



Επίδραση της αλατότητας και της υδατικής καταπόνησης σε βιοτύπους του ζιζανίου *Conyza spp.*

Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής
Τομέας Γεωργίας, Βελτίωσης Φυτών
και Γεωργικού Πειραματισμού
Εργαστήριο Γεωργίας

Π.Μ.Σ
Συστήματα Ολοκληρωμένης
Βιολογικής Παραγωγής &
Πιστοποίησης

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΝΔΡΕΟΥ Ε. ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ

Επιβλέπων: Τραυλός Ηλίας, Επικ. Καθηγητής

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Επίδραση της αλατότητας και της υδατικής καταπόνησης σε βιοτύπους του ζιζανίου Conyza spp.

Effect of salinity and water stress on biotypes of weed species Conyza spp.

ΑΝΔΡΕΟΥ Ε. ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ

Συμβουλευτική και Εξεταστική Επιτροπή

Επιβλέπων:

Τραυλός Ηλίας, Επίκ. Καθηγητής

Μέλη:

Παπαστυλιανού Παναγιώτα, Αν. Καθηγήτρια

Οικονόμου Γαρυφαλλιά, Καθηγήτρια

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ανθεκτικότητα ζιζανίων όπως της κόνυζας (*Conyza ssp.*) στο ζιζανιοκτόνο glyphosate αποτελεί ένα σοβαρό και ευρέως διαδεδομένο πρόβλημα. Στην παρούσα εργασία επιχειρήθηκε μια μελέτη της ανταγωνιστικής ικανότητας και ορισμένων παραμέτρων της οικολογικής προσαρμοστικότητας βιοτύπων της *C. albida* και της *C. canadensis* επιβεβαιωμένα ανθεκτικών και ευαίσθητων. Συγκεκριμένα, προετοιμάστηκαν ρυθμιστικά διαλύματα με την χρήση πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG 6000) και χλωριούχου νατρίου (NaCl). Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν -0,2, -0,4, -0,6, -0,8 και -1 MPa για την πολυαιθυλενογλυκόλη και -0,2, -0,4, -0,6, -0,8 και -1 M για το χλωριούχο νάτριο. Πενήντα σπόροι του κάθε βιότυπου τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Petri σε θάλαμο σταθερών συνθηκών και η βλαστικότητα τους καταγραφόταν σε ημερήσια βάση. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι όσον αφορά την υδατική καταπόνηση, υπήρχαν στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις του είδους του ζιζανίου τόσο με τον βιότυπο (ανθεκτικός ή ευαίσθητος), όσο και με τη συγκέντρωση του ωσμωτικού δυναμικού. Μάλιστα, στην περίπτωση του ευαίσθητου βιότυπου της *C. albida* αρκετοί σπόροι βλάστησαν ακόμη και σε ωσμωτικό δυναμικό ίσο με -0.6 MPa ενώ στην περίπτωση του ανθεκτικού βιότυπου του ίδιου είδους η βλαστικότητα των σπόρων ήταν κατά 8 έως 32% υψηλότερη, με αξιοσημείωτη τη βλάστηση ενός 24% των σπόρων και σε υδατικό δυναμικό ίσο με -0.8 MPa. Όσον αφορά στην *C. canadensis*, τα ποσοστά της βλαστικότητας των σπόρων του ανθεκτικού ήταν κατά 12 έως 20% υψηλότερα από αυτά του ευαίσθητου βιότυπου. Στην περίπτωση της μελέτης των επιδράσεων της αλατότητας, οι μόνες σημαντικές αλληλεπιδράσεις παρατηρήθηκαν μεταξύ των συγκεντρώσεων του NaCl και του βιότυπου. Σε όλες τις περιπτώσεις, βλάστηση ενός ποσοστού των σπόρων παρατηρήθηκε μέχρι την συγκεντρώση -0.4 M NaCl. Και στην περίπτωση της αλατότητας, οι ανθεκτικοί βιότυποι τόσο της *C. albida* όσο και της *C. canadensis* είχαν βλαστικότητα κατά 2-23% και 11-14% μεγαλύτερη από αυτή των ευαίσθητων βιοτύπων, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης επιβεβαιώνουν τη μεγάλη προσαρμοστικότητα των ειδών

της κόφυζας, καταδεικνύοντας μάλιστα σε ορισμένες περιπτώσεις την σημαντικά καλύτερη προσαρμογή των ανθεκτικών βιότυπων σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης και αλατότητας.

Λέξεις Κλειδιά: *Conyza albida*, *Conyza canadensis*, κόφυζα, κυπαρισσάκι, ζιζάνια, καταπόνηση αλατότητας, υδατική καταπόνηση, βλάστηση, Βιολογία Ζιζανίων, Ζιζανιολογία.

Effect of salinity and water stress on biotypes of weed species Conyza spp.

Glyphosate resistance of *Conyza* spp. is a serious and widespread problem. Competitiveness and several ecological fitness parameters were studied in two biotypes of *C. albida* and *C. canadensis*, previously confirmed as resistant and susceptible. Several concentrations of polyethanoglycole (PEG 6000) and NaCl were used. In particular, treatments were of -0.2, -0.4, -0.6, -0.8 and -1 MPa and -0.2, -0.4, -0.6, -0.8 and -1 M of PEG and NaCl, respectively. Concerning drought stress, germination tests in Petri dishes revealed significant interactions of weed species with biotype (resistant or susceptible) and water potential. It has to be noted that in the case of glyphosate susceptible biotype of *C. albida* many seeds germinated even at -0.6 MPa, while in the glyphosate resistant biotype of the same species germination was 8-32% higher with 24% of the seeds germinating even at -0.8 MPa. Regarding *C. canadensis*, germination percentages of resistant biotype were by 12 to 20 % higher than those of the susceptible biotype. Under salt stress, *Conyza* spp. seeds germinated at concentrations up to -0.4 M NaCl, with significant interactions between the sensitivity of the biotype and the concentration. Resistant biotypes of both *C. albida* and *C. canadensis* had higher germination (2-23% and 11-14%, respectively) than the susceptible ones. Results of the present study confirm the high adaptability of *Conyza* spp. and the clear absence of any fitness cost for the glyphosate resistant biotypes.

Keywords: *Conyza albida*, *Conyza canadensis*, weed, salt stress, water stress, germination, Weed Biology, Weed Management.

Περιεχόμενα

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	2
2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
3. ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ	10
3.α. Τρόποι ανάπτυξης της ανθεκτικότητας και παράγοντες που την επηρεάζουν.....	12
4. ΤΟ ΖΙΖΑΝΙΟΚΤΟΝΟ GLYPHOSATE.....	14
4.α. Μηχανισμός δράσης του glyphosate.	16
5. GLYPHOSATE ΚΑΙ ΚΟΝΥΖΑ (<i>Conyza spp.</i>)	19
5.α. Μηχανισμοί Ανθεκτικότητας των ζιζανίων.....	19
5.β. Το πρόβλημα της ανθεκτικότητας της κόνυζας.....	21
6. ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ ΣΤΑ ΑΝΩΤΕΡΑ ΦΥΤΑ.....	26
6.α. Επίδραση της Οσμωτικής καταπόνησης και Αλατότητας στην βλάστηση σπόρων.	26
7. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ.....	28
7.α. Προετοιμασία του πειράματος	28
7.β. Πειραματική διαδικασία.....	29
7.γ. Μετρήσεις	31
8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	33
1.1)Υδατική Καταπόνηση (PEG 6000)	33
1.1.1)Πορεία στον Χρόνο ανά Βιότυπο.....	33
1.1.2) Πορεία στον Χρόνο ανά Μεταχείριση.....	37
1.1.3) Ανάλυση της παραλλακτικότητας των ποσοστών βλάστησης 7 DAT με εφαρμογή διαλύματος PEG 6000.	42
1.2)Αλατότητα (NaCl).....	44
1.2.1)Πορεία στον Χρόνο ανά Βιότυπο.....	44
1.2.2) Πορεία στον Χρόνο ανά Μεταχείριση.....	48
1.2.3) Ανάλυση της παραλλακτικότητας των ποσοστών βλάστησης 7 DAT.	50
9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	52
10. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	54
11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	56

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γένος της κόνουζας (*Conyza spp.*) περιλαμβάνει ετήσια ή βραχύβια πολυετή δικοτυλήδωνα φυτά που ανήκουν στην οικογένεια *Asteraceae* (*Compositae*) και πιο συγκεκριμένα στην υπό-οικογένεια *Conyzinae*. Υπάρχουν περίπου 60 είδη *Conyza* που έχουν εξαπλωθεί σε παγκόσμιο επίπεδο σε εύκρατες και υπό-τροπικές κλιματικές ζώνες (Everett 1990; Thebaud και Abbott 1995), με παρουσία σε όλες τις ηπείρους εκτός από την Ανταρκτική, όπου και έχουν γίνει ευρέως καθιερωμένα. Τα είδη κόνουζας στην Ευρώπη είναι: το *Conyza canadensis*, *Conyza bonariensis* (ή *C. ambigua*), *Conyza albida* (ή *C. sumatrensis*), *Conyza floribunda*, *Conyza blakei*, *Conyza bilbaoana*, *Conyza triloba*.

Αναπτύσσεται αρχικώς σε ροζέτα φύλλων, και ακολουθεί το στάδιο της επιμήκυνσης του στελέχους (bolting stage) με την εμφάνιση του ανθοφόρου οφθαλμού και μπορεί να φθάσει σε ύψος από 0,5-2 m περίπου ανάλογα με το είδος παρουσιάζοντας διακλαδώσεις του στελέχους. Τα φύλλα φέρουν μίσχους και είναι στενά ωοειδή έως ελλειπτικά, οδοντωτά φθάνοντας σε μήκος μέχρι και τα 10 cm περίπου. Τα φύλλα στο κάτω μέρος του στελέχους είναι έμμισχα και μεγαλύτερα σε μέγεθος και καθώς η θέση τους στο στέλεχος πλησιάζει στην κορυφή οι μίσχοι και το μέγεθος των φύλλων είναι σαφώς μικρότερα σε σχέση με αυτά που βρίσκονται στην βάση, ενώ παράλληλα στις άκρες των κλάδων απαντώνται άμισχα φύλλα. Τα φύλλα διατάσσονται κατ' εναλλαγή ενώ είναι συνήθως τριχωτά με μεγάλες ή μικρότερες τρίχες. Τα άνθη της κόνουζας φθάνουν σε μέγεθος τα 5-10 mm και είναι υπόλευκα χωρίς πέταλα. Οι σπόροι είναι αχαιίνια μεγέθους 0,5 x 1,5-2 mm που φέρουν πάππο με λεπτά τριχίδια μήκους 3 mm. Άνθιση εμφανίζεται από την Άνοιξη μέχρι το Φθινόπωρο και οδηγεί σε πλούσια σποροπαραγωγή. Βέβαια τα διάφορα είδη του γένους διαφέρουν όσον αφορά κάποια μορφολογικά χαρακτηριστικά, όπως το μέγεθος, το χρώμα και το σχήμα των φύλλων, την διάταξή του στο στάδιο της ροζέτας καθώς και το τελικό τους ύψος του στελέχους τους κ.ά..

Τα είδη της κόνουζας είναι εξαιρετικά παραγωγικά σε σπόρο φυτά, με ένα μόνο φυτό να είναι ικανό να παράγει πολλές χιλιάδες σπόρους (Weaver 2001) που έχουν την δυνατότητα να διασπείρονται ευρέως και ταχέως μέσω

της διασποράς του αέρα (Shields et al. 2006) φθάνοντας σε απόσταση ακόμα και 100 km (Monsanto Company 2005). Η διασπορά με τον άνεμο είναι τόσο αποτελεσματική λόγω της χαμηλής ταχύτητας καθίζησης των σπόρων. Μια σειρά από δεδομένα όσον αφορά την σποροπαραγωγή έχει αναφερθεί με το *C. bonariensis* να παράγει έως και 375000 σπόρους ανά φυτό (Kempren and Graf 1981), το *C. albida* περισσότερους από 60000 ανά φυτό (Hao et al. 2009). Το *C. canadensis* φέρεται να παράγει 200000 σπόρους ανά φυτό, με θετική συσχέτιση μεταξύ του ύψους των φυτών και της ολικής γονιμότητας (Weaver 2001; Shields et al. 2006). Είναι ερμαφρόδιτα και κατά κύριο λόγο αυτόγαμα φυτά, με τις εκτιμήσεις να κάνουν λόγο για ποσοστό 85-99% αυτογονιμοποίησης σε φυσικά περιβάλλοντα, αναλόγως των φυτών του ύψους τους καθώς επίσης και της εγγύτητας με τα γειτονικά φυτά με μόνο ένα μικρό ποσοστό σταυρογονιμοποίησης με διάφορα έντομα επικονιαστές. Αξίζει να αναφερθεί πως η κόνυζα δεν είναι επιβλαβής για την υγεία του ανθρώπου.

Τα είδη του γένους *Conyza* που απαντώνται στην Ελλάδα είναι το *C. bonariensis* (L.) Cronq., το *C. canadensis* (L.) Cronq. και το *C. albida* Wild. ex Sprengel (Γιαννίσαρος, 1997). Το είδος *C. canadensis* (canadian fleabane, horseweed) δεν ξεπερνά σε ύψος το 1,5 m, έχει πλάγιους κλάδους μικρότερους του κεντρικού στελέχους με σχήμα ταξιανθίας τριγωνικό και φύλλα κανονικά σκούρου πράσινου χρώματος. Το *C. bonariensis* (wavy-leaved fleabane) φθάνει σε ύψος μέχρι τα 0,80 m, με ταξιανθία κυλινδρική και φύλλα στενά και επιμήκη, γκριζο-πράσινου χρώματος έχοντας πλάγιους κλάδους που ξεπερνούν το κεντρικό στέλεχος. Τέλος, από τα είδη που συναντώνται στην χώρα το *C. albida* (broadleaf fleabane) δεν ξεπερνά τα 2 m σε ύψος, έχει πλάγιους κλάδους μικρότερους του κεντρικού στελέχους, με ταξιανθία ρομβοειδή φύλλα πλατιά και πυκνά πράσινου χρώματος.

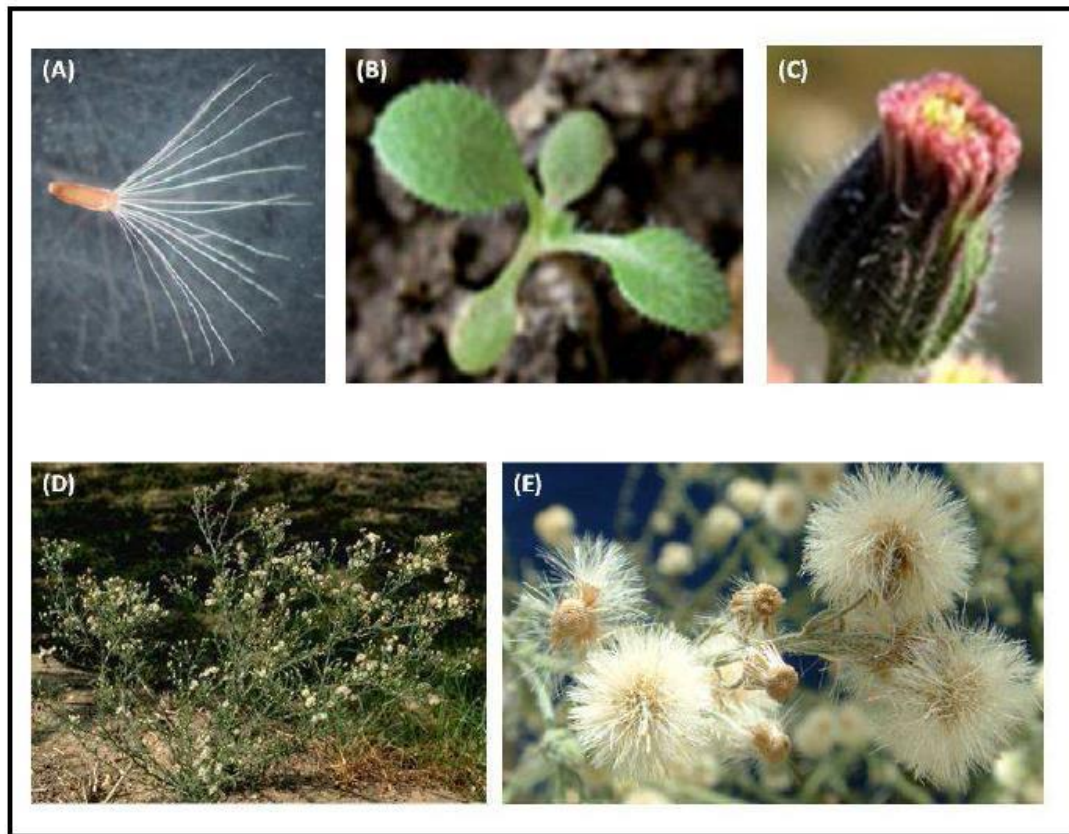
Πρόκειται για επιγενή κοσμοπολίτικα είδη που έχουν προέλευση από την Αμερική. Τα δύο πρώτα είδη είναι γνωστά στην Ελλάδα από τον προπερασμένο αιώνα, ενώ το *C. albida* φαίνεται ότι έχει εισαχθεί πρόσφατα (Econoμου et al, 2003) και είναι γνωστό από το 1976. Ευρύτατα διαδεδομένα στον ελλαδικό χώρο, δημιουργώντας πολλαπλά προβλήματα, είναι τα δύο είδη κόνυζας, 1) το *Conyza canadensis* και 2) το *Conyza bonariensis*. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά την προέλευσή τους, το πρώτο κατάγεται από τη

B. Αμερική και είναι σήμερα διαδεδομένο σ' όλο τον κόσμο, ενώ το δεύτερο προερχόμενο από τις τροπικές περιοχές της Αμερικής έχει εξαπλωθεί κυρίως στις Μεσογειακές χώρες και σε περιοχές με παρόμοιες συνθήκες. Ως εκ τούτου η ευκαιριακή φύση της κόνουζας την καθιστά κατάλληλη για να εγκατασταθεί σε γεωργικές εκτάσεις και στις γύρω περιοχές. Στην χώρα μας αξίζει να σημειωθεί πως απαντώνται και τα δύο είδη με ίδια περίπου συχνότητα. Αναπτύσσονται συνήθως σε καλά στραγγιζόμενες περιοχές, σε ακαλλιέργητες εκτάσεις (άκρες δρόμων, οικόπεδα κ.λπ.) (Thebaud and Abbott 1995; Prieur-Richard et al. 2000) και μέσα σε καλλιέργειες μεταξύ των σειρών φύτευσης ή σε άλλες θέσεις. Αποτελούν σοβαρά ζιζάνια τα οποία είναι από τα πλέον δύσκολα να ελεγχθούν και απαντώνται συχνά σε μεικτούς πληθυσμούς σε βοσκοτόπους, χλοοτάπητες, μηδική, αμπέλια, δένδρα, κηπευτικά, φράουλα κ.ά. καθώς και σε ακαλλιέργητες εκτάσεις και γενικότερα σε καλλιέργειες στις οποίες δεν γίνεται συχνή αναμόχλευση του εδάφους (άροση, σκάλισμα). Σε εδάφη όπου γίνεται μειωμένη ή μη κατεργασία εμφανίζονται σε μεγαλύτερους πληθυσμούς (Weaver, 2001). Είναι συχνή η εμφάνισή της σε συστήματα αγρανάπαυσης καταστρέφοντας την εδαφική υγρασία και αυξάνοντας το κόστος σε μία καλλιέργεια, λόγω της ταχείας εξάπλωσης και της δύσκολης διαχείρισής της. Το *C. canadensis* ειδικότερα θεωρείται διεθνώς από τα σπουδαιότερα ζιζάνια σε καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται τα σύγχρονα αυτά συστήματα μειωμένης ή μηδενικής κατεργασίας του εδάφους (no-till). Λαμβάνοντας υποψιν ότι τις δύο τελευταίες δεκαετίες το ποσοστό των καλλιεργούμενων εκτάσεων που δέχονται μειωμένη κατεργασία και συντηρητική άροση έχει αυξηθεί σημαντικά, είναι εύκολα κατανοητό ότι ζιζάνια όπως η κόνουζα αποτελούν σημαντικότατο πρόβλημα. Υπάρχουν επίσης ενδείξεις αλληλοπάθειας, που αφορούν το ριζικό σύστημα του *Conyza canadensis* και έχουν να κάνουν με απελευθέρωση φαινολικών ενώσεων οι οποίες αναστέλλουν την βλαστική ικανότητα πολλών άλλων φυτικών ειδών (Xu et al. 2007).

Παράγουν τεράστιες ποσότητες αχαινίων που φέρουν πάππο και γι' αυτό η εξάπλωσή τους από περιοχή σε περιοχή είναι εύκολη και ταχύτατη. Οι Chambers and MacMahon (1994) περιγράφουν δύο ξεχωριστές φάσεις της διασποράς των σπόρων. Η πρώτη φάση, είναι η διέλευση από το γονικό φυτό

στην επιφάνεια του εδάφους, ενώ η δεύτερη φάση περιλαμβάνει μεταγενέστερες οριζόντιες ή κάθετες κινήσεις στην έκταση του εδάφους. Βέβαια οι μικροί σπόροι, όπως αυτοί της κόνυζας, τυπικά έχουν χαμηλότερο ποσοστό επιβίωσης και ανταγωνιστική ικανότητα απ' ότι οι μεγαλύτεροι σπόροι, αν και η ικανότητα διασποράς και η έκταση που καλύπτει είναι σαφώς μεγαλύτερες (Harper et al. 1970). Οι σπόροι ωριμάζουν μέσα σε 3 εβδομάδες μετά την ανθοφορία όντας ώριμοι έχουν χαμηλό φυσιολογικό λήθαργο με το 80% των σπόρων να είναι ικανοί να βλαστήσουν αμέσως. Οι σπόροι παραμένουν βιώσιμοι για 2-3 χρόνια (Wu et al. 2007).

Τα τρία είδη, τα οποία έχουν πλήρως προσαρμοστεί σε πολλές περιοχές της Ελλάδας (Γιαννίσαρος, 1997), συγκαταλέγονται μεταξύ των χειρότερων ζιζανίων του κόσμου και ανταγωνίζονται ιδιαίτερα σε νερό και θρεπτικά στοιχεία τις καλλιέργειες προκαλώντας προβλήματα στους καλλιεργητές. Η κόνυζα (*Conyza spp.*) και τα τρία αυτά είδη της (*C. bonariensis*, *C. canadensis* και *C. albida*), αποτελούν ίσως τα πιο συχνά απαντώμενα ζιζάνια που εμφανίζουν ανθεκτικότητα στο glyphosate στην Ελλάδα (Chachalis and Travlos 2012) αλλά και παγκοσμίως καθώς υπάρχουν στοιχεία για εμφάνιση ανθεκτικών βιοτύπων του ζιζανίου σε διάφορες χώρες του κόσμου. Επιπρόσθετα, σημαντική είναι η ανεκτικότητά τους σε σημαντικά ζιζανιοκτόνα εκτός του glyphosate, τόσο ώστε είναι άμεση ανάγκη να διευρυνθεί η οικολογική γνώση του γένους, προκειμένου να κατανοηθούν οι συνθήκες ανάπτυξης και καταπολέμησής του στα πλαίσια της βελτίωσης της διαχείρισης του εν λόγω ζιζανίου. Στην Ελλάδα έχει ήδη αναφερθεί η ανθεκτικότητα της *C. bonariensis* (Travlos και Chachalis, 2010), *C. canadensis* (Nol κ.ά., 2012; Travlos and Chachalis 2012) και της *C. albida* (Travlos and Chachalis 2012).



Εικόνα 1: Φωτογραφίες του *Conyza bonariensis* κατά την ανάπτυξη - (A) σπόρος, (B) σπορόφυτο, (C) κεφάλιο, (D) ώριμο φυτό, (E) ώριμοι σπόροι στο μητρικό φυτό (T. D. Green, 2010).

3. ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η ανάπτυξη πληθυσμών ζιζανίων ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα είναι ένα αυξανόμενο πρόβλημα παγκοσμίως, ιδιαίτερα στις χώρες και τις περιοχές εκείνες όπου τα χημικά μέσα αποτελούν τον κυριότερο τρόπο αντιμετώπισης των ζιζανίων. Η ανάπτυξη βιοτύπων ζιζανίων με ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα θεωρείται πλέον ένα από τα σοβαρότερα ζιζανιολογικά προβλήματα, καθώς οι ανθεκτικοί βιότυποι περιορίζουν την δυνατότητα επιλογής ζιζανιοκτόνων για την χημική αντιμετώπισή τους. Επιπλέον, σε ορισμένες περιπτώσεις, η απώλεια ενός ζιζανιοκτόνου εξαιτίας της ανάπτυξης ανθεκτικών βιοτύπων ζιζανίων σε συνδυασμό με την αναγκαστική επιλογή κάποιου άλλου ζιζανιοκτόνου μπορεί να έχει αρνητικές οικονομικές αλλά και

περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Παρά το γεγονός της ύπαρξης αναφορών από το 1957 για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα με δράση αυξίνης (Hilton, 1957), η πρώτη επιστημονικά επιβεβαιωμένη αναφορά για ανάπτυξη ανθεκτικού βιοτύπου ζιζανίου έγινε το 1968 και αφορούσε την ανθεκτικότητα του ζιζανίου *Senecio vulgaris* (μαρτιάκος) στο ζιζανιοκτόνο simazine (Ryan, 1970). Έκτοτε, όλα αυτά τα χρόνια έχουν αναφερθεί 379 περιπτώσεις ανάπτυξης ανθεκτικότητας διαφόρων ζιζανίων σε ζιζανιοκτόνα, ενώ προστίθεται σε αυτούς 10 περίπου νέοι βιότυποι κάθε χρόνο. Ειδικότερα, έχουν αναφερθεί 379 βιότυποι ζιζανίων ανθεκτικών σε ζιζανιοκτόνα, οι οποίοι ανήκουν σε 205 διαφορετικά είδη. Από αυτά τα είδη, τα 120 αφορούν πλατύφυλλα ζιζάνια, ενώ τα υπόλοιπα 85 στενόφυλλα (HRAC, 2012).

Τα σπουδαιότερα ζιζάνια που ανέπτυξαν ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα ανήκουν σύμφωνα με τους Holm κ.ά. (1997), στα σπουδαιότερα ζιζάνια του κόσμου. Γενικά, αξίζει να αναφερθεί πως δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των οικογενειών των ζιζανίων και της ικανότητάς τους να αναπτύσσουν ανθεκτικούς βιότυπους στα ζιζανιοκτόνα. Ενώ τα αγρωστώδη, δηλαδή, αποτελούν περίπου το 32% όλων των ανθεκτικών ειδών, αποτελούν μόνο το 25% των σπουδαιότερων ζιζανίων του κόσμου. Το πρόβλημα της ανάπτυξης ανθεκτικών βιοτύπων ζιζανίων έχει καταγραφεί σε περισσότερες από 60 χώρες και είναι εντονότερο όπου εφαρμόζονται τα εντατικότερα συστήματα καλλιέργειας και εφαρμόζονται συνεπώς οι μεγαλύτερες ποσότητες ζιζανιοκτόνων. Οι περισσότεροι ανθεκτικοί βιότυποι έχουν καταγραφεί στις Η.Π.Α., στην Αυστραλία, στη Γαλλία, στην Ισπανία, στον Καναδά, το Ηνωμένο Βασίλειο, στη Γερμανία, στο Βέλγιο και στο Ισραήλ (HRAC, 2012). Στην Ελλάδα έχει αναφερθεί ότι βιότυποι των ζιζανίων μουχρίτσα (*Echinochloa spp.*), λουβουδιά (*Chenopodium album*), τραχύ βλήτο (*Amaranthus retroflexus*), παπαρούνα (*Papaver rhoeas*), ήρα (*Lolium rigidum*) και αγριοβρώμη (*Avena sterilis*) ανέπτυξαν ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα propanil/pinoxulam/profoxydim, metribuzine, metribuzine, tribenuron, tralkoxydim/mesosulfuron και fenoxaprop/clodinafop, αντίστοιχα (Eleftherohorinos et al. 2000; Kotoula-Syka et al. 2000; Παπαπαναγιώτου et al. 2010; Vasilakoglou et al. 2000). Το γεγονός της ανάπτυξης ανθεκτικότητας οδήγησε σε αναθεώρηση της μέχρι σήμερα εφαρμοζόμενης στρατηγικής για

την αντιμετώπιση των ζιζανίων και σε μία ορθότερη χρησιμοποίηση των ζιζανιοκτόνων.

Ο όρος **ανθεκτικότητα** (resistance) ενός ζιζανίου σε κάποιο ζιζανιοκτόνο αναφέρεται στην κληρονομική ιδιότητα ενός ζιζανίου να επιζεί μετά από μία εφαρμογή συγκεκριμένης δόσης του ζιζανιοκτόνου αυτού, στην οποία (δόση) ο αρχικός πληθυσμός ήταν ευαίσθητος (LeBaron και Gressel, 1982). Η ανάπτυξη της ανθεκτικότητας είναι μία εξελικτική διαδικασία κατά την οποία ένας πληθυσμός ζιζανίων μετατρέπεται από ευαίσθητος σε ανθεκτικός. Η μεταβολή αυτή δεν συντελείται σε μεμονωμένα φυτά του πληθυσμού κατά τη διάρκεια της ζωής τους, αλλά το ποσοστό των ανθεκτικών φυτών μέσα στον πληθυσμό αυξάνεται κατά τη διάρκεια του χρόνου και μετά από επαναλαμβανόμενες εφαρμογές του ζιζανιοκτόνου. Γενικώς, ο μηχανισμός κληρονόμησης της ανθεκτικότητας ενός βιοτύπου ζιζανίου σε ένα ζιζανιοκτόνο ελέγχεται συνήθως από ένα γονίδιο. Η ανθεκτικότητα διαφέρει από την **αντοχή** (tolerance) ενός ζιζανίου σε συγκεκριμένο ζιζανιοκτόνο, διότι είναι η ιδιότητα που έχουν από την αρχή όλα τα άτομα του πληθυσμού. Ο όρος αντοχή αναφέρεται στην αρχική διαβαθμισμένη ή κλιμακούμενη (λόγω παραλλακτικότητας) μη ευαισθησία ενός ζιζανίου στη συνιστώμενη δόση ενός ζιζανιοκτόνου (Devine et al. 1993).

Η ανάπτυξη ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα βιοτύπων ζιζανίων περιλαμβάνει τουλάχιστον 20 διαφορετικές ομάδες ζιζανιοκτόνων. Μέχρι το 1990, οι περισσότεροι ανθεκτικοί βιότυποι ζιζανίων αφορούσαν τα ζιζανιοκτόνα της χημικής ομάδας των τριαζινών. Παρόλαυτα όμως, μετά το 1990 παρατηρήθηκε μεγάλη αύξηση στον αριθμό βιοτύπων ζιζανίων με ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα αναστολέων της οξικογαλακτικής συνθετάσης (ALS) και της καρβοξυλάζης του ακετυλοσυνένζυμου A (ACCase).

3.α. Τρόποι ανάπτυξης της ανθεκτικότητας και παράγοντες που την επηρεάζουν.

Υπάρχουν δύο τρόποι με τους οποίους η ανθεκτικότητα αναπτύσσεται μέσα σε ένα πληθυσμό ζιζανίων. Στη μία περίπτωση, το γονίδιο (ή τα γονίδια)

που προσδίδει την ανθεκτικότητα βρίσκεται σε πολύ μικρή συχνότητα μέσα στον αρχικό πληθυσμό (Debreuil et al. 1996). Η δημιουργία του οφείλεται συνήθως σε τυχαίες μεταλλάξεις, οι οποίες συμβαίνουν πριν την εισαγωγή του ζιζανιοκτόνου στην καλλιέργεια, αλλά και μετά την έναρξη εφαρμογής του. Έτσι σταδιακά, το ποσοστό των ανθεκτικών φυτών στον πληθυσμό αυξάνεται έως ότου διαπιστωθεί μία αποτυχία στον έλεγχο ενός ζιζανίου αρχικά, μέχρι την στιγμή εκείνη που αντιμετωπίζονται ικανοποιητικά. Στην δεύτερη περίπτωση πραγματοποιείται μία συνεχής και προοδευτική ποσοτική αλλαγή στο γενετικό υλικό του πληθυσμού, η οποία οφείλεται σε πολλά γονίδια. Αυτά από μόνα τους έχουν πολύ μικρή επίδραση στα γνωρίσματα του ζιζανίου, αλλά όλα μαζί δημιουργούν ένα πολυγονιδιακό φαινοτυπικό γνώρισμα. Στην περίπτωση αυτή τα γονίδια εκφράζονται σε διαφορετικό βαθμό μέσα στα ζιζάνια, με αποτέλεσμα μέσα στον πληθυσμό να υπάρχουν ευαίσθητα, μετρίως ανθεκτικά και ανθεκτικά φυτά.

Η ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα μπορεί να οφείλεται σε φυσιολογικούς ή/και βιοχημικούς μηχανισμούς των φυτών. Οι κυριότεροι φυσιολογικοί μηχανισμοί των ζιζανίων που συμβάλλουν στην ανθεκτικότητά τους στα ζιζανιοκτόνα είναι **1)** η μείωση του ρυθμού απορρόφησης του ζιζανιοκτόνου, **2)** η μείωση του ρυθμού μετακίνησης και **3)** η τροποποίηση στην ενδοκυτταρική κατανομή. Οι βιοχημικοί μηχανισμοί των ζιζανίων που εξηγούν την ανθεκτικότητά τους στα ζιζανιοκτόνα σχετίζονται με **1)** την ικανότητά τους να μεταβολίζουν τα ζιζανιοκτόνα μέσω διεργασιών μετατροπής-αποδόμησης των μορίων τους, σχηματισμού συμπλόκων με συστατικά των κυττάρων, και εναπόθεσής τους στα κυτταρικά τοιχώματα και στα χυμοτόπια, **2)** την υπερπαραγωγή του ενζύμου που αποτελεί θέση δράσης του ζιζανιοκτόνου, και **3)** την τροποποίηση της θέσης δράσης του ζιζανιοκτόνου (Dekker and Duke, 1995; Powles et al. 1997; Preston and Mallory-Smith, 2001; Preston, 2004; Hatzios and Burgow, 2004; De Prado and Franco, 2004; Powles and Preston, 2006).

Οι περισσότερες περιπτώσεις ανάπτυξης ανθεκτικών βιοτύπων ζιζανίων έχουν καταγραφεί σε περιοχές όπου το ίδιο το ζιζανιοκτόνο έχει χρησιμοποιηθεί επανειλημμένα για μία περίοδο ετών σε εντατικά συστήματα μονοκαλλιέργειας (ή περιορισμένων αμειψισπορών) και στα οποία τα

ζιζανιοκτόνα χρησιμοποιούνται προκειμένου να επιτευχθούν υψηλά επίπεδα ελέγχου των ζιζανίων.

Όπως ήδη αναφέρθηκε η ανάπτυξη ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα βιοτύπων ζιζανίων έχει οικονομικές και περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Η αδυναμία καταπολέμησης του ανθεκτικού βιότυπου ενός ζιζανίου οδηγεί σε χρησιμοποίηση άλλου ζιζανιοκτόνου στην θέση τους ή γενικότερα άλλων μεθόδων, στην περίπτωση που δεν υφίσταται εναλλακτικό χημικό μέσο. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του κόστους παραγωγής των γεωργικών προϊόντων. Ακόμη η αδυναμία χρησιμοποίησης ενός ζιζανιοκτόνου σε μία καλλιέργεια οδηγεί στην ανάγκη για έρευνα και ανάπτυξη νέων ζιζανιοκτόνων, διεργασία που απαιτεί μεγάλο χρονικό διάστημα στο να ολοκληρωθεί και επιπλέον είναι πολυδάπανη. Επιπρόσθετα, σε ορισμένες περιπτώσεις, η αναγκαία χρησιμοποίηση ενός εναλλακτικού ζιζανιοκτόνου, οδηγεί στην εφαρμογή ζιζανιοκτόνων με μεγαλύτερη υπολειμματική διάρκεια και περισσότερο επιβλαβών τόσο στην χρήση τους, όσο και στο περιβάλλον και τους οργανισμούς μη στόχους. Όλη βέβαια η διαδικασία της αντιμετώπισης του ζητήματος της ανθεκτικότητας των ζιζανίων προϋποθέτει άριστη γνώση των φυσιολογικών και βιοχημικών μηχανισμών που εξηγούν την ανθεκτικότητα, των παραγόντων που επηρεάζουν την ανάπτυξή της, των μεθόδων διάγνωσης και επιβεβαίωσης των ανθεκτικών βιοτύπων, καθώς και των μέτρων ή των μεθόδων αντιμετώπισης των βιοτύπων αυτών.

4. ΤΟ ΖΙΖΑΝΙΟΚΤΟΝΟ GLYPHOSATE

Το glyphosate (N-phosphono-methyl-glycine) είναι διασυστηματικό, μη εκλεκτικό ζιζανιοκτόνο φυλλώματος που από χημικής πλευράς ανήκει στην οικογένεια των γλυκινών (Glycines) και είναι παράγωγο του φωσφονικού οξέος. Στο εμπόριο κυκλοφορεί ως άλας της ισοπροπυλαμίνης με το γνωστό εμπορικό όνομα Roundup. Αναπτύχθηκε το 1974 στις Η.Π.Α. και είναι αποτελεσματικό εναντίον ευρέως φάσματος ετήσιων και πολυετών ζιζανίων. Πρόκειται για αναστολέα του ενζύμου EPSPS και της βιοσύνθεσης αρωματικών οξέων. Χρησιμοποιείται με επιτυχία για 38 χρόνια και θεωρείται

ως το σημαντικότερο και ένα από τα πλέον γνωστά ζιζανιοκτόνα σε παγκόσμιο επίπεδο (Woodburn 2000). Έχει γίνει το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο ζιζανιοκτόνο του κόσμου για τον έλεγχο των ζιζανίων για μία σειρά από λόγους, συμπεριλαμβανομένων της υψηλής αποτελεσματικότητας και του χαμηλού κόστους, καθώς και της σχετικά ήπιας επίδρασης στο περιβάλλον, καθώς παρουσιάζει και χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά, στα πουλιά και στα ψάρια. Οι παγκόσμιες πωλήσεις των ζιζανιοκτόνων glyphosate το 2010 ήταν πάνω από 4 δισεκατομμύρια δολάρια (McDougall 2010). Το glyphosate είναι επίσης ένα από τα πιο σπουδαία ζιζανιοκτόνα της επιλογής για τον έλεγχο των ζιζανίων σε μια ευρεία ποικιλία από περιβαλλοντικές χρήσεις σε αστικά και βιομηχανικά περιοχές, εθνικά πάρκα και άλλους χώρους αναψυχής. Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις διαφορετικών χρήσεων, το glyphosate επιτυγχάνει έναν ευρέως φάσματος έλεγχο των ανεπιθύμητων φυτών. Ωστόσο, η μη επιλεκτική δράση του glyphosate σήμαινε ως εκ τούτου ότι, το glyphosate που δεν θα μπορούσε να χρησιμοποιούνται εντός καλλιέργειες για επιλεκτικό έλεγχο των ζιζανίων.

Εφαρμόζεται διαφυλλικά και απορροφάται εύκολα από τα φύλλα των φυτών και μετακινείται στους μεριστωματικούς ιστούς μέσω κυρίως του συμπλάστη και δευτερευόντως μέσω του αποπλάστη, αλλά η συμπλαστική μετακίνησή του είναι αργή, εξαιτίας της μερικής παγίδευσής του στους ηθμούς των φυτών. Αυτό το γεγονός έχει σαν αποτέλεσμα την καθυστερημένη εκδήλωση των συμπτωμάτων και τη μετακίνηση μεγάλης ποσότητας ζιζανιοκτόνου στα υπόγεια αναπαραγωγικά όργανα. Η διέλευσή του μέσω της κυτταρικής μεμβράνης, εκτός από τον παθητικό μηχανισμό της διάχυσης, υποβοηθείται και από τη διαφορά του pH μεταξύ του κυτταροπλάσματος και του κυτταρικού τοιχώματος. Ειδικότερα, το glyphosate, ως ασθενές οξύ, γίνεται υδρόφοβο εντός των κυτταρικών τοιχωμάτων (πρωτονιώνεται λόγω του όξινου pH και συμπεριφέρεται ως υδρόφοβο μόριο) με αποτέλεσμα να διευκολύνεται η διέλευσή του μέσω της υδρόφοβης κυτταρικής μεμβράνης. Βέβαια, τα υδρόφοβα αυτά μόρια, μετά την είσοδό τους εντός του κυτταροπλάσματος, γίνονται υδρόφιλα ανιόντα λόγω της διάστασης του υδρογόνου της καρβοξυλικής τους ομάδας εξαιτίας του υψηλού pH. Τα υδρόφιλα αυτά ανιόντα παραμένουν εντός του κυτταροπλάσματος επειδή

δυσκολεύονται να διέλθουν μέσω της υδρόφοβης κυτταρικής μεμβράνης. Η διέλευση του glyphosate μέσω της κυτταρικής μεμβράνης εικάζεται ότι γίνεται και με τη βοήθεια ενός μεταφορέα φωσφόρου.

Το glyphosate μπορεί να απορροφηθεί και από τις ρίζες των φυτών, με την προϋπόθεση ότι είναι όμως βιολογικώς διαθέσιμο στο έδαφος (Ashton and Crafts, 1981). Αυτό βέβαια συμβαίνει σπάνια, καθώς το glyphosate προσροφάτε ισχυρά στα κολλοειδή του εδάφους (δημιουργώντας σύμπλοκα με τα κατιόντα του εδάφους), κάτι που οδηγεί στην μη απορρόφησή του από το ριζικό σύστημα των φυτών και στην μη πρόκληση τοξικότητας σε αυτά (από εδάφους είναι σχεδόν μη φυτοτοξικό). Όταν εφαρμόζεται από εδάφους καθίσταται γρήγορα ανενεργό. Έτσι λοιπόν εξηγείται και η συνιστώμενη χρήση του glyphosate για την αντιμετώπιση ζιζανίων που έχουν φυτρώσει πριν από τη σπορά των καλλιεργούμενων φυτών με συστήματα μειωμένης κατεργασίας του εδάφους και χρησιμοποιείται σε πολλές χώρες του κόσμου για ένα ευρύ φάσμα ελέγχου ζιζανίων λίγο πριν τη σπορά των καλλιεργειών μία διαδικασία που ονομάζεται «κάψιμο». Βέβαια, η σπορά ή η μεταφύτευση όλων των καλλιεργειών δεν είναι πάντοτε ασφαλής μετά από την εφαρμογή του glyphosate, όπως επιβεβαιώνεται για παράδειγμα από τα αποτελέσματα του Cornish (1992) σε καλλιέργεια ντομάτας που μεταφυτεύτηκε και παρουσίασε σημαντικά προβλήματα φυτοτοξικότητας.

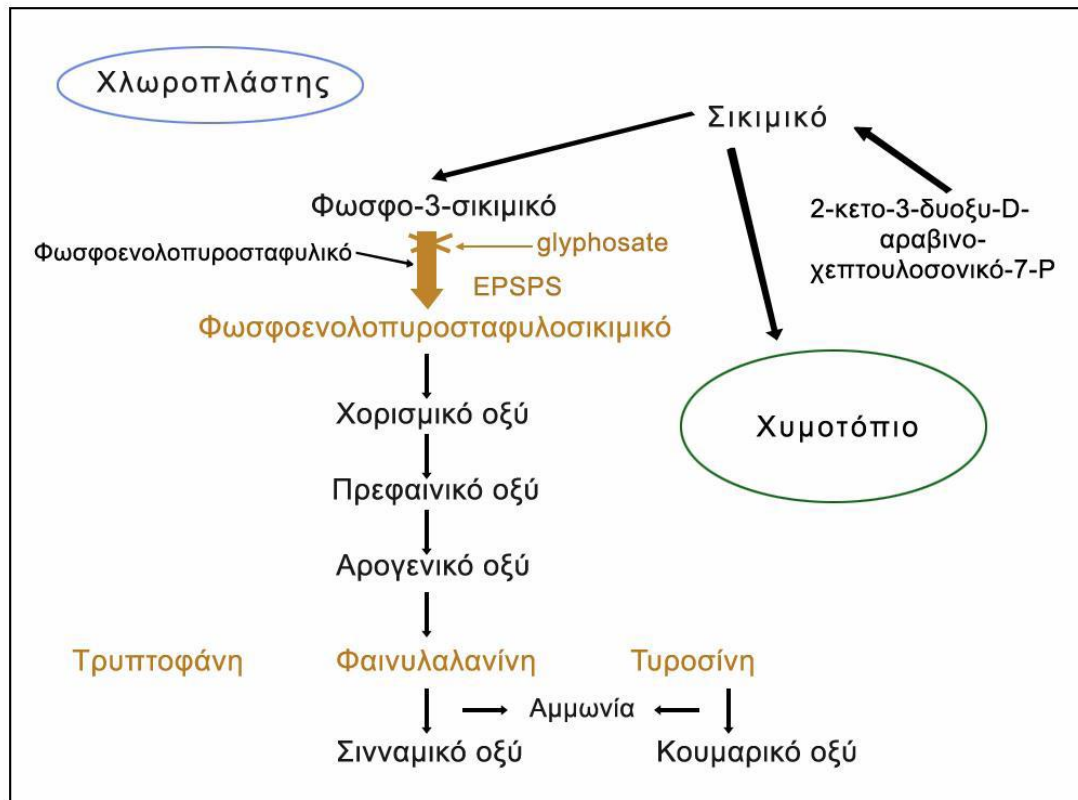
4.α. Μηχανισμός δράσης του glyphosate.

Ο μηχανισμός δράσης, τώρα του glyphosate, σχετίζεται με την αναστολή της δράσης του ενζύμου συνθετάση του 5-ενολοπυροσταφυλοσικιμικού-3-φωσφορικού (EPSPS). Το ένζυμο EPSPS κωδικοποιείται εντός του πυρήνα των κυττάρων και στην συνέχεια μεταφέρεται, με τη βοήθεια ενός πεπτιδίου-μεταφορέα, εντός των χλωροπλαστών όπου συμμετέχει στη βιοσύνθεση των τριών αρωματικών αμινοξέων τυροσίνης, τρυπτοφάνης και φαινυλαλανίνης (Devine et al. 1993). Πιο συγκεκριμένα το ένζυμο EPSPS καταλύει την αντίδραση συμπύκνωσης μεταξύ των μορίων σικομικό-3-φωσφορικό (S-3-P) και

φωσφοενολοπυροσταφυλικό (PEP) με τελικό προϊόν το ενολοπυροσταφυλοσικιμικό-3-φωσφορικό (EPSP) και ανόργανο φώσφορο.

Το παραγόμενο EPSP από την καταλυτική δράση του ενζύμου EPSPS συμμετέχει στην συνέχεια στη βιοσύνθεση των τριών αρωματικών αμινοξέων που προαναφέρθηκαν, τα οποία χρησιμοποιούνται από τα φυτά για την βιοσύνθεση της αυξίνης, των φυτοαλεξινών, αλκαλοειδών, φλαβονοειδών, κουμαρινών κ.ά. Το ένζυμο EPSPS, μετά από τη σύνδεσή του με το glyphosate και το σχηματισμό του συμπλόκου glyphosate-EPSPS-S3P, δεν είναι σε θέση να συμμετάσχει (καταλυτική δράση) στη βιοσύνθεση του ενολοπυροσταφυλοσικιμικού-φωσφορικού οξέος (EPSP). Αυτό έχει ως συνέπεια την αναστολή της βιοσύνθεσης των τριών αρωματικών αμινοξέων και τη συσσώρευση μεγάλων ποσοτήτων των μη χρησιμοποιηθείσων προδρόμων ενώσεων σικιμικού, σικιμικο-φωσφορικού και ενολοπυροσταφυλικο-φωσφορικού. Επιπλέον η σύνδεση του glyphosate με το ένζυμο EPSPS γίνεται στην ίδια περίπτωση θέση σύνδεσης του ενζύμου με το PEP (δρα ανταγωνιστικά με το PEP). Το ένζυμο EPSPS εκτός από τους χλωροπλάστες όπου κυρίως δρα, είναι ικανό να δρα με την πρόδρομη μορφή του (pEPSPS) και εντός του κυτταροπλάσματος (Devine κ.ά., 1993). Όμως, και σε αυτήν την περίπτωση, η δέσμευση της πρόδρομης μορφής του ενζύμου (pEPSPS) από το glyphosate, κάνει αδύνατη της είσοδό του από το κυτταρόπλασμα εντός των χλωροπλάστων με συνέπεια την αδυναμία συμμετοχής του στη βιοσύνθεση των τριών προαναφερθέντων αρωματικών αμινοξέων. Η συσσώρευση του σικιμικού οξέος καθώς και η έλλειψη των τριών αυτών αμινοξέων δεν μπορεί να εξηγήσει πλήρως τον θάνατο των φυτών (Shieh et al. 1991). Πιθανότατα η αδυναμία αξιοποίησης του άνθρακα και βιοσύνθεσης βασικών ουσιών, όπως οι αυξίνες, το φολικό οξύ, η λιγνίνη, η πλαστοκινόνη, τα φλαβονοειδή, οι φαινόλες και τα αλκαλοειδή, να συντελούν στην θανάτωση των ευαίσθητων φυτών. Η δράση του glyphosate εναντίον των περισσότερων ζιζανίων συνήθως αυξάνεται με την προσθήκη διαφόρων επιφανειοδραστικών ουσιών όπως διαβρεκτικών, προσκολλητικών, εξαπλωτικών ή $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ κατά τον ψεκασμό, όπως επίσης και με την αύξηση της σχετικής υγρασίας της ατμόσφαιρας. Η αποδόμησή του από τα περισσότερα εδάφη είναι ταχύτερη και οφείλεται κυρίως σε μικροβιακή

αποδόμηση (βιοαποδόμηση). Υποστηρίζεται ότι αυξάνει την ευαισθησία των φυτών στα παθογόνα γιατί παρεμποδίζει την παραγωγή φυτοαλεξινών. Αξίζει να αναφερθεί όμως, ότι η δράση του εναντίον των πολυετών ζιζανίων εξαρτάται και από το στάδιο ανάπτυξης των φυτών, το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στην μετακίνησή του.



