



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

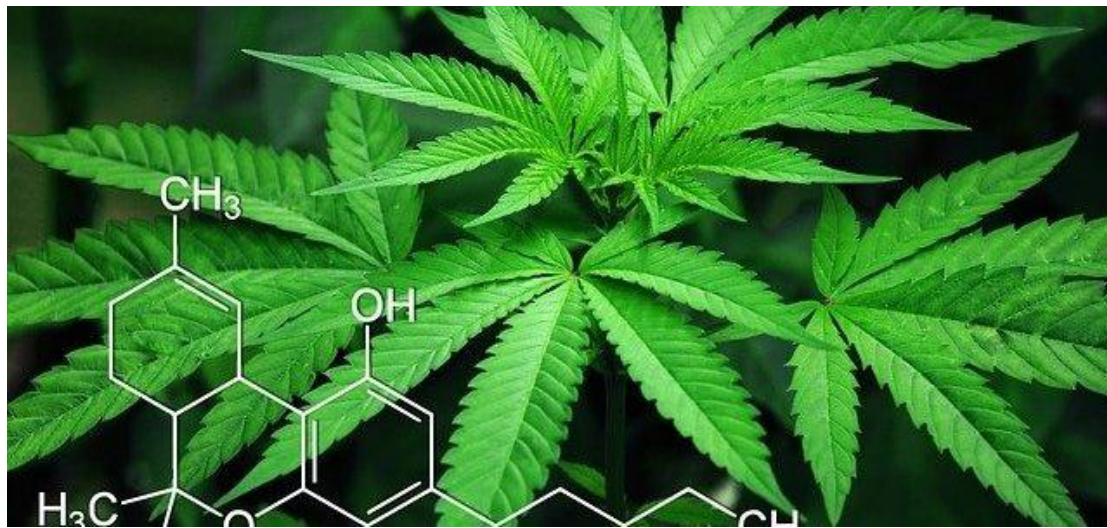
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Αξιολόγηση του δυναμικού βλάστησης και ανάπτυξης ποικιλιών
κάνναβης (*Cannabis sativa* L.) υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας»

ΜΑΡΓΑΡΙΤΗ ΕΥΑΝΘΙΑ



Επιβλέπουσα : Ουρανία Παυλή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Π.Θ.

ΒΟΛΟΣ, 2023

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την επιβλέπουσα της πτυχιακής μου διατριβής κα. Ουρανία Παυλή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος για την πολύτιμη καθοδήγηση, την ουσιαστική βοήθεια και υποστήριξη καθόλη την διάρκεια της πτυχιακής μου διατριβής.

Ένα εξίσου μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην κ. Παναγιωτάκη Ευαγγελία, μέλος ΕΔΙΠ του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος για την σημαντική βοήθεια που επέδειξε, τόσο κατά τη διάρκεια του πειράματος όσο και κατά τη συγγραφή.

Ευχαριστώ θερμά τους καθηγητές κ. Δαναλάτο Νικόλαο και κ. Κυριάκο Γιαννούλη για την συμμετοχή τους στην Τριμελή Εξεταστική Επιτροπή.

Απευθύνω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους υπεύθυνους από τα εργαστήρια Δενδροκομίας, για την ευγενική παραχώρηση του απαραίτητου εξοπλισμού για την πραγματοποίηση του πειράματος και στην μεταπτυχιακή φοιτήτρια του εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης, Τούμπου Χριστίνα, για τις χρήσιμες συμβουλές και παρατηρήσεις κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τη φίλη και συμφοιτήτριά μου Αναστασία Μαντέλα για όλη τη συνεργασία κατά τη διεξαγωγή του πειραματικού μέρους καθώς και των μετρήσεων.

Πίνακας Περιεχομένων

Περίληψη	1
1. Εισαγωγή	2
Γενικά	2
1.1 Καταγωγή και εξάπλωση κάνναβης	3
1.2 Ταξινόμηση της κάνναβης	4
1.3 Βοτανική περιγραφή	5
1.4 Καλλιέργεια κάνναβης - Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις	8
1.5 Χρήσεις – Οικονομική σημασία της καλλιέργειας	13
1.6 Αβιοτικές καταπονήσεις	14
1.7 Καταπόνηση υψηλής αλατότητας	16
1.8 Οι επιπτώσεις της καταπόνησης αλατότητας στα φυτά	17
Σκοπός της μελέτης	19
2. Υλικά και μέθοδοι	20
2.1 Γενετικό υλικό	20
2.2 Απολύμανση των σπόρων	20
2.3 Παρασκευή διαλυμάτων	20
2.4 Εφαρμογές καταπόνησης αλατότητας στη φάση της βλάστησης – Πειραματικό Σχέδιο	21
2.5 Εφαρμογές καταπόνησης αλατότητας σε φυτοδοχεία – Πειραματικό σχέδιο	22
2.6 Παράμετροι αξιολόγησης της ανθεκτικότητας της κάνναβης στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας	23
2.6.1 Αναπτυξιακές παράμετροι αξιολόγησης	23
2.6.2 Βιοχημικές παράμετροι αξιολόγησης	25
2.7 Στατιστική Ανάλυση	31
3. Αποτελέσματα	32
3.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας	32
3.2 Μήκος βλαστού των σποροφύτων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας	36
3.3 Μήκος ρίζας των σποροφύτων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας	37
3.4 Περιεχόμενη υγρασία των σποροφύτων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας	39
3.5 Περιεχόμενη υγρασία των σπόρων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας	40

3.6 Δείκτης ευρωστίας των σποροφύτων (SVI)	41
3.7 Δείκτης ευαισθησίας των σπορόφυτων (SSI)	43
3.8 Δείκτης ανθεκτικότητας των σποροφύτων (STI)	43
3.9 Περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη a, χλωροφύλλη b και ολική χλωροφύλλη	44
3.10 Περιεκτικότητα του φυτικού ιστού σε προλίνη	47
3.11 Φαινοτυπική έκφραση της καταπόνησης αλατότητας	48
4. Συζήτηση	50
5. Βιβλιογραφία	56

Περίληψη

Η κάνναβη (*Cannabis sativa* L.), αποτελεί πηγή φυτικών ινών και λαδιού, ενώ ιδιαίτερα γνωστή είναι και η χρήση της στην ιατρική. Η περιεκτικότητα σε THC (τετραϋδροκανναβινόλη) $< 0,3\%$ ορίζει διεθνώς την κάνναβη ως βιομηχανική κάνναβη. Οι αβιοτικές καταπονήσεις, όπως η ξηρασία, η υψηλή αλατότητα και οι ακραίες θερμοκρασίες, συνιστούν σημαντικό περιβαλλοντικό παράγοντα που δύναται να περιορίσει την ανάπτυξη των φυτών καθώς και την παραγωγικότητά τους, συμπεριλαμβανομένης και της κάνναβης. Στην παρούσα πτυχιακή διατριβή μελετήθηκε η απόκριση τριών ποικιλιών κάνναβης, Futura, Felina και Finola, ως προς την ανθεκτικότητά τους στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας τόσο στη φάση της βλάστησης όσο και σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια. Η έκθεση των φυτών σε συνθήκες αλατότητας αφορούσε σε εφαρμογή διαφορετικών συγκεντρώσεων NaCl (50, 100 και 200 mM), με στόχο την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας των ποικιλιών σε διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης. Ως μάρτυρες, χρησιμοποιήθηκαν φυτά που αναπτύχθηκαν απουσία καταπόνησης. Στη φάση της βλάστησης, ως παράμετροι αξιολόγησης αξιοποιήθηκαν το ποσοστό βλάστησης των σπόρων, το ποσοστό απορρόφησης νερού των σπόρων, το μήκος ρίζας και βλαστού καθώς και η περιεχόμενη υγρασία των σποροφύτων, ο δείκτης ευρωστίας των σποροφύτων καθώς και οι δείκτες ευαισθησίας και ανθεκτικότητας. Στα μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια, η αξιολόγηση της απόκρισης των ποικιλιών βασίστηκε στην περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη a και b, ολική χλωροφύλλη, στο λόγο χλωροφύλλης a προς b, στην περιεκτικότητα σε καροτενοειδή και προλίνη. Τα ευρήματα της μελέτης κατέδειξαν ότι η καταπόνηση της αλατότητας επηρέασε δραστικά το δυναμικό βλάστησης και ανάπτυξης των σποροφύτων, με τις επιδράσεις να είναι στο πλείστο των περιπτώσεων ανάλογες του επιπέδου καταπόνησης, επιφέροντας πλήρη ανάσχεση της βλάστησης των σπόρων στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (200mM NaCl). Μεταξύ των ποικιλιών, υπήρξε έκδηλη η υπεροχή της ποικιλίας Finola, ακολουθούμενης από την ποικιλία Felina, παρέχοντας ενδείξεις σχετικά με την χρησιμότητά τους ως πολύτιμο γενετικό υλικό σε βελτιωτικές διαδικασίες που στοχεύουν στην ενίσχυση της ανθεκτικότητας της κάνναβης στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας.

1. Εισαγωγή

Γενικά

Η κάνναβη (*Cannabis sativa* L.), αποτελεί ένα από τα λίγα είδη φυτών με μακρά ιστορία καλλιέργειας σε χώρες όπως η Κίνα, καθώς αποτελεί πηγή φυτικών ινών και λαδιού, ενώ είναι ιδιαίτερα γνωστή η χρήση της στην ιατρική (Liu *et al.*, 2017). Η περιεκτικότητα σε THC (τετ-ραυδροκανναβινόλη) < 0,3% ορίζει διεθνώς την κάνναβη ως βιομηχανική κάνναβη, μολονότι το πρότυπο της Ευρωπαϊκής Ένωσης θέτει ως όριο την περιεκτικότητα 0,2%. Οι τρεις πιο σημαντικές περιοχές παραγωγής κάνναβης στον κόσμο είναι η Κίνα, η Ευρώπη και ο Καναδάς. Η κάνναβη έχει ενσωματωθεί σε πολλά αγροτοβιομηχανικά πεδία και προτείνεται επίσης ως πολύτιμη επιλογή για την παραγωγή βιώσιμης βιοενέργειας (Salentijn *et al.*, 2015). Τα οφέλη της κάνναβης για τη σύγχρονη γεωργία δεν συνδέονται μόνο με τις πολυάριθμες εφαρμογές της, αλλά και με τις θετικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις που σχετίζονται με τα προϊόντα και την καλλιέργειά της (Amaducci *et al.*, 2015).

Έχει αποδειχτεί ότι, η καταπόνηση υψηλής αλατότητας αποτελεί μία σημαντική περιβαλλοντική απειλή για τη γεωργία στο σύνολο της παγκόσμιας κοινότητας (Hu *et al.*, 2018). Το πρόβλημα εντείνεται περισσότερο από το γεγονός ότι το 20 % της καλλιεργήσιμης γης παγκοσμίως πλήττεται από την καταπόνηση αλατότητας, ενώ επηρεάζεται πάνω από το 50% της αρδευόμενης γεωργικής γης. Παράλληλα, πιστεύεται ότι ένα σημαντικότατο μέρος, της τάξης του 30%, της γεωργικής γης θα μπορούσε να χαθεί μέσα στα επόμενα 25 χρόνια, λόγω της επικράτησης συνθηκών καταπόνησης αλατότητας, με τις εκτιμήσεις να αναφέρονται σε όγκο απώλειας έως και 50% μέχρι το 2050 (Mahajan & Tuteja, 2005). Προκειμένου να αντιμετωπίσουν την ανεπάρκεια νερού και την τοξικότητα ιόντων που προκαλούνται λόγω της αλατότητας, τα διάφορα φυτικά είδη έχουν αναπτύξει διάφορα προστατευτικά συστήματα κατά την ανάπτυξή τους (φυσιολογικά και βιοχημικά), ώστε να μπορούν να ανταποκρίνονται στις δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες. Αυτές οι αλλαγές περιλαμβάνουν μεταβολές στη σύνθεση χλωροφύλλης ή τη συσσώρευση ωσμολυτών. Επιπλέον, η επαγωγή αντιοξειδωτικών συστημάτων παίζει καταλυτικό ρόλο στη

μείωση του επιπέδου της οξειδωτικής βλάβης η πρόκληση της οποίας οφείλετε στην τοξικότητα των αλάτων (Niuetal., 2016).

Η κάνναβη ως είδος έχει μελετηθεί διεξοδικά σχετικά με τη δυνατότητα αξιοποίησης και την ποιότητα των ινών, σπόρων και χημικών ουσιών ενδιαφέροντος. Ωστόσο, οι αναφορές σχετικά με την απόκριση του είδους στις αβιοτικές καταπονήσεις, και ειδικότερα της καταπόνησης αλάτων και αλκαλίων, είναι σαφώς περιορισμένες. Αναφέρεται μάλιστα ότι η έλλειψη πληροφοριών σχετικά με την προσαρμοστικότητα του είδους σε διαφορετικές τάσεις αγροκλιματικές συνθήκες εμποδίζει την προώθηση της καλλιέργειας κάνναβης.

1.1 Καταγωγή και εξάπλωση κάνναβης

Η κάνναβη (*Cannabis sativa* L.) είναι ένα από τα πρωταρχικά φυτικά είδη που εξημερώθηκαν από τον άνθρωπο, εξαιτίας της πληθώρας εφαρμογών που παρουσιάζει, με την καλλιέργειά της να έχει ιστορία 5000 έως 6000 ετών. Το κέντρο καταγωγής της εικάζεται ότι είναι οι περιοχές στους αλπικούς πρόποδες των Ιμαλαΐων, ωστόσο η ποικιλία οικοτόπων και υψομέτρων στα οποία συναντάται, σε συνδυασμό με την ηλικία της καλλιέργειας, καθιστούν δύσκολο τον ακριβή εντοπισμό της προέλευσής της (Merlin, 2003; Jiangetal., 2006).

Αποτελεί πηγή τροφίμων, υφαντικών ινών αλλά και φαρμάκων (Krieseetal., 2004). Η καλλιέργεια της κάνναβης (*Cannabis sativa* L.) για υφαντικές ίνες προήλθε από την Αίγυπτο και τη δυτική Ασία και, στη συνέχεια, εισήχθη στην Ευρώπη μεταξύ 1000 και 2000 π.Χ. και στη Νότια Αμερική (Χιλή) το 1545. Περίπου από 60 χρόνια αργότερα (1606), η καλλιέργεια κάνναβης εισήχθη στη Βόρεια Αμερική (Port Royal, Καναδάς) (Small&Marcus, 2002). Η ιατρική της χρήση ξεκίνησε από τη Μέση Ανατολή και την Ασία κατά τον 6^ο αιώνα π.Χ. ωστόσο, η επέκτασή της στη δύση χρονολογείται αργότερα και συγκεκριμένα κατά τον 19^ο αιώνα (Zuardi, 2006). Το *Cannabis sativa* L καταπολεμά το γλαυκώμα, τη ναυτία, την νευραλγία και βρίσκει εφαρμογές έναντι του HIV/AIDS. (Abramsetal., 2007)(Guindon&Hohman, 2009; Slatkin, 2007).

Σήμερα, η *Cannabis sativa* L. χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη από πολλαπλές βιομηχανίες, συμπεριλαμβανομένων αυτών της παραγωγής ινών, τροφίμων και ελαίων (Abotetal., 2012; Houseetal., 2010). Μάλιστα, η μεγαλύτερη παραγωγός χώρα τόσο σπόρων κάνναβης όσο και κλωστοϋφαντουργικών προϊόντων που προορίζονται για εγχώρια χρήση και εξαγωγές είναι η Κίνα, ενώ σε χώρες των ΗΠΑ η καλλιέργειά της απαγορεύεται, σύμφωνα με τους ισχύοντες ομοσπονδιακούς νόμους (Boulocetal., 2012).

1.2 Ταξινόμηση της κάνναβης

Η ταξινόμηση του *Cannabis sativa* είναι όπως φαίνεται παρακάτω:

Βασίλειο :	<i>Plantae</i> (plants)
Υποβασίλειο :	<i>Tracheobionta</i> (vascularplants)
Υπερδιαίρεση :	<i>Spermatophyta</i> (seedplants)
Διαίρεση :	<i>Magnoliophyta</i> (floweringplants)
Κλάση :	<i>Magnoliopsida</i> (dicotyledons)
Υπό – κλάση :	<i>Hamamelididae</i>
Σειρά :	<i>Urticales</i>
Οικογένεια :	<i>Cannabaceae</i>
Γένος :	<i>Cannabis</i>
Είδος :	<i>sativa</i>
Συντομογραφία ταξινομικής αρχής:	L.

Ο αριθμός των ειδών στο γένος της κάνναβης έχει αποτελέσει αντικείμενο μακράς συζήτησης. Οι ταξινομιστές έχουν χαρακτηρίσει ποικιλοτρόπως το γένος «*Cannabis*» με βάση την πολυτυπική του φύση (Hilling, 2004; Hilling, 2005). Σύμφωνα με την αρχική ταξινόμηση, το γένος περιλάμβανε τρία είδη: *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* και *Cannabis ruderalis*(Schultesetal., 1974).

Αντίθετα, αρκετοί άλλοι ερευνητές θεώρησαν ότι το γένος περιλαμβάνει δύο κύρια είδη, τα *C. sativa* και *C. Indica* (Serebriakova&Sizon, 1940). Παρά τις διαφορετικές ταξινομικές ερμηνείες, σήμερα η κάνναβη θεωρείται ότι αποτελεί μόνο ένα ενιαίο, εξαιρετικά ποικιλόμορφο είδος, το *C. sativa* L. (Gilmoreetal., 2003). Οι *C. sativa*, *C. indica* και *C. ruderalis* αναγνωρίζονται πλέον ως υποείδη του *C. sativa* L., τα οποία

περιλαμβάνουν διάφορες ποικιλίες (var. *sativa*, var. *indica* και var. *ruderalis*, αντίστοιχα). Τα υποείδη *sativa* και *indica* θεωρούνται ως περισσότερο σημαντικά από οικονομική άποψη και διαδεδομένα, ενώ το *ruderalis* θεωρείται ως πιο ανθεκτικό που καλλιεργείται στα βόρεια Ιμαλάια και στις νότιες πολιτείες της πρώην Σοβιετικής Ένωσης. Το συγκεκριμένο υποείδος χαρακτηρίζεται από μια αραιή, «ζιζάνια» ανάπτυξη και σπάνια καλλιεργείται λόγω της περιεκτικότητάς του σε κανναβινοειδή. Σε σύγκριση με το *sativa*, όπου το μέσο ύψος των φυτών κυμαίνεται από 2,5 έως 3,5m (Εικόνα 1.1), τα φυτά του υποείδους *indica* είναι γενικά πιο κοντά (μέσο ύψος περίπου 1,8 m) και πιο θαμνώδη με ευρύτερα και πιο σκούρα πράσινα φύλλα που ωριμάζουν νωρίς όταν καλλιεργούνται σε εξωτερικούς χώρους.



Εικόνα 1.1: *Cannabis sativa* L. (Πηγή: ElSohlyet al., 2017).

1.3 Βοτανική περιγραφή

Η κάνναβη αποτελεί μέλος της οικογένειας *Cannabinaceae*. Είναι δικοτυλήδονο, ποώδες, μη ξυλώδες φυτό του οποίου το εναέριο μέρος πεθαίνει μετά την καρποφορία, μονοετές, απεταλώδες (το άνθος δεν έχει στεφάνη) και πιο συχνά δίοικο (τα αρσενικά φυτά διαφέρουν από τα θηλυκά). Το ύψος του φυτού κυμαίνεται μεταξύ 60 cm για τις μικρότερης ανάπτυξης ποικιλίες και 7 m για τις μεγαλύτερης ανάπτυξης ποικιλίες. Υπό βέλτιστες συνθήκες, το μέσο ύψος είναι περίπου 3 m. Τα φύλλα στο κάτω μέρος και στη μέση του μίσχου είναι παλαμοειδή, δηλαδή αποτελούνται από 5-7 άνισα, ελλειπτικά τμήματα με οδοντωτά περιθώρια. Τα φυτά έχουν μια αρκετά σκούρα απόχρωση του πράσινου (Stamboulietal., 2005).

Η κάνναβη είναι ανεμόφιλη, επικονιάζεται μόνο από τον άνεμο, αλλά τα αρσενικά φυτά συχνά εμφανίζουν μεγαλύτερο ύψος προκειμένου να αποφευχθεί η επικονίαση των θηλυκών φυτών. Η ιδιότητα αυτή αφορά την ποικιλία *sinsemilla*, η οποία είναι η μόνη που χρησιμοποιείται για την εμπορική παραγωγή βοτάνου κάνναβης σε σκόνη και ρητίνη(Stamboulietal., 2005).

