



ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Η ισχυροποίηση της άμυνας των φυτών στις
αβιοτικές καταπονήσεις μέσω της εξωγενούς
εφαρμογής φυσικών, χημικών και βιολογικών
παραγόντων (Priming)**

Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Τζίμος Ευθ. Θεόδωρος

Γεωπόνος

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

"Εφαρμοσμένη Επιστήμη και Τεχνολογία στη Γεωπονία"

ΗΡΑΚΛΕΙΟ, 2020

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Δραγασάκη Μαγδαληνή

ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Η ισχυροποίηση της άμυνας των φυτών στις
αβιοτικές καταπονήσεις μέσω της εξωγενούς
εφαρμογής φυσικών, χημικών και βιολογικών
παραγόντων (Priming)**

Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Τζίμος Ευθ. Θεόδωρος

Γεωπόνος

ΗΡΑΚΛΕΙΟ, 2020

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Δραγασάκη Μαγδαληνή

ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΚΑΘ. Δραγασάκη Μαγδαληνή

ΚΑΘ. Λουλακάκης Κωνσταντίνος

ΚΑΘ. Τραντάς Εμμανουήλ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση των μεταπτυχιακών μου σπουδών και την κατάθεση της παρούσας εργασίας θεωρώ ότι είναι υποχρέωση μου να εκφράσω τις ευχαριστίες μου μέσα από την καρδιά μου, σε ορισμένους ανθρώπους που τους εκτιμώ βαθύτατα και με βοήθησαν ο καθένας με τον τρόπο του, σε όλη αυτή τη διαδρομή.

Καταρχάς ευχαριστώ θερμά την καθηγήτρια κ. Δραγασάκη Μαγδαληνή για την ανάθεση του θέματος της Διπλωματικής εργασίας, την καθοδήγηση και το έμπρακτο προσωπικό της ενδιαφέρον σε όλα τα στάδια αυτής της μελέτης. Επίσης εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες στους καθηγητές κ. Λουλακάκη Κωνσταντίνο και κ. Τραντά Εμμανουήλ που δέχτηκαν να συμμετάσχουν στην εξεταστική επιτροπή για την αξιολόγηση και τη βαθμολόγηση της εργασίας. Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών "Εφαρμοσμένη Επιστήμη και Τεχνολογία στη Γεωπονία" για την άριστη συνεργασία, τη διάθεση προσφοράς και τις πολύτιμες γνώσεις που μου μετέδωσαν διαμέσου της επιστημονικής τους κατάρτισης και της μακράς εμπειρίας τους.

Από αυτή την αναφορά δε θα μπορούσα να παραλείψω δύο ανθρώπους τους οποίους έχω σε πολύ μεγάλη υπόληψη και με έχουν συνδράμει απλόχερα πολλές φορές στην επαγγελματική μου σταδιοδρομία. Ο πρώτος από αυτούς είναι ο εξαίρετος συνάδελφος και φίλος Σίμογλου Κώστας, Γεωπόνος της Δ.Α.Ο.Κ. της Π.Ε. Δράμας, ένα υπόδειγμα επιστήμονα αλλά και κυρίως ανθρώπου, που πάντα προσφέρει τις πολύτιμες υπηρεσίες του και τις επιστημονικές του γνώσεις ανιδιοτελώς σε όποιον και σε ότι χρειαστεί. Ο άλλος είναι ο καθηγητής της Ζιζανολογίας του Α.Π.Θ. κ. Ελευθεροχωρινός Ηλίας που έχει συμβάλλει τα μέγιστα στην εξέλιξη της ελληνικής γεωργίας και που είναι ο άνθρωπος που πριν από αρκετά χρόνια, με παρότρυνε να προχωρήσω τις σπουδές μου και γι αυτό τον ευχαριστώ όπως και για όλες τις άλλες φορές που χρειάστηκα τη βοήθεια του.

Τελευταία θα ήθελα να ευχαριστήσω τους δικούς μου ανθρώπους για τη στήριξη, τη συμπαράσταση τους αλλά και την υπομονή τους σε όλη τη διάρκεια της συγγραφής αυτής της εργασίας. Πιο συγκεκριμένα τους γονείς μου, που μου έμαθαν ότι η ζωή είναι ένας αγώνας και ότι τίποτε δε χαρίζεται και τα παιδιά μου Βασιλική, Ευθύμη και Αλέξανδρο και τους υπόσχομαι ότι από εδώ και στο εξής θα προσπαθήσω να τους αφιερώνω περισσότερο και δημιουργικότερο χρόνο.

Τελευταίο άφησα τον πιο κοντινό μου άνθρωπο. τη σύζυγο μου Μαρία, που όλα αυτά τα χρόνια στηρίζει τις επιλογές και τις προσπάθειες μου και γι αυτό την ευχαριστώ.

Περιεχόμενα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΤΑ ΦΥΤΑ ΚΑΙ ΟΙ ΑΒΙΟΤΙΚΕΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	15
2. Στρατηγικές αντιμετώπισης των αβιοτικών καταπονήσεων.....	18
3. Οι αβιοτικές καταπονήσεις στα πλαίσια της κλιματικής αλλαγής.....	20
4. Στρατηγικές αντιμετώπισης των αβιοτικών καταπονήσεων από τα φυτά.....	23
5. Οι αρνητικές επιπτώσεις των αβιοτικών καταπονήσεων στα φυτά.....	24
6. Η απόκριση των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις.....	26

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

Η ισχυροποίηση της άμυνας των φυτών μέσω της μνήμης καταπόνησης ως στρατηγική αντιμετώπισης των καταπονήσεων

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	30
2. Το φαινόμενο Priming.....	31
3. Οι μοριακοί μηχανισμοί του φαινομένου Priming.....	33
4. Η μεταβίβαση της κατάστασης αυξημένης απόκρισης (primed state) στους απογόνους (Transgenerational Priming).....	34
5. Ενεργειακό όφελος και διαφοροποίηση των Primed φυτών.....	36

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

Η ισχυροποίηση της άμυνας των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις μέσω της εξωγενούς εφαρμογής φυσικών, χημικών και βιολογικών παραγόντων

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	38
2. Μέθοδοι και τρόποι εφαρμογής των παραγόντων priming.....	39
2.1 Διαφυλλική εφαρμογή.....	40
2.2 Εφαρμογή στο ριζικό σύστημα.....	41
2.3 Η προμεταχείριση των σπόρων –Seed Priming.....	42
3. Η γενική φυσιολογική και βιοχημική βάση των προσεγγίσεων priming και οι κοινοί μηχανισμοί αύξησης της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις.....	43
4. Στοιχεία της φυσιολογικής και βιοχημικής βάσης των προσεγγίσεων Seed- priming.....	47

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

Οι κυριότεροι παράγοντες priming

1. Οι ενεργές ρίζες οξυγόνου, αζώτου και θείου (Redox-priming).....	50
1.1 Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H ₂ O ₂).....	53

1.1.1.	Εξωγενής εφαρμογή H ₂ O ₂ και αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις.....	53
1.1.2.	Η μοριακή και βιοχημική βάση της επαγόμενης από το H ₂ O ₂ αύξησης της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις.....	54
1.1.3.	Συμπεράσματα και προοπτικές.....	56
1.2	Το οξείδιο του αζώτου (NO)	57
1.2.1	Εξωγενής εφαρμογή NO και αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις.....	58
1.2.2	Η φυσιολογική βάση της προστασίας από τους δότες NO.....	59
1.2.3	Συμπεράσματα και προοπτικές.....	62
1.3	Το υδρόθειο (H₂S)	63
1.3.1	Εξωγενής εφαρμογή H ₂ S και αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις.....	64
1.3.2	Οι επαγόμενοι από τους δότες H ₂ S μηχανισμοί αύξησης της αντοχής.....	64
1.3.3	Συμπεράσματα και προοπτικές.....	67
2.	Οι πολυαμίνες	69
2.1	Εξωγενής εφαρμογή πολυαμινών και αύξηση της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις.....	69
2.2	Ο ρόλος των πολυαμινών στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων.....	70
3.	Αντιοξειδωτικοί παράγοντες	73
3.1	Το ασκορβικό οξύ	73
3.1.1	Το ασκορβικό οξύ ως αντιοξειδωτικός παράγοντας.....	73
3.1.2	Εξωγενής εφαρμογή ασκορβικού οξέος και αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις.....	74
3.1.3	Συμπεράσματα.....	76
3.2	Η γλουταθειόνη	76
3.3	Η μελατονίνη	78
3.3.1	Ο ρόλος της μελατονίνης στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων.....	79
3.3.2	Εξωγενής εφαρμογή μελατονίνης και αύξηση της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις.....	81
3.3.3	Συμπεράσματα.....	82
4.	Οι ρυθμιστές ανάπτυξης -Hormonal priming	84
4.1	Το Αμπισισικό Οξύ (ABA).....	85
4.2	Το σαλικυλικό οξύ (SA).....	87
4.3	Το ιασμονικό οξύ (JA).....	90
4.4	Οι αυξίνες (IAA).....	92
4.5	Οι γιβερελλίνες(GAs).....	93
4.6	Οι κυτοκινίνες(CK).....	94
4.7	Τα μπρασιννοστεροειδή (BR).....	95

5. Οι ωσφυλότες και η συμβολή τους στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων.....	97
5.1 Τα σάκχαρα. Ο ρόλος της τρεχαλόζης.....	100
5.2 Οι πολυόλες ή αλκοόλες των σακχάρων.....	102
5.3 Τα πρωτεϊνικά αμινοξέα. Η προλίνη (Pro).....	103
5.4 Τα μη πρωτεϊνικά αμινοξέα.....	105
5.4.1 Η γλυκίνη-μπεταΐνη	105
5.4.2 Το β- αμινοβουτυρικό οξύ (BABA) και το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA).....	106
5.4.3 Το 5-αμινολεβουλενικό οξύ (ALA).....	112
6. Ο ρόλος της παροχής ανόργανων θρεπτικών στη βελτίωση και ισχυροποίηση της άμυνας των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις (Inorganic Priming).....	114
6.1 Ο ρόλος των μακροστοιχείων.....	114
6.2 Ο ρόλος των ιχνοστοιχείων.....	116
6.3 Συμπεράσματα.....	118
7. Άλλοι παράγοντες ισχυροποίησης της άμυνας των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις.....	119
ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ-ΕΠΙΛΟΓΟΣ.....	122
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	124

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ΣΥΝΤΜΗΣΗ	ΑΓΓΛΙΚΗ	ΕΛΛΗΝΙΚΗ
ABA	Abscisic acid	Αμπισισικό οξύ
ALA	Aminolevulinic acid	5-αμινολεβουλενικό οξύ
APX	Ascorbate peroxidase	Υπεροξειδάση του ασκορβικού
ASH	Ascorbic acid	Ασκορβικό οξύ
BABA	β-aminobutyric acid	β-αμινοβουτυρικό οξύ
CAT	Catalase	Καταλάση
CKs	Cytokinins	Κυτοκινίνες
DHAR	Dehydroascorbate reductase	Διυδροασκορβική ρεδοκτάση
DMSP	Dimethylsulphonio- propionate	Διμεθύλσουλφονιο- προπιονικό
GABA	γ-amino butyric acid	γ-αμινοβουτυρικό οξύ
GAs	Gibberellins	Γιββερελλίνες
GB	Glycine betaine	Γλυκίνη-μπεταΐνη
GLO	Glyoxalase	Γλυοξυλάση
GOPX	Gyaicol peroxidase	Υπεροξειδάση της γουαϊκόλης
GPX	Glutathione peroxidase	Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης
GR	Glutathione reductase	Ρεδοκτάση της γλουταθειόνης
GSH	Glutathione	Γλουταθειόνη
GST	Glutathione-S-transferase	S-τρανσφεράση της γλουταθειόνης
HSPs	Heat-shock proteins	Θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες
IAA	Indole-3-acetic acid	Ινδολ-3 οξικό οξύ
ISR	Induced Systemic Resistance	Επαγόμενη Διασυστηματική Αντοχή
JA	Jasmonic acid	Ιασμονικό οξύ
LEA proteins	Late embryogenesis abundant proteins	Πρωτεΐνες όψιμης εμβρυογένεσης
LOX	Lipoxygenase	Λιποξυγενάση
MAPKs	Mitogen activated protein kinases	Πρωτεϊνικές κινάσες ενεργοποιημένες από μιτογόνα
MDA	Malondialdehyde	Μαλονδιαλδεΰδη
MDHAR	Monodehydroascorbate reductase	Μονοδιυδροασκορβική ρεδοκτάση
MeJA	Methyl-jasmonate	Ιασμονικό μεθύλιο
MG	Methylglyoxal	Μεθυλογλυοξάλη
NaHS	Sodium hydrosulfide	Όξινο θειούχο νάτριο
NO	Nitric oxide	Οξείδιο του αζώτου
PAs	Polyamines	Πολυαμίνες
POD	Peroxidase	Υπεροξειδάση
Pro	Proline	Προλίνη
Put	Putrescine	Πουτρεσκίνη

RNS	Reactive Nitrogen Species	Ενεργές μορφές αζώτου
RONSS	Reactive oxygen-nitrogen-sulfur species	Ενεργές μορφές οξυγόνου, αζώτου και θείου
ROS	Reactive Oxygen Species	Ενεργές μορφές οξυγόνου
SA	Salicylic acid	Σαλικυλικό οξύ
SAR	Systemic acquired resistance	Επίκτητη Διασυστηματική Αντοχή
SNOs	S-nitrosothiols	S-νιτροσοθειόλες
SNP	Sodium nitroprusside	Νιτροπρωσσικό νάτριο
SOD	Superoxide dismutase	Υπεροξειδική δισμουτάση
Spd	Spermidine	Σπερμιδίνη
Spm	Spermine	Σπερμίνη
VOCS	Volatile organic compounds	Οργανικές πτητικές ουσίες

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα φυτά ζουν σε συνθήκες που μεταβάλλονται συνεχώς και στις περισσότερες περιπτώσεις είναι μη ευνοϊκές, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η κανονική λειτουργία των φυσιολογικών μηχανισμών τους. Οι απώλειες στην παραγωγικότητα των καλλιεργειών λόγω των αβιοτικών καταπονήσεων υπερβαίνουν το 50%, ενώ τα επόμενα χρόνια θα αυξηθούν ακόμη περισσότερο λόγω της αναπόφευκτης κλιματικής αλλαγής και της υπερεκμετάλλευσης των πόρων. Προκειμένου να βελτιωθεί η άμυνα των φυτών ενάντια στις αβιοτικές καταπονήσεις και κατά συνέπεια και η παραγωγικότητά τους, έχουν αναπτυχθεί διαφορές στρατηγικές. Η πρώτη στρατηγική στοχεύει στη δημιουργία ανθεκτικών φυτών με τη χρήση των μεθόδων της κλασικής γενετικής Βελτίωσης και των εργαλείων της σύγχρονης βιοτεχνολογίας. Η ισχυροποίηση των μηχανισμών άμυνας (Priming) των φυτών μέσω της εξωγενούς εφαρμογής παραγόντων με βιολογική δράση, που λειτουργούν είτε ως ρυθμιστές ανάπτυξης είτε ως σηματοδοτικά μόρια, αποτελεί την εναλλακτική προσέγγιση και το αντικείμενο αυτής της εργασίας.

Η έλλειψη κινητών κυττάρων ανοσίας στα φυτά είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη διαφορετικών μηχανισμών ανοσίας από τους άλλους ανώτερους οργανισμούς. Από τη μελέτη των αποκρίσεων των φυτών σε (α)βιοτικές καταπονήσεις διαπιστώθηκε ότι η έκθεση των φυτών σε προγενέστερη καταπόνηση, τα εισήγαγε σε μια ιδιαίτερη φυσιολογική κατάσταση, που τα καθιστούσε μεταγενέστερα πιο ανθεκτικά στην ίδια καταπόνηση. Η διαδικασία μέσω της οποίας τα φυτά εισέρχονται στη μοναδική αυτή φυσιολογική κατάσταση αυξημένου βαθμού ευαισθησίας και απόκρισης στις μελλοντικές βιοτικές και αβιοτικές προκλήσεις βασιζόμενα στην εμπειρία τους, ονομάζεται **Priming ή Preconditioning**. Τα τελευταία χρόνια έχει βρεθεί ότι η εισαγωγή των φυτών σε κατάσταση αυξημένης απόκρισης μπορεί να προκληθεί και μέσω της εφαρμογής στα φυτά φυσικών ή και συνθετικών χημικών παραγόντων και μάλιστα χωρίς μετέπειτα επιπτώσεις στις αναπτυξιακές διαδικασίες των φυτών.

Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας αποκαλύπτει ότι μια πολύ μεγάλη ποικιλία παραγόντων έχουν την δυνατότητα να λειτουργούν υπό ειδικές συνθήκες ως παράγοντες priming σε μια σειρά διαφορετικών αβιοτικών καταπονήσεων. Ουσίες όπως οι ενεργές ρίζες του οξυγόνου, του αζώτου και του θείου αποτελούν ενδογενείς φυτικές

ουσίες που σηματοδοτούν την ύπαρξη καταπονητικών παραγόντων και επάγουν τους μηχανισμούς άμυνας των φυτών. Παρόμοια δράση εκδηλώνεται από την εφαρμογή και άλλων φυσικών παραγόντων στα φυτά, όπως είναι οι ορμόνες, οι πολυαμίνες, οι οσμωλύτες, τα μη πρωτεϊνικά αμινοξέα, ανόργανα άλατα ($KNO_3, NaCl$), διάφορα ιχνοστοιχεία όπως το πυρίτιο(Si) και το σελήνιο(Se) κ.ά. Επιπλέον αρκετές χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται κυρίως ως μυκητοκτόνα έχει αναφερθεί ότι συνδέονται με αυξημένα επίπεδα αμυντικής απόκρισης. Η εξέλιξη των omics τεχνολογιών καθώς και η πρόοδος των μικροσκοπικών τεχνικών απέδειξε ότι και οι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί είναι σε θέση να διεγείρουν και να βελτιώνουν τους αμυντικούς μηχανισμούς των φυτών μέσα από την αμοιβαία επωφελή συμβίωση τους.

Στην παρούσα εργασία επιχειρείται μια βιβλιογραφική ανασκόπηση όλων των τελευταίων εξελίξεων σχετικά με την ισχυροποίηση των αμυντικών μηχανισμών των φυτών ενάντια στις αβιοτικές καταπονήσεις με τη χρήση παραγόντων με βιολογική δράση. Στο πρώτο μέρος της εργασίας παρουσιάζονται οι επιπτώσεις των αβιοτικών παραγόντων στα φυτά. Πιο συγκεκριμένα περιγράφονται οι μεταβολές που προκαλούνται στο φυσιολογικό επίπεδο λειτουργίας των φυτών από τις αβιοτικές καταπονήσεις και παράλληλα οι μηχανισμοί άμυνας που έχουν αναπτύξει τα φυτά προκειμένου να ανταπεξέλθουν σε αυτές. Στη συνέχεια αναλύεται η στρατηγική της αυξημένης απόκρισης που έχουν αναπτύξει τα φυτά -φαινόμενο priming- και παρατίθενται στοιχεία γύρω από την κατανόηση της φυσιολογικής βάσης αυτής της προσέγγισης. Τέλος παρουσιάζονται οι κυριότεροι παράγοντες που έχουν διερευνηθεί για τη δυνατότητα τους να συμβάλλουν στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων όπως και οι μέθοδοι εφαρμογής τους. Στα πλαίσια αυτά, παρατίθενται πολλά πειραματικά αποτελέσματα όπως και τα τελευταία ευρήματα γύρω από τον τρόπο δράσης των παραγόντων αυτών, έτσι όπως καταγράφονται στη διεθνή βιβλιογραφία.

Abstract

Plants live in constantly changing, mostly unfavorable conditions therefore the function of their physiological mechanisms is hindered. Crop losses and reduction of productivity due to abiotic stress exceed 50%, while in the future this amount is expected to increase due to the inevitable climate change and the over-exploitation of resources. In order to improve the defense mechanisms of plants against abiotic stresses and consequently their productivity, different strategies have been developed. The first strategy aims to create tolerant and resistant plants using both conventional plant breeding methods and genetic improvement using tools of modern biotechnology. Strengthening the plant's defense mechanisms through the exogenous application of biological agents, which act either as growth regulators or signaling molecules, is an alternative approach and the scope of this work.

The lack of mobile immune cells in plants has resulted in the development of different defense mechanisms. The study of plant responses to (a)biotic stresses has revealed that exposure of plants to a mild stress, makes them resistant to a similar, more severe stress, later. The process by which plants enter this physiological state of increased sensitivity and response ability to future biotic and abiotic challenges, based on their experience, is called Priming or Preconditioning. Recent research has proved that the application of certain natural or synthetic chemical substances can improve plant ability to withstand stresses without subsequent effects on plant growth and development.

A review of the literature reveals that a wide variety of factors have the potential to function as priming factors in an array of different abiotic strains and stresses. Substances such as the reactive oxygen (as well as nitrogen and sulfur) species, are endogenous plant substances that signal the existence of stressors and induce plant defense mechanisms. Similar effects are observed after the application to plants of other natural substances, such as hormones, polyamines, osmolytes, non-protein amino acids, minerals (KNO₃, NaCl), trace elements such as silicon (Si) and selenium (Se) etc. In addition, several chemicals, used mainly as fungicides, have been reported to cause increased levels of defense responses. The evolution of omics technologies as well as the advancement of microscopic techniques has shown that beneficial microorganisms

are also capable to stimulate and improve plant defense mechanisms through mutually beneficial symbiosis

In the present thesis is attempted a literature review on the recent developments regarding the strengthening of plant defense mechanisms against abiotic stresses using biological agents. The first part of the thesis presents the effects of abiotic agents on plants, the changes inflicted on their physiology and the defense mechanisms developed by the plants in order to cope. In the second part, the strategy of increased response to stresses, developed by the plants -also called priming -, is analyzed and data are presented to support the understanding of the phenomenon. In the last part are presented the main factors that have been investigated for their ability to contribute to the resistance to abiotic stresses as well as the methods of their application. In this context, many experimental results from the international literature and the latest findings on the subject are presented.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΤΑ ΦΥΤΑ ΚΑΙ ΟΙ ΑΒΙΟΤΙΚΕΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα φυτά ζουν σε συνθήκες που μεταβάλλονται συνεχώς και σε πολλές περιπτώσεις είναι μη ευνοϊκές, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η κανονική λειτουργία των φυσιολογικών μηχανισμών τους (Zhu, 2018). Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τα φυτά διακρίνονται σε βιοτικούς και αβιοτικούς. Οι πρώτοι περιλαμβάνουν άλλους ζωντανούς οργανισμούς όπως είναι τα παθογόνα, τα παράσιτα, τα φυτοφάγα, οι συμβιωτικοί οργανισμοί και οι ανταγωνιστές. Οι δεύτεροι συνδέονται με εδαφοκλιματικές παραμέτρους που ρυθμίζουν την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών όπως είναι η θερμοκρασία, η σχετική υγρασία, το φώς, η διαθεσιμότητα του νερού, του CO₂ και των θρεπτικών συστατικών, καθώς επίσης και ο άνεμος, η ιονίζουσα ακτινοβολία και οι ρύποι (Schulze et al., 2002).

Οι αβιοτικοί παράγοντες χαρακτηρίζονται από μεγάλη παραλλακτικότητα σε ότι αφορά την ένταση και τη διάρκεια επίδρασης τους στα φυτά (Bray et al., 2000). Μέσω της εξελικτικής διαδικασίας, τα φυτά έχουν προσαρμοστεί ώστε να επιβιώνουν και να εκτελούν τις βιολογικές και φυσιολογικές τους λειτουργίες μέσα σε καθορισμένα όρια ή τιμές των αβιοτικών παραγόντων (εύρος ανοχής ή όρια βιολογικής δραστηριότητας). Μέσα στα όρια αυτά υπάρχει μια περιοχή άριστης (optimum) λειτουργίας, όπου τα φυτά αναπτύσσονται χωρίς προβλήματα (βέλτιστα όρια ανάπτυξης). Όταν τα επίπεδα ενός αβιοτικού παράγοντα βρεθούν εκτός των βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης προκαλείται απορρύθμιση της ομοιόστασης των φυτών και εμφανίζονται τα πρώτα συμπτώματα καταπόνησης (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012). Η παραβίαση των βέλτιστων ορίων ασκεί δυσμενή επίδραση στην αύξηση αλλά και στην απόδοση των φυτών και προκαλούνται μεταβολές σε μοριακό, βιοχημικό, φυσιολογικό και μορφολογικό επίπεδο προκειμένου να αποκατασταθεί ή ομοιόσταση και η φυσιολογική ισορροπία (Khan et al., 2014). Οι τροποποιήσεις αυτές απαιτούν τη δαπάνη ενέργειας και επομένως η άριστη κατανομή των πόρων μεταξύ της ανάπτυξης και της άμυνας είναι θεμελιώδους σημασίας για την επιβίωση των φυτών (Van Loon, 2016). Πρόσφατες έρευνες γονιδιωματικής έχουν αποδείξει ότι τα δίκτυα σηματοδότησης των ορμονών που εμπλέκονται στις λειτουργίες της άμυνας και της ανάπτυξης,

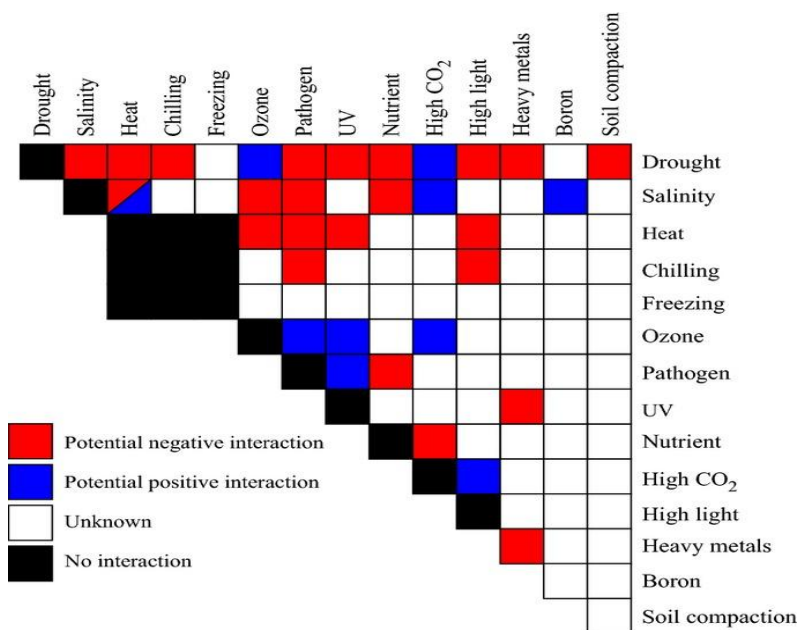
αλληλοσυνδέονται, με αποτέλεσμα είτε την υποκίνηση της ανάπτυξης σε ευνοϊκές συνθήκες, είτε την ενεργοποίηση των αμυντικών μηχανισμών σε συνθήκες καταπόνησης (Pieterse et al., 2012; Vos et al., 2013).

Από το σύνολο των παγκόσμιας γεωργικής έκτασης μόνο το 9% ευνοεί την ομαλή και απρόσκοπτη ανάπτυξη των καλλιεργειών, ενώ στο υπόλοιπο 91% οι συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης είναι διαρκώς παρούσες (Cramer et al., 2011). Οι αβιοτικές καταπονήσεις οφείλονται στην ξηρασία, στις πλημμύρες, στις ακραίες θερμοκρασίες, στις ακτινοβολίες (UV και ιονίζουσα ακτινοβολία), στην ατμοσφαιρική ρύπανση, στον άνεμο (μηχανική καταπόνηση), καθώς επίσης και στις χημικές, φυσικές και βιολογικές ιδιότητες του εδάφους. Η ανεπάρκεια θρεπτικών συστατικών, η περίσσεια διαλυτών αλάτων, η αλατότητα, το υψηλό όπως και το πολύ χαμηλό PH, η μικρή I.E.K.(Ικανότητα Εναλλαγής Κατιόντων), καθώς επίσης και η επιβάρυνση των εδαφών με βαρέα μέταλλα ανθρωπογενούς ή φυσικής προέλευσης συνιστούν παράγοντες καταπόνησης των φυτών που οφείλονται στις χημικές ιδιότητες των εδαφών. Στις φυσικές εδαφικές ιδιότητες που προκαλούν ανασχεση της ανάπτυξης των φυτών, περιλαμβάνονται οι μεγάλες κλίσεις που επιταχύνουν το ρυθμό διάβρωσης, ο σχηματισμός επιφανειακής κρούστας, η ανεπαρκής ικανότητα συγκράτησης νερού, όπως και η χαμηλή ικανότητα αποστράγγισης λόγω της μηχανικής σύστασης και της δομής του εδάφους, καθώς επίσης και η παρουσία συμπαγούς στρώματος που αναστέλλει την αύξηση των ριζών. Τέλος η πολύ μικρή όπως και η πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε οργανική ουσία αποτελούν βιολογικές ιδιότητες των εδαφών που αποτελούν παράγοντες καταπόνησης (Minhas et al., 2017).

Σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους τα φυτά εκτίθενται σε μια πληθώρα αβιοτικών καταπονήσεων οι οποίες μπορεί να λαμβάνουν χώρα μεμονωμένα ή και ταυτόχρονα, και η επίδραση τους να είναι προσθετική ή συνεργιστική (π.χ. συνδυασμός υψηλής έντασης ακτινοβολίας με χαμηλές θερμοκρασίες) στην ανάπτυξη και στην παραγωγικότητα των φυτών(Savvides et al., 2016). Επιπλέον υπάρχουν και περιπτώσεις ανταγωνιστικής αλληλεπίδρασης αβιοτικών παραγόντων όπου η παρουσία ενός παράγοντα αποτρέπει ή μετριάζει τη ζημιογόνο επίδραση ενός δεύτερου(π.χ. υδατική καταπόνηση-χαμηλές θερμοκρασίες (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012)).**(Σχήμα 1)**

Οι απώλειες στην παραγωγικότητα των καλλιεργειών λόγω των καταπονήσεων που οφείλονται σε βιοτικά και αβιοτικά αίτια σε πολλές περιπτώσεις υπερβαίνουν το 80%. Από το ποσοστό αυτό, το 70% αποδίδεται στους αβιοτικούς παράγοντες ενώ το

υπόλοιπο 10% στους βιοτικούς. Αυτό σημαίνει ότι λόγω των καταπονήσεων η ληφθείσα παραγωγή αντιπροσωπεύει μόλις το 20% της εν δυνάμει παραγωγικότητας των καλλιεργούμενων φυτών. Επομένως, εάν οι επιπτώσεις στην παραγωγικότητα λόγω των αβιοτικών καταπονήσεων μειωθούν έστω κατά 10%, η αύξηση της παραγωγής θα υπερβεί το 50% (Yamauchi, 2018).



Σχήμα 1. Πίνακας αβιοτικών καταπονήσεων-Stress-Matrix. Στον πίνακα αυτό απεικονίζονται διαφορετικοί συνδυασμοί από πιθανές αβιοτικές καταπονήσεις που επιδρούν ταυτόχρονα στα φυτά. Τα διαφορετικά χρώματα υποδεικνύουν τις περιπτώσεις που έχουν μελετηθεί και είναι γνωστές οι επιπτώσεις τους στην ανάπτυξη και την παραγωγικότητα των φυτών. Mittler & Blumwald, (2010) και νεότερα δεδομένα από Suzuki et al.(2014)

Τα επόμενα χρόνια η Γεωργία θα πρέπει να ανταποκριθεί στη διπλή πρόκληση της επισιτιστικής επάρκειας για τον συνεχώς αυξανόμενο πληθυσμό και της ελαχιστοποίησης του αντίκτυπου της στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον (**clean and green products**) (Colla et al., 2017). Επιπλέον με την κλιματική αλλαγή παρούσα, έχει παγιωθεί η θέση ότι το ισχύον παραγωγικό και καταναλωτικό μοντέλο δεν είναι βιώσιμο και θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν αναγνωρισμένα εργαλεία ακριβείας και εκτίμησης όπως και να αναζητηθούν καινοτόμες προσεγγίσεις, προκειμένου να αυξηθεί η αποδοτικότητα των πόρων **“more with less”** και να μειωθούν οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις (Colla et al., 2017). Στα πλαίσια αυτά η αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων μέσω της ισχυροποίησης των αμυντικών μηχανισμών των φυτών, αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους στόχους, η επίτευξη του οποίου θα

συμβάλλει καθοριστικά στην αντιμετώπιση των προκλήσεων που αντιμετωπίζει η Γεωργία του 21^ο αιώνα.

2. Στρατηγικές αντιμετώπισης των αβιοτικών καταπονήσεων

Στην προσπάθεια να διασφαλιστεί η επιβίωση των φυτών αλλά και να αυξηθεί η παραγωγικότητα τους όπως και η διατροφική αξία των παραγόμενων τροφίμων, έχουν αναπτυχθεί διάφορες στρατηγικές που στοχεύουν στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων (Janda et al., 2017) .

Η πρώτη στρατηγική αποβλέπει στη δημιουργία ανθεκτικών φυτών με τη χρήση των μεθόδων της κλασικής Βελτίωσης, και των εργαλείων της σύγχρονης Βιοτεχνολογίας (Sannides et al., 2016). Σε ότι αφορά τις κλασικές μεθόδους μεταφοράς γονιδίων ανθεκτικότητας, οι τεχνικές αυτές διέπονται από πολλούς περιορισμούς, είναι ιδιαίτερα χρονοβόρες και επιπλέον οι περιπτώσεις επιτυχούς δημιουργίας φυτών με αυξημένη ανθεκτικότητα σε συνθήκες αγρού είναι ελάχιστες (Nguyen et al., 2018). Επιπρόσθετα οι δυνατότητες των προσεγγίσεων αυτών περιορίζονται από τη χαμηλή γενετική παραλλακτικότητα των παραγόντων που διαμορφώνουν την παραγωγή σε συνθήκες καταπόνησης, την πολυπλοκότητα των χαρακτηριστικών που σχετίζονται με τις καταπονήσεις καθώς επίσης και από την απουσία τεχνικών αποτελεσματικής επιλογής (Lin et al., 2010). Από την άλλη η πρόοδος που έχει συντελεστεί στο πεδίο της μοριακής γενετικής έχει συμβάλλει στον εντοπισμό μεγάλου αριθμού ρυθμιστικών και λειτουργικών γονιδίων που σχετίζονται με τις αβιοτικές καταπονήσεις (Nguyen et al., 2018). Η δημιουργία ανθεκτικών φυτών μέσω των σύγχρονων τεχνικών τροποποίησης του γονιδιώματος **TALENs** (Transcription activator-like effector nucleases), **ZNFs** (Zinc finger proteins) και τελευταία της **CRISPR** (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats) / **Cas** (CRISPR-associated systems), βασίζεται στην υπερέκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες καταπόνησης και ένζυμα για τη βιοσύνθεση λειτουργικών μεταβολιτών (ωσμωλύτες, αντιοξειδωτικές ουσίες) και κυρίως γονιδίων που εμπλέκονται σε σηματοδοτικές και ρυθμιστικές οδούς (μεταγραφικοί παράγοντες, πρωτεϊνικές κινάσες) (Wang et al., 2016). Αν και οι προσεγγίσεις αυτές έχουν επιφέρει εντυπωσιακά αποτελέσματα σε πειραματικό επίπεδο, χωρίς να εμπλέκουν ξένο DNA και χωρίς να υπόκεινται στους περιορισμούς για τους γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς, στην Ευρωπαϊκή Ένωση όπως και στην Ελλάδα είναι προς το παρόν απαγορευμένες

Η βελτιστοποίηση των αγρονομικών πρακτικών και η χρήση των εργαλείων ακριβείας στη γεωργία (**precise farming tools**) συνιστά μια δεύτερη στρατηγική αντιμετώπισης των καταπονήσεων, με ιδιαίτερη ανάπτυξη κατά τα τελευταία χρόνια (Janda et al., 2017). Η επιλογή της κατάλληλης ποικιλίας και της κατάλληλης καλλιεργητικής περιόδου, η συνιστώμενη πυκνότητα φύτευσης καθώς και η σωστή διαχείριση του νερού και των λιπασμάτων αποτελούν ορισμένες μόνο γεωργικές πρακτικές που μπορούν να συμβάλουν καθοριστικά στην μείωση των καταστροφικών συνεπειών των αβιοτικών προκλήσεων (Mariani et al., 2017). Η Γεωργία Ακριβείας (**Precision Agriculture**) είναι μια νέα μέθοδος διαχείρισης των αγρών, σύμφωνα με την οποία οι εισροές (φυτοφάρμακα, λιπάσματα, σπόρος, νερό άρδευσης) και οι καλλιεργητικές πρακτικές εφαρμόζονται ανάλογα με τις ανάγκες του εδάφους και των καλλιεργειών, καθώς αυτές διαφοροποιούνται στον χώρο και στον χρόνο (Whelan and McBratney, 2000). Μέσω της μεθόδου αυτής επιτυγχάνεται η ποσοτική και ποιοτική αναβάθμιση της παραγωγής, η αύξηση της αποδοτικότητας των πόρων καθώς και η προστασία του περιβάλλοντος και αναμένεται η επέκταση της εφαρμογής της όλο και περισσότερο τα επόμενα έτη (Φούντας και Γέμτος, 2015). Ωστόσο το υψηλό ακόμη κόστος αγοράς εξοπλισμού σε συνδυασμό με την ανεπαρκή εκπαίδευση των αγροτών και τα διαρθρωτικά προβλήματα της γεωργίας, (μικρό μέγεθος εκμεταλλεύσεων, πολυτεμαχισμός, έλλειψη σύγχρονων συνεργατικών σχημάτων κ.ά.), έχουν συντελέσει ώστε μέχρι και σήμερα να υπάρχει μια καθυστέρηση στην εφαρμογή των συστημάτων αυτών στην Ελλάδα, αλλά και παγκοσμίως.

Η εξεύρεση φυσικών και αποτελεσματικών παραγόντων, που ενεργοποιούν τους αμυντικούς μηχανισμούς και αυξάνουν την αντοχή/ανθεκτικότητα των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις, αποτελεί την τρίτη εναλλακτική. Πιο συγκεκριμένα η εξωγενής εφαρμογή παραγόντων με βιολογική δράση που λειτουργούν είτε ως ρυθμιστές ανάπτυξης είτε ως σηματοδοτικά μόρια, έχει αποδειχθεί ότι συνιστά μια πολλά υποσχόμενη αλλά και παράλληλα οικολογική και χαμηλού κόστους προσέγγιση, για την αντιμετώπιση των αβιοτικών προκλήσεων (Janda et al., 2017). Στα πλαίσια αυτά η χρήση των βιοδιεγερτικών προϊόντων στις καλλιεργείες κατέχει εξέχουσα θέση και συνιστά μια συνεχώς διευρυνόμενη πρακτική (Van Oosten et al., 2017). Επιπλέον από πολλές έρευνες που έχουν διεξαχθεί, έχει διαπιστωθεί ότι η εφαρμογή διάφορων φυσικών αλλά και χημικών παραγόντων επάγει την προενεργοποίηση των αμυντικών μηχανισμών και προετοιμάζει τα φυτά ώστε να ανταπεξέλθουν με το λιγότερο δυνατό

κόστος στις μελλοντικές αβιοτικές καταπονήσεις, μέσω φυσιολογικών, μοριακών και επιγενετικών αλλαγών (Mauch-Mani et al., 2017). Η προενεργοποίηση της άμυνας των φυτών σε πολλές περιπτώσεις επέρχεται από μόνη της ως φυσική απόκριση σε κάποιο περιβαλλοντικό ερέθισμα, που λειτουργεί ως σήμα που υποδεικνύει αυξημένη πιθανότητα αντιμετώπισης αυτού του συγκεκριμένου παράγοντα καταπόνησης στο μέλλον. Ωστόσο έχει βρεθεί ότι η ισχυροποίηση της άμυνας των φυτών μέσω της εισαγωγής τους σε κατάσταση αυξημένης αμυντικής απόκρισης μπορεί να προκληθεί και μέσω της εξωγενούς εφαρμογής φυσικών ή και συνθετικών χημικών ουσιών (Savvides et al., 2016) και η βιβλιογραφική ανασκόπηση των προσεγγίσεων αυτών αποτελεί το αντικείμενο της παρούσας εργασίας.

3. Οι αβιοτικές καταπονήσεις στα πλαίσια της κλιματικής αλλαγής

Οι απώλειες στην παραγωγικότητα των καλλιεργειών λόγω των αβιοτικών καταπονήσεων υπερβαίνουν το 50%, ενώ τα επόμενα χρόνια θα αυξηθούν ακόμη περισσότερο λόγω της αναπόφευκτης κλιματικής αλλαγής και της υπερεκμετάλλευσης των πόρων (Bray et al., 2000). Η αλλαγή του κλίματος συνιστά ένα πολύπλευρο πεδίο, που έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση σύνθετων μορφών καταπονήσεων με μακροπρόθεσμες επιπτώσεις στην απόδοση των καλλιεργειών (Hussain et al., 2018). Σύμφωνα με προηγούμενη έκθεση της Διακυβερνητικής επιτροπής για την αλλαγή του κλίματος, η μέση παγκόσμια θερμοκρασία έχει αυξηθεί κατά 1,5-2,0° σε σύγκριση με τη περίοδο μεταξύ 1850 και 1900 (IPCC, 2014). Επιπρόσθετα, τα κλιματικά μοντέλα προβλέπουν ότι η μέση θερμοκρασία της επιφάνειας της γης θα αυξηθεί κατά 2 – 3,0° C έως το 2050 και έως 6,5° C έως το τέλος του αιώνα (Mittler and Blumwald, 2010). Το έτος 2016 έχει καταγράψει ως το θερμότερο από τότε που υπάρχουν μετεωρολογικά στοιχεία, καθώς η μέση παγκόσμια θερμοκρασία που καταγράφηκε στην επιφάνεια της ξηράς και των ωκεανών ήταν κατά 0,9 °C υψηλότερη από τη μέση θερμοκρασία του 20^{ου} αιώνα (Bal and Minhas, 2017). Από την αρχή της βιομηχανικής επανάστασης, πριν 250 χρόνια, η συγκέντρωση του CO₂ στην ατμόσφαιρα αυξήθηκε από 270 ppm το 1750, σε 385 ppm το 2000 και σύμφωνα με τις προβλέψεις ενδέχεται να διπλασιαστεί και να ανέλθει στα 700 ppm ως το 2100 (IPCC, 2007). Η υπερθέρμανση του πλανήτη ως αποτέλεσμα της αύξησης των αερίων θερμοκηπίου, πέρα από την αύξηση της μέσης θερμοκρασίας θα οδηγήσει στη συχνότερη εμφάνιση ακραίων χαμηλών και υψηλών θερμοκρασιών με περαιτέρω συνέπειες στα πρότυπα των βροχοπτώσεων, στα φυσικά

οικοσυστήματα, στη γεωργία, στην άγρια φύση και στη ζωή γενικότερα (WWF, 2008) Αν και διαπιστώνεται σημαντική παραλλακτικότητα μεταξύ των κλιματικών μοντέλων ως προς τις κατά τόπους προβλέψεις τους, εντούτοις όλα τα μοντέλα συγκλίνουν ότι η κλιματική αλλαγή θα συνοδεύεται από την συχνή εμφάνιση ακραίων και σε πολλές περιπτώσεις ασυνήθιστων καιρικών φαινομένων, όπως οι καύσωνες, οι πλημμύρες, οι κυκλώνες και οι παρατεταμένες περιόδους ξηρασίας (Bates et al., 2010).

Η επίδραση της κλιματικής αλλαγής στο γεωργικό τομέα θα είναι καθοριστική, καθώς παρά τα τεχνολογικά επιτεύγματα όπως είναι οι βελτιωμένες ποικιλίες φυτών ή τα συστήματα άρδευσης, η παραγωγικότητα των καλλιεργειών βρίσκεται σε άμεση εξάρτηση από τις καιρικές συνθήκες. Η μεγάλη άνοδος της θερμοκρασίας σε συνδυασμό με την μακροχρόνια επίδραση των παραπάνω φαινομένων θα οδηγήσουν σε περεταίρω απώλειες εύφορης καλλιεργήσιμης γης και σε μεγάλες μειώσεις στις αποδόσεις των καλλιεργειών ιδιαίτερα στα μεσαία γεωγραφικά πλάτη (Khan et al., 2014). Στα πλαίσια αυτά, προβλέπεται ότι η παγκόσμια παραγωγή βασικών αγροτικών προϊόντων όπως το καλαμπόκι, το σιτάρι, η σόγια και το ρύζι θα μειωθεί κατά 40 έως 60% έως το 2090 (Rosenzweig et al., 2014). Σύμφωνα με τους Easterling and Apps (2005), η μελλοντική παραγωγικότητα των καλλιεργειών θα εξαρτηθεί κυρίως από τις μεταβολές που θα επέλθουν στη θερμοκρασία και στις βροχοπτώσεις, καθώς επίσης και από την επίδραση της αυξημένης συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα. Η άνοδος της θερμοκρασίας θα έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της εξατμισοδιαπνοής και θα επιτείνει τα ήδη σημαντικά προβλήματα που σχετίζονται με την ξηρασία και την αλατότητα των εδαφών (Dahal et al., 2019). Οι αγροοικολογικές ζώνες πιθανότατα θα τροποποιηθούν εξαιτίας των αλλαγών στη θερμοκρασία και στο ύψος των κατακρημνισμάτων (Minhas et al., 2017). Πιο συγκεκριμένα, ενδέχεται να προκληθούν μεταβολές στους οικοτόπους και τη συμπεριφορά των παθογόνων (Suzuki et al., 2014), να αυξηθεί περαιτέρω ο αριθμός των εντομολογικών προσβολών όπως και να ευνοηθούν τα C4 ζιζάνια που αναπτύσσονται σε C3 καλλιέργειες (Mittler and Blumwald, 2010). Γενικότερα, η εξασθένιση των μηχανισμών άμυνας που οφείλεται στην επίδραση των αβιοτικών παραγόντων πιθανότατα θα αυξήσει την ευαισθησία των φυτών στις προσβολές από τους βιοτικούς παράγοντες (Atkinson and Urwin, 2012).

Από την άλλη πλευρά η επίδραση της κλιματικής αλλαγής στη γεωργική παραγωγή θα πρέπει να εξεταστεί συνυπολογίζοντας την επίδραση της αύξησης του διοξειδίου του άνθρακα στην ανάπτυξη των φυτών. δηλαδή την αύξηση του ρυθμού της

φωτοσύνθεσης και της αποτελεσματικότερης χρήσης του νερού από τα φυτά C3 (Mittler and Blumwald, 2010). Εδώ και αρκετά χρόνια προκειμένου να εκτιμηθούν οι μελλοντικές επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην γεωργική παραγωγή, έχουν αναπτυχθεί διάφορα μοντέλα προσομοίωσης καλλιεργειών όπως τα CERES-Maize (Crop Environment Resource Synthesis), CERES-Wheat, SWAP (soil–water–atmosphere–plant) κ.ά. μέσω των οποίων εξετάζεται η επίδραση διαφορετικών κλιματικών σεναρίων στην απόδοση των καλλιεργειών (Kang et al., 2009). Το σιτάρι συνιστά μια από τις κυριότερες καλλιέργειες και πολλές έρευνες έχουν εκπονηθεί προκειμένου να διερευνηθούν οι μελλοντικές επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην παραγωγή του. Πιο συγκεκριμένα σύμφωνα με τους Ortiz et al. (2008) η αύξηση της θερμοκρασίας θα έχει θετικό αντίκτυπο στην παραγωγή του σιταριού σε ορισμένες μόνο περιοχές, ωστόσο σε κάποιες άλλες θα προκαλέσει μείωση των αποδόσεων και για το λόγο αυτό θα απαιτηθεί η δημιουργία ανθεκτικών σε υψηλές θερμοκρασίες ποικιλιών σιταριού. Σε άλλη έρευνα, αποδείχθηκε ότι η μείωση που θα προκύψει ως αποτέλεσμα της αύξησης της θερμοκρασίας κατά μέσο όρο θα είναι 29%, ενώ η αύξηση του διοξειδίου του άνθρακα θα μετριάσει την απώλεια παραγωγής μόλις κατά 4% (Anwar et al., 2007). Σε ανάλογα συμπεράσματα οδηγήθηκαν και νεότερες έρευνες (Lobell and Gourdjji, 2012; Gray et al., 2016), μέσω των οποίων διαπιστώθηκε ότι οι απώλειες παραγωγής που προκαλούνται από την αυξημένη θερμοκρασία και την ξηρασία υπερβαίνουν κατά πολύ τα όποια οφέλη προκαλούνται από την αποτελεσματικότερη λειτουργία της φωτοσύνθεσης (Dahal et al., 2019).

Συνολικά από τις έρευνες προσομοίωσης το συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι η επίδραση της κλιματικής αλλαγής στην απόδοση των καλλιεργειών θα είναι διαφορετική μεταξύ των διαφόρων περιοχών και θα εξαρτηθεί από το φυτικό είδος, το γεωγραφικό πλάτος και κυρίως από τη διαθεσιμότητα του νερού, καθώς φαίνεται ότι το νερό αποτελεί βασικότερο παράγοντα από τη θερμοκρασία στη διαμόρφωση της παραγωγής (Kang et al., 2009). Εν κατακλείδι φαίνεται ότι παρά τις όποιες διαφοροποιήσεις στις προβλέψεις των κλιματικών μοντέλων, κοινή διαπίστωση όλων αποτελεί ότι η μεταβολή στη συγκέντρωση του CO₂, οι αυξημένες θερμοκρασίες καθώς και οι μεταβολές σε τοπικό επίπεδο των ετήσιων κατακρημνισμάτων θα επηρεάσουν καταλυτικά την μελλοντική αγροτική παραγωγή (Mittler and Blumwald, 2010).

4. Στρατηγικές αντιμετώπισης των αβιοτικών καταπονήσεων από τα φυτά

Τα φυτά μην έχοντας τη δυνατότητα της μετακίνησης, έχουν αναπτύξει μηχανισμούς αντοχής ή ανοχής προκειμένου να επιβιώνουν στις συνεχείς περιβαλλοντικές αλλαγές οι οποίες επηρεάζουν τις μεταβολικές και τις αναπτυξιακές τους λειτουργίες (Arun-Chinnappa et al., 2017). Στα φυτά συναντώνται τόσο μόνιμοι όσο και επαγόμενοι μηχανισμοί άμυνας. Οι δεύτεροι ενεργοποιούνται κυρίως σε συνθήκες καταπόνησης, προκειμένου να υπάρχει εξοικονόμηση ενέργειας και περιλαμβάνουν τη συνδυασμένη ενεργοποίηση διαφόρων μεταβολικών οδών που συνεργάζονται και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους (Takahashi et al., 2004).

Προκειμένου τα φυτά να ανταπεξέλθουν και να επιβιώσουν στην πίεση των αβιοτικών παραγόντων έχουν αναπτύξει τις στρατηγικές της διαφυγής, της αποφυγής και της ανθεκτικότητας. Η διαφυγή αναφέρεται στην ολοκλήρωση του κύκλου ζωής των φυτών κατά τη διάρκεια της ευνοϊκής περιόδου ενώ η αποφυγή στην παρουσία μηχανισμών που αμβλύνουν τις επιπτώσεις της καταπόνησης (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012). Στα φυτά που χαρακτηρίζονται από ανθεκτικότητα, παρουσία των παραγόντων καταπόνησης, δημιουργείται μια νέα κατάσταση ομοιόστασης η οποία χαρακτηρίζεται από υψηλή μεταβολική δραστηριότητα ανάλογη με εκείνη που παρατηρείται στις βέλτιστες συνθήκες (Khan et al., 2014). Ο συντονισμός των μηχανισμών ανθεκτικότητας επιτυγχάνεται με την προσαρμογή των διαδικασιών της αύξησης και της ανάπτυξης καθώς επίσης και των κυτταρικών και μοριακών δραστηριοτήτων (Levitt, 1980).

Επιπλέον, δύο διαφορετικοί μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας των φυτών σε έναν η περισσότερους παράγοντες αβιοτικής καταπόνησης, είναι η προσαρμογή (adaptation) και ο εγκλιματισμός (acclimatization). Η προσαρμογή περιλαμβάνει τις κληρονομούμενες τροποποιήσεις σε επίπεδο δομών και λειτουργιών, ενώ ο εγκλιματισμός αναφέρεται στις επίκτητες τροποποιήσεις που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου του φυτού, ως απόκριση στην πίεση των αβιοτικών παραγόντων. Οι προσαρμογές που επέρχονται μέσω του εγκλιματισμού επιτυγχάνονται μέσω βαθμιαίας έκθεσης των φυτών στις αντίξοες συνθήκες και δεν μεταβιβάζονται ως χαρακτήρας στην επόμενη γενιά (Khan et al., 2014). Τέλος θα πρέπει να σημειωθεί ότι σε περίπτωση αλληλεπίδρασης περισσότερων του ενός παραγόντων καταπόνησης, τα φυτά σε πολλές περιπτώσεις εκδηλώνουν το φαινόμενο της διασταυρούμενης

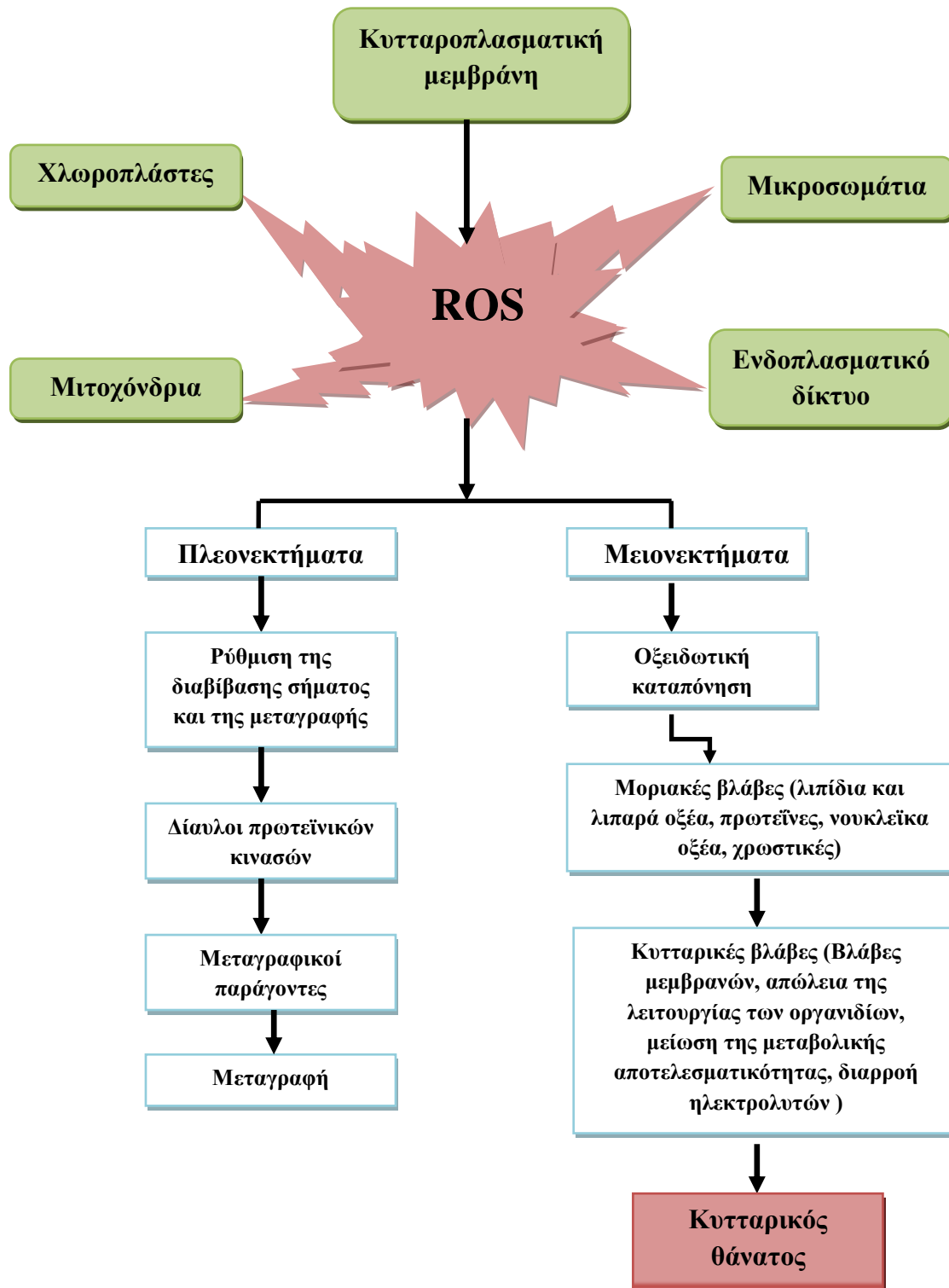
ανθεκτικότητας, όπου η ανθεκτικότητα σε ένα παράγοντα καταπόνησης επάγεται μέσω του εγκλιματισμού σε άλλο παράγοντα (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

5. Οι αρνητικές επιπτώσεις των αβιοτικών καταπονήσεων στα φυτά

Οι αβιοτικές καταπονήσεις προκαλούν στα φυτά μια σειρά μορφολογικών, φυσιολογικών, βιοχημικών και μοριακών αλλαγών, που επιδρούν αρνητικά στην αύξηση και την παραγωγικότητα τους (Wang et al., 2001). Πολλές μορφές αβιοτικών καταπονήσεων όπως η ξηρασία, η αλατότητα, οι ακραίες θερμοκρασίες και η οξειδωτική καταπόνηση συχνά αλληλοσυνδέονται και προκαλούν παρόμοιες κυτταρικές βλάβες. Για παράδειγμα, η ωσμωτική καταπόνηση που οδηγεί σε αλλαγή της ομοιόστασης και της ιοντικής ισορροπίας στο περιβάλλον του κυττάρου, εκδηλώνεται ως αποτέλεσμα της επίδρασης τόσο της ξηρασίας όσο και της αλατότητας (Wang et al., 2003).

