίδραση στην παραγωγή του αιθυλενίου. Αντίθετα η επέμβαση αυτή κατά την εμφάνιση της κλιμακτηρίου, προκάλεσε την αύξηση του αιθυλενίου κατά μερικές εκατοντάδες φορές. Από τα δεδομένα αυτά εξάγεται το συμπέρασμα ότι οι καρποί στο προκλιμακτηριακό στάδιο, πέρα από τη χαμηλή στάθμη του ACC που διαθέτουν, στερούνται και την ικανότητα μετατροπής του σε αιθυλένιο. Η παραγωγή αιθυλενίου είναι αυτοκαταλυόμενη και αυτό αποτελεί ένα κοινό χαρακτήρα σε όλους τους καρπούς που ωριμάζουν. Η χορήγηση εξωτερικά του αιθυλε-

νίου, προάγει τη σύνθεση του ενζύμου EFE (ένζυμο σύνθεσης αιθυλενίου) από τον πρόδρομο ACC, πριν από τη σύνθεση μέσα στον καρπό εδογενώς του ACC. Η παρεμπόδιση της συνθετάσης του ACC και κατά συνέπεια της βιοσύνθεσης του ACC από SAM, από τους παρεμποδιστές AVG και AOA, υπόσχεται ευρύτατες πρακτικές εφαρμογές. Οι ουσίες αυτές έχουν δοκιμαστεί με επιτυχία σε μεγάλη ποικιλία φυτικών οργάνων, αλλά και ολοκλήρων φυτών. Η εφαρμογή τους σε κομμένα γαρύφαλλα παρατείνει τη μακροβιότητά τους, ενώ ψεκασμός δέντρων μηλιάς με AVG πριν απ' τη συλλογή, επιβραδύνει την ωρίμανση των καρπών και περιορίζει την πρόωγη πτώση τους. (Bramlage, Greene, Autio και McLaughlin 1980). Μια σημαντική βελτίωση στην αποθηκευτική ζωή των blueberries έχει αναφερθεί από τον Dekazos 1980 με χειρισμό μετά τη συλλογή με AVG. Πλήρης παρεμπόδιση της παραγωγής του αιθυλενίου από το AVG ή AOA δεν έχει αναφερθεί για κανένα καρπό.

Οι παραπάνω παρεμποδιστές, δεν επηρεάζουν το ενζυμικό σύστημα (EFE) μετατροπής του ACC σε αιθυλένιο. Το ένζυμο αυτό επηρεάζεται από εξωτερικούς παράγοντες, όπως είναι η αναεροβίωση, η συγκέντρωση του CO₂, η υψηλή θερμοκρασία (πάνω από 35°C). (Adams και Yang 1979, Amrhein και Wenkerd 1979, Boller, Herner και Kende, 1979, Hoffman και Yang 1982, Lieberman 1979, Lieberman, Kunishi και Owens 1975, Owens, Lieberman και Kunishi 1971, Yoshii και Imaseki 1982).

Με βάση την περιεκτικότητα αιθυλενίου του καρπού, διακρίνουμε δύο φάσεις ανάπτυξης και ωρίμανσης. Στην πρώτη φάση, επικρατεί χαμηλή στάθμη αιθυλενίου στον καρπό, μέχρι την εγκατάσταση της ωρίμανσης. Στη δεύτερη φάση, έχουμε μεγάλη στάθμη αιθυλενίου, λόγω της αυτοκαταλυτικής παραγωγής του μέσα στους ιστούς του καρπού με την πρόοδο της ωρίμανσης.

Εφόσον το αιθυλένιο συσχετίζεται με την πρόοδο της ωρίμανσης των καρπών συσχετίζεται επίσης και με την επαγωγή της βιοσύνθεσης ορισμένων ενζύμων που αυξάνεται η στάθμη τους, χωρίς όμως να θεωρείται ότι αυξάνει και τη δραστηριότητά τους. Τα ένζυμα αυτά είναι οι όξινες φωσφατάσες, οι αμιλάσες, οι καταλάσες, οι κυτταρινάσες, οι χλωροφυλλάσες, η ιμπερτάση, τα πηκτινολυτικά ένζυμα, οι πρωτεάσες, οι φαινόλοξειδάσες. Όσον αφορά συγκεκριμένα την πολυγαλακτουρονάση (PG

από τα πηκτινολυτικά ένζυμα στην τομάτα, παράγεται δε νόνο μετά την έναρξη της αυτοκαταλυτικής παραγωγής του αιθυλενίου (Brady, MacAlpine, McGlasson και Ueda 1982 και Grierson και Tucker 1983).

Η απομάκρυνση του αιθυλενίου μπορεί να γίνει με καλό αερισμό ή με παγίδες αιθυλενίου με $KMnO_4$, ή με καταλυτική οξειδωση.

2.3.1.2. Ανταγωνιστές αιθυλενίου

Υπάρχουν τρεις τύποι ανταγωνιστών του αιθυλενίου που μπορούν να χορηγηθούν εξωτερικά και να παρεμποδίσουν τη δράση του.

Το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2). Το CO_2 παρεμποδίζει ή καθυστερεί την επίδραση του αιθυλενίου. Η παρεμποδιστική του δράση είναι αποτελεσματική υπό συνθήκες χαμηλών συγκεντρώσεων αιθυλενίου και χάνεται όταν η συγκέντρωση του τελευταίου υπερβαίνει συνήθως το $1 \mu\text{lit/lit}$. Σε μερικούς καρπούς, η συγκέντρωση CO_2 μέσα στους μεσοκυττάριους χώρους λειτουργεί σαν ένας φυσικός ανταγωνιστής του αιθυλενίου. Το CO_2 χρησιμοποιείται εμπορικά για τον έλεγχο της ατμόσφαιρας αποθήκευσης των καρπών και σαν ανταγωνιστής του αιθυλενίου προκαλεί καθυστέρηση της ωρίμανσης. Ο τρόπος δράσης του CO_2 δεν είναι ακόμη γνωστός όμως κατά τους Burg και Burg 1967, η δράση του θεωρείται ότι οφείλεται στον ανταγωνισμό του με το αιθυλένιο από πλευράς σύνδεσής του με τον αποδέκτη.

Τα κατιόντα Ag^+ . Ο πιο πιθανός μηχανισμός της επίδρασης αυτής είναι η αντίδραση του Ag^+ με το αιθυλένιο, και η εξουδετέρωση του με τον σχηματισμό συμπλόκου.

Οι κυκλικές ολεφίνες. Οι Sisler και Plan 1973, ανέφεραν ότι μερικές κυκλικές ολεφίνες (αλκένια) παρεμποδίζουν τη δράση του αιθυλενίου. Τα σώματα αυτά με κατασκευή που μοιάζει με το αιθυλένιο, ανταγωνίζονται το αιθυλένιο στην ίδια πλευρά σύνδεσης με τον αποδέκτη, με αποτέλεσμα το σύμπλοκο ολεφίνης-αποδέκτη να είναι βιολογικά ανενεργό.

Συμπερασματικά μπορούμε να αναφέρουμε ότι το αιθυλένιο έχει μεγάλη φυσιολογική σημασία στους ωριμάζοντες καρπούς.

2.4. Εξωτερικός έλεγχος της ωρίμανσης

Η χρήση εξωτερικών παραγόντων σε μια προσπάθεια για έλεγχο της διαδικασίας της ωρίμανσης έχει πολύ μεγάλη σημασία για την αποθήκευση των φρέσκων προϊόντων πριν την εμπορία. Κατά την αποθήκευση θα πρέπει να ληφθεί πρόνοια, ώστε να μειωθούν στο ελάχιστο οι δυσμενείς επιδράσεις της απώλειας νερού, της μικροβιακής μόλυνσης και της ανάπτυξης φυσιολογικών ασθενειών.

2.4.1. Επίδραση της θερμοκρασίας

Η ωρίμανση λαμβάνει χώρα σε σχετικά στενή περιοχή θερμοκρασιών. Σε θερμοκρασίες κάτω από μια ορισμένη κρίσιμη θερμοκρασία, πολλοί καρποί τροπικής και υποτροπικής προέλευσης αναπτύσσουν την "ασθένεια του ψύχους". Κατ'αυτή συμβαίνει παρεμπόδιση της ωρίμανσης. Αυτή η κρίσιμη θερμοκρασία (Lybns 1973) είναι μεταξύ 10 και 13°C για πολλούς κοινούς καρπούς, όπως η μπανάνα και η τομάτα, ενώ για μερικούς καρπούς της εύκρατης ζώνης όπως τα μήλα Cox's Orange Pippin μπορεί να είναι 3°C. Οι περιορισμοί επομένως που προκύπτουν για τη χρήση των χαμηλών θερμοκρασιών είναι ένας κύριος παράγοντας που περιορίζει την αποθήκευση τέτοιων καρπών. Υπάρχει επίσης μια ανώτερη θερμοκρασία που πάνω απ'αυτή δεν συμβαίνει ωρίμανση. Οι Takashi και Mitsuko 1978, διαπίστωσαν ότι στα ιαπωνικά βερίκοκκα η ασθένεια του ψύχους ήταν γενικά πιο έντονη στους 5°C παρά στους 0°C. Στους 10°C η ασθένεια αυτή δεν παρατηρήθηκε σε 11 από τις 24 περιπτώσεις, αλλά μερικές φορές συνέβαινε και σε σημαντικό βαθμό. Στους 15°C δεν παρατηρήθηκε καθόλου η ασθένεια του ψύχους.

Αλλαγές στο χρώμα, που σχετίζονται με την ωρίμανση στις τομάτες, παρεμποδίζονται στην αποθήκη σε θερμοκρασίες πάνω από 30°C (Goodwin και Jamikorn 1952). Η αποθήκευση επιδρά επί των συνολικών καρωτινοειδών καθώς επίσης και επί της συγκέντρωσης του β-κρωτινίου και μάλιστα παρατηρείται μείωση και των δύο. Συγκεκριμένα ο Aczél 1973, βρήκε ότι η μείωση των συνολικών καρωτινοειδών σε βερίκοκκα μετά από 30 ημέρες αποθήκευσης έφθανε το 85% της αρχικής τιμής ενώ η περιεκτικότητα σε β-κρωτίνιο ήταν το 74% της αρχικής του τιμής.

Η σύνθεση του αιθυλενίου παρεμποδίζεται επίσης σε υψηλές θερμοκρασίες, αλλά αυτή, όπως συμβαίνει και με τις αλλαγές του χρώματος στις τομάτες, είναι αντιστρεπτή διαδικασία μέσα σε μια μικρή σχετικά περίοδο μετά την επιστροφή σε χαμηλές θερμοκρασίες.

Ο χρόνος συντήρησης των καρπών ή σε απλή ψύξη ή σε ελεγχόμενες ατμόσφαιρες είναι συνάρτηση του σταδίου ωριμότητας.

Σύμφωνα με τον Dilley 1983, για τα μήλα προτείνονται οι ακόλουθες τιμές εσωτερικής συγκέντρωσης αιθυλενίου σαν κριτήριο ωριμότητας κατά τη συλλογή σε σχέση με τη συντήρησή τους.

Συγκέντρωση αιθυλενίου	Παρατηρήσεις
1. λιγότερο από 0.1 ppm	Συνιστάται καθυστέρηση της συγκομιδής για να αποκτήσουν οι καρποί καλλίτερο χρώμα, μέγεθος και ποιότητα
2. 0.1 - 0.5 ppm	Κατάλληλοι καρποί για μακροχρόνια συντήρηση σε ελεγχόμενες ατμόσφαιρες.
3. 0.5 - 1 ppm	Κατάλληλοι καρποί για μέτρια συντήρηση σε ελεγχόμενες ατμόσφαιρες.
4. 1 - 5 ppm	Κατάλληλοι καρποί για σύντομη συντήρηση σε ελεγχόμενες ατμόσφαιρες.
5. 5 - 10 ppm	Κατάλληλοι καρποί για συντήρηση πέραν των 4 μηνών σε απλή ψύξη ή ελεγχόμενες ατμόσφαιρες.
6. περισσότερο από 10 ppm	Κατάλληλοι καρποί μόνο για σύντομη συντήρηση και μεταποίηση.

2.4.2. Ελεγχόμενες ατμόσφαιρες

Οι Kidd και West πειραματιζόμενοι με μήλα, βρήκαν ότι η αύξηση της ποσότητας του CO₂ και η μείωση του O₂ στην

ατμόσφαιρα της αποθήκης καθυστερούν την ωρίμανση και ότι συνδασμός αυτής της τροποποιημένης ατμόσφαιρας με τη χρήση χαμηλών θερμοκρασιών ακριβώς πάνω από τις οριακές, είναι η βάση για τη μέθοδο της αποθήκευσης σε ελεγχόμενες ατμόσφαιρές, που έχει αποδειχτεί πολύ επιτυχής για πάρα πολλούς καρπούς (Fidler et al 1973).

Η αποθήκευση σε ελεγχόμενες ατμόσφαιρες έχει και καλές αλλά και δυσμενείς επιδράσεις στους καρπούς. Οι καλές επιδράσεις είναι : ο μειωμένος ρυθμός αναπνοής και η καθυστέρηση της κλιμακτηριακής αύξησης, η μειωμένη διάσπαση των μεταβολιτών και η παρατεταμένη αποθηκευτική ζωή (Kidd και West 1930, Thornton 1930).

Αν και ο μεταβολισμός των φυτών μπορεί να επιβραδυνθεί με τις ελεγχόμενες ατμόσφαιρες, τα αποτελέσματα ποικίλλουν στα διάφορα είδη και ποικιλίες. Επομένως είναι σημαντικό να καθοριστεί το επίπεδο της ανεκτικότητας στις ελεγχόμενες ατμόσφαιρες. Οι ιστοί των καρπών μπορεί να υποστούν βλάβη λόγω μη κανονικού μεταβολισμού που μπορεί να προκληθεί λόγω υψηλών και χαμηλών συγκεντρώσεων CO_2 . Οι βλάβες που προκαλούνται από υψηλές συγκεντρώσεις CO_2 είναι : καστανώση του ιστού, συσσώρευση επιβλαβών προϊόντων του μεταβολισμού, αποδόμηση του ιστού και δυσάρεστη οσμή (Bate-Smith 1954, Hulme 1956, Neal και Hulme 1958, Smock 1958). Τοξικές επιδράσεις από το ήλεκτρικό οξύ (succinic acid) έχουν αναφερθεί (Hulme 1958). Οι Allen 1940 και Huelin et al 1937, επιβεβαίωσαν ότι δυσμενείς επιδράσεις συμβαίνουν όταν το CO_2 στις ελεγχόμενες ατμόσφαιρες φθάνει σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από 10%. Αρκετοί ερευνητές (Bendal et al 1960, Bonner 1950, Ranson et al 1960), ανέφεραν ότι αυξημένες συγκεντρώσεις CO_2 , επηρεάζουν αξιοσημείωτα τον ρυθμό των διαφόρων ενζυμικών αντιδράσεων. Οι Gerhardt et al, βρήκαν ότι τα βερίκοκκα έχουν μεγαλύτερη ανεκτικότητα στο CO_2 στους 36° παρά στους $45^\circ F$. Οι Wankier et al 1970, διαπίστωσαν ότι αποθήκευση σε ατμόσφαιρα 2,5% σε CO_2 , είναι ευνοϊκή για τα βερίκοκκα. Κάτω από αυτή τη συγκέντρωση του CO_2 , οι καρποί δεν δέχονται δυσμενείς επιδράσεις τόσο γρήγορα όσο σε άλλες συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν.

Όσον αφορά το O_2 στις ελεγχόμενες ατμόσφαιρες, η χαμηλή συγκέντρωσή του έχει δύο επιδράσεις. Η μια οφείλεται στην παρεμποδιστική επίδραση της χαμηλής συγκέντρωσης του O_2 στον αναπνευστικό μεταβολισμό, ενώ η άλλη οφείλεται στην επίδρασή του στη δράση του αιθυλενίου και την έναοξη των διαδικασιών της ωρίμανσης. Η σπουδαιότητα αυτών των δύο τύπων της παρεμποδιστικής δράσης, μπορεί να ποικίλει από καρπό σε καρπό.

Τάσεις οξυγόνου μεγαλύτερες από την ατμοσφαιρική τείνουν να προάγουν τη βιοσύνθεση του αιθυλενίου και επομένως να προάγουν την ωρίμανση σε αρκετούς καρπούς (Burg 1962). Αυτή η επίδραση είναι σημαντική σε καρπούς εσπεριδοειδών που αν τοποθετηθούν σε ατμόσφαιρα με 34 ως 99% O_2 θα έχουν μια κανονική κλιμακτηριακή αύξηση και αξιοσημείωτη αύξηση παραγωγής αιθυλενίου.

2.4.3. Η επίδραση της ατμοσφαιρικής πίεσης

Οι Burg και Burg 1966, έδειξαν ότι η ωρίμανση της μπανάνας παρεμποδίζεται τελείως, αν ο καρπός αποθηκεύεται σε ένα πέμπτο ατμοσφαιρικής πίεσης σε καθαρό οξυγόνο. Ο Burg 1975, έδειξε ότι η μείωση στην πίεση οδηγεί σε αύξηση της διάχυσης του αερίου και μειώνει τις εσωτερικές συγκεντρώσεις. Το γεγονός ότι, προστιθέμενο αιθυλένιο προκαλούσε αντιστροφή της παρεμπόδισης, έδειξε ότι η απομάκρυνση του αιθυλενίου είναι ένας παράγοντας υπεύθυνος για την καθυστέρηση της ωρίμανσης. Αυτό το σύστημα αποτελεί τη βάση των συστημάτων αποθήκευσης κάτω από μειωμένη ατμοσφαιρική πίεση (hypobaric storage) που σχεδιάστηκε από τον Burg 1963. Το σύστημα επιτρέπει την αργή είσοδο υγροποιημένου αέρα στο θάλαμο χαμηλής πίεσης και έτσι η μερική πίεση του O_2 είναι κάτω της ατμοσφαιρικής. Έτσι γίνεται χρήση του πλεονεκτήματος της χαμηλής περιεκτικότητας σε οξυγόνο ατμόσφαιρας, καθώς επίσης και της ελαχιστοποίησης της περιεκτικότητας σε εσωτερικό αιθυλένιο. Ο Burg έδειξε, ότι η αποθηκευτική ζωή πολλών καρπών επιμηκύνεται κάτω από συνθήκες μειωμένης ατμοσφαιρικής πίεσης.

2.4.4. Ψεκασμοί και εμβαπτίσεις

2.4.4.1. Μυκητοκτόνα και εντομοκτόνα

Οι ψεκασμοί με μυκητοκτόνα και εντομοκτόνα επηρεάζουν τα συστατικά των καρπών π.χ. σάκχαρα, οξέα, ιχνοστοιχεία καθώς επίσης και τα ένζυμα. Ο Kefford 1959, βρήκε ότι ψεκασμοί με μυκητοκτόνα σε εσπεριδοειδή μπορεί να επηρεάζουν σημαντικά τη σύσταση του καρπού.

2.4.4.2. Παράγοντες επιβράδυνσης ή επιτάχυνσης της ωρίμανσης

Ουσίες όπως το IAA, NAA, 2.4D, γιββεοελίνες, Alar κ.ά εφαρμοζόμενες σε διάφορα στάδια κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των καρπών επί του δέντρου ή μετά τη συγκομιδή, προκαλούν επιβράδυνση της ωρίμανσης των καρπών ή παράταση της αποθηκευτικής τους ζωής (Δροσόπουλος 1987).

Ο Dekazos 1985, βρήκε ότι μετασυλλεκτικοί χειρισμοί καρπών ροδακίνων με Eθήρηον, επιταχύνουν την ωρίμανση και την ανάπτυξη του χρώματος και δίνουν καρπό υψηλής ποιότητας όπως μετρήθηκε με διάφορες παραμέτρους ποιότητας.

Το AVG (aminoethoxy-vinyl-glycine) παρεμποδίζει τη βιοσύνθεση του αιθυλενίου από μεθειονίνη (Owens et al 1971) και μπορεί να παρεμποδίζει την παραγωγή αιθυλενίου στους κλιμακτηριακούς καρπούς (Dekazos 1981, Bangerth 1978, Bramlage et al 1980, Owens et al 1971). Ο Bangerth 1978, εφάρμοσε AVG σε δέντρα μηλιάς και βρήκε καθυστέρηση στην ωρίμανση, μειωμένη πτώση πριν τη συγκομιδή και αυξημένη δύναμη αποχωρισμού του καρπού από το δέντρο. Καρποί που χειρίστηκαν με AVG ωρίμασαν στην ίδια έκταση με τους μάρτυρες κατά τη διάρκεια τριών μηνών αποθήκευσης στους 0°C, που πιθανόν οφείλεται στο αιθυλένιο της ατμόσφαιρας ή σε μείωση της αποτελεσματικότητας του AVG σε χαμηλές θερμοκρασίες (Mattoo et al 1977). Οι Autio και Bramlage 1982, διαπίστωσαν ότι οι πρώιμες ποικιλίες μήλων επηρεάζονται λιγότερο από τις όψιμες. Ενώ η ωρίμανση καθυστερήσε σημαντικά, η ωριμότητα σε μήλα όπως καθορίστηκε από αλλαγές στη συγκεντρικότητα, συνολικά διαλυτά στερεά, συγκέντρωση άμυλου της σάρκας, συγκέντρωση χλωροφύλλης του φλοιού και ογκο-

μετρούμενη οξύτητα, παρέμεινε ανεπηρέαστη από ψεκασμούς με AVG στο δέντρο που εφαρμόστηκαν 6 περίπου εβδομάδες πριν τη συγκομιδή (Autio και Bramlage 1982). Οι Romani et al 1982, διαπίστωσαν παράταση της αποθηκευτικής ζωής αχλαδιών που είχαν ψεκαστεί με AVG 6 και 2 εβδομάδες πριν τη συγκομιδή. Παρόμοια με το AVG είναι και η δράση του AOA που είναι και αυτό παρεμποδιστής της βιοσύνθεσης του αιθυλενίου.

Η επιτάχυνση της ωρίμανσης γίνεται με τη χορήγηση αιθυλενίου υπό τη μορφή διαφόρων σκευασμάτων όπως του Ethrel, Ethephon που διασπώνται και ελευθερώνουν αιθυλένιο.



ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Φυτικό υλικό

Η μελέτη της αύξησης των καρπών, ο διαχωρισμός καθώς και ο προσδιορισμός των ενζύμων έγιναν σε βερίκοκκα των Ελληνικών ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου, ενώ η συντήρηση των καρπών μελετήθηκε στην ποικιλία Μπεμπέκου και στην Αμερικάνικη ποικιλία Harlayne.

Όπως είναι γνωστό η ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας είναι πρόιμη - ωριμάζει κατά το πρώτο πενήνημερο του Ιουνίου - και έχει μέτριο προς μεγάλο μέγεθος καρπού με έντονο πορτοκαλλί χρώμα σάρκας.

Η ποικιλία Μπεμπέκου είναι όψιμη - ωριμάζει κατά το δεύτερο δεκαήμερο του Ιουνίου - και έχει μεγάλο μέγεθος καρπού με κίτρινο χρώμα σάρκας.

Τα πειραματικά δέντρα των Ελληνικών ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου από όπου έγιναν οι δειγματοληψίες, βρίσκονται σε κτήμα στην περιοχή αεροδρομίου του Άργους Αργολίδας. Αξίζει να σημειωθεί, ότι στο κτήμα είχαν εφαρμοστεί όλες οι απαραίτητες καλλιεργητικές φροντίδες (ψεύκασμοί, κλαδέματα, λιπάνσεις, ζιζανιοκτονία κλπ), σύμφωνα με τις οδηγίες επιβλέποντος γεωπόνου.

Η ποικιλία Harlayne είναι όψιμη - ωριμάζει κατά το πρώτο δεκαήμερο του Αυγούστου - και έχει μέτριο προς μικρό μέγεθος καρπού με ζωηρό κιτρινοπορτοκαλλί χρώμα σάρκας.

Τα πειραματικά δέντρα της Αμερικάνικης ποικιλίας Harlayne, βρίσκονται σε κτήμα της περιοχής του Traverse city, Michigan, U.S.A.

Οι δειγματοληψίες μας έγιναν σε τεσσereς κύκλους (έτη 1983, 1984, 1985 και 1986) ως εξής :

- Κύκλος I (1983)

Ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας : Έγιναν επτά δειγματοληψίες σε χρονική περίοδο 84 ημερών από 15|3 ως 8|6.

Ποικιλία Μπεμπέκου : Έγιναν επτά δειγματοληψίες σε χρονική περίοδο 96 ημερών από 25|3 ως 30|6.

- Κύκλος II (1984)

Ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας : Έγιναν επτά δειγματοληψίες σε χρονική περίοδο 90 ημερών από 15|3 ως 13|6.

Ποικιλία Μπεμπέκου : Έγιναν επτά δειγματοληψίες σε χρονική περίοδο 102 ημερών από 25|3 ως 5|7.

- Κύκλος III (1985)

Ποικιλία Harlayne : Έγιναν δύο δειγματοληψίες σε χρονική περίοδο 4 ημερών από 6|8 ως 10|8 (μόνο για συντήρηση).

- Κύκλος IV (1986)

Ποικιλία Μπεμπέκου : Έγιναν δύο δειγματοληψίες σε χρονική περίοδο 8 ημερών από 15|6 ως 23|6 (μόνο για συντήρηση).

Οι δειγματοληψίες μας στα παραπάνω χρονικά διαστήματα για τα Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου 1983 και 1984 καλύπτουν και τις τρεις περιόδους αύξησης των καρπών (I, II και III) ενώ για τα Harlayne 1985 και Μπεμπέκου 1986 μόνο την τρίτη περίοδο. [Περίοδος I: Έντονη κυτταρική διαίρεση, ανάπτυξη ωοθήκης, νουκέλλου, περιβλημάτων των σπερμάτων, Περίοδος II : Ανάπτυξη ενδοσπερμίου και εμβρύου και ξυλοποίηση του ενδοκαρπίου, Περίοδος III : Τελική αύξηση του μεσοκαρπίου].

2. Πειραματικός σχεδιασμός

2.1. Αύξηση των καρπών

Η αύξηση των καρπών των ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου μελετήθηκε σε συνάρτηση με το μέγεθός τους. Συγκεκριμένα επελέγησαν και μετρήθηκαν 20 καρποί σε καθένα από τα 5 πειραματικά δέντρα της κάθε ποικιλίας που ήταν ομοιόμορφα κατανεμημένοι σε όλη την κόμη. Η μέτρηση του μεγέθους έγινε κατά την έννοια της μεγάλης διαμέτρου, από την πλευρά της ραφής και κατά τακτά χρονικά διαστήματα. Σαν σημείο αναφοράς θεωρήθηκε η ημερομηνία καρπόδεσης.

Τα δέντρα που χρησιμοποιήθηκαν για τις δειγματοληψίες ήταν της ίδιας ηλικίας, της ίδιας ανάπτυξης και είχαν δεχτεί ακριβώς τις ίδιες καλλιεργητικές φροντίδες. Η επιλογή των δέντρων έγινε σύμφωνα με το "εντελώς τυχαίο σχέδιο".

2.2. Επεμβάσεις πριν τη συλλογή

Σε καθεμία από τις ποικιλίες Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέ - κου 1983 και 1984, έγιναν δύο επαναληπτικοί ψεκασμοί ο καθένας με 300 ppm AVG (amino-ethoxy-vinyl-glycine). Ο πρώτος ψεκασμός έγινε 15 περίπου ημέρες πριν το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας και ο δεύτερος μετά μία εβδομάδα. (συνολικά 600ppm).

Σε καθένα από τα 5 πειραματικά δέντρα (§ 2.1) επελέγησαν δύο κλάδοι προς την ίδια πλευρά της κόμης και του ίδιου προσανατολισμού. Σε έναν από αυτούς τους κλάδους έγιναν οι ψεκασμοί. Οι καρποί του δεύτερου κλάδου, απετέλεσαν τους μάρτυρες και τους καρπούς για τους μετέπειτα χειρισμούς.

Στην ποικιλία Harlayne, έγιναν επίσης δύο επαναληπτικοί ψεκασμοί με AOA (amino-oxy-acetic acid ουσία που δρα παρόμοια με το AVG). Έτσι 14 ημέρες πριν το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας έγινε ψεκασμός σε δύο διαφορετικούς κλάδους, με AOA 300ppm στον ένα και 700ppm στον άλλο και 6 ημέρες αργότερα επαναλήφθηκε ο ψεκασμός με τις ίδιες συγκεντρώσεις AOA, στους ίδιους κλάδους. (συνολικά 600 και 1400 ppm).

Στο κτήμα που είχε δεχτεί τις κατάλληλες καλλιεργητικές φροντίδες είχαν επιλεγεί 10 πειραματικά δέντρα, της ίδιας ηλικίας και της ίδιας περίπου ανάπτυξης, σύμφωνα με το "εντελώς τυχαίο σχέδιο". Τα 5 από αυτά τα δέντρα χρησιμοποιήθηκαν για τους ψεκασμούς. Συγκεκριμένα σε κάθε δέντρο από αυτά επελέγησαν 3 κλάδοι. Οι δύο από αυτούς ψεκάστηκαν με τις δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις του AOA (300 και 700ppm). Οι καρποί του τρίτου κλάδου χρησιμοποιήθηκαν για μάρτυρες (CUN). Από τα υπόλοιπα 5 δέντρα συγκομίστηκαν οι καρποί που χρησιμοποιήθηκαν για τις επεμβάσεις μετά τη συλλογή και την αποθήκευση.

Στην ποικιλία Μπεμπέκου 1986 έγιναν επίσης δύο επαναληπτικοί ψεκασμοί με AOA. Δεκαπέντε ημέρες πριν το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας έγινε ο πρώτος ψεκασμός με 250 και 700ppm AOA και μετά μία εβδομάδα έγινε ο δεύτερος (συνολικά 500 και 1400ppm).

2.3. Δειγματοληψία - Συλλογή - Μεταφορά

Οι δειγματοληψίες για τις ελληνικές ποικιλίες (1983,1984) γίνονταν, ανά ορισμένα χρονικά διαστήματα και την ίδια ώρα για

κάθε ημέρα συλλογής. Συγκεκριμένα για τα Πρώιμα Τίρυνθας και τα Μπεμπέκου των ετών 1983 και 1984 έγιναν 7 δειγματοληψίες στα στάδια ωριμότητας 1,2,3,4,5,6 και 7 που ορίστηκαν έτσι ανάλογα με τις ημέρες που είχαν περάσει από την καρπόδεση (πίνακας 1). Αυτά τα στάδια καλύπτουν όλη την αύξηση των καρπών δηλαδή και τα τρία τμήματα της διπλής σιγμοειδούς καμπύλης αύξησης (Περίοδοι αύξησης I, II και III).

Για την ποικιλία Harlayne έγιναν μόνο δύο δειγματοληψίες στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας και 3 ημέρες αργότερα. Οι ψεκασμένοι καρποί συγκομίστηκαν όλοι στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας.

Για την ποικιλία Μπεμπέκου 1986 έγιναν επίσης δύο δειγματοληψίες, στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας και 8 ημέρες αργότερα.

Πίνακας 1. Στάδια ωριμότητας βερικόκκων Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου (1983 και 1984).

Στάδια ωριμότητας	Ημέρες από καρπόδεση			
	Πρώιμα Τίρυνθας		Μπεμπέκου	
	1983	1984	1983	1984
1	25	28	35	32
2	38	42	42	43
3	56	53	53	52
4	63	62	68	74
5	70	76	81	87
6	78	83	88	95
7	84	90	96	102

Η μεταφορά των δειγμάτων των Ελληνικών ποικιλιών από την περιοχή του Άργους, γινόταν αμέσως μετά τη συλλογή σε ισόθερμα κιβώτια με παγοκύστες. Η αποθήκευση γινόταν στους αποθηκευτικούς χώρους του Ινστιτούτου Τεχνολογίας Τροφίμων του Υπουργείου Γεωργίας στη Λυκόβρυση Αττικής και οι άλλες αναλύσεις πλην των ενζυμικών στο Εργαστήριο Δενδροκομίας της ΑΓΣΑ.

Η μεταφορά των δειγμάτων της Αμερικάνικης ποικιλίας από την περιοχή του Traverse city του Michigan στο R.Russel Agri -

cultural Research Center του USDA στην Αθήνα της Γεωργίας των ΗΠΑ, γινόταν με αυτοκίνητα-ψυγεία σε χάρτινα κιβώτια.

Ένα μέρος των αναλύσεων-κυρίως ενζυμολογικών- των Ελληνικών ποικιλιών έγινε στο R.Russell Agricultural Research Center του USDA στην Αθήνα της Γεωργίας των ΗΠΑ. Η μεταφορά των κατεψυγμένων καρπών από την Ελλάδα στις ΗΠΑ έγινε αεροπορικώς με ειδική συσκευασία σε μεγάλα κιβώτια που ήταν κατάλληλα μονωμένα και περιείχαν τόση ποσότητα ξηρού πάγου (dry ice), όση ήταν αρκετή για να διατηρηθεί η θερμοκρασία των καρπών στα επιθυμητά επίπεδα (περίπου -27°C). Η όλη διαδικασία της συσκευασίας έγινε από την εταιρία Carbonica A.E. στον Ασπρόπυργο Αττικής.

2.4. Προκαταρκτικοί χειρισμοί των δειγμάτων

Τα δείγματα όταν έφθαναν στο Εργαστήριο χωρίζονταν σε τρεις ομάδες. Οι καρποί σε όλες τις ομάδες είχαν περίπου το ίδιο χρώμα και μέγεθος. Ο αριθμός των καρπών ανά ομάδα κυμαινόταν ανάλογα με τον προσορισμό της.

Η πρώτη ομάδα προοριζόταν για την άμεση μέτρηση διαφόρων παραμέτρων (συνεκτικότητα, συνολικά διαλυτά στερεά, χρώμα, οξύτητα, pH και αιθυλένιο).

Η δεύτερη ομάδα προοριζόταν για τις επεμβάσεις μετά τη συλλογή και ακολούθως την αποθήκευση και τέλος η τρίτη προοριζόταν για τις ενζυμικές αναλύσεις. Στις Ελληνικές ποικιλίες οι καρποί της τρίτης αυτής ομάδας ζυγίζονταν ανά μισό κιλό περίπου, έμπαιναν σε σακκούλες Poly-bag και ετοποθετούντο στην κατάψυξη (-27°C). Στην Αμερικάνικη ποικιλία οι καρποί της τρίτης ομάδας ετοποθετούντο στην απλή ψύξη ($2-4^{\circ}\text{C}$) μέχρις ότου γίνουν οι ενζυμολογικές αναλύσεις.

Για τις ποικιλίες Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου 1983 και 1984 οι αναλύσεις της πρώτης ομάδας πλην της μέτρησης του χρώματος έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Δενδροκομίας της ΑΓΣΑ, η μέτρηση του χρώματος, οι επεμβάσεις στους καρπούς της δεύτερης ομάδας και η αποθήκευσή τους έλαβαν χώρα στο Ινστιτούτο Τεχνολογίας Τροφίμων του Υπουργείου Γεωργίας στη Λυκόβρυση Αττικής και οι αναλύσεις της τρίτης ομάδας στο εργαστήριο της Φυσιολογίας Φυτών του R.Russell Agricultural Research Center του USDA στην Αθήνα της Γεωργίας των ΗΠΑ.

Για την ποικιλία Harlayne, οι αναλύσεις και επεμβάσεις μετά τη συλλογή καθώς και η αποθήκευση έλαβαν χώρα στο παραπάνω εργαστήριο των ΗΠΑ. Μερικές μόνο μετρήσεις έγιναν σε εργαστήρια των Hort Science και Food Science Departments του University of Georgia.

Για την ποικιλία Μπεμπέκου 1986, οι αναλύσεις και επεμβάσεις μετά τη συλλογή καθώς και η αποθήκευση έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Δενδροκομίας της ΑΓΣΑ.

2.5. Επεμβάσεις μετά τη συλλογή

Οι επεμβάσεις αυτές γίνονταν με εμβαπτίσεις των καρπών σε διαλύματα του ΑΟΑ γνωστής συγκέντρωσης για 3 min. Σε όλα τα διαλύματα προστέθηκε διαβρεκτικό Twin-20 σε αναλογία 0.05% για καλλίτερη προσκόλληση. Μετά οι καρποί αφήνονταν να στεγνώσουν. Ελαφρό ρεύμα αέρος υποβοηθούσε την εξάτμιση και των τελευταίων σταγονιδίων. Η όλη διαδικασία ελάμβανε χώρα σε θερμοκρασία δωματίου.

Οι επεμβάσεις μετά τη συλλογή κατά ποικιλία ήσαν οι εξής:

Harlayne 1985

Οι καρποί που συλλέχθηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας καθώς και αυτοί που συλλέχθηκαν 3 ημέρες αργότερα χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες.

Οι καρποί της πρώτης ομάδας εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα ΑΟΑ (Amino-oxy-acetic acid) 1000 ppm.

Οι καρποί της δεύτερης ομάδας εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα ΑΟΑ 2000 ppm.

Οι καρποί της τρίτης ομάδας εμβαπτίστηκαν σε νερό και απετέλεσαν τους Μάρτυρες.

Μπεμπέκου 1986

Οι καρποί που συλλέχθηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας και αυτοί που συλλέχθηκαν 8 ημέρες αργότερα χωρίστηκαν σε δύο ομάδες.

Οι καρποί της πρώτης ομάδας εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα ΑΟΑ 2000 ppm

Οι καρποί της δεύτερης ομάδας εμβαπτίστηκαν σε νερό και απετέλεσαν τους Μάρτυρες.

2.6. Αποθήκευση

Οι καρποί των ποικιλιών Μπεμπέκου 1984, Harlayne 1985 και Μπεμπέκου 1986, τόσο εκείνοι που δέχτηκαν επεμβάσεις πριν τη συλλογή, όσο και εκείνοι που δέχτηκαν επεμβάσεις μετά τη συλλογή, μέσα σε ειδικούς δίσκους τοποθετήθηκαν στην αποθήκη.

2.6.1. Αποθηκευτικοί χώροι - Συνθήκες

Οι καρποί της ποικιλίας Μπεμπέκου 1984 τοποθετήθηκαν σε έναν αποθηκευτικό χώρο - ψυγείο με θερμοκρασία 4 ± 1 °C και σχετική υγρασία 85-90%.

Στην αποθήκη τοποθετήθηκαν οι καρποί του σταδίου 6 που δέχτηκαν επεμβάσεις πριν τη συλλογή.

Οι καρποί της ποικιλίας Harlayne τοποθετήθηκαν σε δύο αποθηκευτικούς χώρους-ψυγεία από τους οποίους ο πρώτος είχε θερμοκρασία 2.78 °C (37 °F) και σχετική υγρασία 95% και ο δεύτερος είχε θερμοκρασία 5.56 °C (42 °F) και σχετική υγρασία 90%. (Dekazos 80).

Ο πρώτος αποθηκευτικός χώρος ονομάστηκε αποθήκη I και ο δεύτερος αποθήκη II.

Στην αποθήκη I τοποθετήθηκαν οι καρποί που δέχτηκαν επεμβάσεις επί των δέντρων πριν τη συλλογή και μισοί από αυτούς που δέχτηκαν επεμβάσεις μετά τη συλλογή από τα στάδια της εμπορικής ωριμότητας και το επόμενο του. Στην αποθήκη II τοποθετήθηκαν οι υπόλοιποι μισοί από τους καρπούς που δέχτηκαν επεμβάσεις μετά τη συλλογή από τα ίδια στάδια.

Οι καρποί της ποικιλίας Μπεμπέκου 1986, και αυτοί που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας και αυτοί που συγκομίστηκαν 8 ημέρες αργότερα, τοποθετήθηκαν σε αποθήκη-ψυγείο με θερμοκρασία 3 ± 1 °C και σχετική υγρασία 90%.

2.6.2. Δειγματοληψία από την αποθήκη

Κατά ορισμένα χρονικά διαστήματα γινόταν δειγματοληψία από την αποθήκη και παρακολουθούσαμε τη μεταβολή των παραμέτρων ποιότητας, του αιθυλενίου και των ενζύμων. Οι δειγματοληψίες μας έλαβαν χώρα στα ακόλουθα χρονικά διαστήματα κατά ποικιλία και στάδιο.

Μπεμπέκου 1984

Στάδιο 6 : Στις 12 και 23 ημέρες αποθήκευσης

Harlayne 1985

Καρποί 1ης δειγματοληψίας (στάδιο εμπορικής ωριμότητας : Στις 13 και 21 ημέρες αποθήκευσης

Καρποί 2ης δειγματοληψίας (3 ημέρες αργότερα) : Στις 11 και 19 ημέρες αποθήκευσης.

Μπεμπέκου 1986

Καρποί 1ης δειγματοληψίας (στάδιο εμπορικής ωριμότητας : Στις 10 και 25 ημέρες αποθήκευσης

Καρποί 2ης δειγματοληψίας (8 ημέρες αργότερα) : Στις 16 ημέρες αποθήκευσης.

2.7. Κωδικοποίηση των επεμβάσεων πριν και μετά τη συλλογή

Για τη διευκόλυνσή μας και για συντομία από εδώ και στο εξής θα χρησιμοποιούνται κωδικοί, για τις διάφορες επεμβάσεις και τις διάφορες αποθήκες.

Οι κωδικοί αυτοί κατά ποικιλία, είναι οι ακόλουθοι :

Πρώιμα Τίρυνθας 1984

Στάδιο 5 Μάρτυρες	Π ₅ M
Στάδιο 5 Καρποί που ψεκάστηκαν με AVG 600rpm	Π ₅ Ψ
Στάδιο 6 Μάρτυρες	Π ₆ M
Στάδιο 6 Καρποί που ψεκάστηκαν με AVG 600rpm	Π ₆ Ψ
Στάδιο 7 Μάρτυρες	Π ₇ M
Στάδιο 7 Καρποί που ψεκάστηκαν με AVG 600rpm	Π ₇ Ψ

Μπεμπέκου 1984

Στάδιο 5 Μάρτυρες	M ₅ M
Στάδιο 5 Καρποί που ψεκάστηκαν με AVG 600rpm	M ₅ Ψ
Στάδιο 6 Μάρτυρες	M ₆ M
Στάδιο 6 Καρποί που ψεκάστηκαν με AVG 600rpm	M ₆ Ψ
Στάδιο 7 Μάρτυρες	M ₇ M
Στάδιο 7 Καρποί που ψεκάστηκαν με AVG 600rpm	M ₇ Ψ

Harlayne 1985

Καρποί 1ης δειγματοληψίας

Μάρτυρες ψεκασμένων	Αποθήκη I	CUN
Καρποί που ψεκάστηκαν με AOA 600 rpm	"	I SPA
Καρποί που ψεκάστηκαν με AOA 1400 rpm	"	I SPB
Μάρτυρες εμβαπτισμένων	"	I C

Καρποί που εμβαπτίστηκαν σε AOA 1000 rpm.....	"	I	G
Καρποί που εμβαπτίστηκαν σε AOA 2000 rpm.....	"	I	D
Μάρτυρες εμβαπτισμένων	"	II	BC
Καρποί που εμβαπτίστηκαν σε AOA 1000 rpm.....	"	II	BG
Καρποί που εμβαπτίστηκαν σε AOA 2000 rpm.....	"	II	BD

Καρποί 2ης δειγματοληψίας

Μάρτυρες εμβαπτισμένων	Αποθήκη	I	LC
Καρποί που εμβαπτίστηκαν σε AOA 1000rpm....	"	I	LE
Καρποί που εμβαπτίστηκαν σε AOA 2000rpm....	"	I	LZ
Μάρτυρες εμβαπτισμένων	"	II	BLC
Καρποί που εμβαπτίστηκαν σε AOA 1000rpm....	"	II	BLE
Καρποί που εμβαπτίστηκαν σε AOA 2000rpm....	"	II	BLZ

Μπεμπέκου 1986

Καρποί 1ης δειγματοληψίας

Μάρτυρες	MM
Καρποί που ψεκάστηκαν με AOA 500rpm.....	MSA
Καρποί που ψεκάστηκαν με AOA 1400rpm.....	MSB
Καρποί που εμβαπτίστηκαν σε AOA 2000rpm.....	ME

Καρποί 2ης δειγματοληψίας

Μάρτυρες	LMM
Καρποί που ψεκάστηκαν με AOA 500 rpm.....	LMSA
Καρποί που ψεκάστηκαν με AOA 1400 rpm.....	LMSB
Καρποί που εμβαπτίστηκαν σε AOA 2000 rpm.....	LME

2.8. Οργανοληπτικό τέστ δοκιμαστών

Κατά το τέλος της αποθηκευτικής ζωής των βερικόκων της ποικιλίας Harlayne έγινε το οργανοληπτικό τέστ δοκιμαστών. Οι 14 δοκιμαστές που επελέγησαν τυχαία ζητήθηκαν να βαθμολογήσουν -χρησιμοποιώντας μια κλίμακα από 9 (Άριστα) ως 1 (Κατώτατη ποιότητα) - τις 9 κατηγορίες C, G, D, LC, LE, LZ, BLC, BLE και BLZ που ανήκουν σε καρπούς που δέχτηκαν επεμβάσεις μετά τη συλλογή και τους μάρτυρές τους στα ακόλουθα χαρακτηριστικά : Εμφάνιση (Appearance), Χρώμα (Color), Υφή (Texture), Το ξυνό (Tartness), Γλυκύτητα (Sweetness), Καθολική αποδοχή (Overall acceptance). Οι δοκιμαστές ακολούθησαν το σχέδιο που δίνεται παρακάτω.

ΟΝΟΜΑ : _____ Ημερ|νία _____

Οδηγίες : Δοκίμασε κάθε δείγμα και βαθμολόγησε κάθε παράμετρο που καταγράφεται παρακάτω. Χρησιμοποιώντας την κλίμακα που δίνεται, τοποθέτησε το νούμερο που ανταποκρίνεται στην προτίμησή σας στο κατάλληλο κενό κάτω από το κάθε δείγμα.

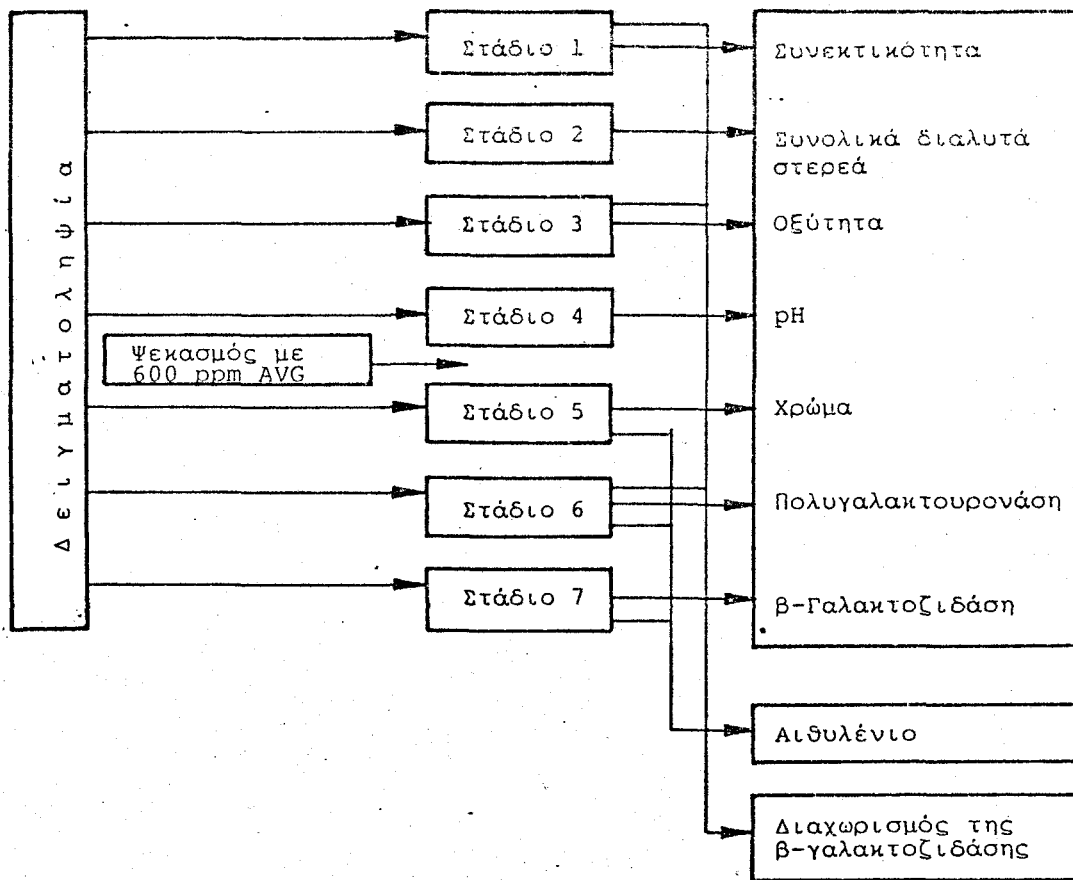
Σημείωση: Πίνε νερό μετά από κάθε δείγμα ώστε να περιοριστεί η σύγκχυση με το προηγούμενο δείγμα.

- Κλίμακα :
9. Μου αρέσει εξαιρετικά
 8. Μου αρέσει πάρα πολύ
 7. Μου αρέσει μέτρια
 6. Μου αρέσει λίγο
 5. Ούτε μου αρέσει ούτε δεν μου αρέσει
 4. Δεν μου αρέσει λίγο
 3. Δεν μου αρέσει μέτρια
 2. Δεν μου αρέσει πάρα πολύ
 1. Δεν μου αρέσει καθόλου

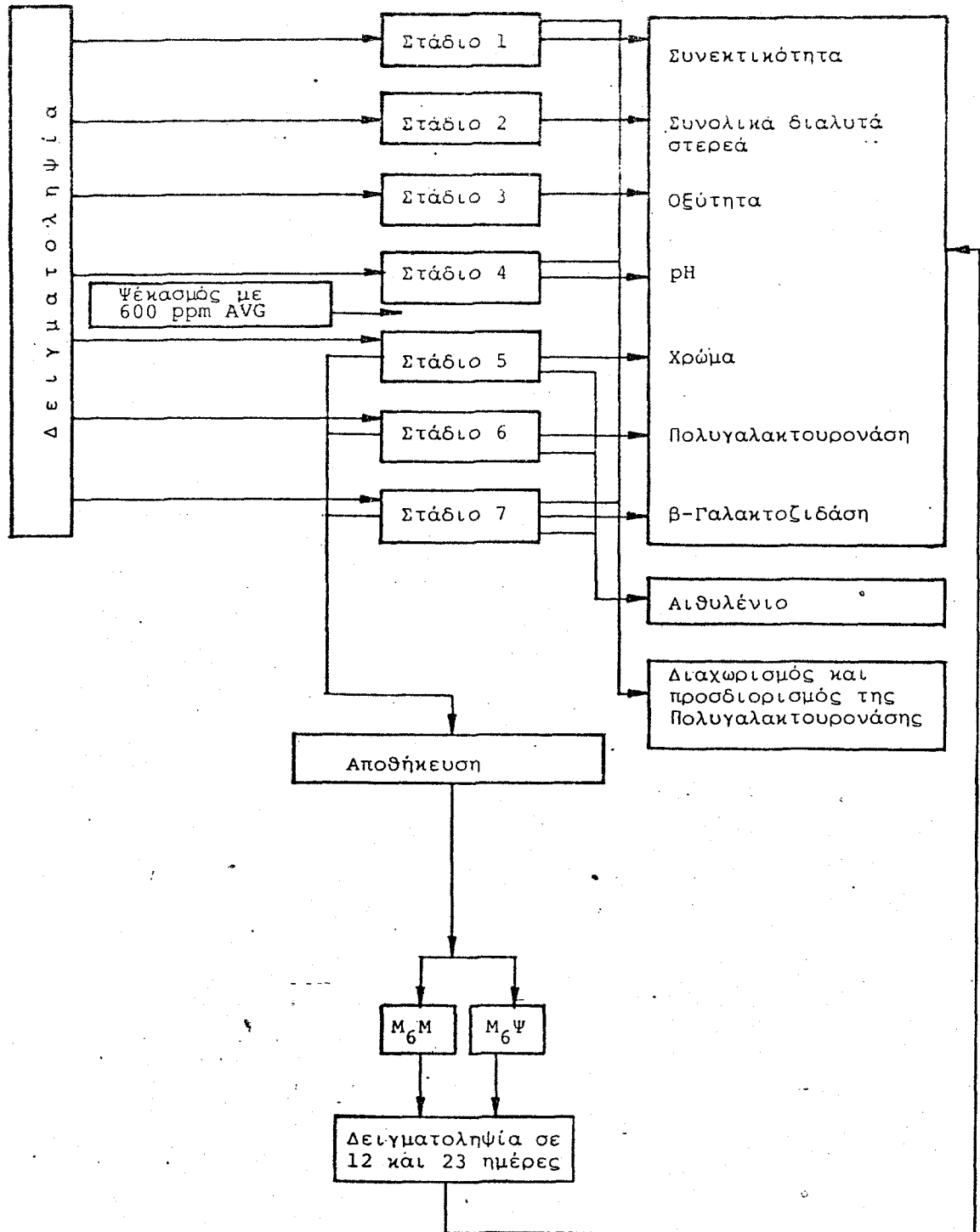
ΔΕΙΓΜΑ	C	G	D	LC	LE	LZ	BLC	BLE	BLZ
ΕΜΦΑΝΙΣΗ									
ΧΡΩΜΑ									
ΥΦΗ									
ΕΥΝΟ									
ΓΛΥΚΥΤΗΤΑ									
ΚΑΘΟΛΙΚΗ ΑΠΟΔΟΧΗ									

Σχέδιο που ακολούθησαν οι δοκιμαστές κατά τον οργανοληπτικό έλεγχο βερικόνικων της ποικιλίας Harlayne.

