



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Σχολή Γεωπονικών επιστημών

Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Επαγωγή της βλάστησης στο είδος *Calendula officinalis*: επιδράσεις στις
παραμέτρους βλάστησης και ανάπτυξης των σποροφύτων»

ΜΑΣΟΥΡΑ ΕΛΕΝΗ ΜΑΡΙΑ



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

ΒΟΛΟΣ, 2024

**«Επαγωγή της βλάστησης στο είδος *Calendula officinalis*: επιδράσεις στις
παραμέτρους βλάστησης και ανάπτυξης των σποροφύτων»**

**« Seed priming in *Calendula officinalis*: effects on parameters of
germination and seedling growth»**

Μασούρα Ελένη-Μαρία

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Ουρανία Παυλή, 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

Ευχαριστίες

Για την διεκπεραίωση της πτυχιακής μου διατριβής θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους ανθρώπους που ενίσχυσαν την προσπάθεια και βοήθησαν σε όλη την πορεία της εργασίας.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Ουρανία Παυλή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, επιβλέπουσα της πτυχιακής διατριβής που ήταν εκεί για την επιστημονική καθοδήγηση, τις υποδείξεις και τις επεξηγήσεις σε όλη τη διάρκεια της ερευνητικής διαδικασίας.

Την κα. Ευαγγελία Παναγιωτάκη, Μέλος ΕΔΙΠ, του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος για την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθεια στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

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

Την υποψήφια διδάκτορα και μέλος του Εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης κα. Χριστίνα Τούμπου για την ενεργή συμβολή της στις πειραματικές διαδικασίες και την συγκινητική προθυμία της για βοήθεια.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις συμφοιτήτριες μου Βασιλική Κεχαγιά και Αγγελική Κουκόλη για την υποστήριξη και την παρέα κατά τη συγγραφή της διατριβής, και τους γονείς μου για την ψυχολογική και οικονομική στήριξη σε όλα τα φοιτητικά μου χρόνια.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	6
1. Εισαγωγή.....	8
Γενικά	8
1.1 Τα φαρμακευτικά είδη	9
1.1.1 Διατήρηση των φαρμακευτικών ειδών.....	11
1.1.2 Αξία των φαρμακευτικών ειδών και χρήσεις.....	16
1.1.3 Τα φαρμακευτικά είδη ως αντικείμενα εμπορικής καλλιέργειας.....	18
1.1.4 Στόχοι βελτίωσης των φαρμακευτικών ειδών	20
1.2 Το είδος <i>Calendula officinalis</i> L.....	23
1.2.1 Ταξινόμηση - Καταγωγή - Εξάπλωση.....	23
1.2.2. Βοτανική Περιγραφή - Βιολογικός κύκλος.....	25
1.2.3 Αγροκλιματικές απαιτήσεις	27
1.2.4 Η φαρμακευτική αξία του είδους <i>Calendula officinalis</i> L	28
1.3. Διέγερση της βλάστησης των σπόρων – Seed priming.....	33
1.3.1 Η κρισιμότητα του σταδίου της βλάστησης.....	33
1.3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν τη βλάστηση.....	33
1.3.3 Μέθοδοι διέγερσης της βλάστησης – Seed priming	35
Σκοπός της μελέτης.....	38
2. Υλικά και Μέθοδοι.....	39
2.1 Γενετικό υλικό.....	39
2.2 Απολύμανση των σπόρων.....	39
2.3 Τεχνητή διέγερση της βλάστησης.....	39
2.3.1 Μεταχειρίσεις.....	39

2.4 Πειραματικό σχέδιο.....	42
2.5 Αναπτυξιακές παράμετροι αξιολόγησης.....	42
2.6 Στατιστική επεξεργασία.....	43
3. Αποτελέσματα.....	44
3.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%)	44
3.2 Μήκος βλαστού.....	45
3.3 Μήκος ρίζας.....	47
4. Συζήτηση.....	54
5. Βιβλιογραφία.....	57

Περίληψη

Από την αρχαιότητα τα φαρμακευτικά φυτά αξιοποιούνται από τον άνθρωπο εξαιτίας των θεραπευτικών τους ιδιοτήτων, τις οποίες οφείλουν στη σύνθεση βιοδραστικών συστατικών. Σήμερα, τα φαρμακευτικά φυτά αποτελούν βασική πρώτη ύλη των βιομηχανιών φαρμάκων, καλλυντικών, τροφίμων κ.α. καθώς πολλοί καταναλωτές έχουν στραφεί στη χρήση προϊόντων φυτικής προέλευσης. Ενόψει της ανάγκης για εντατικοποίηση της καλλιέργειας των φαρμακευτικών φυτών, καθίσταται αναγκαία η αντιμετώπιση προβλημάτων που σχετίζονται με τη βλάστηση και την παραγωγικότητά τους, καθώς τα χαρακτηριστικά αυτά έχουν οικονομικό αποτύπωμα για τους παραγωγούς και τις σχετικές βιομηχανίες. Δεδομένου ότι η περίοδος βλάστησης αποτελεί κρίσιμη φάση του βιολογικού κύκλου των φυτών, κρίνεται αναγκαία η εφαρμογή νέων τεχνικών και μεθόδων για την ενίσχυση της βλάστησης και την βελτίωση της απόδοσης της καλλιέργειας των φαρμακευτικών φυτών. Η παρούσα πτυχιακή διατριβή εστίασε στο φαρμακευτικό είδος *Calendula officinalis*, με κοινή ονομασία καλέντουλα, το οποίο αποτελεί πολύτιμη πηγή συστατικών με αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντιδιαβητικές, αντικαρκινικές, ανθελμινθικές και ηπατοπροστατευτικές ιδιότητες καθώς και ιδιότητες επούλωσης πληγών. Συγκεκριμένα, η μελέτη επικεντρώθηκε στην αντιμετώπιση των προβλημάτων της βλάστησης στην καλέντουλα, που αποτελεί είδος με χαμηλό δυναμικό ή ακόμη και αδυναμία βλάστησης, μέσω εφαρμογής διαφορετικών μεταχειρίσεων προ-επεξεργασίας των σπόρων (seed priming). Η δράση των διεγερτών σχετίζεται με την επαγωγή φυσιολογικών διεργασιών που συμβάλλουν στην απορρόφηση νερού και στην ενεργοποίηση της διαδικασίας βλάστησης. Η διέγερση της βλάστησης επιχειρήθηκε μέσω εμβάπτισης των σπόρων i) σε νερό (ενυδατική επαγωγή), ii) διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων χλωριούχου νατρίου (50, 100 mM NaCl) (οσμωτική επαγωγή), iii) διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων γιββεριλικού οξέος (50, 100 μ M GA₃) (ορμονική επαγωγή) και iv) διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων ασκορβικού οξέος (50, 100 mg L⁻¹) (θρεπτική επαγωγή). Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν σπόροι που δεν υπέστησαν καμία προ-επεξεργασία. Η πειραματική διαδικασία διήρκησε 22 μέρες και οι παράμετροι που αξιολογήθηκαν περιλάμβαναν το ποσοστό βλάστησης, το μήκος ρίζας και βλαστού, το νωπό και ξηρό βάρος καθώς και το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας στα σπορόφυτα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι διεγέρτες είχαν σημαντική θετική επίδραση στη βλάστηση και την ανάπτυξη των

σποροφύτων, ενώ σημαντική υπεροχή εμφάνισαν οι μεταχειρίσεις ορμονικής και οσμωτικής επαγωγής με εφαρμογή γιββεριλικού και ασκορβικού οξέος, αντίστοιχα. Τα ευρήματα της μελέτης συνάδουν με αναφορές σχετικά με τις προοπτικές αξιοποίησης των διεγερτών για την επαγωγή της βλάστησης σε είδη που εμφανίζουν χαμηλό δυναμικό βλάστησης *per se*, συμπεριλαμβανομένου του είδους *Calendula officinalis*.

1. Εισαγωγή

Γενικά

Από την αρχαιότητα, πολλά φάρμακα και ροφήματα παρασκευάζονται από φυτά, τα οποία συνδέονταν με την ανακούφιση συμπτωμάτων, τη θεραπεία ασθενειών ή την επούλωση πληγών. Με την πάροδο του χρόνου και την ανάπτυξη της γενετικής, της βιολογίας, της τεχνολογίας αλλά και την ανάδειξη της Δυτικής Ιατρικής, ως φάρμακα ορίζονται κατά κύριο λόγο οι χημικές ουσίες που επηρεάζουν τη λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού. Κοινώς, κάθε ουσία ή παρασκεύασμα που ανακουφίζει ή αποκαθιστά την ανθρώπινη υγεία, εξακολουθεί να χαρακτηρίζεται ως φάρμακο. Τις τελευταίες δεκαετίες, πολλοί άνθρωποι στρέφονται σε έναν πιο υγιεινό τρόπο ζωής με σκοπό να βελτιώσουν τις διατροφικές τους συνήθειες και τη σωματική τους κατάσταση που σχετίζονται άμεσα με την υγεία, την ευεξία και την ομορφιά. Για αυτό παρατηρείται όλο και πιο μεγάλη προτίμηση για σκευάσματα φυτικής προέλευσης αφού έχει αποδειχθεί ότι πολλά φυτά έχουν ευεργετικές ιδιότητες και βιολογικά χαρακτηριστικά, τα οποία ανταγωνίζονται τα χημικά προϊόντα. Με τα δεδομένα αυτά υπάρχει αύξηση του ενδιαφέροντος για την αξιοποίηση και την καλλιέργεια φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών που μέχρι πριν λίγα χρόνια δεν κατείχαν σημαντική θέση στο διεθνές εμπόριο και στην καθημερινή χρήση από το κοινό. Η αξία των φαρμακευτικών ειδών είναι βαρυσήμαντη αφού χρησιμοποιούνται σε πληθώρα βιομηχανιών όπως τροφίμων, φαρμάκων, καλλυντικών, ποτών, αρωμάτων αλλά και μαζικής εστίασης.

Ένας ιδιαίτερα κρίσιμος παράγοντας στο βιολογικό κύκλο των φαρμακευτικών φυτών είναι η δυνατότητα βλάστησης, η οποία ορίζεται ως έκπτυξη του ριζιδίου από το περίβλημα του σπόρου. Η βλάστηση εκτός από το νερό, το οξυγόνο, τη θερμοκρασία και το φως επηρεάζεται επίσης σημαντικά από το λήθαργο του σπόρου, το έδαφος που εγκαθίσταται η καλλιέργεια και τις διάφορες γεωργικές πρακτικές. Είναι προφανές ότι η αποτυχημένη ή ελλιπής βλάστηση επιφέρει ασύγχρονο φύτρωμα, ανομοιομορφία στην ανάπτυξη των φυτών και μειωμένη απόδοση με συνέπεια το οικονομικό κόστος για τον παραγωγό, το οποίο αποτυπώνεται αργότερα και στον καταναλωτή. Έτσι, κρίνεται αναγκαίο η επιστημονική κοινότητα να στρέψει το ενδιαφέρον σε πρακτικές ενίσχυσης της βλάστησης είτε με φυσικό τρόπο είτε τεχνητά με τη χρήση ουσιών που δρουν ως διεγέρτες.

1.1 Τα φαρμακευτικά είδη

Ως φαρμακευτικά φυτά χαρακτηρίζονται αυτά που παράγουν, σε τουλάχιστον ένα τμήμα τους, χημικές ουσίες οι οποίες δρουν θεραπευτικά για τον άνθρωπο. Οι φυτικοί ιστοί έχουν καταγραφεί και πλέον συλλέγονται και επεξεργάζονται από τον άνθρωπο με σκοπό την απομόνωση των δραστικών τους ουσιών. Παράλληλα, μελετάται η δομή και οι φυσικοχημικές ιδιότητες των ουσιών αυτών, προκειμένου να παραχθούν σε ευρεία κλίμακα και να χρησιμοποιηθούν για παραγωγή φαρμάκων.

Στην ομάδα των αρωματικών φυτών, ανήκουν φυτικά είδη που αναδύουν στο περιβάλλον κάποιο ξεχωριστό άρωμα, χαρακτηριστικό για κάθε είδος ή ποικιλία που οφείλεται στις πτητικές ενώσεις, τα αιθέρια έλαια. Συνεπώς, αρωματικά φυτά είναι αυτά από τα οποία με διάφορες μεθόδους λαμβάνονται οι αρωματικές τους ουσίες, τα αιθέρια έλαια.

Πολλά φυτά χαρακτηρίζονται ταυτόχρονα φαρμακευτικά και αρωματικά διότι οι διαφορές μεταξύ τους δεν είναι σαφείς και ισορροπούν ανάμεσα και στις δύο ιδιότητες. Στο φυτικό βασίλειο υπάρχουν 350.000 διαφορετικά είδη φυτών. Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά ανήκουν σε τουλάχιστον πενήντα οικογένειες μεταξύ των οποίων είναι οι: *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Geraniaceae*, *Rutaceae* και άλλες. Αυτές οι οικογένειες περιλαμβάνουν 50.000 έως 70.000 είδη (Canteretal.,2005, Taylor & David, 2008), εκ των οποίων εκτιμάται ότι τα 18.000 είδη είναι αρωματικά φυτά και τα 60.000 φαρμακευτικά.

Ορισμένα από τα πλέον γνωστά φαρμακευτικά είδη είναι τα ακόλουθα: Βαλεριάνα (*Valeriana officinalis*), Βάλσαμο (Υπερικόν) (*Hypericum perfoliatum*), Βασιλικός (*Ocimum basilicum*), Γαϊδουράγκαθο (Κενταύριο) (*Silybum marianum*), Δάφνη (*Laurus nobilis*), Δεντρολίβανο (*Rosmarinus officinalis*), Δίκταμο (*Origanum dictamnus*), Εχινάκια (*Echinacea purpurea*), Ιβίσκος (*Hibiscus* spp.), Καλέντουλα (*Calendula officinalis*), Κολιάνδρος (*Coriandrum sativum*), Κώνιο (*Conium maculatum*), Πιπερόριζα (Ginger) (*Zingiber officinale*), Τσάι του βουνού (*Sideritis* spp.), Τσουκνίδα (*Urtica* spp.) κ.α.

Τα φαρμακευτικά φυτά συνιστούν πολύτιμες πηγές νέων φαρμάκων. Στην Ευρώπη, χρησιμοποιούνται περισσότερα από 1.300 φαρμακευτικά φυτά, εκ των οποίων το 90%

συλλέγεται από άγριους πληθυσμούς (Ζακυνθινός, 2023). Στις Ηνωμένες Πολιτείες, περίπου 118 από τα 150 κορυφαία συνταγογραφούμενα φάρμακα βασίζονται, επίσης, σε φυσικές πηγές. Επιπλέον, έως και το 80% των ανθρώπων στις αναπτυσσόμενες χώρες εξαρτώνται πλήρως από φυτικά φάρμακα για την πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας τους (Ζακυνθινός, 2023). Σε περιοχές της Ασίας, της Αφρικής, της Λατινικής Αμερικής και της Μέσης Ανατολής, το 70% - 95% του πληθυσμού εξαρτάται από την παραδοσιακή ιατρική για την ιατροφαρμακευτική τους περίθαλψη. Σε χώρες όπως ο Καναδάς, η Γαλλία, η Γερμανία, η Ιταλία, το 80% του πληθυσμού βασίζεται σε μεγάλο βαθμό σε φάρμακα φυτικής προέλευσης για τις ανάγκες υγειονομικής περίθαλψης και εκτιμάται ότι τις επόμενες δεκαετίες ένα παρόμοιο ποσοστό του παγκόσμιου πληθυσμού μπορεί να εξακολουθεί να βασίζεται σε αυτά (Ζακυνθινός, 2023).

Στην Ελλάδα, οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι ευνοϊκές για την καλλιέργεια φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών γιατί υπάρχει ποικιλία εδαφικών τύπων και επικρατούν μικροκλίματα που συμβάλλουν στην αυξημένη απόδοση και ποιότητα. Με βάση τις περιορισμένες απαιτήσεις σε νερό των φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών και την προτίμηση τους σε ασβεστούχα εδάφη, η ανάπτυξη τέτοιων καλλιεργειών συνιστάται σε ορεινές και ημιορεινές περιοχές της χώρας. Έχουν προσδιοριστεί 1.683 είδη και υποείδη των αρωματικών - φαρμακευτικών φυτών (25% της ελληνικής χλωρίδας) για τα οποία υπάρχουν δημοσιευμένες φαρμακογνωστικές έρευνες (Κρίγκας, 2019). Η Ελλάδα θεωρείται ως θερμή ζώνη βιοποικιλότητας καθώς απαντάται πληθώρα αρωματικών – φαρμακευτικών φυτών που μπορούν να χαρακτηριστούν ως υπερτροφές. Μεταξύ άλλων, σε αυτά συγκαταλέγονται τα ακόλουθα είδη: χαρούπι, κάππαρη, κρίταμο, μαστίχα Χίου, μάραθος, ορεινό θρούμπι, φασκόμηλο, τσάι του βουνού, δίκταμος, κρόκος Κοζάνης, μαντζουράνα, κυνόροδα (καρποί του άγριου τριαντάφυλλου). Στα είδη αυτά αποδίδεται ο όρος υπερτροφή καθώς είναι πλούσια σε αιθέρια έλαια, έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις, μέταλλα, ιχνοστοιχεία, βιταμίνες και ωφέλιμα λιπαρά οξέα. Ως εκ τούτου, πολλά από τα αρωματικά – φαρμακευτικά είδη αποτελούν παραδοσιακά φάρμακα φυτικής προέλευσης, 7 εκ των οποίων έχουν εγκεκριμένη χρήση από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή Φαρμάκων (δίκταμος Κρήτης, μάραθος, μαντζουράνα, μαστίχα Χίου, μελισσόχορτο, φαρμακευτικό φασκόμηλο, τσάι βουνού) (Κρίγκας, 2019).

Μεταξύ των αρωματικών – φαρμακευτικών φυτικών ειδών που απαντώνται στην Ελλάδα, τα 234 είναι ενδημικά είδη - υποείδη και τα 75 είναι χαρακτηριζόμενα ως σπάνια ή απειλούμενα. Είναι δε, τέτοιος ο φυτικός πλούτος της Ελλάδας που η χώρα διαθέτει 5 είδη ρίγανης, 10 είδη και υποείδη μέντας, περισσότερα από 30 είδη - υποείδη θυμαριού, 4 φασκόμηλου και τουλάχιστον 10 διαφορετικά είδη ελληνικού τσαγιού, 5 εκ των οποίων είναι ενδημικά και 4 εξ αυτών απειλούνται με εξαφάνιση λόγω υπερσυλλογής (Κρίγκας, 2019).

Η χρήση των φαρμακευτικών φυτών αυξάνεται ραγδαία σε όλο τον κόσμο, με συνέπεια τη σοβαρή μείωση της βιοποικιλότητάς τους. Σύμφωνα με τη Διεθνή Ένωση για τη Διατήρηση της Φύσης και το Παγκόσμιο Ταμείο Άγριας Ζωής, υπάρχουν από 50.000 έως 80.000 είδη ανθοφόρων φυτών που χρησιμοποιούνται για ιατρικούς σκοπούς παγκοσμίως. Μεταξύ αυτών, περίπου 15.000 είδη απειλούνται με εξαφάνιση από υπερσυλλογή και καταστροφή οικοτόπων και το 20% των άγριων πόρων τους έχει ήδη σχεδόν εξαντληθεί λόγω της υπερεκμετάλλευσής τους που εν μέρει αποδίδεται στον αυξανόμενο ανθρώπινο πληθυσμό. Αν και αυτή η απειλή είναι γνωστή εδώ και δεκαετίες, η επιταχυνόμενη απώλεια ειδών και η καταστροφή των οικοτόπων έχει αυξήσει τον κίνδυνο εξαφάνισης των φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών παγκοσμίως (Ζακυνθινός, 2023).

Συμπερασματικά, κρίνεται αναγκαία η συστηματοποίηση της καλλιέργειας αρωματικών – φαρμακευτικών φυτών, σύμφωνα πάντα με τα υπάρχοντα πρωτόκολλα και τις τεκμηριωμένες ερευνητικές μελέτες. Έτσι θα υπάρχει ποιοτική αναβάθμιση των σχετικών προϊόντων στη διεθνή αγορά με ταυτόχρονη προστασία της χλωρίδας και του περιβάλλοντος αλλά και σχετική ενίσχυση του γεωργικού εισοδήματος και της υπαίθρου τόσο στην Ελλάδα όσο και σε άλλες χώρες.

