



Σχολή Γεωπονικών Επιστημών

Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**«Επαγωγή της βλάστησης στο είδος *Atropa belladonna* L.: επιδράσεις στις
παραμέτρους βλάστησης και ανάπτυξης των σποροφύτων»**

ΒΑΣΙΛΙΚΗ ΚΕΧΑΓΙΑ



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

ΒΟΛΟΣ, 2024

**«Επαγωγή της βλάστησης στο είδος *Atropa belladonna* L.: επιδράσεις στις
παραμέτρους βλάστησης και ανάπτυξης των σποροφύτων»**

**«Seed priming in *Atropa belladonna* L.: effects on parameters of germination
and seedling growth»**

Βασιλική Κεχαγιά

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

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

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την περάτωση της πτυχιακής μου διατριβής, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους ανθρώπους που συνέδραμαν σε αυτή την προσπάθεια.

Για αρχή, 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 θέματος και την καθοδήγηση καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Ευαγγελία Παναγιωτάκη, μέλος ΕΔΙΠ στο Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, που επικούρησε στη συγγραφή της πτυχιακής διατριβής καθώς και την υποψήφια διδάκτορα του Εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, Χριστίνα Τούμπου, για την άριστη συνεργασία και την βοήθειά της κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

Ευχαριστώ, ακόμη, τον κ. Νικόλαο Δαναλάτο, Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος για τη συμμετοχή του στην τριμελή εξεταστική επιτροπή και τον κ. Κυριάκο Γιαννούλη, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος για τις χρήσιμες βιβλιογραφικές προτάσεις του και την συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την οικονομική και ψυχολογική στήριξη όλα αυτά τα χρόνια, τις συμφοιτήτριές μου Έλενα Μασούρα και Αγγελική Κουκόλη και τη φίλη μου Αργυρώ Αλεβιζάκη για την παρότρυνση και την στήριξη κατά τη συγγραφή της παρούσας πτυχιακής διατριβής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ 6

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
ΓΕΝΙΚΑ	8
1.1 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΕΙΔΗ.....	9
1.1.1 Διατήρηση Φαρμακευτικών Ειδών	10
1.1.2 Χρήσεις και Αξία των Φαρμακευτικών Ειδών	14
1.1.3 Φαρμακευτικά Είδη-Αντικείμενο Εμπορικής Καλλιέργειας	16
1.1.4 Στόχοι Βελτίωσης των Φαρμακευτικών Ειδών.....	17
1.2 ΤΟ ΕΙΔΟΣ <i>Atropa belladonna</i> L.	18
1.2.1 Ταξινόμηση – Καταγωγή και εξάπλωση.....	18
1.2.2 Βοτανική περιγραφή – Βιολογικός κύκλος.....	19
1.2.3 Αγροκλιματικές Απαιτήσεις.....	21
1.2.4 Η φαρμακευτική αξία του είδους <i>Atropa belladonna</i> L.	22
1.3 ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ – SEED PRIMING	24
1.3.1 Η σημασία του σταδίου της βλάστησης.....	24
1.3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την βλάστηση.....	24
1.3.3 Μέθοδοι διέγερσης της βλάστησης – Seed priming	26
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	30
2. ΥΛΙΚΑ – ΜΕΘΟΔΟΙ	31
2.1 Γενετικό υλικό	31
2.2 Τεχνητή διέγερση της βλάστησης.....	31
2.2.1 Απολύμανση σπόρων	31
2.2.2 Μεταχειρίσεις.....	32
2.2.3 Πειραματικό σχέδιο – Παράμετροι αξιολόγησης	34
2.3 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων	35
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	36
3.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%).....	36
3.2 Μήκος ρίζας.....	41
3.3 Μήκος βλαστού	44
3.4 Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC) (%)	47
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	53
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	57

Ξένη Βιβλιογραφία	57
Ελληνική Βιβλιογραφία	62

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Μεσογειακή λεκάνη αποτελεί διαχρονικά ένα θησαυρό χλωρίδας, όπου φιλοξενείται περίπου το 50% της φυτικής ποικιλότητας της Ευρώπης. Συγκεκριμένα η Ελλάδα, εξαιτίας της εκτενούς ακτογραμμής και των πολλαπλών υψομετρικών διαφορών, φιλοξενεί περίπου 6000 είδη, εκ των οποίων τα 700 χαρακτηρίζονται ως ενδημικά και τα 500-600 κατατάσσονται στην κατηγορία των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Τα τελευταία χρόνια, αναδεικνύονται ολοένα και περισσότερο οι λειτουργικές ιδιότητες των αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών, με αποτέλεσμα να αυξάνει προοδευτικά αφενός μεν η ζήτηση προϊόντων φυτικής προέλευσης και αφετέρου η ενσωμάτωσή τους σε ποικίλες βιομηχανικές εφαρμογές, όπως αυτές της παραγωγής φαρμάκων, τροφίμων και καλλυντικών. Απόρροια της τάσης αυτής αποτελεί η υπερεκμετάλλευση των αυτοφυών ειδών χλωρίδας, η οποία συχνά ελλοχεύει κινδύνους εξαφάνισης πολύτιμων ειδών. Από την άλλη, οι προσπάθειες εντατικοποίησης της καλλιέργειας αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών συναντούν περιορισμούς που σχετίζονται κυρίως με το μειωμένο δυναμικό βλάστησης και το ασύγχρονο φύτρωμα των εν λόγω ειδών, κατευθύνοντας την καλλιέργεια σε ανεπιτυχή εγκατάσταση και μειωμένη απόδοση. Βάσει των ανωτέρω, η ανάπτυξη πρωτοκόλλων που ενισχύουν την αποδοτικότητα της καλλιέργειας αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών τίθεται ως στόχος μείζονος σημασίας. Στο πλαίσιο αυτό, η παρούσα μελέτη εστίασε στην αντιμετώπιση των προβλημάτων μειωμένης και ασυγχρόνιστης βλάστησης στο φαρμακευτικό είδος *Atropa belladonna* L. Για το σκοπό αυτό, διερευνήθηκε η επίδραση διάφορων διεγερτών βλάστησης σε σπόρους του είδους. Εφαρμόστηκαν φυσικές και χημικές τεχνικές διέγερσης της βλάστησης που περιλαμβάνουν την ενυδάτωση των σπόρων, την οσμωτική επαγωγή (50, 100 mM NaCl), την ορμονική επαγωγή (50, 100 μ M GA₃) και τη θρεπτική επαγωγή (50, 100 mg L⁻¹ L-ascorbic acid), ενώ σπόροι που δεν δέχθηκαν καμία μεταχείριση αξιοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων βασίστηκε σε γνωρίσματα που χρησιμοποιούνται ευρέως ως δείκτες εκτίμησης του δυναμικού βλάστησης των σπόρων, όπως το ποσοστό βλάστησης, το μήκος ρίζας και το μήκος βλαστού των σποροφύτων και το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας. Τα συνολικά ευρήματα υπογραμμίζουν τη σημαντική επίδραση των μεταχειρίσεων διέγερσης στο ποσοστό βλάστησης των σπόρων και στο ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων, ενώ αναδείχθηκε η απουσία σημαντικών επιδράσεων στο δυναμικό ανάπτυξης των σποροφύτων. Λαμβάνοντας

υπόψη το σύνολο των αποτελεσμάτων, εξάγεται το συμπέρασμα ότι οι υπό μελέτη μεταχειρίσεις δεν οδηγούν σε ουσιαστική ενίσχυση του δυναμικού βλάστησης και ανάπτυξης των σποροφύτων στο είδος *Atropa belladonna*.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΓΕΝΙΚΑ

Από την αρχαιότητα, οι περισσότεροι πολιτισμοί χρησιμοποιούσαν τα αυτοφυή φυτά ως πρώτη ύλη για παρασκευή φαρμάκων, έπειτα από διαδικασίες αποξήρανσης, θρυμματισμού και εκχύλισής τους. Μέχρι και σήμερα, μεγάλο μέρος του πληθυσμού εξακολουθεί να χρησιμοποιεί τα αυτοφυή φυτικά είδη για την κάλυψη ποικίλων αναγκών που εκτείνονται στους τομείς της υγείας, κοσμετολογίας και διατροφής. Η σύγχρονη τάση για υιοθέτηση ενός πιο υγιεινού μοντέλου ζωής και διατροφής έχει στρέψει τους καταναλωτές προς τη χρήση προϊόντων φυτικής προέλευσης, λόγω των εξαιρετικών λειτουργικών ιδιοτήτων τους, που συχνά υπερέχουν έναντι των αντίστοιχων συνθετικών σκευασμάτων. Παράλληλα, η συνεχής αύξηση του ανθρώπινου πληθυσμού σε παγκόσμιο επίπεδο, καθιστά επιτακτική την ανάγκη εντατικοποίησης της παραγωγής φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών, συμπεριλαμβανομένων αυτών που στο παρελθόν δεν είχαν τύχει συστηματικής μελέτης και χρήσης.

Το δυναμικό βλάστησης των σπόρων των φαρμακευτικών ειδών αποτελεί έναν από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν τη δυνατότητα καλλιέργειάς τους. Η βλάστηση του σπόρου αναφέρεται στη ρήξη του περιβλήματος και την έκπτυξη του ριζιδίου. Μεταξύ των παραγόντων που επιδρούν στη βλάστηση των σπόρων, η διαθέσιμη υγρασία, το οξυγόνο, η θερμοκρασία και το φως συγκαταλέγονται στους πλέον καθοριστικούς. Στα αρωματικά – φαρμακευτικά είδη, συχνά παρατηρείται αναστολή της βλάστησης, λόγω ληθάργου, ακόμη και υπό συνθήκες επάρκειας νερού και οξυγόνου, με αποτέλεσμα το ασύγχρονο φύτρωμα και τη μετέπειτα ανεπιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας που οδηγεί σε σημαντική μείωση του δυναμικού απόδοσης. Ως φαινόμενο, ο λήθαργος μπορεί να οφείλεται στην αδιαπερατότητα του περισπερμίου, στην ανωριμότητα του εμβρύου, στην περιεκτικότητα σε φαινολικές ουσίες που λειτουργούν ανασταλτικά, όπως το αμπισισικό οξύ (ABA), αλλά και σε εξωγενείς παράγοντες που σχετίζονται με το περιβάλλον. Η διακοπή του ληθάργου μπορεί να επιτευχθεί μέσω ρύθμισης της θερμοκρασίας, του φωτισμού και της επάρκειας νερού, ενώ η ενίσχυση της βλάστησης εν γένει μπορεί να προσεγγιστεί και

μέσω της χρήση διαφόρων παραγόντων που δρουν ως διεγέρτες, όπως το γιββεριλικό οξύ, το ασκορβικό οξύ και το χλωριούχο νάτριο.

Πέραν των προβλημάτων που σχετίζονται με το κρίσιμο στάδιο της βλάστησης των σπόρων, άλλοι παράγοντες που δρουν ανασταλτικά στις προοπτικές εντατικής καλλιέργειας των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών είναι η απουσία πιστοποιημένου σπόρου και πολλαπλασιαστικού υλικού, η έλλειψη μονάδων επεξεργασίας καθώς και η έλλειψη βελτιστοποιημένων πρωτοκόλλων καλλιέργειας για το εκάστοτε είδος. Ωστόσο, είναι γεγονός ότι τα τελευταία χρόνια η έρευνα σχετικά με την καλλιέργεια αλλά και τη δυνητική αξιοποίηση των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών συμπεριλαμβάνει ολοένα και περισσότερα είδη, συμβάλλοντας στην προοδευτική ενσωμάτωσή τους σε ποικίλους τομείς της βιομηχανίας.

1.1 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΕΙΔΗ

Η ταξινόμηση των φαρμακευτικών φυτών κατά κανόνα γίνεται βάσει της χημικής ουσίας που παράγουν, οπότε διακρίνονται σε αυτά που περιέχουν αλκαλοειδή, γλυκοζίτες, αιθέρια έλαια και άλλες ουσίες, όπως οι ρητίνες και οι ελαιορητίνες. Μεταξύ των σημαντικότερων οικογενειών φαρμακευτικών φυτών με ευρεία χρήση στην φαρμακευτική βιομηχανία συγκαταλέγονται οι Alliaceae, Apiaceae, Araliaceae, Asphodelaceae, Asteraceae, Caesalpiniaceae, Fabaceae, Hypericaceae, Lamiaceae, Palmaceae, Papaveraceae, Piperaceae, Poaceae, Rhamnaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Solanaceae, Zingiberaceae, Ginkgoaceae, Pinaceae. Αντίστοιχα, στην κατηγορία των αρωματικών φυτών, ως σημαντικότερες θεωρούνται οι οικογένειες Lamiaceae, Lauraceae, Apiaceae, Asteraceae, Pandanaceae, Myrtaceae, Umbelliferae.

Η ποικιλότητα των φυτικών ειδών και γενικότερα των ζώντων οργανισμών εξαρτάται άμεσα από την εξελικτική διαδικασία (Κουτσός, 2006). Η Ελλάδα, παρά τη μικρή της έκταση, διαθέτει αξιοσημείωτη βιοποικιλότητα και φυτογενετικούς πόρους που την κατατάσσουν στα «θερμά σημεία βιοποικιλότητας» ή αλλιώς «biodiversity hot spots» του πλανήτη (Μαλούπα κ.ά, 2013). Ως ζώνη βιοποικιλότητας, η Ελλάδα φιλοξενεί αρκετά είδη τα οποία συγκαταλέγονται είτε στα σπάνια είτε στα απειλούμενα είδη, που περιλαμβάνουν τόσο κινδυνεύοντα όσο και κρίσιμως κινδυνεύοντα είδη, ενώ ορισμένα εξ αυτών είναι ενδημικά που φύονται αποκλειστικά σε περιοχές της χώρας. Τα αυτοφυή

φυτά ανέρχονται σε περίπου 6500 είδη και υποείδη, συνιστώντας κατά προσέγγιση το ήμισυ της ευρωπαϊκής βιοποικιλότητας σε αυτοφυή είδη.

Ο Ελλαδικός χώρος, λόγω των ιδιαίτερων εδαφοκλιματικών συνθηκών, θεωρείται ιδανικός για την καλλιέργεια αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών, παρέχοντας πληθώρα εδαφικών τύπων που καλύπτουν τις ανάγκες του εκάστοτε είδους. Παρά την καταλληλότητα των εδαφών και τη σημαντική βιοποικιλότητα, τα ελληνικά εδάφη δεν αξιοποιούνται ευρέως για καλλιέργεια αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Αντίθετα, παρατηρείται εκτεταμένη συλλογή από αυτοφυείς πληθυσμούς αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών από οργανισμούς - κυνηγούς, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Ως απότοκο, η διατήρηση και διαίωνιση των διάφορων ειδών και υποειδών έχει τεθεί σε κίνδυνο, λόγω καταστροφής των φυτικών στελεχών, όπως οι ρίζες, που στηρίζουν το υπέργειο τμήμα του φυτού, και τα άνθη, που φέρουν το σπόρο για την αναπαραγωγή του είδους. Βάσει των ανωτέρω, γίνεται σαφές ότι η εντατικοποίηση της καλλιέργειας αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών καθίσταται ύψιστης σημασίας τόσο για την κάλυψη των συνεχώς αυξανόμενων αναγκών της βιομηχανίας όσο και για την αποφυγή των κινδύνων που απορρέουν από την υπερεκμετάλλευση των αυτοφυών πληθυσμών.

1.1.1 Διατήρηση Φαρμακευτικών Ειδών

Η Ελλάδα ως κέντρο των τριών ηπείρων, Ευρώπης, Ασίας και Αφρικής, έχει αποτελέσει, για αιώνες, σημείο διασποράς και εξάπλωσης πολλών φυτικών ειδών. Στα είδη που απαντώνται στη χώρα συγκαταλέγονται ποικίλα καλλιεργούμενα αλλά και άγρια συγγενή είδη, πολυάριθμα αυτοφυή και ενδημικά αρωματικά και φαρμακευτικά. Το ιδιαίτερο κλίμα και έδαφος της χώρας, η ανθρώπινη παρέμβαση, η κατανομή των φυτικών ειδών καθώς και η εξελικτική διαδικασία συνεπικούρησαν στον εμπλουτισμό της βιοποικιλότητας. Εξάλλου, το ποσοστό ενδημικών ειδών, που ανέρχεται στο 22,2%, καθιστά την Ελλάδα έναν θησαυρό φυτογενετικών πόρων που απαιτεί εντατικοποιημένη και αειφόρο αξιοποίηση και διατήρησή τους.

«Ως φυτογενετικοί πόροι νοούνται οι τοπικές παραδοσιακές ποικιλίες, γνωστές και ως γηγενείς ή αυτόχθονες, τα άγρια συγγενή είδη των καλλιεργούμενων φυτών, οι παλιές ξεχασμένες ποικιλίες, οι βελτιωμένες ποικιλίες και κλώνοι καθώς και οι σύγχρονες

ποικιλίες» (Μυλωνά, 2017). Η ποικιλότητα αυτή έχει διαμορφωθεί με την πάροδο του χρόνου από διάφορα γεωγραφικά σημεία και παρουσιάζει πλήθος πολύτιμων χαρακτηριστικών, αναγκαίων για την βελτίωση των ειδών και την προσαρμογή τους σε νέες συνθήκες ανάπτυξης. Μία σημαντική μερίδα των φυτικών ειδών διατηρείται από την Τράπεζα Διατήρησης Γενετικού Υλικού (ΤΓΥ), ο ρόλος της οποίας «... επικεντρώνεται στη συλλογή, διατήρηση, χαρακτηρισμό και αξιοποίηση των φυτογενετικών πόρων για τη γεωργία και τη διατροφή» (Μυλωνά, 2017).

Για τη διατήρηση και προστασία των φυτογενετικών πόρων ακολουθούνται δύο διαφορετικές στρατηγικές: *Ex Situ* και *In Situ*. Η στρατηγική της *In situ* διατήρησης αφορά στην προστασία των γενετικών πόρων στο φυσικό τους περιβάλλον ή ενδιαίτημα. Η *Ex situ* διατήρηση ή «απομακρυσμένη διατήρηση» αναφέρεται στη μερική αναπαραγωγή ενός πληθυσμού σε προστατευμένο περιβάλλον και στη μετέπειτα εγκατάστασή του σε φυσικό περιβάλλον ή ενδιαίτημα. Ανάλογες διαδικασίες ακολουθούνται και στους ζωικούς πληθυσμούς, όπου η *Ex situ* διατήρηση αφορά σε μερική αναπαραγωγή ενός πληθυσμού σε αιχμαλωσία και μετέπειτα επανένταξη των απογόνων του πίσω στη φύση. Εφόσον το ποσοστό επιβίωσης του αιχμάλωτου πληθυσμού είναι υψηλό σε σχέση με αυτό του άγριου και η επιστροφή των αιχμάλωτων απογόνων στη φύση είναι επιτυχής, η *Ex situ* διατήρηση θεωρείται ως κατάλληλη στρατηγική για την ενίσχυση του πληθυσμού και την ελάττωση κινδύνου εξαφάνισής του. Ο σκοπός της *Ex situ* στρατηγικής είναι η διατήρηση των ατόμων σε αιχμαλωσία μέχρι το πληθυσμιακό μέγεθος και οι συνθήκες ανάπτυξης να είναι ευνοϊκές για την επανένταξη του πληθυσμού στο φυσικό ενδιαίτημα, παράλληλα με την αλληπάλληλη επανείσοδο των αιχμάλωτων ατόμων στη φύση για την ανάπτυξη των διαφόρων πληθυσμών.

Στοχεύοντας στη διατήρηση των φυτογενετικών πόρων, η *Ex situ* στρατηγική περιλαμβάνει πέντε ευρύτερες κατηγορίες διατήρησης:

In vivo τεχνικές:

- Αποθήκευση Σπόρων (Seed Storage): πραγματοποιείται δειγματοληψία σπόρων από ένα συγκεκριμένο γεωγραφικό σημείο και αποθήκευση αυτών κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας, συνηθέστατα σε Τράπεζες Διατήρησης Γενετικού Υλικού. Προ της αποθήκευσης, γίνεται αποξήρανση των σπόρων ώστε να φτάσουν στο κατάλληλο ποσοστό υγρασίας.

- Field Gene Bank: περιλαμβάνει τη συλλογή σπόρων από ένα γεωγραφικό σημείο και μεταφορά αυτών ώστε να ακολουθήσει φύτευσή τους. Αξιοποιείται ως μέθοδος διατήρησης συγκεκριμένων (λίγων) ειδών.
- Βοτανικοί κήποι (Botanic Garden/Arboretum): πραγματοποιείται συλλογή σπόρων και φυτικών μερών που θεωρούνται ως κατάλληλα για αναπαραγωγή, σπορά ή φύτευση σε κήπους ή δενδρώνες. Χρησιμοποιείται για τη διατήρηση ελάχιστων ειδών.
- Αποθήκευση DNA/γύρης: αφορά σε συλλογή DNA και γύρης και διατήρησή τους σε κατάλληλες συνθήκες (συνήθως ψύξης).

In vitro τεχνικές:

- Ιστοκαλλιέργεια (μικροπολλαπλασιασμός): αποτελεί μέθοδο παραγωγής αγενώς πολλαπλασιαζόμενου υλικού με χρήση φυτικών τμημάτων, ιστών και κυττάρων. Πραγματοποιείται αποκοπή των εκφύτων από το μητρικό φυτό και ανάπτυξή τους σε ασηπτικές και πλήρως ελεγχόμενες συνθήκες, εντός δοκιμαστικών σωλήνων ή δοχείων. Θεωρητικά, οποιοδήποτε φυτικό όργανο ή τμήμα του φυτού, όπως τμήμα βλαστού, φύλλου, ρίζας, ανθήρες, έμβρυα, ωοθήκες, έχει δυνατότητα *in vitro* καλλιέργειας και ανάπτυξης νέων ιστών και φυταρίων.

