



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Σχολή Γεωπονικών Επιστημών

Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

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

ΜΑΙΑΤΣΙΟΥ ΛΑΜΠΡΙΝΗ



Επιβλέπουσα: Ουρανία Παυλή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, ΠΘ.

ΒΟΛΟΣ, 2025

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

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

ΜΑΙΑΤΣΙΟΥ ΛΑΜΠΡΙΝΗ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :

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

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου διατριβής, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όσους με στήριξαν και συνέβαλαν στην υλοποίηση της.

Ξεκινώντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Ουρανία Παυλή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος και επιβλέπουσα της πτυχιακής μου διατριβής, για την ανάθεση του θέματος καθώς και την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση της καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης της.

Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Ευαγγελία Παναγιωτάκη, μέλος ΕΔΙΠ στο Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, για τη βοήθειά της στο εργαστηριακό μέρος αλλά και στην συγγραφή της παρούσας πτυχιακής, καθώς και την υποψήφια διδάκτωρ του Εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, Χριστίνα Τούμπου, για τις συμβουλές και την βοήθειά της σε κάθε δυσκολία.

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

Τέλος, δεν θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου για την ψυχολογική υποστήριξη και τις συμβουλές τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Εισαγωγή.....	1
Γενικά.....	1
1.1 ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ & ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΦΥΤΑ	2
1.1.1 Διατήρηση των φαρμακευτικών ειδών.....	2
1.1.2 Αξία των φαρμακευτικών φυτών.....	4
1.1.3 Εμπορική καλλιέργεια των αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών.....	7
1.1.4 Στόχοι βελτίωσης των αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών.....	8
1.2 ΤΟ ΕΙΔΟΣ <i>Salvia officinalis</i>	10
1.2.1 Ιστορική αναδρομή.....	10
1.2.2 Ταξινόμηση - Καταγωγή & Εξάπλωση.....	10
1.2.3 Βοτανική περιγραφή.....	11
1.2.4 Αγροκλιματικές απαιτήσεις.....	12
1.2.5 Φαρμακευτική αξία του <i>Salvia officinalis</i>	12
1.3 ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ - SEED PRIMING.....	14
1.3.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την βλάστηση.....	14
1.3.2 Μέθοδοι διέγερσης της βλάστησης - Seed priming.....	15
1.3.3 Επίδραση του seed priming στην μείωση των συνεπειών καταπόνησης από αλατότητα.....	18
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	20
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	21
2.1 Γενετικό υλικό.....	21
2.2 Παρασκευή διαλυμάτων.....	21
2.3 Απολύμανση σπόρων.....	23
2.4 Μεταχειρίσεις.....	23
2.4.1 Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης.....	24
2.4.2 Μεταχειρίσεις για διέγερση βλάστησης έναντι της καταπόνησης αλατότητας.....	25
2.5 Πειραματικό σχέδιο.....	26
2.6 Παράμετροι αξιολόγησης.....	26
2.7 Στατιστική ανάλυση.....	29
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	30
3.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΕΓΕΡΤΩΝ ΑΠΟΥΣΙΑ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ.....	30

3.1.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%).....	30
3.1.2 Μήκος βλαστού σποροφύτων.....	32
3.1.3 Μήκος ρίζας σποροφύτων.....	35
3.1.4 Ποσοστό απορρόφησης νερού των σποροφύτων (WC%).....	37
3.1.5 Δείκτης ευρωστίας σποροφύτων (SVI%).....	39
3.1.6 Περιεκτικότητα των σποροφύτων σε χλωροφύλλη.....	41
3.1.7 Λόγος χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b (Chla/ Chlb).....	43
3.1.8 Περιεκτικότητα των φύλλων σε καροτενοειδή.....	44
3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΕΓΕΡΤΩΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΤΑΠΙΟΝΗΣΗΣ ΑΛΑΤΟΤΗΤΑΣ.....	45
3.2.1 Επίδραση διεγερτών παρουσία 75 mM NaCl.....	45
3.2.1.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%).....	45
3.2.1.2 Μήκος βλαστού σποροφύτων.....	48
3.2.1.3 Μήκος ρίζας σποροφύτων.....	50
3.2.1.4 Ποσοστό απορρόφησης νερού των σποροφύτων (WC%).....	52
3.2.1.5 Δείκτης ευρωστίας σποροφύτων (SVI%).....	53
3.2.2 Επίδραση διεγερτών παρουσία 150 mM NaCl.....	56
3.2.2.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%).....	56
3.2.2.2 Μήκος βλαστού σποροφύτων.....	58
3.2.2.3 Μήκος ρίζας σποροφύτων.....	60
3.2.2.4 Ποσοστό απορρόφησης νερού των σποροφύτων (WC%).....	62
3.2.2.5 Δείκτης ευρωστίας σποροφύτων (SVI%).....	63
4. Συζήτηση.....	66
5. Βιβλιογραφία.....	69

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Γενικά

Στις μέρες μας, όλο και περισσότεροι καταναλωτές στρέφουν το ενδιαφέρον τους προς τη χρήση φυσικών προϊόντων στην καθημερινότητα τους. Από τη διατροφή έως τα φάρμακα και τα καλλυντικά, οι άνθρωποι προσπαθούν να εντάξουν σκευάσματα φυτικής προέλευσης στην καθημερινή τους ρουτίνα καθώς οι ιδιότητες συγκεκριμένων φυτικών ειδών, χάρη στο βιοδραστικό δυναμικό τους, προσφέρουν συγκρίσιμα ή ακόμη και περισσότερα οφέλη σε σχέση με τα χημικά προϊόντα.

Με δεδομένη την περιεκτικότητα των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών (ΑΦΦ) σε βιοδραστικά συστατικά με θεραπευτικές και καλλωπιστικές ιδιότητες, τα εν λόγω είδη αξιοποιούνται συστηματικά από την αρχαιότητα έως και σήμερα σε ποικίλες εφαρμογές. Συναντιούνται σε μεγάλους πληθυσμούς στη λεκάνη της Μεσογείου, η οποία λόγω των ιδανικών εδαφοκλιματικών συνθηκών που επικρατούν, αποτελεί καταφύγιο για πάνω από 25.000 φυτικά είδη (Gonzalez-Tejero et al., 2008). Η Ελλάδα, λόγω του ιδιαίτερου ανάγλυφου της, κυρίως στα ηπειρωτικά με τις απότομες βουνοκορφές και τις πεδιάδες της, διαθέτει επίσης μια υψηλή φυτική ποικιλομορφία (Solomou et al., 2016). Στην Ελλάδα απαντάται πληθώρα πολύτιμων φυτικών ειδών, συμπεριλαμβανομένων των *Salvia sp.*, *Sideritis sp.* και *Lavandula spica*, τα οποία είτε χρησιμοποιούνται αυτούσια ή αποτελούν τη βάση για την παραγωγή προϊόντων με ευεργετικές ιδιότητες. Οι φαρμακευτικές ιδιότητες των εν λόγω ειδών αποδίδονται κυρίως στη σύνθεση ποικίλων δευτερογενών μεταβολιτών και έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον της αντίστοιχης βιομηχανίας σε εθνικό και διεθνές επίπεδο για την παραγωγή σκευασμάτων που συμβάλλουν στην καταπολέμηση παθήσεων και ασθενειών. Απόρροια των ανωτέρω αποτελεί η αυξανόμενη ζήτηση σε ΑΦΦ, η οποία προς το παρόν καλύπτεται κυρίως μέσω της εκμετάλλευσης των αυτοφυών πληθυσμών τους. Τα παρατηρούμενα φαινόμενα υπερκμετάλλευσης των αυτοφυών πληθυσμών των ΑΦΦ, σε συνδυασμό με την κλιματική αλλαγή που σταδιακά οδηγεί στη διαμόρφωση ξηροθερμικών συνθηκών, αναπόφευκτα έχουν οδηγήσει σε διατάραξη των φυσικών οικοσυστημάτων.

Εναλλακτικά της άντλησης από αυτοφυείς πληθυσμούς ΑΦΦ, προσφέρονται δυνατότητες συστηματικής καλλιέργειάς τους, η οποία μάλιστα απαιτεί ελάχιστες εισροές, σε αντίθεση με τις συμβατικές καλλιέργειες, γεγονός που τα καθιστά ιδανική επιλογή για ένταξή τους σε

συστήματα παραγωγής χαμηλών εισροών. Προς την κατεύθυνση αυτή, είναι επιτακτική η εύρεση αποτελεσματικότερων μεθόδων καλλιέργειας με στόχο την αύξηση του παραγωγικού δυναμικού τους, δίνοντας έμφαση στο φυτοχημικό προφίλ της παραγόμενης βιομάζας. Στοχεύοντας στην εμπορική καλλιέργεια των ΑΦΦ, βασικό περιοριστικό παράγοντα αποτελεί συχνά το χαμηλό δυναμικό βλάστησης των σπόρων καθώς και ανάπτυξης των σποροφύτων. Επιπλέον, ως ανασταλτικοί παράγοντες δρουν η έλλειψη σχετικής γνώσης από τους παραγωγούς, η έλλειψη καλλιεργητικών πρωτοκόλλων για όλα τα στάδια της καλλιέργειας και η ανεπαρκής αντιμετώπιση προβλημάτων που προκύπτουν κατά την εγκατάσταση της καλλιέργειας, όπως το ασύγχρονο φύτευμα και ο λήθαργος των σπόρων, τα οποία μάλιστα εντείνονται κατά την επικράτηση μη ευνοϊκών συνθηκών. Για την αντιμετώπιση των εν λόγω προβλημάτων, ένας αυξανόμενος αριθμός ερευνητικών μελετών αναδεικνύει τις προοπτικές που επιφέρει η εφαρμογή μεταχειρίσεων ενίσχυσης της βλάστησης, είτε με φυσικό είτε με χημικό τρόπο, οι οποίες φαίνεται πως δρουν ευεργετικά στη βλάστηση των σπόρων και πρόωμη ανάπτυξη των σποροφύτων σε πληθώρα φυτικών ειδών.

1.1 ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ & ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΦΥΤΑ

1.1.1 Διατήρηση των φαρμακευτικών ειδών

Η ραγδαία αύξηση προϊόντων φυτικής προέλευσης με βάση αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά αδιαμφισβήτητα έχει ασκήσει σημαντική στους αυτοφυείς πληθυσμούς, οι οποίοι υπόκεινται σε υπερεκμετάλλευση ή ακόμη και κίνδυνο εξαφάνισης πολύτιμων ειδών. Με δεδομένη την αύξηση των καταναλωτικών αναγκών, καθίσταται αναγκαία η εύρεση βέλτιστων στρατηγικών διατήρησης των φυτικών ειδών για μια πιο βιώσιμη μελλοντική χρήση. Οι στρατηγικές που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διατήρηση των φυτογενετικών πόρων ανήκουν σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη αφορά στην *in situ* στρατηγική, η οποία συνεπάγεται διατήρηση του αυτοφυούς πληθυσμού χωρίς καμία παρέμβαση από τον άνθρωπο. Στη δεύτερη κατηγορία της *ex situ* στρατηγικής, υπάρχει ανθρωπογενής παρέμβαση κατά την οποία τα φυτικά είδη μεταφέρονται σε προστατευόμενους χώρους ή περιοχές.

Στο πλαίσιο της *in situ* διατήρησης, στόχο αποτελεί η διατήρηση των φυσικών κοινοτήτων στην πλήρη κατάστασή τους, μαζί με το σύμπλεγμα των σχέσεων τους, αλλά και η αύξηση της

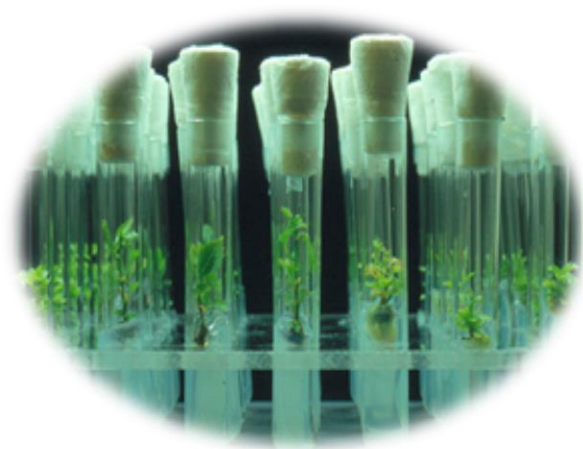
ποικιλομορφίας μέσα σε αυτές. Η επίτευξή της εστιάζει στη δημιουργία προστατευόμενων περιοχών που θα επικεντρώνεται στο ρόλο του οικοσυστήματος και όχι μεμονωμένα των ειδών. Ως προστατευόμενες περιοχές μπορούν να θεωρηθούν τα φυσικά καταφύγια στα οποία υπάρχουν άγριοι πληθυσμοί που δημιουργήθηκαν ή προϋπήρχαν με σκοπό τη διατήρηση των τοπικών πληθυσμών και την υποστήριξη της βιοποικιλότητας. Επίσης, ως προστατευόμενες περιοχές θεωρούνται και τα ενδιαιτήματα άγριας φύσης, τα οποία έχουν ως στόχο τη διατήρηση των φυτικών πληθυσμών, την αποκατάσταση υποβαθμισμένων οικοσυστημάτων από φυσικές καταστροφές ή από ανθρώπινη παρέμβαση και τη διατήρηση της βιοποικιλότητας με την καλλιέργεια αυτόχθονων φυτών στα οποία στηρίζεται και η πανίδα της περιοχής (Heywood and Dulloo, 2005).

Όσον αφορά την *ex situ* διατήρηση, σε συγκεκριμένες περιπτώσεις χρησιμοποιείται ως συμπληρωματική της *in situ*. Χρησιμοποιείται με στόχο τη διατήρηση του γενετικού αποθέματος για είδη που προορίζονται για εντατική καλλιέργεια, καθώς η χρήση τους για παραγωγή φαρμακευτικών σκευασμάτων απαιτεί μεγάλες ποσότητες, αλλά και για φυτά που είτε είναι ευπαθή/ευαίσθητα είτε εμφανίζουν αργό ρυθμό ανάπτυξης. Ακόμα προστατεύονται και φυτά προς εξαφάνιση σε μικρό πληθυσμό (Pulliam, 2000).

Η *ex situ* στρατηγική χωρίζεται σε δύο περαιτέρω υποκατηγορίες: i) την *in vivo* και ii) την *in vitro* διατήρηση. Η *in vivo* στρατηγική εστιάζει περισσότερο στη διατήρηση στο εξωτερικό περιβάλλον. Οι βοτανικοί κήποι θεωρούνται μια σημαντική στρατηγική που εντάσσεται στην *in vivo* διατήρηση. Κύριος ρόλος τους είναι η διαφύλαξη των φυτογενετικών πόρων, οπότε σε αυτούς φιλοξενούνται τα πλέον σπάνια φυτικά είδη σε πολύ μικρές ποσότητες (Haung et al., 2002). Επίσης, εντός των βοτανικών κήπων διεξάγονται μελέτες που συμβάλλουν στη συλλογή πληροφοριών για τα φιλοξενούμενα είδη, ενώ παράλληλα δημιουργούνται πρωτόκολλα για τη διατήρηση και αναπαραγωγή πολλών ειδών αλλά και την εξημέρωση πολλών άγριων ειδών (Maunder et al., 2001). Στην ίδια κατηγορία της *ex situ* διατήρησης εντάσσονται και οι τράπεζες γενετικού υλικού ή τράπεζες σπόρων. Σε αυτές, υπάρχει σαφώς καλύτερη οργάνωση και τεκμηρίωση του φυλασσόμενου υλικού, ενώ παράλληλα προβλέπονται και διαδικασίες αξιολόγησής του.

Σχετικά με την *in vitro* στρατηγική, αυτή στηρίζεται κυρίως στην αποθήκευση είτε σπόρων, είτε φυτικών ιστών είτε ακόμα και της γύρης. Για τη διατήρηση του γενετικού αποθέματος χρησιμοποιούνται τεχνικές όπως η ιστοκαλλιέργεια και η κρυοσυντήρηση. Στην πρώτη, ελέγχεται η μορφογένεση ενός κυττάρου, ιστού ή ακόμη και φυτού (Murashige and Skoog,

1962). Με την εφαρμογή των τεχνικών ιστοκαλλιέργειας, μπορούν να δημιουργηθούν ανθεκτικά, καθαρά σπορόφυτα που μετά την μεταφύτευση θα δώσουν ικανοποιητική παραγωγή και ένα μεγάλο απόθεμα σπόρων. Γενικά, με την ιστοκαλλιέργεια μειώνονται οι κίνδυνοι επιμόλυνσης από παθογόνα, καθώς τα σπορόφυτα αναπτύσσονται σε ασηπτικές και ελεγχόμενες συνθήκες. Επίσης, προσφέρονται δυνατότητες επιλογής ανθεκτικών γονοτύπων έναντι ποικίλων βιοτικών ή/και αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης. Παρά το εύρος των εφαρμογών της ιστοκαλλιέργειας, σε ορισμένες περιπτώσεις -όπως η ταχεία αλλοίωση των σπόρων πολλών ειδών, το ανεπιτυχές φύτρωμα ή η μειωμένη βιωσιμότητα των σπόρων- επιλέγεται η εφαρμογή της κρυοσυντήρησης, η οποία αφορά σε ψύξη του γενετικού υλικού αλλά σε στάδιο που είναι βιώσιμο καθώς και η περαιτέρω συντήρηση του σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες (-196 °C) με τη χρήση υγρού αζώτου (Εικόνα 1.1). Με τον τρόπο αυτό μπορούν να διατηρηθούν για μεγάλο χρονικό διάστημα ιστοί, σπέρματα, έμβρυα ακόμα και μεριστώματα σε αδρανή κατάσταση. Η κρυοσυντήρηση αποτελεί μια ιδανική επιλογή για τη διατήρηση της αυθεντικότητας των χαρακτηριστικών, ωστόσο αδύναμα σημεία της μεθόδου αποτελούν το υψηλό κόστος καθώς οι συχνά παρατηρούμενες γενετικές αλλοιώσεις, έπειτα από επανειλημμένες καλλιέργειες (Kasagana and Karumuri, 2011).



Εικόνα: 1.1: *In vitro* στρατηγική κρυοσυντήρησης.

1.1.2 Αξία των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών

Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά παίζουν καίριο ρόλο στη διατήρηση της ευεξίας και της ανθρώπινης υγείας. Οι χρήσεις τους εκτείνονται σε διάφορους τομείς, με το φυτοχημικό τους προφίλ να είναι αυτό που καθορίζει τις ευεργετικές τους ιδιότητες.

- Στον τομέα της μαγειρικής, της ζαχαροπλαστικής αλλά και της βιομηχανίας ποτών τα ΑΦΦ μπορούν να χρησιμοποιηθούν ακέραια, είτε αποξηραμένα είτε χλωρά. Χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα με στόχο τη βελτίωση ή την ενίσχυση της γεύσης και της οσμής (Πίνακας 1.1). Χαρακτηριστική είναι η περίπτωση των αφεψημάτων, όπου τα αποξηραμένα φυτά μέσω απόσταξης απελευθερώνουν μαζί με τα αιθέρια έλαια και τις ενεργητικές τους ιδιότητες.

Ακολουθούν τρία παραδείγματα ΑΦΦ που είναι ευρέως διαδεδομένα στον τομέα της γαστρονομίας και ποτοποιίας.

Πίνακας 1.1: Τρία είδη που εντάσσονται στην κατηγορία των ΑΦΦ και αξιοποιούνται στον τομέα των τροφίμων.

ΚΟΙΝΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ
Δεντρολίβανο	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Ρίγανη	<i>Origanum vulgare</i>
Φασκόμηλο	<i>Salvia officinalis</i>

- Στη βιομηχανία της κοσμετολογίας, τα ΑΦΦ χρησιμοποιούνται ευρέως για την παραγωγή σαπουνιών, αρωμάτων, κρεμών τα οποία έχουν ως βάση φυσικά υλικά και το άρωμα τους στηρίζεται στην περιεκτικότητά τους σε αιθέρια έλαια (Preedy and Watson, 2016).
- Στον τομέα της γεωργίας, πολλοί παραγωγοί στρέφονται στην καλλιέργεια αρωματικών φυτών με σκοπό τη χρήση τους ως εδάδιμα λαχανικά. Τα αρωματικά φυτά χρησιμοποιούνται κατά κόρον ως ενισχυτικά της γεύσης και της οσμής, προσφέροντας παράλληλα πολλαπλά οφέλη που αποδίδονται στο πλούσιο βιοδραστικό τους δυναμικό. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο βασιλικός (*Ocimum basilicum*), ο οποίος χρησιμοποιείται ευρέως στη μαγειρική, προσδίδοντας πλούσιο άρωμα σε ποικίλες συνταγές. Πέραν αυτού, τα φύλλα του έχουν ιδιαίτερη αξία καθώς είναι πλούσια σε βιταμίνες και λιπαρά οξέα, η κατανάλωση τους ανακουφίζει από προβλήματα του πεπτικού συστήματος, θεραπεύουν την ακμή και μετριάζουν τους πόνους από τσιμπήματα. Τέλος, τα αιθέρια του βασιλικού συμβάλλουν στην καταπολέμηση πολλών εχθρών των καλλιεργειών, γεγονός που οφείλεται στην

περιεκτικότητά του σε δραστικές ουσίες που είναι τοξικές για μικροοργανισμούς και έντομα που αποτελούν κίνδυνο για την καλλιέργειά του (Πετρόπουλος, 2016).

- Στην φαρμακοβιομηχανία, ο ρόλος των ΑΦΦ είναι σπουδαίος, καθώς χάρη στην περιεκτικότητά τους σε δευτερογενείς μεταβολίτες, προσφέρουν ένα ευρύ φάσμα χρήσεων για την αντιμετώπιση πολλών προβλημάτων. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες συνιστούν οργανικές ενώσεις που εκκρίνονται ως μέσο άμυνας των φυτών έναντι βιοτικών (παθογόνοι μικροοργανισμοί) ή/και αβιοτικών παραγόντων (περιβαλλοντικό στρες) καταπόνησης αλλά και ως μέσο αναπαραγωγής μέσω της δράσης τους για την προσέλκυση επικονιαστών (Kyung- Min et al., 2021).

Οι δευτερογενείς μεταβολίτες ανήκουν σε διαφορετικές χημικές ομάδες με διαφορετικές δομές και λειτουργίες. Μεταξύ των διακριτών κατηγοριών φυσικών χημικών ενώσεων που απαντώνται στα φυτά, τα τερπένια, οι φαινολικές ενώσεις και τα αλκαλοειδή συγκαταλέγονται στις πλέον σημαντικές.

- Τερπένια: Σε αυτή τη μεγάλη ομάδα, όπου συγκαταλέγονται υδρογονάνθρακες που αποτελούνται από ομάδες ισοπρενίου (C_5H_8), περιλαμβάνονται και τα αιθέρια έλαια, τα οποία είναι μίγματα πτητικών ενώσεων που προσδίδουν το πλούσιο άρωμα στα φυτά. Κατά τη διάρκεια του έτους, ο ρόλος τους ενισχύεται. Συγκεκριμένα, την περίοδο της άνθισης οι συγκεντρώσεις των αιθέριων ελαίων αυξάνονται για να προσελκύσουν τα ωφέλιμα έντομα (Pichersky and Gershenzon, 2002). Το ίδιο συμβαίνει και σε περιόδους καταπόνησης όπου η συσσώρευσή τους συνδέεται με προστατευτικό ρόλο έναντι του στρες.

Στην κατηγορία αυτή, ως βασικές χημικές ενώσεις θεωρούνται η κινεόλη, η λιναλοόλη, η θυγιόνη και τα καροτενοειδή, ενώσεις οι οποίες φέρουν αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις δράσεις καθώς και ηρεμιστικές ιδιότητες. Επιπλέον, στα τερπένια ανήκουν ουσίες, όπως η κροκίνη και το λιμονένιο, οι οποίες έχει αναδειχθεί ότι συμβάλλουν στην αντιμετώπιση του καρκίνου (Camara et al., 2024).

- Φαινολικές ενώσεις: Στη συγκεκριμένη χημική ομάδα εντάσσονται πολλές υποκατηγορίες, οι οποίες χαρακτηρίζονται από διαφορετική χημική δράση. Μεταξύ αυτών, ως κυριότερες θεωρούνται i) τα φαινολικά οξέα, όπως το καφεϊκό οξύ, με αντιοξειδωτική δράση και ii) τα φλαβονοειδή, τα οποία συνιστούν την πιο ευρεία

κατηγορία και έχουν σαν χαρακτηριστικό το ιδιαίτερο χρώμα που προσδίδουν. Σε αυτά ανήκουν οι φλαβονόλες, όπως η κερκετίνη, και οι φλαβόνες (Taiz and Zeiger, 2010). Το σύνολο των χημικών ενώσεων που ανήκουν στην κατηγορία των φαινολικών προσφέρουν αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές, ηρεμιστικές και αντιμικροβιακές δράσεις.

