

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**Σχολή Γεωπονικών Επιστημών**  
**Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής & Αγροτικού Περιβάλλοντος**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«Αειφόρος Αγροτική Παραγωγή και Διαχείριση Περιβάλλοντος»**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

Δυνατότητα πρώιμης επιλογής γενετικού υλικού μαρουλιού για ανθεκτικότητα  
στην αλατότητα

**ΚΥΡΙΑΚΟΣ ΚΕΜΠΑΠΙΔΗΣ**



Επιβλέπων: Αβραάμ Χα, Καθηγητής, Π.Θ.

**Βόλος 2019**

Δυνατότητα πρώιμης επιλογής γενετικού υλικού μαρουλιού για  
ανθεκτικότητα στην αλατότητα

Κυριάκος Κεμπαπίδης

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή**

Αβραάμ Χα, Καθηγητής, Παραγωγή, Βελτίωση Σπόρου και Τεχνολογία Πολλαπλασιαστικού Υλικού Κηπευτικών και Φυτών Μεγάλης Καλλιέργειας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Παυλή Ουρανία, Επικ. Καθηγήτρια, Γενετική Βελτίωση Φυτών, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Πετρόπουλος Σπυρίδων, Επικ. Καθηγητής, Λαχανοκομία, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Copyright © *ΚΥΡΙΑΚΟΣ ΚΕΜΠΑΠΙΔΗΣ, 2019.*

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας διατριβής, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναγράφεται η πηγή προέλευσης.

Η έγκριση της Μεταπτυχιακής Διατριβής Ειδίκευσης από το Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δε δηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

## Περίληψη

Οι αβιοτικές καταπονήσεις συνιστούν τον πλέον σοβαρό παράγοντα που δρα περιοριστικά στην αύξηση, ανάπτυξη καθώς και στην παραγωγικότητα των περισσότερων καλλιεργούμενων ειδών. Βάσει των επιπτώσεων που επιφέρουν σε μορφολογικό, φυσιολογικό, βιοχημικό και μοριακό επίπεδο, οι πλέον επιζήμιες αβιοτικές καταπονήσεις είναι η υψηλή αλατότητα, ανεπάρκεια ή περίσσεια εδαφικής υγρασίας, οι ακραίες τιμές θερμοκρασίας, η αυξημένη συγκέντρωση βαρέων μετάλλων, ή άλλων ξενοβιοτικών ουσιών, και η υπεριώδης ακτινοβολία. Η καταπόνηση υψηλής αλατότητας, που αφορά σε αυξημένη συσσώρευση ιόντων  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$  στην περιοχή της ριζόσφαιρας, έχει διττό ρόλο στην ανάπτυξη και παραγωγικότητα των φυτών, δρώντας ως αναστολέας της πρόσληψης νερού και ως παράγοντας τοξικότητας, με αποτέλεσμα την αναστολή ποικίλων φυσιολογικών και βιοχημικών λειτουργιών. Ως απόκριση στην αλατότητα τα φυτά έχουν αναπτύξει εξειδικευμένους μηχανισμούς που επεμβαίνουν σε κύριες διεργασίες, όπως αυτές της φωτοσύνθεσης, πρωτεϊνοσύνθεσης, μεταβολισμού ενέργειας, εκκαθαριστών ROS, ιοντικής ομοιόστασης, συσσώρευσης ωσμολυτών, αφομοίωσης αζώτου και οξειδωτικού στρες.

Το μαρούλι θεωρείται το σημαντικότερο λαχανικό της οικογένειας των φυλλωδών λαχανικών, με τα φύλλα του να χρησιμοποιούνται ευρύτατα για ανθρώπινη κατανάλωση. Το μαρούλι συγκαταλέγεται στα ευαίσθητα στην αυξημένη συγκέντρωση αλάτων φυτά, με τα κύρια συμπτώματα της καταπόνησης να περιλαμβάνουν αναστολή της ανάπτυξης, περιφερειακό κάψιμο, μεταχρωματισμό των φύλλων και δερματώδη εμφάνιση. Για το λόγο αυτό, σημαντικό στόχο των προγραμμάτων βελτίωσης αποτελεί η ανάπτυξη ποικιλιών μαρουλιού με γενετική ανθεκτικότητα στην καταπόνηση αλατότητας. Ωστόσο, η επίτευξη του στόχου αυτού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διαθεσιμότητα κατάλληλων μεθόδων για την ευχερή επιλογή των επιθυμητών ανθεκτικών γονοτύπων.

Η επιλογή για ανθεκτικότητα στην καταπόνηση της αλατότητας στο στάδιο της βλάστησης θεωρείται ότι προσφέρει ικανοποιητική εκτίμηση ως προς την επιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας και την απόδοση και έχει προταθεί ως αξιόπιστο κριτήριο για την πρόιμη επιλογή ανθεκτικών γονοτύπων. Στο πλαίσιο αυτό, στόχο της παρούσας διατριβής αποτέλεσε η μελέτη της απόκρισης γενετικού υλικού μαρουλιού ως προς την ανθεκτικότητα στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας σε διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια. Οι επιλεγμένοι γονότυποι (14)

αξιολογήθηκαν ως προς την ανθεκτικότητα σε υψηλές συγκεντρώσεις NaCl στη φάση της βλάστησης και πρώιμης ανάπτυξης των σποροφύτων καθώς επίσης και σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια, που θεωρούνται ως τα πλέον κρίσιμα για την καταπόνηση αλατότητας. Τα αποτελέσματα από τις ανωτέρω αξιολογήσεις αξιοποιήθηκαν για τη συσχέτιση της ανθεκτικότητας στα στάδια αυτά, με σκοπό τη διαπίστωση της αξιοπιστίας της πρώιμης επιλογής των επιθυμητών γονοτύπων. Αρχικά έγινε αξιολόγηση του δυναμικού βλάστησης και ανάπτυξης 14 εμπορικών ποικιλιών μαρουλιού υπό συνθήκες ιστοκαλλιέργειας σε θρεπτικό μέσο ½ MS που περιείχε διαφορετικές συγκεντρώσεις NaCl (0, 50, 100 και 150 mM). Οι παράμετροι που αξιολογήθηκαν περιλάμβαναν το ποσοστό βλάστησης, το μήκος ρίζας και βλαστού, καθώς και τον αριθμό των σποροφύτων με μη φυσιολογικό φαινότυπο. Τα αποτελέσματα παρείχαν τη δυνατότητα διάκρισης της ανθεκτικότητας και ευαισθησίας στο στάδιο αυτό και επιπλέον επέτρεψαν την κατηγοριοποίηση των ποικιλιών, βάσει της ανθεκτικότητάς τους, σε ανθεκτικές, μέτριας ανθεκτικότητας και ευαίσθητες στην καταπόνηση αλατότητας. Με βάση τα αποτελέσματα από την *in vitro* γονοτυπική αξιολόγηση, επιλέχθηκαν 6 συνολικά ποικιλίες – 2 ανά φαινοτυπική κλάση – για την περαιτέρω αξιολόγηση της ανθεκτικότητας σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια. Για το σκοπό αυτό, οι επιλεγμένοι γονότυποι υποβλήθηκαν σε καταπόνηση υψηλής αλατότητας μέσω ριζοποτίσματος με διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων NaCl (0, 50, 100 και 150 mM NaCl). Στο στάδιο αυτό, ως παράμετροι αξιολόγησης της ανθεκτικότητας αξιοποιήθηκαν το ύψος των φυτών, το νωπό και ξηρό βάρος καθώς και η περιεχόμενη ποσότητα χλωροφύλλης. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι ορισμένες παράμετροι, όπως αυτές που σχετίζονται με την ανάπτυξη των σποροφύτων, παρείχαν ικανοποιητική συσχέτιση της ανθεκτικότητας στα υπό μελέτη αναπτυξιακά στάδια. Επίσης, ικανοποιητική συσχέτιση σε επίπεδο ανθεκτικότητας εμφάνισε η ποικιλία Geo store Manchester, η οποία χαρακτηρίστηκε ως η πλέον ανθεκτική ποικιλία τόσο στο στάδιο της βλάστησης και πρώιμης ανάπτυξης των σποροφύτων όσο και στα μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια. Ωστόσο, στο σύνολό τους τα αποτελέσματα υποδεικνύουν την έλλειψη ικανοποιητικής συσχέτισης μεταξύ των υπό μελέτη αναπτυξιακών σταδίων, υποδεικνύοντας ότι η πρώιμη γονοτυπική επιλογή για το γνώρισμα της ανθεκτικότητας έναντι της καταπόνησης αλατότητας στο μαρούλι είναι επισφαλής. Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματα υπογραμμίζουν την αναγκαιότητα αξιολόγησης του γενετικού υλικού σε συνθήκες αγρού, μέσω της εκατοστιαίας απώλειας απόδοσης, όπου η καταπόνηση λαμβάνει χώρα κατά τα κρίσιμα αναπτυξιακά στάδια.

**Λέξεις κλειδιά:** μαρούλι, αβιοτική καταπόνηση, ανθεκτικότητα έναντι της καταπόνησης υψηλής αλατότητας, πρόιμη επιλογή ανθεκτικών γονοτύπων

## Summary

Abiotic stresses consist one of the main factors negatively affecting growth, development and productivity of most important plant species. On the basis of effects at morphological, physiological, biochemical and molecular level, the most severe abiotic stresses are salinity, inadequate or abundance of soil moisture, extreme temperatures, increased accumulation of heavy metals, or other xenobiotic substances, and ultraviolet radiation. Salinity stress, induced by an increased accumulation of Na<sup>+</sup> και Cl<sup>-</sup> ions occurring mainly in rhizosphere, has a dual effect in plant growth and productivity, acting either as inhibitor of water absorbance or as toxicity factor, leading to inhibition of main physiological and biochemical processes. In response to salinity, plants have developed a series of adaptive mechanisms which are involved in major processes, including photosynthesis, protein synthesis, energy metabolism, ROS scavengers, ion homeostasis, osmolyte accumulation, nitrogen absorption and oxidative stress.

Lettuce is generally considered as the most important leaf vegetable, since its leaves are widely used for human consumption. Lettuce is classified as salt sensitive species, with stress-attributed symptoms mainly referring to growth inhibition, peripheral burning and leaf discoloration. To this purpose, the development of lettuce varieties with salinity tolerance consists a main breeding target. However, the achievement of this goal is greatly dependent on the availability of suitable methods for robust selection of desirable resistant genotypes.

Selection for resistance to salinity at germination phase has proven to provide a robust estimation for a successful crop establishment and satisfactory yield potential, thus being proposed as a suitable criterion for early selection of resistant genotypes. In this line, this present dissertation is aimed at studying the response of lettuce genetic material in relation to resistance to salinity at various growth stages. The selected genotypes (14) were evaluated for resistance to salinity, induced by NaCl, at germination phase and early seedling growth as well as a later growth stages, which are considered as most critical for salinity stress. Based on results from abovementioned evaluations, correlation of resistance was assessed as a means to determine the robustness of early selection of desirable genotypes. The genotypes under study were initially assessed in *in vitro* conditions, on the basis of seed germination and seedling growth potential, in ½ MS medium supplemented with varying NaCl concentrations (0, 50, 100 και 150 mM). As evaluation parameters served germination percentage, shoot and root length, and number of

seedlings with abnormal phenotype. The results allowed for the discrimination of resistance and susceptibility at this stage and further allowed for the classification of genotypes, according to their resistance, as resistant, partial resistant and susceptible to salinity stress. Based on results from the *in vitro* genotypic evaluation, 6 lettuce varieties – 2 per phenotypic class – were selected for further evaluation at later growth stages. To this purpose, the selected genotypes were subjected to salinity stress by means of irrigation with solutions of different NaCl concentrations (0, 50, 100 και 150 mM NaCl). At this stage, evaluation was performed on the basis of plant height, fresh and dry weight and chlorophyll concentration. Our findings showed that certain parameters, such as those referring to seedling growth, provide an accurate estimation of resistance at growth stages under study. In addition, satisfactory correlation of resistance was noted in the variety Geo store Manchester, which was consistently classified as most resistant at both germination and later growth stages. However, overall findings point to the lack of sufficient estimation between the growth stages under study, thus indicating that early genotypic selection for the trait of lettuce resistance to salinity is not adequately robust. Furthermore, overall findings highlight the necessity of conducting field evaluation, based on the percentage of yield losses, where the occurrence of stress coincides with most critical for the crop growth stages.

**Keywords:** lettuce, abiotic stress, resistance to salinity stress, early genotypic selection



Εγώ ο Κυριάκος Κεμπαπίδης είμαι ο συγγραφέας αυτής της Μ.Δ.Ε. Αυτή η Μ.Δ.Ε. αντικατοπτρίζει την έρευνα που έγινε από εμένα και δεν έχει υποβληθεί (εξ ολοκλήρου ή μέρος της) σαν προπτυχιακή διατριβή ή Μ.Δ.Ε. ή ως μέρος Διδακτορικής Διατριβής σε αυτό ή άλλο Προπτυχιακό ή Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών Ιδρυμάτων Τριτοβάθμιας Εκπαίδευσης του εσωτερικού ή εξωτερικού. Όποια συνεργασία καθώς και το μέγεθος αυτής δηλώνονται επακριβώς στο αντίστοιχο πεδίο αυτής της διατριβής. Επίσης έχω διαβάσει όλες τις βιβλιογραφικές αναφορές που παρατίθενται στο τέλος.

Ως επιβλέπων της έρευνας που περιγράφεται σε αυτή τη διατριβή, δηλώνω ότι όλοι ο όροι του Εσωτερικού Κανονισμού του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος έχουν τηρηθεί από τον κ. Κυριάκο Κεμπαπίδη.

## Περιεχόμενα

<b>1. Εισαγωγή</b> .....	<b>18 -</b>
1.1 Καταγωγή - Διάδοση καλλιέργειας μαρουλιού .....	18 -
1.2 Βοτανική περιγραφή.....	20 -
1.3 Βοτανική ταξινόμηση.....	22 -
1.4 Κλιματικές απαιτήσεις.....	24 -
1.5 Απαιτήσεις σε έδαφος, υγρασία και θρεπτικά συστατικά .....	25 -
1.6 Αβιοτικές καταπονήσεις .....	26 -
1.7 Καταπόνηση υψηλής αλατότητας .....	28 -
1.8 Αίτια και τύποι της αλατότητας .....	31 -
1.8.1 Φυσική ή πρωτογενής αλατότητα.....	31 -
1.8.2 Δευτερογενής αλατότητα .....	32 -
1.8.3 Τύποι αλατότητας.....	32 -
1.9 Οι επιπτώσεις της αλατότητας στα φυτά .....	33 -
1.9.1 Βλαστικότητα .....	34 -
1.9.2 Ανάπτυξη .....	36 -
1.9.3 Φωτοσύνθεση .....	38 -
1.9.4 Ιοντική τοξικότητα και ανισορροπία θρεπτικών .....	39 -
1.9.5 Οξειδωτικό στρες.....	41 -
<b>Σκοπός της μελέτης</b> .....	<b>42 -</b>
<b>2. Υλικά και μέθοδοι</b> .....	<b>43 -</b>
2.1 Γενετικό υλικό.....	43 -
2.2 Απολύμανση σπόρων .....	44 -
2.3 Καταπόνηση αλατότητας - Πειραματικό σχέδιο.....	44 -
2.3.1 Πρώιμο στάδιο ανάπτυξης - <i>In vitro</i> συνθήκες.....	44 -

2.3.2	Όριμο στάδιο ανάπτυξης - Πείραμα Θερμοκηπίου .....	- 46 -
2.4	Παράμετροι αξιολόγησης της ανθεκτικότητας .....	- 47 -
2.4.1	Μετρήσεις στο στάδιο βλάστησης .....	- 47 -
2.4.2.	Μετρήσεις σε μεταγενέστερο στάδιο ανάπτυξης .....	- 48 -
2.5	Στατιστική ανάλυση .....	- 50 -
<b>3.</b>	<b>Αποτελέσματα.....</b>	<b>- 52 -</b>
3.1	Αξιολόγηση της ανθεκτικότητας έναντι της καταπόνησης υψηλής αλατότητας στη φάση της βλάστησης ( <i>in vitro</i> ).....	- 52 -
3.1.1	Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο ποσοστό βλάστησης των σπόρων ...	- 52 -
3.1.2	Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στην ανάπτυξη των σπορόφυτων.....	- 59 -
3.1.2.1	Επίδρασης της καταπόνησης υψηλής αλατότητας στο μήκος ρίζας των σποροφύτων ..	- 61 -
3.1.2.2	Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο μήκος βλαστού των σποροφύτων .....	- 66 -
3.1.3	Κατηγοριοποίηση γονοτύπων με βάση την ανθεκτικότητά τους έναντι της καταπόνησης υψηλής αλατότητας .....	- 70 -
3.2	Αξιολόγηση της ανθεκτικότητας έναντι της καταπόνησης υψηλής αλατότητας σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια .....	- 72 -
3.2.1	Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο νωπό βάρος των φυτών.....	- 72 -
3.2.2	Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο ξηρό βάρος των φυτών .....	- 76 -
3.2.3	Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο ύψος των φυτών .....	- 80 -
3.2.4	Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στη χλωροφύλλη των φυτών .....	- 85 -
3.2.4.1	Προσδιορισμός χλωροφύλλης με τη χρήση χλωροφυλλόμετρου (SPAD) .....	- 85 -
3.2.4.2	Προσδιορισμός χλωροφύλλης με εκχύλιση από φυλλικούς δίσκους .....	- 89 -
<b>4.</b>	<b>Συζήτηση .....</b>	<b>- 92 -</b>
<b>5.</b>	<b>Συμπεράσματα.....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>6.</b>	<b>Βιβλιογραφία .....</b>	<b>- 98 -</b>

## Κατάλογος Πινάκων

<b>Πίνακας 2.1:</b> Σύσταση των θρεπτικών υποστρωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα αξιολόγησης της ανθεκτικότητας/ευαισθησίας σε συνθήκες <i>in vitro</i>	44
<b>Πίνακας 2.2:</b> Ποικιλίες μαρουλιού που επιλέχθηκαν για την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια.	45
<b>Πίνακας 3.1:</b> Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) της επίδρασης καταπόνησης υψηλής αλατότητας στο ποσοστό βλάστησης των σπόρων σε 14 εμπορικές ποικιλίες.	52
<b>Πίνακας 3.2:</b> Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του ποσοστού βλάστησης των σπόρων μεταξύ των επιπέδων καταπόνησης της αλατότητας (50, 100 και 150 mM NaCl).	53
<b>Πίνακας 3.3:</b> Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) της επίδρασης καταπόνησης υψηλής αλατότητας στο μήκος ρίζας των σπορόφυτων μαρουλιού σε 14 εμπορικές ποικιλίες.	58
<b>Πίνακας 3.4:</b> Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) της επίδρασης καταπόνησης υψηλής αλατότητας στο μήκος βλαστού των σπορόφυτων μαρουλιού σε 14 εμπορικές ποικιλίες.	59
<b>Πίνακας 3.5:</b> Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του μήκους ρίζας των σπορόφυτων μεταξύ των επιπέδων καταπόνησης της αλατότητας (50, 100 και 150 mM NaCl).	60
<b>Πίνακας 3.6:</b> Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του μήκους ρίζας των σπορόφυτων μεταξύ των επιπέδων καταπόνησης της αλατότητας (50, 100 και 150 mM NaCl).	65
<b>Πίνακας 3.7:</b> Γονότυποι μαρουλιού που επιλέχθηκαν με βάση την ανθεκτικότητά τους για περαιτέρω αξιολόγηση της ανθεκτικότητας στο θερμοκήπιο.	70
<b>Πίνακας 3.8:</b> Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) υπό την καταπόνηση της αλατότητας στο χλωρό βάρος φυτών των 6 διαφορετικών εμπορικών ποικιλιών μαρουλιού.	72
<b>Πίνακας 3.9:</b> Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του χλωρού βάρους μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).	73

<b>Πίνακας 3.10:</b> Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του χλωρού βάρους μεταξύ των 6 διαφορετικών ποικιλιών.	75
<b>Πίνακας 3.11:</b> Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) υπό την καταπόνηση της αλατότητας στο ξηρό βάρος φυτών των 6 διαφορετικών εμπορικών ποικιλιών μαρουλιού.	77
<b>Πίνακας 3.12:</b> Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του ξηρού βάρους μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).	78
<b>Πίνακας 3.13:</b> Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του ξηρού βάρους μεταξύ των 6 διαφορετικών ποικιλιών.	80
<b>Πίνακας 3.14:</b> Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) υπό την επίδραση της αλατότητας στο ύψος φυτών μαρουλιού σε 6 διαφορετικές ποικιλίες.	81
<b>Πίνακας 3.15:</b> Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του ξηρού βάρους μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).	83
<b>Πίνακας 3.16:</b> Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του ύψους μεταξύ των 6 διαφορετικών ποικιλιών.	84
<b>Πίνακας 3.17:</b> Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) υπό την επίδραση της αλατότητας στη συγκέντρωση χλωροφύλλης φυτών μαρουλιού σε 6 διαφορετικές ποικιλίες.	87
<b>Πίνακας 3.18:</b> Αξιολόγηση της διαφοροποίησης της συγκέντρωσης χλωροφύλλης μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).	88
<b>Πίνακας 3.19:</b> Αξιολόγηση της διαφοροποίησης της περιεχόμενης χλωροφύλλης μεταξύ των 6 διαφορετικών ποικιλιών.	89

## Κατάλογος Εικόνων

<b>Εικόνα 1.1:</b> Παγκόσμια παραγωγή μαρουλιού.	19
<b>Εικόνα 1.2:</b> Απόκριση των φυτών στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας.	27
<b>Εικόνα 1.3:</b> Περιοχή επίδρασης ενός παράγοντα καταπόνησης σε σχέση με την ικανότητα ενός οργανισμού να επιτελέσει τις βασικές λειτουργίες του (Νόμος ανοχής).	27
<b>Εικόνα 1.4:</b> Φυσιολογικές και βιοχημικές μεταβολές υπό την επίδραση υψηλής αλατότητας.	33
<b>Εικόνα 1.5:</b> Επισκόπηση της απόκρισης ανάπτυξης δύο φάσεων στην αλατότητα για φυτά που διαφέρουν στην ευαισθησία της καταπόνησης (Munns, 2005).	35
<b>Εικόνα 3.1:</b> Επίδραση του διαφορετικού επιπέδου καταπόνησης (50, 100 και 150 mM NaCl) σε 5 διαφορετικές ποικιλίες: i) Μαρούλι Γαλλικό-Santa Ann, ii) Green Batavia, iii) Romana Hot, iv) Red Batavia και v) Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana, κατά την τελευταία ημερομηνία παρατήρησης 14/4/2018 (19 <sup>η</sup> ημέρα καταπόνησης).	54
<b>Εικόνα 3.2:</b> Απόκριση των ποικιλιών Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana και Romana Hot στα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης υψηλής αλατότητας (50,100 και 150 mM NaCl) σε 3 διαφορετικές ημερομηνίες: Α. 31/3/2018 (5 <sup>η</sup> ημέρα καταπόνησης), Β. 6/4/2018 (11 <sup>η</sup> ημέρα καταπόνησης), Γ. 11/4/2018 (16 <sup>η</sup> ημέρα καταπόνησης).	56
<b>Εικόνα 3.3:</b> Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο μήκος της ρίζας των σπορόφυτων των ποικιλιών Lattuga Lollo Rossa και Geo store Manchester στα διαφορετικά επίπεδα στρες (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl) κατά την τελευταία ημερομηνία παρατήρησης (11/4/2018).	64
<b>Εικόνα 3.4:</b> Επίδραση των διαφορετικών επιπέδων αλατότητας (50, 100 και 150 mM NaCl) στην ανάπτυξη της ρίζας στους γονότυπους Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana και Red Batavia κατά την τελευταία παρατήρηση (11/4/2018).	64
<b>Εικόνα 3.5:</b> Απόκριση της ποικιλίας Geo store Manchester στα διάφορα επίπεδα καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl) ως προς την ανάπτυξη του βλαστού	66

σε 3 διαφορετικές ημερομηνίες: Α. 31/3/2018, Β. 2/4/2018 και Γ. 6/4/2018.

**Εικόνα 3.6:** Απεικόνιση κατά την τελευταία παρατήρηση στις 14/4/2018 (19<sup>η</sup> ημέρα καταπόνησης) των 6 επιλεγμένων ανάλογα με την ανθεκτικότητα τους έναντι του στρες αλατότητας, στα διαφορετικά επίπεδα (Control, 50 100 και 150 mM NaCl). 71

**Εικόνα 3.7:** Απεικόνιση των ποικιλιών Romana Green Tower, Romana Hot και Romana Duna υπό την επίδραση της αλατότητας (50, 100 και 150 mM NaCl) κατά την τελευταία ημερομηνία παρατήρησης (16/7/2018). 83

**Εικόνα 2.8:** Απεικόνιση της ποικιλίας Geo store Manchester ως προς τα διάφορα επίπεδα καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl) κατά την τελευταία ημερομηνία παρατήρησης (16/7/2018). 86



## Κατάλογος Γραφημάτων

- Γράφημα 3.1:** Ποσοστό βλάστησης των σπόρων μαρουλιού ανά γονότυπο και επίπεδο καταπόνησης αλατότητας (50, 100, 150 mM NaCl) κατά την περίοδο των 7 ημερομηνιών λήψεως των παρατηρήσεων. 58
- Γράφημα 3.2:** Μήκος ρίζας σπορόφυτων μαρουλιού ανά ποικιλία και επίπεδο καταπόνησης (50, 100, 150 mM NaCl) κατά τις 5 ημερομηνίες λήψεως των παρατηρήσεων. 62
- Γράφημα 3.3:** Μήκος ρίζας σποροφύτων μαρουλιού ανά ποικιλία και ημερομηνία παρατήρησης μεταξύ των διαφορετικών επιπέδων καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl). 63
- Γράφημα 3.4:** Μήκος βλαστού σποροφύτων μαρουλιού ανά ποικιλία και ημερομηνία παρατήρησης μεταξύ των διαφορετικών επιπέδων καταπόνησης (Control, 50, 100, 150 mM NaCl). 67
- Γράφημα 3.5:** Μήκος βλαστού σπορόφυτων μαρουλιού ανά ποικιλία και επίπεδο καταπόνησης (50, 100, 150 mM NaCl) κατά τις 5 ημερομηνίες λήψεως των παρατηρήσεων. 69
- Γράφημα 3.6:** Χλωρό βάρος ανά ποικιλία και επίπεδο καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl). 75
- Εικόνα 3.7:** Ξηρό βάρος ανά ποικιλία και επίπεδο καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl). 79
- Γράφημα 3.8:** Ύψος φυτών μαρουλιού ανά επίπεδο καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl) και ποικιλία σε 3 διαφορετικές ημερομηνίες. 85
- Γράφημα 3.9:** Συγκέντρωση χλωροφύλλης (SPAD) ανά ποικιλία και ανά επίπεδο καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl). 90
- Γράφημα 3.10:** Περιεκτικότητα χλωροφύλλης των 6 ποικιλιών ανά επίπεδο καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl). 91

# 1. Εισαγωγή

## 1.1 Καταγωγή - Διάδοση καλλιέργειας μαρουλιού

Το καλλιεργήσιμο μαρούλι (*Lactuca sativa* L.) ανήκει στην οικογένεια Asteraceae, τη μεγαλύτερη οικογένεια των δικοτυλήδων ειδών (Judd et al., 1999) και αποτελεί μία από τις πρώτες καλλιέργειες λαχανικών που εξημερώθηκαν από τον άνθρωπο (Hancock, 2004). Το γένος περιλαμβάνει περίπου 100 είδη (Lebeda et al., 2004), εκ των οποίων μόνο τρία έχουν διαφορετικού βαθμού δυνατότητα διασταύρωσης με το καλλιεργήσιμο μαρούλι: *L. serriola*, *L. saligna* και *L. virosa* (Zohary, 1991). Το ευρέως διαδεδομένο είδος *L. serriola* θεωρείται πρόγονος του μαρουλιού (DeVries, 1997), ενώ η μεταξύ τους διασταύρωση παράγει πλήρως γόνιμους απογόνους (Lebeda et al., 2004).

Οι βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με το κέντρο καταγωγής του καλλιεργήσιμου μαρουλιού ποικίλλουν. Η πρώτη σχετική αναφορά για τη χρήση του μαρουλιού καταγράφηκε στην περιοχή του Νείλου και προερχόταν από τις διακοσμήσεις των ταφικών επιγραφών το 4.500 π.Χ. (De Vries, 1997), ενώ στην περιοχή της Αιγύπτου (2.500 π.Χ.) αρχαιολογικές ανασκαφές έφεραν στο φως τοίχους αιγυπτιακών τάφων που απεικόνιζαν ένα μακρύφυλλο τύπου *Cos* μαρουλιού. Ακολούθως, από την Αίγυπτο το καλλιεργήσιμο μαρούλι εξαπλώθηκε στην Ελλάδα και τη Ρώμη (Lindqvist, 1960). Πιο συγκεκριμένα, ο Ηρόδοτος περί το 550 π.Χ. ανέφερε ένα είδος μαρουλιού που έμοιαζε με τον τύπο *Cos* και τρωγόταν από τους Πέρσες (Oost, 1980) ενώ μεταγενέστερα, αναφορές σχετικά με το τύπο *Romaine* (αρχές του 15<sup>ου</sup> αιώνα) και κεφαλής (αρχές του 16<sup>ου</sup> αιώνα) καταγράφηκαν σε περιοχές καλλιέργειας της Γαλλίας και της Ιταλίας.

Με δεδομένο ότι στην κοιλάδα του Νείλου το άγριο είδος μαρουλιού *L. serriola* αποτελούσε το πλέον διαδεδομένο είδος, και ο κλάδος της γεωργίας στο Κουρδιστάν και τη Μεσοποταμία εμφάνιζε μεγαλύτερη άνθιση σε σχέση με την Αίγυπτο, το επικρατέστερο κέντρο καταγωγής του μαρουλιού είναι η νοτιοδυτική Ασία, και πιο συγκεκριμένα η περιοχή γύρω από τον Ευφράτη και τον Τίγρη ποταμό (Zohari and Hopf, 2000).

Στην Κίνα, η καλλιέργεια μαρουλιού εισήχθη μεταξύ 600 και 900 μ.Χ. Το κινέζικο μαρούλι χαρακτηριζόταν ως παχύρευστο, με πικρό στέλεχος καθώς και μειωμένη ποσότητα φύλλων (τύπου *Stem*). Γύρω στο 19<sup>ο</sup> αιώνα, το κινέζικο μαρούλι εισήχθη στην Ευρώπη, αλλά δεν

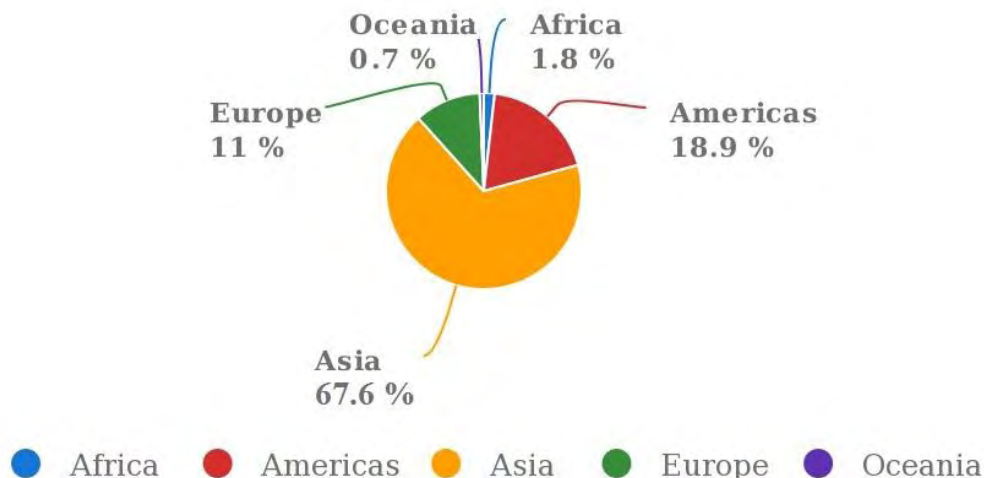
διαδόθηκε η καλλιέργειά του σε εμπορική κλίμακα (Oost, 1980). Σύμφωνα με βιβλιογραφικές αναφορές, το μαρούλι εισήχθη στην Αμερική κατά το δεύτερο ταξίδι του Χριστόφορου Κολόμβου το 1494 (Ryder, 1986, 1999).

Το μαρούλι θεωρείται το σημαντικότερο λαχανικό της οικογένειας των φυλλωδών λαχανικών. Τα φύλλα του χρησιμοποιούνται σχεδόν αποκλειστικά ως φρέσκο συστατικό σε σαλάτες ενώ ορισμένοι τύποι του χρησιμοποιούνται σε μαγειρικές παρασκευές (Lebedaetal, 2007; Rubatzky and Yamaguchi 2012,). Σε ορισμένες ανατολικές χώρες, όπως στην Κίνα και στην Αίγυπτο, καταναλώνονται οι μίσχοι αντί των φύλλων μαρουλιού, μαγειρεμένοι, ωμοί, ή και αποξηραμένοι. Ωστόσο, μερικές λιγότερο συνηθισμένες χρήσεις του μαρουλιού περιλαμβάνουν τη δημιουργία καπνού χωρίς νικοτίνη από τα φύλλα του, την εκχύλιση βρώσιμου ελαίου από τους σπόρους του και τη σύνθεση ενός είδους ηρεμιστικού από αποξηραμένο γαλακτώδη χυμό που περιέχεται σε μίσχους και άλλους ιστούς του. Πιο αναλυτικά, το *Lactucarium* συνιστά τον αποξηραμένο γαλακτώδη χυμό που παράγεται από το άγριο είδος *Lactuca virosa* L. και χρησιμοποιείται για την παρασκευή ενός φαρμάκου που προκαλεί υπνηλία (Ryder, 1986).

Ως προς την καλλιέργεια, το μαρούλι παράγεται εμπορικά σε πολλές χώρες του κόσμου, ιδιαίτερα σε εύκρατες και υποτροπικές περιοχές, ενώ ταυτόχρονα αποτελεί λαχανικό όπου καλλιεργείται ευρέως σε κήπους σπιτιών (Rubatzky and Yamaguchi, 2012). Αποτελεί σημαντική εμπορική καλλιέργεια στην Ασία, τη Βόρεια και Κεντρική Αμερική αλλά και την Ευρώπη. Πιο συγκεκριμένα, η Κίνα, οι Η.Π.Α., η Ισπανία, η Ιταλία, η Ινδία και η Ιαπωνία είναι μεταξύ των μεγαλύτερων παραγωγών στον κόσμο (Lebedaetal, 2007). Η παγκόσμια παραγωγή μαρουλιού το 2016 ανήλθε σε περισσότερους από 26 εκατομμύρια τόνους σε περίπου 12 εκατομμύρια στρέμματα (Εικόνα 1.1). Η Ασία παράγει περίπου τα δύο τρίτα της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής μαρουλιού στον κόσμο και ακολουθούν η Αμερική, η Ευρώπη, η Αφρική και η Ωκεανία.

Η Κίνα είναι η χώρα που παράγει τη μεγαλύτερη ποσότητα μαρουλιού αντιπροσωπεύοντας περίπου το ήμισυ της συνολικής παραγωγής αλλά και καλλιεργούμενης έκτασης παγκοσμίως, κυρίως για το μαρούλι τύπου Stalk. Από την άλλη πλευρά, οι ΗΠΑ καταλαμβάνουν την υψηλότερη θέση στη παραγωγή μαρουλιού ως σαλάτα παράγοντας το 15% της παγκόσμιας προσφοράς σε καλλιεργούμενη έκταση που δεν ξεπερνά το 9% της παγκόσμιας καλλιεργήσιμης έκτασης για το είδος. Στις μεγάλες χώρες παραγωγής μαρουλιού συγκαταλέγονται επίσης η

Ινδία, η Ισπανία, η Ιταλία, η Ιαπωνία, το Ιράν, η Τουρκία, το Μεξικό και η Γερμανία. Τέλος, στην Ελλάδα η καλλιέργεια μαρουλιού καταλαμβάνει περί τα 60 χιλιάδες στρέμματα, ενώ η εγχώρια παραγωγή το 2016 άγγιξε τους 69 χιλιάδες τόνους.



**Εικόνα 1.1:** Παγκόσμια παραγωγή μαρουλιού (Πηγή: FAOSTAT).

## 1.2 Βοτανική περιγραφή

Το μαρούλι είναι ένα ετήσιο, ποώδες και πολυμορφικό φυτό, κυρίως σε επίπεδο φυλλώματος. Ανήκει στην κατηγορία φυτών μικρού βιολογικού κύκλου καθώς, ανάλογα με την ποικιλία και την εποχή σποράς, ο βιολογικός του κύκλος κυμαίνεται από 65 έως 130 ημέρες. Το μαρούλι αναπτύσσεται γρήγορα δημιουργώντας μία βαθιά πασσαλώδη κεντρική ρίζα, η οποία συνοδεύεται από πυκνή και εκτεταμένη ανάπτυξη πλευρικών ριζών. Παρόλο που η κεντρική ρίζα μπορεί να διεισδύσει σε βάθος σχεδόν 1 m, οι πλευρικές ρίζες κοντά στην επιφάνεια του εδάφους είναι υπεύθυνες για το μεγαλύτερο μέρος της απορρόφησης νερού και απαραίτητων θρεπτικών ουσιών.

