



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Σχολή Γεωπονικών Επιστημών

Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Επαγωγή βλάστησης στο είδος *Althaea officinalis* L.: επιδράσεις στη βλάστηση, στην ανάπτυξη των σποροφύτων και στην ανεκτικότητα έναντι της καταπόνησης αλατότητας»

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΚΩΣΤΟΠΟΥΛΟΥ



Επιβλέπουσα: Ουρανία Παυλή, Αναπλ. Καθηγήτρια, Π.Θ.

ΒΟΛΟΣ, 2024

«Επαγωγή βλάστησης στο είδος *Althaea officinalis* L.: επιδράσεις στη βλάστηση, στην ανάπτυξη των σποροφύτων και στην ανεκτικότητα έναντι της καταπόνησης αλατότητας»

«Seed priming in *Althaea officinalis* L.: effects on seed germination, seedling growth and salinity tolerance»

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΚΩΣΤΟΠΟΥΛΟΥ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Παυλή Ουρανία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
2. Δαναλάτος Νικόλαος, Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
3. Γιαννούλης Κυριάκος, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου διατριβής, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλαν σε αυτή την προσπάθεια.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Ουρανία Παυλή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος και επιβλέπουσα της πτυχιακής μου διατριβής, για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, την επιστημονική της καθοδήγηση, την υποστήριξη και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια της ερευνητικής μελέτης.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Ευαγγελία Παναγιωτάκη, μέλος ΕΔΙΠ στο εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, για τη βοήθεια κατά τη συγγραφή της πτυχιακής μου διατριβής, καθώς και την υποψήφια διδάκτωρ του εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, Χριστίνα Τούμπου, για την καθοδήγηση, τη συνεργασία και την ψυχολογική της υποστήριξη κατά την υλοποίηση της πειραματικής διαδικασίας.

Επίσης, τον κ. Νικόλαο Δαναλάτο, Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος και τον κ. Κυριάκο Γιαννούλη, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος για τη συμμετοχή τους στην τριμελή επιτροπή.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, για την υποστήριξη και τις πολύτιμες συμβουλές τους κατά την εκπόνηση της πτυχιακής μου διατριβής.

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	3
1. Εισαγωγή	8
Γενικά	8
1.1 Αξιοποίηση των φαρμακευτικών ειδών στη βιομηχανία φαρμάκων	10
1.2 Η Althaea ως φαρμακευτικό φυτό	13
1.2.1 Ταξινόμηση – Εξάπλωση.....	15
1.2.2 Βοτανική περιγραφή - Βιολογικός κύκλος.....	16
1.2.3 Κλιματικές - Καλλιεργητικές απαιτήσεις.....	19
1.3 Ενίσχυση της βλάστησης μέσω διέγερσης (Seed priming).....	20
1.3.1 Ενυδάτωση σπόρων	23
1.3.2 Ωσμοδιέγερση	24
1.3.3 Ορμονοδιέγερση	25
1.3.4 Χημική διέγερση.....	26
1.4 Επίδραση του seed priming στον περιορισμό των επιπτώσεων της καταπόνησης αλατότητας	27
ΣΚΟΠΟΣ	29
2. Υλικά και Μέθοδοι	30
2.1 Γενετικό υλικό	30
2.2 Απολύμανση σπόρων	30
2.3 Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης – Παρασκευή διαλυμάτων	31
2.4 Επίδραση της επαγωγής της βλάστησης στην ανεκτικότητα έναντι της καταπόνησης αλατότητας.....	32
2.5 Πειραματικό σχέδιο – Παράμετροι αξιολόγησης.....	33
2.6 Στατιστική ανάλυση.....	36
3. Αποτελέσματα	37
3.1 Επίδραση προ-επεξεργασίας σπόρων απουσία καταπόνησης.....	37
3.1.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %).....	37
3.1.2 Μήκος βλαστού των σποροφύτων.....	40
3.1.3 Μήκος ρίζας των σποροφύτων	42
3.1.4 Νωπό βάρος των σποροφύτων.....	46
3.1.5 Περιεκτικότητα των σποροφύτων σε χλωροφύλλη	47
3.1.6 Λόγος χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b (Chla/Chlb)	48
3.1.7 Περιεκτικότητα των φύλλων σε καροτενοειδή.....	49

3.2 Επίδραση προ-επεξεργασίας σπόρων παρουσία υψηλής αλατότητας.....	50
3.2.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %) στην ανεκτικότητα έναντι της καταπόνησης αλατότητας.....	50
3.2.2 Μήκος βλαστού των σποροφύτων.....	53
3.2.3 Μήκος ρίζας των σποροφύτων.....	55
3.2.4 Νωπό βάρος των σποροφύτων.....	59
3.2.5 Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC %).....	60
4. Συζήτηση.....	62
Βιβλιογραφία.....	65

Περίληψη

Το είδος *Althaea officinalis* L., με κοινή ονομασία δενδρομολόχα ή αλθαία, αποτελεί ένα πολυετές φυτό, που ανήκει στην οικογένεια των Μαλαχοειδών (Malvaceae). Η αλθαία στην Ελλάδα είναι γνωστή για τις θεραπευτικές της ιδιότητες που βρίσκουν εφαρμογή στην παραδοσιακή ιατρική. Στην Ελλάδα, η αλθαία εμφανίζει σημαντικές προοπτικές εξέλιξης καθώς μπορεί να ενταχθεί ως είδος σε αειφόρα συστήματα γεωργίας, επιφέροντας σημαντική προστιθέμενη αξία. Συνεπώς, η ενίσχυση και η προώθηση του είδους σε τομείς της φαρμακευτικής και της ιατρικής μπορούν να επιφέρουν σημαντικά οφέλη στον αγροτικό κλάδο και στην κοινωνία. Υπό δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, η αλθαία παρουσιάζει χαμηλό δυναμικό βλάστησης. Με δεδομένο ότι η περίοδος της βλάστησης θεωρείται κρίσιμο στάδιο του βιολογικού κύκλου των φυτών, η διεξαγωγή ερευνών με στόχο την εύρεση ή/και ανάπτυξη μεθόδων που ενισχύουν τη βλάστηση και βελτιώνουν την αποδοτικότητα της καλλιέργειας αποτελεί σημαντική προτεραιότητα. Βάσει των ανωτέρω, αντικείμενο της παρούσας πτυχιακής διατριβής αποτέλεσε η μελέτη της επίδρασης διαφόρων μεταχειρίσεων που μπορούν να δράσουν ως διεγέρτες βλάστησης τόσο υπό κανονικές όσο και υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας. Αρχικά, η επαγωγή της βλάστησης προσεγγίστηκε με διαφορετικές μεταχειρίσεις, όπως η εμβάπτιση σε νερό (hydropriming), η οσμωτική επαγωγή (50, 100 mM NaCl), η εφαρμογή γιββεριλλικού οξέος (50, 100 μ M GA3) και ασκορβικού οξέος (50, 100 mg L⁻¹), ενώ χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες σπόροι που δεν υπέστησαν καμία μεταχείριση. Η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε δυο φορές, όπου μελετήθηκε η επίδραση των διαφορετικών μεταχειρίσεων i) απουσία καταπόνησης, σε στερεό υπόστρωμα που περιείχε H₂O και άγαρ και ii) παρουσία καταπόνησης αλατότητας, σε υπόστρωμα εμπλουτισμένο με 200 mM NaCl. Ως παράμετροι αξιολόγησης των επιδράσεων των διαφόρων μεταχειρίσεων χρησιμοποιήθηκαν το ποσοστό βλάστησης των σπόρων, το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων, το μήκος ρίζας και βλαστού και η περιεχόμενη ποσότητα χλωροφύλλης και καροτενοειδών των φύλλων. Η εφαρμογή διεγερτών επηρέασε ένα σημαντικό μέρος των γνωρισμάτων που μελετήθηκαν. Υπό συνθήκες απουσίας καταπόνησης, παρατηρήθηκε αύξηση του νωπού βάρους κατά την εφαρμογή γιββεριλλικού και ασκορβικού οξέος, υπεροχή του μάρτυρα ως προς το μήκος του βλαστού, υπεροχή του μήκους της ρίζας στη μεταχείριση των σπόρων με NaCl και αύξηση

της περιεκτικότητας των σπορόφυτων σε χλωροφύλλη κατά τη μεταχείριση των σπόρων με NaCl και ασκορβικό οξύ. Υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας, σημειώθηκε υπεροχή του μήκους βλαστού και του ποσοστού περιεχόμενης υγρασίας των σπορόφυτων σε σπόρους που δέχθηκαν εφαρμογή γιββεριλλικού οξέος. Τα συνολικά ευρήματα υποδεικνύουν τις πιθανότητες ενίσχυσης της ικανότητας βλάστησης σε μη βελτιωμένο γενετικό υλικό φαρμακευτικών φυτών, με χρήση παραγόντων διέγερσης, ανοίγοντας νέες προοπτικές για την εμπορική καλλιέργεια των εν λόγω ειδών.

1. Εισαγωγή

Γενικά

Τα φυτά, από αρχαιοτάτων χρόνων, χρησιμοποιήθηκαν ως φάρμακα για την πρόληψη, ανακούφιση και ίαση ασθενειών του ανθρώπου. Στη σημερινή εποχή τα φαρμακευτικά φυτά αποτελούν την κύρια πρώτη ύλη για τη παραγωγή φαρμάκων στην φαρμακοβιομηχανία, με αποτέλεσμα το ενδιαφέρον να στρέφεται στην ανακάλυψη και έρευνα νέων φυτικών ειδών και φαρμάκων φυτικής προέλευσης. Στην πιο πρόσφατη ιστορία, η χρήση των φυτών ως φάρμακα έχει στηριχθεί στην απομόνωση των ενεργών ενώσεων, ξεκινώντας με την απομόνωση της μορφίνης από το όπιο στις αρχές του 19^{ου} αιώνα (Kinghorn, 2001). Η ανακάλυψη αυτή οδήγησε στην απομόνωση πρώιμων φαρμάκων όπως η κοκαΐνη, η κωδεΐνη και η κινίνη, μερικά από τα οποία εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται και σήμερα. Τα φαρμακευτικά φυτά έχουν σημαντική αξία καθώς έχουν εξερευνηθεί επαρκώς λόγω της αποτελεσματικότητάς τους στην πρόληψη και στη θεραπεία διαφόρων παθήσεων, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, το οξειδωτικό στρες, η ελονοσία, η σχιστοσωμίαση, ο αφρικανικός δάγγειος πυρετός και η τρυπανοσωμίαση (Pavunraj et al., 2017).

Τα φαρμακευτικά φυτά περιλαμβάνουν διάφορους τύπους φυτών που χρησιμοποιούνται στη βοτανολογία καθώς έχουν φαρμακευτική δράση. Θεωρούνται ως πόροι συστατικών θεραπευτικής αξίας, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ανάπτυξη και στη σύνθεση φαρμάκων. Τα φαρμακευτικά φυτά, όπως ο κατιφές, το βάλσαμο, η λεβάντα, ο άγριος πανσές, το χρυσάνθεμο, η ρίγανη, ο μαϊντανός, ο γλυκός βασιλικός, το χρένο, το θυμάρι κ.λπ., έχουν θεραπευτικές ιδιότητες, οι οποίες αξιοποιούνται συστηματικά για την παρασκευή φαρμάκων. Έχει εκτιμηθεί ότι περίπου 13.000 είδη φυτών έχουν χρησιμοποιηθεί για τουλάχιστον έναν αιώνα ως παραδοσιακά φάρμακα από διάφορους πολιτισμούς ανά τον κόσμο, ενώ έχει δημοσιευθεί ένας κατάλογος με περισσότερα από 20.000 φυτά με φαρμακευτική αξία (Bassam, 2012).

Τα φαρμακευτικά φυτά είναι γνωστά ως επιτυχημένες πηγές νέας και θεραπευτικά αποτελεσματικής ιατρικής. Πολλά παραγωγικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται αυτή τη στιγμή συντέθηκαν αρχικά για να αντιγράψουν τη δραστηριότητα των μορίων που βρίσκονται σε αυτά. Ως προς τα χαρακτηριστικά των φαρμακευτικών φυτών, τα

βιοδραστικά συστατικά τους αλληλεπιδρούν ταυτόχρονα (συνεργική δράση) και έτσι οι χρήσεις τους μπορούν να συμπληρώσουν ή να βλάψουν ή να εξουδετερώσουν τις πιθανές αρνητικές τους επιπτώσεις. Βρίσκουν χρήση στην προληπτική ιατρική καθώς αποτρέπουν την εμφάνιση ορισμένων ασθενειών, ενώ παράλληλα χρησιμοποιούνται και ως μέσο ίασης ασθενειών, αποφεύγοντας τις παρενέργειες της συνθετικής θεραπείας. Η ταξινόμηση των φαρμακευτικών φυτών οργανώνεται με διαφορετικούς τρόπους, ανάλογα με τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται. Εν γένει, τα φαρμακευτικά φυτά διατάσσονται σύμφωνα με τις ενεργές τους αρχές στα όργανα αποθήκευσης των φυτών, ιδιαίτερα στις ρίζες, στα φύλλα, στα άνθη, στους σπόρους και σε άλλα μέρη του φυτού (Mani, 2016).

Το είδος *Althaea officinalis* L., που ανήκει στην οικογένεια Malvaceae είναι εγγενές σε Ασία, Ευρώπη και ΗΠΑ, έχει μία μακρά χρήση στη βοτανοθεραπεία. Η αλθαία περιέχει πηκτίνες σε ποσοστό 11 %, άμυλο σε ποσοστό 25-35 %, σακχαρόζη σε ποσοστό 10 %, βλέννα σε ποσοστό 5 %, φλαβονοειδή (υπολαετίνη-8-γλυκοζίτη, ισοκερκετρίνη, καμπφερόλη, καφεϊκό οξύ, σκουπετρίνη), τανίνες, ασπαραγίνη και πολλά άλλα αμινοξέα (Al-Snafi, 2013). Στον Πίνακα 1.2 παρουσιάζονται τα χημικά συστατικά των διαφόρων πολυμερών της *Althaea officinalis* (Ali Shah *et al.*, 2011).

Πίνακας 1.1 Τα χημικά συστατικά των διαφόρων πολυμερών του είδους *Althaea officinalis* L.

Πηκτίνη	Πηκτίνες 11%
Άμυλο	Άμυλο 25-35%
Κολλώδης ουσία	Μono-, δι-σακχαρίτη σακχαρόζη 10%, ω5% γλυκόζη την άνοιξη και 20% γλυκόζη το χειμώνα
Φλαβονοειδή	Υπολαετίνη-8-γλυκοσίδιο, Ισοκερκετρίνη, καμπφερόλη, καφεϊκό, πκουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, π-υδροξυβενζοϊκό οξύ, σαλικυλικό οξύ, π-υδροξυφαινυλοξικό acid, βανιλικό οξύ
Κουμαρίνες	
Φυτοστερόλες	
Τανίνες	Σκοπολαμίνη
Ασπαραγίνη	
Αμινοξέα	

Κάποιες από τις κύριες φαρμακευτικές χρήσεις της αλθαίας περιλαμβάνουν τη θεραπεία του ερεθισμού του φαρυγγικού βλεννογόνου και του στοματικού βλεννογόνου, της ήπιας γαστρίτιδας, των δερματικών εγκαυμάτων και τα τσιμπήματα εντόμων. Επιπλέον, χρησιμοποιείται για τις ενοχλήσεις του γαστρεντερικού και του ουροποιητικού συστήματος, καθώς και για φλεγμονές, έλκη, αποστήματα, εγκαύματα, δυσκοιλιότητα και διάρροια. Τα μέρη του φυτού που χρησιμοποιούνται για φαρμακευτική προσέγγιση περιλαμβάνουν τα φύλλα, τα άνθη και τη ρίζα (Ali Shah *et al.*, 2011). Η εκτενής φαρμακευτική χρήση της στηρίζεται στην τεκμηρίωση ερευνών που έχουν αποδείξει ότι το φυτό διαθέτει αντιφλεγμονώδη, ανοσορυθμιστική, καταπραϋντική και αντιμικροβιακή δράση με πολλές επιδράσεις. Άλλα φαρμακευτικά οφέλη που παρουσιάζει η αλθαία αφορούν στη θετική επίδραση κατά των μικροβίων, των καρδιαγγειακών παθήσεων, αλλά και των αντιοιστρογόνων, των κυτταροτοξικών και ανοσοτροποποιητικών επιδράσεων και την πρόληψη της ουρολιθίας (Al-Snafi, 2013).

1.1 Αξιοποίηση των φαρμακευτικών ειδών στη βιομηχανία φαρμάκων

Από την αρχαιότητα, τα φαρμακευτικά φυτά χρησιμοποιούνταν για θεραπευτικούς σκοπούς στη λαϊκή ιατρική, αλλά δεν υπήρχε εκτενής γνώση για το περιεχόμενο των φυτών. Η Μεσόγειος αποτελεί ένα από τα πλουσιότερα γεωγραφικά μέρη σε φαρμακευτικά φυτά και η γεωμορφολογία της Ελλάδας, σε συνδυασμό με την παρουσία χλωρίδας περασμένων γεωλογικών εποχών και την αλληλεπίδραση με ποικίλους βιοτικούς και μη- παράγοντες καταπόνησης, την καθιστούν ως μία περιοχή υψηλής φυτικής ποικιλότητας (hotspot). Η μακρά εθνοφαρμακολογική παράδοση της Ελλάδας και οι 109 από τους 255 τύπους οικοτόπων στην Ευρώπη σκιαγραφούν την τεράστια ποικιλομορφία της σε φαρμακευτικά φυτά (Solomou *et al.*, 2015).

Τα φαρμακευτικά φυτά έχουν μεγάλη σημασία και χρήση στους τομείς της χημείας, της βιολογίας, της φαρμακευτικής, της ιατρικής και της βιοτεχνολογίας (Özdemir & Turan, 2023). Παγκοσμίως, περισσότερο από το 25 % των φαρμακευτικών φαρμάκων είναι φυτικής προέλευσης (Lubbe & Verpoorte, 2011). Ως μέρος της φυσικής βιοποικιλότητας πολλών χωρών, αυτά τα είδη προσφέρουν σημαντική συμβολή στην υγεία, τις τοπικές οικονομίες, την πολιτιστική ταυτότητα και τελικά στην ευημερία των

ανθρώπων. Ο ρόλος τους και η αξιοποίησή τους από τη βιομηχανία φαρμάκων αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο, γεγονός που έχει δημιουργήσει μια νέα στάση απέναντι σε αυτά και άλλα είδη. Ταυτόχρονα, οι απειλές για τη γενετική ποικιλότητα και την επιβίωση των ειδών έχουν επίσης αυξηθεί λόγω της μη βιώσιμης εκμετάλλευσης και της απώλειας οικοτόπων.

Στη συζήτηση σχετικά με την αξία και τις χρήσεις των φαρμακευτικών φυτών στη βιομηχανία φαρμάκων εμπλέκονται ζητήματα ή προβλήματα που συσχετίζονται με την εμπορική αξιοποίησή τους, όπως η σταθερότητα της ποιότητας και της παραγωγής τους. Τα προβλήματα που συνδέονται με τη βλάστηση, όπως η χαμηλή βλαστικότητα, ο λήθαργος και το ανεπιτυχές μη συγχρονισμένο φύτρωμα, καθώς και η έλλειψη σχεδιασμού και χρήσης βελτιστοποιημένων πρωτοκόλλων καλλιέργειας παρεμποδίζουν την επαρκή ή την αποτελεσματική εμπορική αξιοποίησή τους. Περαιτέρω, η αξιοποίησή τους περιορίζεται δραστικά λόγω της έλλειψης κατάλληλου γενετικού υλικού από αυτοφυείς πληθυσμούς ή από ποικιλίες μη εξημερωμένων πληθυσμών. Στην καλλιέργεια των φαρμακευτικών φυτών, θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα για την επιλογή των κατάλληλων οικότυπων ή ποικιλιών -όπου υπάρχουν- για καλλιέργεια σε μια συγκεκριμένη περιοχή, λαμβάνοντας υπόψη τον εδαφικό τύπο και τις καλλιεργητικές πρακτικές, δίνοντας έμφαση στον τρόπο εγκατάστασης των φυτειών και την εφαρμογή των πρακτικών αντιμετώπισης εχθρών και ασθενειών. Τα φυτά θα πρέπει να συλλέγονται στο στάδιο της οντογενετικής ανάπτυξης, στο οποίο η ποιότητα του φαρμάκου είναι η βέλτιστη. Είναι ωστόσο γεγονός ότι ορισμένα φαρμακευτικά είδη δεν μπορούν να καλλιεργηθούν ως φυτείες διότι παράγουν φαρμακολογικά δραστικές ουσίες στις απαιτούμενες ποσότητες μόνο σε φυσικούς οικοτόπους. Άλλες δυσκολίες της εμπορικής αξιοποίησης των φαρμακευτικών φυτών αφορούν στην καθοριστική επίδραση που ασκούν οι κλιματολογικές συνθήκες στην καλλιέργειά τους. Η επίδραση των αγρο-οικολογικών συνθηκών στα μορφολογικά χαρακτηριστικά συνδέεται με την απόδοση των φυτών και την ποιότητα της παραγωγής, η οποία δεν μπορεί να είναι σταθερή σε κάθε κύκλο παραγωγής. Μέσω της επιλογής ενός ευνοϊκού συστήματος παραγωγής, θα μπορούσε να προκύψουν εμπορικές αποδόσεις σε καλλιέργειες εντός του εύρους περιοχών όπου το είδος ευδοκιμεί (Ljubica *et al.*, 2023).

Παράλληλα, ορισμένα είδη είναι δύσκολο να καλλιεργηθούν, λόγω ορισμένων βιολογικών χαρακτηριστικών ή οικολογικών απαιτήσεων (Schippmann *et al.*, 2002). Στοχεύοντας στην εμπορική αξιοποίηση των φαρμακευτικών ειδών, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι η βιοδραστικότητα των ενεργών συστατικών τους δύναται να αυξηθεί ή να διατηρηθεί μέσω της βελτιστοποίησης των αγρονομικών πρακτικών. Οι διαφορετικές καλλιεργητικές πρακτικές, συμπεριλαμβανομένης της άρδευσης, της απόστασης φύτευσης, της λίπανσης και της διαχείρισης της ανάπτυξης των φυτών, επηρεάζουν όχι μόνο την απόδοση αλλά και την ποιότητα των καλλιεργούμενων φαρμακευτικών φυτών. Πέραν αυτών, έχει προταθεί ότι η καλλιέργεια φαρμακευτικών φυτών εκτός του φυσικού τους περιβάλλοντος συνδέεται με κίνδυνο καταστροφής της «φαρμακευτικής δύναμης» τους (Van Wyk and Prinsloo, 2018).

Από την άλλη πλευρά, οι φαρμακευτικές εταιρείες χρειάζονται συνέπεια στην ποιότητα και την αγοραία αξία των φυτικών προϊόντων. Η σωστή διαχείριση των πρώτων υλών, μέσω καλλιέργειας των φαρμακευτικών ειδών, έχει προταθεί ως στρατηγική για τη διασφάλιση της ποιότητας, καθώς τα φαρμακευτικά φυτά μπορούν να συλλεχθούν από την ίδια περιοχή και να καλλιεργηθούν υπό τις ίδιες συνθήκες για μια περίοδο. Ως αντικείμενο εμπορικής καλλιέργειας, η αξιοποίηση των φαρμακευτικών φυτών θα πρέπει να υπόκειται στην ανάπτυξη πρωτοκόλλων που θα εστιάζουν στην ενίσχυση της βλάστησης, στο ομοιόμορφο φύτρωμα, στην επιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας, στην ανεμπόδιστη ανάπτυξη των φυτών και στην επίτευξη βέλτιστου δυναμικού απόδοσης. Η βελτιστοποίηση των τεχνικών πολλαπλασιασμού και καλλιέργειας θα διασφαλίσει την προμήθεια καλής ποιότητας φυτευτικών υλικών για τους τοπικούς καλλιεργητές και την προμήθεια καλής ποιότητας συγκομισμένων υλικών στη φαρμακευτική βιομηχανία (Mofokeng *et al.*, 2022). Σύμφωνα με τους Padulosi *et al* (2002), το μέλλον των φαρμακευτικών φυτών στη βιομηχανία φαρμάκων στηρίζεται στην επίτευξη ισορροπίας μεταξύ της διατήρησης και της χρήσης τους και στη στροφή προς μια καλλιέργεια που θα βασίζεται περισσότερο στους πόρους που προκαλούνται ολόένα και περισσότερο από την παγκοσμιοποίηση των οικονομιών.

