

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΨΥΧΟΥΣ ΣΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΩΝ
ΚΟΝΔΥΛΩΝ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΟΡΧΕΟΕΙΔΩΝ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΜΕΝΩΝ IN VITRO

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
της
ΧΑΤΖΟΠΟΥΛΟΥ ΒΙΚΤΩΡΙΑΣ

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Σχολή Περιβάλλοντος

ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ



Αργοστόλι Κεφαλληνίας

Αύγουστος 2022

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΨΥΧΟΥΣ ΣΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΩΝ
ΚΟΝΔΥΛΩΝ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΟΡΧΕΟΕΙΔΩΝ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΜΕΝΩΝ IN VITRO

Η πτυχιακή εργασία εγκρίθηκε από:

Γεράκης Αργύριος

Σαμαράς Ιωάννης

Κατσαλήρου Ειρήνη

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της επίδρασης της θερμοκρασίας στην αύξηση των κονδύλων αυτοφυών ορχεοειδών όταν καλλιεργούνται *in vitro*. Η πειραματική μέθοδος ξεκίνησε τον Αύγουστο του 2021 στο νησί της Κεφαλονιάς, όπου μελετήθηκαν τέσσερα είδη ορχιδέας κάτω από οκτώ διαφορετικές μεταχειρίσεις. Για τη στατιστική ανάλυση διενεργήθηκαν παραμετρικές και μη παραμετρικές δοκιμές, ενώ χρησιμοποιήθηκε και το λογισμικό πρόγραμμα JMP 16. Αρχικά, παρατηρήθηκε ότι τα περισσότερα είδη παρουσίασαν απώλειες ως προς την αύξηση των κονδύλων, γεγονός που ενδεχομένως να οφείλεται στην περίοδο της ψυχρής μεταχείρισης. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι, η ψυχρότερη θερμοκρασία δεν συνδέεται με την υψηλότερη αύξηση των κονδύλων μεσογειακών ορχεοειδών καλλιεργούμενων *in vitro*. Από την άλλη πλευρά, η υψηλότερη θερμοκρασία φαίνεται να συσχετίζεται με τη μεγαλύτερη αύξηση των κονδύλων. Λόγω ότι τα φυτά έχουν το δικό τους ρυθμό ανάπτυξης, απαιτούν το διαφορετικό χρόνο για να αναπτύξουν κονδύλους, με αποτέλεσμα να θεωρείται πολύ σημαντικός παράγοντας η σωστή διαχείριση του χρόνου και της ακολουθίας της θερμοκρασίας. Γενικότερα, μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η περίοδος ψυχρής μεταχείρισης και το γεωγραφικό πλάτος ενδέχεται να αποτελούν παράγοντες που να σχετίζονται με την αύξηση των κονδύλων των ορχεοειδών.

Λέξεις κλειδιά: ορχεοειδή, ασυμβιωτική βλάστηση, *Anacamptis*, *Himantoglossum*, *in vitro*

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effects of temperature on the growth of orchid tubers when cultivated in vitro. The experimental procedure started in August 2021 on the island of Kefalonia, where four orchid species were studied under eight different temperature treatments. A statistical analysis was performed under parametric and non-parametric tests using the software JMP 16. Primarily, it was observed that most species showed losses in terms of tubers formation, which may be attributed to the cold season treatment. Furthermore, it was observed that cold temperature was not associated with the highest growth of Mediterranean orchid tubers cultivated in vitro. Yet, because plants have their own growth rate and require different times to develop tubers, a proper time management and temperature sequence are considered very important factors. Consequently, cold treatment time and latitude can probably be factors related to the growth of Mediterranean orchid tubers.

Keywords: orchidaceae, asymbiotic germination, *Anacamptis*, *Himantoglossum*, in vitro

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	iii
ABSTRACT.....	iv
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ.....	v
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	vi
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	vii
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι	 1
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙ.....	 8
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	8
2.1. Συλλογή των σπόρων.....	8
2.2. Εργαστηριακή μέθοδος.....	8
2.3. Πειραματική μέθοδος πεδίου	11
2.4. Στατιστική ανάλυση.....	15
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ	 22
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	22
3.1. Συνθήκες θερμοκρασίας και αύξηση των φυτών.....	22
3.2. Παραμετρικές και μη παραμετρικές δοκιμές των εξαρτημένων μεταβλητών	24
3.3 Η επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη των κονδύλων	25
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙV	 32
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	32
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ V.....	 36
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	36
 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	 38
 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι	 42
ΠΙΝΑΚΑΣ ΥΠΟΘΕΣΕΩΝ LEVENE’S TEST	42
 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ.....	 56
ΕΙΚΟΝΕΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟ ΠΕΔΙΟΥ	56

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 2.1. Τοποθεσία, έτος συλλογής, ημερομηνία σποράς, διάρκεια απολύμανσης, ημερομηνία μετεμφιάλωσης, αριθμός πρωτοκορμών και πειραματικών δοχείων, ανά είδος ορχιδέας	11
Πίνακας 2.2. Τοποθεσία και υψόμετρο πάνω από την επιφάνεια της θάλασσας.....	14
Πίνακας 2.3. Ελάχιστη και μέγιστη θερμοκρασία, μέση τιμή και τυπική απόκλιση της θερμοκρασίας ανά ώρα, μέση τιμή και τυπική απόκλιση των διακυμάνσεων της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της ημέρας, για το διάστημα 25/01/2021 έως 23/03/2021	16
Πίνακας 3.1. Είδος δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν για το ύψος, το πλάτος και τη μάζα των κονδύλων, ανά είδος ορχιδέας	25

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 2.1. Αεροφωτογραφία με τις θέσεις όπου τοποθετήθηκαν τα τελάρα	15
Εικόνα 2.2. Οπτικός έλεγχος για την κανονικότητα της κατανομής των παρατηρήσεων για το ύψος του κονδύλου του είδους <i>Anacamptis coriophora</i> στη θέση Αίνος (Q-Q plot). Εάν η κατανομή ήταν κανονική, όλα τα σημεία θα έπρεπε να πέφτουν πάνω στη διαγώνιο ή σε πολύ μικρή απόσταση. Συμπεραίνουμε ότι η κατανομή δεν είναι κανονική.....	21
Εικόνα 3.1. Συνολικός αριθμός κονδύλων ανά είδος και μεταχείριση	23
Εικόνα 3.2. Ύψος και πλάτος κονδύλου και μάζα κονδύλων ανά δοχείο, στις διαφορετικές μεταχειρίσεις για το είδος <i>Anacamptis coriophora</i>	26
Εικόνα 3.3. Ύψος και πλάτος κονδύλου και μάζα κονδύλων ανά δοχείο, στις διαφορετικές μεταχειρίσεις για το είδος <i>Anacamptis laxiflora</i>	27
Εικόνα 3.4. Ύψος και πλάτος κονδύλου και μάζα κονδύλων ανά δοχείο, στις διαφορετικές μεταχειρίσεις για το είδος <i>Himantoglossum robertianum</i>	29
Εικόνα 3.5. Ύψος και πλάτος κονδύλου και μάζα κονδύλων ανά δοχείο, στις διαφορετικές μεταχειρίσεις για το είδος <i>Himantoglossum hircinum</i>	30

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η οικογένεια των ορχεοειδών (*Orchidaceae*) αποτελεί μια από τις πλουσιότερες σε είδη οικογένειες του φυτικού βασιλείου, καθώς εκτιμάται ότι αποτελείται από περισσότερα από 800 γένη και 25.000 είδη. Τα ορχεοειδή απαντώνται σε όλες τις ηπείρους, με εξαίρεση την Ανταρκτική, ενώ ο μεγαλύτερος αριθμός τους απαντάται σε υγρές τροπικές και υποτροπικές περιοχές. Η οικογένεια των ορχεοειδών διακρίνεται στις εξής υποοικογένειες: *Cypripedioideae*, *Apostasioideae*, *Vanilloideae*, *Orchidoideae* και *Epidendroideae* (Τσιφτσής, 2009). Στην Ελλάδα αυτοφύονται περίπου 225 είδη και υποείδη αυτοφυών ορχεοειδών από τις υποοικογένειες *Cypripedioideae*, *Apostasioideae* και *Orchidoideae* (Petrou et al., 2011).

Τα ορχεοειδή είναι ποώδη, πολυετή φυτά, πρωτίστως με καλλωπιστική αξία. Ωστόσο, βρίσκουν εφαρμογή στην ιατρική επιστήμη καθώς έχουν φαρμακευτικές ιδιότητες (Lee & Chee - Tak Yeung, 2018), συμβάλλουν στην προστασία του περιβάλλοντος (υπό ορισμένες συνθήκες απορροφούν το διοξείδιο του άνθρακα και το μετατρέπουν σε οξυγόνο), ενώ παράλληλα έχουν πολιτιστική αξία (Delforge, 2006). Τα ορχεοειδή έχουν αποτελέσει σημείο πολιτιστικής αναφοράς, μιας και αποτελούν σύμβολα σε μύθους και έργα τέχνης στις διάφορες χώρες προέλευσης. Επισημαίνεται ότι, τα καλλιεργούμενα ορχεοειδή αποτελούν από τα πιο δημοφιλή φυτά, καθώς αντιπροσωπεύουν το 8% επί του συνόλου των συναλλαγών του εμπορίου φυτών σε παγκόσμιο επίπεδο (Hinsley et al., 2018; Popova et al., 2016). Επιπρόσθετα, συμβάλλουν στη διατήρηση και βελτίωση του οικοσυστήματος, λόγω

της αποτελεσματικής αλληλεπίδρασης του φυτού με επικονιαστές και συμβιωτικούς μύκητες του εδάφους (μυκόρριζες).

Παρόλα αυτά, τα αυτοφυή είδη που ανήκουν στην οικογένεια των ορχεοειδών αντιμετωπίζουν προκλήσεις και κινδύνους, όπως οι επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην ποικιλότητα των ειδών (Hutchings et al., 2018), η καλλιέργεια, ο περιορισμός των φυσικών βιότοπων εξαιτίας της αστικοποίησης (Gerakis, Haldas, & Giannakoulis, 2016), καθώς και η παράνομη εμπορική δραστηριότητα με κονδύλους και σπορόφυτα (Kreziou et al., 2016).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το σαλέπι, το οποίο είναι τρόφιμο που προέρχεται από ορχεοειδή και είναι φημισμένο για τις φαρμακευτικές του ιδιότητες. Από το σαλέπι παρασκευάζεται θερμαντικό και μαλακτικό ρόφημα που περιέχει ουσίες κατάλληλες για την τόνωση του ανοσοποιητικού συστήματος, την ανακούφιση από πόνους στο στομάχι, από βήχα, από άσθμα, αλλά και από πόνους στο έντερο. Το σαλέπι προέρχεται από τους κονδύλους, τα υπόγεια αποταμιευτικά όργανα των ορχεοειδών, των οποίων η συγκομιδή πραγματοποιείται κυρίως τους καλοκαιρινούς μήνες στη Βόρεια Ελλάδα. Μετά τη συγκομιδή πραγματοποιείται αποξήρανση και αλευροποίηση των κονδύλων. Στη ρίζα του φυτού υπάρχουν δύο κόνδυλοι, εκ των οποίων ο ένας υποστηρίζει την ανθοφορία κατά την τρέχουσα περίοδο και ο άλλος θα τη στηρίξει την επόμενη περίοδο. Ο κόνδυλος που ανθοφορεί πρώτος, συρρικνώνεται και δίπλα σε αυτόν αναπτύσσεται νέος κόνδυλος. Για την παρασκευή του σαλεπιού προτιμώνται κόνδυλοι που δεν έχουν ακόμη ανθοφορήσει και προορίζονται να αντικαταστήσουν τους παλιούς κονδύλους, γεγονός που επηρεάζει αρνητικά τη βιωσιμότητα του φυτού. Το σαλέπι χρησιμοποιείται από ζαχαροπλαστεία (κυρίως στη Βόρεια Ελλάδα) για την παρασκευή παγωτού (νουντουρμάς) και γλυκισμάτων, ενώ επίσης υπάρχει σε σκόνη (αλεσμένο και αναμεμειγμένο με άλλα μπαχαρικά, π.χ.

κανέλα, γαρύφαλλο, κ.α.) για την παρασκευή ροφήματος. Τέλος, το σαλέπι δύναται να πωληθεί και ως φαρμακευτικό προϊόν, σε σιρόπι ή παστίλιες. Συμπερασματικά, τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ειδών που ανήκουν στην οικογένεια των ορχεοειδών αποτελούν κίνητρο για την παράνομη συλλογή τους και εμπορευματοποίηση, ενώ η διαδικασία της συγκομιδής αυξάνει τον κίνδυνο εξαφάνισης (Kreziou et al., 2016).