1.1.1 Διατήρηση των φαρμακευτικών ειδών

Τα φαρμακευτικά φυτά είναι κοινά είδη με μεγάλη περιοχή εξάπλωσης. Για αυτό οι άνθρωποι από την αρχαιότητα μπορούσαν να παρατηρήσουν με ευκολία τέτοια φυτά, να τα συγκρίνουν από περιοχή σε περιοχή και να κάνουν χρήση αυτών, σύμφωνα με τις παραδόσεις και τις γνώσεις της εποχής.

Αιγυπτιακοί πάπυροι έχουν καταγράψει ότι η ελιά, το δεντρολίβανο, ο κέδρος, και το σκόρδο χρησιμοποιούνταν έως και 4.000 χρόνια για τη θεραπεία κυρίως τραυμάτων και πληγών. Πρόσθετα, αρχαίοι Έλληνες συγγραφείς και γιατροί έχουν καταγράψει πολλές θεραπευτικές ιδιότητες και χρήσεις των φυτών με βάση τις τότε συνήθειες. Μερικοί από αυτούς είναι ο Ιπποκράτης (460-370 π.Χ.) από την Κω, ο οποίος θεωρείται πατέρας της επιστημονικής ιατρικής, και στα έργα του κατονόμασε 237 είδη φυτών με θεραπευτικές ιδιότητες. Ακολούθησε ο Θεόφραστος (372-287 π.Χ.) με το έργο «Περί Φυτών Ιστορίας», και έπειτα ο Διοσκουρίδης με το έργο «Περί Ιατρικής». Από τα 500 είδη στα οποία αναφέρεται, τα 40 χρησιμοποιούνται έως και σήμερα στην παγκόσμια φαρμακοβιομηχανία. Επίσης, καθοριστικό ρόλο για την αναγνώριση της ελληνικής βιοποικιλότητας στα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, μαζί με τον Αριστοτέλη, έπαιξε ο Κλαύδιος Γαληνός από την Πέργαμο της Μικράς Ασίας, ο οποίος περιέγραψε 304 φάρμακα φυτικής προέλευσης. Μετά την πτώση της Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας, η ενασχόληση με τα βότανα και οι ως τότε γνώσεις, μεταφέρθηκαν στην Κωνσταντινούπολη και στον Αραβικό κόσμο. Μέχρι τον Μεσαίωνα, η χρήση των βοτάνων είχε διαδοθεί ευρέως τόσο στην Ελλάδα όσο και σε όλη την Ευρώπη. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι λαϊκοί γιατροί, γνωστοί ως Βικογιατροί, ασκούσαν τη συλλογή, μελέτη και χρήση των φαρμακευτικών φυτών που ευδοκιμούσαν στο φαράγγι του Βίκου. Οι συνταγές των, αποκαλούμενων τότε, φαρμάκων μεταλαμπαδεύονταν προφορικά ή γραπτά από γενιά σε γενιά και συχνά συνδυάζονταν με κάποιο είδος προσευχής.

Με την πάροδο των χρόνων, οι θεραπευτικές προσεγγίσεις με βάση τα φαρμακευτικά φυτά άρχισαν προοδευτικά να αντικαθίστανται από τα χημικά παρασκευάσματα. Ωστόσο πολλοί ερευνητές στράφηκαν στα φαρμακευτικά φυτά για να μελετήσουν τις ιδιότητες τους και να κατανοήσουν εις βάθος τη χρησιμότητα τους. Οι μελέτες αυτές οδήγησαν στην απομόνωση διαφόρων δραστικών ουσιών που είναι ευεργετικές για τον άνθρωπο και ακολούθησε η ανάπτυξη σκευασμάτων που παρουσιάζουν καλή αφομοίωση από τον ανθρώπινο οργανισμό. Ορισμένες από αυτές τις ουσίες είναι τα αλκαλοειδή, οι φαινολικές ενώσεις, τα τερπένια και οι τανίνες.

Όπως είναι γνωστό, η σύγχρονη βιομηχανία βασίζεται σε ικανοποιητικό βαθμό στην παραγωγή προϊόντων αποκλειστικά φυτικής προέλευσης. Ωστόσο, το ζήτημα της εκμετάλλευσης των φαρμακευτικών φυτών εξακολουθεί να αποτελεί σημαντικό

πρόβλημα καθώς ορισμένα είδη τελούν υπό εξαφάνιση σε περιοχές που στο παρελθόν βρίσκονταν σε αφθονία. Οι ανθρώπινες παρεμβάσεις δράσεις ασκούν πίεση στα διάφορα οικοσυστήματα και έχουν αντίκτυπο στο περιβάλλον, μειώνοντας το μέγεθος και την ποικιλότητα των διάφορων πληθυσμών και απειλώντας με εξαφάνιση πολλά είδη χλωρίδας αλλά και πανίδας. Στο πλαίσιο αυτό, η λύση που προτείνεται από ειδικούς είναι τα προγράμματα διαχείρισης πληθυσμών σε αιχμαλωσία. Ο υψηλός ρυθμός απώλειας ειδών παγκοσμίως έχει αναγάγει την εφαρμογή στρατηγικών διατήρησης των ειδών σε κοινή διαχειριστική πρακτική (McPhee, 2003).

In situ διατήρηση

Η *in situ* διατήρηση ορίζεται ως η διατήρηση οικοσυστημάτων και φυσικών οικοτόπων και η διατήρηση και η ανάκτηση βιώσιμων πληθυσμών ειδών στο φυσικό τους περιβάλλον και στην περίπτωση εξημερωμένων ή καλλιεργούμενων ειδών στο περιβάλλον όπου έχουν αναπτύξει τις διακριτικές τους ικανότητες (CBD, 1994). Ως εκ τούτου, καλύπτει τόσο τα ενδιαίτηματα όσο και τα είδη καθώς και τη γενετική μεταβλητότητα στους πληθυσμούς τους. Η πρακτική της *in situ* διατήρησης της φυτικής ποικιλότητας περιλαμβάνει μια ολόκληρη σειρά από διαφορετικές αλλά αλληλένδετες δραστηριότητες, ωστόσο επί της ουσίας περιλαμβάνει δύο προσεγγίσεις (Heywood, 2015):

- 1) Σε επίπεδο οικοτόπων, δημιουργούνται προστατευόμενες περιοχές διάφορων τύπων για τη διατήρηση της οικοσυστηματικής και βιολογικής ποικιλότητας ή της σημαντικής ποικιλότητας ειδών.
- 2) Σε επίπεδο είδους/ πληθυσμού, διατήρηση μεμονωμένων ειδών - στόχων ή μικρών ομάδων ειδών - στόχων (απειλούμενων ή μη) μέσω της *in situ* διαχείρισης ή/και παρακολούθησης (monitoring).

Η *in situ* διατήρηση των ειδών-στόχων είναι μια σύνθετη, απαιτητική και πολυδιάστατη διαδικασία (Heywood, 2015).

Ex situ διατήρηση

Τα *ex situ* προγράμματα αναπαραγωγής πληθυσμών που υπόκεινται σε δημογραφική και γενετική διαχείριση με σκοπό την επανεισαγωγή ατόμων στους φυσικούς

πληθυσμούς, ώστε αυτοί να ενισχυθούν δημογραφικά και να περιοριστούν οι αρνητικές συνέπειες της γενετικής στοχαστικότητας, λόγω του μικρού μεγέθους πληθυσμού, και η τυχόν εξαφάνισή τους.

Τα *ex situ* προγράμματα διατήρησης αυξάνονται σημαντικά τα τελευταία είκοσι χρόνια. Αυτό συμβαίνει διότι η *in situ* διατήρηση μπορεί να είναι πιο αποτελεσματική μέθοδος για τα απειλούμενα είδη αλλά παρουσιάζει μια δυσκολία σε ένα ποσοστό ειδών όσον αφορά τα οικοσυστήματα που διαβιούν. Μεγάλη συμβολή στην έρευνα, την εκπαίδευση και στην προσπάθεια ευαισθητοποίησης για τη διάσωση απειλούμενων ειδών έχουν κάνει διεθνώς οι βοτανικοί και ζωολογικοί κήποι, τράπεζες γονιδίων και σπερμάτων και ενυδρεία. Συνήθως, η *ex situ* διατήρηση φυτικών ειδών γίνεται με την αποθήκευση των σπερμάτων τους στις τράπεζες σπερμάτων (seed banks) και τη διατήρηση του ζωντανού υλικού στους βοτανικούς κήπους. Η έρευνα και η προσπάθεια διατήρησης σήμερα έχει επικεντρωθεί στα φυτά που επιφέρουν οικονομική ευημερία, τα σπάνια είδη, ακόμα και χλωρίδες ολόκληρης περιοχής.

Παρά τις αξιόλογες προσπάθειες και τα θετικά αποτελέσματα, παραμένουν ορισμένες δυσκολίες στη βιώσιμη ανάπτυξη αυτών των απειλούμενων ειδών.

Τα *ex situ* προγράμματα αναπαραγωγής αντιμετωπίζουν πλήθος δυσκολιών που σχετίζονται με τη φυσική υγεία και γενετική ισορροπία, καθώς και τα χαρακτηριστικά των υπό διατήρηση ειδών (Kirkwood, 2003). Αναλυτικότερα μπορεί να παρουσιαστούν φαινόμενα γενετικής παρέκκλισης (genetic drift), η οποία ορίζεται ως η τυχαία διακύμανση αλληλικών συχνοτήτων και οδηγεί σε απώλεια αλληλομόρφων, και ομομικτικού εκφυλισμού που προκύπτει ως αποτέλεσμα της διασταύρωσης συγγενικών ατόμων με αποτέλεσμα τη συσσώρευση αλληλομόρφων γονιδίων σε ομόζυγη κατάσταση. Ο συνδυασμός των ανωτέρω απειλεί τη γενετική ποικιλότητα.

Η γενετική προσαρμογή στο περιβάλλον *ex situ* διατήρησης αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους μηχανισμούς που επηρεάζουν αρνητικά την αναπαραγωγική ικανότητα και τη γενετική αλλοίωση των ατόμων κατά την επανεισαγωγή τους στο φυσικό τους περιβάλλον (Frankham, 2008; Williams & Hoffman, 2009).

Λαμβάνοντας υπόψη τις δυσκολίες και με γνώμονα τη διατήρηση της βιοποικιλότητας, από τις αρχές της δεκαετίας του 1990 υπήρξε ένα κίνημα με τη συνεργασία 800

βοτανικών κήπων σε πάνω από 100 χώρες. Αυτό οδήγησε στη δημιουργία της Παγκόσμιας Στρατηγικής για τη Διατήρηση των Φυτών (GSPC) με στόχο τη μείωση απώλειας της ποικιλότητας των φυτών και την εξασφάλιση ενός βιώσιμου μέλλοντος, όπου οι ανθρώπινες παρεμβάσεις θα υποστηρίζουν τη φυτική ποικιλότητα και όπου η ποικιλομορφία των φυτών θα υποστηρίζει την ανθρώπινη διαβίωση και ευημερία (Wyse Jackson & Kennedy, 2009).

Πιο αναλυτικά οι στόχοι του προγράμματος διατήρησης είναι οι εξής:

- Η γρήγορη αύξηση πληθυσμιακού μεγέθους για τον αποκλεισμό της πιθανότητας εξαφάνισης.
- Η διαχείριση και διατήρηση αυτού του πληθυσμού με κριτήρια ταξινόμησης, τα οποία εξασφαλίζουν αξιόπιστη αναπαραγωγή.

Μέτρα αντιμετώπισης γενετικής προσαρμογής στα προγράμματα *ex situ* διατήρησης:

- Κρυοσυντήρηση:

Η κρυοσυντήρηση είναι η μακροπρόθεσμη διατήρηση του γενετικού υλικού. Κύριοι λόγοι που συνέβαλαν στην ανάπτυξη της είναι η γενετική αστάθεια των κυττάρων, η ανικανότητα επαναβλάστησης και ο εκτεταμένος λήθαργος. Επιτυγχάνεται με ψύξη των καλλιεργειών στη θερμοκρασία του υγρού αζώτου στους -196 °C. Με τον τρόπο αυτό, παύουν όλες οι μεταβολικές λειτουργίες των κυττάρων, δηλαδή παραμένουν σε αδράνεια και θεωρητικά μπορούν να αποθηκευτούν επ' αόριστον. Στην τεχνική αυτή, γίνεται χρήση διάφορων κρυοπροστατευτικών διαλυμάτων, όπως αιθυλική γλυκερόλη, DMSO κ.α. και στη συνέχεια οι καλλιέργειες τοποθετούνται στους -196 °C. Σημαντικό ρόλο για την επιτυχία της παίζουν η ηλικία του φυτού και το στάδιο ανάπτυξής του. Σε πρώτη φάση γίνεται πρόψυξη (μία αργή και ρυθμιστική διαδικασία ψύξης), και άμεση τοποθέτηση στους -196 °C. Μετά την κρυοσυντήρηση, οι καλλιέργειες αποψύχονται κατάλληλα, τοποθετούνται στους 35 – 40 °C, και αναγεννιούνται.

- Ιστοκαλλιέργεια

Μία άλλη μέθοδος *in vitro* αποθήκευσης είναι η ιστοκαλλιέργεια, που αποτελεί μια μέθοδο αγενοῦς αναπαραγωγής και στοχεύει στην παραγωγή φυτών από πολύ μικρά

φυτικά τμήματα, ιστούς ή κύτταρα τα οποία αναπτύσσονται κάτω από ασηπτικές, ελεγχόμενες συνθήκες μέσα σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Η ιστοκαλλιέργεια βασίζεται στην ικανότητα του κυττάρου να αναπτυχθεί μεμονωμένα και να προκύψει από αυτό ένα λειτουργικά ολοκληρωμένο φυτό.

1.1.2 Αξία των φαρμακευτικών ειδών και χρήσεις

Τα αρωματικά - φαρμακευτικά φυτά χρησιμοποιούνται σε πολλούς τομείς της καθημερινότητας και σε ποικίλους κλάδους της βιομηχανίας. Σύμφωνα με ερευνητικές μελέτες, υπολογίζεται ότι 70.000 είδη αρωματικών - φαρμακευτικών φυτών χρησιμοποιούνται στους βιομηχανικούς τομείς και στην φαρμακοβιομηχανία (Farnsworth & Soejarto, 1991). Η καλλιέργεια τους ευνοεί την ανάπτυξη νέων προϊόντων αλλά και τη βελτίωση των ήδη υπαρχόντων καθώς καλλιεργούνται για παραγωγή αιθέριων ελαίων και ξηρής δρόγης, ενώ ταυτόχρονα χρησιμοποιούνται στις βιομηχανίες τροφίμων, ποτών, φαρμάκων, καλλυντικών και αρωμάτων. Ακόμη, σε αρκετές περιπτώσεις χρησιμοποιούνται στη μελισσοκομία και στην αρχιτεκτονική τοπίου ως καλλωπιστικά φυτά. Τα αιθέρια έλαια μπορεί να είναι διαφορετικής σύστασης σε κάθε μέρος του φυτού ή ακόμη και στο ίδιο μέρος. Γενικά, μπορεί να εντοπιστούν μέχρι και διακόσιες διαφορετικές χημικές ενώσεις ανά φυτικό τμήμα. Κάθε αιθέριο έλαιο έχει χαρακτηριστική οσμή και θεραπευτικές ιδιότητες που οφείλονται στα ιδιαίτερα συστατικά που περιέχει. Γι' αυτό και χρησιμοποιούνται σε πολλούς και διαφορετικούς τομείς βιομηχανιών (Lange, 1998; Lange, 2001; Lange, 2002).

Τα αρωματικά - φαρμακευτικά φυτά χρησιμοποιούνται είτε αυτούσια ως δρόγη, είτε χλωρά σαν φυτικό υλικό είτε έχοντας απομονώσει μόνο τις δραστικές ενώσεις (αιθέρια έλαια). Οι ουσίες που περιέχουν δρουν κατά εντόμων, μικροβίων, μυκήτων και ζώων.

Πιο συγκεκριμένα μερικά παραδείγματα χρήσης αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών είναι:

➤ Βιομηχανία τροφίμων:

Παρασκευάζονται συσκευασμένα φακελάκια για την παραγωγή αφεψημάτων (εμβάπτιση σε ζεστό νερό) που περιέχουν αποξηραμένα βότανα σε μορφή ξηρής

δρόγης, αλλά και έτοιμα ροφήματα που κυκλοφορούν στο εμπόριο, όπως το παγωμένο τσάι. Ως δρόγη, θεωρείται το μέρος του φυτού που έχει φαρμακευτικές ιδιότητες.

Τα πιο διαδεδομένα φυτά που χρησιμοποιούνται ευρέως για το σκοπό αυτό και απαντώνται στην Ελλάδα είναι το τσάι του βουνού, το φασκόμηλο, το χαμομήλι, η μέντα και η λουίζα. Επίσης, σε πολλές κατηγορίες τροφίμων χρησιμοποιούνται, είτε με την μορφή ξηρής δρόγης είτε νωπά, για τον εμπλουτισμό των τροφών με γεύση (Lange, 2001; Lange, 2002). Δηλαδή στη μαγειρική ως μπαχαρικά φρεσκοκομμένα, ξηρά και αλεσμένα. Επιπρόσθετα, η χρήση τους είναι συχνή όχι μόνο για τη γεύση που προσδίδουν αλλά και τις αντιμικροβιακές και ευεργετικές ιδιότητες τους ακόμα και για την προσθήκη φυσικού χρώματος, λόγω των φλαβονοειδών, καροτενοειδών, κουρκουμίνης, χλωροφύλλης και άλλων ουσιών που περιέχουν. Μερικά παραδείγματα είναι το δενδρολίβανο, η ρίγανη, το θυμάρι, ο βασιλικός, ο άνηθος, ο μαϊντανός και ο δυόσμος.

➤ Βιομηχανία ποτών:

Όπως προαναφέρθηκε, λόγω της ιδιαίτερης γεύσης και αρωμάτων που προσδίδουν, χρησιμοποιούνται και στην παρασκευή ποτών, όπως το ούζο, το τσίπουρο, το βερμούτ και το τζιν.

➤ Φαρμακοβιομηχανία:

Από την αρχαιότητα οι άνθρωποι είχαν παρατηρήσει ότι τα εν λόγω φυτά δρουν ευεργετικά για την επούλωση πληγών, για δερματικές παθήσεις, για την αντιμετώπιση ασθενειών και κρυολογημάτων κ.α. Τις τελευταίες δεκαετίες, αν και η φαρμακοβιομηχανία έχει παρουσιάσει αλματώδη εξέλιξη στην έρευνα και παρασκευή προϊόντων χημικής προέλευσης, υπάρχει ταυτόχρονα η στρόφη του σύγχρονου καταναλωτή σε προϊόντα φυτικής προέλευσης που δεν απαιτούν συνταγή γιατρού και έχουν άμεση επίδραση στην ανθρώπινη υγεία. Αυτά μπορεί να είναι συμπληρώματα διατροφής, βιταμίνες, ομοιοπαθητικά, εντομοαπωθητικά και άλλα φυτικά φάρμακα.

➤ Βιομηχανία καλλυντικών:

Τα αιθέρια έλαια των αρωματικών-φαρμακευτικών φυτών αξιοποιούνται για τη δημιουργία προϊόντων περιποίησης. Η ποιότητα του αιθέριου ελαίου είναι πολύ

σημαντική και επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως το μικροκλίμα της περιοχής, το μέρος του φυτού από το οποίο συλλέγεται το έλαιο, η ωρίμανση του φυτού κατά τη συλλογή και η ώρα συλλογής αφού σχετίζεται με τη θερμοκρασία και την περιεκτικότητα υγρασίας. Ο συνδυασμός περισσοτέρων του ενός αιθέριων ελαίων στα καλλυντικά προϊόντα επιφέρει καλύτερα αποτελέσματα σχετικά με την ενυδάτωση, την τριχόπτωση, το άρωμα ακόμα και την προστασία από τον ήλιο. Έτσι, αντηλιακές και ενυδατικές κρέμες προσώπου και σώματος, αιθέρια έλαια και λάδια μαλλιών και σώματος, προϊόντα μακιγιάζ και αποσμητικά, κολόνιες και αρώματα βασίζονται σε μεγάλο βαθμό σε συστατικά που περιέχουν αρωματικά - φαρμακευτικά φυτά, όπως καλέντουλα, - που θα αναλυθεί παρακάτω -, αλόη, δενδρολίβανο, πράσινο τσάι, χαμομήλι, λεβάντα κ.α.