Η διαδικασία της ιστοκαλλιέργειας περιλαμβάνει την επιλογή γονικού υλικού, εκφύτου, θρεπτικού υποστρώματος και των απαραίτητων συνθηκών καλλιέργειας. Ακολουθεί η απολύμανση του φυτικού τμήματος/ιστού, η τοποθέτηση σε κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα, η έκπτυξη βλαστού και ακολούθως ριζών. Έπειτα, τα φυτά εγκλιματίζονται στις συνθήκες περιβάλλοντος, σκληραγωγούνται εντός θερμοκηπίων και τέλος αποθηκεύονται σε θαλάμους συντήρησης.

- Κρυοσυντήρηση: αποτελεί σπουδαία μέθοδο αποθήκευσης γενετικού υλικού. Συνήθως περιλαμβάνει την ψύξη των φυτών με υγρό άζωτο, σε συνθήκες θερμοκρασίας -196°C . Τα βήματα που ακολουθούνται για την κρυοσυντήρηση περιλαμβάνουν τον εμποτισμό με κρυοπροστατευτικά διαλύματα (αιθυλική γλυκερόλη, DMSO), την πρόψυξη, όπου τα φυτά ψύχονται αργά, και την μετάβαση στους -196°C . Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η διακοπή της μεταβολικής λειτουργίας των κυττάρων, ενώ η επαναφορά αυτής γίνεται με τοποθέτηση των καλλιεργειών στους $35-40^{\circ}\text{C}$, όπου λαμβάνει χώρα η απόψυξη και η αναγέννηση των κυττάρων. Συνίσταται η χρήση τμημάτων βλαστών,

εμβρύων και μικρών φυτών για αυτού του είδους την αποθήκευση. Οι λόγοι που σχετίζονται με τη διάκριση των ανωτέρω φυτικών μερών είναι η γενετική αστάθεια των κυττάρων στους κάλλους, η απώλεια δυναμικότητας και επαναβλάστησης των κυττάρων καθώς και το γεγονός ότι τα κύτταρα από κορυφές βλαστών ή εμβρύων να επιβιώνουν καλύτερα στην θερμοκρασία του υγρού αζώτου.

Παρά τη χρησιμότητα και το εύρος εφαρμογών των *ex situ* μεθόδων διατήρησης του γενετικού υλικού, παρουσιάζονται ορισμένοι περιορισμοί που σχετίζονται πρωτίστως με το μικρό μέγεθος των πληθυσμών που βρίσκονται υπό προστασία. Άμεση συνέπεια αυτού είναι η ομομιξία (inbreeding), η οποία προκύπτει ως αποτέλεσμα της αναπόφευκτης διασταύρωσης με συγγενείς πληθυσμούς, οδηγώντας τελικά σε μείωση της γενετικής παραλλακτικότητας και αύξηση της ομοζυγωτίας. Απόρροια των ανωτέρω αποτελεί ο ομομικτικός εκφυλισμός (inbreeding depression) που ουσιαστικά αφορά στην αύξηση του ποσοστού των ομοζυγωτών αλληλομόρφων, συγκεκριμένα των υπολειπόμενων επιβλαβών αλληλομόρφων, η οποία επιφέρει μείωση της προσαρμοστικότητας, ικανότητας επιβίωσης και αναπαραγωγής των ατόμων (Theodorou & Couvet, 2002).

Μία άλλη συνέπεια του μικρού μεγέθους των υπό προστασία πληθυσμών είναι η γενετική παρέκκλιση (genetic drift), η οποία αναφέρεται στη μη καθορισμένη συχνότητα εμφάνισης των αλληλομόρφων. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό γαμετών και έπειτα ζυγωτών με τυχαία αλληλόμορφα, οδηγώντας σε μείωση της γενετικής ποικιλότητας και αύξηση της συχνότητας επιβλαβών αλληλομόρφων. Η συσσώρευση επιβλαβών αλληλομόρφων (accumulation of harmful alleles), εξαιτίας της γενετικής παρέκκλισης και αδυναμίας απομάκρυνσής τους με τη φυσική επιλογή, έχει ως συνέπεια τη μείωση του ποσοστού επιβίωσης και αναπαραγωγής, την περεταίρω συσσώρευση επιβλαβών αλληλομόρφων που αντίστοιχα μειώνουν το μέγεθος του πληθυσμού έως και την εξάλειψή του (Theodorou & Couvet, 2002). Παράλληλα, η συσσώρευση υπολειπόμενων επιβλαβών αλληλομόρφων, ως συνέπεια της γενετικής προσαρμογής κατά την *ex situ* διατήρηση, καθιστά δυσχερή την επανένταξη και εκ νέου προσαρμογή των πληθυσμών στα φυσικά τους περιβάλλοντα (Frankham, 2008).

Γενικά, η απώλεια της γενετικής ποικιλότητας (Loss of genetic diversity) που παρατηρείται υπό συνθήκες *ex situ* διατήρησης επιφέρει μείωση της ικανότητας προσαρμογής των πληθυσμών στα διάφορα περιβάλλοντα, καθιστώντας τη διατήρησή της μείζονος σημασίας (Allendorf & Ryman, 2002).

1.1.2 Χρήσεις και Αξία των Φαρμακευτικών Ειδών

Τα αρωματικά και φαρμακευτικά έχουν ποικίλες χρήσεις στην καθημερινότητα του ανθρώπου αλλά και σε πλήθος βιομηχανικών εφαρμογών. Ερευνητικές μελέτες ανέδειξαν ότι περίπου 70.000 είδη που ανήκουν στην κατηγορία των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών αξιοποιούνται από τη βιομηχανία και κατά κόρον τη φαρμακοβιομηχανία (Farnsworth and Soejarto, 1991). Η καλλιέργειά τους προωθεί την δημιουργία καινούριων καθώς και την βελτίωση των ήδη υφιστάμενων προϊόντων. Ο κύριος λόγος παραγωγής τους είναι η εξαγωγή αιθέριων ελαίων, η εμπορία ξηρής δρόγης και οι χρήσεις τους στη βιομηχανία τροφίμων, ποτών, καλλυντικών, φαρμάκων, αρωμάτων αλλά και στη μελισσοκομία και αρχιτεκτονική τοπίου, όπου χρησιμοποιούνται ως καλλωπιστικά φυτά. Είναι δε χαρακτηριστικό ότι το κάθε είδος που ανήκει στα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά σχηματίζει διαφορετικής σύστασης αιθέριο έλαιο που μπορεί να εμπεριέχει έως και διακόσιες χημικές ενώσεις. Οι ενώσεις αυτές προσδίδουν στο είδος τη χαρακτηριστική οσμή και τις αντίστοιχες θεραπευτικές ιδιότητες, δικαιολογώντας έτσι το μεγάλο εύρος εφαρμογών τους (Lange, 1998; Lange, 2001; Lange, 2002).

Πιο αναλυτικά, οι κύριες χρήσεις των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών αφορούν στους ακόλουθους τομείς:

- Βιομηχανία τροφίμων: Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά χρησιμοποιούνται ευρέως για την παρασκευή αποξηραμένων βοτάνων, δηλαδή ξηρής δρόγης, σε περιέκτες, όπως σακουλάκια ή εμβαπτιζόμενα φακελάκια για την παραγωγή αφεψημάτων, ως έτοιμα ροφήματα για κατανάλωση (π.χ. κρύο τσάι) αλλά και ως ενισχυτικά της γεύσης σε τροφές (Lange, 2001; Lange, 2002). Συνάμα, εξαιτίας της περιεκτικότητάς τους σε αντιμικροβιακές και βακτηριοστατικές ενώσεις, χρησιμοποιούνται και ως φυσικά συντηρητικά των τροφίμων (Preedy, 2016). Ουσίες όπως η χλωροφύλλη, τα καροτενοειδή και η κουρκουμίνη αξιοποιούνται

συστηματικά ως φυσικές χρωστικές διάφορων τροφίμων. Τέλος, η νέα τάση της βιομηχανίας για παραγωγή τροφίμων που προάγουν την υγεία των καταναλωτών, όπως η καλή λειτουργία του εντέρου και η πρόληψη ασθενειών, καθιστά τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά εξαιρετικά χρήσιμα. Προς την κατεύθυνση αυτή, τα κύρια συστατικά ενδιαφέροντος είναι οι πολυφαινόλες, τα γλυκοσίδια κ.α. (Lange, 1998; Petrovska, 2012).

- Βιομηχανία ποτών: Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά χρησιμοποιούνται ευρέως προσδίδοντας γεύση και άρωμα στην παρασκευή ποτών. Ορισμένα από αυτά είναι το ούζο, το τσίπουρο, το τζιν και το βερμούτ (Lange, 1998; Petrovska, 2012).
- Βιομηχανία φαρμάκων: Η χρήση των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη ήδη από την αρχαιότητα. Παρά την αλματώδη πρόοδο της φαρμακοβιομηχανίας τον τελευταίο αιώνα, η οποία έχει επιτρέψει την παραγωγή πληθώρας φαρμάκων με βάση συστατικά χημικής προέλευσης, τα τελευταία χρόνια, υπάρχει μία σαφής τάση προς τα συστατικά φυτικής προέλευσης. Οι καταναλωτές στρέφονται ολοένα και περισσότερο προς προϊόντα που προσκομίζονται άμεσα και χωρίς συνταγή ιατρού, όπως τα συμπληρώματα διατροφής, οι βιταμίνες, τα φυτικά και ομοιοπαθητικά φάρμακα, τα οποία παρασκευάζονται με χρήση συστατικών φυτικής προέλευσης. Παράλληλα, τα συστατικά που προέρχονται από αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά βρίσκουν χρήση και στην παραγωγή των συμβατικών φαρμάκων (Argyropoulos, 2019; Lange, 1998; Lange, 2001; Lange, 2002).
- Βιομηχανία καλλυντικών: Αποτελεί έναν πρόσθετο βιομηχανικό κλάδο όπου γίνεται ευρεία χρήση των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών από την αρχαιότητα. Στην παρασκευή των καλλυντικών προϊόντων αξιοποιούνται τα αιθέρια έλαια, λόγω των αρωματικών, αντιμικροβιακών, βακτηριοστατικών και άλλων πολύτιμων ιδιοτήτων τους. Μεταξύ των πλέον αξιοποιούμενων ειδών συγκαταλέγονται το τσάι του βουνού, η καλέντουλα, η αλόη, το χαμομήλι, η λεβάντα και το δενδρολίβανο, τα οποία βρίσκουν εφαρμογή στην παραγωγή αρωμάτων, κρεμών σώματος και προσώπου, προϊόντων μακιγιάζ κ.α. (Argyropoulos, 2019).

1.1.3 Φαρμακευτικά Είδη ως Αντικείμενο Εμπορικής Καλλιέργειας

Με δεδομένη την σταδιακά αυξανόμενη ενσωμάτωση των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών σε ποικίλους κλάδους της βιομηχανίας, είναι πλέον αδιαμφισβήτητη η αύξηση της οικονομικής και της εμπορικής τους αξίας (ΥΠΑΑΤ, 2018). Είναι ωστόσο γεγονός ότι, λόγω της έλλειψης εντατικών καλλιεργειών των αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται ανεξέλεγκτη συλλογή των φυσικών πληθυσμών από τα φυσικά τους ενδιαιτήματα, η οποία, συνδυαστικά με την υπερβόσκηση, θέτει αρκετά αυτοφυή είδη σε κίνδυνο προς εξαφάνιση (Κατσιώτης και Χατζοπούλου, 2019). Τα ανωτέρω κατέστησαν απαραίτητη την συγκρότηση ενός σχεδίου ανάπτυξης ως προς την καλλιέργεια, την επεξεργασία και την εμπορία των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών με στόχο τον καθορισμό των κατάλληλων συνθηκών ανάπτυξης για την επίτευξη μέγιστων αποδόσεων σε φαρμακευτικές και αρωματικές ουσίες.

Η επιτυχής υλοποίηση του αναπτυξιακού σχεδίου για τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά προϋποθέτει την αντιμετώπιση ορισμένων προβλημάτων που σχετίζονται με την καλλιέργειά τους. Στο επίπεδο αυτό, περιοριστικό παράγοντα αποτελούν οι περιορισμένες βιβλιογραφικές αναφορές, εξαιτίας του μικρού αριθμού επιστημόνων με εξειδίκευση στις καλλιεργειες αυτές. Βασικό ανασταλτικό παράγοντα επίσης αποτελεί το γεγονός ότι στον Ελλαδικό χώρο οι μονάδες επεξεργασίας των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών είναι ελάχιστες και βρίσκονται στο Νομό Κιλκίς και στο Νομό Καρδίτσας (Τσιγαρίδα, 2006). Βέβαια, ως πλέον καθοριστική αναφέρεται η έλλειψη πιστοποιημένου σπόρου/πολλαπλασιαστικού υλικού με γνωστά γενετικά χαρακτηριστικά, καθώς καθιστά αναγκαία την εισαγωγή γενετικού υλικού που πιθανά συνδέεται με υποβάθμιση της ποιότητας (Κουτσός, 2006; Δόρδας, 2012).

Πέραν των παραγόντων που περιορίζουν τις προοπτικές ανάπτυξης του τομέα των αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών, βασικό τροχοπέδη στη δυνητική αξιοποίησή τους αποτελούν τα προβλήματα που συνδέονται άμεσα με την καλλιέργεια, με κυριότερα αυτά που συναντώνται κατά το κρίσιμο στάδιο της βλάστησης. Είναι ευρέως γνωστό ότι η διαδικασία της βλάστησης τίθεται σε λειτουργία μέσω της επαγωγής της αμυλάσης που διασπά το άμυλο του ενδοσπερμίου σε απλά σάκχαρα, τα οποία διαθέτουν την απαιτούμενη ενέργεια στο υπό ανάπτυξη έμβρυο (Wang et al., 2015). Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά χαρακτηρίζονται από χαμηλό δυναμικό

βλάστησης, που συνδυαστικά με την επικράτηση μη ευνοϊκών συνθηκών ανάπτυξης στον αγρό και την επίδραση βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων, οδηγεί σε μειωμένο δυναμικό φυτρώματος και σε ανεπιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας. Τα ανωτέρω έχουν επιδρούν δυσμενώς στην ομοιομορφία και στο συγχρονισμό ανάπτυξης της καλλιέργειας, με αποτέλεσμα τη μείωση του παραγωγικού της δυναμικού (Nonogaki et al., 2010; Mohammad et al., 2020).

1.1.4 Στόχοι Βελτίωσης των Φαρμακευτικών Ειδών

Στην πλειονότητα των καλλιεργούμενων φυτικών ειδών, ως κύριος βελτιωτικός στόχος τίθεται η ενίσχυση της παραγωγικότητας των καλλιεργειών, η οποία βρίσκεται σε άμεση συνάρτηση με το δυναμικό αύξησης και ανάπτυξης των φυτών. Ο γονότυπος σε συνδυασμό με το περιβάλλον καθορίζουν το σύνολο των φυσιολογικών διεργασιών, όπως είναι η φωτοσύνθεση, η αναπνοή, η διαπνοή και η μεταφορά οργανικών ενώσεων μέσω του φλοιώματος, οι οποίες διαμορφώνουν τελικά τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των φυτών, όπως το ύψος, η βιομάζα, η ποσότητα αιθέριου ελαίου, κ.α. (Acquaah, 2012).

Ιδιαίτερα στα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, ως κύριοι βελτιωτικοί στόχοι τίθενται οι ακόλουθοι:

- Εκτίμηση της υπάρχουσας παραλλακτικότητας με σκοπό τη βέλτιστη διαχείριση των διαθέσιμων φυτογενετικών πόρων: «Μία γονιδιακή δεξαμενή (gene pool) είναι ο συνολικός αριθμός και η ποικιλότητα των γονιδίων και των αλληλομόρφων ενός εγγενώς αναπαραγόμενου πληθυσμού που είναι διαθέσιμα για μεταβίβαση στην επόμενη γενεά. Η κατανόηση της δομής ενός πληθυσμού είναι απαραίτητη για τη βελτίωση των φυτών είτε χρησιμοποιούνται συμβατικές είτε μη συμβατικές μέθοδοι» (Acquaah, 2012).

Με δεδομένο ότι οι πληθυσμοί των εν λόγω ειδών είναι κατά βάση αβελτίωτοι, είναι προφανές ότι ο σχεδιασμός και η μετέπειτα εκτέλεση των βελτιωτικών σχημάτων προϋποθέτει μία αρχική εκτίμηση της γενετικής παραλλακτικότητας ώστε να είναι εφικτή η επιλογή του κατάλληλου υλικού εκκίνησης των βελτιωτικών προγραμμάτων.

- Ενίσχυση του δυναμικού βλάστησης: Η μειωμένη βλαστική ικανότητα αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα που δυσχεραίνει την εντατικοποίηση της καλλιέργειας αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Ιδιαίτερα λαμβάνοντας υπόψη ότι στα εν λόγω είδη είναι σχεδόν καθολική η έλλειψη πιστοποιημένου σπόρου, η ενίσχυση του δυναμικού βλάστησης αποτελεί βασικότατο στόχο καθώς θα συνδράμει καθοριστικά στην επιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας.
- Βελτίωση της απόδοσης: «Η απόδοση (yield) είναι ένας γενικός όρος που χρησιμοποιείται από τους καλλιεργητές για να περιγράψει την ποσότητα του φυτικού μέρους ενδιαφέροντος που συγκομίζεται από μία δεδομένη περιοχή κατά το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου ή σε μία δεδομένη χρονική περίοδο» (Acquaah, 2012). Στα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, το ενδιαφέρον προφανώς μετατοπίζεται προς τη μεγιστοποίηση της ποσότητας της βιομάζας που εμφανίζει υψηλό βιοδραστικό δυναμικό.
- Βελτίωση του βιοδραστικού προφίλ: Κύριο στόχο αποτελεί η ενίσχυση της παραγωγής των δευτερογενών μεταβολιτών, ορμονών, φαρμακευτικών ενώσεων, τοξινών, κ.α. Τα προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού απαρτίζουν το 10% του συνολικού μεταβολισμού. Η λειτουργία τους δεν σχετίζεται με τις ζωτικές και τις κυτταρικές διεργασίες αλλά έχει οικολογικό ρόλο (Kennedy and Wightman, 2011) που μπορεί να αφορά σε επίτευξη συμβιωτικών σχέσεων, επιτυχή επικονίαση, ικανότητα ανταγωνισμού με άλλα είδη, αλληλοπάθεια, κ.α. (Buchanan et al., 2000). Επιπλέον, οι δευτερογενείς μεταβολίτες συμβάλλουν στη ρύθμιση των αμυντικών μηχανισμών έναντι παθογόνων αλλά και αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης (Γεωργίου και συν., 2013). Οι δευτερογενείς μεταβολίτες κατηγοριοποιούνται σε τρεις κύριες ομάδες, τα τερπένια, τα φαινολικά συστατικά και τους αζωτούχα συστατικά.

1.2 ΤΟ ΕΙΔΟΣ *Atropa belladonna* L.

1.2.1 Ταξινόμηση – Καταγωγή και εξάπλωση

Το είδος *Atropa belladonna* L. ή στα ελληνικά Άτροπος η ευθάλεια, κοινώς γνωστή ως μπελαντόνα, ανήκει στο βασίλειο των Φυτών (Plantae). Ειδικότερα, ανήκει στην συνομοταξία των Αγγειόσπερμων (Angiosperms), στην ομοταξία των Ευδικότυλων (Eudicots), στην Υφομοταξία των Αστερίδων (Asterids), της τάξεως των Στρυχνωδών

(Solanales), της οικογένειας των Στρυγνοειδών (Solanaceae), όπου ανήκουν ευρέως γνωστά φυτικά είδη, όπως η πατάτα (*Solanum tuberosum*), η ντομάτα (*Solanum lycopersicum*) και η μελιτζάνα (*Solanum melongena*). Τέλος, αντιπροσωπεύεται από το γένος Άτροπος (*Atropa*), ενώ η επιστημονική ονομασία του είδους είναι *Atropa belladonna* L. (Πίνακας 1.1).

Πίνακας 1.1 Συστηματική ταξινόμηση του είδους *Atropa belladonna* L..

Βασίλειο	Plantae
Συνομοταξία	Angiosperms
Ομοταξία	Eudicots
Υφομοταξία	Asterids
Τάξη	Solanales
Οικογένεια	Solanaceae
Γένος	<i>Atropa</i>
Είδος	<i>Atropa belladonna</i> L.

Το είδος *Atropa belladonna* L. εντοπίστηκε αρχικά στην κεντρική και νότια Ευρώπη έως και την Ασία (Grinkevich et al., 1970; Yun et al., 1992; Joshi et al., 2003). Είναι αυτοφυές σε δάση της Βορείου Ελλάδος, ωστόσο παρουσιάζει καλύτερη προσαρμοστικότητα στις ημιορεινές περιοχές (Σκρουμπής 1998), σημειώνοντας εξάπλωση σε περιοχές της Βρετανίας.

Ως είδος είναι αυτοφυούμενο σε ασβεστούχα εδάφη, στη Νότια Σουηδία, όπου καλλιεργείται για φαρμακευτικούς σκοπούς κοντά στο Malmö, στην Ιρλανδία, στη Βόρεια Αμερική σε εδάφη υγρά και πλούσια σε ασβέστιο και στην Αφρική (Southgate et al., 2000; Trabattoni et al., 1984; Lamminpaa and Kinos, 1996; Berdai M. A. et al., 2012).

1.2.2 Βοτανική περιγραφή – Βιολογικός κύκλος

Το φυτό είναι πολυετές και ποώδες (Grinkevich et al., 1970; Yun et al., 1992; Joshi et al., 2003).

Η ρίζα του είναι μακριά, παχιά, σαρκώδης, διακλαδιζόμενη και κοκκινωπού χρώματος (McIntyre et al., 1999) (Εικόνα 1.1). Οι διακλαδώσεις της ρίζας είναι επίσης παχιές, σαρκώδεις, αλλά λευκού χρώματος, και μπορούν να ξεπεράσουν σε μήκος τα 15 εκατοστά (Rita and Animesh, 2011).