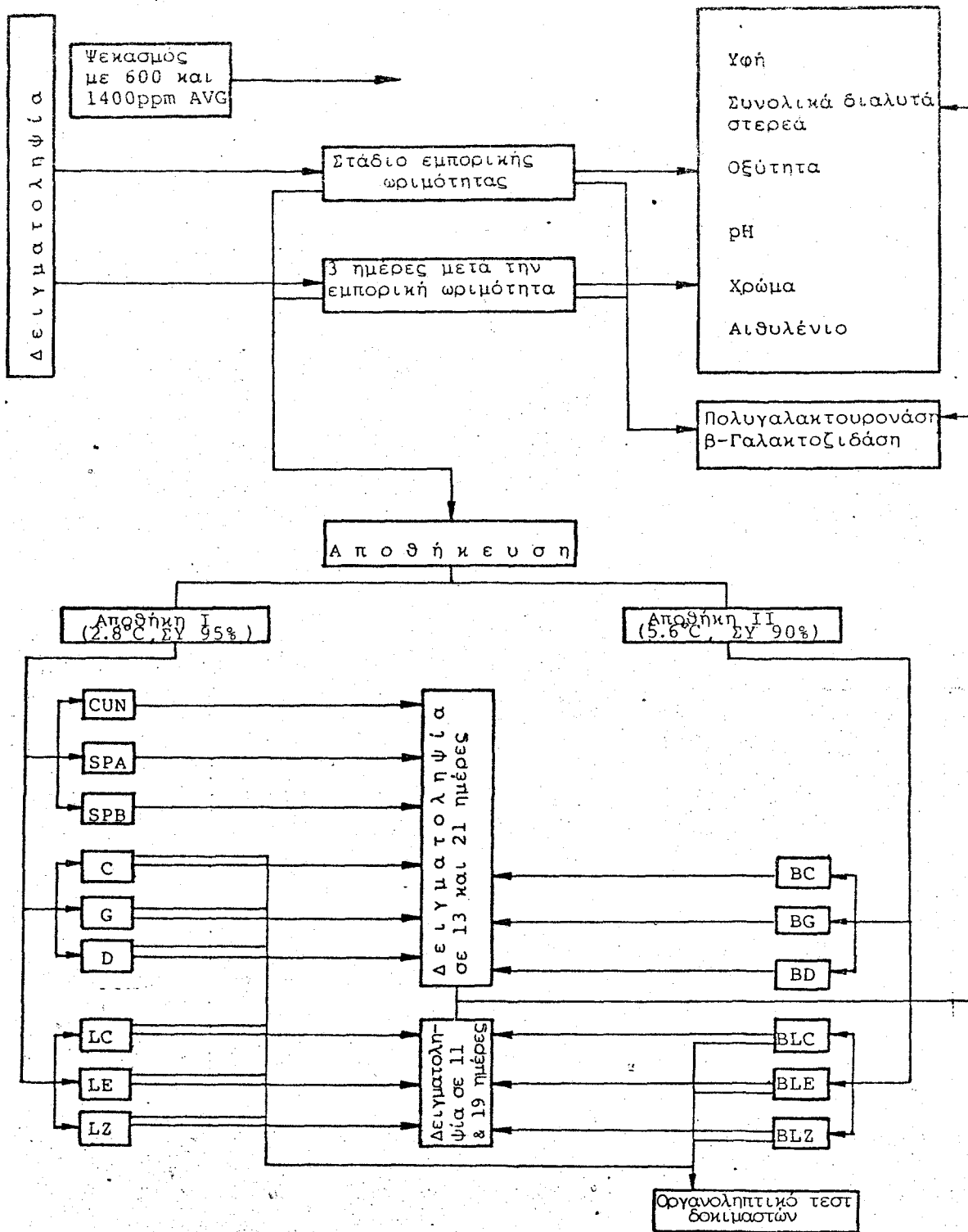
Τα διαγράμματα 1,2,3 και 4 δείχνουν συνοπτικά την πειραματική μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για όλες τις ποικιλίες.



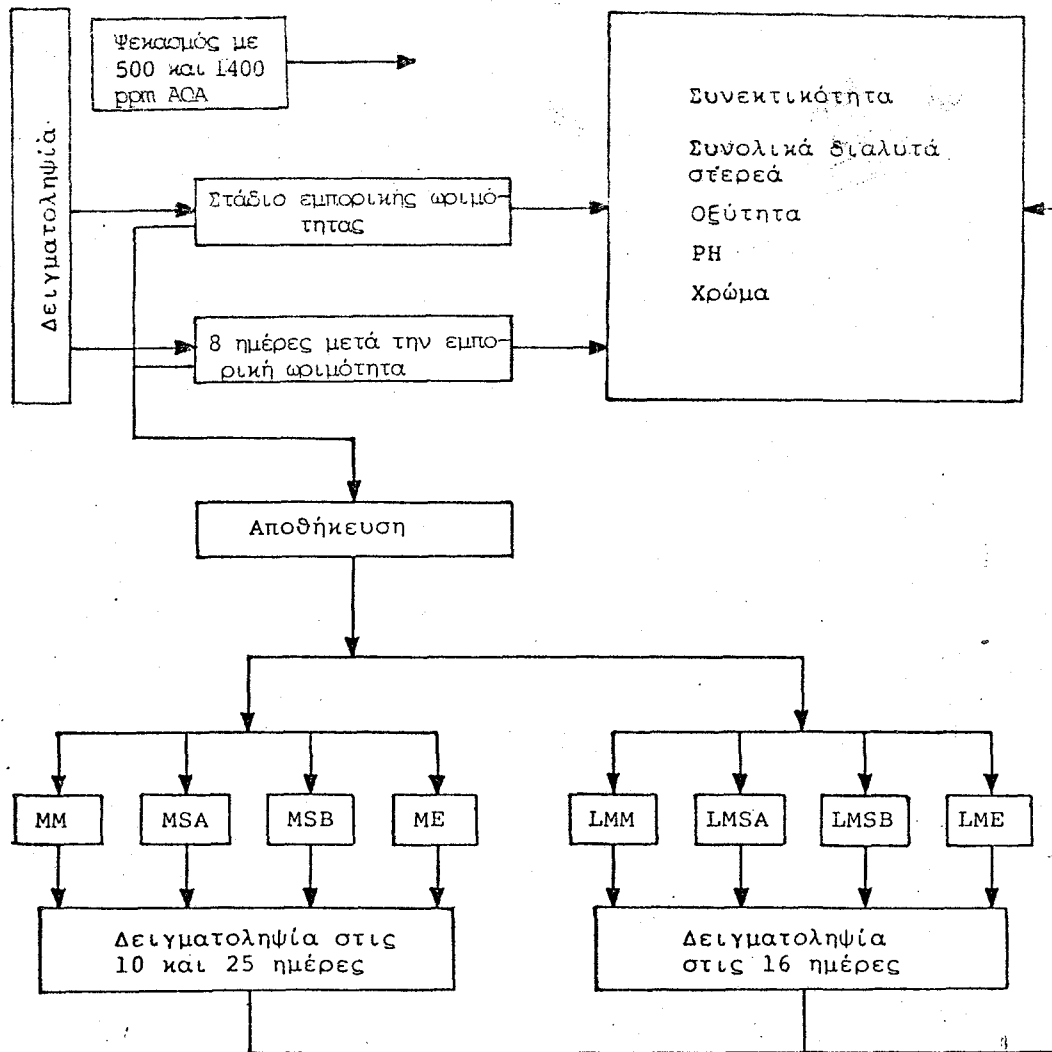
Διάγραμμα 1 : Πειραματική μεθοδολογία για την ποικιλία Πρώιμα Τύρυνθας



Διάγραμμα 2 : Πειραματική μεθοδολογία για την ποικιλία Μπεμπέκου 1984



Διάγραμμα 3 : Πειραματική μεθοδολογία για την ποικιλία Harlayne 1985



Διάγραμμα 4
Πειραματική μεθοδολογία για την ποικιλία Μπεμπέκου 1986

3. Πειραματικές μέθοδοι

3.1. Συνεκτικότητα

Η συνεκτικότητα της σάρκας στις ποικιλίες Πρώιμα Τίρουθας και Μπεμπέκου μετρήθηκε με πεντροόμετρο τύπου CHATILLON-NY-USA GAUGE R CALT-719-20.

Από τις δύο παρειές του καρπού, απομακρύνονταν με κοφτερό μαχαιράκι μία λεπτή φέτα φλοιού με πολύ λίγη σάρκα παράλληλα προς τη ραφή και κατόπιν μετριόταν η συνεκτικότητα σάρκας στο κέντρο του κύκλου που σχηματιζόταν. Η μέτρηση γινόταν αμέσως μετά την αφαίρεση της φέτας ώστε να αποφευχθούν λανθασμένες μετρήσεις λόγω αφυδάτωσης. Ο μέσος όρος των μετρήσεων στις δύο παρειές ήταν η τιμή της συνεκτικότητας για κάθε καρπό. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε lbs/in^2 .

Στην ποικιλία Harlayne μετρήθηκε η συνεκτικότητα της σάρκας με τη δοκιμή της Uniaxial Compression. Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Instron Model 1122 συνδεδεμένο με κομπιούτερ IBM PC με Metrabyte Dash-data aquisition board. Κατ' αρχήν ο καρπός κοβόταν σε δύο μισά κατά μήκος της ραφής και από κάθε παρειά απομακρυνόταν μια λεπτή φέτα όπως και προηγουμένως. Με ειδικό όργανο γινόταν εξαγωγή ενός κυλίνδρου διαμέτρου 1 cm από το μισό του καρπού. Με κοφτερή λεπίδα κοβόταν το κοίλο της κάτω βάσης του κυλίνδρου που αντιστοιχούσε στην κοιλότητα του πυρήνα, έτσι ώστε να γίνει επίπεδη. Κατόπιν μετριόταν το ύψος του και ακολούθως η συνεκτικότητα σε βάρη 1%, 2% και 5% του ύψους του κυλίνδρου ξεκινώντας από την πάνω βάση.

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε Newton (Nt). Οι συνθήκες του οργάνου κατά τις μετρήσεις ήταν : crosshead speed=10mm/min, chart speed = 100 mm/min, Fullscale load = 1 ή 2 Kg.

3.2. Συνολικά διαλυτά στερεά

Η μέτρηση των συνολικών διαλυτών στερεών ($^{\circ}\text{Brix}$) στις ποικιλίες Πρώιμα Τίρουθας και Μπεμπέκου έγινε με διαθλασίμετρο χειρός τύπου Hitachi και στην ποικιλία Harlayne με επιτραπέζιο διαθλασίμετρο τύπου BAUSC LOMB. Κάθε καρπός χωριζόταν στη μέση κατά μήκος της ραφής. Ένα μικρό κομμάτι αφαιρείτο από την περιοχή της κάθε παρειάς, διπλωνόταν σε Miracloth και

με τη βοήθεια ειδικού στίφτη (squeezer) παίρνóταν ο χυμός, όπου μετριόταν τα συνολικά διαλυτά στερεά. Ο μέσος όρος των μετρήσεων στις δύο παρείές ήταν η τιμή των συνολικών διαλυτών στερεών για κάθε καρπό.

3.3. Ολική ογκομετρομένη οξύτητα

Ιστοί του μεσοκαρπίου ομογενοποιήθηκαν με νερό σε αναλογία 1:2 σε Blender τύπου Imperial Oster για τα Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου και σε Vir Tis ομογενοποιητή για τη Harlayne. Ακολουθούσε τιτλοδότηση του ομογενοποιημένου μίγματος με 0.1N NaOH μέχρι το pH 8.1-8.3 που στην περίπτωση της ποικιλίας Harlayne γινόταν με αυτόματο τιτλοδοτητή τύπου Beckman Instruments.

Η ολική ογκομετρούμενη οξύτητα εκφράστηκε σε % κιτρικό οξύ. Το pH μετριόταν με πεχάμετρο τύπου PerkinElmer.

3.4. Χρώμα

Το χρώμα μετρήθηκε στην επιδερμίδα και τη σάρκα (μεσοκαρπιο) του καρπού με χρωματόμετρο τύπου Hunterlab.

Στις ποικιλίες Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου για τη μέτρηση του χρώματος χρησιμοποιήθηκαν τριβλία Petri που σε όλη τους την επιφάνεια καλύφθηκαν ή από φέτες του μεσοκαρπίου ή από την επιδερμίδα ώστε να μην υπάρχουν σχεδόν καθόλου κενά.

Στην ποικιλία Harlayne χρησιμοποιήθηκαν ειδικοί υποδοχείς που η χωρητικότητά τους ήταν περίπου το μισό ενός καρπού. Έτσι, ο καρπός κοβόταν σε δύο μισά κατά μήκος της ραφής και όταν το κυρτό μέρος ήταν προς τα πάνω μετριόταν το χρώμα της επιδερμίδας, ενώ όταν το κοίλο ήταν προς τα πάνω μετριόταν το χρώμα της σάρκας (μεσοκαρπίου).

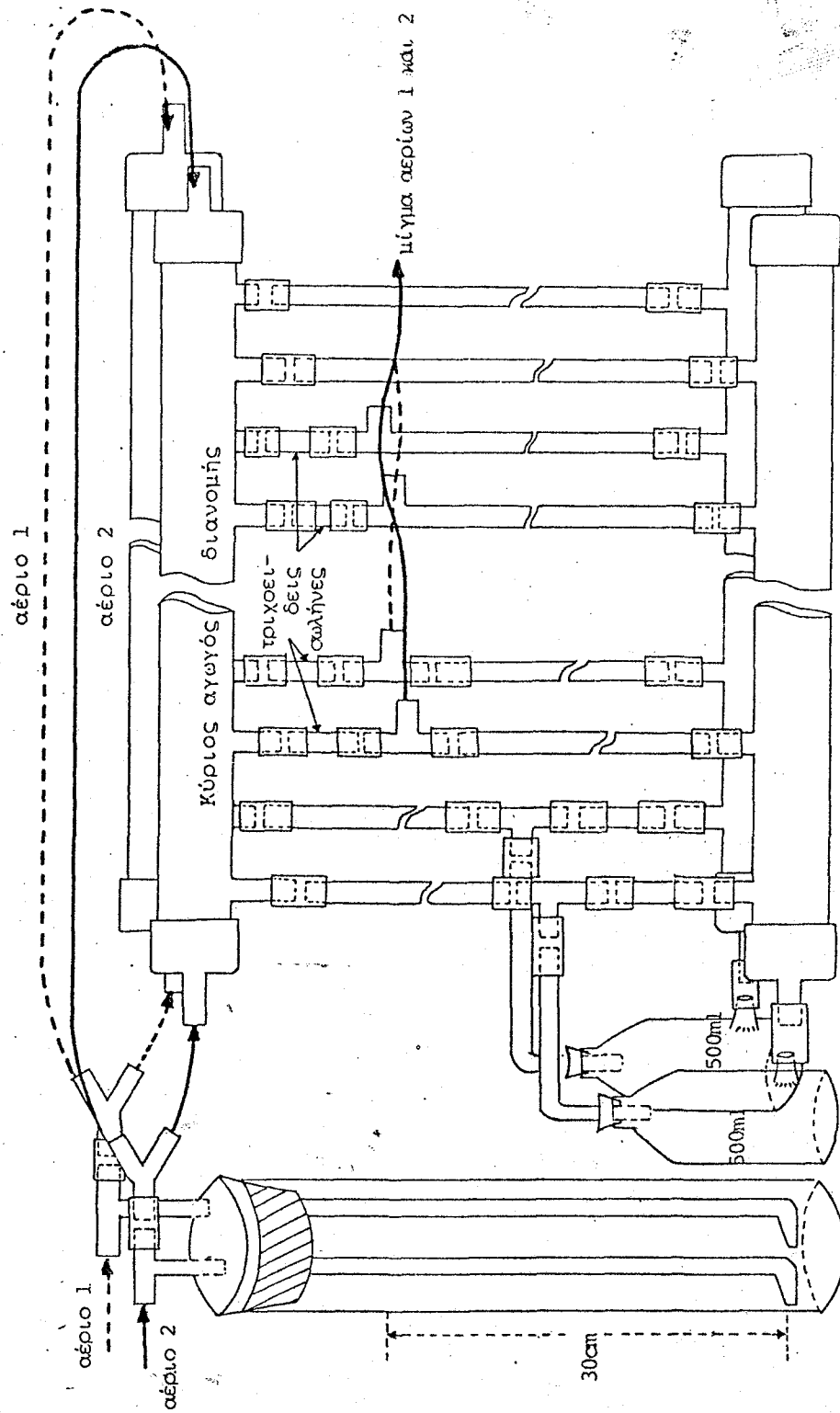
Το χρώμα μετρήθηκε σε τιμές L, a, b, που είναι καλές προσεγγίσεις των τιμών X, Y, Z, του διεθνούς συστήματος CIE. Η τιμή L είναι ένα μέτρο της φωτεινότητας (Lightness) και παίρνει τις τιμές από 0 (μαύρο) ως 100 (λευκό). Η τιμή a είναι ένα μέτρο του κόκκινου ή πράσινου χρώματος. Συγκεκριμένα η +a εκφράζει το κόκκινο χρώμα και η -a το πράσινο. Επίσης η τιμή b είναι ένα μέτρο του κίτρινου ή μπλέ χρώματος και συγκεκριμένα η +b εκφράζει το κίτρινο χρώμα, ενώ η -b το μπλέ.

Επίσης, το χρώμα εκφράστηκε σαν τρισδιάστατο χαρακτηριστικό με δύο σύμβολα τα : Γωνία απόχρωσης (Hue angle) και Δείκτη κορεσμού (Saturation index), οριζόμενα με θ και r αντίστοιχα σε πολικές συντεταγμένες όπου $\theta = \tan^{-1} b/a$ και $r = (a^2 + b^2)^{1/2}$

3.5. Αιθυλένιο

Στις ποικιλίες Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου, οι καρποί το συντομότερο δυνατόν μετά τη συλλογή τοποθετούνταν σε βαζάκια χωρητικότητας 250ml ανά ένας καρπός σε κάθε βαζάκι. Κατόπιν κλείνονταν τα βαζάκια για τρεις ώρες και μετριοταν το αιθυλένιο με αέριο-χρωματογράφο τύπου Perkin-Elmer Sigma 300 και ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (F.I.D). Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν ενεργοποιημένη αλουμίνα (activated alumina) 80-100 mesh, μήκους 6 ποδών και οι συνθήκες $\theta^{\text{α}}$ ανιχνευτή (detector) 155°C, $\theta^{\text{β}}$ στον εγχυτήρα (injector) 155°C. Η μέτρηση γινόταν μία φορά την ημέρα επί 5-6 ημέρες. Σαν standard αέριο για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκε αιθυλένιο σε άζωτο 1 ppm.

Στην ποικιλία Harlayne η έκλυση αιθυλενίου μετρήθηκε με ανοικτό σύστημα συνεχούς ροής (continuous flow system). Ένα μίγμα αερίων N_2 και H_2 διοχετευόταν με σταθερή ροή που ήταν 10 ml/min στα βαζάκια των 250 ml με καπάκι από στερεοφόμο. Το μίγμα των αερίων ήταν απαλλαγμένο από τυχόν ίχνη αιθυλενίου, εφόσον διοχετευόταν μέσα από βερμικουλίτη κορεσμένο με $KMnO_4$. Με τριχοειδείς σωλήνες ρυθμιζόταν η ροή του μίγματος των αερίων. Το όλο σύστημα, μέχρι του σημείου διοχέτευσης του μίγματος των αερίων στα βαζάκια φαίνεται στο σχήμα 5. Το μίγμα των αερίων αφού περάσει από τα βαζάκια εμπλουτίζεται με αιθυλένιο που παράγεται από τους καρπούς και εξέρχεται στην ατμόσφαιρα. Η δειγματοληψία γίνεται με σύριγγα του 1 ml, μέσω πλαστικού σωλήνα στην έξοδο από τα βάζα. Για τη μέτρηση του αιθυλενίου χρησιμοποιήθηκε αέριο-χρωματογράφος τύπου Varian με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (F.I.D) και στήλη alumina 80-100 mesh, μήκους 3 ποδών. Οι συνθήκες ήταν ίδιες όπως και για τις προηγούμενες ποικιλίες. Η μέτρηση γινόταν τρεις φορές την ημέρα κατά τις επόμενες πέντε ημέρες και για τους καρπούς της πρώτης συγκομιδής (στάδιο εμπορικής ωριμότητας) και για τους καρπούς της δεύτερης (3 ημέρες αργότερα). Επίσης μελετήθηκε η έκλυση του αι-



Σχήμα 5. Σύστημα ανάμιξης με ρυθμιζόμενη ροή και διανομής αερίων που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση του αιθυλενίου. (Το σχέδιο δεν βρίσκεται υπό κλίμακα).

θυλενίου και στους καρπούς που βρίσκονταν στην αποθήκη και κατόπιν αφήνονταν σε θερμοκρασία δωματίου.

Σαν standard αέριο για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκε αιθυλένιο σε άζωτο 0.49 ppm.

Η έκφραση του αιθυλενίου έγινε σε μl ανά κιλό καρπού και ανά ώρα ($\mu\text{l}/\text{Kg}\cdot\text{h}$).

Τα αποτελέσματα αυτής καθώς και των προηγούμενων μετρήσεων είναι οι μέσοι όροι των μετρήσεων σε 8 καρπούς.

3.6. Ένζυμα*

Μελετήθηκε η μεταβολή της δραστηριότητας των ενζύμων της πολυγαλακτουρονάσης και β-γαλακτοζιδάσης κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας και κατά την αποθήκευση των καρπών, όπως φαίνεται και στα διαγράμματα 1, 2 και 3.

Επίσης, έγινε διαχωρισμός και προσδιορισμός της πολυγαλακτουρονάσης (PG) σε καρπούς της ποικιλίας Μπεμπέκου στα στάδια 1, 4 και 7 και της β-γαλακτοζιδάσης στα Πρώιμα Τίρυνθας στα στάδια 1, 3 και 7. Τα στάδια αυτά αντιστοιχούν στα τρία κρίσιμα σημεία της καμπύλης μεταβολής της δραστηριότητας των παραπάνω ενζύμων σε συνάρτηση με τα στάδια ωριμότητας, δηλ. στη μέγιστη, ελάχιστη και δεύτερη μέγιστη δραστηριότητα του καθενός.

Μελετήθηκε επομένως η μετάβολη των ισοενζύμων ή μορφών (forms) ενζύμων της πολυγαλακτουρονάσης και β-γαλακτοζιδάσης με την πρόοδο της ωρίμασης.

3.6.1. Παραλαβή του ενζυμικού εκχυλίσματος

Το ενζυμικό εκχύλισμα ελήφθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Pressey και Avants (1973) με μικρές τροποποιήσεις ως ακολούθως: Το κατεψυγμένο μεσοκάρπιο (-27°C) ξεπάγωνε ελαφρά με εμβάπτιση σε νερό για 2 min. Κατόπιν απομακρυνόταν ο φλοιός και ζυγίζονταν 500 gr μεσοκαρπίου. Όλη η διαδικασία που ακολουθούσε διεξαγόταν στους $0-4^{\circ}\text{C}$. Στον υποδοχέα του ομογενοποιητή φέρονταν τα 500 gr των ιστών του μεσοκαρπίου και 500 ml νερό που περιείχε 0.2% NaHSO_3 . Η ομογενοποίηση γινόταν με ένα ομογενοποιητή τύπου Vi Tis για 3 min. Το υπερκείμενο υγρό που λαμβανόταν από τη φυγοκέντρηση που γινόταν ($8000\times\text{G}$ επί 25 min) με υπερφυγόκεντρο

* Στη διάκριση των μορφών PG-I και PG-II για την πολυγαλακτουρονάση και των μορφών G-I, G-II, G-III για τη β-γαλακτοζιδάση έχουμε ακολουθήσει την ορολογία που ακολουθεί ο Pressey 1973α, με επιφύλαξη ως προς την ακρίβεια.

τύπου Sorvall RC₂-B ή RC-5B, απορριπτόταν. Η κάτω στερεή φάση (sediment), πλενόταν μία φορά με 1 lit νερό με ομογενοποίηση (μέ τη βοήθεια ενός ομογενοποιητή, τύπου Polytron της Brink - pan Instruments, Inc) και κατόπιν φυγοκέντρηση (8000xG επί 25 min). Η κάτω στερεή φάση διαλυόταν σε 1 lit διαλύματος 1.0M NaCl και 0.01M CaCl₂. Το pH ρυθμιζόταν στο 7.0 και αναδευόταν για 2 h. Ο έλεγχος του pH γινόταν κατά συχνά χρονικά διαστήματα. Ακολουθούσε φυγοκέντρηση και το υπερκείμενο υγρό απορριπτόταν. Κατόπιν γινόταν υπερδιήθηση με συσκευή τύπου Amicon (Amicon Corp.) χωρητικότητας 2500 ml και μεμβράνη Diaflo PM-10. Ο όγκος που λαμβανόταν από την υπερδιήθηση ήταν περίπου 30ml. Αυτό ήταν το ενζυμικό εκχύλισμα όπου μεταξύ άλλων περιέχονταν και τα ένζυμα που αποδομούν το κυτταρικό τοίχωμα (Bartley (1974), Bartley et al 1980, Labavitch et al 1983, Pressey et al 1973., Wallner et al 1975, Brady et al 1982).

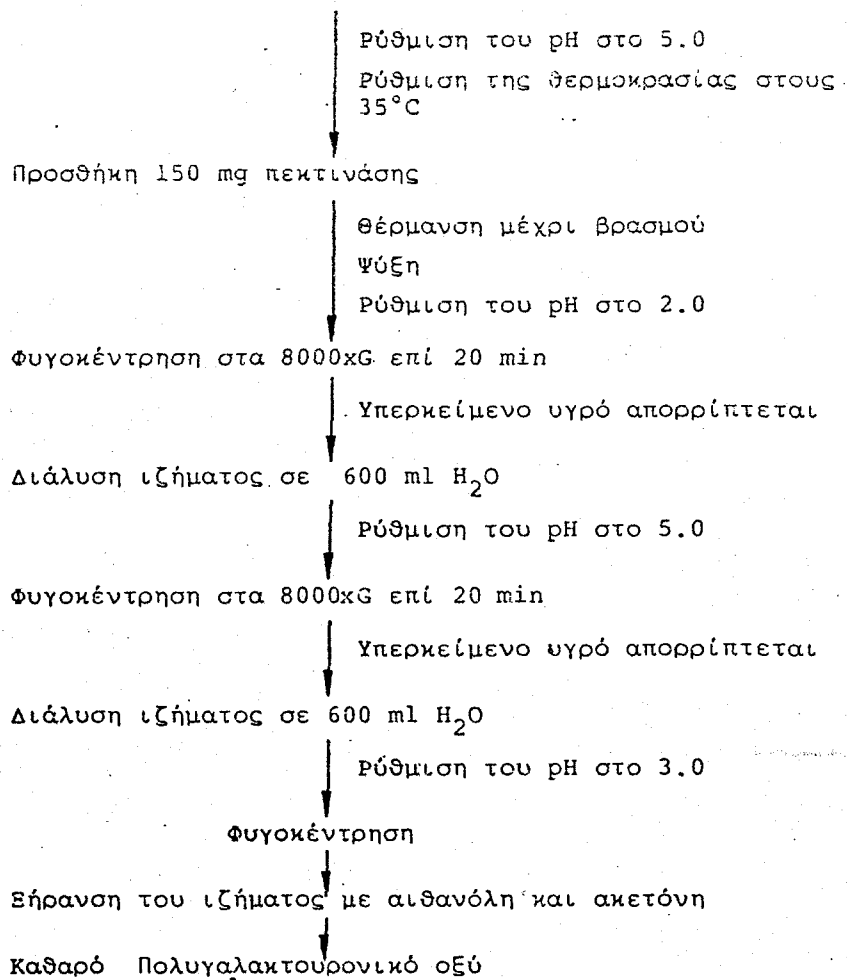
3.6.2. Μέτρηση δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης (PG)

Η μέτρηση της δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης βασίζεται στην ελευθέρωση αναγωγικών ομάδων που μετρήθηκαν φασματοφωτομετρικά με την αρσеноμολυβδαϊνική μέθοδο (arsenopolymolybdate method) του Nelson (1944), μετρώντας την απορρόφηση στα 520 nm.

Σε δοκιμαστικό σωλήνα εφέρονταν 0,25ml ενζυμικού εκχυλίσματος, 0.55ml νερού ή 0.45ml νερού και 0.10 ml 0.005 M CaCl₂, 0.20 ml A-M ρυθμιστικό διάλυμα pH 5.0 [0.2M MES άνυδρο 2(N-Mορφολινο) αιθανοθειϊκό οξύ [2(N-Mορφολινο) ethanosulfuric acid] της Sigma Chemical Co και 0.2M οξικό οξύ]. Η ενζυμική δράση άρχισε με την προσθήκη 1.0 ml 1% πολυγαλακτουρονικού οξέος pH 5.0 (υπόστρωμα). Στους μάρτυρες το ένζυμο αδρανοποιήθηκε πριν την προσθήκη του υποστρώματος με βρασμό για 5 min. Χλωραμφενικόλη και ακτιντιόνη (Sigma Chemical Co., 100 mgg καθεμιάς διαλυμένα σε 0.1 ml νερό) προστέθηκαν για να προληφθεί μικροβιακή ανάπτυξη. Μετά 16 ώρες επώασης στους 30°C με συνεχή ανακίνηση, η αντίδραση τερματιζόταν με βρασμό για 3 min και γινόταν μέτρηση των αναγωγικών ομάδων σύμφωνα, με τη μέθοδο του Nelson 1944 που έχει ως εξής :

Από το μίγμα της αντίδρασης (reaction mixture) 1ml μετα-

Υδατικό διάλυμα πολυπηκτικού νατρίου 0.1%



Διάγραμμα 5: Παραλαβή πολυγαλακτουρονικού οξέος

φέρεται σε σωλήνα Folin-Wu, όπου προστίθεται 1 ml μίγματος των αντιδραστηρίων του χαλκού R_A , R_B σε αναλογία 25 : 1 αντίστοιχα και γίνεται ανάμιξη. Κατόπιν ο σωλήνας τοποθετείται για 20 min σε νερό που βράζει και μετά ψύχεται. Έπειτα, προστίθεται 1 ml από το αρσενομολυβδαινικό αντισταστήριο και γίνεται συμπλήρωση του όγκου στα 25 ml με απιονισμένο νερό, ενώ παράλληλα αναπτύσσεται μπλέ χρώμα. Τέλος γίνεται ανάγνωση στα 520nm.

Το πολυγαλακτουρονικό οξύ (polygalacturonic acid, PGA) ελήφθη από το πολυπηκτικό νάτριο. (Sodium polypectate (Sigma Chem. Co) σύμφωνα με τη μέθοδο των Pressey και Avants (1971) όπως φαίνεται στο διάγραμμα 5. Η πεκτινάση που χρησιμοποιήθηκε ήταν της Calbiochem Co.

Σαν μονάδα ενζυμικής δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης (1U), ορίζεται η ποσότητα του ενζύμου που απαιτείται για να ελευθερωθεί 1 μmol αναγωγικών ομάδων από το πολυγαλακτουρονικό οξύ κάτω από τις συνθήκες του πειράματος.

3.6.3. Μέτρηση δραστηριότητας της β-γαλακτοζιδάσης

Η μέτρηση της β-γαλακτοζιδάσης βασίζεται στην ελευθέρωση της p-νιτροφαινόλης που κάτω από αλκαλικές συνθήκες δίνει κίτρινο χρώμα που παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 400nm και μετριέται φασματοφωτομετρικά.

Σε δοκιμαστικό σωλήνα εφέρονταν 0.1 ml ενζυμικού εκχυλίσματος 0.5 ml A-M ρυθμιστικό διάλυμα pH 4.0, 0.4ml 0.15M NaCl. Η αντίδραση άρχισε με την προσθήκη 0.4ml του p-νιτροφαινυλ-β-d-γαλακτοπιρανοζίδιο (p-nitrophenyl-β-d-galactopyranoside) της Sigma (10mg/5ml νερού). Ακολουθούσε επώαση στους 37°C για 20 min, η ενζυμική αντίδραση τερματιζόταν με την προσθήκη 2ml 0.2M Na_2CO_3 και η ανάγνωση στο σπεκτροφωτόμετρο (Shimadzu UV-VIS Spectrophotometer UV-120 Series) γινόταν στα 400 nm.

Σαν μονάδα ενζυμικής δραστηριότητας (1U) ορίζεται η ποσότητα εκείνη του ενζύμου που υδρολύει 1 μmol p-νιτροφαινυλ-β-d-γαλακτοπιρανοζίδιο σε 20min κάτω από τις συνθήκες του πειράματος.

3.6.4. Διαχωρισμός της πολυγαλακτουρονάσης

Για το διαχωρισμό του ενζύμου της πολυγαλακτουρονάσης χρησιμοποιήθηκε η χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex

G-100 (Gel filtration).

Η προετοιμασία του υλικού και η παρασκευή της στήλης έγιναν σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. (Sephadex 1973). Χρησιμοποιήθηκαν ανάλογα με την περίπτωση μία ή δύο στήλες χρωματογραφίας, διαστάσεων 5X50cm και 2.5X90 cm της Pharmacia Fine Chemicals. Όπου ο διαχωρισμός δεν ήταν δυνατός μόνο με την πρώτη στήλη, ελάμβανε χώρα συμπύκνωση των κλασμάτων και γινόταν χρήση της δεύτερης στήλης.

Για την παρασκευή των στηλών αυτών το Sephadex G-100 που χρησιμοποιήθηκε, εξισορροπήθηκε με 0.15M NaCl pH 7 (υγρό έκλουσης) σε θερμοκρασία δωματίου για 3 ημέρες και σε 40°C για μία ημέρα. Το εξισορροπημένο αυτό υλικό, αφού απαερωνόταν, μεταφερόταν στη μία ή την άλλη στήλη. Η στήλη 5X50cm ήταν συνδεδεμένη με μία φιάλη χωρητικότητας 2 lit όπου βρισκόταν το υγρό έκλουσης, ενώ η στήλη 2.5X90cm στην κορυφή της έφερε δεξαμενή χωρητικότητας 500 ml. Το επί πλέον διάλυμα του 0.15 M NaCl αφηνόταν να περάσει μέσα από τη στήλη και συλλεγόταν σε κωνική φιάλη με τη βοήθεια της βαρύτητας (καθοδική χρωματογραφία). Μετά τη σταθεροποίηση της στερεάς φάσης το δείγμα μεταφερόταν στη στήλη, που στην περίπτωση της στήλης 5X50 cm ήταν περίπου 25-30 ml, ενώ στην περίπτωση της στήλης 2.5X90cm ήταν 5-8 ml. Κατόπιν, το υγρό έκλουσης παρέσυρε το δείγμα και γινόταν η ανάπτυξη του χρωματογραφήματος. Η συλλογή των κλασμάτων γινόταν με τη βοήθεια αυτόματου συλλέκτη κλασμάτων (fraction collector). Τα κλάσματα (20ml το καθένα) με ενζυμική δραστηριότητα συμπυκνώνονταν για την παραπέρα επεξεργασία τους, με τη βοήθεια συσκευών υπερδιήθησης τύπου Amicon (Amicon Corp.) διαφορετικής χωρητικότητας (400, 250, 100 και 50 ml). Το όλο σύστημα (στήλη και συλλέκτης κλασμάτων) βρισκόταν σε ψυκτικό θάλαμο τύπου Kelvinator θερμοκρασίας 4°C. Εκτός του ψυκτικού θαλάμου βρισκόταν μόνο το αυτόματο καταγραφικό τύπου ISCO που κατέγραφε τη μεταβολή της απορρόφησης στα 280 nm (πρωτεϊνικό προφίλ) στα διάφορα κλάσματα.

Το δείγμα που χρησιμοποιόταν για τη χρωματογραφία στη στήλη 5X50cm ήταν το ενζυμικό εκχύλισμα, όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 3.6.1., που είχε υποστεί διαπίδυση (dialysis) για 16 ώρες έναντι 4 lit 0.15M NaCl σε 4°C και μετά φυγοκέντρηση (το υπερκείμενο υγρό ήταν το δείγμα).

Τα κλάσματα που συλλέγονταν ήταν περίπου 30 τον αριθμό.

Η μέτρηση της δραστηριότητας της πολυγαλακτιουρόνωσης στα κλάσματα γινόταν όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 3.6.2 με τροποποιημένο το μίγμα της ενζυμικής αντίδρασης που ήταν : 0.5ml κλάσματος, 0.1ml 0.005M CaCl_2 , 0.1ml 0.2M οξικού ρυθμιστικού διαλύματος και 0.3 ml 1% πολυγαλακτουρονικού οξέος.

3.6.5. Προσδιορισμός των δύο μορφών της πολυγαλακτιουρόνωσης (PG-I και PG-II).

Ο προσδιορισμός της PG-I και PG-II που ορίστηκαν έτσι σύμφωνα με τη σειρά που εξέρχονται από τη στήλη χρωματογραφίας έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο των Pressey και Avants 1973α και βασίζεται στην κλασμάτωση με αιθανόλη και διαχωρισμό των διαλυτών προϊόντων όπως το γαλακτουρονικό οξύ, από το μη υδρολυμένο υπόστρωμα.

Σε δοκιμαστικό σωλήνα, εφέρονταν 5ml πολυγαλακτουρονικού οξέος 1% (PGA), 1ml οξικού ρυθμιστικού διαλύματος pH 5.0, 1ml 0.005M CaCl_2 , 1ml H_2O και 2ml PG-I ή 0.5ml PG-II και 1.5ml 0.15 M NaCl για το στάδιο 1, 2ml PG για το στάδιο 4, 2ml PG-I ή 2ml PG-II για το στάδιο 7. Ακολουθούσε επώαση για 16 ώρες περίπου στους 30°C. Η ενζυμική αντίδραση τερματιζόταν με βρασμό για 3 min. 1ml χρησιμοποιόταν για τη μέτρηση των αναγωγικών ομάδων. Στο διάλυμα που έμενε προστίθενταν 2 όγκοι αιθανόλης και γινόταν φυγοκέντρηση. Ακολουθούσε μέτρηση των αναγωγικών ομάδων τόσο στο υπερκείμενο υγρό (υδρολυμένο) όσο και στο ίζημα (μη υδρολυμένο υπόστρωμα) που είχε διαλυθεί στον αρχικό όγκο. Έτσι λοιπόν, από το ποσοστό των αναγωγικών ομάδων που υπήρχαν στο υδρολυμένο και μη υδρολυμένο υπόστρωμα εξαγόταν το συμπέρασμα για το αν επρόκειτο περί εσω- ή έξω-πολυγαλακτιουρόνωσης.

3.6.6. Διαχωρισμός της β-γαλακτοζιδάσης

Για το διαχωρισμό της β-γαλακτοζιδάσης χρησιμοποιήθηκε η χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex G-100 (Gel filtration) και η υψηλής πίεσης υγροχρωματογραφία. Η προετοιμασία του υλικού και η παρασκευή της στήλης (μόνο της 5X50cm), η προετοιμασία και τοποθέτηση του δείγματος, η συλλογή των κλασμά-

των και η καταγραφή του πρωτεϊνικού προφίλ έγιναν όπως ακριβώς περιγράφηκε στην παράγραφο 3.6.4. Ο διαχωρισμός δεν ήταν δυνατός μόνο με τη χρήση της χρωματογραφίας στήλης γι' αυτό και ελάμβανε χώρα συμπύκνωση των κλασμάτων που παρουσίαζαν δραστη- κότητα β-γαλακτοζιδάσης με συσκευή υπερδιήθησης τύπου Amicon και μεμβράνη PM-10, διαπίδυση (dialysis) έναντι 1.0 lit 0.02 M NaCl για 16 ώρες σε 4°C και φυγοκέντρωση.

Ένα ml από το υπερκείμενο υγρό αποτελούσε το δείγμα για τον υδροχρωματογράφο υψηλής πίεσης (High Pressure Liquid Chromatograph, HPLC) της Pharmacia Fine Chemicals, Sweeden που έφερε στήλη ανταλλαγής κατιόντων (Mono-S, cation exchanger). Ήταν εφοδιασμένος με ένα V4 ανιχνευτή απορρόφησης (V4 absorbance Detector) και ένα καταγραφικό τύπου ISCO που κατέγραφε τη μετα-βολή της απορρόφησης στα 280nm. Σαν υγρό έκλουσης χρησιμοποιήθηκε το προϊόν της βαθμιαίας ανάμιξης των δύο διαλυμάτων 0.02M MES [2(N-Μορφολινο) αιθανοθειϊκό οξύ] pH 6.0 και 1.0M NaCl που γινόταν αυτόματα. Η όλη διαδικασία διαρκούσε 32min. Τα κλά-σματα (2ml το καθένα) συλλέγονταν με αυτόματο κυκλικό συλλέκτη κλασμάτων. Η ευαισθησία ήταν 0.5 και η ταχύτητα του χαρτιού στο καταγραφικό 30 cm/h.

Η μέτρηση της δραστηκότητας της β-γαλακτοζιδάσης στα διά-φορα κλάσματα είτε από τη στήλη χρωματογραφίας 5X50cm είτε από τον υδροχρωματογράφο υψηλής πίεσης, έγινε όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 3.6.3. με τις εξής τροποποιήσεις:

Αντί των 0.4ml 0.15M NaCl χρησιμοποιήθηκαν 0.1ml αλβουμί-νης μόσχου [Bovine Serum Albumin (BSA) της Sigma Chemical Co.] και 0.3 ml νερό και αντί του ενζυμικού εκχυλίσματος, όπως ήταν φυσικό άλλωστε, χρησιμοποιήθηκε κλάσμα που περιείχε το ένζυμο. Η αλβουμίνη του μόσχου χρησιμοποιήθηκε γιατί μετά το πέρασμα του δείγματος από τη στήλη Sephadex G-100 (5 X50cm) καθώς και από τη στήλη του υδροχρωματογράφου υψηλής πίεσης σημειωνόταν κάποια αποσταθεροποίηση του ενζύμου (Pressey, προσωπική επικοινωνία).

Ο προσδιορισμός του μοριακού βάρους της β-γαλακτοζιδάσης και των PG-I και PG-II έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο του Whitaker 1963 .

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. . Ανάπτυξη και ωρίμανση των καρπών

1.1. Αύξησή των καρπών

Η αύξησή των καρπών των βερικόκκων των ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου φαίνεται στο σχήμα 6 (Α και Β).

Η μεταβολή της μέσης διαμέτρου των καρπών ακολουθεί δι-πλή σιγμοειδή καμπύλη, όπως άλλωστε αναμενόταν, επειδή τα βερικόκκα ανήκουν στα πυρηνόκαρπα. Η αύξηση αυτή πραγματοποιείται σε δύο ξεχωριστές περιόδους που αντιστοιχούν σε δύο σιγμοειδείς καμπύλες με παρεμβολή μιας σύντομης φάσης ανάκαμψης της αύξησης. Επομένως στους καρπούς αυτούς διακρίνονται τρεις περίοδοι ανάπτυξης, οι I, II και III στις οποίες συμπληρώνεται η ανάπτυξη όλων των μερών του καρπού.

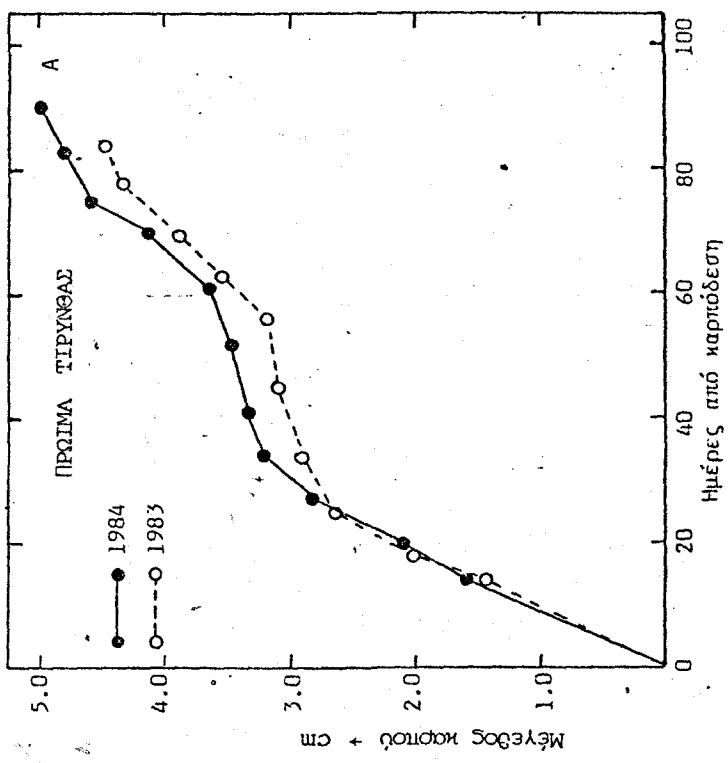
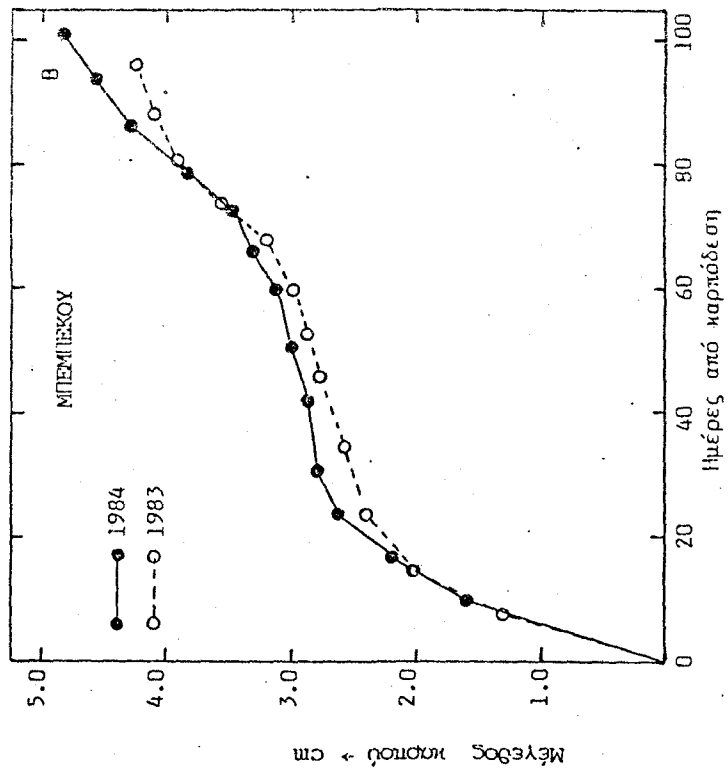
Κατά την Iη περίοδο παρατηρείται πολύ γρήγορη ανάπτυξη που καλύπτει το 57.91% της συνολικής αύξησης (ποικιλία Μπεμπέκου 1984). Κατά τη IIη περίοδο η αύξηση του καρπού γίνεται με βραδύτατο ρυθμό και καλύπτει μόλις το 6.98% της συνολικής. Κατά την IIIη περίοδο που ο καρπός παίρνει το τελικό του μέγεθος, η αύξηση αυτής καλύπτει το 35.11% της συνολικής. Για την ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας 1984 η περίοδος I καλύπτει το 65,32% της συνολικής αύξησης, η περίοδος II το 3.63% ενώ η περίοδος III το 31.05%

Στα ίδια περίπου επίπεδα όπως το 1984 κυμάνθηκαν τα ποσοστά αύξησης ανά περίοδο αύξησης και το έτος 1983 στις δύο ποικιλίες.

Η τυπική απόκλιση του Μ.Ο. ($S\bar{x}$) της διαμέτρου των καρπών κατά τα διάφορα στάδια ανάπτυξης κυμάνθηκε από 0.0 έως 0.12.

1.2. Μεταβολή των ποιοτικών παραμέτρων των καρπών κατά τη διάρκεια της αύξησης και ωρίμανσης.

Η μελέτη των μεταβολών των ποιοτικών παραμέτρων (συνεκτικότητα, συνολικά διαλυτά στερεά, οξύτητα, pH και χρώμα) κατά τη διάρκεια της αύξησης, έγινε στις ποικιλίες Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου.



Σχήμα 6. Καμπύλες αύξησης των καρπών στις ποικιλίες Πρώιμα Τύρυνθας και Μπεμπέκου κατά τα έτη 1983 και 1984.

1.2.1. Συνεκτικότητα

Η συνεκτικότητα κατά τα πρώτα στάδια αυξανόταν φθάνοντας στη μέγιστη τιμή της κατά το στάδιο 2 και για την ποικιλία Μπεμπέκου και για την ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας. Στα επόμενα στάδια άρχισε να μειώνεται φθάνοντας στην ελάχιστη τιμή της στο στάδιο 7.

Η μεταβολή αυτή της συνεκτικότητας κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας φαίνεται στο σχήμα 7 (Α και Β). Η μείωσή της άρχισε περίπου κατά το μέσον της δεύτερης περιόδου αύξησης για τα Μπεμπέκου καθώς επίσης και για τα Πρώιμα Τίρυνθας, ενώ μετά το στάδιο ωρίμανσης 4 παρουσιάστηκε μια πολύ απότομη μείωση που χρονικά συμπίπτει με την έναρξη της τρίτης περιόδου αύξησης (σχήματα 6, 7 και 14). Στα επόμενα στάδια ωρίμανσης 5, 6 και 7 η μείωση ακολουθούσε ομαλότερο ρυθμό.

Οι μέγιστες τιμές συνεκτικότητας που σημειώθηκαν το 1984 ήταν 30.05 για τα Πρώιμα Τίρυνθας και 29.20 lb/in^2 για τα Μπεμπέκου και οι ελάχιστες 3.40 και 2.00 αντίστοιχα, ενώ το 1983 ήταν 27.12 για τα Πρώιμα Τίρυνθας και 27.50 για τα Μπεμπέκου και οι ελάχιστες 2.85 και 1.88 αντίστοιχα.

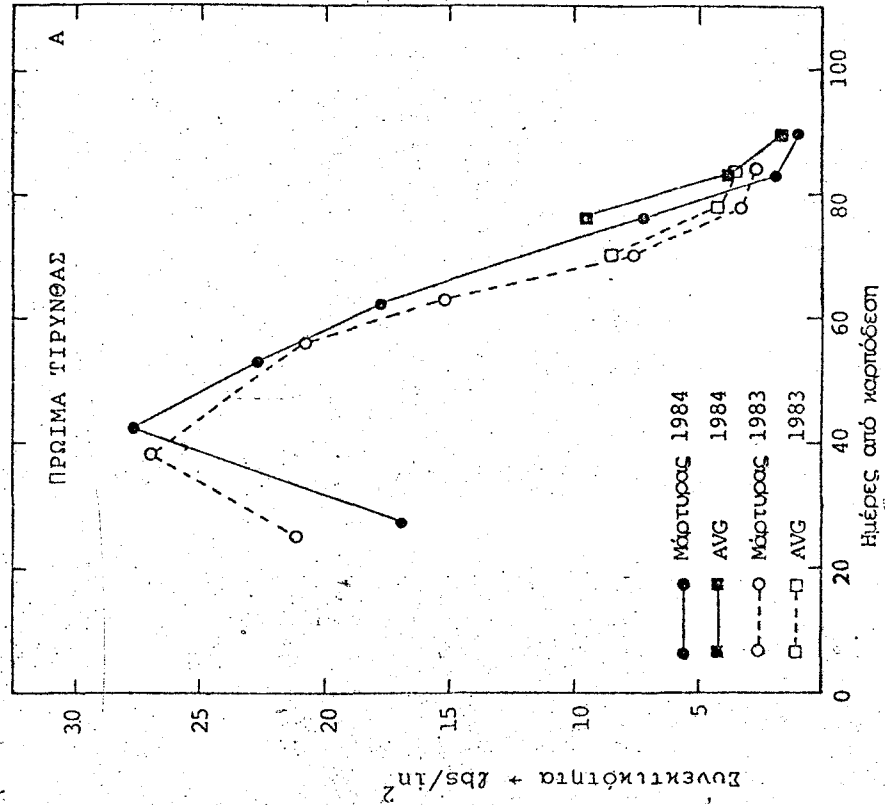
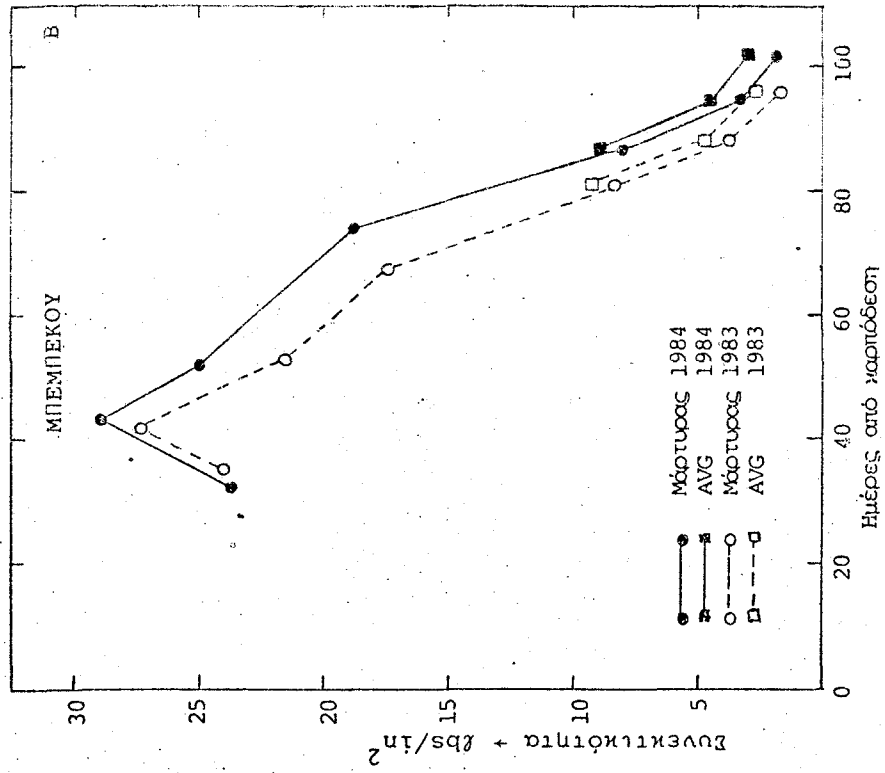
Η συνεκτικότητα μειωνόταν με την ωρίμανση και στους καρπούς που ψεκάστηκαν επί των δέντρων με 600 ppm AVG, τα επίπεδα όμως που κυμάνθηκαν ήταν ανώτερα από αυτά των μαρτύρων.

1.2.2. Συνολικά διαλυτά στερεά

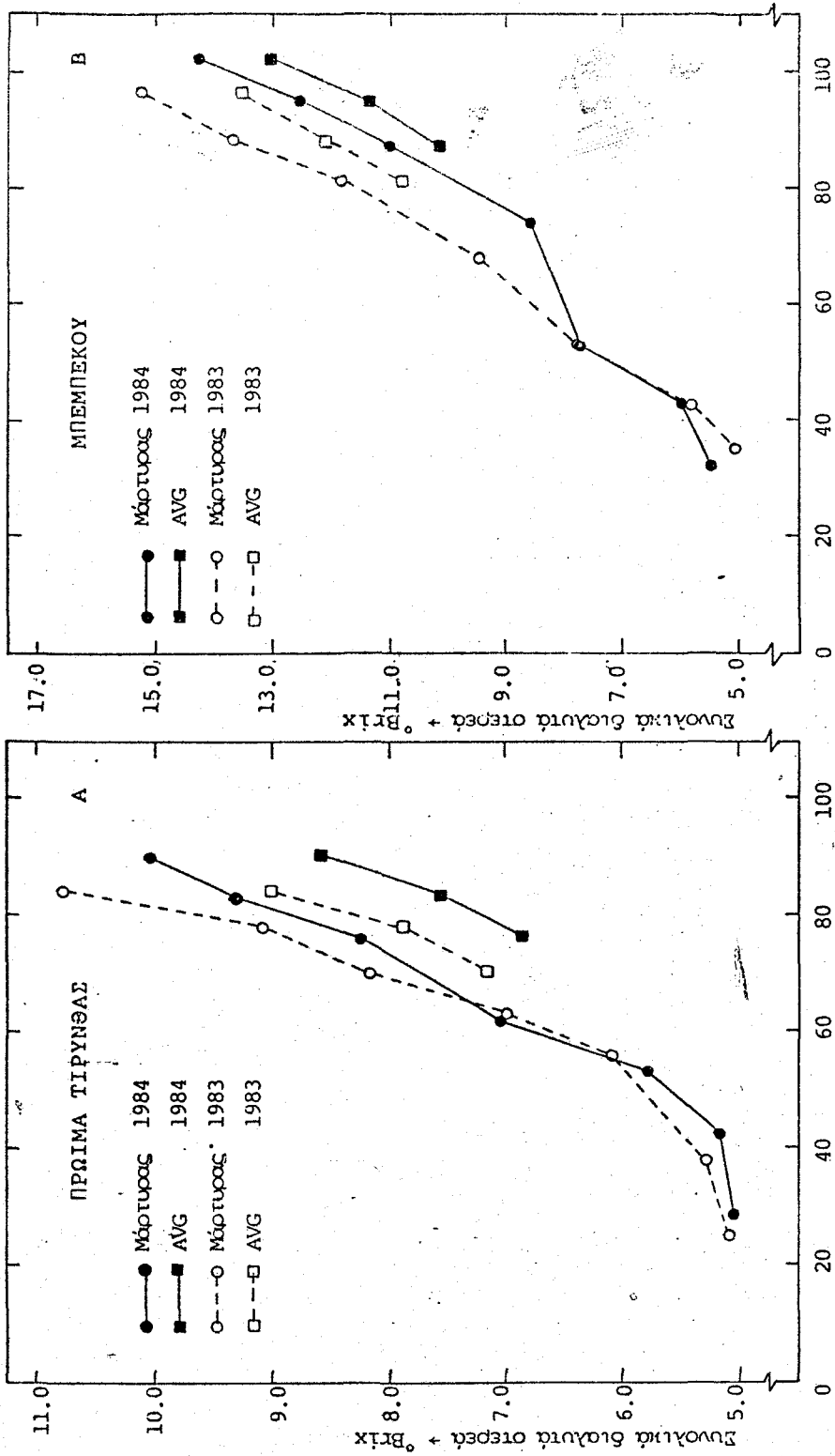
Η μεταβολή των συνολικών διαλυτών στερεών κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας φαίνεται στο σχήμα 8 (Α και Β).