- Αλκαλοειδή: Εντάσσονται στις αζωτούχες ενώσεις με αξιόλογες φαρμακολογικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται για παρασκευή ποικίλων σκευασμάτων, όπως αναλγητικά, ναρκωτικά και ψυχοτρόπα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αλκαλοειδούς αποτελεί η μορφίνη, η οποία είναι ένα από τα ισχυρότερα αναλγητικά που προέρχεται από το όπιο (Samuelsson, 2004).

Πέραν του αμιγώς ερευνητικού ενδιαφέροντος, οι δραστικές ουσίες που απαντώνται στα φαρμακευτικά φυτά μελετώνται ολοένα και περισσότερο υπό το πρίσμα της ένταξής τους σε νέες χρήσεις, συμπεριλαμβανομένης της ανακούφισης από πεπτικά προβλήματα, όπως η ναυτία, από ηπατικά, αλλά και από νευρολογικές παθήσεις. Επιπλέον, στο νευρολογικό τομέα έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλουν στην άμβλυνση των συνεπειών ποικίλων νευροεκφυλιστικών ασθενειών, όπως το Alzheimer, βελτιώνοντας τη μνήμη, αλλά και να προσφέρουν το αίσθημα της χαλάρωσης σε άτομα που πάσχουν από αγχώδεις διαταραχές, από έλλειψη ύπνου ή από κατάθλιψη. Περαιτέρω, καταπραΰνουν τις φλεγμονές, τους μυϊκούς σπασμούς και δρουν ευεργετικά σε άτομα που πάσχουν από ρευματοειδή αρθρίτιδα. Τέλος, τα τελευταία χρόνια έχει ενταθεί αισθητά το ερευνητικό ενδιαφέρον για την αξιοποίηση των φαρμακευτικών φυτών σε σχήματα εναλλακτικών θεραπειών, όπως η χρήση της φαρμακευτικής κάνναβης για την ανακούφιση των πασχόντων από καρκίνο ή άλλες χρόνιες παθήσεις (Preedy and Watson, 2016).

1.1.3 Εμπορική καλλιέργεια των αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών

Εξαιτίας της στροφής στη βιώσιμη γεωργία και της κλιμάκωσης που παρατηρείται στην εκμετάλλευση των φαρμακευτικών φυτών, είναι αναγκαία η εύρεση καλλιεργητικών πρακτικών που συμβάλλουν αφενός μεν στη διατήρηση του γενετικού αποθέματος και αφετέρου στη σταθερότητα της παραγωγής. Είναι γεγονός ότι πολλά είδη που εντάσσονται στην κατηγορία των ΑΦΦ εμφανίζουν μειωμένο δυναμικό βλάστησης, ενώ παράλληλα οι σπόροι παραμένουν σε λήθαργο εξαιτίας εσωτερικών και εξωτερικών παραγόντων. Ως εκ

τούτου, πολλές καλλιέργειες ΑΦΦ παρουσιάζουν ανομοιόμορφο φύτρωμα και ανεπιτυχή εγκατάσταση, με αποτέλεσμα να σημειώνεται μειωμένη απόδοση. Σύμφωνα με την επιστημονική κοινότητα, πρέπει να δημιουργηθούν πρωτόκολλα ορθής γεωργικής πρακτικής που να επικεντρώνονται στα προβλήματα της καλλιέργειας ΑΦΦ, δίνοντας έμφαση στο στάδιο της βλάστησης που αποτελεί κομβικό σημείο για μια βέλτιστη παραγωγή. Η βλάστηση αδιαμφισβήτητα αποτελεί το σημαντικότερο στάδιο του βιολογικού κύκλου και ορίζεται ως η έκπτυξη του ριζιδίου από το περίβλημα του σπόρου (Kader, 2005). Ως μια εσωτερική διεργασία ενεργοποιείται από μεταβολικά μονοπάτια που μεταδίδουν σήματα για να αρχίσει η αμυλάση να διασπά το άμυλο του ενδοσπερμίου σε απλά σάκχαρα (γλυκόζη, φρουκτόζη κλπ.) ώστε να τραφεί το αναπτυσσόμενο έμβρυο (Wang et al., 2015). Στοχεύοντας στη βελτίωση των γνωρισμάτων που σχετίζονται με τη βλάστηση, μακροπρόθεσμα θα ευνοηθούν πρόσθετες παράμετροι, όπως η αύξηση και η σταθερότητα της παραγωγής αλλά και η αντοχή σε καταπονήσεις. Τα βελτιωμένα φυτά θα αναπτύσσονται πιο ομοιόμορφα, διευκολύνοντας τη συγκομιδή και συλλογή τους, θα εμφανίζουν βελτιωμένη προσαρμοστικότητα στις κλιματολογικές συνθήκες χωρίς να σημειώνεται απώλεια πολύτιμων γενετικών αποθεμάτων.

1.1.4 Στόχοι βελτίωσης των αρωματικών και φαρμακευτικών ειδών

Όπως προαναφέρθηκε, οι *ex situ* και *in situ* στρατηγικές συμβάλλουν στη διατήρηση του γενετικού αποθέματος, ωστόσο συχνά δεν αρκούν. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι πολλοί σπόροι που είναι αποθηκευμένοι σε τράπεζες χάνουν σιγά σιγά την ικανότητα βλάστησης ή αργούν να βλαστήσουν έως ότου επέλθουν οι κατάλληλες κλιματολογικές συνθήκες. Την πλέον αειφόρο και αποτελεσματική προσέγγιση για τη διατήρηση του παραγωγικού δυναμικού και την ανάπτυξη εύρωστων φυτών αποτελεί η υιοθέτηση ορθών γεωργικών πρακτικών και η βελτίωση του γενετικού υλικού ώστε να βελτιωθούν παράλληλα και άλλοι παράμετροι.

Ένα από τα πλέον καίρια ζητήματα αποτελεί η βελτίωση των γνωρισμάτων που σχετίζονται με τη βλάστηση, η οποία πέραν του το ότι αποτελεί το πλέον ευαίσθητο στάδιο του βιολογικού κύκλου, επηρεάζεται άμεσα από εξωγενείς παράγοντες, όπως η θερμοκρασία και η αλατότητα (Huang et al., 2003). Τα προβλήματα που σχετίζονται με τη βλάστηση εντείνονται περαιτέρω λόγω της κλιματικής αλλαγής, η οποία αποτελεί την αιτία για διαμόρφωση όλο και πιο ξηροθερμικών συνθηκών με μειωμένη βροχόπτωση, συνθήκες οι οποίες αντίστοιχα επιφέρουν μείωση του ωσμωτικού δυναμικού των φυτών και της απορρόφησης του νερού. Οι συνθήκες

αυτές με τη σειρά τους επιφέρουν καταπόνηση, η οποία οδηγεί σε συνεχή μείωση του δυναμικού βλάστησης των σπόρων (Carillo et al., 2011). Βάσει των ανωτέρω, η επιστημονική κοινότητα, εστιάζει στη δημιουργία βελτιωμένου γενετικού υλικού με γενετική ανθεκτικότητα και πρωιμότητα ώστε να καθίσταται εφικτή η ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου προ της επικράτησης δυσμενών συνθηκών.

Παράλληλα, βασικό στόχο βελτίωσης αποτελεί η αύξηση της απόδοσης. Προϋπόθεση για την μεγιστοποίησή της αποτελεί η αύξηση της παραγόμενης βιομάζας των φυτών, δηλαδή η ανάπτυξη περισσότερων βλαστών ανά φυτό, και κατ' επέκταση του ξηρού βάρους των φύλλων, βλαστών και ταξιανθιών. Αυτό, έχει σαν αποτέλεσμα την ταυτόχρονη αύξηση των αιθέριων ελαίων που παράγονται από τα φυτά και την αντίστοιχη αύξηση της περιεκτικότητάς τους σε δραστικές ουσίες με ευεργετικές ιδιότητες. Δίνοντας έμφαση λοιπόν στο ρόλο της βιομάζας, μακροπρόθεσμα οι εντατικές καλλιέργειες θα μειωθούν και θα αντικατασταθούν με βελτιωμένους γονοτύπους που εμφανίζουν βελτιωμένο παραγωγικό δυναμικό.

Περαιτέρω, και με δεδομένη τη συνεχώς αυξανόμενη ζήτηση για βιοδραστικά συστατικά, η έμφαση αναπόφευκτα θα πρέπει να δοθεί στο φυτοχημικό προφίλ της παραγόμενης βιομάζας, ώστε να καταστεί εφικτή η υποστήριξη του εμπορικού τομέα με σκευάσματα που χαρακτηρίζονται από λειτουργικές ιδιότητες. Στο επίπεδο αυτό, προτεραιότητα αποτελεί η ενίσχυση του βιοδραστικού προφίλ των ΑΦΦ αλλά και η τυποποίηση αυτού. Προς την κατεύθυνση αυτή, μία πρόσφορη οδό αποτελεί η ελεγχόμενη καταπόνηση των φυτών, πχ μέσω αύξησης της θερμοκρασίας ή έλλειψης νερού ή αύξησης των αλάτων στο εδαφικό διάλυμα, ως μέσου αύξησης της συγκέντρωσης δευτερογενών μεταβολιτών (Turtola et al., 2003). Η πρακτική αυτή βέβαια προϋποθέτει την ανάπτυξη βελτιστοποιημένων πρωτοκόλλων ανά είδος ή/και γονότυπο, καθώς η απόκριση του εκάστοτε είδους στην καταπόνηση είναι διαφορετική λόγω του διαφορετικού φυτοχημικού προφίλ τους.

Τέλος, στοχεύοντας στη βελτίωση των ΑΦΦ με στόχο την ευχερή αξιοποίηση του βιοδραστικού τους προφίλ, καθίσταται απαραίτητη η ενδεδειγμένη μελέτη και αποτίμηση της υπάρχουσας γενετικής παραλλακτικότητας ώστε να αξιοποιηθούν στο έπακρο οι διαθέσιμοι φυτογενετικοί πόροι. Πέρα από τις στρατηγικές *ex situ* και *in situ* που συνεισφέρουν τη διατήρηση των εν λόγω ειδών, ένα σημαντικό εργαλείο για την εκτίμηση της γενετικής παραλλακτικότητας αποτελούν οι μοριακοί δείκτες, οι οποίοι χρησιμοποιούνται ευρέως στα προγράμματα βελτίωσης των φυτικών ειδών. Στις σχετικές μελέτες, οι μοριακοί δείκτες

αξιοποιούνται για την μελέτη των διαθέσιμων γονοτύπων, την εκτίμηση του ποσοστού γενετικής καθαρότητας, αλλά και σε φυλογενετικές αναλύσεις (Tharachand et al., 2012).

1.2 Το είδος *Salvia officinalis*

1.2.1 Ιστορική αναδρομή

Το φασκόμηλο, με επιστημονική ονομασία *Salvia officinalis* L., αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα είδη που κατατάσσεται στην κατηγορία των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Η αξία του παραμένει καίρια από την αρχαιότητα ως και σήμερα. Στην αρχαία Ελλάδα, σύμφωνα με αναφορές του Θεόφραστου και του Διοσκουρίδη, το φασκόμηλο ονομαζόταν “ελελίσφακος” και χρησιμοποιούνταν ευρέως για τις θεραπευτικές του ιδιότητες που σχετίζονταν με την καταπράυνση από τσιμπήματα, πληγές και γαστρεντερικά προβλήματα. Σύμφωνα με τους Ρωμαίους, το φασκόμηλο θεωρούταν ιερό φυτό, το οποίο μπορούσε να προσφέρει μια πλήρη θεραπεία στον ασθενή. Η λατινική ονομασία του προέρχεται από την ρίζα *salvare* (σωτηρία), καθώς οι Ρωμαίοι ανέφεραν τις σωτήριες ιδιότητες του. Με την πάροδο του χρόνου, κατά την περίοδο της Αναγέννησης, ο ρόλος του ενισχύθηκε αφού χρησιμοποιούνταν για την παρασκευή σκευασμάτων και ροφημάτων που συνέβαλαν στην αντιμετώπιση νευρικών διαταραχών και πεπτικών προβλημάτων, ενώ παράλληλα αποτελούσε ενισχυτικό γεύσης πολλών τροφίμων χάρη στα έλαια του.

Στη σημερινή εποχή, το φασκόμηλο έχει ενσωματωθεί σε πολλά φάρμακα που προορίζονται για ψυχικές νόσους αλλά και για να βοηθήσουν άτομα που υποφέρουν από αγχώδεις διαταραχές (Appetiti and Touwaide, 2023).

1.2.2 Ταξινόμηση - Καταγωγή & Εξάπλωση

Οι αυτοφυείς πληθυσμοί του φασκόμηλου (*Salvia officinalis*) συναντώνται κυρίως σε άγονα ασβεστολιθικά εδάφη στην λεκάνη της Μεσογείου και ειδικότερα εντοπίζονται σε περιοχές των Απέννινων όρων, στην δυτική και νότια Βαλκανική χερσόνησο φτάνοντας ως και την Ελλάδα αλλά και σε περιοχές της Μέσης Ανατολής (Resetnik et al., 2016). Πλέον, εξαιτίας των πολλαπλών ευεργετικών δράσεων του, το φασκόμηλο καλλιεργείται σε περιοχές που έχουν παρόμοιες κλιματικές συνθήκες με αυτές της Μεσογείου.

Το γένος *Salvia* με περισσότερα από 900 είδη παγκοσμίως, αποτελεί ένα από τα κυριότερα και μεγαλύτερα γένη της οικογένειας *Lamiaceae* με πολλά είδη θάμνων, ποώδη πολυετή αλλά και μονοετή φυτά (Lopresti, 2016).

Πίνακας 1.2 : Ταξινόμηση του είδους *Salvia officinalis*

ΒΑΣΙΛΕΙΟ	<i>Plantae</i>
ΦΥΛΟ	<i>Tracheophyta</i>
ΚΛΑΣΗ	<i>Magnoliopsida</i>
ΤΑΞΗ	<i>Lamiales</i>
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	<i>Lamiaceae</i>
ΓΕΝΟΣ	<i>Salvia</i>
ΕΙΔΟΣ	<i>Salvia officinalis</i>

1.2.3 Βοτανική περιγραφή

Το γένος *Salvia* αποτελείται από δικότυλα, αγγειόσπερμα φυτά, τα οποία μπορεί να είναι πόες, θάμνοι ή και ολόκληρα δέντρα. Στους βλαστούς και τα φύλλα φέρουν αδενώδεις τρίχες από τις οποίες εκκρίνονται τα αιθέρια έλαια. Όσον αφορά τους βλαστούς, τις περισσότερες φορές είναι τετράγωνοι και φέρουν σταυρωτά αντίθετα φύλλα ή απλούς σπονδύλους χωρίς μεσόφυλλα. Τα άνθη είναι τέλεια με ακτινοειδή μορφή και εκφύονται στις μασχάλες των φυτών είτε μεμονωμένα είτε όλα μαζί με την ύπαρξη ή όχι βράκτιων φύλλων. Ειδικότερα για τα άνθη, ο κάλυκας έχει είτε σωληνοειδές σχήμα είτε εμφανίζει τη μορφή κώδωνος και αποτελείται από δύο μέρη, το τρίλοβο επάνω μέρος και το δίλοβο κάτω μέρος. Επίσης, φέρει δύο ως τέσσερις στήμονες. Όσον αφορά την στεφάνη, έχει καμπανοειδή μορφή και φέρει τέσσερις με πέντε λοβούς. Η ωοθήκη είναι επιφυής με δύο καρπόφυλλα (Skoufogianni et al., 2017).

Ειδικότερα, το είδος *Salvia officinalis* αποτελεί έναν πολυετή αειθαλή θάμνο ύψους 30– 80 cm με ξυλώδη, οδοντωτή ρίζα που φτάνει έως και τα 60 cm (Εικόνα 1.2). Ο βλαστός είναι τετράγωνος, με το κάτω μέρος να είναι ξυλώδες και γκριζό ενώ το πάνω τρυφερό, χνουδωτό και πράσινο. Τα φύλλα εκφύονται αντίθετα, έχοντας λογχοειδές σχήμα και γκριζοπράσινο χρώμα. Επίσης φέρουν και αυτά αδενώδεις τρίχες. Η ταξιανθία έχει την μορφή στάχου με τα

άνθη να κατατάσσονται κυκλικά στην κορυφή του στελέχους. Τα άνθη είναι διχειλικά με χρώμα που ποικίλλει από μπλε ως ιώδες (Mamatkulovich and Mastona, 2021).



Εικόνα 1.2: Βοτανικά μέρη του φυτού *Salvia officinalis*.

1.2.4 Αγροκλιματικές απαιτήσεις

Για την ανάπτυξη του φασκόμηλου πρέπει να προτιμώνται εδάφη μέτριας γονιμότητας, καλά στραγγιζόμενα με ελαφρώς όξινο pH, γύρω στο 6. Προτιμά εύκρατα ως και υποτροπικά κλίματα με αρκετή ηλιοφάνεια και θερμοκρασία που κυμαίνεται από 15 ως 24 °C για την απρόσκοπτη ανάπτυξή του. Γενικά, είναι ανθεκτικό στην ξηρασία και στις αντίξοες συνθήκες για αυτό και μπορεί να καλλιεργηθεί σε μεγάλα γεωγραφικά ύψη, άγονες ή ξηροθερμικές περιοχές, σε περιοχές με χαμηλές θερμοκρασίες ως και -25 °C καθώς και σε βαριά αργιλώδη εδάφη ή εδάφη με κλίση (Sharma et al., 2019).

1.2.5 Φαρμακευτική αξία του *Salvia officinalis*

Το φασκόμηλο διαθέτει σημαντικές ουσίες με ύψιστο φαρμακευτικό ρόλο. Από την χρήση των φύλλων του ως και την κατανάλωση σκευασμάτων που περιέχουν δραστικές ουσίες του αιθέριου έλαιού του μπορεί να συμβάλλει στην καταπράυνση των πόνων, να αποτρέψει την εμφάνιση καρκινικών κυττάρων και να επιδράσει θετικά στο νευρικό σύστημα, ιδίως σε

πάσχοντες από προβλήματα μνήμης. Επιπλέον, οι δραστικές ουσίες που περιέχονται στο φασκόμηλο έχουν σημαντικές αντιφλεγμονώδεις και αντισηπτικές ιδιότητες.

Παρακάτω αναλύονται οι σημαντικότερες χημικές ουσίες του αιθέριου έλαιού του και ο ρόλος αυτών, έπειτα από απομόνωση από εναέρια τμήματα του φυτού (Ghorbani and Esmailizadeh, 2017).

Στην κατηγορία των τερπενοειδών:

- Κινεόλη: Κυρίως αντιφλεγμονώδης και αντιμικροβιακός ρόλος για αντιμετώπιση άσθματος, βρογχίτιδας και πνευμονολογικών ασθενειών. Πλέον χρησιμοποιείται και για την βελτίωση της νόσου του Alzheimer (Hoch et al., 2023).
- Βορνεόλη: Αντιφλεγμονώδης δράση κυρίως ως προς την καταπολέμηση της αρθρίτιδας, αναλγητικός και αγχολυτικός ρόλος. Επίσης βοηθάει σε εγκεφαλοαγγειακές παθήσεις (Mei et al., 2023).
- Καμφορά: Καταπραΰνει από δερματικές διαταραχές (Hausner and Poppenga, 2013).

Περιέχονται και άλλες ουσίες, όπως το καρυοφυλλένιο με σημαντική αντικαρκινική δράση, το πινένιο και η θουγιόνη.

Στην κατηγορία των φλαβονοειδών:

- Ροσμαρινικό οξύ: Ο ρόλος του είναι κυρίως αντιφλεγμονώδης και αντισταμινικός (Marchev et al., 2021).
- Ελλαγικό οξύ: Αντικαρκινική και αντιφλεγμονώδης δράση.
- Ρουτίνη: Ο βασικός της ρόλος είναι αντιοξειδωτικός, ωστόσο φέρει επιπλέον αντιθρομβική, καρδιοπροστατευτική και αντικαρκινική δράση (Singh and Sashidhara, 2017).

Περαιτέρω, στο στέλεχος του φασκόμηλου απαντάται και η λιναλοόλη, η οποία έχει ισχυρή αντιμυκητιακή δράση (Pitarokili et al., 2002).

1.3 ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ - SEED PRIMING

Όπως έχει προαναφερθεί, πολλά είδη αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών έχουν διαφορετική απόκριση στη βλάστηση, η οποία εξαρτάται τόσο από το γενετικό υπόβαθρο του είδους όσο και από εξωτερικούς παράγοντες (Wakjira and Negash, 2013). Εξαιτίας των δυσκολιών που αντιμετωπίζουν από το στάδιο της σποράς έως και τη βλάστηση, είναι επιτακτική η ανάγκη ανάπτυξης στρατηγικών που να συμβάλλουν στη βελτίωση και στο συγχρονισμό της βλάστησης των σπόρων καθώς και στην μετέπειτα εγκατάσταση της καλλιέργειας (Zulfiqar, 2021). Προς την κατεύθυνση αυτή, αντικείμενο έρευνας αποτελεί η μελέτη της επίδρασης διαφόρων ουσιών αλλά και μεταχειρίσεων που δρουν ως διεγέρτες βλάστησης.

1.3.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την βλάστηση

Ο τρόπος και ο χρόνος που χρειάζεται κάθε είδος για να βλαστήσει επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Αυτοί περιλαμβάνουν τους ενδογενείς που επηρεάζονται από χαρακτηριστικά των φυτών και από εξωγενείς που σχετίζονται με χαρακτηριστικά του ενδιαιτήματος. Ακόμα, οι μέθοδοι συγκομιδής και μεταφοράς των σπόρων αλλά και οι μεταχειρίσεις για ενίσχυση της βλάστησης μπορούν να επηρεάσουν σε μεγάλο βαθμό το δυναμικό της βλάστησης.

Ένα πρόβλημα των ΑΦΦ είναι πως συχνά επιτυγχάνεται βλάστηση των σπόρων μόνο στα φυσικά τους ενδιαιτήματα, ενώ στο εργαστήριο είτε αδυνατούν να βλαστήσουν είτε εμφανίζουν ιδιαιτέρως χαμηλή βλαστική ικανότητα (Gupta, 2003). Το γεγονός αυτό αποτελεί τη βάση για τη διεξαγωγή μελετών που δυνητικά συμβάλλουν στην κατανόηση των διεργασιών της βλάστησης, των παραγόντων που την επηρεάζουν καθώς και την εύρεση στρατηγικών διατήρησής τους (Kandari et al., 2007).

Όσον αφορά τους ενδογενείς παράγοντες, τα γνωρίσματα που επηρεάζονται πρωτίστως είναι το δυναμικό της βλάστησης και ο λήθαργος των σπόρων. Μεταβλητές, όπως η θερμοκρασία και η ηλιοφάνεια, μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την βλαστικότητα των σπόρων σε βαθμό που ποικίλει ανάλογα με το είδος και τις συνθήκες αυτές καθαυτές (Liu et al., 2006). Ο λήθαργος των σπόρων αποτελεί μια φυσιολογική λειτουργία των φυτών, ο οποίος επηρεάζεται από εσωτερικά χαρακτηριστικά του σπόρου και από εξωτερικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Στα εσωτερικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνονται η ανωριμότητα των σπόρων και η μη φυσιολογική ανάπτυξη του εμβρύου, η οποία μπορεί να οφείλεται στην παρουσία

ανασταλτικών ουσιών. Σχετικά με τους εξωτερικούς παράγοντες, η θερμοκρασία και το φως παίζουν ύψιστο ρόλο αλλά και το οξυγόνο επηρεάζει την μεταβολική διεργασία.

Στους εξωγενείς παράγοντες, η αλατότητα του εδάφους έχει αρνητικό αντίκτυπο στο ρυθμό βλάστησης, στο μήκος της ρίζας καθώς και στο νωπό και ξηρό βάρος των φυτών αφού μειώνεται το ωσμωτικό δυναμικό και η ικανότητα των φυτών να απορροφούν νερό (Jamil et al., 2006). Επίσης, η ηλιοφάνεια μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τη βλάστηση και συνεπώς και την ανάπτυξη των φυτών. Το φασκόμηλο ως ηλιόφιλο φυτό βλαστάνει καλύτερα σε συνθήκες υψηλού φωτισμού δίνοντας μεγαλύτερη παραγωγή από ότι σε χαμηλό καθώς δεν ευνοείται η φωτοσύνθεση, η διαπνοή και η λειτουργία των στομάτων (Salahas et al., 2012). Παρόλα αυτά, είναι σημαντικό να αναφερθεί πως σε συνθήκες σκίασης παρατηρείται πως τα φυτά αναπτύσσονται σε μεγαλύτερο ύψος ως αντίδραση για την εύρεση περισσότερου φωτός (Takemiya et al., 2005). Όσον αφορά την υγρασία, το φασκόμηλο, λόγω της προτίμησης του σε μέτριας σύστασης στραγγιζόμενα εδάφη αλλά και αντοχής σε ξηροθερμικές συνθήκες, δεν ευνοείται σε μεγάλα ποσοστά υγρασίας. Υψηλή εδαφική υγρασία μπορεί να προκαλέσει ασφυξία στους σπόρους με αποτέλεσμα να μην μπορούν να βλαστήσουν αλλά και σήψεις με μελλοντικά προβλήματα σε τρυφερά μέρη του φυτού, όπως οι νεαροί βλαστοί.