Ο βλαστός είναι τρυφερός και αποτελείται από το κεντρικό στέλεχος, το οποίο είναι ευθύ και διακλαδίζεται σε 2-3 επιμέρους βλαστούς. Ο βλαστός εμφανίζει πράσινο – πρασινοκόκκινο μέχρι και μωβ χρώμα και περιβάλλεται από πυκνά και κοντά τριχίδια (Εικόνα 1.1). Το ύψος του φυτού κυμαίνεται στα 0,5-1,5 m (McIntyre et al., 1999; Rita and Animesh, 2011; Σκρουμπής, 1998).

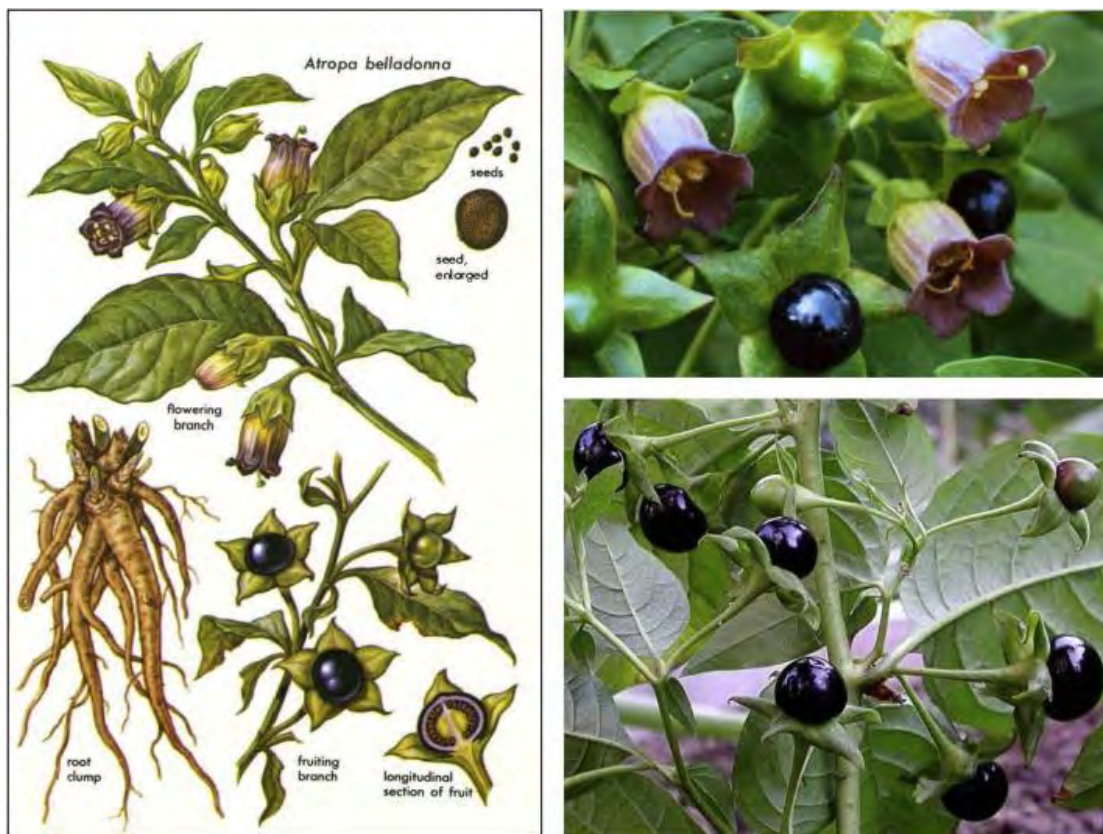
Τα φύλλα είναι πλατιά, ωοειδούς σχήματος και σκούρου πράσινου χρώματος (Εικόνα 1.1). Τα φύλλα είναι μαλακά, έμμισχα και φύονται εναλλασσόμενα, κατά άνισα ζεύγη, καθιστώντας το ένα φύλλο του κάθε ζεύγους μικρότερο σε μέγεθος (Rita and Animesh, 2011; Σκρουμπής, 1998; McIntyre et al., 1999; Berdai M. A. et al., 2012; Joshi et al., 2003).

Τα άνθη του φυτού φέρουν χαρακτηριστικό καμπανόμορφο σχήμα και είναι χρώματος πορφυρού ή ιώδους (Εικόνα 1.1). Στη βάση των ανθέων παρατηρείται μία πιο απαλή χρώση σε σχέση με το υπόλοιπο άνθος. Το μήκος τους κυμαίνεται περί τα 2 cm. Τα άνθη εκπτύσσονται στις μασχάλες των φύλλων (Rita and Animesh, 2011; Σκρουμπής, 1998; Joshi et al., 2003).

Οι καρποί παρομοιάζουν με μούρα, έχουν μαύρο χρώμα, είναι γυαλιστεροί, ο χυμός τους είναι σκούρου χρώματος και η γεύση τους χαρακτηρίζεται από γλυκύτητα (Berdai M. A. et al., 2012; Rita and Animesh, 2011). Κατά την ωρίμανση, οι καρποί μετατρέπονται από μαύροι σε σκούροι κόκκινοι (McIntyre et al., 1999).

Το ριζικό σύστημα, το φύλλωμα και οι καρποί εμπεριέχουν αλκαλοειδή και ειδικότερα την ατροπίνη, την σκοπολαμίνη και την hyocyanine (McIntyre et al., 1999). Στους καρπούς περιέχεται και το αλκαλοειδές ατροπίνη (Harborne, 1998; Wink, 1999). Η μέγιστη συγκέντρωση της ατροπίνης εμφανίζεται στους ώριμους καρπούς καθώς και στα πράσινα φύλλα (Caksen et al., 2003; Joshi et al., 2003). Ωστόσο, τα φύλλα αποτελούνται από περισσότερη κυτταρίνη, χλωροφύλλη και η ρίζα από κυτταρίνη, άμυλο και ινουλίνη (McIntyre et al., 1999).

Οι σπόροι του είδους *Atropa belladonna* L. βλαστάνουν σε 4-6 εβδομάδες, εφόσον έχει προηγηθεί η εγκατάστασή τους σε σπορείο (Rita and Animesh, 2011). Η φύτευση των πρώιμων ποικιλιών γίνεται τους μήνες Σεπτέμβριο με Νοέμβριο, ενώ των όψιμων κατά την περίοδο Μαρτίου – Μάϊου. Η ανθοφορία λαμβάνει χώρα την περίοδο Μάϊου – Αυγούστου κατά τη διάρκεια της πραγματοποιούνται δύο συλλογές των φύλλων (Σκρουμπής, 1998). Την πρώτη χρονιά, τα φυτά φτάνουν περίπου τα 40 εκατοστά και ανθίζουν τον Σεπτέμβριο, όπου γίνεται η πρώτη συλλογή φύλλων και η κοπή των κορυφών των φυτών. Τη δεύτερη χρονιά της εγκατάστασης, τα άνθη εμφανίζονται τον Ιούνιο και τον Σεπτέμβριο, ενώ με την επικράτηση ευνοϊκών συνθηκών είναι δυνατό να πραγματοποιηθεί η συγκομιδή των καρπών. Οι ρίζες είναι προτιμητέο να συγκομίζονται το Φθινόπωρο του τέταρτου χρόνου εγκατάστασης (Rita and Animesh, 2011).



Εικόνα 1.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά του είδους *Atropa belladonna* L. – φύλλα, ρίζες, καρποί.

(Πηγή: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691518302242>)

1.2.3 Αγροκλιματικές Απαιτήσεις

Το είδος συναντάται σε εδάφη φτωχά, ξηρικά και μέσης γονιμότητας ή σε πλούσια εδάφη δασικών εκτάσεων (Schneider, 1916; Σκρουμπής, 1998). Η ανάπτυξή του δεν ευνοείται σε αργιλώδη εδάφη, ενώ προάγεται σε συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών ημέρας, υψηλής σχετικής υγρασίας και σε εδάφη πλούσια σε οργανική ουσία (Schneider, 1916). Το ασβέστιο παίζει σημαντικό ρόλο στην αύξηση των αλκαλοειδών (ειδικά στα βαριά εδάφη), ενώ οι απαιτήσεις του φυτού σε σίδηρο, μαγγάνιο, κοβάλτιο και χαλκό είναι επίσης υψηλές (Grinkevich et al., 1970; Schneider, 1916). Η απόδοση της καλλιέργειας επωφελείται με την χρήση λιπασμάτων και εδαφοβελτιωτικών. Το πρώτο έτος, η άρδευση της καλλιέργειας στα τέλη Απριλίου και στα τέλη Μαΐου με αρχές Ιουνίου (μετά την πρώτη κοπή) είναι ιδιαίτερα ευνοϊκή για την βαθιά διείσδυση του ριζικού συστήματος. Με αυτό τον τρόπο, η άρδευση τα επόμενα έτη είναι περιττή. Σχετικά με την θερμοκρασία, η ανάπτυξη του φυτού ευνοείται στους 27°C. Τέλος, η ηλιακή ακτινοβολία αποτελεί έναν παράγοντα μείζονος σημασίας για την απρόσκοπτη παραγωγή αλκαλοειδών (Schneider, 1916).

1.2.4 Η φαρμακευτική αξία του είδους *Atropa belladonna* L.

Από τα αρχαία χρόνια, οι Έλληνες και οι Ρωμαίοι χρησιμοποιούσαν το δηλητήριο που εμπεριέχει το φυτό του είδους *Atropa belladonna* L. ώστε να δηλητηριάσουν την τροφή εχθρών τους. Στο Μεσαίωνα, η χρήση του φυτού ήταν διαδεδομένη από μάγους και επαγγελματίες δηλητηριαστές (Muller, 1998). Επίσης, εφαρμόζονταν ως υπνωτικό από ιατρούς, αλλά αποτελούσε και συστατικό υλικό σε καλλυντικά (Donovan et al., 2005; Buchli et al., 1999). Το 1809, πραγματοποιήθηκε η απομόνωση της ενεργούς χημικής ουσίας, ενώ το 1819 έγινε η ταξινόμησή της σαν αλκαλοειδές. Το 1830 έλαβε χώρα ο διαχωρισμός του καθαρού αλκαλοειδούς, της ατροπίνης, από το φυτό. Η ατροπίνη επικούρησε στην καλύτερη κατανόηση του αυτόνομου νευρικού συστήματος, όπως και του ρόλου της ακετυλοχολίνης ως νευροδιαβιβαστή στα θηλαστικά (Prusakov, 2014).

Ο Οργανισμός Ελέγχου Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Association) δεν έχει δώσει έγκριση για τη χρήση σύνθετων αλκαλοειδών του φυτού. Ωστόσο, τα αλκαλοειδή συνιστούν συστατικά αρκετών συνταγογραφούμενων φαρμάκων (Shireesh and Devbrat, 2021). Η μπελαντόνα διεγείρει την καρδιά, τους πνεύμονες, την

σπονδυλική στήλη και κατέχει αντισπασμωδικές, αναλγητικές, διουρητικές και γαλακτοπαραγωγικές ιδιότητες (Mazzanti et al., 1988).

Η ατροπίνη, η σκοπιλαμίνη και η υοσκυαμίνη αποτελούν τα τρία επικρατέστερα αλκαλοειδή του φυτού *A. belladonna* L., ωστόσο η χορήγησή τους σε μεγάλες δόσεις προκαλούν παραλήρημα. Έχουν μυοχαλαρωτική δράση και χορηγούνται για την ανακούφιση σπασμών του στομάχου, του εντέρου και του χοληφόρου πόρου (Sahu et al., 2022). Συγκεκριμένα, η ατροπίνη χρησιμοποιείται στη θεραπεία της νόσου του Πάρκινσον, του άσθματος, του κοκκύτη, της αλλεργικής ρινίτιδας καθώς και για τη ρύθμιση των καρδιακών παλμών (Pandey et al., 2022). Επίσης, λόγω της διαστολής της κόρης των οφθαλμών που προκαλεί, χρησιμοποιείται στην οφθαλμολογία με θετικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση διάφορων οφθαλμολογικών παθήσεων.

Η ατροπίνη και η σκοπιλαμίνη έχουν αντιχολινεργική δράση, καταστέλλοντας νευρικά ερεθίσματα στο παρασυμπαθητικό νευρικό σύστημα. Αυτό ρυθμίζει διάφορες σωματικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένων της διαστολής της κόρης, της έκκρισης των αδένων και της χαλάρωσης των βρογχιολίων των πνευμόνων. Έτσι, η μπελαντόνα είναι εξαιρετικά αποτελεσματική στον μετριασμό των δυσμενών ασθματικών κρίσεων και άλλων ασθενειών (Kizi, 2022).

Το φυτό μετριάξει πληγές και δύναται να ενισχύσει την ομιλία και την κινητικότητα σε άτομα με αναπηρίες (Pandey et al., 2022). Αντιμετωπίζει πεπτικά έλκη, κοιλιακούς κολικούς, αιμορροΐδες και χορηγείται ως αντίδοτο σε δηλητηριάσεις από οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα, νευροπαραλυτικά αέρια και τοξίνες μανιταριών (Malik et al., 2021). Ακόμη, ανακουφίζει τον ερεθισμό και την ενόχληση από νευραλγία, ρευματισμούς, ισχιαλγία και αρθρίτιδα όταν εφαρμοστεί σε μορφή εμπλάστρου, γαλακτώματος ή αλοιφής. Σε περιστατικά διαταραχών όπως η φθίση χρησιμοποιείται για τον περιορισμό της υπερβολικής εφίδρωσης ή άλλων εκκρίσεων που προκαλούν φλεγμονές. Τα φύλλα του φυτού ενδείκνυνται για την καταπολέμηση του καρκίνου του δέρματος με την τοπική εφαρμογή τους (Zhao et al., 2020).

1.3 ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ – SEED PRIMING

1.3.1 Η σημασία του σταδίου της βλάστησης

Βλάστηση ορίζεται η διάτρηση του περιβλήματος ενός σπόρου, η έκπτυξη του ριζιδίου του και η αρχή της ανάπτυξης του νεαρού φυτού (Ξύνιας και Τοκατλίδης, 2014). Η διαδικασία της βλάστησης περιλαμβάνει την ενυδάτωση, την επαναδραστηριοποίηση και την έναρξη της ανάπτυξης. Στο πρώτο στάδιο, προκαλείται διόγκωση του σπόρου και μαλάκωμα του σπερματικού περιβλήματος που οδηγεί στην σπαργή, δηλαδή την ρήξη του περιβλήματος. Στο δεύτερο στάδιο, πραγματοποιείται οργάνωση των συστημάτων μεταβολισμού, δραστηριοποίηση των αποθησαυριστικών ουσιών (υδατάνθρακες, λίπη, πρωτεΐνες) και η αύξηση του ρυθμού αναπνοής των κυττάρων. Τέλος, πραγματοποιείται βλάστηση των σπόρων με την έκπτυξη του ριζιδίου και συντελείται αύξηση του βάρους λόγω των αλληπάλληλων κυτταροδιαϊρέσεων (Γεωργιόπουλος, 2004).

Το γενετικό υπόβαθρο κάθε είδους αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για τον τρόπο απόκρισης των σπόρων του στις διεργασίες της βλάστησης (Wakjira K and Negash, 2013). Ο χαμηλός ρυθμός βλάστησης συνιστά εμπόδιο, ιδιαίτερα σε οικονομικά σημαντικές καλλιέργειες, καθώς οδηγεί σε ανεπαρκές φύτρωμα, αποτυχημένη εγκατάσταση της καλλιέργειας και μετέπειτα μείωση της απόδοσης (Nonogaki et al., 2010). Επομένως, είναι μείζονος σημασίας η ανάπτυξη μεθόδων που προάγουν και συγχρονίζουν τη βλάστηση των σπόρων, συμβάλλοντας περεταίρω στην επιτυχία της εγκατάστασης της καλλιέργειας και τελικά στην επίτευξη του δυναμικού απόδοσής της (Zulfiqar, 2021). Για την επίτευξη των ανωτέρω στόχων μελετώνται διάφορες ουσίες και μεταχειρίσεις ως προς την επίδρασή τους ως διεγέρτες της βλάστησης.

1.3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν τη βλάστηση

Η βλάστηση και η αρχική ανάπτυξη των σποροφύτων αποτελούν τα αρχικά στάδια και είναι ιδιαίτερα σημαντικά για την επιτυχή εγκατάσταση μίας καλλιέργειας. Αποτελεί μία εξειδικευμένη διαδικασία για το κάθε είδος και οι παράγοντες που την επηρεάζουν ποικίλουν. Ως πλέον σημαντικοί παράγοντες θεωρούνται η ωριμότητα του σπόρου, ο τρόπος συγκομιδής των σπόρων και οι συνθήκες μεταφοράς και αποθήκευσης αλλά και οι περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία, υγρασία κ.λπ.).

Στα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά παρατηρείται συχνά επιτυχής βλάστηση στα φυσικά ενδιαιτήματα των ειδών, ενώ σε εργαστηριακές συνθήκες σημειώνεται μείωση της ικανότητας βλάστησης (Gupta, 2003). Επομένως, καθίσταται απαραίτητη η κατανόηση της διαδικασίας της βλάστησης των σπόρων των αυτοφυών αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών για την εύρεση αποτελεσματικών μεθόδων διατήρησής τους (Kandari et al., 2007). Μεταξύ των κοινών παραγόντων που συντελούν στη μειωμένη ικανότητα βλάστησης των αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών συγκαταλέγονται οι προσβολές από φυτοπαθογόνους μύκητες και οι μηχανικές βλάβες. Παράλληλα, οι εξειδικευμένες περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης ορισμένων αυτοφυών ειδών δυσχεραίνουν την καλλιέργειά τους (Vines, 2004).

Γενικά, οι παράγοντες που επηρεάζουν τη βλάστηση διακρίνονται σε δύο ευρύτερες κατηγορίες, τους ενδογενείς και τους εξωγενείς παράγοντες.

Οι ενδογενείς αναφέρονται σε γενετικούς παράγοντες και περιλαμβάνουν τον λήθαργο και το δυναμικό της βλάστησης.

- Ο λήθαργος αποτελεί μια διαδικασία που αποτρέπει τη βλάστηση των σπόρων παρά την ύπαρξη ευνοϊκών συνθηκών βλάστησης. Ο λήθαργος δύναται να είναι ενδογενής, δηλαδή οφειλόμενος σε γενετικά γνωρίσματα για την επιβίωση και διαίωνιση του είδους, φυσιολογικός που μπορεί να οφείλεται στην ηλικία του σπόρου (ανώριμος σπόρος), στην διαπερατότητα του περιβλήματος, στην παρουσία αναστολέων βλάστησης και στο έμβρυο (Baskin and Baskin, 1985). Τέλος, υφίσταται και ο επίκτητος λήθαργος που οφείλεται στην επικράτηση δυσμενών συνθηκών θερμοκρασίας, υγρασίας κ.α.
- Το δυναμικό βλάστησης αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην εγκατάσταση μιας καλλιέργειας. Η φυτρωτική ικανότητα λόγω των μη ευνοϊκών συνθηκών έχει μικρότερο ποσοστό σε σχέση με αυτό της βλαστικής ικανότητας. Συμπερασματικά, το δυναμικό βλάστησης επηρεάζει την φυτρωτική ικανότητα και μεταγενέστερα την ομοιομορφία και την απόδοση της καλλιέργειας.

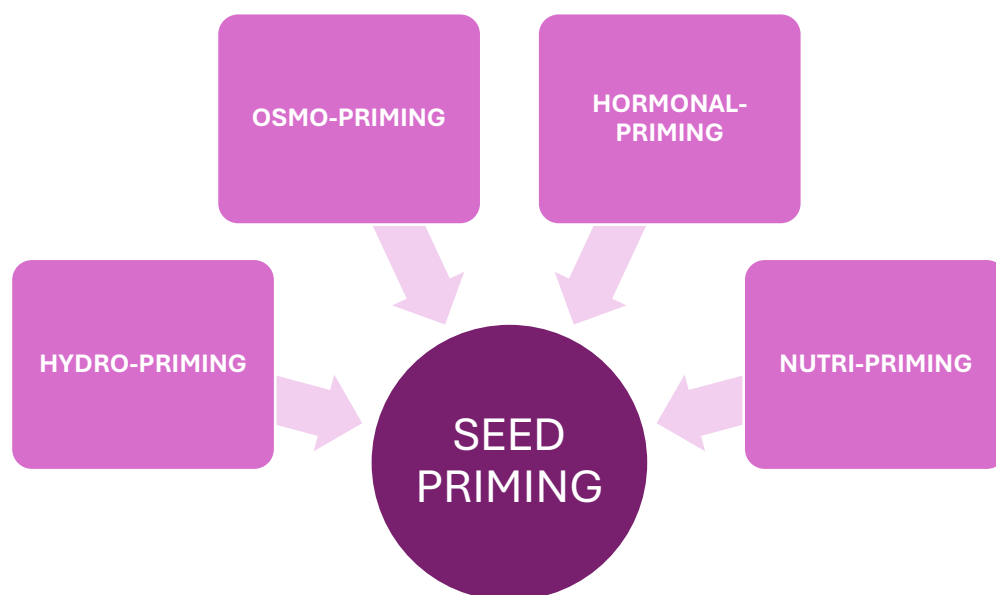
Οι εξωγενείς παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά τη βλάστηση είναι περιβαλλοντικοί και ως πλέον σημαντικοί αναφέρονται η θερμοκρασία, το οξυγόνο, το φως, το νερό (υγρασία του εδάφους), το βάθος σποράς και το pH (Chachalis and Reddy, 2000).