Εικόνα 2: Διαγραμματική απεικόνιση του μηχανισμού δράσης των αναστολέων του ενζύμου EPSPS (Βασιλάκογλου, 2012; τροποποιημένο από Monaco κ.ά. 2002).

Το πιο κοινό και πρώτο σύμπτωμα της δράσης του glyphosate είναι η διακοπή της αύξησης, την οποία και ακολουθεί έντονο κιτρίνισμα (χλώρωση) των νέων μη ώριμων φύλλων και βλαστών, η οποία στην συνέχεια ακολουθείται από την νέκρωση των φυτών. Σε ορισμένες περιπτώσεις, βέβαια, που αφορούν μικρές χορηγούμενες δόσεις glyphosate τα φύλλα διπλώνουν και εμφανίζουν το σχήμα του «κουταλιού». Τα συμπτώματα της χλώρωσης εμφανίζονται συνηθέστερα εντός της πρώτης εβδομάδας, λίγες μέρες μετά από την εφαρμογή, ενώ η νέκρωση των φυτών επέρχεται 1-2 εβδομάδες αργότερα ανάλογα με τις συνθήκες θερμοκρασίας και ηλιοφάνειας που επικρατούν.

5. GLYPHOSATE KAI KONYZA (*Conyza* spp.)

5.a. Μηχανισμοί Ανθεκτικότητας των ζιζανίων.

Η γνώση της βιολογίας των ζιζανίων και των μηχανισμών ανθεκτικότητας σε ένα ζιζανιοκτόνο γενικότερα, είναι εξαιρετικά σημαντική ούτως ώστε να ελαχιστοποιηθεί η ανάπτυξη νέας ανθεκτικότητας, καθώς και για να αντιμετωπιστούν και να μετριαστούν οι επιπτώσεις των υφιστάμενων ανθεκτικών ζιζανίων. Η πρώτη περίπτωση που έχει αναφερθεί χρονολογείται το 2003 (Urbano et al. 2007) μετά από μελέτη έξι πληθυσμών *Conyza bonariensis*, όπου βρέθηκε η αντοχή τους στο glyphosate σε ελαιοκαλλιέργειες στη νότια Ισπανία. Για τον έλεγχο των ανθεκτικών πληθυσμών οι δόσεις του ζιζανιοκτόνου ήταν 7-10 φορές υψηλότερες από εκείνες που απαιτούνται για τον έλεγχο των ευπαθών πληθυσμών. Η όξυνση του προβλήματος παρουσιάζεται σε περιοχές όπου το glyphosate έχει χρησιμοποιηθεί επίμονα όπως στην Ευρώπη (Γαλλία, Ισπανία), τη Μέση Ανατολή (Ισραήλ), Νότια Αφρική, τη Νότια Αμερική (Χιλή, Κολομβία, Βραζιλία) και Ασία (Αυστραλία, Κίνα). Ο μηχανισμός ανθεκτικότητας των περισσότερων ανθεκτικών στο glyphosate βιοτύπων δεν έχει προσδιοριστεί επακριβώς ακόμη (Hear, 2008). Συγκεκριμένα όμως η μελέτη ενός βιοτύπου του ζιζανίου *Eleusine indica* από την Μαλαισία έδειξε ότι η ανθεκτικότητα του στο glyphosate οφείλεται σε ανθεκτικό ένζυμο EPSPS (συνθετάση του 5-ενολοπυροσταφυλοσικιμικού-3-φωσφορικού), το οποίο εκφράζεται εντός του πυρήνα και μεταφέρεται μέσω ενός πεπτιδίου-μεταφορέα εντός των χλωροπλαστών όπου δρά, όπως ήδη προαναφέρθηκε. Η έρευνα των Simarmata και Penner (2008) έδειξε ότι η ανθεκτικότητα στο glyphosate ενός

βιοτύπου του ζιζανίου *Lolium rigidum* από την Καλιφόρνια, οφειλόταν κι εκείνη σε ανθεκτικό ένζυμο EPSPS και μάλιστα στην ίδια αντικατάσταση αμινοξέος με εκείνη του βιότυπου του ζιζανίου *Eleusine indica* από την Μαλαισία (Pro106-Ser). Μελέτες κληρονομιάς της ανθεκτικότητας των βιοτύπων του ζιζανίου *Eleusine indica* στο glyphosate έδειξαν ότι η ανθεκτικότητα είναι σχεδόν κυρίαρχο γνώρισμα (χαρακτηριστικό) και ελέγχεται από ένα γονίδιο (Ng κ.ά., 2004; Pline-Srnic, 2006). Τα δεδομένα των Wakelin et al. (2004) έδειξαν ότι η ανθεκτικότητα τεσσάρων βιοτύπων του ζιζανίου *Lolium rigidum* από την Αυστραλία δεν οφείλεται σε ανθεκτικό στο glyphosate ένζυμο EPSPS αλλά σε μειωμένη μετακίνηση του glyphosate από τα φύλλα στους μεριστωματικούς ιστούς των φυτών. Η ανθεκτικότητα ενός βιότυπου του ζιζανίου *Lolium multiflorum* από τη Χιλή ήταν αποτέλεσμα μειωμένης συγκράτησης και μειωμένης απορρόφησης του glyphosate από τα ψεκάσμενα φυτά αλλά και τροποποίησης της κατανομής του εντός των φυτών (Michitte et al. 2007). Ακόμα αναφέρθηκαν ανθεκτικά *Parthenium hysterophorus* L. στο glyphosate σε περιοχές της Κολομβίας. Μέσα από πειράματα των Westwood και Weller (1997) έγινε γνωστό ότι η εξ αρχής φυσική αντοχή δύο βιοτύπων του ζιζανίου *Convolvulus arvensis* στο glyphosate δεν οφειλόταν σε ανθεκτικό ένζυμο EPSPS ή/και σε μειωμένη μετακίνηση του glyphosate στους μεριστωματικούς ιστούς των φυτών, αλλά στη μεγαλύτερη ικανότητα αυτών των φυτών να παράγουν και να αποταμιεύουν αρωματικά αμινοξέα. Η χρήση των αποθηκευμένων αρωματικών αμινοξέων από τα φυτά που ψεκάστηκαν, σύμφωνα πάντα με τις ίδιες πηγές, παρέχει σε αυτά την δυνατότητα να εκδηλώνουν αρχικά ηπιότερα συμπτώματα τοξικότητας και να συνεχίζουν της αύξησή τους για κάποιο χρονικό διάστημα μέχρι που καθίστανται ικανά να αραιώσουν το glyphosate εντός αυτών των φυτών και να αποφύγουν κατά συνέπεια την νέκρωσή τους.

Είδη	Χώρα	Μηχανισμός	Κληρονομικότητα	Επιλογή	RF
<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn.	Malaysia	TSR: Pro106Ser	Monogenic	NC	2-4
	Malaysia	TSR: Pro106Thr or Pro106Ser		NC	
<i>Lolium rigidum</i> Gaudin	Malaysia			NC	8-12
	Australia	TSR: Pro106Thr		NC	3
	USA	TSR: Pro106Ser	Multi(2)-genic	NC	
	Australia	NTSR-T	Monogenic	NC	7-11
	Australia			C	10
	Australia	NTSR-T	Monogenic	NC/C	3-11
	Australia	TSR: overexpression			
South Africa	TSR: Pro106Ala	Multigenic	NC	14	
	+NTSR-T				
Australia	TSR: Pro106 Ser/Thr	Multigenic	NC	14-20	
	+NTSR-T				
<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	USA	NTSR-T		NC	5
	Chile	TSR: Pro106Ser		NC	2-4
	USA	NTSR-A+T		C-GR	3
	USA	TSR: Pro106Ser, Ala		NC	2-15
	Chile	NTSR-A+T		C	9
<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronq.	USA		Monogenic	C-GR	8-13
	USA	NTSR-T	Monogenic		
	USA	NTSR-T			10
	USA	NTSR-T/ TSR: overexpression		C-GR	4-5
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronq.	USA			NC	5-6
	Brazil	NTSR-T		C-GR	
	Spain			NC	7-10
	Spain	NTSR-T/ TSR: overexpression		NC	
<i>Amaranthus palmeri</i> S. Wats.	Greece			NC	4-7
	USA			NC	3-10
	USA	TSR: EPSPS amplification		C-GR	6-8
	USA	NTSR		C-GR	2-5
	USA			C-GR	2-20
<i>Amaranthus tuberculatus</i> (Moq.) Sauer	USA			C-GR	4-7
	USA		Polygenic	C-GR	79-115
<i>Amaranthus rudis</i> Sauer	USA				3
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	USA				9-19
<i>Ambrosia trifida</i> L.	USA			C-GR	10-21
<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Brazil			C-GR	5
<i>Sorghum halepense</i> (L.) Pers.	Brazil			C-GR	3
	Argentina			C-GR	4-10
	USA	NTSR		C-GR	4
<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link	USA	NTSR-T		C-GR	5-7
	Australia	TSR		C	5
USA	TSR: Pro106Ser or Pro106Thr		C-GR, NC	4-6	
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	Columbia			NC	4-6
<i>Digitaria insularis</i> (L.) Mez ex Ekman	Brazil			NC	3-8

Πίνακας 1: Συγκεντρωτικός πίνακας ζιζανίων με εμφάνιση ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate (από δημοσιευμένες μελέτες) (H. J Beckie, 2011)

5.β. Το πρόβλημα της ανθεκτικότητας της κόνυζας

Η κόνυζα συγκαταλέγεται ανάμεσα στα ζιζάνια με εμφάνιση ανθεκτικότητας σε διάφορα ζιζανιοκτόνα και σε διάφορες χώρες, πιθανότατα εξαιτίας της κοσμοπολίτικης εξάπλωσης του ζιζανίου, της προσαρμοστικότητάς του είδους σε εύρος εδαφοκλιματικών συνθηκών και των συστημάτων ακατεργασίας (no-

till) που ευνοούν σημαντικά την διάδοσή της όπως έχει ήδη αναφερθεί και αναλυθεί παραπάνω. Έτσι, έχουν βρεθεί αρκετοί βιότυποι κόνυζας που έχουν εμφανίσει ανθεκτικότητα στο glyphosate, αλλά και σε ζιζανιοκτόνα που ανήκουν στις χημικές ομάδες των τριαινών, των σουλφονουλουριών, των διπυριδιλίων κ.ά. (Mueller et al. 2003, Hear 2006, Urbano et al. 2007). Αποτελεί ίσως το πιο συχνά απαντώμενο ζιζάνιο που εμφανίζει ανθεκτικότητα στο glyphosate στην Ελλάδα (Chachalis and Travlos 2012) αλλά και παγκοσμίως όπως για παράδειγμα στην περίπτωση μίας τυχαίας έρευνας στο Ισραήλ που αφορούσε σε πληθυσμούς *Conyza spp.* και έδειξε πως το 50% των 60 δειγμάτων που συλλέχθηκαν ήταν ανθεκτικά στο glyphosate. Στην Ελλάδα, το πρόβλημα της κόνυζας είναι ιδιαίτερα έντονο και σοβαρό ιδιαίτερα σε πολυετείς καλλιέργειες (*Conyza spp.*) Οι εκτεταμένες επισκοπήσεις σε διάφορες περιοχές της χώρας και τα πειράματα αγρού και θερμοκηπίου των ετών 2012-2013 επιβεβαίωσαν την ανθεκτικότητα στο glyphosate πληθυσμών της κόνυζας και από τα τρία είδη. Τα συγκεκριμένα ζιζάνια εμφανίζονται με όλο και μεγαλύτερη συχνότητα και δυστυχώς συγκαταλέγονται ανάμεσα στα ζιζάνια με εμφάνιση ανθεκτικότητας σε διάφορα ζιζανιοκτόνα σε πολλές χώρες, πιθανότατα εξαιτίας της κοσμοπολίτικης εξάπλωσής τους, της ευρείας προσαρμοστικότητάς τους και των συστημάτων ακατεργασίας ή μειωμένης εδαφοκατεργασίας που ευνοούν σημαντικά την διάδοσή τους. Έτσι υπάρχει μία διαμορφωμένη κατάσταση ανεπαρκούς αποτελεσματικότητας του glyphosate έναντι της κόνυζας στην χώρα μας σε συνθήκες αγρού. Η αντιμετώπιση των ειδών του γένους *Conyza* βασίζεται κυρίως σε επαναλαμβανόμενες εφαρμογές μεταφυτρωτικών ζιζανιοκτόνων και κυρίως glyphosate [N-(phosphonomethyl)glycine], το οποίο θεωρείται ως το σημαντικότερο ευρέος φάσματος μη εκλεκτικό ζιζανιοκτόνο παγκοσμίως (Baylis, 2000; Nol et al. 2012). Αν και η πιθανότητα ανάπτυξης ανθεκτικών στο glyphosate βιοτύπων ζιζανίων αρχικά θεωρούνταν μικρή, όπως προαναφέρθηκε, η συνεχής και εντατική χρήση του κατά τα τελευταία χρόνια οδήγησε στην ανάπτυξη ανθεκτικών βιοτύπων που ανήκουν σε 24 είδη ζιζανίων (Hear, 2012). Ειδικότερα τα είδη *C. bonariensis*, *C. canadensis* και *C. albida* έχουν αναπτύξει ήδη 13, 31 και 3 βιοτύπους, αντιστοίχως, με ανθεκτικότητα στο glyphosate (Hear, 2012). Η ανθεκτικότητα του είδους *C. canadensis* και ορισμένων βιοτύπων της δεν οφείλεται σε ανθεκτικό ένζυμο

EPSPS αλλά ήταν αποτέλεσμα της ικανότητας αυτών των βιοτύπων να τροποποιούν την κατανομή του glyphosate εντός των κυττάρων τους και μάλιστα κατά τέτοιο τρόπο ώστε να μειώνεται η μετακίνησή του στους χλωροπλάστες (χώρος δράσης του glyphosate), στους ηθμώδεις σωλήνες και στους μεριστωματικούς ιστούς των φυτών (Feng et al. 2004) κάτι που έχει εξηγηθεί από την γρήγορη αποβολή του ζιζανιοκτόνου στα χυμοτόπια (Ge et al. 2010), όπου καθίσταται ανενεργό, με την συμμετοχή ειδικών μεταφορέων (Nol et al. 2012). Οι μελέτες κληρονόμησης της ανθεκτικότητας του glyphosate στους προαναφερθέντες βιοτύπους *C. canadensis* έδειξαν ότι η ανθεκτικότητα είναι ημικυρίαρχο χαρακτηριστικό και ελέγχεται από ένα γονίδιο (Pline-Srnic, 2006). Στην χώρα μας μία πρώτη διερεύνηση το 2008 (Γιαννοπολίτης et al. 2008) έδειξε την παρουσία ανθεκτικών πληθυσμών *Conyza spp.* σε ορισμένες περιοχές και ήδη έχουν αναφερθεί ανθεκτικοί στο glyphosate βιότυποι των ειδών *C. bonariensis* (Travlos και Chachalis, 2010) και *C. canadensis* (Nol et al. 2012; Travlos and Chachalis 2012) και της *C. albida* (Travlos and Chachalis 2012). Σύμφωνα με τους Travlos και Chachalis, όσον αφορά το *Conyza canadensis* και το *Conyza albida*, περίπου το 70% των εξετασμένων πληθυσμών του πρώτου ήταν δυνητικά ανθεκτικοί ή ενδιάμεσοι, ενώ το σχετικό ποσοστό του *C. albida* ήταν σημαντικά χαμηλότερο (50%), πιθανώς λόγω της προγενέστερης εισαγωγής του *C. canadensis* στη χώρα. Οι δόσεις του glyphosate για να ελεγχθούν κάποιοι πληθυσμοί της μελέτης ήταν μέχρι και 14 φορές μεγαλύτερες σε σχέση με αυτές που απαιτήθηκαν για τον έλεγχο των ευαίσθητων πληθυσμών αναφοράς. Η αποτελεσματικότητα του ζιζανιοκτόνου glyphosate ενισχύθηκε όταν εφαρμόστηκε στο στάδιο των τριών-πέντε φύλλων. Μέσα από μελέτες φάνηκε πως σε αρκετές περιπτώσεις η αποτελεσματικότητα του glyphosate ακόμη και σε δόσεις τετραπλάσιες της συνιστώμενης ήταν ιδιαίτερα χαμηλή (42%). Οι Shrestha et al. (2010) αναφέρουν ότι η αυξημένη προσαρμοστικότητα των ανθεκτικών βιοτύπων του γένους *Conyza* είναι ανεπιθύμητη επειδή συμβάλλει στην ταχεία εξάπλωσή τους. Βέβαια, σύμφωνα με τις ίδιες πηγές (Shrestha et al. 2010), αυτό δεν συμβαίνει πάντοτε αφού η μελέτη ενός ανθεκτικού και ενός ευαίσθητου βιοτύπου του *C. canadensis* έδειξε ότι ο ανθεκτικός βιότυπος ήταν υψηλότερος από τον ευαίσθητο, αλλά το ξηρό βάρος του ήταν μικρότερο κατά 40%. Αντίθετα, όσον αφορά τις πιθανές διαφορές μεταξύ των R- (ανθεκτικών)

και S- (ευαίσθητων) πληθυσμών, στην *Conyza bonariensis* δεν υπήρχαν διαφορές σε συνθήκες μη ανταγωνισμού (Travlos and Chachalis, 2012). Ο πιο πιθανός μηχανισμός για την αντοχή στο glyphosate στην κόνυζα δεν εμπλέκει το EPSPS ένζυμο (Feng et al. 2004; Koger and Reddy 2005; Yuan et al. 2007). Επιπρόσθετα, δεν έχει αποδειχθεί ότι η μειωμένη απορρόφηση παίζει σημαντικό ρόλο στην ανθεκτικότητα που αναπτύχθηκε στο glyphosate. Αντίθετα, σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζει η μειωμένη μετακίνηση αυτού στους R-πληθυσμούς (Shaner, 2009). Έχουν γίνει αρκετές μελέτες με σκοπό των εντοπισμό των μηχανισμών που οδηγούν στην μειωμένη μετακίνηση του ζιζανιοκτόνου σε R-πληθυσμούς καθώς και στην μετακίνηση και αδρανοποίησή του στα χυμοτόπια (Ge et al. 2010; Ge et al. 2011). Έτσι έχουν ταυτοποιηθεί αρκετά γονίδια που πιθανόν να εμπλέκονται σ' όλες αυτές τις διαδικασίες με χαρακτηριστικότερο παράδειγμα τους ABC μεταφορείς (Kang et al. 2011). Στις ανθεκτικές ποικιλίες κόνυζας αυξάνεται η έκφραση των ABC μεταφορέων σε πολύ μεγάλο βαθμό (Peng et al. 2010; Yuan et al. 2010). Οι ABC-μεταφορείς παίζουν ρόλο στην ανταλλαγή ιόντων και ενίοτε στην αποτοξίνωση των φυτικών κυττάρων. Πιο πρόσφατες έρευνες δείχνουν ότι R-πληθυσμοί κόνυζας μεταβολίζουν το ζιζανιοκτόνο σε μη τοξικές χημικές ενώσεις (Gonzalez-Torralva et al. 2012). Το glyphosate νεκρώνει τα φυτά παρεμβαίνοντας στο βιοχημικό μονοπάτι του σικιμικού οξέος, το οποίο είναι υπεύθυνο για την βιοσύνθεση των αρωματικών αμινοξέων και πολλών δευτερογενών αρωματικών προϊόντων. Το ζιζανιοκτόνο παρεμβαίνει προσδεδεμένο στο EPSPS ένζυμο, γεγονός που οδηγεί σε ταχεία συσσώρευση του σικιμικού (shikimate) και στην μετέπειτα νέκρωση του φυτού.

Σύμφωνα με την μελέτη των Μυλωνά Φ.Ν. et al., 25 πληθυσμοί του ζιζανίου *Conyza spp.*, από το σύνολο των 60 πληθυσμών που αξιολογήθηκαν, δεν αντιμετωπίστηκαν αποτελεσματικά από την συνιστώμενη δόση του ζιζανιοκτόνου (16-70%) και χαρακτηρίστηκαν ως ανθεκτικοί ενώ οι υπόλοιποι χαρακτηρίστηκαν ως ευαίσθητοι. Οι δύο χαρακτηρισμένοι ως ευαίσθητοι πληθυσμοί αντιμετωπίστηκαν αποτελεσματικά με όλες τις επεμβάσεις της του ζιζανιοκτόνου (95-100 %). Τα πειράματα προσδιορισμού της έντασης ανθεκτικότητας 5 ανθεκτικών (R) βιοτύπων *C. albida* και 3

ανθεκτικών (R) βιοτύπων *C. bonariensis* στο ζιζανιοκτόνο glyphosate έδειξαν ότι αυτή κυμάνθηκε από 8 έως 39 και από 3 έως 10, αντιστοίχως. Ακόμα, με βάση την έρευνα των Χάχαλη Δ. et al., αποτυπώθηκε το πρόβλημα της ανάπτυξης ανθεκτικότητας των τριών ειδών της κόνουζας στην Ελλάδα, καθώς επίσης ανιχνεύτηκαν οι πιθανοί μηχανισμοί της σε μοριακό επίπεδο. Πιο συγκεκριμένα, τα πειράματα φυτοδοχείων έδειξαν ότι μεγάλος αριθμός πληθυσμών και από τα 3 είδη της κόνουζας εμφάνισε ανθεκτικότητα (GR50; R/S) που κυμάνθηκε από 3 έως 86. Ακόμη η μέτρηση in-vitro του σικιμικού οξέος έδειξε ότι οι ευαίσθητοι πληθυσμοί έχουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα (2-3 φορές περισσότερο) από τους ανθεκτικούς πληθυσμούς. Όσον αφορά στους μηχανισμούς της ανθεκτικότητας και σχετικά με το γονίδιο EPSPS οι διαφορές της σχετικής έκφρασης μεταξύ των δύο ποικιλιών συμφώνησαν απόλυτα με την βιβλιογραφία (2 με 2,5 φορές περισσότερο στην ανθεκτική ποικιλία απ' ότι στην ευαίσθητη). Αντίθετα, η σχετική έκφραση γονιδίων ABC-μεταφορείς, σε κάποιες περιπτώσεις, ήταν πάρα πολύ υψηλότερη σε R-πληθυσμούς σε σχέση με S-πληθυσμούς (5-10 φορές περισσότερο). Τέλος οι μετρήσεις του σικιμικού οξέος συμφωνούν με τα αποτελέσματα από τις σχετικές εκφράσεις των ABC-μεταφορέων (όπου έχουμε πολύ μεγάλες σχετικές εκφράσεις, παρατηρούμε χαμηλές συγκεντρώσεις σικιμικού οξέος).

Βέβαια, επειδή τα παράπονα από διάφορες περιοχές για μειωμένη αποτελεσματικότητα του glyphosate στα είδη του γένους *Conyza* είναι πολλά το πρόβλημα αυτό διερευνάται περαιτέρω για να προσδιοριστεί η ένταση της ανθεκτικότητας στο glyphosate διάφορων νέων βιοτύπων του *C. bonariensis* αλλά και βιοτύπων του *C. albida*. Έχει αποδειχθεί λοιπόν το σοβαρό πρόβλημα της αναποτελεσματικής χημικής καταπολέμησης της κόνουζας σε διάφορες περιοχές της χώρας. Συγκεκριμένοι πληθυσμοί φαίνεται να έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στο glyphosate, καθώς για την αποτελεσματική καταπολέμηση του ζιζανίου απαιτούνται δόσεις σημαντικά υψηλότερες της συνιστώμενης. Στις αροτραίες καλλιέργειες της Ευρώπης η *Conyza* ελέγχεται με όργωμα (Brown & Whitwell 1998) και ακόμη και στην περίπτωση που δεν πραγματοποιηθεί πρωτογενές όργωμα, ο έλεγχος με glyphosate μεταξύ μιας καλλιέργειας και της επόμενης είναι αποτελεσματικός όταν εφαρμόζεται στο στάδιο της ροζέτας. Αποτελεσματικός έλεγχος των ειδών *Conyza* στις

αροτραίες καλλιέργειες επιτυγχάνεται επίσης μέσω της διακοπής στον κύκλο ζωής με αμειψισπορά μαζί με τη χρήση ζιζανιοκτόνων με εναλλακτικούς τρόπους δράσεις (Stachler 2008; Beckie 2009).

6. ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ ΣΤΑ ΑΝΩΤΕΡΑ ΦΥΤΑ.

Το βιολογικό στρες είναι μια αρνητική δύναμη ή μια κατάσταση που αναστέλλει την κανονική λειτουργία και ευημερία ενός βιολογικού συστήματος, όπως τα φυτά (Jones et al., 1989), και το περιβάλλον ασκεί ισχυρές πιέσεις στην ανάπτυξη των φυτών και στην παραγωγικότητα. Η ξηρασία και η αλατότητα είναι οι δύο πιο σημαντικοί αβιοτικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των φυτών (Wang et al., 2009b) λόγω του μεγάλου μεγέθους του αντίκτυπου και της ευρείας εμφάνισής τους (Bartels And Sunkar, 2005). Η έντονη ξηρασία και η υψηλή αλατότητα προωθούν την ερημοποίηση της γης, διαδικασία που αυξάνεται ραγδαία σε παγκόσμια κλίμακα. Περισσότερο από το 10% της καλλιεργήσιμης γης έχει ερημοποιηθεί και η μέση απόδοση των καλλιεργήσιμων φυτών έχει μειωθεί κατά 50% (Boyer, 1982). Οι σπόροι είναι ο κύριος τρόπος διάδοσης των φυτών και ένας σπόρος περιέχει όλο το γενετικό υλικό του φυτού. Δεδομένου ότι η βλάστηση των σπόρων είναι η αρχή του κύκλου ζωής των φυτών, η βλάστηση των σπόρων είναι καθοριστική για την εγκατάσταση φυτικών πληθυσμών (Khan and Gulzar, 2003).

6.α. Επίδραση της Οσμωτικής καταπόνησης και Αλατότητας στην βλάστηση σπόρων.

Ο τρόπος με τον οποίο επηρεάζεται η βλάστηση των σπόρων από την έλλειψη νερού και αλατότητα είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση των επιπτώσεων των δύο αυτών στρεσογόνων παραγόντων. Το στρες λόγω έλλειψης νερού είναι ένα από τα κύρια εμπόδια στη βλάστηση των σπόρων. Η βλάστηση επηρεάζεται αρνητικά από δυσμενείς συνθήκες υγρασίας λόγω έλλειψης βροχοπτώσεων (Mwale et al., 2003) και άρδευσης. Κατά την σπορά,

η ανεπαρκής υγρασία του εδάφους οδηγεί σε ακανόνιστη βλάστηση των σπόρων και ακανόνιστη ανάπτυξη των σπορόφυτων, επηρεάζοντας τη εγκαθίδρυση μιας καλλιέργειας, με αρνητικές επιπτώσεις στην απόδοση (Mwale et al., 2003, Okcu et al., 2005).

Η αλατότητα είναι ο δεύτερος σημαντικός περιορισμός στη βλάστηση των σπόρων. Η αλατότητα του εδάφους επηρεάζει τη βλάστηση των σπόρων είτε λόγω οσμωτικής καταπόνησης είτε λόγω τοξικής επίδρασης ιόντων (Bewley and Black, 1982). Η αλατότητα μπορεί να δημιουργήσει ένα εξωτερικό οσμωτικό δυναμικό που περιορίζει την απορρόφηση του νερού από τους σπόρους, ή ιόντα νατρίου και χλωρίου να συσσωρεύονται στους σπόρους που βλαστάνουν, με τοξικό αποτέλεσμα. Κάτω από το στρες της ξηρασίας και της αλατότητας, η κινητοποίηση των αποθηκών ενέργειας αποτρέπεται ή μειώνεται στους σπόρους (Bouaziz and Hicks, 1990), και η δομική οργάνωση και σύνθεση πρωτεϊνών περιορίζεται στα βλαστάνοντα έμβρυα (Ramagopal, 1990). Συνεπώς, η βλάστηση των σπόρων αναστέλλεται τόσο από την ξηρασία όσο και από το στρες άλατος (Abid et al., 2011, Li et al., 2011, He et al., 2011).

Έχουν υπάρξει πολυάριθμες αναφορές σχετικά με τις επιδράσεις του στρες άλατος ή / και ξηρασίας (Erdal et al., 2011, Fethi et al., 2011, Bajehbai, 2011, Saeedipour, 2011, Abbasi κ.ά., 2010). Η βλάστηση των σπόρων ερυθρελάτης (*Picea asperata* Mast.) υπό υδατικό στρες, επεξεργασμένων με γιβερελλίνη (GA) έχει διερευνηθεί, με μειούμενο δυναμικό νερού, το ποσοστό βλάστησης και ο δείκτης βλάστησης μειώθηκαν σταδιακά και ήταν ιδιαίτερα εμφανείς κάτω από -0,6 MPa (Yang et al., 2010).

Ομοίως, μια μελέτη σε μαύρη φακή (*Phaseolus mungo*) έδειξε ότι το ποσοστό βλάστησης και όλες οι παράμετροι αύξησης των σπορόφυτων έδειξαν αναστολή με αύξηση του οσμωτικού δυναμικού που παράχθηκε από πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) 6000 (Pratap and Sharma, 2010). Σε μία άλλη μελέτη, τέσσερις γονότυποι φακής (*Lens culinaris* M) υποβλήθηκαν σε καταπόνηση άλατος (0, 50, 100, 150 ή 200 mM NaCl) και έχει αναφερθεί ότι η αυξανόμενη συγκέντρωση NaCl μείωσε το ποσοστό βλάστησης, τις παραμέτρους ανάπτυξης και της σχετικής περιεκτικότητας σε νερό (Sidari et al., 2007). Η βλάστηση των σπόρων του *Panicum turgidum* μειώθηκε και

επιβραδύνθηκε σημαντικά σε υψηλές συγκεντρώσεις τόσο του NaCl όσο και του KCl με πλήρη αναστολή στα 300 και 400 mM (El-Keblawy, 2004). Τόσο το NaCl όσο και το KCl έχει αναφερθεί ότι μειώνουν το τελικό ποσοστό βλάστησης και τον ρυθμό βλαστήσεως δύο ξηροθερμικών ποικιλιών σιταριού (*Triticum aestivum* L.). Επιπλέον, το άλας είχε αυξήσει την παραγωγή μη φυσιολογικών φυτών (Al-Ansari, 2003). Η βλάστηση των σπόρων και η ανάπτυξη νεαρών φυταρίων ζαχαρότευτλων (*Beta vulgaris* L.) έχουν αναφερθεί ότι παρεμποδίζονται από την παρουσία NaCl (Wang et al., 2011, Ghoulam and Fares, 2001). Επιπλέον, οι βλαστήσεις και οι ρυθμοί εμφάνισης έχουν καθυστερήσει και η ανάπτυξη των σπορόφυτων έχει μειωθεί τόσο από διαλύματα NaCl όσο και από διαλύματα PEG-6000 σε δύο ποικιλίες σκληρού σίτου (*Triticum durum* Desf.), αν και αναφέρθηκε ότι το NaCl είχε μικρότερη επίδραση στην βλάστηση και την ανάπτυξη των σπορόφυτων (Sayar et al., 2010). Ομοίως, τόσο το NaCl όσο και το PEG-6000 έχουν αποδειχθεί ότι αναστέλλουν τη βλάστηση και την ανάπτυξη των σπορόφυτων σε δύο ποικιλίες *Phaseolus mungo*, όπου η επίδραση του NaCl ήταν επίσης μικρότερη από την PEG-6000 (Garg, 2010). Τα όρια συγκέντρωσης για τη βλάστηση στο *Dianthus chinensis* L. έχουν αναφερθεί ότι είναι 150 mM για NaCl και -1,66 MPa για PEG 6000 και πάλι αναφέρθηκε ότι το NaCl είχε λιγότερη επίδραση από την PEG στο τελικό ποσοστό βλάστησης (He et al., 2009).

7. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

7.α. Προετοιμασία του πειράματος

Προετοιμάστηκαν ρυθμιστικά διαλύματα με την χρήση πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG 6000) και με την χρήση χλωριούχου νατρίου (NaCl) σε πέντε διαφορετικές συγκεντρώσεις για κάθε ουσία καθώς και ένα μόνο με απιονισμένο νερό, ο μάρτυρας. Οι συγκεντρώσεις της διαλυτής ουσίας που χρησιμοποιήθηκαν ήταν -0,2, -0,4, -0,6, -0,8, -1 MPa για την πολυαιθυλενογλυκόλη και -0,2, -0,4, -0,6, -0,8, -1 M για το χλωριούχο νάτριο. Οι ποσότητες των διαλυτών ουσιών (Πίνακας 1 & 2) προσαρμόστηκαν στις συνθήκες του πειράματος.

Πίνακας 2. Ποσότητες σε g/l της διαλυτής ουσίας PEG 6000 για την παρασκευή πέντε ωσμωτικών διαλυμάτων.

Ωσμωτικά Δυναμικά	g/l
-0,2 MPa	112,2
-0,4 MPa	169,4
-0,6 MPa	213,6
-0,8 MPa	251,0
-1 MPa	284,0

Πίνακας 3. Ποσότητες σε g/l της διαλυτής ουσίας NaCl για την παρασκευή πέντε διαλυμάτων διαφορετικής συγκέντρωσης.

Συγκέντρωση	g/l
-0,2 M	4,8
-0,4 M	9,6
-0,6 M	14,4
-0,8 M	19,2
-1 M	24,06

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε με φωτοπερίοδο 12 ώρες σκότος, 12 ώρες φώς σε θερμοκρασίες 15 °C και 25 °C αντίστοιχα.

7.β. Πειραματική διαδικασία

Πενήντα σπόροι του κάθε βιότυπου (Πίνακας 3) τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Πέτρι των 9cm. Σε κάθε τρυβλίο τοποθετήθηκε μονό φύλλο διηθητικού χαρτιού πριν την τοποθέτηση των σπόρων και προστέθηκαν 4-5 ml του εκάστοτε διαλύματος. Τα τρυβλία καλύφθηκαν με παραφίλμ για να ελαχιστοποιήσουμε τις απώλειες υδατικού διαλύματος. Έπειτα τα τρυβλία επωάστηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών με φωτοπερίοδο 12 ώρες φως στους 25 °C και 12 ώρες σκοτάδι στους 15 °C. Οι θερμοκρασίες διατηρήθηκαν στους +/- 1 °C από θερμοστάτες του θαλάμου. Το φώς παρέχονταν από πέντε κλασσικές λάμπες φθορίου. Για κάθε συγκέντρωση πραγματοποιήσαμε τέσσερις επαναλήψεις. Τα τρυβλία επωάστηκαν στις

παραπάνω

συνθήκες

για

10

ημέρες.



Εικόνα 3. Τυπικό τρυβλίο petri, προετοιμασμένο σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία.

Πίνακας 4. Βιότυποι του *Conyza spp* που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα.

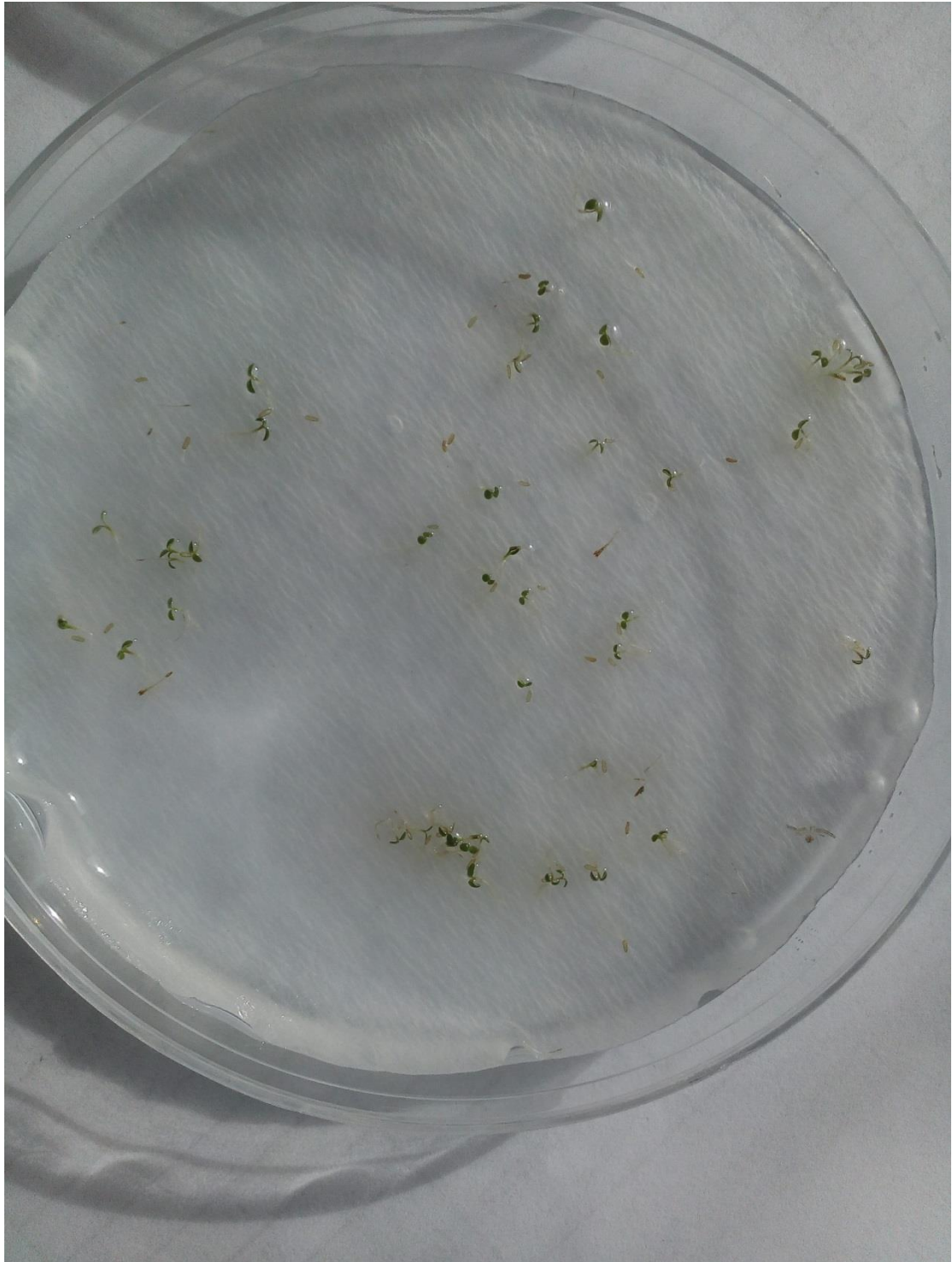
Είδος	Βιότυπος
<i>Conyza albida</i>	Πήλιο S4
<i>Conyza albida</i>	Αμπέλι Παναγιά Ομβρακή R4
<i>Conyza canadensis</i>	S Παιδική S2
<i>Conyza canadensis</i>	Αμπέλι Παναγιά Ομβρακή R7



Εικόνα 4. Το σύνολο το προετοιμασμένων μεταχειρίσεων πριν την τοποθέτησή τους σε επωαστικό θάλαμο.

7.γ. Μετρήσεις

Σαν ένδειξη βλάστησης θεωρήθηκε η εμφανής έξοδος του ριζιδίου από το περισπέρμιο και η γεωτροπική καμπυλότητα. Για να μελετηθεί η πορεία βλάστησης οι παρατηρήσεις λαμβάνονταν ακριβώς κάθε 24 ώρες κάθε ημέρα.



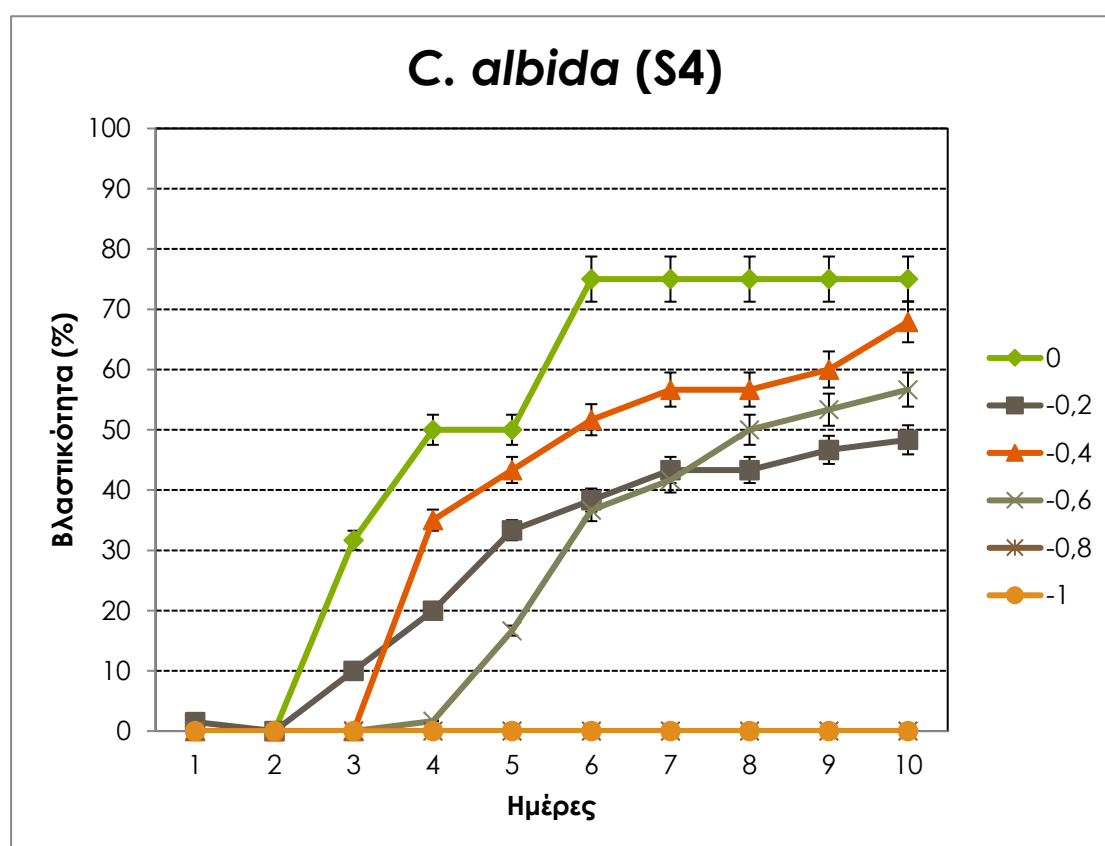
Εικόνα 5. Βλαστημένοι σπόροι οι οποίοι πληρούν τις προϋποθέσεις για καταμέτρηση.

8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Έχοντας ολοκληρώσει της μετρήσεις τις βλαστικότητα στους υπό εξέταση πληθυσμούς παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για την υδατική καταπόνηση και την αλατότητα. Εξετάζεται ως προς τον χρόνο η βλαστικότητα ανά βιότυπο αλλά και ανά μεταχείριση.

1.1)Υδατική Καταπόνηση (PEG 6000)

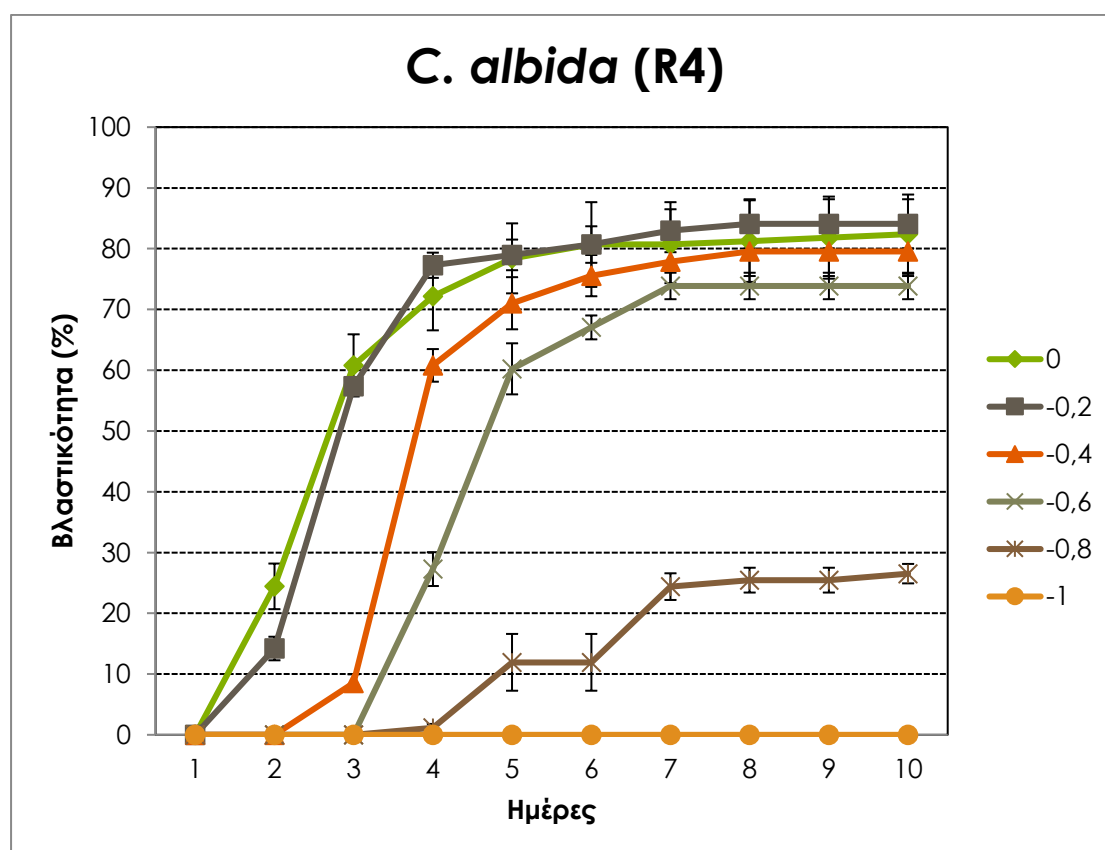
1.1.1)Πορεία στον Χρόνο ανά Βιότυπο.



Διάγραμμα 1: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων του βιοτύπου *Conyza albida* (*Susceptible S4*) σε διαφορετικές τιμές οσμωτικού δυναμικού.

Από το διάγραμμα παρατηρούμε ότι τα μεγαλύτερα ποσοστά βλαστικότητας επιτυγχάνονται σε οσμωτικό δυναμικό 0 MPa ενώ δεν παρατηρήθηκε καμία βλάστηση σε ωσμωτικά δυναμικά -0,8 MPa και -1 MPa.

