

UNIVERSITATEA „ALEXANDRU IOAN CUZA” DIN IAȘI
FACULTATEA DE BIOLOGIE
ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE

**Studiul efectelor tratamentelor cu plasmă la presiune
atmosferică asupra proceselor de germinație și
dezvoltare ale unor plante de interes economic**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Coordonator științific:

Prof. univ. dr. habil. Dragoș-Lucian GORGAN

Doctorand:

Livia-Ioana LEȚI

IAȘI

2026

CUPRINS

CUVINTE CHEIE.....	5
PARTEA TEORETICĂ	6
INTRODUCERE.....	6
SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII	7
MOTIVAȚIA ȘI ORIGINALITATEA STUDIULUI.....	8
1. Generalități despre plasmă.....	10
1.1. Ce este plasma la presiune atmosferică.....	10
1.2. Modalități de obținere a plasmei	10
1.2.1. Plasma produsă prin descărcare în barieră dielectrică	10
1.2.2. Jet de plasmă cu radiofrecvență	11
1.3. Caracteristicile fizico-chimice ale apei tratate cu plasmă	11
1.4. Modificările chimice apărute la nivelul materialului vegetal în urma utilizării plasmei non-termice	11
2. Efectele tratamentului cu plasmă la presiune atmosferică în diverse domenii de interes.....	12
2.1. Efectele asupra alimentelor	12
2.2. Efectele în domeniul medical.....	12
2.3. Efectele asupra materialului vegetal	12
2.3.1. Decontaminarea materialului vegetal.....	13
2.3.2. Modificări ale învelișului exterior al semințelor	13
2.3.3. Scăderea unghiului de contact.....	13
2.3.4. Germinația semințelor și dezvoltarea plantei	14
2.3.5. Modificările moleculare ale tratamentului cu plasmă asupra semințelor	14
3. Generalități despre speciile de interes.....	15
3.1. <i>Phaseolus vulgaris</i>	15
3.1.1. Noțiuni generale	15

3.1.2. Efectele tratamentului cu plasmă non-termică asupra speciei <i>Phaseolus vulgaris</i>	15
3.2. <i>Zea mays</i>	16
3.2.1. Noțiuni generale	16
3.2.2. Efectele tratamentului cu plasmă non-termică asupra speciei <i>Zea mays</i>	16
3.3. <i>Cucumis sativus</i>	18
3.3.1. Noțiuni generale	18
3.3.2. Efectele tratamentului cu plasmă non-termică asupra speciei <i>Cucumis sativus</i>	18
4. Gene implicate în dezvoltarea plantelor și rezistența la factori biotici și abiotici de stres.....	20
PARTEA EXPERIMENTALĂ.....	23
5. Materiale și metode	23
5.1. Materialul biologic.....	23
5.2. Producerea de apă tratată în plasmă	23
5.3. Germinația probelor	24
5.4. Metode de determinare a germinației semințelor.....	25
5.5. Plantarea probelor în pământ	25
5.6. Izolarea ARN	26
5.7. Cuantificarea ARN.....	26
5.8. Etapa de reverstranscriere	26
5.9. Reacția Real Time quantitative PCR (RT-qPCR).....	26
5.10. Analiza morfologică a probelor	27
5.11. Determinarea cantității de pigmenți asimilatori	27
5.12. Determinarea pH-ului pentru apa tratată în plasmă.....	27
6. Rezultate și discuții.....	28
6.1. Analiza pH-ului apei netratate comparativ cu PAW	28
6.2. <i>Phaseolus vulgaris</i>	28

6.2.1.Evaluarea procesului germinativ.....	28
6.2.2.Evaluarea parametrilor de creștere ai plantei	29
6.2.3.Evaluarea cantității de clorofilă a, clorofilă b și carotenoizi.....	30
6.2.4.Evaluarea expresiei unor gene implicate în răspunsul la tratamentul cu apă tratată în plasmă la specia <i>Phaseolus vulgaris</i>	30
6.3. <i>Zea mays</i>	33
6.3.1.Evaluarea procesului germinativ.....	33
6.3.2.Evaluarea parametrilor de creștere ai plantei	33
6.3.3.Evaluarea cantității de clorofilă A, clorofilă B și carotenoizi.....	35
6.3.4.Evaluarea expresiei unor gene implicate în răspunsul la tratamentul cu apă tratată în plasmă la specia <i>Zea mays</i>	35
6.4. <i>Cucumis sativus</i>	38
6.4.1.Evaluarea procesului germinativ.....	38
6.4.2.Evaluarea parametrilor de creștere ai plantei	38
6.4.3.Evaluarea cantității de clorofilă A, clorofilă B și carotenoizi.....	40
6.4.4.Evaluarea expresiei unor gene implicate în răspunsul la tratamentele cu apă tratată în plasmă la specia <i>Cucumis sativus</i>	40
6.5. Compararea efectelor produse de tratamentul cu azotat de potasiu și apă tratată în plasmă asupra celor 3 specii de interes.....	43
6.5.1.Evaluarea procesului germinativ.....	43
6.5.2.Evaluarea parametrilor de creștere.....	45
6.5.3.Evaluarea cantității de clorofilă A, clorofilă B și carotenoizi.....	47
6.5.4.Evaluarea expresiei unor gene implicate în dezvoltarea plantelor și răspunsul la stresul oxidativ generat de apă tratată în plasmă la presiune atmosferică	48
CONCLUZII	54
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	60

CUVINTE CHEIE

Apă tratată în plasmă, descărcare cu barieră dielectrică, *Phaseolus vulgaris*, *Zea mays*, *Cucumis sativus*, azotat de potasiu, procent germinativ, viteză de germinație, indici de germinație, pigmenți asimilatori, clorofilă A, clorofilă B, carotenoizi, expresie genică, Real-Time PCR, radiculă, tratament indirect.

PARTEA TEORETICĂ

INTRODUCERE

Conform datelor oferite de Organizația Națiunilor Unite, populația globală este în continuă creștere și se consideră că, până în anul 2050, se va atinge pragul de 10 miliarde de locuitori (Department of Economic and Social Affairs, 2019). Aceste date sunt corelate cu rezultatele publicate de către Organizația pentru Alimentație și Agricultură în ceea ce privește incertitudinea alimentară acută și diminuarea stocurilor de alimente (Food Agriculture Organization; World Health Organization, 2003). Ținând cont de aceste informații, este importantă producerea unor alimente de înaltă calitate care să asigure necesarul nutritiv al populației.

Plantele sunt organisme sesile și nu pot evada dintr-un mediu neprielnic pentru a identifica alte habitate favorabile, care să prezinte condiții mai stabile de temperatură, umiditate sau disponibilitate a diferiților nutrienți. Răspunsul adaptativ al plantelor include atât modificări în ceea ce privește expresia genelor, cu o puternică influență asupra căilor metabolice, dar și o plasticitate fenotipică accentuată, cu scopul modulării proceselor de creștere și dezvoltare (Zhu, 2016).

De-a lungul timpului, a existat un interes sporit pentru identificarea unei soluții interdisciplinare care să asigure atât decontaminarea materialului vegetal, dar și stimularea germinăției semințelor și dezvoltării ulterioare a plantei (Ji et al., 2016). Utilizarea plasmei la presiune atmosferică pare să satisfacă toate aceste condiții și nu implică folosirea de fertilizanți chimici care ar putea interfera cu sănătatea oamenilor. În plus, cercetările la nivel mondial analizează efectele plasmei asupra unor substraturi diverse, precum alimente, semințe, materiale textile (Cho et al., 2009), lemn (Altgen et al., 2016; Asandulesa et al., 2010; Talviste et al., 2020) și multe altele. Fiecare tip individual de tratament poate prezenta beneficii asupra materialului analizat și este necesară o analiză amănunțită a efectelor produse, cu scopul identificării metodei optime de tratament pentru fiecare substrat în parte. În plus, este esențială analiza proprietăților plasmei înainte de tratament, dar și a substratului tratat, pentru a identifica consecințele asupra componentelor chimice și fizice ale probelor expuse la acest tip de gaz. Efectele pot varia într-o manieră dependentă de doza utilizată, iar condițiile experimentale pot fi manipulate în funcție de scopul cercetării (Adhikari et al, 2020).

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Scopul acestei cercetări este: Studiul efectelor tratamentelor cu plasmă la presiune atmosferică asupra proceselor de germinație și dezvoltare a unor plante de interes economic, prin evaluări morfologice (lungimea radiclei, a părții subterane și a părții supratereane), biochimice (determinarea cantității de pigmenți asimilatori) și moleculare (evaluarea expresiei unor gene implicate în dezvoltarea plantei și în răspunsul la stresul abiotic).

Obiectivele și activitățile specifice au fost împărțite de-a lungul celor 4 ani de doctorat conform Diagramei Gantt (Figura 1) și sunt următoarele:

O.1. Caracterizarea morfologică și fiziologică a probelor de *Phaseolus vulgaris*, *Zea mays* și *Cucumis sativus*;

A.1.1. Selecția probelor din colecția Băncii de Resurse Genetice Vegetale „Mihai Cristea” Suceava;

A.1.2. Tratamentele cu apă tratată în plasmă;

A.1.3. Măsurarea lungimii radiclelor și ulterior a părților sub- și supratereane la probele udate cu apă tratată în plasmă, comparativ cu probele din lotul control;

A.1.4. Determinarea cantității de clorofilă A, clorofilă B și carotenoizi prin metode spectrofotometrice la probele tratate cu apă tratată în plasmă, comparativ cu cele din lotul control;

O.2. Analiza expresiei genice la probele de *Phaseolus vulgaris*, *Zea mays* și *Cucumis sativus*;

A.2.1. Evaluarea expresiei unor gene implicate în dezvoltarea plantei și în răspunsul la stresul abiotic.

O.3. Diseminarea rezultatelor – publicarea în reviste de specialitate și participarea la manifestări științifice

O.4. Redactarea și susținerea tezei de doctorat

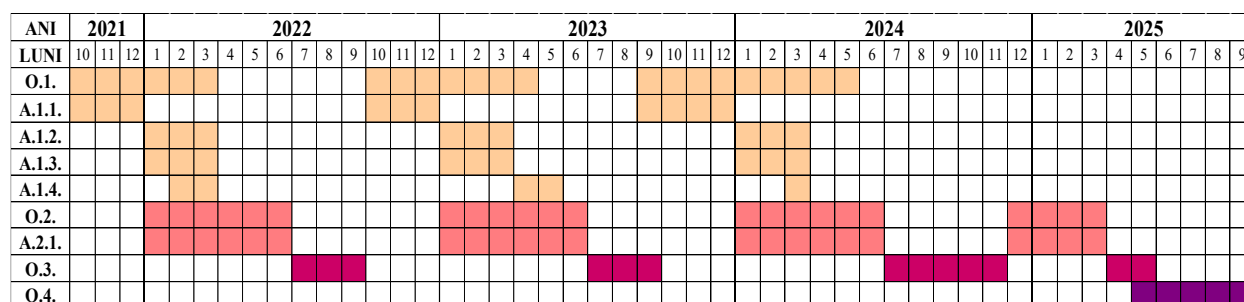


Figura 1. Diagrama Gantt

MOTIVAȚIA ȘI ORIGINALITATEA STUDIULUI

Studiul a pornit de la ipoteza că o parte din materialul vegetal prezintă probleme de germinație, ceea ce influențează într-un mod negativ productivitatea în câmp. De asemenea, factorii de stres reprezintă un pericol continuu pentru integritatea și supraviețuirea semințelor, iar din această categorie fac parte atât factorii biotici, precum agenții patogeni, dar și cei abiotici, printre care se numără condițiile meteo extreme sau variații ale umidității.

În plus, stocarea semințelor pe termen lung reprezintă un aspect esențial în scopul conservării biodiversității și asigurării siguranței alimentare, idee care constituie, de fapt obiectivul fundamental al Băncilor de Gene. Acestea sunt instituții specializate în conservarea materialului genetic vegetal, prin păstrarea semințelor în condiții optime, pentru a putea fi folosite după zeci, sau chiar sute de ani. Însă, păstrarea semințelor pe termen lung în condiții controlate, care includ valori scăzute ale temperaturii și umidității, poate avea consecințe asupra viabilității unor stocuri de semințe. Testarea constantă a capacității de germinație și reînnoirea periodică a lotului de semințe reprezintă activități de bază ale Băncilor de Gene, cu scopul menținerii unei colecții viabile și sănătoase. Pentru semințele care sunt, totuși, afectate de aceste condiții de păstrare, este necesară identificarea unei tehnici care să permită revigorarea materialului vegetal, fără a fi afectate proprietățile morfo-fiziologice caracteristice speciei.

În tot acest context, cercetările științifice publicate în ultimii ani au demonstrat că expunerea semințelor la plasmă rece sau tratarea acestora cu apă expusă în prealabil la sursa de generare a plasmei, poate induce o serie de efecte pozitive asupra procesului de germinație și dezvoltare a materialului vegetal. Apariția acestei metode non-invazive reprezintă un progres major al biotehnologiilor specifice agriculturii, iar aplicabilitatea sa asupra diverselor specii reprezintă un domeniu care se află în continuă dezvoltare.

Pentru ca acest studiu să fie cât mai cuprinzător, au fost selectate specii care aparțin principalelor grupe de plante de cultură, și anume: cereale, leguminoase și legume. Din prima grupă a fost selectat porumbul, care reprezintă una din cele mai importante cereale datorită productivității ridicate și a utilizărilor multiple, atât în ceea ce privește consumul animal, cât și cel uman. Reprezentatul leguminoaselor este fasolea, o plantă importantă atât datorită conținutului ridicat de proteine, fiind o sursă esențială de hrană, cât și datorită impactului pe care îl are asupra solului, prin fixarea azotului. Dintre legume va fi analizat castravetele, care, suplimentar de aportul nutrițional ridicat pe care îl prezintă, produce și

cantități importante de azot și fosfor, ceea ce potențează productivitatea materialului vegetal. Astfel, cele trei specii selectate prezintă un impact major asupra agriculturii la nivel mondial, iar tratamentul cu plasmă poate oferi noi perspective în ceea ce privește asigurarea unei calități superioare a semințelor.

În urma analizei a 57 de articole științifice publicate între anii 2008-2024 care analizează efectele tratamentului cu plasmă asupra semințelor, cei mai studiați parametri ai plantelor au fost următorii: 41 de studii urmăresc modularea procesului germinativ, în timp ce 34 dezvoltarea ulterioară a plantei; în 25 de articole au putut fi identificate aspecte legate de activitatea enzimelor implicate în diverse căi metabolice și în 22 se urmăresc aspecte ce țin de scarificarea învelișului extern al seminței. Doar în 16 au putut fi identificate aspecte referitoare la expresia genică, iar dintre acestea, majoritatea urmăresc genele implicate în răspunsul la factori de stres sau gene care controlează procesele metabolice. Două studii au evaluat mecanismele de protecție ale plantei împotriva atacului patogenilor, respectiv efectele plasmă asupra genelor implicate în procesele de creștere ale plantei.

În acest context, prezentul studiu își propune să contribuie la completarea datelor referitoare la modul în care aplicarea plasmă influențează mecanismele moleculare și biochimice ale speciilor tratate. De asemenea, caracterul de originalitate al acestei cercetări derivă și din selecția câte unui reprezentant din 3 grupe diferite de plante, în situația în care majoritatea studiilor analizează probe care aparțin unei singure specii.

Limitele cercetării efectuate pot fi multiple, ținând cont de noutatea domeniului abordat și de faptul că literatura de specialitate este limitată, iar cercetătorii au testat metode foarte variate de tratament asupra unor specii diverse, cu indivizi aflați în stadii diferite de dezvoltare. Astfel, deși acest studiu analizează 3 specii diferite, există posibilitatea ca, prin selecția altor reprezentanți ai grupelor de plante de interes, răspunsul la apa tratată în plasmă să fie unul mult mai intens. De asemenea, cercetarea de față s-a axat pe analiza *in vitro* a probelor, însă extrapolarea variantelor experimentale și *in vivo*, cu siguranță ar fi oferit o imagine și mai amplă asupra efectelor produse. Nu în ultimul rând, dotarea laboratorului de biochimie la momentul efectuării experimentelor nu a permis realizarea unor analize mai complexe pentru identificarea eventualelor variații între loturile experimentale, iar o parte din genele analizate fie nu au fost influențate de tratamentele testate, fie primerii selectați nu au fost eficienți și nu s-a putut realiza analiza acestora.

1. Generalități despre plasmă

1.1. Ce este plasma la presiune atmosferică

Plasma reprezintă una din cele patru stări ale materiei, iar printre primii cercetători care au descris plasma se numără și Irving Langmuir la începutul secolului 20 (Goldston & Rutherford, 1995). Plasma este destul de similară cu un gaz, dar este alcătuită dintr-o combinație de electroni, ioni, atomi neutri, radicali și diverse molecule care prezintă sarcini electrice (Attri et al., 2021). Se consideră că mai mult de 99% din univers se găsește în stare de plasmă, excepție făcând corpurile cerești reci și sistemul planetar (Dave et al., 2018). Soarele, vânturile solare, stelele și aurora boreală sunt exemple de plasmă în stare naturală care se găsesc aproape de omenire (Peratt, 2015).

Ținând cont de temperatura componentelor plasmei, aceasta poate fi clasificată în plasmă caldă/termică sau plasmă rece/non-termică. Plasma rece este tipul care nu se află în echilibru termodinamic. Anumite componente sunt caracterizate de temperaturi scăzute, în timp ce electronii au temperaturi mai ridicate, fapt ce poate fi asociat cu niveluri scăzute de ionizare (Dave et al., 2018). Acest tip particular de plasmă se poate produce la temperaturi ambientale și poate fi utilizată atât în cercetarea biologică, dar și în cea medicală (Talviste et al., 2020). Prezentul studiu urmărește evaluarea efectelor plasmei reci la presiune atmosferică asupra semințelor.

1.2. Modalități de obținere a plasmei

1.2.1. Plasma produsă prin descărcare în barieră dielectrică

Primul cercetător care a dezvoltat și a utilizat descărcarea cu barieră dielectrică a fost Siemens, în anul 1857 (Kogelschatz et al., 1999). Această tehnică presupune utilizarea a doi electrozi metalici, unul fiind electrodul de înaltă tensiune și celălalt electrod de împământare. Între cei doi electrozi există un gaz, numit și gaz purtător, care este ionizat în momentul descărcării electrice și formează plasma. În acest scop, este necesară obținerea unui curent alternativ de tensiuni înalte, iar frecvențele se încadrează în intervalul kHz. De asemenea, deși principiul de bază este același, pot exista numeroase variații în ceea ce privește configurația electrozilor; spre exemplu aceștia pot fi cilindrici sau plăți, iar materialul dielectric poate acoperi doar un electrod sau pe ambii (Hoffmann et al., 2013).

1.2.2. Jet de plasmă cu radiofrecvență

Dezvoltarea tehnicii de producere a jeturilor de plasmă rece cu radiofrecvență aparține grupului de cercetători condus de către Koinuma, în anul 1992. În anii ce au urmat, numeroase îmbunătățiri au fost aduse acestui echipament, iar în anul 2004, Stoffels și colab. au anunțat crearea așa numitului *ac de plasmă* (plasma needle) ale cărui avantaje vizează în special dimensiunile reduse, acuratețea experimentelor fiind una mult crescută (Priatama et al., 2022).

1.3. Caracteristicile fizico-chimice ale apei tratate cu plasmă

Modularea proprietăților PAW include variații ale potențialului redox, ale conductivității și producerea de specii reactive de oxigen și azot (reactive oxygen and nitrogen species, prescurtate în continuare RONS) (Thirumdas et al., 2018). Potențialul de oxido-reducere al apei este corelat cu potențialul său de dezinfectie (Suslow, 2004) deoarece PAW participă la procesul de degradare al membranei celulelor bacteriene datorită unei capacități ridicate de oxidare (Ma et al., 2015). În plus, are loc o variație a ionilor de hidrogen produși în urma descărcării electrice, iar acest lucru determină o scădere a valorii pH-ului (Lee et al., 2020). Acidifierea PAW este cauzată de acumularea unor specii chimice precum acidul nitric (HNO_3) care are un rol important în activitatea antimicrobiană (Oehmigen et al., 2010).

Astfel, numeroase studii din literatură menționează scăderea pH-ului apei în urma tratamentului cu plasmă datorită producerii unor specii reactive care difuzează ulterior în soluția apoasă. În plus, depozitarea pe termen lung a PAW determină acidifierea pH-ului. După 70 de ore de stocare, se produce o scădere a pH-ului de la 2,07 la 1,5 (Shainsky et al., 2010), iar după 30 de zile de la 6,8 la 2,3, indiferent de temperatura de stocare (Shen et al., 2016).

1.4. Modificările chimice apărute la nivelul materialului vegetal în urma utilizării plasmei non-termice

Radicalii $\text{OH}\cdot$ sunt specii reactive cu durată scurtă de viață care apar în faza gazoasă, dar care se recombina rapid și sunt dificil de identificat. Acest inconvenient poate fi îndepărtat prin utilizarea spectroscopiei de emisie optică, tehnică prin care pot fi identificate amprente spectrale ale radicalilor $\text{NO}\cdot$ și $\text{OH}\cdot$, dar și atomii de H și O (Dufour et al., 2021).