- Η θερμοκρασία αποτελεί καθοριστικό παράγοντα που επιδρά στο ρυθμό και στην ικανότητα βλάστησης των σπόρων, επηρεάζει τις κυτταρικές μεταβολικές διεργασίες και το ρυθμό ανάπτυξης (Roberts, 1988). Οι σπόροι βλαστάνουν σε ένα εύρος θερμοκρασιών και πέρα από αυτό δεν είναι δυνατό να βλαστήσουν. Για τη βλάστηση των σπόρων ορισμένων ειδών απαιτείται έκθεση σε μία περίοδο χαμηλών θερμοκρασιών (<5°C) ώστε να πραγματοποιηθεί η άρση του λήθαργου.
- Το οξυγόνο είναι αναγκαίο για την αναπνοή των σπόρων. Η αναπνοή επαναδραστηριοποιεί το έμβρυο και τις μεταβολικές διεργασίες των κυττάρων. Ακόμη, το οξυγόνο λαμβάνει μέρος στην αερόβια αναπνοή, η οποία παράγει την ενέργεια που καταναλώνει το νεαρό σπορόφυτο έως ότου αναπτύξει τα πρώτα του φύλλα. Όταν το περιβάλλον του σπόρου είναι σε θέση να επιτρέψει την ανταλλαγή αερίων και την απορρόφηση του νερού, διακόπτεται ο λήθαργος και συντελείται η έναρξη της βλάστησης (Siegel and Rosen, 1962).
- Σε σπόρους ορισμένων ειδών, το φως είναι σημαντικό στοιχείο που ρυθμίζει τη βλάστησή τους. Η επίδρασή του μπορεί να ενεργοποιήσει ή να καταστείλει την βλάστηση. Τα είδη που απαιτούν φωτεινή ενέργεια για να βλαστήσουν είναι σημαντικό να τοποθετούνται κοντά στην επιφάνεια του εδάφους ώστε να έχουν πρόσβαση σε αυτή. Κάποια είδη προτιμούν συνθήκες απουσίας φωτός, ενώ άλλα παρουσιάζουν ουδετερότητα ως προς την παρουσία του (Pons, 2000).
- Το νερό καθίσταται αναγκαίο για την αύξηση της περιεχόμενης υγρασίας του εμβρύου του σπόρου και για την εκτέλεση των απαιτούμενων κυτταρικών διεργασιών. Εφόσον το περισπέρμιο γίνει διαπερατό, πραγματοποιείται η απορρόφηση του νερού, η ενυδάτωση του σπόρου και μετέπειτα το σπάσιμο του περιβλήματος. Επίσης, το νερό ενεργοποιεί υδρολυτικά ένζυμα μετατρέποντας τις αποθηκευμένες ουσίες σε επωφελείς για το σπορόφυτο ουσίες.

1.3.3 Μέθοδοι διέγερσης της βλάστησης – Seed priming

Η διέγερση της βλάστησης δύναται να συμβεί με φυσικό αλλά και τεχνητό τρόπο. Η θερμοκρασία και το νερό, των οποίων η δράση τους αναφέρθηκε προηγουμένως, αποτελούν φυσικές μεταχειρίσεις για την άρση του λήθαργου και την έναρξη της διαδικασίας της βλάστησης. Οι τεχνητές μέθοδοι εφαρμόζονται προ της εγκατάστασης

της καλλιέργειας με στόχο αφενός μεν τη διέγερση της βλάστησης και αφετέρου τη βελτίωση της ανθεκτικότητας σε βιοτικές ή αβιοτικές καταπονήσεις καθώς και την ενίσχυση του δυναμικού απόδοσης της καλλιέργειας. Η τεχνητή διέγερση πυροδοτεί μεταβολές σε βιοχημικό, φυσιολογικό και μοριακό επίπεδο προς όφελος των φυτικών ειδών (Farooq et al., 2019). Στην Εικόνα 1.2 αναφέρονται οι ευρέως χρησιμοποιούμενες μέθοδοι τεχνητής διέγερσης, οι οποίες έχουν διακριτή δράση που αναλύεται περεταίρω στη συνέχεια.



Εικόνα 1.2 Τεχνητές μεταχειρίσεις διέγερσης της βλάστησης – Seed priming.

Ενυδατική επαγωγή: Hydro – priming

Η τεχνητή μέθοδος διέγερσης με ενυδατική επαγωγή συντελείται με την εμβάπτιση των σπόρων σε νερό. Η τεχνική αυτή χαρακτηρίζεται διαχρονική, ταχεία, αποδοτική, οικονομικά βιώσιμη, φιλική προς το περιβάλλον και εφαρμόζεται με κύριο στόχο την συγχρονισμό της βλάστησης και του φυτρώματος. Καθίσταται αποτελεσματική σε ποικιλία ειδών χωρίς να απαιτεί τη χρήση πρόσθετων χημικών ουσιών (Meenakshi et al., 2022).

Ωσμωτική επαγωγή: Osmo – priming

Η τεχνική της ωσμωτικής επαγωγής πραγματοποιείται με την εμβάπτιση των σπόρων σε διάλυμα με χαμηλό ωσμωτικό δυναμικό. Τα χρησιμοποιούμενα διαλύματα εμπλουτίζονται με ενώσεις που μειώνουν το υδατικό δυναμικό, όπως η γλυκερίνη, η

πολυαιθυλενική γλυκόλη (PEG), η σορβιτόλη, η μαννιτόλη αλλά και τα ανόργανα άλατα, όπως το χλωριούχο νάτριο (NaCl) (Lutts et al., 2016). Ως μέθοδος η ωσμωτική διέγερση προκαλεί την επαγωγή μεταβολικών διεργασιών πριν την έναρξη της βλάστησης. Συνάμα, εντατικοποιεί τις αντιοξειδωτικές διεργασίες και προετοιμάζει το σπόρο για τη βλάστησή του, που σηματοδοτείται με την έκπτυξη του ριζιδίου (Lei et al., 2021). Επιπλέον, διάφορες μελέτες έχουν αναδείξει ότι η μεταχείριση με NaCl συμβάλλει σε ενίσχυση της ανθεκτικότητας διαφόρων ειδών στην αλατότητα (Laamari et al., 2024).

Ορμονική επαγωγή: Hormonal – priming

Στην περίπτωση της ορμονικής επαγωγής, τα διαλύματα στα οποία εμβαπτίζονται οι σπόροι περιλαμβάνουν φυτικούς ρυθμιστές αύξησης που προωθούν την αύξηση και ανάπτυξη των σποροφύτων. Παραδείγματα αποτελούν η κινετίνη, το σαλικυλικό οξύ, οι γιββεριλλίνες, το αιθυλένιο και οι πολυαμίνες (Lei et al., 2021). Εκτός από την διέγερση της βλάστησης, η ορμονική επαγωγή επικουρεί στην αύξηση της απόδοσης της καλλιέργειας σε εδάφη με αυξημένη αλατότητα (Khan et al., 2009).

Η ορμονική επαγωγή με γιββεριλλικό οξύ κατέδειξε βελτιωμένη βλάστηση, καλύτερη ανάπτυξη ριζιδίου και βλαστιδίου, αυξημένη απόδοση, ενώ σε κάποια είδη έχει εμφανίσει και ενίσχυση της ανθεκτικότητας στην αλατότητα (Tsegay and Andargie, 2018).

Θρεπτική επαγωγή: Nutri – priming

Η θρεπτική επαγωγή χρησιμοποιεί διαλύματα που εμπεριέχουν μικροθρεπτικά ή μακροθρεπτικά συστατικά (Farooq et al., 2012). Οι εμβαπτισμένοι σπόροι έχουν τα οφέλη της ενυδάτωσης παράλληλα με τις θετικές επιδράσεις του θρεπτικού ή των θρεπτικών που έχουν εφαρμοστεί. Τελευταία, προτιμώνται θρεπτικά ευρέος φάσματος (BSN), ενώ χρησιμοποιούνται συνδυαστικά και ανόργανα θρεπτικά στοιχεία (P, Mo, Mn, Cu, Zn) (Lei et al., 2021).

Η επαγωγή με ασκορβικό οξύ επιφέρει καλύτερη βλάστηση, επιδρώντας παράλληλα θετικά στην ανάπτυξη του ριζιδίου και του βλαστιδίου σε συνθήκες υδατικής ανεπάρκειας (Farooq et al., 2012). Παράλληλα, έχει μελετηθεί η επίδραση του ασκορβικού οξέος σε συνθήκες αλατότητας, φέροντας θετικά αποτελέσματα (Fazlali et al., 2013). Το ασκορβικό οξύ έχει αντιοξειδωτικό χαρακτήρα, συμβάλλοντας στην

προστασία των κυττάρων από οξειδωτικούς παράγοντες και στην ενίσχυση της μεταβολικής δραστηριότητας των κυττάρων κατά τη βλαστική περίοδο (Fazlali et al., 2013).

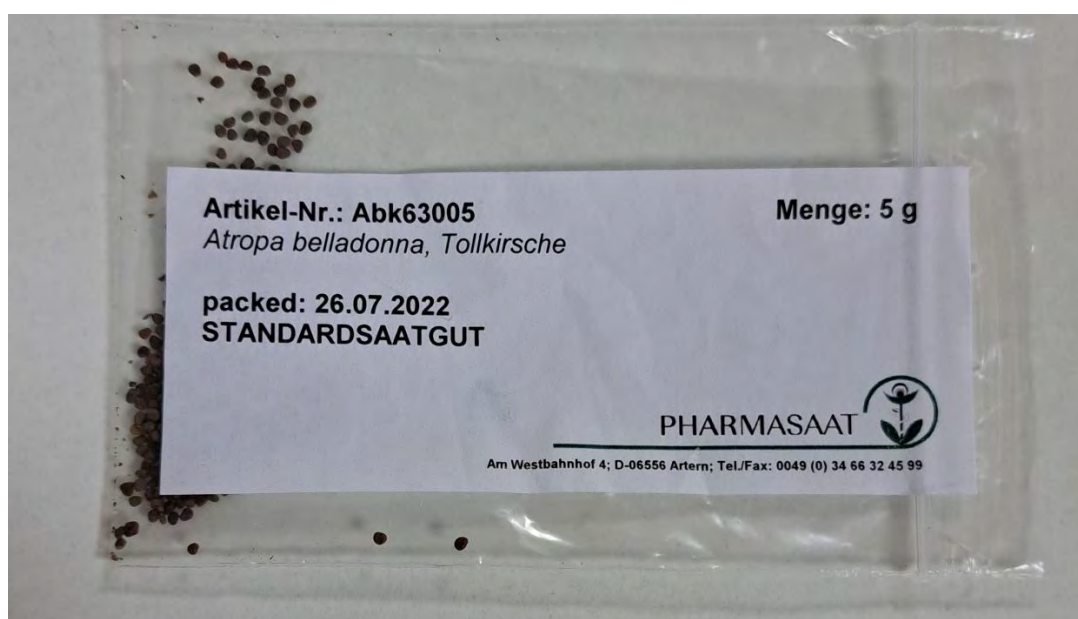
Με δεδομένη την αναγνωρισμένη αξία των φαρμακευτικών φυτών που βρίσκει εφαρμογή σε ποικίλους τομείς της βιομηχανίας, πληθώρα μελετών εστιάζει στην ανάπτυξη μεθόδων που ενισχύουν τις δυνατότητες καλλιέργειάς τους σε εμπορική κλίμακα. Η καλλιέργεια των φαρμακευτικών φυτών συχνά περιορίζεται λόγω πρακτικών δυσκολιών που σχετίζονται με την έλλειψη πρωτοκόλλων για όλα τα καλλιεργητικά στάδια, έλλειψη πιστοποιημένου γενετικού υλικού και αδυναμία λήψης επαναλήψιμης βιομάζας που είναι κατάλληλη προς χρήση σε βιομηχανικές εφαρμογές. Επιπλέον, τα φαρμακευτικά φυτά, λόγω της αυτοφυούς φύσης τους, συχνά εμφανίζουν χαμηλό δυναμικό βλάστησης και ανάπτυξης των σποροφύτων, ιδιαίτερα όταν η βλάστηση λαμβάνει χώρα σε συνθήκες εκτός των φυσικών τους ενδιαιτημάτων. Απόρροια των ανωτέρω αποτελεί το ασυγχρόνιστο φύτρωμα, η ανομοιόμορφη ανάπτυξη και η ανεπιτυχής εγκατάσταση της καλλιέργειας, η οποία αναπόφευκτα οδηγεί σε σημαντική μείωση της απόδοσης.

Η συγκεκριμένη μελέτη εστίασε στην ενίσχυση του δυναμικού βλάστησης στο φαρμακευτικό είδος *Atropa belladonna* L., το οποίο εμφανίζει χαμηλό ποσοστό βλάστησης, η οποία ταυτόχρονα χαρακτηρίζεται ως ανομοιόμορφη και ασύγχρονη. Στόχο της μελέτης συνέστησε η διερεύνηση της επίδρασης διάφορων μεταχειρίσεων διέγερσης της βλάστησης σε σπόρους του είδους *Atropa belladonna* L.. Η δυνατότητα διέγερσης της βλάστησης διερευνήθηκε μέσω της εφαρμογής διαφόρων μεταχειρίσεων φυσικής και τεχνητής διέγερσης που περιλαμβάνουν i) την ενυδατική επαγωγή (hydro – priming), ii) την οσμωτική επαγωγή (osmo – priming) με τη χρήση NaCl (50, 100 mM), iii) την ορμονική επαγωγή (hormonal – priming), εφαρμόζοντας γιββεριλλικό οξύ (50, 100 μ M), iv) τη θρεπτική επαγωγή (nutri – priming) με χρήση διαλυμάτων διαφορετικής συγκέντρωσης ασκορβικού οξέος (50, 100 mg L⁻¹) και v), ενώ σπόροι οι οποίοι δε δέχθηκαν καμία μεταχείριση αξιοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Η επίδραση των υπό μελέτη μεταχειρίσεων μελετήθηκε με βάση γνωρίσματα που σχετίζονται με τη βλάστηση και την ανάπτυξη των σποροφύτων. Συγκεκριμένα, αξιολογήθηκε το ποσοστό βλάστησης των σπόρων, το μήκος ρίζας και το μήκος βλαστού των σποροφύτων και το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων.

2. ΥΛΙΚΑ – ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Γενετικό υλικό

Το γενετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία ήταν σπόροι του φαρμακευτικού φυτού *Atropa belladonna* L., το οποίο αποτελεί είδος που εμφανίζει χαμηλό δυναμικό βλάστησης. Προκειμένου να εξασφαλιστεί η ομοιομορφία του γενετικού υλικού, στα πειράματα χρησιμοποιήθηκε πιστοποιημένος σπόρος που προμηθεύτηκε από την εταιρία PHARMASAAT (Εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1 Σπόροι του είδους *Atropa belladonna* L.

2.2 Τεχνητή διέγερση της βλάστησης

2.2.1 Απολύμανση σπόρων

Η απολύμανση των σπόρων πραγματοποιήθηκε με την εμβάπτισή τους σε διάλυμα χλωρίνης 20%, που εμπεριείχε Tween-20, για 5 min. Ακολούθησαν 4 πλύσεις με αποστειρωμένο dH₂O. Οι παραπάνω διαδικασίες έγιναν υπό ανάδευση. Στη συνέχεια, έγινε ξήρανση των σπόρων με τοποθέτησή τους σε διηθητικό χαρτί και ολιγόλεπτη επώαση σε θερμοκρασία δωματίου, εντός της τράπεζας νηματικής ροής (Εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1 Ξήρανση των σπόρων με τοποθέτησή τους σε διηθητικό χαρτί και ολιγόλεπτη επώαση σε θερμοκρασία δωματίου, εντός της τράπεζας νηματικής ροής.

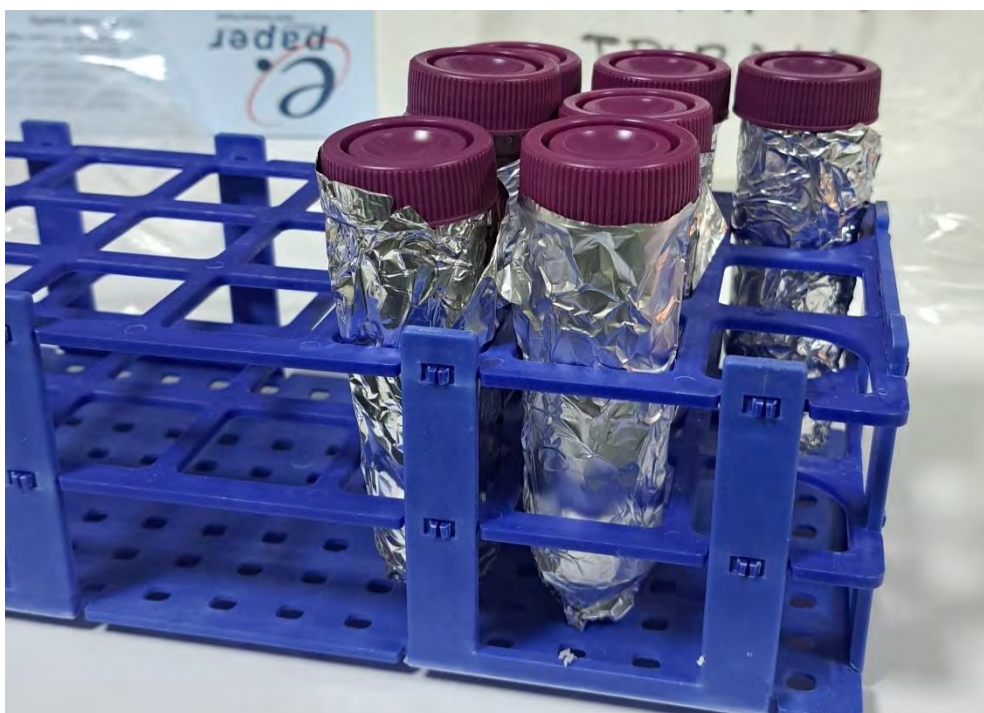
2.2.2 Μεταχειρίσεις

Προετοιμασία των διαλυμάτων

- Μάρτυρες: καμία μεταχείριση
- Ενυδατική επαγωγή (hydro - priming): εμβάπτιση σε αποστειρωμένο dH₂O.
- Οσμωτική επαγωγή (osmo - priming) / NaCl - priming: δημιουργία πυκνού διαλύματος (stock) 1 M NaCl: 0.5844 g σε τελικό όγκο 10 mL με dH₂O. Τα τελικά διαλύματα διαμορφώθηκαν στα 50 mM NaCl και 100 mM NaCl, με αραίωση 1/20 και 1/10, αντίστοιχα.
- Ορμονική επαγωγή (hormonal - priming) / Gibberellic acid - priming: σχηματισμός πυκνού διαλύματος (stock) GA₃: 0,0346 g σε τελικό όγκο 10 mL με αποστειρωμένο dH₂O. Τα τελικά διαλύματα είχαν συγκέντρωση 50 μM GA₃ και 100 μM GA₃, με αραίωση 1/200 και 1/100, αντίστοιχα.
- Θρεπτική επαγωγή (nutritional - priming) / Ascorbic acid – priming: προετοιμασία πυκνού διαλύματος (stock) L-ascorbic acid 10 mM: 0,17612 g σε τελικό όγκο 100

mL dH₂O. Τα τελικά διαλύματα είχαν συγκέντρωση 50 mg L⁻¹ και 100 mg L⁻¹, μέσω προσθήκης 2,8 mL και 5,67 mL σε τελικό όγκο 100 mL dH₂O.

Κατόπιν της απολύμανσης, ακολούθησε εμβάπτιση των σπόρων στα διαλύματα που παρασκευάστηκαν σε σωληνάρια τύπου falcon (50 mL). Τα σωληνάρια τυλίχτηκαν με αλουμινόχαρτο και ακολούθησε επώαση 24 ωρών, υπό συνθήκες ήπιας ανάδευσης και θερμοκρασίας 23°C. Η αναλογία σπόρων με διάλυμα ήταν 1/5 (w:v) (Εικόνα 2.2).



Εικόνα 2.2 Προ-μεταχείριση των σπόρων, μέσω εμβάπτισης σε διαλύματα που περιέχουν τους διεγέρτες της βλάστησης για 24 ώρες.

Μετά το πέρας των 24 ωρών, πραγματοποιήθηκε τρεις φορές επιφανειακό ξέπλυμα με αποστειρωμένο dH₂O και ξήρανση των σπόρων σε διηθητικό χαρτί, εντός της τράπεζας νηματικής ροής, μέσω ολιγόλεπτης επώασης σε θερμοκρασία δωματίου. Η διαδικασία της ξήρανσης αποσκοπεί στην επαναφορά των φυσιολογικών επιπέδων υγρασίας.

Το επόμενο βήμα ήταν η τοποθέτηση των σπόρων (μάρτυρες και σπόροι που δέχθηκαν τις μεταχειρίσεις διέγερσης) σε τριβλία που περιείχαν στερεό υπόστρωμα (5 g άγαρ ανά L H₂O). Σε κάθε τριβλίο, τοποθετήθηκαν 15 σπόροι. Έπειτα, χρησιμοποιήθηκε

parafilm για το ερμητικό κλείσιμο των τριβλίων ώστε να διατηρηθεί η απαραίτητη υγρασία και να αποφευχθούν τυχόν προσβολές.

2.2.3 Πειραματικό σχέδιο – Παράμετροι αξιολόγησης

Το πείραμα έγινε σύμφωνα με το πλήρως τυχαιοποιημένο σχέδιο με 4 επαναλήψεις για κάθε μεταχείριση. Συγκεκριμένα, η κάθε μεταχείριση αντιπροσωπεύθηκε από 4 τριβλία που το καθένα περιείχε 15 σπόρους (60 σπόροι / μεταχείριση).

Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση των μεταχειρίσεων ήταν οι ακόλουθες:

- Το ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP) (%). Οι μετρήσεις του ποσοστού βλάστησης ξεκίνησαν την 5^η ημέρα του πειράματος, όπου εμφανίστηκαν οι πρώτοι εκβλαστημένοι σπόροι, δηλαδή όταν το μήκος του ριζιδίου ήταν κατ' ελάχιστο 2 mm. Συνολικά, έγιναν 11 μετρήσεις με την τελευταία να λαμβάνει χώρα την 33^η ημέρα του πειράματος. Το ποσοστό βλάστησης των σπόρων εκτιμήθηκε σύμφωνα με τον τύπο:
$$GP = (\text{Αριθμός σπόρων που βλάστησαν} / \text{Συνολικός αριθμός σπόρων}) \times 100$$
- Το μήκος ρίζας. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν την 9^η, 19^η και 33^η ημέρα από την τοποθέτηση των σπόρων στα τριβλία. Σε κάθε τριβλίο (επανάληψη) μετρήθηκαν τρία σπορόφυτα.
- Το μήκος βλαστού. Οι μετρήσεις αυτές πραγματοποιήθηκαν την 9^η, 19^η και 33^η ημέρα από την τοποθέτηση των σπόρων στα τριβλία. Σε κάθε τριβλίο (επανάληψη) μετρήθηκαν τρία σπορόφυτα.
- Το νωπό βάρος. Την 33^η ημέρα ζυγίστηκαν 3 σπορόφυτα ανά επανάληψη (12 / μεταχείριση).
- Το ξηρό βάρος. Τα σπορόφυτα που ζυγίστηκαν προκειμένου να εκτιμηθεί το νωπό τους βάρος μεταφέρθηκαν στο ξηραντήριο για 48 ώρες στους 70 °C κι έπειτα επαναλήφθηκε η ζύγιση ώστε να εκτιμηθεί το ξηρό τους βάρος.