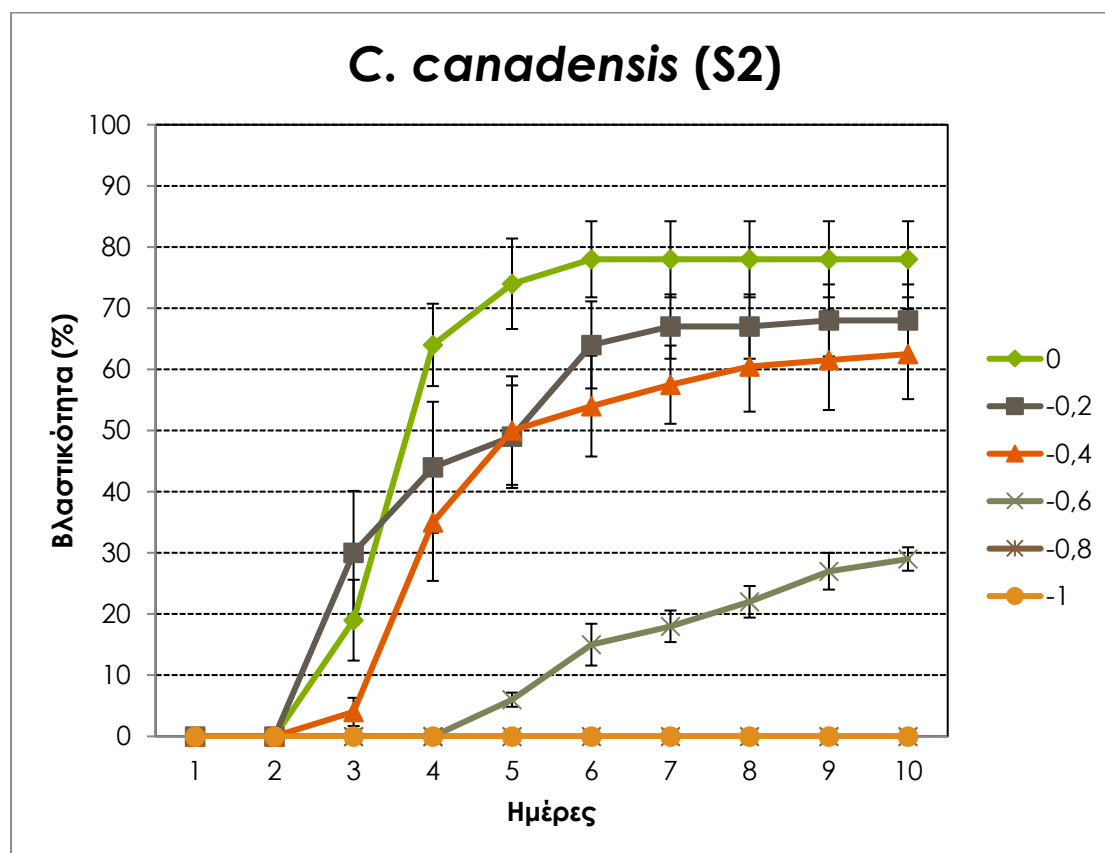
Οι πρώτες βλαστήσεις παρατηρούνται την 3 DAT για τα οσμωτικά των 0 MPa και -0,2 MPa ενώ για τα οσμωτικά -0,4 MPa και -0,6 MPa την 4 DAT. Την 7DAT η οποία είναι η πρώτη τιμή της στατιστικής μας επεξεργασίας των δεδομένων μόνο για 0 MPa οσμωτικό δυναμικό η καμπύλη έχει σταθεροποιηθεί αποκτώντας την τελική τιμή της. Τέλος καθίσταται εμφανές πώς στις τιμές οσμωτικού δυναμικού που είχαμε βλάστηση των σπόρων οι ποσοτικές διαφορές στην τελική βλαστικότητα με την μηδενική τιμή οσμωτικού δυναμικού είναι μικρότερη του 18% με εξαίρεση την μεταχείριση -0,2 MPa που εμφανίζει διαφορά 27% .



Διάγραμμα 2: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων του βιοτύπου *Conyza albida* (*Resistant R4*) σε διαφορετικές τιμές οσμωτικού δυναμικού.

Σύμφωνα με το διάγραμμα για τον ανθεκτικό βιότυπο του *Conyza albida* η μόνη τιμή στην οποία δεν είχαμε βλάστηση σπόρων ήταν και η μέγιστη το -1 MPa. Η βλάστηση των σπόρων ξεκίνησε από την 2 DAT για τις τιμές οσμωτικού δυναμικού 0 MPa, -0,2 MPa από την 3 DAT για τις τιμές -0,6

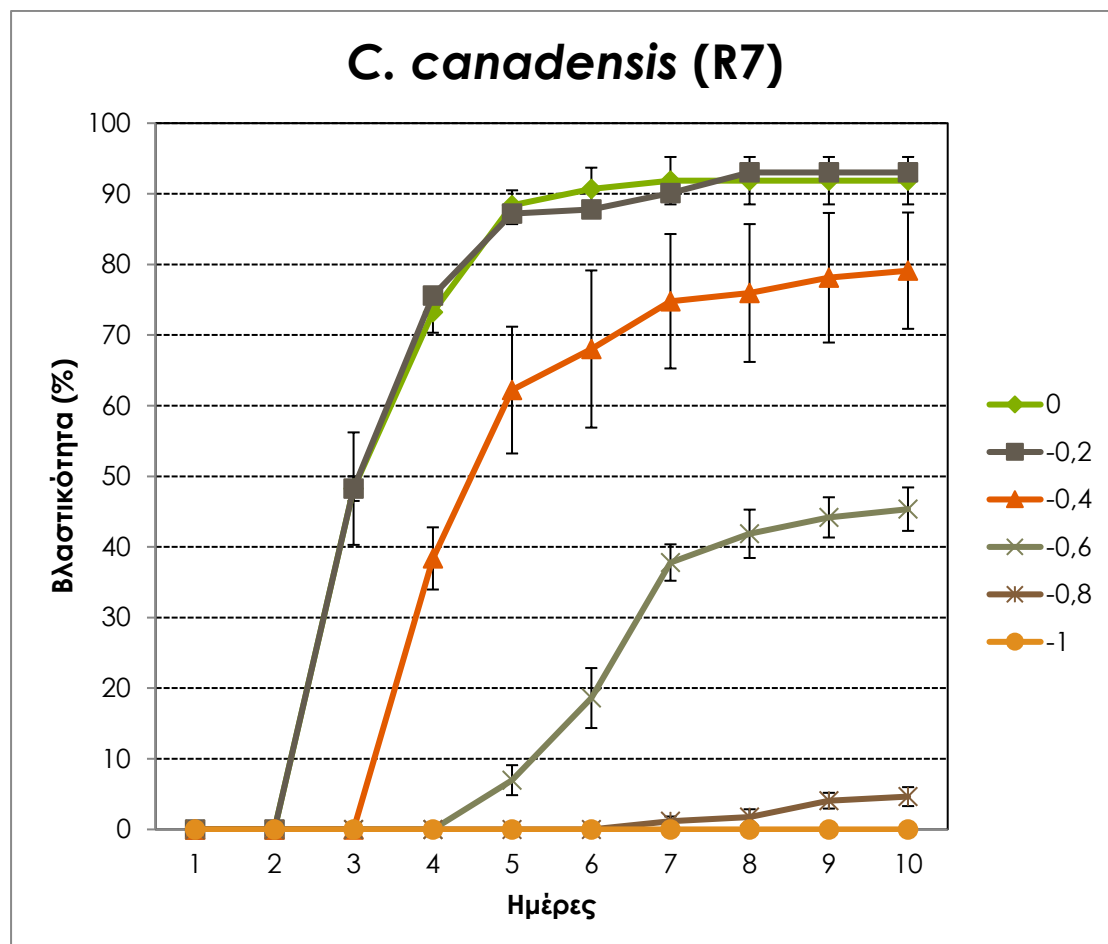
MPa και $-0,8$ MPa αν και για την τελευταία τιμή το ποσοστό είναι χαμηλό στο 1%. Επικρατεί η τάση πως όσο μειώνεται το οσμωτικό δυναμικό καθυστερεί και η πρώτη βλάστηση σπόρων. Εντύπωση προκαλεί το γεγονός πως αν και χαμηλό ποσοστό (27% 10DAT) υπήρξε βλάστηση σπόρων σε οσμωτικό δυναμικό ίσο με $-0,8\%$. Τέλος ο συγκεκριμένος βιότυπος στις τελικές τιμές βλαστικότητας φαίνεται πως δεν επηρεάζεται σημαντικά για τιμές οσμωτικού δυναμικού μεγαλύτερες του $-0,6$ MPa σε σύγκριση με την μηδενική τιμή.



Διάγραμμα 3: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων του βιότυπου *C. canadensis* (*Susceptible 2*) σε διαφορετικές τιμές οσμωτικού δυναμικού.

Στο διάγραμμα 3 παρατηρούμε πως οι τιμές οσμωτικού δυναμικού στις οποίες δεν είχαμε βλάστηση σπόρων είναι οι $-0,6$ MPa, $-0,8$ MPa και -1 MPa, κάτι το οποίο παρατηρείται και στον ευαίσθητο βιότυπο του *Conyza albida*. Η έναρξη της βλάστησης ξεκίνησε την 3^η DAT στις συγκεντρώσεις 0 MPa, $-0,2$ MPa, $-0,4$ MPa και την 5^η ημέρα για την συγκέντρωση οσμωτικού δυναμικού $-0,6$ MPa. Στην τελευταία συγκέντρωση έχουμε μια εμφανή καθυστέρηση στην

έναρξη της βλάστησης αλλά και το τελικό ποσοστό βλαστικότητα ήταν χαμηλό συγκρινόμενο με τις υπόλοιπες μεταχειρήσεις.(27%).

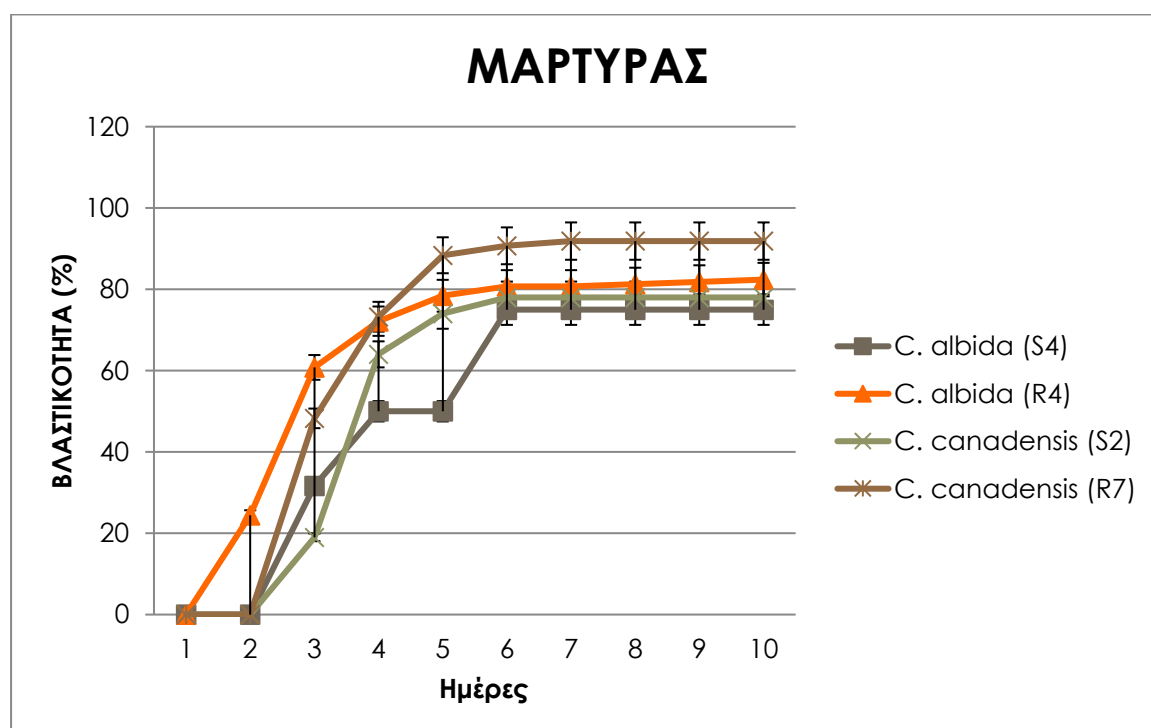


Διάγραμμα 4: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων του βιοτύπου *C. canadensis/Αμπέλι (Resistant 7)* σε διαφορετικές τιμές οσμωτικού δυναμικού.

Στον ανθεκτικό βιότυπο του *C. canadensis* η μόνη τιμή οσμωτικού δυναμικού στην οποία δεν είχαμε βλάστηση σπόρων ήταν η -1MPa. Η έναρξη της βλάστησης ξεκίνησε την 2^η DAT στις συγκεντρώσεις 0 MPa,-0,2 MPa, την 3^η DAT στην συγκέντρωση -0,4 MPa, την 4^η DAT στην συγκέντρωση -0,6 MPa και την 7^η DAT στην συγκέντρωση -0,8 MPa. Καθώς μειώνεται η τιμή της μεταχείρισης παρατηρείται και μια καθυστέρηση στον χρόνο έκπτυξης των πρώτων ριζιδίων αλλά και μείωση στο τελικό ποσοστό βλαστικότητα. Για τις συγκεντρώσεις 0MPa, -0.2MPa η συμπεριφορά του βιοτύπου φαίνεται να είναι

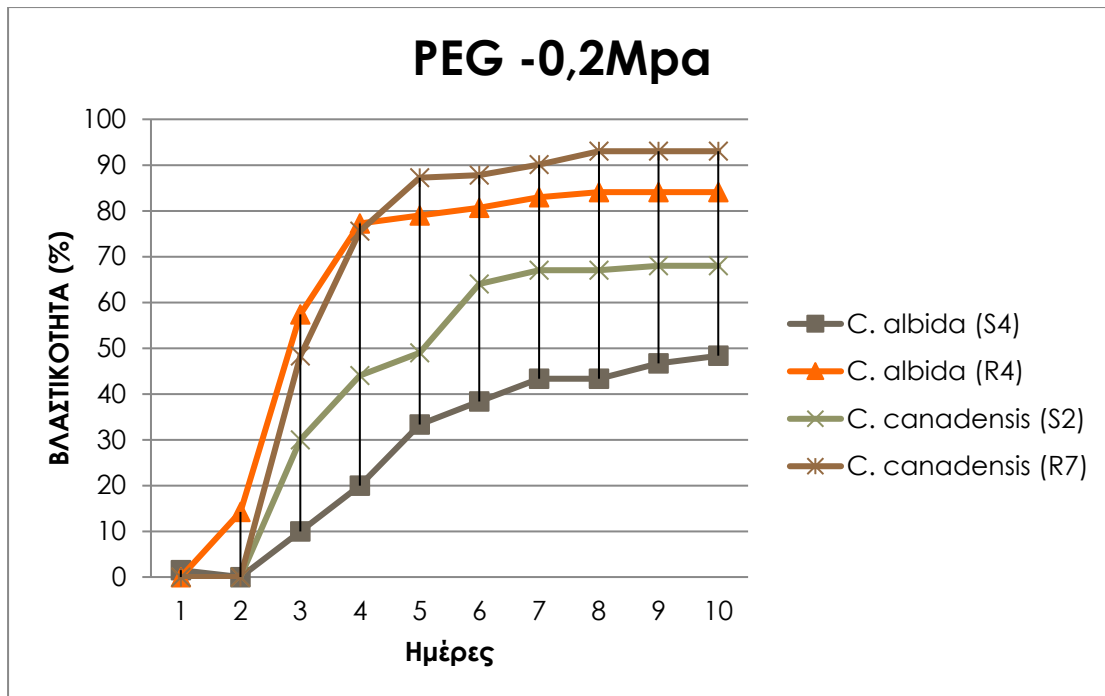
πανομοιότυπη. Αν και χαμηλό (5%) στην ιδιαίτερα χαμηλή συγκέντρωση των - 0,8 MPa υπήρξε έξοδος του ριζιδίου από το περισπέρμιο και βλάστηση των σπόρων. Η βλάστηση σε αυτήν την τιμή ωσμωτικού δυναμικού παρατηρείται μόνο στους ανθεκτικούς βιότυπους στα πλαίσια της μελέτης μας.

1.1.2) Πορεία στον Χρόνο ανά Μεταχείριση.



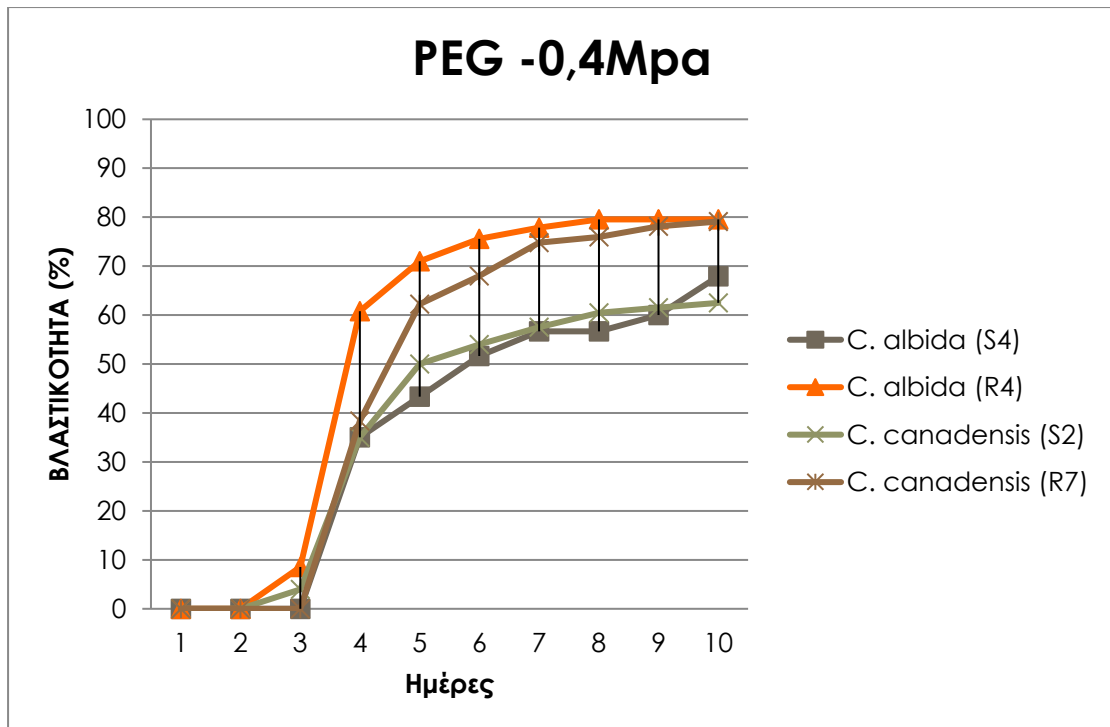
Διάγραμμα 5: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων των υπό εξέταση βιοτύπων σε οσμωτικό δυναμικό 0MPa.

Σύμφωνα με το διάγραμμα 5 οι τρεις βιότυποι ξεκίνησαν την βλάστηση τους την τρίτη ημέρα ενώ μόνο ο βιότυπος *C. albida* R4 ξεκίνησε την βλάστηση του από την δεύτερη ημέρα. Οι βιότυποι *C. albida* S4, *C. canadensis* S2, ολοκλήρωσαν την βλάστηση τους την 6^η ημέρα, ο βιότυπος *C. albida* R4 την 9^η και ο βιότυπος *C. canadensis* R7 την 7^η ημέρα. Τα τελικά ποσοστά βλαστικότητας ήταν αρκετά υψηλά για όλους τους βιοτύπους, μεγαλύτερα η ίσα του 75%.



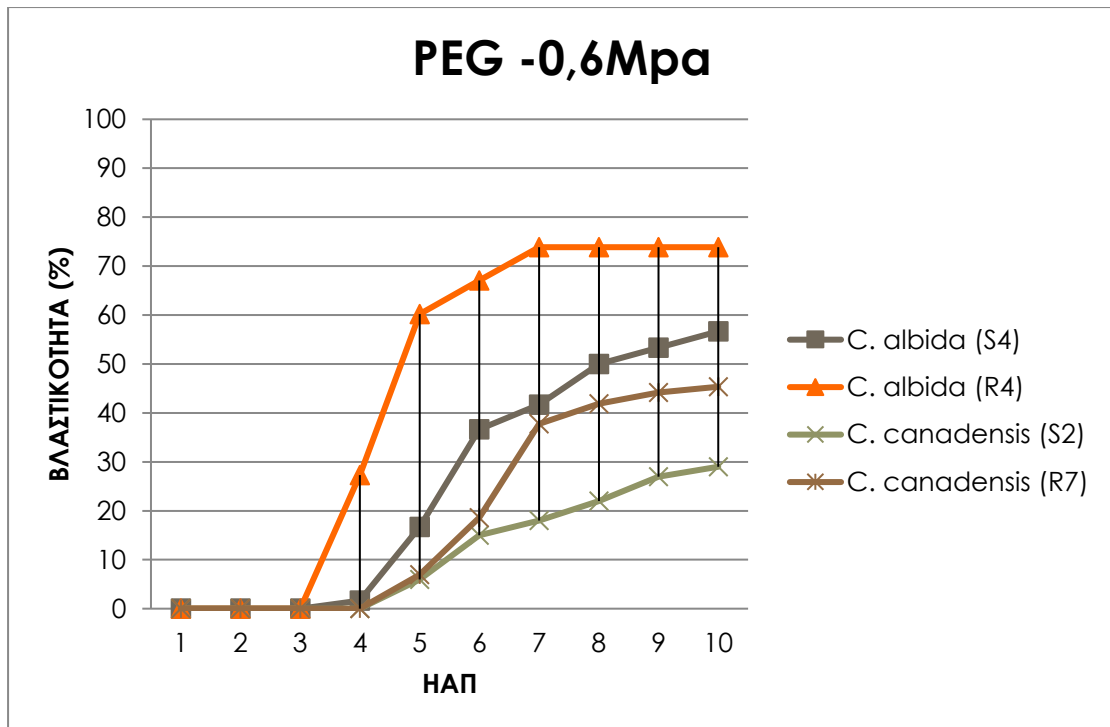
Διάγραμμα 6: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων των υπό εξέταση βιοτύπων σε οσμωτικό δυναμικό **-0.2MPa**.

Σύμφωνα με το διάγραμμα 6 η έναρξη της βλάστησης των βιοτύπων ξεκίνησε 72h από την τοποθέτηση τους στον θάλαμο επώασης. Μόνη εξαίρεση η *C.albida* **R4** που ξεκίνησε 48h μετά. Το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης σημείωσε η *C.canadensis* **R7** (93%) ολοκληρώνοντας την πορεία της στις 8 ημέρες. Ο βιότυπος *C.albida* **S4** παρουσίασε τελική βλαστικότητα 48% στις 9 ημέρες, ο *C.albida* **R4** είχε βλαστικότητα 84% στις 8 ημέρες και ο *C.canadensis* **S2**, 68% στις 9 ημέρες. Φαίνεται πως οι ανθεκτικοί βιότυποι παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά βλαστικότητας.



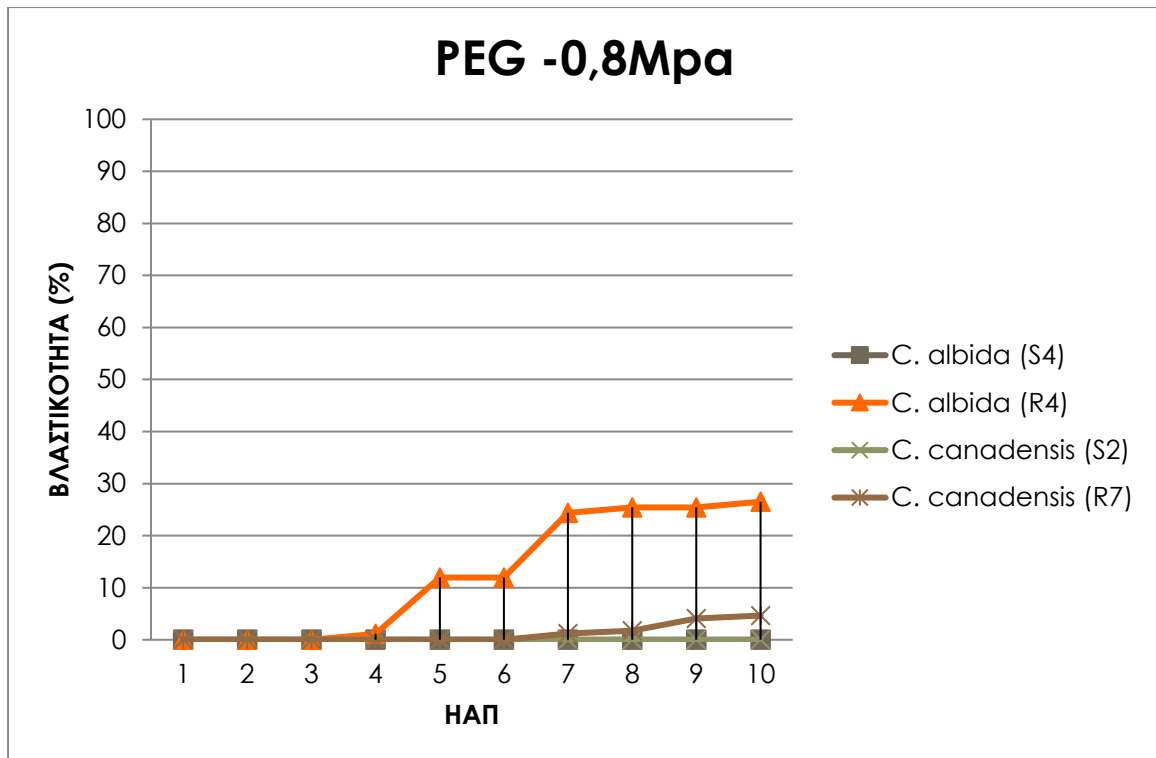
Διάγραμμα 7: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων των υπό εξέταση βιοτύπων σε οσμωτικό δυναμικό **-0.4MPa**.