1.2 Η *Althaea officinalis* L. ως φαρμακευτικό φυτό

Η *Althaea* περιέχει πολυσακχαρίτες, φλαβονοειδή, φαινολικό οξύ και σκοπολαμίνη. Σύμφωνα με ερευνητικά δεδομένα, οι φαρμακευτικές χρήσεις και οι ιδιότητες που προσφέρει η *Althaea* ως φαρμακευτικό φυτό μπορούν να συνοψιστούν ως εξής (Kianitalaei *et al.*, 2019):

- Στα παιδιά, η *Althaea* χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του πρηξίματος των όρχεων (σε υγρή μορφή), της πέτρας στην ουροδόχο κύστη (σε μορφή λουτρού), στην καθυστερημένη ανατολή των πρώτων δοντιών (με κομπρέσα), στη δυσκοιλιότητα (ως σιρόπι και ως υπόθετο), στη θεραπεία των επιληπτικών κρίσεων (με τη μορφή κλύσματος) και των κρίσεων της μηνιγγίτιδας (με κομπρέσα). Η χρήση αφεψήματος από ρίζες αλθαίας είναι αποτελεσματικές για τη θεραπεία των παιδιατρικών κρίσεων και χρησιμοποιείται ως μέσο αντιμετώπισης της οταλγίας.
- Επιδράσεις στους οφθαλμούς: η αλθαία μπορεί να θεραπεύσει σε μορφή σταγόνων ορισμένες οφθαλμικές ασθένειες, όπως τα πρησμένα βλέφαρα, την επιπεφυκίτιδα, τις εκκρίσεις από τα μάτια και το ορδέλαιο.
- Επιδράσεις στο αναπνευστικό: η χρήση της αλθαίας συνιστάται για βήχα, πνευμονία, φυματίωση, αιμόπτυση, άσθμα και τον πόνο των πλευρών με τη μορφή αφεψήματος ή θυμιάματος.
- Επιδράσεις στα αυτιά, στη μύτη και στο λαιμό: η αλθαία μπορεί να θεραπεύσει τη φαρυγγίτιδα και την αμυγδαλίτιδα, τη λεμφαδενοπάθεια του αυτιού, τη βραχνάδα, το κοινό κρυολόγημα, τον πονόλαιμο, την ωταλγία, τον πονόδοντο, τη δυσσομία του στόματος, τα δόντια και την ουλίτιδα.
- Επιδράσεις στο γαστρεντερικό σύστημα: η αλθαία είναι αποτελεσματική για τη θεραπεία της γαστρίτιδας και της κολίτιδας, της δυσεντερίας, της διάρροιας, του στομαχόπονου, του έλκους εντέρου, της δυσκοιλιότητας και δυσπεψίας, της ναυτίας και του ίκτερου υπό τη μορφή χαπιού, κλύσματος και υπόθετου.
- Επιδράσεις στο μυοσκελετικό σύστημα: η αλθαία συνταγογραφείται για μυοσκελετικές παθήσεις, όπως η ραγισμένη φτέρνα, η δυσκαμψία άρθρωσης, η μυϊκή ακαμψία και το κάταγμα οστού.

- **Επιδράσεις στο ήπαρ και στο σπλήνα:** η αλθαία μπορεί να θεραπεύσει αποφρακτικές ασθένειες και τη φλεγμονή του ήπατος και του σπλήνα.
- **Δερματολογικές επιδράσεις:** η αλθαία συνιστάται για δερματικές παθήσεις, όπως οι πυώδεις πληγές, τα αποστήματα, οι κηλίδες και οι φακίδες, το κάψιμο, το έκζεμα, ο κνησμός, το ξηρό δέρμα, οι ερεθισμοί, η λεύκη και για τη διαχείριση των τσιμπημάτων εντόμων,
- **Γυναικολογικές επιδράσεις:** η αλθαία συνταγογραφείται για τη διευκόλυνση του τοκετού, του πυελικού πόνου, της μαστίτιδας, του έλκους του τραχήλου, της ενδομητρίωσης και διαθέτει εμμηναγωγικό αποτέλεσμα και αυξάνει το γάλα στις μητέρες που θηλάζουν.
- **Νευρολογικές επιδράσεις:** η αλθαία χρησιμοποιείται τη θεραπεία της επιληψίας, των πυρετικών σπασμών, της φλεγμονή του εγκεφάλου, του τρόμου, της παράλυσης, του ιλίγγου και της ζάλης, της κεφαλαλγίας, της αϋπνίας και της μελαγχολίας σε συνδυασμό με άλλα βότανα.
- **Ανοσολογικές επιδράσεις:** το υδατικό εκχύλισμα της αλθαίας καταστέλλει την παραγωγή της κυτοκίνης Thelper 1 και της γάμμα-ιντερφερόνη και διεγείρει φαγοκυττάρωση. Έχει αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές επιδράσεις και τα εκχυλίσματά της χρησιμοποιούνται ευρέως για τη θεραπεία και την αναγέννηση των ερεθισμένων βλεννογόνων.
- **Καρδιαγγειακές επιδράσεις:** το εκχύλισμα της αλθαίας ενισχύει σημαντικά τη θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας, της υπέρτασης και της διαβητικής νεφροπάθειας.
- **Αντιβακτηριακές, αντιιικές και αντιμυκητιακές δράσεις:** το εκχύλισμα της αλθαίας μπορεί να αναστείλει τη δραστηριότητα των βακτηρίων και των μυκήτων. Το μεθανολικό εκχύλισμα έχει αντιβακτηριακή δράση κατά των *Bacillus psychrosaccharolyticus*, *Exiguobacterium acetylicum*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa* (Mehreen et al., 2016). Επιπλέον, το αιθανολικό εκχύλισμα ήταν αποτελεσματικό σε μερικούς ιούς, συμπεριλαμβανομένου του αδενοϊού, του ιού coxsackie B2, του έρπητα, της γρίπης A2, της ιλαράς και του ιού της πολιομυελίτιδας.

- Αντιοξειδωτικές επιδράσεις: το εκχύλισμα της αλθαίας έχει επιδείξει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση σε διαφορετικές αντιοξειδωτικές δοκιμές (Elmastas et al., 2004). Η αντιοξειδωτική δράση αντιπροσωπεύει περίπου το 69 % της δραστηρότητας της ένωσης αναφοράς άλφα-τοκοφερόλη (Kardosova and Machova, 2006).

1.2.1 Ταξινόμηση – Εξάπλωση

Το όνομα *Althaea* προέρχεται από την ελληνική λέξη «αλθαίνω», που σημαίνει θεραπεύω, λόγω της φαρμακευτικής της αξίας και της υψηλής περιεκτικότητάς της σε βλέννη. Η επιστημονική ονομασία του φυτού είναι *Althaea officinalis* και το συνώνυμό του *Malva officinalis*. Άλλα κοινά ονόματα είναι τα *Althaea*, *Alcea*, δέντρομολόχα, Μαυριτανική μολόχα, Sweet Weed, Schloss Tea, White Maoow και Marshmallow στην αγγλική γλώσσα και Khatma, Panirak και Khatmi στην αραβική γλώσσα.



Εικόνα 1.1: Το φαρμακευτικό φυτό *Althaea officinalis* L.

Το γένος *Althaea* περιλαμβάνει 25 είδη και η *Althaea officinalis* έχει τύπο ευρασιατικής εμβέλειας. Η εξάπλωση του φυτού είναι γηγενής σε εύκρατες περιοχές και απαντάται σε χώρες της Ασίας, όπως Συρία, Παλαιστίνη, Ιράν, Ιράν, και στην Τουρκία, στην Ευρώπη, στη Βόρεια Αφρική και στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Στην Ελλάδα, ευδοκιμούν τα 6 είδη από τα 15 είδη του γένους, συμπεριλαμβανομένου του είδους *Althaea officinalis* L. Στον Πίνακα 1.2 παρουσιάζεται η συστηματική ταξινόμηση του είδους *Althaea officinalis*.

Πίνακας 1.2 Ταξινόμηση του φαρμακευτικού φυτού *Althaea officinalis* L.

Ταξινόμηση <i>Althaea officinalis</i>.	
Βασίλειο	Plantae
Διαίρεση	Magnoliophyta
Τάξη	Malvales
Σειρά	Malvaceae (mallow family)
Οικογένεια	Althaea
Γένος	<i>Althaea officinalis</i> L.

1.2.2 Βοτανική περιγραφή - Βιολογικός κύκλος

Το είδος *Althaea officinalis* είναι ένα πολυετές βότανο, ύψους έως τριών μέτρων, ανθεκτικό και βελούδινο που στέκει ευθυτενές. Έχει ακανόνιστο ευρασιατικό εύρος και μεγαλώνει σχεδόν σε όλη την Ευρώπη, εξαιρουμένων των περιοχών του βορρά των σκανδιναβικών χωρών και της Σκωτίας. Η αλθαία φύεται επίσης στη Βόρεια Αφρική, στο Ιράν, στο Αφγανιστάν, στη Μικρά Ασία, στη βορειοδυτική Κίνα και στη Μογγολία. Εξαπλώνεται σε όλα τα εδάφη της ευρωπαϊκής Ρωσίας και στον Βόρειο Καύκασο, στο Καζακστάν, στα πεδινά του Αλτάι, και σε ορισμένες οάσεις της ερήμου και μη περιοχές της Κεντρικής Ασίας. Στις ευρωπαϊκές δασοστέπες και ζώνες της στέπας, η *Althaea*

officinalis προτιμά τις υγρές περιοχές, όπως οι όχθες ποταμών και λιμνών, στον υγρό και κυρίως αλμυρό βυθό και τα λιβάδια. Οι έντονες ανθρωπογενείς διαταραχές (βόσκηση βοοειδών) οδηγούν σε μείωση του πληθυσμού της και μείωση της παραγωγής σπόρων (Abramova et al., 2013).

Το στέλεχος είναι τριχωτό και διαθέτει μόνο μερικά πλευρικά κλαδιά, τα οποία μαραίνονται το φθινόπωρο. Το χυμώδες στέλεχος είναι συνήθως ξυλώδες στη βάση και χωρίς διακλάδωση.

Τα φύλλα της *Althaea officinalis* είναι μεγάλα, τραχιά, βελούδινα και ζαρωμένα και στις δύο πλευρές, λόγω της πυκνής κάλυψης από αστρικές τρίχες. Τα φύλλα είναι με κοντό μίσχο ευρέως τριγωνικά έως ωοειδή, συχνά με 3-5 ρηχούς λοβούς, ακανόνιστα οδοντωτά, με καρδιοειδείς έως σφηνοειδείς βάσεις. Τα κατώτερα φύλλα είναι 5-λοβωτά, ενώ τα πάνω φύλλα είναι συχνά τριγωνικά, περισσότερο φαρδιά και μεγάλου μήκους. Το μέγεθος των φύλλων ποικίλλει σημαντικά, έως 100 χιλιοστά μήκους και 75 χιλιοστά πλάτους. Τα φύλλα είναι διατεταγμένα εναλλάξ κατά μήκος του στελέχους, χωρίς ραβδώσεις, σε μίσχους έως 45 χιλιοστών. Τα δευτερεύοντα φύλλα είναι στενά.

Τα άνθη εκτείνονται σε μασχαλιαίες συστάδες, είναι κρενοειδή, σχεδόν άμισχα (ακουμπισμένα στην επιφάνεια) και διαμέτρου 7-8 εκατοστών. Τα στεφάνια του φυτού είναι πέντε και σε σχήμα καρδιάς, περιλαμβάνοντας διάφορους χρωματισμούς (μοβ, λευκό ή κίτρινο) και κάνουν την εμφάνισή τους από τον Ιούλιο έως τον Οκτώβριο. Τα πέταλα και τα σέπαλα σε σχήμα καρδιάς είναι πέντε στον αριθμό και πολλοί στήμονες συγχωνεύονται μεταξύ τους με ανθήρες σε μια στήλη. Οι ωοθήκες είναι σε δακτύλιο. Οι στήμονες είναι πολυάριθμοι και ενωμένοι σε σωλήνα με μονοκύτταρους ανθήρες (Kalam et al., 2023). Τα άνθη της αλθαίας έχουν ευχάριστη οσμή και γλυκιά και βλεννώδη γεύση.

Οι ρίζες έχουν διάμετρο 0,2 έως 3 εκατοστών και είναι μακριές, παχιές και κωνικές, χρώματος ανοιχτού καφέ, λευκές και ινώδεις εσωτερικά, με έντονα διαμήκεις αυλακώσεις (Harrap, 2013).

Οι καρποί του φυτού είναι μακρείς και παχείς, κωνικοί, ανοιχτοί και επίπεδοι, στρογγυλοί με διάμετρο από 5 έως 8 χιλιοστά. Η καρποφορία εμφανίζεται από το Νοέμβριο και διαρκεί έως και το Δεκέμβριο ενώ η συγκομιδή της ρίζας πραγματοποιείται

συνήθως από τον Οκτώβριο έως τον Νοέμβριο, μετά τον καθαρισμό και το στέγνωμα σε μέγιστη θερμοκρασία 35°C. Οι σπόροι έχουν μικρό έως μεσαίο μέγεθος, περίπου 6 χιλιοστών, με χρώμα καστανομαύρο και στο σχήμα του νεφρού και κάπως συμπιεσμένοι (Kalam *et al.*, 2023).



Εικόνα 1.2 Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του είδους *Althaea officinalis* L.: άνθη (a, b,c), καρποί (c, d), και σπόροι (e).

1.2.3 Κλιματικές - Καλλιεργητικές απαιτήσεις

Όσον αφορά στην εντατική καλλιέργεια της αλθαίας, το φυτό προτιμά ελώδεις λίμνες, αργιλώδες έδαφος και υγρές ελικοειδείς ζώνες και καλλιεργείται για ιατρική χρήση. Παρουσιάζει προτίμηση στα ανώτερα όρια των αλμυρών και υφάλμυρων ελών, στις πλευρές τάφρων και στις όχθες κοντά στη θάλασσα. Μπορεί να καλλιεργηθεί καλύτερα κατά τη διάρκεια του χειμώνα στις πεδιάδες και να μεγαλώσει και κατά τη διάρκεια των βροχών. Κάτω από μέτριες κλιματολογικές συνθήκες, καλλιεργείται όλο το χρόνο στις πεδιάδες. Οι εποχές ανθοφορίας ποικίλλουν στις πεδιάδες και στους λόφους. Κανονικά, το φυτό ανθίζει σε 4-5 μήνες, αλλά τα πρώιμα φυτά μπορεί να χρειαστούν λιγότερο χρόνο.

Ως είδος αναπτύσσεται τόσο σε αργιλώδη όσο και σε αμμώδη εδάφη, ενισχυμένα με οργανική κοπριά. Ιδανικά, τα φυτά απαιτούν ικανοποιητική μεταξύ τους απόσταση, περίπου 60 x 60 εκατοστά, και επαρκή άρδευση. Ο πολλαπλασιασμός γίνεται με σπόρους στις πεδιάδες και οι σπόροι σπέρνονται σε καλά προετοιμασμένα και λιπασμένα δισκία και ποτίζονται περιοδικά. Σε 30 ημέρες, τα σπορόφυτα μεταφυτεύονται σε καλά προετοιμασμένα, πλούσια, εύθρυπτα εδάφη. Τα φυτά μπορούν να πολλαπλασιαστούν στους λόφους από τη διαίρεση των ριζών, όπου κάθε κομμάτι έχει μπουμπούκια και μοσχεύματα βλαστών (Fahamiya *et al.*, 2016).

Όσον αφορά στις καλλιεργητικές απαιτήσεις, σε κάποιες χώρες, όπως η Πολωνία, παρουσιάζεται ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον για την παραγωγή φαρμακευτικών φυτών σε δίσκους πολλαπλασιασμού πολλαπλών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της αλθαίας. Αυτό το σύστημα παραγωγής αποτελεί σημαντικό παράγοντα για αύξηση των αποδόσεων και της ποιότητας των πρώτων υλών. Τέτοια σπορόφυτα έχουν ένα καλά ανεπτυγμένο ριζικό σύστημα που εξασφαλίζει ποσοστό ριζοβολίας 100 %, μετά τη φύτευση στο χωράφι καθώς και μικρότερη περίοδο προσαρμογής στο νέο περιβάλλον. Έρευνες που έχουν διεξαχθεί, ανέδειξαν ότι η αλθαία που καλλιεργήθηκε από σπορόφυτα που παράγονται σε πολλαπλές πλάκες χαρακτηρίστηκε από ταχύτερο ρυθμό ανάπτυξης και υψηλότερο βάρος ρίζας (Andruszczak and Wiśniewski, 2007).

Επιπλέον, σύμφωνα με το πείραμα του Andruszczak (2008), η χρήση δίσκων πολλαπλών κυττάρων για την παραγωγή δενδρυλλίων είχε θετική επίδραση στην απόδοση

και στον αριθμό των λουλουδιών κατά το πρώτο έτος. Η χρήση του φύλλου πολυπροπυλενίου (μετά τη σπορά) βρέθηκε ότι είχε μια θετική επίδραση στην ανθοφορία και στην απόδοση. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξη των φυτών εξασφαλίζονται από το ιδιόμορφο μικροκλίμα κάτω από το φύλλο πολυπροπυλενίου, σε υψηλότερη θερμοκρασία αέρα και εδάφους και υψηλότερη υγρασία σε σύγκριση με το χωράφι χωρίς κάλυψη (Siwek, 1999). Η κάλυψη των αγροτεμαχίων με φύλλο πολυπροπυλενίου κατά το πρώτο έτος της φυτικής βλάστησης είχε ως αποτέλεσμα γρηγορότερη άνθηση (3 έως 8 ημέρες από ό,τι στο αντικείμενο ελέγχου) και σημαντικά μεγαλύτερο αριθμό και βάρος λουλουδιών. Κατά το δεύτερο έτος της βλάστησης, ωστόσο, δεν διαπιστώθηκε η θετική επίδραση αυτής της μεθόδου καλλιέργειας στα χαρακτηριστικά που εξετάστηκαν.

1.3 Ενίσχυση της βλάστησης μέσω διέγερσης (Seed priming)

Η αποδοτική παραγωγή φυτικών ειδών βασίζεται στην επιτυχή εγκατάσταση των φυτών και στην υψηλή ευρωστία των φυταρίων. Αυτοί οι παράγοντες διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στον καθορισμό της ομοιόμορφης ανάπτυξης, της ωριμότητας και της υψηλής παραγωγικότητας των φαρμακευτικών φυτών. Η διαδικασία της διέγερσης βλάστησης σπόρων (seed priming) είναι μια φυσιολογική τεχνική που περιλαμβάνει την ελεγχόμενη ενυδάτωση και αφυδάτωση των σπόρων για την ενίσχυση του προβλαστικού μεταβολισμού για γρήγορη βλάστηση (Amir *et al.*, 2024). Συνιστά ένα ουσιαστικό εργαλείο για την ενίσχυση της εγκατάστασης των καλλιεργειών, στο πλαίσιο των αναγκών για τη βελτίωση της απόδοσης και των αντοχή στο περιβαλλοντικό στρες, οδηγώντας τελικά σε βελτιωμένη παραγωγικότητα.

Η διέγερση των σπόρων πριν τη σπορά είναι θεμελιώδης για την ενεργοποίησή τους με στόχο την αποτελεσματικότερη ανάπτυξη των φυτικών ειδών και την υψηλότερη και αποδοτική προσαρμογή στις περιβαλλοντικές συνθήκες. Το κύριο όφελος είναι η αύξηση του ρυθμού βλάστησης σε οποιαδήποτε θερμοκρασία και το ομοιόμορφο φύτεμα σποροφύτων από διεγερμένους σπόρους με ταχύτερο ρυθμό, ο οποίος οφείλεται στη συντόμευση της υστέρησης ή της μεταβολικής φάσης της διαδικασίας βλάστησης. Επιπλέον, η διαδικασία της διέγερσης της βλάστησης των σπόρων έχει χρησιμοποιηθεί εμπορικά για την εξάλειψη ή τη σημαντική μείωση των επιπτώσεων των αβιοτικών και

βιοτικών καταπονήσεων, καθιστώντας την ως μία προσέγγιση για την επιτυχή καλλιέργεια ποικίλων φυτικών ειδών, συμπεριλαμβανομένων των φαρμακευτικών (Christos *et al.*, 2019).

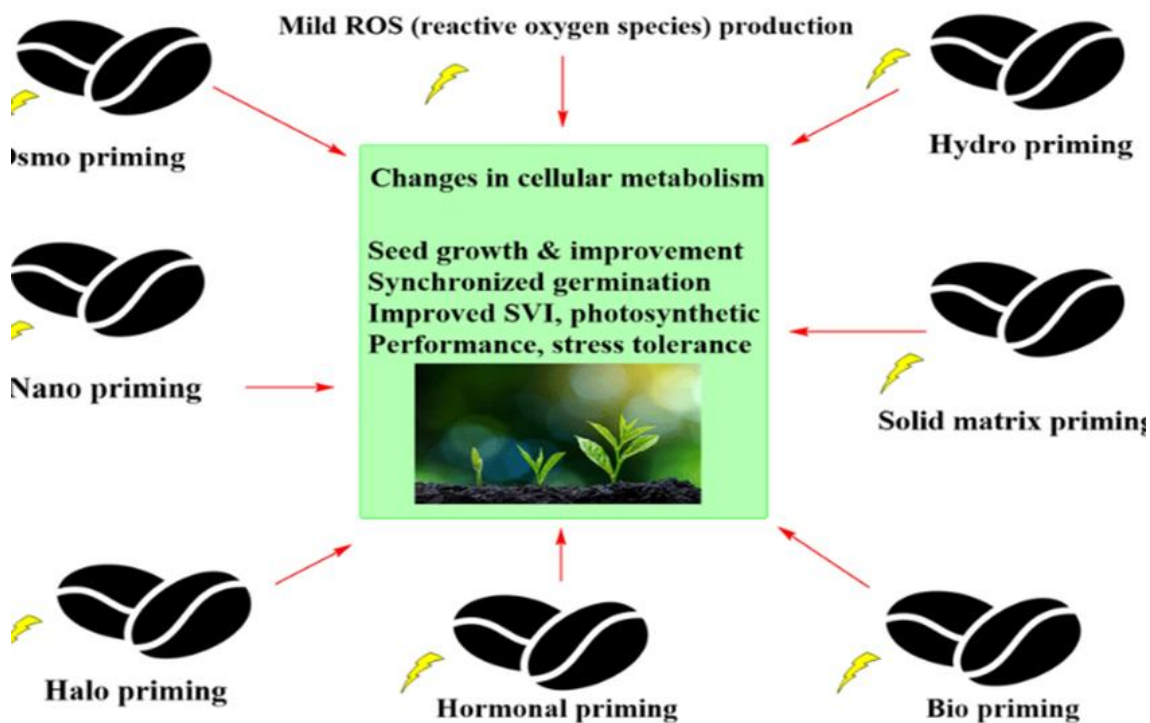
Η διέγερση της βλάστησης των σπόρων αφορά σε μία προ-επεξεργασία των σπόρων που περιλαμβάνει την έκθεσή τους σε ένα συγκεκριμένο διεγέρτη (διάλυμα) για μια συγκεκριμένη περίοδο. Η διαδικασία αυτή επιτρέπει τη μερική ενυδάτωση των σπόρων, χωρίς ωστόσο να γίνεται στη φάση αυτή εμφάνιση των ριζών. Στην περίπτωση που ο ξηρός σπόρος διατηρείται σε νερό, η διαδικασία βλάστησης των μη αδρανών σπόρων πραγματοποιείται σε τρεις φάσεις: (I) απορρόφηση, (II) φάση υστέρησης και (III) προεξοχή της ρίζας. Η παροχή νερού στον σπόρο ελέγχεται κατά το αστάρωμα των σπόρων και διατηρεί την υγρασία σε επίπεδο χαμηλότερο από αυτό που απαιτείται για την πραγματική βλάστηση (Daszkowska-Golec, 2011). Αυτές οι συνθήκες επιτρέπουν την έναρξη των φυσιολογικών διεργασιών που σχετίζονται με την πρώιμη φάση της βλάστησης (προβλαστικός μεταβολισμός) αλλά ταυτόχρονα αποτρέπουν τη μετάβαση των σπόρων προς την πλήρη βλάστηση (Maiti and Pramanik, 2013).

Η διαδικασία περιλαμβάνει την εμβάπτιση των σπόρων σε νερό ή σε διάφορα διαλύματα για μια καθορισμένη περίοδο υπό ελεγχόμενες συνθήκες, ακολουθούμενη από ξήρανση και την επιστροφή στην αρχική περιεκτικότητα σε υγρασία. Η διέγερση των σπόρων έχει αποδειχθεί ότι προωθεί διάφορες μεταβολικές διεργασίες που βελτιώνουν τη βλάστηση και το φύτρωμα σπόρων πολλών φυτικών ειδών. Αυτή η τεχνική ενισχύει τη διαδικασία βλάστησης και τον ρυθμό εμφάνισης δενδρυλλίων και παραγωγής ζωηρών φυταρίων ακόμη και κάτω από δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως ξηρασία, θερμική καταπόνηση, αλατότητα, καταπόνηση θρεπτικών ουσιών και πολλές άλλες περιβαλλοντικές καταπονήσεις. Παράλληλα, αυξάνει το σφρίγος των σπόρων προκαλώντας διάφορες μεταβολικές αλλαγές στον σπόρο, με αποτέλεσμα την ταχεία και ομοιόμορφη ανάδυση και τη δημιουργία ισχυρής μάζας σπόρων (Zhu *et al.*, 2021). Επιπλέον, μειώνει τις επιπτώσεις των αβιοτικών καταπονήσεων στα φυτά και ρυθμίζει την αντιοξειδωτική ενζυμική δραστηριότητα, την ισορροπία ιόντων και των φωτοσυνθετικών χαρακτηριστικών, προετοιμάζοντας τον σπόρο φυσιολογικά και βιοχημικά για βλάστηση, πριν τοποθετηθεί στο μέσο καλλιέργειας (Rhaman *et al.*, 2021). Επομένως, η διέγερση της

βλάστησης των σπόρων είναι μια πολλά υποσχόμενη τεχνική για την αντιμετώπιση δυσμενών συνθηκών σε εύθραυστα εδάφη και περιβάλλοντα (Amir *et al.*, 2024).

