



ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Αξιολόγηση της Επίδρασης Διαφορετικών Μεθόδων
Βλάστησης Σπόρων Σπαραγγιού (*Asparagus officinalis*
L.) σε *in vitro* Συνθήκες**

ΙΩΑΝΝΑ ΖΑΧΑΡΟΒΑ ΜΑΡΚΑΡΟΒΑ

ΔΕΚΕΜΒΙΟΣ, 2020

ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΚΑΘ. ΓΡΑΜΜΑΤΙΚΑΚΗ-ΑΥΓΕΛΗ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑ

ΚΑΘ. ΔΡΑΓΑΣΑΚΗ ΜΑΓΔΑΛΗΝΗ

ΚΑΘ. ΠΑΠΑΔΗΜΗΤΡΙΟΥ ΜΙΧΑΗΛ

**ΤΟ ΕΡΓΟ ΑΥΤΟ ΥΛΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ, ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΤΟΥ ΤΕΙ ΚΡΗΤΗΣ .**

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διατριβή ξεκίνησε και ολοκληρώθηκε στο Εργαστήριο Γεωργίας και Παραγωγής Πολλαπλασιαστικού Υλικού του τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων της Σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας & Τεχνολογίας Τροφίμων, του ΤΕΙ Κρήτης με την επιστημονική υποστήριξη του Εργαστηρίου Γεωργίας και Παραγωγής Πολλαπλασιαστικού Υλικού. Αυτή τη στιγμή που το έργο έχει ολοκληρωθεί, θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτρια Γαρυφαλλιά Γραμματικάκη-Αυγελή για την δυνατότητα που μου έδωσε να εργαστώ στο προαναφερόμενο Εργαστήριο και να πραγματοποιήσω την πτυχιακή μου μελέτη. Ευχαριστώ επίσης, τους συνεργάτες του Εργαστηρίου, για τη στήριξη και βοήθεια που μου προσέφεραν, προκειμένου να πραγματοποιηθεί η συγκεκριμένη πειραματική εργασία.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	3
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT	9
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	11
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
1.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ	12
2 ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΣΠΑΡΑΓΓΙΟΥ ΣΤΟΝ ΚΟΣΜΟ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ	12
3 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	14
4 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΣΠΑΡΑΓΓΙΟΥ	15
4.1 ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ	16
4.1.1 ΥΠΕΡΓΕΙΟ ΜΕΡΟΣ	16
4.1.2 ΥΠΟΓΕΙΟ ΜΕΡΟΣ	16
5 ΣΠΟΡΟΣ	18
5.1 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΣΠΟΡΟΥ	18
5.2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΔΙΑΚΟΠΗΣ ΛΗΘΑΡΓΟΥ	18
5.3 ΣΤΡΩΜΑΤΩΣΗ	19
5.4 ΣΚΑΡΙΦΑΡΙΣΜΑ	20
5.4.1 ΜΗΧΑΝΙΚΟ ΣΚΑΡΙΦΑΡΙΣΜΑ- ΤΡΥΠΗΜΑ ΜΙΚΡΟΠΥΛΗΣ	20
5.5 ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΣΠΑΡΑΓΓΙΟΥ ΚΑΤΩ ΑΠΟ IN VIVO ΚΑΙ IN VITRO ΣΥΝΘΗΚΕΣ	21
6 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ	21
6.1 ΕΛΑΦΟΚΑΙΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	21
6.2 ΕΠΟΧΗ ΣΠΟΡΑΣ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΑΣΕΙΣ ΦΥΤΕΥΣΗΣ	22
6.3 ΛΙΠΑΝΣΗ	22
6.4 ΣΥΓΚΟΜΙΛΗ ΚΑΙ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΣΥΓΚΟΜΙΛΗΣ	22
6.5 ΜΕΤΑΣΥΛΕΚΤΙΚΕΣ ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ	23
7 ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΚΑΙ ΖΩΙΚΟΙ ΕΧΘΡΟΙ	23
7.1 ΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΤΟΥ ΣΠΑΡΑΓΓΙΟΥ	24
7.2 ΖΩΙΚΟΙ ΕΧΘΡΟΙ ΤΟΥ ΣΠΑΡΑΓΓΙΟΥ	25
8 ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΣΠΑΡΑΓΓΙΟΥ	25
8.1 ΕΓΓΕΝΗΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ	26
8.1.1 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΕΓΓΕΝΟΥΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ	26
8.1.2 ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΕΓΓΕΝΟΥΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ	26

8.2	ΑΓΕΝΗΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ.....	27
8.2.1	ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΜΕ ΡΙΖΩΜΑΤΑ.....	27
8.2.2	ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ IN VIVO ΑΓΕΝΟΥΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ.....	27
9	ΜΙΚΡΟΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΠΑΡΑΓΓΙΟΥ.....	28
9.1	ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ.....	29
10	ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ.....	30
	ΣΚΟΠΟΙ ΤΗΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	32
	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	33
2	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	34
2.1	ΦΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΈΝΑΡΞΗΣ.....	34
2.2	ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ.....	35
2.2.1	ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΩΝ ΕΠΕΜΒΑΣΕΩΝ ΚΑΙ ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΗ ΤΩΝ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΑ ΡΕΤΡΙ ΚΑΙ ΚΩΝΙΚΕΣ ΦΙΛΑΕΣ.....	37
2.3	ΜΕΘΟΔΟΙ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ.....	40
2.4	ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΩΝ ΒΛΑΣΤΗΜΕΝΩΝ ΣΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΝΩΠΟΥ ΚΑΙ ΞΗΡΟΥ ΒΑΡΟΥΣ.....	41
3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	42
3.1	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΣΠΟΡΩΝ ΣΠΑΡΑΓΓΙΟΥ ΣΕ IN VITRO ΣΥΝΘΗΚΕΣ.....	43
3.2	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΣΠΑΡΑΓΓΙΟΥ ΣΕ IN VITRO ΣΥΝΘΗΚΕΣ.....	46
3.3	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΩΝ ΣΤΗΝ IN VITRO ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΣΠΟΡΩΝ ΣΠΑΡΑΓΓΙΟΥ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΤΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ.....	50
3.4	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΩΝ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΤΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΤΗΝ ΤΑΧΥΤΗΤΑ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΣΠΟΡΩΝ ΣΠΑΡΑΓΓΙΟΥ.....	54
4	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	56
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	58
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	61

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το *Asparagus officinalis* L. είναι αυτοφυές πολυετές είδος και ανήκει στην οικογένεια των Asparagaceae. Από τα 200 είδη του γένους *Asparagus* το *A. officinalis* είναι το πιο διαδεδομένο εδώδιμο είδος. Το σπαράγγι αποτελείται από το υπόγειο μέρος (ρίζωμα και σαρκώδεις ρίζες) και το υπέργειο (βλαστοί, φύλλα και άνθη). Το εδώδιμο τμήμα είναι οι βλαστοί (*spears*) και συγκομίζονται πριν το άνοιγμα της κορυφής. Το *A. officinalis* L. είναι δίοικο, ή σπάνια ανδρομονόικο, μονοκότυλο, με ορθόκλαδη ανάπτυξη. Τα άνθη του είναι μονήρη ή βλαστάνουν σε ομάδες των 2-3. Υπάρχουν ομογαμετικά θηλυκά είδη (XX), ετερογαμετικά αρσενικά είδη (XY) και ομογαμετικά αρσενικά είδη (YY). Τα τελευταία παρήχθησαν από επιχιασμό ετερογαμετικών αρσενικών. Τα ετερογαμετικά αρσενικά θεωρούνται ως παραγωγικότερα, ζωηρότερα και αποδοτικότερα των θηλυκών ενώ τα ομογαμετικά αρσενικά είναι ανθεκτικότερα σε διάφορες ασθένειες και δεν παράγουν σπόρους. Ο πολλαπλασιασμός του σπαραγγιού γίνεται με ριζώματα (αγενής πολλαπλασιασμός), όμως για την παραγωγή των ριζωμάτων, χρησιμοποιούνται αρχικά σπόροι σπαραγγιού (εγγενής πολλαπλασιασμός). Ένας εναλλακτικός και πιο σύγχρονος τρόπος αγενούς πολλαπλασιασμού είναι ο μικροπολλαπλασιασμός (*micropropagation*). Η ιστοκαλλιέργεια του σπαραγγιού γίνεται με την χρήση μασχαλιαίων οφθαλμών, ακραίων μεριστωμάτων, έκφυτων υποκοτυλίων και ριζιδίων.

Στόχος της παρούσης πειραματικής εργασίας είναι να αξιολογηθεί η επίδραση διαφορετικών μεθόδων βλάστησης σπόρων σπαραγγιού (*A. officinalis* L. var. *argenteuil*), αξιοποιώντας διαφορετικά υποστρώματα καλλιέργειας σε *in vitro* συνθήκες. Για το σκοπό αυτό, έγινε προμήθεια σπόρων του φυτού *A. officinalis* L. var. *argenteuil*, οι οποίοι καλλιεργήθηκαν σε κατάλληλα θρεπτικά υποστρώματα. Χρησιμοποιήθηκαν υποστρώματα σε στερεή μορφή (εμπλουτισμένα με 8g/ L άγαρ) και υγρή μορφή (χωρίς στερεοποιητικό). Το στερεό υπόστρωμα με βάση το Murashige και Skoog, 1962 ενισχύθηκε με myo-Inositol 100mg/L, Thiamina 2mg/L και σακχαρόζη 30gr/L. Στα υγρά υποστρώματα η οξυγόνωση του υπό καλλιέργεια φυτικού υλικού (σπόρου), επιτεύχθηκε με τη χρήση αδρανών υλικών (*inert materials*), όπως βαμβάκι και περλίτης, καθώς και καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (*liquid-shake culture*) με τη βοήθεια μιας συσκευής συνεχούς ανάδευσης (*rotary shaker*). Αμφότερα τα θρεπτικά υποστρώματα (στερεά και υγρά) εμπλουτίστηκαν με 6-βενζυλαμινοπουρίνη (BAP)

0.5mg/L.

Δοκιμάστηκαν τέσσερις μεθοδολογίες βλάστησης: α) Μάρτυρας δεν έγινε καμία μεταχείριση στο σπόρο, β) Ενυδάτωση των σπόρων για 12h σε θερμοκρασία δωματίου (24-25°C) και στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 5°C, γ) Ενυδάτωση των σπόρων για 12h σε θερμοκρασία δωματίου (24-25°C), στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 5°C και soaking για 24h στους 24-25°C, δ) Μηχανικό σκαριφάρισμα με τρύπημα μικροπύλης. Σε συνδυασμό με τις τέσσερις προαναφερόμενες μεθοδολογίες, αξιολογήθηκαν τέσσερα διαφορετικά υποστρώματα καλλιέργειας των σπόρων: α) υπόστρωμα των Murashige and Skoog, 1962 στερεοποιημένο με άγαρ β) υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης των σπόρων το βαμβάκι, γ) υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης των σπόρων τον περλίτη και δ) καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (liquid-shake culture) με τη βοήθεια ενός περιστροφικού αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης (rotary shaker).

Για την καλλιέργεια των σπόρων στο στερεό υπόστρωμα και στα υγρά υποστρώματα με τη χρήση αδρανών υλικών (βαμβάκι και περλίτης) χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία Petri. Η καλλιέργεια των σπόρων σε υγρό ανακίνησης έγινε σε περιστροφικό αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης (rotary shaker). Ο συγκεκριμένος αναδευτήρας προγραμματίστηκε στις 90 στροφές/min (rpm-revolution per minute), θερμοκρασία 25°C, 16 ώρες φωτοπερίοδο και ένταση φωτισμού 10.000 Lux. Στην περίπτωση αυτή αντί για τρυβλία χρησιμοποιήθηκαν κωνικές φιάλες τύπου Erlenmeyer των 250ml. Για κάθε υπόστρωμα αξιοποιήθηκαν 7 τρυβλία και σε κάθε ένα καλλιεργήθηκαν 8 σπόροι ($7 \times 8 = 56$). Για την καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (liquid-shake culture) αξιοποιήθηκαν 6 κωνικές φιάλες/μεθοδολογία με 8 σπόρους/φιάλη. Συνολικά καλλιεργήθηκαν 864 σπόροι, (4 μεθοδολογίες x 216 σπόροι). Η επώαση των σπόρων έγινε σε ελεγχόμενες συνθήκες (θερμοκρασία 25°C, 16 ώρες φωτοπερίοδο και ένταση φωτισμού 3.500 Lux.) για 40 ημέρες. Ακολούθησε η αξιολόγηση καταγράφοντας τον αριθμό και το μήκος των βλαστών, τον αριθμό και το μήκος των ριζών, καθώς και το νωπό και ξηρό βάρος κάθε συστάδας. Η στατιστική δοκιμασία έγινε συγκρίνοντας τις μέσες τιμές με τη δοκιμή Duncan.

Από την στατιστική ανάλυση προκύπτει ότι, οι μέθοδοι βλάστησης δεν επηρέασαν κανένα από τα αξιολογημένα χαρακτηριστικά με τις τιμές να προσεγγίζουν εκείνες του μάρτυρα. Σε αντίθεση με τις μεθόδους βλάστησης, στις επεμβάσεις (υποστρώματα) καταγράφεται μια σημαντική επίδραση, συγκεκριμένα: στο στερεό υπόστρωμα (μάρτυρας) αναπτύχθηκαν περισσότερες και με μεγαλύτερο μήκος ρίζες, ενώ στο υγρό ανακίνησης προέκυψαν περισσότεροι και με μεγαλύτερο μήκος βλαστοί, ευνοώντας παράλληλα την απόδοση σε νωπό και ξηρό βάρος. Όσον αφορά τις στατικές υγρές καλλιέργειες με συστήματα

υποστήριξης (βαμβάκι, περλίτης), εμφανίζουν σημαντική υστέρηση σε όλα τα αξιολογημένα χαρακτηριστικά. Σχετικά με την ταχύτητα βλάστησης των σπόρων, προκύπτει μια σαφής υπεροχή στους σπόρους που καλλιεργήθηκαν στο στερεό υπόστρωμα, καθώς και στο υγρό ανακίνησης και στις τέσσερις μεθόδους ανάπτυξης.

ABSTRACT

Asparagus officinalis L is a perennial wild and cultivated species belonging to the *Asparagaceae* family. Out of the 200 species of the genus *Asparagus*, *A. officinalis* is the most common edible species. *Asparagus* consists of the underground part (root and fleshy roots - crown) and the aboveground (shoots - spears, leaves and flowers). Is a dioecious, rarely andromonoecious, monocotyl and reaches a height of 1 to 2 meters. Its flowers are solitary or in pairs of 2-3. There are homogametic female species (XX), heterogametic male species (XY) and homogametic male species (YY). The last were created through breeding heterogametic males. Heterogametic males are considered more productive than females, while homogametic males are more resistant to various diseases and do not produce seeds. The propagation of asparagus is achieved with rhizomes (crowns - vegetative multiplication), but seeds (sexual multiplication) are initially used to produce them. An alternative and more modern way of vegetative reproduction is micropropagation. Shoot apexes, nodal segments, hypocotyls and roots are used as explants for the micropropagation of *Asparagus*.

The present thesis aims to assess the effectiveness of different germination methods of asparagus seeds by exploiting different culture media under *in vitro* conditions. For this purpose, seeds of var. Argenteuil were supplied and cultivated on suitable culture media. Substrates were used in solid (8g/ L agar added) and liquid form (without solidifier). The solid substrate based on Murashige and Skoog (1962) was enriched with myo-inositol 100mg/L, thiamine 2mg/L and sucrose 30g/L. In liquid substrates, the oxygenation of the growing seeds was achieved by using inert materials, such as cotton and perlite, as well as cultivation in liquid-shake culture on a rotary shaker. Both nutrient substrates (solid and liquid) were reinforced with 6-benzylaminopurin (BAP) 0.5mg/L.

Four germination methods were tested: a) No treatment (control), b) Hydration of seeds for 12h at room temperature (24-25°C) and stratification for 5 days at 5°C, c) Hydration of seeds for 12h at room temperature (24-25°C), stratification for 5 days at 5°C and soaking for 24h at 24-25°C, d) Mechanical scarification by piercing the micropyle. In combination with the four mentioned methodologies, four different seed culture media were evaluated: (a) solid substrate of Murashige and Skoog (1962), (b) liquid substrate with cotton as seedling support material, (c) liquid substrate with perlite as seedling support material and (d) liquid-shake culture.

Petri dishes were used for seed cultivation in solid and liquid media with the support of

inert materials (cotton and perlite). For liquid-shake culture, 250ml Erlenmeyer flasks were used and programmed at 90 rpm, a temperature of 25°C, 16h of photoperiod and a lighting intensity of 10,000 Lux. Seven Petri dishes were used for each substrate and 8 seeds (7 x 8 = 56) were grown in each substrate. For the liquid-shake culture, 6 Erlenmeyer flasks/methodology with 8 seeds/flask were used. A total of 864 seeds were grown (4 methodologies x 216 seeds). The seeds were incubated under controlled conditions (temperature 25°C, 16h photoperiod and lighting intensity 3,500 Lux.) for 40 days. The evaluation was based on the selected data of number and length of stems, the number and length of roots, as well as the fresh and dry weight of each cluster. Averages of taken data were compared using Duncan's Multiple Range Test (MRT).

Germination methods did not affect the evaluated characteristics of sprouted asparagus seeds. The values ranged close to those of the control. Generally, the assessed characteristics were influenced by the type of nutrient substrate. Specifically, the solid substrate favored the development of roots larger in amount and size. Also sprouted seeds grown in liquid-shaking culture developed longer stems in larger amounts, while seeds grown in static liquid culture performed poorly in all evaluated characteristics. However, seeds grown on solid and liquid-shaking substrates showed a higher germination rate as well as a high rate of germination capacity in all four methods examined.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιστορική Αναδρομή

Το Σπαράγγι είναι ένα αυτοφυές είδος που συναντάται σε όλη την Ευρώπη, την Ασία και την Αφρική (Θανόπουλος, 2008, Anido και Cointry, 2008). Το σπαράγγι κατάγεται από την Ανατολική Ασία όπου εξημερώθηκε (Anido και Cointry, 2008) και καλλιεργείται για περισσότερο από 2000 χρόνια (Soltani *et al*, 2006). Το σπαράγγι πήρε την ονομασία του από την αρχαία Ιρανική λέξη “sparaega”, που σημαίνει «βλαστός», «καλάμι». Οι αρχαίοι Έλληνες και Ρωμαίοι, οι οποίοι υιοθέτησαν την καλλιέργεια του σπαραγγιού, ονόμασαν το φυτό «Ασπάραγος» και “Asparagus”, αντίστοιχα, χρησιμοποιώντας την Ιρανική ρίζα. Αργότερα, η καλλιέργεια του σπαραγγιού διασπάρθηκε σε όλη την Ευρώπη εξαιτίας της επέκτασης της Ρωμαϊκής αυτοκρατορίας. Ιστορικά γεγονότα φανερώνουν ότι, σπόροι σπαραγγιού ευρέθησαν στην Αραβία τον 13ο αιώνα και αυτοφυή είδη της Ισπανίας διαδόθηκαν, μετά την Αναγέννηση, εξαιτίας της καλλιέργειάς τους σε μοναστήρια και παλάτια για τις θεραπευτικές τους ιδιότητες (Anido και Cointry, 2008).

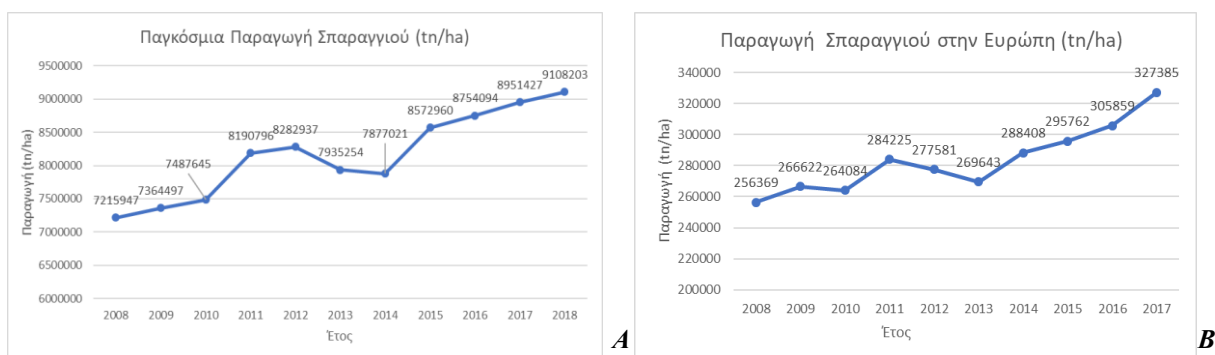
2 Καλλιέργεια του Σπαραγγιού στον κόσμο και στην Ελλάδα

Τα καλλωπιστικά, θεραπευτικά και κυρίως τα εδάδιμα είδη του σπαραγγιού καλλιεργούνται σε παγκόσμια κλίμακα (Anido και Cointry, 2008, Zenkteler *et al*, 2012). Κυριότερο εδάδιμο είδος είναι το *Asparagus officinalis* L. (Zenkteler *et al*, 2012), με την Κίνα να είναι η κύρια χώρα παραγωγής το 2018, με παραγωγή πάνω από 7,1εκ. τόνους. Ακολουθούν το Περού, το Μεξικό με τις περισσότερες εξαγωγές σπαραγγιού παγκοσμίως, αξίας 420 εκατ. Δολαρίων το 2017 (Ζιάγκου, 2018), και η Γερμανία η οποία το 2016 ήταν η κυρίαρχη χώρα κατανάλωσης σπαραγγιού (1,7 κιλό/έτος/κάτοικο) στον κόσμο (Νικάκη, 2017) (Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Κυρίαρχες χώρες παραγωγής *A. officinalis L.* το έτος 2018 (FAOSTAT, 2020)

Παγκόσμια παραγωγή σπαραγγιού το 2018	
Χώρα παραγωγής	Παραγωγή (tn/ha)
Κίνα	7,982,230
Περου	360,630
Μεξικό	277,682
Γερμανία	133,020
Ισπανία	68,403
Ιταλία	490,000
ΗΠΑ	35,460
Ιαπωνία	26,937
Ταϊλάνδη	23,779
Ιράν	20,957

Η παγκόσμια παραγωγή του σπαραγγιού έχει αυξηθεί κατά 26.2% και κατά 25.6% έχει αυξηθεί η παραγωγή του σπαραγγιού στην Ευρώπη τη δεκαετία του 2008-2018 (Γράφημα 1), σύμφωνα με τα δεδομένα του FAOSTAT (2020).



Γράφημα 1: Η παραγωγή *Asparagus officinalis L.* (Α) σε παγκόσμια κλίμακα, και (Β) στην Ευρώπη, 2008-2018 (FAOSTAT, 2020).

Στην Ελλάδα το σπαράγγι καλλιεργείται κυρίως στην Β. Ελλάδα και πιο συγκεκριμένα στο γεωγραφικό διαμέρισμα της Μακεδονίας (Νικάκη, 2017, Θανόπουλος, 2008). Οι καλλιεργήσιμες εκτάσεις του σπαραγγιού το 2018 έφταναν περίπου τα 2 χιλιάδες εκτάρια με απόδοση περίπου 9.5 τόνους/εκτάριο (FAOSTAT, 2020, Ζιάγκου, 2018). Από τα δεδομένα του FAOSTAT (2020), προβάλλεται ότι η μεγαλύτερη παραγωγική ανάπτυξη σημειώθηκε το 2008 με περίπου 22 χιλιάδες τόνους ανά εκτάριο και μειώθηκε ραγδαία τα ακόλουθα χρόνια. Η Ελλάδα εξαγάγει περίπου 5 χιλιάδες τόνους σπαράγγι αξίας 23,3 εκατ. ευρώ το 2017, ενώ εισαγάγει περίπου 340 τόνους. Η Γερμανία παραλαμβάνει το 90% των εξαγωγών της Ελλάδας (Ζιάγκου, 2018).



Γράφημα 2: Η παραγωγή *Asparagus officinalis* L. στην Ελλάδα (FAOSTAT, 2019).

Η τιμή λιανικής πώλησης του σπαραγγιού στην Ελλάδα φτάνει κατά μέσο όρο τα 3€ το κιλό, εξαρτώμενη από την ποιότητα (Ζιάγκου, 2018, Νικάκη, 2017). Η μέση απόδοση ενός στρέμματος φτάνει τα 300-400 κιλά και μπορεί να φτάσει τα 700-800 κιλά/στρέμμα για την επ' ωφέλεια προσόδου (Νικάκη, 2017).

3 Ταξινόμηση

Το σπαράγγι ανήκει στην οικογένεια Asparagaceae και στο γένος *Asparagus* (European Environment Agency, 2019). Τρία υπογένη σπαραγγιού αναγνωρίζονται. Αυτά είναι το *Protoasparagus* και το *Myrsiphyllum*, φυτά ερμαφρόδιτα με διαφορές στον αριθμό των σπερμοβλαστών και την μορφολογία του άνθους (Anido και Cointry, 2008, Kubota *et al*, 2011). Το τρίτο υπογένος, το *Asparagus*, περιλαμβάνεται κυρίως από δύο είδη. (Kubota *et al*, 2011).

Πίνακας 2: Βοτανική Ταξινόμηση του σπαραγγιού (European Environment Agency, 2019)

<u>Βασίλειο:</u>	Φυτών
<u>Υποβασίλειο:</u>	Τραχειόφυτων
<u>Κλάση:</u>	Magnoliopsida
<u>Τάξη:</u>	Asparagales
<u>Οικογένεια:</u>	Asparagaceae
<u>Γένος:</u>	<i>Asparagus</i>

Το γένος *Asparagus* αποτελείται από περίπου 200 είδη. Χρησιμοποιούνται για τις καλλωπιστικές [*A. densiflorus* (Rasheed και Yaseen, 2013), *A. aethiopicus* (Flora of North America, 2019), *A. virgatus* (Weeds of Australia, 2019) κ.ά] και τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες [*A. racemosus*, *A. verticillatus*, *A. adscendens* (Tiwari, 2018)]. Οι φαρμακευτικές

ιδιότητες οφείλονται στην περιεκτικότητα των σπαραγγιών σε ασπαραγγίνη, ουσία διουρητική (Θανόπουλος, 2008), η οποία απομακρύνει τα υπολείμματα μη τοξικής αμμωνίας από τον ανθρώπινο οργανισμό (PubChem, 2019). Κυριότερο εδώδιμο είδος είναι το *Asparagus officinalis* L.

Τα σπαράγγια καταναλώνονται νωπά, κατεψυγμένα ή επεξεργασμένα (Θανόπουλος, 2008). Στο σπαράγγι συναντάμε διαφορές στο χρωματισμό του βλαστιδίου ανάλογα από τις καλλιεργητικές τεχνικές και τις ποικιλίες (Capalbo *et al*, 2010, Θανόπουλος, 2008). Διαδεδομένες ποικιλίες πράσινου σπαραγγιού, που είναι και ο πιο σύνηθες χρωματισμός, είναι η California 500 (ανθεκτικότητα στο ψύχος), η Viking, το Rutgers Beacon (ανθεκτικότητα στη σκωρίαση) κ.ά. Το λευκό σπαράγγι προτιμάται ιδιαίτερα στην Ευρώπη και διαφέρει από το πράσινο σπαράγγι, λόγω της διαφορετικής καλλιεργητικής τεχνικής που ασκείται (Capalbo *et al*, 2010). Τα λευκά σπαράγγια αναπτύσσονται μέσα σε αναχώματα 30 εκατοστών καλυμμένα με πλαστικό ναύλον εδαφοκάλυψης (Καραπάνος, 2018) (Εικόνα 1). Μερικές ποικιλίες λευκών σπαραγγιών είναι η Connover's Colosal, η Limbrae (πρώιμη), η Lorella κ.ά (Θανόπουλος, 2008). Υπάρχουν, επίσης, και ιώδης ποικιλίες (Capalbo *et al*, 2010) όπως η Darbonne No4 (πρώιμη) και η Argenteuil, όπου ο βλαστός είναι πράσινος με ιώδεις κορυφές (Θανόπουλος, 2008). Τέλος, καταναλώνεται και το *Asparagus acutifolius* που είναι είδος άγριου σπαραγγιού (Conversa, 2008, Capalbo *et al*, 2010).

Εικόνα 1: Εδαφοκάλυψη αναχωμάτων για την καλλιέργεια λευκών σπαραγγιών (Καραπάνος, 2018).



4 Μορφολογία και Ανατομία του Σπαραγγιού

Το *A. officinalis* έχει διπλοειδή αριθμό χρωμοσωμάτων ($2n=2x=20$), ενώ υπάρχουν και τετραπλοειδή ποικιλίες ($2n=4x=40$). Έχει δημιουργηθεί και μία τριπλοειδής ($2n=3x=30$)

ποικιλία, η εν. Hiroshima Green, η οποία έχει μεγαλύτερους βλαστούς και πιο εκτεταμένη περίοδο συγκομιδής από τα διπλοειδή (Zenkteler *et al*, 2012).