1.1.3 Τα φαρμακευτικά είδη ως αντικείμενα εμπορικής καλλιέργειας

Την περίοδο 2008-2014 η αξία των παγκόσμιων εξαγωγών φαρμακευτικών - αρωματικών φυτών διπλασιάστηκε καθώς στην αγορά επικράτησαν υψηλότερες τιμές σε σχέση με τη προηγούμενη οχταετία (ΥΠΑΑΤ, 2017). Αντίστοιχα το 2020, όσων αφορά τις εξαγωγές, οι κύριες χώρες ήταν η Κίνα, η Ινδία, η Γερμανία, οι ΗΠΑ και ο Καναδάς. Τα σημαντικότερα εμπορικά κέντρα φαρμακευτικών - αρωματικών φυτών είναι οι ΗΠΑ για την υπόλοιπη Αμερική, η Γερμανία για την υπόλοιπη Ευρώπη και το Χονγκ Κονγκ που προμηθεύει την Ασία (Lange, 2006).

Τα στοιχεία αυτά αποδεικνύουν την τάση για εντατικοποίηση της καλλιέργειας των φαρμακευτικών φυτών και την αναγκαιότητα διεξαγωγής σύγχρονων ερευνών που εστιάζουν στη βελτιστοποίηση της καλλιεργητικής πρακτικής. Στο επίπεδο αυτό, η έμφαση δίνεται στην ενίσχυση της βλάστησης, στο ομοιόμορφο φύτρωμα, στην καλύτερη εγκατάσταση της καλλιέργειας και γενικά στην καλύτερη απόδοση των φυτών τόσο σε ποιοτικό όσο και σε ποσοτικό επίπεδο. Απώτερο σκοπό αποτελεί η δυνατότητα ανάπτυξης, σε επαρκείς ποσότητες, υψηλής ποιότητας βιομάζας που περιέχει ικανοποιητική ποσότητα ουσιών ενδιαφέροντος.

Η επιτυχία των καλλιεργητικών πρακτικών έγκειται σε μεγάλο βαθμό στη βελτιστοποίηση συνθηκών ανάπτυξης των φαρμακευτικών φυτών, εστιάζοντας ταυτόχρονα και στην αειφορία των καλλιεργητικών συστημάτων. Ωστόσο, προκύπτουν

κάποια προβλήματα και ιδιαιτερότητες που συνοδεύουν την καλλιέργεια των φαρμακευτικών και αρωματικών φυτικών ειδών, τα οποία συνοψίζονται στα ακόλουθα:

➤ Προβλήματα που αφορούν τη βλάστηση

Η βλάστηση είναι από τα πιο σημαντικά και κρίσιμα στάδια στο βιολογικό κύκλο ενός φυτού. Η ενίσχυσή της κρίνεται αναγκαία γιατί οι παράγοντες που δρουν ανασταλτικά στη βλάστηση, επηρεάζουν δυσμενώς την απόδοση και κατά συνέπεια την οικονομική αξία της καλλιέργειας. Ως περιοριστικοί δρουν τόσο ενδογενείς όσο και εξωγενείς παράγοντες που αφορούν κατά βάση στο γενετικό υπόβαθρο και στην επικράτηση περιβαλλοντικών καταπονήσεων, αντίστοιχα.

Βάσει των ανωτέρω, επισημαίνεται ότι η βλάστηση των φυτών είναι τέτοια κρισιμότητας που χρειάζεται να δοθεί έμφαση στην έρευνα που σχετίζεται με την επιτυχή εγκατάσταση αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών.

➤ Προβλήματα κατά τη διάρκεια του φυτρώματος

Η χαμηλή φυτρωτική ικανότητα των σπόρων συχνά οφείλεται σε μυκητολογικές προσβολές ή μηχανική καταστροφή και για αυτό χρειάζονται κατάλληλες συνθήκες, οι οποίες προσομοιάζουν αυτές των φυσικών οικοσυστημάτων, ώστε να είναι ομαλή και απρόσκοπτη η εξέλιξη της καλλιέργειας (Κατσιώτης, Χατζοπούλου 2019).

➤ Προβλήματα σχετικά με την εγκατάσταση καλλιέργειας

Αν η συλλογή των φυτικού υλικού που θα χρησιμοποιηθεί για την εγκατάσταση της καλλιέργειας γίνει από αυτοφυείς πληθυσμούς, υπάρχει κίνδυνος για αστάθεια στην ποιότητα, ανομοιομορφία και πιθανότητα προσμίξεων με άλλα φυτικά υλικά. Επίσης, υπάρχει πιθανότητα ανεπάρκειας θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος, υποβαθμίζοντας το φυτοχημικό προφίλ των φυτών που συλλέγονται. Για αυτό συνιστάται ενδελεχής έρευνα προ της εγκατάστασης της καλλιέργειας.

➤ Προβλήματα απόδοσης

Είναι σημαντικό να λαμβάνεται υπόψιν η περίοδος ωρίμανσης κατά περίπτωση, κατά την οποία το φυτό έχει την καλύτερη απόδοση ή τις απαιτούμενες συγκεντρώσεις

ορισμένων δευτερογενών μεταβολιτών του π.χ. δραστικά συστατικά και αιθέρια έλαια (Κατσιώτης και Χατζοπούλου, 2019). Ειδικότερα στην περίοδο συγκομιδής δεν πρέπει τα φυτά να έχουν αρχίσει να αναδιπλώνονται και να λυγίζουν, ενώ για κάθε φυτό ενδείκνυνται πολύ συγκεκριμένες ώρες συλλογής. Απαραίτητη είναι η χρήση σωστών γεωργικών εξοπλισμών με συγκεκριμένη ταχύτητα, αριθμό περιστροφών και κατάλληλα φίλτρα.

1.1.4 Στόχοι βελτίωσης των φαρμακευτικών ειδών

Σε γενικές γραμμές, οι στόχοι βελτίωσης των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών είναι ευρύτεροι και αποτελούν μέρος των περισσότερων προγραμμάτων βελτίωσης (Acquaah, 2012). Αυτοί αναλύονται παρακάτω:

➤ Φυσιολογικά γνωρίσματα

Οι φυσιολογικές διεργασίες του φυτού, όπως η φωτοσύνθεση, η αναπνοή, η διαπνοή και η μεταφορά οργανικών ενώσεων μέσω του φλοιώματος, καθορίζουν την απόδοση και την παραγωγικότητα της καλλιέργειας. Μέσω της βελτίωσης, γίνεται επιλογή ή/και ανάπτυξη φυτών που εμφανίζουν επιθυμητά γνωρίσματα που σχετίζονται με το φωτοσυνθετικό ρυθμό, τη γωνία κλίσης και την επιφάνεια των φύλλων, τη συχνότητα των στομάτων, την αξιοποίηση του νερού και των θρεπτικών στοιχείων, τη φωτοπερίοδο, τον δείκτη συγκομιδής και την ανοχή σε διάφορες περιβαλλοντικές καταπονήσεις.

➤ Απόδοση

Η απόδοση αποτελεί γνώρισμα που απασχολεί όλους τους παραγωγούς. Διακρίνεται σε οικονομική (η μονάδα επιφάνειας που έχει εμπορεύσιμη ή άλλη χρήση για τον παραγωγό) και βιολογική απόδοση, η οποία εξαρτάται από τη βιομάζα και τον τρόπο με τον οποίο αυτή επιμερίζεται. Η βιομάζα ορίζεται ως η ποσότητα ή η μάζα οργανικής ύλης σε μία καθορισμένη περιοχή σε ένα δεδομένο χρονικό σημείο. Οι βελτιωτές δίνουν βάση στην αύξηση της βιομάζας με στρατηγικές, όπως η εποχιακή προσαρμογή, η ανεκτικότητα σε δυσμενείς περιβαλλοντικούς παράγοντες και η ανθεκτικότητα σε ασθένειες και εχθρούς (Acquaah, 2012).

➤ Δείκτης συγκομιδής

Αποτελεί το ποσοστό του φυτού που διαθέτει οικονομική αξία. Υπολογίζεται από τον λόγο: οικονομική απόδοση / βιολογική απόδοση. Όσο υψηλότερη είναι η τιμή αυτή τόσο αποτελεσματικότερα το φυτό κατευθύνει τα προϊόντα αφομοίωσης προς το τμήμα του φυτού με την οικονομική αξία. Ο δείκτης εξαρτάται από τους καλλιεργητικούς χειρισμούς και τις συνθήκες του περιβάλλοντος. Ωστόσο, ο δείκτης αξιολογείται δύσκολα γιατί υπολογίζεται από δεδομένα δύο ξεχωριστών ζυγίσεων και αυτό είναι μια πρόκληση για τους βελτιωτές (Acquaah, 2012).

➤ Σταθερότητα της απόδοσης

Η δημιουργία ποικιλιών με υψηλή απόδοση, η οποία ταυτόχρονα εμφανίζει σταθερότητα είναι μεγάλο ζήτημα που απασχολεί τον κλάδο της γενετικής βελτίωσης. Αυτό σχετίζεται με το γονότυπο και τη συμπεριφορά του στα διαφορετικά πειράματα, τοποθεσίες και καλλιεργητικές περιόδους εφαρμογής (Acquaah, 2012).

➤ Ανθεκτικότητα

Προσπάθειες για την ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα (lodging) και στο τίναγμα έχουν γίνει σχεδόν σε όλα τα είδη φυτών αφού σχετίζονται άμεσα με την απόδοση. Τα χαρακτηριστικά που χρήζουν βελτίωσης είναι το μεγάλο ύψος, το λεπτό στέλεχος, η αντοχή του στελέχους, η υπερβολική βλαστική αύξηση, κ.α. (Acquaah, 2012).

➤ Φωτοπερίοδος

Η φωτοπερίοδος αφορά στην απόκριση του φυτού στο μήκος της ημέρας και επηρεάζει τη διάρκεια της βλαστητικής φάσης και συνεπώς την απόδοση. Η ευαισθησία στη φωτοπερίοδο συνεπάγεται ότι σχετίζεται άμεσα με το χρόνο άνθισης (Acquaah, 2012).

➤ Πρωιμότητα

Συχνά η πρωίμιση της παραγωγής επιδιώκεται καθώς μέσω αυτής μπορεί να επιτευχθεί αποφυγή της έκθεσης των φυτών σε καταπονήσεις, όπως η ξηρασία και οι ακραία υψηλές θερμοκρασίες. Σε ορισμένες καλλιέργειες, η πρωιμότητα συνδέεται επίσης με βελτιωμένη ποιότητα προϊόντος (Acquaah, 2012).

Σύγχρονες ερευνητικές τάσεις και η συμβολή τους στην πρωτογενή παραγωγή

Η εκτεταμένη ποικιλότητα των βιοχημικών προφίλ των αυτοφυών αρωματικών φαρμακευτικών φυτών αξιοποιείται εδώ χρόνια για τη βελτίωσή τους. Βασική προϋπόθεση κατά τη διεξαγωγή ενός προγράμματος βελτίωσης αποτελεί ο προσδιορισμός της φαινοτυπικής παραλλακτικότητας και άλλων δεικτών, κυρίως φυτοχημικών, των αυτοφυών πληθυσμών. Η ατομική ή μαζική επιλογή είναι οι πλέον χρησιμοποιούμενες μέθοδοι κλασικής βελτίωσης των αρωματικών - φαρμακευτικών φυτών. Η συνηθέστερη μέθοδος, που εφαρμόζεται στα προγράμματα βελτίωσης βασίζεται στη συλλογή αυτοφυών πληθυσμών από διαφορετικές περιοχές και τη μελέτη των φαινοτυπικών, παραγωγικών και χημικών χαρακτηριστικών τους, στις ίδιες οικολογικές συνθήκες. Ανάλογα με την εκάστοτε βελτιωτική προσέγγιση, που μπορεί να περιλαμβάνει ανασυνδυασμό του αρχικού πληθυσμού, σταθεροποίηση και δημιουργία κλώνων, δημιουργία καθαρής σειράς ή υβριδίων, χρησιμοποιούνται ο αγενής ή εγγενής τρόπος αναπαραγωγής (Χατζοπούλου, Σάρρου, Τσιβελίκα,-Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης και Φυτογενετικών Πόρων).

Επιπλέον, η ραγδαία εξέλιξη νέων τεχνικών, συμπεριλαμβανομένης της αλληλούχισης νέας γενιάς (next generation sequencing), συμβάλλουν στην απόκτηση γνώσης σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο σχηματίζονται και συσσωρεύονται οι δραστικές ουσίες στα όργανα των αρωματικών φαρμακευτικών φυτών, όπως μέσου του προσδιορισμού των γονιδίων που ελέγχουν τη βιοσύνθεση των ουσιών ενδιαφέροντος. Η συνδυασμένη χρήση της μεταβολομικής (metabolomic analysis) και της μεταγραφομικής (RNA sequencing) μπορεί να προάγει τη βελτίωση των ειδών, αναδεικνύοντας τους γονοτύπους με υπέρτερα επιθυμητά χαρακτηριστικά και επιταχύνοντας την πολυετή διαδικασία επιλογών.

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, η ιχνηλασιμότητα των πρώτων υλών, η τήρηση αρχείων και η συμμόρφωση με αρχές Ορθών Γεωργικών Πρακτικών (GAPs) και Ορθών Πρακτικών Μεταποίησης (GMP-Good Manufacturing Practices), καθίστανται όλο και πιο απαραίτητες και οι περισσότερες εταιρείες φαρμακευτικών προϊόντων και καλλυντικών το απαιτούν. Με αυτόν τον τρόπο διασφαλίζεται η ποιότητα και ασφάλεια (Χατζοπούλου, Σάρρου, Τσιβελίκα,-Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης και Φυτογενετικών Πόρων).

1.2 Το είδος *Calendula officinalis* L.

1.2.1 Ταξινόμηση - Καταγωγή - Εξάπλωση

Το φυτό ευρέως γνωστό ως καλέντουλα η φαρμακευτική, με επιστημονικό όνομα *Calendula officinalis* L., ανήκει στην οικογένεια *Asteraceae* (παλιότερα *Compositae*). Είναι γνωστό ότι το όνομα καλέντουλα δόθηκε στο φυτό από τους Ρωμαίους και έχει καλλιεργηθεί σαν καλλωπιστικό φυτό για πολλά χρόνια σε όλη την Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική. Η επικράτηση της ονομασίας «καλέντουλα» σχετίζεται με το γεγονός ότι το φυτό άνθιζε τις πρώτες μέρες του μήνα, τις λεγόμενες Καλένδες (Λατινικά: *Calendae*). Το επιστημονικό όνομα εδραιώθηκε από τον Λινναίο τον 5^ο αιώνα π.Χ.. Στην αγγλική, αποκαλείται και pot marigold ή marigold, ενώ στην Ελλάδα αναφέρεται και ως νεκρολούλουδο. Στον Πίνακα 1.1 αναγράφεται η συστηματική ταξινόμηση του είδους.

Πίνακας 1.1 Ταξινόμηση του είδους *Calendula officinalis* L.

Βασίλειο	Plantae (Φυτά)
Συνομοταξία	Angiosperms (Αγγειόσπερμα)
Ομοταξία	Dicotyledon (Δικοτυλήδονο)
Τάξη	Asterales
Οικογένεια	Asteraceae
Γένος	Calendula
Είδος	<i>Calendula officinalis</i> (Καλέντουλα η φαρμακευτική)

Ιστορική Αναδρομή - Καταγωγή

Το φυτό της καλέντουλας έχει για αιώνες ιστορία ιατρικής χρήσης ως ομοιοπαθητικό και ως βοτανικό ίαμα. Πιθανόν να είναι εγγενές στη νότια Ευρώπη αν και η ακριβής προέλευση του είναι άγνωστη λόγω ιστορικών ανακρίβειών. Άλλοι επιστήμονες υποστηρίζουν ότι προέρχεται από την Αίγυπτο. Έχει επίσης, εγκλιματισθεί βορειότερα στην Ευρώπη (βόρεια, νότια Αγγλία) και αλλού σε θερμές εύκρατες περιοχές του κόσμου. Αυτό που φαίνεται να ισχύει είναι ότι τα άνθη του φυτού τα

εκμεταλλευόντουσαν αρχαίοι πολιτισμοί, της οι αρχαίοι Έλληνες, Ρωμαίοι, Ινδοί, και λτης της Μέσης Ανατολής.

Οι πρώτοι Χριστιανοί αποκαλούσαν την καλέντουλα «Mary's Gold» (χρυσάφι της Μαρίας) και την τοποθετούσαν δίπλα στα αγάλματα της Παρθένου Μαρίας. Παρομοίως, στην αρχαία Ινδία αποτελούσε ιερό λουλούδι με το οποίο κατασκεύαζαν αυτοσχέδια κοσμήματα με σπάγκο και την κεφαλή της καλέντουλας. Αυτά τα τύλιγαν γύρω από το λαιμό αγαλμάτων ως ένδειξη πίστης και ιεροσύνης. Για κάποιου λαού, σε μια πιο παραφυσική προσέγγιση, θεωρούνταν φυτό που συμβολίζει τη νίκη επειδή η κεφαλή στρέφεται προς τον ήλιο, ενώ πίστευαν ότι προστατεύει τις γυναίκες από τις δυσμενείς συνθήκες της εμμηνόρροιας και επιτρέπει στους ανθρώπους να μιλήσουν με τις νεράιδες και να πάρουν αποφάσεις για τους συντρόφους τους (Γιαντσάκης, 2020).

Οι χρήσεις του φυτού ήταν και είναι ακόμα πολλαπλές. Αρχικά, σε εμπόλεμες περιόδους, στις ΗΠΑ, εφαρμόζονταν πάνω στο δέρμα για την επούλωση πληγών. Ταυτόχρονα, αποτελούσε αφέψημα για τη δυσπεψία στο οποίο αναμιγνύουν τα άνθη του φυτού μέσα σε κρασί. Τα πέταλα χρησιμοποιούνταν για την παρασκευή αλοιφών που μείωναν τους ερεθισμούς, τον πόνο στα μάτια, τον ίκτερο, τον πονόδοντο ακόμα και τις κράμπες, τον βήχα ή και πληγή από φίδι.

Γενικότερα, η καλέντουλα θεωρείται έως σήμερα χρήσιμη για τα προαναφερθέντα και για αυτό έχει μελετηθεί κυρίως ως προς τις ευεργετικές ιδιότητες που έχει ενάντια στις πληγές, στις φλεγμονές και για την αντισηπτική της δράση. Δόθηκε μεγάλη έμφαση στην ιδιότητα του φυτού να θεραπεύει δερματικές ασθένειες, όπως ακμή, σημάρια και δερματικά έλκη.

Παράλληλα, η καλέντουλα έχει εκτιμηθεί για την γαστρονομική της χρήση ως μίγμα για προσθήκη χρώματος και ως καρύκευμα και γαρνιτούρα σε σαλάτες ή κρεατικά και σούπες από τη μεσαιωνική εποχή. Αποτελούσε και χρωστική ουσία για τα υφάσματα και αργότερα τα καλλυντικά. Τέλος, πρέπει να τονιστεί ότι η καλέντουλα ήταν πάντοτε και παραμένει ένα όμορφο καλλωπιστικό φυτό που στολίζει τους κήπους.

1.2.2. Βοτανική Περιγραφή - Βιολογικός κύκλος

Σπόρος

Οι σπόροι της καλέντουλας είναι μικροί μήκους 1-2 χιλιοστά, με καμπύλο σχήμα που μοιάζει με μισοφέγγαρο και τραχιά επιφάνεια με αγκιστρωτές δομές ώστε να υποβοηθήσει τη διασπορά στο έδαφος (Εικόνα 1.1). Έχουν συνήθως χρώμα σκούρο καφέ ή γκριζωπό. Είναι σκληροί και ανθεκτικοί, γεγονός που τους επιτρέπει να διατηρούν τη βιωσιμότητά τους για αρκετό διάστημα, ακόμα και υπό αντίξοες συνθήκες. Το εσωτερικό των σπόρων περιέχει το έμβρυο και αποθηκευτικά θρεπτικά συστατικά που θα τροφοδοτήσουν το φυτό κατά τα αρχικά στάδια της ανάπτυξής του.



