



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ & ΓΕΩΡΓΙΚΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΥ**

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΑΕΙΦΟΡΙΚΗ ΓΕΩΡΓΙΑ, ΣΤΗ  
ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ & ΣΤΗΝ ΑΓΡΟΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΑ

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Μετα-ανάλυση δεδομένων έκφρασης γονιδίων σχετιζόμενων με την  
αντοχή στην αλατότητα του *Cicer arietinum* L.

**Αγγελική Θ. Πετράκη**

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:

Τάνη Ελένη, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ  
2021**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ & ΓΕΩΡΓΙΚΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΥ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Μετα-ανάλυση δεδομένων έκφρασης γονιδίων σχετιζόμενων με την αντοχή στην αλατότητα του *Cicer arietinum* L.

Meta-analysis of gene expression data related to salinity tolerance of *Cicer arietinum* L.

**Αγγελική Θ. Πετράκη**

Εξεταστική Επιτροπή:

Τάνη Ελένη, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ, (επιβλέπτουσα)

Μπεμπέλη Πηνελόπη- Καθηγήτρια ΓΠΑ

Παπαδόπουλος Γεώργιος- Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

**Μετά-ανάλυση δεδομένων έκφρασης γονιδίων σχετιζόμενων με την αντοχή στην αλατότητα του *Cicer arietinum* L.**

ΓΜΣ Καινοτόμες Εφαρμογές στην Αειφορική Γεωργία, στη Βελτίωση Φυτών και στην Αγρομετεωρολογία  
Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής  
Εργαστήριο Βελτίωσης φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αυξημένη αλατότητα του εδάφους επάγει καταπόνηση ξηρασίας. Έρευνες έχουν δείξει ότι η καταπόνηση των φυτών από αλατότητα επάγει ιοντική και οσμωτική καταπόνηση. Συνεπώς, οι επιπτώσεις της καταπόνησης από αλατότητα αποτελούν ένα πολυδιάστατο σύνολο επιμέρους επιπτώσεων που οφείλονται στην ιοντική, οσμωτική καταπόνηση και εκείνη της ξηρασίας. Τα ψυχανθή είναι ιδιαίτερα σημαντικά για τη βιώσιμη γεωργία καθώς συμβάλλουν με την αζωτοδέσμευση στην βελτίωση της γονιμότητας των εδαφών και παρέχουν τρόφιμα πλούσια σε πρωτεΐνες υψηλής διατροφικής αξίας αποτελώντας το θεμέλιο για την αειφορική ανάπτυξη της κτηνοτροφικής παραγωγής. Η αλατότητα των εδαφών αποτελεί κύριο πρόβλημα της σύγχρονης γεωργίας περιορίζοντας την απόδοση και την έκταση της γεωργικής γης. Τα ψυχανθή, φυτά ευαίσθητα στην αλατότητα, αποτελούν σημαντική καλλιέργεια των ξηρών και ημιξηρικών περιοχών που χαρακτηρίζονται από αυξημένη αλατότητα. Η αυξημένη αλατότητα προκαλεί φυσιολογικές αντιδράσεις που συνοδεύονται από την παραγωγή και συσσώρευση ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) και τη μείωση των αμυντικών μηχανισμών των φυτών. Οι ROS ευθύνονται για βλάβες σε κυτταρικό επίπεδο, ενώ παράλληλα λειτουργούν και ως μόρια σήμανσης για επαγωγή μηχανισμών άμυνας. Εξελικτικά, τα φυτά έχουν αναπτύξει αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς άμυνας για την απομάκρυνση των ROS. Ωστόσο, οι σημερινές μας γνώσεις για τη φύση των βλαβών που προξενεί η αυξημένη συγκέντρωση NaCl στα ψυχανθή είναι περιορισμένες. Σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη της γονιδιακής έκφρασης στην αλατότητα του ρεβιθιού (*Cicer arietinum* L.), με την χρήση της διαδικασίας της μετα-ανάλυσης σε αποτελέσματα πειραμάτων, ώστε να μπορέσει να ερευνηθεί καλύτερα η συγκεκριμένη απόκριση. Μελετώντας ανεξάρτητες έρευνες για την ίδια γενική υπόθεση, αποκτώνται πιο αντιπροσωπευτικές και ακριβείς εκτιμήσεις της έκφρασης γονιδίων. Στην παρούσα μελέτη υπολογίστηκε ο αριθμός των στατιστικά σημαντικών γονιδίων. Από την μετα-ανάλυση προέκυψαν 31 οικογένειες γονιδίων που εμφανίζονται κατά την αντίδραση των φυτών στο στρες της αλατότητας, εκ των οποίων οι 3 οικογένειες εμφανίζουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση, οι οποίες δεν γίνονταν εμφανείς από τις μεμονωμένες μελέτες. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι

ο λειτουργικός ρόλος των περισσότερων οικογενειών των γονιδίων που μελετήθηκαν σχετίζονταν με μονοπάτια σηματοδότησης, ρυθμιστές πρωτεϊνών και την ιοντική ισορροπία. Η παρουσία αυτών των οικογενειών γονιδίων αποτελεί ένδειξη για περαιτέρω έρευνα στην συμμετοχή τους στην ανθεκτικότητα των γονοτύπων στην αλατότητα.

**Επιστημονική περιοχή:** Βελτίωση Φυτών

**Λέξεις κλειδιά:** *Cicer arietinum* L., αλατότητα, έκφραση γονιδίων, μετα-ανάλυση

***Meta-analysis of gene expression data related to the salinity tolerance of Cicer arietinum L.***  
*MSc Innovative Applications in Sustainable Agriculture, Plant Breeding and Agrometeorology*  
*Department of Crop Science*  
*Laboratory of Plant Breeding and Biometry*

## **ABSTRACT**

Increased soil salinity induces salt stress. Researches have been proven that salt stress induced ionic and osmotic stress. Therefore, the effects of salinity are a multidimensional set of individual effects due to ionic, osmotic and drought stress. Legumes are particular important for sustainable agriculture as they contribute to nitrogen fixation in improving soil fertility and provide foods rich in high nutritional value of proteins, which are the foundation for the sustainable development of livestock products. On the other hand, agricultural land encounters soil salinity as a major factor limiting crop productivity and crop area. Legumes are salt-sensitive crops, important for the arid and semi-arid areas where increased salinity is the major constraint. This environmental adversity distracts the plant-bacteria relationships impairing nodulation, N<sub>2</sub>-fixation, arresting plant growth resulting in yield decrease and nutritional value. Plant salt stress is accompanied by generation and accumulation of reactive oxygen species (ROS) that are thought to play primary roles in cellular damage, and as signalling molecules. Antioxidant mechanisms are the front line of defence in alleviating the deleterious effects of ROS and protecting plants' cellular integrity. However, current knowledge of the nature of the damage caused by increases NaCl concentrations in legumes is limited. The aim of the present study is to identify the gene expression in the salinity of chickpea (*Cicer arietinum L.*), using the process of meta-analysis of experimental results, so that the specific response can be better investigated. By studying the independent results from each research on the same general hypothesis, more representative and accurate estimates of gene expression are obtained. In the present study, was calculated the number of the significant statistically genes. The meta-analysis revealed thirty-one genes families which involved in the response of plants to salt stress, three of these families shown a statistically significant correlation, which were not evident from the individual studies. It is important to note that the functional role most of the gene families was related to signaling pathways, protein regulators, and ionic balance. The presence of these gene families is an indication for further research into their involvement in the salinity resistance of genotypes.

**Scientific area:** Plant Breeding

**Keywords:** *Cicer arietinum* L., salinity, genes express, meta-analysis

## ΔΗΛΩΣΗ ΕΡΓΟΥ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη, Αγγελική Πετράκη δηλώνω ότι το κείμενο της μελέτης αποτελεί δικό μου, μη υποβοηθούμενο πόνημα. Υποβάλλεται σε μερική εκπλήρωση των απαιτήσεων για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στην «Καινοτόμες Εφαρμογές στην Αειφορική Γεωργία, στη Βελτίωση Φυτών και στην Αγρομετεωρολογία» του Τμήματος Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Δεν έχει υποβληθεί ποτέ πριν για οιοδήποτε λόγο ή για εξέταση σε οποιοδήποτε άλλο πανεπιστήμιο ή εκπαιδευτικό ίδρυμα της χώρας ή του εξωτερικού.

Πετράκη Αγγελική

8/01/2021

.....

(ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ)

(ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ) (Ημέρα, μήνας, έτος)

## Ευχαριστίες

Δράττομαι της ευκαιρίας να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα Καθηγήτριά μου κα. Ελένη Τάνη, για την εμπιστοσύνη που μου επέδειξε, υποστηρίζοντας την προσπάθειά μου, για τις παραγωγικές υποδείξεις της, την καθοδήγηση που μου προσέφερε καθώς και τον πολύτιμο της χρόνο που διέθεσε και το άριστο κλίμα συνεργασίας που διαμόρφωσε, συμβάλλοντας τα μέγιστα για την κατάρτιση της διπλωματικής μου εργασίας.

Τον κ. Γιώργο Παπαδόπουλο Αναπληρωτή καθηγητή, για την καθοριστική και πολύτιμη συμβολή του, με την στοχευμένη καθοδήγησή του και τις εποικοδομητικές του υποδείξεις, σχετικά με τη μετα-ανάλυση για την ολοκλήρωση αυτής της εργασίας. Τον ευχαριστώ επίσης που δέχτηκε να συμμετέχει στην Τριμελή Επιτροπή της πτυχιακής μου εργασίας.

Στο ίδιο πλαίσιο ευγνωμοσύνης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Πηνελόπη Μπεμπέλη, Καθηγήτρια και Διευθύντρια του Εργαστηρίου Βελτίωσης και Γεωργικού Πειραματισμού του ΓΠΑ, για το διαρκές ενδιαφέρον, για την - άνα πάσα στιγμή – συμπαράστασή της, τις γνώσεις που μετέδωσε καθ' όλη την διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος, χωρίς αυτές δεν θα μπορούσα να εντρυφήσω στον τομέα της Βελτίωσης Φυτών, καθώς και για την προθυμία της να δεχτεί να συμμετέχει στην Τριμελής Επιτροπή της πτυχιακής μου εργασίας.

«Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της»



# Περιεχόμενα

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>1</b>
1.1 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΨΥΧΑΝΘΩΝ ΣΤΗΝ ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΓΕΩΡΓΙΑ .....	1
1.2 ΨΥΧΑΝΘΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ.....	2
1.2.1 Το είδος Cicer .....	3
1.2.2 Οικονομική σημασία ρεβιθιού .....	4
1.3 ΤΟ ΚΟΙΝΟ ΡΕΒΙΘΙ ΚΑΙ ΟΙ ΣΤΟΧΟΙ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΕΡΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΟΥ ΣΕ ΑΒΙΟΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΙΚΕΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ.....	5
1.4 Η ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ .....	6
1.4.1 Επιδράσεις της αλατότητας στα φυτά .....	7
1.4.2 Μηχανισμοί ανθεκτικότητας των φυτών .....	9
1.4.3 Βελτίωση της αντοχής στην αλατότητα .....	11
1.4.4 Γονίδια που εμπλέκονται στην εκδήλωση ανθεκτικότητας στην αυξημένη αλατότητα .....	12
1.4.5 Προοπτικές εξέλιξης στις μεθόδους βελτίωσης της ανοχής στην αλατότητα στο ρεβίθι ( <i>C. arietinum</i> L.).....	14
1.5 ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ .....	17
1.5.1 Τι είναι η ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ-Σκοπός.....	17
1.5.2 Πλεονεκτήματα της μετα-ανάλυσης .....	19
1.5.3 Μειονεκτήματα της μετα-ανάλυσης.....	19
1.5.4 Επιλογή στατιστικού μοντέλου .....	21
1.5.5 Μεταανάλυση και ο ρόλος της στη βελτίωση .....	24
1.6 ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ .....	25
<b>2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>26</b>
2.1 ΠΗΓΕΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΛΕΤΩΝ .....	26
2.2 ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ .....	28
2.3 ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΝΤΑΞΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ .....	28
<b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>	<b>38</b>
3.1. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ.....	40
3.2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ (LEA, HSP) ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗΝ ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ.....	42
3.3. ΜΑΤΕ (MULTIDRUG AND TOXIC COMPOUND EXTRUSION) ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ .....	43

3.4 ΑΥΧΙΝ/INDOLE-3-ACETIC ACIDS (AUX/IAA) ΚΑΙ GRETCHEN HAGEN3 (GH3) ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ .....	44
<b>4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>46</b>
<b>5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>48</b>

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Ο ρόλος των ψυχανθών στα σύγχρονα αγροσυστήματα (σχήμα παρμένο από τους Raza et al. 2020).

Εικόνα 2: Επιθυμητά χαρακτηριστικά των οσπρίων (Marhosa and Jideani, 2017).

Εικόνα 3 : Σχηματική αναπαράσταση της απόκρισης των φυτών στην αυξημένη αλατότητα -σχήμα παρμένο από (Nadeem et al. 2019).

Εικόνα 4: Σχηματική αναπαράσταση προσεγγίσεων για την ανάπτυξη ανθεκτικών ποικιλιών ψυχανθών στην αλατότητα. Ο συνδυασμός των -ομικών προσεγγίσεων μαζί με τα εργαλεία επεξεργασίας γονιδιώματος (GE) και τους αγρονομικούς χειρισμούς μπορούν να βελτιώσουν την αντοχή στην αλατότητα των ψυχανθών (Nadeem et al. 2019).

Εικόνα 5: Η αντοχή στην αλατότητα στα γλυκοφυτα αυξάνεται κατά την υπερέκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες μεταφοράς ιόντων, συμβατές οργανικές διαλυτές ουσίες, αντιοξειδωτικές ουσίες, και παράγοντες μεταγραφής. Τα γονίδια αυτά αποτελούν υποψήφια γονίδια για ενσωμάτωση σε καλλιεργούμενες ποικιλίες και δημιουργία γενετικά τροποποιημένων ποικιλιών- παρμένο από (Bartels and Challabathula 2013).

Εικόνα 6: Απλουστευμένο σχήμα που μας δείχνει την χρησιμότητα της μελέτης γονιδίων απόκρισης στην αυξημένη αλατότητα για την δημιουργία τελικά μιας καλλιεργείας ανθεκτικής στην αυξημένη αλατότητα.

Εικόνα 7: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα μετα-ανάλυσης

Εικόνα 8: Η βάση δεδομένων Scopus (κατά την εφαρμογή του ερωτήματος)

Εικόνα 9 : Η βάση δεδομένων Isi Web of Knowledge (κατά την εφαρμογή του ερωτήματος)

Εικόνα 10: Αρχικές κατατάξεις των βιβλιογραφικών αναφορών από τη βάση δεδομένων Web of Science

Εικόνα 11: Αρχικές κατατάξεις των βιβλιογραφικών αναφορών από τη βάση δεδομένων Scopus.

Εικόνα 12: Ταξινόμηση των άρθρων με βάση τα κριτήρια location (αν η μελέτη έγινε σε θερμοκήπιο ή στο αγρό), indices (δείκτες μορφολογικοί -π.χ μήκος ρίζας]/φυσιολογικοί-πχ περιεχόμενο σε χλωροφύλλη ή βιοχημικοί, π.χ συγκέντρωση αντιοξειδωτικών ενζύμων (SOD, CAT and GPOX), statistical analysis (ποια μέθοδος στατιστικής ανάλυσης χρησιμοποιήθηκε), days of treatment (πόσες μέρες διήρκεσε η καταπόνηση), developmental stage (αναπτυξιακό στάδιο των φυτών), NaCl (συγκέντρωση NaCl που εφαρμόστηκε στα φυτά)

Εικόνα 13: Άρθρα που εξαιρέθηκαν επειδή αναφέρονταν σε transgenic plants η rhizobacteria.

Εικόνα 14: Διεύρυνση των κριτηρίων.

Εικόνα 15 : Οι ομάδες γονιδίων που αναλύθηκαν και ο ρόλος τους

Εικόνα 16: Σχηματική αναπαράσταση του τρόπου με τον οποίο οι μεταγραφικοί παράγοντες ρυθμίζουν τις οδούς σηματοδότησης και τις αποκρίσεις στις αβιοτικές καταπόνησεις-παρμένο από(H. Wang et al. 2016).

Εικόνα 17: Μοριακή ρύθμιση της αντοχής στην αυξημένη αλατότητα μέσω ρυθμιστικών και λειτουργικών πρωτεϊνών Οι LEA και HSP βρίσκονται σε πλαίσιο (Kaur and Pati 2017)

Εικόνα 18: Πιθανός τρόπος λειτουργίας των MATE γονιδίων στο ρεβίθι σε συνθήκες αυξημένης αλατότητας. Σχήματα προσαρμοσμένα από τους (Martinoia 2018) και (Teakle and Tyerman 2010).

Εικόνα 19: Δίκτυο αλληλεπίδρασης πρωτεϊνών Aux / IAA με άλλες πρωτεΐνες/παράγοντες μεταγραφής που πιθανώς εμπλέκονται στις αποκρίσεις σε καταπόνησεις (Luo et al. 2018)

Εικόνα 20: Αναγνώριση σήματος καταπόνησης/μεταγωγή σήματος και αποκρίσεις στην καταπόνηση-σχήμα προσαρμοσμένο από τους (Khan et al. 2018).

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Οι 25 κορυφαίες χώρες παραγωγής ρεβιθιού το 2017 σε τόνους και παραγόμενο εισόδημα (πηγή FAO, 2017-(Merga and Haji 2019)

Πίνακας 2: Καθορισμός κριτηρίων για ένταξη μελετών στην μετα-ανάλυση

Πίνακας 3: Υπολογισμός Effect size Q-test I2 μέσω excel

Πίνακας 4: Σύνοψη των μελετών που συμπεριλήφθηκαν στην μετά-ανάλυση

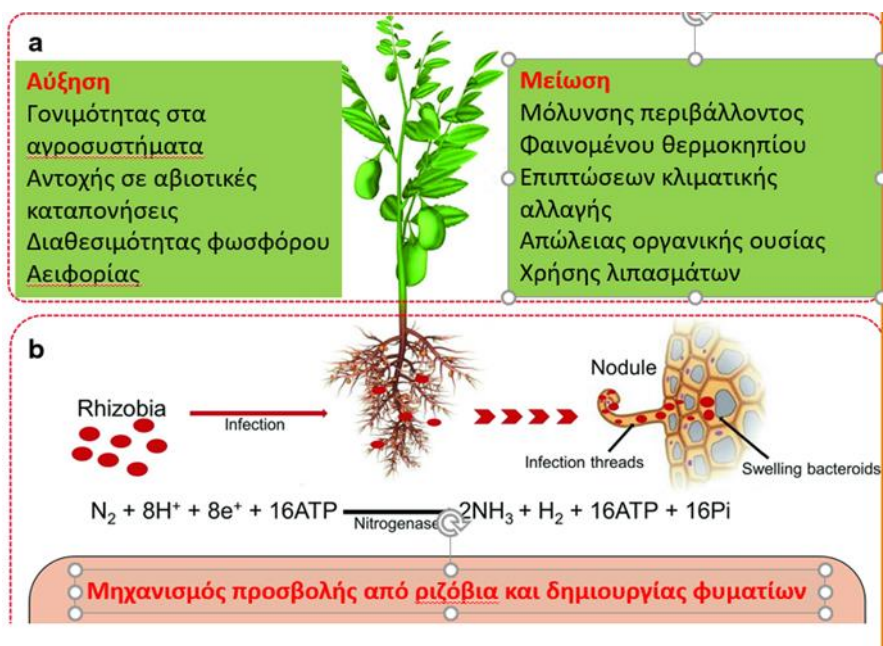
Πίνακας 5: Κατάλογος γονιδίων/οικογενειών γονιδίων από τη δημοσιευμένη βιβλιογραφία για την καταπόνηση στην αλατότητα στο ρεβίθι, και η συχνότητα εμφάνισης στις δημοσιεύσεις που χρησιμοποιήθηκαν για την μεταανάλυση.

Πίνακας 6: Οι οικογένειες γονιδίων που μελετήθηκαν και οι λειτουργίες τους

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Ο ρόλος των ψυχανθών στην σύγχρονη γεωργία

Τα ψυχανθή είναι η δεύτερη μεγαλύτερη οικογένεια φυτών (Cannon *et al.* 2009; Gepts *et al.* 2005; Graham and Vance 2003), με πολλά είδη να παρουσιάζουν μεγάλη φυσική προσαρμοστικότητα σε πολλές περιοχές παγκοσμίως. Αποτελούν σημαντική καλλιέργεια στην βιώσιμη γεωργία και μπορούν να προσφέρουν πολλά οικονομικά και περιβαλλοντικά οφέλη εάν καλλιεργηθούν ευρέως. Οι στατιστικές σχετικά με την ζήτηση τροφίμων επισημαίνουν την αναγκαιότητα των λιπασμάτων για την παραγωγή καλλιεργήσιμων τροφίμων. Τα ψυχανθή παίζουν σημαντικό ρόλο στην αύξηση της παραγωγής αζώτου, λόγω της ικανότητας που διαθέτουν, να δεσμεύουν άζωτο στα φυμάτια των ριζών σε μια συμβιωτική αλληλεπίδραση με τα ριζοβακτήρια του εδάφους. Εξαιτίας της ικανότητά τους να αναπτύσσονται σε εδάφη φτωχά σε νιτρικά, μπορούν αποτελεσματικά να χρησιμοποιηθούν για την βελτίωση της γονιμότητας αυτών των εδαφών. Στα πλεονεκτήματα της καλλιέργειας ψυχανθών συγκαταλέγονται επίσης, η μείωση παρασίτων και επιβλαβών εντόμων, η πρόληψη ασθενειών τόσο στα ίδια τα ψυχανθή όσο και των καλλιεργειών που εναλλάσσονται αυτών, κατά την αμειψισπορά καθώς και η αύξηση της στρεμματικής απόδοσης (Çakir *et al.* 2019) Εικόνα 1.



Εικόνα 1: Ο ρόλος των ψυχανθών στα σύγχρονα αγροσυστήματα (σχήμα παρμένο από τους Raza *et al.* 2020).

Τα ψυχανθή παρέχουν τα πάντα, από ωραία ξυλεία έως φάρμακα, ζωοτροφές και φυσικά τροφή για τον άνθρωπο. Οι σπόροι των οσπρίων χρησιμοποιούνται επίσης για συμπυκνώματα πρωτεΐνης σε ζωοτροφές και για παραγωγή ελαίου για μαγείρεμα, βιοκαύσιμα και βιομηχανικούς σκοπούς (Blair *et al.* 2016; Jensen *et al.* 2012). Τα όσπρια είναι επομένως τόσο ιστορικής όσο και σύγχρονης σημασίας και είναι ιδιαίτερα σημαντική καλλιέργεια λόγω της προσαρμοστικότητας τους σε μεταβαλλόμενα περιβάλλοντα και τις χαμηλές εισροές που χρειάζεται η καλλιέργεια τους (Εικόνα 1).

## 1.2 Ψυχανθή και διατροφή

Τα όσπρια είναι πολύτιμη πηγή θρεπτικών συστατικών, παρέχοντας πρωτεΐνες με τα απαραίτητα αμινοξέα, σύνθετους υδατάνθρακες, φυτικές ίνες, ακόρεστα λίπη, βιταμίνες και απαραίτητα μέταλλα για την ανθρώπινη διατροφή. Η κατανάλωση οσπρίων έχει επίσης αναφερθεί ότι σχετίζεται με πολλά ευεργετικά αποτελέσματα όπως χαμηλή χοληστερίνη, χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη, αντιδιαβητικές και αντικαρκινικές ιδιότητες (Y. Marhosa and Jideani 2017) .

Μια σύνοψη των ευεργετικών ιδιοτήτων των οσπρίων για την ανθρώπινη διατροφή δίνεται στην Εικόνα 2.



Εικόνα 2: Επιθυμητά χαρακτηριστικά των οσπρίων (Marhosa and Jideani, 2017).