Διαπιστώνεται λοιπόν ότι η ζήτηση για τα αυτοφυή ορχεοειδή και τα προϊόντα τους είναι ιδιαίτερα αυξημένη, γεγονός που αναδεικνύει την απειλή συρρίκνωσης έως και εξαφάνισης για ορισμένα είδη. Για το λόγο αυτό μάλιστα, τα ορχεοειδή προστατεύονται από την Ελληνική και διεθνή νομοθεσία (Γεράκης, 2021). Οι αυτοφυείς ορχιδέες προστατεύονται από το Π.Δ. 67 (ΦΕΚ 23Α', 1981), ενώ το εμπόριό τους σε διακρατικό επίπεδο θα πρέπει να εναρμονίζεται με τη διεθνή σύμβαση CITES (Ευρωπαϊκές Κοινότητες, 2006). Οι σημαντικές ιδιότητες των φυτών της οικογένειας έχουν ως αποτέλεσμα αρκετά είδη ορχιδέας να διακινούνται παράνομα για άλλες δραστηριότητες και όχι για καλλιέργεια (Kreziou et al., 2016). Προς αυτήν την κατεύθυνση, είναι χρήσιμο να αναπτυχθούν στρατηγικές για τον πολλαπλασιασμό του φυτού και την μείωση του κινδύνου εξαφάνισης, όπως χαρακτηριστικά είναι η καλλιέργεια *in vitro*, δηλαδή υπό ασηπτικές συνθήκες στο εργαστήριο.

Σε καλλιέργεια *in vitro*, η βλάστηση των σπόρων ενδέχεται να επηρεαστεί από τις συνθήκες της καλλιέργειας όπως είναι η θερμοκρασία, η ποσότητα και ποιότητα του φωτός (Lee & Chee - Tak Yeung, 2018). Ωστόσο, πρόκειται για μια αρκετά υποσχόμενη μέθοδο καλλιέργειας και επομένως θεωρείται χρήσιμο να αναπτυχθεί και να περιγραφεί ένα πρωτόκολλο ανάπτυξης των φυτών, ώστε να λαμβάνονται υπόψη οι παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν την αναπαραγωγή των ορχεοειδών.

Συνοπτικά αναφέρουμε ότι στις καλλιέργειες *in vitro* συνηθίζονται δύο μεταχειρίσεις που αφορούν τη διαχείριση της θερμοκρασίας. Η πρώτη εξ αυτών αποκαλείται στρωματοποίηση, όπου οι σπόροι υποβάλλονται σε χαμηλές θερμοκρασίες προκειμένου να επιμηκυνθεί η περίοδος του λήθαργου και η βλάστηση να συμβεί όταν έχουν προκύψει οι κατάλληλες συνθήκες. Μέσω των καλλιεργειών *in vitro* επιτυγχάνεται η παραγωγή των σπόρων κατά τις περιόδους του χειμώνα ή της άνοιξης και όχι τους φθινοπωρινούς μήνες. Η δεύτερη μέθοδος είναι η εαρινοποίηση, η οποία αποτελεί μια επαγωγική διαδικασία βάσει της οποίας η διαδικασία της άνθισης προκαλείται ύστερα από έκθεση του φυτού στο κρύο (είτε κατά τη χειμερινή περίοδο, είτε με τεχνητή ψύξη). Μέσα από τις παραπάνω διαδικασίες, τα φυτά βιώνουν μια περίοδο παρατεταμένης χαμηλής θερμοκρασίας και στη συνέχεια επιταχύνεται η διαδικασία της ανθοφορίας (Kauth, et al., 2011).

Οι ορχιδέες αποτελούν οικογένεια φυτών που μπορούν να προσαρμοστούν σε μεγάλο εύρος συνθηκών του περιβάλλοντος. Ωστόσο, σε επιστημονικό επίπεδο, έχει καταγραφεί ότι, η ανάπτυξη των ορχεοδειών ενδέχεται να επηρεαστεί από ξαφνικές αλλαγές στις συνθήκες φωτός και θερμοκρασίας (Rasmussen, 1995). Για παράδειγμα, ορχιδέες που προέρχονται από περιβάλλοντα με υψηλές θερμοκρασίες, είναι ιδιαίτερα ευάλωτες σε υπερβολικά χαμηλές θερμοκρασίες. Επιπλέον, για την αύξηση του φυτού, η επιθυμητή θερμοκρασία κυμαίνεται περίπου από 15 °C έως 25 °C. Σε μικρότερες ή μεγαλύτερες θερμοκρασίες, αναστέλλεται η απορρόφηση διοξειδίου του άνθρακα από το φυτό, παράγοντας που είναι απαραίτητος για τον βέλτιστο ρυθμό φωτοσύνθεσης (Zhang et al., 2018).

Για πολύ καιρό, η τεχνική της καλλιέργειας της ορχιδέας παραμελούσε τη σημασία της θερμοκρασίας, ενώ συνήθως η επιλογή της θερμοκρασίας ήταν αυθαίρετη. Έχει βρεθεί ότι σταθερή θερμοκρασία γύρω στους 24 °C είναι

ικανοποιητική για το φύτευμα πολλών Ευρωπαϊκών ειδών (Rasmussen, 1995; Rännbäck, 2007; Kauth et al., 2008). Από την άλλη, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι οι φυσικές διακυμάνσεις της θερμοκρασίας θεωρούνται πιο επιθυμητές (Calevo & Bazzicalupo, 2020).

Στην περίπτωση της ανάπτυξης των ορχεοειδών *in vitro*, ένα από τα κρίσιμότερα στάδια είναι η μετάβαση από το στάδιο του πρωτοκορμού προς το στάδιο του φυταρίου. Το στάδιο του πρωτοκορμού περιλαμβάνει την περίοδο από το φύτευμα του σπέρματος μέχρι τη δημιουργία της καταβολής του βλαστού, πριν ακόμα αναπτυχθεί πραγματική ρίζα. Η ιδιαιτερότητα του συγκεκριμένου σταδίου οφείλεται στο ότι οι πρωτοκορμοί χαρακτηρίζονται από μία περίοδο χειμερινού λήθαργου. Έχει προταθεί η παραμονή τους σε θερμοκρασία περίπου 3 °C έτσι ώστε να ολοκληρωθεί η περίοδος ληθάργου και να ξεκινήσει η βλάστηση. Μάλιστα, εκτιμάται ότι τα είδη *Anacamptis* και *Himantoglossum* είτε απαιτούν είτε επωφελούνται από την περίοδο της ψυχρής θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια του λήθαργου ώστε να σχηματίσουν ανεπτυγμένους κονδύλους στη συνέχεια (Malmgren & Nyström, 2022).

Η παράνομη δραστηριότητα των ειδών που ανήκουν στην οικογένεια των ορχεοειδών, αποτελούν έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες που αυξάνουν τον κίνδυνο εξαφάνισης της συγκεκριμένης οικογένειας φυτών. Ένας εξίσου σημαντικός παράγοντας που μπορεί να έχει αρνητική επίδραση στη βιωσιμότητα των ορχεοειδών είναι, η κλιματική αλλαγή (Hutchings et al., 2018). Το φαινόμενο της κλιματικής αλλαγής αυξάνει τον κίνδυνο διατάραξης του οικοσυστήματος και ως εκ τούτου τον βιολογικό κύκλο των φυτών. Τόσο ο κίνδυνος εξαφάνισης του φυτού, όσο και η διατάραξη του οικοσυστήματος, αναδεικνύουν ζητήματα για τη διερεύνηση μεθόδων για τη διασφάλιση της βιωσιμότητας και την αποκατάσταση του βιολογικού

κύκλου των ορχεοειδών. Για το λόγο αυτό, η εκπόνηση της παρούσας μελέτης κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική, δεδομένου ότι θα διερευνηθεί η αποτελεσματικότητα της αύξησης κονδύλων της οικογένειας ορχεοειδών, μέσα από την καλλιέργεια *in vitro* καλλιέργεια (Deconnick & Gerakis, 2021).

Η παρούσα μελέτη έχει ως στόχο τη διερεύνηση της επίδρασης της θερμοκρασίας στην αύξηση των κονδύλων των Μεσογειακών ορχεοειδών. Μέσα από τη μελέτη της συμπεριφοράς τεσσάρων ειδών ορχιδέας κάτω από οκτώ διαφορετικές μεταχειρίσεις, αναμένεται να διεξαχθούν πολύτιμα συμπεράσματα για τη μέθοδο της καλλιέργειας *in vitro*, ειδικά όσον αφορά κατά πόσο η αύξηση του φυτού επηρεάζεται από τις συνθήκες της θερμοκρασίας.

Πιο συγκεκριμένα, στα πλαίσια της εκπόνησης της παρούσας μελέτης, αναμένεται να αποτυπωθεί η επίδραση της θερμοκρασίας στην αύξηση των κονδύλων των ειδών: α) *Anacamptis coriophora*, β) *Anacamptis laxiflora*, γ) *Himantoglossum hircinum* και δ) *Himantoglossum robertianum*. Σημειώνεται ότι, η παρούσα μελέτη αποτελεί συνέχεια της ερευνητικής εργασίας της Deconninck (2021), η οποία είχε ως στόχο να διερευνήσει την επίδραση της θερμοκρασίας στην αύξηση ορχεοειδών που έχουν καλλιεργηθεί *in vitro*. Ουσιαστικά, σκοπός της μελέτης της Deconninck (2021) ήταν να ελεγχθεί εάν η έκθεση σε χαμηλή θερμοκρασία επηρεάζει την αύξηση των φυτών και κατά πόσο αυτή συσχετίζεται με το μέγεθος του κονδύλου. Η πειραματική μέθοδος υλοποιήθηκε μέχρι και το στάδιο του βαθμιαίου εγκλιματισμού σε δροσερές ανοιξιιάτικες θερμοκρασίες και τις μετρήσεις του μήκους των φύτρων πριν από τον θερινό λήθαργο (Ιούνιος 2021). Το χρονικό περιθώριο για την ολοκλήρωση της μελέτης σε συνδυασμό με την αργή αύξηση των φυτών, αποτέλεσαν περιορισμούς ώστε να ολοκληρωθεί μέχρι τέλους η ερευνητική εργασία της Deconninck (2021). Συγκεκριμένα, η μελέτη σταμάτησε πριν από τη μέτρηση των τελικών διαστάσεων

των κονδύλων, καθότι μέχρι αρχές Ιουνίου τα σπορόφυτα δεν είχαν προλάβει να εισέλθουν σε θερινό λήθαργο ώστε να αφαιρεθούν από το θρεπτικό υπόστρωμα.

Η παρούσα μελέτη ξεκινά από το στάδιο της συλλογής των τελάρων με τα δοχεία καλλιέργειας από τη θέση Λακωμάτια, όπου είχαν τοποθετηθεί προκειμένου τα σπορόφυτα να εγκλιματιστούν σταδιακά σε ανοιξιάτικες θερμοκρασίες και μετά να εισέλθουν σε θερινό λήθαργο. Μέχρι την καταμέτρησή τους, τα τελάρα αποθηκεύτηκαν προσωρινά σε θερμό και σκοτεινό χώρο του Εργαστηρίου Εδαφολογίας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ II

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Συλλογή των σπόρων

Για την πειραματική μέθοδο επιλέχθηκαν σπόροι από διάφορα είδη ορχεοειδών, από το νησί της Κεφαλονιάς κατά τα έτη 2016 έως 2020. Υπήρξε μέριμνα ώστε τα επιλεγμένα είδη να βρίσκονταν σε επαρκείς πληθυσμούς, ώστε να μη δημιουργείται κίνδυνος για τη βιωσιμότητά τους. Επιπλέον, οι σπόροι από το *Himantoglossum hircinum* προήλθαν από το νησί Ré της Γαλλίας. Οι σπόροι που συλλέχθηκαν τοποθετήθηκαν σε γυάλινα φιαλίδια και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία -20 °C για περαιτέρω συντήρηση.