2. Efectele tratamentului cu plasmă la presiune atmosferică în diverse domenii de interes

Ultimii ani au arătat o creștere accelerată a datelor obținute de către grupurile de cercetători în ceea ce privește testarea tratamentului cu plasmă în diverse domenii de interes. Varietatea speciilor reactive de oxigen și de azot care se produc în timpul generării plasmei produc efecte benefice atunci când sunt aplicate atât pe suprafețe biotice, cât și abiotice. În urma analizei articolelor care tratează problematica plasmei, cele mai comune arii de cercetare vizează domeniul medical, alimentar și agricol.

2.1. Efectele asupra alimentelor

Efectele plasmei au fost studiate atât pe fructe, cât și pe sucurile din fructe. Rezultatele indică faptul că plasma are capacitatea de a influența cantitatea de vitamine (Rodríguez et al., 2017), acidul ascorbic (Rodríguez et al., 2017), zaharuri (Rodríguez et al., 2017), amidon (Okyere et al., 2022) și carotenoizi (Ramazzina et al., 2015), cu scopul de a potența proprietățile nutritive ale sucurilor de fructe. În plus, tratamentul cu plasmă a fost aplicat și pe diferite tipuri de carne, precum cea de pui (Zhuang et al., 2019), porc (Kim et al., 2013) și vită (Sarangapani et al., 2017).

2.2. Efectele în domeniul medical

Datorită proprietăților sale chimice și fizice, plasma rece reprezintă o abordare terapeutică inovativă, utilizată în numeroase domenii de interes. Anumite aplicații includ sterilizarea suprafețelor (Mai-Prochnow et al., 2014) sau chiar a țesuturilor vii, precum pielea (Gan et al., 2018), dinții (Stancampiano et al., 2019) sau rănille cronice (Mirpour et al., 2020).

2.3. Efectele asupra materialului vegetal

Utilizarea plasmei reci în agricultură îmbunătățește atât germinația, cât și procesele de creștere (Recek et al., 2021; Volkov et al., 2020), cu efecte asupra proprietăților morfologice, precum modificări ale suprafeței seminței (Recek et al., 2021; Rüntzel et al., 2019), scăderea

unghiului de contact (Bormashenko et al., 2012) și variații ale expresiei genice (Holubova et al., 2021).

Conform datelor publicate de Departamentul de Cercetare Statistica (*Statista Research Center*) în anul 2024, la nivel global a avut loc dublarea cantității de pesticide, de la aproximativ 1,7 milioane de tone utilizate în anul 1990 până la aproximativ 3,54 milioane de tone metrice raportate în anul 2020 (<https://www.statista.com/statistics/1263077/global-pesticide-agricultural-use/>, accesat în data de 10.08.2024). Acest aspect indică importanța obținerii unor recolte bogate, care să supraviețuiască în condiții de stres biotic și abiotic, fără a fi luate în considerare și eventualele efecte secundare asociate utilizării acestor compuși chimici.

2.3.1. Decontaminarea materialului vegetal

Decontaminarea reprezintă o consecință a formării radiației UV și a radicalilor liberi, precum peroxidul de hidrogen și specii de azot (Varilla et al., 2020). Plasma prezintă o capacitate importantă de a inactiva o varietate largă de microorganisme, precum spori (Liao et al., 2019), biofilme (Mai-Prochnow et al., 2016) și virusuri (Filipić et al., 2020).

2.3.2. Modificări ale învelișului exterior al semințelor

Tratamentul cu plasmă afectează atât structura chimică, dar și rigiditatea suprafeței tratate (Lommatzsch et al., 2007). Deși există numeroase studii care demonstrează faptul că tratamentul cu plasmă are capacitatea de a potența absorbția apei și implicit germinația, nu se cunoaște mecanismul exact prin care se produce permeabilizarea suprafeței. O posibilă explicație ar putea fi reprezentată de oxidarea straturilor externe ale seminței și eliminarea atomilor de carbon prin molecule volatile. Printre efectele apărute în urma tratamentului cu plasmă se numără și slăbirea, abraziunea sau chiar ruperea structurilor originale (Stolárik et al., 2015). Toate aceste mecanisme produc schimbări ale stratului hidrofob și determină tranziția acestuia către un strat hidrofîl (Kim et al., 2006).

2.3.3. Scăderea unghiului de contact

Unghiul de contact poate fi măsurat atunci când interfața dintre lichid și aer întâlnește o suprafață solidă și reprezintă o modalitate de cuantificare a nivelului de umectare. Unghiurile

mai mici de 90° sunt corelate cu un nivel crescut de absorbție a apei, în timp ce unghiurile mai mari de 90° corespund unui nivel scăzut de umectabilitate (Bracco & Holst, 2013). Scăderea unghiului de contact este asociată cu hidrofilizarea învelișului seminței, condiție care facilitează accesul apei în interiorul seminței.

2.3.4. Germinația semințelor și dezvoltarea plantei

Au fost testate numeroase tehnici pentru a îmbunătăți procesele de creștere și mecanismele de protecție ale plantelor. Utilizarea plasmă reci poate fi o alternativă a tratamentelor convenționale care includ scarificarea fizică și tratamentele termice sau chimice (Dhayal et al., 2006).

2.3.5. Modificările moleculare ale tratamentului cu plasmă asupra semințelor

Tratamentul cu plasmă rece și PAW a fost intens studiat în ultimii ani datorită potențialului său de a modula germinația semințelor, dezvoltarea plantelor și răspunsurile moleculare la stres abiotic și biotic. Guo și colab. (Guo et al., 2017) au analizat efectul plasmă de tip DBD asupra semințelor de grâu, analizând expresia genelor LEA1, SnRK2 și P5CS, implicate în răspunsul la secetă. Rezultatele au arătat o stimulare a expresiei acestor gene atât în condiții de tratament cu plasmă, cât și în combinație cu seceta, sugerând activarea căilor dependente de acidul abscisic și acumularea de prolină. În schimb, expresia LEA1 a scăzut rapid în condițiile plasmă + secetă, indicând faptul că plasma nu influențează toate mecanismele protective asociate stresului abiotic.

Iranbakhsh și colab. (Iranbakhsh et al., 2018) au evidențiat importanța țesutului analizat, observând o creștere a expresiei genei HSFA4A în rădăcină la 3 ore după un tratament de scurtă durată, comparativ cu țesutul verde. Panngom și colab. (Panngom et al., 2014) au raportat activarea rapidă a genelor PR (pathogen resistant) în semințe de tomate infectate cu *Fusarium oxysporum*, atribuind acest răspuns speciilor reactive de oxigen și azot generate de plasmă. Rezultate similare au fost obținute de Adhikari și colab. (Adhikari et al., 2019) care au demonstrat că PAW induce expresia genelor de apărare într-o manieră dependentă de durata tratamentului și de tipul de țesut.

Dimensiunea epigenetică a tratamentului cu plasmă este susținută de mai multe studii. Adhikari și colab. (Adhikari et al., 2020) au evidențiat activarea genelor implicate în

homeostazia redox, rezistența la patogeni și modificări epigenetice, în special în cazul expunerilor mai lungi. Zhang și colab. (Zhang et al., 2017) au demonstrat demetilarea unor gene implicate în metabolism și creștere la *Glycine max*, confirmând rolul plasmăi ca modulator epigenetic.

În concluzie, tratamentul cu plasmă rece reprezintă o tehnologie promițătoare, însă efectele sale depind de specie, tipul plasmăi, durata expunerii și momentul analizei.

3. Generalități despre speciile de interes

3.1. *Phaseolus vulgaris*

3.1.1. Noțiuni generale

Fasolea (*Phaseolus vulgaris* L.) reprezintă o plantă importantă, cultivată peste tot în lume, fiind utilizată pentru semințele sale. În ceea ce privește consumul uman, fasolea este cea mai consumată leguminoasă și este o sursă importantă de proteine, vitamine, minerale și fibre pentru populații din lumea întreagă (Sathe et al., 1984)..

3.1.2. Efectele tratamentului cu plasmă non-termică asupra speciei *Phaseolus vulgaris*

Diversele boli care pot afecta semințele împiedică dezvoltarea sănătoasă a plantei și reduc productivitatea, iar semințele uscate de fasole pot fi contaminate în mod natural de diverși fungi. Cele mai utilizate metode de combatere a infectării cu agenți patogeni constau în utilizarea substanțelor chimice de tipul pesticidelor, care previn apariția bolilor (Gupta & Singh, 2020).

3.1.2.1. Abraziunea suprafeței externe a seminței

Modificările produse pot fi vizibile atât la nivel macroscopic prin încrețirea învelișului extern, dar și prin studii de microscopie electronică prin care se observă tranziția de la suprafața netedă, în cazul semințelor netratate, către o suprafață care prezintă numeroase depresiuni și abraziuni ale învelișului extern (Rüntzel et al., 2019).

3.1.2.2. Modificarea unghiului de contact

Efectele asupra învelișului seminței pot fi observate în articolul științific publicat de către Recek și colab. (Recek et al., 2021). Metoda de tratament a presupus expunerea directă a semințelor la sursa de generare a plasmă timp de 3 secunde, la presiunea de 10 Pa, iar în urma tratamentului cu plasmă, valoarea unghiului scade până la 10° și devine aproape insesizabil în urma expunerii timp de 3 secunde la sursa de generare a plasmă. Acest rezultat indică o suprafață foarte hidrofilă a seminței care absoarbe aproape în totalitate picătura de apă.

3.1.2.3. Stimularea proceselor de germinație și dezvoltare

Fan și colab (Fan et al., 2020) au analizat efectele tratamentului cu apă tratată cu plasmă timp de 15, 30, 60 și 90 de minute asupra semințelor de *Phaseolus vulgaris*. Rezultatele indică o stimulare a procesului germinativ pentru aproape toate variantele experimentale testate, cu excepția celei de incubare timp de 90 de minute. În legătură cu procesul germinativ, rezultate similare au fost obținute și de grupul de cercetători condus de Bormashenko (Bormashenko et al., 2012), care demonstrează creșterea vitezei de germinație în urma tratamentului direct cu plasmă, dar și de Volkov și colab. (Volkov et al., 2020) care prezintă atât o stimulare a dezvoltării radiclei în cazul tratamentului cu plasmă, dar și a creșterii efective a plantei în stadii ulterioare de dezvoltare.

3.2. Zea mays

3.2.1. Noțiuni generale

Porumbul este cea mai întâlnită cereală la nivel mondial (Qi et al., 2012). Datorită vastei distribuții și a prețului accesibil, porumbul prezintă numeroase utilizări. Spre exemplu, este important pentru alimentația umană, în procesarea industrială a alimentelor, ca hrană pentru animale și în industrii nealimentare, cum ar fi în producere de amidon, acizi și alcooli.

3.2.2. Efectele tratamentului cu plasmă non-termică asupra speciei Zea mays

Efectele tratamentului cu plasmă asupra semințelor de *Zea mays* au fost în principal studiate din punct de vedere morfologic și fiziologic. Spre exemplu, s-a observat stimularea

procesului germinativ și a dezvoltării ulterioare a plantei în studiile lui Sera (Šerá et al., 2021) și Sohan (Sohan et al., 2022). Aspectele ce țin de modificarea învelișului exterior al seminței pentru a permite creșterea nivelului de absorbție al apei a fost constatat de către Karmakar și colab. (Karmakar et al., 2021). De asemenea, în toate aceste studii s-a observat și o creștere cantitativă a enzimelor de tipul catalazei, superoxid dismutazei și ascorbat peroxidazei.

3.2.2.1. Decontaminarea semințelor

În mod natural, materialul vegetal reprezintă adăpost pentru numeroase microorganisme, iar concentrația normală se consideră a fi între 10² și 10⁶ unități formatoare de colonii/gram de semințe (Tancinová et al., 2001). În studiul efectuat de Zahoranová și colab. (Zahoranová et al., 2018), efectul de decontaminare al tratamentului cu plasmă asupra semințelor de porumb a fost testat atât pentru bacterii, cât și pentru fungi, iar tratamentul optim s-a dovedit a fi diferit în funcție de grupa de microorganisme analizată.

3.2.2.2. Suprafața externă a seminței

Efectele tratamentului cu plasmă asupra învelișului extern al semințelor a fost deseori analizat prin microscopie electronică, fiind raportată crearea unor zone de depresiuni și a unor fisuri prin care este stimulată absorbția apei. Rezultate similare sunt identificate și în studiul publicat de Karmakar și colab. (Karmakar et al., 2021).

3.2.2.3. Unghiul de contact cu apa

În studiul publicat de Zahoranova și colab. (Zahoranová et al., 2018) se observă faptul că unghiul de contact în cazul probelor netratate are valoarea de $107,9 \pm 4,1$, ceea ce indică o suprafață hidrofobă a seminței. În schimb, tratamentul direct cu plasmă duce chiar la înjumătățirea acestei valori ($55,9 \pm 3,9$), fapt care corespunde unei hidrofilizări a învelișului extern, corelată cu stimularea absorbției apei și cu debutul procesului germinativ.

3.2.2.4. Germinația semințelor și dezvoltarea plantei

Studiul realizat de Zahoranova și colab. (Zahoranová et al., 2018) indică faptul că efectele tratamentului cu plasmă rece sunt dependente de durata expunerii semințelor la sursa de generare a plasmiei. Grupul de cercetători coordonat de Henselova a raportat o serie de

efecte benefice ale tratamentului cu plasmă asupra germinației semințelor de porumb, în intervalul de tratament cuprins între 40 și 80 de secunde, cu valoarea optimă de 60 de secunde (Henselová et al., 2012).

În studiul publicat de Zahoranova și colab. (Zahoranová et al., 2018) se observă că tratamentul de 60 de secunde a stimulat dezvoltarea tulpinii cu 12% și a rădăcinii cu 35%, comparativ cu lotul netratat. Rezultate benefice pentru tratamentul timp de 60 de secunde asupra dezvoltării plantei au fost înregistrate și de Henselova și colab. (Henselová et al., 2012).

3.3. *Cucumis sativus*

3.3.1. Noțiuni generale

Castravetele (*Cucumis sativus* L.) aparține familiei Cucurbitaceae, care cuprinde 118 genuri și 825 de specii de plante (<http://www.faostat.fao.org/> faostat/). Se consideră că a apărut în India în urmă cu aproximativ 3.000 de ani, urmând să fie introdus în Europa de către greci și romani. Aproximativ 95% din consistența castravetelui reprezintă apă și este foarte important în prevenirea deshidratării, însă conține și o serie variată de vitamine, minerale și compuși esențiali pentru buna funcționare a organismului.

3.3.2. Efectele tratamentului cu plasmă non-termică asupra speciei *Cucumis sativus*

În literatura de specialitate, studiul efectelor tratamentelor cu plasmă/apă tratată în plasmă asupra semințelor de castravete reprezintă un domeniu foarte slab dezvoltat, alte legume fiind cele care prezintă un interes crescut, în special roșia. Dintre acestea, un studiu publicat în anul 2023 de un grup de cercetători din Nepal prezintă cea mai amănunțită cercetare și oferă informații valoroase despre modul în care se comportă semințele în urma contactului cu plasma (Guragain et al., 2023).

3.3.2.1. Decontaminarea materialului vegetal

Într-un studiu publicat în anul 2015, autorii au testat plasma la presiune atmosferică pentru a trata bucăți întregi de mere, roșii, castraveți și morcovi pentru intervale de timp diferite, expunerea maximă fiind de 10 minute (Baier et al., 2015). Rezultatele au variat în

cazul acestor specii; spre exemplu, castravetele și morcovul prezintă o suprafață mai rugoasă care permite acumularea de microorganisme patogene.

În studiul publicat de Yarrabi și colab. (Yarabbi et al., 2023) se înregistrează un efect pozitiv al tratamentului cu plasmă cu argon asupra probelor de castravete, având loc o scădere a încărcăturii microbiene.

3.3.2.2. Suprafața externă a seminței

Rezultatele observate în literatura de specialitate indică, în general, faptul că expunerea directă a semințelor la sursa de generare a plasmei provoacă modificări ale învelișului extern și crearea unor microfisuri care permit o absorbție crescută a apei. Stepanova și colab. (Štěpánová et al., 2018) au expus semințele de castravete timp de 20 de secunde la sursa de generare de plasmă, iar în urma analizei probelor prin microscopie electronică, au observat faptul că nu există modificări ale stratului extern al semințelor. Cu toate acestea, analiza mai detaliată prin Spectroscopie Fotoelectronică cu raze X indică o serie de variații în ceea ce privește structura chimică a învelișului seminței care, însă, nu pot fi detectate și prin microscopie.

3.3.2.3. Unghiul de contact cu apa

Un studiu publicat în anul 2023 (Guragain et al., 2023) a analizat semințele de *Cucumis sativus* utilizând metoda picăturii sesile, cu ajutorul software-ului DROP. Valoarea inițială a unghiului de contact a fost $72,05 \pm 1,05^\circ$, iar în urma tratamentului a scăzut la $30,46 \pm 7,16^\circ$.

3.3.2.4. Germinația semințelor și dezvoltarea plantelor

Efectele benefice ale tratamentului cu plasmă cu argon asupra germinației și dezvoltării materialului vegetal sunt prezentate de către Guragaian și colab. (Guragain et al., 2023). Astfel, în cea de-a 16-a zi de la plantarea probelor a fost analizat procentul total de semințe germinate, iar expunerea la plasmă timp de 1 minut a determinat o creștere de 13% a procentului germinativ, în timp ce expunerea mai îndelungată (7 minute), a favorizat o stimulare mai accentuată, și anume de 20%.

Stepanova și colab. (Štěpánová et al., 2018) au analizat efectele tratamentului direct cu plasmă asupra semințelor de castravete în cazul a 3 timpi diferiți de expunere a semințelor la sursa de generare a plasmei, și anume: 10, 20 și 30 de secunde. Expunerea de 20 secunde a

determinat cea mai mare creștere a germinației (96%), în timp ce perioada de 10 secunde a determinat o creștere de 2 procente, iar cea de 30 de secunde o creștere de 1 procent.

4. Gene implicate în dezvoltarea plantelor și rezistența la factori biotici și abiotici de stres

În cadrul acestui studiu au fost analizate diverse gene implicate în dezvoltarea plantelor și în răspunsul acestora la factori de stres.

a) ABA 8'-hidroxilaza

Acidul abscisic reprezintă un hormon care, la plante, are rol esențial în desfășurarea normală a proceselor de dezvoltare și în reglarea răspunsului adaptativ la diverși factori de stres, cu efecte variabile în funcție de stadiul de creștere al plantelor (Mizutani & Todoroki, 2006). Calea catabolică se realizează predominant prin hidroxilarea în poziția Carbon 8, reacție catalizată de ABA 8'-hidroxilază.

b) CCD1 (carotenoid cleavage dioxygenase)

Familia de gene CCD este alcătuită de fapt din două subfamilii: CCD și NCED (9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase) (Cheng et al., 2022). Carotenoidul este un polimer care conține 40 de atomi de carbon și absoarbe lumina în spectrul UV și lumină albastră.

c) Familia DREB

Familia de gene DREB (Dehydration-Responsive Element-Binding) codifică factori de transcriere foarte importanți în reglarea expresiei a numeroase gene implicate în rezistența la factorii abiotici. Proteinele codificate de genele DREB1, DREB2 și DREB6 au rol atât în căi diferite de semnalizare implicate în răspunsul expunerii la factori de stres abiotic, cât și în reglarea expresiei genei ERF (Ethylene Responsive Factor) (Wu et al., 2022).

d) ERF (Ethylene Responsive Factor)

Factorii de transcriere ERF (Ethylene Responsive Factor) joacă un rol esențial în diverse procese asociate dezvoltării plantei, reglarea hormonală, imunitate și în răspunsul la diverși factori de stres (Hong et al., 2022; Lee et al., 2016; Tiwari et al., 2012).

e) LEA (Late Embryogenesis Abundant)

Informațiile adunate până în prezent cu privire la expresia genei LEA indică faptul că aceasta codifică o proteină de stres cu rol multifuncțional, implicată în menținerea în limite normale a proceselor metabolice în diferite condiții (Magwanga et al., 2018). Expresia genei LEA este indusă de ABA (Hundertmark & Hinch, 2008).

f) MYB (myeloblastosis)

Factorii de transcriere MYB aparțin unei familii numeroase de gene cu efecte multiple în procese importante ale plantelor, precum dezvoltarea materialului vegetal, reacțiile metabolice primare și secundare, precum și în răspunsul față de factori de stres abiotic (Cao et al., 2016; Cao et al., 2013; Du et al., 2012).

g) MYC (myelocytomatosis)

Rolul genelor MYC în ceea ce privește plantele este unul divers, acestea fiind implicate în numeroase procese de reglare a creșterii și dezvoltării plantelor. De asemenea, genele MYC sunt implicate în dezvoltarea plantei mediată de acidul iasminic, dar participă și în reglarea ritmului circadian al plantelor și influențează o gamă variată de fitohormoni (Song et al., 2022).

h) POR (Protochlorofilidă oxidoreductaza)

Proteinele POR1 și POR2 (protochlorofilidă oxidoreductaza) prezintă o identitate comună în proporție de 75%, însă pattern-uri diferite în ceea ce privește reglarea dezvoltării plantelor (Masuda et al., 2002). Enzimele POR1 și POR2 au rol în cataliza uneia din etapele târzii ale sintezei clorofilei, reprezentată de reducerea protochlorofilidei în clorofilidă, indusă de energia luminoasă în prezența NADPH (Garrone et al., 2015).

i) PP2C (protein-fosfataza 2C)

Gena PP2C este puternic implicată în răspunsul plantei la diverși factori de stres prin faptul că influențează numeroase procese metabolice, intervine în reglarea nivelului hormonal și determină producerea factorilor de creștere (Wu et al., 2023).

j) P5CS (1-pyrroline-5-carboxylate synthetase)

Prolina reprezintă o componentă foarte importantă în reglarea sintezei proteice la nivelul plantei (Kishor et al., 2015). Acumularea de prolină este dependentă de stimularea

genei P5CS, care induce formarea unei sintaze 1-pirolin-5-carboxilat, cu rol în catalizarea primei reacții din cursul formării acestui aminoacid (Kishor et al., 2015).

k) WRKY

Familia factorilor de transcripție WRKY este implicată în procesele de adaptare ale plantelor la o gamă variată de factori de stres (Bai et al., 2018; Guo et al., 2022; Jiang et al., 2017; Ma & Hu, 2024). Acești factori de transcriere intervin și în modularea unor căi metabolice care includ producerea de acid abscisic, acid iasmonic, acid salicilic, dar și preluarea speciilor reactive de oxigen și de azot care pot dăuna activității interne celulare (Guo et al., 2022).