Η θερμοκρασία από μόνη της παίζει καθοριστικό ρόλο στη μεταβολική δραστηριότητα των σπόρων και συνεπώς τόσο στο φύτευμα όσο και μετέπειτα στη βλάστηση. Δεδομένης της κλιματικής αλλαγής, που δυσχεραίνει περαιτέρω τις θερμοκρασιακές συνθήκες ως προς τη φυσιολογική λειτουργία αλλά και την διαβίωση των φυτών, κρίνεται επιτακτική η ανάγκη για καλλιέργεια ανθεκτικότερων φυτών προς την αυξανόμενη ξηρασία και τις μεγάλες διακυμάνσεις της θερμοκρασίας.

1.3.2 Μέθοδοι διέγερσης της βλάστησης - Seed priming

Η μέθοδος του seed priming περιλαμβάνει ένα σύνολο τεχνικών που συμβάλλουν θετικά στην ομοιόμορφη εγκατάσταση της καλλιέργειας, αφού ευνοείται η ενίσχυση και ο συγχρονισμός της βλάστησης των σπόρων ενός φυτικού είδους με τελικό στόχο την επίτευξη υψηλής παραγωγικότητας (Sharma, 2018). Επιπλέον, το seed priming μπορεί να επιδράσει θετικά στην ευαισθησία σε περιβαλλοντικές καταπονήσεις καθώς η συντελούμενη προεπεξεργασία των σπόρων έχει αναδειχθεί ότι οδηγεί συχνά σε προηγμένα επίπεδα ανθεκτικότητας σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες. Περαιτέρω, μέσω του seed priming, έχει αποδειχθεί ότι

βελτιώνεται η μακροβιότητα των σπόρων κατά την αποθήκευση, γεγονός που ωφελεί και την αύξηση της απόδοσης μετέπειτα.

Ενδεικτικά αναφέρεται ότι το seed priming που έχει ως βάση την προεπεξεργασία των σπόρων με νερό συμβάλλει στην ελεγχόμενη ενυδάτωση των σπόρων με σκοπό την ενεργοποίηση των φυσικοχημικών διεργασιών που σχετίζονται με τη βλάστηση. Έτσι, λειτουργεί σαν μια προετοιμασία που έχει σκοπό να εκκινήσει τις μεταβολικές διεργασίες που είναι απαραίτητες σε προβλαστικό στάδιο (Khan et al., 1992). Στο σημείο αυτό, τονίζεται πως μέσω της τεχνητής διέγερσης δεν πραγματοποιείται κανονική βλάστηση με την εμφάνιση του ριζιδίου παρά μόνο ενεργοποιούνται προφυτρωτικές διαδικασίες.

Υπάρχουν πολλές τεχνικές ενίσχυσης της βλάστησης οι οποίες επιδρούν με διαφορετικό τρόπο στους σπόρους. Το hydropriming ή εμφάπτιση των σπόρων σε νερό αποτελεί μια απλή και οικονομική λύση με θετικά αποτελέσματα. Μια άλλη σημαντική τεχνική αποτελεί το osmopriming, όπου οι σπόροι του φυτικού είδους εμφαπτίζονται σε διαλύματα πολυαιθυλενικής αλκοόλης ή αλάτων, όπως το NaCl. Σημαντικές είναι και οι τεχνικές διέγερσης με ρυθμιστές ανάπτυξης, γνωστές και ως hormonal priming, με την χορήγηση του γιββερυλικού οξέος ή τεχνικές όπως το nutri-priming, όπου η εμφάπτιση γίνεται σε διαλύματα θρεπτικών ουσιών, όπως το ασκορβικό οξύ.

Παρακάτω αναλύονται εκτενώς οι προαναφερόμενες τεχνικές διέγερσης της βλάστησης, οι οποίες κατατάσσονται σε κατηγορίες ανάλογα με τη φύση του χρησιμοποιούμενου διεγέρτη.

Ενυδάτωση των σπόρων - Hydropriming

Το hydropriming αποτελεί έναν οικονομικό και οικολογικό τρόπο διέγερσης καθώς δεν στηρίζεται στη χρήση χημικών ουσιών παρά μόνο στο νερό. Κατά την διαδικασία εφαρμογής του, οι σπόροι διαβρέχονται για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα και έπειτα γίνεται ξήρανσή τους, ώστε να επανέλθουν τα φυσιολογικά επίπεδα υγρασίας, και ακολουθεί σπορά. Πέρα από τη βελτίωση του συγχρονισμού και της ομοιομορφίας της βλάστησης, η τεχνική αυτή προσφέρει πολλά άλλα οφέλη.

Η βοήθεια του φυσικού αυτού διεγέρτη στην αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις είναι σημαντική. Οι σπόροι που έχουν υποβληθεί σε ενυδάτωση προ της σποράς, είναι καλύτερα προετοιμασμένοι να διαχειριστούν τις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας ή τις αντίξοες συνθήκες καθώς πριν την βλάστηση ακόμα έχουν ενεργοποιηθεί τα αντιοξειδωτικά ένζυμα. Επίσης, η

πρακτική αυτή οδηγεί σε αύξηση της συσσώρευσης των ωσμορυθμιστικών μορίων, διατηρώντας την ισορροπία του νερού στις μεμβράνες των κυττάρων, γεγονός το οποίο συμβάλλει θετικά στην απόκριση στο στρες από ξηρασία ή αλατότητα.

Ακόμα, οι ενυδατωμένοι σπόροι εμφανίζουν μεγαλύτερη δραστικότητα των ενζύμων που ανήκουν στην κατηγορία των αμυλασών και πρωτεασών, γεγονός που σηματοδοτεί ταχύτερο ρυθμό βλάστησης αλλά και αύξηση της βιομάζας των φυτών αφού από τα πρώτα κιόλας στάδια έχουν την δυνατότητα θρέψης (Khalid et al., 2019).

Οσμωτική διέγερση με NaCl - Osmopriming

Η χορήγηση NaCl ως διεγέρτη βλάστησης αποτελεί έναν φυσικό τρόπο μεταχείρισης, οποίος μάλιστα έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει θετικά υπό συνθήκες στρες από αλατότητα. Σε ξηρικές περιοχές με αλατούχα εδάφη, η βλάστηση των σπόρων περιορίζεται σε μεγάλο βαθμό καθώς τα αποθέματα του νερού και θρεπτικών περιορίζονται λόγω της υψηλής οσμωτικής πίεσης του εδάφους. Σύμφωνα με τους Bahkt et al. (2011), εμβαπτίζοντας τους σπόρους σε διάλυμα NaCl πριν την σπορά τους, ενεργοποιούνται κάποιες φυσικοβιοχημικές διεργασίες του σπόρου, όπως η ενίσχυση της λειτουργίας της αμυλάσης ώστε να διασπάσει αποθηκευτικές ουσίες για την θρέψη των σπόρων, οι οποίες βοηθούν στην καλύτερη προσαρμογή των φυτικών ειδών κάτω από συνθήκες αυξημένου στρες. Γενικώς, η αλατότητα επιδρά αρνητικά στην βιωσιμότητα των σπόρων και στην επακόλουθη εκβλάστηση τους, παρόλο αυτά η έκθεση τους σταδιακά σε αυτήν μπορεί να προσφέρει οφέλη στη βλάστηση καθώς ανθεκτικότητα και αυξημένες αποδόσεις.

Διέγερση με γιββερρελικό οξύ - Hormonal priming

Οι γιββερελλίνες, ανήκοντας στην κατηγορία των τερπενίων, αποτελούν σημαντικές φυτικές ορμόνες που συμβάλλουν με θετικό τρόπο στην ανάπτυξη των φυτών. Έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν πολλές αναπτυξιακές παραμέτρους των φυτών που σχετίζονται με την αύξηση της ανάπτυξης του υπέργειου και του υπόγειου τμήματος αλλά και τη βελτίωση της βλάστησης (Pawar and Laware, 2018). Σύμφωνα με τους Xia et al. (2023), η εφαρμογή γιββερελλικού οξέος ως διεγέρτη φέρει θετικά αποτελέσματα στο ρυθμό βλάστησης και στον συγχρονισμό αυτής καθώς βοηθάει τα φυτά να βλαστήσουν γρηγορότερα χάρη στην ενεργοποίηση των μεταβολικών διαδικασιών, στη διάσπαση των αποθησαυριστικών ουσιών και στην ταχύτερη

έναρξη της κυτταρικής διαίρεσης. Ακόμα, η εφαρμογή γιββερελλικού οξέος δρα προστατευτικά έναντι των καταστρεπτικών συνεπειών που επιφέρουν οι αβιοτικοί παράγοντες καταπόνησης, κυρίως λόγω της ενεργοποίησης αμυντικών μηχανισμών που συνδέονται με τη δράση αντιοξειδωτικών ενζύμων.

Επαγωγή με ασκορβικό οξύ - Nutri-priming

Το ασκορβικό οξύ ή βιταμίνη C αποτελεί ένα ζωτικής σημασίας μόριο για την βιωσιμότητα του σπόρου και μετέπειτα του φυτού. Σύμφωνα με τους Pignocchi and Foyer (2003), το ασκορβικό οξύ παραγόμενο στα μιτοχόνδρια των κυττάρων, ρυθμίζει πολλές λειτουργικές οδούς του μεταβολισμού, όπως η κυτταρική διαίρεση, και συνεπώς επιδρά στην ανάπτυξη του φυτού. Περαιτέρω, σημαντική είναι η δράση του ασκορβικού οξέος σε συνθήκες στρες, όπου λειτουργεί ως αντιοξειδωτικό μόριο καταστρέφοντας τις ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου. Η έρευνα των (Razaji et al., 2014) σε σπορόφυτα ελαιοκράμβης και ηλίανθου επιβεβαιώνει τα ανωτέρω καθώς η προεπεξεργασία των σπόρων με ασκορβικό οξύ οδήγησε σε αύξηση της βλάστησης αλλά και άλλων παραμέτρων, όπως αύξηση του μήκους του υπόγειου τμήματος των σποροφύτων καθώς και αύξηση των νωπών και ξηρών βαρών τους. Επίσης, οι επιδράσεις του στρεσογόνου παράγοντα μετριάστηκαν αφού οι σπόροι στους οποίους εφαρμόστηκε priming, εκμεταλλεύτηκαν καλύτερα το διαθέσιμο νερό και υπήρξαν περισσότερο ικανοί να προστατεύσουν τη φωτοσυνθετική τους συσκευή. Τέλος, σύμφωνα με τους (Afzal et al., 2006), αν και η αλατότητα αποτελεί έναν ανασταλτικό παράγοντα για την ανάπτυξη και επιβίωση των φυτών, η εφαρμογή ασκορβικού οξέος σε σπόρους *Triticum* sp. οδήγησε σε μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης συγκριτικά με τα αντίστοιχα ποσοστά σε σπόρους που υπόκεινται μόνο σε στρες από άλας, με τις θετικές επιδράσεις του priming να αποδίδονται στην ενεργοποίηση των αμυντικών μηχανισμών. Ακόμα, τα σπορόφυτα ανέπτυξαν μεγαλύτερες ρίζες και βλαστούς σε σχέση με τους μη επεξεργασμένους σπόρους, αφού ο διεγέρτης διατήρησε την κυτταρική διαίρεση του μεριστώματος.

1.3.3 Επίδραση του seed priming στην άμβλυνση των συνεπειών καταπόνησης από αλατότητα

Ένα από τα πιο επιβλαβή και ραγδαία αυξανόμενα προβλήματα που αντιμετωπίζουν οι σύγχρονες καλλιέργειες αποτελεί το αβιοτικό στρες από αλατότητα. Η καταπόνηση υψηλής

αλατότητας επηρεάζει σε υψηλό βαθμό την παραγωγικότητα των φυτών καθώς μειώνεται το δυναμικό βλάστησης και η φυτρωτική ικανότητα .

Οι αρνητικές συνέπειες της αλατότητας συνδέονται άμεσα με το χαμηλό ωσμωτικό δυναμικό του νερού στο έδαφος, αφού τα άλατα του εδάφους συγκρατούν ένα μεγάλο μέρος της διαθέσιμης ποσότητας νερού που προορίζεται για τα φυτά (Ashraf and Harris, 2004). Επίσης, η υψηλή συγκέντρωση των ιόντων Na^+ μειώνει την ικανότητα δέσμευσης άλλων βασικών στοιχείων, όπως K, P, Ca, δημιουργώντας ένα θρεπτικό έλλειμμα (Es-sbihi et al., 2021).

Έρευνες έχουν δείξει πως η επίδραση του seed priming μπορεί να μετριάσει τις δυσμενείς συνέπειες του στρες αλατότητας, επιδρώντας θετικά σε διάφορες παραμέτρους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η βλάστηση, όπου με την εφαρμογή διεγερτών βλάστησης μπορεί να βελτιωθεί τόσο το ποσοστό της βλαστικότητας όσο και ο ρυθμός βλάστησης σε σχέση με σπόρους που δεν έχουν δεχτεί κάποια εφαρμογή διέγερσης και βρίσκονται σε κατάσταση στρες.

Σύμφωνα με τους (Rezaie et al., 2012), η εφαρμογή διεγερτών βλάστησης συνέβαλλε θετικά στην αύξηση του ποσοστού βλάστησης και στην ανεκτικότητα έναντι της αλατότητας. Σε ένα πλήρως τυχαίο πείραμα με 4 επαναλήψεις, εφαρμόστηκε ως στρεσογόνος παράγοντας το NaCl σε συγκεντρώσεις 5, 10, 15 και 20 ds/m^{-1} . Ως διεγέρτες βλάστησης χρησιμοποιήθηκαν το ασκορβικό οξύ (40 mM) , το γιββερελικό οξύ (75 mg/L) καθώς και το σαλικυλικό οξύ (1,5 mM). Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν πως η εφαρμογή του ασκορβικού οξέος σε στρεσορισμένους σπόρους ήταν η πιο αποτελεσματική τεχνική διέγερσης καθώς αύξησε και το ποσοστό (71%) αλλά και το ρυθμό βλάστησης. Όσον αφορά το γιββερελικό οξύ, ήταν αυτό που ευνόησε τους προεπεξεργασμένους σπόρους στο να βλαστήσουν ακόμα και σε υψηλά ποσοστά καταπόνησης (20 ds/m^{-1}). Σε αντίθεση με τα δύο προηγούμενα, η εφαρμογή με σαλικυλικό οξύ σχετίστηκε με τις χαμηλότερες τιμές βλάστησης.

Ακόμα, η εφαρμογή της ενυδάτωσης των σπόρων (Hydropriming) σύμφωνα με τους (Dastanpoor et al., 2016) σε διάφορες θερμοκρασίες και έπειτα από διαφορετικές ώρες εμβάπτισης μπορούν να βελτιώσουν το ποσοστό, το ρυθμό και την ομοιομορφία της βλάστησης. Για παράδειγμα, έπειτα από ενυδάτωση των σπόρων για 12 ώρες στους 30 °C, η βλάστηση αυξήθηκε κατά 25% σε σχέση με τους μη επεξεργασμένους σπόρους.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στόχο της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτέλεσε η μελέτη της επίδρασης διάφορων μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης στο είδος *Salvia officinalis* L., με κοινή ονομασία φασκόμηλο. Το συγκεκριμένο φυτικό είδος εμφανίζει χαμηλό δυναμικό βλάστησης, το οποίο σχετίζεται άμεσα με την αδυναμία εγκατάστασης και ανάπτυξης της καλλιέργειας. Η χρήση του seed priming ως τεχνική μπορεί να συμβάλλει θετικά στην ενίσχυση της βλάστησης και στη βελτίωση της ομοιομορφίας αυτής, συνεισφέροντας θετικά και στην αύξηση της απόδοσης. Η θετική επίδραση του seed priming σχετίζεται με την επαγωγή των φυσιολογικών διεργασιών που συμβάλλουν στην απορρόφηση νερού και στην έναρξη της βλάστησης. Οι διεγέρτες και τα πρωτόκολλα των τεχνικών seed priming επιδρούν με διαφορετικό τρόπο ανάλογα με το είδος, τα χαρακτηριστικά του σπόρου αλλά και τις συνθήκες καλλιέργειας. Επιπρόσθετο στόχο της διπλωματικής εργασίας αποτελεί η μελέτη της επίδρασης της επαγωγής της βλάστησης στο ίδιο φυτικό είδος κάτω από συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας. Βάσει του πειραματικού σχεδιασμού, αρχικά θα εφαρμοστούν μεταχειρίσεις seed priming υπό κανονικές συνθήκες, απουσία καταπόνησης, και θα ακολουθήσει μελέτη της επίδρασης των ίδιων διεγερτών υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας.

Συνολικά θα εφαρμοστούν τέσσερις διαφορετικοί τύποι διέγερσης, ακολουθώντας τα ίδια πρωτόκολλα ως προς την πειραματική διαδικασία, τις συγκεντρώσεις του διεγέρτη και τις συνθήκες βλάστησης και ανάπτυξης. Συγκεκριμένα, θα εφαρμοστούν οι τεχνικές του Hydropriming, Osmopriming (50, 100 mM NaCl), Hormonal-priming (50, 100 μ M GA₃) και Nutri-priming (50, 100 mg L⁻¹ ασκορβικού οξέος) και θα μελετηθούν οι επιδράσεις αυτών υπό κανονικές και υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας. Για την επίτευξη των συνθηκών υψηλής αλατότητας θα χρησιμοποιηθεί ως μέσο το χλωριούχο νάτριο (NaCl), το οποίο θα προστεθεί στο θρεπτικό μέσο σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις (75 και 150 mM NaCl).

Για την αξιολόγηση της επίδρασης των μεταχειρίσεων διέγερσης της βλάστησης, τόσο υπό κανονικές όσο και υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας, θα μελετηθούν γνωρίσματα που σχετίζονται με τη βλάστηση των σπόρων και το δυναμικό πρώιμης ανάπτυξης των σποροφύτων. Προκειμένου να διερευνηθεί η δυνατότητα του seed priming να αμβλύνει τις δυσμενείς επιπτώσεις της καταπόνησης, στην αξιολόγηση θα συμπεριληφθούν επιπλέον βιοχημικές παράμετροι, όπως η περιεκτικότητα των ιστών σε χλωροφύλλη και καρετονοειδή, που αποτελούν κατάλληλους δείκτες για τη μελέτη της απόκρισης σε συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Γενετικό υλικό

Ως γενετικό υλικό στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν σπόροι του φυτικού είδους *Salvia officinalis* (φασκόμηλο) που προέρχονται από την Ολλανδία.

Προκειμένου να εξασφαλιστεί ομοιομορφία σχετικά με το μέγεθος και την κατάσταση των σπόρων, προς της εγκατάστασης του πειράματος, έγινε επιλογή και ακέραιων σπόρων (Εικόνα 2.1) και ακολούθησε η επιφανειακή απολύμανση τους για αποφυγή τυχών προσβολών.



Εικόνα 2.1 : Σπόροι φασκόμηλου που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη.

2.2 Παρασκευή διαλυμάτων

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων επαγωγής της βλάστησης, με την εφαρμογή φυσικών ή χημικών μέσων, σε πρώτο στάδιο παρασκευάστηκαν τα διαλύματα που επρόκειτο να χρησιμοποιηθούν ως διεγέρτες της βλάστησης. Σημειώνεται ότι τα ίδια διαλύματα αξιοποιήθηκαν για την προεπεξεργασία των σπόρων που τοποθετήθηκαν προς βλάστηση υπό κανονικές και υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας.

Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν τέσσερις διαφορετικές μεταχειρίσεις διέγερσης, οι οποίες περιλάμβαναν τις διαφορετικές συγκεντρώσεις του αντίστοιχου διεγέρτη (οχτώ μεταχειρίσεις

στο σύνολο). Αυτές αφορούν στην ενυδάτωση των σπόρων (hydropriming), στην οσμωτική διέγερση (osmopriming) (50, 100 mM NaCl), στη διέγερση με ρυθμιστές αύξησης, εν προκειμένω το γιββερρελλικό οξύ (hormonal priming) (50 μM GA₃ και 100 μM GA₃) και στην διέγερση μέσω θρεπτικών παραγόντων (nutri-priming) (50 mg L⁻¹ και 100 mg L⁻¹).

Οι σπόροι που δεν υποβλήθηκαν σε καμία μεταχείριση αποτέλεσαν τους μάρτυρες του πειράματος (Controls).

Αρχικά, παρασκευάστηκαν διαλύματα μεγάλης πυκνότητας (stock solutions), στα οποία πραγματοποιήθηκαν κατάλληλες αραιώσεις προκειμένου να δημιουργηθούν τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για την εμφάνιση των σπόρων (test solutions) (Εικόνα 2.2).

Διαδικασία σύνθεσης διαλυμάτων

➤ Μάρτυρες

- Καμία μεταχείριση

➤ Hydropriming

- Εμβάπτιση σε αποστειρωμένο dH₂O

➤ Osmopriming

- Προετοιμασία stock διαλύματος (πυκνό διάλυμα) 1 M NaCl : 0,5844 g σε τελικό όγκο 10 ml με αποστειρωμένο νερό (dH₂O)
- Test solutions: 50 mM NaCl (αραίωση 1/20), 100 mM NaCl (αραίωση 1/10)

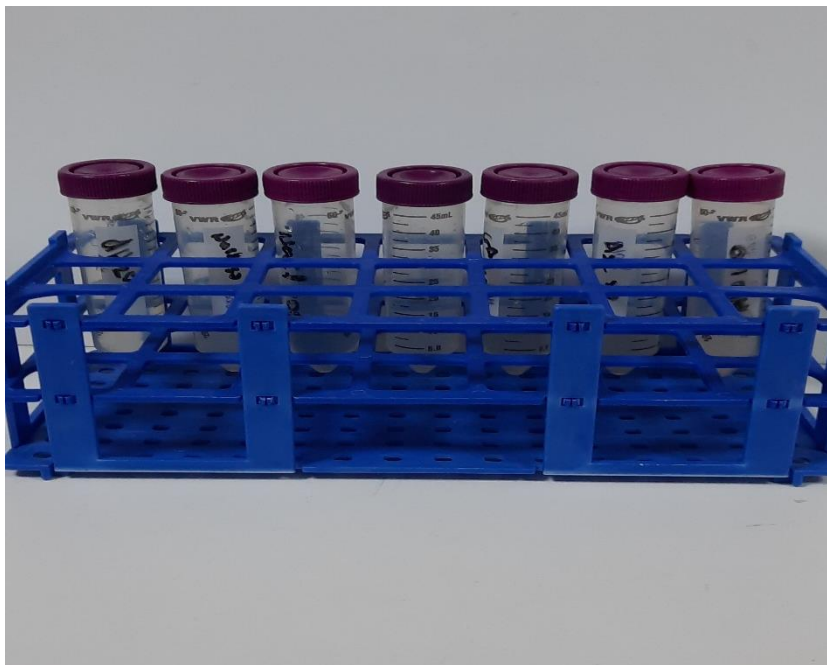
➤ Gibberellic acid - priming

- Προετοιμασία stock δ/τος GA₃ 10 mM: 0.0346 g GA₃ σε τελικό όγκο 10 ml με αποστειρωμένο dH₂O. Για τη διάλυση χρειάστηκε μια σταγόνα αιθυλικής αλκοόλης 95%
- Test solutions: 50 μM GA₃ (αραίωση 1/200), 100 μM GA₃ (αραίωση 1/100)

➤ Ascorbic acid –priming

- Προετοιμασία stock δ/τος L-ascorbic acid 10 mM: 0,17612 g L-ascorbic acid σε τελικό όγκο 100 ml dH₂O
- Test solutions: 50 mg L⁻¹ (0.284 mM), 100 mg L⁻¹ (0.568 mM)
- 50 mg L⁻¹: 2.84 ml σε τελικό όγκο 100 ml dH₂O
- 100 mg L⁻¹: 5.678 ml σε τελικό όγκο 100 ml dH₂O

Τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε Falcon, εντός των οποίων πραγματοποιήθηκε η τοποθέτηση των σπόρων που εμβαπτίστηκαν στο πλαίσιο του seed priming.



Εικόνα 2.2: Διαλύματα διεγερτών βλάστησης που χρησιμοποιήθηκαν κατά τις εφαρμογές seed priming στο φασκόμηλο.