4.1 Βλαστικά Όργανα

Το υπόγειο μέρος του *Asparagus officinalis* L. αποτελείται από τις σαρκώδεις ρίζες, και το ρίζωμα (*crown*). Το υπέργειο μέρος αποτελείται από τον εδώδιμο βλαστό (*spear*), τη φυλλική επιφάνεια και τα άνθη, τα οποία εξελίσσονται σε καρπούς (Kew Science, 2017) (Εικόνα 2).



Εικόνα 2: Μορφολογία του *Asparagus officinalis* L. (Kew Science, 2017).

4.1.1 Υπέργειο Μέρος

Το *A. officinalis* L. είναι μονοκότυλο, πολυετές φυτό με ορθόκλαδη ανάπτυξη που φτάνει έως και τα 2 μέτρα (Kew Science, 2017). Οι βλαστοί (*spears*) εκφύονται από οφθαλμούς προηγούμενου έτους που φέρονται πάνω στα ριζώματα. Βλαστάνουν την Άνοιξη μετά από μία περίοδο λήθαργου και αναπτύσσονται από τα αποθέματα των ριζωμάτων και σαρκωδών ριζών (Καραπάνος, 2018).

Το πραγματικό φύλλωμα του φυτού αποτελείται αρχικά από λέπια και αγκάθια, πάνω στους βλαστούς και στα σημεία διακλάδωσης. Αργότερα, εξελίσσονται σε πεπλατυσμένα κλαδόφυλλα μήκους 25 χιλιοστών, που παράγονται σε συστάδες (1-10 κλαδόφυλλα/συστάδα) Η διάταξη των πραγματικών φύλλων είναι εναλλάξ (Kew Science, 2017).

4.1.2 Υπόγειο Μέρος

Το υπόγειο μέρος αποτελείται από το ρίζωμα (*crown*), το οποίο είναι ένας υπόγειος

βλαστός, που φέρονται οφθαλμοί, οι οποίοι εξελίσσονται σε βλαστούς ή σαρκώδεις ρίζες. Οι σαρκώδεις ρίζες ή αποταμιευτικές ρίζες, έχουν κυρίως οριζόντια ανάπτυξη, είναι σαρκώδεις, φτάνουν τα 60εκ. και δεν διακλαδίζονται. Οι παλαιές αποταμιευτικές ρίζες φελλοποιούνται και παρατηρείται κατά πάχος αύξηση, λόγω της κυτταρικής διαίρεσης του φλοιού. Μεταξύ ενδοδερμίδας και επιδερμίδας υπάρχουν 20-50 σειρές φλοιωδών κυττάρων. Στις σαρκώδεις ρίζες εκπτύσσονται οι ινώδεις τριχοειδείς ρίζες διαμέτρου 1-2mm (Blasberg, 1932). Ο κύριος όγκος τους βρίσκεται στα 25-60cm και ανανεώνονται κάθε χρόνο (Καραπάνος, 2018) και αποτελούνται, κυρίως από 3-5 στρώσεις φλοιωδών κυττάρων (Blasberg, 1932).

4.2 Αναπαραγωγικά Όργανα των τριών Φύλων του *Asparagus officinalis* L.

Το *Asparagus officinalis* L είναι δίοικο ή σπάνια ανδρομονόικο (Lazarte, 1979). Παράγει περίπου 400 κωδωνοειδή (Kew Science, 2017), μονήρη άνθη ή εκπτύσσονται σε ομάδες 2-3 (Καραπάνος, 2018), από τους μασχάλιους πλάγιους ανθοφόρους οφθαλμούς (Kew Science, 2017). Αυτά εκπτύσσονται σε κάθε κόμβο αντίθετα καταταγμένα, με ακρομετρική ανάπτυξη. Το περιγόνιο αποτελείται από 2 σειρές 3 τέπαλων. Στα αρσενικά άνθη οι στήμονες έχουν διπλοστημονική (*diplostemonous*) ανάπτυξη και τα νημάτια είναι προσκολλημένα στη βάση του περιγονίου (Lazarte, 1979). Οι ανθήρες είναι δίλοβοι με 4 μικροσποριάγγεια. Τα αρσενικά άνθη έχουν υποτυπώδη ύπερο με εκφυλισμένα ωάρια. Αντιθέτως, τα θηλυκά άνθη έχουν υποτυπώδη στήμονες και λειτουργική τρίχωρη ωοθήκη με 2 ωάρια ανά καρπόφυλλο και έναν στύλο με δίλοβο στίγμα. Το μέγεθός τους είναι μικρότερο των αρσενικών (Καραπάνος, 2018).

Το *Asparagus officinalis* L είναι δίοικο, δηλαδή, υπάρχουν ομογαμετικά θηλυκά φυτά (XX), και ετερογαμετικά αρσενικά φυτά (XY). Τα ετερογαμετικά φυτά αναφέρονται ως παραγωγικότερα, ζωηρότερα και αποδοτικότερα από τα θηλυκά. Από μικροκαλλιέργεια ανθέρων ή γύρης, έχουν δημιουργηθεί ομογαμετικά αρσενικά υβρίδια (YY). Τα ομογαμετικά αρσενικά παράχθηκαν από επιχιασμό ετερογαμετικών αρσενικών δίνοντας αρχικά μία F1 γενιά με 1 ομογαμετικό θηλυκό: 2 ετερογαμετικά αρσενικά: 1 ομογαμετικό αρσενικό (Lazarte, 1979, Ren *et al*, 2012). Τελικά, διασταυρώθηκαν ομογαμετικά με ετερογαμετικά αρσενικά, τα οποία προήλθαν από επιχιασμό ομογαμετικών αρσενικών και θηλυκών, δίνοντας καθαρή σειρά ομογαμετικών αρσενικών μετά από επανειλημμένες διασταυρώσεις με το ίδιο θηλυκό (Καραπάνος, 2018). Τα ομογαμετικά αρσενικά είναι και τα πιο παραγωγικά φυτά, έχουν ανθεκτικότητα σε διάφορες ασθένειες και δεν παράγουν σπόρους. (Zenkteleer *et al*, 2012)

5 Σπόρος

Η υγρασία στο εσωτερικό των εμπορεύσιμων σπόρων σπαραγγιού κυμαίνεται στο 10% κατά την αποθήκευση. Εάν η υγρασία ξεπεράσει το 13%, ο σπόρος καθίσταται κατάλληλος ξενιστής ενώ, εάν η υγρασία είναι κάτω από 4%, η βλαστική ικανότητα μειώνεται ραγδαία. Σε σπόρους όπου ο λήθαργος έχει ήδη απομακρυνθεί, η βλάστηση ξεκινάει όταν η υγρασία προσπερνάει το 30% (Owen και Pill, 1994, McCormack, 2010).

Η θερμοκρασία κατά την αποθήκευση των σπόρων εξαρτάται κυρίως από το χρόνο αποθήκευσης, δηλαδή, όσο μικρότερη η θερμοκρασία διατήρησης, τόσο πιο μακροχρόνια η ζωή του σπόρου (McCormack, 2010).

5.1 Μορφολογία και Ανατομία του σπόρου

Οι σπόροι του σπαραγγιού εμπεριέχονται σε σφαιρικούς κόκκινους καρπούς (Kew Science, 2017). Μακροσκοπικά, ο σπόρος είναι ημισφαιρικός με κάπως πεπλατυσμένες πλευρές. Το περισπέρμιό του είναι μαύρου χρώματος και μία λευκή σφαιρική περιοχή εντοπίζεται στην κορυφή μιας πυραμιδοειδούς δομής, που είναι η μικροπύλη. Στο εσωτερικό του ενδοσπέρμιου βρίσκεται το έμβρυο μεγέθους 3-4mm, το οποίο περιέχει το ριζίδιο και το βλαστίδιο. Η κοτυληδόνα αποτελείται από ένα εξωτερικό στρώμα αδενώδη κυττάρων. Ακολουθεί μια περιοχή με 6-10 σειρές παρεγχυματικά κύτταρα, 3-4 προκαμβιωτικούς σωλήνες και το κεντρικό παρέγχυμα. Στη βάση της κοτυληδόνης υπάρχει μία ημισφαιρική μάζα εμβρυϊκών ιστών, το επικοτύλιο (Mullendore, 1935).

5.2 Τεχνικές Διακοπής Λήθαργου

Οι σπόροι του σπαραγγιού, όπως και πολλοί άλλοι σπόροι, περνούν μία περίοδο πραγματικού λήθαργου (Βογιατζής και Πετρίδου, 2004). Για την διακοπή του λήθαργου των σπόρων εφαρμόζονται κάποιες τεχνικές. Οι πιο διαδεδομένες τεχνικές είναι το σκαριφάρισμα, η στρωμάτωση, η εμβάπτιση σε νερό και η χρήση κάποιας φυτορμόνης.

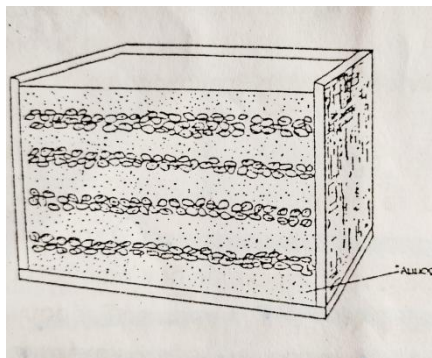
Στο σπαραγγί έχουν εφαρμοστεί οι εξής τρόποι διακοπής του λήθαργου: εμβάπτιση σε νερό από 25°C έως 70°C, σκαριφάρισμα με υαλόχαρτο ή τρύπημα της μικροπύλης (Gupta *et al*, 2008) ή χρήση Θεϊκού οξέος. Επίσης έχει χρησιμοποιηθεί κοπριά, γιββεριλλικό οξύ, Νιτρικό Κάλιο ή Καυστικό Νάτριο ή συνδυασμός όλων των παραπάνω (Tiwari *et al*, 2018).

5.3 Στρωμάτωση

Αναφέρεται ότι, ο λήθαργος που οφείλεται σε φυσιολογικούς παράγοντες διακόπτεται με κρύα ή θερμή στρωμάτωση, ενώ ο λήθαργος που οφείλεται σε μορφολογικούς παράγοντες διακόπτεται με υγρή στρωμάτωση. Παρόλα αυτά, ο λήθαργος δεν φαίνεται να απομακρύνεται πλήρως ακόμα και μετά από τις στρωματώσεις και παρατηρείται πως το ποσοστό βλάστησης εξαρτάται και από τον οικότυπο (Conversa και Elia, 2008).

Η στρωμάτωση είναι μια τεχνική που δρα κατά του εσωτερικού λήθαργου των σπόρων. Δηλαδή, του λήθαργου που οφείλεται στην ανισορροπία παρεμποδιστικών και προωθητικών φυτορμονών (φυσιολογικός λήθαργος) και πιο συγκεκριμένα του αμψισικού και του γιββεριλλικού οξέος αντίστοιχα

Απαραίτητη προϋπόθεση είναι η διαρκής παροχή υγρασίας και αερισμού. Οι θερμοκρασίες κυμαίνονται από τους 0°C έως τους 5°C. Η παροχή αυτής της θερμοκρασίας επιτυγχάνεται συνήθως με ψυγεία. Η διάρκεια της στρωμάτωσης εξαρτάται από το φυτικό είδος.



Εικόνα 3: Υγρή ψύξη σπόρων σε κιβώτιο με ενδιάμεσα στρώματα άμμου (Πετούσης και Κολιοραδάκης, 2010)

Οι τρόποι εφαρμογής ποικίλουν. Ο πιο γνωστός και πιο παραδοσιακός τρόπος είναι με την τοποθέτηση των σπόρων σε στοιβάδες, η μία πάνω από την άλλη, καλυμμένοι με ποταμίσια άμμο σε τελάρα (Εικόνα 3). Ένας πιο σύγχρονος τρόπος είναι με την χρήση τρυβλίων ή μαύρων σακουλών πολυαιθυλενίου και τη χρήση βρεγμένου βαμβακιού ή τύρφης, αντίστοιχα (Ρούσσο, 2009).

5.4 Σκαριφάρισμα

Ο εξωτερικός λήθαργος και συγκεκριμένα ο λήθαργος των περιβλημάτων, οφείλεται στα σκληρά και αδιαπέραστα στο νερό και το οξυγόνο περιβλήματα ορισμένων σπόρων, με αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της ανάπτυξης του εμβρύου. Τα είδη σκαριφαρίσματος που χρησιμοποιούνται είναι το σκαριφάρισμα με ζεστό νερό, 65°C για τους πιο ευαίσθητους σπόρους έως 100°C για τους πιο δύστροπους. Άλλη μέθοδος είναι η εμβάπτιση των σπόρων σε διάλυμα καυστικού νατρίου (1 – 5 % w/w) για 12-24 ώρες. Ακόμη μία μέθοδος είναι το σκαριφάρισμα με θειικό οξύ πυκνότητας 1.84 g/ml (Εικόνα 4). Τέλος, η πιο διαδεδομένη μέθοδος είναι το μηχανικό σκαριφάρισμα (Ρούσσος, 2009).



Εικόνα 4: Σκεύασμα (Α) Καυστικής Σόδας ή Καυστικού Νατρίου (NaOH) και (Β) Θειικού οξέος (H_2SO_4).

5.4.1 Μηχανικό Σκαριφάρισμα- Τρύπημα Μικροπύλης

Το μηχανικό σκαριφάρισμα επιτυγχάνεται με το τραυματισμό του εξωτερικού περιβλήματος του σπόρου. Οι συνήθεις τρόποι είναι με τριβή σε κάποια τραχεία επιφάνεια (π.χ. υαλόχαρτο) ή κόψιμο ενός τμήματος του εξωκάρπιου ή χαραγή με σφυρόμυλο κ.ά. (Graham, 1945, Ρούσσος, 2009).

Στο πείραμα των Gupta, Kumar και Sharma (2008), χρησιμοποιούν έναν ιδιαίτερο μηχανικό τρόπο σκαριφαρίσματος, το τρύπημα της μικροπύλης. Το τρύπημα της μικροπύλης των σπόρων σπαραγγιού έγινε με βελόνα και ακολούθησε εμβάπτιση σε απιονισμένο νερό για 3-4 ώρες. Το ποσοστό βλάστησης των σπόρων έφτασε έως το 70%. Η μελέτη έγινε κάτω από *in vivo* συνθήκες, σε κύπελα διαμέτρου 20cm. Η μεθοδολογία αυτή, αξιοποιήθηκε και στην παρούσα πειραματική μελέτη κάτω από *in vitro* συνθήκες.

5.5 Βλάστηση Σπόρων Σπαραγγιού κάτω από *in vivo* και *in vitro* συνθήκες

Οι σπόροι του σπαραγγιού βλαστάνουν 20-30 ημέρες μετά την φύτευση τους, κάτω από *in vivo* συνθήκες (Φυτοπρομηθευτική, 2019). Η Βλαστική Ικανότητα φτάνει το 50% (Θανόπουλος, 2008) με αποτέλεσμα από 100g σπόρων σπαραγγιού να παράγονται περίπου 2500 φυτά.

Στο πείραμα των Tiwari, Chandra και Dubey (2018) χρησιμοποιήθηκαν σπόροι φαρμακευτικού σπαραγγιού (*A. racemosus*). Το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης κάτω από *in vivo* συνθήκες παρουσιάστηκε από την ανάμειξη σπόρων σε αποξηραμένη και αποστειρωμένη φρέσκια κοπριά ή διάλυμα κοπριάς. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν ήταν 46,5% και 38% αντίστοιχα. Τα χειρότερα αποτελέσματα έδωσαν το διάλυμα νιτρικού οξέος και η χρήση ζεστού νερού (70°C), με το ποσοστό βλάστησης να μην ξεπερνάει το 5%. Το ποσοστό βλάστησης του μάρτυρα καταγράφηκε στο 10%

Στο πείραμα των Conversa και Elia (2008) το ποσοστό βλάστησης έφτασε το 76%, όταν οι σπόροι υπέστη υγρή στρωμάτωση με ζεστό νερό (23°C), ενώ 72%, όταν οι σπόροι στρωματώθηκαν στους 5°C. Η στρωμάτωση των σπόρων στους 5°C και ο μάρτυρας έδωσαν τα χειρότερα αποτελέσματα στο πείραμά τους. Το ποσοστό για κάθε μέθοδο έφτασε το 16% και 12% αντίστοιχα.

Κάτω από *in vitro* συνθήκες σπόροι σπαραγγιού (*A. racemosus*) αναμείχθηκαν σε αποξηραμένη και αποστειρωμένη φρέσκια κοπριά. Το ποσοστό βλάστησης δεν ξεπέρασε το 5%. Λιγότερο αποτελεσματική ήταν η χρήση θεικού οξέος και τη χρήση ζεστού νερού (70°C). Μεγαλύτερο ποσοστό βλαστικότητας λήφθηκε από τον συνδυασμό διαλύματος φρέσκιας κοπριάς και γιββερίλλικου οξέος. Για τον μάρτυρα, το ποσοστό βλάστησης έφτασε το 12.7% (Tiwari *et al*, 2018).

6 Τεχνικές Καλλιέργειας

6.1 Εδαφοκλιματικές Συνθήκες

Το σπαράγγι καλλιεργείται σε ποικίλα εδάφη, από ελαφρά έως βαριά, ευνοείται δε, σε αμμώδη, αμμοπηλώδη, γόνιμα εδάφη. Έχει αντοχή σε αλατούχα εδάφη. Η ορθή στράγγιση του εδάφους είναι εξαιρετικά απαραίτητη, διότι αποφεύγονται μυκητολογικές προσβολές του ριζικού συστήματος. Ελλείψεις ή κατακρατήσεις νερού από το έδαφος κατά την διάρκεια της συγκομιδής, φέρει ως αποτέλεσμα την μείωση της παραγωγής. Το εύρος του pH του εδάφους

στο οποίο η καλλιέργεια ευδοκίμει είναι μεταξύ 6,5-7,5. Αποφεύγεται η καλλιέργεια σπαραγγιού σε ανεμόπληκτες περιοχές, διότι δυνατοί και ξηροί άνεμοι προκαλούν κύρτωση του βλαστού κατά την περίοδο της ανάπτυξης. Μέση θερμοκρασία ανάπτυξης είναι οι 20°C, ενώ οι βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξης κατά την ημέρα και τη νύχτα, κυμαίνονται κατά μέσον όρο στους 26,5°C και 16°C αντίστοιχα (Θανόπουλος, 2008, Νικάκη, 2018).

6.2 Εποχή Σποράς και Αποστάσεις Φύτευσης

Η εγκατάσταση γίνεται νωρίς την Άνοιξη, δηλ. από τον Μάρτιο έως τον Απρίλιο. Η σπορά πραγματοποιείται απευθείας στο χωράφι ή σε ανοιχτό σπορείο, ενώ η εγκατάσταση έτοιμων ριζωμάτων πραγματοποιείται από τον Φεβρουάριο έως τον Απρίλιο. Βασική προϋπόθεση της βλάστησης των οφθαλμών είναι η θερμοκρασία του εδάφους να ξεπερνάει τους 10°C (Θανόπουλος, 2008).

Οι αποστάσεις φύτευσης είναι 25-33 εκατοστά επί της γραμμής και πάνω από 2 μέτρα μεταξύ των γραμμών, εξαρτώμενες από τον μηχανολογικό εξοπλισμό (Θανόπουλος, 2008, Νικάκη, 2018).

6.3 Λίπανση

Για μία μέση παραγωγή 500kg/στρ. προτείνεται λίπανση με 10-30 μονάδες άζωτο (το άζωτο χορηγείται τμηματικά), 15-20 μονάδες φώσφορο, 25-50 μονάδες καλίου και 5-7 μονάδες μαγνησίου. Η βασική λίπανση χορηγείται πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας και μετά το χάλασμα των σαμαριών. Προσθήκη φρέσκιας κοπριάς (7-10κιά/στρ.) γίνεται τον Φθινόπωρο, διαφορετικά προστίθεται χωνεμένη κοπριά (3-5κιά/στρ) την Άνοιξη. Εναλλακτικά, χειμερινή σπορά με κάποιο ψυχανθές και ενσωμάτωσή του για χλωρή λίπανση (Θανόπουλος, 2008, Νικάκη, 2018).

6.4 Συγκομιδή και Κριτήρια Συγκομιδής

Το χειμώνα του πρώτου έτους πραγματοποιείται η εδαφοκάλυψη των ριζωμάτων με αναχώματα και πλαστικό για την εξασφάλιση της πρωιμότητας (Νικάκη, 2018). Την Άνοιξη του πρώτου έτους δεν συγκομίζουμε (Kays, 2019). Η συγκομιδή ξεκινάει την Άνοιξη του δεύτερου έτους μετά την εγκατάσταση και διαρκεί 2 εβδομάδες (Νικάκη, 2018, Θανόπουλος,

2008). Το τρίτο έτος η συγκομιδή διαρκεί περίπου 1 μήνα, ενώ από το τέταρτο έτος η συγκομιδή μπορεί να διαρκέσει έως 2 μήνες. Το μεσοδιάστημα από κάθε συγκομιδή είναι 3 μέρες και μειώνεται όταν οι θερμοκρασίες αυξάνονται για την αποφυγή του ανοίγματος της κορυφής και της εναπόθεσης της λιγνίνης. Συγκομίζονται τις πρωινές ώρες (2-3 βλαστοί/φυτό) όταν οι βλαστοί είναι ακόμα «τραγανοί» και αποκόπτονται με ευκολία (Kays, 2019, Θανόπουλος, 2008).



Εικόνα 5: Συγκομιδή λευκών σπαραγγιών (Νικάκη, 2017)

Τα κριτήρια συγκομιδής του πράσινου σπαραγγιού είναι να έχει αναπτυχθεί ο βλαστός έξω από το χώμα, χωρίς να έχει ανοίξει η κορυφή. Το μήκος να φτάνει τα 27cm και η διάμετρος τα 2cm. Για το λευκό σπαράγγι απαραίτητη προϋπόθεση είναι να κοπεί, με ειδικό εργαλείο, μόλις έχει ξεπροβάλει από το έδαφος (Εικόνα 5). Το μήκος φτάνει τα 22cm, ενώ η διάμετρος είναι συνήθως μεγαλύτερη από αυτή του πράσινου (Θανόπουλος, 2008).

6.5 Μετασυλλεκτικές Πρακτικές

Αμέσως μετά την συγκομιδή, τα σπαράγγια τοποθετούνται σε βρεγμένα σακιά και σε σκιερό μέρος. Οι σάκοι βρέχονται συνεχώς, διότι με την έκθεσή τους στην ηλιοφάνεια χάνουν την βρωστικότητα τους και την εμπορική τους αξία.

Διατηρούνται έως και ένα μήνα σε θερμοκρασία αποθήκευσης 2°C και σχετική υγρασία 90-95%. Η ζωή τους στο ράφι μετά την αποθήκευση είναι 3-4 ημέρες στους 25°C (Θανόπουλος, 2008).

7 Φυτοπαθογόνες Ασθένειες και Ζωικοί εχθροί

Οι σημαντικότερες μολυσματικές ασθένειες που προσβάλλουν το σπαράγγι είναι η Φουζαρίωση, η Σκωρίαση, η Ριζοκτονίαση, η Φυτόφθορα και το Ωίδιο. Οι σημαντικότεροι εχθροί της καλλιέργειας του σπαραγγιού είναι οι Αφίδες, ο Κριόκερος και η Μύγα του

σπαραγγιού.

7.1 Παθογόνοι Μικροοργανισμοί και Μολυσματικές Ασθένειες του Σπαραγγιού

Η Φουζαρίωση είναι η σημαντικότερη ασθένεια εδάφους της καλλιέργειας. Μετά από την προσβολή του εδάφους από τον μύκητα είναι αδύνατο να καλλιεργηθεί ξανά σπαραγγί. Η ασθένεια προκαλείται από πολλά είδη του γένους *Fusarium* spp. Τα συμπτώματα χαρακτηρίζονται από μεταχρωματισμό του στελέχους και σήψεις του ριζικού συστήματος έως την τελική νέκρωση ολόκληρου του φυτού (Καμαριώτη, 2002) (Εικόνα 6).



Εικόνα 6: Προσβολή ριζικού συστήματος σπαραγγιού από Φουζάριο.

Η Σκωρίαση του σπαραγγιού είναι ασθένεια που οφείλεται στον φραγμοβασιδιομύκητα *Puccinia sparaggi*. Ο μύκητας είναι αυτόοικος και μακροκυκλικός. Προσβάλλει τα εδάδιμα, πράσινα στελέχη του έτους, με αποτέλεσμα την ξήρανση των στελεχών και την μείωση των υδατανθράκων στο ριζικό σύστημα. Αυτό επιφέρει μείωση της παραγόμενης βλάστησης των επόμενων χρόνων. Η προσβολή ξεκινάει από την βάση του στελέχους, με μικρές κηλίδες ανοιχτοπράσινου χρώματος, ωοειδείς και ελαφρώς υπερυψωμένες, που στη συνέχεια παράγουν στην κάτω επιφάνεια τα χαρακτηριστικά ακίδια. Τα ουρεδοσπόρια είναι αυτά που μεταδίδουν την ασθένεια και προκαλούν την εξάπλωση και την επιδημία της ασθένειας. Ο μύκητας διαχειμάζει με την μορφή των τελειοσωρών (Καμαριώτη, 2002).

Η Ριζοκτονίαση προκαλείται από τους μύκητες *Rhizoctonia violácea* και *R. solani*. Παρουσιάζονται συμπτώματα τήξης και σήψης του ριζικού συστήματος και υπόγειων βλαστών. Το επόμενο έτος βλάστησης, μεγάλο μέρος των ριζωμάτων δεν βλαστάνει ή δίνει μικρούς βλαστούς. Οι βλαστοί αυτοί πολύ γρήγορα αποκτούν σκούρο χρωματισμό και σκληροποιούνται. Στις ρίζες σχηματίζεται μια δικτύωση με μυκηλιακά κορδόνια και σωματίδια. Ο μύκητας διαχειμάζει στο έδαφος υπό την μορφή σκληρωτίων ή μυκηλιακών

σωματιδίων ή κορδονιών (Καμαριώτη, 2002).

Η Φυτόφθορα προκαλείται από πέντε είδη του γένους *Phytophthora* spp. Προκαλούν τήξεις των φυταρίων ή/και μαλακή σήψη των ριζωμάτων. Προσβάλλουν τις βάσεις των υπέργειων και των υπόγειων βλαστών (Καμαριώτη, 2002).

Το Ωίδιο του σπαραγγιού προκαλείται από τον μύκητα *Leveillula taurica*. Προκαλεί σήψη των βάσεων του υπέργειου μέρους. Τα συμπτώματα ξεκινάνε από τη χλώρωση ολόκληρου του φυτού και καταλήγουν στη ξήρανσή του. Μεταδίδεται με τα φυτικά υπολείμματα και με μολυσμένο πολλαπλασιαστικό υλικό (Θανόπουλος, 2008).

7.2 Ζωικοί Εχθροί του Σπαραγγιού

Οι αφίδες του γένους *Myzus persicae* προσβάλλουν το σπαράγγι μυζώντας τους χυμούς, παραμορφώνοντας τα φύλλα και εμφανίζουν κολλώδη ουσία στα σημεία προσβολής. Η αντιμετώπιση της προσβολής γίνεται με την απομάκρυνση των βλαστών με έντονη προσβολή ή για βιολογικό έλεγχο των αφίδων, χρησιμοποιούμε την πασχαλίτσα και την παρασιτική σφήκα *Diaeretiella rapae* (Θανόπουλος, 2008).

Ο Κριόκερος του σπαραγγιού (*Crioceris asparagi*) είναι ένα Κολεόπτερο το οποίο τρέφεται μόνο με τα πράσινα μέρη του φυτού. Διαχειμάζουν στα υπολείμματα της καλλιέργειας ως ενήλικα και ο καλύτερος τρόπος αντιμετώπισης είναι η απομάκρυνση των ξερών φυτικών υπολειμμάτων (Θανόπουλος, 2008).

Οι προνύμφες της μύγας του σπαραγγιού (*Platyparea poeciloptera*) είναι αυτές που προκαλούν την προσβολή, κατατρώγοντας το εσωτερικό των βλαστών. Αντιμετωπίζονται με την απομάκρυνση των φυτικών υπολειμμάτων της καλλιέργειας (Θανόπουλος, 2008).

8 Πολλαπλασιασμός Σπαραγγιού

Ο πολλαπλασιασμός του σπαραγγιού γίνεται με ριζώματα (αγενής πολλαπλασιασμός) όμως, για την παραγωγή των ριζωμάτων χρησιμοποιούνται αρχικά σπόροι σπαραγγιού (εγγενής πολλαπλασιασμός).