Το φαινόμενο της έντονης οξειδωτικής καταπόνησης αποτελεί αναπόφευκτη «παρενέργεια» σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις αβιοτικών καταπονήσεων. Ως οξειδωτική καταπόνηση, ορίζεται η κατάσταση κατά την οποία ο ρυθμός σχηματισμού των ενεργών ριζών οξυγόνου-ROS υπερβαίνει το ρυθμό εξουδετέρωσης τους από τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς των κύτταρων. Δεν είναι λίγες οι περιπτώσεις όπου ο θάνατος του φυτού επέρχεται συνεπεία της οξειδωτικής καταπόνησης και όχι του αβιοτικού παράγοντα που την προκαλεί (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012). Η υπερσυσσώρευση των ROS οφείλεται στο γεγονός ότι οι αβιοτικοί παράγοντες καταπόνησης είτε προκαλούν αλλοιώσεις στη δομή των μεμβρανών με αποτέλεσμα την ανεξέλεγκτη ροή ηλεκτρονίων, είτε προκαλούν διαταραχές στους μηχανισμούς διαχείρισης της ενέργειας με αποτέλεσμα η ροή ηλεκτρονίων να αυξάνεται (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

Η φωτοσύνθεση συνιστά την πιο ευαίσθητη μεταβολική διαδικασία στην παρουσία αβιοτικής καταπόνησης, λόγω της ανισορροπίας που προκαλείται μεταξύ των φωτοχημικών αντιδράσεων και των αντιδράσεων κατανάλωσης ενέργειας στον κύκλο του Calvin-Benson. Η διαταραχή των φωτοχημικών αντιδράσεων έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS), φαινόμενο που ενισχύεται ακόμη περισσότερο υπό συνθήκες περιορισμένης δέσμευσης CO₂, λόγω ξηρασίας, αλατότητας



Σχήμα 2. Σχηματική απεικόνιση των πηγών παραγωγής των ROS καθώς και των θετικών και αρνητικών επιδράσεων τους στη φυσιολογία των φυτών. Οι ROS έχουν ρόλο κεντρικό στη ρύθμιση του σηματοδοτικού δικτύου των φυτικών κυττάρων, ωστόσο οι μεγάλες συγκεντρώσεις των ROS συνδέονται με αρνητικές βιολογικές επιπτώσεις που οδηγούν σε ποικίλες φυσιολογικές δυσλειτουργίες και σε ορισμένες περιπτώσεις και στον θάνατο του κυττάρου (Ahmad et al., 2008)

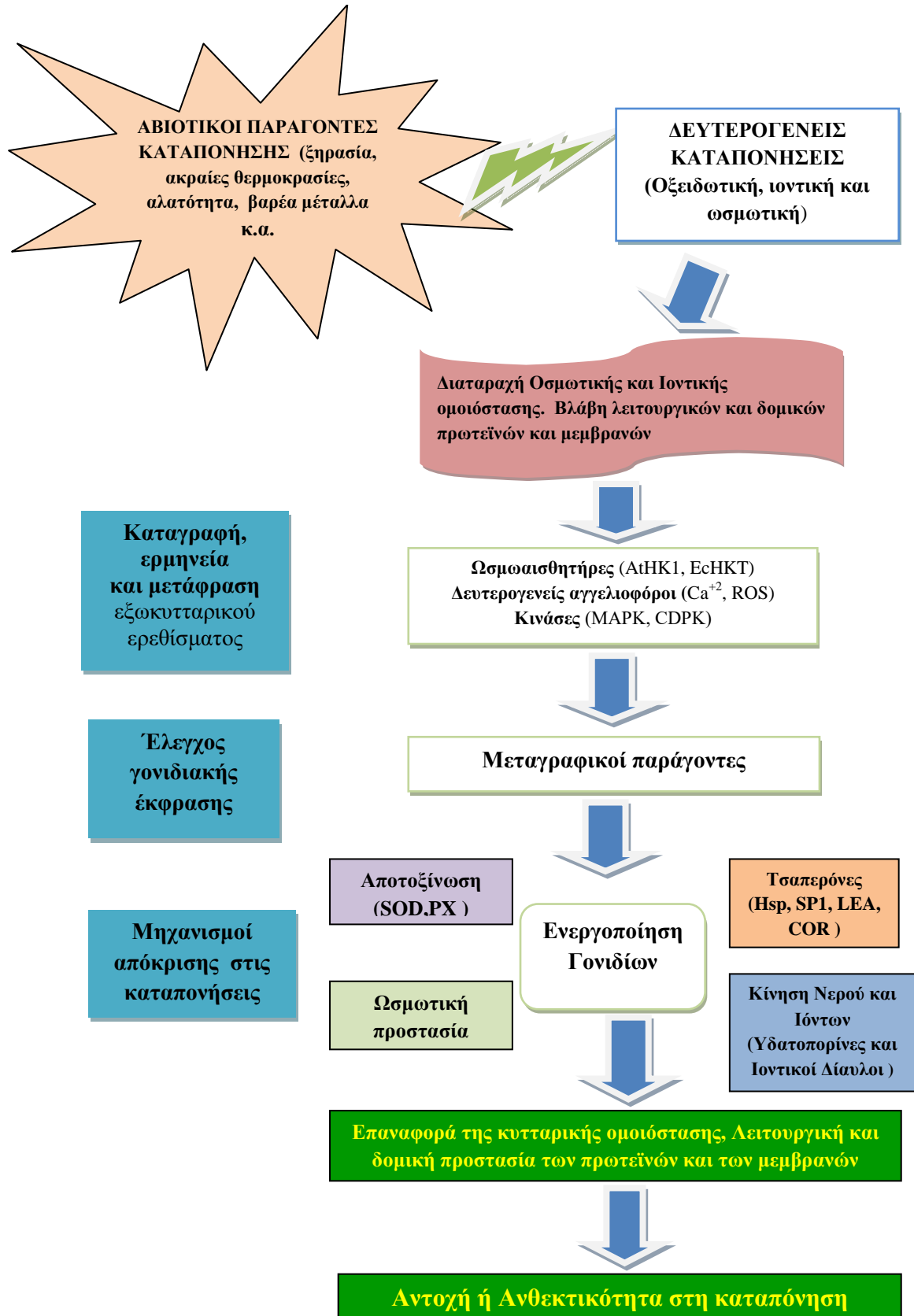
ακραίων θερμοκρασιών, ή συνδυασμός όλων των παραπάνω με υψηλής έντασης ακτινοβολία (Mittler, 2006).

Γενικότερα η αυξημένη συγκέντρωση των ROS που παρατηρείται κατά την επίδραση των αβιοτικών παραγόντων, προκαλεί υπεροξειδωση των λιπιδίων, πρωτεϊνική οξειδωση, εγκοπή του DNA και του RNA, διάσπαση χρωστικών, μείωση των φωτοσυνθετικών και αναπνευστικών λειτουργιών και επαγωγή της γήρανσης (Wang et al., 2003) Ωστόσο όπως θα αναλυθεί στις επόμενες ενότητες της εργασίας, οι ROS εκτός από τοξικοί και μεταλλαξιογόνοι παράγοντες, συνιστούν παράλληλα και κεντρικό ρυθμιστή του δικτύου σηματοδότησης των φυτικών κυττάρων και συνολικά στην πορεία της εξέλιξης, η παραγωγή των ROS αξιοποιήθηκε προς όφελος των φυτών ως δείκτης μεταβολικών και άλλων διαταραχών (Καραμπουρνιώτης κ.ά. 2012).

5. Η απόκριση των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις

Η απόκριση των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις μπορεί να είναι δυναμική και πολύπλοκη, όπως και αντιστρεπτή ή μη αντιστρεπτή (Cramer et al., 2011) και εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα χαρακτηριστικά του φυτού, δηλαδή το γονότυπο, το είδος του ιστού που υφίσταται την καταπόνηση καθώς και το στάδιο ανάπτυξης (Dinneny et al., 2008). Επιπρόσθετα η σφοδρότητα και η διάρκεια της καταπόνησης (στιγμιαία ή παρατεταμένη) καθώς και η ύπαρξη πρόσθετων καταπονήσεων, καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την πολυπλοκότητα της απόκρισης (Pinheiro and Chaves, 2011).

Το κέντρο συντονισμού των φυτών, δεν είναι κάποιο είδος εγκεφάλου, αλλά εντοπίζεται σε κάθε κύτταρο χωριστά και πολλά κύτταρα μαζί συνθέτουν ένα πολύπλοκο δίκτυο επικοινωνίας, που εκτείνεται στο επίπεδο του οργάνου και ολόκληρου του φυτού (Trewavas, 2014). Η επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων πραγματοποιείται με την επενέργεια ηλεκτρικών σημάτων μέσω των ιοντικών καναλιών (Fromm and Lautner, 2007) αλλά και με χημικές ουσίες, όπως οι χημικοί αγγελιοφόροι. Οι χημικοί αγγελιοφόροι προκειμένου να εκδηλώσουν την δράση τους, πρέπει να προσκολληθούν σε έναν πρωτεϊνικό υποδοχέα. Η ένωση τους με τον υποδοχέα πυροδοτεί σε δεύτερο βήμα, την παραγωγή δευτέρων αγγελιοφόρων ουσιών στο εσωτερικό του κυττάρου, που συμμετέχουν στην μεταγωγή του αρχικού ερεθίσματος (García-Mata and Lamattina, 2013).



Σχήμα 3. Μηχανισμοί απόκρισης των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις
Τροποποιημένο σχήμα από Vinocur & Altman, (2005) και Wang et al. (2003)

Η αντιμετώπιση ενός παράγοντα καταπόνησης από τα φυτά περιλαμβάνει τρία διακριτά στάδια: την **αντίληψη** των ερεθισμάτων καταπόνησης, την **διαβίβαση** του σήματος καταπόνησης και την **απάντηση** όπου η αντίδραση των κυττάρων στο αρχικό ερέθισμα γίνεται τελικώς ορατή (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012).

Η αντίληψη των ερεθισμάτων καταπόνησης, που συνιστά το πρώτο βήμα της απόκρισης των φυτών, επιτυγχάνεται μέσω εξειδικευμένων αισθητήρων η υποδοχέων που εδράζονται στο κυτταρικό τοίχωμα και την κυτταρική μεμβράνη. Η αντίληψη των ερεθισμάτων αυτών, προκαλεί τροποποίηση της δομής των υποδοχέων και επάγει τη διαβίβαση του σήματος προς τα σημεία εκείνα στα οποία θα εκδηλωθεί η κατάλληλη αντίδραση (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012). Η διαβίβαση του σήματος σε διαφορετικά σημεία του κυττάρου, καθώς και από κύτταρο σε κύτταρο επιτυγχάνεται με την επαγωγή της συνεργασίας μιας σειράς σηματοδοτικών ουσιών όπως είναι τα ιόντα Ca^{+2} , η καλμοδουλίνη, οι ROS, τα κυκλικά νουκλεοτίδια, τα πολυφωσφορινοσιτίδια, οι ορμόνες και ρυθμιστικές πρωτεΐνες όπως οι μιτωτικές κινάσες (Khan et al., 2014). Το τελικό στάδιο της ενεργοποίησης των οδών σηματοδότησης είναι ο έλεγχος της γονιδιακής έκφρασης που ενεργοποιεί τους κατάλληλους μηχανισμούς απόκρισης στην καταπόνηση και επιφέρει είτε μεταβολικές αλλαγές (βιοσύνθεση αντιοξειδωτικών ενζύμων, συσσώρευση συμβατών ωσμολυτών, αλλαγές στις ιδιότητες των μεμβρανών κ.α.), είτε τροποποιήσεις στη γονιδιακή έκφραση που έχουν ως αποτέλεσμα τη σύνθεση των πρωτεϊνών καταπόνησης (Καραμπουρνιώτης κ.ά., 2012). Το τελικό αποτέλεσμα είναι η επαναφορά της ενδοκυτταρικής ομοιόστασης, η προστασία/επιδιόρθωση των πρωτεϊνών και της κυτοπλασματικής μεμβράνης και η τελική αντοχή του φυτού στην/ισ καταπόνηση/εις. Ανεπαρκής απόκριση σε ένα από τα στάδια της μεταγωγής του ερεθίσματος ή της γονιδιακής έκφρασης, δύναται να προκαλέσει μη αντιστρεπτές μεταβολές στην ενδοκυτταρική ομοιόσταση καθώς και την μετουσίωση δομικών και λειτουργικών πρωτεϊνών, επιφέροντας τον κυτταρικό θάνατο (Ζιώγας, 2014). Ο εγκλιματισμός του φυτού, δηλαδή η ορατή αντίδραση στο ερέθισμα της καταπόνησης αποτελεί την απάντηση και το τρίτο βήμα της απόκρισης των φυτών. **(Σχήμα 3)**

Τα τελευταία χρόνια έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στην κατανόηση των φυσιολογικών, κυτταρικών και μοριακών μηχανισμών απόκρισης των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις. Η αντίληψη μιας καταπόνησης προκαλεί μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση οι οποίες οδηγούν σε αλλαγές στη σύνθεση των φυτικών μεταγραφωμάτων των πρωτεϊνών και των μεταβολιτών (Khan et al., 2014). Η εξέλιξη

των οπείς τεχνολογιών θα επιτρέψει την περαιτέρω διερεύνηση όπως και την ταυτοποίηση των πολύπλοκων μεταγραφικών, πρωτεωμικών και μεταβολικών δικτύων που συνδέονται με την αντίληψη και την απόκριση των φυτών στις περιβαλλοντικές προκλήσεις.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

Η ισχυροποίηση της άμυνας των φυτών μέσω της μνήμης καταπόνησης ως στρατηγική αντιμετώπισης των μελλοντικών καταπονήσεων

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην πορεία της εξέλιξης τους τα φυτά έχουν διαφοροποιηθεί και προσαρμοστεί στις ιδιαίτερες συνθήκες του περιβάλλοντος όπου βιώνουν. Προκειμένου να αναπτυχθούν αλλά και να αποκριθούν στις μεταβολές του τοπικού τους περιβάλλοντος, εγκλιματίζονται το ίδιο αποτελεσματικά όπως τα ζώα και ο άνθρωπος. Καθώς διαθέτουν ιδιαίτερη πλαστικότητα και προσαρμοστικότητα, είναι σε θέση να εποικίζουν τα πιο ακραία περιβάλλοντα, να αντιμετωπίζουν τις πιο αντίξοες συνθήκες και ανάλογα να προσαρμόζουν το ρυθμό ανάπτυξης τους (Van Loon, 2016).

Η έλλειψη κινητών κυττάρων ανοσίας στα φυτά είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη διαφορετικών μηχανισμών ανοσίας από τους άλλους ανώτερους οργανισμούς. Ανάμεσα στους διάφορους μηχανισμούς μέσω των οποίων τα φυτά μπορούν να αυξήσουν την αντοχή τους στις καταπονήσεις, ένας σημαντικός μηχανισμός είναι και αυτός που στηρίζεται στην ενίσχυση της απόκρισης του ανοσοποιητικού τους συστήματος κατά την αναγνώριση απειλητικών περιβαλλοντικών ερεθισμάτων (Tugizimana et al., 2018). Ο μηχανισμός αυτός στηρίζεται στο γεγονός ότι τα φυτά διαθέτουν «μνήμη» και μπορούν να «μαθαίνουν» από τις προηγούμενες εμπειρίες τους, ώστε βασιζόμενα σε αυτές, να αποκρίνονται πιο αποτελεσματικά στις μελλοντικές προκλήσεις όπως και να εξοικειώνονται με τα επαναλαμβανόμενα ερεθίσματα (Van Loon, 2016).

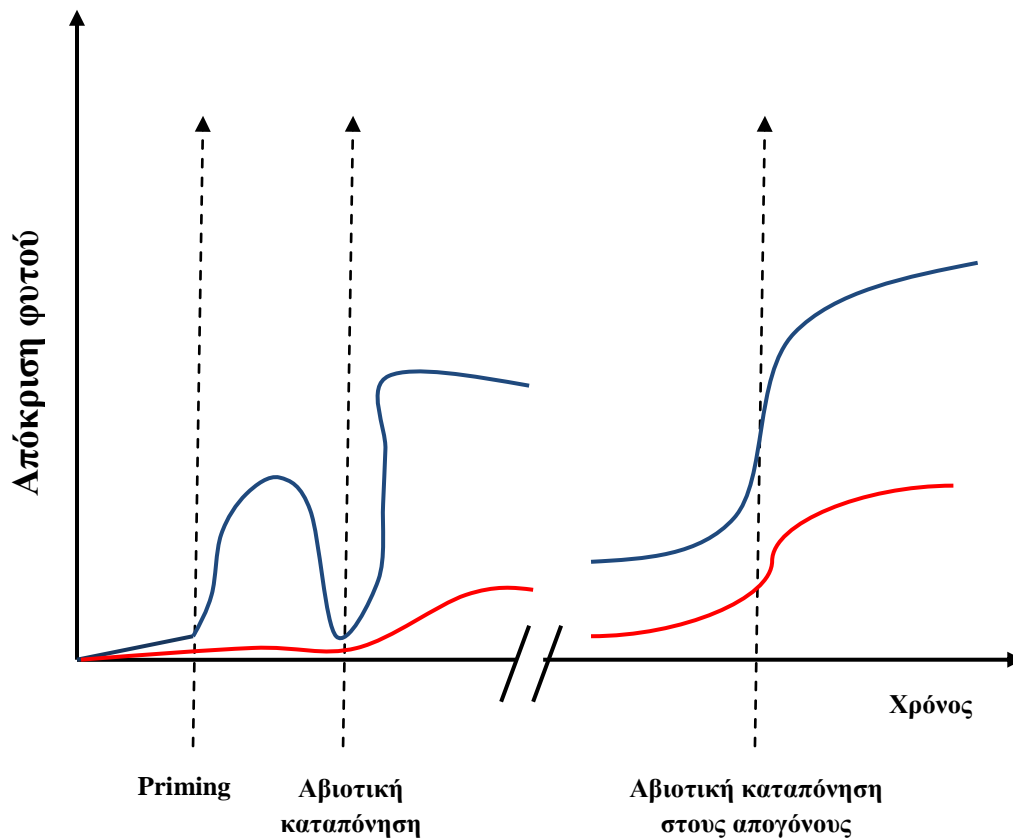
Στα πλαίσια αυτής της **μνήμης καταπόνησης** ή διαφορετικά **αποτύπωμα καταπόνησης (stress imprint)** και της μαθησιακής τους ικανότητας, υπάγεται και η αυξημένη απόκριση των αμυντικών μηχανισμών των φυτών μετά από προηγούμενη εμπειρία – **Plant priming**- ως μια εναλλακτική στρατηγική προσαρμοστικής ανοσίας που έχουν αναπτύξει τα φυτά, για την αντιμετώπιση ασθενειών, εχθρών και αβιοτικών καταπονήσεων.

2. Το φαινόμενο Priming

Τα ανώτερα φυτά, στην πορεία της εξέλιξης τους, ανέπτυξαν μηχανισμούς μέσω των οποίων αποκρίνονται σε επαναλαμβανόμενες περιβαλλοντικές καταπονήσεις. Από τη μελέτη των αποκρίσεων των φυτών σε (α)βιοτικές καταπονήσεις διαπιστώθηκε ότι η έκθεση των φυτών σε προγενέστερη καταπόνηση τα εισήγαγε σε μια ιδιαίτερη φυσιολογική κατάσταση, που τα καθιστούσε μεταγενέστερα πιο ανθεκτικά στην ίδια καταπόνηση (Bruce et al., 2007) Η διαδικασία μέσω της οποίας τα φυτά εισέρχονται στη μοναδική αυτή φυσιολογική κατάσταση αυξημένου βαθμού ευαισθησίας και απόκρισης στις μελλοντικές βιοτικές και αβιοτικές προκλήσεις βασιζόμενα στην εμπειρία τους, ονομάζεται **Priming ή Preconditioning** (Mauch-Mani et al., 2017) Στη βιβλιογραφία χρησιμοποιούνται επίσης οι όροι **sensitization-ευαισθητοποίηση ή trained immunity-ανοσία μέσω μάθησης** (Reimer-Michalski and Conrath, 2016), όπως επίσης και οι όροι **εγκλιματισμός (acclimation)** και **σκληραγώγηση (hardening)** όταν η επαγωγή της άμυνας οφείλεται στην πρώτη έκθεση σε αβιοτικό παράγοντα (Chen et al., 2012; Bruce et al., 2007). Ωστόσο σύμφωνα με τους Hilker et al. (2016) η κύρια διαφορά του σε σχέση με τον εγκλιματισμό και την προσαρμογή βρίσκεται στην ταχύτητα απόκρισης του φυτού.

Η εισαγωγή των φυτών σε κατάσταση αυξημένης ετοιμότητας σε πολλές περιπτώσεις επέρχεται από μόνη της ως φυσική απόκριση σε ένα περιβαλλοντικό ερέθισμα **-Priming stimulus-** που λειτουργεί ως σήμα που υποδεικνύει αυξημένη πιθανότητα αντιμετώπισης αυτού του συγκεκριμένου παράγοντα καταπόνησης στο μέλλον (Filippou et al., 2013). Η αντίληψη του συγκεκριμένου ερεθίσματος θέτει τα φυτά σε κατάσταση έναυσης **-Primed state-** κατά την οποία τα φυτά αυτά (**primed plants**) αναγνωρίζουν πιο γρήγορα ένα μελλοντικό απειλητικό ερέθισμα **-triggering stimulus-** και ενεργοποιούν πιο γρήγορα και πιο δυναμικά τους μηχανισμούς άμυνας σε σχέση με τα φυτά που δεν έχουν δεχτεί ανάλογο ερέθισμα (**non-primed plants ή naive plants**) (Conrath et al., 2015). **(Σχήμα 4)** Μέσω αυτών των αλληλεπιδράσεων τα φυτά υπόκεινται σε αναπρογραμματισμό σε κυτταρικό αλλά και σε επίπεδο ολόκληρου του φυτού και “θυμούνται” τα γεγονότα αυτά σε μοριακό επίπεδο (Tugizimana et al., 2018).

Πιο συγκεκριμένα, η απόκριση των φυτών στο αρχικό ερέθισμα περιλαμβάνει μεταβολές σε φυσιολογικό, μοριακό και επιγενετικό επίπεδο οι οποίες μπορούν να επέλθουν μέσα σε δευτερόλεπτα ή μετά από ώρες από την αρχική διέγερση, να είναι



Σχήμα 4. Σχηματική απεικόνιση της απόκρισης των ευαισθητοποιημένων (primed) φυτών κατά τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου και κατά τις επόμενες γενιές (Transgenerational Priming) στις αβιοτικές καταπονήσεις. Η ταχύτητα απόκρισης των primed φυτών αναπαριστάται με γαλάζιο χρώμα ενώ με κόκκινη των φυτών που δεν βρίσκονται σε primed κατάσταση. Τροποποιημένο σχήμα από Balmer et al. (2015)

παροδικές ή και διατηρούνται σε όλη τη διάρκεια της ζωής του φυτού καθώς και να κληρονομούνται στους απογόνους **Transgenerational Priming** (Mauch-Mani et al., 2017). Επιπλέον οι μεταβολές αυτές είναι δυνατό να προκληθούν σε οποιοδήποτε στάδιο του βιολογικού κύκλου των φυτών συμπεριλαμβανομένου του σταδίου των σπόρων, του σταδίου της βλαστητικής ανάπτυξης και του σταδίου αναπαραγωγής (Ramirez et al., 2015; Munne-Bosch and Alegre, 2013). Κατά τη διάρκεια της φάσης αυτής- **priming phase**- τα επίπεδα των πρωτογενών και δευτερογενών μεταβολιτών όπως και των ορμονών, των ενζύμων και άλλων μορίων μεταβάλλονται, προκειμένου το φυτό να βρίσκεται σε κατάσταση ετοιμότητας σε μελλοντική καταπόνηση. Παλαιότερα επικρατούσε η άποψη ότι οι μεταβολές αυτές εκδηλώνονται μόνο στην παρουσία της μετέπειτα βιοτικής ή αβιοτικής πρόκλησης-**triggering stimulus**- και ότι το αρχικό ερέθισμα δεν προκαλούσε ουδεμία μεταβολή στις μεταβολικές διαδικασίες

και στη γονιδιακή έκφραση (Mauch-Mani et al., 2017). Πλέον, χάρη στην εξέλιξη των τεχνολογιών omics, οι ολιστικές προσεγγίσεις του φαινομένου Priming έχουν αποδείξει ότι τα πρωταρχικά ερεθίσματα συνδέονται με άμεσες μεταβολές στο φυτά, οι οποίες είναι κομβικής σημασίας για την βελτίωση της αμυντικής τους απόκρισης (Martinez-Medina et al., 2016).

Τα ερεθίσματα που λειτουργούν ως προειδοποιητικά σήματα και επάγουν την άμυνα, μπορεί να είναι χημικές ενώσεις (πχ σαλικυλικό οξύ, β-αμινοβουτυρικό οξύ, πιπεκολικό οξύ, ιασμονικό οξύ ή πτητικές οργανικές ουσίες), παθογόνα, φυτοφάγα αρθρόποδα ή αβιοτικές μεταβολές. (Conrath et al., 2015). Επίσης η μετάβαση των φυτών σε κατάσταση primed μπορεί να βασίζεται στις συμβιωτικές σχέσεις των φυτών με ωφέλιμους μικροοργανισμούς όπως είναι τα ριζοβακτήρια και οι μυκόριζες (Pieterse et al., 2014). Τα τελευταία χρόνια έχει βρεθεί ότι το φαινόμενο Priming μπορεί να προκληθεί και μέσω της εξωγενούς εφαρμογής στα φυτά φυσικών ή και συνθετικών χημικών παραγόντων -Chemical Priming- διευρύνοντας τις προοπτικές για την αξιοποίηση του στη διαχείριση των καταπονήσεων των καλλιεργούμενων φυτών (Antoniou et al., 2016).

3. Οι μοριακοί μηχανισμοί του φαινομένου Priming

Αν και το φαινόμενο της ενισχυμένης απόκρισης των φυτών λόγω της πρότερης εμπειρίας τους ήταν γνωστό από πολύ παλιά, ο όρος **Priming** για πρώτη φορά εισήχθη το 1933, όταν ο Chester πρότεινε την ύπαρξη της επαγόμενης ανοσίας στα φυτά. Ωστόσο το φαινόμενο-**Priming** δεν έλαβε μεγάλη προσοχή, παρά μόνο στα τέλη της δεκαετίας του 1970 όταν τα εργαστήρια Kuc ανακοίνωσαν ότι διαθέτουν βάσιμες αποδείξεις για την εμπλοκή του Priming στους διάφορους τύπους επαγώγιμης ανοσίας των φυτών (Reimer-Michalski and Conrath, 2016). Παρά τις πρώιμες αυτές έρευνες, η σχέση του Priming με τους επαγώγιμους μηχανισμούς ανοσίας παρέμενε μη κατανοητή και μόνο το 2002 και το 2006 δημοσιεύτηκαν οι πρώτες ολοκληρωμένες προσεγγίσεις (Conrath et al., 2002; Conrath et al., 2006).

Σήμερα είναι γενικώς αποδεκτό ότι το φαινόμενο priming αποτελεί βασικό μέρος της επαγώγιμων μηχανισμών άμυνας του φυτού όπως είναι η Επίκτητη Διασυστηματική Αντοχή (SAR-Systemic acquired resistance), η Επαγόμενη Διασυστηματική Αντοχή (ISR-Induced Systemic Resistance), η BABA-Induced Resistance, η επαγόμενη από συμβιωτικούς μικροοργανισμούς ανθεκτικότητα, κ.ά.

(Conrath et al., 2015) και είναι αποτελεσματικό τόσο στις βιοτικές όσο και στις αβιοτικές απειλές (Mauch-Mani et al., 2017). Έρευνες στο πρόσφατο παρελθόν, αποκάλυψαν κοινούς μοριακούς μηχανισμούς ανάμεσα στα φυτά και τα θηλαστικά, στην διαδικασία της προενεργοποίησης της εγγενούς ανοσοποιητικής απόκρισης (Conrath et al., 2015). Οι μηχανισμοί αυτοί σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα διαμεμβρανικών υποδοχέων (**Pattern-Recognition Receptors**) και συσσώρευση κυτταρικών σηματοδοτικών ενζύμων σε λανθάνουσα κατάσταση (**μιτωτικές κινάσες-MPKs**) -προκειμένου η διαβίβαση σήματος σε περίπτωση νέας προσβολής να είναι ταχύτερη- (Conrath et al., 2015), μεταβολικό και πρωτεωμικό αναπρογραμματισμό (Holeski et al., 2012) και τροποποίηση των ιστονών στους εκκινητές των αμυντικών γονιδίων (Pastor et al., 2014). Το τελευταίο σε συνδυασμό με τις μεταβολές στη μεθυλίωση του DNA και την τροποποίηση της χρωματίνης (Επιγενετικά φαινόμενα) φαίνεται ότι αποτελούν τη βάση της μνήμης καταπόνησης η οποία είναι δυνατό να κληρονομηθεί από τις επόμενες γενιές (Pastor et al., 2014; Conrath et al., 2015).

Ο τρόπος με τον οποίο οι διάφοροι μοριακοί και επιγενετικοί μηχανισμοί αλληλεπιδρούν μεταξύ τους στη διαδικασία της προπαρασκευής της άμυνας των φυτών, σε μεγάλο μέρος παραμένει άγνωστος και απαιτούνται ολιστικές προσεγγίσεις βιολογίας συστημάτων (genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics) προκειμένου να αποσαφηνιστούν οι μηχανισμοί αυτοί, ώστε να υπάρξει εκτεταμένη εκμετάλλευση του φαινομένου αυτού στα πλαίσια της αειφόρου γεωργίας (Pastor et al., 2014).

4. Η μεταβίβαση της κατάστασης αυξημένης απόκρισης (primed state) στους απογόνους (Transgenerational Priming)

Πολλές έρευνες έχουν αποδείξει ότι η κατάσταση primed καθώς και η μνήμη καταπόνησης μπορεί να διατηρηθεί σε όλη τη διάρκεια της ζωής του φυτού όπως και να μεταβιβαστεί στους απογόνους του και μάλιστα να διατηρηθεί για ορισμένες γενιές - **Transgenerational Priming**-παρέχοντας τους αυξημένη αντοχή και ανθεκτικότητα (Slaughter et al., 2012; Tabassum et al., 2017) Η διαγενεακή κληρονομικότητα της ενισχυμένης απόκρισης αποδίδεται σε μηχανισμούς που κυμαίνονται από επιγενετικές μεταβολές έως και τη συσσώρευση αδρανών σχετιζόμενων με την άμυνα μορίων (Tugizimana et al., 2018). Σε ότι αφορά τα ευρήματα των πιο πρόσφατων ερευνών, από τους Nosalewicz et al. (2016) αναφέρθηκε ότι οι απόγονοι φυτών κριθαριού που είχαν

υποστεί καταπόνηση ξηρασίας κατά το στάδιο της αναπαραγωγής, εμφάνισαν μεγαλύτερο μήκος ριζών σε σχέση με τα φυτά που δεν είχαν ανάλογη μεταχείριση (Nosalewicz et al., 2016). Σε άλλη έρευνα από τους Zhang et al. (2016), διαπιστώθηκε ότι οι απόγονοι φυτών που είχαν υποστεί καταπόνηση ξηρασίας, παρουσίασαν αυξημένη αντοχή στις υψηλές θερμοκρασίες-διασταυρωτή ανθεκτικότητα- κατά το γέμισμα των σπόρων. Η αυξημένη αντοχή των απογόνων φυτών σιταριού, σε υψηλές θερμοκρασίες μέσω προηγούμενης έκθεσης των μητρικών φυτών σε ανάλογες συνθήκες, παρατηρήθηκε και από τους Wang et al. (2016). Η μεταγραφική ανάλυση των φυτών αυτών αποκάλυψε ότι η επαγωγή της θερμικής αντοχής οφείλεται σε κληρονομήσιμες επιγενετικές μεταβολές και μεταγωγή της σηματοδότησης που από κοινού προκαλούν την άμεση ενεργοποίηση των αμυντικών αποκρίσεων όπως είναι η αντιοξειδωτική άμυνα, η μεταγραφή, η παραγωγή ενέργειας καθώς και η ανακατανομή των πρωτεϊνών (Wang et al., 2016).

Σύμφωνα με τις έρευνες αυτές, πιστεύεται ότι η διαγενεακή μεταβίβαση της μνήμης καταπόνησης δεν οφείλεται μόνο στην αύξηση της συχνότητας του ομόλογου ανασυνδιασμού (Li and Liu, 2016), αλλά περιλαμβάνει και πιο πολύπλοκους μηχανισμούς, όπως η συσσώρευση σηματοδοτικών πρωτεϊνών ή μεταγραφικών παραγόντων, καθώς επίσης και επιγενετικές τροποποιήσεις (μεθυλίωση ή ακετυλίωση του DNA, αναδιαμόρφωση της χρωματίνης ή τροποποίηση των ιστονών) που έχουν ως αποτέλεσμα τη σίγαση ή την ενεργοποίηση των γονιδίων που εμπλέκονται στους μηχανισμούς άμυνας των φυτών (Bruce et al., 2007; Han and Wagner, 2014). Από τους Boyko and Kovalchuk (2011) διατυπώθηκε η θέση ότι η διαγενεακή αυξημένη απόκριση μπορεί να οφείλεται τόσο σε κληρονομήσιμους (DNA και αλλαγή της δομής της χρωματίνης) όσο και σε μη κληρονομήσιμους παράγοντες (μεταβολίτες και υψηλά επίπεδα πρωτεϊνών και m-RNA) των μητρικών φυτών. Επιπλέον σύμφωνα με τους Jaskiewicz et al. (2011) η συχνότητα και η διάρκεια των συνθηκών καταπόνησης καθορίζουν εάν η επίδραση τους στη μεταγραφή του γονιδιώματος θα είναι προσωρινή ή θα διαρκεί σε όλη τη ζωή του φυτού και θα μεταβιβάζεται και στην επόμενη γενιά (Jaskiewicz et al., 2011).

Οι επιγενετικές μεταβολές συνιστούν μια εξαιρετική στρατηγική προσαρμογής των φυτών στις περιβαλλοντικές προκλήσεις καθώς είναι κληρονομήσιμες, συμβαίνουν τάχιστα ενώ είναι δυνατό και να ακυρωθούν (Mauch-Mani et al., 2017) εάν δεν υπάρχει

τακτική παρουσία του παράγοντα που τις προκαλεί, καθώς συνοδεύονται από ενεργειακό κόστος για τα φυτά (Crisp et al., 2016).

5. Ενεργειακό όφελος και διαφοροποίηση των Primed φυτών

Όπως για κάθε ζωντανό οργανισμό η αντοχή στις καταπονήσεις συνεπάγεται κόστος, έτσι και για τα φυτά, η ενεργοποίηση των επαγωγικών μηχανισμών άμυνας για την αντιμετώπιση των καταπονήσεων έχει συνέπειες τόσο στην ανάπτυξη, όσο και στην αναπαραγωγή (Ton et al., 2009; Bechtold et al., 2010). Για παράδειγμα, η αντιμετώπιση μιας πρόκλησης απαιτεί υπερβολικές δαπάνες ενέργειας για την ανακατεύθυνση των ανόργανων θρεπτικών συστατικών από τα σημεία κυτταρικής αύξησης, φωτοσύνθεσης και αναπαραγωγής προς τα σημεία όπου θα εκδηλωθεί η απόκριση. Επιπλέον η ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων που σχετίζονται με τις αμυντικές αποκρίσεις, όπως και η αύξηση στο ρυθμό σύνθεσης των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος, λειτουργούν επίσης εις βάρος των αναπτυξιακών λειτουργιών (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2007; Bechtold et al., 2010).

Σε αντίθεση με τους άμεσα επαγόμενους μηχανισμούς άμυνας όπως είναι η SAR και η ISR, η εισαγωγή των φυτών σε κατάσταση αυξημένης απόκρισης – primed state – έχει μηδαμινό ή ελάχιστο αρνητικό αντίκτυπο στο ενεργειακό ισοζύγιο σε όρους ανάπτυξης και παραγωγικότητας των φυτών (Mauch-Mani et al., 2017). Αυτό συμβαίνει επειδή η κατάσταση αυτή σχετίζεται με την βελτιωμένη αντίληψη ή και την ενίσχυση των σημάτων που επάγουν την αμυντική απόκριση του φυτού και όχι με την άμεση επαγωγή των αμυντικών μηχανισμών (Aranega-Bou et al., 2014). Τα primed φυτά εκδηλώνουν τις αμυντικές τους αποκρίσεις μόνο κατά την εμφάνιση της απειλής, καθώς η επαγωγή των άμεσα επαγόμενων μηχανισμών σχετίζεται με υψηλό φυσιολογικό κόστος, σε σημείο που να μηδενίζονται τα οφέλη της ενισχυμένης άμυνας (Balmer et al., 2015). Σύμφωνα με τους Vijayakumari et al. (2016), το φαινόμενο priming συνδέεται με προσεγμένη λειτουργία χαμηλού κόστους των σηματοδοτικών και των μεταβολικών οδών, που βοηθούν τα φυτά κατά τη διάρκεια της καταπόνησης να εξισορροπούν μεταξύ της αύξησης, της ανάπτυξης και της επιβίωσης.

Θα πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι η αντοχή και η ανθεκτικότητα στις καταπονήσεις που παρατηρείται σε πολλές περιπτώσεις δεν οφείλεται μόνο στο φαινόμενο priming, καθώς τα φυτά διαθέτουν και άλλους επιπρόσθετους μηχανισμούς όπως είναι οι άμεσα επαγωγίμοι μηχανισμοί και ο εγκλιματισμός. Εντούτοις πλέον έχει

αποσαφηνιστεί ότι **η μνήμη, το χαμηλό ενεργειακό κόστος, η πιο δυναμική απόκριση καθώς και η καλύτερη απόδοση** αποτελούν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των primed φυτών (Mauch-Mani et al., 2017) και συνιστούν τα ουσιαστικά σημεία ελέγχου προκειμένου να διαπιστωθεί η παρουσία του φαινομένου (Martinez-Medina et al., 2016).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

Η ισχυροποίηση της άμυνας των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις μέσω της εξωγενούς εφαρμογής φυσικών, χημικών και βιολογικών παραγόντων

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στα πλαίσια της φυσιολογίας και της διαχείρισης των φυτικών καταπονήσεων, η επαγωγή των αμυντικών μηχανισμών μέσω της μεταχείρισης των φυτών με φυσικούς ή συνθετικούς παράγοντες αποτελεί ένα ταχέως αναπτυσσόμενο πεδίο (Savvides et al., 2016). Η στρατηγική αυτή, επιπλέον της τροποποίησης της μνήμης καταπόνησης και της ενίσχυσης της αμυντικής απόκρισης είναι δυνατόν να «αποκαλύψει» και να ενεργοποιήσει μηχανισμούς που τα φυτά δεν χρησιμοποιούν κανονικά για την επιβίωση τους (Merewitz, 2016). Επιπρόσθετα, θεωρείται μια οικολογική και οικονομικά αποδοτική προσέγγιση στην διαχείριση των αβιοτικών καταπονήσεων, καθώς φυσικές και χαμηλού κόστους ουσίες χρησιμοποιούνται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (Antoniou et al., 2016).

Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας αποκαλύπτει ότι μια πολύ μεγάλη ποικιλία ουσιών έχουν την δυνατότητα να λειτουργούν υπό ειδικές συνθήκες ως παράγοντες προενεργοποίησης σε μια σειρά διαφορετικών αβιοτικών καταπονήσεων (Savvides et al., 2016). Ουσίες όπως οι ενεργές ρίζες του οξυγόνου, του αζώτου και του θείου και πιο συγκεκριμένα το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), το μονοξειδίο του αζώτου (NO) και το υδρόθειο (H_2S) αποτελούν ενδογενείς φυτικές ουσίες που σηματοδοτούν την ύπαρξη καταπονητικών παραγόντων και επάγουν τους μηχανισμούς άμυνας των φυτών (Savvides et al., 2016). Παρόμοια δράση εκδηλώνεται από την εφαρμογή και άλλων φυσικών παραγόντων στα φυτά, όπως είναι οι ορμόνες (αμπισισικό οξύ-ABA, σαλικυλικό οξύ-SA κ.ά.) οι πολυαμίνες, οι ωσμωλύτες (προλίνη, γλυκίνη-μπεταΐνη), τα μη πρωτεϊνικά αμινοξέα (GABA- γ -amino butyric acid, BABA- β -amino butyric acid), τα ανόργανα άλατα (KNO_3 , NaCl), διάφορα ιχνοστοιχεία όπως το πυρίτιο(Si) και το σελήνιο(Se) κ.ά. (Vijayakumari et al. 2016). Επιπλέον αρκετές χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται κυρίως ως μυκητοκτόνα (strobilurin, paclobutrazol, triadimefon κ.ά.) έχει αναφερθεί ότι συνδέονται με αυξημένα επίπεδα αμυντικής απόκρισης (Jiménez-Agias et al., 2017). Η εξέλιξη των omics τεχνολογιών καθώς και η πρόοδος των

μικροσκοπικών τεχνικών απέδειξε ότι και οι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί είναι σε θέση να διαγείρουν και να βελτιώσουν τους αμυντικούς μηχανισμούς των φυτών μέσα από την αμοιβαία επωφελή συμβίωση τους (Timmusk et al., 2017).

Στις ενότητες που ακολουθούν παρουσιάζεται μια ενημερωμένη επισκόπηση των κυριότερων παραγόντων priming που έχουν διερευνηθεί για την επαγωγή της άμυνας και τον εγκλιματισμό των φυτών στις αβιοτικές προκλήσεις. Επιπρόσθετα, ο όρος priming χρησιμοποιείται ευρύτερα και υπονοεί την εφαρμογή οποιουδήποτε παράγοντα, μικροοργανισμού ή και αβιοτικής καταπόνησης, που είναι σε θέση να συνδράμει στην βελτίωση ή την ενεργοποίηση των εγγενών μηχανισμών άμυνας των φυτών. προκειμένου να είναι καλύτερα προετοιμασμένα για την αντιμετώπιση μιας μελλοντικής αβιοτικής καταπόνησης. Στη βάση αυτής της λογικής εξετάζονται πολλές διαφορετικές πρακτικές οι οποίες δεν προκαλούν απαραίτητα τις ίδιες μεταβολές που αποδίδονται στο φαινόμενο priming, όπως περιγράφηκαν στην προηγούμενη ενότητα, αλλά είναι σε θέση να αξιοποιούν και διαφορετικές σηματοδοτικές οδούς ή μηχανισμούς με τελικό σκοπό την ισχυροποίηση της άμυνας των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις.

2. Μέθοδοι και τρόποι εφαρμογής των παραγόντων priming

Η αξιοποίηση των εγγενών μηχανισμών άμυνας και της μνήμης καταπόνησης των φυτών, μέσω της εξωγενούς εφαρμογής παραγόντων priming θεωρείται μια ιδιαίτερα σημαντική πρακτική στην προσπάθεια της αντιμετώπισης των αβιοτικών προκλήσεων (Savvides et al., 2016) Ωστόσο, όπως συμβαίνει και με τις άλλες τεχνολογίες, έτσι και στην περίπτωση της ενίσχυσης της άμυνας των φυτών μέσω προσεγγίσεων priming, υπάρχουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα (Merewitz 2016). Όλοι οι παράγοντες priming δεν λειτουργούν αποτελεσματικά σε όλα τα είδη φυτών, ούτε και όλοι οι παράγοντες priming συνοδεύονται με μακροπρόθεσμα αποτελέσματα (Vijayakumari et al., 2016; Savvides et al., 2016). Επιπρόσθετα, τα φυτά διαθέτουν διαφορετικούς μηχανισμούς φυσικής αντοχής και επομένως μπορεί να διαφέρει σημαντικά η ωφέλεια ανάμεσα σε αυτά, από την εφαρμογή των παραγόντων priming. Άλλες παράμετροι όπως η ευκολία/δυσκολία εφαρμογής, η σχέση κόστους/αποτελεσματικότητας, καθώς και οι επιπτώσεις στον άνθρωπο και το περιβάλλον μπορεί να περιορίσουν σημαντικά τη χρησιμότητα μιας κατά τα άλλα πολλά υποσχόμενης ουσίας (Merewitz, 2016).

Το πιο σημαντικό ίσως στοιχείο που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στις προσεγγίσεις priming, είναι ότι η αποτελεσματικότητα αυτών των πρακτικών εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από τον χρόνο και τον τρόπο εφαρμογής των παραγόντων priming, καθώς σε πολλές περιπτώσεις καταγράφηκαν αντιφατικά αποτελέσματα που αποδόθηκαν στη διαφορετική μέθοδο μεταχείρισης των φυτών (Sanvidés et al., 2016). Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου όπως και του κατάλληλου χρόνου εξαρτάται από την ικανότητα του παράγοντα priming να προσδίδει διασυστηματική αντοχή καθώς επίσης και από την απόσταση μεταξύ του φυτικού οργάνου που δέχεται την καταπόνηση και του τμήματος του φυτού όπου εφαρμόζεται και εξετάζεται ο παράγοντας priming. (π.χ. σε συνθήκες αλατότητας ενώ η πίεση ασκείται στις ρίζες η φυτική απόκριση εκδηλώνεται στα φύλλα.) (Nguyen et al., 2018). Γενικότερα η προκαταρκτική έρευνα είναι απαραίτητη πριν την υιοθέτηση κάποιας μεθόδου εφαρμογής καθώς η αποτελεσματικότητα μπορεί να εξαρτάται από τη φύση της ουσίας, το είδος του φυτού καθώς και το είδος του ιστού (Sanvidés et al., 2016). Ανάμεσα στις μεθόδους εφαρμογής των παραγόντων priming οι πιο συνηθισμένες είναι η διαφυλλική εφαρμογή, η εφαρμογή στο ριζικό σύστημα και η προμεταχείριση του πολλαπλασιαστικού υλικού.

2.1 Διαφυλλική εφαρμογή

Η εξωγενής εφαρμογή διαφόρων παραγόντων στα υπέργεια τμήματα των φυτών μέσω ψεκασμών συναντάται τόσο στην έρευνα φυτών, όσο και στην εφαρμοσμένη γεωργική πρακτική και στοχεύει στη βελτίωση των αποδόσεων. Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται όταν οι άλλες πρακτικές είναι αδύνατο να χρησιμοποιηθούν καθώς επίσης και στις περιπτώσεις όπου η πρόσληψη του παράγοντα priming από τα φυτά είναι πιο αποτελεσματική μέσω των βλαστών ή των φύλλων (Merewitz, 2016). Στα πλαίσια αυτά, ενώ στις μονοετείς καλλιέργειες η προμεταχείριση του πολλαπλασιαστικού υλικού μπορεί να έχει εντυπωσιακά αποτελέσματα, στην περίπτωση των μόνιμων και πολυετών καλλιεργειών η επίδραση της είναι συνήθως αμελητέα. Επιπλέον στις μόνιμες καλλιέργειες καθώς επίσης και στα συστήματα ακαλλιέργειας όπου η εφαρμογή στο ριζικό σύστημα παρουσιάζει δυσκολίες, η μέθοδος της διαφυλλικής εφαρμογής εμφανίζεται προσφορότερη (Merewitz, 2016). Ένας ακόμη λόγος επιλογής αυτής της μεθόδου είναι ότι καθώς μπορεί να εκτελεστεί σε οποιοδήποτε στάδιο του βιολογικού κύκλου των φυτών, στρατηγικές ανθεκτικότητας/αντοχής απέναντι στις αβιοτικές καταπονήσεις, όπως είναι η αποφυγή ή η διαφυγή, που τα φυτά αρκετά συχνά

εκδηλώνουν και λειτουργούν εις βάρος των αναπτυξιακών διαδικασιών και της παραγωγικότητας, είναι σε θέση να προληφθούν (Merewitz, 2016). Θα πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι καθώς πολλοί παράγοντες priming συνδέονται με φαινόμενα τοξικότητας όταν εφαρμόζονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, η εύρεση και η ανάπτυξη έξυπνων τεχνολογιών που θα επιτρέπουν την εφαρμογή της κατάλληλης συγκέντρωσης, είναι απαραίτητη (Savvides et al., 2016).

2.2 Εφαρμογή στο ριζικό σύστημα

Η εφαρμογή των παραγόντων priming στη ζώνη του ριζικού συστήματος των φυτών συνίσταται στις περιπτώσεις όπου η πρόσληψη των παραγόντων αυτών, από τα υπέργεια μέρη των φυτών, δεν είναι άμεση και αποτελεσματική. Όπως και στη διαφυλλική μέθοδο, η εφαρμογή στο ριζικό σύστημα μέσω συστημάτων άρδευσης ή υδροπονίας μπορεί να πραγματοποιηθεί σε όλα τα στάδια της ανάπτυξης των φυτών. Ορισμένες μάλιστα ουσίες είναι προτιμότερο να εφαρμόζονται στο έδαφος καθώς φαίνεται ότι προωθούν την ανάπτυξη συμβιωτικών σχέσεων ανάμεσα στα φυτά και τους οργανισμούς του εδάφους, που προάγουν την αύξηση της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις. Η μέθοδος αυτή τέλος τυγχάνει ευρείας εφαρμογής στην έρευνα (π.χ. στην ιστοκαλλιέργεια) καθώς εξασφαλίζει ομοιόμορφη έκθεση των φυτών στον παράγοντα priming επιτρέποντας την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων (Merewitz, 2016). Πολλές από τις ουσίες που θα συζητηθούν στις ενότητες που ακολουθούν έχουν αξιολογηθεί μέσω αυτής της μεθόδου εφαρμογής.

2.3 Η προμεταχείριση του πολλαπλασιαστικού υλικού (Seed Priming)

Η ομοιόμορφη και ζωνρή βλάστηση των σπόρων και κατά συνέπεια η επιτυχής εγκατάσταση των νεαρών φυτών, θεωρούνται τα πιο κρίσιμα στάδια του βιολογικού κύκλου των φυτών, που καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό την παραγωγικότητα των καλλιεργειών (Dutta, 2018). Η προμεταχείριση του πολλαπλασιαστικού υλικού (Seed Priming) η οποία αναφέρεται και ως προενεργοποίηση, συνιστά μια πολύ παλιά εμπειρική πρακτική, που είναι γνωστή από την εποχή του Θεόφραστου, ο οποίος πρώτος παρατήρησε ότι σπόροι αγγουριού φύτρωναν πιο γρήγορα όταν εμβαπτίζονται σε νερό πριν τη σπορά. (Lutts et al., 2018).

Η προσέγγιση Seed Priming είναι μια τεχνική προμεταχείρισης των σπόρων με φυσικούς ή συνθετικούς παράγοντες, που στοχεύει στην βελτίωση της σφριγηλότητας-

ζωηρότητας τους (seed vigor), της ικανότητας τους δηλαδή για γρήγορη και συγχρονισμένη βλάστηση (Jiménez-Arias et al., 2017). Επιπλέον μέσω αυτής της πρακτικής επιδιώκεται η ζωηρή αύξηση και ανάπτυξη των νεαρών φυτών καθώς επίσης και η αύξηση της αντοχής τους στις καταπονήσεις. Η επίδραση της στην απόδοση των φυτών εκδηλώνεται μέσω δύο διαφορετικών τρόπων: 1) Οι προενεργοποιημένοι σπόροι βρίσκονται από πλευράς ανάπτυξης σε προηγμένο φυσιολογικό επίπεδο σε σχέση με τους απλούς σπόρους και αυτή η πρώιμη εκκίνηση έχει ως αποτέλεσμα υψηλότερα ποσοστά βλαστικότητας και εγκατάστασης των νεαρών φυτών και 2) η αύξηση της αντοχής των φυτών στις μελλοντικές καταπονήσεις, αποδίδεται στην επίδραση των πρακτικών αυτών στη μνήμη καταπόνησης (Sannides et al., 2016).

Εδώ και δεκαετίες, η προενεργοποίηση του πολλαπλασιαστικού υλικού αποτελεί μια κοινή πρακτική που χρησιμοποιείται σε μεγάλο βαθμό από τις εταιρείες έρευνας και παραγωγής πολλαπλασιαστικού υλικού. Στα πλαίσια αυτά έχουν αναπτυχθεί και χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι seed-priming. Οι συμβατικές μέθοδοι περιλαμβάνουν τις τεχνικές hydropriming, osmopriming, solid-matrix priming, biopriming, thermopriming, κ.ά., ενώ οι πιο σύγχρονες βασίζονται σε φυσικές μεθόδους (electromagnetic priming, μεταχείριση με ακτίνες γ, με υπεριώδεις ακτινοβολίες, μικροκύματα και υπερήχους) και στη χρήση της νανοτεχνολογίας (Dutta, 2018). Κοινό χαρακτηριστικό των συμβατικών τεχνικών που έχουν ως βάση το νερό και που τις διαφοροποιεί από τις υπόλοιπες, είναι η μερική και ελεγχόμενη δύγρανση των σπόρων χωρίς όμως να προκαλείται η έκπτυξη του ριζιδίου, ώστε να μπορούν σε επόμενο στάδιο να αφυγρανθούν και να επιτρέψουν στα πρότερα επίπεδα υγρασίας (Lutts et al., 2018). Στη συνέχεια οι σπόροι αυτοί αποθηκεύονται προσωρινά, πριν να χρησιμοποιηθούν για τη σπορά. Μέσω αυτής της μεταχείρισης το υδατικό περιεχόμενο των σπόρων αυξάνεται σε επίπεδα κάτω από τα όρια που απαιτούνται για την κανονική βλάστηση. Η αύξηση αυτή διεγείρει πολλές από τις φυσιολογικές διαδικασίες- αναφέρονται παρακάτω- που σχετίζονται με τα πρώιμα στάδια της βλάστησης (προβλαστικός μεταβολισμός) χωρίς όμως να επιτρέπει την πλήρη βλάστηση των σπόρων (Paparella et al., 2015).

Η αποτελεσματικότητα των προσεγγίσεων seed-priming επηρεάζεται από πολλές συνιστώσες και εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το είδος του φυτού και την τεχνική priming που επιλέγεται. Φυσικοί και χημικοί παράγοντες όπως το υδατικό και το οσμωτικό δυναμικό, η φύση του παράγοντα priming, η διάρκεια της μεταχείρισης, η

θερμοκρασία, η παρουσία ή η απουσία φωτός, ο αερισμός, καθώς και η φυσιολογική κατάσταση του σπόρου, καθορίζουν επίσης σημαντικά τον ρυθμό και το χρόνο βλάστησης των σπόρων, τη ζωνρότητα των νεαρών φυτών και τη μετέπειτα ανάπτυξη τους (Lutts et al., 2018).

Γενικότερα παρά τα αποδεδειγμένα οφέλη και την επιτυχή εμπορική τους χρήση, η εκτεταμένη και γενικευμένη εφαρμογή των προσεγγίσεων seed-priming συχνά παρεμποδίζεται από τις αντικρουόμενες αναφορές σχετικά με την επίδραση των πρακτικών αυτών στη βιωσιμότητα των σπόρων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Επιπρόσθετα, ένα άλλο γεγονός που λειτουργεί ανασταλτικά στην υιοθέτηση αυτών των πρακτικών, είναι η αδυναμία τυποποίησης πρωτοκόλλου priming λόγω της εμφάνισης διαφορετικών επιδράσεων ανάμεσα στα διάφορα είδη, τις ποικιλίες ακόμα και τις παρτίδες των σπόρων. Επομένως η λεπτομερής κατανόηση της φυσιολογικής βάσης της προσέγγισης seed-priming κρίνεται απαραίτητη προκειμένου να υπάρξει βελτιστοποίηση αυτής της τεχνικής. Οι συμβατικές μέθοδοι seed-priming είναι χρονοβόροι, απαιτούν ένταση εργασίας και σε κάποιες περιπτώσεις λειτουργούν επιβαρυντικά στο περιβάλλον. Στα πλαίσια αυτά η ανάπτυξη γρήγορων, αποτελεσματικών και οικολογικών πρωτοκόλλων seed-priming είναι αναγκαία, προκειμένου οι προσεγγίσεις αυτές να αποτελέσουν βασικό και αναντικατάστατο εργαλείο στη γεωργική πρακτική (Dutta, 2018).

3. Η γενική φυσιολογική και βιοχημική βάση των προσεγγίσεων priming και οι κοινοί μηχανισμοί αύξησης της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις

Σύμφωνα με τις προηγούμενες αναφορές, η μεταχείριση των φυτών σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια με ουσίες που λειτουργούν ως παράγοντες priming σχετίζεται με βελτίωση της διασυστηματικής επίκτητης αντοχής και με μικρότερο αντίκτυπο στη φυσιολογία και την ανάπτυξη των φυτών στις μελλοντικές αβιοτικές προκλήσεις σε σχέση με φυτά στα οποία δεν έχει γίνει εφαρμογή των παραπάνω παραγόντων (Savvides et al. 2016). Η εισαγωγή των φυτών σε κατάσταση έναυσης (primed state) που χαρακτηρίζεται από αυξημένη ανθεκτικότητα είναι αποτέλεσμα βιολογικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα μετά την εφαρμογή του εξωγενούς παράγοντα. Αν και τα τελευταία χρόνια, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στην κατανόηση του φαινομένου priming εντούτοις υπάρχουν πολλά αδιευκρίνιστα σημεία στις διαδικασίες

που προηγούνται της εισαγωγής των φυτών σε κατάσταση αυξημένης απόκρισης καθώς επίσης και στον τρόπο δράσης των ουσιών που χρησιμοποιούνται ως παράγοντες priming. Από την επισκόπηση της βιβλιογραφίας υπάρχουν αποδείξεις ότι εμπλέκονται κοινά σημεία αύξησης της αντοχής καθώς και κοινοί σηματοδοτικές οδοί ανάμεσα στις διάφορες ουσίες, γεγονός που μπορεί να αξιοποιηθεί για την ανάπτυξη πολλαπλής ανθεκτικότητας. Στις παραγράφους που ακολουθούν περιγράφονται αυτοί οι κοινοί μηχανισμοί που ενεργοποιούνται από τους διαφόρους παράγοντες priming ανάλογα με το είδος της αβιοτικής καταπόνησης.

Ορισμένοι παράγοντες priming όπως οι ενεργές ρίζες του οξυγόνου του αζώτου και του θείου, καθώς και η μελατονίνη και οι πολυαμίνες, αποτελούν ενδογενή φυτικά μόρια με ρυθμιστικό ρόλο στην ανάπτυξη της ανθεκτικότητας στις αβιοτικές καταπονήσεις (Molassiotis and Fotopoulos 2011, Filippou et al. 2013). Η μεταχείριση των φυτών με τις ουσίες αυτές προκαλεί αρχικά μια αύξηση της συγκέντρωσης τους στους φυτικούς ιστούς, **λειτουργώντας ως σήμα ήπιας καταπόνησης**, χωρίς να παρεμποδίζονται οι αναπτυξιακές διαδικασίες (Li Z-G. et al., 2013; Shi H. et al., 2014). Όπως είναι γνωστό όλες οι μορφές αβιοτικών καταπονήσεων συνοδεύονται από οξειδωτική καταπόνηση λόγω της συσσώρευσης ROS και επομένως ο έλεγχος της κυτταρικής ομοιόστασης στη συγκέντρωση των ROS αποτελεί παράγοντα κλειδί στη βελτίωση της αντοχής (Borges et al., 2014). Η χαμηλότερη συγκέντρωση των ROS που παρατηρείται σε primed φυτά που εκτίθενται σε μεμονωμένους ή πολλαπλούς παράγοντες καταπόνησης αποδίδεται είτε **στην βελτίωση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών** (ενζυμικών και μη) είτε **στην άμεση αντιοξειδωτική ικανότητα** που διακρίνει τις ουσίες (π.χ. μελατονίνη) που χρησιμοποιούνται ως παράγοντες priming (Atkinson and Urwin, 2012; Borges et al., 2014). Το δυναμικό των αντιοξειδωτικών μηχανισμών των φυτών συνίσταται από ενζυμικά (SOD-υπεροξειδική δισμουτάση, CAT-καταλάση, APX-υπεροξειδάση του ασκορβικού, GR-ρεδουκτάση της γλουταθειόνης, MDHAR-μονοδιυδροασκορβική και DHAR-διυδροασκορβική ρεδουκτάση, GPX-υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, GOPX-υπεροξειδάση της γουαϊκόλης και GST-S-τρανσφεράση της γλουταθειόνης) και μη ενζυμικά (ASH-ασκορβικό οξύ, GSH-γλουταθειόνη) αντιοξειδωτικά συστήματα που λειτουργούν από κοινού για τον έλεγχο του επιπέδου των ROS (Gill and Tuteja, 2010). Από μεταγραφικές αναλύσεις primed φυτών σε συνθήκες καταπόνησης επιβεβαιώθηκε η ρύθμιση και η έκφραση των γονιδίων που ελέγχουν τους αντιοξειδωτικούς ενζυμικούς

μηχανισμούς καθώς επίσης και των γονιδίων που ελέγχουν τα συστατικά του βιοχημικού κύκλου του ασκορβικού οξέος και της γλουταθειόνης γεγονός που συνεπάγεται ότι η μεταγραφική ρύθμιση του αντιοξειδωτικού μηχανισμού των φυτών συνιστά μια ιδιαίτερα πολύπλοκη διαδικασία (Antoniou et al., 2016). Αξίζει ακόμη να αναφερθεί, ότι η ενίσχυση της αντιοξειδωτικής άμυνας των primed φυτών που μειώνει το επίπεδο των ROS, συνοδεύεται και από μειωμένη συγκέντρωση μαλονδιαλδεΐδης, καθώς επίσης και από μειωμένη διαρροή ηλεκτρολυτών που σχετίζονται με την υπεροξείδωση των λιπιδίων και τη διατήρηση της ακεραιότητας της κυτταρικής μεμβράνης (Savvides et al., 2016).

Επιπρόσθετα από πρωτεωμικές προσεγγίσεις υποδεικνύεται ότι η μεταχείριση των φυτών με NO, H₂O₂ και όπως έχει ανακαλυφθεί πρόσφατα και με H₂S, συνοδεύεται από φαινόμενα μετα-μεταφραστικής τροποποίησης των πρωτεϊνών, όπως η νίτρωση της τυροσίνης, η S-νιτροσουλίωση, η S-καρβονυλίωση και η S-σουλφιδίωση. Οι τροποποιήσεις αυτές επηρεάζουν είτε θετικά είτε αρνητικά τη δραστηριότητα κομβικών ενζύμων που εμπλέκονται στη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης (αντιοξειδωτικά ένζυμα) καθώς επίσης και στις διαδικασίες της φωτοσύνθεσης (Antoniou et al., 2016). Εκτενέστερη αναφορά για τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις γίνεται στα κεφάλαια που αφορούν το NO και το H₂S.

