



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΑΣ**

**Διδακτορική διατριβή**

Αξιολόγηση βιότυπων του ζιζανίου *Lolium* spp. ως προς την ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate, οικολογική προσαρμογή και εναλλακτικές μέθοδοι διαχείρισης

**Νικολίνα Χ. Χειμώνα**

Επιβλέπων Καθηγητής:

Ηλίας Τραυλός, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Ηλίας Τραυλός, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Δημήτριος Μπιλάλης, Καθηγητής ΓΠΑ

Ανέστης Καρκάνης, Αναπληρωτής Καθηγητής Παν. Θεσσαλίας



**ΑΘΗΝΑ  
2022**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΑΣ**

**Διδακτορική διατριβή**

Αξιολόγηση βιότυπων του ζιζανίου *Lolium* spp. ως προς την ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate, οικολογική προσαρμογή και εναλλακτικές μέθοδοι διαχείρισης

Evaluation of the resistance of *Lolium* spp. biotypes to the herbicides glyphosate and glufosinate, fitness cost study and integrated weed management

**Νικολίνα Χ. Χειμών**

Επταμελής συμβουλευτική επιτροπή:

Ηλίας Τραυλός, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Δημήτριος Μπιλάλης, Καθηγητής ΓΠΑ

Ανέστης Καρκάνης, Αναπληρωτής Καθηγητής Παν. Θεσσαλίας

Γαρυφαλλιά Οικονόμου-Αντώνικα, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Δημοσθένης Χάχαλης, Διευθυντής Ερευνών ΜΦΙ

Θωμάς Γισσόπουλος, Ερευνητής ΕΛΓΟ Δήμητρα

Παναγιώτης Κανάτας, Επίκουρος Καθηγητής Παν. Πατρών

## Αξιολόγηση βιότυπων του ζιζανίου *Lolium spp.* ως προς την ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate, οικολογική προσαρμογή και εναλλακτικές μέθοδοι διαχείρισης

Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής  
Εργαστήριο Γεωργίας

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το glyphosate αποτελεί το πιο διαδεδομένο ζιζανιοκτόνο για τη διαχείριση των ζιζανίων σε ετήσιες και πολυετείς καλλιέργειες, αλλά και σε ακαλλιέργητες εκτάσεις. Ωστόσο, τα ανθεκτικά στο glyphosate ζιζάνια αποτελούν μία διαχρονική πρόκληση για τα γεωργικά συστήματα σε παγκόσμιο επίπεδο, οδηγώντας σε επιπρόσθετο κόστος διαχείρισης και απώλειες στην απόδοση των καλλιεργούμενων φυτών. Επιπρόσθετα, η χρήση του glufosinate, ενός ζιζανιοκτόνου που εφαρμοζόταν για τη διαχείριση ανθεκτικών βιότυπων στο glyphosate, έχει πλέον ανακληθεί στην Ευρωπαϊκή Ένωση, ενώ και για το ίδιο υπήρχαν αναφορές ανθεκτικών βιότυπων ζιζανίων. Ένα είδος ζιζανίου για το οποίο υπάρχουν αρκετές αναφορές ανθεκτικότητας παγκοσμίως είναι η ήρα (*Lolium spp.*). Η συνεχής αύξηση των ανθεκτικών βιότυπων ήρας δυσχεραίνει ακόμα περισσότερο τη ζιζανιοκτονία σε ένα περιβάλλον συνεχούς ανάκλησης συνθετικών ζιζανιοκτόνων.

Η έγκαιρη ανίχνευση των ανθεκτικών βιότυπων στα ζιζανιοκτόνα είναι κρίσιμη για την έγκαιρη και αποτελεσματική διαχείριση της ανθεκτικότητας. Στην παρούσα διατριβή αξιολογήθηκαν 54 και 39 βιότυποι *Lolium rigidum* για πιθανή ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate, αντίστοιχα. Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε μέσω πειραμάτων δόσης-απόκρισης και για το glyphosate επιβεβαιώθηκε και μέσω της βιοχημικής μεθόδου του σικιμικού οξέος. Για τα πειράματα δόσης-απόκρισης στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate χρησιμοποιήθηκε το εξής εύρος δόσεων: 0,  $x/8$ ,  $x/4$ ,  $x/2$ ,  $x$ ,  $2x$ ,  $4x$  και  $8x$ , όπου  $x$  η συνιστώμενη δόση του κάθε ζιζανιοκτόνου, δηλαδή  $720 \text{ g } \delta.o. \text{ ha}^{-1}$  και  $750 \text{ g } \delta.o. \text{ ha}^{-1}$ , αντίστοιχα. Επιπλέον, για την ταχεία επιβεβαίωση της ανθεκτικότητας στις δύο δραστικές ουσίες αξιολογήθηκε και η λήψη μετρήσεων του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI). Ακόμη, διερευνήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας στην ευαισθησία των ανθεκτικών βιότυπων λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate σε πειράματα φυτοδοχείων υπό ελεγχόμενες συνθήκες ανάπτυξης. Ανθεκτικοί βιότυποι *L. rigidum* μελετήθηκαν και ως προς το πιθανό κόστος προσαρμοστικότητάς τους λόγω ανθεκτικότητας στο glyphosate. Συγκεκριμένα, η ανταγωνιστική ικανότητα δύο επιβεβαιωμένων ανθεκτικών βιότυπων λεπτής ήρας στο glyphosate και του ενός ευαίσθητου βιότυπου αναφοράς εξετάστηκε σε δύο πειράματα θερμοκηπίου, όπου τα φυτά αναπτύχθηκαν σε φυτοδοχεία τόσο σε μονοκαλλιέργεια όσο και σε μείγματα με διαφορετικές αναλογίες (100:0, 75:25, 50:50, 25:75 και 0:100) και σταθερή πυκνότητα σποράς ( $578 \text{ φυτά m}^{-2}$ ). Το πειραματικό σχέδιο της Σειράς Αντικατάστασης χρησιμοποιήθηκε και για τα δύο πειράματα κόστους προσαρμοστικότητας. Τέλος, στο πλαίσιο της διερεύνησης πρακτικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ολοκληρωμένη διαχείριση των ζιζανίων, αξιολογήθηκαν μείγματα glyphosate με ζιζανιοκτόνα διαφορετικού τρόπου

δράσης και εναλλακτικές μη χημικές μέθοδοι ως προς την αποτελεσματικότητα διαχείρισης των ανθεκτικών πληθυσμών του *L. rigidum* σε επίπεδο αγρού. Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των εφαρμογών του glyphosate, του συνδυασμού του με στελεχοκοπή και μειγμάτων του με άλλα ζιζανιοκτόνα (pendimethalin, cycloxydim, flazasulfuron, chlorotoluron & diflufenican και fluazifop-p-butyl) πραγματοποιήθηκε σε τέσσερις δένδροκομικές καλλιέργειες, όπου υπήρχε υψηλή πυκνότητα πληθυσμών *L. rigidum* και πραγματοποιούνταν συχνές εφαρμογές glyphosate. Για τα συνθετικά ζιζανιοκτόνα χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες δόσεις : glyphosate – 720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, pendimethalin – 1365 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, cycloxydim – 200 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, flazasulfuron – 200 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, chlorotoluron – 1500 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> & diflufenican – 100 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> και fluazifop-p-butyl – 150 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>. Η αξιολόγηση εναλλακτικών μη χημικών μεθόδων σε σύγκριση με εφαρμογές glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> και 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) πραγματοποιήθηκε σε ελαιώνα επιβεβαιωμένου ανθεκτικού πληθυσμού *L. rigidum*. Για τις μη χημικές μεθόδους χρησιμοποιήθηκαν καλλιέργειες κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι, κτηνοτροφικό μπιζέλι & βρώμη), εδαφοκάλυψη με σανό μηδικής και στελεχοκοπή.

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων δόσης-απόκρισης επιβεβαίωσαν την ύπαρξη ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate. Αρχικά, επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη και προσδιορίστηκε το επίπεδο της ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate σε 6 ελληνικούς βιότυπους λεπτής ήρας από ελαιώνες, αμπελώνες και δένδρωνες εσπεριδοειδών στους νομούς Αιτωλοακαρνανίας, Βοιωτίας και Φθιώτιδας, αντίστοιχα. Συγκεκριμένα, οι δύο βιότυποι αναφοράς από την Αυστραλία και την Ισπανία (AUS.1 και SPN.2, αντίστοιχα) ήταν 14 έως 19 φορές πιο ανθεκτικοί, οι δύο από του τέσσερις ελληνικούς βιότυπους (AIT.1 και BOI.1) ήταν 7 έως 9 φορές και οι υπόλοιποι δύο (ΦΘΙ.3 και AIT.15) ήταν 2 έως 3 φορές πιο ανθεκτικοί στο glyphosate σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο αναφοράς (ATT.S1). Παρομοίως, επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη και προσδιορίστηκε το επίπεδο της ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate σε 4 ελληνικούς βιότυπους λεπτής ήρας σε καλλιέργειες ροδιάς, μηλοειδών, εσπεριδοειδών και αμπελιού στις περιοχές της Στερεάς Ελλάδας και της Πελοποννήσου. Οι τιμές LD<sub>50</sub> για τους επιβεβαιωμένους ανθεκτικούς βιότυπους ήρας AIT.7 και ΦΘΙ.1 υπέδειξαν ανθεκτικότητα 15 και 13 φορές υψηλότερη σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο αναφοράς (ATT.S1). Αντίστοιχα ο δείκτης ανθεκτικότητας, βάσει LD<sub>50</sub> τιμών, για τους βιότυπους BOI.1 και KOP.2 ήταν 5 και 2,5, αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα της βιοχημικής μεθόδου του σικιμικού οξέος επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα των πειραμάτων δόσης απόκρισης του ζιζανιοκτόνου glyphosate, ως προς το επίπεδο ανθεκτικότητας. Συγκεκριμένα, οι βιότυποι AUS.1 και SPN.2 εμφάνισαν σημαντικά μικρότερες συγκεντρώσεις σικιμικού οξέος στις διαφορετικές συγκεντρώσεις glyphosate (0, 1, 10, 50, 500 και 1000 μM) σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο ATT.S1. Αντίθετα, οι ελληνικοί βιότυποι AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3 και AIT.15 ενώ είχαν πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις σικιμικού οξέος στις μικρότερες συγκεντρώσεις glyphosate (0,1 και 10 μM), φάνηκε να μειώνουν σημαντικά τη διαφορά αυτή στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις glyphosate (100, 500 και 1000 μM). Από τις

μετρήσεις του δείκτη NDVI προέκυψε διαφοροποίηση των σχετικών τιμών μόνο στην περίπτωση που υπήρχε μεγάλη διαφορά στην ευαισθησία των βιότυπων και για τα δύο ζιζανιοκτόνα.

Στην πειραματική δοκιμή που διεξήχθη σε δύο διαφορετικά επίπεδα θερμοκρασίας, 10/4°C και 16/10°C ημέρα/νύχτα, αντίστοιχα, οι επιβεβαιωμένοι ως ανθεκτικοί στο glyphosate βιότυποι δεν παρουσίασαν οποιαδήποτε συμπτώματα (π.χ. χλώρωση) 4 εβδομάδες μετά την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου στις υψηλότερες θερμοκρασίες, ενώ τα φυτά που διατηρήθηκαν σε χαμηλότερες θερμοκρασίας άρχισαν να εμφανίζουν συμπτώματα 2 εβδομάδες μετά την εφαρμογή. Σε αντίθεση με τον ευαίσθητο βιότυπο ATT.S1, οι ανθεκτικοί βιότυποι AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1 και ΦΘΙ.3 παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση του νωπού βάρους των φυτών ήρας μετά από εφαρμογή glyphosate και στις 3 δόσεις glyphosate όταν αναπτύχθηκαν σε χαμηλές θερμοκρασίας ημέρας/νύχτας. Εξαιρέση αποτέλεσε ο ανθεκτικός βιότυπος AIT.15.

Στα πειράματα διερεύνησης πιθανού κόστους προσαρμοστικότητας, οι ανθεκτικοί στο ζιζανιοκτόνο glyphosate βιότυποι ήρας παρουσίασαν χαμηλότερη ανταγωνιστική ικανότητα σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο. Ωστόσο, προφανές κόστος προσαρμοστικότητας που να σχετίζεται με ανθεκτικότητα στο glyphosate δεν προέκυψε και για τους δύο ανθεκτικούς βιότυπους που εξετάστηκαν. Επίσης, αντικρουόμενα ήταν τα αποτελέσματα και ως προς την ανταγωνιστικότητα των βιότυπων ήρας προς το σιτάρι. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πρώτου πειράματος, οι βιότυποι ήρας εμφάνισαν υψηλότερο ανταγωνισμό προς το σιτάρι, ενώ στο δεύτερο πείραμα το σιτάρι παρουσίασε μεγαλύτερη ανταγωνιστική ικανότητα σε σύγκριση με τον ανθεκτικό και τον ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας. Τέλος, όσον αφορά το βάρος χιλίων σπόρων που μετρήθηκε στο δεύτερο πείραμα σειράς αντικατάστασης, στατιστικά σημαντική διαφορά καταγράφηκε μόνο στην αναλογία 75:25 του ευαίσθητου και ανθεκτικού βιότυπου, αντίστοιχα. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις το μέσο βάρος χιλίων σπόρων που καταγράφηκε για τον ανθεκτικό πληθυσμό ήταν χαμηλότερο, χωρίς ωστόσο να παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Στις πειραματικές δοκιμές με εφαρμογές glyphosate χωρίς ή σε συνδυασμό με στελεχοκοπή και μειγμάτων του με άλλα ζιζανιοκτόνα, η εφαρμογή στελεχοκοπής παρουσίασε πολύ χαμηλό έλεγχο του *Lolium rigidum*. Η αποτελεσματικότητα αυξήθηκε όπου την εφαρμογή στελεχοκοπής ακολούθησε εφαρμογή glyphosate. Οι εφαρμογές της χαμηλότερης δόσης του glyphosate σε συνδυασμό με στελεχοκοπή, παρουσίασαν χαμηλή έως μέτρια αποτελεσματικότητα στους τρεις από τους τέσσερις αγρούς, αλλά σε συνδυασμό με την υψηλότερη δόση οδήγησαν σε πολύ υψηλά ποσοστά ελέγχου. Όσον αφορά τις επεμβάσεις του συνδυασμού του glyphosate με άλλα ζιζανιοκτόνα, η υψηλότερη αποτελεσματικότητα (100%) παρατηρήθηκε στην περίπτωση μείγματος glyphosate και cycloxydim. Εξαιρετικά υψηλός έλεγχος, όμως, επιτεύχθη και με τους συνδυασμούς glyphosate με τις δραστικές ουσίες flazasulfuron και fluazifop-p-butyl. Για τους συνδυασμούς με τα ζιζανιοκτόνα pendimethalin και chlorotoluron & diflufenican, στατιστικά υψηλότερη αποτελεσματικότητα υπήρξε μόνο στον έλεγχο των ανθεκτικότερων στο glyphosate πληθυσμών.

Στην πειραματική δοκιμή σε ελαιώνα που αποσκοπούσε στην αξιολόγηση μη χημικών μεθόδων στο πλαίσιο διαχείρισης ενός ανθεκτικού στο glyphosate πληθυσμού ήρας, το τελικό ποσοστό ελέγχου από την εφαρμογή glyphosate σε δύο δόσεις ( $720 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$  και  $1440 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$ ) δεν ξεπέρασε το 27%, επιβεβαιώνοντας την πολύ χαμηλή ευαισθησία του πληθυσμού στο glyphosate. Η επέμβαση της εδαφοκάλυψης περιόρισε αποτελεσματικά την εξάπλωση του ζιζανίου τις πρώτες 8 εβδομάδες, αλλά η υψηλή αποτελεσματικότητα δεν διατηρήθηκε έως τις 16 εβδομάδες λόγω φυσικής φθοράς του υλικού επίστρωσης. Η αποτελεσματικότητα των εφαρμογών της στελεχοκοπής ήταν χαμηλή σε όλες τις αξιολογήσεις που πραγματοποιήθηκαν, καθώς επαναλαμβανόμενες εφαρμογές στελεχοκοπής φάνηκε να είναι απαραίτητες. Την υψηλότερη αποτελεσματικότητα στον περιορισμό της επιβίωσης του ανθεκτικού βιότυπου, παρείχαν οι επεμβάσεις των καλλιεργειών κάλυψης με τελικά ποσοστά ελέγχου 78% και 82%, για το κτηνοτροφικό μπιζέλι και το κτηνοτροφικό μπιζέλι & τη βρώμη, αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής επιβεβαιώνουν την αναγκαιότητα ολιστικής προσέγγισης του φαινομένου της ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα στο πλαίσιο της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Ζιζανίων. Για τον σχεδιασμό Προγραμμάτων Ολοκληρωμένης Διαχείρισης πρέπει να λαμβάνονται υπόψη η βιολογία και η οικολογική προσαρμογή των ζιζανίων, καθώς και ο συνδυασμός όλων των διαθέσιμων μεθόδων. Περισσότερες παρόμοιες μελέτες σε διαφορετικές περιοχές και συνθήκες είναι αναγκαίες, ενώ τα αποτελέσματα τους πρέπει να μεταφέρονται και να προσαρμόζονται στα προγράμματα των παραγωγών στο πλαίσιο της αειφόρου γεωργίας.

### **Επιστημονική περιοχή: Ζιζανιολογία**

**Λέξεις κλειδιά:** *Lolium rigidum*, ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα, glyphosate, glufosinate, κόστος προσαρμοστικότητας, καλλιέργειες κάλυψης, εδαφοκάλυψη, στελεχοκοπή, ολοκληρωμένη διαχείριση ζιζανίων.

# Evaluation of the resistance of *Lolium* spp. biotypes to the herbicides glyphosate and glufosinate, fitness cost study and integrated weed management

Department of Crop Science  
Laboratory of Agronomy

## ABSTRACT

Glyphosate is the most widely used herbicide for weed management in annual and perennial crops, as well as non-crop areas. However, glyphosate-resistant weeds are a growing challenge in agriculture worldwide, leading to additional management costs and losses in crop yield. In addition, the use of glufosinate, a herbicide used to manage glyphosate-resistant biotypes, has now been withdrawn from the European Union, while glufosinate-resistant weed populations have also been reported. A weed species with several resistance cases worldwide is ryegrass (*Lolium* spp.). The continued occurrence of resistant weed biotypes makes weed control even more challenging in an environment of continuous withdrawal from synthetic herbicides.

Early detection of herbicide-resistant biotypes before they become widespread is critical in weed resistance management. In the present thesis, 54 and 39 *Lolium rigidum* biotypes were examined as possible resistant to glyphosate and glufosinate, respectively. The evaluation was carried out with dose-response experiments and confirmed for glyphosate through the shikimic acid biochemical method. For the dose-response experiments of glyphosate and glufosinate, the following dose range was used: 0,  $x/8$ ,  $x/4$ ,  $x/2$ ,  $x$ ,  $2x$ ,  $4x$  and  $8x$ , where  $x$  was the recommended dose of each herbicide, i.e.  $720 \text{ g a.i. ha}^{-1}$  and  $750 \text{ g a.i. ha}^{-1}$ , respectively. Also, Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) measurements were investigated as a quick tool for glyphosate and glufosinate resistance confirmation. Furthermore, temperature effect on the susceptibility of resistant biotypes of ryegrass to glyphosate was investigated in pot experiments under controlled growth conditions. Resistant biotypes were studied for potential fitness cost due to glyphosate resistance. In more detail, the competitive ability of two confirmed resistant and one susceptible biotype was examined in two greenhouse experiments under greenhouse conditions. Plants were grown in pots in monoculture and in mixtures of different ratios (100:0, 75:25, 50:50, 25:75 and 0:100), but of the same seed density ( $578 \text{ plants m}^{-2}$ ). The Replacement Series experimental design was used for both fitness cost experiments. Finally, in the framework of new practices of integrated weed management, mixtures of glyphosate with herbicides of different modes of action and alternative non-chemical methods were evaluated for the efficacy on managing resistant populations of *L. rigidum* on the field. The efficacy of

glyphosate applications alone or combined with mowing and mixtures of other herbicides (pendimethalin, cycloxydim, flazasulfuron, chlorotoluron & diflufenican and fluazifop-p-butyl) was evaluated in four orchards of high *L. rigidum* population densities and where glyphosate was frequently applied. The following doses were used for the synthetic herbicides: glyphosate – 720 g a.i. ha<sup>-1</sup>, 1440 g a.i. ha<sup>-1</sup>, pendimethalin – 1365 g a.i. ha<sup>-1</sup>, cycloxydim – 200 g a.i. ha<sup>-1</sup>, flazasulfuron – 200 g a.i. ha<sup>-1</sup>, chlorotoluron – 1500 g a.i. ha<sup>-1</sup> & diflufenican – 100 g a.i. ha<sup>-1</sup> and fluazifop-p-butyl – 150 g a.i. ha<sup>-1</sup>. The evaluation of alternative non-chemical methods compared to glyphosate applications (720 g a.i. ha<sup>-1</sup> and 1440 g a.i. ha<sup>-1</sup>) was carried out in an olive grove where a confirmed resistant population of *L. rigidum* was present. Non-chemical methods included cover crops (forage pea, forage pea & oat), hay mulch and mowing.

According to the results of dose-response experiments, the occurrence of *L. rigidum* resistance to glyphosate and glufosinate was confirmed. Firstly, the existence and the level of glyphosate resistance in 7 biotypes of *L. rigidum* from olives, vineyards and citrus in the prefectures of Etoloakarnania, Viotia and Fthiotida, respectively, were confirmed. In more detail, the two reference biotypes from Australia and Spain (AUS.1 and SPN.2, respectively) were 14- to 19- fold resistant, the two of the four Greek biotypes (AIT.1 and BOI.1) were 7- to 9- fold resistant and the other two (ΦΘΙ.3 and AIT.15) were 2- to 3- fold resistant to glyphosate compared to the susceptible reference biotype (ATT.S1). Similarly, the existence and the level of glufosinate resistance in 4 biotypes of *L. rigidum* of pomegranate, apple and citrus crops and vineyards in the regions of Central Greece and the Peloponnese were confirmed. The LD<sub>50</sub> values for the confirmed resistant biotypes AIT.7 and ΦΘΙ.1 indicated 15 and 13-fold higher resistant index compared to the susceptible reference biotype (ATT.S1). Accordingly, the resistance index, based on LD<sub>50</sub> values, for biotypes BOI.1 and KOR.2 was 5 and 2.5, respectively.

The results of the shikimic acid biochemical method were consistent with the results of the dose-response experiments of the herbicide glyphosate, in terms of the level of resistance. In particular, biotypes AUS.1 and SPN.2 showed significantly lower concentrations of shikimic acid at the different concentrations of glyphosate (0.1, 10, 50, 500 and 1000 μM) compared to the susceptible biotype ATT.S1. In contrast, the Greek biotypes AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3 and AIT.15, with much lower shikimic acid concentrations at the lower glyphosate concentrations (0.1 and 10 μM), significantly reduced this difference at the higher concentrations of glyphosate (100, 500 and 1000 μM). Regarding NDVI measurements, different values were observed only in cases of high susceptibility differences in the two herbicides between biotypes.

In the trial conducted at two different temperature levels (10/4°C and 16/10°C, day/night) no symptoms (e.g. chlorosis) were observed 4 weeks after



application for the confirmed glyphosate-resistant biotypes grown at higher temperatures. However, plants of the same biotypes grown at lower temperature conditions exhibited symptoms 2 weeks after application. The resistant biotypes AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1 and ΦΘI.3, in contrast to the susceptible biotype ATT.S1, showed a statistically significant reduction in the fresh weight of the *L. rigidum* plants after glyphosate application at all 3 doses glyphosate when grown under low day/night temperatures. An exception was observed for the resistant biotype AIT.15.

Regarding fitness cost experiments, the glyphosate resistant biotypes showed lower competitive ability compared to the susceptible biotype. However, there was no apparent fitness cost associated with glyphosate resistance for both resistant biotypes examined. Also, there were ambiguous results regarding the competitiveness of rigid ryegrass biotypes towards wheat in both experiments. In the first experiment, rigid ryegrass biotypes showed higher competition to wheat, while in the second one, wheat competitiveness to ryegrass was higher. Finally, regarding the thousand seed weight (TSW) measured in the second replacement series experiment, a statistically significant difference was recorded only in the ratio of 75:25 of the susceptible and resistant biotype, respectively. In the other proportions, the average thousand seed weight recorded for the resistant population was lower, however without statistically significant differences being observed.

In the experimental trials of glyphosate, applications in combination or not with mowing and mixtures with other herbicides, mowing application couldn't control *L. rigidum*. Efficacy was increased where mowing was followed by glyphosate application. Application of the lowest rate of glyphosate combined with mowing provided low to moderate efficacy in three of the four fields, but combined with the highest rate resulted in high efficacy results. Regarding the treatments of mixtures of glyphosate with other herbicides, the highest efficacy (100%) was observed in the case of a glyphosate and cycloxydim mixture. Nevertheless, high control was also achieved with the mixture of glyphosate and the active substances flazasulfuron and fluazifop-p-butyl. Mixtures with the herbicides pendimethalin and chlorotoluron & diflufenican provided statistically higher efficacy only for the most resistant populations.

In the olive grove trial for the evaluation of non-chemical methods for the glyphosate-resistant ryegrass population management, the final control of glyphosate application in both rates (720 g a.i. ha<sup>-1</sup> and 1440 g a.i. ha<sup>-1</sup>) did not exceed 27%. Thus, the low sensitivity of the population to glyphosate was confirmed. Mulch treatment effectively limited weed spread in the first 8 weeks, but high efficacy was not maintained up to 16 weeks due to natural wear of the mulch material. Efficacy of mowing application was low in all evaluations carried out, as repeated applications of mowing are regarded as necessary. The highest efficacy in limiting the survival of the resistant biotype

was provided by cover crop treatments with final control rates of 78% and 82%, for forage pea and forage pea & oat, respectively.

The results of the present thesis confirm the necessity of a holistic approach to the resistance to herbicides as a part of Integrated Weed Management. The design of Integrated Management Programs should take into account the biology and ecological adaptation of weeds, as well as the combination of all available methods. More similar studies in different regions and conditions are necessary, while their results should be transferred and adapted to producers' programs in the framework of sustainable agriculture.

**Scientific area:** Weed science

**Keywords:** *Lolium rigidum*, herbicide resistance, glyphosate, glufosinate, fitness cost, cover crops, mulch, mowing, integrated weed management.

*Στους γονείς μου  
Χριστόφορο και Ευαγγελία  
για την παντοτινή στήριξή τους*

*και την αδελφή μου Αγγελική  
για την αγάπη με την οποία με περιβάλλει  
από τότε που θυμάμαι τον εαυτό μου*

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Καταρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντά μου Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ηλία Τραυλό για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, αλλά και γιατί η επιστημονική του σκέψη, μεθοδολογία και συνδρομή υπήρξαν ανεκτίμητες και καθοριστικές για την εκπόνηση της παρούσας διατριβής.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω θερμές ευχαριστίες στον Καθηγητή κ. Δημήτριο Μπιλάλη που μου άνοιξε την πόρτα του Εργαστηρίου Γεωργίας, ένα εργαστήριο μέσα στο οποίο εξελίχθηκα σε πολλά επίπεδα. Τον ευχαριστώ πρωτίστως για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, καθώς και για τη συμπαράσταση και την καθοδήγησή του σε όλα τα στάδια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ανέστη Καρκάνη για την υποστήριξή του και για τις πολύτιμες επισημάνσεις του κατά τη συγγραφή της παρούσας διατριβής.

Οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στις Καθηγήτριες κα. Γαρυφάλια Οικονόμου και κα. Παναγιώτα-Θηρεσία Παπαστυλιανού για τη συνεχή στήριξη τους και τη ζεστασιά με την οποία με περιέβαλαν καθ' όλη τη διάρκεια της παραμονής μου στο Εργαστήριο Γεωργίας.

Δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω τον Διευθυντή Ερευνών του ΜΦΙ, κ. Δημοσθένη Χάχαλη για τη συμβολή του ως προς τις μετρήσεις που έλαβαν χώρα στο ΜΦΙ, καθώς και για την περαιτέρω διεύρυνση της επιστημονικής μου κατάρτισης κατά τη διάρκεια της παραμονής μου εκεί.

Τους υποψήφιους διδάκτορες Αγγελική Κούστα, Αναστασία Τσεκούρα, Νικόλαο Αντωνόπουλο, Ιωάννη Γαζούλη και Αλέξανδρο Ταταρίδα ευχαριστώ για την όμορφη και αρμονική συνεργασία. Ένα ξεχωριστό ευχαριστώ και στους υποψήφιους διδάκτορες Μαρία Γερακάρη και Αντώνιο Αλεξό για τις πολύωρες γεωπονικές - και όχι μόνο - συζητήσεις μας.

Τέλος, εκφράζω το μεγαλύτερο ευχαριστώ στον πιο πολύτιμο συνεργάτη, σύντροφο και συνοδοιπόρο κ. Ιωάννη Μπιρμπίλη του οποίου η αγάπη και η στήριξη υπήρξε καθοριστική για την ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής.

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

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	iii
ABSTRACT .....	vii
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	xii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ .....	xvii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ .....	xxiv
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ .....	xxvii
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ, ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΔΟΜΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ .....	1
1.1 Εισαγωγή .....	1
1.2 Σκοπός/Αντικείμενο διατριβής .....	4
1.3 Δομή διατριβής .....	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ .....	6
2.1 Το ζιζάνιο Ήρα του γένους <i>Lolium</i> .....	6
2.2 Οικονομική σημασία και διαχείριση ζιζανίου .....	12
2.3 Ζιζανιοκτόνα Glyphosate και Glufosinate-ammonium .....	16
2.3.1 Το ζιζανιοκτόνο Glyphosate .....	16
2.3.2 Το ζιζανιοκτόνο Glufosinate-ammonium .....	20
2.4 Ανθεκτικότητα ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα .....	23
2.4.1 Ορισμοί και έννοιες .....	23
2.4.2 Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας .....	25
2.4.3 Ανθεκτικότητα ζιζανίων στο ζιζανιοκτόνο glyphosate .....	28
2.4.4 Ανθεκτικότητα ζιζανίων στο ζιζανιοκτόνο glufosinate-ammonium .....	31
2.4.5 Διερεύνηση ανθεκτικότητας .....	33
2.5 Οικολογική προσαρμοστικότητα και ανθεκτικότητα .....	37
2.6 Ολοκληρωμένη διαχείριση ζιζανίων (ΟΔΖ) – Integrated Weed Management (IWM) .....	40
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	52
3.1 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΤΥΠΩΝ <i>LOLIUM RIGIDUM</i> ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΖΙΖΑΝΙΟΚΤΟΝΑ GLYPHOSATE ΚΑΙ GLUFOSINATE .....	52
3.1.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΕ ΦΥΤΟΔΟΧΕΙΑ .....	52

3.1.1.1	Πολλαπλασιαστικό υλικό.....	52
3.1.1.2	Διερεύνηση ανθεκτικότητας (Resistance screening) .....	53
3.1.1.3	Πειράματα δόσης-απόκρισης (dose-response) για επιβεβαίωση ανθεκτικότητας λεπτής ήρας και αξιολόγηση επιπέδου ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate.....	56
3.1.1.3.1	Πείραμα Α .....	57
3.1.1.3.2	Πείραμα Β .....	57
3.1.1.3.3	Επίδραση θερμοκρασίας στα επίπεδα ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate .....	59
3.1.1.4	Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας σε glyphosate μέσω της βιοχημικής μεθόδου του σικιμικού οξέος (shikimic acid assay).....	60
3.1.1.5	Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας σε glyphosate μέσω του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI).....	61
3.1.1.6	Πειράματα δόσης-απόκρισης (dose-response) για επιβεβαίωση ανθεκτικότητας λεπτής ήρας και αξιολόγηση επιπέδου ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate.....	62
3.1.1.6.1	Πείραμα Α .....	62
3.1.1.6.2	Πείραμα Β .....	63
3.1.1.7	Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας στο glufosinate μέσω του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI).....	64
3.2	ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ .....	65
3.2.1	ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΕ ΦΥΤΟΔΟΧΕΙΑ .....	65
3.2.1.1	Εισαγωγή.....	65
3.2.1.2	Πολλαπλασιαστικό υλικό.....	66
3.2.1.3	Πείραμα Α σειράς αντικατάστασης (Replacement Series) .....	67
3.2.1.3.1	Μετρήσεις .....	68
3.2.1.3.2	Στατιστική ανάλυση.....	70
3.2.1.4	Πείραμα Β σειράς αντικατάστασης (Replacement Series) .....	71
3.2.1.4.1	Μετρήσεις .....	72
3.2.1.4.2	Στατιστική ανάλυση.....	73
3.2.2	ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΓΡΟΥ.....	74

3.2.2.1 Αποτελεσματικότητα του ζιζανιοκτόνου glyphosate και μειγμάτων του έναντι του ζιζανίου <i>L. rigidum</i> σε πολυετείς καλλιέργειες στην Ελλάδα .....	74
3.2.2.1.1 Σχεδιασμός Πειράματος .....	75
3.2.2.1.2 Επεμβάσεις .....	79
3.2.2.1.3 Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας στον έλεγχο του <i>L. rigidum</i> .....	83
3.2.2.1.4 Στατιστική ανάλυση .....	84
3.2.2.2 Διαχείριση ανθεκτικού πληθυσμού <i>L. rigidum</i> με μη χημικά μέσα.....	84
3.2.2.2.1 Σχεδιασμός Πειράματος .....	85
3.2.2.2.2 Επεμβάσεις .....	86
3.2.2.2.3 Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας στον έλεγχο του ζιζανίου <i>L. rigidum</i> .....	92
3.2.2.2.4 Στατιστική ανάλυση .....	94
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	95
4.1 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΤΥΠΩΝ <i>LOLIUM RIGIDUM</i> ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΖΙΖΑΝΙΟΚΤΟΝΑ GLYPHOSATE ΚΑΙ GLUFOSINATE .....	95
4.1.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΕ ΦΥΤΟΔΟΧΕΙΑ .....	95
4.1.1.1 Διερεύνηση ανθεκτικότητας (Resistance screening) .....	95
4.1.1.2 Πειράματα δόσης-απόκρισης (dose-response) για επιβεβαίωση ανθεκτικότητας και αξιολόγηση επιπέδου ανθεκτικότητας λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate.....	99
4.1.1.2.1 Πείραμα Α .....	99
4.1.1.2.2 Πείραμα Β .....	102
4.1.1.2.3 Επίδραση θερμοκρασίας στα επίπεδα ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate .....	105
4.1.1.3 Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας σε glyphosate μέσω της βιοχημικής μεθόδου του σικιμικού οξέος (shikimic acid assay).....	110
4.1.1.4 Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας σε glyphosate μέσω του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI).....	111
4.1.1.5 Πείραμα δόσης-απόκρισης (dose-response) για επιβεβαίωση ανθεκτικότητας λεπτής ήρας και αξιολόγηση επιπέδου ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate.....	116

4.1.1.5.1 Πείραμα Α .....	116
4.1.1.5.2 Πείραμα Β .....	118
4.1.1.6 Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας σε glufosinate μέσω του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI)...	121
4.2 ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ .....	123
4.2.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΕ ΦΥΤΟΔΟΧΕΙΑ .....	123
4.2.1.1 Πείραμα Α σειράς αντικατάστασης (Replacement Series) ....	123
4.2.1.1.1 Σχετική απόδοση .....	123
4.2.1.1.2 Ύψος φυτών .....	125
4.2.1.1.2.1 Ήρα σε ανταγωνισμό με το σιτάρι .....	125
4.2.1.1.2.2 Ήρα σε ανταγωνισμό με ήρα.....	127
4.2.1.1.3 Ξηρό βάρος ταξιανθίας .....	129
4.2.1.2 Πείραμα Β σειράς αντικατάστασης (Replacement Series) ....	131
4.2.1.2.1 Σχετική απόδοση .....	131
4.2.1.2.2 Σχετική φυλλική επιφάνεια .....	133
4.2.1.2.3 Ύψος φυτών και αδελφωμα ήρας .....	136
4.2.1.2.3.1 Ήρα ανταγωνισμό με το σιτάρι.....	136
4.2.1.2.3.2 Ήρα σε ανταγωνισμό με ήρα.....	139
4.2.1.2.4 Βάρος χιλίων σπόρων (ΒΧΣ) .....	141
4.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΓΡΟΥ.....	143
4.2.2.1 Αποτελεσματικότητα του ζιζανιοκτόνου glyphosate και των μειγμάτων του έναντι του ζιζανίου <i>L. rigidum</i> σε πολυετείς καλλιέργειες στην Ελλάδα .....	143
4.2.2.2 Αξιολόγηση διαχείρισης ανθεκτικού πληθυσμού <i>L. rigidum</i> με μη χημικά μέσα .....	150
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	164
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΣΥΝΟΨΗ .....	199
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>206</b>



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

- Γράφημα 1.** Είδη ζιζανίων που έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στο glyphosate παγκοσμίως. Πηγή: [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org) (Online: 04.10.20). ..... 29
- Γράφημα 2.** Ελάχιστη ( $T_{min}$ ), μέση ( $T_{mean}$ ) και μέγιστη ( $T_{max}$ ) μέση θερμοκρασία ανά μήνα στον πειραματικό αγρό στην περιοχή του Αιτωλικού κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος. .... 77
- Γράφημα 3.** Ελάχιστη ( $T_{min}$ ), μέση ( $T_{mean}$ ) και μέγιστη ( $T_{max}$ ) μέση θερμοκρασία ανά μήνα στον πειραματικό αγρό στην περιοχή του Νεοχωρίου κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος. .... 77
- Γράφημα 4.** Ελάχιστη ( $T_{min}$ ), μέση ( $T_{mean}$ ) και μέγιστη ( $T_{max}$ ) μέση θερμοκρασία ανά μήνα στον πειραματικό αγρό στην περιοχή της Άσκρης κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος. .... 78
- Γράφημα 5.** Ελάχιστη ( $T_{min}$ ), μέση ( $T_{mean}$ ) και μέγιστη ( $T_{max}$ ) μέση θερμοκρασία ανά μήνα στον πειραματικό αγρό στην περιοχή της Λαμίας κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος. .... 78
- Γράφημα 6.** Ελάχιστη ( $T_{min}$ ), μέση ( $T_{mean}$ ) και μέγιστη ( $T_{max}$ ) μέση θερμοκρασία ( $^{\circ}C$ ) ανά μήνα στον πειραματικό ελαιώνα κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος. 86
- Γράφημα 7.** Έλεγχος ανθεκτικότητας 54 βιότυπων *L. rigidum* στο ζιζανιοκτόνο glyphosate στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης. Οι γκρι στήλες αντιπροσωπεύουν τα φυτά ήρας που έχουν επιβιώσει, ενώ τα σημεία-τελείες αντιπροσωπεύουν τη νωπή βιομάζα των φυτών ήρας (ως ποσοστό του αφέκαστου μάρτυρα) ανά φυτοδοχείο. Οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων του νωπού βάρους ( $n=4$ ). ..... 97
- Γράφημα 8.** Έλεγχος ανθεκτικότητας 39 βιότυπων *L. rigidum* στο ζιζανιοκτόνο glufosinate στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης. Οι γκρι στήλες αντιπροσωπεύουν τα φυτά ήρας που έχουν επιβιώσει, ενώ τα σημεία-τελείες αντιπροσωπεύουν τη νωπή βιομάζα των φυτών ήρας (ως ποσοστό του αφέκαστου μάρτυρα) ανά φυτοδοχείο. Οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων του νωπού βάρους ( $n=4$ ). ..... 98
- Γράφημα 9.** Νωπό βάρος φυτών λεπτής ήρας ανά φυτοδοχείο (εκφρασμένο ως ποσοστό του αφέκαστου μάρτυρα) σε τρεις διαφορετικές δόσεις του ζιζανιοκτόνου glyphosate ( $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ ) στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή για 16 βιότυπους ήρας (SPN.1, SPN.2, AUS.1, AFR., AIT.1, AIT.4, ΦΘΙ.3, ATT.4, AIT.7, AIT.12, ΒΟΙ.1, AIT.15, AIT.17, ΠΥΡ.1, ATT.S1 και AIT.S2). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή και οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων..... 101
- Γράφημα 10.** Καμπύλες δόσης-απόκρισης, προσαρμοσμένες σε λογαριθμική κλίμακα δόσης, για τους επτά βιότυπους *L. rigidum* (AUS.1, SPN.2, AIT.1, ΒΟΙ.1, ΦΘΙ.3, AIT.15, ATT.S1) σε διαφορετικές δόσεις του ζιζανιοκτόνου glyphosate ( $x/8$ ,  $x/4$ ,  $x/2$ ,  $x$ ,  $2x$ ,  $4x$  και  $8x$ ) στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή. (α) Καμπύλη δόσης-απόκρισης ως προς το ποσοστό μείωσης νωπού βάρους των φυτών ήρας. (β) Καμπύλη δόσης-απόκρισης ως προς το ποσοστό επιβίωσης των φυτών ήρας. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή και οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων ( $n=10$ ). ..... 104

- Γράφημα 11.** Μέσο νωπό βάρος φυτών λεπτής ήρας για τους βιότυπους AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3, AIT.15 και ATT.S1 ως ποσοστό επί του αφέκαστου μάρτυρα, τέσσερις εβδομάδες μετά από εφαρμογή glyphosate σε τρεις διαφορετικές δόσεις ( $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ ) και σε δύο επίπεδα θερμοκρασίας ( $10/4^{\circ}\text{C}$  και  $16/10^{\circ}\text{C}$  ημέρα/νύχτα). Τα μικρά λατινικά γράμματα  $a$ ,  $b$  επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των μέσων. .... 108
- Γράφημα 12.** Μέσες τιμές NDVI για τις επεμβάσεις του αφέκαστου μάρτυρα και των τριών δόσεων glyphosate ( $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ ) μία εβδομάδα μετά την εφαρμογή του glyphosate. Οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν τα  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων ( $n=3$ ). ..... 114
- Γράφημα 13.** Μέσες τιμές NDVI για τις επεμβάσεις του αφέκαστου μάρτυρα και των τριών δόσεων glyphosate ( $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ ) δύο εβδομάδες μετά την εφαρμογή του glyphosate. Οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν τα  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων ( $n=3$ ). ..... 115
- Γράφημα 14.** Νωπό βάρος φυτών ήρας ανά φυτοδοχείο (εκφρασμένο ως ποσοστό του αφέκαστου μάρτυρα) σε τρεις διαφορετικές δόσεις του ζιζανιοκτόνου glufosinate ( $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ ) στις τρεις εβδομάδες μετά την εφαρμογή για 13 βιότυπους λεπτής ήρας (AIT.7, AIT.11, AIT.13, AIT.14, AIT.19, ATT.4, BOI.1, BOI.6, BOI.7, KOP.2, ΦΘΙ.1, ΦΘΙ.6 και ATT.S1) Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή και οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων. .... 117
- Γράφημα 15.** Καμπύλες δόσης-απόκρισης, προσαρμοσμένες σε λογαριθμική κλίμακα δόσης, για τους πέντε βιότυπους *L. rigidum* (AIT.7, ΦΘΙ.1, BOI.1, KOP.2 και ATT.S1) σε διαφορετικές δόσεις του ζιζανιοκτόνου glufosinate ( $x/8$ ,  $x/4$ ,  $x/2$ ,  $x$ ,  $2x$ ,  $4x$  και  $8x$ ) στις τρεις εβδομάδες μετά την εφαρμογή. (α) Καμπύλη δόσης-απόκρισης ως προς το ποσοστό μείωσης νωπού βάρους των φυτών ήρας. (β) Καμπύλη δόσης-απόκρισης ως προς το ποσοστό επιβίωσης των φυτών ήρας. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή και οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων ( $n=10$ ). ..... 120
- Γράφημα 16.** Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[S]), του σιταριού (RY[W]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσεως των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*L. rigidum*, *T. durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά. .... 123
- Γράφημα 17.** Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[R]), του σιταριού (RY[W]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσεως των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*L. rigidum*, *T. durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά. .... 124
- Γράφημα 18.** Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[S]), του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[R]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσεως των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν

τα φυτά των διαφορετικών βιότυπων του είδους *L. rigidum* αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά. .... 125

**Γράφημα 19.** Μέσοι όροι ύψους φυτών ευαίσθητου (S) και ανθεκτικού (R) στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με σιτάρι στις 30 και 60 ημέρες από την σπορά (30 και 60 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία της λεπτής ήρας στα φυτοδοχεία... 126

**Γράφημα 20.** Μέσοι όροι ύψους φυτών σιταριού σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με ευαίσθητο (S) και ανθεκτικό (R) στο glyphosate βιότυπο λεπτής ήρας στις 30 και 60 ημέρες από την σπορά (30 και 60 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία του σιταριού στα φυτοδοχεία..... 127

**Γράφημα 21.** Μέσοι όροι ύψους φυτών ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (S) και ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (R) στις 30 και 60 ημέρες από τη σπορά (30 και 60 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0,05$ . Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά..... 128

**Γράφημα 22.** Μέσοι όροι ξηρού βάρους ταξιανθίας φυτών ήρας ( $\alpha$ ) σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας και ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας ([S] vs. [R]) και ( $\beta$ ) σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ήρας και σιταριού ([S]/[R] vs.[W]). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία της λεπτής ήρας στα φυτοδοχεία. .... 129

**Γράφημα 23.** Μέσοι όροι ξηρού βάρους ταξιανθίας φυτών σιταριού σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με ευαίσθητο και ανθεκτικό στο glyphosate βιότυπο λεπτής ήρας ([S]/[R] vs. [W]). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία του σιταριού στα φυτοδοχεία. .... 130

**Γράφημα 24.** Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[S]), του σιταριού (RY[W]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσεως των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*L. rigidum*, *T. durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε λεπτή ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά. .... 131

**Γράφημα 25.** Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[R]), του σιταριού (RY[W]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσεως των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*Lolium rigidum*, *Triticum durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε λεπτή ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά. .... 132

**Γράφημα 26.** Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου

λεπτής ήρας (RY[S]), του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[R]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσει των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά των διαφορετικών βιότυπων του είδους *L. rigidum* αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά..... 133

**Γράφημα 27.** Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής φυλλικής επιφάνειας του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RLA[S]), του σιταριού (RLA[W]) και της σχετικής συνολικής φυλλικής επιφάνειας (TRLA) συναρτήσει των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*L. rigidum*, *T. durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά..... 134

**Γράφημα 28.** Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής φυλλικής επιφάνειας του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RLA[R]), του σιταριού (RLA[W]) και της σχετικής συνολικής φυλλικής επιφάνειας (TRLA) συναρτήσει των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*L. rigidum*, *T. durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε λεπτή ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά. .... 135

**Γράφημα 29.** Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής φυλλικής επιφάνειας του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RLA[S]), του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RLA[R]) και της σχετικής συνολικής φυλλικής επιφάνειας (TRLA) συναρτήσει των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά των διαφορετικών βιότυπων του είδους *L. rigidum* αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά. .... 136

**Γράφημα 30.** Μέσοι όροι ύψους φυτών ευαίσθητου (S) και ανθεκτικού (R) στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με σιτάρι στις 45, 65 και 85 ημέρες από την σπορά (45, 65 και 85 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία της λεπτής ήρας στα φυτοδοχεία. .... 138

**Γράφημα 31.** Μέσοι όροι αριθμού αδελφιών ευαίσθητου (S) και ανθεκτικού (R) στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με σιτάρι στις 85 ημέρες από την σπορά (85 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία της λεπτής ήρας στα φυτοδοχεία..... 139

**Γράφημα 32.** Μέσοι όροι ύψους φυτών ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (S) και ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (R) στις 45, 65 και 85 ημέρες από την σπορά (45, 65 και 85 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά..... 140

**Γράφημα 33.** Μέσοι όροι αριθμού αδελφιών ευαίσθητου (S) και ανθεκτικού (R) στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με σιτάρι στις 85 ημέρες από την σπορά (85 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά..... 141

**Γράφημα 34.** Μέσοι όροι βάρους χιλίων σπόρων ήρας ( $\alpha$ ) σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας και ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας ([S] vs. [R]) και ( $\beta$ ) σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ήρας και σιταριού ([S]/[R] vs. [W]). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία της λεπτής ήρας στα φυτοδοχεία... 142

**Γράφημα 35.** Μέσοι όροι βάρους χιλίων σπόρων σιταριού σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με ευαίσθητο και ανθεκτικό στο glyphosate βιότυπο λεπτής ήρας ([S]/[R] vs. [W]). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία του σιταριού στα φυτοδοχεία. .... 142

**Γράφημα 36.** Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου (στελεχ.), glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyph 720 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) (glyph), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyph 1440 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + pendimethalin (glyph + pen), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + cycloxydim (glyph + cycl), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + flazasulfuron (glyph + flaz), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + chlorotoluron + diflufenican (glyph + chlor + dif), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + fluazifop-p-butyl, (glyph + fluaz) για τον έλεγχο του *L. rigidum* σε ελαιώνα στην περιοχή του Αιτωλικού, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή. .... 144

**Γράφημα 37.** Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου (στελεχ.), glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyph 720 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) (glyph), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyph 1440 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + pendimethalin (glyph + pen), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + cycloxydim (glyph + cycl), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + flazasulfuron (glyph + flaz), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + chlorotoluron + diflufenican (glyph + chlor + dif), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + fluazifop-p-butyl, (glyph + fluaz)] για τον έλεγχο του *L. rigidum* σε ελαιώνα στην περιοχή της Λαμίας, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή. . 145

**Γράφημα 38.** Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου (στελεχ.), glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyph 720 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) (glyph), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyph 1440 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + pendimethalin (glyph + pen), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + cycloxydim (glyph + cycl), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + flazasulfuron (glyph + flaz), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + chlorotoluron + diflufenican (glyph + chlor + dif), glyphosate (1440 g δ.ο.

ha<sup>-1</sup>) + fluazifop-p-butyl, (glyp + fluaz)] για τον έλεγχο του *L. rigidum* σε αμπελώνα στην περιοχή της Άσκλης, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p <0,05) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή.

..... 146

**Γράφημα 39.** Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου (στελεχ.), glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyp 720 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) (glyp), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + στελεχοκοπή (glyp 1440 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + pendimethalin (glyp + pen), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + cycloxydim (glyp + cycl), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + flazasulfuron (glyp + flaz), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + chlorotoluron + diflufenican (glyp + chlor + dif), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + fluazifop-p-butyl, (glyp + fluaz)] για τον έλεγχο του *L. rigidum* σε δένδρωνα εσπεριδοειδών στην περιοχή του Νεοχωρίου, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d ,e επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p <0,05) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή..... 147

**Γράφημα 40.** Σύγκριση των πληθυσμών ήρας των τεσσάρων περιοχών (Αιτωλικό, Νεοχώρι, Άσκλη, Λαμία) ως προς την αποτελεσματικότητα των επεμβάσεων του glyphosate στην υψηλή δόση (glyphosate 1440), του glyphosate στις δύο δόσεις σε συνδυασμό με στελεχοκοπή (glyphosate 720 + στελεχ. & glyphosate 1440 + στελεχ.) και glyphosate σε συνδυασμό με cycloxydim (glyphosate + cycloxydim) στις τέσσερις εβδομάδες μετά τις εφαρμογές. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p <0,05) μεταξύ των μέσων της κάθε επέμβασης ανά περιοχή..... 149

**Γράφημα 41.** Σύγκριση των πληθυσμών ήρας των τεσσάρων περιοχών (Αιτωλικό, Νεοχώρι, Άσκλη, Λαμία) ως προς την αποτελεσματικότητα των επεμβάσεων του glyphosate στην υψηλή δόση (glyphosate 1440), του glyphosate στις δύο δόσεις σε συνδυασμό με στελεχοκοπή (glyphosate 720 + στελεχ. & glyphosate 1440 + στελεχ.) και glyphosate σε συνδυασμό με cycloxydim (glyphosate + cycloxydim) στις οκτώ εβδομάδες μετά τις εφαρμογές. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p <0,05) μεταξύ των μέσων της κάθε επέμβασης ανά περιοχή..... 150

**Γράφημα 42.** Μέσος όρος μετρήσεων NDVI για την επέμβαση του μάρτυρα και τις επεμβάσεις των δύο δόσεων glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> και 720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) στη μία εβδομάδα μετά την εγκατάσταση του πειράματος. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p <0,05). ..... 152

**Γράφημα 43.** Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας έξι διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή, εφαρμογή glyphosate 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, εφαρμογή glyphosate 720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, εδαφοκάλυψη με επίστρωμα σανού μηδικής, καλλιέργεια κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι), καλλιέργεια κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι + βρώμη)] ως προς τον έλεγχο του *L. rigidum* σε ελαιώνα στον Πύργο Ηλείας στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εγκατάσταση του πειράματος. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p <0,05) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εγκατάσταση του πειράματος.. 154

**Γράφημα 44.** Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας έξι διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή, εφαρμογή glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>), εφαρμογή glyphosate 720 g

δ.ο. ha<sup>-1</sup>: εδαφοκάλυψης με επίστρωμα σανού μηδικής, καλλιέργεια κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι), καλλιέργεια κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι + βρώμη)] ως προς τον έλεγχο του *L. rigidum* σε ελαιώνα στον Πύργο Ηλείας στις τέσσερις, οκτώ και δεκαέξι εβδομάδες από την εγκατάσταση του πειράματος. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις, οκτώ και δεκαέξι εβδομάδες από την εγκατάσταση του πειράματος. .... 161

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

- Εικόνα 1.** (α) Κυρίαρχα γένη αγρωστωδών ζιζανίων σε καλλιέργειες σιτηρών στην Ευρώπη. (β) Γένη αγρωστωδών ζιζανίων που κατατάσσονται ως τα δεύτερα συχνότερα για την καλλιέργεια του σιταριού στην Ευρώπη. (Πηγή: Krähler, 2016). 11
- Εικόνα 2.** Δισδιάστατη και τρισδιάστατη απεικόνιση της χημικής δομής του μορίου του glyphosate (Πηγή: PubChem, URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)..... 17
- Εικόνα 3.** Δισδιάστατη και τρισδιάστατη απεικόνιση της χημικής δομής του μορίου του glufosinate-ammonium (Πηγή: PubChem, URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)..... 21
- Εικόνα 4.** Τύποι επιλογής φαινοτυπικών γνωρισμάτων (Κατευθύνουσα, σταθεροποιητική και διασπαστική επιλογή) (Πηγή: Βερεσόγλου, 2004; Tamarin, 1999)..... 37
- Εικόνα 5.** Διάταξη φυτών στο πείραμα Α σειράς αντικατάστασης. Οι μεγάλοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν τα φυτοδοχεία. (α) Οι μικροί γεμάτοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ευαίσθητου βιότυπου *L.rigidum* και οι ανοιχτοί μικροί κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ανθεκτικού βιότυπου *L.rigidum*. (b) Οι μικροί γεμάτοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ευαίσθητου/ανθεκτικού βιότυπου *L.rigidum* και τα μικρά ανοιχτά τρίγωνα φυτά σιταριού. Ο αριθμός των φυτών είναι ενδεικτικός και δεν αντιστοιχεί στον πραγματικό αριθμό φυτών ανά φυτοδοχείο. Οι αναλογίες αναφέρονται σε (α) σε ευαίσθητο βιότυπο λεππτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεππής ήρας και (b) ευαίσθητο/ανθεκτικό βιότυπο λεππής ήρας: σιτάρι με φθίνουσα σειρά. 67
- Εικόνα 6.** Παρακολούθηση φυτρώματος και αραίωση φυτών προκειμένου να επιτευχθεί σταθερή πυκνότητα εννέα ημέρες μετά την σπορά στο Πείραμα Α σειράς αντικατάστασης. Με το γράμμα R συμβολίζεται ο ανθεκτικός βιότυπος ήρας και με το γράμμα S ο ευαίσθητος βιότυπος ήρας στην αναλογία 50<sub>ήρα</sub>:50<sub>σιτάρι</sub>. ..... 68
- Εικόνα 7.** Διάταξη φυτών στο πείραμα Β σειράς αντικατάστασης. Οι μεγάλοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν τα φυτοδοχεία. (α) Οι μικροί γεμάτοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ευαίσθητου βιότυπου *L.rigidum* και οι ανοιχτοί μικροί κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ανθεκτικού βιότυπου *L.rigidum*. (b) Οι μικροί γεμάτοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ευαίσθητου/ανθεκτικού βιότυπου *L.rigidum* και τα μικρά ανοιχτά τρίγωνα φυτά σιταριού. Ο αριθμός των φυτών είναι ενδεικτικός και δεν αντιστοιχεί στον πραγματικό αριθμό φυτών ανά φυτοδοχείο. Οι αναλογίες αναφέρονται σε (α) σε ευαίσθητο βιότυπο λεππής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεππής ήρας και (b) ευαίσθητο/ανθεκτικό βιότυπο λεππής ήρας: σιτάρι με φθίνουσα σειρά. 71
- Εικόνα 8.** Μέτρηση βιομάζας φυτών λεππής ήρας και σιταριού 85 ημέρες μετά τη σπορά στο πλαίσιο του Πειράματος Β σειράς αντικατάστασης. .... 73
- Εικόνα 9.** Πειραματικοί αγροί σε τέσσερις περιοχές της Ελλάδας (Αιτωλικό Αιτωλοακαρνανίας, Νεοχώρι Αιτωλοακαρνανίας, Λαμία Φθιώτιδας, Άσκη Βοιωτίας) για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του ζιζανιοκτόνου glyphosate και μειγμάτων του εναντίον του ζιζανίου *L.rigidum* σε πολυετείς καλλιέργειες. .... 75
- Εικόνα 10.** Ομοίομορφη κάλυψη του πειραματικού δενδρώνα εσπεριδοειδών στο Νεοχώρι Αιτωλοακαρνανίας από το ζιζάνιο *L. rigidum*..... 75
- Εικόνα 11.** Σχεδιάγραμμα πειραματικού αγρού σε ελαιώνα στο Αιτωλικό Αιτωλοακαρνανίας..... 82



<b>Εικόνα 12.</b> Σχεδιάγραμμα πειραματικού αγρού σε δένδρωνα με εσπεριδοειδή στο Νεοχώρι Αιτωλοακαρνανίας. ....	82
<b>Εικόνα 13.</b> Σχεδιάγραμμα πειραματικού αγρού σε ελαιώνα στην περιοχή της Λαμίας στον νομό Φθιώτιδας.....	82
<b>Εικόνα 14.</b> Σχεδιάγραμμα πειραματικού αγρού σε αμπελώνα στην περιοχή της Άσκρης στον νομό Βοιωτίας. ....	83
<b>Εικόνα 15.</b> Ομοιόμορφη κάλυψη του πειραματικού ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας από το ζιζάνιο <i>L. rigidum</i> .....	85
<b>Εικόνα 16.</b> Εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου glyphosate με ψεκαστήρα προτιπίεσεως Gloria 405 T .....	88
<b>Εικόνα 17.</b> Σχεδιάγραμμα του πειραματικού ελαιώνα στον Πύργο Ηλείας. Ακολουθήθηκε το πειραματικό σχέδιο τυχαιοποιημένων πλήρων ομάδων. ....	89
<b>Εικόνα 18.</b> Επέμβαση εδαφοκάλυψης με επίστρωμα σανού μηδικής ως εναλλακτική μη χημική μέθοδο διαχείρισης ανθεκτικότητας σε πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	90
<b>Εικόνα 19.</b> Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης μηδικής ως εναλλακτική μη χημική μέθοδο διαχείρισης ανθεκτικότητας σε πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. Πριν τη σπορά προηγήθηκε επιφανειακή κατεργασία εδάφους βάθους 10 cm. ....	91
<b>Εικόνα 20.</b> Πειραματικό τεμάχιο μετά από στελεχοκοπή με χορτοκοπτικό μεσινέζας σε πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	92
<b>Εικόνα 21.</b> Φυτά ήρας τέσσερις εβδομάδες μετά από εφαρμογή glyphosate σε τρεις διαφορετικές δόσεις ( $x/2$ , $x$ και $2x$ ) και σε δύο επίπεδα θερμοκρασίας ( $10/4^{\circ}\text{C}$ και $16/10^{\circ}\text{C}$ ημέρα/νύχτα). ....	109
<b>Εικόνα 22.</b> Σύγκριση διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου (στελεχ.), glyphosate (720 g δ.ο./ha) + στελεχοκοπή (glyph 720 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) (glyph), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + στελεχοκοπή (glyph 1440 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + pendimethalin (glyph + pen), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + cycloxydim (glyph + cycl), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + flazasulfuron (glyph + flaz), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + chlorotoluron + diflufenican (glyph + chlor + dif), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + fluazifop-p-butyl, (glyph + fluaz)] για τον έλεγχο του <i>L. rigidum</i> τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον δένδρωνα με εσπεριδοειδή στην περιοχή του Νεοχωρίου, Αιτωλοακαρνανίας. ....	148
<b>Εικόνα 23.</b> Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι & βρώμη) μία εβδομάδα μετά την εγκατάσταση του πειράματος στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. Τα φυτά ήρας δεν έχουν αναβλαστήσει. ....	151
<b>Εικόνα 24.</b> Επέμβαση εδαφοκάλυψης με σανό μία εβδομάδα μετά την εγκατάσταση του πειράματος στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. Τα φυτά ήρας δεν έχουν διαπεράσει το επίστρωμα σανού. ....	151
<b>Εικόνα 25.</b> Επέμβαση στελεχοκοπής μία εβδομάδα μετά την εγκατάσταση του πειράματος στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. Τα κομμένα φυτά ήρας δεν έχουν αναβλαστήσει. ....	152
<b>Εικόνα 26.</b> Τα φυτά ήρας παρουσιάζουν συμπτώματα χλώρωσης μία εβδομάδα μετά την εφαρμογή της δόσης glyphosate 1440 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	153
<b>Εικόνα 27.</b> Επέμβαση εδαφοκάλυψης με σανό μηδικής τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	155

<b>Εικόνα 28.</b> Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι & βρώμη) τέσσερις εβδομάδες μετά την σπορά στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	155
<b>Εικόνα 29.</b> Επέμβαση στελεχοκοπής τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	156
<b>Εικόνα 30.</b> Επέμβαση glyphosate (1440 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> ) τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	156
<b>Εικόνα 31.</b> Επέμβαση glyphosate (720 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> ) τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	157
<b>Εικόνα 32.</b> Επέμβαση εδαφοκάλυψης με σανό μηδικής οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	158
<b>Εικόνα 33.</b> Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι) οκτώ εβδομάδες μετά τη σπορά στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	158
<b>Εικόνα 34.</b> Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό. μπιζέλι & βρώμη) οκτώ εβδομάδες μετά τη σπορά στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	159
<b>Εικόνα 35.</b> Επέμβαση glyphosate (1440 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> ) στις οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	160
<b>Εικόνα 36.</b> Επέμβαση glyphosate (720 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> ) στις οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	160
<b>Εικόνα 37.</b> Επέμβαση στελεχοκοπής στις οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	160
<b>Εικόνα 38.</b> Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι & βρώμη) στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την σπορά στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	162
<b>Εικόνα 39.</b> Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι) στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την σπορά στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	162
<b>Εικόνα 40.</b> Επέμβαση εδαφοκάλυψης με σανό στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	162
<b>Εικόνα 41.</b> Επέμβαση glyphosate (1440 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> ) στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	163
<b>Εικόνα 42.</b> Επέμβαση glyphosate (720 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> ) στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	163
<b>Εικόνα 43.</b> Επέμβαση στελεχοκοπής στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την 1 <sup>η</sup> εφαρμογή και στις οκτώ εβδομάδες μετά τη 2 <sup>η</sup> εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. ....	163

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1.</b> Πιθανοί μηχανισμοί ανθεκτικότητας ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα.....	26
<b>Πίνακας 2.</b> Περιγραφή σταδίων εργασίας για την ανίχνευση και την επιβεβαίωση ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα ζιζανίων (Πηγή: Burgos et al., 2013).....	36
<b>Πίνακας 3.</b> Βιότυποι λεπτής ήρας που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα επιβεβαίωσης και αξιολόγησης της ανθεκτικότητας της ήρας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate.....	55
<b>Πίνακας 4.</b> Χαρακτηριστικά ποικιλίας Sveno σκληρού σιταριού που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα οικολογικής προσαρμοστικότητας.....	66
<b>Πίνακας 5.</b> Πληροφορίες σχετικά με τους πειραματικούς αγρούς στους οποίους εγκαταστάθηκαν τα πειράματα αξιολόγησης του ζιζανιοκτόνου glyphosate και μειγμάτων του έναντι του ζιζανίου <i>L. rigidum</i> .....	76
<b>Πίνακας 6.</b> Επεμβάσεις που εφαρμόστηκαν στους τέσσερις πειραματικούς αγρούς (Αιτωλοακαρνανία, Βοιωτία, Φθιώτιδα) με πολυετείς καλλιέργειες (ελιά, αμπέλι, εσπεριδοειδή). Εντός των παρενθέσεων αναφέρονται οι δόσεις των ζιζανιοκτόνων που εφαρμόστηκαν.....	79
<b>Πίνακας 7.</b> Επεμβάσεις που εφαρμόστηκαν στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας και κωδικοί πειραματικών τεμαχίων που αντιστοιχούν σε κάθε μία από τις επαναλήψεις τους.....	87
<b>Πίνακας 8.</b> Παράμετροι της λογιστικής εξίσωσης <sup>a</sup> που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της δόσης glyphosate (g δ.ο. ha <sup>-1</sup> ) που απαιτείται για τη μείωση του νωπού βάρους (GR) και του ποσοστού επιβίωσης (LD) των (R) ανθεκτικών (AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3 και AIT.15) και του (S) ευαίσθητου (ATT.S1) στο glyphosate βιότυπων ήρας κατά 50%. Το νωπό βάρος και η επιβίωση των φυτών ήρας εκφράστηκαν ως ποσοστά του αψέκαστου μάρτυρα. Τα τυπικά σφάλματα (SE) αναφέρονται στις παρενθέσεις.....	105
<b>Πίνακας 9.</b> Συγκέντρωση σικιμικού οξέος (επεκφρασμένη ως μg σικιμικού οξέος ανά mL HCL) σε δίσκους φύλλων φυτών επτά βιότυπων ήρας (ATT.S1, AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3 και AIT.15) με εφαρμογή πέντε διαφορετικών συγκεντρώσεων ζιζανιοκτόνου glyphosate (0,1,10,50,500 και 1000 μM). Τα δεδομένα παρουσιάζουν τους μέσους όρους τριών επαναλήψεων (n=3) ± το τυπικό σφάλμα του κάθε μέσου όρου. Οι μ.ο. με διαφορετικά γράμματα σε μια στήλη είναι στατιστικά διαφορετικοί σε επίπεδο σημαντικότητας α= 0,05.....	111
<b>Πίνακας 10.</b> Μέσες τιμές NDVI για τις επεμβάσεις του αψέκαστου μάρτυρα και των τριών δόσεων glyphosate [υποδιπλάσια συνιστώμενης (x/2), συνιστώμενη (x), διπλάσια συνιστώμενης (2x)] μία και δύο εβδομάδες μετά την εφαρμογή του glyphosate. Οι αριθμοί εντός των παρενθέσεων αντιπροσωπεύουν τα τυπικά σφάλματα των μέσων όρων. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d, e, f, g επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p <0,05).....	113
<b>Πίνακας 11.</b> Παράμετροι της λογιστικής εξίσωσης <sup>a</sup> που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της δόσης glufosinate (g δ.ο. ha <sup>-1</sup> ) που απαιτείται για τη μείωση του νωπού βάρους (GR) και του ποσοστού επιβίωσης (LD) των (R) ανθεκτικών (AIT.7, ΦΘΙ.1, BOI.1 και KOP.2) και του (S) ευαίσθητου (ATT.S1) στο ζιζανιοκτόνο glufosinate βιότυπων ήρας κατά 50%. Το νωπό βάρος και η επιβίωση των φυτών	

ήρας έχουν εκφραστεί ως ποσοστά του αφέκαστου μάρτυρα. Τα τυπικά σφάλματα (SE) αναφέρονται στις παρενθέσεις. .... 121

**Πίνακας 12.** Μέσες τιμές NDVI για τις επεμβάσεις του αφέκαστου μάρτυρα και των τριών δόσεων glufosinate [υποδιπλάσια συνιστώμενης ( $x/2$ ), συνιστώμενη ( $x$ ), διπλάσια συνιστώμενης ( $2x$ )] τρεις και επτά ημέρες μετά την εφαρμογή του glufosinate. Οι αριθμοί εντός των παρενθέσεων αντιπροσωπεύουν τα τυπικά σφάλματα των μέσων όρων. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d, e, f επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ). .... 122

**Πίνακας 13.** Μέσοι όροι ύψος φυτών σιταριού σε πειράματα σειράς αντικατάστασης αντικατάστασης ευαίσθητου [S] και ανθεκτικού [R] στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας στις 45, 65 και 85 ημέρες από την σπορά (45, 65 και 85 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$  μεταξύ των βιότυπων ([S], [R]) ανά ημερομηνία μέτρησης. Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία του σιταριού στα φυτοδοχεία. .... 137

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ, ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΔΟΜΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

## 1.1 Εισαγωγή

Ως ζιζάνια χαρακτηρίζονται τα φυτά εκείνα που αναπτύσσονται σε μέρη όπου είναι ανεπιθύμητα (Gray, 1879). Για πολλά χρόνια, η εφαρμογή ζιζανιοκτόνων αποτελούσε τη κυριότερη -αν όχι την αποκλειστική- μέθοδο ελέγχου των ζιζανίων σε γεωργικά και μη γεωργικά συστήματα (Monaco *et al.*, 2002). Ωστόσο, ήδη από το 1990 η ανάπτυξη ανθεκτικότητας των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα είχε αρχίσει να προβληματίζει τους επιστήμονες και να θέτει περιορισμούς στις στρατηγικές διαχείρισης των ζιζανίων (Holt & Lebaron, 1990). Σήμερα, ο αριθμός των ανθεκτικών ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα αυξάνεται συνεχώς με νέες περιπτώσεις να καταγράφονται ετησίως σε παγκόσμιο επίπεδο. Σύμφωνα με τη Ζιζανιολογική Εταιρεία των Η.Π.Α. και τη Διεθνή Βάση Δεδομένων Επισκόπησης Ανθεκτικών Ζιζανίων ([www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)) σήμερα παγκοσμίως περισσότερα από 267 (154 πλατύφυλλα και 113 αγρωστώδη) είδη ζιζανίων έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα σε περίπου 165 διαφορετικά ζιζανιοκτόνα σε 96 διαφορετικές καλλιέργειες σε 72 χώρες (Hear, 2022).