8.1 Εγγενής Πολλαπλασιασμός

Ο εγγενής τρόπος πολλαπλασιασμού χρησιμοποιείται, κυρίως, για την παραγωγή ριζωμάτων. Η σπορά του σπαραγγιού ξεκινάει με την ενυδάτωση των σπόρων στους 30-35°C για 24h και αργότερα φυτεύονται σε σπορεία. Χρησιμοποιούνται 100-150g σπόροι ανά στέμμα, διότι η βλαστική ικανότητα φτάνει το 50%, με τελική αποδοτικότητα τα 300 φυτά/στρέμμα (Θανόπουλος, 2008).

Ένα χρόνο μετά τη σπορά, τα φυτά μεταφυτεύονται στις τελικές θέσεις. Η μεταφύτευση γίνεται την Άνοιξη και οι αποστάσεις μεταξύ γραμμών είναι 30-60cm, ενώ πάνω στη γραμμή 5-10cm. Το υπέργειο μέρος, αργότερα, κιτρινίζει και απομακρύνεται με αποτέλεσμα να μείνουν μόνο τα ριζώματα (Θανόπουλος, 2008).

8.1.1 Πλεονεκτήματα Εγγενούς Πολλαπλασιασμού

Το βασικότερο πλεονέκτημα του εγγενή πολλαπλασιασμού είναι το χαμηλό κόστος. Επίσης, εξασφαλίζεται η γενετική παραλλακτικότητα και η ανθεκτικότητα του είδους σε δυσμενείς συνθήκες (Ρούσσοι, 2009). Δηλαδή, τα σπορόφυτα έχουν καλή προσαρμοστικότητα στο έδαφος και το περιβάλλον. Επίσης, έχουν αντοχή σε διάφορους εχθρούς και ασθένειες όπως, επίσης και την ξηρασία (Πετούσης και Κολλιοραδάκης, 2010). Περιορίζεται, επίσης, η διάδοση ιών σε σχέση με τον αγενή πολλαπλασιασμό (Ρούσσοι, 2009). Τα σπορόφυτα διαθέτουν πλουσιότερο ριζικό σύστημα και έχουν ζωνή βλάστηση (Πετούσης και Κολλιοραδάκης, 2010, Σφακιωτάκης, 2000). Τέλος, η διακίνηση εγγενούς πολλαπλασιαστικού υλικού δέχεται λιγότερους υγειονομικούς περιορισμούς (Ρούσσοι, 2009).

8.1.2 Μειονεκτήματα Εγγενούς Πολλαπλασιασμού

Κατά τον εγγενή πολλαπλασιασμό παρατηρείται η γενετική διαφοροποίηση και ανομοιομορφία χαρακτηριστικών των απογόνων. Ο λήθαργος των σπόρων και η απώλεια της ζωτικότητάς τους αποτελεί, επίσης, μειονέκτημα (Ρούσσοι, 2009). Το γένος του απόγονου φυτού δεν είναι προβλεπόμενο, παράγοντας σημαντικός για την παραγωγικότητα του σπαραγγιού, μιας και εξαρτάται από το γένος του φυτού (Lazarte, 1979, Ren *et al*, 2012). Τα σπορόφυτα καθυστερούν να μπουν στο παραγωγικό έτος, λόγω της παρατεταμένης περιόδου νεανικότητας (Ρούσσοι, 2009). Τέλος, παρατηρείται ανομοιομορφία της βλάστησης όσον αφορά την αποδοτικότητα στο μέγεθος, τη πρωιμότητα και την ποιότητα των καρπών σε σχέση με τα χαρακτηριστικά της ποικιλίας (Πετούσης και Κολλιοραδάκης, 2010, Σφακιωτάκης, 2000).

8.2 Αγενής Πολλαπλασιασμός

Οι κυριότεροι τρόποι αγενούς πολλαπλασιασμού είναι ο πολλαπλασιασμός με μοσχεύματα, με καταβολάδες ή με παραφυάδες. Επίσης, ο εμβολιασμός -ενοφθαλμισμός ή εγκεντρισμός- είναι ένας πολύ γνωστός τρόπος αγενούς πολλαπλασιασμού (Πετούσης και Κολλιοραδάκης, 2010). Τέλος, ένας πιο σύγχρονος τρόπος είναι η ιστοκαλλιέργεια (Κίντζιος, 2015).

Στο σπαράγγι η παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού προέρχεται από τον αγενή πολλαπλασιασμό. Κύριοι τρόποι πολλαπλασιασμού είναι τα ριζώματα και η ιστοκαλλιέργεια.

8.2.1 Πολλαπλασιασμός με Ριζώματα

Τον χειμώνα τα νεαρά ριζώματα μπαίνουν σε λήθαργο και νωρίς την Άνοιξη εξάγονται από το έδαφος (Θανόπουλος, 2008). Για την διαίρεση των ριζωμάτων απαραίτητο είναι να έχουν πρώτα αναπτυχθεί τα κλαδώδια. Επιλέγονται υγιή τμήματα, απαλλαγμένα από ασθένειες και κλαδεύεται ολόκληρο το υπέργειο τμήμα (Dobbs, 1992). Για τον πολλαπλασιασμό των ριζωμάτων (Εικόνα 7) πρέπει να μην έχουν βλαστήσει οι οφθαλμοί του νέου έτους (Θανόπουλος, 2008)



Εικόνα 7: Καλλιέργεια ριζωμάτων σπαραγγιού

8.2.2 Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα *in vivo* Αγενούς Πολλαπλασιασμού

Ο κυριότερος λόγος που χρησιμοποιείται αυτή η τεχνική είναι εξαιτίας της αδυναμίας παραγωγής ζωτικών σπόρων ή της διακοπής του λήθαργου των σπόρων. Επίσης, τα παραγόμενα φυτάρια έχουν καλύτερη περιβαλλοντική προσαρμογή σε σχέση με τους σπόρους. Ο *in vivo* αγενής πολλαπλασιασμός προσφέρει την διαιώνιση ιδιαίτερων χαρακτηριστικών σε υψηλή ταχύτητα (μαζική παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού), πρώιμα και ζωηρότερα φυτάρια με μικρότερη περίοδο νεανικότητας. Βασικό χαρακτηριστικό των παραγόμενων

φυτών είναι η γενετική ομοιομορφία και η ομοιογένεια των χαρακτηριστικών με το μητρικό φυτό (Ρούσσο, 2009). Για τον λόγο αυτό, βασικότερο μειονέκτημα του *in vivo* αγενή πολλαπλασιασμού είναι η μεταφορά ασθενειών από το μητρικό στο θυγατρικό φυτό. Αποτέλεσμα αυτού είναι η παρουσία των εξής προβλημάτων: μειωμένη παραγωγή, υποβαθμισμένη ποιότητα προϊόντος, αυξημένο κόστος καλλιέργειας και τελικά τον εκφυλισμό της καλλιέργειας (Χρονάκη κ.ά, 2018).

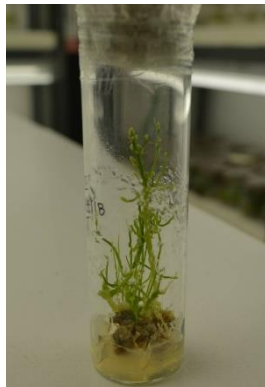
9 Μικροπολλαπλασιασμός του Σπαραγγιού

Ένας εναλλακτικός και πιο σύγχρονος τρόπος αγενούς πολλαπλασιασμού, είναι ο μικροπολλαπλασιασμός (*micropropagation*). Η τεχνική αναπτύχθηκε στα μέσα του 20^{ου} αιώνα. «Ο συγκεκριμένος τρόπος πολλαπλασιασμού εξασφαλίζει τη μαζική παραγωγή πανομοιότυπων φυτών σε σύντομο χρονικό διάστημα, με την απομάκρυνση κυττάρων από το φυτό-δότη και τη διατήρησή του σε ένα τεχνητό περιβάλλον» (Κίντζιος, 2015). Για τον *in vitro* πολλαπλασιασμό απαιτούνται: κατάλληλα θρεπτικά υποστρώματα, κατάλληλες θερμοκρασίες και φωτοπερίοδος και ασηπτικό περιβάλλον καλλιέργειας. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην αρχή της ολοδυναμίας (*totipotency*) του κυττάρου. Δηλαδή, «την ιδιότητα των φυτικών κυττάρων να αναγεννούν πλήρη φυτά, δυνητικά από κάθε κύτταρο κάθε φυτικού τμήματος, όσο μικρό και αν είναι αυτό» (Schwann και Schleiden, 1839).

Ο μικροπολλαπλασιασμός πλεονεκτεί στην μαζική παραγωγή υγιή πολλαπλασιαστικού υλικού απαλλαγμένο από παθογόνους μικροοργανισμούς σε σύντομο χρονικό διάστημα. Παράγονται υγιή *in vitro*-φυτάρια με γενετική ομοιομορφία σε όλα τα στάδια του βιολογικού κύκλου με την δυνατότητα να παράγονται καθ' όλη την διάρκεια του έτους και με υψηλό ποσοστό βιωσιμότητας (Χρονάκη κ.ά, 2018).

Πάντως, είναι ένας δαπανηρός τρόπος πολλαπλασιασμού που απαιτεί εξειδικευμένο εργατικό δυναμικό και αυστηρά ασηπτικό περιβάλλον. Ένα άλλο μειονέκτημα είναι ότι τα *in vitro*-φυτάρια μπορούν να εμφανίσουν σωμακλωνική παραλλακτικότητα. Η σωμακλωνική παραλλακτικότητα συνδέεται με τις γενετικές αλλαγές των ιστών του έκφυτου ή με την μεταλλαξιογόνο επίδραση των συνθηκών ανάπτυξης. Κάποια από τα μεταλλαγμένα χαρακτηριστικά που μπορούν να αναπτύξουν τα *in vitro*-φυτάρια είναι: νανισμός,

παραμορφωμένα φύλλα, αλλαγή στον χρωματισμό κ.ά (Χρονάκη κ.ά, 2018)



Εικόνα 8: Ιστοκαλλιέργεια Σπαραγγιού (*A. officinalis L.*)

Ο πολλαπλασιασμός του σπαραγγιού κάτω από *in vitro* συνθήκες (Εικόνα 8) πραγματοποιείται με την χρήση έκφυτων υπέργειου ή υπόγειου τμήματος. Δηλαδή, απομακρύνονται μασχαλιαίοι οφθαλμοί, ακραία μεριστώματα (Manisha et al, 2011), έκφυτα υποκοτύλιου, ακόμη και ριζίδια, για την ιστοκαλλιέργεια του σπαραγγιού (Toma και Rsheed, 2012).

9.1 Θρεπτικά Υποστρώματα Ιστοκαλλιέργειας

«Το θρεπτικό υπόστρωμα αποτελεί το μέσο πάνω ή μέσα στο οποίο πραγματοποιείται η καλλιέργεια και η περαιτέρω ανάπτυξη ή διαφοροποίηση των εκφύτων (ιστών ή κυττάρων)». Τα θρεπτικά υποστρώματα ιστοκαλλιέργειας εμπεριέχουν: ανόργανα άλατα (μακροστοιχεία, μικροστοιχεία, ιχνοστοιχεία), βιταμίνες, ρυθμιστικές ουσίες ανάπτυξης, υδατάνθρακες, νερό και το pH ρυθμίζεται στο 5,6-5,8. Χρησιμοποιείται, επίσης, κάποιος στερεοποιητικός παράγοντας, όπως το άγαρ, για την παραγωγή στερεών υποστρωμάτων. Το θρεπτικό υπόστρωμα πρέπει να έχει τέτοια σύσταση ώστε να παρέχει στα έκφυτα απαραίτητους χημικούς παράγοντες για την επιβίωση τους, μετά την αποκοπή της τροφοδοσίας τους από το μητρικό φυτό. Επίσης, το θρεπτικό υπόστρωμα πρέπει να κατευθύνει την κυτταρική διαφοροποίηση ανάλογα με τον επιδιωκόμενο σκοπό (Κίντζιος, 2015).

Κατά την ιστοκαλλιέργεια αρκετών φυτικών ειδών είναι δυνατόν η αποφυγή χρήσης του άγαρ στο θρεπτικό υπόστρωμα, με αποτέλεσμα την δημιουργία ενός υγρού υποστρώματος. Για την ιστοκαλλιέργεια φυτικών ειδών σε υγρά υποστρώματα απαραίτητη προϋπόθεση είναι η χρήση βιοαντιδραστών για την αποφυγή του φαινομένου της υαλοποίησης. Δηλαδή, τα έκφυτα έχουν διαφανή, ζαρωμένη έως κατσαρή εμφάνιση εξαιτίας της χαμηλής ανταλλαγή

των αερίων του στάσιμου υγρού (Rojas-Martinez and Klerk, 2010). Οι βιοαντιδραστήρες εξασφαλίζουν ομοιόμορφη κατανομή των θρεπτικών συστατικών του υποστρώματος στα έκφυτα και επαρκή αερισμό, με σωστή ανάδευση. Σε κάποιες περιπτώσεις χρησιμοποιείται υποστηρικτικό υλικό, όπως βαμβάκι, διηθητικό χαρτί, υαλοβάμβακας κ.ά. που επιτρέπει τη στήριξη του έκφυτου και τον καλό αερισμό του. (Κίντζιος, 2015). Με τα υγρά υποστρώματα επιτυγχάνεται ταχεία ανάπτυξη και ζωηρότητα των έκφυτων (Preece, 2010), καλύτερη απορρόφηση νερού και απαραίτητων μικροστοιχείων, εξαιτίας της άμεσης επαφής των έκφυτων με το υπόστρωμα. Επίσης, η παραγωγή μεριστωματοειδών και η σωματική εμβρυογένεση επηρεάζεται από τη φύση των υγρών υποστρωμάτων που οφείλεται στην μειωμένη έκκριση τοξινών (Ascough and Fennell, 2004).

Στην ιστοκαλλιέργεια υπάρχουν διάφορα προτεινόμενα θρεπτικά υποστρώματα που ακολουθούνται ως βάση. Για την ιστοκαλλιέργεια ευαίσθητων φυτικών ειδών στις υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων προτείνονται ως βάση θρεπτικά υποστρώματα όπως αυτά του Heller ή του Knop. Οι περισσότεροι φυτικοί ιστοί αναπτύσσονται θρεπτικά διαλύματα, πλούσια σε ανόργανα άλατα και οργανικές ουσίες όπως είναι αυτό των Murashige και Skoog (MS). Το 1962 οι δύο επιστήμονες δημιούργησαν ένα υπόστρωμα στο οποίο δοκιμάστηκε η ιστοκαλλιέργεια έκφυτων εντεριώνης ποικιλίας *Tobacco nicotiana*, με σκοπό την καλλογένεση (Murashige και Skoog, 1962). Επίσης, εξίσου γνωστά θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται ως βάση είναι των Schenk & Hilderbandt (SH), το B5 του Gamborg κ.ά. Είναι δυνατή η παρασκευή θρεπτικών υποστρωμάτων με βάση μία από τις παραπάνω γνωστές «συνταγές» κάνοντας απαραίτητες τροποποιήσεις που προσαρμόζονται στις απαιτήσεις του πειράματος (Κίντζιος, 2015).

10 Ρυθμιστικές ουσίες ανάπτυξης των φυτών

Οι φυτορυθμιστικές ουσίες (plant growth regulators) είναι οργανικές, συνθετικές ενώσεις, όπου σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις προκαλούν εμφανείς αντιδράσεις στην ανάπτυξη των φυτών. Δηλαδή, προάγουν, παρεμποδίζουν ή διεγείρουν τις διάφορες βιοχημικές, βιολογικές και φυσιολογικές διεργασίες, όπως είναι η αναπνοή, η αναπαραγωγή, η ωρίμανση, η γήρανση κ.ά. Οι συνθετικές φυτορυθμιστικές ουσίες, παράγονται τεχνητά και μπορεί να μοιάζουν χημικά με τις φυσικές. Δρουν και παράγονται τόσο εντός, όσο και εκτός των ιστών συγκεκριμένων σημείων στο φυτό (Πασπάτης, 1998, Δραγασάκη, 2019).

Οι φυσικές φυτορρυθμιστικές ουσίες προάγουν την ολοκλήρωση των δραστηριοτήτων της ανάπτυξης του φυτού, εφόσον καθορίζουν τη δράση του στο φυσικό περιβάλλον. Οι συνθετικές φυτορρυθμιστικές ουσίες παίζουν καθοριστικό ρόλο στη σύγχρονη γεωργία, επιτυγχάνοντας, τη ποιοτική και ποσοτική βελτίωση των παραγόμενων φυτικών προϊόντων με το μικρότερο δυνατό κόστος παραγωγής (Πασπάτης, 1998).

Δύο από τις κυριότερες κατηγορίες φυτορρυθμιστικών ουσιών που χρησιμοποιούνται στην ιστοκαλλιέργεια είναι οι αυξίνες και οι κυτοκινίνες.

Οι Αυξίνες διαχωρίζονται σε φυσικές (3-ινδολακετικό οξύ-IAA) και συνθετικές, το ινδολο-3-λακετικό οξύ (IBA) και το ναφθαλενακετικό οξύ (NAA). Οι αυξίνες καθορίζουν το φωτοτροπισμό, το θιγμοτροπισμό και τον γεωτροπισμό. Η ορμόνη αυτή είναι υπεύθυνη για την κυριαρχία της κορυφής, τη διόγκωση της ωοθήκης και του σχηματισμού του καρπού (Καράταγλης, 1994), την επιμήκυνση των κυττάρων στους βλαστούς και στις ρίζες, όπου είναι αποτέλεσμα της ικανότητας των ορμονών να συνθέτουν πρωτεΐνες και RNA (Κίντζιος, 2015). Επίσης, προωθούν την αύξηση του όγκου των κυττάρων, διεγείρουν τη δραστηριότητα του καμβίου, αποτελούν παράγοντες νεανικότητας των φυτών και είναι θεμελιώδεις παράγοντες της διατήρησης της ενεργητικότητας των οργάνων του φυτού.

Στην ιστοκαλλιέργεια οι αυξίνες σε μικρή συγκέντρωση (<10μM) προκαλεί ριζογένεση, σωματική εμβρυογένεση και σπανιότερα βλαστογένεση, ενώ σε συγκεντρώσεις πάνω από 10μM προκαλεί καλλογένεση (Κίντζιος, 2015).

Οι κυτταρικές μεμβράνες των σπερμάτων διαπερνιούνται από τις αυξίνες, με αποτέλεσμα την έναρξη της διαφοροποίησης και τάννυσης των κυττάρων του εμβρύου και τελικά την έκπτυξη του ριζιδίου (Βογιατζής και Πετρίδου, 2004)

Οι Κυτοκινίνες χωρίζονται σε φυσικές, που είναι όλες παράγωγες της αδεΐνης, και στις συνθετικές, όπως η κινετίνη, η 6-βενζυλαμινοπουρίνη (BAP) και η χλωροφαινυλοφαινυλουρία (Καράταγλης, 1994). Είναι υπεύθυνες για την έναρξη και λήξη των κυτταροδιαιρέσεων και της βλαστογένεσης, προάγουν την ανάπτυξη των βλαστών και παρεμποδίζουν την γήρανση των φύλλων (Κίντζιος, 2015). Επίσης, οι κυτοκινίνες επιτρέπουν την δράση των γιββεριλλινών και εκμηδενίζουν την δράση του αμπισσικού οξέος, που ευθύνεται για τον λήθαργο των σπόρων, με αποτέλεσμα την εκφύτρωσή τους (Βογιατζής και Πετρίδου, 2004). Στην ιστοκαλλιέργεια οι κυτοκινίνες χρησιμοποιούνται κυρίως για βλαστογένεση (Κίντζιος, 2015).

Σκοποί της Πτυχιακής Εργασίας

Στην παρούσα εργασία στόχος είναι να αξιολογηθεί η:

- 1) Επίδραση τεσσάρων διαφορετικών προμεταχειρίσεων σε σπόρους σπαραγγιού, προκειμένου να εκτιμηθεί η βλαστική τους ικανότητα.
- 2) Επίδραση στερεών (με προσθήκη άγαρ) και υγρών (χωρίς κανένα στερεοποιητικό) υποστρωμάτων στην *in vitro* καλλιέργεια σπόρων σπαραγγιού.
- 3) Αποτελεσματικότητα διαφορετικών αδρανών μέσων υποστήριξης (βαμβάκι και περλίτης) και καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης, προκειμένου να επιτευχθεί η καλή οξυγόνωση του υπό καλλιέργεια φυτικού υλικού.
- 4) Βλαστική ικανότητα των σπόρων μετά από 20 και 40 ημέρες καλλιέργειας στις *in vitro* συνθήκες.
- 5) Ταχύτητα βλάστησης μετά από επώαση 20 και 40 ημερών σε σχέση με τις μεταχειρίσεις που υποβλήθηκαν και σε συνδυασμό με τα διαφορετικά υποστρώματα καλλιέργειας.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το σπαράγγι ανήκει στην οικογένεια των *Asparagaceae*, παλαιότερα είχε ενταχθεί στην οικογένεια των *Liliaceae*. Το βασικότερο γένος της οικογένειας είναι το *Asparagus* spp., το οποίο περιλαμβάνει περίπου 200 είδη. Κατάγεται από την Ανατολική Ασία, όπου εξημερώθηκε και καλλιεργείται για περισσότερο από 2000 χρόνια. Η καλλιέργεια του σπαραγγιού διαδόθηκε σε όλη την Ευρώπη από τους Αρχαίους Έλληνες και τους Ρωμαίους.

Το βασικότερο καλλιεργούμενο-εδώδιμο είδος είναι το *Asparagus officinalis* L. Είναι είδος αυτοφυές, δίοικο, σπάνια ανδρομονόικο, μονοκότυλο, πολυετές με ορθόκλαδη ανάπτυξη που φτάνει έως και τα 2 μέτρα (Kew Science, 2017). Υπάρχουν και άλλα είδη με καλλωπιστική ή φαρμακευτική αξία. Καλλωπιστικά είδη είναι το *A. densiflorus* (Rasheed και Yaseen, 2013), το *A. aethiopicus* (Flora of North America, 2019), το *A. virgatus* (Weeds of Australia, 2019) κ.ά., φαρμακευτικά είδη είναι το *A. racemosus*, το *A. verticillatus* και το *A. adscendens* (Tiwari, 2018).

Οι σπουδαιότερες χώρες παραγωγής του σπαραγγιού είναι η Κίνα, το Μεξικό και το Περού, ενώ η βασική καταναλώτρια είναι η Γερμανία. Στην Ελλάδα το σπαράγγι καλλιεργείται κυρίως στην Μακεδονία.

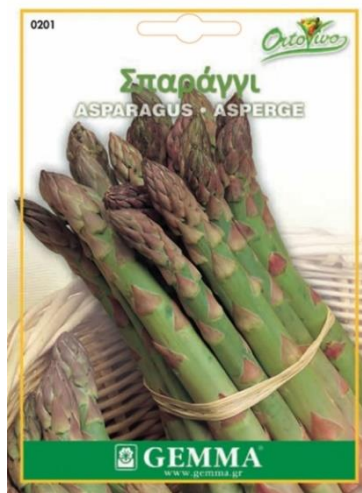
Ο πολλαπλασιασμός του σπαραγγιού γίνεται με ριζώματα (αγενής πολλαπλασιασμός), όμως για την παραγωγή των ριζωμάτων χρησιμοποιούνται σπόροι σ (εγγενής πολλαπλασιασμός). Ένας εναλλακτικός τρόπος αγενούς πολλαπλασιασμού, είναι ο μικροπολλαπλασιασμός (*micropropagation*). Χρησιμοποιούνται υπέργεια τμήματα του φυτού όπως: μασχालιαίοι οφθαλμοί, ακραία μεριστώματα και έκφυτα υποκοτύλιου (Manisha *et al*, 2011) είτε, υπόγεια τμήματα π.χ. ριζίδια, (Toma και Rsheed, 2012).

Κύριος στόχος του πειράματος ήταν, να αξιολογηθεί η επίδραση διαφορετικών τεχνικών βλάστησης σπόρων σπαραγγιού σε συνδυασμό με τη χρήση στερεών (*solid micropropagation media*) και υγρών υποστρωμάτων (*liquid micropropagation media*) καλλιέργειας σε *in vitro* συνθήκες. Η στατιστική δοκιμασία έγινε συγκρίνοντας τις μέσες τιμές με τη δοκιμή Duncan ($P<0,5$).

2.1 Φυτικό Υλικό Έναρξης

Σπόροι σπαραγγιού *A. officinalis* L. var. *argenteuil* της εταιρείας GEMMA® (Εικόνα 9),

προμηθεύτηκαν από κατάστημα γεωπονικών προϊόντων. Κάθε φάκελος περιείχε περίπου 150 σπόρους με το συνολικό βάρος να αγγίζει τα 3g. Έτος συλλογής των σπόρων ήταν το χρονικό διάστημα 2018-2019 και έτος λήξης το 2021. Έγινε μια οπτική-μακροσκοπική επιλογή των σπόρων, επιλέγοντας τους καλύτερους (σπόροι ολόκληροι, καλά ανεπτυγμένοι, χωρίς τραύματα και με καλή ομοιομορφία μεταξύ τους), οι οποίοι στη συνέχεια εντάχθηκαν στη διαδικασία της βλάστησης αξιοποιώντας την *in vitro* τεχνολογία. Δοκιμάστηκαν τέσσερις μεθοδολογίες βλάστησης: α) Μάρτυρας δεν έγινε καμία μεταχείριση στο σπόρο, β) Ενυδάτωση των σπόρων για 12h σε θερμοκρασία δωματίου (24-25⁰C) και στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 5⁰C, γ) Ενυδάτωση των σπόρων για 12h σε θερμοκρασία δωματίου (24-25⁰C), στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 5⁰C και εμβάπτιση (=soaking) για 24h στους 24-25⁰C, δ) Μηχανικό σκαριφάρισμα με τρύπημα μικροπύλης. Σε συνδυασμό με τις τέσσερις προαναφερόμενες μεθοδολογίες, αξιολογήθηκαν τέσσερα διαφορετικά υποστρώματα: α) ήταν στερεοποιημένο με άγαρ, β) υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης των σπόρων το βαμβάκι, γ) υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης των σπόρων τον περλίτη και δ) καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (liquid-shake culture) με τη βοήθεια ενός περιστροφικού αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης (rotary shaker) (Εικόνα 10, Πίνακας 4).



Εικόνα 9: Συσκευασία με σπόρους σπαραγγιού *A. officinalis L. var. argenteuil*

2.2 Προετοιμασία Θρεπτικών Υποστρωμάτων

Προκειμένου να μελετηθεί η δυνατότητα βλάστησης σπόρων σπαραγγιού σε *in vitro* συνθήκες αξιοποιήθηκε ως βάση το προτεινόμενο από τους Murashige and Skoog (1962) (Πίνακας 3). Δημιουργήθηκαν δύο κατηγορίες θρεπτικών υποστρωμάτων, η πρώτη ήταν με βάση το Murashig and Skoog (1962) εμπλουτισμένο με θειαμίνη HCl (2 mg/l), μυο-ινοζιτόλη

(100 mg/l) και σακχαρόζη (30gr/l), στερεοποιημένο με άγαρ (8 gr/l) (**στερεό υπόστρωμα**). Η δεύτερη κατηγορία υποστρωμάτων επίσης, είχε ως βάση το Murashige and Skoog (1962), εμπλουτισμένο με θειαμίνη HCl (2 mg/l), μυο-ινοζιτόλη (100 mg/l) και σακχαρόζη (30gr/l), όμως χωρίς την προσθήκη άγαρ (**υγρά υποστρώματα**). Τα θρεπτικά υποστρώματα (στερεά και υγρά) εμπλουτίστηκαν με 6-βενζυλαμινοπουρίνη (BAP) (0.5mg/L) (Πίνακας 4). Το pH ρυθμίστηκε στο 5,8 και ακολούθησε ανάδευση σε θερμαινόμενο μαγνητικό αναδευτήρα, διανομή σε υάλινα μπουκάλια Duran™ και αποστείρωση σε υγρό κλίβανο για 20' στους 120°C. Ακολούθησε η διανομή του αποστειρωμένου υποστρώματος σε τρυβλία και κωνικές φιάλες τύπου Erlenmeyer των 250ml. Στα υγρά υποστρώματα η οξυγόνωση του υπό καλλιέργεια φυτικού υλικού (σπόρου), επιτεύχθηκε με τη χρήση αδρανών υλικών (inert materials), όπως βαμβάκι και περλίτης, καθώς και καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (liquid-shake culture) με τη βοήθεια μιας συσκευής συνεχούς ανάδευσης (rotary shaker) (Εικόνα 10).