2.3 Απολύμανση σπόρων

Για την απολύμανση, οι σπόροι εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου (NaOCl), γνωστό και ως χλωρίνη, για πέντε λεπτά, υπό ανάδευση. Ακολούθως, πραγματοποιήθηκαν τέσσερις πλύσεις με αποστειρωμένο dH_2O . Προκειμένου να εξασφαλιστούν ασηπτικές συνθήκες καθόλη τη διάρκεια της επεξεργασίας των σπόρων, η απολύμανση έγινε στην τράπεζα νηματικής ροής με τη χρήση αποστειρωμένων λαβίδων και σκευών.

2.4 Μεταχειρίσεις

Στην παρούσα πτυχιακή μελετήθηκε η επίδραση των διεγερτών βλάστησης στα γνωρίσματα που σχετίζονται με τη βλάστηση των σπόρων και την ανάπτυξη των σποροφύτων τόσο υπό κανονικές όσο και υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας. Απώτερο σκοπό αποτέλεσε αφενός μεν η διερεύνηση της πιθανούς θετικής επίδρασης του seed priming στην ενίσχυση της

βλάστησης στο φασκόμηλο και αφετέρου η δυνατότητά του να αμβλύνει τις δυσμενείς συνέπειες της καταπόνησης αλατότητας.

Οι διαδικασίες απολύμανσης και εγκατάστασης του πειράματος καθώς και οι εφαρμογές των διεγερτών υπήρξαν ίδιες και στα δυο πειράματα.

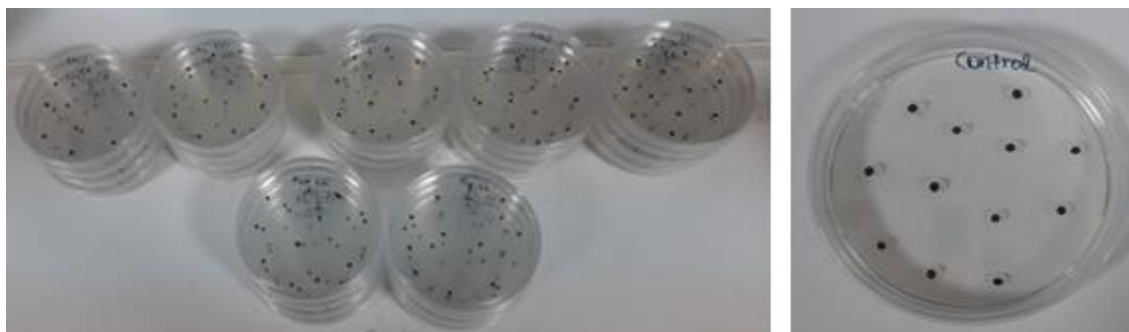
2.4.1 Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης

Μετά την απολύμανση, πραγματοποιήθηκε ξήρανση των σπόρων μέσω τοποθέτησής τους σε διηθητικό χαρτί και ολιγόλεπτης επώασης εντός της νηματικής τράπεζας σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα, οι σπόροι τοποθετήθηκαν με λαβίδα στα Falcon που περιείχαν τους διεγέρτες με αναλογία σπόρου προς διάλυμα 1:5 (w:v) και αναδευτήκαν ήπια για 24 ώρες.

Επόμενο βήμα, αποτέλεσαν οι τρεις επιφανειακές πλύσεις της κάθε μεταχείρισης με αποστειρωμένο νερό (dH_2O) και η ξήρανσή τους με τον ίδιο τρόπο που αναφέρθηκε προηγουμένως. Η ξήρανση πραγματοποιήθηκε προκειμένου να επανέλθουν οι σπόροι σε φυσιολογικά επίπεδα υγρασίας.

Στο τελικό στάδιο, πραγματοποιήθηκε τοποθέτηση των “primed” σπόρων αλλά και των μαρτύρων ομοιόμορφα σε τριβλία Petri που περιείχαν στερεό υπόστρωμα αποτελούμενο από άγαρ και νερό (Εικόνες 2.3 και 2.4). Σε κάθε τριβλίο τοποθετήθηκαν δώδεκα σπόροι και έπειτα τα τριβλία σφραγίστηκαν με parafilm ώστε να αποφευχθεί η εξάτμιση και να διατηρηθούν συνθήκες υψηλής υγρασίας. Η ανάπτυξη των φυτών έγινε σε ελεγχόμενες συνθήκες σε θερμοκρασία $18-21^{\circ}C$, με 16 ώρες φως και 8 σκοτάδι για διάστημα 21 ημερών.

Οι μάρτυρες τοποθετήθηκαν κατευθείαν σε τριβλία με στερεό υπόστρωμα.

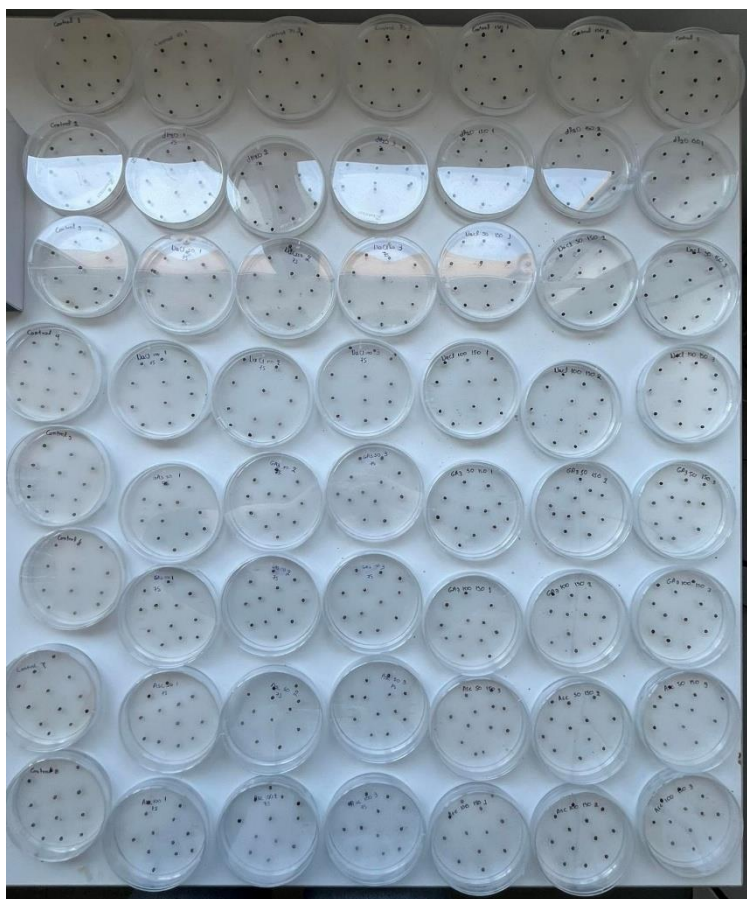


Εικόνες: 2.3, 2.4 : Τριβλία όπου τοποθετήθηκαν οι “primed” σπόροι (αριστερά) και οι μάρτυρες του πειράματος (δεξιά).

2.4.2 Μεταχειρίσεις για διέγερση βλάστησης έναντι της καταπόνησης αλατότητας

Όπως προαναφέρθηκε, πρόσθετο στόχο της παρούσας διπλωματικής εργασίας αφορούσε στη διερεύνηση της πιθανούς θετικής επίδρασης του seed priming στην άμβλυνση των επιπτώσεων της καταπόνησης αλατότητας ως προς την ικανότητα βλάστησης και την ανάπτυξη των νεαρών σποροφύτων.

Οι διαδικασίες εγκατάστασης του πειράματος καθώς και οι εφαρμογές των διεγερτών υπήρξαν ίδιες με αυτές που περιγράφηκαν στην ενότητα 2.4.1, με τη διαφορά ότι εν προκειμένω τόσο οι “primed” σπόροι όσο και η μια σειρά των μαρτύρων τοποθετήθηκαν σε τριβλία που περιείχαν θρεπτικό υπόστρωμα εμπλουτισμένο με NaCl, σε συγκέντρωση 75 mM ή 150 mM. Επιπλέον, στο πείραμα συμπεριλήφθηκε μία πρόσθετη σειρά τριβλίων με μάρτυρες, απουσία NaCl, ώστε να προκύψουν συγκριτικές παρατηρήσεις (Εικόνα 2.5). Εν συνέχεια, τα τριβλία σφραγίστηκαν ώστε να εξασφαλιστούν οι κατάλληλες συνθήκες. Τα τριβλία τοποθετήθηκαν στις ίδιες ελεγχόμενες συνθήκες, ενώ το πείραμα ολοκληρώθηκε στις 24 μέρες.



Εικόνα 2.5: Τοποθέτηση των σπόρων σε τριβλία που περιείχαν θρεπτικό υπόστρωμα εμπλουτισμένο με NaCl για την επίτευξη συνθηκών καταπόνησης αλατότητας.

2.5 Πειραματικό σχέδιο

Το πειραματικό σχέδιο που ακολουθήθηκε ήταν αυτό το πλήρως τυχαιοποιημένο (ΠΤΣ) με τέσσερις επαναλήψεις για κάθε μεταχείριση για το πείραμα της επαγωγής της βλάστησης και τρεις επαναλήψεις για κάθε μεταχείριση στο πείραμα της καταπόνησης. Ως επανάληψη χρησιμοποιήθηκαν τα τριβλία, τα οποία περιλάμβαναν 10 και 11 σπόρους φασκόμηλου για το πρώτο και δεύτερο πείραμα αντίστοιχα.

2.6 Παράμετροι αξιολόγησης

Και στα δυο πειράματα αξιολογήθηκαν οι εξής ακόλουθες παράμετροι:

- Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %)
- Μήκος βλαστού και ρίζας
- Δείκτης ευρωστίας των σποροφύτων (SVI%)
- Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC %)

Η έναρξη των μετρήσεων πραγματοποιήθηκε όταν το ελάχιστο μήκος του ριζιδίου ήταν 2 mm (Εικόνα 2.6).

Προκειμένου να αποτυπωθούν καλύτερα οι διαφορές των “primed” σπόρων σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες, πραγματοποιήθηκε εκτίμηση της εκατοστιαίας διαφοράς τους, κατά την 21η και την 24η ημέρα για το πρώτο και το δεύτερο πείραμα αντίστοιχα, για το σύνολο των υπό μελέτη παραμέτρων.

Επιπλέον, στο πλαίσιο αξιολόγησης των επιδράσεων του seed priming, αξιολογήθηκαν και βιοχημικές παράμετροι, ειδικότερα η περιεκτικότητα των ιστών σε χλωροφύλλες και καροτενοειδή (21η μέρα). Οι εν λόγω βιοχημικοί δείκτες μετρήθηκαν μόνο στο πρώτο πείραμα, καθώς στο δεύτερο δεν συλλέχθηκε επαρκής ποσότητα φυτικού ιστού για την εκτίμησή τους.

ΠΟΣΟΣΤΟ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ (GP%)

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

- Η μέτρηση έγινε τις εξής ημέρες: 5η, 6η, 7η, 10η, 11η, 14η, 17η, 19η, 21η
- Για το πείραμα που αφορούσε στις συνθήκες καταπόνησης αλατότητας η μέτρηση έγινε τις εξής ημέρες μετά την σπορά: 4η, 5η, 7η, 10η, 11η, 13η, 17η, 20η, 24η

ΜΗΚΟΣ ΒΛΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΡΙΖΑΣ

- Η μέτρηση των βλαστών και των ριζών των σποροφύτων έγινε με την χρήση χάρακα (σε cm) τις εξής μέρες: 7η, 14η, 21η
- Αντίστοιχα, για το πείραμα που αφορούσε στις συνθήκες καταπόνησης αλατότητας η μέτρηση έγινε τις εξής ημέρες: 11η, 17η, 24η

ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΥΡΩΣΤΙΑΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΟΦΥΤΩΝ (SVI%)

Τύπος : $SVI = \text{μέσο ποσοστό βλάστησης} \times \text{μέσο μήκος σποροφύτου}$

- Η εκτίμηση έγινε τις εξής ημέρες : 14η, 21η
- Αντίστοιχα, για το πείραμα που αφορούσε στις συνθήκες καταπόνησης αλατότητας η μέτρηση έγινε τις εξής ημέρες: 17η, 24η

ΠΟΣΟΣΤΟ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΝΕΡΟΥ ΤΩΝ ΣΠΟΡΟΦΥΤΩΝ (WC%)

Τύπος : $WC = [(\text{νωπό βάρος} - \text{ξηρό βάρος}) / \text{νωπό βάρος}] \times 100$

Η μέτρηση για το πρώτο πείραμα έγινε την 21η ημέρα, ενώ για το πείραμα που αφορούσε στις συνθήκες καταπόνησης αλατότητας η μέτρηση έγινε την 24η ημέρα.



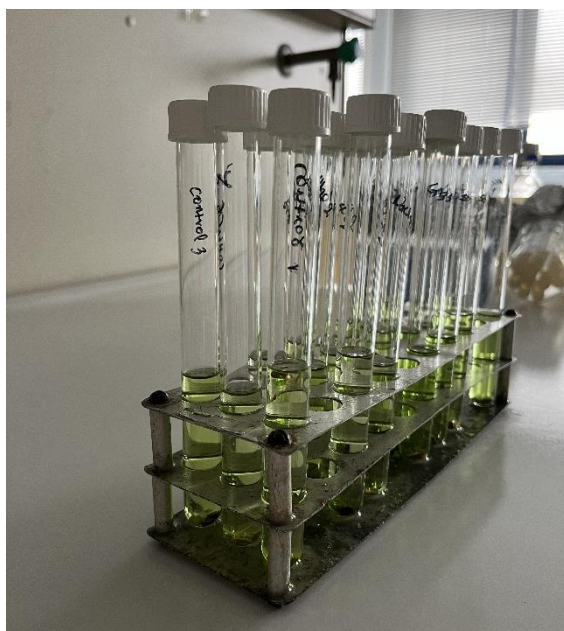
Εικόνα 2.6: Μέτρηση μήκους ρίζας και βλαστού (cm).

Για τη μέτρηση της περιεκτικότητας των ιστών σε χλωροφύλλες και καροτενοειδή ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία:

Σε δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετήθηκαν 10 mL καθαρής αλκοόλης (99%) και έπειτα έγινε η προσθήκη των μειγμάτων κλείνοντας προσεκτικά το καπάκι. Στην συνέχεια, ρυθμίστηκε το υδατόλουτρο στους 80 °C και έγινε η τοποθέτηση των δοκιμαστικών σωλήνων σε αυτό καθώς και η παραμονή τους για 30 min μέχρι να αποχρωματιστούν τα δείγματα. Σε επόμενο βήμα, οι δοκιμαστικοί σωλήνες αφέθηκαν για άλλα 30 min αυτή τη φορά στο σκοτάδι (Εικόνες 2.7).

Για την εκτίμηση των χλωροφυλλών a, b, της ολικής χλωροφύλλης, του λόγου χλωροφύλλης a/b καθώς και των καροτενοειδών τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο φασματοφωτόμετρο και μετρήθηκαν στα παρακάτω μήκη κύματος:

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



Εικόνες 2.7: Τα στάδια που ακολουθήθηκαν κατά τη διαδικασία εκτίμησης της περιεκτικότητας των ιστών σε χλωροφύλλες και καροτενοειδή.

2.7 Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν και από τα δύο πειράματα αναλύθηκαν με ANOVA σε επίπεδο σημαντικότητας ($p \leq 0.05$), βάσει του πειραματικού σχεδίου που περιλάμβανε διαφορετικές μεταχειρίσεις διέγερσης της βλάστησης. Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων που υπολογίστηκαν, συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας την μέθοδο της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς (LSD). Όλες οι στατιστικές αναλύσεις διεξήχθησαν με τη χρήση του λογισμικού SPSS.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΕΓΕΡΤΩΝ ΑΠΟΥΣΙΑ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ

3.1.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%)

Όσον αφορά το ποσοστό βλάστησης των σπόρων, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές σε όλες τις ημέρες λήψης παρατηρήσεων από την 5η έως και την 21η μέρα (Πίνακας 3.1.1).

Ξεκινώντας από την 5η κιόλας ημέρα, παρατηρήθηκαν κάποιες σημαντικές διαφορές μεταξύ των διεγερτών. Η εφαρμογή 100 mM γιββερελλικού οξέος σχετίστηκε με το υψηλότερο ποσοστό βλαστικότητας (35%), σε αντίθεση με το hydropriming και την εφαρμογή 100 mM NaCl που εμφάνισαν το χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης (12,5% και 7,5% αντίστοιχα) (Πίνακας 3.1.1, Γράφημα 3.1.1).

Συνεχίζοντας, την 6η ημέρα παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις σε σχέση με την πρώτη μέτρηση (5^η ημέρα). Παραδόξως, το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης σημειώθηκε στους μη επεξεργασμένους σπόρους του μάρτυρα (37,5%). Στο πλείστο των περιπτώσεων, οι “primed” σπόροι εμφάνισαν μια σταθερή, ήπια αύξηση του ποσοστού βλάστησης σε σχέση με την προηγούμενη μέτρηση. Στη φάση αυτή, η εφαρμογή των 100 mM NaCl σχετίστηκε επίσης με το χαμηλότερο ποσοστό βλαστικότητας (7,5%) (Πίνακας 3.1.1, Γράφημα 3.1.1).

Την 7η ημέρα, παρατηρήθηκε σχεδόν ένας διπλασιασμός του ποσοστού βλάστησης όλων των μεταχειρίσεων, συμπεριλαμβανομένου του μάρτυρα. Παρά τη γενικευμένη αύξηση, αναδείχθηκε η υπεροχή των μαρτύρων και της εφαρμογής γιββερελλινών που εμφάνισαν ποσοστό βλάστησης του 62,5 - 67,5%. Σε συμφωνία με τις προηγούμενες παρατηρήσεις, η εφαρμογή 100 mM NaCl χαρακτηρίστηκε από το χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης (15%).

Την 10η και 11η ημέρα, πέρα από την σταδιακή αύξηση του ποσοστού σε όλες τις μεταχειρίσεις, σημειώθηκε υπεροχή των μαρτύρων και της εφαρμογής γιββερελλινών καθώς και 50 mM ASC, σημειώνοντας ποσοστό βλάστησης της τάξης του 70 - 82,5% (Πίνακας 3.1.1, Γράφημα 3.1.1).

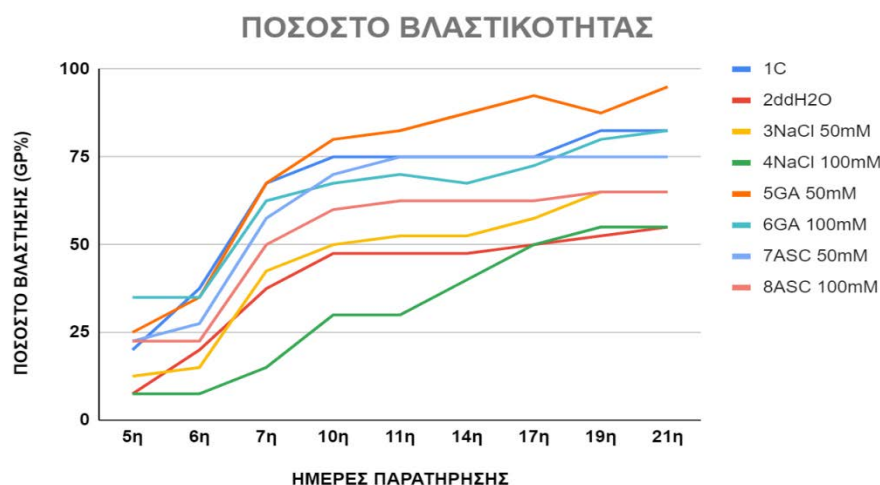
Στο διάστημα των υπόλοιπων λήψεων δεν υπήρξαν σημαντικές διαφοροποιήσεις ως προς το ποσοστό βλάστησης των σπόρων. Ο ρυθμός αύξησης παρέμεινε σταθερός μέχρι τέλους, οδηγώντας στο συμπέρασμα πως η εφαρμογή 50 mM GA₃ επιφέρει το μεγαλύτερο δυναμικό βλαστικότητας και επομένως το υψηλότερο ποσοστό βλαστικότητας (95% την 21^η ημέρα).

Αντίθετα, η εφαρμογή 100 mM NaCl και το hydropriming αποτέλεσαν τις πιο αδύναμες μεταχειρίσεις, επιφέροντας ποσοστό βλάστησης που δεν ξεπερνά το 55% (Πίνακας 3.1.1, Γράφημα 3.1.1).

Πίνακας 3.1.1: Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε 9 χρονικά διαστήματα (5η ως 21η ημέρα).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΗΜΕΡΕΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
5 ^η	20ab	7,5b	12,5b	7,5b	25ab	35a	22,5ab	22,5ab
6 ^η	37,5a	20ab	15ab	7,5b	35ab	35ab	27,5ab	22,5ab
7 ^η	67,5a	37,5ab	42,5ab	15b	67,5a	62,5a	57,5ab	50ab
10 ^η	75a	47,5ab	50ab	30b	80a	67,5a	70a	60ab
11 ^η	75a	47,5ab	52,5ab	30b	82,5a	70a	75a	62,5ab
14 ^η	75ab	47,5b	52,5ab	40b	87,5a	67,5ab	75ab	62,5ab
17 ^η	75ab	50b	57,5ab	50b	92,5a	72,5ab	75ab	62,5ab
19 ^η	82,5a	52,5a	65a	55a	87,5a	80a	75a	65a
21 ^η	82,5ab	55b	65ab	55b	95a	82,5ab	75ab	65ab

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD (p≤0.05).



Γράφημα 3.1.1: Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%) ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε 9 χρονικά διαστήματα.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Για την ποσοτική αποτίμηση της επίδρασης κάθε διεγέρτη ως προς τον μάρτυρα, υπολογίσθηκε και η ποσοστιαία απόκλιση τους από αυτόν. Η εκτίμηση αυτή πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

Τύπος: Διαφορά (%) = ((Τιμή μάρτυρα - Τιμή μεταχείρισης) / Τιμή μάρτυρα) * 100

Η ποσοστιαία διαφορά των μεταχειρίσεων διέγερσης της βλάστησης σε σχέση με το μάρτυρα ως προς το ποσοστό βλάστησης εκτιμήθηκε την 21η ημέρα (Πίνακας 3.1.2). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η εφαρμογή 50 mM GA₃ σχετίστηκε με τη μεγαλύτερη διαφορά έναντι του μάρτυρα (-15,15%), υποδηλώνοντας τη θετική επίδρασή της στη διέγερση της βλάστησης. Επίσης, βάσει της διαφοράς έναντι του μάρτυρα, προκύπτει η αρνητική επίδραση τόσο του hydropriming όσο και της εφαρμογής NaCl (50 και 100 mM) στο ποσοστό της βλαστικότητας (Πίνακας 3.1.2).

Πίνακας 3.1.2: Διαφορά έναντι του μάρτυρα ως προς το ποσοστό βλαστικότητας (21η ημέρα).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
-	33,33	21,21	33,33	-15,15	0	9,09	21,21

3.1.2 Μήκος βλαστού σποροφύτων

Αναφορικά με το μήκος βλαστού των νεαρών φυτών, η στατιστική ανάλυση υποδηλώνει την ύπαρξη σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων (Πίνακας 3.1.3).

Ξεκινώντας από την 7η μέρα όπου λήφθηκε η πρώτη παρατήρηση, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Είναι ωστόσο διακριτή, η υποβοήθηση της βλάστησης μετά την εφαρμογή 50 mM GA₃, η οποία οδήγησε σε αυξημένο μήκος βλαστού σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις (Πίνακας 3.1.3, Γράφημα 3.1.2).

Κατά τη δεύτερη λήψη παρατηρήσεων, την 14η ημέρα, σημειώθηκαν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Έτσι, οι μάρτυρες εμφάνισαν το μεγαλύτερο μήκος βλαστού (2 cm) σε σχέση με όλες τις μεταχειρίσεις διέγερσης. Αντιθέτως, η εφαρμογή 100 mM NaCl καθώς και 50 mM ασκορβικού οξέος σχετίστηκαν με τα μικρότερη μήκη βλαστού (0,6 και 0,9 cm αντίστοιχα) (Πίνακας 3.1.3, Γράφημα 3.1.2) .

Την 21η μέρα, παρατηρήθηκαν επίσης σημαντικές διαφορές, χωρίς όμως να μεταβάλλεται η σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων ως προς το μήκος βλαστού, πέρα από το hydropriming που φαίνεται στο τέλος να επιδρά θετικά στο μήκος βλαστού (2,7 cm). Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης, είναι ξεκάθαρη η αρνητική επίδραση του NaCl στην ανάπτυξη του υπέργειου μέρους των σποροφύτων, επιφέροντας τα μικρότερα μήκη βλαστού (1,7 και 1,1 cm στα 50 και 100 mM αντίστοιχα) (Πίνακας 3.1.3, Γράφημα 3.1.2) .