Εικόνα 1.1 Σπόροι του είδους *Calendula officinalis* L.

Ρίζα

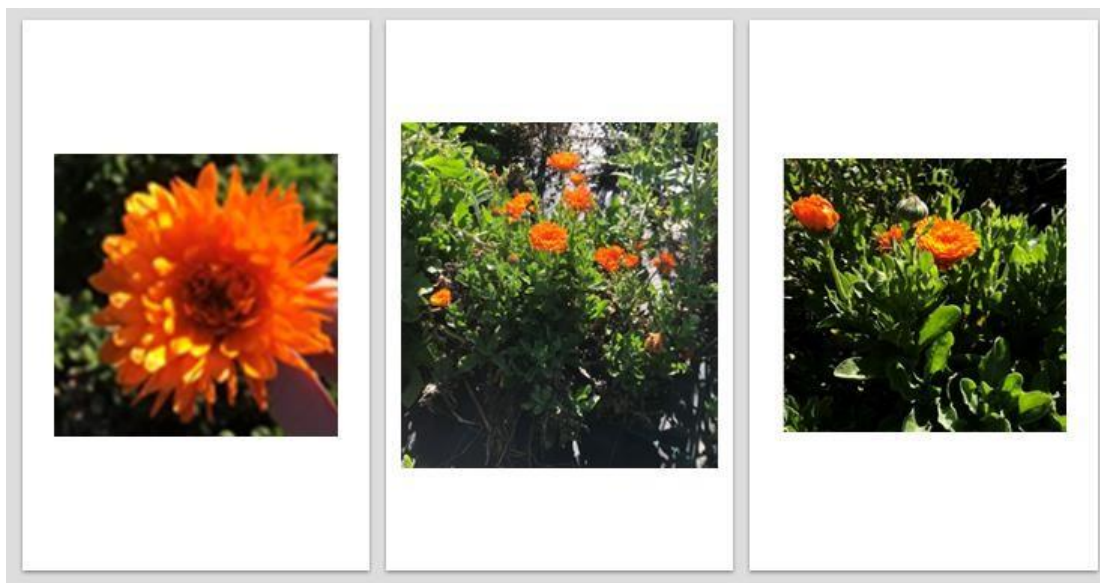
Η καλέντουλα διαθέτει μια κύρια πασσαλώδη ρίζα με πολλές πλευρικές ρίζες. Φτάνει σε βάθος 20-30 cm, ανάλογα με τη σύσταση του εδάφους. Φυσικά, ο ρόλος της ρίζας έγκειται στην εξασφάλιση σταθερότητας και στην απορρόφηση νερού και θρεπτικών συστατικών από το έδαφος. Αν και ο κύριος λόγος καλλιέργειας του φυτού είναι για τα άνθη, στη ρίζα έχουν βρεθεί πολυάριθμα ενεργά συστατικά, όπως σαπωνίνες και φαινολικές ενώσεις, τα οποία χρησιμεύουν στην φαρμακοβιομηχανία.

Βλαστός

Ο βλαστός της καλέντουλας είναι όρθιος ημιξηλώδης με διακλαδώσεις που δίνει στο φυτό έναν θαμνώδη χαρακτήρα (Εικόνα 1.2). Έχει ύψος 30 - 60 cm, ανάλογα με τις συνθήκες καλλιέργειας. Έχει μια ελαφρώς τριχωτή επιφάνεια και κολλώδη στην αφή, λόγω της παρουσίας αδενικών τριχών που εκκρίνουν μια κολλώδη ουσία. Είναι στηρικτικό όργανο και όπως σε όλα τα είδη φυτών είναι υπεύθυνος να μεταφέρει νερό και θρεπτικά συστατικά από τις ρίζες προς τα ανώτερα μέρη του φυτού και, αντίστροφα, τα προϊόντα της φωτοσύνθεσης προς τις ρίζες.

Φύλλο

Τα φύλλα είναι επιμήκη-λογχοειδή μήκους 5-17 cm, χνουδωτά και από τις δύο πλευρές και με περιθώρια ολόκληρα ή περιστασιακά κυματιστά ή ασθενώς οδοντωτά (Εικόνα 1.2). Είναι κολλώδη, προσφέροντας προστασία έναντι των παρασίτων. Οι μίσχοι των φύλλων είναι κοντοί.



Εικόνα 1.2 *Calendula officinalis*, Φωτογραφικό υλικό από τον Πειραματικό Αγρό του Εργαστηρίου Γεωργίας, Τμήμα ΓΦΠΑΠ, Βελεστίνο, Απρίλιος 2024.

Ταξιανθία

Οι ταξιανθίες είναι κίτρινες έως πορτοκαλί και είναι τυπικές των Αστεροειδών, που αποτελούνται από ένα παχύ ψευδάνθιον ή ανθική κεφαλή διαμέτρου 4-7 cm και περιβάλλονται από δύο σειρές από χνουδωτά βράκτια. Η κεφαλή είναι συμπυκνωμένος βότρυς και αποτελείται από πολλά ανεξάρτητα και άμισχα άνθη, τα ανθίδια. Αυτά βρίσκονται σε μία ανθοδόχη (Εικόνα 1.2).

Τα άνθη δημιουργούν χαρακτηριστικές σύνθετες ταξιανθίες δίσκου με τα περιμετρικά μακρύτερα ανθίδια να είναι γραμμικά με 3 λογχοειδή δόντια στην άκρη αυτών, ενώ εσωτερικά υπάρχουν πανέμορφα μικρά επιχείλια άνθη με αστεροειδή σχηματισμό (Εικόνα 1.2). Στο κέντρο αυτών, υπάρχουν οι σχεδόν σφαιρικοί πορτοκαλί στήμονες (Απόσπασμα από το Κέντρο Περιβαλλοντικής Ενημέρωσης Καλλονής Λέσβου). Τα άνθη της καλέντουλας είναι ερμαφρόδιτα και γονιμοποιούνται με τη βοήθεια των εντόμων, όπως οι μέλισσες.

Καρπός

Ο καρπός είναι ακανθώδες κυρτό αχάινιο (achene).

Βιολογικός κύκλος

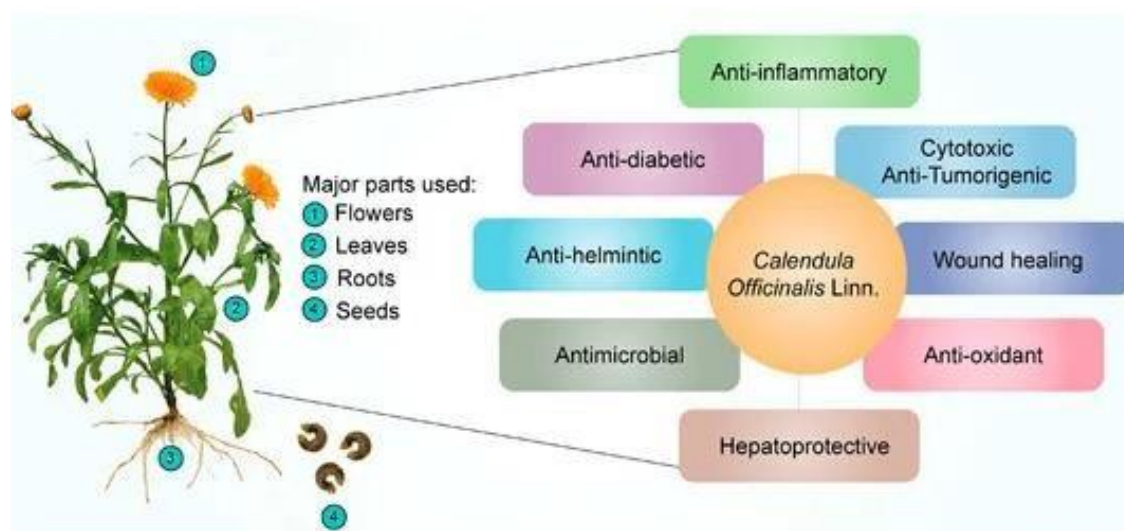
Η διάρκεια του βιολογικού κύκλου ποικίλλει. Συνήθως, η βέλτιστη θερμοκρασία βλάστησης είναι 15-20 °C και οι σπόροι βλαστάνουν μέσα σε 7-14 ημέρες. Αρχίζει να ανθίζει περίπου 6-8 εβδομάδες μετά τη βλάστηση. Η περίοδος ανθοφορίας μπορεί να διαρκέσει από την άνοιξη μέχρι το φθινόπωρο, ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες. Μετά τη γονιμοποίηση, τα άνθη παράγουν σπόρους που ωριμάζουν σε περίπου 4-6 εβδομάδες (De Clavijo, 2005).

1.2.3 Αγροκλιματικές απαιτήσεις

Η καλέντουλα είναι πολυετής πόα και ανθίζει όλο το χρόνο, όταν οι συνθήκες το επιτρέπουν. Η περίοδος ανθοφορίας της είναι πολύ μεγάλη και διαρκεί από τον Φεβρουάριο μέχρι τον Οκτώβριο. Αναπτύσσεται κυρίως σε χαμηλότερα υψόμετρα και συναντάται σε χωράφια, πλαγιές και άκρες δρόμων. Αν και πολυετές φυτό, συνήθως καλλιεργείται ως ετήσιο, ιδιαίτερα σε περιοχές με πολύ ψυχρό χειμώνα ή πολύ θερμό καλοκαίρι, όπου καθίσταται αδύνατη η επιβίωσή της. Καλλιεργείται ευρέως και πιο

εύκολα σε ηλιόλουστες θέσεις στα περισσότερα είδη εδαφών. Ευδοκίμει στα περισσότερα κλίματα με θερμοκρασίες επιθυμητές άνω των 18 °C. Για αυτό θεωρείται γενικά ως ευπροσάρμοστο φυτό. Αντέχει σε περιόδους καύσωνα, υπό την προϋπόθεση ότι υπάρχει επαρκής εδαφική υγρασία, μέσω ικανοποιητικής άρδευσης. Το άριστο pH εδάφους κυμαίνεται από 6 έως 7, με επιτρεπτές αποκλίσεις. Σε περιόδους ξηρασίας, η καλλιέργεια του φυτού απαιτεί εβδομαδιαίως 2,5-4 cm νερού (Richter, 2007). Η σπορά γίνεται την άνοιξη αν επικρατεί εύκρατο κλίμα και δίνει ανθοφόρους οφθαλμούς όλο το καλοκαίρι ή το φθινόπωρο σε περιοχές που υπάρχει περιορισμένη χειμερινή παγωνιά. Τέλος, ως είδος είναι μετρίως ανθεκτική στην αλατότητα (Dulf, 2013).

1.2.4 Η φαρμακευτική αξία του είδους *Calendula officinalis* L.



Εικόνα 1.3 Φαρμακευτική αξία του είδους *Calendula officinalis*, MDPI, 2023.

Από χημικής άποψης, οι ενώσεις που περιέχονται στα διάφορα μέρη του φυτού της καλέντουλας είναι μεγάλου φαρμακευτικού και ιατρικού ενδιαφέροντος. Τα χρήσιμα δραστικά συστατικά της διακρίνονται σε πτητικά και μη πτητικά. Οι πτητικές ουσίες απαρτίζουν το αιθέριο έλαιο του φυτού. Τα άνθη περιέχουν έως 0.97% του αιθέριου ελαίου και οι ενώσεις που έχουν ανιχνευτεί είναι κυρίως τερπενοειδή, φλαβονοειδή, κουμαρίνες, καροτενοειδή, σαπωνίνες, ρητίνες και πολυσακχαρίτες. Τα συστατικά αυτά αναλύονται παρακάτω:

Τερπένια (Terpens): Τερπένια χαρακτηρίζονται οι υδρογονάνθρακες βιολογικής προέλευσης που μπορούν να προκύψουν όταν ως δομική μονάδα χρησιμοποιηθεί το

ισοπρένιο, για αυτό και ονομάζονται ισοπρενοειδή (isoprenoids). Η δομή τους βασίζεται σε επαναλαμβανόμενες μονάδες ισοπρενίου (C_5H_8). Τα τερπένια αποτελούν τα κύρια συστατικά των αιθέριων ελαίων και της ρητίνης των φυτών. Εντάσσονται στην κατηγορία των λιπιδίων (Χαμηλάκης, 2022).

Τερπενοειδή (Terpenoids): Ορισμένοι συγγραφείς, ορίζουν ως τερπενοειδή τα χημικώς τροποποιημένα τερπένια. Η αναδιαμόρφωση της δομής των τερπενίων μπορεί να προκύψει με οξείδωση, αναδιάταξη του ανθρακικού σκελετού κ.λπ. Άλλοι αντιμετωπίζουν τερπένια και τερπενοειδή ως ενιαία ομάδα και τα θεωρούν ως μία από τις τρεις κατηγορίες των πρενυλολιπιδίων (prenyllipids). Οι τερπενικές ενώσεις καθίστανται πλέον η πολυπληθέστερη ομάδα φυσικών προϊόντων (περίπου 50.000 ενώσεις) και μία πλούσια δεξαμενή ουσιών υποψηφίων για φαρμακευτική αξιοποίηση. Τα τερπενοειδή χρησιμοποιούνται για τις αρωματικές τους ιδιότητες (μυρωδιά ευκάλυπτου, γεύση κανέλας, γαρύφαλλου, τζίντζερ) αλλά και για τις φαρμακευτικές τους λειτουργίες (αντινεοπλασματικά, αντιβακτηριακά) (Χαμηλάκης, 2022).

Τα αιθέρια έλαια (essences) βρίσκονται στους ελαιογόνους αδένες των φυτών, είναι κατά το πλείστον άχρωμα υγρά, τα οποία σε θερμοκρασία βρασμού ($50-32\text{ }^{\circ}\text{C}$) αποδίδουν χαρακτηριστικό άρωμα. Στα αιθέρια έλαια έχουν αποδοθεί αντιβακτηριακές, αντικές, αντιμυκητικές, αναλγητικές, αντισηπτικές, επουλωτικές, χαλαρωτικές, αντικαταθλιπτικές ιδιότητες. Επίσης, έχουν εντομοκτόνο, απωθητική και αποσμητική δράση. Τα τερπένια εκπέμπονται από τα δένδρα, υπό μορφή νεφών, όταν ανεβαίνει η θερμοκρασία, γεγονός που επιτρέπει και τη ρύθμιση της θερμοκρασίας του δάσους. Η ονομασία τερπένιο (terpene) προέρχεται από τη λέξη τερεβινθίνη, κοινώς νέφτι (turpentine) (Χαμηλάκης, 2022).

Η καλέντουλα περιέχει κυρίως:

- Φαρνεσόλη: πρόκειται για μια άχρωμη ή ελαφρώς κίτρινη ελαιώδη ουσία με ευχάριστο λουλουδάτο άρωμα. Ενισχύει τις καταπραϋντικές και επουλωτικές δράσεις του φυτού. Έχει αντιμικροβιακές ιδιότητες και χρησιμοποιείται σε καλλυντικά.
- Λιναλοόλη: Παρουσιάζει αντιφλεγμονώδη και αντιμικροβιακή δράση. Συμβάλλει στις κατευναστικές και θεραπευτικές ιδιότητες της καλέντουλας, οι οποίες την καθιστούν ιδιαίτερα ωφέλιμη για την περιποίηση του δέρματος, την

επούλωση τραυμάτων και την αντιμετώπιση ερεθισμών (Della Loggia et al., 1994).

Φλαβονοειδή: Τα φλαβονοειδή είναι δευτερογενείς μεταβολίτες για φυτά και μύκητες. Δηλαδή οργανικές ενώσεις που δεν εμπλέκονται άμεσα στην ανάπτυξη και αναπαραγωγή των οργανισμών. Έχει παρατηρηθεί πως η κατανάλωσή τους μειώνει τη πιθανότητα εμφάνισης καρκίνων και καρδιοαγγειακών, φέρει αντιαλλεργική και διουρητική δράση, προστατεύει τα δόντια και προφυλάσσει κατά της γρίπης. Σε συνδυασμό με τα παραπάνω, τα φλαβονοειδή υποστηρίζεται πως συμβάλλουν και στη διατήρηση του βάρους. Τα φλαβονοειδή που έχουν αναγνωρισθεί στην καλέντουλα είναι τα ακόλουθα:

1. Κερκετίνη (Quercetin): ισχυρό αντιοξειδωτικό που βοηθά στην προστασία των κυττάρων από οξειδωτικό στρες.
2. Ισοραμνετίνη (Isorhamnetin): παράγωγο της κερκετίνης, γνωστό για τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές του.
3. Κεμπφερόλη (Kaempferol): σημαντικό φλαβονοειδές με αντιοξειδωτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες (Bertoia et al., 2023).

Κουμαρίνες: Οι κουμαρίνες εμφανίζονται ως άχρωμοι κρύσταλλοι, νιφάδες ή άχρωμη έως λευκή σκόνη με ευχάριστη αρωματική οσμή βανίλιας και πικρή αρωματική γεύση. Απαντώνται στη φύση σε πολλά φυτά, και μπορεί να χρησιμεύσουν ως μέρος της χημικής άμυνας κατά των βιολογικών εχθρών τους (π.χ. μύκητες, έντομα, παθογόνα). Κουμαρινικά ανάλογα χρησιμοποιούνται ως φάρμακα αντιπηκτικά για την αναστολή του σχηματισμού θρόμβων αίματος (NTP, 1992). Οι κουμαρίνες που απαντώνται στο φυτό της καλέντουλας είναι:

1. Αισκουλίνη (Aesculin): Μια κουμαρίνη με αντιοξειδωτικές ιδιότητες που προστατεύει τα κύτταρα από οξειδωτική βλάβη.
2. Σκοπολετίνη (Scopoletin): Γνωστή για τις αντιφλεγμονώδεις και ανοσορρυθμιστικές της ιδιότητες (Bertoia et al, 2023).

Καροτενοειδή: Τα καροτενοειδή είναι κίτρινες, πορτοκαλί και κόκκινες χρωστικές ενώσεις που απαντώνται στα φωτοσυνθετικά κύτταρα, όμως το χρώμα τους καλύπτεται από αυτό της χλωροφύλλης. Συμβάλλουν στο σχηματισμό του χρώματος

των ανθέων του φυτού της καλέντουλας. Πιστεύεται ότι η κατανάλωση τροφών πλούσιων σε καροτενοειδή θα μπορούσε να μειώσει τον κίνδυνο κακοηθειών του παχέος εντέρου, του πνεύμονα, και του μαστού (Γαλάτης, 2003). Τα κύρια καροτενοειδή της καλέντουλας είναι:

1. Λουτεΐνη (Lutein): Ένα από τα πιο άφθονα καροτενοειδή στην καλέντουλα, γνωστό για την προστασία των ματιών από την εκφύλιση της ωχράς κηλίδας. Απαντάται σε ποσοστό περίπου ίσο με 80%.
2. Ζεαξανθίνη (Zeaxanthin): Άλλο ένα σημαντικό καροτενοειδές που συνεισφέρει στην υγεία των ματιών και έχει ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Το ποσοστό κυμαίνεται στο 5%.
3. Β-καροτένιο (Beta-carotene): Γνωστό για τις αντιοξειδωτικές και ανοσορρυθμιστικές του δράσεις.
4. Λυκοπένιο (Lycopene): Παρόλο που είναι λιγότερο συνηθισμένο στην καλέντουλα, έχει αναγνωριστεί για τις αντικαρκινικές του ιδιότητες (Shahane et al., 2023).

Σαπωνίνες: Οι σαπωνίνες είναι γλυκοζίτες στεροειδών ή τριτερπενίων που περιέχουν σακχαρίτες συνδεδεμένους με έναν στεροειδή ή τριτερπενικό πυρήνα. Αυτή η δομή τους δίνει τις χαρακτηριστικές επιφανειοδραστικές ιδιότητες, επιτρέποντας τους να σχηματίζουν αφρούς όταν αναμιγνύονται με νερό. Σε μεγάλες ποσότητες μπορεί να αποβούν τοξικές. Χρησιμοποιούνται ως αντικουνουπικά, ως προϊόντα προσωπικής φροντίδας λόγω των καθαριστικών ιδιοτήτων και έχουν αντιμικροβιακή και αντιφλεγμονώδη δράση που χρησιμεύει στη φαρμακοβιομηχανία. (Hostettmann & Marston, 2005). Οι κύριες σαπωνίνες στην καλέντουλα είναι:

1. Ολεανολικό οξύ (Oleanolic acid): Μια τριτερπενική σαπωνίνη με γνωστές αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Συμβάλλει στη θεραπεία πληγών και δερματικών φλεγμονών.
2. Οξυγενωμένες σαπωνίνες (Oxidized saponins): Αυτές οι σαπωνίνες συμβάλλουν στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος και έχουν επίσης αντιμικροβιακές ιδιότητες, γεγονός που τις καθιστά χρήσιμες στην καταπολέμηση λοιμώξεων (Shahane et al., 2023).