PARTEA EXPERIMENTALĂ

5. Materiale și metode

5.1. Materialul biologic

Materialul biologic provine din colecția Băncii de Resurse Genetice Vegetale „Mihai Cristea” Suceava. Criteriul de selecție a constat în capacitatea germinativă a probelor, care a fost înregistrată în cadrul Laboratorului de Viabilitate. În acest caz, s-a dorit testarea a două probe care prezintă procente de germinație diferite (70%, respectiv 100%). Astfel, se dorește a se constata dacă tratamentul cu plasmă poate determina creșterea procentului germinativ și/sau a creșterii vitezei de germinație. De asemenea, sunt realizate observații și în stadiile ulterioare de dezvoltare ale plantelor pentru a observa dacă eventualele efecte benefice ale tratamentului cu plasmă sunt conservate pe termen lung.

Astfel, au fost selectate câte două probe pentru fiecare specie, una din ele fiind raportată ca având procentul germinativ de 70%, iar cea de-a doua de 100%. Materialul vegetal ce aparține speciei *Phaseolus vulgaris* și a fost înregistrat în sistemul intern al Băncii ca având un procent germinativ de 70%, va fi abreviat Pv70, în timp ce probele înregistrate cu germinație 100% vor fi denumite Pv100. În mod similar se procedează și pentru probele ce aparțin speciei *Zea mays*: Zm70 și Zm100, dar și speciei *Cucumis sativus*: Cs70 și Cs100. Aceste valori nu reprezintă valorile germinative obținute în studiul de față, ci procentele raportate anterior de către Laboratorul de Viabilitate din cadrul instituției.

5.2. Producerea de apă tratată în plasmă

Apa tratată în plasmă a fost obținută în Centrul de cercetări avansate în fizica plasmei din Iași (IPARC), din cadrul Facultății de Fizică, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza” din Iași. Metoda de generare a plasmei la presiune atmosferică a fost bazată pe principiul descărcării cu barieră dielectrică (engl. Dielectric Barrier Discharge - DBD), ceea ce presupune existența a doi electrozi metalici (unul de tip pin metalic și al doilea de tip folie metalică) separați de un dielectric din sticlă care conține volumul apei de tratat (Figura 2). Spațiul de descărcare dintre electrozul de tip pin și suprafața apei este de aproximativ 5 mm, iar tensiunea selectată pentru străpungerea electrică a aerului din spațiul descărcării a fost de 19 kV (vârf-la-vârf).

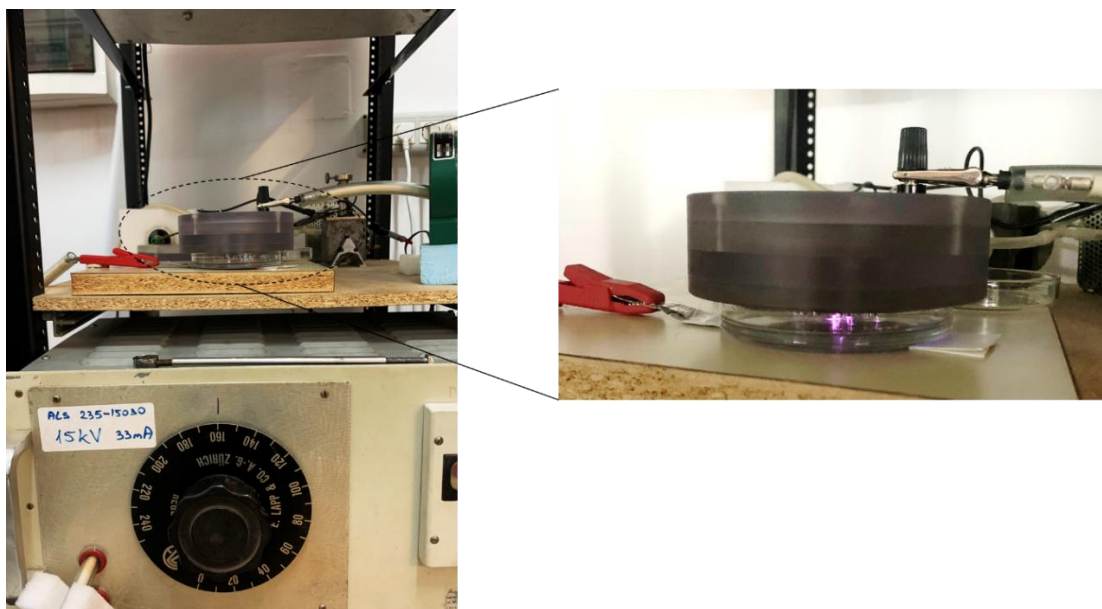


Figura 2. Expunerea apei la sursa de generare a plamei cu puterea de 19 kV și amplitudinea de 15 kV, la Centrul de cercetări avansate în fizica plasmei (IPARC), Facultatea de Fizică, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza” Iași

5.3. Germinația probelor

Pentru fiecare din cele 3 specii, au fost realizate câte 4 variante experimentale (25 semințe/variantă), iar design-ul experimental este schematizat în Figura 3:

- **UW** – utilizarea exclusivă a apei netratate (untreated water, prescurtată în continuare UW);
- **KNO₃+UW** – utilizarea unei soluții de KNO₃ 0,2% cu care au fost pulverizate semințele înainte de a fi puse la germinat, urmând ca mai apoi să fie utilizată apă netratată;
- **PAW+UW** – utilizarea până la prima evaluare a procesului germinativ (5 zile – *Phaseolus vulgaris*, 4 – *Zea mays*, 3 – *Cucumis sativus*) a apei tratate în plasmă (PAW), ulterior semințele fiind expuse doar la apă netratată (UW);
- **PAW** – utilizarea exclusivă a apei tratate în plasmă (PAW).

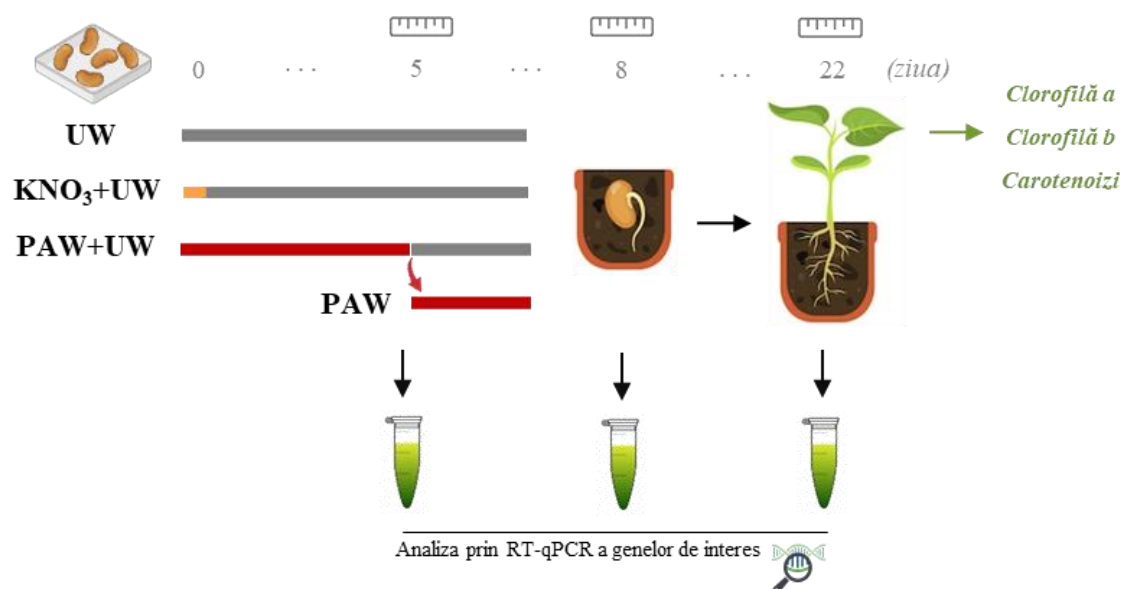


Figura 3. Schematizarea design-ului experimental la care au fost supuse semințele ce aparțin speciei *Phaseolus vulgaris* și analizele efectuate: determinarea lungimii probelor și evaluarea expresiei genelor de interes în zilele 5, 8 și 22 și analiza pigmentilor asimilatori în ziua 22.

La finalul perioadei de germinație (ziua 8 – *Phaseolus vulgaris*, ziua 7 – *Zea mays* și *Cucumis sativus*), câte 5 semințe germinate din fiecare variantă experimentală au fost plantate în pământ și acestea și-au continuat dezvoltat pentru încă 14 zile. Probele au fost supuse procesului germinativ într-o cameră de creștere *Binder*, la umiditate 75%, cu o temperatură alternantă de 20°C timp de 8 ore și 30°C timp de 16 ore pentru toate cele trei specii analizate.

5.4. Metode de determinare a germinației semințelor

Pentru a caracteriza semințele din punctul de vedere al germinației, au fost calculați următorii parametri de germinație: **procentul germinației, procent relativizat, indicele germinației, timpul mediu pentru germinație, timpul necesar pentru germinația unui anumit procent din semințele testate.**

5.5. Plantarea probelor în pământ

În a 8-a zi de germinație, câte 5 semințe germinate din fiecare variantă experimentală au fost mutate în pământ pentru a-și continua dezvoltarea. S-au utilizat ghivece de plastic de 6x6 cm, în care s-au adăugat aproximativ 30 grame de pământ. Probele au fost ulterior plasate

într-o cameră climatică și au fost udate zilnic cu câte 2 ml apă netratată/apă tratată în plasmă, în funcție de varianta experimentală, timp de 14 zile.

5.6. Izolarea ARN

Pentru izolarea ARN au fost prelevați câte 5 indivizi din fiecare variantă experimentală. Prelevarea s-a realizat în tuburi de 1,5 mL în care s-a adăugat soluție RNA Save (RNA Save, Biological Industries). Probele au fost păstrate la temperatura de -80°C în soluție până la momentul realizării experimentelor de izolare de ARN. Izolarea de ARN s-a realizat utilizând kitul de la Promega (SV Total RNA Isolation System).

5.7. Cuantificarea ARN

Cuantificarea calitativă și cantitativă a ARN izolat s-a realizat cu ajutorul unui spectrofotometru cu citire în microvolume NanoDrop™ One Microvolume UV-Vis Spectrophotometer.

5.8. Etapa de reverstranscriere

Reacția de reverstranscriere s-a realizat utilizând kit-ul *GoScript™ Reverse Transcription System*, Promega.

5.9. Reacția Real Time quantitative PCR (RT-qPCR)

În studiul de față s-a utilizat kit-ul *GoTaq qPCR Master Mix*, Promega. Genele de interes, în funcție de specia analizată, au fost următoarele: *Phaseolus vulgaris*: ABA8'H, DREB1, DREB2A, DREB6B, DOX, ERF, LEA3, NCED3, POR1, POR2, PP2C, P5CS10, WRKY53; *Zea mays*: ABA8'H, CCD1, DREB1, LEA, MYB, MYC, PP2C, POR, WRKY53; *Cucumis sativus*: ABA8'H, ERF110, LEA2, MYB, P5CS, PP2C, POR, WRKY2.

Analiza RT-qPCR s-a realizat prin metoda cuantificării relative ($2^{-\Delta\Delta CT}$). Valorile obținute pentru probele testate au fost interpretate din punct de vedere statistic utilizând software-ul GraphPad, iar metoda de analiză a fost One Way Anova.

5.10. Analiza morfologică a probelor

Analizele morfologice presupun, pentru început, măsurarea celor 5 indivizi din toate cele 4 variante experimentale. S-a utilizat un şubler electronic pentru determinarea lungimii radiclei în zilele 5 şi 8 a germinaţiei pentru fasole, 4 şi 7 la porumb, 3 şi 7 la castravete.

5.11. Determinarea cantităţii de pigmenţi asimilatori

Pentru determinarea clorofilei A, B şi a carotenoizilor din probele de interes s-a utilizat un protocol adaptat după Sumanta et al., 2014.

5.12. Determinarea pH-ului pentru apa tratată în plasmă

După 3 luni în care PAW a fost depozitată la -80°C, s-a determinat pH-ul cu ajutorul pH-metru portabil. Înaintea determinării pH-ului probelor de interes, a fost realizată o curbă de calibrare pentru valorile 4,01, 7 şi 10,01.

6. Rezultate și discuții

6.1. Analiza pH-ului apei netratate comparativ cu PAW

Valoarea pH-ului obținută pentru apa netratată este de 5,06, comparativ cu apa tratată în plasmă, care prezintă un pH de 3,25. Astfel, se observă acidifierea PAW, rezultat care este asemănător cu observațiile din literatură care susțin faptul că acumularea de specii reactive de oxigen și de azot, precum acidul nitric, favorizează scăderea valorilor pH-ului (Adhikari et al., 2019; Ma et al., 2016).

6.2. *Phaseolus vulgaris*

6.2.1. Evaluarea procesului germinativ

Rezultatele obținute pentru proba Pv70 evidențiază o influență pozitivă a tratamentelor aplicate asupra germinației semințelor, comparativ cu varianta control (UW). Cel mai scăzut procent germinativ a fost înregistrat la varianta UW (60%), în timp ce toate celelalte tratamente au determinat creșteri semnificative, valoarea maximă fiind observată pentru combinația PAW+UW (84%). Aceste tendințe sunt confirmate și de indicele germinației și procentul relativ al germinației. În plus, analiza timpului mediu de germinație indică cea mai mică valoare pentru varianta PAW+UW (4,95 zile), asociată cu o viteză superioară de germinare, în timp ce tratamentul KNO_3 +UW prezintă cea mai mare durată a procesului, în ciuda unui procent germinativ ridicat.

Evaluarea indicilor T10, T25, T50, T75 și T90 arată valori similare între variante pentru germinația inițială, însă pentru procente superioare (50–90%) cele mai scăzute valori sunt înregistrate la tratamentele cu PAW, confirmând atât creșterea procentului germinativ, cât și accelerarea procesului comparativ cu martorul.

În cazul probei Pv100, care prezintă un potențial germinativ maxim, tratamentul cu PAW a condus la reducerea timpului mediu de germinație, cele mai mici valori fiind obținute pentru PAW+UW și PAW, față de varianta control. Diferențele devin mai evidente la procente ridicate de germinație, unde tratamentul cu PAW reduce semnificativ durata procesului, evidențiind rolul favorabil al apei tratate cu plasmă asupra vitezei germinației.

6.2.2. Evaluarea parametrilor de creștere ai plantei

Pentru proba Pv70, analiza lungimii radiclei indică absența unor diferențe semnificative între variantele experimentale atât în ziua a 5-a, cât și în ziua a 8-a a germinației. Aceste rezultate sugerează că, deși tratamentul cu apă tratată în plasmă (PAW) a stimulat procentul de germinare, acesta nu a accelerat dezvoltarea timpurie a plantulelor. De asemenea, tratamentul cu azotat de potasiu nu a determinat îmbunătățiri relevante asupra creșterii radiclei. Observațiile realizate în ziua a 14-a de dezvoltare în pământ confirmă aceste constatări, întrucât nici PAW, nici KNO_3 nu au condus la creșteri ale părții subterane, supratereane sau ale lungimii totale comparativ cu varianta control.

În cazul probei Pv100, diferențele de creștere sunt mai evidente. Deși în ziua a 5-a variațiile sunt reduse, se observă o tendință de stimulare a alungirii radiclei sub influența PAW. În ziua a 8-a, tratamentele cu PAW determină creșteri semnificative ale lungimii radiclei față de martor, efect mai pronunțat decât în cazul azotatului de potasiu. Rezultatele obținute în ziua a 14-a arată valori de până la 1,5 ori mai mari pentru lungimea totală a plantelor tratate cu PAW comparativ cu UW, atât pentru aplicarea temporară, cât și permanentă. Tratamentul cu KNO_3 a generat valori apropiate de cele obținute cu PAW+UW, fără diferențe semnificative față de PAW, indicând un efect benefic moderat asupra dezvoltării plantelor (Figura 4).

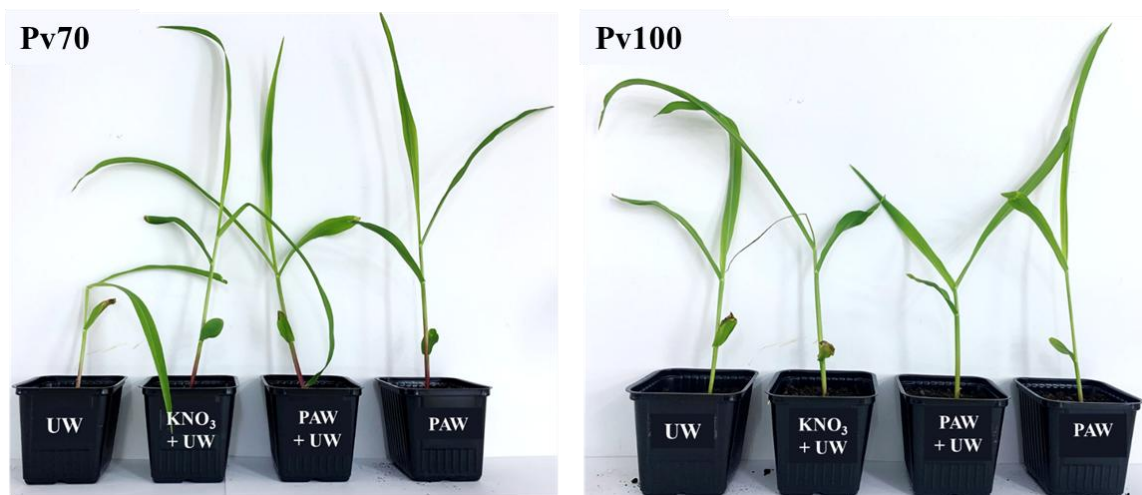


Figura 4. Selectarea câte unui individ din fiecare din cele 4 variante experimentale în cazul speciei *Phaseolul vulgaris*, cu scopul observării stadiului diferit de dezvoltare (ziua a 14-a în pământ)
(UW – apă netratată, KNO_3 – soluție azotat de potasiu, PAW – apă tratată în plasmă)

6.2.3. Evaluarea cantității de clorofilă a, clorofilă b și carotenoizi

Rezultatele obținute în urma analizelor biochimice nu prezintă diferențe semnificative între variantele experimentale diferite ce aparțin probei Pv70, fiind înregistrată chiar o scădere a valorilor. În schimb, pentru proba Pv100 se observă o ușoară creștere a cantității de clorofilă a, b și carotenoizi în toate variantele de tratament. Acest rezultat susține dezvoltarea accentuată a plantei din punct de vedere morfologic.