Η ωσμωτική καταπόνηση που προκαλείται από την επίδραση διάφορων αντίξοων περιβαλλοντικών συνθηκών, όπως η ξηρασία, η υψηλή συγκέντρωση αλάτων, το ψύχος και ο παγετός έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της σπαργής και την ανάσχεση της ανάπτυξης των φυτών (Savvides et al., 2016). Η ωσμωρύθμιση μέσω της συσσώρευσης ωσμολυτών που συμβάλλει στη διατήρηση της κυτταρικής σπαργής, στο άνοιγμα των στομάτων και κατά συνέπεια στην αύξηση της φωτοσύνθεσης, αποτελεί μια από τις βασικότερες αποκρίσεις των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις. Κοινές ωσμωρυθμιστικές ουσίες που συναντώνται στα φυτά είναι διάφορες χαμηλού μοριακού βάρους ενώσεις (διαλυτά σάκχαρα και αλκοόλες), μη πρωτεϊνικά (γλυκίνη-μεταΐνη) και πρωτεϊνικά αμινοξέα (προλίνη και γλουταμινικό οξύ), διαλυτές πρωτεΐνες κ.ά. (Chen and Jiang, 2010). Οι ωσμωλύτες πέραν της ωσμωρύθμισης εμπλέκονται και σε άλλες μοναδικές αντιδράσεις που προστατεύουν τα φυτικά κύτταρα με διάφορους τρόπους (διατήρηση ακεραιότητας πρωτεϊνών και μεμβρανών, απομάκρυνση των ROS, αύξηση της θερμοσταθερότητας κ.ά. (Suprasanna et al., 2016). Από πολλά πειραματικά αποτελέσματα έχει αποδειχθεί ότι τα φυτά στα οποία έχει γίνει εφαρμογή παραγόντων

priming εμφανίζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις προλίνης και διαλυτών υδατανθράκων σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες, όταν εκθέτονται σε συνθήκες αλατότητας (Shi et al., 2014), ξηρασίας (He et al., 2009), παγετού ή ψύχους (Turk et al., 2014).

Σε υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων, εκτός από την ωσμωτική καταπόνηση λόγω της συσσώρευσης αλάτων στο εξωτερικό περιβάλλον των ριζών, τα φυτά υφίστανται και τις επιπτώσεις της ιοντικής καταπόνησης εξαιτίας της συσσώρευσης των ιόντων Na^+ στο κυτταρόπλασμα και της διατάραξης της ομοιόστασης των ιόντων K^+ (Kataria and Verta, 2018). Η μείωση του επιπέδου του Na^+ και παράλληλα η αύξηση του επιπέδου του K^+ που παρατηρήθηκε σε primed φυτά όταν εκτέθηκαν σε συνθήκες αλατότητας, αποδόθηκε στην ρύθμιση των μηχανισμών πρόσληψης ιόντων (Wahid. et al., 2007). Επιπρόσθετα σε μεταγραφικό επίπεδο καταγράφηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις παραγόντων που αυξάνουν τη χηλικοποίηση του νατρίου στα χυμοτόπια MdNHX1 και τη συσσώρευση των ιόντων καλίου στο κυτταρόπλασμα MdAKT1 με αποτέλεσμα τη βελτίωση της αναλογίας Na/K. Σε ότι αφορά την καταπόνηση που υφίστανται τα φυτά από τη συσσώρευση βαρέων μετάλλων, η μεγαλύτερη αντοχή που παρατηρήθηκε σε primed φυτά συσχετίστηκε με την βελτίωση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας, τη μειωμένη πρόσληψη, τον καλύτερο καταμερισμό σε όλα τα μέρη του φυτού καθώς και με τη χηλικοποίηση των βαρέων μετάλλων στα χυμοτόπια. Τέλος η αυξημένη σύνθεση θερμοεπαγόμενων πρωτεϊνών, που διεγείρεται από παράγοντες priming, αποτελεί την εξήγηση για την αυξημένη αντοχή των primed φυτών σε συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών (Antoniou et al., 2016).

Συνολικά η μεταχείριση των φυτών σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια με ουσίες που λειτουργούν ως παράγοντες priming έχει ως αποτέλεσμα την επαγωγή της ανθεκτικότητας σε σχεδόν όλους τους παράγοντες αβιοτικής καταπόνησης. Μέσω αυτών των προσεγγίσεων ενεργοποιείται το συνολικό αμυντικό οπλοστάσιο των φυτών όπως είναι οι μηχανισμοί αποτοξίνωσης, ωσμωπροστασίας, ιοντικής και πρωτεϊνικής ομοιόστασης και βελτιώνεται η απόδοση και η παραγωγικότητα των καλλιεργειών. Ωστόσο οι μεταβολές που υπεισέρχονται στη φυσιολογία των φυτών όπως και η αλληλουχία των γεγονότων που λαμβάνουν χώρα από την εφαρμογή των παραγόντων priming έως τη στιγμή έλευσης του καταπονητικού παράγοντα δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως και υπάρχουν αρκετά αναπάντητα ερωτήματα. Ένα από αυτά είναι και η διαμόρφωση της μνήμης καταπόνησης μέσω της συσσώρευσης αδρανών σημάτων αντοχής. Η πρόοδος που έχει συντελεστεί τα τελευταία χρόνια στη βιολογία

συστημάτων είναι εντυπωσιακή και η αξιοποίηση τους θα συμβάλλει καθοριστικά στη διαλεύκανση πολλών άγνωστων πτυχών του τρόπου δράσης αυτών των ουσιών.

4. Στοιχεία της φυσιολογικής και βιοχημικής βάσης των προσεγγίσεων seed-priming

Καθώς η μέθοδος seed-priming αποτελεί μια διαφορετική τεχνική από τις άλλες μεθόδους priming, με ήδη απτά πρακτικά αποτελέσματα και εφαρμογή σε ευρύτερη κλίμακα, θα ήταν ενδιαφέρον να παρατεθούν τα σημαντικότερα σημεία των μηχανισμών που υποστηρίζουν αυτή την προσέγγιση.

Η βελτίωση της βλαστικότητας που επιτυγχάνεται μέσω της προενεργοποίησης του πολλαπλασιαστικού υλικού αποδίδεται σε προηγμένες μεταβολικές διαδικασίες της βλάστησης, που περιλαμβάνουν την μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα των αναπνευστικών οδών, την ενισχυμένη αντιοξειδωτική δραστηριότητα, την έναρξη των επιδιορθωτικών μηχανισμών και την τροποποίηση της ορμονικής ισορροπίας (Jiménez-Arias et al., 2017). Η αύξηση που παρατηρείται στην έκφραση των γονιδίων και των πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη μεταφορά του νερού, στην τροποποίηση του κυτταρικού τοιχώματος, στην οργάνωση του κυτταρικού σκελετού και στη κυτταρική διαίρεση είναι φαινόμενα που συνδέονται στενά με την αύξηση της βλαστικότητας των προενεργοποιημένων σπόρων (Ibrahim, 2016). Πολλές βλαστητικές διαδικασίες όπως η βελτίωση του ενεργειακού μεταβολισμού, η πρόωρη κινητοποίηση των αποθεμάτων, η επέκταση του εμβρύου καθώς και η χαλάρωση του ενδοσπέρματος φαίνεται ότι προωθούνται ή και διευκολύνονται μέσω των πρακτικών seed priming (Pandita et al., 2007).

Ωστόσο το όφελος από την εφαρμογή της προσέγγισης seed-priming δεν περιορίζεται μόνο στην επιτάχυνση των διαδικασιών της βλάστησης, αλλά περιλαμβάνει και εξειδικευμένους μηχανισμούς που βελτιώνουν τη βλαστικότητα και την ανάπτυξη των νεαρών φυτών τόσο σε κανονικές όσο και σε συνθήκες καταπόνησης. Η ενεργοποίηση των επιδιορθωτικών μηχανισμών του DNA προκειμένου να αποκατασταθούν οι βλάβες που προκαλούνται λόγω της γήρανσης, είναι ίσως η πιο σημαντική διαδικασία που λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της μεταχείρισης των σπόρων (Jiménez-Arias et al., 2017). Σύμφωνα με τους Weitbrecht. et al. (2011) σε κάποιες περιπτώσεις seed-priming, έχει διαπιστωθεί ότι οι σπόροι απορροφούν πιο αργά το νερό λόγω του χαμηλότερου υδατικού δυναμικού του παράγοντα priming.

Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι σπόροι να διαθέτουν περισσότερο χρόνο για να ολοκληρώσουν τις διεργασίες επιδιόρθωσης του DNA και να υφίστανται μικρότερες κυτταρικές βλάβες όταν ενυδατώνονται εκ νέου, κατά τη διάρκεια της βλάστησης σε σχέση με τους απλούς σπόρους (Weitbrecht et al., 2011). Επιπλέον, η επαγωγή της έκφρασης των γονιδίων και των πρωτεϊνών που απαιτούνται για την προώθηση της κυτταρικής διαίρεσης (Gallardo et al., 2001) όπως και η μεταβολή στη συγκέντρωση των ROS που επιδρούν στα επίπεδα των αντιοξειδωτικών ενζύμων (Chen and Arora, 2011), συνιστούν φυσιολογικές διεργασίες που αποδίδονται στην επίδραση των πρακτικών seed-priming. Η βελτιωμένη ικανότητα στην πρόσληψη νερού από τους προενεργοποιημένους σπόρους σε σχέση με τους απλούς, αποδίδεται σε αυξημένα επίπεδα εξειδικευμένων πρωτεϊνών όπως είναι οι υδατοπορίνες, οι διυδρίνες και οι πρωτεΐνες όψιμης εμβρυογένεσης (LEA) (Chen and Arora, 2013; Kubala et al., 2015). Πολλοί παράγοντες seed priming συνδέονται με αντιοξειδωτική δράση και ο τρόπος δράσης τους είναι παρόμοιος με αυτόν που εκδηλώνουν σε πιο ώριμα φυτά (Demidchik, 2015). Από τους Iqbal and Ashraf (2007) έχει αναφερθεί ότι η προσέγγιση seed-priming είναι σε θέση να διαμορφώνει τα επίπεδα των σηματοδοτικών μορίων και των φυτοορμονών, να έχει κομβικό ρόλο στα φαινόμενα αλληλοεπίδρασης μεταξύ αυτών κατά την πορεία της βλάστησης και να καθορίζει την περαιτέρω ανάπτυξη και αντοχή στις καταπονήσεις.

Όπως και στις άλλες περιπτώσεις priming, οι παράγοντες που χρησιμοποιούνται συνήθως στις πρακτικές seed priming εγείρουν τη δημιουργία σηματοδοτικών μορίων και μεταγραφικών παραγόντων σε ανενεργή μορφή, με αποτέλεσμα την ταχύτερη και πιο δυναμική επαγωγή της αμυντικής απόκρισης κατά την έλευση της καταπόνησης-φαινόμενο priming- (Bruce et al., 2007) η οποία παρατείνεται και σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια (Savvides et al., 2016). Έρευνα από τους από τους Wei et al. (2014) απέδειξε ότι φυτά σόγιας 7 ημερών παρουσίασαν αυξημένη αντοχή στην ξηρασία λόγω της προηγούμενης μεταχείρισης των σπόρων με μελατονίνη. Σε ανάλογες διαπιστώσεις κατέληξαν και οι He et al. (2009) σε μελέτη όπου έγινε μεταχείριση σπόρων σιταριού με H₂O₂. Από τα ευρήματα αυτών των ερευνών προκύπτει το συμπέρασμα ότι η προενεργοποίηση του πολλαπλασιαστικού υλικού συνιστά μια μορφή καταπόνησης με θετικό πρόσημο, καθώς προκαλεί πολλαπλές μεταβολικές διεργασίες που επάγουν τις αμυντικές αποκρίσεις και αυξάνουν την αντοχή στις καταπονήσεις, ως συνέπεια της

μνήμης καταπόνησης η οποία σχετίζεται με επιγενετικές τροποποιήσεις (Jiménez-Arias et al., 2017).

Εν κατακλείδι η προενεργοποίηση του πολλαπλασιαστικού υλικού αποτελεί μια σχετικά απλή και μοναδική πρακτική, που έχει αναγνωρισθεί προ πολλού η συμβολή της στη βελτίωση της βλαστικότητας και στη μείωση του χρόνου εμφάνισης όπως και στη ζωνρότητα των νεαρών φυτών και εντέλει στην αύξηση της παραγωγικότητας. Επιπρόσθετα, το μειωμένο κόστος, η ευκολία εφαρμογής σε σχέση με τις άλλες μεθόδους priming και κυρίως η παρατεταμένη προστασία που παρέχει στα φυτά ενάντια στις αβιοτικές καταπονήσεις, την καθιστούν μια ιδιαίτερα ελκυστική πρακτική. Στα βιβλία “Advances in Seed Priming”- Springer 2018 και “New Challenges in Seed Biology - Basic and Translational Research Driving Seed Technology”-InTech 2016 παρατίθενται πολλές περιπτώσεις επιτυχούς αντιμετώπισης αβιοτικών καταπονήσεων μέσω διαφορετικών τεχνικών seed-priming, καθώς επίσης και όλα τα νεότερα δεδομένα γύρω από την κατανόηση της φυσιολογικής βάσης αυτής της προσέγγισης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

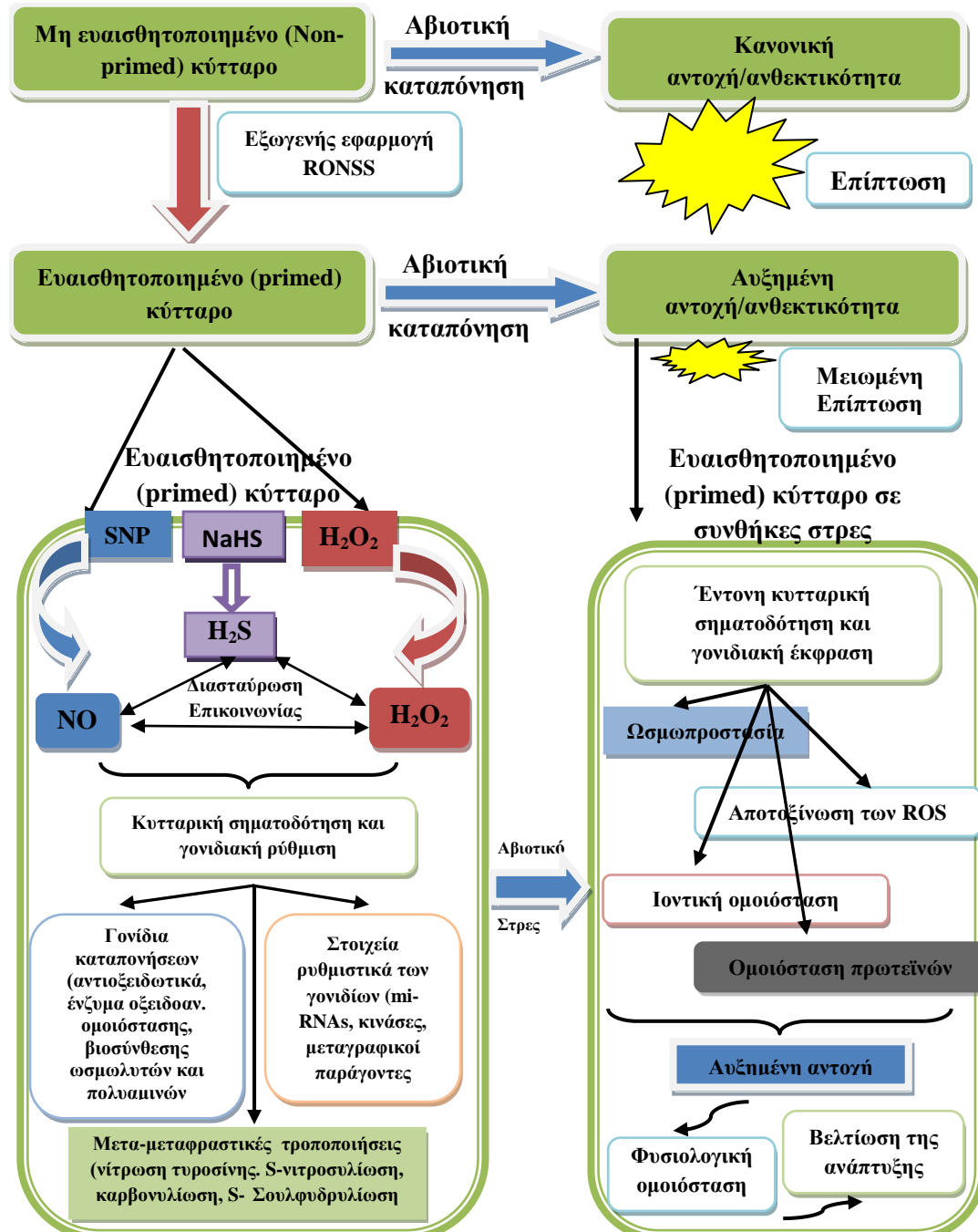
Οι κυριότεροι παράγοντες priming

1. Οι ενεργές μορφές οξυγόνου, αζώτου και θείου (Redox-priming)

Οι ενεργές μορφές του οξυγόνου, του αζώτου και του θείου (συλλήβδην **RONSS- Reactive oxygen-nitrogen-sulfur species**) είναι χημικά ενεργά μόρια που περιλαμβάνουν στη σύνθεσή τους οξυγόνο (π.χ. H_2O_2 -υπεροξειδίο του υδρογόνου), άζωτο (π.χ. NO -οξειδίο του αζώτου), ή θείο (π.χ. H_2S -υδρόθειο), και αποτελούν φυσικά παραπροϊόντα του μεταβολισμού των στοιχείων αυτών (Savvides et al., 2016). Οι ενώσεις αυτές διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση των αμυντικών μηχανισμών και τον εγκλιματισμό των φυτών στις καταπονήσεις, καθώς αποτελούν μόρια που σχετίζονται με την κυτταρική σηματοδότηση και τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης κατά τη διάρκεια των καταπονήσεων (Molassiotis and Fotopoulos, 2011). Τόσο οι ουσίες αυτές όσο και οι χημικές ενώσεις που λειτουργούν ως δότες των ουσιών αυτών (π.χ. το SNP -Νιτροπρωσσικό νάτριο που είναι δότης του NO ή το $NaHS$ - όξινο θειούχο νάτριο που είναι δότης του H_2S) όταν εφαρμόζονται ακόμη και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις έχει αποδειχθεί ότι συνδέονται με σημαντική βελτίωση της αντοχής των φυτών στις αβιοτικές προκλήσεις. (Antonioni et al., 2016).

Η ικανότητα των φυτών τα οποία έχουν υποστεί μεταχείριση με RONNS να ανταπεξέρχονται αποτελεσματικότερα στις μελλοντικές αβιοτικές καταπονήσεις αποδίδεται κυρίως στα σηματοδοτικά χαρακτηριστικά των ουσιών αυτών (Hancock et al., 2016). Λόγω της ιδιαίτερης φύσης τους και τα τρία αυτά μόρια εμπλέκονται στη σηματοδότηση μακράς απόστασης και συμβάλλουν στην απόκτηση του διασυστηματικού εγκλιματισμού των φυτών. Αν και οι μηχανισμοί που ενεργοποιούνται από τις RONNS ως απόκριση στις αβιοτικές προκλήσεις παρουσιάζουν πολλά κοινά σημεία, όπως την επαγωγή των αντιοξειδωτικών συστημάτων, εντούτοις παρουσιάζουν και σημαντικές διαφοροποιήσεις που εξαρτώνται από τον τύπο της αβιοτικής καταπόνησης και απαιτούν την συμμετοχή και άλλων σηματοδοτικών μορίων όπως είναι οι ορμόνες, οι MAPKs και τα ιόντα ασβεστίου (Farnese et al., 2016).

Σύμφωνα με τους Tanou et al. (2012) και Christou et al. (2014), η εξωγενής εφαρμογή των ουσιών αυτών, οδηγεί σε μεταγραφική ρύθμιση των αμυντικών γονιδίων πριν την έλευση του καταπονητικού παράγοντα, καθώς και σε πιο έντονη έκφραση



Σχήμα 5. Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών μέσω των οποίων η εξωγενής εφαρμογή RONSS συμβάλλει στην βελτίωση της αντοχής των φυτών στις μελλοντικές αβιοτικές καταπονήσεις. Η εξωγενής εφαρμογή είτε του H₂O₂, είτε του SNP (δότης NO) είτε του NaHS (δότης H₂S), οδηγεί αρχικά σε ενδογενή συσσώρευση του χημικού παράγοντα και σε μεταβολή στα επίπεδα των άλλων RONSS-λόγω διασταύρωσης επικοινωνίας. Το σηματοδοτικό κύμα που προκαλείται οδηγεί στην επαγωγή της κυτταρικής σηματοδότησης (μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις) και στη ρύθμιση των γονιδίων που σχετίζονται με τις καταπονήσεις όπως και των ρυθμιστικών στοιχείων των γονιδίων. Μετά από έκθεση σε αβιοτική καταπόνηση, η βελτίωση της κυτταρικής σηματοδότησης και της γονιδιακής έκφρασης οδηγεί σε ενισχυμένη απόκριση των μηχανισμών αντοχής όπως είναι η ωσμωπροστασία, η αποτοξίνωση των ROS, καθώς και η ομοιόσταση των πρωτεϊνών και των ιόντων. Τα φυτά που έχουν υποστεί αυτή τη μεταχείριση (primed) εμφανίζουν βελτιωμένη φυσιολογική ομοιόσταση και πιο έντονη ανάπτυξη σε συνθήκες καταπόνησης σε σχέση με τα άλλα (non-primed) φυτά (Antoniou et al., 2016)

αυτών των γονιδίων κατά τη διάρκεια της καταπόνησης. Πιο συγκεκριμένα η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης αντιστοιχεί σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες καταπόνησης (αντιοξειδωτικά ένζυμα), ρυθμιστικά στοιχεία των γονιδίων όπως οι μεταγραφικοί παράγοντες, mi-RNAs, καθώς επίσης και γονίδια που σχετίζονται με την μεταγωγή των σηματοδοτικών οδών (μιτωτικές κινάσες), την οξειδοαναγωγική ομοιόσταση και τη βιοσύνθεση ωσμολυτών (προλίνη) (Shi et al., 2015; Antoniou et al., 2016). Τα mi-RNAs συνιστούν μια σημαντική ομάδα σηματοδοτικών μορίων που ρυθμίζουν την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων σε συνθήκες καταπόνησης και που τα επίπεδα τους όπως και η έκφραση τους είναι σε θέση να ρυθμίζονται από τις RONNS. Ενδεικτικά, σε έρευνα από τους Shen et al. (2013) αναφέρθηκε ότι η βελτιωμένη αντοχή στην ξηρασία, αποδόθηκε στην επίδραση που είχε η εφαρμογή SNP στην έκφραση των mi-RNAs που σχετίζονται με την ξηρασία. Επιπλέον οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών που προκαλούνται από τις RONNS είναι μια καθοριστική διαδικασία στη μεταγωγή του σήματος (Farnese et al., 2016) και τη δραστηριότητα σημαντικών ενζύμων. Ως αποτέλεσμα των παραπάνω μεταβολών η βελτίωση της κυτταρικής σηματοδότησης και της γονιδιακής έκφρασης οδηγεί κατά την έλευση της μελλοντικής αβιοτικής καταπόνησης, σε ενισχυμένη απόκριση των μηχανισμών αντοχής όπως είναι η ωσμωπροστασία, η αποτοξίνωση των ROS, καθώς και η ομοιόσταση των πρωτεϊνών και των ιόντων (Antoniou et al., 2016). **(Σχήμα 5)**

Η συγκέντρωση της ουσίας που εφαρμόζεται, το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ της εφαρμογής και της έλευσης της αβιοτικής πρόκλησης, το τμήμα όπως και το όργανο του φυτού στο οποίο έγινε εφαρμογή καθώς και το είδος της καταπόνησης αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες της ταχύτητας της γονιδιακής ρύθμισης και έκφρασης (Shen et al., 2013; Christou et al., 2014). Τα τελευταία χρόνια έχει υπάρξει αξιοσημείωτη έρευνα γύρω από τα φαινόμενα διασταυρούμενης επικοινωνίας –crosstalk- μεταξύ των RONNS και σύμφωνα με τα ευρήματα των ερευνών από τους Tanou et al. (2012) και Shi et al. (2014), η εξωγενής εφαρμογή είτε του H₂O₂, είτε του NO, είτε του H₂S, οδηγεί σε μεταβολή των ενδογενών επιπέδων των άλλων RONNS, πριν την έλευση του παράγοντα καταπόνησης. Επιπλέον οι ομοιότητες στον τύπο των γονιδίων που ρυθμίζονται όπως και τα αποτελέσματα από φαρμακολογικές έρευνες (χρήση παρεμποδιστών) συνηγορούν ότι οι RONNS αλληλεπιδρούν και ενορχηστρώνουν από κοινού την απόκριση στις μελλοντικές καταπονήσεις. (Antoniou et al., 2016).

Στα πλαίσια αυτά η εξεύρεση παραγόντων που θα συνδυάζουν περισσότερες από μια RONNS έχει εντατικοποιηθεί και ήδη έχουν δημιουργηθεί συνθετικές ουσίες όπως η NOSH-aspirin που αποτελεί δότη NO, H₂S και ασπιρίνης (ακετυλοσαλικυλικό οξύ) ταυτόχρονα, με αξιόλογα αποτελέσματα (Kodala et al., 2012). Στις ενότητες που ακολουθούν περιγράφονται με περισσότερες λεπτομέρειες και αναλύονται περισσότερο διεξοδικά οι μηχανισμοί μέσω των οποίων, τα τρία αυτά μόρια συμβάλλουν στην επαγωγή των αμυντικών μηχανισμών των φυτών και την αύξηση της αντοχής τους στις αβιοτικές καταπονήσεις.

1.1 Το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂O₂)

Το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂O₂) που συνιστά το τελικό προϊόν της εξουδετέρωσης των ROS, ενώ σε μεγάλες συγκεντρώσεις είναι τοξικό και συνδέεται με κυτταρικές βλάβες (Dat et al., 2000), σε μικρές συγκεντρώσεις αποτελεί βασικό ρυθμιστικό παράγοντα των αυξητικών και αναπτυξιακών φυτικών διαδικασιών (Hung et al., 2005). Λόγω του μικρού του μεγέθους και της ικανότητας του να διαχέεται μέσω των κυτταρικών μεμβρανών όπως και λόγω της σχετικά μεγάλης διάρκειας ζωής του, θεωρείται ότι αποτελεί σημαντικό σηματοδοτικό μόριο που εμπλέκεται στις διαδικασίες του εγκλιματισμού, της αντιοξειδωτικής άμυνας, της στοματικής δραστηριότητας, της παραγωγής φυτοαλεξινών, της ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου και της φωτοσύνθεσης (Petrov and Van Breusegem, 2012).

1.1.1 Εξωγενής εφαρμογή H₂O₂ και αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις

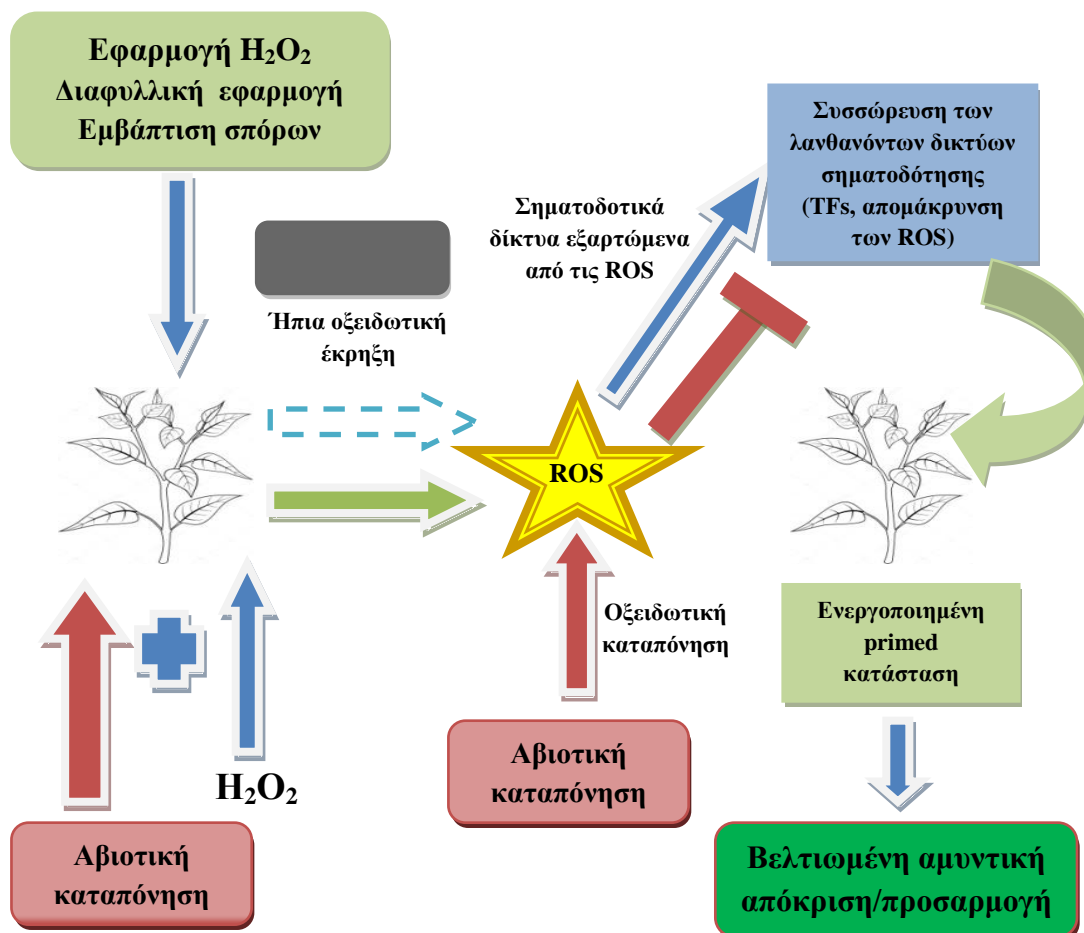
Από πολλές έρευνες της τελευταίας εικοσαετίας, που ανασκοπήθηκαν από τους Filippou et al. (2013) και από τους Hossain et al. (2015) έχει διαπιστωθεί ότι η μεταχείριση των σπόρων ή των φυτών με κατάλληλα επίπεδα εξωγενούς H₂O₂, είναι σε θέση να βελτιώσει την αντοχή τους στις αβιοτικές καταπονήσεις, μέσω της ρύθμισης πολλαπλών φυσιολογικών διαδικασιών όπως είναι η φωτοσύνθεση, καθώς και πολλαπλών οδών που σχετίζονται με τις καταπονήσεις. Ενδεικτικά σε έρευνα από τους Ashfaq et al. (2014) αναφέρθηκε ότι η εφαρμογή H₂O₂ σε φυτά σιταριού επηρέασε θετικά την ανάπτυξη τους, τόσο σε κανονικές συνθήκες όσο και σε συνθήκες αλατότητας. Η μεταχείριση των φυτών με συγκεντρώσεις 50 και 100 μM συνέβαλλε στη μείωση των επιπτώσεων της αλατότητας μέσω χαμηλότερων επιπέδων ιόντων Na⁺ και Cl⁻ και αυξημένων επιπέδων προλίνης και αφομοίωσης του αζώτου. Επιπλέον στα

φυτά όπου εφαρμόστηκε H_2O_2 , διαπιστώθηκε βελτίωση των υδατικών σχέσεων, αύξηση των φωτοσυνθετικών χρωστικών και μεγαλύτεροι ρυθμοί ανάπτυξης σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρες. Ανάλογη βελτίωση των παραπάνω παραμέτρων παρατηρήθηκαν και στα φυτά που αναπτύσσονταν σε κανονικές συνθήκες. Η αύξηση της αντοχής φυτών μουστάρδας συνεπεία της μεταχείρισης με H_2O_2 σε συνθήκες έλλειψης νερού, αποδόθηκε από τους Hossain and Fujita (2013) στην ενεργοποίηση των μεταβολικών οδών αποτοξίνωσης από τις ROS και τη μεθυλογλυοξάλη (MG), ενώ η βελτιωμένη απόκριση φυτών καλαμποκιού σε συνθήκες ωσμωτικής καταπόνησης συνδέθηκε με αυξημένα επίπεδα διαλυτών σακχάρων, προλίνης και πολυαμινών (Terzi et al., 2014). Ο ρόλος της εξωγενούς εφαρμογής H_2O_2 στην ρύθμιση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών σχετίστηκε από τους Moussa and Mohamed (2011) και Iseri et al. (2013) με την αύξηση της αντοχής στις χαμηλές θερμοκρασίες φυτών αρακά και τομάτας αντίστοιχα. Σε ανάλογους μηχανισμούς αποδόθηκε και η βελτιωμένη απόκριση των φυτών σε συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών από τους Wang et al. (2014). Τέλος σε συνθήκες συσσώρευσης βαρέων μετάλλων, η εφαρμογή H_2O_2 σε φυτά ρυζιού που αντιμετώπιζαν τοξικότητα καδμίου, συνέβαλλε στην αύξηση της αντοχής τους μέσω της συσσώρευσης αντιοξειδωτικών ουσιών και παραγόντων χηλικοποίησης, καθώς και μέσω της ενεργοποίησης των αντιοξειδωτικών συστημάτων (Hu et al., 2009).

1.1.2. Η μοριακή και βιοχημική βάση της επαγόμενης από το H_2O_2 αύξησης της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις

Στην προσπάθεια να αποσαφηνιστεί η μοριακή και βιοχημική βάση της αύξησης της αντοχής των φυτών στις καταπονήσεις μέσω της εφαρμογής εξωγενούς H_2O_2 , πολλές ερευνητικές εργασίες έχουν αποδείξει ότι το H_2O_2 που προκύπτει στο περιβάλλον του κυττάρου είναι σε θέση να εγείρει την επαγωγή δύο διαφορετικών αποκρίσεων: η μία μορφή απόκρισης βασίζεται στο H_2O_2 που παράγεται στα κυτταρικά οργανίδια, ενώ η άλλη μορφή -που ενσωματώνει το H_2O_2 στη σηματοδότηση- λειτουργεί ανεξάρτητα από τα ενδοκυτταρικά σημεία παραγωγής του H_2O_2 (Hussain et al., 2015). Από την ίδια ερευνητική ομάδα, διατυπώθηκε η θέση ότι το H_2O_2 συνιστά τμήμα των ανάδρομων σηματοδοτικών οδών από τα μιτοχόνδρια ή τους χλωροπλάστες, που ενεργοποιούν τα γονίδια καταπόνησης του πυρήνα. Στα πλαίσια αυτά η αύξηση της αντοχής των φυτών που διαπιστώθηκε μετά από εφαρμογή H_2O_2 αποδόθηκε στη ρύθμιση της μεταβολικών οδών αποτοξίνωσης από τις ROS και τη μεθυλογλυοξάλη

(MG) (Ashraf et al., 2014; Sathiyaraj et al., 2014; Wang et al., 2014), στη βελτίωση της δράσης των θερμοεπαγόμενων πρωτεϊνών (Heat-shock proteins) (Uchida et al., 2002; Wahid et al., 2007), στην ενίσχυση της βιοσύνθεσης της γλουταθειόνης και του ασκορβικού οξέος (Bai et al., 2011; Wang et al., 2014), στη βελτίωση στη βιοσύνθεση της προλίνης (Sathiyaraj et al., 2014; Terzi et al., 2014) και του αποκοπτικού οξέος (ABA) (Abass and Mohamed, 2011; Terzi et al., 2014), στην ενίσχυση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας και στη ρύθμιση πολλαπλών γονιδίων και οδών που σχετίζονται με τις καταπονήσεις (Hossain et al., 2015).



Σχήμα 6. Υποθετικό μοντέλο των επιδράσεων του H₂O₂ στους αμυντικούς μηχανισμούς των φυτών που σχετίζονται με τις αβιοτικές καταπονήσεις. Η μεταχείριση των φυτών με H₂O₂ είναι σε θέση να επάγει την αύξηση της αντοχής των φυτών στις καταπονήσεις μέσω της πρόκλησης ήπιας οξειδωτικής έκρηξης. Η έκρηξη αυτή στη συνέχεια ενεργοποιεί το εξαρτώμενο από τις ROS σηματοδοτικό δίκτυο, το οποίο συμβάλλει στη συσσώρευση λανθανόντων αμυντικών πρωτεϊνών όπως είναι τα αντιοξειδωτικά ένζυμα και οι μεταγραφικοί παράγοντες (TFs). Το τελικό αποτέλεσμα είναι η επαγωγή της primed κατάσταση και η βελτιωμένη απόκριση στις καταπονήσεις. (Τροποποιημένο σχήμα από τους Hossain et al., 2015)

Σύμφωνα με τους Mittler et al. (2011) ένα κύμα H_2O_2 (**H_2O_2 -wave**) λειτουργεί ως γενικό σήμα επαγωγής της άμυνας, μεταδίδοντας την τοπική επίδραση μιας αβιοτικής πρόκλησης σε όλα τα τμήματα του φυτού. Κατά την επίδραση του αβιοτικού παράγοντα ο διασυστηματικός εγκλιματισμός του φυτού προωθείται από την αλληλεπίδραση του κύματος H_2O_2 με το NO και με τα ορμονικά σήματα που ενεργοποιούνται στους ιστούς του φυτού (Suzuki et al., 2013), καθώς η συσσώρευση H_2O_2 κατά τη διάρκεια της καταπόνησης επηρεάζει το επίπεδο και τις λειτουργίες του ABA, των αυξινών, των μπρασινοστεροειδών, των γιββελλινών και του NO (González-Bosch, 2018). Η εφαρμογή του H_2O_2 στα φυτά προκαλεί ήπιο οξειδωτικό επεισόδιο με αποτέλεσμα τη διατάραξη της ισορροπίας των ROS και την ανάπτυξη του σηματοδοτικού τους δικτύου. Το δίκτυο των ROS επάγει τη συσσώρευση λανθανόντων πρωτεϊνών καταπόνησης όπως είναι τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, καθώς και τα γονίδια και τους μεταγραφικούς παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για τη βιοσύνθεση ωσμωλυτών και επιπλέον ενεργοποιεί τους διαύλους της φωσφορυλίωσης χρησιμοποιώντας τις μιτωτικές πρωτεϊνικές κινάσες. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η επαγωγή της primed κατάστασης και η αύξηση της ανθεκτικότητας (Hossain et al., 2015) Στο **σχήμα 7** απεικονίζεται σχηματικά το πιθανό μοντέλο επίδρασης του H_2O_2 στους αμυντικούς μηχανισμούς των φυτών που σχετίζονται με τις αβιοτικές καταπονήσεις, όπως προτάθηκε από τους Hussain et al. (2015).

1.1.3 Συμπεράσματα και προοπτικές

Εν κατακλείδι, αν και ο κεντρικός ρόλος του H_2O_2 στην ενδοκυτταρική και στη διασυστηματική σηματοδότηση των φυτών που συμβάλλουν στην αύξηση της αντοχής τους και στον εγκλιματισμό είναι αδιαμφισβήτητος, υπάρχουν ακόμη πολλά αναπάντητα ερωτήματα γύρω από τους μηχανισμούς αντίληψης του από τα φυτά, καθώς επίσης και γύρω από τον ρόλο των πολυάριθμων παραγόντων που υπεισέρχονται στην επαγόμενη από το H_2O_2 μεταγωγή της σηματοδότησης και την ανάπτυξη των αντιοξειδωτικών αποκρίσεων (Hussain et al., 2015). Από τους Noctor et al. (2018) αναφέρθηκε ότι η σηματοδότηση των ROS συνδέεται με αυξημένη ροή αντιοξειδωτικών παραγόντων και ιδιαίτερα θειολικών ουσιών όπως είναι η γλουταθειόνη. Στην ίδια δημοσίευση παρατίθενται επίσης και πολλά νεότερα δεδομένα γύρω από την πολυπλοκότητα στη σηματοδότηση των ROS, ενώ από τους Farnese et al. (2016) αναλύεται η αλληλεπίδραση των ROS με τις μιτωτικές πρωτεϊνικές κινάσες,

το NO και άλλα σηματοδοτικά μόρια όπως είναι τα ιόντα ασβεστίου και οι φυτοορμόνες κατά την απόκριση των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις.

Η κατανόηση της φυσιολογικής επίδρασης του H₂O₂ στα φυτά και πιο συγκεκριμένα του ρόλου του στην ρύθμιση της αντιοξειδωτικής άμυνας θα συνδράμει τα μέγιστα στην δημιουργία φυτών με αυξημένες αντοχές στις οξειδωτικές καταπονήσεις που σχετίζονται με τις αβιοτικές προκλήσεις. Τέλος η ταυτοποίηση των λεπτών και ευαίσθητων μηχανισμών που χρησιμοποιούν τα φυτά προκειμένου να χρησιμοποιούν προς όφελος τους το H₂O₂ όπως επίσης και των σχετιζόμενων σηματοδοτικών διαύλων, ίσως αποτελέσει το κλειδί για την αύξηση της παραγωγικότητας και των αποδόσεων των καλλιεργειών.

1.2 Το οξείδιο του αζώτου (NO)

Το οξείδιο του αζώτου είναι ένα μικρό, άχρωμο, βιοενεργό μόριο σε αέρια μορφή που συμμετέχει σε πολλές φυσιολογικές και αναπτυξιακές διαδικασίες των φυτών ανάμεσα στις οποίες και στην απόκριση στις περιβαλλοντικές προκλήσεις (Filippou et al 2012). Βασικές φυτικές λειτουργίες όπως η βλάστηση των σπόρων, ο σχηματισμός των ριζών, η στοματική συμπεριφορά, η άνθηση, η γήρανση, η φωτοσύνθεση και η δημιουργία συμβιωτικών σχέσεων ενορχηστρώνονται σε μεγάλο βαθμό από τη δράση του NO (Farnese et al., 2016) και για το λόγο αυτό θεωρήθηκε ως φυτική ορμόνη (Beligni and Lamattina, 2001). Λόγω του μικρού του μεγέθους και των λιπόφιλων ιδιοτήτων του, το NO διαπέρνα εύκολα τις κυτταρικές μεμβράνες και λειτουργεί ως βασικό σηματοδοτικό μόριο που διευκολύνει την κυτταρική επικοινωνία. Η έκθεση των φυτών σε συνθήκες καταπόνησης εκτός από την συσσώρευση ROS, συνοδεύεται και από ταχεία αύξηση στην παραγωγή του NO. Υψηλά επίπεδα NO συνδέονται με σειρά αρνητικών επιδράσεων στα φυτά όπως μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας, ανάσχεση της ανάπτυξης των βλαστών και των ριζών, βλάβη των μεμβρανών, κατακερματισμό του DNA και θάνατο του κυττάρου (Leshem et al., 1998; Pedroso et al., 2000). Ωστόσο χαμηλά επίπεδα NO στα φυτά συνδέονται με προστατευτικές ιδιότητες και προώθηση της αύξησης και της ανάπτυξης (Qiao et al., 2014).

1.2.1. Εξωγενής εφαρμογή NO και ανοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις

Από το 1998 όταν αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά η συμμετοχή του NO στη γήρανση και την άμυνα των φυτών, πλήθος ερευνών απέδειξαν ότι η ικανότητα των φυτών να αντιμετωπίζουν τις αβιοτικές προκλήσεις συνδέεται με σηματοδοτικά φαινόμενα, στα οποία το NO αλληλεπιδρώντας με τις ορμόνες και τις ROS, έχει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης και της πρωτεϊνικής δραστηριότητας σε μετα-μεταφραστικό επίπεδο (Freschi, 2013, Simontacchi et al., 2015). Επιπρόσθετα έχει διαπιστωθεί ότι η μεταχείριση των φυτών με ουσίες μικρού μοριακού βάρους που λειτουργούν ως δότες NO, όπως είναι το SNP-νιτροπρωσικό νάτριο ή το KNO₂ –Νιτρώδες κάλιο, προκαλεί σημαντική βελτίωση της αμυντικής απόκρισης των φυτών και αύξηση της ανοχής τους σε πολλές μορφές μελλοντικών αβιοτικών καταπονήσεων (εκδήλωση φαινομένου priming). Στις δημοσιεύσεις από τους Filippou et al. (2012), Seabra and Oliveira (2016) και Sami et al. (2018) παρατίθενται ένας πολύ μεγάλος αριθμός ερευνών που τεκμηριώνουν τη συμβολή του NO στον εγκλιματισμό των φυτών σε διάφορες μορφές αβιοτικής καταπόνησης όπως η **ξηρασία** (Hatamzadeh et al., 2014; Cechin et al., 2015; Ziogas et al., 2015; Silveira et al., 2016, Ullah et al.; 2016, Zhang et al., 2016 κ.α.), η **αλατότητα** (Chen et al., 2013; Fan et al., 2013; Egbichi et al., 2014; Mostofa et al., 2015; Poor et al., 2015; Ahmad et al., 2016; Oliveira et al., 2016 κ.α.), **τα βαρέα μέταλλα** (Chen et al 2015; Liu et al. 2015; Singh et al. 2016; Yang et al 2016 κ.α.) **οι ακραίες θερμοκρασίες** (Yang et al. 2011; Bavita et al., 2012; Chen et al., 2013; Pakkish and Tabatabaenia, 2016 κ.α.), **οι UV-B ακτινοβολίες** (Cassia et al., 2019 κ.α.).

Αν και η προσέγγιση αυτή έχει αποδειχθεί ότι συνιστά μια αποτελεσματική και οικονομικά αποδοτική πρακτική, σε πολλές περιπτώσεις η εφαρμογή ορισμένων ουσιών όπως το SNP, όταν εφαρμόζεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, συνοδεύεται με ανεπιθύμητες παρενέργειες καθώς επίσης και με έκλυση τοξικών παραπροϊόντων (Seabra and Oliveira, 2016). Όπως και με τα άλλα βιολογικά συστήματα, η αποτελεσματικότητα του NO στα φυτά εξαρτάται από τη συγκέντρωση, τη ροή, τη διάρκεια και το τμήμα του φυτού όπου εφαρμόζεται (Qiao et al., 2014). Για όλους τους παραπάνω λόγους τα τελευταία χρόνια εξετάζονται ως δότες NO, φυσικοί παράγοντες όπως η S-νιτροσογλουταθειόνη, ενώ παράλληλα αναζητούνται καινοτόμες λύσεις όπως η χρήση της Νανοτεχνολογίας προκειμένου να ελέγχεται η ροή και οι ποσότητες του

NO που απελευθερώνεται στα φυτά από τους ενσωματωμένους στα νανουλικά δότες NO (Seabra and Oliveira, 2016).

1.2.2 Η φυσιολογική βάση της προστασίας από τους δότες NO

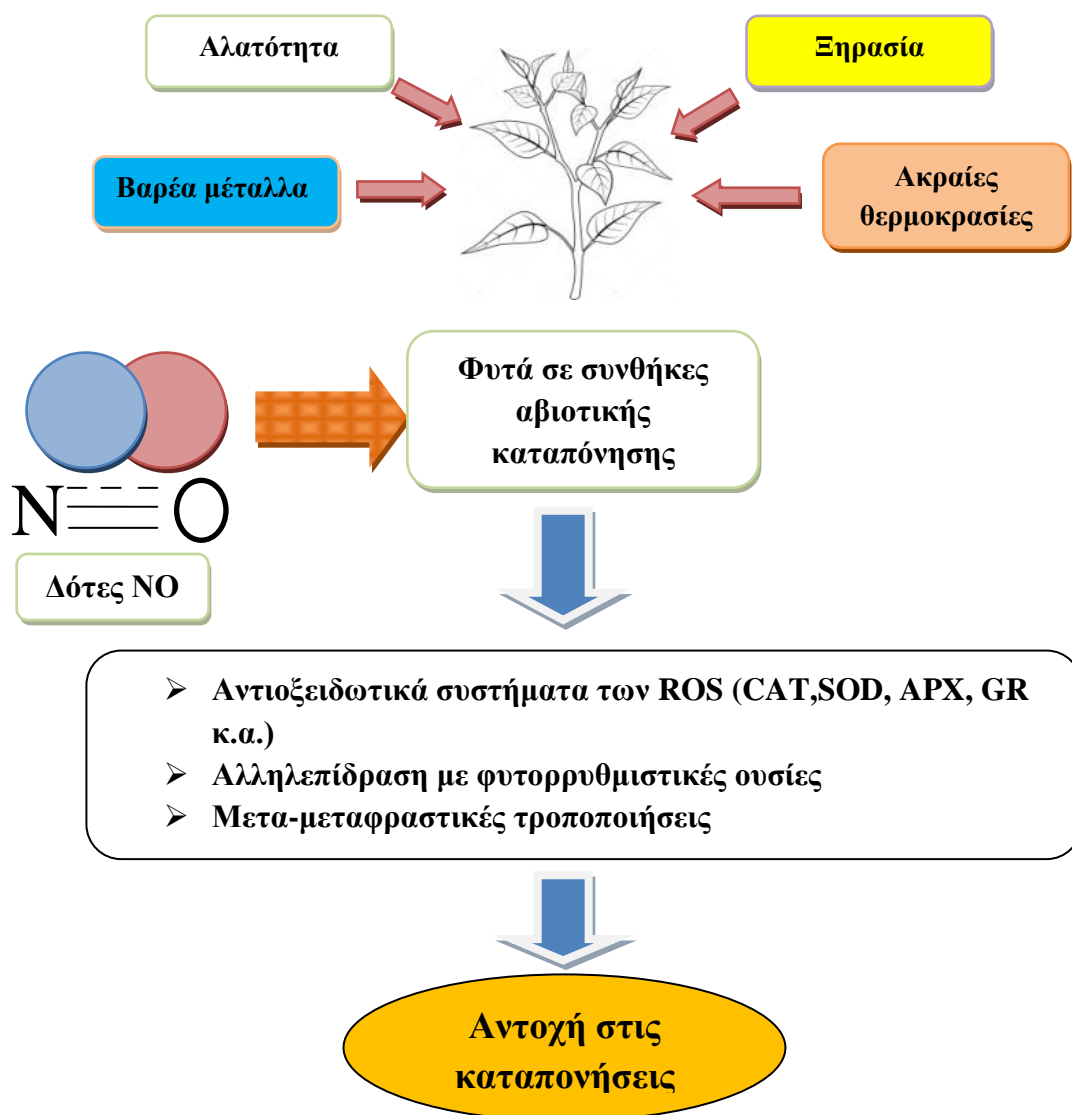
Η επαγωγή της αντιοξειδωτικής άμυνας των φυτών μέσω της βελτίωσης της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζυμικών συστημάτων (SOD, CAT, APX, POD, και GR) θεωρείται ως ο κύριος μηχανισμός μέσω του οποίου, η εξωγενής χορήγηση NO στα φυτά συμβάλλει στην άμβλυνση των επιπτώσεων των αβιοτικών καταπονήσεων (Kaya et al., 2015; Molassiotis et al., 2016). Η επίδραση του NO στην αντιοξειδωτική άμυνα είναι ιδιαίτερα περίπλοκη καθώς το NO έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζει τόσο τα αντιοξειδωτικά όσο και τα προοξειδωτικά συστήματα (Groί et al., 2013). Σύμφωνα με τους Palmieri et al. (2008) το NO διαθέτει από μόνο του αντιοξειδωτικές ιδιότητες και διαμορφώνει τα επίπεδα και την τοξικότητα των ROS ρυθμίζοντας την παραγωγή και την απομάκρυνση τους. Πιο συγκεκριμένα το NO λόγω της παρουσίας ενός ασύζευκτου ηλεκτρονίου στο μόριο του, λειτουργεί ως ενεργός ρίζα αζώτου (RNS) που σε υψηλά επίπεδα συνδέεται με νιτροδοτική καταπόνηση. Όταν το NO αντιδρά με χαμηλές συγκεντρώσεις του υπεροξειδικού ανιόντος (O_2^-) οδηγεί στη σύνθεση του ανιόντος του υπεροξυνιτρίτη ($ONOO^-$) που προκαλεί σοβαρές βλάβες στα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και το DNA. Από την άλλη πλευρά όταν η συσσώρευση του H_2O_2 είναι σε επίπεδα τέτοια ώστε να προκαλέσει τοξικά φαινόμενα, η παρουσία του NO και ο σχηματισμός του ανιόντος του υπεροξυνιτρίτη έχουν λιγότερο επιβλαβή επίδραση από ότι το υπεροξειδικό ανιόν (O_2^-) από μόνο του και υπό αυτές τις συνθήκες, το NO είναι σε θέση να περιορίσει τις βλάβες και συνδέεται με προστατευτικές ιδιότητες. Αυτός είναι ουσιαστικά και ο διπλός ρόλος που αποδίδεται στο NO στα βιολογικά συστήματα, καθώς όπως διαπιστώνεται διαθέτει τόσο τοξικές ως RNS, όσο και προστατευτικές ιδιότητες (Beligni and Lamattina, 1999).

Η πρόκληση από τη δράση του NO ως χημικού αγγελιοφόρου, μεταμεταφραστικών τροποποιήσεων σε πρωτεΐνες στόχους (S-νιτροσουλίωση, νιτροσουλίωση των μεταλλοπρωτεϊνών, νίτρωση της τυροσίνης, S-γλουταθειονυλίωση κ.ά.) έχει αναγνωριστεί ως ένας ιδιαίτερα σημαντικός μοριακός μηχανισμός προστασίας των φυτών, που υποστηρίζει τον εγκλιματισμό τους κατά την επίδραση των καταπονήσεων (Santisree et al. 2015; Ziogas et al., 2015; Molassiotis et al., 2016).

Η S-νιτροσυλίωση συνιστά την πιο μελετημένη NO-εξαρτώμενη μετα-μεταφραστική τροποποίηση στα φυτά και θεωρείται ουσιαστικός παράγοντας του γενικού μεταβολισμού, της φωτοσύνθεσης, της κυτταρικής σηματοδότησης και των αποκρίσεων στις περιβαλλοντικές καταπονήσεις (Astier et al., 2012). Με τον όρο S-νιτροσυλίωση προσδιορίζεται η δέσμευση του NO⁺ με ομοιοπολικό δεσμό στη σουλφιδρυλική ομάδα του αμινοξέος κυστεΐνη (Cys), που οδηγεί στο σχηματισμό S-νιτροσοθειόλης (RSNO). Ανάλογα με το είδος της πρωτεΐνης που υφίσταται την τροποποίηση, η S-νιτροσυλίωση είναι σε θέση να προκαλέσει τη μεταβολή της ενζυμικής δράσης ή της λειτουργικότητας της εν λόγω πρωτεΐνης υπό συγκεκριμένες συνθήκες (Ζιώγας, 2014). Από νεότερες έρευνες έχει αποδειχθεί ότι η S-νιτροσυλίωση εμπλέκεται και στις επιδράσεις των φυτορυθμιστικών ουσιών και στην γονιδιακή έκφραση (Del Castello et al., 2019). Μέχρι και σήμερα αρκετές πρωτεΐνες που σχετίζονται με το φυτικό μεταβολισμό έχουν εντοπιστεί ότι υποβάλλονται σε S-νιτροσυλίωση, όπως η αφυδρογονάση της 6- φωσφορικής γλυκόζης (GAPDH) υπό συνθήκες αλατότητας, υψηλών θερμοκρασιών και προσβολής από παθογόνα, σε φυτά *Arabidopsis*, καπνού και ρυζιού. Άλλες πρωτεΐνες που υφίστανται ανάλογη τροποποίηση είναι τα αντιοξειδωτικά ένζυμα CAT και APX, η κινάση του φωσφογλυκερικού οξέος κατά την πρόκληση από παθογόνα, τα φωτοσυνθετικά ένζυμα (Rubisco) κατά την επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών και εφαρμογής S-νιτροσογλουταθειόνης κ.ά. (Sami et al., 2018) Στα πλαίσια αυτά έρευνες από τους Yun et al. (2011) και Ortega-Galisteo et al. (2012) απέδειξαν ότι η S-νιτροσυλίωση της NADPH-οξειδάσης και της γλυκολικής οξειδάσης αντίστοιχα, είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής ROS από τα ένζυμα αυτά. Από τους Bai et al. (2011) επίσης αναφέρθηκε ότι η αύξηση στα επίπεδα των S-νιτροσυλιωμένων αντιοξειδωτικών πρωτεϊνών σχετίστηκε με μειωμένη συσσώρευση H₂O₂ και κατά συνέπεια με μικρότερη οξείδωση των πρωτεϊνών, σε σπόρους του φυτού *Antiaris toxicaria*. Γενικότερα η S-νιτροσυλίωση των πρωτεϊνών θεωρείται μια παροδική και αναστρέψιμη (μέσω της απονιτροσυλίωσης) τροποποίηση των πρωτεϊνών, που συμβάλλει στην προστασία τους από την μη αναστρέψιμη απώλεια της λειτουργικότητας τους που προκαλεί η οξείδωση (μη αναστρέψιμη τροποποίηση) τους (Molassiotis et al., 2016).

Ένας άλλος μηχανισμός S-νιτροσυλίωσης είναι η αντίδραση του NO με τα ιόντα των μεταβατικών μετάλλων των πρωτεϊνών, που είτε εντοπίζονται ελεύθερα είτε είναι δεσμευμένα στο μη πρωτεϊνικό τμήμα διάφορων μεταλλοπρωτεϊνών όπως της

οξειδάσης του κυτοχρώματος *c* και της αιμοσφαιρίνης (Sarti et al., 2000), και οδηγεί στο σχηματισμό των νιτροσυλιωμένων συμπλόκων (Yu et al., 2014). Οι μεταμεταγραφικές αυτές τροποποιήσεις ρυθμίζουν τις δραστηριότητες ενζύμων όπως είναι το κυτόχρωμα 450 ενώ επιπλέον από τους Oliveira and Salgado (2014) έχει αναφερθεί ότι ο σχηματισμός νιτροσυλιωμένου συμπλόκου στην οξειδάση του κυτοχρώματος *c* μειώνει τη μιτοχονδριακή αναπνοή και συμβάλλει στον εγκλιματισμό σε συνθήκες υποξίας (Oliveira and Salgado, 2014).



Σχήμα 7. Σχηματική παρουσίαση του γενικού μηχανισμού δράσης των δοτών NO στα φυτά υπό διαφορετικές συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης, που έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της αντοχής/ανθεκτικότητας των φυτών (Seabra and Oliveira 2016).

Η νίτρωση της τυροσίνης δηλαδή η προσθήκη μιας νιτροομάδας ($-NO_2$) σε μια από τις δυο *όρθο* θέσεις του αρωματικού δακτυλίου της τυροσίνης, συνιστά μια ακόμη μετα-μεταγραφική τροποποίηση που θεωρείται βιοδείκτης νιτρο-οξειδωτικής καταπόνησης. Σύμφωνα με τους Corpas et al. (2013), η τροποποίηση αυτή παρεμβαίνει στο φυτικό μεταβολισμό και τον οδηγεί σε μια προ-οξειδωτική κατάσταση η οποία διακόπτει τη σηματοδότηση μέσω του NO και επιπλέον προκαλεί μεταβολές στη δομή και τη λειτουργία των πρωτεϊνών, ορισμένες από τις οποίες συμβάλλουν στην αλλαγή της κυτταρικής ομοιόστασης.

Εκτός από την πρόκληση μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων, η διαμόρφωση της γονιδιακής έκφρασης και η αλληλεπίδραση του NO με τις φυτορρυθμιστικές ουσίες και με τις άλλες RONNS –όπως εξετάστηκε- φαίνεται ότι αποτελούν τη βάση για τη λειτουργία του NO στα φυτά, σε συνθήκες αβιοτικών καταπονήσεων. Το NO ρυθμίζει την έκφραση πολλών γονιδίων που εμπλέκονται σε πολλές λειτουργίες των φυτών, ανάμεσα στις οποίες και τις αμυντικές αποκρίσεις απέναντι στις αβιοτικές καταπονήσεις, ρυθμίζοντας τη γονιδιακή έκφραση των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Το NO είναι επίσης σε θέση να διαμορφώνει την ομοιόσταση και την μεταγωγή του σήματος διάφορων φυτορρυθμιστικών ουσιών όπως και οι ουσίες αυτές είναι δυνατόν να ρυθμίζουν τα επίπεδα του NO στα φυτά (Del Castello et al., 2019). Στη δημοσίευση από τους Sami et al. (2018) υπάρχει εκτεταμένη αναφορά γύρω από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του NO και των φυτοορμονών σε συνθήκες καταπόνησης και παράλληλα παρατίθενται και αναλύονται όλα τα τελευταία δεδομένα γύρω από την κατανόηση αυτών των πολύπλοκων μηχανισμών. Στο **σχήμα 7** συνοψίζονται σχηματικά οι κυριότεροι μηχανισμοί που επάγονται από το NO και τους δότες του στα φυτά υπό συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης σύμφωνα με τους Seabra and Oliveira (2016).