Συχνά η βλάστηση των σπόρων των φαρμακευτικών φυτών και η εγκατάσταση δενδρυλλίων είναι δύσκολη στις καλλιέργειες. Παράλληλα, τα φαρμακευτικά φυτά έχουν υψηλό οικονομικό κόστος και απαίτηση γρήγορου και ομοιόμορφου φυτρώματος. Μία απλή τεχνική για την επίτευξη μεγαλύτερης απόδοσης είναι η διέγερση της βλάστησης των σπόρων, η οποία επάγει τη φυσική διαδικασία της βλάστησης και ανάπτυξης μετά τη φύτευση. Κατά την πρώτη φάση της διαδικασίας της διέγερσης, η ταχεία απορρόφηση νερού, που οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στις δυνάμεις που ασκούνται από τον σπόρο, εμφανίζεται σε αδρανείς ή μη, βιώσιμους ή μη σπόρους. Το DNA και τα μιτοχόνδρια επιδιορθώνονται και οι πρωτεΐνες συντίθενται χρησιμοποιώντας το υπάρχον αγγελιαφόρο ριβονουκλεϊκό οξύ (mRNA). Η δεύτερη φάση (φάση διέγερσης) είναι η φάση υστέρησης, όπου υπάρχει πολύ μικρή απορρόφηση νερού αλλά σημαντικές μεταβολικές δραστηριότητες που προετοιμάζουν τους βιώσιμους μη αδρανείς σπόρους για την εμφάνιση ριζών. Σε αυτή τη φάση, συμβαίνουν οι συνθέσεις μιτοχονδρίων και πρωτεϊνών από νέο mRNA. Στην τρίτη φάση (τελική φάση), η πρόσληψη νερού αυξάνεται και συνδυάζεται με την επιμήκυνση της ρίζας. Οι σπόροι που υπόκεινται σε διέγερση βλάστησης περνούν τις φάσεις I και II της πρόσληψης νερού, αλλά οι σπόροι δεν εισέρχονται στην τρίτη φάση. Αυτή η ενυδάτωση είναι επαρκής για να επιτρέψει προβλαστικά μεταβολικά συμβάντα, αλλά ανεπαρκής για να επιτρέψει την προεξοχή της ρίζας (Dalil, 2014).

Η επιτυχία της διέγερσης της βλάστησης σπόρων επηρεάζεται από τη σύνθετη αλληλεπίδραση παραγόντων μεταξύ των φυτικών ειδών, του υδάτινου δυναμικού του παράγοντα διέγερσης, της διάρκειας προ-επεξεργασίας, της θερμοκρασίας, της ευρωστίας, της αφυδάτωσης των σπόρων και τις συνθήκες αποθήκευσης των προ-επεξεργασμένων σπόρων (Arun *et al.*, 2022). Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται διάφοροι τύποι και τεχνικές της διέγερσης βλάστησης σπόρων, όπως η διέγερση με ενυδάτωση, με ώσμωση, με ορμόνες, η υδροδιέγερση, η χημική διέγερση, η νανοδιέγερση κλπ., οι οποίες παρουσιάζονται στην Εικόνα 1.3. (Nile *et al.*, 2022).



Εικόνα 1.3 Οι διάφοροι τύποι της διέγερσης βλάστησης σπόρων και τα οφέλη τους.

1.3.1 Ενυδάτωση σπόρων

Μία από τις πλέον αποτελεσματικές μεθόδους διέγερσης της βλάστησης σπόρων είναι η ελεγχόμενη προεπεξεργασία ενυδάτωσης κατά την οποία οι σπόροι αφήνονται να μουλιάσουν. Αυτή η διαδικασία παίζει σημαντικό ρόλο στη βελτίωση του ρυθμού βλάστησης, στην ομοιομορφία της βλάστησης, και μερικές φορές αυξάνει το ποσοστό της συνολικής βλάστησης και οδηγεί σε πιο έντονη ανάπτυξη σποροφύτων (Thakur *et al.*, 2022). Η διέγερση βλάστησης των σπόρων, μέσω ενυδάτωσης, είναι μία απλή και οικονομική τεχνική ενυδάτωσης στη μεταβολική φάση πριν τη βλάστηση, χωρίς πραγματική βλάστηση, η οποία συμβάλει στην καταπολέμηση των επιπτώσεων της ξηρασίας και άλλων αβιοτικών πιέσεων (Jafar *et al.*, 2012).

Οι σπόροι που έχουν προετοιμαστεί με υδρογόνο συνήθως έχουν πρώιμη, υψηλότερη και συγχρονισμένη βλάστηση, λόγω της μείωσης του χρόνου υστέρησης των απορρόφησης και παρουσιάζουν συσσώρευση μεταβολιτών που ενισχύουν τη βλάστηση. Μελέτες ανέδειξαν ότι είναι δυνατό να διεγερθούν οι σπόροι με μικρή ποσότητα

φωσφορικού άλατος με καλό αποτέλεσμα στην πρόωμη ανάπτυξη της ρίζας, η οποία διεγείρεται επιτρέποντας την αποτελεσματικότερη πρόσληψη του διαθέσιμου P στο έδαφος. Οι Rajpar *et al* (2006) ανέφεραν ότι η διέγερση βλάστησης σπόρων, μέσω ενυδάτωσης, βελτίωσε την απόδοση του σιταριού υπό συνθήκες απουσίας καταπόνησης αλατότητας. Η καλή εγκατάσταση αυξάνει την ανταγωνιστικότητα έναντι των ζιζανίων, αυξάνει την ανοχή στο αβιοτικό στρες, ειδικά σε ξηρές περιόδους και τελικά μεγιστοποιεί τις αποδόσεις. Τα άμεσα οφέλη περιλαμβάνουν ταχύτερη βλάστηση, καλύτερες και πιο ομοιόμορφες συστάδες, πιο ζωντανά φυτά, καλύτερη ανοχή στην ξηρασία, πρόωμη ανθοφορία και υψηλότερη απόδοση σε σπόρους σε πολλές καλλιέργειες (Harris and Hollington, 2001).

1.3.2 Ωσμωδιέγερση

Η ωσμωδιέγερση είναι μια ελεγχόμενη θεραπεία που συμβάλλει σε αύξηση της ενυδάτωσης, κατά 10-20 %, και επιτρέπει την απρόσκοπτη εξέλιξη των φυσιολογικών και βιοχημικών γεγονότων της φάσης II, προκαλώντας συνθήκες ήπιου αβιοτικού στρες. Κατά τη διαδικασία, η ανάπτυξη της ρίζας (φάση III) αποφεύγεται από το εφαρμοζόμενο αρνητικό δυναμικό νερού (Khan *et al.*, 2014). Η ωσμωδιέγερση βλάστησης σπόρων περιλαμβάνει την ανάμειξή τους με οσμωτικούς παράγοντες υψηλού μοριακού βάρους και διαφορετικό οσμωτικό δυναμικό και που παρέχουν έλεγχο στο επίπεδο ενυδάτωσης (ελεγχόμενη ενυδάτωση). Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι οσμωτικοί παράγοντες είναι οι PEG 6000 και PEG 8000, PEG, KNO₃, K₃PO₄, KH₂PO₄, NaCl κ.λπ. (Ghiyasi *et al.*, 2008). Η διέγερση της βλάστησης με ώσμωση είναι βέλτιστη σε υψηλότερα δυναμικά νερού (-0,3 έως -1,5 MPa) και σύντομους χρόνους εκκίνησης (12 ώρες έως 2 ημέρες). Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη διαλυτή ουσία για την ωσμο-πριμοδότηση είναι η πολυαιθυλενογλυκόλη υψηλού μοριακού βάρους (PEG), η οποία επάγει υψηλή οσμωτική πίεση και έτσι τροποποιεί τη διαθεσιμότητα νερού στο μέσο βλάστησης. Πράγματι, ο ρυθμός ενυδάτωσης επιβραδύνεται από την οσμωτική πίεση και ως αποτέλεσμα, το επίπεδο της κυτταρικής βλάβης που συνήθως συμβαίνει, ως συνέπεια της ταχείας εισόδου νερού σε ξηρούς κόκκους, μειώνεται.

Μελέτες έχουν αποκαλύψει ότι ωσμωδιέγερση, σε σύγκριση με το μάρτυρα, οδήγησε σε σημαντική αύξηση της βιομάζας των βλαστών (Tian *et al.*, 2014). Επιπλέον,

η τεχνική είναι αποδοτική για τη διέγερση σπόρων με ελλείμματα θρεπτικών συστατικών στο έδαφος, ενώ η ωσμοδιέγερση με KNO_3 και NaCl μείωσε το χρόνο βλάστησης στο 50 % (Tiryaki & Buyukcingil, 2009). Η ουρία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αντιδραστήριο διέγερσης και μπορεί να οδηγήσει σε υψηλότερο ποσοστό βλάστησης κατά την προετοιμασία για αβιοτική καταπόνηση (Anosheh *et al.*, 2011).

1.3.3 Ορμονοδιέγερση

Υπάρχουν διάφορες φυτικές ορμόνες που παράγονται από τα φυτά και μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην τεχνική της διέγερσης βλάστησης σπόρων. Οι αυξίνες, οι κυτοκινίνες, οι γιββερελλίνες, το αψισικό οξύ, το σαλικυλικό οξύ και το αιθυλένιο είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες ενώσεις για διέγερση της βλάστησης των σπόρων. Οι γιββερελλίνες είναι φυτικές ορμόνες που έχουν δείξει την ικανότητα να ρυθμίζουν διαφορετικές αναπτυξιακές διεργασίες, όπως η επιμήκυνση στελέχους, η βλάστηση, ο λήθαργος, η έναρξη ανθοφορίας, η ανάπτυξη ανθέων και καρπών και η γήρανση των φύλλων και των καρπών (Rhaman *et al.*, 2021).

Η γιββερελλίνη επάγει αποτελέσματα παρόμοια με εκείνα της αυξίνης, παρόλο που ο τρόπος δράσης τους διαφέρει, αλλά είναι αποτελεσματικότερη καθώς οδηγεί σε ταχεία κυτταρική διαφοροποίηση, άρα και σε επιμήκυνση του στελέχους. Η αυξίνη είναι γνωστό ότι επιδεικνύει ουσιαστικό ρόλο στη ρύθμιση των αναπτυξιακών διεργασιών των φυτών, ιδιαίτερα της ανάπτυξης των ριζών, της επιμήκυνσης των κυττάρων και της αγγειακής διαφοροποίησης. Μία από τις πιο σημαντικές υπάρχουσες αυξίνες είναι το β-ινδολυλοξικό οξύ (IAA) που εμπλέκεται στην κυτταρική ανάπτυξη και επέκταση των κυττάρων. Οι κυτοκινίνες ρυθμίζουν διάφορα τμήματα της ανάπτυξης των φυτών, όπως η κυτταρική διαίρεση, η ανάπτυξη της κορυφής, η επιμήκυνση της ρίζας και η σύνθεση χλωροπλαστών (Mangena, 2020). Μελέτες έχουν διαπιστώσει τη συμβολή τους στην ανάπτυξη δενδρυλλίων και στη βελτίωση της παθογένεσης στα φυτά. Το αψισικό οξύ διεγείρει καθυστερημένες αναπτυξιακές διεργασίες στα φυτά, όπως η επιμήκυνση οφθαλμών, ο λήθαργος, ο έλεγχος του μεγέθους των οργάνων και το κλείσιμο των στομάτων. Το σαλικυλικό οξύ ρυθμίζει τις διαδικασίες ανάπτυξης, όπως η φωτοσύνθεση, η αναπνοή, η διαπνοή και η μεταφορά ιόντων στα φυτά και παίζει ουσιαστικό ρόλο στην ενεργοποίηση,

διαμόρφωση και ρύθμιση πολυάριθμων αποκρίσεων κατά την έκθεση των φυτών σε αβιοτικές και βιοτικές καταπονήσεις (Bastam *et al.*, 2013).

Η διέγερση βλάστησης σπόρων με αυξίνη μπορεί να βελτιώσει την εγκατάσταση των σπόρων, την ανάπτυξη, την ανοχή στο στρες και στην ξηρασία. Η διέγερση με κυτοκίνη έχει ως αποτέλεσμα την άμβλυνση των αβιοτικών επιδράσεων σε διάφορα φυτικά είδη, ενισχύοντας τον σχηματισμό χλωροφύλλης, βελτιώνοντας έτσι τον φωτοσυνθετικό ρυθμό και τη σταθερότητα της μεμβράνης και ρυθμίζοντας τα ιοντικά επίπεδα υπό συνθήκες ξηρασίας. Η διέγερση με γιββερελίνη μπορεί να βελτιώσει την ανοχή στην αλατότητα και την περιεκτικότητα σε νερό των φύλλων, την πυκνότητα των στομάτων και την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη, μετριάζοντας το στρες της αλατότητας. Η διέγερση με αψισικό οξύ έχει ενισχύσει τον ρυθμό ανάπτυξης, τον ρυθμό επιβίωσης, τη συσσώρευση βιομάζας και το σχηματισμό ριζών σε φυτά υπό αλκαλική καταπόνηση και βελτίωσε την ανοχή στην αλατότητα. Τέλος, η διέγερση βλάστησης σπόρων με σαλικυλικό οξύ έχει δείξει βελτιωμένες ιδιότητες ανάπτυξης σε περιβάλλον με στρες βαρέων μετάλλων και την ενίσχυση της απόδοσης ακόμη και σε χαμηλές θερμοκρασίες. Επιπλέον, συμβάλλει στη μείωση του στρες ξηρασίας και υδάτωσης (Saheed *et al.*, 2022).

1.3.4 Χημική διέγερση

Η διέγερση της βλάστησης σπόρων με διάφορους χημικούς παράγοντες διεγείρει συνεργικά τις διεργασίες της βλάστησης και ανάπτυξης σε διάφορα φυτικά είδη. Μελέτες που έχουν κάνει χρήση χημικών διαλυμάτων, όπως το γιββερελικό οξύ (GA₃), το ασκορβικό οξύ (Asc), το μολυβδαινικό αμμώνιο (Mo), το νιτρικό κάλιο (KNO₃), τον θειικό ψευδάργυρο (ZnSO₄) και το χλωριούχο κάλιο (KCl) έχουν αναφέρει βελτιωμένη ανάπτυξη σποροφύτων και παραμέτρων βλάστησης των σπόρων σε διάφορες φυτικά είδη, όπως το σιτάρι, το καλαμπόκι και το ρεβύθι (Shihab and Hamza, 2020; Lazim, 2022). Επιπλέον, έχει καταγραφεί βελτίωση στο μήκος των σποροφύτων από σπόρους διεγερμένους χημικώς (Arun *et al.*, 2020), βελτίωση στο μήκος της ρίζας με τη χρήση GA₃ και Mo, των οποίων η ενζυματική δράση κατά την έναρξη της βλάστησης μπορεί να είναι ευεργετική για την προώθηση της ευρωστίας των σπόρων (Arun *et al.*, 2017).

1.4 Επίδραση του seed priming στον περιορισμό των επιπτώσεων της καταπόνησης αλατότητας

Η αλατότητα είναι ένα από τα πιο σημαντικά αβιοτικά στρες που επηρεάζει αρνητικά την ανάπτυξη των φυτών παγκοσμίως (Rajabi Dehnavi *et al.*, 2020). Η αλατότητα έχει αρνητική επίδραση στους σπόρους των φυτών καθώς οδηγεί σε μείωση της διαθεσιμότητας του νερού για τη βλάστηση των σπόρων και αποτρέπει την κανονική βλάστηση, αυξάνοντας το οξειδωτικό στρες. Υπάρχουν ερευνητικά δεδομένα που επιδεικνύουν ότι η τεχνική της διέγερσης της βλάστησης των σπόρων μπορεί να περιορίσει τις επιπτώσεις της καταπόνησης που προκαλεί η αλατότητα. Η διέγερση των σπόρων με γιβρελικό οξύ μπορεί να βελτιώσει το ποσοστό βλάστησης υπό συνθήκες αλατότητας (Baes and Arechiga, 2007), ενώ η διέγερση με ασκορβικό οξύ διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση του τοξικού υπεροξειδίου του υδρογόνου στα φυτικά κύτταρα. Πιο συγκεκριμένα, έχει τεκμηριωθεί ότι η συγκέντρωση ασκορβικού οξέος 40 mM/lit αυξάνει σημαντικά τη βλάστηση των αλοφύτων υπό συνθήκες αλατότητας (Khan *et al.*, 2006). Περαιτέρω, η διέγερση με σαλικυλικό οξύ μετρίασε τις αρνητικές επιπτώσεις του ενεργού οξυγόνου που παρήχθη κατά τη φωτοσύνθεση και τη βλάστηση των σπόρων του σιταριού σε συνθήκες αλατότητας (Doulatabadian *et al.*, 2008). Το πείραμα των Rezaei *et al* (2013) διερεύνησε την αποτελεσματικότητα της διέγερσης βλάστησης σπόρων των ειδών *Althaea officinalis* και *Salvia officinalis* L. με γιβρελικό οξύ, ασκορβικό οξύ και σαλικυλικό οξύ και διαπίστωσε ότι η διέγερση με γιβρελικό οξύ βελτίωσε το ποσοστό και το ρυθμό βλάστησης υπό συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης αλατότητας. Η διέγερση βλάστησης σπόρων κολοκύθας με ασκορβικό οξύ προκάλεσε την ανοχή στην αλατότητα, ενισχύοντας τη δραστηριότητα της καταλάσης και της υπεροξειδάσης, ενώ η διέγερση βλάστησης σπόρων φάβας με μελατονίνη αύξησε τις φωτοσυνθετικές χρωστικές, τους ολικούς υδατάνθρακες, την ολική περιεκτικότητα σε φαινολικό οξύ, οξικό οξύ ινδόλης, K^+ , Ca^{+2} καθώς και τις αναλογίες K^+/Na^+ και Ca^{+2}/Na^+ στα φύλλα υπό συνθήκες πίεσης αλατότητας (Ibrahim, 2016).

Έχει αποδειχθεί ότι η διέγερση με $CaCl_2$ και KCl μετριάξει το στρες αλατότητας, ρυθμίζοντας την ανάπτυξη των φυταρίων, τη συγκέντρωση φαινολικών και προλίνης και τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα (Khan *et al.*, 2022). Ο επαναπρογραμματισμός των αντιοξειδωτικών γονιδίων και των γονιδίων του μεταβολισμού της πολυαμίνης που

προκαλείται από τη διέγερση βλάστησης των σπόρων βελτιώνει την προσαρμοστικότητα υπό το στρες αλατότητας. Η διέγερση της βλάστησης των σπόρων ενισχύει την επιδιόρθωση του DNA, σταθεροποιεί το RNA και αυξάνει την *de novo* πρωτεϊνική σύνθεση για να διατηρήσει την ακεραιότητα του γονιδιώματος (Biswas *et al.*, 2023). Ως εκ τούτου, η διέγερση της βλάστησης των σπόρων προτείνεται ως μία αποτελεσματική τεχνική που θα μπορούσε να μετριάσει τις επιβλαβείς επιπτώσεις της αλατότητας του εδάφους. Μπορεί να αποτελέσει μια μακροπρόθεσμη μέθοδο βελτίωσης της παραγωγικότητας και της ποιότητας των καλλιεργειών σε δύσκολα περιβάλλοντα, ενισχύοντας την ανάπτυξη, τις φυσιολογικές αποκρίσεις και την ποιότητα των φυτών υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας (Habibi *et al.*, 2023).

ΣΚΟΠΟΣ

Είναι γνωστό ότι φυτά του είδους *Althaea officinalis* L. παρουσιάζουν αρκετά συχνά χαμηλό δυναμικό βλάστησης των σπόρων και ανάπτυξης των σποροφύτων αλλά και δυσκολία στην εγκατάσταση της καλλιέργειας. Βάσει των ανωτέρω δυσκολιών, σκοπό της συγκεκριμένης πτυχιακής διατριβής αποτελεί η μελέτη της επίδρασης μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης στο είδος *Althaea officinalis* L. Ρόλος των διεγερτών είναι η επαγωγή της βλάστησης των σπόρων και συνάμα η διακοπή του λήθαργου. Η ενεργοποίηση των διεγερτών αφορά στην επαγωγή των φυσιολογικών διεργασιών που συνδράμουν, τόσο στην απορρόφηση νερού όσο και στην έναρξη της βλάστησης. Το “seed priming”, στο οποίο επικεντρώνεται η διατριβή, είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που υλοποιείται με τη χρήση ποικιλίας διεγερτών και τεχνικών. Με βάση τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του σπόρου του είδους *Althaea officinalis* και τις συνθήκες που αυτό καλλιεργείται, γίνεται βελτιστοποίηση αναφορικά με το είδος του διεγέρτη, τη συγκέντρωση αυτού και την τεχνική διέγερσης.

Επιπρόσθετο αντικείμενο της παρούσας πτυχιακής εργασίας αποτέλεσε η μελέτη της επίδρασης των διαφόρων μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης στην απόκριση των φυτών υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας. Στο πλαίσιο των στόχων της μελέτης, αρχικά πραγματοποιήθηκε εφαρμογή των μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης σε σπόρους του είδους *Althaea officinalis* και, έπειτα από τοποθέτηση των ‘primed’ σπόρων σε τριβλία ακολούθησε η εκτίμηση της ικανότητας βλάστησης σε συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας. Για τη δημιουργία συνθηκών αλατότητας έγινε προσθήκη NaCl στο θρεπτικό υλικό (200 mM NaCl) και ακολούθησε μελέτη της επίδρασης των μεταχειρίσεων βλάστησης συγκριτικά με μάρτυρες. Η εκτίμηση του επιπέδου ανεκτικότητας στην καταπόνηση αλατότητας βασίστηκε σε παραμέτρους που σχετίζονται με το δυναμικό βλάστησης των σπόρων και ανάπτυξης σποροφύτων και σε βιοχημικές παραμέτρους.

Στο σύνολο, εφαρμόστηκαν 4 μεταχειρίσεις διέγερσης, οι οποίες διαφοροποιήθηκαν και ως προς τις συγκεντρώσεις του εφαρμοζόμενου διεγέρτη. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν σπόροι άθικτοι, που δεν έχουν εφαρμοστεί κάποιου είδους μεταχείριση. Συνολικά, χρησιμοποιήθηκαν 5 διαφορετικά είδη μεταχειρίσεων.

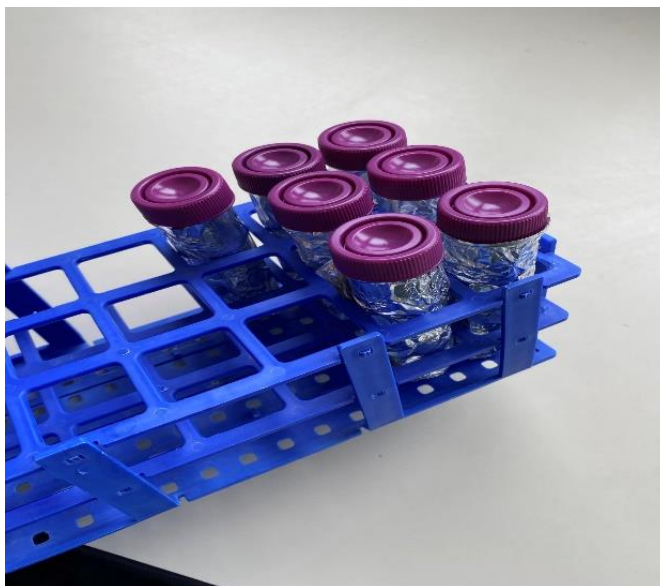
2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Γενετικό υλικό

Ως γενετικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν σπόροι του είδους *Althaea officinalis* L.

2.2 Απολύμανση σπόρων

Ξεκινώντας, έγινε απολύμανση των σπόρων με την εμβάπτισή τους σε διάλυμα χλωρίνης 20 % (υποχλωριώδες νάτριο, NaOCl), για χρονικό διάστημα 5 λεπτών, ενώ συγχρόνως πραγματοποιούνταν ανάδευση. Στη συνέχεια, ακολούθησαν 4 πλύσεις με αποστειρωμένο dH₂O (Εικόνα 2.1). Αμέσως μετά την απολύμανση, πραγματοποιήθηκε η ξήρανση των σπόρων ώστε να επανέλθουν σε φυσιολογικά επίπεδα υγρασίας. Η ξήρανση, περιλάμβανε τοποθέτηση των σπόρων σε διηθητικό χαρτί και επώαση λίγων λεπτών σε συνθήκες θερμοκρασίας δωματίου. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιήθηκε εντός της τράπεζας νηματικής ροής.



Εικόνα 2.1 Απολύμανση σπόρων του είδους *Althaea officinalis* L.

2.3 Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης – Παρασκευή διαλυμάτων

Έπειτα από την απολύμανση, έγινε τοποθέτηση των σπόρων σε διαλύματα με διεγέρτες σε αναλογία σπόρου προς διάλυμα 1:5 (w:v), για μια ημέρα, υπό συνθήκες ήπιας ανάδευσης (21°C). Στον Πίνακα 2.1 που ακολουθεί αναγράφονται οι τεχνικές προεπεξεργασίας και ο τύπος του διεγέρτη που χρησιμοποιήθηκε. Επίσης, στον Πίνακα παρουσιάζεται η διαδικασία παρασκευής των πυκνών διαλυμάτων (stock) και οι αραιώσεις αυτών για τη παρασκευή των διαφορετικών συγκεντρώσεων (test solutions).