6.2.4. Evaluarea expresiei unor gene implicate în răspunsul la tratamentul cu apă tratată în plasmă la specia *Phaseolus vulgaris*

Analiza expresiei genelor implicate în germinație, răspuns la stres și dezvoltarea plantelor evidențiază un efect complex și dependent de timp al tratamentelor aplicate, în special al apei tratate în plasmă (PAW), asupra probelor Pv70 și Pv100. În cazul genei **ABA8'H**, implicată în catabolismul acidului abscisic, rezultatele susțin datele fiziologice privind accelerarea procesului germinativ. Inhibarea expresiei acestei gene este asociată cu reducerea nivelului de ABA și, implicit, cu stimularea germinației și dezvoltării timpurii. Pentru proba Pv70, o scădere semnificativă statistic a expresiei a fost observată în ziua a 8-a pentru varianta PAW comparativ cu controlul UW, în timp ce pentru proba Pv100 valorile similare din zilele 5 și 8 reflectă procente germinative apropiate. În ziua a 22-a, reducerea expresiei ABA8'H în condiția PAW, semnificativă pentru Pv100, este corelată cu intensificarea proceselor metabolice, dezvoltarea normală a cloroplastelor și stimularea creșterii radiculare, confirmând rolul favorabil al PAW în etapele ulterioare de dezvoltare.

Expresia genei **P5CS10**, asociată biosintezei prolinei și toleranței la stres, prezintă o creștere accentuată în ziua a 5-a pentru toate variantele tratate, atât cu KNO₃, cât și cu PAW, pentru ambele probe. Diferențele față de lotul control sunt semnificative statistic, indicând o activare timpurie a mecanismelor de adaptare și protecție celulară. În zilele ulterioare, nivelurile de expresie tind să se egalizeze între variante, sugerând că stimularea inițială indusă de tratamente permite atingerea rapidă a unui nivel funcțional optim, comparativ cu controlul, unde expresia rămâne constant mai scăzută. Aceste date susțin ipoteza conform căreia expresia crescută a P5CS10 în primele faze de dezvoltare contribuie atât la accelerarea germinației, cât și la creșterea rezistenței plantelor la factorii de stres.

În cazul genei **LEA3**, asociată toleranței la desicare, tratamentele cu PAW nu au determinat modificări semnificative ale expresiei, cu excepția unei creșteri izolate pentru proba

Pv100 în ziua a 8-a, în condiția de tratament temporar. Acest rezultat sugerează că PAW nu induce un stres hidric sever, ci acționează mai degrabă prin optimizarea proceselor metabolice.

Răspunsul genei **PP2C**, componentă importantă a căii de semnalizare ABA, indică o dublare a expresiei în ziua a 5-a sub influența PAW pentru ambele probe, cu semnificație statistică în cazul Pv100. Acest răspuns timpuriu sugerează o adaptare rapidă la condițiile induse de tratament, însă lipsa diferențelor semnificative în zilele 8 și 22 indică stabilizarea proceselor fiziologice pe măsura avansării dezvoltării.

Genele din familia **DREB** (DREB1, DREB2 și DREB6), implicate în răspunsul la stres abiotic, prezintă un pattern similar, caracterizat printr-o stimulare puternică în ziua a 5-a sub acțiunea tratamentelor cu KNO₃ și PAW. În special în cazul PAW, această stimulare se menține și în ziua a 8-a pentru anumite gene și probe, evidențiind un răspuns adaptativ susținut. În ziua a 22-a, diferențele dintre variante dispar, sugerând că efectul tratamentelor este predominant în fazele timpurii ale dezvoltării.

Expresia genei **ERF**, asociată reglării creșterii și răspunsului la stres, este semnificativ crescută în ziua a 5-a, mai ales sub influența PAW, pentru ambele probe. În etapa finală a experimentului, stimularea expresiei este asociată în special cu tratamentul cu KNO₃, indicând efecte diferențiate ale tratamentelor în funcție de momentul aplicării.

Pentru gena **MYB07**, implicată în reglarea transcripțională a proceselor de dezvoltare, se observă o scădere semnificativă a expresiei în ziua a 5-a în urma tratamentelor cu KNO₃ și PAW, ceea ce sugerează o dereglare temporară a mecanismelor de control în favoarea accelerării germinației. Ulterior, expresia tinde să se normalizeze, iar în ziua a 22-a tratamentul cu KNO₃ determină o creștere semnificativă pentru proba Pv70.

Genele **POR1** și **POR2**, implicate în biosinteza clorofilei, prezintă o creștere semnificativă a expresiei în special sub influența PAW, în ziua a 5-a, pentru ambele probe. Rezultatele obținute în ziua a 22-a pentru POR2, în special pentru proba Pv100, susțin datele biochimice privind creșterea conținutului de clorofilă A și carotenoizi, confirmând rolul PAW în stimularea proceselor de dezvoltare și fotosinteză.

În cazul genei **WRKY53**, expresia este scăzută în fazele incipiente, urmată de o stimulare tranzitorie în ziua a 8-a, în special în variantele tratate cu PAW sau PAW+UW. În etapa finală, nivelurile de expresie devin similare între toate variantele, indicând un efect temporar al tratamentelor asupra acestei căi de reglare.

O parte din rezultatele obținute în ceea ce privește modularea expresiei genelor de interes pot fi observate în Figura 5.

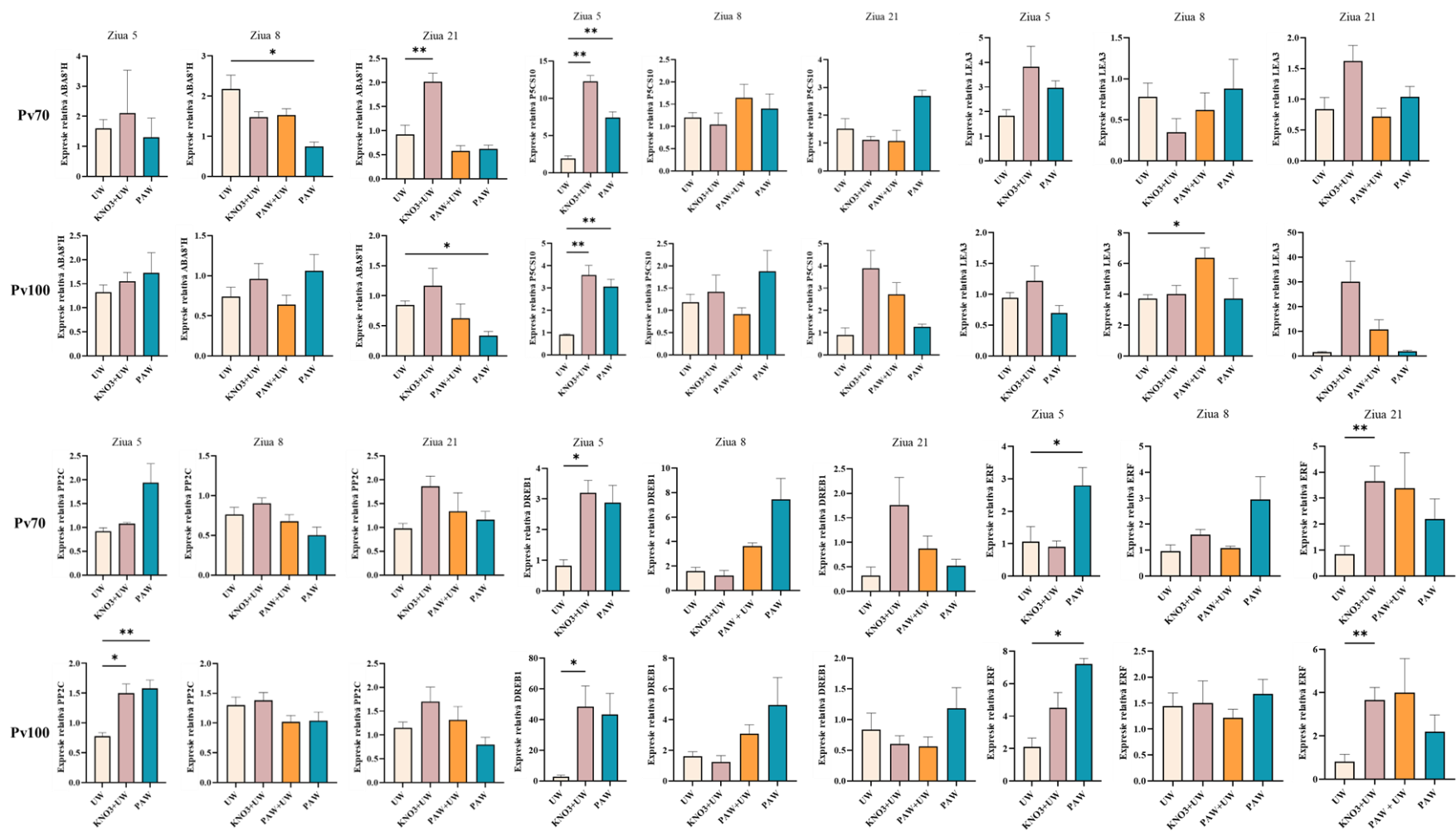


Figura 5. Evidențierea expresiei genice în cazul probelor ce aparțin speciei *Phaseolus vulgaris*, pentru o parte din genele studiate: ABA8'H, P5CS10, LEA3, PP2C, DREB1 și ERF (UW – apă netratată, KNO₃ – soluție azotat de potasiu, PAW – apă tratată în plasmă)

6.3. *Zea mays*

6.3.1. Evaluarea procesului germinativ

Similar rezultatelor obținute în ceea ce privește germinația pentru specia *Phaseolus vulgaris* în cazul probei Zm70 (înregistrată cu germinația 70%), și în cazul speciei *Zea mays* tratamentul cu PAW a reușit să crească procentul germinativ de la 60%, în cazul cazului variantei UW, la 84%. De fapt, creșterea numărului de semințe germinate a avut loc în toate cele 3 loturi experimentale cu același procent ($KNO_3 + UW = PAW + UW = PAW = 84\%$). Acest aspect susține posibilitatea înlocuirii utilizării soluției de azotat de potasiu cu PAW, aceasta având costuri reduse și numeroase avantaje asupra proceselor de creștere ale plantelor.

Creșterea numărului de semințe germinate este asociat și cu o viteză mai crescută de germinație a semințelor, așa cum se poate observa din valorile obținute pentru indicii T10, T25, T50, T75, T90. Cea mai mare diferență se înregistrează în cazul T90, valoarea fiind de 5,3 zile în cazul UW, 3,6 zile pentru KNO_3 și 3,8 zile pentru PAW+UW și PAW. Acesta este un alt exemplu de situație în care nu există diferențe între varianta de tratament temporar/permanent, utilizarea PAW fiind importantă la începutul dezvoltării materialului vegetal.

Pentru proba Zm100, rezultatele privind indicii germinativi nu relevă diferențe între loturile de tratament analizate în acest studiu. Atât numărul semințelor germinate, cât și timpul necesar protruziei radiclei prezintă valori similare atât în ceea ce privește udarea semințelor cu apă netratată, cât și stimularea cu azotat de potasiu sau apă tratată în plasmă.

6.3.2. Evaluarea parametrilor de creștere ai plantei

Privind evoluția lungimii radiclei în prima și a doua zi a evaluării germinației, se poate observa în cazul probei Zm70 o accelerare a dezvoltării semințelor, indusă de tratamentul cu apă tratată în plasmă. În primele 4 zile este observată o tendință ridicată de dezvoltare a radiclei, ulterior având o creștere mai lentă.

În cazul probei Zm100, se observă o creștere a lungimii radiclei la prima evaluare a procesului germinativ ($UW = 9,9\text{mm}$; $PAW = 14,1\text{mm}$). În cea de-a doua zi a evaluării germinației se remarcă o uniformizare a valorilor obținute pentru toate variantele experimentale testate.

Aspectele surprinse în Figura 6 susțin rezultatele menționate anterior, conform cărora în cazul probelor de porumb cu germinația 70% (Zm70), tratamentul cu apă tratată în plasmă a determinat creșterea numărului de semințe care au germinat, în timp ce, pentru proba Zm100 (100%), a avut loc o accelerare a dezvoltării seminței, acest lucru fiind dovedit de lungimi mai mari ale rădăcilor.

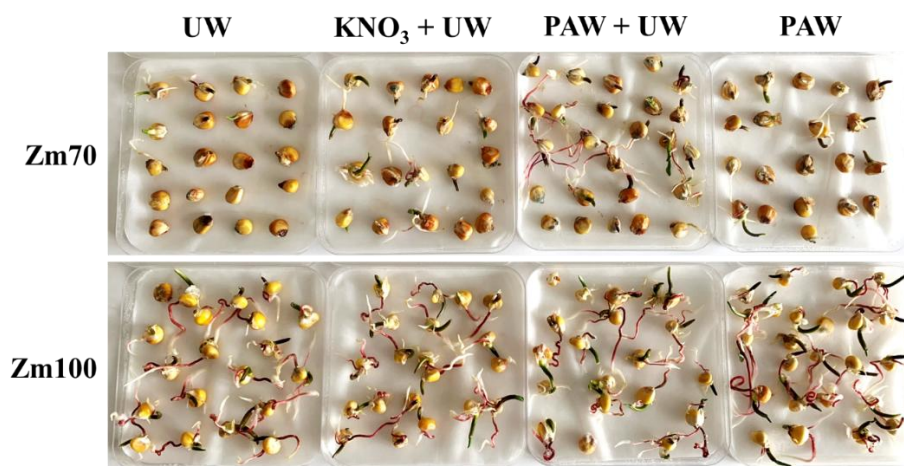


Figura 6. Privire de ansamblu a plăcilor de creștere în care au fost supuse procesului germinativ semințe de *Zea mays*, în 4 variante experimentale (ziua a 7-a)

UW – apă netratată, KNO_3 – soluție azotat de potasiu, PAW – apă tratată în plasmă

De asemenea, efectele diferite pe care cele 4 variante experimentale le-au exercitat asupra probelor analizate poate fi analizat în Figura 7. Astfel, prin selectarea câte unui individ din fiecare probă (Zm70, respectiv Zm100) și plasarea acestora unul lângă altul, este vizibil efectul de stimulare a proceselor de creștere în cazul probei Zm70 și dezvoltarea relativ similară din cazul probei Zm100.



Figura 7. Selectarea câte unui individ din fiecare din cele 4 variante experimentale, în cazul speciei *Zea mays*, cu scopul observării diferitelor stadii de dezvoltare în ziua 21 a experimentului

Analizând lungimea rădăcinii, a tulpinii și lungimea totală a plantelor de porumb obținute după 14 zile de la plantarea în pământ, valorile obținute în cazul probei Zm70 indică un efect benefic pe care stimularea cu PAW l-a avut asupra dezvoltării plantelor. Atât lungimea rădăcinii, cât și a tulpinii în cazul plantelor stimulate cu PAW prezintă valori mult crescute față de lotul control, aproximativ de 4 ori mai mari (ex: tulpina UW = 7,1 mm, tulpina PAW = 28,5 mm).

Tratamentul cu KNO₃ prezintă rezultate care sunt cuprinse între valorile pentru UW și PAW, însă mai apropiate de cele pentru PAW. Acest fapt sugerează faptul că, în ciuda efectelor pozitive pe care le are tratamentul cu KNO₃, utilizarea PAW este mai eficientă, efectele fiind semnificative.

Diferențele dintre tratamentul temporar și cel permanent sunt infime, ceea ce sugerează importanța aplicării PAW în primele zile ale dezvoltării semințelor, atunci când compușii chimici existenți în apa tratată iau contact cu suprafața seminței.

În ceea ce privește dezvoltarea plantelor ce aparțin probei Zm100, se poate observa faptul că rezultatele sunt similare între probele analizate și nu apar efecte stimulative ale azotatului de potasiu sau al apei tratate în plasmă. Acest lucru poate fi explicat și prin faptul că proba a prezentat o capacitate germinativă bună încă de la început și nu au fost necesare tratamente suplimentare.

6.3.3. Evaluarea cantității de clorofilă A, clorofilă B și carotenoizi

Rezultatele obținute în urma analizelor biochimice pentru proba Zm70, nu prezintă diferențe semnificative din punct de vedere statistic. Însă, în cazul probei Zm100, se observă diferențe semnificative din punct de vedere statistic în cazul analizei Clorofilei A și a cantității de carotenoizi. Pentru clorofila A, prin comparația valorii obținute în cazul tratamentului permanent cu PAW cu lotul control, se înregistrează $p = 0,0486$ (*), iar pentru analiza carotenoizilor diferența între aceleași variante experimentale este $p = 0,0376$ (*).

6.3.4. Evaluarea expresiei unor gene implicate în răspunsul la tratamentul cu apa tratată în plasmă la specia *Zea mays*

Analiza expresiei genelor investigate la nivelul speciei *Zea mays* evidențiază un răspuns moderat și dependent de timp la tratamentele aplicate, cu efecte diferențiate în funcție de probă și stadiul de dezvoltare. În cazul genei **ABA8'H**, nu au fost identificate diferențe

semnificative statistic în majoritatea analizelor, cu excepția zilei 21 pentru proba Zm100, când toate variantele de tratament au determinat o scădere semnificativă a nivelului de expresie. Această reducere este asociată cu diminuarea degradării hormonului ABA și sugerează activarea unor mecanisme de adaptare și protecție, chiar în absența unor diferențe morfologice evidente față de lotul control.

Expresia genei **CCD1** a fost foarte redusă în cazul probei Zm70, fără variații semnificative între tratamente. În schimb, pentru proba Zm100, în ziua 21 s-a observat o scădere semnificativă a expresiei în urma tuturor tratamentelor aplicate, indicând o reglare tardivă a proceselor metabolice asociate acestei gene.

Pentru gena **DREB1**, implicată în răspunsul la stres abiotic, s-a observat o creștere timpurie a expresiei în ziua a 4-a de germinație pentru ambele probe, mai accentuată în cazul tratamentului cu apă tratată în plasmă. Această stimulare este semnificativă statistic doar pentru proba Zm100. Ulterior, nivelurile de expresie se uniformizează în ziua a 7-a și scad considerabil în ziua a 21-a, sugerând un răspuns tranzitoriu, specific fazelor incipiente de dezvoltare.

Expresia genei **LEA** nu a fost influențată în ziua a 4-a de niciun tratament, însă în ziua a 7-a se observă o stimulare moderată în cazul probei Zm70 pentru toate variantele tratate. Pentru proba Zm100, creșterea expresiei este determinată doar de azotatul de potasiu, tratamentele cu PAW prezentând valori similare cu cele ale lotului control. În ziua a 21-a, diferențele între variante dispar.

Genele **MYB** și **MYC**, implicate în reglarea transcripțională și în răspunsul la stres, nu au fost influențate semnificativ de tratamentele aplicate, cu excepția unui răspuns izolat al genei **MYC** în ziua a 21-a pentru proba Zm100 tratată permanent cu PAW. Aceste rezultate sugerează un impact limitat al tratamentelor asupra acestor căi de reglare.

În cazul genei **POR**, asociată biosintezei clorofilei, tratamentul permanent cu PAW a determinat o creștere timpurie a expresiei în ziua a 4-a pentru ambele probe, semnificativă statistic doar pentru Zm70. În etapele ulterioare, expresia genei scade și nu mai sunt înregistrate diferențe între variantele analizate.

Expresia genei **PP2C** nu a prezentat variații semnificative statistic, însă au fost observate tendințe diferite între probe și tratamente, fără a se menține constant pe parcursul experimentului. În cazul genei **WRKY53**, tratamentul cu apă tratată în plasmă a indus o stimulare timpurie a expresiei, semnificativă pentru proba Zm70 în ziua a 4-a, însă acest efect nu persistă. Pentru proba Zm100, expresia este crescută în zilele 4 și 21 sub influența PAW, în timp ce în ziua a 7-a azotatul de potasiu determină cea mai mare stimulare (Figura 8).