Η πορεία που ακολούθησαν τα συνολικά διαλυτά στερεά με την πρόοδο της ωρίμανσης ήταν ανοδική και για τις δύο ποικιλίες και ενώ ξεκινούσαν από τα ίδια επίπεδα περίπου, κατά το τελευταίο στάδιο ωριμότητας τα Πρώιμα Τίρυνθας έφθασαν στη μέγιστη τιμή των 10.71°Brix και τα Μπεμπέκου στην τιμή των 15.23°Brix το 1983 και το 1984 οι μέγιστες τιμές που σημειώθηκαν ήταν 10.05 και 14.38°Brix αντίστοιχα.

Τα συνολικά διαλυτά στερεά παρουσίασαν αύξηση και στους ψεκασμένους με 1200 ppm AVG καρπούς με την ωρίμανση, τα επίπεδα όμως που κυμάνθηκαν ήταν χαμηλότερα από τους μάρτυρες.



Σχήμα 7. Μεταβολή της συνεκτικότητας κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας των καρπών των ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου, κατά τα έτη 1983 και 1984. Επίδραση του AVG επί της συνεκτικότητας κατά την ωρίμανση των καρπών.



Σχήμα 8. Μεταβολή των συνολικών διαλυτών στερεών κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας των καρπών των ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνσας και Μπεμπέκου κατά τα έτη 1983 και 1984. Επίδραση του AVG επί των συνολικών διαλυτών στερεών κατά την ωρίμανση των καρπών.

1.2.3. Ολική ογκομετρούμενη οξύτητα και pH

Η μεταβολή της ολικής ογκομετρούμενης οξύτητας κατά τη διάρκεια της αύξησης των καρπών φαίνεται στο σχήμα 9 (Α και Β). Η καμπύλη και για τις δύο ποικιλίες παροσσίασε ένα ανερχόμενο σκέλος που αντιστοιχούσε στην πρώτη και δεύτερη περίοδο αύξησης των καρπών και ένα κατερχόμενο σκέλος που αντιστοιχούσε στην τρίτη περίοδο αύξησης.

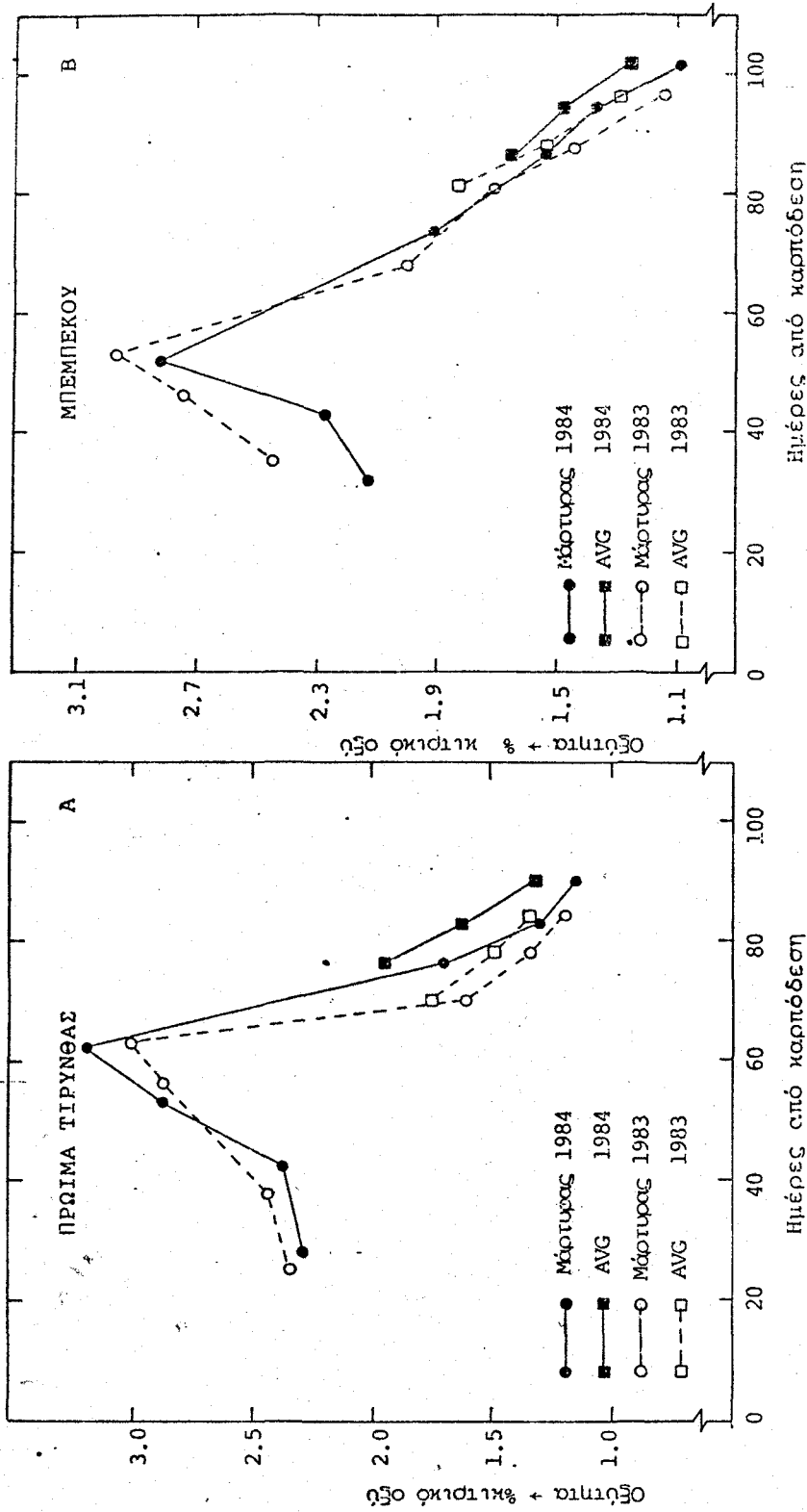
Η πρώτη ελάχιστη τιμή που σημειώθηκε στα Πρώιμα Τίρυνθας κατά την αρχή της αύξησης ήταν 2.30 και στα Μπεμπέκου 2.45, οι μέγιστες τιμές ήταν 3.01 στα Πρώιμα και 2.98 στα Μπεμπέκου και αντιστοιχούν στο τέλος της δεύτερης περιόδου και τέλος οι δεύτερες ελάχιστες τιμές ήταν 1.20 και 1.15 αντίστοιχα και σημειώνονται στο τέλος της τρίτης περιόδου για το 1983. Το 1984 για τα Πρώιμα Τίρυνθας και τα Μπεμπέκου οι πρώτες ελάχιστες τιμές 2.30 και 2.13, οι μέγιστες 3.19 και 2.82 και οι δεύτερες ελάχιστες 1.15 και 1.10 αντίστοιχα. Οι ψεκασμένοι με 1200 ppm AVG καρποί παρουσίασαν ελαφρά αυξημένη οξύτητα σε σύγκριση με τους μάρτυρες και στις δύο ποικιλίες.

Η μεταβολή του pH ακολούθησε την αντίστροφη πορεία σε σύγκριση με την οξύτητα, χωρίς όμως να ανταποκρίνεται απόλυτα στις μεταβολές της κατά τη διάρκεια της αύξησης. Το σχήμα 10 (Α και Β) δείχνει τη μεταβολή του pH κατά τη διάρκεια της αύξησης των καρπών.

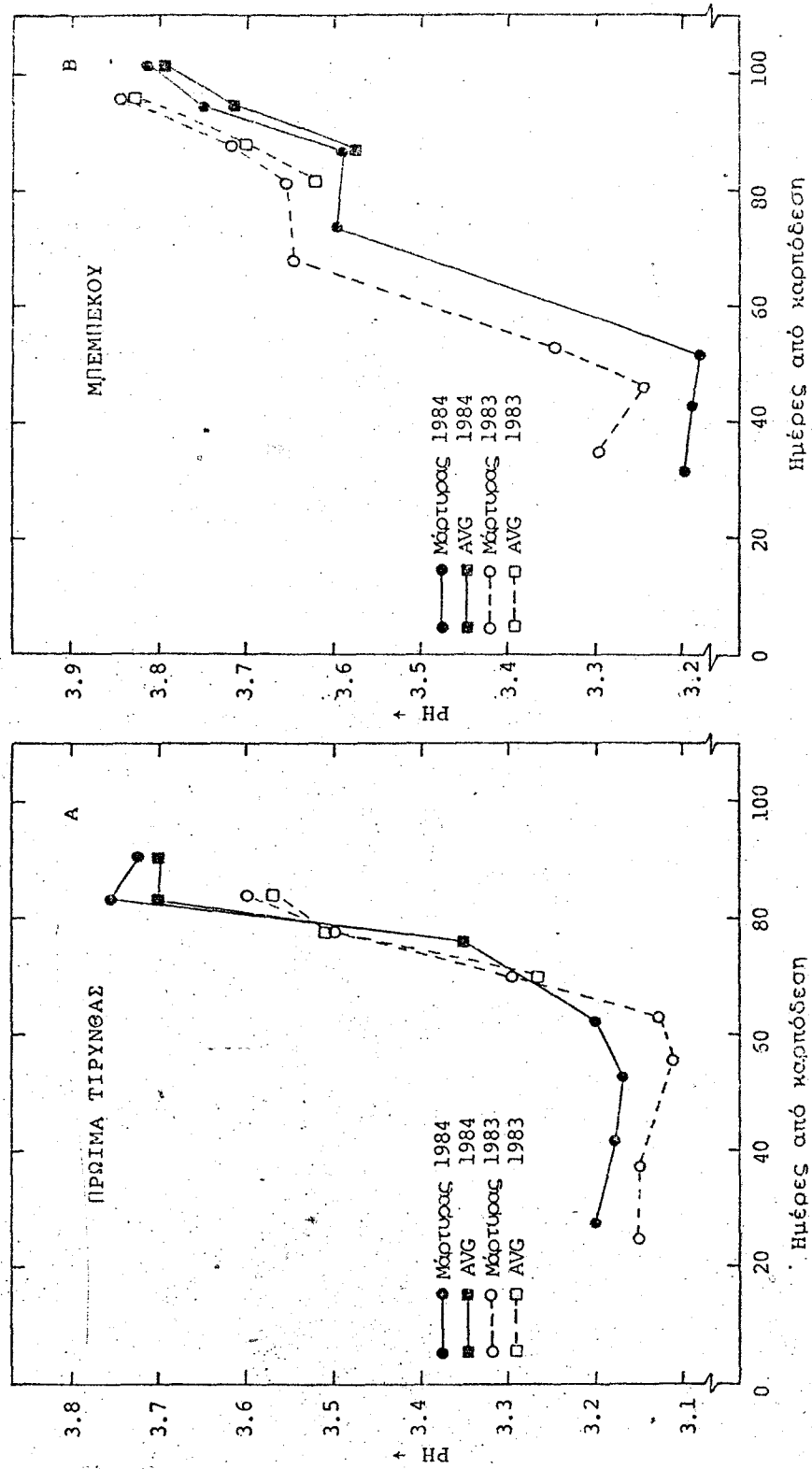
1.2.4. Χρώμα

Η μεταβολή του χρώματος της επιδερμίδας και της σάρκας των καρπών κατά τη διάρκεια της αύξησης τους, εκφρασμένου σε L, Hue angle και Saturation index (Little 1975), φαίνεται στους πίνακες 2 (α,β) και 3 (α,β).

Η τιμή "L", τόσο στα Πρώιμα Τίρυνθας όσο και στα Μπεμπέκου παρουσίασε μια ελαφρά μείωση κατά τα 3 πρώτα στάδια ωριμότητας και κατόπιν άρχισε να αυξάνεται. Η αύξηση από το στάδιο 3 στο στάδιο 4 ήταν μικρότερη σε σύγκριση με αυτή που σημειώθηκε κατά τη μετάβαση από το στάδιο 4 στο 5. Κατόπιν στο στάδιο 6 μειώθηκε και αυξήθηκε ή έμεινε στα ίδια περίπου επίπεδα στο στάδιο 7.



Σχήμα 9. Μεταβολή της οξύτητας κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας των καρπών των ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθας και Μπειπέκου κατά τα έτη 1983 και 1984. Επίδραση του AVG επί της οξύτητας κατά την ωρίμανση των καρπών.



Σχήμα 10. Μεταβολή του pH κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας των καρπών των ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου κατά τα έτη 1983 και 1984. Επίδραση του AVG επί του pH κατά την ωρίμανση των καρπών.

Η τιμή "L" (μέτρο φωτεινότητας), σημείωσε τη μέγιστη τιμή της σε όλες τις περιπτώσεις, στο στάδιο ωριμότητας 5 και τη μικρότερη στο στάδιο 3. Συγκεκριμένα, οι μέγιστες τιμές που σημειώθηκαν ήταν 55.10 και 54.60 για την επιδερμίδα και 63.12 και 61.63 για τη σάρκα, στην ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας κατά τα έτη 1983 και 1984 αντίστοιχα. Οι αντίστοιχες τιμές για τα Μπεμπέκου ήταν 53.52 και 53.33 για την επιδερμίδα και 60.20 και 59.38 για τη σάρκα.

Η τιμή "Hue angle" ελαττώνεται λίγο κατά τα στάδια 3 και 4, ενώ αυξάνεται απότομα στο στάδιο 5 και κατόπιν ακολουθεί καθοδική πορεία μέχρι το τέλος.

Οι μέγιστες τιμές της "Hue angle" που σημειώθηκαν ήταν 78.71 και 83.72 για την επιδερμίδα και 69.78 και 69.76 για τη σάρκα στην ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας για τα έτη 1983 και 1984 αντίστοιχα. Οι αντίστοιχες τιμές για τα Μπεμπέκου ήταν 85.26 και 84.40 για την επιδερμίδα και 70.49 και 77.47 για τη σάρκα.

Η τιμή "Saturation index" κυμαίνεται πλείπου στα ίδια επίπεδα κατά τα πρώτα 4 στάδια ωριμότητας και κατόπιν αυξάνεται απότομα στο στάδιο 5, ακολουθώντας συνεχώς πορεία φθάνοντας τη μέγιστη τιμή και στις δύο ποικιλίες στο στάδιο 7.

Οι μέγιστες τιμές της "Saturation index", που σημειώθηκαν ήταν 29.17 και 31.07 για την επιδερμίδα και 34.98 και 38.93 για την ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας, κατά τα έτη 1983 και 1984 αντίστοιχα. Οι αντίστοιχες τιμές για τα Μπεμπέκου ήταν 29.41 και 29.54 για την επιδερμίδα και 37.95 και 39.44 για τη σάρκα.

Οι ψεκασμένοι καρποί στα στάδια 5, 6 και 7 παρουσίασαν αυξημένες τιμές "L" σε σύγκριση με τους μάρτυρες και στην επιδερμίδα και στη σάρκα και στις δύο ποικιλίες. Με την περίοδο της ωρίμανσης η τιμή "L" σημείωσε μείωση. Η τιμή "Hue angle" και στην επιδερμίδα και στη σάρκα ήταν αυξημένη στους ψεκασμένους καρπούς στην ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας, ενώ στα Μπεμπέκου μόνο στη σάρκα. Αυτά στην επιδερμίδα παρουσίασαν ελαττωμένη τιμή "Hue angle" στα στάδια 5 και 6 και αυξημένη τιμή σε σύγκριση με τους μάρτυρες στο στάδιο 7.

Η τιμή "Saturation index" υστερούσε στους ψεκασμένους καρπούς σε σύγκριση με τους μάρτυρες και στις δύο ποικιλίες.

Πίνακας 2α. Μεταβολή του χρώματος επιδερμίδας και σάρκας βερικόκκων της ποικιλίας Πρώμα Τίρυνδας 1983 κατά τα διάφορα στάδια δια ωριμότητας

Στάδιο ωριμότητας	Ημέρες από άνθηση	Επιδερμίδα						Σάρκα					
		L		Hue angle		Satur. index		L		Hue angle		Satur. index	
		M (1)	ψ1200 (2)	M	ψ1200	M	ψ1200	M	ψ1200	M	ψ1200	M	ψ1200
1	25	38.29		119.59		16.25	44.50	114.48		24.21			
2	38	37.56		118.53		15.93	44.10	112.02		25.35			
3	56	36.10		117.72		16.89	43.91	113.58		24.99			
4	63	40.05		116.26		18.42	47.00	115.41		24.47			
5	70	55.10	56.72	78.71	100.70	26.11	63.12	64.15	69.78	75.44	31.57	28.84	
6	78	53.85	54.81	62.39	63.33	27.32	56.50	59.81	50.36	61.90	32.62	30.00	
7	84	54.21	54.78	60.21	60.86	29.17	57.00	57.95	48.99	51.20	34.98	33.35	

(1) Μάρτυρες

(2) Καρποί ψεκασμένοι επί των δέντρων με AVG 1200pppp

Πίνακας 2β. Μεταβολή του χρώματος επιδερμίδας και σάρκας βερυλόνικων της ποικιλίας Πρώμα Τίρυνθας 1984 κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας.

Στάδιο ωριμότητας	Ημέρες από άνθηση	Επιδερμίδα										Σάρκα			
		L		Hue angle		Satur. index		L		Hue angle		Satur. index			
		M	Ψ1200	M	Ψ1200	M	Ψ1200	M	Ψ1200	M	Ψ1200	M	Ψ1200		
1	23	36.35		114.58		17.43		43.40		114.26		23.12			
2	37	36.28		113.20		16.62		45.15		116.45		24.77			
3	48	35.30		113.75		17.75		44.10		115.53		24.36			
4	57	38.28		113.10		18.81		46.30		114.07		24.91			
5	51	54.60	55.14	83.72	91.09	27.87	26.31	61.63	62.95	69.76	78.10	32.34	30.02		
6	78	52.00	53.92	63.19	85.31	29.56	28.54	54.43	60.75	55.02	66.35	33.44	32.90		
7	85	52.20	52.86	59.97	68.10	31.07	29.50	54.60	60.06	52.49	59.22	38.93	36.92		

Πίνακας 3α. Μεταβολή του χρώματος επιδερμίδας και σάρκας βερικόκκων της ποικιλίας Μπεμπέκου 1983 κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας

Στάδια ωριμότητας	Ημέρες από άνοδηση	Επιδερμίδα						Σάρκα					
		L		Hue angle		Satur.index		L		Hue angle		Satur. index	
		M ⁽¹⁾	ψ1200 ⁽²⁾	M	ψ1200	M	ψ1200	M	ψ1200	M	ψ1200	M	ψ1200
1	35	37.81		115.90		18.34		49.06		112.47		24.88	
2	42	36.26		115.80		18.65		48.00		112.76		25.05	
3	53	35.01		107.63		16.16		46.86		96.70		23.57	
4	68	42.24		106.32		20.82		52.11		93.63		24.01	
5	81	53.52	54.50	85.26	109.90	27.64	29.61	60.20	60.81	70.49	81.96	33.57	30.49
6	88	47.33	52.10	62.77	102.16	28.95	25.69	53.98	56.12	55.68	74.99	36.50	30.93
7	96	47.85	50.00	62.12	74.27	29.41	29.96	54.25	56.81	52.83	60.61	37.95	34.95

(1) Μάρτυρες

(2) Καρποί ψεκασμένοι επί των δέντρων με AVG 1200ppm

Πίνακας 3β. Μεταβολή του χρώματος επιδερμίδας και σάρκας βερικδικών της ποικιλίας Μπεπέκου 1984 κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας.

Στάδια ωριμότητας	Ημέρ. από άνθ.	Επιδερμίδα						Σάρκα					
		L		Hue angle		Satur. index		L		Hue angle		Satur. index	
		M	ψ1200	M	ψ1200	M	ψ1200	M	ψ1200	M	ψ1200	M	ψ1200
1	32	37.15		114.52		18.39		48.13		115.92		24.94	
2	43	35.58		114.44		18.49		46.30		116.08		25.09	
3	52	34.83		112.77		17.00		44.93		117.15		24.10	
4	74	43.08		112.21		22.09		51.55		113.87		26.44	
5	87	53.33	54.00	84.40	90.72	28.18	25.62	59.38	60.81	77.47	85.11	33.87	30.06
6	95	47.48	51.23	60.04	91.97	29.29	26.22	52.48	59.50	54.04	65.28	38.23	31.69
7	102	49.48	50.28	63.78	78.30	29.54	27.37	53.58	54.88	54.42	59.68	39.44	35.66

1.3. Έκλυση αιθυλενίου

Όπως είναι γνωστό το αιθυλένιο παίζει σπουδαίο ρόλο στην ωρίμανση των καρπών (McGlasson et al 1978) για αυτό και η έκλυση του μετρήθηκε στα στάδια ωριμότητας 4,5,6 και 7 και για τις δύο ελληνικές ποικιλίες.

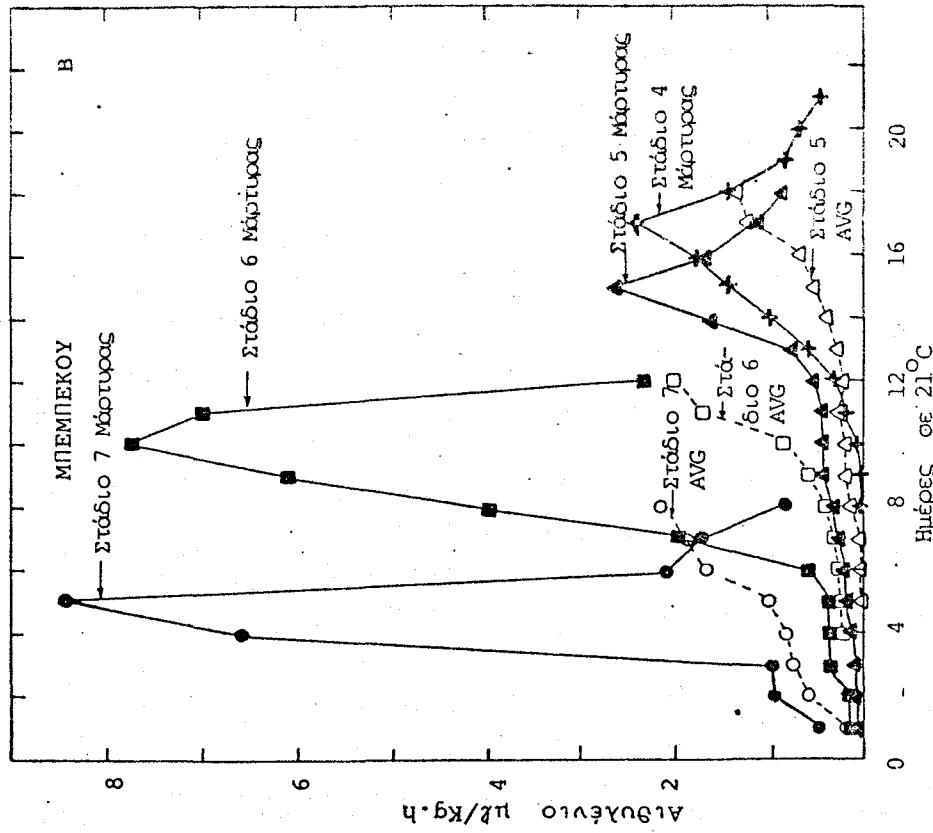
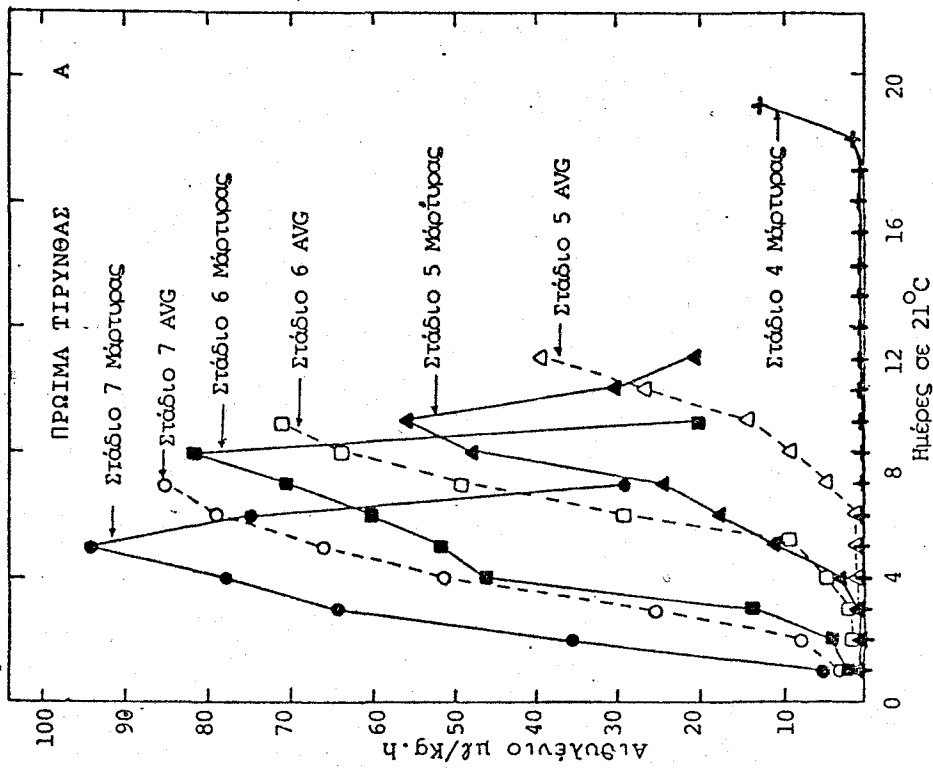
Όπως φαίνεται στο σχήμα 11, το αιθυλένιο που εκλύεται αυξανόταν μέχρις ότου φθάσει μία μέγιστη τιμή και κατόπιν ελαττώνονταν συνεχώς. Στο στάδιο 4, η έκλυση του αιθυλενίου άρχισε μετά 18 ημερών παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για την ποικιλία Πρώιμα Τύρινθας και 10 ημερών για την ποικιλία Μπεμπέκου και η εκλυόμενη ποσότητα ήταν χαμηλή. Όσο όμως προχωρούσε η ωρίμανση, τόσο επιταχυνόταν και η έκλυση του αιθυλενίου και η εκλυόμενη ποσότητα αυξανόταν. Έτσι, στο στάδιο 6 είχαμε ταχύτερη και μεγαλύτερη έκλυση αιθυλενίου σε σύγκριση με το στάδιο 5 καθώς επίσης και στο στάδιο 7 σε σύγκριση με το στάδιο 6. Το εκλυόμενο αιθυλένιο έφθασε τη μέγιστη τιμή του σε καρπούς που ανήκαν στα στάδια 5,6 και 7 μετά 9,8 και 5 ημέρες για την ποικιλία Πρώιμα Τύρινθας (σχήμα 11A) και μετά 16,10 και 5 ημέρες για την ποικιλία Μπεμπέκου (σχήμα 11B) αντίστοιχα.

Όσον αφορά τους καρπούς που ψεκάστηκαν με 600 ppm AVG, όπως φαίνεται στο σχήμα 11 (A και B) παρουσίασαν μια αξιοσημείωτη καθυστέρηση, όσον αφορά τόσο την έναρξη της έκλυσης του αιθυλενίου όσο την εκλυόμενη ποσότητα, σε σύγκριση με τους μάρτυρες.

1.4. Μεταβολή της δραστηριότητας των ενζύμων κατά τη διάρκεια της αύξησης και ωρίμανσης

1.4.1. Πολυγαλακτουρονάση

Η πολυγαλακτουρονάση (PG) - ένα των πηκτινολυτικών ενζύμων - παρουσίασε πολύ αυξημένη δραστηριότητα (σχήμα 12) κατά τα στάδια 1 και 2 και κατόπιν συνεχή μείωση μέχρις ενός ελαχίστου που σημειώθηκε στο στάδιο 5 για τα Πρώιμα Τύρινθας και στο στάδιο 4 για τα Μπεμπέκου. Με την πρόοδο της ωρίμανσης (στάδια 6 και 7) άρχισε και πάλι να αυξάνεται η δραστηριότητα μέχρις ότου φθάσει μια δεύτερη μέγιστη τιμή κατά πολύ μικρότερη εκείνης του πρώτου σταδίου. Πιο συγκεκριμένα οι μέγιστες



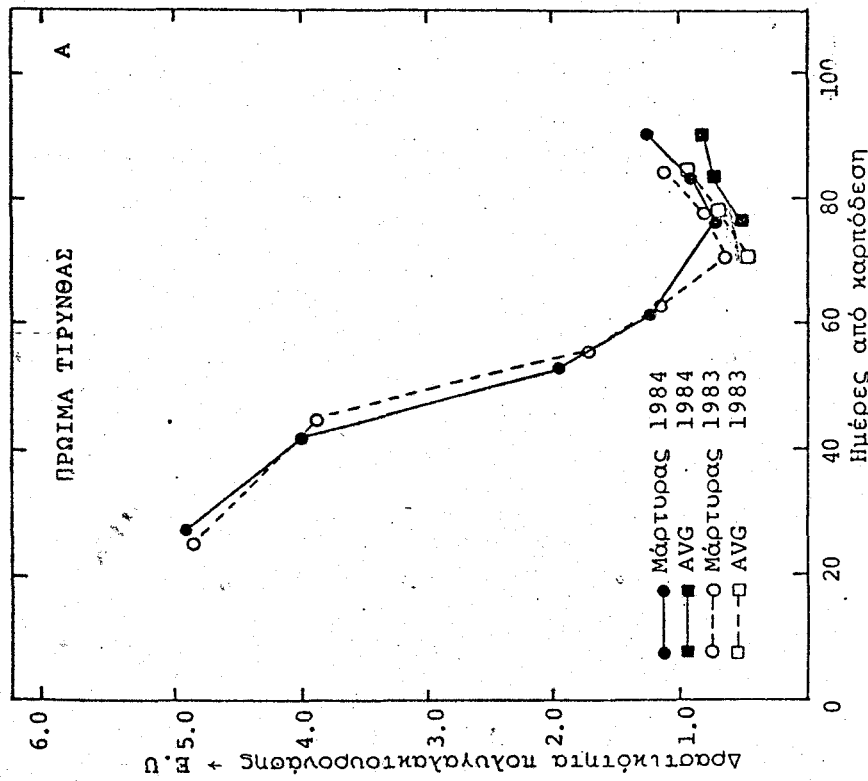
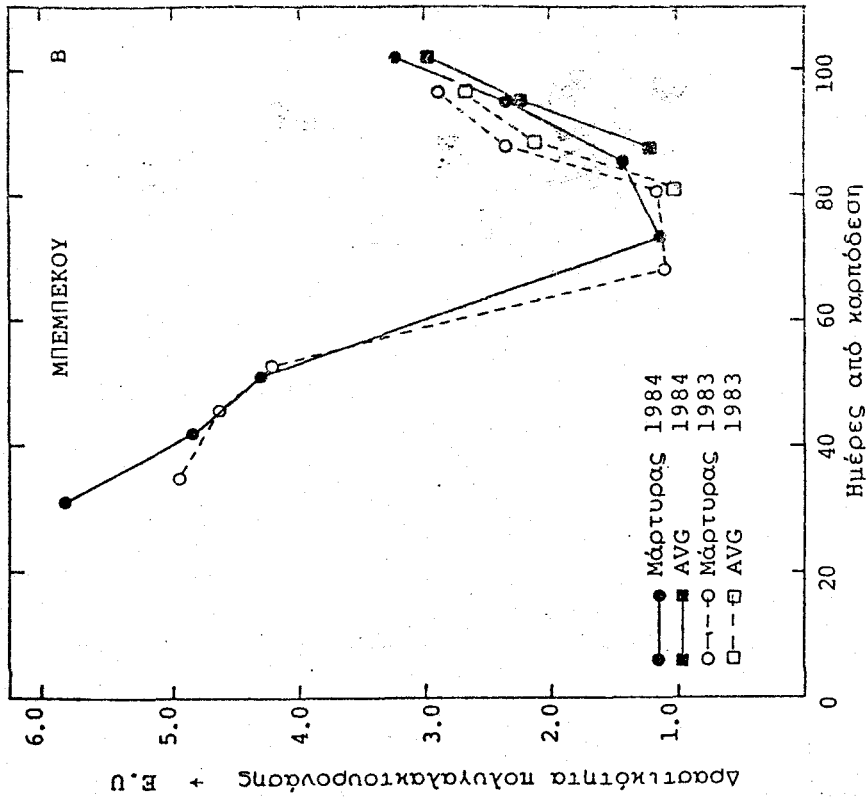
Σχήμα 11. Επίδραση του AVG επί του αιθυλενίου που εκλύεται από καρπούς των ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου του έτους 1984 κατά τα στάδια ωριμότητας 4, 5, 6 και 7.

τιμές που αντιστοιχούν στο τμήμα I της καμπύλης αύξησης των καρπών ήταν 4.75 και 4.83 μονάδες ενζύμου (E.U) για την ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας (σχήμα 12A) στα έτη 1983 και 1984 αντίστοιχα και 5.01 και 5.93 για τα Μπεμπέκου (σχήμα 12B). Οι ελάχιστες τιμές που αντιστοιχούν στο τμήμα III της καμπύλης αύξησης, ήταν 0.51 και 0.52 E.U για τα Πρώιμα και 1.12 και 1.17 για τα Μπεμπέκου στα έτη 1983 και 1984 αντίστοιχα και τέλος οι δεύτερες μέγιστες τιμές που αντιστοιχούν επίσης στο τμήμα III της καμπύλης ήταν 1.33 και 1.44 για τα Πρώιμα (περίπου 3.5 φορές μικρότερες της αρχικής μέγιστης) και 2.60 και 2.86 E.U για τα Μπεμπέκου (περίπου 2 φορές μικρότερες της αρχικής μέγιστης τιμής) στα έτη 1983 και 1984 αντίστοιχα. Όπως φαίνεται από το σχήμα 12, η καμπύλη μεταβολής της δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης παρουσιάζει μια παραβολική μορφή με κατερχόμενο αρχικά και κατόπιν ανερχόμενο κλάδο.

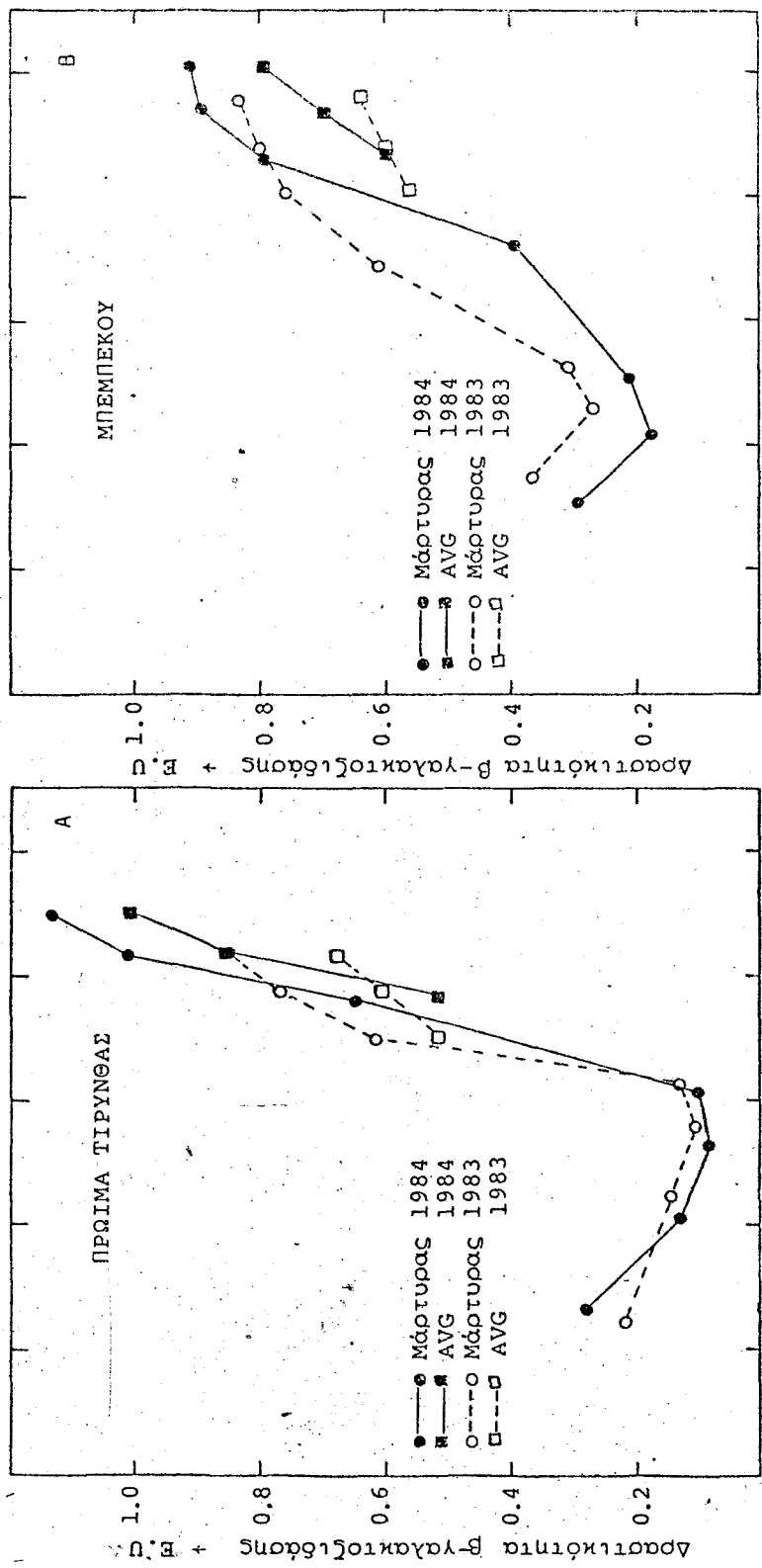
Οι ψεκασμένοι με AVG καρποί, παρουσίασαν μια μειωμένη δραστηριότητα πολυγαλακτουρονάσης στα στάδια ωριμότητας 5,6 και 7 σε σύγκριση με τους μάρτυρες (σχήμα 12).

1.4.2. β-Γαλακτοζιδάση

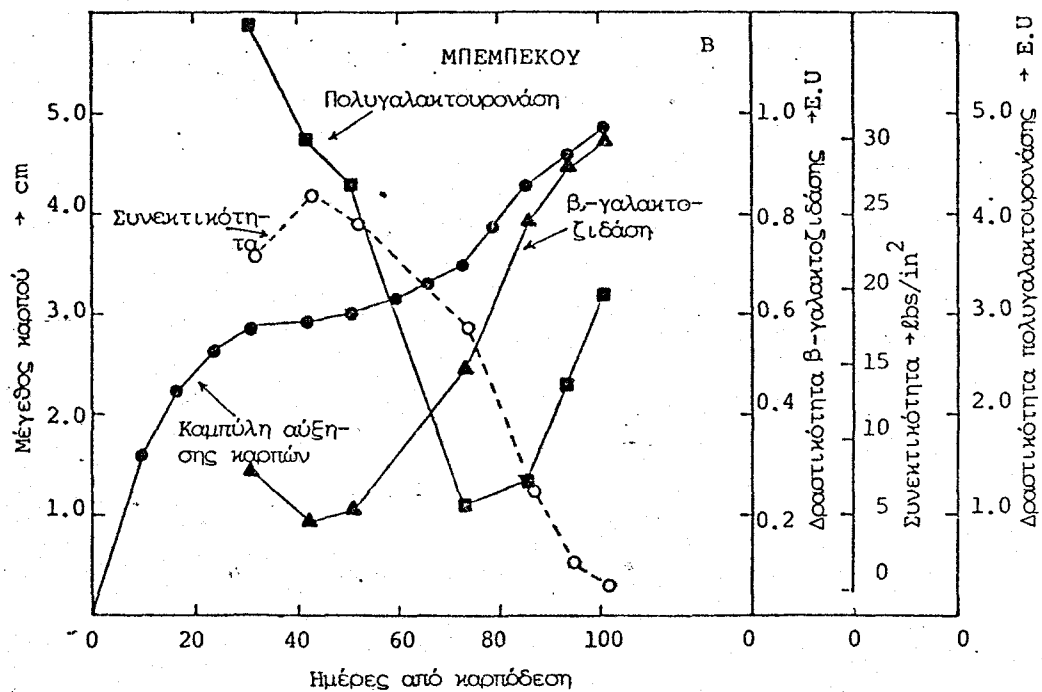
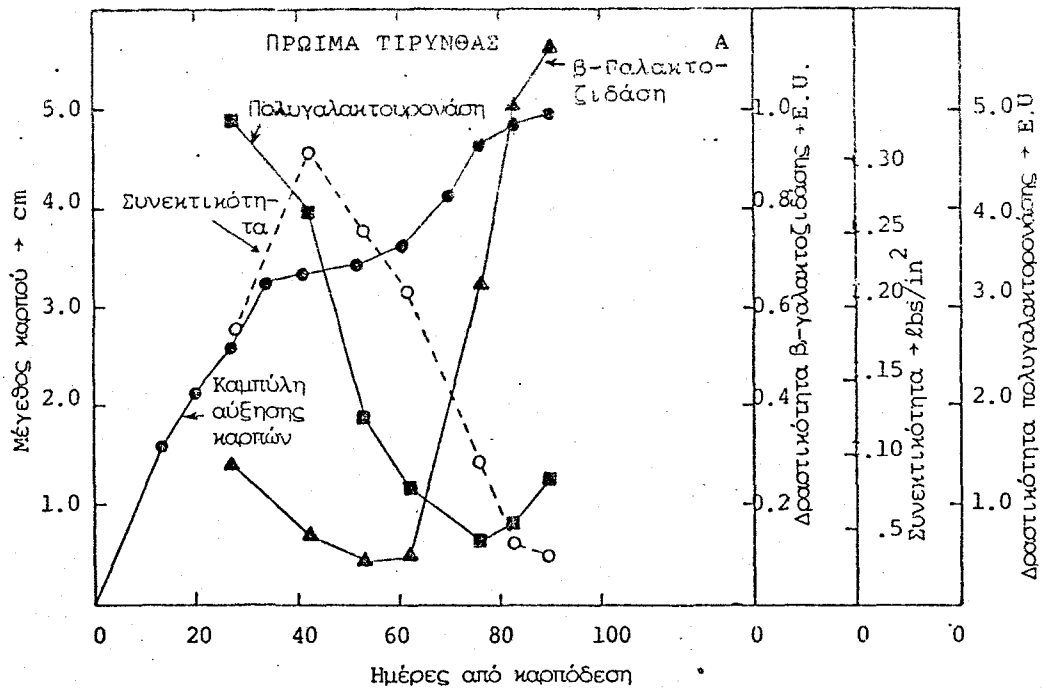
Η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης, που ανήκει στα ημικυτταρινολυτικά ένζυμα, παρουσίασε μία πορεία παρόμοια με εκείνη της πολυγαλακτουρονάσης κατά τη διάρκεια της αύξησης, με τη διαφορά ότι η μεγαλύτερη τιμή της σημειώθηκε κατά το τελευταίο στάδιο ωριμότητας (στάδιο 7) ενώ στην πολυγαλακτουρονάση κατά το στάδιο 1. Πιο συγκεκριμένα, όπως φαίνεται στο σχήμα 13, η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης παρουσίασε δύο μέγιστες τιμές, στο στάδιο 1 και στο στάδιο 7. Μετά το στάδιο 1, η δραστηριότητα μειώθηκε σημειώνοντας στο στάδιο 3 την ελάχιστη τιμή της για τα Πρώιμα Τίρυνθας και στο στάδιο 2 για τα Μπεμπέκου και κατόπιν, άρχισε να αυξάνεται σημειώνοντας τη μέγιστη τιμή της στο στάδιο 7 που ήταν 0.85 και 1.13 για την ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας στα έτη 1983 και 1984 αντίστοιχα και 0.73 και 0.95 για την ποικιλία Μπεμπέκου στα ίδια έτη. Στο στάδιο 7, η δραστηριότητα ήταν περίπου 4 φορές μεγαλύτερη του σταδίου 1 για την ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας και 3 φορές περίπου για την ποικιλία Μπεμπέκου. Οι ελάχιστες τιμές που σημειώθηκαν στο στάδιο 3, ήταν 0.11 και 0.09 για τα Πρώιμα Τίρυνθας



Σχήμα 12. Μεταβολή της δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας των καρπών των ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθος και Μπεμπέκου κατά τα έτη 1983 και 1984. Επίδραση του AVG επί της πολυγαλακτουρονάσης κατά την ωρίμανση των καρπών.



Σχήμα 13. Μεταβολή της δραστηριότητας της β-γαλακτοζιδάσης κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας των καρπών των ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου κατά τα έτη 1983 και 1984. Επίδραση του AVG επί της β-γαλακτοζιδάσης κατά την ωρίμανση των καρπών.



Σχήμα 14. Μεταβολή της δραστηκότητας της πολυγαλακτουρονάσης και β-γαλακτοζιδάσης σε σχέση με τη μεταβολή της συνεκτικότητας κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας των καρπών των ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου.

και 0.21 και 0.21 για τα Μπεμπέκου για τα έτη 1983 και 1984 αντίστοιχα.

Όσον αφορά τους ψεκάσμενους με AVG καρπούς και στις δύο ποικιλίες παρουσίασαν μειωμένη δραστηριότητα σε σύγκριση με τους μάρτυρες στα διάφορα στάδια ωριμότητας (σχήμα 13).

2. Αποθήκευση των καρπών

2.1. Ποικιλία Harlayne

2.1.1. Μεταβολή των διαφόρων ποιοτικών παραμέτρων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης

Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης βερίκοκων της ποικιλίας Harlayne, μελετήθηκαν οι μεταβολές των ποιοτικών παραμέτρων όπως συνεκτικότητα, συνολικά διαλυτά στερεά, οξύτητα, pH και χρώμα. Οι μετρήσεις έγιναν πριν την τοποθέτηση των καρπών στην αποθήκη, μετά 13 και 21 ημέρες αποθήκευσης για καρπούς που συγκομίστηκαν στο στάδιο εμπορικής ωριμότητας και μετά 11 και 19 ημέρες για καρπούς που συγκομίστηκαν 3 ημέρες μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας.

2.1.1.1. Συνεκτικότητα

Όπως ήταν φυσικό η συνεκτικότητα αυξανόταν με την αύξηση του βάθους. Έτσι σε βάθος 2% η τιμή ήταν μεγαλύτερη αυτής σε 1% και μικρότερη αυτής σε βάθος 5%.

Σε όλες τις περιπτώσεις, χειρισθέντες και μη καρποί παρουσίασαν μείωση της συνεκτικότητας (σε όλα τα βάθη) κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Η μείωση αυτή ήταν πολύ απότομη κατά τις πρώτες 13 ή 11 ημέρες της αποθηκευτικής ζωής. Ο ρυθμός της μείωσης κατά τις επόμενες ημέρες έγινε πιο ομαλός (πίνακας 4) και σε μερικές των περιπτώσεων μάλιστα η συνεκτικότητα κυμαινόταν στα ίδια περίπου επίπεδα. Όπως φαίνεται από τον πίνακα 4 οι ψεκάσμενοι επί των δέντρων καρποί (SPA και SPB) έδειξαν ελαφρά αυξημένη συνεκτικότητα σε όλα τα βάθη σε σύγκριση με τους μάρτυρες (CUN). Μάλιστα, οι καρποί που ψεκάστηκαν με μεγαλύτερης συγκέντρωσης AOA (SPB) είχαν ελαφρά μεγαλύτερη συνεκτικότητα σε σύγκριση με αυτούς που ψεκάστηκαν με μικρότερης συγκέντρωσης AOA (SPA). Επίσης οι καρποί που εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα μεγαλύτερης συγκέντρωσης σε AOA - και αυτοί του

Πίνακας 4. Μεταβολή της συνεκτικότητας σε βόδη 1,2 και 5% καρπών της ποικιλίας
Harlayne κατά την αποθήκευση

ΣΥΝΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ (Nt)												
	A(1)			B			Γ					
	1%	2%	5%	1%	2%	5%	1%	2%	5%			
Αποθήκη I	CUN(α)	0.6024	1.4003	4.2809	0.0264	0.0605	0.1758	0.0207	0.0407	0.1215		
	SPA(α)	0.6297	1.4226	4.8836	0.0423	0.1024	0.2529	0.0367	0.0757	0.1597		
	SPB(α)	0.6495	1.4489	4.9945	0.0499	0.1118	0.2861	0.0424	0.0843	0.1823		
	C(α)	0.5510	1.3870	4.1210	0.0419	0.0850	0.2748	0.0213	0.0448	0.1908		
	G(α)	0.5510	1.3870	4.1210	0.0594	0.1386	0.3670	0.0299	0.0912	0.2711		
	D(α)	0.5510	1.3870	4.1210	0.0618	0.2125	0.4421	0.0343	0.1005	0.4142		
Αποθήκη II	LC(β)	0.5407	1.1693	3.6628	0.0287	0.0726	0.2987	0.0210	0.0335	0.1105		
	LE(β)	0.5407	1.1693	3.6628	0.0374	0.0753	0.3122	0.0266	0.0569	0.1895		
	LZ(β)	0.5407	1.1693	3.6628	0.0392	0.0797	0.3677	0.0274	0.0623	0.2087		
	BC(α)	0.5510	1.3870	4.1210	0.0507	0.1397	0.5195	0.0293	0.0581	0.1919		
	BG(α)	0.5510	1.3870	4.1210	0.0685	0.1617	0.6136	0.0350	0.0691	0.2110		
	BD(α)	0.5510	1.3870	4.1210	0.0802	0.1775	0.6934	0.0428	0.0807	0.2345		
Αποθήκη III	BLC(β)	0.5407	1.1693	3.6628	0.0221	0.0515	0.1886	0.0209	0.0425	0.1329		
	BLE(β)	0.5407	1.1693	3.6628	0.0337	0.0712	0.2830	0.0283	0.0627	0.2203		
	BLZ(β)	0.5407	1.1693	3.6628	0.0469	0.0826	0.3233	0.0323	0.0755	0.2383		

(1) Α Μετρήσεις πριν την τοποθέτηση των καρπών στην αποθήκη

Β Μετρήσεις κατά την πρώτη δειγματοληψία από την αποθήκη

Γ Μετρήσεις κατά τη δεύτερη δειγματοληψία από την αποθήκη

(α) Δειγματοληψίες μετά 0,13 και 21 ημέρες αποθήκευσης (Α, Β & Γ αντίστοιχα)

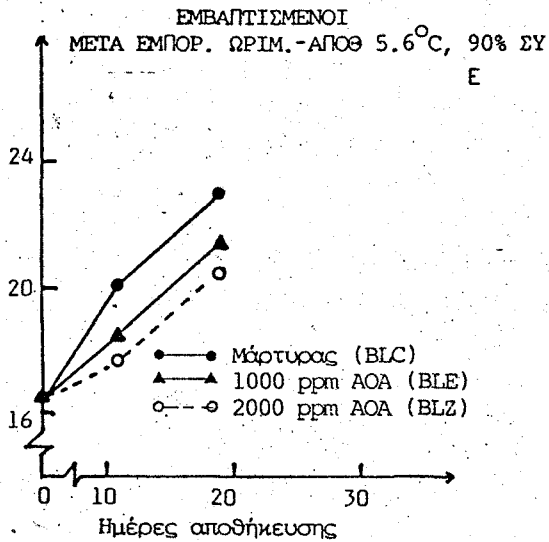
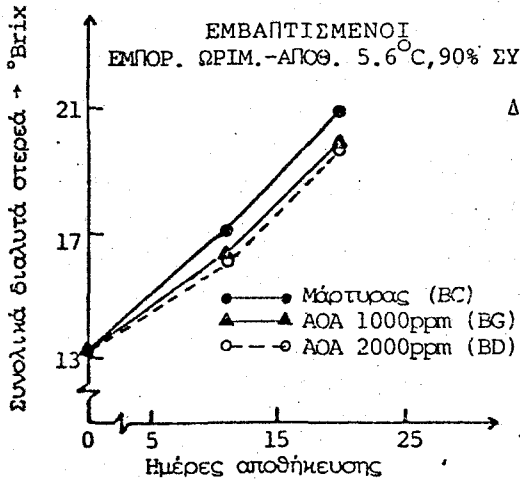
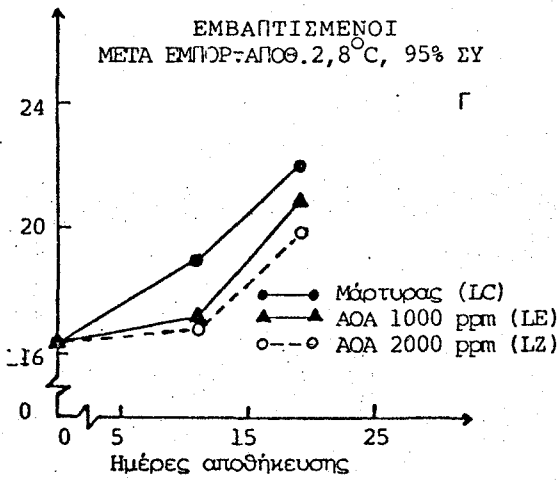
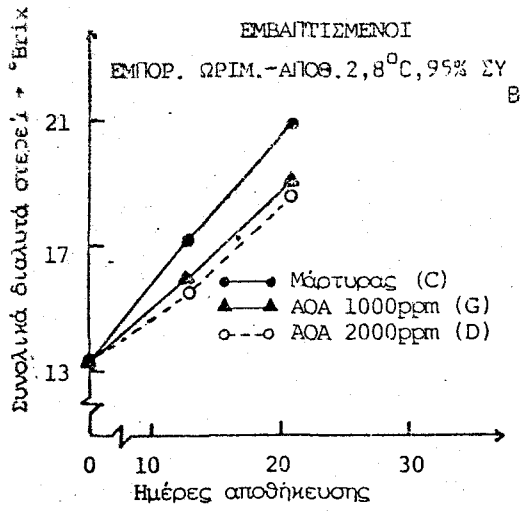
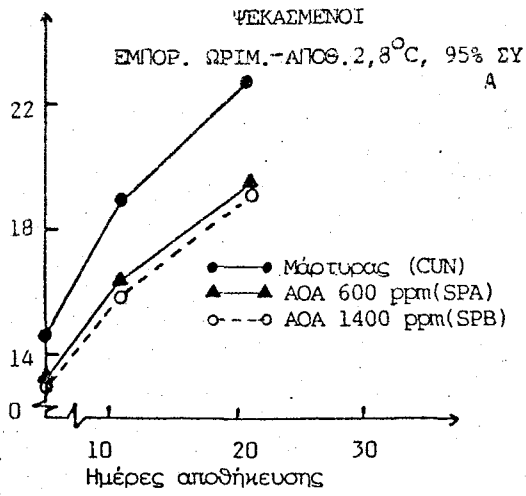
(β) Δειγματοληψίες μετά 0,11 και 19 ημέρες αποθήκευσης (Α, Β & Γ αντίστοιχα)

σταδίου της εμπορικής ωριμότητας και αυτοί που συγκομίστηκαν 3 ημέρες αργότερα (D, BD, LZ, BLZ), παρουσίασαν αυξημένη συσνεκτικότητα σε σύγκριση με τους χειρισθέντες με μικρότερης συγκέντρωσης AOA (G, BG, LE, BLE αντίστοιχα) και αυτοί με τη σειρά τους είχαν μεγαλύτερη συσνεκτικότητα από τους μάρτυρες (C, BC, LC, BLC αντίστοιχα).