Συνοψίζοντας, με βάση τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, αποδεικνύεται πως οι μεταχειρίσεις που πραγματοποιήθηκαν δεν επέδρασαν θετικά στο μήκος του βλαστού.

Πίνακας 3.1.3: Μήκος βλαστού (cm) των σποροφύτων ανά μεταχείριση επαγωγής της βλάστησης σε 3 χρονικά διαστήματα (από 7η ως 21η ημέρα).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΗΜΕΡΕΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
7 ^η	0,3a	0,2a	0,3a	0,1a	0,5a	0,3a	0,3a	0,4a
14 ^η	2,0 a	1,4ab	1,2ab	0,6b	1,4ab	1,2ab	0,9b	1,3ab
21 ^η	2,9a	2,7a	1,7bc	1,1c	2,1ab	1,7bc	2,0abc	2,1abc

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD (p≤0.05).



Γράφημα 3.1.2: Μήκος βλαστού (cm) των σποροφύτων ανά μεταχείριση σε 3 χρονικά διαστήματα.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Με βάση τον Πίνακα 3.1.4, επιβεβαιώνεται πως καμία μεταχείριση δεν κατάφερε να υπερτερήσει έναντι του μάρτυρα. Η μόνη η οποία φαίνεται να επιφέρει αντίστοιχα αποτελέσματα ως προς το μήκος βλαστού είναι αυτή του hydropriming. Το σύνολο των υπόλοιπων μεταχειρίσεων, επέδρασαν αρνητικά στο μήκος βλαστού, με τη μεγαλύτερη μείωση έναντι του μάρτυρα να αφορά στην εφαρμογή 50 και 100 mM NaCl αλλά και 100 mM GA₃.

Πίνακας 3.1.4: Διαφορά έναντι του μάρτυρα ως προς το μήκος βλαστού (21η ημέρα).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
-	7,69	42,74	61,54	25,64	42,74	31,62	27,35

3.1.3 Μήκος ρίζας σποροφύτων

Ως προς το μήκος ρίζας των σποροφύτων (cm), με βάση τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, προκύπτει ότι δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων για όλο το χρονικό διάστημα στο οποίο λήφθηκαν μετρήσεις (Πίνακας 3.1.5).

Παρόλο αυτά, κάποιοι από τους διεγέρτες φάνηκε να ευνοούν περισσότερο την ανάπτυξη της ρίζας σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, επιφέροντας μεγαλύτερο μήκος ρίζας συγκριτικά με τον μάρτυρα. Συγκεκριμένα, η εφαρμογή 100 mM GA₃ και στα 3 χρονικά διαστήματα επέδρασε θετικά στο μήκος της ρίζας, οδηγώντας σε αισθητά αυξημένο μήκος σε σχέση με το αντίστοιχο των μαρτύρων (1,8 – 3,5 - 4,3 cm την 7η, 14η και 21η ημέρα αντίστοιχα). Αντίστοιχα, θετική ήταν και η επίδραση της εφαρμογής 50 mM GA₃, ιδιαίτερα κατά το διάστημα από την 14η ως την 21η ημέρα όπου σημειώθηκε το μεγαλύτερο μήκος ρίζας συγκριτικά με το μάρτυρα αλλά και τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις (4,2 και 4,6 cm την 14η και 21η ημέρα αντίστοιχα) (Πίνακας 3.1.5, Γράφημα 3.1.3).

Ενδιαφέρον εμφανίζει και η περίπτωση του ασκορβικού οξέος, τόσο στη συγκέντρωση των 50 mM όσο και των 100 mM (2,8 και 2,9 cm), όπου κατά την 14η ημέρα φαίνεται η υπεροχή του έναντι του μάρτυρα (2,6 cm) αλλά και των υπολοίπων μεταχειρίσεων, με εξαίρεση αυτή του GA₃. Ωστόσο, η υπεροχή του ασκορβικού οξέος (3,5 cm) εξέλειψε την 21η μέρα, όπου ο μάρτυρας εμφάνισε υψηλότερη τιμή ως προς το μήκος της ρίζας (4,2 cm) (Πίνακας 3.1.5, Γράφημα 3.1.3).

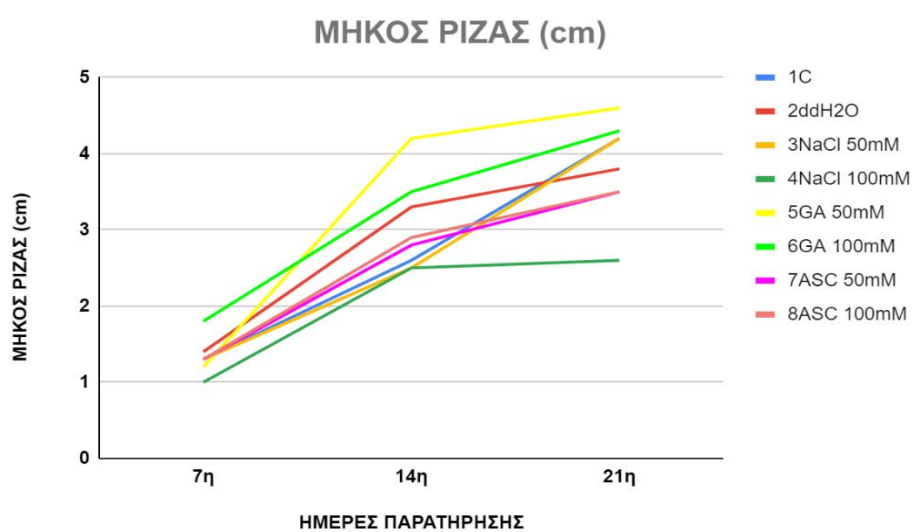
Σε αντίθεση με το μήκος του βλαστού, η εφαρμογή 50 mM NaCl έδειξε να μην επιβαρύνει τόσο την αύξηση των ριζών καθώς σημειώθηκαν μήκη των ριζών ανάλογα με αυτά του μάρτυρα σ' όλα τα χρονικά διαστήματα. Παρόλα αυτά, η εφαρμογή 100 mM NaCl οδήγησε στο μικρότερο μήκος ρίζας συγκριτικά με το μάρτυρα και τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις (Πίνακας 3.1.5, Γράφημα 3.1.3).

Σύμφωνα με τα ανωτέρω, προκύπτει πως οι περισσότερες μεταχειρίσεις δεν επιδρούν θετικά στην αύξηση του μήκους των ριζών σε σύγκριση με τον μάρτυρα, με εξαίρεση την εφαρμογή των γιββεριλινών (Εικόνες 3.1).

Πίνακας 3.1.5: Μήκος ρίζας (cm) ανά μεταχείριση σε 3 χρονικά διαστήματα (7η - 21η ημέρα).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΗΜΕΡΕΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
7 ^η	1,3a	1,4a	1,3a	1,0a	1,2a	1,8a	1,3a	1,3a
14 ^η	2,6a	3,3a	2,5a	2,5a	4,2a	3,5a	2,8a	2,9a
21 ^η	4,2a	3,8a	4,2a	2,6a	4,6a	4,3a	3,5a	3,5a

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



Γράφημα 3.1.3: Μήκος ρίζας σποριόφυτων ανά μεταχείριση σε 3 χρονικά διαστήματα.



Εικόνες 3.1: Επίδραση 4 μεταχειρίσεων στο μήκος ρίζας των σποροφύτων. A: Control, B: Εφαρμογή 50 mM GA₃, Γ: Εφαρμογή 50 mM ASC, Δ: Εφαρμογή 100 mM NaCl.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Με βάση την ποσοστιαία απόκλιση από τον μάρτυρα και τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.1.6, φαίνεται πως τα πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα έδωσε η εφαρμογή 50 mM GA₃ (-8,88%), ενώ το μικρότερο η μεγαλύτερη μείωση του μήκους σε σχέση με το μάρτυρα σχετίστηκε με την εφαρμογή 100 mM NaCl (39,64%). Με βάση τα αποτελέσματα προκύπτει πως το σύνολο των μεταχειρίσεων, με εξαίρεση αυτή των 50 mM GA₃, δεν επίδρασαν θετικά σε σχέση με το μάρτυρα.

Πίνακας 3.1.6: Διαφορά έναντι του μάρτυρα ως προς το μήκος ρίζας (21η ημέρα).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
-	10,65	-0,59	39,64	-8,88	0	17,16	16,57

3.1.4 ΠΟΣΟΣΤΟ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΝΕΡΟΥ ΤΩΝ ΣΠΟΡΟΦΥΤΩΝ (WC%)

Αναφορικά με το ποσοστό απορρόφησης του νερού (WC%) την 21η ημέρα, η στατιστική ανάλυση έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων και του μάρτυρα (Πίνακας 3.1.7).

Φαίνεται πως το σύνολο των εφαρμογών διέγερσης της βλάστησης επέδρασαν θετικά ως προς το ποσοστό απορρόφησης του νερού, οδηγώντας σε αυξημένες τιμές WC σε σχέση με το μάρτυρα. Οι μεταχειρίσεις που διακρίθηκαν ως προς την υπεροχή τους ήταν η εφαρμογή 50 mM NaCl και 50 mM GA₃ (95,3% και 94,7% αντίστοιχα), όπου σημειώθηκαν οι αυξημένες τιμές WC σε σχέση με το μάρτυρα (89,7%) αλλά και τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις (Πίνακας 3.1.7, Γράφημα 3.1.4).

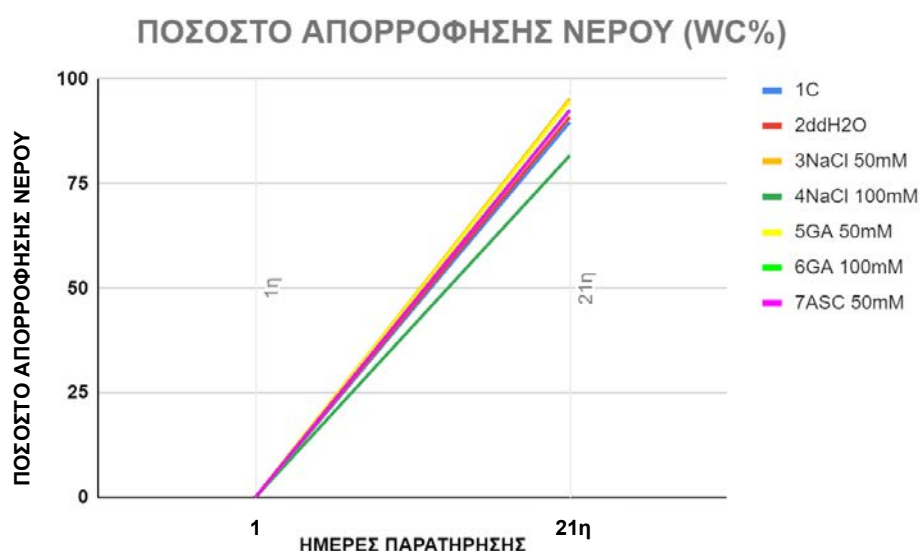
Η εφαρμογή 100 mM NaCl και σε αυτή την παράμετρο, όπως αναμενόταν, οδήγησε στη μικρότερη τιμή WC (81,7%) σε σχέση τόσο με το μάρτυρα όσο και με τις υπόλοιπες

μεταχειρίσεις (89,7% - 95,3%), υποδεικνύοντας την αρνητική επίδρασή της στην αύξηση των σποροφύτων (Πίνακας 3.1.7, Γράφημα 3.1.4).

Πίνακας 3.1.7: Ποσοστό απορρόφησης του νερού ανά μεταχείριση την 21η ημέρα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΗΜΕΡΕΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
21 ^η	89,7ab	90,9ab	95,3a	81,7b	94,7a	92,6ab	92,5ab	91,5ab

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



Γράφημα 3.1.4: Ποσοστό απορρόφησης του νερού στην αρχική και τελική μέρα λήψης μετρήσεων για όλες τις μεταχειρίσεις.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Παρατηρώντας τον Πίνακα 3.1.8, όπου παρουσιάζεται η ποσοστιαία διαφορά των μεταχειρίσεων σε σχέση με το μάρτυρα, επιβεβαιώνονται όσα αναφέρθηκαν παραπάνω. Όλες σχεδόν οι μεταχειρίσεις επέδρασαν θετικά στην απορρόφηση νερού, με εξαίρεση την εφαρμογή 100 mM NaCl όπου σημειώθηκε η μεγαλύτερη μείωση έναντι του μάρτυρα (8,91%). Αντίθετα, η μεγαλύτερη αύξηση έναντι του μάρτυρα σημειώθηκε στην εφαρμογή 50 mM GA₃

(-5,55%), υποδεικνύοντας τη θετική επίδραση των γιββερελλινών στο ποσοστό απορρόφησης νερού των σποροφύτων.

Πίνακας 3.1.8: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για το ποσοστό απορρόφησης του νερού (WC%).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
-	-1,30	-6,21	8,91	-5,55	-3,26	-3,13	-1,98

3.1.5 Δείκτης ευρωστίας σποροφύτων (SVI%)

Τα αποτελέσματα σχετικά με το δείκτη ευρωστίας ανέδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές και στα δύο χρονικά διαστήματα λήψης παρατηρήσεων (14η και 21η ημέρα) (Πίνακας 3.1.9).

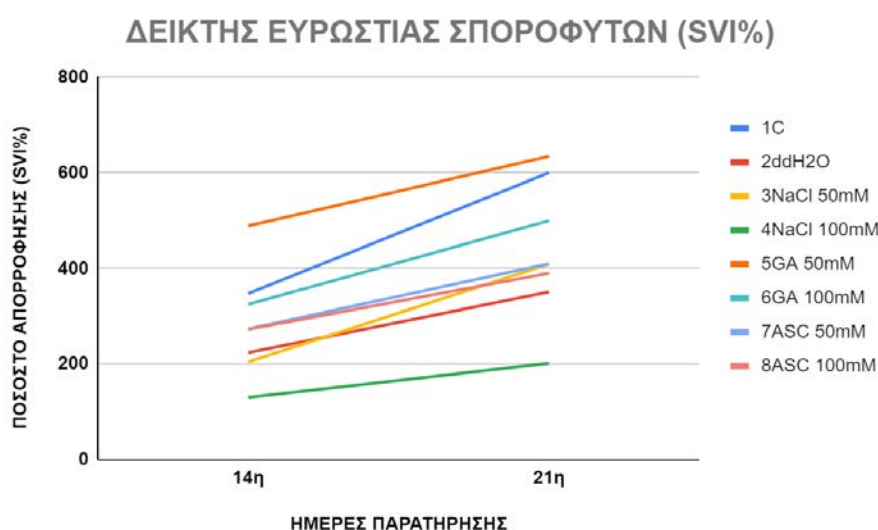
Ξεκινώντας με την 14η ημέρα, είναι εμφανές πως οι διεγέρτες δεν έδρασαν θετικά ως προς τη συγκεκριμένη παράμετρο καθώς το σύνολο των μεταχειρίσεων εμφάνισαν μειωμένες τιμές SVI σε σχέση με τους μάρτυρες, με εξαίρεση την εφαρμογή 50 mM GA₃ που εμφάνισε το μεγαλύτερο SVI ξεπερνώντας και τον μάρτυρα (489% έναντι 347,5%). Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις κυμάνθηκαν σε παρόμοιες τιμές SVI με τον μάρτυρα εκτός από τις δύο μεταχειρίσεις με NaCl που εμφάνισαν μειωμένες τιμές SVI (204,3% και 130,3% στα 50 mM και 100 mM αντίστοιχα) (Πίνακας 3.1.9, Γράφημα 3.1.5).

Την 21η ημέρα, όπως αναμενόταν, παρατηρήθηκε αύξηση των τιμών του δείκτη ευρωστίας σε όλες τις μεταχειρίσεις, χωρίς ωστόσο σημειώνονται μεταβολές ως προς την κατάταξη των υπό μελέτη μεταχειρίσεων διέγερσης της βλάστησης. Στη φάση αυτή, το μεγαλύτερο SVI σημειώθηκε κατά την εφαρμογή 50 mM GA₃ (634,5%), η οποία ήταν και η μόνη που εμφάνισε υπεροχή έναντι του μάρτυρα (600,3%). Αντίθετα, το σύνολο των υπολοίπων μεταχειρίσεων εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές SVI, με την εφαρμογή 100 mM NaCl να αφορά στο χαμηλότερο δείκτη ευρωστίας (201,3%) (Πίνακας 3.1.9, Γράφημα 3.1.5).

Πίνακας 3.1.9: Δείκτης ευρωστίας των σποροφύτων ανά μεταχείριση, σε 2 χρονικά διαστήματα (14η και 21η ημέρα).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΗΜΕΡΕΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
14 ^η	347,5ab	223,8b	204,3b	130,3b	489,0a	324,8ab	273,5ab	272,8ab
21 ^η	600,3a	350,8ab	409,3ab	201,3b	634,5a	499,8ab	410,0ab	390,0ab

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



Γράφημα 3.1.5: Δείκτης ευρωστίας των σποροφύτων σε δύο χρονικά διαστήματα λήψης παρατηρήσεων.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Αναφορικά με την ποσοστιαία διαφορά των μεταχειρίσεων σε σχέση με το μάρτυρα του πειράματος, που αφορά σε σπόρους που δεν προηγήθηκε επεξεργασία, είναι προφανές ότι στην πλειονοψφία των εφαρμογών σημειώθηκε μείωση έναντι του μάρτυρα ως προς το SVI (Πίνακας 3.1.10). Μοναδική εξαίρεση αποτέλεσε η εφαρμογή 50 mM GA₃ όπου σημειώθηκε αύξηση της τάξης του 5,71% σε σχέση με το μάρτυρα. Όπως προαναφέρθηκε, οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις δεν είχαν θετική επίδραση στο SVI, σημειώνοντας μείωση των τιμών σε σχέση με το μάρτυρα. Η μεγαλύτερη μείωση προέκυψε μετά την εφαρμογή των 100 mM NaCl (66,47%).

Πίνακας 3.1.10: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για τον δείκτη ευρωστίας των σποροφύτων.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
-	41,57	31,82	66,47	-5,71	16,74	31,70	35,03

3.1.6 Περιεκτικότητα των σποροφύτων σε χλωροφύλλη

Αναφορικά με την περιεκτικότητα του υπέργειου μέρους των σποροφύτων σε χλωροφύλλη, η ανάλυση έδειξε την παρουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων και για τις τρεις υπό μελέτη παραμέτρους (Chla, Chlb, TChl mg/g) (Πίνακας 3.1.11).

Όσον αφορά την χλωροφύλλη a, φαίνεται πως οι διεγέρτες επαγωγής της βλάστησης έδρασαν θετικά αφού οι περισσότερες μεταχειρίσεις έδωσαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη a από τον μάρτυρα (0,015 mg/g), με εξαίρεση τις μεταχειρίσεις του hydropriming και των 50 mM NaCl (0,009 mg/g και 0,012 mg/g αντίστοιχα). Ως προς την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη, διακρίθηκε η εφαρμογή 100 mM GA₃ (0,026 mg/g), ξεπερνώντας κατά πολύ τον μάρτυρα. Έπειτα, θετική ήταν και η επίδραση των 100 mM ASC (0,02 mg/g) αλλά και των 100 mM NaCl (0,019 mg/g) (Πίνακας 3.1.11).

Ως προς τη χλωροφύλλη b, παρατηρήθηκε ανάλογη κατάταξη των μεταχειρίσεων. Έτσι, οι εφαρμογές ενυδάτωσης των σπόρων και 50 mM NaCl (0,004 mg/g) εμφάνισαν μειωμένες τιμές σε σχέση με το μάρτυρα (0,005 mg/g), ενώ η υψηλότερη τιμή σημειώθηκε κατά την εφαρμογή 100 mM GA₃ (0,009 mg/g) (Πίνακας 3.1.11).

Συνοψίζοντας, συναρτήσει των χλωροφυλλών a και b, τα αποτελέσματα για την ολική χλωροφύλλη παρά τις σημαντικές διαφορές, δεν μετέβαλλαν την κατάταξη των μεταχειρίσεων. Τα σπορόφυτα που δέχτηκαν 100 mM GA₃ περιείχαν τη μεγαλύτερη ποσότητα (0,035 mg/g), ακολουθούμενα από τα 100 mM ASC και 100 mM NaCl με εξίσου υψηλές συγκεντρώσεις (0,028 mg/g και 0,026 mg/g αντίστοιχα) σε σχέση με το μάρτυρα (0,021 mg/g). Αντίθετα, η προεπεξεργασία των σπόρων με 50 mM NaCl είχε αρνητική επίδραση στην περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη (0,013 mg/g) (Πίνακας 3.1.11).

Πίνακας 3.1.11: Περιεκτικότητα των σποροφύτων σε χλωροφύλλη a και b, καθώς και της ολικής χλωροφύλλης ανά μεταχείριση την 21η μέρα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
Chla	0,015a	0,009b	0,012ab	0,019a	-	0,026a	0,017a	0,020ab
Chlb	0,005a	0,004b	0,004ab	0,007a	-	0,009a	0,006a	0,007ab
TChlmg/g	0,021a	0,013b	0,017ab	0,026a	-	0,035a	0,023a	0,028ab

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

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Κατά την ανάλυση των δεδομένων ως προς τη διαφορά των μεταχειρίσεων με το μάρτυρα, προκύπτει σαφώς και για τις τρεις παραμέτρους η υπεροχή της εφαρμογής 100 mM GA₃, σημειώνοντας αύξησης της τάξης του 73,33%, 80% και 66,67% ως προς την ποσότητα χλωροφύλλης a, b και ολικής αντίστοιχα. Αντίθετα, οι εφαρμογές hydropriming και 50 mM NaCl σχετίστηκαν με μείωση της ποσότητας χλωροφύλλης σε σχέση με το μάρτυρα (Πίνακας 3.1.12).

Πίνακας 3.1.12: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για την περιεκτικότητα των σποροφύτων σε χλωροφύλλη a και b, ολική χλωροφύλλη.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
Chla	-	40	20	-26,66	-	-73,33	-13,33	-33,33
Chlb	-	20	20	-40	-	-80	-20	-40
TChlmg/g	-	38,09	19,05	-23,81	-	-66,67	-9,52	-33,33

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

Για τον λόγο της χλωροφύλλης a προς b, η στατιστική ανάλυση έδειξε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών στο πέρας του πειράματος, την 21η ημέρα (Πίνακας 3.1.13).

Ως προς το λόγο Chla/ Chlb, στο πλείστο των περιπτώσεων το seed priming έδρασε θετικά σε σχέση με τον μάρτυρα (2,777). Εξαίρεση αποτέλεσε το hydropriming, όπου σημειώθηκε ο μικρότερος λόγος Chla/ Chlb (2,436), ενώ η εφαρμογή που εμφάνισε την υψηλότερη τιμή ήταν τα 100 mM ASC (2,860) (Πίνακας 3.1.13).

Πίνακας 3.1.13: Λόγος χλωροφυλλών a προς b, ανά μεταχείριση την 21η ημέρα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	C	ddH2O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
(Chla/ Chlb)	2,777ab	2,436b	2,854a	2,834ab	-	2,850a	2,762ab	2,860a

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD (p≤0.05).

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Με βάση τα αποτελέσματα της ποσοστιαίας διαφοράς έναντι του μάρτυρα, φαίνεται πως η εφαρμογή 100 mM ASC εμφάνισαν τη μεγαλύτερη αύξηση σε σχέση με το μάρτυρα (-2,99%), ενώ και οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις ξεπέρασαν τον μάρτυρα με διαφορές που κυμαίνονται σε παρόμοια επίπεδα. Εξαίρεση αποτέλεσε το hydropriming όπου σημειώθηκε μείωση της τάξης του 12,28% έναντι του μάρτυρα (Πίνακας 3.1.14).

Πίνακας 3.1.14: Διαφορά έναντι του μάρτυρα ως προς το λόγο χλωροφύλλης a προς b, την 21η ημέρα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	C	ddH2O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
Chla/Chlb	-	12,28	-2,77	-2,05	-	-2,62	0,54	-2,99

3.1.8 Περιεκτικότητα των φύλλων σε καροτενοειδή

Η στατιστική ανάλυση για την περιεκτικότητα των φύλλων των σποροφύτων σε καροτενοειδή ανέδειξε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών (Πίνακας 3.1.15).

Η μεταχείριση με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε καροτενοειδή ήταν τα 100 mM GA₃ (1,262a mg/g), ακολουθούμενο από τα 100 mM ASC (1,028 mg/g) που είχε επίσης θετική επίδραση στην ποσότητα καροτενοειδών. Περαιτέρω, θετική ήταν και η επίδραση των 100 mM NaCl (0,984 mg/g), επιφέροντας μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σχέση με το μάρτυρα (0,854 mg/g). Αντίθετα, τη μικρότερη ποσότητα καροτενοειδών εμφάνισαν οι μεταχειρίσεις hydropriming και 50 mM NaCl (0,482 και 0,616 mg/g αντίστοιχα) (Πίνακας 3.1.15).