Η *Cannabissativa* είναι συνήθως ένα δίοικο είδος, δηλαδή τα αρσενικά και θηλυκά άνθη αναπτύσσονται σε ξεχωριστά φυτά (Εικόνα 1.2). Το φύλο καθορίζεται από τα ετερόμορφα χρωμοσώματα, με τα αρσενικά να είναι ετερογαματικά (XY) και τα θηλυκά ομογαματικά (XX). Μορφολογικά, είναι δύσκολο να αναγνωριστούν αρσενικά και θηλυκά φυτά στο βλαστικό στάδιο. Με τον σεξουαλικό διμορφισμό, που εμφανίζεται αργά στην ανάπτυξη των φυτών, τα αρσενικά φυτά μπορούν να διαφοροποιηθούν από τα θηλυκά φυτά μετά την έναρξη της ανθοφορίας. Τα τελευταία χρόνια, η διάκριση των αρσενικών από τα θηλυκά φυτά σε πρώιμο στάδιο επιτυγχάνεται μέσω μοριακών αναλύσεων (Mandolinoetal., 1999; Sakamotoetal., 2005). Ο σεξουαλικός φαινότυπος της κάνναβης παρουσιάζει περιστασιακά ευελιξία που οδηγεί στο σχηματισμό ερμαφρόδιτων λουλουδιών ή αμφιφυλόφιλων ταξιανθιών, δηλαδή ενός μοναχικού φαινοτύπου.



Εικόνα 1.2: Ανθισμένα αρσενικά (α) και θηλυκά (β) φυτά *Cannabissativa*L.

Τα μορφολογικά, βιολογικά και φαρμακοχημικά χαρακτηριστικά της κάνναβης εξαρτώνται από τις συνθήκες καλλιέργειας, όπως υψόμετρο, θερμοκρασία, εδαφική υγρασία και φως, καθώς και τη λίπανση. Κατά γενικό κανόνα, οι καλλιέργειες που καλλιεργούνται σε χώρες με εύκρατο κλίμα περιέχουν μόνο μια μικρή ποσότητα

ρητίνης και επομένως έχουν χαμηλό επίπεδο THC. Η καλλιέργεια φυτών κάνναβης σε εσωτερικούς χώρους δυνητικά επιτυγχάνει υψηλή περιεκτικότητα σε -9-THC (9-tetrahydrocannabinol) (Stambouliet. *al.*, 2005).

Η κάνναβη διακρίνεται σε τρεις κύριους φαινότυπους:

- Φαινότυπος I (τύπος φαρμάκου): περιέχει D9-τετραϋδροκανναβινόλη (THC) >0,5% και κανναβιδιόλη (CBD) <0,5%.
- Φαινότυπος II (ενδιάμεσος τύπος): περιέχει CBD ως το κύριο κανναβινοειδές αλλά και THC σε διάφορες συγκεντρώσεις
- Φαινότυπος III (τύπος ινών ή κάνναβης): χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα χαμηλή περιεκτικότητα σε THC (Εικόνα 1.3).

Η κάνναβη συνήθως περιέχει μη ψυχοδραστικά κανναβινοειδή ως κύρια συστατικά, π.χ. CBD ή κανναβιγερόλη (CBG) (De Backeretal., 2009; Galaletal., 2009). Αν και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν δραματικό ρόλο στην ποσότητα των κανναβινοειδών που παράγονται στα διαφορετικά μέρη του φυτού και στα διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια (Bocsaetal., 1997), η κατανομή των αναλογιών CBD:THC στους περισσότερους πληθυσμούς υπόκειται σε γενετικό έλεγχο (De Meijeretal. 2003). Για την ταξινόμηση της κάνναβης χρησιμοποιούνται δείκτες διαφορετικών τύπων: $[THC + CBN] / CBD$, όπου > 1 υποδηλώνει τον τύπο φαρμάκου, ενώ η αναλογία < 1 υποδηλώνει μη ναρκωτικό ή τύπο ίνας(δείκτης I). Όταν ισχύει ότι $THC > CBD$ γίνεται αναφορά σε τύπο φαρμάκου, ενώ $THC < 1\%$ και $CBD > THC$ υποδεικνύεται τύπος ίνας (δείκτης II). Τέλος, ισχύει ότι όταν THC/CBD ή $CBN/CBD > 1$ υποδηλώνεται τύπος φαρμάκου, ενώ THC/CBD και $CBN/CBD < 1$ υποδηλώνεται τύπος ίνας (δείκτης III) (Lopes de Oliveirael., 2008; Stefanidouet *al.*, 1998).



Εικόνα 1.3 : Φυτά *Cannabis sativa* L. Τύπου (α) ναρκωτικών και (β) φυτικών ινών (Πηγή: Chandraetal., 2017).

1.4 Καλλιέργεια κάνναβης - Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις

Το είδος *Cannabis sativa* L. είναι ένα ετήσιο φυτό που μπορεί να καλλιεργηθεί αποτελεσματικά τόσο ως υπαίθρια όσο και ως θερμοκηπιακή καλλιέργεια. Υπό συνθήκες υπαίθριας καλλιέργειας, ο κύκλος ζωής του φυτού είναι πέντε έως επτά μήνες, ενώ σε εσωτερικό χώρο, η ανθοφορία μπορεί να πυροδοτηθεί με ρύθμιση της φωτοπεριόδου. Η υπαίθρια καλλιέργεια επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες, με κυριότερους τον άνεμο και τη συχνότητα και ένταση των βροχοπτώσεων.

Άλλες περιβαλλοντικές μεταβλητές, όπως η θερμοκρασία, το φως, η διαθεσιμότητα εδαφικής υγρασίας και η πυκνότητα φύτευσης, επηρεάζουν επίσης την ανάπτυξη των φυτών κάνναβης, προκαλώντας διακυμάνσεις στην ποσότητα και την ποιότητα της βιομάζας.

I. Θερμοκηπιακή καλλιέργεια

Η καλλιέργεια της κάνναβης σε θερμοκηπιακό περιβάλλον, υπό ελεγχόμενες συνθήκες, αν και απαιτεί ένα εντελώς διαφορετικό σύστημα καλλιέργειας, επιτρέπει τον απόλυτο έλεγχο του κύκλου ζωής των φυτών και της ποιότητας και ποσότητας της παραγόμενης βιομάζας ως πρώτης ύλης για την παραγωγή του επιθυμητού προφίλ κανναβιοειδών που προορίζονται για φαρμακευτική χρήση. Στο πλαίσιο

θερμοκηπιακής καλλιέργειας, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι ακόλουθες παράμετροι:

Φωτοσυνθετική πυκνότητα ροής φωτονίων (PPFD) και φωτοπερίοδος

Για την απρόσκοπτη ανάπτυξη της βιομάζας κάνναβης, καθίσταται ιδιαίτερα σημαντική η βέλτιστη ποιότητα και ποσότητα φωτός καθώς και η φωτοπερίοδος. Η ποιότητα και η ποσότητα του φωτός έχουν δραστική επίδραση στη φωτοσύνθεση, η οποία τελικά επηρεάζει την ανάπτυξη των φυτών (Devlin, 1975). Η κάνναβη συγκεκριμένα, αναφέρεται ότι ωφελείται από υψηλή PPFD για τη φωτοσύνθεση και την ανάπτυξη (Chandraetal., 2008). Μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές πηγές φωτός για διάδοση σε εσωτερικούς χώρους, όπως λαμπτήρες φθορισμού (κυρίως για νεαρά μοσχεύματα), λαμπτήρες αλογονιδίου μετάλλου, λαμπτήρες νατρίου υψηλής πίεσης, λαμπτήρες επαγωγής και δίοδοι εκπομπής φωτός. Για να αποφευχθεί η υπερθέρμανση, διατηρείται μια ασφαλής απόσταση μεταξύ των φυτών. Μια φωτοπερίοδος δεκαοκτώ ωρών ή μεγαλύτερης διάρκειας είναι επιθυμητή για τη βλαστική ανάπτυξη, ενώ η φωτοπερίοδος 12 ωρών συνιστάται για την έναρξη της ανθοφορίας (Chandraetal., 2017).

Θερμοκρασία

Στην κάνναβη, η ανάπτυξη των φυτών διαμορφώνεται από τον γονότυπο αλλά και το περιβάλλον ανάπτυξης. Ωστόσο, η θερμοκρασία ανάπτυξης 25 °C έως 30 °C θεωρείται ως βέλτιστη για τις περισσότερες ποικιλίες (Chandraetal., 2008, 2012a).

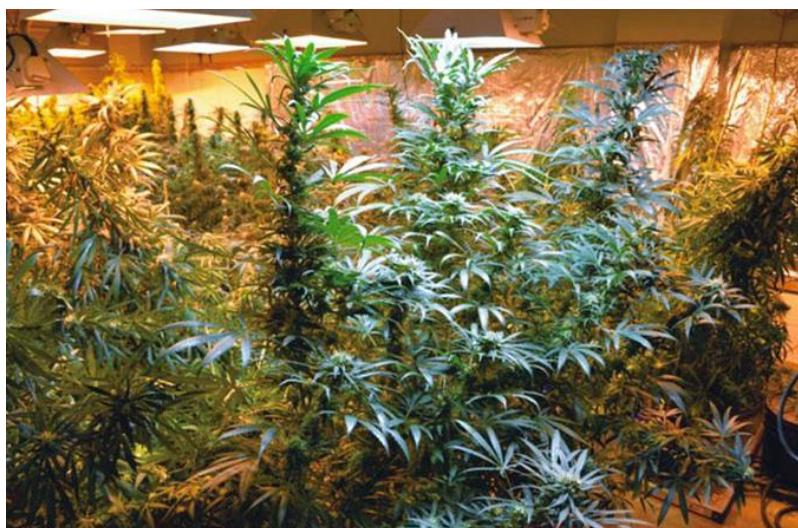
Άρδευση και σχετική υγρασία

Η υγρασία διαδραματίζει καθοριστικό παράγοντα στο σύνολο των αναπτυξιακών σταδίων. Σε περιβάλλον στενού χώρου ανάπτυξης, η συσσώρευση υγρασίας είναι αρκετά συχνή, λόγω της άρδευσης και του νερού που εξατμίζεται από τα φυτά. Απαιτείται σωστός αερισμός, κυκλοφορία αέρα και μερικές φορές αφύγρανση για τη διατήρηση των βέλτιστων συνθηκών. Η ποσότητα του νερού και η συχνότητα άρδευσης ποικίλλει ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης, το μέγεθος των φυτών και των δοχείων, τη θερμοκρασία ανάπτυξης, την υγρασία και πολλούς άλλους παράγοντες. Η κάνναβη απαιτεί υψηλή υγρασία στο νεανικό στάδιο (σπορόφυτο). Τα βλαστικά μοσχεύματα απαιτούν τακτικό ψεκασμό νερού στα φύλλα για να διατηρηθεί υψηλή υγρασία στο μικροκλίμα έως ότου ριζώσουν καλά τα φυτά. Μόλις δημιουργηθεί, το

ανώτερο στρώμα του εδάφους πρέπει να αφεθεί να στεγνώσει πριν τα φυτά ποτιστούν ξανά. Η υγρασία, γύρω στο 75%, συνιστάται κατά τη διάρκεια του νεανικού σταδίου και περίπου 55-60% κατά τα ενεργά στάδια βλάστησης και ανθοφορίας (Chandraetal., 2017).

Κυκλοφορία αέρα και διοξείδιο του άνθρακα στο δωμάτιο καλλιέργειας

Το ξηρότερο περιβάλλον και η σταθερή ροή αέρα στο χώρο καλλιέργειας αποτρέπουν ασθένειες και σχηματισμό μούχλας στα φυτά κάνναβης. Γενικά, έχει αναφερθεί ενίσχυση της φωτοσύνθεσης και της ανάπτυξης των φυτών κάτω από την αυξημένη συγκέντρωση CO₂ (Ceulemansetal., 1995) καθώς και στενή συσχέτιση μεταξύ της φωτοσύνθεσης και της απόδοσης των φυτών (Zelitch, 1975). Ο διπλασιασμός της συγκέντρωσης CO₂ επιφέρει αύξηση της απόδοσης κατά 30% ή περισσότερο σε ποικιλίες καλλιέργειας (Poorter, 1993). Στο *C. sativa*, ο διπλασιασμός της συγκέντρωσης CO₂ (*750 ppm) αναφέρθηκε ότι διεγείρει το ρυθμό της φωτοσύνθεσης σε διαφορετικές ποικιλίες, κατά 38-48%, σε σύγκριση με τη συγκέντρωση CO₂ στο περιβάλλον (Chandraetal., 2012b). Ως εκ τούτου, συνιστάται η συμπλήρωση CO₂ στην υπάρχουσα ποσότητα στο χώρο καλλιέργειας κατά τη διάρκεια του κύκλου φωτός για απρόσκοπτη ανάπτυξη. Στην Εικόνα 1.4 παρουσιάζεται μια τυπική θερμοκηπιακή καλλιέργεια, κάτω από τεχνητό φως.



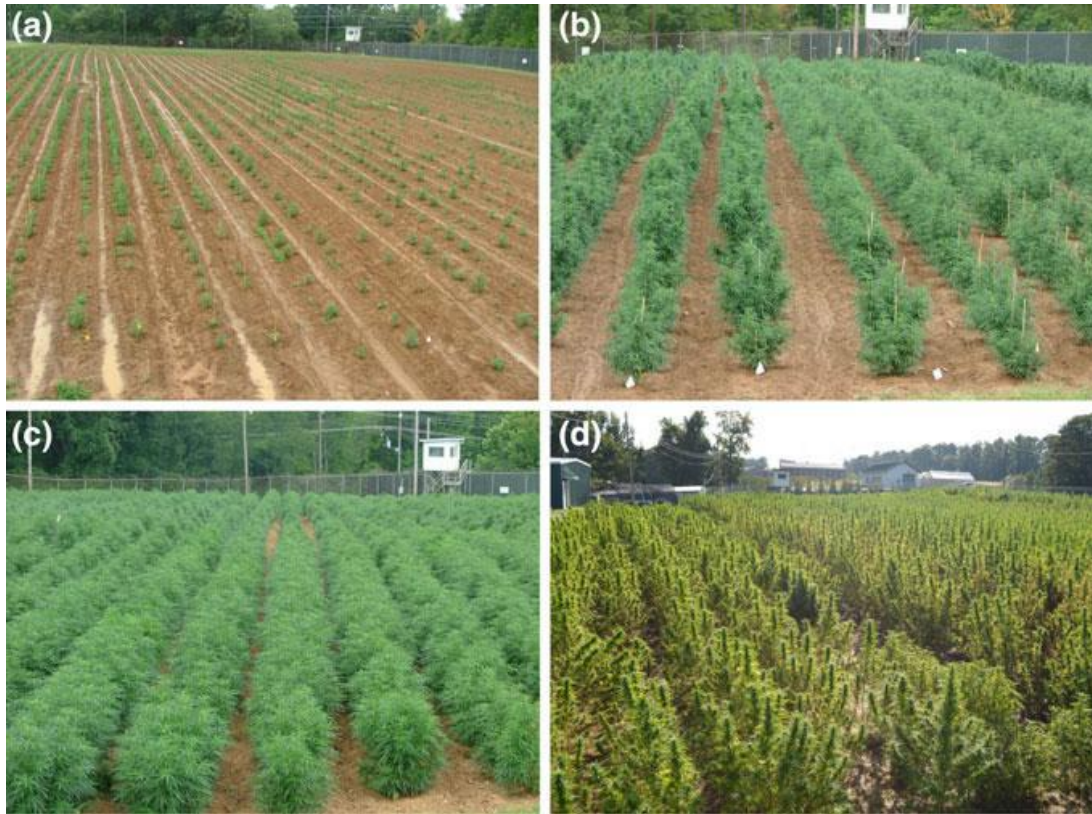
Εικόνα 1.4:Θερμοκηπιακή καλλιέργεια *Cannabis sativa* L. (Πηγή: Chandraetal., 2017).

Υπαίθρια καλλιέργεια

Η κάνναβη που καλλιεργείται σε εξωτερικούς χώρους χρειάζεται πλήρες ηλιακό φως για να αναπτυχθεί σωστά. Η υπαίθρια καλλιέργεια της κάνναβης ξεκινά στα τέλη Μαρτίου/αρχές Απριλίου και μπορεί να διαρκέσει μέχρι τον Νοέμβριο ή αρχές Δεκεμβρίου ανάλογα με την ποικιλία. Ξεκινώντας από τους σπόρους, τα φυτά αναπτύσσονται σε μικρές βιοαποικοδομήσιμες γλάστρες και τα επιλεγμένα υγιή σπορόφυτα (ή απευθείας σπόροι) μπορούν να φυτευτούν στο χωράφι. Τα αρσενικά άνθη εμφανίζονται πρώτα (σε χρονικό διάστημα 2-3 μηνών) ακολουθούμενα από τα θηλυκά. Τα αρσενικά φυτά γενικά απομακρύνονται από τις καλλιέργειες για διάφορους λόγους:

1. Τα αρσενικά φυτά περιέχουν λιγότερη THC σε σύγκριση με τα θηλυκά φυτά.
2. Αποφυγή επικονίασης ποικιλία που παράγει σπόρους προς αποφυγή μείωσης της απόδοσης σε βιομάζα και THC σε σύγκριση με φυτά χωρίς σπόρους (sinsemilla).
3. Προς αποφυγή διασταυρούμενης επικονίασης (εάν καλλιεργούνται διαφορετικές ποικιλίες σε κοντινά αγροτεμάχια) μεταξύ των ποικιλιών.

Λόγω της αλλοπαθούς φύσης αυτού του είδους, είναι δύσκολο να διατηρηθεί η συνοχή στο χημικό προφίλ επιλεγμένων γονότυπων που παράγουν υψηλή THC υπό συνθήκες αγρού, εάν αναπτυχθούν από σπόρους. Ως εκ τούτου, τα βλαστικά πολλαπλασιασμένα μοσχεύματα ενός επιλεγμένου μητρικού φυτού, με βάση το χημικό του προφίλ, χρησιμοποιούνται για την καλλιέργεια βιομάζας που συνάδουν με το χημικό του προφίλ. Τα μοσχεύματα δύναται να βλαστήσουν σε βιοαποδομήσιμες γλάστρες και τα καλά ριζωμένα μοσχεύματα φυτεύονται απευθείας στο χωράφι (Εικόνα1.5).



Εικόνα 1.5 : Καλλιέργεια *Cannabis sativa* L. σε εξωτερικό χώρο, (a) βλαστικό στάδιο και (d) στάδιο ανθοφορίας, φυτά έτοιμα για συγκομιδή (Πηγή: Chandraetal., 2017).

Η περιεκτικότητα σε τετραϋδροκανναβινόλη αυξάνεται με την ηλικία του φυτού, φθάνοντας στο υψηλότερο επίπεδο στη φάση της ανθοφορίας και επιτυγχάνοντας μεγιστοποίηση πριν από την έναρξη της γήρανσης. Η ωριμότητα της καλλιέργειας προσδιορίζεται οπτικά και επιβεβαιώνεται από την περιεκτικότητα σε THC και άλλα κανναβινοειδή (με χρήση GC-FID) σε δείγματα που συλλέχθηκαν σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φυτών. Δεδομένου ότι ολόκληρο το φυτό δεν ωριμάζει ταυτόχρονα, οι ώριμοι ανώτεροι οφθαλμοί συγκομίζονται πρώτα και δίνεται περισσότερος χρόνος σε άλλους κλάδους για να επιτύχουν την ωριμότητά τους. Τα φυτά κάνναβης που καλλιεργούνται στον αγρό είναι γενικά μεγαλύτερα και περιέχουν υψηλότερη βιομάζα σε σύγκριση με τα φυτά που καλλιεργούνται σε εσωτερικούς χώρους (Chandraetal., 2017).

1.5 Χρήσεις – Οικονομική σημασία της καλλιέργειας

Η κάνναβη έχει χρησιμοποιηθεί διαχρονικά ως φυσικό θεραπευτικό βότανο. Σήμερα, η κάνναβη θεωρείται ως φάρμακο προγράμματος 1 και η καλλιέργειά της (τύπος φαρμάκου ή κάνναβης) απαγορεύεται και ελέγχεται αυστηρά στις ΗΠΑ, σύμφωνα με την ομοσπονδιακή νομοθεσία (Sumanetal., 2017).

Τα φυτά κάνναβης παράγουν περισσότερα από 100 κανναβινοειδή. Οι εν λόγω χημικές ενώσεις επηρεάζουν τον τρόπο αποστολής, λήψης και επεξεργασίας των μηνυμάτων από τα εγκεφαλικά κύτταρα και οι αναλογίες τους ποικίλλουν ανάλογα με το υποείδος και την ποικιλία. Η κάνναβη ψυχοτρόπου φύσης καλλιεργείται λόγω των υψηλών επιπέδων τετραϋδροκανναβινόλης (THC), ενός ψυχοδραστικού κανναβινοειδούς που, πέραν της δράσης του αυτής, προσφέρει οφέλη, όπως η βελτίωση της διάθεσης και της όρεξης (Burke, 2018). Η ιατρική κάνναβη παράγεται καθώς δίνεται ιδιαίτερη σημασία στην περιεκτικότητά της σε κανναβιδιόλη (CBD). Πρόκειται για μία ουσία η οποία έχει αποδειχθεί ότι ανακουφίζει από συμπτώματα όπως πόνος, φλεγμονή και άγχος (Burke, 2018).