1.2.3 Συμπεράσματα και προοπτικές

Παρά το μεγάλο αριθμό των ανακαλύψεων γύρω από τις λειτουργίες και τα σημεία όπου εκδηλώνεται η δράση του NO, η σχέση μεταξύ της ομοιόστασης του φυτικού κυττάρου και της φυσιολογικού ρόλου του NO δεν είναι πλήρως κατανοητή. Για παράδειγμα υπάρχουν πολλά αναπάντητα ερωτήματα που αφορούν τη μετάδοση του σήματος του NO, την εξειδίκευση των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων, τις αλληλεπιδράσεις του NO με τις φυτοορμόνες καθώς επίσης και τα όρια των συγκεντρώσεων του NO που συνδέονται με τις διάφορες βιολογικές διεργασίες στα

διάφορα φυτικά όργανα. Επιπλέον μια εξαιρετικά ενδιαφέρουσα πτυχή ή οποία δεν έχει επαρκώς μελετηθεί, αφορά τη μοριακή εμπλοκή του NO σε πολλά επίπεδα της γονιδιακής οργάνωσης και έκφρασης καθώς επίσης και το πώς κατευθύνεται σε συγκεκριμένες περιοχές του DNA και προκαλεί επιγενετικές μεταβολές (Del Castello et al., 2019). Η ικανότητα των φυτών, μετά από εφαρμογή NO, να εγκλιματίζονται στις μελλοντικές καταπονήσεις μέσω της μνήμης καταπόνησης, έχει αναφερθεί σε αρκετές δημοσιεύσεις (Del Rio, 2015). Η εξέλιξη των φυτών όπως και όλων των οργανισμών επηρεάζεται έντονα από τους επιγενετικούς μηχανισμούς καθώς επιδρούν στη γονιδιακή έκφραση (Del Castello et al., 2019). Η έρευνα που αφορά τις ρυθμιστικές ιδιότητες του NO ως επιγενετικού παράγοντα βρίσκεται ακόμη σε πολύ πρώιμο στάδιο και μόνο πρόσφατα δύο τροποποιήσεις στις ιστόνες αναγνωρίστηκαν ως στόχοι της S-νιτροσυλίνωσης σε φυτά *Arabidopsis* (Mengel et al., 2017). Επιπλέον από τους Rai et al. (2018) ανακοινώθηκε ότι η μεθυλίωση του DNA αυξάνεται μετά από μεταχείριση με νιτροπρωσσικό νάτριο σε φυτά *Lablab purpureus L.* που υποβάλλονται σε υψηλές θερμοκρασίες. Η κατανόηση της επιγενετικής ρύθμισης από το NO αποτελεί σημαντική πρόκληση που θα ανοίξει νέες προοπτικές στην έρευνα και στην αξιοποίηση του NO ως σηματοδοτικό μόριο, στη διαχείριση των αβιοτικών καταπονήσεων.

1.3 Το Υδρόθειο (H₂S)

Το H₂S είναι ένα άχρωμο, εύφλεκτο αέριο, με χαρακτηριστική δυσάρεστη οσμή, που παλαιότερα θεωρούνταν τοξικό ενδιάμεσο προϊόν του κυτταρικού μεταβολισμού και σχετιζόταν με επιβλαβείς επιπτώσεις στην αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών (Filippou et al., 2012). Ωστόσο σχετικά πρόσφατα, έχει αποδειχθεί ότι το H₂S σε μικρές συγκεντρώσεις λειτουργεί ως χημικός αγγελιοφόρος, ανάλογης σημασίας με το NO και το H₂O₂ και εμπλέκεται σε πληθώρα φυσιολογικών λειτουργιών όπως είναι η βλάστηση των σπόρων (Liu and Lal, 2015), ο σχηματισμός των ριζών (Lin et al., 2012), η στοματική συμπεριφορά (Papanatsiou et al., 2015), ο γηρασμός των ανθέων (Zhang et al., 2011) και η φωτοσύνθεση (Duan et al., 2015). Τα φυτά είναι σε θέση να συνθέτουν ενεργά H₂S και η συσσώρευση ενδογενούς H₂S αποτελεί κοινή απόκριση των φυτών σε διάφορες μορφές βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων και σχετίζεται στενά με την αύξηση της αντοχής/ανθεκτικότητας τους (Li et al., 2016).

1.3.1 Εξωγενής εφαρμογή H₂S και αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις

Πολλά πειραματικά αποτελέσματα των δύο τελευταίων δεκαετιών έχουν αποδείξει ότι η εξωγενής εφαρμογή ουσιών που λειτουργούν ως δότες H₂S (όπως είναι το NaHS- όξινο θειούχο νάτριο ή ο παράγοντας GYY4137) συσχετίζεται με άμβλυνση των δυσμενών επιδράσεων των αβιοτικών καταπονήσεων και επαγωγή του εγκλιματισμού (Li et al., 2016). Πιο συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί ο κομβικός ρόλος του H₂S στη ρύθμιση της απόκρισης των φυτών και την αύξηση της αντοχής τους, σε σειρά αβιοτικών καταπονήσεων όπως η **ξηρασία** (Shan et al., 2011; Chen et al., 2016), η **ωσμωτική καταπόνηση** (Khan et al., 2017), οι **χαμηλές θερμοκρασίες** (Fu et al., 2013), η **αλατότητα** (Lai et al., 2014) και τα **βαρέα μέταλλα** (Fang et al., 2017). Ενδεικτικά, σε φυτά καπνού, καλαμποκιού, σόγιας και φράουλας, η προ-μεταχείριση τους με H₂S συσχετίστηκε με την ικανότητα των φυτών να επιβιώνουν σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας (Li et al., 2012b; Li et al. 2013a), αλατότητας και υδατικής καταπόνησης (Zhang et al., 2010b; Christou et al., 2013). Επιπλέον φυτά σιταριού στα οποία το H₂S χορηγήθηκε εξωγενώς, εγκλιματίστηκαν σε συνθήκες τοξικότητας χαλκού (Cu), αλουμινίου (Al) και χρωμίου (Cr) (Zhang et al., 2008a; Zhang et al. 2010a; Zhang et al. 2010c), ενώ φυτά αγγουριού εγκλιματίστηκαν σε συνθήκες τοξικότητας βορίου (B) (Wang et al., 2010) Στις ανασκοπήσεις ερευνών από τους Filippou et al. (2013), Jin and Pei, (2015), Scuffi et al. (2016), Yamasaki and Cohen, (2016), Banerjee et al. (2018), συναντάται ένας πολύ μεγάλος αριθμός πειραματικών αποτελεσμάτων που τεκμηριώνουν την θετική επίδραση του H₂S τόσο στις φυσιολογικές λειτουργίες όπως η βλάστηση των σπερμάτων, όσο και στην αντιμετώπιση διαφόρων μορφών αβιοτικών καταπονήσεων.

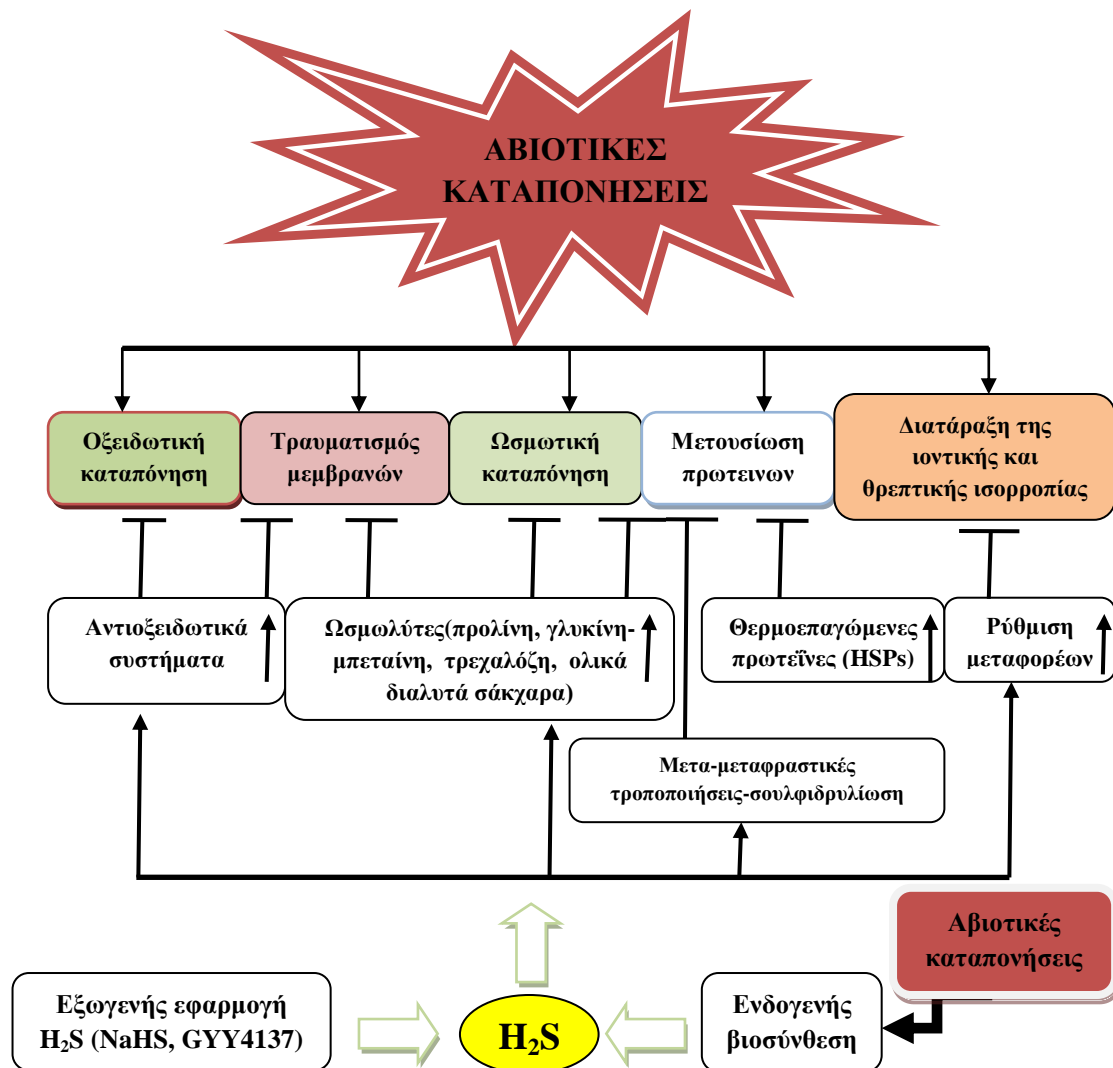
1.3.2. Οι επαγόμενοι από τους δότες H₂S μηχανισμοί αύξησης της αντοχής

Σύμφωνα με τα πορίσματα πολλών ερευνών που έχουν διεξαχθεί τα τελευταία είκοσι χρόνια, η διέγερση του αντιοξειδωτικού μηχανισμού, η αλληλεπίδραση με άλλα σηματοδοτικά μόρια, η πρόκληση μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων καθώς και η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης φαίνεται ότι συνιστούν τους κυριότερους μηχανισμούς μέσω των οποίων εκδηλώνεται η προστατευτική δράση του H₂S στα φυτά απέναντι στις αβιοτικές καταπονήσεις (Ζιώγας, 2014; Min et al., 2016; Banerjee et al., 2018). **(σχήμα 8)**

Πιο συγκεκριμένα η μεταχείριση των φυτών με ουσίες που λειτουργούν ως δότες H_2S έχει ως αποτέλεσμα την υπερέκφραση των αναβολικών γονιδίων που σχετίζονται με το H_2S (Christou et al., 2013) και οδηγεί σε αύξηση της παραγωγής και σε συσσώρευση H_2S . Λόγω της ιδιαίτερα λιπόφιλης φύσης του, το H_2S διαχέεται σε όλα τα κύτταρα και τους ιστούς του φυτού και προωθεί τον διασυστηματικό εγκλιματισμό και την διασταυρωτή ανθεκτικότητα σε πολλά είδη αβιοτικών καταπονήσεων μέσω της προενεργοποίησης του συνόλου των αντιοξειδωτικών μηχανισμών των φυτών. Από πολλές μελέτες έχει διαπιστωθεί η αύξηση στη δραστηριότητα των ενζυμικών συστημάτων SOD, CAT, APX, POD, και GR όπως επίσης και αυξημένη παρουσία θερμοεπαγόμενων πρωτεϊνών (HSPs) (Wang et al., 2012; Christou et al., 2013) μετά από μεταχείριση των φυτών με H_2S . Επιπρόσθετα το H_2S επάγει τη συσσώρευση μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών παραγόντων όπως είναι το ασκορβικό οξύ (AsA), η γλουταθειόνη (GSH), τα φαινολικά παράγωγα και τα φλαβονοειδή καθώς και ωσμωλυτών όπως είναι η προλίνη και η γλυκίνη-μπεταΐνη. Λόγω της επιστράτευσης του συνολικού αντιοξειδωτικού οπλοστασίου των φυτών, η δράση της λιποξυγενάσης (LOX), όπως και τα επίπεδα των ROS, διατηρούνται σε χαμηλά επίπεδα και αποφεύγεται έτσι η υπεροξειδωση των λιπιδίων των μεμβρανών και η συσσώρευση μαλονδιαλδεΐδης. Η ρύθμιση καθώς και η βελτίωση της δράσης των μεταφορέων είναι μια ακόμη προστατευτική ιδιότητα που αποδίδεται στο H_2S καθώς συμβάλλει στη διατήρηση της ιοντικής και θρεπτικής ομοιόστασης, στη διατήρηση υψηλού υδατικού δυναμικού καθώς και στην μη διατάραξη της αναλογίας των ιόντων K^+/Na^+ κατά την επίδραση της καταπόνησης (Banerjee et al., 2018).

Η πρόκληση μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων (**Σουλφυδρυλίωση**) σε πρωτεΐνες στόχους μέσω της αλληλεπίδρασης του H_2S με τις σουλφυδρυλικές ομάδες (-SH) των πρωτεϊνικών μορίων, τα οποία φέρουν αμινοξέα Cys στην διαμόρφωση τους, συνιστά έναν ακόμη σημαντικό μοριακό μηχανισμό προστασίας των φυτών από τις αβιοτικές καταπονήσεις (Ζιώγας, 2014). Η επίδραση του H_2S στις σουλφυδρυλικές των αμινοξέων κυστεΐνης προκαλεί τη μετατροπή τους σε -S-S-H (Ζιώγας, 2014) που μέσω της αναγωγικής τους δράσης εμπλέκονται στη σηματοδότηση και θεωρούνται αποτελεσματικοί παράγοντες απομάκρυνσης των ROS και των RNS (Filipovic and Jonovic, 2017). Πρόσφατες έρευνες απέδειξαν ότι η μετα-μεταφραστική αυτή τροποποίηση εμπλέκεται και μεσολαβεί σε πληθώρα κυτταρικών δραστηριοτήτων (Filipovic, 2015). Πρωτεωμική ανάλυση φυτών Arabidopsis από τους Aroca et al.

(2017), έδειξε ότι τουλάχιστον το 5% των πρωτεϊνών υφίστανται ενδογενώς αυτή την τροποποίηση. Οι πρωτεΐνες αυτές εμπλέκονται σε κρίσιμες βιοχημικές οδούς όπως ο γλυκολυτικός κύκλος, ο κύκλος του τρικαρβοξυλικού οξέος (TCA), ο κύκλος Calvin-Benson και η βιοσύνθεση του αμύλου. Επιπλέον από την ίδια ερευνητική ομάδα



Σχήμα 8. Μηχανισμοί που υποστηρίζουν την επαγόμενη από το H₂S αύξηση της αντοχής στα φυτά. Οι αβιοτικές καταπονήσεις προκαλούν οξειδωτική καταπόνηση, τραυματισμό των μεμβρανών, ωσμωτική καταπόνηση, μετουσίωση πρωτεϊνών καθώς επίσης και διατάραξη της ιοντικής και θρεπτικής ισορροπίας. Η εξωγενής εφαρμογή H₂S όπως και η ενδογενής βιοσύνθεση του συμβάλουν στην μείωση των βλαβών μέσω της βελτίωσης της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας, της βιοσύνθεσης ωσμωλυτών και θερμοεπαγόμενων πρωτεϊνών, της ρύθμισης της ιοντικής και της θρεπτικής ισορροπίας και της πρόκλησης μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων. Τροποποιημένο σχήμα από τους *Min et al. (2016)* και *Banerjee et al. (2018)*

ανακαλύφθηκε ότι το ένζυμο (Atg18a) αποτελεί στόχο της σουλφιδρυλίωσης και μέσω αυτής της τροποποίησης παρέχεται προστασία σε αυτό από την ξηρασία, την αλατότητα και την οξειδωτική καταπόνηση (Aroca et al., 2017). Η επαγωγή της

σουλφυδρυλίωσης αποτρέπει την οξειδωτική τροποποίηση της κυστεΐνης (μη αναστρέψιμη μεταβολή) και γενικότερα θα μπορούσε να απεικονισθεί ως προστατευτικός μηχανισμός κατά τη διάρκεια της επαγόμενης από το H₂O₂ οξειδωτικής καταπόνησης. (Wedmann et al., 2016) .

Οι φυτορρυθμιστικές ουσίες είναι τα πιο σημαντικά μόρια σηματοδότησης και κάθε πιθανό μόριο σηματοδότησης αλληλεπιδρά τελικά με αυτές προκειμένου να ενεργοποιηθεί η οποιαδήποτε μεταγενέστερη απόκριση (Jin et al., 2011; Cheng et al., 2013). Το H₂S ως σηματοδοτική ουσία σε συνεργασία με τις φυτικές ορμόνες όπως το ABA, οι αυξίνες, οι γιββερελλίνες, το αιθυλένιο και το σαλικυλικό οξύ συμμετέχει στην ενορχήστρωση πολλαπλών αποκρίσεων και σε πολλές περιπτώσεις οι αλληλεπιδράσεις αυτές έχουν αποσαφηνιστεί. Πιο συγκεκριμένα από την ερευνητική ομάδα των Papanatsiou et al. (2015) διαπιστώθηκε ότι το H₂S επενεργεί σε επόμενο στάδιο από την πρόσληψη του ABA και ενεργοποιεί τα κανάλια ιόντων K⁺ ρυθμίζοντας το κλείσιμο των στομάτων υπό συνθήκες αφυδάτωσης. Σε ότι αφορά την αλληλεπίδραση του H₂S με τις αυξίνες, αν και υψηλά επίπεδα H₂S αναστέλλουν τη λειτουργία των πολικών μεταφορέων αυξίνης, κατάλληλες συγκεντρώσεις H₂S έχει παρατηρηθεί ότι συμβάλλουν στην αύξηση των πλάγιων ριζών μέσω πιθανών αλληλεπιδράσεων με το NO και το IAA (Jia et al., 2015; Li et al., 2014). Σε κύτταρα αλευρόνης που είχαν υποστεί μεταχείριση με γιββερελλίνες, το H₂S διέγειρε την ενδογενή παραγωγή γλουταθειόνης και άλλων αντιοξειδωτικών παραγόντων και συνετέλεσε στην καθυστέρηση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (Xie et al., 2014). Η ανταγωνιστική αλληλεπίδραση μεταξύ του H₂S και του αιθυλενίου παρατηρήθηκε από τους Ge et al. (2017) σε καρπούς μπανάνας όπου η μεταχείριση με H₂S ανέστειλε τη βιοσύνθεση αιθυλενίου και παρέτεινε τη διατηρησιμότητα τους. Τέλος από τους Li et al. (2015b) αναφέρθηκε συνεργιστική αλληλεπίδραση-αν και ανεξάρτητη- μεταξύ του H₂S και του σαλικυλικού οξέος που είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της θερμικής αντοχής ευαίσθητων σε υψηλές θερμοκρασίες ποικιλιών καλαμποκιού.

1.3.3 Συμπεράσματα και προοπτικές

Όλες οι προηγούμενες αναφορές συνηγορούν ότι το H₂S έχει πολυσύνθετο ρόλο ως αεροδιαβιβαστής και εμπλέκεται ενεργά σε πολλές φυσιολογικές λειτουργίες των φυτών, μέσω της ελεγχόμενης βιοσύνθεσης και απελευθέρωσης του στα φυτικά κύτταρα, της συμμετοχής του σε πολλαπλές μεταβολικές οδούς και σηματοδοτικούς

διαύλους, όπως επίσης και μέσω των αλληλεπιδράσεων του με άλλα σηματοδοτικά μόρια και φυτοορμόνες (Fotopoulos et al., 2015). Η επίδραση μιας ήπιας καταπόνησης στα φυτά συμβάλλει σε πολλές περιπτώσεις όχι μόνο στην αύξηση της αντοχής τους στο συγκεκριμένο καταπονητικό παράγοντα αλλά και στην απόκτηση διασταυρωτής ανθεκτικότητας. Στα πλαίσια αυτά το H_2S αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο μόριο που μέσω της επαγωγής πολλαπλής αντοχής θα μπορούσε να αξιοποιηθεί και να συμβάλλει σημαντικά στη διαχείριση των αβιοτικών καταπονήσεων.

Από την ανασκόπηση ερευνών από τους Li et al. (2016) διαπιστώνεται ότι τα βέλτιστα αποτελέσματα επιτυγχάνονται όταν η συγκέντρωση εφαρμογής του $NaHS$ -ως φορέα H_2S - κυμαίνεται μεταξύ 0,05 και 1,5 mM, ενώ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις συνδέονται με ανάσχεση της αύξησης της ανάπτυξης και της απόκτησης αντοχής. Ως εκ τούτου ο προσδιορισμός των κατάλληλων επιπέδων $NaHS$ πρέπει να γίνεται προσεκτικά λαμβάνοντας υπόψη το φυτικό είδος και τη μέθοδο εφαρμογής (Li et al., 2016). Τέλος στην προσπάθεια αντιμετώπισης των αβιοτικών καταπονήσεων και γενικότερα της αύξησης της παραγωγικότητας, η αξιοποίηση του H_2S απαιτεί τη διενέργεια περισσότερων ερευνών καθώς και τη χρήση της βιολογίας συστημάτων, προκειμένου να αναλυθούν οι αναδυόμενοι ρόλοι όπως και το *modus operandi* του H_2S στα φυτά.

2. Οι πολυαμίνες (PAs)

Οι πολυαμίνες είναι αλειφατικές χαμηλού μοριακού βάρους αζωτούχες βάσεις, με δύο ή περισσότερες αμινοομάδες, που συναντώνται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς και έχουν έντονη βιολογική δραστηριότητα (Chen et al. 2019). Οι τρεις πιο κοινές φυτικές πολυαμίνες είναι η πουτρεσκίνη (PUT), η σπερμιδίνη (SPD) και η σπερμίνη (SPM) (Minocha et al., 2014). Οι πολυαμίνες σε φυσιολογικό pH έχουν θετικό φορτίο και μπορούν συνεπώς να αλληλεπιδρούν με αρνητικά φορτισμένα μακρομόρια όπως το DNA, το RNA, οι πρωτεΐνες, τα φωσφολιπίδια και η χρωματίνη και να έχουν δομικό ρόλο (Fariduddin et al., 2013). Στα φυτικά κύτταρα συναντώνται σε όλα τα κυτταρικά διαμερίσματα συμπεριλαμβανομένου και του πυρήνα και εμπλέκονται στη ρύθμιση βασικών κυτταρικών λειτουργιών όπως είναι η αντιγραφή, η μεταγραφή, η μετάφραση, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η ενζυμική δραστηριότητα και ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος (Kusano et al., 2008). Λόγω του καθοριστικού τους ρόλου σε μια σειρά αυξητικών και αναπτυξιακών φυτικών διεργασιών καθώς επίσης και στην ενορχήστρωση της αμυντικής απόκρισης των φυτών στις περιβαλλοντικές προκλήσεις, από πολλούς θεωρούνται ως ένα νέο είδος φυτικού βιοδιεγέρτη (Chen et al., 2019).

2.1 Εξωγενής εφαρμογή πολυαμινών και αύξηση της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις

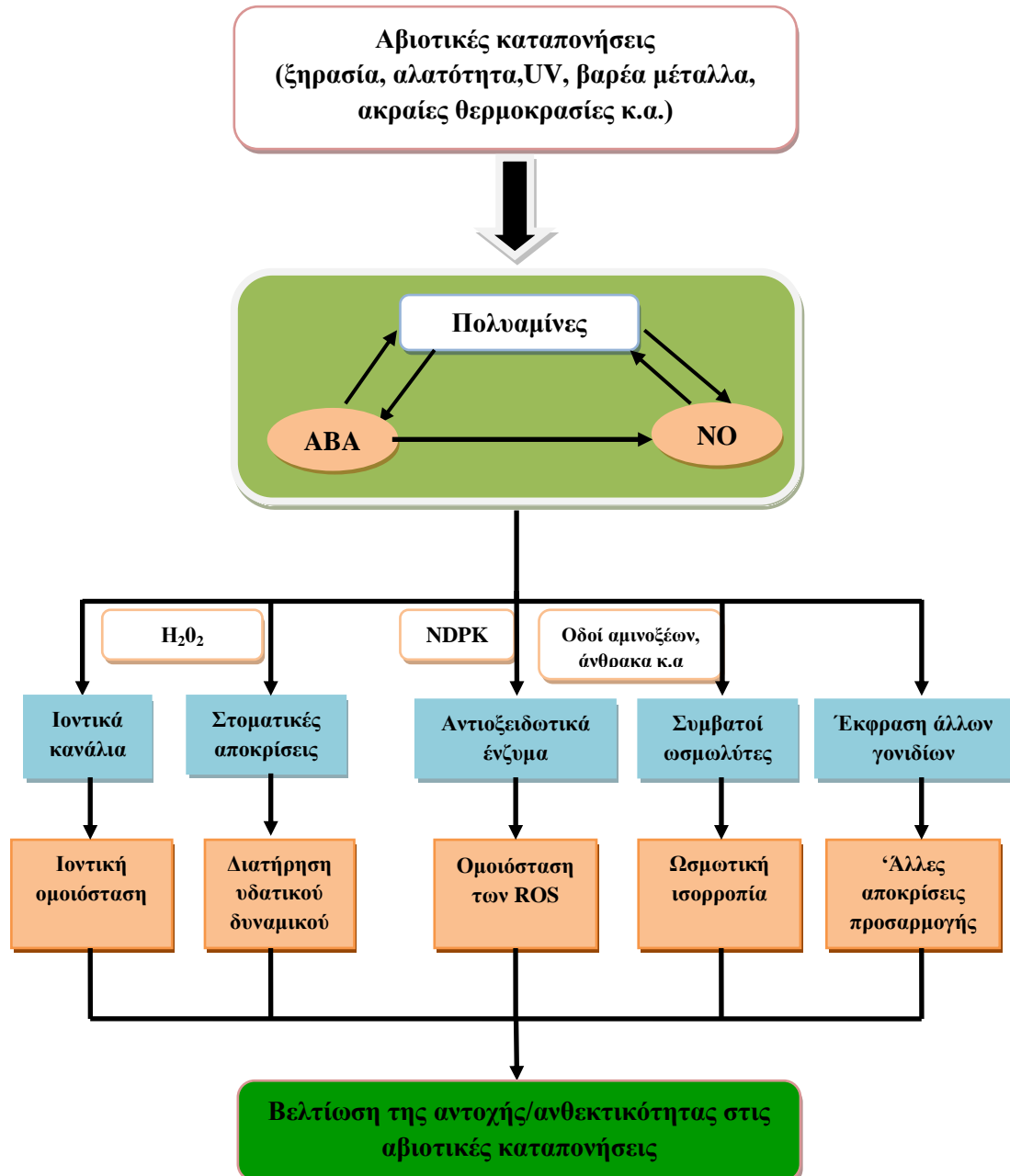
Η βιοσύνθεση και η συσσώρευση πολυαμινών ως αμυντική απόκριση στις αβιοτικές καταπονήσεις συνιστά αναπόσπαστο τμήμα της συνολικής στρατηγικής των φυτών για την αντιμετώπιση τους (Fariduddin et al., 2013). Αν και οι φυσιολογικές σχέσεις ανάμεσα στις πολυαμίνες και τις αβιοτικές καταπονήσεις έχουν αναφερθεί εδώ και 50 χρόνια, δεν έχει αποσαφηνιστεί ακόμη εάν η φυσιολογική αυτή απόκριση συμβάλλει στην προστασία των φυτών (λόγω της ικανότητας τους να απομακρύνουν τις ενεργές ρίζες) ή προκαλεί βλάβες (μέσω της παραγωγής H_2O_2 από τις διαδικασίες καταβολισμού τους) σε αυτά. Ωστόσο η παρατηρούμενη αύξηση της αντοχής των φυτών στις περιβαλλοντικές προκλήσεις, όταν τα επίπεδα των πολυαμινών βρίσκονται σε υψηλά επίπεδα -είτε μέσω εξωγενούς εφαρμογής, είτε μέσω γονιδιακής τροποποίησης- αποτελεί ισχυρή ένδειξη των προστατευτικών τους ιδιοτήτων (Minocha et al., 2014). Σύμφωνα με τους Bouchereau et al. (1999) ο προστατευτικός τους ρόλος

σε διάφορα είδη καταπονήσεων αποδίδεται στο γεγονός ότι οι πολυαμίνες ως θετικά φορτισμένα μόρια, προσδένονται ισχυρά σε πολλούς τύπους αρνητικά φορτισμένων πρωτεϊνών. συμπεριλαμβανομένων των αμυνοτικών ενζύμων και κατά αυτό τον τρόπο ρυθμίζουν τις δραστηριότητες αυτών των πρωτεϊνών (Bouchereau A. et al. 1999).

Στα πλαίσια αυτά, μέσα από ένα πλήθος εργασιών, έχει τεκμηριωθεί ότι η αύξηση στο επίπεδο των πολυαμινών μέσω εξωγενούς εφαρμογής προωθεί την βελτίωση της αντοχής των φυτών σε ένα μεγάλο φάσμα αβιοτικών παραγόντων. Ενδεικτικά, έχει αναφερθεί ότι η εξωγενής εφαρμογή πολυαμινών (Put, Spd, και Spm) συνέβαλλε σημαντικά στην αύξηση της αντοχής στην αλατότητα σε φυτά ρυζιού και κριθαριού, στο όζον και στην αλατότητα σε φυτά καπνού, στο ψύχος και στην αλατότητα σε κολοκυνθοειδή, στην αλατότητα και στα βαρέα μέταλλα (Cu, Fe, και Ni) σε ελαιοκράμβη, στις υψηλές θερμοκρασίες σε φυτά σιταριού (Kumar et al. 2014) και Arabidopsis (Tavladoraki et al., 2012; Li B et al., 2013; Sagor et al., 2013). Σε πιο πρόσφατη έρευνα από τους Zhang et al. (2015b) αποδείχθηκε ότι μέσω εξωγενούς εφαρμογής σπερμιδίνης (Spd), οι επιπτώσεις από την αλκαλικότητα και την αλατότητα σε φυτά τομάτας περιορίστηκαν σημαντικά. Συνολικά, οι αναφορές γύρω από την συμβολή των πολυαμινών στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων μέσω εξωγενών εφαρμογών και προσεγγίσεων seed priming είναι πάρα πολλές και έχουν ανασκοπηθεί από τους Hussain et al. (2011), Minocha et al. (2014), Shi and Chan, (2014), Tiburcio et al. (2014) και Chen et al. (2019).

2.2 Ο ρόλος των πολυαμινών στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων

Αν και οι διαδικασίες βιοσύνθεσης και μεταβολισμού των πολυαμινών στα φυτά έχουν κατανοηθεί σε πολύ μεγάλο βαθμό, εντούτοις υπάρχουν πολλά αναπάντητα ερωτήματα σε ότι αφορά τους μηχανισμούς μέσω των οποίων οι πολυαμίνες εμπλέκονται στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων. Το γεγονός αυτό οφείλεται κυρίως στην δυσκολία μελέτης των πολυαμινών, λόγω του πολλαπλού τους ρόλου σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες και λόγω της ευρείας παρουσίας τους και της υψηλής τους συγκέντρωσης στο περιβάλλον του κυττάρου (Minocha et al., 2014). Στα πορίσματα πολλών ερευνητικών ομάδων (Alcázar et al., 2006a; Takahashi and Kakehi, 2010; Alet et al., 2011; Hussain et al., 2011; Gupta et al., 2013; Shi and Chan, 2014) η αύξηση της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις που παρατηρείται στα φυτά και οφείλεται στις πολυαμίνες αποδίδεται: 1) στην δυνατότητα των πολυαμινών να



Σχήμα 9. Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών μέσω των οποίων οι πολυαμίνες εμπλέκονται στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων. Οι αβιοτικές καταπονήσεις προκαλούν μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση των βιοσυνθετικών και μεταβολικών οδών των πολυαμινών και οδηγούν σε συσσώρευση πολυαμινών (Put, Sprd και Spm). Επιπλέον λόγω των αβιοτικών καταπονήσεων επάγεται η βιοσύνθεση και συσσώρευση ABA και NO. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των πολυαμινών, του ABA και του NO ενεργοποιεί σε επόμενο στάδιο τις αμυντικές αποκρίσεις, όπως είναι η ρύθμιση των ιοντικών καναλιών, των στοματικών αποκρίσεων (μερικώς μέσω του H_2O_2), των αντιοξειδωτικών ενζύμων (μέσω εν μέρει της νουκλεοσιδικής-διφωσφορικής κινάσης- NDPK), η βιοσύνθεση ωσμωλυτών (μέσω των οδών του άνθρακα και των αμινοξέων) καθώς επίσης και η έκφραση άλλων γονιδίων. Οι αποκρίσεις αυτές οδηγούν αντίστοιχα σε αποκατάσταση της ιοντικής ομοιότητας, σε βελτίωση του υδατικού δυναμικού, σε αποκατάσταση της ομοιότητας των ROS, σε εξισορρόπηση της ωσμωτικής πίεσης καθώς επίσης και σε άλλες άγνωστες αποκρίσεις προσαρμογής με τελικό αποτέλεσμα τη βελτίωση της αντοχής/ανθεκτικότητας των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις. (Τροποποιημένο σχήμα από τους Shi and Chan, (2014) και Alcazar and Tiburcio, (2018)

λειτουργούν ως συμβατοί ωσμολύτες παράλληλα με τη προλίνη, τη γλυκίνη-μεταΐνη και το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) 2) στις αλληλεπιδράσεις των πολυαμινών με τα βιολογικά μακρομόρια όπως το DNA, το RNA, τα μεταγραφικά και τα μεταφραστικά σύμπλοκα όπως και με τις πρωτεΐνες των κυτταρικών δομών, συμβάλλοντας στη σταθεροποίηση των μεμβρανών 3) στην άμεση αντιοξειδωτική τους δράση και την επαγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων και μεταβολιτών 4) στη λειτουργία των πολυαμινών ως σηματοδοτικά μόρια στη σηματοδοτική οδό απόκρισης του ABA και στην παραγωγή του H₂O₂ μέσω των καταβολικών τους διαδικασιών, 5) στην δυνατότητα των πολυαμινών να ρυθμίζουν τα ιοντικά κανάλια 6) στη συμμετοχή των πολυαμινών στις διαδικασίες του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου και 7) στην εμπλοκή των πολυαμινών στη μεταβολική ρύθμιση της τοξικότητας που προκαλείται από την αμμωνία, στην παραγωγή του NO και την ισορροπία του αζώτου στο περιβάλλον του κύτταρου (Minocha et al., 2014).

Από τους Wimalasekera et al. (2011) έχει αναφερθεί ότι οι πολυαμίνες το NO και το ABA εμπλέκονται από κοινού σε πολλαπλές φυσιολογικές λειτουργίες και αποκρίσεις μέσω ενός πολύπλοκου δικτύου και αυτή η αλληλεπίδραση μεταξύ τους αποδείχθηκε κατά τις αποκρίσεις των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις, και ιδιαίτερα κατά το κλείσιμο των στομάτων (Wimalasekera et al., 2011). Στο **σχήμα 9** απεικονίζονται σχηματικά οι πιθανοί μηχανισμοί μέσω των οποίων τα μόρια αυτά ενορχηστρώνουν αυτές τις αποκρίσεις σύμφωνα με τους Shi and Chan, (2014) και Alcazar and Tiburcio, (2018).

Από πιο πρόσφατες έρευνες έχει διαπιστωθεί ότι οι φυσιολογικές λειτουργίες των πολυαμινών και του NO στα φυτά σε πολλές περιπτώσεις επικαλύπτονται και επιπλέον έχει αποδειχθεί ότι η βελτίωση στη βιοδιαθεσιμότητα του NO έχει καθοριστικό ρόλο στην ομοίωση των πολυαμινών (Filippou et al., 2013). Επιπρόσθετα οι καταβολικές διαδικασίες των πολυαμινών επιδρούν στα επίπεδα των ROS και γενικότερα φαίνεται ότι υπάρχει διασταύρωση επικοινωνίας μεταξύ των σηματοδοτικών οδών που ελέγχονται από το NO, τις ROS και τις πολυαμίνες κατά την απόκριση των φυτών στις καταπονήσεις (Antoniou et al., 2016). Περισσότερες λεπτομέρειες όπως και τα πιο πρόσφατα ευρήματα γύρω από τους μηχανισμούς μέσω των οποίων οι πολυαμίνες εμπλέκονται στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων συναντώνται στην ανασκόπηση ερευνών από τους Chen et al. (2019).

3. Αντιοξειδωτικοί παράγοντες

Από τη στιγμή που η συσσώρευση των ROS που προκαλείται από τις αβιοτικές καταπονήσεις είναι δυνατό να μειωθεί μέσω της εφαρμογής παραγόντων priming που επάγουν τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς των φυτών, θα υπέθετε κανείς ότι η εφαρμογή ουσιών με άμεση αντιοξειδωτική δράση θα μπορούσε να είναι μια αποτελεσματική πρακτική αύξησης της αντοχής τους στις καταπονήσεις (Merewitz, 2016). Ανάμεσα στις αντιοξειδωτικές ουσίες, το ασκορβικό οξύ, η γλουταθειόνη και η μελατονίνη αποτελούν τα μόρια που έχουν μελετηθεί περισσότερο ως παράγοντες priming.

3.1. Το ασκορβικό οξύ ή βιταμίνη C

Το ασκορβικό οξύ ή βιταμίνη C είναι ένας ζωτικός μεταβολίτης με κομβικό ρόλο στην προστασία των φυτικών κυττάρων και των κυτταρικών οργανιδίων από την τοξική δράση των ROS. Επιπλέον εμπλέκεται στη ρύθμιση βασικών φυσιολογικών λειτουργιών των φυτών, όπως είναι η κυτταρική διαίρεση και αύξηση, η φωτοσύνθεση, οι οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις στους χλωροπλάστες, η βλάστηση των σπόρων, η επαγωγή της άνθησης, η σταθερότητα των μεμβρανών, η γήρανση, η βιοσύνθεση των ορμονών και η αναγέννηση των αντιοξειδωτικών ενώ φαίνεται ότι λειτουργεί και ως συμπαράγοντας ενζύμων και ρυθμίζει την αίσθηση των φυτών (Akram et al., 2017). Η βιοσύνθεση του ασκορβικού οξέος στα ανώτερα φυτά λαμβάνει χώρα στα μιτοχόνδρια, μέσω κυρίως της οδού Smirnoff-Wheeler ή διαφορετικά D-μανόζης/L-γαλακτόζης οδού (Wheeler et al., 1998) και συναντάται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στα μεριστώματα και ιδιαίτερα στους χλωροπλάστες των ώριμων φωτοσυνθετικών κύτταρων (Khan et al., 2011).

3.1.1. Το ασκορβικό οξύ ως αντιοξειδωτικός παράγοντας

Το ασκορβικό οξύ είναι ένας από τους πιο ισχυρούς αντιοξειδωτικούς παράγοντες και μαζί με την βιταμίνη E συμβάλλει στην απομάκρυνση των ενεργών μορφών οξυγόνου είτε άμεσα είτε μέσω ενζυμικής κατάλυσης (Akram et al., 2017). Το σύστημα υπεροξειδάση του ασκορβικού και ρεδοκτάση της γλουταθειόνης (APX-GR) θεωρείται πολύ πιο αποτελεσματικό στην αποτοξικοποίηση του H_2O_2 από τα ενζυμικά συστήματα της καταλάσης (CAT) και της υπεροξειδάσης (POD), καθώς σύμφωνα με

τους Dolatabadian and Jouneghani (2009). η χορήγηση ασκορβικού μέσω του θρεπτικού διαλύματος οδήγησε σε σημαντική μείωση της δραστηριότητας των δύο ενζυμικών συστημάτων. Πιστεύεται γενικότερα ότι το ασκορβικό οξύ είναι σε θέση να ρυθμίσει τον αντιοξειδωτικό μεταβολισμό των φυτών (Noctor et al, 2014) και από πολλές αναφορές, η αυξημένη αντοχή φυτών σε συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης αποδόθηκε στην εμπλοκή του ασκορβικού στην ενεργοποίηση των αντιοξειδωτικών συστημάτων (Bybordí, 2012; Raza et al., 2013; Shafiq et al., 2014 κ.α.). Ένα από αυτά είναι το ενζυμικό σύστημα των υπεροξειδασών του ασκορβικού οξέος που διασπά το H₂O₂ σε νερό και μοριακό οξυγόνο, χρησιμοποιώντας το ασκορβικό οξύ ως πηγή ηλεκτρονίων (Akram et al., 2017).

3.1.2. Εξωγενής εφαρμογή ασκορβικού οξέος και αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις

Στα περισσότερα φυτά, τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος ποτέ δεν είναι επαρκή για την επιτυχή αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων (Shafiq et al., 2014) και για το λόγο αυτό η εξωγενής χορήγηση του στα φυτά μέσω διαφυλλικών εφαρμογών, προμεταχείρισης του πολλαπλασιαστικού υλικού και προσθήκης στο θρεπτικό διάλυμα έχει αποδειχθεί ότι συνιστά μια πολύ αποτελεσματική πρακτική (Naz et al., 2016). Στα πλαίσια αυτά, σε έρευνα από τους Munir et al. (2013), η προμεταχείριση κάλλων και φυτών ζαχαροκάλαμου με διάφορες συγκεντρώσεις ασκορβικού οξέος είχε ως αποτέλεσμα αυξημένη αντοχή σε συνθήκες αλατότητας. Στη συγκεκριμένη μελέτη οι συγκεντρώσεις των 0,25 και 0,50 mM αποδείχθηκε ότι είναι οι πιο αποτελεσματικές, καθώς είχαν θετικό αντίκτυπο στην αύξηση των φυτών, στη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων και των διαλυτών πρωτεϊνών. Σε άλλη έρευνα, η ευεργετική επίδραση της χορήγησης ασκορβικού οξέος σε φυτά σιταριού που αναπτύσσονταν σε συνθήκες αλατότητας αποδόθηκε στην αύξηση της χλωροφύλλης, των καροτενοειδών, της προλίνης και της φυλλικής επιφάνειας και παράλληλα της μείωσης του επιπέδου του H₂O₂ στους φυτικούς ιστούς (Azzedine et al., 2011). Σε πιο πρόσφατη μελέτη από τους Hameed et al. (2015) η διαφυλλική εφαρμογή ασκορβικού οξέος σε φυτά *Lymonium stocksii* υπό συνθήκες αλατότητας οδήγησε σε καλύτερη επίδοση, λόγω της αύξησης της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων (Hameed et al., 2015). Τέλος, από πρωτεωμική ανάλυση σπόρων σιταριού που υπέστησαν μεταχείριση με ασκορβικό οξύ με σκοπό την καλύτερη αντιμετώπιση της περίσσειας αλάτων,

αποδείχθηκε ότι η συμβολή του ασκορβικού οξέος είναι σημαντική σε διάφορα αντιοξειδωτικά ένζυμα του εμβρύου καθώς και σε πρωτεΐνες που σχετίζονται με την άμυνα (Fercha et al., 2014).

Σε συνθήκες ξηρασίας, η προμεταχείριση μέσω εμβάπτισης των σπόρων σε ασκορβικό οξύ, συνέβαλλε στην αύξηση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης, του υδατικού δυναμικού και των διαλυτών πρωτεϊνών των φυτών *Vicia faba* (Azooz et al., 2013). Σε ανάλογες διαπιστώσεις κατέληξε και η έρευνα από τους Reiahi and Farahbakhsh (2013) οι οποίοι διαπίστωσαν ότι η προμεταχείριση σπόρων σόργου *Sorghum bicolor* με ασκορβικό οξύ, βελτίωσε σημαντικά την βλαστικότητα και την αντοχή των νεαρών φυτών σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Σε άλλη έρευνα, η διαφυλλική εφαρμογή ασκορβικού οξέος σε φυτά κουνουπιδιού αποδείχθηκε εξαιρετικά σημαντική στη βελτίωση της ανάπτυξης των φυτών σε συνθήκες ξηρασίας, λόγω της προκαλούμενης από το ασκορβικό οξύ, μείωσης στη συγκέντρωση του H₂O₂ και της περατότητας των μεμβρανών και της προκαλούμενης αύξησης της χλωροφύλλης, της γλυκίνης-μπεταΐνης, της προλίνης, του φωσφόρου και του καλίου (Mukhtar et al., 2016). Τέλος η μεταχείριση σπόρων και νεαρών φυτών σιταριού με ασκορβικό οξύ επίσης είχε ως αποτέλεσμα αυξημένη φυλλική επιφάνεια και συγκέντρωση χλωροφύλλης II και προλίνης και συνολικά οδήγησε σε αυξημένη ξηρή μάζα σε συνθήκες έλλειψης νερού (Farooq et al., 2013).

Γενικότερα οι περισσότερες έρευνες γύρω από την επίδραση του ασκορβικού οξέος στην ισχυροποίηση των αμυντικών μηχανισμών των φυτών σε συνθήκες αβιοτικών καταπονήσεων έχουν εστιάσει περισσότερο στην αλατότητα και στην ξηρασία και λιγότερο σε άλλες μορφές όπως είναι οι ακραίες θερμοκρασίες. Σε ότι αφορά την καταπόνηση λόγω υψηλών θερμοκρασιών, έρευνα από τους Ergin et al. (2014) απέδειξε ότι η εφαρμογή ασκορβικού οξέος είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική στην βελτίωση της ανάπτυξης φυτών φράουλας σε θερμοκρασίες της τάξης των 44° C. Στη συγκεκριμένη έρευνα η εφαρμογή ασκορβικού οξέος σε συγκέντρωση 3mM συνέβαλλε στην αύξηση της σπαργής και εν συνεχεία στη βελτίωση της απόδοσης. Σε άλλη έρευνα από τους Ahmad et al. (2014) η μεταχείριση νεαρών φυτών και σπόρων καλαμποκιού με συγκεντρώσεις 20 και 40mg L⁻¹ ασκορβικού οξέος αντίστοιχα, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των αποδόσεων σε συνθήκες χαμηλών θερμοκρασιών.

3.1.3. Συμπεράσματα

Συνολικά μέχρι και σήμερα έχουν δημοσιευθεί πάρα πολλές έρευνες στις οποίες διάφορα επίπεδα ασκορβικού οξέος έχουν εφαρμοστεί ως παράγοντες priming σε διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια και σε μια μεγάλη ποικιλία φυτών. Εντούτοις δεν έχει εξακριβωθεί πλήρως ποιες είναι οι κατάλληλες συγκεντρώσεις καθώς η αποτελεσματικότητα της εφαρμογής του ασκορβικού οξέος εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, τη μέθοδο εφαρμογής, το γονότυπο του φυτού και το είδος της καταπόνησης. Για το λόγο αυτό απαιτείται περισσότερη διερεύνηση, που δεν θα επικεντρώνεται μόνο σε ένα συγκεκριμένο στάδιο ανάπτυξης όπως οι μέχρι τώρα έρευνες, αλλά σε όλη τη διάρκεια του κύκλου ζωής του φυτού προκειμένου να προσδιοριστεί η αμυντική του απόκριση σε κάθε φάση της ανάπτυξης του. Τέλος ως μελλοντική πρόκληση αξίζει να μελετηθεί η επίδραση της εφαρμογής ουσιών όπως η μανόζη, η γαλακτόζη, η γκουλόζη και η μυο-ινοσιτόλη που είτε αποτελούν πρόδρομες ενώσεις είτε εμπλέκονται στους βιοσυνθετικούς μηχανισμούς σύνθεσης του ασκορβικού οξέος (Akram et al., 2017).

3.2 Η γλουταθειόνη (GSH)

Η συμβολή της γλουταθειόνης στην αντιοξειδωτική άμυνα των φυτών είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς είναι σε θέση να απομακρύνει άμεσα τις ελεύθερες ρίζες και τις ROS από το περιβάλλον των φυτικών κυττάρων (Merewitz, 2016) και επιπλέον εμπλέκεται στις μεταβολικές οδούς αποτοξίνωσης από τη μεθυλογλουξάλη (Hasanuzzaman et al., 2017a). Η προστασία των κυτταρικών μεμβρανών όπως και των πρωτεϊνών από μετουσίωση σε συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης, είναι ιδιότητες που αποδίδονται στη δράση της γλουταθειόνης, ενώ φαίνεται να παρουσιάζει ρυθμιστικό ρόλο και σε άλλους ενδογενείς παράγοντες priming των φυτών, όπως είναι το NO (Horvath et al., 2015).

Όπως και το ασκορβικό οξύ, έτσι και η γλουταθειόνη λειτουργεί ως υπόστρωμα βασικών αντιοξειδωτικών συστημάτων όπως είναι η υπεροξειδάση (GPX) και η S-τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST) που χρησιμεύουν στην άμεση αντιμετώπιση της οξειδωτικής καταπόνησης που προκαλείται από τις διάφορες αβιοτικές καταπονήσεις (Asgher et al., 2017). Καθώς η γλουταθειόνη συνιστά πρόδρομη ένωση των φυτοχελαινών, η συνδρομή της είναι καθοριστική στην αποτοξίνωση από τα ξενοβιοτικά όπως είναι τα ζιζανιοκτόνα, τα βαρέα μέταλλα και τα μεταλλοειδή. Πιο

συγκεκριμένα, η γλουταθειόνη συμβάλλει στην χηλικοποίηση των βαρέων μετάλλων τα οποία στη συνέχεια μεταφέρονται και αποθηκεύονται στα χυμοτόπια σε αδρανή μορφή (Hasanuzzaman et al., 2017a). Εκτός από τα παραπάνω, έχει επιβεβαιωθεί ότι η γλουταθειόνη σχετίζεται στενά με τη μεταγραφική ρύθμιση διαφόρων γονιδίων, καθώς μεταφέρεται στον πυρήνα και επιδρά στη δομή της χρωματίνης καθώς επίσης και στη λειτουργία και δραστηριότητα ορισμένων πυρηνικών πρωτεϊνών, ανάμεσα στις οποίες και στους μεταγραφικούς παράγοντες (Zagorchev et al., 2013).

Τα τελευταία χρόνια από αρκετές αναφορές έχει διαπιστωθεί ότι τόσο η ενδογενής όσο και η εξωγενής χορήγηση γλουταθειόνης στα φυτά, προωθεί την αύξηση της αντοχής τους σε μια σειρά αβιοτικών καταπονήσεων όπως η ξηρασία, η αλατότητα, οι ακραίες θερμοκρασίες και η τοξικότητα των βαρέων μετάλλων (Kumar et al. 2010; Mahmood et al., 2010; Wang et al., 2011; Wu et al., 2011; Chen et al., 2012; Hasanuzzaman et al., 2012). Σχετικά με τα ευρήματα των πιο πρόσφατων ερευνών, από τους Cheng et al. (2015) αναφέρθηκε ότι η εξωγενής εφαρμογή ανηγμένης γλουταθειόνης σε φυτά *Arabidopsis* είχε ως αποτέλεσμα αύξηση της αντοχής τους σε συνθήκες αλατότητας και ξηρασίας. Επιπλέον παρατηρήθηκε σημαντική καθυστέρηση στη διαδικασία της γήρανσης όπως και της άνθησης και καταγράφηκαν αυξημένα επίπεδα αποκοπτικού οξέος, αυξίνης και ιασμονικού οξέος όπως και ενεργοποίηση σηματοδοτικών γονιδίων. Σε άλλη έρευνα από τους Nahar et al. (2015a) αναφέρθηκε ότι η μεταχείριση φυτών φασολιού με γλουταθειόνη βελτίωσε σε σημαντικό βαθμό τη δραστηριότητα των περισσότερων αντιοξειδωτικών ενζύμων (APX, MDHAR, DHAR, GR, GPX, GST, SOD και CAT) όπως και της γλυοξυλάσης (GLO) σε συνθήκες ξηρασίας. Παράλληλα σημειώθηκε σημαντική μείωση στο επίπεδο των ROS και της μεθυλογλυοξάλης (MG), αν και σε πιο έντονες συνθήκες ξηρασίας, διαπιστώθηκε μικρότερη αποτελεσματικότητα. Σε παρόμοια θετικά αποτελέσματα κατέληξε και νεότερη έρευνα από τους ίδιους ερευνητές όπου μελετήθηκε η επίδραση της γλουταθειόνης στα ίδια φυτά, σε συνθήκες αλατότητας και υψηλών θερμοκρασιών (Nahar et al., 2015b).

Η προστατευτική δράση της γλουταθειόνης σε συνθήκες έλλειψης νερού πιθανόν να σχετίζεται με το ρυθμιστικό της ρόλο στη σηματοδότηση μέσω του ABA καθώς η εξωγενής εφαρμογή της σε φυτά *Arabidopsis* αύξησε τα επίπεδα του ABA (Chen et al., 2012). Σε πιο πρόσφατη έρευνα, η μεταχείριση φυτών αγγουριάς με γλουταθειόνη σε υψηλές θερμοκρασίες οδήγησε σε αυξημένο επίπεδο διαλυτών

πρωτεϊνών και προλίνης, αύξηση της δραστηριότητας και της γονιδιακής έκφρασης διαφόρων αντιοξειδωτικών ενζύμων και παράλληλα μειωμένα επίπεδα ROS και υπεροξειδωμένων λιπιδίων (Ding et al., 2016).

Η αύξηση της αντοχής στην οξειδωτική καταπόνηση που προκαλείται από την υπερσυσσώρευση βαρέων μετάλλων, μέσω της εφαρμογής γλουταθειόνης σε φυτά βαμβακιού διαπιστώθηκε από τους Khan et al. (2016). Στη συγκεκριμένη έρευνα η μείωση στα επίπεδα της μαλονδιαλδεϋδης (MDA) και του H₂O₂ αποδόθηκε στην ενεργοποίηση από την γλουταθειόνη των ενζυμικών συστημάτων POD, APX, GR, SOD και CAT. Τέλος από τους Hashem et al. (2016) παρατηρήθηκε ότι σε φυτά τομάτας που αναπτύσσονταν σε έδαφος με μεγάλη συγκέντρωση Cd, η εφαρμογή γλουταθειόνης βελτίωσε την παραγωγή του NO και τη συγκέντρωση των S-νιτροσθειολών (SNOs), διατήρησε μειωμένο το οξειδοαναγωγικό δυναμικό και αύξησε την αντιοξειδωτική άμυνα μέσω της επαγωγής των μεταγραφικών παραγόντων και των αντιοξειδωτικών γονιδίων.

Συνολικά από τα ευρήματα των ερευνών καθίσταται προφανές ότι η αύξηση του επιπέδου της ενδογενούς γλουταθειόνης μέσω εξωγενούς χορήγησης συνοδεύεται με αξιοσημείωτη αύξηση της αντοχής των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις. Θα πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι όπως και στις άλλες περιπτώσεις priming, η επιτυχής αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων εξαρτάται από το είδος της καταπόνησης καθώς επίσης και από το κατάλληλο επίπεδο γλουταθειόνης.

3.3 Η μελατονίνη (Mel)

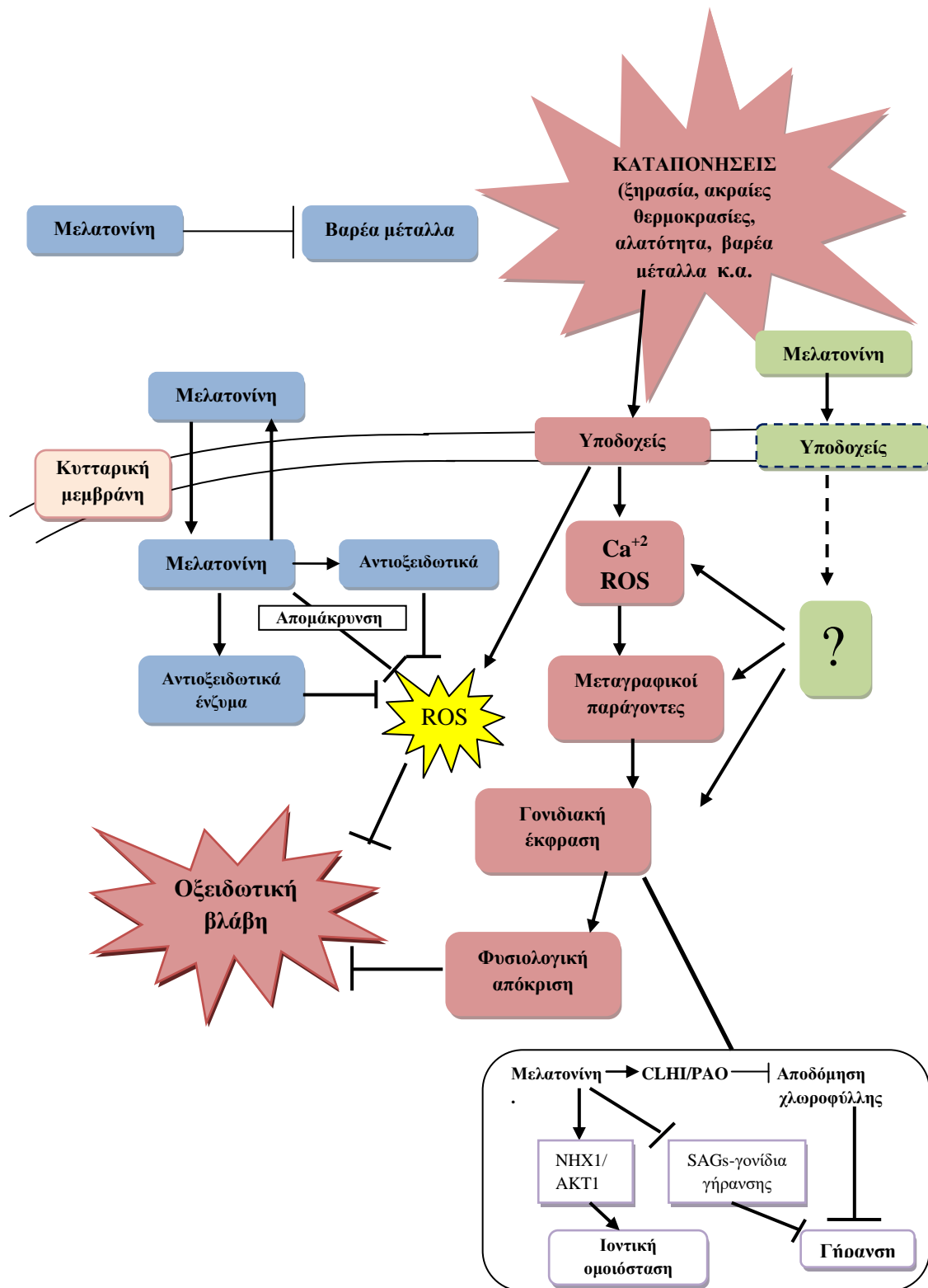
Η μελατονίνη (N-ακετυλο-5-μεθοξυτροπταμίνη) είναι μια ινδολική ένωση που δομικά σχετίζεται με άλλα σημαντικά μόρια όπως η τρυπτοφάνη, η σεροτονίνη, το ινδολο-3-οξικό οξύ (IAA) κ.α. (Dawood, 2018). Η παρουσία της στα φυτά, στα οποία παράγεται ενδογενώς, ανακαλύφθηκε το 1995 και από τότε ο ρόλος και η επίδραση της στις μεταβολικές διαδικασίες των φυτών έχει αποκτήσει αυξανόμενο ενδιαφέρον (Kul et al., 2019). Τα επίπεδα της μελατονίνης στα διάφορα όργανα των φυτών ποικίλουν με τα υψηλότερα να εντοπίζονται στα αναπαραγωγικά όργανα και ιδιαίτερα στους σπόρους (Zhang et al., 2014). Σύμφωνα με τους Paredes et al. (2009) η μελατονίνη στα φυτά εμφανίζεται να λειτουργεί: 1) ως αντιοξειδωτική ουσία που εμπλέκεται στην άμεση απομάκρυνση των ελευθέρων ριζών, αποτελώντας έτσι την πρώτη γραμμή άμυνας των φυτών απέναντι στην οξειδωτική καταπόνηση 2) ως ρυθμιστής ανάπτυξης με δράση

ανάλογη της αυξίνης και 3) ως παράγοντας με πολλαπλό ρόλο, όπως ως σηματοδοτική ουσία με κομβικό ρόλο στη διατήρηση του κικκάδιου ρυθμού, καθώς και ως ρυθμιστικός παράγοντας πολλών φυσιολογικών λειτουργιών όπως της αναπτυξιακής διαδικασίας των ανθέων και των καρπών, της βλάστησης των σπόρων κ.ά. Επιπλέον έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκεται στη δημιουργία ριζών καθώς και στην ισορροπία του υδατικού δυναμικού, συμβάλλοντας κατά αυτό τον τρόπο στη διατήρηση της ακεραιότητας της χλωροφύλλης και των μεμβρανών (Wang et al., 2013).