Στη Ελλάδα, η πρώτη περίπτωση ανθεκτικότητας αναφέρθηκε στα τέλη της δεκαετίας του 1980 (Giannopolitis & Vassiliou, 1989) και αφορούσε την ανάπτυξη ανθεκτικότητας του είδους *Echinochloa crus-galli* στο ζιζανιοκτόνο propanil, ενώ έως και σήμερα ο αριθμός των ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα ζιζανίων έχει αυξηθεί με καταγεγραμμένες περιπτώσεις ανθεκτικότητας σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της βιοσύνθεσης της διακλαδισμένης αλυσίδας αμινοξέων (ένζυμο ALS ή AHAS<sup>1</sup>), των λιπαρών οξέων (ένζυμο ACCase<sup>2</sup>), των αρωματικών αμινοξέων (ένζυμο EPSPS) και στα ζιζανιοκτόνα-αναστολείς του φωτοσυστήματος II (Hear, 2022). Παρά το γεγονός ότι η εξέλιξη της ανθεκτικότητας στο glyphosate είχε αναφερθεί στην Ελλάδα πριν από έναρξη της παρούσας διατριβής για το είδος *Conyza bonariensis* (Travlos &

<sup>1</sup> Οξικογαλακτική συνθετάση ή συνθετάση του οξικογαλακτικού οξέος

<sup>2</sup> Καρβοξυλάση του ακέτυλο- CoA

Chachalis, 2010), δεν υπήρχαν τεκμηριωμένες μελέτες για τα είδη *Lolium* spp.. Επιπρόσθετα, δεν είχε γίνει αναφορά για ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο glyphosate. Έτσι, βασικός στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής υπήρξε η διερεύνηση της ύπαρξης ανθεκτικότητας και η ποσοτικοποίηση του επιπέδου ανθεκτικότητας σε ανθεκτικούς βιότυπους ήρας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate.

Η συμβατική μέθοδος για την αξιολόγηση της ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα πραγματοποιείται μέσω πειραμάτων δόσης-απόκρισης χρησιμοποιώντας φυτά σε φυτοδοχεία παρέχοντας παρόμοια αποτελέσματα ως προς την απόκριση των ζιζανίων με εκείνα που είναι πιθανό να παρατηρηθούν στο πεδίο. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος, ειδικά στην περίπτωση που επιλέγεται να εξεταστεί ένας μεγάλος αριθμός βιότυπων/πληθυσμών, απαιτεί χρόνο και χώρο (Burgos *et al.*, 2013). Σε τέτοιες περιπτώσεις, μεγάλου όγκου δειγμάτων, συχνά απαιτείται ταχεία επιβεβαίωση των ανθεκτικών βιότυπων στα ζιζανιοκτόνα βιότυπων. Για το λόγο αυτό στην παρούσα διατριβή διερευνήθηκε και η χρήση της βιοχημικής μεθόδου του σικιμικού οξέος για την επιβεβαίωση της ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate, καθώς και η χρήση του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI) για τα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate, προκειμένου να αξιολογηθεί η συμβολή των παραπάνω μεθόδων στην έγκαιρη και αξιόπιστη αναγνώριση ανθεκτικών βιότυπων ήρας.

Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας της ήρας στο glyphosate επηρεάζει σημαντικά την χρήση του ζιζανιοκτόνου που εφαρμόζεται κατά κύριο λόγο για τη διαχείριση των ζιζανίων στις πολυετείς καλλιέργειες της χώρας μας. Η έλλειψη αποτελεσματικότητας του glyphosate λόγω ανάπτυξης ανθεκτικότητας συνεπάγεται στροφή των παραγωγών σε ζιζανιοκτόνα με διαφορετικούς τρόπους δράσης και εναλλακτικές μεθόδους διαχείρισης με μη χημικά μέσα. Όπως είναι γνωστό, η μείωση της χρήσης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων αποτελεί έναν από τους βασικούς στόχους της «Πράσινης Συμφωνίας», καθώς και θεμελιώδη προσέγγιση της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Ζιζανίων (Integrated Weed Management), IWM). Παράλληλα όμως θα πρέπει να ληφθούν υπόψη και οι περιορισμοί του ενδεχόμενου «αποκλεισμού» της δ.ο. glyphosate από τα προγράμματα ολοκληρωμένης

διαχείρισης. Ενδεικτικά αναφέρεται ο ήδη μικρός αριθμός εγκεκριμένων δραστικών ουσιών με διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης σε επίπεδο Ευρωπαϊκής Ένωσης (Ε.Ε.), καθώς και το αυξημένο κόστος διαχείρισης ζιζανίων στις περισσότερες πολυετείς καλλιέργειες (ελαιώνες, αμπελώνες και οπωρώνες) της χώρας μας. Επιπλέον, ο ρόλος του glyphosate είναι σημαντικός στα συστήματα μειωμένης κατεργασίας του εδάφους τόσο στις ετήσιες όσο και στις πολυετείς καλλιέργειες, αλλά και στα συστήματα ολοκληρωμένης διαχείρισης, ειδικά στις περιπτώσεις όπου γίνεται στοχευμένη χρήση του ζιζανιοκτόνου (π.χ. ζιζανιοκτονία επί των γραμμών, επικλινή εδάφη).

Από τα παραπάνω καθίσταται σαφές ότι η ανάπτυξη της ανθεκτικότητας στο glyphosate αποτελεί ένα σημαντικό ζήτημα για τα εγχώρια γεωργικά συστήματα. Η έγκαιρη ανίχνευση των ανθεκτικών βιότυπων είναι ένα από τα πρώτα βήματα στη διαχείριση της ανθεκτικότητας των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα. Όμως για την αποτελεσματικότερη διαχείριση της ανθεκτικότητας κρίσιμη θεωρείται και η γνώση της βιολογίας και της οικολογίας κάθε ζιζανίου. Έτσι λοιπόν, κρίθηκε απαραίτητο να διερευνηθεί στην παρούσα διατριβή το πιθανό κόστος προσαρμοστικότητας (fitness cost) των ανθεκτικών στο glyphosate βιότυπων ήρας. Τα πειράματα οικολογικής προσαρμοστικότητας που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή διερεύνησαν τόσο την ανταγωνιστική ικανότητα δύο επιβεβαιωμένων ανθεκτικών και ενός επιβεβαιωμένου ευαίσθητου βιότυπου ήρας στο glyphosate μεταξύ τους όσο και την ανταγωνιστική ικανότητα του κάθε ενός βιότυπου ήρας με το σκληρό σιτάρι. Η αναγνώριση και ο προσδιορισμός ενός τέτοιου κόστους προσαρμοστικότητας σε έναν βιότυπο ανθεκτικό στα ζιζανιοκτόνα μπορεί να προσφέρει σημαντικές πληροφορίες και να επηρεάσει τις στρατηγικές διαχείρισης της ανθεκτικότητας συμβάλλοντας στον αποτελεσματικό έλεγχο των ανθεκτικών ζιζανίων.

Τέλος, λαμβάνοντας υπόψη και τη στρατηγική της Ε.Ε. για την ανάκληση της χρήσης πολλών ζιζανιοκτόνων (όπως πρόσφατα συνέβη με το ζιζανιοκτόνο glufosinate), αλλά και τις σύγχρονες απαιτήσεις της αγοράς για παραγωγή ασφαλών τροφίμων, είναι προφανής η ανάγκη μελέτης και ανάπτυξης νέων αποτελεσματικών και βιώσιμων μεθόδων διαχείρισης των ζιζανίων. Προς αυτή

την κατεύθυνση λοιπόν, στην παρούσα διατριβή, πέρα από τις εναλλακτικές επιλογές χημικής αντιμετώπισης των ζιζανίων, εξετάστηκαν και μη χημικές μέθοδοι διαχείρισης. Καταλήγοντας, είναι σημαντικό να υπογραμμίσουμε την επιτακτική ανάγκη σχεδιασμού ολοκληρωμένων συστημάτων διαχείρισης ζιζανίων στις σπουδαιότερες καλλιέργειες της χώρας καθώς και την αναγκαιότητα συνεχούς βελτίωσης και προσαρμογής τους στα νεότερα πειραματικά δεδομένα και τις ιδιαιτερότητες της κάθε περιοχής.

## **1.2 Σκοπός/Αντικείμενο διατριβής**

Βασικός στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν να προσθέσει στη γνώση που ήδη υπάρχει στη διεθνή βιβλιογραφία σχετικά με την ανθεκτικότητα της λεπτής ήρας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate και να τεκμηριώσει τις πρώτες περιπτώσεις ανθεκτικών βιότυπων λεπτής ήρας στην Ελλάδα. Επιπλέον, στο πλαίσιο της διερευνήθηκε η ύπαρξη πιθανού κόστους ανθεκτικότητας και αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα εναλλακτικών χημικών και μη χημικών μέσων για τη διαχείριση ανθεκτικών βιότυπων ήρας.

Αναλυτικά, οι επιμέρους στόχοι της παρούσας μελέτης ήταν οι ακόλουθοι:

1. Η διερεύνηση της ανθεκτικότητας ενός μεγάλου αριθμού βιότυπων ήρας (>50 βιότυποι) στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate.
2. Η επιβεβαίωση και η αξιολόγηση του επιπέδου ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate μέσω δοκιμών δόσης-απόκρισης και βιοχημικών μεθόδων (βιοχημική μέθοδος σικιμικού οξέος).
3. Η αξιολόγηση της χρήσης του Δείκτη Βλάστησης Κανονικοποιημένης Διαφοράς (NDVI) ως εργαλείο ταχείας ανίχνευσης ανθεκτικών στο glyphosate βιότυπων ήρας.
4. Η διερεύνηση της επίδρασης των χαμηλών θερμοκρασιών στην ευαισθησία της λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate.
5. Η μελέτη της οικολογικής προσαρμοστικότητας ανθεκτικών και ευαίσθητων βιότυπων ήρας σε συνθήκες απουσίας και παρουσίας ανταγωνισμού.
6. Η αξιολόγηση της διαχείρισης ανθεκτικών βιότυπων ήρας με εναλλακτικές χημικές και μη χημικές μεθόδους.



### **1.3 Δομή διατριβής**

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αποτελείται από 6 κεφάλαια. Το Κεφάλαιο 1 αποτελεί ένα εισαγωγικό κεφάλαιο που εξετάζει την αφετηρία και τον σκοπό της παρούσας έρευνας. Το Κεφάλαιο 2 αποτελεί βιβλιογραφική ανασκόπηση και παρέχει ορισμένες λεπτομέρειες σχετικά με το ζιζάνιο της ήρας, τα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate, την ανθεκτικότητα των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα, την οικολογική προσαρμοστικότητα των ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα ζιζανίων καθώς και τις σύγχρονες πρακτικές ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων σε τοπικό και παγκόσμιο επίπεδο. Στο Κεφάλαιο 3, παρουσιάζονται τα υλικά και οι μέθοδοι που επιλέχθηκαν για τα διαφορετικά επιμέρους πειράματα που διενεργήθηκαν. Στο Κεφάλαιο 4, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των επιμέρους πειραμάτων και στο Κεφάλαιο 5 συζητούνται τα αποτελέσματα του προηγούμενου κεφαλαίου και οι συνέπειές τους στη διαχείριση της ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate. Τέλος, στο Κεφάλαιο 6 συνοψίζονται τα κύρια ευρήματα της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

### 2.1 Το ζιζάνιο Ήρα του γένους *Lolium*

Το γένος *Lolium* ανήκει στην οικογένεια Poaceae και αποτελείται από 10 ετήσια και πολυετή είδη (Catalán *et al.*, 1977; Terrell, 1968). Με καταγωγή από την Ευρώπη, την εύκρατη Ασία και τη Βόρεια Αφρική, τα τελευταία 200 χρόνια τα είδη του γένους έχουν εξαπλωθεί στη νότια Αφρική, στην Αυστραλία, τη νότια και βόρεια Αμερική και στη Νέα Ζηλανδία (Humphreys *et al.*, 2010). Ξεχωριστή θέση ανάμεσά τους κατέχουν τα είδη *Lolium multiflorum* Lam. (Ιταλική ήρα), *Lolium rigidum* Gaud. (λεπτή ήρα) και *Lolium perenne* L. (πολυετής ήρα) εξαιτίας της παγκόσμιας γεωργικής τους σημασίας τόσο ως καλλιεργούμενα λειμώνια αγρωστώδη όσο και ως ζιζάνια σε γεωργικά και μη γεωργικά συστήματα.

Όλα τα είδη του γένους *Lolium* είναι διπλοειδή, με αριθμό χρωμοσωμάτων  $n=7$  ( $2n=14$ ), ενώ τετραπλοειδείς γονότυποι είναι δυνατόν να παραχθούν τεχνητά μέσω μεταχείρισης με κολχικίνη (Ahloowalia, 1967). Χαρακτηριστικά του γένους *Lolium* όπως το αυτοασυμβίβαστο και η σταυρογονιμοποίηση αυξάνουν τη γενετική παραλλακτικότητα και πολυπλοκότητά του. Συνήθως, οι μορφολογικές και μοριακές μελέτες διαχωρισμού μπορούν με ασφάλεια να διαφοροποιήσουν τα είδη *Lolium* spp., η οπτική αναγνώριση στο πεδίο όμως συχνά γίνεται αρκετά απαιτητική, ιδιαίτερος στην περίπτωση όπου υπάρχει σημαντικός υβριδισμός μεταξύ *L. rigidum* και *L. multiflorum* (Bennett *et al.*, 2000).

Η βοτανική περιγραφή του *L. rigidum* που παρατίθεται κατωτέρω προέρχεται από τους Βασιλάκογλου (2004) και Λόλα (2014). Το *L. rigidum* είναι ένα ετήσιο, χειμερινό, αγρωστώδες ζιζάνιο με όρθια ανάπτυξη και ύψος που φθάνει έως τα 80 cm. Το καλάμι του είναι όρθιο, λυγισμένο στη βάση προς τα επάνω, τραχύ, δύσκαμπτο και κοίλο εσωτερικά. Ο κολεός των φύλλων είναι τραχύς, δεν έχει τρίχες και περιβάλλεται από τα ωτία. Τα ωτία είναι μεγάλα και στενά. Η γλωσσίδα είναι κοντή, μεμβρανώδης και μυτερή. Το έλασμα των φύλλων είναι στενό, επίπεδο, με γυαλιστερή κάτω επιφάνεια. Η ταξιανθία είναι λεπτός, επιμήκης στάχυς με 2-20 πολυανθή, επιμήκη και λογχοειδή σταχύδια.

Ο χιτώνας δεν καταλήγει σε άγανο σε αντίθεση με το είδος *L. multiflorum*. Η ανθοφορία του διαρκεί από τον Απρίλιο έως τον Ιούνιο. Ο καρπός είναι καρύοψη. Η ρίζα του είναι θυσανώδης και δεν απαιτεί γόνιμα εδάφη για την ανάπτυξή της. Πολλαπλασιάζεται με σπόρο που φυτρώνει από το φθινόπωρο έως την άνοιξη.

Το *L. rigidum* είναι ένα υποχρεωτικά σταυρογονιμοποιούμενο, επικονιαζόμενο με τον άνεμο C<sub>3</sub> είδος το οποίο μπορεί να παράγει έως και 45.000 σπόρους ανά m<sup>2</sup> ή 1000 σπόρους ανά φυτό (Gill, 1996; McCraw & Spoor, 1983; Rerkasem *et al.*, 1980; Stanton *et al.*, 2002). Οι ελαφριοί σπόροι του μεταφέρονται εύκολα μέσω φυσικών (άνεμος, νερό, ζώα) και ανθρωπογενών (π.χ. αγροτικά μηχανήματα) φορέων (Benvenuti, 2007). Οι συγκομιζόμενοι σπόροι έχουν μια μικρή περίοδο (περίπου 8-9 εβδομάδες) ενδογενούς λήθαργου (Steadman, 2004). Ο ρυθμός απελευθέρωσης του λήθαργου κατά τη διάρκεια της περιόδου μεθωρίμανσης συσχετίζεται θετικά με τη θερμοκρασία (> 5°C) και την περιεκτικότητα των σπόρων σε υγρασία (6-18%) (Gallagher *et al.*, 2004).

Το *L. rigidum* είναι ιθαγενές είδος της Μεσογείου (νότια Ευρώπη, βόρεια Αφρική), της ανατολικής Ευρώπης, της νοτιοδυτικής Ασίας, της Μέσης Ανατολής και της Ινδικής υποηπείρου (Bennett *et al.*, 2000). Εισήχθη και εξαπλώθηκε στη νότια Αφρική, την κεντρική Ευρώπη, τη βόρεια και νότια Αμερική και Ωκεανία. Προσαρμόζεται καλά στις μεσογειακές ή υποτροπικές, και σε μικρότερο βαθμό, εύκρατες κλιματικές συνθήκες σε ποικίλα εδαφικά υποστρώματα. Το είδος εμφανίζει μεγάλο ποσοστό γενετικής και φαινοτυπικής παραλλακτικότητας, χαρακτηριστικό που του επιτρέπει να προσαρμόζεται γρήγορα και αποτελεσματικά σε διαφορετικές εδαφοκλιματικές συνθήκες (Balfourier *et al.*, 1998; Gill, 1996; Kloot, 1983).

Το *Lolium multiflorum* είναι ένα αγρωστώδες C<sub>3</sub> είδος, με ετήσιο ή διετή κύκλο ζωής ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες της γεωγραφικής περιοχής στην οποία αναπτύσσεται (Beddows, 1973; Clayton *et al.*, 2020). Η βοτανική περιγραφή του *L. multiflorum* που παρατίθεται κατωτέρω προέρχεται από τον Λόλα (2014). Το *L. multiflorum* έχει όρθια ανάπτυξη και ύψος που φθάνει έως τα 100 cm. Το καλάμι του είναι όρθιο, ισχυρό, κοίλο εσωτερικά, μπορεί να

διακλαδίζεται και αδελφώνει όπως και τα άλλα είδη. Ο κολεός των φύλλων είναι λείος, σε χρώμα ωχροκίτρινο-κοκκινωπό, δεν έχει τρίχες και περιβάλλεται από τα ωτία. Η γλωσσίδα είναι κοντή και επίπεδη. Το έλασμα των φύλλων είναι στενό, επίπεδο, με γυαλιστερή κάτω επιφάνεια. Η ταξιανθία είναι λεπτός στάχυς με 5-40 σταχύδια. Ο χιτώνας καταλήγει σε ίσο άγανο. Η ανθοφορία του διαρκεί από τον Απρίλιο έως τον Ιούνιο. Ο καρπός είναι καρύοψη.

Παρόμοια με το *L. rigidum*, το *L. multiflorum* είναι διπλοειδές ( $2n=14$ ), υποχρεωτικά σταυρογονιμοποιούμενο, λόγω αυτοασυμβίβαστου, με σημαντική γενετική παραλλακτικότητα είδος (Beddows, 1973; Guan *et al.*, 2017). Η υψηλή γενετική παραλλακτικότητα επισημαίνεται και πρέπει να λαμβάνεται υπόψη καθώς συμβάλλει σημαντικά στην ικανότητα των ετήσιων *Lolium* spp. να αναπτύσσουν γρήγορα ανθεκτικότητα σε πολλούς και διαφορετικούς τρόπους δράσης ζιζανιοκτόνων (Powles & Yu, 2010).

Το *L. multiflorum* αναπαράγεται αποκλειστικά με σπόρους. Στο Αρκάνσας των ΗΠΑ, 45.000 σπόροι παρήχθησαν από ένα μοναδικό φυτό του είδους (Bararbour *et al.*, 2017). Οι σπόροι του *L. multiflorum* παρουσιάζουν πρωτογενή λήθαργο. Σημαντική έρευνα έχει επικεντρωθεί στον προσδιορισμό των διαδικασιών και των περιβαλλοντικών συνθηκών που διακόπτουν τον λήθαργο. Οι Rodriguez *et al.* (1998) αναφέρουν ότι ο λήθαργος μπορεί να ξεπεραστεί με την έκθεση των ενυδατωμένων σπόρων σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες ( $\leq 15^{\circ}\text{C}$ ) για μικρές περιόδους (24-96 ώρες).

Το είδος αναγνωρίζεται ως ιθαγενές της κεντρικής και νότιας Ευρώπης, της βορειοδυτικής Αφρικής και της νοτιοδυτικής Ασίας (Hubbard, 1968), αλλά πλέον συναντάται στις εύκρατες ζώνες όλων των ηπείρων (Balfourier *et al.*, 2000; Charmet *et al.*, 1996; Clayton *et al.*, 2020). Σήμερα, καλλιεργείται κυρίως ως φυτό εδαφοκάλυψης αλλά και ως χορτοδοτικό και σανοδοτικό φυτό σε παγκόσμιο επίπεδο. Ανέχεται τα εδάφη που κατακρατούν νερό και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον καθαρισμό του αζώτου από το έδαφος κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου και του χειμώνα και την επακόλουθη μείωση της έκπλυσης νιτρικών κάτω από τη ριζική ζώνη (Sattell *et al.*, 1998).

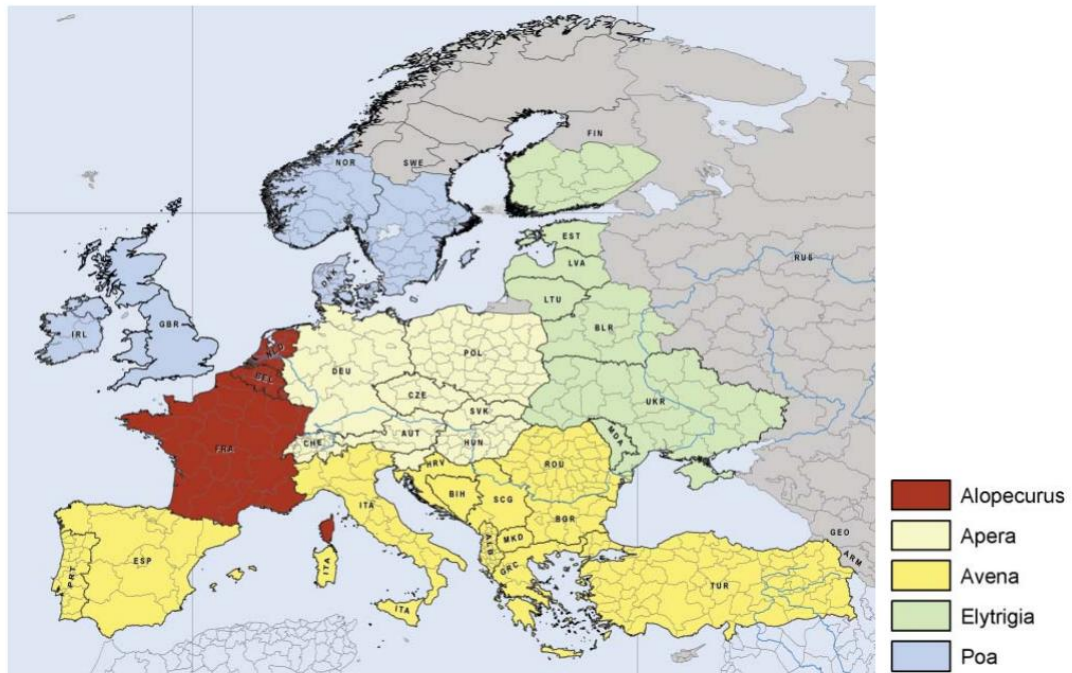
Το *Lolium perenne* είναι επίσης ένα σταυρογονιμοποιούμενο, επικονιαζόμενο με τον άνεμο C<sub>3</sub> αγρωστώδες είδος, κατάλληλο για καλλιέργεια σε εύκρατα κλίματα: η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξής του είναι 18-20°C (Soper & Mitchell, 1956). Η βοτανική περιγραφή του *L. perenne* που δίδεται κατωτέρω προέρχεται από τους Hannaway *et al.* (1999). Τα φύλλα του είναι σκούρα πράσινα, λεία και γυαλιστερά στην κάτω επιφάνεια. Η γλωσσίδα είναι πολύ κοντή, στρογγυλή ή οδοντωτή στην άκρη και συχνά δυσδιάκριτη. Τα μικρά λευκά ωτία περιβάλλουν το στέλεχος στη βάση της λεπίδας του φύλλου. Τα έλυτρα των φύλλων στη βάση είναι συνήθως ροζ και άτριχα. Το καλάμι φτάνει τα 90 cm.

Η πολυετής ήρα είναι ιθαγενές είδος της κεντρικής Ασίας, της Μέσης Ανατολής, της βόρειας Αφρικής και της νότιας Ευρώπης. Εισήχθη στη βόρεια Αμερική, την Αυστραλία και τη νότια Αφρική. Ως αποτέλεσμα, έχει σπαρθεί σε πολλές χώρες και έχει γίνει εξαιρετικά διαδεδομένο τόσο ως καλλιεργούμενο είδος για τη βοσκή των ζώων όσο και για χορτονομή (ως σανός ή ενσίρωμα). Είναι επίσης μια χρήσιμη καλλιέργεια για τη σταθεροποίηση του εδάφους και τη βελτίωση των βοσκοτόπων, καθώς και ένα εξαιρετικό γρασίδι για χλοοτάπητες (Hannaway *et al.*, 1999).

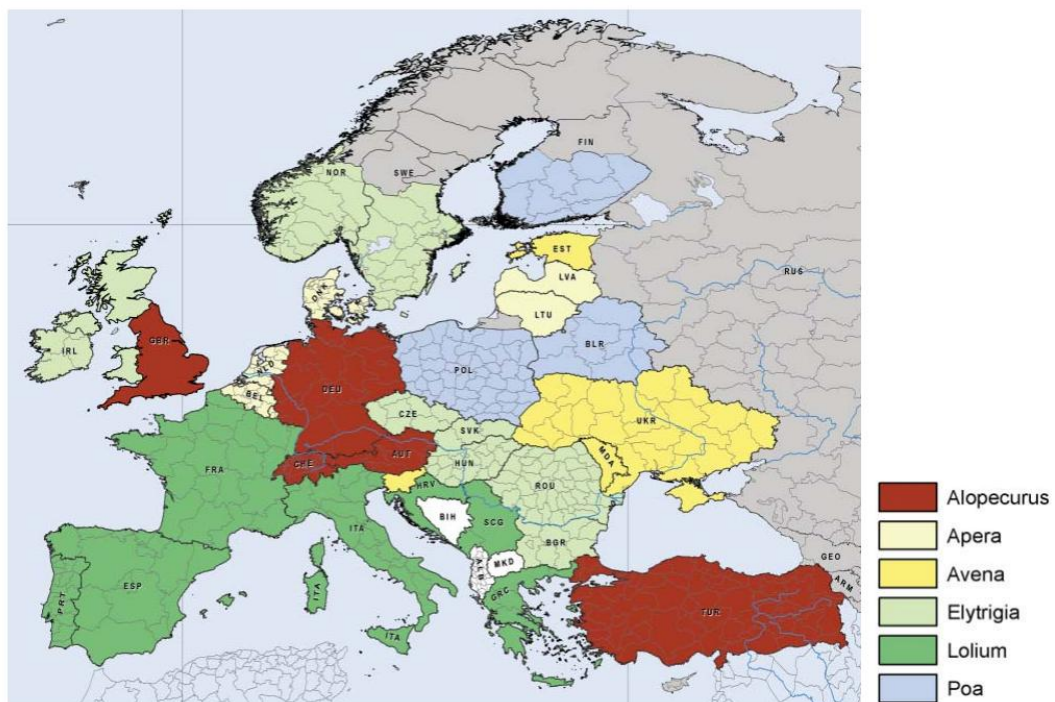
Γενικά, η διάρκεια ζωής των σπόρων του γένους *Lolium* στο έδαφος είναι μικρή σε σύγκριση με άλλα είδη, γεγονός το οποίο είναι ευνοϊκό από πλευράς διαχείρισης, καθώς η τράπεζα σπόρων μπορεί να εξαντληθεί σχετικά γρήγορα και με λιγότερη προσπάθεια (Ellery *et al.*, 2003). Για το *L. rigidum*, κατά μέσο όρο, το 15-30% της τράπεζας σπόρων μπορεί να επιμείνει το επόμενο έτος (Chauhan *et al.*, 2006; Fernandez-Quintanilla *et al.*, 2000), ενώ η διάρκεια ζωής των σπόρων του σε γλάστρες κυμαίνεται από 16 έως 18 μήνες, ανεξάρτητα από το βάθος σποράς (5 ή 10 cm), τον τύπο του εδάφους (πηλώδες, αμμώδες, αργιλώδες) ή την εποχή, ενώ περίπου το 1,5% των σπόρων *L. rigidum* στα χωράφια καλλιέργειας χωρίς άροση στη Δυτική Αυστραλία είχε διάρκεια ζωής έως και τέσσερα χρόνια (Narwal *et al.*, 2008). Παρομοίως, οι Cechin *et al.* (2021) επιβεβαιώνουν και για το είδος *L. multiflorum* τη μικρή επιμονή (persistence) του είδους στην τράπεζα σπόρων του εδάφους.

Τα είδη *L. rigidum*, *L. multiflorum* και λιγότερο το είδος *L. perenne* αναγνωρίζονται συχνά ως προβληματικά ζιζάνια στην Ευρώπη (Εικόνα 1). Πιο αναλυτικά, το *L. rigidum* επικρατεί στις νότιες περιοχές ενώ το *L. multiflorum* επικρατεί στον βορρά. Στο μεγαλύτερο μέρος της κεντρικής Ευρώπης τα δύο είδη συνυπάρχουν. Το Μεσογειακό κλίμα με τους δροσερούς αλλά ήπιους και βροχερούς χειμώνες ευνοεί την ανάπτυξη και των δύο ειδών (Krämer, 2016). Στην Ελλάδα εμφανίζεται κυρίως η λεπτή ήρα (*L. rigidum*), με μεγάλη συχνότητα ιδιαίτερα στη Μακεδονία και στη Θράκη στις καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών αλλά και σε πολυετείς καλλιέργειες (ελιά, εσπεριδοειδή, αμπέλι) στη Στερεά και Δυτική Ελλάδα.

(a)



(b)



Εικόνα 1. (α) Κυρίαρχα γένη αγρωστωδών ζιζανίων σε καλλιέργειες σιτηρών στην Ευρώπη. (β) Γένη αγρωστωδών ζιζανίων που κατατάσσονται ως τα δεύτερα συχνότερα για την καλλιέργεια του σιταριού στην Ευρώπη. (Πηγή: Kräbmer, 2016).

## 2.2 Οικονομική σημασία και διαχείριση ζιζανίου

Μη αποτελεσματικός έλεγχος του ζιζανίου της ήρας μπορεί να έχει ως συνέπεια σημαντική μείωση της παραγωγής. Ενδεικτικό είναι το γεγονός ότι, σε περιπτώσεις αυξημένης πυκνότητας, το *L. rigidum* μπορεί να προκαλέσει μείωση απόδοσης έως και 40% στην καλλιέργεια του μαλακού σιταριού (Lemerle *et al.*, 1995) και μείωση απόδοσης έως και 85% στην καλλιέργεια του κριθαριού (Izquierdo *et al.*, 2003). Παρομοίως, η απόδοση σε κόκκους σιταριού μειώθηκε κατά 4.100 kg ha<sup>-1</sup> όταν η πυκνότητα του *L. multiflorum* αυξήθηκε από 0,7 σε 93 φυτά (m<sup>2</sup>)<sup>-1</sup> (Appleby *et al.*, 1976).

Το *L. rigidum* είναι ένα ζιζάνιο με οικονομική σημασία, τόσο για την καλλιέργεια των σιτηρών όσο και για τις πολυετείς καλλιέργειες (οπωρώνες, ελαιώνες και αμπελώνες) σε μεσογειακά και εύκρατα κλίματα (Izquierdo *et al.*, 2003) και αποτελεί ίσως τη σοβαρότερη περίπτωση ανθεκτικότητας ζιζανίου σε ζιζανιοκτόνα παγκοσμίως (Hear, 2022). Στην Αυστραλία, τα τελευταία χρόνια, έχει εξελιχθεί στο πιο σημαντικό ζιζάνιο χειμερινών σιτηρών προκαλώντας σημαντικές απώλειες εσόδων στους παραγωγούς (Boutsalis *et al.*, 2012; Jones *et al.*, 2005). Όπως χαρακτηριστικά αναφέρουν οι Lemerle *et al.* (1995) 300 φυτά *L. rigidum* ανά m<sup>2</sup> προκάλεσαν μείωση της απόδοσης του σιταριού κατά 22-40%, της βρώμης κατά 2-14%, της ελαιοκράμβης κατά 9-30%, του ανοιξιάτικου κριθαριού κατά 10-55% και του βίκου κατά 100%.

Τα βιολογικά χαρακτηριστικά του είδους σε συνδυασμό με την αποκλειστική εξάρτηση από ζιζανιοκτόνα για τον έλεγχό του, υπήρξαν καθοριστικοί παράγοντες για την εμφάνιση ανθεκτικότητας σε αρκετά ζιζανιοκτόνα. Χαρακτηριστική είναι η αναφορά των Busi *et al.* (2008) για διαπληθυσμιακή ροή γονιδίων ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα με γύρη σε απόσταση 3 km στη Δυτική Αυστραλία. Ανθεκτικότητα *L. rigidum* στην Αυστραλία αναφέρθηκε αρχικά το 1979 σε δενδρώνες και πρηνή δρόμων στα ζιζανιοκτόνα atrazine και simazine (Hear, 2022), ενώ το 1982 γίνεται η πρώτη αναφορά για ανθεκτικότητα του είδους σε καλλιέργεια σιταριού, ανοιξιάτικου κριθαριού και ελαιοκράμβης στα ζιζανιοκτόνα των ομάδων 1<sup>3</sup>, 2<sup>4</sup>, 3<sup>5</sup>, 13<sup>6</sup>, 15<sup>7</sup> και 23<sup>8</sup>, κατά

<sup>3</sup> Παρεμποδιστές της δράσης της καρβοξυλάσης του ακετυλο-CoA (ACCase)

<sup>4</sup> Παρεμποδιστές της δράσης της οξικογαλακτικής συνθετάσης (ALS)



HRAC (Powles *et al.*, 1998; Preston *et al.*, 2009). Μέχρι σήμερα η ανθεκτικότητα της λεπτής ήρας σε ζιζανιοκτόνα πολλών διαφορετικών ομάδων έχει επεκταθεί σε αρκετές χώρες της Ευρώπης, την Αμερικής και της Μέσης Ανατολή (Fernández-Moreno *et al.*, 2017a; Hear, 2022; Simarmata & Penner, 2008), αναπτύσσοντας μάλιστα αρκετές φορές και πολλαπλή ανθεκτικότητα (Han *et al.*, 2016; Owen *et al.*, 2007).

Εκτός από την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα, η υψηλή γενετική παραλλακτικότητα του γένους *Lolium* μπορεί επίσης να οδηγήσει σε μεγαλύτερη προσαρμοστικότητα σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις (Hulke, 2008; Pearson, 2011). Ένα τέτοιο χαρακτηριστικό μπορεί να συμβάλει στην αύξηση της ανταγωνιστικότητας του ζιζανίου και στη συνακόλουθη αυξημένη μείωση των αποδόσεων της καλλιέργειας. Στην υψηλή γενετική παραλλακτικότητα των πληθυσμών του *Lolium* spp. μπορεί να αποδοθεί και η μειωμένη ευαισθησία σε διάφορες χημικές και μη χημικές προσεγγίσεις διαχείρισης των συγκεκριμένων ζιζανίων. Συγκεκριμένα, τόσο το *L. rigidum* όσο και το *L. multiflorum* βρίσκονται ανάμεσα στα δέκα είδη ζιζανίων που έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στον μεγαλύτερο αριθμό ζιζανιοκτόνων σε έναν πληθυσμό αγρού (Hear, 2022).

Το *L. multiflorum* αποτελεί ένα από τα πιο επίμονα ζιζάνια της καλλιέργειας του σιταριού στις Ηνωμένες Πολιτείες (Webster & Nichols, 2012). Οι Appleby *et al.* (1976) ανέφεραν ότι οι αποδόσεις του χειμερινού σιταριού μειώθηκαν κατά 61% με πυκνότητα *L. multiflorum* 93 φυτά ανά m<sup>2</sup>. Παρόμοια μείωση των αποδόσεων από 42% σε 92% όταν τα φυτά της πολυανθούς ήρας αυξήθηκαν από 25 σε 400 φυτά ανά m<sup>2</sup> κατέγραψαν και οι Hashem *et al.* (1998). Στην Αργεντινή, το ξηρό βάρος και η απόδοση του σιταριού μειώθηκαν σημαντικά για πυκνότητες 100 έως 150 φυτών *L. multiflorum* ανά m<sup>2</sup> (Acciaresi *et al.*, 2001), ενώ στην Ιταλία, το οικονομικό κατώφλι για τον έλεγχο του *L. multiflorum* με ζιζανιοκτόνα υπολογίστηκε μεταξύ 25 και 35 φυτών ανά m<sup>2</sup> (Zanin *et al.*, 1993). Παρόμοια με το *L. rigidum*, ο αριθμός των ανθεκτικών βιότυπων στα ζιζανιοκτόνα εξακολουθεί να αυξάνεται και για το είδος *L.*

---

<sup>5</sup> Παρεμποδιστές της μίτωσης (τουμπουλίνης)

<sup>6</sup> Παρεμποδιστές της δράσης της συνθετάσης της 5-φωσφορικής-1-δεοξυ-D-ξυλουλόζης

<sup>7</sup> Παρεμποδιστές της μίτωσης (λιπαρών οξέων μακριάς αλυσίδας)

<sup>8</sup> Παρεμποδιστές του Κέντρου Οργάνωσης των Μικροσωληνίσκων της Μιτωτικής Ατράκτου

*multiflorum* (Hear 2022) με πρόσφατη καταγραφή πολλαπλής ανθεκτικότητας σε τέσσερις τρόπους δράσης (Tehranchian *et al.*, 2018).

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η συνηθέστερη διαχείριση του ζιζανίου με χημικά μέσα περιελάμβανε εφαρμογή μεταφυτρωτικών ζιζανιοκτόνων-αναστολέων της δράσης του ενζύμων ACCase και ALS στην περίπτωση των σιτηρών και εφαρμογή ζιζανιοκτόνων-αναστολέων των ενζύμων EPSPS<sup>9</sup> και GS<sup>10</sup> και ζιζανιοκτόνων-αναστολέων της φωτοσύνθεσης στο Φωτοσύστημα II στις δενδρώδεις καλλιέργειες και στο αμπέλι, οδηγώντας στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας που οφείλεται σε τροποποίηση της θέσης δράσης (TSR) και ανθεκτικότητας μη στοχευμένης δράσης (NTSR) στα είδη του γένους *Lolium* παγκοσμίως (Scarabel *et al.*, 2020; Suzukawa *et al.*, 2021).

Στο πλαίσιο λοιπόν της ύπαρξης ανθεκτικότητας και του σημαντικού κόστους που σχετίζεται με τη διαχείρισή της, εναλλακτικά χημικά και μη χημικά μέσα για τον έλεγχο του ζιζανίου της ήρας έχουν διερευνηθεί και χρησιμοποιηθεί ιδιαίτερα στις περιοχές που οι ανθεκτικοί βιότυποι του ζιζανίου αυξάνονται συνεχώς. Έτσι, στην Αυστραλία, η οποία όπως ήδη αναφέρθηκε αποτελεί ίσως την πλέον απαιτητική περίπτωση διαχείρισης ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας σε μεταφυτρωτικά ζιζανιοκτόνα, οι καλλιεργητές στράφηκαν σε προφυτρωτικά ζιζανιοκτόνα εδάφους, όπως trifluralin, propyzamide, prosulfocarb και rygoxasulfon. Ωστόσο, ορισμένοι πληθυσμοί *L. rigidum* στη Νότια Αυστραλία παρουσίασαν ανθεκτικότητα και σε αρκετά προφυτρωτικά ζιζανιοκτόνα εδάφους (Brunton *et al.*, 2019). Για το *L. multiflorum*, όπου η ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα που αναφέρθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο είναι διαδεδομένη επιλέγεται επίσης προφυτρωτική εφαρμογή με rygoxasulfone (Hulting *et al.*, 2012), ενώ συχνά και τα ζιζανιοκτόνα glyphosate και paraquat χρησιμοποιούνται σε υψηλότερες δόσεις πριν από τη σπορά των ετήσιων καλλιεργειών.

Η διαχείριση των δύο ειδών απαιτεί συνδυασμό χημικών και μη χημικών μεθόδων, όπως αποτελεσματικά προφυτρωτικά ζιζανιοκτόνα, ανταγωνιστικές καλλιέργειες και ποικιλίες (Lemerle *et al.*, 1995) και υψηλή πυκνότητα σποράς

---

<sup>9</sup> Συνθετάση του φωσφοενολοπυροσταφυλοσικιμικού οξέος

<sup>10</sup> Συνθετάση της γλουταμίνης ή γλουταμινική συνθετάση

(Lemerle *et al.*, 2013; Medd *et al.*, 1985; Paynter & Hills, 2009). Οι Appleby & Brewster (1992) ανέφεραν ότι η αύξηση της πυκνότητας σποράς σιταριού από 50 σε 150 kg ha<sup>-1</sup> μείωσε κατά μέσο όρο 26% τη βιομάζα του *L. multiflorum*. Επιπλέον, η χωρική διάταξη των φυτών σιταριού, που ποικίλλει από 5 έως 40 cm μεταξύ τους με αποτέλεσμα να διαφέρουν επίπεδα ορθογωνικότητας, επηρέασαν σημαντικά την ανταγωνιστικότητα του *L. multiflorum* (Hashem *et al.*, 1998). Τέλος, οι ποικιλίες σιταριού διέφεραν σημαντικά στην ικανότητά τους να καταστείλουν το *L. multiflorum* (Acciaresi *et al.*, 2001b; Appleby & Brewster, 1992).

Όπως και σε άλλα σοβαρά ζιζάνια, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίδεται και στην εξάντληση της τράπεζας σπόρων. Οι Ichihara *et al.* (2009) αναφέρουν ότι τα συστήματα ακατεργασίας τα οποία αφήνουν πολλούς σπόρους στην επιφάνεια του εδάφους, μπορεί να προάγουν την ταχεία εξάντληση των σπόρων της Ιταλικής ήρας μέσω βλάστησής τους πριν από τη σπορά του σιταριού στις αρχές του χειμώνα. Αντίθετα, η άροση μπορεί να αναστείλει τη βλάστηση των σπόρων και να σχηματίσει μια πλούσια τράπεζα σπόρων διαθέσιμη για να βλαστήσει κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου. Οι πληθυσμοί ήρας στα περιθώρια των αγροτεμαχίων πρέπει επίσης να ελέγχονται πριν την άνθηση προκειμένου να μετριαστεί η συσσώρευση γονιδίων ανθεκτικότητας στην τράπεζα σπόρων.

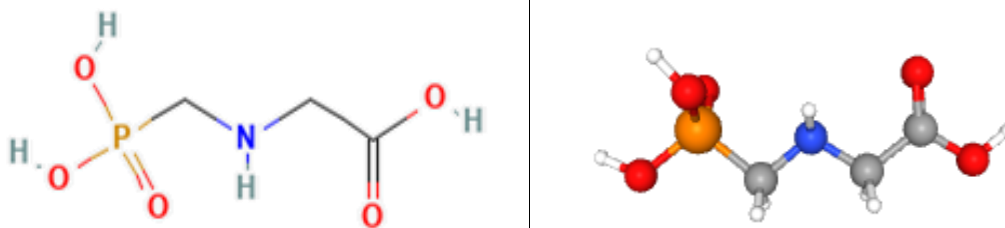
Τόσο το *L. rigidum* όσο και το *L. multiflorum* αποτελούν παγκοσμίως ζιζάνια με οικονομική σημασία λόγω της ισχυρής ανταγωνιστικής τους ικανότητας, της εύκολης διασποράς των σπόρων τους, της υψηλής γενετικής παραλλακτικότητάς τους και της έντονης τάσης τους για ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα. Η ικανότητα γρήγορης προσαρμογής σε διαφορετικές κλιματικές και εδαφικές συνθήκες αποτελεί σημαντική πρόκληση για την ολοκληρωμένη διαχείρισή τους με χημικά και μη χημικά μέσα. Ως εκ τούτου, η υιοθέτηση αποτελεσματικών ολοκληρωμένων πρακτικών διαχείρισης, όπως εκείνες που αναφέρθηκαν προηγουμένως, κρίνεται απαραίτητη προκειμένου τα δύο αυτά είδη του γένους *Lolium* να μπορέσουν να ελεγχθούν αποτελεσματικά.

## 2.3 Ζιζανιοκτόνα *Glyphosate* και *Glufosinate-ammonium*

### 2.3.1 Το ζιζανιοκτόνο *Glyphosate*

Το glyphosate [χημική ονομασία κατά IUPAC: 2-(phosphonomethylamino)acetic acid] θα μπορούσε να θεωρηθεί το «πιο επιτυχημένο» ζιζανιοκτόνο στην ιστορία. Είναι σίγουρα η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη δραστική ουσία για τον έλεγχο ζιζανίων παγκοσμίως (Duke, 2018). Πρόκειται για ένα μεταφωτρωτικό, μη εκλεκτικό, διασυστηματικό ζιζανιοκτόνο, το οποίο ελέγχει τα περισσότερα ετήσια και πολυετή ζιζάνια, αλλά παρουσιάζει μεγαλύτερη τοξικότητα ως προς τα ετήσια ζιζάνια. Επιπλέον, χρησιμοποιείται και για τον έλεγχο υδροχαρών, παρασιτικών ζιζανίων (π.χ. οροβάγχη στον καπνό) και ξυλωδών φυτών (Τραυλός & Κανάτας, 2022). Αποτελεί μία οργανοφωσφορική ένωση, συγκεκριμένα ένα φωσφονικό οξύ, που δρα αναστέλλοντας το ένζυμο 5-ενολοπυροσταφυλοσικιμική-3-φωσφορική συνθετάση (EPSP synthase, E.C.2.5.1.19). Η ονομασία της ουσίας βασίστηκε στα αρχικά γράμματα των συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση της, δηλαδή στη γλυκίνη (glycine) και το φωσφονικό οξύ (phosphonate). Στο εμπόριο κυκλοφορεί ως άλας ισοπροπυλαμίνης (glyphosate-isopropylammonium), ενώ άλλες γνωστές ενώσεις του είναι τα άλατα αμμωνίου (glyphosate-ammonium και glyphosate-diammonium), καλίου (glyphosate-potassium), νατρίου (glyphosate-sodium) και θείου (glyphosate-trimesium).

Ο τρόπος δράσης του glyphosate είναι μοναδικός, καθώς είναι η μόνη δραστική ουσία που αναστέλλει αποτελεσματικά τη δράση του ενζύμου EPSP synthase, το οποίο καταλύει την αντίδραση του σικιμικού-3-φωσφορικού (S3P) και του φωσφονοενολοπυροσταφυλικού προς σχηματισμό του 5-ενολοπυροσταφυλο-σικιμικού-3-φωσφορικού (EPSP) (Steinrück & Amrhein, 1980). Ως αποτέλεσμα, παρεμποδίζεται η παραγωγή ενός σημαντικού βιοχημικού ενδιάμεσου, του χορισμικού οξέος, που εμπλέκεται στη σύνθεση των τριών αρωματικών αμινοξέων: τυροσίνη, τρυπτοφάνη και φαινυλαλανίνη στους χλωροπλάστες (Ζιώγας & Μαρκόγλου, 2010).



Εικόνα 2. Δισδιάστατη και τρισδιάστατη απεικόνιση της χημικής δομής του μορίου του glyphosate (Πηγή: PubChem, URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

Η ζιζανιοκτόνος δράση του ανακαλύφθηκε από τον χημικό της Monsanto Τζον Ε. Φρανζ το 1970 (Espacenet, 1974). Διατέθηκε στην αγορά για γεωργική χρήση ως δραστική ουσία του σκευάσματος Roundup το 1974, μία περίοδο που κάθε δύο με τρία χρόνια εισάγονταν στην αγορά ζιζανιοκτόνα με νέους τρόπους δράσης (Duke, 2012; Gerwick, 2010). Όταν εισήχθη στη φυτοπροστασία, το glyphosate αποτέλεσε ένα σημαντικό ζιζανιοκτόνο, καθώς δεν υπήρχε άλλο διαθέσιμο ζιζανιοκτόνο που να παρουσιάζει την ευρεία δράση του glyphosate εναντίον μεγάλου αριθμού ζιζανίων, ενώ παράλληλα να θεωρείται χαμηλής τοξικότητας για τα θηλαστικά (συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου). Τα μόνα διαθέσιμα μη-εκλεκτικά ζιζανιοκτόνα εκείνη την περίοδο ήταν το paraquat και το diquat, τα οποία, ενώ διέθεταν ευρύ φάσμα δράσης, παρουσίαζαν οξεία τοξικότητα στα θηλαστικά. Η χρήση του paraquat – αν και υπήρξε αρκετά διαδεδομένη – έχει πλέον απαγορευθεί σε επίπεδο Ε.Ε.

Το paraquat και το diquat παρουσιάζουν ταχεία τοξικότητα στα ζιζάνια. Το φύλλωμα των φυτών, στο οποίο εφαρμόζονται, νεκρώνεται γρήγορα πριν το ζιζανιοκτόνο μετακινηθεί στους μεριστωματικούς ιστούς και ως αποτέλεσμα ακολουθεί αναβλάστηση από τα μεριστωματικά κύτταρα που παραμένουν ζωντανά (Duke, 2018). Αντίθετα, το glyphosate, απορροφάται γρήγορα από την εφυμενίδα του φυλλώματος των φυτών και ελάχιστα από τις ρίζες και μεταφέρεται στα αναπτυσσόμενα σημεία του φυτού (Caseley & Coupland, 1985; Kirkwood *et al.*, 2000). Ο ρυθμός απορρόφησης μέσω του φυλλώματος διαφέρει από είδος σε είδος και είναι ένας πιθανός λόγος μειωμένης ευαισθησίας κάποιων ειδών στο glyphosate. Σημαντικό ρόλο βέβαια στην απορρόφηση και μετακίνηση του ζιζανιοκτόνου διαδραματίζουν και οι

διαφορετικές μορφές (formulations) του καθώς και η προσθήκη βοηθητικών ή επιφανειοδραστικών ουσιών (Travlos *et al.*, 2017). Μετακινείται κυρίως μέσω της συμπλαστικής και σπανιότερα μέσω της αποπλαστικής οδού και συγκεντρώνεται στους νεαρούς μεριστωματικούς ιστούς, παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη τους (Gougler & Geiger, 1981; Jachetta *et al.*, 1986). Η ανάπτυξη του φυλλώματος αναστέλλεται αμέσως μετά την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου, ακολουθούμενη από γενική χλώρωση φυλλώματος και νέκρωση εντός 4-7 ημερών για τα πολύ ευαίσθητα ζιζάνια και εντός 10-20 ημερών για λιγότερο ευαίσθητα είδη (Shaner, 2014a). Η χλώρωση μπορεί να εμφανιστεί αρχικά και πιο έντονα σε νεαρά φύλλα και σημεία ανάπτυξης. Το φύλλωμα μερικές φορές γίνεται κοκκινωπό-μοβ σε ορισμένα είδη. Μετά την εφαρμογή του glyphosate, κατά την αναβλάστηση των πολυετών ζιζανίων, εμφανίζονται συχνά παραμορφωμένα φύλλα με λευκά σημάδια ή ραβδώσεις, καθώς επίσης παρατηρείται και ανάπτυξη πολλαπλών βλαστών («σκούπα μάγισσας») στους κόμβους.

Η καλή απορρόφηση, η εξαιρετική μετακίνηση του στους μεριστωματικούς ιστούς και τα υπόλοιπα μέρη του φυτού σε συνδυασμό με την πολύ γρήγορη απομάκρυνσή του από τα περισσότερα εδάφη, αποτελούν ορισμένα από τα βασικά χαρακτηριστικά που καθιέρωσαν το glyphosate ως ένα εξαιρετικά αποτελεσματικό και εύχρηστο ζιζανιοκτόνο (Duke & Powles, 2008). Έτσι, παρά το αρκετά αυξημένο οικονομικό του κόστος, τα πρώτα έτη της κυκλοφορίας του, επιλέχθηκε αντί του paraquat λόγω της υψηλής αποτελεσματικότητάς του και του χαμηλού κινδύνου για τον άνθρωπο. Ωστόσο, ένα από τα μειονεκτήματα του glyphosate ήταν η μη εκλεκτικότητά του στα καλλιεργούμενα φυτά. Η υψηλή φυτοτοξικότητά του περιόρισε σε ένα βαθμό την εμπορικότητά του, καθώς δεν ήταν δυνατό να χρησιμοποιηθεί μεταφυτρωτικά στις καλλιέργειες, όπως άλλα εκλεκτικά ζιζανιοκτόνα. Η χρησιμοποίησή του glyphosate περιορίστηκε σε προφυτρωτικές εφαρμογές, σε εφαρμογές σε μη καλλιεργούμενες εκτάσεις (π.χ. σιδηροδρομικές γραμμές) και σε εφαρμογές σε δενδροκομικές καλλιέργειες.

Στις ΗΠΑ η κατάσταση άλλαξε δραματικά το 1996 με την εισαγωγή στην αγορά γενετικά τροποποιημένων και ανθεκτικών στο glyphosate ποικιλιών

σόγιας (Duke, 2005). Μέσα σε δέκα χρόνια η υιοθέτηση των ανθεκτικών στο glyphosate ποικιλιών σόγιας ξεπέρασε το 90% της συνολικής καλλιέργειας σόγιας στις ΗΠΑ, ενώ το 2014 η υιοθέτηση ανθεκτικών στο glyphosate ποικιλιών είχε ξεπεράσει το 90% και για τις καλλιέργειες του βαμβακιού και αραβοσίτου. Η εισαγωγή των γενετικά τροποποιημένων ποικιλιών απλοποίησε τη ζιζανιοκτονία για τους παραγωγούς, αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα ελέγχου των ζιζανίων, σε σύγκριση με τις εφαρμογές πολλών διαφορετικών ζιζανιοκτόνων που απαιτούνταν τα προηγούμενα έτη. Αντιθέτως, στην Ευρώπη ποτέ δεν έγινε αποδεκτή η χρησιμοποίηση γενετικά τροποποιημένων ποικιλιών.

Όπως αναφέρθηκε, το glyphosate θεωρούταν δραστική ουσία χαμηλού κινδύνου και μη καρκινογόνου χαρακτήρα για τον άνθρωπο (Duke & Powles, 2008). Ωστόσο, το 2015 στα συμπεράσματα της έκθεσης του Διεθνούς Οργανισμού Ερευνών για τον Καρκίνο (IARC) αναφέρθηκε πως το ζιζανιοκτόνο glyphosate και οι βοηθητικές ουσίες των σκευασμάτων του είναι πιθανές καρκινογόνες ουσίες για τον άνθρωπο (IARC, 2015). Οι αξιολογήσεις του IARC έχουν ως σκοπό την αναγνώριση κινδύνων καρκινογένεσης και δεν συμπεριλαμβάνουν συστάσεις για νομοθετικές παρεμβάσεις. Μετά τη δημοσίευση της αξιολόγησης του glyphosate από τον IARC η πρώτη αξιολόγηση βάσει νομοθεσίας έγινε από την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA) στο πλαίσιο της διαδικασίας ανανέωσης της έγκρισης του glyphosate στην Ε.Ε. Σε αντίθεση με την αξιολόγηση του IARC, η EFSA κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το glyphosate είναι απίθανο να αποτελεί καρκινογόνο κίνδυνο για τον άνθρωπο και ότι τα στοιχεία δεν υποστηρίζουν την ταξινόμηση ως καρκινογόνο ουσία σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) 1272/2008, διευκρινίζοντας αργότερα ότι ίσως υπάρχουν εμπορικά σκευάσματα glyphosate που μπορεί να είναι καρκινογόνα, αλλά οι μελέτες «που εξετάζουν τη δραστική ουσία μόνο, δεν έδειξαν τέτοια επίπτωση» (EFSA, 2015). Το 2016 ο Διεθνής Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) εξέδωσαν από κοινού έκθεση που αναφέρει ότι το glyphosate δεν είναι καρκινογόνο σε αρουραίους (rats), αλλά δεν μπορεί να αποκλειστεί η πιθανότητα να είναι καρκινογόνο σε ποντίκια (mice) σε πολύ υψηλές δόσεις, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι το

glyphosate είναι απίθανο να ενέχει καρκινογόνο κίνδυνο για τον άνθρωπο μέσω της διατροφής (FAO/WHO, 2016). Τέλος, ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Χημικών Προϊόντων (ECHA) στις 15 Μαρτίου 2017 εξέδωσε τη γνώμη του και τη διαβίβασε στην Ευρωπαϊκή Επιτροπή, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι με βάση τις διαθέσιμες πληροφορίες, δεν δικαιολογείται ταξινόμηση κινδύνου της ουσίας glyphosate ως καρκινογόνου.

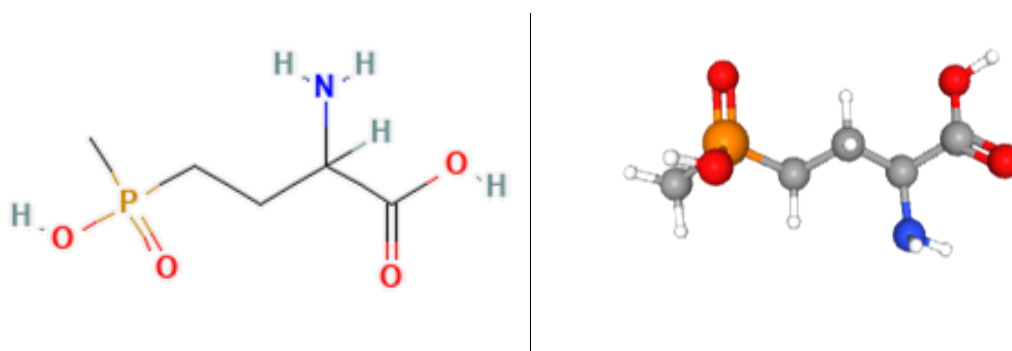
Στις 12 Δεκεμβρίου 2017 δημοσιεύθηκε ο Εκτελεστικός Κανονισμός 2017/2324 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής για την ανανέωση της δραστικής ουσίας glyphosate στην Ευρωπαϊκή Ένωση έως τις 15 Δεκεμβρίου 2022. Στον παραπάνω Κανονισμό αναφέρεται πως για τη λήψη απόφασης σχετικά με τη διάρκεια της περιόδου έγκρισης της ουσίας glyphosate συνυπολογίστηκε το ενδεχόμενο ραγδαίων μελλοντικών επιστημονικών και τεχνολογικών εξελίξεων, καθώς πρόσθετες πληροφορίες για την εν λόγω ουσία δημοσιεύονται με εξαιρετικά υψηλό ρυθμό σε σχέση με άλλες δραστικές ουσίες. Στην Ελλάδα, το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων έχει εγκρίνει τη χρήση σκευασμάτων που περιέχουν ως δραστική ουσία το glyphosate έως και τις 15 Δεκεμβρίου 2023. Το 2019, κατατέθηκε αίτηση για την ανανέωση της έγκρισης του glyphosate. Έτσι σήμερα, το glyphosate βρίσκεται σε διαδικασία αξιολόγησης σχετικά με την ανανέωση της έγκρισης του στην Ευρωπαϊκή Ένωση βάσει της ευρωπαϊκής νομοθεσίας και τα τελικά συμπεράσματα της αξιολόγησης αναμένονται εντός του έτους 2023 ([www.efsa.europa.eu/el/topics/topic/glyphosate](http://www.efsa.europa.eu/el/topics/topic/glyphosate)).