Τα φύλλα είναι σπειροειδώς διατεταγμένα πάνω στο βλαστό σχηματίζοντας μια πυκνή ροζέτα. Σημαντική ποικιλομορφία εμφανίζεται στο χρώμα, στο σχήμα, στην υφή και στα περιθώρια των φύλλων μεταξύ των διαφορετικών τύπων μαρουλιού. Τα φύλλα είναι λεία, πλατιά με σχήμα ωοειδές, καρδιοειδές, επίμηκες και τα περιθώρια μπορεί να είναι ακέραια, κυματοειδή ή ακανόνιστα οδοντωτά. Τα χρώματα των φύλλων μπορεί να διαφέρουν από ανοιχτό

πρασινοκίτρινο μέχρι σκούρο πράσινο, ενώ μερικές ποικιλίες εμφανίζουν χρωματισμούς κόκκινους έως μωβ. Η ανθοκυανίνη είναι η χρωστική ουσία που είναι υπεύθυνη για τους ερυθρούς και πορφυρούς χρωματισμούς. Τα εσωτερικά φύλλα του μαρουλιού τείνουν να είναι πιο ανοιχτά σε χρωματισμό, ενώ εκείνα των ποικιλιών τύπου κεφαλής είναι λευκά.

Για τους περισσότερους τύπους μαρουλιού, εκτός από το μαρούλι τύπου stalk, ο βλαστός είναι σύντομος, συμπιεσμένος και φέρει πάνω του πυκνά φύλλα. Το ύψος των φυτών κυμαίνεται από 15 έως 30 cm., ενώ κατά την περίοδο της αναπαραγωγικής φάσης ο βλαστός επιμηκύνεται και σχηματίζεται ανθικό στέλεχος (ανθοφόρος βλαστός), το οποίο είναι διακλαδιζόμενο και μπορεί να ξεπεράσει σε ύψος το 1 m.

Η ταξιανθία βρίσκεται στο άκρος του ανθικού στελέχους υπό την μορφή κορυμβόμορφου βότρυ ή φόβης και αποτελείται από πολυάριθμες κεφαλές, όπου η καθεμία αποτελείται από 10-25 ανθίδια. Το άνθος είναι ερμαφρόδιτο και αυτογονιμοποιούμενο, με περιστασιακό ποσοστό επικονίασης από έντομα.

Τα άνθη είναι μικρού μεγέθους, κίτρινου χρώματος, με στεφάνη που αποτελείται από 5 πέταλα ενωμένα μεταξύ τους και 5 στήμονες επίσης ενωμένους που σχηματίζουν σωλήνα γύρω από το στέλεχος ο οποίος καταλήγει σε δίλοβο στίγμα. Η άνθιση πραγματοποιείται σταδιακά και μπορεί να διαρκέσει από 1 έως 2 μήνες. Ωστόσο, τα άνθη κάθε κεφαλής ανοίγουν ταυτόχρονα και τα στίγματα είναι επιδεκτικά στην επικονίαση μόνο για μερικές ώρες το πρωί. Η γονιμοποίηση πραγματοποιείται μόλις 3-6 ώρες μετά την επικονίαση και οι σπόροι αναπτύσσονται ταυτόχρονα στην ίδια ανθική κεφαλή, με κάθε ανθίδιο να παράγει ένα καρπό που ονομάζεται αχαίνιο.

Ο καρπός είναι επιμήκης, μικρός σε μέγεθος, 3-4 mm, και φέρει πάππο. Κάθε καρπός περιέχει έναν σπόρο και κάθε φυτό παράγει περίπου 1.500 σπόρους, οι οποίοι μπορεί να είναι λευκοί, κίτρινοι, γκρι, καφέ ή μαύροι, ανάλογα με την ποικιλία του μαρουλιού. Το εκατολιτρικό βάρος ανέρχεται στο 1 g ενώ οι πρόσφατα συγκομισθέντες σπόροι παρουσιάζουν ένα σύντομο λήθαργο μετά τη συγκομιδή τους, λόγω ενός υδατοδιαλυτού αναστολέα, ο οποίος απομακρύνεται με την πάροδο του χρόνου ή την έκπλυση των σπόρων. Τέλος, όλες οι ποικιλίες παρουσιάζουν διαφορετικά επίπεδα θερμοληθάργου, ενώ ορισμένες ποικιλίες εμφανίζουν και φωτοχημικό λήθαργο.

### 1.3 Βοτανική ταξινόμηση

Το μαρούλι (*Lactuca sativa* L.) είναι αυτογονιμοποιούμενο διπλοειδές είδος ( $2n = 2x = 18$ ) και ανήκει στην οικογένεια Asteraceae (Compositae), που αποτελεί τη μεγαλύτερη οικογένεια δικοτυληδών φυτών με πάνω από 1.600 γένη και 23.000 είδη παγκοσμίως (Judd et al., 1999). Ανήκει στο γένος Lactuceae (Cichoreae) της υποοικογένειας Cichorioideae, το οποίο περιλαμβάνει πάνω από 100 είδη, εκ των οποίων τα 17 είδη ανήκουν στην Ευρώπη, τα 10 στη Βόρεια Αμερική, τα 33 στην Ανατολική Αφρική και τα υπόλοιπα 40 είδη στην Ασία (Lindqvist, 1960). Μόνο τέσσερα είδη (*L. sativa* L., *L. serriola* L., *L. saligna* L., *L. virosa* L.) εξ αυτών μπορούν να διασταυρωθούν μεταξύ τους με συμβατικές μεθόδους υβριδισμού δίνοντας γόνιμους απογόνους (Zohary, 1991).

Το *L. sativa* αποτελεί το καλλιεργήσιμο είδος μαρουλιού, το οποίο χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη υψηλής γενετικής παραλλακτικότητας, η οποία τόσο με τα κέντρα καταγωγής του όσο και με τη σύνθετη διαδικασία εξημέρωσής του (Kesseli et al., 1991). Το 1960, ο Rodenberg πραγματοποίησε την πρώτη απόπειρα ταξινόμησης των ποικιλιών μαρουλιού, ενώ πρόσφατες ταξινομικές και μορφολογικές μελέτες κατηγοριοποιούν τις εδώδιμες ποικιλίες του σε επτά βοτανικούς τύπους, οι οποίοι παρουσιάζουν διακριτούς φαινοτύπους (Lebeda et al., 2007; Kristkova et al., 2008) :

1. **Butterhead:** Αυτός ο τύπος μαρουλιού σχηματίζει μια χαλαρή κεφαλή με μαλακά, τρυφερά και σχεδόν σφαιρικά φύλλα. Το κεντρικό νεύρο του φύλλου διακλαδίζεται σε περισσότερα νεύρα καθώς πλησιάζει στην κορυφή του ελάσματος. Καλλιεργείται κυρίως στην Αγγλία και στη Γαλλία καθώς και σε ορισμένες χώρες τις νότιας και δυτικής Ευρώπης, όπου καταναλώνεται νωπό. Επιπλέον, τις τελευταίες δεκαετίες πολλές ποικιλίες τύπου Butterhead καλλιεργούνται και στις ΗΠΑ (Mikel, 2007).
2. **Crisphead (iceberg, batavia):** Τα φυτά αυτού του τύπου σχηματίζουν κεφαλή με παχιά σγουρά φύλλα που καταναλώνονται ωμά. Τα νεύρα των φύλλων είναι λευκού χρώματος, παχιά αλλά εύθραυστα. Οι ΗΠΑ αποτελούν την κύρια ζώνη καλλιέργειας, όπου έχουν καταγραφεί συνολικά 202 ποικιλίες από το 1970 έως το 2004 (Mikel, 2007). Ωστόσο, η καλλιέργεια του έχει αρχίσει να επεκτείνεται και σε ευρωπαϊκές χώρες, όπως Ηνωμένο

Βασιλείο, Γαλλία, Ισπανία, Βέλγιο, Γερμανία, Πολωνία, Τσέχικη Δημοκρατία, καθώς και στην Ιαπωνία, στην Κίνα και στην Αυστραλία (Lebeda et al., 2007).

3. **Cos (romana):** Τα μαρούλια τύπου Cos διαθέτουν ψηλή και χαλαρή κεφαλή, με φύλλα επιμήκη, άκαμπτα και με όρθια ανάπτυξη ενώ μπορούν να καταναλωθούν νωπά ή μαγειρεμένα. Το όνομα Cos προέρχεται από το ελληνικό νησί Κως, όπου το λαχανικό αυτό καλλιεργήθηκε για μεγάλο χρονικό διάστημα ενώ αποτελεί το πιο κοινό τύπο μαρουλιού στις μεσογειακές χώρες της δυτικής Ασίας, της βόρειας Αφρικής και της Ευρώπης. Πιο συγκεκριμένα, στην Ευρώπη καλλιεργείται κυρίως στην Ιταλία, στη Γαλλία και στην Αυστρία (De Vries, 1997). Η τράπεζα γενετικού υλικού CGN (Centre for Genetic Resources, The Netherlands) περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό παραδοσιακών ποικιλιών μαρουλιού τύπου Cos, οι οποίες προέρχονται από την Αίγυπτο, την Τουρκία, τη Συρία και το Ιράν (Boukema et al., 1990).
4. **Cutting (loose-leaf):** Οι ποικιλίες μαρουλιού που συγκαταλέγονται σε αυτό τον τύπο δεν σχηματίζουν κεφαλή και συγκομίζονται για νωπή κατανάλωση ως ολόκληρες, ανοιχτές ροζέτες ενώ μπορεί να σχηματίσουν μια πυκνή μάζα φύλλων στο κέντρο του φυτού. Το χαρακτηριστικό αυτού του τύπου μαρουλιού είναι η εξαιρετικά μεγάλη ετερογένεια σε επίπεδο φαινοτύπου. Οι ποικιλίες μπορεί να έχουν φύλλα λεία, σγουρά ή οδοντωτά, με ίσια ή βαθιά εγχάρακτα περιθώρια, επιμήκη ή πλατιά, διαφόρων αποχρώσεων του πράσινου αλλά και με ποικίλες εντάσεις ανθοκυανίνης. Τέτοιοι τύποι μαρουλιού καλλιεργούνται στις ΗΠΑ, στην Ιταλία, στη Γαλλία, στην Τσεχία και στη Σλοβακία (De Vries, 1997). Η τράπεζα γενετικού υλικού CGN (Centre for Genetic Resources, the Netherlands) περιλαμβάνει τοπικές ποικιλίες μαρουλιού τόσο από την Ελλάδα όσο και από την Τουρκία (Boukem et al., 1990).
5. **Stalk (asparagus):** Ο συγκεκριμένος τύπος μαρουλιού αποτελείται από φυτά όπου απουσιάζει ο σχηματισμός κεφαλής και τα οποία διαθέτουν παχύρρευστα και σαρκώδη στελέχη. Σε αυτόν τον τύπο μαρουλιού διακρίνονται δύο κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει τις κινέζικες ποικιλίες, οι οποίες εμφανίζουν ανοιχτόχρωμα γκριζα φύλλα, ενώ η δεύτερη περιλαμβάνει φυτά με μακρά λογχοειδή φύλλα και αιχμηρές κορυφές. Καλλιεργείται κυρίως στην Κίνα, στη Σοβιετική Ένωση και στην Ινδία, όπου καταναλώνεται νωπό ή μαγειρεμένο. Ο συγκεκριμένος τύπος δεν καλλιεργείται σε εμπορική κλίμακα στην Ευρώπη και στην Αμερική (De Vries, 1997).

6. **Latin:** Ο συγκεκριμένος τύπος μαρουλιού σχηματίζει μια χαλαρή κεφαλή, με παχιά δερματοειδή φύλλα, τα οποία εμφανίζουν πολύ σκούρο πράσινο χρώμα. Καλλιεργείται σε χώρες γύρω από τη Μεσόγειο, συμπεριλαμβανομένης της Βόρειας Αφρικής, καθώς και στη Νότια Αμερική (Lebeda et al., 2007).
7. **Oilseed:** Τα μαρούλια αυτά διακρίνονται από την υψηλή περιεκτικότητα των σπόρων σε έλαιο (35 %), το οποίο χρησιμοποιείται είτε στη μαγειρική είτε στην παρασκευή φαρμακευτικών σκευασμάτων (περιέχει βιταμίνη E) (Lebeda et al., 2007). Εξαιτίας της πικρής γεύσης της φυλλικής του επιφάνειας, δεν καταναλώνεται ως λαχανικό. Τα φυτά του εν λόγω τύπου ανήκουν είτε στο είδος *L. serriola* είτε στο είδος *L. sativa*, είτε σε ενδιάμεσες μορφές τους.

#### 1.4 Κλιματικές απαιτήσεις

Το μαρούλι χαρακτηρίζεται ως μία καλλιέργεια ψυχρής εποχής που η ανάπτυξη της πραγματοποιείται καλύτερα σε ένα εύρος θερμοκρασιών 12-20 °C, με βέλτιστη θερμοκρασία ημέρας και νύχτας τους 20 °C και 10 °C, αντίστοιχα. Οι υψηλές θερμοκρασίες, άνω των 27 °C, επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη της κεφαλής (έλλειψη σχηματισμού, χαλαρή εμφάνιση), την ποιότητα του βρώσιμο τμήματος του (πικρή γεύση και κάψιμο φύλλων) αλλά και το ποσοστό βλάστησης των σπόρων. Η επικράτηση ξηροθερμικών συνθηκών προωθεί την άνθιση αλλά και την ανάπτυξη του μίσχου, ιδιαιτέρως όταν η θερμοκρασία ημέρας και νύχτας διατηρείται σταθερά πάνω από 20 °C.

Από την άλλη πλευρά, οι δροσερές νύχτες είναι απαραίτητες για την παραγωγή υψηλής ποιότητας μαρουλιού. Η ωρίμανση της καλλιέργειας εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία, δεδομένου ότι η συγκομιδή του μαρουλιού μπορεί να πραγματοποιηθεί από 60 ημέρες σε θερμές περιοχές μέχρι και πάνω από 120 ημέρες σε ψυχρές περιοχές (Rubatzky and Yamaguchi, 1997).

Η καλλιέργεια μαρουλιού αναπτύσσεται επαρκώς και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Πιο συγκεκριμένα, τα σπορόφυτα θεωρούνται ανθεκτικά σε παγετό από -5 °C έως -7 °C, ενώ τα ώριμα φυτά χαρακτηρίζονται ως ευαίσθητα, γνώρισμα που εμφανίζει γονοτυπική εξάρτηση. Σε ήπιες και παρατεταμένες χαμηλές θερμοκρασίες, υπάρχει πιθανότητα τραυματισμού των



εξωτερικών φύλλων των φυτών. Αντιθέτως, σοβαρός παγετός πριν από την συγκομιδή μπορεί να κάψει τα φύλλα και την κεφαλή του φυτού. Το θερμοκρασιακό εύρος ποικίλλει ανάλογα με την ποικιλία και τον τύπο του μαρουλιού, καθώς ορισμένες ποικιλίες μπορεί να καλλιεργηθούν σε θερμότερα κλίματα (Afroza and Rana, 2017).

Το μαρούλι είναι φυτό μακράς φωτοπεριόδου. Η υψηλή ένταση φωτός και η μεγάλης διάρκειας ημέρες αυξάνουν το ρυθμό ανάπτυξης και επιταχύνουν την ανάπτυξη των φύλλων, παράγοντας φαρδύτερα και μεγαλύτερα φύλλα με αποτέλεσμα την επιτάχυνση του σχηματισμού κεφαλής. Υπό συνθήκες μεγάλης ημέρας, με ταυτόχρονη επικράτηση υψηλών θερμοκρασιών, σε ορισμένες ποικιλίες μαρουλιού προάγεται η αναπαραγωγική φάση, προκαλώντας πρόωρη άνθιση. Η εξέλιξη των βελτιωτικών διαδικασιών έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη ουδέτερων φωτοπεριοδικά ποικιλιών μαρουλιού (Rubatzky and Yamaguchi, 1997).

### **1.5 Απαιτήσεις σε έδαφος, υγρασία και θρεπτικά συστατικά**

Οι καλλιεργούμενες ποικιλίες μαρουλιού αναπτύσσονται ικανοποιητικά σε μία ευρεία ποικιλία εδαφών, που κυμαίνονται από ελαφριά αμμώδη έως βαριά αργιλώδη εδάφη. Ωστόσο, το μαρούλι ευδοκimeί σε γόνιμα πηλώδη εδάφη, πλούσια σε οργανική ουσία, με βέλτιστη τιμή εδαφικού pH από 6 έως 6,8. Η υψηλή συγκράτηση και κατάλληλη αποστράγγιση νερού συνιστούν καθοριστικής σημασίας παράγοντες για την επιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας και την επίτευξη μέγιστης απόδοσης. Τέλος, τα ζεστά αμμώδη εδάφη προτιμώνται για πρόωμη συγκομιδή μαρουλιού, ενώ τα πηλώδη προς αργιλοπηλώδη ή τυρφώδη εδάφη οδηγούν σε οψίμιση της παραγωγής.

Το πλευρικό ριζικό σύστημα των φυτών μαρουλιού είναι σχετικά αβαθές, καθιστώντας την καλλιέργεια ευαίσθητη στην υδατική καταπόνηση. Αναφορικά με τις απαιτήσεις της καλλιέργειας σε νερό, η ομοιόμορφη παροχή υγρασίας καθώς και η αποφυγή παρατεταμένου χρόνου κορεσμού υγρασίας στο έδαφος αποτελούν πρακτικές επιτυχούς εγκατάστασης του μαρουλιού. Για τις περισσότερες ποικιλίες μαρουλιού το μέσο ετήσιο ύψος βροχής των 400 mm είναι συνήθως επαρκές (Rubatzky and Yamaguchi, 1997). Σε ημίξηρες και ξηρές περιοχές, όπου οι βροχοπτώσεις είναι ασθενείς, η συμπληρωματική άρδευση θεωρείται απαραίτητη. Οι μέθοδοι άρδευσης περιλαμβάνουν την κατάκλιση, την άρδευση με λωρίδες, τη χρήση μπεκ και

αυλακιών, καθώς και σταλακτήρων. Η χρήση της μεθόδου στάγδην άρδευσης έχει αυξηθεί σημαντικά, κυρίως λόγω της αποδοτικότητας χρήσης νερού καθώς και της αύξησης της απόδοσης, μέσω της ενσωμάτωσης στο νερό άρδευσης απαραίτητων θρεπτικών συστατικών.

Η βοτανική κατασκευή του ριζικού συστήματος του μαρουλιού επηρεάζει επίσης και την απορρόφηση των θρεπτικών ουσιών. Η διάθεση, ο χρόνος και η ποσότητα εφαρμογής των λιπασμάτων συνιστούν ιδιαίτερα σημαντικούς παράγοντες για την αύξηση της αποτελεσματικότητας χρήσης θρεπτικών συστατικών (Rubatzky and Yamaguchi, 1997). Το άζωτο αποτελεί στοιχείο ζωτικής σημασίας για την καλλιέργεια και συνίσταται η εφαρμογή μείγματος νιτρικού και αμμωνιακού αζώτου. Επιπροσθέτως, ο φωσφόρος αποτελεί σημαντικό συστατικό για την πρόωρη ανάπτυξη των φυτών. Τέλος, δεδομένου ότι το 75 % περίπου της φυτικής βιομάζας του μαρουλιού παράγεται κατά το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου, το προσφερόμενο λίπασμα είναι πιο αποτελεσματικό όταν το μεγαλύτερο μέρος του εφαρμόζεται πριν από τη φάση της επιταχυνόμενης ανάπτυξης.

## 1.6 Αβιοτικές καταπονήσεις

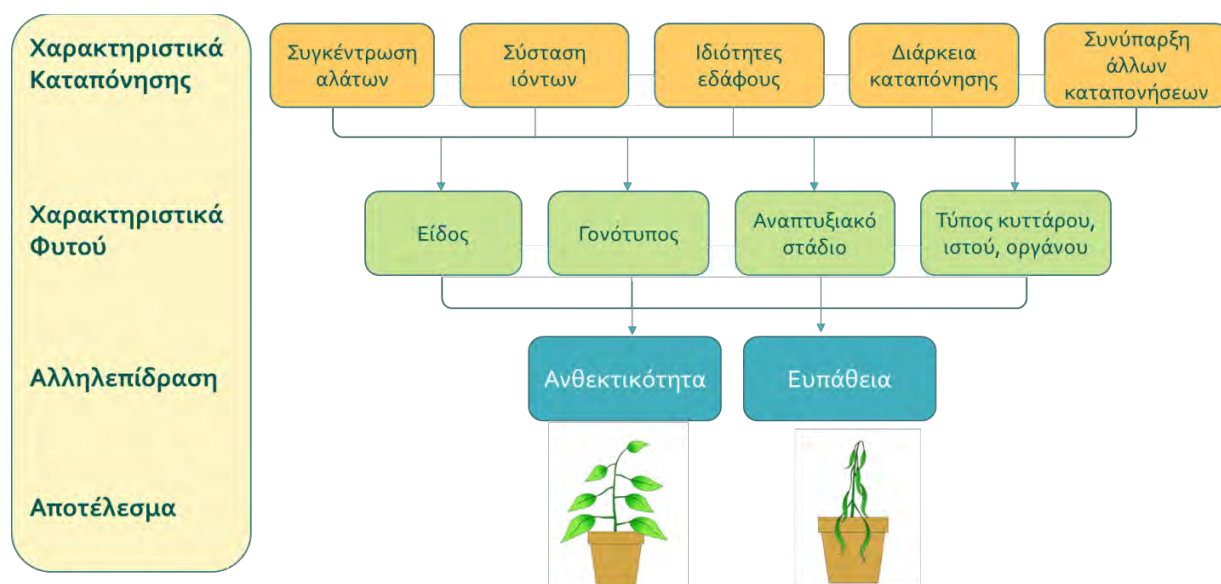
Κατά την αλληλεπίδρασή τους με το περιβάλλον, τα φυτά υπόκεινται σε πληθώρα βιοτικών ή/και αβιοτικών καταπονήσεων, οι οποίες προκαλούν μεταβολές σε μορφολογικό, φυσιολογικό, βιοχημικό και μοριακό επίπεδο. Ως καταπόνηση ορίζεται οποιοσδήποτε εξωτερικός παράγοντας, αβιοτικός ή βιοτικός, ο οποίος περιορίζει το ρυθμό της φωτοσύνθεσης και μειώνει την ικανότητα του φυτού να μετατρέψει την ενέργεια σε βιομάζα (Grime, 1977). Οι μεταβολές που λαμβάνουν χώρα, υπό την επίδραση καταπονήσεων, αποτυπώνονται σε πλήθος δυσμενών επιπτώσεων στην αύξηση, ανάπτυξη και παραγωγικότητα των φυτών, ενώ υπό συνθήκες ακραίας καταπόνησης καθίσταται αδύνατη η επιβίωση τους.

Η παγκόσμια γεωργία πέρα από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες αντιμετωπίζει και κοινωνικές προκλήσεις, όπως είναι η παραγωγή 70 % περισσότερων τροφίμων για τον ολοένα αυξανόμενο πληθυσμό της γης, με την παραγωγικότητα των καλλιεργειών να μην αυξάνεται παράλληλα με τη ζήτηση των τροφίμων. Στο πλείστο των περιπτώσεων, η αδυναμία επίτευξης του μέγιστου παραγωγικού δυναμικού των καλλιεργειών, που οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή τροφίμων, αποδίδεται σε αβιοτικές καταπονήσεις. Στο επίπεδο αυτό, ως χάσμα απόδοσης ορίζεται η διαφορά μεταξύ του θεωρητικού δυναμικού απόδοσης και της πραγματικής απόδοσης

της καλλιέργειας (Gilliham et al., 2017). Οι απώλειες απόδοσης των καλλιεργειών, ως αποτέλεσμα της ευαισθησίας τους σε αβιοτικές καταπονήσεις είναι ένας σημαντικός τομέας μελέτης, για την αντιμετώπιση των αυξανόμενων αναγκών σε τρόφιμα (Shanker and Venkateswarlu, 2011). Έχει προβλεφθεί ότι περισσότερο από το 50 % της μείωσης της απόδοσης είναι το άμεσο αποτέλεσμα των αβιοτικών πιέσεων (Acquaah, 2007).

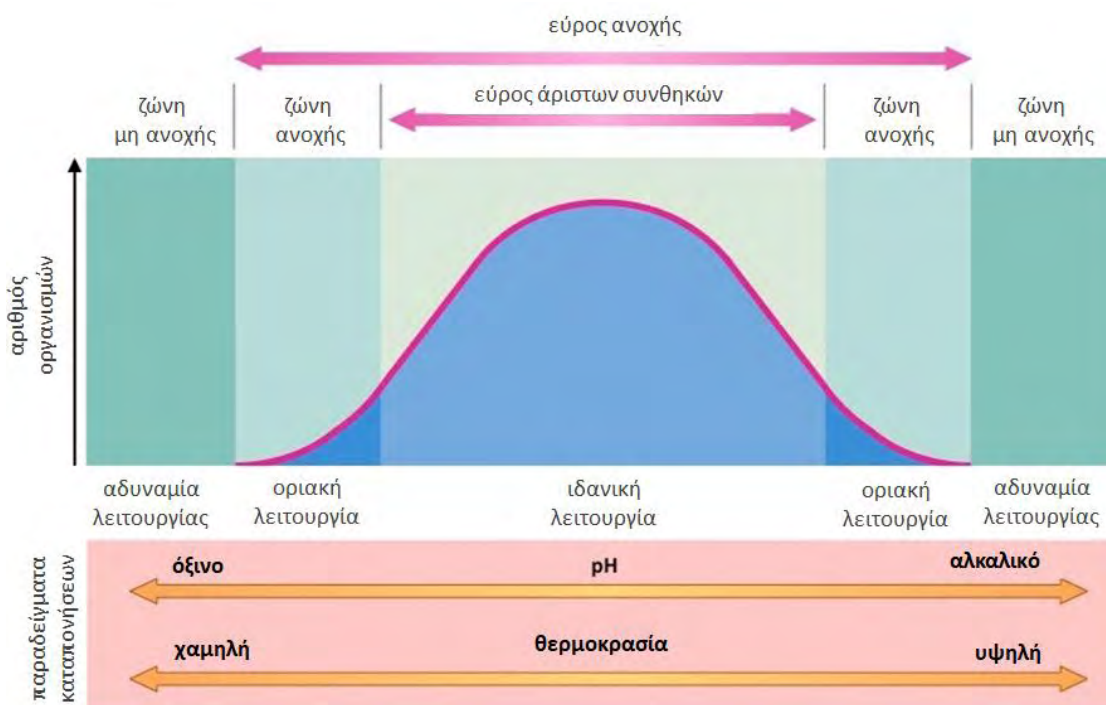
Στις αβιοτικές καταπονήσεις εντάσσονται περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η περίσσεια ή η έλλειψη νερού, η αυξημένη αλατότητα, οι ακραίες θερμοκρασίες, η έλλειψη θρεπτικών συστατικών, η περίσσεια ιόντων ή βαρέων μετάλλων, η ατμοσφαιρική ρύπανση, η επίδραση δυνατών ανέμων, η ανοξία ή υποξία, η έκθεση σε μεγάλες εντάσεις ακτινοβολίας στο φάσμα του υπέρυθρου, ορατού, υπεριώδους και στις φασματικές περιοχές της ιοντίζουσας ακτινοβολίας (Suzuki et al., 2014). Ωστόσο, οι πλέον επιζήμιες αβιοτικές καταπονήσεις, βάσει των επιπτώσεων που επιφέρουν, είναι η έλλειψη ή η περίσσεια εδαφικής υγρασίας, η αυξημένη αλατότητα, το οξειδωτικό στρες και οι ακραίες θερμοκρασίες. Οι ανωτέρω παράγοντες καταπόνησης προκαλούν σε παγκόσμιο επίπεδο μείωση της μέσης απόδοσης των βασικών εδώδιμων καλλιεργειών έως και 70 % (Mantri et al., 2012; Ahmad et al., 2012).

Πέραν του είδους της καταπόνησης, πρόσθετοι παράγοντες καθοριστικής σημασίας είναι η ένταση και η διάρκεια της καταπόνησης καθώς και η ενδεχόμενη ταυτόχρονη ύπαρξη και άλλων καταπονήσεων (Εικόνα 1.2).



**Εικόνα 1.2:** Απόκριση των φυτών στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας.

Η περιοχή εντός της οποίας καθίσταται εφικτή η εκτέλεση των βασικών φυσιολογικών λειτουργιών ονομάζεται εύρος ανοχής, εντός του οποίου διακρίνεται και η περιοχή άριστης λειτουργίας του φυτού. Εκτός του εύρους ανοχής, απαντάται η ζώνη μη ανοχής του είδους όπου ο παράγοντας καταπόνησης επιφέρει αδυναμία επιβίωσης του οργανισμού. Ένας παράγοντας που ξεπερνά τα όρια του εύρους ανοχής καλείται περιοριστικός παράγοντας (Εικόνα 1.3).



**Εικόνα 1.3:** Περιοχή επίδρασης ενός παράγοντα καταπόνησης σε σχέση με την ικανότητα ενός οργανισμού να επιτελέσει τις βασικές λειτουργίες του (Νόμος ανοχής, V.E. Shelford, 1911).

(Πηγή:<http://ib.bioninja.com.au/options/option-c-ecology-and-conser/c1-species-and-communities/survival-factors.html>)

### 1.7 Καταπόνηση υψηλής αλατότητας

Η αλατότητα του εδάφους είναι ένας σημαντικός παράγοντας που περιορίζει την απόδοση, επηρεάζοντας την αύξηση και την ανάπτυξη των γεωργικών καλλιεργειών, θέτοντας σε κίνδυνο την οικονομική βιωσιμότητα των καλλιεργειών αλλά και τη δυνατότητα κάλυψης των αναγκών του παγκόσμιου πληθυσμού σε τρόφιμα (Munns and Tester, 2008). Περίπου το 20 % της

καλλιεργούμενης έκτασης και το 33 % της αρδευόμενης έκτασης παγκοσμίως, επηρεάζεται δυσμενώς από την υψηλή συγκέντρωση αλάτων, με τη μεγαλύτερη έκταση να απαντάται κυρίως στην Ασία (Ashraf and Foolad, 2007). Σύμφωνα με αναφορές, η υποβάθμιση των εδαφών, λόγω υψηλής αλατότητας αφορά σε περίπου 10 δις. στρέμματα γης σε παγκόσμιο επίπεδο, τα οποία απαντώνται σε όλες τις ηπείρους, πλην της Ανταρκτικής (Pessarakli and Szabolcs, 1999). Σύμφωνα με τον Szabolcs (1994), οι εκτάσεις που πλήττονται από αλατότητα αυξάνουν με ρυθμό 10 % ετησίως. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού (> 9 δις. το 2050) (Erstein and Bloom, 2005) ιδιαίτερα στις αναπτυσσόμενες χώρες όπου η ζήτηση τροφίμων είναι υψηλότερη, καθιστούν αναγκαία την ενσωμάτωση των χερσαίων περιοχών που πλήττονται από αλατότητα στην παραγωγή τροφίμων (Fageria et al., 2010). Επιπρόσθετα, και δεδομένου ότι η αστικοποίηση και η εκβιομηχάνιση θα αυξήσουν τον ανταγωνισμό για το γλυκό νερό (Rains and Goyal, 2003), η ανεπάρκεια καλλιεργούμενων εκτάσεων και η διαχείριση του νερού θα εντείνουν το πρόβλημα της αλατότητας παγκοσμίως.

Ο παλαιότερος γραπτός απολογισμός των αλατούχων περιοχών χρονολογείται από το 2400 π.Χ. και καταγράφηκε στις αλλουβιακές πεδιάδες του Τίγρη και του Ευφράτη στο Ιράκ (Russel et al., 1965). Τα αλατούχα εδάφη εμφανίζονται σχεδόν σε όλες τις κλιματικές περιοχές, από τις υγρές τροπικές περιοχές μέχρι τις πολικές περιοχές. Τα αλατώδη εδάφη μπορούν να βρεθούν σε διάφορα υψόμετρα, όπως κάτω από την επιφάνεια της θάλασσας (Νεκρά Θάλασσα) έως τα βουνά που ανέρχονται σε πάνω από 5.000 μέτρα (Θιβέτ). Είναι σύνηθες τα αλατούχα εδάφη να εμφανίζονται σε ξηρές και ημίξηρες περιοχές, λόγω της χαμηλής βροχόπτωσης και της υψηλής εξάτμισης. Αυτές οι κλιματολογικές συνθήκες δεν επιτρέπουν την έκπλυση των αλάτων από το έδαφος και συσσωρεύονται σε ποσότητες που αποβαίνουν τοξικές για την ανάπτυξη των φυτών (Fageria et al., 2010). Ωστόσο, η εμφάνιση αλατούχων εδαφών δεν περιορίζεται μόνο σε συνθήκες ερήμου (Singh and Chatrath, 2001), καθώς συναντάται και σε περιοχές κοντά στη θάλασσα λόγω της κάλυψης με θαλασσινό νερό το οποίο περιέχει υψηλή περιεκτικότητα αλάτων (Fageria et al., 2010). Ειδικότερα στις μεσογειακές περιοχές, το πρόβλημα της αλάτωσης των εδαφών εντείνεται από τη διείσδυση θαλάσσιων υδάτων στους υδροφόρους ορίζοντες και την άρδευση των καλλιεργειών με υφάλμυρο νερό (Rana and Katerji, 2000), ενώ στην Αυστραλιανή ήπειρο η αλάτωση αποτελεί αποτέλεσμα της απόθεσης ωκεανικών αλάτων που μεταφέρονται μέσω του αέρα και της βροχής (Munns and Tester, 2008).

Γενικά, όλα τα εδάφη καθώς και τα ύδατα άρδευσης, είτε από κανάλια είτε από υπόγεια ρέματα συμπεριλαμβανομένων και εκείνων που θεωρούνται κατάλληλα για άρδευση, περιέχουν άλατα. Τα άλατα συνιστούν ένα κοινό και απαραίτητο συστατικό του εδάφους και πολλά εξ αυτών, όπως τα νιτρικά και το κάλιο, είναι απαραίτητα για τη θρέψη των φυτών. Τα άλατα προέρχονται από τη διάβρωση ορυκτών πετρωμάτων, από τα ανόργανα λιπάσματα, τις τροποποιήσεις του εδάφους (κομποστοποίηση και κοπριά) και από τα ύδατα άρδευσης (Amacher et al., 2000). Ωστόσο, μεταξύ των διαφόρων πηγών αλάτων, η άρδευση σε συνδυασμό με την κακή αποστράγγιση συνιστούν τις πλέον σοβαρές αιτίες προοδευτικής αλάτωσης και υποβάθμισης της καλλιεργήσιμης γης (Zhu, 2007).

Ως αλατούχα ορίζονται τα εδάφη τα οποία, λόγω παρουσίας διαλυτών αλάτων, ανταλλάξιμου νατρίου ή και των δύο στο ύψος της ριζόσφαιρας, έχουν επηρεαστεί δυσμενώς ως την αύξηση και ανάπτυξη των περισσότερων καλλιεργούμενων ειδών (Soil Science Society of America, 2008). Τα διαλυτά άλατα που εμφανίζονται σε αλατούχα εδάφη είναι κατιόντα όπως το  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  και ανιόντα όπως το  $\text{SO}_4^{2-}$ , το  $\text{Cl}^-$ , το  $\text{HCO}_3^-$ , και μερικές φορές το  $\text{K}^+$ , το  $\text{CO}_3^{2-}$ , και το  $\text{NO}_3^-$ .

Με βάση την ικανότητα ανάπτυξής τους παρουσία αλάτων, τα φυτά κατηγοριοποιούνται σε γλυκόφυτα και αλόφυτα, (Flowers et al., 1977). Στα αλόφυτα, εντάσσονται τα είδη που έχουν την ικανότητα ανάπτυξης και ολοκλήρωσης του βιολογικού τους κύκλου υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας. Η πλειονότητα όμως των χερσαίων φυτών, συμπεριλαμβανομένου και των καλλιεργούμενων ειδών, ανήκει στα γλυκόφυτα, τα οποία εμφανίζουν αδυναμία ανάπτυξης υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις άλατος, οι αποδόσεις επηρεάζονται ελαφρώς ή δεν επηρεάζονται καθόλου (Maggio et al., 2001). Η προοδευτική αύξηση της συγκέντρωσης αλάτων οδηγεί σε ανάλογη μείωση του παραγωγικού δυναμικού, ενώ τα περισσότερα καλλιεργούμενα είδη εμφανίζουν αναστολή ανάπτυξης ή/και αδυναμία επιβίωσης σε συγκεντρώσεις που υπερβαίνουν τα 100-200 mM NaCl. Η ευαισθησία των φυτών στην υψηλή αλατότητα σχετίζεται με την εξέλιξη και επιλογή τους υπό συνθήκες χαμηλής εδαφικής αλατότητας του εδάφους (Munns and Termaat, 1986). Αντίθετα, τα αλόφυτα χαρακτηρίζονται από ικανότητα επιβίωσης και ανάπτυξης ακόμη και σε συγκεντρώσεις που υπερβαίνουν τα 300-400 mM NaCl. Τα είδη αυτά απαντώνται σε αλατούχα εδάφη παράκτιων και άνυδρων περιοχών,

ενώ η ικανότητα ανάπτυξης τους οφείλεται στην κατοχή μηχανισμών αντοχής που εξελίχθηκαν υπό τη δράση της φυσικής επιλογής.

Η αλατότητα παράγει υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων, κυρίως  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$ , στην περιοχή της ριζόσφαιρας, με συνέπεια την εκδήλωση υδατικής ανεπάρκειας. Ως φαινόμενο, η αλατότητα παρουσιάζει διττό ρόλο στην ανάπτυξη των φυτών. Πρωτίστως δρα ως αναστολέας στην πρόσληψη νερού, μέσω ωσμωτικής επίδρασης, και δευτερευόντως δρα ως παράγοντας τοξικότητας, λόγω της αυξημένης συσσώρευσης ιόντων  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$ , με αποτέλεσμα την αναστολή ποικίλων φυσιολογικών και βιοχημικών λειτουργιών όπως είναι η πρόσληψη και η αφομοίωση θρεπτικών (Munns and Tester, 2008).