Ρητίνες : Οι ρητίνες αποτελούν έκκριση πολλών υδρογονανθράκων, κυρίως των κωνοφόρων δένδρων. Είναι φυσικές ή συνθετικές οργανικές ενώσεις που χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους να μετατρέπονται από ένα μαλακό και κολλώδες υλικό σε σκληρό και άκαμπτο όταν εκτίθενται σε ορισμένες συνθήκες, όπως θερμότητα ή χημικά αντιδραστήρια. Οι πιο γνωστές φυσικές ρητίνες είναι η τερεβινθίνη, η μαστίχα και το κολοφώνιο. Είναι σημαντικές σε πολλές βιομηχανίες, όπως σε κατασκευή πλαστικών και υαλοβάμβακα, χρώματα και κόλλες (Buchanan, 2006).

Οι τριτερπενικές ρητίνες είναι από τα πιο σημαντικά συστατικά της καλέντουλας και έχουν έντονη αντιφλεγμονώδη δράση. Αυτές οι ρητίνες μπορούν να μειώσουν την παραγωγή φλεγμονωδών μεσολαβητών, όπως το νιτρικό οξείδιο (NO), το οποίο συμβάλλει στην εμφάνιση φλεγμονών στο σώμα. Έρευνες έχουν δείξει ότι τα εκχυλίσματα της καλέντουλας μειώνουν την παραγωγή NO σε μακροφάγα κύτταρα, χωρίς να είναι τοξικά για αυτά, κάτι που αποδεικνύει τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του φυτού (Silva et al., 2021).

Πολυσακχαρίτες: Είναι μακρές αλυσίδες μονοσακχαριτών (απλά σάκχαρα) συνδεδεμένων μεταξύ τους με γλυκοζιτικούς δεσμούς. Στην καλέντουλα, οι πολυσακχαρίτες παίζουν σημαντικό ρόλο στο ανοσοποιητικό σύστημα και την επούλωση τραυμάτων. Ενισχύουν την υγρασία του δέρματος, προάγουν την ανάπλαση των κυττάρων και έχουν καταπραϋντικές ιδιότητες που είναι ευεργετικές για την περιποίηση του δέρματος (Stephen, A. M., Phillips, G. O., & Williams, P. A., 2006). Οι πολυσακχαρίτες της καλέντουλας είναι συνήθως διαλυτοί και έχουν διαφορετικές δομές. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι οι γαλακτάνες (galactans), που είναι πολυσακχαρίτες αποτελούμενοι κυρίως από μόρια γαλακτόζης (European Medicines agency, 2024). Με άλλα λόγια, οι πολυσακχαρίτες που περιέχει η καλέντουλα προάγουν την φαγοκυτταρική δραστηριότητα, δηλαδή την ικανότητα των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος να καταπολεμούν παθογόνα (Shahane et. al 2023).

1.3. Διέγερση της βλάστησης των σπόρων – Seed priming

1.3.1 Η κρισιμότητα του σταδίου της βλάστησης

Η ανάπτυξη του εμβρύου, που συντελεί στο σπάσιμο του περιβλήματος του σπόρου και την εμφάνιση νεαρού φυτού, είναι γνωστή με τον όρο βλάστηση. Εργαστηριακά, σαν βλάστηση εννοείται η εμφάνιση και ανάπτυξη εκείνων των σχηματισμών που δείχνουν ότι ο σπόρος είναι ικανός να δώσει ένα κανονικό φυτό κάτω από ευνοϊκές συνθήκες (Βλαχοστέργιος, 2023).

Η διαδικασία της βλάστησης περιλαμβάνει τέσσερα στάδια:

- απορρόφηση νερού,
- ενεργοποίηση ενζύμων,
- μεταβολική δραστηριότητα και
- επιμήκυνση εμβρυακού άξονα.

Όπως έχει αναφερθεί και στις προηγούμενες ενότητες, η περίοδος από την έναρξη της βλάστησης έως την εγκατάσταση της καλλιέργειας είναι μεγάλης κρισιμότητας γιατί η έκθεση του φυτού σε ποικίλους παράγοντες μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ικανότητα βλάστησης, το φύτευμα και κατ' επέκταση την απόδοση (Wakjira & Negash, 2013).

Φυσικά, τα είδη χαρακτηρίζονται από εξειδικευμένη απόκριση στις ποικίλες περιβαλλοντικές συνθήκες, ανάλογα με τη γενετική τους βάση. Σε είδη ωστόσο όπου απαντάται μειωμένος ρυθμός βλάστησης και φυτρώματος, συμπεριλαμβανομένων των αρωματικών -φαρμακευτικών, καθίσταται απαραίτητη η διεξαγωγή ερευνών με στόχο τη βελτίωση της ικανότητας βλάστησης, η οποία συμβάλλει δυνητικά στη βελτιωμένη εγκατάσταση της καλλιέργειας και την απόδοση αυτής (Zulficar, 2021).

1.3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν τη βλάστηση

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη βλάστηση διακρίνονται στους ενδογενείς και στους εξωγενείς.

Οι εξωγενείς περιλαμβάνουν περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως:

- Το νερό, αφού με μειωμένη εδαφική υγρασία τα φυτάρια πρέπει να καταναλώσουν πολύ μεγαλύτερα ποσά ενέργειας για την απορρόφησή του, με αποτέλεσμα να δυσχεραίνεται το φύτευμα.
- Το οξυγόνο, καθώς είναι απαραίτητο για την αερόβια αναπνοή και η κυτταρική αναπνοή κατά τη διάρκεια της βλάστησης αυξάνεται, άρα χωρίς αυτό η αναπνοή παρεμποδίζεται.
- Η θερμοκρασία, καθώς επηρεάζει τις κυτταρικές μεταβολικές διεργασίες και τους ρυθμούς ανάπτυξης. Τα περισσότερα φυτά βλαστάνουν σε ένα εύρος θερμοκρασιών 18-24 °C και έχουν μέγιστη, ελάχιστη και άριστη θερμοκρασία βλάστησης. Φυσικά, σε μία καλλιέργεια πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν τόσο η θερμοκρασία του αέρα όσο και του εδάφους. Όταν φυτεύεται ο σπόρος, το έδαφος δεν πρέπει να είναι πολύ δροσερό.
- Το φως, αφού είναι πηγή ενέργειας και είναι ικανό να αναστείλει ή να υποκινήσει τη βλάστηση, ανάλογα με το είδος του φυτού. Κάποιοι σπόροι χρειάζονται φως για να βλαστήσουν άρα χρειάζεται να βρίσκονται πιο κοντά στην επιφάνεια του εδάφους προκειμένου να προσεγγιστούν από την ηλιακή ακτινοβολία (βιολέτα, πετούνια κ.α.). Αντίθετα, άλλοι σπόροι βλαστάνουν καλύτερα στο σκοτάδι (καλέντουλα, λουίζα κ.α.).

Οι ενδογενείς παράγοντες σχετίζονται με το γενετικό υπόβαθρο του σπόρου και είναι:

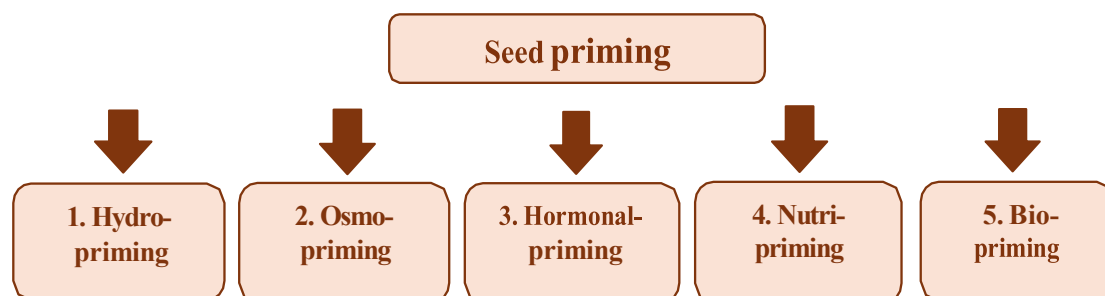
- Λήθαργος: συνιστά την αδυναμία ενός βιώσιμου σπόρου να βλαστήσει ακόμη και κάτω από συνθήκες που θεωρούνται ευνοϊκές αναφορικά με τα επίπεδα νερού, θερμοκρασίας και οξυγόνου (Βλαχοστέργιος, 2023). Ο λήθαργος των σπόρων μπορεί να οφείλεται στο περισπέρμιο, όταν αυτό δεν είναι διαπερατό από το νερό, ή όταν είναι μηχανικά ισχυρό ή από το οξυγόνο. Επιπλέον, και κάποια από τα χαρακτηριστικά του εμβρύου (αν δεν είναι ώριμο ή απαιτείται περίοδος μεθωρίμανσης) είναι υπεύθυνα για τον λήθαργο. Οι φαινολικές ουσίες του σπόρου (πχ αψισικό οξύ - ABA) μπορούν να δράσουν ανασταλτικά στη βλάστηση (Βλαχοστέργιος, 2023).
- Βιωσιμότητα: η ιδιότητα του σπόρου που του επιτρέπει να βλαστάνει κάτω από ευνοϊκές συνθήκες. Ο υπολογισμός της βιωσιμότητας του σπόρου δείχνει την αξία του σπόρου (Βλαχοστέργιος, 2023). Η βιωσιμότητα επηρεάζεται από τον ίδιο τον σπόρο π.χ. τη γενετική και χημική του σύνθεση, την ωριμότητα, την

σκληρότητα, το μέγεθος, τους τυχόν μηχανικούς τραυματισμούς και τις συνθήκες αποθήκευσης.

→ Δυναμικό βλάστησης : Η βλάστηση αποτελεί μία εσωτερική διεργασία που ενεργοποιείται από σηματοδοτικά μονοπάτια που συμβάλλουν στην επαγωγή της αμυλάσης, η οποία αποδομεί το άμυλο του ενδοσπερμίου σε απλά σάκχαρα, παρέχοντας την απαιτούμενη ενέργεια στο αναπτυσσόμενο έμβρυο (Wang et al., 2015).

1.3.3 Μέθοδοι διέγερσης της βλάστησης – Seed priming

Με δεδομένη την κρισιμότητα του σταδίου της βλάστησης και τα προβλήματα που εμφανίζει πληθώρα φυτικών ειδών, έχουν αναπτυχθεί ποικίλες τεχνικές που στοχεύουν στην ενίσχυση της ικανότητας βλάστησης και, έπειτα, του φυτρώματος. Οι εν λόγω μέθοδοι συνήθως αφορούν σε προ-επεξεργασία των σπόρων με μεταχειρίσεις που μπορούν να λειτουργήσουν ως διεγέρτες της βλάστησης. Οι μέθοδοι αυτές αντιμετωπίζουν κυρίως την ανομοιομορφή βλάστηση. Η τεχνητή διέγερση της βλάστησης των σπόρων εφαρμόζεται πριν τη σπορά και περιλαμβάνει εμβάπτιση των σπόρων σε νερό ή διαλύματα διεγερτών. Μέσω της επεξεργασίας αυτής, επιτυγχάνεται έναρξη των προφυτρωτικών διαδικασιών, χωρίς ωστόσο να συμβεί η συμβατική βλάστηση που περιλαμβάνει την έκπτυξη του ριζιδίου. Έπειτα, ακολουθεί ξήρανση των σπόρων ώστε να επανέλθουν στο αρχικό τους βάρος (Farooq et al., 2019). Η τεχνητή διέγερση των σπόρων αναφέρεται με το γενικευμένο όρο «seed priming» και θεωρείται ότι συμβάλλει θετικά στη ζωτικότητα του σπόρου, τη διάρκεια του λήθαργου και τη βελτίωση της βλάστησης. Το «seed priming» αναφέρεται σε ένα ευρύ φάσμα διαφορετικών μεταχειρίσεων που εφαρμόζονται στους σπόρους πριν τη σπορά (Εικόνα 1.4) .



Εικόνα 1.4 Κύριες μέθοδοι τεχνητής διέγερσης της βλάστησης (seed priming).

1. Hydropriming (ενυδατική επαγωγή)

Πρόκειται για την παραδοσιακή τεχνική της εμβάπτισης των σπόρων σε νερό. Είναι οικονομικός και γρήγορος τρόπος για την καταπολέμηση της ανομοιόμορφης βλάστησης, ωστόσο δεν είναι αποτελεσματικός σε πολλά φυτικά είδη. Το πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι αποφεύγεται η χρήση χημικών ουσιών, γεγονός προτιμάται τόσο από οικονομικής όσο και από περιβαλλοντικής άποψης (Meenakshi Thakur et al., 2022).

2. Osmopriming (ωσμωτική επαγωγή)

Πραγματοποιείται μέσω της εμβάπτισης των σπόρων σε διάλυμα χαμηλού ωσμωτικού δυναμικού από ενώσεις όπως γλυκερίνη, πολυαιθυλενική αλκοόλη (PEG), σορβιτόλη, η μαννιτόλη και ανόργανα άλατα, με πλέον σύνηθες το χλωριούχο νάτριο (NaCl) (Lutts et al., 2016). Η τεχνική αυτή βοηθάει στις μεταβολικές διεργασίες πριν τη βλάστηση και στην καλή προετοιμασία του σπόρου για τη ανάπτυξη του ριζιδίου (Lei et al., 2021). Το PEG έχει εδραιωθεί ευρέως γιατί έχει μεγάλο μοριακό βάρος και συνεπώς αποτρέπει την είσοδο στο σπόρο και την πιθανή εμφάνιση κυτταροτοξικών επιδράσεων και μείωσης του οσμωτικού δυναμικού στο σπόρο (Di Girolamo & Barbanti, 2012). Ταυτόχρονα, επιστήμονες αναφέρουν τη θετική επίδραση της προεπεξεργασίας των σπόρων με PEG στην άμβλυνση των επιπτώσεων που προκαλούνται από περιβαλλοντικές καταπονήσεις σε ποικίλα φυτικά είδη (Lei et al., 2021).

3. Hormonalpriming (ορμονική επαγωγή)

Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει την εμβάπτιση των σπόρων σε διαλύματα με ρυθμιστές ανάπτυξης, όπως είναι το σαλικυλικό οξύ, οι γιββεριλίνες, το αιθυλένιο, οι πολυαμίνες και η κινετίνη. Αυτή η τεχνική συνδράμει, εκτός από την ενίσχυση της βλάστησης, στη βελτιωμένη απόδοση μιας καλλιέργειας σε αλατούχο έδαφος (Khan et al., 2009).

4. Nutripriming (θρεπτική επαγωγή)

Κατά την θρεπτική επαγωγή γίνεται εμβάπτιση σπόρων σε διαλύματα μακροθρεπτικών ή μικροθρεπτικών συστατικών (Farooq et al., 2012). Με τη μέθοδο αυτή επιτυγχάνεται η βιοχημική επίδραση της ενυδάτωσης των σπόρων και η θετική επίδραση που έχει το χρησιμοποιούμενο θρεπτικό συστατικό. Τα διαλύματα έχουν ένα ή περισσότερα

θρεπτικά στοιχεία. Ένας ευρέως χρησιμοποιούμενος διεγέρτης της κατηγορίας αυτής είναι το BSN που παρέχει P, Mo, Mn, Cu και Zn. Γενικά, η θρεπτική επαγωγή είναι οικονομική και φιλική στο περιβάλλον.

5. Bio-priming (βιο-επαγωγή)

Η τεχνική αυτή συνδυάζει δύο μεθόδους, την ενυδάτωση των σπόρων και την προσθήκη ζωντανού βακτηριακού εμβολίου στις συνθήκες ανάπτυξης του φυτού. Χρησιμοποιούνται κυρίως ριζοβακτήρια (*Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Bacillus* και *Agrobacterium*,) γιατί συμβάλλουν θετικά στην απορρόφηση θρεπτικών και στην προστασία από παθογόνους οργανισμούς του εδάφους και των σπόρων. Κάποιες φορές πραγματοποιείται προσθήκη μυκητοκτόνων ουσιών και παράγοντες βιολογικού ελέγχου (Reddy, 2012; Mahmood et al., 2016).

Σκοπός της μελέτης

Τα αρωματικά και φαρμακευτικά είδη αντιμετωπίζουν συχνά μειωμένη ικανότητα βλάστησης, ανομοιόμορφο φύτρωμα και αναποτελεσματική εγκατάσταση που επιφέρει μείωση της παραγωγικότητας. Λαμβάνοντας υπόψη την αυξημένη προτίμηση του καταναλωτικού κοινού προς τα προϊόντα φυτικής προέλευσης, τα τελευταία χρόνια δίνεται έμφαση στη βελτιστοποίηση των πρωτοκόλλων καλλιέργειας προκειμένου να είναι εφικτή η κάλυψη των αναγκαίων ποσοτήτων βιομάζας που περιέχει βιολειτουργικά συστατικά. Στοχεύοντας στην επίλυση των προβλημάτων της ανομοιόμορφης και μη συγχρονισμένης βλάστησης, έχουν αναπτυχθεί τεχνικές που συμβάλλουν θετικά στη διέγερση των διεργασιών της βλάστησης. Οι τεχνικές αυτές περιλαμβάνουν την προεπεξεργασία των σπόρων και αναφέρονται με το γενικευμένο όρο «seed priming».

Η συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία στοχεύει στη μελέτη της επίδρασης διαφόρων μεθόδων τεχνητής διέγερσης της βλάστησης σε σπόρους του είδους *Calendula officinalis*. Ειδικότερα, η ενίσχυση της βλάστησης επιχειρήθηκε με φυσικό ή χημικό τρόπο. Για το σκοπό αυτό, στο πείραμα συμπεριλήφθηκαν οι ακόλουθες μεταχειρίσεις: i) μάρτυρες που δεν πραγματοποιήθηκε προεπεξεργασία των σπόρων (Control), ii) εμφάνιση των σπόρων σε νερό (hydropriming), iii) ωσμωτική επαγωγή με εφαρμογής 50 και 100 mM NaCl, iv) ορμονική επαγωγή με εφαρμογή 50 και 100 μ M γιβερριλικού οξέος και v) θρεπτική επαγωγή με εφαρμογή 50 και 100 mg/L ασκορβικού οξέος. Οι επιδράσεις των ανωτέρω μεθόδων τεχνητής διέγερσης αξιολογήθηκαν με βάση το ποσοστό βλάστησης, το μήκος ρίζας και βλαστού, το νωπό και ξηρό βάρος καθώς και το ποσοστό υγρασίας των σποροφύτων.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Γενετικό υλικό

Το γενετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν πιστοποιημένοι σπόροι του είδους *Calendula officinalis*. Αρχικά έγινε μια πρώτη επιλογή των σπόρων που ήταν ακέραιοι και δεν υπήρχαν ενδείξεις για κάποια ασθένεια και ακολούθησε η απολύμανσή τους.

2.2 Απολύμανση των σπόρων

Η απολύμανση των σπόρων πραγματοποιήθηκε σε τράπεζα νηματικής ροής για την εξασφάλιση ασηπτικών συνθηκών. Έγινε εμβάπτιση των σπόρων για 1 λεπτό σε καθαρή αιθανόλη 70 % και, μετά την πλήρη εξατμισμό της αιθανόλης, ακολούθησε εμβάπτισή τους σε διάλυμα χλωρίνης 15 %, που περιέχει Tween-20, για 5 λεπτά υπό ανάδευση. Τέλος, πραγματοποιήθηκαν από 4x πλύσεις με αποστειρωμένο dH₂O.



Εικόνα 2.1 Διαδικασία απολύμανσης των σπόρων εντός της τράπεζας νηματικής ροής.