3.3.1 Ο ρόλος της μελατονίνης στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων

Σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες η συγκέντρωση της μελατονίνης στα φυτά αυξάνεται ιδιαίτερα και η αύξηση αυτή συνδέεται με προστατευτικές ιδιότητες και αύξηση της αντοχής (Zhang et al., 2014). Η εξωγενής εφαρμογή μελατονίνης έχει αποδειχθεί ότι όχι μόνο συμβάλλει στη βελτίωση της βλαστικότητας των σπόρων και της ανάπτυξης των νεαρών φυτών, άλλα και στην ισχυροποίηση των αμυντικών μηχανισμών και την καλύτερη αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων (Janas and Posmyk, 2013). Καθώς η μελατονίνη εμφανίζει τόσο υδρόφιλες όσο και λιπόφιλες ιδιότητες έχει τη δυνατότητα να λειτουργεί ως πανταχού παρών αντιοξειδωτικός παράγοντας. Ένα μόριο μελατονίνης είναι σε θέση να εξουδετερώσει περισσότερες από δέκα ελεύθερες ρίζες (Tan et al., 2007) σε αντίθεση με τις άλλες αντιοξειδωτικές ουσίες, στις οποίες κάθε ένα μόριο αντιστοιχεί σε μια ελεύθερη ρίζα. Επιπρόσθετα η μεταχείριση των φυτών με μελατονίνη συνδέεται με αύξηση των επιπέδων της μεταγραφής και της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων καθώς επίσης και με αναγέννηση των ενδογενών αντιοξειδωτικών ουσιών όπως είναι το ασκορβικό οξύ και η γλουταθειόνη (Tan et al., 2010). Γενικότερα η υπόθεση ότι η προσθήκη μελατονίνης ελαχιστοποιεί τις συνέπειες της οξειδωτικής καταπόνησης, μέσω της άμεσης απομάκρυνσης των ROS και μέσω της προστασίας και της βελτίωσης των ενζυμικών και μη αντιοξειδωτικών συστημάτων έχει επιβεβαιωθεί από πολλά πειραματικά αποτελέσματα.

Η συμβολή της μελατονίνης στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς πολλά γονίδια που σχετίζονται με την αμυντική απόκριση των φυτών φαίνεται ότι ρυθμίζονται από τη δράση της μελατονίνης (Zhang et al., 2014)



Σχήμα 10. Σχηματική απεικόνιση των κυτταρικών αποκρίσεων στις αβιοτικές καταπονήσεις μετά από εξωγενή εφαρμογή μελατονίνης. Καθώς η μελατονίνη αποτελεί αμφίφυλη ουσία είναι σε θέση να εκδηλώνει τη δράση της έξω από το περιβάλλον του κυττάρου και να χηλικοποιεί τα βαρέα μέταλλα, αλλά και ενδοκυτταρικά λειτουργώντας είτε ως άμεσος αντιοξειδωτικός παράγοντας είτε βελτιώνοντας την ενζυμική και μη ενζυμική αντιοξειδωτική άμυνα. Η αντίληψη από τα φυτά της καταπόνησης προκαλεί επαγωγή του σήματος μέσω των σηματοδοτικών διαύλων προκειμένου να υπάρξει απόκριση. Η μελατονίνη επεμβαίνει σε όλα τα στάδια της επαγωγής σήματος και τροποποιεί τη γονιδιακή έκφραση (Zhang et al., 2014)

Ανάμεσα σε αυτά περιλαμβάνονται γονίδια που εμπλέκονται στην μεταγωγή του σήματος καταπόνησης και σχετίζονται με τους σηματοδοτικούς διαύλους ασβεστίου-καλμοδουλίνης, γονίδια των μεταγραφικών παραγόντων και εξειδικευμένα γονίδια, όπως τα γονίδια που κωδικοποιούν τα ένζυμα χλωροφυλλάση (CLH1) και οξυγενάση (PAO) που καταλύουν τη διάσπαση της χλωροφύλλης (Weeda et al., 2014). Στην ιδιότητα αυτή της μελατονίνης να ρυθμίζει την έκφραση των παραπάνω γονιδίων όπως και αυτών που είναι υπεύθυνα για τον κυτταρικό θάνατο, φαίνεται ότι οφείλεται η διατήρηση του επιπέδου της χλωροφύλλης στα φύλλα, η επιβράδυνση της γήρανσης και η αύξηση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας. Επιπλέον, γονίδια που σχετίζονται με τα ιοντικά κανάλια και με το μεταβολισμό των πολυαμινών, όπως και η έκφραση γονιδίων που ελέγχουν τη βιοσύνθεση μεταβολιτών με προστατευτικό ρόλο στις αβιοτικές καταπονήσεις έχει αποδειχθεί ότι ελέγχονται σε μεγάλο βαθμό από τη δράση της μελατονίνης (Weeda et al., 2014; Zhang et al., 2014). Στο **σχήμα 10** απεικονίζονται σχηματικά όλοι οι προαναφερόμενοι μηχανισμοί στους οποίους εμπλέκεται η εξωγενής εφαρμογή μελατονίνης.

3.3.2 Εξωγενής εφαρμογή μελατονίνης και αύξηση της αντοχής; στις αβιοτικές καταπονήσεις

Από την ανακάλυψη της μελατονίνης μέχρι και σήμερα, μέσα από πολλά ερευνητικά αποτελέσματα, έχει τεκμηριωθεί ότι η αύξηση στο επίπεδο της μελατονίνης μέσω εξωγενούς εφαρμογής προωθεί την βελτίωση της αντοχής των φυτών σε διάφορες μορφές αβιοτικών καταπονήσεων. Πιο συγκεκριμένα σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης αλάτων, έρευνα από τους Dawood et al. (2015) απέδειξε ότι η εφαρμογή μελατονίνης σε φυτά φάβας, βελτίωσε την ανάπτυξη των φυτών, την φωτοσυνθετική λειτουργία, την αντιοξειδωτική δραστηριότητα, τη συγκέντρωση της χλωροφύλλης και των φαινολικών ουσιών καθώς επίσης και την πρόσληψη των θρεπτικών, ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε μείωση στο επίπεδο του νατρίου και του χλωρίου. Η επίδραση της εφαρμογής μελατονίνης σε φυτά *Agrostis stolonifera* που αντιμετωπίζουν συνθήκες ξηρασίας εξετάστηκε από τους Ma et al. (2018), οι οποίοι διαπίστωσαν αυξημένη έκφραση των γονιδίων TDC1, SNAT1, και COMT που ελέγχουν τη βιοσύνθεση μελατονίνης καθώς επίσης και επιβράδυνση της γήρανσης των φύλλων. Σε ανάλογες συνθήκες καταπόνησης, έρευνα από τους Li et al. (2015) απέδειξε ότι η μελατονίνη μέσω γονιδιακής ρύθμισης μείωσε τα επίπεδα του ABA που οδηγούν στο

κλείσιμο των στομάτων ενώ από πολλές αναφορές έχει αποδειχθεί ότι σε φυτά που ήδη έχουν υποστεί τις συνέπειες της έλλειψης νερού, η εφαρμογή μελατονίνης συνέβαλλε στην ταχεία επανάκαμψη τους μετά την προσθήκη νερού (Meng et al., 2014; Wang et al., 2014). Η ευεργετική επίδραση της χορήγησης μελατονίνης σε φυτά σιταριού που αναπτύσσονταν σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης Cd μελετήθηκε από τους Ni et al. (2018). Στη συγκεκριμένη έρευνα η βελτίωση στην ανάπτυξη των φυτών αποδόθηκε στη ρύθμιση από τη μελατονίνη της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων APX και SOD. Σε συνθήκες ψύχους, η μεταχείριση νεαρών φυτών πιπεριάς με μελατονίνη, συνέβαλλε στη μείωση των επιπέδων του H₂O₂ και της μαλονδιαλδεΰδης μέσω αύξησης της δραστηριότητας των ενζύμων CAT και SOD, ενώ σε σπόρους πιπεριάς οδήγησε σε αύξηση της βλαστικότητας λόγω της μείωσης στην υπεροξειδωση των λιπιδίων (Korkmaz et al., 2017). Τέλος από τους Posmyk et al. (2009) διερευνήθηκε η επίδραση της μελατονίνης στη βλαστικότητα σπόρων αγγουριού μέσω προενεργοποίησης των σπόρων με πρακτικές hydropriming και osmopriming. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας η βλαστικότητα αυξήθηκε κατά 50% σε θερμοκρασία 15° C, ωστόσο σε υψηλές συγκεντρώσεις μελατονίνης προκλήθηκε οξείδωση των πρωτεϊνών.

3.3.3 Συμπεράσματα

Συνολικά τα τελευταία είκοσι χρόνια έχουν δει το φως της δημοσιότητας εκατοντάδες έρευνες, μέσω των οποίων έχει διαπιστωθεί ότι η οξειδωτική καταπόνηση που συνοδεύει σχεδόν όλες τις μορφές αβιοτικών καταπονήσεων, μπορεί να αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά μέσω εξωγενούς εφαρμογής κατάλληλου επιπέδου μελατονίνης (Zhang et al., 2014). Θα πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι τα αποτελέσματα της μεταχείρισης με μελατονίνη ενώ σε πολλές περιπτώσεις είναι αξιόλογα, σε άλλες περιπτώσεις είναι μηδαμικά ή ακόμη και τοξικά, καθώς εξαρτώνται από το είδος του φυτού και από τη συγκέντρωση της μελατονίνης (Zhang et al., 2014). Η βελτίωση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας, η προστασία και η βελτίωση της αντιοξειδωτικής άμυνας όπως και η ρύθμιση των γονιδίων που σχετίζονται με τις καταπονήσεις φαίνεται ότι συνιστούν τις κύριες λειτουργίες στις οποίες η μελατονίνη εκδηλώνει τον προστατευτικό και φυτορυθμιστικό της ρόλο στα φυτά (Kul et al., 2019). Ωστόσο, οι μηχανισμοί βιοσύνθεσης της μελατονίνης καθώς και οι υποδοχείς ή τα σημεία στα οποία προσδένεται η μελατονίνη και λειτουργεί ως σηματοδοτικό μόριο

παραμένουν σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστοι και απαιτούνται επιπλέον μελέτες, προκειμένου να καταστεί πλήρως κατανοητός και να αξιοποιηθεί ο πολύπλευρος ρόλος της μελατονίνης στα φυτά.

4. Οι ρυθμιστές ανάπτυξης ως παράγοντες ενεργοποίησης και ισχυροποίησης των αμυντικών μηχανισμών -Hormonal priming

Τα φυτά προκειμένου να αντιμετωπίσουν τις περιβαλλοντικές προκλήσεις έχουν υιοθετήσει μια σειρά από αμυντικούς μηχανισμούς. Ανάμεσα σε αυτούς ένας από τους πιο καθολικούς και αποτελεσματικούς είναι και η βιοσύνθεση των φυτορρυθμιστικών ουσιών ή ρυθμιστών ανάπτυξης (Nadeem et al., 2016). Οι φυτορρυθμιστικές ουσίες συνιστούν μια ετερογενής ομάδα σηματοδοτικών μορίων, που διαδραματίζουν κομβικό φυσιολογικό ρόλο στη ρύθμιση της αύξησης και της ανάπτυξης των φυτών, καθώς επίσης και στην ενορχήστρωση της απόκρισης τους στις βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες καταπόνησης. Η τροποποίηση της φυσιολογίας και της βιοχημείας που προκαλούν στα φυτά μέσω γενετικά προγραμματισμένων αναπτυξιακών μεταβολών ή αποκρίσεων στα περιβαλλοντικά ερεθίσματα είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την ανάπτυξη και την επιβίωση των φυτών (Colebrook et al., 2014).

Οι φυτορρυθμιστικές ουσίες επιδρούν σε όλες τις φάσεις του κύκλου ζωής των φυτών και η μεταφορά τους μέσα στο σώμα των φυτών, επιτυγχάνεται μέσω του αγγειακού ιστού (Nadeem et al., 2016). Προκειμένου να ασκήσουν τη δράση τους και να εκδηλωθεί η απόκριση των φυτών, οι φυτοορμόνες δεσμεύονται σε διαμεμβρανικούς υποδοχείς ή στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Η ορμονική συγκέντρωση καθώς και η ευαισθησία του ιστού ρυθμίζουν τις φυσιολογικές λειτουργίες που καθορίζουν τις αναπτυξιακές διαδικασίες (Taiz and Zeiger, 2010) και η συσσώρευση υψηλών ποσοτήτων φυτορρυθμιστικών ουσιών σε συνθήκες καταπόνησης αποτελεί μια από τις πιο συνηθισμένες αποκρίσεις των φυτών (Wang et al., 2001).

Η κατανόηση της διατήρησης της ισορροπίας μεταξύ των αναπτυξιακών και των αμυντικών μηχανισμών στα ρυθμιστικά δίκτυα των φυτών όπως και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φυτορρυθμιστικών ουσιών αποτελούν ίσως τη μεγαλύτερη πρόκληση για τη βιολογία των φυτών. Οι φυτορρυθμιστικές ουσίες είναι σε θέση είτε να επενεργούν από μόνες τους, είτε τα σηματοδοτικά τους δίκτυα να διασυνδέονται (Farhangi-Abriz and Ghassemi-Golezani, 2019) και η διασταύρωση επικοινωνίας – crosstalk- μεταξύ τους, μπορεί να είναι συνεργιστική ή ανταγωνιστική όπως και να έχει ρυθμιστικό ρόλο στη βιοσύνθεση ή στην απόκριση της μίας ή της άλλης ουσίας (Kazan, 2015). Με άλλα λόγια η σύνθεση, η μεταφορά και η σηματοδότηση των φυτορρυθμιστικών ουσιών καθορίζεται ανάλογα με το είδος της διασταύρωσης επικοινωνίας (θετική, συνεργιστική ή αρνητική αλληλεπίδραση) (Wani et al., 2016).

Ανάμεσα στις διάφορες φυτοορμόνες, το σαλικυλικό οξύ (SA), τα ιασμονικά (JAs) και το αιθυλένιο (ET) φαίνεται ότι σχετίζονται κυρίως με την άμυνα των φυτών, ενώ στις αυξίνες (IAA) στις γιβερελλίνες (GAs) και στις κυτοκινίνες (CKs) αποδίδονται κυρίως αναπτυξιακές ιδιότητες. Για αρκετά χρόνια επικρατούσε η θέση ότι το αμπισικό οξύ (ABA) συνιστούσε την κύρια ορμόνη απόκρισης των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις (Kazan, 2015). Ωστόσο πλέον έχει αποδειχθεί ότι όλες οι φυτορυθμιστικές ουσίες εμπλέκονται στην αντιμετώπιση των αντίξοων συνθηκών και επιπλέον τα φυτά έχουν τη δυνατότητα να προσαρμόζουν την ανάπτυξη και την άμυνα μέσω μεταβολών στην παραγωγή και την κατανομή των ορμονών (Colebrook et al., 2014).

Αν και τα φυτά διαθέτουν τους απαραίτητους μηχανισμούς για τη βιοσύνθεση των φυτορυθμιστικών ουσιών προκειμένου να αντιμετωπίσουν τις αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες, σε πολλές περιπτώσεις οι ποσότητες που παράγουν δεν επαρκούν. Παράλληλα από πολλές αναφορές έχει διαπιστωθεί ότι η μεταχείριση των φυτών με τις ουσίες αυτές **-Hormonal priming-** αποτελεί μία άλλη σημαντική προσέγγιση προς την κατεύθυνση της αύξησης της αντοχής των φυτών στις καταπονήσεις (Merewitz, 2016). Η εξωγενής αύξηση του επιπέδου των φυτοορμονών μπορεί να συντελεστεί είτε μέσω εμβολιασμού με συμβιωτικούς μικροοργανισμούς που παράγουν φυτορυθμιστικές ουσίες, είτε με απευθείας εφαρμογή στους σπόρους και στα φυτά (Nadeem et al., 2016). Στις ενότητες που ακολουθούν παρουσιάζονται οι τελευταίες εξελίξεις γύρω από την αποτελεσματικότητα των φυτορυθμιστικών ουσιών ως παράγοντες ενίσχυσης της άμυνας των φυτών και παράλληλα παρατίθενται αρκετά νεότερα δεδομένα γύρω από την κατανόηση των μηχανισμών μέσω των οποίων συμβάλλουν στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων.

4.1 Το αμπισικό οξύ (ABA)

Από όλες τις φυτορυθμιστικές ουσίες το αμπισικό οξύ είναι αυτή που έχει μελετηθεί περισσότερο, καθώς εμπλέκεται σε πλήθος φυτικών φυσιολογικών λειτουργιών και αναπτυξιακών σταδίων όπως είναι το κλείσιμο των στομάτων, η μορφογένεση του εμβρύου, η γήρανση, ο λήθαργος των σπόρων και η σύνθεση των αποθεματικών πρωτεϊνών και λιπιδίων (Sreenivasulu et al., 2010). Κατά τη διαδικασία της απόκρισης και της προσαρμογής των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις, το αμπισικό οξύ έχει ρόλο κομβικής σηματοδοτικής ουσίας και τα επίπεδα του

αυξάνονται ταχύτατα προκειμένου να ενεργοποιήσουν εξειδικευμένες σηματοδοτικές οδούς και να τροποποιήσουν τη γονιδιακή έκφραση (O'Brien and Benkova, 2013). Σε συνθήκες ωσμωτικής καταπόνησης που προκαλούνται από την υψηλή συγκέντρωση αλάτων ή την ξηρασία, το αμπισικό οξύ σηματοδοτεί άμεσες αποκρίσεις για την εξοικονόμηση νερού και τη μείωση της διαπνοής, όπως είναι το κλείσιμο των στομάτων και η διακοπή της μεγέθυνσης της φυλλικής επιφάνειας (Wilkinson et al., 2012). Ο ρυθμιστικός ρόλος του ABA στη λειτουργία των καταφρακτικών κυττάρων έχει αποσαφηνιστεί και έχει επιβεβαιωθεί ότι το ABA λειτουργεί ως κυτταρικός παράγοντας που προενεργοποιεί τα κύτταρα αυτά ώστε να αποκρίνονται πιο άμεσα σε αυξημένα επίπεδα κυταροπλασματικού ασβεστίου (Kim and Maik, 2010). Επιπρόσθετα η ζωρή ανάπτυξη του ριζικού συστήματος και η τροποποίηση της αρχιτεκτονικής των φυτών σε συνθήκες έλλειψης νερού και αζώτου αποδίδονται στη δράση του αμπισικού οξέος (Giuliani et al., 2005).

Σύμφωνα με τους Nemhauser et al. (2006) η μεταγραφική ρύθμιση του 10% των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες ελέγχεται από τη δράση του ABA. Ανάμεσα σε αυτές, είναι οι πρωτεΐνες όψιμης εμβρυογένεσης (LEA), οι αφυδρίνες (Dhms), η ωσμωτίνη (OSM), αντιοξειδωτικοί παράγοντες, ένζυμα για τη βιοσύνθεση ωσμωπροστατευτικών ουσιών, καθώς επίσης και πρωτεΐνες που σχετίζονται με τη μετάδοση του σήματος καταπόνησης και τη γονιδιακή έκφραση, όπως είναι οι πρωτεϊνικές κινάσες, οι φωσφατάσες και οι μεταγραφικοί παράγοντες (Wani et al., 2016).

Πειραματικά στοιχεία έχουν αποδείξει ότι η εξωγενής εφαρμογή αμπισικού οξέος σε καλλιεργούμενα φυτά συνοδεύτηκε με αυξημένη απόκριση και προσαρμογή σε διάφορα είδη αβιοτικών καταπονήσεων. Ενδεικτικά, σε έρευνα από τους Wei et al. (2015) η μεταχείριση νεαρών φυτών σιταριού (*Triticum aestivum* L.) με ABA συνέβαλλε στην αύξηση της αντοχής τους σε συνθήκες ξηρασίας, καθώς διαπιστώθηκε αυξημένο μήκος βλαστών και ξηρό βάρος ριζών και παράλληλα μειωμένα επίπεδα H₂O₂ και μαλονδιαλδεΐδης, που αποδόθηκαν στην υπερέκφραση των γονιδίων της γλουταθειόνης και του ασκορβικού οξέος. Ανάλογα αποτελέσματα από την εξωγενή εφαρμογή ABA σε συνθήκες ξηρασίας παρατηρήθηκαν και από τους Waterland et al. (2010), Du et al. (2013), YadegarI et al. (2014). Αυξημένη αντοχή στο ψύχος σε φυτά αγγουριού και μηδικής παρατηρήθηκε από τους Flores et al. (1988) και Mohapatra et al.

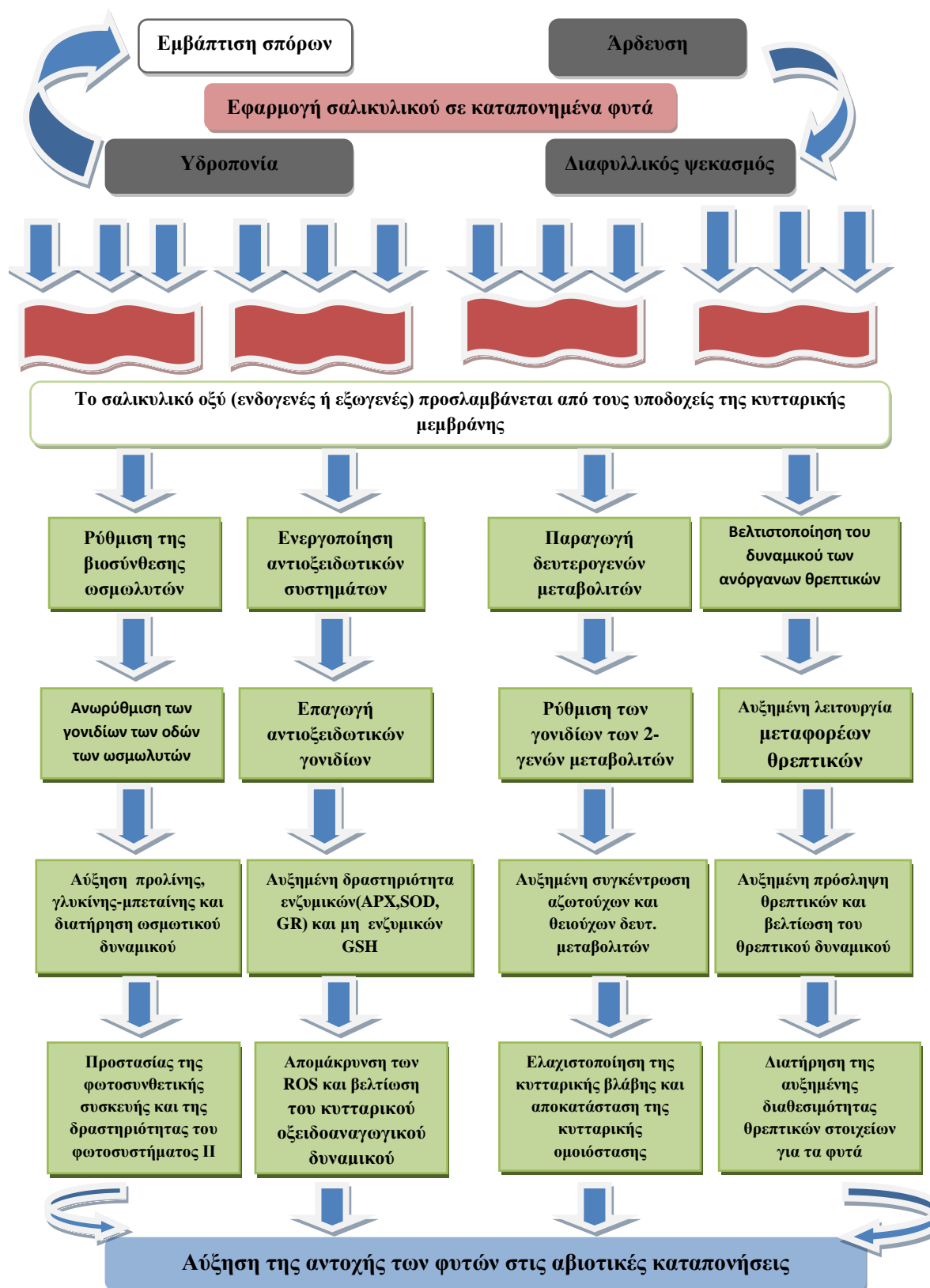
(1988) αντίστοιχα, ενώ βελτιωμένη αντιμετώπιση συνθηκών αλατότητας από φυτά φασολιού και πατάτας διαπίστωσαν οι Khadri et al. (2006) και Etehadnia et al. (2008).

Τέλος αξίζει να αναφερθεί ότι το ABA εμπλέκεται στους σηματοδοτικούς διαύλους πολλών παραγόντων priming που ενισχύουν την άμυνα των φυτών όπως είναι η γλουταθειόνη και οι πολυαμίνες που προαναφέρθηκαν. Όπως αναφέρθηκε από τους Jakab et al. (2005), η μεταχείριση φυτών Arabidopsis με BABA σε συνθήκες ξηρασίας και αλατότητας, οδήγησε σε αυξημένη έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με τη βιοσύνθεση του σαλικυλικού και του αμπισισικού οξέος. Το γεγονός αυτό οδηγεί στη διαπίστωση ότι στη διαχείριση των αβιοτικών καταπονήσεων το αμπισισικό οξύ είναι δυνατό να λειτουργεί είτε από μόνο του -μέσω του κλεισίματος των στομάτων- είτε να αποτελεί το ενδογενές σήμα καταπόνησης που ρυθμίζεται από άλλους παράγοντες priming (Merewitz, 2016).

4.2 Το σαλικυλικό οξύ (SA)

Το σαλικυλικό οξύ (SA) συνιστά μια φαινολική φυτορρυθμιστική ουσία που συναντάται σε όλα τα είδη φυτών με αρκετές ωστόσο διαφοροποιήσεις στα ενδογενή επίπεδα ανάμεσα στα διάφορα είδη (Hernandez et al., 2017). Ο προστατευτικός του ρόλος ενάντια στις καταπονήσεις είναι ιδιαίτερα σημαντικός καθώς εμπλέκεται στη ρύθμιση πολλών φυσιολογικών λειτουργιών όπως είναι η φωτοσύνθεση, ο μεταβολισμός του αζώτου και της προλίνης, η παραγωγή γλυκίνης-μπεταΐνης, η αντιοξειδωτική άμυνα, οι υδατικές σχέσεις σε συνθήκες καταπόνησης κ.ά. (Khan et al. 2015). Εκτός από την εμπλοκή του στην επαγωγή της άμυνας και της αύξησης της ανθεκτικότητας στους βιοτικούς παράγοντες καταπόνησης, το σαλικυλικό οξύ έχει εξακριβωθεί ότι βελτιώνει την αντοχή των φυτών σε μια σειρά αβιοτικών καταπονήσεων, όπως είναι η συσσώρευση βαρέων μετάλλων (Zhang et al., 2015), η ξηρασία (Fayez and Bazaid, 2014), οι ακραίες θερμοκρασίες (Khan et al., 2013b) και η αλατότητα (Khan et al., 2014, Nazar et al., 2015).

Στα πλαίσια της ισχυροποίησης των αμυντικών μηχανισμών των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις, έχει επιβεβαιωθεί ότι τόσο η αύξηση στο επίπεδο του ενδογενούς σαλικυλικού οξέος όσο και η εξωγενής εφαρμογή του, συνοδεύονται με βελτιωμένη αντιμετώπιση των αβιοτικών προκλήσεων. Ένας πολύ μεγάλος αριθμός ερευνών που έχει ανασκοπηθεί από τους Hasanuzzaman et al. (2017), έχουν δείξει ότι διάφορες μέθοδοι εφαρμογής σαλικυλικού οξέος, σε μια μεγάλη ποικιλία φυτών, είναι



Σχήμα 11. Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών μέσω των οποίων το σαλικυλικό οξύ συμβάλλει στη βελτίωση της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις. (Khan et al., 2015)

σε θέση να βελτιώσουν την ανάπτυξη και την φωτοσύνθεση και παράλληλα να μειώσουν την παραγωγή των ROS σε διάφορες συνθήκες αβιοτικών καταπονήσεων (Hasanuzzaman et al., 2017).

Η επίδραση του σαλικυλικού οξέος στις φυσιολογικές λειτουργίες εξαρτάται από τη συγκέντρωση που εφαρμόζεται, καθώς υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να οδηγήσουν σε κυτταρικό θάνατο ή σε αύξηση της ευαισθησίας στις καταπονήσεις (Wani et al., 2016). Άλλοι παράγοντες που υπεισέρχονται στην επαγωγή ή τη παρεμπόδιση των φυσιολογικών λειτουργιών από την εξωγενή μεταχείριση των φυτών με σαλικυλικό οξύ, είναι η διάρκεια της, το φυτικό είδος, η μέθοδος εφαρμογής, η ηλικία καθώς και ο ιστός ή το όργανο όπου εφαρμόζεται (Miura and Tada, 2014). Από πρόσφατες μοριακές προσεγγίσεις έχει εξακριβωθεί ότι το σαλικυλικό οξύ σχετίζεται με την επαγωγή γονιδίων που κωδικοποιούν τσαπερόνες, θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες (HSPs), αντιοξειδωτικούς παράγοντες και δευτερογενείς μεταβολίτες (Khan et al., 2015). Επιπρόσθετα έχει αποδειχθεί η εμπλοκή του στη ρύθμιση των πρωτεϊνικών κινασών καθώς και στην έκφραση και ενεργοποίηση των μη εκφραζόμενων σχετιζόμενων με τη παθογένεση γονιδίων. Η διέγερση των αμυντικών πρωτεϊνών που είναι γνωστές ως πρωτεΐνες σχετιζόμενες με τη παθογένεση (PR) προσφέρει έμμεση προστασία στα φυτά και οδηγεί σε καλύτερες αποδόσεις, καθώς μειώνει την αρνητική επίδραση των βιοτικών παραγόντων σε φυτά που ήδη καταπονούνται από αβιοτικούς παράγοντες (Merewitz, 2016).

Σύμφωνα με τους Khan et al. (2015) η επίδραση του σαλικυλικού οξέος στην παραγωγή βασικών ωσμωλυτών και δευτερογενών μεταβολιτών, η συμβολή του στη διατήρηση της ισορροπίας των ανόργανων θρεπτικών συστατικών καθώς και η αλληλεπίδραση του με άλλες φυτορρυθμιστικές ουσίες, όπως και η εμπλοκή του στη σηματοδότηση των ROS και την αντιοξειδωτική άμυνα συνιστούν τους κύριους μηχανισμούς μέσω των οποίων το σαλικυλικό οξύ εμπλέκεται στην αύξηση της αντοχής των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις. **(Σχήμα 11)**

Γενικότερα το σαλικυλικό οξύ συνιστά ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο στην προσπάθεια αύξησης της παραγωγικότητας των καλλιεργειών καθώς τα θετικά αποτελέσματα που συνοδεύουν την εφαρμογή του, εκδηλώνονται τόσο σε κανονικές όσο και σε συνθήκες καταπόνησης (Khan et al., 2015). Τέλος από πειραματικά αποτελέσματα έχει αποδειχθεί ότι σε σύγκριση με τους άλλους παράγοντες priming οι οποίοι παρουσιάζουν βραχυπρόθεσμα αποτελέσματα, το σαλικυλικό οξύ φαίνεται ότι

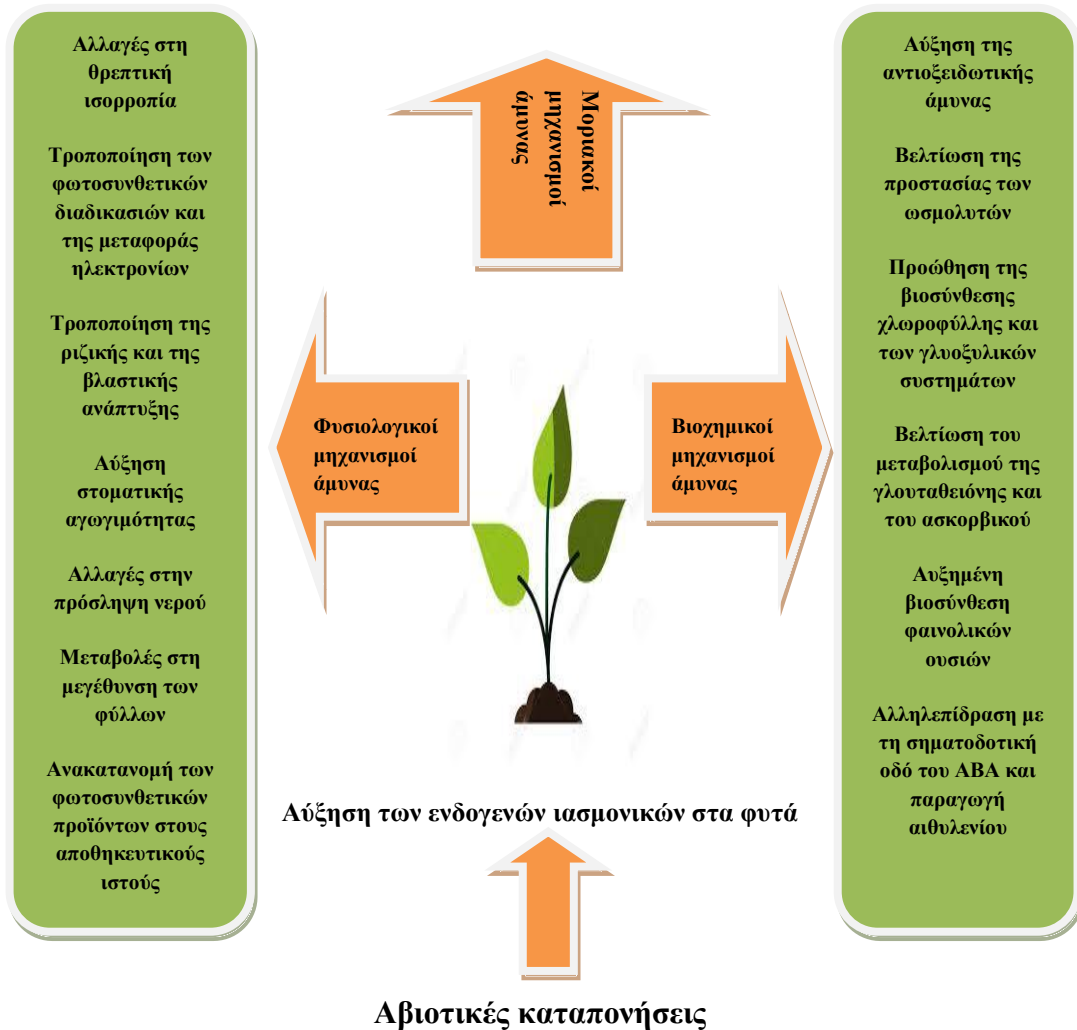
υπερτερεί, καθώς η επίδραση του στην επαγωγή των αμυντικών μηχανισμών διαρκεί περισσότερο (Kadioglu et al., 2011). Το βιβλίο “Salicylic Acid: A Multifaceted Hormone” -Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2017 συνιστά μια πολύ χρήσιμη επιτομή όλων των τελευταίων εξελίξεων γύρω από τον πολυσύνθετο ρόλο του σαλικυλικού οξέος στις αμυντικές αποκρίσεις των φυτών.

4.3 Το ιασμονικό οξύ (JA)

Το ιασμονικό οξύ και οι μεταβολίτες του -συλλήβδην ιασμονικά- είναι φυτορρυθμιστικές ουσίες που ανήκουν στα βιολογικώς ενεργά λιπιδικά παράγωγα και προκύπτουν από την οξείδωση των λιπαρών οξέων. Τα τελευταία χρόνια έχουν τύχει ιδιαίτερης προσοχής, λόγω της εμπλοκής τους στη ρύθμιση μιας σειράς αμυντικών αποκρίσεων όπως είναι η γήρανση των φύλλων, η σηματοδότηση μέσω των ROS και του NO, ο αντιοξειδωτικός μεταβολισμός και οι κινήσεις των στομάτων (Murata and Mori 2014, Taiz and Zeiger, 2010). Η συμβολή τους στην προσαρμογή και στην αύξηση της αντοχής των φυτών, έχει τεκμηριωθεί σε μια σειρά αβιοτικών καταπονήσεων όπως είναι τα βαρέα μέταλλα, η ξηρασία, η αλατότητα οι ακραίες θερμοκρασίες, το όζον και οι UV-B ακτινοβολίες και τα ευρήματα των ερευνών που έχουν διεξαχθεί τα τελευταία χρόνια έχουν ανασκοπηθεί από τους Per et al. (2018) και Farhangi-Abriz and Ghassemi-Golezani, (2019).

Η ισχυροποίηση των αμυντικών μηχανισμών που προκαλείται από την εξωγενή εφαρμογή ιασμονικών αποδίδεται σε μοριακές και φυσιολογικές μεταβολές που οφείλονται στη σηματοδοτική δράση τους, η οποία προκαλεί αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση. Φυσιολογικές μεταβολές όπου εμπλέκεται το ιασμονικό σε συνθήκες καταπόνησης, περιλαμβάνουν τροποποιήσεις στη πρόσληψη και τη διαχείριση του νερού, στις φωτοσυνθετικές δραστηριότητες, στις κινήσεις των στομάτων καθώς και στο ρυθμό ανάπτυξης των ριζών και των βλαστών. Επιπλέον η επαγωγή της βιοσύνθεσης ωσμωλυτών, χλωροφύλλης και φαινολικών ουσιών, η βελτίωση στο μεταβολισμό της γλουταθειόνης και του ασκορβικού οξέος, καθώς και η ενεργός συμμετοχή του στην σύνθεση άλλων φυτορρυθμιστικών ουσιών όπως είναι το ABA και το αιθυλένιο συνιστούν βιοχημικές μεταβολές που οφείλονται στη δράση των ιασμονικών (Farhangi-Abriz and Ghassemi-Golezani, 2019). Από πρώιμες έρευνες (Creelman and Mullet, 1995). έχει διαπιστωθεί ότι η εξωγενής εφαρμογή ιασμονικού επάγει τη σύνθεση αμψισικού στα φυτά καθώς οι μηχανισμοί βιοσύνθεσης αυτών των

- ✓ Αλλαγές στα μοτίβα της γονιδιακής έκφρασης
- ✓ Αλληλεπίδραση με μεταγραφικούς παράγοντες και σηματοδοτικούς διαύλους
- ✓ Αλληλεπίδραση με αναστολείς πρωτεϊνών
- ✓ Προώθηση της δράσης της H⁺-ATP-άσης στα φυτικά κύτταρα



Σχήμα12.Τροποποιημένο σχήμα όπου απεικονίζονται οι μηχανισμοί μέσω των οποίων τα ιασμονικά βελτιώνουν την αντοχή των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις (Farhangi-Abriz and Ghassemi-Golezani, 2019)

ουσιών παρουσιάζουν σημεία διασταυρούμενης επικοινωνίας. Επιπρόσθετα σε ορισμένα φυτικά είδη, η σηματοδότηση που σχετίζεται με το ιασμονικό οξύ λειτουργεί ως σήμα έναρξης παραγωγής αιθυλενίου ενώ φαίνεται ότι επιδρά και στη συσσώρευση άλλων παραγόντων priming όπως είναι οι πολυαμίνες (Onkokesung et al., 2011). Οι πιθανοί μηχανισμοί μέσω των οποίων το ιασμονικό οξύ συμβάλει στην αύξηση της

αντοχής των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις απεικονίζονται σχηματικά στο **σχήμα 12**.

Σύμφωνα με τα πορίσματα των περισσότερων ερευνητών που έχουν μελετήσει την επίδραση των ιασμονικών στα φυτά σε συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης, οι φυτορρυθμιστικές αυτές ουσίες προκαλούν μείωση στην παραγωγή των ROS, μέσω της βελτίωσης της δράσης των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Ενδεικτικά σε έρευνα από τους Anjum et al. (2011) αναφέρθηκε ότι σε φυτά σόγιας στα οποία εφαρμόστηκε 50 Mm ιασμονικού μεθυλίου (MeJA) σε συνθήκες ξηρασίας, παρατηρήθηκαν μικρότερα επίπεδα υπεροξειδωσης των λιπιδίων με παράλληλη αύξηση στη δραστηριότητα των SOD, POD και CAT και στη συγκέντρωση της προλίνης. Ανάλογη αύξηση της δραστηριότητας των ενζυμικών συστημάτων SOD, POD, CAT, APX, και GR με παράλληλη αύξηση στη συγκέντρωση της προλίνης και των διαλυτών σακχάρων, διαπιστώθηκε και σε νεότερη έρευνα από τους Wu et al. (2012), όπου η εφαρμογή MeJA βελτίωσε σημαντικά την αντοχή φυτών κουνουπιδιού στην ξηρασία.

4.4 Οι αυξίνες (IAA)

Οι αυξίνες και ειδικότερα το ινδολ-3 οξικό οξύ (IAA) είναι ένας ρυθμιστής ανάπτυξης που εμπλέκεται σε πλήθος φυσιολογικών λειτουργιών και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο κατά την ανάπτυξη των φυτών σε συνθήκες καταπόνησης (Kazan, 2013). Η εμπλοκή του ως παράγοντας priming στον εγκλιματισμό των φυτών σε συνθήκες ξηρασίας, αλατότητας και συσσώρευσης βαρέων μετάλλων αποδίδεται στην προώθηση της αύξησης του ριζικού συστήματος και της βλαστικής αύξησης καθώς επίσης και στη μεταγραφική ρύθμιση πολυάριθμων γονιδίων που σχετίζονται με τις αμυντικές αποκρίσεις (Wani et al., 2016). Πιο συγκεκριμένα έχει αναφερθεί ότι σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης η εξωγενής εφαρμογή IAA συνέβαλλε σημαντικά στην αύξηση της παραγωγικότητας (Abdoli et al., 2013b), ενώ παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και σε συνθήκες συσσώρευσης βαρέων μετάλλων (Gangwar and Singh, 2011). Σύμφωνα με τους Gangwar et al. (2014) και Kumar et al. (2012a) η ρύθμιση της συσσώρευσης βαρέων μετάλλων στα φυτά, καθώς και η επαγωγή των αντιοξειδωτικών μηχανισμών που προκαλούνται από την εφαρμογή IAA, αποτελούν τους λόγους της βελτιωμένης αντιμετώπισης των αντίξοων αυτών συνθηκών. Επιπλέον η μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας που διαπιστώνεται σε συνθήκες έλλειψης νερού λόγω της μειωμένης δέσμευσης CO₂, αποδείχθηκε ότι είναι σε θέση να αναστραφεί μετά από

εφαρμογή IAA (Khalid et al., 2013). Σε άλλη έρευνα από τους Fahad and Bano, (2012) τα μειωμένα επίπεδα IAA που παρατηρήθηκαν σε συνθήκες αλατότητας σε φυτά καλαμποκιού, επανέκαμψαν μετά από εφαρμογή σαλικυλικού οξέος γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η ισορροπία καθώς και η διασταύρωση επικοινωνίας μεταξύ των ορμονών είναι κομβική για την αντίληψη και τη μετάδοση του σήματος, καθώς επίσης και για την ρύθμιση της αμυντικής απόκρισης. Συνολικά αν και ο ρόλος του IAA στη διαμόρφωση της αύξησης και ανάπτυξης των φυτών έχει κατανοηθεί σε πολύ μεγάλο βαθμό, εντούτοις σε ότι αφορά την εμπλοκή του στη ρύθμιση των αμυντικών μηχανισμών, εξακολουθούν να υπάρχουν αρκετά αναπάντητα ερωτήματα (Wani et al., 2016).

4.5. Οι γιβερελλίνες (GAs)

Οι γιβερελλίνες είναι μια μεγάλη ομάδα φυτορρυθμιστικών ουσιών που επενεργούν σε όλη τη διάρκεια της ζωής των φυτών, προωθώντας την αύξηση των περισσότερων φυτικών οργάνων μέσω της ενίσχυσης της κυτταρικής διαίρεσης και επιμήκυνσης. Η δράση τους θεωρείται επίσης κομβική στη μετάβαση των φυτών από το ένα αναπτυξιακό στάδιο στο άλλο (Colebrook et al., 2014), στη βλάστηση των σπόρων καθώς και στη διαμόρφωση της ανθοφορίας και της καρποφορίας (Shani et al., 2013). Τα τελευταία χρόνια έχει διαπιστωθεί ότι έχουν σημαντικό ρόλο και στην αντιμετώπιση και τον εγκλιματισμό των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις, αλληλεπιδρώντας με άλλες φυτορρυθμιστικές ουσίες όπως είναι το αιθυλένιο και το ABA, που παρουσιάζει δράση ανταγωνιστική των γιβερελλινών (Wani et al., 2016).

Με βάση τα παραπάνω, από πολλούς ερευνητές έχει μελετηθεί η χρήση των γιβερελλινών μέσω προσεγγίσεων priming. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με τα ευρήματα των Maggio et al. (2010), η εξωγενής εφαρμογή GA3 σε καταπονημένα φυτά συνέβαλλε στη μείωση της αντίστασης των στομάτων και σε αύξηση του συντελεστή αποδοτικότητας του νερού, ενώ από τους Afroz et al. (2005) αναφέρθηκε βελτίωση της φωτοσυνθετικής απόδοσης και του μεταβολισμού του αζώτου μετά από εφαρμογή GA3 σε καταπονημένα φυτά μουστάρδας λόγω συνθηκών αλατότητας. Από προσεγγίσεις seed priming έχει αναφερθεί ότι η μεταχείριση σπόρων μέσω εμβάπτισης σε GA3 συμβάλλει σημαντικά στην αύξηση της βλαστικότητας τους (Jisha et al., 2013), Η βελτιωμένη βλαστικότητα σπόρων σε συνθήκες αλατότητας, αποδόθηκε από τους Yang et al. (2014) στην επαγωγή της σύνθεσης ενζύμων καθώς και στην αύξηση της

δραστηριότητας της H⁺-ATPάσης στην περιοχή του τονοπλάστη. Σε άλλη έρευνα η αύξηση της παραγωγικότητας λόγω ανάλογης προσέγγισης, σχετίστηκε με αυξημένη πρόσληψη και κατανομή των θρεπτικών ιόντων (Iqbal and Ashraf, 2013).

Επιπλέον από έρευνες με εξωγενή εφαρμογή GA3 σε συνθήκες ξηρασίας, παρατηρήθηκε καθυστέρηση στην γήρανση των φύλλων και αυξημένη παρουσία αντιοξειδωτικών ενζύμων γεγονός που υποδηλώνει ότι υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ των μηχανισμών αυτών και των γιβερελλινών. Εικάζεται ότι οι μεταγραφικοί παράγοντες WRKY που σχετίζονται με την οδό σηματοδότησης των γιβερελλινών, εμπλέκονται σε μεταγενέστερο στάδιο στους διαύλους των ROS, στη συσσώρευση H₂O₂ και στην επαγωγή της αντιοξειδωτικής απόκρισης (Jo and Hyun, 2011). Επιπρόσθετα η άμβλυση των επιπτώσεων της ξηρασίας αποδίδεται στην άμεση επίδραση του GA3 στους μηχανισμούς επιμήκυνσης και επέκτασης των κύτταρων, μέσω της ρύθμισης της έκφρασης των γονιδίων που κωδικοποιούν εξπανσίνες (EXPA4 και EXPB4) και γλυκοξυλάνες-ενδοτρανσγλυκοσιλάσες (XET) (Xu et al., 2016). Περισσότερες λεπτομέρειες γύρω από τους μηχανισμούς μέσω των οποίων οι γιβερελλίνες συμβάλλουν στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων παρατίθενται εκτενέστερα από τους Colebrook et al. (2014).

4.6. Οι κυτοκινίνες (CKs)

Οι κυτοκινίνες συνιστούν τις κύριες ρυθμιστικές ουσίες της αύξησης και της ανάπτυξης των φυτών και οι μεταβολές στα ενδογενή τους επίπεδα, ως απόκριση στις καταπονήσεις, επιβεβαιώνουν την εμπλοκή τους στην επαγωγή των αμυντικών μηχανισμών των φυτών (Wani et al., 2016). Οι κυτοκινίνες μέχρι πρόσφατα συνδέονταν με αρνητικές επιπτώσεις στην προσαρμογή των φυτών στις καταπονήσεις. ωστόσο πλέον τα δεδομένα αυτά έχουν αρχίσει να αμφισβητούνται (Zwack and Rashotte, 2015). Σύμφωνα με τους Veselov et al. (2017), οι μεταβολές που παρατηρούνται στα επίπεδα της κυτοκινίνης, μείωση ή αύξηση ως απόκριση στις αβιοτικές καταπονήσεις εξαρτώνται από την ένταση, τη διάρκεια και το είδος της καταπόνησης όπως επίσης και από το φυτικό είδος ή ακόμη και το όργανο του φυτού. Πιο συγκεκριμένα σε συνθήκες ήπιας καταπόνησης οι κυτοκινίνες εξασφαλίζουν τη διατήρηση της ανάπτυξης των φυτών ενώ σε συνθήκες έντονης καταπόνησης τα επίπεδα τους μειώνονται προκειμένου οι περιορισμένοι πόροι να κατευθυνθούν προς τη διασφάλιση της βιωσιμότητας των φυτών. Η επίδραση τους στην αμυντική απόκριση των φυτών στις περιβαλλοντικές

προκλήσεις μπορεί να είναι είτε άμεση είτε έμμεση (Wilkinson et al., 2012). Σε συνθήκες ξηρασίας παραδείγματος χάρη, η μείωση της συγκέντρωσης των κυτοκινινών στο περιβάλλον του κυτάρου οδηγεί σε περεταίρω αύξηση του ABA, ενώ σε άλλες περιπτώσεις η επαγόμενη από συνθήκες καταπόνησης σύνθεση κυτοκινινών που έχει παρατηρηθεί σε διάφορα φυτά, συνδέεται με προστατευτικές ιδιότητες σε άλλες μορφές καταπονήσεων (Reguera et al., 2013).

Ο ρόλος της εξωγενούς εφαρμογής κυτοκινινών στην ισχυροποίηση της άμυνας των φυτών έχει μελετηθεί από πολλούς ερευνητές και θεωρείται ότι αποτελεί μια σχετικά εύκολη και οικονομικά αποδοτική προσέγγιση priming σε πολλές καλλιέργειες (Torres-Garcia et al., 2009). Ενδεικτικά, έχει αναφερθεί αύξηση της βλαστικότητας των σπόρων και του ποσοστού επιβίωσης των νεαρών φυτών σε συνθήκες αλατότητας (Iqbal et al. 2006) και σύμφωνα με τους Heyl et al. (2012), οι κυτοκινίνες επιδρούν σε όλα τα στάδια της βλάστησης, βελτιώνοντας τη δραστηριότητα των μεριστωματικών κυττάρων στο επικοτύλιο και στο υποκοτύλιο. Επιπρόσθετα θεωρούνται ως οι κατεξοχήν ουσίες με αντιγηραντική δράση καθώς έχει αποδειχθεί ότι η εφαρμογή τους παρεμποδίζει τη αποδόμηση της χλωροφύλλης και των φωτοσυνθετικών πρωτεϊνών, καθώς επίσης και την αποκοπή των φύλλων και των βλαστών (Posprnšilova et al., 2000). Οι τελευταίες εξελίξεις γύρω από την κατανόηση των φυσιολογικών σχέσεων μεταξύ των αβιοτικών καταπονήσεων και των επιπέδων της κυτοκινίνης όπως και τα αποτελέσματα από την εξωγενή εφαρμογή κυτοκινίνης παρουσιάζονται αναλυτικότερα από τους Zwack and Rashotte, (2015) και Veselov et al. (2017).

4.7 Τα μπρασινοστεροειδή (BR)

Τα μπρασινοστεροειδή (BR) συνιστούν μια μεγάλη και σχετικά νέα ομάδα φυτορρυθμιστικών ουσιών που σχετίζονται στενά με το ιασμονικό οξύ καθώς σύμφωνα με τους Móssig et al. (2000), η βιοσύνθεση των ιασμονικών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη δράση αυτών των ουσιών. Η ομάδα των μπρασινοστεροειδών αποτελείται από περισσότερα από 70 μέλη, μεταξύ των οποίων η μπρασινολίδη, η 28-ομομπρασινολίδη και η 24-επιμπρασινολίδη να εμφανίζονται ως τα μέλη με τη μεγαλύτερη βιολογική δράση και αυτά που έχουν μελετηθεί εκτενέστερα. Από πολλές έρευνες, που έχουν ανασκοπηθεί από τους Vardhini and Anjum, (2015) έχει αποδειχθεί ότι τα μπρασινοστεροειδή και οι συναφείς με αυτά ουσίες παρουσιάζουν σημαντικές δυνατότητες στην άμβλυση των επιπτώσεων πολλών μορφών αβιοτικών

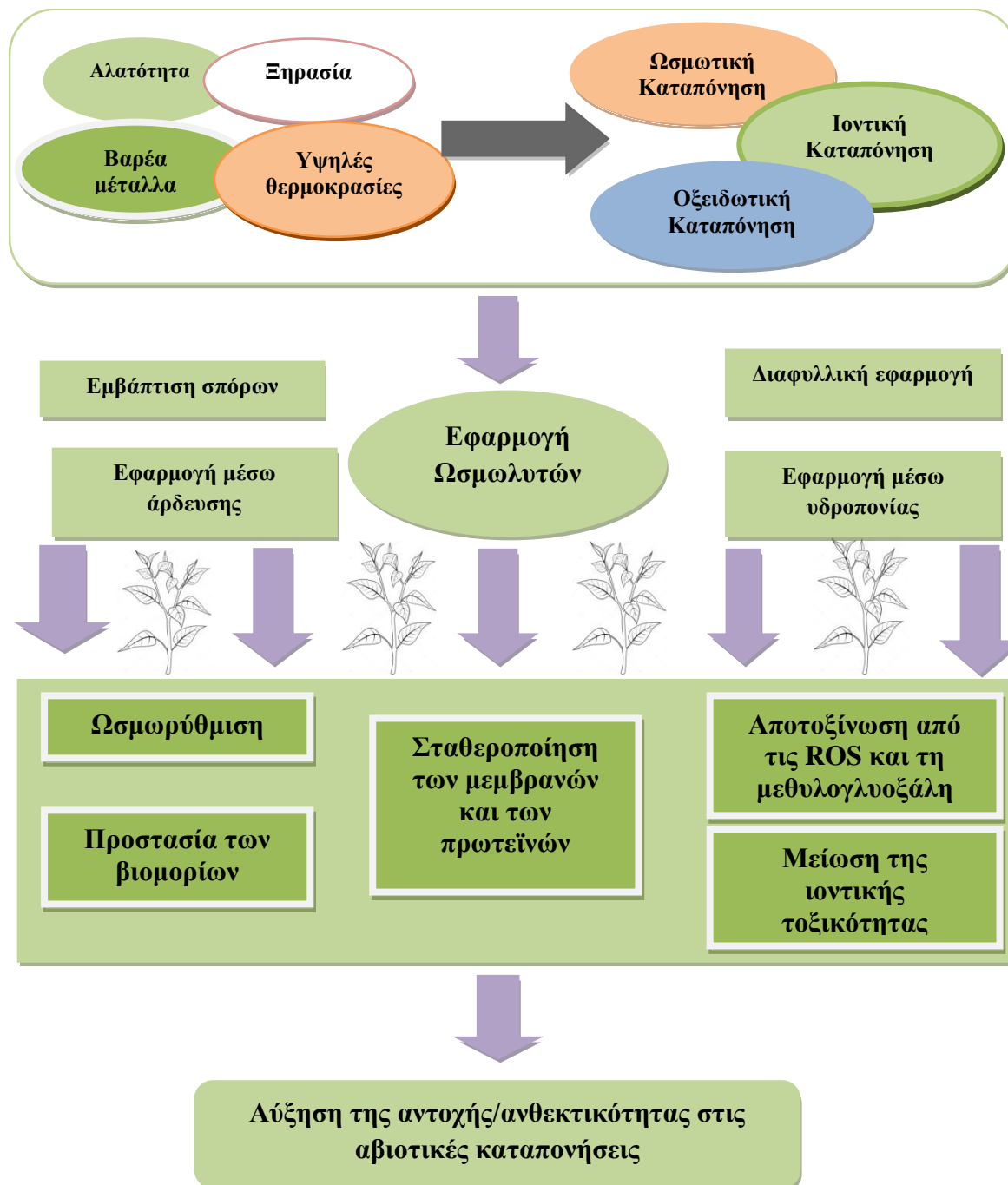
καταπονήσεων. Ενδεικτικά έχει αναφερθεί ότι η εξωγενής εφαρμογή μπρασινολίδης συνέβαλλε σε μεγάλο βαθμό στην αύξηση της αντοχής φυτών καλαμποκιού (Anjum et al., 2011), σόγιας (Zhang et al., 2008) και μηλιάς (Kairong et al., 2006) σε συνθήκες ξηρασίας. Κατά αντιστοιχία με τους άλλους παράγοντες priming, η επαγωγή και η ισχυροποίηση των αντιοξειδωτικών συστημάτων καθώς και η συσσώρευση ωσμωλυτών όπως είναι η προλίνη και η γλυκίνη-μπεταΐνη, φαίνεται ότι αποτελούν τους μηχανισμούς μέσω των οποίων τα μπρασινοστεροειδή εκδηλώνουν τον προστατευτικό τους ρόλο στις αβιοτικές καταπονήσεις (Vardhini and Anjum, 2015).

5. Οι ωσμωλύτες και η συμβολή τους στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων

Η ξηρασία και η αλατότητα αποτελούν ίσως τις μεγαλύτερες αβιοτικές απειλές για την παγκόσμια παραγωγή τροφίμων, καθώς οι απώλειες λόγω της ξηρασίας αναμένεται να υπερβούν το 30%, ενώ παράλληλα περισσότερο από το 20% των καλλιεργήσιμων γαιών εμφανίζει υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων (Nahar et al., 2016). Η μειωμένη αποδοτικότητα στη χρήση του νερού, η διαταραχή των υδατικών σχέσεων, της ωσμωτικής και της ιοντικής ισορροπίας, η πρόκληση βλαβών στη συνοχή και την ακεραιότητα των μεμβρανών όπως και η απενεργοποίηση των ενζυμικών συστημάτων είναι φαινόμενα που παρατηρούνται κατά την επίδραση αυτών των καταπονητικών παραγόντων. Ως αποτέλεσμα τόσο της ξηρασίας όσο και της αλατότητας είναι φυσιολογικές λειτουργίες όπως η στοματική αγωγιμότητα, η φωτοσύνθεση, η διαπνοή και η ανακατανομή των αφομοιώσιμων συστατικών να διαταράσσονται και να μειώνεται σημαντικά η παραγωγικότητα των φυτών και οι αποδόσεις των καλλιεργειών (Peñuelas et al., 2013; Hasanuzzaman et al., 2014).

Ένας από τους μηχανισμούς που επιστρατεύονται από τα φυτά προκειμένου να αντιμετωπίσουν αυτές τις προκλήσεις, είναι και η βιοσύνθεση και συσσώρευση διάφορων τύπων οργανικών διαλυτών ουσιών που ονομάζονται ωσμωλύτες (Dawood, 2018) και η διαδικασία αυτή ονομάζεται ωσμωτική προσαρμογή. Οι ωσμωλύτες είναι ουσίες μικρού μοριακού βάρους και ουδέτερου ηλεκτρικού φορτίου, με υψηλή διαλυτότητα στο νερό που δεν εκδηλώνουν τοξική δράση ακόμη και όταν συναντώνται σε υψηλά επίπεδα στο περιβάλλον του κυττάρου (Hoque et al., 2007). Από χημικής πλευράς διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες: α) τις μπεταΐνες (Bet) -που αποτελούν αζωτο-μεθυλιωμένα παράγωγα των αμινοξέων- και τις συναφείς με αυτές ουσίες όπως είναι το διμεθύλσουλφονιο-προπιονικό (DMSP) β) τα αμινοξέα όπως είναι η προλίνη (Pro) και η εκτοΐνη και γ) τις πολυόλες και τα μη αναγωγικά σάκχαρα όπως είναι η μανιτόλη, η σορβιτόλη και η τρεχαλόζη (Rhodes and Hanson, 1993).