Οι καρποί που συγκομίστηκαν 3 ημέρες μετά την εμπορική ωριμότητα, ήταν πιο μαλακοί σε όλα τα βάδη από αυτούς του σταδίου της εμπορικής ωριμότητας και αμέσως μετά τη συγκομιδή και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Στην αποθήκη II οι καρποί του σταδίου της εμπορικής ωριμότητας (BC, BG και BD) παρουσίασαν ελαφρά μεγαλύτερη συσνεκτικότητα κατά το τέλος της αποθηκευτικής ζωής σε σύγκριση με αυτούς που συγκομίστηκαν 3 ημέρες αργότερα. (BLC, BLE και BLZ αντίστοιχα). Στην αποθήκη I η διαφορά στη συσνεκτικότητα μεταξύ των καρπών των δύο συγκομιδών ήταν πιο εμφανής (πίνακας 4). Δηλαδή, στην αποθήκη I οι καρποί του σταδίου της εμπορικής ωριμότητας (C, G και D), κρατήθηκαν πιο συσνεκτικοί από αυτούς του σταδίου της εμπορικής ωριμότητας στην αποθήκη II (BC, BG και BD) και από τους καρπούς που συγκομίστηκαν μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας και αποθηκεύτηκαν είτε στην αποθήκη I, είτε στην αποθήκη II (LC, LE, LZ και BLC, BLE και BLZ αντίστοιχα). Επίσης την αποθήκη I, οι καρποί LC, LE και LZ παρουσιάστηκαν πιο συσνεκτικοί από τους αντίστοιχους της αποθήκης II (BLC, BLE και BLZ) και κατά τη διάρκεια και κατά το τέλος της αποθηκευτικής τους ζωής.

2.1.1.2. Συνολικά διαλυτά στερεά ($^{\circ}$ Brix)

Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης αυξήθηκαν τα συνολικά διαλυτά στερεά σε όλες τις περιπτώσεις χειρισθέντων ή μη καρπών. Ο ρυθμός της αύξησης ήταν σχεδόν ο ίδιος καθ'όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης για όλους τους χειρισμούς. Τα συνολικά διαλυτά στερεά σημείωσαν μεγαλύτερες τιμές στους καρπούς που συγκομίστηκαν μετά την εμπορική ωριμότητα (LC, BLC) σε σύγκριση με τους εμπορικά ώριμους (C, BC). Η υστέρηση των χειρισθέντων καρπών ή επί των δέντρων ή μετά τη συγκομιδή σε σύγκριση με τους μάρτυρες είναι εμφανής (σχήμα 15). Η μεγαλύτερη διαφορά όμως παρατηρήθηκε στους καρπούς που ψεκάστηκαν πάνω στα δέντρα. Ενώ οι μάρτυρες κατά το τέλος της αποθήκευσης έφθασαν την τιμή 22.845° Brix, οι ψεκασ-

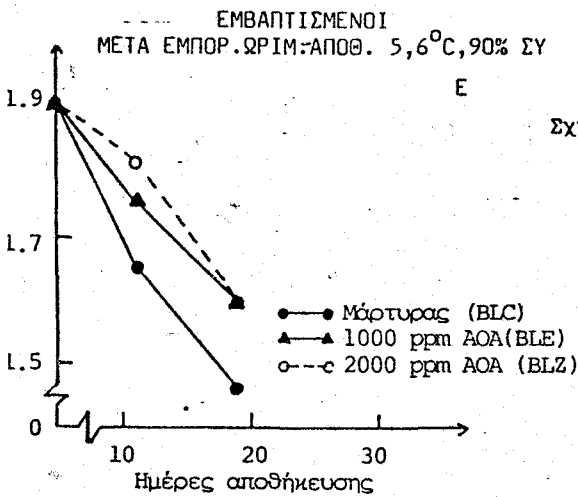
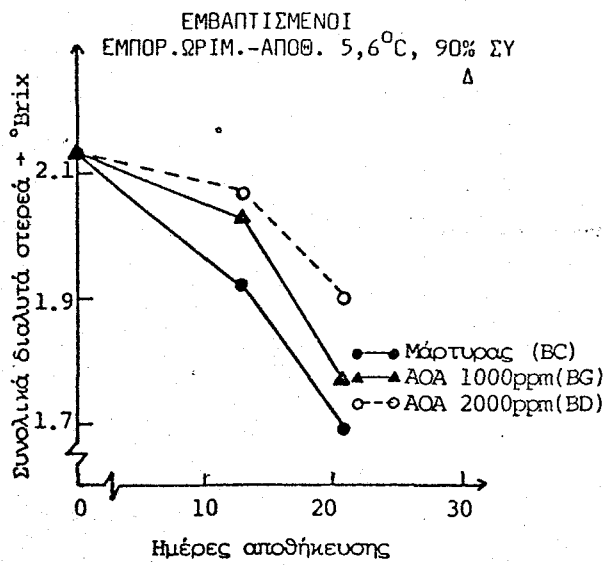
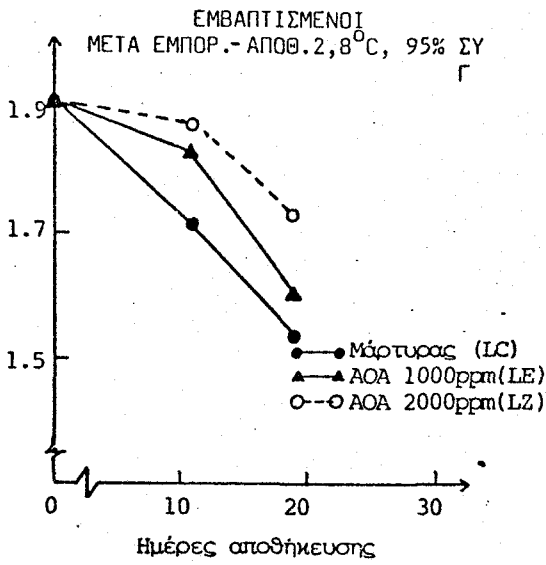
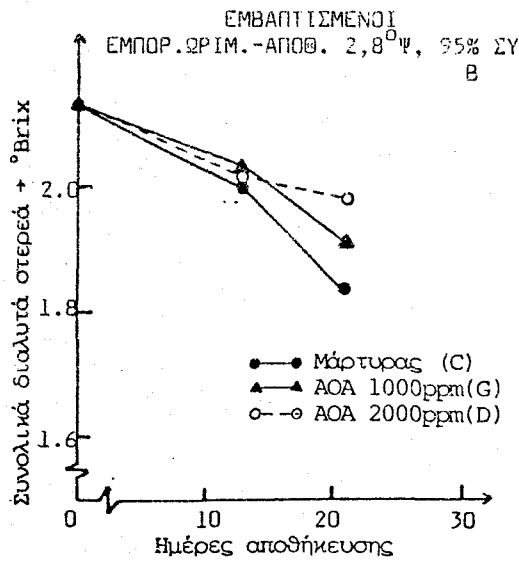
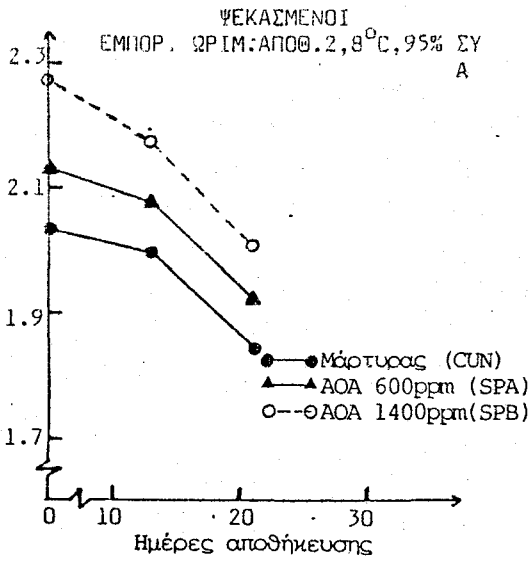


Σχήμα 15. Επίδραση του AOA που χρησιμοποιήθηκε πριν ή μετά τη συλλογή των καρπών επί των συνολικών διαλυτών στερεών κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης καρπών της ποικιλίας Harlayne.

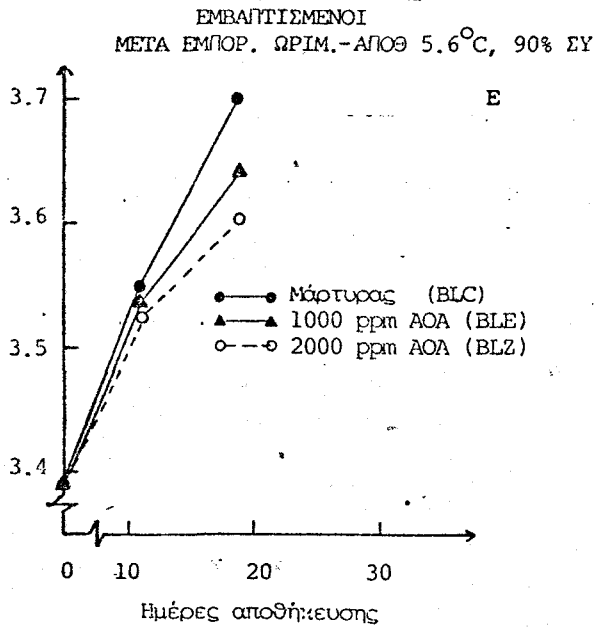
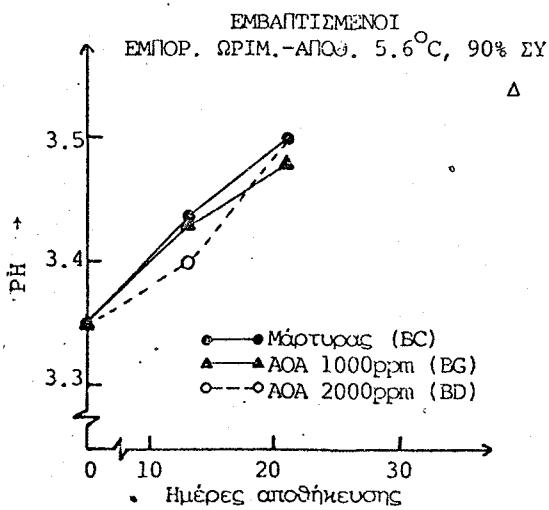
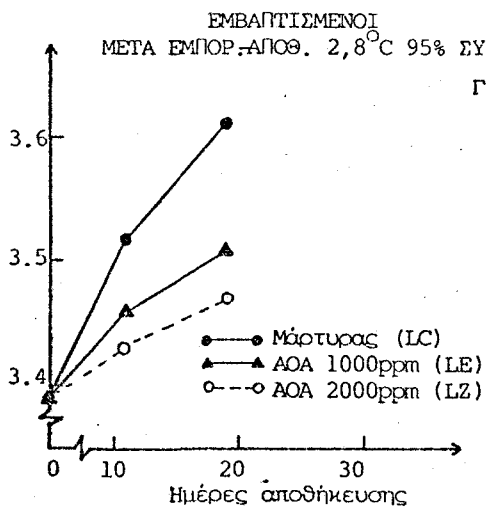
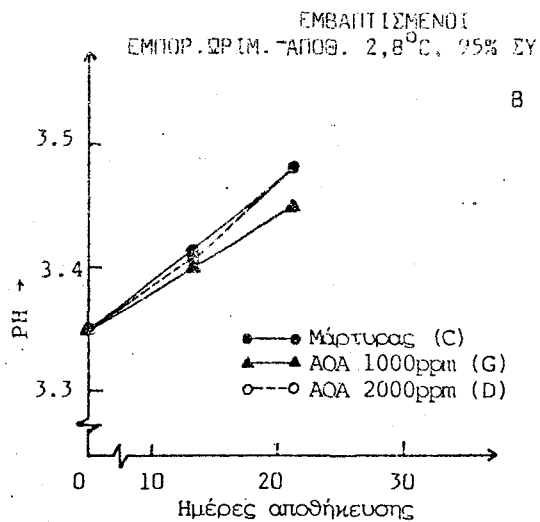
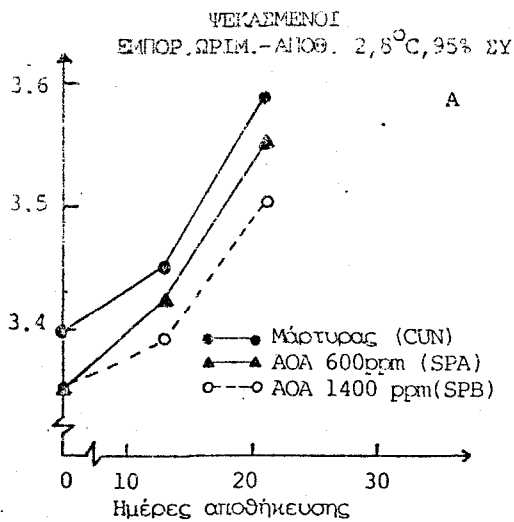
σμένοι με μικρότερη συγκέντρωση AOA (SPA) είχαν 19.415^oBrix και οι ψεκασμένοι με μεγαλύτερη συγκέντρωση AOA (SPB) 19.101^oBrix. Η διαφορά μεταξύ SPA και SPB ήταν πολύ μικρή. Επίσης μεταξύ των μαρτύρων (C, BC, LC, BLC) και των εμβαπτισθέντων σε διάφορες συγκεντρώσεις AOA καρπών (G και D, BD και BD, LE και LZ και BLE και BLZ) ήταν αξιολογημένη. Δεν υπήρξε όμως μεγάλη διαφορά μεταξύ των χειρισθέντων με μικρότερη και με μεγαλύτερη συγκέντρωση AOA (1000 και 2000 ppm) καρπών. Μια μικρή εξαίρεση, ίσως αποτελούν οι BLE και BLZ καρποί. Οι καρποί που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας όσον αφορά τους μάρτυρες δεν σημείωσαν διαφορά μεταξύ των αποθηκών (C, BC). Διαφοροποιήθηκαν όμως οι εμβαπτισθέντες σε AOA καρποί και στην αποθήκη I (G, D) είχαν χαμηλότερο Brix από αυτούς στην αποθήκη II (BG, BD). Οι καρποί που συγκομίστηκαν μετά την εμπορική ωριμότητα, μάρτυρες και χειρισθέντες, παρουσίασαν υψηλότερες τιμές στην αποθήκη II (BLC, BLE, BLZ) σε σύγκριση με αυτούς στην αποθήκη I (LC, LE, LZ) (σχήμα 15).

2.1.1.3. Ολική ογκομετρούμενη οξύτητα και pH

Η ολική ογκομετρούμενη οξύτητα μειώθηκε κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε όλες τις περιπτώσεις των χειρισθέντων ή μη καρπών. Ο ρυθμός της μείωσης ήταν πιο ομαλός κατά τις πρώτες 11 ή 13 ημέρες αποθήκευσης στις περισσότερες των περιπτώσεων και περισσότερο απότομος κατά τις ημέρες που ακολουθούν. Όπως φαίνεται στο σχήμα 16Α, οι ψεκασμένοι επί των δέντρων καρποί (SPA και SPB) παρουσίασαν αυξημένη οξύτητα σε σύγκριση με τους μάρτυρες (CUN). Ειδικότερα οι ψεκασμένοι με μεγαλύτερης συγκέντρωσης AOA (SPB) καρποί είχαν υψηλότερη οξύτητα από αυτούς που ψεκάστηκαν με μικρότερης συγκέντρωσης AOA (SPA). Επίσης οι εμβαπτισμένοι σε μεγαλύτερης συγκέντρωσης AOA (2000 ppm) καρποί, παρουσίασαν αυξημένη οξύτητα σε σύγκριση με αυτούς που εμβαπτίστηκαν σε μικρότερης συγκέντρωσης AOA (1000 ppm) και αυτοί με τη σειρά τους ήσαν πιο ξυνοί από τους μάρτυρες. Οι καρποί που είχαν τη μεγαλύτερη οξύτητα κατά το τέλος της αποθηκευτικής τους ζωής ήσαν οι SPB και αυτοί που είχαν τη μικρότερη ήσαν οι BLC. Οι καρποί LC, BLC είχαν μικρότερη οξύτητα από αυτούς που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (C, BC). Επίσης οι



Σχήμα 16. Επίδραση του AOA που χρησιμοποιήθηκε πριν ή μετά τη συλλογή των καρπών επί της ολικής ογκομετρούμενης οξύτητας κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης καρπών της ποικιλίας Harlayne



Σχήμα 17. Επίδραση του ΑΟΑ που χρησιμοποιήθηκε πριν ή μετά τη συλλογή των καρπών επί του ΡΗ κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης καρπών της ποικιλίας Harlayne.

καρποί ανεξάρτητα του σταδίου ωριμότητας, στην αποθήκη II είχαν χαμηλότερη οξύτητα από τους καρπούς στην αποθήκη I [σχήμα 15 (B, Γ, Δ, Ε)]. Το σχήμα 16 (Α, Β, Γ, Δ και Ε) δείχνει τις μεταβολές της οξύτητας κατά την αποθήκευση σε καρπούς των διαφόρων κατηγοριών χειρισμών.

Το pH ακολούθησε ακριβώς την αντίστροφη πορεία της ολικής ογκομετρούμενης οξύτητας με εξαιρέσεις τους καρπούς D και BD που παρουσίασαν pH μεγαλύτερο από τους G και BG (σχήμα 17 Β, Δ). Το σχήμα 17 δείχνει τις μεταβολές του pH κατά την αποθήκευση σε καρπούς των διαφόρων κατηγοριών χειρισμών.

2.1.1.4. Χρώμα

Η μεταβολή του χρώματος των καρπών της ποικιλίας Harlayne κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης φαίνεται στον πίνακα 5.

Οι καρποί SPB παρουσίασαν αυξημένη τιμή "L" πριν την τοποθέτησή τους στην αποθήκη σε σύγκριση με τους CUN και SPA, αυξημένη τιμή "Hue angle" και μειωμένη "Saturation index". Με την πρόοδο της αποθήκευσης παρατηρήθηκε μείωση των τιμών "L" και "Hue angle" που ήταν μεγαλύτερη στους καρπούς SPB και στην επιδερμίδα και στη σάρκα σε σύγκριση με τους CUN και SPA, ενώ η τιμή "Saturation index" σημείωσε προοδευτική πτώση στην επιδερμίδα των CUN και ελαφρά μόνο πτώση κυρίως κατά το τέλος της αποθήκευσης στους SPA. Στους SPB διατηρήθηκε περίπου σταθερή.

Όσον αφορά τους καρπούς C, G και D, η τιμή "L" παρουσίασε μεγαλύτερη μείωση στη σάρκα των καρπών C (πίνακας 5) που το χρώμα της ήταν σκοτεινότερο κατά το τέλος της αποθηκευτικής ζωής των καρπών. Η τιμή "Hue angle" κυμάνθηκε στα ίδια περίπου επίπεδα στη σάρκα των καρπών C, G και D, ενώ στην επιδερμίδα οι μάρτυρες (C) παρουσίασαν υψηλότερη τιμή κατά το τέλος της αποθηκευτικής τους ζωής. Η τιμή "Saturation index" παρουσίασε μία ελαφρά αύξηση κατά τις αρχές και ελαφρά μείωση κατά το τέλος της αποθηκευτικής ζωής των καρπών, τόσο στην επιδερμίδα όσο και στη σάρκα. Σε γενικές γραμμές δηλαδή κυμάνθηκε στα ίδια περίπου επίπεδα στους C, G και D καρπούς.

Οι καρποί BC, BG και BD κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης τους παρουσίασαν μείωση της τιμής "L" κατά το τέλος της

αποθηκευτικής τους ζωής. Μάλιστα η μείωση αυτή ήταν μεγαλύτερη στη σάρκα των BC καρπών και μικρότερη στους BD. Η τιμή "Hue angle" στην επιδερμίδα αυξήθηκε σε όλη τη διάρκεια της αποθηκευτικής ζωής στους μάρτυρες (BC), ενώ στους καρπούς BC και BD αυξήθηκε λίγο στην αρχή και μειώθηκε στο τέλος και συγκεκριμένα η μείωση ήταν μεγαλύτερη στους BD καρπούς. Στη σάρκα παρατηρήθηκε μείωση της "Hue angle" σε όλες τις περιπτώσεις και η μείωση αυτή ήταν μεγαλύτερη στους BD, μικρότερη στους BG και ακόμη μικρότερη στους BC. Η τιμή "Saturation index" στην επιδερμίδα παρουσίασε αύξηση και στις 3 περιπτώσεις και η αύξηση αυτή ήταν μεγαλύτερη στους BD καρπούς και ακολουθούσαν με τη σειρά οι BG και BC. Στη σάρκα η τιμή της "Saturation index" παρέμεινε σχεδόν στα ίδια επίπεδα και στις 3 περιπτώσεις.

Όσον αφορά τους καρπούς LC, LE και LZ η μεγαλύτερη μείωση στην τιμή "L" σημειώθηκε στη σάρκα των LC καρπών ενώ στους LE διατηρήθηκε σε όλη τη διάρκεια της αποθηκευτικής ζωής τους, στα ίδια περίπου επίπεδα. Η τιμή "Hue angle" στην επιδερμίδα αυξανόταν λίγο στην αρχή της αποθηκευτικής ζωής και κατόπιν μειωνόταν, αλλά η τιμή κατά το τέλος της αποθήκευσης ήταν μεγαλύτερη αυτής που είχαν οι καρποί πριν μπουν στην αποθήκη. Η μικρότερη μείωση σημειώθηκε στους LZ καρπούς. Η τιμή "Saturation index" μειώθηκε και στις 3 περιπτώσεις. Η μείωση αυτή ήταν μεγαλύτερη στους LZ καρπούς όσον αφορά την επιδερμίδα και στους LC καρπούς όσον αφορά τη σάρκα.

Τέλος, οι καρποί BLC, BLE και BLZ παρουσίασαν ελαφρά αύξηση της τιμής "L" κατά την αποθήκευση που ήταν μεγαλύτερη στους BLZ καρπούς όσον αφορά την επιδερμίδα. Στη σάρκα και στις 3 περιπτώσεις μειώθηκε και η μείωση αυτή ήταν μεγαλύτερη στους μάρτυρες (BLC) και μικρότερη στους BLZ. Η τιμή "Hue angle" στην επιδερμίδα σημείωσε ελαφρά μείωση στους BLC καρπούς και αύξηση στους BLE και BLZ. Στη σάρκα και στις 3 περιπτώσεις μειώθηκε και η μείωση αυτή ήταν μεγαλύτερη στους μάρτυρες (BLC) και μικρότερη στους BLZ καρπούς. Η τιμή "Saturation index" δεν σημείωσε αξιοσημείωτη μεταβολή κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και στους καρπούς BLC, BLE και BLZ ούτε στην επιδερμίδα, ούτε στην σάρκα.

Πίνακας 5. Μεταβολή του χρώματος κατά την αποθήκευση βερικόνκων της ποικιλίας Harizayne
Επίδραση του Α0Α που χρησιμοποιήθηκε πριν ή μετά τη συλλογή των καρπών

Χρώμα	CUN (α)			SPA (α)			SPB (α)			C (α)			G (α)			D (α)		
	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
L	37.79	36.40	37.40	37.55	35.33	36.00	38.15	35.83	36.22	36.18	37.51	37.82	36.18	38.025	37.08	36.18	38.33	37.33
hue angle	46.68	43.33	48.89	45.74	45.03	43.87	49.85	46.03	45.92	45.04	44.79	47.18	45.04	48.05	44.90	45.04	46.82	45.71
Satur. index	26.24	25.40	23.76	23.39	23.74	22.73	22.41	23.66	22.45	22.21	24.99	23.61	22.21	24.32	23.62	22.21	24.77	22.81
L	49.53	44.43	46.12	50.41	45.85	46.45	50.26	43.97	45.17	49.06	45.71	46.57	49.06	47.39	47.27	49.06	47.33	47.75
hue angle	51.80	48.66	51.81	52.50	51.69	52.82	52.51	49.69	49.90	51.95	51.44	51.79	51.95	52.17	51.51	51.95	51.48	52.13
Satur. index	31.50	31.06	30.60	30.77	30.04	29.65	30.48	30.53	30.66	30.81	30.16	30.39	30.81	30.57	31.33	30.81	30.99	31.17

Πίνακας 5 (συνέχεια)

Χρώμα	BC (α)			BG (α)			BD (α)			IC (β)			IE (β)			IZ (β)		
	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
L	36.18	37.11	37.65	36.18	37.08	35.78	36.18	37.70	36.75	38.43	39.00	39.36	38.90	39.72	39.36	39.20	39.98	
hue angle	45.04	46.38	46.58	45.04	47.92	40.25	45.04	50.91	42.76	43.36	45.63	44.54	43.36	48.15	45.99	43.36	46.70	
Satur. index	22.21	23.45	23.89	22.21	22.28	24.02	22.21	22.87	24.27	26.63	25.67	26.47	26.63	25.10	25.72	26.63	25.45	
L	49.06	44.72	42.12	49.06	45.50	44.73	49.06	46.75	45.48	50.84	44.66	46.37	50.84	46.86	49.63	50.84	48.13	
hue angle	51.95	51.24	50.56	51.95	50.98	50.81	51.95	51.07	48.64	51.70	51.79	50.73	51.70	51.32	50.00	51.70	51.55	
Satur. index	30.81	30.98	30.85	30.81	30.49	30.32	30.81	29.65	29.21	32.49	31.09	31.00	32.49	30.64	31.46	32.49	31.42	

Πίνακας 5 (συνέχεια)

Χρώμα	BEC (β)			BLE (β)			BLZ (β)		
	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
L	39.36	40.02	38.76	39.36	37.06	39.80	39.36	38.08	40.30
hue angle	43.36	45.30	42.18	43.36	42.09	45.07	43.36	41.92	45.15
Satur. index	26.63	26.63	26.88	26.63	25.03	27.15	26.63	26.30	27.15
L	50.84	46.52	44.13	50.84	46.27	46.18	50.84	46.83	46.30
hue angle	51.70	49.92	49.28	51.70	49.55	49.19	51.70	49.66	50.19
Satur. index	32.49	31.97	31.07	32.49	31.64	32.41	32.49	32.18	31.83

- A Μετρήσεις πριν την τοποθέτηση των καρπών στην αποθήκη
- B Μετρήσεις κατά την πρώτη δειγματοληψία από την αποθήκη
- Γ Μετρήσεις κατά τη δεύτερη δειγματοληψία από την αποθήκη
- (α) Δειγματοληψίες μετά 0,13 και 21 ημέρες αποθήκευσης (Α, Β & Γ αντίστοιχα)
- (β) Δειγματοληψίες μετά 0,11 και 19 ημέρες αποθήκευσης (Α, Β & Γ αντίστοιχα)

2.1. . Έκλυση αιθυλενίου

Οι καμπύλες έκλυσης του αιθυλενίου από καρπούς που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας και 3 ημέρες μετά το στάδιο αυτό, πριν την τοποθέτησή τους στην αποθήκη, φαίνονται στο σχήμα 18. Είναι εμφανές ότι οι μάρτυρες των ψεκασμένων στα δένδρα με ΑΟΑ καρπών (CUN) έδειξαν έκλυση μεγαλύτερης ποσότητας αιθυλενίου από τους ψεκασμένους με ΑΟΑ 500 rpm (SPA) και αυτοί επίσης είχαν έκλυση μεγαλύτερης ποσότητας από τους ψεκασμένους με ΑΟΑ 1400 rpm (SPB). Η διαφορά στην εκλυόμενη ποσότητα αιθυλενίου μεταξύ SPA και SPB ήταν μικρότερη από αυτή μεταξύ CUN και SPA. Επίσης οι SPA και SPB καρποί καθυστέρησαν να αρχίσουν την έκλυση αιθυλενίου σε σύγκριση με τους CUN και μετά 8 ημέρες παραμονής τους σε θερμοκρασία δωματίου δεν φαίνεται να έχουν φθάσει στην κορυφή της καμπύλης έκλυσης του αιθυλενίου τους. Αντίθετα οι μάρτυρες για τους καρπούς που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας και δέχτηκαν επεμβάσεις μετά τη συλλογή (C), έφθασαν το μέγιστο μετά 7 ημέρες και η εκλυόμενη ποσότητα ήταν μεγαλύτερη των προηγούμενων περιπτώσεων. Επίσης, οι μάρτυρες για τους καρπούς που συγκομίστηκαν 3 ημέρες μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (LC), έφθασαν το μέγιστο (28.51μl/Kg.h) μετά περίπου 7 ημέρες και η εκλυόμενη ποσότητα αιθυλενίου ήταν μεγαλύτερη από όλες τις προηγούμενες περιπτώσεις (C, CUN, SPA και SPB).

Στα σχήματα 19, 20, 21 και 22 φαίνονται οι καμπύλες έκλυσης του αιθυλενίου από τους αποθηκευμένους καρπούς που βγήκαν σε διάφορα χρονικά διαστήματα από την αποθήκη και παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά τη στιγμή της εξαγωγής τους από την αποθήκη, οπότε οι καρποί διατηρούσαν ακόμη τη θερμοκρασία της αποθήκης, δεν ανιχνεύτηκε εκλυόμενο αιθυλένιο. Μετά πάροδο μερικών ωρών, που διαφέρουν ανάλογα με το χειρισμό, άρχισε η έκλυση του αιθυλενίου

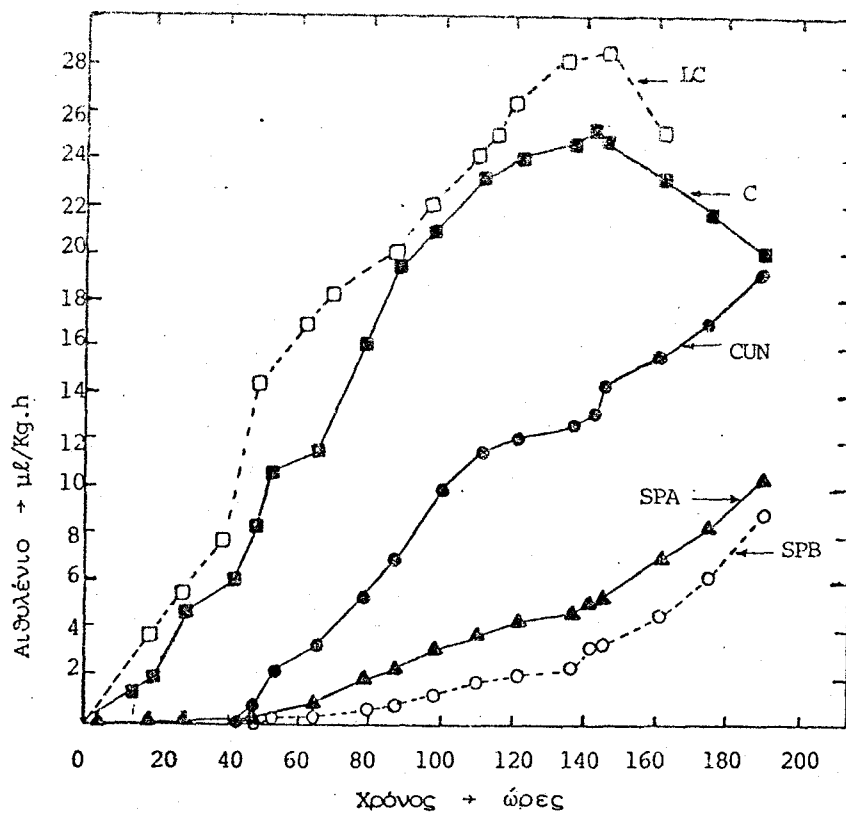
Όπως φαίνεται στο σχήμα 19Α, κατά την πρώτη δειγματοληψία από την αποθήκη, οι μάρτυρες άρχιζαν να εκλύουν αιθυλένιο αρκετά ενωρίτερα από τους ψεκασμένους στα δένδρα καρπούς. Επίσης η μέγιστη τιμή (57.05μl/Kg.h) που σημειώθηκε στους μάρτυρες (CUN), ήταν κατά πολύ μεγαλύτερη της μέγιστης τιμής που

μετρήθηκε στους SPA και SPB (27.83 και 20.01μl/Kg.h αντίστοιχα) καρπούς. Κατά την πρώτη δειγματοληψία επίσης οι καρποί που χειρίστηκαν με ΑΟΑ μετά τη συγκομιδή, παρουσίασαν μειωμένη έκλυση, αιθυλενίου και σχετική καθυστέρηση όσον αφορά το χρόνο έναρξης της έκλυσης, σε σύγκριση με τους μάρτυρες (σχήματα 20Α, 21Α, 22Α και 23Α). Κατά κανόνα οι χειρισθέντες με μεγαλύτερης συγκέντρωσης ΑΟΑ (2000 ppm), καθυστέρησαν και είχαν έκλυση μικρότερης ποσότητας αιθυλενίου από τους χειρισθέντες με μικρότερης συγκέντρωσης ΑΟΑ (1000 ppm). Οι ίδιες παρατηρήσεις έγιναν και κατά τη δεύτερη δειγματοληψία από την αποθήκη (σχήματα 20Β, 21Β, 22Β και 23Β) για τους καρπούς και των δύο αποθηκών.

Συγκρίνοντας τους καρπούς των δύο αποθηκών παρατηρήθηκε κατά την πρώτη δειγματοληψία ότι στην αποθήκη ΙΙ σημειώθηκε έκλυση μεγαλύτερης ποσότητας αιθυλενίου από την αποθήκη Ι. Η διαφορά ήταν πιο μεγάλη μεταξύ των καρπών LC, LE, LZ και BLC, BLE, BLZ αντίστοιχα (σχήματα 22Α και 23Α). Κατά τη δεύτερη δειγματοληψία από την αποθήκη παρατηρήθηκε το αντίθετο. Οι καρποί της αποθήκης Ι σημείωσαν έκλυση μεγαλύτερης ποσότητας αιθυλενίου από αυτούς της αποθήκης ΙΙ. Όσον αφορά τους καρπούς μέσα στην ίδια αποθήκη εκλύθηκε μεγαλύτερη ποσότητα αιθυλενίου από αυτούς που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (C, G, D και BC, BG, BD, σχήματα 20 και 21) σε σύγκριση με τους ακριβώς αντίστοιχους καρπούς που συγκομίστηκαν 3 ημέρες μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (LC, LE, LZ και BLC, BLE, BLZ, σχήματα 22 και 23).

Οι μέγιστες τιμές εκλυόμενης ποσότητας αιθυλενίου σημειώθηκαν για τους καρπούς LC, LE, LZ, BLC, BLE, BLZ, SPA, SPB και G κατά τη δεύτερη δειγματοληψία από την αποθήκη, ενώ για τους καρπούς C, D, BC, BG, BD και CUN κατά την πρώτη δειγματοληψία.

Μετρήσεις αιθυλενίου κάθε δεύτερη ημέρα σε καρπούς που παρέμειναν συνεχώς στην αποθήκη και δεν έβγαιναν έξω παρά μόνο κατά τη στιγμή της μέτρησης, έδειξαν μη ανιχνεύσιμη ποσότητα εκλυόμενου αιθυλενίου κάτω από τις συνθήκες μέτρησης.

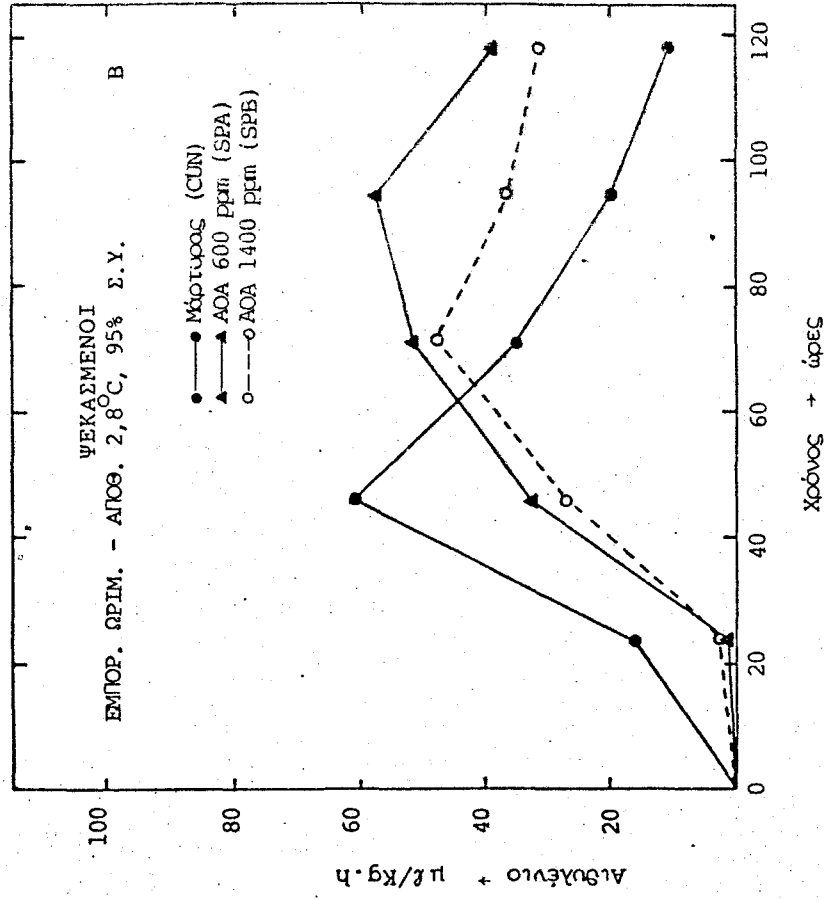
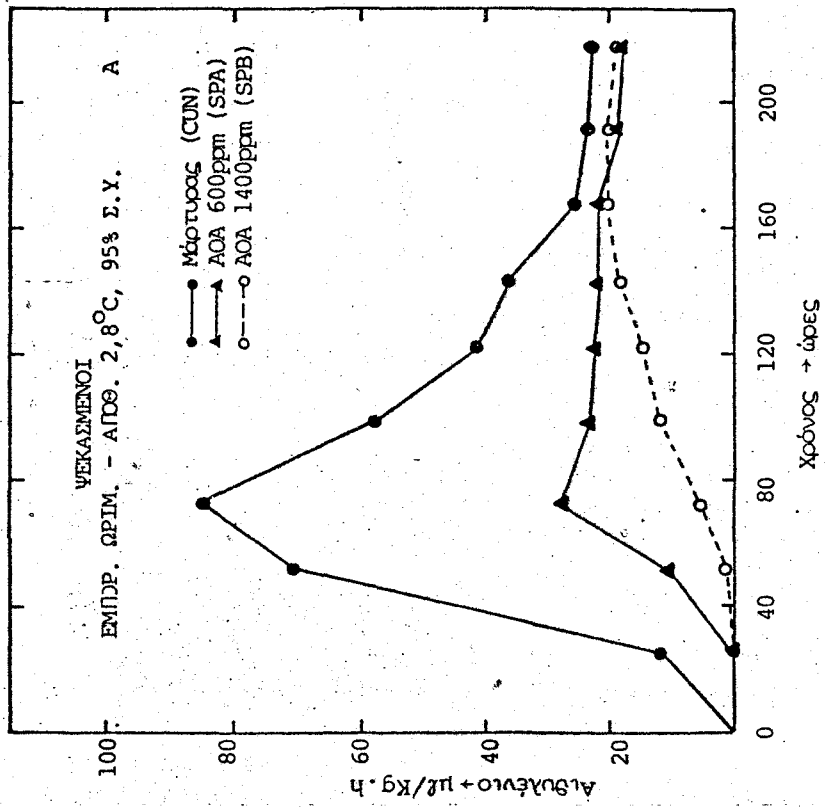


Σχήμα 18. Έκλυση αιθυλενίου από καρπούς της ποικιλίας Harlayne που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (C, CUN) και 3 ημέρες μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (IC) στους 21°C, πριν την τοποθέτησή τους στην αποθήκη. Επίδραση του ΑΟΑ που χρησιμοποιήθηκε πριν τη συλλογή στις συγκεντρώσεις των 600 (SPA) και 1400ppm (SPB).

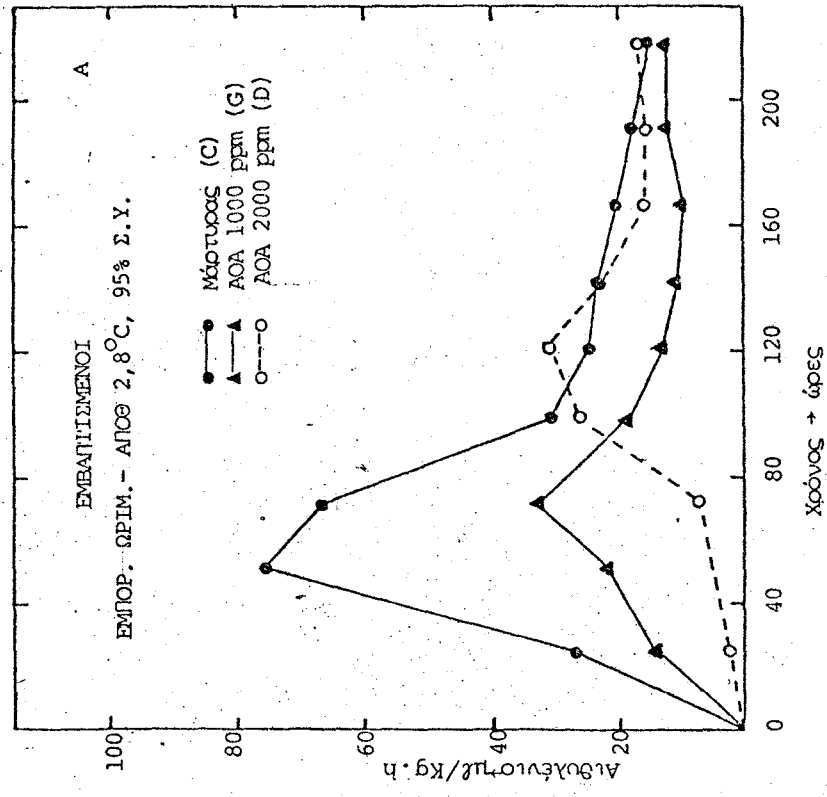
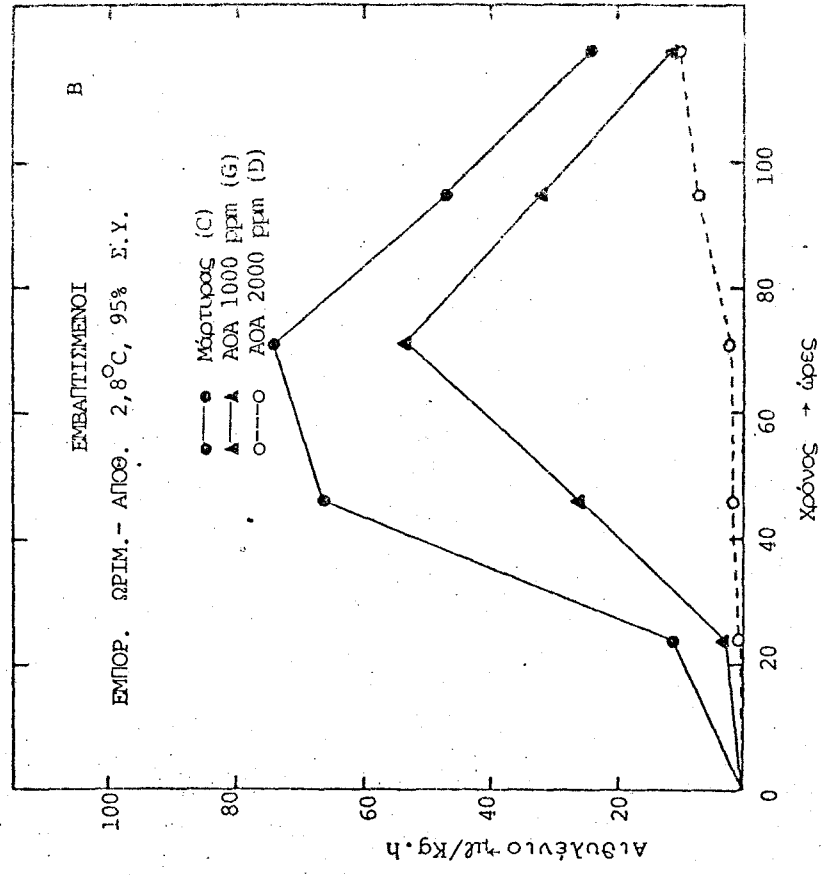
2.1.3. Μεταβολή της δραστηριότητας των ενζύμων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης

2.1.3.1. Πολυγαλακτουρονάση (PG)

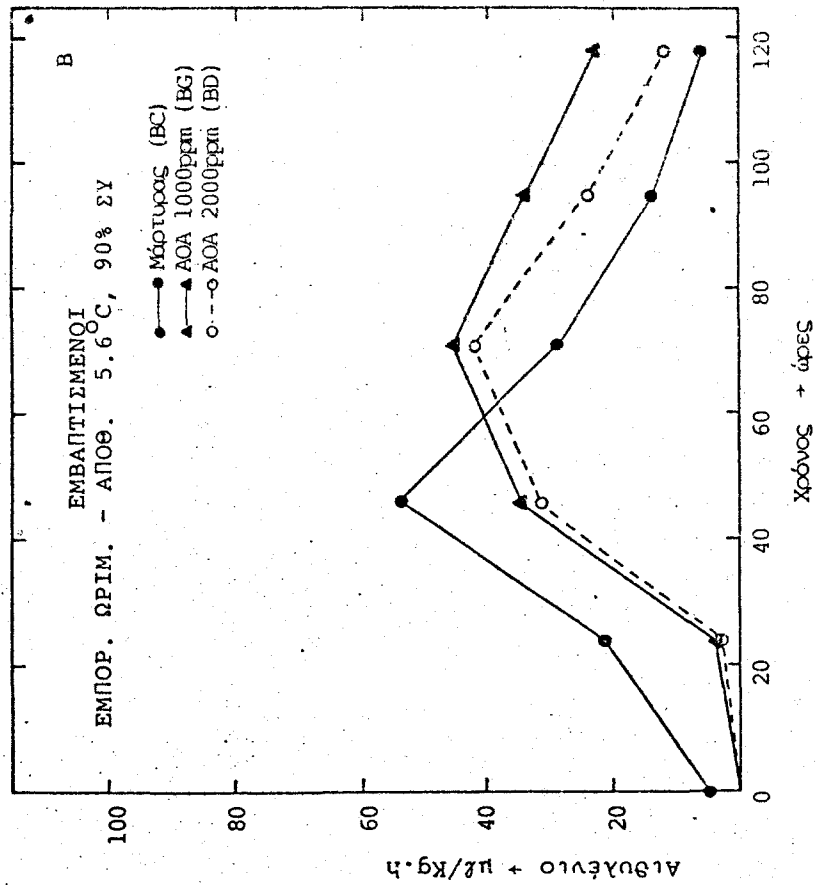
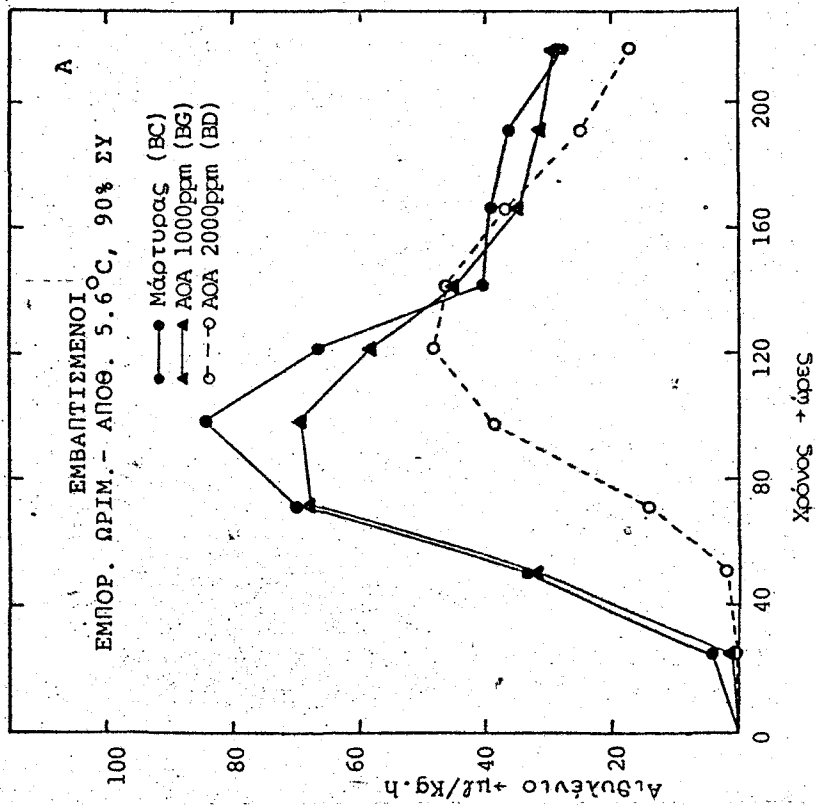
Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης η δραστηριότητα της πολυγαλακτουρονάσης αυξήθηκε σε όλες τις περιπτώσεις όπως φαίνεται στο σχήμα 24. Το σχήμα 24Α δείχνει ότι υπάρχει διαφορά στη δραστηριότητα της πολυγαλακτουρονάσης μεταξύ του μάρτυρα (CUN) και των ψεκασμένων επί των δέντρων καρπών (SPA και SPB). Συγκεκριμένα, σημειώθηκαν μεγαλύτερες τιμές στη δραστηριότητα



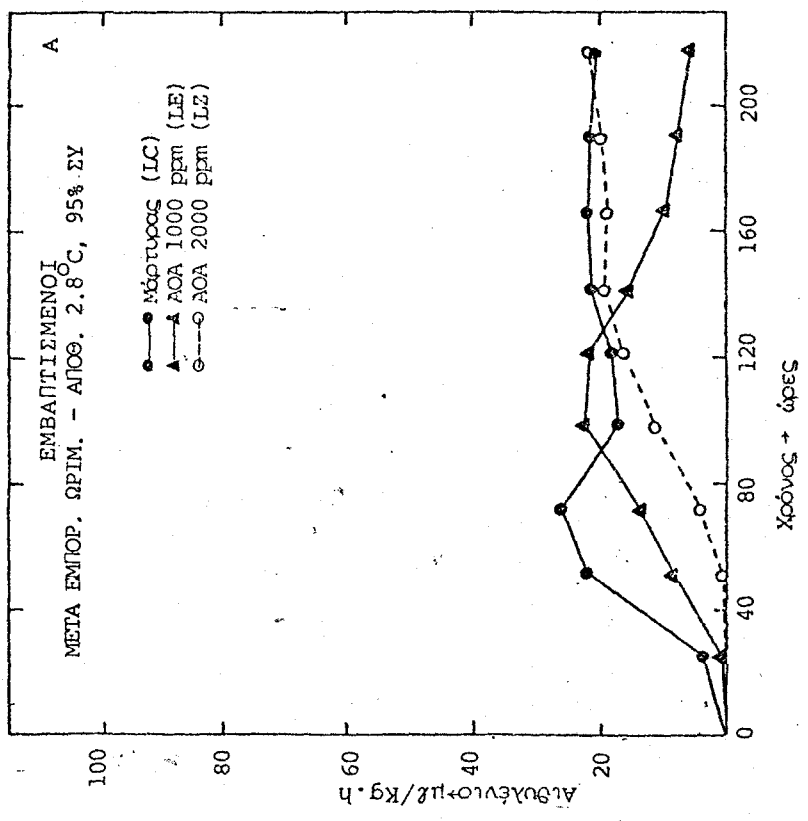
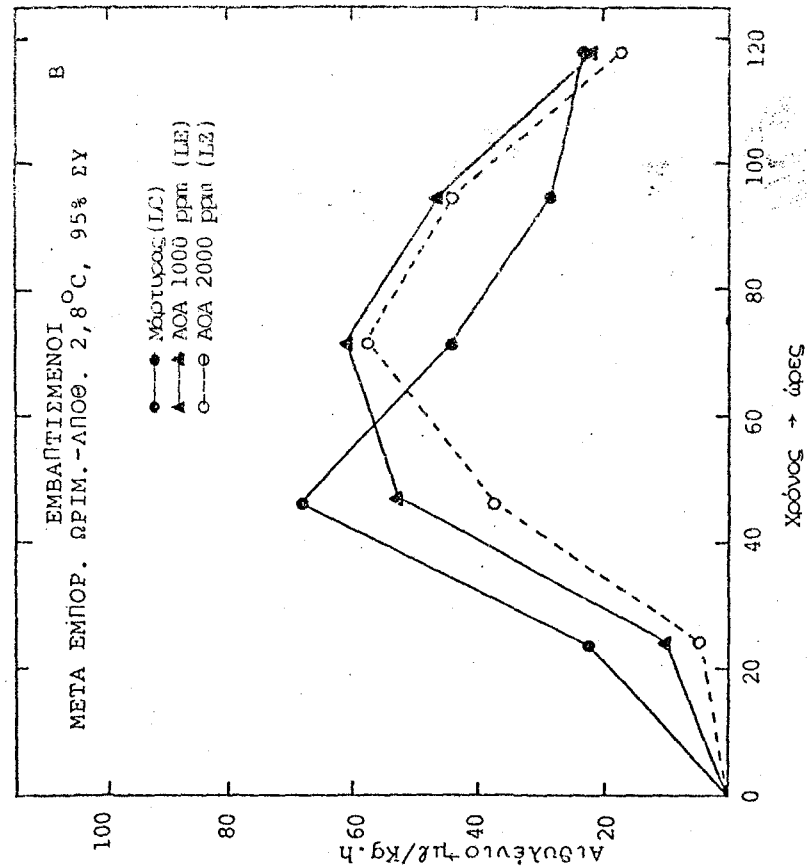
Σχήμα 19. Επίδραση του ΑΟΑ που χρησιμοποιήθηκε πριν τη συλλογή επί της έκλυσης αιθουλενίου στους 21°C από καρπούς της ποιιλίας Harlayne που συγκοιμήθηκαν στο στάδιο της εμπορικώς ωριμότητας μετά από Α.13 ημέρες αποθήκευσης και Β.21 ημέρες αποθήκευσης στην αποθήκη Ι.