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 7 οι βιότυποι *C.albida* **R4** και *C.canadensis* **S2** βλάστησαν πρώτοι την 3^η ημέρα από την έναρξη της επώασης και ακολούθησαν οι υπόλοιποι βιότυποι την 4^η ημέρα. Ο *C.albida* **S4** μέχρι και την 10^η ημέρα των μετρήσεων παρουσίαζε συνεχώς αυξανόμενη βλαστικότητα με τελικό ποσοστό 68%. Ο *C.albida* **R4** ολοκλήρωσε την βλάστηση του την 8^η ημέρα με τελικό ποσοστό 80% ,ο *C.canadensis* **S2** επίσης παρουσίαζε συνεχή αύξηση του ποσοστού βλαστικότητας μέχρι και την 10^η ημέρα με τελικό ποσοστό 63%. Το ίδιο συμβαίνει και με τον βιότυπο *C.canadensis* **R7** με τελικό ποσοστό 79%. Για την μεταχείριση με οσμωτικό δυναμικό -0,4MPa τα τελικά ποσοστά βλαστικότητας συνεχίζουν να παραμένουν ιδιαίτερα υψηλά.



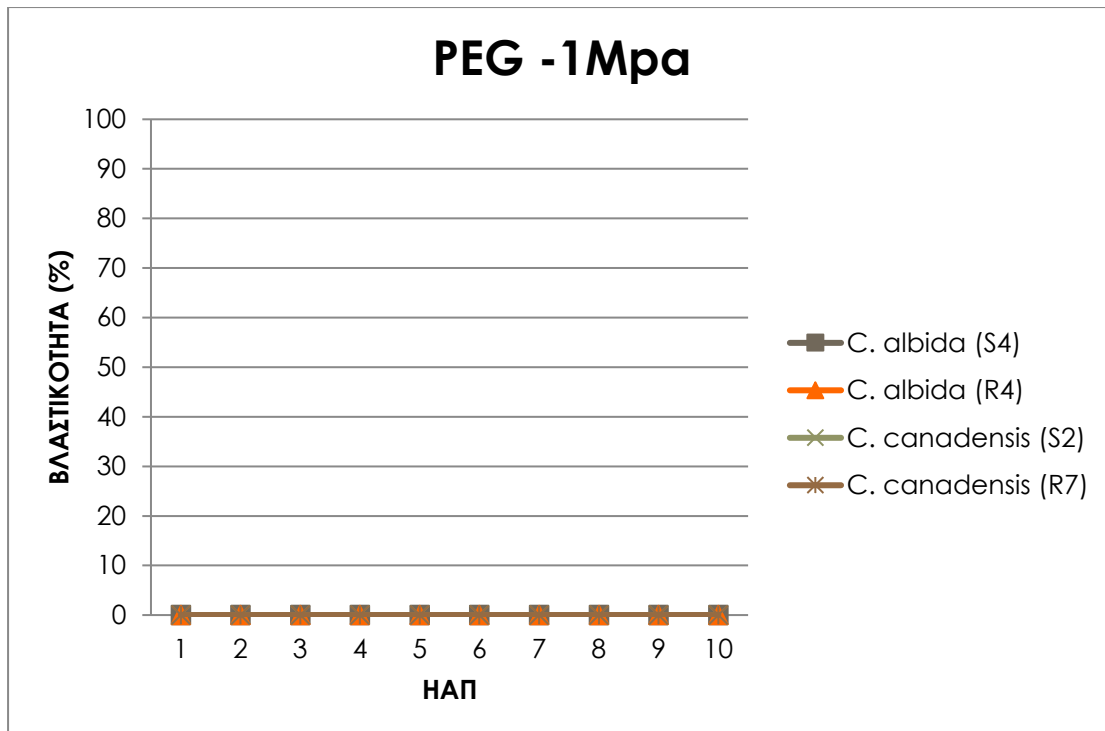
Διάγραμμα 8: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων των υπό εξέταση βιοτύπων σε οσμωτικό δυναμικό **-0.6MPa**.

Με βάση το διάγραμμα 8 όπου παρουσιάζονται οι πορείες βλάστησης στην συγκέντρωση οσμωτικού δυναμικού $-0,6 \text{ MPa}$. Η έναρξη βλάστησης απαιτήσε πολλές ημέρες από την τοποθέτηση των δειγμάτων στον θάλαμο. Ο βιότυπος *C.albida* **R4** ξεκίνησε πρώτος την 4^η ημέρα μαζί με τον *C.albida* **S4** και ακολούθησαν οι υπόλοιποι βιότυποι την 5^η ημέρα. Τα τελικά ποσοστά βλαστικότητας κυμάνθηκαν για τον βιότυπο *C.albida* **S4** στο 57%, για τον *C.albida* **R4** στο 74%. Επίσης για τον βιότυπο *C.canadensis* **S2** η βλαστικότητα ανήλθε στο 29% και για τον *C.canadensis* **R7** στο 45%. Οι ανθεκτικοί βιότυποι παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά βλαστικότητας από τους αντίστοιχους ευαίσθητους βιότυπους.



Διάγραμμα 9: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων των υπό εξέταση βιοτύπων σε οσμωτικό δυναμικό **-0.8MPa**.

Σύμφωνα με το διάγραμμα 9 μόνο οι σπόροι των ανθεκτικών βιοτύπων κατάφεραν να βλαστήσουν. Ο *C.albida* **R4** εμφάνισε τελική βλαστικότητα στις 10 ημέρες 27% ενώ το ποσοστό βλαστικότητας του *C.canadensis* **R7** ανήλθε στο 5%. Ο ανθεκτικός βιότυπος *C.albida* **R4** παρουσίασε βλάστηση την 5^η DAT ενώ ο *C.canadensis* **R7** την 7^η DAT.



Διάγραμμα 10: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων των υπό εξέταση βιοτύπων σε οσμωτικό δυναμικό **-1MPa**.

Τέλος κατά την εφαρμογή διαλύματος **-1MPa** δεν παρατηρήθηκε βλάστηση σε κανέναν βióτυπο.

Σε όλες τις μεταχειρίσεις ο ανθεκτικός βióτυπος *C.albida* **R4** εμφάνιζε ταχύτερη βλάστηση και οι ανθεκτικοί βióτυποι εμφάνιζαν μεγαλύτερα ποσοστά βλαστικότητας.

1.1.3) Ανάλυση της παραλλακτικότητας των ποσοστών βλάστησης 7 DAT με εφαρμογή διαλύματος PEG 6000.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων μας πραγματοποιήθηκε με τα προγράμματα Microsoft Excel και SigmaPlot. Η ανάλυση των δεδομένων μας με εξαρτώμενη μεταβλητή το ποσοστό βλαστικότητας πραγματοποιήθηκε και για τις 7 ημέρες μετά την τοποθέτηση των δειγμάτων στον επωαστικό θάλαμο και για τις 10 ημέρες. Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια σε επίπεδο σημαντικότητας $P=0.05$. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται η ανάλυση των 7 ημερών από την έναρξη του πειράματος.

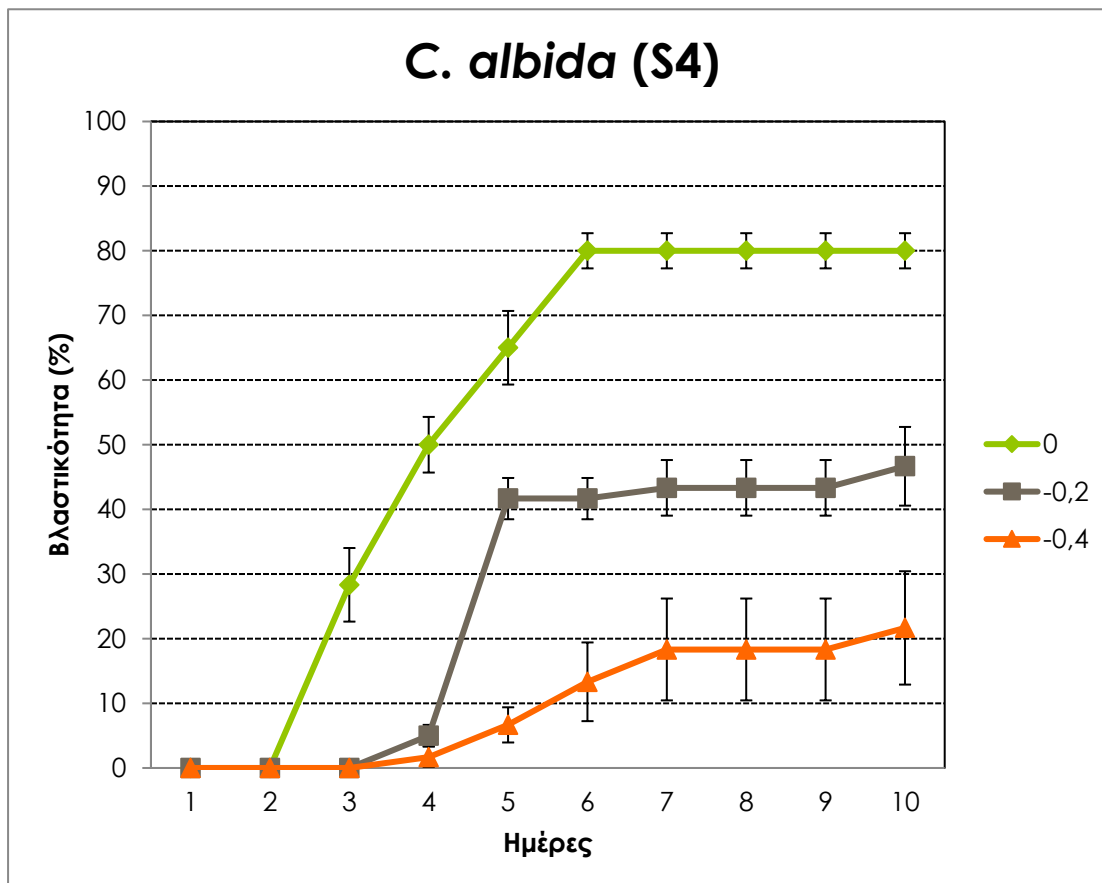
Πηγή παραλλακτικότητας	ΒΕ	Άθροισμα τετραγώνων	Μέσα τετράγωνα	F	P
Είδος	1	2161,972	2161,972	18,844	<0,001
Βιότυπος	1	2585,891	2585,891	22,539	<0,001
Συγκέντρωση	5	85158,082	17031,616	148,451	<0,001
Είδος x Βιότυπος	1	2462,830	2462,830	21,466	<0,001
Είδος Συγκέντρωση	x 5	5141,643	1028,329	8,963	<0,001
Βιότυπος Συγκέντρωση	x 5	1161,694	232,339	2,025	0,085
Είδος x Βιότυπος x Συγκέντρωση	5	1157,709	231,542	2,018	0,086
Υπόλοιπο	72	8260,505	114,729		
Σύνολο	95	108090,325	1137,793		

Πίνακας 5: Ανάλυση παραλλακτικότητας του ποσοστού βλάστησης 7 DAT σε διάλυμα PEG 6000.

Σύμφωνα με τον Πίνακα 1 οι παράγοντες **Είδος**, **Βιότυπος**, **Συγκέντρωση Οσμωτικού Δυναμικού** επηρεάζουν στατιστικώς σημαντικά το ποσοστό βλαστικότητας ο καθένας ξεχωριστά. Επίσης στατιστικά σημαντική είναι και η αλληλεπίδραση των παραγόντων **Είδος** με τον **Βιότυπο** δείχνοντας μας ότι η επίδραση του Είδους είναι διαφορετική για κάθε βιότυπο (S ή R) στα τελικά ποσοστά βλαστικότητας και το αντίθετο. Το ίδιο συμβαίνει και με την αλληλεπίδραση του **Είδους** με την **Συγκέντρωση Οσμωτικού Δυναμικού**. Αντιθέτως η αλληλεπίδραση των παραγόντων Βιότυπος και Συγκέντρωση Οσμωτικού Δυναμικού δεν ήταν στατιστικώς σημαντική όπως επίσης στατιστικώς σημαντική δεν ήταν και η αλληλεπίδραση των τριών παραγόντων μεταξύ τους. Τέλος δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των τριών παραγόντων ταυτόχρονα.

1.2) Αλατότητα (NaCl)

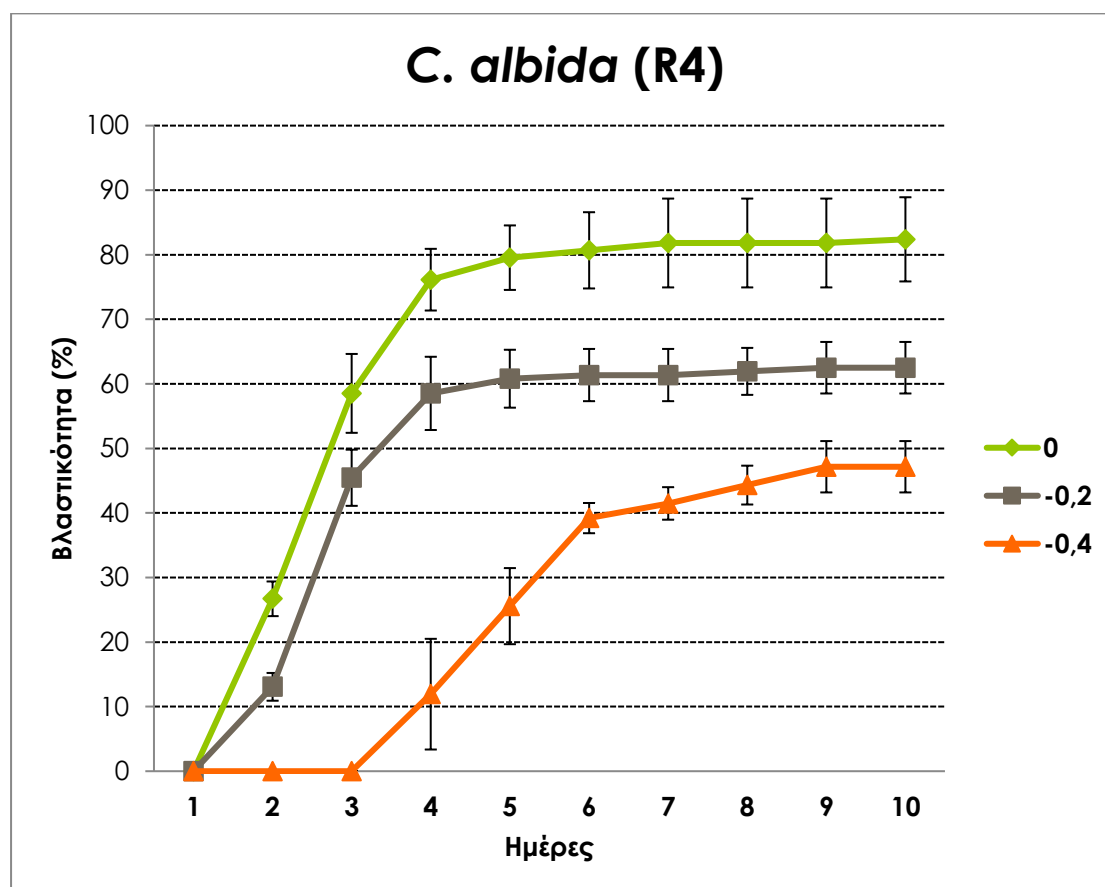
1.2.1) Πορεία στον Χρόνο ανά Βιότυπο.



Διάγραμμα 11: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων του βιοτύπου *Conyza albida* (*Susceptible S4*) σε διαφορετικές τιμές συγκέντρωσης υδατικού διαλύματος NaCl.

Βλάστηση παρατηρήθηκε στην μεταχείριση του απιονισμένου νερού καθώς και στις συγκεντρώσεις NaCl -0,2M και -0,4M. Αυξανόμενης της συγκέντρωσης βλέπουμε μια πιο έντονη χρονική καθυστέρηση στην βλάστηση των σπόρων αλλά και στο τελικό ποσοστό βλαστικότητας. Έτσι για την μηδενική τιμή η βλάστηση ξεκινά από την 3^η ημέρα μετά την τοποθέτηση των τρυβλίων στον θάλαμο ενώ για τις συγκεντρώσεις -0,2M και -0,4M την 4^η ημέρα. Στην μεταχείριση του μάρτυρα η τελική βλαστικότητα φτάνει στο 80%. Για κάθε επόμενη τιμή NaCl οι τιμές της τελικής βλαστικότητας έχουν μεγάλες διαφορές μεταξύ τους. Έτσι για την συγκέντρωση -0,2M έχουμε 47% βλαστικότητα και για την συγκέντρωση -0,4M έχουμε 22%. Οι τελικές τιμές βλαστικότητας επιτεύχθηκαν για τον μάρτυρα την 6^η ημέρα ενώ για τις

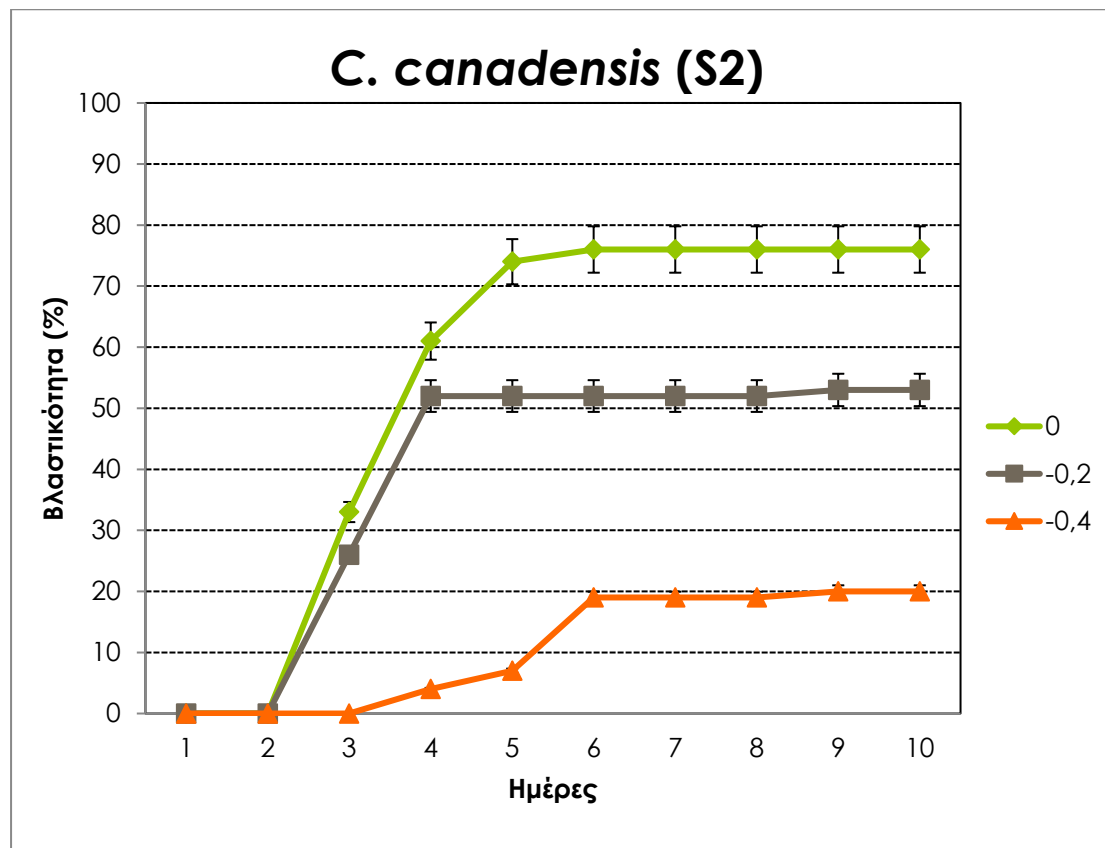
συγκεντρώσεις -0,2M,-0,4M μέχρι και το τέλος των μετρήσεων είχαμε μικρές μεταβολές στην βλαστικότητα.



Διάγραμμα 12: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων του βιοτύπου *Conyza albida* (**Resistant R4**) σε διαφορετικές τιμές συγκεντρώσεως υδατικού διαλύματος NaCl.

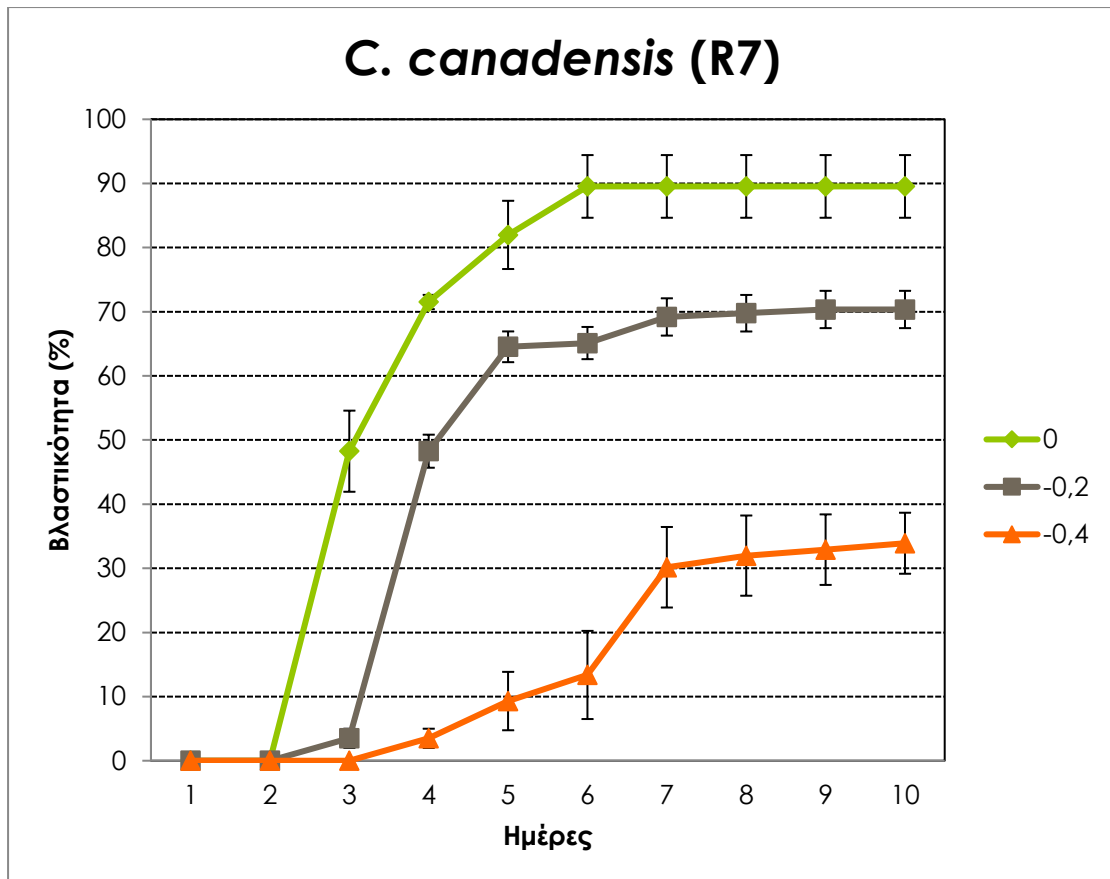
Σύμφωνα με το διάγραμμα 12 για τον ανθεκτικό βιότυπο του *C. albida*, βλάστηση σπόρων παρατηρήθηκε για τον μάρτυρα, και για τις συγκεντρώσεις NaCl των -0,2M και -0,4M. Όσο αυξάνεται η συγκέντρωση μειώνεται προοδευτικά και η τελική βλαστικότητα έτσι για την συγκέντρωση 0M έχουμε βλαστικότητα 82% για την συγκέντρωση -0,2M έχουμε 63% για την συγκέντρωση -0,4M 47%. Η βλάστηση ξεκίνησε για τις μεταχειρίσεις 0M και -0,2M την 2^η ημέρα, και για την μεταχείριση -0,4M την 4^η ημέρα. Σταθεροποίηση στην βλαστικότητα είχαμε για τον μάρτυρα την 7^η ημέρα ενώ για τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις που παρατηρήθηκε βλάστηση σπόρων την 9^η ημέρα.

Ανάμεσα σε ανθεκτικό και ευαίσθητο βιότυπο για τις μεταχειρίσεις 0M και -0,2M ο ανθεκτικός βιότυπος εμφάνισε πιο γρήγορη έναρξη της βλάστησης κατά μία ημέρα και κατά δύο ημέρες αντίστοιχα, από τον ευαίσθητο βιότυπο.



Διάγραμμα 13: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων του βιοτύπου *Conyza canadensis* (*Susceptible 2*) σε διαφορετικές τιμές συγκεντρώσεως υδατικού διαλύματος NaCl.