Για να διαμορφωθεί μια βάση αποδεικτικών στοιχείων σχετικά με τις επιπτώσεις της χρήσης κάνναβης στην υγεία (είτε επιβλαβείς, είτε ευεργετικές), οι δημόσιες υπηρεσίες, οι διάφορες οργανώσεις, οι εταιρείες και οι ομάδες έρευνας κλινικής και δημόσιας υγείας θα πρέπει να επενδύσουν σε εθνικά προγράμματα για την μελέτη της κάνναβης, τα οποία θα μπορέσουν να αντιμετωπίσουν τα βασικά κενά στη βάση αποδεικτικών στοιχείων. Με τον τρόπο αυτό είναι βέβαιη η βελτίωση της υπάρχουσας κατάστασης.

Προκειμένου να κατευθύνονται αποτελεσματικά οι αποφάσεις υγειονομικής περίθαλψης και να ενημερώνεται η δημόσια πολιτική, η προτεινόμενη ατζέντα έρευνας για την κάνναβη πρέπει να παράγει πειστικά και αξιόπιστα στοιχεία. Αυτό θα απαιτήσει να σχεδιαστούν προσεκτικά και να διεξαχθούν αυστηρά οι ερευνητικές μελέτες και να αναφέρονται τα αποτελέσματα των δεδομένων τους με ακρίβεια και περιεκτικότητα. Η διασφάλιση ότι η έρευνα για την κάνναβη είναι αξιόπιστη απαιτεί την ανάπτυξη κατευθυντήριων γραμμών για τη συλλογή δεδομένων, προτύπων για τον σχεδιασμό και την αναφορά της έρευνας, τυποποιημένη ορολογία και ένα ελάχιστο σύνολο δεδομένων για κλινικές και επιδημιολογικές μελέτες. Οι οδηγίες συλλογής δεδομένων θα μπορούσαν να δώσουν προτεραιότητα σε εναλλακτικές

μεθόδους για την αξιολόγηση της χρήσης κάνναβης, όπως ανάλυση ολικού αίματος ή ούρων, έναντι εκείνων που βασίζονται σε αυτοαναφορά ή συνταγές. Τα πρότυπα για τον σχεδιασμό και τη μεθοδολογία της έρευνας θα πρέπει να λαμβάνουν υπόψη τις συγχυτικές επιδράσεις του αλκοόλ, του καπνού ή άλλων σχετικών ουσιών κατάχρησης. Τα πρότυπα για την αναφορά έρευνας θα πρέπει να αναφέρουν τα βασικά δημογραφικά χαρακτηριστικά του μελετώμενου πληθυσμού, καθώς και πληροφορίες σχετικά με τη δόση, τη συχνότητα χρήσης και την οδό χορήγησης. Μια καθολική, τυποποιημένη ορολογία θα συμβάλλει στη δημιουργία τυποποιημένων μονάδων για την περιγραφή της χρήσης κάνναβης. Επειδή μεγάλο μέρος της υπάρχουσας επιδημιολογικής έρευνας για τη χρήση κάνναβης αποτυγχάνει να κάνει διάκριση μεταξύ της κάνναβης που καπνίζεται και της κάνναβης που χορηγείται από το στόμα, τοπικά ή μέσω άλλων οδών, οι επιπτώσεις στην υγεία που σχετίζονται με τη χρήση κάνναβης μπορεί να συγχέονται με αυτές που σχετίζονται με το κάπνισμα καθεαυτό. Για να διορθωθεί αυτό, η μελλοντική έρευνα οφείλει να χρησιμοποιήσει μεθόδους συλλογής δεδομένων που να κάνουν διάκριση μεταξύ διαφορετικών τύπων και διαφορετικών οδών χορήγησης κάνναβης (NAP, 2017).

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι πολλά είδη κάνναβης θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση μίας σειράς ασθενειών. Η έρευνα και η ανάπτυξη νέων πολυπλοειδών φυτών κάνναβης, φυτών δηλαδή που περιέχουν περισσότερα από δυο σετ χρωμοσωμάτων με στόχο την αύξηση της γενετικής ποικιλότητας, είναι μία ιδιαίτερα αξιόλογη έρευνα που χρηματοδοτήθηκε από τα Κέντρα Αριστείας του Οντάριο, το NSERC και το Agriculture Canada. Η προσπάθεια ελέγχου της αναλογίας CBD και THC και η ανάπτυξη νέων στελεχών, θα μπορούσε να επιτρέψει στην ιατρική κάνναβη να προκαλέσει ταυτόχρονα όρεξη μέσω της THC, ενώ ταυτόχρονα να ανακουφίζει τον πόνο μέσω της CBD. Τέτοιου είδους μελέτες, είναι βέβαιο πως μπορούν να σταθούν αρωγοί για τη βελτίωση της κάνναβης (Burke, 2018).

1.6 Αβιοτικές καταπονήσεις

Οι αβιοτικές καταπονήσεις, όπως η ξηρασία, η υψηλή αλατότητα και οι ακραίες θερμοκρασίες, είναι σημαντικοί περιοριστικοί παράγοντες για την ανάπτυξη των φυτών. Μεταξύ των διαφόρων αβιοτικών στρεσογόνων παραγόντων, η ξηρασία έχει

τη μεγαλύτερη επίδραση στην καλλιέργεια κάνναβης αλλά και στο σύνολο των φυτικών ειδών στην παγκόσμια γεωργία (Vinciguerra & Altman, 2005). Το στρες ξηρασίας προκαλεί μια σειρά φυσιολογικών και βιοχημικών αποκρίσεων στα φυτά που περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, την καταστολή της κυτταρικής ανάπτυξης και της φωτοσύνθεσης και την ενεργοποίηση της αναπνοής (Shinozaki & Yamaguchi-Shinozaki, 2007)

Επί του παρόντος, η υπερθέρμανση του πλανήτη συμβάλει στην επιδείνωση των ακραίων καιρικών φαινομένων, συμπεριλαμβανομένης της ξηρασίας, παγκοσμίως. Ως εκ τούτου, καθίσταται επιτακτική η ανάγκη ενίσχυσης της ανοχής των φυτών στην ξηρασία καθώς και η εις βάθος κατανόηση των σχέσεων μεταξύ της υδατικής καταπόνησης και της χρήσης νερού για την ανάπτυξη των φυτών. Το στρες ξηρασίας ή το έλλειμμα νερού προκαλεί μια σειρά αλλαγών (μορφολογικών, φυσιολογικών, βιοχημικών) που επηρεάζουν την ανάπτυξη και την παραγωγικότητα των φυτών. Κατά τη μακροπρόθεσμη εξέλιξή τους, τα φυτά έχουν αναπτύξει τρεις κύριους μηχανισμούς προσαρμογής στο στρες της ξηρασίας, συμπεριλαμβανομένης της διαφυγής από την ξηρασία, της αποφυγής της ξηρασίας και της ανοχής στην ξηρασία. Βάσει της σημασίας της καταπόνησης, είναι ανάλογης ύψιστης σημασίας η κατανόηση της γενετικής βάσης των μηχανισμών με τους οποίους τα φυτά αντιμετωπίζουν έλλειμμα νερού (Zhang, 2007).

Η καταπόνηση ξηρασίας αποτελεί κύριο περιβαλλοντικό παράγοντα που επηρεάζει την παραγωγή κάνναβης, περιορίζοντας την ανάπτυξη και μειώνοντας την ποιότητα και την απόδοση των φυτικών ινών (Schafer & Honermeier, 2006; Mihoc *et al.*, 2012). Ενδεικτικά αναφέρεται ότι περισσότερες από 10 ημέρες διαδοχικής ξηρασίας αυξάνουν τη συχνότητα εμφάνισης βλαβών σε περίοδο 1 μηνός μετά τη σπορά (Deng *et al.*, 2007). Επιπλέον, ως η μεγαλύτερη αναπτυσσόμενη χώρα με τον μεγαλύτερο πληθυσμό παγκοσμίως, η Κίνα έχει αρχίσει να αντιμετωπίζει σοβαρά προβλήματα λειψυδρίας (Jiang, 2009). Επομένως, η διερεύνηση των μηχανισμών που ρυθμίζουν την ανοχή στην ξηρασία στην κάνναβη είναι σημαντική για την ανάπτυξη ποικιλιών με γενετική ανθεκτικότητα έναντι της ξηρασίας. Προς την κατεύθυνση αυτή, σημαντική πρόκειται να είναι και η συμβολή των μοριακών προσεγγίσεων, λαμβάνοντας υπόψη ότι έχει προσδιοριστεί το πλήρες γονιδίωμα και το μεταγράφομα της κάνναβης (vanBake *et al.*, 2011), ενώ παράλληλα έχουν διεξαχθεί μελέτες ανάλυσης ποικιλομορφίας που βασίζεται στη μεγάλη κλίμακα ανάπτυξη δεικτών

SSR που προέρχονται από εκφρασμένες ετικέτες αλληλουχίας (EST-) (Gaoetal.,2014). Ωστόσο, τα γονίδια που εμπλέκονται στην απόκριση των φυτών στην ξηρασία καθώς και οι σχετικοί μηχανισμοί ρύθμισης δεν έχουν ακόμη αποσαφηνισθεί.

1.7 Καταπόνηση υψηλής αλατότητας

Η αλατότητα αφορά στην ύπαρξη υψηλών συγκεντρώσεων ιόντων στο έδαφος, στην περιοχή της ριζόσφαιρας των φυτών. Τα πιο συνηθισμένα ιόντα που συγκεντρώνονται στο ριζικό σύστημα είναι το Na^+ και το Cl^- . Υπολογίζεται ότι ένα ποσοστό της τάξεως του 20% του συνόλου της καλλιεργήσιμης γης του πλανήτη, παρουσιάζει συνθήκες υψηλής αλατότητας, σε επίπεδα που αποτελούν παράγοντα καταπόνησης.

Οι περιοχές που παρουσιάζουν υψηλή αλατότητα μπορεί να είναι:

- Παραθαλάσσιες περιοχές
- Ερημικές περιοχές με συσσωρευμένα άλατα στα εδάφη (υψηλότερος ρυθμός εξάτμισης του νερού σε σχέση με τον αντίστοιχο ρυθμό βροχόπτωσης)
- Υπερβολικά αρδευόμενες γεωργικές εκτάσεις (εκτάσεις με εδάφη με υψηλή συσσώρευση ιόντων λόγω υψηλής έντασης εξατμισοδιαπνοής)

→ Αρδευόμενες εκτάσεις με κακής ποιότητας νερό

Οι κύριες συνέπειες της καταπόνησης υψηλής αλατότητας αφορούν στα ακόλουθα:

- Προβλήματα στον αερισμό και στην αποστράγγιση του εδάφους, τα οποία προέρχονται από την αλλοίωση βασικών εδαφικών χαρακτηριστικών, όπως το πορώδες
- Ωσμωτική καταπόνηση των φυτών ως αποτέλεσμα της μείωσης του υδατικού δυναμικού του εδάφους
- Φυτοτοξικότητα που προκαλείται από την παρουσία ιόντων Na^+ και Cl^- , λόγω παρεμπόδισης της εκλεκτικότητας των πλασματικών μεμβρανών και της λειτουργίας των πρωτεϊνικών μεταφορέων

→ Συσσώρευση ιόντων Na^+ και Cl^- εντός των κυττάρων, η οποία διαταράσσει σταδιακά την κυτταρική ιοντική ομοιόσταση, δηλαδή την κατανομή των ιόντων μεταξύ αποπλαστικού χώρου, κυτταροπλάσματος και χυμοτοπίου καθώς επίσης και την ηλεκτροχημική πολικότητα των πλασματικών μεμβρανών (Καραμπουρνιώτης & Λιακόπουλος, 2014).

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1.1), παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά του θαλασσινού νερού και τα χαρακτηριστικά του νερού άρδευσης καλής ποιότητας.

Πίνακας 1.1 : Τα χαρακτηριστικά του θαλασσινού νερού και του νερού άρδευσης καλής ποιότητας (Πηγή: Καραμπουρνιώτης & Λιακόπουλος, 2014).

Συγκέντρωση Ιόντων (mM)		
Παράμετρος	Θαλασσινό νερό	Νερό άρδευσης καλής ποιότητας
Na^+	457	< 2.0
K^+	9.7	< 1.0
Ca^{2+}	10	0.5 – 2.5
Mg^{2+}	56	0.25-1.0
Cl^-	536	< 2.0
SO_4^{2-}	28	0.25-2.5
HCO_3^-	2.3	<1.5
Οσμωτικό Δυναμικό (Mpa)	-2.4	-0.039
Ολική συγκέντρωση ιόντων (mg L^{-1} ή ppm)	32 000	500
Ηλεκτρική Αγωγιμότητα (ds m^{-1})	44-55	<2.0

1.8 Οι επιπτώσεις της καταπόνησης αλατότητας στα φυτά

Παρά το γεγονός ότι οι περισσότερες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί επικεντρώνονται στο NaCl , σε ότι αφορά την προσομοίωση της καταπόνησης αλατότητας, έχουν πραγματοποιηθεί και κάποιες μελέτες οι οποίες σχετίζονται με το στρες που προκαλείται από Na_2CO_3 και NaHCO_3 . Έχει αναφερθεί ότι το στρες αλκαλικών αλάτων και το στρες ουδέτερου αλατιού είναι δύο διαφορετικοί τύποι στρες. Το στρες αλκαλικού άλατος ονομάζεται «αλκαλικό στρες», ενώ το «στρες

αλάτων» περιλαμβάνει μόνο το ουδέτερο στρες αλάτων (Shi&Sheng, 2005). Σε ένα περιβάλλον αλκαλικής καταπόνησης, τα φυτά βιώνουν καταπονήσεις που σχετίζονται με ιόντα άλατος και υψηλές τιμές pH, επομένως ο μηχανισμός των τάσεων αλάτων και αλκαλίων είναι διαφορετικός. Οι βλάβες των φυτών λόγω του αλκαλικού στρες είναι συνήθως πιο περίπλοκες και η διαδικασία και ο βαθμός της βλάβης είναι περισσότερο επιζήμιες σε σχέση με που προκαλούνται λόγω του ουδέτερου στρες αλάτων καθώς μέσω αυτού επηρεάζεται όχι μόνο το υδάτινο δυναμικό αλλά και το pH (Yang *et al.*, 2009).

Σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη, η επίδραση της καταπόνησης αλατότητας προερχόμενης και από τους δύο τύπους στρες, με εφαρμογή NaCl, Na₂SO₄, Na₂CO₃, NaHCO₃ σε επίπεδα 0 - 300 mM για διάστημα 7 ημερών, οδήγησε σε δραστική μείωση του δυναμικού βλάστησης των ποικιλιών κάνναβης Yunma 5 (YM5, ινική κάνναβη) και Bamahuoma (BM, παράγει σπόρο). Η επίδραση της καταπόνησης υπήρξε ανάλογη της έντασής της, ενώ οι πλέον δραστικές επιπτώσεις σημειώθηκαν κατά την εφαρμογή 300 mM Na₂CO₃, υποδηλώνοντας τη δυσμενή επίδραση του αλκαλικού στρες. Είναι δε αξιοσημείωτο ότι η χαμηλή συγκέντρωση NaCl (50mM) προκάλεσε διέγερση της βλάστησης, επιφέροντας υψηλότερο ποσοστό βλάστησης και βελτιωμένη ανάπτυξη των σποροφύτων συγκριτικά με τους μάρτυρες. Προς την ίδια κατεύθυνση, έχει αναφερθεί ότι τα φυτά που εκτίθενται σε χαμηλά επίπεδα αλατότητας ενεργοποιούν μία σειρά διεργασιών που συμβάλλουν σε βελτίωση της αντοχής στην καταπόνηση αλατότητας (Djanaguiraman *et al.*, 2016). Ταυτόχρονα, σημαντική ήταν η επίδραση του γονοτύπου, με την ποικιλία YM5 να εμφανίζει υπεροχή έναντι της BM, εμφανίζοντας υψηλότερο όριο ανοχής. Συνολικά, τα ευρήματα της μελέτης καταδεικνύουν ότι η ανασχεση της βλάστησης στην κάνναβη διαφέρει ανάλογα με τον τύπο και τη συγκέντρωση του παράγοντα καταπόνησης, εμφανίζοντας παράλληλα και σημαντική γονοτυπική εξάρτηση. Σε κάθε περίπτωση ωστόσο, αναφέρεται ότι τα συμπτώματα τοξικότητας εντείνονται με την αύξηση της συγκέντρωσης αλάτων σε όλες τις ποικιλίες κάνναβης (Huaran *et al.*, 2018; Huer *et al.*, 2018).

Σκοπός της μελέτης

Η αλατότητα αποτελεί έναν περιοριστικό παράγοντα καθώς δυνητικά προκαλεί δραστικές συνέπειες τόσο κατά βλαστική περίοδο όσο και κατά την περίοδο της ανάπτυξης σε πληθώρα καλλιεργούμενων φυτικών ειδών, συμπεριλαμβανομένης της κάνναβης. Οι δυσμενείς επιπτώσεις της καταπόνησης αλατότητας αντανακλούν το αποτέλεσμα πληθώρας παραγόντων, με τις επιπτώσεις αυτές ωστόσο να εμφανίζουν σημαντική εξάρτηση από το γονότυπο κάνναβης. Αντικείμενο της παρούσας μελέτης αποτέλεσε η αξιολόγηση της απόκρισης γενετικού υλικού κάνναβης σε συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας. Το γενετικό υλικό, αποτελούμενο από τρεις εμπορικές ποικιλίες, τις Futura, Felina και Finola, αξιολογήθηκε ως προς την απόκριση στην καταπόνηση αλατότητας στη φάση της βλάστησης και σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια. Η έκθεση των φυτών σε συνθήκες αλατότητας αφορούσε σε εφαρμογή διαφορετικών συγκεντρώσεων NaCl (50, 100 και 200mM), με στόχο την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας των ποικιλιών σε διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης. Ως μάρτυρες, χρησιμοποιήθηκαν φυτά που αναπτύχθηκαν απουσία καταπόνησης. Στη φάση της βλάστησης, ως παράμετροι αξιολόγησης αξιοποιήθηκαν το ποσοστό βλάστησης των σπόρων, το ποσοστό απορρόφησης νερού των σπόρων, το μήκος ρίζας και βλαστού καθώς και η περιεχόμενη υγρασία των σποροφύτων, ο δείκτης ευρωστίας των σποροφύτων καθώς και οι δείκτες ευαισθησίας και ανθεκτικότητας. Στα μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια, η αξιολόγηση της απόκρισης των ποικιλιών βασίστηκε στην περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη a και b, ολική χλωροφύλλη, στο λόγο χλωροφύλλης a προς b, στην περιεκτικότητα σε καροτενοειδή και προλίνη.

2. Υλικά και μέθοδοι

2.1 Γενετικό υλικό

Για τη διενέργεια της παρούσας διατριβής χρησιμοποιήθηκαν 3 εμπορικές ποικιλίες κάνναβης. Πιο συγκεκριμένα, το υπό εξέταση γενετικό υλικό αποτέλεσαν οι ποικιλίες Felina 32, Futura 75 και Finola, οι οποίες συνιστούν ευρέως χρησιμοποιούμενο υλικό για καλλιέργεια κάνναβης, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε Κανναβιδιόλη (CBD). Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι καθώς η καλλιέργεια της κάνναβης αποτελεί μια νέα καλλιέργεια, η προσαρμοστικότητα των προαναφερόμενων ποικιλιών στις αγροκλιματικές συνθήκες της Ελλάδας δεν έχει αποσαφηνισθεί. Η αξιολόγηση των ποικιλιών ως προς την ανθεκτικότητά τους έναντι της καταπόνησης αλατότητας έγινε τόσο κατά τη φάση της βλάστησης όσο και σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια σε φυτά που αναπτύχθηκαν σε γλάστρες.

2.2 Απολύμανση των σπόρων

Η απολύμανση των σπόρων πραγματοποιήθηκε με τοποθέτησή τους σε φιάλες αντιδραστηρίων με πόμα όγκου 100 ml και ακολούθησε προσθήκη διαλύματος χλωρίνης 20 %, το οποίο περιείχε 1% Tween-20. Οι σπόροι παρέμειναν στα φιαλίδια για 10 λεπτά υπό συνεχή ανάδευση. Ακολούθησαν 4 πλύσεις των σπόρων με αποστειρωμένο απιονισμένο νερό (dH₂O). Η απολύμανση των σπόρων διενεργήθηκε στην τράπεζα νηματικής ροής, με χρήση αποστειρωμένων σκευών και διαλυμάτων, προς αποφυγή μολύνσεων.

2.3 Παρασκευή διαλυμάτων

Για την αξιολόγηση του υπό μελέτη γενετικού υλικού ως προς την ανθεκτικότητα έναντι της καταπόνησης αλατότητας, έγινε τοποθέτηση των σπόρων προς βλάστηση υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας. Η καταπόνηση επετεύχθη με την προσθήκη NaCl σε διαφορετικές συγκεντρώσεις για τη δημιουργία διαφορετικών επιπέδων καταπόνησης: i) 50mM NaCl (χαμηλό επίπεδο), ii) 100mM NaCl (μεσαίο επίπεδο) και iii) 200mM NaCl (υψηλό επίπεδο), ενώ μη καταπονημένα φυτά συμπεριλήφθηκαν ως μάρτυρες.

Η σύσταση των επιμέρους διαλυμάτων παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.1. Μετά την παρασκευή τους, τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε γυάλινες φιάλες αντιδραστηρίων (Εικόνα 2.1α) και ακολούθησε αποστείρωση σε αυτόκαυστο στους 121 °C για διάστημα 20min.