Οι κύριες στρατηγικές για την αντιμετώπιση της υψηλής αλατότητας αφορούν σε i) αντιμετώπιση των παραγόντων που εντείνουν το πρόβλημα της αλάτωσης των εδαφών (νερό άρδευσης, αποστράγγιση εδάφους) και ii) δημιουργία ποικιλιών φυτών, μέσω διαδικασιών βελτίωσης, με γενετική ανθεκτικότητα στην υψηλή αλατότητα. Η δημιουργία και αξιοποίηση ανθεκτικών γονοτύπων αποτελεί την περισσότερο αποτελεσματική προσέγγιση για τη δυνατότητα παραγωγής αγροτικών προϊόντων σε αλατούχα εδάφη (Fageria et al., 2011). Ωστόσο, ο συνδυασμός των ανωτέρω προσεγγίσεων αποτελεί την πλέον ενδεδειγμένη στρατηγική για τη διατήρηση του μέγιστου παραγωγικού δυναμικού των φυτών υπό συνθήκες καλλιέργειας σε αλατούχα εδάφη.

## 1.8 Αίτια και τύποι της αλατότητας

### 1.8.1 Φυσική ή πρωτογενής αλατότητα

Η φυσική αλατότητα προκύπτει από την προοδευτική εναπόθεση αλάτων μέσω φυσικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα στο έδαφος ή στα υπόγεια ύδατα. Η εναπόθεση αλάτων στο έδαφος προέρχεται από τα μητρικά υλικά που περιέχουν διαλυτά άλατα. Οι φυσικές διεργασίες διάβρωσης καταστρέφουν τα πετρώματα και απελευθερώνουν διαλυτά άλατα διαφόρων τύπων κυρίως χλωριούχα άλατα νατρίου, ασβεστίου και μαγνησίου και σε μικρότερο βαθμό θειικά και ανθρακικά άλατα. Το χλωριούχο νάτριο είναι το πιο διαλυτό άλας. Ωστόσο είναι δυνατή η απόθεση αλατιού από τους ωκεανούς που μεταφέρεται με τη βοήθεια του αέρα και της βροχής.



Τα άλατα των ωκεανών, με κύριο το χλωριούχο νάτριο, μεταφέρονται στο έδαφος από τον άνεμο και εναποτίθενται σε βαθύτερα στρώματα μέσω των βροχοπτώσεων.

### 1.8.2 Δευτερογενής αλατότητα

Η δευτερογενής αλατότητα οφείλεται σε ανθρώπινες δραστηριότητες που αλλάζουν την υδρολογική ισορροπία του εδάφους μεταξύ του εφαρμοζόμενου νερού (άρδευση ή βροχόπτωση) και του νερού που χρησιμοποιείται από τις καλλιέργειες (Διαπνοή; Garg and Manchanda, 2008).

Οι πλέον συνηθισμένες αιτίες ανθρωπογενούς αλατότητας αφορούν σε:

1. χρήση αρδευτικού νερού πλούσιου σε άλατα ή/και σε συνδυασμό με ανεπαρκή αποστράγγιση εδάφους,
2. βιομηχανικές επιδράσεις,
3. υπερβολική χρήση λιπασμάτων,
4. απομάκρυνση της φυσικής φυτικής κάλυψης
5. χρήση υποβαθμισμένων υπογείων υδάτων για άρδευση.

Το νερό άρδευσης που χρησιμοποιείται για τις καλλιέργειες προσθέτει αξιόλογες ποσότητες αλατιού, ακόμη και με τη χρήση νερού καλής ποιότητας που περιέχει μόνο 200-500 mg / kg διαλυτού αλάτος. Το νερό άρδευσης με περιεκτικότητα σε άλατα 500 mg / kg (δηλαδή 500 mg / l) περιέχει 500 κιλά αλάτι ανά 1.000 m<sup>3</sup>. Δεδομένου ότι οι καλλιέργειες απαιτούν περίπου 600-1.000 m<sup>3</sup> νερού ανά στρέμμα κάθε χρόνο, 1 στρέμμα γης θα λάβει 300-500 κιλά αλάτι. Επειδή η ποσότητα του αλατιού που απομακρύνεται από τις καλλιέργειες είναι αμελητέα, τα άλατα συσσωρεύονται στην περιοχή της ριζόσφαιρας, με αποτέλεσμα η έκπλυσή τους να απαιτεί μεγαλύτερη παροχή νερού συγκριτικά με τις ανάγκες της καλλιέργειας. Εάν η αποστράγγιση δεν είναι επαρκής, τα άλατα συσσωρεύονται στο έδαφος.

### 1.8.3 Τύποι αλατότητας

Η αλατότητα του εδάφους προϋπήρχε της γεωργικής εκμετάλλευσης, ωστόσο η αλάτωση των καλλιεργήσιμων εκτάσεων οφείλεται κατά κύριο λόγο στις γεωργικές πρακτικές, και ιδιαίτερα την άρδευση (Zhu, 2001). Η αλατότητα είναι ένας από τους σοβαρότερους περιοριστικούς παράγοντες για την ανάπτυξη και παραγωγικότητα των καλλιεργειών. Με βάση τη φύση, τα



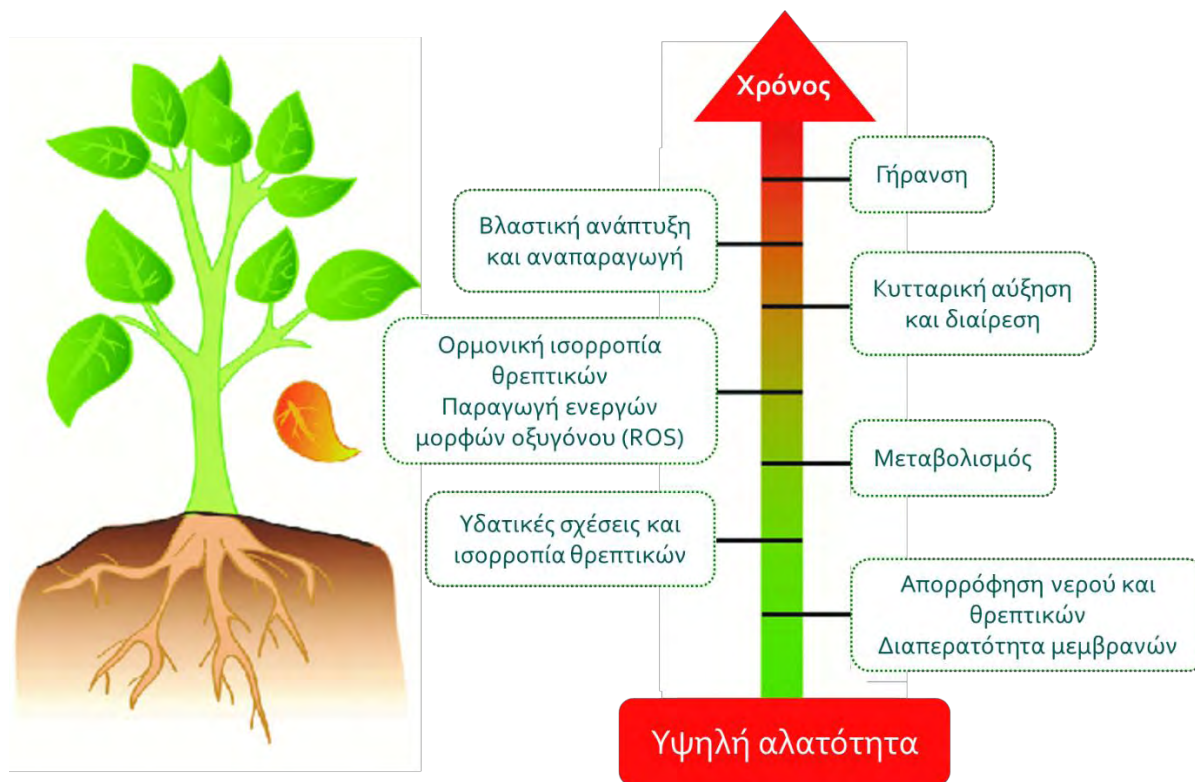
χαρακτηριστικά και τις σχέσεις ανάπτυξης των φυτών σε εδάφη που έχουν υψηλή συγκέντρωση αλάτων, διακρίνονται δύο κύριοι εδαφικοί τύποι :

1. Αλατούχα εδάφη (saline soils) – Κύρια διαλυτά άλατα είναι το χλωριούχο νάτριο ( $\text{NaCl}$ ) και το θειικό νάτριο ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Συχνά περιέχουν και σημαντικές ποσότητες  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  και  $\text{Mg}^{2+}$ . Η αυξημένη συγκέντρωση διαλυτών αλάτων επιφέρει αρνητικές επιδράσεις στην ανάπτυξη των περισσότερων καλλιεργούμενων ειδών.
2. Νατριωμένα ή αλκαλιωμένα εδάφη (Sodic soils) - Περιέχουν άλατα νατρίου ( $\text{Na}^+$ ) ικανά για αλκαλική υδρόλυση, κυρίως ανθρακικό νάτριο ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (Szabolcs, 1974).

### 1.9 Οι επιπτώσεις της αλατότητας στα φυτά

Ως καταπόνηση αλατότητας ορίζεται η δυσμενής επίδραση των ιόντων, κυρίως  $\text{Na}^+$  ή/και  $\text{Cl}^-$ , που απαντώνται σε υψηλές συγκεντρώσεις στην περιοχή της ριζόσφαιρας (Munns, 2005). Η αλατότητα αποτελεί έναν από τους σοβαρότερους περιοριστικούς παράγοντες για την ανάπτυξη και την παραγωγή των περισσότερων καλλιεργούμενων ειδών. Αρχικά, η παρουσία αλάτων στο εδαφικό διάλυμα, λόγω ωσμωτικής επίδρασης, μειώνει την ικανότητα πρόσληψης νερού του ριζικού συστήματος. Σε δεύτερο επίπεδο, η συσσώρευση μεγάλων ποσοτήτων αλάτων, μέσω της διαδικασίας της αναπνοής, δημιουργεί πρόσθετες δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη του φυτού. Απόρροια των ανωτέρω, είναι μία αρνητική επίδραση που κυμαίνεται σε τρία επίπεδα: 1) μείωση του το υδατικού δυναμικού, 2) ανισορροπία ιόντων ή διαταραχές στην ομοιόσταση των ιόντων 3) και τοξικές επιδράσεις.

Οι δυσμενείς επιπτώσεις της καταπόνησης υψηλής αλατότητας παρατηρούνται σε επίπεδο ολόκληρου του φυτού και εκδηλώνονται με αναστολή αύξησης και ανάπτυξης, μείωση της παραγωγικού δυναμικού και αδυναμία επιβίωσης (Εικόνα 1.4).



**Εικόνα 1.4:** Φυσιολογικές και βιοχημικές μεταβολές υπό την επίδραση υψηλής αλατότητας.

### 1.9.1 Βλαστικότητα

Η βλάστηση των σπόρων αποτελεί μία από τις πιο θεμελιώδεις και ζωτικές φάσεις του κύκλου ζωής των φυτών που δρα καθοριστικά τόσο στην επιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας στον αγρό όσο και στην απόδοση. Κατά τη φάση της βλάστησης, η επίδραση της αλατότητας είναι πολύπλευρη και αφορά σε: i) ικανότητα απορρόφησης νερού από τους σπόρους λόγω χαμηλού ωσμωτικού δυναμικού στο μέσο βλάστησης (Khan and Weber, 2006), ii) τοξικότητα που μεταβάλλει τη δραστηριότητα ενζύμων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των νουκλεϊνικών οξέων (Gomes-Filho et al., 2008), iii) μεταβολή του μεταβολισμού των πρωτεϊνών (Yupsanis et al., 1994; Dantas et al., 2007), iv) διαταραχή της ορμονικής ισορροπίας (Khan and Rizvi, 1994) και v) μείωση της αξιοποίησης των αποθεμάτων των σπόρων (Promila and Kumar, 2000; Othman et al., 2006). Αρνητική επίδραση μπορεί επιπλέον να υπάρξει στην δομή των κυττάρων, των ιστών και των οργάνων (Koyro, 2002). Γενικά, τα υψηλά επίπεδα αλάτων αναστέλλουν τη βλάστηση των σπόρων ενώ τα χαμηλότερα επίπεδα προκαλούν λήθαργο στο σπόρο (Khan and Weber, 2006).

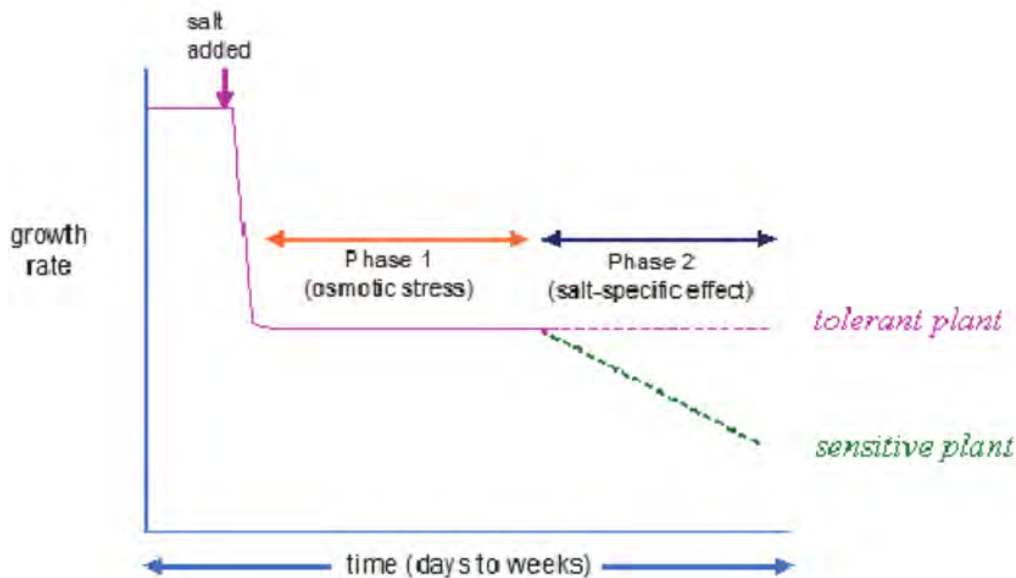
Ωστόσο, η βλάστηση των σπόρων υπό συνθήκες αλατότητας επηρεάζεται από ποικίλους εσωτερικούς (φυτικούς) και εξωτερικούς (περιβαλλοντικούς) παράγοντες, που περιλαμβάνουν τη φύση του στρώματος του σπόρου, το λήθαργο των σπόρων, την ηλικία των σπόρων, τον πολυμορφισμό και ζωηρότητα των σπόρων, τη θερμοκρασία, το φως, το νερό και τον αέρα (Wahid et al., 2011). Επιπρόσθετα, ο ρυθμός και το ποσοστό βλάστησης των σπόρων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας παρουσιάζει έντονη γονοτυπική εξάρτηση καθώς διαφέρει σημαντικά μεταξύ των ειδών και γονοτύπων εντός του ίδιου είδους. Ως εκ τούτου, ο Läubli και ο Grattan (2007) πρότειναν μια γενικευμένη σχέση μεταξύ του ποσοστού βλάστησης και του χρόνου, έπειτα από προσθήκη διαλυμάτων διαφορετικής συγκέντρωσης αλάτων.

Πληθώρα ερευνών καταδεικνύει την αρνητική επίδραση της καταπόνηση υψηλής αλατότητας στο ποσοστό βλάστησης και στη ζωτικότητα των σπόρων. Στο πλαίσιο αυτό, ο Bordi (2010) ανέφερε ότι το ποσοστό βλάστησης στο είδος *Brassica napus* μειώθηκε σημαντικά στα 150 και 200 mM NaCl. Ο ρυθμός βλάστησης μειώθηκε επίσης με την αύξηση της συγκέντρωσης NaCl. Συγκριτικά με το μάρτυρα, το ποσοστό βλάστησης και η ταχύτητα βλάστησης μειώθηκαν, κατά 38 % και 33 % αντίστοιχα, σε επίπεδο καταπόνησης 200 mM NaCl. Οι επιπτώσεις αυτές αποδόθηκαν σε ιονική ανισορροπία, διαταραχές στην οσμωτική ρύθμιση και σε μείωση της απορρόφησης νερού των σπορων. Αντίστοιχα αποτελέσματα προέκυψαν στο μαρούλι (*Lactuca sativa* L.), όπου μελετήθηκε το δυναμικό βλάστησης των σπόρων 4 γονότυπων - Great lakes, Paris Island Cos, Kagraner Sommer, Isadora – υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας σε διαφορετικά επίπεδα στρες - 0, 50, 100, 150 και 200 mM NaCl - (Hela et al., 2011). Τα αποτελέσματα της μελέτης κατέδειξαν σημαντικές διαφορές τόσο σε επίπεδο γονότυπου όσο και σε επίπεδο εφαρμοζόμενου στρες. Συγκεκριμένα, το τελικό ποσοστό της βλάστησης (%) μειώθηκε με την αύξηση του επιπέδου στρες στις ποικιλίες Great Lakes, Paris Island Cos και Isadora, με την ποικίλα Great Lakes να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ευαισθησία καθώς στο υψηλό επίπεδο στρες (200 mM NaCl) εμφάνισε πλήρη αναστολή βλάστησης. Αντίθετα, η ποικιλία Kagraner Sommer αναδείχθηκε ως ανθεκτική καθώς το ποσοστό βλάστησης των σπόρων μειώθηκε σημαντικά (60 %) σε σχέση με το μάρτυρα μόνο στο υψηλό επίπεδο στρες (200 mM NaCl). Επίσης, πρόσφατη έρευνα που αφορούσε σε αξιολόγηση 4 ποικιλιών μαρουλιού (Romaine, Augusta, Vista και Verte) υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας – 0, 50, 100 και 150 mM NaCl), κατέδειξε μείωση του ποσοστού βλάστησης των σπόρων η οποία υπήρξε ανάλογη με το επίπεδο στρες (Narsi et al., 2011). Σύμφωνα με τα δεδομένα, οι ποικιλίες

Vista και Verte εμφάνισαν τη μεγαλύτερη ευαισθησία, ενώ οι ποικιλίες Romaine και Augusta χαρακτηρίστηκαν ως ανθεκτικές καθώς εμφάνισαν μικρή μόνο μείωση του ποσοστού βλάστησης στα 50 και 100 mM NaCl. Ωστόσο, ακόμη και αυτές οι ποικιλίες εμφάνισαν μείωση του ποσοστού βλάστησης της τάξης του 50%, σε σύγκριση με τον μάρτυρα, στα 150 mM NaCl.

### 1.9.2 Ανάπτυξη

Ένα από τα πρωταρχικά αρνητικά αποτελέσματα της καταπόνησης υψηλής αλατότητας είναι η μείωση του ρυθμού ανάπτυξης. Η παρουσία υψηλής αλατότητας στο έδαφος μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη των φυτών μέσω δύο διαφορετικών οδών: i) τα άλατα στο έδαφος μειώνουν την ικανότητα των ριζών να απορροφούν νερό από το εδαφικό διάλυμα, οδηγώντας σε βραδύτερη και μειωμένη ανάπτυξη των φυτού, λόγω ωσμωτικής ή υδατικής καταπόνησης και ii) τα άλατα εισέρχονται στο εσωτερικό των φυτών μέσω της διαπνοής και βλάπτουν τα κύτταρα των διαπνεόντων φύλλων, οδηγώντας σε περαιτέρω αναστολή της ανάπτυξης, λόγω ιοντικής καταπόνησης. Ένα μοντέλο δύο φάσεων που περιγράφει τις ωσμωτικές και ιοντικές επιδράσεις της αλατότητας προτάθηκε από τον Munns (2005) (Εικόνα 1.5).



**Εικόνα 1.5:** Επισκόπηση της απόκρισης δύο φάσεων στην αλατότητα για φυτά που διαφέρουν στην ευαισθησία της καταπόνησης (Munns, 2005).

Τα φυτά, ευαίσθητα ή ανθεκτικά στην αλατότητα, διαφέρουν ως προς τον ρυθμό με τον οποίο το άλας φθάνει σε τοξικά επίπεδα στα φύλλα. Το χρονικό διάστημα είναι ημέρες ή εβδομάδες ή μήνες, ανάλογα με το είδος και το επίπεδο καταπόνησης αλατότητας. Η πρώτη φάση, η οσμωτική φάση, οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση αλάτων γύρω από το ριζικό σύστημα του φυτού, η οποία δυσχεραίνει την απορρόφηση νερού των ριζών από το εδαφικό διάλυμα, με αποτέλεσμα την αναστολή του ρυθμού ανάπτυξης των βλαστών και σε μικρότερο βαθμό των ριζών. Οι κυτταρικές και μεταβολικές διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα είναι ανάλογες με αυτές της καταπόνησης ξηρασίας. Μια άμεση απόκριση στην οσμωτική καταπόνηση είναι το κλείσιμο των στομάτων, το οποίο μετριάξει τη ροή ιόντων στο βλαστό. Ωστόσο, λόγω της διαφοράς υδατικού δυναμικού μεταξύ της ατμόσφαιρας και των κυττάρων των φύλλων και της ανάγκης για σταθεροποίηση του άνθρακα, αυτή είναι μια μη βιώσιμη μακροπρόθεσμη στρατηγική αντοχής (Hasegawa et al., 2000). Οι επιδράσεις της οσμωτικής καταπόνησης, που προκαλείται από άλατα, στην ανάπτυξη των βλαστών είναι πιο έντονες συγκριτικά με των ριζών, πιθανότατα επειδή η αναστολή της ανάπτυξης των φύλλων συνοδεύεται από μείωση της χρήσης νερού από το φυτό, με αποτέλεσμα τη διατήρηση της εδαφικής υγρασίας και την αποτροπή της αύξησης της συγκέντρωσης αλάτων στο εδαφικό διάλυμα (Munns and Tester, 2008). Η αναστολής της ανάπτυξης των βλαστών εκφράζεται συνήθως με μείωση της φυλλικής επιφάνειας και παρεμπόδιση της επιμήκυνσης του βλαστού (Läuchli and Epstein, 1990), με τη μείωση της φυλλικής επιφάνειας πιθανώς να σχετίζεται με αδυναμία του αγωγού ιστού του ξυλώματος να μεταφέρει το  $\text{Ca}^{2+}$  (Läuchli and Grattan, 2007).

Η δεύτερη φάση, αντιστοιχεί στη συσσώρευση ιόντων, ιδιαίτερα  $\text{Na}^+$  στα φύλλα του φυτού μέσω της διαπνοής. Τα ιόντα  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$  είναι τα κύρια ιόντα που προκαλούν ποικίλες διαταραχές στη φυσιολογία καθώς και άλλες επιβλαβείς επιδράσεις στα φυτά. Η συσσώρευση  $\text{Na}^+$  απαντάται κυρίως στα παλιά φωτοσυνθετικά φύλλα, δημιουργώντας τοξική επίδραση, όπου προκαλεί τραυματισμό και τελικά κυτταρικό θάνατο. Η αιτία του τραυματισμού είναι πιθανώς το φορτίο άλατος που υπερβαίνει την ικανότητα των κυττάρων να διαχωρίζουν τα άλατα στα κενοτόπια. Τα άλατα στη συνέχεια συσσωρεύονται στο κυτταρόπλασμα, όπου αναστέλλουν την ενζυμική δραστηριότητα. Εναλλακτικά, μπορεί να εγκατασταθούν στα τοιχώματα των κυττάρων και να προκαλέσουν αφυδάτωσή τους. Εάν ο ρυθμός κυτταρικού θανάτου είναι μεγαλύτερος από το ρυθμό παραγωγής νέων φύλλων, η φωτοσυνθετική ικανότητα του φυτού δε δύναται να παρέχει τους απαραίτητους υδατάνθρακες για την παραγωγή των νέων φύλλων, γεγονός που

προκαλεί περαιτέρω αναστολή της ανάπτυξης του φυτού (Munns and Tester, 2008). Στους φωτοσυνθετικούς ιστούς, στην πραγματικότητα, η συσσώρευση  $\text{Na}^+$  επηρεάζει τα φωτοσυνθετικά συστατικά όπως τα ένζυμα, τις χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή (Davenport et al., 2005). Ωστόσο, το  $\text{Na}^+$  παρεμποδίζει την πρόσληψη ιόντων  $\text{K}^+$  και  $\text{Ca}^{2+}$ , διαταράσσοντας την στοματική αγωγιμότητα που τελικά προκαλεί απώλεια νερού, ενώ το ιόν του  $\text{Cl}^-$  διαταράσσει την παραγωγή χλωροφύλλης και προκαλεί μείωση της χλωροφυλλικής φωτοσύνθεσης (Tavakkoli et al., 2011).

### 1.9.3 Φωτοσύνθεση

Η φωτοσύνθεση για τους φυτικούς οργανισμούς αποτελεί μία από τις σημαντικότερες φυσιολογικές λειτουργίες, κατά την οποία η ηλιακή ενέργεια μετατρέπεται σε χημική που αξιοποιείται για την ανάπτυξη των φυτών. Η μείωση του ρυθμού φωτοσύνθεσης στους φυτικούς οργανισμούς, υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας, οφείλεται κυρίως στη μείωση του υδατικού δυναμικού. Η μείωση της στοματικής αγωγιμότητας, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τον περιορισμό της διαθεσιμότητας του  $\text{CO}_2$  για τις αντιδράσεις καρβοξυλίωσης, είναι ένας παράγοντας που μειώνει τη φωτοσύνθεση υπό συνθήκες καταπόνησης (Brugnoli and Björkman, 1992). Ωστόσο, όταν τα στομάτια κλείνουν ελαχιστοποιείται η απώλεια νερού μέσω της διαπνοής και αυτό επηρεάζει τα συστήματα συλλογής φωτός και μετατροπής ενέργειας, οδηγώντας έτσι σε αλλοίωση της δραστηριότητας των χλωροπλαστών (Iyengar and Reddy, 1996). Η υψηλότερη στοματική αγωγιμότητα στα φυτά είναι γνωστό ότι αυξάνει τη διάχυση του  $\text{CO}_2$  στα φύλλα, ευνοώντας υψηλότερους ρυθμούς φωτοσύνθεσης. Η συσσώρευση επίσης υψηλών συγκεντρώσεων  $\text{Na}^+$  και / ή  $\text{Cl}^-$  στους χλωροπλάστες δημιουργεί τοξικό περιβάλλον, οδηγώντας τελικά σε μείωση του ρυθμού φωτοσύνθεσης.

Η χλωροφύλλη αποτελεί ένα σημαντικό συστατικό της φωτοσύνθεσης που σχετίζεται άμεσα με την υγιεινή του φυτού (Zhang et al., 2005). Μία από τις πλέον σοβαρές επιδράσεις της αλατότητας είναι η μειωμένη ικανότητα βιοσύνθεσης φωτοσυνθετικών χρωστικών (Maxwell and Johnson, 2000). Η μείωση της περιεκτικότητας χλωροφύλλης υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας αναφέρεται σε μελέτες, ενώ η συγκέντρωση χλωροφύλλης έχει προταθεί ως αξιόπιστος δείκτης για τον έλεγχο του κυτταρικού μεταβολισμού (Chutipaijit et al., 2011). Στο πλαίσιο αυτό, έρευνα που διεξήχθη στο ρύζι (*Oryza sativa*) κατέδειξε τη μείωση της περιεκτικότητας των φύλλων σε

Chl a και b έπειτα από εφαρμογή NaCl (200 mM) για διάστημα 14 ημερών, με τη μείωση της χλωροφύλλης a και b να κυμαίνεται στο 33 % και 41 %, αντίστοιχα (Amirjani, 2011). Σε φυτά μαρουλιού (*Lactuca sativa* L. var. capitata), μελετήθηκαν διάφορες φυσιολογικές, φυτοχημικές και δομικές αλλαγές υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας (50, 100 and 150 mM NaCl) και παρατηρήθηκε μείωση στα ποσοστά χλωροφύλλης a και b που ήταν ανάλογη με το εφαρμοζόμενο επίπεδο στρες (Garrido et al., 2014). Ωστόσο, άλλες έρευνες στο μαρούλι, όπου εξετάστηκαν 11 ποικιλίες, αναφέρουν ότι η μοριακή αναλογία χλωροφύλλης τύπου a και b σε ορισμένες ποικιλίες αυξάνει σταδιακά με τη συγκέντρωση του άλατος, ενώ σε άλλες δε διαφοροποιείται ο λόγος των δύο κύριων φωτοσυνθετικών χρωστικών στα φύλλα που εκτίθενται σε 50 mM και 100 mM NaCl (Bartha et al., 2010). Συνήθως, υπάρχει κυριαρχία της χλωροφύλλης a έναντι της b, ενώ οι τιμές συγκλίνουν με την αύξηση του επιπέδου στρες αλατότητας (Mane et al., 2010).

#### **1.9.4 Ιοντική τοξικότητα και ανισορροπία θρεπτικών**

Η υψηλή συγκέντρωση διαλυτών αλάτων στο έδαφος ανταγωνίζεται την πρόσληψη και το μεταβολισμό των θρεπτικών συστατικών που είναι απαραίτητα για τα φυτά. Οι κατάλληλες αναλογίες ιόντων επιτρέπουν την εκτέλεση των βασικών φυσιολογικών λειτουργιών που οδηγούν στην αύξηση και ανάπτυξη του (Wang et al., 2003), ωστόσο, η αυξημένη πρόσληψη αλάτων από τα φυτά επάγει ιοντικές τοξικότητες, όπως αυτή του υψηλού νατρίου ( $\text{Na}^+$ ), χλωρίου ( $\text{Cl}^-$ ) και θειικού ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), που μειώνουν την πρόσληψη βασικών στοιχείων, συμπεριλαμβανομένου του φώσφορου (P), καλίου ( $\text{K}^+$ ), αζώτου (N) και ασβεστίου ( $\text{Ca}^{2+}$ ) (Zhu, 2001).

Οι σχέσεις μεταξύ της αλατότητας και των θρεπτικών συστατικών είναι ιδιαίτερα πολύπλοκες (Grattan and Grieve, 1999), ενώ οι διαταραχές που λαμβάνουν χώρα λόγω καταπόνησης αλατότητας σχετίζονται με τη διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων, την ανταγωνιστική πρόσληψη, τη μεταφορά ή τη διανομή στο φυτό. Στο επίπεδο αυτό, μελέτες αναφέρουν την επίδραση της αλατότητας στη μείωση της πρόσληψης και συσσώρευσης θρεπτικών συστατικών στα φυτά (Rogers et al., 2003; Hu and Schmidhalter, 2005).

Η διαθεσιμότητα των μικροθρεπτικών ουσιών στα αλατούχα εδάφη εξαρτάται από τη διαλυτότητα των μικροθρεπτικών συστατικών, το pH του εδαφικού διαλύματος, το δυναμικό οξειδοαναγωγής του εδαφικού διαλύματος και τη φύση των θέσεων πρόσδεσης στις επιφάνειες των οργανικών και ανόργανων σωματιδίων. Επιπλέον, η αλατότητα μπορεί να επηρεάσει διαφορετικά τις συγκεντρώσεις μικροθρεπτικών συστατικών στα φυτά, ανάλογα με το είδος της καλλιέργειας και τα επίπεδα αλατότητας. Οι ανεπάρκειες των μικροθρεπτικών συστατικών είναι πολύ συχνές υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας, λόγω υψηλού pH (Zhu et al., 2004).

Το άζωτο είναι το πιο σημαντικό θρεπτικό συστατικό, προωθώντας την ανάπτυξη των φυτών. Η σύνθεση αλάτων στο εδαφικό διάλυμα μεταβάλλει την ικανότητα απορρόφησης N, με τη μειωμένη πρόσληψη N, υπό συνθήκες αλατότητας, να είναι το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης μεταξύ  $\text{Na}^+$  και  $\text{NH}_4^+$  ή/και μεταξύ  $\text{Cl}^-$  και  $\text{NO}_3^-$ , οδηγώντας τελικά σε μείωση της ανάπτυξης και απόδοσης της καλλιέργειας (Rozeff, 1995). Η μείωση της πρόσληψης  $\text{NO}_3^-$  σχετίζεται με τον ανταγωνισμό του  $\text{Cl}^-$  (Bar et al., 1997) ή με μειωμένη πρόσληψη νερού υπό συνθήκες αλατότητας (Lea-Cox and Syvertsen, 1993). Η διαθεσιμότητα φωσφόρου μειώνεται σε αλατούχο έδαφος λόγω i) των επιδράσεων της ιονικής ισχύος που μειώνουν τη δραστηριότητα του  $\text{PO}_4^{3-}$  και ii) της χαμηλής διαλυτότητας των ορυκτών Ca-P. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συγκέντρωση φωσφορικών σε γεωργικές καλλιέργειες μειώνεται καθώς αυξάνεται το επίπεδο της αλατότητας (Qadir and Schubert, 2002). Η συγκέντρωση του νατρίου ( $\text{Na}^+$ ) στους ιστούς των φυτών αυξάνεται υπό συνθήκες υψηλής περιεκτικότητας σε NaCl, ενώ μειώνεται η πρόσληψη ασβεστίου ( $\text{Ca}^{2+}$ ), καλίου ( $\text{K}^+$ ) και αζώτου (N) (Tuna et al., 2007). Τα αυξημένα επίπεδα NaCl στο ριζικό μέσο μειώνουν την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών, ιδιαίτερα του  $\text{K}^+$  και  $\text{Ca}^{2+}$ , με αποτέλεσμα την ιοντική ανισορροπία μεταξύ  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  και  $\text{Mg}^{2+}$  (Keutgen και Pawelzik, 2009). Πρόσφατες μελέτες αναφέρουν ότι η συγκέντρωση  $\text{Ca}^{2+}$  και  $\text{Mg}^{2+}$  στο σύνολο των φυτικών οργάνων μειώθηκε παροδικά σε απόκριση της καταπόνησης NaCl (Hussin et al., 2013). Στην καλλιέργεια μαρουλιού, η συσσώρευση των Ca, Na και Fe επηρεάστηκε σημαντικά από τα άλατα του νερού άρδευσης (Ünlükara et al., 2008). Παράλληλα, διαπιστώθηκε ότι η αλατότητα επιφέρει μείωση της πρόσληψης K και αύξηση της πρόσληψης Zn και Cu σε φύλλα μαρουλιού (Neocleous et al., 2014).



### 1.9.5 Οξειδωτικό στρες

Η ωσμωτική καταπόνηση, ως αποτέλεσμα της υψηλής αλατότητας, οδηγεί στην παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου, όπως το υπεροξειδικό ανιόν ή υπεροξειδίο ( $O_2^{\bullet-}$ ), το υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), η υδροξυλική ρίζα ( $HO^{\bullet}$ ) και το μονήρες οξυγόνο ( $^1O_2$ ) (Xiong and Zhu, 2002). Υπό φυσιολογικές συνθήκες, οι ενεργές μορφές οξυγόνου παράγονται σε πολύ μικρές ποσότητες σε διάφορες μεταβολικές οδούς και σε διάφορα οργανίδια των φυτών, όπως αυτά των χλωροπλαστών, μιτοχονδρίων και υπεροξειδιοσωμάτων, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης και της αναπνοής (ApeI and Hirt, 2004). Μελέτες έχουν δείξει ότι η έκθεση των φυτών σε διάφορα είδη περιβαλλοντικών καταπονήσεων πυροδοτούν την παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου, η οποία καταλήγει σε οξείδωση των κυτταρικών συστατικών, οδηγώντας σε οξειδωτικό στρες (Foyer and Noctor, 2005). Η καταπόνηση αλατότητας μπορεί να οδηγήσει σε κλείσιμο των στομάτων των φύλλων, γεγονός που μειώνει τη διαθεσιμότητα του  $CO_2$  στα φύλλα και αναστέλλει τη σταθεροποίηση του C, εκθέτοντας τους χλωροπλάστες σε υπερβολική ενέργεια διέγερσης, με αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγής ενεργών μορφών οξυγόνων. Οι τελευταίες, μπορεί να προκαλέσουν υπεροξείδωση των λιπιδίων, οξείδωση των πρωτεϊνών, απενεργοποίηση των ενζύμων, βλάβη στο DNA ή/και αλληλεπιδράσεις με άλλα ζωτικά συστατικά των φυτικών κυττάρων (Ahmad et al., 2010). Πρόσφατη μελέτη σε 4 γονότυπους μαρουλιού κατέδειξε αυξημένη συσσώρευση  $H_2O_2$  υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας, που ήταν η κύρια αιτία υπεροξείδωσης της λιπιδικής μεμβράνης με αποτέλεσμα τη διακοπή της διαπερατότητάς της (Hela et al., 2011).