### 1.2.1 Το γένος *Cicer*

Το γένος *Cicer* ανήκει στην οικογένεια Leguminosae, υποοικογένεια Papilionaceae και φυλή (tribe) Cicereae. Το γένος *Cicer* αποτελείται από 43 είδη, τα 9 είναι ετήσια και τα 33 πολυετή, που κατατάσσονται σε τέσσερις κατηγορίες sections, Monocicer, Chamaecicer, Polycicer, και Acanthocicer με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά και τον κύκλο ζωής και την γεωγραφική εξάπλωση (Redden and Berger 2007). Τα περισσότερα από αυτά τα είδη βρίσκονται στην Δυτική Ασία και την Βόρεια Αφρική που εξαπλώνονται στην Τουρκία βόρεια στην Αιθιοπία νότια, στο Πακιστάν ανατολικά και στο Μαρόκο δυτικά. Ο Ρώσος βοτανολόγος και γενετιστής Nikolai Vavilov εντόπισε τέσσερα κέντρα ποικιλομορφίας, την Μεσόγειο, την Κεντρική Ασία, στην Ανατολή και την Ινδία, καθώς επίσης και ως δευτερεύον κέντρο την Αιθιοπία. Από τα 9 ετήσια είδη καλλιεργήσιμο είναι μόνο το (*Cicer arietinum* L.). Τα οχτώ υπόλοιπα ετήσια είδη ρεβιθιού είναι άγρια και περιλαμβάνουν τα: *C. reticulatum*, *C. echinospermum*, *C. pinnatifidum*, *C. judaicum*, *C. bijugum*, *C. cuneatum*, *C. chorassanicum* and *C. yamashitae*. Οχτώ ετήσια είδη *C. arietinum*, *C. reticulatum*, *C. echinospermum*, *C. pinnatifidum*, *C. bijugum*, *C. judaicum*, *C. yamashitae* and *C. cuneatum* κατατάσσονται στην κατηγορία Monocicer, *C. chorassanicum* και *C. incisum* (πολυετή είδη) στην κατηγορία (section) Chamaecicer, 23 πολυετή είδη στην κατηγορία (section) Polycicer και επτά ξυλώδης ετήσια είδη στην κατηγορία (section) Acanthocicer (Kazan and Muehlbauer 1991). Ο άγριος μονοετής πρόγονος του ρεβιθιού έχει ταυτοποιηθεί ως *C. reticulatum* L. (Ladizinsky and Adler 1976), και ο πολυετής πρόγονος έχει προταθεί ως *Cicer anatolicum* (Tayyar et al. 1996). Το ρεβύθι (*Cicer arietinum* L.) είναι ετήσιο, ποώδης ψυχανθες που ανήκει στην Leguminosae (γνωστή επίσης Fabaceae ή Papilionaceae), υποοικογένεια Papilionoideae (Faboideae) και φυλή (tribe) Cicereae Alef. και γένος *Cicer* (Kupicha 2008). Το ρεβίθι είναι ένα αυτογονιμοποιούμενο διπλοειδές είδος ( $2n=2x=16$ ), με ένα σχετικά μικρό γονιδίωμα 740Mb (Arumuganathan and Earle 1991).

### 1.2.2 Οικονομική σημασία ρεβιθιού

Το ρεβίθι είναι μια σημαντική καλλιέργεια οσπρίων (τρίτη σε σπουδαιότητα μετά τα φασόλια και το μπιζέλι), παρέχοντας μια πλούσια σε πρωτεΐνη τροφή για ανθρώπους και ζώα. Η περιεκτικότητά του σπόρου του σε πρωτεΐνες αντιπροσωπεύει σχεδόν το 40% του βάρους του. Επίσης αποτελεί μια καλή πηγή σιδήρου, φωσφόρου και φολικού οξέος. Επιπλέον, η κατανάλωση ρεβιθιών έχει πολλαπλά οφέλη για την ανθρώπινη υγεία, μέσα στα οποία συγκαταλέγονται η μείωση των καρδιαγγειακών προβλημάτων, η μείωση της πιθανότητας εμφάνισης σακχάρου και καρκινικών ασθενειών (Jukanti *et al.* 2012; Merga and Haji 2019).

Σε παγκόσμιο επίπεδο, το ρεβίθι καλλιεργείται σε περισσότερες από 56 χώρες, καταλαμβάνοντας έκταση περίπου 17,8 εκατομμύρια εκτάρια (L. Marhosa *et al.* 2020). Η Ινδία είναι η μεγαλύτερη παραγωγός χώρα στο ρεβίθι με παραγωγή ( 67%) παγκοσμίως, ακολουθεί η Αυστραλία (5.9 %), το Πακιστάν (4.6 %), η Βιρμανία (3.8 %), η Τουρκία (3.8 %), η Αιθιοπία (3.3 %) and και το Ιράν (2.3 %) Το ρεβίθι καλλιεργείται επίσης στο Μεχικό τον Καναδά και την Αμερική. Η ετήσια παγκόσμια παραγωγή είναι πάνω από 11 εκ. μετρικούς τόνους , με την Ινδία να υπερβαίνει το 70%. Αν και το δυναμικό παραγωγής είναι υψηλό, εξαιτίας των αβιοτικών καταπονήσεων, δεν έχει υλοποιηθεί πλήρως (Merga and Haji 2019). Οι αποδόσεις των καλλιεργειών ρεβιθιών αυξάνονται σταθερά παγκοσμίως από το 1961 με μια αυξητική τάση άνω των 6 kg / ha ετησίως. Οι σπόροι του ρεβιθιού περιέχουν κατά μέσο όρο 23% πρωτεΐνη και η καλλιέργεια του δεσμεύει το 80% των αναγκών της σε άζωτο, από την συμβιωτική αζωτοδέσμευση (Kantar *et al.* 2007).

Παγκοσμίως, το ρεβίθι κατατάσσεται στην τρίτη θέση μεταξύ των οσπρίων, με παραγωγή 11.67 εκ. τόνων ετησίως. Η έκταση καλλιέργειας από το 1961 έως το 2013 κυμάνθηκε από 11.84 εκ. εκτάρια το 1961 σε 14.56 εκ. εκτάρια το 2017. Η απόδοση άρχισε να αυξάνει στα τέλη της δεκαετίας του 1990. Οι σταθερές αυξήσεις της παραγωγής εμφανίζονται στις αρχές της δεκαετίας του 2000 και συνεχίζονται (Merga and Haji 2019). Αυτή η θετική εξέλιξη είναι πιθανώς το αποτέλεσμα από τα οφέλη που προκύπτουν από συνεχή ερευνητικά προγράμματα για την ανάπτυξη βελτιωμένου γενετικού υλικού υψηλότερης απόδοσης με ποικιλίες που χαρακτηρίζονται από βελτιωμένη αντοχή στις ασθένειες και προσαρμογή στο περιβάλλον. Επίσης σημαντικοί παράγοντες μπορεί να είναι οι βελτιωμένες πηγές σπόρων, οι προμήθειες σπόρων και η συνολική διαχείριση καθώς και οι καλλιεργητικές πρακτικές που ακολουθούνται.

Η Ελλάδα σύμφωνα με τα στοιχεία του FAO το 2017 έρχεται 25<sup>η</sup> σε παγκόσμια παραγωγή ρεβιθιού (Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Οι 25 κορυφαίες χώρες παραγωγής ρεβιθιού το 2017 σε τόνους και παραγόμενο εισόδημα (πηγή FAO, 2017-(Merga and Haji 2019)

Rank	Country	Production (tons)	Value (\$ Int.)
1	India	9,075,000	5,399,278,228
2	Australia	2,004,000	509,718,843
3	Myanmar	526,772	145,218,258
4	Ethiopia	473,570	301,200,212
5	Turkey	470,000	553,835,338
6	Russia Federation	418,646	79,690,834
7	Pakistan	330,000	111,815,326
8	USA	313,210	68,289,011
9	Iran	271,487	236,117,642
10	Mexico	188,939	75,195,218
11	Tanzania	108,136	51,050,207
12	Canada	95,600	69,714,079
13	Argentina	74,001	4,119,369
14	Spain	56,498	18,065,781
15	Yemen	52,709	67,445,442
16	Syria	52,254	23,478,477 <sup>a</sup>
17	Israel	36,300	15,466,468
18	Italy	33,541	24,198,650
19	Bulgaria	32,383	2,004,456
20	Algeria	29,336	11,452,970
21	Morocco	25,364	45,781,052
22	China	15,626	23,504,681
23	Sudan	11,886	13,410,520
24	Nepal	10,969	9,461,406
25	Greece	7,856	15,719,158

### 1.3 Το κοινό ρεβίθι και οι στόχοι βελτίωσης του σε σχέση με την αποτελεσματικότερη απόκριση του σε αβιοτικές και βιοτικές καταπονήσεις

Η καλλιέργεια του ρεβιθιού απαντάται παγκοσμίως κυρίως σε άνυδρες και ημι-άνυδρες περιοχές, όπου είναι ιδιαίτερα ευάλωτη σε πλήθος αβιοτικών καταπονήσεων σε διάφορα στάδια ανάπτυξης κατά τη διάρκεια του βιολογικού του κύκλου. Έχουν καταγραφεί σοβαρές απώλειες απόδοσης λόγω αβιοτικών καταπονήσεων, ειδικά όταν η καλλιέργεια εκτίθεται σε δυσμενείς συνθήκες κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής φάσης, προκαλώντας αστάθεια στην παγκόσμια παραγωγή ρεβιθιού. Η βελτίωση του ρεβιθιού με σκοπό την ευρεία προσαρμογή σε διάφορες συνθήκες ανάπτυξης και διαφορετικές περιοχές ανάπτυξης είναι η καλύτερη στρατηγική προσέγγιση, αλλά απαιτεί έναν εξειδικευμένο συνδυασμό προηγμένων μεθόδων φαινοτύπισης και



γονοτύπισης. Ωστόσο, η βελτίωση και η επιλογή των κατάλληλων γονότυπων στα ρεβίθια περιπλέκεται από τη στενή γενετική βάση που περιορίζει τις πηγές νέων αλληλόμορφων. Η έλλειψη απαιτούμενης γενετικής παραλλακτικότητας στα καλλιεργούμενα είδη κατέστησε αναγκαία την συστηματική συλλογή, τεκμηρίωση και αξιολόγηση των άγριων ειδών *Cicer*, ώστε να χρησιμοποιηθούν σε βελτιωτικά προγράμματα (R. Singh *et al.* 2008). Οι άγριοι συγγενείς μπορούν να αποτελέσουν πολύτιμες πηγές νέων γονιδίων και αλληλομόρφων, και αποτελούν σημαντικό γενετικό πόρο για τους βελτιωτές για την γενική διεύρυνση και τον εμπλουτισμό της διαθέσιμης δεξαμενής γονιδίων (Hengyou Zhang *et al.* 2017).

Ο διειδικός ή μακρυνός υβριδισμός έχει αποδειχθεί ως πιθανό εργαλείο για την αύξηση της γενετικής παραλλακτικότητας και την εισαγωγή γονιδίων ανθεκτικότητας σε καλλιεργούμενα είδη από τους άγριους συγγενείς. Τα κυρίαρχα εμπόδια κατά τους μακρινούς υβριδισμούς περιλαμβάνουν δυσκολίες στη δυνατότητα διασταύρωσης και μη συγχρονισμένο ρυθμό ανάπτυξης στίγματος και ανθών. Παρόλα αυτά, υπήρξαν επιτυχημένες διασταυρώσεις άγριων συγγενών με καλλιεργούμενες ποικιλίες με παρεμβολή γονιδίων για αντοχή / ανοχή σε σηψιρριζίες που προκαλούνται από τον μύκητα *Phytophthora*, αντοχή στον μύκητα *Botrytis* και αντοχή στις χαμηλές θερμοκρασίες (Kumar *et al.* 2019).

## 1.4 Η αλατότητα

Τα φυτά υποβάλλονται σε πλήθος καταπονήσεων καθ'όλη την διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου. Μια από τις κυριότερες περιβαλλοντικές καταπονήσεις που μειώνει την παραγωγικότητα των φυτών είναι η αλατότητα (Nawaz *et al.* 2010).

Εφόσον ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξάνεται, παράλληλα αυξάνεται και η ανάγκη για παραγωγή τροφίμων, συνεπώς η αύξηση της στρεμματικής απόδοσης είναι επιτακτική. Για την επίτευξη αυτού του στόχου, η ενίσχυση της αντοχής στην αλατότητα των φυτών είναι μία σημαντική προσέγγιση (Pitman and Läuchli 2004).

Η αλατότητα αναφέρεται στην ύπαρξη υψηλών συγκεντρώσεων ιόντων (κατά κανόνα  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$ ), κυρίως στην ριζόσφαιρα. Ως παράγοντας καταπόνησης παρουσιάζεται σε εκτεταμένες περιοχές του πλανήτη, στις οποίες για διαφορετικούς λόγους εμφανίζουν υψηλή αλατότητα στο έδαφος. Περίπου το 7% της παγκόσμιας χερσαίας

έκτασης, 20% της παγκόσμιας καλλιεργούμενης γής και σχεδόν το 50% της αρδευόμενης έκτασης, επηρεάζεται από την υψηλή περιεκτικότητα σε άλατα (Zhu 2001). Οι επιπτώσεις της αλατότητας είναι πιο εμφανείς σε άνυδρες και ημιάνυδρες περιοχές. Οι περιορισμένες, βροχοπτώσεις η υψηλή εξατμισοδιαπνοή και οι υψηλές θερμοκρασίες, που συνδέονται με τις κακές πρακτικές διαχείρισης του νερού και του εδάφους αποτελούν τους κυριότερους παράγοντες που συμβάλλουν στην αλατότητα (de Azevedo Neto *et al.* 2006).

Όλα τα εδάφη περιέχουν υδατοδιαλυτά άλατα. Τα φυτά απορροφούν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά με την μορφή διαλυτών αλάτων, αλλά η υπερβολική συσσώρευση καταστέλλει έντονα την ανάπτυξή τους.

Αναφέρεται ως πρωτογενής, όταν η αλατότητα στο έδαφος αναπτύσσεται ως αποτέλεσμα της φυσικής συσσώρευσης αλάτων για μεγάλο χρονικό διάστημα, είτε με την μορφή εναπόθεσης θαλάσσιου αλατιού από τους ανέμους και το νερό είτε λόγω απελευθέρωσης αλάτων από την διάβρωση των βράχων. Ως δευτερογενής αλατότητα, θεωρείται το αποτελέσματα των ανθρώπινων δραστηριοτήτων, όπως οι κακές πρακτικές άρδευσης και λίπανσης. Τα άλατα στο έδαφος εμφανίζονται ως ιόντα (ηλεκτρικά φορισμένες μορφές ατόμων ή ενώσεων). Όταν η κατακρήμνιση είναι ανεπαρκής για την έκπλυση ιόντων από το έδαφος, τα άλατα συσσωρεύονται με αποτέλεσμα την αλατότητα του εδάφους (Blaylock *et al.* 1994).

Στα εδάφη όπου η ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC) στο επίπεδο των ριζών (EC<sub>e</sub>) ξεπερνά τα 4 dSm<sup>-1</sup> (περίπου 40 mM NaCl) στους 25 °C και έχει ένα ανταλλάξιμο νάτριο 15%, τότε τα εδάφη αυτά χαρακτηρίζονται ως αλατούχα (Rana Munns 2005).

#### 1.4.1 Επιδράσεις της αλατότητας στα φυτά

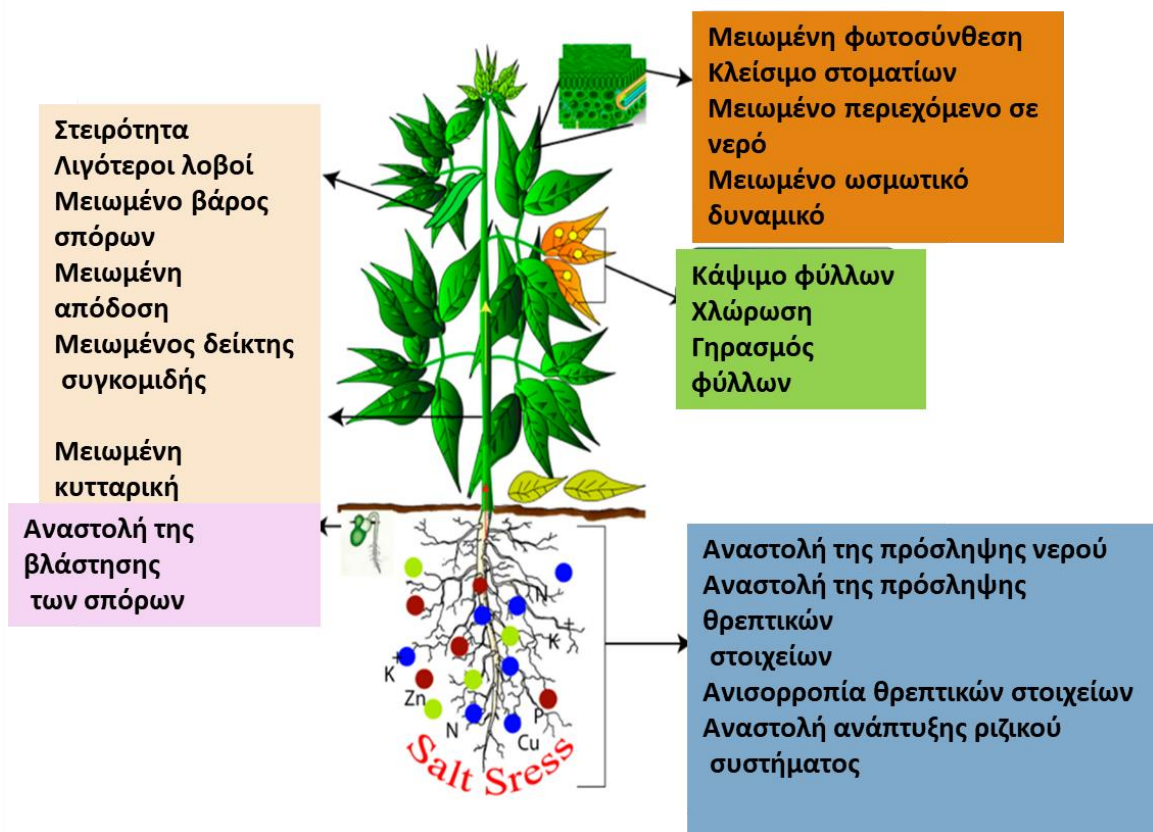
Η αλατότητα του εδάφους επηρεάζει τα φυτά σε διάφορες φυσιολογικές και βιοχημικές διεργασίες που οδηγούν σε μειωμένη βιομάζα. Η καταπόνηση λόγω αυξημένης αλατότητας επηρεάζει τα φυτά σε όλα τα στάδια ανάπτυξης, συμπεριλαμβανομένου της βλάστησης, της άνθησης και της ωρίμανσης, την ενζυματική δραστηριότητα DNA, RNA, και πρωτεϊνική σύνθεση και την μίτωση (Seckin *et al.* 2008; Shrivastava and Kumar 2015; Tabur and Demir 2010). Ωστόσο, η ανοχή στην αλατότητα στα διαφορετικά στάδια ανάπτυξης ποικίλει από είδος σε είδος (Nawaz *et al.* 2010). Τα προβλήματα στην ανάπτυξη των φυτών προκύπτουν άμεσα από την τοξικότητα των ιόντων ή έμμεσα από την έλλειψη διαθεσιμότητας νερού που προκαλείται από την παρουσία ιόντων, τα οποία δημιουργούν ανισορροπία στο οσμωτικό δυναμικό μεταξύ

εδάφους και φυτών (Hasegawa *et al.* 1986; Marschner 1995). Τα κύτταρα των φυτών συρρικνώνονται και αφυδατώνονται μετά την έκθεσή τους στην αλατότητα, ωστόσο επανέρχονται λίγες ώρες αργότερα. Παρά την ανάκαμψη αυτή, η επιμήκυνση των κυττάρων και σε λιγότερο βαθμό η κυτταρική διαίρεση, επηρεάζεται, η οποία με την σειρά της οδηγεί σε χαμηλότερο ρυθμό ανάπτυξης των ριζών και των φύλλων. Μία εβδομάδα μετά την εμφάνιση της αλατότητας, επηρεάζεται η ανάπτυξη των πλευρικών βλαστών, και μετά από ένα μήνα σαφείς διαφορές στην συνολική ανάπτυξη παρατηρούνταν και τα τραύματα είναι ορατά μεταξύ των φυτών που έχουν υποστεί στρες αλατότητας με εκείνα που δεν έχουν. Οι διάφορες φυσιολογικές διεργασίες που επηρεάζονται από την αλατότητα είναι: η κατανομή της αλατότητας, η διαπερατότητα και η αστάθεια της μεμβράνης, εξαιτίας της αντικατάστασης του ασβεστίου από νάτριο (Gupta and Huang 2014) και την μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας (Hasegawa *et al.* 2000).

Έρευνες έχουν δείξει ότι οι περισσότερες ετήσιες καλλιέργειες είναι ανθεκτικές κατά το βλαστικό στάδιο και γίνονται ευαίσθητες κατά το αρχικό στάδιο ανάπτυξης (Lauchli and Grattan 2012; Maas and Grattan 1999). Καθώς το φυτό αναπτύσσεται προς το στάδιο ωρίμανσης, γίνεται περισσότερο ανθεκτικό στην αλατότητα, ειδικότερα σε μεταγενέστερα στάδια ανάπτυξης. Έχει αναφερθεί ότι το στάδιο βλαστικότητας επηρεάζεται από την κυτταρική διαίρεση, αναστολή της κινητοποίησης των αποθεμάτων των τροφών και τον τραυματισμό των υποκοτυλίων (Banerjee and Roychoudhury 2017). Μελέτες στο στάδιο σποροφύτων έχουν δείξει σημαντική μείωση στην ανάπτυξη, όσον αφορά το υπέργειο νωπό βάρος και την ξήρανση των φύλλων (Bot *et al.* 2014).

Η οσμωτική ισορροπία είναι απαραίτητη για τα φυτά που αναπτύσσονται σε αλατούχα εδάφη. Η έλλειψη αυτής έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της σπαργής, την αφυδάτωση των κυττάρων και τελικά τον κυτταρικό θάνατο. Επίσης, οι δυσμενείς επιδράσεις της αλατότητας στα φυτά μπορεί να προκύψουν από την μείωση της αφομοίωσης των φωτοσυνθετικών προϊόντων ή ορμονών στους αναπτυσσόμενους ιστούς (Ashraf and Harris 2004). Η αλατότητα του εδάφους μειώνει δραματικά την απορρόφηση φωσφόρου (P) επειδή τα ιόντα φωσφόρου ιζηματοποιούνται με τα ιόντα ασβεστίου (Bano and Fatima 2009). Ορισμένα στοιχεία, όπως το νάτριο το χλώριο και το βόριο έχουν τοξικές επιδράσεις στα φυτά. Η υπερβολική συσσώρευση νατρίου στα κυτταρικά τοιχώματα μπορεί να οδηγήσει γρήγορα σε οσμωτικό στρες και τελικά σε κυτταρικό θάνατο (R. Munns 2002). Φυτά ευαίσθητα σε αυτά τα στοιχεία μπορεί να επηρεαστούν από σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις αλάτων, εάν το έδαφος περιέχει

αρκετά από αυτά τα τοξικά στοιχεία. Επειδή πολλά άλατα αποτελούν θρεπτικά συστατικά για τα φυτά, τα υψηλά επίπεδα αλάτων στο έδαφος μπορούν να διαταράξουν την θρεπτική ισορροπία (Blaylock *et al.* 1994). Η αλατότητα επηρεάζει την φωτοσύνθεση κυρίως με την μείωση της φυλλικής επιφάνειας και σε μικρότερο βαθμό μέσω της μείωσης της αποτελεσματικότητας του φωτοσυστήματος II (Netondo *et al.* 2004). Όλοι αυτοί οι παράγοντες προκαλούν δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη των φυτών σε φυσιολογικό, βιοχημικό (R. Munns and James 2003) και μοριακό επίπεδο (Tester and Davenport 2003).



Εικόνα 3 : Σχηματική αναπαράσταση της απόκρισης των φυτών στην αυξημένη αλατότητα -σχήμα παρμένο από (Muhammad Nadeem *et al.* 2019b).

#### 1.4.2 Μηχανισμοί ανθεκτικότητας των φυτών

Οι αποκρίσεις των φυτών στην αλατότητα έχουν χωριστεί σε δύο κύριες φάσεις: στην πρώτη παρατηρείται μείωση της ανάπτυξης, που οφείλεται σε ιόντα, και λαμβάνει χώρα μέσα σε λίγα λεπτά έως και μέρες και προκαλεί κλείσιμο των στοματίων και αναστολή της κυτταρικής αύξησης κυρίως στον βλαστό και σε μία δεύτερη η οποία λαμβάνει χώρα για ημέρες ή ακόμη και εβδομάδες και αφορά την συσσώρευση

κυτταροτοξικών ιόντων, που επιβραδύνουν τις μεταβολικές διεργασίες, προκαλούν πρόωρη γήρανση και τελικά κυτταρικό θάνατο.

Τα φυτά κατά την καταπόνηση στην αλατότητα υποφέρουν από δύο σημαντικές επιπτώσεις: την ιοντική ανισορροπία που προκαλείται από την αυξημένη ποσότητα νατρίου στην ριζόσφαιρα και την οσμωτική ανισορροπία που προκαλείται από την δραματική μείωση του οσμωτικού δυναμικού στο έδαφος (Boudsocq and Laurière 2005; Zhu 2002). Κατά συνέπεια, επάγεται ένα τρίτο, συχνά θανατηφόρο οξειδωτικό στρες (Apel and Hirt 2004; Finan and Guilak 2010). Λαμβάνοντας υπόψη αυτές τις αρχικές διεργασίες, η αντοχή στην αλατότητα μπορεί να θεωρηθεί ότι εξαρτάται από τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που περιορίζουν το ποσοστό πρόσληψης  $\text{Na}^{2+}$  του εδάφους που μεταφέρεται στο φυτό και επαναφέρουν ιοντική και οσμωτική ισορροπία στα κύτταρα των ριζών, προκαλούν την έναρξη της γήρανσης και περιορίζουν τις ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS) όπως το υπεροξειδίο [ $\text{O}_2^-$ ], το υπεροξειδίο του υδρογόνου- [ $\text{H}_2\text{O}_2$ ], και ρίζες υδροξυλίου [ $\text{OH}^-$ ] (Apel and Hirt 2004). Η χαμηλή συγκέντρωση νατρίου στο κυτταρόπλασμα είναι απαραίτητη για τα φυτά, ώστε να επιβιώσουν σε εδάφη με υψηλή συγκέντρωση αλατότητας.