- Το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC) (%). Βάσει των μετρήσεων του νωπού και του ξηρού βάρους, εκτιμήθηκε το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων, χρησιμοποιώντας τον τύπο:

$WC (\%) = (FW - DW / DW) \times 100$, όπου FW = νωπό βάρος και DW = ξηρό βάρος σποροφύτων.

2.3 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά για την κάθε ημέρα που λήφθηκαν παρατηρήσεις, με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 26 για Windows. Έγινε η σύγκριση της συμπεριφοράς των σπόρων του είδους *Atropa belladonna* σε κάθε επίπεδο μεταχείρισης με το κριτήριο Tukey σε επίπεδο σημαντικότητας 5% ($P \leq 0,05$). Η κατασκευή των διαγραμμάτων έγινε στο Excel.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%)

Η πειραματική διαδικασία για τον προσδιορισμό του ποσοστού βλάστησης των σπόρων του είδους *Atropa belladonna* διήρκησε 33 ημέρες και λήφθηκαν συνολικά 11 μετρήσεις. Η 1^η μέτρηση έγινε την 5^η ημέρα, όπου παρατηρήθηκαν οι πρώτοι εκβλαστημένοι σπόροι. Ακολούθησαν επιπλέον μετρήσεις κατά την 6^η, 7^η, 8^η, 9^η, 12^η, 17^η, 19^η, 20^η και 22^η ημέρα, ενώ η μέτρηση του τελικού ποσοστού βλάστησης λήφθηκε την 33^η ημέρα (Πίνακας 3.1).

Πίνακας 3.1: Αντιστοιχία μετρήσεων με τις ημέρες παρατήρησης.

ΜΕΤΡΗΣΗ	ΗΜΕΡΑ
1 ^η	5 ^η
2 ^η	6 ^η
3 ^η	7 ^η
4 ^η	8 ^η
5 ^η	9 ^η
6 ^η	12 ^η
7 ^η	17 ^η
8 ^η	19 ^η
9 ^η	20 ^η
10 ^η	22 ^η
11 ^η	33 ^η

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης ανέδειξαν τη σημαντική επίδραση των υπό μελέτη μεταχειρίσεων στο ποσοστό βλάστησης των σπόρων του είδους *Atropa belladonna*. Συγκεκριμένα, οι υπό μελέτη μεταχειρίσεις αφορούσαν στο μάρτυρα (control), στην εμφύσηση των σπόρων σε νερό (dH₂O), και στην εφαρμογή χλωριούχου νατρίου (NaCl), γιββερίλλικού οξέος (GA₃) και ασκορβικού οξέος (Asc). Αξίζει να σημειωθεί ότι οι επιδράσεις δε διέφεραν σημαντικά μόνο ως προς τους διαφορετικούς διεγέρτες αλλά και ως προς τις διαφορετικές συγκεντρώσεις αυτών, που αφορούσαν συγκεκριμένα στην εφαρμογή NaCl, γιββερίλλικού οξέος και ασκορβικού οξέος.

5^η ημέρα - 1^η μέτρηση:

Την 5^η ημέρα (1^η μέτρηση), το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης εμφάνισαν οι σπόροι που δέχθηκαν εφαρμογή 50 μM γιββεριλλικού οξέος (31,65%) και ακολούθησε, χωρίς σημαντική διαφορά, η εφαρμογή 100 μM γιββεριλλικού οξέος (28,325%) και ο μάρτυρας (11,625%). Ακολούθησαν οι μεταχειρίσεις των 100 mM NaCl και dH₂O, με παρόμοια ποσοστά που κυμάνθηκαν στο 8,3% και 8,275%, αντίστοιχα. Τέλος, παραπλήσια ποσοστά είχαν οι εφαρμογές 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ασκορβικού οξέος (5%), 50 mM NaCl (3,3%) και 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ασκορβικού οξέος (1,65%) (Πίνακας 3.2).

6^η ημέρα - 2^η μέτρηση :

Την 6^η ημέρα, το υψηλότερο ποσοστό καταγράφηκε έπειτα από εφαρμογή GA₃ (50 μM : 34,975% και 100 μM : 33,3%), και 100 mM NaCl (14,975%) και στο μάρτυρα (13,275%). Ανάλογο δυναμικό βλάστησης με το μάρτυρα έδειξαν με φθίνουσα σειρά οι μεταχειρίσεις dH₂O (9,95%) > 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (6,65%) > 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (6,625%) > 50 mM NaCl (4,95%) (Πίνακας 3.2).

7^η ημέρα - 3^η μέτρηση :

Την 7^η ημέρα η εφαρμογή GA₃ εξακολουθεί να καταλαμβάνει την πρώτη θέση αναφορικά με το ποσοστό βλάστησης (50, 100 μM : 44,95%), ενώ ακολουθεί η εφαρμογή 100 mM NaCl (19,975%). Ακολούθησαν κατά φθίνουσα σειρά οι εφαρμογές 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (13,3%) > C (13,275%) > dH₂O (11,6%) > 50 mM NaCl = 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (9,95%), χωρίς ωστόσο να παρατηρούνται σημαντικές διαφορές (Πίνακας 3.2).

8^η ημέρα - 4^η μέτρηση :

Την 8^η ημέρα, το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης σημειώθηκε στους σπόρους που δέχθηκαν εφαρμογή 100 μM GA₃ (48,3%) και 50 μM GA₃ (46,625%) και 100 mM NaCl (19,975%). Ακολούθησαν, χωρίς σημαντική στατιστική διαφορά με τη μεταχείριση των 100 mM NaCl, οι εφαρμογές dH₂O (14,95%), 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (13,3%), ο μάρτυρας (13,275%) και 50 mM NaCl και 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc με ίδιο ποσοστό βλάστησης (9,95%) (Πίνακας 3.2).

9^η ημέρα - 5^η μέτρηση :

Ομοίως, την 9^η ημέρα, οι σπόροι που εμβαιπίστηκαν σε 100 μM GA₃ εμφάνισαν το υψηλότερο ποσοστό βλάστησης (51,625%) και ακολούθησαν, χωρίς σημαντική

διαφορά, οι σπόροι που δέχθηκαν εφαρμογή 50 μM GA₃ (48,3%). Ακολούθησαν κατά φθίνουσα σειρά οι εφαρμογές 100 mM NaCl (19,975%) > C (16,6%) > dH₂O (14,95%) > 50 mM NaCl (13,3%) = 100 mg*L⁻¹ Asc (13,3%) > 50 mg*L⁻¹ Asc (11,625%), χωρίς ωστόσο να παρατηρούνται σημαντικές μεταξύ τους διαφορές (Πίνακας 3.2).

12^η ημέρα - 6^η μέτρηση :

Την 12^η ημέρα παραπλήσια υψηλά ποσοστά βλάστησης εμφάνισαν οι εφαρμογές 100 μM GA₃ (53,3%), 50 μM GA₃ (48,3%) και 50 και 100 mM NaCl (19,975%). Ακολούθησαν οι εφαρμογές dH₂O (18,275%), ο μάρτυρας (16,6%) και 100 mg*L⁻¹ Asc (14,975%), οι οποίες ωστόσο δε διέφεραν σημαντικά με τις μεταχειρίσεις των 50 μM GA₃ και 50 και 100 mM NaCl. Τέλος, το χαμηλότερο ποσοστό σημειώθηκε στους σπόρους που δέχθηκαν εφαρμογή 50 mg*L⁻¹ Asc (13,3%), χωρίς να διαφέρουν σημαντικά σε σχέση με τις εφαρμογές 50 και 100 mM NaCl, dH₂O, το μάρτυρα και 100 mg*L⁻¹ Asc (Πίνακας 3.2).

17^η ημέρα - 7^η μέτρηση :

Την 17^η ημέρα, τα υψηλότερα ποσοστά βλάστησης αφορούσαν στις μεταχειρίσεις του γιββεριλλικού οξέος, NaCl και του μάρτυρα, οι οποίες εμφάνισαν τιμές που δε διέφεραν μεταξύ τους. Ειδικότερα, το μεγαλύτερο ποσοστό καταγράφηκε στους σπόρους που είχε προηγηθεί μεταχείριση με GA₃ (100 μM GA₃: 61,6% και 50 μM GA₃: 53,3%). Ακολούθησε ο μάρτυρας (28,3%) και οι σπόροι όπου έγινε εφαρμογή NaCl (50 και 100 mM: 25% και 24,95%, αντίστοιχα). Τέλος, ακολούθησαν κατά φθίνουσα σειρά οι μεταχειρίσεις dH₂O (23,3%) > 50 mg*L⁻¹ Asc (19,975%) > 100 mg*L⁻¹ Asc (16,65%), οι οποίες ωστόσο δε διέφεραν σημαντικά σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, με εξαίρεση αυτής των 100 μM GA₃ (Πίνακας 3.2).

19^η ημέρα - 8^η μέτρηση :

Την 19^η ημέρα, το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης καταγράφηκε έπειτα από εφαρμογή 100 μM GA₃ (63,275%) και ακολούθησαν κατά φθίνουσα σειρά οι μεταχειρίσεις: 50 μM GA₃ (53,3%) > μάρτυρας (29,975%) > 50 mM NaCl (28,3%) > dH₂O (26,65%) > 100 mM NaCl (26,625%) > 50 mg*L⁻¹ Asc (21,65%). Το χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης εμφάνισαν οι σπόροι όπου έγινε εφαρμογή 100 mg*L⁻¹ ασκορβικού οξέος (16,65%) (Πίνακας 3.2).

20^η ημέρα - 9^η μέτρηση:

Την 20^η ημέρα, τα υψηλότερα ποσοστά βλάστησης -χωρίς σημαντικές διαφορές- παρουσίασαν με φθίνουσα σειρά οι ακόλουθες μεταχειρίσεις: 100 μM GA₃ (63,275%) > 50 μM GA₃ (53,3%) > μάρτυρας (33,3%) > 50 mM NaCl (33,275%) > 100 mM NaCl (29,975%) > dH₂O (26,650%). Παρόμοια ποσοστά, με εξαίρεση τη μεταχείριση των 100 μM GA₃, εμφάνισαν οι μεταχειρίσεις 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (21,65%) και 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (18,3%) (Πίνακας 3.2).

22^η ημέρα - 10^η μέτρηση:

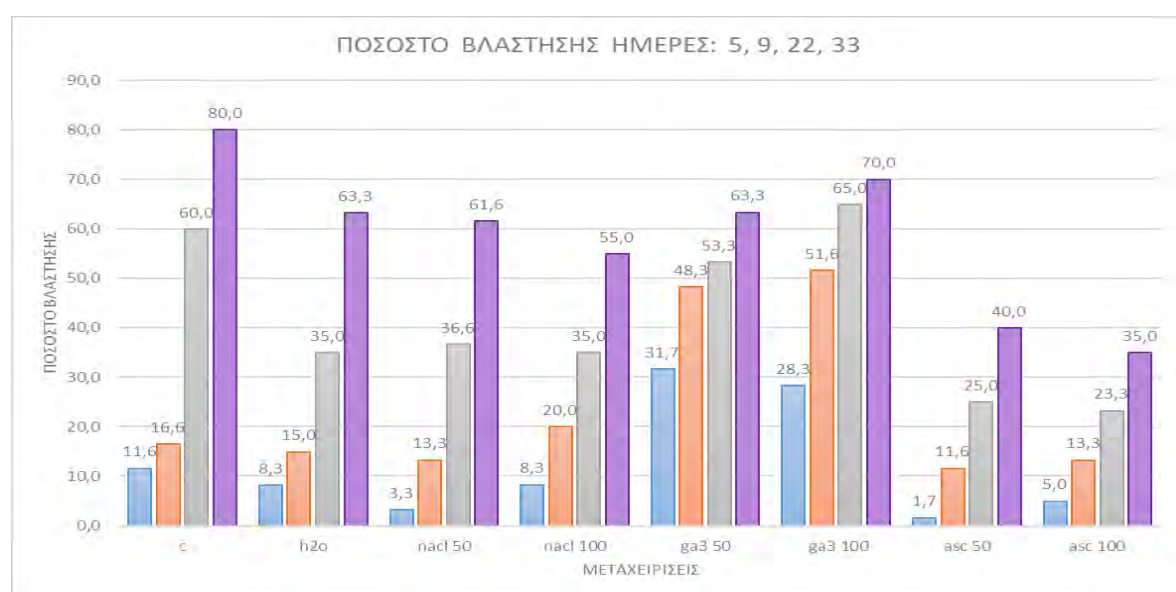
Την 22^η ημέρα, το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης κατέδειξε η μεταχείριση 100 μM GA₃ (64,95%). Συνεπακολουθούν, με μη σημαντική διαφορά, ο μάρτυρας (59,95%) και οι εφαρμογές 50 μM GA₃ (53,3%), 50 mM NaCl (36,625%), 100 mM NaCl (34,975%) και dH₂O (34,950%). Η μεταχείριση 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (24,975%) δε διέφερε σημαντικά σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, με εξαίρεση τη μεταχείριση 100 μM GA₃. Τέλος, το χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης σημειώθηκε κατά την εφαρμογή 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (23,275%), χωρίς ωστόσο να υπάρχει σημαντική διαφορά με τις μεταχειρίσεις 50 μM GA₃, 50 mM NaCl, 100 mM NaCl, dH₂O και 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (Πίνακας 3.2).

33^η ημέρα - 11^η μέτρηση:

Κατά την 33^η ημέρα, που λήφθηκε και η τελευταία μέτρηση που αντιστοιχεί στο τελικό ποσοστό βλάστησης, το υψηλότερο ποσοστό σημειώθηκε στο μάρτυρα, όπου καταγράφηκε ποσοστό 80%. Παρά την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών σε σχέση με το μάρτυρα, σημειώθηκαν διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Με βάση τα αποτελέσματα για το τελικό ποσοστό βλάστησης την 33^η ημέρα, προέκυψε η ακόλουθη σειρά κατάταξης κατά φθίνουσα σειρά: 100 μM GA₃ (69,975%) > 50 μM GA₃ (63,3%) > dH₂O (63,275%) > 50 mM NaCl (61,625%) > 100 mM NaCl (54,975%). Τέλος, η εφαρμογή ασκορβικού οξέος οδήγησε στο χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης, το οποίο διέφερε σημαντικά σε σχέση με το μάρτυρα. Ειδικότερα, στις μεταχειρίσεις 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc και 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc καταγράφηκε ποσοστό βλάστησης 39,95% και 34,95%, αντίστοιχα (Πίνακας 3.2).

Πίνακας 3.2: Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%) του είδους *Atropa belladonna* ανά μεταχείριση από την 5^η έως τη 33^η ημέρα από την τοποθέτηση των σπόρων προς βλάστηση (1^η - 11^η μέτρηση).

Μέτρηση	Μεταχειρίσεις Διεγερτών Βλάστησης							
	Control	dH ₂ O	NaCl 50 mM	NaCl 100 mM	GA ₃ 50 μM	GA ₃ 100 μM	Asc 50 mg*L ⁻¹	Asc 100 mg*L ⁻¹
1η	11,625abc	8,275bc	3,300c	8,300bc	31,650a	28,325ab	1,650c	5,000c
2η	13,275ab	9,950b	4,950b	14,975ab	34,975a	33,300a	6,625b	6,650b
3η	13,275b	11,600b	9,950b	19,975ab	44,950a	44,950a	9,950b	13,300b
4η	13,275b	14,950b	9,950b	19,975ab	46,625a	48,300a	9,950b	13,300b
5η	16,600c	14,950c	13,300c	19,975bc	48,300ab	51,625a	11,625c	13,300c
6η	16,600bc	18,275bc	19,975abc	19,975abc	48,300ab	53,300a	13,300c	14,975bc
7η	28,300ab	23,300b	25,000ab	24,950ab	53,300ab	61,600a	19,975b	16,650b
8η	29,975abc	26,650bc	28,300abc	26,625bc	53,300ab	63,275a	21,650bc	16,650c
9η	33,300ab	26,650ab	33,275ab	29,975ab	53,300ab	63,275a	21,650b	18,300b
10η	59,950ab	34,950abc	36,625abc	34,975abc	53,300abc	64,950a	24,975bc	23,275c
11η	80,000a	63,275ab	61,625ab	54,975ab	63,300ab	69,975ab	39,950b	34,950b



Διάγραμμα 3.1 Ποσοστό βλάστησης ανά μεταχείριση την 5^η, 9^η, 22^η και 33^η ημέρα.

3.2 Μήκος ρίζας

9^η ημέρα - 1^η μέτρηση:

Την 9^η ημέρα, το μεγαλύτερο μέσο μήκος ρίζας καταγράφηκε στην εφαρμογή 100 μM GA₃ (0,72475 cm), η οποία ωστόσο δε διέφερε σημαντικά σε σχέση με τις μεταχειρίσεις του μάρτυρα (0,66650 cm), των 50 μM GA₃ (0,65800 cm), των 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (0,51650 cm), των 100 mM NaCl (0,48325 cm), των 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (0,33750 cm) και του dH₂O (0,30825 cm). Αντίθετα, το μικρότερο μήκος ρίζας παρουσίασε η μεταχείριση των 50 mM NaCl (0,27075 cm), η οποία ωστόσο διέφερε σημαντικά μόνο με τη μεταχείριση των 100 μM GA₃ (Πίνακας 3.3).

19^η ημέρα - 2^η μέτρηση:

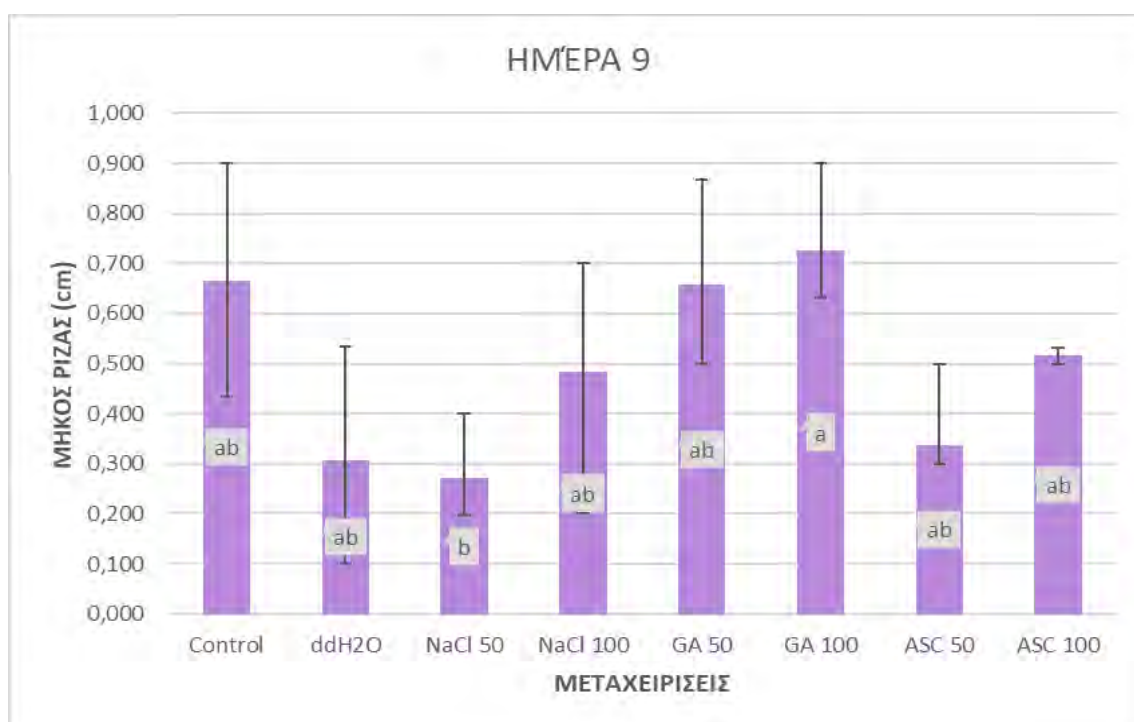
Ομοίως, τη 19^η ημέρα προέκυψε η ακόλουθη σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων κατά φθίνουσα σειρά: 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (1,35000 cm) > 50 mM NaCl (1,23725 cm) > 100 μM GA₃ (1,21625 cm) > 50 μM GA₃ (1,12300 cm) > μάρτυρα (1,11050 cm) > dH₂O (0,96225 cm) > 100 mM NaCl (0,89150 cm) > 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (0,77075 cm) (Πίνακας 3.3).