## Σκοπός της μελέτης

Η υψηλή αλατότητα αποτελεί έναν από τους πλέον επιζήμιους παράγοντες καταπόνησης, που επηρεάζει δυσμενώς την ανάπτυξη και παραγωγικότητα των ευαίσθητων καλλιεργούμενων ειδών. Η καταπόνηση αλατότητας σχετίζεται με την αυξημένη συσσώρευση ιόντων στην περιοχή της ριζόσφαιρας, με αποτέλεσμα την πτώση του υδατικού δυναμικού, η οποία αφενός μεν δρα ως αναστολέας της πρόσληψης νερού και αφετέρου ως συσσωρευτής ιόντων σε συγκεντρώσεις που αποβαίνουν τοξικές. Με δεδομένο ότι το μαρούλι συγκαταλέγεται στα ευαίσθητα στην αλατότητα φυτικά είδη, η παρούσα μελέτη επικεντρώθηκε στη μελέτη της απόκρισης γονοτύπων μαρουλιού ως προς την ανθεκτικότητα στην υψηλή αλατότητα. Ταυτόχρονα, αντικείμενο της μελέτης αποτέλεσε ο προσδιορισμός μεθόδων ή/και κριτηρίων για τη διάκριση της ανθεκτικότητας και ευαισθησίας σε πρώιμα αναπτυξιακά στάδια ως μίας σύντομης προσέγγισης για την πρώιμη επιλογή ανθεκτικών γονοτύπων. Προς την κατεύθυνση αυτή, το υπό μελέτη γενετικό υλικό αξιολογήθηκε ως προς την ανθεκτικότητα στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας i) στη φάση της βλάστησης/πρώιμης ανάπτυξης και ii) σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια και ακολούθησε η εκτίμηση της συσχέτισης της ανθεκτικότητας κατά τα στάδια αυτά ώστε να διαπιστωθεί η αξιοπιστία της πρώιμης επιλογής επιθυμητών γονοτύπων. Η αξιολόγηση αφορούσε σε 15 εμπορικές ποικιλίες μαρουλιού, που ανήκουν στις 4 κύριες βοτανικές ομάδες (ρωμάνα, λείο κεφαλωτό, κατσαρό κεφαλωτό, σαλάτα), και σε 4 επίπεδα καταπόνησης αλατότητας (0, 50, 100, 150 mM NaCl). Ως παράμετροι αξιολόγησης της ανθεκτικότητας αξιοποιήθηκαν i) κατά τη φάση της βλάστησης: ποσοστό βλάστησης, μήκος ρίζας και βλαστού και αριθμός σπορόφυτων με μη φυσιολογικό φαινότυπο και ii) σε μεταγενέστερα στάδια: ανάπτυξη συμπτωμάτων καταπόνησης, ποσοστό περιεχόμενης χλωροφύλλης, ύψος των φυτών, το νωπό και ξηρό βάρος φυτών.

## 2. Υλικά και μέθοδοι

### 2.1 Γενετικό υλικό

Στόχο της μελέτης αποτέλεσε η μελέτη της απόκρισης του μαρουλιού (*Lactuca sativa* L.) υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας. Η απόκριση των φυτών υπό συνθήκες καταπόνησης πραγματοποιήθηκε σε δύο διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια: i) στη φάση της βλάστησης και πρώιμης ανάπτυξης των σπορόφυτων και ii) σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια. Απώτερο σκοπό αποτέλεσε η εκτίμηση της συσχέτισης της ανθεκτικότητας/ευαισθησίας κατά τα πρώιμα και μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια ώστε να διερευνηθεί η δυνατότητα πρώιμης επιλογής επιθυμητών γονοτύπων.

Το γενετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε περιλάμβανε 15 εμπορικές ποικιλίες μαρουλιού που ανήκουν στις 4 κύριες βοτανικές ομάδες -ρωμάνα, λείο κεφαλωτό, κατσαρό κεφαλωτό, σαλάτα-, των οποίων η προσαρμοστικότητα σε υψηλή αλατότητα δεν έχει προσδιοριστεί. Ειδικότερα, εξετάστηκαν οι ποικιλίες:

1. Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana
2. Lattuga Lollo Rossa
3. Latugga Verde degli ortolani
4. Iceberg - Great Lakes 659
5. Black Simson
6. Romane Paris Island
7. Santa Anna
8. Red Batavia
9. Green Batavia
10. Romana
11. Lollo Bionda
12. Geo store Manchester
13. Ortis Doris
14. Romana Green Tower
15. Romana Hot

## 2.2 Απολύμανση σπόρων

Η απολύμανση των σπόρων έγινε σε φιάλες των 50 ml με εμβάπτιση σε διάλυμα χλωρίνης 10 % για 5 min, υπό συνεχή ανάδευση. Ακολούθησαν τέσσερα (4) ξεπλύματα, διάρκειας 5 min, με αποστειρωμένο νερό dH<sub>2</sub>O. Η διαδικασία απολύμανσης πραγματοποιήθηκε υπό ασηπτικές συνθήκες σε τράπεζα νηματικής ροής, ώστε να αποφευχθούν οι επιμολύνσεις. Τέλος, το φυτικό υλικό τοποθετούνταν σε αποστειρωμένο διηθητικό χαρτί προκειμένου να απομακρυνθεί η περίσσεια υγρασίας από τον σπόρο.

## 2.3 Καταπόνηση αλατότητας - Πειραματικό σχέδιο

Αντικείμενο της παρούσας έρευνας αποτέλεσε η αξιολόγηση της απόκρισης γονοτύπων μαρουλιού ως προς την ανθεκτικότητα σε συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας i) στη φάση της βλάστησης και ii) σε μεταγενέστερα, κρίσιμα για την καταπόνηση, αναπτυξιακά στάδια. Ο έλεγχος της επίδρασης της καταπόνησης υψηλής αλατότητας στη φάση της βλάστησης πραγματοποιήθηκε μέσω *in vitro* αξιολόγησης σε πειράματα στο εργαστήριο, ενώ στα μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια η αξιολόγηση αφορούσε σε φυτά που αναπτύχθηκαν στο θερμοκήπιο.

### 2.3.1 Πρώιμο στάδιο ανάπτυξης - *In vitro* συνθήκες

Ο έλεγχος της επίδρασης της καταπόνησης υψηλής αλατότητας σε *in vitro* συνθήκες έγινε μέσω βλάστησης των σπόρων και ανάπτυξης των σπορόφυτων σε θρεπτικά υποστρώματα διαφορετικής συγκέντρωσης NaCl: 0, 50, 100 και 150 mM NaCl. Για την παρασκευή των υποστρωμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα υλικά/όργανα:

- Ζυγός
- Πεχάμετρο
- Γυάλινες φιάλες των 500 ml
- Τράπεζα νηματικής ροής
- MS
- Sucrose

- Agar
- Απιονισμένο νερό (dH<sub>2</sub>O)

Η σύσταση των θρεπτικών υποστρωμάτων παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.1. Έπειτα από την προετοιμασία των διαλυμάτων, έγινε ρύθμιση του pH στο 5,6 - 5,8 και προσθήκη agar. Ακολούθησε αποστείρωση (1,5 h, 121 °C) των θρεπτικών υποστρωμάτων, επίστρωση σε τριβλία (20 ml) στο θάλαμο νηματικής ροής και τοποθέτηση των σπόρων (27/03/2018) στα τριβλία που περιείχαν θρεπτικά υποστρώματα διαφορετικής σύστασης ως προς το NaCl. Σε κάθε τριβλίο, τοποθετήθηκαν 15 σπόροι, με χρήση λαβίδας, και χρησιμοποιήθηκαν 2 επαναλήψεις ανά ποικιλία (συνολικά 30 σπόροι). Μετά την τοποθέτηση των σπόρων, τα τριβλία σφραγίζονταν με πάραφιλμ.

Το πειραματικό σχέδιο ήταν πλήρως τυχαιοποιημένων ομάδων και κάθε επανάληψη αποτέλεσε το φυτικό υλικό για τις μετρήσεις των υπό μελέτη γνωρισμάτων.

**Πίνακας 2.1:** Σύσταση των θρεπτικών υποστρωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα αξιολόγησης της ανθεκτικότητας/ευαισθησίας σε συνθήκες *in vitro*.

<b>Καταπόνηση Αλατότητας (NaCl)</b>			
<b>Control</b>	<b>50 mM</b>	<b>100 mM</b>	<b>150 mM</b>
MS: 1.1 g/500 ml	MS: 1.1 g/500 ml	MS: 1.1 g/500 ml	MS: 1.1 g/500 ml
Sucrose: 5 g/500 ml	Sucrose: 5 g/500 ml	Sucrose: 5 g/500 ml	Sucrose: 5 g/500 ml
Agar: 2.5 g/500 ml	Agar: 2.5 g/500 ml	Agar: 2.5 g/500 ml	Agar: 2.5 g/500 ml
NaCl: -	NaCl: 1.461 g/500 ml	NaCl: 2.922 g/500 ml	NaCl: 4.383 g/500 ml

Τα φυτά αναπτύχθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών (θερμοκρασία: 25 °C, φωτοπερίοδος: 16 h φως/8 h σκοτάδι) για διάστημα περίπου 20 ημερών. Κατά το διάστημα αυτό, ανά τακτά χρονικά διαστήματα (2-3 ημέρες) λαμβάνονταν παρατηρήσεις προκειμένου να αξιολογηθούν οι ποικιλίες ως προς την ανθεκτικότητα έναντι της καταπόνησης υψηλής αλατότητας.

### 2.3.2 Ωριμο στάδιο ανάπτυξης - Πείραμα Θερμοκηπίου

Η αξιολόγηση των γονοτύπων μαρουλιού κατά τη φάση της βλάστησης επέτρεψε την κατηγοριοποίηση των γονοτύπων βάσει της ανθεκτικότητάς τους έναντι της καταπόνησης υψηλής αλατότητας. Στο πλαίσιο αυτό, επιλέχθηκαν έξι γονότυποι που χαρακτηρίστηκαν ως: ανθεκτικοί μέτριας ανθεκτικότητας και ευαίσθητοι, οι οποίοι αποτέλεσαν το γενετικό υλικό για τα πειράματα αξιολόγησης της ανθεκτικότητας σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια, σε συνθήκες θερμοκηπίου. Οι γονότυποι που αξιολογήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.2.

**Πίνακας 2.2:** Ποικιλίες μαρουλιού που επιλέχθηκαν για την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια.

Ποικιλία	Φαινότυπος
Geo store Manchester	Ανθεκτικότητα
RomanaHot	
Romana	Μέτριας ανθεκτικότητας
RomanaGreen Tower	
LattugaGrandiLoghi–Brasiliana	Ευαίσθησία
Red Batavia	

Αρχικά αναπτύχθηκαν, σε σπορείο, σπορόφυτα των υπό μελέτη ποικιλιών. Για την προετοιμασία των σπορείων, χρησιμοποιήθηκαν πλαστικοί δίσκοι σποράς και ως εδαφικό μείγμα τύρφη αναμιγμένη με περλίτη σε αναλογία 3:1. Σε κάθε σποροδοχείο, τοποθετήθηκαν 2-3 σπόροι και κατά το φύτεμα των σπόρων ακολούθησε αραίωμα των σπορόφυτων για την εξασφάλιση της απρόσκοπτης ανάπτυξής τους. Μετά την πάροδο περίπου 10 ημερών, στο στάδιο των 3 - 5 πραγματικών φύλλων, πραγματοποιήθηκε μεταφύτευση των σπορόφυτων σε φυτοδοχεία (1 lt) (19/06/2018) και ακολούθησε η μεταφορά τους στο θερμοκήπιο του Εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών. Έπειτα από τη μεταφύτευση, ακολούθησε μια περίοδος ανάκαμψης, περίπου 10 ημερών, με σκοπό να ξεπεράσουν τα φυτά το στρες της μεταφύτευσης.

Το πειραματικό σχέδιο ήταν αυτό των υποδιαιρούμενων τεμαχίων-split splot με 4 επαναλήψεις ανά μεταχείριση και ανά ποικιλία. Στο πείραμα, συμπεριλήφθηκαν συνολικά 100 γλάστρες.

Η καταπόνησης υψηλής αλατότητας στο στάδιο αυτό επετεύχθη με τη χορήγηση διαλυμάτων διαφορετικής συγκέντρωσης NaCl, μέσω ριζοποτίσματος.

- Control: dH<sub>2</sub>O
- 50 mM NaCl
- 100 mM NaCl
- 150 mM NaCl

Η διάρκεια της καταπόνησης υψηλής αλατότητας με ριζοποτίσματα ήταν 24 ημέρες. Το πρώτο πότισμα με διάλυμα αλάτων (NaCl) εφαρμόστηκε στις 30/06/2018. Αρχικά, τα ποτίσματα με διάλυμα αλάτων είχαν συχνότητα 3 ημερών, ακολουθούμενα με ενδιάμεσα ποτίσματα νερού βρύσης (έως 06/07/2018), και χορηγούνταν 100 ml διαλύματος σε κάθε φυτοδοχείο. Μετέπειτα, η συχνότητα των ριζοποτισμάτων με άλατα αυξήθηκε, ανά 2 ημέρες, με ενδιάμεσα ποτίσματα νερού βρύσης (έως 13/07/2018). Το τελευταίο δεκαήμερο (έως 23/07/2018), τα ποτίσματα με διάλυμα αλάτων γινόταν καθημερινά.

## 2.4 Παράμετροι αξιολόγησης της ανθεκτικότητας

Η απόκριση των υπό μελέτη ποικιλιών μαρουλιού υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας εξετάστηκε σε δύο αναπτυξιακά στάδια:

1. στη φάση της βλάστησης και της ανάπτυξης νεαρών σποροφύτων, σε *in vitro* συνθήκες
2. σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια, σε συνθήκες θερμοκηπίου.

### 2.4.1 Μετρήσεις στο στάδιο βλάστησης

Η αξιολόγηση της απόκρισης σε πρώιμα στάδια, κατά τη φάση της βλάστησης, βασίστηκε στη μέτρηση των ακόλουθων φυσιολογικών παραμέτρων:

1. ποσοστό (%) βλάστησης των σπόρων
2. μήκος ρίζας και βλαστού (cm)
3. αριθμός σποροφύτων με μη φυσιολογικό φαινότυπο

Το ποσοστό βλάστησης των σπόρων εκτιμήθηκε με τακτές μετρήσεις, ανά 2-3 ημέρες, όπου λαμβάνονταν ο αριθμός των σπόρων που έχει βλαστήσει. Η έναρξη των μετρήσεων πραγματοποιήθηκε όταν το ελάχιστο μήκος του ριζιδίου ήταν 2 mm, στάδιο κατά το οποίο θεωρείται ότι ολοκληρώνεται η φάση της βλάστησης. Η πρώτη μέτρηση έγινε στις 29/03/2018 και πραγματοποιήθηκαν συνολικά επτά (7) μετρήσεις. Το ποσοστό βλάστησης εκτιμήθηκε σύμφωνα με τον τύπο:

$$GP = (\text{αριθμός των σπόρων που βλάστησαν} / \text{συνολικός αριθμός των σπόρων}) \times 100.$$

Οι μετρήσεις του μήκους της ρίζας και του βλαστού άρχισαν να λαμβάνονται στις 31/3/2018, ενώ λαμβάνονταν παρατηρήσεις ανά 3-4 ημέρες. Για την εκτίμηση του μήκους του βλαστού και της ρίζας πραγματοποιήθηκαν συνολικά πέντε (5) μετρήσεις. Σε κάθε παρατήρηση, γινόταν παράλληλα και εκτίμηση του αριθμού σπορόφυτων με μη φυσιολογικό φαινότυπο.

#### **2.4.2. Μετρήσεις σε μεταγενέστερο στάδιο ανάπτυξης**

Η αξιολόγηση της ανθεκτικότητας στα μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια αφορούσε σε μετρήσεις για τις ακόλουθες παραμέτρους:

1. ύψος φυτών
2. νωπό και ξηρό βάρος φυτών
3. ποσοστό περιεχόμενης χλωροφύλλης

#### **Ύψος φυτών**

Η καταγραφή του ύψους των φυτών υλοποιήθηκε εντός τριών παρατηρήσεων (04/07/2018, 08/07/2018 και 16/07/2018). Ο προσδιορισμός του ύψους των φυτών μαρουλιού γινόταν από το σημείο του λαιμού μέχρι το ανώτερο σημείο του άξονα του βλαστού. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως η διαφορά του ύψους των φυτών που υπεβλήθησαν σε καταπόνηση υψηλής αλατότητας, με χορήγηση διαλυμάτων διαφορετικής συγκέντρωσης NaCl, συγκριτικά με τα φυτά-μάρτυρες.



## Νωπό και ξηρό βάρος

Με το πέρας του διαστήματος καταπόνησης, πραγματοποιήθηκε κοπή των φυτών στο σημείο του λαιμού, τοποθέτησή τους σε χάρτινη σακούλα και μεταφορά στο χώρο του Εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, σε όσο το δυνατό συντομότερο χρονικό διάστημα για την αποφυγή απώλειας υγρασίας, με σκοπό την περεταίρω επεξεργασία τους (24/07/2018). Αρχικά, προσδιορίστηκε το χλωρό βάρος της βιομάζας των δειγμάτων με τη χρήση ηλεκτρονικού ζυγού ακριβείας. Αφού ολοκληρώθηκε η μέτρηση των δειγμάτων όλων καταπονημένων φυτών και των φυτών μαρτύρων για τις 6 υπό μελέτη ποικιλίες, ακολούθησε η τοποθέτηση των δειγμάτων σε κλίβανο, σε θερμοκρασία περίπου 60 °C, με σκοπό την ξήρανσή τους. Έπειτα από επώαση 15 ημερών, μετρήθηκε το ξηρό βάρος όλων των δειγμάτων με τη βοήθεια ηλεκτρονικού ζυγού ακριβείας. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως η διαφορά του νωπού και του ξηρού βάρους αντιστοίχα των δειγμάτων που δέχτηκαν την καταπόνηση υψηλής αλατότητας σε σύγκριση με το μάρτυρα.

## Χλωροφύλλη

Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας της χλωροφύλλης των υπό μελέτη ποικιλιών πραγματοποιήθηκε με δύο διαφορετικούς τρόπους:

i) χρήση χλωροφυλλόμετρου SPAD (Minolta Chlorophyll Meter SPAD-502)

ii) μέτρηση φθορισμού της χλωροφύλλης

Ο προσδιορισμός της χλωροφύλλης με τη χρήση χλωροφυλλόμετρου SPAD, πραγματοποιήθηκε με τη λήψη μετρήσεων από 4 διαφορετικά φύλλα, που προέρχονταν από το μεσαίο τμήμα των φυτών, και υπολογισμό του μέσου όρου ανά ατομικό φυτό. Η μέτρηση της χλωροφύλλης με την συγκεκριμένη διαδικασία, πραγματοποιήθηκε σε 2 διαστήματα (10/07/2018 και 23/07/2018).

Για τον προσδιορισμό της χλωροφύλλης με μέτρηση φθορισμού της χλωροφύλλης, προσδιορίστηκε η απορρόφηση στα 665 nm και 649 nm. Με τη βοήθεια φελλοτρυπητήρα, πραγματοποιήθηκε η λήψη 6 φυλλικών δίσκων από τα ελάσματα των φύλλων, με διάμετρο 5,3 mm. Οι φυλλικοί δίσκοι τοποθετήθηκαν σε τριβλία, όπου κάθε τριβλίο περιείχε διάλυμα του ίδιου επιπέδου μεταχείρισης με αυτό που αντιστοιχούσε στην προέλευση του φύλλου (Control, 50 mM NaCl, 100 mM NaCl, 150 mM NaCl). Ακολούθησε επώαση των φυλλικών δίσκων για 24 ώρες και έπειτα, εκτίμηση του νωπού βάρους με χρήση ηλεκτρονικού ζυγού ακριβείας.

Ακολούθησε η τοποθέτηση των φυλλικών δίσκων (6) σε falcon που περιείχαν 15 ml αιθανόλης, με σκοπό την εκχύλιση του φυτικού ιστού, και επώαση σε υδατόλουτρο (80 °C), μέχρι τον αποχρωματισμό των φυλλικών δίσκων. Τέλος, η χλωροφύλλη προσδιορίστηκε φασματοφωτομετρικά σε φασματοφωτόμετρο UV-1800, σε δύο διαφορετικές απορροφήσεις:

- Απορρόφηση (ABS) 665 nm
- Απορρόφηση (ABS) 649 nm

Για τον υπολογισμό της χλωροφύλλης α και χλωροφύλλης β για κάθε δείγμα, χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι τύποι:

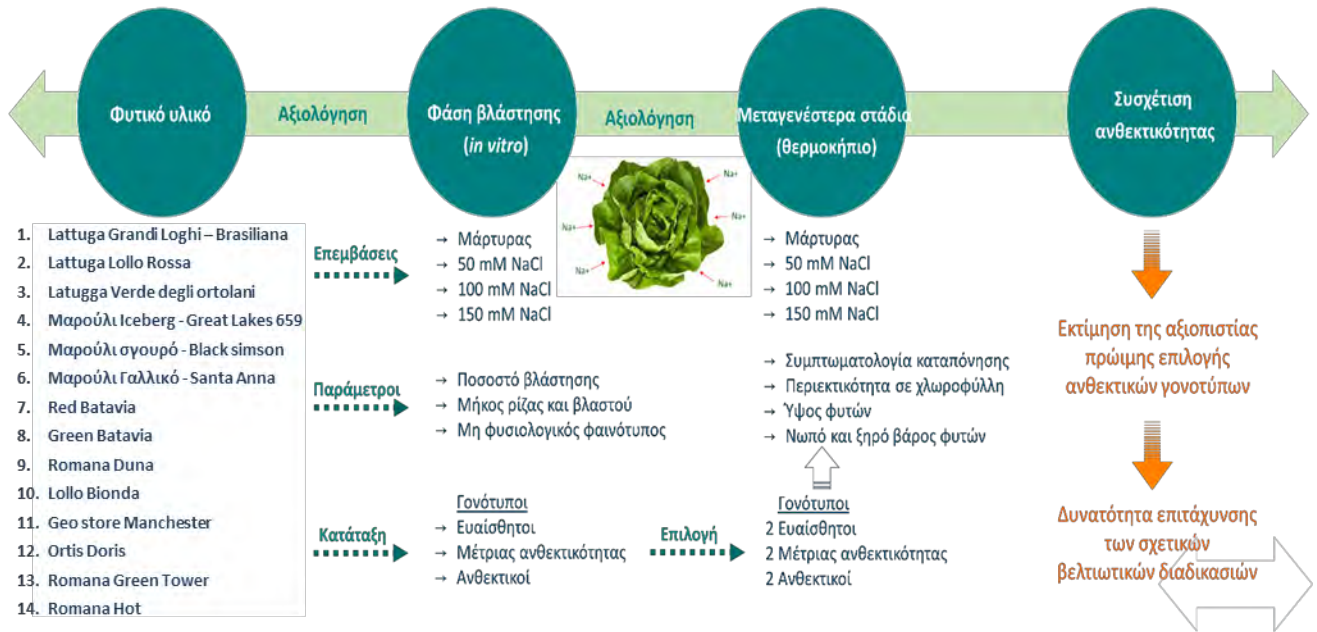
- $Chl a \text{ } \mu\text{g/ml αιθανόλης} = (13.7 * \text{ABS } 665\text{nm}) - (5.76 * \text{ABS } 649 \text{ nm})$
- $Chl b \text{ } \mu\text{g/ml αιθανόλης} = (25.8 * \text{ABS } 649 \text{ nm}) - (7.6 * \text{ABS } 665 \text{ nm})$

## 2.5 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν από τα πειράματα αξιολόγησης της ανθεκτικότητας έναντι της καταπόνησης αλατότητας σε *in vitro* συνθήκες και στο θερμοκήπιο έγινε μέσω του στατιστικού πακέτου SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, version 20.0. Armonk, NY, IBM Corp).

Τα δεδομένα αναλύθηκαν ξεχωριστά για κάθε επέμβαση (διαφορετική συγκέντρωση παράγοντα καταπόνησης, γονότυπο και ημερομηνία παρατήρησης, two way-ANOVA). Επίσης, πραγματοποιήθηκε ανάλυση παραλλακτικότητας για την αλληλεπίδραση των ανωτέρω παραγόντων. Οι διαφορές μεταξύ των μέσων όρων συγκρίθηκαν με τη χρήση της ελάχιστης διαφοράς LSD test ( $p < 0.005$ ) καθώς και με την εκτίμηση της σημαντικότητας (sig). Το σύνολο των διαγραμμάτων και γραφημάτων κατασκευάστηκε με τη χρήση του προγράμματος Microsoft Office-Excel.

## Πειραματική Προσέγγιση



### 3. Αποτελέσματα

Οι υπό μελέτη γονότυποι αξιολογήθηκαν ως προς την ανθεκτικότητά τους σε καταπόνηση υψηλής αλατότητας, και συγκεκριμένα του χλωριούχου νατρίου (NaCl) σε δύο αναπτυξιακά στάδια: i) στο στάδιο της βλάστησης, σε *in vitro* συνθήκες και ii) σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια, σε συνθήκες θερμοκηπίου. Ακολούθησε η εκτίμηση της συσχέτισης της ανθεκτικότητας κατά τα στάδια αυτά ώστε να διαπιστωθεί η δυνατότητα διάκρισης της ανθεκτικότητας και ευαισθησίας σε πρώιμα αναπτυξιακά στάδια και η μετέπειτα πρώιμη επιλογή των επιθυμητών γονοτύπων ώστε να καταστούν περισσότερο αποτελεσματικές οι σχετικές βελτιωτικές διαδικασίες.

#### 3.1 Αξιολόγηση της ανθεκτικότητας έναντι της καταπόνησης υψηλής αλατότητας στη φάση της βλάστησης (*in vitro*)

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε η *in vitro* αξιολόγηση του δυναμικού βλάστησης και ανάπτυξης 14 εμπορικών ποικιλιών μαρουλιού υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας σε διαφορετικά επίπεδα στρες: 0, 50, 100 και 150 mM NaCl. Η αξιολόγηση της ανθεκτικότητας βασίστηκε στο ποσοστό βλάστησης των σπόρων, καθώς και σε αναπτυξιακά γνωρίσματα όπως είναι το μήκος ρίζας και βλαστού και ο αριθμός σπορόφυτων με μη φυσιολογικό φαινότυπο.

Κατά το στάδιο της βλάστησης, τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι η καταπόνηση επηρέασε σημαντικά το δυναμικό βλάστησης των σπόρων, ενώ παράλληλα είχε και αρνητική επίδραση στα γνωρίσματα που σχετίζονται με την ανάπτυξη των σποροφύτων μαρουλιού. Στο σύνολο των γονοτύπων, η τοξική επίδραση της αλατότητας ήταν ανάλογη με το επίπεδο του εφαρμοζόμενου στρες και, όπως ήταν αναμενόμενο, η αρνητική επίδραση μεγιστοποιήθηκε στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (150 mM NaCl). Στο σύνολό τους, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν τη σημαντική επίδραση του γονότυπου καθώς και της αλληλεπίδρασης μεταξύ γονότυπου και επέμβασης.

##### 3.1.1 Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο ποσοστό βλάστησης των σπόρων

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης από την *in vitro* αξιολόγηση, το ποσοστό βλάστησης των σπόρων επηρεάστηκε σημαντικά από την καταπόνηση της αλατότητας

και από τον διαφορετικό γονότυπο, καθώς και από την αλληλεπίδραση μεταξύ του γονότυπου και επέμβασης (Πίνακας 3.1), ενώ αντίθετα δε σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές στην αλληλεπίδραση της επέμβασης με την επανάληψη. Σε επίπεδο γονοτύπου, εμφανίστηκαν σημαντικές διαφορές ακόμη και από την έναρξη της βλάστησης, η οποία έλαβε χώρα την 3<sup>η</sup> μέρα (29/3/2018). Συγκεκριμένα, στα φυτά μάρτυρες παρουσιάστηκε αυξημένο ποσοστό βλάστησης στις ποικιλίες Romana Hot, Geo Store Manchester, Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana και Romana Green Tower, με το ποσοστό να κυμαίνεται από 93 έως 100 % (Γράφημα 3.1). Αντιθέτως, οι ποικιλίες Black Simson και Red Batavia σημείωσαν χαμηλά ποσοστά βλάστησης του σπόρου, 33 και 47 % αντίστοιχα, ενώ υπήρχαν και ποικιλίες όπου δεν βλάστησαν καθόλου, όπως είναι το μαρούλι Iceberg-Great Lakes 659 και η Lollo Bionda. Η τελευταία εμφάνισε το μικρότερο ποσοστό βλάστησης στο τέλος της περιόδου των παρατηρήσεων (33 %).

**Πίνακας 3.1:** Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) της επίδρασης καταπόνησης υψηλής αλατότητας στο ποσοστό βλάστησης των σπόρων σε 14 εμπορικές ποικιλίες.

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Germination

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	2091466,893	1	2091466,893	19056,548	,005
	Error	109,751	1	109,751 <sup>a</sup>		
Treatment	Hypothesis	450734,467	3	150244,822	514,958	,000
	Error	875,283	3	291,761 <sup>b</sup>		
Variety	Hypothesis	418915,646	13	32224,280	168,984	,000
	Error	133486,168	700	190,695 <sup>c</sup>		
Date	Hypothesis	136323,583	6	22720,597	119,147	,000
	Error	133486,168	700	190,695 <sup>c</sup>		
Rep	Hypothesis	109,751	1	109,751	,376	,583
	Error	875,283	3	291,761 <sup>b</sup>		
Treatment * Variety	Hypothesis	118635,374	39	3041,933	15,952	,000
	Error	133486,168	700	190,695 <sup>c</sup>		
Treatment * Date	Hypothesis	17808,390	18	989,355	5,188	,000
	Error	133486,168	700	190,695 <sup>c</sup>		
Treatment * Rep	Hypothesis	875,283	3	291,761	1,530	,205
	Error	133486,168	700	190,695 <sup>c</sup>		

a. MS(Rep)

- b. MS(Treatment \* Rep)
- c. MS(Error)

Στο σύνολο των υπό μελέτη γονοτύπων, η μεταβλητή του επιπέδου καταπόνησης επηρέασε σημαντικά το γνώρισμα του ποσοστού βλάστησης των σπόρων (Εικόνα 3.1). Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι όλα τα επίπεδα καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl) διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους (Πίνακας 3.2). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε από τις πρώτες ημέρες ότι το ποσοστό βλάστησης για το πλείστο των περιπτώσεων ακολούθησε καθοδική πορεία καθώς αυξανόταν το επίπεδο της καταπόνησης. Ιδιαίτερα, κατά την έναρξη της βλάστησης ( 3<sup>η</sup> ημέρα) μόνο ένα μικρό ποσοστό σπόρων της ποικιλίας Green Batavia (3 %) κατόρθωσε να βλαστήσει στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (150 mM NaCl).

**Πίνακας 3.2:** Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του ποσοστού βλάστησης των σπόρων μεταξύ των επιπέδων καταπόνησης της αλατότητας (50, 100 και 150 mM NaCl).

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Germination

LSD

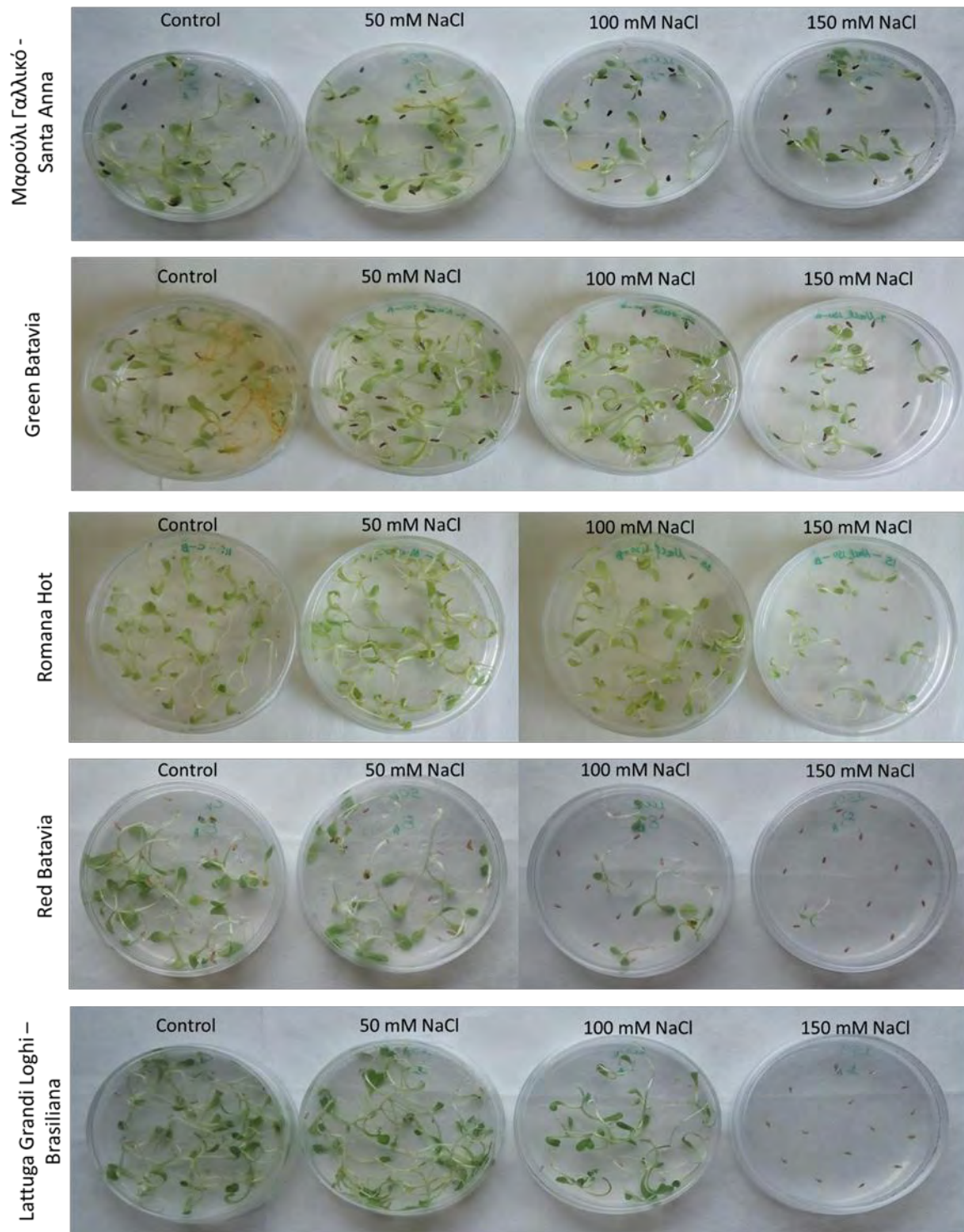
(I) Treatment	(J) Treatment	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control	50 NaCl	9,3197*	1,39494	,000	6,5810	12,0585
	100 NaCl	34,1497*	1,39494	,000	31,4109	36,8884
	150 NaCl	61,7687*	1,39494	,000	59,0299	64,5075
50 NaCl	Control	-9,3197*	1,39494	,000	-12,0585	-6,5810
	100 NaCl	24,8299*	1,39494	,000	22,0912	27,5687
	150 NaCl	52,4490*	1,39494	,000	49,7102	55,1878
100 NaCl	Control	-34,1497*	1,39494	,000	-36,8884	-31,4109
	50 NaCl	-24,8299*	1,39494	,000	-27,5687	-22,0912
	150 NaCl	27,6190*	1,39494	,000	24,8803	30,3578
150 NaCl	Control	-61,7687*	1,39494	,000	-64,5075	-59,0299
	50 NaCl	-52,4490*	1,39494	,000	-55,1878	-49,7102
	100 NaCl	-27,6190*	1,39494	,000	-30,3578	-24,8803

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 190,695.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

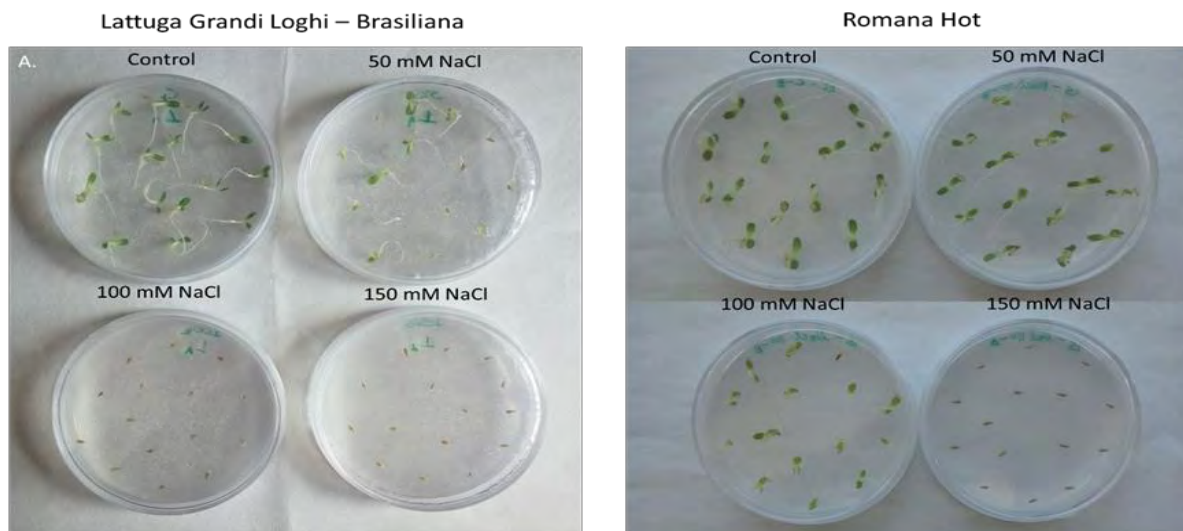




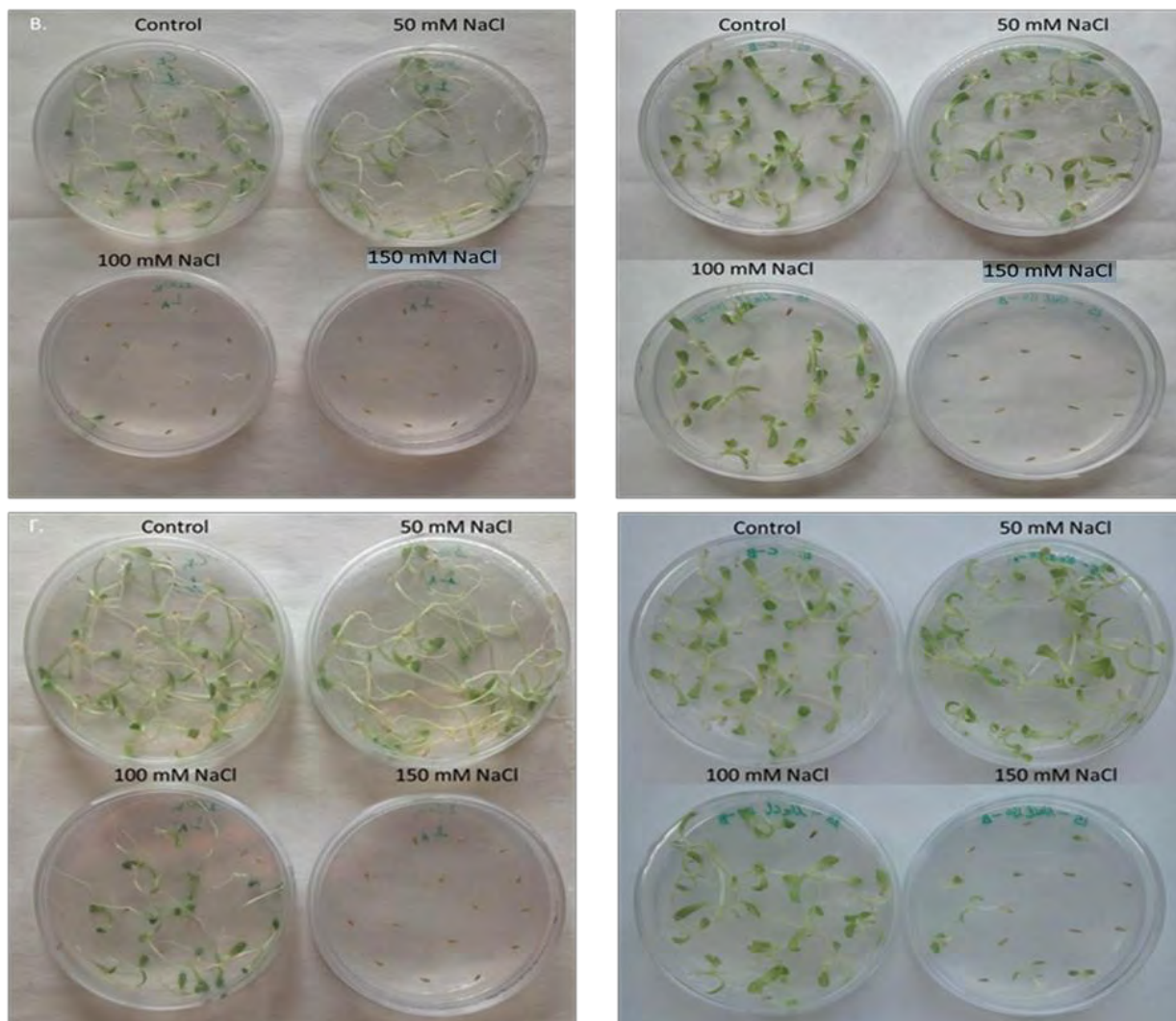
**Εικόνα 3.1:** Επίδραση του διαφορετικού επιπέδου καταπόνησης (50, 100 και 150 mM NaCl) σε 5 διαφορετικές ποικιλίες: i) Μαρούλι Γαλλικό-Santa Ann, ii) Green Batavia, iii) Romana Hot, iv) Red Batavia και v) Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana, κατά την τελευταία ημερομηνία παρατήρησης 14/4/2018 (19<sup>η</sup> ημέρα καταπόνησης).