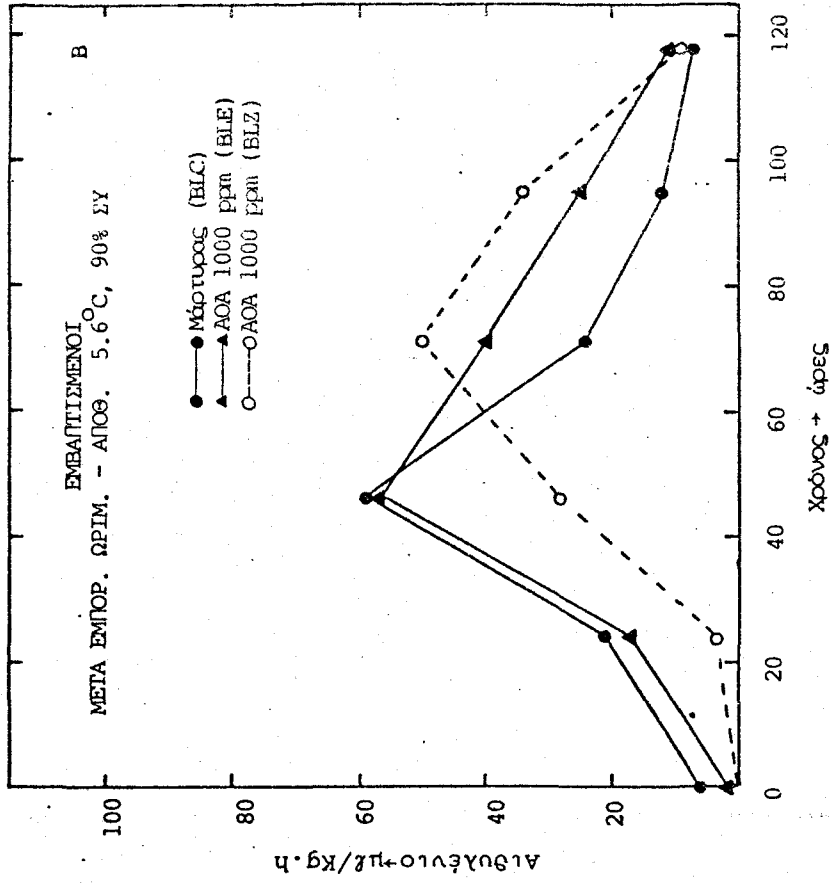
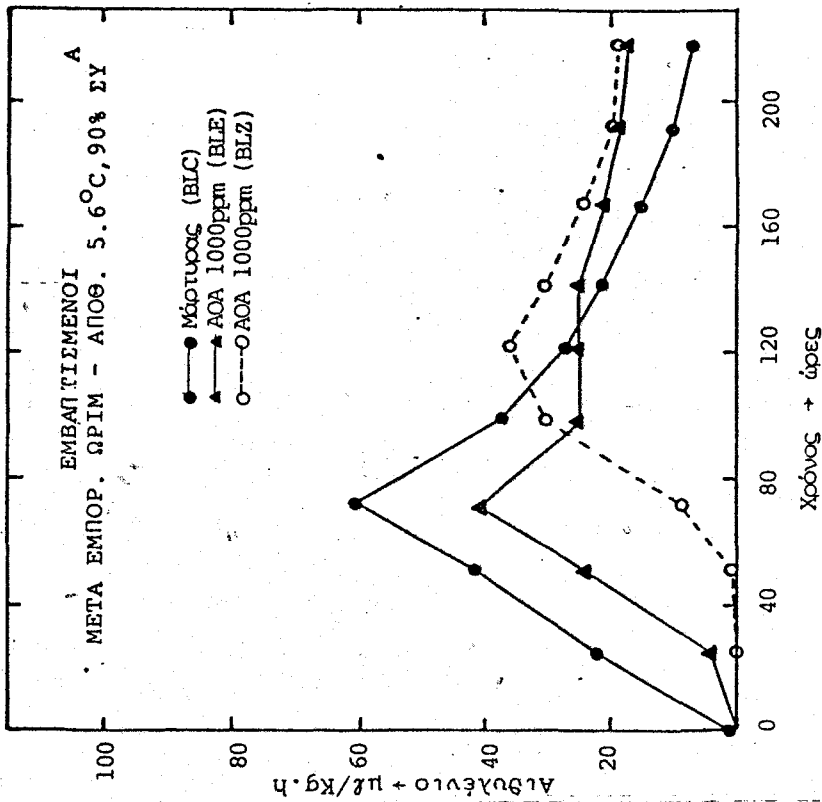
Σχήμα 20. Επίδραση του ΑΟΑ που χρησιμοποιήθηκε μετά τη συλλογή επί της έκλυσης αιθανίου στους 21°C, από καρπούς της ποικιλίας Haglaene, που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας, μετά από Α.13 ημέρες αποθήκευσης και Β.21 ημέρες αποθήκευσης στην αποθήκη Ι.



Σχήμα 21. Επίδραση του AOA που χρησιμοποιήθηκε μετά τη συλλογή επί της έκλυσης αιθαιλίου στους 21°C από καρπούς της ποικιλίας Haglayne, που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας, μετά από 4.13 ημέρες αποθήκευσης και 5.21 ημέρες αποθήκευσης στην αποθήκη II.



Σχήμα 22. Επίδραση του ΑΟΑ που χρησιμοποιήθηκε πριν τη συλλογή επί της έκλυσης αιθυλενίου στους 21°C, από καρπούς της ποικιλίας Haglaene που συγκομίστηκαν 3 ημέρες μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας, μετά από Α.11 ημέρες αποθήκευσης και Β.19 ημέρες αποθήκευσης στην αποθήκη Ι.



Σχήμα 23. Επίδραση του ΑΟΑ που χρησιμοποιήθηκε μετά τη συλλογή επί της έκλυσης αιθυλενίου στους 21°C, από καρπούς της ποικιλίας Haglayne που συγκομίστηκαν 3 ημέρες μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας, μετά από Α. 11 ημέρες αποθήκευσης και Β. 19 ημέρες αποθήκευσης στην αποθήκη ΙΙ.

του ενζύμου καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης στους καρπούς CUN με μέγιστη τιμή 4.91 E.U μετά από 27 ημέρες αποθήκευσης. Ακολουθούσαν οι καρποί SPA και τέλος οι SPB που σημείωσαν μέγιστη τιμή 4.34 E.U μετά από 30 ημέρες αποθήκευσης.

Στους καρπούς που χειρίστηκαν με ΑΟΑ μετά τη συγκομιδή δεν φαίνεται να ακολουθείται ο ίδιος όπως προηγουμένως κανόνας. Σε άλλες περιπτώσεις προηγούνται οι καρποί που χειρίστηκαν με ΑΟΑ 1000rpm, σε άλλες αυτοί που χειρίστηκαν με ΑΟΑ 2000 rpm και σε άλλες οι μάρτυρες (σχήμα 24). Εδώ επομένως, δεν υπήρξε σταθερή συμπεριφορά του ενζύμου έναντι του ΑΟΑ.

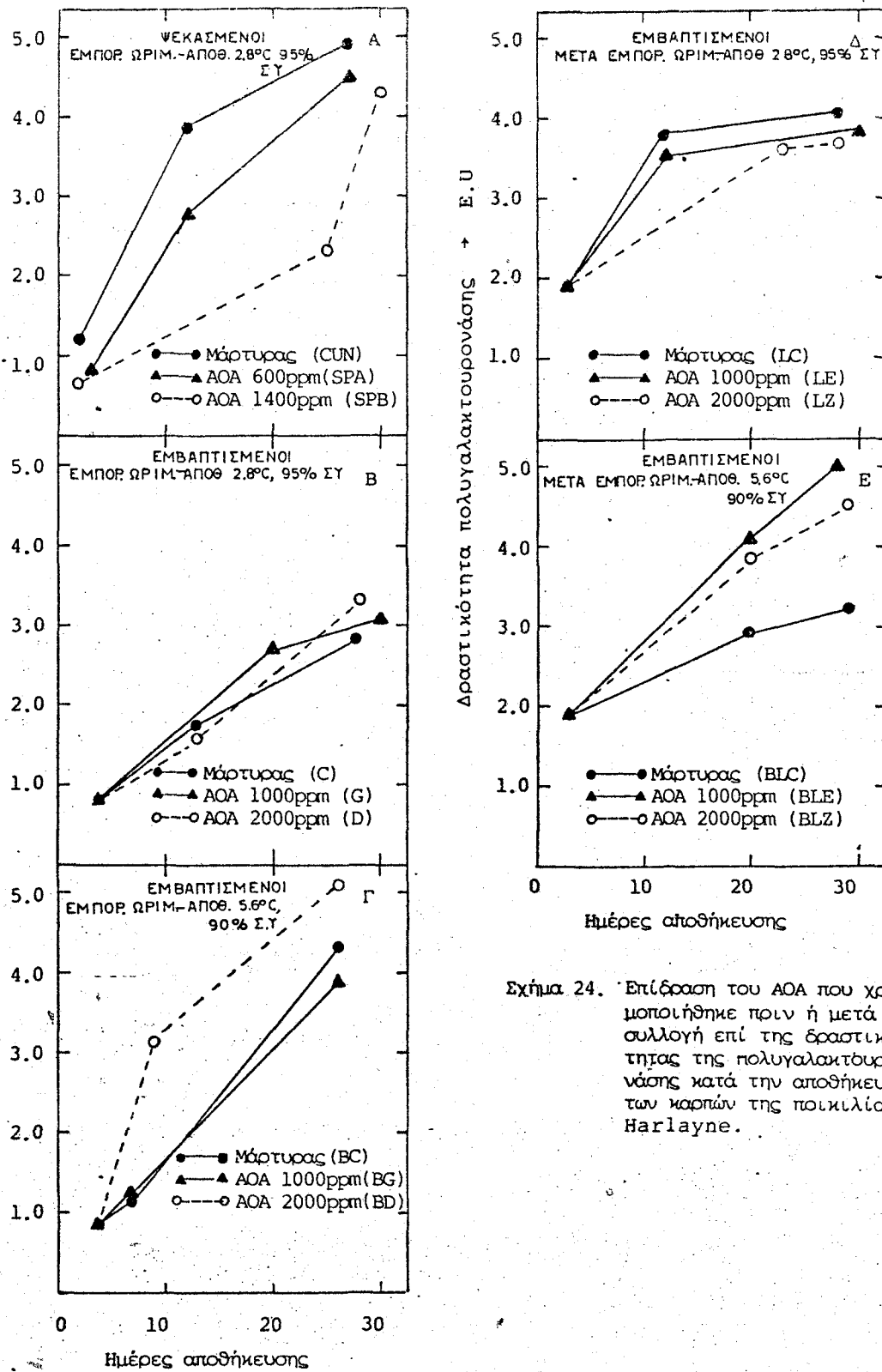
Πριν την τοποθέτησή τους στην αποθήκη οι καρποί που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (C, BC) είχαν χαμηλότερη δραστικότητα PG από αυτούς που συγκομίστηκαν 3 ημέρες μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (LC, BLC).

Η υπεροχή των LC έναντι των C όσον αφορά τη δραστικότητα του ενζύμου της PG, διατηρήθηκε σε όλη την αποθηκευτική ζωή των καρπών στην αποθήκη I πράγμα που δεν συνέβει με τους BLC έναντι των BC στην αποθήκη II.

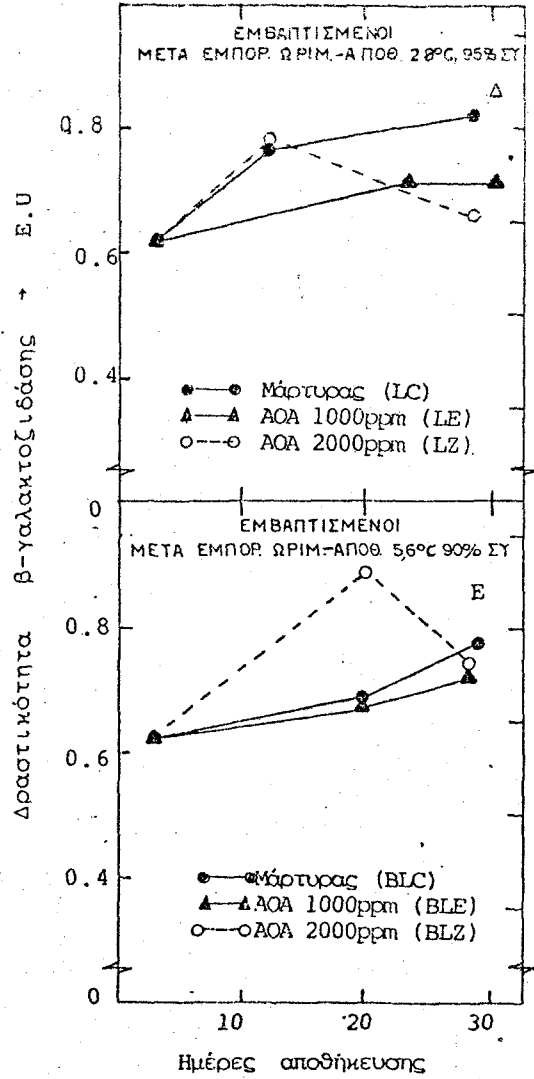
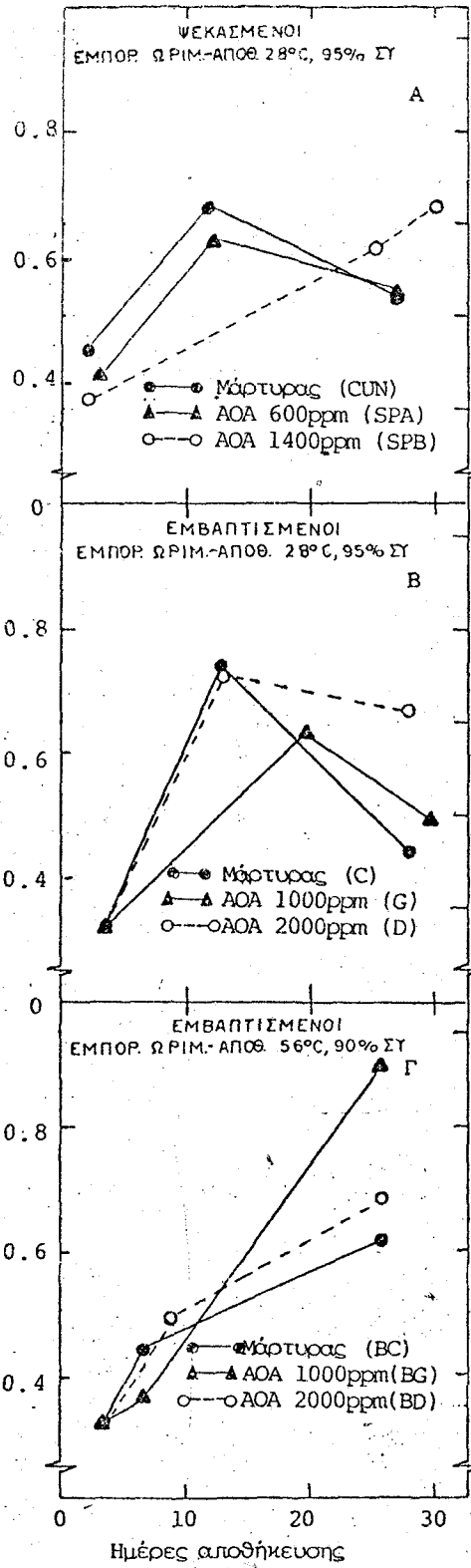
Γενικά οι τιμές της δραστικότητας της PG στην αποθήκη II ήσαν υψηλότερες από αυτές στην αποθήκη I. Η μέγιστη τιμή που σημειώθηκε ήταν 5.14 E.U στους καρπούς BD και η ελάχιστη 2.82 E.U στους καρπούς C κατά το τέλος της αποθηκευτικής ζωής.

2.1.3.2. β-Γαλακτοζιδάση

Όπως φαίνεται από το σχήμα 25, η δραστικότητα της β-γαλακτοζιδάσης κατά τις πρώτες 10 με 12 ημέρες αποθήκευσης αυξανόταν σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις και κατόπιν άρχισε να μειώνεται. Οι ψεκασμένοι επί των δέντρων καρποί (SPA και SPB), στην αρχή της αποθηκευτικής τους ζωής παρουσίασαν χαμηλότερη δραστικότητα ενζύμου σε σύγκριση με τους μάρτυρες (CUN) (σχήμα 25A) και μάλιστα οι ψεκασμένοι με μεγαλύτερης συγκέντρωσης ΑΟΑ (SPB) είχαν μικρότερη δραστικότητα σε σύγκριση με αυτούς που ψεκάστηκαν με μικρότερης συγκέντρωσης ΑΟΑ (SPA). Με την πρόοδο της αποθηκευτικής ζωής παρατηρήθηκε αύξηση μεγαλύτερη για τους CUN καρπούς και μικρότερη για τους SPA και κατόπιν μείωση περίπου στα ίδια επίπεδα.



Σχήμα 24. Επίδραση του ΑΟΑ που χρησιμοποιήθηκε πριν ή μετά τη συλλογή επί της δραστηρότητας της πολυγαλακτουράσης κατά την αποθήκευση των καρπών της ποικιλίας Harlayne.



Σχήμα 25. Επίδραση του ΑΟΑ που χρησιμοποιήθηκε πριν ή μετά τη συλλογή επί της δραστηριότητας της β-γαλακτοζιδάσης κατά την αποθήκευση των καρπών της ποικιλίας Harlayne.

Στους χειρισθέντες μετά τη συγκομιδή καρπούς (σχήμα 25B, Γ, Δ και Ε) δεν παρατηρήθηκε σταθερή συμπεριφορά του ενζύμου έναντι των χειρισμών.

Οι τιμές της δραστηριότητας της β-γαλακτοζιδάσης ήσαν χαμηλότερες στους καρπούς που συγκομίστηκαν στα στάδια της εμπορικής ωριμότητας (C, BC) σε σύγκριση με αυτούς που συγκομίστηκαν 3 ημέρες μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (LC, BLC). Η υπεροχή των LC έναντι των C στην αποθήκη I (σχήματα 25B και Δ) και των BLC έναντι των BC στην αποθήκη II (σχήματα 25Γ και Ε) διατηρήθηκε καθ'όλη τη διάρκεια της αποθηκευτικής ζωής.

Επίσης, συγκρίνοντας τους καρπούς στην αποθήκη I με τους αντίστοιχους στην αποθήκη II (τους C, G, D με τους BC, BG, BD και τους LC, LE, LZ με τους BLC, BLE, BLZ αντίστοιχα), παρατηρήθηκε ότι κατά το τέλος της αποθηκευτικής τους ζωής η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης κυμάνθηκε στα ίδια περίπου επίπεδα.

2.1.4. Οργανοληπτικό τέστ δοκιμαστών

Στον πίνακα 6 φαίνεται η συνολική και κατά χαρακτηριστικό μέση βαθμολογία σύμφωνα με το οργανοληπτικό τέστ δοκιμαστών. Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα τη μεγαλύτερη συνολική βαθμολογία συγκέντρωσαν οι καρποί LZ, δηλ. οι καρποί που συγκομίστηκαν 3 ημέρες μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας και εμβαπτίστηκαν σε AOA 2000rpm, μετά τη συγκομιδή. Επίσης οι ίδιοι καρποί πήραν τη μεγαλύτερη μέση βαθμολογία στα περισσότερα από τα χαρακτηριστικά που ζητήθηκε να βαθμολογηθούν. Κατά το τέλος της αποθηκευτικής ζωής οι καρποί που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας υστερούσαν όσον αφορά την αποδοχή τους από τον καταναλωτή, σε σύγκριση με αυτούς που συγκομίστηκαν αργότερα. Καλλίτεροι επίσης ήταν οι καρποί που συντηρήθηκαν στην αποθήκη I, σε σύγκριση με αυτούς, στην αποθήκη II. Τέλος οι καρποί που χειρίστηκαν μετά τη συγκομιδή, συγκέντρωσαν λίγο υψηλότερη βαθμολογία σε σύγκριση με τους μάρτυρες (πίνακας 6).

2.2. Ποικιλία Μπεμπέκου

2.2.1. Μεταβολή των διαφόρων παραμέτρων ποιότητας και ενζύμων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης

Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης βερικόκκων της ποικι-

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Αποτελέσματα οργανοληπτικής εξέτασης βερικόκκων της ποικιλίας Harlayne κατά το τέλος της αποθηκευτικής τους ζωής. (\bar{X} , μέσοι όροι 14 τιμών και S, τυπική απόκλιση).

Δείγμα	Εμφάνιση		Χρώμα		Υφή		Ξυλό		Γλυκύτητα		Καθολική αποδοχή	
	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S
C	6.4	1.45	5.9	1.82	7.2	1.25	6.4	1.09	6.9	1.07	6.5	1.16
G	6.6	1.28	5.8	1.67	7.3	1.14	6.7	1.14	6.5	0.94	6.9	1.14
D	6.4	1.55	5.9	1.54	7.6	1.09	6.6	1.01	6.4	1.09	6.9	0.83
LC	8.1	1.00	8.0	1.11	8.3	0.83	7.8	1.19	8.5	0.65	8.0	1.04
LE	8.4	0.76	8.3	0.73	8.3	0.83	8.1	0.92	8.0	0.88	8.4	0.76
LZ	8.7	0.47	8.7	0.61	8.5	0.65	8.2	0.89	8.0	1.03	8.5	0.65
BLC	6.8	1.48	7.1	1.44	6.5	1.56	8.0	0.78	7.8	0.89	7.3	1.14
BLE	6.7	1.27	7.4	1.60	6.6	1.28	7.9	0.73	7.6	1.02	7.6	1.22
BLZ	6.8	0.80	7.4	1.40	6.6	1.08	7.6	1.09	7.7	0.99	7.6	1.08

λίας Μπεμπέκου μελετήθηκαν οι μεταβολές της συνεκτικότητας, συνολικών διαλυτών στερεών, οξύτητας, pH, χρώματος και ενζύμων (πολυγαλακτουρονάση και β-γαλακτοζιδάση). Οι μετρήσεις έγιναν και εδώ πριν την τοποθέτηση των καρπών στην αποθήκη, και σε διάφορα χρονικά διαστήματα αποθήκευσης όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο "ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ".

Οι μεταβολές των παραπάνω παραμέτρων ποιότητας ξαθώς και των ενζύμων φαίνονται στου πίνακες 7 και 8 (α και β).

Είναι φανερό (πίνακες 7 και 8) ότι και στην Ελληνική ποικιλία Μπεμπέκου οι ψεκασμένοι στα δέντρα καρποί (M6Ψ, MSA και MSB, LMSA και LMSB) είναι πίο συνεκτικοί από τους αντίστοιχους τους μάρτυρες (M6M, MM, LMM) και μάλιστα οι ψεκασμένοι με μεγαλύτερη συγκέντρωση ΑΟΑ ήταν πίο συνεκτικοί από τους ψεκασμένους με μικρότερη και κατά τη διάρκεια και κατά το τέλος της αποθηκευτικής τους ζωής, έχουν ελαφρά ελαττωμένα ή σχεδόν ίσα συνολικά διαλυτά στερεά, ελαφρά αυξημένη οξύτητα και ελαφρά ελαττωμένο pH. Και οι εμβαπτισμένοι καρποί σε ΑΟΑ 2000 ppm (ME και LME) παρουσίασαν παρόμοια συμπεριφορά με τους ψεκασμένους σε σχέση με τους μάρτυρες (MM και LMM αντίστοιχα), η τιμή όμως της συνεκτικότητάς τους κατά το τέλος της αποθηκευτικής τους ζωής ήταν αρκετά μικρότερη αυτής των ψεκασμένων καρπών σε όλες τις περιπτώσεις.

Όσον αφορά το χρώμα κατά την αποθήκευση παρατηρήθηκε πτώση των τιμών "L" και "Hue angle" και αύξηση της "Saturation index". Η πτώση των τιμών "L" και "Hue angle" ήταν μεγαλύτερη στους ψεκασμένους καρπούς και περισσότερο σ' αυτούς που ψεκάστηκαν με μεγαλύτερη συγκέντρωση ΑΟΑ (MSB και LMSB) και στην επιδερμίδα και στη σάρκα, σε σύγκριση με τους μάρτυρες (πίνακες 7 και 8). Η αύξηση της τιμής "Saturation index" ήταν επίσης μεγαλύτερη στους ψεκασμένους καρπούς και στις περισσότερες των περιπτώσεων στους καρπούς εκείνους που ψεκάστηκαν με μεγαλύτερη συγκέντρωση ΑΟΑ (πίνακες 7 και 8α). Στους καρπούς που συγκομίστηκαν 8 ημέρες μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας η τιμή "Saturation index" στη σάρκα μειώθηκε ελάχιστα (πίνακας 8β).

Η πολυγαλακτουρονάση από τα ένζυμα που μελετήθηκαν παρουσίασε και εδώ αύξηση σε όλη τη διάρκεια της αποθηκευτικής ζωής. Στις 12 ημέρες αποθήκευσης η δραστηκότητά της ήταν μεγαλύτερη

Πίνακας 7. Μεταβολή της συνεκτικότητας, συνολικών διαλυτών στερεών, οξύτητας, pH, χρώματος και ενζύμων κατά την αποθήκευση βερικόκκων της ποικιλίας Μπεμπέκου 1984 (στάδιο ωριμότητας 6). Επίδραση του AVG, που χρησιμοποιήθηκε στη συγκέντρωση των 600 ppm πριν τη συλλογή

Παράμετροι ποιότητας	M6M			M6Ψ		
	A(1)	B	Γ	A	B	Γ
Συνεκτικότητα	3.45	1.38	0.00	4.79	3.13	1.5
Συνολικά διαλυτά στερεά	12.63	14.23	15.10	11.40	13.05	15.67
Οξύτητα	1.39	0.89	0.79	1.41	1.13	1.07
pH	3.75	4.10	4.30	3.72	3.95	4.10
L	47.48	46.10	44.77	51.23	46.57	45.43
Hue angle	54.01	45.25	44.29	75.28	54.95	48.04
Saturation index	29.29	29.60	33.12	26.21	25.67	30.94
L	52.48	52.20	46.77	59.50	51.97	49.00
Hue angle	59.65	63.67	47.97	91.97	71.37	53.28
Saturation index	38.25	42.51	39.81	31.69	35.06	39.04
Πολυγαλακτουρονάση	2.31	2.47	2.59	2.17	2.25	2.56
β-Γαλακτοζιδάση	0.90	1.03	0.86	0.67	0.78	0.94

- (1) A. 0 ημέρες αποθήκευσης
- B 12 ημέρες αποθήκευσης
- Γ 23 ημέρες αποθήκευσης

Πίνακας 8α. Μεταβολή της συνεκτικότητας, συνολικών διαλυτών στερεών, οξύτητας, pH και χρώματος κατά την αποθήκευση βερικόνων της ποικιλίας Μπεμπέκου 1986, που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας. Επίδραση του ΑΟΑ που χρησιμοποιήθηκε πριν [500(MSA) και 1400ppm] ή μετά [2000ppm (Με)] τη σάλλογ

Παράμετροι ποιότητας	MM			MSA			MSB			ME		
	A(I)	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
	Συνεκτικότητα	9.00	4.00	2.63	9.28	6.20	3.29	9.74	7.00	5.56	9.00	6.80
Συνολικά διαλυτά στερεά	12.00	13.00	14.80	11.50	12.90	14.80	11.30	12.70	14.50	12.00	13.10	14.90
Οξύτητα	1.25	0.91	0.60	1.27	1.05	0.72	1.30	1.10	0.75	1.25	1.12	0.78
pH	3.72	3.92	4.25	3.72	3.95	4.20	3.66	3.80	4.20	3.72	3.86	4.22
L	48.23	47.01	44.92	50.95	46.27	45.06	52.91	46.98	45.38	48.23	47.00	45.56
Hue angle	55.68	46.39	45.05	71.22	54.87	47.08	73.45	56.45	48.22	54.01	47.47	45.34
Saturation index	28.25	29.19	31.39	25.46	27.86	32.26	25.00	25.50	29.93	29.29	36.69	31.61
L	53.18	47.01	45.12	56.22	49.15	46.92	60.15	49.51	47.16	53.18	47.51	46.15
Hue angle	62.03	60.97	50.39	80.96	68.64	50.75	91.15	71.07	53.15	59.65	52.41	48.52
Saturation index	36.50	41.32	40.27	32.81	36.99	39.74	31.98	34.72	38.89	38.25	39.35	39.51

(I) A. 0 ημέρες αποθήκευσης

B. 10 ημέρες αποθήκευσης

Γ. 25 ημέρες αποθήκευσης

Πίνακας 8β. Μεταβολή της συνεκτικότητας, συνολικών διαλυτών στερεών, οξύτητας, PH και χρώματος, κατά την αποθήκευση βερικόντων της ποικιλίας Μπεπέκου 1986 που συγκομίστηκαν 8 ημέρες μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας. Επίδραση του ΑΟΑ που χρησιμοποιήθηκε (LMSA και LMSB) ή μετά (LME) τη συλλογή.

Παράμετροι ποιότητας	LMM		LMSA		LMSB		LME	
	A (II)	B	A	B	A	B	A	B
Συνεκτικότητα	0.50	0.00	1.00	0.40	1.60	0.60	0.50	0.20
Συνολικά διαλυτά στερεά	15.00	17.50	12.50	16.90	12.30	16.60	15.00	16.60
Οξύτητα	1.05	0.69	1.10	0.71	1.12	0.72	1.05	0.72
PH	3.85	4.20	3.82	4.10	3.80	4.20	3.85	4.10
L	49.48	46.07	51.25	48.52	53.22	49.68	49.48	48.35
Hue angle	52.42	47.15	66.94	53.24	74.82	59.15	52.42	50.94
Saturation index	29.54	33.10	27.00	31.10	26.62	28.80	29.54	31.25
L	53.58	48.87	54.96	50.08	56.65	50.92	53.58	48.57
Hue angle	63.78	51.13	76.39	58.50	84.98	67.48	63.78	60.26
Saturation index	39.44	40.14	34.72	37.54	33.02	36.02	39.44	39.07

(II) A. 0 ημέρες αποθήκευσης
B. 16 ημέρες αποθήκευσης

στους μάρτυρες M6M (πίνακας 7) σε σύγκριση με τους ψεκασμένους καρπούς (M6Ψ), ενώ στο τέλος της αποθηκευτικής ζωής έφθασε σχεδόν στα ίδια επίπεδα. Η β-γαλακτοζιδάση στους μάρτυρες (M6M) παρουσίασε αύξηση στη δραστηριότητα της κατά τις 12 πρώτες ημέρες της αποθήκευσης μέχρι ένα μέγιστο (1.03 E.U.) και κατόπιν μείωση, ενώ στους ψεκασμένους καρπούς (M6Ψ) παρουσίασε συνεχή αύξηση μέχρι το τέλος της αποθηκευτικής ζωής (πίνακας 7). Η συμπεριφορά των ενζύμων ήταν παρόμοια με αυτή της ποικιλίας Harlayne.

3. Διαχωρισμός και προσδιορισμός των ενζύμων *

Μελετήθηκε το ένζυμο της πολυγαλακτουρονάσης στην ποικιλία Μπεμπέκου, όπου παρουσίασε τη μεγαλύτερη δραστηριότητα σε σύγκριση με τα Πρώιμα Τίρυνθας, και το ένζυμο της β-γαλακτοζιδάσης στην ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας όπου παρατηρήθηκε μεγαλύτερη δραστηριότητα σε σύγκριση με τα Μπεμπέκου. Για την πολυγαλακτουρονάση (PG) μελετήθηκαν τα στάδια 1,4 και 7 και για τη β-γαλακτοζιδάση (G) τα στάδια 1,3 και 7 όπου οι δύο μέγιστες και μία ελάχιστη τιμή δραστηριότητας ενζύμου παρατηρήθηκαν.

3.1. Πολυγαλακτουρονάση (PG)

3.1.1. Διαχωρισμός της PG στο στάδιο 1

Στο σχήμα 26 φαίνεται η δραστηριότητα της πολυγαλακτουρονάσης στα διάφορα κλάσματα (30 στον αριθμό), 20ml το καθένα που λήφθηκαν με χρωματογραφία επί στήλης Sephadex G-100, 5x50 cm ενζυμικού εκχυλίσματος καρπών βερικόκκων του σταδίου 1 και χρησιμοποιώντας σαν υγρό έκλουσης 0.15M NaCl. Επίσης, φαίνεται και η απορρόφηση που παρουσιάζουν τα παραπάνω κλάσματα στα 280 nm (A280). Η δραστηριότητα του ενζύμου, άρχισε να εμφανίζεται αφού πέρασαν από τη στήλη 200 ml του υγρού έκλουσης (10^ο κλάσμα) και συνεχίστηκε μέχρι τα 600 ml (30^ο κλάσμα). Παρατηρήθηκαν δύο μέγιστα, το πρώτο στο 13^ο κλάσμα και το δεύτερο στο 23^ο. Η δραστηριότητα στο 23^ο κλάσμα ήταν 5 φορές μεγαλύτερη αυτής του 13^{ου}.

Ο διαχωρισμός επομένως του ενζύμου της πολυγαλακτουρονάσης (PG) σε δύο μορφές τις PG-I και PG-II, που ονομάστηκαν έτσι σύμφωνα με τη σειρά που εξέρχονται από τη στήλη, σε καρ-

* Στη διάκριση των μορφών PG-I και PG-II για την πολυγαλακτουρονάση και των μορφών G-I, G-II, G-III για τη β-γαλακτοζιδάση έχουμε ακολουθήσει την ορολογία που ακολουθεί ο Pressey 1973a, με επιφύλαξη ως προς την αριβεία.

πούς του σταδίου 1 της ποικιλίας Μπεμπέκου είναι σαφής.

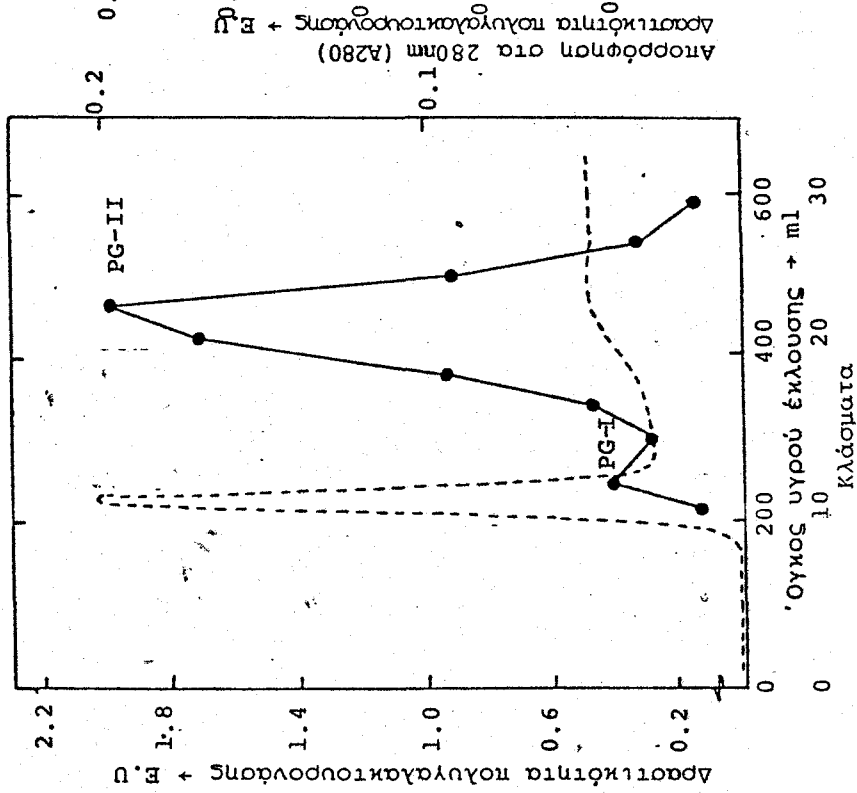
3.1.2. Διαχωρισμός της PG στο στάδιο 4

Όπως φαίνεται στο σχήμα 27, η δραστηκότητα της PG στα διάφορα κλάσματα, που λήφθηκαν με χρωματογραφία στήλης κάτω από τις ίδιες ακριβώς συνθήκες όπως και στο στάδιο 1 άρχισε να εμφανίζεται στο 11^ο κλάσμα και μετρήθηκε μέχρι το 27^ο. Η μέγιστη δραστηκότητα μετρήθηκε αφού πέρασαν 420 ml του υγρού έκλουσης από τη στήλη (21^ο κλάσμα) και αντιστοιχεί στο συνολικό ένζυμο της PG. Παραπέρα διαχωρισμός με χρήση στήλης μεγαλύτερου μήκους δεν ήταν δυνατός λόγω της χαμηλής δραστηκότητας του ενζύμου. Επίσης στο σχήμα 27 φαίνεται και το πρωτεϊνικό προφίλ των παραπάνω κλασμάτων (απορρόφηση στα 280 nm). Η πρωτεΐνη των κλασμάτων αυτών είναι πολύ λίγη συγκρινόμενη με αυτή του σταδίου 1 (σχήμα 26).

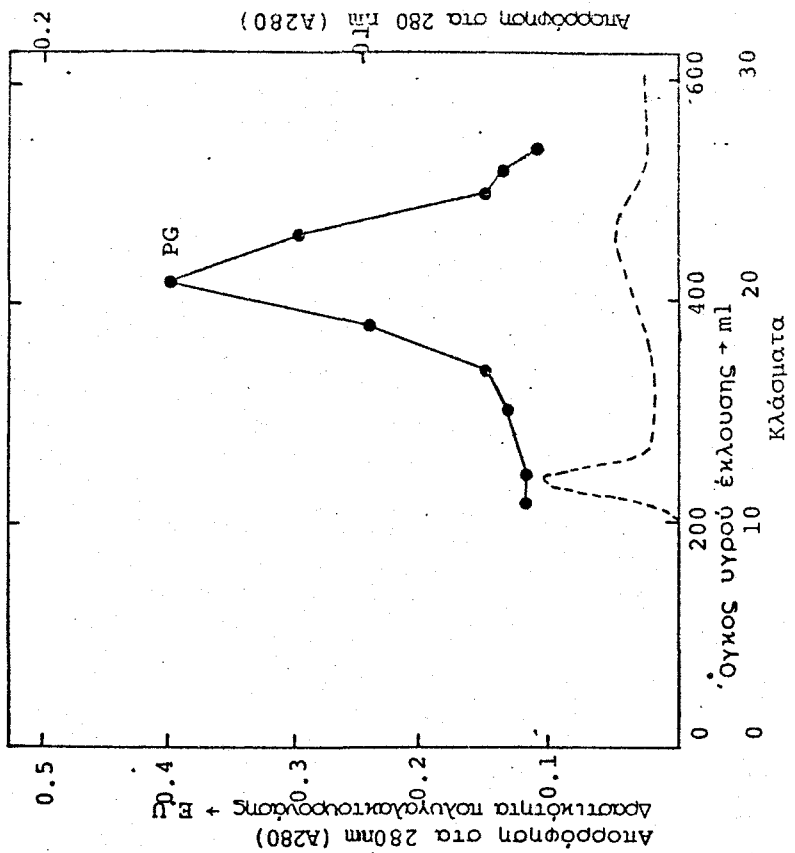
3.1.3. Διαχωρισμός της PG στο στάδιο 7

Σ' αυτό το στάδιο, ο διαχωρισμός επιτεύχθηκε με τη χρήση δύο χρωματογραφιών στήλης, της πρώτης σε στήλη Sephadex G-100, 5x50 cm και της δεύτερης σε Sephadex G-100, 2.5x90cm χρησιμοποιώντας το ίδιο όπως προηγουμένως υγρό έκλουσης. Στο σχήμα 28α, φαίνεται η δραστηκότητα της PG στα διάφορα κλάσματα από την πρώτη χρωματογραφία. Η δραστηκότητα του ενζύμου άρχισε να εμφανίζεται στο 11^ο κλάσμα μέχρι το 29^ο, ενώ η μέγιστη τιμή μετρήθηκε στο 17^ο, αφού δηλ 340 ml του υγρού έκλουσης είχαν περάσει από τη στήλη. Το σχήμα 28β δείχνει τη δραστηκότητα της PG στα διάφορα κλάσματα από τη δεύτερη χρωματογραφία. Δύο μέγιστες τιμές μετρήθηκαν, η πρώτη στο 15^ο κλάσμα και η δεύτερη στο 25^ο (300 και 500 ml του υγρού έκλουσης), που αντιστοιχούν στις δύο μορφές της πολυγαλακτουρονάσης, τις PG-I και PG-II.

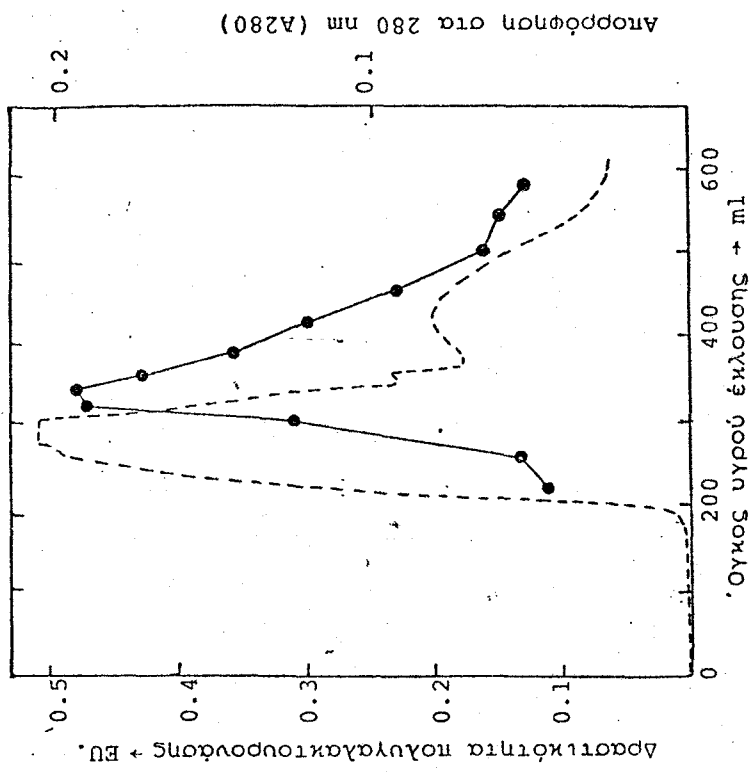
Επίσης, στα σχήματα 28α και 28β φαίνεται και το πρωτεϊνικό προφίλ των κλασμάτων της πρώτης και δεύτερης χρωματογραφίας αντίστοιχα. Η πρωτεΐνη αυτή είναι πολύ περισσότερη από αυτή των κλασμάτων του σταδίου 4.



Σχήμα 26...Χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex G-100 του ενζυμ. εκχυλίσματος βερι- κόκκων σταδίου 1. Ποικιλία Μπεμπέκου. Στήλη 5x50cm. Όγκος κλάσματος 20 ml. Υγρό έκλουσης 0.15M NaCl. Όγκος δείγματος 2 ml. ---Πρωτεΐνη (A280), ●—● Δραστηκότητα PG.

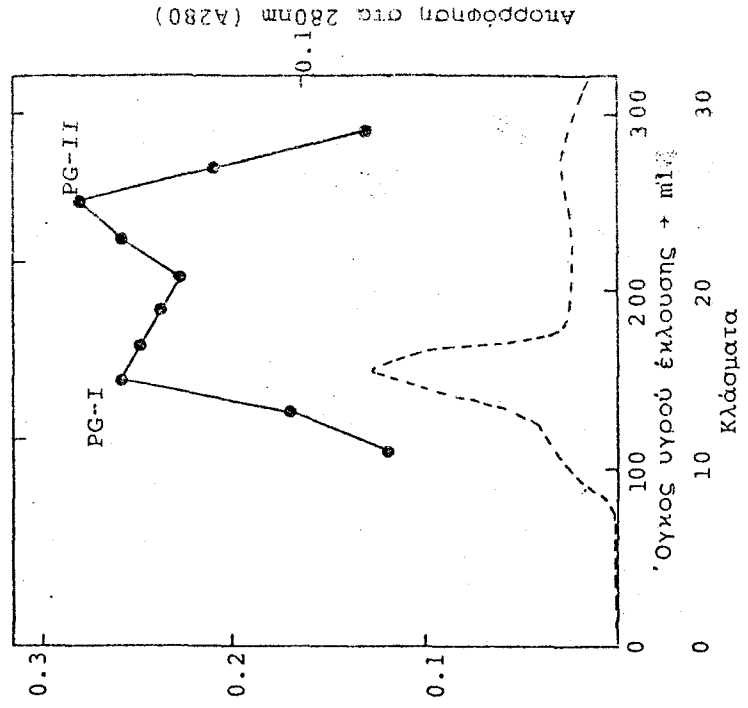


Σχήμα 27. Χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex G-100 του ενζυμ. εκχυλίσματος βερικόκκων σταδίου 4. Ποικιλία Μπεμπέκου. Στήλη 5x50cm. Όγκος κλάσματος 20ml. Υγρό έκλουσης 0.15M NaCl. Όγκος δείγματος 25ml. ---Πρωτεΐνη (A280), ●—● Δραστηκότητα PG.



Σχήμα 28α. Πρώτη χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex G-100 του ενζύμ. εκχυλίσματος βερικόνων του σταδίου 7. Ποικιλία Μπεμπέκου. Στήλη 5x50cm. Όγκος κλάσματος 20ml. Υγρό έκλυσης 0.15M NaCl. Όγκος δείγματος 25ml. ---Πρωτεύνη (A280), ● Δραστηκότητα PG.

Δραστηκότητα πολυαλακτινουράκης + E.U.



Σχήμα 28β. Δεύτερη χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex G-100 του συμπυκνώματος των κλάσματος των (15-24) από την πρώτη χρωματογραφία (σχήμα 28α). Στήλη 2.5x90cm. Όγκος δείγματος 5-7ml. Όγκος κλάσματος 10ml. Υγρό έκλυσης 0.15M NaCl. ---Πρωτεύνη (A280), ● Δραστηκότητα PG.

Απορρόφηση στα 280nm (A280)

3.1.4. Προσδιορισμός των μορφών PG-I και PG-II

Για τον προσδιορισμό των ισοενζύμων της πολυγαλακτουρονάσης χρησιμοποιήθηκε το τεστ της αλκοόλης, όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 3.6.5 του κεφαλαίου "ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ"

Στον πίνακα 9 φαίνονται οι δραστηκότητες και ποσοστά ενζυμ. δραστηκότητας της PG-I και PG-II για τα στάδια 1 και 7 και της συνολικής PG για το στάδιο 4, τόσο στο αλκοολικό υπερκείμενο υγρό (υδρολυμένο) όσο και στο αραιωμένο ίζημα (μη υδρολυμένο υπόστρωμα).

Πίνακας 9. Δραστηκότητα (E.U) των PG-I, PG-II και PG στο αλκοολικό υπερκείμενο υγρό και το αραιωμένο ίζημα

Ενζυ- μα	Στάδιο 1		Στάδιο 4		Στάδιο 7	
	Υπερκεί- μενο υγρό	Ίζημα	Υπερκεί- μενο υγρό	Ίζημα	Υπερκεί- μενο υγρό	Ίζημα
PG-I	0.56 (71.59)*	0.22 (28.21)	- -	- -	0.77 (66.67)	0.38 (33.32)
PG-II	7.83 (86.29)	1.24 (13.71)	- -	- -	0.99 (68.90)	0.45 (31.10)
PG	- -	- -	2.19 (81.11)	0.51 (18.89)	- -	- -

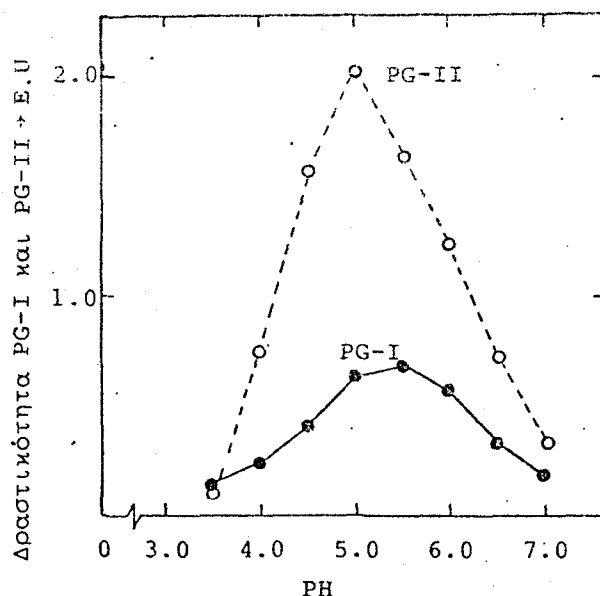
*Οι τιμές σε παρενθέσεις αναφέρονται σε ποσοστό ενζυμ. δραστηκότητας

Οι μεγαλύτερες δραστηκότητες τόσο της PG-I όσο και των PG-II και PG σε όλα τα στάδια ωριμότητας μετρήθηκαν στο αλκοολικό υπερκείμενο υγρό σε σύγκριση με το ίζημα. Μάλιστα, στο στάδιο 1 η δραστηκότητα της PG-I ήταν περίπου 2.5 φορές μεγαλύτερη στο αλκοολικό υπερκείμενο υγρό σε σύγκριση με το ίζημα και της PG-II περίπου 6.5 φορές, στο στάδιο 4 η δραστηκότητα της PG ήταν 4.3 φορές περίπου μεγαλύτερη και τέλος, στο στάδιο 7 η δραστηκότητα της PG-I ήταν 2 φορές και της PG-II 2.2 φορές μεγαλύτερη στο υπερκείμενο υγρό σε σύγκριση με το ίζημα.

3.1.5. Χαρακτηριστικά των PG-I και PG-II

3.1.5.1. Επίδραση του pH

Όπως φαίνεται στο σχήμα 29, το άριστο pH για τη δράση της PG-I ήταν το 5.5 και της PG-II το 5.0



Σχήμα 29. Επίδραση του pH επί της δραστηκότητας των PG-I και PG-II (Ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού-φωσφορικού). ●—● PG-I, ○---○ PG-II.

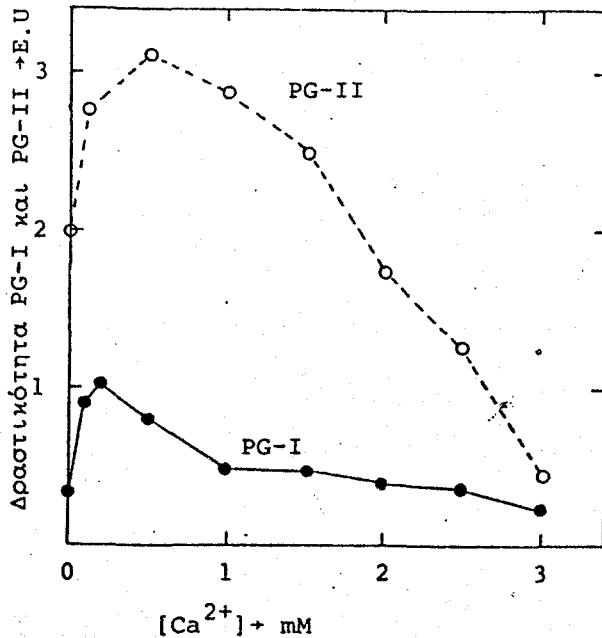
3.1.5.2. Επίδραση του ασβεστίου (διαφόρων συγκεντρώσεων) και άλλων δισθενών κατιόντων μετάλλων

Τόσο η PG-I όσο και η PG-II ενεργοποιούνταν πολύ από το Ca^{2+} και η μέγιστη δραστηκότητα μετρήθηκε στη συγκέντρωση των 0.2mM Ca^{2+} (σχήμα 32). Από τα άλλα μέταλλα που μελετήθηκαν στη συγκέντρωση των 0.5mM , τα N^{2+} , Sr^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} και Mn^{2+} βοηθούσαν τη δραστηκότητα της PG-II ενώ τα Ba^{2+} , Cd^{2+} και Pb^{2+} δρούσαν παρεμποδιστικά. Επίσης, τα Ni^{2+} , Mg^{2+} και Sr^{2+} βοηθούσαν τη δραστηκότητα της PG-I, τα Cd^{2+} , Mn^{2+} και Pb^{2+} δεν είχαν καμία επίδραση. Αξίζει να σημειωθεί ότι το Ca^{2+} ήταν το μέταλλο που βοηθούσε περισσότερο από τα υπόλοιπα και την PG-I και την PG-II, ενώ τα EDTA και το κιτρικό (χηλικοί παράγοντες) μείωναν αρκετά τη δραστηκότητά τους. Τα κατιόντα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οξικά ή χλωριούχα άλατα.

3.1.5.3. Προσδιορισμός του μοριακού βάρους

Τα μοριακά βάρη των PG-I και PG-II που πάρθηκαν από τη χρωματογραφία στήλης ($5 \times 50\text{cm}$) σε πήγμα Sephadex G-100, προσδιο-

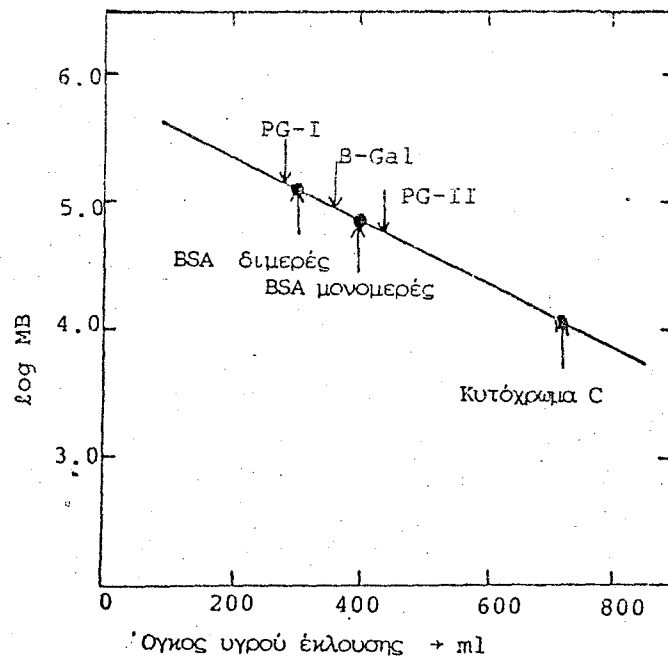
ρίστηκαν ίσα με 141.253 και 56.234 αντίστοιχα. Στον πίνακα 10 φαίνονται οι πρότυπες πρωτεΐνες που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς (σχήμα 31), τα μοριακά τους βάρη καθώς και η σειρά που βγήκαν από τη στήλη Sephadex G-100, 5x 50 cm.