### **2.3.2 Το ζιζανιοκτόνο Glufosinate-ammonium**

Το glufosinate-ammonium [χημική ονομασία κατά IUPAC: 2-amino-4-[hydroxy(methyl)phosphoryl]butanoic acid] αποτελεί ένα μεταφυτρωτικό, μη εκλεκτικό, ζιζανιοκτόνο επαφής (πολύ μικρή διασυστηματική δράση) για ακαλλιέργητες εκτάσεις, αλλά και δενδρώδεις καλλιέργειες με αυστηρά κατευθυνόμενο ψεκασμό, όπως το glyphosate (Ujváry, 2010; Vencill, 2002). Η σύνθεση του βασίστηκε στην ανακάλυψη ζιζανιοκτόνου δράσης στη φυσική τοξίνη phosphinothricin (Hoerlein, 1994). Συγκεκριμένα, το 1976 η φυσική ένωση που απομονώθηκε από τα δύο είδη μυκήτων *Streptomyces hygroscopicus* και *Streptomyces viridochromogenes*, βρέθηκε να δρα ως



ζιζανιοκτόνο σε δοκιμές θερμοκηπίου (Bayer *et al.*, 1972). Η αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου ζιζανιοκτόνου βασίζεται στην παρεμπόδιση της δράσης της συνθετάσης της γλουταμίνης (glutamine synthetase -GS, E.C.6.3.1.2), που είναι απαραίτητη για το μεταβολισμό του αζώτου στα φυτά, καταλύοντας την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) από την οποία εξαρτάται η αντίδραση ενσωμάτωσης αμμωνίου ( $\text{NH}_4$ ) στο γλουταμινικό οξύ και την επακόλουθη βιοσύνθεση γλουταμίνης (Bernard & Habash, 2009). Η αναστολή αυτού του ενζύμου προκαλεί συσσώρευση αμμωνίας, αναστολή της βιοσύνθεσης αμινοξέων, αναστολή της φωτοσύνθεσης και σοβαρή βλάβη στους φυτικούς ιστούς που τελικά οδηγούν στον θάνατο του φυτού που έχει έρθει σε επαφή με το ζιζανιοκτόνο (Lea *et al.*, 1984; Takano *et al.*, 2019; Wild *et al.*, 1987).



**Εικόνα 3. Δισδιάστατη και τρισδιάστατη απεικόνιση της χημικής δομής του μορίου του glufosinate-ammonium (Πηγή: PubChem, URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).**

Η απορρόφηση του glufosinate είναι ταχεία τις πρώτες ώρες μετά την εφαρμογή, ενώ δείχνει μικρή αύξηση μετά από 24 ώρες. (Ullrich *et al.*, 1990). Η πρόσληψη και η μετακίνηση του glufosinate στα φυτά επηρεάζεται από αρκετούς παράγοντες. Για παράδειγμα, σε χαμηλές συγκεντρώσεις, η πρόσληψη του glufosinate μπορεί να καθοδηγείται από έναν ενεργό μεταφορέα, αλλά σε δόσεις επιπέδου αγρού, η απορρόφηση γίνεται κυρίως μέσω παθητικής διάχυσης των κυττάρων (Takano *et al.*, 2020). Η μετακίνηση του glufosinate στο φυτό βασίζεται κυρίως στην αποπλαστική μετακίνησή του μέσω του ξηλώδους αγγειακού συστήματος του φυτού, η οποία είναι άμεσα εξαρτώμενη από τον ρυθμό διαπνοής. Κατά συνέπεια, το glufosinate τείνει να

συσσωρεύεται σε παλαιότερα φύλλα με υψηλότερους ρυθμούς διαπνοής και λιγότερο στα νεότερα φύλλα και τα κορυφαία μεριστώματα (Shelp *et al.*, 1992).

Η αποτελεσματικότητα του glufosinate διαφέρει σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών ειδών ζιζανίων. Για παράδειγμα, η εκτιμώμενη δόση για την επίτευξη μείωσης 50% στη βιομάζα του ζιζανίου (ED<sub>50</sub>) μπορεί να ποικίλλει από 26 g ha<sup>-1</sup> για το πλατύφυλλο είδος *Conyza canadensis* L. έως 763 g ha<sup>-1</sup> για το αγρωστώδες είδος *Lolium rigidum*. Κατά μέσο όρο, τα αγρωστώδη τείνουν να είναι λιγότερο ευαίσθητα στο glufosinate σε σύγκριση με τα πλατύφυλλα, με λίγες εξαιρέσεις όπως το *Chenopodium album*, που δεν είναι πολύ ευαίσθητο στο ζιζανιοκτόνο. (Takano *et al.*, 2019). Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι το glufosinate δε μετατοπίζεται καλά σε μεριστωματικά όργανα, και τα αγρωστώδη είδη τείνουν να έχουν πολλαπλά μεριστώματα σε ένα μόνο φυτό, γεγονός που τα καθιστά πιο ικανά να επιβιώσουν σε σύγκριση με τα πλατύφυλλα ζιζάνια. Επιπλέον, τα διαφορετικά είδη ζιζανίων έχουν και διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά, τα οποία επηρεάζουν επίσης την πρόσληψη glufosinate (Sellers *et al.*, 2003). Τα πλατύφυλλα είδη έχουν κατά κανόνα οριζόντια πλατιά φύλλα, τα οποία είναι πιο επιρρεπή στο να παρεμποδίζουν τα σταγονίδια ψεκασμού σε σύγκριση με τα κάθετα στενά φύλλα των αγρωστωδών ζιζανίων. Τέλος, είναι προφανές ότι τα επίπεδα του εναπομείναντος glufosinate στους φυτικούς ιστούς εξαρτώνται από την αναλογία μεταξύ πρόσληψης και ρυθμού μεταβολισμού κάθε είδους, χαρακτηριστικά που, όπως είναι προφανές, διαφέρουν μεταξύ των διαφορετικών ειδών.

Τα συμπτώματα τραυματισμού που προκαλούνται από το glufosinate περιλαμβάνουν ταχεία χλώρωση του ιστού που ακολουθείται από νέκρωση και τελικό θάνατο των φυτών που έχουν δεχθεί εφαρμογή μέσα σε λίγες εβδομάδες. Η χλώρωση και η μάρανση εμφανίζονται συνήθως μέσα σε 3-5 ημέρες μετά την εφαρμογή, ακολουθούμενη από νέκρωση σε 1-2 εβδομάδες. Ο ρυθμός ανάπτυξης συμπτωμάτων αυξάνεται με έντονο ηλιακό φως, υψηλή υγρασία και υγρό έδαφος. Η απομάκρυνση του από το έδαφος γίνεται κυρίως μέσω μικροβιακής αποδόμησης αποφεύγοντας να εισέλθει στα υπόγεια ύδατα.

Ωστόσο, η έγκριση στην Ε.Ε. για το glufosinate-ammonium έληξε στις 31 Ιουλίου 2018 και δεν ανανεώθηκε, καθώς η δραστική ουσία ταξινομήθηκε ως τοξική για την αναπαραγωγή (κατηγορία 1B) βάσει του Κανονισμού (ΕΚ) 1272/2008.

## **2.4 Ανθεκτικότητα ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα**

### **2.4.1 Ορισμοί και έννοιες**

Η παρατεταμένη χρήση ζιζανιοκτόνων για τον έλεγχο των ζιζανίων έχει οδηγήσει σε ανάπτυξη ανθεκτικότητας αρκετών ειδών ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα λόγω της επαναλαμβανόμενης επιλογής, δηλαδή της διαδικασίας με την οποία η εφαρμογή ζιζανιοκτόνων ευνοεί τους ανθεκτικούς βιότυπους έναντι των ευαίσθητων βιότυπων στους ζιζανιοπληθυσμούς. Ως βιότυπος ορίζεται μια ομάδα φυτών μέσα σε ένα είδος που έχει βιολογικά χαρακτηριστικά (όπως ανθεκτικότητα σε ένα συγκεκριμένο ζιζανιοκτόνο) που δεν είναι κοινά στο σύνολο του πληθυσμού (Hill *et al.*, 1982). Οι όροι «ανθεκτικότητα» και «αντοχή» συχνά συγχέονται με αποτέλεσμα να δημιουργούνται παρερμηνείες. Οι αποδεκτοί ορισμοί της ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα και της αντοχής στα ζιζανιοκτόνα δημοσιεύθηκαν από την επιτροπή ορολογίας της Ζιζανιολογικής Κοινότητας των Η.Π.Α - Weed Science Society of America (WSSA) το 1998. Σύμφωνα λοιπόν με τους αποδεκτούς ορισμούς, η «ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα» είναι η κληρονομική ικανότητα ενός φυτού να επιβιώσει και να αναπαραχθεί μετά από έκθεση σε μια δόση ζιζανιοκτόνου συνήθως θανατηφόρα για τον φυσικό πληθυσμό του φυτού. Με απλά λόγια, η ανθεκτικότητα αναφέρεται σε μια κατάσταση όπου ένα δεδομένο ζιζανιοκτόνο, που εφαρμόζεται στην συνιστώμενη δόση και χρονική στιγμή, κάποτε ήλεγχε αποτελεσματικά έναν συγκεκριμένο πληθυσμό ζιζανίων αλλά, μετά από επαναλαμβανόμενη χρήση, το ζιζανιοκτόνο δεν ελέγχει πλέον αποτελεσματικά αυτόν τον πληθυσμό. Αντιθέτως, η αντοχή ενός είδους στα ζιζανιοκτόνα αφορά στην εγγενή ικανότητά του να επιβιώνει και να αναπαράγεται μετά από εφαρμογή ζιζανιοκτόνων (WSSA, 1998).

Συχνά παρατηρείται η ανάπτυξη διασταυρωτής ανθεκτικότητας (cross-resistance) όταν ένας πληθυσμός ζιζανίων ανθεκτικός σε ένα ζιζανιοκτόνο

καθίσταται επίσης ανθεκτικός σε άλλα ζιζανιοκτόνα με τον ίδιο μηχανισμό δράσης. Για παράδειγμα, ένα ζιζάνιο που είναι ανθεκτικό στα ζιζανιοκτόνα της χημικής ομάδας των ιμιδαζολινών (ομάδα 2 κατά HRAC<sup>11</sup>) και στα ζιζανιοκτόνα της χημικής ομάδας των σουλφονουλουριών (επίσης ομάδα 2 κατά HRAC). Σπανιότερα, παρατηρείται το φαινόμενο της πολλαπλής ανθεκτικότητας (multiple-resistance) στο οποίο ένα ζιζάνιο χαρακτηρίζεται ως ανθεκτικό σε δύο ή περισσότερα ζιζανιοκτόνα που έχουν διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης. Για παράδειγμα, ένα ζιζάνιο που είναι ανθεκτικό στα ζιζανιοκτόνα της χημικής ομάδας των σουλφονουλουριών (ομάδα 2 κατά HRAC) και της χημικής ομάδας των γλυκινών (ομάδα 9 κατά HRAC). Κάτι τέτοιο μπορεί να συμβεί όταν ένα ζιζανιοκτόνο χρησιμοποιείται αποκλειστικά και εντατικά έως ότου ένας πληθυσμός ζιζανίων εμφανίσει ανθεκτικότητα και στη συνέχεια ακολουθήσουν επανειλημμένες εφαρμογές ενός άλλου ζιζανιοκτόνου (χωρίς ολοκληρωμένη διαχείριση της ανθεκτικότητας) με αποτέλεσμα ο ίδιος πληθυσμός ζιζανίων να εμφανίσει επιπλέον ανθεκτικότητα και στο δεύτερο ζιζανιοκτόνο κ.ο.κ. Πολλαπλή ανθεκτικότητα μπορεί επίσης να εμφανιστεί λόγω ροής διαφορετικών γονιδίων ανθεκτικότητας μέσω μεταφοράς γύρης μεταξύ συγγενικών ειδών. Η διασταυρωτή ανθεκτικότητα είναι πιο συχνή από την πολλαπλή ανθεκτικότητα, αλλά η δεύτερη προκαλεί μεγαλύτερη ανησυχία, διότι μειώνει τον αριθμό των ζιζανιοκτόνων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο του ανθεκτικού πληθυσμού.

Δύο ακόμη έννοιες που είναι σημαντικό να διαχωριστούν είναι η ανθεκτικότητα και η μετατόπιση ειδών ζιζανίων (weed shift). Μια μετατόπιση ειδών ζιζανίων είναι μια αλλαγή στη σχετική αφθονία των ειδών που περιλαμβάνουν έναν πληθυσμό ζιζανίων και είναι συνήθως αποτέλεσμα της διαχείρισης των καλλιεργειών (Nichols *et al.*, 2015). Με την επαναλαμβανόμενη χρήση ενός ζιζανιοκτόνου ορισμένα είδη μπορεί να κυριαρχήσουν λόγω μειωμένης ευαισθησίας στο συγκεκριμένο ζιζανιοκτόνο. Συγκεκριμένα, η αυξημένη χρήση του glyphosate στα γενετικώς τροποποιημένα φυτά οδήγησε σε μείωση των πληθυσμών των ευαίσθητων ζιζανίων και αύξηση των λιγότερο ευαίσθητων πληθυσμών ζιζανίων (Culpepper, 2006). Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι

---

<sup>11</sup> HRAC: Herbicide Resistance Action Committee (<https://www.hracglobal.com>)

μετατοπίσεις ζιζανίων μπορούν επίσης να συμβούν όταν χρησιμοποιούνται χαμηλές δόσεις ζιζανιοκτόνων επανειλημμένα όπου τα πιο δυσκολοεξόντωτα είδη ζιζανίων μπορεί να καταστούν κυρίαρχα (Busi & Powles, 2009).

Περιπτώσεις ζιζανίων ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα σε όλον τον κόσμο συγκεντρώνονται συνεχώς στην ιστοσελίδα της Διεθνούς Έρευνας Ανθεκτικών Ζιζανίων στα Ζιζανιοκτόνα ([www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)). Πλέον, η αναφορά ανθεκτικών βιοτύπων ζιζανίων γίνεται ολοένα και συνηθέστερη μετά τις πρώτες αναφορές για την εμφάνισή τους στη δεκαετία του 1950. Έτσι, ο αριθμός των ειδών ζιζανίων που έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα αυξάνεται με εκθετικό ρυθμό με τον Heap (2022) να σημειώνει ότι σήμερα σχεδόν 270 είδη ζιζανίων έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στις περισσότερες ομάδες ζιζανιοκτόνων, παγκοσμίως.

#### **2.4.2 Μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας**

Γενικά, η αποτελεσματικότητα ενός ζιζανιοκτόνου εξαρτάται από την ποσότητα του ζιζανιοκτόνου που εισέρχεται σε ένα φυτικό κύτταρο και το χρονικό διάστημα κατά το οποίο παραμένει διαθέσιμη η ενεργή του μορφή για αλληλεπίδραση με τη θέση δράσης του. Γι' αυτό η κατανόηση του μηχανισμού ανθεκτικότητας ενός ζιζανίου σε ένα ζιζανιοκτόνο απαιτεί κατανόηση του μηχανισμού δράσης του εν λόγω ζιζανιοκτόνου. Σήμερα 26 θέσεις-στόχοι περισσότερων από 260 δραστικών ουσιών ζιζανιοκτόνων της αγοράς αναγνωρίζονται από την HRAC (Herbicide Resistance Action Committee 2022, Χάρτης ταξινόμησης ζιζανιοκτόνων με βάση τον τρόπο δράσης κατά HRAC 2022, <https://hracglobal.com/tools/hrac-modeof-action-classification-2020-map>), η οποία παρακολουθεί την ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα.

Τα ανθεκτικά ζιζάνια μπορούν να επιβιώσουν από την εφαρμογή ζιζανιοκτόνων με μια ποικιλία μηχανισμών, οι οποίοι χωρίζονται σε δύο ευρείες κατηγορίες (Delye *et al.*, 2013; Powles & Yu, 2010). Η πρώτη αφορά σε τροποποίηση (μετάλλαξη) της θέσης δράσης των ζιζανιοκτόνων (Target-Site Resistance -TSR), ενώ η δεύτερη σε μηχανισμούς των φυτών που δεν σχετίζονται με τη θέση δράσης των ζιζανιοκτόνων (Non-Target-Site-Resistance -NTSR). Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας ζιζανίων σε ζιζανιοκτόνα οφείλεται σε φυσιολογικούς μηχανισμούς, όπως μείωση του ρυθμού

απορρόφησης και μετακίνησης του ζιζανιοκτόνου, αδρανοποίηση-ακινητοποίηση του μέσω σχηματισμού π.χ. συμπλόκου, κ.ά., αλλά και σε βιοχημικούς μηχανισμούς, όπως για παράδειγμα παρουσία ενζύμων που μεταβολίζουν τα ζιζανιοκτόνα, υπερέκφραση ενζύμων που αποτελούν θέσεις δράσης των ζιζανιοκτόνων και τροποποίηση της θέσης δράσης των ζιζανιοκτόνων (Πίνακας 1) (Gressel, 2009; Yuan *et al.*, 2007).

**Πίνακας 1. Πιθανοί μηχανισμοί ανθεκτικότητας ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα.**

Κατηγορία ανθεκτικότητας	Μηχανισμός
Ανθεκτικότητα που οφείλεται σε τροποποίηση της θέσης δράσης του ζιζανιοκτόνου (TSR)	Σημειακές μεταλλάξεις
	Αυξημένος αριθμός μεταγραφών γονιδίων
Ανθεκτικότητα που δεν οφείλεται σε τροποποίηση της θέσης δράσης του ζιζανιοκτόνου (NTSR)	Υπερέκφραση ενζύμου
	Αυξημένος μεταβολισμός
	Μειωμένη απορρόφηση
	Τροποποίηση μετακίνησης ζιζανιοκτόνου
	Απομόνωση (π.χ. στο χυμοτόπιο)
	Ταχεία νέκρωση (φαινόμενο Phoenix)

Η ανθεκτικότητα που οφείλεται σε τροποποίηση της θέσης δράσης των ζιζανιοκτόνων (TSR) εμφανίζεται όταν συμβαίνει αντικατάσταση των αμινοξέων στην πρωτεΐνη που αποτελεί θέση δράσης του ζιζανιοκτόνου με αποτέλεσμα την αδυναμία σύνδεσης του με αυτό και τη μη αποτελεσματική αναστολή δράσης του «στόχου», ενζύμου-πρωτεΐνης (Powles *et al.*, 1996). Το μεγαλύτερο ποσοστό ανθεκτικών ζιζανίων σε ζιζανιοκτόνα οφείλεται πρωτίστως σε αυτόν τον μηχανισμό και δευτερευόντως σε άλλους (Devine, 1997). Αυτός ο μηχανισμός είναι ιδιαίτερα συνηθισμένος στα ζιζανιοκτόνα-αναστολείς του φωτοσυστήματος II (PSII) (τριαζίνες, ομάδα 5 κατά HRAC), ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της συνθετάσης του οξικογαλακτικού οξέος (ALS, ομάδα 2 κατά HRAC) και ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της καρβοξυλάσης του ακέτυλο-CoA (ACCase, ομάδα 1 κατά HRAC), τα οποία όλα θεωρούνται ζιζανιοκτόνα υψηλού κινδύνου ανάπτυξης ανθεκτικότητας. Με μικρότερη

συχνότητα, η TSR ανθεκτικότητα έχει ταυτοποιηθεί και σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της μίτωσης (δινιτροανιλίνες, ομάδα 3 κατά HRAC; καρβαμιδικά, ομάδα 23 κατά HRAC), ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της βιοσύνθεσης χλωροφύλλης (PPG-Oxidase ή Protox, ομάδα 14 κατά HRAC), ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της βιοσύνθεσης καροτενοειδών (ομάδα 12 κατά HRAC) και ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της EPSP συνθετάσης (ομάδα 9 κατά HRAC) (Beckie & Tardif, 2012; Gaines *et al.*, 2020) και είναι πιθανός μηχανισμός για τα ζιζανιοκτόνα με δράση αυξίνης (ομάδα 4 κατά HRAC) (Busi *et al.*, 2018; Mithila *et al.*, 2011).

Αν και οι γονιδιακές μεταλλάξεις που ευθύνονται για την TSR ανθεκτικότητα έχουν προσδιοριστεί με ακρίβεια, η υπάρχουσα γνώση σχετικά με την NTSR ανθεκτικότητα είναι πιο περιορισμένη. Στο παρελθόν, υπήρχε η υπόθεση ότι η τελευταία γενικά προσέδιδε μικρότερου επιπέδου ανθεκτικότητα και ήταν σημαντική κυρίως για τα αγρωστώδη ζιζάνια. Ωστόσο, σήμερα αναγνωρίζεται ως προσδίδουσα μείζονος σημασίας ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της καρβοξυλάσης του ακετυλο-CoA (ACCase, ομάδα 1 κατά HRAC), της EPSP συνθετάσης (ομάδα 9 κατά HRAC), της συνθετάσης του οξικογαλακτικού οξέος (ALS, ομάδα 2 κατά HRAC) και του φωτοσυστήματος II (PSII) (ουρία, ομάδα 5 κατά HRAC), καθώς και σε άλλες κατηγορίες ζιζανιοκτόνων (Delye *et al.*, 2013). Οι μηχανισμοί της NTSR ανθεκτικότητας είναι γενικά πιο περίπλοκοι ως προς την αποκρυπτογράφησή τους από την TSR ανθεκτικότητα και μπορούν να προσδώσουν πολλαπλή ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα με διαφορετικούς τρόπους δράσης. Μια σημαντική πρακτική πλευρά της NTSR ανθεκτικότητας, ειδικά εκείνης που οφείλεται σε αυξημένο μεταβολισμό, είναι ότι τα μοτίβα της πολλαπλής ανθεκτικότητας είναι πολύπλοκα, απρόβλεπτα και μπορούν να εμφανιστούν σε πολλές διαφορετικές κατηγορίες ζιζανιοκτόνων (Beckie & Tardif, 2012). Αυτό έρχεται σε αντίθεση με την TSR ανθεκτικότητα που επηρεάζει μόνο ζιζανιοκτόνα που ανήκουν στην ίδια χημική ομάδα.

Πολλοί διαφορετικοί μηχανισμοί ανθεκτικότητας, συμπεριλαμβανομένου του συνδυασμού μηχανισμών TRS και NTSR, μπορούν να συνυπάρχουν σε ένα είδος, σε έναν πληθυσμό, ακόμη και σε ένα άτομο (Gaines *et al.*, 2020). Είδη με υψηλά επίπεδα σταυρογονιμοποίησης, όπως τα είδη του γένους *Lolium*,

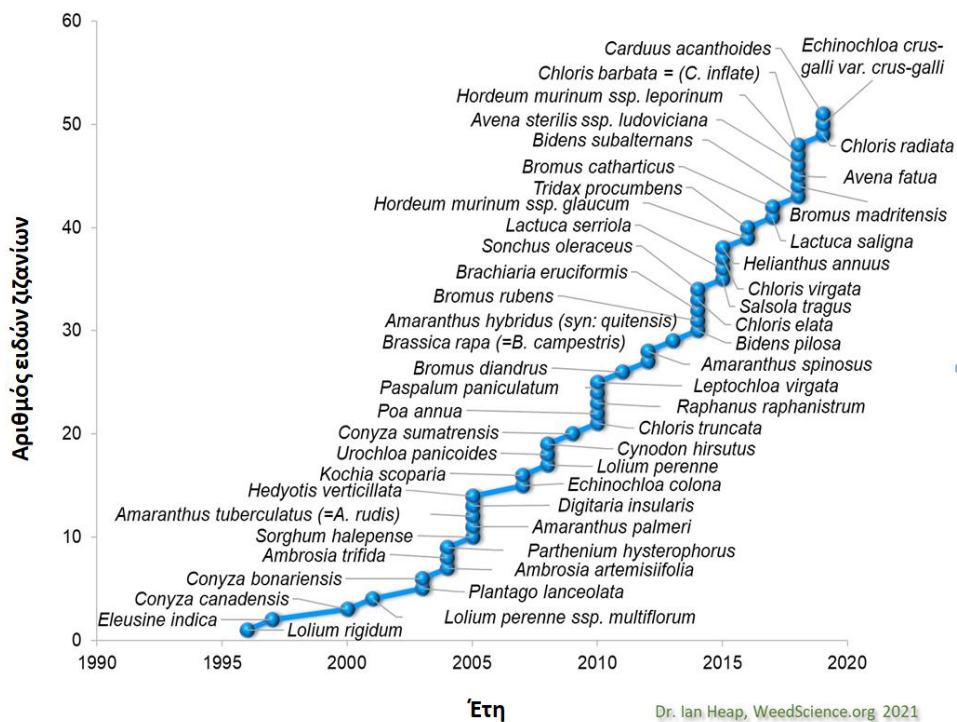
είναι πιο πιθανό να συγκεντρώνουν διαφορετικούς μηχανισμούς ανθεκτικότητας (σε ένα ή σε περισσότερα ζιζανιοκτόνα) και αυτή η διαδικασία μπορεί να συμβεί πιο γρήγορα σε σύγκριση με τα αυτογονιμοποιούμενα είδη (González-Torralva *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2007). Η κατανόηση του τρόπου δράσης ενός ζιζανιοκτόνου είναι χρήσιμη για την κατανόηση του μηχανισμού της αναπτυσσόμενης ανθεκτικότητας, καθώς η ανθεκτικότητα σε πολλές περιπτώσεις είναι το αποτέλεσμα μιας τροποποιημένης θέσης δράσης. Η εναλλαγή ζιζανιοκτόνων στο πεδίο με διαφορετικές θέσεις δράσης ή τα μείγματα ζιζανιοκτόνων με διαφορετικές θέσεις δράσης μπορούν να καθυστερήσουν την ανάπτυξη της ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα (Dayan *et al.*, 2019).

#### **2.4.3 Ανθεκτικότητα ζιζανίων στο ζιζανιοκτόνο glyphosate**

Για πολλά χρόνια, το ενδεχόμενο ανάπτυξης ανθεκτικότητας στο glyphosate δεν θεωρούνταν πιθανό, αφενός λόγω του μοναδικού τρόπου δράσης του και αφετέρου λόγω της έλλειψης αναφορών ανθεκτικότητας κατά τη διάρκεια των πρώτων είκοσι ετών της εκτεταμένης παγκόσμιας χρήσης της δραστικής ουσίας (Bradshaw *et al.*, 1997). Ωστόσο, από τα τέλη της δεκαετίας του 1970 έως το 2016, υπήρξε μια 100-πλάσια αύξηση στη συχνότητα και την ποσότητα της εφαρμογής ζιζανιοκτόνων που περιείχαν τη δραστική ουσία glyphosate παγκοσμίως. Σήμερα, περισσότερα από πενήντα είδη ζιζανίων έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στο glyphosate (Γράφημα 1). Η μαζική καλλιέργεια ανθεκτικών στο glyphosate ποικιλιών διαδραμάτισε σημαντικό ρόλο στη ραγδαία ανάπτυξη ανθεκτικότητας ζιζανίων στο glyphosate, ως αποτέλεσμα της υψηλής πίεσης επιλογής από τις αυξημένες εφαρμογές του ζιζανιοκτόνου (Duke & Powles, 2008). Έως σήμερα υπάρχουν τουλάχιστον 344 αναφορές ανάπτυξης ανθεκτικότητας στο glyphosate παγκοσμίως ([www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)). Στη μεγάλη εξάπλωση της ανθεκτικότητας στο glyphosate όμως, έχει συνεισφέρει και η συνεχής χρήση του σε καλλιέργειες που δεν είναι γενετικά τροποποιημένες. Οι αλληπάλληλες εφαρμογές glyphosate σε ετήσιες, πολυετείς καλλιέργειες και ακαλλιέργητες εκτάσεις αποτελούν κοινή πρακτική τις τελευταίες δεκαετίες, ασκώντας έντονη πίεση επιλογής και οδηγώντας σε μετατοπίσεις ειδών ζιζανίων καθώς και στην



ανάπτυξη ανθεκτικών βιότυπων ζιζανίων στο glyphosate (Owen, 2008; Powles, 2008).



**Γράφημα 1. Είδη ζιζανίων που έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στο glyphosate παγκοσμίως. Πηγή: [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org) (Online: 04.10.20).**

Τα ζιζάνια έχουν αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς ανθεκτικότητας στο glyphosate, όπως σημειακές μεταλλάξεις στο γονίδιο EPSPS, περισσότερα αντίγραφα του γονιδίου EPSPS, μείωση της μετακίνησης του glyphosate μέσα στο φυτό, δέσμευση του ζιζανιοκτόνου στα κυτταρικά χυμοτόπια και ταχεία νέκρωση του φυλλώματος που έρχεται σε επαφή με το ψεκαστικό υγρό, εμποδίζοντας τη μετακίνηση του ζιζανιοκτόνου στους μεριστωματικούς ιστούς.

Όσον αφορά την TSR ανθεκτικότητα, οι περισσότερες μελέτες αναφέρουν πως αυτή οφείλεται σε μετάλλαξη στο ενεργό κέντρο του ενζύμου με αποτέλεσμα το μόριο του glyphosate να μην μπορεί να προσδεθεί στο ένζυμο και να το αδρανοποιήσει. Πιο συγκεκριμένα, η συνηθέστερη μετάλλαξη που έχει αναφερθεί είναι η αντικατάσταση του αμινοξέος προλίνη (Pro) στη θέση 106 της αλληλουχίας των αμινοξέων της πρωτοταγούς δομής του ενζύμου EPSPS από τα αμινοξέα σερίνη (Ser) ή θρεονίνη ή από τα υδρόφοβα αμινοξέα αλανίνη ή λευκίνη (Pro 106-Ser), θυροξίνη (Thr102Ile), αλανίνη (Ala103Val) και λευκίνη (Baerson *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2015; Ngo *et al.*,

2018; Simarmata & Penner, 2008; Yu *et al.*, 2015). Αλλαγές στη θέση-στόχο μέσω μετάλλαξης στο γονίδιο EPSPS έτσι ώστε να μην αναστέλλεται πλέον από το glyphosate έχουν τεκμηριωθεί σε πολλά ζιζάνια, ανάμεσα στα οποία ανήκουν και τα είδη *Eleusine indica* (Kaundun *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2000; Ng *et al.*, 2003), *Lolium rigidum* (Yu *et al.*, 2007), *L. Multiflorum* (Avila-Garcia *et al.*, 2012; González-Torralva *et al.*, 2012), *Amaranthus palmeri* (Dominguez-Valenzuela *et al.*, 2017; Kaundun *et al.*, 2019) και *Amaranthus tuberculatus* (Nandula *et al.*, 2013). Η TSR ανθεκτικότητα μπορεί ακόμη να οφείλεται σε υπερέκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί το EPSP synthase, με αποτέλεσμα το ζιζανιοκτόνο να μην είναι πλέον αποτελεσματικό στη συνιστώμενη δόση εφαρμογής (Dinelli *et al.*, 2008; Salas *et al.*, 2012).

Στην Αυστραλία αναφέρθηκε για πρώτη φορά μειωμένη μετακίνηση του glyphosate από τα φύλλα στους μεριστωματικούς ιστούς και στις ρίζες σε ανθεκτικούς βιότυπους της λεπτής ήρας (Lorraine-Colwill *et al.*, 2002), ενώ στη συνέχεια ακολούθησε πλήθος μελετών με παρόμοιες αναφορές για αρκετά είδη ζιζανίων (Preston & Wakelin, 2008; Shaner, 2009; Vazquez-Garcia *et al.*, 2020). Ανθεκτικότητα λόγω μειωμένης συγκράτησης και απορρόφησης του glyphosate από τα ψεκασμένα φυτά αναφέρθηκε για έναν βιότυπο του ζιζανίου *L. multiflorum* από την Χιλή (Michitte *et al.*, 2007). Επιπρόσθετα, μεταφορά και απομόνωση του glyphosate σε κυτταρικά οργανίδια, όπως το χυμοτόπιο, όπου το ζιζανιοκτόνο παραμένει ανενεργό, αναφέρθηκε από τους Ge *et al.* (2010). Τέλος, ένας από τους κυριότερους μηχανισμούς ανθεκτικότητας των ζιζανίων στο glyphosate είναι και ο μεταβολισμός του ζιζανιοκτόνου, ειδικά σε είδη ζιζανίων όπως το *L. rigidum*, με αποτέλεσμα να παράγονται αβλαβείς για το φυτό μεταβολίτες του.

Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στο glyphosate αποτελεί τη μεγαλύτερη πρόκληση για τη συνέχιση της χρήσης του σε παγκόσμιο επίπεδο. Προς το παρόν συνεχίζει να αποτελεί το πιο διαδεδομένο ζιζανιοκτόνο, καθώς αρκετά είδη ζιζανίων παραμένουν ευαίσθητα σε αυτό. Ωστόσο, η ένταξη του σε προγράμματα Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Ζιζανίων κρίνεται πιο απαραίτητη από ποτέ, καθώς αποτελεί ένα ζιζανιοκτόνο ευρέως φάσματος με μοναδικό τρόπο δράσης.

#### 2.4.4 Ανθεκτικότητα ζιζανίων στο ζιζανιοκτόνο glufosinate-ammonium

Το glufosinate μπορεί να ελέγξει αποτελεσματικά ένα ευρύ φάσμα ζιζανίων, συμπεριλαμβανομένων αρκετών ειδών αγρωστωδών και πλατύφυλλων ζιζανίων (Chahal & Johnson, 2012; Moretti, 2021; Norsworthy *et al.*, 2010; Ulguim *et al.*, 2019). Το 2010, δύο έρευνες τεκμηρίωσαν για πρώτη φορά την εμφάνιση ανθεκτικότητας στο glufosinate σε βιότυπους του ζιζανίου *Eleusine indica* στη Μαλαισία (Jalaludin *et al.*, 2010; Seng *et al.*, 2010). Ανθεκτικότητα στο συγκεκριμένο ζιζανιοκτόνο καταγράφηκε στη συνέχεια σε Αμερική (Avila-Garcia & Mallory-Smith, 2011), Ιαπωνία (Kurata *et al.*, 2017), Νέα Ζηλανδία (Ghanizadeh *et al.*, 2015a), Ισπανία (Fernández *et al.*, 2017a) και Ελλάδα (Travlos *et al.*, 2018). Μέχρι σήμερα ένας περιορισμένος αριθμός ειδών ζιζανίων, συμπεριλαμβανομένων των ειδών *E. indica*, *L. rigidum*, *L. multiflorum*, *L. perenne* και *A. palmeri* και *Poa annua*, έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα στο glufosinate (Heap, 2022).

Παρά το γεγονός ότι οι γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες με ανθεκτικότητα στο glufosinate είναι ευρέως διαδεδομένες σε παγκόσμιο επίπεδο, υπάρχει αυξανόμενη ανησυχία για τον αντίκτυπό τους στην εξέλιξη της ανθεκτικότητας των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα, καθώς οι εφαρμογές αυξάνονται και η πίεση επιλογής είναι υψηλότερη (Kumar *et al.*, 2008; Olofsdotter *et al.*, 2000). Συγκεκριμένα, συστήματα μονοκαλλιέργειας που βασίζονταν σε ποικιλίες ρυζιού ανθεκτικές στο glufosinate για τον έλεγχο των ζιζανίων συσχετίστηκαν με την παρουσία ανθεκτικών ζιζανίων μέσα σε μια χρονική περίοδο 3 έως 8 ετών (Madsen *et al.*, 2000). Ωστόσο, η επαναλαμβανόμενη χρήση του glufosinate σε συστήματα ακατεργασίας ή μειωμένης κατεργασίας μπορεί να αυξήσει σημαντικά τον κίνδυνο ανθεκτικότητας στο glufosinate ακόμη και στις περιπτώσεις που δεν χρησιμοποιούνται καλλιέργειες ανθεκτικές στο ζιζανιοκτόνο glufosinate.

Οι μελέτες σχετικά με τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate είναι περιορισμένες. Στο Όρεγκον, για το είδος της Ιταλικής ήρας έχει αναφερθεί τόσο NTSR ανθεκτικότητα στο glufosinate λόγω αυξημένου μεταβολισμού (79%) σε σύγκριση με τα φυτά του ευαίσθητου πληθυσμού αναφοράς (48%) (Avila-Garcia & Mallory-Smith, 2011), όσο και TSR

ανθεκτικότητα καθώς αντικατάσταση στο γονίδιο GS2 που αφορά το ασπαρτικό οξύ στη θέση 171 αναγνωρίστηκε για τον ανθεκτικό πληθυσμό (Avila-Garcia *et al.*, 2012). Υπάρχουν και μελέτες που επιβεβαιώνουν την ανθεκτικότητα χωρίς να μελετούν τους εμπλεκόμενους μηχανισμούς της (Ghanizadeh *et al.*, 2015a; Travlos *et al.*, 2018). Ως πιθανός μηχανισμός ανθεκτικότητας των ζιζανιών στο glufosinate θα μπορούσε να θεωρηθεί και η απομόνωση στο χυμοτόπιο, παρόμοια με αυτή που παρατηρήθηκε για το glyphosate στα είδη *Conyza spp.* και *Lolium spp.* (Ge *et al.*, 2012, 2014).

Το σχετικά υψηλό κόστος του glufosinate, καθώς και ο αυξανόμενος αριθμός ανθεκτικών ζιζανίων σε εναλλακτικά ζιζανιοκτόνα, συχνά ωθεί τους αγρότες στο να χρησιμοποιούν συχνότερα το glufosinate, αλλά σε χαμηλότερες δόσεις. Η πρακτική αυτή, σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες, όπως η εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων σε διαφορετικό από το ενδεδειγμένο στάδιο ανάπτυξης, οι ακατάλληλες καιρικές συνθήκες και η ανεπαρκής κάλυψη του φυλλώματος με ψεκαστικό υγρό, μπορούν να οδηγήσουν σε επιλογή ανθεκτικών βιότυπων (sublethal rate herbicide selection). Οι Matzrafi *et al.* (2020) αναφέρουν πως, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνάς τους, υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι μειωμένη ευαισθησία στο glufosinate μπορεί να αναπτυχθεί σε πληθυσμούς ζιζανίων μετά από επαναλαμβανόμενες εφαρμογές του ζιζανιοκτόνου σε χαμηλές δόσεις. Ωστόσο, ο ρυθμός αύξησης του επιπέδου ανθεκτικότητας σε τρεις γενιές επαναλαμβανόμενης επιλογής glufosinate που παρατηρήθηκε ήταν σχετικά χαμηλός σε σύγκριση με τον αντίστοιχο ρυθμό που καταγράφηκε για τα ζιζανιοκτόνα glyphosate, sethoxydim και paraquat, υπό τις ίδιες συνθήκες.

Η ανάπτυξη ανθεκτικών βιότυπων σε αυτό το ζιζανιοκτόνο είναι ένα προειδοποιητικό σημάδι ότι ακόμη και τα ζιζανιοκτόνα που αρχικά χαρακτηρίστηκαν από αρκετούς ως «ανθεκτικά στην ανθεκτικότητα» μπορούν να αναπτύξουν ανθεκτικότητα με επαναλαμβανόμενη χρήση. Ενδεικτικό είναι το γεγονός ότι μέχρι σήμερα το glufosinate θεωρείται βασικό ζιζανιοκτόνο για την αποτελεσματική διαχείριση ανθεκτικών ζιζανίων στο glyphosate (Beckie, 2011). Έτσι, παρόλο που ανθεκτικότητα στο glufosinate δεν έχει αναπτυχθεί σε πολλά είδη ζιζανίων, πρέπει να ληφθούν υπόψη διαφορετικές στρατηγικές που θα στοχεύουν τόσο στη διατήρηση της αποτελεσματικότητας αυτού του

ζιζανιοκτόνου όσο και στον περιορισμό της ανάπτυξης πολλαπλής ανθεκτικότητας.

#### 2.4.5 Διερεύνηση ανθεκτικότητας

Οι αξιόπιστες δοκιμές διερεύνησης ανθεκτικότητας αποτελούν απαραίτητη προϋπόθεση για την αποτελεσματική και ολοκληρωμένη διαχείριση των ανθεκτικών ζιζανίων. Ιδανικά οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την επιβεβαίωση της ανθεκτικότητας θα πρέπει να είναι ταχείες, ακριβείς, οικονομικές, άμεσα διαθέσιμες και να παρέχουν αξιόπιστες ενδείξεις των πιθανών επιπτώσεων της ανθεκτικότητας των ζιζανίων του χωραφιού στα ζιζανιοκτόνα. Η αρχική υποψία ανθεκτικότητας συνήθως προκύπτει από τον μη ικανοποιητικό έλεγχο ενός ή περισσότερων ζιζανίων μετά από εφαρμογή ζιζανιοκτόνου. Ωστόσο, η ανθεκτικότητα δεν θα πρέπει να θεωρείται αβίαστα αιτία μιας τέτοιας συνθήκης. Η ανθεκτικότητα θα πρέπει να θεωρείται πιθανή αιτία όταν έχουν μελετηθεί και αποκλειστεί άλλοι πιθανοί παράγοντες που μπορούν να οδηγήσουν σε μειωμένη αποτελεσματικότητα ενός ζιζανιοκτόνου (όπως εφαρμογή ζιζανιοκτόνου, εδαφοκλιματικές συνθήκες και βιολογία / οικολογία ζιζανίων). Ο πιο σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την ευκολία επιβεβαίωσης της ανθεκτικότητας είναι το επίπεδό της. Έτσι, η ανθεκτικότητα στα πρώτα στάδια ανάπτυξής της είναι δύσκολο να διακριθεί και να διαχωριστεί από τους υπόλοιπους παράγοντες που θα μπορούσαν να προκαλέσουν μειωμένη αποτελεσματικότητα στη δράση ενός ζιζανιοκτόνου.

Αναλυτική περιγραφή και αξιολόγηση των μεθόδων και των πρωτοκόλλων των πειραμάτων διερεύνησης ανθεκτικότητας ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα περιέχεται αναλυτικά σε δύο σημαντικές δημοσιεύσεις των Burgos *et al.* (2013) και Burgos (2015) (Πίνακας 2). Η κλασική προσέγγιση για επιβεβαίωση και ποσοστικοποίηση της ανθεκτικότητας περιλαμβάνει συλλογή σπόρων από φυτά που έχουν επιβιώσει ύστερα από εφαρμογή ζιζανιοκτόνων *in situ*, σπορά σε φυτοδοχεία και εφαρμογή ζιζανιοκτόνων είτε σε μία μόνο διακριτική δόση (*discriminating dose*), είτε σε ένα εύρος δόσεων (*dose-response assays*). Τέτοιες αναλύσεις διεξάγονται συνήθως σε θερμοκήπιο ή θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών. Οι αξιολογήσεις συνήθως περιλαμβάνουν οπτικές εκτιμήσεις θνησιμότητας ή ευρωστίας φυτών ή μετρήσεις νωπού ή ξηρού

βάρους υπέργειου τμήματος του φυτού. Αυτή η μέθοδος είναι απαιτητική από άποψη χώρου και χρόνου - χρειάζονται περίπου έως και 2 μήνες για να ληφθούν αποτελέσματα - και δεν επιλέγεται συνήθως για δοκιμές μεγάλης κλίμακας.

Σημαντικές προσπάθειες να αναπτυχθούν δοκιμές ανθεκτικότητας που θα επιτρέψουν στους καλλιεργητές να χρησιμοποιήσουν πληροφορίες για την ανθεκτικότητα με σκοπό τη λήψη αποφάσεων σε πραγματικό χρόνο και τη διαχείριση των τρεχουσών αστοχιών στον έλεγχο των ζιζανίων έχουν καταβληθεί τα τελευταία χρόνια με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Αυτές περιλαμβάνουν δοκιμές σε φυτοδοχεία με χρήση φυτών που έχουν συλλεγεί από το πεδίο, μεθόδους *in vitro*, βιοδοκιμές σπόρων αλλά και μεθόδους μοριακών αναλύσεων (Boutsalis *et al.*, 2001; Breccia *et al.*, 2011; Kaundun *et al.*, 2011; Preston *et al.*, 2015). Ωστόσο, η μέθοδος ανίχνευσης ανθεκτικότητας σε πειράματα θερμοκηπίου με φυτοδοχεία είναι πιθανό να παραμείνει η πλέον απλή και αξιόπιστη δοκιμή ανθεκτικότητας που σχεδόν μιμείται αυτό που συμβαίνει στο πεδίο. Επιπλέον, οι δοκιμές σε φυτοδοχεία μπορούν να επιβεβαιώσουν την ύπαρξη ανθεκτικότητας ανεξάρτητα από τον μηχανισμό - ένα πολύ σημαντικό χαρακτηριστικό.

Οι πιο εξειδικευμένες αναλύσεις μπορεί να είναι ταχύτερες και ακριβέστερες ως προς τους υπεύθυνους μηχανισμούς ανθεκτικότητας, αλλά η ίδια η ακρίβειά τους μπορεί να λειτουργήσει περιοριστικά, ειδικά όταν εμπλέκονται περισσότεροι μηχανισμοί ανθεκτικότητας. Ειδικότερα, πρέπει να δίδεται προσοχή στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων που βασίζονται σε μεθόδους που περιλαμβάνουν τη χρήση ζιζανιοκτόνων με εντελώς διαφορετικούς τρόπους σε σύγκριση με την εφαρμογή στο πεδίο. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι οι περισσότερες από αυτές τις μελέτες χρειάζονται περαιτέρω δοκιμές για προσαρμογή σε διαφορετικά είδη ζιζανίων και ζιζανιοκτόνα.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι ένας από τους πρωταρχικούς στόχους της αποτελεσματικής και ολοκληρωμένης διαχείρισης των ζιζανίων πρέπει να είναι η προσπάθεια αποτροπής ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα. Ωστόσο, εάν αυτό συμβεί, είναι πολύ σημαντικό η ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα να ανιχνευθεί όσο το δυνατόν συντομότερα προκειμένου να

εφαρμοστούν στρατηγικές διαχείρισής της. Αν η ανθεκτικότητα εξαπλωθεί σε ευρύτερο πρόβλημα ολόκληρου του αγροτεμαχίου, τότε οι επιλογές ελέγχου είναι πιο περιορισμένες και το κόστος και η δυσκολία διαχείρισης της ανθεκτικότητας αυξάνονται. Η επιβεβαίωση της ανθεκτικότητας μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικές αλλαγές στο γεωργικό σύστημα, π.χ. αλλαγές στις πρακτικές της καλλιέργειας (αμειψισπορά, εναλλαγή καλλιεργειών), αλλά και σε υβριδικά συστήματα χημικής ζιζανιοκτονίας. Είναι σημαντικό λοιπόν, προτού ληφθούν αποφάσεις για τέτοιου είδους ενέργειες, να έχουν διεξαχθεί σωστά αξιόπιστες δοκιμές ανθεκτικότητας και να έχουν εξαχθεί συγκεκριμένα και ασφαλή αποτελέσματα.

**Πίνακας 2. Περιγραφή σταδίων εργασίας για την ανίχνευση και την επιβεβαίωση ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα ζιζανίων (Πηγή: Burgos et al., 2013)**

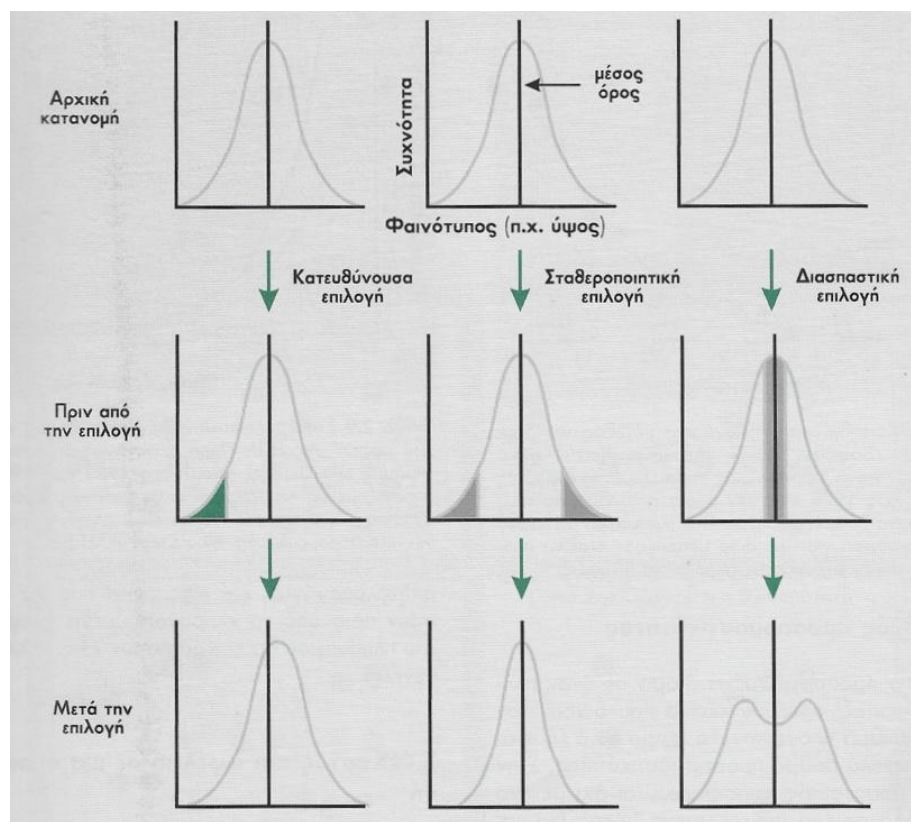
<b>Βήμα</b>	<b>Περιγραφή</b>	<b>Σχόλια</b>
<b>1</b>	Διερεύνηση πεδίου για εντοπισμό προβλημάτων ανθεκτικότητας	Αναζήτηση ενδείξεων εξελισσόμενου ανθεκτικού πληθυσμού (Burgos <i>et al.</i> , 2006; Moss, 1999)
<b>1α</b>	Διεξαγωγή επισκοπήσεων	Απαιτούνται δομημένες έρευνες και δειγματοληψία πεδίου για τον προσδιορισμό της εξάπλωσης της ανθεκτικότητας και της κατανομής των ανθεκτικών ειδών σε ένα τοπίο. <u>Παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη:</u> Γεωγραφική κάλυψη, βιολογία των ειδών-στόχων, συλλογή πληροφοριών: δομή δειγματοληψίας πεδίων, αριθμός πεδίων προς δειγματοληψία, εποχή δειγματοληψίας.
<b>2</b>	Συλλογή δειγμάτων φυτών ή σπόρων	Γενικά, συλλέγεται ένα κοινό (bulk) δείγμα σπόρων ανά χωράφι. Αναλυτικές πληροφορίες σχετικά με την κατανομή της ανθεκτικότητας ή την ενδοπληθυσμιακή παραλλακτικότητα μπορεί να συνεπάγεται ξεχωριστά δείγματα φυτών ανά χωράφι. <u>Παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη:</u> Βιολογία ειδών-στόχων, αντιπροσωπευτικό δείγμα πληθυσμού αγρού, αριθμός και ποιότητα σπόρων, αριθμός φυτών προς δειγματοληψία, σχέδιο δειγματοληψίας.
<b>3</b>	Αποθήκευση σπόρων	Αποφύγετε συνθήκες που θα προκαλέσουν δευτερογενή λήθαργο ή απώλεια της βιωσιμότητας των σπόρων. <u>Παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη:</u> Συνθήκες μεταφοράς από το χωράφι στο εργαστήριο, συνθήκες ξήρανσης, συνθήκες αποθήκευσης.
<b>4</b>	Προβλάστηση	Για να ληφθούν φυτά ομοιόμορφου μεγέθους για δοκιμή, οι σπόροι μπορεί να χρειαστεί να προβλαστήσουν και μετά να μεταφυτευτούν. <u>Παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη:</u> Οι ενέργειες για τη διακοπή του λήθαργου των σπόρων μπορεί να περιορίσουν την ανάγκη για προβλάστηση, να επιταχύνουν τη βλάστηση και να βελτιώσουν την ομοιομορφία της.
<b>5</b>	Επιλογή της κατάλληλης μεθόδου και σχεδιασμός του πειράματος	Ανάλογα με τον στόχο και τον αριθμό των δειγμάτων προς δοκιμή, μπορεί κανείς να χρησιμοποιήσει ολόκληρα φυτά, σπόρους, δίσκους φύλλων, μοριακές τεχνικές ή οποιονδήποτε συνδυασμό αυτών. Οι νέοι ερευνητές πρέπει να συμβουλευτούν έναν στατιστικολόγο. <u>Παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη:</u> Εγκαταστάσεις, εξοπλισμός, όργανα ανάλυσης, απαιτούμενη τεχνογνωσία, κόστος αναλύσιμων, επιστημονικό προσωπικό, διάρκεια πειραματικών δοκιμών.
<b>6</b>	Επιλογή ευαίσθητων πληθυσμών αναφοράς	Ένας ευαίσθητος πληθυσμός (S) πρέπει να περιλαμβάνεται σε κάθε δοκιμή. <u>Παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη:</u> Εάν είναι δυνατόν, χρησιμοποιήστε έναν πληθυσμό χωρίς προηγούμενη έκθεση ή ελάχιστη έκθεση στο ζιζανιοκτόνο. Επιλογή ευαίσθητου πληθυσμού από την ίδια περιοχή με τον πιθανώς ανθεκτικό πληθυσμό (R), αλλά διατήρηση του ίδιου ευαίσθητου πληθυσμού για δοκιμές μεγάλης κλίμακας.
<b>7</b>	Ανάλυση δεδομένων και ερμηνεία των αποτελεσμάτων	Προσοχή θα πρέπει να δοθεί στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων των μοριακών δοκιμών και ορισμένων γρήγορων δοκιμών, καθώς και στις περιπτώσεις που η ανθεκτικότητα δεν προκύπτει με σαφήνεια στη συνιστώμενη δόση.



## 2.5 Οικολογική προσαρμοστικότητα και ανθεκτικότητα

Η προσαρμογή αποτελεί μία διεργασία γενετικής αλλαγής ενός πληθυσμού, η οποία οφείλεται στη φυσική επιλογή και μέσω της οποίας η μέση κατάσταση ενός χαρακτήρα βελτιώνεται ως προς μια συγκεκριμένη λειτουργία ή μέσω της οποίας ένας πληθυσμός μπορεί να ανταποκρίνεται πιο ικανοποιητικά σε ορισμένα γνωρίσματα του περιβάλλοντος (Βερεσόγλου, 2004).

Σύμφωνα με τον συγγραφέα, τρεις τύποι επιλογής μπορούν να συμβούν στα φαινοτυπικά γνωρίσματα (Εικόνα 4). Η κατευθύνουσα επιλογή, στην οποία οι φαινότυποι του ενός μόνο άκρου μειονεκτούν έναντι των υπολοίπων, η σταθεροποιητική επιλογή, στην οποία οι φαινότυποι που βρίσκονται στο μέσο του πληθυσμού είναι πιο προσαρμοσμένοι σε σχέση με αυτούς που βρίσκονται στα άκρα και η διασπαστική επιλογή, στην οποία οι φαινότυποι των άκρων ευνοούνται σε σχέση με τους φαινότυπους που βρίσκονται στο μέσο. Η ανθεκτικότητα των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα είναι αποτέλεσμα κατευθύνουσας επιλογής.



Εικόνα 4. Τύποι επιλογής φαινοτυπικών γνωρισμάτων (Κατευθύνουσα, σταθεροποιητική και διασπαστική επιλογή) (Πηγή: Βερεσόγλου, 2004; Tamarin, 1999).

Οι ανθεκτικοί βιότυποι των ζιζανίων είναι ικανοί να αντέξουν την τοξικότητα των ζιζανιοκτόνων χάρη στην παρουσία γονιδίων ανθεκτικότητας που προέρχονται και από τυχαίες μεταλλάξεις στο DNA (Powles & Yu, 2010). Αυτά τα γονίδια ανθεκτικότητας ρυθμίζουν μία σειρά από εξαιρετικά αποτελεσματικούς μηχανισμούς ανθεκτικότητας που αποτρέπουν τα ζιζανιοκτόνα να αναστείλουν βασικές μεταβολικές οδούς, είτε μέσω της TSR ανθεκτικότητας είτε μέσω της NTSR ανθεκτικότητας, προστατεύοντας τα φυτά από την θανατηφόρο δράση των ζιζανιοκτόνων. Δηλαδή, η παρουσία γονιδίων ανθεκτικότητας σε φυσικούς πληθυσμούς ζιζανίων ελαχιστοποιεί την αναμενόμενη μείωση της προσαρμοστικότητας των φυτών λόγω εφαρμογής ζιζανιοκτόνων.

Σύμφωνα με τη θεωρία του κόστους προσαρμοστικότητας, κάθε προσαρμογή, η οποία προσδίδει όφελος σε μία νέα «καταπόνηση», πρέπει να έχει ως αποτέλεσμα μια τροποποίηση του αρχικού φαινοτύπου και κατ' επέκταση να προκαλεί ένα κόστος προσαρμοστικότητας (fitness cost) στο αρχικό περιβάλλον (Fry, 2003; Vila-Aiub *et al.*, 2011). Για παράδειγμα, ένα ζιζάνιο το οποίο δέχεται εντονότερη πίεση από τις εφαρμογές ζιζανιοκτόνων που στοχεύουν στην καταπολέμησή του, θα εξελιχθεί προς την κατεύθυνση της απόκτησης υψηλότερης ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα. Η προσαρμογή αυτή κατά κανόνα θα το καταστήσει λιγότερο ανταγωνιστικό σε σύγκριση με τα άλλα φυτά.

Η ανταγωνιστική πλειοτροπία που σχετίζεται με ένα προσαρμοσμένο αλληλόμορφο μπορεί να προκαλέσει ένα άμεσο κόστος προσαρμοστικότητας ή αποκλίσεις σε χαρακτηριστικά όπως η βιομάζα, η βλάστηση, το ύψος και ο χρόνος ανθοφορίας ενός φυτού που μπορεί τελικά να οδηγήσουν σε κόστος προσαρμοστικότητας υπό συνθήκες περιορισμένων διαθέσιμων πόρων (McCloskey & Holt, 1990; Roux *et al.*, 2005; Vila-Aiub *et al.*, 2005).

Το καλύτερο μέτρο της προσαρμοστικότητας είναι η ικανότητα ενός οργανισμού ή πληθυσμού να επιβιώσει μέχρι την αναπαραγωγή, ο αριθμός των απογόνων που θα παράγει και η ικανότητα αυτών των απογόνων να αναπαραχθούν (Heil & Baldwin, 2002; Orr, 2009). Ωστόσο, ο ρυθμός

ανάπτυξης και το μέγεθος του φυτού μπορεί να είναι ένα έμμεσο μέτρο της προσαρμοστικότητας των φυτών (Samson & Werk, 1986).

Οι Bergelson & Purrington (1996) διεξήγαγαν μια έρευνα για να προσδιορίσουν την πιθανότητα εύρεσης κόστους προσαρμοστικότητας το οποίο να σχετίζεται με την ανθεκτικότητα σε 88 μελέτες κόστους προσαρμοστικότητας όπου εξετάστηκαν φυτά ανθεκτικά σε ζιζανιοκτόνα. Συνολικά, το 62% των μελετών σχετικά με την ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα αποκάλυψε ένα κόστος προσαρμοστικότητας. Αυτή η συγκριτικά υψηλή εμφάνιση κόστους αποδόθηκε στην ισχυρότερη πίεση επιλογής που συμβαίνει στην περίπτωση των ζιζανιοκτόνων. Μία μεταγενέστερη ανασκόπηση που σχετιζόταν με την ανθεκτικότητα των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα υπογράμμισε τις κοινές μεθοδολογικές ατέλειες των μελετών κόστους προσαρμοστικότητας, συμπεριλαμβανομένης της επιλογής ακατάλληλων μετρούμενων χαρακτηριστικών προσαρμοστικότητας, αλλά πιο συγκεκριμένα σημείωσε ότι τα κόστη προσαρμοστικότητας δεν είναι καθολικά και ότι καθορίζονται από τα είδη των μεταλλάξεων και γενικότερα τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας που εμπλέκονται κάθε φορά (Vila-Aiub *et al.*, 2009b).

Ο μηχανισμός ανθεκτικότητας συνδέεται άμεσα με την παρουσία και τον βαθμό εκδήλωσης ενός κόστους προσαρμοστικότητας. Πράγματι, το κόστος προσαρμοστικότητας που σχετίζεται με δύο διαφορετικές ανθεκτικές μεταλλάξεις σε δύο γονίδια μπορεί να ποικίλει από 0 έως 89 % και ακόμη και δύο διαφορετικές μεταλλάξεις στο ίδιο γονίδιο ανθεκτικότητας μπορούν να αλλάξουν τον βαθμό εμφάνισης του κόστους προσαρμοστικότητας (Roux *et al.*, 2004). Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι είναι σημαντικό ο μηχανισμός που προσδίδει ανθεκτικότητα να είναι γνωστός προτού προσδιοριστεί εάν ένας πληθυσμός ανθεκτικός στα ζιζανιοκτόνα σχετίζεται με κάποιο κόστος προσαρμοστικότητας. Αξίζει να σημειωθεί ότι το κόστος προσαρμοστικότητας εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το γενετικό υπόβαθρο του πληθυσμού και του ατόμου (Paris *et al.*, 2008; Vila-Aiub *et al.*, 2009a). Επομένως, ιδανικά, πολλοί ανθεκτικοί πληθυσμοί με τον ίδιο μηχανισμό ανθεκτικότητας θα πρέπει να μελετηθούν προκειμένου να προσδιοριστούν με ακρίβεια οι πιθανές συνέπειες της ύπαρξης κόστους προσαρμοστικότητας.

Σε αρκετές μελέτες οι ανθεκτικοί βιότυποι στα ζιζανιοκτόνα έχουν χαρακτηριστεί ως λιγότερο ανταγωνιστικοί σε σύγκριση με τους ευαίσθητους βιότυπους του ίδιου είδους. Ωστόσο, υπάρχει και μια πληθώρα μελετών που δεν επιβεβαιώνει ένα τέτοιο κόστος προσαρμοστικότητας. Τα αντικρουόμενα αυτά αποτελέσματα υποδεικνύουν τη δυσκολία εξαγωγής γενικευμένων συμπερασμάτων, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις όπου τέτοιες μελέτες λαμβάνουν χώρα υπό συνθήκες μη ανταγωνιστικού χαρακτήρα, εμποδίζοντας τον ανταγωνισμό μεταξύ ευαίσθητων και ανθεκτικών βιότυπων του είδους υπό συνθήκες περιορισμένων διαθέσιμων πόρων.

## **2.6 Ολοκληρωμένη διαχείριση ζιζανίων (ΟΔΖ) – Integrated Weed Management (IWM)**

Ο 21<sup>ος</sup> αιώνας έχει επιφέρει αρκετές αλλαγές στον Τομέα της Φυτοπροστασίας. Οι αλλαγές στις κλιματικές συνθήκες, που παρατηρούνται παγκοσμίως, έχουν άμεση επίδραση στη βιολογία των εχθρών, των παθογόνων και των ζιζανίων, ενώ η κύρια μέθοδος αντιμετώπισης, η εφαρμογή συνθετικών σκευασμάτων, δεν παρουσιάζει πλέον την αποτελεσματικότητα του παρελθόντος. Επιπλέον, τα τελευταία είκοσι χρόνια έχει ανακληθεί η έγκριση αρκετών δραστικών ουσιών, οι οποίες αποτελούσαν πολύτιμα εργαλεία για την προστασία και τη διασφάλιση των υψηλών αποδόσεων των καλλιεργειών. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, στα πλαίσια της «Ευρωπαϊκής Πράσινης Συμφωνίας» (European Green Deal), η νέα ΚΑΠ μέσω της στρατηγικής «Από το αγρόκτημα στο πιάτο» (From farm to fork) έχει θέσει συγκεκριμένους στόχους στα Κράτη Μέλη, στους οποίους συμπεριλαμβάνεται και η μείωση της χρήσης των συνθετικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων κατά 50% έως το 2030 ([https://food.ec.europa.eu/horizontal-topics/farm-fork-strategy\\_en#Strategy](https://food.ec.europa.eu/horizontal-topics/farm-fork-strategy_en#Strategy)). Τέλος, μία ακόμα πρόκληση στη φυτοπροστασία και συγκεκριμένα στη χημική φυτοπροστασία, αποτελεί η ανάπτυξη ανθεκτικότητας των οργανισμών στόχων στις διαθέσιμες δραστικές ουσίες. Έτσι, η ανάγκη εύρεσης και ένταξης στη φυτοπροστασία εναλλακτικών μεθόδων διαχείρισης των ζιζανίων αυξάνεται συνεχώς.

Τα συνθετικά ζιζανιοκτόνα από τη δεκαετία του 1950 αποτελούν την κύρια μέθοδο ελέγχου των ζιζανίων (Kudsj & Streibig, 2003), στοχεύοντας στην ολοκληρωτική αντιμετώπιση και εξάλειψή τους. Επίσης, η χημική ζιζανιοκτονία στο παρελθόν αποτελούσε το κύριο αντικείμενο έρευνας της επιστήμης της ζιζανιολογίας σε παγκόσμιο επίπεδο (Wyse, 1992). Πλέον, η φυτοπροστασία εστιάζει στη διαχείριση των εχθρών υιοθετώντας διαφορετικές μεθόδους αντιμετώπισης. Το 1992, τα Ηνωμένα Έθνη υιοθέτησαν την «Ολοκληρωμένη Διαχείριση των Εχθρών των Καλλιεργειών» με σκοπό μία βιώσιμη και αειφόρο Γεωργία (United Nations Agenda 21). Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, το 2009 εφαρμόστηκε η Οδηγία 2009/128/EK με σκοπό την ορθολογική χρήση των γεωργικών φαρμάκων (SUD) και τα Κράτη-Μέλη υποχρεώθηκαν να αναπτύξουν Εθνικά Σχέδια Δράσης για τη μείωση του κινδύνου για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον (Riemens *et al.*, 2022). Όπως αναφέρουν οι Τραυλός & Κανάτας (2022), σήμερα γίνεται λόγος για «διαχείριση των ζιζανίων» σχεδιάζοντας ένα πρόγραμμα ζιζανιοκτονίας που περιλαμβάνει προληπτικές, μηχανικές-φυσικές, καλλιεργητικές, χημικές, βιολογικές και άλλες μεθόδους.