Πίνακας 3: Υπόστρωμα καλλιέργειας των Murashige και Skoog (1962) (τροποποιημένο)

Μακροστοιχεία	KNO ₃	1900 mg/L
	KH ₂ PO ₄	170 mg/L
	NH ₄ NO ₃	1650 mg/L
	MgSO ₄ 7H ₂ O	370 mg/L
	CaCl ₂ 2H ₂ O	440 mg/L
Μικροστοιχεία	FeSO ₄ 7H ₂ O	27,8 mg/L
	MnSO ₄ 4H ₂ O	22,3 mg/L
	ZnSO ₄ 7H ₂ O	8,6 mg/L
	H ₃ BO ₃	6,2 mg/L
	KI	0,83 mg/L
	CuSO ₅ H ₂ O	0,025 mg/L
	CoCl ₂ 6H ₂ O	0,025 mg/L
	Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,25 mg/L
	Na ₂ EDTA2H ₂ O	37,3 mg/L
myo-Inositol		100 mg/L
Thiamina		2 mg/L
BAP		0,5 mg/L
Σακχαρόζη		30 g
Άγαρ		8g
pH		5,8

Πίνακας 4: Μεταχειρίσεις-μέθοδοι βλάστησης και υποστρώματα καλλιέργειας για πρόκληση βλάστησης σπόρων παραγωγού σε *in vitro* συνθήκες.

Μεταχειρίσεις-μέθοδοι βλάστησης	Επεμβάσεις
<p>Μέθοδος 1 (M1) Καμία μεταχείριση στο σπόρο (μάρτυρας)</p>	a. Στερεό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L
	b. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L μέσο στήριξης των σπόρων το βαμβάκι
	c. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L μέσο στήριξης των σπόρων ο περλίτης
	d. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (rotary shaker)
<p>Μέθοδος 2 (M2) Ενυδάτωση των σπόρων για 12h στους 24-25°C και στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5°C</p>	a. Στερεό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L
	b. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L μέσο στήριξης των σπόρων το βαμβάκι
	c. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L μέσο στήριξης των σπόρων ο περλίτης
	d. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (rotary shaker)
<p>Μέθοδος 3 (M3) Ενυδάτωση των σπόρων για 12h στους 24-25°C, στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5°C και soaking για 24h στους 24-25°C</p>	a. Στερεό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L
	b. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L μέσο στήριξης των σπόρων το βαμβάκι
	c. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L μέσο στήριξης των σπόρων ο περλίτης
	d. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (rotary shaker)
<p>Μέθοδος 4 (M4) Μηχανικό σκαριφάρισμα-τρύπημα μικροπύλης</p>	a. Στερεό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L
	b. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L μέσο στήριξης των σπόρων το βαμβάκι
	c. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L μέσο στήριξης των σπόρων ο περλίτης
	d. Υγρό υπόστρωμα MS (1962) + BAP 0,5mg/L καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (rotary shaker)

2.2.1 Οργάνωση των επεμβάσεων και τοποθέτηση των Θρεπτικών Υποστρωμάτων σε Τρυβλία Petri και Κωνικές Φιάλες

Πριν την εγκατάσταση των σπόρων πραγματοποιήθηκε η διαδικασία απολύμανσης τους κάτω από θάλαμο νηματικής ροής. Αρχικά, οι σπόροι τοποθετήθηκαν σε οινόπνευμα 95% για 30" και στη συνέχεια σε διχλωριούχο υδράργυρο 0.1% με 12 σταγόνες Tween20 για 15 λεπτά. Ακολούθησαν 3 ξεπλύματα με αποστειρωμένο νερό (Toma και Rsheed, 2012) και τελικά η εγκατάστασή τους στις τελικές θέσεις (τρυβλία ή κωνικές φιάλες).

Στην 1^η επέμβαση αξιοποιήθηκε θρεπτικό υπόστρωμα, που ως βάση είχε το Murashige and Skoog (1962) εμπλουτισμένο με θειαμίνη HCl (2 mg/l), μυο-ινοζιτόλη (100 mg/l), BAP (0.5mg/L, σακχαρόζη (30gr/l) και άγαρ (8 gr/l) (**στερεό υπόστρωμα**) (Πίνακας 4). Το pH ρυθμίστηκε στο 5,8 και ακολούθησε ανάδευση σε θερμαινόμενο μαγνητικό αναδευτήρα, διανομή σε υάλινα μπουκάλια και αποστείρωση σε υγρό κλίβανο για 20' στους 120⁰C. Ακολουθεί η διανομή του υποστρώματος σε αποστειρωμένα τρυβλία Petri (9.5cm διάμετρο και 1.5cm ύψος). Σε κάθε τρυβλίο προστέθηκαν περίπου 15ml αποστειρωμένου θρεπτικού υποστρώματος στερεοποιημένο με άγαρ (Εικόνα 10Α). Για τη συγκεκριμένη επέμβαση (αξιοποίηση στερεού υποστρώματος), συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 28 τρυβλία (4*7), δηλαδή μια 7δα/μέθοδο βλάστησης του σπόρου. Σε κάθε τρυβλίο καλλιεργήθηκαν 8 σπόροι, με το συνολικό αριθμό να φθάνει τους 56 σπόρους (7*8)/επέμβαση. Ο συνολικός αριθμός των σπόρων που καλλιεργήθηκαν σε στερεό υπόστρωμα και για τις τέσσερις μεθοδολογίες ήταν 224 (4*56).

Στις υπόλοιπες τρεις επεμβάσεις χρησιμοποιήθηκαν επίσης θρεπτικά υποστρώματα, που ως βάση είχε το Murashig and Skoog (1962) εμπλουτισμένο με θειαμίνη HCl (2 mg/l), μυο-ινοζιτόλη (100 mg/l), BAP (0.5mg/L, σακχαρόζη (30gr/l), όμως χωρίς άγαρ (**υγρό υπόστρωμα**). Η οξυγόνωση των σπόρων, επιτεύχθηκε με την αξιοποίηση διαφόρων συστημάτων ανάπτυξης στις υγρές καλλιέργειες όπως: α) χρήση αδρανών υλικών για στήριξη των σπόρων (βαμβάκι και περλίτης) και β) καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (liquid-shake culture), με την βοήθεια ενός περιστροφικού αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης (rotary shaker).

Στη 2η επέμβαση αξιοποιήθηκαν συμπιεσμένα τεμάχια βαμβακιού (cotton pads) της εταιρείας SEPTONA κόπηκαν στις διαστάσεις του τρυβλίου (διάμετρο περίπου 9,5 cm) και αποστειρώθηκαν στον υγρό κλίβανο στους 120⁰C για 20 λεπτά. Μετά την αποστείρωση τους τοποθετούνται στα αποστειρωμένα τρυβλία (περίπου 0,7g/τρυβλίο) και ακολουθεί η προσθήκη του αποστειρωμένου υγρού υποστρώματος (15-20ml/τρυβλίο) (Εικόνα 10B). Η επέμβαση αυτή αφορά την βλάστηση των σπόρων σε υγρό υπόστρωμα MS + BAP 0,5mg/L και μέσο στήριξης των σπόρων το βαμβάκι (Πίνακας 4). Για τη συγκεκριμένη επέμβαση, συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 28 τρυβλία (4*7), δηλαδή μια 7δα για κάθε μεθοδολογία βλάστησης του σπόρου. Σε κάθε τρυβλίο καλλιεργήθηκαν 8 σπόροι, δηλαδή 56 συνολικά (7*8). Ο συνολικός αριθμός των σπόρων που καλλιεργήθηκαν σε υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης το βαμβάκι και για τις τέσσερις μεθοδολογίες ήταν 224 (4*56).

Για την πραγματοποίηση της 3ης επέμβασης, ως αδρανές υλικό χρησιμοποιήθηκε ο υδροπονικός περλίτης, με διάμετρο κόκκου από 4-6 mm. Το συγκεκριμένο υλικό επιλέχτηκε,

επειδή είναι πολύ ελαφρύ, έχει υψηλή συγκράτηση νερού και ουδέτερο pH. Επιπλέον είναι χημικά και βιολογικά αδρανές και δεν κατακρατά-δεσμεύει τα θρεπτικά στοιχεία του υποστρώματος. Μια ποσότητα περλίτη πλύθηκε κάτω από τρεχούμενο νερό βρύσης και απλώθηκε σε απορροφητικό χαρτί για να στεγνώσει. Στη συνέχεια αποστειρώθηκε σε υγρό κλίβανο στους 120°C για 20 λεπτά. Ο αποστειρωμένος περλίτης μεταφέρθηκε σε ασηπτικές συνθήκες και τοποθετήθηκε στα τρυβλία (περίπου 1,8g/τρυβλίο), συμπληρώνοντας το κάθε τρυβλίο με 15-20ml αποστειρωμένου υγρού υποστρώματος (Εικόνα 10Γ). Η επέμβαση αυτή αφορά τη βλάστηση των σπόρων σε υγρό υπόστρωμα MS + BAP 0,5mg/L και μέσο στήριξης των σπόρων τον περλίτη (Πίνακας 4). Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 28 τρυβλία (4*7), δηλαδή μια 7δα για κάθε μεθοδολογία βλάστησης του σπόρου. Σε κάθε τρυβλίο καλλιεργήθηκαν 8 σπόροι, δηλαδή 56 (7*8). Ο συνολικός αριθμός των σπόρων που καλλιεργήθηκαν σε υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης τον περλίτη και για τις τέσσερις μεθοδολογίες ήταν 224 (4*56).

Η επώαση των σπόρων (για όλες τις προαναφερόμενες επεμβάσεις) έγινε σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών ανάπτυξης (θερμοκρασία 25°C, 16 ώρες φωτοπερίοδο και ένταση φωτισμού 3.500 Lux) για 40 ημέρες. Η υποχώρηση της στάθμης του υγρού υποστρώματος στα τρυβλία καλλιέργειας, αντιμετωπίστηκε με σταδιακή προσθήκη νέου αποστειρωμένου υποστρώματος.

Στην 4η επέμβαση χρησιμοποιήθηκαν κωνικές φιάλες τύπου Erlenmeyer των 250ml. Η ανακίνηση του υγρού καλλιέργειας για την οξυγόνωση των σπόρων έγινε, με την αξιοποίηση ενός περιστροφικού αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης (rotary shaker) (Εικόνα 10Δ). Σε κάθε κωνική φιάλη τοποθετήθηκαν 65ml υγρού υποστρώματος, κλείστηκαν με βαμβάκι και αλουμινόχαρτο και μεταφέρθηκαν σε υγρό κλίβανο για αποστείρωση στους 120°C για 20'. Μετά την αποστείρωση οι φιάλες μεταφέρονται σε θάλαμο οριζόντιας νηματικής ροής και ακολουθεί η εμφύτευση των σπόρων (8 σπόροι/κωνική φιάλη). Οι κωνικές φιάλες με τους υπό καλλιέργεια σπόρους μεταφέρονται στον περιστροφικό αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης (90 rpm, θερμοκρασία 25°C, 16 ώρες φωτοπερίοδο και ένταση φωτισμού 10.000 Lux), όπου παρέμειναν 40 περίπου ημέρες, προκειμένου να πραγματοποιηθεί η έκπτυξη των βλαστών. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 24 κωνικές φιάλες των 250ml (4*6), δηλαδή μια 6δα για κάθε μεθοδολογία βλάστησης του σπόρου. Σε κάθε φιάλη καλλιεργήθηκαν 8 σπόροι, δηλαδή 48 (6 φιάλες*8σπόροι). Ο συνολικός αριθμός των σπόρων που καλλιεργήθηκαν σε περιστροφικού αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης (rotary shaker) και για τις τέσσερις μεθοδολογίες ήταν 192 (4*48).

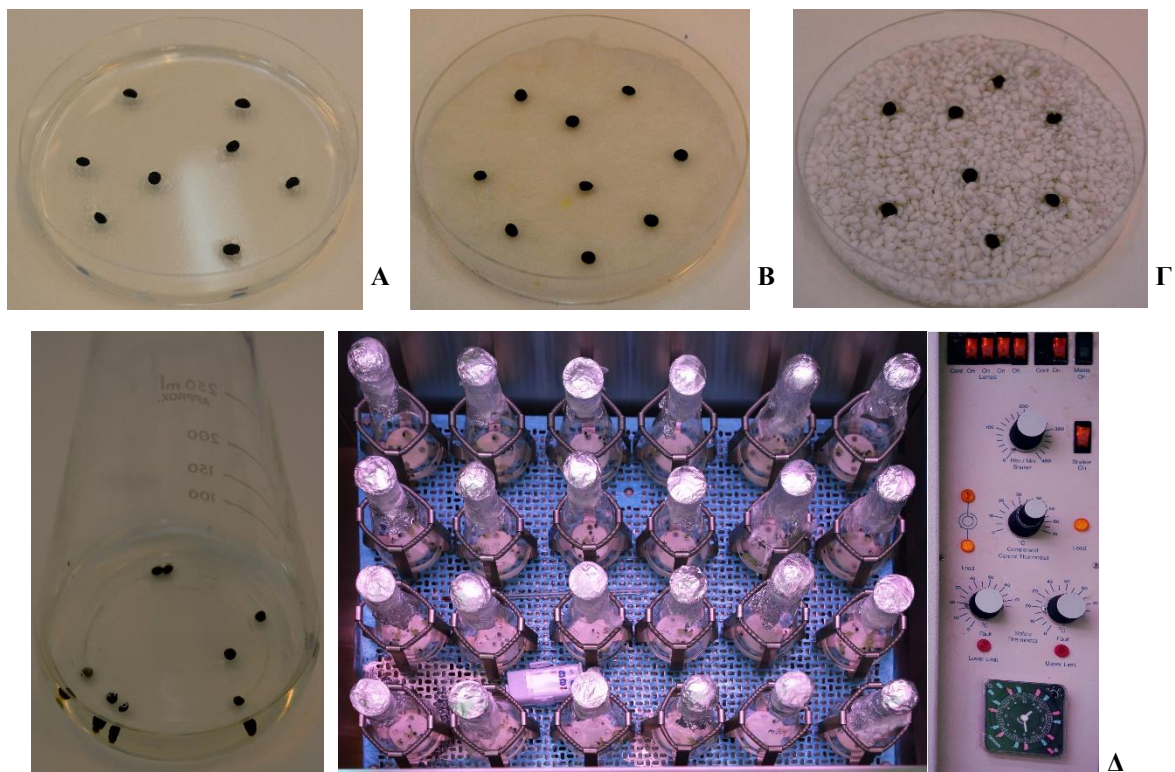
Για κάθε μεθοδολογία αξιοποιήθηκαν 216 σπόροι με το συνολικό αριθμό σπόρων για όλο

το πείραμα να ανέρχεται στους 864 (4*216).

2.3 Μέθοδοι Βλάστησης

Στην πρώτη μέθοδο δεν έγινε καμία μεταχείριση στο σπόρο (μάρτυρας). Πενήντα-έξι (56) σπόροι εγκαταστάθηκαν σε τέσσερα διαφορετικά υποστρώματα, αφού πρώτα απολυμάνθηκαν (Πίνακας 4).

Στη δεύτερη μέθοδο βλάστησης μελετήθηκε η στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5⁰C (Conversa και Elia, 2009). Απαραίτητη προϋπόθεση πριν την στρωμάτωση είναι η ενυδάτωση των σπόρων (Ρούσσος, 2009). Οι σπόροι ενυδατώθηκαν για 12h με απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία δωματίου. Ύστερα, σε τρυπημένα τρυβλία Petri (d=9.5cm, h=1.5cm) τοποθετήθηκαν σπόροι σπαραγγιού καλυμμένοι από στρώματα βρεγμένου βαμβακιού και τοποθετήθηκαν στο ψυγείο. Πενήντα-έξι (56) από τους στρωματωμένους σπόρους αργότερα απολυμάνθηκαν και εγκαταστάθηκαν σε τέσσερα διαφορετικά υποστρώματα (Πίνακας 4)



Εικόνα 10: Εγκατεστημένοι σπόροι σε: (Α) στερεό υπόστρωμα, (Β) υγρό υπόστρωμα και Βαμβάκι, (Γ) υγρό υπόστρωμα και περλίτης και (Δ) υγρό ανακίνησης (rotary shaker)

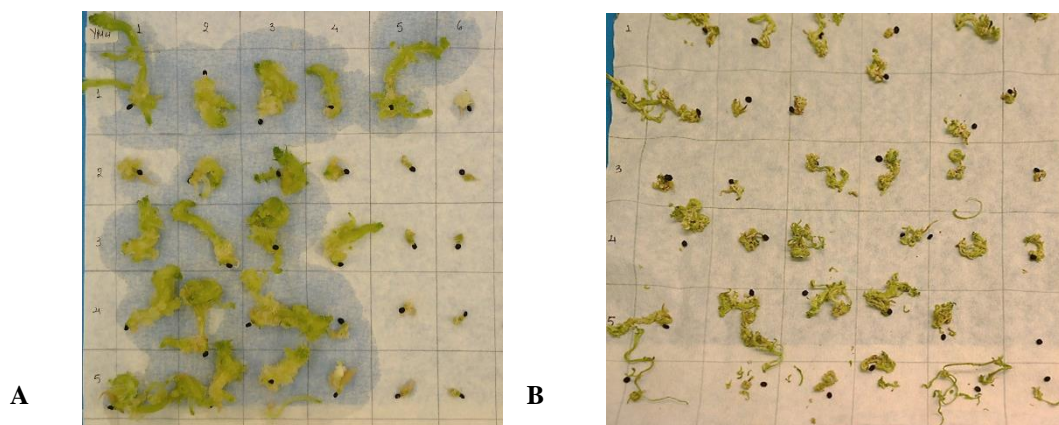
Στην τρίτη μέθοδο βλάστησης, οι σπόροι στρωματώθηκαν με την ίδια τεχνική, για 5 ημέρες στους 4-5⁰C (Conversa και Elia, 2009) και στην συνέχεια εμβάπτιση (*soaking*) σε απεσταγμένο νερό για 24h σε θερμοκρασία δωματίου (Tiwari *et al*, 2018). Οι σπόροι πριν την στρωμάτωση ενυδατώθηκαν για 12h (Ρούσσος, 2009) με απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία

δωματίου. Μετά το soaking ακολούθησε απολύμανση και εγκατάσταση 56 σπόρων σε τέσσερα διαφορετικά υποστρώματα (Πίνακας 4)

Στην τέταρτη μέθοδο εξετάστηκε το μηχανικό σκαριφάρισμα με τρύπημα της μικροπύλης χρησιμοποιώντας μία βελόνα (Gupta *et al*, 2008) (Πίνακας 4). Στη μέθοδο αυτή οι σπόροι πρώτα απολυμάνθηκαν και αργότερα σκαριφαρίστηκαν, με την επίγνωση ότι οι απολυμαντικές ουσίες θα μπορούσαν να καταστρέψουν το έμβρυο.

2.4 Καταγραφή Χαρακτηριστικών των Βλαστημένων Σπόρων και Προσδιορισμός του Νωπού και Ξηρού Βάρους

Σαράντα μέρες μετά το τέλος της επώασης, οι βλαστημένοι σπόροι αφαιρέθηκαν από το θρεπτικό τους υπόστρωμα και καταγράφηκαν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, όπως: αριθμός και μήκος των βλαστών, αριθμός και μήκος των ριζών και το νωπό και ξηρό βάρος/συστάδα καλλιεργούμενου σπόρου.



Εικόνα 11: : (A) Νωπά σπορο- φυτάρια, (B) Αποξηραμένα σπορο-φυτάρια.

Μετά την καταγραφή των προαναφερθέντων χαρακτηριστικών έγινε ο προσδιορισμός του νωπού και ξηρού βάρους. Οι συστάδες των βλαστημένων σπόρων απομακρύνονται από το υπόστρωμα καλλιέργειας, ξεπλένονται με τρεχούμενο νερό βρύσης και τοποθετούνται σε απορροφητικό χαρτί, προκειμένου να απομακρυνθεί η υγρασία. Ακολουθεί η ζύγιση τους σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας (Εικόνα 11α). Μετά την καταγραφή του νωπού βάρους οι βλαστημένοι σπόροι τοποθετήθηκαν στον ξηραντήρα στους 65⁰C για 24 ώρες. Στη συνέχεια έγινε η ζύγιση σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας και η καταγραφή του ξηρού βάρους (Εικόνα 11β).

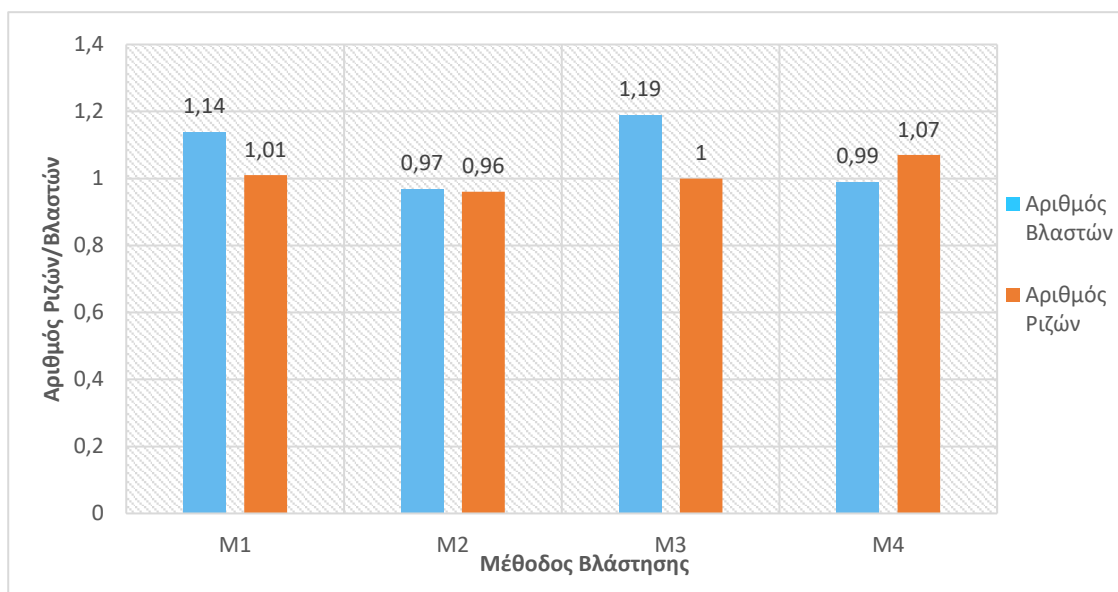
3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την αξιολόγηση της επίδρασης των τεσσάρων μεθόδων (α. Ενυδάτωση 12h στους 24-25°C και στρωμάτωση για 5 μέρες στους 4-5°C, β. Ενυδάτωση 12h στους 24-25°C, στρωμάτωση για 5 μέρες στους 4-5°C και soaking για 24h στους 24-25°C, γ. Μηχανικό σκαριφάρισμα-τρύπημα μικροπύλης, δ. Μάρτυρας χωρίς καμία τεχνική) βλάστησης σπόρων σπαραγγιού (*A. officinalis* var. *argenteuil*) σε *in vitro* συνθήκες. Η αξιολόγηση των τεσσάρων μεθόδων βλάστησης έγινε σε συνδυασμό με τα αξιοποιούμενα θρεπτικά υποστρώματα καλλιέργειας (στερεό υπόστρωμα, υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης των σπόρων το βαμβάκι, υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης των σπόρων τον περλίτη και υγρό ανακίνησης με τη βοήθεια μιας συσκευής συνεχούς ανάδευσης). Αμφότερα τα υποστρώματα (στερεά και υγρά) ως βάση είχαν το MS 1962, ενισχυμένο με θειαμίνη HCl (2 mg/L), ινοσιτόλη (100 mg/L), BAP (0.5mg/L), σακχαρόζη (30 g/L). Το στερεό υπόστρωμα περιείχε άγαρ (7,5 g/L), ενώ τα υγρά δεν είχαν στερεοποιηθεί.

Η εγκατάσταση των σπόρων τόσο στο στερεό υπόστρωμα, όσο και στο υγρό υπόστρωμα με τη χρήση αδρανών υλικών (βαμβάκι και περλίτης), έγινε σε τρυβλία Petri. Αξιοποιήθηκαν 7 τρυβλία με 8 σπόρους/τρυβλίο. Η εγκατάσταση των σπόρων στο υγρό ανακίνησης (rotary shaker) έγινε σε κωνικές φιάλες. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 24 κωνικές φιάλες των 250ml (4*6), δηλαδή μια 6δα για κάθε μεθοδολογία βλάστησης του σπόρου. Σε κάθε φιάλη καλλιεργήθηκαν 8 σπόροι, δηλαδή 48 (6 φιάλες*8σπόροι). Ο συνολικός αριθμός των σπόρων που καλλιεργήθηκαν σε περιστροφικού αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης (rotary shaker) και για τις τέσσερις μεθοδολογίες ήταν 192 (4*48). Για κάθε μεθοδολογία αξιοποιήθηκαν 216 σπόροι με το συνολικό αριθμό για όλο το πείραμα να ανέρχεται στους 864 (4*216). Η στατιστική ανάλυση έγινε συγκρίνοντας τις μέσες τιμές των χαρακτηριστικών του κάθε φυταρίου με το κριτήριο Duncan (P=0,05).

3.1 Αξιολόγηση της Επίδρασης των Μεθόδων Βλάστησης Σπόρων Σπαραγγιού σε *in vitro* Συνθήκες

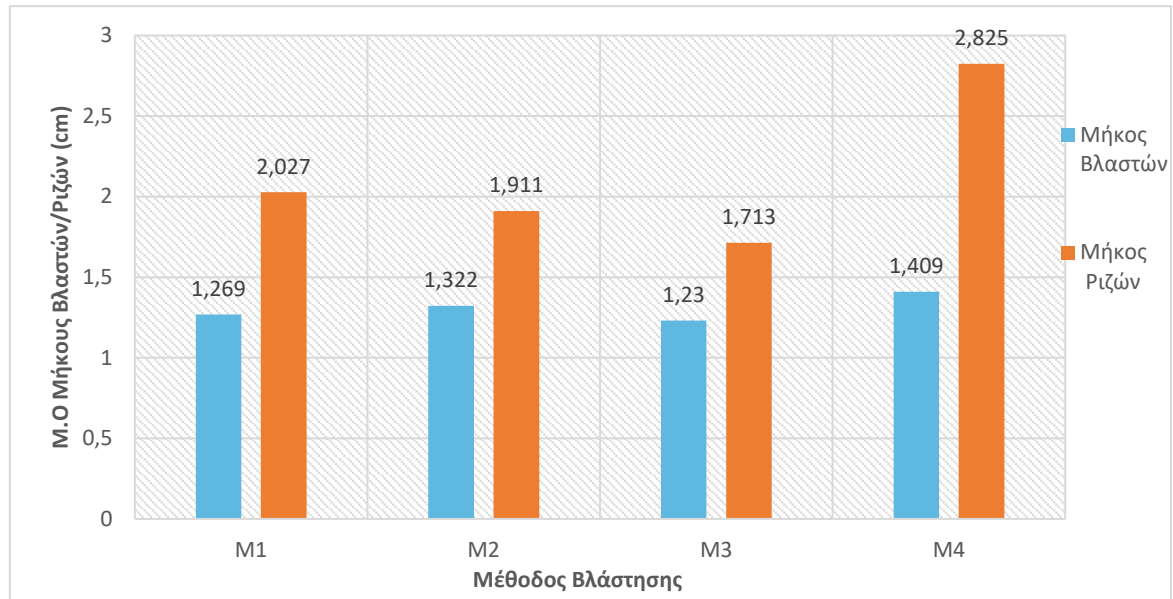
Από την αξιολόγηση της επίδρασης των τεσσάρων μεθόδων βλάστησης (M1: Μάρτυρας χωρίς καμία τεχνική, M2: Ενυδάτωση 12h στους 24-25°C και στρωμάτωση για 5 μέρες στους 4-5°C, M3: Ενυδάτωση 12h στους 24-25°C, στρωμάτωση για 5 μέρες στους 4-5°C και soaking για 24h στους 24-25°C, M4: Μηχανικό σκαριφάρισμα-τρύπημα μικροπύλης) σε σπόρους σπαραγγιού στα χαρακτηριστικά: αριθμός βλαστών και ριζών, μήκος βλαστών και ριζών, απόδοση σε νωπό και ξηρό βάρος, προκύπτουν τα παρακάτω: Γενικά οι τιμές που καταγράφηκαν για τα χαρακτηριστικά αριθμός των βλαστών και των ριζών κατά τη βλάστηση των σπόρων αξιοποιώντας τις τέσσερις μεθοδολογίες βλάστησης (M1, M2, M3 και M4) δεν διαφοροποιούνται αισθητά. Ειδικότερα, ο Μ.Ο. αριθμού των βλαστών ήταν 1.14, 0.97, 1.19, 0.99 για τις μεθόδους βλάστησης M1, M2, M3 και M4, αντίστοιχα. Παρόμοιες τιμές καταγράφονται για τον αριθμό των ριζών που αναπτύχθηκαν στους σπόρους δηλαδή, 1.01, 0.96, 1, 0.97 για την M1, M2, M3 και M4, αντίστοιχα (Γράφημα 3).



