Uticaj subletalnih količina glifosata na biljke zelene salate (*Lactuca sativa* L.)

Maja Meseldžija, Milica Dudić, Jelena Medić, Dejana Parezanović
Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8,
21000 Novi Sad, Srbija
e-mail: maja@polj.uns.ac.rs

REZIME

U istraživanjima novijeg datuma ispituje se potencijalna upotreba herbicida (glifosata) i nekih toksina, u smanjenim količinama radi indukovanja hormezis efekta. Zbog nemogućnosti predviđanja hormetičkog odgovora, faktora koji utiču na stimulaciju željenih osobina i mogućih štetnih pojava, primene subletalnih količina glifosata ostaju u okviru naučnih istraživanja. Cilj ovog istraživanja je bio testiranje delovanja subletalnih količina glifosata na biljke zelene salate (*Lactuca sativa* L.). Glifosat je primenjen folijarno, pri čemu su primenjene četiri različite subletalne količine: 1,8, 3,6, 7,2, 36 g a.s. ha⁻¹. Mereni su morfološki parametri kao što su dužina korena, visina stabla i sveža masa biljaka. Maksimalna stimulacija rasta stabla i sveže mase tretiranih biljaka utvrđeni su pri primeni glifosata u količini od 1,8 g a.s. ha⁻¹, dok je pri količinama od 3,6, 7,2 i 36 g a.s. ha⁻¹ došlo do inhibicije rasta i redukcije mase biljaka. Minimum inhibicija svih ispitivanih morfoloških parametara je utvrđena pri korišćenju količine glifosata od 36 g a.s. ha⁻¹. Dobijene su statistički značajne razlike u porastu stabla između biljaka u kontroli i biljaka tretiranih količinom glifosata od 36 g a.s. ha⁻¹, između biljaka tretiranih količinom 1,8 g a.s. ha⁻¹ i 36 g a.s. ha⁻¹ kao i između biljaka izloženih 3,6 g a.s. ha⁻¹ glifosata i 36 g a.s. ha⁻¹.

Ključne reči: glifosat, subletalne količine, hormezis efekat, *Lactuca sativa* L.

UVOD

Mnogi herbicidi dovode do stimulacije rasta biljaka ukoliko se primene u količinama koje su mnogo manje od preporučenih. Pozitivan efekat koji neki herbicid može da ostvari u manjim tj. subletalnim količinama naziva se hormezis efekat. Kroz istoriju ovaj fenomen

se najčešće spominjao u toksikologiji, medicini i farmaciji, u proučavanju antibiotika, anti-tumor agenasa, anti-virusnih agenasa i pesticida. Rezultati hormezis efekta najviše zavise od tipa herbicida koji se primenjuje, vrste biljke koja se tretira, razvojnog stadijuma biljke koja se tretira, faktora životne sredine i od vremena koje prođe od tretiranja pa do samog merenja ispoljenih efekata (Belz et al., 2014). Herbicidno zavisani hormezis efekti mogu predstavljati prednost koja bi mogla da ima praktičnu primenu, imajući u vidu enormnu primenu nekih herbicida (glifosata) i njihov uticaj na ciljne ali i neciljne organizme (prilikom drifta) (Cedergreen, 2008; Belz et al., 2011; Dayan et al., 2015). Ustanovljeno je da primena subletalnih količina glifosata izaziva hemijski otpor u biljkama, pri čemu one postaju otporne na idući tretman glifosatom. Ova pojava se označava terminom "hormezis kao preduslov" (Cedergreen et al., 2009). Korišćenje subletalnih količina glifosata u šećernoj trsci, kako bi se povećala koncentracija šećera, za sada je jedini primer komercijalne upotrebe hormezis efekta (Duke et al., 2006). Ako se glifosat koristi u količinama između 160 i 470 g a.s. ha⁻¹ pre žetve, koncentracija šećera se može povećati između 6 i 39% (Dalley and Richard, 2010). Prema istraživanjima Silva i sar. (2015) primena subletalne količine glifosata u usevu soje izaziva hormezis efekat stimulisan prenosom elektrona u procesu fotosinteze, nivoom benzoata i sintezom fenilalanina i triptofana.