Για την επιλογή της κατάλληλης μεθόδου θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη διάφοροι παράγοντες πέραν της παρουσίας των ζιζανίων, όπως τα όρια πυκνότητας και οικονομικής ζημίας, οι κρίσιμες περίοδοι ανάπτυξης της καλλιέργειας και οι περιβαλλοντικές συνθήκες (Zimdahl, 1994). Ο στόχος δεν πρέπει να είναι η πλήρης εξάλειψη, αλλά η μείωση των αρνητικών επιπτώσεων των ζιζανίων, διατηρώντας παράλληλα ορισμένα οικολογικά οφέλη (Storkey & Neve, 2018). Εντάσσοντας διαφορετικές μεθόδους στο σύστημα ζιζανιοκτονίας μειώνεται η εξάρτηση από τα ζιζανιοκτόνα και ως αποτέλεσμα αποτρέπεται η ανάπτυξη ανθεκτικών βιότυπων ζιζανίων. Οι περισσότεροι αγρότες βασίζονται υπερβολικά στα ζιζανιοκτόνα για τον έλεγχο των ζιζανίων, αλλά σήμερα η βιωσιμότητα μιας τέτοιας προσέγγισης τίθεται υπό αμφισβήτηση λόγω της αυξανόμενης εμφάνισης ανθεκτικότητας των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα (Shaner & Beckie, 2014). Ακόμα και αν χρησιμοποιηθεί ένα εύρος ζιζανιοκτόνων με διαφορετικούς τρόπους δράσης, είναι πιθανή η εμφάνιση βιότυπων με πολλαπλή ανθεκτικότητα. Για την αποτελεσματική αντιμετώπιση του φαινομένου της ανθεκτικότητας και τη

διαχείριση των ζιζανίων χρειάζεται να ακολουθηθεί ένα σύστημα, στο οποίο θα δίδεται έμφαση και σε εναλλακτικές, μη χημικές μεθόδους. Η προσαρμοστικότητα των ζιζανίων στην εφαρμογή χημικών σκευασμάτων έχει αποδειχθεί σε αρκετές μελέτες και είναι πιθανό να υπάρχει και στις μη χημικές μεθόδους χωρίς να γίνεται εύκολα αντιληπτή (Darmency, 2019; Vigueira *et al.*, 2013). Κρίνεται λοιπόν αναγκαία η ποικιλομορφία στις μεθόδους που θα περιλαμβάνει ένα σύστημα διαχείρισης ζιζανίων, ώστε να αποφευχθεί στο μέτρο του δυνατού η προσαρμογή των ζιζανίων σε αυτό (Shaner, 2014b). Στόχος πρέπει να είναι μία στρατηγική, η οποία «θα αναγκάζει τα ζιζάνια να μαντεύουν», όπως αναφέρεται από τους Riemens *et al.* (2022) ή αλλιώς μία προσέγγιση «των πολλών μικρών σφυριών», όπως αναφέρουν οι Τραυλός & Κανάτας (2022). Επίσης, τα συστήματα ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων θα πρέπει να στοχεύουν μακροπρόθεσμα σε μία κοινότητα ζιζανίων και όχι σε ένα είδος ζιζανίου και μία καλλιεργητική περίοδο (Riemens *et al.*, 2022). Μάλιστα, κρίσιμη θεωρείται και η ορθολογική χρήση των φυσικών πόρων και εισροών των συγκεκριμένων συστημάτων διαχείρισης (Ελευθεροχωρινός, 2014).

Οι εφαρμογές με glyphosate έχουν αποτελέσει ένα κλασικό παράδειγμα χρήσης συνθετικού σκευάσματος ως μοναδικού μέσου για την αντιμετώπιση των ζιζανίων. Μέχρι σήμερα χρησιμοποιείται σχεδόν αποκλειστικά και αρκετές φορές ανά καλλιεργητική περίοδο σε δενδροκομικές καλλιέργειες μεταξύ και επί των γραμμών φύτευσης παγκοσμίως (Duke & Powles, 2008). Στην Ελλάδα, εφαρμογές με glyphosate πραγματοποιούνται στο 60-70% της συνολικής έκτασης των δενδροκομικών καλλιεργειών (Antier *et al.*, 2020). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, σήμερα στην Ευρώπη υπάρχουν πολλαπλές αναφορές ανάπτυξης ανθεκτικότητας στο glyphosate από πληθυσμούς ζιζανίων των γενών *Lolium* και *Conyza*, οι οποίοι κατά κύριο λόγο βρέθηκαν σε αμπελώνες, ελαιώνες και άλλες δενδροκομικές καλλιέργειες, όπου η ζιζανιοκτονία βασιζόταν σχεδόν αποκλειστικά στη συγκεκριμένη δραστική ουσία (Heap, 2022; Sansom *et al.*, 2013; Tahmasebi *et al.*, 2018; Travlos & Chachalis, 2010).

Λαμβάνοντας υπόψη τη συνεχή αύξηση των ανθεκτικών βιότυπων στα διαθέσιμα ζιζανιοκτόνα, αλλά και την πίεση που ασκείται από τα θεσμικά όργανα της Ε.Ε. με σκοπό τη συνολική μείωση της χρήσης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, η εύρεση, ανάπτυξη και εφαρμογή εναλλακτικών μεθόδων ελέγχου των ζιζανίων είναι πλέον πιο αναγκαία από ποτέ. Επιπρόσθετα, πρέπει να υπάρξει συνδυασμός των διαφορετικών διαθέσιμων μεθόδων με σκοπό τον προγραμματισμό και την εφαρμογή ενός συστήματος ολοκληρωμένης διαχείρισης των ζιζανίων. Ο σωστός σχεδιασμός ενός τέτοιου προγράμματος, πέρα από την επιλογή διαφορετικών μεθόδων, απαιτεί να ληφθεί υπόψη η βιολογία και η οικολογική προσαρμοστικότητα των ζιζανίων (Harker & O'Donovan, 2013). Βάσει των ειδών των ζιζανίων που επικρατούν στον αγρό και του βιολογικού κύκλου του εκάστοτε ζιζανίου θα επιλεχθούν τα κατάλληλα χημικά, βιολογικά, καλλιεργητικά και μηχανικά μέσα. Ιδιαίτερη έμφαση χρειάζεται να δοθεί στην εφαρμογή προληπτικών πρακτικών διαχείρισης οι οποίες στοχεύουν στην αποφυγή ή καθυστέρηση της εγκατάστασης και εξάπλωσης ενός ή περισσότερων ειδών ζιζανίων στις καλλιεργούμενες εκτάσεις (Radosevich *et al.*, 2007). Μεταξύ των προληπτικών μεθόδων που μπορούν να εφαρμοστούν σε ένα πρόγραμμα ολοκληρωμένης διαχείρισης περιλαμβάνονται η χρησιμοποίηση καθαρού πολλαπλασιαστικού υλικού, ο καλός καθαρισμός των καλλιεργητικών μηχανημάτων, η απομάκρυνση των ζιζανίων πριν σχηματίσουν σπόρους, η πραγματοποίηση συχνών επισκοπήσεων και η αποφυγή μεταφοράς σπόρου μέσω της οργανικής λίπανσης (κοπριά) και της άρδευσης (αρδευτικά κανάλια). Οι παραγωγοί συνήθως αρχίζουν να εφαρμόζουν την ολοκληρωμένη διαχείριση των ζιζανίων, όταν οι πληθυσμοί των ζιζανίων στις εκτάσεις τους έχουν ήδη αναπτύξει ανθεκτικότητα (Beckie, 2006). Στην Αυστραλία υπήρξε ίσως η ταχύτερη ανάπτυξη, επαναχρησιμοποίηση και υιοθέτηση εναλλακτικών μεθόδων αντιμετώπισης στη σύγχρονη γεωργία μετά τη μαζική εμφάνιση πολλαπλής ανθεκτικότητας σε πληθυσμούς *Lolium rigidum*. Οι Llewellyn *et al.* (2004) αναφέρουν δεκαοχτώ μη χημικές πρακτικές ολοκληρωμένης διαχείρισης που χρησιμοποιήθηκαν στη Δυτική Αυστραλία από τους παραγωγούς για να ελέγξουν τους πληθυσμούς της λεπτής ήρας. Οι διαθέσιμες μη χημικές μέθοδοι από πολλούς αντιμετωπίζονται ως μη αποτελεσματικές και μη συμφέρουσες οικονομικά. Ωστόσο, ακόμα και μέθοδοι

μέτριας αποτελεσματικότητας μπορούν να συνεισφέρουν στη στρατηγική «πολλών μικρών σφυριών» (Liebman & Gallandt, 1997). Το πιθανό αυξημένο οικονομικό κόστος μπορεί να εξισορροπηθεί από τη μείωση χρησιμοποίησης συνθετικών σκευασμάτων και την τελική αυξημένη απόδοση της καλλιέργειας, ενώ η μη χρησιμοποίηση εναλλακτικών μεθόδων προληπτικά μπορεί να οδηγήσει στην απότομη υιοθέτησή τους αργότερα ως μοναδική λύση με ακόμα μεγαλύτερη οικονομική επιβάρυνση.

Όπως αναφέρθηκε ένα πρόγραμμα ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας περιλαμβάνει χημικές, βιολογικές, καλλιεργητικές και μηχανικές μεθόδους διαχείρισης. Όσον αφορά τα συστήματα ζιζανιοκτονίας στα οποία το glyphosate έχει πρωτεύοντα ρόλο, μεταξύ των μεθόδων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διαχείριση των ζιζανίων, περιλαμβάνονται η συνδυαστική χρήση με άλλα συνθετικά ζιζανιοκτόνα, η μηχανική κατεργασία του εδάφους, η στελεχοκοπή, οι καλλιέργειες κάλυψης και η κάλυψη εδάφους με οργανικά ή συνθετικά υλικά.

### **Συνθετικά ζιζανιοκτόνα**

Η εφαρμογή ζιζανιοκτόνων είναι μία γρήγορη, εύκολη, αποτελεσματική και σχετικά οικονομική μέθοδος για τον έλεγχο των ζιζανίων. Για τη διαχείριση της ανθεκτικότητας επιλέγονται πρακτικές εναλλαγής δραστηκών ουσιών και εφαρμογή μειγμάτων ζιζανιοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης. Παρόλο που αυτή η τακτική είναι πολύ σημαντική, δεν αποτελεί ολοκληρωμένη διαχείριση των ζιζανίων. Αποτελεί μόνο μια μέθοδο διαχείρισης των διαθέσιμων συνθετικών ζιζανιοκτόνων, καθώς βασίζεται αποκλειστικά στη χρήση τους για τον έλεγχο των ζιζανίων (Harker *et al.*, 2012). Σήμερα, στην πράξη το glyphosate συνδυάζεται μόνο με ορισμένες καλλιεργητικές πρακτικές. Συγκεκριμένα, σε δένδροκομικές καλλιέργειες συχνά εφαρμόζεται επί της γραμμής φύτευσης, ενώ μεταξύ των γραμμών εφαρμόζεται κατεργασία του εδάφους ή στελεχοκοπή (Żelazny & Licznar-Małańczuk, 2018).

Μεταξύ των διαθέσιμων συνθετικών ζιζανιοκτόνων στην Ευρωπαϊκή Ένωση για χρήση σε δένδροκομικές καλλιέργειες, τα οποία μπορούν να εφαρμοστούν προφυτρωτικά, περιλαμβάνονται τα chlorotoluron, diflufenican, iodosulfuron,



metribuzin, oxyfluorfen, flazasulfuron, florasulam, penoxsulam, quizalofop-p-ethyl και 2,4-D. Αυτά που διαθέτουν έγκριση στα περισσότερα Κράτη-Μέλη είναι τα isoxaben, pendimethalin και propyzamide. Το isoxaben, έχει δράση κυρίως εναντίον δικοτυλήδων ζιζανίων και δεν είναι αποτελεσματικό εναντίον μονοκοτυλήδων ή πολυετών ζιζανίων. Το pendimethalin μπορεί να εφαρμοστεί για τον έλεγχο ετήσιων μονοκοτυλήδων και δικοτυλήδων ζιζανίων, αλλά όχι πολυετών. Το propyzamide ελέγχει αποτελεσματικά αρκετά πλατύφυλλα και αγρωστώδη ζιζάνια μεταξύ των οποίων και είδη του γένους *Lolium*, καθώς και ανθεκτικούς στο glyphosate βιότυπους (Fogliatto *et al.*, 2020). Τα ζιζανιοκτόνα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν συνδυαστικά με το glyphosate ή ως εναλλακτικά του glyphosate σε μία καλλιεργητική περίοδο. Στη δεύτερη περίπτωση θα χρειαστεί να προηγηθεί ή να ακολουθήσει συμπληρωματική εφαρμογή με μεταφυτρωτικά ζιζανιοκτόνα για τη διαχείριση μεγαλύτερου εύρους ζιζανίων. Για παράδειγμα, φθινοπωρινές εφαρμογές μεταφυτρωτικών ζιζανιοκτόνων σε ήδη ανεπτυγμένα ζιζάνια μπορούν να ακολουθηθούν από εφαρμογές προφυτρωτικών για την αποφυγή της αναβλάστησής τους. Ανάμεσα στα εγκεκριμένα μεταφυτρωτικά ζιζανιοκτόνα στην Ευρωπαϊκή Ένωση βρίσκονται τα fluazifop-p-ethyl, fluoxypyr, propraquizafor, clethodim, cycloxydim, florasulam, penoxsulam, propyzamide, oxyfluorfen, MCPA και dicamba, τα οποία είναι αποτελεσματικά ως προς τον έλεγχο είτε μονοκοτυλήδων είτε δικοτυλήδων ζιζανίων.

Ένα σύστημα ολοκληρωμένης διαχείρισης πρέπει να περιλαμβάνει συνδυασμούς προφυτρωτικών και μεταφυτρωτικών ζιζανιοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης για τη διαχείριση της ανθεκτικότητας. Παράλληλα, πρέπει να υιοθετούνται και πρακτικές μη χημικής αντιμετώπισης, οι οποίες μπορούν να αντικαταστήσουν ορισμένες επεμβάσεις συνθετικών ζιζανιοκτόνων εντός της καλλιεργητικής περιόδου.

### **Μηχανική κατεργασία του εδάφους**

Η κατεργασία του εδάφους με καλλιεργητικά μηχανήματα αποτελεί μία αποτελεσματική και σχετικά χαμηλού οικονομικού κόστους μέθοδο για τον έλεγχο των ζιζανίων. Είναι εύκολη πρακτική και μπορεί να πραγματοποιηθεί με συμβατικό εξοπλισμό, όπως υνιοφόρα άροτρα, δισκάροτρα, καλλιεργητές

και φρέζες. Σε δενδροκομικές καλλιέργειες, ο εξοπλισμός τοποθετείται στον γεωργικό ελκυστήρα και κατά συνέπεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο μεταξύ των γραμμών φύτευσης. Ωστόσο, μηχανήματα νεότερης γενιάς είναι εξοπλισμένα με αισθητήρες ανίχνευσης δέντρων, ώστε η κατεργασία να πραγματοποιείται και επί των γραμμών αποφεύγοντας τον τραυματισμό των δέντρων (Hammermeister, 2016). Μεταξύ των πλεονεκτημάτων της μεθόδου αυτής είναι ο έλεγχος των περισσότερων ειδών ζιζανίων, η μείωση της τράπεζας σπόρων στο έδαφος, η βελτίωση των συνθηκών αερισμού του εδάφους και η ταυτόχρονη προετοιμασία του εάν ακολουθήσει σπορά ή ενσωμάτωση φυτικών υπολειμμάτων (π.χ. συνδυασμός με εφαρμογή καλλιεργειών κάλυψης). Η αποτελεσματικότητα, όμως, της μεθόδου εξαρτάται από τη συχνότητα των εφαρμογών, αλλά και το είδος του ζιζανίου στόχου (Baumgartner *et al.*, 2007). Η προσπάθεια ελέγχου των πολυετών ζιζανίων με επιφανειακή κατεργασία (καλλιεργητές, φρέζες) μπορεί να συμβάλει στην εξάπλωσή τους στον αγρό μέσω τεμαχισμού και διασποράς των υπόγειων αναπαραγωγικών τους οργάνων (Lisek, 2014). Επίσης, η μακροχρόνια κατεργασία έχει αναγνωριστεί ως επιζήμια για την ποιότητα του εδάφους, ενώ μπορεί να τραυματίσει και τους κορμούς των δέντρων (Neilsen *et al.*, 2009). Παρ' όλα αυτά, παραμένει μία οικονομική και ευέλικτη μέθοδος που μπορεί εύκολα να ενσωματωθεί σε προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης των ζιζανίων.

### **Στελεχοκοπή**

Η στελεχοκοπή (κοπή των ζιζανίων) πραγματοποιείται είτε με χειροκίνητα μηχανήματα, όπως τα χορτοκοπτικά μισινέζας, είτε με χρησιμοποίηση καταστροφέα σε γεωργικό ελκυστήρα. Ο έλεγχος των ζιζανίων με στελεχοκοπή, συνεισφέρει και στη μείωση της τράπεζας σπόρων των ζιζανίων στο έδαφος, παρεμποδίζοντας τη σποροποίηση τους. Επιπρόσθετα, η διατήρηση χαμηλής φυτικής κάλυψης μέσω εφαρμογής στελεχοκοπής στις δενδροκομικές καλλιέργειες μπορεί να εμποδίσει τη διάβρωση του εδάφους και να περιορίσει την έκπλυση και απορροή λιπασμάτων και ζιζανιοκτόνων, αποτρέποντας τη μόλυνση των υπόγειων και επιφανειακών υδάτων (Fracchiola *et al.*, 2016; Mia *et al.*, 2020a; Soriano *et al.*, 2014). Η

στελεχοκοπή των ζιζανίων μειώνει τον ανταγωνισμό από τα ζιζάνια, ενώ ταυτόχρονα η φυτική κάλυψη που παραμένει στο έδαφος διατηρεί την εδαφική υγρασία. Ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια των ξηρικών συνθηκών του καλοκαιριού στις Μεσογειακές χώρες, οι συχνές εφαρμογές στελεχοκοπής περιορίζουν τη μείωση της απόδοσης των καλλιεργειών λόγω ανταγωνισμού με τα ζιζάνια για το διαθέσιμο νερό (Fracchiola *et al.*, 2016; Hammermeister, 2016). Επαρκής έλεγχος ορισμένων ειδών ζιζανίων φαίνεται να επιτυγχάνεται μόνο μετά από επαναλαμβανόμενες εφαρμογές στελεχοκοπής (Mia *et al.*, 2020b). Ωστόσο, ακόμα και μία εφαρμογή στελεχοκοπής έχει προσφέρει ικανοποιητικό βαθμό ελέγχου ορισμένων πλατύφυλλων ζιζανίων (Kanatas *et al.*, 2021). Επίσης, συχνά η κομμένη φυτική μάζα των ζιζανίων αφήνεται στην επιφάνεια του εδάφους, ώστε να λειτουργήσει ως υλικό εδαφοκάλυψης και να ενισχύσει την οργανική ουσία του εδάφους (Oliveira *et al.*, 2016; Soriano *et al.*, 2014). Παρ' όλα αυτά, αν και δεν παρατηρείται συχνά, διαδοχικές εφαρμογές στελεχοκοπής με καταστροφέα μπορούν να προκαλέσουν συμπίεση του εδάφους, η οποία με τη σειρά της μπορεί να μειώσει τη απορρόφηση του νερού από το έδαφος και να εμποδίσει την ανάπτυξη των ριζών του δέντρου οδηγώντας σε απώλειες απόδοσης (Lagacherie *et al.*, 2006; Oliveira & Merwin, 2001). Η εφαρμογή της στελεχοκοπής απαιτεί περισσότερο χρόνο, σε σχέση με τις εφαρμογές ζιζανιοκτόνων. Είναι όμως λιγότερο χρονοβόρα από την εδαφική κατεργασία με καλλιεργητή, ενώ είναι και οικονομικότερη, λόγω της μικρότερης κατανάλωσης ενέργειας που συνεπάγεται. Τέλος, η στελεχοκοπή είναι ιδανική μέθοδος για προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων, καθώς μπορεί να συνδυαστεί με τις περισσότερες διαθέσιμες πρακτικές.

### **Καλλιέργειες κάλυψης**

Οι καλλιέργειες κάλυψης περιλαμβάνουν είδη φυτών που παρουσιάζουν ταχύ ρυθμό ανάπτυξης, υψηλή παραγωγή βιομάζας και ανταγωνιστική δράση προς τα ζιζάνια (Lucas *et al.*, 2021). Η χρησιμοποίησή τους μέσω συστημάτων ολοκληρωμένης διαχείρισης φαίνεται πως μπορεί να συνεισφέρει ιδιαίτερα στον περιορισμό της εξάπλωσης των ζιζανίων (Sharma *et al.*, 2021). Στις δενδροκομικές καλλιέργειες σπέρνονται συνήθως μεταξύ των γραμμών

φύτευσης με σκοπό να περιορίσουν την ανάπτυξη των ζιζανίων, αλλά και να μειώσουν τη διάβρωση του εδάφους, την απορροή, την έκπλυση των λιπασμάτων και τη συμπίεση του εδάφους (Lisek, 2014; Mauro *et al.*, 2015; Montanaro *et al.*, 2017; Nagy *et al.*, 2010; Winter *et al.*, 2018). Επίσης, οι καλλιέργειες κάλυψης μπορούν να παρέχουν πρόσθετα οφέλη στους οπωρώνες, αυξάνοντας την οργανική ύλη και την περιεκτικότητα θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος, αποτελώντας ξενιστές για ωφέλιμα έντομα και λειτουργώντας ως φυτά παγίδες για τους εχθρούς των καλλιεργειών (Hammermeister, 2016; Mauro *et al.*, 2015). Υπάρχει πληθώρα μελετών στις οποίες αναφέρεται η αποτελεσματική διαχείριση πληθυσμών ζιζανίων σε αγρούς που χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος, αλλά και ο αποτελεσματικός συνδυασμός της με άλλες χημικές ή μηχανικές μεθόδους (Alcántara *et al.*, 2011; Baumgartner *et al.*, 2008; Hugi *et al.*, 2009; Kanatas *et al.*, 2021).

Ωστόσο, έχουν αναφερθεί και αρνητικές συνέπειες της μεθόδου. Συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί πως οι καλλιέργειες κάλυψης είναι πιθανό να ανταγωνιστούν την καλλιέργεια και ιδιαίτερα τα νεαρά δέντρα, ως προς τα διαθέσιμα θρεπτικά στοιχεία και το νερό. Για παράδειγμα, υπάρχουν αντικρουόμενα συμπεράσματα μελετών μετά από χρήση της μεθόδου σε αμπελώνες, καθώς ορισμένες συνδέουν τις καλλιέργειες κάλυψης με αυξημένη απόδοση καλλιεργειών αμπέλου, ενώ άλλες κάνουν λόγο για τελική μειωμένη απόδοση όπου χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος (Steenwerth *et al.*, 2013; Winter *et al.*, 2018). Όπως αναφέρουν οι Τραυλός & Κανάτας (2022), για να αποφευχθούν οι αρνητικές επιπτώσεις των καλλιεργειών κάλυψης και ο ανταγωνισμός τους προς τις πολυετείς δενδροκομικές καλλιέργειες, είναι σημαντικό να γίνει σωστή επιλογή της περιόδου ανάπτυξής τους. Η ανάπτυξη των καλλιεργειών κάλυψης συστήνεται να μη συμπίπτει χρονικά με τα κρίσιμα φαινολογικά στάδια της κύριας καλλιέργειας.

Η επιτυχημένη εγκατάσταση και ανάπτυξη των καλλιεργειών κάλυψης είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική διαχείριση των ζιζανίων. Η επιλογή του κατάλληλου είδους πρέπει να γίνεται λαμβάνοντας υπόψη τις εδαφοκλιματικές συνθήκες της περιοχής και την περίοδο σποράς. Μπορούν να επιλεχθούν τόσο ετήσια όσο και πολυετή μονοκοτυλήδωνα ή δικοτυλήδωνα φυτά

(Hammermeister, 2016). Συχνά, επιλέγονται μείγματα στενόφυλλων και πλατύφυλλων ειδών, τα οποία έχει αναφερθεί πως επιδρούν θετικά και στη βιοποικιλότητα, ενισχύοντας τους πληθυσμούς ωφέλιμων αρθροπόδων (Gómez *et al.*, 2018; Lisek, 2014). Ως προς τη διαχείριση των ζιζανίων, φαίνεται να υπάρχει αυξημένη πίεση από είδη που έχουν αλληλοπαθητικές ιδιότητες, γρήγορη ανάπτυξη, υψηλή παραγωγή βιομάζας και παρέχουν καλή κάλυψη του εδάφους (Tursun *et al.*, 2018). Τα είδη φυτών που θα επιλεχθούν ως καλλιέργειες κάλυψης, αν χρησιμοποιηθούν με στρατηγικό τρόπο σε ένα σύστημα ολοκληρωμένης διαχείρισης, μπορούν να παρέχουν έλεγχο των ζιζανίων και πέραν της περιόδου ανάπτυξής τους. Τα βραχυπρόθεσμα αποτελέσματα αφορούν τον ανταγωνισμό των ζιζανίων που συνυπάρχουν με την καλλιέργεια κάλυψης κατά την περίοδο ανάπτυξής της. Τα μακροπρόθεσμα αφορούν την παρεμπόδιση βλάστησης ζιζανίων, όταν η καλλιέργεια κάλυψης βρίσκεται σε προχωρημένο στάδιο και μετά από χρησιμοποίηση των φυτικών υπολειμμάτων της ως εδαφοκάλυψη (Campiglia *et al.*, 2009; Kanatas *et al.*, 2021).

Οι καλλιέργειες κάλυψης μπορεί είτε να δέχονται μεταχειρίσεις, ώστε να περιορίζονται πιθανές αρνητικές επιπτώσεις στα καλλιεργούμενα φυτά, είτε να αναπτύσσονται φυσικά (Hammermeister, 2016). Σε πρόσφατη μελέτη, η οποία περιελάμβανε επεμβάσεις με διαφορετικές καλλιέργειες κάλυψης, εφαρμογές glyphosate και στελεχοκοπής, οι καλλιέργειες κάλυψης τόσο στην περίπτωση που δέχονταν μεταχειρίσεις όσο και στην περίπτωση που δεν δέχονταν μεταχειρίσεις, περιόρισαν αποτελεσματικά τα ζιζάνια (Tursun *et al.*, 2018).

Συμπερασματικά, οι καλλιέργειες κάλυψης είναι ένα πολύτιμο εργαλείο το οποίο μπορεί να εφαρμοστεί στη ολοκληρωμένη διαχείριση των ζιζανίων με πολλαπλά οφέλη για την καλλιεργούμενη έκταση. Σε οπωρώνες με γόνιμα εδάφη και υψηλή διαθεσιμότητα σε νερό, μπορούν να χρησιμοποιούνται τόσο επί των γραμμών φύτευσης όσο και μεταξύ τους. Σε φτωχά εδάφη με έντονη ξηρασία πρέπει να καλλιεργούνται μεταξύ των γραμμών φύτευσης και να μεταχειρίζονται με στελεχοκοπή ή ενσωμάτωση για να περιορίζονται οι

αρνητικές επιδράσεις στην καλλιέργεια και να ενισχύεται η διαχείριση των ζιζανίων (Hammermeister, 2016; Tursun *et al.*, 2018).

### **Κάλυψη εδάφους με οργανικά ή συνθετικά υλικά**

Η εδαφοκάλυψη με φυτικά υπολείμματα (π.χ. υπολείμματα καλλιεργειών κάλυψης), οργανικά υλικά (π.χ. άχυρο, φύλλα, πριονίδι, υπολείμματα φρούτων, τύρφη) ή με συνθετικά υλικά (π.χ. πλαστικά υλικά) επί των γραμμών φύτευσης σε δενδροκομικές καλλιέργειες είναι μία ακόμα διαθέσιμη τεχνική για τη διαχείριση των ζιζανίων. Η μέθοδος παρουσιάζει μια σειρά από πλεονεκτήματα πέρα από τον έλεγχο των ζιζανίων, όπως διατήρηση της εδαφικής υγρασίας, ενίσχυση της γονιμότητας, προστασία από τη διάβρωση, ρύθμιση της θερμοκρασίας εδάφους, καθώς και αύξηση της οργανικής ουσίας όταν χρησιμοποιούνται φυτικά υπολείμματα και ορισμένα οργανικά υλικά (Jabran *et al.*, 2017; Lisek, 2014; Shruti *et al.*, 2018; Steinmetz *et al.*, 2016). Στα μειονεκτήματα της μεθόδου περιλαμβάνονται η ανεπιθύμητη αύξηση της θερμοκρασίας του εδάφους τους καλοκαιρινούς μήνες και η παρεμπόδιση εφαρμογής λίπανσης (Hammermeister, 2016; Żelazny & Licznar-Małańczuk, 2018).

Μία πρακτική εδαφοκάλυψης σε δενδροκομικές καλλιέργειες είναι η στελεχοκοπή των καλλιεργειών κάλυψης που σπάρθηκαν το φθινόπωρο και η παραμονή τους στην επιφάνεια του εδάφους. Η μέθοδος έχει μελετηθεί σε διάφορες πειραματικές δοκιμές και έχει παρουσιάσει ικανοποιητική αποτελεσματικότητα ως προς την καθυστέρηση ανάπτυξης των ζιζανίων και φαίνεται πως μπορεί να συμβάλει σε υψηλό βαθμό στη διαχείριση των ζιζανίων (Alcántara *et al.*, 2011; Kanatas *et al.*, 2021; Mennan & Ngouajio, 2012; Tursun *et al.*, 2018). Επίσης, αντίστοιχες παρατηρήσεις ως προς τον περιορισμό της ανάπτυξης των ζιζανίων έχουν γίνει και μετά από χρησιμοποίηση οργανικών υλικών, όπως άχυρο και πριονίδι, αλλά και πλαστικών υλικών ως εδαφοκάλυψη (Hammermeister, 2016; Ingels *et al.*, 2013; Granatstein *et al.*, 2014; Rowley *et al.*, 2011). Η εδαφοκάλυψη με οργανικά υλικά προσφέρει το πλεονέκτημα της προσθήκης οργανικής ουσίας στο έδαφος και την ενίσχυση της μικροβιακής κοινότητας, αλλά είναι λιγότερο ανθεκτική και αποτελεσματική σε σχέση με την εδαφοκάλυψη με πλαστικό

υλικό. Συγκεκριμένα, δεν παρουσιάζει ικανοποιητικά αποτελέσματα ως προς τον έλεγχο πολυετών ζιζανίων (Anzalone *et al.* 2010; Hammermeister, 2016). Τα πλαστικά υλικά αποτελούν μία πιο ανθεκτική εναλλακτική, αλλά παρουσιάζουν τα μειονεκτήματα του υψηλού οικονομικού κόστους, της ρύπανσης του εδαφικού περιβάλλοντος και της δυσκολίας των καλλιεργητικών τεχνικών της επόμενης καλλιεργητικής περιόδου από τα υπολείμματά τους, που παραμένουν στο έδαφος (Jiang *et al.*, 2017; Sconbeck, 1999; Steinmetz *et al.*, 2016).

Η μη χημική διαχείριση ζιζανίων υιοθετείται κυρίως στη βιολογική γεωργία, καθώς οι συμβατικοί καλλιεργητές εξακολουθούν να τη θεωρούν περισσότερο δαπανηρή και λιγότερο αξιόπιστη από τα προγράμματα ελέγχου ζιζανίων που βασίζονται σε συνθετικά ζιζανιοκτόνα. Ωστόσο, η έρευνα έχει προσθέσει σημαντική γνώση στη κατανόηση των χαρακτηριστικών των μη χημικών μεθόδων ελέγχου ζιζανίων που μπορεί να ωφελήσει τους συμβατικούς καλλιεργητές σε ένα μέλλον με αυξανόμενες αβεβαιότητες σχετικά με τη χρήση ζιζανιοκτόνων.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 3.1 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΤΥΠΩΝ *LOLIUM RIGIDUM* ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΖΙΖΑΝΙΟΚΤΟΝΑ GLYPHOSATE ΚΑΙ GLUFOSINATE

#### 3.1.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΕ ΦΥΤΟΔΟΧΕΙΑ

##### 3.1.1.1 Πολλαπλασιαστικό υλικό

Η συλλογή σπόρων ήρας από 100 διαφορετικά σημεία καλλιεργούμενων (δενδρώνες, ελαιώνες και αμπελώνες) και μη καλλιεργούμενων εκτάσεων (100 βιότυποι) της Στερεάς Ελλάδας και της Πελοποννήσου κατά τα έτη 2016-2018 με σκοπό τη διερεύνηση της ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate ως αίτιο μειωμένης αποτελεσματικότητας των ζιζανιοκτόνων, πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο της Burgos (2015). Στην περίπτωση της ήρας (*Lolium* spp.) που ανήκει στα σταυρογονιμοποιούμενα είδη απαιτείται ένας μικρός αριθμός φυτών (5-10 φυτά κατ' ελάχιστον) ως αντιπροσωπευτικός του πληθυσμού κάθε αγρού εξαιτίας της ενδοπληθυσμιακής ανάμειξης γονιδίων. Έτσι, σε κάθε αγρό πραγματοποιήθηκε συλλογή περίπου 50 φυτών όταν οι σπόροι άρχισαν να «τινάζουν», από διαφορετικά σημεία του αγρού (bulk samples) καθώς συνήθως οι βιότυποι που επιβιώνουν εμφανίζονται ανά κηλίδες, ενώ παράλληλα πραγματοποιήθηκε καταγραφή της καλλιέργειας, των συντεταγμένων και του ιστορικού του αγρού.

Στη συνέχεια, οι σπόροι διαχωρίστηκαν από τις ταξιανθίες των φυτών, μεταφέρθηκαν και αποθηκεύτηκαν σε συνθήκες θερμοκρασίας δωματίου για τουλάχιστον ένα μήνα προτού διενεργηθούν τα τεστ (δοκιμές) βλαστικότητας. Κατά τη μεταφορά των σπόρων από το πεδίο στο εργαστήριο, λήφθηκε μέριμνα για την αποφυγή έκθεσης των συλλεχθέντων σπόρων σε δυσμενείς συνθήκες (π.χ. συνθήκες αυξημένης θερμοκρασίας και υγρασίας) που θα προκαλούσαν αλλοίωση των σπόρων ή δευτερογενή λήθαργο. Για τα τεστ βλαστικότητας που διενεργήθηκαν χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία Petri καλυμμένα με διηθητικό χαρτί και χρησιμοποιήθηκαν 50 σπόροι για κάθε βιότυπο οι οποίοι τοποθετήθηκαν σε κάθε τρυβλίο με 6 mL νερού και



τοποθετήθηκαν σε συνθήκες θερμοκρασίας ημέρας/νύχτας 25/15°C με 12-h φωτοπερίοδο για μία εβδομάδα.

### 3.1.1.2 Διερεύνηση ανθεκτικότητας (Resistance screening)

Από τους 100 βιότυπους ήρας που συλλέχθηκαν κατά τα έτη 2016-2018, 54 αξιολογήθηκαν για πιθανή ανάπτυξη ανθεκτικότητας στο glyphosate και 39 βιότυποι για πιθανή ανθεκτικότητα στο glufosinate (Πίνακας 3). Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί πως για τα πειράματα διερεύνησης ανθεκτικών βιότυπων ήρας στο glyphosate χρησιμοποιήθηκαν και κάποιοι βιότυποι αναφοράς από το εξωτερικό. Οι ίδιοι βιότυποι από το εξωτερικό χρησιμοποιήθηκαν και για τα πειράματα με το ζιζανιοκτόνο glufosinate, χωρίς όμως να αξιολογούνται ως βιότυποι αναφοράς, καθώς δεν υπήρχε επιβεβαιωμένη ανθεκτικότητα σε αυτό το ζιζανιοκτόνο. Τέλος, όσον αφορά στους ευαίσθητους βιότυπους αναφοράς, πραγματοποιήθηκε συλλογή σπόρων ήρας από τις περιοχές της Αιτωλοακαρνανίας και της Αττικής στις οποίες δεν είχαν πραγματοποιηθεί ποτέ επεμβάσεις με glyphosate, glufosinate ή κάποιο άλλο ζιζανιοκτόνο κατά το παρελθόν.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής: σε κάθε φυτοδοχείο τοποθετήθηκαν 6 σπόροι ήρας και μετά από 10 ημέρες πραγματοποιήθηκε αραίωση προκειμένου να παραμείνουν τέσσερα φυτά ήρας με ομοιόμορφη ανάπτυξη ανά φυτοδοχείο. Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν φυτοδοχεία χωρητικότητας 1,5 L, τα οποία περιείχαν μείγμα επιφανειακού χώματος και φυτοχώματος τύρφης σε αναλογία 2:1. Τα φυτοδοχεία μετά τη σπορά τοποθετήθηκαν εντός του θερμοκηπίου και σε όλη τη διάρκεια του πειράματος (Οκτώβριος-Δεκέμβριος 2017) ποτίζονταν ομοιόμορφα όπως χρειαζόταν, ενώ γινόταν εφαρμογή, κάθε 10 ημέρες, 50 mL τροποποιημένου διαλύματος Hoagland (0,25%) ανά φυτοδοχείο (Hoagland & Arnon 1950).

Όταν τα φυτά της ήρας έφτασαν στο στάδιο των 2-6 φύλλων (BBCH 12-16) πραγματοποιήθηκε εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης glyphosate<sup>12</sup> (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) και glufosinate<sup>13</sup> (750 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>), αντίστοιχα. Η επιλογή της

<sup>12</sup>Dominator Mega 480 SL, Albaugh TKI d.o.o.

<sup>13</sup>Basta 15 SL, glufosinate-ammonium), Bayer S.A.S.(Ανάκληση άδειας διάθεσης: 04.03.2020)

συνιστώμενης δόσης για το ζιζανιοκτόνο glyphosate πραγματοποιήθηκε με βάση την επισκόπηση της βιβλιογραφίας (Panozzo *et al.*, 2020). Επιπλέον, για κάθε βιότυπο υπήρχε και απέκαστος μάρτυρας (χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου). Η εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων έγινε με ψεκαστήρα ακριβείας με ακροφύσια τύπου Teejet, ρυθμισμένο ώστε να εφαρμόζει όγκο ψεκαστικού υγρού 30 L στρ<sup>-1</sup> με πίεση 280 kPa. Το πειραματικό σχέδιο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το εντελώς τυχαιοποιημένο (CRD, Complete Randomized Design) με τέσσερις επαναλήψεις-φυτοδοχεία.

Η αξιολόγηση της ανθεκτικότητας των βιότυπων στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate πραγματοποιήθηκε καταγράφοντας (α) τον αριθμό των φυτών ήρας που επιβίωσαν<sup>14</sup> ανά φυτοδοχείο και (β) το νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών ήρας τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή των επεμβάσεων (4 WAT). Ειδικότερα, βιότυποι ήρας με νωπό βάρος υπέργειου τμήματος μεγαλύτερο ή ίσο του 50% (μέσος όρος  $\geq 2$  φυτά/φυτοδοχείο) χαρακτηρίστηκαν ως ανθεκτικοί (resistant, PR). Επιπλέον, βιότυποι ήρας με νωπό βάρος υπέργειου τμήματος μεγαλύτερο του 30% και μικρότερο του 50% (μέσος όρος  $\leq 2$  φυτά/φυτοδοχείο) χαρακτηρίστηκαν ως πιθανώς ανθεκτικοί (putative resistant, PR). Τέλος, ακολουθώντας τις κατευθυντήριες οδηγίες για τη διεξαγωγή δοκιμών ανθεκτικότητας σε ζιζανιοκτόνα της Ευρωπαϊκής Επιτροπής Ανθεκτικότητας στα Ζιζανιοκτόνα (HRAC)<sup>15</sup>, βιότυποι ήρας των οποίων το νωπό βάρος υπέργειου τμήματος έλαβε τιμές σε ποσοστό μικρότερο του 10% (μέσος όρος 0 φυτά/φυτοδοχείο) χαρακτηρίστηκαν ως ευαίσθητοι (susceptible, S).

Τα πιο εύρωστα φυτά των ανθεκτικών πληθυσμών ήρας που επιβίωσαν (3-4 φυτά αναβλάστησαν/φυτοδοχείο μετά από έκθεσή τους στη συνιστώμενη δόση του glyphosate/glufosinate) μεταφυτεύθηκαν σε μεγαλύτερα φυτοδοχεία χωρητικότητας 8,5 L και μεταφέρθηκαν στον πειραματικό αγρό του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών προκειμένου να σποροποιήσουν. Για την αποφυγή σταυρογονιμοποίησης μεταξύ των διαφορετικών βιότυπων τα φυτοδοχεία καλύφθηκαν με τούλι ανά ομάδες. Ωριμοί σπόροι συλλέχθηκαν

<sup>14</sup> Φυτά που επιβίωσαν θεωρούνται εκείνα τα φυτά τα οποία διατήρησαν τη χλωροφύλλη τους και παρέμειναν λειτουργικά με δυνατότητα εμφάνισης νέας ανάπτυξης (αναβλάστησης).

<sup>15</sup> EUROPEAN GUIDELINES TO CONDUCT HERBICIDE RESISTANCE TESTS. European Herbicide Resistance Action Committee. 13 October 2017.

από κάθε φυτό ήρας χωριστά σε χάρτινες σακούλες, επισημάνθηκαν και μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Γεωργίας, όπου αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου προκειμένου να χρησιμοποιηθούν στα μεταγενέστερα πειράματα δόσης-απόκρισης (dose-response experiments).

**Πίνακας 3. Βιότυποι λεπτής ήρας που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα επιβεβαίωσης και αξιολόγησης της ανθεκτικότητας της ήρας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate.**

<b>α/α</b>	<b>Κωδικός βιότυπου <i>L. rigidum</i></b>	<b>Νομός/Χώρα</b>	<b>Καλλιέργεια</b>
1	AFR.	Νότια Αφρική	Αμπέλι
2	ARG.	Αργεντινή	Εσπεριδοειδή
3	AUS.1	Αυστραλία	Αμπέλι
4	AUS.2	Αυστραλία	Αμπέλι
5	SPN.1	Ισπανία	Ελιά
6	SPN.2	Ισπανία	Εσπεριδοειδή
7	AIT.1	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
8	AIT.2	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
9	AIT.3	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
10	AIT.4	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
11	AIT.5	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
12	AIT.6	Αιτωλοακαρνανίας	Σιτάρι
13	AIT.7	Αιτωλοακαρνανίας	Ροδιά
14	AIT.8	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
15	AIT.9	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
16	AIT.10	Αιτωλοακαρνανίας	Εσπεριδοειδή
17	AIT.11	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
18	AIT.12	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
19	AIT. 13	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
20	AIT.14	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
21	AIT.15	Αιτωλοακαρνανίας	Εσπεριδοειδή
22	AIT.16	Αιτωλοακαρνανίας	Εσπεριδοειδή
23	AIT.17	Αιτωλοακαρνανίας	Εσπεριδοειδή
24	AIT.18	Αιτωλοακαρνανίας	Εσπεριδοειδή
25	AIT.19	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
26	AIT.20	Αιτωλοακαρνανίας	Εσπεριδοειδή

27	ΑΙΤ.21	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
28	ΑΙΤ.22	Αιτωλοακαρνανίας	Ελιά
29	ΑΤΤ.1	Αττικής	Αμπέλι
30	ΑΤΤ.2	Αττικής	Ακαλλιέργητο
31	ΑΤΤ.3	Αττικής	Αμπέλι
32	ΑΤΤ.4	Αττικής	Αμπέλι
33	ΑΤΤ.5	Αττικής	Αμπέλι
34	ΑΤΤ.6	Αττικής	Ακαλλιέργητο
35	ΒΟΙ.1	Βοιωτίας	Αμπέλι
36	ΒΟΙ.2	Βοιωτίας	Ελιά
37	ΒΟΙ.3	Βοιωτίας	Αμπέλι
38	ΒΟΙ.4	Βοιωτίας	Αμπέλι
39	ΒΟΙ.5	Βοιωτίας	Αμπέλι
40	ΒΟΙ.6	Βοιωτίας	Αμπέλι
41	ΒΟΙ.7	Βοιωτίας	Αμπέλι
42	ΚΟΡ.1	Κορινθίας	Αμπέλι
43	ΚΟΡ.2	Κορινθίας	Εσπεριδοειδή
44	ΠΥΡ.1	Ηλείας	Ελιά
45	ΦΘΙ.1	Φθιώτιδας	Μηλοειδή
46	ΦΘΙ.2	Φθιώτιδας	Μηλοειδή
47	ΦΘΙ.3	Φθιώτιδας	Αμπέλι
48	ΦΘΙ.4	Φθιώτιδας	Αμπέλι
49	ΦΘΙ.5	Φθιώτιδας	Αμπέλι
50	ΦΘΙ.6	Φθιώτιδας	Μηλοειδή
51	ΦΘΙ.7	Φθιώτιδας	Αμπέλι
52	ΦΘΙ.8	Φθιώτιδας	Μηλοειδή
53	ΑΤΤ.Σ1	Αττικής	Αμπέλι
54	ΑΙΤ.Σ2	Αιτωλοακαρνανίας	Ακαλλιέργητο

### 3.1.1.3 Πειράματα δόσης-απόκρισης (dose-response) για επιβεβαίωση ανθεκτικότητας λεπτής ήρας και αξιολόγηση επιπέδου ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate

Κατόπιν του αρχικού διαχωρισμού των βιότυπων ήρας με βάση τη δόση διαχωρισμού (discriminating dose) 720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> κρίθηκε αναγκαία η πραγματοποίηση πειραμάτων δόσης-απόκρισης (dose-response) τα οποία θα

επέτρεπαν να προσδιοριστεί με ακρίβεια το επίπεδο ανθεκτικότητας (resistance index or level) στο glyphosate των υπό διερεύνηση βιότυπων.

Η αξιολόγηση του επιπέδου της ανθεκτικότητας της ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate βασίστηκε στην μέθοδο της Burgos (2015) με μικρές παραλλαγές. Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιεί πρωτόκολλα βασισμένα σε βιοδοκιμές ολόκληρων φυτών (whole-plant bioassays) που εκτελούνται σε θερμοκήπιο και μπορούν εύκολα να προσαρμοστούν σε ένα ευρύ φάσμα ειδών ζιζανίων και ζιζανιοκτόνων μέσω κατάλληλων τροποποιήσεων.

#### **3.1.1.3.1 Πείραμα Α**

Με βάση τα αποτελέσματα του πειράματος διερεύνησης ύπαρξης ανθεκτικών βιότυπων επιλέχθηκαν 13 πιθανά ανθεκτικοί (SPN.1, SPN.2, AUS.1, AFR., AIT.1, BOI.1, AIT.4, AIT.7, AIT.12, AIT.15, AIT.17, ATT.4, ΠΥΡ.1, ΦΘΙ.3) και δύο ευαίσθητοι βιότυποι (ATT.S1 και AIT.S2) για το πρώτο προκαταρκτικό πείραμα δόσης-απόκρισης με 3 διαφορετικές δόσεις glyphosate που έλαβε χώρα από τον Σεπτέμβριο έως τον Νοέμβριο του 2018.

Η διαχείριση των φυτών ήρας, ο τρόπος, ο χρόνος και η συνιστώμενη δόση (x) εφαρμογής του ζιζανιοκτόνου ήταν πανομοιότυπα με την αντίστοιχη περιγραφή που γίνεται στο πείραμα της διερεύνησης ύπαρξης ανθεκτικών βιότυπων (Κεφ.3.1.1.2.) με μόνη διαφοροποίηση το εύρος των δόσεων του ζιζανιοκτόνου glyphosate. Έτσι, στο στάδιο των 2-6 φύλλων (BBCH 12-16), τα φυτά ψεκάστηκαν με την υποδιπλάσια, τη συνιστώμενη και τη διπλάσια δόση glyphosate (360, 720 και 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, αντίστοιχα) και στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή των επεμβάσεων μετρήθηκε το νωπό βάρος των φυτών ήρας.

#### **3.1.1.3.2 Πείραμα Β**

Σε συνέχεια του Πειράματος Α, σπόροι από τους έξι ανθεκτικούς και πιθανώς ανθεκτικούς βιότυπους στο glyphosate (AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3, AIT.15) και ένας ευαίσθητος βιότυπος στο glyphosate (ATT.S1) χρησιμοποιήθηκαν για την περαιτέρω αξιολόγηση του επιπέδου ανθεκτικότητας στο glyphosate. Έτσι, διενεργήθηκε δοκιμή δόσης-απόκρισης

με μεγαλύτερο εύρος δόσεων glyphosate (0, x/8, x/4, x/2, x, 2x, 4x και 8x) από τον Δεκέμβριο του 2018 έως τον Φεβρουάριο του 2019. Ως προς τη διαχείριση των φυτών ήρας, τον τρόπο, τον χρόνο και τη συνιστώμενη δόση (x) εφαρμογής του ζιζανιοκτόνου ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία με εκείνη που περιγράφεται στο πείραμα της διερεύνησης ύπαρξης ανθεκτικών βιότυπων (Κεφ.3.1.1.2.) με μόνη διαφοροποίηση το εύρος των δόσεων του ζιζανιοκτόνου glyphosate και τον αριθμό των φυτών ήρας ανά φυτοδοχείο. Συγκεκριμένα, οι δόσεις glyphosate που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι ακόλουθες: 0, 90, 180, 360, 720, 1440, 2880 και 5760 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> και ο αριθμός των φυτών ήρας ανά φυτοδοχείο ήταν ίσος με 10.

Η επιβεβαίωση και η περαιτέρω διερεύνηση του επιπέδου της ανθεκτικότητας των βιότυπων στο ζιζανιοκτόνο glyphosate πραγματοποιήθηκε καταγράφοντας (α) το νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών ήρας και (β) την επιβίωση φυτών ήρας ανά φυτοδοχείο, εκφρασμένα ως ποσοστά του αψέκαστου μάρτυρα, τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή των επεμβάσεων (4 WAT).

Επιπρόσθετα, υπολογίστηκαν οι δόσεις του ζιζανιοκτόνου glyphosate που προκάλεσαν τη μείωση του νωπού βάρους (GR<sub>50</sub>) και τη θνησιμότητα των φυτών των βιότυπων ήρας (LD<sub>50</sub>) κατά 50% χρησιμοποιώντας το λογισμικό SigmaPlot, v.11 (Systat Software, Inc., San Jose, CA, ΗΠΑ). Τα δεδομένα προσαρμόστηκαν σε μια λογιστική καμπύλη τριών παραμέτρων:

$$y = \frac{a}{1 + \left(\frac{x}{ED_{50}}\right)^b}$$

Όπου a είναι το ανώτατο όριο, ED<sub>50</sub> η εκτιμώμενη δόση που είναι υπεύθυνη για μείωση της τάξης του 50% (GR<sub>50</sub> ή LD<sub>50</sub>) και b είναι η κλίση της καμπύλης. Οι τιμές GR<sub>50</sub> και LD<sub>50</sub> των εξεταζόμενων βιότυπων ήρας χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των αντίστοιχων δεικτών ανθεκτικότητας (RI) ως λόγοι GR<sub>50(R)</sub>/GR<sub>50(S)</sub> και LD<sub>50(R)</sub>/LD<sub>50(S)</sub>.

### 3.1.1.3.3 Επίδραση θερμοκρασίας στα επίπεδα ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate

Προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση των διαφορετικών θερμοκρασιών στους ανθεκτικούς στο glyphosate βιότυπους ήρας, χρησιμοποιήθηκαν οι έξι ανθεκτικοί στο glyphosate βιότυποι ήρας (AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1, AIT.15 και ΦΘΙ.3) και ο ένας ευαίσθητος (ATT.S1) σε πείραμα που έλαβε χώρα από τον Νοέμβριο έως τον Δεκέμβριο του 2018. Για το συγκεκριμένο πείραμα σπόροι από κάθε βιότυπο σπάρθηκαν σε γλάστρες 8,5 × 9,5 × 9,5 cm που περιείχαν μείγμα επιφανειακού χώματος και φυτοχώματος σε αναλογία 2:1 και πυκνότητα δύο σπορόφυτα ανά φυτοδοχείο. Κατά τη διάρκεια του πειράματος, τα φυτοδοχεία ποτίζονταν ομοιόμορφα με βάση τις ανάγκες σε νερό και τροφοδοτούνταν με 50 mL ανά φυτόδοχείο διαλύματος Hoagland (0,25%) κάθε δέκα ημέρες (Hoagland & Arnon 1950).

Τα φυτά αναπτύχθηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες: το πείραμα χαμηλής θερμοκρασίας διεξήχθη κάτω από τις εξής θερμοκρασίες: 10/4°C ημέρα/νύχτα και 12 ώρες φωτοπερίοδο στα 553  $\mu\text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}$  και το πείραμα υψηλής θερμοκρασίας διεξήχθη υπό τις θερμοκρασίες 16/10°C ημέρα/νύχτα με την ίδια ένταση φωτός και φωτοπερίοδο. Η σχετική υγρασία ήταν σταθερή σε κάθε θάλαμο ανάπτυξης. Στο στάδιο των 3-4 φύλλων, πραγματοποιήθηκε εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου glyphosate στα σπορόφυτα σε τέσσερις διαφορετικές δόσεις (0, 360, 720 και 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>). Η εφαρμογή των επεμβάσεων έγινε με ψεκαστήρα ακριβείας ρυθμισμένο ώστε να εφαρμόζει όγκο ψεκαστικού υγρού 30 L/στρ. με πίεση 280 kPa. Το πειραματικό σχέδιο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το εντελώς τυχαίοποιημένο (CRD, Complete Randomized Design) με τέσσερις επαναλήψεις-φυτοδοχεία για κάθε δόση.

Στις 21 ημέρες μετά την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου glyphosate (DAT), καταγράφηκε η μείωση του νωπού βάρους και το ποσοστό επιβίωσης. Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως ποσοστό του αφέκαστου μάρτυρα.

#### 3.1.1.4 Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας σε glyphosate μέσω της βιοχημικής μεθόδου του σικιμικού οξέος (shikimic acid assay)

Το πείραμα έλαβε χώρα από τον Μάρτιο έως τον Απρίλιο του 2019 και είχε σκοπό την επιβεβαίωση της ανθεκτικότητας και τον προσδιορισμό των επιπέδων ανθεκτικότητας-ευαισθησίας των έξι ανθεκτικών στο glyphosate (AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1, AIT.15 και ΦΘΙ.3) και του ενός ευαίσθητου (ATT.S1) βιότυπων ήρας μέσω της βιοχημικής μεθόδου του σικιμικού οξέος. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε περιγράφεται παρακάτω.

Συγκεκριμένα, δείγματα φυτικού ιστού βάρους 50 mg (δίσκοι φύλλων διαμέτρου 4 mm) ελήφθησαν από νεαρά φύλλα τριών φυτών στο στάδιο των 3-4 φύλλων από κάθε βιότυπο ήρας σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται από τους Dayan *et al.* (2015) με μικρές παραλλαγές. Οι φυτικοί ιστοί τοποθετήθηκαν σε 2 mL Eppendorf που περιείχαν 999  $\mu\text{L}$  φωσφορικού μονοαμμωνίου ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  10 mM, pH 4,4). Στη συνέχεια, προστέθηκε 1  $\mu\text{L}$  διαλύματος glyphosate με διαφορετικές συγκεντρώσεις (0, 10, 50, 500 και 1000  $\mu\text{M}$ ). Τα δείγματα παρέμειναν για 24 ώρες στον θάλαμο ανάπτυξης υπό συνθήκες ανάπτυξης 28/18°C ημέρα/νύχτα, 16 ώρες φωτοπερίοδο 850  $\mu\text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}$  και 80% σχετική υγρασία. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 60°C για 30 λεπτά. Προστέθηκαν 250  $\mu\text{L}$  HCl 1,25 N και τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 60°C για 15 λεπτά. Δείγματα των 250  $\mu\text{L}$  μεταφέρθηκαν σε νέα Eppendorf προσθέτοντας 500  $\mu\text{L}$  περιοδικού οξέος (0,25% w/v) και μεταπεριοδικού νατρίου (0,25 % w/v) σε αναλογία 1:1. Τα δείγματα παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου (25°C) για 90 λεπτά και στη συνέχεια προστέθηκαν 500  $\mu\text{L}$  μείγματος υδροξειδίου του νατρίου (NaOH 0,6 N) και θειώδους νατρίου ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$  0,22 N) σε αναλογία 1:1 και αναμίχθηκαν.

Το πειραματικό σχέδιο που ακολουθήθηκε ήταν το πλήρως τυχαιοποιημένο με τρεις επαναλήψεις ανά δείγμα από κάθε πληθυσμό για κάθε συγκέντρωση glyphosate και η μελέτη επαναλήφθηκε δύο φορές. Χρησιμοποιήθηκαν καμπύλες αναφοράς χρησιμοποιώντας γνωστές συγκεντρώσεις σικιμικού οξέος (0, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1 και 10 mg/mL). Η απορρόφηση των δειγμάτων μετρήθηκε στα 382 nm σε φασματοφωτόμετρο (V-530, JASCO Corporation,



Tokyo, Japan). Οι τιμές απορρόφησης μετατράπηκαν σε μg σικιμικού οξέος ανά g νωπού βάρους ήρας.

### 3.1.1.5 Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας σε glyphosate μέσω του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI)

Σκοπός του συγκεκριμένου πειράματος ήταν η δοκιμή ταχείας επιβεβαίωσης της ανθεκτικότητας της ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate με χρήση του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI). Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ο αισθητήρας φυλλώματος RapidScan (Holland Scientific Inc., Lincoln, NE, ΗΠΑ), με σκοπό τη σύγκριση της ζωηρότητας του φυλλώματος των φυτών της ήρας μεταξύ του μάρτυρα και των τριών δόσεων του ζιζανιοκτόνου glyphosate. Ο αισθητήρας έχει τη δυνατότητα απευθείας μέτρησης του δείκτη βλάστησης NDVI.

Με μαθηματικούς όρους, ο παραπάνω δείκτης βλάστησης διατυπώνεται ως εξής:

$$NDVI = \frac{(NIR - Red)}{(NIR + Red)}$$

όπου

NIR το φάσμα Near Infra Red (0.75-1.4 μm)

Red το φάσμα Red (0.62-0.75 μm)

Το παρόν πείραμα αποτελεί μέρος του Πειράματος Α. Ελήφθησαν μετρήσεις τρεις φορές για κάθε δόση του ζιζανιοκτόνου glyphosate, μία και δύο εβδομάδες μετά την εφαρμογή του, ενώ ως τελική μέτρηση χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος των τριών μετρήσεων. Για τη λήψη των μετρήσεων ο αισθητήρας τοποθετήθηκε 25 cm πάνω από τη φυλλική επιφάνεια των ζιζανίων για χρονικό διάστημα πέντε δευτερολέπτων.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SigmaPlot 11.0. (Systat Software Inc.). Τα δεδομένα υποβλήθηκαν στη διαδικασία ανάλυσης της παραλλακτικότητας (ANOVA). Οι μέσοι όροι των

αποτελεσμάτων συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας τη Μέθοδο Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (LSD test).

### **3.1.1.6 Πειράματα δόσης-απόκρισης (dose-response) για επιβεβαίωση ανθεκτικότητας λεπτής ήρας και αξιολόγηση επιπέδου ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate**

Κατόπιν του αρχικού διαχωρισμού των βιότυπων ήρας με βάση τη δόση διαχωρισμού (discriminating dose) 750 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> κρίθηκε αναγκαία η πραγματοποίηση πειραμάτων δόσης-απόκρισης (dose-response) τα οποία θα επέτρεπαν να προσδιοριστεί με ακρίβεια το επίπεδο ανθεκτικότητας (resistance index or level) στο glufosinate των υπό διερεύνηση βιότυπων ήρας.

Η αξιολόγηση του επιπέδου της ανθεκτικότητας της ήρας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate βασίστηκε στην μέθοδο της Burgos (2015) με μικρές παραλλαγές. Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιεί πρωτόκολλα βασισμένα σε βιοδοκιμές ολόκληρων φυτών (whole-plant bioassays) που εκτελούνται σε θερμοκήπιο και μπορούν εύκολα να προσαρμοστούν σε ένα ευρύ φάσμα ειδών ζιζανίων και ζιζανιοκτόνων μέσω κατάλληλων παραλλαγών.

#### **3.1.1.6.1 Πείραμα Α**

Με βάση τα αποτελέσματα του πειράματος διερεύνησης ύπαρξης ανθεκτικών βιότυπων επιλέχθηκαν 12 πιθανά ανθεκτικοί (ΑΙΤ.7, ΑΙΤ.11, ΑΙΤ.13, ΑΙΤ.14, ΑΙΤ.19, ΑΤΤ.4, ΒΟΙ.1, ΒΟΙ.6, ΒΟΙ.7, ΚΟΡ.2, ΦΘΙ.1 και ΦΘΙ.6) και ένας ευαίσθητος βιότυπος (ΑΤΤ.51) για το πρώτο προκαταρκτικό πείραμα δόσης-απόκρισης με τρεις διαφορετικές δόσεις glufosinate που έλαβε χώρα από τον Σεπτέμβριο έως τον Νοέμβριο του 2018.

Η διαχείριση των φυτών ήρας, ο τρόπος, ο χρόνος και η συνιστώμενη δόση (x) εφαρμογής του ζιζανιοκτόνου ήταν πανομοιότυπα με την αντίστοιχη περιγραφή που γίνεται στο πείραμα της διερεύνησης ύπαρξης ανθεκτικών βιότυπων (Κεφ.3.1.1.2.) με μόνη διαφοροποίηση το εύρος των δόσεων του ζιζανιοκτόνου glufosinate. Έτσι, στο στάδιο των 2-6 φύλλων (BBCH 12-16), τα φυτά ψεκάστηκαν με την υποδιπλάσια, τη συνιστώμενη και τη διπλάσια δόση

glufosinate (375 ,750 και 1500 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, αντίστοιχα) και στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή των επεμβάσεων αξιολογήθηκε το νωπό βάρος των φυτών ήρας.

### 3.1.1.6.2 Πείραμα Β

Σε συνέχεια του πειράματος Α για το ζιζανιοκτόνο glufosinate, τέσσερις ανθεκτικοί και πιθανώς ανθεκτικοί βιότυποι (ΑΙΤ.7, ΒΟΙ.1, ΦΘΙ.1 και ΚΟΡ.2) και ένας ευαίσθητος (ΑΤΤ.51) βιότυπος ήρας χρησιμοποιήθηκαν για δοκιμή δόσης-απόκρισης με εύρος δόσεων με σκοπό την περαιτέρω αξιολόγηση του επιπέδου ανθεκτικότητάς τους στο glufosinate. Ως προς τη διαχείριση των φυτών ήρας, τον τρόπο, τον χρόνο και τη συνιστώμενη δόση (x) εφαρμογής του ζιζανιοκτόνου ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία με εκείνη που περιγράφεται στο πείραμα της διερεύνησης ύπαρξης ανθεκτικών βιότυπων (Κεφ.3.1.1.2.) με μόνη διαφοροποίηση το εύρος των δόσεων του ζιζανιοκτόνου glufosinate (0, x/8, x/4, x/2, x, 2x, 4x και 8x). Συγκεκριμένα, οι δόσεις glufosinate που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι ακόλουθες: 0, 93, 75, 187,5, 375, 750, 1500, 3000 και 6000 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) και ο αριθμός των φυτών ήρας ανά φυτοδοχείο ήταν ίσος με 10.

Η επιβεβαίωση και η περαιτέρω διερεύνηση του επιπέδου της ανθεκτικότητας των βιότυπων στο ζιζανιοκτόνο glufosinate πραγματοποιήθηκε καταγράφοντας (α) το νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών ήρας και (β) την επιβίωση φυτών ήρας ανά φυτοδοχείο, εκφρασμένα ως ποσοστά του αφέκαστου μάρτυρα, τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή των επεμβάσεων (4 WAT).

Επιπρόσθετα, υπολογίστηκαν οι δόσεις του ζιζανιοκτόνου glufosinate που προκάλεσαν τη μείωση του νωπού βάρους (GR<sub>50</sub>) και τη θνησιμότητα των φυτών των βιότυπων ήρας (LD<sub>50</sub>) κατά 50% χρησιμοποιώντας το λογισμικό SigmaPlot, v.11 (Systat Software, Inc., San Jose, CA, ΗΠΑ). Τα δεδομένα προσαρμόστηκαν σε μια λογιστική καμπύλη τριών παραμέτρων:

$$y = \frac{a}{1 + \left(\frac{x}{ED_{50}}\right)^b}$$

όπου  $a$  είναι το ανώτατο όριο,  $ED_{50}$  η εκτιμώμενη δόση που είναι υπεύθυνη για μείωση της τάξης του 50% ( $GR_{50}$  ή  $LD_{50}$ ) και  $b$  είναι η κλίση της καμπύλης. Οι τιμές  $GR_{50}$  και  $LD_{50}$  των εξεταζόμενων βιότυπων ήρας χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των αντίστοιχων δεικτών ανθεκτικότητας (RI) ως λόγοι  $GR_{50(R)}/GR_{50(S)}$  και  $LD_{50(R)}/LD_{50(S)}$ .