Σχήμα 30. Επίδραση των διαφόρων συγκεντώσεων του Ca^{2+} επί της δραστηριότητας των PG-I και PG-II. ●—● PG-I, ○---○ PG-II.

Πίνακας 10. Πρωτεΐνες που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς κατά τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους των PG-I και PG-II σε πήγμα Sephadex G-100

Πρωτεΐνη	Μοριακό Βάρος	Αριθμός κλάσματος	Υγρό έκλουσης (ml)
Κυτόχρωμα C	12.400	33	660
Αλβουμίνη μόσχου BSA (Μονομερές)	66.000	20	400
Αλβουμίνη μόσχου BSA (Διμερές)	132.000	15	300



Σχήμα 31. Καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους των PG-I και PG-II με χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex G-100 5x50cm. Δείγμα πρωτύπων πρωτεϊνών: 90 mgr Αλβουμίνη μόσχου (BSA) και 30 mgr Κυτόχρωμα C που διαλύθηκαν σε 20 ml νερό υγρό έκλουσης 0.15 M NaCl.

3.2. Β-Γαλακτοζιδάση

3.2.1. Διαχωρισμός της β-γαλακτοζιδάσης στο στάδιο I

Χρησιμοποιώντας χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex G-100, δεν επιτεύχθηκε ο διαχωρισμός της β-γαλακτοζιδάσης (σχήμα 32a). Παρατηρήθηκε μία αύξηση της δραστηριότητας που άρχισε να εμφανίζεται στο 12^ο κλάσμα, σημειώνοντας τη μέγιστη τιμή των 0.038 E.U στο 18^ο, αφού δηλαδή πέρασαν από τη στήλη 360 ml του υγρού έκλουσης και κατόπιν η δραστηριότητα άρχισε πάλι να μειώνεται μέχρι μηδενικής τιμής της. Ο διαχωρισμός έγινε δυνατός με τη χρήση της υδροχρωματογραφίας υψηλής πίεσης (σχήμα 32b). Μετρήθηκαν δύο μέγιστες τιμές δραστηριότητας στο 2^ο και στο 4^ο κλάσμα (4 και 8 ml αντίστοιχα του υγρού έκλουσης είχαν περάσει από τη στήλη) που αντιστοιχούν πιθανώτατα σε δύο

μορφές, τις G-I και G-II-ονομάστηκαν έτσι σύμφωνα με τη σειρά που βγαίνουν από τη στήλη- του ενζύμου της β-γαλακτοζιδάσης. Μάλιστα, το G-II έδειξε περίπου 6.5 φορές μεγαλύτερη δραστηριότητα από το G-I. Τα πρωτεϊνικά προφίλ που φαίνονται τόσο στο σχήμα 32α όσο και στο 32β, δείχνουν την ύπαρξη αρκετής ποσότητας πρωτεΐνης στους καρπούς που βρίσκονται στο στάδιο 1 της ανάπτυξής τους. Ένα μέρος της πρωτεΐνης αυτής αποτελεί και το ένζυμο της β-γαλακτοζιδάσης.

3.2.2. Διαχωρισμός της β-γαλακτοζιδάσης στο στάδιο 3

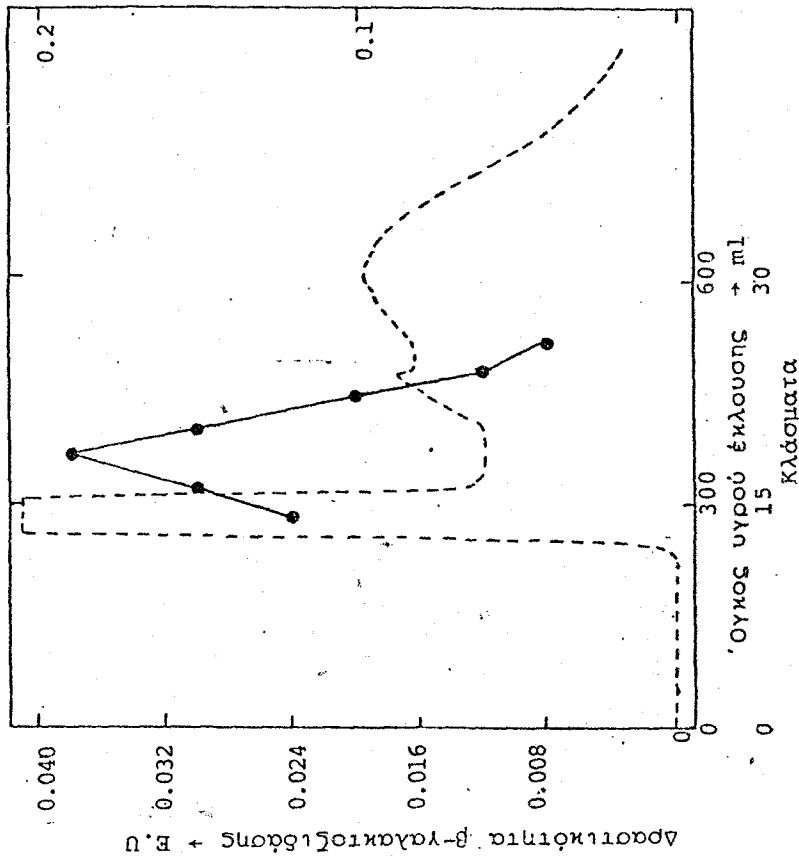
Και σε αυτό το στάδιο ο διαχωρισμός επιτεύχθηκε με την υδροχρωματογραφία υψηλής πίεσης. Η διαφορά από το προηγούμενο στάδιο είναι ότι διαχωρίστηκε σε τρεις αντί δύο μορφές το ένζυμο της β-γαλακτοζιδάσης των καρπών του σταδίου αυτού.

Όπως φαίνεται από το σχήμα 33α, σημειώθηκε μόνο μία μέγιστη τιμή δραστηριότητας στο κλάσμα 17 από τη χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex G-100. Η τιμή αυτή 0.012 E.U είναι περίπου 3 φορές μικρότερη της αντίστοιχης για καρπούς του σταδίου 1. Στα κλάσματα που πάρθηκαν από τον υδροχρωματογράφο υψηλής πίεσης μετρήθηκαν τρεις μέγιστες τιμές δραστηριότητας β-γαλακτοζιδάσης, συγκεκριμένα στα 2, 4 και 6 και αντιστοιχούν στις τρεις κορυφές της καμπύλης του σχήματος 33β. Αυτές οι τρεις κορυφές πιθανότατα ανταποκρίνονται σε τρεις μορφές G-I, G-II και G-III-ονομάστηκαν έτσι σύμφωνα με τη σειρά που εξέρχονται από τη στήλη-του ενζύμου της β-γαλακτοζιδάσης. Είναι φανερό, ότι η δραστηριότητα του G-I είναι 4 περίπου φορές μικρότερη αυτής του G-II, που η δραστηριότητά του είναι 2.4 φορές περίπου μεγαλύτερη αυτής του G-III.

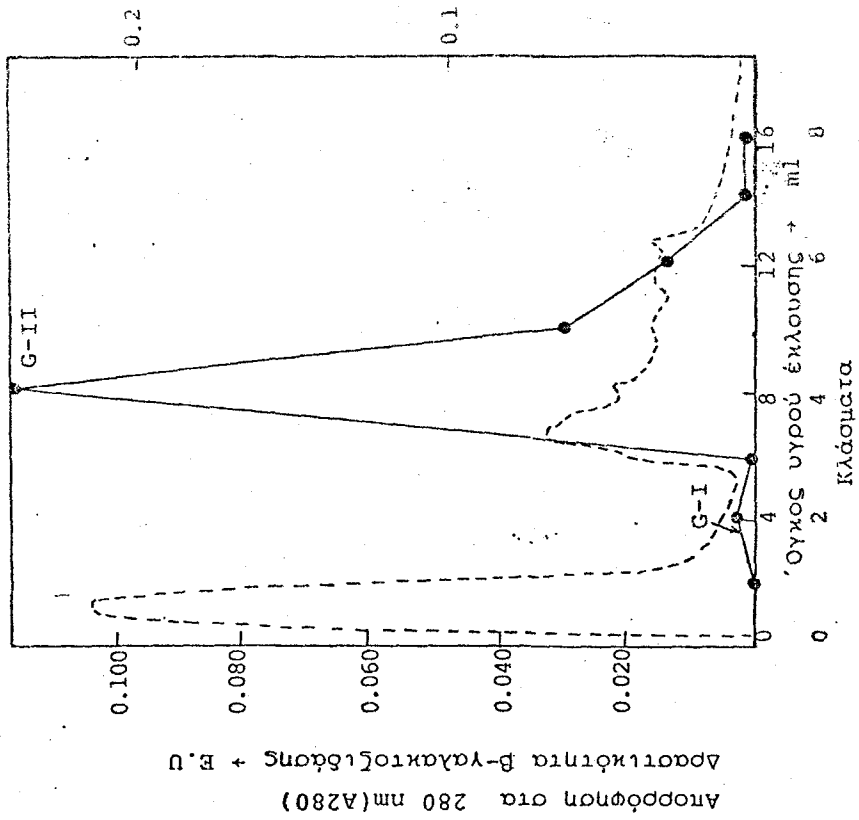
Η πρωτεΐνη των κλασμάτων στο στάδιο αυτό (σχήμα 33α και 33β) είναι κατά πολύ λιγότερη αυτής που μετρήθηκε στο στάδιο 1.

3.2.3. Διαχωρισμός της β-γαλακτοζιδάσης στο στάδιο 7

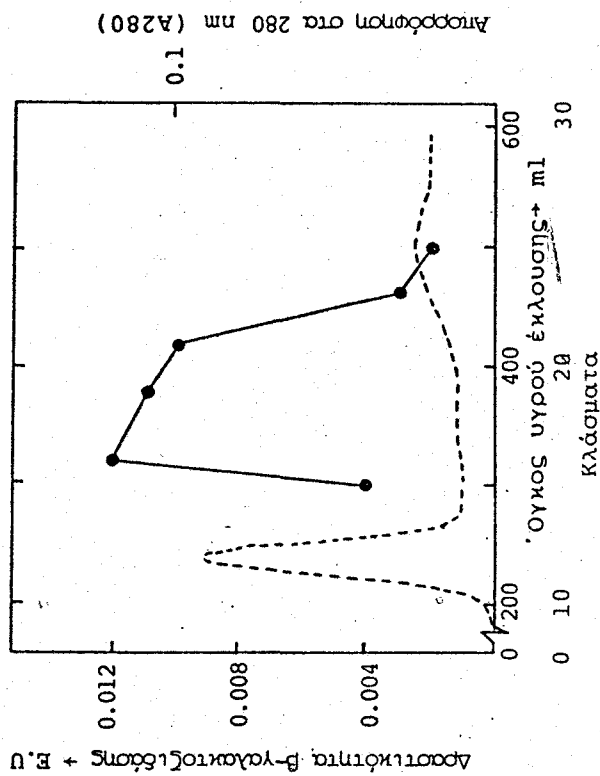
Στο σχήμα 34α φαίνεται μία μόνο κορυφή που αντιστοιχεί στο κλάσμα 2 από τη χρωματογραφία στήλης σε Sephadex G-100 όπου η δραστηριότητα του ενζύμου της β-γαλακτοζιδάσης παρουσίασε τη μέγιστη τιμή της, που ήταν 0.380 E.U. Ο διαχωρισμός της β-γαλακτοζιδάσης σε τρεις μορφές, τις G-I, G-II και G-III έγινε με τη



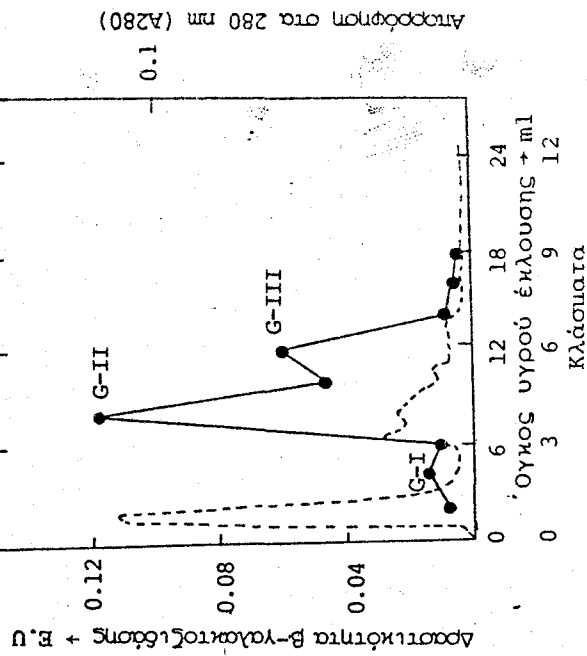
Σχήμα 32α. Χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex G-100 του ενζύμ. εκχυλίματος βερικόνων σταβίου 1. Παικιλία Πρώιμα Τύρου-θας. Στήλη 5x50cm. Υγρό έκλουσης 0.15M NaCl. Όγκος κλάσματος 20ml. Όγκος δείγματος 25ml. -----Πρωτεΐνη (280), ●—● Δραστικότητα β-γαλακτοζιδάσης.



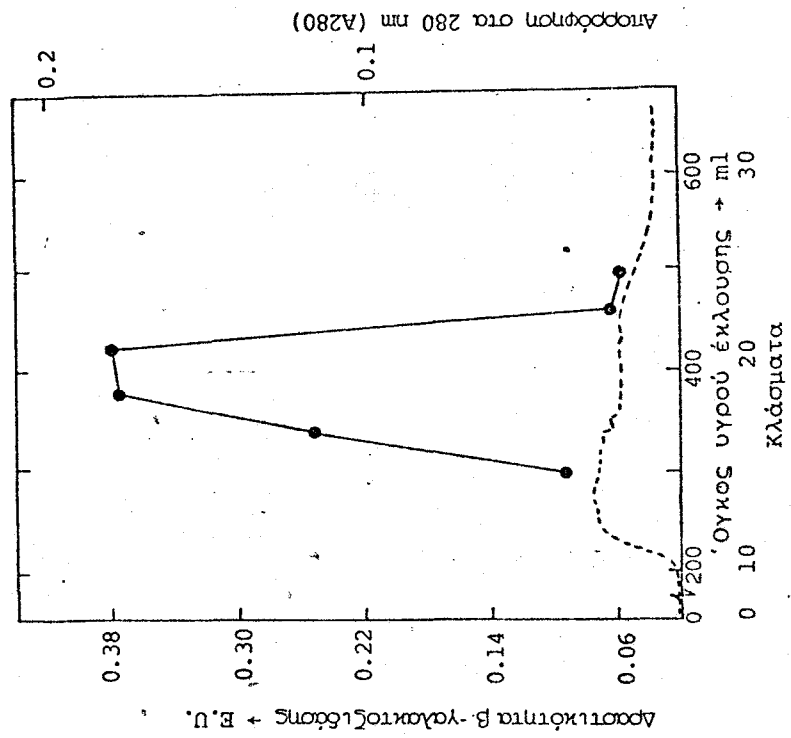
Σχήμα 32β. Υδροχρωματογραφία υψηλής πίεσης του συμπυκνώματος των κλάσμάτων (17-22) από τη χρωματογραφία στήλης (σχ.32α). Στήλη ΜΟΝΟ-S. Υγρό έκλουσης 0.02M MES pH 6.0 και 1.0 M NaCl. Όγκος κλάσματος 2ml. Όγκος δείγματος 1ml. -----Πρωτεΐνη (A280), ●—● Δραστικότητα β-γαλακτοζιδάσης.



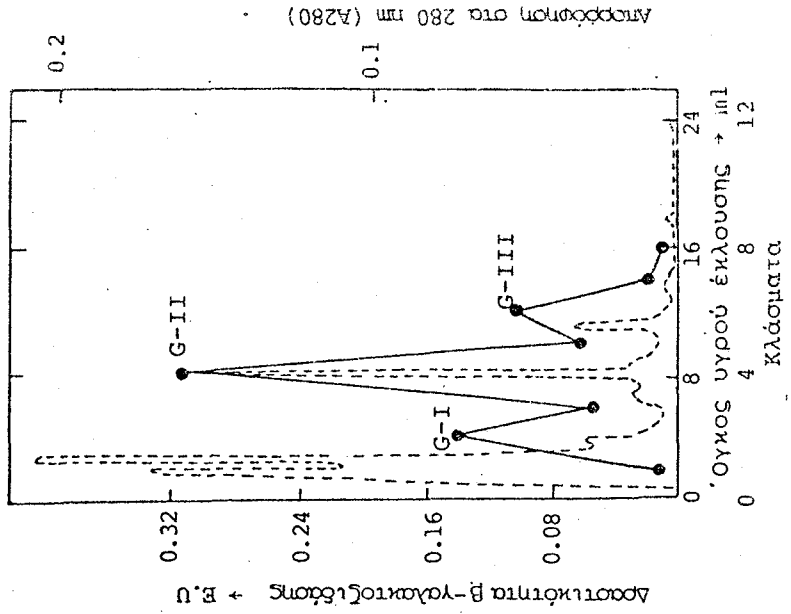
Σχήμα 33α. Χρωματογραφή στήλης σε πήγμα Sephadex G-100 του ενζύμ. εκχυλίσματος βερικόνων σταδίου 3. Ποικιλία Πρώιμα Τύρουθας. Στήλη 5x50cm. Υγρό έκλουσης 0.15M NaCl. Όγκος κλάσματος 20ml. Όγκος δείγματος 25ml. ----Πρωτεΐνη (A280), ●---στικότητα β-γαλακτοζιδάσης.



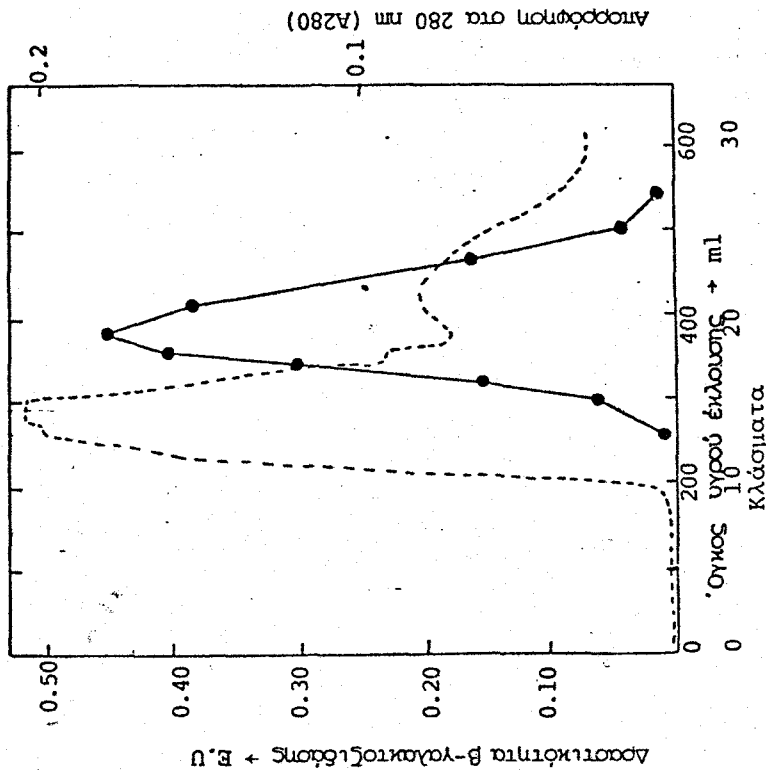
Σχήμα 33β. Υγροχρωματογραφή υψηλής πίεσης του συμπυκνώματος των κλασμάτων (16-22) από τη χρωματογραφή στήλης (σχ. 33α). Στήλη Mono-S. Υγρό έκλουσης 0.02MES pH6.0 και 1.0M NaCl. Όγκος κλάσματος 2ml. Όγκος δείγματος 1ml. ----Πρωτεΐνη (A280) ●--- Δραστικότητα β-γαλακτοζιδάσης.



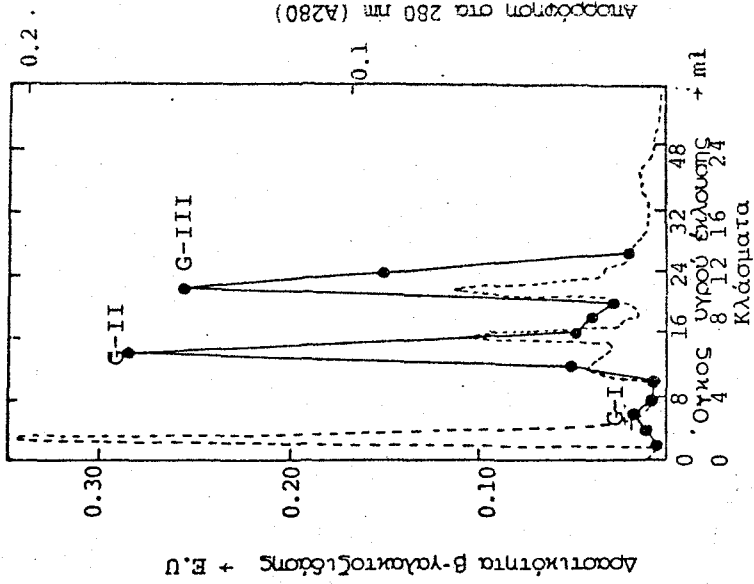
Σχήμα 34α. Χρωματογράφη στήλης σε πήγμα Sephadex G-100 του ενζυμ. εκχυλίματος βερικόνων σταδίου 7. Ποικιλία Πρώμα Τίρουνθας. Στήλη 5x50cm. Υγρό έκλουσης 0.15M NaCl. Όγκος κλάσματος 20ml. Όγκος δείγματος 25ml. ---- Πρωτεΐνη (A280), ●—● Δραστικότητα β-γαλακτοζιδάσης.



Σχήμα 34β. Υγροχρωματογράφη υψηλής πίεσης του συμπυκνώματος των κλασμάτων (16-23) από τη χρωματογράφη στήλης (σχ. 34α). Στήλη Mono-S. Υγρό έκλουσης 0.02MES pH 6.0 και 1.0 M NaCl. Όγκος κλάσματος 2ml. Όγκος δείγματος 1ml. ---- Πρωτεΐνη (A280) ●—● Δραστικότητα β-γαλακτοζιδάσης.



Σχήμα 35α. Χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex G-100 του ενζυμ. εκχυλίσματος βερικόνων σταδίου 7. Ποικιλία Μπεπέκου. Στήλη 5x50cm. Υγρό έκλουσης 0.15M NaCl. Όγκος κλάσματος 20ml. Όγκος δείγματος 25ml. ----Πρωτεΐνη (A280), ●● Δραστητικότητα β-γαλακτοζιδάσης



Σχήμα 35β. Υγρόχρωματογραφία υψηλής πίεσης του συμπυκνώματος των κλάσμάτων (17-22) από τη χρωματογραφία στήλης (σχ. 35α). Στήλη Mono-S. Υγρό έκλουσης 0.02MES pH 6.0 και 1.0 M NaCl. Όγκος κλάσματος 2ml. Όγκος δείγματος 1ml. ----Πρωτεΐνη (A280), ● Δραστητικότητα β-γαλακτοζιδάσης.

βοήθεια του υδροχρωματογράφου υψηλής πίεσης και φαίνεται στο σχήμα 34β. Οι μέγιστες τιμές δραστηριότητας του ενζύμου ήταν τρεις και μετρήθηκαν αφού πέρασαν από τη στήλη 4,8 και 12 ml του υγρού έκλουσης (2° , 4° και 6° κλάσμα αντίστοιχα).

Η δραστηριότητα της μορφής G-II και σε αυτό το στάδιο ήταν μεγαλύτερη από αυτή των G-I και G-III και συγκεκριμένα 2.2 φορές μεγαλύτερη αυτής της G-I και 2.8 φορές αυτής της G-III. Η πρωτεΐνη των κλασμάτων στο στάδιο αυτό (σχήμα 34β) είναι περισσότερη αυτής του σταδίου 3. Αξίζει να αναφερθεί και η ύπαρξη τριών μορφών, των G-I, G-II και G-III και στην ποικιλία Μπεμπέκου στο στάδιο ωριμότητας 7. Χρησιμοποιώντας διπλάσια ποσότητα ενζυμικού εκχυλίσματος, από την χρωματογραφία στήλης σε πήγμα Sephadex G-100 πήραμε μόνο μία κορυφή (σχήμα 35α), ενώ από την υδροχρωματογραφία υψηλής πίεσης τρεις κορυφές (σχήμα 35β). Η δραστηριότητα της G-I ήταν πολύ χαμηλή (0.16 E.U), ενώ των G-II και G-III σχετικά παραπλήσια (0.284 και 0.254 E.U αντίστοιχα).

3.2.4. Μεταβολή των μορφών G-I, G-II και G-III κατά την ανάπτυξη και ωρίμανση των καρπών

Στο στάδιο 1 ανάπτυξης των καρπών υπήρχαν μόνο οι μορφές G-I και G-II, που οι μέγιστες δραστηριότητές τους ήταν 0.018 και 0.118 E.U. (σχήμα 36). Στο στάδιο 3, η δραστηριότητα της G-I ελαττώθηκε λίγο ενώ της G-II παρέμεινε στα ίδια επίπεδα και παράλληλα εμφανίστηκε η μορφή G-III με δραστηριότητα 0.050 E.U που αυξήθηκε κατά 2.25 φορές στο στάδιο 7. Επίσης οι G-I και G-II αυξήθηκαν κατά 10 και 2.6 φορές αντίστοιχα στο στάδιο ωριμότητας 7.

3.2.5. Χαρακτηριστικά των G-I, G-II και G-III και της β-γαλακτοζιδάσης

3.2.5.1. Επίδραση του pH επί των G-I, G-II και G-III

Όπως φαίνεται από το σχήμα 37A, το άριστο pH και για τη G-I και τη G-II στο στάδιο 1 ήταν το 4.0. Στο στάδιο 3, το

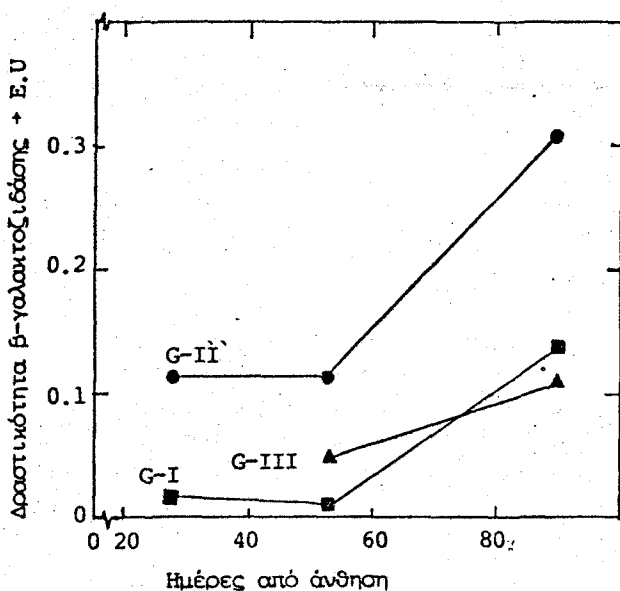
άριστο pH ήταν το 3.5 για τις G-I και G-II και το 4.0 για τη G-III (σχήμα 37B). Στο στάδιο 7 επίσης οι G-I και G-II είχαν άριστο pH δράσης το 3.5 ενώ η G-III το 4.0 (σχήμα 37Γ).

3.2.5.2. Επίδραση δισθενών κατιόντων μετάλλων επί της β-γαλακτοζιδάσης

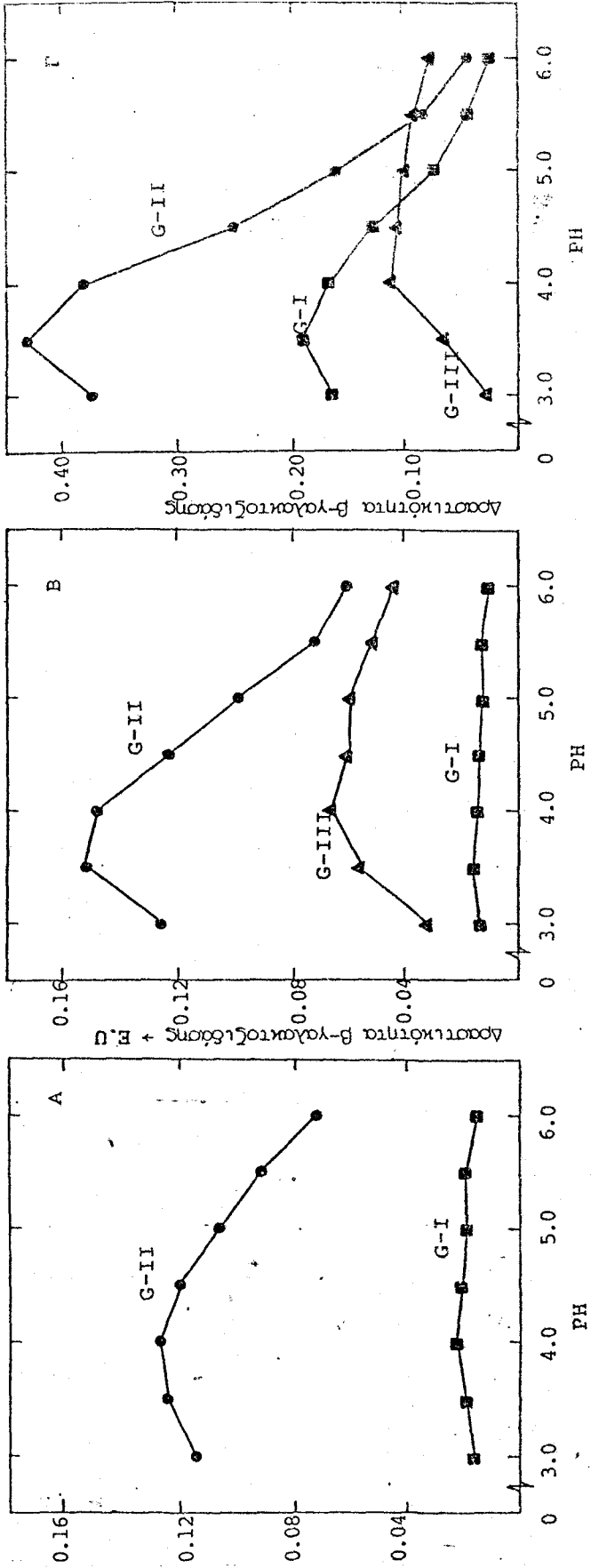
Από τα δισθενή κατιόντα μετάλλων που δοκιμάστηκαν στη συγκέντρωση των 0.36mM μόνο ο Hg^{2+} είχε τέλεια παρεμποδιστική δράση ενώ τα Cu^{2+} , Mn^{2+} και Cd^{2+} βοήθησαν λίγο τη δραστηριότητα του ενζύμου. Τα Ni^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} και Pb^{2+} δεν είχαν σχεδόν καμία επίδραση.

3.2.5.3. Προσδιορισμός του μοριακού βάρους

Το μοριακό βάρος της β-γαλακτοζιδάσης υπολογίστηκε ίσο με 66.000 (σχήμα 31, πίνακας 8).



Σχήμα 36. Μεταβολή της δραστηριότητας των G-I, G-II και G-III κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας (1, 3 και 7). Ποικιλία Πρώιμα Τύρυνθας. ■—■ G-I, ●—● G-II, ▲—▲ G-III



Σχήμα 37. Επίδραση του pH επί της δραστηριότητας των G-I, G-II και G-III. Ποικιλία Πράσιμα Τύρινδας. Ραφιμιστικό διάλυμα κιτρικού-ωοφωρικού. ■—■ G-I, ●—● G-II, ▲—▲ G-III Α. Στάδιο 1 Β. Στάδιο 3 Γ. Στάδιο 7

ΕΥΖΗΤΗΣΗ

1. Ανάπτυξη και ωρίμανση των καρπών - Επίδραση του Amino-ethoxyvinylglycine (AVG) και Aminooxyacetic acid (AOA)

1.1. Αύξηση των καρπών

Η αύξηση των καρπών των βερικόκκων, όπως φαίνεται από τα πειραματικά μας δεδομένα, αποδίδεται με μια διπλή σιγμοειδή καμπύλη, όπου διακρίνονται τρεις περίοδοι ανάπτυξης.

Οι δύο γρήγορες περίοδοι, όπως άλλωστε αναφέρθηκε και στην εισαγωγή συνδέονται με την αύξηση διαφορετικών ιστών. Στην περίοδο I, για παράδειγμα, το ενδοκάρπιο και το σπέρμα φθάνουν το τελικό τους μέγεθος, στην περίοδο II λαμβάνει χώρα η Ξυλοποίηση του ενδοκαρπίου καθώς επίσης και η αύξηση της ωοθήκης και του ενδοσπερμίου. Η ωρίμανση αρχίζει κατά τη διάρκεια της περιόδου III και μάλιστα προς το τέλος της (Crane 1969).

Κατ'αυτή συμβαίνει αύξηση του ιστού του μεσοκαρπίου που οφείλεται στη διόγκωση των κυττάρων και όχι στην αύξηση του αριθμού τους με κυτταροδιαίρεσεις που είναι χαρακτηριστικό της περιόδου I. Ο άωρος καρπός είναι σκληρός πράσινος και συνήθως γεδώδιμος σε αντίθεση με τον ώριμο που είναι μαλακός, έχει αποκτήσει το χαρακτηριστικό του χρώμα, άρωμα και γεύση και η εκατοστιαία αναλογία των ουσιών που περιέχονται σ'αυτόν είναι διαφορετική, γιατί μερικές από αυτές εξαφανίζονται ενώ άλλες συντίθενται με την πρόοδο της ωρίμανσης.

Μετά την ωρίμανση του καρπού, που κατά τους Watada et al 1984 ορίζεται σαν τις αλλαγές που συμβαίνουν κατά το διάστημα μεταξύ των τελευταίων σταδίων της αύξησης και ανάπτυξης και των αρχικών σταδίων του γήρατος που καταλήγουν στη χαρακτηριστική αισθητική εμφάνιση και ποιότητά του, ακολουθεί το γήρας οπότε ο καρπός χάνει τη συνεκτική του υφή, ενώ διατηρεί το χρώμα και τη γεύση και τελικά καταρρέει.

Έτσι, το μεσοκάρπιο κατά τη μετάβασή του από τη μη ώριμη κατάσταση στην ώριμη υφίσταται πολλές φυσιολογικές και βιοχημικές μεταβολές και τελικά γίνεται εδώδιμο. Παρατηρούμε ότι τα χαρακτηριστικά του ώριμου καρπού εμφανίστηκαν όταν οι καρποί της

ποικιλίας Πρώιμα Τίρυνθας 1984 είχαν φθάσει το 93,55% του μεγέθους τους και της ποικιλίας Μπεμπέκου 1984 το 88,29%.

Στο στάδιο 5 (75 ημέρες μετά την καρπόδεση για τα Πρώιμα Τίρυνθας και 86 ημέρες για τα Μπεμπέκου) οι καρποί βρίσκονται περίπου στο στάδιο της εμπορικής τους ωριμότητας, οπότε έγινε και η συγκομιδή τους για να διατεθούν στην αγορά, ενώ στο στάδιο 6 (78 ημέρες μετά την άνθηση για τα Πρώιμα και 95 ημέρες για τα Μπεμπέκου) βρίσκονταν περίπου στο στάδιο της φυσιολογικής ωριμότητας.

Συγκρίνοντας τις δύο ποικιλίες μεταξύ τους παρατηρούμε ότι η αύξηση του μεγέθους των καρπών της ποικιλίας Πρώιμα Τίρυνθας κατά την περίοδο I, είναι μεγαλύτερη (καλύπτει περίπου το 65% της συνολικής αύξησης) σε σύγκριση με την αντίστοιχη για την ποικιλία Μπεμπέκου (καλύπτει περίπου το 58% της συνολικής αύξησης). Στην Μπεμπέκου η αύξηση του μεγέθους των καρπών είναι μεγαλύτερη κατά τις περιόδους II και III. Ανεξάρτητα όμως από την ποικιλία, οι καρποί αυξάνονται κατά το μεγαλύτερο ποσοστό στην περίοδο I σε σύγκριση με τις περιόδους II και III. Στα βερικόκκα της ποικιλίας Royal έχει βρεθεί επίσης ότι κατά την περίοδο I η διάμετρος των καρπών αυξάνει κατά 63%, κατά την περίοδο II κατά 7% και κατά την περίοδο III κατά 30% (Δροσόπουλος 1987).

Αξίζει να σημειωθεί ότι η ωρίμανση των βερικόκκων της ποικιλίας Πρώιμα Τίρυνθας αρχίζει από την περιφέρεια προχωρώντας προς το κέντρο του καρπού, ενώ σ' αυτούς της ποικιλίας Μπεμπέκου από το κέντρο προς την περιφέρεια (προσωπικές παρατηρήσεις).

Ο χρόνος ωρίμανσης ποικίλλει ανάλογα με την ποικιλία (τέλη Μαΐου-αρχές Ιουνίου τα Πρώιμα Τίρυνθας, τελευταίο δεκαπενθήμερο του Ιουνίου τα Μπεμπέκου). Επίσης το τελικό μέγεθος των καρπών είναι συνάρτηση της ποικιλίας (μεγαλύτερα τα Μπεμπέκου), της θρεπτικής κατάστασης του δένδρου, καθώς και άλλων παραγόντων και ποικίλλει από χρόνο σε χρόνο όπως φαίνεται στο σχήμα 6Α, Β και για τις δύο ποικιλίες. Δεν μπορεί επομένως, το τελικό μέγεθος του καρπού να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης ωριμότητας για τον προσδιορισμό του κατάλληλου σταδίου συγκομιδής. Ο αριθμός των ημερών από την καρπόδεση μέχρι που ο καρπός να φθάσει το τελικό του μέγεθος εξαρτάται επίσης από την ποικιλία και ποικίλλει από χρόνο σε χρόνο. Έτσι, για την ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας απαιτήθηκαν 90 ημέρες το 1984 και 84 ημέρες το 1983, ενώ για την ποικιλία Μπεμπέκου 101 και 96 ημέρες αντίστοιχα. Επομένως, ούτε

και ο αριθμός των ημερών από την καρπόδεση μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης ωριμότητας για τη συγκομιδή των βερίκοκων.

1.2. Μεταβολή των διαφόρων ποιοτικών παραμέτρων, αιθυλενίου και ενζύμων κατά τη διάρκεια της αύξησης και ωρίμανσης των καρπών

1.2.1. Συνολικά διαλυτά στερεά

Τα συνολικά διαλυτά στερεά όπως είναι γνωστό, αποτελούν ένα μέτρο των υλικών που βρίσκονται σε διάλυση μέσα στα χυμοτόπια των κυττάρων και περιλαμβάνουν σάκχαρα, οξέα, βιταμίνες, ανόργανα άλατα (minerals) και πολύ μικρά ποσά άλλων ουσιών. Επειδή όμως τα σάκχαρα συμμετέχουν κατά ένα ποσοστό 90% ή και περισσότερο στα συνολικά διαλυτά στερεά, τα τελευταία αποτελούν ένα περίπου μέτρο της περιεκτικότητας του καρπού σε σάκχαρα (Lott R.).

Από τα πειραματικά μας δεδομένα φαίνεται ότι στις Ελληνικές ποικιλίες βερίκοκων Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου παρατηρείται συνεχής αύξηση της περιεκτικότητας των καρπών σε συνολικά διαλυτά στερεά σε όλη τη διάρκεια της αύξησης και ωρίμανσης (σχήμα 8Α, Β) που οφείλεται κυρίως στην αύξηση της περιεκτικότητας σε σάκχαρα, όπως άλλωστε διαπίστωσαν και οι Inaba και Nakamura 1981 για τα ιαπωνικά βερίκοκκα, όπου παρατηρήθηκε αύξηση της περιεκτικότητας σε σακχαρόζη, γλυκόζη, φρουκτόζη και σορβιτόλη. Η αύξηση αυτή φαίνεται να ακολουθεί βραδύτερο ρυθμό κατά τα στάδια 1 και 2 και στις δύο ποικιλίες και στα δύο έτη (1983 και 1984), ενώ κατά τα επόμενα στάδια ο ρυθμός αύξησης γίνεται αρκετά ταχύτερος.

Συγκρίνοντας μεταξύ τους τις δύο ποικιλίες μπορούμε να παρατηρήσουμε, ότι τα Μπεμπέκου κατά την ωρίμανση παρουσιάζουν αρκετά μεγαλύτερο ποσοστό συνολικών διαλυτών στερεών σε σύγκριση με τα Πρώιμα Τίρυνθας, ενώ οι καρποί και των δύο ποικιλιών ξεκινούν από τα ίδια περίπου επίπεδα κατά την αρχή της αύξησης. Οργανοληπτικές δοκιμές αποδεικνύουν, ότι πράγματι τα Μπεμπέκου είναι περισσότερο γλυκά από τα Πρώιμα Τίρυνθας, που εμφανώς υστερούν γευστικά των προηγούμενων.

Ένα ελάχιστο ποσοστό συνολικών διαλυτών στερεών θα μπορούσε να περιορίσει μερικούς καρπούς πολύ ανώριμους και χαμηλής ποιότητας, αν καθιερωθεί. Λόγω όμως των διακυμάνσεων που παρατηρούνται, είτε λόγω των καιρικών συνθηκών, είτε λόγω της θρέψης ή άλλων παραγόντων, δεν μπορεί αυτό το ποσοστό να κυμαίνεται σε υψηλά επίπεδα, γιατί θα αποκλείονται μερικοί καρποί ικανοποιητικής ποιότητας.

1.2.2. Ολική ογκομετρούμενη οξύτητα

Τα κύρια οργανικά οξέα των βερικόκκων είναι το κιτρικό και το μηλικό που και τα δύο μαζί αποτελούν το 90% της συνολικής τους οξύτητας. Οι Anet και Reynolds 1955, διαπίστωσαν ότι το μηλικό οξύ ήταν περίπου πενταπλάσιο σε ποσότητα, σε σύγκριση με το κιτρικό. Αναφέρεται επίσης η παρουσία ικιμικού, σικιμικού, ηλεκτρικού και γλυκολικού οξέος (Souty et al 1969).

Όπως φαίνεται από τα πειραματικά μας δεδομένα η ολική ογκομετρούμενη οξύτητα παρουσιάζει μια αύξηση κατά τα πρώτα τρία (Μπεμπέκου) ή τέσσερα (Πρώιμα Τίρυνθας) στάδια ωριμότητας και μια μείωση κατά τα επόμενα στάδια (σχήμα 9Α, Β). Η μείωση και για τις δύο ποικιλίες αρχίζει κατά την αρχή της περιόδου III και είναι συνεχής μέχρι το στάδιο 7. Κατά τις περιόδους αύξησης I και II η αύξηση της οξύτητας (περίπου 0.5% κιτρ. οξύ) είναι μικρότερη από τη μείωσή της κατά την περίοδο III (περίπου 2% κιτρ. οξύ).

Η αύξηση της οξύτητας που παρατηρείται κατά τις περιόδους I και II (σχήμα 9) οφείλεται στην αύξηση των οξέων που συμβαίνει φυσιολογικά εκείνη την εποχή. Κατά την περίοδο III, όπως είναι γνωστό, λαμβάνει χώρα η μεγένδυση των κυττάρων λόγω εισροής νερού σ' αυτά και επομένως αραιώση των οξέων που ήδη υπάρχουν. Ίσως κάποια ουσιαστική μείωση των οξέων παρατηρείται κατά το τέλος της ωρίμανσης των καρπών. Αξίζει να σημειωθεί η άποψη ότι τα σάκχαρα κατά την ωρίμανση είναι πιθανόν να παράγονται από οξέα (Krotkov et al 1951 και Fidler 1951), με επακόλουθη μείωση της οξύτητας.

Οι Inaba και Nakamura 1981, παρατήρησαν μια γραμ -

μική μείωση στο μηλικό οξύ σε ιαπωνικά βερικόκκα που ήταν πάνω στα δένδρα, από τη σκλήρυνση του ενδοκαρπίου μέχρι το στάδιο της πλήρους ωριμότητας. Παρόμοια τάση παρατηρήθηκε και σε καρπούς που αποχωρίστηκαν από το δέντρο.

Συγκρίνοντας τις δύο ποικιλίες μεταξύ τους παρατηρούμε ότι η μέγιστη και ελάχιστη τιμή της οξύτητας κυμάνθηκαν σε λίγο υψηλότερα επίπεδα στην ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας από ότι στην Μπεμπέκου.

Δεν μπορούμε όμως να χρησιμοποιήσουμε σαν δείκτη ωριμότητας το ποσοστό των οξέων που περιέχονται στον καρπό, επειδή παρατηρούνται διακυμάνσεις από χρόνο σε χρόνο (Lott R.), είτε λόγω των καιρικών συνθηκών, είτε λόγω άλλων παραγόντων, έτσι ώστε να προμηθευτεί ο καταναλωτής με φρούτα υψηλής ποιότητας.

1.2.3. Λόγος συνολικών διαλυτών στερεών προς οξέα (SS|A)

Διαιρώντας τα συνολικά διαλυτά με την ολική ογκομετρούμενη οξύτητα βρίσκουμε τον παραπάνω λόγο που για τα βερικόκκα σύμφωνα με τα πειραματικά μας δεδομένα κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα κατά τα τρία (Μπεμπέκου) ή τέσσερα (Πρώιμα Τίρυνθας) πρώτα στάδια ωριμότητας και κατόπιν αυξήθηκε απότομα μέχρι το 9 περίπου για τα Πρώιμα Τίρυνθας και το 13 για τα Μπεμπέκου. Τα Μπεμπέκου παρουσιάζουν μεγαλύτερο λόγο, λόγω του αυξημένου ποσοστού των συνολικών διαλυτών στερεών και της μειωμένης ολικής ογκομετρούμενης οξύτητας.

Αν καθιερωθεί ένας τέτοιος λόγος για κάθε ποικιλία σε συνδυασμό με ένα ελάχιστο ποσοστό συνολικών διαλυτών στερεών και μια μέγιστη τιμή ολικής ογκομετρούμενης οξύτητας, θα μπορούσαν να αποκλειστούν πολλοί ανώριμοι και χαμηλής ποιότητας καρποί από τις αγορές.

Κατά τη γνώμη μας, για τις Ελληνικές ποικιλίες ένας λόγος SS|A το ελάχιστο ίσος με 5 για τα Πρώιμα Τίρυνθας και με 7 για τα Μπεμπέκου, όπως συνάγεται από τις δικές μας μετρήσεις, φαίνεται ότι θα είναι ικανοποιητικός για να αρχίσει η συγκομιδή των καρπών.

1.2.4. Χρώμα

Το πράσινο χρώμα των βερικόκκων στα πρώτα στάδια της

αύξησής τους οφείλεται στις χλωροφύλλες που είναι λιποδιαλυτές χρωστικές και βρίσκονται στους χλωροπλάστες. Με την πρόοδο της ωρίμανσης εξαφανίζονται οι πράσινες χρωστικές, ενώ οι καρωτινοειδείς αρχίζουν να εμφανίζονται.

Όπως φαίνεται από τους πίνακες 2 και 3 και στις δύο ποικιλίες η μετάβαση από το στάδιο ωριμότητας 4 στο στάδιο 5 συνοδεύτηκε από απότομη αύξηση των τιμών "L", και "Saturation index". Μάλιστα η τιμή "L" στο στάδιο 5 είχε τη μέγιστη τιμή της. Αυτό είναι το στάδιο που αρχίζει η ωρίμανση των καρπών, που εκδηλώνεται και με την αλλαγή του χρώματος λόγω εξαφάνισης χλωροφυλλών, πιθανόν με τη βοήθεια χλωροφυλλασών ή άλλων μηχανισμών και εμφάνισης ενός ελαφρού κίτρινου χρώματος λόγω απότομης αύξησης των καρωτινοειδών (απότομη μείωση της τιμής "Hue angle"). Η αύξηση των καρωτινοειδών συνεχίζεται με την πρόοδο της ωρίμανσης στα στάδια 6 και 7.

Το ίδιο παρατηρήθηκε και στα ροδάκινα όπου βρέθηκε ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της τιμής "Hue angle" και των καρωτινοειδών (Dekazos 1983).

Η φωτεινότητα των καρπών (τιμή "L", πίνακες 2 και 3) μετά το στάδιο 5 μειώθηκε, πιθανόν λόγω εμπλουτισμού των κυττάρων με διάφορα συστατικά και το χρώμα γίνεται περισσότερο κορεσμένο.

Οι παραπάνω παρατηρήσεις ισχύουν και για το χρώμα της επιδερμίδας και για το χρώμα της σάρκας των καρπών και των δύο ποικιλιών.

Συγκρίνοντας το χρώμα της σάρκας και το χρώμα της επιδερμίδας και στις δύο ποικιλίες παρατηρούμε ότι η σάρκα έχει περισσότερα καρωτινοειδή και το χρώμα της είναι πιο κορεσμένο.

Επίσης συγκρίνοντας τις δύο ποικιλίες μεταξύ τους παρατηρούμε ότι η σάρκα στα Μπεμπέκου είναι πιο κίτρινη και λιγότερο φωτεινή κατά την ωρίμανση από τα Πρώιμα Τίρυνθας όπου η επιδερμίδα παρουσιάζει μεγαλύτερη φωτεινότητα και περισσότερο κόκκινο χρώμα.

Το χρώμα επομένως, είναι ένα εξωτερικό χαρακτηριστικό που μπορεί να παρατηρηθεί. Έχει βρεθεί (Lott R.) ότι υπάρχει υψηλή θετική συσχέτιση μεταξύ του χρώματος της επιδερμίδας και της σάρκας με το στάδιο ωριμότητας και την ποιότητα του καρπού. Κάθε κριτήριο ωριμότητας που καθιερώνεται,

θα πρέπει να μεταφράζεται από αυτούς που συγκομίζουν τους καρπούς στη βάση της εμφάνισης τους επί του δέντρου και το χρώμα είναι το πιο εμφανές χαρακτηριστικό της εμφάνισης. Έτσι, το χρώμα σαν κριτήριο ωριμότητας εκπληρώνει τις επιθυμητές απαιτήσεις να είναι εύκολα χρησιμοποιούμενο και να βασίζεται στα πιο εμφανή χαρακτηριστικά, για αυτόν που θα συγκομίσει τους καρπούς. Η σημασία του επομένως, σαν κριτήριο για τη συγκομιδή των καρπών στο κατάλληλο στάδιο ωριμότητας, είναι πολύ μεγάλη, αν μάλιστα ληφθεί υπόψη ότι το στάδιο ωριμότητας κατά τη συγκομιδή έχει πολύ μεγάλη επίδραση στην ποιότητα του καρπού.

1.2.5. Συνεκτικότητα - Ένζυμα - Αιθυλένιο

Η διαδικασία του μαλακώματος αποτελεί ένα αναπόσπαστο μέρος της ωρίμανσης σχεδόν όλων των καρπών. Έχει μεγάλη εμπορική σπουδαιότητα επειδή η μετασυλλεκτική ζωή των καρπών σε μεγάλη έκταση περιορίζεται λόγω του μαλακώματος που κάνει δύσκολους τους χειρισμούς και διευκολύνει την ανάπτυξη των ασθενειών. Επίσης, η διαδικασία του μαλακώματος έχει μεγάλη σημασία από φυσιολογική και βιοχημική άποψη, επειδή περιλαμβάνει αλλαγές στα κυτταρικά τοιχώματα που συμβαίνουν μόνο στους καρπούς και πιθανόν στις αφοριστικές ζώνες (Brady 1987). Εφ' όσον η διαδικασία αυτή αρχίσει, η περίοδος που η συνεκτικότητα του καρπού θα είναι αποδεκτή θα είναι σύντομη, ακόμη και με χρήση απλής ψύξης ή ελεγχόμενων ατμοσφαιρών (Pressey 1977).

Σύμφωνα με τα πειραματικά μας δεδομένα στα βερίκοκκα, τόσο της ποικιλίας Πρώιμα Τίρυνθας όσο και της Μπεμπέκου, παρατηρείται κάποια πιθανή συσχέτιση μεταξύ της δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης και του μαλακώματος των καρπών. Όπως φαίνεται στο σχήμα 14, η δραστηριότητα της πολυγαλακτουρονάσης κατά την περίοδο I της αύξησης των καρπών παίρνει τη μέγιστη τιμή της και κατόπιν μειώνεται. Η μείωση αυτή είναι συνεχής μέχρι την έναρξη της ωρίμανσης για τα Πρώιμα Τίρυνθας και μέχρι λίγο πριν την έναρξη της ωρίμανσης για τα Μπεμπέκου. Η αύξηση που παρατηρείται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης παίρνει τη μέγιστη τιμή της (μικρότερη αυτής της περιόδου I) στο στάδιο ωριμότητας 7 που συμπίπτει με το τέλος της περιόδου III αύξησης των καρπών και το τέλος της ωρίμανσης. Η μείωση της συνεκτικότητας έχει

αρχίζει πολύ πριν σημειωθεί η αύξηση της δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης και συγκεκριμένα κατά τη διάρκεια της περιόδου II. Ειδικότερα και στην ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας και στην ποικιλία Μπεμπέκου η μείωση της συνεκτικότητας άρχισε κατά το μέσον της περιόδου II.

Είναι πιθανόν επομένως να υπάρχει κάποια σχέση μεταξύ του μαλακώματος των καρπών και της δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης, εφόσον κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης η απώλεια της συνεκτικότητας συμπίπτει με μια αύξηση της δραστηριότητάς της, όπως παρατηρήθηκε και σε άλλους κλιμακτηριακούς καρπούς, (Pressey 1977).

Στις τομάτες υπάρχει μια αξιοσημείωτη συσχέτιση μεταξύ του ποσού της πολυγαλακτουρονάσης, της ταχύτητας μαλακώματος και της διάσπασης της πηκτίνης (Brady 1982, 1983, 1985, Hobson 1980). Στο αβοκάντο (Plant-Aloia et al 1979) και τις τομάτες (Crookes και Grierson 1983) παρατηρείται κάποια σχέση μεταξύ της εμφάνισης της δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης κατά την ωρίμανση του καρπού και της πυκνότητας των ηλεκτρονίων στην περιοχή του μεσοτοιχείου (middle lamella) του κυτταρικού τοιχώματος. Σε άλλους καρπούς υπάρχει μια χρονική συσχέτιση μεταξύ της εμφάνισης της δραστηριότητας της ενδοπολυγαλακτουρονάσης και της έναρξης του μαλακώματος (Huber 1983, Mowlab και Itoo 1983, Paull et al 1983, Roe και Bruemmer 1981).

Στις τομάτες επίσης αργά κατά την ωρίμανση παρατηρείται μείωση του μέσου μήκους των διαλυτών πηκτινικών αλυσίδων (Huber 1983). Οι ημικυτταρίνες διασπώνται κανονικά κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και η διάσπαση των πηκτινών δεν εξαρτάται από τις αλλαγές στις ημικυτταρίνες (Huber 1983).

Είναι πλέον παραδεκτό ότι οι δομικές αλλαγές στους καρπούς είναι αποτέλεσμα της υδρόλυσης του κυτταρικού τοιχώματος κύρια με τη βοήθεια των ενζύμων, ότι το μαλάκωμα συνοδεύεται από μια αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών πηκτινικών πολυσακχαριτών και ότι η αύξηση των διαλυτών ουρονικών οξέων συχνά σχετίζεται με την αύξηση των πηκτινολυτικών ενζύμων, κύρια της πολυγαλακτουρονάσης (Huber 1983).