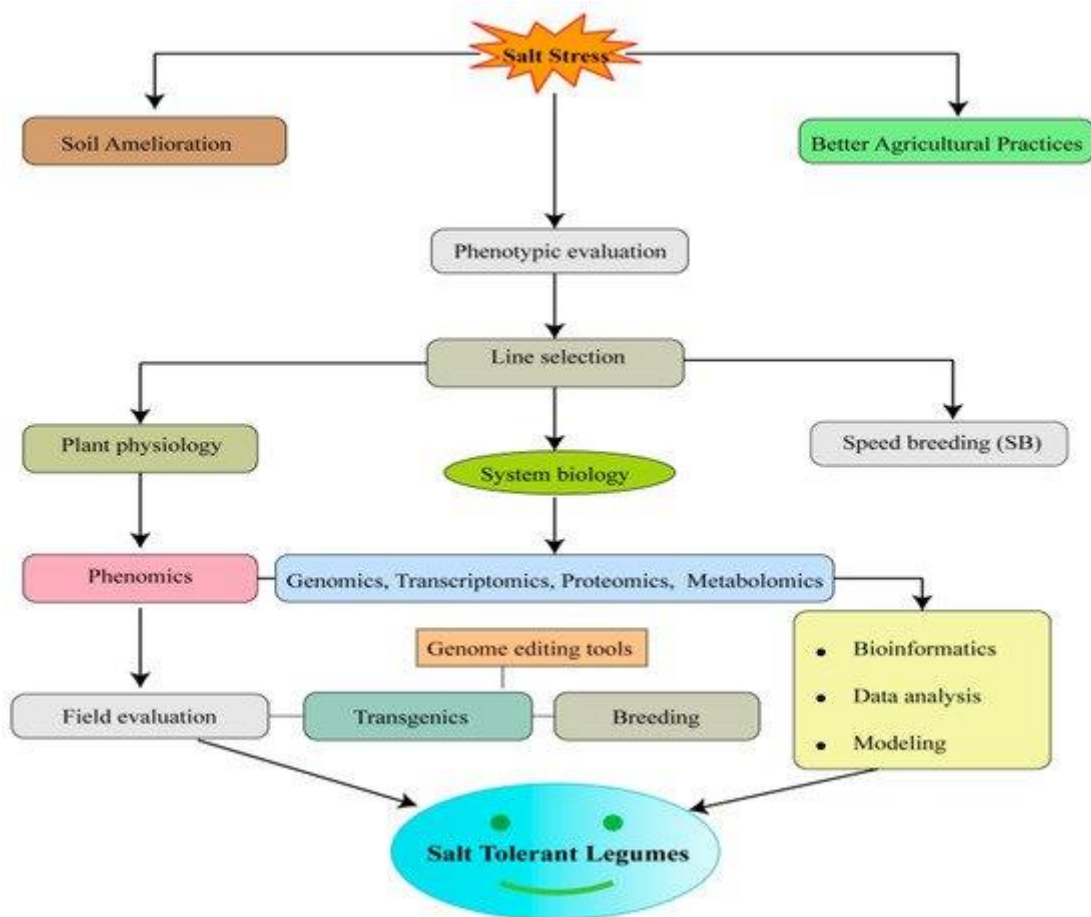
Το στρες αλατότητας χαρακτηρίζεται από την αυξημένη τοξικότητα των ιόντων και το μειωμένο οσμωτικό δυναμικό στα φυτά. Η οσμωτική επίδραση οδηγεί σε μειωμένη ικανότητα των καλλιεργειών να απορροφούν νερό. Σε απάντηση, τα φυτά προκαλούν συμβάντα σηματοδότησης στην πλασματική μεμβράνη ώστε να αλλάξουν την γονιδιακή έκφραση και να μειώσουν την απελευθέρωση νερού μέσω του κλεισίματος των στοματίων (Mohamed *et al.* 2020). Τα μεταβολικά προϊόντα που είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα φυτά συμπεριλαμβάνουν τα αμινοξέα, τα σάκχαρα, τις πολυόλες και τις φυτικές ορμόνες. Αυτοί οι μεταβολίτες λειτουργούν ως ωσμоруθμιστές και προστατεύουν τα φυτά από αβιοτικές καταπονήσεις συμπεριλαμβανομένης και της αυξημένης αλατότητας (Shulaev *et al.* 2008).

Στους ανθεκτικούς γονότυπους η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη προστατεύεται από την υποβάθμιση εξαιτίας της δράσης των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Η αναστολή της σύνθεσης της χλωροφύλλης έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας που οδηγεί σε θάνατο των φύλλων (Yang *et al.* 2020).

Συνοψίζοντας, οι επιπτώσεις της αλατότητας συμπεριλαμβάνουν, χαμηλή γεωργική παραγωγή, χαμηλές οικονομικές αποδόσεις και διαβρώσεις του εδάφους (Y. Hu and Schmidhalter 2005). Οι επιδράσεις της αλατότητας είναι αποτέλεσμα πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ μορφολογικών, φυσιολογικών και βιοχημικών διεργασιών. (Akbarimoghaddam *et al.* 2011; Isayenkov and Maathuis 2019).

### 1.4.3 Βελτίωση της αντοχής στην αλατότητα

Η αλατότητα μπορεί να περιοριστεί: με έκπλυση αλάτων από την ριζόσφαιρα, την αλλαγή των πρακτικών διαχείρισης και την χρήση ανθεκτικών φυτών. Παγκοσμίως διεξάγονται εκτεταμένες έρευνες, για την αντιμετώπιση αβιοτικών καταπονήσεων, μέσω της ανάπτυξης ποικιλιών που είναι ανθεκτικές στην αλατότητα και την μετατόπιση των ημερομηνιών της καλλιέργειας και των πρακτικών διαχείρισης (Venkateswarlu and Shanker 2009).



Εικόνα 4: Σχηματική αναπαράσταση προσεγγίσεων για την ανάπτυξη ανθεκτικών ποικιλιών ψυχανθών στην αλατότητα. Ο συνδυασμός των -ομικών προσεγγίσεων μαζί με τα εργαλεία επεξεργασίας γονιδιώματος (GE) και τους αγρονομικούς χειρισμούς μπορούν να βελτιώσουν την αντοχή στην αλατότητα των ψυχανθών (Muhammad Nadeem et al. 2019b).

Στα ψυχανθή η αλατότητα επιφέρει σημαντικό περιορισμό στην παραγωγή που σχετίζεται με δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη των φυτών, την συμβιωτική δράση των αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων στη ρίζα, και τελικώς στην ικανότητα δέσμευσης αζώτου (Manchanda and Garg 2008). Η καλλιέργεια του ρεβιθιού (*Cicer arietinum* L.) είναι πολύ ευαίσθητη στην αλατότητα, με τους πιο ευαίσθητους γονότυπους να πεθαίνουν μόλις σε 25mM NaCl και οι ανθεκτικοί γονότυποι είναι απίθανο να επιβιώσουν στα 100 mM NaCl στην υδροπονία; η βλάστηση είναι πιο ανθεκτική σε σπάνιους γονοτύπους που φτάνει τα 320mM NaCl (Flowers and Colmer 2008).

#### 1.4.4 Γονίδια που εμπλέκονται στην εκδήλωση ανθεκτικότητας στην αυξημένη αλατότητα

Τα τελευταία 30 χρόνια, τεράστια πρόοδος έχει σημειωθεί στην απομόνωση και στον μοριακό χαρακτηρισμό γονιδίων που εμπλέκονται στην ανοχή των φυτών στην αλατότητα.

Αυτά τα υποψήφια γονίδια μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο ομάδες: σε γονίδια τελεστές και σε γονιδια ρυθμιστές. Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει κυρίως γονίδια κωδικοποίησης, μεταφορείς ιόντων, ένζυμα που εμπλέκονται στην οσμωτική βιοσύνθεση και αντιοξειδωτικές πρωτεΐνες όπως Heat Shock Proteins (HSP) και Late Embryogenesis Abundant proteins (LEA). Η δεύτερη ομάδα συμπεριλαμβάνει γονίδια που εμπλέκονται σε ρυθμίσεις μεταγραφής και μετα-μεταγραφής καθώς και σε μονοπάτια σηματοδότησης, όπως πρωτεϊνικές κινάσες, φωσφατάσες και πρωτεάσες (Gupta and Huang 2014; S. Jha 2019; Mishra and Tanna 2017).

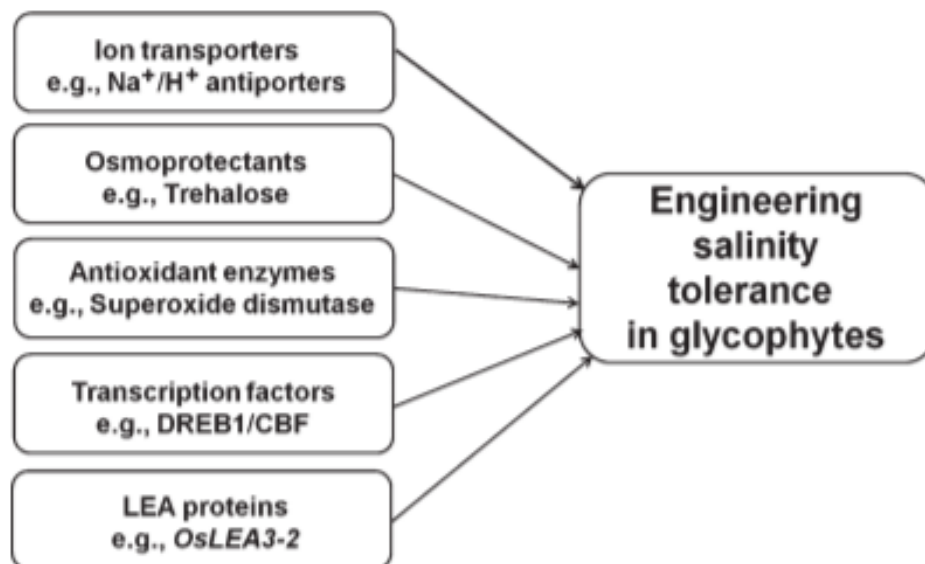
Οι μεταφορείς ιόντων είναι υποψήφιοι μεταξύ των τελεστών, στην βελτίωση της αντοχής στην αλατότητα, δεδομένου ότι συμμετέχουν στην αποτοξίνωση (salt detoxification) και στην ιονική ομοιόσταση (Assaha *et al.* 2017).

Υπό συνθήκες αυξημένης αλατότητας, μαζί με τον αποκλεισμό του Na<sup>+</sup> από το κυτταρόπλασμα, το φυτικό κύτταρο συσσωρεύει ένα ευρύ φάσμα συμβατών διαλυτών, ή οσμολυτών ώστε να ισορροπεί την οσμωτική πίεση των ιόντων στο χυμοτόπιο. Η σουρκόζη, η προλίνη και η γλυσίνη βεταΐνη, βρίσκονται μεταξύ των μελετημένων οσμολυτών που συσσωρεύονται κάτω από αυξημένη αλατότητα σε ορισμένα είδη φυτών συμπεριλαμβανομένων των αλοφύτων (T J Flowers *et al.* 1977). Ως εκ τούτου, η υψηλότερη συσσώρευση αυτών των ενώσεων στα φυτά, θεωρείται πιθανός τρόπος για την βελτίωση της ανοχής των καλλιεργειών στην αλατότητα.



Η υπερ-συσσώρευση ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) μπορεί να οδηγήσει στην καταστροφή των φυτικών ιστών κατά την καταπόνηση αλατότητας. Τα φυτά αποδομούν τις ROS με την υπερέκφραση ενζύμων όπως SOD, CAT, APX, και glutathione peroxidase. Συνεπώς η υπερέκφραση των ROS-scavenging enzymes έχει αποδειχθεί ότι ενισχύει την αντοχή των φυτών σε διάφορες καταπονήσεις συμπεριλαμβανομένου και της αλατότητας (*AbdElgawad et al. 2016; Boestfleisch et al. 2014; Bose et al. 2013*).

Έχει επίσης αποδειχθεί ότι μεταγραφικοί παράγοντες που ανήκουν στις οικογένειες DREB, NAC, MYB, MYC, Cys2/His2 zinc finger, bZIP, AP2/ERF, και WRKY σχετίζονται με την αντοχή των φυτών στην καταπόνηση της αλατότητας (*Finatto et al. 2018; Gollack et al. 2011; Gollack et al. 2014*). Συνοψίζοντας, οι μελέτες υπερέκφρασης γονιδίων από διαφορετικές μεταβολικές οδούς συμπεριλαμβανομένων τη σύνθεση οσμολυτών, την ομοίωση ιόντων και του αντιοξειδωτικού μεταβολισμού έδωσαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα επιτυχημένης απόκρισης των φυτών σε συνθήκες αυξημένης αλατότητας (Εικόνα 5).



Εικόνα 5: Η αντοχή στην αλατότητα στα γλυκοφυτα αυξάνεται κατά την υπερέκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες μεταφοράς ιόντων, συμβατές οργανικές διαλυτές ουσίες, αντιοξειδωτικές ουσίες, και παράγοντες μεταγραφής. Τα γονίδια αυτά αποτελούν υποψήφια γονίδια για ενσωμάτωση σε καλλιεργούμενες ποικιλίες και δημιουργία γενετικά τροποποιημένων ποικιλιών- παρμένο από (*Bartels and Challabathula 2013*).



Αξιοσημείωτη, εξακολουθεί να είναι μέχρι τώρα, η δυσκολία στην παραγωγή και εμπορία ποικιλιών πιο ανθεκτικές στην αλατότητα. Αυτό οφείλεται σε διάφορους παράγοντες, όπως στις συνθήκες ανάπτυξης των φυτών στα εργαστήρια όπου διαφέρουν πολύ από τις συνθήκες πεδίου. Οι δοκιμές πεδίου συχνά απαγορεύονται ή περιορίζονται σε αρκετές χώρες. Κυρίως πρέπει να ληφθεί υπόψιν, η δυνατότητα παρακολούθησης και μέτρησης διαφόρων περιβαλλοντικών αλλαγών που επηρεάζουν τις καλλιέργειες όπως (υγρασία, σύνθεση εδάφους, ένταση φωτός κ.λ.π) (Ashraf and Wu 1994). Οι εργαστηριακές έρευνες και η διεξαγωγή δοκιμών πεδίου κάτω από ξεχωριστές περιβαλλοντικές συνθήκες είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη γενετικά βελτιωμένων ποικιλιών ανθεκτικών στην αλατότητα.

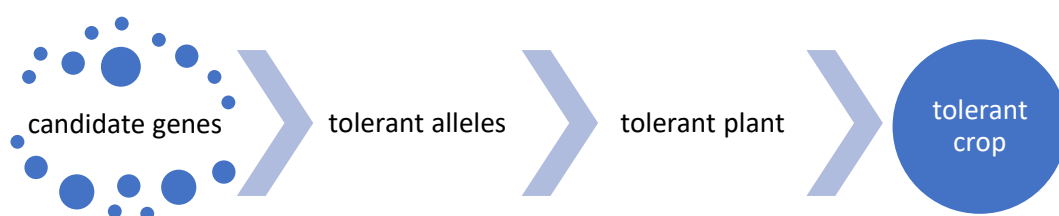
Συνοψίζοντας ένας συνδυασμός προσεγγίσεων θα επιταχύνει τον εντοπισμό και τον χαρακτηρισμό γονιδίων που εμπλέκονται στην ανοχή στην αλατότητα, τα οποία μπορούν να ενσωματωθούν σε elite ευαίσθητες στην αλατότητα ποικιλίες μέσω της βελτίωσης υποβοηθούμενης από μοριακούς δείκτες (Marker-assisted breeding) (Ashraf *et al.* 2012).

Επίσης η targeted genome editing using CRISPR-Cas9 τεχνολογία, έχει προκύψει ως εναλλακτική λύση στις κλασσικές μεθόδους βελτίωσης και στις διαγονιδιακές μεθόδους (GMO). Η CRISPR-Cas9 τεχνολογία επιτρέπει τον σχεδιασμό και την ενσωμάτωση με ακρίβεια αλληλομόρφων που ενισχύουν την αντοχή των φυτών στην αυξημένη αλατότητα (Farhat *et al.* 2019).

#### 1.4.5 Προοπτικές εξέλιξης στις μεθόδους βελτίωσης της ανοχής στην αλατότητα στο ρεβίθι (*C. arietinum L.*)

Η αλατότητα είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επιδρά στην απόδοση της καλλιέργειας του ρεβιθιού (Toker *et al.*, 2007). Η εκ βάθρων κατανόηση των γενετικών καθοριστικών παραγόντων της ανοχής στην αλατότητα είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την βιοτεχνολογία ή την μοριακή βελτίωση ώστε να αναπτυχθούν ποικιλίες ανθεκτικές στην αλατότητα. Σε σημαντικές καλλιέργειες, όπως το κριθάρι, οι στρατηγικές βελτίωσης έχουν επικεντρωθεί στην στοχευμένη τροποποίηση της ωσμωτικής ανοχής και των μηχανισμών αποκλεισμού ιόντων και έχουν οδηγήσει σε υψηλή αντοχή ιόντων στους ιστούς (Shabala *et al.* 2010). Δεδομένου ότι η υψηλή ανοχή ιόντων στους ιστούς προσδιορίστηκε πρόσφατα ως βασικός μηχανισμός για την αντοχή στην αλατότητα στο ρεβίθι, είναι επακόλουθο να προταθεί μία στρατηγική για

την βελτίωση των μηχανισμών ρύθμισης των ion channel, η οποία θα ήταν σημαντική για την βελτίωση της αντοχής στην αλατότητα σε αυτό το είδος (Kaashyar *et al.* 2018). Οι βελτιωτές έχουν στραφεί στους άγριους συγγενείς του ρεβιθίου ως εναλλακτική γενετική πηγή βελτίωσης της καλλιέργειας. Η έρευνα τα τελευταία χρόνια έχει οδηγήσει σε αυξημένη κατανόηση των εξελικτικών σχέσεων εντός του γένους *Cicer* και την ταυτοποίηση των άγριων ειδών, δίνοντας την μέσω των νέων τεχνολογιών να μεταφέρουν γονίδια ανθεκτικά από τα άγρια είδη στα καλλιεργούμενα. Αν και το ρεβίθι είναι ένα είδος ευαίσθητο στην αλατότητα, φαίνεται να υπάρχει γενετική παραλλακτικότητα, ικανή να βελτιώσει την απόδοση κάτω από συνθήκες καταπόνησης μέσω βελτιωτικών προγραμμάτων (Atieno *et al.* 2017). Τα προγράμματα βελτίωσης θα πρέπει να αποσκοπούν στην αύξηση των αποδόσεων κάτω από ήπιες συνθήκες αλατότητας (π.χ.  $EC_e$  μέχρι  $8 \text{ dS m}^{-1}$ ), όπως συμβαίνει στις αρδευόμενες καλλιέργειες με 'παροδική αυξημένη αλατότητα' στο υπέδαφος. Απαιτούνται επιλογές στην αντοχή στην αλατότητα σε όλο το κύκλο ζωής του φυτού, με έμφαση στην χρήση πειραμάτων πεδίου όπου η απόδοση προσδιορίζεται από την σχέση γονότυπος  $\times$  περιβάλλον (M. Nadeem *et al.* 2019a). Καθώς οι κατατάξεις των γονοτύπων για αντοχή στην αλατότητα μπορεί να διαφέρουν μεταξύ του βλαστικού και αναπαραγωγικού σταδίου, η προσέγγιση μέσω πυραμιδωσης γονιδίων, η οποία συνδυάζει αυτές τις πηγές ανθεκτικότητας για τα διάφορα αναπτυξιακά στάδια, καθώς και ο πιθανός συνδυασμός γονιδίων που σχετίζονται με κάθε στάδιο ξεχωριστά, μπορεί να φανεί χρήσιμο στην αύξηση ανθεκτικότητας με την χρήση μοριακών δεικτών (Flowers and Colmer 2008).



Εικόνα 6: Απλουστευμένο σχήμα που μας δείχνει την χρησιμότητα της μελέτης γονιδίων απόκρισης στην αυξημένη αλατότητα για την δημιουργία τελικά μιας καλλιέργειας ανθεκτικής στην αυξημένη αλατότητα.

Έχει αλληλουχηθεί ~738-Mb του γονιδιώματος από την ποικιλία CDC Frontier, (τύπος ρεβιθίου kabuli), ο οποίος περιέχει κατά προσέγγιση 28,269 γονίδια (Warkentin *et al.* 2005). Συνεχίζεται η κατασκευή γενετικών χαρτών και η τοποθέτηση στους γενετικούς χάρτες QTLs που ελέγχουν την αντοχή στην αλατότητα. Σε μια σχετικά πρόσφατη έρευνα μελετήθηκαν δύο major QTL για αυξημένες αποδόσεις υπό συνθήκες

αλατότητας που εξηγούν το 12 και 17% αντίστοιχα της φαινοτυπικής παραλλακτικότητας (Pushravalli *et al.* 2015).

Τα δεδομένα αυτά παρέχουν γνώσεις τόσο για την ποικιλομορφία του διαθέσιμου γενετικού υλικού ως προς την αντοχή στην αυξημένη αλατότητα που θα βοηθήσουν στην βελτίωση των καλλιεργούμενων ποικιλιών (Varshney *et al.* 2013). Τέλος, η κατανόηση και αξιοποίηση των αποτελεσμάτων κι άλλων "ομικών" τεχνολογιών πέραν των γονιδιωματικών έχει βοηθήσει στην αναγνώριση του λειτουργικού ρόλου υποψήφιων γονιδίων ή και QTL που σχετίζονται με το σύνθετο γνώρισμα της αντοχής στην αυξημένη αλατότητα σε αρκετά ψυχανθή συμπεριλαμβανομένου και του ρεβιθιού (U. C. Jha *et al.* 2019).

## 1.5 META-ΑΝΑΛΥΣΗ

### 1.5.1 Τι είναι η META-ΑΝΑΛΥΣΗ-Σκοπός

**Η μετα-ανάλυση** είναι ένα σύνολο τεχνικών που χρησιμοποιούνται “για να συνδυαστούν τα αποτελέσματα μιας σειράς διαφορετικών εκθέσεων, σε μία έκθεση για να δημιουργηθεί μια ενιαία ακριβέστερη εκτίμηση ενός αποτελέσματος” (R. Ferrer 1998b). Η ποσοτική δηλαδή σύνθεση των ευρημάτων παρόμοιων αλλά ανεξάρτητων μελετών και η στατιστική εκτίμηση ενός συνολικού/συγκεντρωτικού αποτελέσματος.

Ο σκοπός της μετά-ανάλυσης είναι:

1. Η αύξηση της στατιστικής ισχύος
2. Η αντιμετώπιση διαμάχης όταν οι μεμονωμένες μελέτες έρχονται σε αντίθεση η μία με την άλλη
3. Η βελτίωση των εκτιμήσεων του μεγέθους της επίδρασης κάθε μελέτης στο τελικό/συγκεντρωτικό αποτέλεσμα (effect size)
4. Η απάντηση σε νέες ερωτήσεις που δεν τέθηκαν σε προηγούμενες μελέτες (J. E. Hunter and Schmidt 1990).

Αν και η συχνότητα με την οποία χρησιμοποιείται η μετα-ανάλυση ολοένα και αυξάνεται, έχει και τους επικριτές της (Egger *et al.* 1997). Στην πραγματικότητα είναι μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση στις γεωργικές επιστήμες, αλλά η εφαρμογή της απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή (Philibert *et al.* 2012).

Η πρώτη «απόπειρα» μετα-ανάλυσης έγινε από τον (Pearson 1904). Ο Pearson συνόψισε δείκτες συσχέτισης από σειρά μελετών για να αποδείξει την υψηλή συσχέτιση εμβολιασμού και επιβίωσης από την ιλαρά. Ο Fisher το 1944 διατύπωσε την παρακάτω φράση που βρίσκεται στον πυρήνα της μεθοδολογίας της μετα-ανάλυσης: “When a number of quite independent tests of significance have been made, it sometimes happens that although few or none can be claimed individually as significant, yet the aggregate gives an impression that the probabilities are on the whole lower than would often have been obtained by chance” (παρμένο από τους (Lipsey and Wilson 2001). Τον όρο meta-analysis όμως εισήγαγε ο Glass το 1976 (Glass 1976). Η πρώτη εφαρμογή της μετα-ανάλυσης έγινε από τους (Smith and Glass 1977) στην ψυχιατρική βιβλιογραφία.

Τελευταία είναι δημοφιλής ως μέθοδος επίλυσης προβλημάτων σε μελέτες γονιδιακής έκφρασης και αποτελεί ένα ισχυρό εργαλείο για την αξιολόγηση των επιδράσεων των υποψήφιων γονιδίων στα σύνθετα ποσοτικά γνωρίσματα (Fan *et al.* 2015; Waldron and Riestler 2016).