Ειδικότερα, οι ποικιλίες Romana Hot, Romana Green Tower και Geo store Manchester ξεχώρισαν από τις πρώτες παρατηρήσεις καθώς άγγιζαν υψηλά ποσοστά (> 90%) στα επίπεδα αλατότητας 50 και 100 mM NaCl, ωστόσο στο υψηλότερο επίπεδο καταπόνησης το δυναμικό βλάστησης ήταν σημαντικά μειωμένο (Γράφημα 3.1). Με την πάροδο του χρόνου, το ποσοστό βλάστησης για τις ποικιλίες Romana Hot και Romana Green Tower αυξήθηκε σημαντικά στο επίπεδο στρες 150 mM NaCl, σημειώνοντας το υψηλότερο ποσοστό (80 %) στην τελευταία παρατήρηση. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν την ανθεκτικότητα του μαρουλιού τύπου Romana στην καταπόνηση αλατότητας (Εικόνα 3.2).

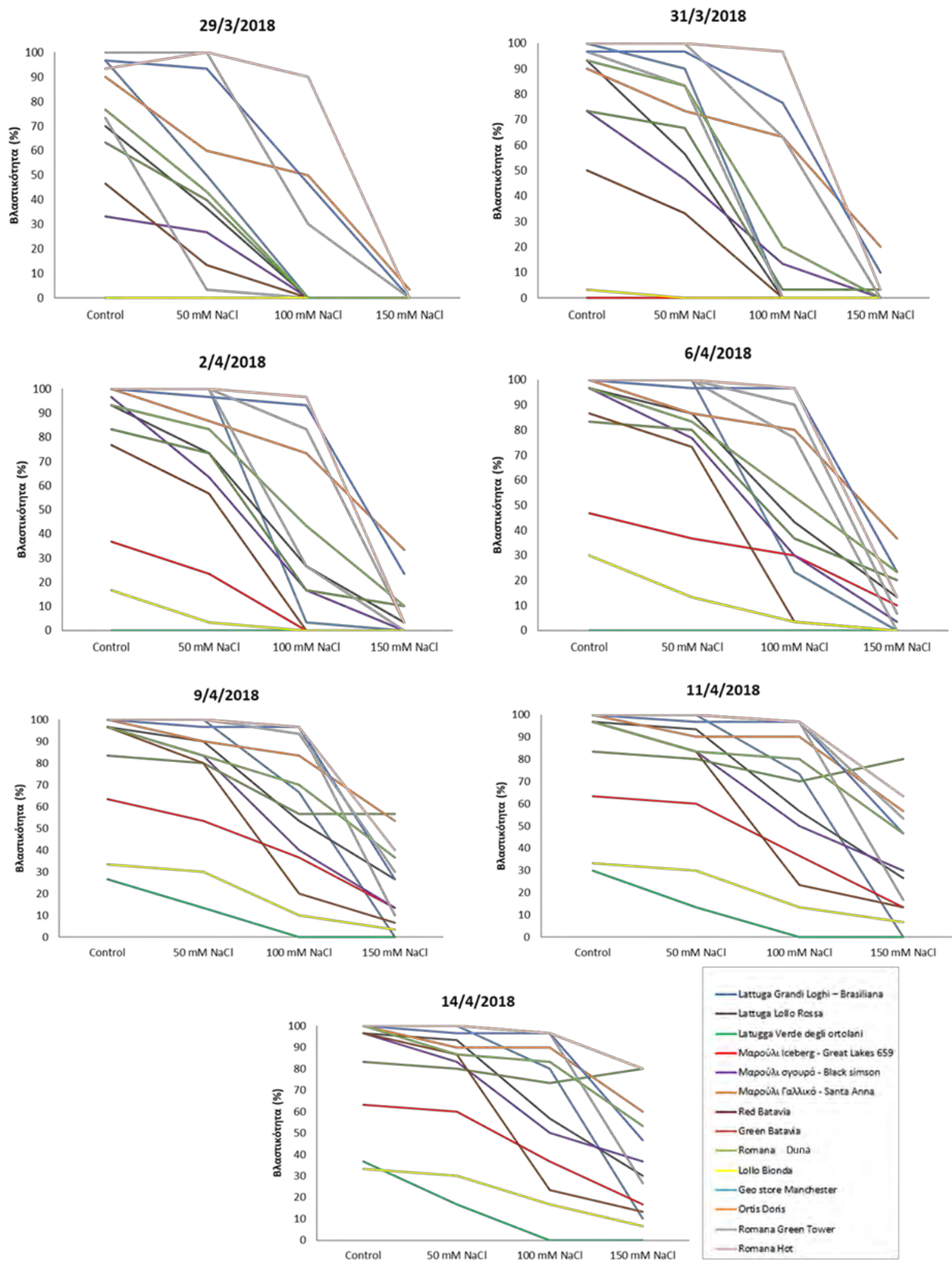
Αντίθετα, οι ποικιλίες Bionda και Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana εμφάνισαν ευαισθησία στο επίπεδο αυτό. Αξιοσημείωτο είναι επίσης ότι η ποικιλία Santa Anna στην τελευταία παρατήρηση εμφάνισε μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης στα 150 mM NaCl έναντι του 100 mM NaCl, με ποσοστό 80 και 73 % αντίστοιχα. Αντιθέτως, οι ποικιλίες Lollo Bionda, Red Batavia και Great Lakes 659 εμφάνισαν τα μικρότερα ποσοστά βλάστησης, που κυμάνθηκαν στο 6,6, 13,3 και 16,6 % αντίστοιχα (Γράφημα 3.1). Ωστόσο υπήρχαν και ποικιλίες, όπως η Lattuga Verde degli ortolani, που εμφάνισαν πλήρη αδυναμία βλάστησης στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης, υποδεικνύοντας την σημαντική επίδραση της αλληλεπίδρασης του γονότυπου με το επίπεδο καταπόνησης.







**Εικόνα 3.2:** Απόκριση των ποικιλιών Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana και Romana Hot στα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης υψηλής αλατότητας (50,100 και 150 mM NaCl) σε 3 διαφορετικές ημερομηνίες: Α. 31/3/2018 (5<sup>η</sup> ημέρα καταπόνησης), Β. 6/4/2018 (11<sup>η</sup> ημέρα καταπόνησης), Γ. 11/4/2018 (16<sup>η</sup> ημέρα καταπόνησης).



**Γράφημα 3.1:** Ποσοστό βλάστησης των σπόρων μαρουλιού ανά γονότυπο και επίπεδο καταπόνησης αλατότητας (50, 100, 150 mM NaCl) κατά την περίοδο των 7 ημερομηνιών λήψεως των παρατηρήσεων.

### 3.1.2 Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στην ανάπτυξη των σπορόφυτων

Στη συνέχεια, αξιολογήθηκε επίδραση της καταπόνησης υψηλής αλατότητας στην ανάπτυξη των σπορόφυτων και συγκεκριμένα, στην ανάπτυξη της ρίζας και του βλαστού. Στο σύνολο των ποικιλιών, όπως ήταν αναμενόμενο, υπήρξε έκδηλη η αρνητική επίδραση της καταπόνησης στην αύξηση του μήκους της ρίζας και του βλαστού των σπορόφυτων. Στο πλείστο των περιπτώσεων, οι ποικιλίες παρουσίασαν σημαντικές διαφορές, σε σύγκριση με τους μάρτυρες, στο μεσαίο και στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης. Τα δεδομένα της στατιστικής ανάλυσης αποδεικνύουν την σημαντική επίδραση που είχαν οι μεταβλητές της επέμβασης, της ποικιλίας και του χρόνου έκθεσης στην καταπόνηση στην ανάπτυξη των σπορόφυτων (Πίνακας 3.3 και 3.4). Σημαντική επίδραση στο ρυθμό αύξησης της ρίζας και του βλαστού των διάφορων ποικιλιών είχε και η αλληλεπίδραση της καταπόνησης με το γονότυπο.

Παρά την αρνητική επίδραση της αλατότητας στα αναπτυξιακά γνωρίσματα των υπό μελέτη ποικιλιών, σημειώθηκε μια τάση αύξησης του μήκους ρίζας και βλαστού με την πάροδο του χρόνου, η οποία ωστόσο ήταν αντιστρόφως ανάλογη του επιπέδου καταπόνησης. Για το σύνολο των ποικιλιών, όπως αναμενόταν, οι μικρότερες τιμές σημειώθηκαν στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (150 mM NaCl), αποδεικνύοντας την ποσοτική αρνητική συσχέτιση της καταπόνησης έναντι της ανάπτυξης των σποροφύτων.

**Πίνακας 3.3:** Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) της επίδρασης καταπόνησης υψηλής αλατότητας στο μήκος ρίζας των σπορόφυτων μαρουλιού σε 14 εμπορικές ποικιλίες.

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Root

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept					
Hypothesis	975,235	1	975,235	111699,189	,002
Error	,009	1	,009 <sup>a</sup>		

Variety	Hypothesis	66,618	10	6,662	103,203	,000
	Error	24,271	376	,065 <sup>b</sup>		
Date	Hypothesis	85,418	4	21,354	330,816	,000
	Error	24,271	376	,065 <sup>b</sup>		
Treatment	Hypothesis	230,231	3	76,744	1577,295	,000
	Error	,146	3	,049 <sup>c</sup>		
Rep	Hypothesis	,009	1	,009	,179	,700
	Error	,146	3	,049 <sup>c</sup>		
Date * Treatment	Hypothesis	3,392	12	,283	4,379	,000
	Error	24,271	376	,065 <sup>b</sup>		
Variety * Treatment	Hypothesis	61,286	30	2,043	31,647	,000
	Error	24,271	376	,065 <sup>b</sup>		
Treatment * Rep	Hypothesis	,146	3	,049	,754	,521
	Error	24,271	376	,065 <sup>b</sup>		

a. MS(Rep)

b. MS(Error)

c. MS(Treatment \* Rep)

**Πίνακας 3.4:** Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) της επίδρασης καταπόνησης υψηλής αλατότητας στο μήκος βλαστού των πορτοφύτων μαρουλιού σε 14 εμπορικές ποικιλίες.

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Stem

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Intercept	Hypothesis	770,515	1	770,515	220490,835	,001
	Error	,003	1	,003 <sup>a</sup>		
Variety	Hypothesis	40,431	10	4,043	28,156	,000
	Error	53,991	376	,144 <sup>b</sup>		
Date	Hypothesis	283,264	4	70,816	493,171	,000
	Error	53,991	376	,144 <sup>b</sup>		
Treatment	Hypothesis	204,682	3	68,227	1733,312	,000
	Error	,118	3	,039 <sup>c</sup>		
Rep	Hypothesis	,003	1	,003	,089	,785
	Error	,118	3	,039 <sup>c</sup>		
Date * Treatment	Hypothesis	46,218	12	3,852	26,822	,000
	Error	53,991	376	,144 <sup>b</sup>		
Variety * Treatment	Hypothesis	35,103	30	1,170	8,149	,000
	Error	53,991	376	,144 <sup>b</sup>		

Treatment * Rep	Hypothesis	,118	3	,039	,274	,844
	Error	53,991	376	,144 <sup>b</sup>		

- a. MS(Rep)
- b. MS(Error)
- c. MS(Treatment \* Rep)

### 3.1.2.1 Επίδρασης της καταπόνησης υψηλής αλατότητας στο μήκος ρίζας των σποροφύτων

Τα αποτελέσματα από την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας έναντι της καταπόνησης αλατότητας στο μήκος ρίζας κατέδειξαν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl) (Πίνακας 3.5). Οι αρνητικές επιδράσεις των διαφορετικών επιπέδων αλατότητας έγιναν αντιληπτές από την πρώτη κιόλας παρατήρηση (31/3/2018) σε όλες τις ποικιλίες. Συγκεκριμένα, μέρος των ποικιλιών ανέπτυξε ριζικό σύστημα μόνο στο χαμηλό επίπεδο καταπόνησης (50 mM NaCl), ενώ σε άλλες ποικιλίες κατέστη δυνατή η ανάπτυξη της ρίζας και στο μεσαίο επίπεδο καταπόνησης (100 mM NaCl) (Γράφημα 3.2). Αναφορικά με το γνώρισμα αυτό, η ποικιλία Geo store Manchester ήταν η περισσότερο ανθεκτική αφού ανέπτυξε ριζικό σύστημα ακόμη και στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (150 mM NaCl), με μήκος ρίζας 0,53 cm (Γράφημα 3.2).

**Πίνακας 3.5:** Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του μήκους ρίζας των σποροφύτων μεταξύ των επιπέδων καταπόνησης της αλατότητας (50, 100 και 150 mM NaCl).

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Root

LSD

(I) Treatment	(J) Treatment	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control	50 NaCl	,2688 <sup>*</sup>	,03426	,000	,2015	,3362
	100 NaCl	1,0991 <sup>*</sup>	,03426	,000	1,0317	1,1665
	150 NaCl	1,8399 <sup>*</sup>	,03426	,000	1,7725	1,9073
50 NaCl	Control	-,2688 <sup>*</sup>	,03426	,000	-,3362	-,2015
	100 NaCl	,8303 <sup>*</sup>	,03426	,000	,7629	,8976
	150 NaCl	1,5711 <sup>*</sup>	,03426	,000	1,5037	1,6385
100 NaCl	Control	-1,0991 <sup>*</sup>	,03426	,000	-1,1665	-1,0317
	50 NaCl	-,8303 <sup>*</sup>	,03426	,000	-,8976	-,7629

	150 NaCl	,7408*	,03426	,000	,6735	,8082
	Control	-1,8399*	,03426	,000	-1,9073	-1,7725
150 NaCl	50 NaCl	-1,5711*	,03426	,000	-1,6385	-1,5037
	100 NaCl	-,7408*	,03426	,000	-,8082	-,6735

Based on observed means.

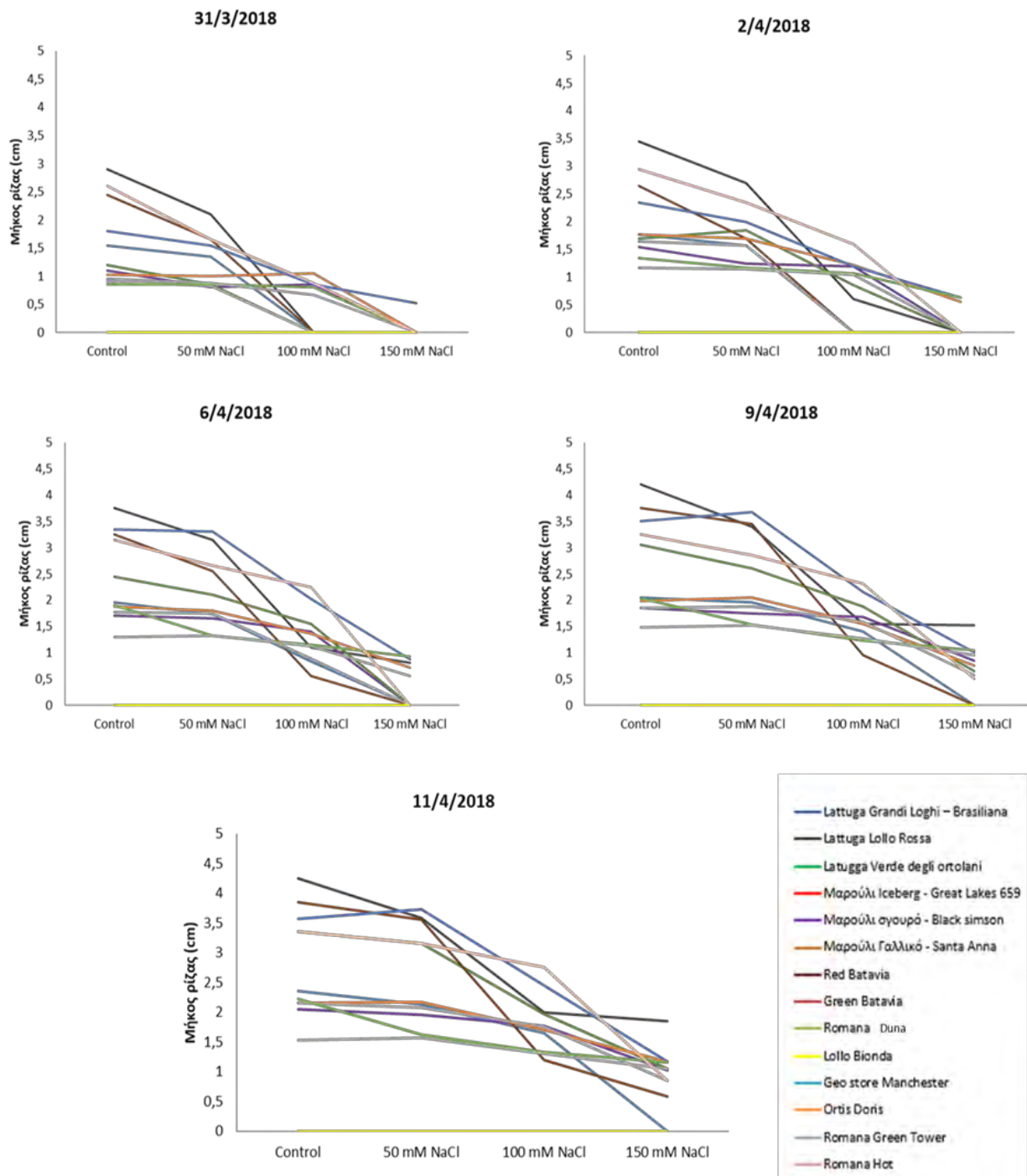
The error term is Mean Square(Error) = ,065.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

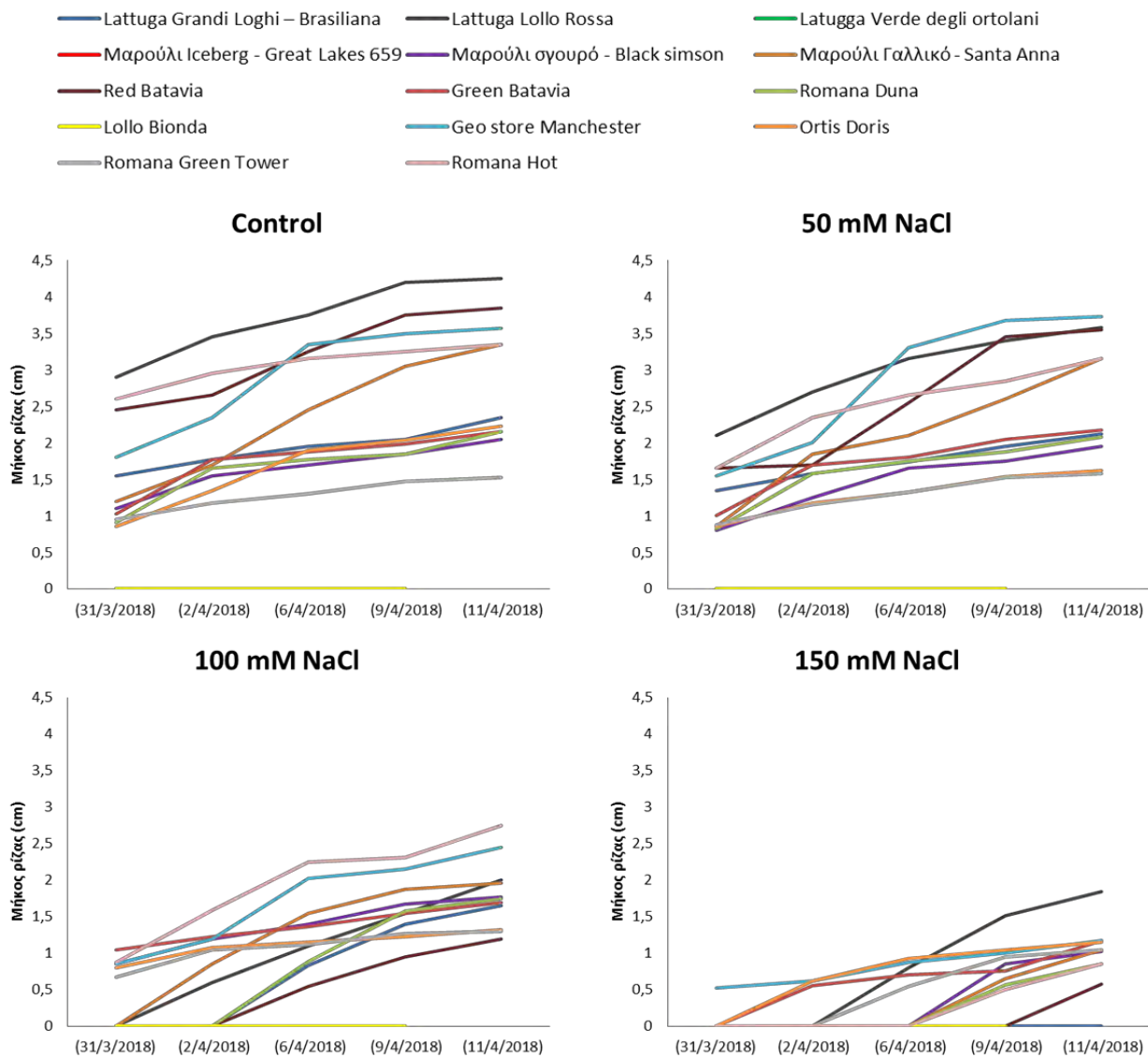
Με την πάροδο του χρόνου ωστόσο, η πλειονότητα των ποικιλιών ανέπτυξε ριζικό σύστημα ακόμη και στο επίπεδο στρες (150 mM NaCl) (Εικόνα 3.3), με το μήκος ρίζας να είναι αντιστρόφως ανάλογο του εφαρμοζόμενου επιπέδου στρες. Ωστόσο, σημειώθηκε έντονη γονοτυπική εξάρτηση, αναφορικά με το γνώρισμα αυτό, υποδεικνύοντας την σημασία της αλληλεπίδρασης της ποικιλίας με το επίπεδο καταπόνησης (Γράφημα 3.3). Παράλληλα, στο χαμηλό επίπεδο καταπόνησης (50 mM NaCl), με την πάροδο του χρόνου αμβλύθηκαν οι διαφορές στο μήκος ρίζας, συγκριτικά με το μάρτυρα, ενώ στο υψηλό επίπεδο στρες (150 mM NaCl) οι αντίστοιχες διαφορές έναντι του μάρτυρα οξύνθηκαν.

Κατά την τελευταία ημερομηνία παρατήρησης (11/4/2018), στα φυτά μάρτυρες το μήκος της ρίζας κυμάνθηκε από 1,5 έως 4,3 cm, με την ποικιλία Lattuga Lollo Rossa να εμφανίζει τη μεγαλύτερη τιμή, ακολουθούμενη από τις ποικιλίες Red Batavia, Geo store Manchester και Romana Hot. Αντιθέτως, στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (150 mM NaCl), ο ρυθμός ανάπτυξης της ρίζας μειώθηκε σημαντικά και οι τιμές κυμάνθηκαν μεταξύ 0,8 και 1,9 cm. Στο επίπεδο αυτό, η ποικιλία Lattuga Lollo Rossa σημείωσε πάλι την μεγαλύτερη τιμή, με μήκος ρίζας 1,9 cm. Με φθίνουσα σειρά, ακολούθησαν οι ποικιλίες Geo store Manchester, Green Batavia και Ortis Doris, με μήκη περίπου 1,2 cm (Εικόνα 3.3). Το μικρότερο μήκος ρίζας εμφάνισε η ποικιλία Red Batavia, με μήκος 0,6 cm, ενώ στην Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana σημειώθηκε πλήρης αναστολή ανάπτυξης ριζικού συστήματος (Εικόνα 3.4). Αξιοσημείωτο είναι επίσης ότι η ποικιλία Romana Green Tower εμφάνισε τον μικρότερο ρυθμό μείωσης ριζικού συστήματος καθώς αυξανόταν το εφαρμοζόμενο στρες.



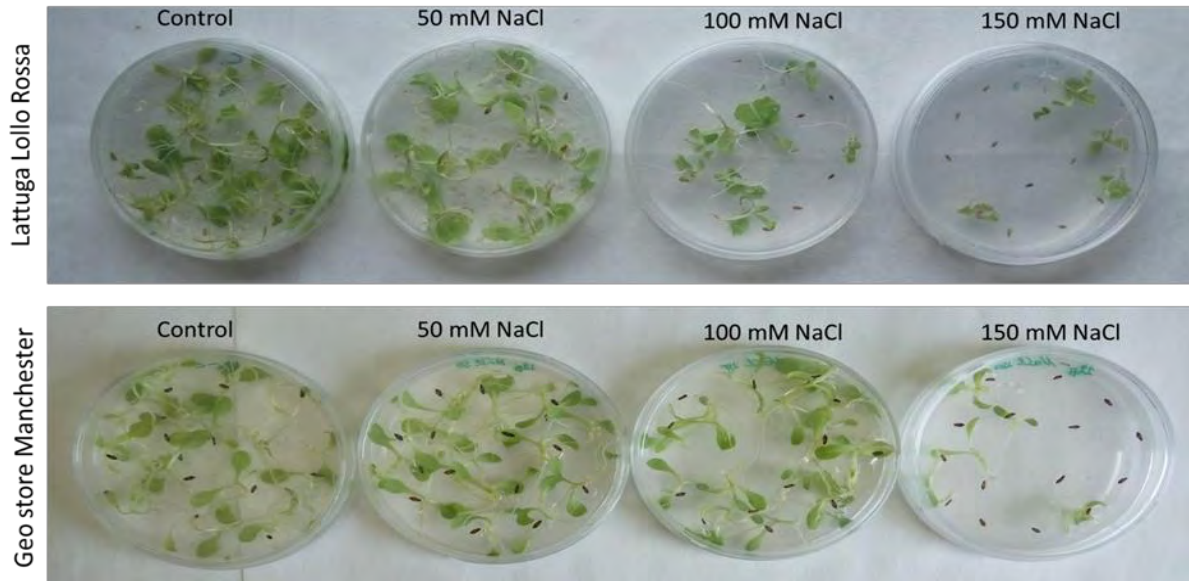


**Γράφημα 3.2:** Μήκος ρίζας σπορόφυτων μαρουλιού ανά ποικιλία και επίπεδο καταπόνησης (50, 100, 150 mM NaCl) κατά τις 5 ημερομηνίες λήψεως των παρατηρήσεων.

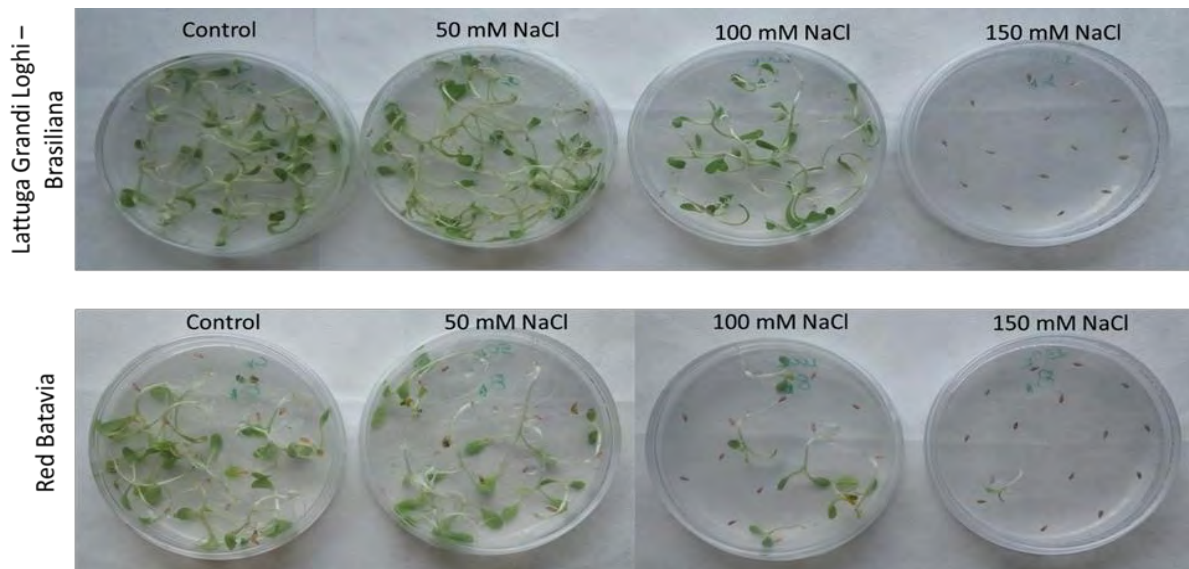


**Γράφημα 3.3:** Μήκος ρίζας σποροφύτων μαρουλιού ανά ποικιλία και ημερομηνία παρατήρησης μεταξύ των διαφορετικών επιπέδων καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).





**Εικόνα 3.3:** Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο μήκος της ρίζας των σπορόφυτων των ποικιλιών Lattuga Lollo Rossa και Geo store Manchester στα διαφορετικά επίπεδα στρες (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl) κατά την τελευταία ημερομηνία παρατήρησης (11/4/2018).



**Εικόνα 3.4:** Επίδραση των διαφορετικών επιπέδων αλατότητας (50, 100 και 150 mM NaCl) στην ανάπτυξη της ρίζας στους γονότυπους Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana και Red Batavia κατά την τελευταία παρατήρηση (11/4/2018).

### 3.1.2.2 Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο μήκος βλαστού των σποροφύτων

Τα αποτελέσματα που αφορούν στην ανάπτυξη του μήκους βλαστού είναι σε πλήρη συμφωνία με τα αντίστοιχα αποτελέσματα του μήκους ρίζας, με τη δριμύτερη επίδραση του στρες να σημειώνεται στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (150 mM NaCl). Η στατιστική ανάλυση κατέδειξε τη σημαντική επίδραση του εφαρμοζόμενου επιπέδου στρες (Πίνακας 3.6)

**Πίνακας 3.6:** Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του μήκους ρίζας των σποροφύτων μεταξύ των επιπέδων καταπόνησης της αλατότητας (50, 100 και 150 mM NaCl).

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Stem

LSD

(I) Treatment	(J) Treatment	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control	50 mM NaCl	,3067*	,05110	,000	,2063	,4072
	100 mM NaCl	,9911*	,05110	,000	,8906	1,0916
	150 mM NaCl	1,7722*	,05110	,000	1,6717	1,8727
50 mM NaCl	Control	-,3067*	,05110	,000	-,4072	-,2063
	100 mM NaCl	,6844*	,05110	,000	,5839	,7848
	150 mM NaCl	1,4655*	,05110	,000	1,3650	1,5659
100 mM NaCl	Control	-,9911*	,05110	,000	-1,0916	-,8906
	50 mM NaCl	-,6844*	,05110	,000	-,7848	-,5839
	150 mM NaCl	,7811*	,05110	,000	,6806	,8816
150 mM NaCl	Control	-1,7722*	,05110	,000	-1,8727	-1,6717
	50 mM NaCl	-1,4655*	,05110	,000	-1,5659	-1,3650
	100 mM NaCl	-,7811*	,05110	,000	-,8816	-,6806

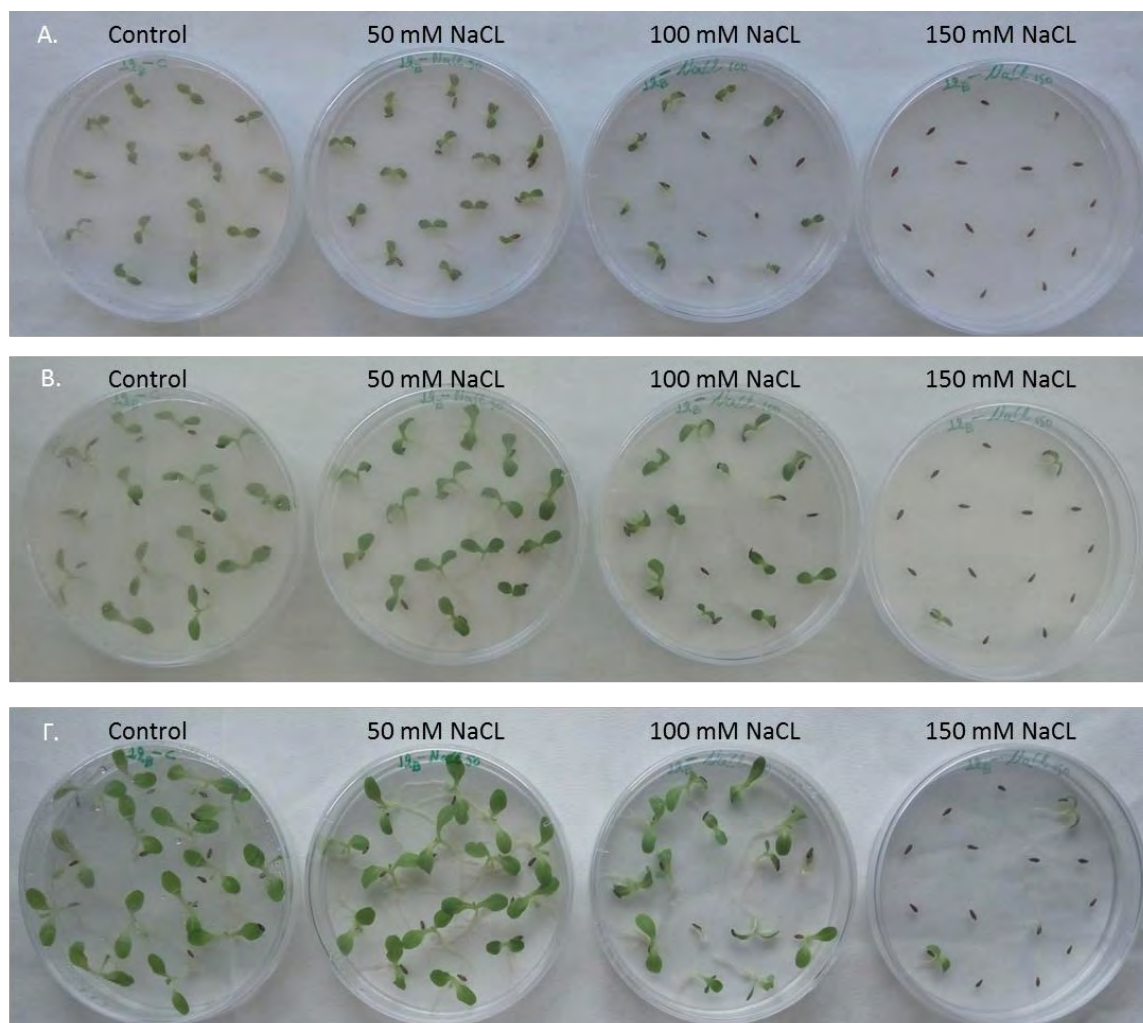
Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,144.