2.2. Εργαστηριακή μέθοδος

Η καλλιέργεια των σπόρων πραγματοποιήθηκε με την ασυμβιωτική μέθοδο *in vitro* (στο εργαστήριο). Πρωτίστως, θεωρείται σκόπιμο να πραγματοποιηθεί μια σύντομη αναφορά στη συμβιωτική και ασυμβιωτική μέθοδο καλλιέργειας. Η συμβιωτική μέθοδος αναφέρεται στη χρήση μυκόρριζων για τη βλάστηση του σπόρου. Οι μυκόρριζες, ή αλλιώς μυκορριζικοί μύκητες αναπτύσσονται στο ριζικό σύστημα του φυτού και το προστατεύουν από παθογόνα βακτήρια και συμβάλλουν στην πρόσληψη θρεπτικών συστατικών. Στα καλλιεργούμενα είδη συμβάλλουν σε χαμηλότερα επίπεδα λίπανσης. Στην περίπτωση της ασυμβιωτικής μεθόδου, η βλάστηση του σπόρου πραγματοποιείται μέσα από άλλες διαδικασίες, όπου δεν απαιτείται η ύπαρξη εδαφικού υποστρώματος. Στην ασυμβιωτική μέθοδο, τα φυτά

τοποθετούνται σε ένα κλειστό χώρο (π.χ. δοχείο) και προκειμένου να λάβουν τα θρεπτικά συστατικά που απαιτούνται, χρησιμοποιείται θρεπτικό διάλυμα αντί για μυκόρριζες. Μέσω της ασυμβιωτικής μεθόδου δύναται να προκύψουν σημαντικά οφέλη όπως είναι η παραγωγή υγιών φυτών απαλλαγμένων από παθογόνους μικροοργανισμούς, η δυνατότητα μαζικής παραγωγής σε συντομότερο χρονικό διάστημα, η αξιοποίηση τοποθεσιών που δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί συμβιωτική καλλιέργεια, κ.α. Από την άλλη πλευρά, η επιλογή της ασυμβιωτικής μεθόδου είναι πιθανό να αναδείξει ορισμένες αδυναμίες, όπως είναι η απουσία εξειδικευμένου προσωπικού δεδομένου ότι η έλλειψη γνώσεων μπορεί να οδηγήσει σε μολύνσεις και αναστολή της διαδικασίας. Ως μειονεκτήματα της συγκεκριμένης μεθόδου θεωρούνται και η απουσία του απαραίτητου εξοπλισμού, αλλά και η μη τήρηση των πρωτοκόλλων για τη διαδικασία της φύτευσης, τον καθαρισμό και απολύμανση του εξοπλισμού. Ωστόσο, η επιλογή της ασυμβιωτικής μεθόδου μπορεί να αποτελέσει μία πολύ σημαντική στρατηγική για τη διατήρηση των ορχεοειδών, γεγονός που οφείλεται στην ύπαρξη σημαντικών οφελών (παραγωγή υγιών φυτών, δυνατότητα διατήρησης των γονότυπων, κ.α.), σε συνδυασμό με την απειλή συρρίκνωσης ή/και εξαφάνισης ορισμένων ειδών (Σαρροπούλου, 2018).

Για τη διεξαγωγή του πειράματος επιλέχθηκαν τέσσερα είδη ορχεοειδών:

- *Anacamptis coriophora*
- *Anacamptis laxiflora*
- *Himantoglossum robertianum*
- *Himantoglossum hircinum*

Η εργαστηριακή μέθοδος αναπτύσσεται διεξοδικά από τους Deconnick & Gerakis (2021). Συνοπτικά, αναφέρεται ότι πριν την εμφύτευση των σπόρων στα δοχεία με θρεπτικό υπόστρωμα, πραγματοποιείται απολύμανσή τους. Σύμφωνα με

προηγούμενη έρευνα, ο χρόνος της απολύμανσης διαφέρει ανάλογα με το είδος της ορχιδέας (Katsalirou et al., 2017). Για παράδειγμα, το είδος *Anacamptis laxiflora* απαιτεί μικρότερο διάστημα απολύμανσης σε σχέση με το *Himantoglossum robertianum* (Deconnick & Gerakis, 2021). Απολύμανση πραγματοποιήθηκε τόσο στα υλικά της εμφύτευσης, όσο και στους σπόρους. Μετά την εμφύτευση, τα δοχεία τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό δωμάτιο σε θερμοκρασία 22 °C για επώαση. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα, τα δοχεία ελέγχονταν για την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Αφού αναπτύχθηκαν οι πρωτοκορμοί, πραγματοποιήθηκε μετεμφιάλωση σε δοχεία με νέο υπόστρωμα. Κατά τη μετεμφιάλωση, προτιμήθηκαν οι πιο ανεπτυγμένοι πρωτοκορμοί που είχαν ήδη αναπτύξει ένα μικρό φυτό. Τοποθετήθηκαν συνολικά πέντε πρωτοκορμοί ανά δοχείο καλλιέργειας, με την προσδοκία ότι θα δώσουν πέντε κονδύλους.

Στον πίνακα που ακολουθεί, παρουσιάζονται βασικά στοιχεία για τα τέσσερα είδη ορχιδέας που μελετήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία. Ειδικότερα, αναγράφεται ο χρόνος συλλογής των σπόρων και η θέση τους, ο χρόνος που διήρκησε η διαδικασία της απολύμανσης, καθώς και ο συνολικός αριθμός των πρωτοκορμών και πειραματικών δοχείων, ανά είδος ορχιδέας.

Πίνακας 2.1. Τοποθεσία, έτος συλλογής, ημερομηνία σποράς, διάρκεια απολύμανσης, ημερομηνία μετεμφιάλωσης, αριθμός πρωτοκορμών και πειραματικών δοχείων, ανά είδος ορχιδέας (Deconninck, 2021)

Είδος	Τοποθεσία	Έτος συλλογής	Ημερομηνία σποράς	Διάρκεια απολύμανσης (λεπτά)	Ημερομηνία μετεμφιάλωσης	Αριθμός πρωτοκορμών	Αριθμός πειραματικών δοχείων
<i>Anacamptis coriophora</i>	34SDH 8074312878	2017	10/11/20	60	22/01/2021	1960	392
<i>Anacamptis laxiflora</i>	34SDH 5698823917	2018	05/08/20	85	10/01/21	1600	320
<i>Himantoglossum robertianum</i>	34SDH 6148321415	2016	05/08/20	85	05/01/21	1600	320
<i>Himantoglossum hircinum</i>	30TXS 1881618746	2019	11/03/20	85	31/12/20	320	64

2.3. Πειραματική μέθοδος πεδίου

Προκειμένου να διαπιστωθεί κατά πόσο η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσει την αύξηση των διαφορετικών ειδών ορχιδέας, οι περιέκτες με τους πρωτοκορμούς τοποθετήθηκαν μέσα σε τελάρα, ένα για κάθε μεταχείριση, όπου σε καθένα τελάρο περιέχονταν τυχαιοποιημένα όλα τα είδη της μελέτης. Τα τελάρα τοποθετήθηκαν σε οκτώ διαφορετικές θέσεις. Πρόκειται για έξι θέσεις με διαφορετικές συνθήκες περιβάλλοντος (εξωτερικοί χώροι σε διαφορετικό υψόμετρο), ένα ψυγείο με σταθερή θερμοκρασία περίπου 6,5 °C, καθώς και ένα στο Εργαστήριο Εδαφολογίας σε θερμοκρασία δωματίου περίπου 20 °C. Οι θέσεις όπου τοποθετήθηκαν τα τελάρα περιγράφονται στον Πίνακα 2.2 και απεικονίζονται στον χάρτη της Εικ. 2.1.

Τα τελάρα κλείστηκαν μέσα σε ημιδιαφανείς πλαστικές σακούλες ώστε να προστατεύονται από τη βροχή αλλά ταυτόχρονα να περνά αρκετό φως για τη φωτοσύνθεση. Παράλληλα, καλύφθηκαν από κοτετσόσυρμα έτσι ώστε να προστατευθούν από τυχόν άγρια ζώα της περιοχής. Σημειώνεται ότι, στις υπαίθριες θέσεις, τα τελάρα ήταν τοποθετημένα σε σκιερό σημείο, ώστε να αποφευχθεί το φαινόμενο του θερμοκηπίου λόγω άμεσης έκθεσης στον ήλιο. Αναφέρεται ότι, μέχρι το στάδιο της τοποθέτησης των τελάρων στις τελικές θέσεις και τις μετρήσεις των φύτρων πριν από τον θερινό λήθαργο, η μεθοδολογική διαδικασία εκπονήθηκε στα πλαίσια της μεταπτυχιακής εργασίας της Deconninck (2021) ως επισκέπτρια φοιτήτρια στο Ιόνιο Πανεπιστήμιο από το Πανεπιστήμιο του Montpellier.

Η παρούσα μελέτη αποτελεί συνέχεια της ερευνητικής εργασίας της Deconninck (2021). Η πειραματική μέθοδος στην προκειμένη περίπτωση ξεκίνησε τον Αύγουστο του 2021. Τα τελάρα ήταν ήδη τοποθετημένα στη θέση Λακωμάτια της Κεφαλονιάς (υψόμετρο 492 m) για αρκετές εβδομάδες ώστε να υποστούν την επίδραση των σχετικά υψηλών θερμοκρασιών οι οποίες θα σηματοδοτούσαν στα σπορόφυτα να εισέλθουν σε θερινό λήθαργο. Η ερευνήτρια ξεκίνησε τη διαδικασία με τη συλλογή των τελάρων με τις μεταχειρίσεις από την υπαίθρια θέση Λακωμάτια και τη μετέπειτα προσωρινή αποθήκευση σε θερμό και σκοτεινό δωμάτιο στο Εργαστήριο Εδαφολογίας, μέχρις ότου να πραγματοποιηθεί η καταμέτρησή τους.

Κατά τη διαδικασία της καταμέτρησης, σε πρώτη φάση πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός των δοχείων καλλιέργειας ανά μεταχείριση και είδος. Στη συνέχεια, για κάθε έναν περιέκτη, η διαδικασία που ακολουθήθηκε είχε ως εξής:

1. Άνοιγμα και άδειασμα του περιεχομένου (θρεπτικό υπόστρωμα και σπορόφυτα) μέσα σε κόσκινο με οπή διαμέτρου 2 mm.

2. Καθαρισμός των κονδύλων και των φύλλων με τρεχούμενο νερό, καθόσον βρίσκονταν μέσα στο κόσκινο.
3. Πολύ καλό στέγνωμα των κονδύλων και φύλλων με χρήση απορροφητικού χαρτιού.
4. Επιλογή του μεγαλύτερου φύλλου κάθε σπορόφυτου και μέτρησή του με τη χρήση ηλεκτρονικού παχύμετρου.
5. Καταγραφή του αποτελέσματος της μέτρησης σε υπολογιστικό φύλλο (Microsoft Excel, 2016).
6. Μέτρηση του πλάτους και ύψους κάθε κονδύλου σπορόφυτου.
7. Καταγραφή του αποτελέσματος της μέτρησης στο υπολογιστικό φύλλο.
8. Τοποθέτηση των κονδύλων κάθε δοχείου στον ζυγό ώστε να αποτυπωθεί το συνολικό βάρος των κονδύλων ανά δοχείο.
9. Καταγραφή του αποτελέσματος της μέτρησης στο υπολογιστικό φύλλο. Η μέτρηση της μάζας των κονδύλων ανά δοχείο οφείλεται στο γεγονός ότι μέσω αυτής αποτυπώνεται πόσο μεστός είναι ένας κόνδυλος.
10. Μέτρηση του επόμενου δοχείου.

Μετά την ολοκλήρωση της καταγραφής κάθε μεταχείρισης, γινόταν φωτογράφιση των κονδύλων ανά είδος και στη συνέχεια, τοποθετούνταν εκ νέου στο δοχείο μαζί με υπόστρωμα εδάφους και ελάχιστο νερό και αποθηκεύονταν σε θερμό και σκοτεινό δωμάτιο προκειμένου να προσαρμοστούν στις συνθήκες ώστε να εισέλθουν σε θερινό λήθαργο. Σημειώνεται ότι, οι κόνδυλοι που δεν είχαν αναπτυχθεί καθόλου (διάμετρος <1 mm) θεωρήθηκαν μη βιώσιμοι, δε μετρήθηκαν και επομένως δεν καταγράφηκαν στην πειραματική διαδικασία.

Πίνακας 2.2. Τοποθεσία και υψόμετρο πάνω από την επιφάνεια της θάλασσας
(Deconninck, 2021)

Τοποθεσία	Συντεταγμένες	Υψόμετρο (m)	Υψομετρική διαφορά (m)
Ψυγείο (REF)	34SDH5587824633	6	-
Εργαστήριο Εδαφολογίας (LAB)	34SDH5587824633	6	-
Βλαχάτα (VLA)	34SDH6726319739	238	232
Λακωμάτια (LAK)	34SDH6310023485	492	254
Δεξαμενή νερού (RES)	34SDH6591928049	707	215
Στροφή δασικού δρόμου (ROA)	34SDH6754527061	916	209
Γιούπαρη (YUP)	34SDH6622926477	1122	206
Αίνος (AIN)	34SDH6785422948	1291	169



Εικόνα 2.1. Αεροφωτογραφία με τις θέσεις όπου τοποθετήθηκαν τα τελάρα

2.4. Στατιστική ανάλυση

Για κάθε μια από τις θέσεις όπου τοποθετήθηκαν τα δοχεία καλλιέργειας με τους πρωτοκορμούς, υπολογίστηκε η μέγιστη, ελάχιστη και μέση ημερήσια θερμοκρασία καθώς και η διακύμανσή της. Η θερμοκρασία καταγράφονταν ωριαία από μικρο-αισθητήρες που τοποθετήθηκαν σε δοχεία καλλιέργειας μέσα στα τελάρα των μεταχειρίσεων (Deconninck, 2021). Τα παραπάνω αποτυπώνονται αναλυτικότερα στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 2.3. Ελάχιστη και μέγιστη θερμοκρασία, μέση τιμή και τυπική απόκλιση της θερμοκρασίας ανά ώρα, μέση τιμή και τυπική απόκλιση των διακυμάνσεων της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της ημέρας, για το διάστημα 25/01/2021 έως 23/03/2021 (Deconninck, 2021).