Η συμβολή της ωσμωτικής προσαρμογής στην αύξηση της αντοχής στις καταπονήσεις και στην προστασία των κυτταρικών δομών αποτελεί ένα από τα κεντρικά δόγματα στην φυσιολογία των καταπονήσεων (Hare et al., 1998), αν και δεν έχει εξακριβωθεί πλήρως εάν η συσσώρευση ωσμωλυτών συνάδει πάντοτε με αύξηση των αποδόσεων (Seeraj and Sinclair, 2002). Από λειτουργικής άποψης η ωσμωτική προσαρμογή περιλαμβάνει δύο διακριτές λειτουργίες: την ωσμωρύθμιση και την



Σχήμα 13. Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών μέσω των οποίων η εξωγενής εφαρμογή ωσμωλυτών συμβάλλει στην αύξηση της αντοχής των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις. (Hasanuzzaman et al., 2019)

ωσμωπροστασία. Παλαιότερα οι όροι αυτοί θεωρούνταν ταυτόσημοι καθώς στους ωσμωλύτες αποδίδονται τόσο ρυθμιστικές όσο και προστατευτικές ιδιότητες. Ωστόσο όπως θα αναλυθεί παρακάτω πρόκειται για δύο διαφορετικές λειτουργίες.

Η ωσμωρύθμιση που προκαλείται από τη συσσώρευση ωσμωλυτών, είναι η ενεργός μείωση του ωσμωτικού δυναμικού μέσω της προσέλκυσης μορίων νερού στο

εσωτερικό των κυττάρων, προκειμένου να διατηρηθεί η σπαργή και θεωρείται ένας από τους πιο αποτελεσματικούς μηχανισμούς αντιμετώπισης της ξηρασίας. Η διατήρηση της σπαργής μπορεί να συμβάλλει στη διατήρηση μιας σειράς σημαντικών φυσιολογικών διεργασιών όπως είναι το άνοιγμα των στομάτων, η φωτοσύνθεση, ο ρυθμός αύξησης των ριζών κ.ά. Από τους Zincak et al. (2009) αναφέρθηκε ότι η καθυστέρηση στο κλείσιμο των στομάτων λόγω υψηλής συσσώρευσης ωσμωλυτών, συνοδεύτηκε με υψηλότερη φωτοσυνθετική απόδοση και βελτιωμένες αποδόσεις σε φυτά σιταριού που εκτέθηκαν μετά την άνθηση σε συνθήκες ξηρασίας. Ωστόσο από την άλλη πλευρά, η καθυστέρηση στο κλείσιμο των στομάτων μπορεί να οδηγήσει σε ταχύτερη εξάντληση των υδατικών αποθεμάτων και επομένως η όποια θετική επίπτωση στην παραγωγή να είναι αμελητέα (Serraj and Sinclair, 2002)

Η ωσμοπροστασία, η οποία επίσης συνδέεται με υψηλά επίπεδα ωσμωλυτών, αποτελεί μια από τις πιο πολύπλοκες αμυντικές αποκρίσεις που εκδηλώνουν τα φυτά για την αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων. Ο μηχανισμός της βασίζεται στους συσχετισμούς και τους συνδυασμούς μη τοξικών παραγόντων όπως είναι οι ωσμωλύτες με τα κυτταρικά συστατικά (Ranganayakulu et al., 2013). Σε αυτή την περίπτωση οι ωσμωλύτες έχουν προστατευτικό ρόλο και συσσωρεύονται κυρίως στο κυτταρόπλασμα και στους χλωροπλάστες ενώ επιπλέον δεν εμπλέκονται με τις κανονικές φυσιολογικές λειτουργίες. Η αντίληψη της αβιοτικής καταπόνησης επάγει τη βιοσύνθεση των ωσμωλυτών ενώ μετά το πέρας της, λαμβάνει χώρα η αποδόμησή τους (Zincak et al., 2009). Η σταθεροποίηση των πρωτεϊνών και η προστασία της δομής των μεμβρανών – λειτουργώντας σε συνθήκες αφυδάτωσης ως χημικές τσαπερόνες- καθώς και η απομάκρυνση των ROS, είναι οι κυριότερες προστατευτικές ιδιότητες που αποδίδονται στους ωσμωλύτες (Smirnoff and Cumbe, 1989). Επιπλέον η συμβολή τους είναι καθοριστική στον περιορισμό της ιοντικής τοξικότητας και στην προστασία των αντιοξειδωτικών παραγόντων, όπως και στην εξισορρόπηση του οξειδοαναγωγικού δυναμικού στο περιβάλλον του κυττάρου, (Farooq et al., 2009). Τέλος ο σηματοδοτικός ρόλος των ωσμωλυτών θεωρείται ζωτικής σημασίας στην αμυντική απόκριση των φυτών (Nahar et al., 2016).

Στην προσπάθεια της κατανόησης και ενίσχυσης της άμυνας των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις, από πολλές μελέτες έχουν διαπιστωθεί οι επαγόμενες από τις αντίξοες συνθήκες μεταβολές στο επίπεδο των ωσμωλυτών, ενώ επιπλέον από έρευνες σε μεταβολομικό, μεταγραφικό και διαγονιδιακό επίπεδο, ανακαλύφθηκε ότι τα φυτά

στα οποία εκδηλώνεται υπερέκφραση στη βιοσύνθεση ωσμωλυτών ή στα μεταβολικά τους γονίδια παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις (Nahar et al., 2016). Στα πλαίσια των προσεγγίσεων priming, η εξωγενής εφαρμογή ωσμοπροστατευτικών ουσιών συνιστά μια ακόμη εναλλακτική με σημαντική συνεισφορά στην βελτίωση της αποδοτικότητας των καλλιεργειών σε συνθήκες καταπόνησης. Στις ενότητες που ακολουθούν παρουσιάζονται αναλυτικότερα οι μηχανισμοί μέσω των οποίων οι ωσμωλύτες εμπλέκονται στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων καθώς επίσης και οι σημαντικότερες ουσίες που έχουν διερευνηθεί προς την κατεύθυνση αυτή.

5.1 Τα σάκχαρα. Ο ρόλος της τρεχαλόζης

Εκτός από τη συμβολή τους στη ρύθμιση της ωσμωτικής ισορροπίας, τα σάκχαρα λειτουργούν και ως υποστρώματα της φυτικής ανάπτυξης καθώς επίσης και ως ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης (Koch, 1996). Σε συνθήκες καταπόνησης συσσωρεύονται στα φύλλα πολλών φυτών και απαρτίζουν μεγάλο μέρος της συνολικής ποσότητας ωσμωλυτών που συναντώνται στα φυτικά κύτταρα. Σύμφωνα με τους Keunen et al. (2013), τα σάκχαρα που εμπλέκονται στην αντιμετώπιση των καταπονήσεων είναι κυρίως οι δισακχαρίτες (σουκρόζη, τρεχαλόζη), οι ολιγοσακχαρίτες της οικογένειας της ραφινόζης και οι φρουκτάνες. Υψηλά επίπεδα σακχάρων συνδέονται συνήθως με συνθήκες ξηρασίας, πλημμύρας, αλατότητας και χαμηλών θερμοκρασιών, ενώ σε συνθήκες υψηλής ακτινοβολίας, συσσώρευσης βαρέων μετάλλων και ανεπάρκειας θρεπτικών συστατικών καταγράφονται χαμηλότερα επίπεδα (Gill et al., 2001). Η αύξηση στη συγκέντρωση των μονοσακχαριτών αποτελεί την αρχική απόκριση σε συνθήκες ξηρασίας ενώ η αντίστοιχη αύξηση στις φρουκτάνες λαμβάνει χώρα σε μεταγενέστερο στάδιο (Kerepesi and Galiba, 2000).

Η τρεχαλόζη (Tre) ή αλλιώς τρεμαλόζη ή μυκόζη συναντάται ευρύτατα σε όλα τα βιολογικά συστήματα (βακτήρια, μύκητες, φυτά, έντομα και σπονδυλωτά) και ο κύριος ρόλος της είναι η αύξηση της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις (Iordachescu and Imai, 2010). Θεωρείται ο πιο αποτελεσματικός δισακχαρίτης στη διαδικασία της σταθεροποίησης των αφυδατωμένων μεμβρανών και συσσωρεύεται σε υψηλές συγκεντρώσεις σε συνθήκες ξηρασίας (Nahar et al., 2016). Πιο συγκεκριμένα κατά τη διάρκεια της αφυδάτωσης οι μεμβράνες αποσταθεροποιούνται λόγω της φάσης της λιπιδικής μετάβασης και της σύντηξης κυστιδίων. Σε αυτή τη περίπτωση ακόμη και

ελάχιστη ποσότητα τρεχαλόζης είναι σε θέση να αναστείλει τη πλήρη σύντηξη κυστιδίων, όπως και να καταστείλει τη φάση μετάπτωσης της θερμοκρασίας των αφυδατωμένων λιπιδίων, διατηρώντας τα σε υγρή κρυσταλλική φάση, απουσία νερού (Crowe et al., 1992). Εικάζεται ότι κατά τη διαδικασία της αφυδάτωσης ή του παγετού τα μόρια της τρεχαλόζης αντικαθιστούν τα μόρια του νερού που φυσιολογικά συνδέονται με τις βιολογικές δομές (Donnamaria et al., 1994). Εξαιτίας του υψηλού της δυναμικού ενυδάτωσης, η τρεχαλόζη συμβάλλει στη σταθεροποίηση των μεμβρανών και των πρωτεϊνών μέσω δεσμών υδρογόνου μεταξύ των υδροξυλικών της ομάδων και των πολικών ομάδων των πρωτεϊνών όπως και των φωσφορικών ομάδων των μεμβρανών (Kawai et al., 1992)

Η υαλοποίηση (vitrification) είναι ένας άλλος μηχανισμός μέσω του οποίου η τρεχαλόζη εμπλέκεται στην αντιμετώπιση της αφυδάτωσης. Η τρεχαλόζη έχει την τάση να σχηματίζει μια υαλώδη δομή η οποία χαρακτηρίζεται από χαμηλή αντιδραστικότητα, καθιστώντας την κατά αυτό τον τρόπο πιο σταθερό μόριο σε σχέση με τους άλλους δισακχαρίτες, λόγω του μη αναγωγικού της χαρακτήρα. Η υγροσκοπική αυτή υαλώδη δομή έχει ως αποτέλεσμα η τρεχαλόζη να εμφανίζεται εξαιρετικά σταθερή σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και πλήρους αφυδάτωσης διατηρώντας έτσι τα βιομόρια σε μορφή που τους επιτρέπει να επιστρέψουν στη φυσική τους δομή και λειτουργία μετά από ενυδάτωση (Crowe and Crowe, 2000).

Ο ρόλος της τρεχαλόζης στην προστασία της φωτοσυνθετικής συσκευής και στην αύξηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης έχει αναφερθεί από τους Ali and Ashraf, (2011) και αποδόθηκε στη βελτίωση των παραμέτρων της ανταλλαγής αερίων ενώ από άλλους ερευνητές συνδέθηκε με την αλληλεπίδραση του μεταβολισμού της τρεχαλόζης με τους σηματοδοτικούς διαύλους των σακχάρων (Zeid, 2009). Η συμβολή της στην βελτίωση της αντιοξειδωτικής άμυνας μέσω της επαγωγής και της συσσώρευσης αντιοξειδωτικών παραγόντων, συνιστά μια ακόμη από τις προστατευτικές της ιδιότητες (Nahar et al., 2016). Αν και δεν έχουν κατανοηθεί πλήρως οι σηματοδοτικοί οδοί μέσω των οποίων η τρεχαλόζη εκδηλώνει τη σηματοδοτική της δράση, από πολλές αναφορές καθώς και από βιοτεχνολογικές προσεγγίσεις, διαπιστώθηκε ότι η τρεχαλόζη εμπλέκεται και στην αύξηση της συσσώρευσης αμυντικών μεταβολιτών σε συνθήκες καταπόνησης. Από πειραματικά αποτελέσματα με εξωγενή εφαρμογή τρεχαλόζης, από τους Posmyk et al. (2009) παρατηρήθηκε αύξηση στα επίπεδα των δευτερογενών μεταβολιτών με άμεση αντιοξειδωτική δράση όπως είναι η τοκοφερόλη και το

ασκορβικό οξύ, ενώ βελτίωση στη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων διαπιστώθηκε σε νεότερες έρευνες από τους Ali and Ashraf, (2011) και Alam et al. (2014). Τέλος σε ανάλογα συμπεράσματα κατέληξε και πρόσφατη έρευνα από τον Sadak (2019) όπου η βελτιωμένη επίδοση φυτών σιταριού σε συνθήκες αλατότητας μετά από μεταχείριση με τρεχαλόζη, αποδόθηκε στην αύξηση των ωσμωπροστατευτικών ουσιών όπως η προλίνη και τα σάκχαρα και στην παράλληλη μείωση στην υπεροξειδωση των λιπιδίων, της συγκέντρωσης του H₂O₂ και της δραστηριότητας του ενζύμου λιποξυγενάση (LOX). Περισσότερες αναφορές γύρω από τον ρόλο της τρεχαλόζης και τη συμβολή της στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων παρατίθενται από τους Nahar et al. (2016).

5.2 Οι πολυόλες ή αλκοόλες των σακχάρων

Οι οργανικές αλκοόλες οι οποίες περιλαμβάνουν τις πολυόλες ή αλκοόλες των σακχάρων, όπως είναι η μανιτόλη, η γλυκόλη, η σορβιτόλη, η μυο-ινοσιτόλη και η γλυκερόλη αποτελούν μεταβολίτες που συχνά απαντώνται σε μεγάλες συγκεντρώσεις, σε διάφορα είδη φυτών, κατά την επίδραση των αβιοτικών καταπονήσεων. Οι αλκοόλες, όπως και τα σάκχαρα, επίσης συμβάλλουν στην προστασία και τη σταθεροποίηση των βιομορίων κατά τη διάρκεια της αφυδάτωσης και της ενυδάτωσης, ενάντια στις απότομες ωσμωτικές μεταβολές και την οξειδωτική καταπόνηση (Suprasanna et al., 2016). Σύμφωνα με τους Tan et al. (2013), η μυο-ινοσιτόλη η συσσώρευση της οποίας συνδέεται με σχεδόν όλες τις μορφές αβιοτικών καταπονήσεων και λειτουργεί ως συμβατός ωσμωλύτης, συμβάλλει καθοριστικά στην εξουδετέρωση και την απομάκρυνση των ROS και κατά συνέπεια στην παρεμπόδιση της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. Η μανιτόλη επίσης συνδέεται με προστατευτικές ιδιότητες και έχει κομβικό ρόλο στην ωσμωτική προσαρμογή και στην αύξηση της αντοχής σε συνθήκες αλατότητας και υδατικής καταπόνησης. Από τους Karakas et al. (1997) έχει αναφερθεί ότι η μείωση του ωσμωτικού δυναμικού κατά 30-40% κατά την επίδραση των καταπονήσεων, αποδίδεται στη δράση της μανιτόλης. Φυτά με αντοχή στις αβιοτικές προκλήσεις έχει αποδειχθεί ότι εκτός από τη σορβιτόλη και τη μανιτόλη, είναι σε θέση να συσσωρεύουν και διαφορετικές πολυόλες όπως είναι οι κυκλιτόλες.

Έρευνες στο πρόσφατο παρελθόν απέδειξαν ότι ορισμένες πολυόλες όταν εφαρμόζονται εξωγενώς συνδέονται με άμβλυνση των επιπτώσεων των καταπονήσεων. Ενδεικτικά από έρευνα σε ρίζες σιταριού που αναπτύσσονταν σε συνθήκες αλατότητας,

αναφέρθηκε ότι η εξωγενής εφαρμογή μανιτόλης συνέβαλλε αποτελεσματικά στη μείωση της οξειδωτικής καταπόνησης μέσω της επαγωγής των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Με δεδομένο ότι τα φυτά σιταριού δεν έχει αποδειχθεί ότι συσσωρεύουν μανιτόλη σε συνθήκες καταπόνησης, φαίνεται ότι η μανιτόλη ίσως αποτελεί χρήσιμος παράγοντας priming (Seekin et al., 2009). Σε πιο πρόσφατη έρευνα από τους Theerakulpisut and Gunnula (2012), αναφέρθηκε ότι η εφαρμογή σορβιτόλης σε νεαρά φυτά ρυζιού με ευαισθησία στην αλατότητα, είχε θετικά αποτελέσματα στην διατήρηση της σταθερότητας των μεμβρανών. Η μεταχείριση σπόρων σιταριού με μανόζη και μανιτόλη, οδήγησε επίσης σε αύξηση των αντοχής των νεαρών φυτών στην ξηρασία και αποδόθηκε στην επαγωγή των αντιοξειδωτικών γονιδίων, στη μείωση της οξειδωτικής βλάβης των βιομορίων καθώς και στη συσσώρευση αναγωγικών σακχάρων που συνδέονται με την ωσμωτική προσαρμογή (Hameed and Iqbal, 2013).

5.3 Τα πρωτεϊνικά αμινοξέα. Η προλίνη (Pro)

Το κυριότερο πρωτεϊνικό αμινοξύ με τις περισσότερες αναφορές για τις ωσμωπροστατευτικές του ιδιότητες σε συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης, είναι η προλίνη (Sharma et al., 2014.) Η συσσώρευση προλίνης αποτελεί μια τυπική μορφή απόκρισης σε διάφορα είδη καταπονήσεων, που συναντάται όχι μόνο στα φυτά. αλλά και στα βακτήρια, στα πρωτόζωα και τα θαλάσσια ασπόνδυλα. Στα φυτά υψηλά επίπεδα προλίνης διαπιστώθηκαν κατά την επίδραση σχεδόν όλων των μορφών αβιοτικής καταπόνησης καθώς επίσης και μετά από προσβολές από παθογόνα (Zincak et al., 2016). Από τους Verbruggen and Hermans (2008) έχει αναφερθεί ότι σε αντίξοες συνθήκες τα επίπεδα της προλίνης είναι δυνατόν να αυξηθούν έως και εκατό φορές σε σχέση με τα κανονικά επίπεδα, αν και υπάρχουν διαφορές στο δυναμικό συσσώρευσης ανάμεσα στα φυτικά είδη. Στα ανώτερα φυτά η βιοσύνθεση της λαμβάνει χώρα στο κυτταρόπλασμα και στους χλωροπλάστες, μέσω των μεταβολικών οδών του γλουταμικού και της ορνιθίνης ενώ η αποσύνθεση της πραγματοποιείται στα μιτοχόνδρια (Ashraf and Foolad, 2007).

Η προλίνη έχει τεκμηριωθεί ως ένα πολυλειτουργικό αμινοξύ που συνδέεται με διάφορες προσαρμοστικές αποκρίσεις των φυτών σε συνθήκες καταπόνησης. Η συσσώρευση της στα φυτικά κύτταρα αποτελεί τμήμα της σηματοδότησης που σχετίζεται με τις αμυντικές αποκρίσεις των φυτών και την επαγωγή αμυντικών γονιδίων (Kaur et al., 2017). Εκτός από τον κομβικό της ρόλο στην ωσμωτική ρύθμιση, η

προλίνη συμβάλλει στη σταθεροποίηση των μεμβρανών και των πρωτεϊνών, στην απομάκρυνση των ελευθέρων ριζών καθώς και στη ρύθμιση του PH του κυτταροπλάσματος, διατηρώντας έτσι την οξειδοαναγωγική ισορροπία και ομοιόσταση των φυτικών κυττάρων (Hayat et al., 2012). Σύμφωνα με τους Busch et al. (2014), φαίνεται ότι η προλίνη λειτουργεί ως συμβατή με τις πρωτεΐνες υδροτροπική ουσία, ελαττώνοντας κατά αυτό τον τρόπο την οξίνιση του κυτταροπλάσματος και συμβάλλοντας έτσι στην διατήρηση της αναλογίας NADP+/NADPH, ώστε να είναι προσαρμοσμένη με τον κυτταρικό μεταβολισμό (Filippou et al., 2014). Επιπλέον, η προλίνη συνιστά πηγή άνθρακα, αζώτου και ενέργειας, καθώς η αποδόμηση της μετά το πέρας της καταπόνησης, συνοδεύεται με οξειδωτική αναπνοή μέσω της οποίας η ενέργεια ανακατευθύνεται για την επανεκκίνηση των αναπτυξιακών διαδικασιών (Zivcak et al., 2016).

Στη βιβλιογραφία συναντάται ένας πολύ μεγάλος αριθμός δημοσιεύσεων που επιβεβαιώνουν ότι η εξωγενής εφαρμογή προλίνης συνδέεται με βελτιωμένη αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις. Η μεταχείριση των φυτών με προλίνη έχει επιδράσεις παρόμοιες με αυτές που παρατηρούνται κατά τη φυσιολογική συσσώρευση της (Merewitz, 2016). Ενδεικτικά σε συνθήκες αλατότητας, η εξωγενής εφαρμογή προλίνης συνοδεύτηκε με αυξημένη ωσμωπροστασία και προώθηση της ανάπτυξης σε διάφορα είδη φυτών (Roy et al., 1993; Ali et al., 2007). Από τους Moustakas et al. (2011) αναφέρθηκε ότι σε συνθήκες ξηρασίας, η εφαρμογή προλίνης σε φυτά *Arabidopsis* οδήγησε σε αύξηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης καθώς και σε βελτίωση του επιπέδου των διαλυτών σακχάρων. Αυξημένη δραστηριότητα των ενζύμων υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) και υπεροξειδάση (POD) που συνδέονται με την αντοχή στην αλατότητα, παρατηρήθηκαν από τους Yan et al. (2000) ενώ από τους Hong et al. (2000) διατυπώθηκε η άποψη ότι ο ρόλος της προλίνης πιθανόν είναι πιο σημαντικός στην απομάκρυνση των ROS και λιγότερο στην ωσμωτική προσαρμογή. Τέλος η μεταχείριση σπόρων ηλίανθου με προλίνη, συνέβαλλε στην αυξημένη αντοχή στην αλατότητα μέσω της βελτίωσης των ενδογενών επιπέδων της χλωροφύλλης και των ωσμωλυτών (Sadak and Mostafa, 2015). Περισσότερες αναφορές γύρω από τα αποτελέσματα και τις παρατηρήσεις από την εξωγενή εφαρμογή προλίνης για την αντιμετώπιση διαφόρων μορφών αβιοτικών καταπονήσεων, παρατίθενται από τους Hayat et al. (2012) και Dar et al. (2016).

Θα πρέπει ωστόσο να σημειωθεί, ότι παρά το γεγονός ότι η εξωγενής εφαρμογή προλίνης αποδεδειγμένα αποτρέπει ή αποκαθιστά τις επιβλαβείς επιδράσεις των καταπονήσεων, από την άλλη πλευρά η εφαρμογή υψηλών συγκεντρώσεων μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη των φυτών και να έχει επιζήμια αποτελέσματα στον κυτταρικό μεταβολισμό (Nanjo et al., 2003). Τέτοια αρνητικά αποτελέσματα παρατηρήθηκαν από τον Heuer (2003), σε φυτά ντομάτας που αναπτύσσονταν σε συνθήκες αλατότητας, όπου η εξωγενής εφαρμογή προλίνης οδήγησε σε διατάραξη της ιοντικής ισορροπίας. Ανάλογες αρνητικές επιδράσεις από την υπερβολική συγκέντρωση προλίνης διαπιστώθηκαν και από τους Zhang et al. (1995) και Hare et al. (2001) και αποδόθηκαν στην παρεμπόδιση της δραστηριότητας των ενζύμων που συμμετέχουν στο μεταβολισμό της προλίνης, καθώς και στην αποσταθεροποίηση της έλικας του DNA (Rajendrakumar et al., 1997). Επομένως παρά την καθολικά αποδεκτή συμβολή της προλίνης στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων, ο ακριβής προσδιορισμός των κατάλληλων δόσεων και των σταδίων εφαρμογής κρίνεται απαραίτητος, προκειμένου να αξιοποιηθεί ο πολύπλευρος ρόλος της στην κατεύθυνση της ισχυροποίησης των αμυντικών μηχανισμών των φυτών.

5.4 Τα μη πρωτεϊνικά αμινοξέα.

Τα μη πρωτεϊνικά αμινοξέα είναι τα αμινοξέα τα οποία δεν εμπλέκονται στις μεταγραφικές διαδικασίες της πρωτεϊνοσύνθεσης και είναι γνωστά και ως μη κωδικοποιημένα (non-coded) αμινοξέα. Τα μόρια αυτά είναι δυνατό να ενσωματωθούν στις πρωτεΐνες μετά τη μετάφραση, ωστόσο ουσιαστικά αποτελούν ενδιάμεσους μεταβολίτες των βιοχημικών οδών ή είναι προϊόντα της λύσης των πρωτεϊνών (Bell, 2003). Τα πιο σημαντικά μη πρωτεϊνικά αμινοξέα, που έχουν διερευνηθεί για την δυνατότητα τους να λειτουργούν ως παράγοντες priming, είναι η γλυκίνη-μπεταΐνη (GB), το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA), το β-αμινοβουτυρικό οξύ (BABA) και το 5-αμινολεβουλενικό οξύ (ALA) (Merewitz, 2016).

5.4.1 Η γλυκίνη-μπεταΐνη (GB)

Η γλυκίνη-μπεταΐνη θεωρείται ως ένας από τους πιο σημαντικούς και ευρέως διαδεδομένους ωσμωλύτες σε αρκετά είδη φυτών, όπου συντίθεται και συσσωρεύεται ως απόκριση σε διάφορες μορφές αβιοτικών καταπονήσεων (Ashraf and Foolad, 2007, Rasheed et al., 2014). Η βιοσύνθεση της στους ζωντανούς οργανισμούς, επιτυγχάνεται

μέσω δύο διαφορετικών βιοχημικών οδών, όπου ως πρόδρομα μόρια χρησιμοποιούνται η χολίνη και η γλυκίνη (Sharma et al., 2014). Φυσιολογικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι υπάρχει στενός συσχετισμός μεταξύ των επιπέδων της γλυκίνης-μπεταΐνης και του βαθμού αντοχής των φυτών στις καταπονήσεις. Εκτός από τον κομβικό της ρόλο στην οσμωτική προσαρμογή, η γλυκίνη-μπεταΐνη εμπλέκεται σε πολλές φυσιολογικές και βιοχημικές διαδικασίες όπως είναι η απομάκρυνση των ROS, η προστασία της φωτοσυνθετικής συσκευής, η ενεργοποίηση των γονιδίων καταπόνησης και η προστασία των μεμβρανών (Chen and Murata, 2008).

Οι υψηλές συγκεντρώσεις γλυκίνης-μπεταΐνης που συναντώνται σε συνθήκες καταπόνησης στο κυτταρόπλασμα και στους χλωροπλάστες συμβάλλουν στη σταθεροποίηση της τεταρτοταγούς δομής των αναδιπλωμένων πρωτεϊνών (Ashraf and Foolad, 2007) και στην προστασία του φωτοσυνθετικού μηχανισμού (Park et al., 2007). Το φωτοσύστημα II συνιστά το πιο σημαντικό τμήμα της φωτοσυνθετικής συσκευής και η παραγωγή γλυκίνης-μπεταΐνης στα φυτά αυξάνει την αντοχή του και βελτιώνει τη δυνατότητα του να επανακάμψει μετά από φωτοπαρεμπόδιση που προκαλείται από τους αβιοτικούς παράγοντες (Masood et al., 2016), προστατεύοντας τις λειτουργικές πρωτεΐνες, τα ένζυμα (π.χ. Rubisco) και τα λιπίδια της συσκευής και διατηρώντας τη ροή των ηλεκτρονίων ανάμεσα στις μεμβράνες των θυλακοειδών (Dawood, 2018). Από τους Nomura et al. (1998) αναφέρθηκε ότι σε συνθήκες ξηρασίας η γλυκίνη-μπεταΐνη συνέβαλλε στη διατήρηση της φωτοσυνθετικής αποδοτικότητας μέσω της αύξησης της στοματικής αγωγιμότητας, της διατήρησης της λειτουργικότητας της Rubisco και της προστασίας των δομών των χλωροπλάστων. Σε ανάλογα συμπεράσματα κατέληξαν και νεότερες έρευνες από τους Oukarroum et al. (2012), Cha-um et al. (2013) ενώ από τους Gupta and Thind (2015) παρατηρήθηκε ότι η φωτοσυνθετική απόδοση του σιταριού αυξήθηκε σε συνθήκες ξηρασίας μετά από εφαρμογή γλυκίνης-μπεταΐνης και αποδόθηκε στην αντιοξειδωτική της δράση. Θα πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι η γλυκίνη-μπεταΐνη δεν εμπλέκεται άμεσα στην απομάκρυνση των ROS, αλλά συμμετέχει ενεργά στη ρύθμιση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων (Giri, 2011) ή ενδεχομένως μπορεί να συμβάλλει στη μείωση της παραγωγής ROS μέσω μηχανισμών που προς το παρόν είναι άγνωστοι (Chen and Murata, 2008). Από διάφορες έρευνες έχει βρεθεί ότι η ταυτόχρονη αύξηση της συγκέντρωσης της γλυκίνης-μπεταΐνης στο κυτταρόπλασμα και στους χλωροπλάστες οδηγεί σε υψηλότερη αντοχή στις καταπονήσεις σε σχέση με την

αύξηση που λαμβάνει χώρα μόνο στο κυτταρόπλασμα (Park et al., 2007). Η αλληλεπίδραση μεταξύ των φυτορρυθμιστικών ουσιών και της γλυκίνης-μπεταΐνης φαίνεται να έχει συνεργιστική δράση στην αντιμετώπιση των αντίξοων συνθηκών. Δυστυχώς μέχρι και σήμερα, δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως ο ρόλος των φυτοορμονών καθώς και της ανόργανης θρέψης στο μεταβολισμό της γλυκίνης-μπεταΐνης, παρά τον τεράστιο όγκο της έρευνας που έχει διεξαχθεί γύρω από τις λειτουργίες των ουσιών αυτών στους φυτικούς οργανισμούς (Masood et al., 2016).

Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας αποκαλύπτει ότι η εξωγενής εφαρμογή γλυκίνης-μπεταΐνης οδηγεί σε αξιοσημείωτη αύξηση της αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις και σημαντική βελτίωση της ανάπτυξης και των αποδόσεων, ιδιαίτερα σε φυτά που κανονικά δεν παράγουν υψηλά επίπεδα όπως το ρύζι, η τομάτα, η σόγια και η πατάτα (Wani et al., 2013). Ένας μεγάλος αριθμός ερευνών όπου παρατίθενται πολλά στοιχεία, τόσο από εξωγενείς εφαρμογές, όσο και από βιοτεχνολογικές προσεγγίσεις γλυκίνης-μπεταΐνης, σε διάφορες μορφές αβιοτικών καταπονήσεων συναντώνται στους Masood et al. (2016) και Zivcak et al. (2016). Η πρόσληψη της γλυκίνης-μπεταΐνης από τα φυτά είναι άμεση κατά την εφαρμογή διαφυλλικών ψεκασμών, ενώ αποτελεσματική είναι και η απορρόφηση της μέσω των ριζών.

Από προσεγγίσεις seed priming υπάρχουν επίσης πολλές αναφορές για βελτίωση της βλαστικότητας και της ανάπτυξης των νεαρών φυτών σε συνθήκες καταπόνησης. Η μεταχείριση των σπόρων με γλυκίνη-μπεταΐνη έχει καθοριστικό ρόλο στη διαθεσιμότητα του νερού για τον εμποτισμό των βλαστανόντων σπόρων σε συνθήκες έλλειψης νερού. Επιπρόσθετα η βελτίωση της βλαστικότητας σπόρων σε συνθήκες αλατότητας που παρατηρήθηκε μετά από εφαρμογή γλυκίνης-μπεταΐνης, αποδόθηκε στους μηχανισμούς που προαναφέρθηκαν ενώ από τους Cuin and Shabala (2005) εκφράστηκε η θέση ότι η γλυκίνη-μπεταΐνη είναι σε θέση να ρυθμίζει τις καθαρές ροές των Na^+ και K^+ μέσω της πλασματικής μεμβράνης σε κυτταρικό επίπεδο, ως απόκριση στις υψηλές συγκεντρώσεις NaCl . Σε έρευνα από τους Dawood and Sadak (2014) αναφέρθηκε ότι η εμφάνιση σπόρων ελαιοκράμβης σε διάφορες συγκεντρώσεις γλυκίνης-μπεταΐνης, είχε εντυπωσιακά αποτελέσματα τόσο από πλευράς αποδόσεων όσο και ποιοτικών χαρακτηριστικών σε συνθήκες ελεγχόμενης ξηρασίας. Οι συγκεκριμένοι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η συγκέντρωση των 20 mM GB είναι η πιο αποτελεσματική για την αντιμετώπιση από τα φυτά της ελαιοκράμβης, τόσο των ήπιων, όσο και των σοβαρών περιπτώσεων ξηρασίας. Όπως και στην

περίπτωση της προλίνης, η συγκέντρωση γλυκίνης-μπεταΐνης, το στάδιο ανάπτυξης καθώς και το φυτικό είδος καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό την αποτελεσματικότητα της εφαρμογής.

5.4.2 Το β- αμινοβουτυρικό οξύ (BABA) και το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA)

Ανάμεσα στις διάφορες φυσικές και συνθετικές ουσίες που έχουν διερευνηθεί ως παράγοντες ισχυροποίησης της άμυνας των φυτών, το β-αμινοβουτυρικό οξύ (BABA) και το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) έχουν τύχει αυξημένης προσοχής, καθώς η μεταχείριση των φυτών με τις ουσίες αυτές συνοδεύεται με αυξημένη ικανότητα αντιμετώπισης των καταπονήσεων και παράλληλα με μειωμένες ενεργειακές απαιτήσεις. Τα β-αμινοξέα συναντώνται σπάνια στα φυτά και μέχρι πρόσφατα το β-αμινοβουτυρικό οξύ θεωρούνταν ξενοβιοτική ουσία. Ωστόσο πρόσφατες έρευνες από τον Damien Thevenet και τους συνεργάτες του, απέδειξαν ότι τα φυτά είναι σε θέση να συνθέσουν BABA και μάλιστα τα επίπεδα του αυξάνονται κατά την επίδραση βιοτικών και αβιοτικών προκλήσεων (Thevenet et al., 2016). Το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) είναι ευρύτατα διαδεδομένο σε όλο το φυτικό βασίλειο και η συγκέντρωση του στους φυτικούς ιστούς είναι ανάλογη των πρωτεϊνικών αμινοξέων. Στα φυτά λειτουργεί κυρίως ως νευροδιαβιβαστής και τόσο η βιοσύνθεση όσο και ο τρόπος δράσης του έχουν αποσαφηνιστεί σε μεγάλο βαθμό (Ramos-Ruiz et al., 2019).

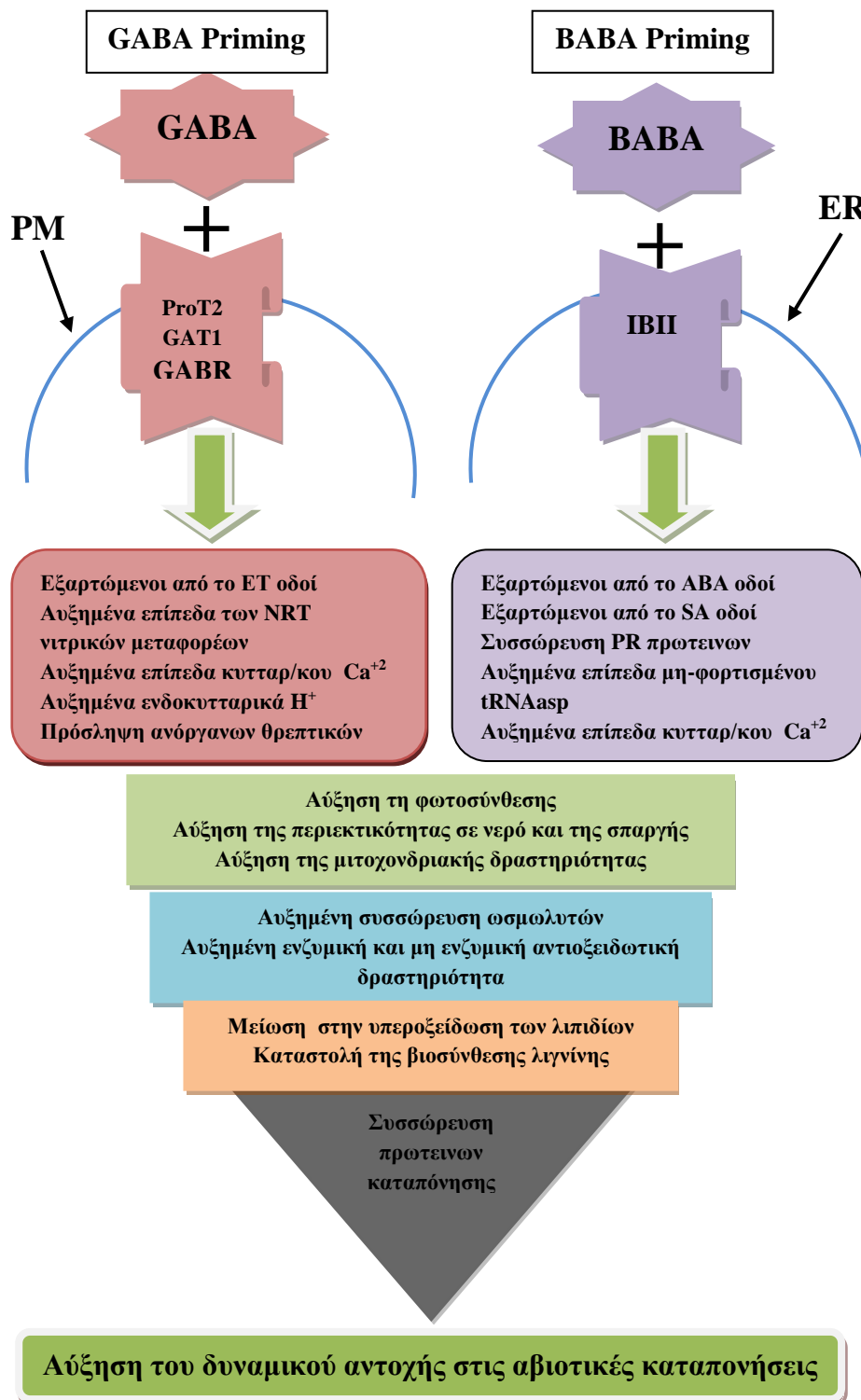
Τα τελευταία είκοσι χρόνια έχουν δει το φως της δημοσιότητας πολλές μελέτες, οι οποίες τεκμηριώνουν ότι η εφαρμογή των ουσιών αυτών στα φυτά αποτελεί μια από τις πιο αποτελεσματικές μεθόδους ισχυροποίησης των φυτών απέναντι σε ένα μεγάλο εύρος βιοτικών (παθογόνα) και αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης. Στην ανασκόπηση ερευνών από τους Vijayakumari et al. (2016) παρατίθεται ένας σημαντικός αριθμός παλαιότερων αλλά και προσφάτων ερευνών, που επιβεβαιώνουν τις θετικές επιδράσεις των δύο αυτών μορίων.

Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων εκδηλώνεται η δράση των BABA και GABA στα φυτά δεν έχουν κατανοηθεί πλήρως, ωστόσο ο ρόλος τους ως σηματοδοτικά μόρια κατά την απόκριση των φυτών στις καταπονήσεις είναι αδιαμφισβήτητος (Vijayakumari et al., 2016).

Η βιοσύνθεση του GABA ενεργοποιείται ριζικά κατά την έλευση της καταπόνησης και ρυθμίζει τη γενετική έκφραση διαφόρων λειτουργιών που σχετίζονται

με τις καταπονήσεις (Vijayakumari and Puthur, 2016). Η αυξημένη ενδογενής συσσώρευση του GABA που παρατηρείται μετά από εξωγενή εφαρμογή όπως έχει παρατηρηθεί από τους Shi et al. (2010) και Shang et al. (2011), συνιστά απόδειξη ότι το μόριο αυτό υπηρετεί διπλό ρόλο στα φυτά, λειτουργώντας σε συνθήκες καταπόνησης τόσο ως σηματοδοτικό μόριο σε συνεργασία με τις φυτοορμόνες, όσο και ως μεταβολίτης (Vijayakumari et al., 2016). Η παροχή σκελετών άνθρακα και ενέργειας, η εμπλοκή του στο μεταβολισμό του αζώτου, όπως και η ρύθμιση του PH του κυτταροπλάσματος λειτουργώντας ως ωσμωλύτης, συνιστούν τους κυριότερους μεταβολικούς ρόλους που αποδίδονται στο GABA (Ramos-Ruiz et al., 2019). Ο τρόπος με τον οποίο το GABA λειτουργεί ως σηματοδοτικό μόριο και είναι σε θέση να ρυθμίζει τις πρωτογενείς και δευτερογενείς μεταβολικές οδούς των φυτών έχει κατανοηθεί σε μεγάλο βαθμό και οι πιο πρόσφατες ανακαλύψεις παρατίθενται από τους Seifikalhor et al. (2019). Σύμφωνα με τους Bao et al. (2015) η οδός σύνθεσης και μεταβολισμού του GABA (GABA shunt) σχετίζεται στενά με την ρύθμιση της ομοιόστασης των μεταβολιτών στα φυτά, η οποία έχει θετική επίδραση στο επίπεδο αντοχής των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις. Στα πλαίσια αυτά από τους Vijayakumari et al. (2016) εκφράστηκε η θέση ότι η μεταχείριση των φυτών με GABA, είναι πιθανόν να προκαλεί σημαντικές αλλαγές στην σύνθεση των μεταβολιτών λειτουργώντας ως σηματοδοτικό μόριο, αλλά και ως κύριος μεταβολίτης κατά την επίδραση των καταπονητικών παραγόντων. Τέλος σύμφωνα με νεότερη αναφορά από τους Ramos-Ruiz et al. (2019), ο συσχετισμός που έχει παρατηρηθεί από πολλές έρευνες ανάμεσα στην αντίληψη της καταπόνησης, την συσσώρευση του GABA και τις φυσιολογικές αποκρίσεις των φυτών, αποδεικνύει ότι το GABA εμπλέκεται στη σηματοδότηση είτε από μόνο του, είτε αποτελεί το έναυσμα για περαιτέρω σηματοδοτικές οδούς όπως η δημιουργία των ROS, η αντιοξειδωτική δραστηριότητα και η αλληλεπίδραση των ορμονών.

Σε ότι αφορά τη σηματοδοτική δράση του BABA έχει πλέον αποδειχθεί ότι επάγει την επίκτητη διασυστηματική αντοχή των φυτών -SAR- μέσω της συσσώρευσης σχετιζόμενων με τη παθογένεση πρωτεϊνών (Jisha et al., 2018). Η αποτελεσματικότητα του BABA ως παράγοντας priming, αποδίδεται στην επίδραση του στην έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με την ορμονική ρύθμιση των αποκρίσεων στις καταπονήσεις, όπως είναι οι υποδοχείς αιθυλενίου και τα επαγόμενα από το αιθυλένιο γονίδια (Sss-Hegedűs et al., 2014) τα εξαρτώμενα από το σαλικυλικό αμυντικά γονίδια και τη



Σχήμα 14. Σχηματική απεικόνιση της επαγόμενης από BABA και GABA σηματοδότησης στα φυτά. Η μεταχείριση με GABA/BABA επάγει διαφορετικές σηματοδοτικές οδούς που οδηγούν σε μεταβολές στο επίπεδο έκφρασης κάποιων γονιδίων, η οποία τελικά καταλήγει σε αύξηση του δυναμικού αντοχής στις αβιοτικές καταπονήσεις. (ProT2 –μεταφορέας προλίνης, GAT1-μεταφορέας GABA, GABR-περμεάση GABA, IBII (Impaired in BABA Induced Immunity), PM –κυτταρική μεμβράνη, ER-μεμβράνη ενδοπλασματικού δικτύου) (Jisha *et al.*,2018)

σηματοδότηση μέσω του ABA (Ton et al., 2005). Σύμφωνα με τους Cao et al. (2009), το BABA ενεργοποιεί τους εξαρτώμενους από το ABA και από το σαλικυλικό οξύ (Jakab et al., 2005) αμυντικούς μηχανισμούς των φυτών καθώς από πολλά ερευνητικά αποτελέσματα έχει διαπιστωθεί ότι το BABA αυξάνει τη συσσώρευση του m-RNA που σχετίζεται με τις πρώιμες ενδιάμεσες ενώσεις του ABA και του αιθυλενίου (Zimmerli et al., 2008). Σε επόμενο στάδιο η ενεργοποίηση της σηματοδότησης του ABA ρυθμίζει τα επίπεδα του κυτταροπλασματικού Ca^{+2} επάγοντας τόσο την εκροή όσο και την εισροή ιόντων Ca^{+2} στο περιβάλλον του κυττάρου (Rajae and Mohamadi, 2013). Μελέτη μεταλλαγμάτων *Arabidopsis* σε επαγόμενη από το BABA αντοχή, οδήγησε στην ταυτοποίηση του γονιδίου IBII (Impaired in BABA Induced Immunity) που κωδικοποιεί μια ασπαρτυλική t.RNA συνθετάση (AspRS), η οποία πιστεύεται ότι διαδραματίζει ρόλο υποδοχέα BABA στα φυτά. Η ενεργός μορφή του BABA (R-BABA) προσδένεται στον L-asp δεσμευτικό τομέα του IBII και αυξάνει την αφόρτιστη t.RNA asp, η οποία λειτουργεί ως σήμα διατάραξης της μεταβολικής ισορροπίας (Jisha et al., 2018). Περισσότερες λεπτομέρειες γύρω από τους σηματοδοτικούς διαύλους που επάγονται από το BABA παρατίθενται εκτενώς από τους Schwarzenbacher et al. (2014). Στο σχήμα 14 παρουσιάζεται το μοντέλο επαγωγής της σηματοδότησης από GABA και BABA σύμφωνα με τους Jisha et al. (2018).

Συνολικά η μεταχείριση των φυτών με BABA και GABA οδηγεί σε πιο δυναμικές και ταχύτερες αμυντικές αποκρίσεις των φυτών στις μελλοντικές καταπονήσεις- εκδήλωση φαινομένου priming- με το BABA ωστόσο να εμφανίζεται ως αποτελεσματικότερος παράγοντας. Φυτά που έχουν υποστεί μεταχείριση με BABA ή GABA (primed) εκδηλώνουν πιο έντονα, ορισμένες βασικές εγγενείς φυσιολογικές αμυντικές αποκρίσεις, όπως ταχύτερο κλείσιμο των στομάτων, ταχύτερη μείωση του υδατικού δυναμικού μέσω της συσσώρευσης ωσμωλυτών, αυξημένα επίπεδα ABA και αιθυλενίου (Flors et al., 2007), ρύθμιση των σηματοδοτικών οδών που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος όπως είναι η κυτταρίνη, η λιγνίνη ή η σουβερίνη (Macarisin et al., 2009), αυξημένη ενζυμική και μη ενζυμική αντιοξειδωτική δραστηριότητα (Vijayakumari and Puthur, 2016) καθώς και υψηλές συγκεντρώσεις ορμονών όπως ABA, IAA, SA και JA (Krishnan and Merewitz, 2015) προκειμένου να αντιμετωπίσουν την επικείμενη καταπόνηση. Η εφαρμογή ακόμη και πολύ μικρών δόσεων BABA/GABA στα φυτά είτε σε τμήματα των φυτών, βελτιώνει το εγγενές αμυντικό δυναμικό του φυτικού γονιδιώματος προκειμένου να ανταπεξέλθει

αποτελεσματικότερα στην αναμενόμενη καταπόνηση και δεν επιβάλλει ενεργοβόρες στρατηγικές αντιμετώπισης των καταπονήσεων. Η ισχυροποίηση των αμυντικών μηχανισμών των φυτών μέσω των μορίων αυτών είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος και η εφαρμογή της σε επίπεδο αγρού ίσως αποδειχθεί καταλυτική στην αντιμετώπιση των προκλήσεων της κλιματικής αλλαγής. Καθώς σε ορισμένες περιπτώσεις η εφαρμογή BABA/GABA είχε αρνητικό αντίκτυπο στα φυτά και το περιβάλλον, οι προσεχείς έρευνες θα πρέπει να εστιάσουν στον προσδιορισμό των μεθόδων εφαρμογής, την τυποποίηση των εφαρμογών, τη συγκέντρωση καθώς και τη συνδυαστικότητα των ουσιών αυτών προκειμένου να υπάρξει εκτεταμένη και εφαρμοσμένη χρήση τους στη γεωργική πρακτική (Vijayakumari et al., 2016).

5.4.3 Το 5-αμινολεβουλενικό οξύ (ALA)

Μία άλλη χημική ουσία που έχει διερευνηθεί σε αρκετά μεγάλο βαθμό για τις προστατευτικές της ιδιότητες στα φυτά ενάντια στις αβιοτικές καταπονήσεις, είναι το 5-αμινολεβουλενικό οξύ (ALA). Το μόριο αυτό αποτελεί πρόδρομη ένωση διάφορων φωτοσυνθετικών χρωστικών και διαδραματίζει ρυθμιστικό ρόλο στη φωτοσύνθεση και στη συνολική αύξηση των φυτών (Merewitz, 2016). Σύμφωνα με τους Akram and Ashraf, (2013) το ALA λειτουργεί ως ρυθμιστής ανάπτυξης και εμπλέκεται σε πολλές βιοχημικές και φυσιολογικές λειτουργίες, επιδρώντας θετικά στην αύξηση των αποδόσεων, τόσο σε κανονικές όσο και σε συνθήκες καταπόνησης. Έρευνες σε διάφορα είδη φυτών έχουν αποδείξει ότι χαμηλές συγκεντρώσεις ALA βελτιώνουν τα επίπεδα της χλωροφύλλης, αυξάνουν τη φωτοσυνθετική απόδοση και ενισχύουν την αντιοξειδωτική άμυνα (Korkmaz, 2012), ενώ παράλληλα προωθούν την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών μέσω της αποτελεσματικότερης δέσμευσης και της αφομοίωσης του CO₂ και του αζώτου αντίστοιχα (Tanaka et al., 1992). Ενδεικτικά από τους Xu et al. (2010) παρατηρήθηκε ότι μετά από εφαρμογή ALA σε φυτά *Pueraria phaseoloides*, η πρόσληψη και η αφομοίωση των ανόργανων θρεπτικών όπως και της φωτοσυνθετικής απόδοσης βελτιώθηκε και παράλληλα καταγράφηκαν υψηλότερα επίπεδα χλωροφύλλης, αμύλου και σακχάρων. Από όλες τις μεθόδους μεταχείρισης των φυτών με ALA, η διαφυλλική εφαρμογή αποδείχθηκε η πιο αποτελεσματική στην προώθηση της ανάπτυξης των φυτών, αν και δεν έχουν διευκρινισθεί οι παράγοντες που

βελτιώνουν την πρόσληψη ALA από τα φυτά όπως και το μοτίβο πρόσληψης (Ali et al., 2018).

Στα πλαίσια των προσεγγίσεων priming, η εφαρμογή ALA σε φυτά πριν την έλευση του καταπονητικού παράγοντα οδήγησε σε αύξηση της αντοχής τους στην ξηρασία (Li et al., 2011; Liu et al., 2011), στην αλατότητα (Yang et al., 2014), στα βαρέα μέταλλα (Ali et al., 2013) και στις χαμηλές θερμοκρασίες (Korkmaz et al., 2010). Σε πρόσφατη έρευνα από τους Ali et al. (2018) αναφέρθηκε ότι η εφαρμογή ALA σε φυτά καταπονημένα από συσσώρευση βαρέων μετάλλων, βελτίωσε το ύψος των φυτών, το μήκος των ριζών, τα επίπεδα χλωροφύλλης, την ενζυμική αντιοξειδωτική δραστηριότητα και την πρόσληψη θρεπτικών και παράλληλα μείωσε τις βλάβες στις δομές, την οξειδωτική καταπόνηση και την πρόσληψη βαρέων μετάλλων.

Συνολικά αν και η εφαρμογή ALA έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να συνδράμει καταλυτικά στις αναπτυξιακές διαδικασίες των φυτών, εντούτοις οι φυσιολογικές αποκρίσεις που σχετίζονται με το ALA δεν έχουν κατανοηθεί, όπως και η λειτουργία του στην μεταγωγή των σηματοδοτικών οδών στα φυτά που αναπτύσσονται σε αντίξοες συνθήκες. Επιπλέον θα πρέπει να μελετηθεί ενδελεχώς η σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας, καθώς το ALA είναι μια ουσία υψηλού κόστους, που παράγεται σε πολύ μικρές ποσότητες από τα φυτά και εξάγεται και από ορισμένους μικροοργανισμούς όπως βακτήρια και φύκη (Ali et al., 2018). Για τους λόγους αυτούς η έρευνα έχει εστιάσει στη δημιουργία φυτών μέσω γενετικών χειρισμών, που εμφανίζουν αυξημένη αντοχή στις καταπονήσεις, συσσωρεύοντας ενδογενώς, υψηλές ποσότητες ALA. Τέλος στην συνολική προσπάθεια εξεύρεσης αποτελεσματικών παραγόντων priming, πολλά άλλα μη πρωτεϊνικά αμινοξέα έχουν εξεταστεί όπως η ορνιθίνη, η κιτρουλίνη, η ομοσερίνη, η p-αμινοφαινυλαλανίνη, η L-3,4-διυδροξυφαιλαλανίνη (L-DOPA) κ.ά. (Merewitz, 2016).

6. Ο ρόλος της παροχής ανόργανων θρεπτικών στη βελτίωση και ισχυροποίηση της άμυνας των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις (Inorganic Priming)

Τα ανόργανα στοιχεία είτε πρόκειται για τα μακροστοιχεία είτε για τα ιχνοστοιχεία, διαδραματίζουν κομβικό ρόλο στην ανάπτυξη και στη φυσιολογία των φυτών καθώς συνιστούν βασικά συστατικά των κυτταρικών δομών και των μεταβολιτών. Επιπρόσθετα, εμπλέκονται στη ρύθμιση της οσμωτικής ισορροπίας, στη διατήρηση της σπαργής, στις αντιδράσεις μεταφοράς ενέργειας, στις ενζυμικές αντιδράσεις και στην αναπαραγωγή των φυτών (Pandey, 2018).

Η επάρκεια των φυτών σε θρεπτικά συστατικά καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την επιβίωση τους και την επιτυχή αντιμετώπιση των βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων (Waraich et al., 2012). Η ενεργοποίηση της άμυνας των φυτών, μέσω της εξωγενούς εφαρμογής ανόργανων θρεπτικών, πρίν την έλευση ή κατά τη διάρκεια της αβιοτικής πρόκλησης, συνιστά μια ξεχωριστή πρακτική από την λίπανση, καθώς αποβλέπει στη βελτίωση της ανθεκτικότητας σε κάποιο συγκεκριμένο παράγοντα καταπόνησης (Merewitz, 2016). Στη βάση αυτής της λογικής η μεταχείριση των φυτών με μακροστοιχεία ή ιχνοστοιχεία αποσκοπεί στην τροφοδότηση των φυτών με ανόργανα θρεπτικά τα οποία κατά την επίδραση των δυσμενών περιβαλλοντικών συνθηκών μπορεί είτε να βρίσκονται σε περιορισμένη διαθεσιμότητα, είτε ακόμη και να απαιτούνται μεγαλύτερες ποσότητες αυτών, καθώς συνδέονται με εξειδικευμένες λειτουργίες και προστατευτικές ιδιότητες. (Merewitz, 2016).

Αν και το αντικείμενο της παρούσας εργασίας δεν είναι η θρέψη και η λίπανση των καλλιεργειών, εντούτοις, από πολλές αναφορές έχει διαπιστωθεί ότι η συμβολή της κατάλληλης μεταχείρισης των φυτών με ανόργανα θρεπτικά είναι κομβική στην επαγωγή και τη βελτίωση της άμυνας των φυτών και κατά συνέπεια της επίδοσης τους σε συνθήκες καταπόνησης. Στα πλαίσια αυτά στις παραγράφους που ακολουθούν αναφέρονται ενδεικτικά ορισμένες από τις κυριότερες επιδράσεις των ανόργανων θρεπτικών στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων από τα φυτά, με ιδιαίτερη έμφαση στα ιχνοστοιχεία.

6.1 Ο ρόλος των μακροστοιχείων

Η επάρκεια των φυτών σε άζωτο(N) είναι καθοριστική στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων καθώς το άζωτο αποτελεί βασικό συστατικό του NO₂ των

πολυαμινών και των αμινοξέων που -όπως εξετάστηκε- εμπλέκονται σε πολλά σημεία του κυτταρικού μεταβολισμού και σε πολλαπλές αμυντικές αποκρίσεις (Waraich et al., 2012). Σε συνθήκες ξηρασίας η μεταχείριση των φυτών με φωσφόρο (P) συντελεί στη διατήρηση του υδατικού δυναμικού των φύλλων, στη βελτίωση της στοματικής αγωγιμότητας, και στην αύξηση της φωτοσύνθεσης (Waraich et al., 2011b). Οι απαιτήσεις των φυτών σε κάλιο (K) αυξάνονται κατακόρυφα σε συνθήκες ακραίων θερμοκρασιών, ξηρασίας και αλατότητας και από πειραματικά αποτελέσματα έχει αποδειχθεί ότι σε συνθήκες ξηρασίας, η εφαρμογή καλίου στο ρύζι επάγει την σύνθεση αυξημένων επιπέδων σακχάρων και προλίνης (Pandey et al., 2004). Επιπρόσθετα η παροχή καλίου συντελεί στην άμβλυνση των συνεπειών που προκαλούνται από το ψύχος και τις χαμηλές θερμοκρασίες μέσω της μείωσης στη συγκέντρωση των ROS και της αυξημένης έκφρασης γονιδίων που σχετίζονται με τη βιοσύνθεση μεταβολιτών (Devi et al., 2012).

Σε ότι αφορά το ασβέστιο (Ca), έχει αναφερθεί ότι η εξωγενής χορήγηση του σε φυτά ερυθρελάτης είχε ως επακόλουθο αυξημένη συγκέντρωση αμινοξέων, πολυαμινών και χλωροφύλλης σε συνθήκες ψύχους (Schaberg et al., 2011) ενώ η αυξημένη αντοχή φυτών σιταριού σε συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών αποδόθηκε στην επαγωγή από το ασβέστιο των αντιοξειδωτικών μηχανισμών (Kolupaev et al., 2005). Η ελαχιστοποίηση των συνεπειών της αλατότητας στα φυτά μέσω της εφαρμογής ασβεστίου, οφείλεται στην προστασία των κυτταρικών μεμβρανών από τις δυσμενείς επιδράσεις του Na και στη διατήρηση του υψηλού επιπέδου του κυταροπλασματικού καλίου (Tuna et al., 2007).

Η εφαρμογή μαγνησίου (Mg) επίσης συντελεί στην αντιμετώπιση των καταπονήσεων καθώς αποτελεί βασικό συστατικό της χλωροφύλλης και πολλών ενζύμων που εμπλέκονται στη σύνθεση των πρωτεϊνών, των σακχάρων, των λιπιδίων και των νουκλεϊκών οξέων. Η έλλειψη μαγνησίου σε φασόλια και ζαχαρότευτλα είχε ως αποτέλεσμα αυξημένα επίπεδα ROS (Cakmak and Kirkby, 2008) ενώ από πρωτεωμικές προσεγγίσεις σε φυτά πορτοκαλιάς αποδείχθηκε ότι η ανεπάρκεια μαγνησίου στα φύλλα οδηγεί σε μειωμένη σύνθεση πρωτεϊνών που σχετίζονται με τη φωτοσύνθεση και τις καταπονήσεις (Peng et al., 2015).