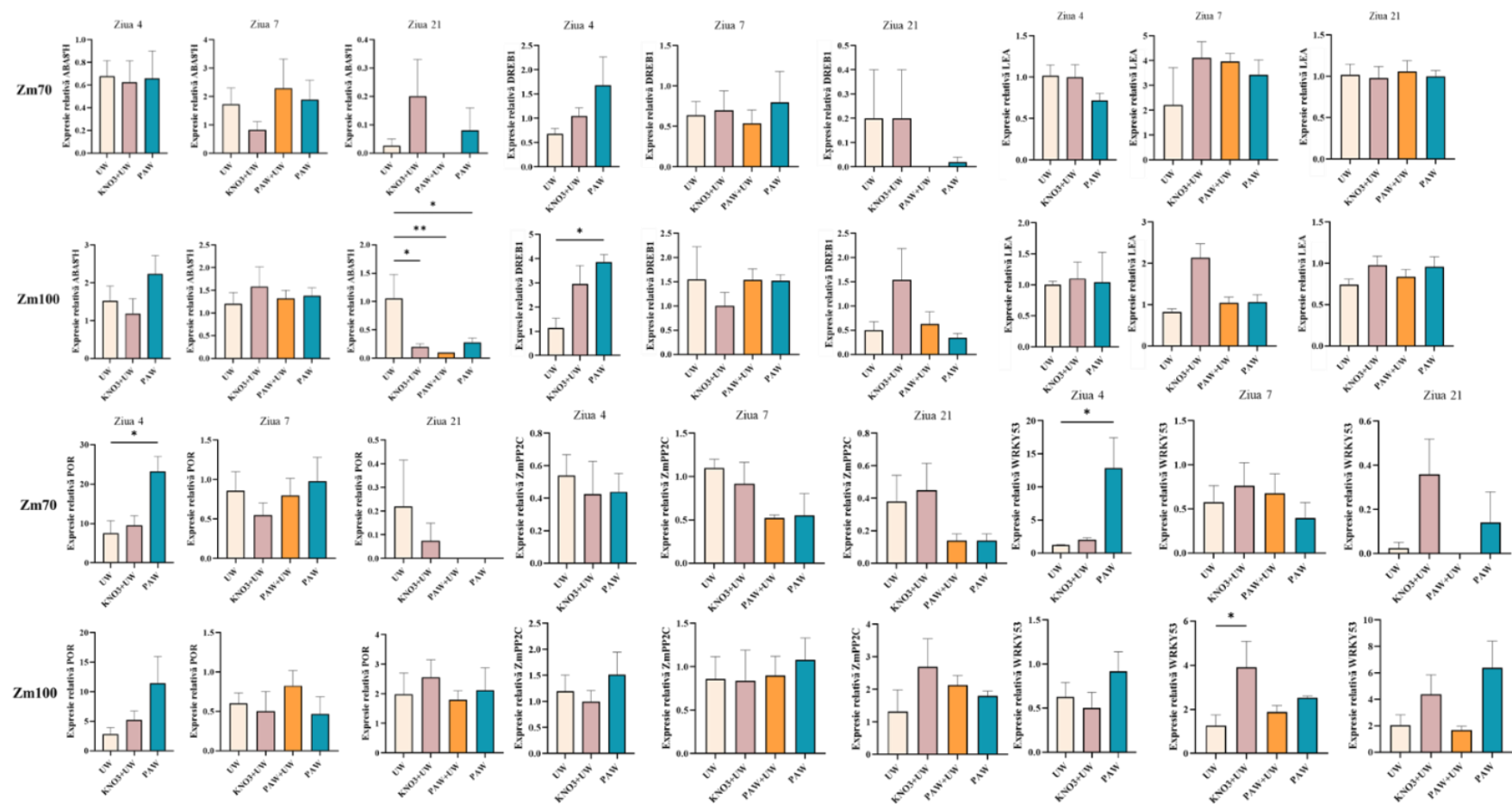


Figura 8. Evidențierea expresiei genice în cazul probelor ce aparțin speciei *Zea mays*, pentru o parte din genele studiate: ABA8'H, DREB1, LEA, POR, PP2C, WRKY53
(UW – apă netratată, KNO₃ – soluție azotat de potasiu, PAW – apă tratată în plasmă)

6.4. *Cucumis sativus*

6.4.1. Evaluarea procesului germinativ

În ceea ce privește procesul germinativ al probelor de castravete, rezultatele nu sunt semnificativ diferite. Între probele netratate și cele cărora li s-a administrat KNO_3 /PAW diferențele sunt infime datorită faptului că semințele netratate au prezentat o germinație crescută, iar diversele metode de tratament nu au produs modificări. În cazul probei Cs70, cele mai scăzute valori sunt înregistrate pentru varianta PAW+UW (3,44), în timp ce pentru proba Cs100, tratamentul cu azotat de potasiu a fost cel care a determinat scăderea valorilor. Acest indice de germinație a fost calculat și pentru procente 10, 25 și 50%, dar, din cauza vitezei accentuate de germinație a probelor, rezultatele obținute nu au fost relevante.

Dinamica procesului germinativ prin urmărirea numărului de semințe nou germinate în fiecare din cele 7 zile ale germinației. Pentru proba Cs100, variantele experimentale au determinat accelerarea proceselor de dezvoltare deoarece semințele au germinat încă din prima zi a experimentului. În cazul tratamentelor cu PAW, valorile sunt 1,52, respectiv 1,56 zile, în timp ce pentru varianta de semințe netratate rezultatul este ușor crescut, și anume 2. Cea mai scăzută valoare se înregistrează pentru semințele tratate cu KNO_3 , și anume 1,44. Timpul mediu de germinație în cazul probei Cs70 a fost ușor scăzut în urma tratamentului temporar cu PAW (2,92, comparativ cu UW = 3,2), însă tratamentul cu KNO_3 sau cel permanent cu PAW au înregistrat valori similare variantei netratate.

6.4.2. Evaluarea parametrilor de creștere ai plantei

În cazul probei Cs70, tratamentul cu PAW a fost cel care a stimulat încă din primele zile dezvoltarea materialului vegetal, rezultatele fiind mai crescute chiar și prin comparație cu cel care a presupus utilizarea KNO_3 (KNO_3 +UW = $28 \pm 10,3\text{mm}$; PAW = $34,1 \pm 10,8\text{mm}$; UW = $19,5 \pm 7,4\text{mm}$). Această tendință s-a păstrat și în stadiile ulterioare de dezvoltare ale plantelor deoarece, în ziua a 7-a a germinației, valoarea medie a lungimii rădăcii pentru PAW a fost cu 16 cm peste cea înregistrată în lotul control (PAW = $86,6 \pm 35,1\text{mm}$, UW = $60,6 \pm 24,6\text{mm}$). De asemenea, atât tratamentul temporar cu plasmă, cât și cel cu KNO_3 au determinat o dezvoltare a materialului vegetal peste cea din lotul control (PAW+UW = $80 \pm 21,4\text{mm}$, KNO_3 +UW = $76,2 \pm 22,2\text{mm}$).

Proba Cs100 prezintă valori uniforme ale dezvoltării radiclei în a 3-a zi a germinației, cu o ușoară creștere în cazul tratamentului cu apă tratată în plasmă (PAW = $19,3 \pm 6,3$ mm). În a 7-a zi a germinației, tratamentele cu KNO₃/PAW nu au favorizat dezvoltarea accentuată a materialului vegetal, radica fiind chiar mai scurtă comparativ cu probele din lotul control.

Figura 9 indică faptul că, în cazul probelor de castravete cu germinația inițială 70% (Cs70), tratamentul cu apă tratată în plasmă a determinat creșterea lungimii radiclei, în timp ce, pentru proba Cs100 (100%), cea mai dezvoltată probă este cea care aparține lotului control.

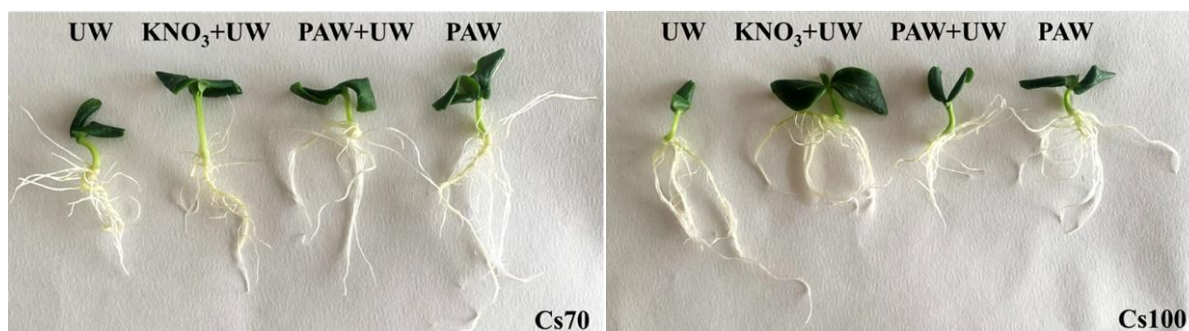


Figura 9. Stadii diferite de dezvoltare ale plantelor ce aparțin speciei *Cucumis sativus* în a 7-a zi de germinație, aparținând celor 4 variante experimentale

(UW – apă netratată, KNO₃+UW – soluție azotat de potasiu, PAW – apă tratată în plasmă)

De asemenea, efectele diferite pe care variantele experimentale le-au exercitat asupra probelor analizate poate fi analizat în Figura 10. Astfel, prin selectarea a câte un individ din fiecare probă (Cs70, respectiv Cs100) și plasarea acestora unul lângă altul, este remarcat efectul de stimulare a proceselor de creștere în cazul probei tratamentului cu azotat de potasiu pentru ambele probe analizate. Pentru indivizii ce aparțin probei Cs70, se observă o dezvoltare accentuată în cazul ambelor tratamente cu PAW, comparativ cu individul din lotul control. Pentru proba Cs100, indivizii tratați cu PAW prezintă o dezvoltare mai lentă comparativ cu cel din varianta control și de stimulare cu KNO₃.

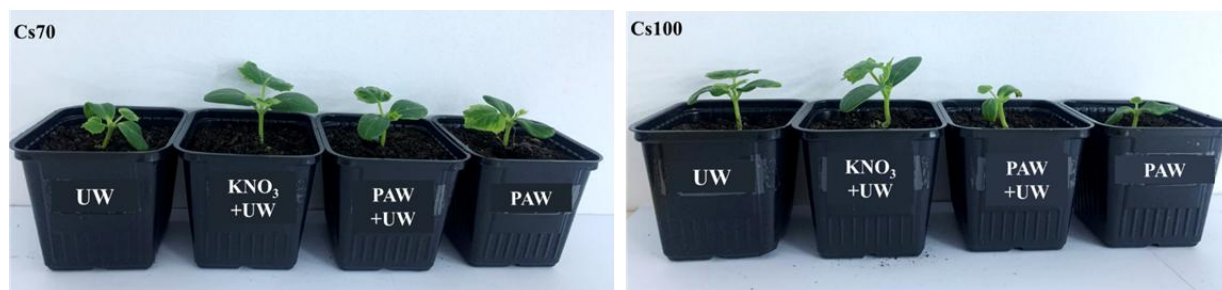


Figura 10. Stadiul dezvoltării plantelor ce aparțin speciei *Cucumis sativus* în ziua 21 a experimentului

(UW – apă netratată, KNO₃ – soluție azotat de potasiu, PAW – apă tratată în plasmă)

Rezultatele din cea de-a 14-a zi de dezvoltare în pământ (ziua 21 a experimentului) în ceea ce privește lungimea rădăcinii, a tulpinii și lungimea totală a plantelor ce aparțin probei Cs70 indică anumite diferențe comparativ cu rezultatele obținute în legătură cu lungimea radiclei din zilele 3, respectiv 7. Astfel, dacă în ultima zi a evaluării radiclei, valorile cele mai mari au fost obținute pentru plantele care au fost tratate permanent cu PAW, la 2 săptămâni după plantare o dezvoltare mai accentuată a tulpinii au prezentat plantele din lotul tratat cu azotat de potasiu (5,2cm), urmate de cele cu tratament temporar cu PAW (4,4cm), iar tratamentul permanent cu PAW a determinat o dezvoltare similară cu lotul control (media 3,3cm). În cadrul acestui studiu, dezvoltarea plantelor ce aparțin speciei *Cucumis sativus* nu a fost favorizată de condițiile *in vitro*, aspect care poate fi considerat un motiv pentru faptul că lungimea tulpinii și a rădăcinii plantelor au fost mult mai mici comparativ cu rezultatele obținute în cazul fasolei și a porumbului.

În cazul probei Cs100, cea mai dezvoltată tulpină, respectiv rădăcină a fost în varianta de apă netratată (4,1cm tulpina, 5,2cm rădăcina). Tratamentul cu azotat de potasiu a determinat o dezvoltare mai accentuată comparativ cu cele două tipuri de tratamente cu PAW.

6.4.3. Evaluarea cantității de clorofilă A, clorofilă B și carotenoizi

Rezultatele obținute în urma analizelor biochimice nu prezintă diferențe semnificative între variantele experimentale ce aparțin probei Cs70, iar valorile înregistrate sunt similare.

În schimb, pentru proba Cs100 se observă o ușoară creștere a cantității de clorofilă a în cazul tratamentului cu azotat de potasiu, rezultat care susține observațiile realizate în ziua a 14-a a dezvoltării în pământ.

6.4.4. Evaluarea expresiei unor gene implicate în răspunsul la tratamentele cu apă tratată în plasmă la specia *Cucumis sativus*

Analiza expresiei genelor investigate pentru probele Cs70 și Cs100 evidențiază un răspuns complex și dependent de stadiul de dezvoltare al plantelor la tratamentele cu azotat de potasiu și apă tratată în plasmă (PAW). În cazul genei **ABA8'H**, asociată metabolismului acidului abscisic, se observă o scădere a expresiei în ziua a 7-a pentru proba Cs70, sub influența ambelor tratamente, urmată de o creștere în ziua a 21-a în variantele KNO₃+UW și PAW. Pentru Cs100, PAW induce o creștere timpurie a expresiei în ziua a 3-a, urmată de uniformizarea valorilor în ziua a 7-a, iar în etapa finală cea mai scăzută expresie este asociată

tratamentului exclusiv cu PAW, sugerând o reglare diferențiată a căilor hormonale în funcție de potențialul germinativ.

Gena **ERF110** prezintă una dintre cele mai evidente reacții la tratamentele aplicate, cu stimulări semnificative ale expresiei atât pentru Cs70, cât și pentru Cs100. În cazul Cs70, tratamentul permanent cu PAW determină o creștere semnificativă a expresiei, corelată cu reducerea lungimii plantelor în ziua a 21-a, sugerând activarea unor mecanisme de adaptare la stres în detrimentul proceselor de creștere.

Rezultatele obținute pentru gena **LEA2** arată o stimulare a expresiei în special sub influența tratamentului cu PAW, efect evident în ziua a 7-a pentru ambele probe și în ziua a 3-a pentru Cs100. În etapa finală, tratamentul temporar cu PAW este asociat cu cele mai ridicate valori ale expresiei pentru Cs100, în timp ce pentru Cs70 efectul este mai pronunțat în cazul aplicării permanente, sugerând o implicare a acestei gene în răspunsul adaptativ la stres hidric.

Expresia genei **MYB07** prezintă variații dependente de probă și de momentul analizei, fără a putea fi identificat un pattern general. Tratamentul cu PAW determină atât scăderi, cât și creșteri ale expresiei, în special pentru proba Cs100, indicând o reglare fină și context-dependentă a proceselor de transcripție.

În cazul genei **POR**, răspunsul este diferit între probe. Pentru Cs70, tratamentele nu determină stimularea expresiei, valorile cele mai scăzute fiind asociate PAW în etapele timpurii. În schimb, pentru Cs100, se observă creșteri semnificative ale expresiei în ziua a 3-a sub influența ambelor tratamente, iar ulterior PAW continuă să inducă ușoare stimulări, în special în varianta de tratament temporar în ziua a 21-a, sugerând o implicare în reglarea proceselor fotosintetice.

Răspunsul genei **PP2C** este caracterizat prin variații limitate, însă pentru Cs70 se evidențiază o scădere timpurie a expresiei sub influența PAW, urmată de o creștere semnificativă în ziua a 21-a, indicând activarea tardivă a mecanismelor de rezistență la stres.

Gena **P5CS1**, implicată în biosinteza prolinei, prezintă creșteri semnificative ale expresiei în special în etapa finală a experimentului, predominant în variantele tratate cu PAW, atât pentru Cs70, cât și pentru Cs100. Aceste rezultate susțin activarea căilor metabolice asociate toleranței la stres și acumulării de prolină, cu rol protector la nivel celular.

În cazul genei **WRKY2**, nu sunt observate variații semnificative pentru Cs70, însă pentru Cs100 se înregistrează o stimulare progresivă a expresiei, culminând în ziua a 21-a cu o creștere semnificativă determinată de tratamentul permanent cu PAW. Acest aspect indică un răspuns adaptativ mai accentuat la plantele cu potențial germinativ ridicat (Figura 11).

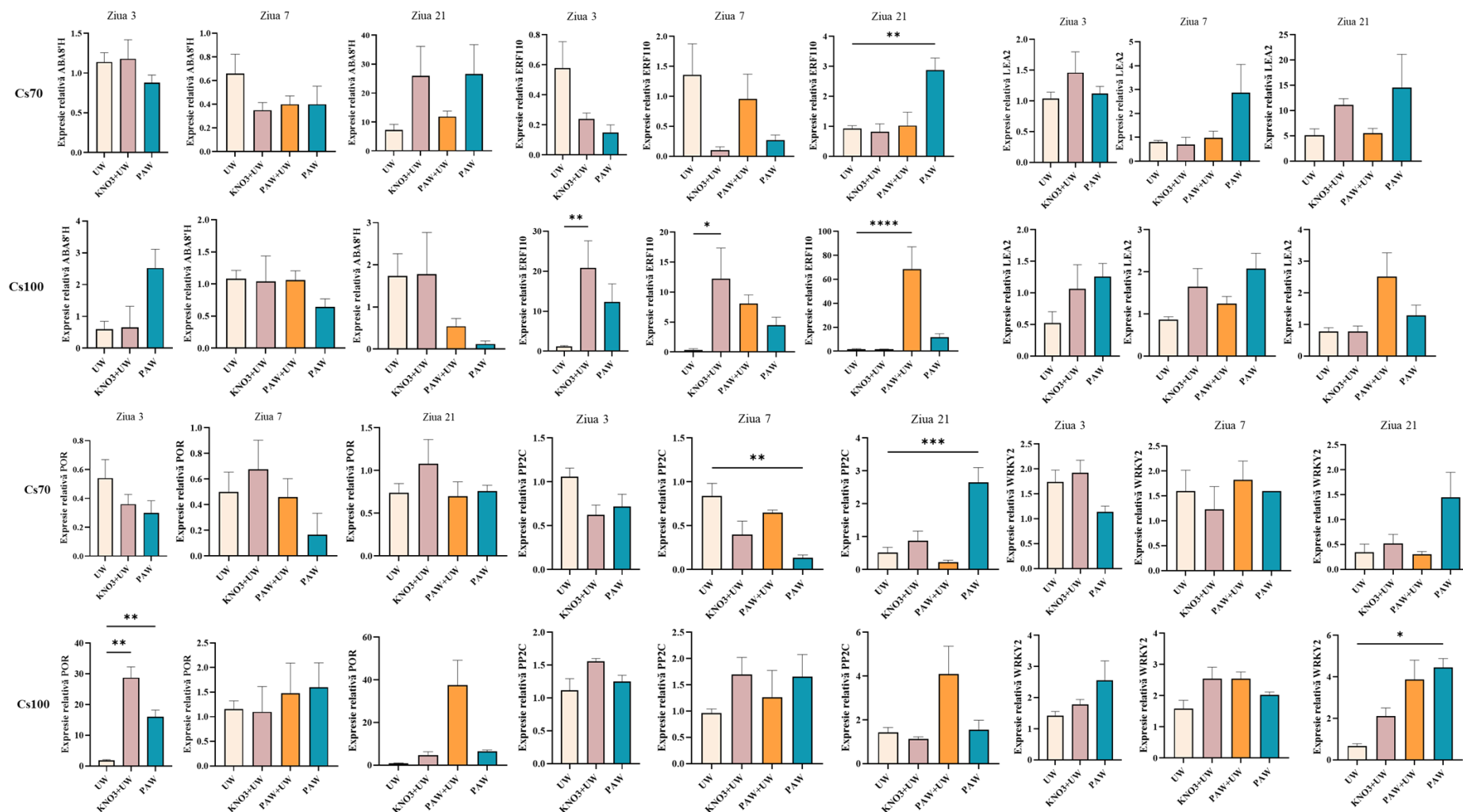


Figura 11. Evidențierea expresiei genice în cazul probelor ce aparțin speciei *Cucumis sativus*, pentru o parte din genele studiate: ABA8'H, ERF110, LEA2, POR, PP2C, WRKY2
(UW – apă netratată, KNO₃ – soluție azotat de potasiu, PAW – apă tratată în plasmă)

6.5. Compararea efectelor produse de tratamentul cu azotat de potasiu și apă tratată în plasmă asupra celor 3 specii de interes

6.5.1. Evaluarea procesului germinativ

6.5.1.1. Evaluarea procentului germinativ

Rezultatele observate sunt complexe și necesită studii suplimentare pentru a identifica substratul molecular al proceselor, însă se pot face următoarele precizări: în ceea ce privește procentul germinativ al semințelor înregistrate în sistemul intern al Băncii ca având o germinație de 70% (Pv70, Zm70, Cs70), atât tratamentul temporar cu apă tratată în plasmă, cât și cel permanent au determinat o stimulare a numărului de semințe germinate. Tratamentele cu PAW au crescut semnificativ procentul germinativ la fasole și porumb față de lotul control, efectele fiind superioare sau similare celor obținute cu azotat de potasiu. La castravete, procentul germinativ a rămas constant, de 100%, indiferent de tratament.

Semințele care provin din probele raportate cu germinația 100% (Pv100, Zm100, Cs100) au prezentat un comportament ușor diferit în cazul celor 3 specii analizate. Dacă în cazul castravetelui, toate variantele experimentale au prezentat un procent germinativ de 100%, semințele de porumb tratate cu PAW temporar/permanent au avut un procent ușor scăzut (96%), față de lotul UW (100%), iar în cazul semințelor de fasole cel mai mare procent de germinație a fost înregistrat pe varianta UW (92%), în timp ce KNO_3 și tratamentele cu PAW au indus o scădere a acestei valori (80%, respectiv 76%).