Τοποθεσία	Ελάχιστη θερμοκρασία	Μέγιστη θερμοκρασία	Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της θερμοκρασίας	Μέση τιμή και τυπική απόκλιση ημερήσιων διακυμάνσεων της θερμοκρασίας
Ψυγείο (REF)	4,5	11	6,9 ± 0,7 ^a	1,6 ± 0,9 ^a
Εργαστήριο Εδαφολογίας (LAB)	14	25,5	18,4 ± 1,6 ^b	3,7 ± 1,7 ^b
Βλαχάτα (VLA)	3,1	19,9	11,9 ± 3,2 ^c	7,5 ± 1,9 ^c
Λακωμάτια (LAK)	0	15,3	8,2 ± 3,1 ^d	6,5 ± 2,3 ^d
Δεξαμενή νερού (RES)	-0,1	17,6	7,9 ± 2,7 ^e	6,0 ± 2,5 ^e
Στροφή δασικού δρόμου (ROA)	-0,1	14,7	6,7 ± 2,6 ^a	4,4 ± 2,2 ^f
Γιούπαρη (YUP)	-1,6	17,2	5,9 ± 3,09 ^g	6,2 ± 2,5 ^e
Αίνος (AIN)	-0,1	14,9	5,9 ± 2,6 ^g	4,1 ± 2,6 ^g

Σημείωση: Μέσοι όροι με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν μεταξύ τους, σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$.

Κατά το στάδιο της ανάλυσης των δεδομένων, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές για τη σύγκριση του μήκους των βλαστών και των διαστάσεων των κονδύλων που αναπτύχθηκαν σε κάθε θέση και κατά πόσο επηρεάζονται από τη θερμοκρασία. Σημειώνεται ότι, οι δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν ήταν τόσο παραμετρικές, όσο και μη παραμετρικές ανάλογα αν πληρούνταν οι προϋποθέσεις για κάθε δοκιμή.

Το πρωτόκολλο που περιγράφει τη διαδικασία για την ανάλυση των δεδομένων περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια:

1. Στο υπολογιστικό φύλλο όπου ήταν καταγεγραμμένα τα δεδομένα, αρχικά εντοπίστηκαν και αφαιρέθηκαν τυχόν κενές σειρές χωρίς μετρήσεις.
2. Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση για τυχόν πρόδηλα σφάλματα στις αριθμητικές τιμές των μετρήσεων (π.χ. να έχει μπει υποδιαστολή σε λάθος ψηφίο ή λάθος σημάδι υποδιαστολής, για παράδειγμα τελεία αντί για κόμμα με αποτέλεσμα να μην λαμβάνεται υπόψη κατά τους υπολογισμούς από το πρόγραμμα).
3. Προστέθηκαν σειρές μαζί με τις σχετικές πληροφορίες (Γένος, Είδος, Θέση, Αριθμός Θέσης, διαστάσεις κονδύλων) για τα δοχεία όπου αναπτύχθηκαν κόνδυλοι επιπλέον των πέντε που αναμένονταν να αναπτυχθούν από τους πέντε πρωτοκορμούς κάθε δοχείου.
4. Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση και διαγραφή των κελιών που περιείχαν μη βιώσιμους κονδύλους. Για να θεωρηθούν οι κόνδυλοι ως μη βιώσιμοι έπρεπε να έχουν διάμετρο κάτω από 1 mm.
5. Στη συνέχεια δημιουργήθηκαν σε κάθε υπολογιστικό φύλλο γραφήματα με τις μεταβλητές ύψος κονδύλου, πλάτος κονδύλου και μάζα κονδύλων ανά δοχείο. Οι δύο πρώτες μεταβλητές είχαν μονάδα μέτρησης το χιλιοστό (mm), ενώ η μεταβλητή μάζα κονδύλου ανά δοχείο, μετρήθηκε σε δέκατα του γραμμαρίου (decigram - dg), προκειμένου η αριθμητική τιμή της να είναι στην ίδια τάξη

μεγέθους με το ύψος και το πλάτος των κονδύλων, ώστε οι γραφικές παραστάσεις να είναι πιο ευανάγνωστες.

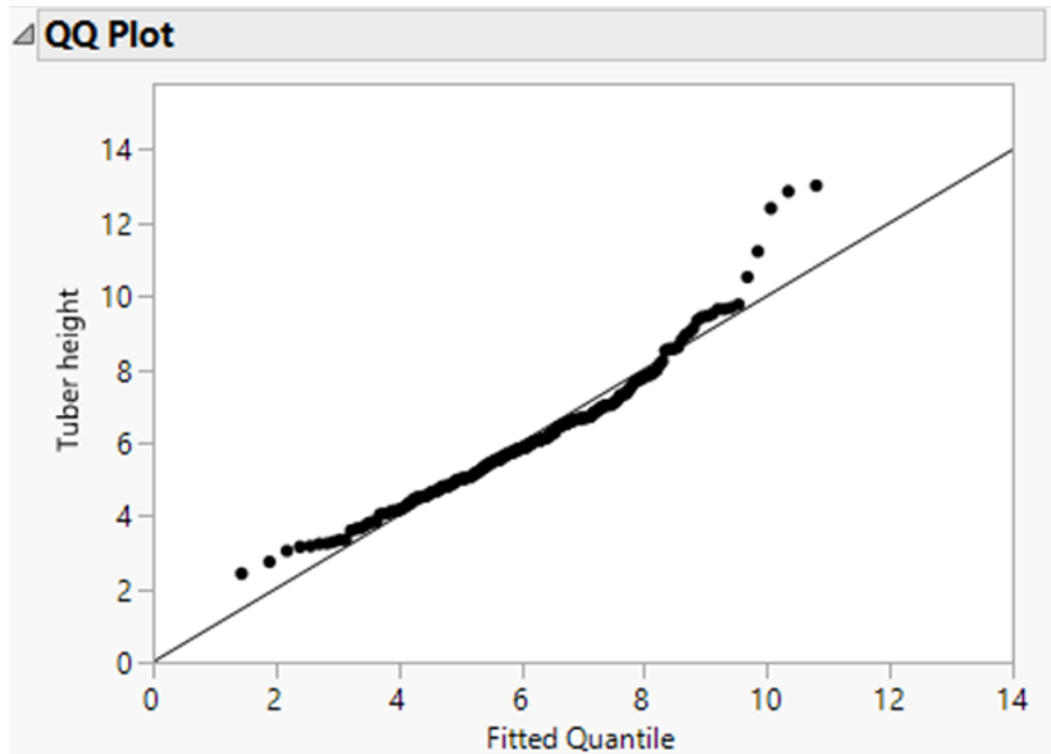
6. Για κάθε είδος ορχιδέας οι μετρήσεις μεταφέρθηκαν σε φύλλο του λογισμικού JMP 16 (SAS Institute, 2021), στο οποίο κλειδώθηκαν οι τιμές των στηλών με τα πρωτογενή δεδομένα. Η διαδικασία που παρουσιάζεται στα επόμενα βήματα πραγματοποιήθηκε μέσα από το λογισμικό JMP.
7. Έγινε προσδιορισμός των εξαρτημένων και των ανεξάρτητων μεταβλητών.
8. Απεικονίστηκαν οι κατανομές και πραγματοποιήθηκε έλεγχος ακραίων τιμών για τη διαπίστωση πρόδηλων σφαλμάτων κατά την πληκτρολόγηση των δεδομένων. Για τον ίδιο λόγο ελέγχθηκε αν συμφωνούν τα αθροίσματα των παρατηρήσεων στο φύλλο του JMP και του Excel.
9. Πραγματοποιήθηκε έλεγχος για δύο προϋποθέσεις οι οποίες πρέπει να πληρούνται στην περίπτωση των παραμετρικών συγκρίσεων μεταξύ των μέσων όρων των μεταχειρίσεων. Δύο βασικές προϋποθέσεις είναι η ομοιογένεια των διασπορών των τιμών των εξαρτημένων μεταβλητών μέσω της δοκιμής του Levene και της κανονικότητας των παρατηρήσεων μέσω της γραφικής παράστασης QQ Plot (SAS Institute, 2021):
 - Για την πρώτη προϋπόθεση ελέγχεται εάν οι διασπορές των εξαρτημένων μεταβλητών ανά μεταχείριση είναι ίσες. Στην προκειμένη περίπτωση ακολουθήθηκε η εξής διαδρομή μέσα από τα μενού του JMP: Analyze → Fit Y by X → unequal variances → Levene's test. Τιμές της παραμέτρου p μικρότερες από την παράμετρο α υποδηλώνουν άνισες διακυμάνσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων, ενώ η δοκιμή Levene θεωρείται μία από τα δημοφιλέστερες δοκιμές που διεξάγονται στη συγκεκριμένη περίπτωση. Η παράμετρος α που

αντιστοιχεί στο επίπεδο σημαντικότητας για τον έλεγχο των δοκιμών είχε καθοριστεί εκ των προτέρων σε 0,05.

- Για τον έλεγχο της δεύτερης προϋπόθεσης μέσα από τα μενού του JMP, ακολουθήθηκε η εξής διαδρομή: Analyze → Distribution (τέθηκαν ως Y το ύψος και πλάτος των κονδύλων και η μάζα κονδύλου ανά δοχείο και ως «By» η μεταχείριση θερμοκρασίας) → OK → stack graphs, όπου για κάθε μεταβλητή Y επιλέξαμε την εντολή Continuous Fit → Normal → Fitted Normal → Diagnostic Plot (QQ plot ή Normal Quantile Plot), όπου θα έπρεπε να είναι σε ευθεία γραμμή. Στην Εικ. 2.2 αποτυπώνεται ένα παράδειγμα ελέγχου της κανονικότητας των παρατηρήσεων για το ύψος του κονδύλου για το είδος *Anacamptis coriophora*.
- Στην περίπτωση που διαπιστώνονται αποκλίσεις από τις προϋποθέσεις, ενδείκνυται η πραγματοποίηση κατάλληλων μετασχηματισμών στις εξαρτημένες μεταβλητές, ώστε να πραγματοποιηθεί παραμετρική δοκιμή της ισότητας των μέσων όρων των μεταχειρίσεων. Οι μετασχηματισμοί αφορούσαν την τετραγωνική ρίζα των εξαρτημένων μεταβλητών και τον υπολογισμό του δείκτη BOX-COX λ με τιμές από -5 έως 5. Σε περίπτωση που τα αποτελέσματα των δοκιμών και στις μετασχηματισμένες μεταβλητές αποβούν αρνητικά, δεν μπορούν να πραγματοποιηθούν παραμετρικές δοκιμές, οπότε διενεργούνται μη παραμετρικές δοκιμές.
- Για τη διευκόλυνση του ελέγχου υποθέσεων συμπληρώθηκε ένας πίνακας (Παράρτημα 1) όπου ελέγχεται η ομοιογένεια της διασποράς και η κανονικότητα των εξαρτημένων μεταβλητών και των

μετασχηματισμών τους. Στο συγκεκριμένο πίνακα σημειώνονται με θετικό ή αρνητικό πρόσημο ανάλογα αν οι δοκιμές ομοιογένειας της διασποράς και κανονικότητας για τις μεταβλητές ύψος κονδύλου, πλάτος κονδύλου και μάζα κονδύλου έχουν θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα. Σε περίπτωση θετικής δοκιμής ($p > 0,05$) αναγράφεται αντί του συμβόλου + η πραγματική τιμή του p με προσέγγιση δύο δεκαδικών ψηφίων.

10. Εκτελέστηκε η εντολή Fit Y by X και στη συνέχεια επιλέχθηκε είτε μη παραμετρική δοκιμή για τη σύγκριση των μέσων όρων των μεταχειρίσεων (Non parametric multiply comparisons → Steel-Dwass All Pairs) είτε παραμετρική δοκιμή (Compare means → All Pairs Tukey HSD) σε μετασχηματισμένες τιμές ανάλογα με το αν τηρούνται οι δύο προϋποθέσεις για την παραμετρική δοκιμή που προαναφέρθηκαν. Η τελική επιλογή παραμετρικών ή μη παραμετρικών δοκιμών για τις ύψος κονδύλου, πλάτος κονδύλου και μάζα κονδύλων ανά δοχείο, αποτυπώνεται στον Πίνακα 3.1.