Niske količine herbicida, posebno one koje uzrokuju oksidativni stres, su poznate po tome da izazivaju veću otpornost biljaka prema bolestima (Duke et al., 2007). Pored brojnih pozitivnih efekata hormezisa, postoje i podaci nekih autora da je efekat koji izaziva glifosat pri malim količinama, štetan po biljku (Cakmak et al., 2009). Pod uticajem subletalnih količina glifosata, kod ispitivnih biljaka je došlo do izduživanja korena i krtosti stabla, što može za posledicu imati poganje biljaka ili povećanje biomase, a pritom smanjiti otpornost biljaka prema bolestima.

Uticaj niskih količina primene glifosata na fiziološko stanje biljaka je slabo objašnjeno, a glavno pitanje koje se postavlja jeste da li biljka mora biti pod stresom kako bi se tretiranjem indukovao hormezis efekat. U slučaju da je potrebno, hormezis se javlja nakon prethodnog izlaganja biljke stresu (istom ili različitom), pri čemu hormezis ima funkciju regeneracije (Cedergreen et al., 2009). Brojna istraživanja su potvrdila da je upotreba glifosata za brže sazrevanje šećerne trske povećala sadržaj reciklažnog šećera i proizvodnje šećera. Za različite sorte šećerne trske, utvrđeni su različiti odgovori na primenu glifosata za zrenje (u količinama od 144-240 g a.s. ha⁻¹) u pogledu cvetanja, prinosa, vlage stabla i digestije (sadržaja šećera) (Dalley and Richard, 2010). Utvrđene su male razlike između efekata različitih formulacija glifosata primenjenih na usev šećerne trske. Sve formulacije dovode do povećanja sadržaja saharoze i proizvodnje šećera u poređenju sa kontrolom (Villegas et al., 1993; Bennett and Montes, 2003; Viator et al., 2003). Uprkos činjenici da je hormezis generalizovan proces koji se može javiti u svim organizmima, prvenstveno je povezan sa hemijskim i fizičkim faktorima, kao i ograničenim brojem ispitivanih biljaka (Vargas-Hernandez et al., 2017).

Na osnovu testa fitotoksičnosti i praćenja morfoloških parametara u ovom radu, ispitaće se delovanje subletalnih količina glifosata na biljke zelene salate (*L. sativa* L.).

MATERIJAL I METODE

Ispitivanje je vršeno na zelenoj salati (*L. sativa* L.), koja je posejana aprila 2016.godine, a rasađena u saksije sa supstratom nakon 32 dana. Biljke su gajene u kontrolisanim uslovima radi normalnog rasta i razvoja (temperaturni režim dan/noć: 27°C 16 h / 12°C 8 h) a tretiranje je izvršeno 45 dana od setve. Preparat korišćen za potrebe ovog ispitivanja je Clinic 480-SL (480 g glifosata/l preparata), Nufarm. Delovanje primenjenih subletalnih količina glifosata na usev zelene salate posmatran je kroz merenje sledećih morfoloških parametra: dužina korena, visina stabla i sveža masa biljaka. Tretiranje salate glifosatom izvršeno je folijarno. Herbicid je primenjen u sledećim količinama: 1,8, 3,6, 7,2 i 36 g a.s. ha⁻¹. Rastvori su primenjeni ručnom prskalicom Einhell BG-PS 1,5/1, radnog pritiska 2 kPa. Ogled je postavljen u 12 ponavljanja i uključivao je i netretiranu kontrolu. Prva ocena efekata glifosata na biljkama rađena je 7 a druga 14 dana nakon primene herbicida. Utvrđivanje efekata glifosata na listu salate određeno je prema skali fitotoksičnosti (Tabela 1).