Πίνακας 2.1 Σύσταση των διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για τη βλάστηση των σπόρων και την ανάπτυξη των νεαρών σποροφύτων.

	Μεταχειρίσεις			
	Control	NaCl		
		50 mM	100 mM	200 mM
H ₂ O	500 ml	500 ml	500 ml	500 ml
NaCl	-	1,461g	2,922 g	5,844 g

2.4 Εφαρμογές καταπόνησης αλατότητας στη φάση της βλάστησης – Πειραματικό Σχέδιο

Για την εγκατάσταση του πειράματος, αρχικά έγινε αποστείρωση των πλαστικών δοχείων, όπου επρόκειτο να τοποθετηθούν οι σπόροι προς βλάστηση, μέσω έκθεσής τους σε υπεριώδη ακτινοβολία (UV) για 15 διάστημα λεπτών. Ακολούθησε τοποθέτηση αποστειρωμένου διηθητικού χαρτιού στα δοχεία και, εν συνεχεία, πραγματοποιήθηκε εφαρμογή των διαλυμάτων διαφορετικών συγκεντρώσεων NaCl (0, 50, 100 και 200mM) μέσω εμποτισμού του διηθητικού χαρτιού.

Ακολούθησε η τοποθέτηση των απολυμασμένων σπόρων στα δοχεία υπό ασηπτικές συνθήκες στην τράπεζα νηματικής ροής (Εικόνα 2.1β). Εν συνεχεία, τα δοχεία μεταφέρθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών (25°C, φωτοπερίοδος: 16 h φως/8 h σκοτάδι) για χρονικό διάστημα 19 ημερών προκειμένου να λάβει χώρα η βλάστηση των σπόρων και η ανάπτυξη των σποροφύτων.

Λόγω εξάτμισης, από την ημέρα τοποθέτησης των σπόρων (1^η ημέρα) μέχρι και την τελευταία ημέρα του πειράματος (19^η ημέρα), πραγματοποιούνταν, ανά διάστημα δύο ημερών, διαβροχή των κουτιών με προσθήκη 2ml διαλύματος αντίστοιχης συγκέντρωσης NaCl προκειμένου διατηρηθεί η συγκέντρωση NaCl σε σταθερά επίπεδα αλλά και να εξασφαλιστούν συνθήκες επαρκούς υγρασίας. Στο διάστημα των

19 ημερών λαμβάνονταν παρατηρήσεις αναφορικά με τα γνωρίσματα που αξιοποιήθηκαν ως κριτήρια αξιολόγησης της ανθεκτικότητας των φυτών σε συνθήκες αλατότητας.

Το πειραματικό σχέδιο που χρησιμοποιήθηκε ήταν πλήρως τυχαιοποιημένο με 4 επαναλήψεις, των 20 σπόρων, για κάθε συνδυασμό ποικιλίας-μεταχείρισης. Κάθε μεταχείριση (tray) αποτελούνταν από 4 σειρές, εκ των οποίων οι 2 μεσαίες παρείχαν το γενετικό υλικό για τις μετρήσεις.



Εικόνα 2.1: α) Φιάλες αντιδραστηρίων με διαλύματα NaCl, β) Διάφανα πλαστικά δοχεία βλάστησης των σπόρων και ανάπτυξης των σποροφύτων.

2.5 Εφαρμογές καταπόνησης αλατότητας σε φυτοδοχεία – Πειραματικό σχέδιο

Επιπρόσθετα απολυμασμένοι σπόροι τοποθετήθηκαν σε φυτοδοχεία όγκου 3lt, οι οποίες είχαν προηγουμένως απολυμανθεί. Ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε μείγμα τύρφης με περλίτη σε αναλογία 3:1. Τα φυτοδοχεία τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ανάπτυξης φυτών με ελεγχόμενες συνθήκες (25°C, φωτοπερίοδος: 16 h φως/8 h σκοτάδι), όπου και παρέμειναν για διάστημα 24 ημερών. Αρχικά, και έως ότου να επέλθει ικανοποιητική βλάστηση πραγματοποιούνταν άρδευση με νερό βρύσης. Μετά την πλήρη βλάστηση, ξεκίνησε η έκθεσή των νεαρών σποροφύτων σε συνθήκες καταπόνησης αλατότητας με εφαρμογή των διαλυμάτων NaCl, όπως περιγράφονται στον Πίνακα 2.2. Οι εφαρμογές ριζοποτίσματος με τα διαλύματα διαφορετικής

συγκέντρωσης NaCl πραγματοποιούνταν ανά τέσσερις ημέρες, χρησιμοποιώντας 100ml του εκάστοτε διαλύματος στα αντίστοιχα σημασμένα φυτοδοχεία.

Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκε το πλήρως τυχαιοποιημένο σχέδιο με τρεις επαναλήψεις για κάθε συνδυασμό ποικιλίας-μεταχείρισης.

Πίνακας 2.2 Σύσταση των διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για ριζοπότισματων φυτών κάνναβης σε φυτοδοχεία.

	Μεταχειρίσεις			
	Control	NaCl		
		50 mM	100 mM	200 mM
H ₂ O	5000 ml	5000 ml	5000 ml	5000 ml
NaCl	-	14,61g	29,22 g	58,44 g

2.6 Παράμετροι αξιολόγησης της ανθεκτικότητας της κάνναβης στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας

2.6.1 Αναπτυξιακές παράμετροι αξιολόγησης

Στο πλαίσιο αξιολόγησης της ανθεκτικότητας των υπό μελέτη ποικιλιών κάνναβης έναντι της καταπόνησης αλατότητας, αξιοποιήθηκαν παράμετροι που σχετίζονται με την ικανότητα βλάστησης των σπόρων και ανάπτυξης των σποροφύτων στα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης (0, 50, 100, 200mM NaCl). Η μελέτη της απόκρισης των φυτών στην καταπόνηση, βάσει των αναπτυξιακών παραμέτρων, αφορούσε στα σπορόφυτα που αναπτύχθηκαν σε δοχεία υπό συνθήκες καταπόνησης. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν οι κάτωθι παράμετροι αξιολόγησης:

- **Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP)**

Μέτρηση: Καταμέτρηση από την 5^η έως και την 19^η μέρα. Με έναρξη των μετρήσεων όταν το ελάχιστο μήκος του ριζιδίου είναι 2 mm.

Τύπος: $GP = (\text{Αριθμός σπόρων που βλάστησαν} / \text{Συνολικός αριθμός σπόρων}) \times 100$.

- **Ποσοστό απορρόφησης νερού των σπόρων (WU) (%)**

Τύπος: $WU (\%) = ((W2 - W1) / W1) \times 100$, όπου $W1$ = αρχικό βάρος σπόρων και $W2$ = βάρος σπόρων έπειτα από την απορρόφηση νερού

- **Μήκος βλαστού των σποροφύτων**

Μέτρηση: Καταμέτρηση του μήκους βλαστού τριών φυτών ανά επανάληψη, την 13^η και 19^η ημέρα από την εγκατάσταση των σπόρων. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε με χρήση διαβαθμισμένου χάρακα σε cm.

- **Μήκος ρίζας των σποροφύτων**

Μέτρηση: Καταμέτρηση του μήκους ρίζας τριών φυτών ανά επανάληψη, την 13^η και 19^η ημέρα από την τοποθέτηση των σπόρων. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε με χρήση διαβαθμισμένου χάρακα σε cm.

- **Δείκτης ευρωστίας των σποροφύτων (SVI) (%)**

Μέτρηση: Εκτίμηση την 19^η μέρα.

Τύπος: $SVI = \text{ποσοστό βλάστησης} \times \text{μήκος σποροφύτου (cm)}$.

- **Νωπό βάρος των σποροφύτων**

Μέτρηση: Εκτίμηση την 19^η μέρα. Ζύγισμα συνολικά 9 σποροφύτων, 3 ανά επανάληψη, για κάθε συνδυασμό ποικιλίας-μεταχείρισης.

- **Ξηρό βάρος των σποροφύτων**

Μέτρηση: Εκτίμηση μετά από τοποθέτηση σε ξηραντήρα την 19^η μέρα. Ζύγισμα συνολικά 9 σποροφύτων, 3 ανά επανάληψη, για κάθε συνδυασμό ποικιλίας-μεταχείρισης.

- **Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC) (%)**

Μέτρηση: Εκτίμηση την 19^ημέρα.

Τύπος: $WC (\%) = (FW - DW / DW) \times 100$,

όπου FW= νωπό Βάρος και DW= ξηρό Βάρος σποροφύτων. Εκτίμηση ξηρού βάρους: έπειτα από ξήρανση 9 σποροφύτων,3 ανά επανάληψη, για κάθε συνδυασμό ποικιλίας-μεταχείρισης. Η ξήρανση πραγματοποιήθηκε σε εργαστηριακό ξηραντήριο στους 70°C για 48 ώρες.

- **Δείκτης ευαισθησίας (Stress susceptibility index, SSI)**

Μέτρηση: Εκτίμηση την 19^η μέρα.

Τύπος: $SSI = (1 - (Ys/Yp)) / (1 - (\bar{Y}s/\bar{Y}p))$,

όπου Yp και Ys το μέσο ξηρό βάρος σποροφύτου συγκεκριμένου γονότυπου υπό κανονικές (μάρτυρες) και υπό συνθήκες καταπόνησης, αντίστοιχα. $\bar{Y}p$ και $\bar{Y}s$ το μέσο ξηρό βάρος σποροφύτου όλων των γονοτύπων υπό κανονικές και υπό συνθήκες καταπόνησης, αντίστοιχα.

- **Δείκτης ανεκτικότητας (Stress tolerance index, STI)**

Μέτρηση: Εκτίμηση την 19^η ημέρα.

Τύπος: $STI = (Yp \times Ys) / (\bar{Y}p)^2$,

όπου Yp και Ys το μέσο ξηρό βάρος σποροφύτου συγκεκριμένου γονότυπου υπό κανονικές και υπό συνθήκες καταπόνησης, αντίστοιχα. $\bar{Y}p$ το μέσο ξηρό βάρος σποροφύτου όλων των γονοτύπων υπό κανονικές συνθήκες(μάρτυρες).

2.6.2 Βιοχημικές παράμετροι αξιολόγησης

Στο πλαίσιο αξιολόγησης της ανθεκτικότητας των υπό μελέτη ποικιλιών κάνναβης έναντι της καταπόνησης αλατότητας, αξιοποιήθηκαν βιοχημικές παράμετροι που σχετίζονται με τις αποκρίσεις των φυτών στην καταπόνηση αλατότητας. Η μελέτη της απόκρισης των φυτών στην καταπόνηση, βάσει των βιοχημικών παραμέτρων, αφορούσε στα φυτά που αναπτύχθηκαν σε φυτοδοχεία, όπου είχε προηγουμένως εφαρμοστεί ριζοπότισμα με διαλύματα διαφορετικής συγκέντρωσης NaCl (0, 50, 100, 200mM NaCl). Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν οι κάτωθι παράμετροι αξιολόγησης:

2.6.2.1 Προσδιορισμός της περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλη a , σεχλωροφύλλη b και καροτενοειδή

Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλη a και χλωροφύλλη b χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος που περιγράφεται από τους Wintermans and Motts (1965). Αρχικά, πραγματοποιήθηκε λήψη ιστού φύλλων από τρία σπορόφυτα ανά επανάληψη. Ακολούθησε ζύγισμα των ιστών σε ζυγό ακριβείας και τοποθέτησή τους σε δοκιμαστικούς σωλήνες που περιείχαν 7 ml αιθανόλης 98%. Οι σωλήνες πωματίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο, στους 80°C έως ότου επέλθει πλήρης αποχρωματισμός των φυτικών εκχυλισμάτων (Εικόνα 2.3). Οι σωλήνες παρέμειναν στο σκοτάδι για 30 λεπτά και ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης του φωτός με τη χρήση φασματοφωτόμετρου σε 3 μήκη κύματος, στα 665 nm και 649 nm για τον προσδιορισμό της χλωροφύλλης a και χλωροφύλλης b αντίστοιχα και στα 470 nm για τον προσδιορισμό των καροτενοειδών (Εικόνα 2.4). Έπειτα από καταγραφή των αποτελεσμάτων, έγινε προσδιορισμός της περιεκτικότητας των επιμέρους χρωστικών. Για την εκτίμηση της περιεχόμενης ποσότητας χρωστικών, εφαρμόστηκαν οι τύποι που περιγράφονται από τον Lichtenthaler (1987), ως ακολούθως:

• Ποσότητα περιεχόμενης χλωροφύλλης a

Μέτρηση: Λήψη ιστού την 24^η ημέρα και μέτρηση

$$\text{Τύπος:} \quad \text{Χλωροφύλλη a} = \frac{(13,36 * A_{665} - 5,19 * A_{649}) * 15}{\text{Νωπό βάρος} * 1000} \text{ mg/g}$$

• Ποσότητα περιεχόμενης χλωροφύλλης b

Μέτρηση: Λήψη ιστού την 24^η ημέρα και μέτρηση

$$\text{Τύπος:} \quad \text{Χλωροφύλλη b} = \frac{(27,43 * A_{649} - 8,12 * A_{665}) * 15}{\text{Νωπό βάρος} * 1000} \text{ mg/g}$$

• Ποσότητα καροτενοειδών

Μέτρηση: Λήψη ιστού την 24^η ημέρα και μέτρηση

$$\text{Τύπος:} \quad \text{Καροτενοειδή} = \frac{(1000 * A_{470} - 2,13 * \text{Chla} - 97,64 * \text{Chlb})}{\text{Νωπό βάρος} * 1000} \text{ mg/g}$$



Εικόνα 2.3: α) Δοκιμαστικοί σωλήνες με ιστό φύλλων κατά την έξοδό τους από το υδατόλουτρο, β) Ορατός μεταχρωματισμός των ιστών από πράσινο σε λευκό.



Εικόνα 2.4: α) Φυτικό εκχύλισμα αιθανόλης για ποσοτικό προσδιορισμό χλωροφύλλης και καροτενοειδών, β) Εκτίμηση της απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο.

2.6.2.2 Προσδιορισμός της περιεκτικότητας των φύλλων σε προλίνη

Ο προσδιορισμός της ποσότητας προλίνης στα φύλλα πραγματοποιήθηκε μέσω της διαδικασίας που περιγράφεται από τους Carillo and Gibon (2011).

2.6.2.2.1 Φυτικό υλικό

Την 24^η ημέρα, λήφθηκε ιστός φύλλων από τρία σπορόφυτα για κάθε επανάληψη. Ακολούθησε καταμέτρηση του βάρους τους σε ζυγό ακριβείας και τοποθέτηση του ιστού σε θάλαμο βαθείας κατάψυξης -80°C έως την ημέρα της μέτρησης.

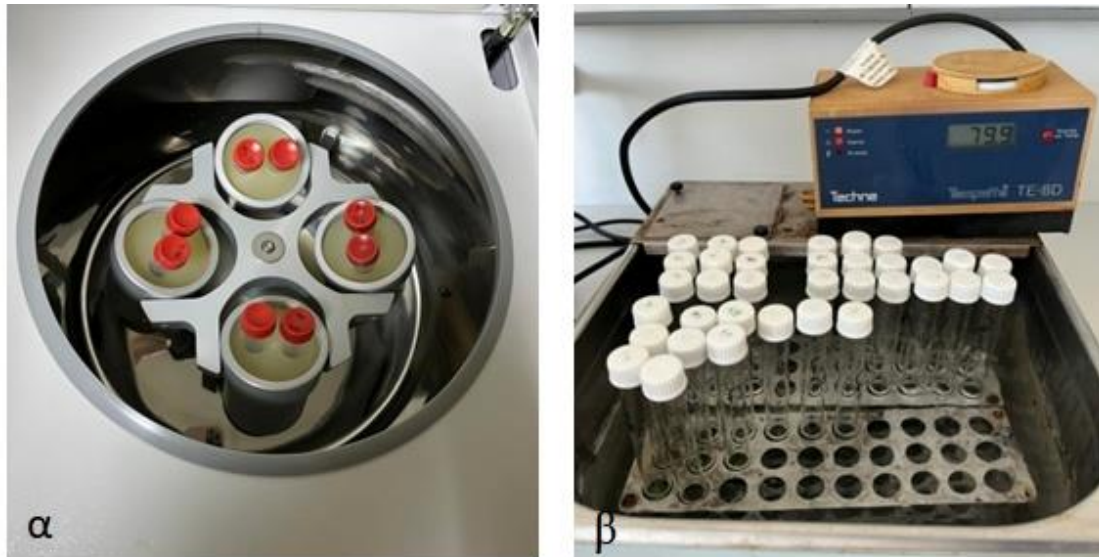
2.6.2.2.2 Διαδικασία εκχύλισης

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε σήμανση των φιαλιδίων τύπου falcon με αναγραφή του εκάστοτε γονότυπου, της μεταχείρισης και της επανάληψης. Ακολούθησε λειοτρίβηση των φυτικών ιστών σε γουδί με προσθήκη 4ml διαλύματος αιθυλικής αλκοόλης 70% (σε 2 δόσεις των 2ml). Τα εκχυλίσματα που προέκυψαν τοποθετήθηκαν στα αντίστοιχα φιαλίδια falcon για φυγοκέντρηση στις 4.000 στροφές για 10 λεπτά(Εικόνα 2.5α).

2.6.2.2.3 Προετοιμασία δειγμάτων για μέτρηση απορρόφησης σεφασματοφωτόμετρο

Προκειμένου, να πραγματοποιηθεί η μέτρηση της απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο, προηγήθηκε η παρασκευή διαλύματος νινυδρίνης 0,5 w/v. Πιο αναλυτικά, 0,5gνινυδρίνης προστέθηκαν σε ογκομετρικό κύλινδρο, ο οποίος περιείχε 60mlοξικού οξέος. Όταν ολοκληρώθηκε η διάλυσή της στο οξύ, πραγματοποιήθηκε προσθήκη αιθανόλης 98%στο διάλυμα, έως τελικού όγκου 100ml.

Σε νέους κατάλληλα σημασμένους δοκιμαστικούς σωλήνες, τοποθετήθηκαν 2mlτου ανωτέρω διαλύματος νινυδρίνης και 1ml από το υπερκείμενο του φυτικού εκχυλίσματος. Ακολούθησε πωματισμός, ανακίνηση σε Vortex, και τοποθέτηση εντός υδατόλουτρου για 25 λεπτά στους 95°C (Εικόνα 2.5β). Μετά την έξοδό τους, οι σωλήνες μεταφέρθηκαν σε παγόλουτρο και ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων σε φασματοφωτόμετρο, σε μήκος κύματος 520nm.



Εικόνα 2.5: α)Φυγοκέντρηση εκχυλίσματος για την εκτίμηση της περιεκτικότητας των φύλλων σε προλίνη, β)Τοποθέτηση δειγμάτων στο υδατόλουτρο.

2.6.2.2.4 Κατασκευή καμπύλης αναφοράς

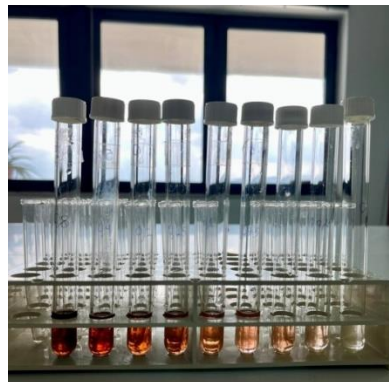
Η πρότυπη καμπύλη αναφοράς προέκυψε με την παρασκευή διαλύματος προλίνης 1mM, το οποίο προήλθε διαλύοντας 115,13 mgL⁻¹proline σε διάλυμα αιθανόλης 70% σε απιονισμένο νερό τελικού όγκου 100ml. Ακολούθησε η παρασκευή των επιμέρους διαλυμάτων προλίνης σε γυάλινα φιαλίδια με πώμα με κατάλληλη αρίθμηση (Πίνακας 2.3)

Πίνακας 2.3: Παρασκευή διαλυμάτων προλίνης για κατασκευή της πρότυπης καμπύλης.