Εικόνα 2.2. Οπτικός έλεγχος για την κανονικότητα της κατανομής των παρατηρήσεων για το ύψος του κονδύλου του είδους *Anacamptis coriophora* στη θέση Αίνος (Q-Q plot). Εάν η κατανομή ήταν κανονική, όλα τα σημεία θα έπρεπε να πέφτουν πάνω στη διαγώνιο ή σε πολύ μικρή απόσταση. Συμπεραίνουμε ότι η κατανομή δεν είναι κανονική.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ III

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

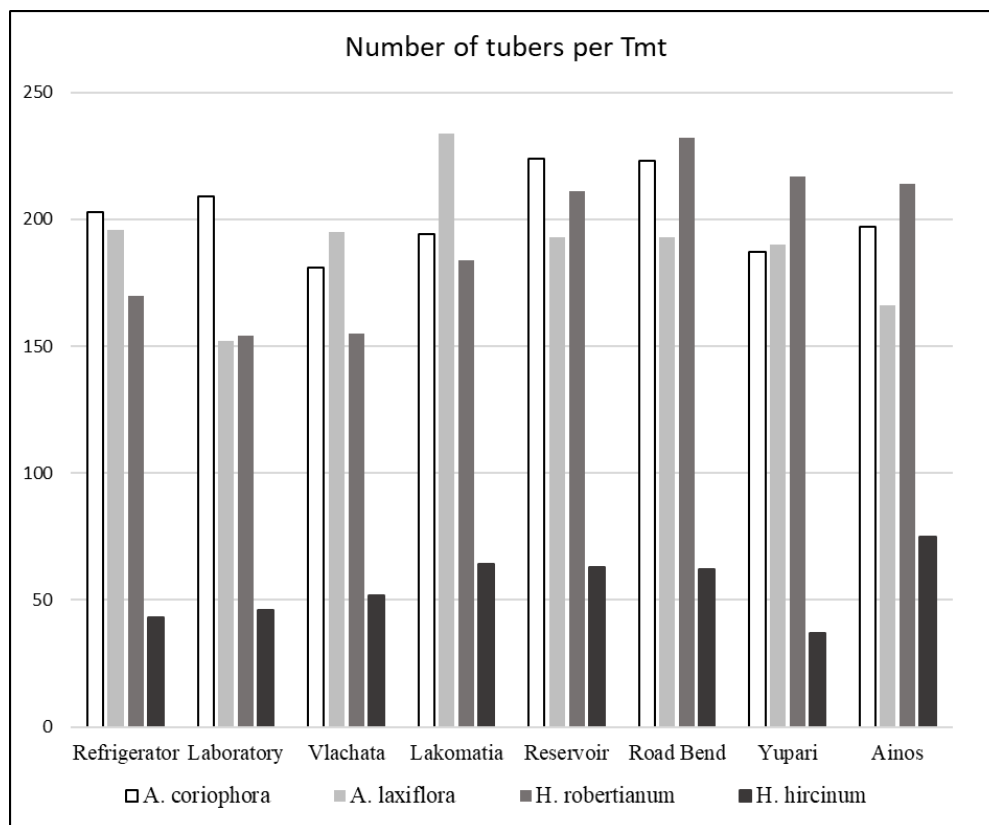
Στην ενότητα που ακολουθεί παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν μέσα από την πειραματική μέθοδο. Πρωτίστως, παρουσιάζονται οι συνθήκες θερμοκρασίας για τις διαφορετικές μεταχειρίσεις, ενώ στη συνέχεια, αποτυπώνεται το είδος των δοκιμών που πραγματοποιήθηκε σε κάθε εξαρτημένη μεταβλητή (ύψος κονδύλου, πλάτος κονδύλου και μάζα των κονδύλων). Κατόπιν, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ως προς την επίδραση της θερμοκρασίας στην αύξηση των φυτών.

3.1. Συνθήκες θερμοκρασίας και αύξηση των φυτών

Με εξαίρεση τις τοποθεσίες Γιούπαρη (YUP) και Αίνος (AIN), η μέση θερμοκρασία διέφερε σημαντικά μεταξύ των θέσεων που είχαν εγκατασταθεί τα δοχεία, οι οποίες αντιστοιχούσαν στις διαφορετικές μεταχειρίσεις. Το Εργαστήριο Εδαφολογίας (LAB) παρουσίασε την υψηλότερη μέση θερμοκρασία ($18,4 \pm 1,6$ °C), ενώ ακολούθησε η θέση Βλαχάτα (VLA) ($11,9 \pm 3,2$ °C). Τα σημεία Γιούπαρη (YUP) και Αίνος (AIN) παρουσίασαν τις χαμηλότερες θερμοκρασίες ($5,9 \pm 3,0$ °C και $5,9 \pm 2,6$ °C αντίστοιχα), ενώ το Ψυγείο (REF) και η Στροφή του δασικού δρόμου στο Ρούδι (ROA) δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά ως προς τη μέση θερμοκρασία ($6,9 \pm 0,7$ °C και $6,7 \pm 2,6$ °C αντίστοιχα). Ως προς τις μέσες ημερήσιες διακυμάνσεις της θερμοκρασίας, οι χαμηλότερες σημειώθηκαν στο Ψυγείο (REF), το Εργαστήριο Εδαφολογίας (LAB) και τη θέση Αίνος (AIN) (1.6, 3.7 και 4.1 °C αντίστοιχα), ενώ οι υψηλότερες ημερήσιες διακυμάνσεις της θερμοκρασίας παρουσιάστηκαν στις θέσεις

Βλαχάτα (VLA), Λακωμάτια (LAK) και Γιούπαρη (YUP) (7.5, 6.5 και 6.2 °C αντίστοιχα) (Πίνακας 2.3).

Όσον αφορά τους επιζώντες πρωτοκορμούς, στα είδη *Anacamptis coriophora*, *Anacamptis laxiflora* και *Himantoglossum robertianum*, υπήρξαν απώλειες, ενώ το είδος *Himantoglossum hircinum* παρουσίασε αύξηση. Πιο συγκεκριμένα, οι επιζώντες πρωτοκορμοί υπολογίστηκαν σε 1.618, 1.519 και 1.537 για τα είδη *Anacamptis coriophora*, *Anacamptis laxiflora* και *Himantoglossum robertianum*, έναντι 1.960 για το είδος *Anacamptis coriophora* και 1.600 για τα είδη *Anacamptis laxiflora* και *Himantoglossum robertianum*. Στην περίπτωση του *Himantoglossum hircinum*, σημειώθηκε αύξηση από 320 πρωτοκορμούς σε 442. Στην Εικ. 3.1 αποτυπώνεται ο αριθμός των κονδύλων που αναπτύχθηκαν και στα τέσσερα είδη, σε κάθε μεταχείριση.



Εικόνα 3.1. Συνολικός αριθμός κονδύλων ανά είδος και μεταχείριση.

Στις περιπτώσεις που υπήρξε απώλεια ως προς την αύξηση των κονδύλων, ενδέχεται να επηρεάστηκαν από την ψυχρή θερμοκρασία, ενώ στην περίπτωση του *Himantoglossum hircinum*, κάποιοι πρωτοκορμοί ανέπτυξαν από δύο κόνδυλους.

3.2. Παραμετρικές και μη παραμετρικές δοκιμές των εξαρτημένων μεταβλητών

Για τη διερεύνηση της επίδρασης της θερμοκρασίας στο ύψος, το πλάτος και τη μάζα των κονδύλων, πραγματοποιήθηκαν αναλόγως παραμετρικές και μη παραμετρικές δοκιμές. Στα είδη *Anacamptis* πραγματοποιήθηκαν κατά κύριο λόγο μη παραμετρικές δοκιμές για τις εξαρτημένες μεταβλητές, με εξαίρεση τη μάζα των κονδύλων ανά δοχείο στο είδος *Anacamptis coriophora* όπου πραγματοποιήθηκε παραμετρική δοκιμή. Στα είδη *Himantoglossum*, παραμετρικές δοκιμές πραγματοποιήθηκαν στη μάζα των κονδύλων για το *H. robertianum* και στο πλάτος του κονδύλου για το *H. hircinum*. Για τις υπόλοιπες μεταβλητές διεξήχθησαν μη παραμετρικές δοκιμές (Πίνακας 3.1).

Πίνακας 3.1. Είδος δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν για το ύψος, το πλάτος και τη μάζα των κονδύλων, ανά είδος ορχιδέας

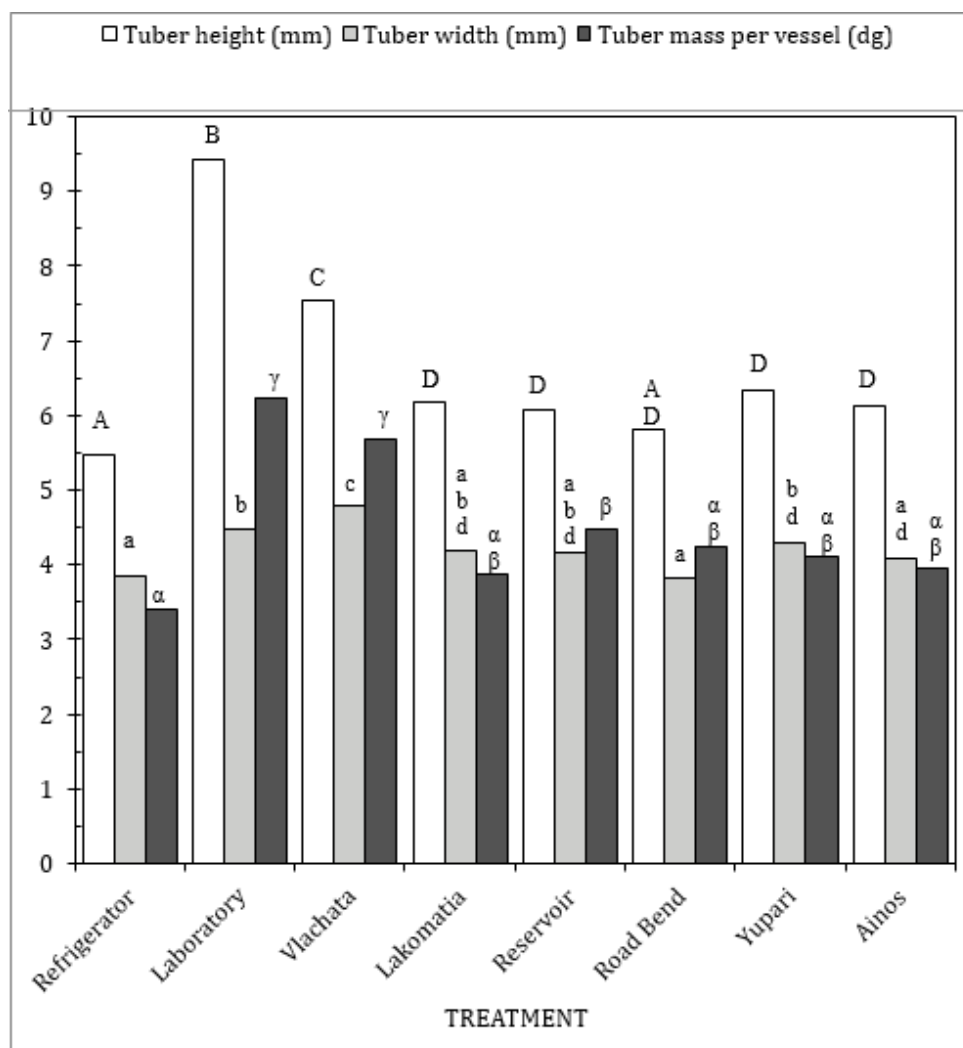
Είδος	Μη παραμετρική δοκιμή (Steel-Dwas)	Παραμετρική δοκιμή (Tukey HSD)
<i>Anacamptis laxiflora</i>	Ύψος κονδύλου	-
	Μάζα κονδύλου	
	Πλάτος κονδύλου	
<i>Anacamptis coriophora</i>	Ύψος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
	Πλάτος κονδύλου	
<i>Himantoglossum robertianum</i>	Ύψος κονδύλου	Μάζα κονδύλου (τετραγωνική ρίζα)
	Πλάτος κονδύλου	
<i>Himantoglossum hircinum</i>	Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου (τετραγωνική ρίζα)
	Μάζα κονδύλου	

3.3 Η επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη των κονδύλων

Στην παρούσα ενότητα παρουσιάζεται η εξέλιξη του ύψους και του πλάτους των μεμονωμένων κονδύλων, καθώς και της ολικής μάζας των κονδύλων ανά δοχείο, για τα τέσσερα είδη στις οκτώ διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας (μεταχειρίσεις).