Προχωρώντας στο διαχωρισμό του ενζύμου της πολυγαλα-

κτουρονάσης σε ισοένζυμα κατά τα διάφορα στάδια ωριμότητας διαπιστώνουμε ότι διαχωρισμός με τη μέθοδο που εφαρμόζουμε είναι δυνατός μόνο στα στάδια 1 και 7, όπου τα δύο ισοένζυμα PG-I και PG-II που διαχωρίστηκαν, προσδιορίστηκαν σαν εξωένζυμα.

Στο στάδιο 4 λόγω πολύ μικρής ενζυμικής δραστηριότητας δεν έγινε δυνατός ο διαχωρισμός, το ένζυμο όμως της συνολικής πολυγαλακτουρονάσης προσδιορίστηκε σαν εξωένζυμο και πάλι, επειδή το ποσοστό των αναγωγικών ομάδων στο υπερκείμενο υγρό ήταν μεγαλύτερο από το ίζημα (πίνακας 6). Καθ' όλη τη διάρκεια, επομένως, της αύξησης και της ωρίμανσης στους καρπούς των βερικόκων, υπάρχει το ένζυμο της εξωπολυγαλακτουρονάσης.

Από τον πίνακα 9 φαίνεται ότι με την πρόοδο της αύξησης και ωρίμανσης των καρπών όλο και μικρότερο ποσοστό αναγωγικών ομάδων υπάρχει στο υπερκείμενο υγρό ιδιαίτερα όσον αφορά τη PG-II, ενώ στην PG-I η πτώση είναι μικρότερη. Αυτή η μείωση δεν φαίνεται να υπαινίσσεται την ύπαρξη ενδοενζύμου γιατί και πάλι στο υπερκείμενο υγρό το ποσοστό είναι αρκετά μεγαλύτερο σε σύγκριση με το ίζημα. Η συμπεριφορά των PG-I και PG-II έναντι του Ca^{2+} είναι η ίδια, δηλ. το Ca^{2+} βοηθά τη δραστηριότητα και των δύο μορφών της πολυγαλακτουρονάσης και αποτελεί ένα επιπρόσθετο στοιχείο ότι οι PG-I και PG-II είναι εξωπολυγαλακτουρονάσες. Το άριστο pH τους ήταν διαφορετικό και συγκεκριμένα 5.5 για την PG-I και 5.0 για την PG-II. Επίσης διαφορετικά ήταν και τα μοριακά βάρη που για την PG-I ήταν 158.489 και για την PG-II 50.118. Κατά τον Khee et al 1975 και Bartley και Khee 1982, ένζυμα με μοριακό βάρος μεγαλύτερο από 100.000 αποκλείονται από το κυτταρικό τοίχωμα και δεν μπορούν να το διασπάσουν ανεξάρτητα με τις δραστηριότητες τους σε διαλυτά υποστρώματα. Αν δεχθούμε ότι ισχύει αυτό, τότε μόνο το ένζυμο της PG-II είναι αυτό που συμμετέχει στη διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος και σαν εξωπολυγαλακτουρονάση ελευθερώνει μονοσακχαρίτες αρχίζοντας από το μη αναγωγικό άκρο του υποστρώματος.

Επίσης, από τα M.B. των PG-I και PG-II που είναι αντίστοιχα 158.489 και 50.118 φαίνεται ότι η PG-I είναι τριμερές της PG-II. Στηριζόμενοι στην παραπάνω υπόθεση των Khee et al 1975 και Bartley και Khee 1982, ότι ένζυμα με M.B. μεγαλύτερο από 100.000 δεν μπορούν να διασπάσουν το κυτταρικό τοίχωμα και επί πλέον στο

ότι οι PG-I και PG-II είναι εξωένζυμα, μπορούμε να υποθέσουμε ότι η μορφή PG-I είναι εκείνη που ελευθερώνει την PG-II (μονομερές) η οποία διέρχεται από το κυτταρικό τοίχωμα και δρά. Αυτό βέβαια προϋποθέτει την ύπαρξη της πολυγαλακτουρονάσης που επιβεβαιώνεται σαφώς από τα αποτελέσματα μας δεδομένου ότι, όχι απλά υπάρχει αλλά και η δραστηριότητα της είναι πολύ μεγάλη από τα πρώτα στάδια της αύξησης του καρπού.

Επομένως, είναι πολύ πιθανό να βρισκόμαστε σε μια περίπτωση παρόμοια με εκείνη που μελέτησαν οι Pressey και Avants 1978, στα συμπύρηνια ροδάκινα. Και τα συμπύρηνια και τα εκπύρηνια ροδάκινα είχαν μικρές ποσότητες διαλυτών πηκτινών πριν την ωρίμανση και το μαλάκωμα. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, η συνεκτικότητα μειωνόταν πιο γρήγορα στις εκπύρηνες ποικιλίες και το ποσό των διαλυτών πηκτινών ήταν μεγαλύτερο σε σύγκριση με τις συμπύρηνες. Η διαφορά στη συνεκτικότητα και τη διαλυτότητα της πηκτίνης οφειλόταν προφανώς στην πολυγαλακτουρονάση που υπήρχε σε κάθε ποικιλία. Οι εκπύρηνες ποικιλίες περιείχαν εξω- και ενδοπολυγαλακτουρονάση που μπορούσε να μετρηθεί ιξωδομετρικά, ενώ στις συμπύρηνες υπήρχε μόνο εξωπολυγαλακτουρονάση. Οι συγγραφείς εισηγήθηκαν ότι το εξωένζυμο μπορεί να είναι υπεύθυνο για τη μικρή αύξηση των διαλυτών πηκτινών που παρατηρήθηκε στις συμπύρηνες ποικιλίες και ότι η απουσία σημαντικών επιπέδων ενδοπολυγαλακτουρονάσης ίσως εξηγούσε την αδυναμία των συμπυρήνων να διαλυτοποιήσουν ποσότητες πηκτίνης μεγαλύτερες από ίχνη.

Στα ροδάκινα (Pressey και Avants 1973) και αχλάδια (Pressey και Avants 1976), η εξωπολυγαλακτουρονάση έδειξε μικρή δραστηριότητα σε απομονωμένα κυτταρικά τοιχώματα, σε αντίθεση με τα μήλα (Bartley 1978), όπου βρέθηκε μόνο εξωπολυγαλακτουρονάση. Στα μήλα, μερικά καθαρισμένο ενζυμικό παρασκεύασμα διασπούσε απομονωμένα κυτταρικά τοιχώματα του καρπού, ελευθερώνοντας γαλακτουρονικό οξύ, πολυουρονικά οξέα, καθώς και μικρές ποσότητες γαλακτόζης, ξυλόζης και αραβινόζης.

Ο Knee 1978, πρότεινε ότι ο διαχωρισμός των κυττάρων στα μήλα μπορεί να οφείλεται στη διάσπαση αδιάλυτων πηκτινών από την εξωπολυγαλακτουρονάση και την αντικατάστασή τους από νεο -

συντιθέμενα πολυμερή με μεγάλο βαθμό εστεροποίησης (ίσως πιά διαλυτά). Η αδιάλυτη ηηκτίνη, που είναι πολύ διακλαδισμένη (Knee 1973, 1975), δεν αναμένεται να είναι εύκολα επιδεκτική στη δράση του εξωενζύμου.

Στα μήλα, η β-γαλακτοζιδάση (Bartley 1974, 1977) ή άλλα ένζυμα μπορεί να δρουν, έτσι ώστε να μην υπάρχουν πλέον διακλαδώσεις σ' αυτό το πολυμερές και έτσι επιτρέπουν πιά εκτεταμένη διάσπαση από την εξωπολυγαλακτουρονάση

Την παραπάνω άποψη του Knee ενισχύει και το γεγονός ότι στα βερίκοκκα η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης άρχισε να αυξάνει αρκετά πιά πριν από την πολυγαλακτουρονάση. Υπάρχει πιθανότητα επομένως η β-γαλακτοζιδάση να προετοιμάζει το έδαφος για τη δράση της εξωπολυγαλακτουρονάσης.

Η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης αυξήθηκε πάρα πολύ κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, πολύ περισσότερο από αυτή της πολυγαλακτουρονάσης. Από τα πειραματικά μας δεδομένα (σχήμα 14) φαίνεται ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ του μαλακώματος της σάρκας των καρπών και της δραστηριότητας του ενζύμου της β-γαλακτοζιδάσης.

Πιά συγκεκριμένα, στα στάδια ωριμότητας 1 και 2 της ποικιλίας Μπεμπέκου όπου η συνεκτικότητα αυξάνει, η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης παρουσιάζει μείωση και στα στάδια 3, 4, 5, 6 και 7 όπου η συνεκτικότητα μειώνεται η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης παρουσιάζει αύξηση. Και στην ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας (σχήμα 14) οι απότομες αυξήσεις της δραστηριότητας της β-γαλακτοζιδάσης συνοδεύονται από αντίστοιχη απότομη μείωση της συνεκτικότητας.

Τα πειραματικά μας δεδομένα επομένως, υποδεικνύουν τον σημαντικό ρόλο της δραστηριότητας της β-γαλακτοζιδάσης στο μαλάκωμα των βερίκοκκων. Αντίθετα, οι Wallner και Bloom 1977 και Thempen et al 1982, μελετώντας την *in vitro* διάσπαση των κυτταρικών τοιχωμάτων τομάτας εξέφρασαν αμφιβολίες για τη σπουδαιότητα της β-γαλακτοζιδάσης στο μαλάκωμα των καρπών. Άλλοι ερευνητές επίσης έχουν υποβαθμίσει τη σημασία της β-γαλακτοζιδάσης για το μαλάκωμα (Pharr et al 1976, Yamaki και Kakiiuchi 1979).

Σε αντίθεση με τους προηγούμενους ερευνητές ο Bartley 1974, 1977, βρήκε ότι μια β-γαλακτοζιδάση εμπλέκεται στην απομάκρυνση της γαλακτόζης του τοιχώματος και ένα τέτοιο ένζυμο που έχει την ικανότητα να διασπάσει μια γαλακτάνη της πηκτινής (pectin galactan) έχει αναφερθεί από τον ίδιο. Η β-γαλακτοζιδάση των μήλων μπορεί να δρα έτσι ώστε να μην υπάρχουν διακλαδώσεις στην πηκτινή (Knee 1978), πιθανόν διευκολύνοντας την υδρολύση των πηκτινών από την εξωπολυγαλακτουρονάση (Bartley 1978).

Παρατηρώντας ότι η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης ήταν μεγάλη πριν την απώλεια της γαλακτόζης, ο Bartley 1977 εισηγήθηκε ότι η μειωμένη σύνθεση μπορεί να είναι μερικά υπεύθυνη για τα μειωμένα επίπεδα της γαλακτόζης του τοιχώματος σε μήλα που ωριμάζουν.

Από τα πειραματικά μας δεδομένα φαίνεται ότι η δραστηριότητα του ενζύμου της β-γαλακτοζιδάσης δεν οφείλεται σε ένα απλό ένζυμο, όπως υπέθεταν για τις τομάτες οι Gross και Wällner 1979, αλλά σε δύο ή τρεις μορφές ενζύμων ανάλογα με το στάδιο ωριμότητας. Συγκεκριμένα στο στάδιο ωριμότητας 1 δύο μορφές β-γαλακτοζιδάσης διαχωρίστηκαν οι G-I και G-II, στο στάδιο 3 τρεις μορφές, οι G-I, G-II και G-III, όπως και στο στάδιο 7. Το ένζυμο που είχε τη μεγαλύτερη δραστηριότητα σε όλα τα στάδια ήταν το G-II. Το G-III εμφανίστηκε στο στάδιο 3, ενώ δεν υπήρχε στο στάδιο 1. Κατά την αρχή της αύξησης η δραστηριότητα του G-I ελαττώθηκε (ίσως σ' αυτό οφείλεται η μείωση της δραστηριότητας του συνολικού ενζύμου κατά τα πρώτα στάδια) ενώ του G-II παρέμεινε σταθερή. Κατά τα επόμενα στάδια της αύξησης και ωρίμανσης αυξανόταν η δραστηριότητα και των τριών μορφών (σχήμα 36). Τα G-I και G-II διέφεραν από το G-III όσον αφορά το άριστο pH που άλλαξε κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Η συμμετοχή της β-γαλακτοζιδάσης στο μαλάκωμα των καρπών μπορεί να οφείλεται σε μία ή περισσότερες μορφές του ενζύμου.

Επίσης ο Pressey 1983, βρήκε ότι οι τομάτες περιέχουν υψηλά επίπεδα δραστηριότητας β-γαλακτοζιδάσης και τα αποτελέσματά του δείχνουν ότι η δραστηριότητα του ενζύμου αυτού οφείλεται σε τρεις μορφές της β-γαλακτοζιδάσης-I, II και III. Μόνο η β-γαλακτοζιδάση-II μπορούσε να υδρολύσει τον πολυσακχαρίτη που ήταν πλούσιος σε γαλακτόζη και που απομονώθηκε από τις τομάτες.

Κάθε απώλεια γαλακτάνης από το κυτταρικό τοίχωμα θα απαιτούσε την υδρόλυσή της σε γαλακτόζη που μπορεί μετά να χρησιμοποιηθεί στην αναπνοή ή στο σχηματισμό άλλων πολυσακχαριτών. Η β-γαλακτοζιδάση-II ήταν ικανή να διασπάσει τη γαλακτάνη στα κυτταρικά τοιχώματα της τομάτας και η δραστηκότητά της αυξανόταν κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης.

Ένα επιπρόσθετο στοιχείο που ενισχύει την άποψη για τη μεγάλη σπουδαιότητα της β-γαλακτοζιδάσης στο μαλάκωμα των βερικόκκων είναι το γεγονός ότι το άριστο pH δράσης όλων των μορφών της, G-I, G-II και G-III κυμαίνεται μεταξύ 3.5 και 4 περιοχή που κυμαίνεται και το pH των καρπών, σε αντίθεση με το ένζυμο της πολυγαλακτουρονάσης που το άριστο pH δράσης του κυμαίνεται μεταξύ 5.0 και 5.5.

Οι υψηλές δραστηκότητες των ενζύμων της πολυγαλακτουρονάσης και β-γαλακτοζιδάσης κατά τα πρώτα στάδια της αύξησης των καρπών μπορεί να οφείλονται στη δυναμική ανακατάταξη (turnover) του κυτταρικού τοιχώματος. Κατόπιν ακολουθεί μείωση της δραστηκότητας των ενζύμων. Οι Yamaki et al 1979, έδειξαν ότι οι πολυσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματος είχαν σχεδόν προμεινεί κατά τη διάρκεια του σταδίου πριν τη μεγέθυνση των κυττάρων. Από αυτά φαίνεται ότι η αύξηση των κυττάρων εξαρτάται από τη μερική διάσπαση των πολυσακχαριτών του κυτταρικού τοιχώματος από τα ένζυμα που ήδη υπάρχουν στα πρώτα στάδια. Επομένως, η αύξηση και πάλι της δραστηκότητας των ενζύμων θα αναμενόταν για την ενεργή διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος με την ωρίμανση. Οι αυξημένες δραστηκότητες των ενζύμων θα διεγείρουν το μαλάκωμα των καρπών και το σπάσιμο των ιστών, ακόμη και αν η επιδεκτικότητα του κυτταρικού τοιχώματος στις υδρολάσεις ελέγχεται από ένα ένζυμο που τροποποιεί το κυτταρικό τοίχωμα (cell-wall modifying enzyme) πριν την αύξηση της δραστηκότητας των ενζύμων που διασπούν το κυτταρικό τοίχωμα (Yamaki και Kakiuchi 1979).

Είναι φανερό ότι και άλλα ένζυμα μπορεί να συμμετέχουν στο μαλάκωμα των καρπών. Σαν τέτοια έχουν αναφερθεί οι κυτταρινάσες (Yamaki και Kakiuchi 1979, Hinton και Pressey 1974, Awad και Young 1979), ξυλανάσες, β-ξυλοζιδάσες, β-1,3 γλουκάνάσες

κλπ. (Yamaki et al 1979, Ahmed και Labavitch 1980a, Knee 1973a, Bartley 1976, Gross και Wallner 1979 και Wallner και Walker 1975). Επίσης και άλλοι μη ενζυματικοί μηχανισμοί μπορεί να συμμετέχουν. Η επίδραση του Ca^{2+} στις υδρολάσες του κυτταρικού τοιχώματος και στα δομικά χαρακτηριστικά των πηκτινικών πολυσακχαριτών έχει αποδειχθεί (Suwvan και Poovaiiah 1978, Poovaiiah 1979, Wills και Rigney 1979, Rigney και Wills 1981), αλλά ο τρόπος που τα επίπεδα του Ca^{2+} μειώνονται στο κυτταρικό τοίχωμα, καθώς και ο προορισμός αυτού του κατιόντος δεν είναι γνωστά ακόμη.

Τελικά, παραμένει το ερώτημα για το ρόλο του αιθυλενίου σε αυτή τη διαδικασία του μαλακώματος. Στους κλιμακτηριακούς καρπούς, όπως είναι η τομάτα, η ωρίμανση συνδέεται με τη σύνθεση του αιθυλενίου που συμβαίνει κατά τον ίδιο περίπου χρόνο με την έναρξη της κλιμακτηριακής αναπνοής (Rhodes 1980). Σε πολλούς καρπούς το αιθυλένιο μπορεί να αυξήσει την κλιμακτηριακή αναπνοή και είναι από παλιά γνωστό σαν "ορμόνη ωρίμανσης". Εν τούτοις, λίγα είναι γνωστά για το μοριακό μηχανισμό που διέπει την ωρίμανση ή το μηχανισμό της δράσης του αιθυλενίου.

Τα πειραματικά μας δεδομένα, αν και δεν έγιναν ακριβείς μετρήσεις σε σχέση με το χρόνο, εισηγούνται ότι το αιθυλένιο μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο για την αύξηση της δραστηκότητας της πολυγαλακτουρονάσης που παρατηρείται κατά την ωρίμανση. Στην ποικιλία Πρώιμα Τύρυνθας για παράδειγμα, η δραστηκότητα της πολυγαλακτουρονάσης άρχισε να αυξάνεται μετά την παραγωγή του αιθυλενίου σε ανιχνεύσιμα ποσά στο στάδιο 5. Στα Μπεμπέκου επίσης, η δραστηκότητα της πολυγαλακτουρονάσης άρχισε να αυξάνεται μετά το στάδιο 4, ενώ το αιθυλένιο στο στάδιο αυτό άρχισε να εκλύεται σε ανιχνεύσιμα ποσά μετά 11 ημέρες. Υπάρχουν ενδείξεις επομένως, ότι και στις δύο ποικιλίες η παραγωγή του αιθυλενίου προηγείται της αύξησης της δραστηκότητας της πολυγαλακτουρονάσης, που πιθανόν να επηρεάζεται από το αιθυλένιο.

Επίσης, οι Grierson και Tucker 1983, πιστεύουν ότι η σύνθεση της πολυγαλακτουρονάσης, λαμβάνει χώρα σε ανταπόκριση του αιθυλενίου. Οι ίδιοι παρατήρησαν ότι δεν υπάρχει καμία ένδειξη για κάποιο ρόλο της πολυγαλακτουρονάσης στην έναρξη της

σύνθεσης του αιθυλενίου. Σε παρόμοιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Brady et al 1982, αν και οι μετρήσεις τους δεν σχετίζονται με το χρόνο.

Οι Trigchelaar et al 1978, εισηγήθηκαν ότι η πολυγαλακτουρονάση παίζει ένα ρόλο κλειδί στην ωρίμανση των καρπών της τομάτας. Σύμφωνα με αυτή την υπόθεση, η σύνθεση της πολυγαλακτουρονάσης συμβαίνει με την έναρξη της ωρίμανσης και η διασπαστική δράση αυτού του ενζύμου στο κυτταρικό τοίχωμα των καρπών ελευθερώνει ένζυμα που είναι συνδεδεμένα με το κυτταρικό τοίχωμα και έτσι αρχίζει η σύνθεση του αιθυλενίου και άλλα γεγονότα ωρίμανσης. Ένας επί πλέον παράγοντας που συνεισφέρει, θα μπορούσε να ήταν η πηκτινεστεράση, που η δραστηριότητά της μπορεί να είναι ένα αναγκαίο προαπαιτούμενο για τη δράση της πολυγαλακτουρονάσης.

Αν η β-γαλακτοζιδάση, που η δραστηριότητά της προηγείται χρονικά της παραγωγής του αιθυλενίου, παίζει κάποιο ρόλο στην αύξηση της ευαισθησίας των ιστών στο αιθυλένιο, δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί.

Στα τελευταία στάδια ωριμότητας (6 και 7) και στις δύο ποικιλίες, η ποσότητα του παραγόμενου αιθυλενίου αυξάνει λόγω της αυτοκαταλυτικής παραγωγής του μέσα στους ιστούς του καρπού με την πρόοδο της ωρίμανσης. Η αντίσταση των ιστών στη δράση του αιθυλενίου ελαττώνεται και έτσι γίνονται επιδεκτικοί στη μικρή ενδογενή στάθμη του, με αποτέλεσμα την εισαγωγή των διεργασιών της ωρίμανσης και την αυτοκαταλυτική παραγωγή του σε μεγάλες συγκεντρώσεις.

Συγκρίνοντας τις δύο ποικιλίες μεταξύ τους, παρατηρούμε ότι τα Πρώιμα Τύρυνθας εκλύουν πολύ περισσότερο αιθυλένιο (περίπου 10 φορές), από αυτό που εκλύουν τα Μπεμπέκου (σχήμα 11).

Ένας πιθανός μηχανισμός που ίσως ισχύει στα βερίκοκια κατά την αύξηση και ωρίμανση (σύμφωνα με τα πειραματικά μας δεδομένα είναι :

Ανώριμο κύτταρο βερικόκκων



β-γαλακτοζιδάση
(πιθανόν να δρα έτσι ώστε να μην υπάρχουν διακλαδώσεις στην πηκτίνη)



αιθυλένιο
(πιθανόν να παίζει κάποιο ρόλο στην αύξηση της δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης).



πολυγαλακτουρονάση
(μειώνει το μήκος της αλυσίδας της πρωτοπηκτίνης).



ώριμο κύτταρο

Πιθανό σχήμα που ισχύει κατά την εξέλιξη ενός ανώριμου κυττάρου βερικόκκου σε ώριμο (σύμφωνα με τα πειραματικά μας δεδομένα).

Βέβαια, το θέμα της ωρίμανσης των καρπών είναι τόσο πολύπλοκο και τόσο μεγάλο, που χρειάζεται ακόμη να ερευνηθεί αρκετά, ώστε να εξαχθούν ακριβή συμπεράσματα για τους μηχανισμούς που το διέκουν!

1.3. Επίδραση του αμινοεθοxyvinylglycine (AVG) επί της ωρίμανσης των καρπών

Το AVG, που είναι παρεμποδιστής της βιοσύνθεσης του αιθυλενίου, υπόσχεται πολλά όσον αφορά τον έλεγχο της ωρίμανσης των καρπών, εφόσον το αιθυλένιο όχι μόνο συμμετέχει στον αποχωρισμό του καρπού από το δέντρο, αλλά αποτελεί και μια από τις κυριότερες ορμόνες ωρίμανσης στους κλιμακτηριακούς καρπούς. Η βιοσύνθεση του αιθυλενίου σύμφωνα με τους Adams και Yang 1979, έχει ως εξής : Μεθειονίνη + S-αδενοσυλ-L-μεθειονίνη (SAM) + ACC + Αιθυλένιο. Επειδή το AVG (καθώς και το AOA) δεν παρεμποδίζει τη μετατροπή του ACC σε αιθυλένιο, η αποτελεσματικότητά τους επηρεάζεται από το επίπεδο του ACC που ήδη υπάρχει στον ιστό. Επομένως, η αποτελεσματικότητά τους θα είναι μεγαλύτερη, όταν εφαρμόζεται σε φυτά όπου η βιοσύνθεση του ACC δεν έχει αρχίσει.

Προσυλλεκτικοί χειρισμοί των καρπών των βερικόκκων με AVG 600ppm στο κατάλληλο στάδιο, είχαν σαν αποτέλεσμα να καθυστερήσει η ωρίμανσή τους και να μειωθεί η πτώση των καρπών από τα δέντρα πριν τη συγκομιδή. Παρόμοιες παρατηρήσεις στα μήλα έκαναν και οι Bangerth 1978, Bramlage et al 1980 και Williams 1980.

Οι ψεκασμένοι καρποί που αφήθηκαν να ωριμάσουν πάνω στα δέντρα παρέμειναν επί μακρότερο χρονικό διάστημα σε σύγκριση με τους μάρτυρες (προσωπικές παρατηρήσεις). Έτσι υπάρχουν ενδείξεις ότι χειρισμοί με AVG μπορεί να επιτρέπουν στους καρπούς να μένουν επί μακρότερον πάνω στα δέντρα, επιτρέποντας έτσι μεγαλύτερη ελαστικότητα στη συγκομιδή, που για τους παραγωγούς των βερικόκκων θα ήταν πολύ ωφέλιμη. Τα βερικόκκα είναι ευαίσθητος καρπός και ωριμάζουν σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα. Μικρή επέκταση του χρόνου συγκομιδής θα μπορούσε να αμβλύνει τα ποικίλα προβλήματα που συναντούν οι παραγωγοί τόσο κατά τη συγκομιδή όσο και κατά τη διάθεση των καρπών.

Από τα πειραματικά μας δεδομένα επίσης φαίνεται, ότι το AVG που εφαρμόζεται προσυλλεκτικά κρατάει τους καρπούς τόσο της ποικιλίας Πρώιμα Τίρυνθας όσο και της Μπεμπέκου πιό συνεκτικούς (σχήμα 7), με σημαντικά λιγότερα συνολικά διαλυτά ζτερεά (σχήμα 8), μεγαλύτερη οξύτητα (σχήμα 9), με χαμηλότερο PH (σχήμα 10) περισσότερο φωτεινούς και στην επιδερμίδα και στη σάρκα (υψηλότερο "L"), πιό πράσινους (χαμηλότερη τιμή "a") και με λιγότερα καρωτινοειδή (μεγαλύτερη τιμή "Hue angle") σε σύγκριση με τους μάρτυρες (πίνακες 2 και 3).

Το AVG καθυστερούσε επίσης σημαντικά την παραγωγή του αιθυλενίου στους ψεκασμένους καρπούς (σχήμα 11) σε σύγκριση με τους μάρτυρες.

Τέλος, οι δραστηκότητες των ενζύμων της πολυγαλακτουρονάσης και ιδιαίτερα της β-γαλακτοζιδάσης στους ψεκασμένους καρπούς ήταν μικρότερες από αυτές των μαρτύρων (σχήματα 12 και 13).

Δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη διαφορά στη συμπεριφορά των δύο ποικιλιών απέναντι στο AVG.

Από όλα τα παραπάνω φαίνεται ότι το AVG, παρεμποδίζοντας τη βιοσύνθεση του αιθυλενίου, μπορεί να καθυστερήσει τις διαδικασίες της ωρίμανσης των καρπών των βερικόκκων ανεξάρτητα από την ποικιλία. Την καθυστέρηση της ωρίμανσης στα μήλα με την επίδραση του AVG διαπίστωσαν και οι Autio και Bramlage 1982.

Επι πλέον ψεκασμοί με υψηλές συγκεντρώσεις του AVG των rabbiteye blueberries και των ροδακίνων "Rio Oso Gem" αφού είχε συμπληρωθεί η περίοδος του ληθάργου, καθυστερούσαν αποτελεσματικά την άνθηση, μειώνοντας έτσι τους κινδύνους των ανοιξιάτικων παγετών, και η συνεκτικότητα των καρπών που προέρχονταν από τους ψεκασμένους βραχίονες ήταν αυξημένη (Dekazos, 1981). Έτσι, είναι δυνατόν να ελέγχεται η ποιότητα του καρπού από το στάδιο του σφθαλμού. Τέλος αυξημένη καρπόδεση, που ακολουθεί την εφαρμογή του AVG, έχει διαπιστωθεί στα μήλα "Delicious" (Greené 1980, 1983 και Williams 1980, 1981) και "Golden Delicious" (Edgerton 1981).

2. Αποθήκευση των καρπών - Επίδραση AVG και AOA

Η ποιότητα των φρέσκων καρπών των βερίκοκκων επηρεάζεται προφανώς από τις αλλαγές που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και της αποθήκευσης. Επειδή ο κύριος όγκος των καρπών πρέπει να μεταφερθεί από την περιοχή που παράγεται στην περιοχή που θα καταναλωθεί (που απέχουν κάποια απόσταση μεταξύ τους), ο καρπός συγκομίζεται όχι πολύ ώριμος, πολλές φορές σχεδόν πρασινοκίτρινος και αρκετά συνεκτικός και έτσι διοχετεύεται στην αγορά όπου διακινείται συνήθως σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 25°C που επικρατούν εκείνη την εποχή. Τα μή ωριμα βερίκοκκα μπορεί να μη φθάνουν την άριστη ποιότητά τους κάτω από αυτές τις συνθήκες, εκτός του ότι συμβαίνουν και αξιολογικές μειώσεις απώλειες σε τόσο υψηλές θερμοκρασίες.

Οι παραγωγοί θέλουν να συγκομίζουν τους καρπούς τους σε κάποιο στάδιο που θα μεγιστοποιείται η αποδοχή τους από τους καταναλωτές. Επίσης, το κριτήριο της συγκομιδής θα πρέπει να επιτρέπει στους μεταφορείς των καρπών καθώς και τους λιανοπωλητές, να παρατείνουν το χρόνο που θα τους χειρίζονται, κρατώντας αυτούς αποθηκευμένους σε χαμηλές θερμοκρασίες μέχρι τέλος στους καταναλωτές να απολαμβάνουν τους καρπούς για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Έτσι πρέπει να γνωρίζουμε, πώς η αποθήκευση κάτω από ψύξη επηρεάζει την ποιότητα των καρπών.

Το αιθυλένιο είναι μια από τις κύριες ορμόνες ωρίμανσης στους κλιμακτηριακούς καρπούς (Leopold 1958, Pratt 1974, Rhodes και Reid 1974). Ο έλεγχος του αιθυλενίου είναι το κλειδί για τον έλεγχο της ωρίμανσης άρα και της αποθήκευτικής ζωής αυτών των καρπών. Συγκρίνοντας την αποθήκευση κάτω από ελεγχόμενες ατμόσφαιρες ή κάτω από χαμηλή πίεση (hyrobaric storage) που προλαβαίνουν τη σύνθεση του αιθυλενίου και ή τη δράση του, οι χημικές μέθοδοι απαιτούν πιά απλό εξοπλισμό και είναι λιγότερο ακριβές. Το AVG (aminoethoxyvinylglycine, Preuss et al 1974) ή υποκατάστατα αυτού, όπως το aminoxyacetic acid (AOA, Yu et al 1979a, 1979b), έχει αναφερθεί να μειώνουν την παραγωγή του αιθυλενίου (Lieberman 1975), μπλοκάροντας τη μετατροπή του από τη μεθειονίνη και παρεμποδίζοντας επομένως τη βιοσύνθεσή του (Boller et al 1979).

Έτσι, μελετήθηκε η επίδραση του AVG ή ΑΟΑ επί της αποθηκευτικής ζωής των καρπών των βερικόκκων.

Από τα πειραματικά μας δεδομένα (πίνακες 4, 7 και 8) φαίνεται ότι κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των καρπών παρατηρείται μείωση της συνεκτικότητας όπως άλλωστε συμβαίνει και με άλλους καρπούς (Desphande και Salunke 1969, Wankier et al 1970, Bangert 1978, Agamy et al 1981). Επίσης παρατηρείται μείωση της οξύτητας και αύξηση των συνολικών διαλυτών στερεών και του PH.

Τόσο οι ψεκασμοί επί των δέντρων της ποικιλίας Μπεμπέκου 1984 με AVG και Μπεμπέκου 1986 με ΑΟΑ και της ποικιλίας Harlayne 1985 με ΑΟΑ πριν τη συγκομιδή, όσο και οι εμβαπτίσεις για 3 min σε διαλύματα ΑΟΑ μετά τη συγκομιδή φαίνεται ότι έχουν κάποια επίδραση πάνω στη συνεκτικότητα των καρπών και των δύο ποικιλιών κατά την αποθήκευσή τους. Οι καρποί της ποικιλίας Μπεμπέκου 1984 που αποθηκεύτηκαν σε $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ και 85-90% Σ.Υ. και είχαν ψεκαστεί με 600rpm AVG πριν τη συγκομιδή ($M_6\Psi$) παρουσιάζονται συνεκτικότεροι, με αυξημένη οξύτητα και μειωμένο PH σε σύγκριση με τους μάρτυρες (πίνακας 7). Από τον ίδιο πίνακα επίσης φαίνεται ότι το AVG έχει ιδιαίτερη αποτελεσματικότητα στο χρώμα των καρπών. Οι τιμές "L" που μετρούν τη φωτεινότητα ή το σκοτεινό του καρπού έδειξαν ότι οι καρποί μάρτυρες (M_6M) ήταν αξιοσημείωτα σκοτεινότεροι από τους ψεκασμένους ($M_6\Psi$). Επίσης, οι τιμές "a", μέτρο του κόκκινου (+a) ή πράσινου (-a) χρώματος (τα αποτελέσματα δεν αναγράφονται) ήταν αξιοσημείωτα χαμηλότερες στους ψεκασμένους καρπούς που σημαίνει ότι είχαμε περισσότερο πράσινο χρώμα σ' αυτούς σε σύγκριση με τους μάρτυρες.

Το AVG, φαίνεται να έχει επίδραση επί των ενζύμων της πολυγαλακτουρονάσης και β-γαλακτοζιδάσης και πριν την τοποθέτηση στην αποθήκη και κατά τη διάρκεια της αποθηκευτικής ζωής των καρπών της ποικιλίας Μπεμπέκου κάτω από τις συνθήκες που προαναφέρθηκαν (πίνακας 7).

Από τις παρατηρήσεις μας και τα πειραματικά μας δεδομένα μπορούμε να συμπεράνουμε ότι το AVG που είναι ένας παρεμποδιστής της παραγωγής αιθυλενίου (Baker et al 1976, Baker

et al 1977, Lieberman et al 1975, Wang και Mellenthin 1977), μπορεί να καθυστερήσει την ωρίμανση και να παρατείνει την αποθηκευτική ζωή των βερικοκίων του σταδίου 6 της ποικιλίας Μπεμπέκου. Το ποσοστό των καρπών που είναι εμπορεύσιμοι είναι κατά πολύ μεγαλύτερο στους ψεκασμένους καρπούς σε σύγκριση με τους μάρτυρες, που μετά 23 ημέρες αποθήκευσης είχαν μαλακώσει τελείως και κατά το μεγαλύτερο ποσοστό τους ήσαν μη εμπορεύσιμοι. Πιο αποτελεσματική όμως ήταν η επίδραση του AOA σε καρπούς της ίδιας ποικιλίας που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (αντίστοιχο περίπου του σταδίου ωριμότητας 5) όπως φαίνεται στον πίνακα 8α. Οι καρποί που ψεκάστηκαν με 500 και 1400ppm (MSA και MSB) διατηρήθηκαν και εδώ σημαντικά συνεκτικότεροι από τους μάρτυρες (MM) καθώς επίσης και οι καρποί που εμβαπτίστηκαν μετά τη συλλογή για 3 min σε διάλυμα AOA 2000 ppm (ME). Οι ψεκασμένοι στα δέντρα καρποί με μεγαλύτερη συγκέντρωση AOA διατηρήθηκαν πιο συνεκτικοί κατά την αποθήκευση, πιο φωτεινοί και στη σάρκα και στην επιδερμίδα και με μεγαλύτερη οξύτητα από τους ψεκασμένους με μικρότερη συγκέντρωση AOA, όπως συνέβη και προηγουμένως (στάδιο ωριμότητας 6).

Επίσης οι εμβαπτισμένοι καρποί σε AOA 2000ppm, οι ME, (πίνακας 8α) έδειξαν παρόμοια συμπεριφορά με τους ψεκασμένους πάνω στα δέντρα, όσον αφορά τη συνεκτικότητα, οξύτητα και χρώμα.

Τα συνολικά διαλυτά στερεά στην ποικιλία Μπεμπέκου δεν δέχτηκαν σημαντική επίδραση από το AVG ή AOA με εξαίρεση τους υπερώριμους καρπούς (πίνακας 8β).

Η εμπορικότητα των καρπών που χειρίστηκαν με AOA, πριν ή μετά τη συλλογή, κατά το τέλος της αποθηκευτικής τους ζωής που ήταν 30 περίπου ημέρες έφθασε στο 74.90% για τους ψεκασμένους με μεγάλη συγκέντρωση AOA καρπούς (MSB), 69,85% για τους ψεκασμένους με μικρή συγκέντρωση (MSA) και στο 69.1% για τους εμβαπτισμένους (ME) σε σύγκριση με τους μάρτυρες που κατά 80% ήσαν μη εμπορεύσιμοι (καρποί ζαρωμένοι, μυκητολογικά προσβεβλημένοι και γενικά ζημιωμένοι).

Πιο αποδεκτοί όμως από τον καταναλωτή ήταν οι εμ -

βαπτισμένοι (ME) και οι ψεκασμένοι με μικρή συγκέντρωση ΑΟΑ καρποί (MSA), όπως αποδείχτηκε με ένα πρόχειρο οργανοληπτικό τεστ που έγινε σύμφωνα με την τριγωνική δοκιμή (triangle test, Αθανασόπουλος 1986).

Μια ακόμη απόδειξη για την θετική επίδραση του ΑΟΑ επί της παράτασης της αποθηκευτικής ζωής των βερικόκκων από τελούν και οι υπερώριμοι καρποί (πίνακας 8β), που είτε ψεκασμένοι επί των δέντρων (LMSA, LMSB), είτε εμβαπτισμένοι μετά τη συλλογή σε ΑΟΑ, έδειξαν παρόμοια τάση συμπεριφοράς με τους καρπούς που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (πίνακας 8α) οπσοδήποτε όμως ο βαθμός της επίδρασης του ΑΟΑ πάνω στις παραμέτρους ποιότητας ήταν σημαντικά μικρότερος.

Φαίνεται επομένως, ότι με την πρόοδο της ωρίμανσης περιορίζεται η επίδραση του ΑΟΑ επί της καθυστέρησης της ωρίμανσης των καρπών στην αποθήκη.

Την ικανότητα του AVG να παρατείνει την αποθηκευτική ζωή των μήλων με ψεκασμούς πριν τη συλλογή, που είναι η πιο αποτελεσματική μέθοδος, έχει διαπιστωθεί από τους Autio και Bramlage 1982 και Bramlage et al 1980. Επίσης, ο Dekazos 1979, 1980 διαπίστωσε παράταση της αποθηκευτικής ζωής των rabbiteye blueberries, εμβαπτίζοντας τους καρπούς σε διαλύματα AVG διαφόρων συγκεντρώσεων. Οι Ness και Romani 1980 και οι Wang και Mellenthin 1977 βρήκαν επίσης, ότι χειρισμοί των αχλαδιών με AVG παρεμπόδιζαν την παραγωγή αιθυλενίου και καθυστερούσαν την ωρίμανση.

Οι καρποί της Αμερικάνικης ποικιλίας Harlayne που χειρίστηκαν με ΑΟΑ πριν ή μετά τη συλλογή είχαν σημαντικά λιγότερα συνολικά διαλυτά στερεά (σχήμα 15) και υψηλότερη οξύτητα (σχήμα 16), σε σύγκριση με τους μάρτυρες κατά το τέλος της αποθηκευτικής τους ζωής. Οι μάρτυρες των ψεκασμένων καρπών (CUN) παρουσίασαν στην αρχή της αποθηκευτικής ζωής τους αύξηση και κατόπιν μείωση των καρωτινοειδών ("Hue angle"), ενώ οι ψεκασμένοι με ΑΟΑ 1400 rpm (SPB) παρουσίασαν συνεχή αύξηση αυτών.

Οι Desphande και Salunkhe 1969, βρήκαν επίσης ότι βερικόκκα της ποικιλίας Large Early Montgamet, καθώς γίνονται υπερώριμα με την πρόοδο της αποθήκευσης, το άρωμα, το ασκορβικό οξύ καθώς και οι χρωστικές των καρωτινοειδών μειώνονται.

Γενικά, η επίδραση του ΑΟΑ επί του χρώματος των καρπών της ποικιλίας Harlayne δεν ήταν αξιοσημείωτη.

Η επίδραση του ΑΟΑ ήταν όμως σημαντική επί της παραγωγής του αιθυλενίου από καρπούς που χειρίστηκαν πριν ή μετά τη συλλογή και ωρίμασαν σε θερμοκρασία δωματίου (21°C), είτε πριν την τοποθέτησή τους στην αποθήκη (σχήμα 18), είτε μετά από ορισμένο χρόνο αποθήκευσης (σχήματα 19, 20, 21, 22, 23). Σε όλες τις περιπτώσεις, οι χειρισθέντες καρποί είχαν παραγωγή μικρότερης ποσότητας αιθυλενίου και παρουσίασαν μιά καθυστέρηση στην έναρξη της έκλυσης του σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Ιδιαίτερα οι καρποί εκείνοι που είχαν χειριστεί με μεγαλύτερη συγκέντρωση του ΑΟΑ, παρουσίασαν μικρότερη παραγωγή και τις περισσότερες φορές μεγαλύτερη καθυστέρηση στην έκλυση του αιθυλενίου, από αυτούς που χειρίστηκαν με μικρότερη συγκέντρωση.

Ο έλεγχος της παραγωγής του αιθυλενίου από το ΑΟΑ ήταν αποτελεσματικότερος στους καρπούς που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας και ωρίμασαν στους 21°C μετά από 13 ημέρες αποθήκευσης στους 2.8°C (αποθήκη I), σε σύγκριση με αυτούς που αποθηκεύτηκαν στους 5.6°C (αποθήκη II), όπως φαίνεται στα σχήματα 20, 21. Το ίδιο συνέβη και με τους καρπούς που συγκομίστηκαν μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (σχήματα 22, 23). Επομένως, φαίνεται ότι η αυξημένη θερμοκρασία της αποθήκης II περιόρισε τον έλεγχο παραγωγής του αιθυλενίου από το ΑΟΑ, στους καρπούς που αποθηκεύτηκαν σ' αυτή.

Επι πλέον, όσο προχωρεί η ωρίμανση των καρπών, τόσο μειώνεται και η αποτελεσματικότητα του ΑΟΑ επί της παραγωγής αιθυλενίου από τους καρπούς αυτούς. Έτσι το ΑΟΑ ήταν περισσότερο αποτελεσματικό στους καρπούς που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας (σχήματα 20 και 21) σε σύγκριση με αυτούς που συγκομίστηκαν 3 ημέρες αργότερα (σχή-

ματα 22A και 23A). Κάτι παρόμοιο παρατήρησαν και οι Bramlage et al 1980, στα μήλα και διατύπωσαν τη γνώμη ότι καρποί που βρίσκονταν στο προκλιμακτηριακό στάδιο ανταποκρίνονταν καλλίτερα στο AVG (τε AOA είναι υποκατάστατό του) από καρπούς που ήσαν ώριμοι.

Από τα πειραματικά μας δεδομένα φαίνεται ότι όλοι οι καρποί, πριν την τοποθέτησή τους στην αποθήκη και κατά την ωρίμανσή τους σε θερμοκρασία 21°C , παρουσίασαν μικρότερη παραγωγή αιθυλενίου, σε σύγκριση με αυτούς που μεταφέρθηκαν στους 21°C μετά από ορισμένο χρόνο αποθήκευσης (σχήμα 18 σε σύγκριση με τα 19, 20, 21, 22, και 23). Άρα, οι χαμηλές θερμοκρασίες κατά την αποθήκευση των καρπών φαίνεται ότι αυξάνουν την παραγωγή του αιθυλενίου.

Επίσης, οι Brecht και Kader 1984a βρήκαν ότι η χαμηλή θερμοκρασία της αποθήκης έχει μικρή επίδραση στο χρόνο που θα αρχίσει η επακόλουθη αύξηση της παραγωγής του αιθυλενίου από νεκταρίνια και ότι η παραγωγή του αιθυλενίου αυξάνεται με την έκθεση των καρπών στις χαμηλές θερμοκρασίες (Brecht και Kader 1984b). Το ίδιο παρατήρησαν και οι Klee et al 1983, σε μήλα και αχλάδια που παρέμειναν στους 3°C , για 48 ώρες και μετά μεταφέρθηκαν στους 20°C .

Το AOA επίσης, επηρέασε σημαντικά τη δραστικότητα της πολυγαλακτουρονάσης και της β-γαλακτοζιδάσης στους καρπούς που ψεκάστηκαν πάνω στα δέντρα με AOA 600 (SPA) και 1400ppm (SPB), κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους στους 2.8°C (σχήματα 24A και 25A). Έτσι, το AOA παρεμποδίζοντας την παραγωγή του αιθυλενίου που θεωρείται σαν ορμόνη ωρίμανσης φαίνεται ότι καθυστερεί την έναρξη των μηχανισμών της ωρίμανσης και αυτή η καθυστέρηση πιθανόν να έχει σα συνέπεια μεταξύ των άλλων και τη μειωμένη δραστικότητα των παραπάνω ενζύμων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.

Η πορεία της δραστικότητας της πολυγαλακτουρονάσης ήταν ανοδική σε όλη τη διάρκεια της αποθηκευτικής ζωής των καρπών, ενώ της β-γαλακτοζιδάσης, στις περισσότερες των περιπτώσεων, αυξανόταν μέχρις ότου φθάσει μια μέγιστη τιμή κατά το μέσον περίπου της αποθηκευτικής ζωής και κατόπιν μειωνόταν.

Στα βερίκοκκα, η δραστηριότητα της πολυγαλακτουρονάσης αυξάνει κατά την ωρίμανση και πολύ περισσότερο κατά την υπερωρίμανση, ενώ η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης αυξάνει πολύ ενωρίτερα και κατά την υπερωρίμανση μειώνεται. Φαίνεται επομένως, ότι η πολυγαλακτουρονάση σχετίζεται περισσότερο με την υπερωρίμανση και η β-γαλακτοζιδάση με την ωρίμανση.

Οι Yamaki και Kakiuchi 1979, σχετίζουν τη δραστηριότητα της πολυγαλακτουρονάσης με το μαλάκωμα των καρπών και τη δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης, που υδρολύει μερικά τις ημικυτταρίνες, με το σπάσιμο της σάρκας στα αχλάδια κατά την υπερωρίμανση.

Τέλος, οι καρποί που ψεκάστηκαν επί των δέντρων με AOA 1400ppm (SPB) παρουσίασαν καθυστέρηση στην ωρίμανσή τους και σε όλη τη διάρκεια της αποθηκευτικής τους ζωής η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης αυξανόταν, σε αντίθεση με τους μάρτυρες (CUN) όπου μετά 13 ημέρες αποθήκευσης παρατηρήθηκε μείωσή της. Οι καρποί SPB μετά 26 ημέρες αποθήκευσης ήταν περίπου κατά 79% εμπορεύσιμοι (υγιείς καρποί) και οι SPA (ψεκασμένοι με AOA 600ppm) κατά 70% σε αντίθεση με τους μάρτυρες (CUN) που κατά 78% ήταν μη εμπορεύσιμοι (ζημιωμένοι καρποί).

Το οργανοληπτικό τεστ δοκιμαστών που έλαβε χώρα μετά 30 ημέρες αποθήκευσης, έδειξε ότι οι καρποί LZ (συγκομίστηκαν μετά το στάδιο της εμπορικής ωριμότητας, εμβαπτίστηκαν σε AOA 2000ppm και αποθηκεύτηκαν στην αποθήκη I), υπερέιχαν οργανοληπτικά από όλες τις άλλες κατηγορίες καρπών που αναφέρονται στον πίνακα 6. Οι LZ καρποί μετά 26 ημέρες αποθήκευσης ήταν περίπου κατά 72% εμπορεύσιμοι και οι LE (εμβαπτισμένοι σε AOA 1000ppm) κατά 68%, σε αντίθεση με τους μάρτυρες (LC) όπου το ποσοστό των εμπορεύσιμων καρπών ανερχόταν στο 19%. Από αυτό προκύπτει, ότι η αυξημένη συγκέντρωση του AOA αυξάνει το ποσοστό των εμπορεύσιμων καρπών κατά το τέλος της αποθηκευτικής τους ζωής.

Από τα παραπάνω γίνεται φανερό, ότι αποτελεσματικότερος τρόπος για την εφαρμογή του AOA ή του AVG, όσον αφορά την παράταση της αποθηκευτικής ζωής, είναι ο ψεκασμός των καρπών πάνω στα δέντρα στο κατάλληλο (προκλιμακτηριακό) στάδιο, σε σύγκριση με τις εμβαπτίσεις μετά τη συλλογή. Και αυ-

τό πιθανόν να οφείλεται στη μικρή απορρόφηση του AOA από τους καρπούς κατά τις εμβαιπίσεις.

Οι καρποί συνεπώς που χειρίστηκαν με AVG ή AOA πριν ή μετά τη συλλογή και συντηρούνται επί μακρότερο χρονικό διάστημα και υπερέχουν οργανοληπτικά κατά το τέλος της αποθηκευτικής τους ζωής σε σύγκριση με αυτούς που δεν έχουν υποστεί κανένα χειρισμό.

Επομένως, επειδή το AVG και το AOA παρεμποδίζουν τη βιοσύνθεση του αιθυλενίου, μπλοκάροντας το σχηματισμό του από τη μεθειονίνη και επειδή το αιθυλένιο θεωρείται ευρέως όχι μόνο σαν υποκινητής (Lieberman 1979), αλλά και ότι συντονίζει τα διάφορα φαινόμενα της ωρίμανσης (Mc Glasson et al 1978), αυτές οι ουσίες δίνουν τη δυνατότητα για έλεγχο της έναρξης της ωρίμανσης των καρπών και πραγματικά παρατείνουν την αποθηκευτική ζωή τους.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων που παρατέθηκαν προκύπτουν ορισμένα συμπεράσματα σχετικά με την αύξηση, ωρίμανση και αποθήκευση των βερικόκκων, που μπορεί να συνοψιστούν στα εξής :

1. Και στις δύο ποικιλίες, Πρώιμα Τίρουνθας και Μπεμπέκου, το ένζυμο της β-γαλακτοζιδάσης, που η δραστηκότητά του αυξάνει σχεδόν κατακόρυφα κατά τη διάρκεια της αύξησης και της ωρίμανσης, φαίνεται ότι συμβάλλει σημαντικά στο μαλάκωμα των καρπών που παρατηρείται κατά την ίδια περίοδο.
2. Το ένζυμο της πολυγαλακτουρονάσης, που παρουσίασε μικρή αύξηση της δραστηκότητας του κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, δεν φαίνεται να συμβάλλει σημαντικά στο μαλάκωμα των βερικόκκων, σε αντίθεση με ότι συμβαίνει σε πολλούς άλλους καρπούς. Μια πρόσθετη επιβεβαίωση γι' αυτό αποτελεί και η διαπίστωση ότι πρόκειται περί εξωενζύμου.
3. Η δραστηκότητα της β-γαλακτοζιδάσης, που το μοριακό της βάρος είναι 63.095, οφείλεται σε δύο μορφές τις G-I και G-II κατά την αρχή της αύξησης και σε τρεις, τις G-I, G-II και G-III κατά τα επόμενα στάδιά της. Και των τριών μορφών οι δραστηκότητες αυξάνουν σημαντικά κατά τη διάρκεια της αύξησης και ωρίμανσης.
4. Η δραστηκότητα της πολυγαλακτουρονάσης, τόσο κατά την αρχή της αύξησης όσο και κατά το τέλος της ωρίμανσης, οφείλεται σε δύο μορφές τις PG-I και PG-II, που τα μοριακά τους βάρη προσδιορίστηκαν ίσα με 158.489 και 50.118 αντίστοιχα. Το Ca^{2+} ενεργοποιεί τις PG-I και PG-II που τελικά προσδιορίστηκαν σαν εξωένζυμα.
5. Η παραγωγή του αιθυλενίου φαίνεται να προηγείται χρονικά της αύξησης της δραστηκότητας της πολυγαλακτουρονάσης και να ακολουθεί αυτή της β-γάλακτοζιδάσης.
6. Το aminoethoxyvinylglycine (AVG), που ψεκάστηκε στους καρπούς πριν τη συλλογή, φαίνεται ότι καθυστερεί την

ωρίμανση των καρπών Πρώιμα Τύρουθας και Μπεμπέκου παρεμποδίζοντας την παραγωγή του αιθυλενίου και κρατώντας αυτούς πιο συνεκτικούς, με μικρότερη οξύτητα, λιγότερα συνολικά διαλυτά στερεά και λιγότερα καρωτινοειδή σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Επίσης, το AVG φαίνεται ότι παρατείνει την αποθηκευτική ζωή των καρπών της ποικιλίας Μπεμπέκου.

7. Το aminoxyacetic acid (AOA) που χρησιμοποιήθηκε πριν τη συλλογή με ψεκασμούς ή μετά τη συλλογή με εμβαπτίσεις των καρπών των ποικιλιών Μπεμπέκου και Harlayne, φαίνεται επίσης ότι παρατείνει την αποθηκευτική τους ζωή, παρεμποδίζοντας την παραγωγή του αιθυλενίου.
8. Ο πιο αποτελεσματικός τρόπος εφαρμογής του AOA, όσον αφορά την παράταση της αποθηκευτικής ζωής, φαίνεται ότι είναι ο ψεκασμός των καρπών πριν τη συλλογή σε κατάλληλο στάδιο, σε σύγκριση με τις εμβαπτίσεις μετά τη συλλογή.
9. Η αποθήκευση για ορισμένο χρονικό διάστημα σε χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνει την παραγωγή αιθυλενίου από τους καρπούς.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η αύξηση και ωρίμανση των καρπών των βερίκοκκων των ποικιλιών Πρώιμα Τίρυνθας και Μπεμπέκου και κυρίως η μεταβολή της δραστηριότητας των ενζύμων της πολυγαλακτουρονάσης και β-γαλακτοζιδάσης σε σχέση με την ωριμότητα. Επίσης, μελετήθηκε και ο διαχωρισμός των παραπάνω ενζύμων κατά τα διάφορα στάδια της αύξησης και ωρίμανσης. Αντικείμενο της εργασίας αυτής ήταν και η παράταση της αποθηκευτικής ζωής των καρπών των ποικιλιών Μπεμπέκου και Harlayne καθώς επίσης και η επίδραση των ουσιών αμινοεθοxyvinylglycine (AVG) και αμινοοxyacetic acid (AOA) επί της ωρίμανσης και αποθήκευσης των καρπών αυτών.

Τα βερίκοκκα, σαν κλιμακτηριακοί καρποί, παρουσιάζουν διπλή σιγμοειδή καμπύλη αύξησης. Κατά τη διάρκεια της αύξησης, ανεξάρτητα από ποικιλία, μειώνεται η συνεκτικότητα των καρπών, αυξάνουν τα συνολικά διαλυτά στερεά που στην ποικιλία Μπεμπέκου κατά το τέλος της ωρίμανσης φθάνουν σε υψηλότερο επίπεδο σε σύγκριση με τα Πρώιμα Τίρυνθας, μειώνεται η ολική ογκομετρούμενη οξύτητα και αυξάνει το ΡΗ. Ένας λόγος συνολικών διαλυτών στερεών προς οξέα ίσος με 5 περίπου για τα Πρώιμα Τίρυνθας και με 7 για τα Μπεμπέκου φαίνεται ότι θα ήταν ικανοποιητικός για να αρχίσει η συγκομιδή των καρπών.