### 3.1.1.7 Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας στο glufosinate μέσω του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI)

Σκοπός του συγκεκριμένου πειράματος υπήρξε η δοκιμή ταχείας επιβεβαίωσης της ανθεκτικότητας της ήρας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate μέσω του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI). Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ο αισθητήρας φυλλώματος RapidScan (Holland Scientific Inc., Lincoln, NE, ΗΠΑ), με σκοπό τη σύγκριση της ζωηρότητας του φυλλώματος των φυτών της ήρας μεταξύ του μάρτυρα και των τριών δόσεων του ζιζανιοκτόνου glufosinate. Ο αισθητήρας έχει τη δυνατότητα απευθείας μέτρησης του δείκτη βλάστησης NDVI.

Με μαθηματικούς όρους, ο παραπάνω δείκτης βλάστησης διατυπώνεται ως εξής:

$$NDVI = \frac{(NIR - Red)}{(NIR + Red)}$$

όπου

NIR το φάσμα Near Infra Red (0.75-1.4  $\mu\text{m}$ )

Red το φάσμα Red (0.62-0.75  $\mu\text{m}$ )

Το πείραμα αποτελεί μέρος του Πειράματος Α. Ελήφθησαν δύο μετρήσεις για κάθε δόση του ζιζανιοκτόνου glufosinate στις τρεις και επτά ημέρες από την εφαρμογή του, ενώ ως τελική μέτρηση χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος τους. Για τη λήψη των μετρήσεων ο αισθητήρας τοποθετήθηκε 25 cm πάνω από τη φυλλική επιφάνεια των ζιζανίων για χρονικό διάστημα πέντε δευτερολέπτων.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SigmaPlot 11.0. (Systat Software Inc.). Τα δεδομένα υποβλήθηκαν στη διαδικασία ανάλυσης της παραλλακτικότητας (ANOVA). Οι μέσοι όροι των αποτελεσμάτων συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας τη Μέθοδο Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (LSD test).

## **3.2 ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ**

### **3.2.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΕ ΦΥΤΟΔΟΧΕΙΑ**

#### **3.2.1.1 Εισαγωγή**

Στην παρούσα ενότητα ο σκοπός των πειραμάτων σε φυτοδοχεία είναι να διερευνηθεί: (α) η ανταγωνιστική ικανότητα μεταξύ ενός επιβεβαιωμένου ανθεκτικού (*R-L.rigidum*) και ενός επιβεβαιωμένου ευαίσθητου (*S-L.rigidum*) βιότυπου ήρας στο glyphosate και φυτών σκληρού σιταριού (*Triticum durum*) ποικιλίας Sveno και (β) η ύπαρξη κόστους προσαρμοστικότητας (fitness cost) για τον ανθεκτικό στο glyphosate βιότυπο ήρας. Προκειμένου να διερευνηθούν τα παραπάνω, σχεδιάστηκαν και πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα σε συνθήκες θερμοκηπίου στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών κατά τη χρονική περίοδο Ιανουαρίου-Απριλίου τα έτη 2018 και 2019. Ακολουθήθηκε το πλήρως τυχαιοποιημένο σχέδιο με τρεις επαναλήψεις. Για τη μελέτη του ενδοειδικού και διαειδικού ανταγωνισμού μεταξύ ανθεκτικού, ευαίσθητου σε glyphosate βιότυπου ήρας και σιταριού επιλέχθηκε ο πειραματικός σχεδιασμός της Σειράς Αντικατάστασης (Replacement Series) (Swanton *et al.*, 2015). Τα φυτά αναπτύχθηκαν σε φυτοδοχεία τόσο σε μονοκαλλιέργεια όσο και σε μείγματα (*R-L. rigidum* με *S-L.rigidum*, *S-L. rigidum* με σιτάρι και *R-L. rigidum* με σιτάρι) με διαφορετικές αναλογίες και σταθερή πυκνότητα σποράς [(24 φυτά ανά φυτοδοχείο (578 φυτά m<sup>-2</sup>)], όπως παρουσιάζονται στην Εικόνα 5.

Τα φυτά εκτέθηκαν σε φυσικές συνθήκες ημέρας-νύχτας. Για το Πείραμα Α (έτος 2018) οι μέγιστες και ελάχιστες τιμές θερμοκρασίας του αέρα και της σχετικής υγρασίας της ατμόσφαιρας ήταν: 5/24,5°C και 66/75%, αντίστοιχα.

Για το Πείραμα Β (έτος 2019) οι μέγιστες και ελάχιστες τιμές θερμοκρασίας του αέρα και της σχετικής υγρασίας της ατμόσφαιρας ήταν: 5,5/29°C και 65/74%, αντίστοιχα.

Η υπόθεση και για τα δύο πειράματα ήταν ότι ο βιότυπος ήρας που είναι ανθεκτικός στο glyphosate παρουσιάζει χαμηλότερη ανταγωνιστική ικανότητα (μετρούμενη ανάπτυξη, απόδοση, σποροπαραγωγή) σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο σε συνθήκες ανταγωνισμού και ότι αμφότεροι οι βιότυποι ήρας παρουσιάζουν χαμηλότερη ανταγωνιστικότητα σε σύγκριση με την καλλιέργεια του σιταριού.

### 3.2.1.2 Πολλαπλασιαστικό υλικό

Χρησιμοποιήθηκαν σπόροι ήρας δύο διαφορετικών ανθεκτικών και ενός ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπων ήρας. Η επιλογή των βιότυπων ήρας έγινε βάσει των αποτελεσμάτων των πειραμάτων του προηγούμενου κεφαλαίου. Συγκεκριμένα για το Πείραμα Α χρησιμοποιήθηκε ο ανθεκτικός βιότυπος ΑΙΤ.1, ενώ για το Πείραμα Β ο ανθεκτικός βιότυπος ΒΟΙ.1 (Πίνακας 4). Ο ευαίσθητος βιότυπος ΑΤΤ.51 χρησιμοποιήθηκε και για τα δύο πειράματα σειράς αντικατάστασης. Για τη σπορά του σκληρού σιταριού χρησιμοποιήθηκε η ποικιλία Sveno με τα ακόλουθα ενδεικτικά χαρακτηριστικά που φαίνονται στον Πίνακα 4.

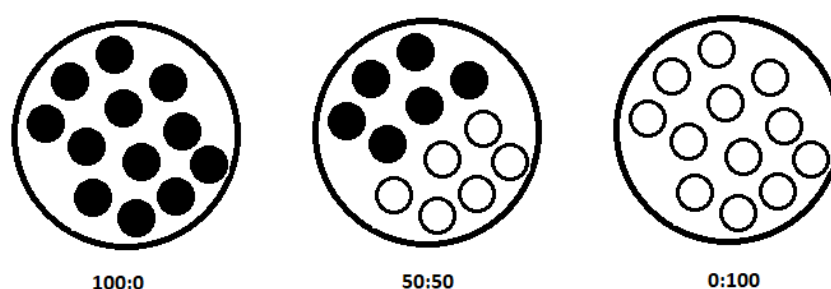
**Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά ποικιλίας Sveno σκληρού σιταριού που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα οικολογικής προσαρμοστικότητας.**

<b>Περιεκτικότητα πρωτεΐνης</b>	Πολύ Υψηλή
<b>Βάρος 1000 σπόρων</b>	40-45
<b>Παραγωγικό δυναμικό</b>	Μέσο - υψηλό
<b>Εμφάνιση στάχews</b>	Πολύ πρώιμη
<b>Ύψος</b>	Μέσο - υψηλό
<b>Αδέλφωμα</b>	Καλό
<b>Ανθεκτικότητα</b>	Σε σημαντικές ασθένειες, στο πλάγιασμα και το ψύχος

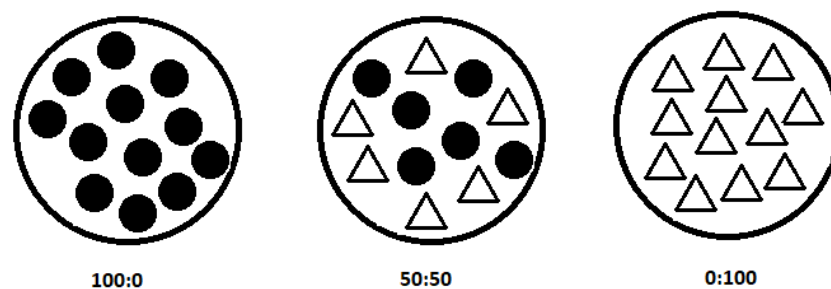
### 3.2.1.3 Πείραμα Α σειράς αντικατάστασης (Replacement Series)

Το πείραμα Α έλαβε χώρα από τον Ιανουάριο έως τον Μάρτιο του 2018. Σπόροι *R-L.rigidum*, *S-L.rigidum* και *Triticum durum* cv. Sveno σπάρθηκαν σε φυτοδοχεία των 6 L που περιείχαν σε αναλογία 2:1 επιφανειακό έδαφος:φυτόχωμα. Οι αναλογίες μεταξύ ανθεκτικών και ευαίσθητων φυτών ήρας και φυτών σιταριού (100:0, 50:50 και 0:100) καθώς και η κατανομή τους στις γλάστρες παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.

(a)

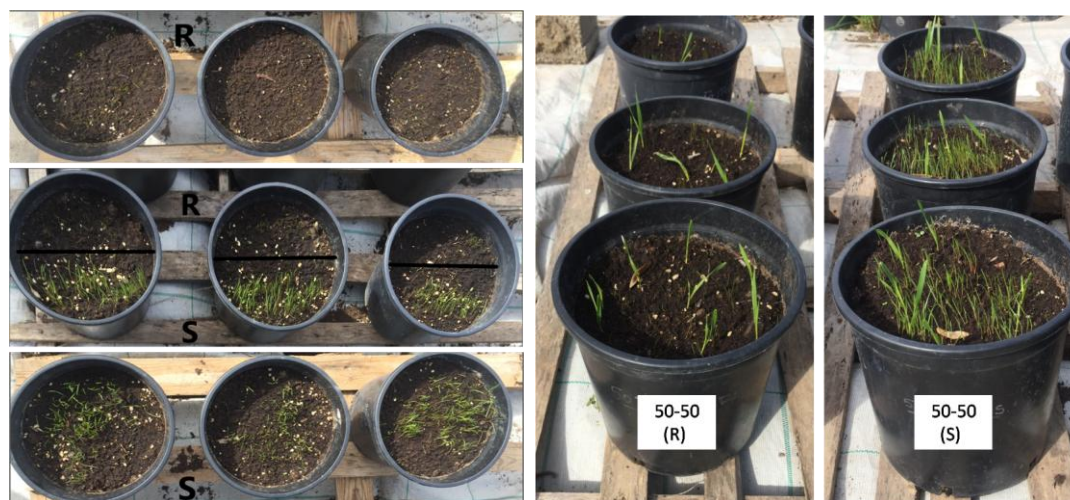


(b)



Εικόνα 5. Διάταξη φυτών στο πείραμα Α σειράς αντικατάστασης. Οι μεγάλοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν τα φυτοδοχεία. (a) Οι μικροί γεμάτοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ευαίσθητου βιότυπου *L.rigidum* και οι ανοιχτοί μικροί κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ανθεκτικού βιότυπου *L.rigidum*. (b) Οι μικροί γεμάτοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ευαίσθητου/ανθεκτικού βιότυπου *L.rigidum* και τα μικρά ανοιχτά τρίγωνα φυτά σιταριού. Ο αριθμός των φυτών είναι ενδεικτικός και δεν αντιστοιχεί στον πραγματικό αριθμό φυτών ανά φυτοδοχείο. Οι αναλογίες αναφέρονται σε (a) σε ευαίσθητο βιότυπο λεππτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεππτής ήρας και (b) ευαίσθητο/ανθεκτικό βιότυπο λεππτής ήρας: σιτάρι με φθίνουσα σειρά.

Ο ανθεκτικός βιότυπος λεπτής ήρας που χρησιμοποιήθηκε για το συγκεκριμένο πείραμα ήταν ο βιότυπος ΑΙΤ.1. Η σπορά του σιταριού και της ήρας έγινε ταυτόχρονα. Το σιτάρι σπάρθηκε σε βάθος περίπου 4 cm και η ήρα σε βάθος 0,5 – 1 cm. Εννέα ημέρες μετά την εμφάνιση-φύτρωμα του σπόρου, τα σπορόφυτα της ήρας αραιώθηκαν προκειμένου να επιτευχθούν οι επιθυμητές πυκνότητες (Εικόνα 6). Τα φυτοδοχεία ποτίζονταν με σταθερή συχνότητα βάσει των αναγκών των φυτών.



Εικόνα 6. Παρακολούθηση φυτρώματος και αραιώση φυτών προκειμένου να επιτευχθεί σταθερή πυκνότητα εννέα ημέρες μετά την σπορά στο Πείραμα Α σειράς αντικατάστασης. Με το γράμμα R συμβολίζεται ο ανθεκτικός βιότυπος ήρας και με το γράμμα S ο ευαίσθητος βιότυπος ήρας στην αναλογία 50<sub>ήρα</sub>:50<sub>σιτάρι</sub>.

### 3.2.1.3.1 Μετρήσεις

Το ύψος των φυτών μετρήθηκε στις 30 και 60 ημέρες μετά τη σπορά. Επιλέχθηκαν ανά περίπτωση πέντε φυτά και η τελική τιμή της επανάληψης προέκυψε από τον μέσο όρο των πέντε μετρήσεων. Η μέτρηση ξηρού βάρους του υπέργειου τμήματος πραγματοποιήθηκε 80 ημέρες μετά τη σπορά. Αρχικά μετρήθηκε το ξηρό βάρος της συνολικής βιομάζας ανά είδος και ανά φυτοδοχείο. Στη συνέχεια έγινε διαχωρισμός των ταξιανθιών από τα στελέχη προκειμένου να υπολογιστεί ξεχωριστά το ξηρό βάρος των ταξιανθιών. Τα στελέχη και οι ταξιανθίες ζυγίστηκαν με ζυγό ακριβείας (KERN & Sohn GmbH), αφού προηγήθηκε η αποξήρανσή τους σε κλίβανο στους 60°C για 72 ώρες.



Το ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να υπολογιστεί η σχετική απόδοση και η ολική σχετική απόδοση τόσο για την ήρα όσο και για το σιτάρι σε επίπεδο φυτοδοχείου.

Η Σχετική απόδοση (RY), όπως ορίζεται από τον De Wit (1960), μετρά την απόδοση ενός είδους στο μείγμα διαιρούμενη με την αντίστοιχη απόδοση σε μονοκαλλιέργεια μέσω της ακόλουθης σχέσης:

$$RY_{ab} = \frac{Y_{ab}}{Y_{aa}}$$

$$RY_{ba} = \frac{Y_{ba}}{Y_{bb}}$$

όπου

$RY_{ab}$  είναι η σχετική απόδοση για το είδος "a" σε μείγμα με το είδος "b"

$RY_{ba}$  είναι η σχετική απόδοση για το είδος "b" σε μείγμα με το είδος "a"

$Y_{ab}$  είναι η απόδοση για το είδος "a" σε μείγμα με το είδος "b"

$Y_{aa}$  είναι η απόδοση για το είδος "a" σε μονοκαλλιέργεια και αντίστροφα.

Επιπλέον, η Συνολική Σχετική Απόδοση (RYT) υπολογίζεται ως εξής:

$$RYT = (RY_{ab} + RY_{ba})$$

όπου το  $RY_{ab}$  είναι η σχετική απόδοση για το είδος "a" σε μείγμα με το είδος "b" και  $RY_{ba}$  είναι η σχετική απόδοση για το είδος "b" σε μείγμα με το είδος "a".

Στα διαγράμματα σειράς αντικατάστασης, η πραγματική σχετική απόδοση (RY) κάθε είδους αποτυπώνεται συναρτήσει των αναλογιών σποράς. Η αναμενόμενη σχετική απόδοση (RY) για ένα είδος εμφανίζεται όταν τα φυτά αυτού του είδους αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Σύμφωνα με τον Harper (1977), σύγκριση των πραγματικών σχετικών αποδόσεων των ειδών με τις αναμενόμενες (διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές στα διαγράμματα αντικατάστασης) υποδεικνύουν:

**Ανταγωνισμό:** εάν η πραγματική καμπύλη RY του είδους "a" είναι κυρτή και εκείνη του είδους "b" είναι κοίλη. Σε αυτή την περίπτωση η επίδραση του

είδους "a" στο "b" είναι μεγαλύτερη από εκείνη του είδους "b" στο "b" και η επίδραση του είδους "b" στο "a" είναι μικρότερη από εκείνη του είδους "a" στο "a". Σε αυτή την κατάσταση τα δύο είδη παρουσιάζουν παρόμοια ζήτηση για περιβαλλοντικούς πόρους (πχ νερό, φως, θρεπτικά στοιχεία), αλλά το είδος "a" είναι πιο αποτελεσματικό στην αξιοποίηση τους.

**Διαφοροποίηση θέσεων ή Αξιοποίηση διαφορετικών πόρων (Niche differentiation)** εάν οι πραγματικές καμπύλες σχετικής απόδοσης RY και για τα δύο είδη είναι κυρτές. Τότε, η επίδραση του είδους "a" στο "b" είναι μικρότερη από εκείνη του είδους "b" στο "b" και η επίδραση του είδους "b" στο "a" είναι μικρότερη από εκείνη του είδους "a" στο "a". Σε αυτή την κατάσταση, κάθε είδος δεν ζημιώνεται όσο αναμενόταν από την παρουσία του άλλου, καθώς πιθανότατα αξιοποιούν σε διαφορετικό βαθμό διαφορετικούς πόρους. Επίσης, η απόδοση του μείγματος είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με την απόδοση της μονοκαλλιέργειας.

**Αμοιβαίος ανταγωνισμός:** εάν οι πραγματικές καμπύλες σχετικής απόδοσης RY και για τα δύο είδη είναι κοίλες. Σε αυτή την κατάσταση, η επίδραση του είδους "a" στο "b" είναι μεγαλύτερη από εκείνη του είδους "b" στο "b" και η επίδραση του είδους "b" στο "a" είναι μεγαλύτερη από εκείνη του "a" στο "a". Κάτι τέτοιο συμβαίνει όταν κάθε είδος ζημιώνει την ύπαρξη του άλλου είδους περισσότερο από ότι την δική του.

Εάν οι πραγματικές καμπύλες RY είναι γραμμικές (δηλαδή δεν διαφέρουν από το αναμενόμενες) και τα δύο είδη αλληλεπιδρούν, με την επίδραση του είδους "a" στο είδος "b" να είναι ίση με αυτή του είδους "b" στο "b" και αντίστροφα. Σε αυτήν την περίπτωση, η απόδοση του μείγματος μπορεί να υπολογιστεί από την απόδοση της μονοκαλλιέργειας.

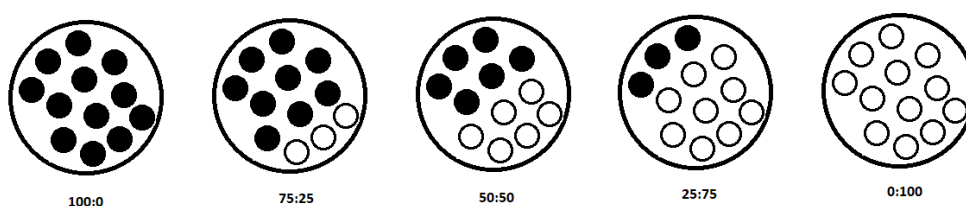
### 3.2.1.3.2 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SigmaPlot 11.0. (Systat Software Inc.). Τα δεδομένα υποβλήθηκαν στη διαδικασία ανάλυσης της παραλλακτικότητας (ANOVA). Οι μέσοι όροι των αποτελεσμάτων συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας τη Μέθοδο Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (LSD test).

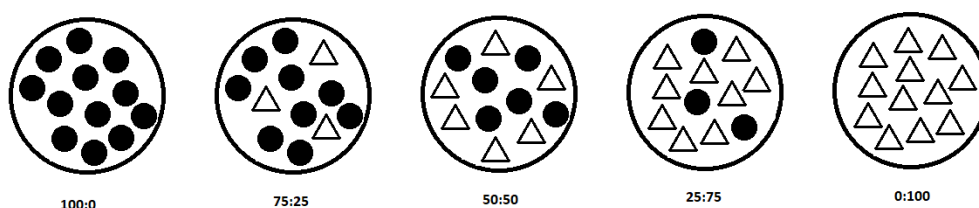
### 3.2.1.4 Πείραμα Β σειράς αντικατάστασης (Replacement Series)

Το πείραμα Β έλαβε χώρα από τον Φεβρουάριο έως τον Απρίλιο του 2019. Σπόροι *R-L.rigidum*, *S-L.rigidum* και *Triticum durum* cv. Sveno σπάρθηκαν σε φυτοδοχεία των 6 L που περιείχαν σε αναλογία 2:1 επιφανειακό έδαφος:φυτόχωμα. Οι αναλογίες μεταξύ ανθεκτικών και ευαίσθητων φυτών ήρας και φυτών σιταριού (100:0, 75:25, 50:50, 25:75 και 0:100), καθώς και η κατανομή τους στις γλάστρες παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.

(a)



(b)



Εικόνα 7. Διάταξη φυτών στο πείραμα Β σειράς αντικατάστασης. Οι μεγάλοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν τα φυτοδοχεία. (a) Οι μικροί γεμάτοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ευαίσθητου βιότυπου *L.rigidum* και οι ανοιχτοί μικροί κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ανθεκτικού βιότυπου *L.rigidum*. (b) Οι μικροί γεμάτοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν φυτά του ευαίσθητου/ανθεκτικού βιότυπου *L.rigidum* και τα μικρά ανοιχτά τρίγωνα φυτά σιταριού. Ο αριθμός των φυτών είναι ενδεικτικός και δεν αντιστοιχεί στον πραγματικό αριθμό φυτών ανά φυτοδοχείο. Οι αναλογίες αναφέρονται σε (a) σε ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας και (b) ευαίσθητο/ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας: σιτάρι με φθίνουσα σειρά.

Ο ανθεκτικός βιότυπος λεπτής ήρας που χρησιμοποιήθηκε για το συγκεκριμένο πείραμα ήταν ο βιότυπος BOI.1. Η σπορά και οι καλλιεργητικές φροντίδες πραγματοποιήθηκαν ακριβώς όπως περιγράφονται για το Πείραμα Α.

### 3.2.1.4.1 Μετρήσεις

Το ύψος των φυτών μετρήθηκε στις 45, 65 και 85 ημέρες μετά τη σπορά. Η μέτρηση του αδελφώματος (tillering) της ήρας και της φυλλικής επιφάνειας (Leaf Area-LA) πραγματοποιήθηκαν στις 85 ημέρες μετά τη σπορά. Ο προσδιορισμός της φυλλικής επιφάνειας ( $\text{mm}^2$  ανά φυτοδοχείο) έγινε με τη βοήθεια ενός μετρητή φυλλικής επιφάνειας (μοντέλο LI 3100 AREA METER (LI-COR, INC, Lincoln, Nebraska, USA)).

Η σχετική απόδοση και η συνολική σχετική απόδοση υπολογιστήκαν, σε επίπεδο φυτοδοχείου, όπως περιγράφεται στο Πείραμα Α. Με παρόμοιο τρόπο υπολογίστηκε και η σχετική φυλλική επιφάνεια (Oliviera *et al.*, 2014), ως εξής:

$$RLA_{ab} = \frac{LA_{ab}}{LA_{aa}}$$

$$RLA_{ba} = \frac{LA_{ba}}{LA_{bb}}$$

$$RLAT = (RLA_{ab} + RLA_{ba})$$

όπου

$RLAT$  είναι η συνολική σχετική φυλλική επιφάνεια για τα είδη "a" και "b"

$RLA_{ab}$  είναι η σχετική φυλλική επιφάνεια για το είδος "a" σε μείγμα με το είδος "b"

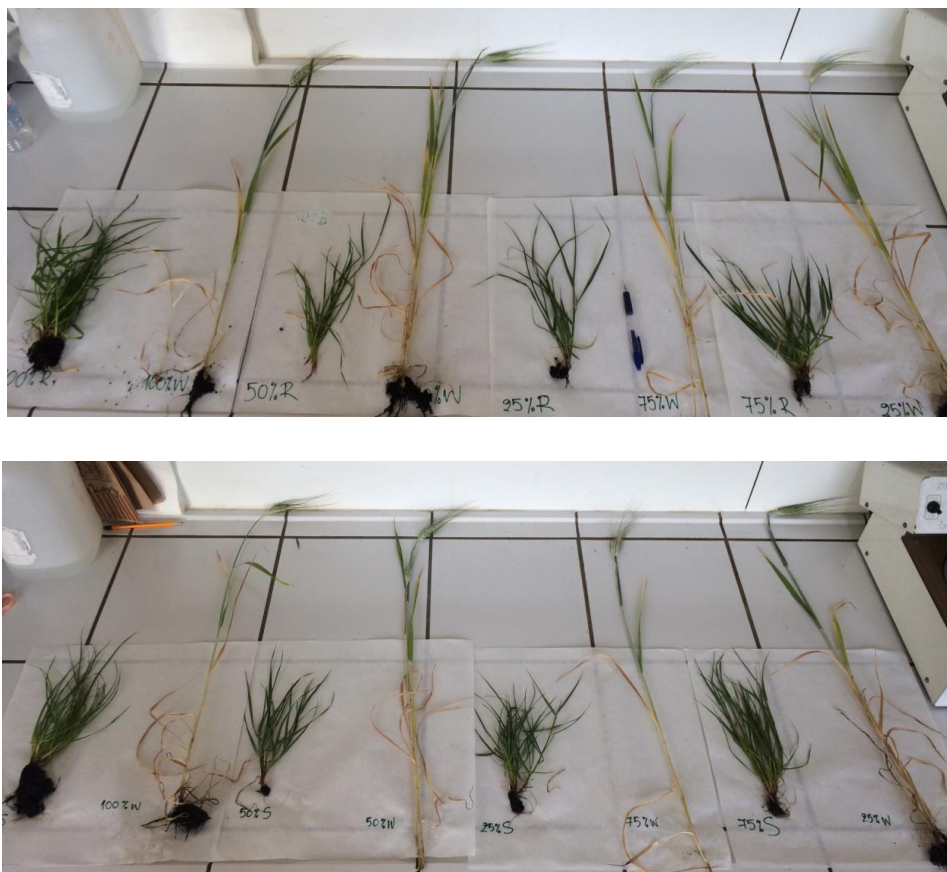
$RLA_{ba}$  είναι η σχετική φυλλική επιφάνεια για το είδος "b" σε μείγμα με το είδος "a"

$LA_{ab}$  είναι η φυλλική επιφάνεια για το είδος "a" σε μείγμα με το είδος "b"

$LA_{aa}$  είναι η φυλλική επιφάνεια για το είδος "a" σε μονοκαλλιέργεια και αντίστροφα.

Η μέτρηση του ξηρού βάρους του υπέργειου τμήματος πραγματοποιήθηκε 85 ημέρες μετά τη σπορά (Εικόνα 8), ακολουθώντας την ίδια διαδικασία με αυτήν

που περιγράφεται στο Πείραμα Α. Στη συνέχεια, οι ταξιανθίες των 24 φυτών ανά φυτοδοχείο αλωνίστηκαν προκειμένου να διαχωριστούν οι σπόροι τους. Το βάρος χιλίων σπόρων υπολογίστηκε μετρώντας 100 σπόρους και πολλαπλασιάζοντας το αποτέλεσμα επί 10.



**Εικόνα 8. Μέτρηση βιομάζας φυτών λεπτής ήρας και σιταριού 85 ημέρες μετά τη σπορά στο πλαίσιο του Πειράματος Β σειράς αντικατάστασης.**

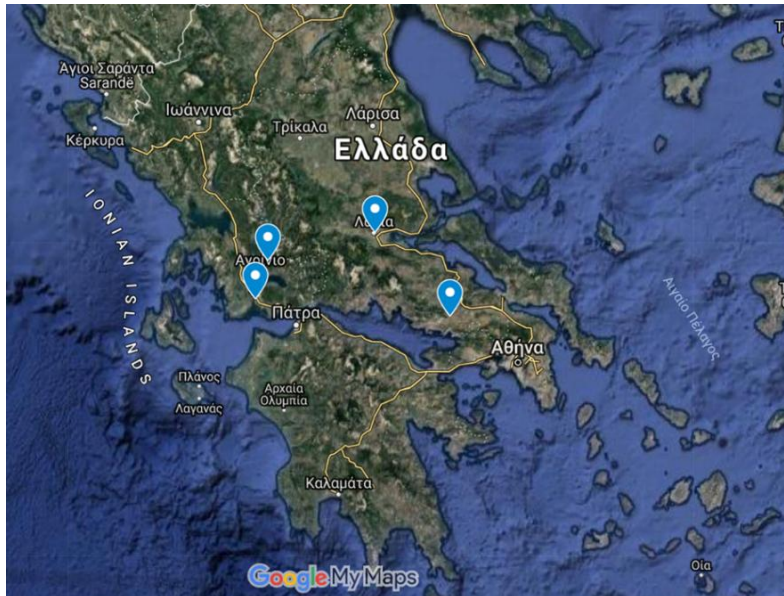
#### 3.2.1.4.2 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SigmaPlot 11.0. (Systat Software Inc.). Τα δεδομένα υποβλήθηκαν στη διαδικασία ανάλυσης της παραλλακτικότητας (ANOVA). Οι μέσοι όροι των αποτελεσμάτων συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας τη Μέθοδο Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (LSD test).

### 3.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΓΡΟΥ

#### 3.2.2.1 Αποτελεσματικότητα του ζιζανιοκτόνου glyphosate και μειγμάτων του έναντι του ζιζανίου *L. rigidum* σε πολυετείς καλλιέργειες στην Ελλάδα

Η παρούσα μελέτη είχε ως στόχο να διερευνήσει μεθόδους ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων συγκρίνοντας την αποτελεσματικότητα του glyphosate όταν εφαρμόζεται μόνο του ή σε συνδυασμό με άλλα ζιζανιοκτόνα και στελεχοκοπή των ζιζανίων για τον έλεγχο του *Lolium rigidum* σε πολυετείς καλλιέργειες στην Ελλάδα. Συγκεκριμένα, δέκα επεμβάσεις [glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή, glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή, glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + pendimethalin, glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + cycloxydim, glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + flazasulfuron, glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + clortoluron + diflufenican, glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + fluazifop-p-butyl, στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου και μάρτυρας] εφαρμόστηκαν σε τέσσερις πειραματικούς αγρούς τριών διαφορετικών περιοχών (Αιτωλοακαρνανία, Φθιώτιδα και Βοιωτία) σε δύο ελαιώνες, έναν αμπελώνα και ένα δενδρώνα εσπεριδοειδών (Εικόνα 9). Στους πειραματικούς αγρούς που επιλέχθηκαν, ο έλεγχος των πληθυσμών ήρας δεν ήταν αποτελεσματικός μετά από πολυετή χρήση glyphosate, βάσει αναφορών των ιδιοκτητών τους. Η παρουσία βιότυπων χαμηλότερης ευαισθησίας στο glyphosate σε τρεις (Αιτωλικό, Νεοχώρι και Άσκη) από τους τέσσερις αγρούς, επιβεβαιώθηκε σε πειράματα που παρουσιάζονται παραπάνω (Κεφάλαιο 3.1).



Εικόνα 9. Πειραματικοί αγροί σε τέσσερις περιοχές της Ελλάδας (Αιτωλικό Αιτωλοακαρνανίας, Νεοχώρι Αιτωλοακαρνανίας, Λαμία Φθιώτιδας, Άσκη Βοιωτίας) για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του ζιζανιοκτόνου glyphosate και μειγμάτων του εναντίον του ζιζανίου *L.rigidum* σε πολυετείς καλλιέργειες.

### 3.2.2.1.1 Σχεδιασμός Πειράματος

Για τη διεξαγωγή των πειραματικών εφαρμογών επιλέχθηκαν αγροί με μοιόμορφη κάλυψη από φυτά ήρας, γεγονός που επέτρεψε την αξιολόγηση του ελέγχου του ζιζανίου ως ποσοστό επί τοις εκατό (Εικόνα 10).



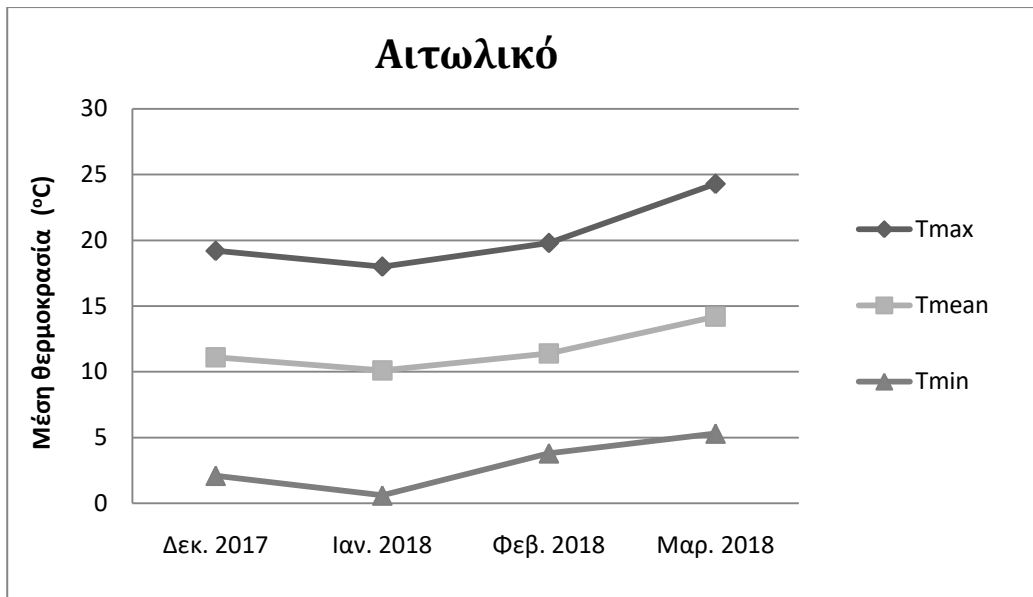
Εικόνα 10. Μοιόμορφη κάλυψη του πειραματικού δένδρωνα εσπεριδοειδών στο Νεοχώρι Αιτωλοακαρνανίας από το ζιζάνιο *L. rigidum*.

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται πληροφορίες σχετικά με τους τέσσερις πειραματικούς αγρούς και στα Γραφήματα 2-5 η ελάχιστη, μέση και μέγιστη μέση θερμοκρασία στις περιοχές κατά τη διεξαγωγή των πειραματικών δοκιμών.

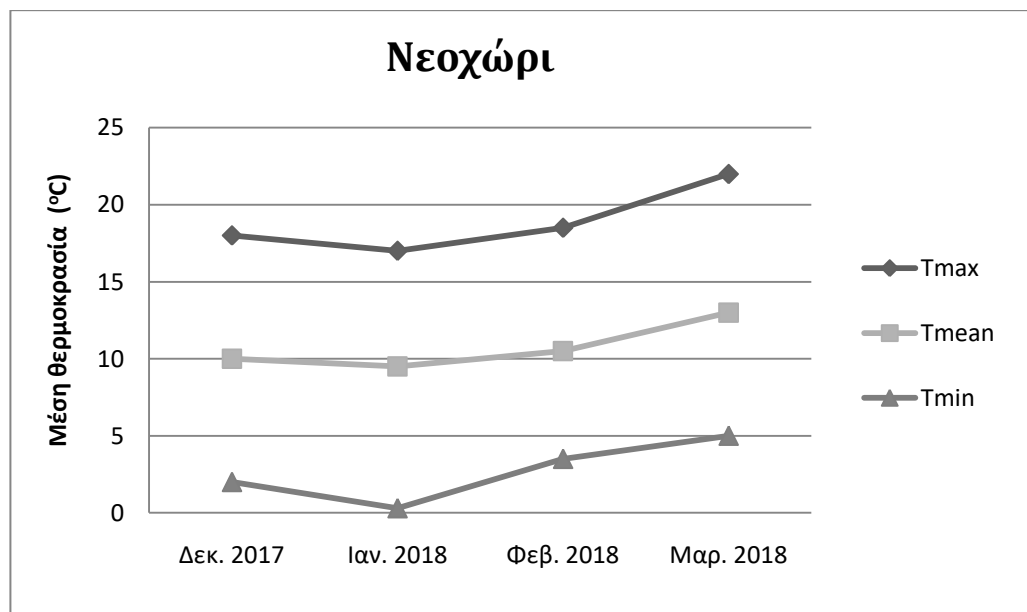
**Πίνακας 5. Πληροφορίες σχετικά με τους πειραματικούς αγρούς στους οποίους εγκαταστάθηκαν τα πειράματα αξιολόγησης του ζιζανιοκτόνου glyphosate και μειγμάτων του έναντι του ζιζανίου *L. rigidum*.**

<b>Πειραματικός αγρός</b>	<b>Σύσταση εδάφους</b>	<b>Ηλικία</b>	<b>Αποστάσεις φύτευσης</b>	<b>Μέθοδος Άρδευσης</b>
<b>Ελαιώνας Αιτωλικό</b>	Αμμοπηλώδες 13,5% άργιλο/15,3% ιλύ/71,2% άμμο	36 έτη	6 m	Στάγδην άρδευση
<b>Εσπεριδοειδή Νεοχώρι</b>	Αμμοπηλώδες 11,2% άργιλο/26,5% ιλύ/62,3% άμμο	25 έτη	5 m	Στάγδην άρδευση
<b>Ελαιώνας Λαμία</b>	Αργιλοπηλώδες 28,9% άργιλο/22,7% ιλύ/48,4% άμμο	20 έτη	8 m	Στάγδην άρδευση
<b>Αμπελώνας Άσκη</b>	Πηλώδες 15,3% άργιλο/37,1% ιλύ/47,6% άμμο	11 έτη	2,5 m	Στάγδην άρδευση

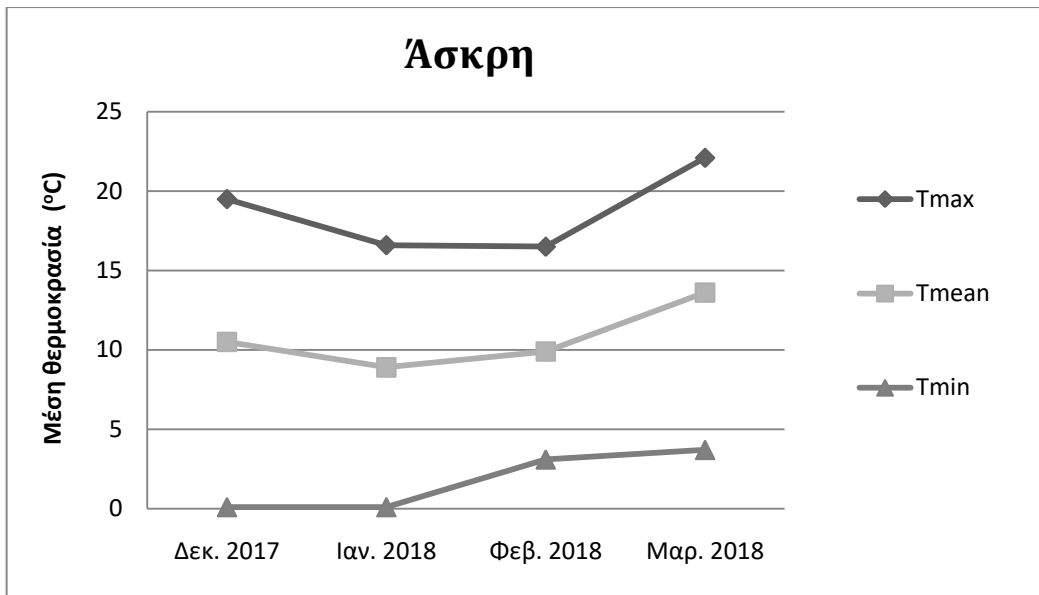




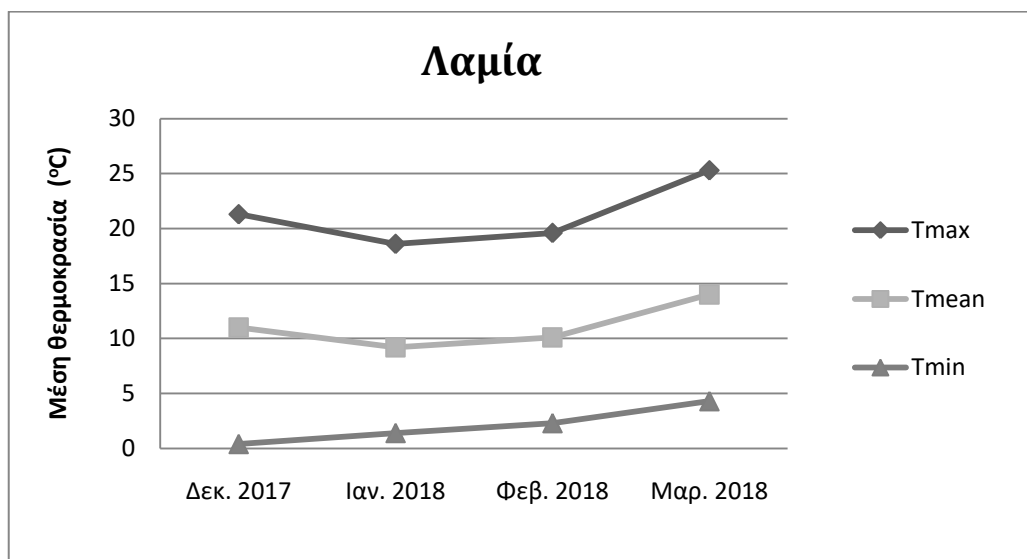
Γράφημα 2. Ελάχιστη ( $T_{min}$ ), μέση ( $T_{mean}$ ) και μέγιστη ( $T_{max}$ ) μέση θερμοκρασία ανά μήνα στον πειραματικό αγρό στην περιοχή του Αιτωλικού κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος.



Γράφημα 3. Ελάχιστη ( $T_{min}$ ), μέση ( $T_{mean}$ ) και μέγιστη ( $T_{max}$ ) μέση θερμοκρασία ανά μήνα στον πειραματικό αγρό στην περιοχή του Νεοχωρίου κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος.



Γράφημα 4. Ελάχιστη ( $T_{min}$ ), μέση ( $T_{mean}$ ) και μέγιστη ( $T_{max}$ ) μέση θερμοκρασία ανά μήνα στον πειραματικό αγρό στην περιοχή της Άσκης κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος.



Γράφημα 5. Ελάχιστη ( $T_{min}$ ), μέση ( $T_{mean}$ ) και μέγιστη ( $T_{max}$ ) μέση θερμοκρασία ανά μήνα στον πειραματικό αγρό στην περιοχή της Λαμίας κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος.

### 3.2.2.1.2 Επεμβάσεις

Οι επεμβάσεις που εφαρμόστηκαν και στους τέσσερις πειραματικούς αγρούς παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6. Επεμβάσεις που εφαρμόστηκαν στους τέσσερις πειραματικούς αγρούς (Αιτωλοακαρνανία, Βοιωτία, Φθιώτιδα) με πολυετείς καλλιέργειες (ελιά, αμπέλι, εσπεριδοειδή). Εντός των παρενθέσεων αναφέρονται οι δόσεις των ζιζανιοκτόνων που εφαρμόστηκαν.

α/α	Ονομασία Επέμβασης	Εμπορικά Σκευάσματα	Ομάδα Ζιζανιοκτόνων (Ταξινόμηση κατά HRAC*)
1	Μάρτυρας	-	-
2	Στελεχοκοπή	-	-
3	Glyphosate (720 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> ) + στελεχοκοπή	Dominator Mega 480 SL <sup>16</sup>	Ομάδα G <sup>17</sup>
4	Glyphosate (1440 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> )	Dominator Mega 480 SL	Ομάδα G
5	Glyphosate (1440 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> ) + στελεχοκοπή	Dominator Mega 480 SL	Ομάδα G

<sup>16</sup>Παρασκευαστής σκευάματος: Albaugh TKI d.o.o., Σλοβενία

<sup>17</sup> Παρεμποδιστές της βιοσύνθεσης Αρωματικών αμινοξέων

6	Glyphosate (1440 g δ.o. ha <sup>-1</sup> ) + Pendimethalin (1365 g δ.o. ha <sup>-1</sup> )	Dominator Mega 480 SL + Stomp Aqua 455 CS <sup>18</sup>	Ομάδα G + Ομάδα K1 <sup>19</sup>
7	Glyphosate (1440 g δ.o. ha <sup>-1</sup> ) + Cycloxydim (200 g δ.o. ha <sup>-1</sup> )	Dominator Mega 480 SL + Stratos 10 EC <sup>20</sup>	Ομάδα G + Ομάδα A <sup>21</sup>
8	Glyphosate (1440 g δ.o. ha <sup>-1</sup> ) + Flazasulfuron (200 g δ.o. ha <sup>-1</sup> )	Dominator Mega 480 SL + Katana <sup>22</sup>	Ομάδα G + Ομάδα B <sup>23</sup>
9	Glyphosate (1440 g δ.o. ha <sup>-1</sup> ) + Chlorotoluron (1500 g δ.o. ha <sup>-1</sup> ) + Diflufenican (100 g δ.o. ha <sup>-1</sup> )	Dominator Mega 480 SL + Carmina Max <sup>24</sup>	Ομάδα G + Ομάδα C1 <sup>25</sup> + Ομάδα F1 <sup>26</sup>
10	Glyphosate (1440 g δ.o. ha <sup>-1</sup> ) + Fluazifop-p-butyl (150 g δ.o. ha <sup>-1</sup> )	Dominator Mega 480 SL + Fusilade 12.5 EC <sup>27</sup>	Ομάδα G + Ομάδα A

Η εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων πραγματοποιήθηκε όταν η ήρα βρισκόταν στο στάδιο των 2-6 φύλλων (BBCH 12-16) και έλαβε χώρα από τα τέλη Δεκεμβρίου 2017 έως τις αρχές Ιανουαρίου 2018. Εξαίρεση αποτελεί η επέμβαση 6, καθώς η εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου pendimethalin πραγματοποιήθηκε πριν την εμφάνιση των ζιζανίων. Μετά την εφαρμογή του pendimethalin ακολούθησε η ενσωμάτωσή του στο έδαφος. Η εφαρμογή του glyphosate στα πειραματικά τεμάχια της επέμβασης 6 έλαβε χώρα

<sup>18</sup> Παρασκευαστής σκευάσματος: BASF SE, Γερμανία

<sup>19</sup> Παρεμποδιστές του Πολυμερισμού της Τουμπουλίνης

<sup>20</sup> Παρασκευαστής σκευάσματος: BASF SE, Γερμανία

<sup>21</sup> Παρεμποδιστές της Καρβοξυλάσης του Ακέτυλο-CoA

<sup>22</sup> Παρασκευαστής σκευάσματος: ISK Biosciences Europe N.V., Βέλγιο

<sup>23</sup> Παρεμποδιστές της Βιοσύνθεσης Αμινοξέων της Ομάδας του Πυροσταφυλικού

<sup>24</sup> Παρασκευαστής σκευάσματος: Nufarm GmbH & Co KG, Αυστρία

<sup>25</sup> Παρεμποδιστές του Φωτοσυντήματος II

<sup>26</sup> Παρεμποδιστές της Βιοσύνθεσης Καροτενοειδών- ένζυμου PDS

<sup>27</sup> Παρασκευαστής σκευάσματος: Syngenta Crop Protection AG, Ελβετία.

μεταφυτρωτικά μαζί με τις εφαρμογές των υπόλοιπων ζιζανιοκτόνων. Οι ακριβείς ημερομηνίες των μεταφυτρωτικών εφαρμογών για κάθε περιοχή ήταν οι ακόλουθες:

- 26 Δεκεμβρίου 2017 στον ελαιώνα στην περιοχή του Αιτωλικού (Αιτωλοακαρνανία)
- 7 Ιανουαρίου 2018 στον ελαιώνα στην περιοχή της Λαμίας (Φθιώτιδα)
- 13 Ιανουαρίου 2018 στον αμπελώνα στην περιοχή της Άσκρης (Βοιωτία)
- 27 Δεκεμβρίου 2017 στον δενδρώνα εσπεριδοειδών στην περιοχή του Νεοχωρίου (Αιτωλοακαρνανία).

Η εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων πραγματοποιήθηκε με ψεκαστήρα προπιέσεως Gloria 405 T με βραχίονα 2 m (Gloria Haus und Gartengeräte GmbH, Witten, Germany), ρυθμισμένο για εφαρμογή 30 λίτρων ψεκαστικού υγρού ανά στρέμμα μέσω έξι ακροφυσίων επίπεδου ανεμιστήρα με πίεση 2,5 Atm (γωνία ψεκασμού 80°). Για τις εφαρμογές της στελεχοκοπής χρησιμοποιήθηκε χορτοκοπτικό μεσινέζας (Husqvarna 135R). Το χρονικό στάδιο των εφαρμογών της στελεχοκοπής για όλες τις αντίστοιχες επεμβάσεις ήταν τρεις εβδομάδες πριν τις μεταφυτρωτικές εφαρμογές ζιζανιοκτόνων. Στις επεμβάσεις συνδυασμού glyphosate και στελεχοκοπής, η εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου έγινε επίσης μετά από διάστημα τριών εβδομάδων από τη στελεχοκοπή, στοχεύοντας στα φυτά ήρας που είχαν αναβλαστήσει.

Το πειραματικό σχέδιο που χρησιμοποιήθηκε στους τέσσερις πειραματικούς αγρούς ήταν αυτό των Τυχαιοποιημένων Πλήρων Ομάδων (Randomized Complete Block Design) με τέσσερις επαναλήψεις και τον παράγοντα επέμβαση να εφαρμόζεται τυχαία στα πειραματικά τεμάχια (Εικόνες 11-14). Το εμβαδόν του κάθε πειραματικού τεμαχίου ήταν 12 m<sup>2</sup> και οι συγκεκριμένες διαστάσεις ήταν 3 m x 4 m για τους ελαιώνες στο Αιτωλικό, Αιτωλοακαρνανίας και στη Λαμία, 2 m x 6 m για τον δενδρώνα εσπεριδοειδών στο Νεοχώρι, Αιτωλοακαρνανίας και 1,5 m x 8 m για τον αμπελώνα στην Άσκη, Βοιωτίας.

1	10	8	6	4	2	3	5	7	9
5	1	4	3	10	7	9	6	2	8
9	7	5	2	3	4	8	1	10	6
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

**Εικόνα 11. Σχεδιάγραμμα πειραματικού αγρού σε ελαιώνα στο Αιτωλικό Αιτωλοακαρνανίας.**

8	5	6	9	10	4	2	1	3	7
3	5	9	8	10	6	7	2	4	1
1	10	2	4	7	6	8	5	3	9
5	1	7	8	3	9	4	6	10	2

**Εικόνα 12. Σχεδιάγραμμα πειραματικού αγρού σε δενδρώνα με εσπεριδοειδή στο Νεοχώρι Αιτωλοακαρνανίας.**

6	4	2	7	3	1	5	8	9	10
5	3	7	6	4	9	1	2	8	10
1	2	7	9	4	6	8	3	10	5
3	8	1	9	2	4	10	6	5	7

**Εικόνα 13. Σχεδιάγραμμα πειραματικού αγρού σε ελαιώνα στην περιοχή της Λαμίας στον νομό Φθιώτιδας.**

7	8	2	4	5	3	1	9	10	6
3	10	9	8	6	5	7	2	4	1
4	5	2	9	8	6	10	7	3	1
1	3	8	6	7	4	5	9	2	10

**Εικόνα 14. Σχεδιάγραμμα πειραματικού αγρού σε αμπελώνα στην περιοχή της Άσκρης στον νομό Βοιωτίας.**

### 3.2.2.1.3 Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας στον έλεγχο του *L. rigidum*

Η συλλογή στοιχείων σχετικά με την αποτελεσματικότητα κάθε επέμβασης πραγματοποιήθηκε 4 και 8 εβδομάδες μετά την εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων σε κάθε πειραματικό αγρό.

Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν τρεις τυχαίες ρίψεις ενός τετράγωνου πλαισίου εντός του κάθε πειραματικού τεμαχίου και υπολογισμός της αποτελεσματικότητας εντός της έκτασης του ενός τετραγωνικού μέτρου. Το τελικό ποσοστό αποτελεσματικότητας σε κάθε επανάληψη προέκυψε από το μέσο όρο των τριών επί μέρους μετρήσεων.

Για τον υπολογισμό της αποτελεσματικότητας των εφαρμογών αρχικά υπολογίστηκε το ποσοστό επιβίωσης της ήρας σε κλίμακα 0-100%, όπου το 0% αντιπροσωπεύει την επιβίωση όλων των ζιζανίων εντός του πειραματικού τεμαχίου, ενώ το 100% την ολική νέκρωση τους. Για την επέμβαση της στελεχοκοπής το ποσοστό επιβίωσης αντιστοιχούσε στο ποσοστό των φυτών ήρας που αναβλάστησαν. Στη συνέχεια το ποσοστό επιβίωσης αφαιρέθηκε από το 100%, ώστε να προκύψει το ποσοστό ελέγχου του ζιζανίου για κάθε ρίψη του τετράγωνου πλαισίου και ως συνέχεια για κάθε πειραματικό τεμάχιο. Το τελικό ποσοστό αποτελεσματικότητας εκφράστηκε ως ποσοστό ελέγχου της ήρας σε κάθε επέμβαση σε σχέση με τον μάρτυρα, για τον οποίο ο έλεγχος του ζιζανίου αξιολογήθηκε ως 0%, καθώς η επιβίωση και η εξάπλωση του εντός των αντίστοιχων πειραματικών τεμαχίων ήταν καθολική κατά τη διάρκεια του πειράματος.

#### 3.2.2.1.4 Στατιστική ανάλυση

Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) χρησιμοποιώντας το στατιστικό πρόγραμμα SigmaPlot 11.0. (Systat Software Inc.). Στις περιπτώσεις που η ανάλυση της διασποράς έδειξε την ύπαρξη αλληλεπιδράσεων μεταξύ των παραγόντων του πειράματος, οι πολλαπλές συγκρίσεις των μέσων όρων για στατιστικά σημαντικές διαφορές πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο LSD (Least Significant Difference).

#### 3.2.2.2 Διαχείριση ανθεκτικού πληθυσμού *L. rigidum* με μη χημικά μέσα

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιολόγηση εναλλακτικών μη χημικών μεθόδων διαχείρισης ανθεκτικού στο glyphosate πληθυσμού ήρας σε σύγκριση με εφαρμογές glyphosate. Οι μη χημικές μέθοδοι που αξιολογήθηκαν περιελάμβαναν τη στελεχοκοπή των ζιζανίων, την εδαφοκάλυψη με επίστρωμα σανού και την καλλιέργεια φυτών κάλυψης.

Το πείραμα διεξήχθη την καλλιεργητική περίοδο 2019-2020 σε ελαιώνα στον Πύργο Ηλείας (37.653°N, 21.461°E). Η επιλογή του συγκεκριμένου ελαιώνα βασίστηκε στις αναφορές του παραγωγού και ιδιοκτήτη του αγροτεμαχίου για αποτυχία ελέγχου της ήρας ύστερα από εφαρμογές glyphosate. Σε επισκέψεις στο συγκεκριμένο ελαιώνα τις προηγούμενες καλλιεργητικές περιόδους, κατά την επισκόπηση του αγρού είχε παρατηρηθεί πως η εξάπλωση του *L. rigidum* στον ελαιώνα ήταν καθολική και ομοιόμορφη, δημιουργώντας ενιαίο χλοοτάπητα σε όλη την έκταση του αγροτεμαχίου (Εικόνα 15). Ο πληθυσμός μελετήθηκε μέσω συλλογής φυτών και σπόρων στο Εργαστήριο Γεωργίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, όπου και διερευνήθηκε η ευαισθησία του στη δραστική ουσία glyphosate μέσω πειραμάτων δόσης απόκρισης (dose-response), τα οποία παρουσιάζονται στο Κεφάλαιο 3.1.1.3. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την ανάπτυξη ανθεκτικότητας του συγκεκριμένου βιότυπου ήρας στο glyphosate.

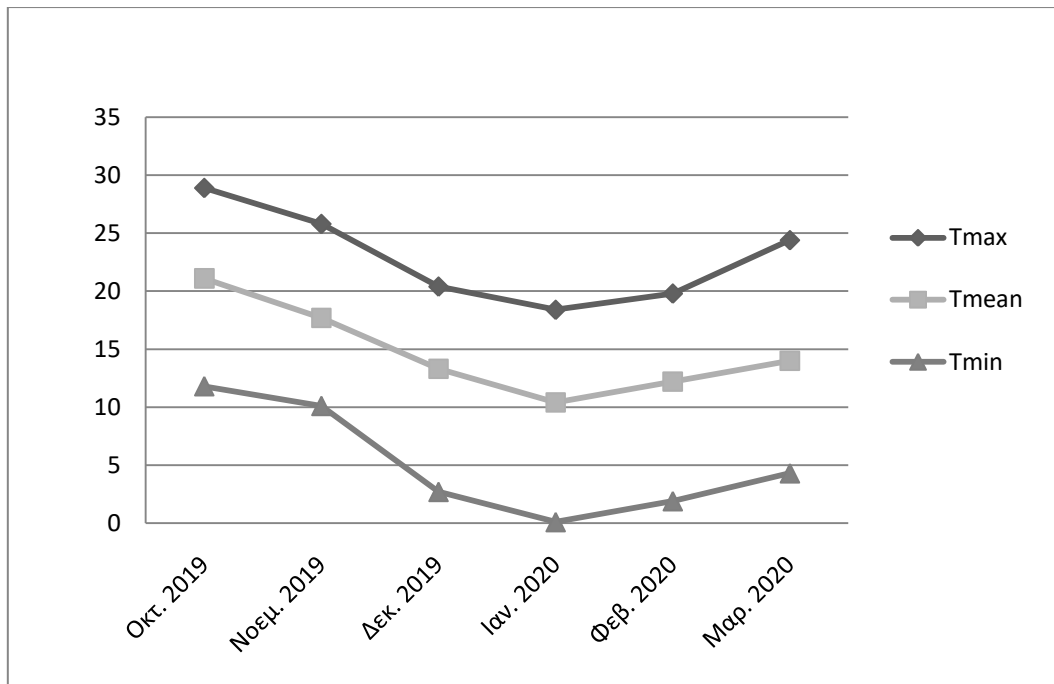


### 3.2.2.2.1 Σχεδιασμός Πειράματος

Η εγκατάσταση του πειράματος πραγματοποιήθηκε στις 19/10/2019. Η ελάχιστη, η μέση και η μέγιστη θερμοκρασία που επικράτησαν κατά τη διεξαγωγή των δοκιμών παρουσιάζονται στο Γράφημα 6. Το έδαφος του ελαιώνα ήταν πηλώδες με μηχανική σύσταση: 24,7% άργιλο, 34,1% ιλύ και 41,2% άμμο. Τα ελαιόδεντρα ήταν ηλικίας 15 ετών και εγκατεστημένα ανά 6 μέτρα επί της γραμμής φύτευσης. Στον ελαιώνα πραγματοποιούνταν στάγδην άρδευση βάσει των αναγκών της καλλιέργειας.



**Εικόνα 15. Ομοιόμορφη κάλυψη του πειραματικού ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας από το ζιζάνιο *L. rigidum*.**



**Γράφημα 6. Ελάχιστη ( $T_{min}$ ), μέση ( $T_{mean}$ ) και μέγιστη ( $T_{max}$ ) μέση θερμοκρασία (°C) ανά μήνα στον πειραματικό ελαιώνα κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος.**

Όπως αναφέρθηκε, το κυρίαρχο ζιζάνιο στον ελαιώνα ήταν το *Lolium rigidum* και η κατανομή του ήταν ομοιόμορφη στον αγρό. Κατά την εγκατάσταση του πειράματος τα φυτά της λεπτής ήρας βρίσκονταν στο στάδιο των 2 έως 3 φύλλων (BBCH 12-13). Ως πειραματικό σχέδιο επιλέχθηκε το σχέδιο των τυχαιοποιημένων πλήρων ομάδων με τρεις επαναλήψεις και τον παράγοντα επέμβαση να εφαρμόζεται τυχαία στα πειραματικά τεμάχια (Randomized Complete Block Design) (Εικόνα 17). Δημιουργήθηκαν 3 ομάδες, όπου κάθε μία περιελάμβανε μία επανάληψη των έξι διαφορετικών επεμβάσεων και του μάρτυρα. Κάθε επανάληψη αντιστοιχούσε σε ένα πειραματικό τεμάχιο, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 7. Η κατανομή των πειραματικών τεμαχίων και η ακριβής θέση τους στον ελαιώνα παρουσιάζονται στην Εικόνα 17. Η ανάπτυξη της ήρας ήταν καθολική εντός όλων των πειραματικών τεμαχίων έκτασης 12 m<sup>2</sup> (2 m x 6 m) που επιλέχθηκαν.

### 3.2.2.2.2 Επεμβάσεις

Οι επεμβάσεις παρουσιάζονται στον Πίνακα 7. Η εφαρμογή των δύο δόσεων glyphosate (Εικόνα 16) πραγματοποιήθηκε με ψεκαστήρα προπιέσεως Gloria 405 T με βραχίονα 2 m (Gloria Haus und Gartengeräte GmbH, Witten,

Germany), ρυθμισμένο για εφαρμογή 30 L ψεκαστικού υγρού ανά στρέμμα μέσω έξι ακροφυσίων επίπεδου ανεμιστήρα με πίεση 2,5 atm (γωνία ψεκασμού 80°). Για τις εφαρμογές χρησιμοποιήθηκε το σκεύασμα Dominator Mega 480 SL (Παρασκευαστής: Albaugh TKI d.o.o., Σλοβενία) με περιεκτικότητα σε glyphosate 48% β/ο. Οι επεμβάσεις περιλάμβαναν τις δόσεις glyphosate 720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> και 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>.

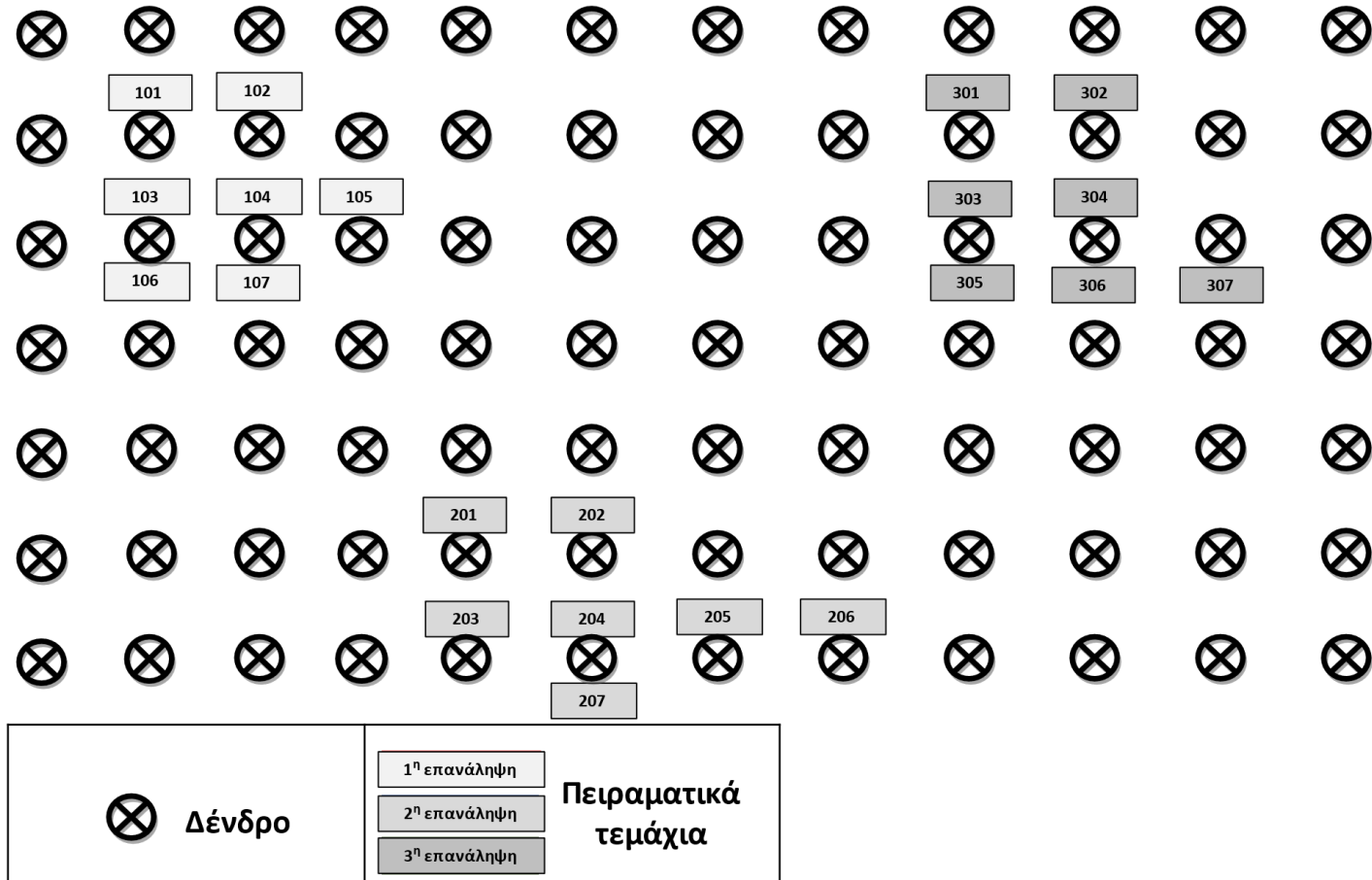
**Πίνακας 7. Επεμβάσεις που εφαρμόστηκαν στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας και κωδικοί πειραματικών τεμαχίων που αντιστοιχούν σε κάθε μία από τις επαναλήψεις τους.**

Α/Α	ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ			
	Όνομασία	Κωδικός πειραματικού τεμαχίου		
1	Μάρτυρας	101	201	301
2	Εδαφοκάλυψη με σανό	102	202	302
3	Καλλιέργεια κάλυψης: Κτηνοτροφικό μπιζέλι	103	203	303
4	Καλλιέργεια κάλυψης: Κτηνοτροφικό. μπιζέλι & βρώμη	104	204	304
5	Στελεχοκοπή	105	205	305
6	Glyphosate (1440 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> )	106	206	306
7	Glyphosate (720 g δ.ο. ha <sup>-1</sup> )	107	207	307



**Εικόνα 16. Εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου glyphosate με ψεκαστήρα προπιέσεως Gloria 405 T**

Πειραματικό σχέδιο



Εικόνα 17. Σχεδιάγραμμα του πειραματικού ελαιώνα στον Πύργο Ηλείας. Ακολουθήθηκε το πειραματικό σχέδιο τυχαιοποιημένων πλήρων ομάδων.