2.3 Τεχνητή διέγερση της βλάστησης

2.3.1 Μεταχειρίσεις

Για τη διέγερση της βλάστησης εφαρμόστηκαν φυσικές ή χημικές μεταχειρίσεις που στο πείραμα συμπεριλήφθηκαν οι ακόλουθες μεταχειρίσεις: i) μάρτυρες που δεν

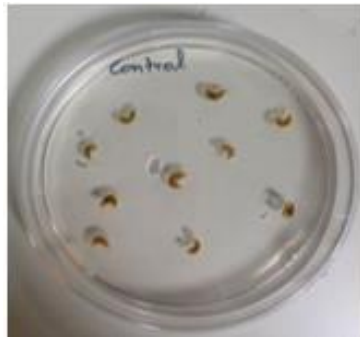
πραγματοποιήθηκε προεπεξεργασία των σπόρων (Control), ii) εμφύσηση των σπόρων σε νερό (hydropriming), iii) ωσμωτική επαγωγή με εφαρμογής 50 και 100 mM NaCl, iv) ορμονική επαγωγή με εφαρμογή 50 και 100 μ M γιβεργιλικού οξέος και v) θρεπτική επαγωγή με εφαρμογή 50 και 100 mg/L ασκορβικού οξέος.

Προετοιμασία διαλυμάτων

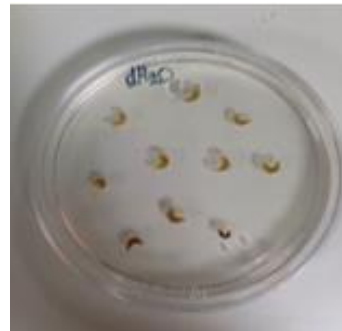
- Μάρτυρες (control): καμία μεταχείριση, έπειτα από απολύμανση τοποθετήθηκαν απευθείας στο τριβλίο.
- Εμφύσηση σε νερό (hydro-priming): εμφύσηση των σπόρων σε αποστειρωμένο dH₂O.
- Ωσμωτική επαγωγή (osmotic priming): Προετοιμασία πυκνού (stock) διαλύματος NaCl συγκέντρωσης 1M : 0,5844 g σε τελικό όγκο 10 ml με αποστειρωμένο dH₂O.
Τα δοκιμαστικά διαλύματα (test solutions) ήταν: 50 mM NaCl (αραίωση 1/20), 100 mM NaCl (αραίωση 1/10).
- Ορμονική επαγωγή (hormonal priming): Προετοιμασία πυκνού (stock) διαλύματος GA₃ συγκέντρωσης 1M: 0,0346 g GA₃ σε τελικό όγκο 10 ml με αποστειρωμένο νερό dH₂O – μία σταγόνα 95% αιθυλική αλκοόλη για τη διάλυση.
Τα δοκιμαστικά διαλύματα ήταν: 10 μ M GA₃ (αραίωση 1/1000), 50 μ M GA₃ (αραίωση 1/200), 100 μ M (αραίωση 1/100) GA₃.
- Θρεπτική επαγωγή (nutri-priming): Προετοιμασία πυκνού (stock) διαλύματος L-ascorbic acid συγκέντρωσης 10 mM: 0,17612 g L- ascorbic acid σε τελικό όγκο 100 ml dH₂O.
Τα δοκιμαστικά διαλύματα ήταν: 50 mg/L (0,28 mM) και 100 mg/L (0.567 mM).
 - 50 mg/L: 2,8 ml σε τελικό όγκο 100 ml dH₂O
 - 100 mg/L: 5,67 ml σε τελικό όγκο 100 ml dH₂O

Έγινε τοποθέτηση των απολυμασμένων σπόρων σε Falcon με κατάλληλο διάλυμα και επώαση για χρονικό διάστημα 24 ωρών. Έπειτα, οι σπόροι τοποθετήθηκαν σε τριβλία που περιείχαν στερεό υπόστρωμα, αποτελούμενο από άγαρ και dH₂O (5 gr άγαρ ανά λίτρο) (Εικόνα 2.2). Τέλος, τα τριβλία σφραγίστηκαν με χρήση parafilm ώστε να

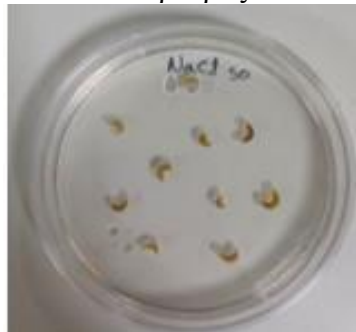
εξασφαλιστεί σταθερή υγρασία και να αποτραπεί η εξάτμιση. Τα φυτά αναπτύχθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών όπου η θερμοκρασία είχε ρυθμιστεί στους 23-25 °C και η φωτοπερίοδος στις 16 ώρες φως και 8 ώρες σκοτάδι.



Μάρτυρας



dH₂O



50 mM NaCl



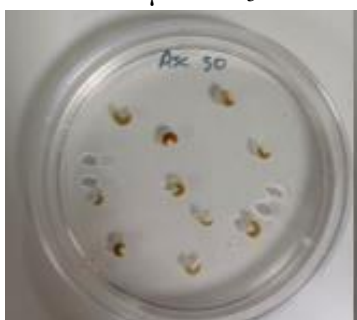
100 mM NaCl



50 μ M GA₃



100 μ M GA₃



50 mg/L



100 mg/L

Εικόνα 2.2 Τοποθέτηση σπόρων καλέντουλας προς βλάστηση, την 1^η ημέρα.

2.4 Πειραματικό σχέδιο

Ακολουθήθηκε το πειραματικό σχέδιο των πλήρως τυποποιημένων ομάδων με 4 επαναλήψεις (τριβλία) των 10 σπόρων ανά επανάληψη.

2.5 Αναπτυξιακές παράμετροι αξιολόγησης

Ως παράμετροι αξιολόγησης αξιοποιήθηκαν

- ✓ το ποσοστό βλάστησης των σπόρων,
- ✓ το μήκος ρίζας,
- ✓ το μήκος βλαστού,
- ✓ το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων.

Ποσοστό βλάστησης (GP%):

Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σχετικά με τη βλάστηση των σπόρων την 1^η, 2^η, 3^η, 6^η, 9^η και 14^η ημέρα και η εκτίμηση του ποσοστού βλάστησης έγινε σύμφωνα με τον τύπο:

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

Η έναρξη των μετρήσεων πραγματοποιήθηκε όταν το ελάχιστο μήκος του ριζιδίου ήταν 2 mm.

Μήκος ρίζας σπορόφυτων:

Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις την 6^η, 14^η και 20^η ημέρα. Η μέτρηση αφορούσε σε 3 σπορόφυτα ανά επανάληψη. Η μέτρηση του μήκους της ρίζας έγινε με χρήση διαβαθμισμένου χάρακα σε εκατοστά (cm).

Μήκος βλαστού σπορόφυτων:

Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις την 6^η, 14^η και 20^η ημέρα. Η μέτρηση αφορούσε σε 3 σπορόφυτα ανά επανάληψη. Η μέτρηση του μήκους του βλαστού έγινε με χρήση διαβαθμισμένου χάρακα σε εκατοστά (cm).

Νωπό και Ξηρό βάρος των σποροφύτων:

Για τη μέτρηση του νωπού βάρους των σποροφύτων, πραγματοποιήθηκε ζύγιση 3 σποροφύτων ανά επανάληψη (συνολικά 12 σποροφύτων) για κάθε μεταχείριση, την 22^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης.

Η εκτίμηση του ξηρού βάρους έγινε έπειτα από ξήρανση 3 σποροφύτων ανά επανάληψη (συνολικά 12 σποροφύτων), σε ξηραντήριο στους 70°C για 48 ώρες.

Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC%):

Η εκτίμηση του ποσοστού περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων έγινε σύμφωνα με τον τύπο:

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

Όπου: FW= νωπό Βάρος και DW= ξηρό Βάρος σποροφύτων

2.6 Στατιστική επεξεργασία

Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS για Windows ($p \leq 0.05$). Η στατιστική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά για κάθε ημερομηνία λήψης των παρατηρήσεων. Η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με βάση την ελάχιστη σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 5% ($P \leq 0,05$). Τα διαγράμματα δημιουργήθηκαν στο Excel.

3. Αποτελέσματα

3.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%)

Για την εκτίμηση του ποσοστού βλάστησης των σπόρων, πραγματοποιήθηκαν επτά συνολικά μετρήσεις ως ακολούθως:

1 ^η μέτρηση	1 ^η ημέρα μετά την τοποθέτηση των σπόρων σε τριβλία
2 ^η μέτρηση	2 ^η ημέρα μετά την τοποθέτηση των σπόρων σε τριβλία
3 ^η μέτρηση	3 ^η ημέρα μετά την τοποθέτηση των σπόρων σε τριβλία
4 ^η μέτρηση	6 ^η ημέρα μετά την τοποθέτηση των σπόρων σε τριβλία
5 ^η μέτρηση	7 ^η ημέρα μετά την τοποθέτηση των σπόρων σε τριβλία
6 ^η μέτρηση	9 ^η ημέρα μετά την τοποθέτηση των σπόρων σε τριβλία
7 ^η μέτρηση	14 ^η ημέρα μετά την τοποθέτηση των σπόρων σε τριβλία

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων καθόλη τη διάρκεια λήψης παρατηρήσεων, με εξαίρεση την 1η ημέρα έπειτα από την τοποθέτηση των σπόρων στα τριβλία. Ακολούθως, από τη 2^η ημέρα και έπειτα, συστηματικά οι μάρτυρες εμφάνισαν το υψηλότερο ποσοστό βλάστησης. Αντίθετα, καθόλο το διάστημα λήψης παρατηρήσεων, το χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης καταγράφηκε στους σπόρους που δέχθηκαν εφαρμογή 50 mg/L ασκορβικού οξέος (Πίνακας 3.1).

Αναφορικά με το τελικό ποσοστό βλάστησης που, μετρήθηκε την 14^η ημέρα από την τοποθέτηση των σπόρων στα τριβλία, τα ποσοστά κυμάνθηκαν μεταξύ 52,5% και 85%. Το διάστημα αυτό, το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης εμφάνισαν επίσης οι μάρτυρες, ενώ σημαντικά μειωμένο ποσοστό εμφάνισαν οι σπόροι όπου έγινε εφαρμογή 50 mg/L ασκορβικού οξέος. Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις εμφάνισαν ενδιάμεσα ποσοστά βλάστησης που κυμάνθηκαν από 55% έως 75%. Συνολικά, τα αποτελέσματα ανέδειξαν ότι το σύνολο των μεταχειρίσεων τεχνητής διέγερσης δεν επιδρούν θετικά στην ικανότητα βλάστησης της καλέντουλας (Πίνακας 3.1).

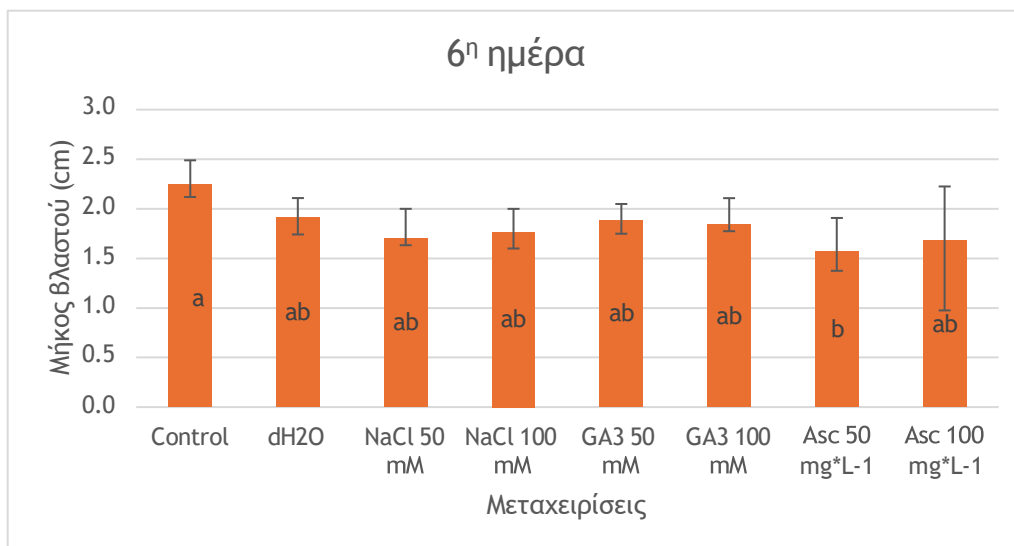
Σύμφωνα με τα ευρήματα, η κατάταξη των μεταχειρίσεων κατά φθίνουσα σειρά διαμορφώνεται ως ακολούθως: C > 50 mM NaCl > 100 μM GA₃ > dH₂O > 50 μM GA₃ > 100 mM NaCl > 100 mg/L Asc > 50 mg/L Asc.

Πίνακας 3.1: Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%) καλέντουλας ανά μεταχείριση από την 1^η έως την 14^η ημέρα από την τοποθέτηση των σπόρων προς βλάστηση.

Ημέρα	Control	dH ₂ O	NaCl 50 mM	NaCl 100 mM	GA ₃ 50 μM	GA ₃ 100 μM	Asc 50 mg/L	Asc 100 mg/L
1 ^η	0,0a	7,5a	12,5a	75,0a	15,0a	5,0a	12,5a	15,0a
2 ^η	60,0a	35,0ab	50,0ab	25,0b	45,0ab	47,5ab	27,5b	30,0ab
3 ^η	75,0a	45,0ab	65,0ab	40,0b	50,0ab	62,5ab	32,5b	40,0b
6 ^η	80,0a	57,5ab	75,0ab	52,5ab	57,5ab	67,5ab	45,0b	45,0b
7 ^η	82,5a	62,5ab	75,0ab	55,0ab	57,5ab	67,5ab	50,0b	45,0b
9 ^η	85,0a	62,5ab	75,0ab	55,0ab	62,5ab	70,0ab	52,5b	55,0ab
14 ^η	85,0a	67,5ab	75,0ab	60,0ab	62,5ab	70,0ab	52,5b	55,0ab

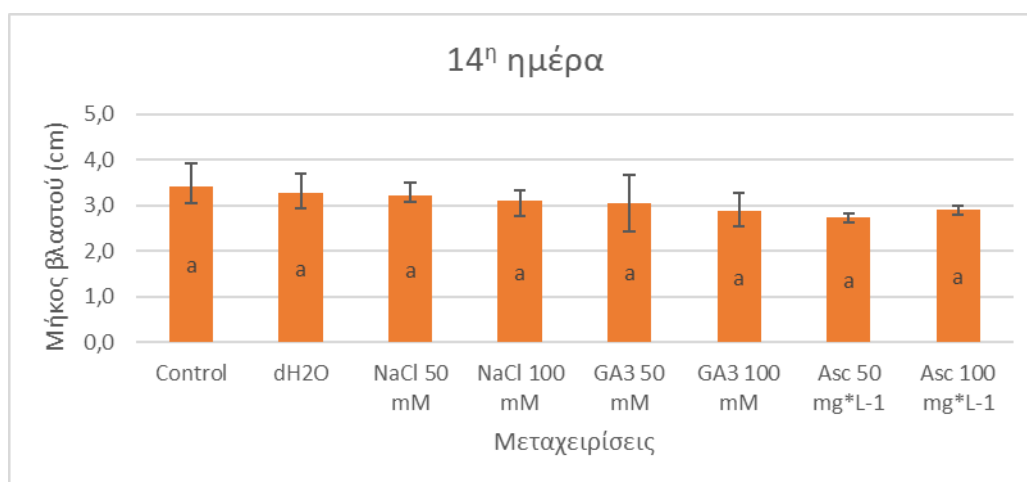
3.2 Μήκος βλαστού

Την 6^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων, οι οποίες αφορούσαν στους μάρτυρες και στα σπορόφυτα που προέκυψαν από σπόρους που εμβαιπτίστηκαν σε ασκορβικό οξύ σε συγκέντρωση 50 mg/L. Συγκεκριμένα, οι μάρτυρες εμφάνισαν το μεγαλύτερο μήκος βλαστού, ενώ η μεταχείριση των 50 mg/L ασκορβικού οξέος οδήγησε στο μικρότερο μήκος. Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις εμφάνισαν ενδιάμεσες, και παρόμοιες μεταξύ τους, τιμές μήκους βλαστού (Διάγραμμα 3.1).



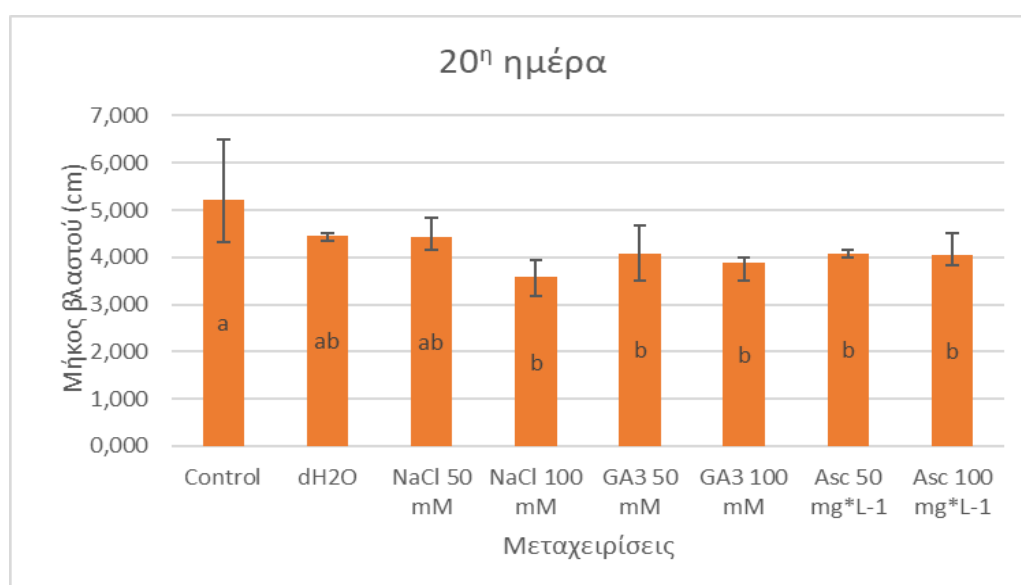
Διάγραμμα 3.1 Μήκος βλαστού των σποροφύτων καλέντουλας ανά μεταχείριση την 6^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης, η οποία σημειώθηκε την 9^η ημέρα μετά την τοποθέτηση των σπόρων σε τριβλία.

Την 14^η ημέρα, παρατηρήθηκε απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των υπό μελέτη μεταχειρίσεων. Ωστόσο, διαπιστώθηκε μία τάση αύξησης του μήκους βλαστού στους μάρτυρες, ενώ οι μικρότερες τιμές αφορούσαν στη μεταχείριση του ασκορβικού οξέος στη συγκέντρωση των 50 mg/L Asc (Διάγραμμα 3.2).



Διάγραμμα 3.2. Μήκος βλαστού (cm) των σποροφύτων καλέντουλας ανά μεταχείριση την 14^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης.