Το θείο (S) είναι ένα από τα πιο απαραίτητα μακροστοιχεία για την ανάπτυξη και την επιβίωση των φυτών και παράλληλα πολλές ενώσεις που περιέχουν θείο όπως η γλουταθειόνη, το υδρόθειο, η κυστεΐνη, η μεθειονίνη κ.ά. συνδέονται με

προστατευτικές ιδιότητες και συμβάλλουν στον εγκλιματισμό σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες (Cao et al., 2014). Στις περισσότερες περιπτώσεις αβιοτικών καταπονήσεων η ενδογενής συγκέντρωση των παραπάνω παραγόντων αυξάνεται σε μεγάλο βαθμό (Hasanuzzaman et al., 2017b) και η εξωγενής εφαρμογή θείου όπως και ενώσεων παράγωγων του θείου αποτελεί μια ιδιαίτερα αποτελεσματική πρακτική για την επιτυχή αντιμετώπιση τους.

6.2 Ο ρόλος των ιχνοστοιχείων

Η συμβολή των ιχνοστοιχείων στην αύξηση της ανθεκτικότητας των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις είναι επίσης σημαντική καθώς λειτουργούν ως δομικά συστατικά και ως παράγοντες ενεργοποίησης των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Επιπρόσθετα, σε δεύτερο επίπεδο, ρυθμίζουν βασικές μεταβολικούς οδούς που εμπλέκονται στην παραγωγή φυτορρυθμιστικών ουσιών και στη γονιδιακή έκφραση και τη βιοσύνθεση βιομορίων που προστατεύουν τα φυτά από την τοξικότητα των ROS (Khan et al., 2018).

Ένα από τα ιχνοστοιχεία που χρησιμοποιείται εκτεταμένα στα βιολογικά συστήματα και συνδέεται με την επαγωγή των αντιοξειδωτικών συστημάτων των φυτών, είναι ο ψευδάργυρος (Zn). Σύμφωνα με τους Yavas and Unay, (2016) η προμεταχείριση φυτών σιταριού με Zn σε συνθήκες ξηρασίας, είχε ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των ενζύμων SOD και POD και τη μείωση του επιπέδου των ROS. Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέληξαν και οι Manas et al. (2014), όπου η χορήγηση ψευδαργύρου σε φυτά πιπεριάς συνετέλεσε στην αύξηση του επιπέδου του ασκορβικού οξέος και της τοκοφερόλης. Γενικότερα έχει διαπιστωθεί ότι ο ψευδάργυρος με τη μορφή Cu-Zn SOD ενζύμων συμβάλλει στην αντιμετώπιση πολλών ειδών αβιοτικών καταπονήσεων όπως η ξηρασία (Hajheidari et al. 2005; Abedi and Pakniyat 2010), η αλατότητα (Wang et al. 2003) και τα βαρέα μέταλλα (Ammar et al. 2015).

Το μαγγάνιο (Mn) επίσης σχετίζεται με τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς και χρησιμεύει ως ενεργοποιητής ή συμπαραγόντας ενζύμων, καθώς συμμετέχει στη σύνθεση μεταλλοπρωτεϊνών και στη ρύθμιση της λειτουργίας τουλάχιστον 35 ενζυμικών συστημάτων. Σύμφωνα με τους Karim et al. (2012) η ταυτόχρονη εξωγενής εφαρμογή Mn, B και Zn στο σιτάρι συντέλεσε στην άμβλυνση των επιπτώσεων της ξηρασίας, καθώς επίσης και στη βελτίωση των αγρονομικών χαρακτηριστικών του.

Σε ανάλογους μηχανισμούς, δηλαδή στην εμπλοκή του μολυβδαινίου (Mo) στα αντιοξειδωτικά ενζυμικά συστήματα (οξειδάση της αλδεΐδης, αφυδρογονάση της ξανθίνης, νιτρική ρεδοκτάση κ.α.), οφείλεται και η συμβολή του στοιχείου αυτού στην βελτιωμένη ανθεκτικότητα των φυτών στις αβιοτικές προκλήσεις Σύμφωνα με τους Sauer and Frebort, (2003) πολλά μέλη της πολυγονιδιακής οικογένειας της οξειδάσης της αλδεΐδης διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη βιοσύνθεση ορμονών όπως το ABA και το IAA, που σχετίζονται με την απόκριση των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις. Με βάση τα παραπάνω σε έρευνα από τους Babenko et al. (2015) σε φυτά σιταριού όπου εφαρμόστηκε μολυβδαίνιο, η αυξημένη ανθεκτικότητα που παρατηρήθηκε σε συνθήκες αλατότητας, αποδόθηκε στην αυξημένη δραστηριότητα των παραπάνω ενζύμων.

Το πυρίτιο (Si) και το σελήνιο (Se) αν και είναι θρεπτικά συστατικά που χρησιμοποιούνται σε ελάχιστες ποσότητες από τα φυτά, τα τελευταία χρόνια έχουν αναγνωριστεί ως σημαντικοί παράγοντες βελτίωσης των αμυντικών μηχανισμών των φυτών (Merewitz, 2016). Έρευνες έχουν δείξει ότι το πυρίτιο εμπλέκεται τόσο στη ρύθμιση του φυτικού μεταβολισμού όσο και της δραστηριότητας των κυτταρικών δομών, όπως είναι το άνοιγμα των στομάτων και το πάχος της επιδερμίδας (Gao et al., 2006). Η βελτιωμένη απόκριση πολλών ειδών φυτών σε διάφορες μορφές αβιοτικών καταπονήσεων μέσω της εξωγενούς εφαρμογής πυριτίου αποδίδεται στον πολύπλευρο ρόλο του πυριτίου σε πολλές φυσιολογικές λειτουργίες, όπως στη μείωση του ρυθμού διαπνοής, στην αύξηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης, στη βελτιωμένη πρόσληψη θρεπτικών (Merewitz, 2016), στις μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στον κύκλο του ασκορβικού οξέος και της γλουταθειόνης, καθώς και στη βιοσύνθεση μεταβολιτών που λειτουργούν ως παράγοντες priming όπως οι πολυαμίνες (Yin et al. 2014). Σύμφωνα με τους Gong et al. (2005) η εφαρμογή πυριτίου σε φυτά σιταριού, συνέβαλλε σημαντικά στην αύξηση της ανθεκτικότητας των φυτών στην ξηρασία ενώ παράλληλα υπάρχουν πολλές αναφορές για τον προστατευτικό ρόλο του πυριτίου και σε άλλα είδη καταπόνησης όπως είναι η αλατότητα και τα βαρέα μέταλλα (Kleiber et al., 2015b).

Οι προστατευτικές ιδιότητες του σεληνίου στις αβιοτικές καταπονήσεις σχετίζονται με τη συμμετοχή του ως βασικό συστατικό με τη μορφή SeCys, σε αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως είναι η ρεδοκτάση της γλουταθειόνης και της θειορεδοξίνης (Khan et al., 2018). Από έρευνα σε φυτά ελαιοκράμβης, διαπιστώθηκε

ότι η εφαρμογή σεληνίου σε συνθήκες ξηρασίας συνέβαλλε στην αύξηση του επιπέδου των αντιοξειδωτικών ενζύμων καθώς επίσης και του ασκορβικού οξέος και της γλουταθειόνης (Hasanuzzaman and Fujita., 2011). Τέλος σε πιο πρόσφατη έρευνα από τους Saidi et al. (2014), η βελτιωμένη επίδοση φυτών ηλίανθου σε έδαφος με υψηλή συγκέντρωση καδμίου αποδόθηκε στην αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων CAT, APX και GR που προκλήθηκε μέσω της μεταχείρισης των φυτών με σελήνιο.

6.3 Επίλογος και συμπεράσματα

Εν κατακλείδι από το σύνολο των αναφορών διαπιστώνεται ότι η χρήση των ανόργανων θρεπτικών συστατικών αποτελεί μια από τις πρακτικές που μπορούν να συμβάλλουν καθοριστικά στην αντιμετώπιση των αβιοτικών καταπονήσεων και στην αύξηση της παραγωγικότητας. Σε αρκετές περιπτώσεις όπως στην περίπτωση του σεληνίου η εξωγενής χορήγηση του οδηγεί σε μια μορφή ήπιας καταπόνησης που προπαρασκευάζει την άμυνα των φυτών (priming) σε μελλοντικές καταπονήσεις όπως η αλατότητα καθώς οι μηχανισμοί που ενεργοποιούνται είναι παρόμοιοι. Σε άλλες περιπτώσεις η εφαρμογή ανόργανων θρεπτικών επάγει τη βιοσύνθεση μεταβολιτών που λειτουργούν ως παράγοντες priming όπως είναι οι πολυαμίνες και το NO (Merewitz, 2016). Γενικότερα η έλλειψη σε ανόργανα θρεπτικά στοιχεία αποτελεί ίσως την πιο σημαντική μορφή αβιοτικής καταπόνησης, καθώς τα φυτά που αντιμετωπίζουν προβλήματα θρέψης καθίστανται περισσότερο ευαίσθητα στις άλλες μορφές βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων και δεν μπορούν να αξιοποιήσουν στο μέγιστο βαθμό το δυναμικό απόδοσης τους. Τα τελευταία χρόνια χάρη στην εξέλιξη της νανοτεχνολογίας, η εφαρμογή των ανόργανων θρεπτικών με τη μορφή νανοσωματιδίων (nanopriming) στη γεωργία έχει αυξηθεί σε σημαντικό βαθμό, καθώς είναι μια πρακτική περισσότερο αποτελεσματική από τη χρήση των συμβατικών λιπασμάτων και επιπλέον συνδέεται με μικρότερες περιβαλλοντικές επιβαρύνσεις.

7. Άλλοι παράγοντες ισχυροποίησης της άμυνας των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις

Στην προσπάθεια της διαχείρισης των αβιοτικών καταπονήσεων μέσω προσεγγίσεων priming, πέρα από τις ουσίες και τις μεθόδους που προαναφέρθηκαν, ένας πολύ μεγάλος αριθμός άλλων παραγόντων έχει διερευνηθεί προς αυτή την κατεύθυνση. Στη διεθνή βιβλιογραφία συναντώνται πάρα πολλές έρευνες, όπου διάφορες ουσίες και παράγοντες, τόσο φυσικής όσο και συνθετικής προέλευσης, ελέγχονται και εξετάζονται διεξοδικά για τη δυνατότητα τους να επεμβαίνουν στη φυσιολογία του φυτών και να βελτιώνουν την απόκριση τους στις αβιοτικές καταπονήσεις. Οι οργανικές πτητικές ουσίες (VOCs-volatile organic compounds) ορισμένα φυτοπροστατευτικά προϊόντα, θειολικά παράγωγα όπως η θειουρία, αντιοξειδωτικοί παράγοντες όπως η τοκοφερόλη, καθώς και τα προϊόντα που είναι γνωστά ως βιοδιεγέρτες αποτελούν τέτοιες χαρακτηριστικές περιπτώσεις που έχουν μελετηθεί για τη δυνατότητα τους να λειτουργούν ως παράγοντες priming.

Από τις οργανικές πτητικές ουσίες το βουτενολίδιο, το οποίο είναι μια λακτονική ένωση που συναντάται στον καπνό, έχει αναφερθεί ότι ενισχύει την άμυνα των φυτών απέναντι στα παθογόνα και στις χαμηλές θερμοκρασίες και παράλληλα βελτιώνει τη ζωηρότητα των σπόρων και την ανάπτυξη των φυτών (Jisha et al., 2013). Άλλες οργανικές πτητικές ουσίες που έχουν εξεταστεί για τη δυνατότητα τους να προάγουν την αντοχή των φυτών στις καταπονήσεις είναι η ένωση Z-3-Hexenyl acetate (Z-3-HAC), καθώς και η 2R,3R-βουτανοδιόλη η οποία παράγεται από το ριζοβακτήριο *Pseudomonas chlororaphis* και προκαλεί κλείσιμο των στομάτων και αύξηση της αντοχής στην ξηρασία μετά από εξωγενή εφαρμογή, λόγω της επίδρασης της στη βιοσύνθεση των ορμονών, του H_2O_2 και του NO (Cho et al., 2011).

Η εφαρμογή ορισμένων προϊόντων της συνθετικής χημείας στα φυτά έχει επιβεβαιωθεί επίσης ότι προκαλεί βελτίωση της αμυντικής τους απόκρισης στις αβιοτικές καταπονήσεις, παρόλο που τα προϊόντα αυτά δημιουργήθηκαν αρχικά για την επίτευξη άλλων στόχων. Ένα τέτοιο πολύ επιτυχημένο παράδειγμα αποτελούν οι στρομπιλουρίνες οι οποίες πέρα από τη μυκητοκτόνο δράση τους, εκδηλώνουν θετική επίδραση στη φυτική ανάπτυξη και λειτουργία. Άλλα φυτοπροστατευτικά προϊόντα που έχουν αναφερθεί ότι συνδέονται με αύξηση της αντοχής των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις περιλαμβάνουν τις δραστικές ουσίες paclobutrazol, ketoconazole και triadimefon (Nguyen et al., 2018).

Τα προϊόντα που είναι γνωστά ως βιοδιεγέρτες, παρουσιάζουν επίσης ένα πολύ μεγάλο δυναμικό ισχυροποίησης των αμυντικών μηχανισμών των φυτών ενάντια στις αβιοτικές καταπονήσεις. Η συνεχώς διευρυνόμενη χρήση τους στη γεωργική παραγωγή, αποδεικνύει ότι οι βιοδιεγέρτες συνιστούν ιδιαίτερα αποτελεσματικά εργαλεία στην αντιμετώπιση των αβιοτικών προκλήσεων στα πλαίσια της βιώσιμης και αειφόρου γεωργίας. Οι βιοδιεγέρτες αποτελούν μια ανομοιογενή κατηγορία παραγόντων που είναι σε θέση να επιδρούν άμεσα στη φυσιολογία και το μεταβολισμό των φυτών μέσω της βελτίωσης των εδαφικών συνθηκών (Caradonia et al., 2018). Επιπρόσθετα είναι σε θέση να τροποποιήσουν βασικές μοριακές διαδικασίες που συμβάλλουν στη βελτίωση της αποδοτικότητας στη χρήση του νερού και των θρεπτικών συστατικών, στη προώθηση της φυτικής ανάπτυξης και στη βελτίωση της αντοχής των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις ενισχύοντας τον πρωτογενή και το δευτερογενή μεταβολισμό (Yakhin et al., 2017). Οι κυριότερες κατηγορίες βιοδιεγερτών σύμφωνα με τους Bulgari et al. (2019) είναι τα εκχυλίσματα φυκών, οι υδρολυμένες πρωτεΐνες, τα χουμικά και φουλβικά οξέα, οι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί (κυρίως μυκόριζες και ριζοβακτήρια) καθώς και οι βιοδιεγέρτες που παράγονται από την επεξεργασία των παραπροϊόντων της βιομηχανίας τροφίμων, των υπολειμμάτων των κτηνοτροφικών εγκαταστάσεων, των βιολογικών καθαρισμών κ.α. Τα νανουλικά και τα νανοσωματίδια συνιστούν μια νέα ομάδα βιοδιεγερτών που έχουν προταθεί πρόσφατα από τους Juárez-Maldonado et al. (2019). Τέλος ανάμεσα στις διάφορες εναλλακτικές που διερευνούνται προκειμένου από τη μια πλευρά να αποφευχθεί η αλόγιστη χρήση των λιπασμάτων καθώς επίσης και άλλων επικίνδυνων γεωργικών πρακτικών και από την άλλη να αυξηθεί η παραγωγικότητα των καλλιεργειών, είναι και η χρήση των βιοπολυμερών και ειδικότερα της χιτοζάνης η οποία επίσης χρησιμοποιείται ως βιοδιεγέρτης στη γεωργική πρακτική (Malerba and Cerana, 2018). Δυστυχώς λόγω της εξαιρετικά μεγάλης σημασίας των βιοδιεγερτών και της συνεχώς διευρυνόμενης εφαρμογής τους, καθώς επίσης και για λόγους οικονομίας της εργασίας, η εξέταση της συμβολής των βιοδιεγερτών στην βελτίωση της αμυντικής απόκρισης των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις, κρίθηκε προτιμότερο να παραληφθεί και να αποτελέσει το αντικείμενο μιας άλλης εργασίας.

Συνολικά, από τη στιγμή που ένα πολύ μεγάλο μέρος της ερευνητικής προσπάθειας έχει αφιερωθεί στη μελέτη των προσεγγίσεων priming, τα επόμενα χρόνια είναι σίγουρο ότι θα υπάρξουν πολύ περισσότερες πληροφορίες γύρω από τα οφέλη

αυτών των πρακτικών στα διάφορα είδη καλλιεργειών. Με τη συνεχώς αυξανόμενη ταχύτητα ανακάλυψης γονιδίων, την πρόοδο στις τεχνολογίες γονιδιακής έκφρασης καθώς επίσης και στις μεθόδους βιοχημικών αναλύσεων όπως είναι η πρωτεωμική, πιθανότατα θα ανακαλυφθούν νέοι παράγοντες priming που θα στοχεύουν σε διαφορετικά σημεία του φυτικού γονιδιώματος και θα χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και ευελιξία χρήσης, καθώς επίσης και από λιγότερες αρνητικές συνέπειες για τις καλλιέργειες και το περιβάλλον.

ΕΠΙΛΟΓΟΣ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Με την ολοκλήρωση της συγγραφής της παρούσας εργασίας το συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι η ισχυροποίηση των αμυντικών μηχανισμών των φυτών μέσω της εξωγενούς εφαρμογής παραγόντων που παρουσιάζουν βιολογική δράση, συνιστά μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική για την αντιμετώπιση των περιβαλλοντικών προκλήσεων και την αύξηση των αποδόσεων των καλλιεργειών. Από τη στιγμή που έχει πλέον παγιωθεί η θέση ότι οι προσεγγίσεις που βασίζονται στη μονογονιδιακή ανθεκτικότητα και στα παρασιτοκτόνα δεν επαρκούν για τις επισιτιστικές ανάγκες του 21^{ου} αιώνα, η αξιοποίηση των δυνατοτήτων του ανοσοποιητικού συστήματος των φυτών, σε συνδυασμό με άλλες στρατηγικές, ίσως αποτελεί μονόδρομο για την αύξηση της αντοχής και της ανθεκτικότητας των καλλιεργειών στις καταπονήσεις (Nguyen et al., 2018). Επιπλέον, το γεγονός ότι η προενεργοποίηση της άμυνας-που προκαλείται από πολλούς από τους παράγοντες που εξετάστηκαν- δεν συνεπάγεται μεγάλες ενεργειακές απαιτήσεις που περιορίζουν την ανάπτυξη, όπως οι άμεσα επαγωγίμοι μηχανισμοί άμυνας, καθιστά την στρατηγική αυτή ιδιαίτερα ελκυστική στη γεωργική πρακτική (Mauch-Mani et al., 2017).

Στην παρούσα εργασία επιχειρήθηκε μια όσο το δυνατόν πληρέστερη ανασκόπηση των κυριότερων μεθόδων και παραγόντων που έχουν διερευνηθεί για τη δυνατότητα τους να παρεμβαίνουν στις φυσιολογικές λειτουργίες των φυτών και να συμβάλλουν στην ενίσχυση των αμυντικών τους μηχανισμών στους αβιοτικούς παράγοντες καταπόνησης. Επιπρόσθετα παρατέθηκαν αρκετά νεότερα δεδομένα γύρω από την κατανόηση της βιοχημικής, μοριακής και φυσιολογικής βάσης αυτών των προσεγγίσεων όπως επίσης και των μηχανισμών που υποστηρίζουν τη μνήμη καταπόνησης των φυτών. Η αλήθεια είναι ότι παρά τον τεράστιο όγκο της ερευνητικής προσπάθειας και των διαθέσιμων πληροφοριών, οι τεχνικές αυτές –με ορισμένες εξαιρέσεις- γενικά δεν χρησιμοποιούνται ακόμη σε ευρεία κλίμακα στην πράξη. Η αιτία για τη μη αξιοποίηση της γνώσης αυτής σε πρακτικό επίπεδο έγκειται στο ότι υπάρχουν ακόμη πολλά αναπάντητα ερωτήματα στα οποία θα πρέπει να δοθούν τεκμηριωμένες απαντήσεις, πριν οποιοσδήποτε από τους παράγοντες priming συσταθεί υπεύθυνα για να χρησιμοποιηθεί σε ευρεία κλίμακα σε συνθήκες αγρού (Janda et al., 2017). Από την εξέταση των παραγόντων priming που προηγήθηκε, διαπιστώνεται ότι παρά τις σημαντικές ομοιότητες μεταξύ τους, ο κάθε παράγοντας χαρακτηρίζεται από

το προσωπικό του αποτύπωμα, που αντανακλάται στον τρόπο δράσης του. Επομένως η πληρέστερη κατανόηση των μηχανισμών, των μεταβολικών οδών και των γονιδίων που εμπλέκονται στις προσεγγίσεις priming σε συνδυασμό με ολοκληρωμένες μελέτες σε επίπεδο αγρού κρίνεται αναγκαία, καθώς η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται από το είδος του φυτού, το στάδιο ανάπτυξης, τη μέθοδο και τη δόση εφαρμογής και τις εδαφοκλιματικές συνθήκες (Jiménez-Agüas et al., 2017). Από τη στιγμή που οι παράγοντες priming αποτελούν μέρος ενός αυστηρά ρυθμιζόμενου συστήματος εγκλιματισμού των φυτών, απαιτείται περαιτέρω έρευνα προκειμένου να βελτιστοποιηθούν αυτές οι τεχνικές, να αναπτυχθούν αποτελεσματικά και οικολογικά πρωτόκολλα εφαρμογής και να αποφευχθούν οι οποιεσδήποτε παρενέργειες. Μάλιστα καθώς σε πολλές περιπτώσεις priming έχουν σημειωθεί αντιφατικά αποτελέσματα, θα πρέπει να υπάρξει ενδελεχής εξέταση των παρενεργειών που συνδέονται με το φαινόμενο αυτό, όπως την άμεση επαγωγή της άμυνας λόγω του υψηλού επιπέδου διέγερσης, ή της εσφαλμένης απόκρισης σε σήματα που ουσιαστικά δεν συνιστούν απειλή (Mauch-Mani et al., 2017). Επιπλέον οι οικολογικές συνέπειες από την διαταραχή π.χ. των συμβιωτικών σχέσεων είναι ένας παράγοντας που πρέπει επίσης σοβαρά να ληφθεί υπόψη (Martinez-Medina et al., 2016).

Μία άλλη σημαντική πτυχή που αξίζει να αναφερθεί, είναι ότι η αποκρυπτογράφηση της μοριακής και βιοχημικής βάσης των προσεγγίσεων priming θα μπορούσε να συμβάλει στην ανακάλυψη γενετικών δεικτών και την επιλογή γονότυπων που ταιριάζουν σε αυτές τις πρακτικές. Οι γονότυποι αυτοί στη συνέχεια θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε προγράμματα γενετικής βελτίωσης και να αναπτυχθούν νέες ποικιλίες φυτών, ικανών να προσαρμόζονται πιο γρήγορα και πιο αποτελεσματικά στις αβιοτικές καταπονήσεις. Τέλος η πιο σημαντική πρόκληση στη διαχείριση των αβιοτικών καταπονήσεων έγκειται στο γεγονός ότι στη φύση και στα αγροοικοσυστήματα τα φυτά αντιμετωπίζουν πολλές βιοτικές και αβιοτικές απειλές ταυτόχρονα και ελάχιστα είναι γνωστά για τις αμυντικές προτεραιότητες των φυτών. ώστε να υπάρξει πρόβλεψη της αντίδρασής τους και εκπόνηση μιας ενιαίας στρατηγικής για ευρεία και δυναμική απόκριση της άμυνας των φυτών. Στα χρόνια που ακολουθούν η επίτευξη αυτού του στόχου θα καταστεί ακόμη δυσκολότερη, λόγω της κλιματικής αλλαγής που ήδη βιώνουμε.

BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ

- Abass SM and Mohamed HI (2011)** Alleviation of adverse effects of drought stress on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by exogenous application of hydrogen peroxide. *Bangladesh J. Bot.* 41, 75–83
- Abdoli M, Saeidi M, Jalali-Honarmand S, Azhand M (2013b)** The effect of foliar application of indole-3-acetic acid (IAA) and roles of ear photosynthesis on grain yield production of two wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) under post anthesis water deficit. *Int J Sci Basic Appl Res* 4:1406–1413
- Abedi T, Pakniyat H (2010)** Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.) *Czech J Genet Plant Breed* 46:27–34
- Afroz S, Mohammad F, Hayat S, Siddiqui MH (2005)** Exogenous application of gibberellic acid counteracts the ill effect of sodium chloride in mustard. *Turk J Bot* 29:233–236
- Ahmad I, Basra SMA and Wahid A (2014)** Exogenous application of ascorbic acid, salicylic acid, hydrogen peroxide improves the productivity of hybrid maize at low temperature stress. *Int. J. Agric. Biol.* 16, 825–830.
- Ahmad P, Latif AAA, Hashem A, et al. (2016)** Nitric oxide mitigates salt stress by regulating levels of osmolytes and antioxidant enzymes in chickpea. *Front Plant Sci* 7: 347.
- Akram NA and Ashraf M (2013)** Regulation in plant stress tolerance by a potential plant growth regulator, 5-aminolevulinic acid. *J Plant Growth Regul.* 2013; 32:663–79.
- Akram NA, Shafiq F and Ashraf M (2017)** Ascorbic Acid-A Potential Oxidant Scavenger and Its Role in Plant Development and Abiotic Stress Tolerance *Front. Plant Sci.* April 2017 | Volume 8 | Article 613
- Alam MM, Nahar K, Hasanuzzaman M, Fujita M (2014)** Trehalose-induced drought stress tolerance: a comparative study among different *Brassica* species. *Plant Omics* 7:271–283
- Alcázar R, Marco F, Cuevas JC, Patron M, Ferrando A, Carrasco P et al. (2006a)**. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. *Biotechnol. Lett.* 28, 1867–1876.
- Alcázar R and Tiburcio A (2018)** Polyamine Metabolism and Abiotic Stress Tolerance in Plants *Metabolic Adaptations in Plants during Abiotic Stress.* Edited By Akula Ramakrishna, Sarvajeet Singh Gill Chapter 16 pp.191-201
- Ali B, Wang B, Ali S, et al. (2013)** 5-Aminolevulinic acid ameliorates the growth, photosynthetic gas exchange capacity, and ultrastructural changes under cadmium stress in *Brassica napus* L. *J Plant Growth Regul.* 2013; 32:604–14.
- Ali Q, Ashraf M, Athar HUR (2007)** Exogenously applied proline at different growth stages enhances growth of two maize cultivars grown under water deficit conditions. *Pak J Bot* 39:1133–1144
- Ali Q, Ashraf M (2011)** Exogenously applied glycine betaine enhances seed and seed oil quality of maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. *Environ Exp Bot* 71:249–259
- Ali S, Rizwan M, Zaid A, Arif MS, Yasmeen T, Hussain A, Shahid MR, Bukhari SAH, Hussain S Abbasi GH (2018)** 5-Aminolevulinic Acid-Induced Heavy Metal Stress Tolerance and Underlying Mechanisms in Plants *Journal of Plant Growth Regulation* (2018) 37:1423–1436

- Ammar WB, Zarrouk M, Nouairi I (2015)** Zinc alleviates cadmium effects on growth, membrane lipid biosynthesis and peroxidation in *Solanum lycopersicum* leaves. *Biologia* 70:198–207
- Anjum SA, Wang LC, Farooq M, et al. (2011)** Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. *J Agron Crop Sci.* 2011; 197:177–85.
- Anjum SA, Wang L, Farooq M, Khan I, Xue L (2011)** Methyl jasmonate-induced alteration in lipid peroxidation, antioxidative defence system and yield in soybean under drought. *J Agron Crop Sci.* 2011; 197(4):296–301
- Antoniou C, Savvides A, Christou A and Fotopoulos V (2016)** Unraveling chemical priming machinery in plants: the role of reactive oxygen–nitrogen–sulfur species in abiotic stress tolerance enhancement *Current Opinion in Plant Biology* 2016, 33:101–107
- Anwar MR, O’Leary G, McNeil D, et al. (2007)** Climate change impact on rainfed wheat in south-eastern Australia. *Field Crops Res* 2007 104:139–47.
- Aranega-Bou P, De la O’Leyva M, Finiti I, Garcva-Agustvn P, Gonzalez-Bosch C (2014)** Priming of plant resistance by natural compounds. Hexanoic acid as a model. *Front Plant Sci* 5:488
- Aroca A, Benito JM, Gotor C, Romero LC (2017)** Persulfidation proteome reveals the regulation of protein function by hydrogen sulfide in diverse biological processes in Arabidopsis. *J. Exp. Bot.* 68, 4915–4927.
- Arun-Chinnappa KS, Ranawake L and Seneweera S (2017)** Impacts and Management of Temperature and Water Stress in Crop Plants P.S. Minhas et al. (eds.), *Abiotic Stress Management for Resilient Agriculture* p.p. 221-234 Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2017
- Asgher M, Per TS, Anjum S, Khan MIR, Masood A, Verma S, Khan NA (2017)** Contribution of glutathione in heavy metal stress tolerance in plants. In: Khan M, Khan N (eds) *Reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: role and regulation under abiotic stress*. Springer, Singapore, pp 297–313
- Ashfaq F, Khan MIR and Khan NA (2014)** Exogenously applied H₂O₂ promotes proline accumulation, water relations, photosynthetic efficiency and growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. *Annu .Res .Rev. Biol.* 4, 105–120
- Ashraf M and Foolad MR (2007)** Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ Exp Bot.* 2007; 59:206–16.
- Ashraf MA, Rasheed R, Hussain I, Iqbal M, Haider MZ, Parveen S, et al. (2014)** Hydrogen peroxide modulates antioxidant system and nutrient relation in maize (*Zea mays* L.) under water-deficit conditions. *Arch. Agron. Soil Sci.* 61, 507–523.
- Astier J, Kulik A, Koen E, Besson-Bard A, Bourque S, Jeandroz S, Lamotte O and Wendehenne D (2012)** Protein S-nitrosylation: What's going on in plants? *Free Radical Biology and Medicine* 53: 1101-1110.
- Atkinson NJ, Urwin PE (2012)** The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Experimental Botany* 63: 3523–3543.

- Azooz MM, Alzahrani AM and Youssef MM (2013)** The potential role of seed priming with ascorbic acid and nicotinamide and their interactions to enhance salt tolerance in broad bean (*Vicia Faba* L.). *Aust. J. Crop Sci.* 7, 2091–2100
- Azzedine F, Gherroucha H and Baka M (2011)** Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. *J. Stress Physiol. Biochem.* 7, 27–37.
- Babenko ON, Brychkova G, Sagi M, Alikulov ZA (2015)** Molybdenum application enhances adaptation of crested wheatgrass to salinity stress. *Acta Physiol Plant* 37:14
- Bai XJ, Liu LJ, Zhang CH, Ge Y and Cheng WD (2011)** Effect of H₂O₂ pretreatment on Cd tolerance of different rice cultivars. *Rice Sci.* 18, 29–35.
- Bai X, Yang L, Tian M, et al. (2011)** Nitric oxide enhances desiccation tolerance of recalcitrant *Antiaris toxicaria* seeds via protein S-nitrosylation and carbonylation. *PLoS One* 6: e20714.
- Bal Santanu Kumar and Minhas Paramjit Singh (2017)** Atmospheric Stressors: Challenges and Coping Strategies P.S. Minhas et al. (eds.), *Abiotic Stress Management for Resilient Agriculture* pp 9-50 Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2017
- Balmer A, Pastor V, Gamir J, Flors V, and Mauch-Mani B (2015)** The ‘prime-ome’: towards a holistic approach to priming *Trends in Plant Science* July 2015, Vol. 20, No. 7
- Banerjee A, Tripathi DK, Roychoudhury A (2018)** Hydrogen sulphide trapeze: Environmental stress amelioration and phytohormone crosstalk *Plant Physiology and Biochemistry* 132 46–53
- Bao H, Chen X, Lv S, Jiang P, Feng J, Fan P, Nie L, Li Y (2015)** Virus-induced gene silencing reveals control of reactive oxygen species accumulation and salt tolerance in tomato by γ -aminobutyric acid metabolic pathway. *Plant Cell Environ* 38:600–613
- Bates BC, Kundzewicz ZW, Wu S, Palutikof JP (2008)** *Climate Change and Water* Geneva: IPCC Secretariat. 210 pp
- Bavita A, Shashi B, Navtej SB (2012)** Nitric oxide alleviates oxidative damage induced by high temperature stress in wheat. *Indian J Exp Biol* 50: 372-378
- Bechtold U, Lawson T, Mejia-Carranza J, Meyer RC, Brown IR, Altmann T, Ton J, Mullineaux PM (2010)** Constitutive salicylic acid defences do not compromise seed yield, drought tolerance and water productivity in the *Arabidopsis* accession C24. *Plant Cell Environ* 33:1959–1973
- Beligni MV, Lamattina L (1999)** Is nitric oxide toxic or protective? *Trends Plant Sci.* 4 (1999) 299–300.
- Beligni MV, Lamattina L (2001)** Nitric oxide: a non-traditional regulator of plant growth. *Trends in Plant Science* 6: 508-509
- Bell AE (2003)** Nonprotein amino acids of plants: significance in medicine, nutrition, and agriculture. *J Agric Food Chem.* 2003; 51:2854–65
- Ben AM, Methenni K, Nouairi I, Zarrouk M, and Ben YN (2017)** Drought priming improves subsequent more severe drought in a drought sensitive cultivar of olive cv. Chétoui *Scientia Horticulturae* 221 (2017) 43–52
- Borges AA, Jiménez-Arias D, Expósito-Rodríguez M, Sandalio LM, Pérez JP (2014)** Priming crops against biotic and abiotic stresses: MSB as a tool for studying mechanisms. *Front. Plant Sci.* 5:642

- Bouchereau A, Aziz A, Larher F, and Martin-Tanguy J (1999).** Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Sci.* 140, 103–125
- Boyko A, Kovalchuk I. (2011).** Genome instability and epigenetic modification - heritable responses to environmental stress? *Current Opinion in Biotechnology*, 14, 260–266
- Bray EA, Bailey-Serres J, Weretilnyk E 2000** Responses to abiotic stresses. In: Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) *Biochemistry and molecular biology of plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, pp 1158–1203
- Bruce TJA, Matthes MC, Napier JA, Pickett JA (2007).** Stressful ‘memories’ of plants: evidence and possible mechanisms. *Plant Sci.* 173, 603–608
- Bulgari R, Franzoni G and Ferrante A (2019)** Biostimulants Application in Horticultural Crops under Abiotic Stress Conditions *Agronomy* 2019, 9, 306;
- Busch S, Lorenz CD, Taylor J, Pardo LC, McLain SE (2014)** Short-range interactions of concentrated proline in aqueous solution. *J Phys Chem B* 118(49):14267–14277
- Bybordi A (2012).** Effect of ascorbic acid and silicium on photosynthesis, antioxidant enzyme activity, and fatty acid contents in canola exposure to salt stress. *J. Integr. Agric.* 11, 1610–1620.
- Cakmak I, Kirkby EA (2008)** Role of magnesium in carbon partitioning and alleviating photooxidative damage. *Physiol Plant* 133:692–704
- Cao MJ, Wang Z, Zhao Q, Mao JL, Speiser A, Wirtz M, Xiang CB (2014)** Sulfate availability affects ABA levels and germination response to ABA and salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 77:604–615
- Cao SQ, Ren G, Jiang LH, Yuan B and Ma GH (2009)** The role of β -aminobutyric acid in enhancing Cadmium tolerance in *Arabidopsis Thaliana* Rus. *J Plant Physiol* 56:575
- Caradonia F, Battaglia V, Righi L, Pascali G, La Torre A (2018)** Plant Biostimulant Regulatory Framework: Prospects in Europe and Current Situation at International Level. *J. Plant Growth Regul.* 2018, 1–11
- Cassia R, Amenta M, Fernandez MB, Nocioni M, Davila V (2019)** The role of nitric oxide in the antioxidant defense of plants exposed to UV-B radiation, in: M. Hasanuzzaman (Ed.), *React. Oxyg. Nitrogen Sulfur Species Plants Prod. Metab. Signal. Def. Mech*, John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, UK, 2019
- Cechin I, Cardoso GS, Fumis TF, et al. (2015)** Nitric oxide reduces oxidative damage induced by water stress in sunflower plants. *Bragantia* 74: 200-206
- Cha-um S, Samphumphuang T, Kirdmanee C (2013)** Glycine betaine alleviates water deficit stress in indica rice using proline accumulation, photosynthetic efficiencies, growth performances and yield attributes. *Aust J Crop Sci* 7:213–218
- Chen D, Shao Q, Yin L, Younis A and Zheng B (2019)** Polyamine Function in Plants: Metabolism, Regulation on Development, and Roles in Abiotic Stress Responses *Front. Plant Sci.* 9:1945.
- Chen H, Jiang J-G (2010)** Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. *Environ Rev* 18:309–319

- Chen JH, Jiang HW, Hsieh EJ, Chen HY, Chien CT, Hsieh HL, Lin TP (2012)** Drought and salt stress tolerance of an *Arabidopsis* glutathione S-transferase U17 knockout mutant are attributed to the combined effect of glutathione and abscisic acid. *Plant Physiol* 158:340–351
- Chen J, Liu X, Wang C, et al. (2015)** Nitric oxide ameliorates zinc oxide nanoparticles-induced phytotoxicity in rice seedlings. *J Haz Mat* 297: 173-182.
- Chen J, Shang YT, Wang W H, Chen XY, He EM, Zheng HL, et al. (2016)** Hydrogen sulfide-mediated polyamines and sugar changes are involved in hydrogen sulfide-induced drought tolerance in *Spinacia oleracea* seedlings. *Front. Plant Sci.* 7:1173.
- Chen J, Xiong D-Y, Wang W-H, et al. (2013)** Nitric oxide mediates root K⁺/Na⁺ balance in a mangrove plant, *Kandelia obovata*, by enhancing the expression of AKT1-Type K⁺ channel and Na⁺/H⁺ antiporter under high salinity. *PLoS One* 8: e71543
- Chen K and Arora R (2011)** Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, post-priming germination, and seedling establishment in spinach (*Spinacia oleracea*). *Plant Sci.* 180:212–220.
- Chen K and Arora R (2013)** Priming memory invokes seed stress-tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 94:33–45.
- Chen K, Chen L, Fan J, et al. (2013)** Alleviation of heat damage to photosystem II by nitric oxide in tall fescue. *Photosynth Res* 116: 21-31.
- Cheng MC, Ko K, Chang WL, Kuo WC, Chen GH, Lin TP (2015)** Increased glutathione contributes to stress tolerance and global translational changes in *Arabidopsis*. *Plant J* 83:926–939
- Chen TH, Murata N (2008)** Glycine betaine: an effective protectant against abiotic stress in plants. *Trends Plant Sci* 13:499–505
- Cheng W, Zhang L, Jiao CJ, Su M, Yang T, Zhou LN, et al. (2013)** Hydrogen sulphide alleviates hypoxia-induced root tip death in *Pisum sativum*. *Plant Physiol. Biochem.* 70, 278–286
- Cho SM, Park JY, Han SH, et al.(2011)** Identification and transcriptional analysis of priming genes in *Arabidopsis thaliana* induced by root colonization with *Pseudomonas chlororaphis* O6. *Plant Pathol J.* 2011; 27:272–9.
- Christou A, Manganaris GA, Papadopoulos I, Fotopoulos V (2013)** Hydrogen sulfide induces systemic tolerance to salinity and non-ionic osmotic stress in strawberry plants through modification of reactive species biosynthesis and transcriptional regulation of multiple defence pathways. *Journal of Experimental Botany* 64:1953-1966
- Christou A, Manganaris GA and Fotopoulos V (2014)** Systemic mitigation of salt stress by hydrogen peroxide and sodium nitroprusside in strawberry plants via transcriptional regulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants. *Environ Exp Bot* 2014, 107:46-54.
- Colebrook EH, Thomas SG, Phillips AL et al (2014)** The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. *J Exp Biol* 217:67–75
- Colla G, Hoagland L, Ruzzi M, Cardarelli M, Bonini P, Canaguier R and Rouphael Y (2017)** REVIEW ARTICLE Biostimulant Action of Protein Hydrolysates: Unraveling Their Effects on Plant Physiology and Microbiome. *Front. Plant Sci.*, 22 December 2017

- Conrath U, Beckers GJM, Flors V, Garcia-Agustin P, Jakab G, et al. (2006)** Priming: getting ready for battle. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 19:1062–71
- Conrath U, Beckers JMG, Langenbach JGC and Jaskiewicz RM (2015)** Review Priming for Enhanced Defense *Annu. Rev. Phytopathology.* 2015. 53:97–119
- Conrath U, Pieterse CMJ, Mauch-Mani B. (2002)** Priming in plant-pathogen interactions. *Trends Plant Sci.* 7:210–16
- Corpas FJ, del Río LA, Barroso JB (2013)** Protein tyrosine nitration in higher plants under natural and stress conditions. *Front Plant Sci* 4: 29.
- Cramer RG, Urano K, Delrot S, Pezzotti M and Shinozaki K (2011)** Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective *BMC Plant Biology* 2011, 11:163
- Creelman RA and Mullet JE (1995)** Jasmonic acid distribution and action in plants: regulation during development and response to biotic and abiotic stress. *Proc Natl Acad Sci* 92, 4114–4119
- Crisp PA, Ganguly D, Eichten SR, Borevitz JO, Pogson BJ (2016).** Reconsidering plant memory: intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. *Sci. Adv.* 2:e1501340
- Crowe JH, Hoekstra FA & Crowe LM (1992)** Anhydrobiosis. *Annual Review of Physiology*, Vol. 54, (March 1992), pp. 579-599
- Crowe JH and Crowe LM (2000)** Preservation of mammalian cells—learning nature’s tricks. *Nature Biotechnology*, Vol. 18, No. 2, pp.145-146, ISSN 1087-0156
- Cuin TA, Shabala S (2005)** Exogenously supplied compatible solutes rapidly ameliorate NaCl-induced potassium efflux from barley roots. *Plant Cell Physiol* 46:1924–1933
- Dahal K, Li X-Q, Tai H, Creelman A and Bizimungu B (2019)** Improving Potato Stress Tolerance and Tuber Yield Under a Climate Change Scenario – A Current Overview *Front. Plant Sci.* 10:563.
- Dar MI, Naikoo MI, Rehman F, Naushin F and Khan FA (2016)** Proline Accumulation in Plants: Roles in Stress Tolerance and Plant Development N. Iqbal et al. (eds.), *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies* Springer India 2016
- Dat J, Vandenabeele S, Vranova E, Montagu M, Inze D, Van Breusegem F (2000)** Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life Sci* 57:779–795
- Dawood MG (2018)** Stimulating Plant Tolerance against Abiotic Stress through Seed Priming A. Rakshit, H. B. Singh (eds.), *Advances in Seed Priming* pp.147-183 Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2018
- Dawood MG, EL-Awadi ME (2015)** Alleviation of salinity stress on *Vicia faba* L. plants via seed priming with melatonin. *Acta Biol Colomb* 20:223–235
- Dawood MG, Sadak MS (2014)** Physiological role of glycine betaine in alleviating the deleterious effects of drought stress on canola plants (*Brassica napus* L.). *Middle East J Agric Res* 3(4):943–954
- Del Castello F, Nejamkin A, Cassia R, Correa-Aragunde N, Fernández B, Foresi N, Lombardo C, Ramirez L, Lamattina L (2019)** The era of nitric oxide in plant biology: Twenty years tying up loose ends *Nitric Oxide* 85 (2019) 17–27
- Del Rio A Luis (2015)** Review ROS and RNS in plant physiology: an overview *Journal of Experimental Botany*, Vol. 66, No. 10 pp. 2827–2837, 2015

- Demidchik V (2015)** Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. Environ. Exp. Bot. 109:212
- Devi BSR, Kim YJ, Selvi SK, Gayathri S, Altanzul K, Parvin S, Yang DU, Lee OR, Lee S, Yang DC (2012)** Influence of potassium nitrate on antioxidant level and secondary metabolite genes under cold stress in *Panax ginseng*. Russ J Plant Physiol 59:318–325
- Ding X, Jiang Y, He L, Zhou Q, Yu J, Hui D, Huang D (2016)** Exogenous glutathione improves high root-zone temperature tolerance by modulating photosynthesis, antioxidant and osmolytes systems in cucumber seedlings. Sci Rep 6:35424
- Dinneny JR, Long TA, Wang JY, Jung JW, Mace D, Pointer S, Barron C, Brady SM, Schiefelbein J, Benfey PN (2008)** Cell identity mediates the response of Arabidopsis roots to abiotic stress. Science 2008, 320(5878):942-945.
- Donnamaria MC, Howard EI, Grigera JR (1994)** Interaction of water with α , α -trehalose in solution: molecular dynamics simulation approach. J Chem Soc Faraday Trans 90:2731–2735
- Du YL, Wang ZY, Fan JW, Turner NC, He J, Wang T et al. (2013)** Exogenous abscisic acid reduces water loss and improves antioxidant defence, desiccation tolerance and transpiration efficiency in two spring wheat cultivars subjected to a soil water deficit. Funct. Plant Biol. 40, 494–506
- Duan B, Ma Y, Jiang M, Yang F, Ni L and Lu W (2015)**. Improvement of photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) as a result of an increase in stomatal aperture and density by exogenous hydrogen sulfide treatment. Plant Growth Regul. 75, 33–44.
- Dutta P (2018)** Seed Priming: New Vistas and Contemporary Perspectives A. Rakshit, H. B. Singh (eds.), Advances in Seed Priming pp. 3-20 Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2018
- Easterling W, Apps M (2005)** Assessing the consequences of climate change for food and forest resources: a view from the IPCC. Climate Change 70:165–189
- Egbichi I, Keyster M, Ludidi N (2014)** Effect of exogenous application of nitric oxide on salt stress responses of soybean. South Afr J Bot 90: 131-136.
- Ergin S, Aydogan C, Ozturk N and Turhan E (2014)** Effects of ascorbic acid application in strawberry plants during heat stress. Turk. J. Agric. Nat. Sci. 2, 1486–1491
- Etehadnia M, Waterer DR and Tanino KK (2008)** The method of ABA application affects salt stress responses in resistant and sensitive potato lines. J. Plant Growth Regul. 27, 331–341.
- Fahad S and Bano A (2012)** Effect of salicylic acid on physiological and biochemical characterization of maize grown in saline area, Pak. J. Bot. 44 (2012) 1433–1438.
- Fan H-F, Du C-X, Ding L, et al. (2013)** Effects of nitric oxide on the germination of cucumber seeds and antioxidant enzymes under salinity stress. Acta Physiol Plant 35: 2707-2719.
- Fang H, Liu Z, Long Y, Liang Y, Jin Z, Zhang L, et al. (2017)** The Ca₂C/CaM2 binding transcription factor TGA3 elevates LCD expression and H₂S production to bolster Cr6C tolerance in Arabidopsis. Plant J. 91, 038–1050
- Farhangi-Abriz S and Ghassemi-Golezani K (2019)** Jasmonates: Mechanisms and functions in abiotic stress tolerance of plants Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 20 (2019) 101210
- Fariduddin Q, Varshney P, Yusuf M and Ahmad A (2013)** Polyamines: potent modulators of plant responses to stress Journal of Plant Interactions, 2013 Vol. 8, No. 1, 1_16,

- Farnese FS, Menezes-Silva PE, Gusman GS and Oliveira JA (2016)** When Bad Guys Become Good Ones: The Key Role of Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide in the Plant Responses to Abiotic Stress Front. Plant Sci. 7:471.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2009)** Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agron Sustain Dev 29:185–212
- Farooq M, Irfan M, Aziz T, et al. (2013)** Seed priming with ascorbic acid improves drought resistance of wheat. J Agron Crop Sci. 2013;199: 12–22.
- Fayez KA and Bazaid SA (2014)** Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. J. Saudi Soc. Agri. Sci. 13, 45–55.
- Fercha A, Capriotti AL, Caruso G, Cavaliere C, Samperi R, Stampachiacchiere S, Laganù A, (2014)** Comparative analysis of metabolic proteome variation in ascorbate-primed and unprimed wheat seeds during germination under salt stress. J Proteomics. 2014; 108:238–57.
- Filipovic MR (2015)** Persulfidation (S-sulfhydration) and H₂S Handb. Exp. Pharmacol.230, 29–59.
- Filipovic MR and Jovanovic VM (2017)** More than just an intermediate: hydrogen sulphide signalling in plants. J. Exp. Bot. 68, 4733–4736
- Filippou P, Bouchagier P, Skotti E, Fotopoulos V (2014)** Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. Environ Exp Bot 97:1–10
- Filippou P, Tanou G, Molassiotis A and Fotopoulos V (2013)** Plant acclimation to environmental stress using priming agents. In Plant Acclimation to Environmental Stress (Tuteja, N. and Singh Gill, S., Eds), pp. 1–27, Springer
- Flores A, Grau A, Laurich F and Dorffling K (1988)** Effect of new terpenoid analogues of abscisic acid on chilling and freezing resistance. J. Plant Physiol. 132, 362–369.
- Flors V, Paradis M, Garcia-Andrade J, Cerezo M, Gonzalez-Bosch C, Garcia-Agustin P (2007)** A tolerant behavior in salt-sensitive tomato plants can be mimicked by chemical stimuli. Plant Signal Behav 2:50–57
- Freschi L (2013)** Nitric oxide and phytohormone interactions: current status and perspectives. Front Plant Sci 4: 398
- Fromm J, Lautner S (2007)** Electrical signals and their physiological significance in plants Plant, Cell & Environment 30: 249-257
- Fu P, Wang W, Hou L and Liu X (2013)** Hydrogen sulfide is involved in the chilling stress response in *Vitis vinifera* L. Acta Soc. Bot. Pol. 82:295.
- Gallardo K, Job C, Groot SPC, Puype M, Demol H, Vandekerekhove J, et al., (2001)** Proteomic analysis of *Arabidopsis* seed germination and priming Plant Physiol. 126:835–848.
- Gangwar S, Singh VP (2011)** Indole acetic acid differently changes growth and nitrogen metabolism in *Pisum sativum* L. seedlings under chromium (VI) phytotoxicity: implication of oxidative stress. Sci Hortic 129:321–328
- Gangwar S, Singh VP, Tripathi DK, Chauhan DK, Prasad SM, Maurya JN (2014)** Plant responses to metal stress the emerging role of plant growth hormones in toxicity alleviation. In: Ahmad P (ed)

- Emerging technologies and management of crop stress tolerance. Elsevier Inc., Amsterdam, pp 215–248
- Gao X, Zou C, Wang L, et al. (2006)** Silicon decreases transpiration rate and conductance from stomata of maize plants. *J Plant Nutr.* 2006; 29:1637–47
- García-Mata C, Lamattina L (2013)** Gasotransmitters are emerging as new guard cell signaling molecules and regulators of leaf gas exchange. *Plant Science* 201–202:66-73
- Ge Y, Hu K-D, Wang S-S, Hu L-Y, Chen X-Y, Li Y-H, et al. (2017).** Hydrogen sulfide alleviates postharvest ripening and senescence of banana by antagonizing the effect of ethylene. *PLoS One* 12, e0180113
- Gill PK, Sharma AD, Singh P et al (2001)** Effect of various abiotic stresses on the growth soluble sugars and water relations of sorghum seedlings grown in light and darkness. *Bulg J Plant Physiol* 27:72–84
- Gill SS and Tuteja N (2010)** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48: 909.
- Giri J (2011)** Glycine betaine and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signal Behav* 6:1746–1751
- Giuliani S, Sanguineti MC, Tuberosa R, Bellotti M, Salvi S, Landi P (2005)** Root-ABA1 a major constitutive QTL affects maize root architecture and leaf ABA concentration at different water regimes, *J. Exp. Bot.* 56 (2005) 3061–3070.
- Gong H, Zhu X, Chen K, Wang S, Zhang C (2005)** Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Sci* 169:313–321
- González-Bosch C (2018)** Priming plant resistance by activation of redox-sensitive genes *Free Radical Biology and Medicine* 122 (2018) 171–180.
- Groí F, Durner J, Gaupels F (2013)** Nitric oxide, antioxidants and prooxidants in plant defence responses. *Front Plant Sci.* 2013 4:419.
- Gupta K, Dey A and Gupta B (2013).** Plant polyamines in abiotic stress responses. *Acta Physiol .Plant.* 35, 2015–2036.
- Gupta N, Thind S (2015)** Improving photosynthetic performance of bread wheat under field drought stress by foliar applied Glycine Betaine. *J Agric Sci Technol* 17:75–86
- Hajheidari M, Abdollahian-Noghabi M, Askari H, Heidari M, Sadeghian SY, Ober ES, Hosseini Salekdeh G (2005)** Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress. *Proteomics* 5:950–960
- Hameed A, Gulzar S, Aziz I, Hussain T, Gul B and Khan MA (2015)** Effects of salinity and ascorbic acid on growth, water status and antioxidant system in a perennial halophyte. *AoB Plants* 7, 4
- Hameed A and Iqbal N (2013)** Chemo-priming with Mannose, Mannitol and H₂O₂ Mitigate Drought Stress in Wheat Article in *Cereal Research Communications* · September 2014
- Han SK and Wagner D (2014)** Role of chromatin in water stress responses in plants *J. Exp. Bot.* 65, 2785–2799
- Hancock JT, Whiteman M (2016)** Alone NO longer: interactions of nitric oxide with reactive oxygen species and hydrogen sulfide. In *Advances in Botanical Research* Edited by David W. Academic Press; 2016:1-14. ;

- Hare PD, Cress WA, Staden J (1998)** Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environ* 21:535–553
- Hare PD, Cress WA, Van Staden J (2001)** The effects of exogenous proline and proline analogues on in vitro shoot organogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Growth Regul* 2001; 34:203-7
- Hasanuzzaman M, Alam MM, Rahman A, Hasanuzzaman M, Nahar K, Fujita M (2014)** Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Biomed Res Int* 2014:757219
- Hasanuzzaman M, Anee TI, Bhuiyan TF, Nahar K, Fujita M (2019)** Emerging Role of Osmolytes in Enhancing Abiotic Stress Tolerance in Rice *Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance* 2019, Pages 677-70
- Hasanuzzaman M, Fujita M (2011)** Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. *Biol Trace Elem Res* 143:1758–1776
- Hasanuzzaman M, Hossain MA, Da Silva JAT, Fujita M (2012)** Plant responses and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. In: Bandi V, Shanker AK, Shanker C, Mandapaka M (eds) *Crop stress and its management: perspectives and strategies*. Springer, Berlin, pp 261–316
- Hasanuzzaman M, Nahar K, Bhuiyan TF, Anee TI, Inafuku M, Oku H and Fujita M (2017)** Salicylic Acid: An All-Rounder in Regulating Abiotic Stress Responses in Plants Chapter from the book *Phytohormones - Signaling Mechanisms and Crosstalk in Plant Development and Stress Responses* Development and Stress Responses Downloaded from: <http://www.intechopen.com/books/phytohormones-signalingmechanisms-and-crosstalk-in-plant-development-and-stress-responses>
- Hasanuzzaman M, Nahar K, Hossain MS, Mahmud JA, Rahman A, Inafuku M, Oku H, Fujita M (2017a)** Coordinated actions of glyoxalase and antioxidant defense systems in conferring abiotic stress tolerance in plants. *Int J Mol Sci* 18:200.
- Hasanuzzaman M, Nahar K, Anee TI, Fujita M (2017b)** Glutathione in plants: biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance. *Physiol Mol Biol Plants* 23:249–268
- Hashem A, Abd Allah EF, Alqarawi AA, Al Huqail AA, Egamberdieva D, Wirth S (2016)** Alleviation of cadmium stress in *Solanum lycopersicum* L. by arbuscular mycorrhizal fungi via induction of acquired systemic tolerance. *Saudi J Biol Sci* 23:272–281
- Hatamzadeh A, Nalousi AM, Ghasemnezhad A, et al. (2014)** The potential of nitric oxide for reducing oxidative damage induced by drought stress in two turfgrass species, creeping bentgrass and tall fescue. *Grass Forage Sci* 70: 538-548
- Hayat S, Hayat Q, Alyemeni MN, Wani AS, Pichtel J and Ahmad A (2012)** Role of proline under changing environments *Plant Signaling & Behavior* 7:11, 1456–1466; November 2012
- He L. et al. (2009)** Pretreatment of seed with H₂O₂ enhances drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Afr. J. Biotechnol.* 8, 6151–6157

- Hernandez JA, Diaz-Vivancos P, Barba-Espin G and Clemente-Moreno MJ (2017)** On the Role of Salicylic Acid in Plant Responses to Environmental Stresses R. Nazar et al. (eds.), Salicylic Acid: A Multifaceted Hormone pp.17-34 Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2017
- Heuer B (2003)** Influence of exogenous application of proline and glycine-betaine on growth of salt-stressed tomato plants. *Plant Sci* 2003; 165:693-9;
- Heyl A, Riefler M, Romanov G, Schmulling T (2012)** Properties, functions and evolution of cytokinin receptors. *Europ J Cell Biol* 91:246–256
- Hilker M et al. (2015)** Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. *Biol. Rev.* Published online August 20, 2015
- Holeski LM, Jander G, Agrawal AA. (2012)** Transgenerational defense induction and epigenetic inheritance in plants *Trends Ecol. Evol.* 27:618–26
- Hong Z, Lakkineni K, Zhang Z, Verma DP (2000)** Removal of feedback inhibition of delta (1)-pyrroline-5- carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol* 122:1129–1136
- Hoque MA, Okuma E, Banu MNA, Nakamura Y, Shimoishi Y, Murata Y (2007)** Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than the betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *J Plant Physiol* 164:553–561
- Horvath E, Brunner S, Bela K, et al (2015).** Exogenous salicylic acid-triggered changes in the glutathione transferases and peroxidases are key factors in the successful salt stress acclimation of *Arabidopsis thaliana*. *Func Plant Biol.* 2015; 42(12):1129–40.
- Hossain MA and Fujita M (2013)** Hydrogen peroxide priming stimulates drought tolerance in mustard (*Brassica juncea* L.). *Plant Gene Trait.* 4, 109–123.
- Hossain MA, Bhattacharjee S, Armin S-M, Qian P, Xin W, Li H-Y, Burritt DJ, Fujita M and Tran L-SP (2015)** Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. *Front. Plant Sci.* 6:420
- Hu Y, Ge Y, Zhang C, Ju T and Cheng W.(2009)** Cadmium toxicity and translocation in rice seedlings are reduced by hydrogen peroxide pretreatment. *Plant Growth Regul.* 59, 51–61.
- Hung S, Yu C, Lin CH (2005)** Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. *Bot Bull Acad Sinica* 46:1–10.
- Hussain AH, Hussain S, Khalid A, Ashraf U, Anjum AS, Men S and Wang L (2018)** Chilling and Drought Stresses in Crop Plants: Implications, Cross Talk and Potential Management Opportunities *Front. Plant Sci.* 9:393.
- Hussain SS, Ali M, Ahmad M and Siddique KH (2011)** Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Biotechnol. Adv.* 29, 300–311.
- Ibrahim, E. A. (2016)** Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology.* 192, 38.
- Iordachescu M and Imai R (2010)** Trehalose and Abiotic Stress in Biological Systems Chapter in book *Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations* Edited by Prof. Arun Shanker InTech 2010

- IPCC (2007)** “Climate change 2007: the physical science basis,” in Proceedings of the Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, eds S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K. B. Averyt, et al. (Cambridge: Cambridge University Press), 996
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change 2014)** Climate Change 2014: Synthesis Report. In: Core Writing Team, Pachauri RK, Meyer LA, editors. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva: IPCC; 2014. 151 p.
- Iqbal M, Ashraf M, Jamil A (2006)** Seed enhancement with cytokinins changes in growth and grain yield in salt stressed wheat plants. *Plant Growth Regul* 50:29–39
- Iqbal M, Ashraf M (2007)** Seed preconditioning modulates growth, ionic relations, and photosynthetic capacity in adult plants of hexaploid wheat under salt stress. *J. Plant Nutr.* 30, 381–396
- Iqbal M, Ashraf M (2013)** Gibberellic acid mediated induction of salt tolerance in wheat plants growth ionic partitioning photosynthesis yield and hormonal homeostasis. *Environ Exp Bot* 86:76–85
- Iseri OD, Körpe DA, Sahin FI and Haberal M (2013)** Hydrogen peroxide pretreatment of roots enhanced oxidative stress response of tomato under cold stress. *Acta Physiol. Plant.* 35, 1905–1913.
- Jakab G, Ton J, Flors V, et al. (2005)** Enhancing Arabidopsis salt and drought stress tolerance by chemical priming for its abscisic acid responses. *Plant Physiol.* 2005; 139:267–74.
- Janas K, Posmyk M. (2013)** Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application. *Acta Physiologiae Plantarum.* 2013; 35:3285-3292
- Janda T, Pal M, Darko I, and Szalai G (2017)** Use of Salicylic Acid and Related Compounds to Improve the Abiotic Stress Tolerance of Plants: Practical Aspects R. Nazar et al. (eds.), *Salicylic Acid: A Multifaceted Hormone* pp.35-46 Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2017
- Jaskiewicz M., Conrath U., Peterhansel C. (2011)** Chromatin modification acts as a memory for systemic acquired resistance in the plant stress response, *EMBO Rep.* 12 (1) (2011) 50–55.
- Jia H, Hu Y, Fan T, Li J, (2015)** Hydrogen sulfide modulates actin-dependent auxin transport via regulating ABPs results in changing of root development in *Arabidopsis*. *Sci. Rep.* 5, 8251.
- Jin Z and Pei Y (2015)** Physiological implications of hydrogen sulfide in plants: pleasant exploration behind its unpleasant odour. *Oxid.Med.CellLongev.* 2015
- Jin Z, Shen J, Qiao Z, Yang G, Wang R, Pei Y (2011)** Hydrogen sulfide improves drought resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 414, 481–486
- Jisha KC, Shackira AM and Puthur JT (2018)** GABA/BABA Priming Causes Signaling of Defence Pathways Related to Abiotic Stress Tolerance in Plants. Chapter in book *Neurotransmitters in Plants Perspectives and Applications* Edited by Akula Ramakrishna, Victoria Vladimirovna Roshchina
- Jisha KC, Vijayakumari K, Puthur JT (2013)** Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. *Acta Physiol Plant* 35:1381–1396