33^η ημέρα - 3^η μέτρηση:

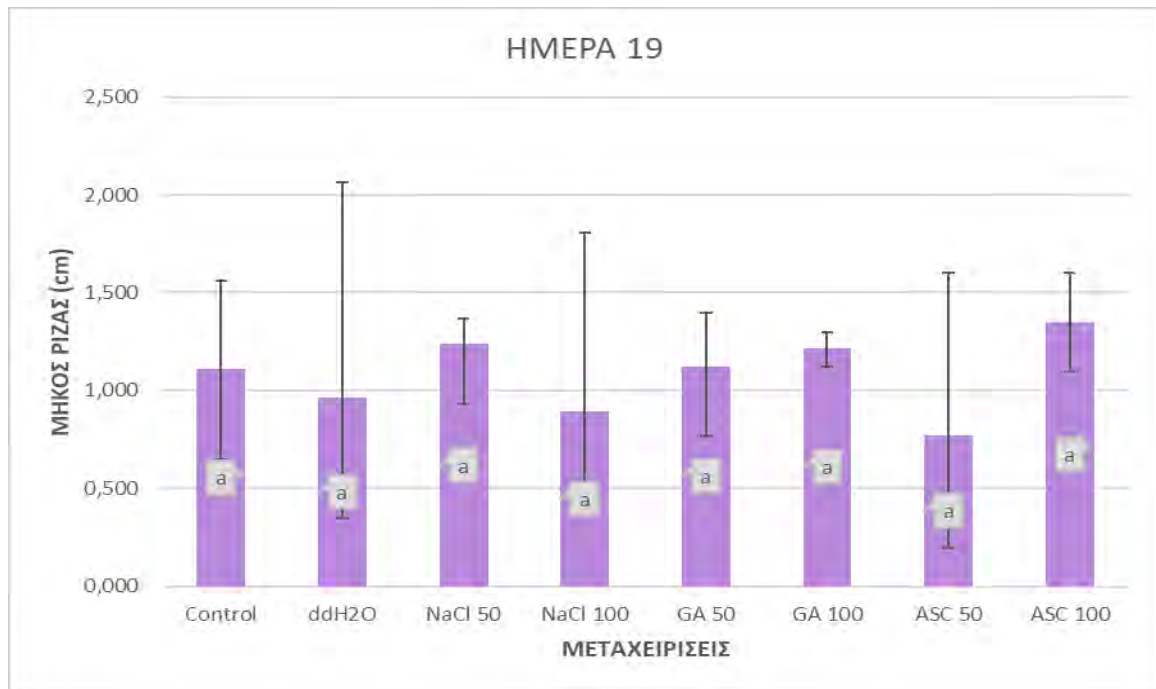
Την 33^η ημέρα λήφθηκε η τελευταία μέτρηση για το μήκος ρίζας των σποροφύτων. Η στατιστική ανάλυση ανέδειξε την απουσία σημαντικών διαφορών μεταξύ των υπό μελέτη μεταχειρίσεων. Βάσει των αποτελεσμάτων σχετικά με το μήκος της ρίζας προέκυψε η ακόλουθη σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων κατά φθίνουσα σειρά: dH₂O (2,30650 cm) > μάρτυρας (2,24125 cm) > 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (1,94950 cm) > 100 mM NaCl (1,94150 cm), 100 μM GA₃ (1,93325 cm) > 50 mM NaCl (1,88325 cm) > 50 μM GA₃ (1,87475 cm) > 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Asc (1,71625 cm) (Πίνακας 3.3).

Πίνακας 3.3 Μήκος ρίζας των σποροφύτων του είδους *Atropa belladonna* ανά μεταχείριση την 9^η, 19^η και 33^η ημέρα έπειτα από την τοποθέτηση των σπόρων προς βλάστηση.

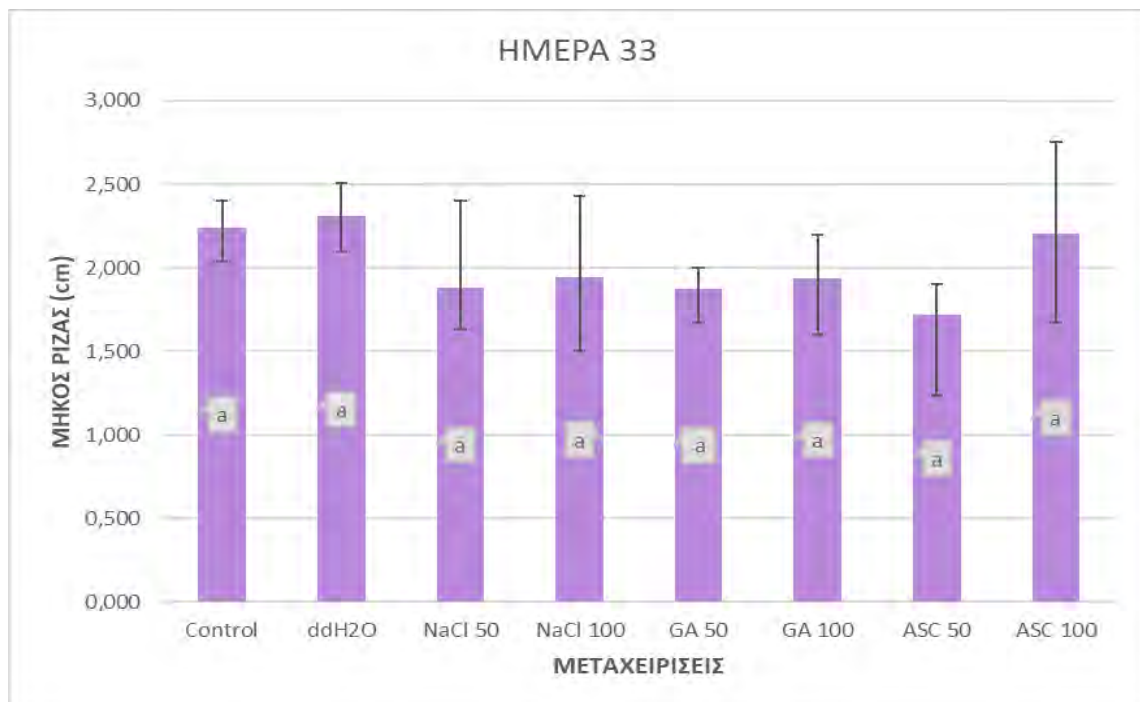
Μέτρηση	Μεταχειρίσεις Διεγερτών Βλάστησης-Μήκος Ρίζας							
	Control	dH ₂ O	NaCl	NaCl	GA ₃	GA ₃	Asc	Asc
			50 mM	100 mM	50 μM	100 μM	50 mg*L ⁻¹	100 mg*L ⁻¹
1η								
	0,66650ab	0,30825ab	0,27075b	0,48325ab	0,65800ab	0,72475a	0,33750ab	0,51650ab
2η								
	1,11050a	0,96225a	1,23725a	0,89150a	1,12300a	1,21625a	0,77075a	1,35000a
3η								
	2,24125a	2,30650a	1,88325a	1,94150a	1,87475a	1,93325a	1,71625a	1,94950a



Διάγραμμα 3.2 Μήκος ρίζας των σποροφύτων του είδους *Atropa belladonna*, ανά μεταχείριση, την 9^η ημέρα.



Διάγραμμα 3.3 Μήκος ρίζας των σποροφύτων του είδους *Atropa belladonna*, ανά μεταχείριση, την 19^η ημέρα.



Διάγραμμα 3.4 Μήκος ρίζας των σποροφύτων του είδους *Atropa belladonna*, ανά μεταχείριση, την 33^η ημέρα.

3.3 Μήκος βλαστού

9^η ημέρα - 1^η μέτρηση :

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων σχετικά με το μήκος βλαστού των σποροφύτων την 9^η ημέρα ανέδειξαν την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων. Με βάση τα αποτελέσματα, καταγράφηκε η ακόλουθη σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων με φθίνουσα σειρά: 50 και 100 μM GA₃ (0,31625 cm) > 100 mM NaCl (0,28700 cm) > dH₂O (0,25525 cm) > μάρτυρας = 100 mg*L⁻¹ Asc (0,21650 cm) > 50 mM NaCl (0,15800 cm) > 50 mg*L⁻¹ Asc (0,15000 cm) (Πίνακας 3.4).

19^η ημέρα - 2^η μέτρηση:

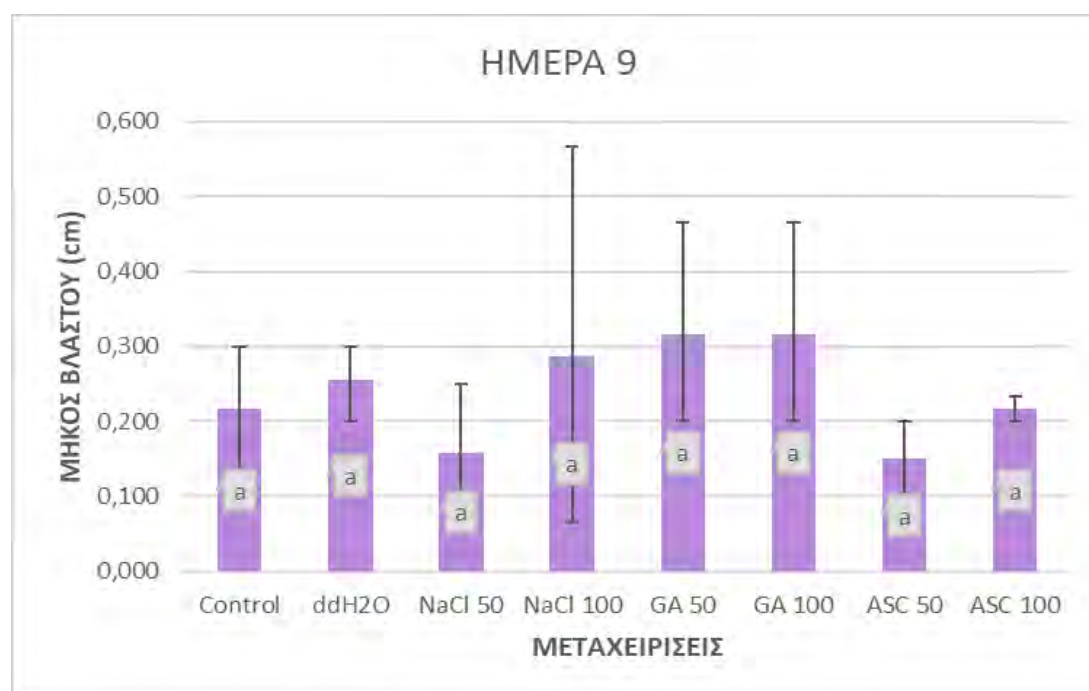
Την 19^η ημέρα, παρά το γεγονός ότι σημειώθηκε αύξηση στο μήκος βλαστού, η ανάλυση κατέδειξε την απουσία σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων. Το μεγαλύτερο μήκος βλαστού καταγράφηκε έπειτα από εφαρμογή 50 μM GA₃ (1,31625 cm) και ακολούθησαν οι εξής μεταχειρίσεις: 100 μM GA₃ (1,26625 cm), 100 mg*L⁻¹ Asc (1,15000 cm), μάρτυρας (1,08300 cm) και 100 mM NaCl (1,04975 cm). Τα μικρότερα μήκη βλαστών εμφανίστηκαν έπειτα από εφαρμογή 50 mM NaCl, dH₂O και 50 mg*L⁻¹ Asc όπου καταγράφηκαν μήκη βλαστού 0,92900 cm, 0,90400 cm και 0,75400 cm, αντίστοιχα (Πίνακας 3.4).

33^η ημέρα - 3^η μέτρηση:

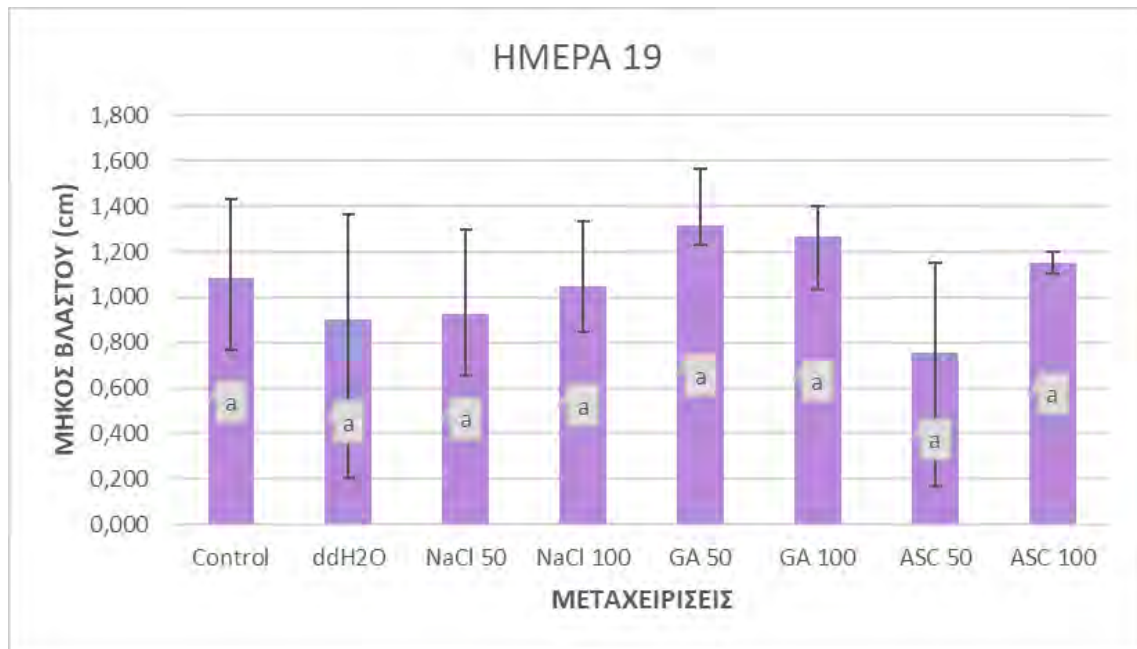
Την 33^η ημέρα, το μεγαλύτερο μήκος βλαστού σημειώθηκε στις μεταχειρίσεις 50 και 100 μM GA₃ (1,35800 cm). Παρά την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών, τα αποτελέσματα κατέταξαν τις μεταχειρίσεις διέγερσης της βλάστησης κατά φθίνουσα σειρά ως ακολούθως: dH₂O (1,32475 cm) > μάρτυρας (1,27475 cm) > 50 mM NaCl (1,1950 cm) > 50, 100 mg*L⁻¹ Asc (1,18300 cm) > 100 mM NaCl (1,16650 cm) (Πίνακας 3.4).

Πίνακας 3.4 Μήκος βλαστού των σποροφύτων του είδους *Atropa belladonna* ανά μεταχείριση την 9^η, 19^η και 33^η ημέρα έπειτα από την τοποθέτηση των σπόρων προς βλάστηση.

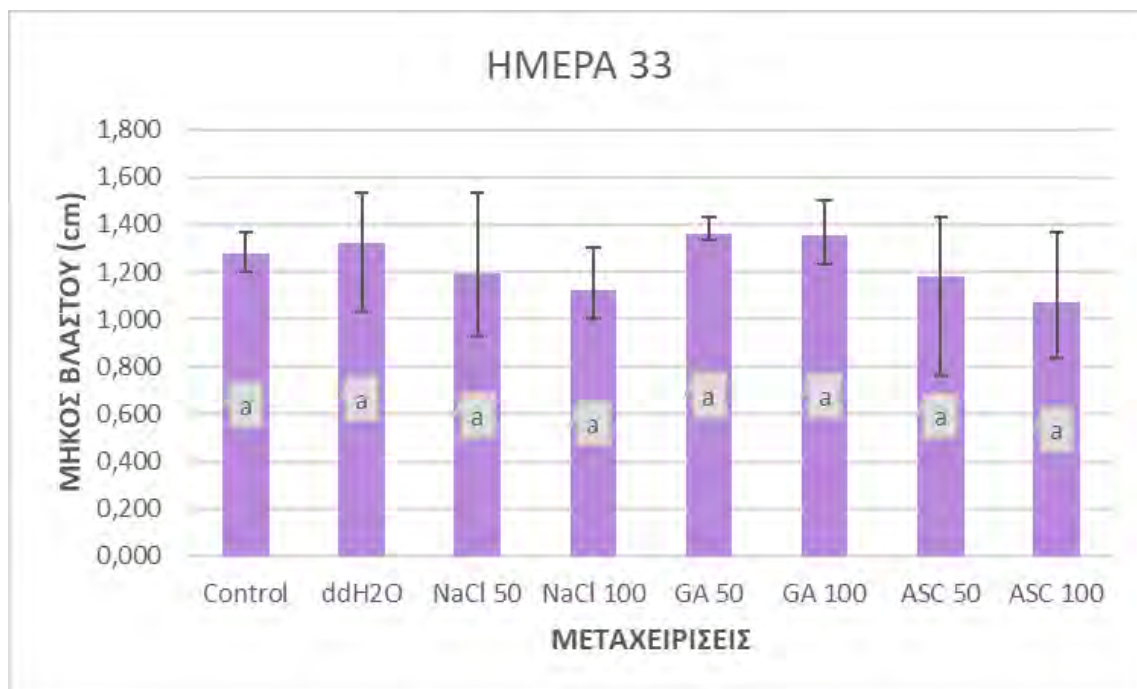
Μέτρηση	Μεταχειρίσεις Διεγερτών Βλάστησης-Μήκος Βλαστού							
	Control	dH ₂ O	NaCl	NaCl	GA ₃	GA ₃	Asc	Asc
			50 Μμ	100 mM	50 Μμ	100 μM	50 mg*L ⁻¹	100 mg*L ⁻¹
1η								
	0,21650a	0,25525a	0,15800a	0,28700a	0,31625a	0,31625a	0,15000a	0,21650a
2η								
	1,08300a	0,90400a	0,92900a	1,04975a	1,31625a	1,26625a	0,75400a	1,15000a
3η								
	1,27475a	1,32475a	1,19150a	1,16650a	1,35800a	1,35800a	1,18300a	1,18300a



Διάγραμμα 3.5 Μήκος βλαστού των σποροφύτων του είδους *Atropa belladonna*, ανά μεταχείριση, την 9^η ημέρα.



Διάγραμμα 3.6 Μήκος βλαστού των σποροφύτων του είδους *Atropa belladonna*, ανά μεταχείριση, την 19^η ημέρα.



Διάγραμμα 3.7 Μήκος βλαστού των σποροφύτων του είδους *Atropa belladonna*, ανά μεταχείριση, την 33^η ημέρα.

3.4 Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC) (%)

Νωπό βάρος:

Η στατιστική ανάλυση έδειξε την ύπαρξη σημαντικών διαφορών ως προς τις τιμές του νωπού βάρους μεταξύ των μεταχειρίσεων. Το μεγαλύτερο νωπό βάρος καταγράφηκε στο μάρτυρα (0,14205 g) και ακολούθησαν, χωρίς σημαντική διαφορά, οι μεταχειρίσεις 50 mM NaCl (0,13180 g), dH₂O (0,11930 g), 100 μM GA₃ (0,09980 g) και 100 mg*L⁻¹ Asc (0,09780 g). Παρόμοιες τιμές, με εξαίρεση αυτή του μάρτυρα, καταγράφηκε επίσης στην εφαρμογή 50 mg*L⁻¹ Asc (0,08380 g). Τέλος, το μικρότερο νωπό βάρος σημειώθηκε κατά την εφαρμογή 50 μM GA₃ (0,75050 g) και 100 mM NaCl (0,07280 g), με τις τιμές αυτών να μη διαφέρουν σημαντικά σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, με εξαίρεση αυτή του μάρτυρα και του 50 mM NaCl (Πίνακας 3.5).

Ξηρό βάρος:

Σχετικά με το ξηρό βάρος των σποροφύτων, τα αποτελέσματα κατέδειξαν τη σημαντική διαφορά του μάρτυρα σε σχέση με το σύνολο των υπολοίπων μεταχειρίσεων. Συγκεκριμένα, ο μάρτυρας εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή ξηρού βάρους (0,0360 g). Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις, αν και δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, κατατάχθηκαν κατά φθίνουσα σειρά ως ακολούθως: 100 mg*L⁻¹ Asc (0,0155 g) > 50 mM NaCl (0,01475 g) > 100 μM GA₃ (0,01425 g) > 100 mM NaCl (0,0135 g) > H₂O (0,0120 g) > 50 μM GA₃ (0,0095 g) > 50 mg*L⁻¹ Asc (0,0050 g) (Πίνακας 3.5).