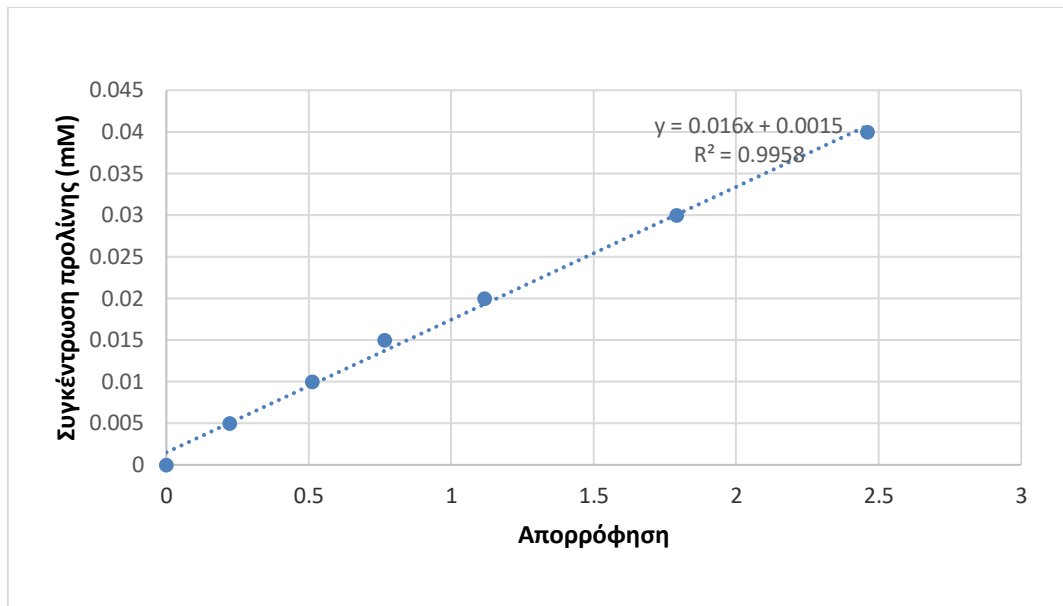
Όγκος(ml)από το αρχικό διάλυμα προλίνης	Όγκος (ml)διαλύματος αιθανόλης 70%	Τελική συγκέντρωση προλίνης (mM)
0	10	0
0,25	9,75	0,025
0,50	9,50	0,05
1	9	0,1
2	8	0,2
4	6	0,4
8	2	0,8

Τα πρότυπα διαλύματα προλίνης, στα οποία έγινε η καταμέτρηση της απορρόφησης, παρασκευάστηκαν με την προσθήκη σε δοκιμαστικό σωλήνα 0,2ml διαλύματος προλίνης (από τα ανωτέρω διαλύματα του πίνακα), 0,8ml διαλύματος αιθανόλης 40% και 2ml διαλύματος νινυδρίνης. Η συγκέντρωση προλίνης των πρότυπων διαλυμάτων ήταν 0-0,005-0,01-0,02-0,04-0,08-0,16mM (Εικόνα 2.6). Έπειτα, οι σωλήνες πωματίστηκαν, ανακινήθηκαν σε Vortex, τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο και παγόλουτρο και ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησής τους σε φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 520nm. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν, κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη που παρουσιάζεται στο διάγραμμα 2.1.

Η περιεκτικότητα των ιστών σε προλίνη προσδιορίστηκε από τη μαθηματική συνάρτηση $Y = 0,016X + 0,0015$ που προέκυψε από την καμπύλη αναφοράς. Οι ποσοτικά προσδιοριζόμενες τιμές της προλίνης που περιέχονταν στα δείγματα αντιστοιχούν σε mM προλίνης.



Εικόνα 2.6: Πρότυπα διαλύματα προλίνης σε συγκεντρώσεις 0-0,005-0,01-0,02-0,04-0,08-0,16mM.



Διάγραμμα 2.1 : Πρότυπη καμπύλη για τη μετατροπή της απορρόφησης στα 520nm σε mM προλίνης.

2.7 Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά για κάθε ημερομηνία λήψης παρατηρήσεων, με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 26 για Windows. Η συγκριτική αξιολόγηση της απόκρισης των ποικιλιών σε κάθε επίπεδο καταπόνησης, βασίστηκε σε ανάλυση της παραλλακτικότητας για έναν παράγοντα (μεταχείριση), ενώ τα δεδομένα αναλύθηκαν και ως διπαραγοντικό πείραμα (μεταχείριση, ποικιλία) για την αξιολόγηση της μέσης συμπεριφοράς ενός παράγοντα σε όλα τα επίπεδα του άλλου παράγοντα (κύριες επιδράσεις). Η σημαντικότητα των διαφορών βασίστηκε στο κριτήριο Tukey σε επίπεδο σημαντικότητας 5 % ($P \leq 0,05$).

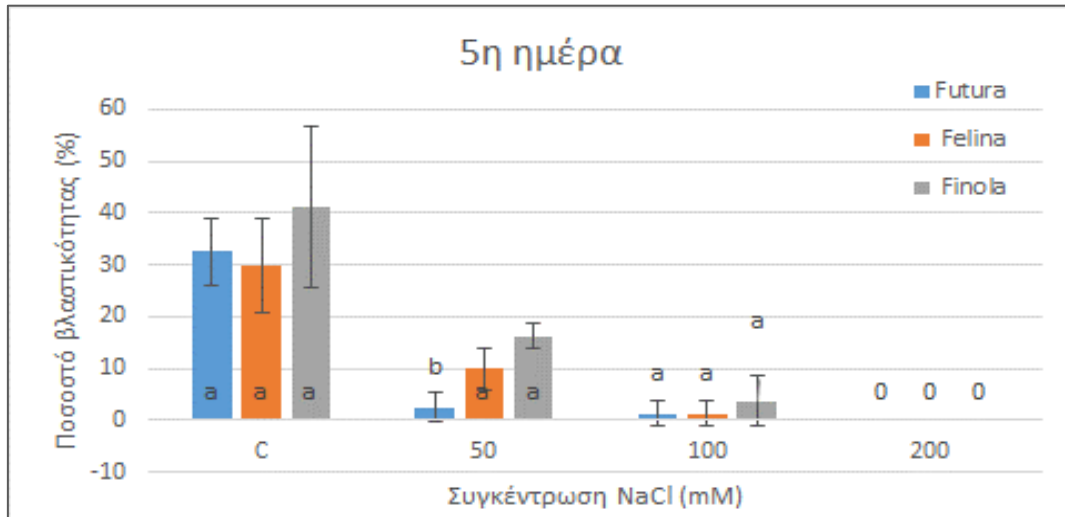
3. Αποτελέσματα

3.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας

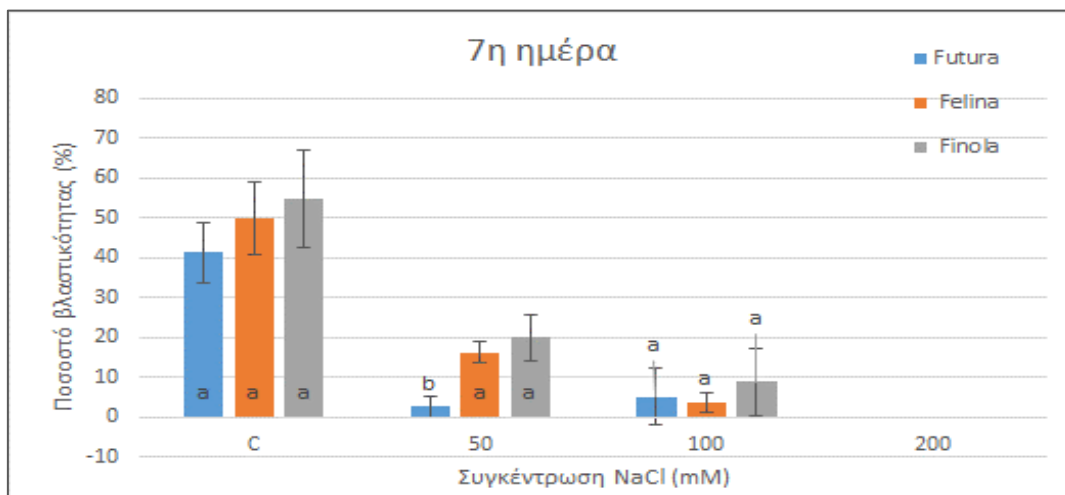
Σχετικά με το ποσοστό βλάστησης των σπόρων (Πίνακας 3.1, Διαγράμματα 3.1-3.5), τα ευρήματα υπογραμμίζουν τη σημαντική επίδραση της καταπόνησης, όπως σαφώς προκύπτει από τις μέσες τιμές των μεταχειρίσεων για το σύνολο των υπό μελέτη ποικιλιών. Ειδικότερα, προκύπτει ότι η επίδραση της καταπόνησης υπήρξε ανάλογη της έντασής της, επιφέροντας μεγαλύτερη ικανότητα βλάστησης στους μάρτυρες και φθίνουσες τιμές στα επίπεδα των 50mM και 100mM NaCl. Όπως προκύπτει στα 200mM NaCl, διαπιστώθηκε αδυναμία βλάστησης στο σύνολο των ποικιλιών. Μοναδική εξαίρεση στην γενικά παρατηρούμενη φθίνουσα ικανότητα βλάστησης, με την αύξηση της συγκέντρωσης NaCl, σημειώθηκε στην ποικιλία Futura, η οποία στο πλείστο των περιπτώσεων εμφάνισε μικρότερο δυναμικό βλάστησης στα 50mM έναντι των 100mM NaCl. Αναφορικά με την επίδοση των ποικιλιών, διαπιστώθηκε η υπεροχή της ποικιλίας Finola, ακολουθούμενης από την ποικιλία Felina, ενώ αντίθετα η ποικιλία Futura εμφάνισε σταθερά το χαμηλότερο δυναμικό βλάστησης καθόλη τη διάρκεια του πειράματος.

Πίνακας 3.1 Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) σε πέντε χρονικά διαστήματα (5^η-19^η ημέρα).

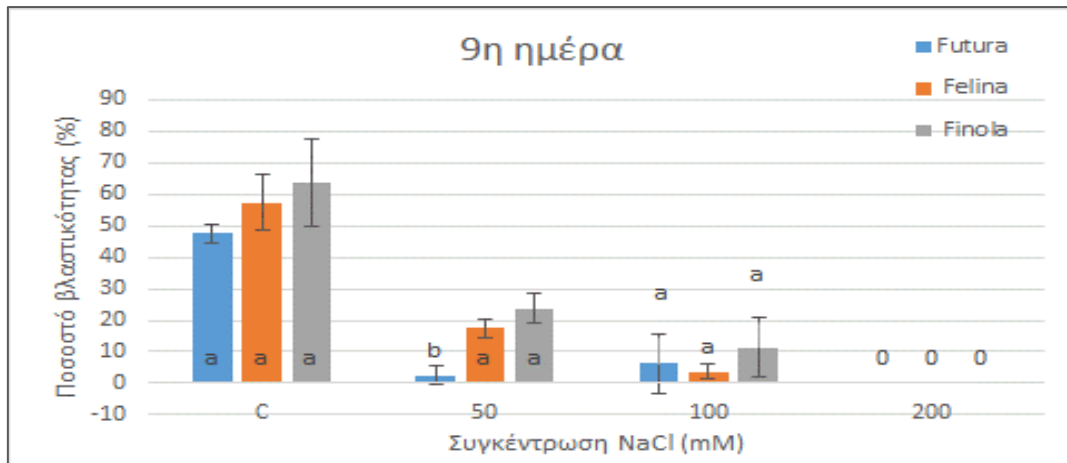
Ημέρα	Ποικιλία	Μεταχειρίσεις				M.O. (Π)
		NaCl (mM)				
		C	50mM	100mM	200mM	
5	Futura	32,5a	2,5b	1,3a	0	9,1b
	Felina	30,0a	10,0a	1,3a	0	10,3ab
	Finola	41,3a	16,3a	3,8a	0	15,3a
	M.O.(M)	34,6a	9,6b	2,1c	0d	
7	Futura	41,3a	2,5b	5,0a	0	12,2b
	Felina	50,0a	16,3a	3,8a	0	17,5ab
	Finola	55,0a	20,0a	8,8a	0	20,9a
	M.O.(M)	48,8a	12,9b	5,8c	0d	
9	Futura	47,5a	2,5b	6,3a	0	14,1b
	Felina	57,5a	17,5a	3,8a	0	19,7a
	Finola	63,8a	23,8a	11,3a	0	24,7a
	M.O.(M)	56,3a	14,6b	7,1c	0d	
11	Futura	48,8a	2,5b	7,5a	0	14,7b
	Felina	62,5a	20,0a	5,0a	0	21,9a
	Finola	67,5a	25,0a	13,8a	0	26,6a
	M.O.(M)	59,6a	15,8b	8,8b	0c	
19	Futura	50,0a	3,8b	12,5a	0	16,6b
	Felina	65,0a	22,5a	8,8a	0	24,1a
	Finola	70,0a	32,5a	16,3a	0	29,7a
	M.O.(M)	61,7a	19,6b	12,5b	0c	



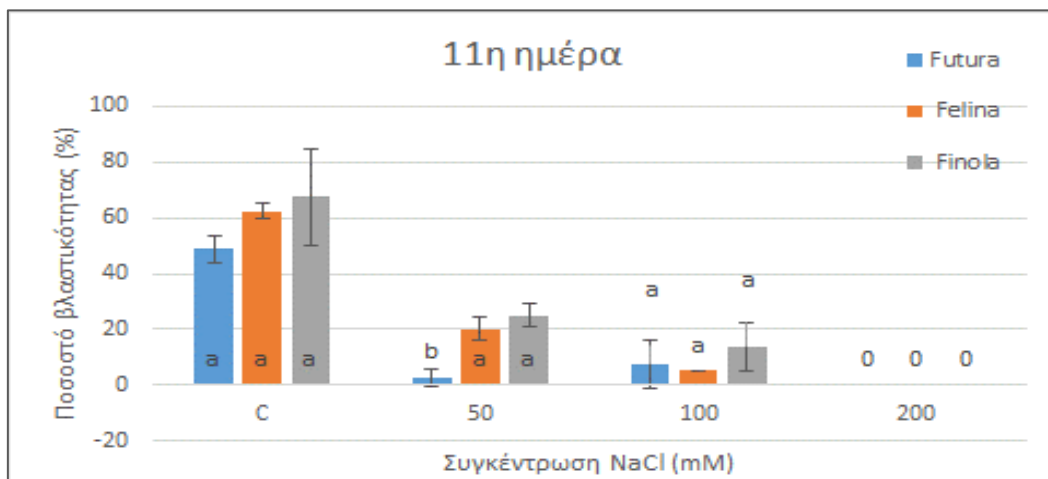
Διάγραμμα 3.1 : Ποσοστού βλάστησης των σπόρων (GP %) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl)(5^ηημέρα).



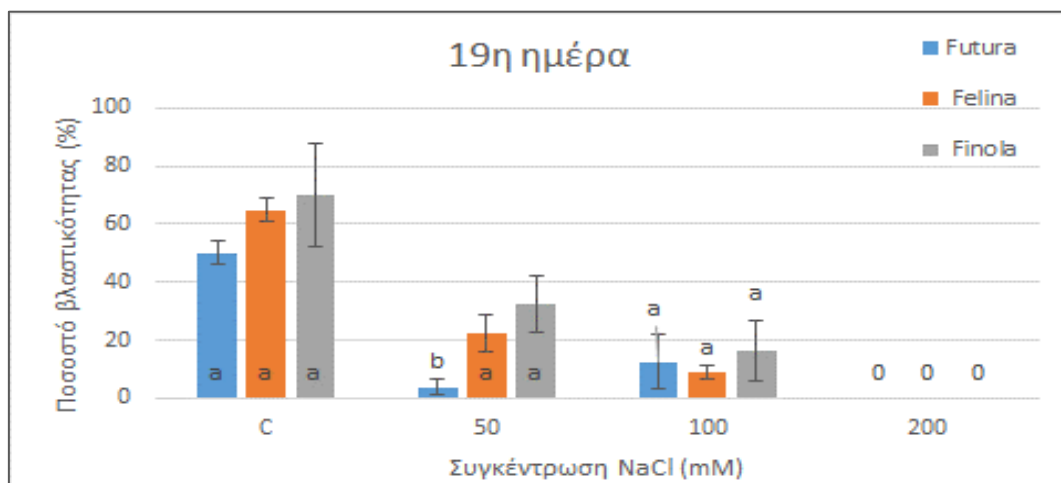
Διάγραμμα 3.2 : Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl)(7^ηημέρα).



Διάγραμμα 3.3 : Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) (9^η ημέρα).



Διάγραμμα 3.4 : Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) (11^η ημέρα).



Διάγραμμα 3.5: Ποσοστό βλάστησης των σπόρων (GP %) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) (Ημέρα 19^η).

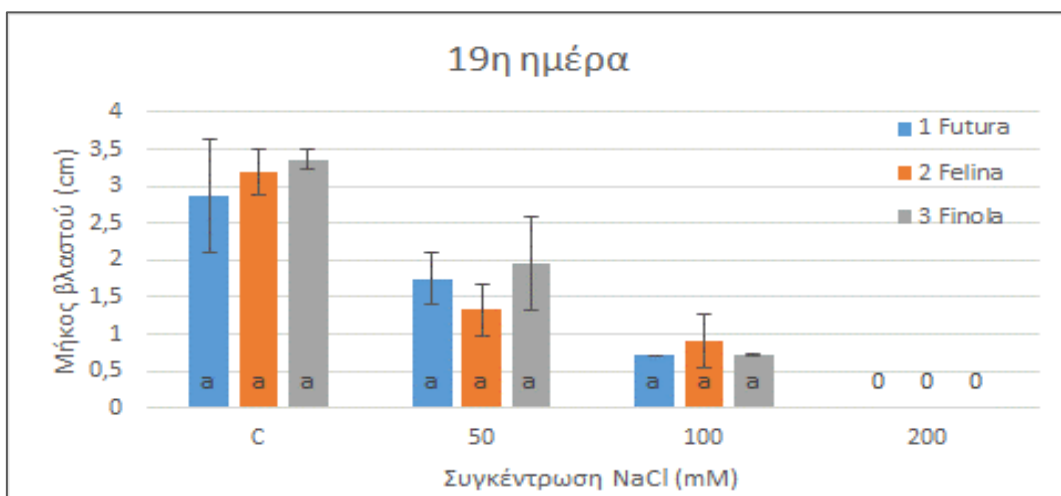
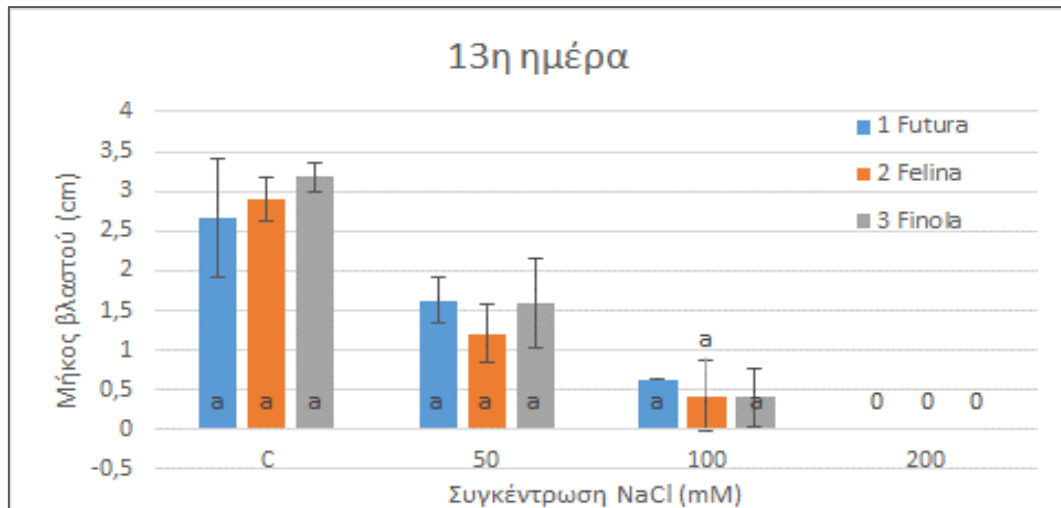
3.2 Μήκος βλαστού των σποροφύτων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας

Όσον αφορά το μήκος του βλαστού (Πίνακας 3.2, Διάγραμμα 3.6), ήταν σαφώς έκδηλη η αρνητική επίδραση της καταπόνησης, όπως προκύπτει από τη δραστική μείωση του μήκους καθώς αυξάνει η ένταση της καταπόνησης αλατότητας. Συγκεκριμένα, οι μεγαλύτερες τιμές μήκους παρατηρήθηκαν στους μάρτυρες, ενώ στα επίπεδα των 50mM και 100mM NaCl σημειώθηκε σημαντική μείωση του δυναμικού ανάπτυξης του βλαστού. Όπως αναμενόταν βάσει της αδυναμίας βλάστησης των σπόρων στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (200 NaCl), δεν κατέστη δυνατή η λήψη παρατηρήσεων σχετικά με το μήκος βλαστού.

Μεταξύ των ποικιλιών, δεν σημειώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, όπως προκύπτει από τις σχετικές τιμές στα επιμέρους επίπεδα καταπόνησης αλλά και από τις μέσες τιμές αυτών στο σύνολο για όλα τα επίπεδα καταπόνησης. Βάσει της μέσης τιμής των ποικιλιών, παρά την απουσία σημαντικών διαφορών, διαπιστώθηκε η υπεροχή της ποικιλίας Finola και στις δύο ημερομηνίες λήψης παρατηρήσεων.

Πίνακας 3.2 Μήκος βλαστού των σποροφύτων (cm) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) σε δύο χρονικά διαστήματα (13^η και 19^η ημέρα).

Ημέρα	Ποικιλία	Μεταχειρίσεις				
		NaCl (mM)				
13		C	50	100	200	M.O. (Π)
	Futura	2,7a	1,6a	0,6a	-	1,3a
	Felina	2,9a	1,2a	0,4a	-	1,2a
	Finola	3,2a	1,6a	0,4a	-	1,4a
	M.O. (M)	2,9a	1,4b	0,5c	-	
19	Futura	2,9a	1,8a	0,7a	-	1,4a
	Felina	3,2a	1,3a	0,9a	-	1,4a
	Finola	3,4a	2,0a	0,7a	-	1,6a
	M.O. (M)	3,1a	1,7b	0,8c	-	



Διάγραμμα 3.6:Μήκος βλαστού των σποροφύτων (cm)ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl)σε δύο χρονικά διαστήματα (13^η και 19^η ημέρα).