Πίνακας 3.1.15: Περιεκτικότητα σε καροτενοειδή ανά μεταχείριση, την 21η ημέρα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
Car mg/g	0,854ab	0,482b	0,616b	0,984ab	-	1,262a	0,842ab	1,028ab

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Με βάση την ποσοστιαία διαφορά για την περιεκτικότητα σε καροτενοειδή, η εφαρμογή που ξεχώρισε είναι τα 100 mM GA₃, επιφέροντας τη μεγαλύτερη αύξηση σε σχέση με το μάρτυρα (-47,78%). Περαιτέρω, θετική ήταν η επίδραση των μεταχειρίσεων 100 mM ASC και NaCl (-20,37% και -15,22% αντίστοιχα), ενώ οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις επέφεραν μείωση της περιεκτικότητας σε καροτενοειδή σε σχέση με το μάρτυρα.

Πίνακας 3.1.16: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για την περιεκτικότητα σε καροτενοειδή ανά μεταχείριση, την 21η ημέρα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
Car mg/g	-	43,56	27,87	-15,22	-	-47,78	1,41	-20,37

3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΕΓΕΡΤΩΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ ΑΛΑΤΟΤΗΤΑΣ

Στο δεύτερο σκέλος της παρούσας διπλωματικής διατριβής, πραγματοποιήθηκε το ίδιο πείραμα παρουσία καταπόνησης αλατότητας. Η καταπόνηση πραγματοποιήθηκε σε δύο επίπεδα, τα 75 mM και τα 150 mM NaCl, και έπειτα αξιολογήθηκε η απόκριση ως προς τις παραμέτρους που σχετίζονται με τη βλάστηση και την ανάπτυξη των σποροφύτων.

Τα αποτελέσματα του εν λόγω πειράματος παρουσιάζονται σε δύο υποενότητες, με βάση το επίπεδο καταπόνησης (75 mM και 150 mM NaCl).

3.2.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΕΓΕΡΤΩΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ 75 mM NaCl

3.2.1.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP%)

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης σχετικά με το ποσοστό βλάστησης των σπόρων ανέδειξαν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών (Πίνακας 3.2.1.1).

Κατά τις πρώτες ημέρες λήψης παρατηρήσεων (4η έως και 10η ημέρα), δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Παρόλο αυτά, παρατηρήθηκε μία αύξηση του δυναμικού βλάστησης τόσο στο μάρτυρα όσο και στις εφαρμογές διέγερσης, με εξαίρεση αυτή των 50 mM GA₃, οι τιμές παρέμειναν σε ιδιαίτερα χαμηλό ποσοστό (9%). Σε αυτό το χρονικό διάστημα, ήταν έκδηλη η θετική επίδραση των εφαρμογών NaCl αλλά και του hydropriming, υπερέχοντας του μάρτυρα (την 10η ημέρα 63% και 75% έναντι 24%). Επιπλέον, θετική υπήρξε η επίδραση των 50 mM ASC, επιφέροντας διπλασιασμό του ποσοστού βλάστησης σε σχέση με τον μάρτυρα (την 10η ημέρα 48% έναντι 24%) (Πίνακας 3.2.1.1, Γράφημα 3.2.1.1).

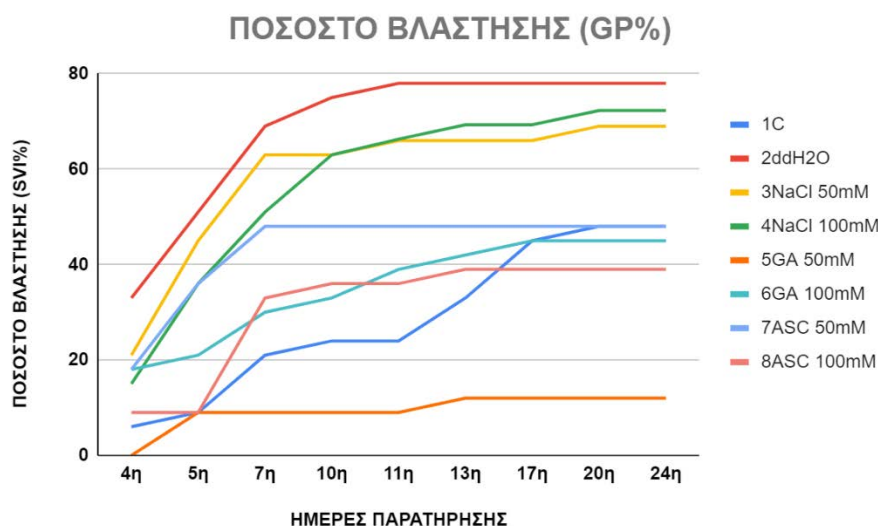
Εν συνεχεία, από την 11η ημέρα ως και το τέλος του πειράματος, τα αποτελέσματα έδειξαν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών. Την καλύτερη απόκριση στην καταπόνηση ως και το τέλος εμφάνισαν οι ενυδατωμένοι σπόροι hydropriming, σημειώνοντας ποσοστό βλάστησης της τάξης του 78% έναντι του μάρτυρα που εμφάνισε 48%. Αντίθετα, η εφαρμογή 50 mM GA₃ σχετίστηκαν με το χαμηλότερο ποσοστό βλάστησης (την 21η ημέρα, 12%). Όσον αφορά τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, η εφαρμογή NaCl και στις δύο συγκεντρώσεις έδρασε θετικά, πλησιάζοντας τα ποσοστά του hydropriming και ξεπερνώντας κατά πολύ τον μάρτυρα (69% και 73,3% έναντι 48%). Οι εφαρμογές με ASC και 100 mM GA, παρά την αρχική θετική

επίδραση, στην πορεία εμφάνισαν πλατό, μη καταφέροντας να ξεπεράσουν το ποσοστό βλάστησης του μάρτυρα ή/και των υπολοίπων μεταχειρίσεων (Πίνακας 3.2.1.1, Γράφημα 3.2.1.1).

Πίνακας 3.2.1.1: Ποσοστό βλάστησης των σπορόφυτων (%) μετά την εφαρμογή διεγερτών παρουσία καταπόνησης αλατότητας (75 mM NaCl), σε 9 χρονικά διαστήματα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
HMEPEΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
4 ^η	6a	33a	21a	15a	0a	18a	18a	9a
5 ^η	9a	51a	45a	36a	9a	21a	36a	9a
7 ^η	21a	69a	63a	51a	9b	30a	48a	33a
10 ^η	24a	75a	63a	63a	9b	33a	48a	36a
11 ^η	24bc	78a	66ab	66,3ab	9c	39abc	48abc	36abc
13 ^η	33ab	78a	66a	69,3a	12b	42ab	48ab	39ab
17 ^η	45ab	78a	66ab	69,3a	12b	45ab	48ab	39ab
20 ^η	48ab	78a	69a	72,3a	12b	45ab	48ab	39ab
24 ^η	48ab	78a	69a	72,3a	12b	45ab	48ab	39ab

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



Γράφημα 3.2.1.1: Ποσοστό βλάστησης (GP%) σε 9 χρονικά διαστήματα λήψης μετρήσεων.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.2.1.2, είναι σαφής η θετική επίδραση του hydropriming και των εφαρμογών NaCl, επιφέροντας σημαντική αύξηση του ποσοστού βλάστησης έναντι του μάρτυρα (-62,5%, -43,75% και -50,69%). Στην αντίπερα όχθη, υπήρξε έκδηλη η αρνητική επίδραση της εφαρμογής GA₃, επιφέροντας μείωση του ποσοστού βλάστησης της τάξης του 75% και 6,25% έναντι του μάρτυρα στη συγκέντρωση των 50 mM και 100 mM GA₃ αντίστοιχα.

Πίνακας 3.2.1.2: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για το ποσοστό βλάστησης παρουσία 75 mM NaCl.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH2O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
-	-62,5	-43,75	-50,69	75	6,25	0	18,75

3.2.1.2 Μήκος βλαστού σποροφύτων

Ως προς το μήκος βλαστού των σποροφύτων, η στατιστική ανάλυση ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στο δεύτερο χρονικό διάστημα λήψης μετρήσεων, οι οποίες επηρέασαν και τα τελικά αποτελέσματα (Πίνακας 3.2.1.3, Γράφημα 3.2.1.2).

Κατά την 7η ημέρα, παρά την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών, διαφάνηκε μία τάση αύξησης του μήκους βλαστού σε σχέση με το μάρτυρα, παρουσία καταπόνησης αλατότητας (75 mM NaCl). Στο διάστημα αυτό, την καλύτερη επίδοση εμφάνισαν οι ενυδατωμένοι σπόροι (hydropriming), καταγράφοντας το μεγαλύτερο μήκος βλαστού (0,33 cm), ακολουθούμενο από τις εφαρμογές 50 mM NaCl (0,3 cm), 100 mM GA₃ (0,27cm), 100 mM NaCl (0,26 cm) και έπειτα τον μάρτυρα (0,23 cm). Το μικρότερο μήκος βλαστού εμφάνισε η εφαρμογή 50 mM GA₃, παρουσιάζοντας το χαμηλότερο μήκος βλαστού (0,13 cm) (Πίνακας 3.2.1.3, Γράφημα 3.2.1.2).

Έπειτα, την 14η ημέρα παρουσιάστηκαν ορισμένες σημαντικές διαφορές, μεταβάλλοντας σε μικρό βαθμό την κατάταξη των μεταχειρίσεων. Στο διάστημα αυτό, ως πιο αποτελεσματική μεταχείριση αναδείχθηκε το hydropriming, το οποίο οδήγησε σε σημαντική αύξηση του μήκους βλαστού (0,63 cm) συγκριτικά με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις που κυμάνθηκαν σε σημαντικά μειωμένες τιμές (0,2 έως και 0,43 cm). Ο μάρτυρας σχεδόν διπλασίασε το μήκος του βλαστού, χωρίς όμως να υπερτερήσει του hydropriming (0,43 cm). Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις κυμάνθηκαν σε παρόμοια επίπεδα με το μάρτυρα, με την εφαρμογή 50 mM GA₃ να εμφανίζει το μικρότερο μήκος βλαστού (0,2 cm) (Πίνακας 3.2.1.3, Γράφημα 3.2.1.2).

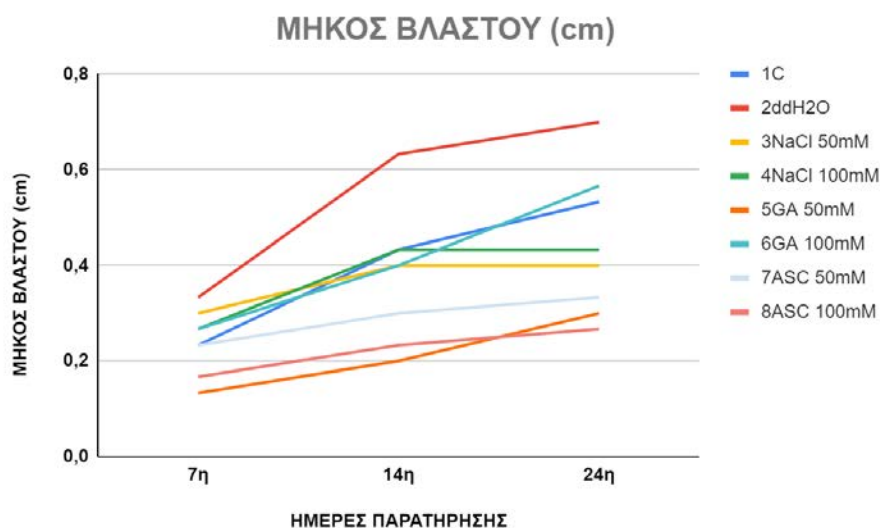
Τέλος την 24η ημέρα, είναι ενδιαφέρον ότι η εφαρμογή 100 mM GA₃ σχετίστηκε με σημαντική αύξηση του ποσοστού βλάστησης (0,57%), ξεπερνώντας τη μεταχείριση του μάρτυρα (0,53 cm) αλλά όχι αυτή του hydropriming (0,7 cm), όπου σημειώθηκε το μεγαλύτερο μήκος βλαστού (Πίνακας 3.2.1.3, Γράφημα 3.2.1.2).

Στο σύνολό τους, τα ανωτέρω δεδομένα συνηγορούν στο συμπέρασμα ότι η πλέον αποτελεσματική μεταχείριση ως προς το μήκος βλαστού είναι η απλή ενυδάτωση των σπόρων (hydropriming).

Πίνακας 3.2.1.3: Μήκος βλαστού (cm) των σποροφύτων ανά μεταχείριση σε 3 χρονικά διαστήματα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΗΜΕΡΕΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
7 ^η	0,23a	0,33a	0,3a	0,26a	0,13a	0,27a	0,23a	0,17a
14 ^η	0,43ab	0,63a	0,4ab	0,43ab	0,2b	0,4ab	0,3ab	0,23b
24 ^η	0,53a	0,7a	0,4a	0,43a	0,3a	0,57a	0,33a	0,27a

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



Γράφημα 3.2.1.2: Μήκος βλαστού (cm) των σποροφύτων σε 3χρονικά διαστήματα λήψης παρατηρήσεων.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.2.1.4, είναι σαφές ότι βάσει της διαφοράς των μεταχειρίσεων έναντι του μάρτυρα ως πιο αποτελεσματική αναδείχθηκε η μεταχείριση του hydropriming, η οποία εμφάνισε αύξηση του μήκους βλαστού της τάξης του 31,33% σε σχέση με το μάρτυρα. Περαιτέρω, θετική ήταν και η επίδραση της εφαρμογής 100 mM GA₃, η οποία οδήγησε σε αύξηση του μήκους βλαστού κατά 6,37%. Απεναντίας, την

πλέον αρνητική επίδραση εμφάνισαν οι μεταχειρίσεις 50 mM GA₃ και 100 mM ASC, όπου σημειώθηκε η μεγαλύτερη μείωση του μήκους βλαστού σε σχέση με το μάρτυρα (43,71% και 49,90% αντίστοιχα) (Πίνακας 3.2.1.4).

Πίνακας 3.2.1.4: Διαφορά (%) έναντι του μάρτυρα ως το μήκος βλαστού των σποροφύτων.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl	NaCl	GA ₃	GA ₃	ASC	ASC
		50mM	100mM	50mM	100mM	50mM	100mM
-	-31,33	24,95	18,76	43,71	-6,37	37,52	49,90

3.2.1.3 Μήκος ρίζας σποροφύτων

Όσον αφορά το μήκος ρίζας των σποροφύτων (cm), δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές από την αρχή ως και το πέρας του πειράματος (Πίνακας 3.2.1.5 , Γράφημα 3.2.1.3).

Παρόλο αυτά, είναι εμφανής μία τάση αύξησης του μήκους ρίζας των σποροφύτων σε όλες τις μεταχειρίσεις σχετικά το μάρτυρα που εμφάνισε τις μικρότερες τιμές. Ξεκινώντας από την 7η ημέρα, το σύνολο των εφαρμογών επέδρασαν θετικά στο μήκος ρίζας, με εξαίρεση αυτή των 50 mM GA₃ που κυμάνθηκε σε παρόμοια επίπεδα με το μάρτυρα (0,67 και 0,7 cm αντίστοιχα) (Πίνακας 3.2.1.5 , Γράφημα 3.2.1.3).

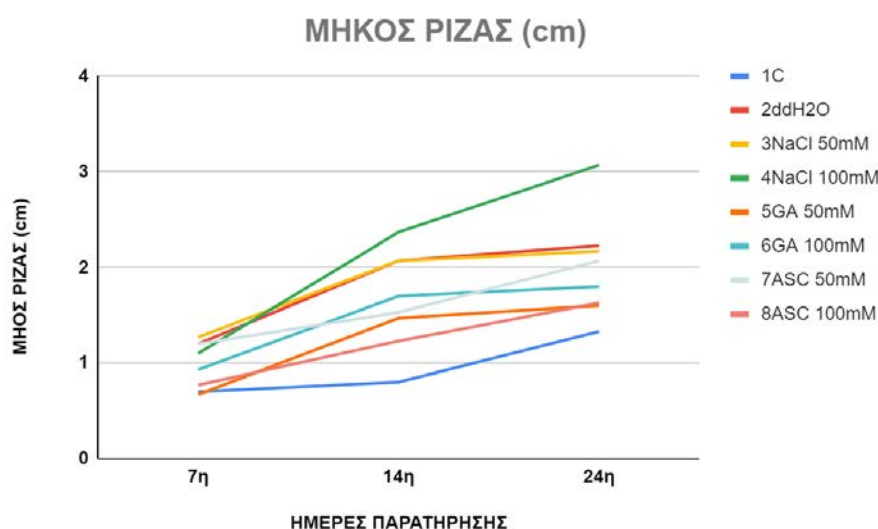
Κατά το χρονικό διάστημα από την 14η μέρα ως και την 21η που ολοκληρώθηκε το πείραμα, μπορεί να παρατηρηθεί πως όλες οι μεταχειρίσεις υπερίσχυσαν εν τέλει του μάρτυρα έχοντας και μια σημαντική απόκλιση (Πίνακας 3.2.1.5 , Γράφημα 3.2.1.3).

Η καλύτερη απόκριση ως προς το μήκος της ρίζας σημειώθηκε κατά την εφαρμογή 100 mM NaCl (2,37 cm και 3,07 cm την 14η και 21η ημέρα αντίστοιχα), ενώ η εφαρμογή 50 mM GA₃ σχετίστηκε με τις μικρότερες τιμές (1,47 cm και 1,6 cm την 14η και 21η ημέρα αντίστοιχα). Επιπλέον, θετική ήταν και η επίδραση του hydropriming, των 50 mM NaCl και 50 mM ASC όπου η απόκλιση από τον μάρτυρα ήταν επίσης μεγάλη (2,23 cm, 2,17 cm και 2,07 cm αντίστοιχα) (Πίνακας 3.2.1.5 , Γράφημα 3.2.1.3).

Πίνακας 3.2.1.5: Μήκος ρίζας σποροφύτων ανά μεταχείριση σε 3 χρονικά διαστήματα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΗΜΕΡΕΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
7 ^η	0,7a	1,2a	1,27a	1,1a	0,67a	0,93a	1,2a	0,77a
14 ^η	0,8a	2,07a	2,07a	2,37a	1,47a	1,7a	1,53a	1,23a
24 ^η	1,33a	2,23a	2,17a	3,07a	1,6a	1,8a	2,07a	1,63a

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



Γράφημα 3.2.1.3: Μήκος ρίζας σποροφύτων ανά μεταχείριση σε 3 χρονικά διαστήματα.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Με βάση τα αποτελέσματα, είναι έκδηλη η θετική επίδραση των μεταχειρίσεων στο μήκος ρίζας των σποροφύτων καθώς όλες οι μεταχειρίσεις εμφάνισαν σημαντικές διαφορές έναντι του μάρτυρα (Πίνακας 3.2.1.6).

Η πλέον θετική επίδραση αφορά στην εφαρμογή 100 mM NaCl, όπου σημειώθηκε δραστηριότητα αύξηση (-130,08%) του μήκους ρίζας σε σχέση με το μάρτυρα. Αντίθετα, η μικρότερη αύξηση αφορούσε στη μεταχείριση των 50 mM GA₃ (-20,03%) (Πίνακας 3.2.1.6).

Πίνακας 3.2.1.6: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για το μήκος ρίζας των σποροφύτων.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
-	-67,51	-62,56	-130,08	-20,03	-35,03	-55,06	-22,50

3.2.1.4 Ποσοστό απορρόφησης νερού των σποροφύτων (WC%)

Μελετώντας τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς το ποσοστό απορρόφησης νερού των σποροφύτων (Πίνακας 3.2.1.7, Γράφημα 3.2.1.4).

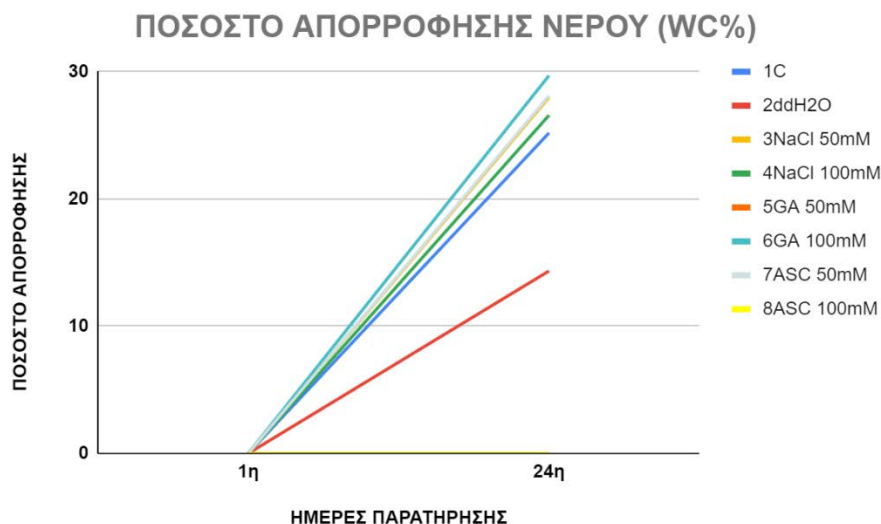
Παρά την απουσία σημαντικών διαφορών, κατά την 24η ημέρα, μπορούν να διακριθούν κάποιες μεταχειρίσεις οι οποίες λειτούργησαν καλύτερα από άλλες. Την καλύτερη απόκριση, υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας (75 mM NaCl), φαίνεται να παρουσιάζει η εφαρμογή 100 mM GA₃ (29,7%), σημειώνοντας υπεροχή έναντι των υπολοίπων μεταχειρίσεων αλλά και του μάρτυρα (25,19%). Επίσης, ικανοποιητική ήταν η απόκριση στην εφαρμογή NaCl (27,98% και 26,58% στα 50 mM και 100 mM αντίστοιχα) αλλά και 50 mM ASC (28,11%) (Πίνακας 3.2.1.7, Γράφημα 3.2.1.4).

Αντιθέτως, η εφαρμογή 50 mM GA₃ και 100 mM ASC εμφάνισαν μηδενική τιμή ως προς το WC, ενώ μειωμένο ποσοστό απορρόφησης νερού σημειώθηκε και κατά την εφαρμογή hydropriming (14,34%) (Πίνακας 3.2.1.7, Γράφημα 3.2.1.4).

Πίνακας 3.2.1.7: Ποσοστό απορρόφησης νερού (WC%) ανά μεταχείριση την 24η ημέρα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
HMEPEΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
24 ^η	25,19a	14,34a	27,98a	26,58a	0,00a	29,70a	28,11a	0,00a

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD (p≤0.05).



Γράφημα 3.2.1.4: Ποσοστό απορρόφησης νερού (WC%) ανά μεταχείριση την 24η ημέρα.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Με βάση τις ποσοστιαίες διαφορές των μεταχειρίσεων και του μάρτυρα, είναι σαφές η υπεροχή της εφαρμογής 100 mM GA₃, όπου σημειώθηκε αύξηση της τάξης του 17,90% σε σχέση με το μάρτυρα. Περαιτέρω, ως θετική αναδείχθηκε και η απόκριση στη εφαρμογή NaCl (-11,08% και -5,52% στα 50 mM και 100 mM αντίστοιχα) αλλά και 50 mM ASC (-11,59).

Πίνακας 3.2.1.8: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για το ποσοστό απορρόφησης του νερού (WC%).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
-	43,07	-11,08	-5,52	100,00	-17,90	-11,59	100,00

3.2.1.5 Δείκτης ευρωστίας σποροφύτων (SVI%)

Όσον αφορά το δείκτη ευρωστίας των σποροφύτων, η στατιστική ανάλυση έδειξε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών (Πίνακας 3.2.1.9, Γράφημα 3.2.1.5).

Κατά τη 17η ημέρα, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων, αν και υπήρξε μία τάση αύξησης του SVI στους σπόρους που έγιναν εφαρμογές διέγερσης σε σχέση με το μάρτυρα (54,95). Το υψηλότερο SVI σημειώθηκε έπειτα από ενυδάτωση των σπόρων (210%) και εφαρμογή 100 mM NaCl (209,5%). Εξαίρεση στη γενικευμένη τάση αύξησης του SVI παρατηρήθηκε έπειτα από εφαρμογή 50 mM GA₃, όπου σημειώθηκε ιδιαίτερος χαμηλό SVI (25,2%) (Πίνακας 3.2.1.9, Γράφημα 3.2.1.5).