Για τον ευαίσθητο βιότυπο του είδους *C. Canadensis* είχαμε έναρξη βλάστησης στον μάρτυρα και στις δύο μεταχειρίσεις των -0,2M και -0,4M NaCl. Η τελική βλαστικότητα του μάρτυρα έφτασε στο 76% . Για την συγκέντρωση των -0,2M είχαμε βλαστικότητα 53% και για την συγκέντρωση των -0,4M 20%. Η πρώτη βλάστηση σημειώθηκε για τον μάρτυρα και την συγκέντρωση -0,2M την 3^η ημέρα και για την συγκέντρωση -0,4M την 4^η ημέρα. Σταθεροποίηση στην βλαστικότητα είχαμε για τον μάρτυρα την 7η ημέρα ενώ για τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις που παρατηρήθηκε βλάστηση σπόρων την 9η ημέρα.

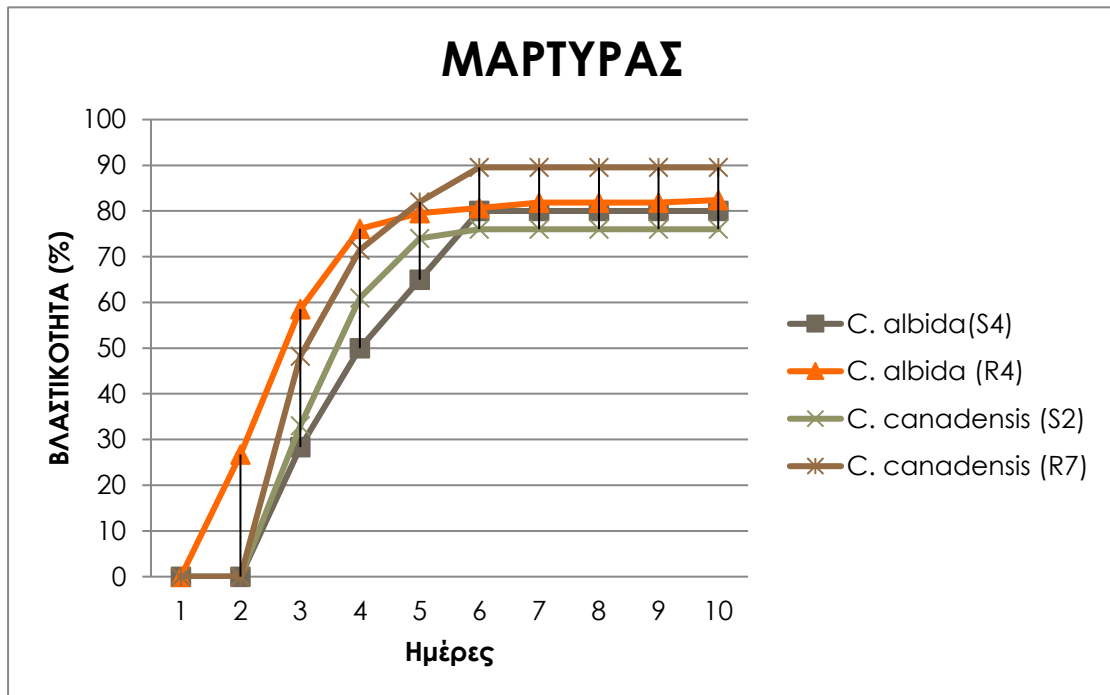


Διάγραμμα 14: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων του βιοτύπου *Conyza Canadensis* (**Resistant 7**) σε διαφορετικές τιμές συγκεντρώσεως υδατικού διαλύματος NaCl.

Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 14 ο ανθεκτικός βióτυπος του *C.canadenis* R7 παρουσίασε υψηλή βλαστικότητα στην μεταχείριση του μάρτυρα , 90%. Σε συγκέντρωση -0,2M NaCl η τελική βλαστικότητα ήταν 70% και στην συγκέντρωση -0,4M NaCl στο 34%.Ο βióτυπος ξεκίνησε την ανάπτυξη του στη μεταχείριση του μάρτυρα και -0,2M NaCl την 3^η ημέρα από την έναρξη του πειράματος ενώ για την μεταχείριση -0,4M NaCl η ανάπτυξη ξεκίνησε την 4^η ημέρα. Ο βióτυπος ολοκλήρωσε την βλάστηση του την 6^η ημέρα για τον μάρτυρα, την 8^η ημέρα για -0,2M NaCl και για -0,4M NaCl είχαμε μικρές μεταβολές στην βλαστικότητα μέχρι και την 10^η ημέρα.

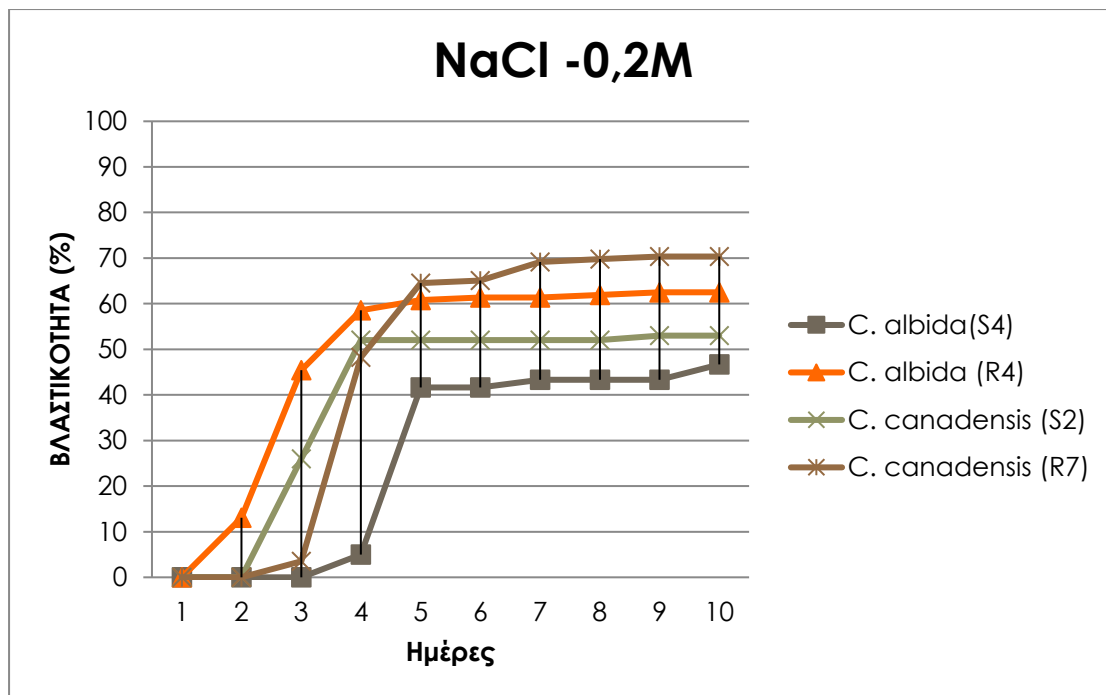
Ευαίσθητος και ανθεκτικός βióτυπος παρουσίασαν ίδιους χρόνους έναρξης βλάστησης ενώ ο ανθεκτικός βióτυπος εμφάνισε υψηλότερα ποσοστά βλαστικότητας σε όλες τις μεταχειρίσεις σε σχέση με τον ευαίσθητο βióτυπο.

1.2.2) Πορεία στον Χρόνο ανά Μεταχείριση.



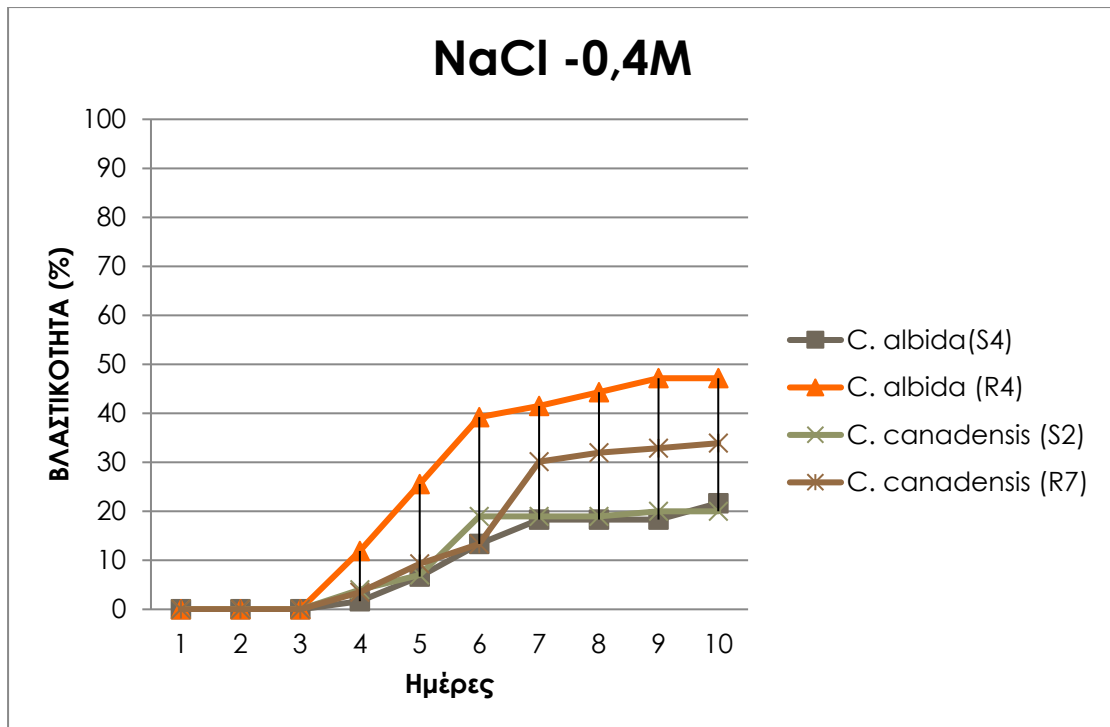
Διάγραμμα 15: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων των υπό εξέταση βιοτύπων σε συγκέντρωση **0M NaCl**.

Σύμφωνα με το διάγραμμα 15 για την περίπτωση του μάρτυρα όλα τα δείγματα μας παρουσίασαν παρόμοια πορεία βλάστησης. Τα τελικά ποσοστά βλαστικότητας κυμαίνονται υψηλά μεταξύ του 76% και 92%. Όλοι οι βιότυποι παρουσίασαν ανάπτυξη από την 3^η ημέρα εκτός του βιότυπου *C. albida R4* που ξεκίνησε την βλάστηση του μία ημέρα νωρίτερα. Όλοι οι βιότυποι είχαν ταχείς ρυθμούς βλάστησης και από την έκτη ημέρα είχαν ολοκληρώσει την ανάπτυξη τους, μόνο ο *C. albida (R4)* είχε μια μικρή μεταβολή του 1% και την 7^η ημέρα.



Διάγραμμα 16: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων των υπό εξέταση βιότυπων σε συγκέντρωση **-0,2M NaCl**.

Στην συγκέντρωση **-0,2M NaCl** οι βιότυποι ακολουθούν παρόμοια πορεία βλάστησης και οι τελικές βλαστικότητες βρίσκονται μεταξύ του 47% και 70%. Τα αυξημένα ποσοστά NaCl στο διάλυμα προκάλεσαν μια εμφανή επίδραση στα τελικά ποσοστά βλάστησης καθώς και στον ρυθμό ανάπτυξης των δειγμάτων. Το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης παρουσίασε ο βιότυπος *C. canadensis* **R7** με 70% και το μικρότερο ο βιότυπος *C. albida* **S4** με 47%. Ο βιότυπος *C. albida* **R4** εμφάνισε ένα τελικό ποσοστό βλάστησης 63% και ο *C. canadensis* **S2** 53%. Από τους εξεταζόμενους βιότυπους μόνο ο *C. albida* **S4** εμφάνισε μετατόπιση μία ημέρα μετά από την 3^η στην 4^η ημέρα για την έναρξη της ανάπτυξης του. Στους υπόλοιπους βιότυπους η πρώτη ημέρα βλάστησης παρέμεινε ίδια με τον μάρτυρα αν και τα ποσοστά ήταν εμφανώς χαμηλότερα.



Διάγραμμα 17: Χρονική πορεία βλάστησης των σπόρων των υπό εξέταση βιοτύπων σε συγκέντρωση **-0,4M NaCl**.

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 17 η αύξηση της ποσότητας NaCl στο υδατικό διάλυμα περεταίρω μειώνει τα τελικά ποσοστά βλαστικότητας. Σε αυτήν την μεταχείριση το υψηλότερο ποσοστό βλαστικότητας παρουσίασε ο βióτυπος *C. albida* **R4** με 47% ακολουθεί ο *C. canadensis* **R7** με 34% έπειτα ο *C. albida* **S4** με 22% και τέλος ο *C. canadensis* **S2** με 20%. Όλοι οι βióτυποι ξεκίνησαν την ανάπτυξη τους την 4^η ημέρα από την τοποθέτηση των τρυβλίων στον θάλαμο. Για τους βióτυπους *C. canadensis* **R7** και *C. albida* **S4** μέχρι και την τελευταία ημέρα των μετρήσεων είχαμε μικρές μεταβολές στην βλαστικότητα ενώ για τον *C. albida* **R4** και *C. canadensis* **S2** φαίνεται ότι είχαμε σταθεροποίηση την 9^η ημέρα.

Σε όλες τις μεταχειρίσεις οι ανθεκτικοί βióτυποι εμφάνισαν υψηλότερα ποσοστά βλαστικότητας από τους αντίστοιχους ευαίσθητους βióτυπους.

1.2.3) Ανάλυση της παραλλακτικότητας των ποσοστών βλάστησης 7 DAT.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων μας πραγματοποιήθηκε με τα προγράμματα Microsoft Excel και SigmaPlot. Η ανάλυση των δεδομένων με εξαρτώμενη μεταβλητή το ποσοστό βλαστικότητας πραγματοποιήθηκε και για

τις 7 ημέρες μετά την τοποθέτηση των δειγμάτων στον επωαστικό θάλαμο και για τις 10 ημέρες. Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια σε επίπεδο σημαντικότητας $P=0.05$. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται η ανάλυση των 7 ημερών από την έναρξη του πειράματος.

Πηγή παραλλακτικότητας	ΒΕ	Άθροισμα τετραγώνων	Μέσα τετράγωνα	F	P
Είδος	1	6,301	6,301	0,133	0,717
Βιότυπος	1	1299,047	1299,047	27,319	<0,001
Συγκέντρωση	5	96228,643	19245,729	404,735	<0,001
Είδος x Βιότυπος	1	3,402	3,402	0,0715	0,790
Είδος x Συγκέντρωση	5	404,400	80,880	1,701	0,145
Βιότυπος x Συγκέντρωση	5	1365,434	273,087	5,743	<0,001
Είδος x Βιότυπος x Συγκέντρωση	5	289,762	57,952	1,219	0,309
Υπόλοιπο	72	3423,704	47,551		
Σύνολο	95	103020,694	1084,428		

Πίνακας 6: Ανάλυση παραλλακτικότητας του ποσοστού βλάστησης 7 DAT σε διάλυμα NaCl.

Σύμφωνα με την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων στον Πίνακα 2 τα δύο **Είδη** δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους για το ποσοστό βλάστησης. Αντιθέτως οι **Βιότυποι** παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Επίσης στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν και μεταξύ των διαφορετικών επιπέδων **Συγκέντρωσης** του NaCl στο διάλυμα εμβάπτισης των σπόρων επηρεάζοντας τα ποσοστά βλαστικότητας. Η αλληλεπίδραση των παραγόντων **Είδος * Βιότυπος** δεν ήταν στατιστικά σημαντική καθώς ούτε και η αλληλεπίδραση **Είδος * Συγκέντρωση**. Η αλληλεπίδραση των παραγόντων **Βιότυπος ***

Συγκέντρωση ήταν στατιστικά σημαντική, διαφορετικά επίπεδα των παραγόντων αυτών επηρέασαν το ποσοστό βλαστικότητας. Τέλος, οι τρεις παράγοντες που υπεισέρχονται στο πείραμα δεν αλληλεπίδρασαν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την μελέτη και ανάλυση των αποτελεσμάτων φτάνουμε στις εξής παρατηρήσεις όσον αφορά την καταπόνηση οσμωτικού δυναμικού.

Όλοι οι βιότυποι αυξανόμενης της καταπόνησης που οφείλεται σε χαμηλό οσμωτικό δυναμικό εμφάνισαν αντίστοιχα μείωση της τελικής βλαστικότητας τους. Εξαίρεση αποτελεί ο βιότυπος *C. albida* Πήλιο **S4** στον οποίο για τις μεταχειρίσεις οσμωτικού δυναμικού -0,2MPa, -0.4MPa και -0.6MPa είχαμε μια αναστροφή στις τελικές τιμές βλαστικότητας οι οποίες ήταν αντίστοιχα 48%, 68% και 57%.

Κανένας βιότυπος δεν παρουσίασε ανάπτυξη στην τιμή οσμωτικού δυναμικού -1MPa.

Στην μεταχείριση του Μάρτυρα οι τιμές βλαστικότητας των βιότυπων ήταν ιδιαίτερος υψηλές καταδεικνύοντας άλλο ένα χαρακτηριστικό που συμβάλει στην εξάπλωση του γένους, την υψηλή βιωσιμότητα των σπόρων, εκτός της αθρόας παραγωγής τους. Την χαμηλότερη βλαστικότητα παρουσίασε ο βιότυπος *C. albida* Πήλιο **S4** 75% για την μεταχείριση του PEG οσμωτικού δυναμικού ενώ την υψηλότερη ο βιότυπος *C. canadensis* Αμπέλι Παναγιά Ομβρυακή **R7** 92%. Αν και οι τιμές της τελικής βλαστικότητας για την μεταχείριση του Μάρτυρα δεν παρουσιάζουν μεγάλες αριθμητικές διαφορές διαφαίνεται μια τάση οι ανθεκτικοί βιότυποι να έχουν υψηλότερες τιμές βλαστικότητας.

Εντύπωση προκαλεί το γεγονός πως και στα δύο είδη μόνο οι ανθεκτικοί βιότυποι παρουσίασαν βλάστηση σπόρων στην τιμή οσμωτικού δυναμικού -0,8MPa. Ο βιότυπος *C. albida* Αμπέλι Παναγιά Ομβρυακή **R4** εμφάνισε

βλαστικότητα 27% και ο βιότυπος *C. canadensis*/ Αμπέλι Παναγία Ομβρυακή R7 ένα 5%.

Ακόμα, συγκρίνοντας ανθεκτικό και ευαίσθητο βιότυπο του ίδιου είδους παρατηρούμε πως για όλες τις τιμές οσμωτικού δυναμικού (μεταχειρίσεις) οι ανθεκτικοί βιότυποι παρουσιάζουν σε όλες τις περιπτώσεις υψηλότερες τιμές τελικής βλαστικότητας.

Ο ανθεκτικός βιότυπος του είδους *C. albida* παρουσιάζει ταχύτερη βλάστηση από τον ανθεκτικό βιότυπο. Το ίδιο δεν συμβαίνει για το είδος *C. canadensis* όπου ο ευαίσθητος βιότυπος παρουσιάζει ταχύτερη βλάστηση.

Τέλος, εξαιρώντας τις μεταχειρίσεις των -0,8 Mpa και -1Mpa και συγκρίνοντας τα δυο είδη μεταξύ τους ως προς το τελικό ποσοστό βλαστικότητας παρατηρούμε διαφορετικές μεταβολές, σε σχέση με τον μάρτυρα, αυξανόμενης της έντασης της καταπόνησης. Για το είδος *C. albida* η ποσοστιαία διαφορά ανάμεσα στο τελικό ποσοστό βλαστικότητας του Μάρτυρα και της μεταχείρισης των -0,6Mpa ανέρχεται στο 18% για τον ευαίσθητο βιότυπο ενώ για τον ανθεκτικό βιότυπο στο 8%. Αντιθέτως, για το είδος *C. canadensis* οι ποσοστιαίες διαφορές ανέρχονται στο 49% για τον ευαίσθητο βιότυπο και στο 47% για τον ανθεκτικό βιότυπο. Έτσι το είδος *C. canadensis* παρουσιάζει μια πολύ πιο έντονη μείωση στα τελικά ποσοστά βλαστικότητας.

Παρόμοια είναι τα συμπεράσματα μας για την μεταχείριση του NaCl.

Στην μεταχείριση του Μάρτυρα οι τιμές βλαστικότητας παραμένουν υψηλές και αν όχι ίδιες, σχεδόν πανομοιότυπες με τις τιμές του Μάρτυρα για το σκέλος του πειράματος με την καταπόνηση οσμωτικού δυναμικού.

Αυξανόμενης της συγκέντρωσης του NaCl στο διάλυμα μειώνονται οι τιμές βλαστικότητας.

Οι ανθεκτικοί βιότυποι για όλες τις τιμές NaCl στο διάλυμα πάντα εμφανίζουν μεγαλύτερες τιμές βλαστικότητας από τους αντίστοιχους ευαίσθητους βιότυπους.

Στο είδος *C. albida* ο ανθεκτικός βιότυπος σε όλες τις περιπτώσεις εμφανίζει ταχύτερη βλάστηση από τον αντίστοιχο ευαίσθητο βιότυπο.

Το ίδιο δεν συμβαίνει για το είδος *C. canadensis*. Ανθεκτικός και ευαίσθητος βιότυπος παρουσιάζουν την πρώτη βλάστηση την ίδια χρονική στιγμή αλλά ο ανθεκτικός βιότυπος με υψηλότερα ποσοστά βλαστικότητας.

Συγκρίνοντας τα δυο είδη μεταξύ τους ως προς το τελικό ποσοστό βλαστικότητας για το είδος *C. albida* η ποσοστιαία διαφορά ανάμεσα στο τελικό ποσοστό βλαστικότητας του Μάρτυρα και της μεταχείρισης των $-0,4\text{NaCl}$ ανέρχεται στο 52% για τον ευαίσθητο βιότυπο, και στο 35% για τον ανθεκτικό βιότυπο. Για το είδος *C. canadensis* η διαφορά ανάμεσα στο τελικό ποσοστό βλαστικότητας του Μάρτυρα και της μεταχείρισης των $-0,4\text{NaCl}$ ανέρχεται στο 56% για τον ευαίσθητο βιότυπο και στο 56% για τον ανθεκτικό βιότυπο. Από τα παραπάνω δεν εξάγεται κάποιο συμπέρασμα για τα δύο είδη κάτι το οποίο επαληθεύει και την στατιστική ανάλυση.

10. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα ζιζανιοκτόνα που χρησιμοποιούνται σε αγροτικά οικοσυστήματα και μη, ασκούν επιλεκτική πίεση στους φυτικούς πληθυσμούς των οικοσυστημάτων αυτών. Μια τέτοια πίεση, εάν ασκείται συνεχώς προκαλεί μεταβολές του πληθυσμού ζιζανίων με την πάροδο του χρόνου και μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση και επικράτηση ειδών ή και βιοτύπων τους που διαφεύγουν, αποφεύγουν ή είναι ανθεκτικά στα χρησιμοποιούμενα ζιζανιοκτόνα (Gressel and Segel 1978).

Μια τέτοια περίπτωση είναι του ζιζανίου *Conyza spp.* το οποίο αν και από παλαιότερα παρών, τα τελευταία χρόνια έγινε ένα πολύ πιο διαδεδομένο και σημαντικό ζιζάνιο για τις πολυετείς καλλιέργειες σε Ελλάδα και εξωτερικό συμπιπτοντας με αυξημένη χρήση του ζιζανιοκτόνου glyphosate. (Travlos and Chachalis 2010; Hanson et al. 2009). Ακόμη, έχουν υπάρξει αναφορές ότι το ζιζάνιο αυτό γίνεται ολοένα και πιο δύσκολο να καταπολεμηθεί με αρκετά

ζιζανιοκτόνα σε καλλιέργειες μειωμένης και μηδενικής καλλιέργειας (Travlos et al. 2009b). Έχει επιβεβαιωθεί η παρουσία ανθεκτικών βιοτύπων ανά την ελληνική επικράτεια του είδους *Conyza bonariensis* (Travlos and Chachalis 2010).

Η έρευνά μας πραγματεύεται την αντοχή ευαίσθητων και ανθεκτικών βιοτύπων των ειδών *Conyza albida* και *Conyza canadensis* σε καταπονήσεις αλατότητας και έλλειψης νερού μέσω της μέτρησης της βλαστικότητας των σπόρων των ειδών αυτών. Έτσι μπορούμε να αξιολογήσουμε αν η ανάπτυξη ανθεκτικότητας είχε αρνητικές ή μη επιδράσεις στην ικανότητα των ειδών για ανάπτυξη υπό αντίξοες συνθήκες.