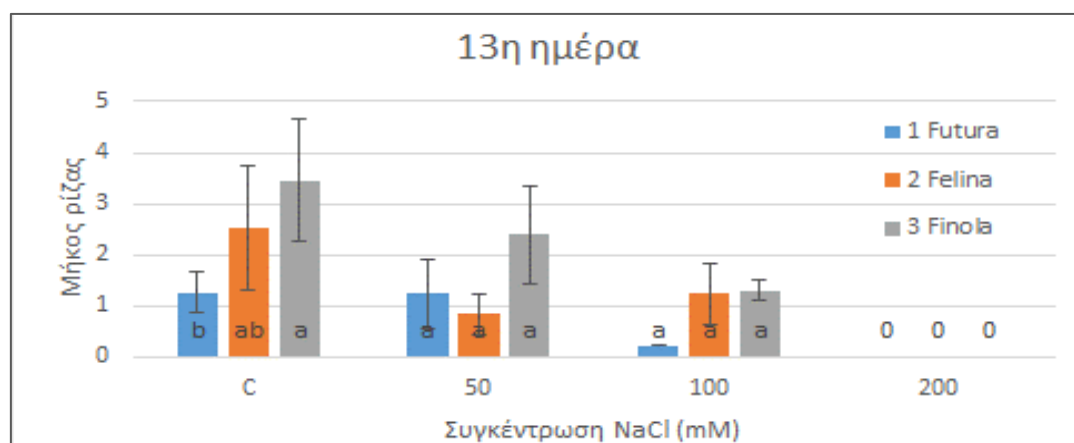
3.3 Μήκος ρίζας των σποροφύτων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας

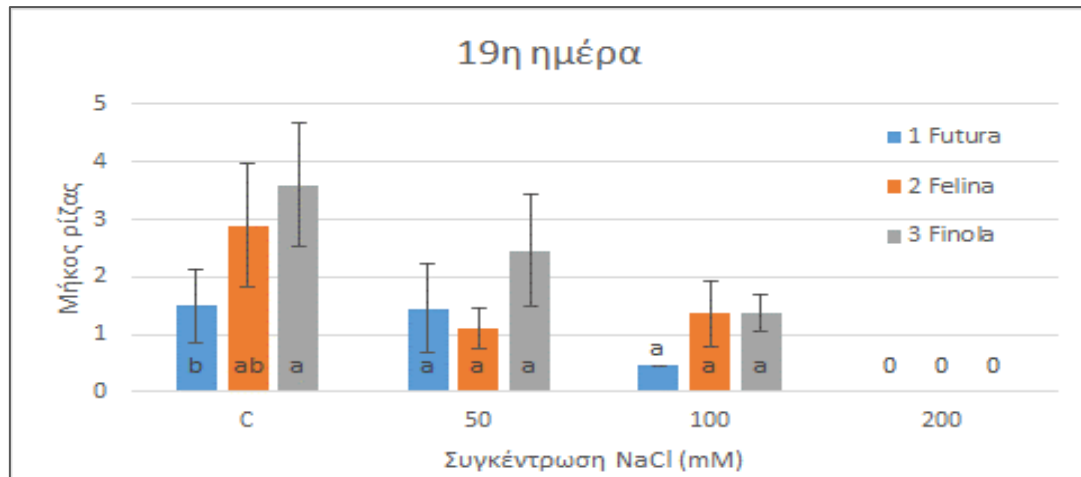
Σχετικά με το μήκος ρίζας (Πίνακας 3.3, Διάγραμμα 3.7), ήταν έκδηλη η αρνητική επίδραση της καταπόνησης, όπως προκύπτει από την παρατηρούμενη μείωση του μήκους στα καταπονημένα φυτά συγκριτικά με τους μάρτυρες. Συγκεκριμένα οι μεγαλύτερες τιμές μήκους ρίζας παρατηρήθηκαν στους μάρτυρες, ενώ στα επίπεδα καταπόνησης των 50mM και 100mM NaCl σημειώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση του δυναμικού ανάπτυξης των ριζών. Στη γενική φθίνουσα τάση του μήκους ρίζας με την αύξηση του επιπέδου καταπόνησης, εξαίρεση αποτέλεσε η ποικιλία

Felina, η οποία και στις δύο μετρήσεις (13^η και 19^η ημέρα), εμφάνισε μεγαλύτερο μήκος ρίζας στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (100mMNaCl) συγκριτικά με την πιο ήπια καταπόνηση των 50mM NaCl. Όπως αναμενόταν, βάσει της αδυναμίας βλάστησης των σπόρων στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (200mM NaCl), δεν κατέστη δυνατή η λήψη παρατηρήσεων σχετικά με το μήκος ρίζας. Μεταξύ των ποικιλιών Futura και Felina, βάσει της μέσης τιμής τους στο σύνολο των μεταχειρίσεων, δεν παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές, με την Futura ωστόσο να παρουσιάζει το μικρότερο μήκος ρίζας και στις δύο ημερομηνίες λήψης παρατηρήσεων. Αντίθετα, η ποικιλία Finola χαρακτηρίστηκε από σημαντικά αυξημένο μήκος ρίζας, σημειώνοντας υπεροχή έναντι των Futura και Felina και στις δύο ημερομηνίες λήψης των παρατηρήσεων.

Πίνακας 3.3 Μήκος ρίζας των σποροφύτων(cm)ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) σε δύο χρονικά διαστήματα (13^η και 19^η ημέρα).

Ημέρα	Ποικιλία	Μεταχειρίσεις				
		NaCl (mM)				
		C	50	100	200	M.O. (Π)
13	Futura	1,2b	1,2a	0,2a	-	0,7b
	Felina	2,5ab	0,8a	1,2a	-	1,1b
	Finola	3,5a	2,4a	1,3a	-	1,9a
	M.O. (M)	2,4a	1,5b	1,0b		
19	Futura	1,5b	1,5a	0,5a	-	0,8b
	Felina	2,9ab	1,1a	1,4a	-	1,3ab
	Finola	3,6a	2,5a	1,4a	-	1,9a
	M.O. (M)	2,7a	1,7b	1,1b	-	





Διάγραμμα 3.7: Μήκος ρίζας των σποροφύτων (cm) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) σε δύο χρονικά διαστήματα (13^η και 19^η ημέρα).

3.4 Περιεχόμενη υγρασία των σποροφύτων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας

Αναφορικά με την περιεχόμενη υγρασία των σποροφύτων (WC%) (Πίνακας 3.4), παρατηρήθηκε αύξηση στο χαμηλό επίπεδο καταπόνησης (50mM NaCl) συγκριτικά με το μάρτυρα, χωρίς ωστόσο να καταγράφονται σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Όπως αναμενόταν, στο υψηλότερο επίπεδο καταπόνησης (100mM NaCl) σημειώθηκε σημαντική μείωση της περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων, με τις διαφορές να εντοπίζονται τόσο σε σχέση το μάρτυρα όσο και το χαμηλό επίπεδο καταπόνησης (50mM NaCl). Βάσει της αδυναμίας βλάστησης και ανάπτυξης των σποροφύτων στο επίπεδο των 200mM, δεν κατέστη δυνατή η λήψη παρατηρήσεων.

Μεταξύ των ποικιλιών, τη μεγαλύτερη περιεχόμενη υγρασία σποροφύτων κατέγραψε η ποικιλία Finola, ακολουθούμενη από τη Futura, τις μικρότερες αντίστοιχες τιμές εμφάνισε η ποικιλία Felina. Μάλιστα, οι τιμές της τελευταίας διέφεραν σημαντικά σε σχέση με τις αντίστοιχες της ποικιλίας Finola. Είναι δε αξιοσημείωτο ότι η ποικιλία Felina παρουσίασε μείωση της περιεχόμενης υγρασίας ανάλογη της έντασης της καταπόνησης, ενώ οι ποικιλίες Futura και Finola παρουσίασαν αυξημένη, συγκριτικά με τον μάρτυρα απορρόφηση υγρασίας στο χαμηλό επίπεδο καταπόνησης (50mM NaCl).

Πίνακας 3.4 Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σποροφύτων (WC) (%) (g) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) κατά την 19^η ημέρα.

Ημέρα	Γονότυπος	Μεταχειρίσεις				
		NaCl (mM)				
19		C	50	100	200	M.O. (Π)
	Futura	85,8a	88,2a	74,0ab	-	62,0ab
	Felina	85,4a	83,9a	68,6b	-	59,5b
	Finola	87,1a	91,5a	79,9a	-	64,6a
	M.O. (M)	86,1a	87,9a	74,2b	-	

3.5 Περιεχόμενη υγρασία των σπόρων υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας

Σχετικά με το δυναμικό απορρόφησης νερού των σπόρων, σημειώθηκε απουσία διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων, ωστόσο οι υπό μελέτη ποικιλίες διέφεραν σημαντικά ως προς το προφίλ απόκρισής τους σχετικά με το συγκεκριμένο γνώρισμα (Πίνακας 3.5). Μεταξύ των ποικιλιών, η Felina εμφάνισε σαφή υπεροχή ως προς δυναμικό απορρόφησης νερού των σπόρων σε όλες τις επιμέρους μεταχειρίσεις καθώς και στο γενικό μέσο όρο για το σύνολο των μεταχειρίσεων. Αντίθετα, τη μικρότερη τιμή εμφάνισε η ποικιλία Finola, επίσης σε όλες τις μεταχειρίσεις καθώς και στο μέσο όρο αυτών.

Σε επίπεδο μεταχειρίσεων, παρά την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών, σημειώθηκε μία τάση μείωσης της ικανότητας απορρόφησης νερού, η οποία υπήρξε ανάλογη της έντασης της καταπόνησης.

Η συμπεριφορά των ποικιλιών εντός των μεταχειρίσεων ακολούθησε την τάση των γενικών μέσων παρουσιάζοντας ορισμένες διαφοροποιήσεις. Γενικά σε όλες τις ποικιλίες, διαφάνηκε μία τάση μείωσης του δυναμικού απορρόφησης νερού των σπόρων αυξανόμενης της καταπόνησης, με εξαίρεση την ποικιλία Futura, όπου καταγράφηκε υψηλότερο ποσοστό απορρόφησης νερού στο χαμηλό επίπεδο καταπόνησης (50mM NaCl), ενώ στην ποικιλία Felina το υψηλότερο ποσοστό καταγράφηκε στη μεταχείριση των 100mM NaCl.

Πίνακας 3.5 Ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας των σπόρων (WU) (%) (g) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl).

Γονότυπος	Μεταχειρίσεις				
	NaCl (mM)				
	C	50	100	200	M.O. (Π)
Futura	51,2b	60,7b	36,7b	40,8b	47,3b
Felina	144,5a	128,5a	146,6a	115,4a	133,8a
Finola	16,2b	12,6c	12,9b	10,2b	13,0c
M.O. (M)	70,6a	67,3a	65,4a	55,5a	

3.6 Δείκτης ευρωστίας των σποροφύτων (SVI)

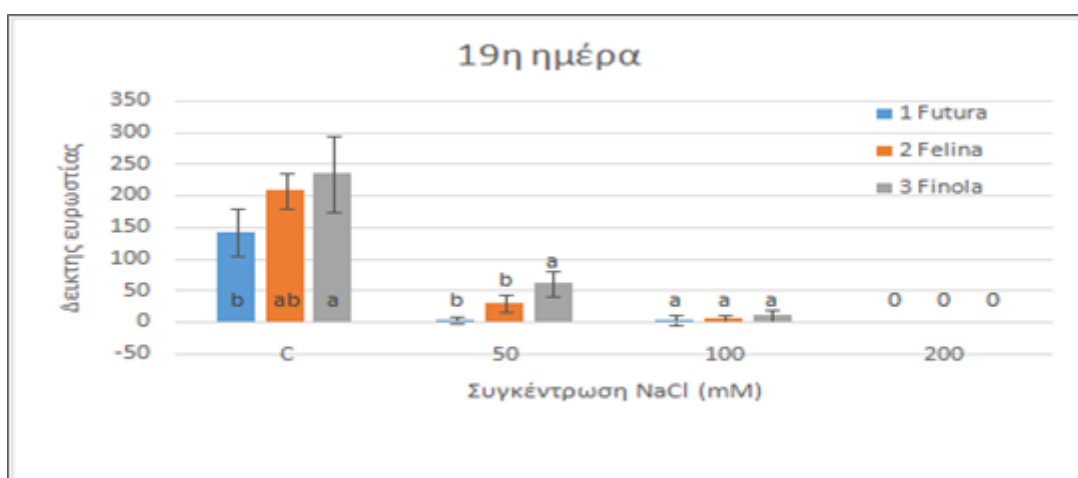
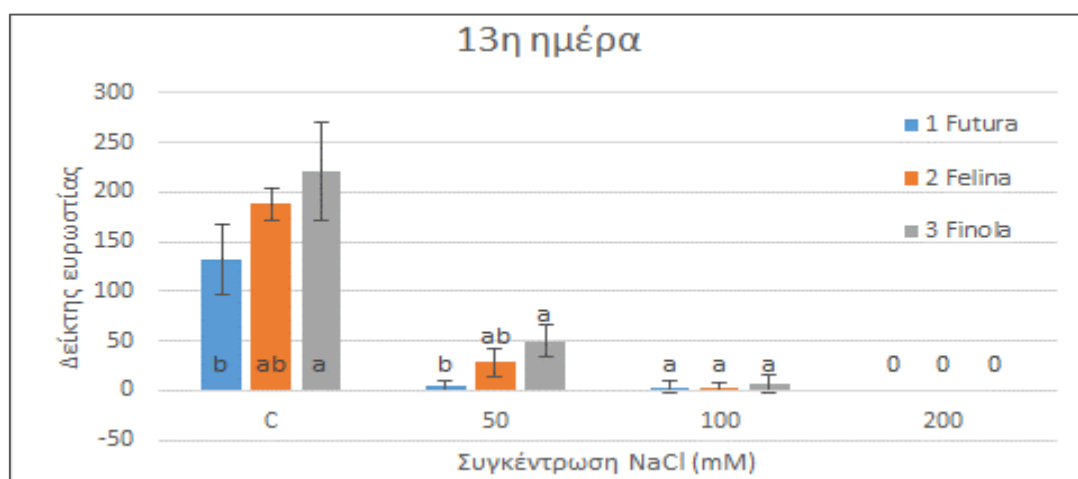
Ο δείκτης ευρωστίας εμφάνισε πτωτική τάση με την αύξηση της συγκέντρωσης NaCl, γεγονός που υπογραμμίζει την αρνητική επίδραση της καταπόνησης στο συγκεκριμένο γνώρισμα (Πίνακας 3.6, Διάγραμμα 3.8). Δεδομένης της αδυναμίας βλάστησης των σπόρων στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (200mM NaCl), δεν κατέστη δυνατή η καταγραφή τιμών στα επιμέρους αναπτυξιακά χαρακτηριστικά από τα οποία προκύπτει η τιμή του δείκτη ευρωστίας.

Σε ότι αφορά στους μέσους όρους των μεταχειρίσεων, όπως ήταν αναμενόμενο, ο μεγαλύτερος δείκτης ευρωστίας καταγράφηκε στα φυτά του μάρτυρα, ενώ τα καταπονημένα φυτά παρουσίασαν αισθητά μειωμένο δείκτη ευρωστίας και στις δύο ημερομηνίες λήψης παρατηρήσεων. Ανάλογη της τάσης των γενικών μέσων όρων των μεταχειρίσεων υπήρξε και η τάση του δείκτη ευρωστίας για κάθε ποικιλία εντός των μεταχειρίσεων, με τη μείωση των τιμών να φτάνει έως και το 97% σε όλες τις ποικιλίες στην καταπόνηση 100mM NaCl. Ομοίως αισθητή ήταν και η μείωση του δείκτη ευρωστίας στην καταπόνηση των 50mM NaCl, όπου καταγράφηκε μείωση της τάξης του 74% στην ποικιλία Finola, 85% στην ποικιλία Felina και 97% στην ποικιλία Futura.

Βάσει των ανωτέρω ευρημάτων, τόσο την 13^η όσο και την 19^η ημέρα, παρατηρήθηκε η υπεροχή της ποικιλίας Finola, ακολουθούμενης από την ποικιλία Felina, έναντι της Futura η οποία εμφάνισε σημαντικά μειωμένες τιμές έναντι των υπολοίπων ποικιλιών.

Πίνακας 3.6 Δείκτης ευρωστίας των σπόρων (SVI) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) σε δύο χρονικά διαστήματα (13^η και 19^η ημέρα).

Ημέρα	Ποικιλία	Μεταχειρίσεις				
		NaCl (mM)				
		C	50	100	200	M.O. (Π)
13	Futura	132,4b	4,1b	3,1a	-	34,9b
	Felina	187,8ab	28,5ab	3,2a	-	54,8a
	Finola	221,3a	49,7a	7,7a	-	69,7a
	M.O. (M)	180,5a	27,4b	4,7c	-	
19	Futura	143,2b	4,4b	3,6a	-	37,8b
	Felina	208,0ab	30,7b	6,1a	-	61,2a
	Finola	234,8a	61,6a	10,6a	-	76,7a
	M.O. (M)	195,3a	32,2b	6,8b	-	



Διάγραμμα 3.8: Δείκτης ευρωστίας των σπόρων (SVI) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) σε δύο χρονικά διαστήματα (13^η και 19^η ημέρα).

3.7 Δείκτης ευαισθησίας των σπορόφυτων (SSI)

Αναφορικά με το δείκτη ευαισθησίας, παρατηρήθηκε μία γενική τάση αύξησης με την αύξηση του επιπέδου καταπόνησης, η οποία αφορούσε στις ποικιλίες Felina και Finola. Εξαιρέση στην τάση αυτή εμφάνισε η ποικιλία Futura, η οποία εμφάνισε αυξημένη τιμή στο επίπεδο των 50mM NaCl και αρνητική τιμή στο επίπεδο των 100mM NaCl. Δεδομένης της πλήρους ανάσχεσης της βλάστησης και ανάπτυξης στο επίπεδο των 200mM NaCl, δεν κατέστη δυνατή η λήψη παρατηρήσεων.

Πίνακας 3.7 Δείκτης ευαισθησίας (SSI) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) την 19^η ημέρα.

Ημέρα	Ποικιλία	Μεταχειρίσεις		
		NaCl (mM)		
19		50	100	200
	Futura	1,2	-1,0	-
	Felina	0,7	2,1	-
	Finola	1,2	2,1	-

3.8 Δείκτης ανθεκτικότητας των σποροφύτων (STI)

Αναφορικά με το δείκτη ανθεκτικότητας, και στις τρεις ποικιλίες παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές στην καταπόνηση των 100mM NaCl έναντι των 50mM NaCl (Πίνακας 3.8). Επίσης, υπήρξε αδιαμφισβήτητη η υπεροχή της ποικιλίας Felina, έναντι των Futura και Finola, τόσο στο χαμηλό (50mM NaCl) όσο και στο μεσαίο επίπεδο καταπόνησης (100mM NaCl). Όπως και στους προαναφερόμενους δύο δείκτες (SVI και SSI), δεν κατέστη εφικτή η εκτίμηση του STI στο επίπεδο των 200mM NaCl.

Πίνακας 3.8 Δείκτης ανθεκτικότητας (STI) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl) την 19^η ημέρα.

Ημέρα	Ποικιλία	Μεταχειρίσεις		
		NaCl (mM)		
19		50	100	200
	Futura	0,4	0,9	-
	Felina	0,9	2,1	-
	Finola	0,2	0,7	-

3.9 Περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη a, χλωροφύλλη b και ολική χλωροφύλλη

3.9.1. Περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλα

Όπως προκύπτει από τα δεδομένα της ανάλυσης, η καταπόνηση της αλατότητας δεν επέφερε σημαντικές μεταβολές στην περιεχόμενη ποσότητα χλωροφύλλης a, όπως αναδεικνύεται από τις μέσες τιμές των μεταχειρίσεων στο σύνολο των ποικιλιών (Πίνακας 3.9). Παρά την απουσία σημαντικών διαφορών, σημειώθηκε αύξηση της περιεχόμενης χλωροφύλλης στις καταπονήσεις των 50mM και 200mM NaCl συγκρινόμενη με τον μάρτυρα. Σε επίπεδο ποικιλιών, την υψηλότερη περιεκτικότητα εμφάνισε η ποικιλία Felina, ακολουθούμενη από τη Finola, ενώ σημαντικά μειωμένη τιμή εμφάνισε η ποικιλία Futura. Αξίζει να αναφερθεί η συμπεριφορά της ποικιλίας Felina, η οποία εμφάνισε αύξηση της συγκέντρωσης χλωροφύλλης στα 200mM NaCl, η οποία μάλιστα ήταν της τάξης του 27% συγκρινόμενη με τον μάρτυρα.

Πίνακας 3.9 Προσδιορισμός χλωροφύλλης a (mg/g νωπού βάρους) ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl).