Γράφημα 3: Επίδραση των τεσσάρων μεθόδων βλάστησης στον αριθμό των βλαστών και ριζών σε σπόρους σπαραγγιού καλλιεργούμενους σε *in vitro* συνθήκες

Στο γράφημα 4 απεικονίζεται ο μέσος όρος του μήκους των βλαστών και των ριζών. Οι σπόροι που δεν υπέστησαν καμιά μεταχείριση (M1) έδωσαν βλαστούς, το μήκος των οποίων (1.269cm) κυμάνθηκε περίπου στα ίδια επίπεδα με το μήκος των βλαστών που προέκυψαν από σπόρους που υποβλήθηκαν στις τρεις μεταχειρίσεις (M2 = 1.322cm, M3 = 1.23cm και M4 = 1,409cm). Όσον αφορά το μέσο όρο μήκους των ριζών φαίνεται ότι, οι σπόροι που

υποβλήθηκαν σε μηχανικό σκαριφάρισμα-τρύπημα μικροπύλης δημιούργησαν ρίζες με μεγαλύτερο μήκος (M4 = 2,825cm).

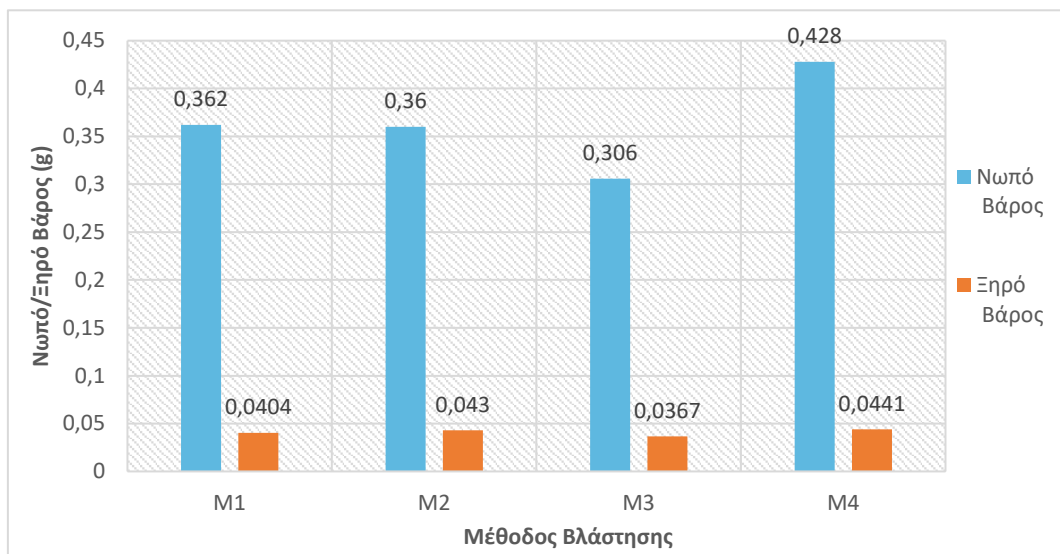


Γράφημα 4: Επίδραση των τεσσάρων μεθόδων βλάστησης στο μήκος των βλαστών και των ριζών σε σπόρους παραγωγού καλλιεργούμενους σε *in vitro* συνθήκες

Και η απόδοση σε νωπό και ξηρό βάρος φαίνεται να μην επηρεάζεται από την μεταχείριση των σπόρων πριν από την βλάστηση τους. Ο Μ.Ο. νωπού βάρους/συστάδα βλαστημένου σπόρου κυμάνθηκε από 0,3g έως 0,4g (M1: 0.362g, M2: 0.36g, M3: 0.306g, M4: 0.428g), ενώ του ξηρού βάρους από 0,037 έως 0,044gr (M1= 0,04g, M2 = 0,043g, M3 = 0,037g και M4 = 0,044g) (Γράφημα 5).

Η ανάλυση της διασποράς των μορφολογικών χαρακτηριστικών: αριθμός και ύψος βλαστών, αριθμός και μήκος ριζών, νωπό και ξηρό βάρος για τις μεθόδους βλάστησης και τις επεμβάσεις παρουσιάζεται στον Πίνακα 5. Η στατιστική δοκιμασία έγινε συγκρίνοντας τις μέσες τιμές με τη δοκιμή Duncan ($P < 0,5$). Από τα στοιχεία του Πίνακα προκύπτει ότι οι μέθοδοι βλάστησης (M1, M2, M3 και M4) δεν επηρέασαν στατιστικά σημαντικά κανένα από τα έξι αξιολογημένα χαρακτηριστικά. Σε αντίθεση με τις μεθόδους βλάστησης, οι επεμβάσεις (α. στερεό υπόστρωμα, β. υγρό υπόστρωμα + μέσο στήριξης των σπόρων το βαμβάκι, γ. υγρό υπόστρωμα + μέσο στήριξης των σπόρων τον περλίτη και δ. καλλιέργεια των σπόρων σε υγρό ανακίνησης με τη βοήθεια rotary shaker) επιδρούν σημαντικά σε όλα τα αξιολογημένα χαρακτηριστικά με εξαίρεση το μήκος των βλαστών. Όσον αφορά την αλληλεπίδραση μεταξύ των πηγών παραλλακτικότητας (μέθοδοι βλάστησης x επεμβάσεις) εμφανίστηκε στατιστικώς

σημαντική μόνο στα χαρακτηριστικά αριθμός βλαστών και αριθμός ριζών.



Γράφημα 5: Επίδραση των τεσσάρων μεθόδων βλάστησης στην απόδοση σε νωπό και ξηρό βάρος σε σπόρους παραγγίου καλλιεργούμενους σε *in vitro* συνθήκες

Στον Πίνακα 6 παρουσιάζεται η στατιστική ανάλυση της επίδρασης των τεσσάρων μεταχειρίσεων-μεθόδων βλάστησης (M1, M2, M3 και M4) στα χαρακτηριστικά: αριθμός και ύψος βλαστών, αριθμός και μήκος ριζών, νωπό και ξηρό βάρος. Η στατιστική δοκιμασία έγινε συγκρίνοντας τις μέσες τιμές με τη δοκιμή Duncan. Καθίσταται εμφανές ότι κανένα από τα αξιολογημένα χαρακτηριστικά δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά σε σπόρους που υποβλήθηκαν στις τρεις μεταχειρίσεις (M2, M3 και M4), δηλαδή οι τιμές κυμάνθηκαν κοντά με εκείνες του μάρτυρα (M1).

Πίνακας 5: Ανάλυση διασποράς των χαρακτηριστικών: αριθμός βλαστών και ριζών, μήκος βλαστών και ριζών και νωπό και ξηρό βάρος, για τις 4 μεθόδους βλάστησης και τις 4 επεμβάσεις-υποστρώματα

Πηγή παραλακπ-κότητας	Αριθμός Βλαστών			Μήκος Βλαστών			Αριθμός Ριζών			Μήκος Ριζών			Νωπό Βάρος			Ξηρό Βάρος		
	BE	MT	F	BE	MT	F	BE	MT	F	BE	MT	F	BE	MT	F	BE	MT	F
Μέθοδοι Βλάστησης	3	2,788	1,38ns	3	228,9	0,909ns	3	0,501	0,665ns	3	48,08	0,959ns	3	0,674	1,028ns	3	0,003	0,873ns
Επέμβαση	3	10,29	5,09**	3	475,6	1,889ns	3	32,215	42,762***	3	581,75	11,598***	3	81,947	124,979***	3	0,43	124,631***
Μέθοδοι Χ Επέμβαση	9	8,372	4,14***	9	243,17	0,966ns	9	2,177	2,89**	9	55,47	1,106ns	9	0,607	0,925ns	9	0,003	0,985ns

Πίνακας 6: Αξιολόγηση της επίδρασης των τεσσάρων μεταχειρίσεων -μεθόδων βλάστησης σπόρων σπαραγγιού που καλλιεργήθηκαν σε *in vitro* συνθήκες.

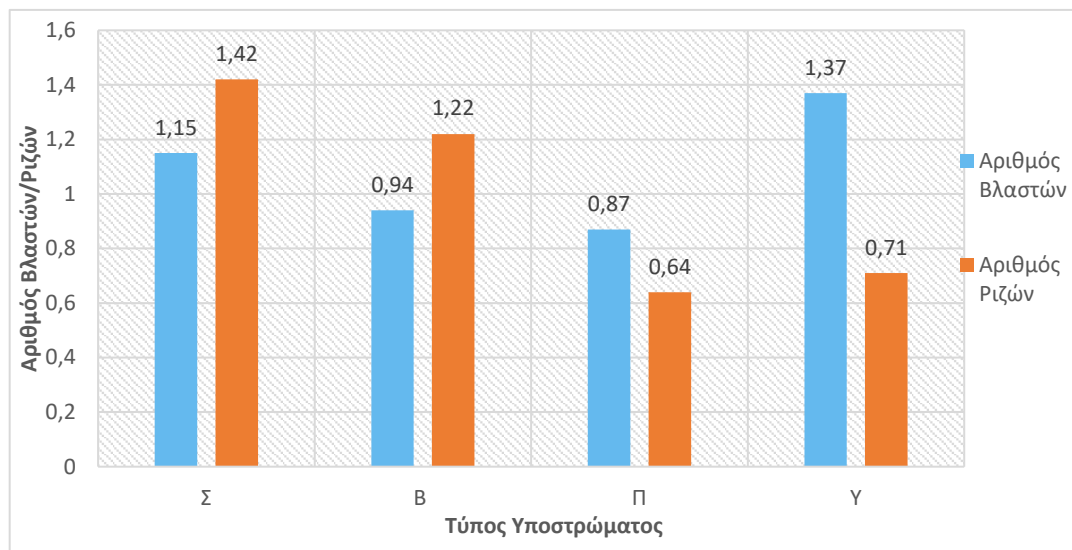
Μέθοδοι βλάστησης -Μεταχειρίσεις των σπόρων		Αριθμός Βλαστών	Μήκος Βλαστών (cm)	Αριθμός Ριζών	Μήκος Ριζών (cm)	Νωπό Βάρος (g)	Ξηρό Βάρος (g)
M1	Μάρτυρας (καμιά μεταχείριση)	1,14a	1,269a	1,01a	2,027a	0,362a	0,0404a
M2	Ενυδάτωση των σπόρων για 12h στους 24-25°C και στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5°C	0,97a	1,322a	0,96a	1,911a	0,36a	0,043a
M3	Ενυδάτωση των σπόρων για 12h στους 24-25°C, στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5°C και soaking για 24h στους 24-25°C	1,19a	1,23a	1a	1,713a	0,306a	0,0367a
M4	Μηχανικό σκαριφάρισμα-τρύπημα μικροπύλης	0,99a	1,409a	1,07a	2,825a	0,428a	0,0441a

Οι μέσες τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά κατά την δοκιμή Duncan ($P < 0,5$)

3.2 Αξιολόγηση της Επίδρασης Θρεπτικών Υποστρωμάτων για τη Βλάστηση Σπόρων Σπαραγγιού σε *in vitro* Συνθήκες

Η αξιολόγηση της επίδρασης των υποστρωμάτων, στη δυνατότητα βλάστησης σπόρων σπαραγγιού, έγινε σε συνδυασμό με την αξιοποίηση τεσσάρων διαφορετικών υποστρωμάτων καλλιέργειας: α) στερεοποιημένο με άγαρ (Σ), β) υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης των σπόρων το βαμβάκι (Β), γ) υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης των σπόρων τον περλίτη (Π) και δ) καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (liquid-shake culture) με τη βοήθεια ενός περιστροφικού αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης (rotary shaker) (Υ), (Εικόνα 12, Πίνακας 4). Σχετικά με τον αριθμό των βλαστών, καλύτερο Μ.Ο. τιμών (1,37) έδωσαν οι σπόροι που καλλιεργήθηκαν σε υγρό ανακίνησης με τη βοήθεια Rotary shaker. Ακολουθεί το στερεό υπόστρωμα με μέση τιμή να αγγίζει το 1,15. Οι μέσες τιμές του αριθμού των βλαστών στα υγρά υποστρώματα με μέσο στήριξης τον περλίτη και το βαμβάκι κυμάνθηκαν περίπου στα ίδια επίπεδα, 0,87 και 0,94, αντίστοιχα. Σε αντίθεση με το χαρακτηριστικό αριθμός των βλαστών, η πρόκληση ριζογένεσης φαίνεται να επηρεάζεται θετικά στο στερεό υπόστρωμα. Δηλαδή οι σπόροι που καλλιεργήθηκαν σε στερεό υπόστρωμα δημιούργησαν περισσότερες ρίζες με το Μ.Ο. να φθάνει στο 1,42. Ακολουθούν οι σπόροι που αναπτύχθηκαν σε υγρό υπόστρωμα με βαμβάκι, με μέση τιμή το 1,22. Μικρότερο αριθμό ριζών έδωσαν οι σπόροι που καλλιεργήθηκαν σε υγρό ανακίνησης και σε υγρό υπόστρωμα με βαμβάκι, με τη μέση τιμή να

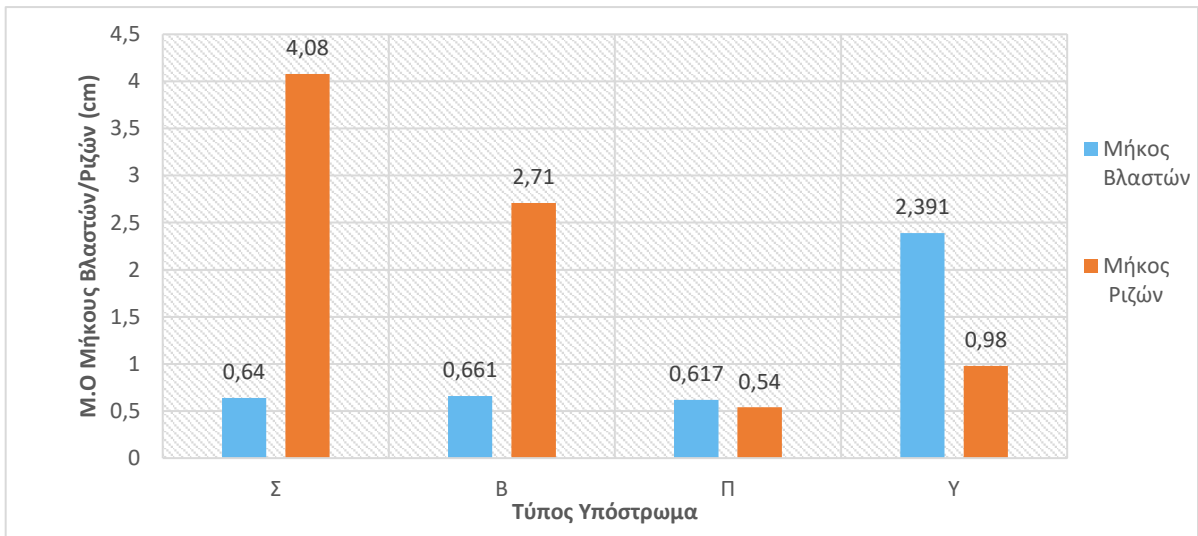
φτάνει το 0,71 και το 0,64 αντίστοιχα (Γράφημα 6).



Γράφημα 6: Επίδραση των τεσσάρων υποστρωμάτων (Στερεό, Υγρό+Βαμβάκι, Υγρό+Περλίτης, Υγρό ανακίνησης) στα χαρακτηριστικά: αριθμός των βλαστών και των ριζών σε *in vitro* βλαστημένους σπόρους παραγαγιού

Στο υγρό ανακίνησης εκτός του ότι δημιουργήθηκαν περισσότεροι βλαστοί, καταγράφηκε και η μεγαλύτερη μέση τιμή μήκους βλαστών (2,39cm). Στα υπόλοιπα υποστρώματα οι μέσες τιμές μήκους των βλαστών κυμάνθηκαν περίπου στα ίδια επίπεδα (υγρό υπόστρωμα + βαμβάκι 0,66cm, στερεό υπόστρωμα 0,64cm και υγρό υπόστρωμα + περλίτης 0,62cm). Οι σπόροι που καλλιεργήθηκαν σε στερεό υπόστρωμα ανέπτυξαν περισσότερες και μακρύτερες ρίζες, με μέσο μήκος τα 4,1cm. Ακολουθεί το υγρό υπόστρωμα με το βαμβάκι (2,7cm), το υγρό ανακίνησης (0,98) και το υγρό υπόστρωμα με περλίτη (0,5cm) (Γράφημα 7).

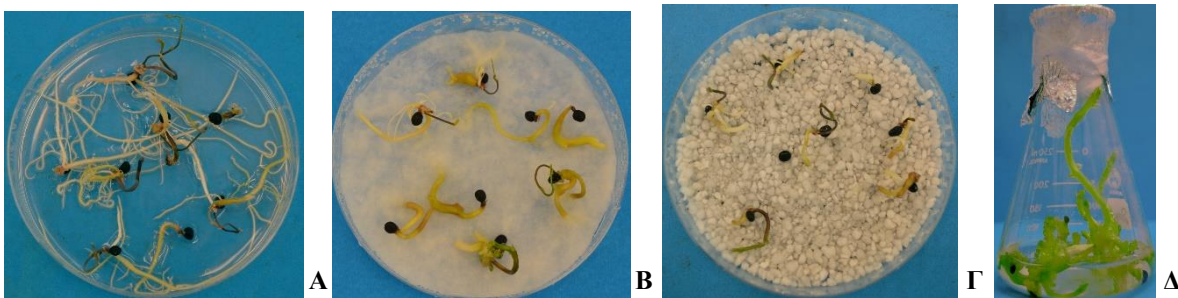
Μετά την επώαση των σπόρων σε *in vitro* συνθήκες ζυγίστηκαν οι βλαστημένοι σπόροι και προσδιορίστηκε το νωπό και ξηρό βάρος/συστάδα βλαστημένου σπόρου. Οι βλαστημένοι σπόροι που προήλθαν μετά από καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (με τη βοήθεια rotary shaker), έδωσαν μεγαλύτερη τιμή νωπού 1,36g και ξηρού βάρους 0,11g. Στα υπόλοιπα υποστρώματα οι μέσες τιμές σε νωπό και ξηρό βάρος ήταν πολύ χαμηλές (στερεό υπόστρωμα 0,13g νωπό και 0,025g ξηρό, υγρό υπόστρωμα+ βαμβάκι 0,06g και 0,02g, για το νωπό και το ξηρό βάρος αντίστοιχα, υγρό + περλίτης καταγράφηκε το μικρότερο νωπό (0,05g) και ξηρό βάρος (0,016g) (Γράφημα 8).



Γράφημα 7: Επίδραση των τεσσάρων υποστρωμάτων (Στερεό, Υγρό+Βαμβάκι, Υγρό+Περλίτης, Υγρό ανακίνησης) στο μήκος των βλαστών και των ριζών σε *in vitro* βλαστημένους σπόρους σπαραγγιού



Γράφημα 8: Επίδραση των τεσσάρων υποστρωμάτων (Στερεό, Υγρό+Βαμβάκι, Υγρό+Περλίτης, Υγρό ανακίνησης) στην απόδοση σε νωπό και ξηρό βάρος σε *in vitro* βλαστημένους σπόρους σπαραγγιού



Εικόνα 12: Βλάστηση σπόρων σπαραγγιού σε: Α) Στερεό Υπόστρωμα, Β) Υγρό υπόστρωμα και Βαμβάκι, Γ) Υγρό υπόστρωμα και Περλίτη και, Δ) Υγρό ανακίνησης, μετά από σαράντα ημέρες επόασης

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι, οι καλύτερες μέσες τιμές για όλα τα αξιολογημένα

χαρακτηριστικά με εξαίρεση τον αριθμό και το μήκος των ριζών, καταγράφονται στους σπόρους που καλλιεργήθηκαν σε υγρό ανακίνησης με τη βοήθεια αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης. Στους σπόρους που επώαστηκαν σε υγρό ανακίνησης δεν ευνοήθηκε η ριζογένεση, αντίθετα αναπτύχθηκαν κάλλοι και ριζωματικοί ιστοί (Εικόνα 13).



Εικόνα 13: Δημιουργία: Α) καλλογένεσης και Β) ριζωματικού ιστού σε σπόρους που καλλιεργήθηκαν σε υγρό ανακίνησης (Υ), μετά από 40 ημέρες επώασης

Η επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων χαρακτηριστικά: αριθμός και ύψος βλαστών, αριθμός και μήκος ριζών και νωπό και ξηρό βάρος εμφανίζεται στον Πίνακα 7. Η στατιστική δοκιμασία έγινε συγκρίνοντας τις μέσες τιμές με τη δοκιμή Duncan. Καθίσταται εμφανές ότι, στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα καταγράφονται στο υγρό υπόστρωμα, η ανακίνηση του οποίου έγινε με την βοήθεια περιστροφικού αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης (rotary shaker). Συγκεκριμένα σπόροι καλλιεργούμενοι στο συγκεκριμένο υπόστρωμα έδωσαν περισσότερους βλαστούς με το μεγαλύτερο ύψος, χαρακτηριστικά που ευνοούν σημαντικά και την μεγαλύτερη απόδοση σε νωπό και ξηρό βάρος. Τέλος στο στερεό υπόστρωμα υπερίσχυσαν σημαντικά τα χαρακτηριστικά αριθμός και μήκος των ριζών.

Πίνακας 7: Επίδραση του υποστρώματος καλλιέργειας στην *in vitro* βλάστηση σπόρων σπαραγγιού

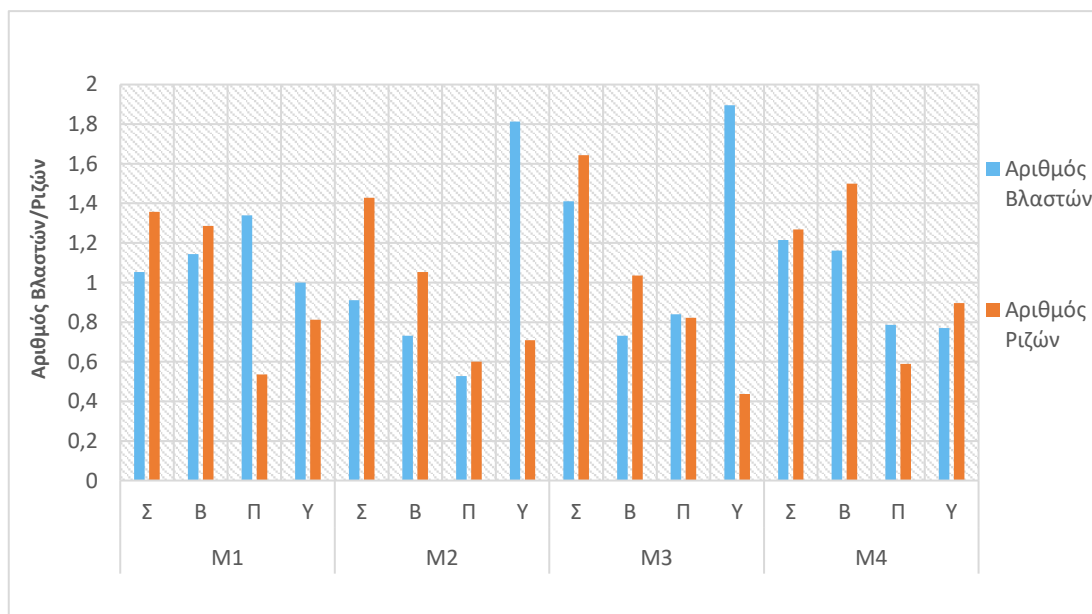
Υπόστρωμα/ Χαρακτηριστικό	Αριθμός Βλαστών	Μήκος Βλαστών (cm)	Αριθμός Ριζών	Μήκος Ριζών (cm)	Νωπό Βάρος (g)	Ξηρό Βάρος (g)
Στερεό υπόστρωμα	1,15ab	0,64b	1,42a	4,08a	0,13b	0,025b
Υγρό υπόστρωμα + Βαμβάκι	0,94b	0,661b	1,22b	2,71b	0,0597b	0,0199b
Υγρό υπόστρωμα + Περλίτης	0,87b	0,617b	0,64c	0,54c	0,04698b	0,0162b
Υγρό ανακίνησης (rotary shaker)	1,37a	2,391a	0,71c	0,98c	1,36a	0,113a

Οι μέσες τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά κατά την δοκιμή Duncan ($P < 0,5$)

3.3 Επίδραση των μεταχειρίσεων στην *in vitro* βλάστηση σπόρων σπαραγγιού σε συνδυασμό με τα υποστρώματα καλλιέργειας

Από τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων προέκυψε ότι, η εφαρμογή των τριών μεταχειρίσεων (M2, M3 και M4) σε σπόρους σπαραγγιού δεν επηρέασε σημαντικά τα αξιολογημένα χαρακτηριστικά (αριθμός και ύψος βλαστών, αριθμός και μήκος ριζών, νωπό και ξηρό βάρος), δηλαδή οι τιμές κυμάνθηκαν κοντά με εκείνες του μάρτυρα (M1). Αντίθετα, τα θρεπτικά υποστρώματα καλλιέργειας επηρεάζουν την εξέλιξη των χαρακτηριστικών.

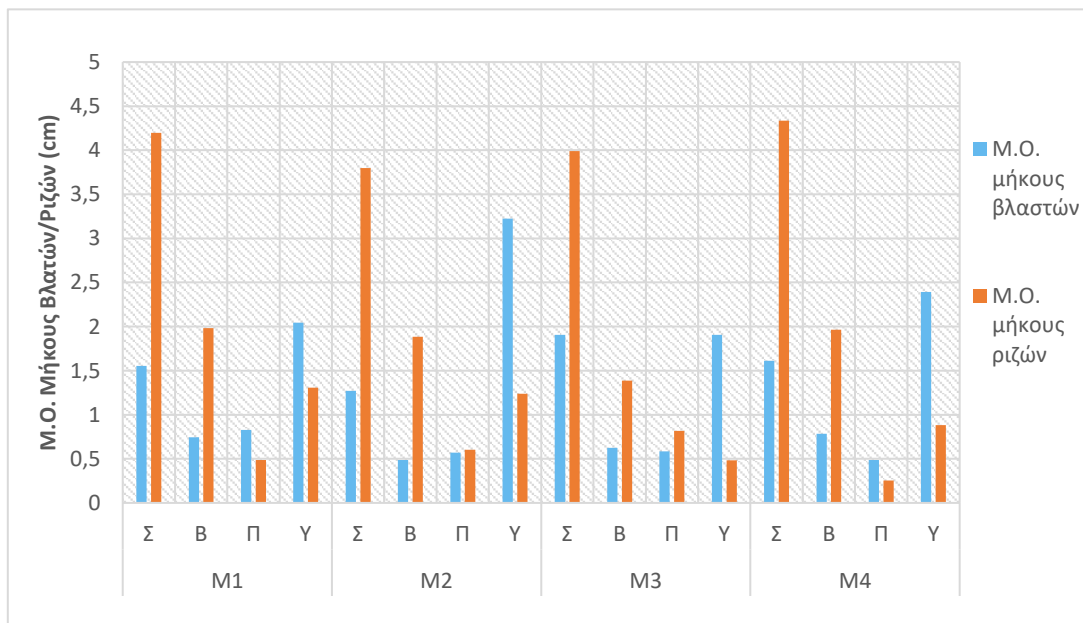
Στο Γράφημα 9 γίνεται μια σύγκριση των τεσσάρων μεταχειρίσεων-μεθόδων βλάστησης (M1, M2, M3 και M4) σπόρων σπαραγγιού, σε συνδυασμό με τα τέσσερα υποστρώματα καλλιέργειας [Σ=Στερεό (Εικόνα 14), Β=Υγρό+Βαμβάκι (Εικόνα 15), Π=Υγρό+Περλίτης (Εικόνα 16), Υ=Υγρό ανακίνησης (Εικόνα 17)]. Από την σύγκριση των Μ.Ο., για το χαρακτηριστικό αριθμός των βλαστών, προκύπτει ότι στη μέθοδο M3 (Ενυδάτωση των σπόρων για 12h στους 24-25°C, στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5°C και soaking για 24h στους 24-25°C), σε συνδυασμό με την καλλιέργεια των σπόρων σε υγρό ανακίνησης δημιουργήθηκε ένας μεγαλύτερος αριθμός βλαστών (Μ.Ο.=1,9). Το μικρότερο αριθμό βλαστών (Μ.Ο.=0,5) έδωσαν οι σπόροι, οι οποίοι μεταχειρίστηκαν με τη μέθοδο M2 (Ενυδάτωση των σπόρων για 12h στους 24-25°C και στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5°C) σε συνδυασμό με την καλλιέργεια τους σε υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης τον περλίτη.