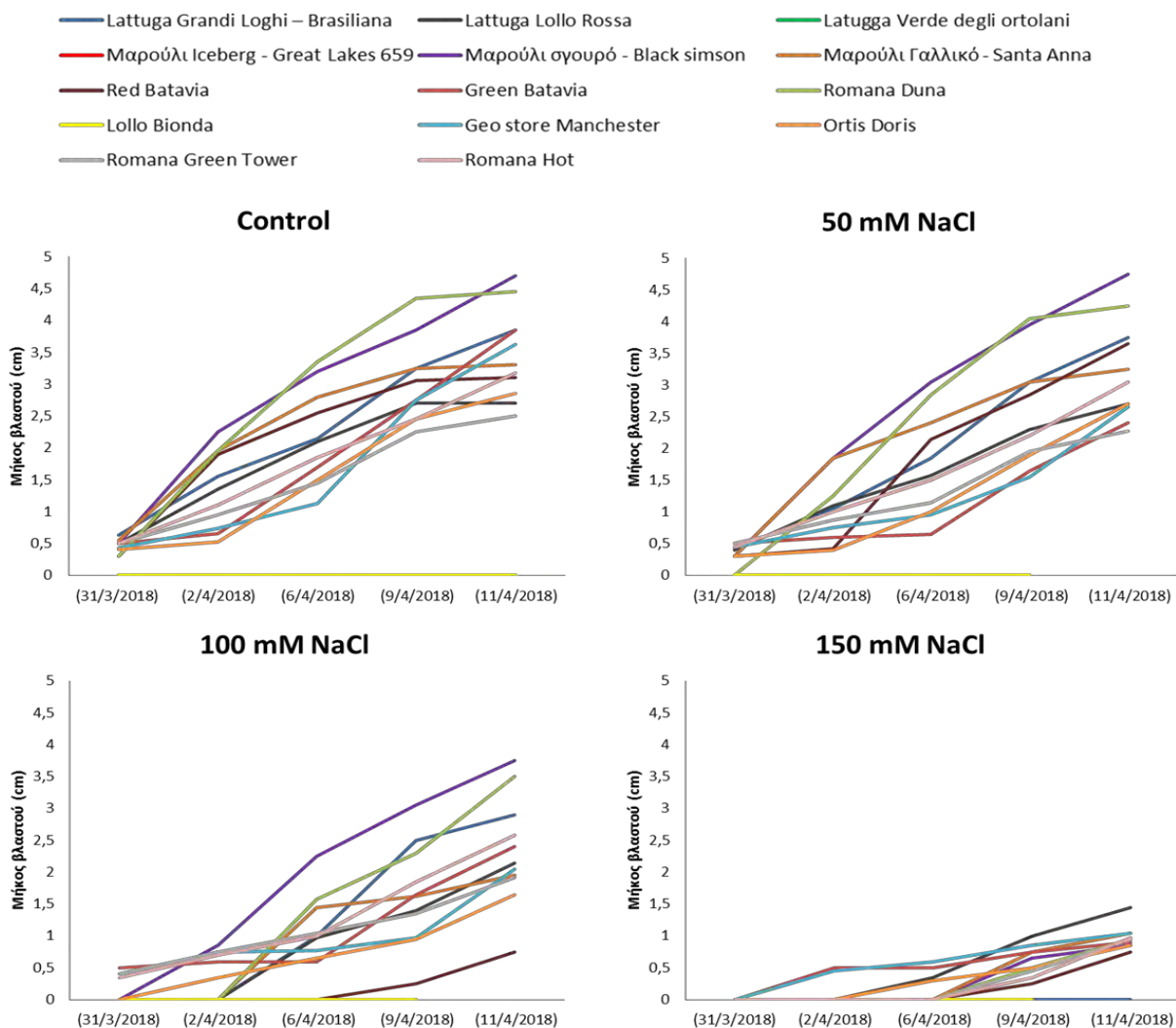
\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Ειδικότερα, η ανάπτυξη του βλαστού υπό την επίδραση της καταπόνησης αλατότητας επηρεάστηκε σημαντικά από το γονότυπο, το εφαρμοζόμενο επίπεδο στρες, καθώς και από την αλληλεπίδρασή τους (Γράφημα 3.4). Με την πάροδο του χρόνου, το μήκος βλαστού των φυτών που αναπτύσσονταν στο χαμηλό επίπεδο στρες (50 mM NaCl) δε διέφερε σημαντικά σε σχέση με τους μάρτυρες. Αντίθετα, η επίδραση της καταπόνησης στο υψηλό επίπεδο στρες (150 mM

NaCl) ήταν ιδιαίτερα έντονη, αποδεικνύοντας την αρνητική συσχέτιση του μήκους βλαστού με την αυξανόμενη ένταση του στρες (Εικόνα 3.5).



**Εικόνα 3.5:** Απόκριση της ποικιλίας Geo store Manchester στα διάφορα επίπεδα καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl) ως προς την ανάπτυξη του βλαστού σε 3 διαφορετικές ημερομηνίες: Α. 31/3/2018, Β. 2/4/2018 και Γ. 6/4/2018.

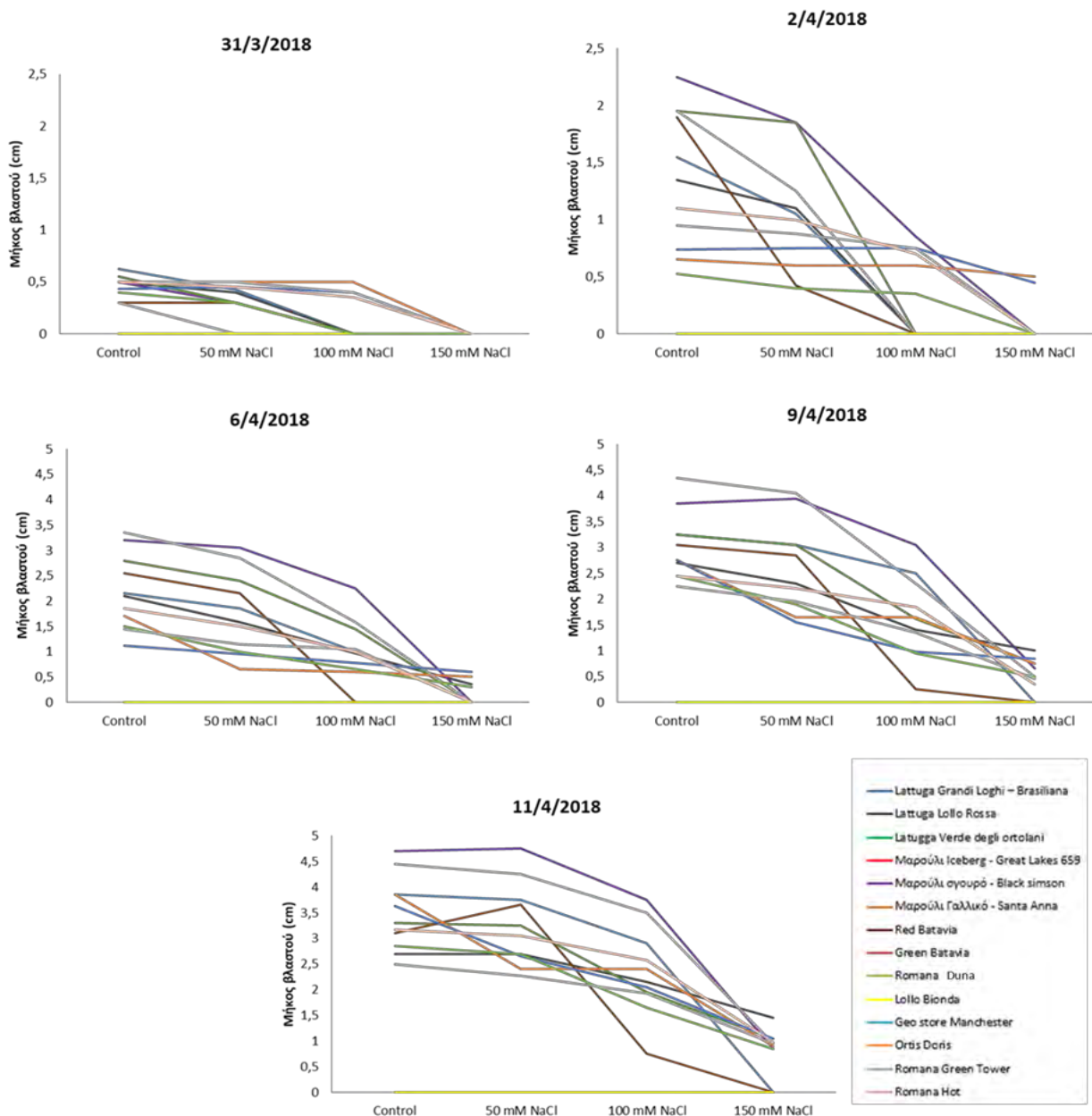


**Γράφημα 3.4:** Μήκος βλαστού σποροφύτων μαρουλιού ανά ποικιλία και ημερομηνία παρατήρησης μεταξύ των διαφορετικών επιπέδων καταπόνησης (Control, 50, 100, 150 mM NaCl).

Κατά την τελευταία παρατήρηση (11/4/2018), η επίδραση της καταπόνησης για το πλείστο των εξεταζόμενων γονοτύπων ήταν έντονη στο μεσαίο και στο υψηλό επίπεδο αλατότητας (100 και 150 mM αντίστοιχα) (Γράφημα 3.5), ενώ στο χαμηλό επίπεδο στρες, οι τιμές κυμάνθηκαν στις τιμές του μάρτυρα. Αναφορικά με τους μάρτυρες, το μήκος βλαστού παρουσίασε ένα εύρος τιμών από 2,5 έως 4,7 cm, με τις ποικιλίες Black Simson, Romana Duna, Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana και Green Batavia να σημειώνουν τις υψηλότερες τιμές. Στο μεσαίο επίπεδο καταπόνησης (100 mM NaCl), οι προαναφερθείσες ποικιλίες επέδειξαν επίσης τις μεγαλύτερες



τιμές. Ωστόσο, στο υψηλό επίπεδο στρες (150 mM NaCl), το μήκος βλαστού εμφάνισε σημαντικά μειωμένες τιμές (0,9 έως 1,5 cm), συγκριτικά με τους μάρτυρες, καταδεικνύοντας την αρνητική επίδραση του στρες (Γράφημα 3.5).



**Γράφημα 3.5:** Μήκος βλαστού σπορόφυτων μαρουλιού ανά ποικιλία και επίπεδο καταπόνησης (50, 100, 150 mM NaCl) κατά τις 5 ημερομηνίες λήψεως των παρατηρήσεων.

Η μεγαλύτερη τιμή παρουσιάστηκε στην ποικιλία Lattuga Lollo Rossa, και ακολούθησαν η Geo store Manchester και η Santa Anna. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι στις ποικιλίες Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana και Red Batavia δεν κατέστη δυνατή η ανάπτυξη βλαστού, υποδηλώνοντας την ευαισθησία τους σε υψηλή ένταση καταπόνησης.

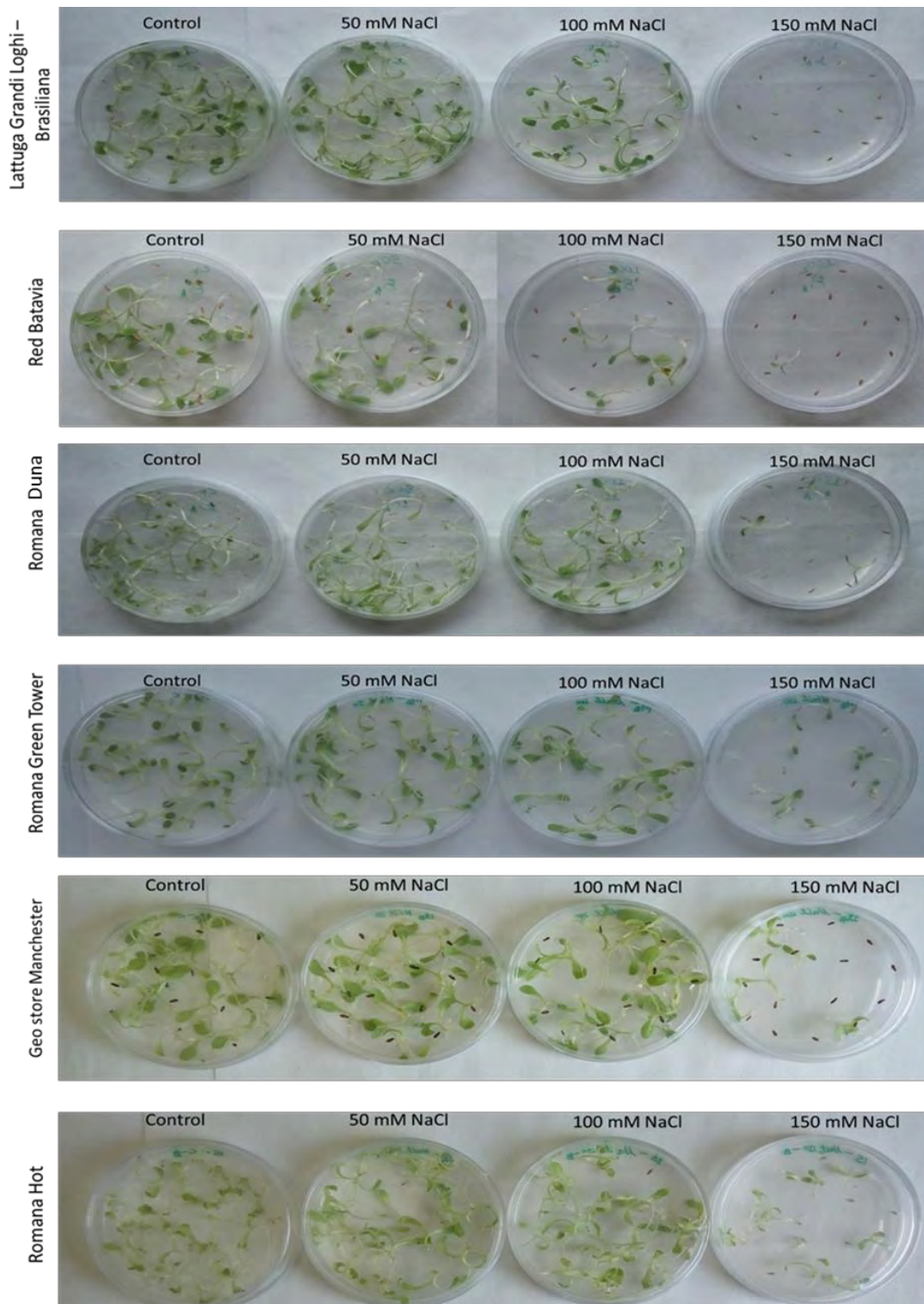
### 3.1.3 Κατηγοριοποίηση γονοτύπων με βάση την ανθεκτικότητά τους έναντι της καταπόνησης υψηλής αλατότητας

Στο σύνολο τους, τα αποτελέσματα από την αξιολόγηση κατά τη φάση της βλάστησης παρείχαν την δυνατότητα διάκρισης των φαινοτύπων ανθεκτικότητας και ευαισθησίας στο στάδιο αυτό, επιτρέποντας έτσι την κατηγοριοποίηση των υπό μελέτη ποικιλιών με βάση την ανθεκτικότητά τους στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας. Η κατηγοριοποίηση των 14 εμπορικών ποικιλιών πραγματοποιήθηκε αναλύοντας τα ευρήματα που αφορούσαν το ποσοστό βλάστησης του σπόρου, την ανάπτυξη της ρίζας και του βλαστού των σπορόφυτων, καθώς επίσης και του αριθμού των σπορόφυτων με μη φυσιολογικό φαινότυπο.

Σύμφωνα με τις προαναφερθείσες αναλύσεις, οι ποικιλίες διακρίθηκαν σε 3 κατηγορίες: i) ανθεκτικές, ii) μέτριας ανθεκτικότητας και iii) ευαίσθητες. Τελικά επιλέχθηκαν 6 ποικιλίες (Πίνακας 3.7) (Εικόνα 3.6), με σκοπό την περαιτέρω μελέτη και αξιολόγηση αυτών σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια, σε πείραμα που διεξήχθη στο θερμοκήπιο.

**Πίνακας 3.7:** Γονότυποι μαρουλιού που επιλέχθηκαν με βάση την ανθεκτικότητά τους για περαιτέρω αξιολόγηση της ανθεκτικότητας στο θερμοκήπιο.

Ανθεκτικές	Μέτριας ανθεκτικότητας	Ευαίσθητες
Geo store Manchester	Romana Duna	Lattuga Grandi Loghi- Brasiliana
Romana Hot	Romana Green Tower	Red Batavia



**Εικόνα 3.6:** Απεικόνιση κατά την τελευταία παρατήρηση στις 14/4/2018 (19<sup>η</sup> ημέρα καταπόνησης) των 6 επιλεγμένων ανάλογα με την ανθεκτικότητά τους έναντι του στρες αλατότητας, στα διαφορετικά επίπεδα (Control, 50 100 και 150 mM NaCl).

### 3.2 Αξιολόγηση της ανθεκτικότητας έναντι της καταπόνησης υψηλής αλατότητας σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια

Στη συνέχεια, οι 6 επιλεγμένες ποικιλίες μαρουλιού - 2 ανθεκτικές, 2 μέτριας ανθεκτικότητας, 2 ευαίσθητες -, βάσει των αποτελεσμάτων από την *in vitro* αξιολόγηση της ανθεκτικότητας, αξιολογήθηκαν ως προς την ανθεκτικότητά τους σε μεταγενέστερα στάδια σε συνθήκες θερμοκηπίου. Η αξιολόγηση των γονοτύπων βασίστηκε στο ύψος των φυτών, στο νωπό και ξηρό βάρος καθώς και στην περιεχόμενη χλωροφύλλη των καταπονημένων φυτών συγκριτικά με τους μάρτυρες. Απώτερο σκοπό αποτέλεσε η συσχέτιση των αποτελεσμάτων των δύο υπό μελέτη σταδίων προκειμένου να διερευνηθεί η δυνατότητα και αξιόπιστης επιλογής ανθεκτικών στην αλατότητα γονοτύπων σε πρώιμα αναπτυξιακά στάδια.

#### 3.2.1 Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο νωπό βάρος των φυτών

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης ως προς το χλωρό βάρος των 6 ποικιλιών κατέδειξαν τη σημαντική επίδραση των μεταβλητών ποικιλία και επίπεδο εφαρμοζόμενου στρες (Πίνακας 3.8), ενώ εξίσου σημαντική επίδραση είχε και η αλληλεπίδρασή τους (Πίνακας 3.8). Αντίθετα, μεταξύ των διαφορετικών επαναλήψεων δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, γεγονός που αποδεικνύει την καλή επαναληψιμότητα του πειράματος. Τα φυτά μάρτυρες διέφεραν σημαντικά σε σχέση με τις διάφορες επεμβάσεις (50, 100 και 150 mM NaCl), ενώ διαφορές εμφανίστηκαν και μεταξύ των διαφορετικών επιπέδων καταπόνησης (Πίνακας 3.9).

**Πίνακας 3.8:** Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) υπό την καταπόνηση της αλατότητας στο χλωρό βάρος φυτών των 6 διαφορετικών εμπορικών ποικιλιών μαρουλιού.

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Chloro

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	356371,040	1	356371,040	19425,313	,000
	Error	55,037	3	18,346 <sup>a</sup>		
Treatment	Hypothesis	5914,418	3	1971,473	44,005	,000
	Error	403,208	9	44,801 <sup>b</sup>		
Variety	Hypothesis	10266,588	5	2053,318	38,192	,000



	Error	3225,742	60	53,762 <sup>c</sup>		
Rep	Hypothesis	55,037	3	18,346	,409	,750
	Error	403,208	9	44,801 <sup>b</sup>		
Treatment * Rep	Hypothesis	403,208	9	44,801	,833	,588
	Error	3225,742	60	53,762 <sup>c</sup>		
Treatment * Variety	Hypothesis	1930,350	15	128,690	2,394	,009
	Error	3225,742	60	53,762 <sup>c</sup>		

a. MS(Rep)

b. MS(Treatment \* Rep)

c. MS(Error)

**Πίνακας 3.9:** Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του χλωρού βάρους μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Chloro

LSD

(I) Treatment	(J) Treatment	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control	50 NaCl	7,4029*	2,11665	,001	3,1690	11,6368
	100 NaCl	15,5446*	2,11665	,000	11,3107	19,7785
	150 NaCl	20,5862*	2,11665	,000	16,3523	24,8202
50 NaCl	Control	-7,4029*	2,11665	,001	-11,6368	-3,1690
	100 NaCl	8,1417*	2,11665	,000	3,9077	12,3756
	150 NaCl	13,1833*	2,11665	,000	8,9494	17,4173
100 NaCl	Control	-15,5446*	2,11665	,000	-19,7785	-11,3107
	50 NaCl	-8,1417*	2,11665	,000	-12,3756	-3,9077
	150 NaCl	5,0417*	2,11665	,020	,8077	9,2756
150 NaCl	Control	-20,5862*	2,11665	,000	-24,8202	-16,3523
	50 NaCl	-13,1833*	2,11665	,000	-17,4173	-8,9494
	100 NaCl	-5,0417*	2,11665	,020	-9,2756	-,8077

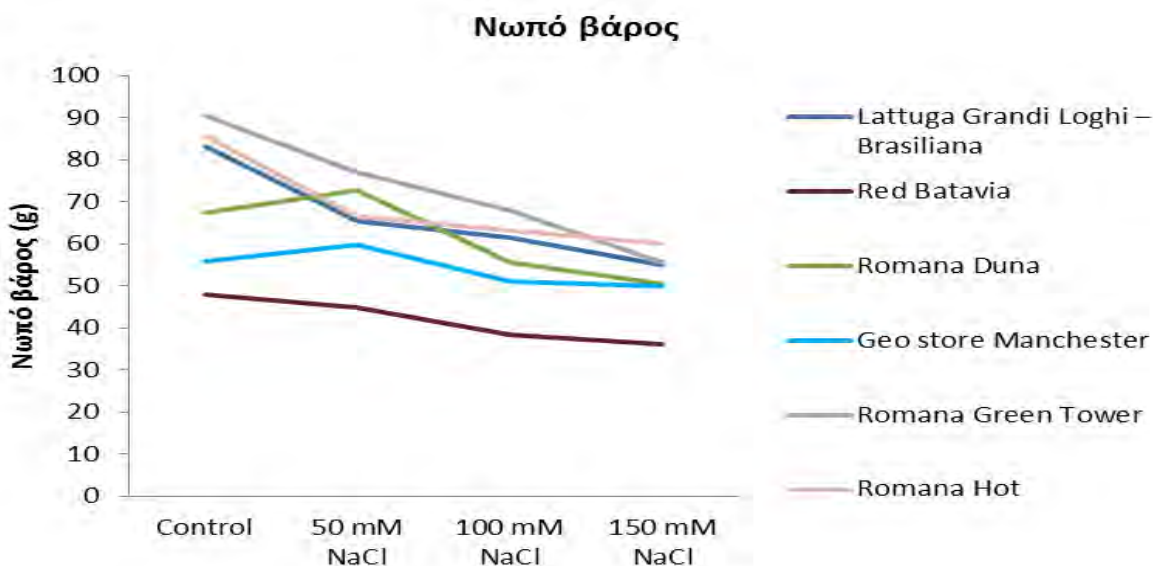
Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 53,762.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Σε γονοτυπικό επίπεδο, η ποικιλία Geo store Manchester, που χαρακτηρίστηκε ως ανθεκτική στη φάση της βλάστησης, εμφάνισε τη μικρότερη απώλεια χλωρού βάρους σε όλα τα επίπεδα

αλατότητας σε σύγκριση με τα φυτά μάρτυρες (Γράφημα 3.6), ενώ παράλληλα εμφάνισε σαφή υπεροχή καθώς διέφερε σημαντικά σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες (Πίνακας 3.10). Συγκεκριμένα, στο χαμηλό επίπεδο στρες εμφάνισε αύξηση του νωπού βάρους, κατά 4 g, ενώ στο υψηλό επίπεδο στρες (150 mM NaCl) καταγράφηκε μία μικρή μείωση νωπού βάρους, περίπου κατά 6 g, αποδεικνύοντας την ανθεκτικότητα της ποικιλίας. Αντιθέτως, η ποικιλία Romana Hot, η οποία επίσης χαρακτηρίστηκε ως ανθεκτική κατά τη βλάστηση και κατείχε από τα μεγαλύτερα νωπά βάρη στα φυτά μάρτυρες (86 g), στο υψηλό επίπεδο αλατότητας (150 mM NaCl) εμφάνισε σημαντική μείωση της τάξης των 26 g, καταδεικνύοντας μια ορισμένη ευαισθησία (Γράφημα 3.6). Ενδιαφέρον προκάλεσε ο γονότυπος Red Batavia, ο οποίος αξιολογήθηκε ως ευαίσθητος ως προς την καταπόνηση της αλατότητας, αλλά σημείωσε μικρή απώλεια νωπού βάρους συγκριτικά με τα φυτά μάρτυρες, διαφέροντας στατιστικά από τους υπόλοιπους γονότυπους (Πίνακας 3.10). Συγκεκριμένα, η Red Batavia, εμφάνισε στο επίπεδο αλατότητας 150 mM NaCl, μείωση χλωρού βάρους κατά 12 g σε σχέση με το μάρτυρα. Ωστόσο, η επίδραση της αλατότητας ήταν ιδιαίτερα δραστική στην ποικιλία Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana, που στο υψηλό επίπεδο στρες εμφάνισε σημαντική μείωση του χλωρού βάρους (28 g). Τα ευρήματα αυτά είναι σε πλήρη συμφωνία με την παρατηρηθείσα ευαισθησία της ποικιλίας στη φάση της βλάστησης.



**Γράφημα 3.6:** Χλωρό βάρος ανά ποικιλία και επίπεδο καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).

**Πίνακας 3.10:** Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του χλωρού βάρους μεταξύ των 6 διαφορετικών ποικιλιών.

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Chloro  
LSD

(I) Variety	(J) Variety	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	8-Red Batavia	24,4231*	2,56402	,000	19,3081	29,5382
	10-Romana	4,7231	2,56402	,070	-,3919	9,8382
	12-Geo store Manchester	12,0294*	2,56402	,000	6,9143	17,1444
	14-Romana Green Tower	-6,4956*	2,56402	,014	-11,6107	-1,3806
	15-Romana Hot	-2,6456	2,56402	,306	-7,7607	2,4694
8-Red Batavia	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	-24,4231*	2,56402	,000	-29,5382	-19,3081
	10-Romana	-19,7000*	2,56402	,000	-24,8151	-14,5849
	12-Geo store Manchester	-12,3938*	2,56402	,000	-17,5088	-7,2787
	14-Romana Green Tower	-30,9188*	2,56402	,000	-36,0338	-25,8037
	15-Romana Hot	-27,0688*	2,56402	,000	-32,1838	-21,9537
10-Romana	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	-4,7231	2,56402	,070	-9,8382	,3919
	8-Red Batavia	19,7000*	2,56402	,000	14,5849	24,8151
	12-Geo store Manchester	7,3062*	2,56402	,006	2,1912	12,4213
	14-Romana Green Tower	-11,2188*	2,56402	,000	-16,3338	-6,1037
	15-Romana Hot	-7,3688*	2,56402	,005	-12,4838	-2,2537
12-Geo store Manchester	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	-12,0294*	2,56402	,000	-17,1444	-6,9143
	8-Red Batavia	12,3938*	2,56402	,000	7,2787	17,5088
	10-Romana	-7,3062*	2,56402	,006	-12,4213	-2,1912
	14-Romana Green Tower	-18,5250*	2,56402	,000	-23,6401	-13,4099
	15-Romana Hot	-14,6750*	2,56402	,000	-19,7901	-9,5599
14-Romana Green Tower	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	6,4956*	2,56402	,014	1,3806	11,6107
	8-Red Batavia	30,9188*	2,56402	,000	25,8037	36,0338
	10-Romana	11,2188*	2,56402	,000	6,1037	16,3338
	12-Geo store Manchester	18,5250*	2,56402	,000	13,4099	23,6401
	15-Romana Hot	3,8500	2,56402	,138	-1,2651	8,9651
15-Romana Hot	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	2,6456	2,56402	,306	-2,4694	7,7607
	8-Red Batavia	27,0688*	2,56402	,000	21,9537	32,1838
	10-Romana	7,3688*	2,56402	,005	2,2537	12,4838
	12-Geo store Manchester	14,6750*	2,56402	,000	9,5599	19,7901
	14-Romana Green Tower	-3,8500	2,56402	,138	-8,9651	1,2651

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 52,593.

\*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

Είναι αξιοσημείωτο ωστόσο ότι οι γονότυποι που χαρακτηρίστηκαν ως μέτριας ανθεκτικότητας στη φάση της βλάστησης, εμφάνισαν διαφορετική απόκριση στα μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια, με την ποικιλία Romana Duna να επιδεικνύει καλύτερη επίδοση συγκριτικά με τη

Romana Green Tower (Γράφημα 3.6). Ειδικότερα, η ποικιλία Romana Duna κατέδειξε ορισμένη ανθεκτικότητα στο χαμηλό επίπεδο επέμβασης, ενώ στα υψηλότερα επίπεδα (100 και 150 mM NaCl) σημείωσε μείωση του χλωρού βάρους, έως και 17 g, συγκριτικά με τους μάρτυρες. Από την άλλη μεριά, η ποικιλία Romana Green Tower εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή χλωρού βάρους στα φυτά μάρτυρες αλλά και τη μεγαλύτερη μείωση χλωρού βάρους στο υψηλό επίπεδο στρες (150 mM NaCl), η οποία άγγιξε τα 35 g.

### 3.2.2 Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο ξηρό βάρος των φυτών

Τα ευρήματα της στατιστικής ανάλυσης κατέδειξαν τη σημαντική επίδραση των παραγόντων : ποικιλία, επέμβαση και αλληλεπίδραση ποικιλίας-επέμβασης, ως προς τη διαμόρφωση του ξηρού βάρους των φυτών μαρουλιού (Πίνακας 3.11). Αντίθετα, μεταξύ των διαφορετικών επαναλήψεων δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Πίνακας 3.11).

**Πίνακας 3.11:** Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) υπό την καταπόνηση της αλατότητας στο ξηρό βάρος φυτών των 6 διαφορετικών εμπορικών ποικιλιών μαρουλιού.

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Dry

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	7543,229	1	7543,229	3362,391	,000
	Error	6,730	3	2,243 <sup>a</sup>		
Variety	Hypothesis	213,871	5	42,774	45,944	,000
	Error	55,861	60	,931 <sup>b</sup>		
Treatment	Hypothesis	30,861	3	10,287	16,627	,001
	Error	5,568	9	,619 <sup>c</sup>		
Rep	Hypothesis	6,730	3	2,243	3,626	,058
	Error	5,568	9	,619 <sup>c</sup>		
Treatment * Rep	Hypothesis	5,568	9	,619	,665	,737
	Error	55,861	60	,931 <sup>b</sup>		
Variety * Treatment	Hypothesis	31,046	15	2,070	2,223	,015
	Error	55,861	60	,931 <sup>b</sup>		

a. MS(Rep)

b. MS(Error)

c. MS(Treatment \* Rep)

Όσον αναφορά τα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης (Control, 50,100 και 150 mM NaCl), η ανάλυση κατέδειξε ότι μεταξύ του μάρτυρα και του χαμηλού επιπέδου στρες δεν υπήρξε σημαντική στατιστική διαφορά (Πίνακας 3.12), ενώ απουσία διαφορών παρατηρήθηκε και μεταξύ του μεσαίου και υψηλού επιπέδου στρες (100 και 150 mM NaCl) (Πίνακας 3.12). Αντίθετα, σημαντικές διαφορές σημειώθηκαν μεταξύ των ζευγών μάρτυρα/50 mM NaCl και 100 mM NaCl/150 mM NaCl.

**Πίνακας 3.12:** Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του ξηρού βάρους μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Dry

LSD

(I) Treatment	(J) Treatment	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control	50 NaCl	,0737	,27854	,792	-,4834	,6309
	100 NaCl	,8446*	,27854	,004	,2874	1,4017
	150 NaCl	1,3696*	,27854	,000	,8124	1,9267
50 NaCl	Control	-,0737	,27854	,792	-,6309	,4834
	100 NaCl	,7708*	,27854	,008	,2137	1,3280
	150 NaCl	1,2958*	,27854	,000	,7387	1,8530
100 NaCl	Control	-,8446*	,27854	,004	-1,4017	-,2874
	50 NaCl	-,7708*	,27854	,008	-1,3280	-,2137
	150 NaCl	,5250	,27854	,064	-,0322	1,0822
150 NaCl	Control	-1,3696*	,27854	,000	-1,9267	-,8124
	50 NaCl	-1,2958*	,27854	,000	-1,8530	-,7387
	100 NaCl	-,5250	,27854	,064	-1,0822	,0322

Based on observed means.

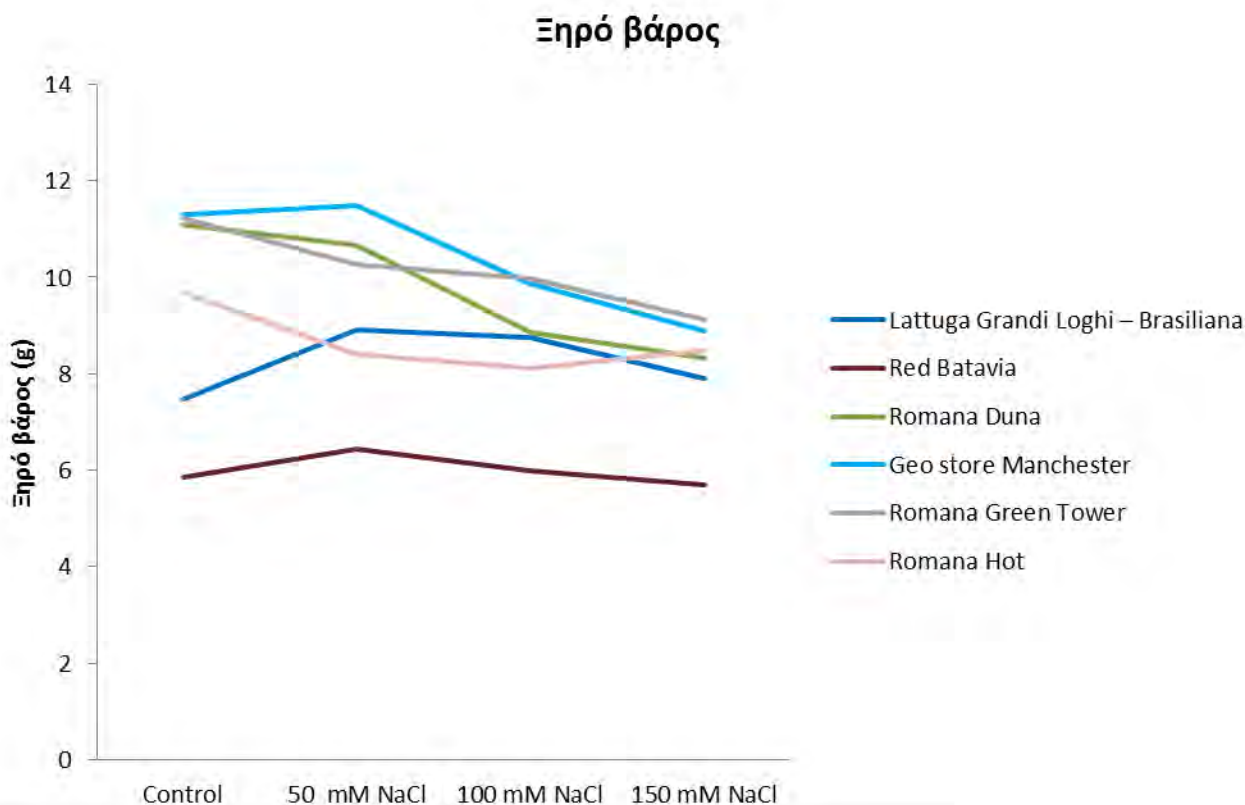
The error term is Mean Square(Error) = ,931.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Οι ποικιλίες Geo store Manchester, Romana Duna και Romana Green Tower σημείωσαν τις υψηλότερες τιμές ξηρού βάρους στα φυτά μάρτυρες, περίπου 11g, με τις δύο τελευταίες να έχουν παρόμοια συμπεριφορά καθώς με την αύξηση της έντασης του στρες εμφάνισαν πτωτική

τάση, με τη Romana Green Tower ωστόσο να κατέχει υψηλότερη τιμή ξηρού βάρους στα 150 mM NaCl (Γράφημα 3.7). Σύμφωνα με τα ευρήματα της ανάλυσης, οι συγκεκριμένες ποικιλίες δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Πίνακας 3.13). Απουσία καταπόνησης, τη μικρότερη τιμή ξηρού βάρους κατείχε ο γονότυπος Red Batavia, η οποία ωστόσο εμφάνισε σταθερές και παρόμοιες τιμές με το μάρτυρα ακόμη και στο υψηλό επίπεδο στρες (Πίνακας 3.13) (Γράφημα 3.7).

Όσον αφορά την ποικιλία Romana Hot, η οποία χαρακτηρίστηκε ως ανθεκτική στη φάση της βλάστησης, ακολούθησε πτωτική τάση στο χαμηλό και στο μεσαίο επίπεδο καταπόνησης, ενώ στο υψηλό επίπεδο στρες εμφάνισε μεγαλύτερη τιμή ξηρού βάρους συγκριτικά με τα χαμηλότερα επίπεδα στρες (Γράφημα 3.7). Αξιοσημείωτο είναι επίσης, ότι η ποικιλία Lattuga Grandi Loghi-Brasiliana παρουσίασε μεγαλύτερες τιμές ξηρού βάρους σε όλες τις επεμβάσεις της αλατότητας σε σύγκριση με τον μάρτυρα (Γράφημα 3.7).