Ποικιλία	Μεταχειρίσεις				
	NaCl (mM)				
	C	50	100	200	M.O. (Π)
Futura	1,8a	2,4a	1,7b	1,6b	1,9b
Felina	2,9a	2,3a	2,5ab	3,7a	2,9a
Finola	2,8a	2,9a	2,8a	2,8a	2,8a
M.O. (M)	2,5a	2,6a	2,4a	2,7a	

3.9.2 Περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλληb

Η καταπόνηση της αλατότητας δεν επέφερε σημαντικές μεταβολές στην συγκέντρωση χλωροφύλλης b, όπως προκύπτει από τις μέσες τιμές των μεταχειρίσεων για το σύνολο των ποικιλιών (Πίνακας 3.10). Παρά την απουσία σημαντικών διαφορών, διαφάνηκε μία τάση αύξησης της ποσότητας χλωροφύλλης b με την αύξηση του επιπέδου καταπόνησης. Όπως και στην περίπτωση της χλωροφύλλης a, φάνηκε η καλύτερη απόκριση των ποικιλιών Felina και Finola έναντι

της Futura, με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα χλωροφύλλης b να εντοπίζεται στην ποικιλία Finola. Στην ποικιλία Felina, σε συνάρτηση με τα ευρήματα για τη χλωροφύλλη a, παρατηρήθηκε αύξηση της περιεκτικότητας στο επίπεδο των 200mM NaCl.

Πίνακας 3.10 Προσδιορισμός Χλωροφύλλης b (mg/g νωπού βάρους)ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl).

Ποικιλία	Μεταχειρίσεις				
	NaCl (mM)				
	C	50	100	200	M.O. (Π)
Futura	0,6a	0,8a	0,6b	0,6b	0,7b
Felina	0,8a	0,9a	0,9ab	1,2a	0,9a
Finola	1,0a	1,0a	1,0a	1,2a	1,0a
M.O. (M)	0,8a	0,9a	0,8a	1,0a	

3.9.3 Περιεκτικότητα των φύλλων σε ολική χλωροφύλλη

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, η καταπόνηση αλατότητας δεν επηρέασε σημαντικά την περιεκτικότητα των σποροφύτων σε ολική χλωροφύλλη, σημειώνοντας ωστόσο αυξημένες τιμές ολικής χλωροφύλλης στα επίπεδα των 50mM και 200mM NaCl (Πίνακας 3.11). Σε ότι αφορά τις ποικιλίες, τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολική χλωροφύλλη εμφάνισε η ποικιλία Finola, ακολουθούμενη από τη Felina, ενώ καταγράφηκε σημαντικά μειωμένη τιμή στην ποικιλία Futura. Στην ποικιλία Felina, σημειώθηκε αύξηση της ολικής χλωροφύλλης στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (200mM NaCl), όπως και στην Finola, η οποία όμως παρουσίασε παρόμοια επίπεδα και στο χαμηλό επίπεδο καταπόνησης (50mM NaCl).

Πίνακας 3.11 Προσδιορισμός ολικής χλωροφύλλης (mg/g νωπού βάρους)ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl).

Ποικιλία	Μεταχειρίσεις				
	NaCl (mM)				
	C	50	100	200	M.O. (Π)
Futura	2,4a	3,2a	2,3b	2,2b	2,5b
Felina	3,7a	3,2a	3,4ab	4,9a	3,8a
Finola	3,8a	4,0a	3,8a	4,1a	3,9a
M.O. (M)	3,3a	3,5a	3,2a	3,7a	

3.9.4 Προσδιορισμός λόγου χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b

Τα συνολικά δεδομένα υπογραμμίζουν την απουσία σημαντικών διαφορών μεταξύ των διαφορετικών επιπέδων καταπόνησης αλατότητας στον λόγο της χλωροφύλλης a προς τη χλωροφύλλη b, με τις παρατηρήσεις να εμφανίζουν μια ομοιομορφία τιμών τόσο μεταξύ των ποικιλιών όσο και μεταξύ των μεταχειρίσεων (Πίνακας 3.12).

Πίνακας 3.12 Προσδιορισμός λόγου χλωροφύλλης a προς χλωροφύλλη b ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl).

Ποικιλία	Μεταχειρίσεις				
	NaCl (mM)				
	C	50	100	200	M.O. (Π)
Futura	2,8a	2,8a	2,9a	2,7a	2,8a
Felina	3,8a	2,7a	2,9a	3,0a	3,1a
Finola	2,8a	2,9a	2,9a	2,4a	2,8a
M.O. (M)	3,2a	2,8a	2,9a	2,7a	

3.9.5 Περιεκτικότητα των φύλλων σε καροτενοειδή

Αναφορικά με την περιεκτικότητα των φύλλων σε καροτενοειδή (Πίνακας 3.13), είναι αξιοσημείωτο ότι το σύνολο των υπό μελέτη ποικιλιών εμφάνισαν δραστική αύξηση της περιεκτικότητας στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (200mM NaCl), η οποία διέφερε εμφανώς από τις αντίστοιχες τιμές στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, συμπεριλαμβανομένων των μαρτύρων.

Βάσει της μέσης τιμής των γονοτύπων, παρότι δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, οι ποικιλίες επέδειξαν μία σχετική διαφοροποίηση, εμφανίζοντας κατά φθίνουσα σειρά περιεκτικότητα ως ακολούθως: Finola, Felina, Futura. Εντός των μεταχειρίσεων, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών στο μάρτυρα καθώς και στο χαμηλό και μεσαίο επίπεδο καταπόνησης (50 και 100mM NaCl).

Πίνακας 3.13 Προσδιορισμός καροτενοειδών (mg/g νωπού βάρους)ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl).

Ποικιλία	Μεταχειρίσεις				
	NaCl (mM)				
	C	50	100	200	M.O. (Π)
Futura	0,040b	0,053ab	0,036b	0,145a	0,068a
Felina	0,059a	0,052b	0,054ab	0,242a	0,101a
Finola	0,056a	0,064a	0,060a	0,239a	0,104a
M.O. (M)	0,051b	0,056b	0,050b	0,209a	

3.10 Περιεκτικότητα του φυτικού ιστού σε προλίνη

Σχετικά με την περιεκτικότητα των φυτών σε προλίνη, παρατηρήθηκε μία καθολική αύξηση στο σύνολο των καταπονημένων φυτών, η οποία υπήρξε κατά κανόνα ανάλογη της έντασής της, επιφέροντας την πλέον δραστική αύξηση στο επίπεδο των 200mM NaCl (Πίνακας 3.14). Εξάιρεση στην παρατηρηθείσα αυξητική τάση, εμφάνισαν τα φυτά της ποικιλίας Finola, τα οποία παρουσίασαν μειωμένη τιμή σε σύγκριση με το μάρτυρα, στο επίπεδο των 50mM NaCl. Μεταξύ των επιπέδων καταπόνησης, σημαντικά υψηλότερη τιμή καταγράφηκε στα 200mM NaCl, ενώ οι τιμές στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Παράλληλα, καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών, με τη Futura να εμφανίζει τη μεγαλύτερη τιμή, ακολουθούμενη από την Finola. Αντίθετα, η Felina παρουσίασε τη μικρότερη τιμή. Σε συνάρτηση με τις μέσες τιμές των μεταχειρίσεων, το σύνολο των ποικιλιών εμφάνισε μία τάση δραστικής αύξησης της προλίνης στα 200mM NaCl.

Πίνακας 3.14 Προσδιορισμός προλίνης (mg/100g νωπού βάρους)ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0, 50, 100, 200mM NaCl).

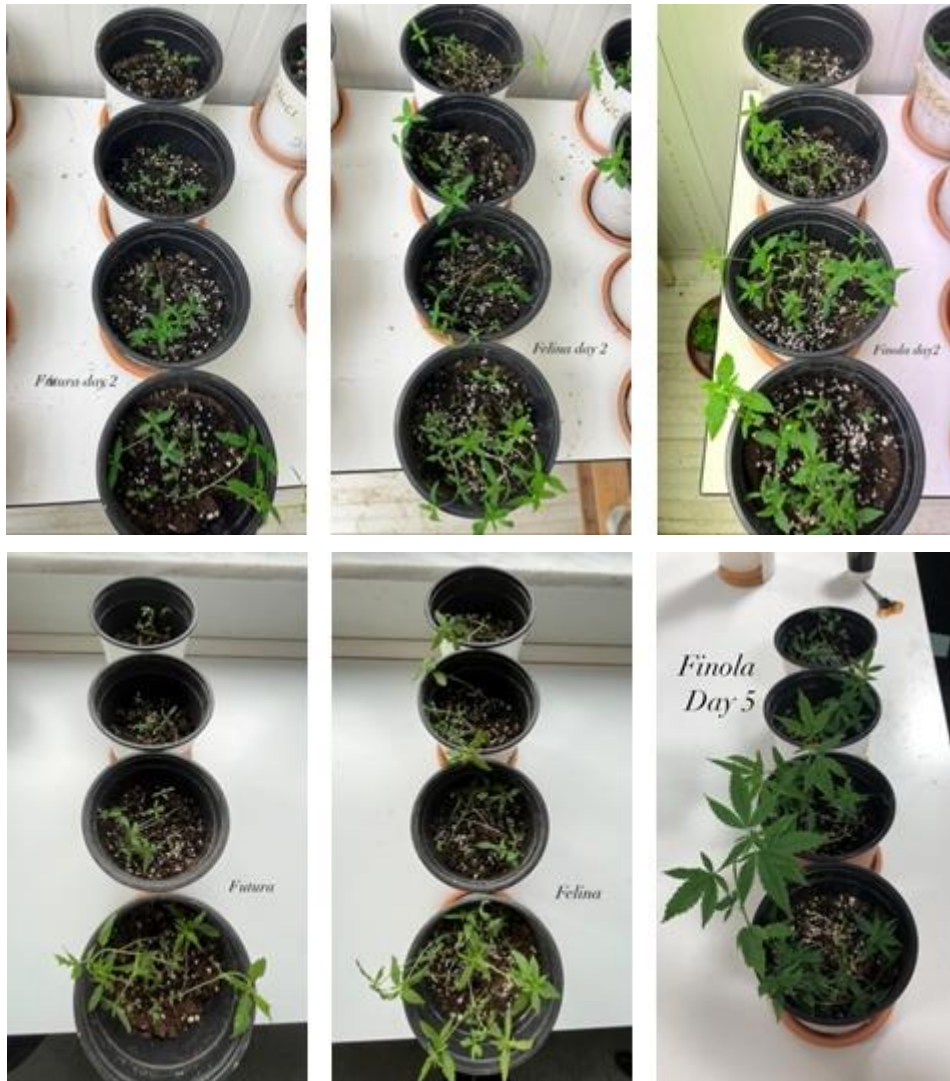
Ποικιλία	Μεταχειρίσεις				
	NaCl (mM)				
	C	50	100	200	M.O. (Π)
Futura	2,0a	3,1a	4,4a	20,7a	7,6a
Felina	3,3a	4,0a	3,7a	4,3c	3,9c
Finola	3,0a	2,5a	4,9a	13,9b	6,1b
M.O. (M)	2,8b	3,2b	4,4b	13,0a	

3.11 Φαινοτυπική έκφραση της καταπόνησης αλατότητας

Σε συνάρτηση με τα ευρήματα που προαναφέρθηκαν σχετικά με την επίδραση των διαφορετικών εντάσεων καταπόνησης στις υπό μελέτη ποικιλίες, σημειώθηκαν επίσης διαφορές που αντανακλώνται σε φαινοτυπικό επίπεδο. Όπως αναμενόταν, οι επιδράσεις της καταπόνησης υπήρξαν ανάλογες της έντασής της, επιφέροντας τις πλέον ορατές μεταβολές στα υψηλά επίπεδα καταπόνησης.

Ειδικότερα, στα επίπεδα αυτά ήταν σαφώς έκδηλη η ανάσχεση της ανάπτυξης στο σύνολο των ποικιλιών καθώς και η εκδήλωση συμπτωμάτων χλώρωσης και μαρασμού. Ιδιαίτερα στο επίπεδο των 200mM NaCl, παρατηρήθηκε δραστικότερη μείωση του ρυθμού ανάπτυξης, η οποία υπήρξε σαφώς εντονότερη στην ποικιλία Futura. Αντίθετα, η ποικιλία Finola χαρακτηρίστηκε από το μεγαλύτερο δυναμικό ανάπτυξης τόσο στους μάρτυρες όσο και στα καταπονημένα φυτά, συμπεριλαμβανομένων αυτών που υποβλήθηκαν στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (200mM NaCl).

Στην Εικόνα 3.1 παρουσιάζονται οι φαινοτυπικές μεταβολές των φυτών έπειτα από την επίδραση της καταπόνησης στα διαφορετικά επίπεδα (0, 50, 100, 200mM NaCl).



Εικόνα 3.1: Φαινοτυπικές μεταβολές ανά ποικιλία (Π) και ανά μεταχείριση (0,50,100,200mM NaCl) σε δύο χρονικά διαστήματα.

4 Συζήτηση

Η υψηλή συγκέντρωση αλάτων στο έδαφος συνιστά καίριο περιοριστικό παράγοντα στη βλάστηση, την ανάπτυξη και την παραγωγικότητα ποικίλων καλλιεργειών, συμπεριλαμβανομένης και της φαρμακευτικής κάνναβης. Υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας, τα φυτά μεταβάλλουν βασικές διεργασίες τους, ενώ υπό συνθήκες ακραίας καταπόνησης καθίσταται αδύνατη η επιβίωση και η επίτευξη έστω και χαμηλής παραγωγικότητας αφορά αποκλειστικά σε ανθεκτικούς γονοτύπους. Δεδομένης της προοδευτικής αλάτωσης των εδαφών, ως απόρροια της συγκέντρωσης αλάτων στο εδαφικό διάλυμα, η δημιουργία και αξιοποίηση ποικιλιών με γενετική ανθεκτικότητα στην καταπόνηση αλατότητας αποτελεί την πλέον αποτελεσματική, αειφόρο και οικονομικά βιώσιμη προσέγγιση για τη διατήρηση της αποδοτικότητας των καλλιεργειών. Ωστόσο, για την επίτευξη του στόχου αυτού βασική προϋπόθεση αποτελεί η δυνατότητα επιλογής ανθεκτικού γενετικού υλικού, ιδιαίτερα στα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια. Αντικείμενο της παρούσας πτυχιακής διατριβής αποτέλεσε η μελέτη της απόκρισης γενετικού υλικού φαρμακευτικής κάνναβης ως προς την ανθεκτικότητα έναντι της καταπόνησης υψηλής αλατότητας στη φάση της βλάστησης. Απώτερο στόχο αποτέλεσε η διερεύνηση της δυνατότητας ταξινόμησης των ποικιλιών με βάση την ανθεκτικότητά τους έναντι της καταπόνησης αλατότητας ώστε να είναι εφικτή η επιλογή κατάλληλης χρήσης τους για καλλιέργεια ή ενσωμάτωση σε προγράμματα βελτίωσης που στοχεύουν στην ανάπτυξη ανθεκτικών ποικιλιών.

Το δυναμικό βλάστησης των σπόρων υπό συνθήκες καταπόνησης έχει αποδειχθεί ότι συνιστά αξιόπιστο κριτήριο γονοτυπικής αξιολόγησης, παρέχοντας ικανοποιητικές ενδείξεις τόσο για το δυναμικό ανάπτυξης και απόδοσης όσο και για την επιτυχή εγκατάσταση της καλλιέργειας (Grzesiaketal., 1996; Aflakietal. 2017). Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης, διατελέσθη αξιολόγηση του ποσοστού βλάστησης και δυναμικού ανάπτυξης σε γενετικό υλικό κάνναβης εφαρμόζοντας 3 διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης αλατότητας (50,100 και 200mM NaCl). Το γενετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε αφορούσε σε τρεις εμπορικές ποικιλίες κάνναβης, τις Futura, Finolakai Felina, οι οποίες χρησιμοποιούνται ευρέως λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε κανναβιδιόλη. Η αξιολόγηση βασίστηκε σε γνωρίσματα που

σχετίζονται με τη βλάστηση και ανάπτυξη των σποροφύτων αλλά και σε ευρέως χρησιμοποιούμενους δείκτες, αναπτυξιακούς και βιοχημικούς, οι οποίοι έχουν αναδειχθεί ως κατάλληλα κριτήρια για την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας σε ποικίλα φυτά είδη. Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκε το ποσοστό βλάστησης των σπόρων, το μήκος βλαστού και μήκος ρίζας, ο δείκτης ευρωστίας, οι δείκτες ευαισθησίας και ανθεκτικότητας, η ικανότητα απορρόφησης νερού των σπόρων και η περιεχόμενη υγρασία των σποροφύτων καθώς και η περιεκτικότητα των φυτών σε χλωροφύλλες και καροτενοειδή και προλίνη. Τα συνολικά αποτελέσματα υπογραμμίζουν την αρνητική επίδραση της καταπόνησης της αλατότητας στο δυναμικό βλάστησης των σπόρων, η οποία στο πλείστο των περιπτώσεων υπήρξε ανάλογη της έντασης της καταπόνησης. Βάσει των επιδράσεων της καταπόνησης, παρατηρήθηκε γενικά μεγαλύτερη ικανότητα βλάστησης σε μάρτυρες, φθίνουσες τιμές βλάστησης στο χαμηλό και μεσαίο επίπεδο καταπόνησης, ενώ, όπως ήταν αναμενόμενο, στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης διαπιστώθηκε αδυναμία βλάστησης στο σύνολο των υπό μελέτη ποικιλιών. Πέραν της έντασης της καταπόνησης, σημειώθηκαν περαιτέρω σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ως προς την ικανότητα βλάστησης υπό συνθήκες καταπόνησης, με την Finolana υπερτερεί, ακολουθούμενη της Felina, ενώ η Futura χαρακτηρίστηκε από σημαντικά μειωμένο δυναμικό βλάστησης καθόλη τη διάρκεια του πειράματος. Τα αποτελέσματα την αρνητική επίδραση της αλατότητας στο δυναμικό βλάστησης και τη συσχέτιση της ικανότητας βλάστησης με το επίπεδο του εφαρμοζόμενου στρες. Συνεπώς, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με την παρατηρηθείσα μείωση του ποσοστού βλάστησης της κάνναβης υπό συνθήκες αλατότητας και, ειδικότερα των ποικιλιών Yunma 5 και η Bamahuona (Huetal.; 2018). Περαιτέρω, ανάλογα ευρήματα έχουν αναφερθεί για πληθώρα καλλιεργούμενων φυτικών ειδών, συμπεριλαμβανομένου του σόργου (Geressuetal., 2008), του ζαχαρότευτλου (GhoulamandFares, 2001) αλλά και της φακής (Fotietal., 2018). Μάλιστα έχει αποδειχθεί ότι η αυξανόμενη συγκέντρωση αλάτων δρα ως αναστολέας της βλάστησης, επιφέροντας μείωση του συνόλου των δεικτών που σχετίζονται με αυτή, με τις επιδράσεις να είναι προφανώς περισσότερο έκδηλες στα υψηλά επίπεδα καταπόνησης. Η αρνητική επίδραση της αλατότητας στην βλάστηση πιθανότατα οφείλεται στο οσμωτικό στρες, το οποίο οδηγεί σε ανάσχεση της απορρόφησης νερού από τους φυτικούς ιστούς (FarhoudiandTafti, 2011; MistraandGupta, 2005), με αποτέλεσμα την επικράτηση λανθάνοντος λήθαργου (Narsiatal., 2015).

Πέραν της βλάστησης, η επίδραση της αλατότητας ήταν έκδηλη και σε αναπτυξιακούς παράγοντες, όπως το μήκος ρίζας και το μήκος βλαστού. Στο σύνολο των γονοτύπων διαφορές παρουσιάστηκε δραστική ανάσχεση της ανάπτυξης σε όλα τα επίπεδα καταπόνησης. Όπως αναμενόταν, οι μεγαλύτερες τιμές μήκους ρίζας και βλαστού σημειώθηκαν στους μάρτυρες, ενώ αυξανόμενη της συγκέντρωσης NaCl παρατηρήθηκε μείωση του δυναμικού ανάπτυξης των σποροφύτων (50mM και 100mM NaCl) και πλήρης ανάσχεση στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (200 mMNaCl). Είναι δε αξιοσημείωτο ότι οι ποικιλίες διαφοροποιήθηκαν σημαντικά ως προς την απόκρισή τους στα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης, με την ποικιλία Finola να διακρίνεται για το μεγαλύτερο μήκος ρίζας, ενώ οι ποικιλίες Futura και Felina ανέπτυξαν σημαντικά μειωμένο και παρόμοιο μεταξύ τους μήκος ρίζας. Κατ' αναλογία, ως προς το μήκος βλαστού, παρά την απουσία στατιστικά διαφορών μεταξύ των ποικιλιών, διαπιστώθηκε η υπεροχή της Finola, υποδεικνύοντας την αυξημένη ανεκτικότητα της έναντι των άλλων ποικιλιών. Αν και οι αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία εκλείπουν σχετικά με την επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στην καλλιέργεια της φαρμακευτικής κάνναβης, οι περιορισμένες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί επιβεβαιώνουν την αρνητική επίδραση του NaCl τόσο στο μήκος ρίζας όσο και στο μήκος βλαστού. Ειδικότερα, σύμφωνα με τη μελέτη των (Huetai., 2018), η καταπόνηση αλατότητας στα επίπεδα των 100, 200 και 300mM NaCl οδήγησε σε δραστικότερη μείωση της ανάπτυξης στις ποικιλίες κάνναβης Yunma 5 (YM5) και Bamahuona (BM), με την BM ωστόσο να εμφανίζει υπερέχουσα επίδοση έναντι της YM5. Προς την ίδια κατεύθυνση, πληθώρα μελετών υπογραμμίζει την αρνητική επίδραση της καταπόνησης αλατότητας στο αναπτυξιακό δυναμικό ποικιλών φυτικών ειδών, όπως το σιτάρι (Dattaetal., 2009), το σόργο (Ahmadetal., 2020) και η φακή (Fotietal., 2018).