Τα βήματα που ακολουθούνται:

- Διατύπωση ερευνητικού ερωτήματος
- Καθορισμός κριτηρίων ένταξης και αποκλεισμού μελετών
- Συλλογή των δεδομένων
  - Αναζήτηση: από συμπληρωματικές πηγές (βάσεις βιβλιογραφικών δεδομένων, οι αναφορές των εργασιών που έχουν συμπεριληφθεί, οι αναφορές σημαντικών βιβλίων στην ερευνητική περιοχή του θέματος, ειδικοί κ.α.)
  - Επιλογή (αποκλεισμός βάσει τίτλου, περίληψης, πλήρους κειμένου, 2 ανεξάρτητοι μελετητές)
  - Εξαγωγή και καταγραφή των δεδομένων (πίνακας με : συγγραφείς, έτος, χώρα, πειραματικό σχέδιο μελέτης, μέγεθος δείγματος, μέγεθος αποτελέσματος/effect size, SD, CI,...)
- Στατιστική ανάλυση
- Παρουσίαση αποτελεσμάτων
  - Δενδρόγραμμα (forest plot)

Το δενδρόγραμμα είναι εξαιρετικά χρήσιμο, καθώς με μία μόλις ματιά μπορεί ο αναγνώστης να εξάγει ένα πλήθος συμπερασμάτων. Συγκεκριμένα: (α) αν το συγκεντρωτικό αποτέλεσμα έχει εξαχθεί από τη σύνθεση πολλών ή λίγων μελετών, καθώς και πόσες και ποιες είναι αυτές οι μελέτες. (β) αν το συγκεντρωτικό αποτέλεσμα βασίζεται σε πολλές ή λίγες μελέτες. (γ) αν οι εκτιμητές αποτελέσματος των πρωτογενών μελετών είναι κοντά αριθμητικά και εάν τα διαστήματα εμπιστοσύνης τους επικαλύπτονται. (δ) κατά πόσο μελέτες με ακραίες τιμές μεγέθους αποτελέσματος συμπεριλαμβάνονται στη μετα-ανάλυση
- Ερμηνεία αποτελεσμάτων

### 1.5.2 Πλεονεκτήματα της μετα-ανάλυσης

#### 1.6.2 Πλεονεκτήματα της μετα-ανάλυσης

Τα κυριότερα πλεονεκτήματα της μεθοδολογίας (J. Hunter and Schmidt 2004; Walker *et al.* 2008) είναι τα εξής:

- Τα αποτελέσματα των μετα-αναλύσεων μπορούν να παρέχουν καλύτερες εκτιμήσεις από τις μεμονωμένες μελέτες. Η ακρίβεια και η εγκυρότητα των εκτιμήσεων μπορούν να βελτιωθούν καθώς χρησιμοποιούνται περισσότερα δεδομένα, και το αυξημένο ποσοστό των δεδομένων αυξάνει τη στατιστική ισχύ για την έκβαση ενός αποτελέσματος.
- Η ασυνέπεια των αποτελεσμάτων μεταξύ των μελετών μπορούν να αναλυθούν (π.χ. publication bias, differences in the representativeness of samples). Η προσθήκη ρυθμιστικών μεταβλητών (moderating variables) είναι χρήσιμη επειδή βοηθά στο να εξηγηθούν οι ασυνέπειες που διαπιστώθηκαν στις μεμονωμένες έρευνες (Judge *et al.* 2002). Ως αποτέλεσμα μπορούν οι ερευνητές να εκτιμήσουν την σχέση μεταξύ των μεταβλητών ενός πληθυσμού και να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό άλλων μεταβλητών που εξηγούν τις συνθήκες κάτω από τις οποίες η σχέση υπάρχει ή όχι. Ο έλεγχος υποθέσεων μπορεί να εφαρμοστεί στις συνολικές εκτιμήσεις.
- Επιτρέπει στον ερευνητή να αποτυπώσει την αντικειμενική ερμηνεία της αξίας των μεθόδων στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν σε μεμονωμένες μελέτες πριν συγκεντρωθούν και αναλυθούν τα αποτελέσματα.

### 1.5.3 Μειονεκτήματα της μετα-ανάλυσης

Αν και αναφέρθηκαν ορισμένα από τα πλεονεκτήματα της μετα-ανάλυσης, υπάρχουν επίσης αρκετοί περιορισμοί που σχετίζονται με αυτή την μέθοδο. Ειδικότερα, η καταστρατήγηση των αποδεκτών μετα-αναλυτικών διαδικασιών μπορεί να οδηγήσουν σε εσφαλμένα συμπεράσματα σχετικά με την σχέση μεταξύ των μεταβλητών (Walker *et al.* 2008). Τα προβλήματα αυτά μπορεί να προκύψουν από:

- Την επιλογή των μελετών που θα συμπεριληφθούν στην ανάλυση  
Ένας από τους πρωταρχικούς στόχους της μετα-ανάλυσης είναι να βελτιωθεί η επιλογή των ανεξάρτητων μελετών για την αξιολόγηση των υποθετικών

σχέσεων (Bobko and Stone-Romero 1998). Ωστόσο, η μετα-ανάλυση περιλαμβάνει ένα μικρό υποσύνολο μελετών για ένα θέμα που βασίζεται κυρίως σε άρθρα δημοσιευμένης βιβλιογραφίας (Greco *et al.* 2013).

Την αξιοπιστία των επιλεγόμενων μελετών

Ένας άλλος σημαντικός περιορισμός της μετα-ανάλυσης είναι ότι τα συμπεράσματα επηρεάζονται από την εγκυρότητα των μεμονωμένων μελετών. Σε ορισμένες περιπτώσεις, ανεξάρτητες μελέτες στερούνται εγκυρότητας στατιστικών μεθοδολογιών (Bobko *et al.*, 1988). Συνεπώς, ερευνητές υποστήριξαν ότι όταν οι μελέτες που περιλαμβάνονται στην ανάλυση έχουν έλλειψη εγκυρότητας, τότε το αποτέλεσμα μπορεί να χαρακτηριστεί ως “garbage-in-garbage-out” (Sackett *et al.* 1986).

Το σφάλμα δημοσίευσης (Publication bias)

Ένα άλλος παράγοντας που μπορεί να δημιουργήσει πρόβλημα στην διεξαγωγή της μετα-ανάλυσης είναι κατά την αναζήτηση της βιβλιογραφία. Οι έρευνες οι οποίες δεν είναι στην αγγλική γλώσσα συνήθως δεν δημοσιεύονται σε περιοδικά τα οποία καταχωρούνται σε σημαντικές διεθνείς βιβλιογραφικές βάσεις δεδομένων. Τα στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα μπορεί να δημοσιευθούν στα διεθνή περιοδικά, ενώ τα μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα εμφανίζονται στην τοπική βιβλιογραφία με συνέπεια δεδομένα από τέτοιες μελέτες να χάνονται κατά την αναζήτηση της βιβλιογραφίας (Rothstein *et al.* 2006). Άλλο ένα πρόβλημα είναι, ότι ορισμένες “αρνητικές μελέτες: που φαίνεται να διεξάγονται καλύτερα από τις “θετικές μελέτες”, είναι λιγότερο πιθανό να γίνουν αποδεκτές για δημοσίευση. Συνεπώς, δεν υπάρχει πρόσβαση σε αυτές, καθώς υπάρχουν μόνο σε έντυπη μορφή (Hopewell *et al.* 2007). Έτσι, προκύπτει το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης, όπου στην περίπτωση που οι μελέτες με θετικά αποτελέσματα δημοσιεύθηκαν πιο γρήγορα σχετικά με τις μελέτες που δείχνουν μία μικρή συσχέτιση “αρνητικές μελέτες”. Αν υπάρχει τέτοιο συστηματικό σφάλμα, το αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης μπορεί να μην είναι ασφαλές (Petitti 2009). Για την ανίχνευσή της χρησιμοποιείται το χωνοδιάγραμμα (funnel plot) και για τον έλεγχο στατιστικά σημαντικής μεροληψίας το Begg rank correlation test και το Egger linear regression test.

- Το μικρό δείγμα μελετών – small study effects

Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι μεμονωμένες μελέτες που περιλαμβάνονται στην μετα-ανάλυση, αναλύουν μικρό μέγεθος δείγματος και έχουν μικρή στατιστική δυναμική και μεγάλο standard error (Bobko and Stone-Romero 1998). Ως

αποτέλεσμα, μία μετα-ανάλυση που βασίζεται σε τέτοιου είδους μελέτες, μπορεί να παράγει effect size πολύ ετερογενή και να οδηγήσουν σε εσφαλμένα συμπεράσματα (Cooper *et al.* 2009).

- Την ετερογένεια της μεθοδολογία που χρησιμοποιούνται στις υπό εξέταση μελέτες. Η μετα-ανάλυση κακώς σχεδιασμένων μελετών παράγει λανθασμένα στατιστικά αποτελέσματα και μπορεί να είναι παραπλανητική. Η παράβλεψη της ετερογένειας και ο συνδυασμός μήλων και πορτοκαλιών (oranges and apples) είναι ένα διάχυτο σφάλμα στην μετα-ανάλυση (Eysenck 1994) και υπάρχουν τεχνικές για την αξιολόγησή της (R. L. Ferrer 1998a; Lin *et al.* 2018).

Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
<ul style="list-style-type: none"> <li>• είναι πιο αποτελεσματικό να παρουσιάσουμε ένα συνδυασμένο αποτέλεσμα παρά να περιγράψουμε το αποτέλεσμα κάθε μεμονωμένης μελέτης</li> <li>• μπορεί να συνοψίσει και να ποσοτικοποιήσει τα αποτελέσματα από μεμονωμένες μελέτες</li> <li>• μπορεί να αποσαφηνίσει την ετερογένεια μεταξύ των αποτελεσμάτων διαφορετικών μελετών</li> <li>• μπορεί να αναλύσει τις διαφορές στα αποτελέσματα</li> <li>• μπορεί να περιέχει πολύ λίγα δεδομένα σε μια συγκεκριμένη υποομάδα και να παρέχει μια σαφέστερη εικόνα της υποομάδας</li> <li>• μπορεί να αυξήσει την στατιστική ισχύ αυξάνοντας το μέγεθος του δείγματος</li> <li>• μπορεί να προσδιορίσει μικρές αλλά σημαντικές επιδράσεις συνδυάζοντας δεδομένα</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ένας αριθμός δεν μπορεί να συνοψίσει ένα ερευνητικό πεδίο</li> <li>• ανόμοιες/μη συγκρίσιμες μελέτες (Mixing apples and oranges)</li> <li>• χαμηλή ποιότητα μελετών (Garbage in, garbage out)</li> <li>• ετερογένεια</li> <li>• μεροληψία δημοσίευσης</li> <li>• δεν είναι συγκρίσιμες όλες οι μεταβλητές</li> <li>• πιθανή διαφωνία με τα αποτελέσματα τυχαιοποιημένων παρατηρήσεων</li> <li>• ασχολείται μόνο με τις κύριες επιδράσεις</li> </ul>

Εικόνα 7: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα μετα-ανάλυσης

#### 1.5.4 Επιλογή στατιστικού μοντέλου

Το κλειδί στη μετα-ανάλυση είναι το μέγεθος της επίδρασης (Effect Size, ES). Στην στατιστική ανάλυση, το μέγεθος του αποτελέσματος μπορεί να μετρηθεί με τρεις διαφορετικούς τρόπους: (1) standardized mean difference, (2) odd ratio, (3) correlation coefficient. Η επιλογή του κατάλληλου στατιστικού μοντέλου το οποίο θα χρησιμοποιηθεί στην μετα-ανάλυση εξαρτάται από τον τύπο των δεδομένων των μελετών που χρησιμοποιούνται.

Γίνεται με βάση το μέγεθος του αποτελέσματος/επίδρασης (effect size) κάθε μελέτης και πρέπει να περιλαμβάνει;

- **Στάθμιση των μελετών και υπολογισμός/εκτίμηση**



### ενός συνολικού/συγκεντρωτικού αποτελέσματος (Summary effect estimate)

Κάθε μελέτη συμμετέχει στον υπολογισμό του συγκεντρωτικού αποτελέσματος ανάλογα με το μέγεθος του δείγματος.

Υπάρχουν κάποιες αιτίες μεταβλητότητας οι οποίες πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά τον συνδυασμό των επιμέρους μελετών (δειγματοληπτικό σφάλμα μεταξύ των μελετών, διακυμάνσεις μέσα στις ίδιες τις μελέτες και άλλα). Τα δύο μοντέλα τα οποία χρησιμοποιούνται για να συνδυάσουν τις μεμονωμένες εκτιμήσεις του μεγέθους επίδρασης είναι:

- **Μοντέλο σταθερών επιδράσεων (fixed effect model).** Αν θεωρηθεί ότι η διακύμανση στα μεγέθη αποτελέσματος προέρχεται από τυχαίες διαφορές μεταξύ των μελετών, τότε χρησιμοποιείται το μοντέλο σταθερών επιδράσεων. Οι διαφορές που παρατηρούνται στα μεγέθη αποτελέσματος μεταξύ των μελετών οφείλονται/αποδίδονται στην τύχη, δηλαδή γίνεται η υπόθεση ότι το προς εκτίμηση άγνωστο “αληθινό” μέγεθος αποτελέσματος είναι κοινό σε όλες τις μελέτες – δεν υπάρχει ετερογένεια. Δηλαδή θεωρείται ότι όλες οι ανεξάρτητες μελέτες έχουν ένα μέσο κοινό μέγεθος επίδρασης το οποίο είναι ανεξάρτητο του αριθμού των μελετών και της διακύμανσης αυτών.
- **Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (random effect model)** Σε αυτό το μοντέλο, θεωρείτε ότι τα μεγέθη αποτελέσματος προέρχονται με τυχαίο τρόπο από ένα μεγαλύτερο πλήθος μεγεθών αποτελέσματος (μελετών). Σε αυτή την περίπτωση, υπάρχουν πραγματικές διαφορές ανάμεσα στα αποτελέσματα. Οι διαφορές που παρατηρούνται στα μεγέθη αποτελέσματος μεταξύ των μελετών, οφείλονται εν μέρει στην τύχη αλλά και σε πραγματικές διαφορές μεταξύ των μελετών, δηλαδή, γίνεται η υπόθεση ότι τα άγνωστα “αληθινά” μεγέθη αποτελέσματος των μελετών που συμπεριλαμβάνονται στη μετα-ανάλυση δεν είναι ίδια αλλά αποτελούν ένα τυχαίο δείγμα από τον (θεωρητικό) πληθυσμό όλων των πιθανών μεγεθών αποτελέσματος -υπάρχει ετερογένεια.

- **Έλεγχος ετερογένειας.**

Κατά την διεξαγωγή της μετα-ανάλυσης υπάρχουν κάποια σημεία που πρέπει να τα προσέχουμε. Ένα τέτοιο σημείο είναι ο έλεγχος του βαθμού ετερογένειας ανάμεσα στις μελέτες, διότι η ανομοιογένεια μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα της μετα-

ανάλυσης με συνέπεια να προκύψουν λάθος συμπεράσματα. Για το λόγο αυτό η ανίχνευση και εκτίμηση της ετερογένειας μεταξύ των μελετών γίνεται μέσω:

- **Q test (Cochran's Q statistic).** Ελέγχει αν υπάρχει στατιστικά σημαντική ετερογένεια.  $P < 0.10$  υποδεικνύει στατιστικά σημαντική ετερογένεια. Έχει μικρή ισχύ όταν οι μελέτες είναι λίγες, ενώ όταν οι μελέτες είναι πάρα πολλές η ετερογένεια υπερεκτιμάται. Η στατιστική Q όμως είναι χρήσιμη μόνο για τον έλεγχο της ύπαρξης της ετερογένειας, αλλά όχι για τον υπολογισμό της έκτασης της ετερογένειας.
- **$I^2$  statistic (εκτίμηση του μεγέθους της ετερογένειας).** Εκφράζει το ποσοστό της μεταβλητότητας (των μεγεθών των αποτελεσμάτων μεταξύ των μελετών) που οφείλεται στην ετερογένεια παρά στο σφάλμα δειγματοληψίας (στην τύχη). Το  $I^2$  παίρνει τιμές από 0-100%. Όταν το  $I^2$  είναι μικρότερο από 25% υπάρχει πολύ μικρή ή καθόλου ετερογένεια. Ένα  $I^2 > 50\%$  δηλώνει ότι υπάρχει μεγάλη ετερογένεια στις μελέτες για τις οποίες θα πραγματοποιήσουμε μετα-ανάλυση. Τιμές μικρότερες του 25% ή 30% θεωρείται ότι υποδεικνύουν μικρό μέγεθος ετερογένειας.
- **Ερμηνεία δειρέυνση των αιτιών της ετερογένειας – Ανάλυση ευαισθησίας**
  - Μετά-παλινδρόμηση (meta-regression)
  - Ανάλυση υποομάδων (subgroup analysis)
  - Ανάλυση χωρίς τις “ακραίες” μελέτες
- **Ανίχνευση-διερεύνηση συστηματικών σφαλμάτων (αδύνατα σημεία της μεθόδου)**
  - Μεροληψία δημοσίευσης (Publication bias)

Για την ανίχνευσή της χρησιμοποιείται το χωνοδιάγραμμα (funnel plot) και για τον έλεγχο στατιστικά σημαντικής μεροληψίας το Begg rank correlation test και το Egger linear regression test.

  - Small-study effects
  - Χαμηλή ποιότητα μελετών (garbage in - garbage out)
  - Ανόμοιες/μη συγκρίσιμες μελέτες (apples and oranges)

(Begg and Mazumdar 1994; Borenstein *et al.* 2009; Cochran 1950; Egger *et al.* 1997; Higgins *et al.* 2003).

### 1.5.5 Μετα-ανάλυση και ο ρόλος της στη βελτίωση

Τον τελευταίο αιώνα, η βελτίωση φυτών έχει τεράστια επίδραση στο γεωργικό τομέα. Στις αρχές του εικοστού αιώνα, η γνώση για τα υβρίδια και τις μεταλλάξεις, και η εφαρμογές των Mendel για την κληρονομικότητα, ήταν καθοριστικής σημασίας για το μεγάλο άλμα που έγινε προς την βελτίωση φυτών. Οι βελτιωτές συνεχώς εισάγουν νέες υψηλοαποδοτικές ποικιλίες, οι οποίες προσαρμόζονται στα μεταβαλλόμενα γεωργικά συστήματα. Έτσι συνέβαλαν στην μεγάλη αύξηση της γεωργικής παραγωγής η οποία έχει παρατηρηθεί τον 20<sup>ο</sup> αιώνα (Baenziger *et al.* 2006). Οι νέες μοριακές τεχνικές και το ενδιαφέρον για γενετική ποικιλομορφία με σκοπό τη βελτίωση ποικιλιών ως προς διαφορα επιθυμητά αγροκομικά χαρακτηριστικά έχει οδηγήσει σε πλήθος δημοσιεύσεων επιστημονικών μελετών (Christiansen *et al.* 2002; Huang *et al.* 2007). Έχει διαπιστωθεί ότι οι μελέτες αυτές ανά περιόδους, συχνά παρουσιάζουν έντονες διακυμάνσεις και πολλά αντικρουόμενα αποτελέσματα ακόμη κι αν προέρχονται από την ίδια γεωγραφική περιοχή. Με μια συστηματική ανασκόπηση το μέγεθος της απόδοσης του αποτελέσματος το οποίο μελετάται, είναι δύσκολο να εκτιμηθεί, καθώς ο αριθμός των σημαντικών αποτελεσμάτων των μελετών έχει μικρή άμεση σχέση με το μέγεθος απόδοσης (effect size) (Rosenberg 2010). Η μετα-ανάλυση μπορεί να ξεπεράσει αυτούς τους περιορισμούς, χρησιμοποιώντας επίσημες στατιστικές τεχνικές για τον συνδυασμό των αποτελεσμάτων ανεξάρτητων πειραμάτων προκειμένου να καταλήξουν σε γενικά συμπεράσματα (van de Wouw *et al.* 2010).

Σήμερα, με τις πρόσφατες εξελίξεις στις αλληλουχίσεις γονιδιωμάτων και την συγκέντρωση αποτελεσμάτων μέσω -ομικών τεχνολογιών, ένας μεγάλος αριθμός βιολογικών δεδομένων έχει καταστεί προσβάσιμος μέσω διαδικτυακών πηγών και τώρα μπορούμε να επιτύχουμε πιο αξιόπιστα αποτελέσματα συνδυάζοντας πληροφορίες από πολλές πηγές. Με αυτόν τον τρόπο, οι στατιστικές μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως χρήσιμα και ισχυρά εργαλεία για τον προσδιορισμό κατάλληλων υποψήφιων γονιδίων συνδυάζοντας τα αποτελέσματα πλήθους μελετών που είναι προσβάσιμα μέσω διαδικτύου για χρήση σε προγράμματα βελτίωσης φυτών (Ashrafi-Dehkordi *et al.* 2018).

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην στατιστική ανάλυση της γονιδιακής έκφραση είναι οι εξής:

**Αλλαγή σχετικής έκφρασης (fold-change, FC)** Μια από τις πρώτες μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν στην στατιστική ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης ήταν η μέθοδος αλλαγής σχετικής έκφρασης. Συνήθως έχει ως οριακή τιμή την  $FC \pm 2$ . Η μέτρηση της

αλλαγής για κάθε γονίδιο περιγράφει τη διαφορά μιας συγκεκριμένης αρχικής τιμής ως προς την τελική και ως προς ένα δείγμα αναφοράς, αναπαριστώντας έτσι την έκφραση του γονιδίου. Με τον τρόπο αυτό εμφανίζεται εάν ένα γονίδιο υπερεκφράζεται είτε υπόεκφράζεται (Ramasamy et al. 2008).

**Μέθοδοι διόρθωσης p-value.** Διόρθωση Bonferroni. Με την μέθοδο διόρθωσης Bonferroni η p-value κάθε γονιδίου πολλαπλασιάζεται με το συνολικό αριθμό γονιδίων. Εάν η διορθωμένη τιμή p ενός γονιδίου βρίσκεται κάτω από το όριο σφάλματος τότε το γονίδιο αυτό είναι στατιστικά σημαντικό (Dudoit et al. 2002).

## 1.6 Σκοπός μελέτης

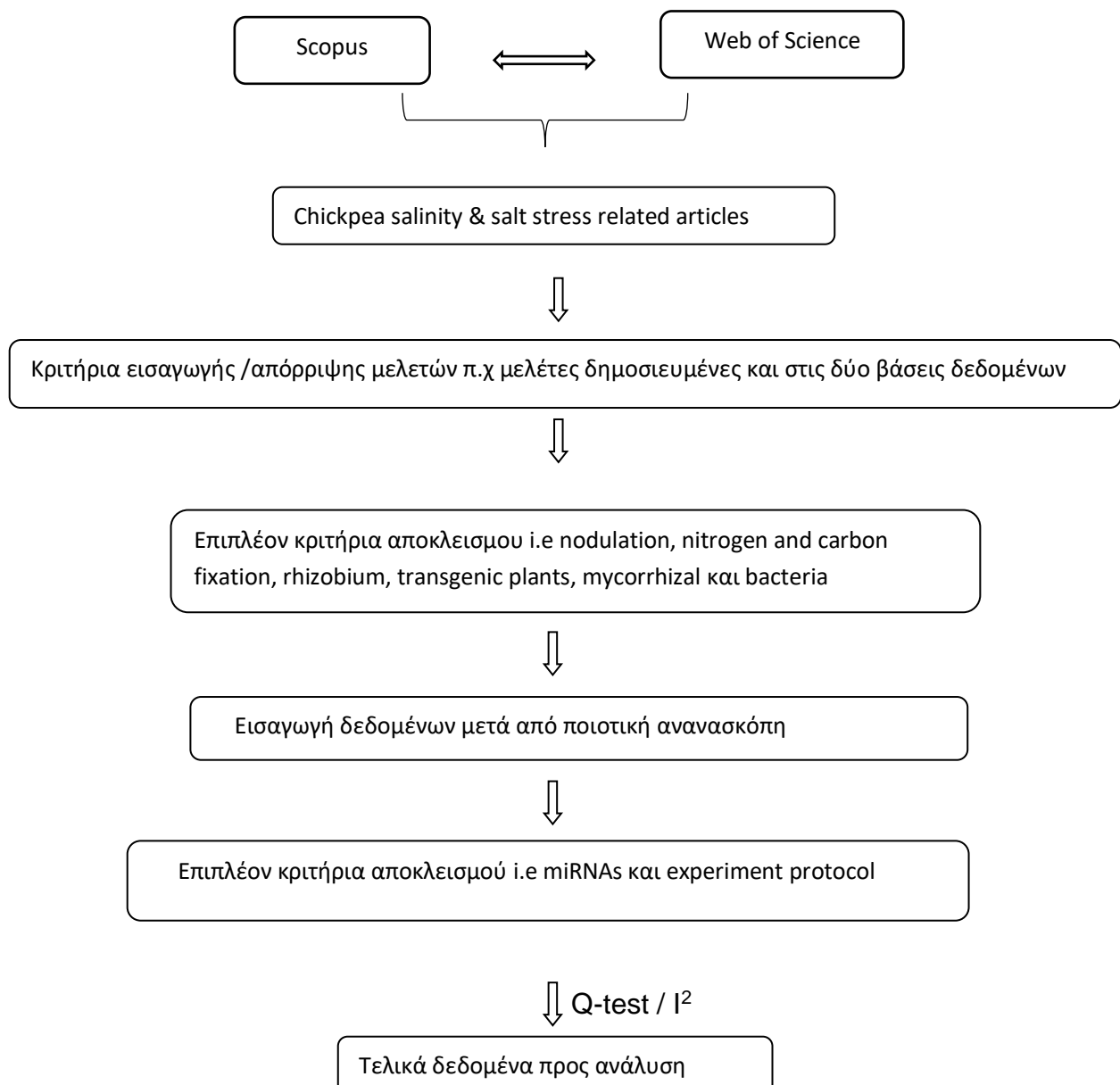
Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε μετα-ανάλυση, με την χρήση στατιστικού πακέτου STATA, σε μελέτες που σχετίζονται με την γονιδιακή έκφραση στην αλατότητα στο ρεβίθι. Σκοπός ήταν να εντοπιστούν τα γονίδια που ελέγχουν σε μεγαλύτερο βαθμό την επιτυχημένη απόκριση σε συνθήκες αυξημένης αλατότητας. Στην συγκεκριμένη μελέτη, η προσέγγιση της μετα-ανάλυσης μπορεί να επιλύσει τα ζητήματα που σχετίζονται με τον προσδιορισμό των γονιδίων-κλειδιών για την αντοχή στην αλατότητα και την ιεράρχηση τους, έτσι ώστε να ενσωματωθούν τα σημαντικά γονίδια στις ποικιλίες ρεβιθιού σε ένα πρόγραμμα βελτίωσης υποβοηθούμενο από τους μοριακούς δείκτες.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Πηγές δεδομένων και επιλογή μελετών

Για την εκπόνηση της έρευνας πραγματοποιήθηκε κριτική ανασκόπηση άρθρων στην ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία, σύμφωνα με την μεθοδολογία της μετά-ανάλυσης σε γεωπονικά άρθρα (Philibert et al. 2012).