Ωστόσο, την 24η ημέρα, η ανάλυση κατέδειξε την ύπαρξη σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων, χωρίς ωστόσο να μεταβάλλεται σημαντικά η κατάταξη των μεταχειρίσεων. Έτσι, το υψηλότερο SVI σημειώθηκε κατά την εφαρμογή 100 mM NaCl (265,77%), ακολουθούμενης από το hydropriming (228,6%). Όσον αφορά τους υπόλοιπους διεγέρτες, οι περισσότεροι έδρασαν θετικά, σημειώνοντας υπεροχή έναντι του μάρτυρα (95,4%). Εξαίρεση αποτέλεσαν οι εφαρμογές 100 mM ASC και 50 mM GA₃ όπου παρατηρήθηκε χαμηλότερο SVI σε σχέση με το μάρτυρα (71,1% και 29,7% αντίστοιχα) (Πίνακας 3.2.1.9, Γράφημα 3.2.1.5).

Πίνακας 3.2.1.9: Δείκτης ευρωστίας σποροφύτων (SVI%) ανά μεταχείριση σε 2 χρονικά διαστήματα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
HMEPEΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
17 ⁿ	54,9a	210a	165,9a	209,5a	25,2a	100,2a	90,6a	55,5a
24 ⁿ	95,4ab	228,6ab	179,1ab	265,77a	29,7b	109,2ab	125,7ab	71,1ab

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD (p≤0.05).



Γράφημα 3.2.1.5: Δείκτης ευρωστίας σποροφύτων ανά μεταχείριση σε 2 χρονικά διαστήματα.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Με βάση τις ποσοστιαίες διαφορές, προκύπτει θετική επίδραση των διεγερτών ως προς το δείκτη ευρωστίας των σποροφύτων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας (75 mM NaCl). Ειδικότερα, τη μεγαλύτερη αύξηση εμφάνισαν οι μεταχειρίσεις 100 mM NaCl και hydropriming, η οποία ήταν της τάξης του 178,58% και 139,62% αντίστοιχα. Αντίθετα, οι μεταχειρίσεις 50 mM GA₃ και 100 mM ASC οδήγησαν σε μείωση του SVI σε σχέση με το μάρτυρα, η οποία ήταν της τάξης του 68,87% και 25,47% αντίστοιχα (Πίνακας 3.2.1.10).

Πίνακας 3.2.1.10: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για τον δείκτη ευρωστίας των σποροφύτων (SVI%).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
-	-139,62	-87,74	-178,58	68,87	-14,47	-31,76	25,47

3.2.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΕΓΕΡΤΩΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ 150 mM NaCl

3.2.2.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GR%)

Με βάση τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, σημειώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς το ποσοστό βλάστησης των σπόρων, από την 5η μέρα ως και το πέρας του πειράματος (Πίνακας 3.2.2.1, Γράφημα 3.2.2.1).

Ξεκινώντας από την 4η ημέρα, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων, ενώ τα ποσοστά βλάστησης κυμάνθηκαν σε ιδιαίτερος χαμηλό ή και μηδενικό επίπεδο, λόγω της επίδρασης της καταπόνησης αλατότητας (150 mM NaCl). Παρά την απουσία διαφορών, το hydropriming (6%) εμφάνισε μία τάση αύξησης του ποσοστού βλάστησης, σημειώνοντας μικρή υπεροχή έναντι του μάρτυρα (3%) (Πίνακας 3.2.2.1, Γράφημα 3.2.2.1).

Συνεχίζοντας, την 5η μέρα παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων, με την εφαρμογή 50 mM NaCl να υπερέχει έναντι των υπολοίπων, σημειώνοντας το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης (27%). Στο διάστημα αυτό, θετική ήταν επίσης και η επίδραση των υπολοίπων μεταχειρίσεων, οι οποίες στην πλειοψηφία τους εμφάνισαν υψηλότερο ποσοστό βλάστησης (100 mM ASC (9%), 100 mM NaCl (6%), 100 mM GA₃ (6%) και hydropriming (6%)) σε σχέση με το μάρτυρα (3%) (Πίνακας 3.2.2.1, Γράφημα 3.2.2.1). Εξαιρέση αποτέλεσαν οι μεταχειρίσεις 50mM GA₃ και 50 mM ASC, οι οποίες εμφάνισαν όμοιο με το μάρτυρα ποσοστό βλάστησης.

Την 7η ημέρα, οι διαφορές υπήρξαν πιο ξεκάθαρες, μεταβάλλοντας αντίστοιχα και την σειρά κατάταξης των μεταχειρίσεων. Έτσι, στο διάστημα αυτό σημαντική υπεροχή εμφάνισε το hydropriming (42%), όπου σημειώθηκε σημαντική υπεροχή τόσο έναντι των υπολοίπων μεταχειρίσεων όσο και του μάρτυρα (15%), ακολουθούμενο από τις εφαρμογές 100 mM NaCl και 50 mM ASC (30% και 24% αντίστοιχα). Επίσης, είναι σημαντικό να τονιστεί πως το πλέον χαμηλό ποσοστό βλάστησης σημειώθηκε έπειτα από εφαρμογή 50 mM GA₃ (6%) (Πίνακας 3.2.2.1, Γράφημα 3.2.2.1).

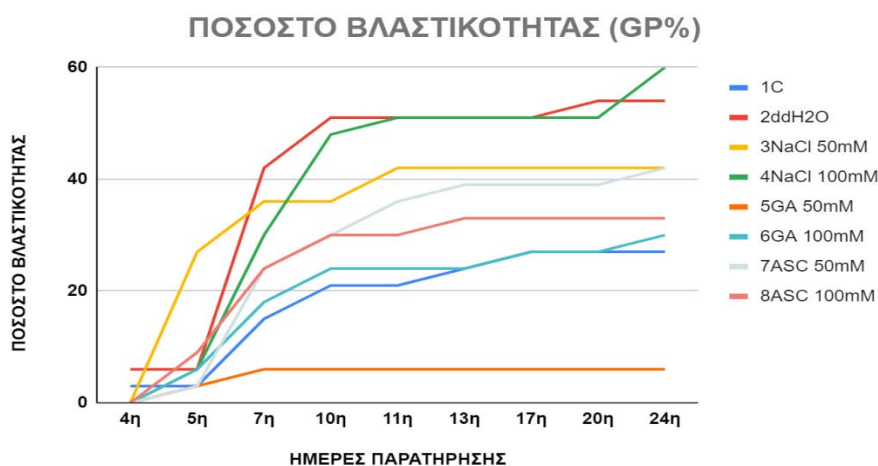
Από την 10η μέρα ως και την 24η, παρά την ύπαρξη σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων, ο ρυθμός της βλάστησης ήταν σχετικά σταθερός με αποτέλεσμα να μην υπάρχουν μεγάλες αποκλίσεις με την πάροδο του χρόνου. Ως πλέον υπερέχουσες αναδείχθηκαν οι μεταχειρίσεις hydropriming και 100 mM NaCl που κυμάνθηκαν σε παρόμοια ποσοστά βλάστησης έως και την 20η ημέρα (54% και 51% αντίστοιχα), ενώ την 24η ημέρα

υπήρξε έκδηλη η υπεροχή των 100 mM NaCl (60%) έναντι του hydropriming (54%). Στο διάστημα αυτό, το σύνολο των μεταχειρίσεων εμφάνισαν υψηλότερο ποσοστό βλάστησης σε σχέση με το μάρτυρα (27%), με εξαίρεση την εφαρμογή 50 mM GA₃ που χαρακτηρίστηκε από ιδιαίτερος χαμηλό ποσοστό βλάστησης (6%) (Πίνακας 3.2.2.1, Γράφημα 3.2.2.1).

Πίνακας 3.2.2.1: Ποσοστό βλαστικότητα ανά μεταχείριση σε 9 χρονικά διαστήματα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
HMEPEΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
4 ^η	3a	6a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
5 ^η	3b	6b	27a	6b	3b	6b	3b	9b
7 ^η	15ab	42a	36ab	30ab	6b	18ab	24ab	24ab
10 ^η	21ab	51a	36ab	48a	6b	24ab	30ab	30ab
11 ^η	21ab	51a	42a	51a	6b	24ab	36ab	30ab
13 ^η	24ab	51a	42a	51a	6b	24ab	39a	33ab
17 ^η	27ab	51a	42a	51a	6b	27ab	39ab	33ab
20 ^η	27ab	54a	42a	51a	6b	27ab	39ab	33ab
24 ^η	27ab	54a	42a	60a	6b	30ab	42a	33ab

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD (p≤0.05).



Γράφημα 3.2.2.1: Ποσοστό βλαστικότητα ανά μεταχείριση σε 9 χρονικά διαστήματα.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Τα αποτελέσματα της ποσοστιαίας διαφοράς επιβεβαιώνουν τις ανωτέρω παρατηρήσεις, αναδεικνύοντας την υπεροχή των μεταχειρίσεων hydropriming και 100 mM NaCl, οι οποίες οδήγησαν στην πλέον δραστική αύξηση του ποσοστού βλάστησης σε σχέση με το μάρτυρα (-142,86%). Αξίζει να αναφερθεί ότι, υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας (150 mM NaCl), το σύνολο σχεδόν των εφαρμογών διέγερσης επέδρασε θετικά, οδηγώντας σε αύξηση του ποσοστού βλάστησης έναντι του μάρτυρα. Μοναδική εξαίρεση αποτέλεσε η εφαρμογή 50 mM GA₃, η οποία συνοδεύτηκε από μείωση της τάξης του 71,43% σε σχέση με το μάρτυρα (Πίνακας 3.2.2.2).

Πίνακας 3.2.2.2: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για το ποσοστό βλάστησης (GP%).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
-	-142,86	-100,00	-142,86	71,43	-14,29	-71,43	-42,86

3.2.2.2 Μήκος βλαστού σποροφύτων

Η στατιστική ανάλυση για το μήκος βλαστού των σποροφύτων υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας (150 mM NaCl), έδειξε την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών κατά τη διάρκεια όλου του πειράματος (Πίνακας 3.2.2.3, Γράφημα 3.2.2.2).

Παρά την απουσία σημαντικών διαφορών καθόλη τη διάρκεια του πειράματος, ως πιο αποτελεσματικές μεταχειρίσεις κρίθηκαν το hydropriming, τα 100 mM ASC και ο μάρτυρας όπου σημειώθηκαν τα μεγαλύτερα μήκη βλαστού. Παρόλο αυτά, την 24^η ημέρα αναδείχθηκε η υπεροχή των κατάφεραν να επικρατήσουν το hydropriming και η εφαρμογή 100 mM ASC (0,27 cm) έναντι του μάρτυρα (0,17 cm). Αξίζει παράλληλα να αναφερθεί πως η πλειοψηφία των μεταχειρίσεων έδρασαν θετικά, οδηγώντας σε μεγαλύτερο μήκος βλαστού σε σχέση με το μάρτυρα, με εξαίρεση τις εφαρμογές 50 mM GA₃ και 50 mM ASC όπου κατείχαν τις τελευταίες θέσεις στην κατάταξη (0,03 cm και 0,13 cm αντίστοιχα) (Πίνακας 3.2.2.3, Γράφημα 3.2.2.2).

Σημαντικό να τονιστεί πως στο τέλος του πειράματος υπήρχαν απώλειες σε σπορόφυτα του μάρτυρα, λόγω γενικευμένου μαρασμού, γεγονός που επηρέασε τις τελικές μετρήσεις.

Πίνακας 3.2.2.3: Μήκος βλαστού (cm) ανά μεταχείριση σε 3 χρονικά διαστήματα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΗΜΕΡΕΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
7 ^η	0,03a	0,15a	0,2a	0,07a	0,03a	0,1a	0,1a	0,13a
14 ^η	0,27a	0,27a	0,2a	0,13a	0,07a	0,2a	0,1a	0,23a
24 ^η	0,17a	0,27a	0,2a	0,2a	0,03a	0,2a	0,13a	0,27a

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



Γράφημα: 3.2.2.2: Μήκος βλαστού ανά μεταχείριση σε 3 χρονικά διαστήματα.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Τα αποτελέσματα της ποσοστιαίας διαφοράς, έδειξαν την υπεροχή του hydropriming και της εφαρμογής 100 mM ASC, σημειώνοντας σημαντική αύξηση της τάξης του 59,88% σε σχέση με τον μάρτυρα. Επίσης, η πλειοψηφία των μεταχειρίσεων έδρασαν θετικά στο μήκος βλαστού,

με εξαίρεση αυτές των 50 mM ASC και 50 mM GA₃ που εμφάνισαν σημαντική μείωση έναντι του μάρτυρα ((20,36% και 80,24% αντίστοιχα) (Πίνακας 3.2.2.4).

Πίνακας 3.2.2.4: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για το μήκος βλαστού (cm).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100m
-	-59,88	-19,76	-19,76	80,24	-19,76	20,36	-59,88

3.2.2.3 Μήκος ρίζας σποροφύτων

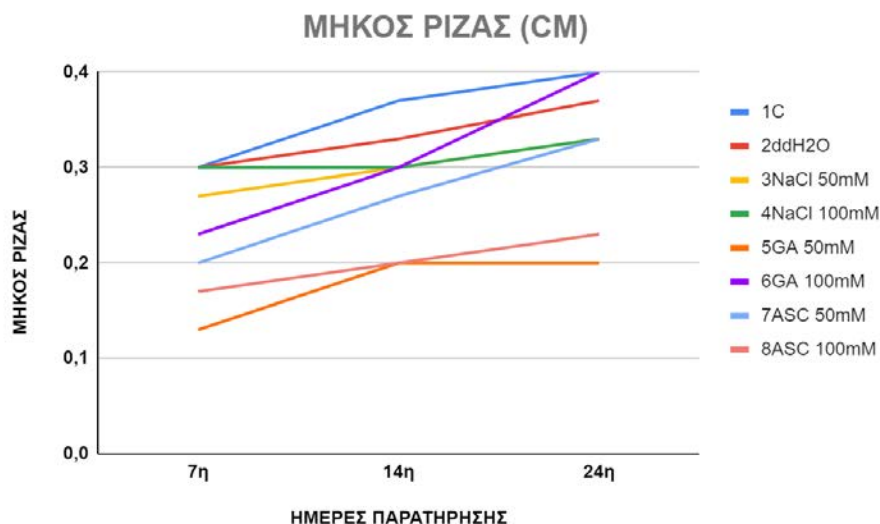
Για την παράμετρο αυτή, παρατηρήθηκε απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών από την αρχή ως και το τέλος του πειράματος (Πίνακας 3.2.2.5, Γράφημα 3.2.2.3).

Παρά την απουσία σημαντικών διαφορών, αξίζει να αναφερθεί ότι ως προς το μήκος της ρίζας οι εφαρμογές διέγερσης δεν επέδρασαν θετικά αφού το σύνολο των μεταχειρίσεων εμφάνισαν μειωμένες τιμές σε σχέση με το μάρτυρα (0,4 cm την 24η ημέρα). Εξαίρεσε αποτέλεσε η εφαρμογή 100 mM GA που την 24η ημέρα εμφάνισε ίδιο μήκος ρίζας με το μάρτυρα (0,4 cm). Ως πλέον αρνητική αναδείχθηκε η επίδραση της μεταχείρισης 50 mM GA₃, όπου σημειώθηκε μόλις το μισό μήκος σε σχέση με τον μάρτυρα (0,2 cm) (Πίνακας 3.2.5, Γράφημα 3.2.2.3).

Πίνακας 3.2.2.5: Μήκος ρίζας σποροφύτων ανά μεταχείριση σε 3 χρονικά διαστήματα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
HMEPEΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
7 ^η	0,3a	0,3a	0,27a	0,3a	0,13a	0,23a	0,2a	0,17a
14 ^η	0,37a	0,33a	0,3a	0,3a	0,2a	0,3a	0,27a	0,2a
24 ^η	0,4a	0,37a	0,33a	0,33a	0,2a	0,4a	0,33a	0,23a

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD (p≤0.05).



Γράφημα 3.2.2.3: Μήκος βλαστού (cm) ανά μεταχείριση σε 3 χρονικά διαστήματα.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Με βάση την ποσοστιαία διαφορά των μεταχειρίσεων σε σχέση με το μάρτυρα, είναι προφανής η αρνητική επίδραση του συνόλου των υπό μελέτη μεταχειρίσεων καθώς καμία εξ' αυτών δεν κατάφερε να υπερσχύσει του μάρτυρα. Μοναδική εξαίρεση αποτέλεσε η εφαρμογή 100 mM GA₃, όπου σημειώθηκε μηδενική διαφορά ως προς το μήκος ρίζας. Ως πλέον αναποτελεσματική αναδείχθηκε η εφαρμογή 100 mM GA₃, όπου παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη μείωση έναντι του μάρτυρα (50%) (Πίνακας 3.2.2.6).

Πίνακας 3.2.2.6: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για το μήκος ρίζας (cm).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
1C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100m
-	8,25	16,75	16,75	50	0	16,75	41,75

3.2.4 Ποσοστό απορρόφησης νερού σποροφύτων (WC%)

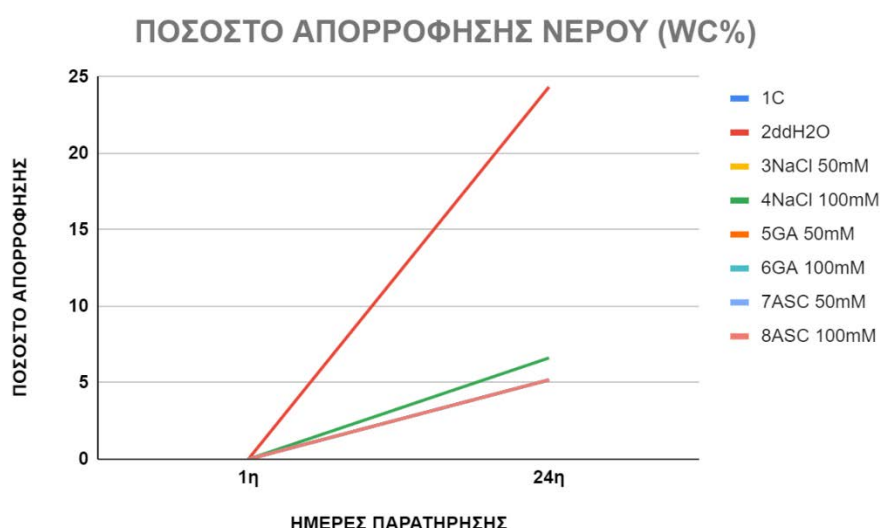
Όσον αφορά το ποσοστό απορρόφησης του νερού των σποροφύτων (WC%), η στατιστική ανάλυση έδειξε την ύπαρξη σημαντικών διαφορών την 24η ημέρα που συμπίπτει με το πέρας του πειράματος (Πίνακας 3.2.2.7, Γράφημα 3.2.2.4).

Μεταξύ των υπό μελέτη μεταχειρίσεων, διακρίθηκε το hydropriming, ξεπερνώντας όλες τις μεταχειρίσεις και τον μάρτυρα (24,34% έναντι 5,19%). Περαιτέρω, θετική ήταν η επίδραση της εφαρμογής 100 mM NaCl (6,62%), όπου σημειώθηκε μικρή υπεροχή έναντι του μάρτυρα. Το σύνολο των υπόλοιπων μεταχειρίσεων εμφάνισε όμοιες τιμές WC με το μάρτυρα (5,19%) (Πίνακας 3.2.2.7, Γράφημα 3.2.2.4).

Πίνακας 3.2.2.7: Ποσοστό απορρόφησης νερού ανά μεταχείριση την 24η ημέρα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΗΜΕΡΕΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
24 ^η	5,19b	24,34a	5,19b	6,62b	5,19b	5,19b	5,19b	5,19b

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



Γράφημα 3.2.2.4: Ποσοστό απορρόφησης νερού (WC%) ανά μεταχείριση την 24η ημέρα.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Η ποσοστιαία διαφορά έναντι του μάρτυρα ανέδειξε δύο μεταχειρίσεις ως υπερέχουσες. Συγκεκριμένα, το hydropriming και η εφαρμογή 100 mM NaCl εμφάνισαν σημαντική αύξηση έναντι του μάρτυρα, η οποία κυμάνθηκε στο 369,15% και 27,63% αντίστοιχα. Στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις σημειώθηκε μηδενική διαφορά καθώς εμφάνισαν όμοιες με το μάρτυρα τιμές WC (Πίνακας 3.2.2.8).

Πίνακας 3.2.2.8: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για το ποσοστό απορρόφησης του νερού (WC%).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100m
-	-369,15	0	-27,63	0	0	0	0

3.2.5 Δείκτης ευρωστίας σποροφύτων (SVI%)

Για τον δείκτη ευρωστίας των σποροφύτων παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλες τις ημέρες λήψης παρατηρήσεων (Πίνακας 3.2.2.9, Γράφημα 3.2.2.5) .

Ξεκινώντας με την 17η ημέρα, καλύτερη απόκριση σημειώθηκε στο hydropriming (30%) καθώς και κατά την εφαρμογή NaCl (22,2% και 22,5% στο επίπεδο των 50 mM τα 100 mM NaCl αντίστοιχα), σημειώνοντας σημαντική υπεροχή έναντι του μάρτυρα (16,5%). Ως πιο αναποτελεσματική αναδείχθηκε η εφαρμογή 50 mM GA₃ που εμφάνισε ιδιαιτέρως χαμηλό δείκτη ευρωστίας συγκριτικά τόσο με το μάρτυρα όσο και με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις (2,4%) (Πίνακας 3.2.9 ,Γράφημα 3.2.2.5).

Συνεχίζοντας, την 24η ημέρα παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές, οι οποίες μάλιστα αποτυπώθηκαν και στη γενική κατάταξη των μεταχειρίσεων. Αξίζει να αναφερθεί ότι το σύνολο των μεταχειρίσεων, με εξαίρεση την εφαρμογή 50 mM GA₃, εμφάνισαν υψηλότερες τιμές SVI σε σχέση με το μάρτυρα. Ως πλέον θετική αναδείχθηκε η επίδραση του hydropriming, όπου σημειώθηκε υπερδιπλασιασμός του SVI σε σχέση με το μάρτυρα (34,2% έναντι 16,2%), ακολουθούμενου από την εφαρμογή 100 mM NaCl (31,5%). Είναι επίσης

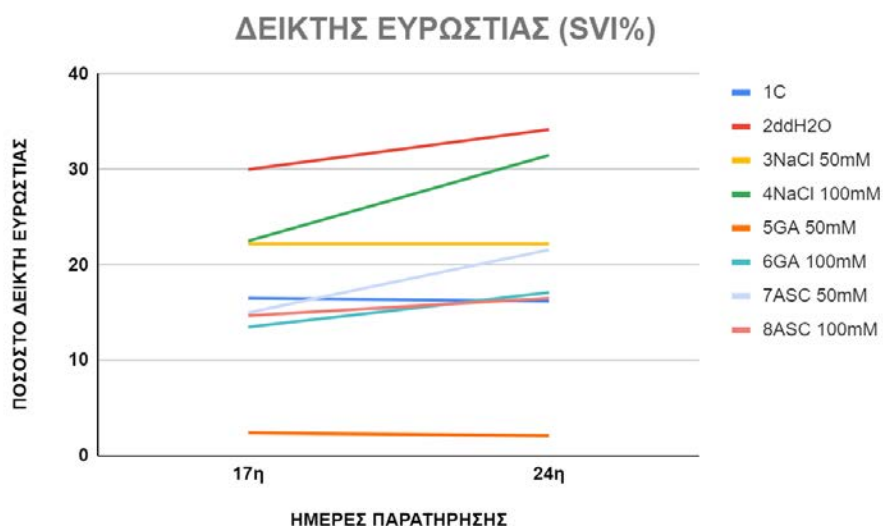
ενδιαφέρον ότι η εφαρμογή 50 mM ASC εμφάνισε σημαντική αύξηση σε σχέση με την 17^η ημέρα, συνιστώντας πλέον την τρίτη πιο αποτελεσματική μεταχείριση (21,6%).

Όπως προαναφέρθηκε, το χαμηλότερο SVI αφορούσε στην εφαρμογή 50 mM GA₃, το οποίο παρέμεινε σε ιδιαίτερος χαμηλό επίπεδο. Είναι ωστόσο σημαντικό να τονιστεί πως οι τιμές αυτές δεν είναι εξολοκλήρου αντιπροσωπευτικές καθώς στην εν λόγω μεταχείριση σημειώθηκε αδυναμία επιβίωσης, ήδη από την 17^η ημέρα, των σποροφύτων παρουσία της καταπόνησης υψηλής αλατότητας (Πίνακας 3.2.2.9, Γράφημα 3.2.2.5).

Πίνακας 3.2.2.9: Δείκτης ευρωστίας σποροφύτων ανά μεταχείριση σε δύο χρονικά διαστήματα.