Όσον αφορά την ικανότητα απορρόφησης νερού των σπόρων αλλά και την περιεχόμενη υγρασία των σποροφύτων, παρά την ύπαρξη μεμονωμένων διαφορών σε επίπεδο ποικιλίας ή/και μεταχείρισης, τα αποτελέσματα δε συμβάλλουν σε εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων σχετικά με τη συμπεριφορά των ποικιλιών. Η διαπίστωση αυτή απορρέει και από προηγούμενες μελέτες, όπου αναφέρεται ότι τα συγκεκριμένα γνωρίσματα δε συνιστούν κατάλληλους δείκτες για την ευχερή αξιολόγηση της ανθεκτικότητας έναντι της καταπόνησης αλατότητας (Fotietal., 2018).

Εν αντιθέσει, τα ευρήματα της μελέτης καταδεικνύουν τη σημαντικότητα του δείκτη ευρωστίας (SVI) ως κριτήριο αξιολόγησης της ανθεκτικότητας των γονοτύπων στην καταπόνηση αλατότητας, γεγονός που προφανώς απορρέει από τη διαμόρφωσή του βάσει της συνδυασμένης απόκρισης ως προς το δυναμικό βλάστησης των σπόρων και ανάπτυξης των σπορόφυτων παρουσία καταπόνησης (Dhandaetal., 2004). Στο πλαίσιο αυτό, τα αποτελέσματα ανέδειξαν μία τάση μείωσης του SVI ανάλογης της έντασης της καταπόνησης, επιφέροντας αδυναμία εκτίμησής του στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (200mM NaCl), λόγω πλήρους ανάσχεσης της βλάστησης και ανάπτυξης. Τα ανωτέρω ευρήματα συνάδουν πλήρως με προηγούμενες αναφορές στο σόργο, όπου διαπιστώθηκε η αρνητική συσχέτιση του SVI με την ένταση της καταπόνησης αλατότητας (Ahmadetal., 2020). Βάσει των τιμών του SVI, η ποικιλία Finola εμφάνισε την καλύτερη επίδοση, ενώ αντίθετα η ποικιλία Futura αναδείχθηκε ως η πλέον ευαίσθητη στην καταπόνηση.

Περαιτέρω, η μελέτη εστίασε στον υπολογισμό των δεικτών ευαισθησίας (SSI) και ανθεκτικότητας (STI), οι οποίοι έχουν προταθεί ως αξιόπιστα κριτήρια για την εκτίμηση της ανεκτικότητας έναντι αβιοτικών καταπονήσεων, και ειδικότερα της αλατότητας. Πιο συγκεκριμένα, ο δείκτης SSI επιτρέπει την αναγνώριση των ανθεκτικών γονοτύπων, βάσει του ρυθμού μεταβολής της απόδοσης σε βιομάζα, συγκριτικά με συνθήκες απουσίας καταπόνησης, ενώ ο δείκτης STI αντιστοιχεί σε γονότυπους με υψηλό δυναμικό απόδοσης και ανοχή σε διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης (Fernandezetal., 1992). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ανάλυσης, μεγαλύτερες τιμές SSI και συνεπώς μικρότερες STI εμφάνισε η ποικιλία Finola στο σύνολο των υπό μελέτη μεταχειρίσεων, ενώ αντίθετα η ποικιλία Felina παρουσίασε υπερέχουσα επίδοση, παρέχοντας ενδείξεις σχετικά με την ικανότητα αντίστασής της στις επιδράσεις της καταπόνησης αλατότητας. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ποικιλία Futura, βάσει των εν λόγω δεικτών, χαρακτηρίστηκε από ικανοποιητική επίδοση αναφορικά με την ανεκτικότητα έναντι της καταπόνησης, ωστόσο κρίνεται ότι οι παρατηρούμενες επιδόσεις σχετίζονται αμιγώς με το μειωμένο δυναμικό ανάπτυξης της *per se*, και δεν αντικατοπτρίζουν απαραίτητα την αυξημένη ικανότητα αντίστασής της στην καταπόνηση.

Σχετικά με την περιεκτικότητα των φυτικών ιστών σε χλωροφύλλη, παρόλο που θεωρείται αξιόπιστο κριτήριο για την εκτίμηση της ανθεκτικότητας στην αλατότητα, η ομοιομορφία τιμών, στο πλείστο των περιπτώσεων, τόσο μεταξύ των μεταχειρίσεων

όσο και μεταξύ των ποικιλιών δεν επέτρεψε την κατηγοριοποίηση των ποικιλιών με βάση την ανθεκτικότητά τους. Ωστόσο, στο σύνολό τους τα αποτελέσματα σχετικά με την περιεχόμενη ποσότητα χλωροφύλλης κατέδειξαν τη μειωμένη περιεκτικότητα της ποικιλίας Futura σε όλες τις υπό μελέτη μεταχειρίσεις, συμπεριλαμβανομένης αυτής των μαρτύρων.

Τέλος, αναφορικά με την περιεκτικότητα των ιστών σε προλίνη, τα ευρήματα υπογραμμίζουν μια τάση αύξησης της προλίνης, η οποία υπήρξε ανάλογη της έντασης της καταπόνησης, επιφέροντας τις υψηλότερες τιμές στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (200mM NaCl). Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες όπου αναφέρεται ότι η περιεκτικότητα της κάνναβης, και ειδικότερα των ποικιλιών YM5 και BM, αυξάνει με την αυξανόμενη συγκέντρωση NaCl (Huetal., 2018). Σε επίπεδο ποικιλιών, τη μεγαλύτερη συγκέντρωση προλίνης εμφάνισε η ποικιλία Futura, ακολουθούμενη από την Finola, ενώ η μικρότερη συγκέντρωση σημειώθηκε στην ποικιλία Felina. Σχετικά με τη δράση της προλίνης πληθώρα ερευνών καταδεικνύει τη δράση της ως ωσμωρυθμιστικό μόριο που συμβάλλει σε άμβλυνση των οξειδωτικών βλαβών, σταθεροποίηση των κυτταρικών μεμβρανών, περιορισμό των ενεργών μορφών οξυγόνου και μεταγωγή σημάτων καταπόνησης (Matysiketal., 2002; Mahajan and Tuteja, 2005; Hayatetal., 2012). Παρά το γεγονός ότι η αυξημένη συσσώρευση προλίνης γενικά συνδέεται με προηγμένη ανεκτικότητα έναντι των αβιοτικών καταπονήσεων, συμπεριλαμβανομένης της υψηλής αλατότητας, υπάρχουν αναφορές που υπογραμμίζουν ότι οι ευαίσθητοι γονότυποι, που πλήττονται περισσότερο από την καταπόνηση αλατότητας, εμφανίζουν αυξημένη συσσώρευση προλίνης ως αντίδραση στην καταπόνηση. Στο επίπεδο αυτό, η αυξημένη συσσώρευση προλίνης στην ποικιλία Futura, η οποία βάσει της αξιολόγησης αναδείχθηκε ως ευαίσθητη στην καταπόνηση αλατότητας, πιθανά συνδέεται με το γεγονός ότι επηρεάστηκε περισσότερο δραστικά από τα εφαρμοζόμενα επίπεδα καταπόνησης.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν την ύπαρξη διαφορετικής απόκρισης των ποικιλιών κάνναβης, Finola, Felina και Futura, στα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης αλατότητας (50,100,200mM NaCl), λαμβάνοντας υπόψη κυρίως τις αναπτυξιακές παραμέτρους, οι οποίες αναδείχθηκαν ως περισσότερο αξιόπιστες ως δείκτες για την αξιολόγηση της ανεκτικότητας έναντι της καταπόνησης αλατότητας. Είναι δε αξιοσημείωτο ότι οι εν λόγω παράμετροι και δείκτες κατάφεραν

να αναδείξουν την υπάρχουσα γενετική παραλλακτικότητα ως προς την απόκριση του υπό μελέτη γενετικού υλικού στην καταπόνηση, συμβάλλοντας ταυτόχρονα και στην κατηγοριοποίηση των ποικιλιών με βάση την ανθεκτικότητά τους. Βάσει των συνολικών ευρημάτων, αναδείχθηκε η υπερέχουσα επίδοση της ποικιλίας Finola, γεγονός που υποδεικνύει την καταλληλότητά της ως γενετικό υλικό προς ενσωμάτωση σε σχετικές διαδικασίες βελτίωσης. Ακολούθως, η ποικιλία Felina εμφάνισε συνολικά ικανοποιητική ανταπόκριση στην καταπόνηση, βάσει συγκεκριμένων αναπτυξιακών δεικτών, οι οποίοι την κατηγοριοποιούν ως μέτριας ανθεκτικότητας ποικιλία. Τέλος, τα συνολικά αποτελέσματα κατέδειξαν την ευαισθησία της ποικιλίας Futura, στην οποία οι επιδράσεις της καταπόνησης υπήρξαν έκδηλες ακόμη και στα σχετικά χαμηλά επίπεδα στρες. Συμπερασματικά, τα ευρήματα της μελέτης αναδεικνύουν την αποτελεσματικότητα της εν λόγω μεθοδολογίας για τη μελέτη της απόκρισης γενετικού υλικού κάρναβης στην καταπόνηση αλατότητας κατά τα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια.

5 Βιβλιογραφία

Διεθνής Βιβλιογραφία

- Abot, A. Bonnafous, C. Touchard F. et al., (2012). Effects of cul-tural conditions on the hemp (*Cannabis sativa*) phloem fibres: Biological development and mechanical properties, *Journal of Composite Materials*, vol. 47, no. 8, pp. 1067–1077, 2012.
- Abrams DI, Jay CA, Shade SB, Vizoso H, Reda H, Press S, Kelly ME, Rowbotham MC, Petersen KL (2007) Cannabis in painful HIV-associated sensory neuropathy: a randomized placebo-controlled trial. *Neurology* 68:515
- 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): 222-226Ahmadetal. "EffectofSalinityonSeedGerminationandSeedlingDevelopmentofSorghum (*Sorghumbicolor* (L.) Moench) Genotypes".Department of Agronomy and Plant Breeding (2020)
- 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
- Ahmadetal."EffectofSalinityonSeedGerminationandSeedlingDevelopmentofSorghum (*Sorghumbicolor* (L.) Moench) Genotypes".Department of Agronomy and Plant Breeding (2020)
- Amaducci, S., Scordiab, D., Liu, F.H., Zhang, Q.Y., Guo, H., Testa, G., Cosentino, S.L., (2015). Key cultivation techniques for hemp in Europe and China. *Ind. Crop Prod.* 68, 2–16.
- Bouloc, P., Allegret, S., and Arnaud, L. (2012). *Hemp: Industrial Production and Uses*, CABI, Wallingford, UK.
- Carillo P, Gibon Y, Prometheus Wiki Contributors (2011) PROTOCOL: extraction and determination of proline. PrometheusWiki.
- Ceulemans R, Jiang XN, Shao BY (1995). Effect of elevated CO₂ on growth, biomass production and nitrogen allocation of two populus clones. *JBiogeogr* 22:261–268

- Chandra S, Lata H, Khan IA, ElSohly MA (2008). Photosynthetic response of *Cannabis sativa* L. to variations in photosynthetic photon flux densities, temperature and CO₂ conditions. *PhysiolMolBiol Plants* 14:299–306
- Chandra S, Lata H, Khan IA, ElSohly MA (2012a). Temperature response of photosynthesis in different drug and fiber varieties of *Cannabis sativa* L. *PhysiolMolBiol Plants* 17(3):297–303
- Chandra S, Lata H, Khan IA, ElSohly MA (2012b) Photosynthetic response of *Cannabis sativa* L., an important medicinal plant, to elevated levels of CO₂. *PhysiolMolBiol Plants* 17(3):291–295
- Chandra S., Lata H., Ikhlas A., Khan and Mahmoud A., (2017). *Cannabis sativa* L. - Botany and Biotechnology, Springer International Publishing AG 2017
- Datta, J. K., Nag, S., Banerjee, A., and Mondai, N. K. (2009). Impact of salt stress on five varieties of wheat (*Triticumaestivum* L.) cultivars under laboratory condition. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 13(3).
- Deng, C. M. Li, J. Sun, T. and Li, C. J. (2007). Occurrence regularity and control measurements of main diseases and insect pests in hemp,” *Yunnan NongyeKeji*, 4:48-49.
- Devlin RM (1975) *Plant physiology*. 3rd ed. New York, NY 600 p
- Djanaguiraman, M., Sheeba, J.A., Shanker, A.K., Devi, D.D., Bangarusamy, U., (2006). Rice can acclimate to lethal level of salinity by pretreatment with sublethal level of salinity through osmotic adjustment. [Plant Soil. 284 \(1-2\), 363–373.](#)
- Elsohly M., Radwan M., Gul W., Chandra S., Galal A., (2017). *Phytochemistry of Cannabis sativa* L., Springer International Publishing Switzerland
- Farhoudi, R.; Tafti, M.M. Effect of salt stress on seedlings growth and ions homeostasis of soybean (*Glycine max*) cultivars. *Adv. Environ. Biol.* 2011, 5, 2522–2526.
- Fernandez, G.C.J. Effective Selection Criteria for Assessing Plant Stress Tolerance. In *Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and*

- Other Food Crops in Temperature and Water Stress; Kuo, C.G., Ed.; AVRDC Publication: Shanhua, Taiwan, 1992; pp. 257–270
- FotiC, Khah E.M., O. I. Pavli (2018). Germination profiling of lentil genotypes subjected to salinity stress. *Plant Biology*. DOI:10.1111/plb.12714
- Gao, C. Xin, P. Cheng C. *et al.*, (2014). Diversity analysis in *Cannabis sativa* based on large-scale development of expressed sequence tag-derived simple sequence repeat markers, *PLoS One*, 9 (10), article e110638.
- Geressu, K.; Gezaghegne, M. Response of some lowland growing sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) accessions to salt stress during germination and seedling growth. *Afr. J. Agric. Res.* 2008, 3, 044–048
- Ghoulam, C., and Fares, K. (2001). Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.).
- Gilmore S, Peakall R, Robertson J (2003). Short tandem repeat (STR) DNA markers are hypervariable and informative in *Cannabis sativa*: implications for forensic investigations. *Forensic SciInt* 131:65
- 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.
- Guindon J, Hohmann AG (2009). The endocannabinoid system and pain. *Curr Drug Targets CNS NeurolDisord* 8:403
- Gupta, A.K. Effect of salt stress metabolism in two high yielding genotypes of green gram. *Plant Sci.* 2005, 169, 331–339.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., and Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signaling and Behavior*, 7, 1456-1466.
- Hillig KW (2004). A chemotaxonomic analysis of terpenoid variation in *Cannabis*. *BiochemSystEcol* 32:875
- Hillig KW (2005). Genetic evidence for speciation in *Cannabis* (Cannabaceae). *Genet Resour Crop Evol* 52:161

- House J. D., Neufeld J., and Leson, G. (2010). Evaluating the quality of protein from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) products through the use of the protein digestibility-corrected amino acid score method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 58, no. 22, pp. 11801–11807
- Hu, H.R., Liu, H., Liu, F.H., (2018). Seed germination of hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivars responds differently to the stress of salt type and concentration. *Ind. Crop Prod.* 123, 254–261.
- Jiang, Y. (2009). China's water scarcity, *Journal of Environmental Management*, 90(11):3185–3196.
- Kriese U, Schumann E, Weber WE, Beyer M, Brühl L, Matthus B (2004) Oil content, tocopherol composition and fatty acid patterns of the seeds of 51 *C. sativa* L. genotypes. *Euphytica* 137:339
- Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology* 148, 350-382.
- Liu, F.H., Hu, H.R., Du, G.H., Deng, G., Yang, Y., (2017). Ethnobotanical research on origin, cultivation, distribution and utilization of hemp (*Cannabis sativa* L.) in China. *Indian J. Tradit. Know.* 16 (2), 235–242.
- Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444, 139-158.
- Mandolino G, Carboni A, Forapani S, Faeti V, Ranalli P (1999). Identification of DNA markers linked to the male sex in dioecious hemp (*C. sativa* L.). *TheorAppl Genet* 98:86
- Matysik, J. B., Bhal, B. and Mohanty, P. (2002). Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Current Science*, 82, 525-532.
- Mihoc, M., Pop, G., Alexa, E., and Radulov, I. (2012). Nutritive quality of Romanian hemp varieties (*Cannabis sativa* L.) with special focus on oil and metal contents of seeds, *Chemistry Central Journal*, 6 (1): 122-2012.
- 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. *Actaphysiologiaeplantarum*, 33(3), 935-942

- Niu, X.P., Xu, J.T., Chen, T., Tao, A.F., Qi, J.M., 2016. Proteomic changes in kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) leaves under salt stress. *Ind. Crop Prod.* 91, 255–263.
- Poorter H (1993). Inter-specific variation in the growth response of plant to an elevated CO₂ concentration. *Vegetatio* 104:77–97
- Sakamoto K, Abe T, Matsuyama T, Yoshida S, Ohmido N, Fukui K, Satoh S (2005). RAPD markers encoding retrotransposable elements are linked to the male sex in *C. sativa* L *Genome* 48:931
- Salentijn, E.M.J., Zhang, Q.Y., Amaducci, S., Yang, M., Trindade, L.M., (2015). New developments in fiber hemp (*Cannabis sativa* L.) breeding. *Ind. Crop Prod.* 68 (3), 32–41.
- Schäfer T. and Honermeier, B. (2006). Effect of sowing date and plant density on the cell morphology of hemp (*Cannabis sativa* L.), *Industrial Crops and Products*, vol. 23 (1): 88–98
- Serebriakova TY, Sizov IA (1940). *Cannabinaceae*Lindl. In: Vavilov NI (ed) *Kulturnaya Flora SSSR*, vol 5. USSR, Moscow-Leningrad, p 1
- Shi, D.C., Sheng, Y.M., (2005). Effect of various salt-alkaline mixed stress conditions on sunflower seedlings and analysis of their stress factors. *Environ. Exp. Bot.* 54 (1), 8–21.
- Shinozaki K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2007). Gene networks involved in drought stress response and tolerance, *Journal of Experimental Botany*, 58 (2): 221–227.
- Slatkin NE (2007). Cannabinoids in the treatment of chemotherapy-induced nausea and vomiting: beyond prevention of acute emesis. *J Support Oncol* 5:1
- Small E, Marcus D (2002). Hemp: a new crop with new uses for North America. In: Janick J, Whipkey A (eds) *Trends in new crops and new uses*. ASHS Press, Alexandria, VA, p 284
- Umezawa, T., Shimizu, K., Kato, M., Ueda, T., (2000). Enhancement of salt tolerance in soybean with NaCl pretreatment. *Physiol. Plant.* 110 (1), 59–63.
- Van Bakel, H. Stout, J. M. Cote A. G. et al., (2011). The draft genome and transcriptome of *Cannabis sativa*, *Genome Biology*, 12(10).

- Vinocur B. and Altman A. (2005)., Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations, *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 16 (2):123–132.
- Wintermans JEG, De Mots A (1965) Spectrophotometric Characteristics of Chlorophyll a and b and Their Phaeophytins in Ethanol. *Biochimica et Biophysica Acta* 109, 448-453.
- Yang, C.W., Zhang, M.L., Liu, J., Shi, D.C., Wang, D.L., 2009. Effects of buffer capacity on growth, photosynthesis, and solute accumulation of a glycophyte (wheat) and a halophyte (*Chloris virgata*). *Photosynthetica* 47, 55–60.
- Zelitch I (1975) Improving the efficiency of photosynthesis. *Science* 188:626–633
- Zhang, Q. (2007). Strategies for developing Green Super Rice, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, no. 42, pp. 16402–16409.

Πηγές στο Διαδίκτυο

- Burke T., (2018). Improving Medical Marijuana., Available from: <https://newsroom.carleton.ca/story/improving-medical-marijuana/>
- Καραμπουρνιώτης Γ., Λιακόπουλος Γ., (2014). Φυσιολογία καταπονήσεων των φυτών. Έκδοση 1, ΓΠΑ, Διαθέσιμο στη διαδικτυακή διεύθυνση: https://oeclass.aua.gr/openeclass/modules/document/file.php/OCDCS100/GBT_2750_03_2h.pdf
- NAP (2017). The Health Effects of Cannabis and Cannabinoids: The Current State of Evidence and Recommendations for Research (2017) - Chapter:16 Recommendations to Support and Improve the Cannabis Research Agenda., Available from: <https://nap.nationalacademies.org/read/24625/chapter/18>
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. (2017). The Health Effects of Cannabis and Cannabinoids: The Current State of Evidence and Recommendations for Research. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/24625>.