Tabela 1. Skala za ocenu fitotoksičnog dejstva na listu
Table 1. Scale the assessment of the phytotoxic effects on leaves

Oцена Rating	Simptom Symptom	Oštećenje (%) Damage (%)
0	List bez vidljivih fitotoksičnih pojava	0
1	Manje hlorotične ili nekrotične pege	5-10
2	Hloroza ili nekrotične pege na oko ¼ lista	25
3	Hloroza ili nekrotične pege na oko ½ lista	50
4	Hloroza ili nekrotične pege na oko ¾ lista	75
5	Ceo list hlorotičan ili je otpao	100

Merenja morfoloških parametara urađena su 40 dana nakon tretiranja. Biljke su pažljivo vadene iz saksija. Izmerena je sveža masa, a stabla su odvojena od korena makazama, i mereni su visina stabla i dužina korena. Statistička obrada podataka je urađena korišćenjem softverskog paketa Statistica 13.3 (Dell, Univerzitetska licenca), pri čemu je za statističku značajnost razlika između biljaka tretiranih različitim količinama glifosata urađen NZR test (test najmanje značajne razlike) po formuli:

$$NZRN-k;\alpha = t_{N-k;\alpha} \cdot s\bar{X}_i - \bar{X} \quad [1]$$

N predstavlja ukupnu veličinu uzorka i izračunava se na sledeći način:

$$N = k \cdot n \quad [2]$$

gde je **k** broj tretmana a **n** veličina uzorka. Prema postavljenom ogledu vrednosti su sledeće **k**

Izraz $t_{N-k;\alpha}$ označava kritičnu tabličnu vrednost određenu uz pomoć tabele t -distribucije (Studentove distribucije), za $N-k$ stepeni slobode i α -nivo verovatnoće čija vrednost za postavljen ogled u proračunima iznosi 0,05. Standardna greška razlike aritmetičkih sredina ($s\bar{X}_i - \bar{X}_j$), izračunava se po formuli:

$$S_{\bar{X}_i - \bar{X}_j} = \sqrt{\frac{2 \times Sp^2}{k-1}} \quad [3]$$

gde je suma kvadrata pogreške a dobija se prema sledećem obrascu:

$$Sp^2 = \frac{Qp}{(N-k)}, \quad [4]$$

po obrascu:

$$Qp = Q - Qt \quad [5]$$

Q predstavlja ukupni varijabilitet podataka a Qt sumu kvadrata tretmana.

REZULTATI I DISKUSIJA

Ocenjivanje efekata glifosata izvršeno je posmatranjem biljaka zelene salate izloženih različitim količinama ovog herbicida. Prva ocena je izvedena 7 dana nakon tretiranja kada su primećene manje hlorotične ili nekrotične pege (5-10%) na listovima biljaka salate pri količini primene od 36 g a.s. ha⁻¹. Petnaest dana nakon tretmana od 36 g a.s. ha⁻¹ hloroza, ili nekrotične pege, zahvatile su 25% lisne mase. Količine glifosata od 1,8, 3,6 i 7,2 g a.s. ha⁻¹ nisu izazvale vidljive fitotoksične pojave (Tabela 2 i 3).

Tabela 2. Prva ocena efekata glifosata na listovima salate

Table 2. The First assessment of the effects of glyphosate on lettuce leaves

Količine primene glifosata (g a.s. ha ⁻¹) Glyphosate dose (g ai ha ⁻¹)	0	1	2	3	4	5
36	/	+	/	/	/	/
7,2	+	/	/	/	/	/
3,6	+	/	/	/	/	/
1,8	+	/	/	/	/	/

Ispitivani morfološki parametri mereni su za svaku biljku pojedinačno i izvedene su srednje vrednosti istih (Tabela 4).

Tabela 3. Druga ocena efekata glifosata na listovima salate**Table 3.** The second assessment of the effects of glyphosate on lettuce leaves

Količine primene glifosata (g a.s. ha ⁻¹) Glyphosate dose (g ai ha ⁻¹)	0	1	2	3	4	5
36	/	/	+	/	/	/
7,2	+	/	/	/	/	/
3,6	+	/	/	/	/	/
1,8	+	/	/	/	/	/

Tabela 4. Srednje vrednosti merenih parametara pri različitim količinama primene glifosata**Table 4.** Mean values of the measured parameters at different glyphosate doses

Morfološki parametri Morphological parameters	Kontrola Control	1,8 g a.s. ha ⁻¹	3,6 g a.s. ha ⁻¹	7,2 g a.s. ha ⁻¹	36 g a.s. ha ⁻¹
Visina stabla (cm) Stem height (cm)	55,82	64,41	54,67	46,61	32,02
Dužina korena (cm) Root length (cm)	18,77	16,65	17,83	18,59	15,08
Sveža masa (g) Fresh weight (g)	24,59	36,58	29,21	19,27	9,80