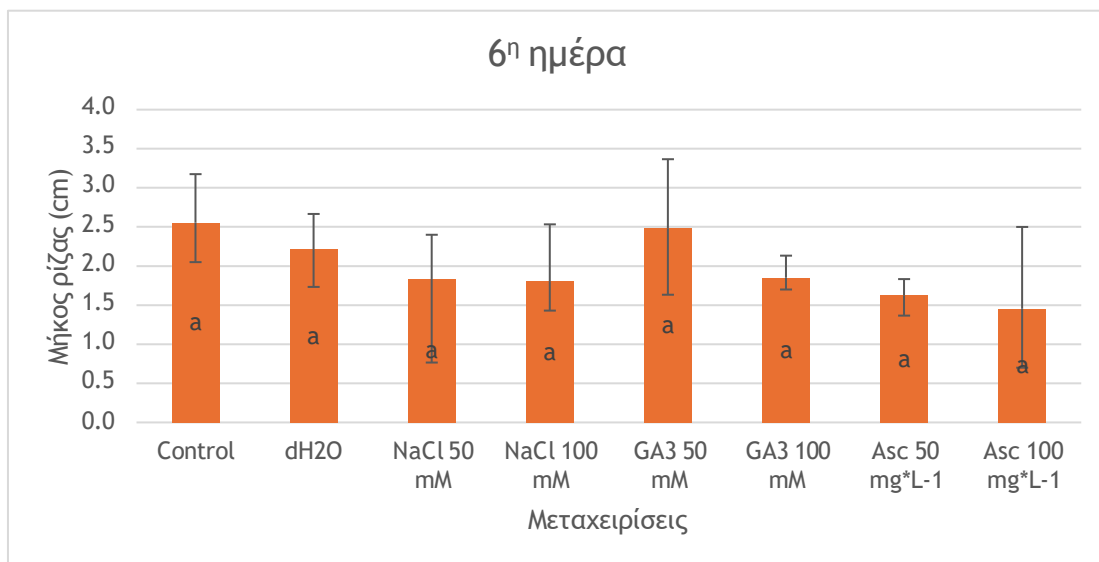
Κατά την 20^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης, καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Το μεγαλύτερο μήκος βλαστού σημειώθηκε στους μάρτυρες, ακολουθούμενο από τις μεταχειρίσεις εμβάπτισης σε νερό και εφαρμογής 50 mM NaCl. Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις εμφάνισαν σημαντικά μειωμένο μήκος βλαστού, με τις μικρότερες τιμές να αφορούν στα σπορόφυτα που προέκυψαν από σπόρους όπου έγινε εφαρμογή 100 mM NaCl (Διάγραμμα 3.3). Στο σύνολό τους, τα αποτελέσματα αυτά υπογραμμίζουν την αρνητική επίδραση των μεταχειρίσεων τεχνητής διέγερσης στη βλάστηση των σπόρων καλέντουλας.



Διάγραμμα 3.3. Μήκος βλαστού (cm) των σποροφύτων καλέντουλας ανά μεταχείριση την 20^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης.

3.3 Μήκος ρίζας

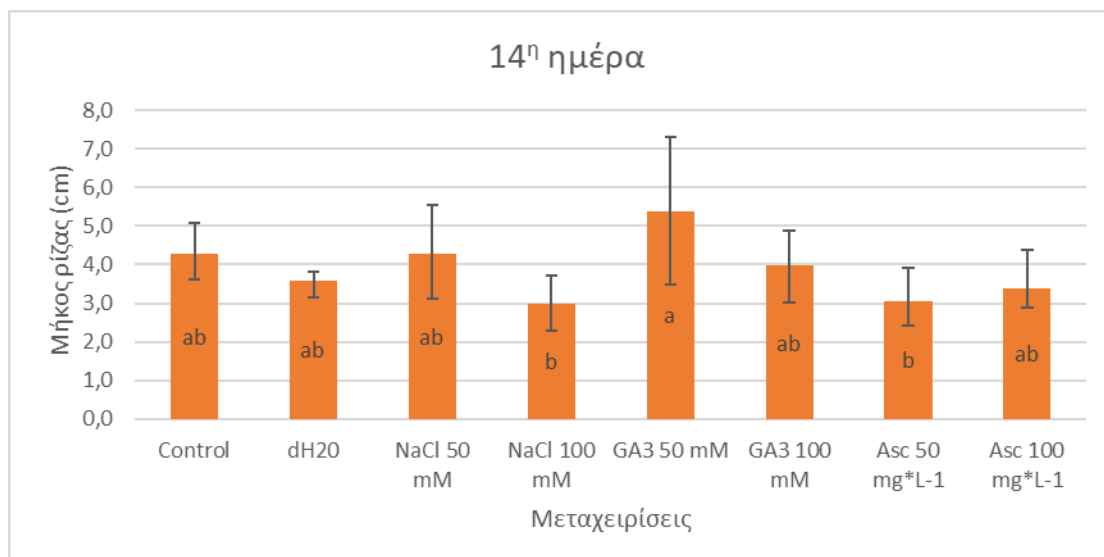
Όσον αφορά το μήκος ρίζας, κατά την 6^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Ωστόσο, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν μία τάση αύξησης του μήκους ρίζας στους μάρτυρες και στα σπορόφυτα που προέκυψαν από σπόρους όπου έγινε εφαρμογή 50 mM γιββεριλλικού οξέος. Αντίθετα, τη χειρότερη επίδοση ως προς το μήκος της ρίζας εμφάνισε η μεταχείριση 100 μM ασκορβικού οξέος (Διάγραμμα 3.4).



Διάγραμμα 3.4 Μήκος ρίζας των σποροφύτων καλέντουλας ανά μεταχείριση την 6^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης, η οποία σημειώθηκε την 9^η ημέρα μετά την τοποθέτηση των σπόρων σε τριβλία.

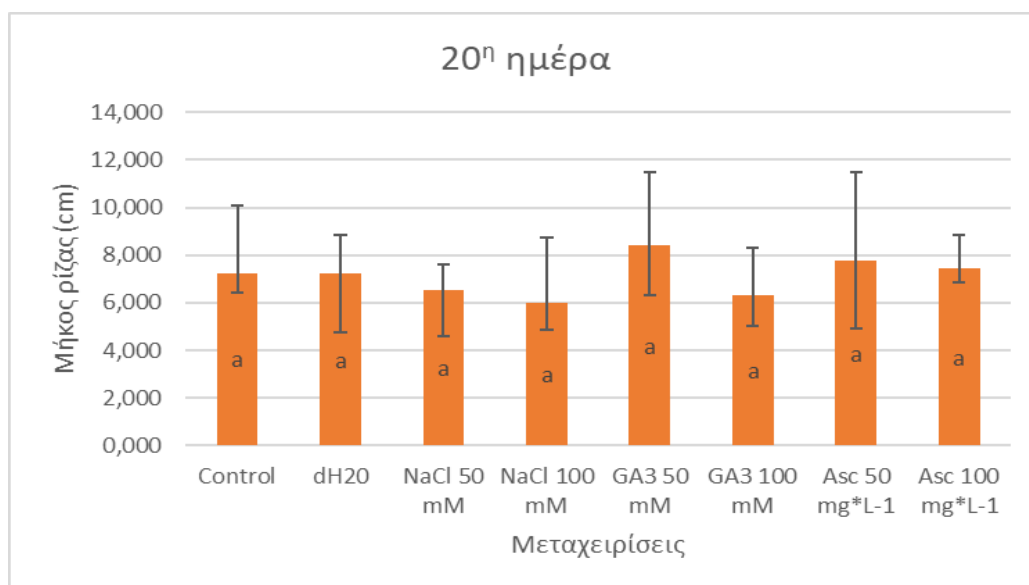
Είναι ενδιαφέρον ότι με την πάροδο του χρόνου, κατά την 14^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης, παρατηρήθηκε διαφοροποιημένη απόκριση στις υπό μελέτη μεταχειρίσεις, η οποία εκφράστηκε μέσω σημαντικών διαφορών στο μήκος της ρίζας των σποροφύτων καλέντουλας (Διάγραμμα 3.5).

Το διάστημα αυτό, καταγράφηκε υπεροχή της μεταχείρισης 50 mM γιββεριλλικού οξέος ως προς το μήκος ρίζας, σημειώνοντας υψηλότερες τιμές σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις. Ακολούθως, τα μεγαλύτερα μήκη ρίζας παρουσίασαν οι μάρτυρες και τα σπορόφυτα της μεταχείρισης 50 mM NaCl. Αντίθετα, τα μικρότερα μήκη ρίζας καταγράφηκαν στις μεταχειρίσεις 100 mM NaCl και 50 mg/L ασκορβικού οξέος. Τα αποτελέσματα αυτά παρέχουν ενδείξεις ότι τόσο ο τύπος του διεγέρτη όσο και η συγκέντρωσή του επιδρούν στο μήκος της ρίζας των σποροφύτων καλέντουλας (Διάγραμμα 3.5).



Διάγραμμα 3.5 Μήκος ρίζας των σποροφύτων καλέντουλας ανά μεταχείριση την 14^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης.

Την 20^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Ωστόσο, σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της προηγούμενης μέτρησης, καταγράφηκε μία τάση αύξησης του μήκους ρίζας έπειτα από εφαρμογή 50 mM γιββεριλλικού οξέος και ακολούθως, εφαρμογή 50 mg/L ασκορβικού οξέος. Αντίθετα, το μικρότερο μήκος ρίζας εμφάνισαν οι μεταχειρίσεις 100 mM NaCl και 100 mM γιββεριλλικού οξέος (Διάγραμμα 3.6).



Διάγραμμα 3.6 Μήκος ρίζας των σποροφύτων καλέντουλας ανά μεταχείριση την 20^η ημέρα από την έναρξη της βλάστησης.

3.4 Νωπό βάρος - Ξηρό βάρος - Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC) (%)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, διαπιστώθηκε απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων ως προς το νωπό και ξηρό βάρος και, κατ' επέκταση, και ως προς το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων.

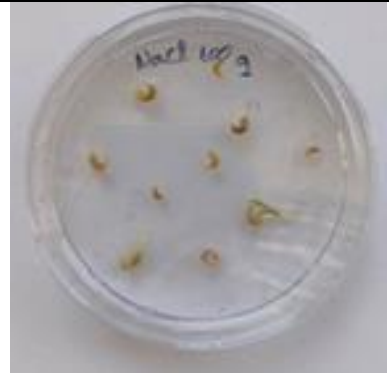
Σχετικά με το νωπό βάρος των σποροφύτων, παρά την απουσία σημαντικών διαφορών, παρατηρήθηκε μία αυξητική τάση στις μεταχειρίσεις 100 mg/L ασκορβικού οξέος (0,46 g) και 100 mM NaCl (0,46 g). Αντίθετα, το μικρότερο νωπό βάρος εμφάνισαν οι μάρτυρες (0,27 g) και, ακολούθως τα σπορόφυτα που προέκυψαν έπειτα από εμβάπτιση των σπόρων σε νερό (0,29 g). Ως προς το ξηρό βάρος, παρατηρήθηκε αυξητική τάση στα σπορόφυτα που προήλθαν έπειτα από εμβάπτιση των σπόρων σε νερό (0,024 g), ενώ υπήρξε μία τάση μείωσής του στους μάρτυρες (0,007 g).

Τέλος, αναφορικά με το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων καλέντουλας, τη μεγαλύτερη τιμή εμφάνισαν οι μάρτυρες (97,47%), ενώ η μικρότερη τιμή καταγράφηκε στα σπορόφυτα που προήλθαν έπειτα από εμβάπτιση των σπόρων σε νερό (91,95%) (Πίνακας 3.2).

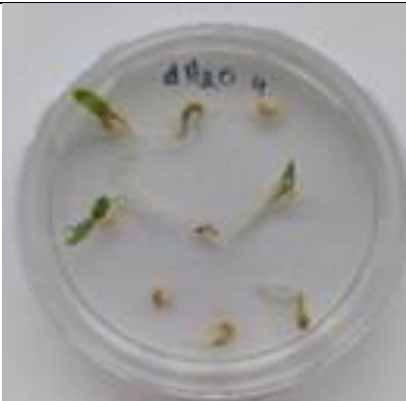
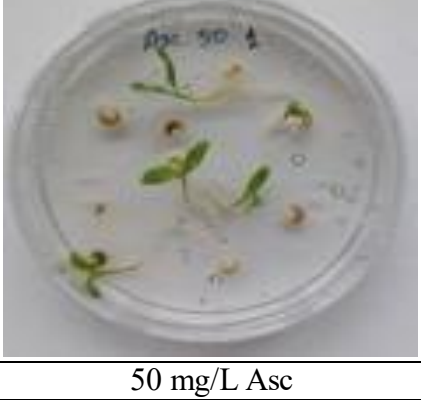
Πίνακας 3.2 Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας (WC %) (g) των σπόρων καλέντουλας ανά μεταχείριση, την 22^η ημέρα.

Μεταχειρίσεις διεγερτών βλάστησης	Μέτρηση		
	Νωπό βάρος	Ξηρό βάρος	WC
Control	0,275750000000000a	0,006875000000000a	97,472289572146600a
dH ₂ O	0,295500000000000a	0,024425000000000a	91,957167402720700a
NaCl 50 mM	0,409500000000000a	0,019250000000000a	95,304118197276600a
NaCl 100 mM	0,461750000000000a	0,019250000000000a	93,605987174601900a
GA3 50 μM	0,379250000000000a	0,013250000000000a	95,989550136098900a
GA3 100 μM	0,353500000000000a	0,023250000000000a	93,887213582425900a
Asc 50 mg* L ⁻¹	0,396750000000000a	0,018000000000000a	95,463683197930300a
Asc 100 mg* L ⁻¹	0,461750000000000a	0,022250000000000a	94,485855445667600a

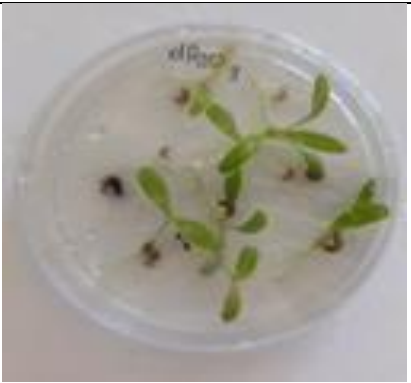
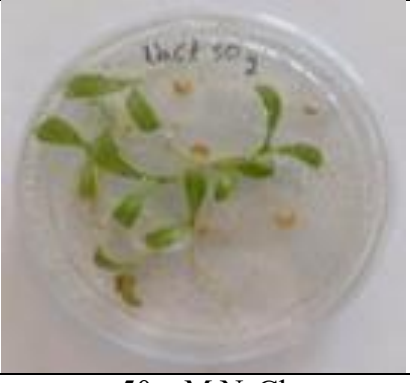
Στις Εικόνες 3.1 – 3.3 απεικονίζεται συγκριτικά η ανάπτυξη των σποροφύτων στις διαφορετικές μεταχειρίσεις την 4^η, 7^η και 22^η ημέρα.

4 ^η ημέρα	
	
Μάρτυρας	dH ₂ O
	
50 mM NaCl	100 mM NaCl
	
50 μM GA ₃	100 μM GA ₃
	
50 mg/L Asc	100 mg/L Asc

Εικόνα 3.1 Συγκριτική απεικόνιση των σποροφύτων ανά μεταχείριση την 4^η ημέρα.

7 ^η ημέρα	
	
Μάρτυρας	dH ₂ O
	
50 mM NaCl	100 mM NaCl
	
50 μM GA ₃	100 μM GA ₃
	
50 mg/L Asc	100 mg/L Asc

Εικόνα 3.2 Συγκριτική απεικόνιση των σποροφύτων ανά μεταχείριση την 7^η ημέρα.

22 ^η ημέρα	
	
Μάρτυρας	dH ₂ O
	
50 mM NaCl	100 mM NaCl
	
50 μM GA ₃	100 μM GA ₃
	
50 mg/L Asc	100 mg/L Asc

Εικόνα 3.3 Συγκριτική απεικόνιση των σποροφύτων ανά μεταχείριση την 22^η ημέρα.

4. Συζήτηση

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει μία εμφανής τάση προς την αξιοποίηση των φαρμακευτικών ειδών, κυρίως λόγω της στροφής των ανθρώπων προς την υιοθέτηση ενός περισσότερου υγιεινού μοντέλου ζωής που περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, την κατανάλωση ποιοτικών και ασφαλών προϊόντων. Η καλλιέργεια των φαρμακευτικών ειδών, παρόλο που είναι πολλά υποσχόμενη λόγω των σημαντικών βιοδραστικών συστατικών που περιέχουν, συναντά σημαντικά εμπόδια. Οι κύριες προκλήσεις περιλαμβάνουν την έλλειψη βελτιστοποιημένων καλλιεργητικών πρακτικών αλλά και βελτιωμένου γενετικού υλικού. Ένα από τα βασικά προβλήματα που χαρακτηρίζουν τα είδη αυτά είναι τα προβλήματα που συνοδεύουν τη βλάστηση, η οποία συνήθως είναι μη συγχρονισμένη αλλά και μειωμένου δυναμικού, οδηγώντας συχνά σε ανομοιόμορφο φύτρωμα και αναποτελεσματική εγκατάσταση της καλλιέργειας. Προκειμένου να βελτιωθεί η αποδοτικότητα της καλλιέργειας των φαρμακευτικών φυτών, απαιτούνται ειδικές αγρονομικές πρακτικές και πιθανές γενετικές παρεμβάσεις, καθώς και η ανάπτυξη νέων τεχνολογιών που θα βοηθήσουν στην καλύτερη κατανόηση των οικολογικών αναγκών των εν λόγω ειδών.

Μεταξύ άλλων, η έρευνα εστιάζει στη βελτίωση των καλλιεργητικών πρακτικών, δίνοντας ιδιαίτερη έμφαση στη φάση της βλάστησης, η οποία αποτελεί μία κρίσιμο φάση στο βιολογικό κύκλο των φυτών και επηρεάζεται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Ενόψει της ανάγκης για εντατικοποίηση της καλλιέργειας των φαρμακευτικών ειδών δίνεται έμφαση στην ανάπτυξη πρωτοκόλλων που συμβάλλουν στην ενίσχυση των διεργασιών της βλάστησης, εξασφαλίζοντας ομοιόμορφο φύτρωμα και ομαλή ανάπτυξη των φυτών. Στο πλαίσιο αυτό, η έρευνα επικεντρώνεται στη μελέτη της επίδρασης διάφορων μεθόδων και ουσιών που μπορούν να λειτουργήσουν ως διεγέρτες της βλάστησης. Οι μέθοδοι τεχνητής διέγερσης της βλάστησης, με φυσικά ή χημικά μέσα, αποδίδονται με τη γενικευμένη ορολογία «seed priming».

Η παρούσα έρευνα επικεντρώθηκε στη μελέτη της επίδρασης διάφορων διεγερτών βλάστησης σε σπόρους του φαρμακευτικού είδους *Calendula officinalis*. Ως πιθανοί διεγέρτες της βλάστησης χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες μεταχειρίσεις: i) εμβάπτιση των σπόρων σε νερό (hydropriming), ii) ωσμωτική επαγωγή με εφαρμογή 50 και 100 mM NaCl, iii) ορμονική επαγωγή με εφαρμογή 50 και 100 μ M γιβεργιλικού οξέος και

iv) θρεπτική επαγωγή με εφαρμογή 50 και 100 mg/L ασκορβικού οξέος. Οι επιδράσεις των ανωτέρω μεθόδων τεχνητής διέγερσης αξιολογήθηκαν συγκριτικά με μάρτυρες, όπου δεν πραγματοποιήθηκε προεπεξεργασία των σπόρων, ενώ ως παράμετροι αξιολόγησης χρησιμοποιήθηκαν το ποσοστό βλάστησης, το μήκος ρίζας και βλαστού, το νωπό και ξηρό βάρος καθώς και το ποσοστό υγρασίας των σποροφύτων.

Σχετικά με την ικανότητα βλάστησης των σπόρων, η ανάλυση κατέδειξε ότι το σύνολο των διεγερτών δεν άσκησε θετική επίδραση στο ποσοστό βλάστησης καθόλο το διάστημα λήψης παρατηρήσεων. Είναι χαρακτηριστικό ότι ο μάρτυρας εμφάνισε σταθερά το υψηλότερο ποσοστό βλάστησης, παρέχοντας ενδείξεις σχετικά με την αναποτελεσματικότητα των συγκεκριμένων μεταχειρίσεων να διεγείρουν τη βλάστηση στους σπόρους καλέντουλας. Αξίζει δε να σημειωθεί ότι το χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης εμφάνισαν οι σπόροι που έγινε εφαρμογή ασκορβικού οξέος, και στις δύο υπό μελέτη συγκεντρώσεις αυτού (50 και 100 mg/L), υποδεικνύοντας την αρνητική επίδρασή του στην βλάστηση των σπόρων καλέντουλας.

Περαιτέρω, η ανάλυση σχετικά με το μήκος βλαστού των σποροφύτων κατέδειξε την υπεροχή του μάρτυρα, συνηγορώντας υπέρ της αναποτελεσματικότητας των υπό μελέτη μεταχειρίσεων να δράσουν ως επαγωγείς της πρώιμης ανάπτυξης των σποροφύτων. Σε συνάρτηση με τα δεδομένα σχετικά με την ικανότητα βλάστησης, οι σπόροι που δέχθηκαν εφαρμογή 50 mg/L ασκορβικού οξέος ανέπτυξαν το μικρότερο μήκος βλαστού. Αναφορικά με το μήκος της ρίζας, είναι ενδιαφέρον ότι η ανάλυση κατέδειξε τη σημαντική υπεροχή της μεταχείρισης 50 mM γιββεριλλικού οξέος. Αντίθετα, τα μικρότερα μήκη ρίζας καταγράφηκαν στις μεταχειρίσεις 50 mg/L ασκορβικού οξέος και 100 mM NaCl.