Στην Εικ. 3.2 που ακολουθεί, αποτυπώνεται η αύξηση των κονδύλων για το είδος *Anacamptis coriophora*. Το ύψος των κονδύλων φαίνεται να είναι μεγαλύτερο στη μεταχείριση Εργαστήριο Εδαφολογίας, ενώ ακολουθεί η μεταχείριση στη θέση Βλαχάτα. Η μικρότερη τιμή παρουσιάζεται στη μεταχείριση στο Ψυγείο, ενώ στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις δεν παρατηρείται κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά ως

προς το ύψος των κονδύλων. Παρόμοια αποτελέσματα προκύπτουν και για τη μάζα του κονδύλου ανά δοχείο, ενώ το πλάτος του κονδύλου φαίνεται να μην επηρεάζεται από τη μεταχείριση.

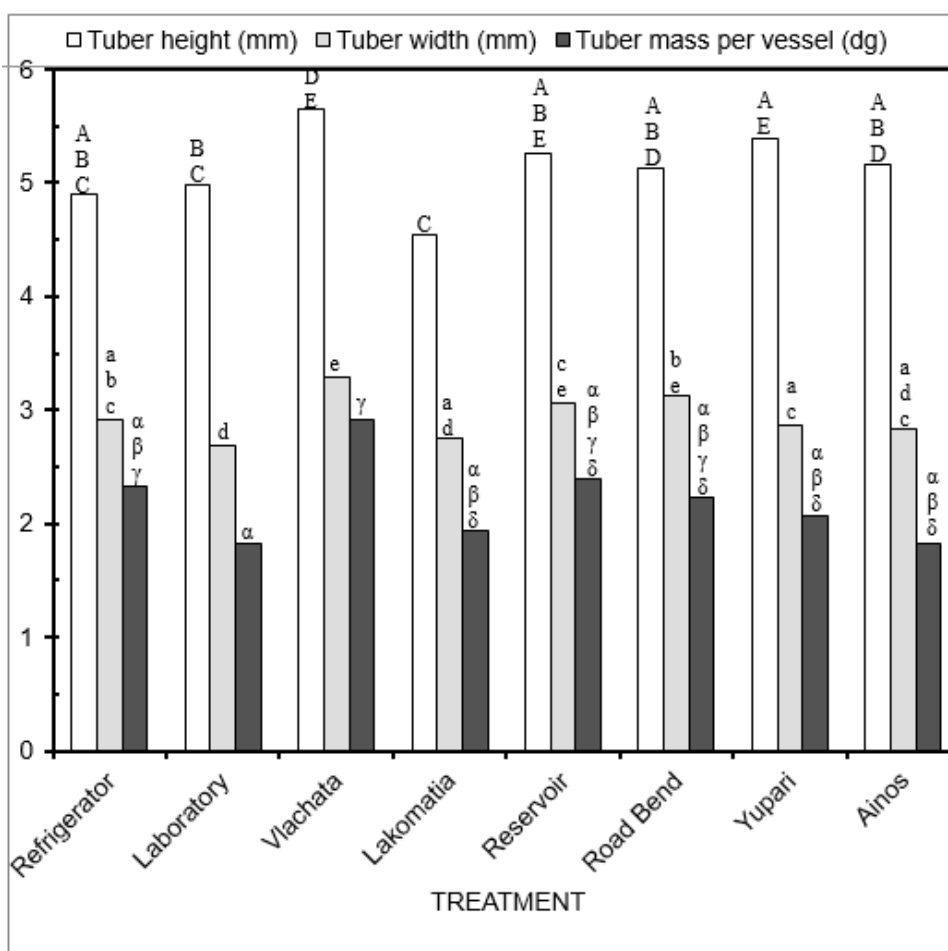


Εικόνα 3.2. Ύψος και πλάτος κονδύλου και μάζα κονδύλων ανά δοχείο, στις διαφορετικές μεταχειρίσεις για το είδος *Anacamptis coriophora*.

Στην περίπτωση της *Anacamptis laxiflora*, η μεταχείριση δεν φαίνεται να επηρεάζει ούτε το ύψος, ούτε το πλάτος, αλλά ούτε και τη μάζα των κονδύλων ανά δοχείο. Αναλυτικότερα, το ύψος των κονδύλων είναι παρόμοιο σε όλες τις μεταχειρίσεις και κυμαίνεται από 4,5 έως 5,5 mm περίπου, ενώ κάτι αντίστοιχο ισχύει

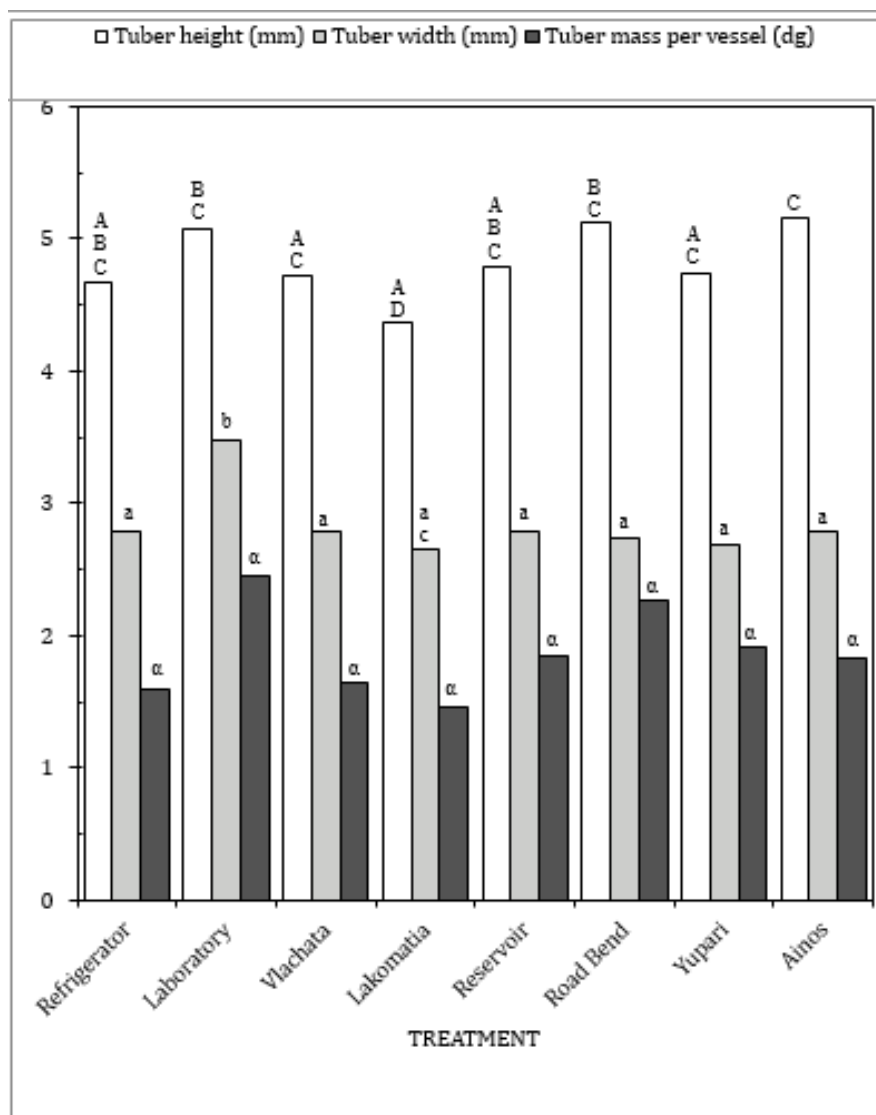
και για το πλάτος τους, το οποίο κυμαίνεται μεταξύ 2,5 και 3,25 mm. Το ύψος των κονδύλων ήταν υψηλότερο στη μεταχείριση στη θέση Βλαχάτα και χαμηλότερο στη μεταχείριση στη θέση Λακωμάτια. Στη μεταχείριση στη θέση Βλαχάτα παρουσιάστηκε και το μεγαλύτερο πλάτος των κονδύλων, καθώς και η μάζα των κονδύλων ανά δοχείο. Η μάζα των κονδύλων ανά δοχείο είναι χαμηλότερη στη θέση Εργαστήριο Εδαφολογίας.

Σημειώνεται ότι, η υψηλότερη αύξηση παρουσιάστηκε στη μεταχείριση στη θέση Βλαχάτα, η οποία μάλιστα είχε την δεύτερη υψηλότερη μέση ημερήσια θερμοκρασία.



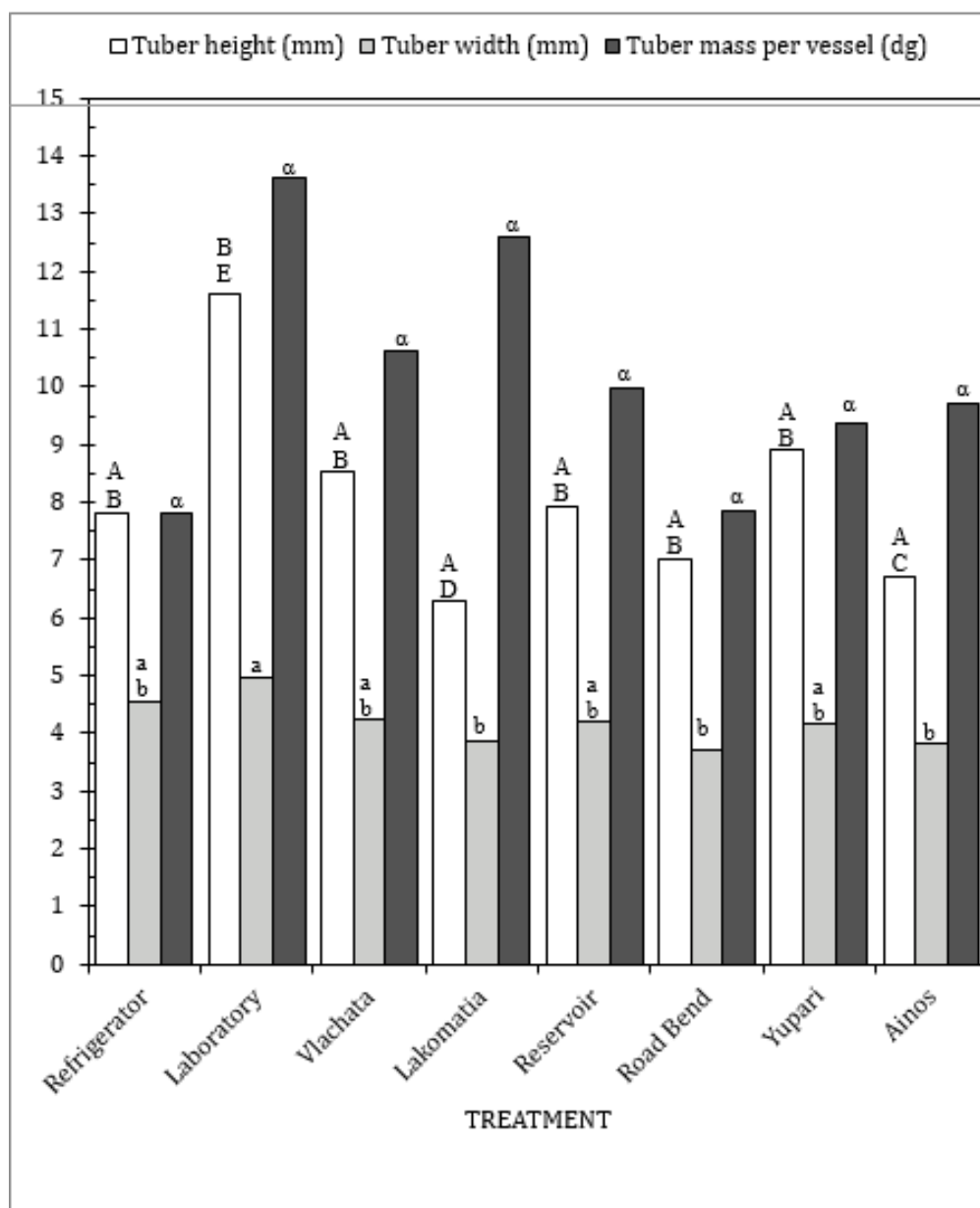
Εικόνα 3.3. Ύψος και πλάτος κονδύλου και μάζα κονδύλων ανά δοχείο, στις διαφορετικές μεταχειρίσεις για το είδος *Anacamptis laxiflora*.

Στην Εικ. 3.4. αποτυπώνεται η αύξηση των κονδύλων για το είδος *Himantoglossum robertianum*, στις διαφορετικές μεταχειρίσεις. Το ύψος των κονδύλων είναι παρόμοιο για όλες τις μεταχειρίσεις, ενώ το πλάτος τους είναι οριακά υψηλότερο σε αυτούς που αναπτύχθηκαν στη μεταχείριση στην τοποθεσία Εργαστήριο Εδαφολογίας. Η μάζα των κονδύλων ανά δοχείο είναι υψηλότερη στην προαναφερθείσα θέση, ενώ ακολουθεί η μεταχείριση που πραγματοποιήθηκε στη θέση Στροφή δασικού δρόμου στο Ρούδι και εν συνεχεία στις θέσεις Δεξαμενή νερού στο Ρούδι, Γιούπαρη και Αίνος. Συνολικά, το χαμηλότερο επίπεδο αύξησης παρουσιάστηκε στη μεταχείριση στη θέση Λακωμάτια.