Tabela 5. Rezultati NZR- testa za ispitivane parametre**Table 5.** Results of the LSD- test for the measured parameters

Morfološki parametri Morphological parameters	NZR _{55;0,05} LSD _{55;0,05}
Visina stable	21,27
Dužina korena	26,38
Sveža masa	38,14

Rezultat NZR- testa (Tabela 5) se upoređuje sa apsolutnim razlikama između aritmetičkih sredina ispitivanih uzoraka kako bi se ustanovilo da li su prisutne statistički značajne razlike između uzoraka izloženih različitim količinama glifosata, kao i uzoraka kontrole (Tabela 6).

Ispitivanjem je dokazano da postoje razlike u merenim morfološkim parametrima između kontrole i primenjivanih tretmana glifosatom. Na grafikonu 1 prikazane su vrednosti visine

Grafik 1. Visina stabla u zavisnosti od primenjenih subletalnih količina glifosata**Figure 1.** Stem height in correlation with the applied sublethal quantities of glyphosate

Tabela 6. Vrednosti apsolutnih razlika aritmetičkih sredina uzoraka**Table 6.** Values of absolute differences in arithmetic means of samples

Apsolutne razlike aritmetičkih sredina Absolute differences in arithmetic means	Visina stabla Stem height	Dužina korena Root length	Sveža masa Fresh mass
$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$	8,59	2,12	11,99
$\bar{X}_1 - \bar{X}_3$	1,15	0,94	4,62
$\bar{X}_1 - \bar{X}_4$	9,21	0,18	5,32
$\bar{X}_1 - \bar{X}_5$	23,08	3,69	14,79
$\bar{X}_1 - \bar{X}_3$	9,74	1,18	7,37
$\bar{X}_1 - \bar{X}_4$	17,8	1,94	17,31
$\bar{X}_1 - \bar{X}_5$	32,39	1,57	26,78
$\bar{X}_1 - \bar{X}_4$	8,06	0,76	9,94
$\bar{X}_1 - \bar{X}_5$	22,65	2,75	19,41
$\bar{X}_1 - \bar{X}_5$	14,59	3,51	9,47

$\bar{X}_1$ - vrednosti aritmetičke sredine uzorka kontrole

$\bar{X}_2$ - vrednosti aritmetičkih sredina uzorka tretiranog količinom glifosata od 1,8 g a.s. ha⁻¹

$\bar{X}_3$ - vrednosti aritmetičkih sredina uzorka tretiranog količinom glifosata od 3,6 g a.s. ha⁻¹

$\bar{X}_4$ - vrednosti aritmetičkih sredina uzorka tretiranog količinom glifosata od 7,2 g a.s. ha⁻¹

$\bar{X}_5$ - vrednosti aritmetičkih sredina uzorka tretiranog količinom glifosata od 36 g a.s. ha⁻¹.

stabla pojedinačnih uzoraka nakon primene različitih količina glifosata, dok je na grafikonu 2 prikazana dužina korena. Sveža masa prikazana je na grafiku 3.

Na osnovu istraživanja proizilazi da je pri količini od 1,8 g a.s. ha⁻¹ postignuta stimulacija visine stabla tretiranih biljaka zelene salate (Grafik 1).

Prema rezultatima NZR- testa primećena je statistički značajna razlika u porastu stabla između biljaka u kontroli i biljaka tretiranih sa 36 g glifosata ha⁻¹, između biljaka tretiranih količinom 1,8 g a.s. ha⁻¹ i 36 g a.s. ha⁻¹ kao i između biljaka izloženih tretmanom od 3,6 g a.s. ha⁻¹ glifosata i 36 g a.s. ha⁻¹.