Καθίσταται εμφανές από τα αποτελέσματα και συμπεράσματα ότι οι ανθεκτικοί βιότυποι εμφανίζουν μεγαλύτερες τιμές βλαστικότητας και στην περίπτωση του Μάρτυρα, δηλαδή υπό ιδανικές συνθήκες, και στα διάφορα επίπεδα οσμωτικής καταπόνησης και αλατότητας. Ακόμα ορισμένοι ανθεκτικοί βιότυποι εμφανίζουν ταχύτερη βλάστηση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα όταν γίνεται ζιζανιοκτονία, σύμφωνα με τις έως τώρα συνήθειες, το ευαίσθητο στάδιο του ζιζανίου να έχει παρέλθει και ο ψεκασμός να μην είναι αποτελεσματικός. Επίσης μόνο οι ανθεκτικοί βιότυποι κατάφεραν να βλαστήσουν σε ακραίες τιμές οσμωτικής καταπόνησης (-0,8Mpa). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν πως οι ανθεκτικοί βιότυποι όχι μόνο ανέπτυξαν ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο glyphosate, μέσω τροποποίησης της φυσιολογίας τους (E. Tani et al. 2015; G. Dinelli et al. 2007), αλλά αυτό έγινε χωρίς κανένα κόστος στην ικανότητα τους για ανάπτυξη και αντιμετώπιση αντίξοων συνθηκών. Αποτελέσματα τα οποία συμφωνούν με την μελέτη των A. Shrestha et al. 2010 οι οποίοι έδειξαν ότι ανθεκτικοί βιότυποι του *C. canadensis* υπό συνθήκες έλλειψης νερού και ανταγωνισμού έγιναν ψηλότεροι και μεγαλύτεροι από ευαίσθητους βιότυπους. Αντιθέτως η έρευνα των Ilias S. Travlos & Demosthenis Chachalis 2012 για το είδος *C. bonariensis* έδειξε παρόμοια ανάπτυξη ανθεκτικών και ευαίσθητων βιοτύπων με την διαφορά ότι υφίσταται μόνο ανταγωνισμός μεταξύ ανθεκτικών και ευαίσθητων βιοτύπων.

Περισσότερες μελέτες πρέπει να πραγματοποιηθούν και αξιολογηθούν πριν εξάγουμε ένα συνολικό συμπέρασμα καθώς από είδος σε είδος *Conyza*

spp. και διαφορετικά σείτ βιοτύπων τα αποτελέσματα μπορεί να διαφέρουν. Διαφαίνεται όμως πως οι ανθεκτικοί βιότυποι ίσως να έχουν πλεονέκτημα στην ανάπτυξη και επιβίωση έναντι των ευαίσθητων σε πραγματικές συνθήκες αγρού. Αν αυτό ισχύει τότε αυτοί οι βιότυποι θα συνεχίσουν απρόσκοπτα την εξάπλωση τους σε αγροτικά και μη οικοσυστήματα ακόμα και χωρίς την επιλεκτική πίεση του ζιζανιοκτόνου, καθιστώντας τα ιδιαίτερα δύσκολη την διαχείριση τους. Γνωρίζοντας την βιολογία των ανθεκτικών βιοτύπων νέοι χρόνοι επέμβασης πρέπει να καθιερωθούν καθώς και εναλλαγή ζιζανιοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης.

11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abid M, Salim M, Bano A, Asim M, Hadees M (2011). Physiology and productivity of rice crop influenced by drought stress induced at different developmental stages. *Afr. J. Biotechnol.* 10: 5121-5136.

Agrocent. 1999. Agro 2-2: Διαχείριξη Αγροτικού Περιβάλλοντος - Σύστημα Ολοκληρωμένης Διαχείρισης στη Γεωργική Παραγωγή. Μέρος 2: Απαιτήσεις για την εφαρμογή στη φυτική παραγωγή.

Agrocent. 2007. Available at <http://www.agrocent.gr/>

Ashton F.M. and A.S. Crafts. 1981. Mode of action of herbicides, 2nd edition John Wiley and Sons, Inc. New York. 525 p.

Ashton F.M. and T.J. Monaco. 1991. Weed Science. Principles and Practices, 3rd edition John Wiley and Sons, Inc. New York. 466 p.

Bartels D, Sunkar R (2005). Drought and Salt Tolerance in Plants. *Critical Rev. Plant Sci.* 24, 23-58.

Baylis A.D. 2000. Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weakness and prospects. *Pest Management Science* 56:299-308.

Beckie H.J., Herbicide-resistant weed management: focus on glyphosate. *Pest Manag Sci* 2011; 67: 1037–1048.

Bewley JD, Black M (1982). Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination. Vol. 2. Viability, Dormancy and Environmental Control. Springer-Verlag.

Bouaziz A, Hicks D (1990). Consumption of Wheat Seed Reserves During Germination and Early Growth as Affected by Soil Water Potential. *Plant Soil*, 128: 161-165.

Boyer JS (1982). *Plant Productivity and Environment*. Sci. 218: p. 443.

Bradshaw L.D., S.R. Padgett, S.L. Kimball, and B.H. Wells. 1997. Perspectives on glyphosate resistance. *Weed Technology* 11:189-198

Castle L.A., D.L. Siehl, R. Gorton, P.A. Patten, Y.H. Chen, S. Bertain, H.J. Cho, N. Duck, J. Wong, D. Liu, and M.W. Lassner. 2004. Discovery and directed evolution of a glyphosate tolerance gene. *Science* 304:1151-1154.

Chachalis D. and I.S. Travlos. 2012. Glyphosate resistance status and potential solutions in Greece. International Workshop on "European status and solutions for glyphosate resistance". Universidad de Cordoba, 3-4 May, 2012, Cordoba, Spain.

Culpepper A.S. 2006. Glyphosate-induced weed shifts. *Weed Technology* 20:277-281.

De Prado R.A. and A.R. Franco. 2004. Cross-resistance and herbicide metabolism in grass weeds in Europe: biochemical and physiological aspects. *Weed Science* 52:441-447.

Dekker J. and S.O. Duke. 1995. Herbicide-resistant field crops. Pages 69-116 in *Advances in Agronomy*, D.L. Sparks, ed. Academic Press.

Dent J.B., R.H. Fawcett and P.K. Thornton. 1989. Economics of crop protection in Europe with reference to weed control. In *Proceedings Brighton Crop Protection Conference-Weeds*:917-926.

Devine M.D., S.O. Duke and C. Fedtke. 1993. *Physiology of Herbicide Action*. PTR Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ. 441 p.

DiTomaso J.M. 1995. Approaches for improving crop competitiveness through the manipulation of fertilization strategies. *Weed Science* 43:491-497.

- Erda S, Aydın M, Genisel M, Taspınar MS, Dumlupınar R, Kaya O, Gorcek Z. (2011). Effects of salicylic acid on wheat salt sensitivity. *Afr. J. Biotechnol.* 10: 5713-5718.
- Feng P.C., M. Tram, T. Chiu, R.D.Sammons, G.R. Heck and C.A. Cajacob. 2004. Investigations into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. *Weed Science* 52: 498-505.
- Frangenberg A. 2000. Integrated Crop Management as fundamental basis for sustainable production. *Pflanzenschutz Nachrichten* 53: 131-153.
- Ge X, D. Andre D'Anignon., J.J.H. Ackerman, B. Duncan, M.B. Spaur and R.D. Sammons. Glyphosate-resistant horseweed made sensitive to glyphosate: low-temperature suppression of glyphosate vacuolar sequestration revealed by ³¹P NMR. *Pest Manag Science* 2011; 67:1215-21.
- Ge X., D. D'avignon, J. Ackerman, and R.D. Sammons. 2010. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. *Pest Management Science*: 66:345-348.
- Giannopolitis C.N., I.S. Travlos, D. Chachalis, J. Papageorgiou and A. Kazantzidou. Study of glyphosate-resistant horseweed (*Conyza* spp.) from Southern Greece.
- Gonzalez-Torralva F., A.M. Rojano-Delgado, M.D. Luque de Castro, N Mulleder and R. De Prado. Two non-target mechanisms are involved in glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.) biotypes. *J Plant Physiol.* 2012 Jul 27.
- Green J.M. 2007. Review of glyphosate and ALS-inhibiting herbicide crop resistance and resistant weed management. *Weed Technology* 21:547-558.
- Green T.D. 2010. The ecology of fleabane (*Conyza* spp.) 173 p.
- Hanf M. 1983. The Arable Weeds of Europe. BASF. 494 p.
- He L, Jia X, Gao Z Li R (2011). Genotype-dependent responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings to drought, UV-B radiation and their combined stresses. *Afr. J. Biotechnol.* 10: 4046-4056.

Heap I. 2008. International survey of herbicide resistance weeds. Available at web site <http://www.weedresearch.com/in.asp>

Heap I. 2012. International survey of herbicide resistant weeds. Available at web site <http://www.weedscience.org/In.asp>

Heap I. and H. LeBaron. 2001. Introduction and overview of resistance. Pages 1-23 in *Herbicide Resistance and World Grains*, S.B. Powles and D.L. Shaner, eds. CRC Press, Boca Raton

Herbicide Resistance Action Committee (HRAC). 2000. Classification of Herbicides According to Mode of Action. Available at web sit <http://www.plantprotection.org/hrac>

Herbicide Resistance Action Committee (HRAC). 2005. Classification of Herbicides According to Mode of Action. Available at web sit <http://www.plantprotection.org/hrac>

Holm L. 1969. Weed problems in developing countries. *Weed Science* 17: 113-119.

Holm L., J. Doll, E. Holm, J.Pancho, and J.P. Herberger. 1997. *World Weeds: Natural History and Distribution*. John Wiley and Sons, Inc. New York. 1129 p.

Holm L.G., D.L. Pluknett, J.V. Pancho, and J.P. Herberger. 1977. *The World's Worst Weeds: Distribution and Biology*. University of Hawaii Press.

Holt J.S. and H.M. LeBaron. 1990. Significance and distribution of herbicide resistance. *Weed Technology* 4:141-155.

Jones HG, Flowers TJ, Jones M (1989). *Plants under Stress*. Cambridge University Press.

Kang J., J. Park, H. Choi, B. Burla, T. Kretschmar, Y. Lee, and E. Martinoia (2011) Plant ABC transporters. *The Arabidopsis Book* 9: e0153.

Khan MA, Gulzar S (2003). Germination Responses of *Sporobolus loclados*: A Saline Desert Grass. *J. Arid Environ.* 53, 387-394.

Klingman, G.C. and E.M. Ashton. 1982. *Weed Science: Principles and Practices*, 2nd ed. John Wiley and Sons, Inc. New York 499 p.

Koger C.H. and K.N. Reddy. 2005. Role of absorption and translocation in the mechanism of glyphosate resistance in horseweed (*Conyza canadensis*). *Weed Science*: 53:84-89.

Li Z, Bian M, Wu Z, Zhang X, Yang Q, Huang C (2011). Isolation and drought-tolerant function analysis of ZmPti1-1, a homologue to Pti1, from maize (*Zea mays* L.). *Afr. J. Biotechnol.* 10: 5327-5336.

Liebman M., C.L. Mohler and C.P. Staver. 2001. *Ecological management of agricultural weeds*. Cambridge University Press. 532 p.

Monaco J.T., S.C. Weller and F.M. Ashton. 2002. *Weed Science: Principles and Practices*. 4th edition John Wiley and Sons, Inc. New York. 671 p

Mortimer A.M. 1990. The biology of weeds. Pages 1-42 in *Weed Control Handbook: Principles*, R.J. Hance and K.Holly, eds. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Mwale S, Hamusimbi C, Mwansa K (2003). Germination, Emergence and Growth of Sunflower (*Helianthus Annuus* L.) in Response to Osmotic Seed Priming. *Seed Sci. Technol.* 31, 199-206.

Naylor R.E.L. and C. Drummond. 2002. Integrated Weed Management. Pages 302-311 in *Weed Management Handbook*, R.E.L. Naylor, ed. Blackwell Publishing for BCPC.

Naylor R.E.L. and T.J. Lutman. 2002. What is a weed. Pages 1-15 in *Weed Management Handbook*, R.E.L. Naylor, ed. Blackwell Publishing for BCPC.

Nol N., D. Tsikou, M. Eid, I.C. Livieratos, and C.N. Giannopolitis. 2012. Shikimate leaf disc assay for early detection of glyphosate resistance in *Conyza canadensis* and relative transcript level of EPSPS and ABC transporter genes. *Weed Research* 52: 233-241.

Norris R.F. and M. Kogan. 2000. Interactions between weeds, arthropod pest, and their natural enemies in managed ecosystems. *Weed Science* 48: 94-158.

Okcu G, Kaya MD, Atak M (2005). Effects of Salt and Drought Stresses on Germination and Seedling Growth of Pea (*Pisum Sativum* L.), *Turk. J. Agric. Forest.* pp. 237-242.

- Peng Y., L.L. Abercrombie, J.S. Yuan, C.W. Riggins, R.D. Sammons, P.J. Tranel and C.N. Stewart Jr. 2010. Characterization of the horseweed (*Conyza canadensis*) transcriptome using GS-FLX 454 pyrosequencing and its application for expression analysis of candidate. *Pest Management Science* 66(10):1053-62.
- Pline-Srnic W. 2006. Physiological mechanisms of glyphosate resistance. *Weed Technology* 20:290-300.
- Powles S.B. 2008. Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. *Pest Management Science* 64:360–365.
- Powles S.B. and C. Preston. 2006. Evolved glyphosate resistance in plants: Biochemical and genetic basis of resistance. *Weed Technology* 20:282-289.
- Pratap V, Sharma YK (2010). Impact of Osmotic Stress on Seed Germination and Seedling Growth in Black Gram (*Phaseolus Mungo*). *J. Environ. Bio.* 31, 721-726.
- Preston C. and C.A. Mallory-Smith. 2001. Biochemical mechanisms, inheritance, and molecular genetics of herbicide resistance in weeds. Pages 23-60 in *Herbicide Resistance and World Grains*, S.B. Powels and D.L. Shaner, eds. CRC, Boca Raton
- Radosevich S., J. Holt and C. Ghersa. 1997. *Weed Ecology: Implications for Management*. Gohn Wiley and Sons, Inc New York. 589 p.
- Radosevich S., J. Holt and C. Ghersa. 2007. *Ecology of Weeds and Invasive Plants: Relationship to Agriculture and Natural Resource Management*. 3rd ed. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. 454 p.
- Ramagopal S (1990). Inhibition of Seed Germination by Salt and Its Subsequent Effect on Embryonic Protein Synthesis in Barley. *J. Plant Physiol.* 136: 621-625.
- Roberts H.A., R.J. Chancellor and T.A. Hill. 1982. The biology of Weeds. Pages 1-36 in *Weed Control Handbokk: Principles*, H.A. Roberts, ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Sansom M., A.A. Saborido and M. Dubois (2013): Control of *Conyza* spp. with glyphosate – a review of the situation in Europe. *Plant Protect Science* 49: 44–53.

Seefeldt S., J. Jensen, and E. Fuerst. 1995. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technology* 9: 218-227.

Shaner DL. Role of translocation as a mechanism of resistance to glyphosate. *Weed Science* 2009;57:118-23.

Shieh W.J., D.R. Geiger, and J.C. Servaites. 1991. Effects of N-(phosphonomethyl) glycine on carbon assimilation and metabolism during a simulated natural day. *Plant Physiology* 97:1109-1114.

Shrestha A., B.D. Bradley, D. Hanson, M.W. Fidelibus, and M. Alcorta. 2010. Growth, phenology, and intraspecific competition between glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible horseweeds (*Conyza canadensis*) in the San Joaquin valley of California. *Weed Science* 58:147-153.

Simarmata M. and D. Penner. 2008. The basis for glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) from California. *Weed Science* 56: 181-188.

Simarmata M., J.E. Kauffman, and D. Penner. 2001. Progress in determining the origin of the glyphosate-resistant ryegrass in California. *WSSA Abstracts* 41:95.

Sindel B. 1996. Glyphosate resistance discovered in annual ryegrass. *Resistant Pest Management* 8:5-6.

Smith A.E. 1995. *Handbook of Weed Management Systems*. Marcel Dekker, Inc. New York. 741 p.

Travlos I.S. and D. Chachalis. 2010. Glyphosate-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) is reported in Greece. *Weed Technology* 24: 569-573.

Travlos I.S. and D. Chachalis. 2012. Relative competitiveness of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible populations of hairy fleabane, *Conyza bonariensis*. *Journal of Pest Science* 86: 345-351.

Travlos I.S. and D. Chachalis. 2013. Assessment of glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.) and fleabane (*Conyza albida*

- Willd. ex Spreng) populations from perennial crops in Greece. *International Journal of Plant Production* 7 (4): 665-676.
- Vereecken H. 2006. Mobility and leaching of glyphosate: a review. *Pest Management Science* 61:1139-1151.
- Wakelin A.M. and C. Preston. 2006. A target-site mutation is present in a glyphosate-resistant *Lolium rigidum* population. *Weed Research* 46:453-459.
- Wang W B, Kim YH, Lee HS, Kim KY, Deng XP, Kwak, S. S. (2009b). Analysis of Antioxidant Enzyme Activity During Germination of Alfalfa under Salt and Drought Stresses. *Plant Physiol. Biochemist.* 47: 570-577.
- Weaver S. E. 2001. The biology of Canadian weeds. 115. *Conyza canadensis*. *Canadian Journal of Plant Science* 81:867-875.
- Westwood J.H. and S.C. Weller. 1997. Cellular mechanisms influence differential glyphosate sensitivity in field bindweed (*Convolvulus arvensis*) biotypes. *Weed Science* 45:2-11.
- Whaley C.M., H.P. Wilson and J.H. Westwood. 2007. A new mutation in plant ALS confers resistance to five classes of ALS-inhibiting herbicides. *Weed Science* 55:83-90.
- Yang Y, Liu Q, Wang GX, Wang XD, Guo JY (2010). Germination, Osmotic Adjustment, and Antioxidant Enzyme Activities of Gibberellin-Pretreated *Picea Asperata* Seeds under Water Stress. *New Forests*, 39: 231-243.
- Yuan J.S., P.J. Tranel and C.N. Stewart Jr. 2007. Non-target site herbicide resistance: a family business. *Trends Plant Science* 12:6-13.
- Zheng D., G.R. Kruger, S. Singh, V.M. Davis, P.J. Tranel, S.C. Weller and W.G. Johnson. 2011. Cross-resistance of horseweed (*Conyza canadensis*) populations with three different ALS mutations. *Pest Manag Science* 67(12): 1486-1492.
- Zimdahl R.L. 1980. *Weed-Crop Competition- a Review*. International Plant Protection Centre, Corvallis, Oregon. 196 p.
- Zimdahl R.L. 1993. *Fundamentals of Weed Science*. Academic Press, Inc., California. 450 p.

- Zimdahl R.L. 1993. Methods of weed management and control. Pages 159-190 in Fundamentals of Weed Science, R.L. Zimdahl, Ed Academic Press Inc., New York.
- Zimdahl R.L. 2004. Weed-Crop Competition. A review, 2nd ed Blackweel Publishing Asia. 220 p.
- Zimdahl R.L. 2007. Fundamentals of Weed Science. 3rd ed Elsevier Inc., Oxford 666 p.
- Βασιλάκογλου Ι. 2004. Ζιζάνια - Αναγνώριση και αντιμετώπιση. Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα.
- Βασιλάκογλου Ι. 2012. Συγχρονη Ζιζανιολογία - Οικολογία, επιδράσεις και σύγχρονες μέθοδοι ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων. Σχέσεις ζιζανιοκτόνων, φυτών και περιβάλλοντος. Μηχανισμοί δράσης ζιζανιοκτόνων και ανθεκτικότητα ζιζανίων. Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα. 488 p.
- Γιαννίσαρος Α. 1997. Είδη του γένους *Conyza* Less. στην Ελλάδα. 10ο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας. Θεσσαλονίκη 16-18 Δεκεμβρίου 1997. Περιλήψεις Ανακοινώσεων σελ. 22.
- Γιαννοπολίτης Κ., Η. Τραυλός, Δ. Χάχαλης, Ι. Παπαγεωργίου, και Α. Καζαντζίδου. 2008. Διερεύνηση της ανθεκτικότητας βιοτύπων της Κόνυζας (*Conyza* spp.) στο ζιζανιοκτόνο glyphosate. 15ο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας. Θεσσαλονίκη 11-12 Δεκεμβρίου 2008. Περιλήψεις Ανακοινώσεων σελ. 44.
- Γιαννοπολίτης Κ.Ν. 2003a. Οδηγός αναγνώρισης ζιζανίων της Ελλάδας. Γεωργία-Κτηνοτροφία 9:5-170. Εκδόσεις ΑγρόΤυπος, Αθήνα.
- Γιαννοπολίτης Κ.Ν. 2004a. Οδηγός αναγνώρισης ζιζανίων της Ελλάδας. Γεωργία-Κτηνοτροφία 8:5-171. Εκδόσεις ΑγρόΤυπος, Αθήνα.
- Γιαννοπολίτης Κ.Ν., Ε.Α. Πασπάτης και Σ. Βυζαντινόπουλος. 1985. Οδηγός αντιμετώπισης ζιζανίων: Συστάσεις για τ χρήση ζιζανιοκτόνων. Ελληνική Ζιζανιολογική Εταιρία. Αθήνα. Σελ. 112.
- Γκατζιάνας Α. 1986. Βιολογία και καταπολέμηση των ζιζανίων. Θεσσαλονίκη. Σελ. 90.

Δαμανάκης Μ. 1979. Επισκόπηση των κυριότερων ζιζανίων των καλλιεργειών της χώρας μας κατά το έτος 1975. Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο. Σελ. 45.

Δεληβόπουλος Σ.Γ. 1994. Μορφολογία και Ανατομία Φυτών. Εκδόσεις Α. Σιμώνης και Σ. Χατζηπάντου, Θεσσαλονίκη, Σελ. 335.

Ελευθεροχωρινός Η.Γ. 2008. Ζιζανιολογία: Ζιζάνια, Ζιζανιοκτόνα, Περιβάλλον, Αρχές και Μέθοδοι Διαχείρισης. Εκδόσεις ΑγρόΤυπος, Αθήνα. 408 p.

Ζιώγας Β. και Α. Μαρκόγλου. 2007. Γεωργική φαρμακολογία - Βιοχημεία, Φυσιολογία, Μηχανισμοί Δράσης και χρήσεις των Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων. Ελληνικής Έκδοσης, Εκτυπωτική Αττικής. 836 p.

Λόλας Π. 1997. Ζιζάνια στην Ελλάδα. Γεωργική Τεχνολογία. Σελ. 142.

Μαλακατές Σ. 1939. Τα κυριότερα ζιζάνια της Ελλάδος. Υπ. Γεωργίας. Σελ. 32.

Μυλωνάς Φ.Ν., Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, Π.Γ. Ευθυμιάδης και Η.Γ. Ελευθεροχωρινός. 2012. Συγκριτική μελέτη του ρυθμού ανάπτυξης οκτώ ανθεκτικών και δύο ευαίσθτων βιοτύπων των ειδών *Conyza albida* και *C. bonariensis* στο glyphosate. 17ο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας. Αθήνα 22-24 Νοεμβρίου 2012. Περιλήψεις Ανακοινώσεων σελ. 22.

Μυλωνάς Φ.Ν., Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, Π.Γ. Ευθυμιάδης, Γ.Χ. Μενεξές και Η.Γ. Ελευθεροχωρινός. 2012. Αξιολόγηση 60 Πληθυσμών του ζιζανίου *Conyza* spp. για πιθανή ανάπτυξη ανθεκτικότητας στο glyphosate και μελέτη της έντασης ανθεκτικότητας οκτώ βιοτύπων των ειδών *Conyza albida* και *C. bonariensis* στο glyphosate. 17ο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας. Αθήνα 22-24 Νοεμβρίου 2012. Περιλήψεις Ανακοινώσεων σελ. 16.

Τραυλός Η. και Δ. Χάχαλης 2012. Η ανθεκτικότητα πληθυσμών των τριών ειδών κόνυζας (*Conyza canadensis*, *C. bonariensis*, *C. albida*) στο glyphosate στην Ελλάδα: Η ανταγωνιστική τους ικανότητα και η διαχείρισή τους. 17ο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας. Αθήνα 22-24 Νοεμβρίου 2012. Περιλήψεις Ανακοινώσεων σελ. 14.

Χάχαλης Δ., Ε. Τάνη, Β. Κωτούλας και Η. Τραυλός. 2012. Ανθεκτικότητα της κόνυζας (*Coryza* spp.) στο glyphosate: Αξιολόγηση πληθυσμών και μηχανισμοί ανθεκτικότητας. 17ο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας. Αθήνα 22-24 Νοεμβρίου 2012. Περιλήψεις Ανακοινώσεων σελ. 19.