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης								
ΗΜΕΡΕΣ	C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100mM
17 ^η	16,5ab	30a	22,2ab	22,5ab	2,4b	13,5ab	15ab	14,7ab
24 ^η	16,2ab	34,2a	22,2ab	31,5a	2,1b	17,1ab	21,6ab	16,5ab

*Οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με LSD (p≤0.05).



Γράφημα 3.2.2.5: Δείκτης ευρωστίας σποροφύτων ανά μεταχείριση σε δύο χρονικά διαστήματα.

Διαφορά έναντι του μάρτυρα

Βάσει της ποσοστιαίας διαφοράς των μεταχειρίσεων σε σχέση με το μάρτυρα, είναι εμφανής η θετική επίδραση του συνόλου σχεδόν των εφαρμογών διέγερσης στο δείκτη ευρωστίας των σποροφύτων. Μοναδική εξαίρεση στη γενικευμένη θετική επίδραση των μεταχειρίσεων αποτέλεσε η εφαρμογή 50 mM GA₃, όπου παρατηρήθηκε σημαντική μείωση έναντι του μάρτυρα (87,04%). Ως πλέον αποτελεσματική μεταχείριση κρίθηκε το hydropriming, όπου σημειώθηκε η μεγαλύτερη αύξηση του δείκτη ευρωστίας (της τάξης του 111,11%) σε σχέση με το μάρτυρα (Πίνακας 3.2.2.10).

Πίνακας 3.2.2.10: Διαφορά έναντι του μάρτυρα για τον δείκτη ευρωστίας των σποροφύτων (SVI%).

Μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης							
C	ddH ₂ O	NaCl 50mM	NaCl 100mM	GA ₃ 50mM	GA ₃ 100mM	ASC 50mM	ASC 100m
-	-111,11	-37,04	-94,4	87,04	-5,55	-33,33	-1,85

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το φασκόμηλο, με επιστημονική ονομασία *Salvia officinalis* L., αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο φυτικό είδος λόγω των πολλαπλών χρήσεων που εκτείνονται από τη βιομηχανία τροφίμων έως και την παραδοσιακή ιατρική για τη θεραπεία ποικίλων ασθενειών (Delamare et al., 2007; Bouajaj et al., 2013; Jakovljević et al., 2019). Με δεδομένο ότι η επίδραση των τεχνικών διέγερσης στο φασκόμηλο έχει τύχει ελάχιστης διερεύνησης (Sharma et al., 2019), η παρούσα διπλωματική εργασία επικεντρώθηκε στη μελέτη της επίδρασης διαφόρων μεταχειρίσεων επαγωγής της βλάστησης διεξάγοντας δύο πειράματα. Στο πρώτο πείραμα, μελετήθηκαν οι αποκρίσεις του είδους *Salvia officinalis* στις υπό μελέτη τεχνικές διέγερσης υπό κανονικές συνθήκες, ενώ στο δεύτερο μελετήθηκαν οι επιδράσεις των διεγερτών παρουσία καταπόνησης αλατότητας σε δύο επίπεδα στρες (75 mM και 150 mM NaCl). Το ενδιαφέρον για την μελέτη της απόκρισης στις μεταχειρίσεις επαγωγής της βλάστησης προκάλεσε η παρατηρούμενη τάση για χαμηλή βλαστική ικανότητα καθώς και οι δυσκολίες στη μετέπειτα ανάπτυξη των σποροφύτων αλλά και στην εγκατάσταση της καλλιέργειας.

Στο πρώτο πείραμα, όπου μελετήθηκε η επίδραση των υπό μελέτη τεχνικών επαγωγής της βλάστησης υπό κανονικές συνθήκες, τα ευρήματα ανέδειξαν την ύπαρξη σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων και του μάρτυρα. Ειδικότερα, για όλες τις υπό μελέτη παραμέτρους, με εξαίρεση το μήκος του βλαστού, η στατιστική ανάλυση κατέδειξε τη θετική επίδραση της προεπεξεργασίας των σπόρων με 50 mM GA₃, το οποίο οδήγησε σε αύξηση του ποσοστού βλάστησης των σπόρων, του μήκους ρίζας αλλά και του δείκτη ευρωστίας των σποροφύτων σε σχέση με ο μάρτυρα. Τα ευρήματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με προηγούμενες αναφορές σχετικά με τη θετική επίδραση της ορμονικής επαγωγής με γιββεριλλικό οξύ στο φασκόμηλο, όπου επίσης παρατηρήθηκε αυξημένη ικανότητα βλάστησης έπειτα από προεπεξεργασία των σπόρων (Abdani Nasiri et al., 2018). Ως προς τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, το σύνολο των ευρημάτων υπογραμμίζει την υπεροχή του μάρτυρα, υποδεικνύοντας ότι οι υπό μελέτη τεχνικές διέγερσης δεν επιδρούν θετικά στα γνωρίσματα που σχετίζονται με τη βλάστηση και την ανάπτυξη των σποροφύτων. Αναφορικά με την περιεκτικότητα των ιστών σε χλωροφύλλες και καροτενοειδή, παρατηρήθηκε αύξηση έπειτα από την εφαρμογή 100 mM GA₃, 100 mM NaCl και 100 mM ASC.

Με δεδομένο ότι ολοένα και περισσότερες μελέτες υπογραμμίζουν ότι οι εφαρμογές του seed priming μπορούν να μειώσουν τον αρνητικό αντίκτυπο της αλατότητας στις βλαστικές και αναπτυξιακές παραμέτρους των σποροφύτων (Guo et.al., 2022, Khan et.al., 2009), το δεύτερο

πείραμα εστίασε στη μελέτη της επίδρασης των τεχνικών επαγωγής της βλάστησης υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας, σε δύο επίπεδα στρες (75 mM και 150 mM NaCl). Τα ευρήματα της μελέτης υπογραμμίζουν τη θετική επίδραση του seed priming στα γνωρίσματα που συνδέονται με τη βλάστηση και την ανάπτυξη των νεαρών σποροφύτων. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε μία γενικευμένη τάση βελτίωσης του συνόλου των παραμέτρων που μελετήθηκαν έπειτα από προεπεξεργασία των σπόρων με ενυδάτωση (hydropriming) καθώς και εφαρμογή NaCl (50 mM και 100 mM). Μοναδική εξαίρεση στην τάση αυτή αποτέλεσε το μήκος ρίζας των σποροφύτων, υπό συνθήκες καταπόνησης στο επίπεδο των 150 mM NaCl, όπου ο μάρτυρας επικράτησε όλων των μεταχειρίσεων. Τα ευρήματα αυτά ενισχύουν περαιτέρω προηγούμενες αναφορές σχετικά με τη θετική επίδραση της εφαρμογής NaCl ως μέσου priming στην αύξηση του ριζιδίου και του βλαστού των σποροφύτων αλλά και στο τελικό τους μέγεθος καθώς στους σπόρους έχουν ήδη ξεκινήσει οι μεταβολικές διεργασίες που σχετίζονται με τη διαδικασία της βλάστησης (Khan et al., 2009, Mavi et al., 2006). Σύμφωνα με τους Guo et al. (2022), το NaCl συνέβαλε και στην αύξηση του νωπού και ξηρού βάρους των σποροφύτων, το οποίο μπορεί να διακριθεί και στην παρούσα έρευνα αφού αυξήθηκε το ποσοστό απορρόφησης νερού των σποροφύτων (WC %). Η προσέγγιση αυτή της επεξεργασίας των σπόρων με χαμηλής ή/και μέσης συγκέντρωσης διαλύματα αλάτων πριν τη σπορά έχει προταθεί ότι συμβάλλει στη βελτίωση της ανεκτικότητας σε επακόλουθη καταπόνηση αλατότητας καθώς επάγει φυσιολογικές και βιοχημικές μεταβολές στους σπόρους, οι οποίες ενισχύουν το δυναμικό βλάστησης και ανάπτυξης υπό συνθήκες καταπόνησης.

Περαιτέρω, θετική ήταν και η επίδραση τόσο του γιββερίλλικού όσο και του ασκορβικού οξέος, ιδιαίτερα υπό συνθήκες καταπόνησης στο επίπεδο των 150 mM NaCl. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες όπου αναφέρεται πως η εφαρμογή γιββερελλικού οξέος και ασκορβικού οξέος μπορεί να βελτιώσει το ποσοστό βλάστησης υπό συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης (Ortega- Baes et al., 2010, Rezaie et al, 2013). Ακόμα, επιβεβαιώνεται και η έρευνα των Costa et al. (2021) πως η εφαρμογή του γιββερελλικού οξέος βελτιώνει εκτός του ποσοστού βλάστησης και τα μήκη βλαστού και ρίζας των σποροφύτων.

Επιπλέον, ένα σημαντικό εύρημα της παρούσας διπλωματικής διατριβής είναι η θετική επίδραση της τεχνικής ενυδάτωσης των σπόρων (hydropriming), η οποία αποτέλεσε μία από τις μεταχειρίσεις που οδήγησαν σε δραστηκή ενίσχυση της βλαστικής ικανότητας και του αναπτυξιακού δυναμικού των σποροφύτων. Είναι δε αξιοσημείωτο ότι το hydropriming επέδρασε θετικότατα υπό συνθήκες καταπόνησης, υπογραμμίζοντας τη σημαντική δυναμική του ως μέθοδο επαγωγής της βλάστησης αλλά και άμβλυνσης των αρνητικών επιπτώσεων της

καταπόνησης αλατότητας. Ειδικότερα, στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι υπό συνθήκες καταπόνησης το hydropriming συμβάλλει σε βελτίωση του ποσοστού βλάστησης, του μήκους του βλαστού και της ρίζας και συνεπακολούθως του δείκτη ευρωστίας των σποροφύτων. Τα ευρήματα αυτά συνάδουν πλήρως με προηγούμενες αναφορές σχετικά με τη θετική επίδραση του hydropriming στο ποσοστό βλάστησης (Stoian et al., 2024) καθώς και στο δείκτη ευρωστίας υπό συνθήκες καταπόνησης (Costa et al., 2021).

Συνοψίζοντας, τα ευρήματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας συμβάλλουν στη διεύρυνση της γνώσης σχετικά με τις επιδράσεις του seed priming στο φασκόμηλο, προσφέροντας προοπτικές αντιμετώπισης των προβλημάτων που συνδέονται με το χαμηλό δυναμικό βλάστησης και ανάπτυξης των φυτών κατά τα πρώιμα στάδια. Αξίζει δε να αναφερθεί ότι λόγω των περιορισμένων σχετικών μελετών στο φασκόμηλο, δεν προσφέρεται μία θεμέλια βάση για τη σύγκριση των ευρημάτων με αντίστοιχα άλλων ερευνών και την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με τη δυναμική των υπό μελέτη τεχνικών να συμβάλλουν σε ενίσχυση της βλάστησης. Στο πλαίσιο αυτό, η παρούσα μελέτη αποτελεί ένα αρχικό υπόβαθρο για την κατανόηση της απόκρισης του φασκόμηλου στην προεπεξεργασία των σπόρων. Με βάση τα συνολικά ευρήματα της μελέτης, η επίδραση των τεχνικών seed priming υπήρξε θετική τόσο υπό κανονικές όσο και υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας, επιβεβαιώνοντας προηγούμενες αναφορές σχετικά με τη χρήση τους ως μέσου άμβλυνσης των δυσμενών επιπτώσεων της καταπόνησης. Μελλοντικά, η διεξαγωγή πρόσθετων ερευνών στο πεδίο των φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών, και συγκεκριμένα στο φυτικό είδος *Salvia officinalis*, θα επιτρέψει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων και την ανάπτυξη βελτιστοποιημένων πρωτοκόλλων που συμβάλλουν σε ουσιαστική ενίσχυση του δυναμικού βλάστησης και ανάπτυξης των φυτών στο φασκόμηλο.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abdani Nasiri A., Mortazaeinezhad F., Taheri R. (2018). Seed germination of medicinal sage is affected by gibberellic acid, magnetic field and laser irradiation. *Electromagnetic Biology and Medicine* 37(1): 50-56.
2. Afzal I., Shahzad M.A, Muhammad F., Nawaz A. (2006). Alleviation of Salinity Stress in Spring Wheat by Hormonal Priming with ABA, Salicylic Acid and Ascorbic Acid. *International Journal of Agriculture & Biology*: 23-28.
3. Appetiti E. and Touwaide A. (2023). Herbs in History: Sage. American Herbal Products association.
4. Ashraf M. and Harris P.J.C (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, Volume 166, Issue 1: 3-16.
5. Bakht J., Jamal Y., Sher H. (2011). Response of maize (*Zea mays* L.) to seed priming with NaCl and salinity stress. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9(1): 252-261.
6. Bouajaj S., Benyamna A., Bouamama H., Romane A., Falconieri D., Piras A., Marongiu B. (2013). Antibacterial, allelopathic and antioxidant activities of essential oil of *Salvia officinalis* L. growing wild in the Atlas Mountains of Morocco. *Natural Product Research* 27(18): 1673-1676.
7. Camara J.S., Perestrelo R., Ferreira R., Berenguer C.V., Pereira J.A.M., Castilho P.C. (2024). Plant- Derived Terpenoids: A Plethora of Bioactive Compounds with Several Health Functions and Industrial Applications- A Comprehensive Overview. *Molecules* 29 (16): 3861.
8. Carillo P., Grazia Annunziata M., Pontecorvo G., Fuggi A., Woodrow P. (2010). Salinity Stress and Salt Tolerance: 21-22.
9. Costa A., Pereira de Paiva E., Barros Torres S., Neta M.L., Pereira K.T., Leite M., Silva Sa F. (2021). Seed priming improves *Salvia hispanica* L. seed performance under salt stress. *Acta Scientiarum. Agronomy*, Volume 43: e522006.
10. Delamare A.P.L., Moschen-Pistorello I.T., Artico L., Atti-Serafini L., Echeverrigaray S. (2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry* 100(2): 603-608.
11. Dastanpoor N., Fahimi H., Shariati M., Davazdahemami S., Hashemi S. (2013). Effects of hydropriming on seed germination and seedling growth in sage (*Salvia officinalis* L.) *African Journal of Biotechnology*, Volume 12, No.11.

12. Es-sbihi F.Z., Hazzoumi Z., Joutei K.A. (2021). Improving salinity tolerance in *Salvia officinalis* L. by foliar application of salicylic acid. Chem. Biol. Biol. Technol. Agric. 8: 25.
13. Gershenzon J. and Pichersky E. (2002). The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. Current Opinion in Plant Biology, 237-243.
14. Ghorbani A. And Esmailizadeh M. (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. Journal of Traditional and Complementary Medicine: 433-440.
15. González-Tejero M.R, Casares-Porcel M., Sánchez-Rojas C.P, Ramiro-Gutiérrez J.M., Molero-Mesa J., Pieroni A., Giusti M.E., Censorii E., de Pasquale C., Della A., Paraskeva-Hadjichambi D., Hadjichambis A., Houmani Z., El-Demerdash M., El-Zayat M., Hmamouchi M., ElJohrig S. (2008). Medicinal plants in the Mediterranean area: Synthesis of the results of the project Rubia: Journal of Ethnopharmacology: 341-357.
16. Guo X., Zhi W., Feng Y., Zhou G., Zhu G. (2022). Seed priming improved salt-stressed sorghum growth by enhancing antioxidative defense. PLoS ONE 17(2): e0263036.
17. Gupta V. (2003). Seed germination and dormancy breaking techniques for indigenous medicinal and aromatic plants. J Med Arom Plant Sci: 402-407.
18. Hausner R., Poppenga H. (2013). Hazards associated with the use of herbal and other natural products. Small animal toxicology: 335-356.
19. Heywood V.H. and Dulloo M.E. (2005). In situ conservation of wild plant species: a critical global review of best practices. IPGRI Technical Bulletin: 3-7.
20. Hoch C., Petry J., Griesbaum L., Weiser T., Werner K., Ploch M., Verschoor A., Multhoff G., Dezfouli A., Wollenberg B. (2023). 1,8-cineole (eucalyptol): A versatile phytochemical with therapeutic applications across multiple diseases. Biomedicine & Pharmacotherapy: 115467.
21. Huang H., Han X., Kang L., Raven P., Jackson P.W., Chen Y. (2002). Conserving native plants in China. Science, 297: 935-936.
22. Huang Z., Zhang X., Zheng G., Gutterman Y. (2003). Influence of light, temperature, salinity and storage on seed germination of *Haloxylon ammodendron*. Journal of Arid Environments: 453-464.
23. Jamil M., Umar Q. and M. (2006) Utilization of Sewage Sludge as Organic Fertiliser in Sustainable Agriculture. Journal of Applied Sciences 6 (3): 531-535.

24. Jakovljević M., Jokić S., Molnar M., Jašić M., Babić J., Jukić H., Banjari I. (2019). Bioactive profile of various *Salvia officinalis* L. preparations. *Plants* 8(3): 55.
25. Kader M. (2005). A comparison of seed germination calculation formulae and the associated interpretation of resulting data. *J Proc R Soc NSW* 138: 65-75.
26. Kandari LS., Rao KS., Chauhan K., Maikhuri RK., Purohit VK., Phondani PC., Saxena KG (2007). Effect of Presowing Treatments on the Seed Germination of two Endangered Medicinal Herbs of the Himalaya (*Angelica glauca* Edwew and *Pleurospermum angelicoides* (Wall. Ex DC.) Benth. Ex C.B. Clarke). *Proc Indian Natn Sci Acad* 73: 11-16.
27. Khalid M., Hussain S., Anjum M., Ejaz S., Ahmad M., Jan M., Zafar S., Zakir I., Afril Ali M., Ahmad N., Junaid Rao M., Ahmad S. (2019). Hydropriming for Plant Growth and Stress Tolerance. *Springer Nature Link*: 373-384.
28. Khan A., Maguire J.D., Abawi G.S., Ilyas S. (1992). Matricconditioning of vegetable seeds to improve stand establishment in early field plantings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117: 41-47.
29. Khan H.A, Ayub C.M., Pervez M.A., Bilal R.M., Shahid M.A., Ziaf K. (2009). Effect of seed priming with NaCl on Salinity tolerance of hot pepper (*Capsicum annum* L.) at seedling stage. *Soil and Environment*, Volume 28 (1): 81-87.
30. Lopresti A. (2016), *Salvia* (Sage): A review of its Potential Cognitive- Enhancing and Protective Effects. *Springer Nature Link*: 53-64.
31. Marchev A., Vasileva L., Amirova K., Savova M., Koycheva I., Sivenova Z., Vasileva S., Geogiev M. (2021). Rosmarinic acid- From bench to valuable applications in food industry. *Trends in Food Science & Technology*:182-193.
32. Mauder M., Higgins S., Culham A. (2001). The effectiveness of botanical garden collections in supporting plant conservation: a European case study. *Biodiversity and Conservation* 10: 383- 401.
33. Mavi K., Ermis S., Demir I. (2006). The Effect of Priming on Tomato Rootstock Seeds in Relation to Seedling Growth. *Asian Journal of Plant Sciences* 5(6): 940-947.
34. Murashige T and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 473-97.
35. Ortega –Baes P., Suhring S., Sajama J., Sotola E., Alonso- Pedano M., Bravo S., Godinez- Alvarez H. (2010). Diversity and Conservation in the Cactus Family. In *desert Plants: Biol. Biotechnol*: 1-503.

36. Pawar V.A. and Laware S.L. (2018). Seed Priming: A Critical Review. International Journal of Scientific Research in Biological Sciences: 094-101.
37. Pignocchi C. and Foyer C.H. (2003). Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signalling. Current Opinion in Plant Biology, Volume 6, Issue 4: 379-389.
38. Pitarokili D., Couladis M., Petsikos – Panayotarou N., Tzakou O. (2002). Composition and Antifungal Activity on Soil – Borne Pathogens of the Essential oil of *Salvia sclarea* form Greece. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50, 23: 6688-6691.
39. Preedy V.R and Watson R.R. (2016). Fruits, Vegetables and Herbs: Bioactive foods in health promotion: 41-42.
40. Pulliam H.R. (2000). On the relationship between niche and distribution. Ecology Letters: 3: 349-361.
41. Razaji A., Farzanian M., Sayfzadeh S. (2014). The effects of seed priming by ascorbic acid on some morphological and biochemical aspects of rapeseed (*Brassica napus* L.) under drought stress condition. International Journal of Biosciences, Volume 4, No. 1: 432-442.
42. Resetnik I., Baricevic B., Batir Rusu D., Carovic-Stanko K., Chatzopoulou P, Dajic Stevanović Z., Goncariuc M., Grdisa M., Greguras D., Ibraliu A., Jug-Dujakovic M., Krasniqi E., Liber Z., Murtic S., Pecanac D., Radosavljevic I., Stefkov G., Stesevic D., Sostaric I., Satovic Z, (2016). Diversity and Demographic History of Wild and Cultivated/ Naturalised Plant Populations: Evidence from Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L., Lamiaceae. Plos org.
43. Rezaie E.E., Haghighikhah M., Ghorbani S., Kafi M. (2012). Effect of seed priming on seed germination properties of two medicinal species in the presence of salinity. Journal of Medicinal Plants Research, Volume 7(18): 1234-1238.
44. Salahas G., Kaspiris G., Konstantopoulou E. (2012). Influence of light intensity on growth and physiological characteristics of common sage (*Salvia officinalis* L.). Biological and Applied Sciences.
45. Samuelsson G. (2004). Drugs of natural origin: a textbook of pharmacognosy. 5th Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm.
46. Sharma Y., Fagan J., Schaefer J. (2019). Ethnobotany, phytochemistry, cultivation and medicinal properties of Garden sage (*Salvia officinalis* L.). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry: 3139- 3148.

47. Sharma Y., Thimmaiah A., Schaefer J., Fagan J. (2018). Standardization of organic seed priming techniques in Garden Sage (*Salvia officinalis* L.). International Journal of Medicinal Plants: 877-887.
48. Singh S. and Sashidhara K. (2017). Lipid lowering agents of natural origin: An account of some promising chemotypes. European Journal of Medicinal Chemistry: 331-348.
49. Solomou A. D., Martinos K., Skoufogianni E., Danalatos N. G. (2016). Medicinal and aromatic plants in Greece and their future prospects: A review. Agricultural Science, 4 (1): 9-21.
50. Solomou A., Skoufogianni E., Kamperllari F. (2017), Patterns of herbaceous plant species richness composition and soil properties in an organic cultivation “lemon verbena” and abandoned agroecosystems of Greece. Agriculture & Forestry: 35-42.
51. Stoian V., Gadea S., Vidican R., Balint C., Vatca A., Trusca M., Horvat M., Brozovic B., Camen D., Vatca S. (2024). Seed priming methods tested on *Salvia officinalis* L. germination according to BBCH scale. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, Volume 52, No. 2.
52. Taiz L., Zeiger E. (2010). Secondary metabolites and plant defense. Sinauer Associates (Ed.), Plant Physiology. Incorporated Publishers, Sunderland, USA: 283-307.
53. Takemiya A., Shin-ichiro I., Michio D., Kinoshita T., Shimszakiet K. (2005). Phototropins Promote Plant Growth in Response to Blue Light in Low Light Environments. The Plant Cell, 17(4): 1120- 1127.
54. Tharachand C., Selvaraj I., Mythili MN. (2012). Molecular markers in characterization of medical plants: An overview. Plant Biology: 2(2).
55. Turtola S., Manninen A., Rikala R., Kainulainen P. (2003). Drought Stress Alters the Concentration of Wood Terpenoids in Scots Pine and Norway Spruce Seedlings. Springer Nature Link: 1981-1995.
56. Venkata N.K and Karumuri S.S. (2011). Conservation of medical plants (Past, Present & Future Trends. J.Pharm. Sci. & Res.:1378-1386.
57. Wakjira K., Negash L. (2013). Germination responses of *Croton macrostachyus* (Euphorbiaceae) to various physico- chemical pretreatment conditions. South African Journal of Botany: 76-83.
58. Wang W. Q., Liu S. J., Song S.Q., Moller I.M. (2015). Proteomics of seed development, desiccation tolerance, germination and vigor. Plant Physiology and Biochemistry: 1-15.

59. Wong KL, Wong RN, Zhang L, Liu WK, Ng TB, Shaw PC, Kwok PCL, Lai YM, Zhang ZJ, Zhang YB, Tong Y, Cheung H, Lu J, Wing SC. (2014). Bioactive proteins and peptides isolated from Chinese medicines with pharmaceutical potential. *Chin Med.*, 9: 19.
60. Xia J., Hao X., Wang T., Li H., Shi X., Liu Y., Luo H. (2023). Seed Priming with Gibberellin Regulates the Germination of Cotton Seeds Under Low-Temperature Conditions. *Springer Nature Link*, Volume 42: 319-334.
61. Zulfiqar F. (2021). Effect of seed priming on horticultural crops. *Scientia Horticulturae*: 110197.
62. Πετρόπουλος Σ. (2016). Αρωματικά φυτά με λαχανοκομική χρήση. Εκδόσεις έμβryo.: 39- 41.