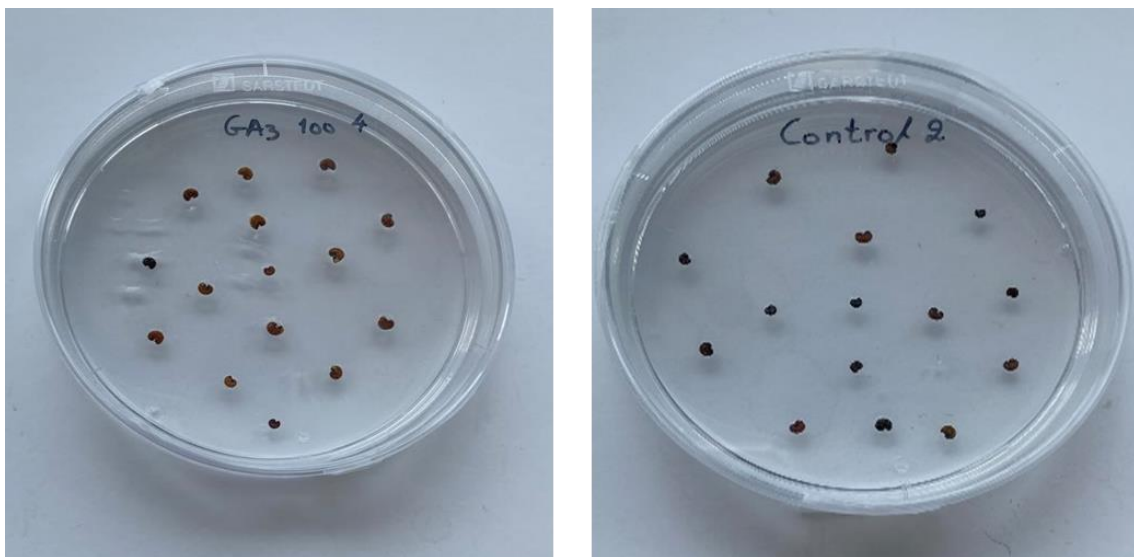
Πίνακας 2.1 Τεχνικές seed priming και ο τύπος του διεγέρτη που χρησιμοποιήθηκαν για την επαγωγή της βλάστησης στο είδος *Althaea officinalis* L. Παρουσιάζεται η διαδικασία παρασκευής των πυκνών διαλυμάτων (stock) και οι αραιώσεις αυτών για τη παρασκευή των διαφορετικών συγκεντρώσεων (test solutions).

ΤΕΧΝΙΚΗ SEED PRIMING	ΤΥΠΟΣ ΔΙΕΓΕΡΤΗ	ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ STOCK	TEST SOLUTIONS	
Ενυδάτωση σπόρων	dH ₂ O	-	-	-
Ωσμοδιέγερση	NaCl	1M NaCl: 0,5844 g NaCl σε τελικό όγκο 10 ml με αποστειρωμένο dH ₂ O	50 mM NaCl (αραίωση 1/20)	100 mM NaCl (αραίωση 1/10)
Ορμονοδιέγερση	Gibberellic acid	GA3 10 mM: 0.0346 g GA3 σε τελικό όγκο 10 ml με αποστειρωμένο dH ₂ O – μία σταγόνα 95% αιθυλική αλκοόλη για τη διάλυση	50 μM GA3 (αραίωση 1/200)	100 μM GA3 (αραίωση 1/100)
Χημική διέγερση	Ascorbic acid	L-ascorbic acid 10 mM: 0,17612 g L-ascorbic acid σε τελικό όγκο 100 ml dH ₂ O	50 mg L-1 (0.284 mM)	100 mg L-1 (0.568 mM)

Μετά το πέρας της μεταχείρισης των σπόρων, έλαβαν χώρα 3x επιφανειακές πλύσεις αυτών με αποστειρωμένο dH₂O και πραγματοποιήθηκε και πάλι ξήρανση ώστε να επανέλθει η υγρασία των σπόρων σε φυσιολογικά επίπεδα. Η ξήρανση έγινε μέσω τοποθέτησης των σπόρων σε αποστειρωμένο διηθητικό χαρτί και επώαση λίγων λεπτών

σε συνθήκες θερμοκρασίας δωματίου. Η διαδικασία αυτή υλοποιήθηκε εντός της τράπεζας νηματικής ροής. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν απολυμασμένοι σπόροι που δεν έχουν υποστεί κάποια μεταχείριση.

Οι σπόροι που έχουν υποστεί “seed priming”, όπως και οι μάρτυρες, τοποθετήθηκαν ομοιόμορφα σε τριβλία (15 σπόροι ανά τριβλίο) με στερεό υπόστρωμα που περιείχε H₂O και άγαρ (Εικόνα 2.2). Μετά την τοποθέτηση των σπόρων, τα τριβλία κλείστηκαν αεροστεγώς με parafilm για να αποτραπεί η εξάτμιση και να επιτευχθούν συνθήκες υψηλής υγρασίας. Τέλος, τα τριβλία τοποθετήθηκαν σε ελεγχόμενες συνθήκες (18-21°C, 16 h φως / 8 h σκοτάδι) για διάστημα 22 ημερών.



Εικόνα 2.2 Τοποθέτηση σπόρων σε τριβλία (ημέρα 0).

2.4 Επίδραση της επαγωγής της βλάστησης στην ανεκτικότητα έναντι της καταπόνησης αλατότητας

Στο δεύτερο σκέλος, της παρούσας πτυχιακής διατριβής που αφορά στην επίδραση της επαγωγής της βλάστησης στην ανεκτικότητα έναντι της καταπόνησης αλατότητας, υλοποιήθηκαν οι ίδιες διαδικασίες που σχετίζονται με την απολύμανση των σπόρων και τις εφαρμογές επαγωγής βλάστησης αυτών. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε μελέτη της

επίδρασης των υπό μελέτη μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης στο δυναμικό βλάστησης υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας.

Με την ολοκλήρωση των διαδικασιών απολύμανσης και εφαρμογής των μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης, οι 'primed' σπόροι τοποθετήθηκαν προς βλάστηση σε τριβλία (15 σπόροι ανά τριβλίο), με τη διαφορά ότι το στερεό υπόστρωμα που αποτελούνταν από H₂O και άγαρ, είχε εμπλουτιστεί με 200 mM NaCl. Ακολούθως, τα τριβλία σφραγίστηκαν με parafilm για να αποφευχθεί η εξάτμιση και να εξασφαλιστούν συνθήκες υψηλής υγρασίας. Οι σπόροι επωάστηκαν σε ελεγχόμενες συνθήκες για χρονικό διάστημα 28 ημερών.

2.5 Πειραματικό σχέδιο – Παράμετροι αξιολόγησης

Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε ήταν αυτό των πλήρων τυχαιοποιημένων ομάδων με 4 επαναλήψεις (τριβλία) των 15 σπόρων. Ως παράμετροι αξιολόγησης της ανθεκτικότητας αξιοποιήθηκαν:

- Το ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%) (1η - 22^η ημέρα), σύμφωνα με τον τύπο:

$$GP = (\text{Αριθμός σπόρων που βλάστησαν} / \text{Συνολικός αριθμός σπόρων ανά τριβλίο}) \times 100$$

Οι μετρήσεις ξεκίνησαν όταν το ελάχιστο μήκος του ριζιδίου ήταν 2 mm.

- Το μήκος ρίζας και βλαστού που πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας διαβαθμισμένο χάρακα και μετρώντας σε εκατοστά. (7^η - 14^η - 22^η ημέρα)



Εικόνα 2.3 Μέτρηση μήκους ρίζας και βλαστού την τελευταία ημέρα των δύο πειραμάτων: 1^ο πείραμα - 22^η ημέρα, 2^ο πείραμα- 28^η ημέρα.

- Το νωπό βάρος των σποροφύτων (22^η ημέρα)

Την τελευταία ημέρα του πειράματος, έγινε ζύγιση σε ζυγαριά ακριβείας 3 σποροφύτων (ανά επανάληψη) για όλους τους συνδυασμούς γονοτύπου/μεταχείρισης.

- Το ξηρό βάρος των σποροφύτων (22^η ημέρα)

Για το ζύγισμα του ξηρού βάρους πραγματοποιήθηκε ξήρανση των σποροφύτων (3 ανά επανάληψη) σε ξηραντήριο στους 70°C για 48 ώρες.

Έπειτα από 48 ώρες, ζυγίστηκε το ξηρό βάρος 3 σποροφύτων (ανά επανάληψη) για όλους τους συνδυασμούς γονοτύπου/μεταχείρισης.

- Το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC%) (22^η ημέρα), το οποίο υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$WC (\%) = (FW - DW / DW) \times 100$$

όπου FW= νωπό Βάρος και DW= ξηρό Βάρος σποροφύτων.

- Η περιεχόμενη ποσότητα χλωροφύλλης και καροτενοειδών των φύλλων (22^η ημέρα)

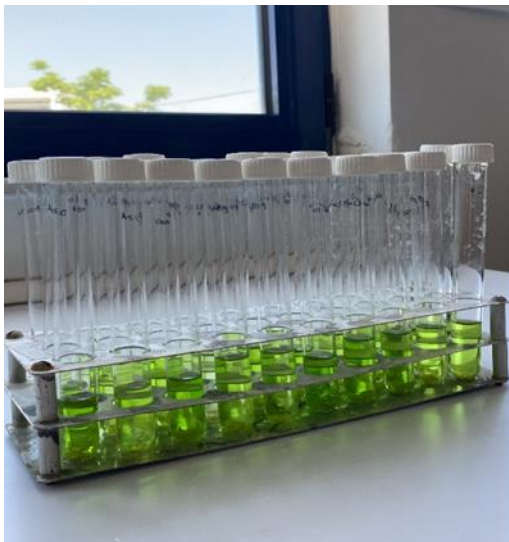
Για την μέτρηση της χλωροφύλλης, τοποθετήθηκαν 7 ml καθαρής αλκοόλης (99 %) σε δοκιμαστικούς σωλήνες και ακολούθησε η προσθήκη των δειγμάτων. Αφού έγινε ρύθμιση του υδατόλουτρου στους 80 °C, έγινε τοποθέτηση των δοκιμαστικών σωλήνων για 30 λεπτά, ώστε να επιτευχθεί ο αποχρωματισμός των δειγμάτων. Τέλος, οι δοκιμαστικοί σωλήνες αφέθηκαν στο σκοτάδι για άλλα 30 λεπτά (Εικόνα 2.4).

Για την εκτίμηση της ποσότητας της χλωροφύλλης a, b, ολικής χλωροφύλλης, του λόγου χλωροφύλλης a/b και των καροτενοειδών τα δείγματα μετρήθηκαν μετά το πέρας των διαδικασιών στο φασματοφωτόμετρο στα εξής μήκη κύματος:

- Χλωροφύλλη a: 665 nm
- Χλωροφύλλη b: 649 nm
- Καροτενοειδή: 470 nm

Οι ίδιοι παράμετροι αξιολόγησης χρησιμοποιήθηκαν και για το δεύτερο σκέλος του πειράματος που αφορά στην επίδραση των μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης στην ανεκτικότητα έναντι της καταπόνησης αλατότητας. Ωστόσο, υπήρξαν κάποιες μικρές διαφορές που αφορούν στα ακόλουθα:

- Η διάρκεια του πειράματος ήταν 28 ημέρες
- Οι ημέρες μέτρησης της ρίζας και του βλαστού ξεκίνησαν την 13^η ημέρα (13^η - 20^η - 28^η).
- Λόγω μειωμένης ανάπτυξης των φυτών, ήταν αδύνατη η εκτίμηση της περιεχόμενης ποσότητας χλωροφύλλης και των καροτενοειδών των φύλλων.



Εικόνες 2.4 Δείγματα που αποχρωματίστηκαν για την εκτίμηση της ποσότητας χλωροφύλλης.

2.6 Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα που προέκυψαν, αναλύθηκαν με ANOVA ($p \leq 0.05$), βάσει του πειραματικού σχεδίου, το οποίο περιλάμβανε διαφορετικές μεταχειρίσεις διέγερσης των σπόρων. Οι διαφορές μεταξύ των μέσων όρων που υπολογίστηκαν, συγκρίθηκαν με τη μέθοδο της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς (LSD). Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS.

3. Αποτελέσματα

3.1 Επίδραση προ-επεξεργασίας σπόρων απουσία καταπόνησης

3.1.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %)

Ως προς το ποσοστό βλάστησης των σπόρων, η ανάλυση ανέδειξε την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των υπό μελέτη μεταχειρίσεων σε όλο το διάστημα λήψης μετρήσεων, από την 1^η έως και την 22^η ημέρα (Πίνακας 3.1).

Παρά την απουσία σημαντικών διαφορών, παρατηρήθηκε μία τάση αύξησης του δυναμικού βλάστησης στο σύνολο των σπόρων που δέχθηκαν εφαρμογή, σημειώνοντας υψηλότερα ποσοστά βλάστησης συγκριτικά με το μάρτυρα. Ειδικότερα, κατά το πρώτο διάστημα από την τοποθέτηση των σπόρων προς βλάστηση (1^η έως 4^η ημέρα), το χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης καταγράφηκε στο μάρτυρα (16,5 έως 48,0 %), ακολουθούμενο από τους σπόρους που δέχθηκαν εφαρμογή 50 mM ασκορβικού οξέος (16,3 έως 56,3 %). Στο ίδιο διάστημα, ήταν σαφής η υπεροχή της μεταχείρισης 100 mM γιββερίλλικού οξέος (49,5 έως 68,3 %), ακολουθούμενης από την ενυδάτωση των σπόρων με H₂O (46,5 έως 68,3 %) (Πίνακας 3.1, Γράφημα 3.1).

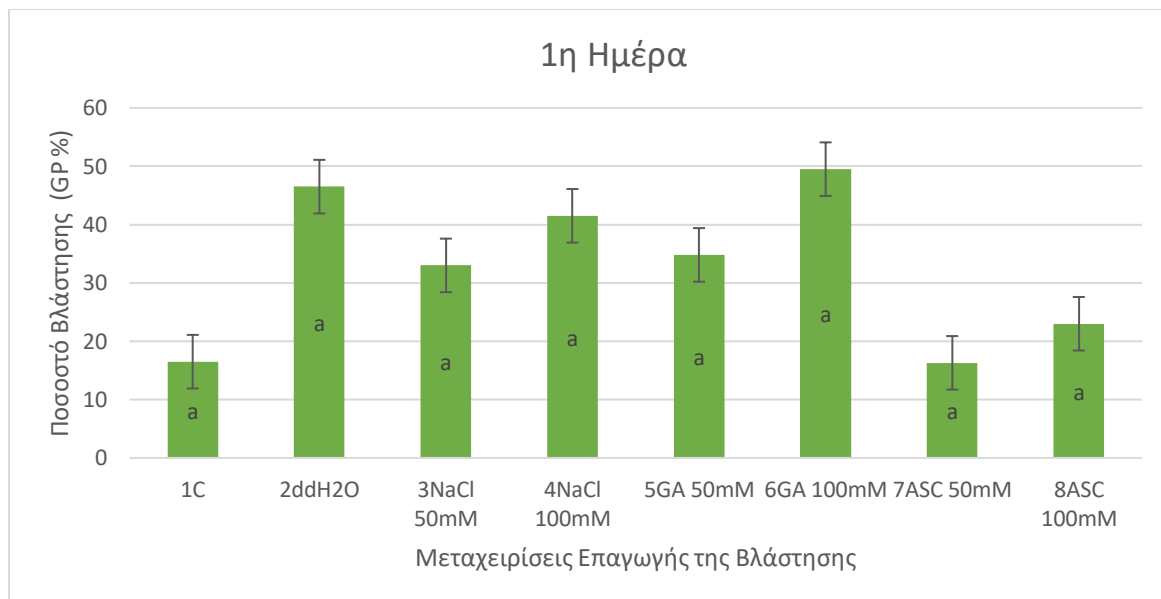
Με την πάροδο του χρόνου, ο μάρτυρας εμφάνισε συστηματικά το χαμηλότερο δυναμικό βλάστησης, καταλήγοντας και στο χαμηλότερο τελικό ποσοστό βλάστησης την 20^η ημέρα (56,3 %). Αντίθετα, το υψηλότερο ποσοστό βλάστησης καταγράφηκε στους σπόρους όπου έγινε ενυδάτωση με H₂O (81,5 %), ακολουθούμενης από την εφαρμογή 100 mM ασκορβικού οξέος (79,8 %) (Πίνακας 3.1, Γράφημα 3.1).

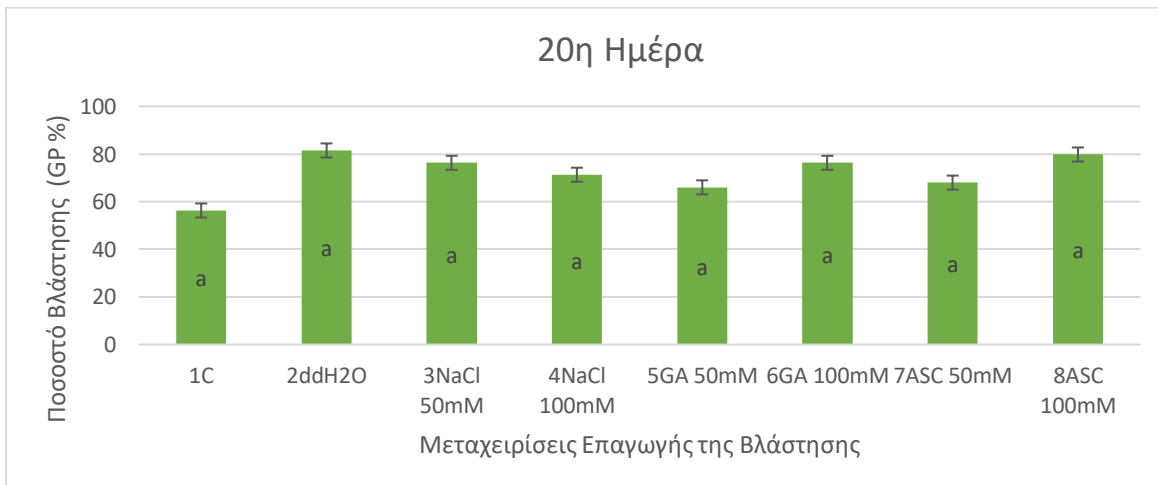
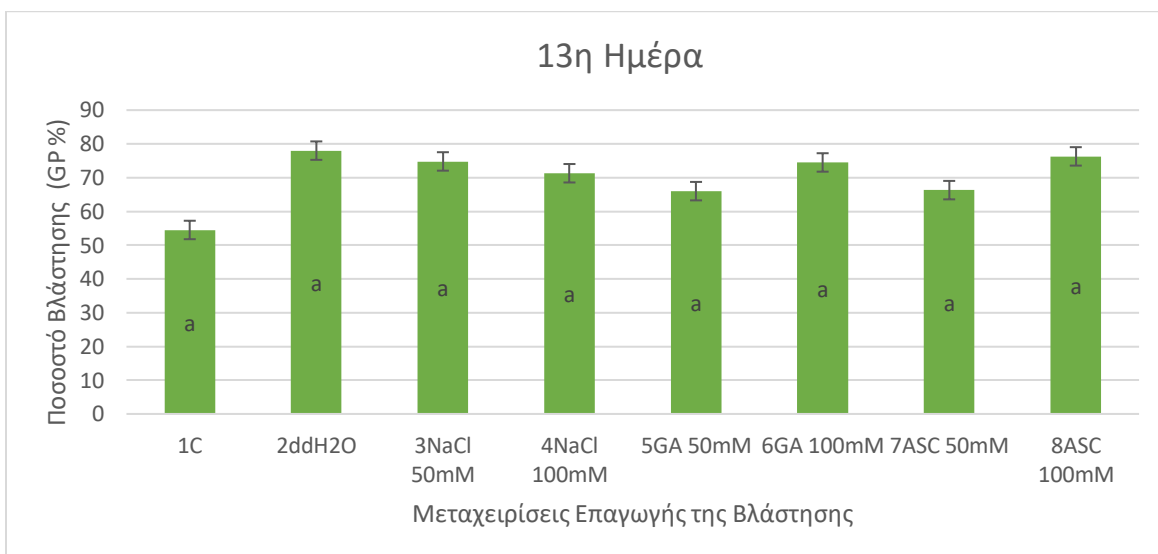
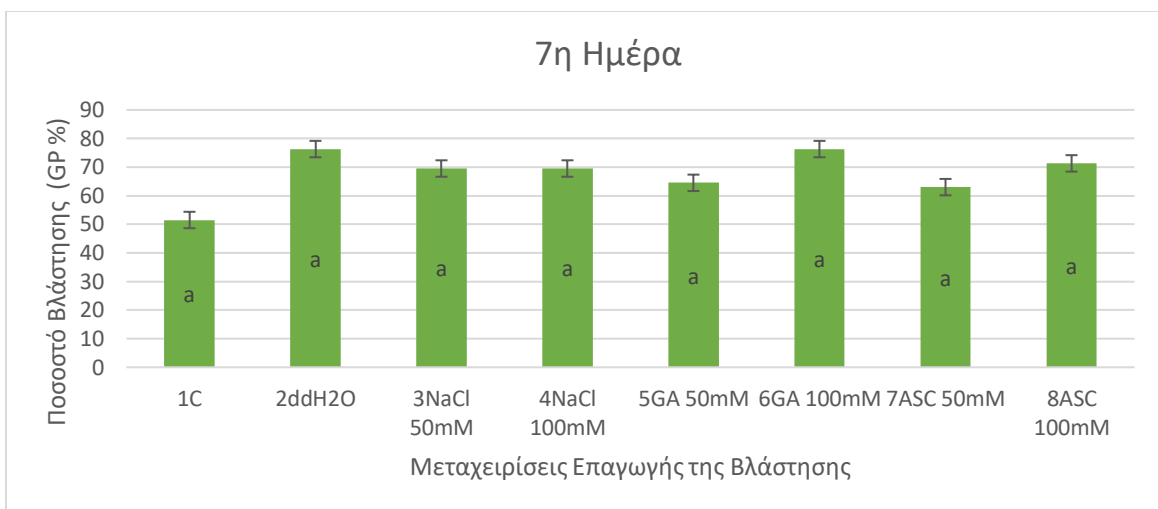
Βάσει των αποτελεσμάτων που αφορούν το τελικό ποσοστό βλάστησης των σπόρων κατά την 20^η ημέρα, προκύπτει η ακόλουθη σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων κατά φθίνουσα σειρά: H₂O > 100 mM Asc > 50 mM NaCl = 100 mM GA₃ > 100 mM NaCl > 50 mM Asc > 50 mM GA₃ > C (Πίνακας 3.1, Γράφημα 3.1).

Πίνακας 3.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε δεκαπέντε (15) χρονικά διαστήματα, από την 1^η έως την 20^η ημέρα.

Ημέρες	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
1 ^η	16,5a	46,5a	33,0a	41,5a	34,8a	49,5a	16,3a	23,0a
2 ^η	33,3a	59,5a	59,8a	54,8a	43,0a	63,0a	41,3a	53,0a
3 ^η	48,0a	66,5a	61,5a	58,0a	56,3a	64,8a	51,3a	59,8a
4 ^η	48,0a	68,3a	63,0a	63,0a	56,5a	68,3a	56,3a	61,3a
5 ^η	49,8a	69,8a	63,0a	64,8a	54,8a	69,8a	59,5a	66,3a
6 ^η	51,5a	74,8a	68,0a	68,0a	62,8a	76,3a	63,0a	69,8a
7 ^η	51,5a	76,3a	69,5a	69,5a	64,5a	76,3a	63,0a	71,3a
8 ^η	53,0a	76,3a	71,3a	71,3a	64,5a	76,3a	66,3a	71,3a
11 ^η	54,5a	76,3a	71,3a	71,3a	64,5a	74,5a	66,3a	74,5a
12 ^η	54,5a	78,0a	73,0a	71,3a	66,0a	74,5a	51,3a	76,3a
13 ^η	54,5a	78,0a	74,8a	71,3a	66,0a	74,5a	66,3a	76,3a
15 ^η	54,5a	78,0a	74,8a	71,3a	66,0a	76,3a	68,0a	78,0a
17 ^η	54,5a	79,8a	74,8a	71,3a	66,0a	76,3a	68,0a	78,0a
18 ^η	56,3a	79,8a	76,3a	71,3a	66,0a	76,3a	68,0a	78,0a
20 ^η	56,3a	81,5a	76,3a	71,3a	66,0a	76,3a	68,0a	79,8a

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).





Γράφημα 3.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε τέσσερα (4) χρονικά διαστήματα (1^η, 7^η, 13^η, και 20^η ημέρα).

3.1.2 Μήκος βλαστού των σποροφύτων

Αναφορικά με το μήκος βλαστού των σποροφύτων, αναδείχθηκαν σημαντικές διαφορές και στις 3 ημερομηνίες λήψης μετρήσεων. Από τα πρώιμα ήδη στάδια ανάπτυξης των σποροφύτων, διαφάνηκε η υπεροχή του μάρτυρα ως προς το μήκος του βλαστού, σημειώνοντας τη μεγαλύτερη τιμή (1,6 cm) σε σχέση με το σύνολο των μεταχειρίσεων. Αντίθετα, σημαντικά μειωμένες τιμές καταγράφηκαν κατά την εφαρμογή 100 mM NaCl, 50 mM γιββεριλλικού οξέος και 50 mM ασκορβικού οξέος (1,0 cm) (Πίνακας 3.2, Γράφημα 3.2).