#### Workflow of systematic review of publishing studies for meta-analysis



Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση στις ακόλουθες ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων – Scopus (1976 έως Νοέμβριος 2019 ) και Web of Science (1971 έως Νοέμβριος 2019) για την αναγνώριση σχετικών μελετών.

### Scopus

Η Scopus είναι βιβλιογραφική βάση δεδομένων που περιλαμβάνει περιλήψεις και παραπομπές για ακαδημαϊκά άρθρα περιοδικών. Καλύπτει κοντά στους 21.000 τίτλους από 5.000 εκδότες, από τους οποίους οι 20.000 είναι αξιολογημένα περιοδικά από κριτές. Τα άρθρα χρονολογούνται από το 2004-σήμερα και οι γνωστικοί τομείς που καλύπτει είναι η βιολογία, οι κοινωνικές επιστήμες, οι φυσικές επιστήμες και οι επιστήμες υγείας (<https://www.scopus.com/>)

### Web of Science

Ο Web of Science είναι ένας ιστότοπος που παρέχει πρόσβαση βάσει συνδρομής σε πολλές βάσεις δεδομένων που παρέχουν ολοκληρωμένα δεδομένα παραπομπής για πολλούς διαφορετικούς ακαδημαϊκούς κλάδους. Τα άρθρα χρονολογούνται από το 1900-σήμερα. (<https://login.webofknowledge.com/>)

Τα στοιχεία αναζήτησης βασίστηκαν στις λέξεις κλειδιά «chickpea AND salinity», «chickpea AND salt AND stress», από όλα τα πεδία. Ανασκοπήθηκαν οι τίτλοι και/ή οι περιλήψεις για τον αποκλεισμό των εμφανώς άσχετων μελετών. Για κάθε μελέτη, εξετάστηκε η περίληψη της (summary) και αν δεν ήταν εμφανές αν πρόκειται για κάποια που θα χρησιμοποιηθεί, αναζητήθηκε το αντίστοιχο άρθρο.

#### SCOPUS

<b>key-words</b>	<b>period</b>	<b>no of articles</b>
<i>chickpea salinity</i>	1976 - 2019	237
<i>chickpea salt stress</i>	1976 - 2019	174
<b>Total</b>		<b>411</b>

#### Web of Science Core Collection - Topic

<b>key-words</b>	<b>period</b>	<b>no of articles</b>
<i>chickpea salinity</i>	1971-2019	408
<i>chickpea salt stress</i>	1976-2019	340
<b>Total</b>		<b>748</b>

## 2.2 Συλλογή και καταγραφή των δεδομένων

Στη προκειμένη περίπτωση, όπου ελέγχεται η διαφορική έκφραση των γονιδίων σε πειράματα με φυτά ρεβιθίου τα οποία υποβλήθηκαν σε καταπόνηση αλατότητας παρουσιάζεται ένα απόσπασμα αποτελέσματος μετά την εφαρμογή του ερωτήματος (Εικόνες 8,9)

<input type="checkbox"/>	18	Salinity tolerance in chickpea is associated with the ability to 'exclude' Na from leaf mesophyll cells <i>Open Access</i>	Kotula, L., Clode, P.L., Jimenez, J.D.L.C., Colmer, T.D.	2019	Journal of Experimental Botany 70(18), pp. 4991-5002	7
View abstract ▾ <a href="#">Full Text</a> Related documents						
<input type="checkbox"/>	19	Phenotypic and Genotypic Diversity Among Symbiotic and Non-symbiotic Bacteria Present in Chickpea Nodules In Morocco <i>Open Access</i>	Benjelloun, I., Thami Alami, I., Douira, A., Udupa, S.M.	2019	Frontiers in Microbiology 10,1885	4
View abstract ▾ <a href="#">Full Text</a> Related documents						
<input type="checkbox"/>	20	A comprehensive analysis of the B3 superfamily identifies tissue-specific and stress-responsive genes in chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) <i>Open Access</i>	Verma, S., Bhatia, S.	2019	3 Biotech 9(9),346	0
View abstract ▾ <a href="#">Full Text</a> Related documents						

Εικόνα 8: Βάση δεδομένων Scopus (κατά την εφαρμογή του ερωτήματος)

<b>Web of Science Categories</b> <input type="checkbox"/> PLANT SCIENCES (141) <input type="checkbox"/> AGRONOMY (58) <input type="checkbox"/> BIOTECHNOLOGY APPLIED MICROBIOLOGY (27) <input type="checkbox"/> AGRICULTURE MULTIDISCIPLINARY (20) <input type="checkbox"/> BIOCHEMISTRY MOLECULAR BIOLOGY (20) more options / values... Refine	<input type="checkbox"/>	34.	Physiological response of chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) at early seedling stage under salt stress conditions By: Mann, Anita; Kaur, Gurpreet; Kumar, Ashwani; et al. LEGUME RESEARCH Volume: 42 Issue: 5 Pages: 625-632 Published: OCT 2019	Times Cited: 3 (from Web of Science Core Collection)
	Free Full Text from Publisher View Abstract ▾			Usage Count ▾
	<input type="checkbox"/>	35.	Growth, nutrient uptake and yield parameters of chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) enhance by Rhizobium and Azotobacter inoculations in saline soil By: Abdiev, Anvar; Khaitov, Botir; Toderich, Kristina; et al. JOURNAL OF PLANT NUTRITION Volume: 42 Issue: 20 Pages: 2703-2714 Published: DEC 14 2019 Early Access: SEP 2019	Times Cited: 4 (from Web of Science Core Collection)
	Full Text from Publisher View Abstract ▾			Usage Count ▾
<b>Document Types</b> <input type="checkbox"/> ARTICLE (284) <input type="checkbox"/> REVIEW (15) <input type="checkbox"/> PROCEEDINGS PAPER (6) <input type="checkbox"/> EARLY ACCESS (2) <input type="checkbox"/> MEETING ABSTRACT (1) more options / values... Refine	<input type="checkbox"/>	36.	SA and AM symbiosis modulate antioxidant defense mechanisms and asada pathway in chickpea genotypes under salt stress By: Bharti, Amrit; Garg, Neera ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL SAFETY Volume: 178 Pages: 66-78 Published: AUG 30 2019	Times Cited: 3 (from Web of Science Core Collection)
	Full Text from Publisher View Abstract ▾			Usage Count ▾
<b>Organizations-Enhanced</b> <input type="checkbox"/> CGIAR (28)	<input type="checkbox"/>	37.	The stimulatory effects of plant growth promoting rhizobacteria and plant growth regulators on wheat physiology grown in sandy soil	Times Cited: 8 (from Web of Science Core Collection)

Εικόνα 9: Βάση δεδομένων Web of Knowledge (κατά την εφαρμογή του ερωτήματος)

## 2.3 Κριτήρια ένταξης στην ανασκόπηση

Τα κριτήρια ένταξης των άρθρων που χρησιμοποιήθηκαν για την ολοκλήρωση της συστηματικής ανασκόπησης της βιβλιογραφίας σχετικά με την γονιδιακή έκφραση στην αλατότητα του ρεβιθιού (*Cicer arietinum* L.) πληρούσαν μία σειρά προϋποθέσεων. Τα άρθρα που συμπεριλήφθηκαν στην εκπόνηση της έρευνας έπρεπε:

- να είναι γραμμένα στην αγγλική γλώσσα ή να είναι μεταφρασμένα στην αγγλική γλώσσα από την αρχική τους έκδοση.
- Να έχουν δημοσιευθεί σε παγκοσμίως αναγνωρισμένα επιστημονικά περιοδικά
- Να είναι πρωτότυπες έρευνες ή βιβλιογραφικές ανασκοπήσεις.

Από την αναζήτηση που πραγματοποιήθηκε σε αυτή την φάση, προέκυψαν 1.159 άρθρα, τα οποία μειώθηκαν σε 1.158 εφόσον συμπεριλήφθηκαν αυτά που ήταν στην αγγλική γλώσσα (Εικόνες 10,11). Σε λογιστικά φύλλα Excel καταχωρήθηκαν οι “λέξεις κλειδιά” αναζήτησης, ο τίτλος της μελέτης, το όνομα του ερευνητή και το έτος δημοσίευσης.

Web of Science									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Key-words	Year	Title	Authors	Key-words	Year				
chickpea salinity	2020	Supplementary irrigations at different physiological growth stages of chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) change grain nutritional composition	1	salt stress	2019	Physiological response of chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) at early seedling stage under salt stress conditions			
	2020	Salicylic acid seed priming improves tolerance to salinity, iron deficiency and their combined effect in two ecotypes of alfalfa	2		2019	The stimulatory effects of plant growth promoting rhizobacteria and plant growth regulators on wheat physiology grown in sandy soil	alfalfa		wheat
	2020	Physiological response of chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) at early seedling stage under salt stress conditions	3		2019	Phenotypic characterization of indigenous rhizobia nodulating chickpea in Turkey reveals high diversity			
	2020	Abiotic stress responsive microflora and proteome: How correlated are they?	4		2019	Variability in Probiotic Carbohydrates in Different Market Classes of Chickpea, Common Bean, and Lentil Collected From the American Local Market			not salt stress
	2020	Rhizobium genospecies associated with <i>Vicia sativa</i> L. in Northwest China	5	<i>vicia sativa</i>	2019	Overexpression of Chickpea Defensin Gene Confers Tolerance to Water Deficit Stress in <i>Arabidopsis thaliana</i>			water deficit
	2020	Variations in the antioxidant and free radical scavenging under induced heavy metal stress expressed as proline content in chickpea	6		2019	Arbuscular mycorrhizal fungi and biochar improves drought tolerance in chickpea			drought tolerance
	2020	Mapping the Depth-to-Soil pH Constraint, and the Relationship with Cotton and Grain Yield at the Within-Field Scale	7	cotton	2019	The effects of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant activity in chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) under salt stress			
	2020	Does biochar mitigate the adverse effects of drought on the agronomic traits and yield components of soybean?	8	soybean	2018	Identification, Structural Characterization and Gene Expression Analysis of Members of the Nuclear Factor-Y Family in Chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) under Dehydration and Abiotic			dehydration & abiotic
	2020	The effects of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant activity in chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) under salt stress	9		2018	Powder Flow Tester (PFT): a new tool to evaluate wheat flour dough behavior by measuring unconfined failure strength under variable consolidation stresses			wheat
	2020	ANTIOXIDANT ENZYME AND BIOCHEMICAL BEHAVIOUR OF CHICKPEA cv. BG-256 AND CSG-8962 UNDER SALT STRESS CONDITIONS	10		2018	Effect of seed priming induced metabolic changes on germination and field emergence of chickpea			salt stress?
	2020	Spectral data source effect on crop state estimation by vegetation indices	11		2018	RNA-Seq analysis revealed genes associated with drought stress response in kabuli chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)			drought stress
	2020	Evaluation of photosynthesis, physiological, and biochemical responses of chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L. cv. Pinout) under water deficit stress and use of vermicompost fertilizer	12	Water deficit	2018	Screening for high productive salt tolerant mutant M-4 lines in chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)			
	2020	Germination Ecology of Two Australian Populations of African turnipweed ( <i>Sisymbrium thellungii</i> )	13		2018	Interaction effects of fructan and Salicylic acid on chickpea in both biochemical and traditional agronomic indicators			salt stress?
	2020	Impact of Abiotic Stresses on Grain Composition and Quality in Food Legumes	14	<i>Sisymbrium thellungii</i>	2018	and biological characteristics of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> inoculated <i>Cicer arietinum</i> grown in chromium and nickel-stressed sandy clay loam soils			salt stress?
	2020	Functional analysis of <i>SdDWF4</i> gene in response to salt stress in potato	15	potato	2018	transcript components towards salinity tolerance in contrasting chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) genotypes			
	2020	Soil Water Extraction Monitored Per Plot Across a Field Experiment Using Repeated Electromagnetic Induction Surveys	16		2018	Modification of Osmolytes and Antioxidant Enzymes by 24-Epibrassinolide in Chickpea Seedlings Under Mercury (Hg) Toxicity			mercury toxicity
	2020	Biochar improved nodulation and nitrogen metabolism of soybean under salt stress	17	soybean	2018	Drought stress impact on leaf proteome variations of faba bean ( <i>Vicia faba</i> L.) in the Qinghai-Tibet Plateau of China			faba bean
	2020	Chloride salts inhibit emergence and seedling growth of chickpea rather than germination	18		2018	Endophytic bacterium <i>Bacillus subtilis</i> (BERA 71) improves salt tolerance in chickpea plants by regulating the plant defense			
	2020	ACTA AGRICULTURAE SCANDINAVICA SECTION B-SOIL AND PLANT SCIENCE	19		2018	Molecular insights into the functional role of nitric oxide (NO) as a signal for plant responses in chickpea			salt stress?
	2020	NaCl markedly improved the reproductive capacity of the euhalophyte <i>Suaeda salsa</i>	20	<i>Suaeda salsa</i>	2017	Field application of ACC-deaminase biotechnology for improving chickpea productivity in Bahawalpur			salt stress?
		Effects of endogenously applied salicylic acid and potassium boron and in combination with rhizobacteria on the phytoremediation of				increased protein content of chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixing bacteria under			

Εικόνα 10: Αρχικές κατατάξεις των βιβλιογραφικών αναφορών από την βάση δεδομένων Web of Science



1	A	B	C	D	E	F	G
2		<b>Authors</b>	<b>Key-words</b>	<b>Year</b>	<b>Title</b>		
3	1	Lukasz Kotula et.al	chickpea salinity	2019	Salinity tolerance in chickpea is associated with the ability to 'exclude' Na from leaf mesophyll cells		
4	2	Benjeloun, I	chickpea salinity	2019	Phenotypic and Genotypic Diversity Among Symbiotic and Non-symbiotic Bacteria Present in Chickpea Nodules in Morocco		
5	3	Sabhyata Bhatia, Subodh Verma	chickpea salinity	2019	A comprehensive analysis of the B3 superfamily identifies tissue-specific and stress-responsive genes in chickpea (Cicer arietinum L.)		
6	4	Amrit Bharti	chickpea salinity	2019	SA and AM symbiosis modulate antioxidant defense mechanisms and asada pathway in chickpea genotypes under salt stress		
7	5	Mohamed Hemida Abd-All	chickpea salinity	2019	Comparative proteomics and gene expression analyses revealed responsive proteins and mechanisms for salt tolerance in chickpea genotypes		
8	6	Aneela Riaz	chickpea salinity	2019	Mitigation of salinity in chickpea by Plant Growth Promoting Rhizobacteria and salicylic acid		
9	7	Kumar, M.	chickpea salinity	2019	Transcriptome Sequencing of Chickpea (Cicer arietinum L.) Genotypes for Identification of Drought-Response Genes Under Drought Stress Conditions	drought stress	
10	8	Abd-Alla, M.H.	chickpea salinity	2019	Mitigation of effect of salt stress on the nodulation, nitrogen fixation and growth of chickpea (Cicer arietinum L.) by triple microbial inoculation		
11	9	Rashmi Saini	chickpea salinity	2019	Genome-wide identification, characterization and in-silico profiling of genes encoding FAD (fatty acid desaturase) proteins in chickpea (Cicer arietinum L.)		
12	10	Sharma, A.	chickpea salinity	2019	Isolation and characterization of halotolerant bacilli from chickpea (Cicer arietinum L.) rhizosphere for plant growth promotion and biocontrol traits		
13	11	Mohamed A.	chickpea salinity	2019	Azospirillum lipoferum FK1 confers improved salt tolerance in chickpea (Cicer arietinum L.) by modulating osmolytes, antioxidant machinery and stress related genes expression		
14	12	Khan, N.	chickpea salinity	2019	Metabolic and physiological changes induced by plant growth regulators and plant growth promoting rhizobacteria and their impact on drought tolerance in Cicer arietinum L.	drought tolerance	
15	13	Clarisse Brigido		2019	Diversity and Functionality of Culturable Endophytic Bacterial Communities in Chickpea Plants		
16	14	Priyadharshini, B.	chickpea salinity	2019	Evaluation of black gram genotypes for saline tolerance at seedling stage	black gram	
17	15	Lavrenko S. O	chickpea salinity	2019	Effect of degree of salinity on seed germination and initial growth of chickpea (Cicer arietinum)		
18	16	Guimira Khassanova	chickpea salinity	2019	Salinity and Rapid Dehydration but Down-Regulated by Drought in Leaves of Chickpea (Cicer arietinum L.)		
19	17	Anvar Abdiev	chickpea salinity	2019	Growth, nutrient uptake and yield parameters of chickpea (Cicer arietinum L.) enhance by Rhizobium and Azotobacter inoculations in saline soil		
20	18	Ikram, R.M.	chickpea salinity	2019	Germination Ecology of Two Troublesome Weeds of Arid Chickpea: Euphorbia dracunculoides and Astragalus Species		
21	19	Govind Sharan Gupta	chickpea salinity	2019	Bacterial homoserine lactones as a nanocomposite fertilizer and defense regulator for chickpeas		
22	20	Mohamed Houssemeddine Sellami	chickpea salinity	2019	A Systematic Review of Field Trials to Synthesize Existing Knowledge and Agronomic Practices on Protein Crops in Europe	agronomic practices	
23	21	...	...	...	...		

Εικόνα 11: Αρχικές κατατάξεις των βιβλιογραφικών αναφορών από την βάση δεδομένων Scopus

Μετά την σύγκριση των μελετών με βάση: το έτος δημοσίευσης, τους καταλόγους των συντακτών, τους τίτλους των άρθρων και τα ονόματα των περιοδικών, ο αριθμός των μελετών μειώθηκε σε 594. Έγινε μια αρχική ταξινόμηση των αναφορών με βάση τα κριτήρια location (αν η μελέτη έγινε σε θερμοκήπιο ή στο αγρό), statistical analysis (ποια μέθοδος στατιστικής ανάλυσης χρησιμοποιήθηκε), days of treatment (πόσες μέρες διήρκεσε η καταπόνηση), developmental stage (αναπτυξιακό στάδιο των φυτών), NaCl (συγκέντρωση NaCl που εφαρμόστηκε στα φυτά), sample tissue (ιστός που αναλύθηκε). (Εικόνα 12).

Authors	Key-words	Year	Title	location	indices	analysis	days of treatment	developmental stage	NaCl	va
Lukasz Kobula et al	chickpea salinity	2019	Salinity tolerance in chickpea is associated with the ability to exclude Na from leaf mesophyll cells	greenhouse/pots	Na, Cl, and K concentrations/Sodium/Chloride/Potassium /Effects of NaCl on chloroplast ultrastructure	ANOVA	renewed weekly	on day 23	15 mM	
Benjloun, I	chickpea salinity	2019	Phenotypic and Genotypic Diversity Among Symbiotic and Non-symbiotic Bacteria Present in Chickpea Nodules in Morocco	greenhouse/pots	growth(%) for biological nitrogen fixation	Principal component analysis (PCA)		Bacterial strains after 7days of incubation	0-855 mM	
Sabhyata Bhatia, Subodh Verma	chickpea salinity	2019	A comprehensive analysis of the B3 superfamily identifies tissue-specific and stress-responsive genes in chickpea	no access	TfS		6 replicates under each treatment were harvested at 90 (DAS)	3 weeks after seeding sowing	0, 60 and 80mM	
Amrit Bharti	chickpea salinity	2019	SA and AM symbiosis modulate antioxidant defense mechanisms and asada pathway in chickpea genotypes under salt stress	greenhouse/pots	SA and AM symbiosis modulate antioxidant defense mechanisms and asada pathway in chickpea genotypes under salt stress	ANOVA				
Mohamed Hemida Abd-All	chickpea salinity	2019	Comparative proteomics and gene expression analyses revealed responsive proteins and mechanisms for salt tolerance in chickpea genotypes	greenhouse/pots	differential expressed proteins (DEPs)	SPSS	3 replicates	21-day-old seedlings	100mM	
Aneela Riaz	chickpea salinity	2019	Mitigation of salinity in chickpea by Plant Growth Promoting Rhizobacteria and salicylic acid	greenhouse/pots	Plant Height/root length/grain yield/Chlorophyll a,b/Catenoids/ nitrogen & phosphorus			at time of sowing	NaCl @ 5 dS m <sup>-1</sup>	
Abd-Alla, M.H.	chickpea salinity	2019	Mitigation of effect of salt stress on the nodulation, nitrogen fixation and growth of chickpea (Cicer arietinum L.) by triple microbial inoculation	field/pots	Chlorophyll a,b/Catenoids/ Na, K, & P/Soluble protein & carbohydrate/ shoot/root length/ fresh, dry weights	ANOVA		early growth of 14 day old	0, 25, 50, 75, 100, 150 and 200mM in soil	
Rashmi Saini	chickpea salinity	2019	Genome-wide identification, characterization and in-silico profiling of genes encoding FAD (fatty acid desaturase) proteins in chickpea (Cicer arietinum L.)	greenhouse/pots	genes and their involvement in fatty acid biosynthesis-FADs/ CaFAD gene			root and shoot from 15day old seedlings/ root nodules/ mature leaves/ flower bud / pod		
Sharma, A.	chickpea salinity	2019	Isolation and characterization of halotolerant bacilli from chickpea (Cicer arietinum L.) rhizosphere for plant growth promotion and biocontrol traits	greenhouse/pots	Bacillus strains/ CG18 and CM25 as biocontrol	ANOVA		Bacillus strains was tested after incubation for 2 days	NA supplemented with 2-12% (w/v)	
Mohamed A.	chickpea salinity	2019	Azospirillum lipoferum FK1 confers improved salt tolerance in chickpea(Cicer arietinumL.) by modulating osmolytes, antioxidant machinery and stress related genes expression	greenhouse/pots	soluble protein,sugar/polime/lycine betaine/electrolyte leakage/(H2O2)/lipid peroxidation/sheno/ flavonoids/SOD/POD/ CAT/roo, shoot length/root dry weight/shoot dry weight(chlorophyll) a,b,cartenoids/AFK, CAT, SOD/PAL/PPO, CHS, CHI, DREB2A,IFS genes	ANOVA	twice a week	9 weeks	0, 75 or 150mM	
Clarisse Brügido	chickpea salinity	2019	Diversity and Functionality of Culturable Endophytic Bacterial Communities in Chickpea Plants	greenhouse/pots	bacterial endophytes / salt & Mn-tolerant	ANOVA			not saline (0.13 ± 0.03 g/L) slightly (0.61 ± 0.03 g/L)	

Εικόνα 12: Ταξινόμηση των άρθρων

Στην δεύτερη φάση τα άρθρα που κρίθηκαν, σύμφωνα με την συνάφεια του ερωτήματος και απορρίφθηκαν εκείνα τα οποία αναφέρονταν σε: nodulation, nitrogen and carbon fixation, rhizobium, mycorrhizal, bacteria and transgenic plants (Εικόνες 13,14). Οι μελέτες που προέκυψαν ήταν 94.