Για την επέμβαση της εδαφοκάλυψης χρησιμοποιήθηκε ως επίστρωμα σανός μηδικής. Συγκεκριμένα, μπάλα σανού μηδικής 20 κιλών απλώθηκε σε όλη την επιφάνεια του πειραματικού τεμαχίου επιτυγχάνοντας καλή κάλυψη χωρίς ενδιάμεσα κενά (Εικόνα 18).



**Εικόνα 18. Επέμβαση εδαφοκάλυψης με επίστρωμα σανού μηδικής ως εναλλακτική μη χημική μέθοδο διαχείρισης ανθεκτικότητας σε πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**

Για τις δύο επεμβάσεις των καλλιεργειών κάλυψης επιλέχθηκαν το κτηνοτροφικό μπιζέλι [*Pisum sativum* subsp. *arvense* L., 'Olympos' (AgriMore S.A., Θεσσαλονίκη, Ελλάδα)] και η βρώμη [*Avena sativa* L. 'Kassandra' (Ager S.A., Θεσσαλονίκη, Ελλάδα)]. Στη μία επέμβαση το κτηνοτροφικό μπιζέλι ήταν το μόνο φυτό κάλυψης, ενώ στη δεύτερη επέμβαση πραγματοποιήθηκε συγκαλλιέργεια κτηνοτροφικού μπιζελιού και βρώμης. Η επιλογή των συγκεκριμένων φυτών βασίστηκε σε προηγούμενες αναφορές για αποτελεσματικό έλεγχο της ανάπτυξης των ζιζανίων μετά τη χρησιμοποίησή τους ως καλλιέργειες κάλυψης (Baraibar *et al.*, 2017; Brennan & Smith, 2005; Brennan *et al.*, 2009; Dorn *et al.*, 2015). Επίσης, για την επιλογή τους λήφθηκε υπόψη η ικανότητά τους να αναπτύσσονται κατά τη χειμερινή περίοδο, αλλά και σε ποικιλία εδαφικών συνθηκών. Στα πειραματικά τεμάχια των επεμβάσεων των καλλιεργειών κάλυψης αρχικά έγινε επιφανειακή κατεργασία βάθους 10 cm με χρήση σβάρνας και ακολούθησε γραμμική σπορά σε βάθος 5 cm (Εικόνα 19). Η απόσταση των γραμμών σποράς ήταν

20 cm. Η αναλογία της ποσότητας σπόρου που χρησιμοποιήθηκε ήταν 20 kg/στρ. για την επέμβαση του κτηνοτροφικού μπιζελιού και 15 και 10 kg/στρ. για την επέμβαση του μείγματος κτηνοτροφικού μπιζελιού και βρώμης, αντίστοιχα. Η κατεργασία του εδάφους και η σπορά πραγματοποιήθηκαν στις 19/10/2019.



**Εικόνα 19. Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης μηδικής ως εναλλακτική μη χημική μέθοδο διαχείρισης ανθεκτικότητας σε πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. Πριν τη σπορά προηγήθηκε επιφανειακή κατεργασία εδάφους βάθους 10 cm.**

Η επέμβαση της στελεχοκοπής πραγματοποιήθηκε σε δύο εφαρμογές, αρχικά κατά την εγκατάσταση του πειράματος στις 19/10/2019 και ακολούθησε η δεύτερη εφαρμογή 8 εβδομάδες αργότερα (Εικόνα 20). Χρησιμοποιήθηκε χορτοκοπτικό μεσινέζας (Husqvarna 135R).



**Εικόνα 20. Πειραματικό τεμάχιο μετά από στελεχοκοπή με χορτοκοπτικό μεσινέζας σε πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**

Τέλος, κάθε ομάδα του πειραματικού σχεδίου περιείχε και μία επανάληψη του μάρτυρα. Στα πειραματικά τεμάχια του μάρτυρα δεν πραγματοποιήθηκε καμία επέμβαση.

#### **3.2.2.2.3 Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας στον έλεγχο του ζιζανίου *L. rigidum***

Η συλλογή στοιχείων σχετικά με την αποτελεσματικότητα κάθε επέμβασης πραγματοποιήθηκε 1, 4, 8 και 16 εβδομάδες μετά την εγκατάσταση του πειράματος. Μία εβδομάδα μετά την εφαρμογή των επεμβάσεων, ήταν δυνατή η πραγματοποίηση μόνο οπτικών παρατηρήσεων για τις επεμβάσεις στελεχοκοπής, των καλλιεργειών κάλυψης και της εδαφοκάλυψης, καθώς τα φυτά της λεπτής ήρας δεν είχαν αναβλαστήσει ή διαπεράσει το επίστρωμα κάλυψης, αντίστοιχα.

Στις επεμβάσεις με glyphosate τα φυτά ήρας παρουσίασαν μόνο συμπτώματα χλώρωσης. Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των εφαρμογών glyphosate σε αυτό το στάδιο πραγματοποιήθηκε με χρήση του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ο αισθητήρας φυλλώματος RapidScan (Holland Scientific Inc., Lincoln, NE, ΗΠΑ), με σκοπό τη σύγκριση της ζωνρότητας του φυλλώματος των φυτών της



ήρας μεταξύ του μάρτυρα και των δύο δόσεων glyphosate. Ο αισθητήρας έχει τη δυνατότητα μέτρησης του δείκτη βλάστησης NDVI.

Με μαθηματικούς όρους, ο παραπάνω δείκτης βλάστησης διατυπώνεται ως εξής:

$$NDVI = (NIR - Red) / (NIR + Red)$$

Όπου:

*NIR* το φάσμα Near Infra Red (0.75-1.4 μm)

*Red* το φάσμα Red (0.62-0.75 μm)

Για τη λήψη των μετρήσεων ο αισθητήρας τοποθετήθηκε 25 cm πάνω από τη φυλλική επιφάνεια των ζιζανίων για χρονικό διάστημα 5 δευτερολέπτων. Ελήφθησαν τρεις μετρήσεις για κάθε πειραματικό τεμάχιο και ως τελική μέτρηση διατηρήθηκε ο μέσος όρος τους.

Για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας κάθε επέμβασης στα στάδια των 4, 8 και 16 εβδομάδων μετά την εγκατάσταση του πειράματος, χρησιμοποιήθηκε τετράγωνο πλαίσιο επιφάνειας ενός τετραγωνικού μέτρου. Πραγματοποιήθηκαν τρεις τυχαίες ρίψεις του πλαισίου εντός του κάθε πειραματικού τεμαχίου και υπολογισμός της αποτελεσματικότητας εντός της έκτασης του ενός τετραγωνικού μέτρου. Το τελικό ποσοστό αποτελεσματικότητας σε κάθε επανάληψη προέκυψε από το μέσο όρο των τριών επί μέρους μετρήσεων.

Η ομοιόμορφη κατανομή του *L. rigidum* στα πειραματικά τεμάχια επέτρεψε τον υπολογισμό της αποτελεσματικότητας κάθε μεθόδου σε κλίμακα 0-100%, όπου το 0% αντιπροσωπεύει την επιβίωση όλων των φυτών λεπτής ήρας εντός του πειραματικού τεμαχίου, ενώ το 100% την ολική νέκρωση τους. Αρχικά, εκτιμήθηκε το ποσοστό των φυτών ήρας που επιβίωσαν στις εφαρμογές του glyphosate, αναβλάστησαν μετά τις επεμβάσεις της στελεχοκοπής και σποράς των καλλιεργειών κάλυψης και διαπέρασαν το επίστρωμα σανού στην επέμβαση της εδαφοκάλυψης. Στη συνέχεια, το ποσοστό αφαιρέθηκε από το 100%, ώστε να προκύψει το ποσοστό ελέγχου του ζιζανίου για κάθε ρίψη του quadrat και ως συνέχεια για κάθε πειραματικό

τεμάχιο. Το τελικό ποσοστό αποτελεσματικότητας εκφράστηκε ως ποσοστό ελέγχου της ήρας σε κάθε επέμβαση σε σχέση με το μάρτυρα, για τον οποίο ο έλεγχος του ζιζανίου αξιολογήθηκε ως 0%, καθώς η επιβίωση και η εξάπλωσή του εντός των αντίστοιχων πειραματικών τεμαχίων ήταν καθολική κατά τη διάρκεια του πειράματος.

#### **3.2.2.2.4 Στατιστική ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SigmaPlot 11.0. (Systat Software Inc.). Τα δεδομένα υποβλήθηκαν στη διαδικασία ανάλυσης της παραλλακτικότητας (ANOVA). Οι μέσοι όροι των αποτελεσμάτων συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας τη Μέθοδο Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (LSD test).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΤΥΠΩΝ *LOLIUM RIGIDUM* ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΖΙΖΑΝΙΟΚΤΟΝΑ GLYPHOSATE ΚΑΙ GLUFOSINATE

#### 4.1.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΕ ΦΥΤΟΔΟΧΕΙΑ

##### 4.1.1.1 Διερεύνηση ανθεκτικότητας (Resistance screening)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του προκαταρκτικού πειράματος διερεύνησης ανθεκτικότητας 54 βιότυπων ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate με μία μόνο δόση ζιζανιοκτόνου ( $720 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$ ), 4 εβδομάδες μετά την εφαρμογή, 6 βιότυποι ήρας παρουσίασαν τιμές νωπού βάρους (εκφρασμένου ως ποσοστού μάρτυρα) μεγαλύτερες ή ίσες από/με το ποσοστό 50%, 28 βιότυποι εμφάνισαν τιμές μεταξύ των ποσοστών 30 και 50% και 20 βιότυποι τιμές μικρότερες του ποσοστού 30% (Γράφημα 7). Ταυτόχρονα, σε μόνο τέσσερις βιότυπους (SPN.1, SPN.2, AUS.2 και AFR) επιβίωσαν 4/4 φυτά ήρας ανά φυτοδοχείο, σε δύο βιότυπους (SPN.1, AIT.1) επιβίωσαν 3/4 φυτά ήρας, ενώ σε όλους τους υπόλοιπους βιότυπους επιβίωσαν 2 ή λιγότερα φυτά ήρας ανά φυτοδοχείο (Γράφημα 7).

Λαμβάνοντας λοιπόν υπόψη τα παραπάνω αποτελέσματα επιλέχθηκαν με σκοπό να χρησιμοποιηθούν σε επόμενα πειράματα δόσης-απόκρισης του glyphosate οι εξής βιότυποι ήρας:

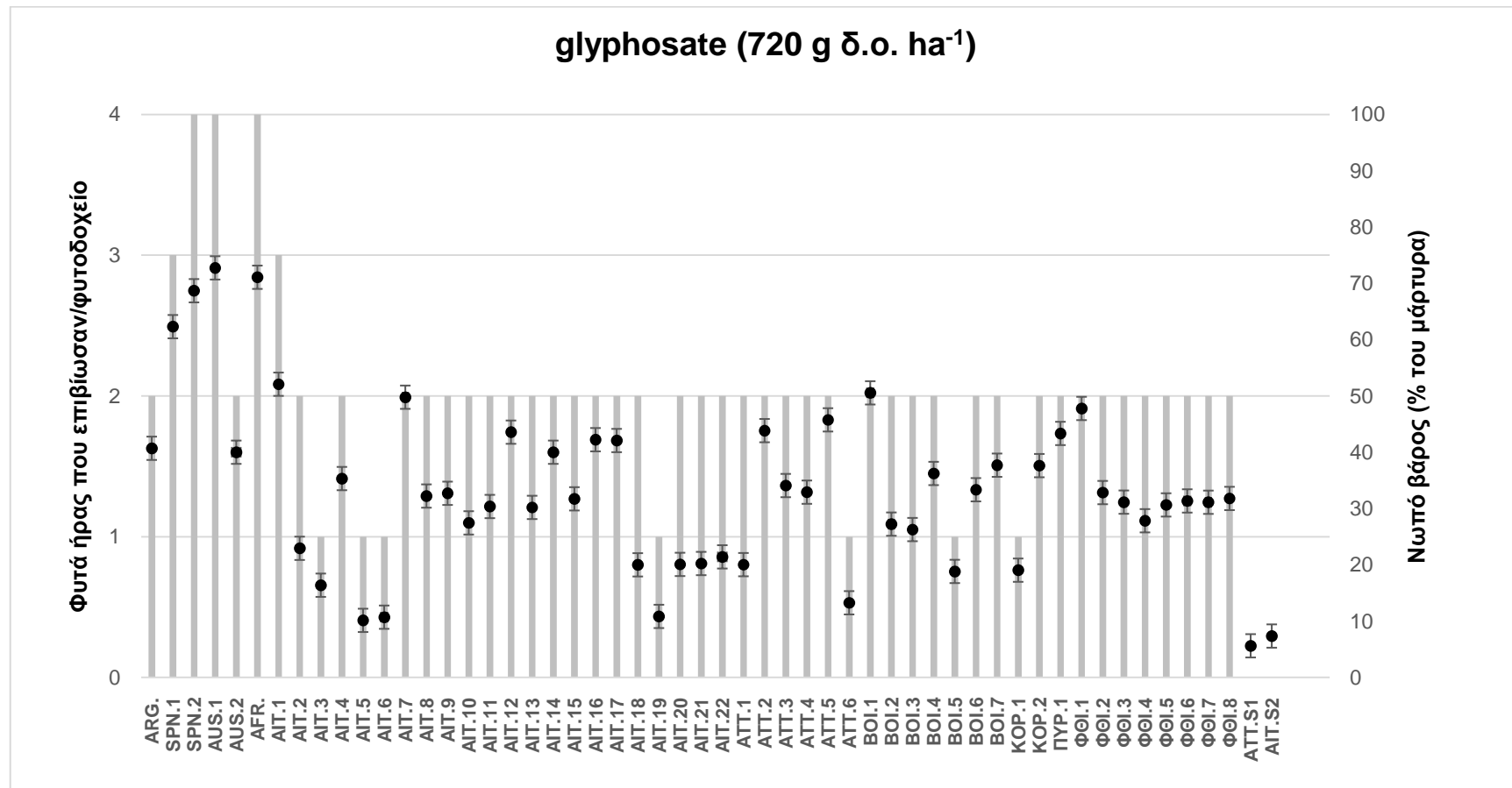
- SPN.1, SPN.2, AUS.1, AFR., AIT.1, BOI.1 (νωπό βάρος  $\geq 50\%$ )
- AIT.4, AIT.7, AIT.12, AIT.15, AIT.17, ATT.4, ΠΥΡ.1, ΦΘΙ.3 ( $30 \geq$  νωπό βάρος  $\geq 50\%$ )
- ATT.S1, AIT.S2 (νωπό βάρος  $\leq 10\%$ )

Αντίστοιχα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του προκαταρκτικού πειράματος διερεύνησης ανθεκτικότητας 39 βιότυπων ήρας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate με μία μόνο δόση ζιζανιοκτόνου ( $750 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$ ), 3 εβδομάδες μετά την εφαρμογή, 4 βιότυποι ήρας παρουσίασαν τιμές νωπού βάρους (εκφρασμένου ως ποσοστού μάρτυρα) μεγαλύτερες ή ίσες από το ποσοστό 50%, 8 βιότυποι ήρας τιμές μεταξύ των ποσοστών 30 και 50% και 26 μικρότερες του

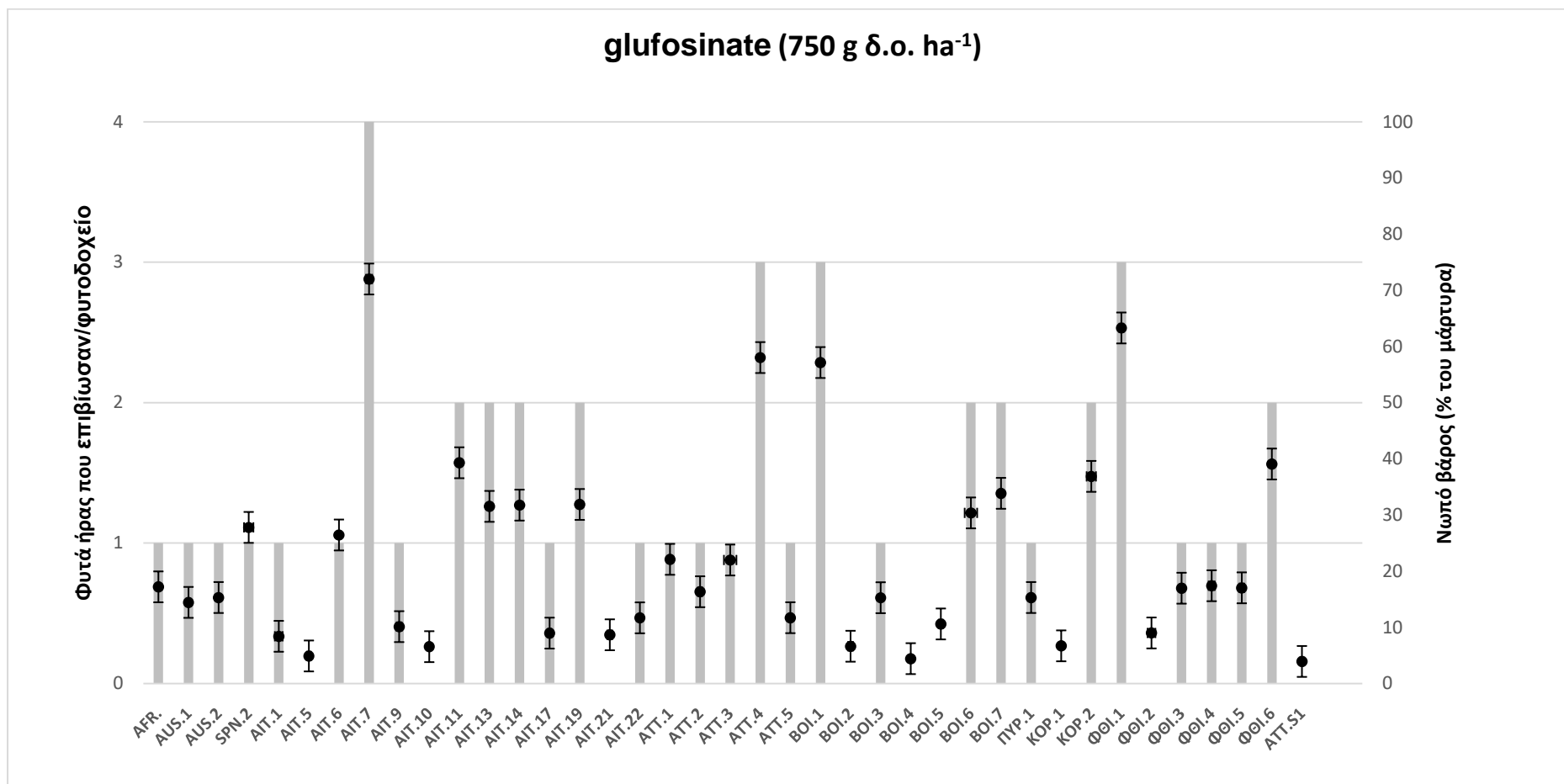
ποσοστού 30% (Γράφημα 8). Όσον αφορά τα φυτά ήρας που επιβίωσαν ανά φυτοδοχείο, σε έναν μόνο βιότυπο (ΑΙΤ.6) επιβίωσαν 4/4 φυτά ήρας, σε τρεις βιότυπους (ΑΤΤ.4, ΒΟΙ.1 και ΦΘΙ.1) επιβίωσαν 3/4 φυτά ήρας ενώ σε όλους τους υπόλοιπους βιότυπους επιβίωσαν 2 ή λιγότερα φυτά ήρας ανά φυτοδοχείο (Γράφημα 8).

Λαμβάνοντας λοιπόν υπόψη τα παραπάνω αποτελέσματα επιλέχθηκαν με σκοπό να χρησιμοποιηθούν σε ακόλουθα πειράματα δόσης-απόκρισης του glufosinate οι εξής βιότυποι ήρας:

- ΑΙΤ.7, ΑΤΤ.4, ΒΟΙ.1, ΦΘΙ.1, (νωπό βάρος  $\geq 50\%$ )
- ΑΙΤ.11, ΑΙΤ.13, ΑΙΤ.14, ΑΙΤ.19, ΒΟΙ.6, ΒΟΙ.7, ΚΟΡ.2, ΦΘΙ.6 (  $30 \geq$  νωπό βάρος  $\geq 50\%$ )
- ΑΤΤ.51 (νωπό βάρος  $\leq 10\%$ )



Γράφημα 7. Έλεγχος ανθεκτικότητας 54 βιότυπων *L. rigidum* στο ζιζανιοκτόνο glyphosate στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης. Οι γκρι στήλες αντιπροσωπεύουν τα φυτά ήρας που έχουν επιβιώσει, ενώ τα σημεία-τελείες αντιπροσωπεύουν τη νωπή βιομάζα των φυτών ήρας (ως ποσοστό του αφέκαστου μάρτυρα) ανά φυτοδοχείο. Οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν ± τυπικά σφάλματα των μέσων όρων του νωπού βάρους (n=4).



Γράφημα 8. Έλεγχος ανθεκτικότητας 39 βιότυπων *L. rigidum* στο ζιζανιοκτόνο glufosinate στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης. Οι γκρι στήλες αντιπροσωπεύουν τα φυτά ήρας που έχουν επιβιώσει, ενώ τα σημεία-τελείες αντιπροσωπεύουν τη νωπή βιομάζα των φυτών ήρας (ως ποσοστό του απέκαστου μάρτυρα) ανά φυτοδοχείο. Οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν ± τυπικά σφάλματα των μέσων όρων του νωπού βάρους (n=4).

#### 4.1.1.2 Πειράματα δόσης-απόκρισης (dose-response) για επιβεβαίωση ανθεκτικότητας και αξιολόγηση επιπέδου ανθεκτικότητας λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate

##### 4.1.1.2.1 Πείραμα Α

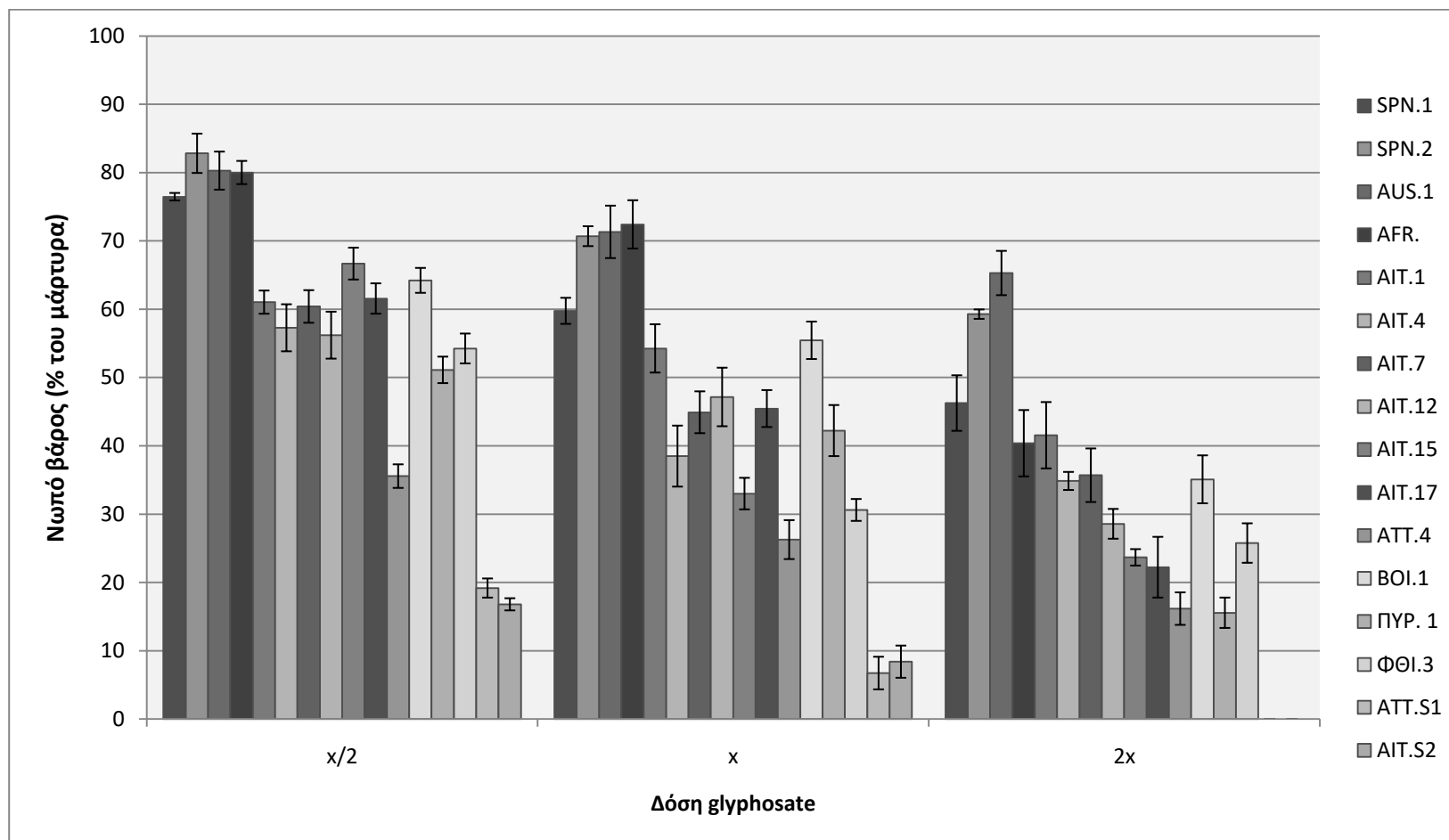
Από το πρώτο πείραμα δόσης-απόκρισης για την επιβεβαίωση και αξιολόγηση του επιπέδου ανθεκτικότητας της ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate με 3 δόσεις glyphosate [υποδιπλάσια συνιστώμενης ( $x/2$ ), συνιστώμενη ( $x$ ), διπλάσια συνιστώμενης ( $2x$ )] προέκυψαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στη συνέχεια. Οι βιότυποι SPN.1, SPN.2, AUS.1, AFR., AIT.1 και BOI.1 παρουσίασαν και σε αυτό το πείραμα νωπό βάρος  $\geq 50\%$  στη συνιστώμενη δόση του glyphosate (Γράφημα 9). Συγκεκριμένα ο βιότυπος AUS.1 παρουσιάζεται ως ο πλέον ανθεκτικός με τιμές 80,28%, 71,31%, 65,29% για τις δόσεις  $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ , αντίστοιχα. Ακολουθεί ο βιότυπος SPN.2 με τιμές νωπού βάρους 82,81%, 70,68% και 59,27%, ενώ στην τρίτη θέση βρίσκεται ο βιότυπος AFR. με τιμές νωπού βάρους 80,00%, 72,41% και 40,37% για τις δόσεις  $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ , αντίστοιχα. Τέλος, ο βιότυπος SPN.1 παρουσίασε τιμές 76,46%, 59,75% και 46,25% για τις δόσεις  $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ , αντίστοιχα. Οι μετρήσεις νωπού βάρους στη συνιστώμενη δόση των βιότυπων AFR., AUS.1, SPN.1 και SPN.2 έδωσαν παραπλήσιες τιμές σε σύγκριση με το Προκαταρκτικό πείραμα (Γράφημα 7) και αρκετά υψηλότερες σε σύγκριση με τους υπόλοιπους βιότυπους του Πειράματος Α (Γράφημα 9) γεγονός που μπορεί να συνδεθεί και με το γεγονός ότι αναφερόμαστε σε βιότυπους αναφοράς με επιβεβαιωμένη ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο glyphosate.

Από τους ελληνικούς βιότυπους υψηλότερες τιμές νωπού βάρους στην συνιστώμενη δόση παρουσίασαν οι βιότυποι AIT.1 και BOI.1 με τιμές 61,03%, 54,25%, 41,54% και 64,21%, 55,44%, 35,09%, αντίστοιχα, για τις αντίστοιχες δόσεις glyphosate  $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ . Τιμές νωπού βάρους από 30% έως 35% εμφάνισαν στη συνιστώμενη δόση οι βιότυποι ΦΘΙ.3 και AIT.15 με τιμές 54,24%, 30,61%, 25,76% και 66,67%, 33,00%, 23,67%, αντίστοιχα, για τις αντίστοιχες δόσεις glyphosate  $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ . Οι μετρήσεις νωπού βάρους στην συνιστώμενη δόση για τους παραπάνω βιότυπους έδωσαν παραπλήσιες

τιμές σε σύγκριση με το Προκαταρκτικό πείραμα (Γράφημα 7) και μικρότερες σε σύγκριση με τους βιότυπους αναφοράς του Πειράματος Α (Γράφημα 9). Το γεγονός αυτό θελήσαμε να διερευνήσουμε περισσότερο εκπονώντας δεύτερο πείραμα δόσης-απόκρισης (Πείραμα Β) με περισσότερες δόσεις ζιζανιοκτόνου και σπόρο από τους απογόνους του προκαταρκτικού πειράματος (resistance screening). Τέλος, οι ευαίσθητοι βιότυποι ΑΤΤ.Σ1 και ΑΙΤ.Σ2 παρουσίασαν τιμές νωπού βάρους 19,17%, 6,73%, 0% και 16,79%, 8,40%, 0%, αντίστοιχα, για τις αντίστοιχες δόσεις glyphosate x/2, x και 2x. (Γράφημα 9).

Τα αποτελέσματα του Πειράματος Α αποτέλεσαν τη βάση για την επιλογή των βιότυπων ήρας που χρησιμοποιήθηκαν στο Πείραμα Β με τις περισσότερες δόσεις του ζιζανιοκτόνου glyphosate προκειμένου, αφενός να υπάρχει ένα μέτρο σύγκρισης (επιβεβαιωμένοι ανθεκτικοί και ευαίσθητοι βιότυποι), και αφετέρου μια διαφοροποίηση στο επίπεδο ανθεκτικότητας. Έτσι επιλέχθηκαν οι βιότυποι AUS.1, SPN.2, ΑΙΤ.1, ΒΟΙ.1, ΦΘΙ.3, ΑΙΤ.15 και ο ευαίσθητος βιότυπος ΑΤΤ.Σ1.





Γράφημα 9. Νωπό βάρος φυτών λεπτής ήρας ανά φυτοδοχείο (εκφρασμένο ως ποσοστό του αφέκαστου μάρτυρα) σε τρεις διαφορετικές δόσεις του ζιζανιοκτόνου glyphosate ( $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ ) στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή για 16 βιότυπους ήρας (SPN.1, SPN.2, AUS.1, AFR., AIT.1, AIT.4, ΦΘΙ.3, ΑΤΤ.4, AIT.7, AIT.12, BOI.1, AIT.15, AIT.17, ΠΥΡ.1, ΑΤΤ.S1 και AIT.S2). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή και οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων.

#### 4.1.1.2.2 Πείραμα Β

Οι καμπύλες δόσης-απόκρισης έδειξαν σημαντικές διαφορές στην απόκριση του ευαίσθητου βιότυπου (ΑΤΤ.51) σε σύγκριση με τους ανθεκτικούς και πιθανώς ανθεκτικούς βιότυπους (Α55.1, 55Ν.2, ΑΙΤ.1, ΒΟΙ.1, ΦΘΙ.3 και ΑΙΤ.15). Το νωπό βάρος και η επιβίωση (εκφρασμένα ως ποσοστά του αφέκαστου μάρτυρα) των επτά βιότυπων ήρας μειώνονταν καθώς η δόση του ζιζανιοκτόνου glyphosate αυξανόταν (Γράφημα 10). Οι δύο επιβεβαιωμένοι ανθεκτικοί βιότυποι (Α55.1 και 55Ν.2) καθώς και οι βιότυποι ΑΙΤ.1, ΑΙΤ.15, ΒΟΙ.1 και ΦΘΙ.3 παρουσίασαν ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο glyphosate. Πιο συγκεκριμένα, οι δόσεις glyphosate που χρησιμοποιήθηκαν για τη μείωση του νωπού βάρους ( $GR_{50}$ ) και τη θανάτωση των φυτών των ανθεκτικών βιότυπων ήρας ( $LD_{50}$ ) κατά 50% κυμάνθηκαν από 307 έως 2446 g δ.ο.  $ha^{-1}$  και από 431 έως 3424 g δ.ο.  $ha^{-1}$ , αντίστοιχα. Σύμφωνα με αυτές τις παραμέτρους, οι δείκτες ανθεκτικότητας (RI) έλαβαν τιμές μεταξύ 2,23 και 18,6 (Πίνακας 8).

Από τις καμπύλες δόσης-απόκρισης οι βιότυποι ήρας κατατάχθηκαν με βάση το επίπεδο ανθεκτικότητάς τους σε φθίνουσα σειρά ως εξής: Α55.1, 55Ν.2, ΑΙΤ.1, ΒΟΙ.1, ΦΘΙ.3 και ΑΙΤ.15 (Γράφημα 10).

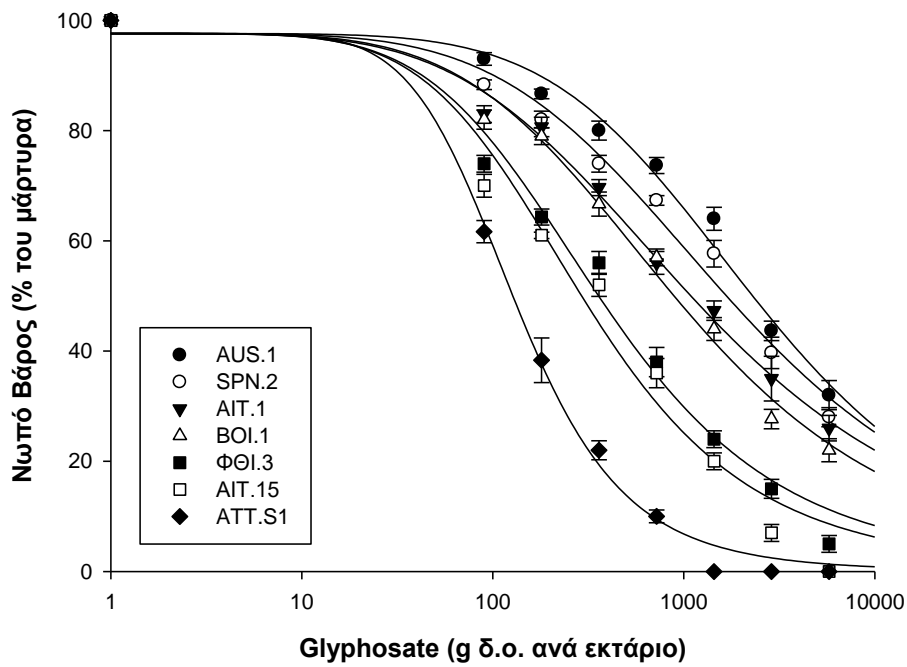
Οι εκτιμώμενες τιμές  $GR_{50}$  για κάθε έναν από τους επιλεγμένους βιότυπους επιβεβαίωσαν σημαντικές διαφορές στη μείωση του νωπού βάρους των φυτών ήρας κατά 50% μεταξύ τους. Αναλυτικά, δόση 131 και 52 g glyphosate  $ha^{-1}$  οδήγησε σε μείωση της βιομάζας κατά 50% στον ευαίσθητο βιότυπο (ΑΤΤ.51), ενώ το ίδιο ποσοστό μείωσης της νωπής βιομάζας προκλήθηκε από δόση 2445,68 g δ.ο. $ha^{-1}$  για τον επιβεβαιωμένο ανθεκτικό βιότυπο (Α55.1). Οι βιότυποι Α55.1 και 55Ν.2 ήταν σχεδόν 19 και 14 φορές, αντίστοιχα, πιο ανθεκτικοί από τον ευαίσθητο πληθυσμό (ΑΤΤ.51), ενώ οι βιότυποι ΦΘΙ.3 και ΑΙΤ.15 ήταν μόλις 3 φορές πιο ανθεκτικοί. Ενδιάμεσες τιμές παρουσίασαν οι βιότυποι ΑΙΤ.1 και ΒΟΙ.1 με δείκτες ανθεκτικότητας 8,92 και 7,23 αντίστοιχα (Πίνακας 8).

Τα φυτά του ευαίσθητου βιότυπου ΑΤΤ.51 ελέγχθηκαν σχεδόν πλήρως με 720 g glyphosate  $ha^{-1}$ , τη συνιστώμενη δηλαδή δόση του ζιζανιοκτόνου, ενώ ο ανθεκτικός βιότυπος Α55.1 παρουσίασε πολύ μικρή θνησιμότητα σε αυτή τη

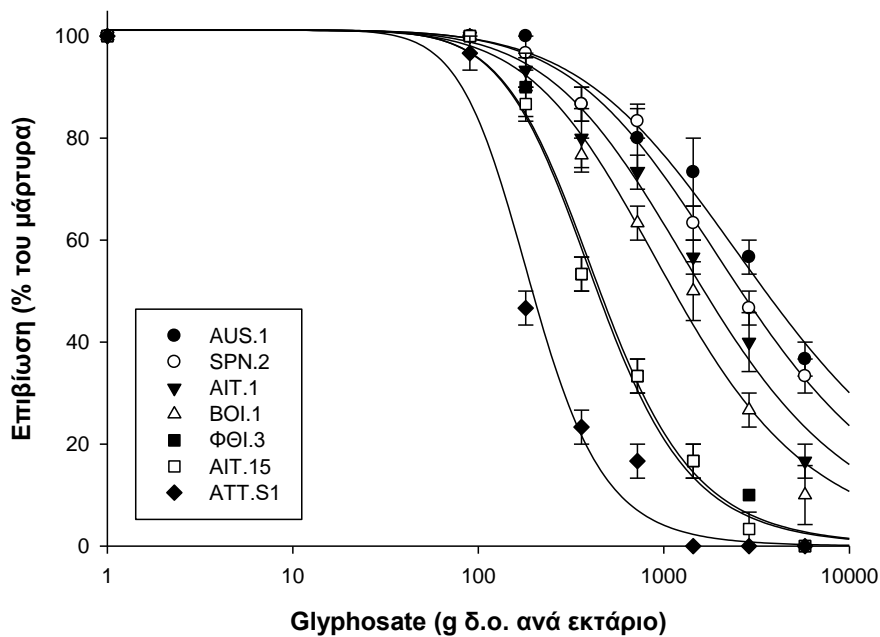
δόση με ποσοστό επιβίωσης 86,66% (Γράφημα 10<sub>(b)</sub>). Οι τιμές LD<sub>50</sub> για τους επιβεβαιωμένους ανθεκτικούς βιότυπους ήρας AUS.1 και SPN.2 ήταν 3423,73 g δ.ο ha<sup>-1</sup> και 2538,05 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, δίνοντας 18 και 13 φορές υψηλότερο δείκτη ανθεκτικότητας σε σύγκριση με τον ευαίσθητο πληθυσμό ΑΤΤ.51, αντίστοιχα. Οι δόσεις glyphosate που οδήγησε σε 50% θνησιμότητα (LD<sub>50</sub>) για τους βιότυπους ΑΙΤ.1 και ΒΟΙ.1 ήταν 1612,50 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> και 1107,64 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, αντίστοιχα (Πίνακας 8). Μικρότερες δόσεις glyphosate χρειάστηκαν για επίτευξη 50% θνησιμότητας (LD<sub>50</sub>) στους βιότυπους ΦΘΙ.3 και ΑΙΤ.15 με τιμές RI μόλις 2 φορές μεγαλύτερες από τον ευαίσθητο βιότυπο αναφοράς (Πίνακας 8).

Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι το μοτίβο δόσης-απόκρισης ως προς το επίπεδο της ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate μεταξύ των έξι ανθεκτικών βιότυπων ήταν παρόμοιο σε όλα τα πειράματα (Προκαταρκτικό, Πειράματα Α και Β). Παράλληλα, όσον αφορά τις τιμές της απόκρισης (νωπό βάρος, επιβίωση) του κάθε βιότυπου στα τρία διαφορετικά πειράματα δεν σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές για κανέναν βιότυπο (Προκαταρκτικό-F1 γενιά, Πειράματα Α και Β-F2 γενιά).

(a)



(b)



Γράφημα 10. Καμπύλες δόσης-απόκρισης, προσαρμοσμένες σε λογαριθμική κλίμακα δόσης, για τους επτά βιότυπους *L. rigidum* (AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3, AIT.15, ATT.S1) σε διαφορετικές δόσεις του ζιζανιοκτόνου glyphosate ( $x/8$ ,  $x/4$ ,  $x/2$ ,  $x$ ,  $2x$ ,  $4x$  και  $8x$ ) στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή. (α) Καμπύλη δόσης-απόκρισης ως προς το ποσοστό μείωσης νωπού βάρους των φυτών ήρας. (β) Καμπύλη δόσης-απόκρισης ως προς το ποσοστό επιβίωσης των φυτών ήρας. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή και οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων ( $n=10$ ).

Πίνακας 8. Παράμετροι της λογιστικής εξίσωσης<sup>a</sup> που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της δόσης glyphosate (g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) που απαιτείται για τη μείωση του νωπού βάρους (GR) και του ποσοστού επιβίωσης (LD) των (R) ανθεκτικών (AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3 και AIT.15) και του (S) ευαίσθητου (ATT.S1) στο glyphosate βιότυπων ήρας κατά 50%. Το νωπό βάρος και η επιβίωση των φυτών ήρας εκφράστηκαν ως ποσοστά του αφέκαστου μάρτυρα. Τα τυπικά σφάλματα (SE) αναφέρονται στις παρενθέσεις.

	Νωπό βάρος				Επιβίωση			
	a	b	GR <sub>50</sub> (g a.i. ha <sup>-1</sup> )	RI <sup>b</sup>	a	b	LD <sub>50</sub> (g a.i. ha <sup>-1</sup> )	RI <sup>b</sup>
<b>AUS.1</b>	100 (0)	6,00 (0,44)	2445,68 (1,08)	18,60	100 (0)	6,96 (0,74)	3423,73 (1,11)	17,71
<b>SPN.2</b>	100 (0)	5,10 (0,35)	1798,46 (1,09)	13,67	100 (0)	7,38 (0,71)	2538,05 (1,09)	13,13
<b>AIT.1</b>	100 (0)	4,66 (0,30)	1173,01 (1,08)	8,92	100 (0)	7,58 (0,65)	1612,50 (1,08)	8,34
<b>BOI.1</b>	100 (0)	5,01 (0,31)	951,04 (1,08)	7,23	100 (0)	7,81 (0,62)	1107,64 (1,08)	5,73
<b>ΦΘΙ.3</b>	100 (0)	5,40 (0,31)	378,09 (1,07)	2,87	100 (0)	10,18 (0,84)	446,07 (1,06)	2,31
<b>AIT.15</b>	100 (0)	5,64 (0,33)	306,83 (1,06)	2,33	100 (0)	10,31 (0,86)	431,12 (1,06)	2,23
<b>ATT.S</b>	100 1	7,45 (0,55)	131,52 (1,05)	-	100 (0)	11,65 (1,12)	193,37 (1,05)	-

<sup>a</sup>  $Y = \{d/[1 + (x/g)^b]\}$  όπου;  $Y$  είναι το ποσοστό νωπού βάρους ή/και της επιβίωσης ως ποσοστό του αφέκαστου μάρτυρα,  $d$  είναι το ανώτερο όριο,  $b$  είναι η κλίση της καμπύλης στο σημείο καμπής,  $g$  η δόση ζιζανιοκτόνου στο σημείο καμπής (δηλ. GR<sub>50</sub> ή LD<sub>50</sub>) και  $x$  (ανεξάρτητη μεταβλητή) είναι η δόση glyphosate.

<sup>b</sup>RI = Δείκτης ανθεκτικότητας (R/S) που υπολογίζεται χρησιμοποιώντας τις αντίστοιχες τιμές GR<sub>50</sub> ή LD<sub>50</sub> του ανθεκτικού βιότυπου σε σχέση με τον ευαίσθητο.

#### 4.1.1.2.3 Επίδραση θερμοκρασίας στα επίπεδα ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος διαφορετικών επιπέδων θερμοκρασίας, τα φυτά ήρας σχεδόν όλων των ανθεκτικών βιότυπων, που αναπτύχθηκαν υπό συνθήκες χαμηλών θερμοκρασιών (10/4°C ημέρα/νύχτα), παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση στο νωπό βάρος σε σύγκριση με τα αντίστοιχα φυτά ήρας, που αναπτύχθηκαν υπό συνθήκες υψηλότερων θερμοκρασιών (16/10°C ημέρα/νύχτα) (Γράφημα 11).

Εξαίρεση αποτέλεσαν οι βιότυποι ΑΙΤ.1 και ΑΙΤ.15, οι οποίοι δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε ορισμένες από τις δόσεις glyphosate που εφαρμόστηκαν στο παρόν πείραμα (Γράφημα 11). Συγκεκριμένα, ο ΑΙΤ.1 δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μείωση του νωπού βάρους των φυτών ήρας μεταξύ των δύο θερμοκρασιών στη διπλάσια της συνιστώμενης δόση (2x). Αντίθετα, για τον ίδιο βιότυπο παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στο νωπό βάρος των φυτών ήρας από 75% κατά την ανάπτυξή τους στις υψηλές θερμοκρασίες σε 52% κατά την ανάπτυξή τους σε χαμηλές θερμοκρασίες για την υποδιπλάσια δόση του ζιζανιοκτόνου glyphosate (x/2) και από 69% σε 49% για τη συνιστώμενη δόση (x). Αναφορικά με τον βιότυπο ΑΙΤ.15 δεν σημειώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για την υποδιπλάσια (x/2) και τη συνιστώμενη δόση (x), ενώ η μείωση του νωπού βάρους διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δύο θερμοκρασιών για τη διπλάσια δόση (2x) glyphosate.

Για τους υπόλοιπους ανθεκτικούς βιότυπους, όπως αναφέρεται και παραπάνω, υπήρξε σημαντικότερη μείωση του νωπού βάρους των φυτών ήρας κατά την ανάπτυξή τους στις χαμηλότερες θερμοκρασίες και για τις τρεις διαφορετικές δόσεις glyphosate, η οποία διέφερε στατιστικά σημαντικά από την αντίστοιχη μείωση κατά την ανάπτυξη των φυτών στις υψηλότερες θερμοκρασίες. Αναλυτικά, για τους βιότυπους ΑΥΣ.1 και ΣΠΝ.2 οι διαφορές στις τιμές νωπού βάρους ήρας μεταξύ των δύο διαφορετικών θερμοκρασιών κυμάνθηκαν από 17% έως 28% και για τις τρεις δόσεις glyphosate. Ο βιότυπος ΑΙΤ.1 παρουσίασε μειωμένη τιμή νωπού βάρους κατά 22,67% στις θερμοκρασίες 10/4°C ημέρα/νύχτα σε σύγκριση με τις θερμοκρασίες 16/10°C ημέρα/νύχτα. Παρομοίως, για τον ίδιο βιότυπο στη συνιστώμενη δόση (x) η αντίστοιχη διαφορά μεταξύ των θερμοκρασιών ήταν 20,53% ενώ στη διπλάσια δόση μόλις 4,53%.

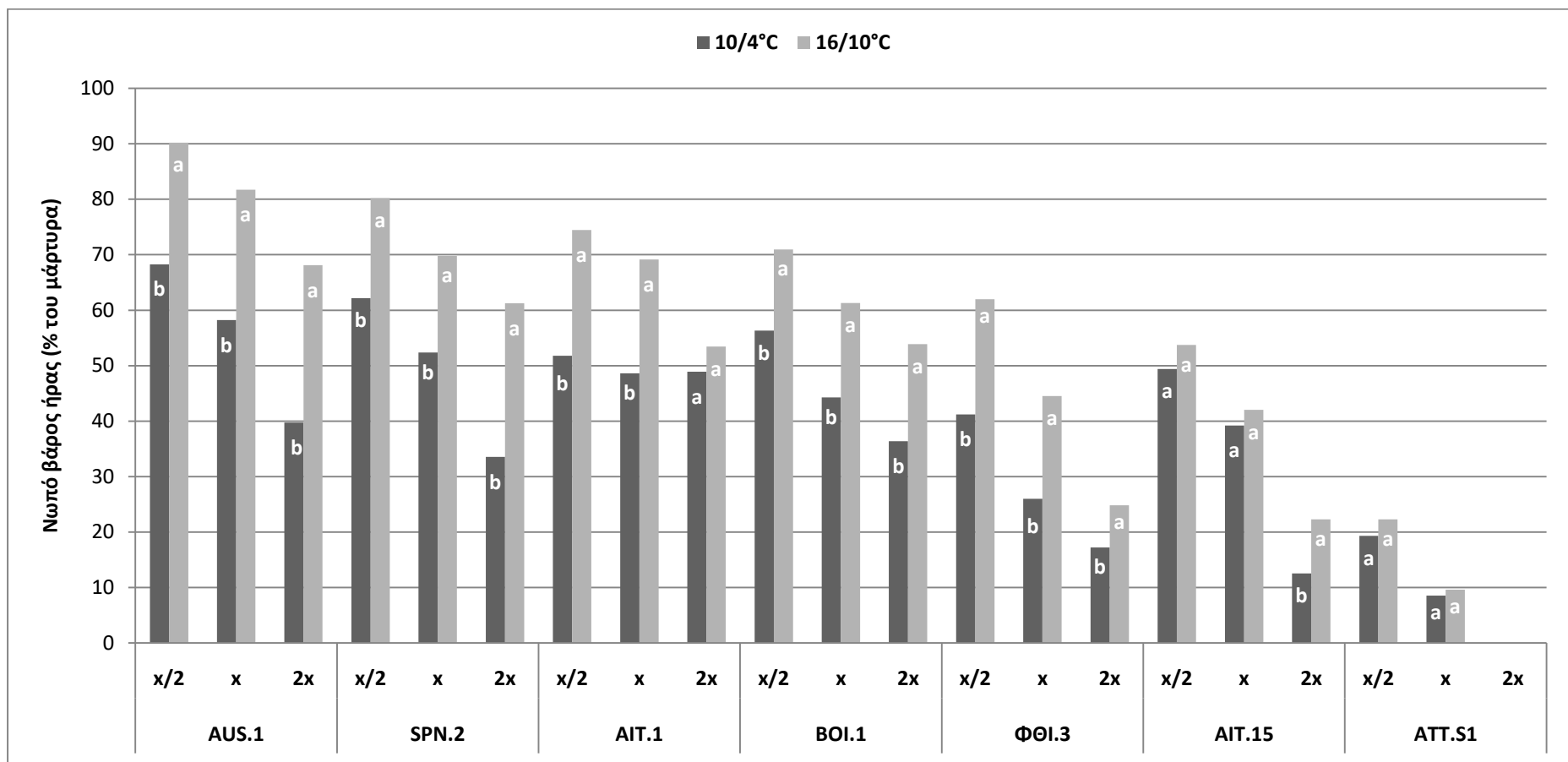
Οι βιότυποι ΒΟΙ.1, ΦΘΙ.3 και ΑΙΤ.15 εμφάνισαν μικρότερες διαφορές μεταξύ των διαφορετικών θερμοκρασιών. Ο βιότυπος ΒΟΙ.1 παρουσίασε τη μεγαλύτερη διαφορά στη διπλάσια δόση glyphosate με ποσοστό ίσο με 17,52% και ο βιότυπος ΦΘΙ.3 στην υποδιπλάσια δόση με ποσοστό ίσο με 20,77%. Αντίθετα, η διαφορά που καταγράφηκε για τον βιότυπο ΑΙΤ.15 δεν

ξεπέρασε το ποσοστό του 10% για καμία από τις τρεις δόσης του ζιζανιοκτόνου.

Όσον αφορά τον ευαίσθητο βιότυπο ATT.S1, δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη μείωση του νωπού βάρους των φυτών ήρας κατά την ανάπτυξή τους στις διαφορετικές θερμοκρασίες μετά από εφαρμογή glyphosate και στις τρεις δόσεις του ζιζανιοκτόνου. Τόσο στις χαμηλές όσο και στις υψηλές θερμοκρασίες υπήρξε μείωση του νωπού βάρους των φυτών ήρας ανώτερη του 80% για την υποδιπλάσια δόση (x/2) και ανώτερη του 90% για τη συνιστώμενη δόση (x).

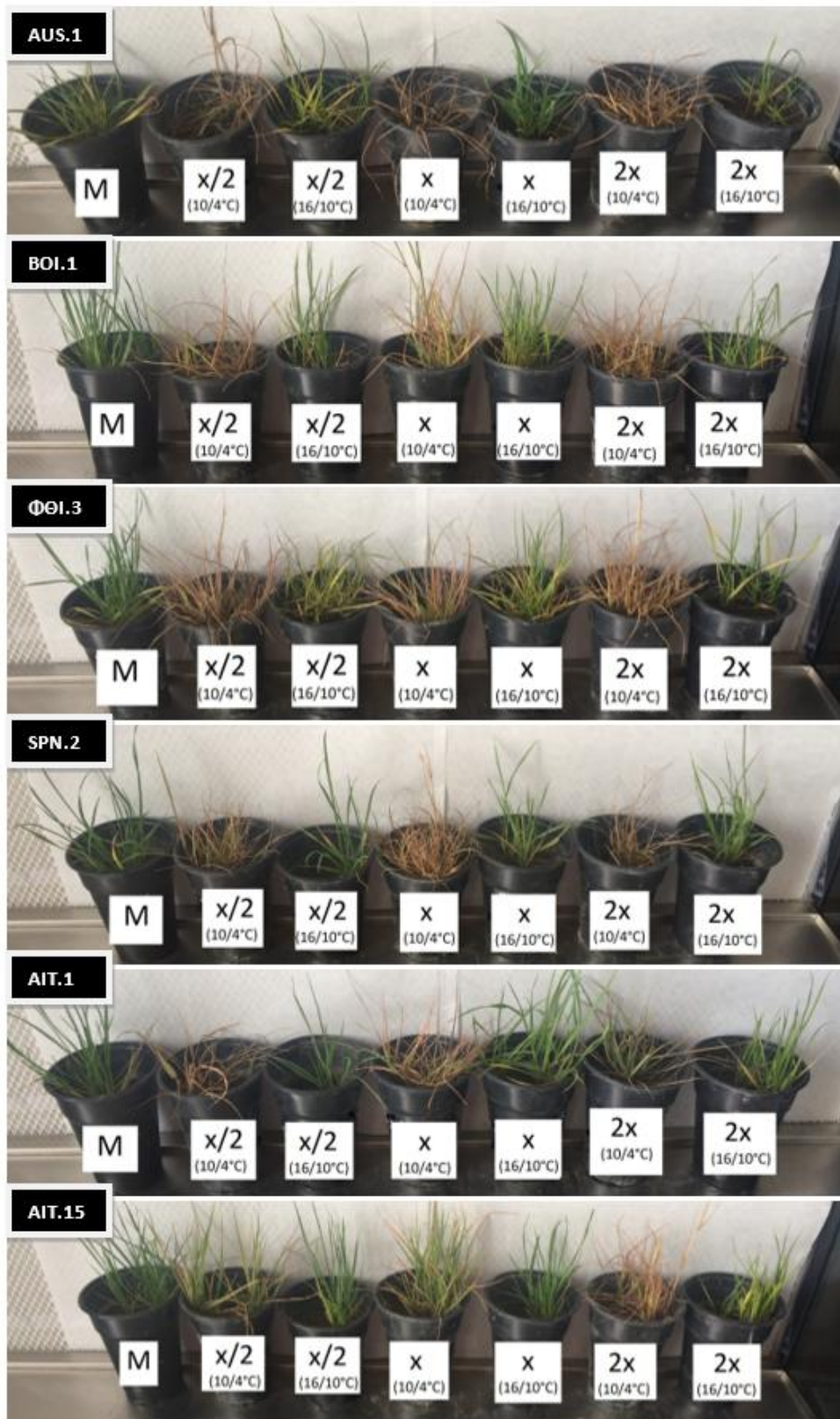
Άξιο αναφοράς είναι και το γεγονός ότι η επίδραση του glyphosate στο νωπό βάρος των φυτών ήρας για τους εξεταζόμενους βιότυπους είναι αντίστοιχη αυτής που παρατηρήθηκε στο πείραμα δόσης-απόκρισης, τα αποτελέσματα του οποίου παρουσιάζονται (Πειράματα A και B). Εξαίρεση αποτελεί ο βιότυπος BOI.1 που για τη συνιστώμενη δόση παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές νωπού βάρους κατά 14,89% και 13,14% σε σύγκριση με τις τιμές νωπού βάρους ήρας των Πειραμάτων A και B, αντίστοιχα.

Συμπερασματικά, όπως προκύπτει από το Γράφημα 11 και την Εικόνα 21, υπάρχει εμφανής επίδραση των χαμηλών θερμοκρασιών στην ευαισθησία των ανθεκτικών βιότυπων ήρας στο glyphosate. Σε αντίθεση με τον ευαίσθητο βιότυπο, σχεδόν για όλους τους ανθεκτικούς βιότυπους παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του νωπού βάρους των φυτών ήρας μετά από εφαρμογή glyphosate και στις τρεις δόσεις (x/2, x, 2x), κατά την ανάπτυξή τους σε χαμηλότερες θερμοκρασίες.



Γράφημα 11. Μέσο νωπό βάρος φυτών λεπτής ήρας για τους βιότυπους AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3, AIT.15 και ATT.S1 ως ποσοστό επί του απέκαστου μάρτυρα, τέσσερις εβδομάδες μετά από εφαρμογή glyphosate σε τρεις διαφορετικές δόσεις (x/2, x και 2x) και σε δύο επίπεδα θερμοκρασίας (10/4°C και 16/10°C ημέρα/νύχτα). Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p < 0,05) μεταξύ των μέσων.





Εικόνα 21. Φυτά ήρας τέσσερις εβδομάδες μετά από εφαρμογή glyphosate σε τρεις διαφορετικές δόσεις (x/2, x και 2x) και σε δύο επίπεδα θερμοκρασίας (10/4°C και 16/10°C ημέρα/νύχτα).

#### 4.1.1.3 Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας σε glyphosate μέσω της βιοχημικής μεθόδου του σικιμικού οξέος (shikimic acid assay)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του συγκεκριμένου πειράματος, σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν ως προς τη συγκέντρωση του σικιμικού οξέος μεταξύ των επτά βιότυπων ήρας που μελετήθηκαν υπό την επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων του ζιζανιοκτόνου glyphosate (0,1, 10, 50, 500 και 1000  $\mu\text{M}$ ) (Πίνακας 9).

Αναλυτικά, οι βιότυποι AUS.1 και SPN.2 εμφάνισαν σημαντικά μικρότερες συγκεντρώσεις σικιμικού οξέος στις διαφορετικές συγκεντρώσεις glyphosate. Είναι χαρακτηριστικό ότι ακόμη και στις συγκεντρώσεις των 500 και 1000  $\mu\text{M}$  glyphosate παρουσίασαν τιμές μικρότερες των 5  $\mu\text{g}$  σικιμικού οξέος ανά g νωπού βάρους ήρας όταν ταυτόχρονα η τιμή του ευαίσθητου βιότυπου, αλλά και των υπόλοιπων ανθεκτικών βιότυπων κυμαινόταν μεταξύ 150 και 290  $\mu\text{g}$  σικιμικού οξέος ανά g νωπού βάρους ήρας. Έτσι για τους βιότυπους AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3 και AIT.15, ενώ σημειώθηκαν πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις σικιμικού οξέος σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο ATT.S1 στις μικρότερες συγκεντρώσεις glyphosate (0,1 και 10  $\mu\text{M}$ ), η διαφορά αυτή φάνηκε να μειώνεται σημαντικά στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις glyphosate (100, 500 και 1000  $\mu\text{M}$ ).

Οι διαφορές στη συγκέντρωση σικιμικού οξέος μεταξύ των ανθεκτικών βιότυπων ήρας (AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3 και AIT.15) και του ευαίσθητου βιότυπου (ATT.S1) ήταν σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του Πειράματος Β δόσης-απόκρισης της ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate. Ταχείες δοκιμές επιβεβαίωσης ανθεκτικότητας με βάση τη συγκέντρωση σικιμικού οξέος έχουν χρησιμοποιηθεί κατά το παρελθόν για ανθεκτικούς στο glyphosate βιότυπους του γένους *Lolium* με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Στην περίπτωση μας, η δοκιμασία ήταν αρκετά ευαίσθητη (διαφορετικές συγκεντρώσεις glyphosate) προκειμένου να διακρίνει όχι μόνο την ύπαρξη ή μη ανθεκτικών βιότυπων ήρας αλλά και το επίπεδο ανθεκτικότητας μεταξύ των ανθεκτικών βιότυπων ήρας στο glyphosate.

Πίνακας 9. Συγκέντρωση σικιμικού οξέος (επεκφρασμένη ως µg σικιμικού οξέος ανά mL HCL) σε δίσκους φύλλων φυτών επτά βιότυπων ήρας (ATT.S1, AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3 και AIT.15) με εφαρμογή πέντε διαφορετικών συγκεντρώσεων ζιζανιοκτόνου glyphosate (0,1,10,50,500 και 1000 µM). Τα δεδομένα παρουσιάζουν τους μέσους όρους τριών επαναλήψεων (n=3) ± το τυπικό σφάλμα του κάθε μέσου όρου. Οι µ.ο. με διαφορετικά γράμματα σε μια στήλη είναι στατιστικά διαφορετικοί σε επίπεδο σημαντικότητας α= 0,05.

Βιότυποι	Glyphosate (µM)				
	0,1	10	50	500	1000
ATT.S1	2,27±0,29 a	57,59±5,35 a	106,42±2,64 a	231,81±1,60 a	288,45±4,60 a
AUS.1	0,16±0,01 d	0,22±0,09 b	0,68±0,15 e	0,91±0,03 f	1,83±0,10 f
SPN.2	0,33±0,13 cd	0,58±0,25 b	1,32±0,25 e	1,04±0,04 f	3,53±0,30 f
AIT.1	0,37±0,19 cd	0,97±0,38 ab	33,33±0,94 d	153,57±1,08 e	157,38±0,65 e
BOI.1	0,45±0,13 cd	1,29±0,09 ab	46,25±4,31 c	168,46±5,02 d	188,88±3,45 d
ΦΘΙ.3	0,88±0,07 bc	6,85±0,96 ab	69,09±3,87 b	198,57±3,30 b	224,12±0,97 c
AIT.15	1,36±0,29 b	6,74±0,93 ab	69,45±3,45 b	186,74±5,95 c	250,68±2,96 b

#### 4.1.1.4 Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας σε glyphosate μέσω του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος στις μετρήσεις που ελήφθησαν μία εβδομάδα μετά την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου glyphosate, δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους βιότυπους ήρας που εξετάστηκαν, τόσο για τον αφέκαστο μάρτυρα, όσο και για τις τρεις δόσεις glyphosate [υποδιπλάσια συνιστώμενης (x/2), συνιστώμενη (x), διπλάσια συνιστώμενης (2x)].

Όπως παρουσιάζεται και στο Γράφημα 12, μεγαλύτερες τιμές NDVI ελήφθησαν για την επέμβαση του αφέκαστου μάρτυρα σε όλους τους βιότυπους. Ωστόσο, από τις τιμές που παρουσιάζουν οι εξεταζόμενοι βιότυποι ( Πίνακας 10, Γράφημα 12) δεν προκύπτει μείωση των σχετικών τιμών NDVI αναλογική της αύξησης της δόσης του glyphosate.