Ομοίως, την 14^η ημέρα, ο μάρτυρας εμφάνισε τις υψηλότερες τιμές για το μήκος βλαστού (2,6 cm), σημειώνοντας σημαντική υπεροχή έναντι όλων των υπολοίπων μεταχειρίσεων. Αντίθετα, οι χαμηλότερες τιμές σημειώθηκαν στις μεταχειρίσεις 50 mM NaCl, 50 mM γιββεριλλικού οξέος (1,5 cm) (Πίνακας 3.2, Γράφημα 3.2).

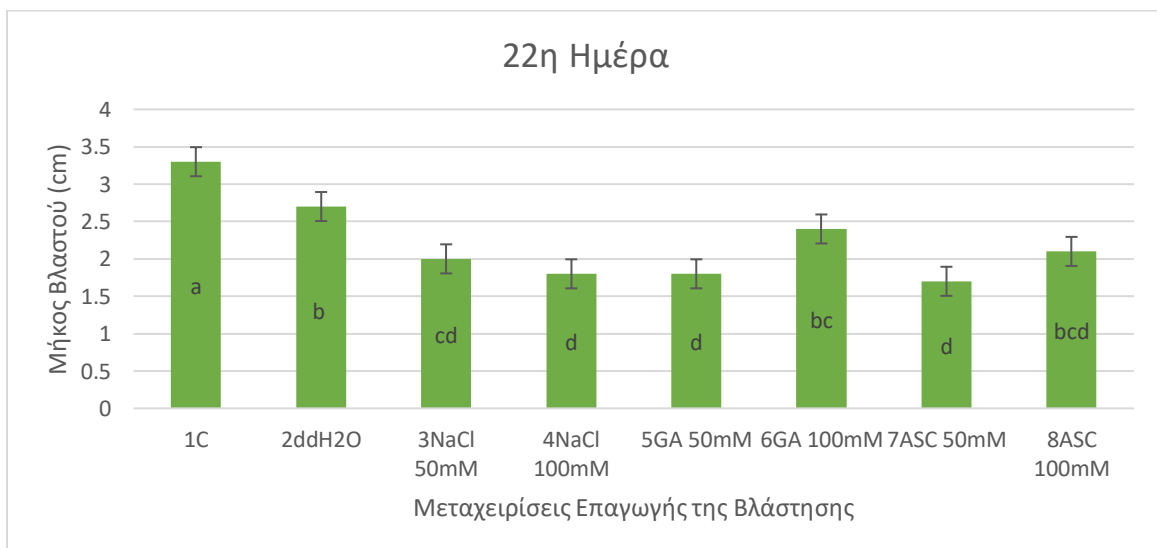
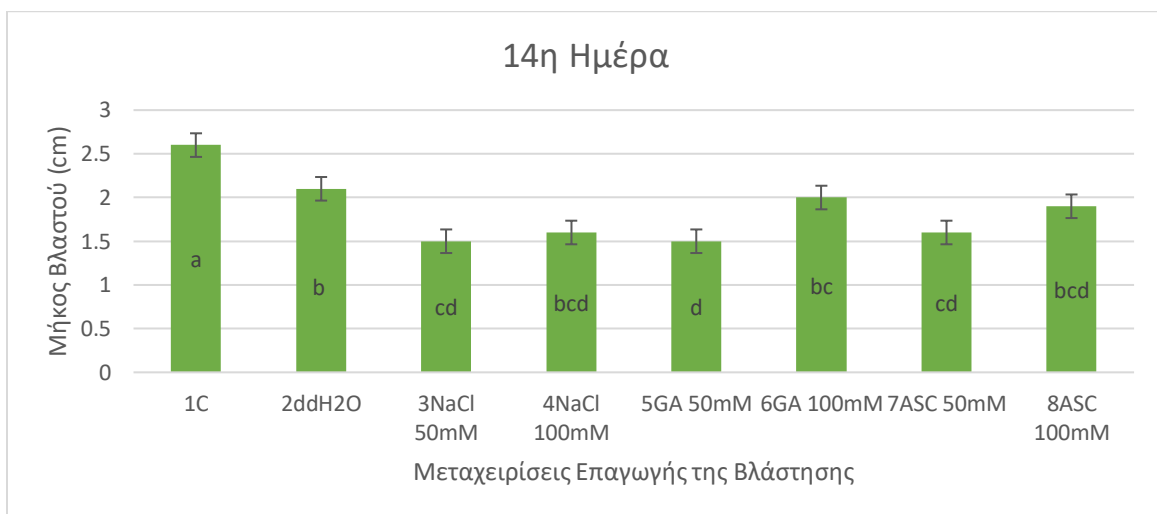
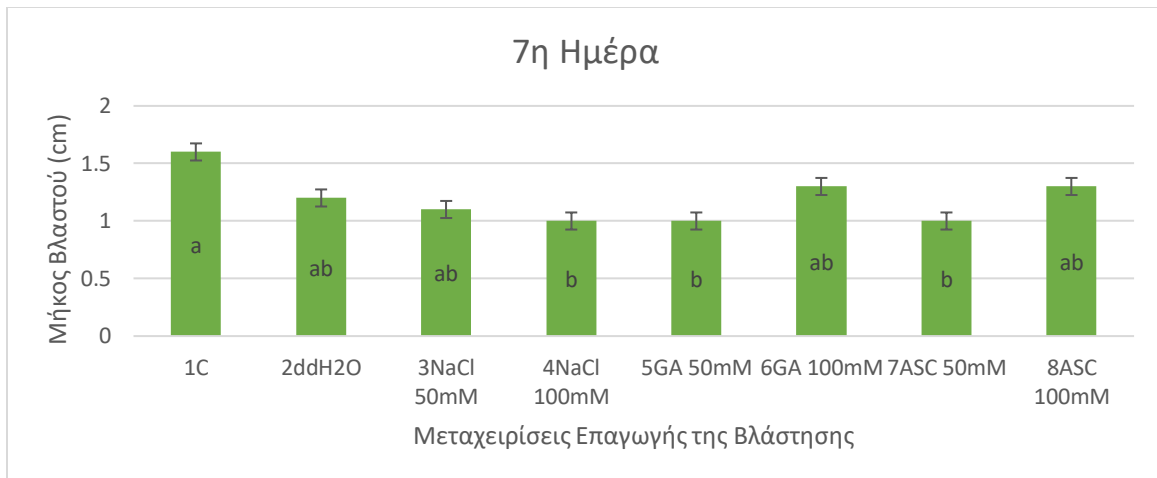
Κατά την 22^η ημέρα, σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές, χωρίς ωστόσο να διαφοροποιείται η σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων ως προς το μήκος του βλαστού, η οποία διαμορφώθηκε ως ακολούθως: C > H₂O > 100 mM GA₃ > 100 mM Asc > 50 mM NaCl > 100 mM NaCl = 50 mM GA₃ > 50 mM Asc (Πίνακας 3.2, Γράφημα 3.2).

Τα συνολικά αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι οι υπό μελέτη μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης δεν επιδρούν θετικά στο μήκος βλαστού των σποροφύτων.

Πίνακας 3.2 Μήκος βλαστού των σποροφύτων (cm) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε τρία (3) χρονικά διαστήματα, από την 7^η έως την 22^η ημέρα.

Ημέρες	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
7 ^η	1,6a	1,2ab	1,1ab	1,0b	1,0b	1,3ab	1,0b	1,3ab
14 ^η	2,6a	2,1b	1,5cd	1,6bcd	1,5d	2,0bc	1,6cd	1,9bcd
22 ^η	3,3a	2,7b	2,0cd	1,8d	1,8d	2,4bc	1,7d	2,1bcd

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).



Γράφημα 3.2 Μήκος βλαστού των σποροφύτων (cm) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε τρία (3) χρονικά διαστήματα (7^η, 14^η, και 22^η ημέρα).

3.1.3 Μήκος ρίζας των σποροφύτων

Αναφορικά με το μήκος της ρίζας, η ανάλυση υπογραμμίζει την ύπαρξη σημαντικών διαφορών καθ' όλο το διάστημα λήψης παρατηρήσεων. Κατά τα πρώιμα στάδια ανάπτυξης των σποροφύτων, διαπιστώθηκε η υπεροχή της μεταχείρισης των σπόρων με NaCl, σημειώνοντας τις υψηλότερες τιμές για το μήκος της ρίζας (50 mM και 100 mM NaCl: 3,5 και 3,3 cm, αντίστοιχα). Αντίθετα, οι χαμηλότερες τιμές σημειώθηκαν κατά την εφαρμογή 50 mM ασκορβικού οξέος (1,9 cm), ακολουθούμενης από τις εφαρμογές 50 mM GA₃ (2,0 cm) και H₂O (2,2 cm) (Πίνακας 3.3, Γράφημα 3.3).

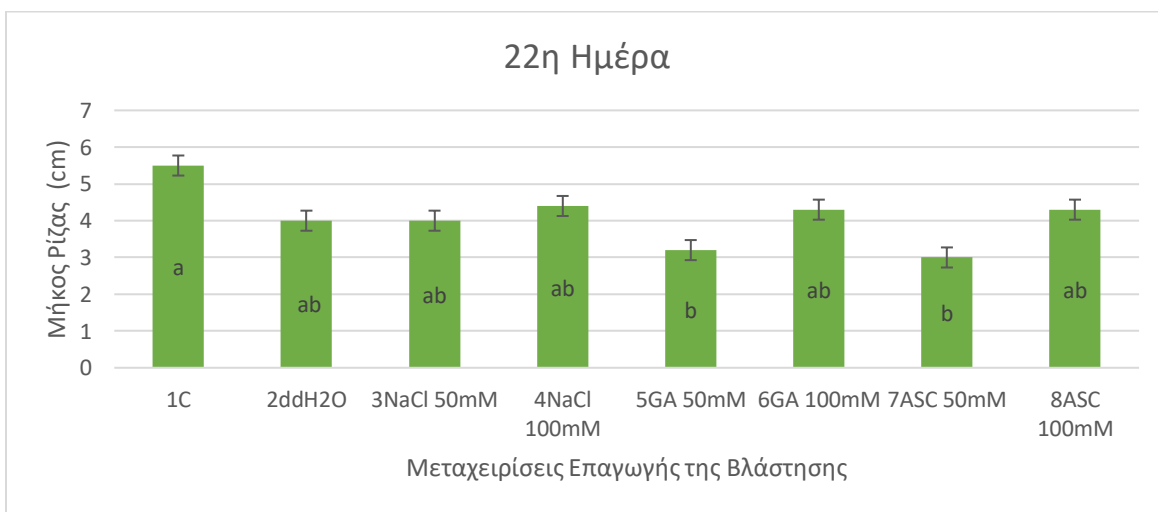
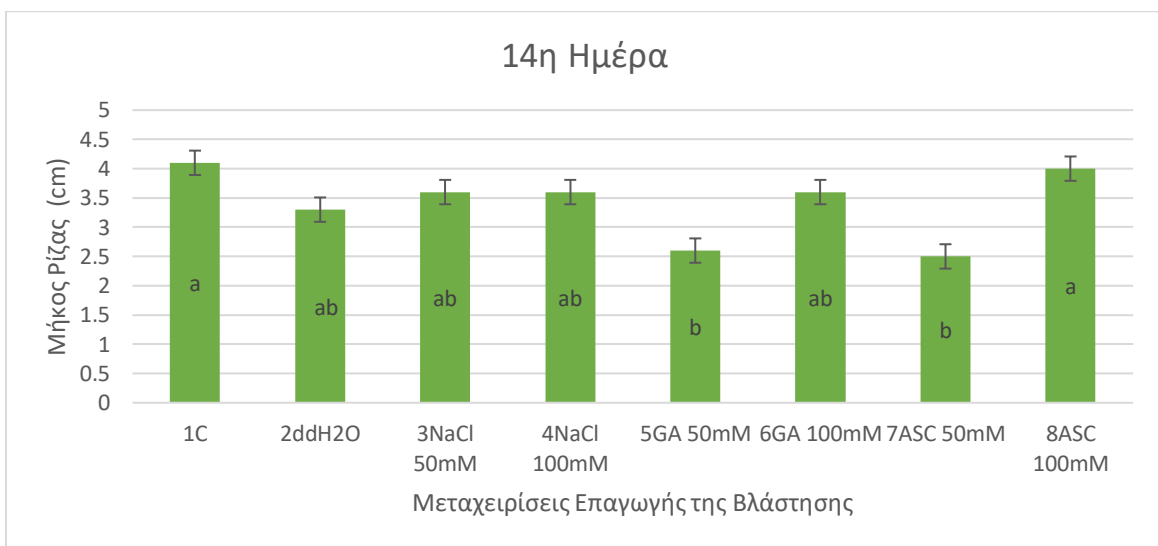
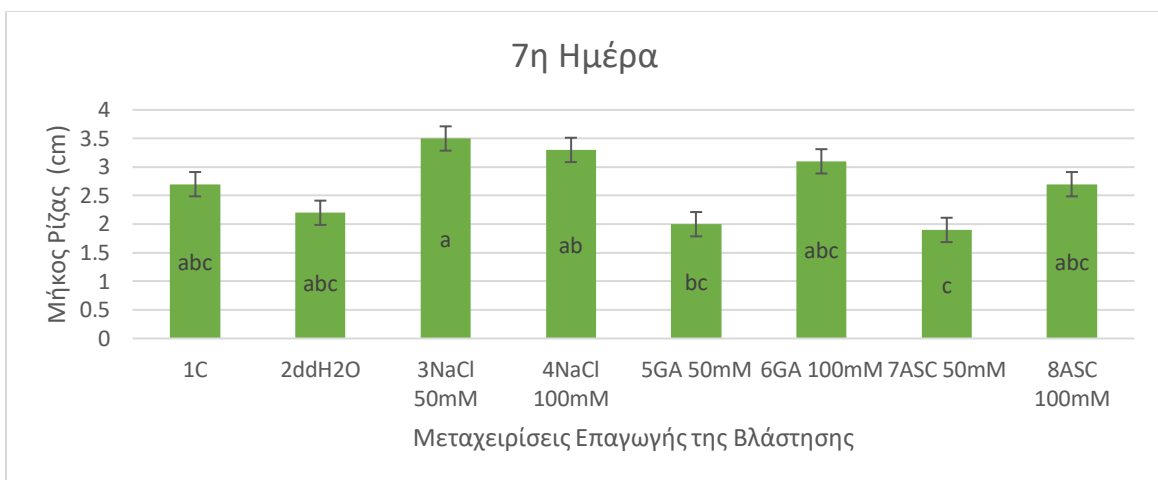
Είναι ωστόσο ενδιαφέρον ότι κατά την 14^η ημέρα, σημειώθηκε υπεροχή των μαρτύρων (4,1 cm) και της εφαρμογής 100 mM ασκορβικού οξέος (4,0 cm). Οι μεταχειρίσεις 50 mM NaCl, 100 mM NaCl και 100 mM GA₃ εμφάνισαν όμοιες τιμές ως προς το μήκος της ρίζας (3,6 cm), ενώ το μικρότερο μήκος ρίζας καταγράφηκε κατά την εφαρμογή 50 mM ασκορβικού οξέος (2,5 cm) (Πίνακας 3.3, Γράφημα 3.3).

Κατά την 22^η ημέρα, σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές, χωρίς ωστόσο να διαφοροποιείται η σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων ως προς το μήκος της ρίζας, η οποία διαμορφώθηκε ως ακολούθως: C > 100 mM NaCl > 100 mM GA₃ = 100 mM Asc > H₂O = 50 mM NaCl > 50 mM GA₃ > 50 mM Asc (Πίνακας 3.3, Γράφημα 3.3).

Πίνακας 3.3 Μήκος ρίζας των σποροφύτων (cm) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε τρία (3) χρονικά διαστήματα, από την 7^η έως την 22^η ημέρα.

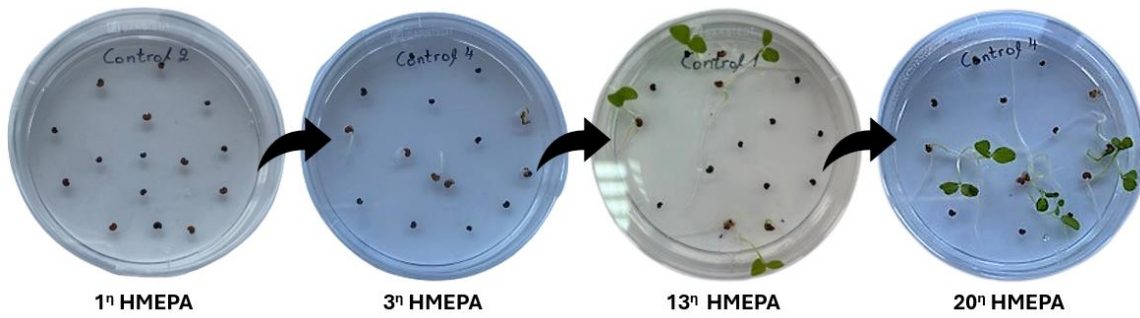
Ημέρες	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
7^η	2,7abc	2,2abc	3,5a	3,3ab	2,0bc	3,1abc	1,9c	2,7abc
14^η	4,1a	3,3ab	3,6ab	3,6ab	2,6b	3,6ab	2,5b	4,0a
22^η	5,5a	4,0ab	4,0ab	4,4ab	3,2b	4,3ab	3,0b	4,3ab

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).

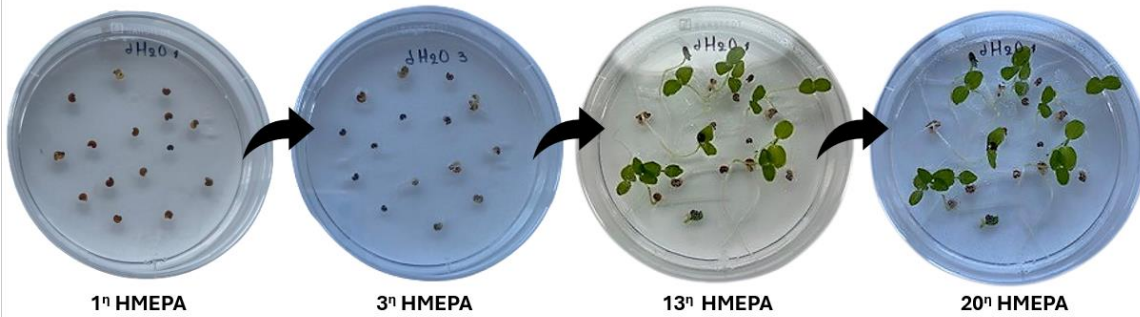


Γράφημα 3.3 Μήκος ρίζας των σποροφύτων (cm) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε τρία (3) χρονικά διαστήματα (7^η, 14^η, και 22^η ημέρα).

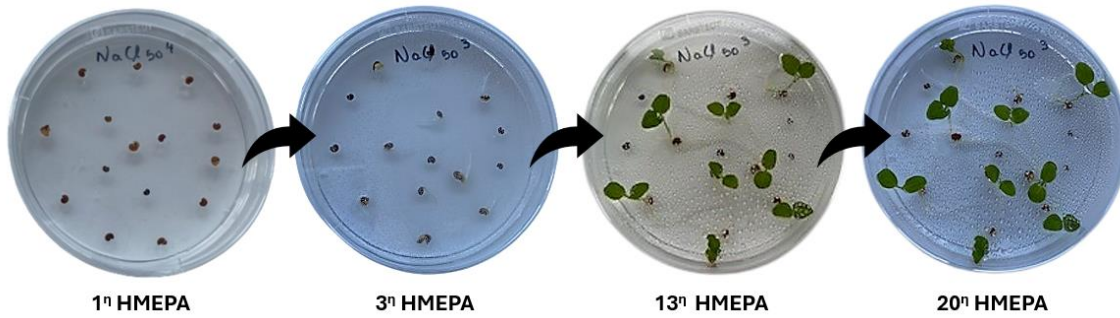
CONTROL



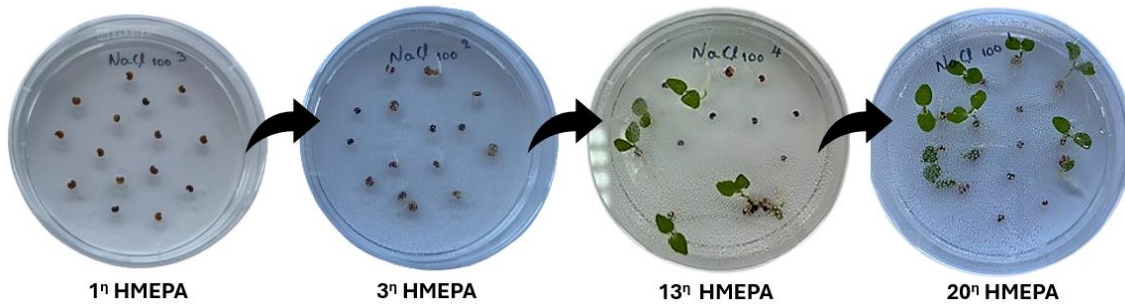
dH₂O



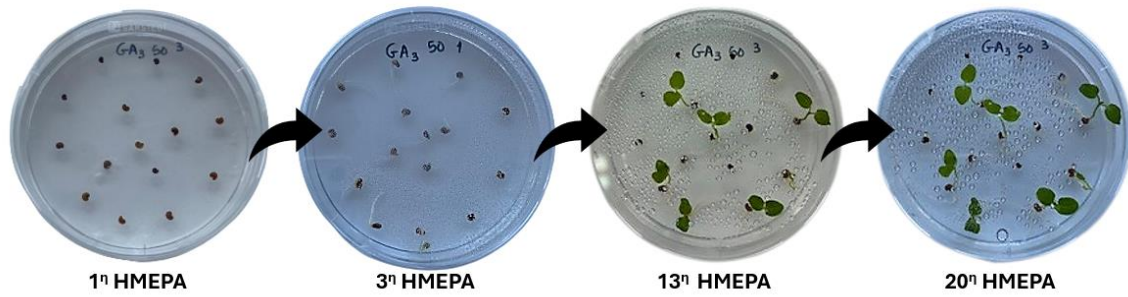
NaCl 50 mM



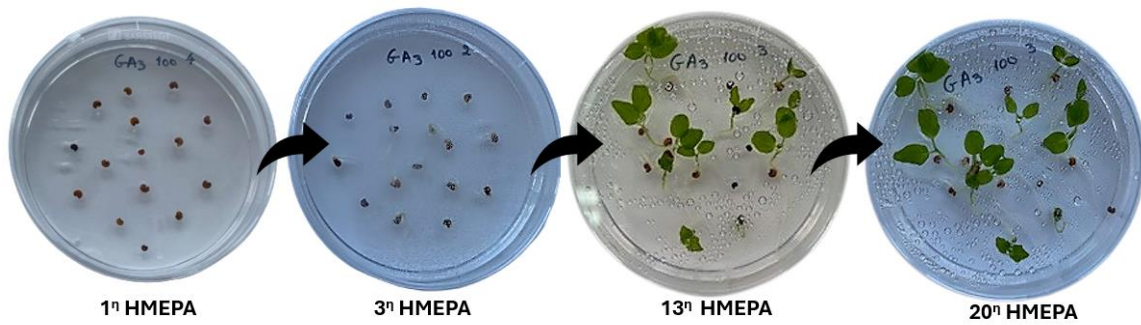
NaCl 100 mM



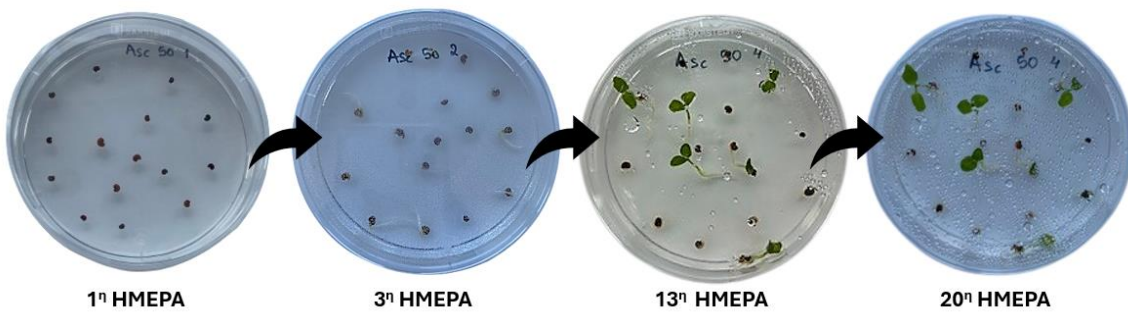
GIBBERILLIC ACID 50 mM

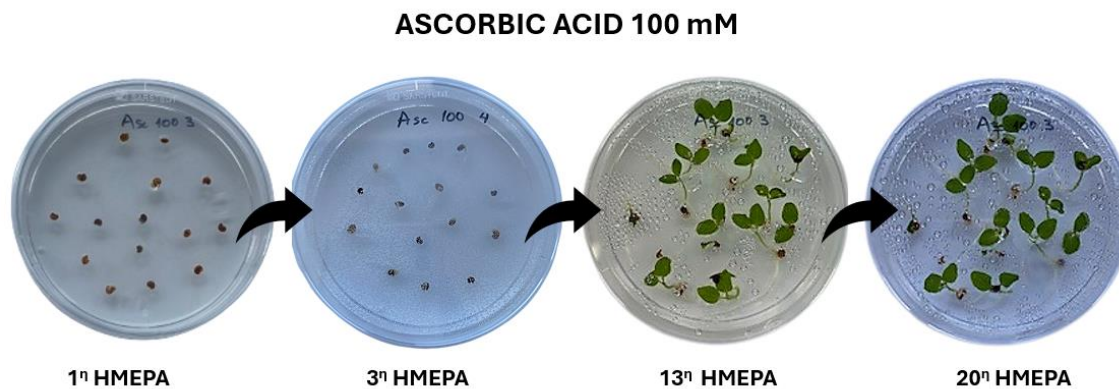


GIBBERILLIC ACID 100 mM



ASCORBIC ACID 50 mM





3.1.4 Νωπό βάρος των σποροφύτων

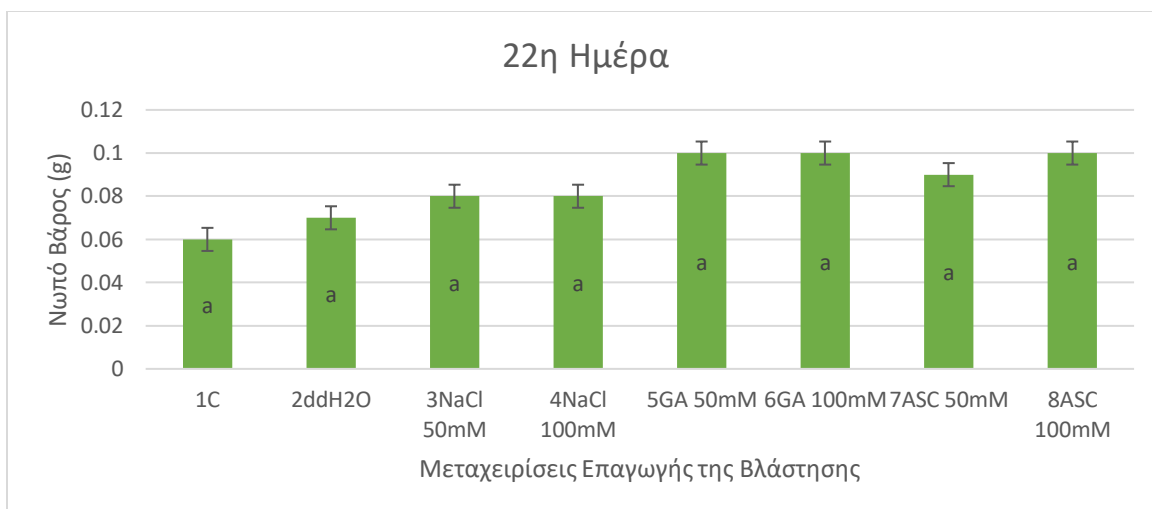
Ως προς το νωπό βάρος των σποροφύτων, η ανάλυση κατέδειξε την απουσία σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης. Ωστόσο, διαφάνηκε μία τάση αύξησης του νωπού βάρους κατά την εφαρμογή γιββεριλλικού οξέος (50 mM και 100 mM: 0,10 g) και ασκορβικού οξέος (50 mM και 100 mM: 0,09 και 0,10 g, αντίστοιχα), συγκριτικά με το μάρτυρα (0,06 g) και την ενυδάτωση των σπόρων με H₂O (0,07 g).