**Εικόνα 3.7:** Ξηρό βάρος ανά ποικιλία και επίπεδο καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).

**Πίνακας 3.13:** Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του ξηρού βάρους μεταξύ των 6 διαφορετικών ποικιλιών.

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Dry  
LSD

(I) Variety	(J) Variety	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	8-Red Batavia	2,2606*	,33359	,000	1,5951	2,9261
	10-Romana	-1,4831*	,33359	,000	-2,1486	-,8176
	12-Geo store Manchester	-2,1269*	,33359	,000	-2,7924	-1,4614
	14-Romana Green Tower	-1,8956*	,33359	,000	-2,5611	-1,2301
	15-Romana Hot	-,4144	,33359	,218	-1,0799	,2511
8-Red Batavia	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	-2,2606*	,33359	,000	-2,9261	-1,5951
	10-Romana	-3,7438*	,33359	,000	-4,4092	-3,0783
	12-Geo store Manchester	-4,3875*	,33359	,000	-5,0530	-3,7220
	14-Romana Green Tower	-4,1563*	,33359	,000	-4,8217	-3,4908
	15-Romana Hot	-2,6750*	,33359	,000	-3,3405	-2,0095
10-Romana	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	1,4831*	,33359	,000	,8176	2,1486
	8-Red Batavia	3,7438*	,33359	,000	3,0783	4,4092
	12-Geo store Manchester	-,6437	,33359	,058	-1,3092	,0217
	14-Romana Green Tower	-,4125	,33359	,220	-1,0780	,2530
	15-Romana Hot	1,0688*	,33359	,002	,4033	1,7342
12-Geo store Manchester	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	2,1269*	,33359	,000	1,4614	2,7924
	8-Red Batavia	4,3875*	,33359	,000	3,7220	5,0530
	10-Romana	,6437	,33359	,058	-,0217	1,3092
	14-Romana Green Tower	,2312	,33359	,491	-,4342	,8967
	15-Romana Hot	1,7125*	,33359	,000	1,0470	2,3780
14-Romana Green Tower	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	1,8956*	,33359	,000	1,2301	2,5611
	8-Red Batavia	4,1563*	,33359	,000	3,4908	4,8217
	10-Romana	,4125	,33359	,220	-,2530	1,0780
	12-Geo store Manchester	-,2312	,33359	,491	-,8967	,4342
	15-Romana Hot	1,4813*	,33359	,000	,8158	2,1467
15-Romana Hot	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	-,4144	,33359	,218	-,2511	1,0799
	8-Red Batavia	2,6750*	,33359	,000	2,0095	3,3405
	10-Romana	-1,0688*	,33359	,002	-1,7342	-,4033
	12-Geo store Manchester	-1,7125*	,33359	,000	-2,3780	-1,0470
	14-Romana Green Tower	-1,4813*	,33359	,000	-2,1467	-,8158

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,890.

\*. The mean difference is significant at the 0,05 level.



### 3.2.3 Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο ύψος των φυτών

Αναφορικά με το γνώρισμα του ύψους, τα αποτελέσματα της ανάλυσης κατέδειξαν τη σημαντική επίδραση των μεταβλητών ποικιλία και επίπεδο καταπόνησης καθώς και της αλληλεπίδρασή τους (Πίνακας 3.14).

**Πίνακας 3.14:** Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) υπό την επίδραση της αλατότητας στο ύψος φυτών μαρουλιού σε 6 διαφορετικές ποικιλίες.

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Height

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	75094,272	1	75094,272	28353,931	,000
	Error	7,945	3	2,648 <sup>a</sup>		
Variety	Hypothesis	1584,712	5	316,942	108,035	,000
	Error	715,820	244	2,934 <sup>b</sup>		
Date	Hypothesis	2251,633	2	1125,817	383,754	,000
	Error	715,820	244	2,934 <sup>b</sup>		
Treatment	Hypothesis	216,885	3	72,295	115,780	,000
	Error	5,620	9	,624 <sup>c</sup>		
Rep	Hypothesis	7,945	3	2,648	4,241	,040
	Error	5,620	9	,624 <sup>c</sup>		
Date * Treatment	Hypothesis	204,679	6	34,113	11,628	,000
	Error	715,820	244	2,934 <sup>b</sup>		
Variety * Treatment	Hypothesis	86,653	15	5,777	1,969	,018
	Error	715,820	244	2,934 <sup>b</sup>		
Treatment * Rep	Hypothesis	5,620	9	,624	,213	,992
	Error	715,820	244	2,934 <sup>b</sup>		

a. MS(Rep)

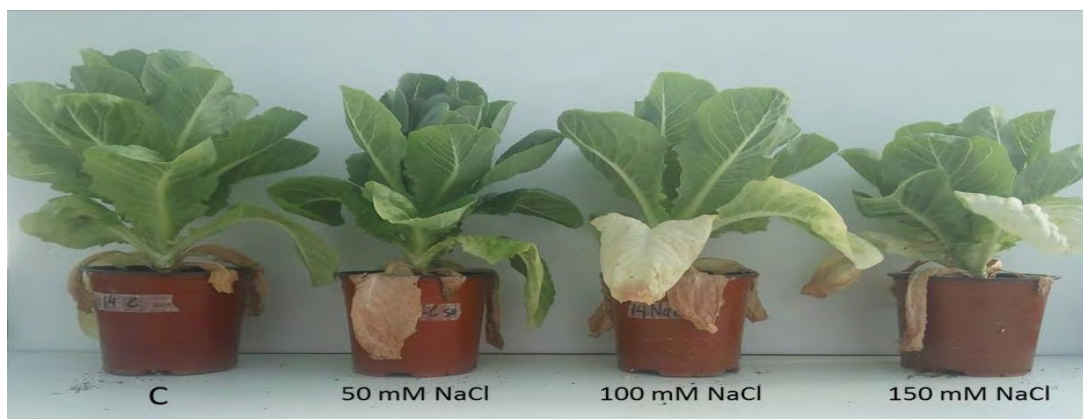
b. MS(Error)

c. MS(Treatment \* Rep)



Ως προς τις υπό μελέτη επεμβάσεις, τα αποτελέσματα της ανάλυσης κατέδειξαν την ύπαρξη διαφορών μεταξύ των φυτών μαρτύρων και των φυτών που υποβλήθηκαν σε καταπόνηση αλατότητας (Πίνακας 3.15) (Εικόνα 3.7). Ωστόσο, μεταξύ του χαμηλού και μεσαίου επιπέδου στρες, δε σημειώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Πίνακας 3.15). Το ίδιο συνέβη και μεταξύ του μεσαίου και υψηλού επιπέδου στρες (Πίνακας 3.15).

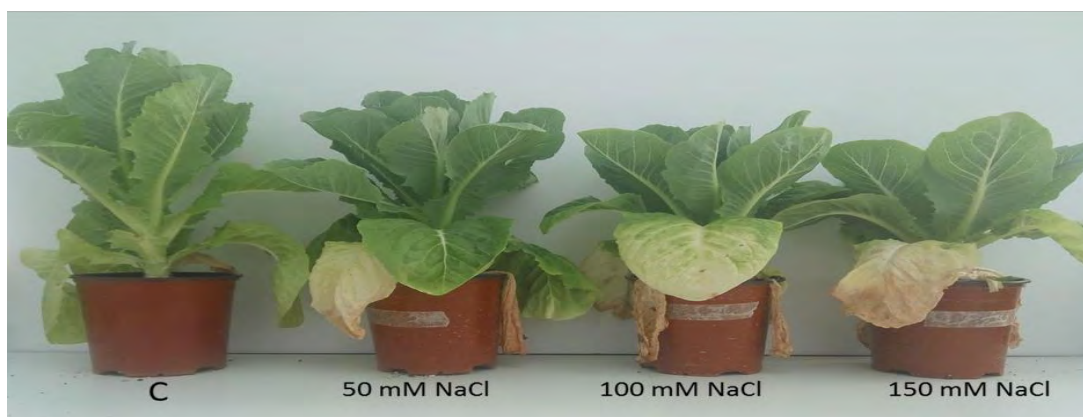
#### Romana Green Tower



#### Romana Hot



#### Romana Duna



**Εικόνα 3.7:** Απεικόνιση των ποικιλιών Romana Green Tower, Romana Hot και Romana Duna υπό την επίδραση της αλατότητας (50, 100 και 150 mM NaCl) κατά την τελευταία ημερομηνία παρατήρησης (16/7/2018).

**Πίνακας 3.15:** Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του ξηρού βάρους μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Height

LSD

(I) Treatment	(J) Treatment	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control	50 NaCl	1,4806*	,28547	,000	,9183	2,0428
	100 NaCl	1,9792*	,28547	,000	1,4169	2,5415
	150 NaCl	2,2444*	,28547	,000	1,6822	2,8067
50 NaCl	Control	-1,4806*	,28547	,000	-2,0428	-,9183
	100 NaCl	,4986	,28547	,082	-,0637	1,0609
	150 NaCl	,7639*	,28547	,008	,2016	1,3262
100 NaCl	Control	-1,9792*	,28547	,000	-2,5415	-1,4169
	50 NaCl	-,4986	,28547	,082	-1,0609	,0637
	150 NaCl	,2653	,28547	,354	-,2970	,8276
150 NaCl	Control	-2,2444*	,28547	,000	-2,8067	-1,6822
	50 NaCl	-,7639*	,28547	,008	-1,3262	-,2016
	100 NaCl	-,2653	,28547	,354	-,8276	,2970

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2,934.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Κατά την τελευταία παρατήρηση (16/7/2018) , οι ποικιλίες Romana Green Tower, Lattuga Grandi Loghi – Brasiliana, Romana hot και Romana Duna παρουσίασαν παρόμοια συμπεριφορά καθώς η μείωση του ύψους των φυτών μαρτύρων ήταν ανάλογη με το αυξανόμενο επίπεδο καταπόνησης (Γράφημα 3.8). Ωστόσο, οι ποικιλίες που δεν διέφεραν σημαντικά ήταν οι Lattuga Grandi Loghi και Brasiliana και Romana hot (Πίνακας 3.16). Όσον αφορά την Romana Green

Tower, που χαρακτηρίστηκε ως μέτριας ανθεκτικότητας, παρόλο που σημείωσε το μεγαλύτερο ύψος στα φυτά μάρτυρες (28,4 cm), στο υψηλό επίπεδο στρες παρουσίασε τη μεγαλύτερη μείωση, κατά 10 cm περίπου, σε σύγκριση με τον μάρτυρα (Γράφημα 3.8).

**Πίνακας 3.16:** Αξιολόγηση της διαφοροποίησης του ύψους μεταξύ των 6 διαφορετικών ποικιλιών.

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Height  
LSD

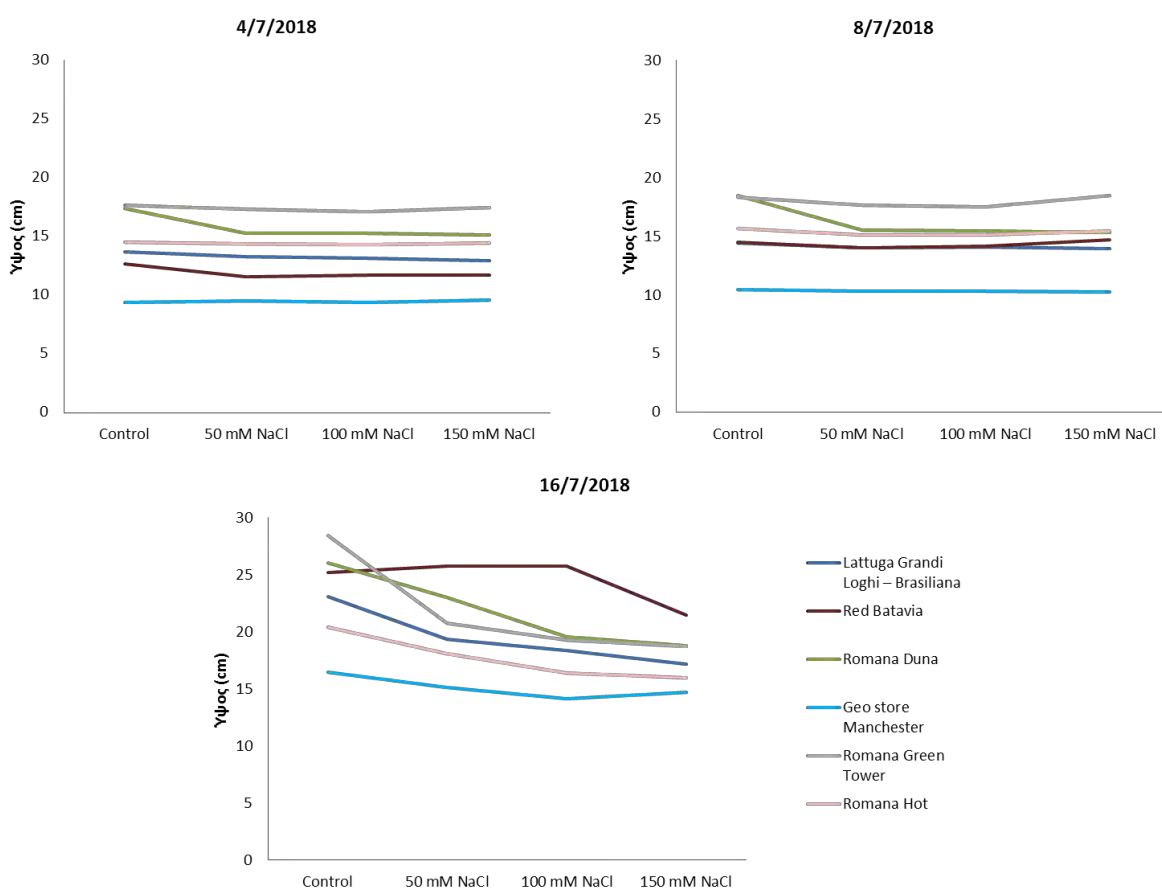
(I) Variety	(J) Variety	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	8-Red Batavia	-1,2917*	,34962	,000	-1,9803	-,6030
	10-Romana	-2,3083*	,34962	,000	-2,9970	-1,6197
	12-Geo store Manchester	3,9937*	,34962	,000	3,3051	4,6824
	14-Romana Green Tower	-3,4313*	,34962	,000	-4,1199	-2,7426
	15-Romana Hot	-,1979	,34962	,572	-,8866	,4908
8-Red Batavia	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	1,2917*	,34962	,000	,6030	1,9803
	10-Romana	-1,0167*	,34962	,004	-1,7053	-,3280
	12-Geo store Manchester	5,2854*	,34962	,000	4,5967	5,9741
	14-Romana Green Tower	-2,1396*	,34962	,000	-2,8283	-1,4509
	15-Romana Hot	1,0938*	,34962	,002	,4051	1,7824
10-Romana	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	2,3083*	,34962	,000	1,6197	2,9970
	8-Red Batavia	1,0167*	,34962	,004	,3280	1,7053
	12-Geo store Manchester	6,3021*	,34962	,000	5,6134	6,9908
	14-Romana Green Tower	-1,1229*	,34962	,001	-1,8116	-,4342
	15-Romana Hot	2,1104*	,34962	,000	1,4217	2,7991
12-Geo store Manchester	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	-3,9937*	,34962	,000	-4,6824	-3,3051
	8-Red Batavia	-5,2854*	,34962	,000	-5,9741	-4,5967
	10-Romana	-6,3021*	,34962	,000	-6,9908	-5,6134
	14-Romana Green Tower	-7,4250*	,34962	,000	-8,1137	-6,7363
	15-Romana Hot	-4,1917*	,34962	,000	-4,8803	-3,5030
14-Romana Green Tower	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	3,4313*	,34962	,000	2,7426	4,1199
	8-Red Batavia	2,1396*	,34962	,000	1,4509	2,8283
	10-Romana	1,1229*	,34962	,001	,4342	1,8116
	12-Geo store Manchester	7,4250*	,34962	,000	6,7363	8,1137
	15-Romana Hot	3,2333*	,34962	,000	2,5447	3,9220
15-Romana Hot	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	,1979	,34962	,572	-,4908	,8866
	8-Red Batavia	-1,0938*	,34962	,002	-1,7824	-,4051
	10-Romana	-2,1104*	,34962	,000	-2,7991	-1,4217
	12-Geo store Manchester	4,1917*	,34962	,000	3,5030	4,8803
	14-Romana Green Tower	-3,2333*	,34962	,000	-3,9220	-2,5447

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2,934.

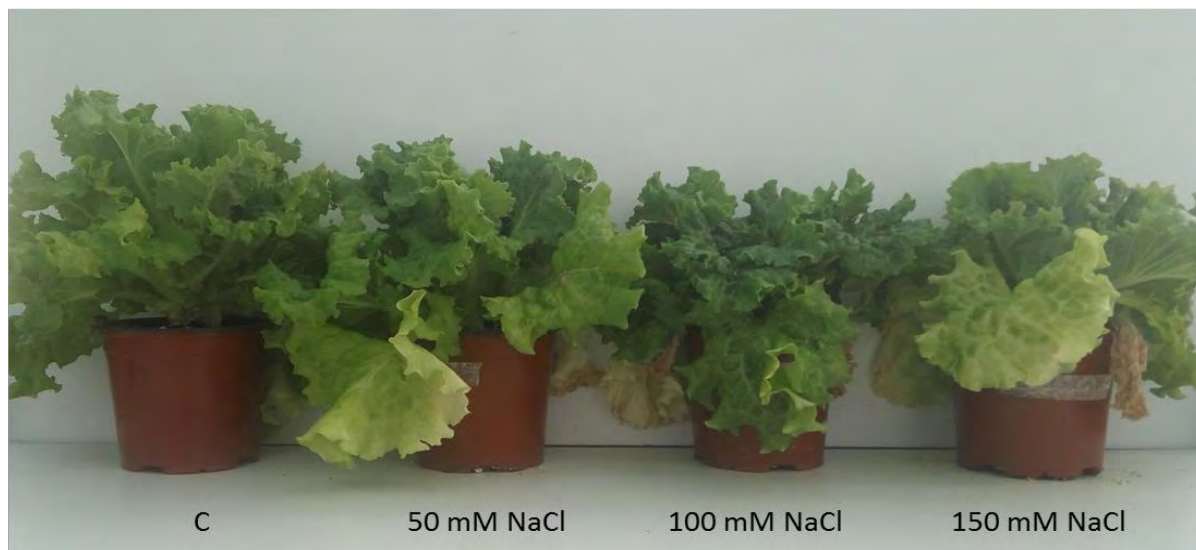
\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Αντίθετα, η ποικιλία Red Batavia, εμφάνισε μια μικρή αύξηση ύψους στο χαμηλό και μεσαίο επίπεδο στρες, ενώ στο επίπεδο 150 mM NaCl, εμφάνισε μείωση κατά 4 cm περίπου σε σχέση με τον μάρτυρα (Γράφημα 3.8). Αξιοσημείωτη είναι η συμπεριφορά της Geo store Manchester, η οποία χαρακτηρίστηκε ως ανθεκτική στη φάση της βλάστησης, παρουσίασε την καλύτερη επίδοση σε σχέση με το σύνολο των ποικιλιών καθώς εμφάνισε τη μικρότερη μείωση ύψους, σε σύγκριση με τους μάρτυρες, ακόμη και στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (150 mM NaCl) (Εικόνα 3.8).



**Γράφημα 3.8:** Ύψος φυτών μαρουλιού ανά επίπεδο καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl) και ποικιλία σε 3 διαφορετικές ημερομηνίες.

### Geo store Manchester



**Εικόνα 3.8:** Απεικόνιση της ποικιλίας Geo store Manchester ως προς τα διάφορα επίπεδα καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl) κατά την τελευταία ημερομηνία παρατήρησης (16/7/2018).

### 3.2.4 Επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στη χλωροφύλλη των φυτών

#### 3.2.4.1 Προσδιορισμός χλωροφύλλης με τη χρήση χλωροφυλλόμετρου (SPAD)

Η επίδραση του στρες αλατότητας στη χλωροφύλλη των υπό μελέτη ποικιλιών προσδιορίστηκε με δύο τρόπους. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης από τον προσδιορισμό της περιεχόμενης χλωροφύλλης, με τη χρήση του χλωροφυλλόμετρου (SPAD), κατέδειξαν τη σημαντική επίδραση του παράγοντα ποικιλία και της αλληλεπίδρασης ποικιλίας-επέμβασης (Πίνακας 3.17). Αντιθέτως, η μεταβλητή επέμβαση, η οποία αναφέρεται στα διαφορετικά επίπεδα αλατότητας που εφαρμόστηκαν, δεν παρουσίασε σημαντική στατιστική διαφορά. Επιπλέον, η ανάλυση κατέδειξε και την απουσία διαφορών μεταξύ των διαφορετικών ημερομηνιών στις οποίες λήφθηκαν μετρήσεις της χλωροφύλλης.

**Πίνακας 3.17:** Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) υπό την επίδραση της αλατότητας στη συγκέντρωση χλωροφύλλης φυτών μαρουλιού σε 6 διαφορετικές ποικιλίες.

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Spad

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Intercept	Hypothesis	198800,318	1	198800,318	3722,823	,000
	Error	102,371	1,917	53,400 <sup>a</sup>		
Variety	Hypothesis	2953,417	5	590,683	49,665	,000
	Error	1807,805	152	11,893 <sup>b</sup>		
Treatment	Hypothesis	102,932	3	34,311	2,233	,241
	Error	54,769	3,564	15,367 <sup>c</sup>		
Rep	Hypothesis	93,619	3	31,206	1,765	,224
	Error	159,115	9	17,679 <sup>d</sup>		
Date	Hypothesis	34,088	1	34,088	3,558	,156
	Error	28,743	3	9,581 <sup>e</sup>		
Variety * Treatment	Hypothesis	728,625	15	48,575	4,084	,000
	Error	1807,805	152	11,893 <sup>b</sup>		
Treatment * Rep	Hypothesis	159,115	9	17,679	1,486	,158
	Error	1807,805	152	11,893 <sup>b</sup>		
Treatment * Date	Hypothesis	28,743	3	9,581	,806	,493
	Error	1807,805	152	11,893 <sup>b</sup>		

- a.  $MS(Rep) + MS(Date) - MS(Error)$
- b.  $MS(Error)$
- c.  $MS(Treatment * Rep) + MS(Treatment * Date) - MS(Error)$
- d.  $MS(Treatment * Rep)$
- e.  $MS(Treatment * Date)$

Ως προς το επίπεδο καταπόνησης αλατότητας, η ανάλυση κατέδειξε την απουσία σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων 50, 100 και 150 mM NaCl (Πίνακας 3.18). Ωστόσο, οι μάρτυρες διέφεραν σημαντικά σε σχέση με το μεσαίο και το υψηλό επίπεδο καταπόνησης, αλλά όχι με την επέμβαση των 50 mM NaCl.



**Πίνακας 3.18:** Αξιολόγηση της διαφοροποίησης της συγκέντρωσης χλωροφύλλης μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Spad

LSD

(I) Treatment	(J) Treatment	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control	50 NaCl	-,9425	,70396	,183	-2,3333	,4483
	100 NaCl	-1,8550*	,70396	,009	-3,2458	-,4642
	150 NaCl	-1,6842*	,70396	,018	-3,0750	-,2934
50 NaCl	Control	,9425	,70396	,183	-,4483	2,3333
	100 NaCl	-,9125	,70396	,197	-2,3033	,4783
	150 NaCl	-,7417	,70396	,294	-2,1325	,6491
100 NaCl	Control	1,8550*	,70396	,009	,4642	3,2458
	50 NaCl	,9125	,70396	,197	-,4783	2,3033
	150 NaCl	,1708	,70396	,809	-1,2200	1,5616
150 NaCl	Control	1,6842*	,70396	,018	,2934	3,0750
	50 NaCl	,7417	,70396	,294	-,6491	2,1325
	100 NaCl	-,1708	,70396	,809	-1,5616	1,2200

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 11,893.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Σε επίπεδο ποικιλίας, η ανάλυση κατέδειξε την απουσία σημαντικών διαφορών μεταξύ των ποικιλιών που κατά τη φάση της βλάστησης χαρακτηρίστηκαν ως ευαίσθητες (Lattuga Grandi Loghi – Brasiliana και Red Batavia), ενώ το ίδιο συνέβη και μεταξύ αυτών που χαρακτηρίστηκαν ως μέτριας ανθεκτικότητας (Romana Duna – Romana Green Tower) και ως ανθεκτικές (Geo store Manchester – Romana Hot).

**Πίνακας 3.19:** Αξιολόγηση της διαφοροποίησης της περιεχόμενης χλωροφύλλης μεταξύ των 6 διαφορετικών ποικιλιών.

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Spad  
LSD

(I) Variety	(J) Variety	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	8-Red Batavia	-1,4450	,86217	,096	-3,1484	,2584
	10-Romana	3,0206*	,86217	,001	1,3172	4,7240
	12-Geo store Manchester	8,8519*	,86217	,000	7,1485	10,5553
	14-Romana Green Tower	3,4331*	,86217	,000	1,7297	5,1365
	15-Romana Hot	8,7081*	,86217	,000	7,0047	10,4115
8-Red Batavia	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	1,4450	,86217	,096	-,2584	3,1484
	10-Romana	4,4656*	,86217	,000	2,7622	6,1690
	12-Geo store Manchester	10,2969*	,86217	,000	8,5935	12,0003
	14-Romana Green Tower	4,8781*	,86217	,000	3,1747	6,5815
	15-Romana Hot	10,1531*	,86217	,000	8,4497	11,8565
10-Romana	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	-3,0206*	,86217	,001	-4,7240	-1,3172
	8-Red Batavia	-4,4656*	,86217	,000	-6,1690	-2,7622
	12-Geo store Manchester	5,8313*	,86217	,000	4,1279	7,5346
	14-Romana Green Tower	,4125	,86217	,633	-1,2909	2,1159
	15-Romana Hot	5,6875*	,86217	,000	3,9841	7,3909
12-Geo store Manchester	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	-8,8519*	,86217	,000	-10,5553	-7,1485
	8-Red Batavia	-10,2969*	,86217	,000	-12,0003	-8,5935
	10-Romana	-5,8313*	,86217	,000	-7,5346	-4,1279
	14-Romana Green Tower	-5,4188*	,86217	,000	-7,1221	-3,7154
	15-Romana Hot	-,1438	,86217	,868	-1,8471	1,5596
14-Romana Green Tower	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	-3,4331*	,86217	,000	-5,1365	-1,7297
	8-Red Batavia	-4,8781*	,86217	,000	-6,5815	-3,1747
	10-Romana	-,4125	,86217	,633	-2,1159	1,2909
	12-Geo store Manchester	5,4188*	,86217	,000	3,7154	7,1221
	15-Romana Hot	5,2750*	,86217	,000	3,5716	6,9784
15-Romana Hot	1-Lattuga Grandi Loghi - Brasiliana	-8,7081*	,86217	,000	-10,4115	-7,0047
	8-Red Batavia	-10,1531*	,86217	,000	-11,8565	-8,4497
	10-Romana	-5,6875*	,86217	,000	-7,3909	-3,9841
	12-Geo store Manchester	,1438	,86217	,868	-1,5596	1,8471
	14-Romana Green Tower	-5,2750*	,86217	,000	-6,9784	-3,5716

Based on observed means.

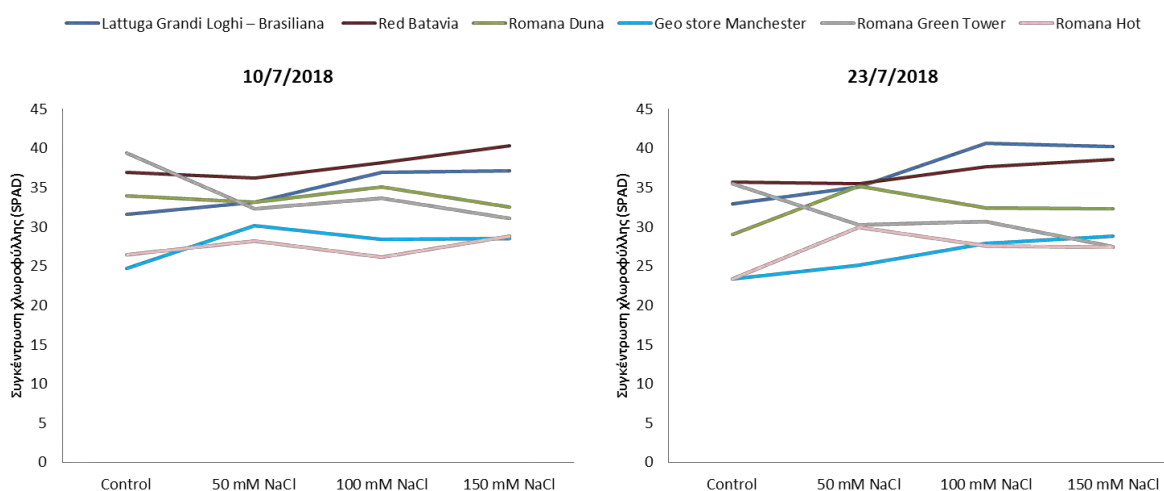
The error term is Mean Square(Error) = 11,893.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Αναφορικά με τη συγκέντρωση της χλωροφύλλης στην δεύτερη μέτρηση (23/7/2018), απουσία παράγοντα καταπόνησης οι ποικιλίες Romana Green Tower και Red Batavia εμφάνισαν την υψηλότερη συγκέντρωση χλωροφύλλης, με τη δεύτερη να διατηρεί την υψηλή συγκέντρωση



ακόμη και στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (150 mM NaCl). Εν αντιθέσει, η ποικιλία Romana Green Tower εμφάνισε τη μεγαλύτερη μείωση περιεχόμενης χλωροφύλλης σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες. Από την άλλη πλευρά, η ποικιλία Geo store Manchester παρουσίασε τη χαμηλότερη συγκέντρωση χλωροφύλλης απουσία παράγοντα καταπόνησης σημειώνοντας παράλληλα αυξητική τάση ανάλογη με την αύξηση του εφαρμοζόμενου επιπέδου στρες. Οι ποικιλίες Romana Duna και Romana Hot εμφάνισαν ανάλογη συμπεριφορά, ενώ την υψηλότερη τιμή χλωροφύλλης στο υψηλότερο επίπεδο στρες εμφάνισαν οι ποικιλίες που χαρακτηρίστηκαν ως ευαίσθητες (Lattuga Grandi Loghi – Brasiliana και Red Batavia).



**Γράφημα 3.9:** Συγκέντρωση χλωροφύλλης (SPAD) ανά ποικιλία και ανά επίπεδο καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).

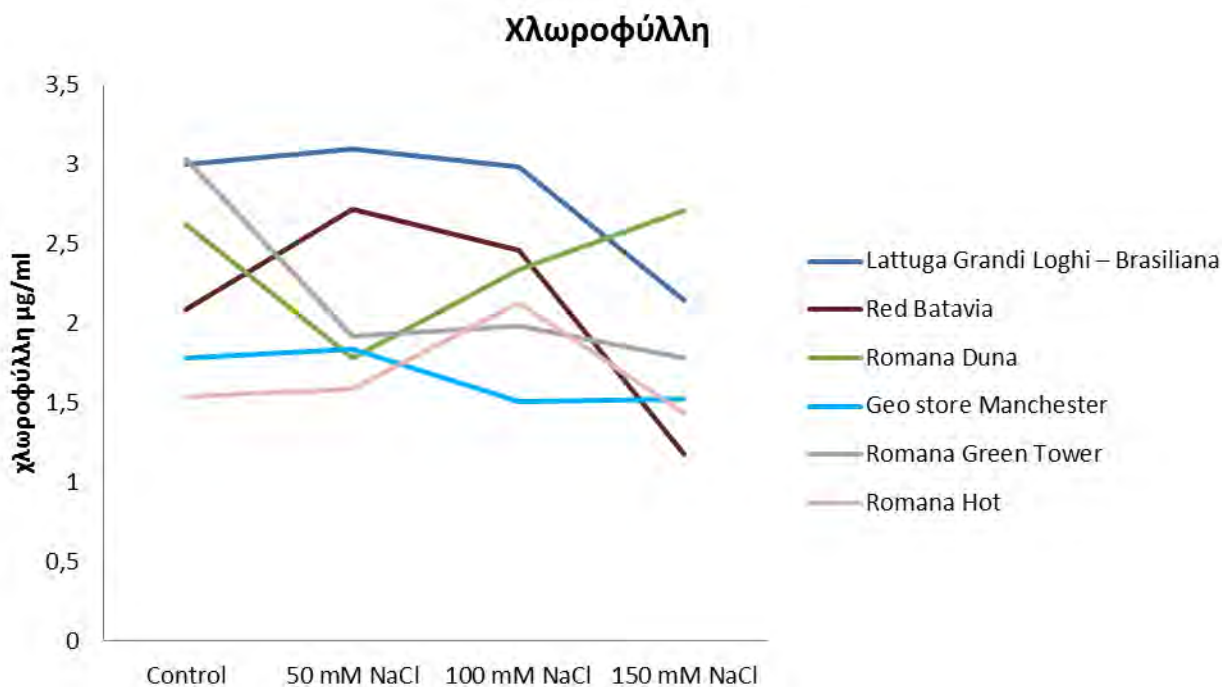
### 3.2.4.2 Προσδιορισμός χλωροφύλλης με εκχύλιση από φυλλικούς δίσκους

Τέλος, ακολούθησε η μέθοδος υπολογισμού χλωροφύλλης με την εκχύλιση από φυλλικούς δίσκους. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης αναδεικνύουν τη σημαντική επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στην περιεκτικότητα της χλωροφύλλης στο σύνολο των υπό μελέτη ποικιλιών. Ωστόσο, η απόκριση των ποικιλιών υπήρξε διαφορετική καθώς ορισμένες ποικιλίες παρουσίασαν μείωση στη συγκέντρωση της χλωροφύλλης υπό συνθήκες καταπόνησης, ενώ άλλες ποικιλίες εμφάνισαν αντίθετο προφίλ απόκρισης.

Αναφορικά με τα φυτά μάρτυρες, οι ποικιλίες Lattuga Grandi Loghi – Brasiliana και Romana Green Tower εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές, της τάξης των 3  $\mu\text{g/ml}$ . Στη συνέχεια,

ακολούθησαν με φθίνουσα σειρά οι ποικιλίες Romana Duna, Red Batavia και Geo store Manchester. Η χαμηλότερη τιμή χλωροφύλλης στους μάρτυρες σημειώθηκε στην ποικιλία Romana Hot (1,4 μg/ml).

Αναλυτικότερα, η ποικιλία Romana Duna παρουσίασε αντίθετη συμπεριφορά σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες (Γράφημα 3.10). Η συγκεκριμένη ποικιλία εμφάνισε μείωση της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες στο χαμηλό επίπεδο καταπόνησης, ενώ στη συνέχεια παρουσίασε αυξητική τάση. Στις ποικιλίες Lattuga Grandi Loghi – Brasiliana και Romana Duna σημειώθηκε η υψηλότερη συγκέντρωση χλωροφύλλης στο υψηλό επίπεδο στρες, με τιμές 2,1 και 2,7 μg/ml αντίστοιχα (Γράφημα 3.10).



**Γράφημα 3.10:** Περιεκτικότητα χλωροφύλλης των 6 ποικιλιών ανά επίπεδο καταπόνησης (Control, 50, 100 και 150 mM NaCl).

Αξιοσημείωτη είναι η συμπεριφορά της ποικιλίας Romana Hot, η οποία παρουσίασε αύξηση της συγκέντρωσης χλωροφύλλης στο μεσαίο επίπεδο καταπόνησης και σημαντική μείωση στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης. Οι ποικιλίες Red Batavia, Romana Hot και Geo store Manchester εμφάνισαν τις μικρότερες τιμές χλωροφύλλης στο υψηλό επίπεδο στρες, οι οποίες κυμάνθηκαν

από 1,2 έως 1,5  $\mu\text{g/ml}$  (Γράφημα 3.10). Τέλος, στην ποικιλία Romana Green Tower, καταγράφηκε η σημαντικότερη μείωση, περίπου κατά 1,2  $\mu\text{g/ml}$ , συγκριτικά με τους μάρτυρες στο υψηλό επίπεδο επέμβασης (150 mM NaCl) (Γράφημα 3.10).

## 4. Συζήτηση

Οι αβιοτικές καταπονήσεις γενικότερα, και η υψηλή συγκέντρωση αλάτων στο έδαφος ειδικότερα, συνιστούν σημαντικούς περιοριστικούς παράγοντες στην αύξηση, ανάπτυξη και παραγωγικότητα των καλλιεργειών σε παγκόσμιο επίπεδο. Υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας, τα φυτά υπόκεινται σε πληθώρα μεταβολών που αποσκοπούν στην ελαχιστοποίηση των δυσμενών επιπτώσεων, ενώ υπό συνθήκες ακραίας καταπόνησης συχνά καθίσταται αδύνατη η επιβίωση των φυτών. Δεδομένης την προοδευτικής υποβάθμισης των εδαφών, λόγω υψηλής συγκέντρωσης αλάτων, η δημιουργία και αξιοποίηση ποικιλιών με γενετική ανθεκτικότητα στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας θεωρείται ως η πλέον αποτελεσματική προσέγγιση για τη μείωση των απωλειών απόδοσης και την εξασφάλιση της οικονομικής βιωσιμότητας των καλλιεργειών. Ωστόσο, η επίτευξη του στόχου αυτού προϋποθέτει τη δυνατότητα ευχερούς επιλογής των ανθεκτικών γονοτύπων, με έμφαση στον προσδιορισμό κατάλληλων κριτηρίων επιλογής των επιθυμητών γονοτύπων σε πρώιμα αναπτυξιακά στάδια.