Authors	Key-words	Year	Title	location	indices	analysis	days of treatment	developmental stage	NaCl	experim
Mohamed Hemida Abd-All	chickpea salinity	2019	Comparative proteomics and gene expression analyses revealed responsive proteins and mechanisms for salt tolerance in chickpea genotypes	greenhouse/pots	differential expressed proteins (DEPs)	SPSS	10 days	21-day-old seedlings	100mM	
Rashmi Saini	chickpea salinity	2019	Genome-wide identification, characterization and in-silico profiling of genes encoding FAD (fatty acid desaturase) proteins in chickpea (Cicer arietinum L.)	databases	genes and their involvement in fatty acid biosynthesis-FADs/ CaFAD gene					no experim
Mohamed A.	chickpea salinity	2019	Azospirillum lipoferum FK1 confers improved salt tolerance in chickpea(Cicer arietinumL.) by modulating osmolytes, antioxidant machinery and stress related genes expression	greenhouse/pots	soluble protein,sugar/polime/lycine betaine/electrolyte leakage/(H2O2)/lipid peroxidation/sheno/ flavonoids/SOD/POD/CAT/roo, shoot length/root dry weight/shoot dry weight(chlorophyll) a,b,cartenoids/AFK, CAT, SOD/PAL/PPO, CHS, CHI, DREB2A,IFS genes	ANOVA	twice a week	9 weeks	0, 75 or 150mM	experiment
Gulmira Khananova	chickpea salinity	2019	Intracellular Vesicle Trafficking Genes, RAB5, GTP, Are Highly Expressed Under Salinity and Rapid Dehydration but Down-Regulated by Drought in Leaves of Chickpea (Cicer arietinum L.)	field/container	Callab genes/CallabC subfamily	ANOVA	12 days/4 times over third day	one month + 12 days old	200mM, 150 mM	experiment
Jatan, R.	chickpea salt stress	2019	Pseudomonas putida modulates the expression of miRNAs and their target genes in response to drought and salt stresses in chickpea (Cicer arietinum L.)	hydroponics	Electrolyte leakage/Relative water content in the leaves/ miRNAs	ANOVA		after 15 days of germinated seedlings	100mM	experiment
Waqas, M.	chickpea salt stress	2019	Genome-wide identifications and expression analyses of WRKY transcription factor family members from chickpea (Cicer arietinum L.) reveal their role in abiotic stress-responses	NCBI/Map Chart/PlantTFDB	CoriWRKY genes in root and shoot tissues					transcript obtained fr database u treated with
Ahmad, B.	chickpea salt stress	2019	Genome-wide identification and expression analysis of fmo component system genes in Cicer arietinum	greenhouse/pots	TCS protein family/HP family/Histidine Kinases (HKs), Phosphotransfer Protein (PTP) and Response Regulators (RRs)/chromosomal location, length of proteins and their genomes	NCBI/SMMHT/Plant databases	72h	seedlings were at the age of 15 days after germination	100 mM	experiment
Mayank Kaushyap	chickpea salinity	2018	Differential regulation of genes involved in Root Morphogenesis and Cell Wall Modification is Associated with Salinity Tolerance in Chickpea	glasshouse/pots	DEGs genes-root length/root volume/root diameter/root dry weight/shoot dry weight/ surface leaf area /ABA		vegetative growth/reproductive development	2 doses:10 days after sowing & the flowering stage.	40mM	experiment
			Genome-wide Analysis of Potassium Transport-Related Genes in Chickpea (Cicer		K <sup>+</sup> transporting genes (Potassium Transporters/Potassium					

Εικόνα 13: Άρθρα που εξαιρέθηκαν επειδή αναφέρονταν σε transgenic plants και rhizobacteria

Στην Τρίτη Φάση χρησιμοποιήθηκαν 14 κριτήρια για την ένταξη των μελετών στην μετά-ανάλυση, τα οποία χαρακτηρίστηκαν ως απαραίτητα ή όχι ανάλογα με την σημαντικότητά τους για την διεξαγωγή της μελέτη και την σχετική αναφορά σε γονίδια (Πίνακας 2) Οι μελέτες που προέκυψαν ήταν 40.

Πίνακας 2. Καθορισμός κριτηρίων για ένταξη μελετών στην μετα-ανάλυση

Type of information	Essential information
Source of publication	No
Author name	No
Title	Yes
Year of publication	No
Environment conducted experiment	Yes
Technic conducted extraction data in the lab	Yes
Salt concentration	Yes
Developmental stage	Yes
Stress gene	Yes
Transcription factors	Yes
Stress duration	Yes
Varieties	Yes
Plant species	Yes
Tissue	Yes
Availability of publications	No
Availability of the program used for statistical analysis	Yes
Availability of dataset	Yes

Στην αρχική λίστα με τα κριτήρια προστέθηκαν και κάποια άλλα (για τα 40 άρθρα που απέμειναν) που αφορούσαν τον γονότυπο **chickpea genotype**, τον τύπο δείγματος **sample tissue** (φύλλο/ρίζα/βλαστός) την υποέκφραση ή υπερέκφραση γονιδίου υπό συνθήκες καταπόνησης **gene up/down regulation** κι αν έγινε μελέτη έκφρασης σε πραγματικό πείραμα ή in silico analysis **experiment/in silico analysis** (Εικόνα 14).

	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
1	statistical analysis	chickpea genotype	sample tissue	description	developmental stage	NaCl / salt concentration	experiment/in silico analysis	genes/proteins	comments	up/down regulated
2										
3	SPSS	salt-tolerant genotypes Pisp97-43c8, Pokkali and Pisp97-196c; salt-sensitive genotype	leaves	10 days	21-day-old seedlings	100mM	experiment	proteins	proteins/photosynthesis and bioenergy/stress-responses,protein synthesis and degradation/gene transcription and replication/amino acid and nitrogen metabolism/photosynthesis/signaling/	up/down regulated
4		Kabuli & Desi					databases	genes	89 FAD genes (11 in Desi and 18 in Kabuli) in chickpea genome/ CafAids /	2 FAD genes during salinity up regulated (in shoot tissue)/ in root tissue, 9 FAD genes were down-regulated and 3 FAD genes were up regulated(CaFAR1 gene was also expressed more in bud, shoot apical meristem and seeds
5	ANOVA	Kabuli & Desi; sensitive and tolerant varieties	leaves	12 days/4 times over third day	one month + 12 days old	200mM ,150 mM	experiment	genes	Only two accessions, Kabuli and Desi showed a higher level of CaFAR2c2a	total CaFARc increased
6			root and shoot				transcriptome data of chickpea were obtained from chickpea transcriptome database where the plants were treated with various abiotic stresses	genes	Transcription factors (TFs) are proteins that play very important role during gene transcription by interacting with their corresponding cis-regulatory elements in the promoter regions/ WRKY TF	14 WRKY genes were downregulated in roots, while 9 WRKY genes were downregulated in shoots
7	NCBI/SMART/ Pfam databases	Kabuli	leaves	72h/leaves	seedlings were at the age of 15 days after germination	150 mM	experiment	genes	WRKY72 factor was highly induced while WRKY73 was highly repressed in the tolerant genotype/HSF gene was highly induced in the tolerant genotype, but significantly repressed in the sensitive/ M18 TFs were induced in the	CaRH1, CaPHYA, CaERS1 and CaRR17 upregulated, and CaRHP1 downregulated
		desi: IG 11 (salt tolerant) and			2 doses 10 days after sowing &				WRKY72 factor was highly induced while WRKY73 was highly repressed in the tolerant genotype/HSF gene was highly induced in the tolerant genotype, but significantly repressed in the sensitive/ M18 TFs were induced in the	proteins that control the transcription of genes, and a lot of them are therefore expressed in a genotype, tissue, and stress-specific manner. A total of 151 TFs were differentially expressed, with 91 u

Εικόνα 14: Καταγραφή δεδομένων

Ο τελικός καθορισμός των μελετών έγινε βάση των διαθέσιμων δεδομένων κάθε μελέτης, προκειμένου να υπολογιστεί η ετερογένεια αυτών και ο τελικός αριθμός των μελετών ήταν 36 (αφαιρέθηκαν 4 που αναφερόντουσαν σε RNA-seq ή microarrays). Σε 34 μελέτες τα πειράματα διεξήχθησαν σε θερμοκήπιο και σε δύο μελέτες στον αγρό και σε μία μελέτη in vitro. Οι γονότυποι των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα προέρχονταν από ανθεκτικές και ευαίσθητες ποικιλίες ρεβιθιού. Τα δείγματα ιστού που αναλύθηκαν προέρχονταν από φύλλα και ρίζες και βλαστούς. Σε έξι μελέτες το στρες που υπέστησαν τα φυτά ήταν gradual και τα δείγματα προς ανάλυση συλλέχθηκαν σε διαφορετικούς χρόνους μετά την επέμβαση. Σε 30 μελέτες το στρες που υπέστησαν τα φυτά ήταν sudden και τα δείγματα ιστού συλλέχθηκαν πριν την επέμβαση και μία χρονική στιγμή μετά την επέμβαση.

## 2.4 Στατιστική ανάλυση μέσω του προγράμματος STATA 11

Εξετάστηκε η ετερογένεια των μελετών, με την χρήση του προγράμματος **STATA 11** (Sterne et al. 2001) υπολογίζοντας: effect size, weight, και variance Tau-squared μία μελέτη ξεχωριστά. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε και με τα δύο μοντέλα τα οποία χρησιμοποιούνται για να συνδυάσουν τις μεμονωμένες εκτιμήσεις του μεγέθους επίδρασης **Fixed effect model** (Πίνακας 3) και **Radom effect model**. (Πίνακας 4). Στην ανάλυση έγινε έλεγχος ετερογένειας και αποδείχθηκε ότι στα δεδομένα που προέκυψαν από τις μελέτες, μεταξύ των γονιδίων δεν υπάρχουν διαφορές στο

ποσοστό αυτών που αντέδρασαν. Συνεπώς το ποσοστό εμφάνισης των γονιδίων δεν παρουσιάζει ετερογένεια. Το αποτέλεσμα αυτό αποδεικνύεται από το  $I^2 = 0.0\%$  και  $\chi^2 \approx 1$  όπως προκύπτει από το  $p_{\text{value}} = 1.0$ . Τα αποτελέσματα αυτά έδειξαν ότι τα row data προέρχονται από ομοιογενείς μελέτες.

Πίνακας 3. Στατιστική ανάλυση με *fixed effect model*

```
. metan ES SE, label(namevar=Chickpea_gf) fixed
```

Study	ES	[95% Conf. Interval]		% Weight
carbonic anhydrase	0.032	-0.031	0.095	4.01
glycerate dehydronas	0.032	-0.031	0.095	4.01
heat shock transcrip	0.065	-0.025	0.154	2.01
L-ascorbate peroxida	0.032	-0.031	0.095	4.01
Zinc metalloprotease	0.032	-0.031	0.095	4.01
Phosphogluconate deh	0.032	-0.031	0.095	4.01
CaRabC (Intracellula	0.032	-0.031	0.095	4.01
HK(histidine kinases	0.032	-0.031	0.095	4.01
HP (Histidine phosph	0.032	-0.031	0.095	4.01
PRRs Bet V1 like rip	0.032	-0.031	0.095	4.01
NAC transcription fa	0.097	-0.013	0.206	1.34
AP2/ERF transcriptio	0.097	-0.013	0.206	1.34
WRKY transcription f	0.129	0.003	0.255	1.00
MYB transcription fa	0.065	-0.025	0.154	2.01
KUP/HAK/KT K+ transp	0.032	-0.031	0.095	4.01
KEA transporters	0.032	-0.031	0.095	4.01
HKT transporters	0.032	-0.031	0.095	4.01
TPK transporters	0.032	-0.031	0.095	4.01
CCCH Zinc finger gen	0.065	-0.025	0.154	2.01
MATE (multidrug and	0.065	-0.025	0.154	2.01
leucoanthocyanidin d	0.032	-0.031	0.095	4.01
LEA (late embryogene	0.065	-0.025	0.154	2.01
Trehalose 6 phosphat	0.032	-0.031	0.095	4.01
Aux/IAA (auxin/indol	0.065	-0.025	0.154	2.01
TLP CaTLP tubby like	0.032	-0.031	0.095	4.01
F-box proteins	0.032	-0.031	0.095	4.01
MIPS-L-myo-inositol	0.032	-0.031	0.095	4.01
CIPK (CBL interactin	0.032	-0.031	0.095	4.01
CaARP (PR-10 protein	0.032	-0.031	0.095	4.01
CBL calcineurin prot	0.032	-0.031	0.095	4.01
I-V pooled ES	0.039	0.026	0.052	100.00

Heterogeneity chi-squared = 6.88 (d.f. = 29) p = 1.000  
I-squared (variation in ES attributable to heterogeneity) = 0.0%  
Test of ES=0 : z= 6.01 p = 0.000

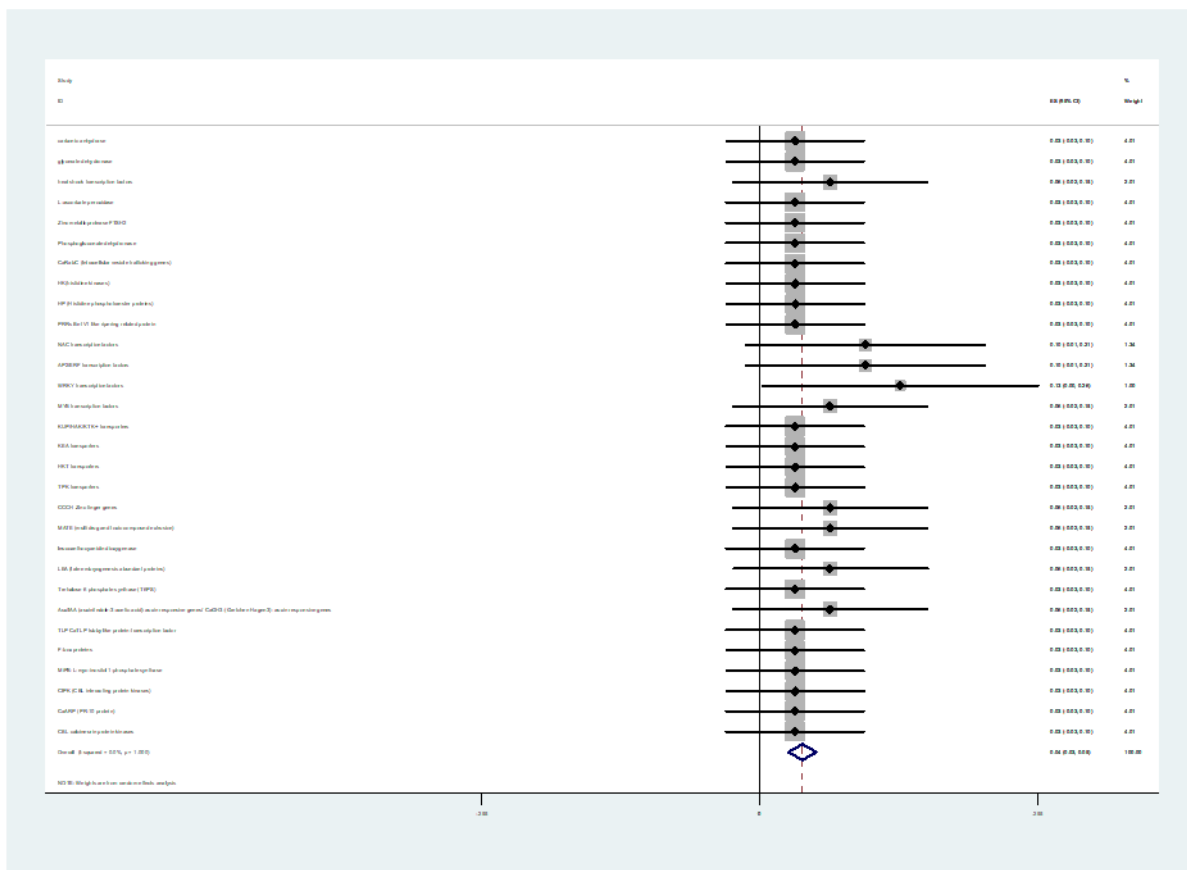


Πίνακας 4. Στατιστική ανάλυση με Random effect model

```
. metan ES SE, label(namevar=Chickpea_gf) random
```

Study	ES	[95% Conf. Interval]	% Weight
carbonic anhydrase	0.032	-0.031 0.095	4.01
glycerate dehydronas	0.032	-0.031 0.095	4.01
heat shock transcrip	0.065	-0.025 0.154	2.01
L-ascorbate peroxida	0.032	-0.031 0.095	4.01
Zinc metalloprotease	0.032	-0.031 0.095	4.01
Phosphogluconate deh	0.032	-0.031 0.095	4.01
CaRabC (Intracellula	0.032	-0.031 0.095	4.01
HK(histidine kinases	0.032	-0.031 0.095	4.01
HP (Histidine phosph	0.032	-0.031 0.095	4.01
PRRs Bet V1 like rip	0.032	-0.031 0.095	4.01
NAC transcription fa	0.097	-0.013 0.206	1.34
AP2/ERF transcrip	0.097	-0.013 0.206	1.34
WRKY transcription f	0.129	0.003 0.255	1.00
MYB transcription fa	0.065	-0.025 0.154	2.01
KUP/HAK/KT K+ transp	0.032	-0.031 0.095	4.01
KEA transporters	0.032	-0.031 0.095	4.01
HKT transporters	0.032	-0.031 0.095	4.01
TPK transporters	0.032	-0.031 0.095	4.01
CCCH Zinc finger gen	0.065	-0.025 0.154	2.01
MATE (multidrug and	0.065	-0.025 0.154	2.01
leucoanthocyanidin d	0.032	-0.031 0.095	4.01
LEA (late embryogene	0.065	-0.025 0.154	2.01
Trehalose 6 phosphat	0.032	-0.031 0.095	4.01
Aux/IAA (auxin/indol	0.065	-0.025 0.154	2.01
TLP CaTLP tubby like	0.032	-0.031 0.095	4.01
F-box proteins	0.032	-0.031 0.095	4.01
MiPS-L-myo-inositol	0.032	-0.031 0.095	4.01
CIPK (CBL interactin	0.032	-0.031 0.095	4.01
CaARP (PR-10 protein	0.032	-0.031 0.095	4.01
CBL calcineurin prot	0.032	-0.031 0.095	4.01
D+L pooled ES	0.039	0.026 0.052	100.00

Heterogeneity chi-squared = 6.88 (d.f. = 29) p = 1.000  
 I-squared (variation in ES attributable to heterogeneity) = 0.0%  
 Estimate of between-study variance Tau-squared = 0.0000  
 Test of ES=0 : z= 6.01 p = 0.000



Εικόνα 16: Forest plot από Random effect model analysis



Πίνακας 4: Σύνοψη μελετών που συμπεριλήφθησαν στην μετα-ανάλυση

series	Year	Title
1	2019	Comparative proteomics and gene expression analyses revealed responsive proteins and mechanisms for salt tolerance in chickpea genotypes
2	2019	Intracellular Vesicle Trafficking Genes, RabG-GTP, Are Highly Expressed Under Salinity and Rapid Dehydration but Down-Regulated by Drought in Leaves of Chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
3	2019	Genome-wide identification and expression analyses of WRKY transcription factor family members from chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) reveal their role in abiotic stress-responses
4	2019	Genome-wide identification and expression analysis of two component system genes in <i>Cicer arietinum</i>
5	2018	Differential Regulation of Genes Involved in Root Morphogenesis and Cell Wall Modification is Associated with Salinity Tolerance in Chickpea
6	2018	Genome-Wide Analysis of Potassium Transport-Related Genes in Chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) and Their Role in Abiotic Stress Responses(Article)
7	2017	MicroRNA profiling provides insights into post-transcriptional regulation of gene expression in chickpea root apex under salinity and water deficiency
8	2017	Genome-wide analysis of the CCCH zinc finger family identifies tissue specific and stress responsive candidates in chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
9	2016	Identification and expression analysis of six salt inducible Arabidopsis ortholog genes in chickpea
10	2016	Identification and validation of reference genes and their impact on normalized gene expression studies across cultivated and wild <i>Cicer</i> species
11	2016	Transcriptome analyses reveal genotype- and developmental stage-specific molecular responses to drought and salinity stresses in chickpea
12	2016	Transmembrane START domain proteins: in silico identification, characterization and expression analysis under stress conditions in chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
13	2015	Physiological and gene expression analysis of extreme chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) genotypes in response to salinity stress
14	2015	Genome-Scale Transcriptomic Insights into Molecular Aspects of Abiotic Stress Responses in Chickpea
15	2015	Comparative quantitative gene expression analysis between salinity tolerant and susceptible varieties of chickpea
16	2015	Expression analysis of a MATE-type transporter gene of Arabidopsis and its orthologues in rice and chickpea under salt stress
17	2015	Genome-wide analysis of the basic leucine zipper (bZIP) transcription factor gene family in six legume genomes
18	2015	Genome-wide analysis and expression profiling suggest diverse roles of GH3 genes during development and abiotic stress responses in legumes
19	2013	The analysis of gene expression to identify interaction of gibberellic acid and salinity using differential display-PCR in chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
20	2013	Promoter of CaZF, a Chickpea Gene That Positively Regulates Growth and Stress Tolerance, Is Activated by an AP2-Family Transcription Factor CAP2
21	2012	Overexpression of CaTLP1, a putative transcription factor in chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.), promotes stress tolerance
22	2012	Identification and characterization of a LEA family gene CarLEA4 from chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
23	2012	Molecular cloning and characterization of an F-box family gene CarF-box1 from chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
24	2012	Phospholipid Mediated Activation of Calcium Dependent Protein Kinase 1 (CaCDPK1) from Chickpea: A New Paradigm of Regulation
25	2010	Cloning and characterization of a novel NAC family gene CarNAC1 from chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
26	2008	Two divergent genes encoding L-myo-inositol 1-phosphate synthase1 (CaMIPS1) and 2 (CaMIPS2) are differentially expressed in chickpea
27	2006	Expression and localization of calcium-dependent protein kinase isoforms in chickpea
28	2013	Late Embryogenesis Abundant (LEA) proteins in legumes
29	2012	Reduced representation sequencing of plant stress transcriptomes
30	1998	A cDNA encoding a proline-rich protein from <i>Cicer arietinum</i> . Changes in expression during development and abiotic stresses
31	1995	Convergent Effects of Stress and ABA on Gene Expression during Germination of Chick-Pea Seeds
32	1994	Abscisic acid and stress regulate gene expression during germination of chick-pea seeds. Possible role of calcium???
33	2018	Molecular insights into the functional role of nitric oxide (NO) as a signal for plant responses in chickpea
34	2015	Secretome analysis of chickpea reveals dynamic extracellular remodeling and identifies a Bet v1-like protein, CaRRP1 that participates in stress response
35	2015	Investigation of Genes Encoding Calcineurin B-Like Protein Family in Legumes and Their Expression Analyses in Chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
36	2015	The CarERF genes in chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) and the identification of CarERF116 as abiotic stress responsive transcription factor



## 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 3.1 Δεδομένα για μετανάλυση

Μια συστηματική ανασκόπηση πραγματοποιήθηκε πριν την μετα-ανάλυση. Στη μετα-ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τα εξής μοντέλα: Random effect model και Fixed effect model. Από το σύνολο των μελετών, συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση 36 μελέτες οι υπόλοιπες απορρίφθηκαν καθώς είτε δεν αναφέρονταν σε γονίδια είτε ήταν μελέτες που δεν αναφέρονταν στα κριτήρια εισαγωγής της μετα-ανάλυσης. Ο τελικός πίνακας με τις οικογένειες γονιδίων που παρουσιάζονται στις μελέτες καθώς και η συχνότητα εμφάνισής τους δίνονται στον Πίνακα 5.