Γράφημα 9: Επίδραση των μεταχειρίσεων στην *in vitro* βλάστηση σπόρων σπαραγγιού (στα χαρακτηριστικά αριθμός βλαστών και ριζών), σε συνδυασμό με τα τέσσερα υποστρώματα καλλιέργειας (Στερεό, Υγρό+Βαμβάκι, Υγρό+Περλίτης, Υγρό ανακίνησης), 40 ημέρες μετά την καλλιέργεια των σπόρων

Όσον αφορά το χαρακτηριστικό αριθμός των ριζών, πάλι η μέθοδος M3 (Ενυδάτωση των σπόρων για 12h στους 24-25°C, στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5°C και soaking για 24h στους 24-25°C) υπερτερεί έναντι των άλλων, δίδοντας την υψηλότερη μέση τιμή (M.O.=1,6), σε συνδυασμό με την καλλιέργεια των σπόρων στο στερεό υπόστρωμα. Η χαμηλότερη τιμή (M.O.=0,4) καταγράφεται, επίσης, στη μέθοδο M3 (Ενυδάτωση των σπόρων για 12h στους 24-25°C, στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5°C και soaking για 24h στους 24-25°C), σε συνδυασμό με την καλλιέργεια των σπόρων σε υγρό ανακίνησης.

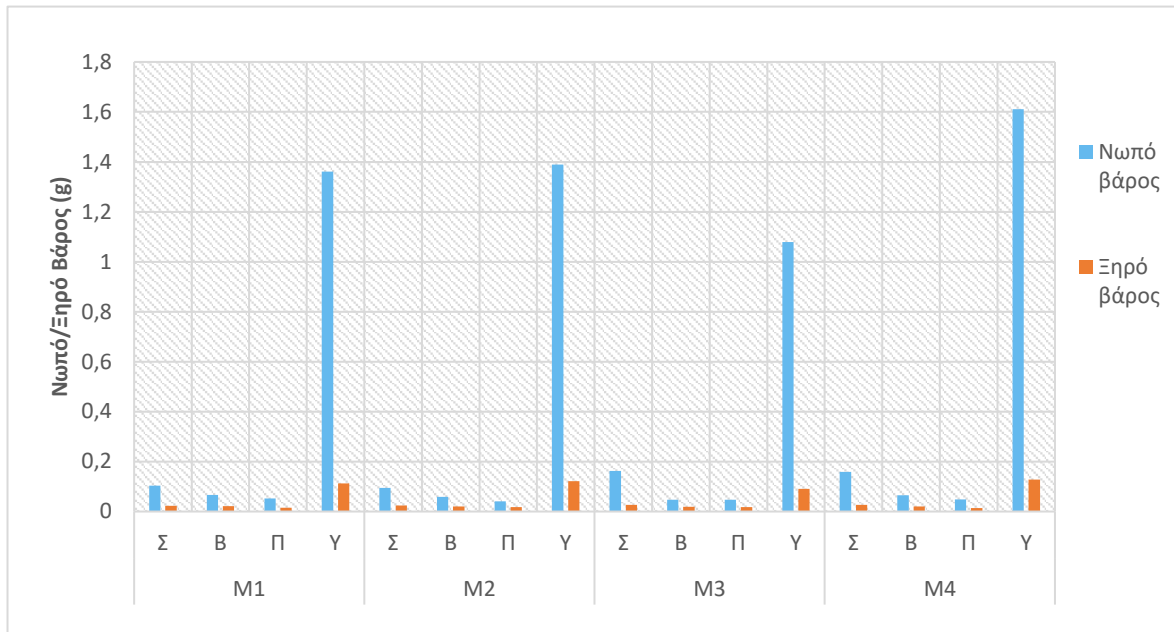
Στο Γράφημα 10 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την αξιολόγηση του μήκους των βλαστών και των ριζών. Βλαστούς με μεγαλύτερο ύψος (M.O.=3,2cm), έδωσαν οι σπόροι οι οποίοι μεταχειρίστηκαν με τη μέθοδο M2 (Ενυδάτωση των σπόρων για 12h στους 24-25°C και στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5°C), σε συνδυασμό με την καλλιέργεια των σπόρων σε υγρό ανακίνησης. Όσον αφορά το χαρακτηριστικό μήκος των ριζών, προκύπτει ότι οι σπόροι που δέχτηκαν τη μεταχείριση M4 (Μηχανικό σκαριφάρισμα-τρύπημα μικροπύλης) δημιούργησαν ρίζες με το μεγαλύτερο μήκος (M.O.=4,3cm), σε συνδυασμό με την καλλιέργεια τους σε στερεό υπόστρωμα. Ρίζες με πολύ μικρό μήκος (M.O.=0,2cm) δημιούργησαν οι σπόροι που καλλιεργήθηκαν σε υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης τον περλίτη.



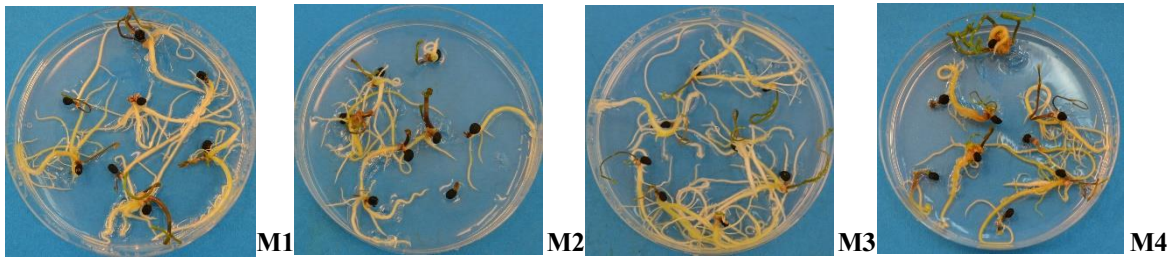
Γράφημα 10: Επίδραση των μεταχειρίσεων στην *in vitro* βλάστηση σπόρων σπαραγγιού (στα χαρακτηριστικά μήκος βλαστών και ριζών), σε συνδυασμό με τα τέσσερα υποστρώματα καλλιέργειας (Στερεό, υγρό+Βαμβάκι, υγρό+Περλίτης, Υγρό ανακίνησης), 40 ημέρες μετά την καλλιέργεια των σπόρων

Συγκρίνοντας την επίδραση των τεσσάρων μεταχειρίσεων (M1, M2, M3 και M4) σε σπόρους σπαραγγιού στα χαρακτηριστικά νωπό και ξηρό βάρος και σε συνδυασμό με τα

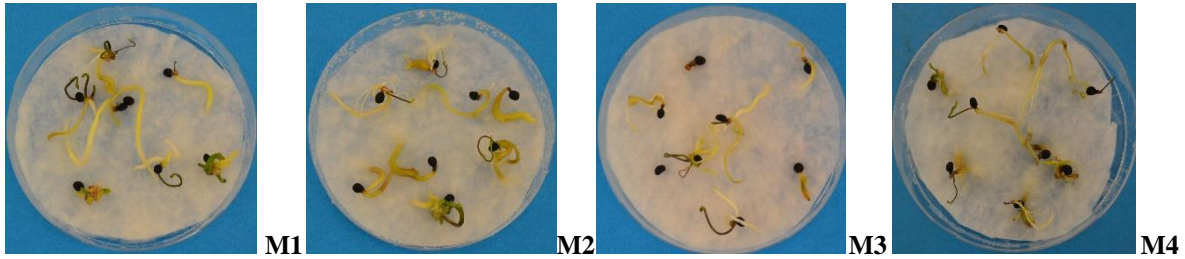
τέσσερα υποστρώματα καλλιέργειας προκύπτουν τα εξής: Μεγαλύτερη απόδοση σε νωπό βάρος έδωσαν οι σπόροι που υποβλήθηκαν τη μεταχείριση M4 (Μηχανικό σκαριφάρισμα-τρύπημα μικροπύλης), σε συνδυασμό με την καλλιέργεια των σπόρων σε υγρό ανακίνησης (Μ.Ο=1,6g). Όσον αφορά το χαρακτηριστικό ξηρό βάρος δεν καταγράφονται σημαντικές διαφορές μεταξύ των τεσσάρων μεταχειρίσεων (Γράφημα 11).



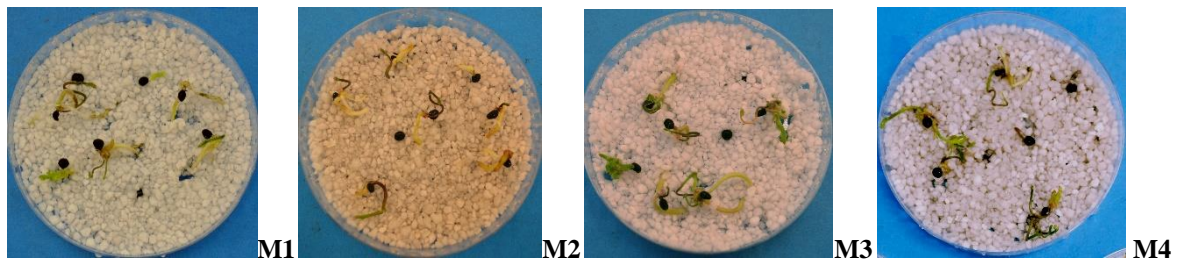
Γράφημα 11: Επίδραση των μεταχειρίσεων στην *in vitro* βλάστηση σπόρων σαραγγιού (στα χαρακτηριστικά νωπό και ξηρό βάρος), σε συνδυασμό με τα τέσσερα υποστρώματα καλλιέργειας (Στερεό, υγρό+Βαμβάκι, υγρό+Περλίτης, Υγρό ανακίνηση), 40 ημέρες μετά την καλλιέργεια των σπόρων



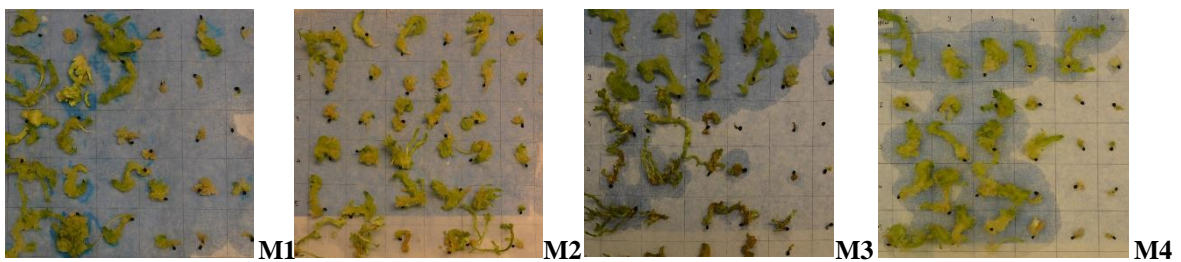
Εικόνα 14: Σπόροι σπαραγγιού, σε τέσσερις μεθόδους βλάστησης (M1, M2 M3 και M4), καλλιεργούμενοι *in vitro* σε στερεό υπόστρωμα, 40 ημέρες μετά την καλλιέργεια τους.



Εικόνα 15: Σπόροι σπαραγγιού, σε τέσσερις μεθόδους βλάστησης (M1, M2 M3 και M4), καλλιεργούμενοι *in vitro* σε υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης το βαμβάκι, 40 ημέρες μετά την καλλιέργεια τους.



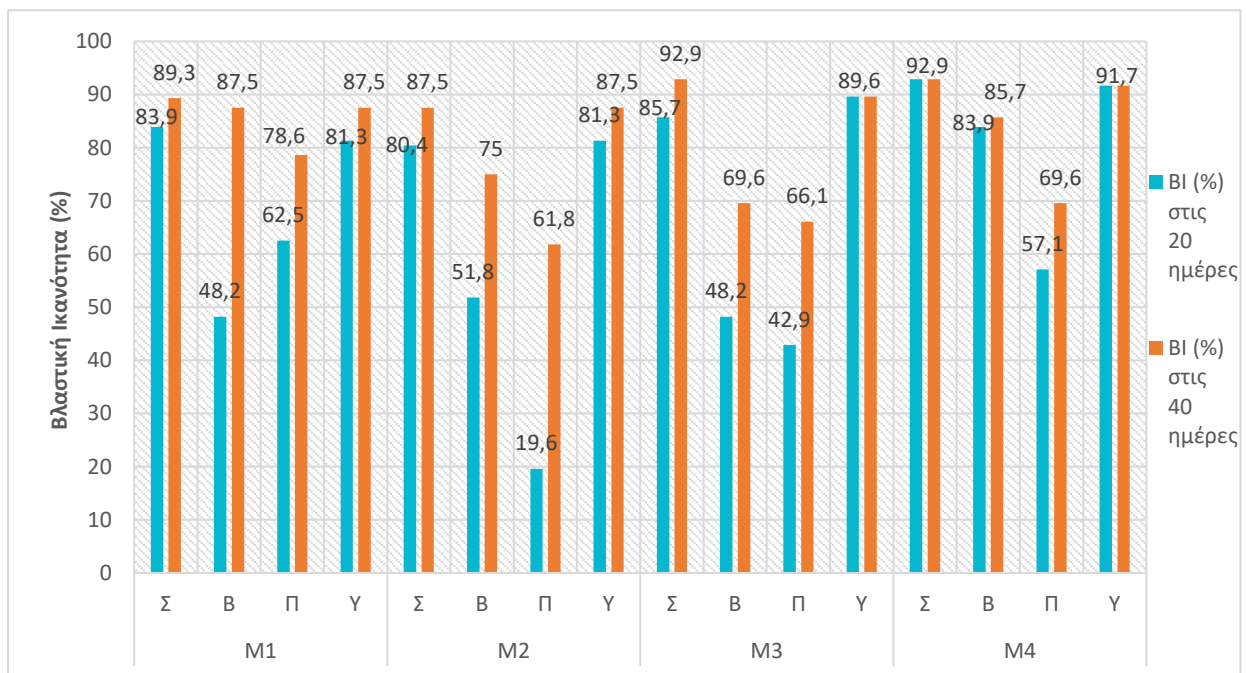
Εικόνα 16: Σπόροι σπαραγγιού, σε τέσσερις μεθόδους βλάστησης (M1, M2 M3 και M4), καλλιεργούμενοι *in vitro* σε υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης τον περλίτη, 40 ημέρες μετά την καλλιέργεια τους.



Εικόνα 17: Σπόροι σπαραγγιού, σε τέσσερις μεθόδους βλάστησης (M1, M2 M3 και M4), καλλιεργούμενοι *in vitro* σε υγρό ανακίνησης με τη βοήθεια αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης, 40 ημέρες μετά την καλλιέργεια τους.

3.4 Επίδραση των μεταχειρίσεων σε συνδυασμό με τα υποστρώματα καλλιέργειας στην ταχύτητα βλάστησης σπόρων σπαραγγιού

Κατά τη διάρκεια επώασης των σπόρων σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών ανάπτυξης (25°C, 16 ώρες φωτοπερίοδο και 3.500 Lux) και σε περιστροφικό αναδευτήρα συνεχούς ανάδευσης (90 rpm, 25°C, 16 ώρες φωτοπερίοδο και 10.000 Lux), καταγράφηκε το ποσοστό βλάστησης σε δύο χρονικές περιόδους, 20 και 40 ημέρες μετά την *in vitro* καλλιέργειάς τους. Ως γενικό συμπέρασμα θα μπορούσε να καταγραφεί ότι, οι σπόροι που καλλιεργήθηκαν στο στερεό υπόστρωμα (Σ) και σε υγρό ανακίνησης (Υ) και για τις τέσσερις μεταχειρίσεις (M1, M2, M3 και M4) παρουσιάζουν μια καλύτερη ταχύτητα βλάστησης, δηλαδή το μεγαλύτερο % σπόρων βλαστάνει ήδη στις 20 ημέρες μετά την εγκατάστασή τους στα μέσα καλλιέργειας (Γράφημα 12).



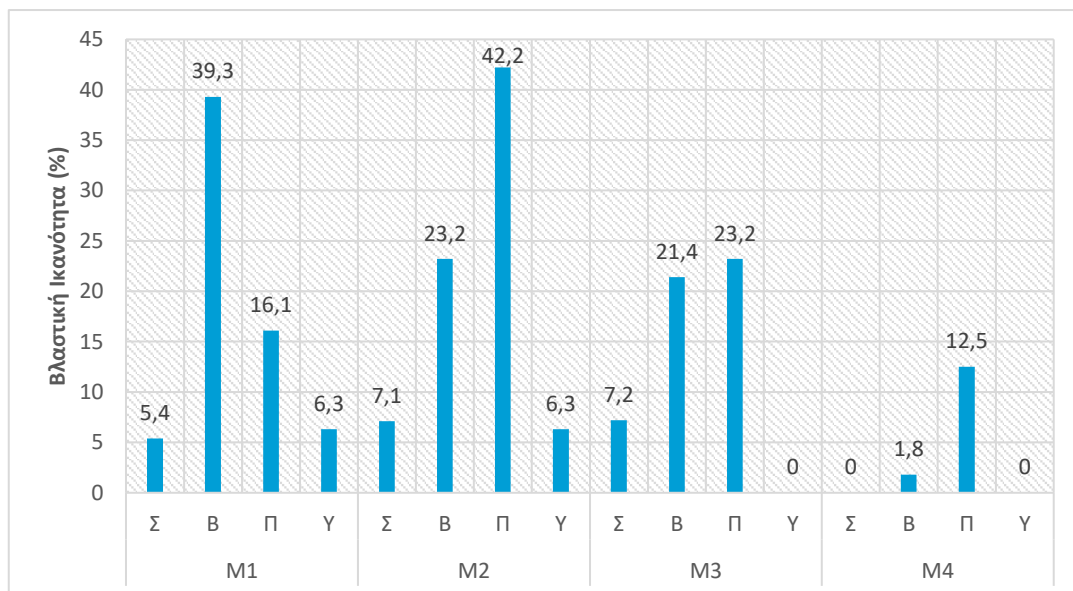
Γράφημα 12: Ποσοστό (%) βλάστησης των σπόρων σπαραγγιού, 20 και 40 ημέρες μετά την καλλιέργειά τους στα τέσσερα υποστρώματα (Στερεό, υγρό+Βαμβάκι, υγρό+Περλίτης, Υγρό ανακίνησης) σε συνδυασμό με τις 4 μεταχειρίσεις (M1, M2, M3 και M4)

Συγκεκριμένα, στη μεταχείριση M1, το 83,9% και το 81,3% σπόρων, αντίστοιχα καλλιεργούμενοι στο στερεό υπόστρωμα (Σ) και στο υγρό ανακίνησης (Υ), βλάστησε στις πρώτες 20 ημέρες. Στη μεταχείριση M2, το 80,4% και το 81,3% σπόρων, αντίστοιχα καλλιεργούμενοι στο στερεό υπόστρωμα (Σ) και στο υγρό ανακίνησης (Υ), βλάστησε στις 20 ημέρες. Στη μεταχείριση M3, το 85,7% και το 89,6% σπόρων, αντίστοιχα καλλιεργούμενοι στο στερεό υπόστρωμα (Σ) και στο υγρό ανακίνησης (Υ), βλάστησε στις 20 ημέρες. Στη

μεταχείριση M4, το 92,9% και το 91,7% σπόρων, αντίστοιχα καλλιεργούμενοι στο στερεό υπόστρωμα (Σ) και στο υγρό ανακίνησης (Υ), βλάστησε στις 20 ημέρες (Γράφημα 12).

Μετά την ολοκλήρωση των 40 ημερών καλλιέργειας των σπόρων, τα μεγαλύτερα βλάστησης καταγράφονται στην: μεταχείριση M3 και M4 (92,9%), στο στερεό υπόστρωμα (Σ) και στη μεταχείριση M4 (91,7%) στο υγρό ανακίνησης (Υ). Τα χαμηλότερα % βλάστησης έδωσαν οι σπόροι (40 ημέρες μετά την καλλιέργεια τους), οι οποίοι καλλιεργήθηκαν σε υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης τον περλίτη (Π) (78,6, 61,8, 66,1 και 69,6, αντίστοιχα για τις μεταχειρίσεις M1, M2, M3 και M4. (Γράφημα 12).

Παρατηρείται ότι, μετά την εικοστή ημέρα μερικές επεμβάσεις έφτασαν το μέγιστο της Βλαστικής τους Ικανότητας. Δηλαδή, η Βλαστική Ικανότητα ήταν ίση την εικοστή μέρα με την τεσσαρακοστή, άρα η διαφορά τους ήταν μηδενική ($\%_{40d} - \%_{20d} = 0$). Αυτό παρατηρείται στη μεταχείριση M4, σε υγρό υπόστρωμα με μέσο στήριξης το βαμβάκι (B) και στο υγρό ανακίνησης (Υ), με βλαστική ικανότητα 91,7% και 92,9% αντίστοιχα. Το φαινόμενο παρατηρείται, επίσης, στη μεταχείριση M3 σε υγρό υπόστρωμα με την Β.Ι να φτάνει τα 89,6%. Μεγάλη διαφορά μεταξύ της εικοστής και τεσσαρακοστής ημέρας σημειώθηκε στη μεταχείριση M2, στο υγρό υπόστρωμα και μέσο υποστήριξης βαμβάκι (B) και περλίτη (Π), με το ποσοστό να φτάνει τα 23,2% και 42,2% αντίστοιχα. Όπως, επίσης, στη μέθοδο M1 σε υγρό υπόστρωμα και μέσο υποστήριξης περλίτη (Π), η διαφορά έφτασε τα 39,3% (Γράφημα 13).



Γράφημα 13: Ταχύτητα ανάπτυξης σπόρων παραγαγιού (*A. officinalis* L.) που καλλιεργήθηκαν κάτω από *in vitro* συνθήκες, σε διάστημα 20 ημερών ($\%_{40d} - \%_{20d}$).

4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα πειραματική μελέτη αξιολογήθηκε η επίδραση τεσσάρων μεθόδων βλάστησης (M1=μάρτυρας χωρίς καμία μεταχείριση στο σπόρο, M2=ενυδάτωση των σπόρων για 12h στους 24-25⁰C και στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5⁰C, M3= ενυδάτωση για 12h στους 24-25⁰C, στρωμάτωση για 5 ημέρες στους 4-5⁰C και soaking για 24h στους 24-25⁰C, M4= Μηχανικό σκαριφάρισμα-τρύπημα μικροπύλης,) σε σπόρους σπαραγγιού (*Asparagus officinalis* var. *argenteuil*), προκειμένου να εκτιμηθεί η βλαστική τους ικανότητα. Για όλες τις μεθοδολογίες χρησιμοποιήθηκαν στερεά (μάρτυρας) και υγρά υποστρώματα, τα οποία ως βάση είχαν το προτεινόμενο από τους Murashige and Skoog (1962), ενισχυμένα με θειαμίνη HCl (2 mg/l), μυο-ινοζιτόλη (100 mg/l), σακχαρόζη (30gr/l) και 6-βενζυλαμινοπουρίνη (BAP) (0.5mg/L). Η οξυγόνωση των σπόρων στα υγρά υποστρώματα έγινε με την αξιοποίηση διαφόρων συστημάτων ανάπτυξης στις υγρές καλλιέργειες όπως: α) καλλιέργεια σε υγρό ανακίνησης (liquid-shake culture) με τη βοήθεια rotary shaker και β) χρήση υλικών υποστήριξης των σπόρων στο υγρό καλλιέργειας (βαμβάκι και περλίτης). Τα χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν ήταν ο αριθμός και το μήκος των βλαστών, ο αριθμός και το μήκος των ριζών, καθώς και το νωπό και ξηρό βάρος κάθε συστάδας. Από την αξιολόγηση της επίδρασης των μεθόδων βλάστησης σε συνδυασμό με τις επεμβάσεις στα έξι αξιολογηθέντα χαρακτηριστικά προκύπτουν τα παρακάτω:

1. Από την ανάλυση της διασποράς φαίνεται ότι οι μέθοδοι βλάστησης (M1, M2, M3 και M4) δεν επηρέασαν σημαντικά κανένα από τα έξι αξιολογημένα χαρακτηριστικά. Αντίθετα, οι επεμβάσεις (υποστρώματα) επιδρούν σημαντικά σε όλα τα αξιολογημένα χαρακτηριστικά με εξαίρεση το μήκος των βλαστών. Όσον αφορά την αλληλεπίδραση μεταξύ των πηγών παραλλακτικότητας (μέθοδοι βλάστησης X επεμβάσεις) εμφανίστηκε στατιστικώς σημαντική μόνο στα χαρακτηριστικά αριθμός βλαστών και αριθμός ριζών.
2. Από την στατιστική ανάλυση της επίδρασης των μεθόδων βλάστησης στα έξι αξιολογημένα χαρακτηριστικά προκύπτει ότι, κανένα από τα αξιολογημένα χαρακτηριστικά δεν επηρεάστηκαν σημαντικά, δηλαδή οι τιμές κυμάνθηκαν κοντά σε εκείνες του μάρτυρα.
3. Αντίθετα η επίδραση των υποστρωμάτων καλλιέργειας στα έξι αξιολογημένα χαρακτηριστικά φαίνεται να τα επηρεάζει σημαντικά, συγκεκριμένα:

- a) Στο **στερεό υπόστρωμα** (μάρτυρας) ευνοήθηκε ο αριθμός και το μήκος των ριζών, δηλαδή παράγονται περισσότερες και με μεγαλύτερο μήκος ρίζες ανά βλαστημένο σπόρο.
 - b) Σπόροι καλλιεργούμενοι σε **υγρό ανακίνησης** με τη βοήθεια rotary shaker, ανέπτυξαν περισσότερους και μακρύτερους βλαστούς, δίδοντας μεγαλύτερο νωπό και ξηρό βάρος, σε σχέση με τον μάρτυρα.
 - c) Σπόροι που καλλιεργήθηκαν σε **στατική υγρή καλλιέργεια** με σύστημα υποστήριξης το βαμβάκι και τον περλίτη υστέρησαν σημαντικά σε όλα τα αξιολογηθέντα χαρακτηριστικά.
4. Όσον αφορά την ταχύτητα βλάστησης των σπόρων, καταγράφηκε το % βλάστησης 20 και 40 ημέρες μετά την *in vitro* καλλιέργειάς τους. Προκύπτει μια σαφής υπεροχή στους σπόρους που καλλιεργήθηκαν στο στερεό υπόστρωμα (Σ) και σε υγρό ανακίνησης (Υ) και στις τέσσερις μεθόδους (M1, M2, M3 και M4). Η βλαστικότητα ήδη από την 20η ημέρα κυμάνθηκε σε εξαιρετικά υψηλά ποσοστά (80,4 - 91,7%).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Βογιατζής, Δ. και Κουκουρικού-Πετρίδου, Μ. (2004) *Βιολογία Οπωροκηπευτικών Φυτών II – Η Φυσιολογία της Ανάπτυξης*. Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη, σελ 41-50
- Θανόπουλος, Χ. (2008) *Τεχνικές βιολογικής καλλιέργειας πολυετών λαχανικών: 1. Σπαράγγι*. Αθήνα, σελ 6-18
- Καμαριώτη, Γ. (2002) *Ασθένειες του Σπαραγγιού*, Καλαμάτα, σελ 9-29
- Καράταγλης, Σ. (1994) *Φυσιολογία Φυτών*. Εκδόσεις Art of Text, Θεσσαλονίκη, σελ 60-86
- Κίντζιος Σ., 2015. *Εισαγωγή στον μικροπολλαπλασιασμό των φυτών*. Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και Βοηθήματα, Αθήνα, σελ. 10-40.
- Πασπάτης, Ε. (1998) *Φυτορυθμιστικές ουσίες*. Εκδόσεις Αγρότυπος, Αθήνα, σελ 26-48
- Πετούσης, Γ. και Κολιοραδάκης, Γ. (2001) *Γενική Δενδροκομία*. Ηράκλειο, σελ. 36
- Σφακιωτάκης Ε. (2000) *Γενική Δενδροκομία*. Εκδόσεις τυρο ΜΑΝ, Θεσσαλονίκη, σελ. 151.
- Χρονάκη Α., Κ. Αργυροπούλου & Γ. Γραμματικάκη, 2017. *Αξιολόγηση διαφορετικών υποστρωμάτων στην in vitro ριζοβολία εκφύτων αλόης (Aloe vera L.) για Επιχειρηματική παραγωγή υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού*. 28^ο Επιστημονικό Συνέδριο, Ελληνικής Εταιρείας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών, 16 - 20 Οκτωβρίου 2017, Θεσσαλονίκη, σελ. 31-35.