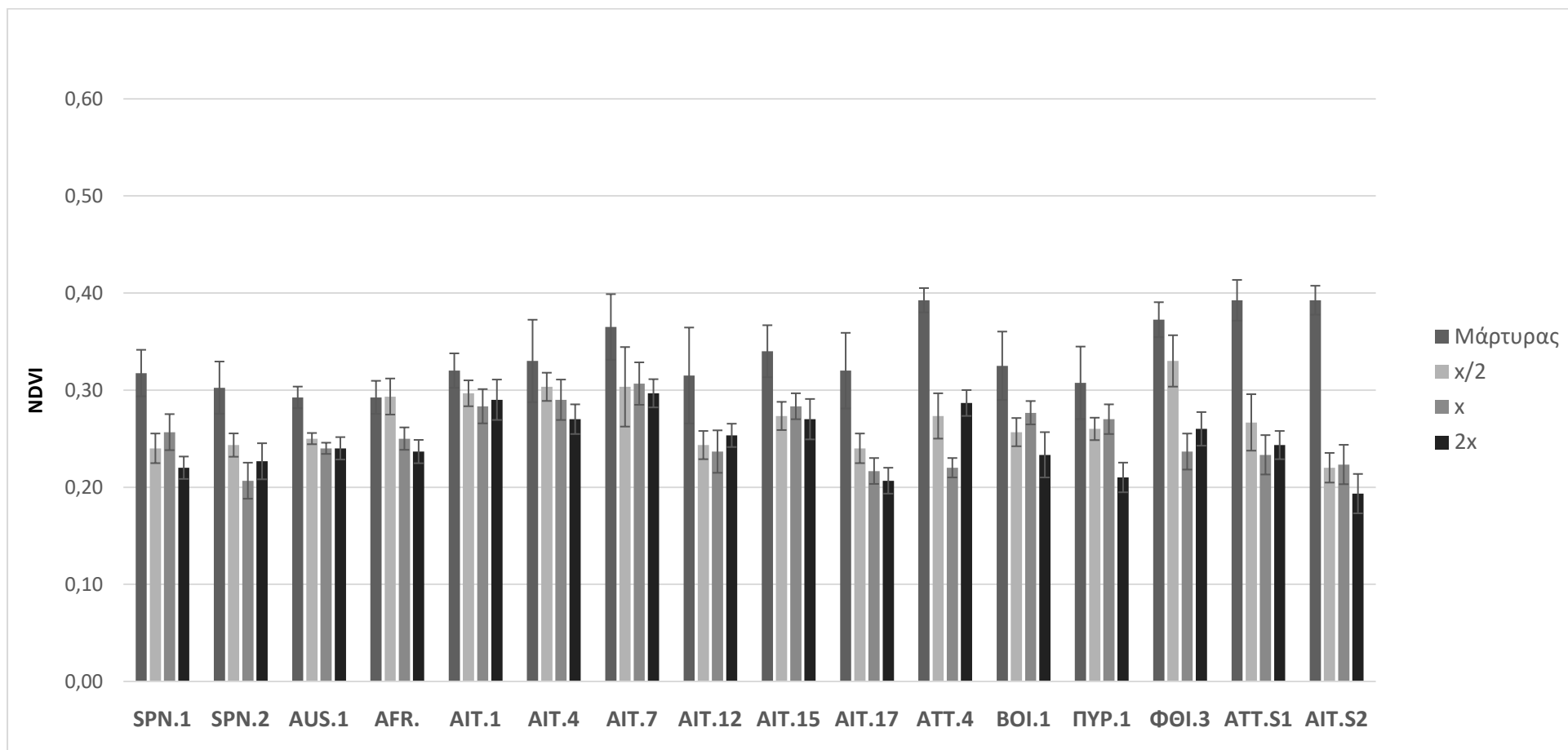
Δύο εβδομάδες μετά τις εφαρμογές του glyphosate, δεν παρουσιάζονται στατικά σημαντικές διαφορές στις τιμές του NDVI μεταξύ των βιότυπων για την επέμβαση του αφέκαστου μάρτυρα ( Πίνακας 10). Αντίθετα, στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρούνται στις τιμές NDVI που ελήφθησαν για τις τρεις επεμβάσεις του glyphosate. Συγκεκριμένα, στην υποδιπλάσια της συνιστώμενης δόσης οι βιότυποι SPN.1, SPN.2 και AUS.1 παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές με τους ευαίσθητους βιότυπους ΑΤΤ.51 και ΑΙΤ.52. Στη συνιστώμενη δόση στατιστικά σημαντικές διαφορές με τους ευαίσθητους παρουσίασαν οι βιότυποι SPN.1, SPN.2, ΑFR. και ΑΙΤ.4 και στη διπλάσια της συνιστώμενης οι βιότυποι ΑΤΤ.4, ΒΟΙ.1 και ΑΙΤ.7.

Όπως παρατηρείται, οι βιότυποι SPN.1, SPN.2 και AUS.1 που διέφεραν στατιστικά σημαντικά με τους ευαίσθητους βιότυπους στις δόσεις  $x/2$  και  $x$  ανήκουν στους πληθυσμούς που στις μετρήσεις νωπού βάρους κατά το Πείραμα Α δόσης-απόκρισης εμφάνισαν τη χαμηλότερη ευαισθησία στο glyphosate. Ωστόσο, οι βιότυποι αυτοί δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές με τους ευαίσθητους στη διπλάσια της συνιστώμενης δόσης.

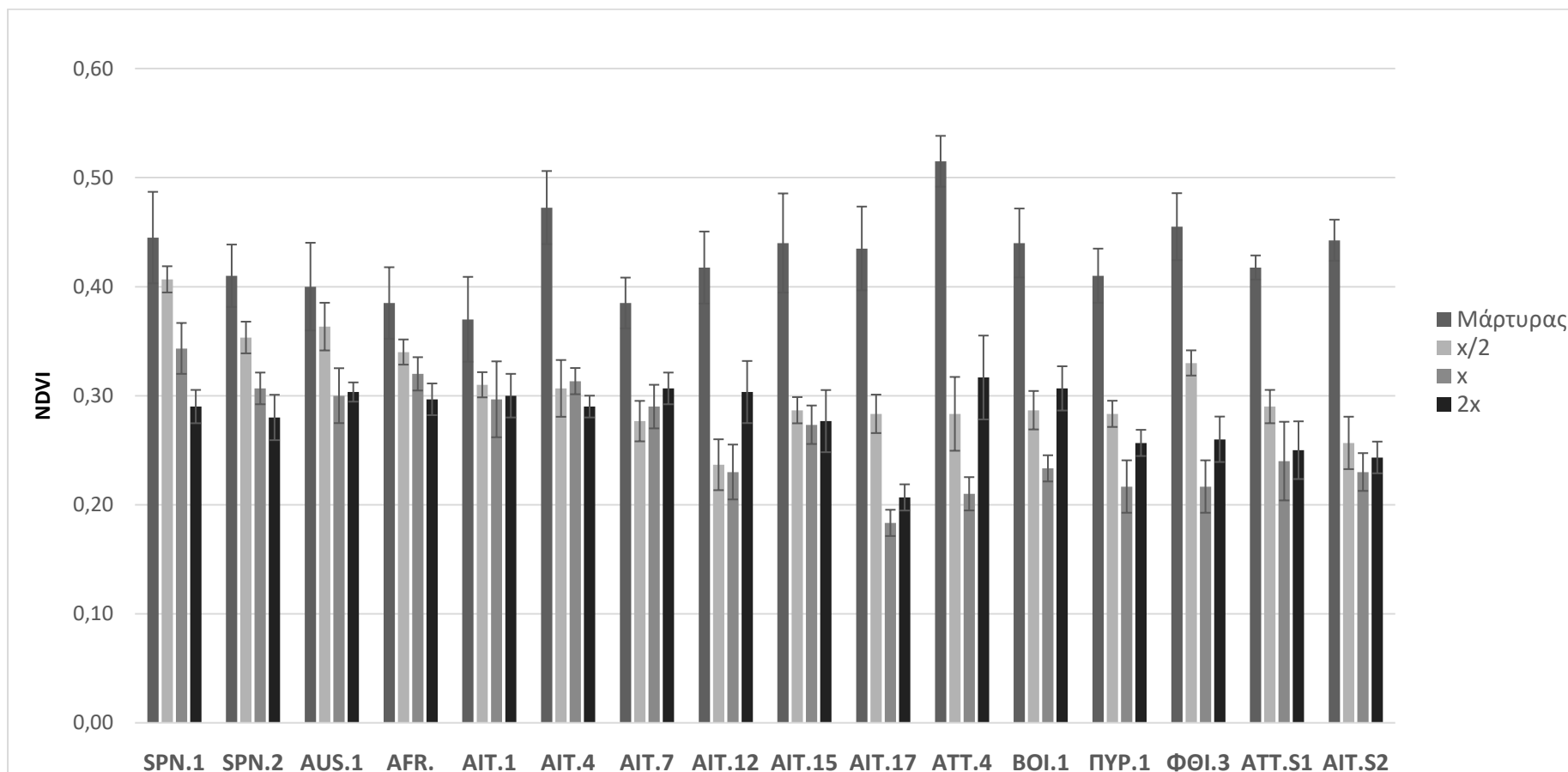
Σύμφωνα με το Γράφημα 13, οι βιότυποι που παρουσίασαν μειωμένη ευαισθησία στο glyphosate κατά το Πείραμα Α δόσης-απόκρισης, παρουσιάζουν μικρότερες διαφορές μεταξύ των τιμών NDVI του αφέκαστου μάρτυρα και των επεμβάσεων glyphosate σε σχέση με τους πιο ευαίσθητους βιότυπους.

**Πίνακας 10. Μέσες τιμές NDVI για τις επεμβάσεις του αφέκαστου μάρτυρα και των τριών δόσεων glyphosate [υποδιπλάσια συνιστώμενης (x/2), συνιστώμενη (x), διπλάσια συνιστώμενης (2x)] μία και δύο εβδομάδες μετά την εφαρμογή του glyphosate. Οι αριθμοί εντός των παρενθέσεων αντιπροσωπεύουν τα τυπικά σφάλματα των μέσων όρων. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d, e, f, g επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p < 0,05).**

<b>1 εβδομάδα</b>				
<b>Βιότυπος</b>	<b>Μάρτυρας</b>	<b>(x/2)</b>	<b>(x)</b>	<b>(2x)</b>
<b>SPN.1</b>	0,32 (0,02) a	0,24 (0,02) a	0,26 (0,02) a	0,22 (0,01) a
<b>SPN.2</b>	0,30 (0,03) a	0,24 (0,01) a	0,21 (0,02) a	0,23 (0,02) a
<b>AUS.1</b>	0,29 (0,01) a	0,25 (0,01) a	0,24 (0,01) a	0,24 (0,01) a
<b>AFR.</b>	0,29 (0,02) a	0,29 (0,02) a	0,25 (0,01) a	0,24 (0,01) a
<b>ΑΙΤ.1</b>	0,32 (0,02) a	0,30 (0,01) a	0,28 (0,02) a	0,29 (0,02) a
<b>ΑΙΤ.4</b>	0,33 (0,04) a	0,30 (0,01) a	0,29 (0,02) a	0,27 (0,02) a
<b>ΑΙΤ.7</b>	0,37 (0,03) a	0,30 (0,04) a	0,31 (0,02) a	0,30 (0,01) a
<b>ΑΙΤ.12</b>	0,32 (0,05) a	0,24 (0,01) a	0,24 (0,02) a	0,25 (0,01) a
<b>ΑΙΤ.15</b>	0,34 (0,03) a	0,27 (0,01) a	0,28 (0,01) a	0,27 (0,02) a
<b>ΑΙΤ.17</b>	0,32 (0,04) a	0,24 (0,02) a	0,22 (0,01) a	0,21 (0,01) a
<b>ΑΤΤ.4</b>	0,39 (0,01) a	0,27 (0,02) a	0,22 (0,01) a	0,29 (0,01) a
<b>ΒΟΙ.1</b>	0,33 (0,04) a	0,26 (0,01) a	0,28 (0,01) a	0,23 (0,02) a
<b>ΠΥΡ.1</b>	0,31 (0,04) a	0,26 (0,01) a	0,27 (0,02) a	0,21 (0,02) a
<b>ΦΘΙ.3</b>	0,37 (0,02) a	0,33 (0,03) a	0,24 (0,02) a	0,26 (0,02) a
<b>ΑΤΤ.Σ1</b>	0,39 (0,02) a	0,27 (0,03) a	0,23 (0,02) a	0,24 (0,01) a
<b>ΑΙΤ.Σ2</b>	0,39 (0,01) a	0,22 (0,02) a	0,22 (0,02) a	0,19 (0,02) a
<b>2 εβδομάδες</b>				
<b>SPN.1</b>	0,45 (0,04) a	0,41 (0,01) a	0,34 (0,02) a	0,29 (0,02) abcd
<b>SPN.2</b>	0,41 (0,03) a	0,35 (0,01) abc	0,31 (0,01) a	0,28 (0,02) abcd
<b>AUS.1</b>	0,40 (0,04) a	0,36 (0,02) ab	0,30 (0,03) ab	0,30 (0,01) abc
<b>AFR.</b>	0,39 (0,03) a	0,34 (0,01) bcd	0,32 (0,02) a	0,30 (0,01) abcd
<b>ΑΙΤ.1</b>	0,37 (0,04) a	0,31 (0,01) bcde	0,30 (0,03) ab	0,30 (0,02) abcd
<b>ΑΙΤ.4</b>	0,47 (0,03) a	0,31 (0,03) cdef	0,31 (0,01) a	0,29 (0,01) abcd
<b>ΑΙΤ.7</b>	0,39 (0,02) a	0,28 (0,02) efg	0,29 (0,02) abc	0,31 (0,01) ab
<b>ΑΙΤ.12</b>	0,42 (0,03) a	0,24 (0,02) g	0,23 (0,03) cdeg	0,30 (0,03) abc
<b>ΑΙΤ.15</b>	0,44 (0,05) a	0,29 (0,01) defg	0,27 (0,02) bcd	0,28 (0,03) abcd
<b>ΑΙΤ.17</b>	0,44 (0,04) a	0,28 (0,02) efg	0,18 (0,01) g	0,21 (0,01) e
<b>ΑΤΤ.4</b>	0,52 (0,02) a	0,28 (0,03) efg	0,21 (0,02) eg	0,32 (0,04) a
<b>ΒΟΙ.1</b>	0,44 (0,03) a	0,29 (0,02) defg	0,23 (0,01) cdeg	0,31 (0,02) ab
<b>ΠΥΡ.1</b>	0,41 (0,02) a	0,28 (0,01) efg	0,22 (0,02) deg	0,26 (0,01) bcde
<b>ΦΘΙ.3</b>	0,46 (0,03) a	0,33 (0,01) bcde	0,22 (0,02) eg	0,26 (0,02) abcde
<b>ΑΤΤ.Σ1</b>	0,42 (0,01) a	0,29 (0,02) defg	0,24 (0,04) bcde	0,25 (0,03) cde
<b>ΑΙΤ.Σ2</b>	0,44 (0,02) a	0,26 (0,02) fg	0,23 (0,02) cdeg	0,24 (0,01) de



Γράφημα 12. Μέσες τιμές NDVI για τις επεμβάσεις του αφέκαστου μάρτυρα και των τριών δόσεων glyphosate (x/2, x και 2x) μία εβδομάδα μετά την εφαρμογή του glyphosate. Οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν τα ± τυπικά σφάλματα των μέσων όρων (n=3).



Γράφημα 13. Μέσες τιμές NDVI για τις επεμβάσεις του αφέκαστου μάρτυρα και των τριών δόσεων glyphosate (x/2, x και 2x) δύο εβδομάδες μετά την εφαρμογή του glyphosate. Οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν τα ± τυπικά σφάλματα των μέσων όρων (n=3).

#### 4.1.1.5 Πείραμα δόσης-απόκρισης (dose-response) για επιβεβαίωση ανθεκτικότητας λεπτής ήρας και αξιολόγηση επιπέδου ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate<sup>28</sup>

##### 4.1.1.5.1 Πείραμα Α

Από το πρώτο πείραμα δόσης-απόκρισης για την επιβεβαίωση και αξιολόγηση του επιπέδου ανθεκτικότητας της ήρας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate με τρεις δόσεις [υποδιπλάσια συνιστώμενης ( $x/2$ ), συνιστώμενη ( $x$ ), διπλάσια συνιστώμενης ( $2x$ )] προέκυψαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στη συνέχεια. Οι βιότυποι ΑΙΤ.7, ΒΟΙ.1 και ΦΘΙ.1 έδωσαν τιμές νωπού βάρους  $\geq 50\%$  στη συνιστώμενη δόση του glufosinate. Συγκεκριμένα, τις υψηλότερες τιμές στη συνιστώμενη δόση παρουσίασαν οι βιότυποι ΑΙΤ.7 και ΒΟΙ.1 με τιμές 87.7% και 73,54% του αφέκαστου μάρτυρα, αντίστοιχα. Τιμές νωπού βάρους από 30% έως 47% εμφάνισαν στη συνιστώμενη δόση οι βιότυποι ΑΙΤ.11, ΑΙΤ.13, ΑΙΤ.14, ΑΙΤ.19, ΒΟΙ.6, ΒΟΙ.7, ΚΟΡ.2 και ΦΘΙ.6 με τιμές 46,7%, 37,47%, 35,7%, 32,48%, 30,97%, 37,13%, 45,9% και 42,43% του αφέκαστου μάρτυρα, αντίστοιχα. Οι μετρήσεις νωπού βάρους στη συνιστώμενη δόση για τους παραπάνω βιότυπους έδωσαν παραπλήσιες τιμές σε σύγκριση με το Προκαταρκτικό πείραμα (Γράφημα 8). Ο ευαίσθητος βιότυπος ΑΤΤ.51 παρουσίασε τιμές νωπού βάρους 14.69%, 9.2%, 0% για τις αντίστοιχες δόσεις glufosinate  $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ . (Γράφημα 14).

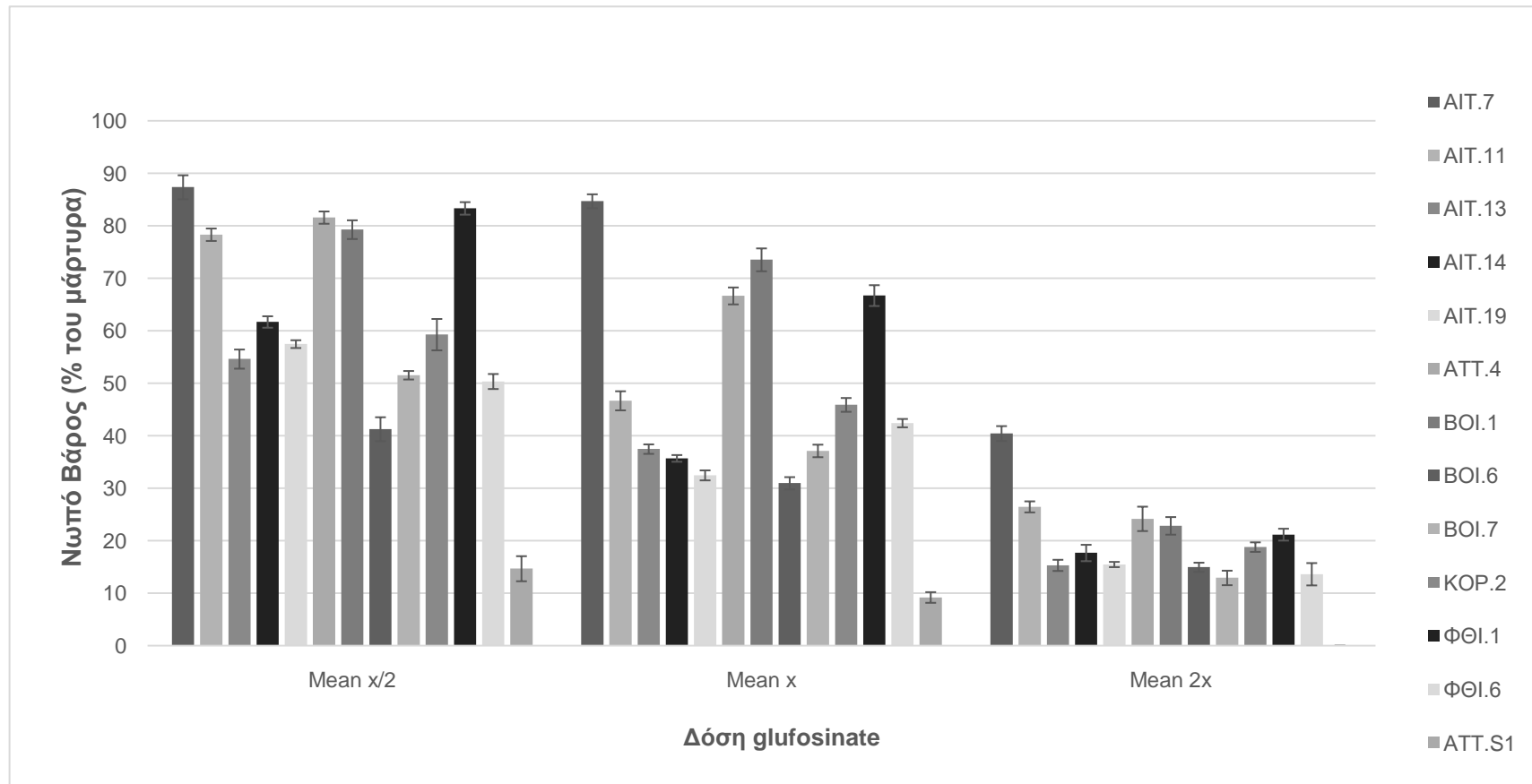
Τα αποτελέσματα του Πειράματος Α αποτέλεσαν τη βάση για την επιλογή των βιότυπων ήρας που χρησιμοποιήθηκαν στο Πείραμα Β με τις περισσότερες δόσεις του ζιζανιοκτόνου glufosinate προκειμένου να υπάρχει σχετική διαφοροποίηση στο επίπεδο ανθεκτικότητας.

---

<sup>28</sup> Τμήμα του υποκεφαλαίου έχει ήδη δημοσιευθεί:

Travlos, I., Cheimona, N., De Prado, R., Jhala, A., Chachalis, D., & Tani, E. (2018). First Case of Glufosinate-Resistant Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.) in Greece. *Agronomy*, 8(4), 35. <https://doi.org/10.3390/agronomy8040035>





Γράφημα 14. Νωπό βάρος φυτών ήρας ανά φυτοδοχείο (εκφρασμένο ως ποσοστό του απέκαστου μάρτυρα) σε τρεις διαφορετικές δόσεις του ζιζανιοκτόνου glufosinate ( $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ ) στις τρεις εβδομάδες μετά την εφαρμογή για 13 βιότυπους λεπτής ήρας (AIT.7, AIT.11, AIT.13, AIT.14, AIT.19, ATT.4, BOI.1, BOI.6, BOI.7, KOP.2, ΦΘΙ.1, ΦΘΙ.6 και ATT.S1) Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή και οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων..

#### 4.1.1.5.2 Πείραμα Β

Το συγκεκριμένο πείραμα δόσης-απόκρισης διεξήχθη προκειμένου να επιβεβαιωθεί η ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο glufosinate στους τέσσερις βιότυπους ήρας που είχαν επιλεγεί από το Πείραμα Α (ΑΙΤ.7, ΦΘΙ.1, ΒΟΙ.1 και ΚΟΡ.2) και να προσδιοριστεί το επίπεδο της ανθεκτικότητάς τους.

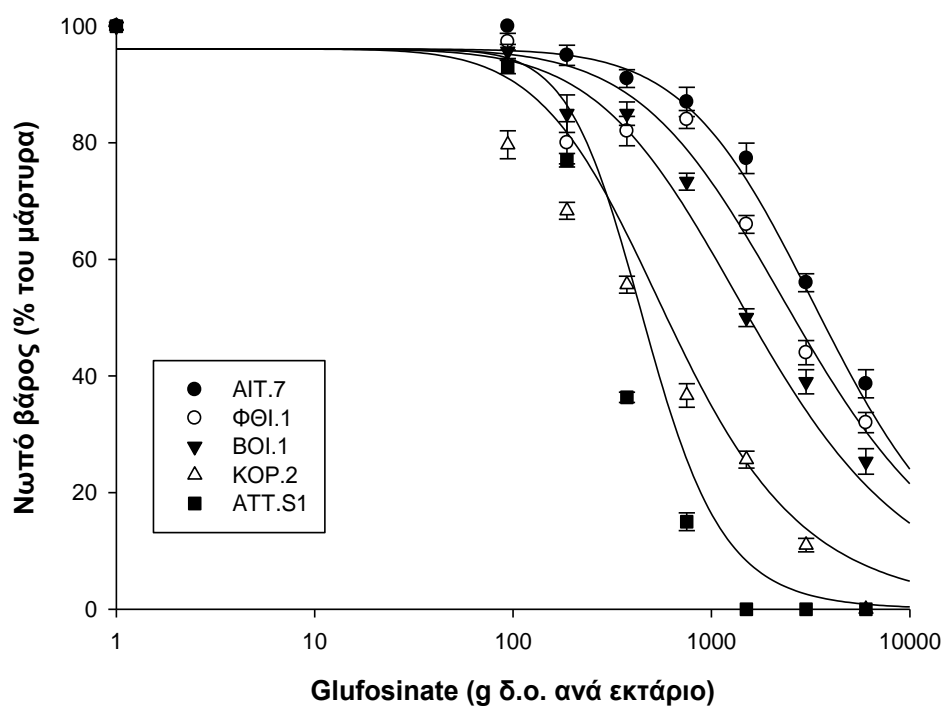
Οι καμπύλες δόσης-απόκρισης κατέδειξαν σημαντικές διαφορές στην απόκριση του ευαίσθητου βιότυπου (ΑΤΤ.51) σε σύγκριση με τους περισσότερους ανθεκτικούς πληθυσμούς (ΑΙΤ.7, ΦΘΙ.1 και ΒΟΙ.1). Μείωση του νωπού βάρους και της επιβίωσης (εκφρασμένα ως ποσοστά του αφέκαστου μάρτυρα) με την αύξηση της δόσης του ζιζανιοκτόνου glufosinate καταγράφηκε και για τους πέντε βιότυπους ήρας. Συγκεκριμένα, από τις καμπύλες δόσης-απόκρισης οι βιότυποι ήρας κατατάχθηκαν με βάση το επίπεδο ανθεκτικότητάς τους σε φθίνουσα σειρά ως εξής: ΑΙΤ.7, ΦΘΙ.1, ΒΟΙ.1 και ΚΟΡ.2 (Γράφημα 15). Επιπρόσθετα, οι δόσεις glufosinate που χρησιμοποιήθηκαν για τη μείωση του νωπού βάρους ( $GR_{50}$ ) και τη θανάτωση των φυτών των ανθεκτικών βιότυπων ήρας ( $LD_{50}$ ) κατά 50% κυμάνθηκαν από 635,33 έως 3812,41 g δ.ο.  $ha^{-1}$  και από 725,60 έως 4200,49 g δ.ο.  $ha^{-1}$ , αντίστοιχα. Σύμφωνα με αυτές τις παραμέτρους, οι δείκτες ανθεκτικότητας (RI) έλαβαν τιμές μεταξύ 1,36 και 14,57 (Πίνακας 11).

Σύμφωνα με τις εκτιμώμενες τιμές  $GR_{50}$  για τον καθένα από τους επιλεγμένους βιότυπους που παρουσιάζονται στον Πίνακας 11, δόση 467,63 g glufosinate  $ha^{-1}$  προκάλεσε μείωση της τάξεως του 50% βιομάζας στον ευαίσθητο βιότυπο ΑΤΤ.51, ενώ η ίδια μείωση επιτεύχθει με δόση 3812,14 g δ.ο.  $ha^{-1}$  στον βιότυπο ΑΙΤ.7, με δείκτη ανθεκτικότητας 6,01 (Πίνακας 11). Αντίστοιχα, μείωση του νωπού βάρους κατά 50% στους βιότυπους ΒΟΙ.1 και ΚΟΡ.2 καταγράφηκε με δόσεις 1673,79 και 635,33 g δ.ο.  $ha^{-1}$ , αντίστοιχα.

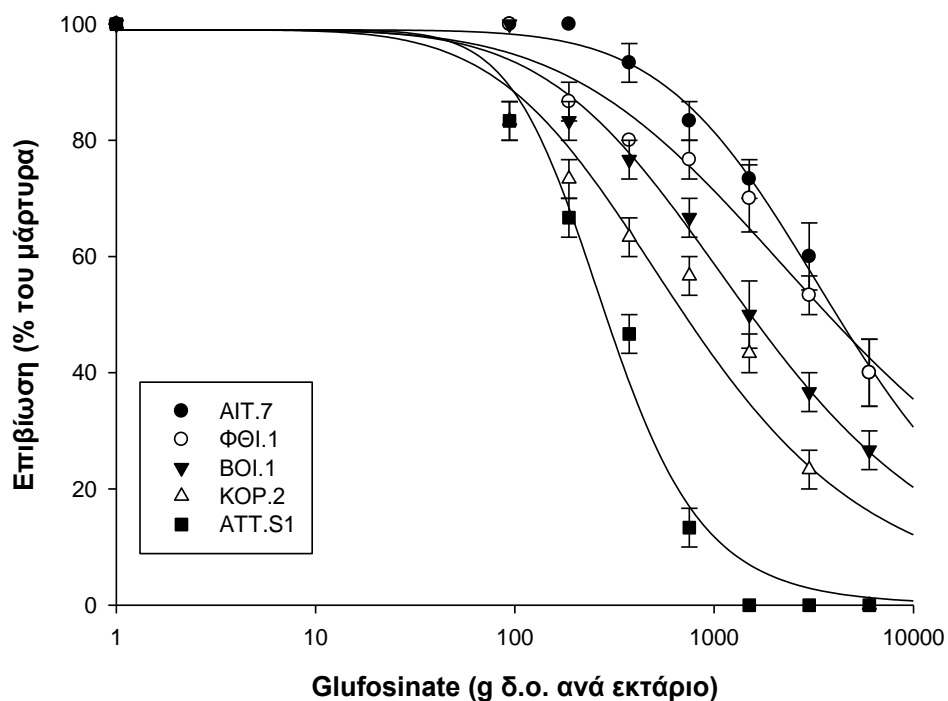
Επιπλέον, η συνιστώμενη δόση του ζιζανιοκτόνου glufosinate (750 g δ.ο.  $ha^{-1}$ ) παρείχε έλεγχο μόλις 13% για τον πλέον ανθεκτικό βιότυπο ΑΙΤ.7 και 85% για τον ευαίσθητο βιότυπο ΑΤΤ.51. Στην παρούσα μελέτη, η δόση του ζιζανιοκτόνου glufosinate που απαιτούνταν για τον έλεγχο των ανθεκτικών βιότυπων ήταν περίπου τριπλάσια έως οκταπλάσια από εκείνη που απαιτούνταν για τον έλεγχο του ευαίσθητου βιότυπου.

Οι τιμές LD<sub>50</sub> για τους επιβεβαιωμένους ανθεκτικούς βιότυπους ήρας ΑΙΤ.7 και ΦΘΙ.1 ήταν 4200,49 g ha<sup>-1</sup> και 3835,31 g ha<sup>-1</sup>, υποδεικνύοντας ανθεκτικότητα 15 και 13 φορές υψηλότερη από τον ευαίσθητο βιότυπο ΑΤΤ.Σ1. Χαμηλότερες δόσεις glyphosate χρειάστηκαν για 50% θνησιμότητα (LD<sub>50</sub>) για τους βιότυπους ΒΟΙ.1 και ΚΟΡ.2 με τιμές RI μόλις 5 και 2,5 φορές μεγαλύτερες από τον ευαίσθητο βιότυπο αναφοράς (Πίνακας 11).

(a)



(b)



Γράφημα 15. Καμπύλες δόσης-απόκρισης, προσαρμοσμένες σε λογαριθμική κλίμακα δόσης, για τους πέντε βιότυπους *L. rigidum* (ΑΙΤ.7, ΦΘΙ.1, ΒΟΙ.1, ΚΟΡ.2 και ΑΤΤ.Σ1) σε διαφορετικές δόσεις του ζιζανιοκτόνου glufosinate ( $x/8$ ,  $x/4$ ,  $x/2$ ,  $x$ ,  $2x$ ,  $4x$  και  $8x$ ) στις τρεις εβδομάδες μετά την εφαρμογή. (α) Καμπύλη δόσης-απόκρισης ως προς το ποσοστό μείωσης νωπού βάρους των φυτών ήρας. (β) Καμπύλη δόσης-απόκρισης ως προς το ποσοστό επιβίωσης των φυτών ήρας. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή και οι κάθετες ράβδοι αντιπροσωπεύουν  $\pm$  τυπικά σφάλματα των μέσων όρων ( $n=10$ ).

Πίνακας 11. Παράμετροι της λογιστικής εξίσωσης<sup>a</sup> που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της δόσης glufosinate (g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) που απαιτείται για τη μείωση του νωπού βάρους (GR) και του ποσοστού επιβίωσης (LD) των (R) ανθεκτικών (AIT.7, ΦΘΙ.1, ΒΟΙ.1 και ΚΟΡ.2) και του (S) ευαίσθητου (ΑΤΤ.Σ1) στο ζιζανιοκτόνο glufosinate βιότυπων ήρας κατά 50%. Το νωπό βάρος και η επιβίωση των φυτών ήρας έχουν εκφραστεί ως ποσοστά του αφέκαστου μάρτυρα. Τα τυπικά σφάλματα (SE) αναφέρονται στις παρενθέσεις.

	Νωπό βάρος				Επιβίωση			
	a	b	GR <sub>50</sub> (g a.i. ha <sup>-1</sup> )	RI <sup>b</sup>	a	b	LD <sub>50</sub> (g a.i. ha <sup>-1</sup> )	RI <sup>b</sup>
<b>AIT.7</b>	100 (0)	9,93 (1,16)	3812,41 (1,09)	8,15	100 (0)	8,12 (1,08)	4200,49 (1,12)	14,57
<b>ΦΘΙ.1</b>	100 (0)	8,37 (0,86)	2809,31 (1,09)	6,01	100 (0)	5,32 (0,65)	3835,31 (1,17)	13,30
<b>ΒΟΙ.1</b>	100 (0)	7,92 (0,71)	1673,79 (1,08)	3,58	100 (0)	6,03 (0,58)	1562,07 (1,11)	5,42
<b>ΚΟΡ.2</b>	100 (0)	8,28 (0,66)	635,33 (1,07)	1,36	100 (0)	5,88 (0,51)	725,60 (1,10)	2,52
<b>ΑΤΤ.Σ1</b>	100 (0)	13,57 (1,33)	467,63 (1,05)	-	100 (0)	10,09 (0,98)	288,34 (1,07)	-

<sup>a</sup> $Y = \{d/[1 + (x/g)^b]\}$  όπου; Y είναι το ποσοστό νωπού βάρους ή/και της επιβίωσης ως ποσοστό του αφέκαστου μάρτυρα, d είναι το ανώτερο όριο, b είναι η κλίση της καμπύλης στο σημείο καμπής, g η δόση ζιζανιοκτόνου στο σημείο καμπής (δηλ. GR<sub>50</sub> ή LD<sub>50</sub>) και x (ανεξάρτητη μεταβλητή) είναι η δόση glufosinate.

<sup>b</sup>RI = Δείκτης ανθεκτικότητας (R/S) που υπολογίζεται χρησιμοποιώντας τις αντίστοιχες τιμές GR<sub>50</sub> ή LD<sub>50</sub> του ανθεκτικού βιότυπου σε σχέση με τον ευαίσθητο.

#### 4.1.1.6 Επιβεβαίωση ανθεκτικότητας βιότυπων λεπτής ήρας σε glufosinate μέσω του δείκτη βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI)

Στον Πίνακα 12 παρουσιάζονται οι τιμές NDVI για τον αφέκαστο μάρτυρα και τις επεμβάσεις του glufosinate, όπως υπολογίστηκαν για τους εξεταζόμενους βιότυπους. Στις μετρήσεις που ελήφθησαν τρεις και επτά ημέρες μετά την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου, δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους βιότυπους ήρας, που εξετάστηκαν, ως προς τις τιμές NDVI του αφέκαστου μάρτυρα. Ωστόσο, από τις μετρήσεις στις τρεις και επτά ημέρες μετά την εφαρμογή παρατηρήθηκε μεγαλύτερη διαφοροποίηση κατά την αύξηση της δόσης glufosinate.

Συγκεκριμένα, τρεις ημέρες μετά την εφαρμογή, ενώ στην υποδιπλάσια της συνιστώμενης δόση δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, με εξαίρεση τους βιότυπους AIT.7 και AIT.19, στη συνιστώμενη και στη διπλάσια της

συνιστώμενης δόση παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες διαφορές μεταξύ των τιμών των βιότυπων με αρκετούς βιότυπους να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Στις επτά ημέρες, στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των βιότυπων σημειώθηκαν για τους περισσότερους βιότυπους τόσο στην υποδιπλάσια όσο και στη διπλάσια της συνιστώμενης δόση.

**Πίνακας 12. Μέσες τιμές NDVI για τις επεμβάσεις του αφέκαστου μάρτυρα και των τριών δόσεων glufosinate [υποδιπλάσια συνιστώμενης (x/2), συνιστώμενη (x), διπλάσια συνιστώμενης (2x)] τρεις και επτά ημέρες μετά την εφαρμογή του glufosinate. Οι αριθμοί εντός των παρενθέσεων αντιπροσωπεύουν τα τυπικά σφάλματα των μέσων όρων. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d, e, f επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p <0,05).**

Βιότυπος	3 ημέρες			
	Μάρτυρας	(x/2)	(x)	(2x)
<b>AIT.7</b>	0,28 (0,02) a	0,32 (0,01) a	0,31 (0,02) a	0,30 (0,01) a
<b>AIT.11</b>	0,37 (0,03) a	0,30 (0,04) ab	0,31 (0,02) a	0,30 (0,01) ab
<b>AIT.13</b>	0,28 (0,02) a	0,24 (0,02) ab	0,26 (0,02) bcde	0,22 (0,01) ef
<b>AIT.14</b>	0,39 (0,04) a	0,29 (0,01) ab	0,25 (0,01) bcde	0,24 (0,02) de
<b>AIT.19</b>	0,27 (0,01) a	0,20 (0,01) b	0,22 (0,01) e	0,23 (0,01) def
<b>ΑΤΤ.4</b>	0,34 (0,03) a	0,30 (0,01) ab	0,28 (0,01) abc	0,27 (0,01) bc
<b>ΒΟΙ.1</b>	0,31 (0,04) a	0,26 (0,01) ab	0,27 (0,02) abcd	0,21 (0,02) ef
<b>ΒΟΙ.6</b>	0,33 (0,04) a	0,26 (0,02) ab	0,28 (0,01) abcd	0,23 (0,01) de
<b>ΒΟΙ.7</b>	0,26 (0,01) a	0,25 (0,01) ab	0,24 (0,01) de	0,24 (0,01) de
<b>ΚΟΡ.2</b>	0,33 (0,04) a	0,22 (0,03) ab	0,25 (0,02) cde	0,23 (0,02) de
<b>ΦΘΙ.1</b>	0,33 (0,04) a	0,30 (0,03) ab	0,29 (0,03) ab	0,27 (0,02) bc
<b>ΦΘΙ.6</b>	0,32 (0,05) a	0,24 (0,02) ab	0,24 (0,01) de	0,25 (0,01) cd
<b>ΑΤΤ.Σ1</b>	0,32 (0,04) a	0,24 (0,01) ab	0,22 (0,01) e	0,21 (0,01) f
7 ημέρες				
<b>AIT.7</b>	0,38 (0,01) a	0,36 (0,02) a	0,33 (0,01) a	0,34 (0,03) a
<b>AIT.11</b>	0,39 (0,02) a	0,28 (0,02) bc	0,29 (0,01) ab	0,30 (0,01) b
<b>AIT.13</b>	0,40 (0,05) a	0,27 (0,01) bc	0,21 (0,01) ab	0,24 (0,01) de
<b>AIT.14</b>	0,38 (0,04) a	0,31 (0,02) ab	0,27 (0,01) ab	0,29 (0,01) bc
<b>AIT.19</b>	0,32 (0,03) a	0,21 (0,01) d	0,17 (0,02) b	0,22 (0,02) e
<b>ΑΤΤ.4</b>	0,37 (0,04) a	0,31 (0,01) ab	0,30 (0,01) ab	0,29 (0,01) bc
<b>ΒΟΙ.1</b>	0,39 (0,03) a	0,28 (0,01) bc	0,23 (0,01) ab	0,26 (0,01) d
<b>ΒΟΙ.6</b>	0,44 (0,06) a	0,29 (0,01) bc	0,23 (0,01) ab	0,27 (0,01) cd
<b>ΒΟΙ.7</b>	0,35 (0,04) a	0,24 (0,01) c	0,20 (0,01) ab	0,27 (0,01) cd
<b>ΚΟΡ.2</b>	0,32 (0,04) a	0,25 (0,03) cd	0,26 (0,02) ab	0,19 (0,02) e
<b>ΦΘΙ.1</b>	0,40 (0,01) a	0,31 (0,03) b	0,31 (0,01) ab	0,29 (0,02) bc
<b>ΦΘΙ.6</b>	0,42 (0,03) a	0,22 (0,02) d	0,21 (0,01) ab	0,26 (0,01) cd
<b>ΑΤΤ.Σ1</b>	0,44 (0,04) a	0,28 (0,02) bc	0,18 (0,01) b	0,21 (0,01) e

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 12, ο βιότυπος AIT.7, ο οποίος παρουσίασε τη χαμηλότερη ευαισθησία στο glufosinate στο Πείραμα Α δόσης-απόκρισης, έχει τις υψηλότερες τιμές NDVI μετά από εφαρμογή των τριών δόσεων. Μάλιστα, οι τιμές του

βιότυπου ΑΙΤ.7, διαφέρουν στατιστικά σημαντικά από εκείνες του επιβεβαιωμένου ευαίσθητου βιότυπου ΑΤΤ.51 για όλες τις επεμβάσεις glufosinate και για τις δύο μετρήσεις. Ωστόσο, από τις τιμές που παρουσιάζουν οι υπόλοιποι εξεταζόμενοι βιότυποι δεν προκύπτει εμφανής αντιστοιχία της αύξησης της δόσης του glufosinate και της μείωσης των σχετικών τιμών NDVI. Οι διαφορές στις τιμές NDVI, που παρουσιάστηκαν δεν ήταν στατιστικά σημαντικές μεταξύ των διαφορετικών δόσεων.

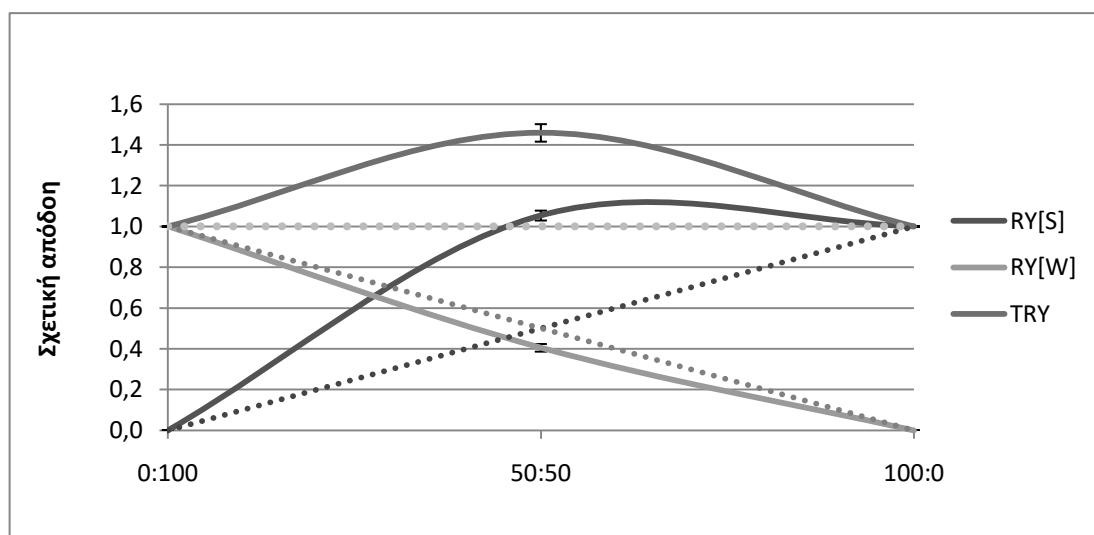
## 4.2 ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

### 4.2.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΕ ΦΥΤΟΔΟΧΕΙΑ

#### 4.2.1.1 Πείραμα Α σειράς αντικατάστασης (Replacement Series)

##### 4.2.1.1.1 Σχετική απόδοση

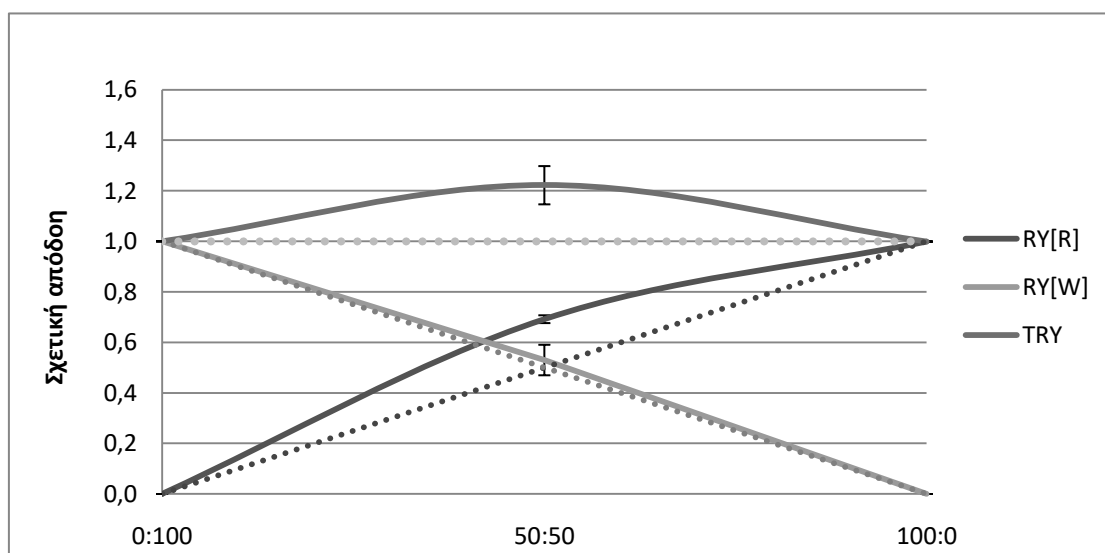
Στο διάγραμμα σειράς αντικατάστασης του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου ήρας (S) και του σιταριού (W) παρατηρήθηκε ότι η πραγματική καμπύλη σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου βιότυπου της ήρας (RY[S]) είναι κυρτή σε αντίθεση με την πραγματική καμπύλη του σιταριού (RY[W]) η οποία είναι ελαφρώς κοίλη. Επιπλέον, η πραγματική καμπύλη της συνολικής σχετικής απόδοσης εμφανίζει τιμές μεγαλύτερες του ενός (1) (Γράφημα 16).



Γράφημα 16. Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο ± τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[S]), του σιταριού (RY[W]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσεως των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*L. rigidum*, *T. durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά.

Το σιτάρι εμφανίζει τιμές σχετικής απόδοσης μικρότερες από τις αναμενόμενες σε αντίθεση με τα φυτά του ευαίσθητου βιότυπου ήρας. Έτσι, προκύπτει μια σχέση ανταγωνισμού μεταξύ ευαίσθητου βιότυπου ήρας και σιταριού. Δηλαδή, τα φυτά του ευαίσθητου βιότυπου της ήρας ανταγωνίζονται τα φυτά του σιταριού.

Στο διάγραμμα σειράς αντικατάστασης της σχετικής απόδοσης του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου ήρας (R) και του σιταριού (W), η πραγματική καμπύλη του ανθεκτικού βιότυπου της ήρας (RY[R]) είναι κυρτή. Ωστόσο, η πραγματική καμπύλη του σιταριού (RY[W]) είναι σχεδόν γραμμική. Επιπλέον, και σε αυτή την περίπτωση η πραγματική καμπύλη της συνολικής σχετικής απόδοσης εμφανίζει τιμές μεγαλύτερες του 1 (Γράφημα 17).



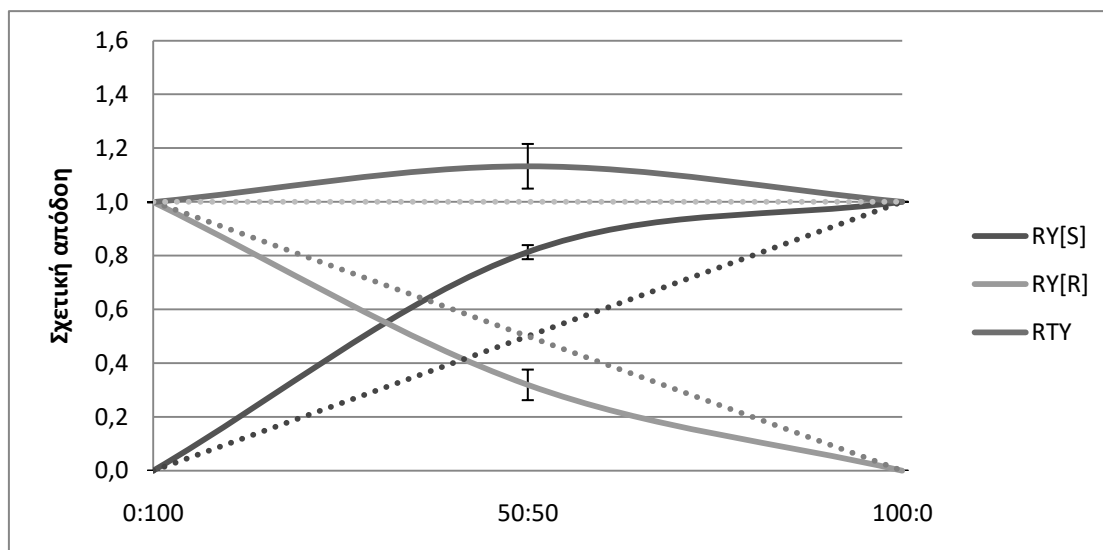
**Γράφημα 17.** Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο ± τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[R]), του σιταριού (RY[W]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσεως των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*L. rigidum*, *T. durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά.

Συγκρίνοντας τις τιμές που παρουσιάζονται στα Γραφήματα 16 και 17 προκύπτει ότι ο ευαίσθητος βιότυπος της ήρας παρουσιάζει ισχυρότερη ανταγωνιστική ικανότητα ως προς τα φυτά του σιταριού σε σύγκριση με τον ανθεκτικό βιότυπο της ήρας.

Τέλος, όσον αφορά στον ανταγωνισμό μεταξύ των δύο βιότυπων ήρας, τα αποτελέσματα του διαγράμματος σειράς αντικατάστασης της σχετικής απόδοσης έδειξαν αποκλίσεις από τις υποθετικές γραμμές και για τους δύο βιότυπους.



Συγκεκριμένα, η πραγματική καμπύλη της σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου βιότυπου (RY[S]) είναι κυρτή, ενώ η αντίστοιχη καμπύλη του ανθεκτικού βιότυπου (RY[R]) είναι κοίλη (Γράφημα 18). Έτσι, προκύπτει ότι ο ευαίσθητος βιότυπος της ήρας είναι ανταγωνιστικός σε βάρος του ανθεκτικού βιότυπου.

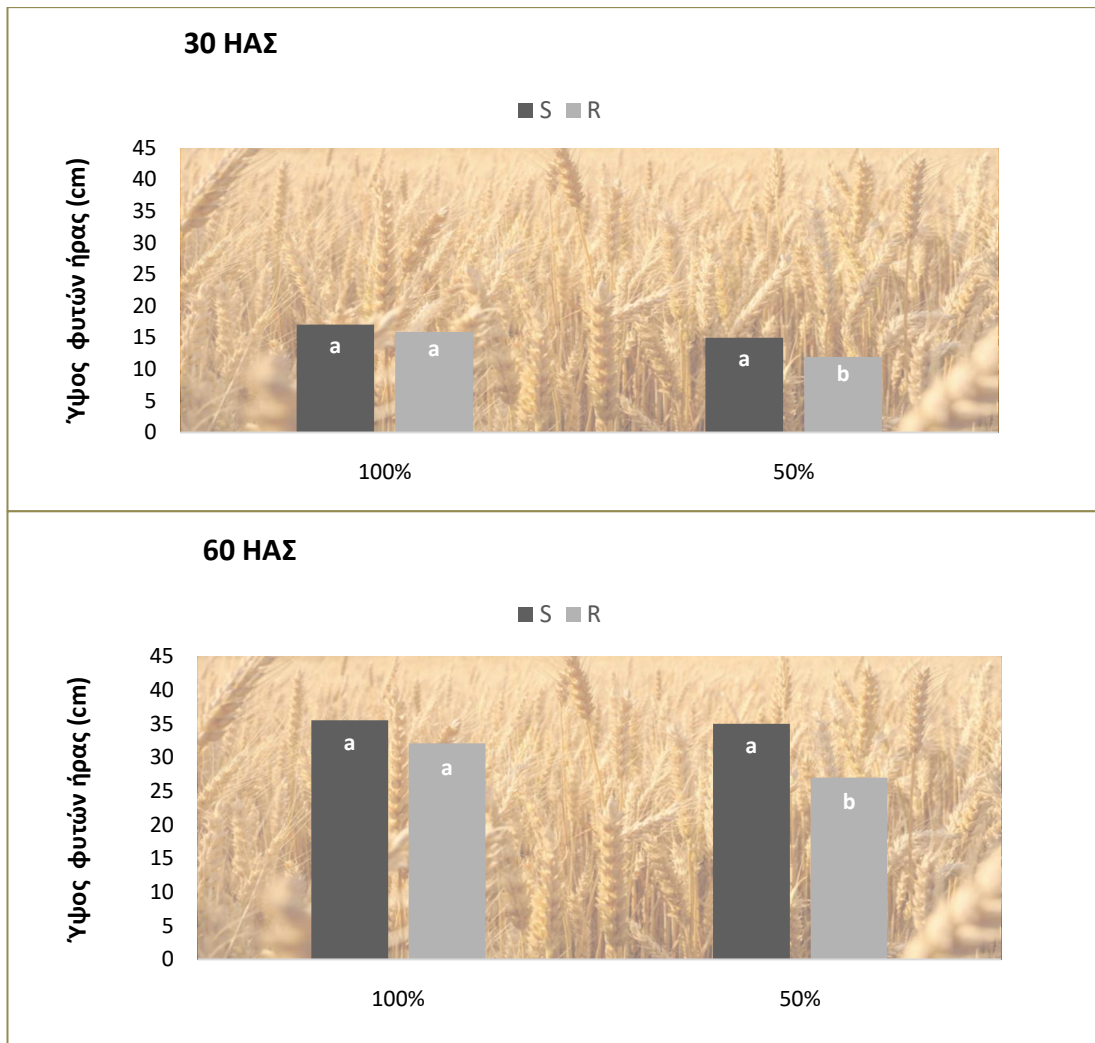


Γράφημα 18. Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο ± τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[S]), του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[R]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσεως των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά των διαφορετικών βιότυπων του είδους *L. rigidum* αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά.

#### 4.2.1.1.2 Ύψος φυτών

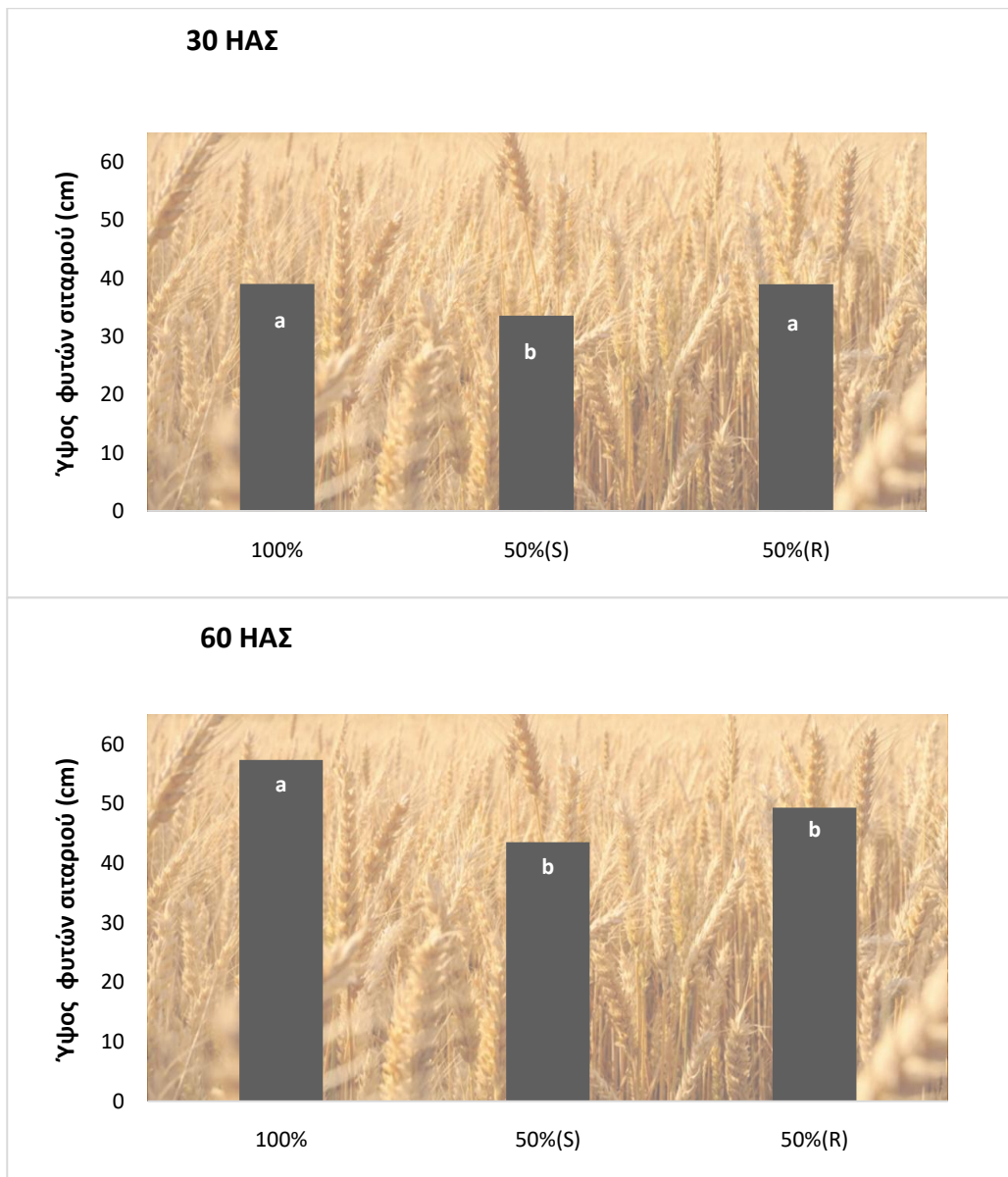
##### 4.2.1.1.2.1 Ήρα σε ανταγωνισμό με το σιτάρι

Συγκρίνοντας τις τιμές ύψους του ευαίσθητου (S) και του ανθεκτικού (R) βιότυπου ήρας στα πειράματα σειράς αντικατάστασης με το σιτάρι, στις 30 και 60 ημέρες από την σπορά, προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους μόνο στην αναλογία 50:50. Συγκεκριμένα, και στις δύο ημερομηνίες ο ανθεκτικός βιότυπος ήρας (R) παρουσιάζει μικρότερες τιμές σε σύγκριση με τον ευαίσθητο (Γράφημα 19).



**Γράφημα 19.** Μέσοι όροι ύψους φυτών ευαίσθητου (S) και ανθεκτικού (R) στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με σιτάρι στις 30 και 60 ημέρες από την σπορά (30 και 60 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία της λεπτής ήρας στα φυτοδοχεία.

Όσον αφορά τις μετρήσεις ύψους του σιταριού, παρατηρήθηκε ότι στις 30 ημέρες από τη σπορά το σιτάρι παρουσίασε στατιστικώς σημαντικά μικρότερες τιμές ύψους ( $p < 0.05$ ) παρουσία του ευαίσθητου (S) βιότυπου ήρας. Επιπλέον, στις 60 ημέρες από τη σπορά, το σιτάρι παρουσίασε στατιστικώς σημαντικά μικρότερες τιμές ύψους παρουσία τόσο του ευαίσθητου (S) όσο και του ανθεκτικού (R) βιότυπου ήρας (Γράφημα 20). Τέλος, όπως παρουσιάζεται στο Γράφημα 20, και στις δύο ημερομηνίες, το ύψος των φυτών του σιταριού είναι χαμηλότερο όταν αναπτύσσεται μαζί με τον ευαίσθητο βιότυπο της ήρας σε σύγκριση με τον ανθεκτικό βιότυπο ήρας.



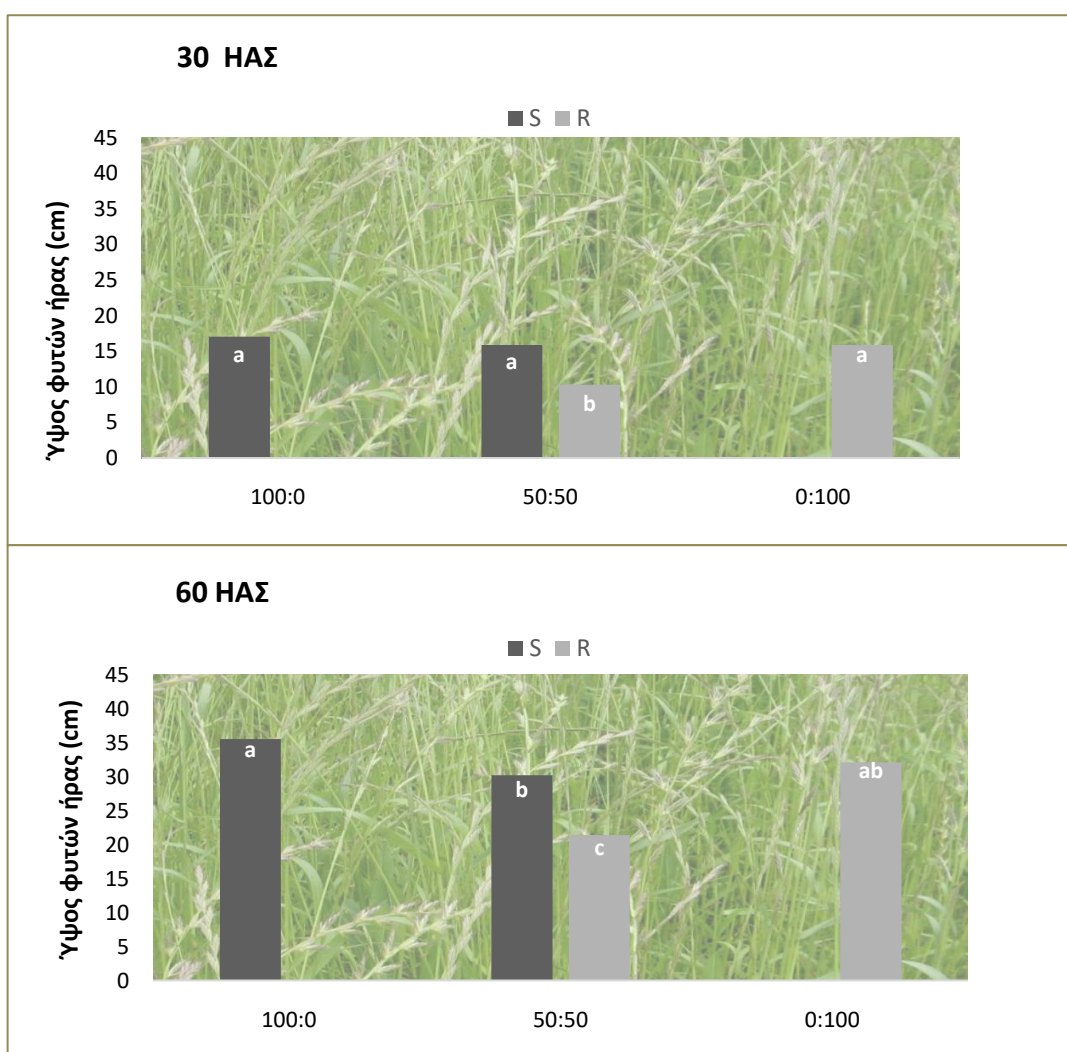
**Γράφημα 20.** Μέσοι όροι ύψους φυτών σιταριού σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με ευαίσθητο (S) και ανθεκτικό (R) στο glyphosate βιότυπο λεπτής ήρας στις 30 και 60 ημέρες από την σπορά (30 και 60 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία του σιταριού στα φυτοδοχεία.

#### 4.2.1.1.2.2 Ήρα σε ανταγωνισμό με ήρα

Συγκρίνοντας τις τιμές ύψους ήρας στο πείραμα σειράς αντικατάστασης ευαίσθητου (S) και ανθεκτικού (R) βιότυπου ήρας, στις 30 ημέρες από την σπορά, καταγράφηκε η ακόλουθη στατιστικά σημαντική διαφορά. Στην αναλογία 50:50, ο ανθεκτικός βιότυπος ήρας παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μικρότερη τιμή ύψους σε σύγκριση με τον ευαίσθητο (Γράφημα 21).

Παρομοίως στις 60 ημέρες από την σπορά, στην αναλογία 50:50, ο ανθεκτικός βιότυπος ήρας παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μικρότερη τιμή ύψους σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο (Γράφημα 21).