Analizom dužine korena (Grafik 2), utvrđeno je da su sve primenjene subletalne količine glifosata delovale inhibitorno na rast korena, pri čemu je najmanja dužina korena izmerena pri količinama od 1,8 i 36 g a.s. ha⁻¹ (Grafik 2). Prilikom poređenja hormetičkog efekta različitih fitotoksičnih jedinjenja na izduživanje korena salate, utvrđeno je da herbicidna jedinjenja nisu jednako efikasna u indukciji hormezis odgovora u određenoj osobini, a neki ga i ne prouzrokuju (Belz et al., 2011). Slični podaci su prikazani u publikacijama autora Cedergreen i sar. (2007) i Cedergreen (2008), gde su samo glifosat i metsulfuron-metil imali doslednost u hormezis efektu. Kada su semena *L. sativa* izložena prethodnom hemijskom stresu (metanolom ili pelargonskom kiselinom), a zatim tretirani glifosatom, utvrđena je stimulacija rasta korena (Cedergreen et al., 2009). Efekat subletalnih količina visokotoksičnog klastogena partenina, seskviterpen laktona iz vrste *Parthenium hysterophorus* L., nakon primene na zelenoj salati, manifestovao se maksimalnom stimulacijom od 95% u dužini korena. U istom ispitivanju nije utvrđena stimulacija suve mase biljaka, površine listova i koncentracije hlorofila (Belz et al., 2011).

Grafik 2. Dužina korena u zavisnosti od primenjenih subletalnih količina glifosata

Figure 2. Root length in correlation with the applied sublethal quantities of glyphosate

Grafik 3. Sveža masa biljaka u zavisnosti od primenjenih subletalnih količina glifosata

Figure 3. Fresh mass of plants in correlation with the applied sublethal quantities of glyphosate

Utvrđen je porast sveže mase biljaka salate u odnosu na kontrolu pri količini od 1,8 g a.s. ha⁻¹ (Grafik 3). Manja količina sveže mase se beleži pri količinama od 3,6 i 7,2 g a.s. ha⁻¹, a najmanja pri najvećoj količini glifosata primenjenoj u ispitivanju (36 g a.s. ha⁻¹), što potvrđuje inhibitorno delovanje ovih količina glifosata na svežu masu biljaka.

Velini i sar. (2008) su posmatrali hormezis efekat glifosata u kukuruzu, soji, eukaliptusu i boru u količinama u rasponu od 1,8 do 36 g a.s. ha⁻¹. Za soju i kukuruz autori su pronašli maksimalno povećanje suve mase od 27,8% i 25,5% za doze od 14,2 i 22,6 g a.s. ha⁻¹.

Prema rezultatima NZR- testa nisu uočene statistički značajne razlike u porastu korena i sveže mase između pojedinih uzoraka tretiranih različitim količinama glifosata.

ZAKLJUČAK

Pri primeni glifosata u količini od 1,8 g a.s. ha⁻¹ utvrđen je maksimum visine stabla i sveže mase tretiranih biljaka salate, dok su smanjene vrednosti izražene pri količinama od 3,6 i 7,2 g a.s. ha⁻¹. Dužina korena biljaka tretiranih glifosatom naglo opada u odnosu na kontrolu pri količini od 1,8 g a.s. ha⁻¹, a povećana je pri količini od 3,6 g a.s. ha⁻¹. Maksimum dužine korena izmeren je pri količini od 7,2 g a.s. ha⁻¹. Minimalne vrednosti svih ispitivanih morfoloških

parametara salate su zabeležene kada je korišćena količina glifosata od 36 g a.s. ha⁻¹. Utvrđena je statistički značajna razlika u visini biljaka u kontroli i biljaka tretiranih količinom glifosata od 36 g a.s. ha⁻¹, između biljaka tretiranih količinom 1,8 g a.s. ha⁻¹ i 36 g a.s. ha⁻¹ kao i između biljaka izloženih 3,6 i 36 g a.s. ha⁻¹ glifosata.