Σε αυτό το πλαίσιο, σκοπό της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής αποτέλεσε η μελέτη της απόκρισης γονοτύπων μαρουλιού ως προς την ανθεκτικότητα στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας. Δεδομένου ότι η γονοτυπική αξιολόγηση υπό συνθήκες καταπόνησης έγκειται σε μεγάλο βαθμό στην έγκαιρη και αξιόπιστη διάκριση της ανθεκτικότητας και ευαισθησίας, παράλληλο στόχο αποτέλεσε ο προσδιορισμός κατάλληλων μεθόδων αξιολόγησης και επιλογής των επιθυμητών γονοτύπων σε πρώιμα αναπτυξιακά στάδια. Προς την κατεύθυνση αυτή, το υπό μελέτη γενετικό υλικό αξιολογήθηκε ως προς την ανθεκτικότητα στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας i) στη φάση της βλάστησης και ii) σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια και ακολούθησε η εκτίμηση της συσχέτισης της ανθεκτικότητας κατά τα στάδια αυτά ώστε να διερευνηθεί η δυνατότητα διενέργειας πρώιμης γονοτυπικής επιλογής για το γνώρισμα της ανθεκτικότητας.

Δεδομένου ότι το ποσοστό βλάστησης των σπόρων υπό συνθήκες καταπόνησης θεωρείται αξιόπιστο κριτήριο γονοτυπικής αξιολόγησης, παρέχοντας ικανοποιητικές ενδείξεις για το δυναμικό ανάπτυξης και απόδοσης και την επιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας (Grzesiak et al., 1996; Aflaki et al., 2017), αρχικά πραγματοποιήθηκε *in vitro* αξιολόγηση του δυναμικού βλάστησης και ανάπτυξης των 14 εμπορικών ποικιλιών μαρουλιού σε διαφορετικά επίπεδα

καταπόνησης αλατότητας (50, 100 και 150 mM NaCl). Η αξιολόγηση της ανθεκτικότητας των γονοτύπων βασίστηκε στο ποσοστό βλάστησης των σπόρων, σε αναπτυξιακά γνωρίσματα, όπως είναι το μήκος ρίζας και βλαστού, καθώς και στον αριθμό σπορόφυτων με μη φυσιολογικό φαινότυπο. Τα ευρήματα από την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας στο στάδιο αυτό υποδεικνύουν τη σημαντική αρνητική επίδραση της αλατότητας στο δυναμικό βλάστησης των σπόρων. Στο σύνολο των γονοτύπων, η αρνητική επίδραση της αλατότητας ήταν ανάλογη με το επίπεδο του εφαρμοζόμενου στρες και, όπως ήταν αναμενόμενο, οι πλέον δυσμενείς επιπτώσεις, αναφορικά με το ρυθμό αλλά και το ποσοστό βλάστησης, σημειώθηκαν στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (150 mM NaCl). Παράλληλα, σημαντική ήταν η επίδραση του διαφορετικού γονότυπου καθώς και της αλληλεπίδρασης γονότυπου και επιπέδου καταπόνησης, υποδεικνύοντας ότι το γνώρισμα της ανθεκτικότητας υπόκειται σε έντονη γονοτυπική εξάρτηση. Ειδικότερα, στην παρούσα μελέτη οι ποικιλίες που εμφάνισαν τα υψηλότερα ποσοστά βλάστησης (>90 %) στο χαμηλό και μεσαίο επίπεδο αλατότητας ήταν οι Romana Hot, Romana Green Tower και Geo store Manchester. Αξιοσημείωτο ωστόσο είναι το γεγονός ότι οι ποικιλίες οι Romana Hot και Romana Green Tower χαρακτηρίστηκαν ως οι πλέον ανθεκτικές καθώς εμφάνισαν τα υψηλότερα ποσοστά βλάστησης (80 %) καθόλη τη διάρκεια λήψης παρατηρήσεων ακόμη και στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε πλήρη συμφωνία με ευρήματα άλλων ερευνών που αναφέρουν ότι η καταπόνηση υψηλής αλατότητας επηρεάζει δραστικά το δυναμικό βλάστησης των σπόρων, με την επίδραση της καταπόνησης να είναι ανάλογη του γονοτύπου και του επιπέδου εφαρμοζόμενου στρες. Πιο αναλυτικά, η αρνητική επίδραση της αλατότητας στο στάδιο της βλάστησης του σπόρου επιβεβαιώθηκε σε διάφορα καλλιεργούμενα είδη, όπως είναι το σιτάρι (Fallah, 2008), το ζαχαρότευτλο (Ghoulam, and Fares, 2001), το ρεπάνι (Paromit et al., 2014) και ο αμάρανθος (Wouyou et al., 2010). Έχει αποδειχθεί ότι σε υψηλά επίπεδα καταπόνησης, η αλατότητα δρα ως αναστολές της βλάστησης ενώ σε χαμηλότερα επίπεδα, όπου η βλάστηση δεν αναστέλλεται πλήρως, δρα ως παρεμποδιστής της (Ouji et al., 2015). Η αρνητική συσχέτιση μεταξύ βλάστησης και αλατότητας πιθανότατα αποδίδεται στην περιορισμένη ικανότητα απορρόφησης νερού από τον σπόρο (Al-Karaki, 2001), με αποτέλεσμα την επικράτηση λανθάνοντος ληθάργου (Nasri et al., 2015).

Πέραν της βλάστησης, σημαντική υπήρξε η επίδραση της αλατότητας στην ανάπτυξη των σπορόφυτων, και συγκεκριμένα στο μήκος ρίζας και βλαστού, σε *in vitro* συνθήκες. Στο σύνολο των γονοτύπων έντονες διαφορές παρουσιάστηκαν στο μεσαίο και στο υψηλό επίπεδο

καταπόνησης σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες. Οι μικρότερες τιμές στην ανάπτυξη της ρίζας και του βλαστού σημειώθηκαν στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (150 mM NaCl), υποδεικνύοντας την αρνητική συσχέτιση μεταξύ της έντασης του στρες και της ανάπτυξης των σπορόφυτων, η οποία αποδίδεται στην τοξική επίδραση των ιόντων σε συνδυασμό με την ανεπαρκή πρόσληψη θρεπτικών και νερού από το θρεπτικό μέσο (Majid et al. 2013; Oujii et al. 2015). Παράλληλα, τα αποτελέσματα της ανάλυσης κατέδειξαν τη σημαντική επίδραση της επέμβασης, όσον αφορά την διάρκεια και την ένταση της καταπόνησης, του γονοτύπου καθώς και της αλληλεπίδρασής τους. Ωστόσο, παρά την αρνητική επίδραση της αλατότητας στην ανάπτυξη των σπορόφυτων, σημειώθηκε αυξητική τάση του μήκους της ρίζας και του βλαστού, με την πάροδο του χρόνου, η οποία ήταν ανάλογη του επιπέδου καταπόνησης. Συγκεκριμένα, οι ποικιλίες Lattuga Lollo Rossa και Geo store Manchester χαρακτηρίστηκαν ως ανθεκτικές καθώς εμφάνισαν την υψηλότερη ανάπτυξη βλαστού και ρίζας στο μεγαλύτερο επίπεδο στρες. Αντιθέτως, οι ποικιλίες Lattuga Grandi Loghi – Brasiliana και Red Batavia χαρακτηρίστηκαν ως ευαίσθητες, καθώς η πρώτη εμφάνισε αδυναμία σχηματισμού βλαστού και ρίζας στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης, ενώ η δεύτερη ανέπτυξε μόνο ριζικό σύστημα σημειώνοντας την μικρότερη τιμή μήκους ρίζας. Αν και η διεθνής βιβλιογραφία είναι ελλιπής σχετικά με την αρνητική επίδραση της αλατότητας στην καλλιέργεια του μαρουλιού, οι περιορισμένες μελέτες που έχουν διεξαχθεί καταδεικνύουν την αρνητική επίδραση της αλατότητας τόσο στην ανάπτυξη της ρίζας όσο και του βλαστού. Στο πλαίσιο αυτό, φυτά της ποικιλίας Lactuca Sativa L. cv.Paris Islands Cos που υποβλήθηκαν σε καταπόνηση της τάξεως των 50 mM και 100 mM NaCl εμφάνισαν σημαντικά μειωμένη βλαστική και ριζική ανάπτυξη συγκριτικά με μάρτυρες που αναπτύχθηκαν απουσία καταπόνησης αλατότητας (Al Maskri, 2010). Ωστόσο, η αρνητική επίδραση της αλατότητας στην ανάπτυξη ρίζας και βλαστού επιβεβαιώνεται και από άλλες μελέτες σε καλλιεργούμενα φυτά όπως το σιτάρι (Datta et al., 2009), η φακή (Foti et al., 2018), το σπανάκι (Kaya et al., 2001) και το ραδίκι (Hokmalipour, 2015)

Στο σύνολό τους, τα ευρήματα από την *in vitro* αξιολόγηση των 14 εμπορικών ποικιλιών στο στάδιο της βλάστησης παρείχαν τη δυνατότητα διάκρισης των φαινοτύπων ανθεκτικότητας και ευαισθησίας στο στάδιο αυτό, επιτρέποντας έτσι την κατηγοριοποίηση των υπό μελέτη γονοτύπων με βάση την ανθεκτικότητα τους στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας. Οι ποικιλίες κατηγοριοποιήθηκαν σε 3 γονοτυπικές κλάσεις: ανθεκτικές, μέτριας ανθεκτικότητας και ευαίσθητες. Βάσει της ανωτέρω κατηγοριοποίησης, επιλέχθηκαν 6 ποικιλίες, 2 ανά φαινοτυπική

κλάση, με σκοπό την περεταίρω αξιολόγησή τους σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια σε συνθήκες θερμοκηπίου. Ειδικότερα, επιλέχθηκαν οι ποικιλίες: Romana Hot και Geo store Manchester ως ανθεκτικές, Romana Green Tower και Romana Duna ως μέτριας ανθεκτικότητας και Red Batavia και Lattuga Grandi Loghi Brasilliana ως ευαίσθητες. Η αξιολόγηση των εν λόγω ποικιλιών βασίστηκε σε μετρήσεις του ύψους, του νωπού και του ξηρού βάρους των φυτών, καθώς και του ποσοστού της περιεχόμενης χλωροφύλλης, που υπολογίστηκε με δύο διαφορετικές μεθόδους, με χρήση χλωροφυλλόμετρου και με εκχύλιση φυλλικών δίσκων σε αιθανόλη.

Σχετικά με το νωπό και το ξηρό βάρος των υπό μελέτη ποικιλιών, τα ευρήματα της ανάλυσης κατέδειξαν τη σημαντική επίδραση του γονότυπου, του επιπέδου καταπόνησης καθώς και της αλληλεπίδρασής τους. Στο πλείστο των περιπτώσεων, οι γονότυποι παρουσίασαν μείωση του χλωρού και του ξηρού βάρους, η οποία ήταν ανάλογη του εφαρμοζόμενου επιπέδου καταπόνησης. Όπως ήταν αναμενόμενο, η μεγαλύτερη μείωση στο νωπό και ξηρό βάρος καταγράφηκε στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (150 mM NaCl). Είναι αξιοσημείωτο ωστόσο ότι η μείωση του ξηρού βάρους των καταπονημένων φυτών ήταν πολύ μικρότερη συγκριτικά με τη μείωση του νωπού βάρους των φυτών, γεγονός που αποδίδεται στο ότι, σε αντίθεση με την ανάπτυξη που παρεμποδίζεται (Mahmoudin et al., 2010), η διαίρεση των φυτικών κυττάρων δεν επηρεάζεται σημαντικά από την αλατότητα (Ogawa et al., 2006). Αναφορικά με το γνώρισμα του νωπού βάρους, τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα επέδειξαν οι ποικιλίες Geo store Manchester και Red Batavia, καθώς σημείωσαν την μικρότερη μείωση βάρους σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες. Αντίθετα, η ποικιλία Romana Green Tower υπήρξε ιδιαίτερα ευαίσθητη, παρουσιάζοντας τη μεγαλύτερη μείωση σε σύγκριση με τα φυτά μάρτυρες. Όσον αφορά τη μεταβλητή του ξηρού βάρους, τα ευρήματα δεν είναι σε πλήρη συμφωνία με αυτά του νωπού, καθώς παρατηρήθηκαν σημαντικές αποκλίσεις σε επίπεδο ποικιλιών. Συγκεκριμένα, τη μικρότερη μείωση εμφάνισε η ποικιλία Red Batavia, και ακολούθησαν η Romana Hot και η Romana Green Tower. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με προηγούμενες έρευνες στην καλλιέργεια μαρουλιού, όπου η επέμβαση της αλατότητας επηρέασε το ρυθμό ανάπτυξης των φυτών, με σημαντική μείωση στο χλωρό και στο βάρος ξηρό βάρος (Garrido et al., 2014; Xu and Mou, 2015). Η αρνητική επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στην ανάπτυξη των φυτών πιθανώς αποδίδεται στη μείωση του φωτοσυνθετικού ρυθμού, της στοματικής αγωγιμότητας, της

διαπνοής και αλλά και σε θρεπτική ανισορροπία, ως αποτέλεσμα της ιοντικής καταπόνησης (Ashraf, 2004; Hu et al., 2007).

Η επόμενη μεταβλητή που μελετήθηκε ήταν το ύψος των φυτών. Για το συγκεκριμένο γνώρισμα, τα αποτελέσματα κατέδειξαν τη σημαντική επίδραση του γονότυπου και της αλληλεπίδρασης του γονότυπου και του επιπέδου καταπόνησης. Στο σύνολό τους, οι ποικιλίες παρουσίασαν μείωση τους ύψους υπό συνθήκες καταπόνησης, η οποία ήταν ανάλογη της έντασης της καταπόνησης, με τη μεγαλύτερη μείωση να σημειώνεται στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης. Οι ποικιλίες Geo store Manchester και Red Batavia παρουσίασαν τη μικρότερη μείωση ύψους, σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες, υποδεικνύοντας την ανθεκτικότητά τους αναφορικά με το γνώρισμα του ύψους. Η αρνητική επίδραση της αλατότητας στο ύψος των φυτών μαρουλιού υποστηρίζεται και από τα ευρήματα άλλων ερευνών σε φυτά μαρουλιού (Ünlükara et al., 2008). Αναφορικά με το φαινότυπο των φυτών, είναι αξιοσημείωτο ότι στα φυτά που υποβλήθηκαν σε καταπόνηση ήταν έκδηλη η ανάπτυξη συμπτωμάτων καταπόνησης, τα οποία αφορούσαν κυρίως σε χλωρώσεις στα κατώτερα φύλλα των φυτών.

Τέλος, αξιολογήθηκε η περιεκτικότητα των φυτών σε χλωροφύλλη με χρήση χλωροφυλλόμετρου (SPAD) και με εκχύλιση φυλλικών δίσκων σε αιθανόλη. Τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό της χλωροφύλλης με χρήση SPAD κατέδειξαν τη σημαντική επίδραση του γονότυπου καθώς και της αλληλεπίδρασης γονότυπου-επέμβασης. Στο σύνολο των υπό μελέτη ποικιλιών, οι τιμές της χλωροφύλλης παρουσίασαν αυξητική τάση υπό συνθήκες καταπόνησης συγκριτικά με τα φυτά μάρτυρες. Τα παραπάνω ευρήματα έρχονται σε πλήρη συμφωνία με τα αποτελέσματα σχετικών ερευνών στο μαρούλι, όπου αναφέρεται η αύξηση της περιεχόμενης χλωροφύλλης σε 178 γονοτύπους μαρουλιού που υποβλήθηκαν σε καταπόνηση υψηλής αλατότητας (Xu and Mu, 2015).

Σχετικά με τον προσδιορισμό της χλωροφύλλης με εκχύλιση φυλλικών δίσκων σε αιθανόλη, τα ευρήματα της ανάλυσης κατέδειξαν τη σημαντική επίδραση της αλατότητας στο σύνολο των υπό μελέτη ποικιλιών. Ωστόσο, είναι αξιοσημείωτο ότι το προφίλ απόκρισης των ποικιλιών διαφοροποιήθηκε σημαντικά, με ορισμένες εξ αυτών να εμφανίζουν αύξηση και άλλες μείωση στο χαμηλό και στο μεσαίο επίπεδο καταπόνησης. Αντίθετα, στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης, όλες οι ποικιλίες παρουσίασαν μείωση της χλωροφύλλης σε σχέση με τους μάρτυρες, με εξαίρεση την ποικιλία Romana Duna, η οποία εμφάνισε αύξηση της χλωροφύλλης στο



συγκεκριμένο επίπεδο στρες. Σύμφωνα με πρόσφατη έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο μαρούλι, όπου μελετήθηκαν φυσιολογικές, φυτοχημικές και δομικές αλλαγές υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας (50, 100 and 150 mmol L<sup>-1</sup> NaCl), σημειώθηκε μείωση στα ποσοστά της Chla και Chb, η οποία υπήρξε ανάλογη του επιπέδου καταπόνησης (Garrido et al., 2014). Ωστόσο, άλλες έρευνες στο μαρούλι υποδεικνύουν ότι η μοριακή αναλογία χλωροφύλλης τύπου a και b αυξάνεται σταδιακά με τη συγκέντρωση αλάτων, ενώ σε άλλες ποικιλίες δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ του λόγου των δύο κύριων φωτοσυνθετικών χρωστικών που συλλέγουν φως στα φύλλα που εκτίθενται σε 50 mM και 100 mM NaCl (Bartha et al., 2010).

Τα αποτελέσματα της μελέτης υποδεικνύουν την ύπαρξη ικανοποιητικής συσχέτισης αναφορικά με την απόκριση των ποικιλιών υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας, μεταξύ των πρώιμων και μεταγενέστερων αναπτυξιακών σταδίων, λαμβάνοντας υπόψη συγκεκριμένες αναπτυξιακές παραμέτρους που δύνανται να αξιοποιηθούν ως κριτήρια πρώιμης επιλογής ανθεκτικών γονοτύπων. Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι οι παράμετροι που σχετίζονται με την ανάπτυξη των σποροφύτων, παρείχαν ικανοποιητική συσχέτιση της ανθεκτικότητας στα υπό μελέτη αναπτυξιακά στάδια. Επίσης, ικανοποιητική συσχέτιση σε επίπεδο ανθεκτικότητας εμφάνισε η ποικιλία Geo store Manchester, η οποία χαρακτηρίστηκε ως η πλέον ανθεκτική ποικιλία τόσο στο στάδιο της βλάστησης και πρώιμης ανάπτυξης των σπορόφυτων όσο και στα μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια. Παρά το γεγονός ότι η αξιολόγηση των υπό μελέτη των ποικιλιών στη φάση της βλάστησης επέτρεψε την κατηγοριοποίησή τους σε ανθεκτικές, μέτριας ανθεκτικότητας και ευαίσθητες, στο σύνολό τους τα αποτελέσματα υποδεικνύουν την έλλειψη ικανοποιητικής συσχέτισης μεταξύ των υπό μελέτη αναπτυξιακών σταδίων. Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν στο συμπέρασμα ότι η πρώιμη γονοτυπική επιλογή για το γνώρισμα της ανθεκτικότητας έναντι της καταπόνησης αλατότητας στο μαρούλι είναι επισφαλής. Συνεπώς, τα αποτελέσματα της μελέτης υπογραμμίζουν την αναγκαιότητα αξιολόγησης του γενετικού υλικού σε συνθήκες αγρού, μέσω της εκατοστιαίας απώλειας της απόδοσης, όπου η καταπόνηση λαμβάνει χώρα κατά τα κρίσιμα αναπτυξιακά στάδια.

## 5. Βιβλιογραφία

- Acquaah, G. (2007). Principles of plant breeding and genetics. Malden, MA USA: Blackwell Publishing.
- Aflaki, Fatemeh, et al. "Investigation of seed germination indices for early selection of salinity tolerant genotypes: A case study in wheat." *Emirates Journal of Food and Agriculture* (2017): 222-226.
- Afroza, B., and Rana, M. K. (2017). Lettuce. In *Vegetable Crop Science*. CRC Press, 169-182.
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., and Sharma, S. (2010). Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical reviews in biotechnology*, 30(3), 161-175.
- Ahmad, P., Kumar, A., Ashraf, M., and Akram, N. A. (2012). Salt-induced changes in photosynthetic activity and oxidative defense system of three cultivars of mustard (*Brassica juncea* L.). *African Journal of Biotechnology*, 11(11), 2694-2703.
- Al-Karaki, G. N. (2001). Germination, sodium, and potassium concentrations of barley seeds as influenced by salinity. *Journal of plant nutrition*, 24(3), 511-522.
- Al-Maskri, A. H. M. E. D., Al-Kharusi, L., Al-Miqbali, H., and Khan, M. M. (2010). Effects of salinity stress on growth of lettuce (*Lactuca sativa*) under closed-recycle nutrient film technique. *Int. J. Agric. Biol*, 12(3), 377-380.
- Amacher, J. K., Koenig, R., and Kitchen, B. (2000). Salinity and plant tolerance. Electronic publishing. AG-SO-03.
- Amirjani, M. R. (2011). Effect of salinity stress on growth, sugar content, pigments and enzyme activity of rice. *International Journal of Botany*, 7(1), 73-81.
- Apel, K., and Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
- Ashraf, M. (2004). Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 199(5), 361-376.
- Ashraf, M., and Foolad, M. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and experimental botany*, 59(2), 206-216.

- Bar, Y., Apelbaum, A., Kafkafi, U., and Goren, R. (1997). Relationship between chloride and nitrate and its effect on growth and mineral composition of avocado and citrus plants. *Journal of Plant Nutrition*, 20(6), 715-731.
- Bartha, C., Fodorpataki, L., Székely, G., and Popescu, O. (2010). Physiological diversity of lettuce cultivars exposed to salinity stress. *Contributii Botanice*, 45.
- Boukema, I. W., Hazekamp, T., and van Hintum, T. J. (1990). The CGN lettuce collection. Centre for Genetic Resources.
- Brugnoli, E., and Björkman, O. (1992). Growth of cotton under continuous salinity stress: influence on allocation pattern, stomatal and non-stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. *Planta*, 187(3), 335-347.
- Chutipaijit, S., Cha-um, S., and Sompornpailin, K. (2011). High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in '*Oryza sativa*' L. spp. '*indica*'. *Australian Journal of Crop Science*, 5(10), 1191.
- Dantas, B. F., Ribeiro, L. D. S., and Aragão, C. A. (2007). Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. *Revista Brasileira de Sementes*, 29(2), 106-110.
- Datta, J. K., Nag, S., Banerjee, A., and Mondai, N. K. (2009). Impact of salt stress on five varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under laboratory condition. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 13(3).
- Davenport, R., James, R. A., Zakrisson-Plogander, A., Tester, M., and Munns, R. (2005). Control of sodium transport in durum wheat. *Plant physiology*, 137(3), 807-818.
- De Vries, I. M. (1997). Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 44(2), 165-174.
- Epstein, E., and Bloom, A. J. (2005). *Mineral nutrition of plants: principles and perspectives*. Sinauer Associates. Inc. Sunderland, Mass.
- Fageria, N. K., Gheyi, H. R., and Moreira, A. (2011). Nutrient bioavailability in salt affected soils. *Journal of plant nutrition*, 34(7), 945-962.

Fageria, N. K., Soares Filho, W. D. S., and Gheyi, H. R. (2010). Melhoramento genético vegetal e seleção de cultivares tolerantes à salinidade. Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados. Fortaleza, INCT Sal, 206-218.

Fallah, S. (2008). Effect of salinity on seed germination of wheat cultivars. Australian Society of Agronomy.[online] Available from [http://www.regional.org.au/au/asa/2008/concurrent/agronomylandscape/5700\\_fallah.htm](http://www.regional.org.au/au/asa/2008/concurrent/agronomylandscape/5700_fallah.htm) [12/01/2010].

Flowers, T. J., Troke, P. F., and Yeo, A. R. (1977). The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual review of plant physiology*, 28(1), 89-121.

Foyer, C. H., and Noctor, G. (2005). Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *The Plant Cell*, 17(7), 1866-1875.

Garrido, Y., Tudela, J. A., Marín, A., Mestre, T., Martínez, V., and Gil, M. I. (2014). Physiological, phytochemical and structural changes of multi-leaf lettuce caused by salt stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(8), 1592-1599.

Ghoulam, C., and Fares, K. (2001). Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Seed science and Technology*, 29(2), 357-364.

Gilliam, Matthew, Jason A. Able, and Stuart J. Roy. "Translating knowledge about abiotic stress tolerance to breeding programmes." *The Plant Journal* 90.5 (2017): 898-917.

Gomes-Filho, E., Lima, C. R. F. M., Costa, J. H., da Silva, A. C. M., Lima, M. D. G. S., de Lacerda, C. F., and Prisco, J. T. (2008). Cowpea ribonuclease: properties and effect of NaCl-salinity on its activation during seed germination and seedling establishment. *Plant cell reports*, 27(1), 147-157.

Grattan, S. R., and Grieve, C. M. (1999). Salinity mineral nutrient relations in horticultural crops: a review. *Scientia Horticulturae* (Netherlands).

Grime, J. P. (1977). Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *The American Naturalist*, 111(982), 1169-1194.

Grzesiak, S., et al. "Screening for drought tolerance: evaluation of seed germination and seedling growth for drought resistance in legume plants." *Journal of Agronomy and Crop Science* 177.4 (1996): 245-252.

- Hancock, J. F. (2004). Plant evolution and the origin of crop species. CABI.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., and Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 51(1), 463-499.
- Hela, M., Nawel, N., Imen, T., Hanen, Z., Imen, B. S., Raouia, B. M., Olfa, B., Rym, K., Mouhiba, B. N. A., Abdelali, H., Lachaâl, M. and Ouerghi, Z. (2011). Salt stress induced changes in germination, lipid peroxidation and antioxidant activities in lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology*, 10(65), 14498-14506.
- Hela, M., Nawel, N., Imen, T., Hanen, Z., Imen, B. S., Raouia, B. M., Olfa, B., Rym, K., Mouhiba, B. N. A., Abdelali, H., Lachaâl, M. and Ouerghi, Z. (2011). Salt stress induced changes in germination, lipid peroxidation and antioxidant activities in lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology*, 10(65), 14498-14506.
- Hokmalipour, S. (2015). Effect of Salinity and Temperature on Seed Germination and Seed Vigor Index of Chicory (*Chichoriumintynus* L.), Cumin (*Cuminum Cyminium* L.) and Fennel (*Foeniculum Vulgare*). *Indian Journal of Science and Technology*, 8 (35), 1-9.
- Hu, Y., and Schmidhalter, U. (2005). Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 541-549.
- Hu, Y., Burucs, Z., von Tucher, S., and Schmidhalter, U. (2007). Short-term effects of drought and salinity on mineral nutrient distribution along growing leaves of maize seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 60(2), 268-275.
- Hussin, S., Geissler, N., and Koyro, H. W. (2013). Effect of NaCl salinity on *Atriplex nummularia* (L.) with special emphasis on carbon and nitrogen metabolism. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(4), 1025-1038.
- Iyengar, E. R. R., and Reddy, M. P. (1996). Photosynthesis in highly salt tolerant plants. *Handbook of photosynthesis*. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, 909.
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F., and Donoghue, M. J. (1999). *Plant systematics. A phylogenetic approach* Sinauer Associates. Inc., Sunderland, MA, USA.
- Kaya, C., Higgs, D., and Kirnak, H. (2001). The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. *Bulg. J. plant physiol*, 27(3-4), 47-59.

- Keutgen, A. J., and Pawelzik, E. (2009). Impacts of NaCl stress on plant growth and mineral nutrient assimilation in two cultivars of strawberry. *Environmental and Experimental Botany*, 65(2-3), 170-176.
- Khan, M. A., and Rizvi, Y. (1994). Effect of salinity, temperature, and growth regulators on the germination and early seedling growth of *Atriplex griffithii* var. *stocksii*. *Canadian Journal of Botany*, 72(4), 475-479.
- Khan, M. A., and Weber, D. J. (2006). *Ecophysiology of high salinity tolerant plants* (Vol. 40). Springer Science and Business Media.
- Koyro, H. W. (2002). Ultrastructural effects of salinity in higher plants. In *Salinity: Environment-Plants-Molecules*. Springer. Dordrecht, 139-157.
- Kristkova, E., Dolezalova, I., Lebeda, A., Vinter, V., and Novotná, A. (2008). Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. *Hortic Sci*, 35(3), 113-129.
- Läuchli, A., and Epstein, E. (1990). Plant responses to saline and sodic conditions. *Agricultural salinity assessment and management*, 71, 113-137.
- Läuchli, A., and Grattan, S. R. (2007). Plant growth and development under salinity stress. In *Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops* (pp. 1-32). Springer, Dordrecht.
- Lea-Cox, J. D., and Syvertsen, J. P. (1993). Salinity reduces water use and nitrate-N-use efficiency of citrus. *Annals of Botany*, 72(1), 47-54.
- Lebeda, A., Doležalová, I., and Astley, D. (2004). Representation of wild *Lactuca* spp.(Asteraceae, Lactuceae) in world genebank collections. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51(2), 167-174.
- Lebeda, A., Ryder, E. J., Grube, R., Dolezalova, I., and Kristkova, E. (2007). Lettuce (Asteraceae; *Lactuca* spp.). Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement series, 3, 377-472.
- Lindqvist, K. (1960). Cytogenetic studies in the serriola group of *Lactuca*. *Hereditas*, 46, 75-151.

- Maggio, A., Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Consiglio, M. F., and Joly, R. J. (2001). Unravelling the functional relationship between root anatomy and stress tolerance. *Functional Plant Biology*, 28(10), 999-1004.
- Mahmoudi, H., Huang, J., Gruber, M. Y., Kaddour, R., Lachaâl, M., Ouerghi, Z., and Hannoufa, A. (2010). The impact of genotype and salinity on physiological function, secondary metabolite accumulation, and antioxidative responses in lettuce. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(8), 5122-5130.
- Manchanda, G., and Garg, N. (2008). Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(5), 595-618.
- Mane, A. V., Karadge, B. A., and Samant, J. S. (2010). Salinity induced changes in photosynthetic pigments and polyphenols of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(3), 338-347.
- Mantri, N., Patade, V., Penna, S., Ford, R., and Pang, E. (2012). Abiotic stress responses in plants: present and future. In *Abiotic stress responses in plants*. Springer, New York, 1-19.
- Maxwell, K., and Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of experimental botany*, 51(345), 659-668.
- Mikel, M. A. (2007). Genealogy of contemporary North American lettuce. *HortScience*, 42(3), 489-493.
- Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, 167(3), 645-663.
- Munns, R., and Termaat, A. (1986). Whole-plant responses to salinity. *Functional Plant Biology*, 13(1), 143-160.
- Munns, R., and Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681.
- Nasri, N., Kaddour, R., Rabhi, M., Plassard, C., and Lachaal, M. (2011). Effect of salinity on germination, phytase activity and phytate content in lettuce seedling. *Acta physiologiae plantarum*, 33(3), 935-942.

- Nasri, N., Saïdi, I., Kaddour, R., and Lachaâl, M. (2015). Effect of salinity on germination, seedling growth and acid phosphatase activity in lettuce. *American Journal of Plant Sciences*, 6(01), 57.
- Neocleous, D., Koukounaras, A., Siomos, A. S., and Vasilakakis, M. (2014). Assessing the salinity effects on mineral composition and nutritional quality of green and red “baby” lettuce. *Journal of food quality*, 37(1), 1-8.
- Ogawa, A., Kitamichi, K., Toyofuku, K., and Kawashima, C. (2006). Quantitative analysis of cell division and cell death in seminal root of rye under salt stress. *Plant production science*, 9(1), 56-64.
- Oost, E., 1980. Domesticatie en verdere ontwikkeling van sla, witlof en andijvie. Ingenieurs thesis, Wageningen Agricultural University.
- Othman, Y., Al-Karaki, G., Al-Tawaha, A. R., and Al-Horani, A. (2006). Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), 11-15.
- Ouji, A., El-Bok, S., Mouelhi, M., Younes, M. B., and Kharrat, M. (2015). Effect of salinity stress on germination of five Tunisian lentil (*Lens culinaris* L.) genotypes. *European Scientific Journal*, ESJ, 11(21).
- Paromita, G., Dash, P. K., Rituraj, S., and Mannan, M. A. (2014). Effect of salinity on germination, growth and yield of radish (*Raphanus sativus* L.) varieties. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 5(1), 37-48.
- Pessarakli, M., and Szabolcs, I. (1999). Soil salinity and sodicity as particular plant/crop stress factors. *Handbook of plant and crop stress*, 2.
- Promila, K., and Kumar, S. (2000). *Vigna radiata* seed germination under salinity. *Biologia Plantarum*, 43(3), 423-426.
- Qadir, M., and Schubert, S. (2002). Degradation processes and nutrient constraints in sodic soils. *Land Degradation and Development*, 13(4), 275-294.
- Rains, D. W., and Goyal, S. S. (2003). Strategies for managing crop production in saline environments: an overview. *Journal of crop production*, 7(1-2), 1-10.
- Rana, G., and Katerji, N. (2000). Measurement and estimation of actual evapotranspiration in the field under Mediterranean climate: a review. *European Journal of agronomy*, 13(2-3), 125-153.



Rodenburg, C. M., and Basse, H. (1960). Varieties of lettuce: an international monograph. Instituut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen.

Rogers, M. E., Grieve, C. M., and Shannon, M. C. (2003). Plant growth and ion relations in lucerne (*Medicago sativa* L.) in response to the combined effects of NaCl and P. *Plant and Soil*, 253(1), 187-194.

Rozeff, N. (1995). Sugarcane and salinity—a review paper. *Sugar Cane* (United Kingdom).

Rubatzky, V. E., and Yamaguchi, M. (1997). World vegetables principles, production, and nutritive values. *Fruits*, 5(51), 381.

Rubatzky, V. E., and Yamaguchi, M. (2012). *World vegetables: principles, production, and nutritive values*. Springer Science and Business Media.

Russel, J. C., Kadry, L., and Hanna, A. B. (1965). Sodic soils in Iraq. *Agrokonomia ES Talajtan*, 14, 91-97.

Ryder, E. J. (1999). Introduction to the crops. Lettuce, endive and chicory, 1-27.

Ryder, E.J. (1986). Lettuce breeding. In: M.J. Basset (Ed.). *Breeding Vegetable Crops*. The AVI Publishing Company, Inc., Westport, 433-474.

Shanker, A. K., and Venkateswarlu, B. (2011). Abiotic stress in plants: mechanisms and adaptations. In: *Tech Janeza Trdine 9*, 51000 Rijeka, Croatia.

Singh, K. N., and Chatrath, R. (2001). Application of physiology in wheat breeding. *International Maiz. Wheat Improvement Center (CIMMYT)*. Ed. Reynolds, MP, Monasterio, JIO, Mc Nab, A, 101-110.

Soil Science Society of America (2008) *Glossary of soil science terms*. American Society of Soil Science, Madison.

Suzuki, Nobuhiro, et al. "Abiotic and biotic stress combinations." *New Phytologist* 203.1 (2014): 32-43.

Szabolcs, I. (1974). Salt affected soils in Europe. Martinus Nijhoff. Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences.

Szabolcs, I. (1994). Soils and salinisation. 'Handbook of plant and crop stress'. (Ed. M Pessarakali) pp. 3–11.

Tavakkoli, E., Fatehi, F., Coventry, S., Rengasamy, P., and McDonald, G. K. (2011). Additive effects of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> ions on barley growth under salinity stress. *Journal of Experimental Botany*, 62(6), 2189-2203.

Tuna, A. L., Kaya, C., Ashraf, M., Altunlu, H., Yokas, I., and Yagmur, B. (2007). The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 173-178.

Ünlükara, A., Cemek, B., Karaman, S., and Erşahin, S. (2008). Response of lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispa*) to salinity of irrigation water. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 36(4), 265-273.

Wahid, A., Rasul, E., and Rao, A. (1999). Germination of seeds and propagules under salt stress. *Handbook of plant and crop stress*, 2, 153-167.

Wouyou, A., Gandonou, C. B., Montcho, D., Kpinkoun, J., Kinsou, E., Komlan, F. A., and Gnancadja, S. L. (2016). Salinity resistance of six Amaranth (*Amaranthus* sp.) cultivars cultivated in Benin at germination stage. *International Journal of Plant and Soil Science*, 1-10.

Xiong, L., and Zhu, J. K. (2002). Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant, Cell and Environment*, 25(2), 131-139.

Xu, C., and Mou, B. (2015). Evaluation of lettuce genotypes for salinity tolerance. *HortScience*, 50(10), 1441-1446.

Yupsanis, T., Moustakas, M., Eleftheriou, P., and Damianidou, K. (1994). Protein phosphorylation-dephosphorylation in alfalfa seeds germinating under salt stress. *Journal of plant physiology*, 143(2), 234-240.

Zhang, M., Qin, Z., and Liu, X. (2005). Remote sensed spectral imagery to detect late blight in field tomatoes. *Precision Agriculture*, 6(6), 489-508.

Zhu, J. K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends in plant science*, 6(2), 66-71.

Zhu, J. K. (2007). *Plant Salt Stress*, University of California, Riverside, California, USA.

Zhu, Z., Wei, G., Li, J., Qian, Q., and Yu, J. (2004). Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Science*, 167(3), 527-533.

Zohary, D. (1991). The wild genetic resources of cultivated lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Euphytica*, 53(1), 31-35.

Zohary, D., and Hopf, M. (2000). *Domestication of plants in the Old World: The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley* (No. Ed. 3). Oxford University Press.

+ Foti Chrysa