Tabelul 1 ilustrează schematic modul în care variantele experimentale au determinat variații ale procentului germinativ, raportat la lotul control:

Tabelul 1. Reprezentarea schematică a modului în care a variat procentul germinativ al semințelor ce aparțin celor 3 specii analizate, în urma aplicării KNO_3 /PAW, raportat la lotul control

↑ = creștere față de UW, ↓ = scădere față de UW, ~ = similar cu UW

	<i>Phaseolus vulgaris</i>		<i>Zea mays</i>		<i>Cucumis sativus</i>	
	Pv70	Pv100	Zm70	Zm100	Cs70	Cs100
KNO_3 +UW	↑	↓	↑	↑	~	~
PAW+UW	↑	↓	↑	~	~	~
PAW	↑	↓	↑	~	~	~

6.5.1.2. Evaluarea vitezei de germinație

Evaluarea vitezei de germinație pentru probele cu germinație inițială de 70% (Pv70, Zm70, Cs70) evidențiază un efect general favorabil al tratamentelor cu apă tratată în plasmă și azotat de potasiu, ambele determinând reducerea timpului necesar pentru protruzia radiclei. În cazul probei Pv70, tratamentele cu PAW, atât temporare, cât și permanente, au accelerat germinația în fazele inițiale ale procesului, aspect reflectat de valorile mai scăzute ale indicilor T10 și T50. Pe măsură ce germinația a progresat, diferențele dintre variante s-au estompat, iar tratamentul cu azotat de potasiu a indus o creștere mai lentă comparativ cu celelalte variante experimentale.

Pentru proba Zm70, tratamentele cu PAW au determinat o accelerare clară a germinației încă din etapele incipiente, efectul devenind mai evident spre finalul procesului, când valorile T90 au fost semnificativ mai mici comparativ cu lotul martor. Tratamentul cu azotat de potasiu a determinat, de asemenea, o creștere a vitezei de germinație, cu valori chiar mai scăzute decât cele obținute în urma tratamentelor cu PAW. În cazul semințelor de castravete, germinația a fost rapidă și eficientă în toate variantele, însă tratamentul temporar cu PAW a determinat o ușoară accelerare a procesului, vizibilă în special pentru indicii T75 și T90.

Pentru probele cu germinație inițială de 100% (Pv100, Zm100, Cs100), tratamentele au influențat în principal viteza, nu procentul germinativ. În cazul Pv100, toate tratamentele au redus timpul mediu de germinație comparativ cu lotul control, diferențele devenind mai evidente la procente ridicate de semințe germinate. Rezultate similare sunt observate pentru Zm100, unde tratamentul cu PAW accelerează germinația în fazele finale, iar pentru Cs100, atât azotatul de potasiu, cât și PAW au determinat o accelerare timpurie a germinației, efect care se diminuează spre finalul procesului (Tabelul 2).

Tabelul 2. Reprezentarea schematică a modului în care a variat viteza germinativă a semințelor ce aparțin celor 3 specii analizate, în urma aplicării KNO₃/PAW, raportat la lotul control

↑ = creștere față de UW, ↓ = scădere față de UW, ~ = similar cu UW

	<i>Phaseolus vulgaris</i>		<i>Zea mays</i>		<i>Cucumis sativus</i>	
	Pv70	Pv100	Zm70	Zm100	Cs70	Cs100
KNO ₃ +UW	↓	↑	↑	↓	↓	↑
PAW+UW	↑	↑	↑	~	↑	↑
PAW	↑	↑	↑	↑	~	↑

6.5.2. Evaluarea parametrilor de creștere

6.5.2.1. Evaluarea lungimii radiclei

Pentru proba Pv70, dezvoltarea radiculară nu a prezentat diferențe semnificative între variantele experimentale, indicând faptul că, deși tratamentele cu PAW au stimulat procentul și viteza de germinație, acestea nu au influențat creșterea radiclei, iar nici tipul de aplicare a PAW sau azotatul de potasiu nu au avut efecte pe termen lung (Tabelul 3).

Pentru proba Zm70, tratamentele cu PAW și KNO₃ au determinat o stimulare semnificativă a alungirii radiclei în fazele incipiente, efectul fiind mai pronunțat în cazul tratamentului temporar cu PAW, care a condus la cele mai mari valori ale lungimii radiculare. Ulterior, diferențele dintre tratamentele temporare și permanente s-au estompat, indicând că stimularea inițială este determinantă pentru dezvoltarea timpurie. La Cs70, administrarea PAW a condus la o creștere evidentă a lungimii radiclei încă de la prima evaluare, iar la finalul perioadei de germinație cele mai bune rezultate au fost obținute pentru tratamentul exclusiv cu PAW, urmat de PAW+UW și KNO₃.

Pentru probele cu germinație inițială de 100% (Pv100, Zm100, Cs100), efectele tratamentelor au fost mai reduse. La Pv100, tratamentul temporar cu PAW a determinat cele mai mari valori ale lungimii radiculare la finalul perioadei de germinație, sugerând importanța aplicării PAW în fazele timpurii. În cazul Zm100 și Cs100, stimularea inițială indusă de PAW s-a diminuat pe parcurs, iar la final diferențele dintre variante au fost minime. În ansamblu, tratamentele cu PAW și KNO₃ au favorizat dezvoltarea radiclei în special la probele cu potențial germinativ redus, efectele fiind mai evidente în primele etape de dezvoltare.

Tabelul 3. Reprezentarea schematică a modului în care a variat dimensiunea radiclei pentru probele ce aparțin celor 3 specii analizate, în urma aplicării KNO₃/PAW, raportat la lotul control

↑ = creștere față de UW, ↓ = scădere față de UW, ~ = similar cu UW

Specia	<i>Phaseolus vulgaris</i>		<i>Zea mays</i>		<i>Cucumis sativus</i>	
	Pv70	Pv100	Zm70	Zm100	Cs70	Cs100
	Ziua 5		Ziua 4		Ziua 3	
KNO ₃ +UW	↑	~	↑	↑	↑	↓
PAW	↓	↑	↑	↑	↑	↑
	Ziua 8		Ziua 7		Ziua 7	
KNO ₃ +UW	~	↑	↑	↓	↑	↓
PAW+UW	↓	↑	↑	~	↑	↓
PAW	↓	↑	↑	↓	↑	↓

6.5.2.2. Evaluarea lungimii componentelor sub- și supraterrane

Dezvoltarea plantulelor analizate reflectă, în mare măsură, tendințele observate anterior la nivel radicular, cu răspunsuri diferite în funcție de specie și de potențialul germinativ. În cazul probei Pv70, niciuna dintre metodele de tratament aplicate nu a determinat îmbunătățiri semnificative ale creșterii plantulelor, confirmând faptul că stimularea germinației nu este însoțită automat de o dezvoltare vegetativă accelerată (Tabelul 4).

Pentru proba Zm70, tratamentele cu PAW au avut un efect pronunțat asupra creșterii, determinând o alungire considerabilă atât a părții supraterrane, cât și a sistemului radicular, efect mai evident în cazul aplicării temporare a PAW. Tratamentele cu KNO₃ și PAW+UW au produs, de asemenea, creșteri semnificative comparativ cu lotul martor, susținând rolul favorabil al acestor stimulări asupra dezvoltării timpurii a plantelor de porumb.

În cazul probelor de castravete Cs70, efectele pozitive observate inițial asupra radiclei s-au atenuat după două săptămâni de creștere în pământ, fiind înregistrate doar creșteri moderate ale lungimii totale, mai ales pentru tratamentul cu KNO₃. Pentru probele cu germinație inițială de 100%, răspunsul a fost variabil: la Pv100, tratamentele cu PAW, în special cel temporar, au determinat cele mai mari valori ale componentelor sub- și supraterrane, în timp ce la Zm100 stimularea a fost evidentă doar la nivel radicular, fără impact asupra lungimii totale. La Cs100, tratamentul cu KNO₃ a favorizat dezvoltarea rădăcinilor, iar PAW a stimulat creșterea părții supraterrane, rezultând un echilibru între componentele analizate.

Tabelul 4. Reprezentarea schematică a modului în care au variat partea subterană, partea supraterrană și lungimea totală a plantelor ce aparțin celor 3 specii analizate, în urma aplicării KNO₃/PAW, raportat la lotul control

↑ = creștere față de UW, ↓ = scădere față de UW, ~ = similar cu UW

Specia	<i>Phaseolus vulgaris</i>		<i>Zea mays</i>		<i>Cucumis sativus</i>	
	Pv70	Pv100	Zm70	Zm100	Cs70	Cs100
Partea supraterrană						
KNO ₃ +UW	~	↑	↑	↑	↑	↓
PAW+UW	↓	↑	↑	↑	↑	↓
PAW	~	↑	↑	↑	~	↓
Partea subterană						
KNO ₃ +UW	↑	↑	↑	↑	↑	↓
PAW+UW	↑	↑	↑	↓	↑	↓
PAW	↓	↑	↑	↓	↓	↓
Lungimea totală a plantei						
KNO ₃ +UW	↑	↑	↑	~	↑	↓
PAW+UW	↓	↑	↑	↓	↑	↓
PAW	~	↑	↑	↓	~	↓

6.5.3. Evaluarea cantității de clorofilă A, clorofilă B și carotenoizi

Tratamentele aplicate au avut un impact limitat asupra acumulării pigmentilor asimilatori, efectele fiind dependente de specie și de potențialul germinativ. În cazul probei Pv70, nu au fost observate creșteri ale conținutului de pigmenți, rezultatele fiind corelate cu dezvoltarea morfologică uniformă a plantelor. Pentru proba Zm70, tratamentele cu KNO₃ și PAW au determinat creșteri ale clorofilelor și carotenoizilor, în concordanță cu dezvoltarea accentuată a sistemelor sub- și supraterrane. La castravete (Cs70), cantitatea de pigmenți a rămas relativ constantă, cu ușoare creșteri în varianta de tratament temporar cu PAW.

În cazul probelor cu germinație inițială de 100%, tratamentele au indus variații moderate ale conținutului de pigmenți. Pentru Pv100, toate variantele tratate au prezentat valori mai mari decât martorul, cu o creștere semnificativă a clorofilei A în cazul PAW+UW. Rezultate similare au fost obținute pentru Zm100, unde tratamentul permanent cu PAW a determinat creșteri semnificative ale clorofilei A și carotenoizilor. Pentru Cs100, cantitatea de pigmenți a fost scăzută și relativ uniformă între loturi, reflectând lipsa diferențelor morfologice. Per ansamblu, deși tratamentele au influențat germinația și creșterea vegetativă, efectele asupra acumulării pigmentilor asimilatori au fost reduce (Tabelul 5).

Tabelul 5. Reprezentarea schematică a modului în care a variat cantitatea de clorofilă A, clorofilă B și carotenoizi pentru cele 3 specii analizate, în urma aplicării KNO₃/PAW, raportat la lotul control. Pentru interpretarea statistică a datelor s-a utilizat programul GraphPad, analiza One Way Anova, iar asteriscul (*) reprezintă o diferență semnificativă din punct de vedere statistic, comparativ cu lotul control (* p < 0,05)

↑ = creștere față de UW, ↓ = scădere față de UW, ~ = similar cu UW

Specia	<i>Phaseolus vulgaris</i>		<i>Zea mays</i>		<i>Cucumis sativus</i>	
	Pv70	Pv100	Zm70	Zm100	Cs70	Cs100
Clorofila A						
KNO ₃ +UW	↓	↑	↑	↑	↑	~
PAW+UW	↓	↑	~	↑	↓	↓
PAW	↓	↑	↑	↑*	↓	↓
Clorofila B						
KNO ₃ +UW	↓	↑	↑	↑	↑	↓
PAW+UW	↓	↑	↓	↑	↓	↓
PAW	↓	↑	↑	↑	↓	↓
Carotenoizi						
KNO ₃ +UW	↓	↑	↑	↑	↓	↓
PAW+UW	↓	↑	↑	↑	↓	↓
PAW	↓	↑	↑	↑*	~	↓

6.5.4. Evaluarea expresiei unor gene implicate în dezvoltarea plantelor și răspunsul la stresul oxidativ generat de apa tratată în plasmă la presiune atmosferică

Capacitatea plantelor de a se adapta la condiții variabile de mediu este strâns legată de echipamentul lor genetic, care permite atât perpetuarea speciei, cât și reglarea fină a proceselor de creștere și dezvoltare. Tratamentele aplicate semințelor pot influența aceste mecanisme prin modificări la nivelul expresiei genice, generate de interacțiuni complexe cu căile de reglare hormonale și metabolice. În acest context, apa tratată în plasmă (PAW), prin compușii reactivi formați în timpul procesului de generare, poate interfera cu echilibrul chimic al seminței și poate induce variații ale răspunsului molecular. În studiul de față, expresia genică a fost analizată în etape timpurii ale germinației și după instalarea plantulelor în sol, pentru trei specii vegetale și două categorii de probe, cu germinație inițială de 70% și 100%.

Analiza expresiei genei **ABA8'H**, implicată în metabolismul acidului abscisic (ABA), indică un răspuns dependent de specie, probă și momentul evaluării. În primele zile ale germinației, valorile de expresie sunt în general similare între loturile experimentale, sugerând absența unui răspuns imediat diferențiat. Ulterior, în special la probele cu germinație inițială de 70%, se observă variații semnificative, asociate fie cu creșteri, fie cu scăderi ale nivelului de transcript, în funcție de tratament. Scăderile de expresie observate în etapele finale, mai ales pentru tratamentele permanente cu PAW, indică acumularea de ABA la nivel celular și activarea unor mecanisme adaptive, orientate spre încetinirea creșterii și creșterea rezistenței la stres. Pentru probele cu germinație de 100%, PAW a indus inițial o creștere a expresiei, sugerând o degradare accelerată a ABA și o facilitare a proceselor de germinație, urmată de o uniformizare a valorilor între variantele experimentale.

Gena **PP2C**, aflată în relație directă cu semnalizarea ABA, a prezentat modificări mai discrete, dar relevante din punct de vedere fiziologic. Creșterile timpurii ale expresiei, în special sub influența PAW și KNO₃, pot fi asociate cu inhibarea căilor dependente de ABA și cu stimularea creșterii. În schimb, scăderile observate pentru anumite probe tratate cu PAW indică posibilitatea activării unui răspuns de adaptare la stres. În etapa finală a experimentului, tratamentul cu KNO₃ a fost, în general, asociat cu niveluri mai ridicate de expresie, în timp ce PAW a indus valori mai scăzute sau intermediare, sugerând efecte diferențiate ale celor două tipuri de tratament asupra reglării hormonale.

Expresia genei **LEA**, marker important al răspunsului la stres abiotic, a fost stimulată predominant în primele etape ale experimentului, mai ales în variantele tratate cu KNO₃ și PAW. Ulterior, patternul de exprimare a devenit heterogen, cu diferențe atât între specii, cât

și între probele aceleiași specii, indicând o reglare specifică contextului fiziologic și condițiilor de mediu.

Gena **POR**, implicată în biosinteza clorofilei, a prezentat o stimulare timpurie a expresiei, în special sub influența PAW, sugerând accelerarea proceselor de diferențiere fotosintetică. În etapele ulterioare, efectele tratamentelor au fost mai selective, însă rezultatele indică faptul că PAW poate egala sau chiar depăși efectele azotatului de potasiu în stimularea acestui proces esențial pentru supraviețuirea plantelor.

În cazul genei **WRKY**, asociată răspunsului la stres și reglării dezvoltării, expresia a variat considerabil între specii și probe, fără a putea fi identificat un pattern general. Această variabilitate subliniază complexitatea familiei WRKY și necesitatea extinderii analizelor către mai mulți reprezentanți genici.

În ansamblu, rezultatele evidențiază faptul că tratamentele cu apă tratată în plasmă induc modificări transcripționale dinamice, dependente de stadiul de dezvoltare și de potențialul germinativ al semințelor. PAW se conturează ca o alternativă viabilă la azotatul de potasiu, capabilă să moduleze expresia genelor implicate în germinație, fotosinteză și răspuns la stres, însă complexitatea mecanismelor implicate justifică necesitatea unor studii moleculare suplimentare (Tabelul 6).

Tabelul 6. Reprezentarea schematică a modului în care aplicarea KNO₃ sau PAW a determinat creșterea, scăderea sau menținerea aceluiași nivel de expresie pentru genele de interes, raportat la lotul control, în cazul celor 3 specii analizate. Pentru interpretarea statistică a datelor s-a utilizat programul GraphPad, analiza One Way Anova, iar asteriscul (*) reprezintă o diferență semnificativă din punct de vedere statistic, comparativ cu lotul control

(* p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001 **** p < 0,0001)

↑ = creștere față de UW, ↓ = scădere față de UW, ~ = similar cu UW

/ = în ziua 5 – fasole, 4 – porumb, respectiv 3 – castravete, nu există varianta experimentală PAW+UW

Specia	<i>Phaseolus vulgaris</i>						<i>Zea mays</i>						<i>Cucumis sativus</i>					
	Pv70			Pv100			Zm70			Zm100			Cs70			Cs100		
	Ziua 5	Ziua 8	Ziua 22	Ziua 5	Ziua 8	Ziua 22	Ziua 4	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 4	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 3	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 3	Ziua 7	Ziua 21
ABA8'H																		
KNO ₃ +UW	↑	↓	↑	↑	↑	↑	~	↓	↑	↓	↑	↓*	↑	↓	↑	~	~	~
PAW+UW	/	↓	↓	/	↓	↓	/	↑	↓	/	↑	↓**	/	↓	↑	/	~	↓
PAW	↓	↓*	↓	↑	↑	↓*	~	↑	↑	↑	↑	↓*	↓	↓	↑	↑	↓	↓
CCD1																		
KNO ₃ +UW							↑	↑	~	↓	↓	↓**						
PAW+UW							/	↑	↓	/	~	↓**						
PAW							↑	~	↓	↓	~	↓**						
DREB1																		
KNO ₃ +UW	↑*	↓	↑	↑*	↓	↓	↑	↑	~	↑	↓	↑						
PAW+UW	/	↑	↑	/	↑	↓	/	↓	↓	/	~	↑						
PAW	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↓	↑*	~	↓						

Specia	<i>Phaseolus vulgaris</i>						<i>Zea mays</i>						<i>Cucumis sativus</i>					
	Pv70			Pv100			Zm70			Zm100			Cs70			Cs100		
	Ziua 5	Ziua 8	Ziua 22	Ziua 5	Ziua 8	Ziua 22	Ziua 4	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 4	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 3	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 3	Ziua 7	Ziua 21
DREB2A																		
KNO ₃ +UW	↑***	~	↑	↑**	↑	↑												
PAW+UW	/	↑	↑	/	~	↑												
PAW	↑*	↑	↑	↑**	↑	↑												
DREB6B																		
KNO ₃ +UW	↑**	↑	↑	↑**	↓	↑												
PAW+UW	/	↑	↓	/	↓*	↑												
PAW	↑**	↑*	↑	↑**	↓*	↓*												
ERF																		
KNO ₃ +UW	↓	↑	↑**	↑	↑	↑**							↓	↓	~	↑**	↑*	~
PAW+UW	/	~	↑	/	~	↑							/	↓	~	/	↑	↑****
PAW	↑*	↑	↑	↑*	↑	↑							↓	↓	↑**	↑	↑	↑
LEA																		
KNO ₃ +UW	↑	↓	↑	↑	↑	↑	~	↑	~	~	↑	↑	↑	~	↑	↑	↑	~
PAW+UW	/	↓	↓	/	↑*	↑	/	↑	~	/	~	↑	/	↑	~	/	↑	↑
PAW	↑	↑	↑	↓	~	~	↓	↑	~	~	~	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
MYB																		
KNO ₃ +UW	↓**	↑	↑*	↓*	↑	~							↓	↓	↑*	↑	↑	↓
PAW+UW	/	↓	↑	/	~	↓							/	↓	~	/	↑*	~

Specia	<i>Phaseolus vulgaris</i>						<i>Zea mays</i>						<i>Cucumis sativus</i>					
	Pv70			Pv100			Zm70			Zm100			Cs70			Cs100		
	Ziua 5	Ziua 8	Ziua 22	Ziua 5	Ziua 8	Ziua 22	Ziua 4	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 4	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 3	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 3	Ziua 7	Ziua 21
PAW	↓***	↓*	↑	↓**	↑	↑							↓*	↓	↑	↑*	↑**	↓
MYC																		
KNO ₃ +UW							↓	↑	↑	↓	↓	↓						
PAW+UW							/	↓	↓	/	↓	↓*						
PAW							↓	↓	↓	↑	↓	↓						
POR1						POR												
KNO ₃ +UW	↑	↓	↑	↑**	↑	↑	↑	↓	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↑	↑**	~	↑
PAW+UW	/	~	↑	/	↑	↑	/	↑	↓	/	↑	↓		~	~		↑	↑
PAW	↑*	~	~	↑**	↓*	↑	↑*	↑	↓	↑	↓	~	↓	↓	~	↑**	↑	↑
POR2																		
KNO ₃ +UW	↑	↑*	↑	↑**	↑	↑												
PAW+UW	/	↑	↓	/	↑	↑												
PAW	↑*	↑*	↓	↑**	~	↑*												
P5CS10						P5CS1												
KNO ₃ +UW	↑**	↓	↓	↑**	↑	↑							~	~	↑	↓	↓	~
PAW+UW	/	↑	↓	/	↓	↑							/	↑	↑*	/	↓	↑
PAW	↑**	↑	↑	↑**	↑	↑							~	↑	↑***	↑*	↓	↑*

Specia	<i>Phaseolus vulgaris</i>						<i>Zea mays</i>						<i>Cucumis sativus</i>					
	Pv70			Pv100			Zm70			Zm100			Cs70			Cs100		
	Ziua 5	Ziua 8	Ziua 22	Ziua 5	Ziua 8	Ziua 22	Ziua 4	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 4	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 3	Ziua 7	Ziua 21	Ziua 3	Ziua 7	Ziua 21
PP2C																		
KNO ₃ +UW	↑*	↑	↑	↑	↑	↑	↓	↓	↑	↓	~	↑	↓	↓	↑	↑	↑	
PAW+UW	/	↓	↑	/	↓	↑	/	↓	↓	/	~	↑	/	↓	↓	/	↑	↑
PAW	↑**	↓	↑	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↑	↑	↑	↓	↓**	↑***	↑	↑	↑
WRKY53						WRKY53						WRKY2						
KNO ₃ +UW	↓	↑	↑	↓	↑	↑	↑	↑	↑	↓	↑	↑	↑	↓	↑	↑	↑	↑
PAW+UW	/	↑	↓	/	↑	↑	/	↑	↓	/	↑	~	/	↑	~	/	↑	↑
PAW	↓	~	↓	↓	↑	↑	↑*	↓	↑	↑	↑	↑	↓	~	↑	↑	↑	↑*

CONCLUZII

În urma analizei **studiilor din literatură** în legătură cu efectele plasmei asupra speciilor de interes, pot fi menționate următoarele concluzii:

- ***Phaseolus vulgaris***

- ✓ Modificarea învelișului seminței atât la nivel macroscopic, prin încrețirea învelișului extern, cât și microscopic, prin apariția unor zone de eroziune care favorizează aportul crescut de apă;
- ✓ Hidrofilizarea învelișului seminței, aspect demonstrat prin scăderea unghiului de contact al apei cu învelișul seminței;
- ✓ Stimularea proceselor de germinație și dezvoltare ale materialului vegetal prin creșterea procentului germinativ, a lungimii radiclei, a tulpinii și a rădăcinii plantelor.