Σύμφωνα με τα ανωτέρω, προκύπτει ότι το σύνολο των μεταχειρίσεων επέδρασαν θετικά στο νωπό βάρος των σποροφύτων εν συγκρίσει με το μάρτυρα (Πίνακας 3.4, Γράφημα 3.4).

Πίνακας 3.4 Νωπό βάρος των σποροφύτων (g) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης την 22^η ημέρα.

Ημέρες	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
22^η	0,06a	0,07a	0,08a	0,08a	0,10a	0,10a	0,09a	0,10a

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).



Γράφημα 3.4 Νωπό βάρος των σποροφύτων (g) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης την 22^η ημέρα.

3.1.5 Περιεκτικότητα των σποροφύτων σε χλωροφύλλη

Ως προς την περιεκτικότητα των σποροφύτων σε χλωροφύλλη, η ανάλυση κατέδειξε την ύπαρξη σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης για το σύνολο των παραμέτρων που εξετάστηκαν (Chla, Chlab, TChl).

Συγκεκριμένα, ως προς τη χλωροφύλλη a, οι μεγαλύτερες τιμές σημειώθηκαν κατά τη μεταχείριση των σπόρων με 100 mM NaCl (0,34 mg/g) και 100 mM ασκορβικού οξέος (0,33 mg/g). Ακολουθώς, συγκριτικά με το μάρτυρα (0,14 mg/g), θετική ήταν η επίδραση των μεταχειρίσεων 50 mM NaCl (0,32 mg/g), 100 mM GA₃ (0,30 mg/g) και της ενυδάτωσης με H₂O (0,23 mg/g). Βάσει των ανωτέρω, προκύπτει σαφώς ότι το σύνολο των μεταχειρίσεων, με εξαίρεση αυτή των 50 mM ασκορβικού οξέος (0,09 mg/g), επέδρασαν θετικά στην περιεκτικότητα των σποροφύτων σε χλωροφύλλη a (Πίνακας 3.5).

Αντιστοίχως, η ανάλυση κατέδειξε την υπεροχή των μεταχειρίσεων με 100 mM NaCl (0,13 mg/g) και 100 mM ασκορβικού οξέος (0,10 mg/g) ως προς την περιεκτικότητα των σποροφύτων σε χλωροφύλλη b. Αξίζει δε να σημειωθεί ότι το σύνολο των μεταχειρίσεων, με εξαίρεση αυτή των 50 mM ασκορβικού οξέος, επέδρασαν θετικά στην

περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη b, συγκριτικά με το μάρτυρα και την απλή ενυδάτωση με H₂O όπου σημειώθηκαν όμοιες τιμές (0,04 mg/g).

Σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα των φυτών σε χλωροφύλλη a και χλωροφύλλη b, η περιεκτικότητα σε ολική χλωροφύλλη διαμορφώθηκε ως ακολούθως κατά φθίνουσα σειρά: 100 mM NaCl > 100 mM Asc > 50 mM NaCl > 100 mM GA₃ > H₂O > 50 mM GA₃ > C > 50 mM Asc (Πίνακας 3.5).

Τα συνολικά αποτελέσματα υπογραμμίζουν σαφώς την υπεροχή των μεταχειρίσεων 100 mM NaCl και 100 mM ασκορβικού οξέος ως προς την περιεκτικότητα των φυτών σε χλωροφύλλη.

Πίνακας 3.5 Περιεκτικότητα των σποροφύτων σε χλωροφύλλη a, χλωροφύλλη b και ολική χλωροφύλλη (mg/g νωπού βάρους) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης την 22^η ημέρα.

Παράμετρος	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
Chla	0,14bc	0,23abc	0,32ab	0,34a	0,17abc	0,30ab	0,09c	0,33ab
Chlb	0,04bc	0,04bc	0,09ab	0,13a	0,05ab	0,09ab	-0,03c	0,10ab
TChl	0,18cd	0,27abcd	0,41abc	0,47a	0,23bcd	0,39abc	0,05d	0,43ab

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).

3.1.6 Λόγος χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b (Chla/Chlb)

Σχετικά με το λόγο χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b (Chla/Chlb), σημειώθηκε απουσία σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων, υποδεικνύοντας ότι το συγκεκριμένο γνώρισμα δεν επηρεάζεται σημαντικά από τις μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης. Ωστόσο, συγκριτικά με τους μάρτυρες, παρατηρήθηκε μία τάση αύξησης του λόγου Chla/Chlb έπειτα από ενυδάτωση των σπόρων με H₂O (6,67) καθώς και κατά τη μεταχείρισή τους με γιββεριλλικό οξύ, ιδιαίτερα κατά την εφαρμογή 50 mM GA₃ (5,71). Αντίθετα, η πλέον μειωμένη τιμή καταγράφηκε στη εφαρμογή 50 mM ασκορβικού οξέος (1,15) (Πίνακας 3.6).

Πίνακας 3.6 Λόγος χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b (Chla/Chlb) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης την 22^η ημέρα.

Παράμετρος	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
Chla/Chlb	3,37a	6,67a	4,26a	2,58a	5,71a	3,34a	1,15a	3,86a

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).

3.1.7 Περιεκτικότητα των φύλλων σε καροτενοειδή

Αναφορικά με την περιεκτικότητα σε καροτενοειδή, η ανάλυση κατέδειξε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης. Ειδικότερα, οι μάρτυρες εμφάνισαν τη μικρότερη περιεκτικότητα σε καροτενοειδή (0,01 mg/g), ακολουθούμενη από τη μεταχείριση απλής ενυδάτωσης των σπόρων με H₂O (0,02 mg/g). Το σύνολο των υπολοίπων μεταχειρίσεων εμφάνισαν όμοιες τιμές (0,03 mg/g), υποδεικνύοντας τη θετική επίδραση της επαγωγής της βλάστησης στην περιεκτικότητα των ιστών σε καροτενοειδή (Πίνακας 3.7).

Πίνακας 3.7 Περιεκτικότητα των σποροφύτων σε καροτενοειδή (mg/g νωπού βάρους) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης την 22^η ημέρα.

Παράμετρος	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
Car	0,01c	0,02b	0,03a	0,03a	0,03a	0,03a	0,03a	0,03a

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).

3.2 Επίδραση προ-επεξεργασίας σπόρων στο δυναμικό βλάστησης υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας

3.2.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %) υπό συνθήκες της καταπόνησης αλατότητας

Όσον αφορά, το ποσοστό βλάστησης των σπόρων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας, η στατιστική ανάλυση υπογραμμίζει την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών για το σύνολο των μεταχειρίσεων που μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια του χρονικού διαστήματος λήψης μετρήσεων, από την 1^η έως και την 28^η ημέρα, με εξαίρεση την έναρξη της περιόδου λήψης παρατηρήσεων (3^η ημέρα). Στο διάστημα αυτό, ήταν εμφανής η υπεροχή της μεταχείρισης των σπόρων με γιββεριλλικό οξύ (50 mM GA₃: 1,5 % και 100 mM GA₃: 4,5 %), συγκριτικά με τους μάρτυρες (0.0 %) (Πίνακας 3.8).

Εν συνεχεία, παρά την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών, σημειώθηκε μια αυξητική τάση του δυναμικού βλάστησης των σπόρων του μάρτυρα, έναντι των σπόρων που υπέστησαν κάποια εφαρμογή, με εξαίρεση του σπόρους που δέχθηκαν εφαρμογή με 50 mM NaCl που εμφάνισαν σαφή υπεροχή. Συγκεκριμένα, κατά τη διάρκεια του πρώτου διαστήματος από την τοποθέτηση σπόρων (1^η έως 5^η ημέρα), το χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης παρατηρήθηκε στους σπόρους που ενυδατώθηκαν με H₂O και στους σπόρους που δέχθηκαν εφαρμογή 100 mM ασκορβικού οξέος (0 έως 3,0 %) και έπειτα ακολούθησαν οι σπόροι που δέχθηκαν εφαρμογή 100 mM NaCl (0 έως 3,3 %). Ωστόσο, στη μεταχείριση 50 mM NaCl καταγράφηκε το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης (0 έως 19,8 %), ακολουθούμενου από τον μάρτυρα (0 έως 14,5 %) (Πίνακας 3.8, Γράφημα 3.5).

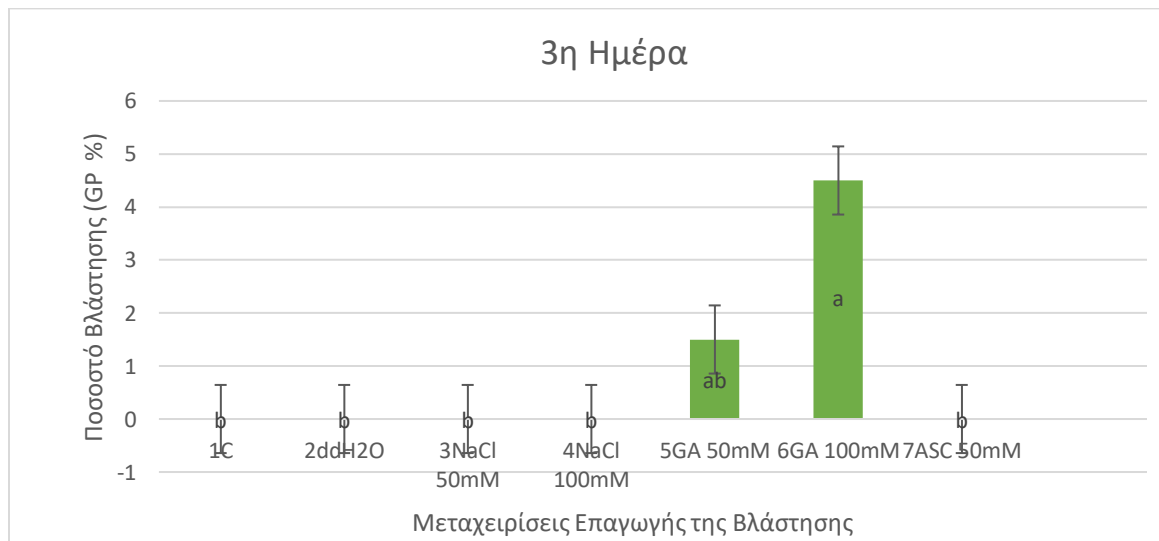
Με το πέρας της περιόδου καταπόνησης, στους σπόρους που δέχθηκαν εφαρμογή 50 mM NaCl καταγράφηκε το μεγαλύτερο δυναμικό βλάστησης, και επομένως, το υψηλότερο ποσοστό βλάστησης την 28^η ημέρα (26,3 %), ενώ με αρκετά υψηλό ποσοστό ακολούθησε και ο μάρτυρας (19,8 %). Απεναντίας, το χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης παρατηρήθηκε στους σπόρους όπου έγινε ενυδάτωση με H₂O (6,3 %), ακολουθούμενης από την εφαρμογή τόσο 50 mM ασκορβικού οξέος όσο και της εφαρμογής 100 mM NaCl, που σημείωσαν τελικά το ίδιο ποσοστό (9,8 %). (Πίνακας 3.8, Γράφημα 3.5).

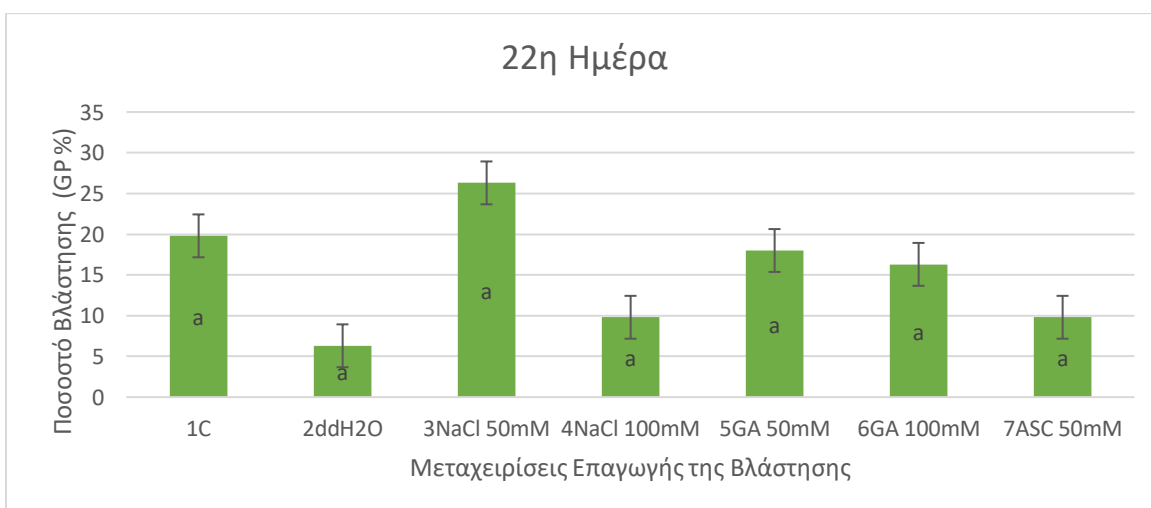
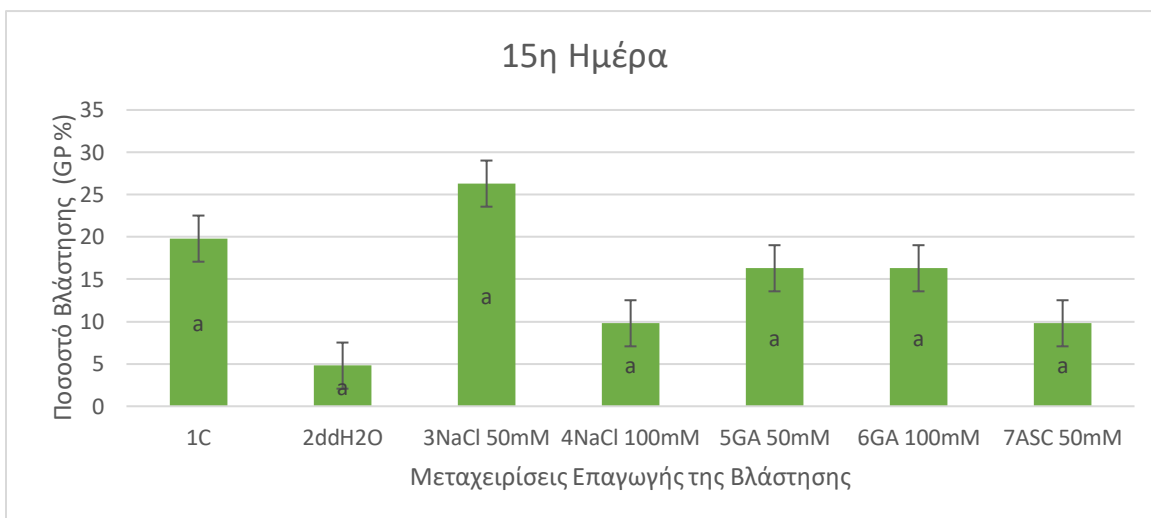
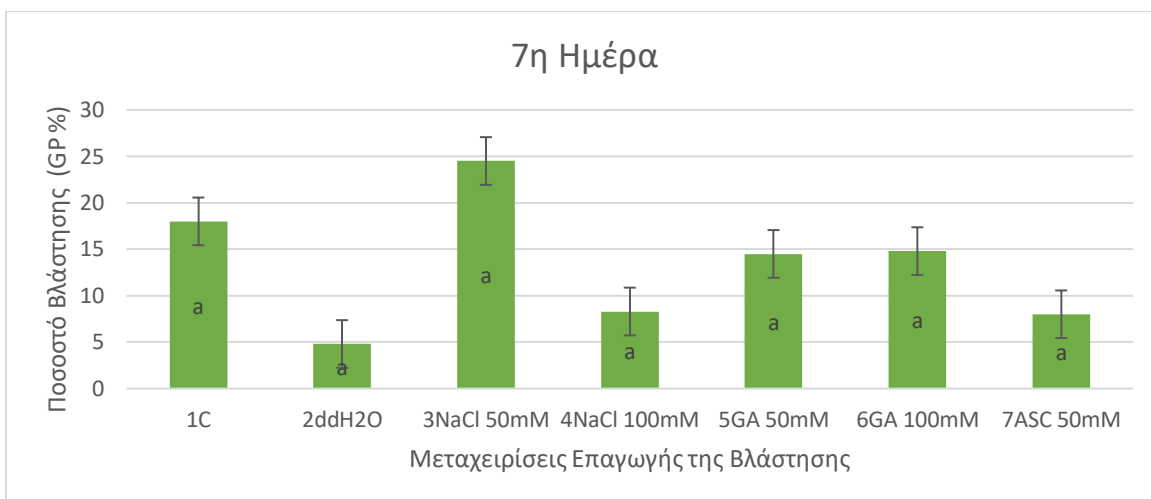
Με βάση τα αποτελέσματα που σχετίζονται με το τελικό ποσοστό βλάστησης των σπόρων κατά την 28^η ημέρα, προκύπτει η ακόλουθη σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων κατά φθίνουσα σειρά: 50 mM NaCl > C > 50 mM GA₃ > 100 mM GA₃ > 100 mM Asc > 100 mM NaCl = 50 mM Asc > H₂O.

Πίνακας 3.8 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε δεκαπέντε (8) χρονικά διαστήματα, από την 3^η έως την 22^η ημέρα.

Ημέρες	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
3 ^η	0,0b	0,0b	0,0b	0,0b	1,5ab	4,5a	0,0b	0,0b
4 ^η	9,8a	1,5a	14,5a	3,3a	6,3a	9,5a	6,3a	3,0a
5 ^η	14,5a	3,0a	19,8a	3,3a	8,0a	11,3a	6,3a	3,0a
6 ^η	16,3a	4,8a	21,3a	6,5a	9,8a	11,3a	8,0a	4,5a
7 ^η	18,0a	4,8a	24,5a	8,3a	14,5a	14,8a	8,0a	6,0a
8 ^η	19,8a	4,8a	26,3a	9,8a	14,5a	14,8a	8,0a	7,8a
15 ^η	19,8a	4,8a	26,3a	9,8a	16,3a	16,3a	9,8a	11,3a
22 ^η	19,8a	6,3a	26,3a	9,8a	18,0a	16,3a	9,8a	11,3a

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).





Γράφημα 3.5 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε τέσσερα (4) χρονικά διαστήματα (3^η, 7^η, 15^η και 22^η ημέρα).

3.2.2 Μήκος βλαστού των σποροφύτων

Όσον αφορά το μήκος του βλαστού των σποροφύτων, καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές και στις 3 ημερομηνίες που λήφθηκαν μετρήσεις. Από τα πρώτα κιόλας στάδια ανάπτυξης και εξέλιξης των σποροφύτων, έγινε φανερή η υπεροχή των φυτών που δέχθηκαν την εφαρμογή 100 mM γιββεριλλικού οξέος, έχοντας τη μεγαλύτερη τιμή (0,9 cm). Αντιθέτως, η απλή ενυδάτωση των σπόρων, ακολουθούμενη από το μάρτυρα και την εφαρμογή 100 mM NaCl, σημείωσαν την χαμηλότερες τιμές του συνόλου των μεταχειρίσεων (0,6 και 0,7 cm αντίστοιχα) (Πίνακας 3.9, Γράφημα 3.6).

Συνεχίζοντας, κατά την 20^η ημέρα λήψης μετρήσεων, την υψηλότερη τιμή του μήκους βλαστού εμφάνισαν οι μεταχειρίσεις της ενυδάτωσης, 50 mM και 100 mM γιββεριλλικού οξέος (1,1 cm). Απεναντίας, η χαμηλότερη τιμή καταγράφηκε στην μεταχείριση 50 mM NaCl (0,7 cm) (Πίνακας 3.9, Γράφημα 3.6).

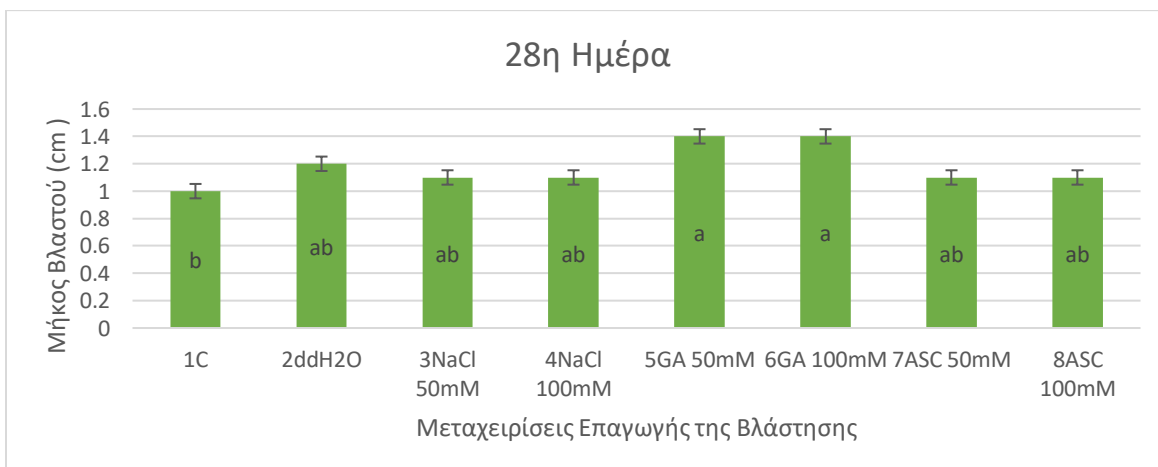
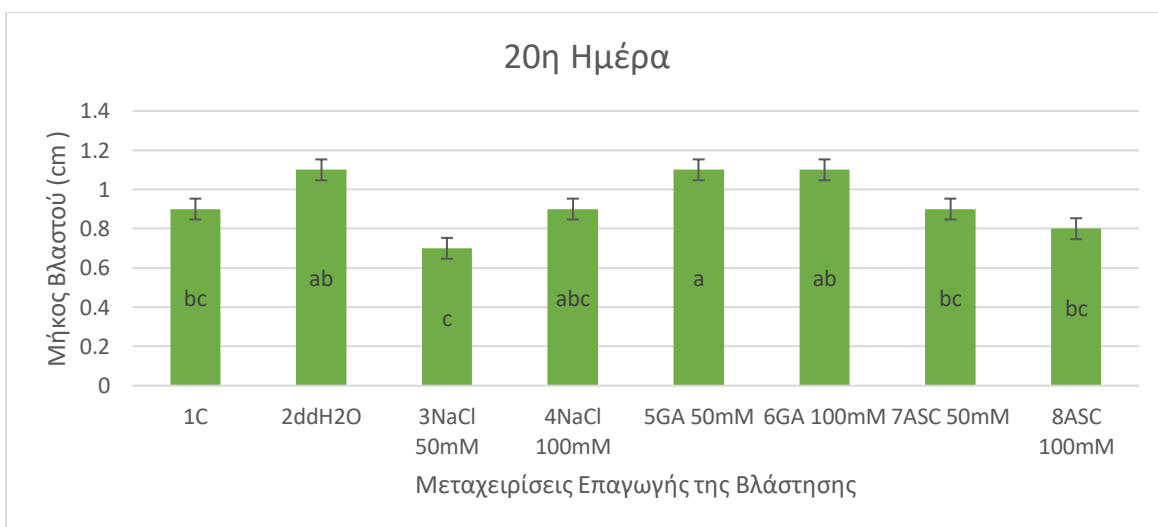
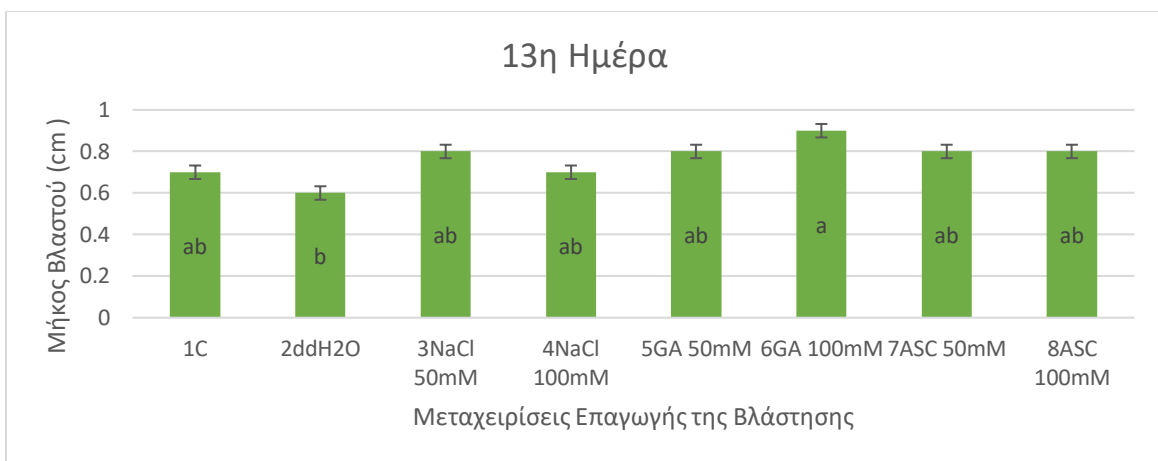
Ωστόσο, κατά την 28^η ημέρα, σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές, οι οποίες διαφοροποίησαν εν μέρει τη σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων ως προς το μήκος του βλαστού, η οποία τελικά πήρε την ακόλουθη μορφή κατά φθίνουσα σειρά: 50 mM GA₃ = 100 mM GA₃ > H₂O > 50 mM NaCl = 100 mM NaCl = 50 mM Asc = 100 mM Asc > C.