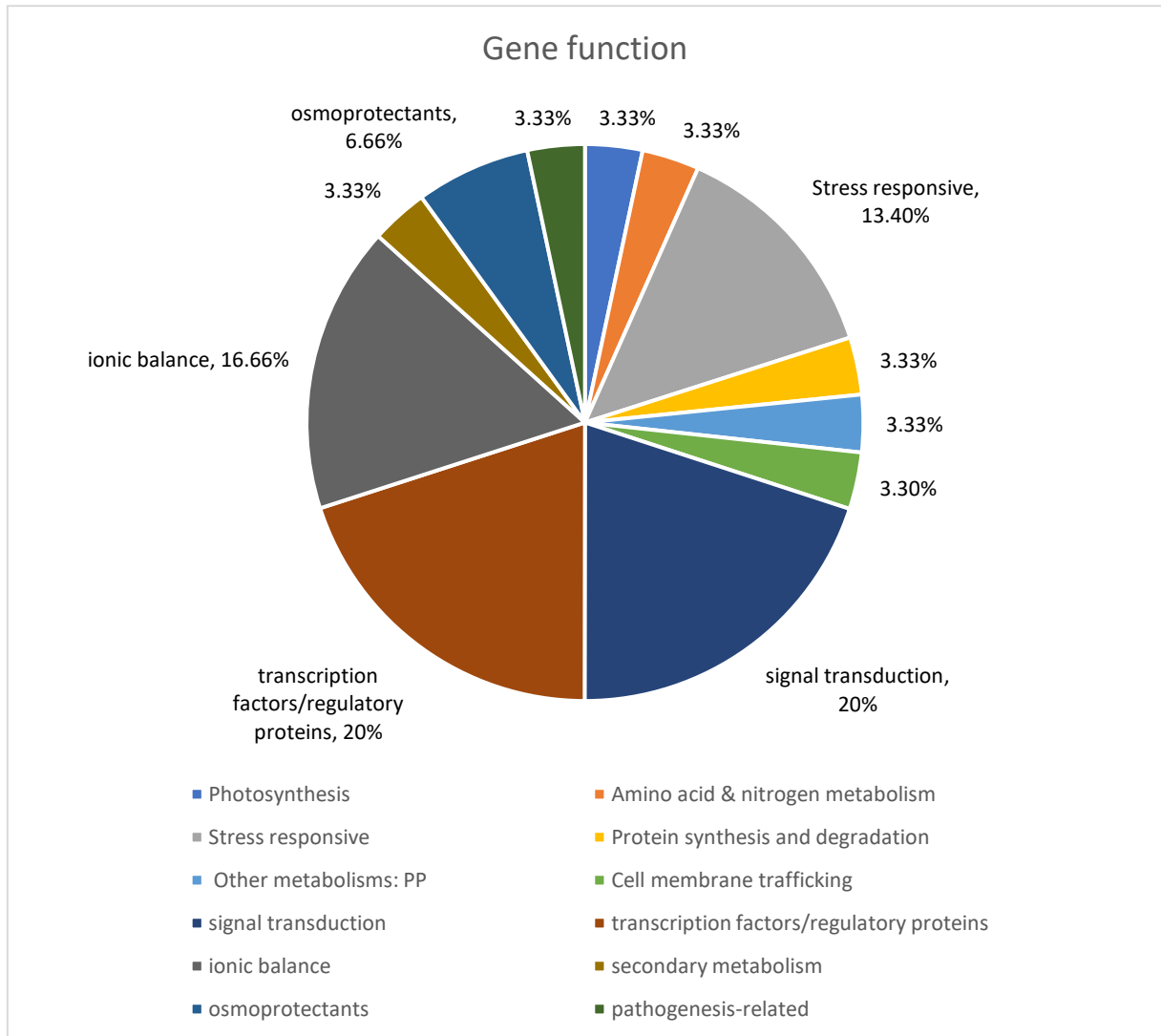
Πίνακας 5. Κατάλογος γονιδίων/οικογενειών γονιδίων από την δημοσιευμένη βιβλιογραφία για την καταπόνηση στην αλατότητα στο ρεβίθι και η συχνότητα εμφάνισης στις δημοσιεύσεις που χρησιμοποιήθηκαν για την μετα-ανάλυση

final list		
Chickpea gene families	frequency/30 gene families	total gene number
carbonic anhydrase	1	31
glycerate dehydratase	1	31
heat shock transcription factors	2	31
L-ascorbate peroxidase	1	31
Zinc metalloprotease FTSH2	1	31
Phosphoglucuronate dehydratase	1	31
CaRabC (Intracellular vesicle trafficking genes)	1	31
HK(histidine kinases)	1	31
HP (Histidine phosphotransfer proteins)	1	31
PRRs Bet V1 like ripening related protein	1	31
NAC transcription factors	3	31
AP2/ERF transcription factors	3	31
WRKY transcription factors	4	31
MYB transcription factors	2	31
KUP/HAK/KT K <sup>+</sup> transporters	1	31
KEA transporters	1	31
HKT transporters	1	31
TPK transporters	1	31
CCCH Zinc finger transcription factors	2	31
MATE (multidrug and toxic compound extrusion)	2	31
leucoanthocyanidin dioxygenase	1	31
LEA (late embryogenesis abundant proteins)	2	31
Trehalose 6 phosphate synthase (T6PS)	1	31
Aux/IAA (auxin/indole-3-acetic acid)-auxin responsive genes/ CaGH3-(Gretchen Hagen3)- auxin responsive genes	2	31
TLP CaTLP tubby like protein-transcription factor	1	31
F-box proteins	1	31

MiPS-L-myo-inositol 1-phosphate synthase	1	31
CIPK (CBL interacting protein kinases)	1	31
CaARP (PR-10 protein)	1	31
CBL calcineurin protein kinases	1	31

Πίνακας 6: Οι οικογένειες γονιδίων που μελετήθηκαν και οι λειτουργίες τους

Chickpea gene families	Function
carbonic anhydrase	Photosynthesis
glycerate dehydratase	Amino acid & nitrogen metabolism
heat shock transcription factors	Stress responsive
L-ascorbate peroxidase	Stress responsive
Zinc metalloprotease FTSH2	Protein synthesis and degradation
Phosphogluconate dehydratase	Other metabolisms: PP
CaRabC (Intracellular vesicle trafficking genes)	Cell membrane trafficking
HK(histidine kinases)	signal transduction
HP (Histidine phosphotransfer proteins)	signal transduction
PRRs Bet V1 like ripening related protein	signal transduction
NAC transcription factors	transcription factors (regulatory proteins)
AP2/ERF transcription factors	transcription factors (regulatory proteins)
WRKY transcription factors	transcription factors (regulatory proteins)
MYB transcription factors	transcription factors (regulatory proteins)
KUP/HAK/KT K <sup>+</sup> transporters	K <sup>+</sup> transporters (ionic balance)
KEA transporters	K <sup>+</sup> transporters (ionic balance)
HKT transporters	K <sup>+</sup> transporters (ionic balance)
TPK transporters	K <sup>+</sup> transporters (ionic balance)
CCCH Zinc finger genes	transcription factors (regulatory proteins)
MATE (multidrug and toxic compound extrusion)ionic balance	
leucoanthocyanidin dioxygenase	Secondary metabolism (flavonoid biosynthesis)
LEA (late embryogenesis abundant proteins)	Stress responsive
Trehalose 6 phosphate synthase (T6PS)	Osmoprotectants
Aux/IAA (auxin/indole-3-acetic acid)-auxin responsive genes/ CaGH3-(Gretchen Hagen3)- auxin responsive genes	
TLP CaTLP tubby like protein-transcription factor	transcription factors (regulatory proteins)
F-box proteins	Stress responsive
MiPS-L-myo-inositol 1-phosphate synthase	Osmoprotectants
CIPK (CBL interacting protein kinases)	Kinases
CaARP (PR-10 protein)	Pathogenesis-related protein
CBL calcineurin protein kinases	Kinases



Εικόνα 17: Ομάδες γονιδίων που αναλύθηκαν και ο ρόλος τους

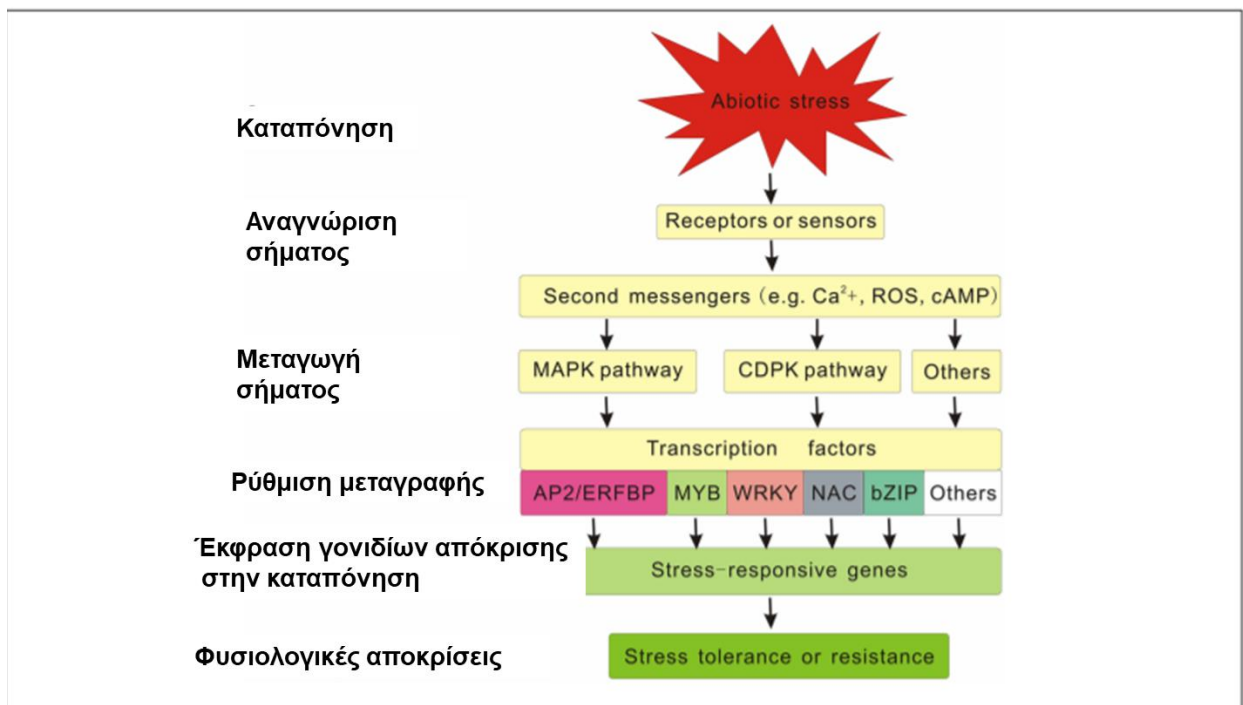
### 3.1. Οικογένειες γονιδίων με την μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης στις βιβλιογραφικές αναφορές

#### Παράγοντες μεταγραφής

Η μετα-αναλυση έδειξε ότι για κάποιους παράγοντες μεταγραφής με επίπεδο σημαντικότητας 0.05, η επαναληψιμότητα στις μελέτες ήταν μεγαλύτερη.

Η απόκριση των φυτών στην αλατότητα είναι πολύπλοκη και περιλαμβάνει πολλαπλά γονίδια που εμπλέκονται σε διακριτές ή επικαλυπτόμενες ρυθμιστικές βιοχημικές οδούς. Επομένως, η ενσωμάτωση ενός μοναδικού γονιδίου τελεστή με σκοπό την αύξηση της αντοχής στην αλατότητα, αν και αποτελεσματική σε ορισμένες περιπτώσεις

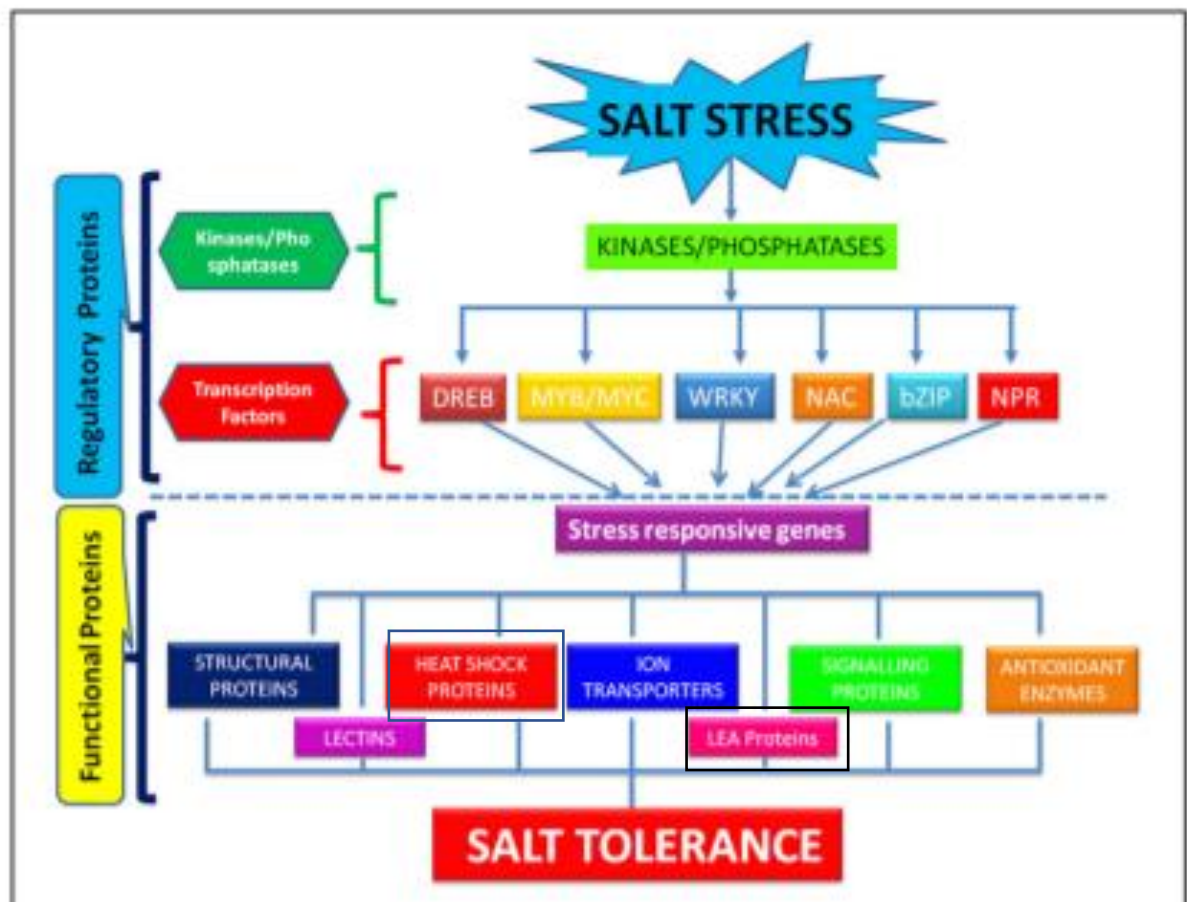
μπορεί να έχει περιορισμένη επιτυχία όταν κάποιος θεωρεί ότι ο συνδυασμός πολλαπλών καταπονήσεων έχει αυξημένη συχνότητα εμφάνισης στο χωράφι. Αντιθέτως, οι ρυθμιστικές πρωτεΐνες όπως οι παράγοντες μεταγραφής και οι πρωτεΐνες σηματοδότησης θα κερδίσουν την αυξανόμενη προσοχή των ερευνητών καθώς αναμένεται να ρυθμίσουν την έκφραση πολλών γονιδίων που ελέγχονται από αυτές και εμπλέκονται σε αποκρίσεις σε πολλαπλές καταπονήσεις. Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι οι παράγοντες μεταγραφής που ανήκουν στις οικογένειες παραγόντων μεταγραφής, NAC, MYB, AP2 / ERF, WRKY καθώς και Zinc Finger proteins σχετίζονται με την ανοχή στην αβιοτική/βιοτική καταπόνηση (Finatto et al. 2018; Gollmack et al. 2011; Gollmack et al. 2014; Hanin et al. 2016; Khan et al. 2018; Tang et al. 2013; Tani et al. 2018). Η σχηματική αναπαράσταση του τρόπου με τον οποίο οι μεταγραφικοί παράγοντες ρυθμίζουν τις οδούς σηματοδότησης και τις αποκρίσεις στις αβιοτικές καταπονήσεις δίνεται στο παρακάτω σχήμα (Εικόνα 16).



Εικόνα 16: Σχηματική αναπαράσταση του τρόπου με τον οποίο οι μεταγραφικοί παράγοντες ρυθμίζουν τις οδούς σηματοδότησης και τις αποκρίσεις στις αβιοτικές καταπονήσεις (παρμένο από H.Wang et al., 2016)

### 3.2 Λειτουργικές πρωτεΐνες (LEA, HSP) και ο ρόλος τους στην απόκριση στην αλατότητα.

Η αναγνώριση και ο χαρακτηρισμός διαφορετικών πρωτεϊνών που παίζουν κομβικό ρόλο στην σηματοδότηση κι ενεργοποίηση μεταβολικών μονοπατιών που οδηγούν στην απόκριση στην καταπόνηση λόγω αυξημένης αλατότητας αποτελεί συναρπαστική προσέγγιση για την κατανόηση της σύνθετης διαδικασίας της αντοχής στην συγκεκριμένη καταπόνηση (Himabindu et al. 2016) (Εικόνα 17).



Εικόνα 17: Μοριακή ρύθμιση της αντοχής στην αυξημένη αλατότητα μέσω ρυθμιστικών και λειτουργικών πρωτεϊνών. Οι LEA και HSP βρίσκονται σε πλαίσιο (Kaur and Pati 2017)

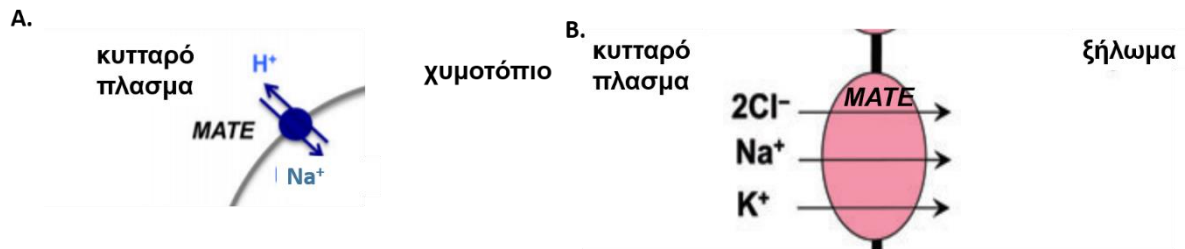
Ο ρόλος των πρωτεϊνών LEA στην αντοχή των φυτών στην υδατική καταπόνηση και την αυξημένη αλατότητα είναι καλά μελετημένος. Οι πρωτεΐνες LEA συσσωρεύονται άμεσα στα φυτικά κύτταρα κατά την απόκριση στην αυξημένη αλατότητα

προστατεύοντας κυρίως τις μιτοχονδριακές μεμβράνες. Λειτουργούν επίσης ως προστατευτικά ενζύμων, μοριακές σαπερόνες, πολυλειτουργικά μόρια που δεσμεύουν το νερό, σταθεροποιητές μεμβράνης και πληρωτικά χώρου αναστέλλοντας έτσι την κυτταρική κατάρρευση κατά την καταπόνηση (Himabindu *et al.* 2016; Kaur and Pati 2017).

Από την άλλη πλευρά, οι HSPs είναι πρωτεΐνες που επάγονται από καταπονήσεις, δρουν ως σαπερόνες και συντίθενται σε απόκριση όλων των ειδών καταπόνησης στα φυτά καθώς προστατεύουν τη δομή των πρωτεϊνών κι την ομοιόσταση τους (W. Hu *et al.* 2017; Wang *et al.* 2004).

### 3.3 Mate (multidrug and toxic compound extrusion) πρωτεΐνες

Ολοένα και περισσότερες έρευνες αποδεικνύουν ότι τα γονίδια *MATE* είναι σημαντικά για την επιτυχημένη απόκριση σε διάφορους παράγοντες αβιοτικής καταπόνησης. Η ομάδα αυτή των γονιδίων εμπλέκεται στην εξαγωγή τοξινών κι άλλων βλαβερών για το κύτταρο ουσιών μέσω των κυτταρικών μεμβρανών (He *et al.* 2010). Η *MATE* οικογένεια γονιδίων δρουν ως δευτερογενείς φορείς ιόντων (συνήθως  $\text{Na}^+$  ή  $\text{H}^+$ ), βοηθώντας την αποτοξίνωση του κυττάρου από τοξικές συγκεντρώσεις των ιόντων αυτών (Dong *et al.* 2019). Σε άλλες περιπτώσεις έχει βρεθεί να λειτουργούν ως μεταφορείς αμπισισικού οξέος (ABA) (Haiwen Zhang *et al.* 2014) είτε ως μεταφορείς  $\text{Cl}^-$ . Στο ρεβίθι δεν έχουν πλήρως χαρακτηριστεί οπότε πιθανόν να εδράζουν είτε στην μεμβράνη του χυμοτοπίου είτε στην κυτταρική μεμβράνη μεταφέροντας  $\text{Cl}^-$  ή  $\text{Na}^+$  από το κυτταρόπλασμα στο ξήλωμα (Teakle and Tyerman 2010) (Εικόνα 18)



Εικόνα 18: Πιθανός τρόπος λειτουργία των MATE γονιδίων στο ρεβίθι σε συνθήκες αυξημένης αλατότητας. Σχήματα προσαρμοσμένα από τους (Martinoia 2018) και (Teakle and Tyerman 2010)

### 3.4 Auxin/Indole-3-Acetic Acids (Aux/IAA) και Gretchen Hagen3 (GH3) οικογένειες γονιδίων

Η οικογένεια γονιδίων *Aux/IAA* συμμετέχει σε πολλές αποκρίσεις των φυτών κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και ποικίλων συνθηκών αβιοτικής καταπόνησης κι αλληλεπιδρά με διάφορες πρωτεΐνες υποδηλώνοντας πώς οι αλλαγές στα επίπεδα αυξίνης αντικατοπτρίζονται σε γεγονότα επαναπρογραμματισμού πλήθους γονιδίων (Εικόνα 3.5) (V. K. Singh and Jain 2015). Η αντίληψη του σήματος από την αλλαγή των συγκεντρώσεων της αυξίνης και ο έλεγχος της γονιδιακής έκφρασης ρυθμιζόμενης από την ορμόνη αυτή προκαλείται από πρωτεΐνες που ανήκουν σε τρεις οικογένειες, συμπεριλαμβανομένων των υποδοχέων (πρωτεΐνες F-box), των καταστολέων [Auxin / Indole-3-Acetic Acids ( Aux / IAAs)] και των ενεργοποιητών μεταγραφής auxin response factors (ARFs).

Η μεταγωγή του σήματος της αυξίνης εξαρτάται από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών αυτών των οικογενειών πρωτεϊνών. Υπό χαμηλή συγκέντρωση αυξίνης, ο σχηματισμός ενός ετερομερούς ARF-Aux / IAA έχει ως αποτέλεσμα την καταστολή της έκφρασης των παραγόντων μεταγραφής ARF (Tiwari et al. 2001). Όταν η συγκέντρωση της αυξίνης είναι υψηλή, ένα σύμπλεγμα συν-υποδοχέα που αποτελείται από μια πρωτεΐνη F-box, από μια πρωτεΐνη (TIR1), από μια πρωτεΐνη σηματοδότησης transport inhibitor response1 (TIR1)/auxin F-box protein (AFB) και μια πρωτεΐνη Aux / IAA, δεσμεύει την αυξίνη (Tan et al. 2007). Η πρωτεΐνη F-box, στοχεύει τις πρωτεΐνες Aux / IAA για αποδόμηση (Dos Santos Maraschin et al. 2009). Αυτή η αποδόμηση σταματάει την καταστολή του παράγοντα μεταγραφής ARF, επιτρέποντας έτσι τη μεταγραφή των γονιδίων που ελέγχονται από τις υψηλές συγκεντρώσεις αυξίνης (Tiwari et al. 2001).



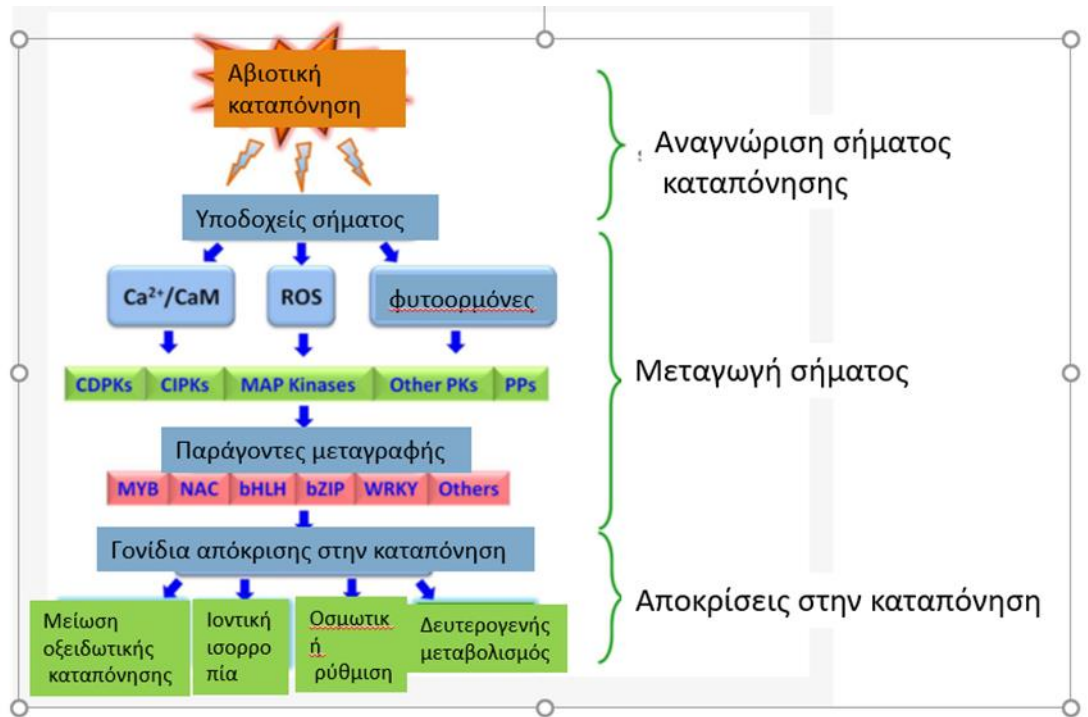




## 5. Συμπεράσματα

Κατά την μετα-ανάλυση των μελετών, προέκυψαν 31 οικογένειες γονιδίων που σχετίζονται με την ανθεκτικότητα του ρεβιθιού στην αλατότητα. Όλες οι συγκρίσεις δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική ετερογένεια. Ένα σημαντικό αποτέλεσμα που προέκυψε από την ομοιογένεια των μελετών είναι ότι οι οικογένειες γονιδίων με την μεγαλύτερη εμφάνιση ήταν οι ακόλουθες: *NAC*, *AP2/ERF* και *WRKY* transcription factors και με λίγο μικρότερη συχνότητα εμφανίστηκαν οι *HSP* (Heat Shock Proteins), *MYB* transcription factors, *CCCH Zinc finger* transcription factors, *MATE* (multidrug and toxic compound extrusion), *LEA* (Late Embryogenesis Abundant proteins), *Aux/IAA* (auxin/indole-3-acetic acid)-auxin responsive genes/*CaGH3*-(Gretchen Hagen3)- auxin responsive genes. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ο λειτουργικός ρόλος των περισσότερων οικογενειών των γονιδίων που αναφέρθηκαν σχετίζεται με κωδικοποίηση παραγόντων μεταγραφής, με την ομοιόσταση των πρωτεϊνών ή τον έλεγχο της ιοντικής ισορροπίας. Οι αλληλεπιδράσεις των γονιδίων αυτών φαίνονται στο Σχήμα 20. Ο ρόλος των προαναφερθέντων οικογενειών γονιδίων στην καλύτερη απόκριση των φυτών σε συνθήκες αυξημένης αλατότητας έχει μελετηθεί για πολλά καλλιεργούμενα είδη και φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο και στην αντοχή του ρεβιθιού σε αντίστοιχες συνθήκες καταπόνησης.