- ***Zea mays***

- ✓ Decontaminarea semințelor, cu efect pe diverse specii de fungi și bacterii;
- ✓ Scarificarea învelișului semințelor, analizată prin microscopie electronică;
- ✓ Scăderea unghiului de contact cu apa, ceea ce demonstrează o creștere a absorbției de apă;
- ✓ Stimularea proceselor de germinație și dezvoltare prin creșterea procentului germinativ și a lungimii plantelor obținute;
- ✓ Stimularea expresiei unor gene implicate în sinteza unor proteine de șoc termic.

- ***Cucumis sativus***

- ✓ Decontaminarea materialului vegetal prin scăderea încărcăturii microbiene totale pentru diverse specii de drojdii și mucegaiuri;
- ✓ Variația unor grupări chimice funcționale de pe suprafața semințelor;
- ✓ Scăderea unghiului de contact cu apa, ceea ce indică o creștere a absorbției apei;
- ✓ Stimularea proceselor de germinație și dezvoltare ale materialului vegetal prin creșterea procentului germinativ, a vitezei de germinație și a lungimii plantei.

Experimentele și analizele efectuate în cadrul tezei prezintă următoarele concluzii:

- ***Phaseolus vulgaris*, Pv70**

- ✓ Tratamentele cu KNO₃/PAW au determinat creșterea procentului germinativ chiar și cu 20 de procente pentru varianta experimentală PAW și s-a observat o ușoară creștere a vitezei de germinație în cazul tratamentelor PAW+UW și PAW;
- ✓ Nu sunt observate modificări în ceea ce privește lungimea radiclei, a părții subterane sau supratereane;
- ✓ Nu sunt raportate modificări ale conținutului de clorofilă A, clorofilă B și carotenoizi;
- ✓ La nivel molecular, cele mai importante diferențe determinate de tratamentele propuse sunt următoarele: în ziua a 5-a, s-au înregistrat variații semnificative din punct de vedere statistic față de lotul UW atât în ceea ce privește scăderea nivelului expresiei genei MYB (KNO₃+UW** și PAW***) și creșterea expresiei pentru genele DREB1 (KNO₃+UW*), DREB2A (KNO₃+UW***, PAW*), DREB6B (KNO₃+UW**, PAW**), ERF (PAW*), POR1 (PAW*), POR2 (PAW*), P5CS10 (KNO₃+UW**, PAW**) și PP2C (KNO₃+UW*, PAW**). În ziua a 8-a, scăderi semnificative statistic s-au observat pentru genele ABA8'H (PAW*) și MYB (PAW*), iar creșteri ale nivelului expresiei s-au obținut pentru genele DREB6B (PAW*) și POR2 (KNO₃+UW*, PAW*). În a 22-a zi, nu s-au înregistrat scăderi semnificative ale nivelului expresiei, doar creșteri în cazul genelor ERF (KNO₃+UW**) și MYB (KNO₃+UW*).

- ***Phaseolus vulgaris*, Pv100**

- ✓ Tratatamentul cu PAW a crescut considerabil viteza de germinație a semințelor;
- ✓ Lungimea radiclei în ziua a 8-a a germinației a fost cu 8,9 mm mai mare în cazul tratamentului cu KNO₃, cu 17 mm în cazul PAW+UW și cu 12 mm în cazul PAW, comparativ cu plantele din lotul martor;
- ✓ Lungimea totală a plantelor după 14 zile de dezvoltare în pământ a avut valori de aproximativ 1,5 ori mai mari în cazul PAW comparativ cu UW (lungime totală PAW = 28,7 mm, lungime totală UW = 17,8 mm). În plus, și tratamentele cu KNO₃ (lungime totală KNO₃ = 27,8 mm) și PAW+UW (lungime totală PAW+UW = 30,2 mm) au stimulat dezvoltarea plantei;
- ✓ Cantitatea de clorofilă A este semnificativ crescută în cazul lotului PAW+UW, comparativ cu lotul UW, în timp ce clorofila B și carotenoizii înregistrează valori ușor crescute în urma administrării KNO₃/PAW, însă fără semnificație statistică;

- ✓ Din punct de vedere molecular, sunt înregistrate numeroase variații semnificative din punct de vedere statistic față de lotul UW în următoarele cazuri: în ziua a 5-a, s-a observat o scădere a nivelului expresiei doar pentru gena MYB ($\text{KNO}_3 + \text{UW}^*$, PAW^{**}), în timp ce creșteri s-au obținut pentru genele DREB1 ($\text{KNO}_3 + \text{UW}^*$), DREB2A ($\text{KNO}_3 + \text{UW}^{**}$, PAW^{**}), DREB6B ($\text{KNO}_3 + \text{UW}^{**}$, PAW^{**}), ERF (PAW^*), POR1 ($\text{KNO}_3 + \text{UW}^{**}$, PAW^{**}), POR2 ($\text{KNO}_3 + \text{UW}^{**}$, PAW^{**}) și P5CS10 ($\text{KNO}_3 + \text{UW}^{**}$, PAW^{**}). În ziua a 8-a, scăderi semnificative statistic s-au înregistrat pentru genele DREB6B ($\text{PAW} + \text{UW}^*$, PAW^*) și POR1 (PAW^*), iar o creștere semnificativă s-a înregistrat pentru gena LEA ($\text{PAW} + \text{UW}^*$). În a 22-a zi, genele ABA8'H (PAW^*) și DREB6B (PAW^*) au prezentat scăderi semnificative față de lotul UW, în timp ce pentru genele ERF ($\text{KNO}_3 + \text{UW}^{**}$) și POR2 (PAW) s-au observat creșteri ale nivelului expresiei.
- ***Zea mays*, Zm70**
 - ✓ Variantele experimentale $\text{KNO}_3 + \text{UW}$, $\text{PAW} + \text{UW}$ și PAW au crescut procentul germinativ cu 14% și au determinat o scădere a timpului necesar germinației semințelor;
 - ✓ Tratamentele aplicate au crescut lungimea radiclei. În ziua a 4-a, cea mai mare valoare se înregistrează pentru $\text{KNO}_3 + \text{UW}$ (8,5 mm, comparativ cu $\text{UW} = 5$ mm), iar în ziua a 7-a valoarea maximă se înregistrează pentru $\text{PAW} + \text{UW}$ (23 mm), cu 15 mm mai mult față de lotul control ($\text{UW} = 7,16$ mm);
 - ✓ Stimularea proceselor de dezvoltare ale probelor tratate cu KNO_3/PAW continuă și în stadii mai avansate de dezvoltare ale plantelor. Rezultatele indică o diferență de 34,3 cm între lungimea totală a plantei din condiția $\text{PAW} + \text{UW}$ și UW ($\text{PAW} + \text{UW} = 44,5$ cm, $\text{UW} = 10,2$ cm), de 19,2 cm între $\text{KNO}_3 + \text{UW}$ și UW ($\text{KNO}_3 + \text{UW} = 29,4$ cm) și de 28,7 cm între PAW și UW ($\text{PAW} = 38,9$ cm).
 - ✓ Nu sunt înregistrare diferențe semnificative în ceea ce privește cantitatea de pigmenți asimilatori;
 - ✓ Rezultatele privind expresia genică indică, în ziua a 4-a, creșteri semnificative statistic pentru genele POR (PAW^*) și WRKY53 (PAW^*) și o scădere semnificativă în a 21-a zi pentru gena MYC ($\text{PAW} + \text{UW}^*$), comparativ cu lotul UW.

- ***Zea mays*, Zm100**

- ✓ Se observă o ușoară scădere a timpului necesar germinației pentru varianta de tratament exclusiv cu PAW;
- ✓ În ceea ce privește lungimea radiclei, există o creștere a acesteia în ziua a 4-a pentru varianta de tratament cu PAW, însă în ziua a 7-a are loc o uniformizare a valorilor obținute în cadrul variantelor experimentale; această uniformizare este sesizată și în ziua a 21-a de la debutul experimentului;
- ✓ Cantitatea de clorofilă A și carotenoizi este semnificativ crescută în varianta experimentală PAW comparativ cu lotul control (UW), ceea ce sugerează o dezvoltare mai accentuată a acelor probe;
- ✓ Din punct de vedere genetic, variații semnificative statistic se înregistrează în ziua a 4-a a experimentului, în sensul creșterii expresiei pentru gena DREB1 (PAW*) și în ziua a 21-a, în ceea ce privește scăderea expresiei genelor ABA8'H (KNO₃+UW*, PAW+UW**, PAW*), CCD1 (KNO₃+UW**, PAW+UW**, PAW**) și MYC (PAW+UW*).

- ***Cucumis sativus*, Cs70**

- ✓ Procentul germinativ a fost de 100% în cazul tuturor variantelor experimentale, iar viteza de germinație nu a fost considerabil influențată de variantele de tratament;
- ✓ Tratamentul permanent cu PAW a determinat cea mai mare creștere a lungimii radiclei atât în ziua 3, cât și 7 a evaluării. Tratamentul temporar cu PAW și cel cu KNO₃ au determinat lungimi mai crescute ale radiclei comparativ cu lotul control;
- ✓ La 14 zile după plantarea probelor în pământ, se observă o diminuare a efectului pe care PAW l-a avut asupra radiclei. Lungimea totală a plantei este cea mai crescută în cazul tratamentului cu KNO₃, urmată de PAW+UW, apoi PAW și, în final, UW;
- ✓ Nu sunt înregistrate diferențe semnificative în ceea ce privește cantitatea de pigmenți asimilatori;
- ✓ La nivel molecular, se înregistrează următoarele variații ale nivelului expresiei genelor față de lotul UW: în a 3-a zi a experimentului, s-a observat scăderea expresiei genei MYB (PAW*), în ziua a 7-a reducerea nivelului expresiei genei PP2C (PAW**), iar în ziua a 21-a creșterea expresiei genelor ERF (PAW**), MYB (KNO₃+UW*), P5CS10 (PAW+UW*, PAW***) și PP2C (PAW***).

- ***Cucumis sativus*, Cs100**

- ✓ Procentul germinativ a fost 100% în cazul tuturor variantelor experimentale, iar viteza de germinație a fost ușor crescută de tratamentul cu KNO₃/PAW;
- ✓ Deși în ziua a 3-a a evaluării, tratamentul cu PAW a determinat o creștere a lungimii radiclei, acest efect nu s-a menținut pe termen lung;
- ✓ Diversele tratamente aplicate nu au determinat creșteri ale lungimii plantelor peste valorile obținute în cazul lotului control;
- ✓ Nu sunt înregistrate diferențe semnificative în ceea ce privește cantitatea de pigmenți asimilatori;
- ✓ Din punct de vedere molecular, nu sunt înregistrate scăderi semnificative statistic ale expresiei genelor în cazul loturilor tratate cu KNO₃ sau PAW față de lotul UW, ci doar creșteri ale expresiei în următoarele cazuri: în ziua a 3-a pentru genele ERF (KNO₃+UW**), MYB (PAW*), POR (KNO₃+UW**, PAW**) și P5CS1 (PAW), în ziua a 7-a pentru genele ERF (KNO₃+UW*), MYB (PAW+UW*, PAW**), iar în ziua a 21-a pentru genele ERF (PAW+UW****), P5CS1 (PAW*) și WRKY2 (PAW*).

Astfel, datele obținute susțin ipoteza conform căreia apa tratată în plasmă poate constitui o metodă eficientă de stimulare a proceselor fiziologice asociate germinației și creșterii ulterioare ale plantelor. Observațiile efectuate la nivel morfologic sunt, în mare parte, susținute de variații ale expresiei genelor de interes, iar efectuarea unor studii suplimentare va permite identificarea unor mecanisme mai concrete prin care compușii chimici din PAW își exercită efectele benefice în diverse stadii de dezvoltare ale plantelor.

Publicații în domeniul tezei de doctorat:

1. Leti, L.-I.; Gerber, I.C.; Mihaila, I.; Galan, P.-M.; Strajeru, S.; Petrescu, D.-E.; Cimpanu, M.-M.; Topala, I.; Gorgan, D.-L. The Modulatory Effects of Non-Thermal Plasma on Seed's Morphology, Germination and Genetics—A Review. *Plants* 2022, 11, 2181. <https://doi.org/10.3390/plants11162181>;
2. Galan, P.-M.; Strajeru, S.; Murariu, D.; Enea, C.-I.; Petrescu, D.-E.; Tanasa, A.-C.; Blaga, D.-D.; Leti, L.-I. The Effect of Plasma-Activated Water on Zea mays L. Landraces Under Abiotic Stress. *Agriculture* 2025, 15, 2037. <https://doi.org/10.3390/agriculture15192037>

Manifestări Științifice Naționale:

1. Sesiunea Științifică a Facultății de Biologie, Poster: „Studiul efectelor tratamentului cu apă activată cu plasmă nontermică la presiune atmosferică asupra proceselor de germinație și dezvoltare ale speciei *Phaseolus vulgaris* L”, Autori: Leți Livia-Ioana, Galan Paula-Maria, Gorgan Dragoș-Lucian, 27-28.10.2023,
2. Sesiunea de Comunicări Științifice BRGV 2023, Prezentare orală: „Studiul efectelor tratamentului cu apă activată de plasmă asupra proceselor de germinație și dezvoltare ale speciei *Phaseolus vulgaris* L.”, Autori: Leți Livia-Ioana, Galan Paula-Maria, Gorgan Dragoș-Lucian.
3. Sesiunea de Comunicări Științifice BRGV 2023, Prezentare orală: „Studiul efectelor tratamentelor cu plasmă la presiune atmosferică asupra proceselor de germinație și dezvoltare ale unor plante de interes economic”, Autori: Leți Livia-Ioana, Galan Paula-Maria, Gorgan Dragoș-Lucian.

Membru în proiecte naționale și internaționale:

1. 07/2023 – 08/2025, director proiect ADER 1.3.4.: „Studiul efectelor tratamentelor cu apă activată de plasmă asupra proceselor de germinație la temperaturi scăzute și standard și dezvoltare ale speciei *Zea mays*, prin evaluări morfologice, biochimice și ale expresiei genice”. Proiect Național
2. 09/2020 – 08/2025, membru proiect: „INCREASE – Intelligent Collections of Food Legumes Genetic Resources for European Agrofood Systems”. Proiect European

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Adhikari, B., Adhikari, M., Ghimire, B., Adhikari, B. C., Park, G., & Choi, E. H. (2020). Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Free Radical Biology & Medicine*, 156, 57–69. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.06.003>
2. Adhikari, B., Adhikari, M., Ghimire, B., Park, G., & Choi, E. H. (2019). Cold Atmospheric Plasma-Activated Water Irrigation Induces Defense Hormone and Gene expression in Tomato seedlings. *Scientific Reports*, 9(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52646-z>
3. Adhikari, B., Adhikari, M., & Park, G. (2020). The effects of plasma on plant growth, development, and sustainability. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(17), 1–19. <https://doi.org/10.3390/app10176045>
4. Altgen, D., Avramidis, G., Viöl, W., & Mai, C. (2016). The effect of air plasma treatment at atmospheric pressure on thermally modified wood surfaces. *Wood Science and Technology*, 50(6), 1227–1241. <https://doi.org/10.1007/s00226-016-0856-7>
5. Asandulesa, M., Topala, I., & Dumitrascu, N. (2010). Effect of helium DBD plasma treatment on the surface of wood samples. *Holzforschung*, 64(2), 223–227. <https://doi.org/10.1515/HF.2010.025>
6. Attri, P., Koga, K., Okumura, T., & SHIRATANI, M. (2021). Impact of atmospheric pressure plasma treated seeds on germination, morphology, gene expression and biochemical responses. *Japanese Journal of Applied Physics*. <https://doi.org/10.35848/1347-4065/abe47d>
7. Bai, Y., Sunarti, S., Kissoudis, C., Visser, R. G. F., & van der Linden, C. G. (2018). The role of tomato WRKY genes in plant responses to combined abiotic and biotic stresses. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00801>
8. Baier, M., Ehlbeck, J., Knorr, D., Herppich, W. B., & Schlüter, O. (2015). Impact of plasma processed air (PPA) on quality parameters of fresh produce. *Postharvest Biology and Technology*, 100, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.09.015>
9. Bormashenko, E., Grynyov, R., Bormashenko, Y., & Drori, E. (2012a). Cold radiofrequent plasma treatment modifies wettability and germination speed of plant seeds. *Scientific Reports*, 2(741).
10. Bormashenko, E., Grynyov, R., Bormashenko, Y., & Drori, E. (2012b). Cold radiofrequency plasma treatment modifies wettability and germination speed of plant seeds. *Scientific Reports*, 2, 3–10. <https://doi.org/10.1038/srep00741>
11. Boulous, M. I., Fauchais, P., & Pfender, E. (1994). *Thermal plasmas*. Plenum Press.
12. Bracco, G., & Holst, B. (2013). Surface science techniques. In *Springer Series in Surface Sciences* (Vol. 51, Number 1). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-34243-1>
13. Cao, Y., Han, Y., Li, D., Lin, Y., & Cai, Y. (2016). MYB transcription factors in chinese pear (*Pyrus bretschneideri* reh.d.): Genome-wide identification, classification, and expression profiling during fruit development. *Frontiers in Plant Science*, 7(APR2016). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00577>
14. Cao, Z. H., Zhang, S. Z., Wang, R. K., Zhang, R. F., & Hao, Y. J. (2013). Genome Wide Analysis of the Apple MYB Transcription Factor Family Allows the Identification of MdoMYB121 Gene Confering Abiotic Stress Tolerance in Plants. *PLoS ONE*, 8(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069955>
15. Cheng, D., Wang, Z., Li, S., Zhao, J., Wei, C., & Zhang, Y. (2022). Genome-Wide Identification of CCD Gene Family in Six Cucurbitaceae Species and Its Expression Profiles in Melon. *Genes*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/genes13020262>
16. Cho, S. C., Hong, Y. C., Cho, S. G., Ji, Y. Y., Han, C. S., & Uhm, H. S. (2009). Surface modification of polyimide films, filter papers, and cotton clothes by HMDSO/toluene plasma at low pressure and its wettability. *Current Applied Physics*, 9(6), 1223–1226. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2009.01.020>