Τα παραπάνω αποτελέσματα κάνουν σαφές ότι οι υπό μελέτη μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης επιδρούν θετικά στο μήκος βλαστού των σποροφύτων.

Πίνακας 3.9 Μήκος βλαστού των σποροφύτων (cm) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε τρία (3) χρονικά διαστήματα, από την 13^η έως την 28^η ημέρα.

Ημέρες	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
13^η	0,7ab	0,6b	0,8ab	0,7ab	0,8ab	0,9a	0,8ab	0,8ab
20^η	0,9bc	1,1ab	0,7c	0,9abc	1,1a	1,1ab	0,9bc	0,8bc
28^η	1,0b	1,2ab	1,1ab	1,1ab	1,4a	1,4a	1,1ab	1,1ab

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).



Γράφημα 3.6 Μήκος βλαστού των σποροφύτων (cm) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε τρία (3) χρονικά διαστήματα (13^η, 20^η, και 28^η ημέρα).

3.2.3 Μήκος ρίζας των σποροφύτων

Αναφορικά με το μήκος της ρίζας, η στατιστική ανάλυση ανέδειξε την απουσία σημαντικών διαφορών κατά την έναρξη του διαστήματος λήψης μετρήσεων. Ωστόσο, κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης των σποροφύτων, διαφάνηκε η υπεροχή της μεταχείρισης των σπόρων με γιββεριλλικό οξύ, καταγράφοντας τις υψηλότερες τιμές για το μήκος της ρίζας (50 mM GA₃ = 100 mM NaCl: 0,6 cm). Αντιθέτως, χαμηλότερες αλλά και όμοιες μεταξύ τους τιμές παρατηρήθηκαν κατά την εφαρμογή ασκορβικού οξέος, H₂O και 100 mM NaCl (50 mM Asc = 100 mM Asc = H₂O = 100 mM NaCl = 0,4 cm) (Πίνακας 3.10, Γράφημα 3.7).

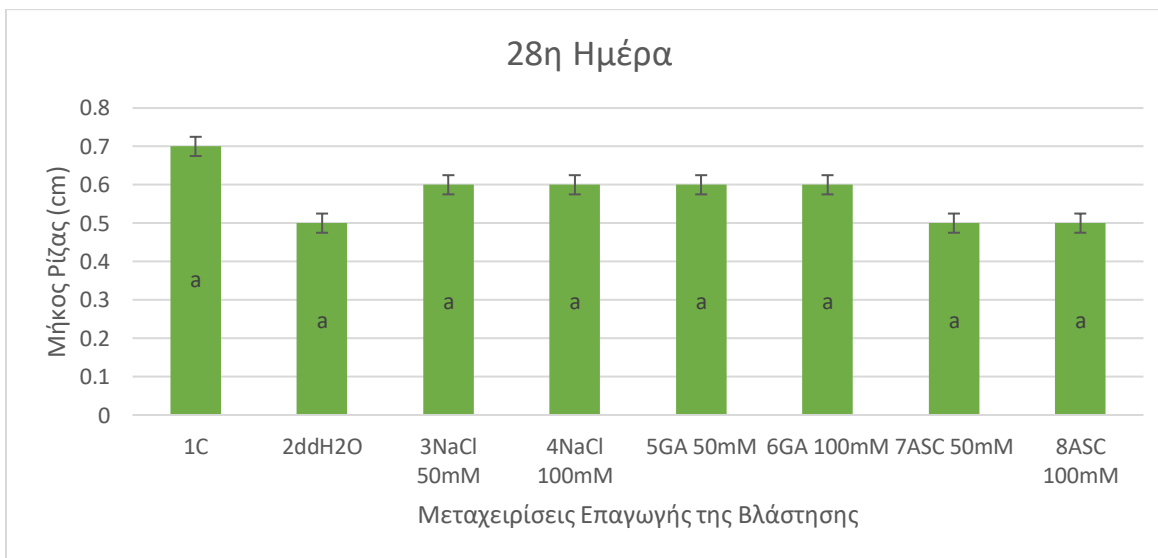
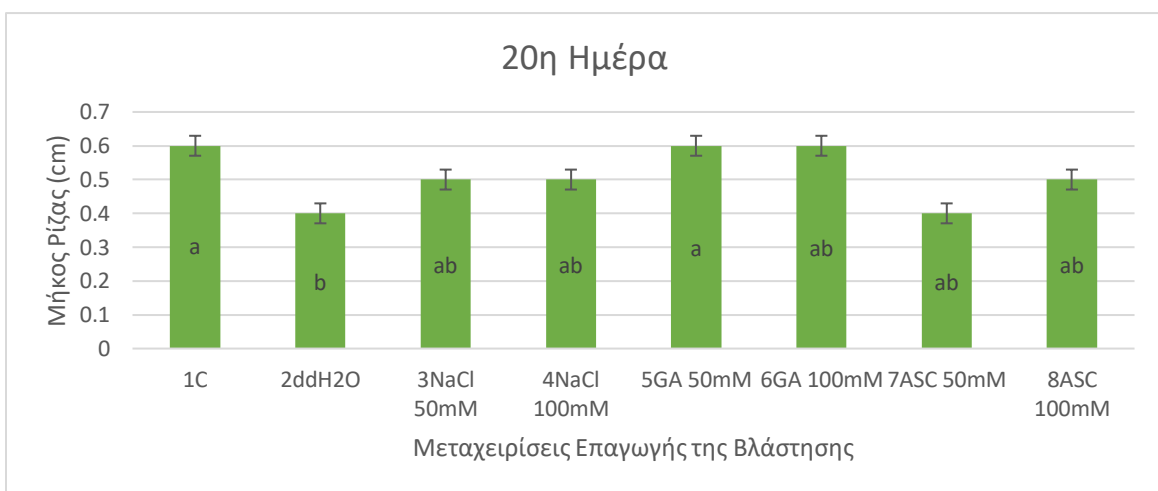
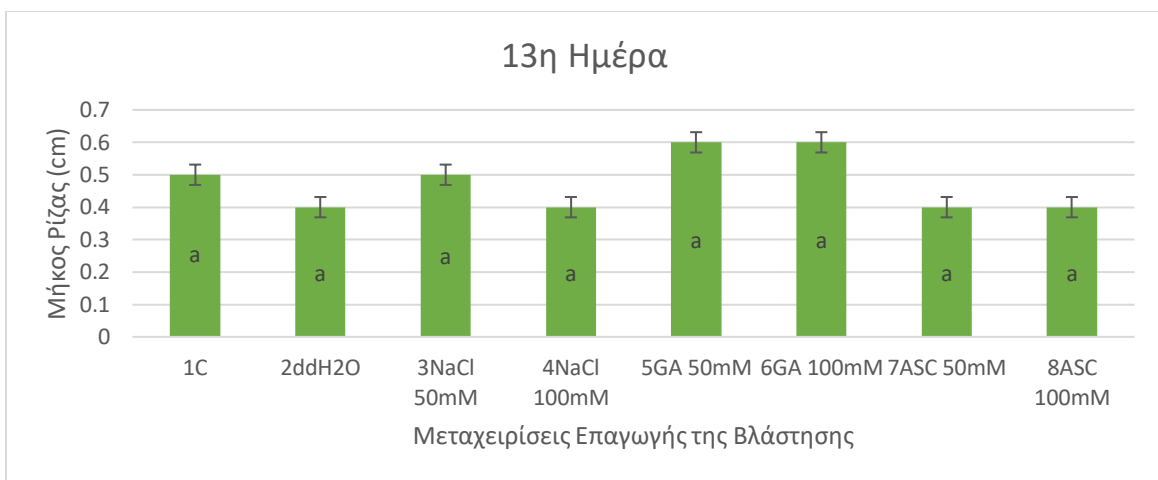
Ενδιαφέρον προκάλεσε, ότι κατά την 20^η ημέρα, καταγράφηκε η υπεροχή τόσο των μαρτύρων όσο και της εφαρμογής 50 mM GA₃ (0,6 cm). Αντίθετα, την χαμηλότερη τιμή του μήκους ρίζας εμφάνισαν οι σπόροι που είχαν ενυδατωθεί με H₂O, ακολουθούμενης της εφαρμογής 50 mM Asc (0,4 cm) (Πίνακας 3.10, Γράφημα 3.7).

Κατά την 28^η ημέρα, δε σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές και η σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων ως προς το μήκος της ρίζας διαμορφώθηκε ως εξής: C > 50 mM NaCl = 100 mM NaCl = 50 mM GA₃ = 100 mM GA₃ > H₂O = 50 mM Asc = 100 mM Asc.

Πίνακας 3.10 Μήκος ρίζας των σποροφύτων (cm) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε τρία (3) χρονικά διαστήματα, από την 13^η έως την 28^η ημέρα.

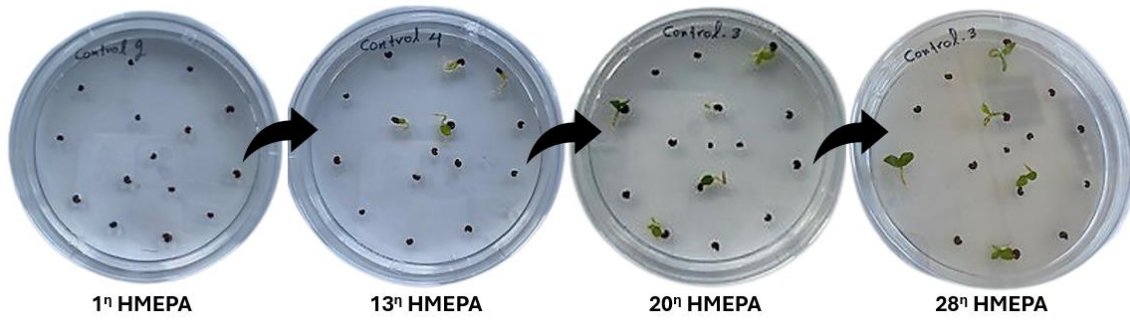
Ημέρες	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
13^η	0,5a	0,4a	0,5a	0,4a	0,6a	0,6a	0,4a	0,4a
20^η	0,6a	0,4b	0,5ab	0,5ab	0,6a	0,6ab	0,4ab	0,5ab
28^η	0,7a	0,5a	0,6a	0,6a	0,6a	0,6a	0,5a	0,5a

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).

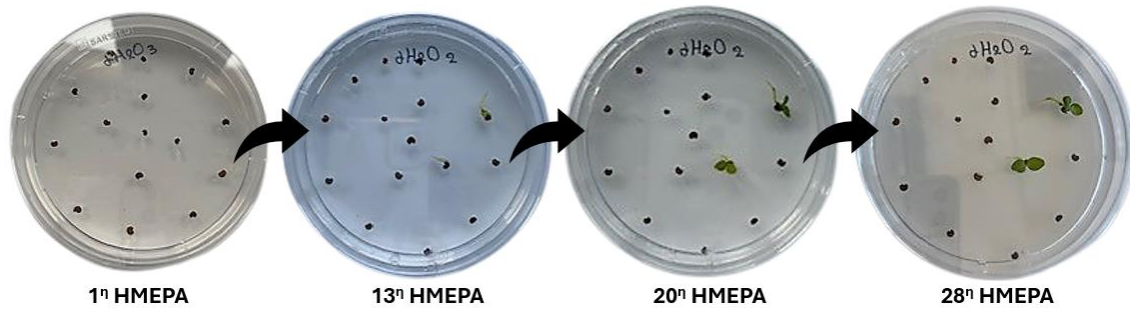


Γράφημα 3.7 Μήκος ρίζας των σποροφύτων (cm) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε τρία (3) χρονικά διαστήματα (13^η, 20^η, και 28^η ημέρα).

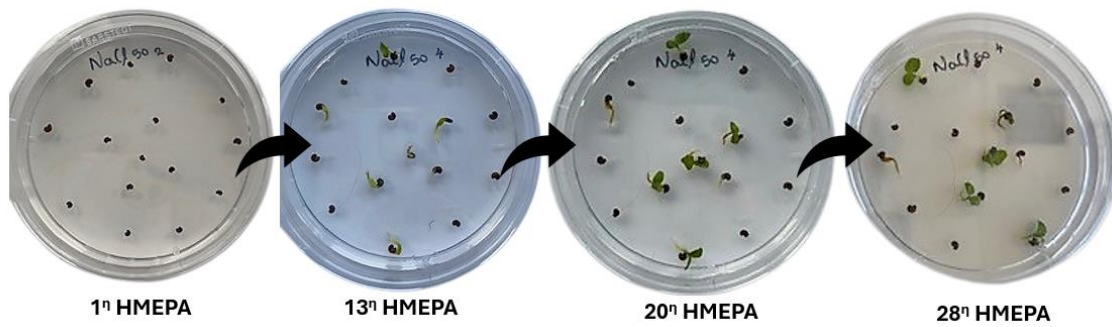
CONTROL



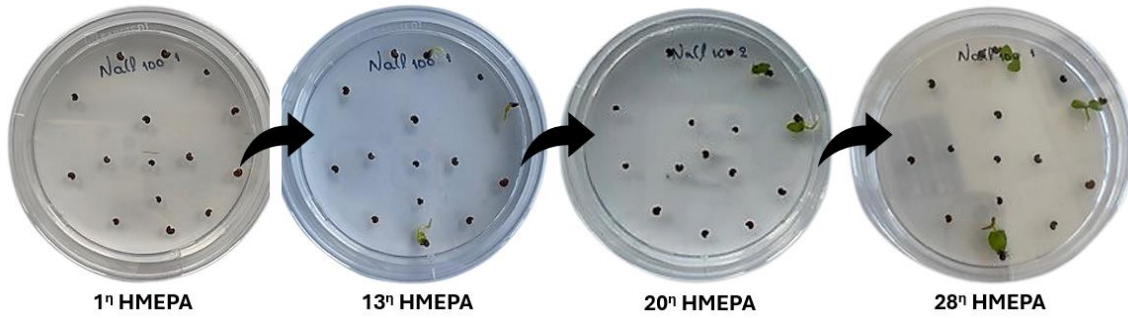
dH₂O



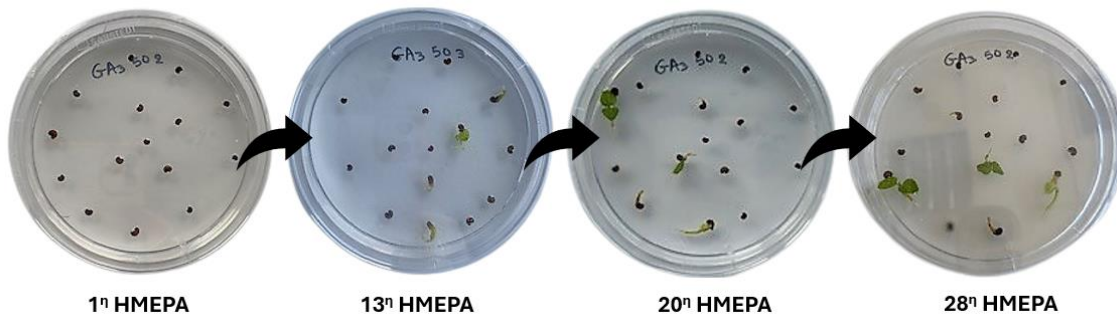
NaCl 50 mM



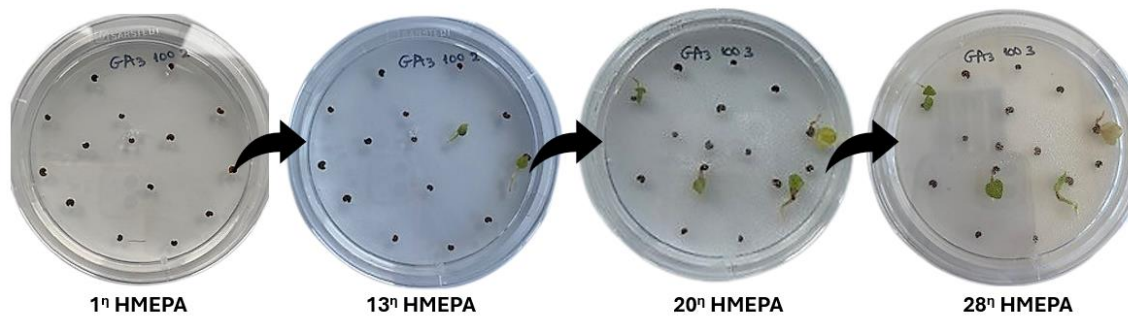
NaCl 50 mM

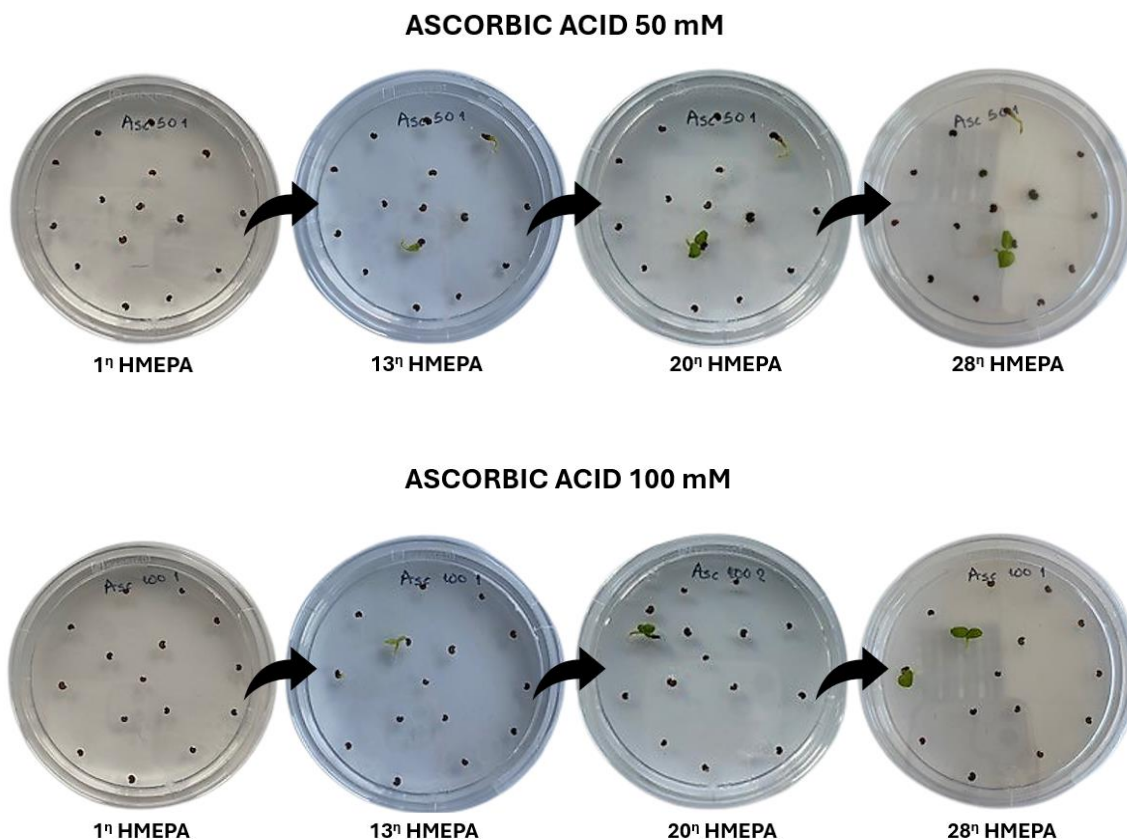


GIBBERILLIC ACID 50 mM



GIBBERILLIC ACID 100 mM





3.2.4 Νωπό βάρος των σποροφύτων

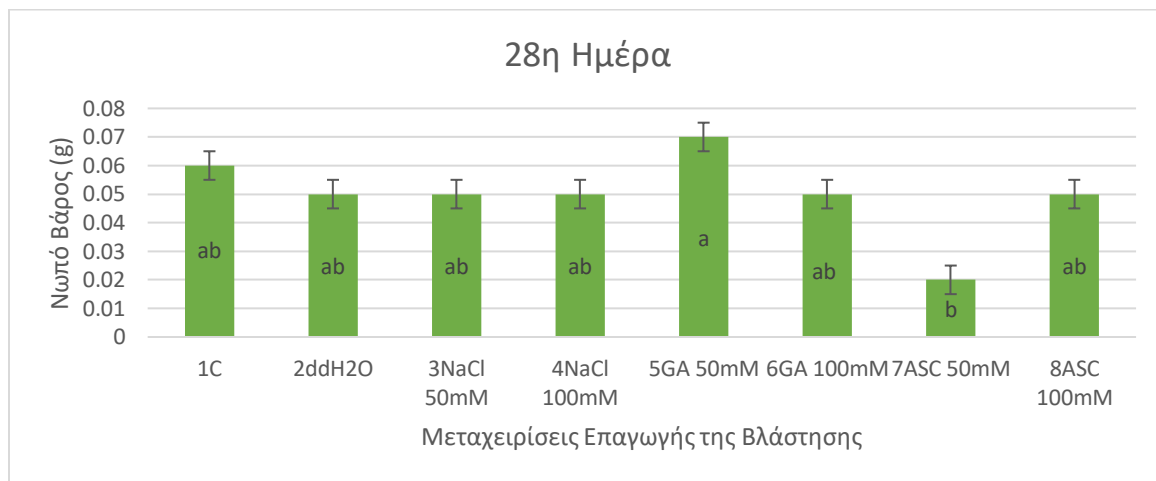
Ως προς το νωπό βάρος των σποροφύτων, η ανάλυση ανέδειξε την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης αναφορικά με την ανεκτικότητα έναντι της καταπόνησης αλατότητας, με εξαίρεση την τιμή νωπού βάρους κατά την εφαρμογή γιββεριλλικού οξέος 50 mM (0,07g) σε σύγκριση με την εφαρμογή ασκορβικού οξέος 50 mM (0,02g).

Λαμβάνοντας υπόψιν τα συνολικά δεδομένα, προκύπτει ότι το σύνολο των μεταχειρίσεων δεν επίδρασαν σημαντικά στο νωπό βάρος των σποροφύτων συγκριτικά με το μάρτυρα, με εξαίρεση τη μεταχείριση 50 mM GA₃ που εμφάνισε την πλέον θετική επίδραση (Πίνακας 3.11, Γράφημα 3.8).

Πίνακας 3.11 Νωπό βάρος των σποροφύτων (g) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης την 22^η ημέρα.

Ημέρες	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
22^η	0,06ab	0,05ab	0,05ab	0,05ab	0,07a	0,05ab	0,02b	0,05ab

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).



Γράφημα 3.8 Νωπό βάρος των σποροφύτων (g) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης την 28^η ημέρα.