Επίσης παρατηρήθηκε ότι στις μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν για την μετα-ανάλυση δεν εμφανίστηκαν ομάδες γονιδίων που παίζουν σημαντικό ρόλο στην απόκριση στην αλατότητα σε άλλα ψυχανθή όπως οι *NHX1* και *SOS1* ομάδες γονιδίων. Αυτό ίσως συμβαίνει επειδή η έρευνα πάνω σε αυτό το αντικείμενο είναι πολύ πρόσφατη και μελέτες που δημοσιεύτηκαν το 2020/2021 και πιθανόν αφορούσαν κι αυτές τις οικογένειες γονιδίων δεν συμπεριλήφθηκαν. Τέλος μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα θα μπορούσε να σχηματιστεί αν στην μετα-ανάλυση είχαμε συμπεριλάβει και αποτελέσματα γονιδιακής έκφρασης που προέρχονταν από πειράματα με μικροσυστοιχίες ή από μεταγραφωμική ανάλυση, πράγμα όμως που δεν ήταν δυνατόν στα χρονικά πλαίσια της συγκεκριμένης μεταπτυχιακής εργασίας.



Εικόνα 20: Αναγνώριση σήματος καταπόνησης/μεταγωγής σήματος και αποκρίσεις στην καταπόνηση-σχήμα προσαρμοσμένο από τους (Khan et al., 2018)

## 5.Βιβλιογραφία

- Abdelgawad, Hamada, et al. (2016), 'High Salinity Induces Different Oxidative Stress and Antioxidant Responses in Maize Seedlings Organs', *Frontiers in plant science*, 7, 276-76.
- Akbarimoghaddam, H., et al. (2011), 'Salinity effects on seed germination and seedling growth of bread wheat cultivars', *Trakia Journal of Sciences*, 9, 43-50.
- Apel, Klaus and Hirt, Heribert (2004), 'Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction', 55 (1), 373-99.
- Arumuganathan, K. and Earle, E. D. (1991), 'Nuclear DNA content of some important plant species', *Plant Molecular Biology Reporter*, 9 (3), 208-18.
- Ashraf, M. and Wu, Lin (1994), 'Breeding for Salinity Tolerance in Plants', *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13 (1), 17-42.
- Ashraf, M. and Harris, P. J. C. (2004), 'Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants', *Plant Science*, 166 (1), 3-16.
- Ashraf, M., et al. (2012), 'Marker-assisted selection in plant breeding for salinity tolerance', *Methods Mol Biol*, 913, 305-33.
- Ashrafi-Dehkordi, Elham, et al. (2018), 'Meta-analysis of transcriptomic responses to biotic and abiotic stress in tomato', *PeerJ*, 6, e4631-e31.
- Assaha, Dekoum V. M., et al. (2017), 'The Role of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> Transporters in Salt Stress Adaptation in Glycophytes', 8 (509).
- Atieno, Judith, et al. (2017), 'Exploring genetic variation for salinity tolerance in chickpea using image-based phenotyping', *Scientific reports*, 7 (1), 1300-00.
- Baenziger, P. S., et al. (2006), 'Improving Lives: 50 Years of Crop Breeding, Genetics, and Cytology (C-1)', 46 (5), 2230-44.
- Banerjee, Aditya and Roychoudhury, Aryadeep (2017), 'Effect of Salinity Stress on Growth and Physiology of Medicinal Plants', 177-88.
- Bano, Asghari and Fatima, Mussarat (2009), 'Salt tolerance in Zea mays (L). following inoculation with Rhizobium and Pseudomonas', *Biology and Fertility of Soils*, 45 (4), 405-13.
- Bartels, Dorothea and Challabathula, Dinakar (2013), 'Balancing salinity stress responses in halophytes and non-halophytes: A comparison between Thellungiella and Arabidopsis thaliana', *Functional Plant Biology*, 40.
- Begg, C. B. and Mazumdar, M. (1994), 'Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias', *Biometrics*, 50 (4), 1088-101.
- Blair, M., Wu, Jing, and Wang, Shumin (2016), 'Editorial: Food Legume Diversity and Legume Research Policies', *The Crop Journal*, 4, 339-43.
- Blaylock, A.D., et al. (1994), *Soil Salinity, Salt Tolerance, and Growth Potential of Horticultural and Landscape Plants* (University of Wyoming, Cooperative Extension Service, Department of Plant, Soil, and Insect Sciences, College of Agriculture).
- Bobko, Philip and Stone-Romero, Eugene F. (1998), 'Meta-analysis may be another useful research tool, but it is not a panacea', *Research in personnel and human resources management*, Vol. 16. (US: Elsevier Science/JAI Press), 359-97.
- Boestfleisch, Christian, et al. (2014), 'Manipulating the antioxidant capacity of halophytes to increase their cultural and economic value through saline cultivation', *AoB PLANTS*, 6.
- Borenstein, M., et al. (2009), 'How a Meta-Analysis Works', *Introduction to Meta-Analysis*, 1-7.
- Bose, Jayakumar, Rodrigo-Moreno, Ana, and Shabala, Sergey (2013), 'ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance', *Journal of Experimental Botany*, 65 (5), 1241-57.
- Bot, Pak, et al. (2014), 'Salinity effects on seedling growth and yield components of different inbred rice lines', (37).
- Boudsocq, Marie and Laurière, Christiane (2005), 'Osmotic signaling in plants: multiple pathways mediated by emerging kinase families', *Plant physiology*, 138 (3), 1185-94.
- Çakir, Özgür, et al. (2019), 'Nutritional and health benefits of legumes and their distinctive genomic properties', *Food Science and Technology*, 39, 1-12.
- Cannon, Steven B., May, Gregory D., and Jackson, Scott A. (2009), 'Three Sequenced Legume Genomes and Many Crop Species: Rich Opportunities for Translational Genomics', 151 (3), 970-77.
- Christiansen, M., Andersen, S. B., and Ortiz, Rodomiro (2002), 'Diversity changes in an intensively bred wheat germplasm during the 20 th century', *Molecular Breeding - MOL BREEDING*, 9, 1-11.
- Cochran, W. G. (1950), 'The comparison of percentages in matched samples', *Biometrika*, 37 (3-4), 256-66.
- Cooper, H., Hedges, L., & Valentine, J. (2009), *Handbook of Research Synthesis and Meta-Analysis*, The, eds Harris Cooper, Larry V. Hedges, and Jeffrey C. Valentine (Russell Sage Foundation).

- de Azevedo Neto, André Dias, et al. (2006), 'Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes', *Environmental and Experimental Botany*, 56 (1), 87-94.
- Dong, Biying, et al. (2019), 'Genome-wide analysis of MATE transporters and response to metal stress in *Cajanus cajan*', *Journal of Plant Interactions*, 14 (1), 265-75.
- Dos Santos Maraschin, Felipe, Memelink, Johan, and Offringa, Remko (2009), 'Auxin-induced, SCFTIR1-mediated poly-ubiquitination marks AUX/IAA proteins for degradation', 59 (1), 100-09.
- Egger, Matthias, et al. (1997), 'Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test', 315 (7109), 629-34.
- Eysenck, H. J. (1994), 'Meta-analysis and its problems', *BMJ (Clinical research ed.)*, 309 (6957), 789-92.
- Fan, Ruzong, et al. (2015), 'Gene Level Meta-Analysis of Quantitative Traits by Functional Linear Models', *Genetics*, 200 (4), 1089-104.
- Farhat, Sufia, et al. (2019), 'CRISPR-Cas9 directed genome engineering for enhancing salt stress tolerance in rice', *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 96, 91-99.
- Ferrer, R. L. (1998a), 'Graphical methods for detecting bias in meta-analysis', *Fam Med*, 30 (8), 579-83.
- Ferrer, Robert (1998b), 'Graphical methods for detecting bias in meta-analysis', *Family medicine*, 30, 579-83.
- Finan, John D. and Guilak, Farshid (2010), 'The effects of osmotic stress on the structure and function of the cell nucleus', *Journal of cellular biochemistry*, 109 (3), 460-67.
- Finatto, Taciane, et al. (2018), 'Can WRKY transcription factors help plants to overcome environmental challenges? %J Genetics and Molecular Biology', 41, 533-44.
- Flowers, T. J. and Colmer, T. D. (2008), 'Salinity tolerance in halophytes', *New Phytol*, 179 (4), 945-63.
- Gepts, P., et al. (2005), 'Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed report of the Cross-Legume Advances Through Genomics Conference', *Plant Physiol*, 137 (4), 1228-35.
- Glass, Gene V. (1976), 'Primary, Secondary, and Meta-Analysis of Research', *Educational Researcher*, 5 (10), 3-8.
- Golldack, Dortje, Lüking, Ines, and Yang, Oksoon (2011), 'Plant tolerance to drought and salinity: stress regulating transcription factors and their functional significance in the cellular transcriptional network', *Plant Cell Reports*, 30 (8), 1383-91.
- Golldack, Dortje, et al. (2014), 'Tolerance to drought and salt stress in plants: Unraveling the signaling networks', 5 (151).
- Graham, Peter H. and Vance, Carroll P. (2003), 'Legumes: Importance and Constraints to Greater Use', 131 (3), 872-77.
- Greco, T., et al. (2013), 'Meta-analysis: pitfalls and hints', *Heart, lung and vessels*, 5 (4), 219-25.
- Gupta, Bhaskar and Huang, Bingru (2014), 'Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Characterization', *International Journal of Genomics*, 2014, 701596.
- Hanin, Moez, et al. (2016), 'New Insights on Plant Salt Tolerance Mechanisms and Their Potential Use for Breeding', 7 (1787).
- Hasegawa, Paul, Bressan, Ray, and Handa, Avtar (1986), 'Cellular mechanisms of salinity tolerance', *HortScience*, 21, 1317-24.
- Hasegawa, Paul, et al. (2000), 'Plant cellular and molecular responses to high salinity', *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 493-99.
- He, X., et al. (2010), 'Structure of a cation-bound multidrug and toxic compound extrusion transporter', *Nature*, 467 (7318), 991-4.
- Higgins, J. P., et al. (2003), 'Measuring inconsistency in meta-analyses', *Bmj*, 327 (7414), 557-60.
- Himabindu, Yeduguri, et al. (2016), 'Salt-tolerant genes from halophytes are potential key players of salt tolerance in glycophytes', *Environmental and Experimental Botany*, 124, 39-63.
- Hopewell, S., et al. (2007), 'Grey literature in meta-analyses of randomized trials of health care interventions', *Cochrane Database Syst Rev*, (2), Mr000010.
- Hu, Wei, et al. (2017), 'Comparative physiological and transcriptomic analyses provide integrated insight into osmotic, cold, and salt stress tolerance mechanisms in banana', *Scientific Reports*, 7 (1), 43007.
- Hu, Yuncai and Schmidhalter, Urs (2005), 'Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants', 168 (4), 541-49.
- Huang, Xiu-Qiang, et al. (2007), 'Did Modern Plant Breeding Lead to Genetic Erosion in European Winter Wheat Varieties?', 47 (1), 343-49.
- Hunter, John and Schmidt, Frank (2004), *Methods of Meta-Analysis Corrected Error and Bias in Research Findings* (20).
- Hunter, John E. and Schmidt, Frank L. (1990), *Methods of meta-analysis: Correcting error and bias in research findings* (Methods of meta-analysis: Correcting error and bias in research findings.; Thousand Oaks, CA, US: Sage Publications, Inc) 592-92.
- Isayenkov, Stanislav V. and Maathuis, Frans J. M. (2019), 'Plant Salinity Stress: Many Unanswered Questions Remain', 10 (80).

- Jensen, Erik Steen, et al. (2012), 'Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. A review', *Agronomy for Sustainable Development*, 32 (2), 329-64.
- Jha, Shweta (2019), 'Transgenic Approaches for Enhancement of Salinity Stress Tolerance in Plants', 265-322.
- Jha, Uday Chand, et al. (2019), 'Salinity stress response and 'omics' approaches for improving salinity stress tolerance in major grain legumes', *Plant Cell Reports*, 38 (3), 255-77.
- Judge, Timothy, Heller, Daniel, and Mount, Michael (2002), 'Five-Factor Model of Personality and Job Satisfaction: A Meta-Analysis', *The Journal of applied psychology*, 87, 530-41.
- Jukanti, A. K., et al. (2012), 'Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review', *British Journal of Nutrition*, 108 (S1), S11-S26.
- Kaashyap, M., et al. (2018), 'Differential Regulation of Genes Involved in Root Morphogenesis and Cell Wall Modification is Associated with Salinity Tolerance in Chickpea', *Sci Rep*, 8 (1), 4855.
- Kantar, Faik, et al. (2007), 'Chickpea: Rhizobium management and nitrogen fixation', 179-92.
- Kaur, Navdeep and Pati, Pratap Kumar (2017), 'Integrating Classical with Emerging Concepts for Better Understanding of Salinity Stress Tolerance Mechanisms in Rice', 5 (42).
- Kazan, Kemal and Muehlbauer, F. J. (1991), 'Allozyme variation and phylogeny in annual species of *Cicer* (Leguminosae)', *Plant Systematics and Evolution*, 175 (1), 11-21.
- Khan, Sardar-Ali, et al. (2018), 'Revisiting the Role of Plant Transcription Factors in the Battle against Abiotic Stress', 19 (6), 1634.
- Kumar, J., et al. (2019), 'Towards Exploitation of Adaptive Traits for Climate-Resilient Smart Pulses', *Int J Mol Sci*, 20 (12).
- Kupicha, F K. (2008), 'The delimitation of the tribe Viciae (Leguminosae) and the relationships of *Cicer* L', *Botanical Journal of the Linnean Society*, 74 (2), 131-62.
- Ladizinsky, G. and Adler, A. (1976), 'The origin of chickpea *Cicer arietinum* L', *Euphytica*, 25 (1), 211-17.
- Lauchli, A. and Grattan, Steve (2012), 'Plant Responses to Saline and Sodic Conditions', 169-205.
- Lin, Lifeng, et al. (2018), 'Empirical Comparison of Publication Bias Tests in Meta-Analysis', *Journal of General Internal Medicine*, 33 (8), 1260-67.
- Lipsey, Mark W. and Wilson, David B. (2001), *Practical meta-analysis* (Practical meta-analysis.; Thousand Oaks, CA, US: Sage Publications, Inc) ix, 247-ix, 47.
- Maas, E.V. and Grattan, S.R. (1999), 'Crop Yields as Affected by Salinity', *Agricultural Drainage*, 55-108.
- Manchanda, Geetanjali and Garg, Neera (2008), 'Salinity and its effects on the functional biology of legumes', *Acta Physiologiae Plantarum*, 30 (5), 595-618.
- Maphosa, Lancelot, et al. (2020), 'Breeding for Abiotic Stress Adaptation in Chickpea (*Cicer arietinum* L.): A Comprehensive Review'.
- Maphosa, Yvonne and Jideani, Victoria (2017), 'The Role of Legumes in Human Nutrition'.
- Marschner, Horst %J Academic, Great Britain (1995), 'Mineral nutrition of higher plants 2nd edition'.
- Merga, Bulti and Haji, Jema (2019), 'Economic importance of chickpea: Production, value, and world trade', *Cogent Food & Agriculture*, 5 (1), 1615718.
- Mishra, Avinash and Tanna, Bhakti (2017), 'Halophytes: Potential Resources for Salt Stress Tolerance Genes and Promoters', *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Mohamed, Ibrahim A. A., et al. (2020), 'Stomatal and Photosynthetic Traits Are Associated with Investigating Sodium Chloride Tolerance of *Brassica napus* L. Cultivars', *Plants (Basel, Switzerland)*, 9 (1), 62.
- Munns, R. (2002), 'Comparative physiology of salt and water stress', 25 (2), 239-50.
- Munns, R. and James, RA. (2003), 'Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat', *Plant and Soil*, 253 (1), 201-18.
- Munns, Rana (2005), 'Genes and salt tolerance: bringing them together', 167 (3), 645-63.
- Nadeem, M., et al. (2019a), 'Grain Legumes and Fear of Salt Stress: Focus on Mechanisms and Management Strategies', *Int J Mol Sci*, 20 (4).
- Nadeem, Muhammad, et al. (2019b), 'Grain Legumes and Fear of Salt Stress: Focus on Mechanisms and Management Strategies', 20 (4), 799.
- Nawaz, Khalid, et al. (2010), 'Fatality of salt stress to plants: Morphological, physiological and biochemical aspects', *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 9, 5475-80.
- Netondo, Godfrey Wafula, Onyango, John Collins, and Beck, Erwin (2004), 'Sorghum and Salinity', 44 (3), 806-11.
- Pearson, K. (1904), 'Report on Certain Enteric Fever Inoculation Statistics', 2 (2288), 1243-46.
- Petitti, Diana (2009), 'Meta-Analysis, Decision Analysis, and Cost-Effectiveness Analysis', *Meta-Analysis, Decision Analysis, and Cost-Effectiveness Analysis*, 1-318.
- Philibert, Aurore, Loyce, Chantal, and Makowski, David (2012), 'Assessment of the quality of meta-analysis in agronomy', *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 148, 72-82.
- Pitman, Michael and Läuchli, André (2004), 'Global Impact of Salinity and Agricultural Ecosystems', 3-20.

- Pushpavalli, R., et al. (2015), 'Two key genomic regions harbour QTLs for salinity tolerance in ICCV 2 × JG 11 derived chickpea (*Cicer arietinum* L.) recombinant inbred lines', *BMC Plant Biol*, 15, 124.
- Ramasamy, Adaikalavan, et al. (2008), 'Key Issues in Conducting a Meta-Analysis of Gene Expression Microarray Datasets', *PLOS Medicine*, 5 (9), e184.
- Redden, Robert and Berger, Jens (2007), 'History and origin of chickpea', *Chickpea Breeding and Management*, 1-13.
- Rosenberg, Michael S. (2010), 'A generalized formula for converting chi-square tests to effect sizes for meta-analysis', *PloS one*, 5 (4), e10059-e59.
- Rothstein, Hannah, Sutton, Alex, and Borenstein, Michael (2006), 'Publication Bias in Meta-Analysis', 1-7.
- Sackett, Paul R., Harris, Michael M., and Orr, John M. (1986), 'On seeking moderator variables in the meta-analysis of correlational data: A Monte Carlo investigation of statistical power and resistance to Type I error', *Journal of Applied Psychology*, 71 (2), 302-10.
- Seckin, Burcu, Sekmen, Askim Hediye, and Türkan, Ismail (2008), 'An Enhancing Effect of Exogenous Mannitol on the Antioxidant Enzyme Activities in Roots of Wheat Under Salt Stress', *Journal of Plant Growth Regulation*, 28 (1), 12.
- Shabala, Sergey, et al. (2010), 'Xylem ionic relations and salinity tolerance in barley', 61 (5), 839-53.
- Shrivastava, Pooja and Kumar, Rajesh (2015), 'Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation', *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22 (2), 123-31.
- Shulaev, V., et al. (2008), 'Metabolomics for plant stress response', *Physiol Plant*, 132 (2), 199-208.
- Singh, Rakesh, et al. (2008), 'Chickpea Improvement: Role of Wild Species and Genetic Markers', *Biotechnology & genetic engineering reviews*, 25, 267-313.
- Singh, Vikash K. and Jain, Mukesh (2015), 'Genome-wide survey and comprehensive expression profiling of Aux/IAA gene family in chickpea and soybean', 6 (918).
- Singh, Vikash K., Jain, Mukesh, and Garg, Rohini (2015), 'Genome-wide analysis and expression profiling suggest diverse roles of GH3 genes during development and abiotic stress responses in legumes', *Frontiers in plant science*, 5, 789-89.
- Smith, Mary L. and Glass, Gene V. (1977), 'Meta-analysis of psychotherapy outcome studies', *American Psychologist*, 32 (9), 752-60.
- Sterne, Jonathan A C, Bradburn, Michael J, and Egger, Matthias (2001), 'Meta-Analysis in Stata™', *Systematic Reviews in Health Care*, 347-69.
- T J Flowers, P F Troke, and, and Yeo, A R (1977), 'The Mechanism of Salt Tolerance in Halophytes', 28 (1), 89-121.
- Tabur, Selma and Demir, Kıymet (2010), 'Role of some growth regulators on cytogenetic activity of barley under salt stress', *Plant Growth Regulation*, 60, 99-104.
- Tan, Xu, et al. (2007), 'Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase', *Nature*, 446 (7136), 640-45.
- Tang, L., et al. (2013), 'Overexpression of GsZFP1 enhances salt and drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.)', *Plant Physiol Biochem*, 71, 22-30.
- Tani, Eleni, et al. (2018), 'Seedling Growth and Transcriptional Responses to Salt Shock and Stress in *Medicago sativa* L., *Medicago arborea* L., and Their Hybrid (Alborea)', 8 (10), 231.
- Tayyar, Rana, Federici, Claire V., and Waines, Giles J. (1996), 'Natural Outcrossing In Chickpea (*Cicer Arietinum* L.)', 36 (1), crops1996.0011183X003600010037x.
- Teakle, NL. and Tyerman, SD. (2010), 'Mechanisms of Cl<sup>-</sup> transport contributing to salt tolerance', 33 (4), 566-89.
- Tester, M and Davenport, R (2003), 'Na<sup>+</sup> Tolerance and Na<sup>+</sup> Transport in Higher Plants', *Annals of Botany*, 91 (5), 503-27.
- Tiwari, Shiv B., et al. (2001), 'AUX/IAA Proteins Are Active Repressors, and Their Stability and Activity Are Modulated by Auxin', 13 (12), 2809-22.
- van de Wouw, M., et al. (2010), 'Genetic diversity trends in twentieth century crop cultivars: a meta analysis', *Theor Appl Genet*, 120 (6), 1241-52.
- Varshney, Rajeev K., et al. (2013), 'Draft genome sequence of chickpea (*Cicer arietinum*) provides a resource for trait improvement', *Nature Biotechnology*, 31 (3), 240-46.
- Venkateswarlu, Bandi and Shanker, Arun (2009), 'Climate change and agriculture: Adaptation and mitigation strategies', *Indian Journal of Agronomy*, 54.
- Waldron, L. and Riester, M. (2016), 'Meta-Analysis in Gene Expression Studies', *Methods Mol Biol*, 1418, 161-76.
- Walker, E., Hernandez, A. V., and Kattan, M. W. (2008), 'Meta-analysis: Its strengths and limitations', *Cleve Clin J Med*, 75 (6), 431-9.

- Wang, Wangxia, et al. (2004), 'Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response', *Trends in Plant Science*, 9 (5), 244-52.
- Warkentin, Tom, Banniza, Sabine, and Vandenberg, Albert (2005), 'CDC Frontier kabuli chickpea', *Canadian Journal of Plant Science*, 85 (4), 909-10.
- Yang, Zhen, et al. (2020), 'Photosynthetic Regulation Under Salt Stress and Salt-Tolerance Mechanism of Sweet Sorghum', 10 (1722).
- Zhang, Haiwen, et al. (2014), 'A DTX/MATE-Type Transporter Facilitates Abscisic Acid Efflux and Modulates ABA Sensitivity and Drought Tolerance in Arabidopsis', *Molecular Plant*, 7 (10), 1522-32.
- Zhang, Hengyou, et al. (2017), 'Back into the wild—Apply untapped genetic diversity of wild relatives for crop improvement', 10 (1), 5-24.
- Zhu, Jian-Kang (2001), 'Plant salt tolerance', *Trends in Plant Science*, 6 (2), 66-71.
- (2002), 'Salt and drought stress signal transduction in plants', *Annual review of plant biology*, 53, 247-73.