Στο σύνολό τους, τα αποτελέσματα της μελέτης υπογραμμίζουν την υπεροχή του μάρτυρα στην πλειοψηφία των γνωρισμάτων που μελετήθηκαν, ενώ οι μεταχειρίσεις τεχνητής διέγερσης είχαν ουδέτερη ή ακόμη και αρνητική επίδραση στη βλάστηση των σπόρων καλέντουλας. Ωστόσο, παρά την υπεροχή των μαρτύρων στην παρούσα μελέτη, η χρήση διεγερτών είναι ιδιαίτερα σημαντική, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις όπου υπάρχει έλλειψη πιστοποιημένου σπόρου με υψηλή βλαστική ικανότητα. Επίσης, οι τεχνικές seed priming βρίσκουν εφαρμογή σε περιπτώσεις όπου είναι αναγκαία η ενίσχυση της βλάστησης, λόγω μειωμένης ζωτικότητας ή γήρανσης των σπόρων ή/και λόγω αποθήκευσής τους σε ακατάλληλες συνθήκες κλπ. Σε κάθε περίπτωση, η

αποτελεσματικότητα των μεθόδων διέγερσης θα πρέπει να βελτιστοποιείται, ως προς τη φύση του διεγέρτη και τη συγκέντρωση αυτού, στη βάση του είδους ή ακόμη και του γονοτύπου στο ίδιο είδος.

5. Βιβλιογραφία

Ξένη βιβλιογραφία:

Acquaah, G. (2012). Principles of Plant Genetics and Breeding. Wiley-Blackwell.201-210.

Ahmad Rajabi Dehnavi, Morteza Zahedi, Agnieszka Ludwiczak, Stefany Cardenas, Perez and Agnieszka Piernik (2020). Effect of Salinity on Seed Germination and Seedling Development of Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) (Moench) Genotypes.

Allendorf, F. W. (1983). Isolation, gene flow, and genetic differentiation among populations. In C.M. Schonewald-Cox, S.M. Chambers, B. MacBryde, & L. Thomas (Eds.), Genetics and Conservation: A Reference for Managing Wild Animal and Plant Populations (pp. 51-65). Benjamin-Cummings Publishing Company.

Allendorf F.W., Luikart G., (2007). Conservation and the Genetics of Populations. Blackwell, Oxford UK.

Allendorf F.W., Luikart G. (2013). Genetics and the Conservation of Populations 2nd edition. Wiley-Blackwell, Oxford UK.

Ashwlayan, V. D., Kumar, A., Verma, M., Garg, V. K., & Gupta, S. K. Therapeutic potential of *Calendula officinalis*. Pharm Pharmacol Int J. 2018; 6 (2): 149–55.

Ballou, J. D., & Lacy, R. C. (1995). Identifying Genetically Important Individuals for Management of Genetic Variation in Pedigreed Populations. In Population Management for Survival and Recovery.

Baskaran, (2017). Kavierna Pharmacological Activities of *Calendula officinalis*. Int. J. Sci. Res., 6, 43–47.

Bertoia M L, Rimm E B, Mukamal K J, et al. (2016) Dietary flavonoid intake and weight maintenance: three prospective cohorts of 124 086 US men and women followed for up to 24 years, British Medical Journal.

Biermann, U., Butte, W., Holtgreffe, R., Feder, W., Metzger, J.O., 2010. Esters of calendula oil and tung oil as reactive diluents for alkyd resins. Eur. J. Lipid. Sci.Tech. 112, 103–109.

Breemhaar, H.G., Bouman, A., 1995. Harvesting and cleaning *Calendula officinalis*, anew arable oilseed crop for industrial application. Ind. Crop. Prod. 4 (4),255–260.

- Butnariu, Coradini (2012). Evaluation of Biologically Active Compounds from *Calendula officinalis* Flowers using Spectrophotometry. BMC Chemistry.
- Canter, P. H., Thomas, H., & Ernst, E. (2005). Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. Trends in Biotechnology.
- CBD. (1994). Convention on Biological Diversity.
- CBD NEWS SPECIAL EDITION (1994). The Convention of biological diversity from conception to implementation.
- Chamansara, R., Rashidfarokhi, R., Sakallı, E. A., Öztinen, N., & Kosar, M. (2022). Comparison of Commercial *Calendula officinalis* L. Samples with Pharmacopeial Drug: Antiradical Activities and Chemical Profiles. J. Res. Pharm, 26, 809-819.
- Chandorkar, N., Tambe, S., Amin, P., & Madankar, C. (2021). A systematic and comprehensive review on current understanding of the pharmacological actions, molecular mechanisms, and clinical implications of the genus *Eucalyptus*. Phytomedicine Plus, 1(4), 100089.
- Crabas, N., Marongiu, B., Piras, A., Pivetta, T., & Porcedda, S. (2003). Extraction, separation and isolation of volatiles and dyes from *Calendula officinalis* L. and *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton by supercritical CO₂. Journal of Essential Oil Research, 15(4), 272-277.
- Cromack, H.T.H., Smith, J.M., 1998. *Calendula officinalis*—production potential and crop agronomy in southern England. Ind. Crop. Prod. 7, 223–229.
- De Clavijo, E.R., 2005. The reproductive strategies of the heterocarpic annual *Calendula arvensis* (Asteraceae). Acta Oecol. 28 (2), 119–126,
- Della Loggia, R., Tubaro, A., Sosa, S., Becker, H., Saar, S., & Isaac, O. (1994). The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers. Planta Medica, 60(6), 516-520.
- Di Girolamo, G., & Barbanti, L. (2012). Treatment conditions and biochemical processes influencing seed priming effectiveness. Italian Journal of Agronomy, 7(2), e25-e25.

- Dulf, F.V., Pamfil, D., Baci, A.D., Pintea, A., 2013. Fatty acid composition of lipids in pot marigold (*Calendula officinalis* L.) seed genotypes. *Chem. Cent. J.* 7 (1), 8, <http://dx.doi.org/10.1186/1752-153X-7-8>.
- Dutton, C. J., & Allchurch, A. F. (1998). Reproduction in captivity: the influence of environmental and social factors. *Applied Animal Behaviour Science*.
- Eberle, C.A., Forcella, F., Gesch, R., Peterson, D., Eklund, J., 2014. Seed germination of calendula in response to temperature. *Ind. Crop. Prod.* 52, 199–204.
- European Medicines Agency. Call for scientific data for the periodic review of the monograph on *Calendulae flos*. (2024).
- Farnsworth, N. R., & Soejarto, D. D. (1991). Global Importance of Medicinal Plants. *The Conservation of Medicinal Plants*.
- Fallahi, M., Mohammadi, A., & Miri, S. M. (2020). The natural variation in six populations of *Calendula officinalis* L.: A karyotype study. *Journal of Genetic Resources*, 6(1), 34-40.
- FAO (2005). Trade in Medicinal Plants. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>.
- Farooq, M., Basra, S. M. A., & Wahid, A. (2019). Seed Priming to Improve Crop Establishment and Yield in Dryland Crops. *Advances in Agronomy*.
- Frankham, R. (2008). Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology*.
- Froment, M., Mastebroek, D., van Gorp, K., 2003. A Growers Manual for *Calendula officinalis* L. Plant Research International, Wageningen, The Netherlands, pp.11.
- Gesch, R.W., 2013. Growth and yield response of calendula (*Calendula officinalis*) to sowing date in the northern US. *Ind. Crop. Prod.* 45, 248–252.
- Hajaji HE, Lachkar N, Alaoui K, Cherrah Y, Farah A, Ennabili A, El Bali B, Lachkar M. (2011). Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. *Arab J Chem*.
- Heywood, V. H. (2015). In Situ Conservation of Plant Species - A Global Overview of Progress. *Environmental Conservation*.

Hostmettmam, Marston (2005). Saponins, Chemistry and Pharmacology of natural products. Université de Lausanne, Switzerland.

Houmani, H., Ben Slimene Debez, I., Turkan, I., Mahmoudi, H., Abdelly, C., Koyro, H. W., & Debez, A. (2024). Revisiting the Potential of Seed Nutri-Priming to Improve Stress Resilience and Nutritive Value of Cereals in the Context of Current Global Challenges. *Agronomy*, 14(7), 1415.

International Trade Centre (2016). Sustainable Sourcing: Markets for Certified Chinese Medicinal and Aromatic Plants.

Jisha KC, Vijayakumari K, Puthur JT (2013) Seed priming for abiotic stress tolerance: An overview. *Acta Physiol. Plant* 35, 1381-1396.

Johnston, L. A., & Lacy, R. C. (1995). Genome resource banking for species conservation: selection of sperm donors. *CryoLetters*.

Khalid A., Jaime A. Teixeira da Silva (2012). Biology of *Calendula officinalis* L.: Focus on Pharmacology, Biological Activities and Agronomic Practices.

Khan, H. A., Pervez, M. A., Ayub, C. M., Ziaf, K., Balal, R. M., Shahid, M. A., & Akhtar, N. (2009). Hormonal priming alleviates salt stress in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Soil Environ*, 28(2), 130-135.

Kibebew Wakjira and Legesse Negash (2013). Germination responses of *Croton macrostachyus* (Euphorbiaceae) to various physico-chemical pretreatment conditions. *South African Journal of Botany* 87:76-83.

Kimura, M., & Crow, J. F. (1963). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*.

Kirkwood Betty R. and Jonathan A. (2003). Essential medical statistics second edition. Wiley.

Kirkwood, J. K., & Sainsbury, A. W. (2003). Captive breeding and the conservation of endangered species. Cambridge University Press.

Lange, D. (1998). Europe's medicinal and aromatic plants: Their use, trade, and conservation. TRAFFIC Europe.

Lange, D. (2001). The role of Europe's herb and spice industry in the conservation of plant biodiversity. *Medicinal Plant Conservation*.

Lange, D. (2002). The role of Europe's herb and spice industry in the conservation of plant biodiversity: A second review. Medicinal Plant Conservation.

Lei C, Bagavathiannan M, Wang H, Sharpe SM, Meng W, Yu J (2021) Osmopriming with Polyethylene Glycol (PEG) for Abiotic Stress Tolerance in Germinating Crop Seeds: A Review. Agronomy 11, 2194.

Mahmood, I., Imadi, S. R., Shazadi, K., Gul, A., & Hakeem, K. R. (2016). Effects of Pesticides on Environment. Plant, Soil and Microbes.

Mahnaz Karimi and Masomeh Varyani (2016). Role of priming technique in germination parameters of Calendula (*Calendula officinalis* L.) seeds.

McPhee, M. E. (2003). Generations in captivity increases behavioral variance: considerations for captive breeding and reintroduction programs. Biological Conservation.

McPhee, M.G., T. Kikuchi, J.H. Morison, and T.P. Stanton (2003). Ocean-to-ice heat flux at the North Pole environmental observatory, Geophys. Res. Lett.

Majid Amini Dehaghi, A. R Jabbari (2011). Effects of priming on seed germination of marigold (*Calendula officinalis*).

Maryland (2011). UMMC. Calendula. University of Maryland Medical Centre, Baltimore.

Mohammad Sedghi, Ali Nemati and Behrooz Esmaelpour (2010). Effect of seed priming on germination and seedling growth of two medicinal plants under salinity.

National Toxicology Program (NTP) (1992). Technical report on the toxicity studies of castor oil.

Nergis Kaya (2020). Effect of priming treatments and active carbon on seed germination of two Calendula species.

Paolini, J., Barboni, T., Desjobert, J. M., Djabou, N., Muselli, A., & Costa, J. (2010). Chemical composition, intraspecies variation and seasonal variation in essential oils of *Calendula arvensis* L. Biochemical Systematics and Ecology, 38(5), 865-874.

Patil, K., Sanjay, C. J., DoggALLI, N., Devi, K. R., & Harshitha, N. (2022). A Review of *Calendula Officinalis* Magic in Science. Journal of Clinical and Diagnostic Research, 16(2), ZE23-ZE27.

- Pedram Rad, Z., Mokhtari, J., & Abbasi, M. (2019). Preparation and characterization of *Calendula officinalis*-loaded PCL/gum arabic nanocomposite scaffolds for wound healing applications. *Iranian Polymer Journal*, 28, 51-63.
- Rack, A. L., Loar, R. E., Buchaman, N. P., Wood, R. W., & Moritz, J. S. (2006). The effect of grain type and choice-feeding on the performance of organically- reared broiler chickens. In *POULTRY SCIENCE* (Vol. 85, pp. 7-7). 1111 N DUNLAP AVE, SAVOY, IL 61874-9604 USA: POULTRY SCIENCE ASSOC INC.
- Reddy, P. P., & Reddy, P. P. (2013). Bio-priming of seeds. *Recent advances in crop protection*, 83-90.
- Richter, B. D. (2007). A special section on ecological flows: introducing the "Riverine Ecosystem Synthesis" concept. Part of the book *Rivers for Life: Managing Water for People and Nature*, Island Press.
- Rout, S., Tambe, S., Deshmukh, R. K., Mali, S., Cruz, J., Srivastav, P. P., ... & de Oliveira, M. S. (2022). Recent trends in the application of essential oils: The next generation of food preservation and food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 129, 421-439.
- Ryder, O. A. (1995). *Species Conservation and Systematics: The Dilemma of Subspecies*. *Trends in Ecology & Evolution*.
- Sahar Baser Kouchebagh, Parisa Rasouli, Abdullah Hossein Babaiy, Asghar Reza Khanlou (2015). Seed germination of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) as affected by physical priming techniques.
- Shalia Shermin Tania, Mokter Hossain.(2019). Effects of hydropriming on seed germination, seedling growth and yield of bitter gourd. *Journal of Bangladesh Agricultural University*.
- Seddon et al. (2007). *Conservation Biology*. The Society for Conservation Biology.
- Shahane, Kshirsagar, Tamble, Jain, Ferreira, Rout, Mali, Amin, Srivastav, Cruz, Lima. Pharmaceuticals (2023). An Updated Review on the Multifaceted Therapeutic Potential of *Calendula officinalis* L. MDPI.
- Sharma, S., & Kumari, K. (2021). An overview on *Calendula officinalis* Linn.: (pot marigold). *Journal of Advanced Scientific Research*, 12(03 Suppl 2), 13-18.

- Silva, Marta Salvador Ferreira, Sousa-Lobo, Maria Teresa Cruz, Isabel Filipa Almeida (2021). Anti-Inflammatory Activity of *Calendula officinalis* L. Flower Extract. MDPI.
- Stephen, A. M., Phillips, G. O., & Williams, P. A. (2006). Polysaccharides in Food: Structure, Function, and Applications. *Journal of Food Science*, 71(9), R56-R61).
- Taylor, L., & David, S. (2008). *Medicinal Plants of the World: Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses*. Springer.
- Thakur, M., Tiwari, S., Kataria, S., & Anand, A. (2022). Recent advances in seed priming strategies for enhancing planting value of vegetable seeds. *Scientia Horticulturae*, 305, 111355.
- Wang, X., Feng, H., Chang, Y., Ma, Y., & Liu, H. (2015). *Metabolic Adaptation of Seed Dormancy and Germination*. Oxford University Press.
- Wheatley D. (2005). Medicinal plants for insomnia: a review of their pharmacology, efficacy and tolerability. *J Psychopharmacol*.
- Williams and Hoffman (2009). Minimizing genetic adaptation in captive breeding programs: A review. *Science direct*.
- Witzenberger & Hochkirch (2011). Biodiversity a Conservation. Ex situ conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species.
- Wyse Jackson, P. S., & Kennedy, K. (2009). *The Global Strategy for Plant Conservation: a Challenge and Opportunity for the International Community*. Oryx.
- Young Yun Jung, Sun Tae Hwang , Gautam Sethi, Lu Fan, Frank Arfuso and Kwang Seok Ahn (2018). Potential Anti-Inflammatory and Anti-Cancer Properties of Farnesol. MDPI.
- Zheng, L., Lee, H., & Tsai, C. (2005). Effects of an educational intervention on knowledge, attitude, and practice about cardiovascular disease prevention among middle school students in Taiwan. *Journal of Nursing Research*, 13(1), 1-11. Lippincott Williams & Wilkins.
- Zulfiqar (2021). Creation of a new frailty scale in primary care: the Zulfiqar Frailty Scale. *Creative Commons Attribution License*. 286, 110-197.

Ελληνική Βιβλιογραφία:

- Βλαχοστέργιος Δ. (2023). Φυσιολογία και Οικολογία Σπόρων. Βλάστηση και Λήθαργος του σπόρου, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Θεσσαλίας. 2, 7, 27-29, 38-40.
- Βογιατζή- Καμβούκου Ε. (2004). Επιλογή Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών. Σύγχρονη Παιδεία.
- Γαλάτης Β. (2003). Φυσιολογία Φυτών. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Γκόλιαρης Α. (2002). Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά. ΕΘΙΑΓΕ.
- Γιαντσακής Γ. (2020). Η διαχείριση των φυσικών πόρων στην Ελλάδα: Περιβαλλοντικές πολιτικές και βιώσιμη ανάπτυξη. Εκδόσεις Παπαζήση.
- Γιαννούλης Κ. (2024). Αρωματικά-Φαρμακευτικά φυτά και Φυτά για Παραγωγή Ενέργειας. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Θεσσαλίας. 34-45.
- Δόρδας Χ. (2012). Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά. Σύγχρονη Παιδεία.
- Ζακυνθινός (2023). Φαρμακευτικά και Αρωματικά Φυτά: Η καλλιέργεια και η χρήση των γενετικών τους πόρων.
- Κατσιώτης Σ., Πασχαλίνα Σ. Χατζοπούλου (2010). Αρωματικά Φαρμακευτικά Φυτά και Αιθέρια Έλαια: Παραγωγή – Επεξεργασία –Μεταποίηση – Αξιοποίηση - Διεθνείς Αγορές – Αρωματοθεραπεία –Αρωματοποιεία. Κυριακίδη Α.Ε.
- Κέντρο Περιβαλλοντικής Ενημέρωσης Καλλονής Λέσβου- Lesvos Geopark.
- Κουτσός Θ. (2006). Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά. Εκδόσεις ΖΗΤΗ.
- Κρίγκας (2019). Οι φαρμακευτικές ιδιότητες των ελληνικών αρωματικών φυτών.
- Μαλούπα Ε., Γρηγοριάδου Κ., Λάζαρη Δ., & Κρίγκας Ν. (2013). Καλλιέργεια, μεταποίηση και διασφάλιση ποιότητας των Ελληνικών αρωματικών –φαρμακευτικών φυτών: Βασικές αρχές, καθετοποιημένης παραγωγής. Γεωτεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδας – Παράρτημα Ανατολικής Μακεδονίας.
- McVicar, Jekka (2005). Ο Κήπος με τα Βότανα. Ίριδα.
- Παπαναγιώτου Ε., Παπανικολάου Κ., & Ζαμανίδης Σ. (2001). Η καλλιέργεια των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών στην Ελλάδα.
- Σιαδάς Κ. (2007). Προοπτικές Ανάπτυξης Τομέα Αρωματικών & Φαρμακευτικών Φυτών. Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων.

Σκούλας, Καμενόπουλος (2000). Ανάπτυξη και προώθηση των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών στην Ελλάδα. Γενική Γραμματεία Υπουργείου Γεωργίας.

Χαμηλάκης Σ. (2022). Τερπένια και Τερπενοειδή. Κεφάλαιο 9, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις Κάλλιπος.

Χατζοπούλου Π., Σάρρου Ε., & Τσιβελίκα Ν. Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης και Φυτογενετικών Πόρων, Τμήμα Αρωματικών Φαρμακευτικών Φυτών. Αξιοποίηση της βιοποικιλότητας των αρωματικών φαρμακευτικών φυτών για την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας, Τεύχος 20.

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Διεύθυνση Συστημάτων Καλλιέργειας & Προϊόντων Φυτικής Παραγωγής. (2018). Καλλιέργεια Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών, Νέες Εναλλακτικές Καλλιέργειες- Εκτροφές.

Υπουργείο Οικονομίας και Οικονομικών και Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών (2002). Μελέτη για Επενδυτικές δυνατότητες στον τομέα των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών στην Ελλάδα.