Ξένη Βιβλιογραφία

- Anido, L. F. and Cointry E. (2008) 'Asparagus', *Vegetables II*. NY: Springer, pp. 87-119.
- Ascough, G.D. and Fennell, C.W. (2004) 'The regulation of plant growth and development in liquid culture', *South African Journal of Botany*, 70(2), pp. 181–190
- Blasberg, C. (1932) 'Phases of the Anatomy of *Asparagus officinalis*'. *Botanical Gazette*, 94, pp. 206-214
- Capalbo, C., Cunynghame, A. and Clark, P. (2010) 'Asparagus'. *The Journal of The International Wine & Food Society Europe & Africa Committee*, 103, pp. 6-7
- Conversa, G. and Elia A. (2009) 'Effect of seed age, stratification, and soaking on germination of wild asparagus (*Asparagus acutifolius* L.)'. *Scientia Horticulturae*, 119, pp. 241-245.
- Gupta, S., Kumar, A. and Sharma S. (2008) 'Improvement of Seed Germination in *Asparagus racemosus* Willd'. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 9(1), pp. 3-9
- Kubota, S., Konno, I. and Kanno, A. (2012) 'Molecular phylogeny of the genus *Asparagus* (Asparagaceae) explains interspecific crossability between the garden asparagus (*A. officinalis*) and other *Asparagus* species'. *Theor Appl Genet*, 124, pp. 345–354
- Lazarte, J. and Palser, B. (1979) 'Morphology, Vascular Anatomy and Embryology of Pistillate and Staminate Flowers of *Asparagus officinalis*'. *American Journal of Botany*, 66(7), pp. 753-

- Manisha, S., Nene, C. and Sharon, M. (2011) 'Regeneration of *Asparagus racemosus* by shoot apex and nodal explant'. *Plant Science and Research*, 1(2), pp. 49-56
- Mullendore N. (1935) 'Anatomy of the seedling of *asparagus officinalis*'. *Botanical Gazette*, 97(2), pp. 356-375.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962) 'A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures'. *Physiologia Plantarum*, 15 (3), pp. 473-497.
- Nie, L., Chen, Y. and Liu, M. (2016) 'Effects of low temperature and chilling duration on bud break and changes of endogenous hormones of asparagus. *European Journal of Horticultural Science*, 81(1), pp. 22–26
- Owen, P. and Phill, W. (1994) 'Germination of Osmotically Primed Asparagus and Tomato Seeds after Storage up to Three Months'. *American Society for Horticultural Science*, 119(3), pp. 636–641
- Preece, J. (2010) 'Micropropagation in stationary liquid media'. *Propagation of Ornamental Plant*, 10(4), pp. 183-187
- Rasheed, K. and Yaseen, S. (2013) '*In Vitro* Shoot Multiplication of *Asparagus Densiflorus* as Affected by Media, Sucrose and PH'. *International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology*, 17(2), pp. 28-35
- Ren, J., Chen, W. and Knaflewski, M. (2012) 'Factors Affecting *Asparagus (Asparagus officinalis L.)* Root Development *in vitro*'. *Hortorum Cultus*, 11(6), pp. 107-118
- Rojas-Martinez, L. and Klerk, G. (2010) 'Hyperhydricity in Plant Tissue Culture'. *Prophyta*, pp. 23-25
- Schleiden, M. J. (1839). 'Beiträge zur Phytogenese'. *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin*, pp. 137–176.
- Schwann, T. (1939) 'Mikroskopische Untersuchungen über die Uebereinstimmung in der Struktur und dem Wachstum der Thiere und Pflanzen'. 1^η έκδοση. Berlin: Sander.
- Soltani, F., Kashi, A. and Arghavani, M. (2008) 'Effect of magnetic field on *Asparagus officinalis L.* seed germination and seedling growth'. *Seed Science and Technology*, 34, pp. 349-353
- Tiwari, R., Chandra, K. and Dubey, S. (2018) 'Techniques for Breaking Seed Dormancy and its Efficacy on Seed Germination of Six Important Medicinal Plant Species'. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 11(2), pp. 293-301
- Toma, R. and Rsheed, K. (2012) '*In Vitro* Propagation through Seed Culture and Regeneration of *Asparagus Densiflorus L.* through Callus Cultures Derived from Hypocotyls'. *International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology*, 9(2), pp. 94-102
- Zenkter, M et al. (2012) 'Screening of *asparagus officinalis l.* seeds for occurrence and ploidy of twin embryos', *Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica*, 54(2), pp. 121–128.

Ηλεκτρονικές Πηγές

- Δραγασάκη, Μ. (2019) *Φυσιολογία Ανάπτυξης Φυτών-Φυτορμόνες*. Διαθέσιμο στο: <https://eclass.hmu.gr/> (Πρόσβαση στις 3/12/2019)
- Ζιάγκου, Μ. (2018) 'Αβάντα για το ελληνικό σπαράγγι η πρωϊμηση', *ypaithros.gr*. Διαθέσιμο στο: <https://www.ypaithros.gr/elliniko-sparaggi-2018-times/> (Πρόσβαση στις 16/7/2019)

- Καραπάνος, Γ. (2018) *Λαχανοκομία – Σπαράγγι*. Διαθέσιμο στο: <https://eclass.uoa.gr/> (Πρόσβαση στις 6/12/2019)
- Νικάκη, Α. (2018) ‘Σπαράγγια: Καλλιέργεια με κέρδη και εξαγωγήμη ποιότητα’, *ypaithros.gr*. Διαθέσιμο στο: <https://www.ypaithros.gr/ekdoseis/sparaggi-kalliergeia-kerdi-eksagoges/> (Πρόσβαση στις 16/7/2019)
- Ρούσσο, Π. (2009) *Πολλαπλασιασμός Καρποφόρων Δέντρων και Θαμνών*. Διαθέσιμο στο: <https://eclass.uoa.gr/> (Πρόσβαση στις 6/12/2019)
- ΦΥΤΟΠΡΟΜΗΘΕΥΤΙΚΗ (2019) *Σπόρος Σπαράγγι [201]*. Διαθέσιμο στο: <https://www.fytopromitheytiki.gr/> (Πρόσβαση στις 13/3/2020)
- Dobbs, S. (1992) *Dividing Asparagus Crowns*. Διαθέσιμο στο: <https://www.youtube.com/watch?v=9hyj7KkOh0o> (Πρόσβαση στις 6/12/2019)
- European Environment Agency (2019) *Asparagus officinalis* L. Διαθέσιμο στο: <https://eunis.eea.europa.eu/species/188660> (Πρόσβαση στις 1/8/2019)
- Flora of North America (2019) *Asparagus aethiopicus*. Διαθέσιμο στο: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=242101423 (Πρόσβαση στις 1/8/2019)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2020) *Asparagus*. Διαθέσιμο στο: <http://www.fao.org/faostat/> (Πρόσβαση στις 24/10/2020)
- Graham, R. (1945) ‘Scarification’. Available at: <https://ir.library.msstate.edu/> (Accessed: 6/12/2019)
- Kays, W. (2019) ‘Asparagus Culture in the Home Garden’. Διαθέσιμο στο: <http://factsheets.okstate.edu/> (Πρόσβαση στις 6/12/2019)
- Kew Science (2019) *Asparagus officinalis* L. Διαθέσιμο στο: <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:531229-1> (Πρόσβαση στις 5/8/2019)
- McCormack, J. (2010) ‘Seed Processing and Storage - Principles and practices of seed harvesting, processing, and storage: an organic seed production manual for seed growers in the Mid-Atlantic and Southern U.S.’ Διαθέσιμο στο: <http://www.savingourseeds.org/> (Πρόσβαση στις 6/12/2019)
- MERCK, (2020) *Agar*. Διαθέσιμο στο: <https://www.sigmaaldrich.com/> (Πρόσβαση στις 13/3/2020)
- PubChem (2019) *Asparagine*. Διαθέσιμο στο: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Asparagine> (Πρόσβαση στις 3/8/2019)
- Weeds of Australia - Biosecurity Queensland Edition Fact Sheet (2019) *Asparagus virgatus*. Διαθέσιμο στο: <https://www.daf.qld.gov.au/business-priorities/biosecurity> (Πρόσβαση στις 1/8/2019)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Καμία Μεταχείριση του Σπόρου							
Θρεπτικό Υπόστρωμα	Επαναλήψεις έκφυτα	No. Βλαστών	Μ.Ο. μήκους βλαστών (cm)	No. Ριζών	Μ.Ο. μήκους ριζών (cm)	Νωπό βάρος/ σπόρο (g)	Ξηρό βάρος/ σπόρο (g)
Στερεό Υπόστρωμα	1	2	1,4	2	4,25	0,0716	0,0165
	2	1	1,5	2	6,65	0,1673	0,0311
	3	2	3,3	2	2,75	0,0868	0,0199
	4	4	0,8	1	2	0,1951	0,0289
	5	1	3,7	1	1,5	0,1144	0,0199
	6	1	0,8	2	1,3	0,0593	0,0178
	7	1	0,5	0	0	0,038	0,0198
	8	1	0,5	0	0	0,039	0,019
	9	2	2	3	4,933	0,1819	0,0289
	10	2	4,25	3	1,933	0,2254	0,0348
	11	0	0	1	5,2	0,0297	0,0156
	12	1	0,3	1	10	0,0924	0,0198
	13	2	1,75	2	5,1	0,1379	0,0282
	14	1	0,5	1	5,5	0,0705	0,0224
	15	2	2,9	2	5,5	0,2068	0,0322
	16	1	2,5	1	8	0,1361	0,0241
	17	0	0	1	5,4	0,0768	0,0239
	18	1	2,3	1	5	0,053	0,0147
	19	2	3,15	2	2,95	0,133	0,0259
	20	0	0	2	3,75	0,1061	0,019
	21	0	0	1	1	0,025	0,0158
	22	0	0	0	0	0,0169	0,0117
	23	0	0	0	0	0,0241	0,0158
	24	0	0	0	0	0,0812	0,0128
	25	2	2,2	2	4,3	0,11642	0,0277
	26	2	1,9	4	4,725	0,169	0,0322
	27	1	2,7	1	5,6	0,067	0,0171
	28	3	2,633	2	2,25	0,2161	0,0351
	29	0	0	3	4,066	0,168	0,0255
	30	2	3,25	2	3,75	0,1925	0,028
	31	1	1	1	6,5	0,1012	0,0189
	32	1	1,7	1	8,4	0,1261	0,0255
	33	1	2,5	2	4,2	0,1025	0,0221
	34	1	0,6	2	3,75	0,059	0,0176

	35	1	2	1	4,4	0,1126	0,0227
	36	1	2,4	2	7,45	0,1808	0,0296
	37	1	1,7	2	5,4	0,1524	0,0288
	38	1	4	1	6,5	0,1128	0,0271
	39	0	0	0	0	0,0679	0,0266
	40	1	0,5	0	0	0,0228	0,0085
	41	1	1,6	1	8,1	0,105	0,0235
	42	1	3	2	2,9	0,1281	0,0261
	43	1	0,4	1	5	0,0885	0,019
	44	0	0	1	6,4	0,0569	0,018
	45	1	2,4	1	8,3	0,0706	0,0204
	46	0	0	1	6,2	0,0469	0,0176
	47	2	2,35	3	3,933	0,1063	0,0261
	48	0	0	0	0	0,0192	0,0102
	49	1	3	1	6	0,1252	0,0274
	50	1	3	1	7	0,1402	0,0267
	51	1	1,7	1	8,6	0,1729	0,0327
	52	0	0	2	4,45	0,1208	0,0256
	53	2	2,5	1	4,5	0,0797	0,0185
	54	1	2,5	1	5,2	0,0906	0,0242
	55	1	3,3	2	4,5	0,1356	0,0349
	56	0	0	0	0	0,0115	0,0045
	Σύνολο:	1,054	1,553	1,357	4,198	0,104	0,023
Υγρό Υπόστρωμα + Βαμβάκι	1	3	0,4	4	1,975	0,1419	0,0327
	2	2	1,6	2	3,45	0,0712	0,0226
	3	3	0,46	2	1,6	0,1355	0,0293
	4	0	0	1	6,3	0,0725	0,0213
	5	4	2,075	1	1,5	0,1137	0,0218
	6	3	1,066	1	1,5	0,0656	0,02
	7	0	0	1	1,6	0,0382	0,0182
	8	0	0	0	0	0,0217	0,0156
	9	6	1,883	2	2,8	0,1438	0,0295
	10	2	1	2	4,65	0,1046	0,0239
	11	2	1	2	4,55	0,1035	0,025
	12	2	1,6	2	2,9	0,0916	0,0231
	13	0	0	1	5,6	0,0961	0,0261
	14	1	0,2	2	2,95	0,0718	0,0238
	15	0	0	2	1,45	0,0622	0,0288
	16	1	0,3	0	0	0,0281	0,0129
	17	5	1,04	5	0,933	0,0846	0,0208
	18	1	1,3	1	2,7	0,052	0,0181
	19	2	0,55	1	0,8	0,126	0,0271
	20	1	1,2	2	5,8	0,1391	0,0268
	21	3	1,633	2	1,7	0,0669	0,0208

22	1	2,7	2	1,95	0,0479	0,0177	
23	3	1,033	2	0,85	0,1449	0,0366	
24	0	0	0	0	0,0164	0,0075	
25	1	2,5	1	3,5	0,0677	0,0234	
26	0	0	2	1,8	0,0637	0,0184	
27	0	0	1	2,3	0,0512	0,0179	
28	0	0	0	0	0,0974	0,0189	
29	0	0	1	0	0,0363	0,0183	
30	0	0	0	0	0,0214	0,014	
31	0	0	0	0	0,0332	0,0233	
32	0	0	0	0	0,0242	0,0177	
33	1	1,5	2	1,933	0,075	0,0197	
34	1	0,5	2	3,1	0,0649	0,0212	
35	1	3,5	2	3,6	0,0968	0,0223	
36	0	0	1	5,4	0,1167	0,0271	
37	1	2,7	1	4,7	0,0709	0,0203	
38	0	0	1	2,4	0,0559	0,0156	
39	1	0,4	0	0	0,0264	0,0177	
40	1	0,1	0	0	0,0223	0,0152	
41	0	0	2	1,9	0,0579	0,0213	
42	0	0	1	4,5	0,0729	0,0219	
43	1	1,4	2	1,45	0,0628	0,0213	
44	3	3,1	3	0,466	0,0777	0,025	
45	0	0	2	3,25	0,0815	0,0222	
46	1	1,6	1	1,8	0,0385	0,0164	
47	0	0	1	1,4	0,0463	0,0262	
48	0	0	0	0	0,0195	0,0118	
49	0	0	1	2,4	0,0552	0,022	
50	2	0,7	1	3	0,0755	0,025	
51	2	1,05	1	1,9	0,0489	0,0176	
52	1	0,9	2	0,7	0,0392	0,0212	
53	0	0	1	1,9	0,0475	0,0178	
54	1	0,4	0	0	0,0213	0,0157	
55	1	0,2	0	0	0,0219	0,0158	
56	0	0	0	0	0,0211	0,0149	
Σύνολο:		1,143	0,743	1,286	1,981	0,067	0,021
Υγρό Υπόστρωμα + Περλίτης	1	1	0,4	2	1,5	0,0989	0,018
	2	2	3	1	1	0,0881	0,0152
	3	4	1,725	2	2	0,0757	0,0119
	4	3	1,1	1	1,6	0,0703	0,0135
	5	3	1,733	1	1,5	0,0937	0,0193
	6	0	0	0	0	0,0255	0,0155
	7	0	0	0	0	0,0254	0,0173
	8	0	0	0	0	0,0254	0,0176

9	4	1,625	0	0	0,0878	0,0131
10	1	1,6	0	0	0,0689	0,0135
11	3	1,1	0	0	0,0432	0,0155
12	4	1	0	0	0,0403	0,0124
13	1	0,6	0	0	0,035	0,0108
14	0	0	0	0	0,0334	0,0203
15	0	0	0	0	0,0277	0,0175
16	0	0	0	0	0,0271	0,018
17	2	1,7	1	1,5	0,0924	0,0176
18	2	2,5	1	0,5	0,0748	0,0166
19	0	0	1	2,5	0,092	0,0155
20	0	0	0	0	0,0383	0,0136
21	0	0	0	0	0,0398	0,0157
22	1	4	1	0,9	0,0494	0,0155
23	2	1,55	0	0	0,0706	0,0156
24	0	0	0	0	0,0261	0,0174
25	4	1,7	0	0	0,0571	0,0112
26	4	1,25	2	0,8	0,0813	0,0154
27	5	1,08	1	0,9	0,0755	0,0117
28	1	0,4	0	0	0,0339	0,0158
29	1	0,4	0	0	0,0393	0,0174
30	1	0,4	0	0	0,0272	0,0101
31	1	0,1	0	0	0,0294	0,019
32	0	0	0	0	0,0213	0,0131
33	3	2,466	2	1,1	0,0909	0,0132
34	2	1,3	1	1	0,0736	0,0127
35	3	1,5	1	0,5	0,0872	0,0132
36	1	0,3	0	0	0,0244	0,0111
37	0	0	0	0	0,0365	0,0223
38	0	0	0	0	0,0263	0,017
39	0	0	0	0	0,0306	0,0191
40	0	0	0	0	0,0306	0,0185
41	1	1,5	1	1	0,0786	0,011
42	2	0,7	0	0	0,0734	0,0166
43	4	1,175	0	0	0,0509	0,0153
44	1	0,4	0	0	0,0224	0,0136
45	1	0,4	0	0	0,023	0,0122
46	1	0,3	0	0	0,0183	0,0066
47	0	0	0	0	0,0257	0,0153
48	0	0	0	0	0,0268	0,0145
49	0	0	2	1,7	0,0566	0,016
50	1	1,6	2	1,6	0,0702	0,0199
51	1	3,8	2	2,6	0,0851	0,02
52	2	0,65	2	0,7	0,0656	0,0187

	53	2	1,25	2	1,6	0,1119	0,019
	54	0	0	1	0,7	0,0255	0,0136
	55	0	0	0	0	0,0348	0,0227
	56	0	0	0	0	0,0235	0,0157
	Σύνολο:	1,339	0,827	0,536	0,486	0,052	0,016
Υγρό Υπόστρωμα	1	2	4,05	1	2,1	2,9617	0,4772
		0	0	1	2,3	0,6033	0,4738
	3	3	5,06	0	0	7,0125	0,1433
	4	0	0	1	2	0,2892	0,0483
	5	1	6	0	0	2,2757	0,0129
	6	0	0	2	1	0,1433	0,0308
	7	1	2,4	1	3,3	0,3464	0,0353
	8	0	0	0	0	0,0214	0,0094
	9	5	5,22	2	2,75	4,5802	0,0343
	10	4	4,825	1	1,9	4,1021	0,2932
	11	1	6	1	2,2	2,599	0,2074
	12	0	0	2	1,7	0,1342	0,0332
	13	1	1	1	1	0,1456	0,0321
	14	1	1	0	0	0,0438	0,0078
	15	0	0	0	0	0,0242	0,0147
	16	0	0	0	0	0,0242	0,0151
	17	4	3,7	0	0	3,9764	0,3034
	18	2	5,05	2	3,85	2,2481	0,2177
	19	0	0	1	2,8	0,7559	0,081
	20	0	0	1	0,6	0,4483	0,0626
	21	0	0	0	0	0,2047	0,0398
	22	1	0,3	0	0	0,0332	0,0192
	23	1	0,4	0	0	0,0463	0,0239
	24	1	0,7	0	0	0,0485	0,0233
	25	5	4,62	1	1,4	4,69	0,3902
	26	1	8,1	1	1	2,328	0,2212
	27	1	6,6	1	1,7	2,3577	0,1798
	28	0	0	1	2	1,5369	0,138
	29	0	0	2	1,1	1,2148	0,1524
	30	1	5	1	4,6	0,595	0,0659
	31	1	1,5	1	0,7	0,2437	0,0394
	32	1	0,9	1	1,6	0,2227	0,0394
	33	1	9,5	0	0	4,503	0,235
	34	2	6,5	1	1,5	7,9007	0,5201
	35	1	5,5	1	6	1,4278	0,1313
	36	1	2,2	1	1,7	0,7096	0,0719
	37	0	0	1	1,5	0,2042	0,04
	38	0	0	1	1,4	0,1063	0,0294
	39	0	0	1	1,6	0,0969	0,0249

40	0	0	0	0	0,0247	0,0055	
41	5	2,08	1	0,6	2,9626	0,2724	
42	0	0	1	1,8	0,1974	0,0336	
43	0	0	3	1,9	0,1717	0,0312	
44	0	0	1	1,7	0,285	0,0476	
45	0	0	1	1,4	0,1495	0,0334	
46	0	0	0	0	0,271	0,0186	
47	0	0	0	0	0,0265	0,0119	
48	0	0	0	0	0,0285	0,0196	
Σύνολο:		1	2,046	0,813	1,306	1,361	0,112

Στρώματωση στους 4-5°C για 5 μέρες							
Θρεπτικό Υπόστρωμα	Επαναλήψεις έκφυτα	No. Βλαστών	M.O. μήκους βλαστών (cm)	No. Ριζών	M.O. μήκους ριζών (cm)	Νωπό βάρος/σπόρο (g)	Ξηρό βάρος/σπόρο (g)
Στερεό Υπόστρωμα	1	1	1,8	1	1,2	0,1475	0,0331
	2	1	2,7	3	5,7	0,1988	0,0315
	3	0	0	1	3	0,0492	0,0183
	4	2	2,1	2	5,6	0,1352	0,0231
	5	1	2,7	2	1,8	0,0604	0,0213
	6	0	0	1	6	0,087	0,0231
	7	1	0,2	1	6,5	0,0852	0,0224
	8	0	0	0	0	0,0319	0,0238
	9	1	2,4	2	3,9	0,0723	0,0214
	10	1	0,7	2	5,9	0,1274	0,0269
	11	1	2,5	2	4,1	0,1521	0,031
	12	1	1,5	1	8	0,115	0,0262
	13	1	0,8	2	4,3	0,179	0,0322
	14	1	2,7	1	7,7	0,1107	0,0275
	15	1	0,5	0	0	0,0347	0,0177
	16	0	0	0	0	0,0236	0,0131
	17	1	1	2	3,7	0,1115	0,0243
	18	1	0,6	1	5,5	0,0862	0,0235
	19	2	1,6	2	1,7	0,1171	0,0329
	20	2	3,1	2	4,8	0,1618	0,0336
	21	1	3,5	3	3,8	0,1295	0,0294
	22	2	2,5	2	5	0,1888	0,0345
	23	1	1	2	3	0,1028	0,0296
	24	1	0,3	0	0	0,0204	0,0099
	25	1	3,5	2	5,3	0,1242	0,026
	26	2	3,5	2	7,5	0,1581	0,036
	27	2	1,8	3	3,1	0,1198	0,0268

	28	2	2,2	4	3,3	0,09	0,0221
	29	0	0	2	5,1	0,121	0,0222
	30	0	0	1	6	0,0691	0,0162
	31	1	2	2	0,8	0,0586	0,0227
	32	1	0,7	0	0	0,0571	0,0263
	33	1	3	1	8	0,1463	0,0282
	34	1	0,5	2	1,8	0,0771	0,0186
	35	1	2,3	2	3,7	0,1102	0,0228
	36	1	0,3	1	5,5	0,07	0,0219
	37	0	0	1	6	0,077	0,0246
	38	0	0	1	6	0,0656	0,0304
	39	0	0	0	0	0,0292	0,0207
	40	0	0	0	0	0,031	0,021
	41	0	0	1	11	0,1053	0,0234
	42	2	3,3	2	3,9	0,1578	0,0343
	43	1	2	1	7,5	0,0684	0,0192
	44	1	0,4	2	8	0,1182	0,0241
	45	1	0,3	1	4	0,0528	0,0205
	46	1	0,5	0	0	0,0343	0,0168
	47	0	0	0	0	0,0194	0,0041
	48	0	0	0	0	0,0241	0,0135
	49	1	2	3	1,7	0,1286	0,0233
	50	4	1,9	3	2,8	0,1252	0,0263
	51	1	3,2	1	7,8	0,129	0,0302
	52	1	0,5	1	3,9	0,0515	0,0165
	53	0	0	3	2,7	0,1054	0,025
	54	1	3	2	5,3	0,1452	0,0285
	55	0	0	1	0,8	0,0538	0,024
	56	0	0	0	0	0,0274	0,0162
	Σύνολο:	0,911	1,270	1,429	3,798	0,094	0,024
Υγρό Υπόστρωμα + Βαμβάκι	1	2	1	2	4	0,0988	0,0247
	2	0	0	2	2,2	0,0647	0,0213
	3	0	0	1	3,6	0,0966	0,0299
	4	3	1,966	2	1	0,1799	0,0297
	5	4	1,05	4	1,95	0,1357	0,03
	6	0	0	1	3	0,0934	0,0231
	7	0	0	1	6	0,0594	0,029
	8	1	1,8	2	2	0,0919	0,02
	9	2	1,35	2	3,45	0,0456	0,0175
	10	0	0	1	1	0,064	0,0241
	11	1	0,1	1	3,3	0,0558	0,0186
	12	0	0	1	0,6	0,023	0,0131
	13	0	0	0	0	0,0326	0,0131
	14	0	0	0	0	0,0192	0,0146

15	0	0	0	0	0,0227	0,0182
16	0	0	0	0	0,028	0,0202
17	2	4,8	2	3,05	0,0752	0,0208
18	1	0	1	1,6	0,0286	0,0083
19	1	0	1	1,9	0,0405	0,0181
20	2	1,4	0	0	0,0919	0,0255
21	0	0	0	0	0,0242	0,0158
22	0	0	0	0	0,0315	0,0206
23	0	0	0	0	0,0305	0,0052
24	0	0	0	0	0,026	0,0085
25	1	1,7	2	1,85	0,081	0,0177
26	4	0,7	2	1	0,1366	0,081
27	0	0	2	2,2	0,0564	0,0246
28	0	0	1	3,4	0,0659	0,0188
29	0	0	2	2,2	0,0566	0,0189
30	0	0	1	3,4	0,0493	0,0161
31	0	0	1	2,4	0,0503	0,0248
32	0	0	0	0	0,0248	0,021
33	3	0,2	2	1,75	0,0636	0,0204
34	1	1,3	1	5	0,0475	0,014
35	2	1,4	1	4	0,0474	0,0143
36	1	1,7	1	3,4	0,0678	0,0193
37	1	2	1	4,3	0,0461	0,0195
38	0	0	0	0,2	0,0215	0,014
39	0	0	0	0	0,0244	0,0145
40	0	0	0	0	0,0146	0,008
41	1	0,3	2	1,95	0,0282	0,0155
42	0	0	2	1,75	0,0584	0,0229
43	1	1,5	1	2,6	0,0867	0,0205
44	1	0,3	1	1	0,1169	0,0152
45	0	0	1	3,3	0,0513	0,0225
46	0	0	1	2,5	0,0777	0,0172
47	0	0	0	0	0,0534	0,0173
48	0	0	0	0	0,0267	0,0083
49	3	1,333	2	2,7	0,155	0,0192
50	0	0	2	2,75	0,0688	0,0196
51	1	0,6	2	3,85	0,0605	0,0201
52	1	0,6	1	4	0,0434	0,02
53	1	0,1	1	4,9	0,0752	0,0204
54	0	0	1	0,4	0,0205	0,015
55	0	0	1	0,1	0,0284	0,0203
56	0	0	0	0	0,0246	0,0171
Σύνολο:	0,732	0,486	1,054	1,885	0,059	0,020
1	1	3	1	1,8	0,047	0,0164

Υγρά Υπόστρωμα + Περλίτης	2	1	2,5	1	1,5	0,0526	0,0192
	3	1	2,3	1	1,8	0,0494	0,0159
	4	0	0	1	1,7	0,0683	0,0217
	5	1	2	2	1,65	0,0692	0,0203
	6	0	0	1	0,9	0,0404	0,0229
	7	1	0,4	2	0,8	0,0539	0,0212
	8	0	0	0	0	0,0242	0,0161
	9	1	1,8	1	4,5	0,0566	0,0168
	10	3	1,266	1	0,9	0,0646	0,019
	11	0	0	1	2,1	0,0631	0,0178
	12	0	0	1	0,4	0,019	0,0136
	13	0	0	0	0	0,0236	0,0158
	14	0	0	0	0	0,0278	0,019
	15	0	0	0	0	0,018	0,0127
	16	0	0	0	0	0,0278	0,02
	17	1	2,1	0	0	0,0619	0,018
	18	2	2,5	2	1,2	0,0755	0,0166
	19	5	1,26	2	0,75	0,0749	0,0161
	20	0	0	1	2,5	0,055	0,0167
	21	1	0,6	0	0	0,0402	0,019
	22	0	0	1	0,4	0,0271	0,0164
	23	0	0	0	0	0,0219	0,0149
	24	0	0	0	0	0,0345	0,0236
	25	1	4	1	0,8	0,1145	0,0297
	26	1	2,8	1	1	0,0439	0,0136
	27	1	0,3	0	0	0,0211	0,0171
	28	0	0	0	0	0,0286	0,0177
	29	0	0	0	0	0,0275	0,0194
	30	0	0	0	0	0,0313	0,0207
	31	0	0	0	0	0,0363	0,025
	32	0	0	0	0	0,0355	0,0239
	33	3	1,4	1	0,4	0,0499	0,0125
	34	1	0,5	0	0	0,0289	0,0115
	35	0	0	0	0	0,0264	0,0129
	36	0	0	1	0,1	0,023	0,0147
	37	0	0	1	0,1	0,027	0,0162
	38	0	0	0	0	0,0232	0,0146
	39	0	0	0	0	0,0248	0,0169
	40	0	0	0	0	0,0251	0,0164
	41	1	1,6	3	0,9	0,0479	0,0204
	42	1	0,3	1	1,5	0,0448	0,0182
	43	0	0	2	0,55	0,0241	0,0158
	44	0	0	0	0	0,0325	0,0188
	45	0	0	0	0	0,0243	0,0169