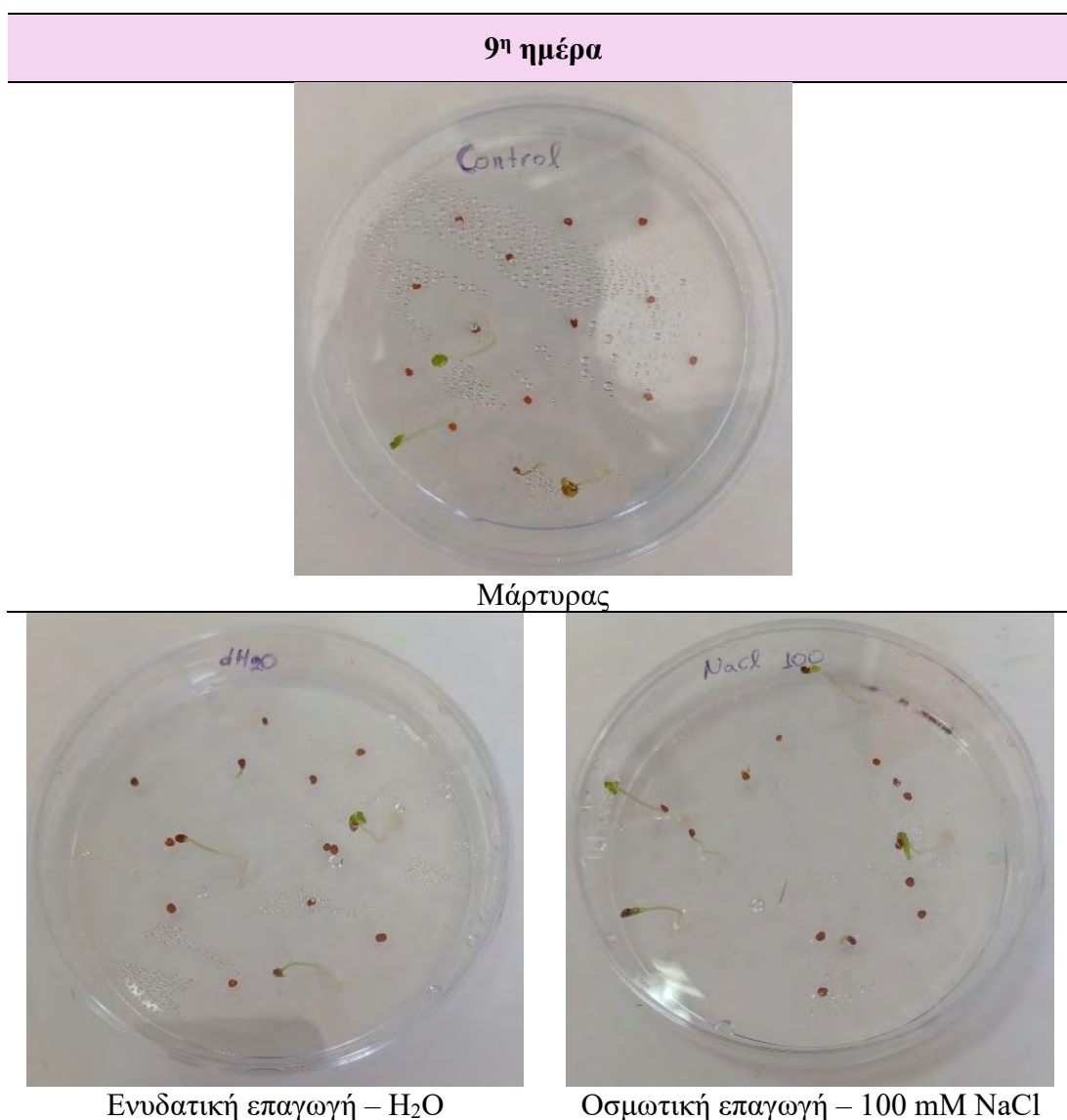
Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας (WC) (%):

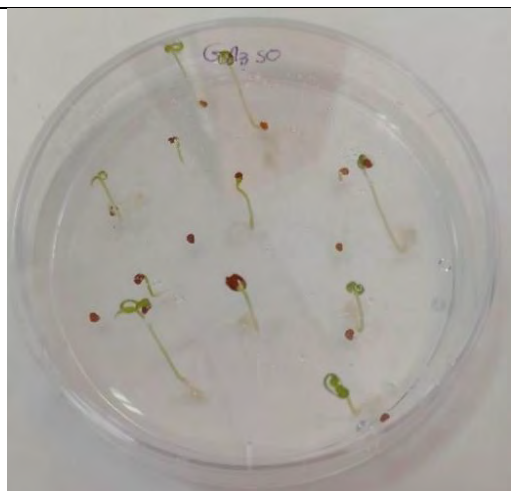
Αναφορικά με το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας, το οποίο εκτιμήθηκε με βάση το νωπό και ξηρό βάρος των σποροφύτων, η ανάλυση υπογραμμίζει την ύπαρξη διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων. Τα υψηλότερα ποσοστά καταγράφηκαν στις μεταχειρίσεις 50 mg*L⁻¹ Asc (93,82%), dH₂O (90,25%) και 50 mM NaCl (89,13%), οι οποίες δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Κατά φθίνουσα σειρά, ακολούθησαν οι μεταχειρίσεις 50 μM GA₃ (87,07%), 100 μM GA₃ (85,70%), 100 mg*L⁻¹ Asc (83,96%) και 100 mM NaCl (82,11%), οι οποίες επίσης δε διέφεραν μεταξύ τους. Τέλος, σημαντικά μειωμένο ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας εμφάνισε ο μάρτυρας (73,91%) (Πίνακας 3.5).

Πίνακας 3.5 Νωπό, ξηρό βάρος και περιεχόμενη υγρασία (WC) (%) των σποροφύτων του είδους *Atropa belladonna* ανά μεταχείριση.

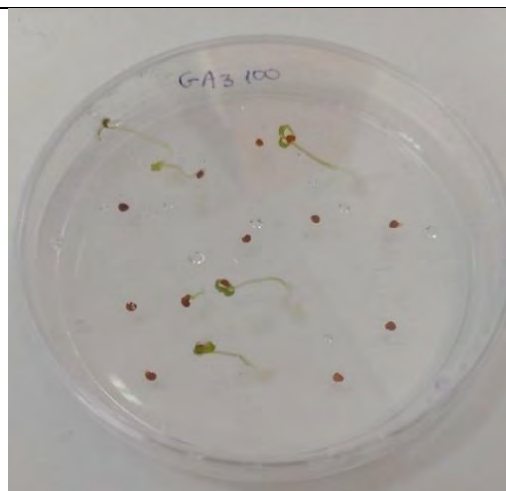
Μεταχείριση	Νωπό Βάρος (g)	Ξηρό Βάρος (g)	WC (%)
Control	0,142050000000000a	0,036000000000000a	73,913188383300600b
dH ₂ O	0,119300000000000abc	0,012000000000000b	90,254342225865800a
NaCl 50 mM	0,131800000000000ab	0,014750000000000b	89,125331554477700a
NaCl 100 mM	0,072800000000000c	0,013500000000000b	82,107381978289900ab
GA ₃ 50 μM	0,075050000000000c	0,009500000000000b	87,074678728339200ab
GA ₃ 100 μM	0,099800000000000abc	0,014250000000000b	85,691583878470200ab
Asc 50 mg*L-1	0,083800000000000bc	0,005000000000000b	93,818681997854800a
Asc 100 mg*L-1	0,097800000000000abc	0,015500000000000b	83,959268007863500ab

Στις Εικόνες 3.1, 3.2 και 3.3 παρουσιάζεται συγκριτικά η ανάπτυξη των σποροφύτων στις διαφορετικές μεταχειρίσεις την 9^η, 19^η και 33^η ημέρα, έπειτα από την τοποθέτηση των σπόρων προς βλάστηση.



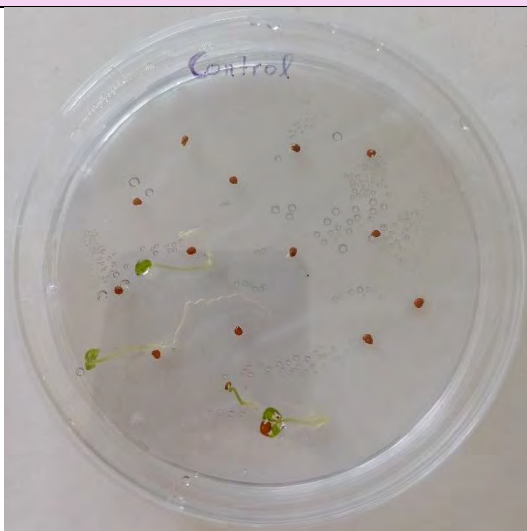


Ορμονική επαγωγή - 50 μM GA_3

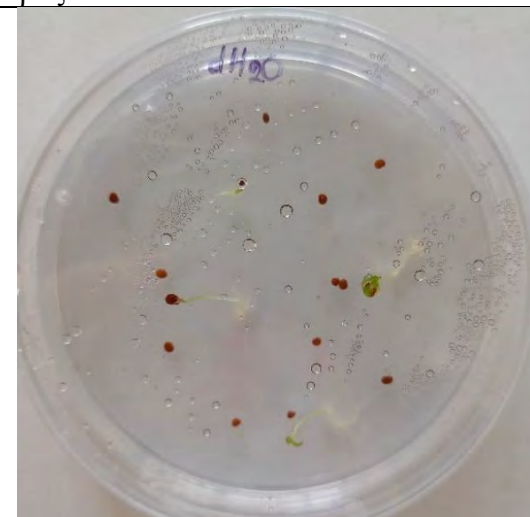
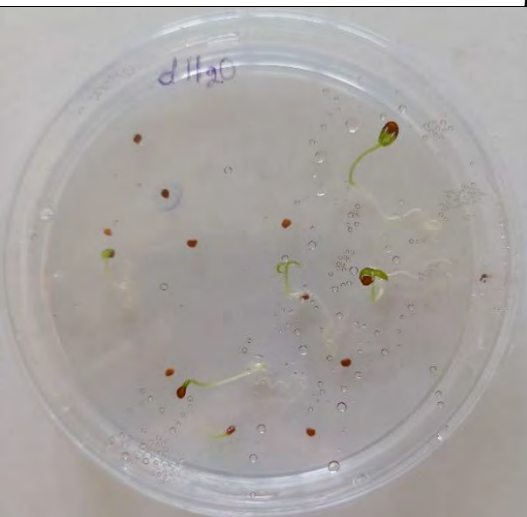


Ορμονική επαγωγή - 100 μM GA_3

19^η ημέρα



Μάρτυρας



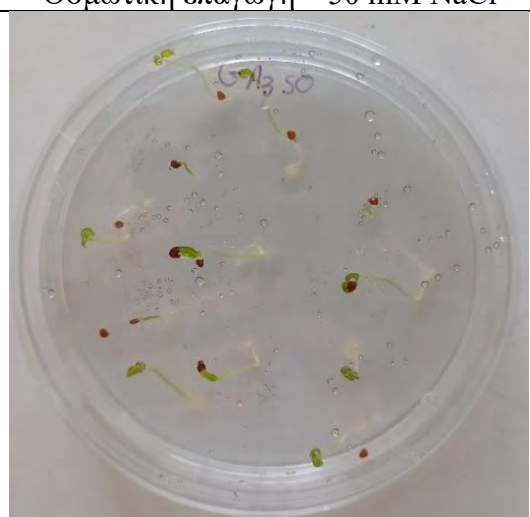
Ενυδατική επαγωγή – H₂O



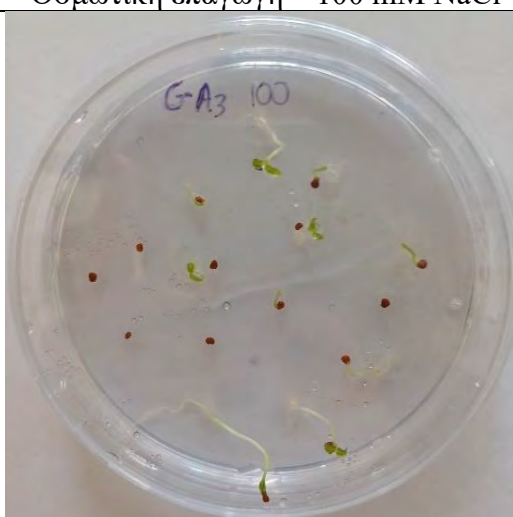
Οσμωτική επαγωγή – 50 mM NaCl



Οσμωτική επαγωγή – 100 mM NaCl



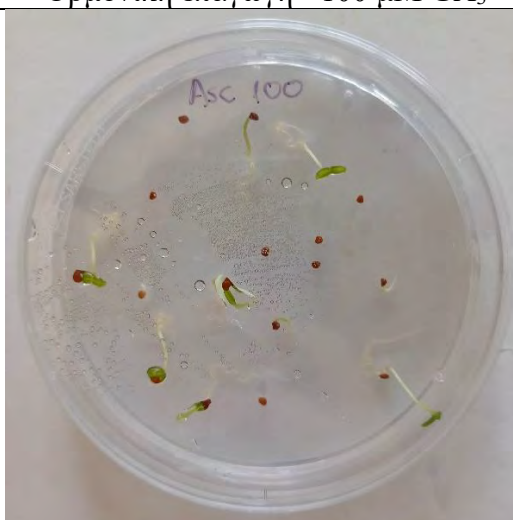
Ορμονική επαγωγή - 50 μM GA₃



Ορμονική επαγωγή - 100 μM GA₃



Θρεπτική επαγωγή - 50 mg L⁻¹

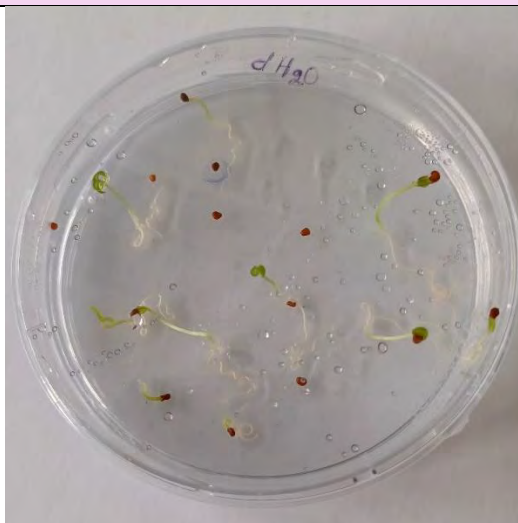


Θρεπτική επαγωγή - 100 mg L⁻¹

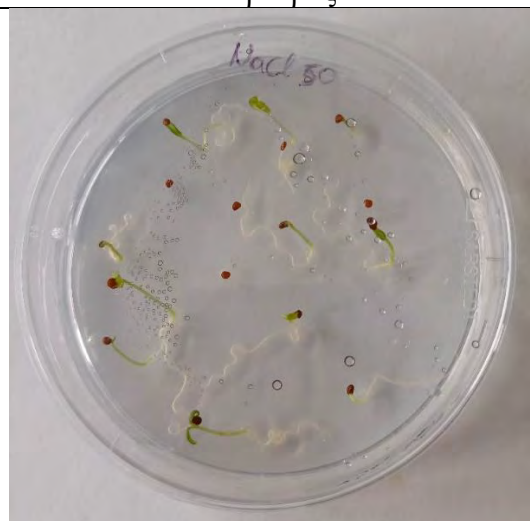
33^η ημέρα



Μάρτυρας



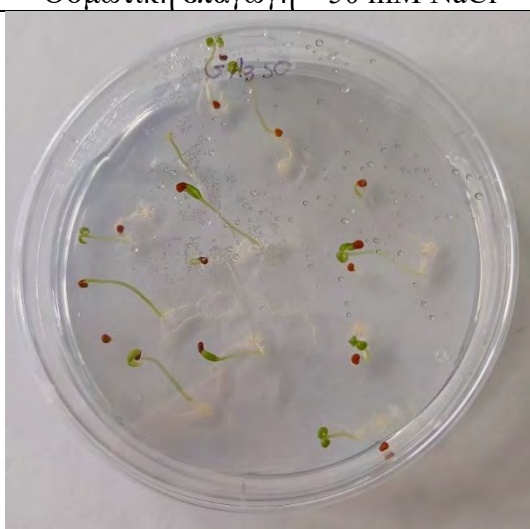
Ενυδατική επαγωγή – H₂O



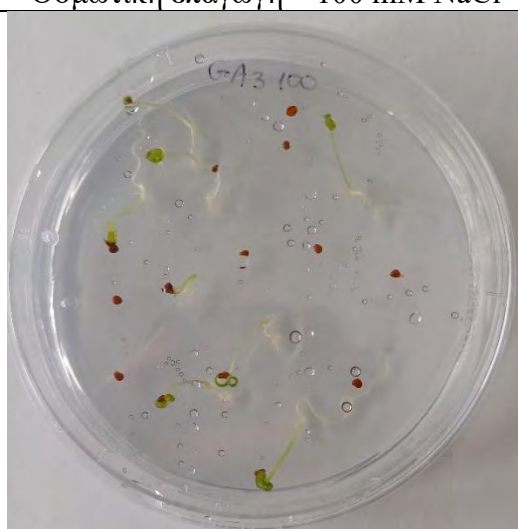
Οσμωτική επαγωγή – 50 mM NaCl



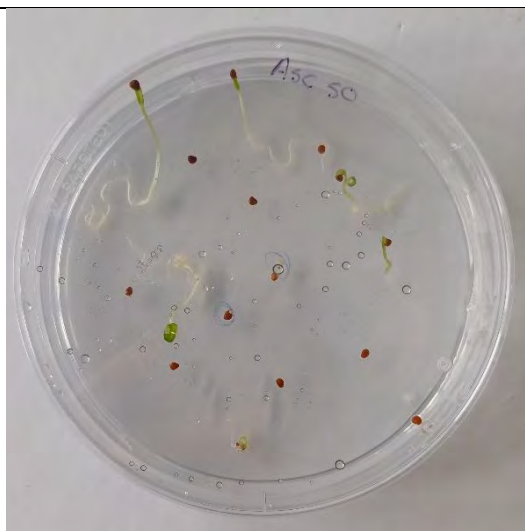
Οσμωτική επαγωγή – 100 mM NaCl



Ορμονική επαγωγή - 50 μ M GA₃



Ορμονική επαγωγή - 100 μ M GA₃



Θρεπτική επαγωγή - 50 mg L⁻¹ Asc



Θρεπτική επαγωγή - 100 mg L⁻¹ Asc

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια, έχει παρατηρηθεί αυξημένη ζήτηση σε προϊόντα φυτικής προέλευσης που έχουν ως βάση συστατικά από αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά. Στο πλαίσιο αυτό, έχουν αντίστοιχα εντατικοποιηθεί και οι μελέτες σχετικά με τις λειτουργικές ιδιότητες των φαρμακευτικών φυτών, οι οποίες στοχεύουν πρωτίστως στη βέλτιστη αξιοποίηση του βιοδραστικού τους δυναμικού. Στοχεύοντας ωστόσο στην εμπορική αξιοποίησή των φαρμακευτικών φυτών ως κερδοφόρες εναλλακτικές καλλιέργειες είναι αδιαμφισβήτητη η ανάγκη διεξαγωγής μελετών που εστιάζουν στη ανάπτυξη και βελτιστοποίηση των καλλιεργητικών πρακτικών ανά είδος. Η συστηματική καλλιέργεια των φαρμακευτικών φυτών, μεταξύ άλλων, παρουσιάζει δυσκολίες που σχετίζονται με την ανομοιόμορφη και μειωμένη βλάστηση και τη μη συγχρονισμένη ανάπτυξη, που οδηγούν σε ανεπιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας και, ως εκ τούτου, μείωση του παραγωγικού της δυναμικού.

Με δεδομένη την τάση για εντατικοποίηση της καλλιέργειας των αυτοφυών αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών, φέρεται ως επιτακτική η ανάγκη για αντιμετώπιση των προβλημάτων που σχετίζονται με τη βλάστηση των σπόρων, η οποία εξάλλου αποτελεί και το πλέον κρίσιμο στάδιο κατά το βιολογικό κύκλο των φυτών. Προς την κατεύθυνση αυτή, ολοένα και περισσότερες έρευνες έχουν στραφεί προς την ανάπτυξη τεχνικών για την ενίσχυση της βλάστησης και την επίτευξη ομοιόμορφου φυτρώματος ώστε να καταστεί εφικτή η απρόσκοπτη εγκατάσταση της καλλιέργειας και η επίτευξη ικανοποιητικών αποδόσεων. Το δυναμικό βλάστησης καθορίζεται από ποικίλους παράγοντες, γενετικούς και περιβαλλοντικούς (Makena et al., 2018). Συνεπώς, πληθώρα ερευνών επικεντρώνονται στη μελέτη της επίδρασης διαφόρων μεταχειρίσεων που μπορούν να δράσουν ως επαγωγείς της βλάστησης και της αρχικής ανάπτυξης των σποροφύτων.

Στην παρούσα μελέτη, ερευνήθηκε η επίδραση διεγερτών της βλάστησης στο φαρμακευτικό είδος *Atropa belladonna* L., το οποίο χαρακτηρίζεται από χαμηλό δυναμικό βλάστησης *per se*, οδηγώντας συχνά σε ανομοιόμορφο φύτευμα και ανεπιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας. Η διέγερση της βλάστησης επιχειρήθηκε με φυσικές και χημικές προσεγγίσεις που περιλαμβάνουν i) την ενυδατική επαγωγή που αφορά σε εμβάπτιση των σπόρων σε νερό (hydro – priming), ii) την οσμωτική επαγωγή

(50, 100 mM NaCl), iii) την ορμονική επαγωγή μέσω της εφαρμογής γιββεριλλικού οξέος (50, 100 μM GA₃) και iv) τη θρεπτική επαγωγή που επετεύχθη με εφαρμογή ασκορβικού οξέος (50, 100 mg L^{-1} L-ascorbic acid). Προκειμένου να καταστεί εφικτή η αντικειμενική αξιολόγηση της επίδρασης των ανωτέρω μεταχειρίσεων, στο πείραμα συμπεριλήφθηκαν ως μάρτυρες σπόροι που δεν υπέστησαν κάποια μεταχείριση. Η επίδραση των μεταχειρίσεων διέγερσης μελετήθηκε χρησιμοποιώντας ως κριτήρια αξιολόγησης γνωρίσματα που σχετίζονται με τη βλάστηση και την ανάπτυξη των σποροφύτων. Συγκεκριμένα, η αξιολόγηση έγινε βάσει του ποσοστού βλάστησης, του μήκους ρίζας και του μήκους βλαστού και του ποσοστού περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων.

Σχετικά με το ποσοστό βλάστησης των σπόρων, παραδόξως, οι μεγαλύτερες τιμές καταγράφηκαν στο μάρτυρα (80%) και ακολούθησαν οι σπόροι που προηγήθηκε ορμονική επαγωγή με χρήση γιββεριλλικού οξέος, στις συγκεντρώσεις των 50 μM και 100 μM GA₃ (63-70%). Αντίθετα, το χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης σημειώθηκε έπειτα από εφαρμογή ασκορβικού οξέος (50, 100 mg L^{-1} L-ascorbic acid) (35-40%). Η εμφάνιση με νερό και η οσμωτική επαγωγή, με χρήση 50 mM και 100 mM NaCl, είχαν μέτρια αποτελέσματα ως προς την ικανότητα ενίσχυσης της βλάστησης, με τα ποσοστά αυτών να κυμαίνονται μεταξύ 55% και 63%. Λαμβάνοντας υπόψη τα συνολικά αποτελέσματα, την καλύτερη απόκριση εμφάνισαν οι σπόροι του μάρτυρα, ενώ οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις δε διαφοροποιήθηκαν σημαντικά ως προς το τελικό ποσοστό βλάστησης, με εξαίρεση αυτή του ασκορβικού οξέος (100 mg L^{-1}) που οδήγησε σε σημαντικά μειωμένο ποσοστό βλάστησης.