Το χρώμα, τόσο της επιδερμίδας όσο και της σάρκας των καρπών, γίνεται πιο φωτεινό με την πρόοδο της αύξησης και ωρίμανσης, οι χλωροφύλλες μειώνονται και εξαφανίζονται και αυξάνουν τα καρωτινοειδή.

Επίσης, η παραγωγή του αιθυλενίου αρχίζει να αυξάνεται με την ωρίμανση και να συντομεύεται ο χρόνος που φθάνει στο μέγιστο της παραγωγής του. Παρατηρείται, ότι στην ποικιλία Πρώιμα Τίρυνθας παράγεται πολύ μεγαλύτερη ποσότητα αιθυλενίου από αυτή που παράγεται στην ποικιλία Μπεμπέκου.

Το ένζυμο της πολυγαλακτουρονάσης κατά τα πρώτα στάδια της αύξησης παρουσιάζει πολύ μεγάλη δραστηριότητα που συνεχώς μειώνεται και αρχίζει να αυξάνεται πάλι κατά την ωρίμανση των καρπών φθάνοντας μια μέγιστη δραστηριότητα, κατά πολλές φορές μικρότερη (ανάλογα με την ποικιλία) από αυτή των αρχικών σταδίων της αύξησης. Η β-γαλακτοζιδάση παρουσιάζει και αυτή μεγάλες τιμές δραστηριότητας κατά την αρχή της αύξησης που κατόπιν μειώνονται λίγο και αρχίζουν να αυξάνονται και πάλι από το με-

σον περίπου της περιόδου που σκληρύνεται το ενδοκάρπιο. Η αύξηση αυτή είναι συνεχής μέχρι μιας μέγιστης τιμής δραστηριότητας κατά το τέλος της ωρίμανσης, κατά πολύ μεγαλύτερη αυτής του αρχικού σταδίου. Από τα δεδομένα μας φαίνεται ότι το δεύτερο μέγιστο της δραστηριότητας της β-γαλακτοζιδάσης αρχίζει πριν το δεύτερο μέγιστο της δραστηριότητας της πολυγαλακτουρονάσης του οποίου μόλις προηγείται η παραγωγή του αιθυλενίου. Αυτό υποδεικνύει ότι η β-γαλακτοζιδάση συνδέεται κύρια με την ωρίμανση των καρπών.

Η πολυγαλακτουρονάση διαχωρίστηκε σε δύο μορφές τόσο κατά την αρχή όσο και κατά το τέλος της αύξησης, τις PG-I και PG-II που το άριστό τους ΡΗ ήταν 5.5 και 5.0 και το μοριακό τους βάρος 158.489 και 50.118 αντίστοιχα. Και οι δύο προσδιορίστηκαν σαν εξωένζυμα και η συνεισφορά τους στο μαλάκωμα των καρπών φαίνεται να είναι μικρή.

Η β-γαλακτοζιδάση επίσης, διαχωρίστηκε σε δύο μορφές κατά την αρχή της αύξησης τις G-I και G-II και κατά τη διάρκεια και το τέλος της σε τρεις τις G-I, G-II και G-III που η δραστηριότητά τους αυξανόταν με την πρόοδο της ωρίμανσης και το άριστό τους ΡΗ ήταν 4.0, 4.0 και 3.5 αντίστοιχα. Το Μ.Β. της β-γαλακτοζιδάσης ήταν 63.095. Η συνεισφορά της στο μαλάκωμα των καρπών φαίνεται να είναι σημαντική και αρκετά μεγαλύτερη από αυτή της πολυγαλακτουρονάσης. Οποιοδήποτε και άλλα ένζυμα συμμετέχουν σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό στο μηχανισμό της ωρίμανσης και του μαλακώματος των καρπών που ακόμη δεν έχει γίνει επακριβώς γνωστός.

Το αμινοεθοxyνιnylglycine (AVG), ψεκασμένο πάνω στα δέντρα σε προκλιμακτηριακό στάδιο, παρεμποδίζοντας τη βιοσύνθεση του αιθυλενίου, προκαλούσε καθυστέρηση της ωρίμανσης των καρπών που ήταν περισσότερο συνεκτικοί, είχαν λιγότερα συνολικά διαλυτά στερεά, μεγαλύτερη οξύτητα και χαμηλότερο ΡΗ, λιγότερα καρωτινοειδή και περισσότερη φωτεινότητα. Επίσης, είχαν χαμηλότερη δραστηριότητα των ενζύμων της πολυγαλακτουρονάσης και β-γαλακτοζιδάσης.

Κατά την αποθήκευση των καρπών διαπιστώθηκε ότι οι ποιοτικές παράμετροι μεταβλήθηκαν κατά τον ίδιο περίπου τρόπο, όπως και κατά την ωρίμανση πάνω στο δέντρο. Η δραστηριότητα της πολυγαλακτουρονάσης αυξανόταν συνεχώς με την πρόοδο της αποθήκευσης, ενώ της β-γαλακτοζιδάσης αυξανόταν μέχρι το μισό πε -

ρίπου της αποθηκευτικής ζωής και μειωνόταν κατόπιν. Έτσι φαίνεται ότι η πολυγαλακτουρονάση συνδέεται πιά πολύ με το μαλάκωμα κατά την υπερωρίμανση και η β-γαλακτοζιδάση με το μαλάκωμα κατά την ωρίμανση των καρπών.

Το αιθυλένιο δεν έγινε δυνατόν να ανιχνευτεί κάτω από τις συνθήκες μέτρησης κατά τη διάρκεια της αποθηκευτικής ζωής. Η παραγωγή του μελετήθηκε σε καρπούς, που μετά από ορισμένο χρόνο αποθήκευσης ωρίμαζαν σε θερμοκρασία δωματίου και διαπιστώθηκε ότι αυξανόταν μετά την αποθήκευση (έκθεση) των καρπών σε χαμηλές θερμοκρασίες.

Οι καρποί που συγκομίστηκαν στο στάδιο της εμπορικής ωριμότητας, ανεξάρτητα από την ποικιλία, συντηρήθηκαν επί μακρότερο χρονικό διάστημα, σε σύγκριση με αυτούς που συγκομίστηκαν αργότερα. Επίσης, στην ποικιλία Harlayne καλλίτερα αποτελέσματα έδωσε η αποθήκευση των καρπών στη χαμηλότερη θερμοκρασία 2.8°C και 95% ΣΥ σε σύγκριση με τους 5.6°C και 90% Σ.Υ.

Το αμινοεθοxyvinylglycine (AVG) καθώς και το αμινοoxyacetic acid (AOA), που εφαρμόστηκαν προσυλλεκτικά με ψεκασμό των καρπών στο δένδρο και μετασυλλεκτικά με εμβάπτιση των καρπών, επέδρασαν επί της καθυστέρησης της ωρίμανσης κατά την αποθήκευση και παρέτειναν την αποθηκευτική ζωή των καρπών.

Η εφαρμογή των παραπάνω ουσιών προσυλλεκτικά, με ψεκασμούς των καρπών στο δένδρο στο κατάλληλο στάδιο πιστεύεται ότι είναι ο πιά αποτελεσματικός τρόπος όσον αφορά την παράταση της αποθηκευτικής ζωής.

Οι καρποί που εμβαπτίστηκαν, καθώς και οι καρποί που ψεκάστηκαν με AOA παρουσίασαν μειωμένη παραγωγή αιθυλενίου κατά την ωρίμανσή τους σε θερμοκρασία δωματίου μετά από ορισμένο χρόνο αποθήκευσης, σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Αυτοί μάλιστα που χειρίστηκαν με μεγαλύτερη συγκέντρωση AOA είχαν μειωμένη παραγωγή από αυτούς που χειρίστηκαν με μικρότερη συγκέντρωση.

Η αποτελεσματικότητα του AOA επί της καθυστέρησης της παραγωγής του αιθυλενίου μειωνόταν με την πρόοδο της ωρίμανσης και με την αύξηση της θερμοκρασίας αποθήκευσης.

Κατά το τέλος της αποθηκευτικής ζωής, οι καρποί που χειρίστηκαν με AOA υπερείχαν οργανοληπτικά, σε σύγκριση με τους μη χειρισθέντες.

Επομένως, επειδή το AVG και το AOA παρεμποδίζουν τη βιοσύνθεση του αιθυλενίου, μπλοκάροντας το σχηματισμό του από τη μεθειονίνη και επειδή το αιθυλένιο θεωρείται ευρέως όχι μόνο σαν υποκινητής της ωρίμανσης, αλλά και ότι συντονίζει τα διάφορα φαινόμενά της, αυτές οι ουσίες δίνουν τη δυνατότητα για έλεγχο της έναρξης της ωρίμανσης και παρατείνουν την αποθηκευτική ζωή των καρπών.

SUMMARY

In this research the development and ripening of apricot fruit (*Prunus armeniaca* L. cvs. Proima Tirynthas and Bebekou) were studied, especially the change of the activity of polygalacturonase and β -galactosidase enzymes during the fruit ripening. The separation of above enzymes was also studied during the different stages of development and ripening. In addition, object of this research was the prolongation of storage life of Bebekou and Harlayne apricot fruit as well as the effect of aminoethoxyvinylglycine (AVG) and aminoxyacetic acid (AOA), ethylene inhibitors, on fruit ripening and storage life.

The apricot fruit, as a type of climacteric, presents double sigmoid growth curve. During the growth and ripening of the fruit the firmness and total titratable acidity decrease while the soluble solids increase reaching to a higher level in Bebekou var than in Proima Tirynthas. A ratio SS/A (soluble solids to acidity) of 5 for Proima Tirynthas and 7 for Bebekou should be satisfactory as an index of harvest.

Skin and flesh color becomes lighter as growth and ripeness proceed, chlorophylls decrease and disappear while carotenoids increase.

Also, ethylene production increases with ripening and it is noted, that the amount produced by Proima Tirynthas fruit is higher than Bebekou.

The activity of the polygalacturonase enzyme is very high during the first stages of fruit growth, then decreases and it starts presenting a second maximum during fruit ripening but a much lower one. The β -galactosidase activity presents the following pattern: high activity at the beginning of fruit growth, then it slows down and it starts increasing again by the middle of the second period of fruit growth reaching a new maximum by the end of ripening which is much higher than the first one. From our data it seems clear that the second maximum of β -galactosidase activity starts before the second one of polygalacturonase and that the ethylene production just precedes the pG activity. That indicates that β -galactosidase is mostly related to the fruit ripening.

Polygalacturonase activity was separated into two forms (PG-I and PG-II) at the beginning of fruit growth and at the end of ripening. The optimum pH of PG-I and PG-II was 5.5 and 5.0 and their molecular weight 158.489 and 50.118, respectively. They both were characterized as exoenzymes and they don't seem to contribute largely to fruit softening.

Also, β -galactosidase activity was separated into two forms at the beginning of fruit growth, G-I and G-II and then, during the minimum and the last maximum into three forms, G-I, G-II and G-III. The optimum pH for the forms G-I and G-II of the first maximum was 4.0 while for G-I, G-II, G-III of the minimum and last maximum was 3.5, 3.5 and 4.0, respectively. The molecular weight of β -galactosidase was 63.095 and its contribution to fruit softening seems to be very important and more than that of polygalacturonase. Definitely and other enzymes may take part, to a greater or a lower extent, in the ripening and softening mechanism of fruit which has not been yet known.

Aminoethoxyvinylglycine (AVG) sprays on the fruit, while at the preclimacteric stage, inhibited ethylene production and delayed fruit maturity. Treated fruit were firmer, had lower soluble solids and pH, higher titratable acidity, lower carotenoid level and more lightness.

Also, the sprayed fruit showed lower polygalacturonase and β -galactosidase activity.

During fruit storage the quality parameters (color, firmness soluble solids, titratable acidity and pH) changed almost in the same way as they did during the fruit ripening on the trees. Polygalacturonase activity was increasing during storage, while β -galactosidase increased until almost the middle of storage life and then decreased. Thus, it seems that polygalacturonase is more related with softening during over-ripening and storage while β -galactosidase with softening during fruit ripening.

Ethylene was not detectable during the storage life of the fruit, under the conditions which were used. However, the ethylene production of the fruit taken at various intervals from storage and left at room temperature for ripening was measured.

This has confirmed that low temperatures help ethylene production.

Fruit harvested at the stage of horticultural maturity, independently of the variety, had longer storage life than that harvested later on. In addition, the quality maintenance and the prolongation of storage life of Harlayne apricot fruit was better under storage conditions of 2.8°C and 95% R.H. instead of 5.6°C and 90% R.H.

Aminoethoxyvinylglycine (AVG) and aminoxyacetic acid (AOA) (ethylene inhibitors), applied before harvest by spraying the fruit on the trees and after harvest by immersing the fruit delayed fruit ripening during storage and extended fruit storage life.

As a commercial application of these compounds, it should be recommended the sprays on the trees at the proper stage of fruit development.

Fruit treated before or after harvest with AOA showed lower ethylene production during their ripening at room temperature after a certain time of storage in comparison with the control. Especially, the treated fruit with higher concentration of AOA had lower ethylene production than that treated with lower concentration.

The effectiveness of AOA on delaying ethylene production decreased as ripening proceeded and storage temperature increased.

By the end of storage life, fruit treated with AOA, was better from an organoleptic point of view, than the control.

Consequently, the AVG and AOA, inhibitors of ethylene biosynthesis, may play a vital role in the delaying of fruit ripening and prolongation of storage life of the fruit.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Aczél, A. 1973. Changes of the carotenoid contents of apricots during canning process and storage. *Food Sci & Technol.* 6 : 36-37
2. Adams, D.O. and S.F. Yang 1979. Ethylene biosynthesis : identification of L-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 170-174.
3. Addoms, R.M., G.T. Nightingale, and M.A. Blake. 1930. Development and ripening of peaches as correlated with physical characteristics, chemical composition and histological structure of the fresh fruit. II Histology and microchemistry. *New Jersey Agric. Exp. Sta. Bull.* : 507.
4. Agamy El, S.Z.A., M.M. Aly, and R.H. Biggs. 1981. Ethylene as related to fruit ripening in peaches. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 94 : 284-289.
5. Agarwal, I.D. and W.B. Date. 1966. Organic acids in fresh and canned apricots. *J. Food Sci and Technol.* 3:70.
6. Ahmed, A.E. and I.M. Labavitch. 1980. Cell wall metabolism in ripening fruit. I. Cell wall changes in ripening "Bartlett" pears. *Plant Physiol.* 65 : 1009-1013.
7. Ahmed, A.E. and I.M. Labavitch. 1980. Cell wall metabolism in ripening fruit. II. Changes in carbohydrate-degrading enzymes in ripening "Bartlett" pears. *Plant Physiol.* 65 : 1014-1016.
8. Akiyama, V., S. Eda, M. Mori and K. Kato. 1983. A galactoglycomannan from extracellular polysaccharides of suspension-cultured cells of *Nicotiana tabacum*. *Phytochemistry* 22 : 1177.
9. Albersheim, P. 1965. Biogenesis of the cell wall. pp.298-321 In: Bonner and Varner (eds) . *Plant Biochemistry*.
10. Albersheim, P. 1976. The primary cell wall. pp.225-274. In: Bonner and Varner (eds): *Plant Biochemistry*. Acad Press New York.
11. Allen, F.W. 1940. Carbon dioxide investigations : Influence of carbon dioxide atmospheres upon cherries, plums, peaches, and pears under simulated transit conditions. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci* 37 : 467-472.

12. Amrhein, N. and D. Wenker. 1979. Novel inhibitors of ethylene production in higher plants. *Plant Cell. Physiol.* 20 : 1635-1642.
13. Annet, E.F. L.I. and T.M. Reynolds. 1955. Water soluble constituents of fruits. II. The separation of acids on anion exchange resins ; the isolation of L-quinic acid from apricots. *Aust.J.Chem.* 8:267.
14. Aoki, S. C.Araki, K.Kaneo, and O.Katayama. 1970. *J.Food Sci., Technol. (Tokyo)* 17 : 507-511. (In 191).
15. Appleman, C.D. and C.M. Conrad. 1926. Pectic constituents of peaches and their relation to softening of the fruit. *Maryland Univ. Expt. Sta. Bull.* 283:8.
16. Ash., A.S.F. and T.M. Reynolds. 1954. Water soluble constituents of fruit. *Aust J.Biol. Sci.* 7: 435-443.
17. Aspinall, G.O. 1980. pp. 473-500. In *Chemistry of cell wall polysaccharides* pp. 473-500. In:J.Preiss (ed).*Biochemistry of Plants 3.* Acad. Press New York.
18. Autio, W.R. and W.J. Bramlage. 1982. Effects of AVG on maturation, ripening, and storage of apples. *J.Amer. Soc. Hort. Sci.* 107:1074-1077.
19. Awad, M. and R.E. Young. 1979. Postharvest variation in cellulase, polygalacturonase and pectin methyl esterase in avocado fruit in relation to respiration and ethylene production. *Plant Physiol.* 64 : 306-308.
20. Αθανασόπουλος, Π. 1986. Μέθοδος της τριγωνικής δοκιμής. Αρχές Ελέγχου Τροφίμων. σελ. 182-183.
21. Bain. J.M. and F.V. Mercer. 1964. Organization resistance and the respiratory climacteric. *Aust. J. Biol. Sci.* 17:78-85.
22. Baker, J.E., M.Lieberman, and A.T. Kunishi. 1976. Inhibition of ethylene production in tomato and avocado fruit slices by a rhizobitoxine analogue and free radical scavengers. *Plant Physiol. Suppl.* 57:97 (Abstr).
23. Baker, J.E., C.Y. Wang, M.Lieberman, and R.E. Hardenburg. 1977. Delay of senescence in carnations by a rhizobitoxine analogue, sodium benzoate. *HortScience* 12:38-39.

24. Bangerth, F. 1978. The effects of substituted amino acids on ethylene biosynthesis respiration ripening, and preharvest drop of apple fruits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 103:401-404.
25. Barnes, M.F. and B.J. Patchett. 1976. Cell wall degrading enzymes and the softening of senescent strawberry fruit. *J. Food Sci.* 41:1392-1395.
26. Bartley, I.M. 1974. β -galactosidase activity in ripening apples. *Phytochemistry* 13: 2107-2111.
27. Bartley, I.M. 1976. Changes in the glucans of ripening apples. *Phytochemistry* 15:625-626.
28. Bartley, I.M. 1977. A further study of β -galactosidase activity in apples ripening in store. *J. Expt. Bot.* 28:943-948.
29. Bartley, I.M. 1978. Exopolygalacturonase of apple. *Phytochemistry* 17 : 213-216.
30. Bartley, I.M., M.Knee, and M.A. Casimir. 1980. Fruit softening I. Changes in cell wall composition and endopolygalacturonase in ripening pears. *J. Exp. Bot.* 33 : 1248-1255.
31. Bartley, I.M. and M.Knee. 1982. The chemistry of textural changes in fruit. *Food Chem.* 9:47-58.
32. Bate-Smith, E.C. 1954. Flavonoid compounds in foods. *Adv. Food Res.* 5:261-300.
33. Bauer, W.D., K.W. Tadmage, K. Keegstra, and P. Albersheim. 1973. The structure of plant cell walls. II. The hemicellulose of the walls of suspensioncultured sycamore cells. *Plant Physiol.* 51 : 174-187.
34. Ben-Arie, R., N. Kislev, and C. Greakel. 1979. Ultrastructural changes in the cell walls of ripening apple and pear fruit. *Plant Physiol.* 64 : 197-202.
35. Bendall, D.S., S.L. Ranson, and D.A. Walker 1960. Effects of carbon dioxide on the oxidation of succinate and reduced dephosphopyridine nucleotide by *Ricinus* mitochondria. *Biochem.* 76 : 221-225.
36. Biale, J.B. 1960. The postharvest biochemistry of tropical and subtropical fruits. *Adv. Food Res.* 10:293.

37. Biale, J.B. and R.E. Young. 1971. The avocado pear. pp.1-63
In : Hulme A.C. (ed). The Biochemistry of fruits and their
products II. Acad. Press, London.
38. Bollard, E.G. 1970. The Biochemistry of Fruits and their pro-
ducts I. pp. 387-427 Academic Press, London (In 191).
39. Boller, T.R.C. Herner, and H. Kende. 1979. Assay for and
enzymatic formation of an ethylen precursor, 1-amino-cyclo-
propane 1-carboxylic acid. *Planta* 145 : 293-303.
40. Bonner, W.D. JR. 1950. The succinic oxidase system and its
relation to phosphate and bicarbonate. *Nature* 165: 757-758.
41. Brady, C.J., J.K. Palmer, P.B.H. O'Connell, and R.M. Smillie.
1970. An increase in protein synthesis during ripening of
the banana fruit. *Phytochemistry* 9 : 1037-47.
42. Brady, C.J., G. MacAlpine, W.B. McGlasson, and Y.Ueda. 1982.
Polygalacturonase in tomato fruits and the induction of ri-
pening. *Aust. J. Plant Physiol.* 9: 171-178.
43. Brady, C.J., S.K. Meldrum, W.B. McGlasson, and Z.M. Ali. 1983
Differential accumulation of the molecular forms of polyga-
lacturonase in tomato mutants. *J. Food Biochem.* 7:7-14.
44. Brady, C.J., W.B. McGlasson, J.A. Pearson, S.K. Meldrum, and
E. Kopeliovitch. 1985. Interactions between the amount and
molecular forms of polygalacturonase, calcium and firmness
in tomato fruit. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 110:254-258.
45. Brady, C.J. 1987. Fruit ripening. *Annu. Rev. Plant. Physiol.*
38 : 155-178.
46. Bramlage, W.J. D.W. Greene, W.R. Autio, and J.M. McLaughlin.
1980. Effects of Aminoethoxyvinylglycine on Internal Ethyle-
ne Concentrations and Storage of Apples. *J. Amer. Soc. Hortic.*
Sci. 105 : 847-851.
47. Brecht, J.K. and A.A. Kader. 1984. Ethylene production by
fruit of some slow ripening nectarine *Prunus persica* genoty-
pes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109 : 763-767.
48. Brecht, J.K. and A.A. Kader. 1984. Regulation of ethylene
production by ripening nectarine fruit *Prunus persica* as in-
fluenced by ethylene and low temperature. *J. Amer. Soc. Hort.*
Sci. 109 : 869-872.

49. Brockmann, H. 1933. Die carotinoide der apricose (*Prunus armeniaca*) Z. physiol. Chem. 216-45.
50. Buesher, R.W. and E.C. Tighelaar. 1975. Pectinesterase, polygalacturonase; Cx-cellulase activities and softening of the rin tomato mutant. HortScience 10: 624-625.
51. Burg, S.P. and K.V. Thimann. 1959. The physiology of ethylene formation in apples. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 45: 335-344.
52. Burg, S.P. 1962. The physiology of ethylene formation. Annu. Rev. Plant Physiol. 13 : 265-302.
53. Burg, S.P. 1963. U.S. patent 3,333,967.
54. Burg, S.A. and E.A. Burg. 1965. Ethylene action and ripening of fruits. Science 148 : 1190-1196.
55. Burg, S.P. and E.A. Burg. 1966. Fruit storage at subatmospheric pressure. Science 153 : 314-315.
56. Burg, S.P. and E.A. Burg. 1967. Molecular requirements for the biological activity of ethylene. Plant Physiol. 42 : 144:152.
57. Burg, S.P. 1975. Hypobaric storage of fresh fruits and vegetables. pp. 172-188. In: Haard and Salunkhe (eds). Post-harvest Biology and Handling of fruit and Vegetables, Avi Publishing Co., Westport, Conn.
58. Coombe, J.A. 1973. Acta Hortic. 34 : 261-274 (In 191).
59. Coombe, J.A. 1976. The development of fleshy fruits. Annu. Rev. Plant Physiol. 27: 207-227.
60. Cooper, W.C., G.K. Rasmussen, B.J. Rogers, P.C. Preece, and W.H. Henry. 1968. Control of abscission in agricultural crops and its physiological basis. Plant Physiol. 43 : 1560-1576.
61. Crane, J.C. 1969. The role of hormones in fruit set and development. HortScience 4 : 108-111.
62. Crookes, P.R and D. Grierson. 1983. Ultrastructure of tomato fruit ripening and the role of polygalacturonase isoenzymes in cell wall degradation. Plant Physiol. 72 : 1088-1093.

63. Curl, A.L. 1959. The carotenoids of cling peaches. Food Research 24:413.
64. Davies, J.W. and E.C. Cocking 1965. Changes in carbohydrates, proteins and nucleic acids during cellular development in tomato fruit locule tissue.
65. Davies, J.W. and E.C. Cocking. 1967. Protein synthesis in tomato fruit locule tissue. Biochem. J. 104:23-33.
66. Darvill, A., M.McNeil, P.Albersheim, and D.P. Delmer.1980 The primary cell walls of flowering plants. p.91-162. In: Stumpf and Conn (eds). The Biochemistry of Plants I. Acad. Press New York.
67. Darvill, J.E., M.McNeil, A.G. Darvill, and P.Albersheim.1980 The structure of plant cell walls XI. Glucuronoarabinoxylan. A second hemicellulose in the primary cell walls of suspension-cultured sycamore cells. Plant Physiol. 66 :1135-1139.
68. Dekazos, E.D. 1972. Callose formation by bruising and heating of tomatoes and its presence in processed products. J. Food Sci. 37:562.
69. Dekazos, E.D. 1979. Effects of aminoethoxyvinylglycine (AVG) on bloom delay, fruit maturity and quality of "Tifblue" and "Woodard" rabbiteye blueberries. Proc. Fla. State Hort. Soc. 92:248-252.
70. Dekazos, E.D. 1980. Effect of aminoethoxyvinylglycine, carboxymethylcellulose and growth regulators on longevity of fresh rabbiteye blueberries. Proc. Fla. State Hort. Sci. 93:145-149.
71. Dekazos, E.D. 1981. Effect of aminoethoxyvinylglycine on bloom delay, fruit maturity, and quality of "Loring" and "Rio Oso Gem"peaches. HortScience 16:520-522.
72. Dekazos, E.D. 1983. Effect of postharvest treatments of growth and bioregulators on quality and longevity of fruits and vegetables. pp.355-381. In I : M.Lieberman (ed). Postharvest physiology and crop preservation. Plenum Press, New York.
73. Dekazos, E.D. 1985. Effect of postharvest treatments on ripening and quality of "Babygold 7" peaches. HortScience 20: 240-242.

74. Delincee, H. 1976. Thin-layer isoelectric focusing of multiple forms of tomato pectinesterase. *Phytochemistry* 15:903-906.
75. Desphande, P.B. and D.K. Salunkhe. 1969. Effects of physiological maturation and storage on physical and biochemical changes in some stone fruits : I. Apricots (*Prunus armeniaca* L.) *J. Food Sci. Techn.* 6: 15-17.
76. Dey, P.M. and K.Brinson. 1984. Plant cell walls. *Adv. Carboh. Chem. Biochem.* 42 : 368-382.
77. Dickinson, D.B. and D.P. McCollum. 1964. Cellulase in tomato fruits. *Nature.* 203:525-527.
78. Dilley, D.R. 1983. Manipulation of the postharvest atmosphere for preservation of food crops. pp. 383-397. In: M.Lieberman (ed). *Postharvest physiology and crop preservation.* Plenum Press, New York.
79. Δροσόπουλος, Ι. 1987. Η επιβράδυνση και επιτάχυνση της ωριμάνσεως των καρπών σελ.143-148. Στοιχεία της φυσιολογίας ανάπτυξεως και ωριμάνσεως των καρπών. 109-120.
80. Deuel, H. and E.Stutz. 1958. Pectic substances and pectic enzymes. *Advan. Enzymol.* 20:341.
81. Eaks, I.L. 1970. Respiratory response ethylene production and response to ethylene of citrus fruits during ontogeny. *Plant Physiol.* 45 : 334-338.
82. Edgerton, L.J. 1981. Some effects of aminoethoxyvinylglycine, 6-benzylaminopurine and gibberellins on fruit set and vegetative growth of apple. *Acta Hort.* 120 : 125-130.
83. Faragher, J.D. and D.J. Chalmers. 1977. *Aust. J. Plant Physiol.* 4:133-141 (In 191).
84. Fidler, J.C. 1951. *J.Exptl. Botany* 2: 41 (In 191).
85. Fidler, J.C., B.G. Wilkinson, K.L.Edney, and R.O.Sharples. 1973. *Res. Rev. Commonw. Bur. Hortic. Plant Crops* 3 : 235. (In 191).
86. Gane, R. 1934. Production of ethylene by some ripening fruit. *Nature* 134 : 1088.

87. Gerhardt, F., E. Smith, and H. English. 1944. Effect of carbon dioxide on apricots and peaches under simulated transit conditions. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 38 : 243-248.
88. Goodwin, T.W. and M. Jamikorn. 1952. Biosynthesis of carotins in ripening tomatoes. Nature 170 : 104-105.
89. Greene, D.W. 1980. Effect of silver nitrate, aminoethoxyvinylglycine and gibberellin 4+7 plus 6-benzylaminopurine on fruit set and development of "Delicious" apples. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 105 : 717-720.
90. Greene, D.W. 1983. Effect of chemical thinners on fruit set and fruit characteristics of AVG treated apples. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108 : 415-419.
91. Grierson, D. and G.A. Tucker. 1983. Timing of ethylene and polygalacturonase synthesis in relation to the control of tomato fruit ripening. Planta 157 : 174-179.
92. Gross, K.C. and S.J. Wallner. 1979. Degradation of cell wall polysaccharides during tomato fruit ripening. Plant Physiol. 63. 117-120.
93. Hall, C.B. and R.A. Dennison. 1960. The relationship of firmness and pectinesterase activity of tomato fruits. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 75 : 629-631.
94. Hall, C.B. 1963. Cellulase in tomato fruits. Nature 200:1010.
95. Hamson, A.R. 1952. Factors which condition firmness in tomatoes. Food Res. 17 : 370-379.
96. Hansen, E. 1942. Quantitative study of ethylene production in pear. Bot. Gaz. 103: 543-558.
97. Hansen, E. 1967. Ethylene-stimulated metabolism of immature "Bartlett" pears. J. Am. Soc. Hort. Sci. 91:863-867.
98. Hansen, E. and G.D. Blanpied. 1968. Ethylene induced ripening of pears in relation to maturity and length of treatment. J. Am. soc. Hort. Sci. 93 : 807-812.
99. Hinton, D.M. and R. Pressey. 1974. Cellulase activity in peaches during ripening. J. Food Sci. 39.783-785.
100. Hinton, D.M. and R. Pressey. 1980. Glucanases in fruits and vegetables. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 105:499-502.

101. Hobson, G.E. 1963. Pectinesterase in normal and abnormal tomato fruit. *Biochem. J.* 86 : 358-365.
102. Hobson, G.E. 1968. Cellulase activity during maturation and ripening of tomato fruit. *J. Food Sci.* 33 : 588-592.
103. Hobson, G.E. 1980. Effect of the introduction of non ripening mutant genes on the composition and enzyme content of tomato fruit. *J. Sci. Food Agric.* 31:578-584.
104. Hoffman, N.E. and S.F. Yang. 1980. Changes in l-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid content in ripening fruits in relation to their ethylene production rates. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 105:492-495.
105. Hoffman, N.E. and S.F. Yang. 1982. Enhancement of wound-induced ethylene synthesis by ethylene in preclimacteric cantaloupe. *Plant Physiol.* 69 : 317-322.
106. Hoos, J.W., S.J. Leonard and B.S. Luh 1956. Effect of 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid spray on organic acids, pectin and quality of canned apricots. *Food Res.* 21:571-582.
107. Huber, D.J. 1983. Polyuronide degradation and hemicellulose modifications in ripening tomato fruit. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 108 : 405-409.
108. Huber, D.J. 1983. The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Hortic. Rev.* 5: 169-219.
109. Huelin, F.E., G.B. Tindale, and S.A. Trout. 1937. The cool storage of peaches in air and artificial atmospheres. *Dept. Agr. Vict. Aust.* 35 : 609-614.
110. Hulme, A.C. 1956. Carbon dioxide injury and the presence of succinic acid in apples. *Nature* 178 : 218-219.
111. Hulme, A.C. 1958. Some aspects of biochemistry of apples and pear fruits. *Advan. Food Res.* 8: 297.
112. Hulme, A.C., J.D. Jones, and L.S.C. Woollorton. 1963. The respiration climacteric in apple fruits. *Proc. Roy. Soc. B* 158:514-535.
113. Inaba, A. and R. Nakamura. 1981. Ripening characteristics of Japanese apricot (*Mume*, *Prunus mume*. Sieb. et Zucc.) Fruits on and off the tree. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 49:601-607.

114. Jermyn, M.A. and F.A. Isherwood. 1956. Changes in the cell walls of pear during ripening. *Biochem. J.* 64: 123.
115. Joslyn, M.A. 1962. The chemistry of protopectin: a critical review of historical data and recent developments. *Advan. Food Res.* 11:1-107.
116. Joyce, A. 1954. The effect of heat treatment on some plant carotenoids. pp. 136. In: *Color in Foods*, National Academy of Sciences - Nat. Res. Council, Washington D.C.
117. Jungalwala, F.B. and H.R. Cama. 1963. Carotenoids in mango (*Mangifera indica*) fruit. *J. Food Sci.* 11:36.
118. Keegstra, K. K.W. Talmage, W.D. Bauer, and P. Albersheim. 1973. The structure of plant cell wall III. A model of the walls of suspension-cultured sycamore cells based on the interconnections of the macromolecular components. *Plant Physiol.* 51 : 188-196.
119. Kefford, J.F. 1959. The chemical constituents of citrus fruits. *Adv. Food Res* 9 : 285.
120. Kertesz, Z.I. 1938. Pectic enzymes II. Pectic enzymes of tomatoes. *Food Res.* 3:481.
121. Kertesz, Z.I. 1951. The pectic substances. pp. 337 Interscience Publishers, Inc., New York and London. Interscience, New York.
122. Kertesz, Z.I. H. Eucare, and G. Fox 1959. A study of apple cellulose. *Food Res.* 24:14.
123. Kidd, F. and C.A. West. 1925. Report Food Invest. Bd. for 1924:27-32. (In 191).
124. Kidd, F., and C.A. West. 1930. Physiology of fruit I. Changes in respiratory activity of apples during their senescence at different temperatures. *Proc. Roy. Soc.* 106: 93-109.
125. Kidd, F. and C.A. West. 1930. The gas storage of fruit : II Optimum temperature atmosphere. *Pomol. Hort. Sci* 8:67-77.
126. Knee, M. 1973. Polysaccharide changes in cell walls of ripening apples. *Phytochemistry* 12 : 1543-1549.

127. Knee, M. 1975. Changes in structural polysaccharides of apples ripening during storage. pp. 341-345. In : Ulrich.R. (ed). Facteurs et Régulation de la Maturation des Fruits, Colloq. Int. Int. C.N.R.S., 238. Paris.
128. Knee, M. 1978 Properties of polygalacturonate and cell cohesion in apple fruit cortical tissue. *Phytochemistry* 17 :1257-1260.
129. Knee, M., A.M. Fielding, S.A. Archer, and F.Laborda. 1975. Enzymic analysis of cell wall structure in apple fruit cortical tissue. *Phytochemistry* 14 : 2213-2222.
130. Knee, M. and I.M. Bartley. 1981. Composition and metabolism of cell wall polysaccharides in ripening fruits. pp. 133-148. In: Friend and Rhodes (eds). Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables. Acad. Press, New York.
131. Krotkov, G., D.G. Wilson, and R.W.Street. -1951. Acid metabolism of McIntosh apples during their development on the tree and in cold storage. *Can. J. Botany* 29:79-90.
132. Labavitch., J.M. 1981. Cell wall turnover in plant development. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 32 : 385-406.
133. Labavitch., J.M. and L.G. Greve. 1983. Cell wall metabolism in ripening fruit III. Purification of an endo- β -1,4-xylanase that degrades a structural polysaccharide of pear fruit cell walls. *Plant Physiol.* 72 : 668.
134. Lamport, D.T.A. 1970. Cell wall metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 21 : 235-270.
135. Lamport, D.T.A. 1978. Cell wall carbohydrates in relation to structure and function. In Thorpe (ed). *Frontiers of plant tissue culture, Proceeding of the 4th Enter. Congr. of Plant Tissue and Cell Culture.*
136. Lee, M. and J.D. Macmillan. 1970. *Biochemistry* 9 : 1930. (In 173):
137. Leopold, A.C. 1958. Auxin uses in the control of flowering and fruiting. *Annu, Rev. Plant Physiol* 9 : 281-310.
138. Lieberman, M. 1975. Biosynthesis and regulatory control of ethylene in fruit ripening. A review. *Physiol. Veg.* 13: 489-499.

139. Lieberman, M. and C.C. Craft. 1961. Ethylene production by cytoplasmic particles from apples and tomato fruits in the presence of thiomalic and thioglycolic acid. *Nature* 189:243.
140. Lieberman, M., A.T. Kunishi, and L.D. Owens. 1975. Specific inhibitors of ethylene production as retardants of the ripening process in fruits. pp. 161-170. In : *Facteurs et Régulation de la Maturation des Fruits 238, Colloques Int. C.N.R.S. Paris 1974.*
141. Lieberman, M. 1979. Biosynthesis and action of ethylene. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 30 : 533-591.
142. Little, A. 1975. A research note : Off on a tangent. *J. Food Sci.* 40:410-412.
143. Loesche, H.W. 1950. *Bananas.* pp. 189. Interscience Publishers Inc. New York.
144. Lott R., The relationship between stage of maturation and degree of quality in apple and peach fruits. Interscience Publishers Inc. New York. *Transaction of the Illinois State Hortic. Soc.* 139-151.
145. Lyons, J.M. 1973. Chilling injury in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 24 : 445-466.
146. Mattoo, A.K., J.E. Baker, E. Chalutz, and M. Lieberman. 1977. Effect of temperature on the ethylene-synthesing systems in apple tomato, and *Penicillium digitatum*. *Plant Cell. Physiol.* 18 : 715-719.
147. Maxie, E.C., I.L. Eaks, N.F. Soomner, H.L. Rae, and S. El-Batal. 1965. Effect of gamma radiation on rate of ethylene and carbon dioxide evolution by lemon fruit. *Plant Physiol.* 40:407-409.
148. McGlasson, W.B., N.L. Wade, and I. Adato. 1978. Phytohormones and stress phenomena. pp. 447-493 In : Letham, Goodwin, and Higgins (eds). *Phytohormones and related compounds a comprehensive treatise. II Elsevier/NorthHolland Biomedical Press, Amsterdam.*
149. Miller. G.W. 1960. Carbon dioxide-bicarbonate absorption, accumulation, effects on various plant metabolic reactions and possible relations to lime induced chlorosis. *Soil Sci.* 89 : 244-245.

150. Miller, E.V., J. R. Winston, and H.A. Schomer. 1940. Physiological studies of plastid pigments in rinds of maturing oranges. *J. Agr. Res.* 60 : 259-267.
151. Mizrahi, U., H.C. Dostal, and J.h. Cherry. 1975. Ethylene induced ripening in attached rin fruits, a non ripening mutant of tomato. *HortScience* 10 : 414-415.
152. Monro, J.A., D. Penny, and R.W.Bailey. 1976. The organization and growth of primary cell walls of lupin hypocotyl. *Phytochemistry* 15 : 1193-1198.
153. Mowlah, G. and S. Itoo. 1983. Changes in pectic components ascorbic acid, pectic enzymes and cellulose activity in ripening and stored guava. *J.Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 30 : 454-456.
154. Nakagawa, H., K. Iki, M. Hirata, S. Ishigami, and N.Ogura. 1980. Inactive β -fructofuranoside molecules in senescent tomato fruit. *Phytochemistry* 19 : 195-197.
155. Neal., G.E. 1965. Changes occuring in the cell walls of strawberries during ripening. *J. Sci. Food Agr.* 16: 604-611.
156. Neal, G.E. and A.C. Hulme. 1958. The organic acid metabolism of Bramley's seedling apple peel. *J.Exp. Bot.* 9 : 142-157.
157. Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyl method for the determination of glucase. *J. Biol. Chem.* 153: 375.
158. Ness, P.J. and R.J.Romani. 1980. Effects of aminoethoxyvinylglycine and counter effects of ethylene on ripening of "Bartlett" pear fruits. *Plant Physiol.* 65 : 372-376.
159. Νιαβής, Κ.Α. 1977. Μαθήματα Μορφολογίας Φυτών. Τόμος Ι. σελ. 376-393.
160. Nightingale, G.T. R.M. Addoms, and M.A. Blake. 1930. Development and ripening of peaches as correlated with physical characteristics, chemical composition and histological structure of the fruit flesh. III. Macrochemistry. *New Jersey Agr. Expt. Sta. Bull.* 494:10.
161. Northcote, D.H. 1972. Chemistry of the plant cell wall. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 23:113.

162. Owens, L.D., M. Lieberman, and A. Kunistri. 1971. Inhibition of ethylene production by rhizobitoxine. *Plant Physiol.* 48: 1-4.
163. Palmer, J.K. 1971. The banana. pp. 65-105. In : Hulme (ed). *The Biochemistry of fruits and their Products II*. Academic Press, London.
164. Paull, R.E. and N.J. Chen. 1983. Postharvest variation in cell wall degrading enzymes of papaya during fruit ripening. *Plant Physiol.* 72: 382-385.
165. Pharr, U.M., H.N. Sox, and W.B. Nesbit. 1976. Cell wall-bound nitrophenyloglycosidases of tomato fruits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 101 : 397-400.
166. Pilnik, W. and A.G. J. Voragen. 1970. Pectic substances and other uronides. pp. 53-87. In : Hulme (ed). *The Biochemistry of fruits and their products 1*. Acad. Press, New York.
167. Platt-Aloia, K.A., W.W. Thomson, and R.E. Young. 1980. Ultrastructural changes in the walls of ripening avocados : transmission, scanning and freeze fracture microscopy. *Bot. Gaz.* 141 : 366-373.
168. Poovaiah, B.W. 1979. Role of calcium in ripening and senescence. *Commun. Soil Sci, Plant Anal.* 10:83-88.
169. Postlmayr, H.L., B.S. Luh, and S.J. Leonard. 1956. Characterization of pectin changes in freestone and clingstone peaches during ripening and processing. *Food Technol.* 10:618
170. Pratt, H.K. 1974. The role of ethylene in fruit ripening pp. 153-160. In : *Facteurs et Régulation de la Maturation des Fruits*. Coll. Intern. C.N.R.S. 238. Paris.
171. Pratt, H.K. and J.D. Goeschhl. 1969. Physiological roles of ethylene in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 20:540-584.
172. Pratt, H. K. and M.S. Reid. 1974. Chinese gooseberry : Seasonal patterns in fruit growth and maturation ripening, respiration and the role of ethylene. *J. Sci. Food. Agric.* 25: 747-757.

173. Pressey, R. 1977. Enzymes involved in fruit softening. pp. 172-191. In : Ory and Angelo (eds). Enzymes in food and beverage processing, ACS Symp. Series. Washington DC.
174. Pressey, R. 1983. β -Galactosidases in ripening tomatoes. *Plant Physiol.* 71:132-135.
175. Pressey, R. and J.K. Avants. 1971. Effect of substrate size on the activity of tomato polygalacturonase. *J. Food Sci.* 36: 486-489.
176. Pressey, R. and J.K. Avants. 1972. Multiple forms of pectinesterase in tomatoes. *Phytochemistry* 11: 3139-3142.
177. Pressey, R. and J.K. Avants. 1973. Separation and characterization of endopolygalacturonase and exopolygalacturonase from peaches. *Plant Physiol.* 52 : 252-256.
178. Pressey, R. and J.K. Avants. 1973. Two forms of polygalacturonase in tomatoes. *Biochem. Biophys. Acta* 309 : 363-369.
179. Pressey, R. and J.K. Avants. 1976. Pear polygalacturonase. *Phytochemistry* 15 : 1349-1351.
180. Pressey, R. and J.K. Avants. 1978. Difference in polygalacturonase composition of clingstone and freestone peaches. *J. Food Sci.* 43 : 1415-1418.
181. Pressey, R. and J.K. Avants. 1982. Pectic enzymes in "Long Keeper" tomatoes. *HortScience* 17 : 398-400.
182. Pressey, R. and J.K. Avants. 1982. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases : effects of pectinesterases. *J. Food Biochem.* 6 : 57-74.
183. Pressey, R., D.M. Hinton, and J.K. Avants. 1971. Development of polygalacturonase activity and solubilization of pectin in peaches during ripening. *J. Food Sci.* 36 : 1070-1073.
184. Preston, R.D. 1974. The chemical components of cell wall. pp. 32-67. In : *The Physical biology of plant cell walls.*
185. Ranson, S.L. D.A. Walker, and I.D. Clark. 1960. Effects of carbon dioxide on mitochondrial enzymes from *Ricinus*. *Biochem.* 76 : 216-221.

186. Reid, M.S. 1975. The role of ethylene in the ripening of some unusual fruits pp. 177-182. In : Ulrich R. (ed). *Facteur et Régulation de la Maturation des Fruits*, Colloq. Int. C.N.R.S. 238 Paris.
187. Rees, D.A. and N.J. Wight. 1969. Molecular cohesion in plant cell walls. Methylation analysis of pectic polysaccharides from the cotyledons of white mustard. *Biochem. J.* 115 : 431-439.
188. Reeve, R.M. 1959. Histological and histochemical changes in developing and ripening peaches. II. Cell walls and pectins. *Amer. Jour. Bot.* 46 : 241.
189. Rexové-Benková, L.O. Markovic, and M.J. Foglietti. 1977. Separation of pectic enzymes from tomatoes by affinity chromatography on cross-linked pectic acid. *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* 42 : 1736-1741.
190. Rhodes, M.J.C. 1970. *The Biochemistry of Fruits and their Products*, Acad. Press, London. Vol. I. pp. 521-533.
191. Rhodes, M.J.C. 1980. The maturation and ripening of fruits. pp. 157-205. In : Thiman K. (ed). *Senescence in plants*. CRS Press, Boca Raton, Florida.
192. Rhodes, M.J.C. and L.S.C. Woollorton. 1967. The respiration climacteric in apple fruits. The action of hydrolytic enzymes in peel tissue during the climacteric period in fruit detached from the tree. *Phytochemistry* 6 : 1-12.
193. Rhodes, M.J.C. and M.S. Reid. 1974. The production of ethylene and its relationship with the onset of the respiration climacteric in the apple. pp. 189-192. In : *Facteurs et Régulation de la Maturation des Fruits*. Coll. Int. C.N.R.S., Paris.
194. Ribereau-Gayon, P. 1972. *Plant Phenolics*, Oliver and Boyd, Edinburgh. (In 191).
195. Rigney, C.J. and R.B.H. Wills. 1981. Calcium movement, a regulating factor on the initiation of tomato fruit ripening. *HortScience* 16 : 550-551.

196. Roe, B. and J.H. Bruemmer. 1981. Changes in pectic substances and enzymes during ripening and storage of "Keitt" mangos. *J. Food Sci.* 46 : 186-189.
197. Romani, R., R. Puschmann, J. Finch, and J. Bentel. 1982. Effect of preharvest application of AVG on ripening of "Bartlett" pears with and without cold storage. *HortScience* 17: 214-215.
198. Sacker, J.A. 1966. Permeability characteristics and amino-acid incorporation during senescence of banana tissue. *Plant Physiol.* 41 : 701-708.
199. Sephadex, 1973. Gel filtration in theory and practice. *Farmacia Fine Chemicals, Inc. Upsala, Sweden.*
200. Shewfelt, A.L. 1965. Changes and variations in the pectic constitution of ripening peaches as related to product firmness. *J. Food Sci.* 30:573-576.
201. Shewfelt, A.L., V.A. Paynter, and J.J. Jen. 1971. Textural changes and molecular characteristics of pectic constituents in ripening peaches. *J. Food Sci.* 36 : 573-575.
202. Simpson, D.J., M.R. Baquar, W.B. McGlasson, and T.H. Lee 1976. Changes in ultrastructure and pigment content during development and senescence of fruits of normal and rin and nor mutant tomatoes. *Aust. J. Plant Physiol.* 3: 575-587.
203. Sisler, E.C. and A. Plan. 1973. Effect of ethylene and cyclic olefins on Tobacco leaves. *Tobacco Sci.* 17 : 68-72.
204. Smock, R.M. 1958. Controlled atmosphere storage of apples. *Cornell Ext. Bul.* : 759.
205. Sobotka, F.E. and A.E. Watada. 1971. Cellulase in high pigment and crimson tomato fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 96: 705.
206. Souty, M., P. André, and A. Poggi. 1969. Aptitudes de quelques variétés d'abricots à l'élaboration de fruits au sirop. I- Observations sur quelques particularités de la maturation au verger. *Ind. Alim. Agric.* 3 : 391-399.
207. Spurr, A.R. and W.M. Harris. 1968. Ultrastructure of chloroplast and chromoplasts in *Capsicum annum*. I. Thylakoid

- membrane changes during fruit ripening. *Am. J. Bot.* 55: 1210-1224.
208. Sterling, C. 1961. Physical state of cellulose during ripening of peach. *J. Food Sci.* 26-95.
209. Suwwan, M.A. and B.W. Poowaiah. 1978. Association between elemental content and fruit ripening of rin and normal tomatoes. *Plant Physiol.* 61: 883-885.
210. Takashi, Iwata and Mitsuko Kinoshita. 1978. Studies on storage and chilling injury of Japanese apricot fruits. II. Chilling injury in relation to storage temperature, cultivar, maturity and polyethylene packaging. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 47 : 97-104.
211. Talmadge, K.W., K. Keegstra, W.D. Bauer, and P. Alberheim. 1973. The structure of plant cell walls I. The macromolecular components of the walls of suspension-cultured sycamore cells with a detailed analysis of the pectic polysaccharides. *Plant Physiol.* 51 : 158-173.
212. Themmen, A.P.N., G.A. Tucker, and D. Grierson. 1982. Degradation of isolated tomato cell walls by purified polygalacturonase in vitro. *Plant Physiol.* 69 : 122-124.
213. Thornton, N.C. 1930. Carbon dioxide storage of fruits and vegetables and flowers. *Ind. Eng. Chem.* 22 : 1186-1189.
214. Tigchelaar, E.C., W.B. McGlasson, and R.W. Buescher. 1978. Genetic regulation of tomato fruits ripening. *HortScience* 13 : 508-513.
215. Tracy, M.V. 1960. *Biochem. J.* 47:431. (In 173).
216. Tucker, G.A., N.G. Robertson, and D. Grierson. 1980. Changes in polygalacturonase isoenzymes during the ripening of normal and mutant tomato fruit. *Eur. J. Biochem.* 112 : 119-124.
217. Tucker, G.A., N.G. Robertson, and D. Grierson. 1981. The conversion of tomato-fruit polygalacturonase isoenzyme 2 into isoenzyme 1 in vitro. *Eur. J. Biochem.* 115 : 87-90.
218. Ultrich, R. 1958. Postharvest physiology of fruits. *Ann Rev. Plant Physiol.* 9 : 385-416.

219. Van. Buren, J. 1970. The Biochemistry of Fruits and their Products I. Acad. Press, London. pp. 269-304.
220. Wallner, S.J. and J.E. Walker. 1975. Glycosidases in cell wall degrading extracts of ripening tomato fruits. Plant Physiol. 55:94-98.
221. Wallner, S.J. and H.L. Bloom. 1977. Characteristics of tomato cell wall degradation in vitro. Implications for the study of fruit-softening enzymes. Plant Physiol. 60 : 207-210.
222. Wang, C.Y. and W.M. Mellenthin. 1977. Effect of aminoethoxyanalog of rhizobitoxine on ripening of pears. Plant Physiol. 59:546-549.
223. Wankier, B.N., D.K. Salunkhe, and W.F. Campbell 1970. Effect of controlled atmosphere storage on biochemical changes in apricot and peach fruit. J. Amer. Soc. Hort. Sci 95 : 604-609.
224. Watada, A.E., R.C. Herner, A.A. Kader, R.J. Romani, and J.L. Staby 1984. Terminology for the description of developmental stages of horticultural crops. HortScience 19:20-21.
225. Whitaker, J.R. 1963. Determination of molecular weights of proteins by gel filtration on Sephadex. Anal. Chem. 35:1950-1953.
226. Williams, M.W. 1980. Retention of fruit firmness and increase in vegetative growth and fruit set of apples with aminoethoxyvinylglycine. HortScience 15 : 76-77.
227. Williams, M.W. 1981. Response of apple trees to aminoethoxyl vinylglycine (AVG) with emphasis on apical dominance, fruit set, and mechanism of action of fruit thinning chemicals. Acta Hort. 120 : 137-141.
228. Wills, R.B.H. and C.J. Rigney. 1979. Effect of calcium on activity of mitochondria and pectic enzymes isolated from tomato fruits. J. Food Biochem. 3 : 103-110.
229. Wong, B. 1967. The relationship between permeability characteristics, active uptake, incorporation of aminoacids and the amount of protein and RNA in senescing avocado fruit

- tissue. pp. 50. MA Thesis. Calif State Univ. Los Angeles.
230. Woodmansee, C.W., J.H. McClendon, and G.F. Somers. 1959. Chemical changes associated with the ripening of apples and tomatoes. Food. Res. 24 : 503.
 231. Workman, M. 1963. Color and pigment changes in Golden Delicious and Grimes Golden apples. Proc. Am. Soc. Hort. Sci. 83: 149-61.
 232. Worth, H.J.G. 1967. The chemistry and biochemistry of pectic substances. Chem. Rev. 67. 465-473.
 233. Yamaki, S. and N. Kakiuchi. 1979. Changes in hemicellulose degrading enzymes during development and ripening of Japanese pear fruit.. Plant and Cell Physiol. 20 : 301-309.
 234. Yamaki, S.Y. Matsuda, and N.Kakiuchi. 1979. Changes in cell wall polysaccharides and monosaccharides during development and ripening of Japanese pear fruit. Plant and Cell Physiol. 20:311-321.
 235. Yang, S.F. 1980. Regulation of ethylen biosynthesis. HortScience 15 : 238-243.
 236. Yang, S.F. 1985. Biosynthesis and action of ethylene. Hort-Science 20 : 41-45.
 237. Yoshii, H. and H. Imaseki, 1982. Regulation of auxin-induced ethylene biosynthesis. Repression of inductive formation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase of ethylene. Plant Cell Physiol. 23 : 639-649.
 238. Yu, Y.B., D.O. Adams, and S.F. Yang. 1979. Regulation of auxin-induced ethylene production in mung bean hypocotyls. Role of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Plant Physiol. 63: 589-590.
 239. Yu, Y.B., D.O. Adams, and S.F. Yang. 1979. 1-Aminocyclopropane-carboxylate synthase, a key enzyme in ethylene biosynthesis. Arch. Biochem. Biophys. 198 : 280-286.
 240. Zainon, M.A. and C.J. Brady. 1982. Purification and characterization of the polygalacturonases of tomato fruits. Aust. J. Plant Physiol. 9 : 155-169.