3.2.5 Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC %)

Ως προς το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC %), η ανάλυση κατέδειξε την παρουσία σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης έναντι της καταπόνησης αλατότητας.

Ωστόσο, παρατηρήθηκε μία τάση αύξησης του ποσοστού περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων στους σπόρους που δέχθηκαν εφαρμογή 100 mM γιββεριλλικού οξέος (77,6 %), ακολουθούμενης από το μάρτυρα (72 %), ενώ το χαμηλότερο ποσοστό

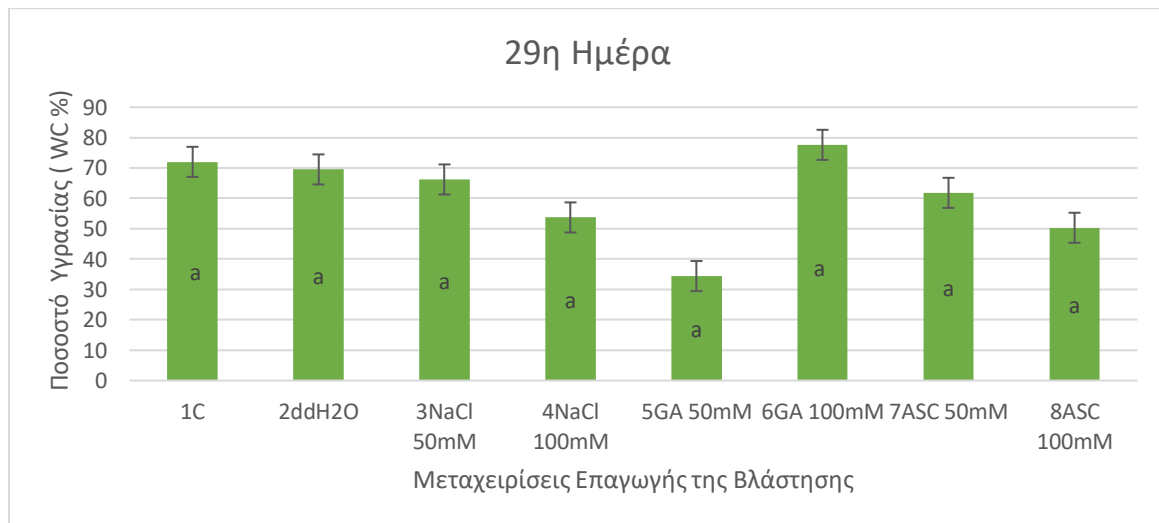
περιεχόμενης υγρασίας σημειώθηκε στους σπόρους που δέχθηκαν εφαρμογή 50 mM γιββεριλλικού οξέος (34,4 %) (Πίνακας 3.12, Γράφημα 3.9).

Βάσει των αποτελεσμάτων που αφορούν το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων, με τη λήξη του πειράματος, προκύπτει η ακόλουθη σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων κατά φθίνουσα σειρά: 100 mM GA₃ > C > H₂O > 50 mM NaCl > 100 mM NaCl > 50 mM Asc > 100 mM Asc > 50 mM GA₃.

Πίνακας 3.12 Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC%) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης την 29^η ημέρα.

Ημέρες	Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
	C	H ₂ O	50 mM NaCl	100 mM NaCl	50 mM GA ₃	100 mM GA ₃	50 mM Asc	100 mM Asc
23^η	72,0a	69,5a	66,2a	53,7a	34,4a	77,6a	61,8a	50,3a

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD ($p \leq 0.05$).



Γράφημα 3.9 Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC%) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης την 29^η ημέρα.

4. Συζήτηση

Η αλθαία είναι ένα από τα φαρμακευτικά φυτά με σημαντικές προστατευτικές δράσεις στην υγεία των ανθρώπων. Στόχο της παρούσας μελέτης αποτέλεσε η διερεύνηση της επίδρασης μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης στο είδος *Althaea officinalis* L. και, εν συνεχεία, η μελέτη της επίδρασης των μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης στο δυναμικό βλάστησης και ανάπτυξης των σποροφύτων υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας. Το έναυσμα για τη διερεύνηση της επίδρασης της διαδικασίας της διέγερσης βλάστησης σπόρων αποτέλεσε το γεγονός ότι το συγκεκριμένο είδος παρουσιάζει συχνά χαμηλό δυναμικό βλάστησης σπόρων και μετέπειτα ανάπτυξης σποροφύτων και δυσκολίες στην εγκατάσταση της καλλιέργειας. Θα πρέπει να τονισθεί ότι οι έρευνες σχετικά με τη διέγερση βλάστησης σε σπόρους της *Althaea* είναι εξαιρετικά περιορισμένες, καθιστώντας δύσκολη της σύγκριση των παρόντων ευρημάτων με άλλα συναφή της διεθνούς βιβλιογραφίας.

Τα ευρήματα από το πείραμα της διέγερσης βλάστησης σπόρων του είδους *Althaea officinalis* έδειξαν ανομοιογένεια και διαφοροποιήσεις μεταξύ των σπόρων που εφαρμόστηκαν επαγωγείς της βλάστησης και των μαρτύρων. Πιο συγκεκριμένα, στις μεταβλητές α) ποσοστό βλάστησης των σπόρων και β) λόγος χλωροφύλλης *a* προς χλωροφύλλη *b* (Chla/Chlb) δεν καταγράφηκε κάποια στατιστικά σημαντικά διαφοροποίηση μεταξύ των δύο κατηγοριών. Στον αντίποδα, στις μεταβλητές του μήκους βλαστού των σποροφύτων και του μήκους της ρίζας, του νωπού βάρους των σποροφύτων, της περιεκτικότητας των σποροφύτων σε χλωροφύλλη και της περιεκτικότητας σε καροτενοειδή καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Ειδικότερα, καταγράφηκε υπεροχή του μάρτυρα ως προς το μήκος του βλαστού, υπεροχή του μήκους της ρίζας στη μεταχείριση των σπόρων με NaCl, αύξηση του νωπού βάρους κατά την εφαρμογή γιββερίλλικού οξέος και ασκορβικού οξέος, αύξηση της περιεκτικότητας των σποροφύτων σε χλωροφύλλη κατά τη μεταχείριση των σπόρων με NaCl και ασκορβικό οξύ και αύξηση της περιεκτικότητας σε καροτενοειδή κατά την εφαρμογή των τεχνικών διέγερσης.

Ως προς την επίδραση των μεταχειρίσεων διέγερσης στη βλάστηση και στην ανάπτυξη των σποροφύτων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας, θα αναμενόταν περιορισμός των επιπτώσεων της καταπόνησης αλατότητας με τη χρήση των μεθόδων διέγερσης βλάστησης σπόρων, σύμφωνα με τα αποτελέσματα πειραμάτων σε ποικίλα φυτικά είδη (Habibi *et al.*, 2023; Khan *et al.*, 2022; Ibrahim, 2016; Rezaei *et al.*, 2013; Sedghi *et al.*, 2010). Στην παρούσα μελέτη, δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική επίδραση στο ποσοστό βλάστησης των σπόρων, στο μήκος της ρίζας και στο νωπό βάρος των σποροφύτων. Τα ευρήματα αυτά βρίσκονται σε αντίθεση με εκείνα της διεθνούς βιβλιογραφίας που υποστηρίζουν ότι η διέγερση των σπόρων με γιββερελικό οξύ και ασκορβικό οξύ μπορεί να βελτιώσει το ποσοστό βλάστησης υπό συνθήκες αλατότητας (Baes and Arechiga, 2007; Khan *et al.*, 2006). Τα παρόντα ευρήματα δεν συνάδουν και με το πείραμα των Rezaei *et al* (2013), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι η εφαρμογή γιββεριλλικού οξέος και ασκορβικού οξέος σε σπόρους του είδους *Althaea officinalis* βελτίωσε το ποσοστό και το ρυθμό βλάστησης υπό συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης αλατότητας. Διαφοροποιήσεις παρατηρήθηκαν μόνο στο μήκος του βλαστού των σποροφύτων, με υπεροχή των σποροφύτων που δέχθηκαν εφαρμογή γιββεριλλικού οξέος και στο ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων με όμοια υπεροχή των σποροφύτων που δέχθηκαν εφαρμογή γιββεριλλικού οξέος. Στο πείραμα των Rauf *et al* (2022), η διέγερση βλάστησης σπόρων με γιββεριλλικό οξύ σε συνθήκες αλατότητας, επέφερε υψηλότερη αύξηση στο μήκος των βλαστών, όπως επιβεβαιώθηκε και στην παρούσα μελέτη, ενώ δεν υπάρχουν ερευνητικά δεδομένα σχετικά με την επίδραση στην περιεχόμενη υγρασία των σποροφύτων.

Συνεπώς, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης υποστηρίζουν εν μέρει τα ευρήματα της διεθνούς βιβλιογραφίας. Αναλυτικότερα, υπάρχουν στοιχεία που καταδεικνύουν ότι η διέγερση βλάστησης σπόρων με ενυδάτωση πολλές φορές αυξάνει το ποσοστό της συνολικής βλάστησης και οδηγεί σε βελτιωμένη ανάπτυξη των σποροφύτων (Thakur *et al.*, 2022), γεγονός που επιβεβαιώθηκε εν μέρει από τα αποτελέσματα της μελέτης. Τα ευρήματα μελετών σχετικά με την ωσμωδιέγερση δείχνουν όμοια με τα παρόντα ευρήματα, υποστηρίζοντας την αύξηση του μήκους της ρίζας έπειτα από εφαρμογή NaCl σε σπόρους ηλιοτρόπιου (Bajehbaj, 2010). Σύμφωνα με το πείραμα των Shahzad *et al* (2021), η εφαρμογή γιββεριλλικού οξέος επέφερε αύξηση του νωπού βάρους, όπως

καταγράφηκε και στην παρούσα μελέτη. Περαιτέρω, όμοια με την παρούσα μελέτη, οι Krupa-Mańkiewicz *et al.* (2019) κατέγραψαν μία αύξηση της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη κατά τη μεταχείριση με ασκορβικό οξύ καθώς και διέγερση του μήκους των βλαστών. Τέλος, η αύξηση της περιεκτικότητας σε καροτενοειδή κατά την εφαρμογή των μεθόδων διέγερσης βλάστησης σπόρων έχει επιβεβαιωθεί και σε άλλα πειράματα (Sardar *et al.*, 2021). Ωστόσο, όσον αφορά στο πείραμα της αλατότητας, τα ευρήματα δεν ήταν τα αναμενόμενα, καθώς η διεθνής βιβλιογραφία υποστηρίζει ευρήματα που δεν καταγράφηκαν στο παρόν πείραμα, όπως η θετική επίδραση της διέγερσης βλάστησης σπόρων στις μεταβλητές του ποσοστού βλάστησης των σπόρων, του μήκους της ρίζας και του νωπού βάρους των σπορόφυτων.

Ολοκληρώνοντας την παρούσα μελέτη, τα συνολικά ευρήματα των εφαρμοσμένων μεθόδων διέγερσης της βλάστησης στους σπόρους του είδους *Althaea officinalis* ανέδειξαν μία σχετικά θετική επίδραση σε συγκεκριμένες μεταβλητές, επιβεβαιώνοντας τα συναφή ευρήματα της διεθνούς βιβλιογραφίας. Ωστόσο, για ορισμένες παραμέτρους, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης αντιτίθενται με τις αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία, ιδίως όσον αφορά στο πείραμα της καταπόνησης αλατότητας. Επιπλέον, είναι σημαντικό να τονισθεί ότι κάποιες μέθοδοι διέγερσης βλάστησης φάνηκαν αποδοτικότερες από άλλες, όπως η χρήση γιββεριλλικού οξέος.

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, οι τεχνικές της διέγερσης βλάστησης σπόρων είναι πολλά υποσχόμενες για την επιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας, ιδίως σε είδη που έχουν μεγάλο εμπορικό ενδιαφέρον, συμπεριλαμβανομένων των φαρμακευτικών ειδών, όπου ανήκει και η αλθαία, η οποία καθίσταται ευαίσθητη κατά τη φάση εγκατάστασης της καλλιέργειας. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης παρέχουν μία βάση σχετικά με την απόκριση της αλθαίας σε ένα εύρος μεταχειρίσεων διέγερσης της βλάστησης τόσο απουσία όσο και παρουσία καταπόνησης αλατότητας. Η διεξαγωγή μελλοντικών ερευνών θα παράσχει επιπλέον ενδείξεις σχετικά με την αποτελεσματικότητα των μεθόδων διέγερσης βλάστησης σπόρων στο είδος *Althaea officinalis* προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα.

Βιβλιογραφία

Abramova LM, Karimova OA, Andreeva IZ (2013). On the ecololgy and biology of *Althaea officinalis* L. (Malvaceae) at the northern border of its range (Republic of Bashkortostan). Contemporary Problems of Ecology, 6: 415-425.

Ali Shah SM, Akhtar N, Akram M, Akhtar Shah P, Saeed T, Ahmed K, Asif HM (2011). Pharmacological activity of *Althaea officinalis* L. Journal of Medicinal Plants Research, 5(24): 5662-5666.

Al-Snafi A. (2013). The Pharmaceutical importance of *Althaea officinalis* and *Althaea rosea*: A review. International Journal of PharmTech Research, 5: 1378-1385.

Amir M, Prasad D, Khan B, Khan A, Ahmad B (2024). Seed priming - An overview of techniques, mechanisms and applications. Plant Science Today. x: xx-xx.

Andruszczak S (2008). The influence of the plantation establishment method on the yield of marshmallow (*Althaea officinalis* L.) flowers. Acta Agrobotanica, 61: 167-172.

Andruszczak S, Wiśniewski J (2007). Growth and develop-ment of marshmallow (*Althaea officinalis* L.) depending on the method of plantation establishment. Herba Polonica, 3: 63-69.

Anosheh HP, Sadeghi H, Emam Y (2011). Chemical Priming with Urea and KNO₃ Enhances Maize Hybrids (*Zea mays* L.) Seed Viability under Abiotic Stress. Journal of Crop Science and Biotechnology, 14(4): 289-295.

Arun MN, Bhanuprakash K, Hebbar SS, Senthivel T (2017). Effects of seed priming on biochemical parameters and seed germination in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. Legume Research, 40: 562-570.

Arun MN, Hebbar SS, Bhanuprakash K, Senthivel T, Nair AK, Pandey DP (2020). Influence of seed priming and different irrigation levels on growth parameters of cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. Legume Research, 43: 099-104.

Arun MN, Hebbar SS, Senthivel T, Nair AK, Padmavathi G, Pandey P, Singh A (2022). Seed Priming: The Way Forward to Mitigate Abiotic Stress in Crops. In Plant Stress Physiology-Perspectives in Agriculture. IntechOpe.

Baes PO, Arechiga MR (2007). Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): Light, temperature and gibberellic acid effects. Journal of Arid Environments, 69: 169-176.

Bajehbaj, A (2010). The effects of NaCl priming on salt tolerance in sunflower germination and seedling grown under salinity conditions. *African Journal of Biotechnology*, 9: 1764-1770.

Bassam A. (2012). Clinical Pharmacy Discipline, School of Pharmaceutical Sciences, University of Sains Malaysia. *Pharmaceut Anal Acta*, 3: 10.

Bastam N, Baninasab B, Ghobadi C (2013). Improving salt tolerance by exogenous application of salicylic acid in seedlings of pistachio. *Plant Growth Regulation*, 5 :275-284

Biswas S, Sil P, Majumder B, Biswas A (2023). Efficacy of seed priming strategies for enhancing salinity tolerance in plants: An overview of the progress and achievements, *Plant Stress*, 100186.

Christos AD, Spyridon DK, Sideris F (2019). Hydropriming effects on seed germination and field performance of faba bean in spring sowing. *Agriculture*, 9: 201.

Dalil B (2014). Response of medicinal plants to seed priming: a review. *International Journal of plant, animal and enviromental Sciences*, 4(2): 741-745.

Daszkowska-Golec A (2011). Arabidopsis seed germination under abiotic stress as a concert of action of phytohormones. *OMICS*, 15: 763-774.

Doulatabadian A, Sanavy AM, Etemadi F (2008). Effect of pretreatment of salicylic acid on wheat (*Triticum aestivum* L.) Seed germination under salt stress. *Iranian Journal of biology*, 4: 692-702.

Elmastas M, Ozturk L, Gokce I, Erenler R, Aboul-Enein HY (2004). Detremination of antioxidant activity of marshmallow flower (*Althaea officinalis*) *Analytical Letters*, 37: 1859-1869.

- Fahamiya N, Shiffa M, Aslam M (2016). A comprehensive review on *Althaea Rosea* Linn. Indo American Journal of Pharmaceutical Research, 6(11): 1-7.
- Ghiyasi M, Zardhoshty MR, Mogadam AF (2008). Effect of Osmopriming in Seed Germination Seedling Growth in Corn (*Zea mays* L.) Seeds Medwells Journal, 779-782.
- Habibi N, Aryan S, Amin, Wasif M, Sanada A, Terada N, Koshio K (2023). Potential Benefits of Seed Priming under Salt Stress Conditions on Physiological, and Biochemical Attributes of Micro-Tom Tomato Plants. Plants, 12.
- Harrap S. (2013). Harrap's Wild Flowers. London: Bloomsbury Wildlife.
- Harris D, Hollington PA (2001). 'On-farm' seed priming -an update. Tropical Agriculture Association (UK) Newsletter, 21(4): 7.
- Ibrahim, E. (2016). Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. Journal of Plant Physiology, 192C: 38-46.
- Jafar MZ, Farooq M, Cheema MA, Afzal I, Basra SMA, Wahid, MA, Aziz T, Shahid M (2012). Improving the performance of wheat by seed priming under saline conditions. Journal of Agronomy and Crop Science, 198: 38-45.
- Kalam M, Ahmad R, Avid M, Rahim A, Habib A (2023). Khatmi (*Althea officinalis*). Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 13: 10.
- Kardosova A, Machova E. (2006). Antioxidant activity of medicinal plant polysaccharides. Fitoterapia, 77: 367-373.
- Khan AM, Ahmed MZ, Hameed A (2006). Effect of sea salt and Lascorbic acid on the seed germination of halophytes. Journal of Arid Environments, 67: 535-540.
- Khan MB, Gurchani MA, Freed S, Jabran K, Hussain M (2014). Osmopriming improves the emergence, growth, nutrient uptake and soluble sugar contents of wheat seedlings. Soil & Environment (SE), 33, 142-148.

Khan MO, Irfan M, Muhammad A, Ullah I, Nawaz S, Khalil MK, Ahmad M (2022). A practical and economical strategy to mitigate salinity stress through seed priming. *Frontiers in Environmental Science*, 10: 991977.

Kianitalaei A, ohre Feyzabadi Z, Hamed S, Qaraaty M (2019). *Althaea Officinalis* in Traditional Medicine and modern phytotherapy. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 9(2): 154-161.

Kinghorn AD. (2001). Pharmacognosy in the 21st century. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53(2): 135-48.

Krupa-Małkiewicz M, Smolik, B, Sędzik M (2019). Influences of ascorbic acid and gibberellic acid in alleviating effects of salinity in *Petunia* under in vitro. *Phyton*, 88, 15-23.

Lazim SK, Ramadhan M (2020). Study effect of a static magnetic field and microwave irradiation on wheat seed germination using different curves fitting model. *Journal of Green Engin*, 10: 3188-3205

Ljubica Š, Vojvodić K, Petrovic B, Popovic V, Filipovic V, Živanović L, Golijan J, Buric M (2023). Cultivation, importance and possibilities of application of medicinal plants in medicine. 1st International Symposium on Biotechnology.

Lubbe A, Verpoorte R (2011). Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial Crops and Products*, 34: 785-801.

Maiti R, Pramanik K (2013). Vegetable seed priming: a low cost, simple and powerful techniques for farmers' livelihood. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 4: 475-481.

Mangena P (2020). Effect of hormonal seed priming on germination, growth, yield and biomass accumulation in soybean grown under induced drought stress. *Indian Journal of Agricultural Research*, 2-7.

Mani, S (2016). Importance and uses of medicinal plants-an overview. *International Journal of Preclinical & Pharmaceutical Research*, 7: 67.

Mehreen A, Waheed M, Liaqat I, Arshad N (2016). Phytochemical, antimicrobial, and toxicological evaluation of traditional herbs used to treat sore throat. *BioMed Research International*, 2016: 8503426.

Mofokeng M, Plooy C, Araya HT, Amoo S, Mokgehele S, Pofu M, Mashela P (2022). Medicinal plant cultivation for sustainable use and commercialisation of high-value crops. *South African Journal of Science*, 118.

Nile S, Thiruvengadam M, Wang Y, Samynathan R, Shariati M, Ali R (2022). Nano-priming as emerging seed priming technology for sustainable agriculture—recent developments and future perspectives. *Nanobiotechnology*, 20.

ÖZDEMİR F, TURAN M (2023). Investigation of antimicrobial and anticancer activity of extracts obtained following UV application to *Althaea officinalis* L. callus cultures. Investigation of antimicrobial and anticancer activity of extracts obtained following UV application to *Althaea officinalis* L. callus cultures. *International Journal of Secondary Metabolite*, 10: 425-436.

Padulosi S, Leaman D, Quek P (2002). Challenges and Opportunities in Enhancing the Conservation and Use of Medicinal and Aromatic Plants. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 9: 243-267.

Pavunraj M, Ramasubbu G, Baskar K. (2017). *Leucas aspera* (Willd.) L.: Antibacterial, antifungal and mosquitocidal activities. *Trends in Phytochemical Research*, 1(3): 135-142.

Rajabi Dehnavi A, Zahedi M, Ludwiczak A, Pérez S, Piernik A (2020). Effect of Salinity on Seed Germination and Seedling Development of Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Genotypes. *Agronomy*, 10: 859.

Rajpar I, Khanif YM, Memon AA (2006). Effect of Seed Priming on Growth and Yield of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Under Non-Saline Conditions. *International Journal of Agricultural Research*, 1(3): 259-264.

Rauf F, Kabir M, Mia Md, Rhaman M (2022). Gibberellic Acid Enhances the Germination and Growth of Maize under Salinity Stress. *Asian Plant Research Journal*, 10, 5-15.

Rezaei E, Haghighikhah M, Ghorbani S, Kafi M (2013). Effect of seed priming on seed germination properties of two medicinal species in the presence of salinity. *Journal of medicinal plant research*, 7: 1234-1238.

Rhaman MS, Imran S, Rauf F, Khatun M, Baskin CC, Murata Y, Hasanuzzaman M (2021). Seed priming with phytohormones: An effective approach for the mitigation of abiotic stress. *Plant*, 10: 37.

Rhaman MS, Imran S, Rauf F, Khatun M, Carol C, Baskin C (2021). Seed priming with phytohormones: An effective approach for the mitigation of abiotic stress. *Plants*, 5: 37.

Ross IA (2001). *Althaea officinalis*. NJ: Humana Press.

Saheed M, Moses, N, Ikhajiagbe B (2022). Seed Priming with Phytohormones. Intechopen.

Sardar R, Ahmed S, Yasin N.A (2021). Seed priming with karrikinolide improves growth and physiochemical features of coriandrum sativum under cadmium stress. *Environmental Advances*, 100082.

Schippmann U, Leaman DJ, Cunningham AB (2002). Impact of cultivation and gathering of medicinal plants on biodiversity: Global trends and issues. Rome: Inter-Departmental Working Group on Biological Diversity for Food and Agriculture.

Sedghi M, Nemati A, Esmailpour Behrooz. (2010). Effect of seed priming on germination and seedling growth of two medicinal plants under salinity. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 17, 130.

Shahzad K, Hussain S, Arfan M, Hussain S, Waraich EA, Zamir S, Saddique M, Rauf A, Kamal KY, Hano C, El-Esawi MA (2021). Exogenously Applied Gibberellic Acid Enhances Growth and Salinity Stress Tolerance of Maize through Modulating the Morpho-Physiological, Biochemical and Molecular Attributes. *Biomolecules*, 11(7):1005.

Shihab MO, Hamza JH (2020). Seed priming of sorghum cultivars by gibberellic and salicylic acids to improve seedling growth under irrigation with saline water. *Journal of Plant Nutrition*, 43: 1951-1967.

Siwek P (1999). Pro-ecological aspects of plastic covers application in the early cucumber cultivation. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol, 466: 513-527.

Solomou A, Martinos K, Skoufogianni E, Danalatos N (2015). Medicinal and aromatic plants in Greece and their future prospects: a review. Agricultural Science, 4: 9-20.

Thakur M, Tiwari S, Kataria S, Anand A (2022). Recent advances in seed priming strategies forenhancing planting value of vegetable seeds. Scientia Horticulturae, 305: 111355.

Tian Y, Guan, B, Daowei Z, Junbao Y, Guangdi L, Yujie L (2014). Responses of Seed Germination, Seedling Growth, and Seed Yield Traits to Seed Pretreatment in Maize (*Zea mays* L.). The Scientific World Journal, 37(2): 303-315.

Tiryaki I, Buyukcingil Y (2009). Seed priming combined with plant hormones: influence on germination and seedling emergence of sorghum at low temperature. Seed Science and Technology, 303-315.

Van Wyk AS, Prinsloo G (2018). Medicinal plant harvesting, sustainability, and cultivation in South Africa. Biological Conservation, 27: 335-342.

Zhu ZH. Sami A, Xu QQ, Wu LL, Zheng WY, Chen ZP, Jin XZ, Zhang H, Li Y, Yu Y (2021). Effects of seed priming treatments on the germination and development of two rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties under the coinfluence of low temperature and drought. PLoS One, 16: e0257236.