- Jo Y, Hyun TK (2011)** Genome-wide identification of antioxidant component biosynthetic enzymes: comprehensive analysis of ascorbic acid and tocochromanols biosynthetic genes in rice. *Comput Biol Chem.* 2011; 35(5):261–8.
- Juárez-Maldonado A, Ortega-Ortíz H, Morales-Díaz A, González-Morales S, Morelos-Moreno Á, Cabrera-De la Fuente M, Sandoval-Rangel A, Cadenas-Pliego G, Benavides-Mendoza A (2019)** Nanoparticles and Nanomaterials as Plant Biostimulants. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 162.
- Kadioglu A, Saruhan N, Sağlam A, et al. (2011)** Exogenous salicylic acid alleviates effects of long term drought stress and delays leaf rolling by inducing antioxidant system. *Plant Growth Regul.* 2011; 64:27–37
- Kairong L, Huike L, Jian W (2006)** Effect of natural brassinolide on drought resistance and yield of red fuji apple. *Acta Hort Sinica.* 2006; 33:1059
- Kang Y, Khan S and Ma X (2009)** Review Climate change impacts on crop yield, crop water productivity and food security *Progress in Natural Science* 19 (2009) 1665–1674
- Karakas B, Ozias-Akins P, Stushnoff C, Suefferheld M, Rieger M (1997)** Salinity and drought tolerance in mannitol-accumulating transgenic tobacco. *Plant Cell Environ* 20:609–616
- Karim M, Zhang YQ, Zhao RR, Chen XP, Zhang FS, Zou CQ (2012)** Alleviation of drought stress in winter wheat by late foliar application of zinc, boron, and manganese. *J Plant Nutr Soil Sci* 175:142–151
- Kataria S and Verma KS (2018)** Salinity Stress Responses and Adaptive Mechanisms in Major Glycophytic Crops: The Story So Far V. Kumar et al. (eds.), *Salinity Responses and Tolerance in Plants*, Volume 1, PP. 1-39 Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2018
- Kaur D, Grewal S, Kaur J, Singh S (2017)** Differential proline metabolism in vegetative and reproductive tissues determines drought tolerance in chickpea. *Biol Plant* 61(2):359–366
- Kawai H, Sakurai M, Inoue Y, Chujo R, Kobayashi S (1992)** Hydration of oligosaccharides: anomalous hydration ability of trehalose. *Cryobiology* 29: 599–606
- Kaya C, Ashraf M, Sonmez O, et al. (2015)** Exogenously applied nitric oxide confers tolerance to salinity-induced oxidative stress in two maize (*Zea mays* L.) cultivars differing in salinity tolerance. *Turk J Agric For* 39: 909-919.
- Kazan K (2013)** Auxin and the integration of environmental signals into plant root development. *Ann Bot* 112:1655–1665
- Kazan K (2015)** Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance. *Trends Plant Sci* 20:219–229
- Kerepesi I and Galiba G (2000)** Osmotic and salt stress induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Sci* 40:482–487
- Keunen E, Peshev DJ, Vangronsveld J et al (2013)** Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept *Plant Cell Environ* 36:1242–1255
- Khadri M, Tejera NA and Lluch C (2006)** Alleviation of salt stress in common bean (*Phaseolus vulgaris*) by exogenous abscisic acid supply *J. Plant Growth Regul.* 25, 110–119

- Khalid S, Parvaiz M, Nawaz K, Hussain K, Arshad A, Shawakat S, Sarfaraz ZN, Waheed T (2013)** Effect of indole acetic acid (IAA) on morphological biochemical and chemical attributes of two varieties of maize (*Zea mays* L.) under salt stress. *World Appl Sci J* 26:1150–1159
- Khan M, Ahmad R, Khan MD, Rizwan M, Ali S, Khan MJ, Azam M, Irum G, Ahmad MN and Zhu S (2018)** Trace Elements in Abiotic Stress Tolerance M. Hasanuzzaman et al. (eds.), *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance* Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2018
- Khan MIR, Asgher M and Khan NA (2014).** Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycine betaine and ethylene in mung bean (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiol. Biochem.* 80, 67–74.
- Khan MIR, Fatma M, Per TS, Anjum NA and Khan NA (2015)** Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants *Front. Plant Sci.* 6:462.
- Khan MIR, Iqbal N, Masood A, Mobin M, Anjum NA, Khan NA (2016)** Modulation and significance of nitrogen and sulfur metabolism in cadmium challenged plants. *Plant Growth Regul* 78:1–11
- Khan MIR, Iqbal N, Masood A, Per TS Khan NA (2013b).** Salicylic acid alleviates adverse effects of heat stress on photosynthesis through changes in proline production and ethylene formation. *Plant Signal .Behav.* 8:e26374.
- Khan MN, Mobin M, Abbas ZK, and Siddiqui MH (2017)** Nitric oxide-induced synthesis of hydrogen sulfide alleviates osmotic stress in wheat seedlings through sustaining antioxidant enzymes, osmolyte accumulation and cysteine homeostasis. *Nitric Oxide* 68, 91–102
- Khan PS, Sha V, Nagamallaiiah VG, Dhanunjay R, Sergeant K and Hausman JF (2014)** Abiotic Stress Tolerance in Plants Insights from Proteomics. *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance A Sustainable Approach Volume 2*(Ahmad Parvaiz and Rasool Saiema) pp. 23-68 Elsevier
- Khan TA, Mazid M and Mohammad F (2011)** A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stress induced in plants. *J. Agrobiol.* 28, 97–111.
- Kim TH, Maik BC (2010)** Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO₂, and Ca²⁺ signaling. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 2010; 61:561–91
- Kleiber T, Calomme M, Borowiak K (2015b)** The effect of choline-stabilized orthosilicic acid on microelements and silicon concentration, photosynthesis activity and yield of tomato grown under Mn stress. *Plant hysiol Biochem* 96:180–188
- Koch KE (1996)** Carbohydrate modulated gene expression in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 47:509–540
- Kocsis M, Jakab G (2008)** Analysis of BABA (b-aminobutyric acid)-induced female sterility in *Arabidopsis* flowers. *Acta Biol Szeged* 52:247–249
- Kodala R, Chattopadhyay M, Kashfi K (2012):** NOSH-aspirin: a novel nitric oxide–hydrogen sulfide-releasing hybrid: a new class of anti-inflammatory pharmaceuticals. *ACS Med Chem Lett* 2012, 3:257-262.
- Kolupaev Y, Akinina G and Mokrousov A (2005)** Induction of heat tolerance in wheat coleoptiles by calcium ions and its relation to oxidative stress. *Russ. J. Plant Physiol.* 52,

- Korkmaz A (2012)** Effects of exogenous application of 5-aminolevulinic acid in crop plants. In: Abiotic stress responses plants, Springer, New York, pp 215–234
- Korkmaz A, Karaca A, Kocacinar F, Cuci Y (2017).** The effects of seed treatment with melatonin on germination and emergence performance of pepper seeds under chilling stress. *Tarım Bilimleri Dergisi*. 2017; 23:167-176
- Krishnan S, Merewitz EB (2015)** Drought stress and trinexapac-ethyl modify phytohormone content within Kentucky bluegrass leaves. *J Plant Growth Regul* 34:1–12
- Kubala S, Garnczarska M, Wojtyła L, Clippe A, Kosmala A, Z'mien'ko, A., et al., (2015).** Deciphering priming-induced improvement of rapeseed (*Brassica napus* L.) germination through an integrated transcriptomic and proteomic approach. *Plant Sci*. 231, 94–113.
- Kul R, Esringó A, Dadasoglu E, Sahin A, Turan M, Ors S, Ekinci M, Agar G and Yildirim E (2018)** Melatonin: Role in Increasing Plant Tolerance in Abiotic Stress Conditions Chapter In book: *Abiotic and Biotic Stress in Plants Intechopen*.82590
- Kumar B, Singla-Pareek SL, Sopory SK (2010)** Glutathione homeostasis: crucial for abiotic stress tolerance in plants. In: Pareek A, Sopory SK, Bohnert JH, Govindjee (eds) *Abiotic stress adaptation in plants: physiological, molecular and genomic foundation*. Springer, New York, pp 263–282
- Kumar CS, Singh A, Sagar RK, Negi MPS, Maurya JN (2012a)** Study of indole acetic acid and antioxidant defense system of wheat grown under sewage water. *Int J Environ Sci* 3(2):821–832
- Kusano T, Berberich T, Tateda C, Takahashi Y. (2008)** Polyamines: essential factors for growth and survival. *Planta* 228:367_81
- Lai D, Mao Y, Zhou H, Li F, Wu M, Zhang J, et al. (2014)** Endogenous hydrogen sulfide enhances salt tolerance by coupling the reestablishment of redox homeostasis and preventing salt-induced KC loss in seedlings of *Medicago sativa*. *Plant Sci*. 225, 117–129.
- Leshem YY, Wills RBH, Ku VV (1998)** Evidence for the function of the free radical gas–nitric oxide (NO) as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants. *Plant Physiol. Biochem*. 36, 825–833
- Levitt J (1980).** Responses of Plants to Environmental Stress. Chilling, Freezing and High Temperature Stresses. Second ed. Academic Press, New York.
- Li B, He Li, Guo S, Li J, Yang Y, Yan B, Sun J, Li J (2013)** Proteomics reveal cucumber Spd-responses under normal condition and salt stress. *Plant Physiol Biochem* 67: 7–14
- Li C, Tan DX, Liang D, Chang C, Jia D, Ma F (2015)** Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behavior in two *Malus* species under drought stress. *Journal of Experimental Botany*. 2015; 66:669-680
- Li DM, Zhang J, Sun WJ, et al.(2011)** 5-Aminolevulinic acid pretreatment mitigates drought stress of cucumber leaves through altering antioxidant enzyme activity. *Sci Hort*. 2011; 130:820–8.
- Li X and Liu F (2016)** Drought Stress Memory and Drought Stress Tolerance in Plants: Biochemical and Molecular Basis M.A. Hossain et al. (eds.), *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol 1, pp. 17-44 Springer International Publishing Switzerland 2016

- Li Z-G, Ding X-J, Du P-F (2013a)** Hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide improved heat tolerance in maize and involvement of proline. *Journal of Plant Physiology* 170: 741-747
- Li Z-G et al. (2013)** Hydrogen sulphide may be a novel down-stream signal molecule in nitric oxide-induced heat tolerance of maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Plant Cell Environ.* 36, 1564– 1572
- Li Z-G, Gong M, Xie H, Yang L, Li J (2012b)** Hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide-induced heat tolerance in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) suspension cultured cells and involvement of Ca²⁺ and calmodulin. *Plant Science* 185–186: 185-189
- Li Z-G, Min X and Zhou Z -H (2016)** Hydrogen Sulfide: A Signal Molecule in Plant Cross-Adaptation. *Front. Plant Sci.* 7:1621.
- Li Z-G, Xie L-R, Li X-J, (2015b).** Hydrogen sulfide acts as a downstream signal molecule in salicylic acid-induced heat tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings. *J. Plant Physiol.* 177, 121–127
- Li Z-G, Yi X-Y, Li Y-T (2014).** Effect of pretreatment with hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide on heat tolerance in relation to antioxidant system in maize (*Zea mays*) seedlings. *Biologia* 69, 1001–1009.
- Lin KH, Huang HC, Lin CY (2010)** Cloning, expression and physiological analysis of broccoli catalase gene and Chinese cabbage ascorbate peroxidase gene under heat stress *Plant Cell Rep* 29: 575–593
- Lin YT, Li MY, Cui WT, Lu W and Shen WB (2012)** Haem oxygenase-1 is involved in hydrogen sulfide-induced cucumber adventitious root formation. *J. Plant Growth Regul.* 31, 519–528.
- Liu D, Pei ZF, Naeem MS, et al. (2011)** 5-aminolevulinic acid activates antioxidative defence system and seedling growth in *Brassica napus* L. under water-deficit stress. *J Agron Crop Sci.* 2011;197:284–95
- Liu R and Lal R (2015)** Effects of low-level aqueous hydrogen sulfide and other sulfur species on Lettuce (*Lactuca sativa*) seed germination. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 46, 576–587.
- Liu S, Yang R, Pan Y, et al. (2015)** Nitric oxide contributes to minerals absorption, proton pumps and hormone equilibrium under cadmium excess in *Trifolium repens* L. plants. *Ecotoxicol Environ Saf* 119: 35-46.
- Lobell D.B. and Gourdji S. M. (2012)** The influence of climate change on global crop productivity. *Plant Physiol.* 160, 1686–1697
- Lutts S, Benincasa P, Wojtyla L, Kubala S S, Pace Ra, Lechowska K, Quinet M and Garnczarska M (2016)** Seed Priming: New Comprehensive Approaches for an Old Empirical Technique *New Challenges in Seed Biology - Basic and Translational Research Driving Seed Technology InTech* 2016
- Ma X, Zhang J, Burgess P, Rossi S, Huang B.(2018)** Interactive effects of melatonin and cytokinin on alleviating drought induced leaf senescence in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). *Environmental and Experimental Botany.* 2018; 145:1-11
- Macarisin D, Wisniewski ME, Bassett C, Thannhauser T (2009)** Proteomic analysis of b-aminobutyric acid priming and abscisic acid–induction of drought resistance in crabapple (*Malus pumila*): effect on general metabolism, the phenyl propanoid pathway and cell wall enzymes. *Plant Cell Environ* 32:1612–1631

- Maggio A, Barbieri G, Raimondi G, De Pascale S (2010)** Contrasting effects of GA3 treatments on tomato plants exposed to increasing salinity. *J Plant Growth Regul* 29:63–72
- Mahmood Q, Ahmad R, Kwak SS, Rashid A, Anjum NA (2010)** Ascorbate and glutathione: protectors of plants in oxidative stress. In: Mahmood Q, Ahmad R, Kwak SS, Rashid A, Anjum NA (eds) *Ascorbate–glutathione pathway and stress tolerance in plants*. Springer, Berlin, pp 209–229
- Malerba M and Cerana R (2018)** Recent Advances of Chitosan Applications in Plants *Polymers* 2018, 10, 118;
- Manas D, Chakravarty A, Pal S, Bhattacharya A (2014)** Influence of foliar applications of chelator and micronutrients on antioxidants in green chilli. *Int J Nutr Metab* 6:18–27
- Mariani L and Ferrante A (2017)** Agronomic Management for Enhancing Plant Tolerance to Abiotic Stresses—Drought, Salinity, Hypoxia, and Lodging *Horticulturae* 2017, 3, 52.
- Martinez-Medina A, Flors V, Heil M, Mauch-Mani B, Pieterse MJC, Pozo JM, Ton J, Van Dam MN and Conrath U (2016)** Recognizing Plant Defense Priming Trends in Plant Science, October 2016, Vol. 21, No. 10
- Masood A, Per TS, Asgher M, Fatma M, Khan MIR, Rasheed F, Hussain SJ and Khan NA (2016)** Glycine Betaine: Role in Shifting Plants Toward Adaptation Under Extreme Environments N. Iqbal et al. (eds.), *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment:Emerging Omics Technologies* Springer India 2016
- Mauch-Mani B, Baccelli I, Luna E and Flors V (2017)** Defense Priming: An Adaptive Part of Induced Resistance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2017. 68:485–512
- Meng JF, Xu TF, Wang ZZ, Fang YL, Xi ZM, Zhang ZW (2014).** The ameliorative effects of exogenous melatonin on grape cuttings under water-deficient stress: Antioxidant metabolites, leaf anatomy, and chloroplast morphology. *Journal of Pineal Research.* 2014; 57:200-212.
- Mengel A, Ageeva a, Georgii E, Bernhardt J, Wu K, Durner J, Lindermayr C (2017)** Nitric oxide modulates histone acetylation at stress genes by inhibition of histone deacetylases, *Plant Physiol.* 173 (2017) 1434–1452
- Merewitz E (2016)** Chemical Priming-Induced Drought Stress Tolerance in Plants. M.A. Hossain et al. (eds.), *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol 1, pp. 77-103 Springer International Publishing Switzerland 2016
- Min X, Zhou ZH and Li ZG (2016).**The metabolism of signal molecule hydrogen sulfide and its role in the acquisition of heat tolerance in plants. *Plant Physiol .J.* 52, 37–46.
- Minhas SP, Rane J and Pasala KR (2017)** Abiotic Stresses in Agriculture: An Overview Abiotic Stress Management for Resilient Agriculture pp. 3-8 Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2017
- Minocha R, Majumdar R and Minocha SC (2014)** Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship *Frontiers in Plant Science | Plant Metabolism and Chemodiversity* May 2014|Volume 5|Article 175 | 2
- Mittler R. (2006)** Abiotic stress, the field environment and stress combination (2006) *Trends in Plant Science.* 2006
- Mittler R and Blumwald E (2010)** Genetic Engineering for Modern Agriculture: Challenges and Perspectives *Annu. Rev. Plant Biol.* 2010. 61:443–62

- Mittler R, Vanderauwera S, Suzuki N, Miller G, Tognetti VB, Vandepoele K, Gollery M, Shulaev V, Van Breusegem F (2011)** ROS signaling: the new wave? *Trends Plant Sci.* 16 (6) (2011) 300–309.
- Miura K and Tada Y (2014)**. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Front .Plant Sci.* 5:4
- Mohapatra SS, Poole RJ and Dhindsa RS (1988)** Abscisic acid-regulated gene expression in relation to freezing tolerance in alfalfa. *Plant Physiol.* 87, 468–473
- Molassiotis A and Fotopoulos V (2011)** Oxidative and nitro-sative signaling in plants *Plant Signal. Behav.* 6, 210–214
- Molassiotis A, Job D, Ziogas V and Tanou G (2016)** Citrus plants: A model system for unlocking the secrets of NO and ROS-inspired priming against salinity and drought. *Front Plant Sci* 7: 229.
- Móssig C, Biesgen C, Lisso J, et al. (2000)** A novel stress-inducible 12-oxophytodienoate reductase from *Arabidopsis thaliana* provides a potential link between brassinosteroid-action and jasmonic acid synthesis. *J Plant Physiol.* 2000; 157:143–52.
- Mostofa MG, Fujita M, Tran L-S P (2015)** Nitric oxide mediates hydrogen peroxide- and salicylic acid induced salt tolerance in rice (*Oryza sativa L.*) seedlings. *Plant Growth Regul* 77:265-277
- Moussa HR and Mohamed MAEFH (2011)** Role of nitric acid or H₂O₂ in antioxidant defense system of *Pisumsativum L.* under drought stress. *Nat. Sci.* 9, 211– 216
- Moustakas M, Sperdouli I, Kouna T, et al. (2011)** Exogenous proline induces soluble sugar accumulation and alleviates drought stress effects on photosystem II functioning of *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Growth Regul.* 2011; 65:315–25.
- Mukhtar A, Akram NA, Aisha R, Shafiq S and Ashraf M (2016)**. Foliar applied ascorbic acid enhances antioxidative potential and drought tolerance in cauliflower (*Brassica oleracea L.* var. Botrytis). *Agrochimica* 60, 100–113.
- Munir N, Naz S, Aslam F, Shahzadi K and Javad S (2013)** Effect of various levels of ascorbic acid pretreatment on alleviation of salt stress in salt sensitive sugarcane genotype SPF-213. *J. Agric. Res.* 51, 267–276.
- Nadeem SM, Ahmad M, Zahir ZA and Kharal MA (2016)** Role of Phytohormones in Stress Tolerance of Plants K.R. Hakeem, M.S. Akhtar (eds.), *Plant, Soil and Microbes*, PP. 385-421 Springer International Publishing Switzerland 2016
- Munne-Bosch S, Alegre L. (2013)** Cross-stress tolerance and stress “memory” in plants: an integrated view. *Environ Exp Bot.* 2013 94:1–2.
- Murata Y, Mori IC (2014)**. Stomatal regulation of plant water status. In: Jenks MA, Hasegawa PM, editors. *Plant abiotic stress*. 2nd ed. Ames, IO: John Wiley and Sons; 2014. p. 47–67.
- Nahar K, Hasanuzzaman M, Alam MM, Fujita M (2015a)** Glutathione-induced drought stress tolerance in mung bean: coordinated roles of the antioxidant defence and methylglyoxal detoxification systems. *AoB Plants* 7.
- Nahar K, Hasanuzzaman M, Alam MM, Fujita M (2015b)** Exogenous glutathione confers high temperature stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata L.*) by modulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system. *Environ Exp Bot* 112:44–54

- Nahar K, Hasanuzzaman M and Fujita M (2016)** Roles of Osmolytes in Plant Adaptation to Drought and Salinity N. Iqbal et al. (eds.), *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies* pp.37-68 Springer India 2016
- Nazar R, Umar S and Khan NA (2015)** Exogenous salicylic acid improves photosynthesis and growth through increase in ascorbate-glutathione metabolism and S assimilation in mustard under salt stress. *Plant Signal. Behav.* 10:e1003751
- Naz H, Akram NA and Ashraf M (2016)** Impact of ascorbic acid on growth and some physiological attributes of cucumber (*Cucumis sativus*) plants under water-deficit conditions. *Pak. J. Bot.* 48, 877–883.
- Nemhauser JL, Hong F, Chory J (2006)** Different plant hormones regulate similar processes through largely non overlapping transcriptional responses, *Cell* 126 (2006) 467–475
- Nanjo T, Fujita M, Seki M, Kato T, Tabata S, Shinozaki K (2003)**. Toxicity of free proline revealed in an *Arabidopsis* T-DNA-tagged mutant deficient in proline dehydrogenase. *Plant Cell Physiol* 2003; 44:541-8;
- Nguyena Hoang-Chinh, Linb Kuan-Hung, Hoc Shin-Lon, Chiang Chih-Ming and Yange Chi-Ming 2018**. Mini Review Enhancing the abiotic stress tolerance of plants: from chemical treatment to biotechnological approaches. *Physiologia Plantarum* 2018
- Ni J, Wang Q, Shah FA, Liu W, Wang D, Huang S, et al(2018)**. Exogenous melatonin confers cadmium tolerance by counterbalancing the hydrogen peroxide homeostasis in wheat seedlings. *Molecules.* 2018; 23:799.
- Noctor G, Mhamdi A and Foyer CH (2014)** The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. *Plant Physiol.* 164, 1636–1648.
- Noctor G, Reichheld J-P, Foyer CH (2018)** ROS-related redox regulation and signaling in plants *Seminars in Cell & Developmental Biology* 80 (2018) 3–12
- Nomura M, Hibino T, Takabe T, Sugiyama T, Yokota A, Miyake H, Takabe T (1998)** Transgenically produced glycine betaine protects ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase from inactivation in *Synechococcus sp.* PCC7942 under salt stress. *Plant Cell Physiol* 39:425–432
- Nosalewicz A, Siecinska J, Smiech M, Nosalewicz M, Wiacek D, Pecio A, Wach D. (2016)**. Transgenerational effects of temporal drought stress on spring barley morphology and functioning. *Environmental and Experimental Botany*, **131**,120–127
- O'Brien JA, Benkova E (2013)** Cytokinin cross-talking during biotic and abiotic stress responses. *Front Plant Sci* 4:451
- Oliveira HC, Gomes BC, Pelegrino MT, et al. (2016)** Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in maize plants. *Nitric Oxide* 61: 10-19.
- Oliveira HC, Salgado I (2014)**. Role of plant mitochondria in nitric oxide homeostasis during oxygen deficiency. In: Khan MN, Mobin M, Mohammad F, Corpas FJ, editors. *Nitric oxide in plants: metabolism and role in stress physiology*. Switzerland: Springer International Publishing. p. 57-74.

- Onkokesung N, Gaquerel E, Kotkar H, Kaur H, Baldwin I, Galis I (2011).** MYB8 controls inducible phenolamide levels by activating three novel hydroxycinnamoyl- CoA: polyamine transferases in *Nicotiana attenuata*. *Plant Physiol.* 174, 111
- Ortega-Galisteo AP, Rodriguez-Serrano M, Pazmino DM, et al. (2012)** S-nitrosylated proteins in pea (*Pisum sativum* L.) leaf peroxisomes: changes under abiotic stress. *J Exp Bot* 63: 2089-2103.
- Ortiz R, Sayre KD, Govaerts B, et al. (2009)** Climate change: can wheat beat the heat? *Agric Ecosyst Environ* 2008 126:46–58.
- Oukarroum A, El Madidi S, Strasser RJ (2012)** Exogenous glycine betaine and proline play a protective role in heat-stressed barley leaves (*Hordeum vulgare* L.): a chlorophyll a fluorescence study. *Plant Biosyst* 146:1037–1043
- Pakkish Z, Tabatabaieia MS (2016)** The use and mechanism of NO to prevent frost damage to flower of apricot. *Sci Hort* 198: 318-325
- Pandey N (2018)** Role of Plant Nutrients in Plant Growth and Physiology M. Hasanuzzaman et al. (eds.), *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance* Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2018
- Pandey R, Agarwal RM, Jeevaratnam K and Sharma GL (2004)** Osmotic stress induced alterations in rice (*Oryza sativa* L.) and recovery. *Plant Growth Regul.* 42, 79–87.
- Pandita VK, Anand A, Nagarajan S (2007)** Enhancement of seed germination in hot pepper following presowing treatments. *Seed Sci Technol* 35:282–290
- Paparella S, Araújo SS, Rossi G, Wijayasinghe M, Carbonera D, Balestrazzi A. (2015)** Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant Cell Rep.* 1.
- Papanatsiou M, Scuffi D, Blatt MR, and García-Mata C (2015).** Hydrogen sulfide regulates inward-rectifying KC channels in conjunction with stomatal closure. *Plant Physiol.* 168, 29–35.
- Paredes SD, Marchena AM, Bejarano I, Espino J, Barriga C, Rial RV, et al.(2009)** Melatonin and tryptophan affect the activity-rest rhythm, core and peripheral temperatures, and interleukin levels in the ringdove: Changes with age. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences.* 2009; 63:340-350.
- Park EJ, Jeknić Z, Pino MT, Murata N, Chen THH (2007)** Glycine betaine accumulation in chloroplasts is more effective than that in cytosol in protecting transgenic tomato plants against abiotic stress. *Plant Cell Environ* 30:994–1005
- Pastor V., Lunab E, Mauch-Manic B., J. Tonb J. and Flors V. (2013)** Primed plants do not forget *Environmental and Experimental Botany* 94 (2013) 46– 56
- Pedroso MC, Magalhaes JR, Durzan D (2000)** Nitric oxide induces cell death in *Taxus* cells. *Plant Sci.* 157, 173–180
- Peng HY, Qi YP, Lee J, Yang LT, Guo P, Jiang HX, Chen LS (2015)** Proteomic analysis of *Citrus sinensis* roots and leaves in response to long-term magnesium-deficiency. *BMC Genomics* 16:253
- Peñuelas J, Sardans J, Estiarte M, Ogaya R, Carnicer J, Coll M et al (2013)** Evidence of current impact of climate change on life: a walk from genes to the biosphere. *Global Change Biol* 19:2303–2338

- Per TS, Khan MIR, Anjuma NA, Masood A, Hussain SJ, Khan NA (2018)** Jasmonates in plants under abiotic stresses: Crosstalk with other phytohormones matters
- Petrov VD and Van Breusegem F (2012).**Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. *AoB Plants* 2012:pls014.
- Pieterse CMJ et al. (2012)** Hormonal modulation of plant immunity *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 28, 489–521
- Pinheiro C and Chaves MM (2011):** Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? *J Exp Bot* 2011, 62(3):869-882
- Poor P, Laskay G, Tari I (2015)** Role of nitric oxide in salt stress-induced programmed cell death and defence mechanisms. In: Khan MN, Mobin M, Mohammad F, Corpas FJ (eds) *Nitric oxide action in abiotic stress responses in plants*. Charm: Springer International Publishing Switzerland, 2015. pp. 193-219.
- Pospřilová J, Synkova H, Rulucova J (2000)** Cytokinins and water stress. *Biol Plant* 43:321–328
- Posmyk MM, Balabusta M, Wieczorek M, Sliwinska E, Jana KM (2009).** Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. *Journal of Pineal Research*. 2009; 46:214-223.
- Qiao W, Li C, Fan L-M (2014)** Cross-talk between nitric oxide and hydrogen peroxide in plant responses to abiotic stresses *Environmental and Experimental Botany* 100 (2014) 84– 93
- Rai KK, Rai N, Rai SP (2018)**Salicylic acid and nitric oxide alleviate high temperature induced oxidative damage in *Lablab purpureus* L plants by regulating bio-physical processes and DNA methylation, *Plant Physiol. Biochem.* 128 (2018) 72–88.
- Rajae P, Mohamadi N (2013)** Effect of beta-aminobutyric acid (BABA) on enzymatic and non-enzymatic antioxidants of *Brassica napus* L. under drought. *Int J Biosci* 3:41–47
- Rajendrakumar CSV, Suryanarayana T, Reddy AR (1995).**DNA helix destabilization by proline and betaine: possible role in the salinity tolerance process. *FEBS Lett* 1997; 410:201-5;
- Ramirez DA, Rolando JL, Yactayo W, Monneveux P, Mares V, Quiroz R (2015).** Improving potato drought tolerance through the induction of long-term water stress memory. *Plant Sci.*2015 238:26–32.
- Ramos-Ruiz R, Martinez R and Knauf-Beiter G (2019)** The effects of GABA in plants *Cogent Food & Agriculture* (2019), 5: 1670553
- Ranganayakulu GS, Veeranagamallaiah G, Sudhakar C (2013)** Effect of salt stress on osmolyte accumulation in two groundnut cultivars (*Arachis hypogaea* L.) with contrasting salt tolerance. *Afr J Plant Sci.* 2013; 12:586–92.
- Rasheed R, Ashraf MA, Hussain I, Haider MZ, Kanwal U, Iqbal M (2014)** Exogenous proline and glycine betaine mitigate cadmium stress in two genetically different spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Brazil J Bot* 37:399–406
- Raza SH, Shafiq F, Chaudhary M and Khan I (2013).** Seed invigoration with water, ascorbic and salicylic acid stimulates development and biochemical characters of okra (*Ablemoschus esculentus*) under normal and saline conditions. *Int. J. Agric. Biol.* 15, 486–492.

- Reguera M, Peleg Z, Abdel-Tawab YM, Tumimbang EB, Delatorre CA, Blumwald E (2013)** Stress induced cytokinin synthesis increases drought tolerance through the coordinated regulation of carbon and nitrogen assimilation in rice. *Plant Physiol* 163:1609–1622
- Reiahi N and Farahbakhsh H (2013)** Ascorbate and drought stress effects on germination and seedling growth of sorghum. *Int. J. Agron. Plant Prod.* 4, 901–910
- Reimer-Michalski Eva-Maria and Conrath Uwe (2016)** Innate immune memory in plants *Seminars in Immunology* 28 (2016) 319–327
- Rhodes D and Hanson AD (1993)** Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 44:357–384
- Rosenzweig C, Elliott J, Deryng D, Ruane AC, Mólle C, Arneth A, Boote KJ, Folberth C, Glotter M, Khabarov N, Neumann K, Piontek F, Pugh TAM, Schmid E, Stehfest E, Yang H, Jones JW (2014)** Assessing agricultural risks of climate change in the 21st century in a global gridded crop model intercomparison. *Proc Natl Acad Sci* 111(9):3268–3277
- Roy D, Basu N, Bhunia A, Banerjee SK (1993)** Counteraction of exogenous l-proline with NaCl in salt-sensitive cultivar of rice. *Biol Plant* 35:69–72
- Saidi I, Chtourou Y, Djebali W (2014)** Selenium alleviates cadmium toxicity by preventing oxidative stress in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. *J Plant Physiol* 171:85–91
- Sadak MS (2019)** Physiological role of trehalose on enhancing salinity tolerance of wheat plant *Sadak Bulletin of the National Research Centre* (2019) 43:53
- Sadak MS, Mostafa HA (2015)** Physiological role of pre-sowing seed with proline on some growth, biochemical aspects, yield quantity and quality of two sunflower cultivars grown under seawater salinity stress. *Sci Agric* 9(1):60–69
- Sagor GHM, Berberich T, Takahashi Y, Niitsu M, Kusano T (2013)** The polyamine spermine protects Arabidopsis from heat stress induced damage by increasing expression of heat shock-related genes. *Transgenic Res* 22: 595–605
- Sami F, Faizan M, Faraz A, Siddiqui H, Yusuf M, Hayat S (2018)** Nitric oxide-mediated integrative alterations in plant metabolism to confer abiotic stress tolerance, NO crosstalk with phytohormones and NO-mediated post translational modifications in modulating diverse plant stress *Nitric Oxide* 73 (2018) 22–38
- Santisree P, Bhatnagar-Mathur P, Sharma KK (2015)** NO to drought-multifunctional role of nitric oxide in plant drought: Do we have all the answers? *Plant Sci* 239: 44-55.
- Sarti P, Giuffr  A, Forte E, Mastronicola D, Barone MC, Brunori M (2000)** Nitric Oxide and Cytochrome c Oxidase: Mechanisms of Inhibition and NO 202 Degradation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 274: 183-187.
- Sathiyaraj G, Srinivasan S, Kim YJ, Lee OR, Balusamy SDR, Khorolaragchaa A, et al. (2014)** Acclimation of hydrogen peroxide enhances salt tolerance by activating defense-related proteins in *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Mol .Biol. Rep* 41, 3761–3771
- Sauer P, Frebort I (2003)** Molybdenum cofactor-containing oxidoreductase family in plants. *Biol Plant* 46:481–490

- Savvides A, Ali S, Tester M and Fotopoulos V (2016)** Review. Chemical Priming of Plants against Multiple Abiotic Stresses: Mission Possible? Trends in Plant Science, April 2016, Vol. 21, No. 4
- Schaberg PG, Minocha R, Long S, Halman JM, Hawley GJ and Eagar C (2011)**. Calcium addition at the Hubbard Brook experimental forest increases the capacity for stress tolerance and carbon capture in red spruce (*Picea rubens*) trees during the cold season. *Trees* 25, 1053–1061
- Schulze ED, Beck E, Müller-Hohenstein K (2002)** Pflanzökoologie. Spektrum Akademischer, Heidelberg
- Schwarzenbacher RE, Luna E and Ton J (2014)** The discovery of the BABA receptor: scientific implications and application potential *Frontiers in Plant Science* June 2014 | Volume 5 | Article 304 |
- Scuffi D, Lamattina L and García-Mata C (2016)**. Gasotransmitters and stomatal closure: is there redundancy, concerted action, or both? *Front. Plant Sci.* 7, 277
- Seabra BA and Oliveira CH (2016)** How nitric oxide donors can protect plants in a changing environment: what we know so far and perspectives *AIMS Molecular Science*, 3(4): 692–718
- Seckin B, Sekman AH, Turkan I (2009)** An enhancing effect of exogenous mannitol on the antioxidant enzyme activities in roots of wheat under salt stress. *J Plant Growth Regul.* 2009; 28:12–20.
- Seeraj R, Sinclair TR (2002)** Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environ* 25:333–341
- Seifikalhor M, Aliniaefard S, Hassani B, Niknam V, Lastochkina O (2019)**. Diverse role of γ -aminobutyric acid in dynamic plant cell responses. *Plant Cell Rep.* 38, 847–867..
- Shafiq S, Akram NA, Ashraf M and Arshad A (2014)** Synergistic effects of drought and ascorbic acid on growth, mineral nutrients and oxidative defense system in canola (*Brassica napus* L.) plants. *Acta Physiol. Plant* 36, 1539–1553
- Shan CJ, Zhang SL, Li D, Zhao YZ, Tian XL, Zhao XL, et al. (2011)**. Effects of exogenous hydrogen sulfide on the ascorbate and glutathione metabolism in wheat seedlings leaves under water stress. *Acta Physiol. Plant.* 33, 2533–2540.
- Shang H, Cao S, Yang Z, Cai Y, Zheng Y (2011)** Effect of exogenous γ -aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *J Agric Food Chem* 59:1264–1268
- Shani E, Weinstain R, Zhanga Y, Castillejo C, Kaiserli E, Chory J, Tsienb RY, Estelle M (2013)** Gibberellins accumulate in the elongating endodermal cells of *Arabidopsis* root. *PNAS* 110:4834–4839
- Sharma R, Bhardwaj R, Thukral AK, Handa N, Kaur R and Kumar V (2014)** Osmolyte Dynamics: New Strategies for Crop Tolerance to Abiotic Stress Signals P. Ahmad (Ed): Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance, Volume 2. 2014 Elsevier Inc
- Shen J, Xing T, Yuan H, Liu Z, Jin Z, Zhang L and Pei Y (2013)**: Hydrogen sulfide improves drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* by microRNA expressions. *PLoS ONE* 2013, 8:e77047
- Shi H and Chan Z (2014)** Improvement of plant abiotic stress tolerance through modulation of the polyamine pathway. *J. Intg. Plant Biol.* 56, 114–121

- Shi H et al. (2014)** Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L). Pers.] by exogenous melatonin. *J. Exp. Bot.* 66, 681–694
- Shi SQ, Shi Z, Jiang ZP, Qi LW, Sun XM, Li CX, Liu JF, Xiao WF, Zhang SG (2010)** Effects of exogenous GABA on gene expression of *Caragana intermedia* roots under NaCl stress: regulatory roles for H₂O₂ and ethylene production. *Plant Cell Environ* 33:149–162
- Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2007)** Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J Exp Bot* 58:221–227
- Silveira NM, Frungillo L, Marcos FCC, et al. (2016)** Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and photosynthesis under water deficit. *Planta* 244: 181-190
- Simontacchi M, Galatro A, Ramos-Artuso F, et al. (2015)** Plant survival in a changing environment: The role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. *Front Plant Sci* 6: 977
- Singh S, Parihar P, Singh R, et al. (2016)** Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics. *Front Plant Sci* 6: 1143
- Slaughter A., Daniel X., Flors V., Luna E., Hohn B., Mauch-Mani B. (2012)** Descendants of primed Arabidopsis plants exhibit resistance to biotic stress. *Plant Physiol.* 2012, 158, 835–843.
- Smirnof N, Cumbes QJ (1989)** Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* 28:1057–1060
- Sos-Hegedűs A, Juhos Z, Poór P, et al (2014).** Soil drench treatment with L-aminobutyric acid increases drought tolerance of potato. *PLoS One.* 2014; 9(12), e114297
- Sreenivasulu N, Radchuk V, Alawady A, Borisjuk L, Weier D, Staroske N (2010)** De-regulation of abscisic acid contents causes abnormal endosperm development in the barley mutant seg8. *Plant J.* 64:589–603
- Suprasanna P, Nikalje CG and Rai NA (2016)** Osmolyte Accumulation and Implications in Plant Abiotic Stress Tolerance N. Iqbal et al. (eds.), *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies* pp. 1-12 Springer India 2016
- Suzuki N, Miller G, Salazar C, Mondal HA, Shulaev E, Cortes DF, Shuman JL, Luo X, Shah J, Schlauch K, Shulaev V, Mittler R (2013)** Temporal-spatial interaction between reactive oxygen species and abscisic acid regulates rapid systemic acclimation in plants, *Plant Cell* 25 (9) (2013) 3553–3569.
- Suzuki N, Rivero MR, Shulaev V, Blumwald E and Mittler R (2014)** Abiotic and biotic stress combinations *New Phytologist* (2014) 203: 32–43
- Taiz L, Zeiger E (2010)** *Plant physiology*, 5th edn. Sinauer Associates Inc Publishers, Sunderland, MA
- Takahashi S, Seki M, Ishida J, Satou M, Sakurai T, Narusaka M, Kamiya A, Nakajima M, Enju A, Akiyama K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2004)** Monitoring the expression profiles of genes induced by hyperosmotic, high salinity, and oxidative stress and abscisic acid treatment in Arabidopsis cell culture using a full-length cDNA microarray. *Plant Molecular Biology* 56: 29-55
- Takahashi T and Kakehi J (2010).** Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. *Ann. Bot.* 105, 1–6.

- Tan DX, Hardeland R, Manchester LC, Paredes SD, Korkmaz A, Sainz RM et al (2010)** The changing biological roles of melatonin during evolution: from an antioxidant to signals of darkness, sexual selection and fitness. *Biol Rev* 85:607–623
- Tan DX, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ (2007)** One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *J Pineal Res* 42(1):28–42
- Tan JL, Wang CY, Xiang B et al (2013)** Hydrogen peroxide and nitric oxide mediated cold- and dehydration induced myo-inositol phosphate synthase that confers multiple resistances to abiotic stresses. *Plant Cell Environ* 36:288–299
- Tanaka Y, Tanaka A, Tsuji H (1992)** Stabilization of apoproteins of light-harvesting chlorophyll-a. *Plant Physiol Biochem* 30:365–370
- Tanou G, Filippou P, Belghazi M, Job D, Diamantidis G, Fotopoulos V, Molassiotis A (2012):** Oxidative and nitrosative-based signaling and associated post-translational modifications orchestrate the acclimation of citrus plants to salinity stress. *Plant J* 2012, 72:585-599.
- Tavladoraki P, Cona A, Federico R, Tempera G, Viceconte N, Saccoccio S, Battaglia V, Toninello A, Agostinelli E (2012)** Polyamine catabolism: Target for ant proliferative therapies in animals and stress tolerance strategies in plants. *Amino Acids* 42: 411–426
- Terzi R, Kadioglu A, Kalaycioglu E and Saglam A (2014).**Hydrogen peroxide pretreatment induces osmotic stress tolerance by influencing osmolyte and abscisic acid levels in maize leaves. *J. Plant Interact.* 9, 559–565.
- Theerakulpisut P and Gunnula W (2012)** Exogenous sorbitol and trehalose mitigated salt stress damage in salt-sensitive but not salt-tolerant rice seedlings. *Asian J Crop Sci.* 2012; 4:165–70.
- Thevenet D, Pastor V, Baccelli I, Balmer A, Vallat A, Neier R, Glauser G and Mauch-Mani B (2016)** The priming molecule β -aminobutyric acid is naturally present in plants and is induced by stress *New Phytologist* (2017) 213: 552–559
- Tiburcio AF, Altabella T, Bitrián M and Alcázar R (2014).**The roles of polyamines during the lifespan of plants: from development to stress. *Planta* 240, 1–18.
- Timmusk S, Behers L, Muthoni J, Aronsson AC (2017)** Perspectives and challenges of microbe application for crop improvement. *Front Plant Sci* 8:49
- Ton J, Jakab G, Toquin V et al. (2005)** Dissecting the β -aminobutyric acid–induced priming phenomenon in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 2005; 17:987–99.
- Ton J, Van der Ent S, Van Hulten M, Pozo M, Van Oosten V, Van Loon L.C., Mauch-Mani B, Turlings C. J. Ted, and Pieterse M.J. C (2009)** Priming as a mechanism behind induced resistance against pathogens, insects and abiotic stress *IOBC/wprs Bull.* 44, 2009 pp. 3-13
- Torres-Garcia JR, Estradaa JAE, González MTR (2009)** Exogenous application of growth regulators in snap bean under water and salinity stress. *J Stress Physiol Biochem* 5:13–21
- Trewavas A (2014)** *Plant Behaviour and Intelligence*, Oxford University Press 2014
- Tugizimana F, Mhlongo I. Msizi, Piater A. Lizelle and Dubery Ian A. Ian (2018)** Review Metabolomics in Plant Priming Research: The Way Forward? *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 1759

- Tuna AL, Kaya C, Ashraf M, Altunlu H, Yokas I, Yagmur B (2007)** The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Environ Exp Bot* 59:173–178
- Turk H. et al. (2014)** The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. *Plant Growth Regul.* 74, 139–152
- Uchida A, Jagendorf AT, Hibino T, Takabe T and Takabe T (2002)** Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Sci.* 163, 515–523.
- Ullah S, Kolo Z, Egbichi I, et al. (2016)** Nitric oxide influences glycine betaine content and ascorbate peroxidase activity in maize. *South Afr J Bot* 105: 218-225
- Van Loon CL (2016)** The Intelligent Behavior of Plants *Trends in Plant Science*, April 2016, Vol. 21, No. 4
- Van Oosten Michael James, Pepe Olimpia, De Pascale Stefania, Silletti Silvia and Silletti Albino (2017)** Review .The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chem. Biol. Technol. Agric.* (2017) 4:5
- Vardhini BV, Anjum NA (2015)** Brassinosteroids make plant life easier under abiotic stresses mainly by modulating major components of antioxidant defense system. *Front Environ Sci.* 2015; 2:67.
- Verbruggen N and Hermans C (2008)** Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids.* 2008; 35:753–9.
- Veselov DS, Kudoyarova GR, Kudryakova NV and Kusnetsov VV (2017)** Role of Cytokinins in Stress Resistance of Plants *Russian Journal of Plant Physiology*, 2017, Vol. 64, No. 1, pp. 15–27.
- Vijayakumari K, Jisha CK, Puthur JT (2016)** GABA/BABA priming: a means for enhancing abiotic stress tolerance potential of plants with less energy investments on defence cache *Acta Physiol Plant* (2016) 38:230
- Vijayakumari K, Puthur JT (2016)** γ -Aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in *Piper nigrum* Linn. plants subjected to PEG-induced stress. *Plant Growth Regul* 78:57–67
- Vinocur B, Altman A (2005)** Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Current Opinion in Biotechnology* 16: 123-132
- Vos IA et al. (2013)** Costs and benefits of hormone-regulated plant defences. *Plant Pathol.* 62 (Suppl. 1), 43–55
- Wahid A. et al. (2007)** Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *J. Plant Physiol.* 164, 283–294
- Wang B-L, Shi L, Li Y-X, Zhang W-H (2010)** Boron toxicity is alleviated by hydrogen sulfide in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *Planta* 231: 1301-1309
- Wang F, Chen F, Cai Y, Zhang G, Wu F (2011)** Modulation of exogenous glutathione in ultra structure and photosynthetic performance against Cd stress in the two barley genotypes differing in Cd tolerance. *Biol Trace Elem Res* 144:1275–1288
- Wang H, Wang H, Shao H and Tang X (2016)** Recent Advances in Utilizing Transcription Factors to Improve Plant Abiotic Stress Tolerance by Transgenic Technology *Front. Plant Sci.* 7:67

- Wang L, Zhao Y, Reiter RJ, He C, Liu G, Lei Q (2014)** Changes in melatonin levels in transgenic ‘Micro-Tom’ tomato overexpressing ovine AANAT and ovine HIOMT genes. *Journal of Pineal Research*. 2014;56:134-142.
- Wang P, Sun X, Li C, Wei Z, Liang D, Ma F (2013)** Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. *Journal of Pineal Research*. 2013;54:292-302.
- Wang Y, Mopper S, Hasentein KH (2001)** Effects of salinity on endogenous ABA, IAA, JA, and SA in *Iris hexagona*. *J Chem Ecol* 27:327–342
- Wang Y, Zhang J, Li JL and Ma XR.(2014)**.Exogenous hydrogen peroxide enhanced the thermotolerance of *Festuca arundinacea* and *Lolium perenne* by increasing the antioxidative capacity. *Acta Physiol. Plant* 36, 2915–2924.
- Wang YQ, Li L, Cui WT, Xu S, Shen WB and Wang R (2012)**. Hydrogen sulphide enhances alfalfa (*Medicago sativa*) tolerance against salinity during seed germination by nitric oxide pathway. *Plant Soil* 351, 107–119.
- Wang WX, Vinocur B, Shoseyov O, Altman A (2001)** Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. *Acta Hort* 560:285–292
- Wang WX, Vinocur B and Arie Altman (2003)** Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance *Planta* (2003) 218: 1–14
- Wang X, Liu F-L and Jiang D (2017)** Priming: A promising strategy for crop production in response to future climate *Journal of Integrative Agriculture* 2017, 16(12): 2709–2716.
- Wang X, Xin C, Cai J, Zhou Q, Dai T, Cao W, Jiang D. (2016)**.Heat priming induces trans-generational tolerance to high temperature stress in wheat. *Frontiers in Plant Science*, 7, 501
- Wani SH, Kumar V, Shriram V, Sah SK (2016)** Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants *T H E C R O P J O U R N A L* 4 (2 0 1 6) 1 6 2 – 1 7 6
- Wani SH, Singh NB, Haribhushan A, et al (2013)**. Compatible solute engineering in plants for abiotic stress tolerance - role of glycine betaine. *Curr Genom*. 2013; 14:157–65.
- Waraich EA, Ahmad R and Ashraf M Y (2011b)** Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. *Aust. J. Crop Sci.* 5, 764–777.
- Waraich EA, Ahmad R, Halim A and Aziz T (2012)** Alleviation of temperature stress by nutrient management in crop plants: a review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 12, 221–244.
- Waterland NL, Campbell CA, Finer JJ and Jones ML (2010)**.Abscisic acid application enhances drought stress tolerance in bedding plants. *Hort Sci.* 45, 409–413
- Wedmann R, Onderka C, Wei S et al. (2016)**. Improved tag-switch method reveals that thioredoxin acts as deperoxidase and controls the intracellular levels of protein persulfidation. *Chem. Sci.* 7, 3414–3426
- Weitbrecht, K. et al. (2011)** First off the mark: early seed germination. *J. Exp. Bot.* 62, 3289–3309
- Weeda S, Zhang N, Zhao X, Ndip G, Guo Y, Buck GA, Fu C, Ren SX.(2014)**. Arabidopsis transcriptome analysis reveals key roles of melatonin in plant defense systems. *PLoS One* 9, e93462–e93462

- Wei L, Wang L, Yang Y, Wang P, Guo T and Kang G (2015)** Abscisic acid enhances tolerance of wheat seedlings to drought and regulates transcript levels of genes encoding ascorbate-glutathione biosynthesis *Front. Plant Sci.* 6:458.
- Wheeler GL, Jones MA and Smirnoff N (1998)** The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature* 393, 365–369
- Whelan BM and McBratney AB (2000)** The “Null Hypothesis” of Precision Agriculture. *Precision Agriculture*, 2: 265-279.
- Wilkinson S, Kudoyarova GR, Veselov DS, Arkhipova TN, Davies WJ (2012)** Plant hormone interactions innovative targets for crop breeding and management. *J Exp Bot* 63:3499–3509
- Wimalasekera R, Tebartz F, Scherer GFE (2011)** Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic and biotic stresses. *Plant Sci* 181: 593–603
- World Wide Fund for Nature (WWF) 2008** Living Planet Report. World Wide Fund for Nature, Gland, Vaud, Switzerland
- Wu H, Wu X, Li Z, Duan L, Zhang M.(2012)** Physiological evaluation of drought stress tolerance and recovery in cauliflower (*Brassica oleracea* L.) seedlings treated with methyl jasmonate and coronatine. *J Plant Growth Regul.* 2012; 31(1):113–23
- Wu JC, Sun SH, Ke YT, Xie CP, Chen FX (2011)** Effects of glutathione on chloroplast membrane fluidity and the glutathione circulation system in young loquat fruits under low temperature stress. *Acta Horti* 887:221–225
- Xie Y, Zhang C, Lai D, Sun Y, Samma MK, Zhang J, et al. (2014).** Hydrogen sulfide delays GA-triggered programmed cell death in wheat aleurone layers by the modulation of glutathione homeostasis and heme oxygenase-1 expression. *J. Plant Physiol.* 171, 53–62.
- Xu F, Zhu J, Cheng S, Zhang W, Wang Y (2010)** Effect of 5-aminolevulinic acid on photosynthesis, yield, nutrition and medicinal values of kudzu (*Pueraria phaseoloides*). *Trop Grasslands* 44:260–265
- Xu Q, Burgess P, Huang B (2016)** Stress-inhibition and gibberellin-mitigation of leaf elongation associated with up-regulation of genes controlling cell expansion. *Physiologia Planta*
- YadegarI LZ, Heidari R, Rahmani F, and Khara J (2014).**Drought tolerance induced by foliar application of abscisic acid and sulfonamide compounds in tomato. *J. Stress Physiol. Biochem.* 10, 327–334
- Yakhin OI, Lubyantsev AA, Yakhin IA, Brown PH (2017).** Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Front. Plant Sci.* 2017, 7, 2049
- Yamasaki H and Cohen MF (2016).**Biological consilience of hydrogen sulfide and nitric oxide in plants: gases of primordial earth linking plant, microbial and animal physiologies. *Nitric Oxide* 5, 91–100.
- Yamauchi Yasuo (2018)** Integrated Chemical Control of Abiotic Stress Tolerance Using Biostimulants Chapter In book *Plant, Abiotic Stress and Responses to Climate Change* pp. 133-143 Intechopen 74214

- Yan H, Gang LZ, Zhao CY, Guo WY (2000)** Effects of exogenous proline on the physiology of soybean plantlets regenerated from embryos in vitro and on the ultrastructure of their mitochondria under NaCl stress. *Soybean Sci* 19:314–319
- Yang L, Ji J, Harris-Shultz KR, et al. (2016)** The dynamic changes of the plasma membrane proteins and the protective roles of nitric oxide in rice subjected to heavy metal cadmium stress. *Front Plant Sci* 7: 190.
- Yang R, Yang T, Zhang H et al (2014)** Hormone profiling and transcription analysis reveal a major role of ABA in tomato salt tolerance. *Plant Physiol Biochem* 77:23–34
- Yang W, Sun Y, Chen S, et al. (2011)** The effect of exogenously applied nitric oxide on photosynthesis and antioxidant activity in heat stressed chrysanthemum. *Biol Plant* 55: 737-740
- Yang Z, Chang Z, Sun L, et al. (2014)** Physiological and metabolic effects of 5-aminolevulinic acid for mitigating salinity stress in creeping bentgrass. *PLoS One*. 2014
- Yavas I, Unay A (2016)** Effects of zinc and salicylic acid on wheat under drought stress. *J Anim Plant Sci* 26:1012–1018
- Yin L, Wang S, Liu P, et al. (2014)** Silicon-mediated changes in polyamine and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid are involved in silicon-induced drought resistance in *Sorghum bicolor* L. *Plant Physiol Biochem*. 2014; 80:268–77.
- Yu M, Lamattina L, Spoel SH, et al. (2014)** Nitric oxide function in plant biology: a redox cue in deconvolution. *New Phytol* 202: 1142-1156.
- Yun BW, Feechan A, Yin M, et al. (2011)** S-nitrosylation of NADPH oxidase regulates cell death in plant immunity. *Nature* 478: 264-268.
- Zagorchev L, Seal CE, Kranner I, Odjakova M (2013)** A central role for thiols in plant tolerance to abiotic stress. *Int J Mol Sci* 14:7405–7432
- Zeid IM (2009)** Effect of arginine and urea on polyamines content and growth of bean under salinity stress. *Acta Physiol Plant* 31:65–70
- Zhang CS, Lu Q, Verma DP (1995)** Removal of feedback inhibition of delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase, a bifunctional enzyme catalyzing the first two steps of proline biosynthesis in plants. *J Biol Chem* 1995; 270:20491-6;
- Zhang H, Hu L-Y, Hu K-D, He Y-D, Wang S-H, Luo J-P (2008a)** Hydrogen Sulfide Promotes Wheat Seed Germination and Alleviates Oxidative Damage against Copper Stress. *Journal of Integrative Plant Biology* 50: 1518-1529
- Zhang H, Hu LY, Li P, Hu KD, Jiang CX, Luo JP (2010a)** Hydrogen sulfide alleviated chromium toxicity in wheat. *Biologia Plantarum* 54: 743-747
- Zhang H, Hu SL, Zhang ZJ, Hu LY, Jiang CX, Wei ZJ, et al. (2011)**.Hydrogen sulfide acts as a regulator of flower senescence in plants. *Postharvest Biol. Technol.* 60, 251–257
- Zhang H, Jiao H, Jiang C-X, Wang S-H, Wei Z-J, Luo J-P, Jones R (2010b)**Hydrogen sulfide protects soybean seedlings against drought-induced oxidative stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 32: 849-857

- Zhang H, Tan Z-Q, Hu L-Y, Wang S-H, Luo J-P, Jones RL (2010c)** Hydrogen Sulfide Alleviates Aluminum Toxicity in Germinating Wheat Seedlings. *Journal of Integrative Plant Biology* 52: 556-567
- Zhang J, Zeng B, Mao Y, Kong X, Wang X, Yang Y, et al (2017).** Melatonin alleviates aluminum toxicity through modulating antioxidative enzymes and enhancing organic acid anion exudation in soybean. *Functional Plant Biology*.2017; 44:961-968.
- Zhang L, Li X, Li X, et al. (2016)** Exogenous nitric oxide protects against drought-induced oxidative stress in *Malus* rootstocks. *Turk J Bot* 40: 17-27.
- Zhang M, Zhai Z, Tian X, et al. (2008)** Brassinolide alleviated the adverse effect of water deficits on photosynthesis and the antioxidant of soybean (*Glycine max* L.). *Plant Growth Regul.* 2008; 56:257–64.
- Zhang N, Sun Q, Zhang H, Cao Y, Weeda S, Ren S and Guo Y-D (2014)** Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants *Journal of Experimental Botany*, Vol. 66, No. 3 pp. 647–656, 2015
- Zhang X, Wang X, Zhong J, Zhou Q, Wang X, Cai J, Dai T, Cao W, Jiang D. (2016)** Drought priming induces thermotolerance to post-anthesis high-temperature in offspring of winter wheat. *Environmental and Experimental Botany*, 127, 26–36
- Zhang Y, Xu S, Yang S and Chen Y (2015).**Salicylic acid alleviates cadmium- induced inhibition of growth and photosynthesis through upregulating antioxidant defense system in two melon cultivars (*Cucumis melo* L.). *Protoplasma* 252, 911–924
- Zhang Y, Zhang H, Zou ZR, Liu Y and Hu XH (2015b)** Deciphering the protective role of spermidine against saline-alkaline stress at physiological and proteomic levels in tomato. *Phytochemistry* 110, 13–21.
- Zimmerli L, Hou BH, Tsai CH, Jakab G, Mauch-Mani B, Somerville S (2008)** The xenobiotic beta-aminobutyric acid enhances Arabidopsis thermo-tolerance. *Plant J* 53:144–156
- Ziogas V, Tanou G, Belghazi M, et al. (2015)** Roles of sodium hydrosulfide and sodium nitroprusside as priming molecules during drought acclimation in citrus plants. *Plant Mol Biol* 89: 433-450
- Zivcak M, Brestic M, and Sytar O (2016)** Osmotic Adjustment and Plant Adaptation to Drought Stress M.A. Hossain et al. (eds.), *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol 1, pp. 105-143 Springer International Publishing Switzerland 2016
- Zhu Jian-Kang (2016)** Review Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants *Cell* 167, October 6, 2016
- Zwack PJ and Rashotte AM (2015)** Interactions between cytokinin signalling and abiotic stress responses *Journal of Experimental Botany*, Vol. 66, No. 16 pp. 4863–4871, 2015
- Ζιώγας Β (2014)** Η επίδραση του οξειδίου του αζώτου (NO) και του υδρόθειου (H₂S) στον εγκλιματισμό σπορόφυτων νεραντζιάς (*Citrus aurantium* L.) σε συνθήκες ξηρασίας Διδακτορική διατριβή Α.Π.Θ. 2014
- Καραμπουρνιώτης Γ, Λιακόπουλος Γ και Νικολόπουλος Δ (2012)** Φυσιολογία καταπονήσεων των φυτών Οι λειτουργίες των φυτών κάτω από αντίξοες συνθήκες Εκδόσεις Έμβρυο σελ. 19-26, 161- 170
- Φούντας Σ και Γέμτος Θ (2015)** Γεωργία Ακριβείας ΣΕΑΒ 2015 σελ. 8-12