17. Dave, H., Ledwani, L., & Nema, S. K. (2018). Nonthermal plasma: A promising green technology to improve environmental performance of textile industries. In *The Impact and Prospects of Green Chemistry for Textile Technology*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102491-1.00008-3>
18. Department of Economic and Social Affairs. (2019). World population projected to reach 9 . 8 billion in 2050 , and 11 . 2. *United Nation*, 4–8.
19. Dhayal, M., Lee, S. Y., & Park, S. U. (2006). Using low-pressure plasma for *Carthamus tinctorium* L. seed surface modification. *Vacuum*, 80(5), 499–506. <https://doi.org/10.1016/j.vacuum.2005.06.008>
20. Du, H., Yang, S.-S., Liang, Z., Feng, B.-R., Liu, L., Huang, Y.-B., & Tang, Y.-X. (2012). *Genome-wide analysis of the MYB transcription factor superfamily in soybean*. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/12/106>
21. Dufour, T., Gutierrez, Q., & Bailly, C. (2021). Sustainable improvement of seeds vigor using dry atmospheric plasma priming: Evidence through coating wettability, water uptake, and plasma reactive chemistry. *Journal of Applied Physics*, 129(8). <https://doi.org/10.1063/5.0037247>
22. Fan, L., Liu, X., Ma, Y., & Xiang, Q. (2020). Effects of plasma-activated water treatment on seed germination and growth of mung bean sprouts. *Journal of Taibah University for Science*, 14(1), 823–830. <https://doi.org/10.1080/16583655.2020.1778326>
23. Fernandes, F. A. N., & Rodrigues, S. (2021). Cold plasma processing on fruits and fruit juices: A review on the effects of plasma on nutritional quality. *Processes*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/pr9122098>
24. Food Agriculture Organization; World Health Organization. (2003). Food and Agriculture Organization Assuring Food Safety and Quality. *Food and Nutrition Paper*, 76.
25. Garrone, A., Archipowa, N., Zipfel, P. F., Hermann, G., & Dietzek, B. (2015). Plant Protochlorophyllide Oxidoreductases A and B: CATALYTIC EFFICIENCY AND INITIAL REACTION STEPS. *The Journal of Biological Chemistry*, 290(47), 28530–28539. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.663161>
26. Goldston, R. J., & Rutherford, P. H. (1995). *Introduction to Plasma Physics*. Taylor&Francis.
27. Gomez, E., Rani, D. A., Cheeseman, C. R., Deegan, D., Wise, M., & Boccaccini, A. R. (2009). Thermal plasma technology for the treatment of wastes: A critical review. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2–3), 614–626. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.04.017>
28. Guo, Q., Wang, Y., Zhang, H., Qu, G., Wang, T., Sun, Q., & Liang, D. (2017). Alleviation of adverse effects of drought stress on wheat seed germination using atmospheric dielectric barrier discharge plasma treatment. *Scientific Reports*, 7(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16944-8>
29. Guo, X., Ullah, A., Siuta, D., Kukfisz, B., & Iqbal, S. (2022). Role of WRKY Transcription Factors in Regulation of Abiotic Stress Responses in Cotton. In *Life* (Vol. 12, Number 9). MDPI. <https://doi.org/10.3390/life12091410>
30. Gupta, S. K., & Singh, G. (2020). Major Fungal French Bean Diseases: Epidemiology and Management. *Emerging Trends in Plant Pathology*, 894, 141–174.
31. Guragain, R. P., Baniya, H. B., Guragain, D. P., Pradhan, S. P., & Subedi, D. P. (2023). From seed to sprout: Unveiling the potential of non-thermal plasma for optimizing cucumber growth. *Heliyon*, 9(11), e21460. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21460>
32. Henselová, M., Slováková, L., Martinka, M., & Zahoranová, A. (2012). Growth, anatomy and enzyme activity changes in maize roots induced by treatment of seeds with low-temperature plasma. *Biologia*, 67(3), 490–497. <https://doi.org/10.2478/s11756-012-0046-5>
33. Hoffmann, C., Berganza, C., & Zhang, J. (2013). Cold Atmospheric Plasma: Methods of production and application in dentistry and oncology. *Medical Gas Research*, 3(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-3-21>
34. Holubova, L., Svubova, R., Slovakova, L., Bokor, B., Krockova, V. C., Rencko, J., Uhrin, F., Medvecká, V., Zahoranova, A., & Galova, E. (2021). Cold Atmospheric Pressure Plasma Treatment of Maize Grains — Induction of Growth , Enzyme Activities and Heat Shock Proteins. *International Journal of Molecular Sciences*.

35. Hong, Y., Wang, H., Gao, Y., Bi, Y., Xiong, X., Yan, Y., Wang, J., Li, D., & Song, F. (2022). ERF Transcription Factor OsBIERF3 Positively Contributes to Immunity against Fungal and Bacterial Diseases but Negatively Regulates Cold Tolerance in Rice. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2). <https://doi.org/10.3390/ijms23020606>
36. Hundertmark, M., & Hinch, D. K. (2008). LEA (Late Embryogenesis Abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics*, 9(1), 118. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-118>
37. Iranbakhsh, A., Ardebili, N. O., Ardebili, Z. O., Shafaati, M., & Ghoranneviss, M. (2018). Non-thermal Plasma Induced Expression of Heat Shock Factor A4A and Improved Wheat (*Triticum aestivum* L.) Growth and Resistance Against Salt Stress. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 38(1), 29–44. <https://doi.org/10.1007/s11090-017-9861-3>
38. Ji, S. H., Choi, K. H., Pengkit, A., Im, J. S., Kim, J. S., Kim, Y. H., Park, Y., Hong, E. J., Jung, S. kyung, Choi, E. H., & Park, G. (2016). Effects of high voltage nanosecond pulsed plasma and micro DBD plasma on seed germination, growth development and physiological activities in spinach. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 605, 117–128. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.02.028>
39. Jiang, J., Ma, S., Ye, N., Jiang, M., Cao, J., & Zhang, J. (2017). WRKY transcription factors in plant responses to stresses. In *Journal of Integrative Plant Biology* (Vol. 59, Number 2, pp. 86–101). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jipb.12513>
40. Kaplan, S. A., & Tsytovich, V. N. (1973). Plasma processes in the universe. *Physics Reports*, 7(1), 1–33. [https://doi.org/10.1016/0370-1573\(73\)90024-0](https://doi.org/10.1016/0370-1573(73)90024-0)
41. Karmakar, S., Billah, M., Hasan, M., Sohan, S. R., Hossain, M. F., Faisal Hoque, K. M., Kabir, A. H., Rashid, M. M., Talukder, M. R., & Reza, M. A. (2021). Impact of LFGD (Ar+O(2)) plasma on seed surface, germination, plant growth, productivity and nutritional composition of maize (*Zea mays* L.). *Heliyon*, 7(3), e06458. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06458>
42. Kim, J. H., Liu, G., & Kim, S. H. (2006). Deposition of stable hydrophobic coatings with in-line CH₄ atmospheric rf plasma. *Journal of Materials Chemistry*, 16(10), 977–981. <https://doi.org/10.1039/b516329c>
43. Kishor, P. B. K., Hima Kumari, P., Sunita, M. S. L., & Sreenivasulu, N. (2015). Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. *Frontiers in Plant Science*, 6(JULY), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00544>
44. Kogelschatz, U., Eliasson, B., & Egli, W. (1999). *From ozone generators to flat television screens: history and future potential of dielectric-barrier discharges*. *Pure and Applied Chemistry*, 71(10), 1819–1828. <https://doi.org/doi:10.1351/pac199971101819>
45. Lee, D.-K., Jung, H., Jang, G., Jeong, J. S., Kim, Y. S., Ha, S.-H., Do Choi, Y., & Kim, J.-K. (2016). Overexpression of the OsERF71 Transcription Factor Alters Rice Root Structure and Drought Resistance. *Plant Physiology*, 172(1), 575–588. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00379>
46. Lee, Y. K., Lim, J., Hong, E. J., Ka, D., Priatama, R. A., & Kim, S. B. (2020). *How plasma activated water regulates plant development and growth*. 15(10), 1008465.
47. Lommatzsch, U., Noeske, M., Degenhardt, J., Wubben, T., Strudthoff, S., Ellinghorst, G., & Hennemann, O. D. (2007). Pretreatment and surface modification of polymers via atmospheric-pressure plasma jet treatment. *Polymer Surface Modification: Relevance to Adhesion*, 4, 25–32.
48. Ma, R., Wang, G., Tian, Y., Wang, K., Zhang, J., & Fang, J. (2015). Non-thermal plasma-activated water inactivation of food-borne pathogen on fresh produce. *Journal of Hazardous Materials*, 300, 643–651. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.07.061>
49. Ma, R., Yu, S., Tian, Y., Wang, K., Sun, C., Li, X., Zhang, J., Chen, K., & Fang, J. (2016). Effect of non-thermal plasma-activated water on fruit decay and quality in postharvest chinese bayberries. *Food and Bioprocess Technology*, 9(11).

50. Ma, Z., & Hu, L. (2024). WRKY Transcription Factor Responses and Tolerance to Abiotic Stresses in Plants. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 25, Number 13). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms25136845>
51. Magwanga, R. O., Lu, P., Kirungu, J. N., Lu, H., Wang, X., Cai, X., Zhou, Z., Zhang, Z., Salih, H., Wang, K., & Liu, F. (2018). Characterization of the late embryogenesis abundant (LEA) proteins family and their role in drought stress tolerance in upland cotton. *BMC Genetics*, 19(1), 1–31. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0596-1>
52. Masuda, T., Fusada, N., Shiraishi, T., Kuroda, H., Awai, K., Shimada, H., Ohta, H., & Takamiya, K. I. (2002). Identification of two differentially regulated isoforms of protochlorophyllide oxidoreductase (POR) from tobacco revealed a wide variety of light- and development-dependent regulations of POR gene expression among angiosperms. *Photosynthesis Research*, 74(2), 165–172. <https://doi.org/10.1023/A:1020951409135>
53. Mejía-Teniente, L., Duran-Flores, F. de D., Chapa-Oliver, A. M., Torres-Pacheco, I., Cruz-Hernández, A., González-Chavira, M. M., Ocampo-Velázquez, R. V., & Guevara-González, R. G. (2013). Oxidative and molecular responses in capsicum annum L. after hydrogen peroxide, salicylic acid and chitosan foliar applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5), 10178–10196. <https://doi.org/10.3390/ijms140510178>
54. Mizutani, M., & Todoroki, Y. (2006). ABA 8'-hydroxylase and its chemical inhibitors. In *Phytochemistry Reviews* (Vol. 5, Numbers 2–3, pp. 385–404). <https://doi.org/10.1007/s11101-006-9012-6>
55. Oehmigen, K., Hähnel, M., Brandenburg, R., Wilke, C., Weltmann, K. D., & Von Woedtke, T. (2010). The role of acidification for antimicrobial activity of atmospheric pressure plasma in liquids. *Plasma Processes and Polymers*, 7(3–4), 250–257. <https://doi.org/10.1002/ppap.200900077>
56. Okyere, A. Y., Rajendran, S., & Annor, G. A. (2022). Cold plasma technologies: Their effect on starch properties and industrial scale-up for starch modification. *Current Research in Food Science*, 5, 451–463. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.02.007>
57. Panngom, K., Lee, S. H., Park, D. H., Sim, G. B., Kim, Y. H., Uhm, H. S., Park, G., & Choi, E. H. (2014). Non-thermal plasma treatment diminishes fungal viability and up-regulates resistance genes in a plant host. *PLoS ONE*, 9(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099300>
58. Peratt, A. L. (2015). Physics of the plasma universe, second edition. In *Physics of the Plasma Universe, Second Edition*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7819-5>
59. Priatama, R. A., Pervitasari, A. N., Park, S., Park, S. J., & Lee, Y. K. (2022). Current Advancements in the Molecular Mechanism of Plasma Treatment for Seed Germination and Plant Growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9). <https://doi.org/10.3390/ijms23094609>
60. Qi, W.-Z., Liu, H.-H., Liu, P., Dong, S.-T., Zhao, B.-Q., So, H. B., Li, G., Liu, H.-D., Zhang, J.-W., & Zhao, B. (2012). Morphological and physiological characteristics of corn (*Zea mays* L.) roots from cultivars with different yield potentials. *European Journal of Agronomy*, 38, 54–63. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.eja.2011.12.003>
61. Ramazzina, I., Berardinelli, A., Rizzi, F., Tappi, S., Ragni, L., Sacchetti, G., & Rocculi, P. (2015). Effect of cold plasma treatment on physico-chemical parameters and antioxidant activity of minimally processed kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology*, 107(55–65).
62. Recek, N., Holc, M., Vesel, A., Zaplotnik, R., Gselman, P., Mozetič, M., & Primc, G. (2021a). Germination of *Phaseolus vulgaris* L. seeds after a short treatment with a powerful RF plasma. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13). <https://doi.org/10.3390/ijms22136672>
63. Recek, N., Holc, M., Vesel, A., Zaplotnik, R., Gselman, P., Mozetič, M., & Primc, G. (2021b). Germination of *Phaseolus vulgaris* L. seeds after a short treatment with a powerful RF plasma. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13). <https://doi.org/10.3390/ijms22136672>

64. Reinbothe, S., Bartsch, S., Rossig, C., Davis, M. Y., Yuan, S., Reinbothe, C., & Gray, J. (2019). A protochlorophyllide (pchlide) A oxygenase for plant viability. *Frontiers in Plant Science*, 10(May), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00593>
65. Rodríguez, Ó., Gomes, W. F., Rodrigues, S., & Fernandes, F. A. N. (2017). Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). *LWT - Food Science and Technology*, 84, 457–463. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.010>
66. Rüntzel, C. L., da Silva, J. R., da Silva, B. A., Moecke, E. S., & Scussel, V. M. (2019a). Effect of cold plasma on black beans (*Phaseolus vulgaris* L.), fungi inactivation and micro-structures stability. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 31(11), 864–873. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2019.v31.i11.2029>
67. Rüntzel, C. L., da Silva, J. R., da Silva, B. A., Moecke, E. S., & Scussel, V. M. (2019b). Effect of cold plasma on black beans (*Phaseolus vulgaris* L.), fungi inactivation and micro-structures stability. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 31(11), 864–873. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2019.v31.i11.2029>
68. Sathe, S. K., Salunke, D. K., & Cheryan, M. (1984). Technology of removal of unwanted components of dry beans. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 21(3), 263–287. <https://doi.org/10.1080/10408398409527402>
69. Šerá, B., Vanková, R., Roháček, K., & Šerý, M. (2021). Gliding arc plasma treatment of maize (*Zea mays* L.) grains promotes seed germination and early growth, affecting hormone pools, but not significantly photosynthetic parameters. *Agronomy*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/agronomy11102066>
70. Shainsky, N., Dobrynin, D., Ercan, U., Joshi, S., Fridman, G., Friedman, G., & Fridman, A. (2010). Effect of liquid modified by non-equilibrium atmospheric pressure plasmas on bacteria inactivation rates. *Abstracts IEEE International Conference on Plasma Science*.
71. Shen, J., Tian, Y., Li, Y., Ma, R., Zhang, Q., Zhang, J., & Fang, J. (2016). Bactericidal Effects against *S. aureus* and Physicochemical Properties of Plasma Activated Water stored at different temperatures. *Scientific Reports*, 6(March). <https://doi.org/10.1038/srep28505>
72. Sohan, Md. S. R., Hasan, M., Hossain, Md. F., Sajib, S. A., Khalid-Bin-Ferdaus, K. Md., Kabir, A. H., Rashid, Md. M., Talukder, M. R., Elseehy, M. M., El-Shehawi, A. M., & Reza, M. A. (2022). Low-frequency glow discharge (LFGD) plasma treatment enhances maize (*Zea mays* L.) seed germination, agronomic traits, enzymatic activities, and nutritional properties. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 9(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00275-y>
73. Song, C., Cao, Y., Dai, J., Li, G., Manzoor, M. A., Chen, C., & Deng, H. (2022). The Multifaceted Roles of MYC2 in Plants: Toward Transcriptional Reprogramming and Stress Tolerance by Jasmonate Signaling. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.868874>
74. Štěpánová, V., Slaviček, P., Kelar, J., Prášil, J., Smékal, M., Stupavská, M., Jurmanová, J., & Černák, M. (2018a). Atmospheric pressure plasma treatment of agricultural seeds of cucumber (*Cucumis sativus* L.) and pepper (*Capsicum annuum* L.) with effect on reduction of diseases and germination improvement. *Plasma Processes and Polymers*, 15(2). <https://doi.org/10.1002/ppap.201700076>
75. Štěpánová, V., Slaviček, P., Kelar, J., Prášil, J., Smékal, M., Stupavská, M., Jurmanová, J., & Černák, M. (2018b). Atmospheric pressure plasma treatment of agricultural seeds of cucumber (*Cucumis sativus* L.) and pepper (*Capsicum annuum* L.) with effect on reduction of diseases and germination improvement. *Plasma Processes and Polymers*, 15(2), 1–9. <https://doi.org/10.1002/ppap.201700076>
76. Stolárik, T., Henselová, M., Martinka, M., Novák, O., Zahoranová, A., & Černák, M. (2015). Effect of Low-Temperature Plasma on the Structure of Seeds, Growth and Metabolism of Endogenous Phytohormones in Pea (*Pisum sativum* L.). *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 35(4), 659–676. <https://doi.org/10.1007/s11090-015-9627-8>

77. Sumanta, N., Imranul, H. C., Nishika, J., & Suprakash, R. (2014). Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents. *Research Journal of Chemical Sciences*, 4(9), 63–69. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1340072>
78. Suslow, T. V. (2004). Oxidation-Reduction Potential (ORP) for Water Disinfection Monitoring, Control, and Documentation. *Oxidation-Reduction Potential (ORP) for Water Disinfection Monitoring, Control, and Documentation*. <https://doi.org/10.3733/ucanr.8149>
79. Talviste, R., Galmiz, O., Stupavská, M., & Ráhel', J. (2020). Effect of DCSBD plasma treatment distance on surface characteristics of wood and thermally modified wood. *Wood Science and Technology*, 54(3), 651–665. <https://doi.org/10.1007/s00226-020-01175-4>
80. Thirumdas, R., Kothakota, A., Annapure, U., Siliveru, K., Blundell, R., Gatt, R., & Valdramidis, V. P. (2018). Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 77). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.007>
81. Tiwari, S. B., Belachew, A., Ma, S. F., Young, M., Ade, J., Shen, Y., Marion, C. M., Holtan, H. E., Bailey, A., Stone, J. K., Edwards, L., Wallace, A. D., Canales, R. D., Adam, L., Ratcliffe, O. J., & Repetti, P. P. (2012). The EDLL motif: A potent plant transcriptional activation domain from AP2/ERF transcription factors. *Plant Journal*, 70(5), 855–865. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.04935.x>
82. Volkov, A. G., Hairston, J. S., Marshall, J., Bookal, A., Dholichand, A., & Patel, D. (2020a). Plasma Seeds: Cold Plasma Accelerates Phaseolus Vulgaris Seed Imbibition, Germination, and Speed of Seedling Growth. *Plasma Medicine*, 10(3), 139–158. <https://doi.org/10.1615/plasmamed.2020036438>
83. Volkov, A. G., Hairston, J. S., Marshall, J., Bookal, A., Dholichand, A., & Patel, D. (2020b). Plasma Seeds: Cold Plasma Accelerates Phaseolus Vulgaris Seed Imbibition, Germination, and Speed of Seedling Growth. *Plasma Medicine*, 10(3), 139–158. <https://doi.org/10.1615/plasmamed.2020036438>
84. Wu, Y., Li, X., Zhang, J., Zhao, H., Tan, S., Xu, W., Pan, J., Yang, F., & Pi, E. (2022). ERF subfamily transcription factors and their function in plant responses to abiotic stresses. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1042084>
85. Wu, Z., Luo, L., Wan, Y., & Liu, F. (2023). Genome-wide characterization of the PP2C gene family in peanut (*Arachis hypogaea* L.) and the identification of candidate genes involved in salinity-stress response. *Frontiers in Plant Science*, 14(January), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1093913>
86. Yarabbi, H., Roshanak, S., Hadizadeh, F., Shahidi, F., & Yazdi, F. (2023). Evaluation of Cold Plasma Effect on Shelf Life, Physicochemical and Organoleptic Properties of Cucumber (*Cucumis Sativus* Var. Negin). *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences*, 11(1). <https://doi.org/10.26420/austinjntrifoodsci.2023.1169>
87. Zahoranová, A., Hoppanová, L., Šimončicová, J., Kellar Tučeková, Z., Medvecká, V., Hudecová, D., Kaliňáková, B., Kovacik, D., & Černák, M. (2018). Effect of Cold Atmospheric Pressure Plasma on Maize Seeds: Enhancement of Seedlings Growth and Surface Microorganisms Inactivation. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 38. <https://doi.org/10.1007/s11090-018-9913-3>
88. Zhang, J. J., Jo, J. O., Huynh, D. L., Mongre, R. K., Ghosh, M., Singh, A. K., Lee, S. B., Mok, Y. S., Hyuk, P., & Jeong, D. K. (2017). Growth-inducing effects of argon plasma on soybean sprouts via the regulation of demethylation levels of energy metabolism-related genes. *Scientific Reports*, 7(February), 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep41917>
89. Zhu, J. K. (2016). Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. *Cell*, 167(2), 313–324. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.029>