LITERATURA

- Belz, R. G., Cedergreen, N., Duke, S. O.*: Herbicide hormesis- can it be useful in crop production? *Weed Research*, 51, 321-332, 2011.
- Belz, R. G., Duke S. O.*: Herbicides and plant hormesis. *Pest Management Science*, 70, 698-707, 2014.
- Bennett, P. G., Montes, G.*: Effect of glyphosate formulation on sugarcane ripening. *Sugar Journal*, 66 (1), 22, 2003.
- Cakmak, I., Yzaici, A., Tutus, Y., Ozturk, L.*: Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non glyphosate resistant soybean. *European Journal of Agronomy*, 31, 114-119, 2009.
- Cedergreen, N., Streibig, J. C., Kudsk, P., Mathiassen, S. K., Duke, S. O.*: The occurrence of hormesis in plants and algae. *Dose Response*, 5, 150-162, 2007.
- Cedergreen, N.*: Is the growth stimulation by low doses of glyphosate sustained over time? *Environmental Pollution*, 156, 1099-1104, 2008.
- Cedergreen, N., Felby, C., Porter, J. R., Streibig, J. C.*: Chemical stress can increase crop yield. *Field Crops Research*, 114, 54-57, 2009.
- Dalley, C. D., Richard, E. P.*: Herbicides as ripeners for sugarcane. *Weed Science*, 58, 329-333, 2010.
- Dayan, F. E., Carbonari, C. A., Gomes, G. L. G. C.*: Biochemical markers and enzyme assays for herbicide mode of action and resistance studies. *Weed Science*, 63, 23-63, 2015.
- Duke, S. O., Cedergreen, N., Velini, D., Belz, G. R.*: Hormesis: is it an important factor in herbicide use and allelopathy? *Outlooks on Pest Management*, 17, 29-33, 2006.
- Duke, S. O., Wedge, D. E., Cerdeira, A. L., Metallo, M. B.*: Interactions of synthetic herbicides with plant plant disease and microbial herbicides. *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*, Dordrecht, The Netherlands, pp. 277-296, 2007.
- Silva, F. M., Duke, S. O., Dayan, F. E., Velini, E. D.*: Low doses of glyphosate change the responses of soybean to subsequent glyphosate treatments. *Weed Research*, 56, 124-136, 2015.
- Statistica 13.3 (Dell, Univerzitetska licenca)*, 2018.
- Vargas-Hernandez, M., Macias-Bobadilla, I., Guevara-Gonzalez, R. G., Romero-Gomez, S. de J., Rico-Garcia, E., Ocampo-Velazquez, R. V., Alvarez-Arquieta, L. de L., Torres-Pacheco, I.*: Plant hormesis management with biostimulants of biotic origin in agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 8:1762.doi: 10.3389/fpls.2017.01762.
- Velini, E., Alves, E., Godoy, M., Meschede, D., Souza, R., Duke, S.*: Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. *Pest Management Science*, 64, 489-496, 2008.
- Viator, B. J., Viator, C., Jackson, W., Waguespack, H., Richard Junior, E. P.*: Evaluation of potassium-based ripeners as an alternative to glyphosate and the effects of 2,4-D on herbicidal cane ripening. *Sugar Journal*, 66 (1), 21, 2003.
- Villegas, F. T., Torres, J. S. A.*: Efectodel Roundup usado como madurante en la producción de caña de azúcar. *International Sugar Journal*, 95 (11), 59-64, 1993.

The effect of sublethal doses of glyphosate on lettuce (*Lactuca sativa* L.)

SUMMARY

Recent studies have tested the potential use of herbicides (glyphosate) and some toxins, at reduced doses, in inducing the hormesis effect. Since it is impossible to predict a hormetic response, as well as the factors influencing the stimulation of the desired properties and the occurrence of possible adverse effects, the application of sublethal doses of glyphosate remains only within the scope of scientific research. The aim of this study was to test the effects of sublethal doses of glyphosate on lettuce (*Lactuca sativa* L.). The application of glyphosate was foliar, in four different sublethal doses: 1.8, 3.6, 7.2 and 36 g ai ha⁻¹. Morphological parameters such as root length, stem height and fresh weight of whole plants were measured. The maximum stimulation of stem growth and fresh weight of treated plants were determined for the 1.8 g ai ha⁻¹ glyphosate treatment, while the effect of stimulation was reduced in the treatments with 3.6 and 7.2 g ai ha⁻¹ of glyphosate.. Inhibition of all of the morphological parameters which were tested was determined for the highest glyphosate dose applied (36 g ai ha⁻¹). When observing the stem growth parameter, statistically significant differences were observed between the plants in control and the plants treated with 36 g ai ha⁻¹ of glyphosate, between the plants treated with 1.8 g ai ha⁻¹ and 36 g ai ha⁻¹ of glyphosate, and between the treatments with 3.6 g ai ha⁻¹ and 36 g ai ha⁻¹ of glyphosate.

Keywords: glyphosate, sublethal amounts, hormesis effect, *Lactuca sativa* L.