Περαιτέρω, τα αποτελέσματα της μελέτης υπογραμμίζουν την απουσία διαφορών αναφορικά με το μήκος ρίζας και βλαστού, παρέχοντας ενδείξεις ότι οι υπό μελέτη μεταχειρίσεις δεν επηρεάζουν σημαντικά το δυναμικό ανάπτυξης των σποροφύτων. Το μεγαλύτερο μήκος ρίζας εμφάνισε η ενυδατική επαγωγή (2,3 cm), γεγονός που παρουσιάζει ενδιαφέρον καθώς η συγκεκριμένη μεταχείριση είναι η πλέον προσιτή από άποψη ευκολίας στην εφαρμογή αλλά και κόστους. Ως προς το μήκος της ρίζας, ακολούθησε ο μάρτυρας (2,25 cm), ενώ οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις (NaCl – priming, Gibberellic acid – priming, Ascorbic acid – priming) οδήγησαν σε παρόμοια μήκη ρίζας, τα οποία κυμάνθηκαν μεταξύ 1,7 – 1,9 cm. Κατ' αντιστοιχία, η ανάλυση σχετικά με το μήκος βλαστού κατέδειξε την απουσία διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων αλλά και του μάρτυρα. Οι μεταχειρίσεις της ορμονικής επαγωγής (50, 100 μM GA₃)

εμφάνισαν το μεγαλύτερο μήκος βλαστού (1,36 cm), ακολουθούμενες από την ενυδατική επαγωγή με ελάχιστα μικρότερο μήκος (1,32 cm). Τόσο ο μάρτυρας όσο και οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις (dH₂O, NaCl – priming, Ascorbic acid – priming) εμφάνισαν παρόμοιες τιμές ως προς το μήκος του βλαστού, ενώ η μικρότερη ανάπτυξη σημειώθηκε κατά την προμεταχείριση των σπόρων με 100 mM NaCl (1,16 cm).

Παρά την απουσία διαφορών σχετικά με την ανάπτυξη των σποροφύτων, η ανάλυση κατέδειξε σαφείς διαφοροποιήσεις ως προς το νωπό βάρος των σποροφύτων. Συγκεκριμένα, τα σπορόφυτα του μάρτυρα εμφάνισαν το μεγαλύτερο νωπό βάρος (0,14 g), ακολουθούμενα από αυτά που προέκυψαν έπειτα από οσμωτική επαγωγή με 50 mM NaCl (0,13 g). Αντίθετα, το μικρότερο νωπό βάρος καταγράφηκε στα σπορόφυτα που προέκυψαν από σπόρους που δέχθηκαν οσμωτική επαγωγή με χρήση 100 mM NaCl (0,073 g). Σε συνάρτηση με τα ανωτέρω ευρήματα, ο μάρτυρας εμφάνισε επίσης τις υψηλότερες τιμές ξηρού βάρους (0,036 g), σημειώνοντας σαφή υπεροχή έναντι όλων των υπολοίπων μεταχειρίσεων που χαρακτηρίστηκαν από σημαντικά μειωμένο ξηρό βάρος. Τη μικρότερη τιμή εμφάνισαν τα σπορόφυτα που ανήκουν στη μεταχείριση του ασκορβικού οξέος και συγκεκριμένα στη συγκέντρωση των 50 mg L⁻¹ (0,005 g). Επίσης, εξαιρετικά χαμηλό ξηρό βάρος παρουσίασε η ορμονική επαγωγή, με εφαρμογή 50 μM GA₃ γιββεριλλικού οξέος (< 0,01 g), ενώ οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις εμφάνισαν ενδιάμεσες τιμές ξηρού βάρους (0,01 g - 0,015 g). Βάσει των ανωτέρω ευρημάτων, η ανάλυση κατέδειξε επίσης σημαντικές διαφορές αναφορικά με ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC) (%). Συγκεκριμένα, οι μεγαλύτερες τιμές WC καταγράφηκαν στα σπορόφυτα που προέκυψαν έπειτα από προμεταχείριση των σπόρων με 50 mg L⁻¹ ασκορβικού οξέος, εμβάπτιση με νερό και 50 mM NaCl, όπου σημειώθηκαν τιμές > 89%. Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις δεν παρουσίασαν σημαντική ποσοστιαία διαφορά (82-87%), με εξαίρεση το μάρτυρα όπου καταγράφηκε η χαμηλότερη τιμή WC (~74%). Τα ευρήματα σχετικά με το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων του μάρτυρα βρίσκονται σε συνάρτηση με το σημαντικά αυξημένο ξηρό τους βάρος, το οποίο εξάλλου αποτελεί έναν σημαντικό δείκτη της απόδοσης των καλλιεργειών.

Λαμβάνοντας υπόψη το σύνολο των ευρημάτων, εξάγεται το συμπέρασμα ότι οι υπό μελέτη μεταχειρίσεις δεν οδηγούν σε ουσιαστική ενίσχυση του δυναμικού βλάστησης και ανάπτυξης των σποροφύτων στο είδος *Atropa belladonna*. Αξιολογώντας συγκριτικά τις υπό μελέτη μεταχειρίσεις, ο μάρτυρας υπερείχε ως προς το δυναμικό

βλάστησης αλλά και το νωπό και ξηρό βάρος των σποροφύτων. Η ενυδατική επαγωγή οδήγησε σε αυξημένο μήκος ρίζας, συγκριτικά με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, ενώ η ορμονική επαγωγή (50, 100 μM GA₃) επηρέασε θετικά το μήκος βλαστού των σποροφύτων. Αντίθετα, η θρεπτική επαγωγή (50, 100 mg L⁻¹ L-ascorbic acid) επηρέασε αρνητικά το δυναμικό βλάστησης. Συμπερασματικά, λαμβάνοντας υπόψη το σύνολο των παραμέτρων που αξιολογήθηκαν αλλά και τη σχέση κόστους – οφέλους, προκύπτει ότι ο μάρτυρας αποτελεί την πλέον ωφέλιμη επιλογή σε σχέση με τις φυσικές και χημικές εφαρμογές τεχνικές διέγερσης της βλάστησης που εφαρμόστηκαν. Η διεξαγωγή πρόσθετων μελετών μπορεί δυνητικά να συμβάλει την ουσιαστική ενίσχυση του δυναμικού βλάστησης και της βελτιστοποίησης της καλλιέργειας του φαρμακευτικού είδους *Atropa belladonna* L..

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη Βιβλιογραφία

1. Acquaah, G. (2012). *Principals of Plant Genetics and Breeding*. Blackwell Publishing, 2, 201.
2. Allendorf, F., & Ryman, N. (2002). The role of genetics in population viability. *Population Viability Analysis*. The University of Chicago Press, 50-85.
3. Bernardini, S., Osorio, M. S., & Tiezzi, A. (2018). Plants: An infinite source of molecules useful for pharmaceuticals. *Current Traditional Medicine*, 4(3), 157-165.
4. Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (1985). The annual dormancy cycle in buried weed seeds: A continuum. *BioScience*, 35, 492-498.
5. Borlase, S., Loebel, A., Frankham, R., Nurthen, R., Briscoe, D., & Daggard, G. (1993). Modeling problems in conservation genetics using captive *Drosophila* populations: consequences of equalization of family sizes. *Conservation Biology*, 7, 122-131.
6. Brimble, L. F. J. (1942). *Intermediate botany*. Macmillan, London.
7. Buchanan, B. B., Gruissem, W., & Jones, R. L. (2000). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists.
8. Caksen, H., Odabas, D., Akbayram, S., Cesur, Y., Arslan, S., et al. (2003). Deadly nightshade (*Atropa belladonna*) intoxication: an analysis of 49 children. *Hum Exp Toxicol*, 22, 665-668.
9. Chachalis, D., & Reddy, K. N. (2000). Factors affecting *Campsis radicans* seed germination and seedling emergence. *Weed Sci.*, 48, 212-216.
10. Crow, J. (1993). Dominance and Overdominance. *Quantitative Genetics of Heterosis*. Oxford Surveys in Evolutionary Biology, 9, 1-42.
11. David, B., Wolfender, J. L., & Dias, D. A. (2015). The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochemistry Reviews*, 14, 299-315.
12. Evans, W. C. (2000). *Trease and Evans' pharmacognosy*, 15th edn. WB Saunders, London.

13. Farnsworth, N. R., & Soejarto, D. D. (1991). Global Importance of Medicinal Plants. In *Conservation of Medicinal Plants*, eds. Olayiwola Akerele, Vernon Heywood, and Hugh Synge. Cambridge: Cambridge University Press, 25–52.
14. Fazlali, R., Asli, D. E., & Moradi, P. (2013). The effect of seed priming by ascorbic acid on bioactive compounds of naked seed pumpkin (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) under salinity stress. *Int J Farm Allied Sci*, 2(17), 587-590.
15. Fitch, W. H. (1924). *Illustrations of the British flora*. Reeve, London.
16. Ford, M. J. (2002). Selection in captivity during supportive breeding may reduce fitness in the wild. *Conservation Biology*, 16(3), 815-825.
17. Fowler, M. W. (2006). Plants, medicines and man. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(12), 1797-1804.
18. Frankham, R. (2008). Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology*, 17, 325-333.
19. Frankham, R., Briscoe, D. A., & Ballou, J. D. (2002). *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press.
20. Fraser, D. (2008). How well can captive breeding programs conserve biodiversity? A review of salmonids. *Evolutionary Applications*, 1, 535-586.
21. Frohne, D., & Jensen, U. (1998). *Systematik des Pflanzenreichs*, 5 Aufl. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
22. Gantait, S., Debnath, S., & Nasim Ali, M. (2014). Genomic profile of the plants with pharmaceutical value. *3 Biotech*, 4, 563-578.
23. Gilpin, M., & Soule, M. (1986). *Conservation Biology- The science of scarcity and diversity*. Minimum viable populations: Processes of species extinction. Sinauer Associates Inc., 19-34.
24. Grinkevich, N. I., Borovkova, L. I., & Gribovskaya, I. F. (1970). Effects of Microelements on Alkaloid Content in *Atropa belladonna* Plant, *Farmatsiya*, no. 5, 41–47.
25. Griffith, J., Scott, M., Carpenter, J., & Reed, C. (1989). Translocation as a species conservation tool: status and strategy. *Science*, 245, 477–480.
26. Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis*. 3rd ed. London: Chapman & Hall, 1–302.
27. Hassaballa, L., & Alsidding, A. (2022). Bio-Taxonomic Study Based on Selected Aromatic Plants Species Related to Different Plant Families as Raw Material. *Journal of Food Technology & Nutrition Sciences*, 4(5), 2-7.

28. Heywood, V. H. (1993). Flowering plants of the world. Batsford, London.
29. Houghton, P. J. (2001). Old yet new—pharmaceuticals from plants. *Journal of Chemical Education*, 78(2), 175.
30. Jule, K. R., Leaver, L. A., & Lea, S. E. G. (2008). The effects of captive experience on reintroduction survival in carnivores: a review and analysis. *Biological Conservation*, 141(2), 355-363.
31. Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., et al. (2002). Plant systematics. A phylogenetic approach, 2nd edn. Sinauer, Sunderland, MA.
32. Kamada H., Okamura N., Satake M., Harada H., Shimomura K. (1986). Alkaloid production by hairy root cultures in *Atropa belladonna*. *Plant Cell Rep.*, 5, 239-242.
33. Kennedy, D., & Wightman, E. L. (2011). Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *Advances in Nutrition*, 2, 32-50.
34. Khan, H. A., Ayub, C. M., Pervez, M. A., Bilal, R. M., Shahid, M. A., & Ziaf, K. (2009). Effect of seed priming with NaCl on salinity tolerance of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) at seedling stage. *Soil Environment*, 28, 81-87.
35. Kizi, K. S. (2022). *Atropa belladonna*, deadly nightshade and its peculiarities. *International Journal of Medical Science and Public Health Research*, 3(04), 13-7.
36. Lamminpaa, A., & Kinos, M. (1996). Plant poisonings in children. *Hum Exp Toxicol*, 15, 245.
37. Lei, C., Bagavathiannan, M., Wang, H., Sharpe, S. M., Meng, W., & Yu, J. (2021). Osmopriming with Polyethylene Glycol (PEG) for Abiotic Stress Tolerance in Germinating Crop Seeds: A Review. *Agronomy*, 11, 2194.
38. Li, S., Yuan, W., Yang, P., Antoun, M., Balick, M., & Cragg, G. (2010). Pharmaceutical crops: An overview.
39. Lutts, S., Benincasa, P., Wojtyla, L., Szymon Kubala, S., Pace, R., Lechowska, K., Quinet, M., & Garneczarska, M. (2016). Seed priming: new comprehensive approaches for an old empirical technique. In: *New Challenges in Seed Biology - Basic and Translational Research Driving Seed Technology*. (Eds Araujo S, Balestrazzi A) InTech.
40. Mabberly, D. J. (1990). The plant book. Cambridge University Press, Cambridge.

41. Malik, M., Hussain, S., Sajjad, N., Nazir, S., Gondal, M. U., & Arshad, J. (2021). Physicochemical analysis, qualitative and quantitative investigation of atropine in medicinal plant *Atropa belladonna*. *EJPMR*, 8(5), 149-57.
42. Maridass, M., & De Britto, A. J. (2008). Origins of Plant Derived Medicines. *Ethnobotanical Leaflets*, 12, 373-387.
43. Maslova, G. P., & Ten, L. I. (1996). Development of Techniques for Growing Belladonna. *Bulletin of All-Union Institute of Medicinal and Aromatic Plants*, no. 5, 21-25.
44. Mastenbroek, H. D., & Fischer, R. H. (1951). On the interaction between cytoplasmic male sterility and nuclear genes in barley. *Euphytica*, 4, 189-200.
45. Masters, J. C., & Sheldrick, C. (2011). CITES and the international trade in medicines derived from wild species: the case of the Tibetan Materia Medica. *Journal of Ethnopharmacology*, 134, 603-608.
46. McKersie, B. D., & Leshem, Y. Y. (1994). Stress and stress coping in cultivated plants. Kluwer Academic Publishers, 45-60.
47. Mill, R. R. (1999). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh University Press.
48. Moerman, D. E. (1996). An analysis of the food plants and drug plants of native North America. *Journal of Ethnopharmacology*, 52, 1-22.
49. Munir, F., Umer, M. J., Li, Y., Chen, F., Du, X., Cui, W., Yan, Z., Javed, Q., Wei, Z., Rasool, F., Geng, S., & He, N. (2020). Seed priming as an efficient approach to improve germination and early seedling growth of *Pinus armandii* under drought stress. *BMC Plant Biology*, 20, 363.
50. Olsen, M. W. (1981). Seed priming: a comparison of seed moisture, germination, and initial seedling growth. *Crop Science*, 21, 1024-1028.
51. Parsa, M. (1951). *Flore de l'Iran*. Tehran University Press.
52. Pei, S. J. (2001). Ethnobotany and modernisation of traditional Chinese medicine. In: *Proceeding of the International Symposium on Traditional Medicine: Modern Approach for Affordable Global Health*. Kobe, Japan.
53. Perry, N. B., & Simpson, B. P. (2001). *Medicinal plants of East and Southeast Asia: attributed properties and uses*. New York: MIT Press, Cambridge, Mass.
54. Phillips, O. L., & Gentry, A. H. (1993). The useful plants of Tambopata, Peru: I. Statistical hypotheses tests with a new quantitative technique. *Economic Botany*, 47, 15-32.

55. Polunin, O. (1980). *Flowers of Europe: A field guide*. Oxford University Press, Oxford.
56. Powell, J. R., & Wistrand, H. (1978). Genetics of captively bred populations: comparison with natural populations. *Evolution*, 32, 282-295.
57. Prescott-Allen, R., & Prescott-Allen, C. (1986). *The first resource: wild species in the North American economy*. Yale University Press, 529.
58. Reeve, E. C. R., & Robertson, A. (1954). Studies in quantitative inheritance. In: *Quantitative Inheritance*. HMSO, London, 1-19.
59. Rieseberg, L. H., Widmer, A., Arntz, A. M., & Burke, J. M. (2003). The genetic architecture necessary for transgressive segregation is common in both natural and domesticated populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 358, 1141-1147.
60. Robbertse, H. J., & Staden, J. V. (1979). Cytokinins in fruit abscission. *Botanical Gazette*, 140, 377-381.
61. Rodino, E., & Pal, M. (2011). Medicinal plants of Bangladesh: a comprehensive review. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 1, 98-120.
62. Santos, J., Oliveira, H., da Silva, C., Alves, R., Oliveira, M., & Pereira, P. (2017). Stress response of *Atropa belladonna* L. under lead (Pb) contamination and its effects on plant antioxidant system and genotoxicity markers. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(25), 20721-20734.
63. Schmidt, M., & Jacobsen, J. (1999). A new approach to the chemical analysis of complex mixtures of volatile organic compounds: the case of fragrance compounds. *Journal of Chromatography*, 858, 263-273.
64. Smith, R. M. (1989). Seed Treatment. *Modern Methods of Plant Analysis*, New Series, Vol. 10. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 1-22.
65. Taylor, P., & Lefevre, F. (2016). Plant domestication: A 10,000-year experiment. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63, 679-690.
66. Thomas, H. (1991). *Plant senescence*. Cambridge University Press, Cambridge.
67. Thomas, M. B., & Reid, D. M. (1985). Effects of drought and ABA on the germination of *Cirsium arvense* (L.) Scop. *Seed Sci. Res.*, 5, 193-201.
68. Thomas, R. J., & Bohnert, H. J. (1993). Salt stress tolerance of plant cells: the role of low molecular weight solutes. In: *New Directions in the Study of Plants and Salt Stress*. Academic Press, San Diego, 325-345.

69. Thompson, J. D. (2005). *Plant Evolution in the Mediterranean*. Oxford University Press, Oxford.
70. Trappe, J. M. (1962). Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. *The Botanical Review*, 28, 538-606.
71. Turner, N. C. (2003). Drought resistance: A comprehensive approach to plant stress. *Journal of Experimental Botany*, 54, 667-675.
72. Van Andel, T. (2000). Non-timber forest products of the North-West District of Guyana. *Tropenbos-Guyana Series*, 8, 1-204.
73. Vogl, C. R., Picker, P., & Case, M. L. (2004). Traditional medicinal plants used in the Northern Peruvian Andes. *Journal of Ethnobiology*, 24, 241-267.
74. Vural, C., Yildirim, E., & Uysal, I. (2004). Effects of salt stress on germination and seedling growth of some chickpea varieties. *Plant Soil Environment*, 50, 281-287.
75. Webb, D. A. (1980). *The flora of the British Isles*. Cambridge University Press, Cambridge.
76. Williams, C. N., & Bartholomew, R. P. (1993). *Plant-Environment Interactions*. Oxford University Press, New York.
77. Wright, S. (1977). *Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 3: Experimental Results and Evolutionary Deductions*. University of Chicago Press, Chicago.
78. Yahyaoui, A. H., Bellili, S., & Gaaloul, N. (2023). Seed priming for enhancing salt tolerance in tomato plants: A review. *Journal of Environmental Biology*, 44, 555-567.
79. Young, A. G., & Clarke, G. M. (2000). Genetics, demography and viability of fragmented populations. *Conservation Biology Series*, 4, 243-271.

Ελληνική Βιβλιογραφία

1. Κατσιώτης, Θ., & Χατζοπούλου, Π. (2019). Αρωματικά Φαρμακευτικά Φυτά και Αιθέρια Έλαια. Εκδόσεις Κυριακίδη. Θεσσαλονίκη, 30-44.
2. Κουτσός, Β. Θ. (2006). Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά. Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη.
3. Κουτσός, Θ. (2006). Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά. Εκδόσεις Ζήτη, 349.
4. Μαλούπα, Ε., Γρηγοριάδου, Κ., Λάζαρη, Δ., & Κρίγκας, Ν. (2013). Καλλιέργεια, μεταποίηση και διασφάλιση ποιότητας ελληνικών Αρωματικών φαρμακευτικών

Φυτών, Βασικές αρχές καθετοποιημένης παραγωγής. Co-funded programme by the European Union (ERDF) and National Funds of Greece and Bulgaria. ΓΕΩΤ.Ε.Ε. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΑΝΑΤΟΛΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ. Καβάλα.

5. Μυλωνά, Φ., & Ερευνήτρια, Α. (2017). Τράπεζα Γενετικού Υλικού: Διατήρηση και αξιοποίηση της γενετικής ποικιλότητας. Περιοδικό ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, τεύχος, 20.
6. Παπαμιχαλόπουλος, Ν. Α. (2020). Καταγραφή και ανάπτυξη της πρωτογενούς παραγωγής και μεταποίησης των Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών. Προβλήματα-Προοπτικές.
7. Παναγιωτόπουλος, Ι. Ν., & Τοκατλίδης, Ι. Σ. (2014). ΣΠΟΡΟΠΑΡΑΓΩΓΗ, θεωρία & ασκήσεις. Εκδόσεις ΕΜΒΡΥΟ, Αιγάλεω, 35-39.
8. Γεωργίου, Κ., Θάνος, Κ., Ριζοπούλου, Σ., & Μελετίου Χρήστου, Μ. (2012). Οικοφυσιολογία φυτών. Εκδ. Δίαυλος.
9. Δόρδας, Χ. (2012). Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, 358.
10. Σκουλιά, Θ. (2007). Συνθήκες διακοπής ληθάργου σπόρου ζιζανίων και αυτοφυών ειδών (Bachelor's thesis).
11. Στεφάνου, Π., Μπαλούτας, Δ., Κατσινίκας, Δ., Αβραάμ, Ε. Μ., Κυριαζόπουλος, Α. Π., Παρίση, Ζ. Μ., & Αραμπατζής, Γ. (2014). Η καλλιέργεια των αρωματικών φυτών στην Ελλάδα: παρούσα κατάσταση, δυνατότητες και προοπτικές. Στα Πρακτικά του 8ου Πανελλήνιου Λιβαδοπονικού Συνεδρίου «Λιβάδια–Κτηνοτροφία: Έρευνα και ανάπτυξη. Προοπτικές εργασίας για νέους, 1-3.
12. Σκρουμπής, Β. (1998). Αρωματικά, Φαρμακευτικά και Μελισσοτροφικά φυτά της Ελλάδας. Αθήνα: Εκδόσεις ΑγροΤύπος, 256.
13. Γεωργίου, Κ., Θάνος, Κ., Ριζοπούλου, Σ., & Μελετίου Χρήστου, Μ. (2012). Οικοφυσιολογία φυτών. Εκδ. Δίαυλος.
14. Γεωργίου, Κ. (2004). Μετασυλλεκτικοί χειρισμοί σπόρων σποράς, ΤΕΙ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ, Καλαμάτα.