Εικόνα 3.4. Ύψος και πλάτος κονδύλου και μάζα κονδύλων ανά δοχείο, στις διαφορετικές μεταχειρίσεις για το είδος *Himantoglossum robertianum*.

Στην επόμενη εικόνα, παρουσιάζεται η αύξηση των κονδύλων στις διαφορετικές μεταχειρίσεις για το είδος *Himantoglossum hircinum*.



Εικόνα 3.5. Ύψος και πλάτος κονδύλου και μάζα κονδύλων ανά δοχείο, στις διαφορετικές μεταχειρίσεις για το είδος *Himantoglossum hircinum*.

Γενικότερα, η αύξηση του *Himantoglossum hircinum* παρουσιάζει διακυμάνσεις μεταξύ των διαφορετικών μεταχειρίσεων. Παρατηρείται ότι, το ύψος των κονδύλων είναι υψηλότερο στη θέση Εργαστήριο Εδαφολογίας, ενώ ακολουθούν οι μεταχειρίσεις στις θέσεις Βλαχάτα και Γιούπαρη. Το πλάτος των κονδύλων είναι περίπου το ίδιο σε όλες τις μεταχειρίσεις, με το υψηλότερο να παρουσιάζεται στη

θέση Εργαστήριο Εδαφολογίας και το χαμηλότερο να βρίσκεται στη θέση Στροφή δασικού δρόμου. Η μάζα των κονδύλων ανά δοχείο, παρουσιάζει σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων. Στη μεταχείριση στις θέσεις Εργαστήριο Εδαφολογίας και Λακωμάτια, υπολογίστηκε η υψηλότερη μάζα των κονδύλων ανά δοχείο, ενώ η χαμηλότερη βρέθηκε στις θέσεις Ψυγείο και Στροφή δασικού δρόμου.

Συνολικά, ως προς το ύψος των κονδύλων, το πλάτος τους και τη μάζα τους ανά δοχείο, το είδος *Himantoglossum hircinum*, το οποίο μάλιστα, έφερε διακυμάνσεις μεταξύ των διαφορετικών μεταχειρίσεων, παρουσίασε την υψηλότερη αύξηση, ενώ ακολούθησε η *Anacamptis coriophora* και κατόπιν με παρόμοια ποσοστά, η *Anacamptis laxiflora* και *Himantoglossum robertianum*.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί η επίδραση της θερμοκρασίας στην αύξηση των κονδύλων αυτοφυών ορχεοειδών όταν καλλιεργούνται *in vitro*. Σύμφωνα με τη θεωρία, σε καλλιέργειες *in vitro*, η βλάστηση των σπόρων μπορεί να επηρεαστεί από τις συνθήκες της καλλιέργειας, όπως για παράδειγμα η θερμοκρασία (Lee & Chee - Tak Yeung, 2018).

Γενικότερα, τα είδη *Anacamptis coriophora*, *Anacamptis laxiflora* και *Himantoglossum robertianum* παρουσίασαν απώλειες ως προς την αύξηση των κονδύλων, γεγονός που πιθανότατα να οφείλεται στην περίοδο της ψυχρής μεταχείρισης. Από την άλλη πλευρά, στο είδος *Himantoglossum hircinum* παρατηρήθηκαν περισσότεροι κόνδυλοι σε σχέση με τους πρωτοκορμούς, γεγονός που οφείλεται στην ανάπτυξη περισσότερων από έναν κονδύλους σε ορισμένους πρωτοκορμούς. Επίσης, στο συγκεκριμένο είδος παρατηρήθηκε υψηλότερη αύξηση των κονδύλων, η οποία ενδεχομένως να οφείλεται στο μεγαλύτερο γεωγραφικό πλάτος από το οποίο προερχόταν, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνονται μεγαλύτεροι κόνδυλοι (Kauth et al., 2011). Με μια πρώτη ματιά θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε ότι η αύξηση των κονδύλων ήταν υψηλότερη για αυτούς που καλλιεργήθηκαν σε υψηλότερες θερμοκρασίες σε σχέση με αυτούς που είχαν υποστεί ψυχρή μεταχείριση.

Αναλυτικότερα, διαπιστώθηκε ότι και για τα τέσσερα είδη ορχιδέας παρατηρήθηκε υψηλή αύξηση των κονδύλων στη μεταχείριση στη θέση Εργαστήριο Εδαφολογίας, γεγονός που συμβαδίζει με την επιστημονική βιβλιογραφία όπου σε περιοχές με υψηλότερη θερμοκρασία υπάρχει μεγαλύτερη αύξηση. Μάλιστα, στη

θέση Εργαστήριο Εδαφολογίας η μέση ημερήσια θερμοκρασία κυμάνθηκε στους 18,4 °C, ενώ το επιθυμητό επίπεδο είναι από 15 °C έως 25 °C (Zhang et al., 2018).

Στην περίπτωση της *Anacamptis coriophora*, το υψηλότερο ύψος των κονδύλων φαίνεται να συσχετίζεται με τη μέση ημερήσια θερμοκρασία κάθε μεταχείρισης, δεδομένου ότι οι θέσεις Εργαστήριο Εδαφολογίας και Βλαχάτα, είχαν την υψηλότερη μέση θερμοκρασία.

Στην περίπτωση της *Anacamptis laxiflora*, η θερμοκρασία δεν φαίνεται να επιδρά στην αύξηση των κονδύλων. Ενώ η υψηλότερη θερμοκρασία υπολογίστηκε στη μεταχείριση στη θέση Εργαστήριο Εδαφολογίας, η αύξηση των κονδύλων ήταν χαμηλότερη σε σχέση με τις άλλες μεταχειρίσεις, ενώ στις θέσεις Γιούπαρη και Αίινος που είχαν την χαμηλότερη μέση ημερήσια θερμοκρασία, η αύξηση των κονδύλων ήταν υψηλότερη.

Αντίστοιχα ευρήματα προέκυψαν και για το είδος *Himantoglossum robertianum*. Η υψηλότερη μέση ημερήσια θερμοκρασία συσχετίζεται με το μεγαλύτερο ύψος και πλάτος των κονδύλων, αλλά και τη μάζα τους εντός των δοχείων. Από την άλλη πλευρά όμως, οι μεταχειρίσεις με τη χαμηλότερη μέση ημερήσια θερμοκρασία δεν συσχετίζονται με την αύξηση των κονδύλων. Η χαμηλότερη αύξηση διαπιστώθηκε στη μεταχείριση στη θέση Λακωμάτια, ενώ οι μεταχειρίσεις με τη χαμηλότερη θερμοκρασία ήταν στις θέσεις Γιούπαρη και Αίινος.

Όσον αφορά το *Himantoglossum hircinum*, στη θέση Εργαστήριο Εδαφολογίας (εκμετάλλευση με την υψηλότερη μέση ημερήσια θερμοκρασία) διαπιστώθηκε η μεγαλύτερη αύξηση των κονδύλων, ενώ η χαμηλότερη ανάπτυξη δεν ταυτίζεται με τις μεταχειρίσεις που είχαν τη χαμηλότερη μέση ημερήσια θερμοκρασία. Αξίζει να αναφερθεί ότι, παρόλο που φαίνεται να μην υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στη μάζα των κονδύλων ανά δοχείο, η διαφορά

μεταξύ τους (π.χ. θέσεις Ψυγείο και Εργαστήριο Εδαφολογίας) ενδεχομένως να οφείλεται στο μέγεθος του δείγματος ή/και τις μη παραμετρικές δοκιμές. Το μέγεθος του δείγματος ήταν μικρότερο, με αποτέλεσμα να μην μπορούν να εξαχθούν ασφαλέστερα συμπεράσματα, ενώ οι μη παραμετρικές δοκιμές που επιλέχθηκαν, δεν φέρουν τις ίδιες δυνατότητες ελέγχου με τις παραμετρικές δοκιμές με αποτέλεσμα να μην χρησιμοποιούν όλες τις πληροφορίες των δειγμάτων και να γίνεται δυσκολότερη η ανάδειξη των διαφορών.

Από την άλλη πλευρά, ευρήματα άλλων μελετών έχουν καταλήξει στην άποψη ότι στις καλλιέργειες *in vitro* η παραμονή των πρωτοκορμών ενός συγκεκριμένου σταδίου σε χαμηλή θερμοκρασία μπορεί να ενισχύει την αύξησή τους και το σχηματισμό κονδύλων (Malmgren, 2004). Παρόμοια συμπεράσματα προέκυψαν και από εμπειρικές συστάσεις των Malmgren και Nyström (2022), όπου η ακολουθία της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια του έτους συμβάλλει ώστε να αυξηθεί η βλάστηση των κονδύλων, όπως και στην περίπτωση της ανάπτυξης των κονδύλων στο φυσικό περιβάλλον. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις όπως είναι η καλλιέργεια *in vitro*, η ύπαρξη μιας περιόδου ψύξης είναι απαραίτητη για τη βλάστηση ορισμένων ειδών, προκειμένου να προκληθεί φυσιολογικός σχηματισμός των βλαστών και ριζών. Αναφέρεται ότι, η περίοδος της ψυχρής θερμοκρασίας, η οποία εκτιμάται περίπου από οκτώ έως δώδεκα εβδομάδες, δεν είναι απαραίτητη για όλα τα είδη, ωστόσο μπορεί να καταστεί ευεργετική για την αύξηση των βλαστών.

Επισημαίνεται ότι, από τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας δεν διαπιστώθηκε ότι η ψυχρότερη θερμοκρασία συνδέεται με την υψηλότερη αύξηση των κονδύλων. Αξίζει να τονιστεί ότι, η αύξηση των κονδύλων ενδεχομένως να ήταν υψηλότερη εάν παρέμεναν σε ψυχρή επεξεργασία για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Σύμφωνα με την επιστημονική βιβλιογραφία, μετά την έξοδό τους από το ψυγείο, τα

φυτά θα πρέπει να διατηρούνται σε σχετικά χαμηλότερες θερμοκρασίες για διάστημα δύο έως τρεις μήνες. Τη συγκεκριμένη περίοδο, αναπτύσσονται οι ρίζες και τα φύλλα των φυτών. Η ωρίμανση των κονδύλων πραγματοποιείται σε επόμενο στάδιο και σε λίγο υψηλότερη θερμοκρασία. Εάν δοθεί υψηλή θερμοκρασία εξ' αρχής, τα φυτά αντιλαμβάνονται ότι αναμένεται μια ζεστή και ξηρή θερινή περίοδος, με αποτέλεσμα να αναπτύσσουν γρήγορα, πολύ μικρούς κονδύλους (Malmgren & Nyström, 2022).

Αξίζει να αναφερθεί ότι, ένας ακόμη εξίσου σημαντικός παράγοντας που μπορεί να καθορίσει εάν ένα είδος θα αυξηθεί ανάλογα με ένα άλλο είδος, είναι η γεωγραφική προέλευση των σπόρων. Για παράδειγμα, σπόροι που φαίνεται να αυξάνεται η ανάπτυξή τους όταν επεξεργάζονται σε ψυχρές θερμοκρασίες, συνήθως έχουν καλλιεργηθεί εξ' αρχής σε μεταχειρίσεις με ψυχρότερη θερμοκρασία (Zhang et al., 2018). Επομένως, η αύξηση των κονδύλων ανά εκμετάλλευση ενδεχομένως να επηρεάζεται όχι μόνο από τη θερμοκρασία αλλά και να συσχετίζεται με τη θερμοκρασία στην οποία έχει γίνει η καλλιέργεια και επεξεργασία των σπόρων.

Τέλος, όσον αφορά το μήκος του φύτρου, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας της Deconninck (2021), υπήρξαν σημαντικές διαφορές ως προς το μήκος του και της μεταχείρισης που είχαν τοποθετηθεί. Διαπιστώθηκε ότι, το μήκος τους έτεινε να μειώνεται σε μεταχειρίσεις με ψυχρότερη θερμοκρασία, σύμφωνα με μέτρηση που πραγματοποιήθηκε κατά την 16η εβδομάδα της πειραματικής διαδικασίας. Το εν λόγω εύρημα συμβαδίζει με τις μετρήσεις της παρούσας έρευνας, όπου το μήκος των φύτρων ήταν αυξημένο και συσχετιζονταν θετικά με την υψηλότερη θερμοκρασία.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ V

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα ευρήματα της παρούσας έρευνας θα μπορούσε να εξαχθεί ως γενικό συμπέρασμα ότι η ψυχρότερη θερμοκρασία δεν συνδέεται με την υψηλότερη αύξηση των κονδύλων στα τέσσερα είδη ορχιδέας που μελετήθηκαν. Παράγοντες όπως η περίοδος ψυχρής μεταχείρισης και το γεωγραφικό πλάτος, ενδέχεται να επηρεάζουν την αύξηση των κονδύλων. Στην πρώτη περίπτωση, θα μπορούσε η περίοδος της ψυχρής θερμοκρασίας να έχει μεγαλύτερη διάρκεια, καθώς τα συγκεκριμένα είδη είναι πιθανό να απαιτούν περισσότερο διάστημα για την ανάπτυξη μεγαλύτερων κονδύλων.

Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των διαφορετικών ειδών ορχιδέας και της συμβολής της θερμοκρασίας στην αύξηση των κονδύλων τους. Δεδομένου ότι, τα φυτά έχουν το δικό τους ρυθμό ανάπτυξης, απαιτούν το δικό τους χρόνο για να αναπτύξουν κονδύλους. Θα μπορούσε λοιπόν να υπάρχει καλύτερη διαχείριση του χρόνου και ακολουθίας της θερμοκρασίας για την αποτελεσματικότερη αύξηση των κονδύλων σε *in vitro* καλλιέργεια. Ο χρονικός περιορισμός, σε ορισμένες περιπτώσεις είναι πιθανό να επηρεάσει την πειραματική μέθοδο, όπως για παράδειγμα το χρονικό διάστημα που θα παραμείνει το φυτό σε ψυχρή θερμοκρασία, τότε θα τοποθετηθεί σε υπόστρωμα, κ.α.

Στο σημείο αυτό, θεωρείται χρήσιμο να τεθούν ορισμένες προτάσεις για μελλοντική έρευνα. Αρχικά, θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί η ίδια έρευνα με μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων, ώστε να συγκριθούν τα αποτελέσματα που θα προκύψουν από τη νέα έρευνα. Ακόμη, θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί μέτρηση των ίδιων κονδύλων σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, προκειμένου να διερευνηθεί

κατά πόσο το χρονικό διάστημα σχετίζεται με την αύξησή τους. Επιπλέον, θα μπορούσε να διεξαχθεί μια έρευνα στις ίδιες μεταχειρίσεις, με τη χρήση διαφορετικών ειδών μεσογειακών ορχεοειδών, προκειμένου να αναδειχθούν βέλτιστοι τρόποι για την ανάπτυξη και σχηματισμό των πρωτοκορμών για κάθε είδος. Τέλος, θα μπορούσε να διεξαχθεί μια παρόμοια έρευνα σε μια άλλη περιοχή, έτσι ώστε να προκύψουν ευρήματα και για το βαθμό επίδρασης της τοποθεσίας στην αύξηση των κονδύλων της ορχιδέας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Calevo, J., and Bazzicalupo, M., 2020. Less is more: Low-cost *in vitro* propagation of an endangered Italian orchid. *Nature Conservation Research*. 5, 172–177.
- Γεράκης, Α., 2021. Πολλαπλασιασμός αυτοφυών ορχεοειδών στο Εργαστήριο Εδαφολογίας του Ιονίου Πανεπιστημίου. *Η Κεφαλονίτικη Πρόοδος*, 3, 81-84.
- Deconnick, G., and Gerakis, A., 2021. Influence of scarification method on seed germination of the terrestrial orchid *Anacamptis laxiflora* (lam). *The EuroBiotech Journal*, 5(1), 15-23.
- Deconninck, G., 2021. Influence of temperature on growth of *in vitro* cultivated terrestrial orchids. MS Thesis, Univ. de Montpellier.
- Delforge, P., 2006. *Orchids of Europe, North Africa and the Middle East* (3rd edition). A&C Black, London.
- Ευρωπαϊκές Κοινότητες, 2006. Κανονισμοί εμπορίας ειδών άγριας πανίδας και χλωρίδας στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Εισαγωγή στην Σύμβαση CITES και στην εφαρμογή της στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Υπηρεσία Επισήμων Εκδόσεων των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων, Λουξεμβούργο.
- Gerakis, A., Haldas, X., and Giannakoulis, M., 2016. *Anacamptis palustris* subsp. *Robusta* (orchidaceae): a new record to the flora Cephalonia, Greece. *Journal Europäischer Orchideen*, 48(1), 11-18.
- Hinsley, A., De Boer, H., Fay, M., Gale, S., Gardiner, L., Gunasekara, R., Kumar, P., Masters, S., Metusala, D., Roberts, D., Veldman, S., Wong, S., and Phelps, J.,

2018. A review of the trade in orchids and its implications for conservation. Botanical Journal of the Linnean Society, 186, 435-455.
- Hutchings, M., Robbirt, K., Roberts, D., and Davy, A., 2018. Vulnerability of a specialized pollination mechanism to climate change revealed by a 356-year analysis. Botanical Journal of the Linnean Society, 186, 498-509.
- Katsalirou, E., Gerakis, A., Haldas, X., and Deconninck, G., 2017. Optimal disinfection times for seeds of Mediterranean Orchids propagated on nutrient media. European Journal of Environmental Sciences, 7(2), 119-124.
- Kauth, P.J., Dutra, D., Johnson, T.R., Stewart, S.L., Kane, M.E., and Vendrame, W., 2008. Techniques and applications of *in vitro* orchid seed germination. p. 375-391. In: Teixeira da Silva J.A. (ed.) Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology. Global Science Books, Isleworth.
- Kauth, P., Kane, M., and Vendrame, W., 2011. Chilling relieves corm dormancy in *Calopogon tuberosus* (Orchidaceae) from geographically distant populations. Environmental and Experimental Botany, 70, 283-288.
- Kreziou, A., De Boer, H., and Gravendeel, B., 2016. Harvesting of salep orchids in north-western Greece continues to threaten natural populations. Oryx, 50(3), 393-396.
- Lee, Y., and Chee-Tak Yeung, E., 2018. Orchid propagation: from laboratories to greenhouses – methods and protocols. Human Press, New York.
- Malmgren, S., 2004. On the origin of ophrys species. Journal of the Hardy Orchid Society, 1(3), 74-81.

Malmgren, S., and Nyström, H., 2022. Orchid Propagation [Διαδίκτυο]. Διεύθυνση πρόσβασης <http://www.lidaforsgarden.com/orchids/engelsk.htm> (εξακριβώθηκε 18 Ιουν. 2022).

Microsoft Excel, 2016.

Petrou, N., Petrou, M., and Giannakoulis, M., 2011. Orchids of Greece. Koan Publishing House, Athens.

Popova, E., Hoon Kim, H., Kumar S., Engelmann, F., and Pritchard, H., 2016. Frozen beauty: The cryobiotechnology of orchid diversity. *Biotechnology Advances*, 34, 380-403.

Rännbäck L.M., 2007. Propagation, cultivation and breeding of terrestrial temperate orchids, with focus on *Cypripedium* spp. Bachelor project in the Danish-Swedish Horticulture programme. Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden.

Rasmussen, H., 1995. Terrestrial orchids from seed to mycotrophic plant. Cambridge University Press, Great Britain.

SAS Institute Inc. 2021. JMP® 16 Basic Analysis. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Σαρροπούλου, Β, 2018. In vitro αναπαραγωγή και ex situ διατήρηση διαφόρων ειδών *Sideritis* (τσάι του βουνού) [Διαδίκτυο]. Διεύθυνση πρόσβασης http://www.nagref.gr/images/ioanna/periodiko/Teyxos_20/%CF%83%CE%B5%CE%BB._22.pdf (εξακριβώθηκε 03 Αυγ. 2022).

Τσιφτσής, Σ., 2009. Τα ορχεοειδή (Orchidaceae) της Α. Μακεδονίας: εξάπλωση, οικολογικές συνθήκες ανάπτυξης και καθορισμός περιοχών υψηλής αξίας διατήρησης. Διδακτορική διατριβή: Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

ΦΕΚ 23'Α, 1981. Προεδρικό Διάταγμα 67, περί προστασίας της αυτοφυούς χλωρίδος και άγριας πανίδος και καθορισμού διαδικασίας συντονισμού και ελέγχου της ερεύνης απ' αυτών. Εφημερίς της Κυβερνήσεως της Ελληνικής Δημοκρατίας.

Zhang, S., Yang, Y., Li, J., Qin, J., Zhang, W., Haung, W., and Hu, H., 2018. Physiological diversity of orchids. *Plant diversity*, 40, 196-208.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΠΙΝΑΚΑΣ ΥΠΟΘΕΣΕΩΝ LEVENE'S TEST

Anacamptis coriophora

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
Χωρίς μετασχηματισμό	LEVENE		-	-	0,42
	Κανονικότητα	AIN			+
		LAB			+
		LAK			+
		REF			+
		RES			+
		ROA			+
		VLA			+
		YUP			+

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
Τετραγωνική ρίζα	LEVENE		-	-	0,30
	Κανονικότητα	AIN			+
		LAB			+
		LAK			+
		REF			+
		RES			+
		ROA			+
		VLA			+
		YUP			+

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -5$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -4$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -3$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -2$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -1$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 0$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 1$	LEVENE		-	-	0,42
	Κανονικότητα	AIN			+
		LAB			+
		LAK			+
		REF			+
		RES			+
		ROA			+
		VLA			+
		YUP			+

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 2$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 3$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 4$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 5$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Himantoglossum robertianum

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
Χωρίς μετασχηματισμό	LEVENE		-	-	0,34
	Κανονικότητα	AIN			+
		LAB			+
		LAK			-
		REF			-
		RES			-
		ROA			-
		VLA			-
		YUP			+

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
Τετραγωνική ρίζα	LEVENE		-	-	0,76
	Κανονικότητα	AIN			-
		LAB			+
		LAK			+
		REF			+
		RES			+
		ROA			+
		VLA			+
		YUP			+

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -5$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -4$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -3$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -2$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -1$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 0$	LEVENE		-	-	0,65
	Κανονικότητα	AIN			-
		LAB			-
		LAK			-
		REF			-
		RES			-
		ROA			-
		VLA			-
		YUP			-

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 1$	LEVENE		-	-	0,34
	Κανονικότητα	AIN			+
		LAB			-
		LAK			-
		REF			-
		RES			-
		ROA			-
		VLA			-
		YUP			-

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 2$	LEVENE		-	-	0,17
	Κανονικότητα	AIN			-
		LAB			-
		LAK			-
		REF			-
		RES			-
		ROA			-
		VLA			-
		YUP			-

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 3$	LEVENE		-	-	0,23
	Κανονικότητα	AIN			-
		LAB			-
		LAK			-
		REF			-
		RES			-
		ROA			-
		VLA			-
		YUP			-

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 4$	LEVENE		-	-	0,14
	Κανονικότητα	AIN			-
		LAB			-
		LAK			-
		REF			-
		RES			-
		ROA			-
		VLA			-
		YUP			-

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 5$	LEVENE		-	-	0,06
	Κανονικότητα	AIN			-
		LAB			-
		LAK			-
		REF			-
		RES			-
		ROA			-
		VLA			-
		YUP			-

Himantoglossum hircinum

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
Χωρίς μετασχηματισμό	LEVENE		-	0,24	0,16
	Κανονικότητα	AIN	-	-	-
		LAB	-	+	+
		LAK	-	?	-
		REF	-	-	-
		RES	-	+	-
		ROA	-	+	-
		VLA	-	-	-
		YUP	-	?	-

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
Τετραγωνική ρίζα	LEVENE		-	0,37	0,06
	Κανονικότητα	AIN	-	-	+
		LAB	-	+	-
		LAK	-	+	-
		REF	-	+	-
		RES	-	+	?
		ROA	-	+	-
		VLA	-	+	-
		YUP	-	-	-

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -5$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -4$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -3$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -2$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = -1$	LEVENE		0,08	-	-
	Κανονικότητα	AIN	-		
		LAB	-		
		LAK	-		
		REF	-		
		RES	-		
		ROA	-		
		VLA	-		
		YUP	-		

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 0$	LEVENE		-	0,31	-
	Κανονικότητα	AIN		+	
		LAB		-	
		LAK		-	
		REF		-	
		RES		-	
		ROA		-	
		VLA		-	
		YUP		-	

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 1$	LEVENE		-	0,24	0,16
	Κανονικότητα	AIN		-	?
		LAB		-	-
		LAK		-	-
		REF		+	-
		RES		-	-
		ROA		-	-
		VLA		-	-
		YUP		-	-

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 2$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 3$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 4$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

Μετασχηματισμός	TESTS		Μεταβλητή		
			Ύψος κονδύλου	Πλάτος κονδύλου	Μάζα κονδύλου
BOX-COX $\lambda = 5$	LEVENE		-	-	-
	Κανονικότητα	AIN			
		LAB			
		LAK			
		REF			
		RES			
		ROA			
		VLA			
		YUP			

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

ΕΙΚΟΝΕΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟ ΠΕΔΙΟΥ

Anacamptis coriophora



Anacamptis laxiflora



Himantoglossum robertianum



Himantoglossum hircinum