	46	0	0	0	0	0,0335	0,0218
	47	0	0	0	0	0,039	0,0232
	48	0	0	1	1,7	0,078	0,0102
	49	0	0	1	0,9	0,071	0,0245
	50	1	0,3	1	2,3	0,0261	0,0201
	51	1	0,5	0	0	0,0261	0,0149
	52	0	0	0	0	0,0241	0,0165
	53	0	0	0	0	0,0215	0,0155
	54	0	0	0	0	0,0306	0,0216
	55	0	0	0	0	0,0261	0,0174
	Σύνολο:	0,527	0,571	0,6	0,603	0,040	0,018
Υγρό Υπόστρωμα	1	2	2,75	1	2	2,387	0,2036
	2	3	2,26	1	2	1,8357	0,1246
	3	2	5,25	1	1	2,5635	0,1967
	4	1	1	0	0	0,2447	0,0455
	5	4	3,8	1	1,7	3,0345	0,245
	6	2	2,2	1	2,4	0,4837	0,0683
	7	1	4,5	1	16	1,4603	0,1262
	8	0	0	0	0	0,0285	0,0107
	9	4	5,6	0	0	4,756	0,4013
	10	1	2,5	1	1,1	0,4917	0,0606
	11	1	1,5	1	1,5	0,845	0,0795
	12	1	3,5	1	1,1	1,5476	0,1571
	13	1	3,5	1	1,2	1,1765	0,1117
	14	1	1,8	0	0	0,3797	0,0485
	15	1	1	1	3,5	0,74	0,0844
	16	0	0	0	0	0,039	0,0045
	17	1	1	1	2,6	0,9047	0,0988
	18	1	2,2	1	1,5	0,5013	0,055
	19	1	9,5	0	0	1,7181	0,1838
	20	1	6,2	0	0	2,5015	0,2204
	21	2	3,1	1	0,5	0,974	0,0906
	22	1	1	1	0,7	0,3086	0,0455
	23	1	2,3	0	0	0,3621	0,047
	24	0	0	0	0	0,0293	0,0198
	25	4	3,9	1	1,2	3,8187	0,2893
	26	2	5	0	0	2,276	0,1442
	27	11	2,445	1	1,2	4,0136	0,277
	28	1	4,5	1	2,1	1,22	0,099
	29	1	4	1	4,5	1,8667	0,1479
	30	2	1,9	0	0	1,1978	0,1034
	31	1	3	0	0	0,3655	0,0389
	32	0	0	0	0	0,0263	0,0164
	33	1	7	1	1,6	2,2671	0,1678

34	2	4,3	1	1,8	2,5432	0,3913
35	1	7,5	1	1,4	3,9031	0,3052
36	1	8,5	1	1	3,5361	0,2235
37	13	1,867	0	0	1,795	0,1329
38	0	0	0	0	0,0711	0,0188
39	0	0	1	1	0,2206	0,0449
40	0	0	0	0	0,0267	0,0138
41	3	2,867	3	0,866	1,1207	0,0877
42	1	12	3	1,766	2,846	0,1249
43	1	5,5	0	0	0,6832	0,0907
44	2	4,35	1	0,4	1,602	0,156
45	5	5,4	1	1,2	1,607	0,1495
46	1	3	0	0	0,2545	0,0267
47	0	0	2	0,65	0,0689	0,0238
48	1	1,2	0	0	0,0482	0,0204
Σύνολο:	1,813	3,223	0,708	1,239	1,389	0,121

Στρώματωση στους 4-5°C για 5 μέρες και soaking για 24h στους 24-25°C							
Θρεπτικό Υπόστρωμα	Επαναλήψεις έκφυτα	No. Βλαστών	M.O. μήκους βλαστών (cm)	No. Ριζών	M.O. μήκους ριζών (cm)	Νωπό βάρος/ σπόρο (g)	Ξηρό βάρος/ σπόρο (g)
Στερεό Υπόστρωμα	1	1	2,5	2	6,1	0,1842	0,0247
	2	1	3,4	1	9,5	0,1147	0,0236
	3	2	2,3	2	6,4	0,1725	0,0302
	4	1	3,8	1	6,5	0,1775	0,024
	5	3	0,233	1	4	0,1648	0,0193
	6	2	3,1	4	2,875	0,2187	0,024
	7	2	2,4	2	7	0,3067	0,0366
	8	2	1,35	4	6,875	0,3737	0,0347
	9	1	2,5	1	4	0,1642	0,0272
	10	1	2,5	3	0,56	0,1618	0,0235
	11	2	3,45	2	5,1	0,2607	0,0351
	12	2	4,1	3	3,1	0,2438	0,0355
	13	1	2,3	1	4,6	0,1346	0,0253
	14	0	0	1	4,5	0,0839	0,0201
	15	1	1,2	0	0	0,0729	0,0273
	16	0	0	0	0	0,0281	0,0185
	17	1	3	2	4,5	0,2299	0,0308
	18	2	3,35	3	2,5566	0,1228	0,0227
	19	3	4,4	2	3,85	0,2328	0,0358
	20	6	1,65	1	5,5	0,1901	0,0288
	21	1	0,6	2	5,05	0,1953	0,0358

22	1	3	2	4,95	0,1578	0,0242	
23	1	0,3	1	1,5	0,0391	0,0172	
24	0	0	0	0	0,0242	0,0159	
25	1	4,2	2	4,95	0,1795	0,0306	
26	1	1,8	1	11	0,2507	0,0265	
27	2	2,85	2	7,25	0,2612	0,0279	
28	1	5	2	3,75	0,2713	0,035	
29	0	0	1	3,7	0,0581	0,0202	
30	0	0	1	2,5	0,0393	0,0119	
31	0	0	0	0	0,0221	0,0155	
32	0	0	0	0	0,026	0,018	
33	3	1,933	2	5,05	0,2423	0,0328	
34	1	2,4	1	5,5	0,0948	0,0246	
35	1	3	3	4	0,1739	0,0263	
36	3	2,33	2	3	0,1867	0,0271	
37	3	2,933	1	3,5	0,1703	0,0282	
38	2	2,9	2	1,95	0,129	0,0245	
39	1	2,3	2	4	0,1299	0,028	
40	0	0	0	0	0,0249	0,0169	
41	1	2	2	5	0,153	0,027	
42	2	3,3	3	0,5	0,279	0,0291	
43	7	0,8	1	3,3	0,3256	0,0404	
44	1	1,3	2	5,95	0,205	0,027	
45	1	1,5	2	4,3	0,1332	0,0212	
46	1	0	1	5,5	0,1358	0,0213	
47	0	0	2	0,9	0,1485	0,0339	
48	0	0	1	1	0,0407	0,0211	
49	1	3,5	2	5,3	0,1655	0,0307	
50	2	3,9	2	4,2	0,2572	0,0346	
51	0	0	2	6,4	0,1405	0,0309	
52	3	2,133	2	5,55	0,242	0,0332	
53	1	3	2	5,75	0,1405	0,0208	
54	1	1,3	1	6,2	0,1839	0,0283	
55	2	1	3	2,433	0,1883	0,0304	
56	0	0	1	2	0,0397	0,023	
Σύνολο:		1,411	1,907	1,643	3,990	0,162	0,027
Υγρό Υπόστρωμα + Βαμβάκι	1	0	0	1	3,8	0,06	0,0208
	2	2	2,25	2	3,9	0,0803	0,018
	3	2	1,9	2	3,1	0,0748	0,0209
	4	1	1,8	2	1,5	0,0646	0,0201
	5	1	0,2	1	5	0,049	0,0191
	6	1	1,5	2	3,4	0,0707	0,0184
	7	1	0,4	0	0	0,0427	0,0274
	8	0	0	0	0	0,0276	0,0189

9	1	1,1	2	3,5	0,0573	0,0177
10	2	2,5	6	1,383	0,0872	0,0215
11	0	0	1	2,5	0,0446	0,0155
12	1	1,3	2	2,65	0,065	0,0146
13	4	1,75	2	1,25	0,1447	0,0265
14	0	0	0	0	0,03	0,0206
15	0	0	0	0	0,0265	0,0184
16	0	0	0	0	0,0229	0,0075
17	2	2,2	2	3,7	0,0781	0,0233
18	1	2,1	3	2,166	0,0574	0,0174
19	2	2,65	2	2,1	0,0964	0,0251
20	1	1	0	0	0,0363	0,0203
21	0	0	1	1,6	0,0316	0,0136
22	0	0	0	0	0,0274	0,0184
23	0	0	0	0	0,0241	0,0164
24	0	0	0	0	0,0205	0,0133
25	2	2,55	2	3,25	0,0672	0,0192
26	1	0,7	2	3	0,0581	0,0185
27	0	0	2	1,35	0,049	0,0192
28	1	3	2	1,85	0,0672	0,0216
29	0	0	1	2,5	0,0549	0,015
30	1	1	1	0,4	0,0476	0,0246
31	1	0,4	0	0	0,0316	0,0148
32	0	0	0	0	0,0227	0,0158
33	0	0	1	3	0,1007	0,0249
34	0	0	2	1,95	0,0645	0,0208
35	0	0	2	1,8	0,0652	0,0218
36	0	0	1	2	0,0539	0,0169
37	1	0,1	1	3	0,0517	0,021
38	0	0	0	0	0,0286	0,0198
39	0	0	0	0	0,0223	0,0153
40	0	0	0	0	0,0234	0,0157
41	6	0,816	3	1,033	0,0756	0,0204
42	0	0	1	2,8	0,0384	0,0187
43	1	1,8	1	3	0,0515	0,0216
44	1	0,01	1	2,1	0,0344	0,0183
45	0	0	0	0	0,0254	0,0167
46	0	0	0	0	0,0254	0,0175
47	0	0	0	0	0,0307	0,021
48	0	0	0	0	0,0293	0,0199
49	2	0,85	1	1,1	0,0433	0,016
50	2	1,05	1	1	0,0368	0,0153
51	0	0	1	0,5	0,0321	0,0204
52	0	0	1	0,4	0,0328	0,0153

	53	0	0	0	0	0,0173	0,009
	54	0	0	0	0	0,0283	0,0198
	55	0	0	0	0	0,0253	0,0131
	56	0	0	0	0	0,0201	0,0144
	Σύνολο:	0,732	0,624	1,036	1,385	0,048	0,019
Υγρό Υπόστρωμα + Περλίτης	1	1	0,7	2	1,9	0,0953	0,0211
	2	2	1,5	3	1,6	0,1112	0,0231
	3	5	0,52	1	0,3	0,1454	0,0222
	4	2	1,6	2	1,25	0,0666	0,0175
	5	4	1,375	2	0,95	0,1524	0,0233
	6	4	1,175	2	2,4	0,1637	0,0251
	7	0	0	0	0	0,0244	0,0196
	8	0	0	0	0	0,0278	0,0158
	9	1	0,4	0	0	0,0294	0,0129
	10	1	0,1	1	2	0,0368	0,0158
	11	1	1,8	1	1,1	0,037	0,0146
	12	0	0	1	1,1	0,0209	0,0139
	13	1	0,4	1	1,9	0,0377	0,0179
	14	1	1,2	1	1	0,0412	0,016
	15	0	0	0	0	0,0218	0,0197
	16	0	0	0	0	0,0272	0,0155
	17	4	2,25	0	0	0,1227	0,0287
	18	1	3,5	3	1,233	0,0674	0,0208
	19	1	1	2	0,9	0,0595	0,0162
	20	0	0	1	0,4	0,0581	0,0265
	21	0	0	1	0,3	0,0218	0,0153
	22	0	0	1	0,6	0,0187	0,0132
	23	0	0	0	0	0,0259	0,0177
	24	0	0	0	0	0,022	0,0157
	25	1	0,3	1	4	0,0489	0,0165
	26	0	0	1	3,6	0,0597	0,0183
	27	0	0	1	1,9	0,047	0,0178
	28	2	0,1	1	1,5	0,0388	0,0197
	29	1	2	2	2,9	0,0896	0,0211
	30	2	1	1	1	0,0546	0,0189
	31	2	0,1	1	2,5	0,0422	0,014
	32	0	0	0	0	0,0215	0,0149
	33	4	2,925	0	0	0,0632	0,027
	34	1	1,1	1	1,5	0,0402	0,0161
	35	1	1,9	1	0,8	0,0416	0,015
	36	0	0	1	0,4	0,0201	0,0138
	37	0	0	1	0,1	0,0284	0,0197
	38	0	0	0	0	0,0254	0,0234
	39	0	0	0	0	0,0367	0,021

	40	0	0	0	0	0,0299	0,0226
	41	1	1,3	3	0,4	0,0409	0,0174
	42	1	0,8	1	0,7	0,0493	0,0205
	43	0	0	1	0,2	0,0275	0,0201
	44	0	0	1	0,1	0,0273	0,0192
	45	0	0	0	0	0,0307	0,0164
	46	0	0	0	0	0,0225	0,0157
	47	0	0	0	0	0,021	0,0139
	48	0	0	0	0	0,0217	0,0156
	49	1	0,1	1	3,4	0,0771	0,00203
	50	1	3,5	1	1,6	0,0494	0,0179
	51	0	0	1	0,2	0,0267	0,0188
	52	0	0	0	0	0,0232	0,0171
	53	0	0	0	0	0,025	0,0188
	54	0	0	0	0	0,0288	0,0201
	55	0	0	0	0	0,0191	0,0177
	56	0	0	0	0	0,0268	0,0129
	Σύνολο:	0,839	0,583	0,821	0,817	0,047	0,018
Υγρό Υπόστρωμα	1	1	8	1	1	3,1202	0,2352
	2	1	6,3	1	0,8	2,406	0,1814
	3	1	8,5	1	1,2	3,7485	0,428
	4	1	6,5	1	1,4	4,3085	0,1585
	5	0	0	1	3	0,2019	0,0377
	6	7	0,714	1	0,5	0,429	0,0597
	7	0	0	1	2,1	0,3095	0,0543
	8	0	0	0	0	0,103	0,0244
	9	2	4,3	0	0	5,1963	0,3691
	10	3	2,7	1	0,6	4,519	0,2959
	11	2	5,5	1	0,8	4,7255	0,3092
	12	2	5,55	1	1,9	3,8374	0,2385
	13	1	3	1	0,7	1,1045	0,0737
	14	0	0	1	0,7	0,1922	0,0421
	15	0	0	1	3	0,8451	0,0637
	16	0	0	1	1,5	0,0931	0,025
	17	5	2,1	0	0	1,9823	0,1828
	18	4	5,3	0	0	2,228	0,1861
	19	1	2	1	0,5	0,4215	0,0664
	20	1	0,8	0	0	0,0377	0,0192
	21	1	1,1	0	0	0,0312	0,0159
	22	0	0	0	0	0,0181	0,0074
	23	0	0	0	0	0,0414	0,028
	24	0	0	0	0	0,0192	0,0049
	25	2	1,85	0	0	0,7227	0,089
	26	14	2,242	1	0,6	1,8693	0,1828

27	3	2,666	0	0	0,9244	0,0974
28	0	0	0	0	0,4263	0,0562
29	0	0	0	0	0,0819	0,0263
30	1	0,7	0	0	0,0567	0,0244
31	1	0,6	0	0	0,0281	0,017
32	1	0,6	0	0	0,0487	0,0213
33	3	3,66	0	0	1,6114	0,01828
34	8	1,53	0	0	0,4809	0,0586
35	5	1,28	0	0	0,7483	0,0829
36	4	2,225	0	0	0,8614	0,0991
37	2	2,25	0	0	0,2629	0,0342
38	1	0,5	0	0	0,034	0,0187
39	1	0,5	0	0	0,0343	0,0248
40	0	0	0	0	0,0524	0,0174
41	4	1,825	0	0	0,0952	0,0258
42	3	1,433	1	0,75	0,8138	0,0592
43	1	1,7	1	0,6	0,3309	0,1595
44	2	2,5	1	1	1,6555	0,0976
45	0	0	2	0,6	0,642	0,0243
46	1	0,5	0	0	0,0508	0,0169
47	1	0,5	0	0	0,0341	0,0195
48	0	0	0	0	0,0146	0,0073
Σύνολο:	1,896	1,905	0,438	0,484	1,079	0,091

Σκαριφάρισμα με τρύπημα της μικροπύλης							
Θρεπτικό Υπόστρωμα	Επαναλήψεις έκφυτα	No. Βλαστών	Μ.Ο. μήκους βλαστών (cm)	No. Ριζών	Μ.Ο. μήκους ριζών (cm)	Νωπό βάρος/ σπόρο (g)	Ξηρό βάρος/ σπόρο (g)
Στερεό Υπόστρωμα	1	1	2,4	2	5,3	0,1317	0,0177
	2	0	0	1	7	0,1719	0,0229
	3	1	3	2	6,5	0,1696	0,0259
	4	2	1,5	2	5,75	0,205	0,0286
	5	0	0	1	8,2	0,1613	0,0275
	6	0	0	1	5	0,0825	0,0214
	7	1	5	1	4	0,0971	0,0214
	8	0	0	1	1,5	0,0452	0,0155
	9	1	3,5	1	4	0,2056	0,0332
	10	3	2,066	2	2,45	0,205	0,0283
	11	2	3,85	2	5,65	0,2398	0,0344
	12	4	4,65	1	2,5	0,4418	0,0672
	13	0	0	1	7,4	0,1185	0,0221
	14	3	2,266	3	5,6	0,2559	0,034

15	0	0	1	4,5	0,0882	0,0263
16	1	0,8	0	0	0,03	0,0164
17	1	1,2	1	6,5	0,1411	0,0246
18	1	1,7	1	7,2	0,1642	0,027
19	1	3,7	2	5	0,1672	0,0295
20	0	0	4	3,65	0,1244	0,0226
21	1	3,6	2	8,05	0,1545	0,0276
22	2	3,05	2	6,85	0,2665	0,0345
23	0	0	1	1,9	0,0367	0,0127
24	0	0	1	2,5	0,0736	0,0194
25	9	1,62	1	1,8	0,5838	0,0665
26	1	0,5	1	3,6	0,1692	0,0235
27	2	3,5	2	1,95	0,1505	0,0185
28	4	3,5	1	2	0,2339	0,0397
29	1	0,8	0	0	0,3486	0,0382
30	1	0,9	0	0	0,081	0,0177
31	0	0	0	0	0,0237	0,0152
32	0	0	0	0	0,0242	0,0152
33	1	1,5	1	7,8	0,1275	0,0231
34	1	2,6	2	4,25	0,1255	0,0227
35	1	0,2	1	3,6	0,1116	0,0257
36	1	0,9	1	4,8	0,2132	0,0251
37	0	0	4	5,275	0,3122	0,0393
38	2	1,5	2	6,5	0,2813	0,0371
39	2	2,5	1	6,5	0,256	0,0349
40	1	1	0	0	0,0688	0,0247
41	2	3,2	2	4,25	0,1656	0,02225
42	2	3,7	1	4,2	0,182	0,0311
43	1	0,3	1	10,8	0,1591	0,0247
44	2	2,9	3	3,766	0,1692	0,0318
45	1	3,2	2	4,75	0,1348	0,0239
46	0	0	1	7,5	0,098	0,0197
47	1	0,9	0	0	0,0436	0,0124
48	0	0	0	0	0,0248	0,0044
49	1	4,3	1	9	0,1315	0,0333
50	2	2,1	1	9	0,1735	0,0298
51	1	2,6	1	11	0,2445	0,0388
52	0	0	2	9,1	0,1605	0,041
53	2	1,7	0	0	0,0933	0,0332
54	1	2	2	2,25	0,1853	0,0201
55	0	0	1	2	0,0292	0,0154
56	0	0	0	0	0,0256	0,0181
Σύνολο:	1,214	1,611	1,268	4,334	0,159	0,027
1	1	2,4	2	1,9	0,1061	0,0273

	2	0	0	2	2,8	0,0552	0,0185
	3	7	1,914	2	1,85	0,1346	0,0325
	4	2	1	2	2,6	0,0721	0,0175
	5	0	0	1	2,6	0,0576	0,0183
	6	1	0,5	0	0	0,0208	0,0071
	7	0	0	2	0,35	0,0333	0,0201
	8	0	0	0	0	0,0296	0,0044
	9	2	2,15	2	1,35	0,0808	0,0284
	10	2	0,9	3	3,06	0,0653	0,0163
	11	1	1,7	2	3,75	0,0906	0,0256
	12	1	0,3	2	3,25	0,0672	0,0194
	13	2	2,5	2	2	0,0286	0,0107
	14	0	0	2	1,1	0,0411	0,0251
	15	0	0	0	0	0,0204	0,0151
	16	0	0	0	0	0,0223	0,0108
	17	3	2,03	2	1,55	0,1033	0,028
	18	0	0	3	2,2	0,0849	0,026
	19	3	2,26	2	2,6	0,0788	0,0264
	20	0	0	3	1,6	0,0626	0,024
	21	3	1,06	3	2,03	0,1042	0,0252
	22	1	0,3	2	2,3	0,044	0,02
	23	4	1,1	2	1,7	0,1064	0,0237
	24	0	0	0	0	0,0266	0,02
	25	2	1,3	2	1,1	0,1183	0,0327
	26	4	1,25	2	1,65	0,0821	0,0224
	27	3	1,7	2	1,35	0,0752	0,023
	28	1	0,5	1	2,9	0,0694	0,0198
	29	3	0,9	3	2,3	0,1261	0,03
	30	0	0	0	0	0,024	0,0151
	31	0	0	0	0	0,0245	0,0144
	32	0	0	0	0	0,0202	0,0172
	33	2	0,45	2	3	0,0839	0,0218
	34	0	0	1	4,9	0,0907	0,0261
	35	1	2	2	6,65	0,1236	0,0261
	36	2	0,5	2	1,15	0,0637	0,0191
	37	2	0,85	1	2,6	0,0893	0,0213
	38	1	0,2	1	2,1	0,0479	0,0171
	39	0	0	2	1,55	0,0618	0,0236
	40	0	0	0	0	0,0148	0,005
	41	0	0	3	1,96	0,0496	0,0128
	42	1	0,6	2	2,55	0,0882	0,0243
	43	0	0	1	4,2	0,0444	0,016
	44	0	0	2	2	0,1101	0,0302
	45	1	2,2	0	0	0,035	0,0134

Υγρό
Υπόστρωμα
+
Βαμβάκι

	46	1	2,4	2	2,65	0,0713	0,026
	47	1	0,2	0	0	0,0244	0,0158
	48	0	0	0	0	0,0325	0,0245
	49	0	0	2	3	0,062	0,0238
	50	2	1,25	1	1,3	0,0703	0,0232
	51	1	0,5	1	7,2	0,0735	0,018
	52	1	2	2	2,5	0,0877	0,0201
	53	0	0	1	3,2	0,0445	0,0207
	54	1	0,6	1	3,4	0,0537	0,0185
	55	1	2,4	2	3,3	0,0772	0,0194
	56	1	2	2	0,85	0,0639	0,016
	Σύνολο:	1,161	0,784	1,5	1,963	0,065	0,020
Υγρό Υπόστρωμα + Περλίτης	1	3	1,466	1	0,4	0,0486	0,0109
	2	1	3,4	2	0,75	0,0799	0,0201
	3	0	0	1	0,9	0,0517	0,0135
	4	2	1,25	1	0,8	0,0629	0,0117
	5	1	0,7	0	0	0,0344	0,0095
	6	0	0	1	0,3	0,023	0,0142
	7	0	0	1	0,1	0,0276	0,0178
	8	0	0	1	0,1	0,0238	0,0144
	9	4	0,875	3	0,8	0,0638	0,0147
	10	5	2,12	3	0,666	0,0718	0,0186
	11	1	0,2	0	0	0,0195	0,0125
	12	1	0,5	0	0	0,0321	0,017
	13	1	0,1	0	0	0,0249	0,0163
	14	1	0,1	0	0	0,0274	0,0162
	15	0	0	0	0	0,0234	0,0132
	16	0	0	0	0	0,0176	0,0104
	17	4	3,35	2	0,55	0,0761	0,0172
	18	3	1,866	1	1	0,073	0,0176
	19	1	0,5	0	0	0,0366	0,015
	20	1	0,5	0	0	0,0344	0,018
	21	1	0,4	0	0	0,0247	0,0113
	22	0	0	0	0	0,0268	0,0178
	23	0	0	0	0	0,0228	0,0137
	24	0	0	0	0	0,0229	0,0099
	25	3	1,3	2	1,1	0,0859	0,0147
	26	3	0,933	2	0,7	0,0763	0,0119
	27	2	2,85	1	0,7	0,0785	0,0158
	28	2	1,85	2	0,5	0,1046	0,0211
	29	0	0	1	0,6	0,0285	0,0115
	30	0	0	1	0,6	0,0308	0,01
	31	0	0	0	0	0,0228	0,0103
	32	0	0	0	0	0,0202	0,0155

	33	1	2	0	0	0,0237	0,0119
	34	0	0	0	0	0,0258	0,005
	35	0	0	0	0	0,0269	0,008
	36	0	0	0	0	0,0146	0,003
	37	0	0	0	0	0,0212	0,0047
	38	0	0	0	0	0,0226	0,0108
	39	0	0	0	0	0,025	0,0054
	40	0	0	0	0	0,0213	0,0095
	41	2	0,6	1	0,7	0,759	0,0134
	42	1	0,4	1	0,2	0,0435	0,0117
	43	0	0	1	0,5	0,0272	0,0179
	44	0	0	1	0,6	0,024	0,0163
	45	0	0	0	0	0,0259	0,0184
	46	0	0	0	0	0,0211	0,0143
	47	0	0	0	0	0,0214	0,0143
	48	0	0	0	0	0,0226	0,0158
	49	0	0	1	0,4	0,0203	0,0097
	50	0	0	1	0,7	0,0259	0,0099
	51	0	0	1	0,6	0,0192	0,0081
	52	0	0	0	0	0,0183	0,0105
	53	0	0	0	0	0,0301	0,0208
	54	0	0	0	0	0,019	0,0083
	55	0	0	0	0	0,0366	0,0246
	56	0	0	0	0	0,0249	0,0169
	Σύνολο:	0,786	0,487	0,589	0,255	0,049	0,013
Υγρό Υπόστρωμα	1	3	6,2	1	1,1	5,2836	0,3845
	2	1	5	0	0	3,447	0,0704
	3	1	5,7	1	0,7	5,3111	0,5346
	4	1	5,4	1	1	1,8204	0,1458
	5	7	4,486	1	4	4,7438	0,3938
	6	0	0	1	0,8	0,4384	0,0592
	7	0	0	1	1,9	0,2959	0,0512
	8	0	0	1	0,9	0,096	0,0294
	9	0	0	2	1,3	0,936	0,1093
	10	2	3,75	1	2,8	1,884	0,1713
	11	1	5,5	1	1,3	2,2552	0,1653
	12	1	3	1	3	0,5078	0,0653
	13	1	1	0	0	0,0957	0,0329
	14	0	0	1	1,1	0,0895	0,0275
	15	0	0	0	0	0,0194	0,0097
	16	0	0	0	0	0,0197	0,0131
	17	1	6	1	1,3	3,4262	0,2966
	18	1	6,4	1	0,4	2,9567	0,2712
	19	2	6,4	1	0,7	4,2463	0,3254

20	1	5,5	0	0	2,2467	0,2215
21	0	0	1	1,8	0,1565	0,0378
22	0	0	3	0,766	0,0736	0,0222
23	0	0	1	0,2	0,3061	0,0508
24	0	0	2	0,6	0,0674	0,0192
25	1	6,5	1	1,7	5,0638	0,316
26	2	6,4	1	1,2	5,8811	0,4127
27	1	7,5	0	0	6,678	0,4766
28	0	0	1	2,9	0,3306	0,0476
29	0	0	3	1,166	0,1525	0,0344
30	0	0	0	0	0,0966	0,0325
31	1	1	0	0	0,0406	0,0041
32	0	0	3	1,166	0,1625	0,0268
33	2	8,9	1	1,2	6,635	0,4871
34	2	4,05	1	1	3,3873	0,2778
35	2	5,6	0	0	3,899	0,02833
36	0	0	1	1,8	1,0142	0,1064
37	0	0	2	1,1	0,1373	0,0342
38	0	0	1	0,5	0,0683	0,02557
39	0	0	0	0	0,0397	0,0203
40	0	0	0	0	0,0239	0,0114
41	1	5,4	0	0	2,0731	0,1262
42	1	4,1	1	0,4	0,4963	0,0471
43	0	0	0	0	0,136	0,022
44	0	0	1	1	0,0464	0,0157
45	1	1	2	1,05	0,1542	0,0159
46	0	0	1	0,5	0,0302	0,0148
47	0	0	0	0	0,0519	0,024
48	0	0	0	0	0,016	0,0052
Σύνολο:	0,771	2,391	0,896	0,882	1,611	0,128