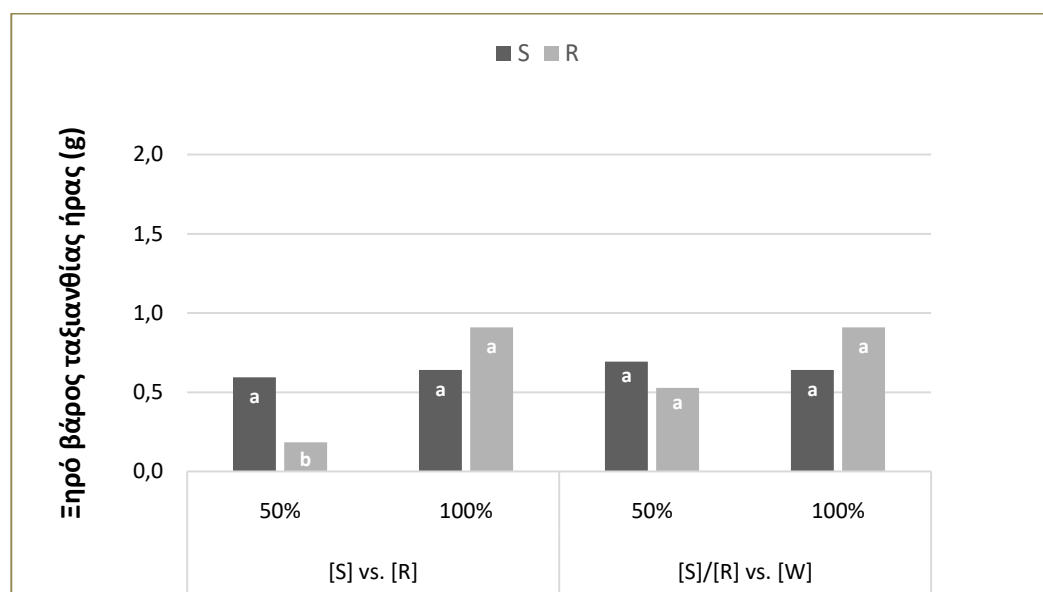
Και στις δύο μετρήσεις παρατηρείται ότι οι τιμές ύψους στη μονοκαλλιέργεια τόσο του ευαίσθητου όσο και του ανθεκτικού βιότυπου ήρας παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές με τον ανθεκτικό βιότυπο στην αναλογία 50:50. Ο ευαίσθητος βιότυπος στην αναλογία 50:50, παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά, σε σχέση με τις τιμές των μονοκαλλιεργειών, μόνο σε σύγκριση με την τιμή του ευαίσθητου στις 60 ημέρες από τη σπορά.



Γράφημα 21. Μέσοι όροι ύψους φυτών ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (S) και ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (R) στις 30 και 60 ημέρες από τη σπορά (30 και 60 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά.

#### 4.2.1.1.3 Ξηρό βάρος ταξιανθίας

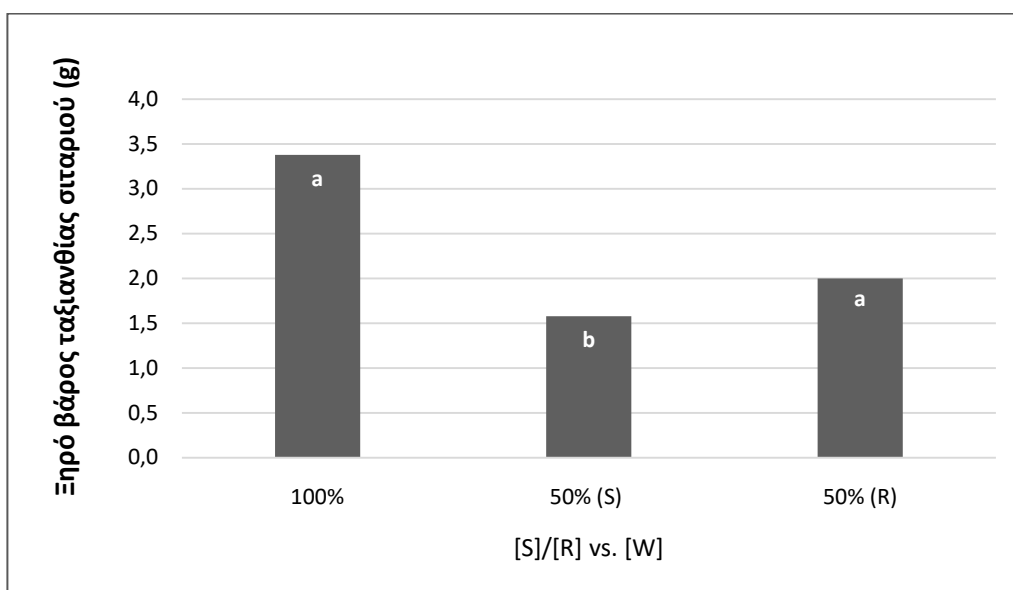
Όπως παρουσιάζεται στο Γράφημα 22, οι δύο βιότυποι ήρας δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς το ξηρό βάρος της ταξιανθίας, όταν αναπτύχθηκαν ως μονοκαλλιέργεια εντός των φυτοδοχείων. Επίσης, δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0.05$ ) κατά την ανάπτυξη των δύο βιότυπων σε ανταγωνισμό με το σιτάρι, τόσο στη μεταξύ τους σύγκριση όσο και σε σύγκριση με τις τιμές των μονοκαλλιεργειών. Ωστόσο, συγκρίνοντας τις τιμές ξηρού βάρους ταξιανθίας στο πείραμα σειράς αντικατάστασης ευαίσθητου (S) και ανθεκτικού (R) βιότυπου ήρας καταγράφηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο βιότυπων στην αναλογία 50:50. Η τιμή ξηρού βάρους της ταξιανθίας του ανθεκτικού βιότυπου ήρας στην αναλογία αυτή, διέφερε επίσης στατιστικά σημαντικά από την αντίστοιχη τιμή του πληθυσμού σε μονοκαλλιέργεια.



Γράφημα 22. Μέσοι όροι ξηρού βάρους ταξιανθίας φυτών ήρας (α) σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας και ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας ([S] vs. [R]) και (β) σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ήρας και σιτάριου ([S]/[R] vs. [W]). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία της λεπτής ήρας στα φυτοδοχεία.

Από το Γράφημα 22 προκύπτει αυξημένη ανταγωνιστική ικανότητα του ευαίσθητου βιότυπου προς τον ανθεκτικό, όταν οι δύο βιότυποι αναπτύσσονται στο ίδιο περιβάλλον.

Όπως αναφέρθηκε, στα μείγματα των δύο βιότυπων με το σιτάρι δεν προέκυψε αρνητική επίδραση για το ξηρό βάρος της ταξιανθίας των φυτών ήρας. Αντίθετα, στις μετρήσεις του ξηρού βάρους της ταξιανθίας σιταριού (Γράφημα 23), παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά κατά την ανάπτυξη του σιταριού σε αναλογία 50:50 με τον ευαίσθητο πληθυσμό, όπου το μέσο βάρος της ταξιανθίας είναι χαμηλότερο από το μέσο βάρος στην περίπτωση της μονοκαλλιέργειας του σιταριού. Στην αντίστοιχη αναλογία με τον ανθεκτικό πληθυσμό το μειωμένο μέσο βάρος που καταγράφηκε δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,005$ ).



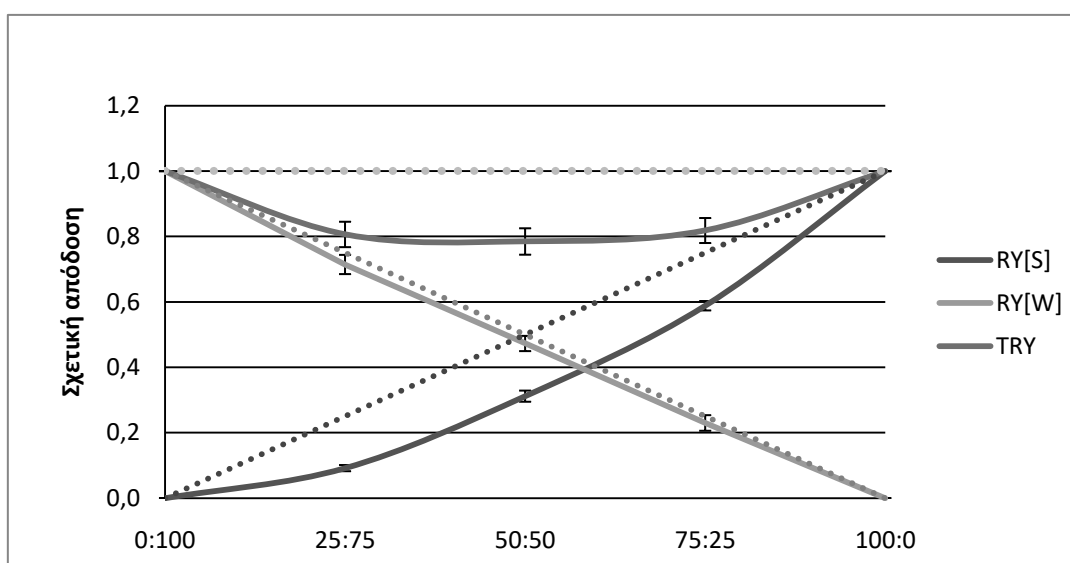
**Γράφημα 23.** Μέσοι όροι ξηρού βάρους ταξιανθίας φυτών σιταριού σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με ευαίσθητο και ανθεκτικό στο glyphosate βιότυπο λεπτής ήρας ([S]/[R] vs. [W]). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία του σιταριού στα φυτοδοχεία.

Συμπερασματικά, στο πρώτο πείραμα σειράς αντικατάστασης μεταξύ ευαίσθητου και ανθεκτικού βιότυπου ήρας και σιταριού φαίνεται να επιβεβαιώνεται η αρχική υπόθεση του πειράματος κατά το ήμισυ. Δηλαδή, ο βιότυπος ήρας που είναι ανθεκτικός στο glyphosate πράγματι παρουσίασε χαμηλότερη ανταγωνιστική ικανότητα σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο. Ωστόσο, και οι δύο βιότυποι ήρας παρουσίασαν υψηλότερη ανταγωνιστικότητα σε σύγκριση με την καλλιέργεια του σιταριού. Έτσι, η πιθανότητα ύπαρξης ενός τέτοιου κόστους προσαρμοστικότητας στον ανθεκτικό βιότυπο της ήρας θα μπορούσε να επηρεάσει τον ρυθμό με τον οποίο η ανθεκτικότητα εξελίσσεται στον συγκεκριμένο πληθυσμό ζιζανίων.

## 4.2.1.2 Πείραμα Β σειράς αντικατάστασης (Replacement Series)

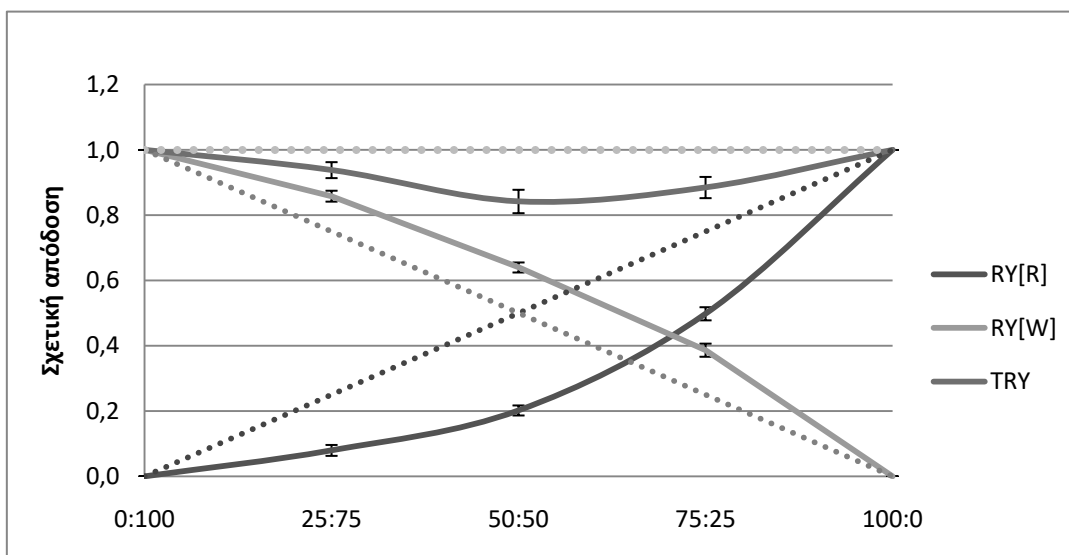
### 4.2.1.2.1 Σχετική απόδοση

Στο διάγραμμα σειράς αντικατάστασης της σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου ήρας (S) και του σιταριού (W), η πραγματική καμπύλη σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου βιότυπου της ήρας (RY[S]) είναι κοίλη και η πραγματική καμπύλη του σιταριού (RY[W]) είναι σχεδόν γραμμική. Και στις δύο περιπτώσεις οι τιμές των σχετικών αποδόσεων είναι μικρότερες από τις αναμενόμενες. Επιπλέον, η πραγματική καμπύλη της συνολικής σχετικής απόδοσης εμφανίζει τιμές μικρότερες του 1 (Γράφημα 24).



Γράφημα 24. Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο ± τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[S]), του σιταριού (RY[W]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσεως των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*L. rigidum*, *T. durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε λεπτή ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά.

Στο αντίστοιχο διάγραμμα σειράς αντικατάστασης του ανθεκτικού βιότυπου στο glyphosate ήρας (R) και του σιταριού (W), η πραγματική καμπύλη σχετικής απόδοσης του ανθεκτικού βιότυπου της ήρας (RY[R]) είναι κοίλη. Αντίθετα, η πραγματική καμπύλη σχετικής απόδοσης του σιταριού (RY[W]) είναι κυρτή. Επιπλέον, η πραγματική καμπύλη της συνολικής σχετικής απόδοσης εμφανίζει τιμές μικρότερες του ενός (1) (Γράφημα 25). Σε αυτήν την περίπτωση, φαίνεται να υπάρχει αυξημένος ανταγωνισμός από τα φυτά σιταριού προς τα φυτά του ανθεκτικού βιότυπου της ήρας.

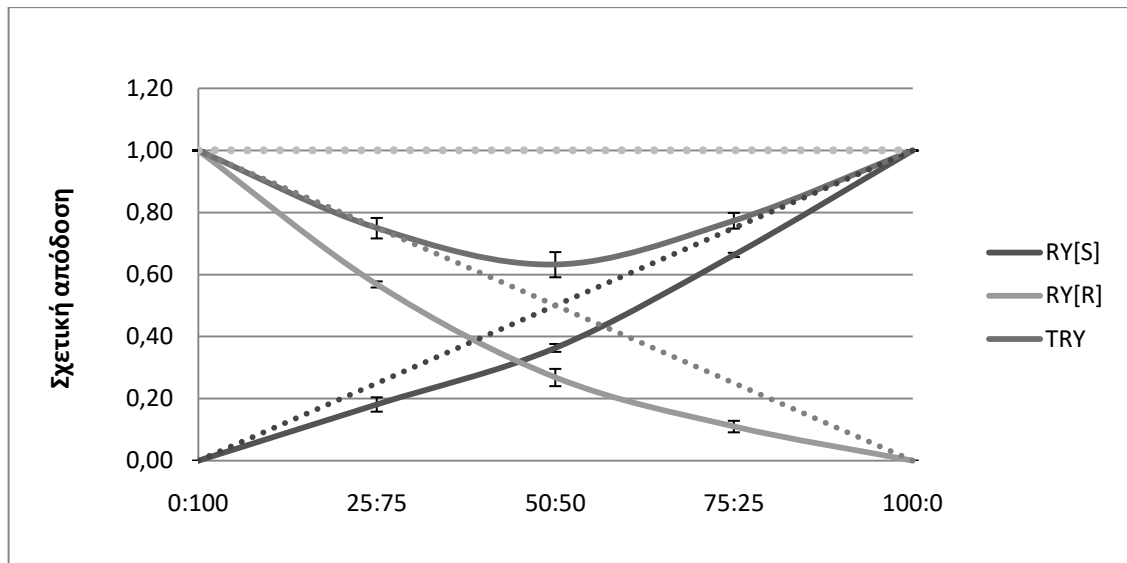


Γράφημα 25. Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[R]), του σιταριού (RY[W]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσει των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*Lolium rigidum*, *Triticum durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε λεπτή ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά.

Συγκρίνοντας τις τιμές που παρουσιάζονται στα Γραφήματα 24 και 25, προκύπτει πως ο ανταγωνισμός που ασκείται από τα φυτά του σιταριού στους δύο βιότυπους ήρας είναι μεγαλύτερος από τον ανταγωνισμό μεταξύ των φυτών του κάθε βιότυπου. Μεταξύ των δύο βιότυπων ήρας, φαίνεται πως η ανταγωνιστική ικανότητα του ανθεκτικού προς το σιτάρι είναι μικρότερη, καθώς παρατηρείται υψηλότερη μείωση στις τιμές της σχετικής απόδοσης του ανθεκτικού βιότυπου. Επίσης, οι τιμές της σχετικής απόδοσης του σιταριού είναι υψηλότερες από τις αναμενόμενες, μόνο παρουσία του ανθεκτικού βιότυπου ήρας. Αντίθετα, όπως αναφέρθηκε, παρουσία του ευαίσθητου βιότυπου ήρας οι τιμές της σχετικής απόδοσης του σιταριού είναι οριακά χαμηλότερες από τις αναμενόμενες.

Τέλος, στο Γράφημα 26 παρουσιάζεται ο ανταγωνισμός μεταξύ των δύο βιότυπων ήρας. Τα αποτελέσματα της πραγματικής σχετικής απόδοσης έδωσαν κοίλες καμπύλες τόσο για τον ευαίσθητο (RY[S]) όσο και για τον ανθεκτικό (RY[R]) βιότυπο ήρας. Κάτι τέτοιο υποδεικνύει ότι ο ανταγωνισμός είναι δυσμενής και για τα δύο είδη και ότι η επίδραση του ενός βιότυπου στον άλλο είναι μεγαλύτερη από εκείνη του κάθε βιότυπου στον ίδιο.



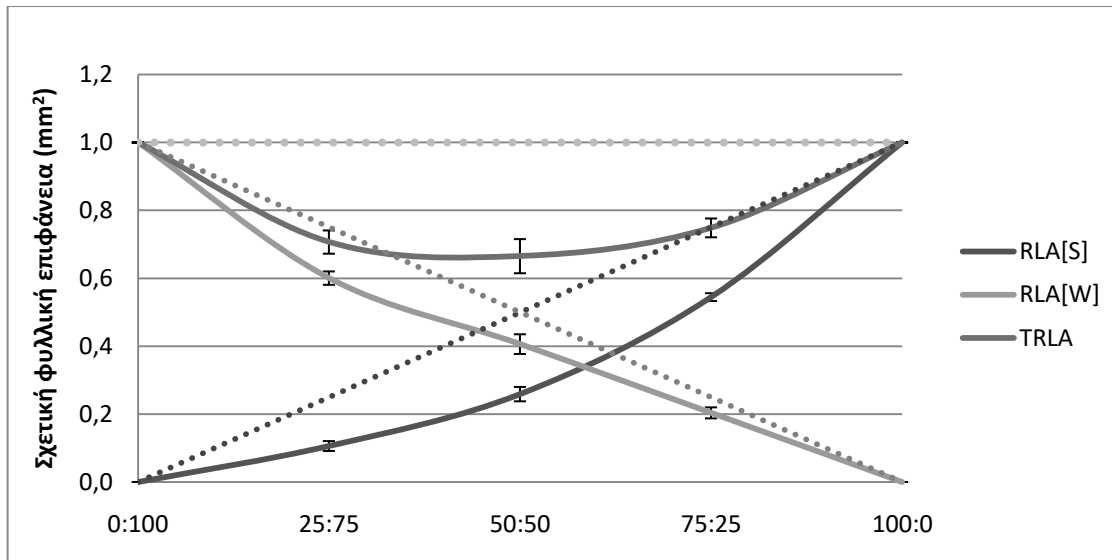


Γράφημα 26. Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής απόδοσης του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[S]), του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RY[R]) και της σχετικής συνολικής απόδοσης (TRY) συναρτήσεως των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά των διαφορετικών βιότυπων του είδους *L. rigidum* αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά.

Η μικρότερη ανταγωνιστική ικανότητα του ανθεκτικού βιότυπου ήρας παρατηρείται και στο Γράφημα 26, καθώς οι διαφορές στις τιμές της πραγματικής και της αναμενόμενης σχετικής απόδοσης του ανθεκτικού βιότυπου είναι μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες του ευαίσθητου.

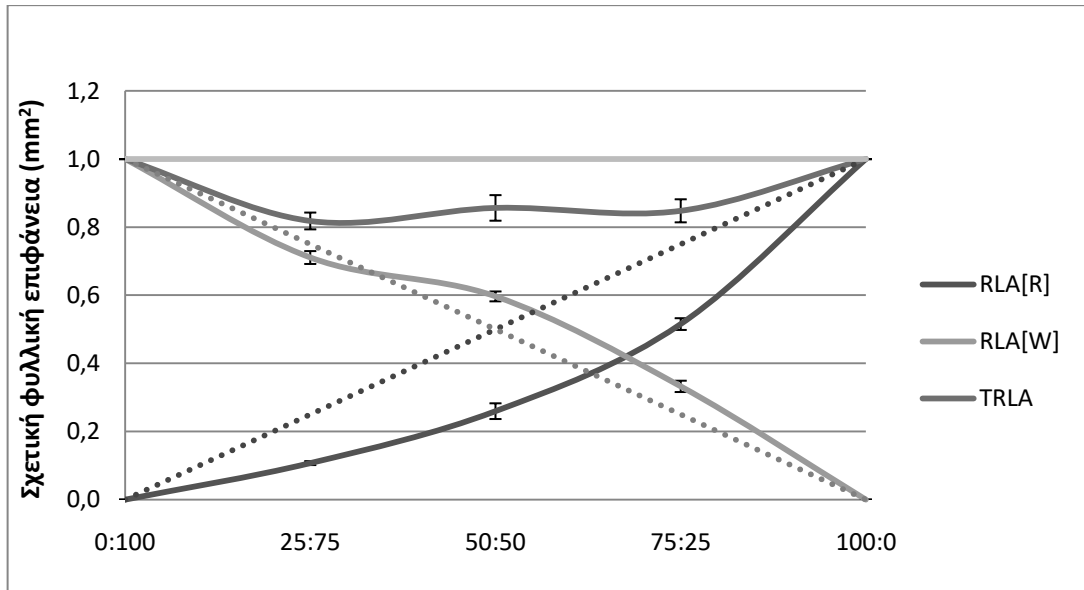
#### 4.2.1.2.2 Σχετική φυλλική επιφάνεια

Στο διάγραμμα σειράς αντικατάστασης της σχετικής φυλλικής επιφάνειας του ευαίσθητου βιότυπου ήρας (S) και του σιταριού (W), η πραγματική καμπύλη σχετικής φυλλικής επιφάνειας του ευαίσθητου βιότυπου της ήρας (RY[S]) είναι κοίλη. Παρομοίως, η πραγματική καμπύλη του σιταριού (RY[W]) είναι επίσης κοίλη. Επιπλέον, η πραγματική καμπύλη της συνολικής φυλλικής επιφάνειας εμφανίζει τιμές μικρότερες του 1 (Γράφημα 27). Οι πραγματικές τιμές της σχετικής φυλλικής επιφάνειας και για τα δύο είδη είναι μικρότερες από τις αναμενόμενες.



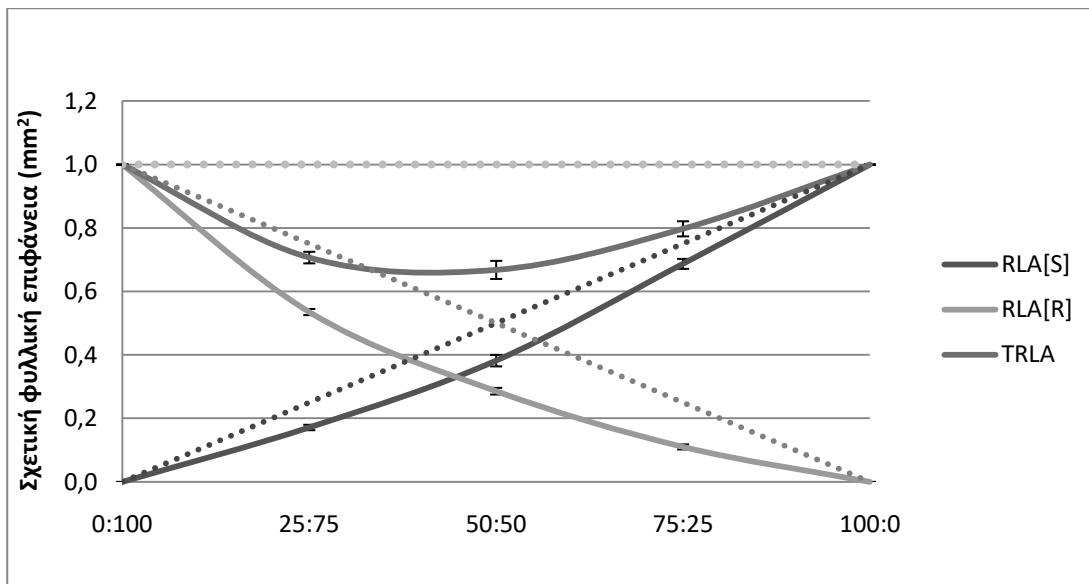
Γράφημα 27. Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής φυλλικής επιφάνειας του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RLA[S]), του σιταριού (RLA[W]) και της σχετικής συνολικής φυλλικής επιφάνειας (TRLA) συναρτήσει των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*L. rigidum*, *T. durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά.

Στο διάγραμμα σειράς αντικατάστασης (Γράφημα 28) του ανθεκτικού βιότυπου ήρας και του σιταριού, η πραγματική καμπύλη φυλλικής επιφάνειας του ανθεκτικού βιότυπου της ήρας (R) είναι κοίλη. Αντίθετα, η αντίστοιχη πραγματική καμπύλη του σιταριού είναι κυρτή. Επιπλέον, η πραγματική καμπύλη της συνολικής σχετικής απόδοσης εμφανίζει τιμές μικρότερες του ενός (1) (Γράφημα 28). Έτσι, οι πραγματικές τιμές της σχετικής φυλλικής επιφάνειας για το σιτάρι παρουσιάζουν τιμές μεγαλύτερες από τις αναμενόμενες (εκτός από την αναλογία 25:75), ενώ οι αντίστοιχες τιμές για τον ανθεκτικό βιότυπο ήρας είναι μικρότερες από τις αναμενόμενες.



Γράφημα 28. Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής φυλλικής επιφάνειας του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RLA[R]), του σιταριού (RLA[W]) και της σχετικής συνολικής φυλλικής επιφάνειας (TRLA) συναρτήσει των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά ενός είδους (*L. rigidum*, *T. durum*) αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε λεπτή ήρα: σιτάρι με αύξουσα σειρά.

Συγκρίνοντας τα Γραφήματα 27 και 28, προκύπτει πως υπάρχει παραπλήσια αρνητική επίδραση του σιταριού στη φυλλική επιφάνεια των δύο βιότυπων ήρας. Αντίθετα, μεγαλύτερη ανταγωνιστική ικανότητα προς το σιτάρι παρουσιάζει ο ευαίσθητος βιότυπος, καθώς μόνο σε αυτήν την περίπτωση όλες οι πραγματικές τιμές της σχετικής φυλλικής επιφάνειας του σιταριού είναι μικρότερες από τις αναμενόμενες.



Γράφημα 29. Διάγραμμα σειράς αντικατάστασης που απεικονίζει τον μέσο όρο  $\pm$  τυπικό σφάλμα της σχετικής φυλλικής επιφάνειας του ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RLA[S]), του ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (RLA[R]) και της σχετικής συνολικής φυλλικής επιφάνειας (TRLA) συναρτήσεως των αναλογιών των ειδών. Οι διαγώνιες διακεκομμένες γραμμές είναι οι αναμενόμενες σχετικές αποδόσεις όταν τα φυτά των διαφορετικών βιότυπων του είδους *L. rigidum* αναπτύσσονται εξίσου καλά σε μείγμα και σε μονοκαλλιέργεια. Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά.

Όσον αφορά τον ανταγωνισμό μεταξύ ευαίσθητου και ανθεκτικού βιότυπου ήρας, οι τιμές της πραγματικής σχετικής φυλλικής επιφάνειας έδωσαν κοίλες καμπύλες τόσο για τον ευαίσθητο (RY[S]) όσο και για τον ανθεκτικό (RY[R]) βιότυπο της ήρας (Γράφημα 29). Η εικόνα της σχετικής φυλλικής επιφάνειας είναι παρόμοια με την αντίστοιχη της σχετικής απόδοσης (Γράφημα 26), με τις τιμές του ανθεκτικού βιότυπου να είναι χαμηλότερες από εκείνες του ευαίσθητου.

#### 4.2.1.2.3 Ύψος φυτών και αδελφωμα ήρας

##### 4.2.1.2.3.1 Ήρα ανταγωνισμό με το σιτάρι

Συγκρίνοντας τις τιμές ύψους του ευαίσθητου (S) και του ανθεκτικού (R) βιότυπου ήρας στα πειράματα σειράς αντικατάστασης με το σιτάρι, στις 45, 65 και 85 ημέρες από τη σπορά, προέκυψαν τα ακόλουθα αποτελέσματα. Στις 45 και 85 ημέρες από τη σπορά δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο βιότυπων ήρας σε καμία από τις αναλογίες. Στις 65 ημέρες από τη σπορά

παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βιότυπων μόνο στην αναλογία ήρας: σιταριού 50:50 (Γράφημα 30).

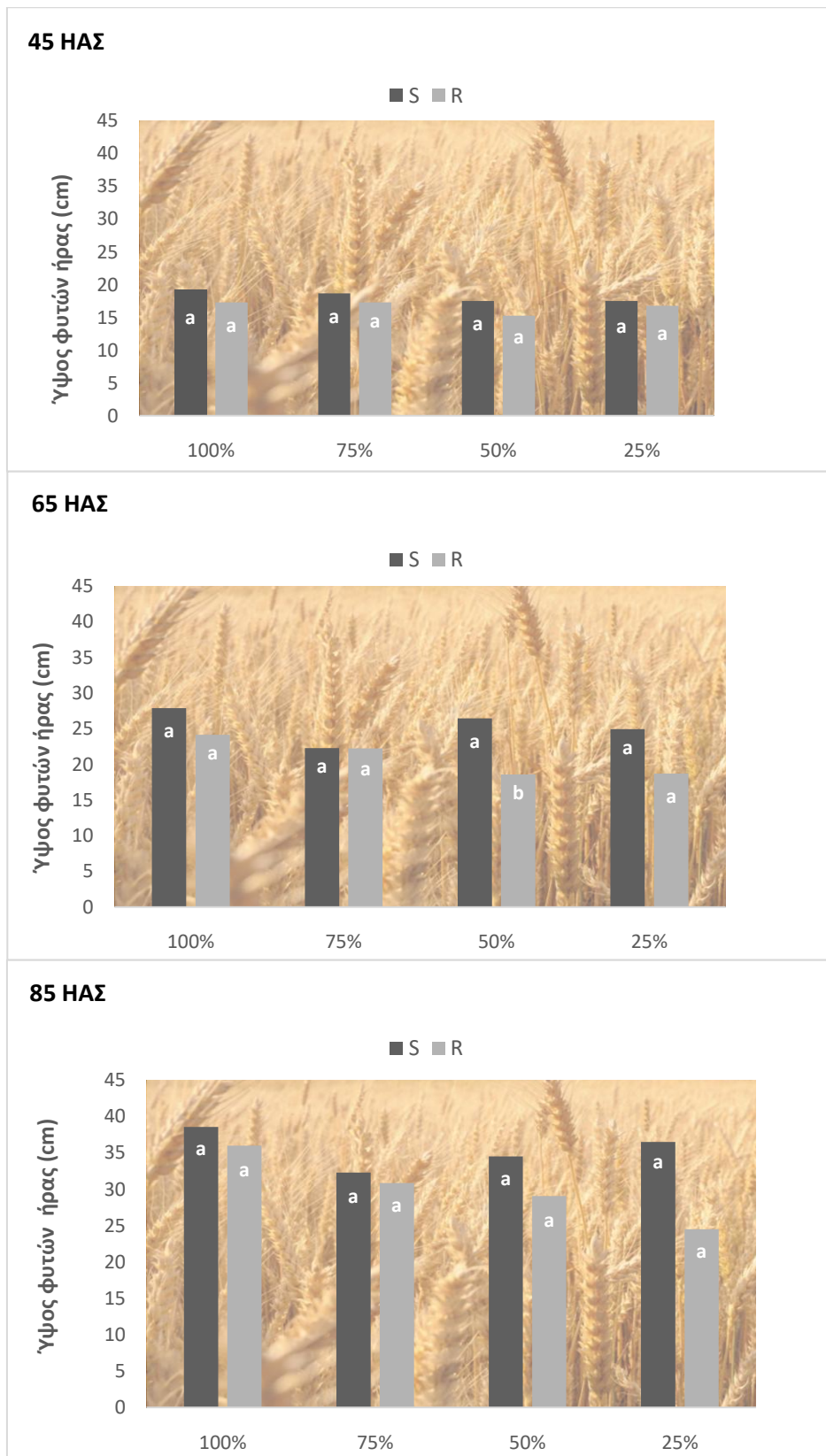
Παρομοίως, στη μέτρηση του αδελφώματος της ήρας που πραγματοποιήθηκε στις 85 ημέρες από τη σπορά δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του ευαίσθητου και του ανθεκτικού βιότυπου ήρας για καμία από τις αναλογίες ήρας: σιταριού (Γράφημα 31).

Τα αντίστοιχα δεδομένα για το σιτάρι, καθώς το ύψος και το αδελφωμα για τα φυτά του σιταριού δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών αναλογιών και των δύο βιότυπων ήρας (Πίνακας 13).

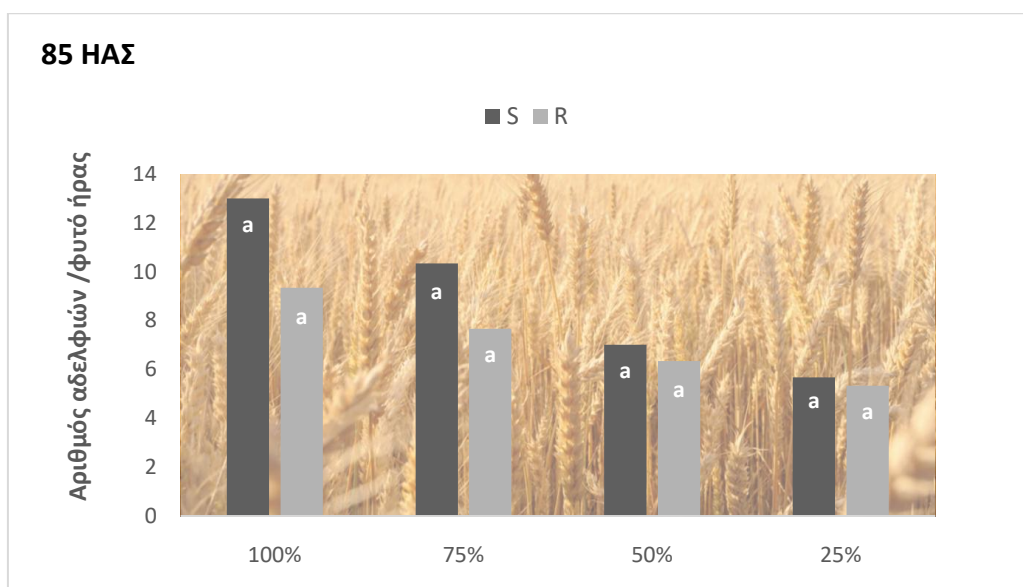
**Πίνακας 13. Μέσοι όροι ύψος φυτών σιταριού σε πειράματα σειράς αντικατάστασης αντικατάστασης ευαίσθητου [S] και ανθεκτικού [R] στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας στις 45, 65 και 85 ημέρες από την σπορά (45, 65 και 85 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0,05$  μεταξύ των βιότυπων ([S], [R]) ανά ημερομηνία μέτρησης. Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία του σιταριού στα φυτοδοχεία.**

		100%	75%	50%	25%
<b>45 ΗΑΣ</b>	[S]	33,42	33,64 <b>a</b>	32,53 <b>a</b>	34,01 <b>a</b>
	[R]		35,18 <b>a</b>	34,00 <b>a</b>	32,48 <b>a</b>
<b>65 ΗΑΣ</b>	[S]	61,08	61,30 <b>a</b>	62,03 <b>a</b>	52,77 <b>a</b>
	[R]		63,59 <b>a</b>	63,04 <b>a</b>	59,82 <b>a</b>
<b>85 ΗΑΣ</b>	[S]	69,89	66,01 <b>a</b>	66,01 <b>a</b>	64,83 <b>a</b>
	[R]		67,21 <b>a</b>	67,21 <b>a</b>	66,37 <b>a</b>

Σε αντίθεση με τις μετρήσεις της σχετικής απόδοσης (ξηρό βάρος, φυλλική επιφάνεια), από τις διαφορές μεταξύ των μέσων του ύψους των φυτών, δεν προκύπτουν διαφορές στην ανταγωνιστική ικανότητα που ασκούν τόσο οι δύο βιότυποι στο σιτάρι, όσο και σε αυτή που ασκεί το σιτάρι στους δύο βιότυπους ήρας. Όσον αφορά τον αριθμό των αδελφιών, όπως αναφέρθηκε, δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο βιότυπων στις διάφορες αναλογίες με τα φυτά σιταριού. Ωστόσο, φαίνεται πως ο αριθμός των αδελφιών και για τους δύο βιότυπους μειώνεται με την αύξηση του ποσοστού των φυτών σιταριού στο φυτοδοχείο.



Γράφημα 30. Μέσοι όροι ύψους φυτών ευαίσθητου (S) και ανθεκτικού (R) στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με σιτάρι στις 45, 65 και 85 ημέρες από την σπορά (45, 65 και 85 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία της λεπτής ήρας στα φυτοδοχεία.



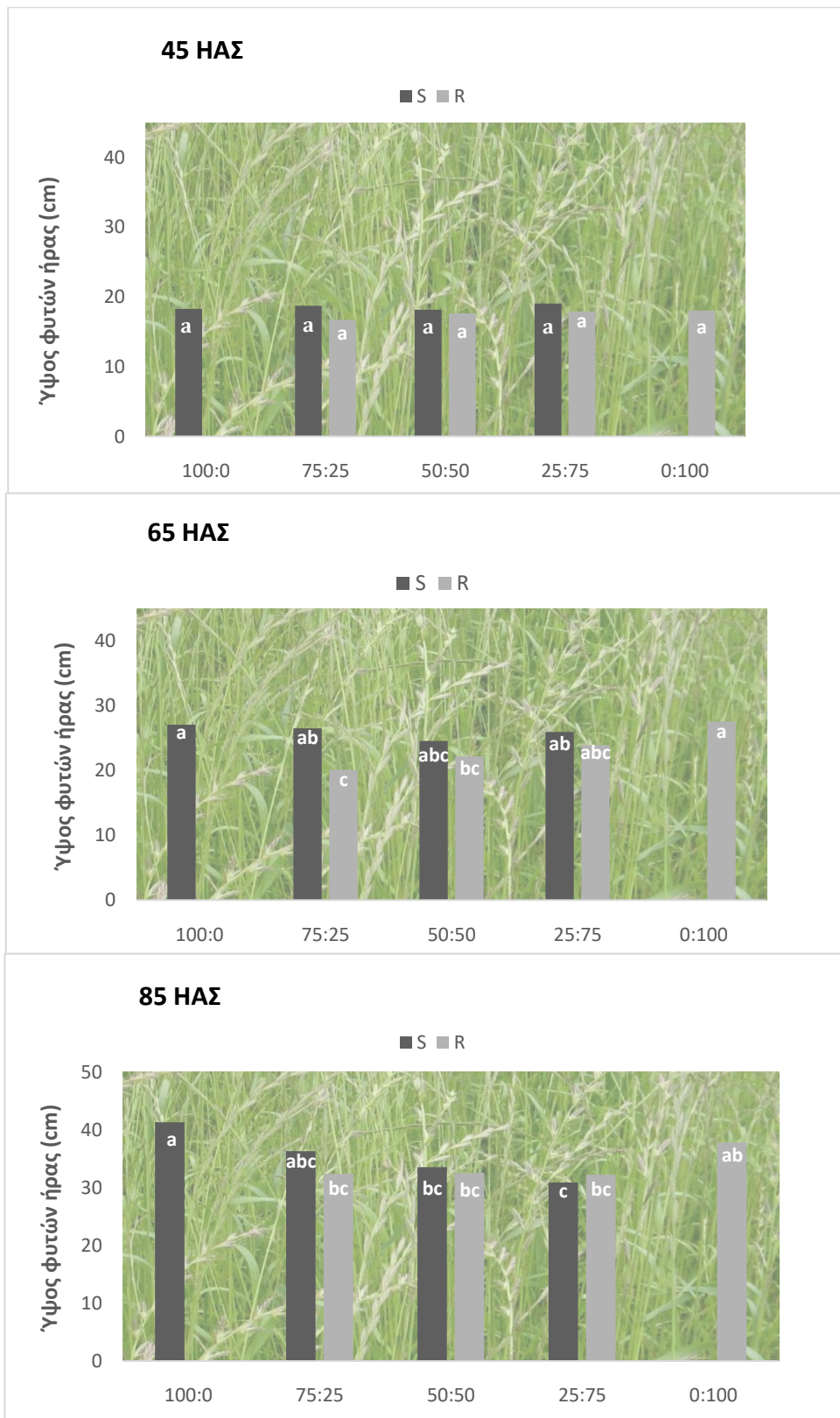
**Γράφημα 31.** Μέσοι όροι αριθμού αδελφιών ευαίσθητου (S) και ανθεκτικού (R) στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με σιτάρι στις 85 ημέρες από την σπορά (85 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία της λεπτής ήρας στα φυτοδοχεία.

#### 4.2.1.2.3.2 Ήρα σε ανταγωνισμό με ήρα

Συγκρίνοντας τις τιμές ύψους ήρας στο πειράματα σειράς αντικατάστασης ευαίσθητου και ανθεκτικού βιότυπου στις 45, 65 και 85 ημέρες από τη σπορά, παρατηρήθηκαν οι ακόλουθες στατιστικά σημαντικές διαφορές. Στις 65 ημέρες από τη σπορά, ο ανθεκτικός βιότυπος ήρας παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μικρότερη τιμή ύψους σε σύγκριση με τον ευαίσθητο στην αναλογία 25% (Γράφημα 32).

Επιπλέον, παρατηρείται ότι οι τιμές ύψους στις μονοκαλλιέργειες (R και S) είναι μεγαλύτερες σε σχέση με τα μείγματα (Γράφημα 32). Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι ο ανταγωνισμός μεταξύ των βιότυπων είναι μεγαλύτερος από τον ανταγωνισμό των φυτών του ίδιου είδους. Το αποτέλεσμα αυτό συνάδει με τα αποτελέσματα του διαγράμματος αντικατάστασης της σχετικής απόδοσης (Γράφημα 26).

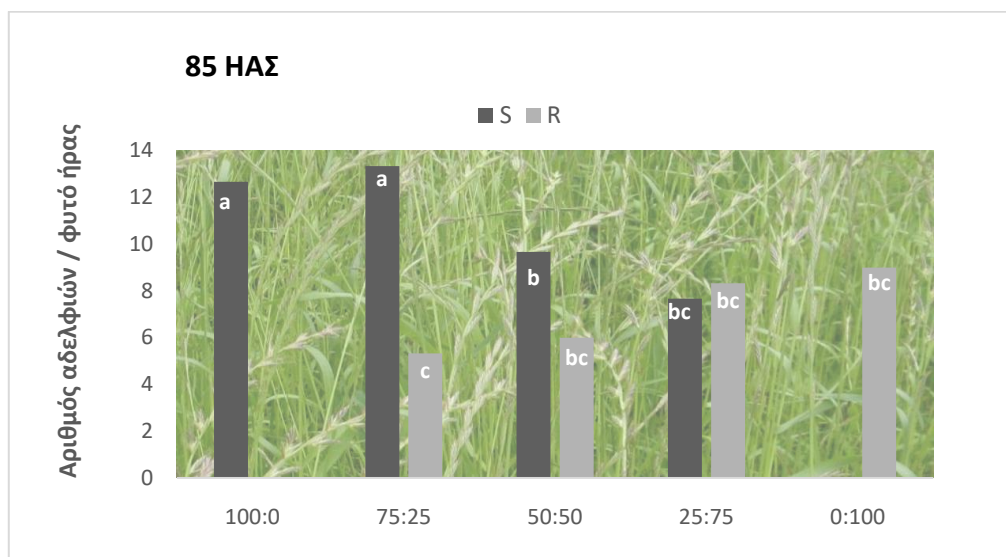
Σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις το ύψος των φυτών του ευαίσθητου βιότυπου είναι μεγαλύτερο από το ύψος των φυτών του ανθεκτικού βιότυπου, είτε συγκρίνοντας το ύψος των δυο βιότυπων στις ίδιες αναλογίες στα διαφορετικά φυτοδοχεία είτε συγκρίνοντας το ύψος των δύο βιότυπων σε διαφορετικές αναλογίες στο ίδιο φυτοδοχείο (στην περίπτωση της αναλογίας 50:50 γίνεται σύγκριση πάντα στην ίδια αναλογία στο ίδιο φυτοδοχείο) (Γράφημα 32).



Γράφημα 32. Μέσοι όροι ύψους φυτών ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (S) και ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας (R) στις 45, 65 και 85 ημέρες από την σπορά (45, 65 και 85 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0,05$ . Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά.



Τέλος, όσον αφορά τον αριθμό των αδελφιών της ήρας, ο ανθεκτικός βιότυπος ήρας παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μικρότερο αριθμό αδελφιών σε σύγκριση με τον ευαίσθητο στην αναλογία 75% (Γράφημα 33). Και σε αυτή την μέτρηση ο ευαίσθητος βιότυπος εμφανίζει υψηλότερες τιμές σε όλα τα επίπεδα σύγκρισης.



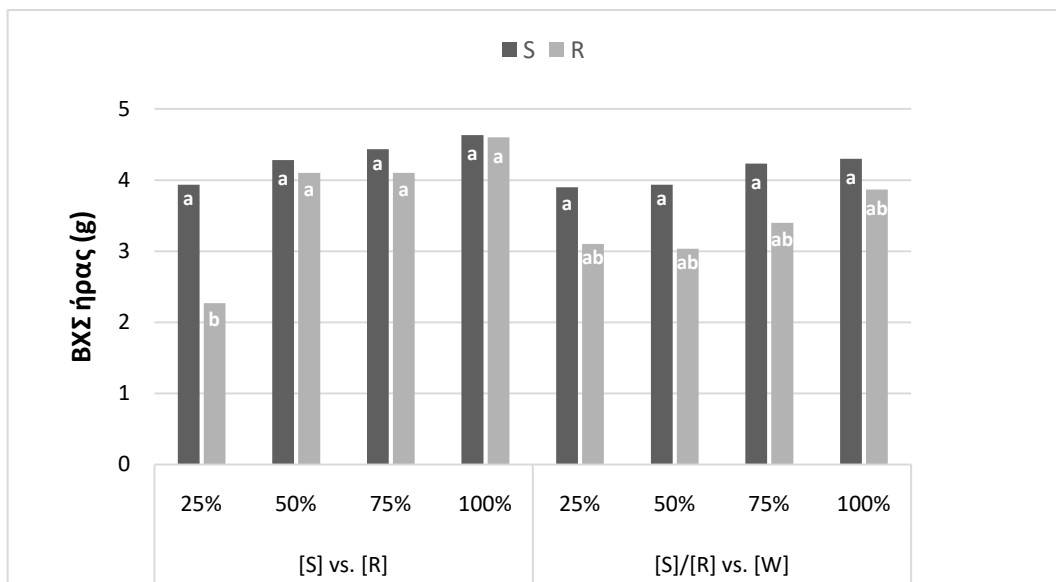
**Γράφημα 33.** Μέσοι όροι αριθμού αδελφιών ευαίσθητου (S) και ανθεκτικού (R) στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με σιτάρι στις 85 ημέρες από την σπορά (85 ΗΑΣ). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Οι αναλογίες αναφέρονται σε ευαίσθητο βιότυπο λεπτής ήρας: ανθεκτικό βιότυπο λεπτής ήρας με αύξουσα σειρά.

#### 4.2.1.2.4 Βάρος χιλίων σπόρων (ΒΧΣ)

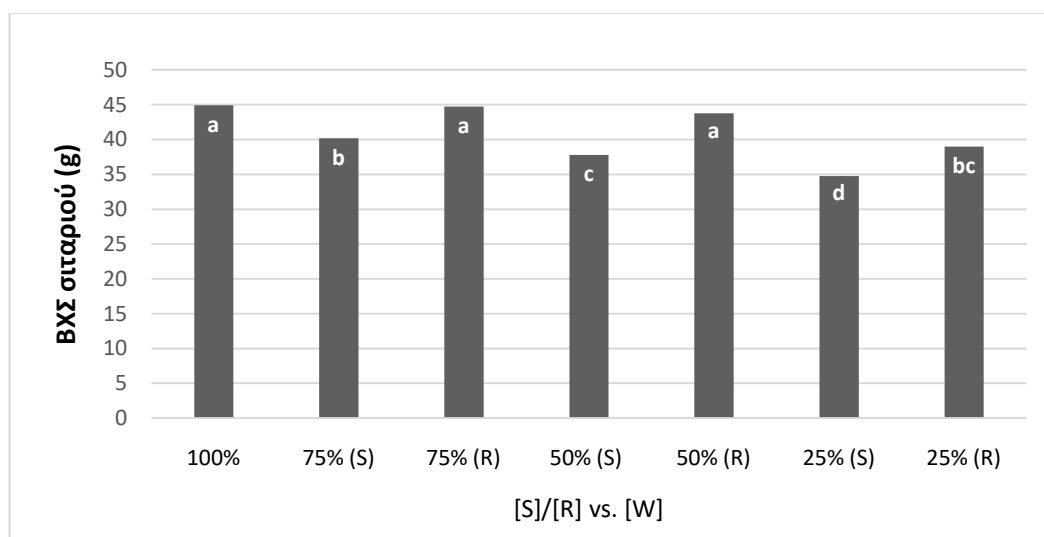
Όπως παρουσιάζεται στο Γράφημα 34, στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς το βάρος χιλίων σπόρων της ήρας καταγράφηκε μόνο στην περίπτωση ανάπτυξης του ευαίσθητου και ανθεκτικού βιότυπου σε αναλογία 75:25 αντίστοιχα. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις το μέσο βάρος χιλίων σπόρων που καταγράφηκε για τον ανθεκτικό πληθυσμό ήταν χαμηλότερο, χωρίς ωστόσο να παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Στα πειράματα σειράς αντικατάστασης ήρας και σιταριού προέκυψε αρνητική επίδραση στο βάρος χιλίων σπόρων του σιταριού, στα μείγματα με τον ευαίσθητο βιότυπο ήρας. Συγκεκριμένα, όπως παρουσιάζεται στο Γράφημα 35, καταγράφεται μεγαλύτερη μείωση του μέσου βάρους χιλίων σπόρων σιταριού με την αύξηση της αναλογίας του ευαίσθητου πληθυσμού στο φυτοδοχείο και όλες οι τιμές διαφέρουν

στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Όσον αφορά τα μείγματα με τον ανθεκτικό βιότυπο, στατιστικά σημαντική διαφορά παρουσιάζεται μόνο στην αναλογία 75:25 για την ήρα και το σιτάρι αντίστοιχα, όπου η τιμή του μέσου βάρους χιλίων σπόρων του σιταριού είναι χαμηλότερη από αυτήν στη μονοκαλλιέργεια σιταριού και στις υπόλοιπες αναλογίες.



Γράφημα 34. Μέσοι όροι βάρους χιλίων σπόρων ήρας (α) σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας και ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας ([S] vs. [R]) και (β) σε πείραμα σειράς αντικατάστασης ήρας και σιταριού ([S]/[R] vs. [W]). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία της λεπτής ήρας στα φυτοδοχεία.



Γράφημα 35. Μέσοι όροι βάρους χιλίων σπόρων σιταριού σε πείραμα σειράς αντικατάστασης με ευαίσθητο και ανθεκτικό στο glyphosate βιότυπο λεπτής ήρας ([S]/[R] vs. [W]). Τα μικρά λατινικά γράμματα επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ . Τα ποσοστά αναφέρονται στην αναλογία του σιταριού στα φυτοδοχεία.

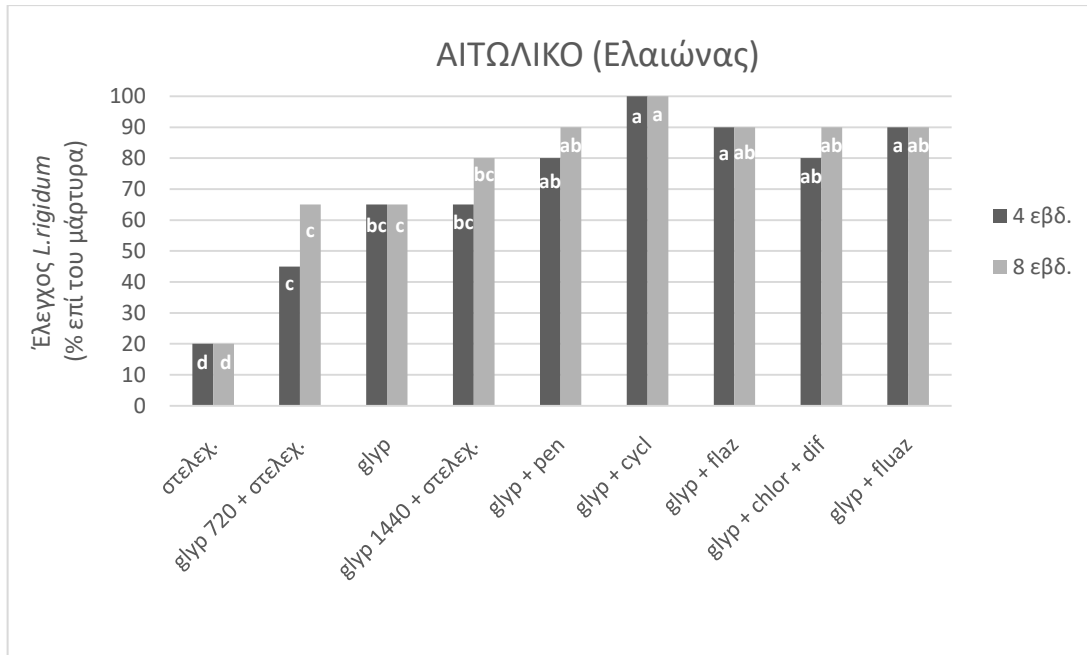
Συμπερασματικά, στο δεύτερο πείραμα σειράς αντικατάστασης μεταξύ ευαίσθητου, ανθεκτικού βιότυπου ήρας και σιταριού, ο βιότυπος ήρας που είναι ανθεκτικός στο glyphosate φαίνεται να παρουσιάζει χαμηλότερη ανταγωνιστική ικανότητα σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο. Ωστόσο, από τις μετρήσεις δεν υπάρχει προφανές κόστος προσαρμοστικότητας που να σχετίζεται με την ανθεκτικότητα σε glyphosate. Επιπλέον, τα αποτελέσματα, σε αντίθεση με τα αντίστοιχα του πρώτου πειράματος, κατέδειξαν αυξημένη ανταγωνιστικότητα του σιταριού προς την ήρα.

## 4.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΓΡΟΥ

### 4.2.2.1 Αποτελεσματικότητα του ζιζανιοκτόνου glyphosate και των μειγμάτων του έναντι του ζιζανίου *L. rigidum* σε πολυετείς καλλιέργειες στην Ελλάδα<sup>29</sup>

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειραματισμού στην περιοχή του Αιτωλικού στην Αιτωλοακαρνανία, στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή, ο συνδυασμός του glyphosate με το cycloxydim έδωσε πλήρη έλεγχο του ζιζανίου. Επιπρόσθετα, όπως φαίνεται και στο Γράφημα 36, τα μείγματα του glyphosate με flazasulfuron και fluazifop-p-butyl έδωσαν υψηλά ποσοστά ελέγχου. Αντίθετα, η στελεχοκοπή από μόνη της δεν ήταν αποτελεσματική πιθανότατα λόγω αναβλάστησης των φυτών. Χαμηλή αποτελεσματικότητα παρουσίασε επίσης, στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή, η εφαρμογή glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) σε συνδυασμό με στελεχοκοπή. Η αποτελεσματικότητα των υπόλοιπων επεμβάσεων κυμάνθηκε από 65% έως 80% στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή. Στις οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή, τα μείγματα του glyphosate με pendimethalin και chlorotoluron + diflufenican έδωσαν επίσης υψηλά ποσοστά ελέγχου, ενώ η στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου δεν ήταν αποτελεσματική. Ωστόσο, η στελεχοκοπή σε συνδυασμό με το glyphosate στη δόση 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> ήλεγξε αποτελεσματικά την ήρα κατά 80%. Η επέμβαση του glyphosate χωρίς την εφαρμογή άλλου ζιζανιοκτόνου παρουσίασε μέτρια αποτελεσματικότητα 65%.

<sup>29</sup> Το Υποκεφάλαιο έχει παρουσιαστεί ως προφορική εργασία στο 20<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο της Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας (Αργίνιο, 4-6 Απριλίου 2019).

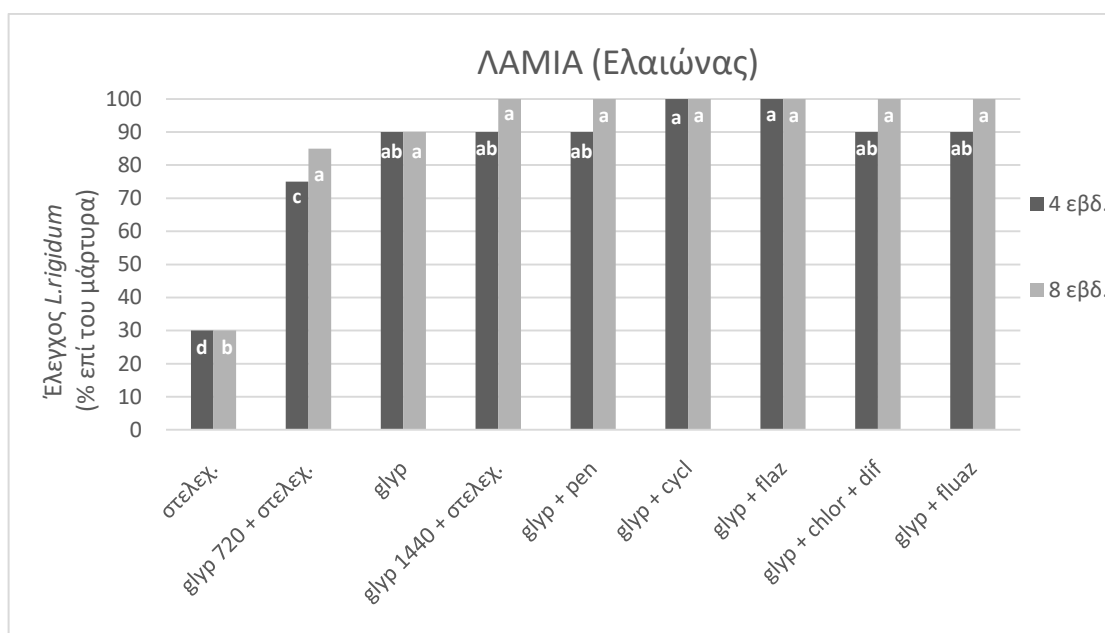


**Γράφημα 36. Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου (στελεχ.), glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyp 720 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) (glyp), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyp 1440 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + pendimethalin (glyp + pen), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + cycloxydim (glyp + cycl), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + flazasulfuron (glyp + flaz), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + chlorotoluron + diflufenican (glyp + chlor + dif), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + fluazifop-p-butyl, (glyp + fluaz) για τον έλεγχο του *L. rigidum* σε ελαιώνα στην περιοχή του Αιτωλικού, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p < 0,05) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή.**

Στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Αιτωλικού δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων glyphosate χωρίς την εφαρμογή άλλου ζιζανιοκτόνου και σε συνδυασμό ή όχι εφαρμογής στελεχοκοπής. Επίσης, δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνδυασμών του glyphosate με άλλα ζιζανιοκτόνα.

Στον πειραματικό αγρό στην περιοχή της Λαμίας, ήδη από τις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή, το glyphosate στη δόση 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> σε συνδυασμό με flazasulfuron και cycloxydim οδήγησε σε πλήρη έλεγχο του ζιζανίου (Γράφημα 37). Επίσης, υψηλή αποτελεσματικότητα (90%) παρουσίασαν η εφαρμογή του glyphosate στη δόση 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> και ο συνδυασμός του με στελεχοκοπή ή τα υπόλοιπα ζιζανιοκτόνα. Η χαμηλή δόση glyphosate σε συνδυασμό με στελεχοκοπή έδωσε επίσης καλά αποτελέσματα ελέγχου. Στις οκτώ εβδομάδες μετά τη μεταχείριση, το glyphosate στη δόση 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> με στελεχοκοπή, pendimethalin, cycloxydim,

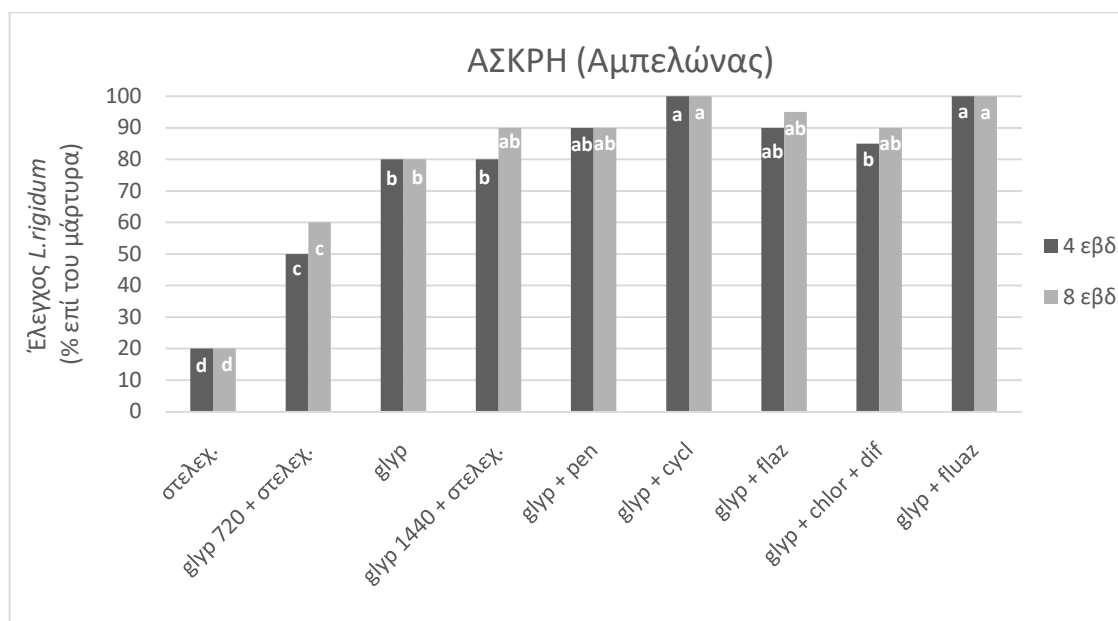
flazasulfuron, chlorotoluron + diflufenican και fluazifop-p-butyl οδήγησε σε πλήρη έλεγχο του ζιζανίου. Η αποτελεσματικότητα της χαμηλής δόσης glyphosate σε συνδυασμό με στελεχοκοπή δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά από τις υπόλοιπες επεμβάσεις ζιζανιοκτόνων στις οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή. Τέλος, η στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου δεν ήταν αποτελεσματική.



**Γράφημα 37. Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου (στελεχ.), glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyph 720 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) (glyph), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyph 1440 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + pendimethalin (glyph + pen), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + cycloxydim (glyph + cycl), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + flazasulfuron (glyph + flaz), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + chlorotoluron + diflufenican (glyph + chlor + dif), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + fluazifop-p-butyl (glyph + fluaz)] για τον έλεγχο του *L. rigidum* σε ελαιώνα στην περιοχή της Λαμίας, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p < 0,05) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή.**

Στον πειραματικό αγρό στην περιοχή της Άσκρης στην Βοιωτία (Γράφημα 38), ήδη από τις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή, το glyphosate στη δόση 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> σε συνδυασμό με cycloxydim και fluazifop-p-butyl οδήγησε σε πλήρη έλεγχο του ζιζανίου. Η εφαρμογή του glyphosate στη δόση 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> και ο συνδυασμός του με στελεχοκοπή ή τα υπόλοιπα ζιζανιοκτόνα παρουσίασαν αποτελεσματικότητα από 80% έως 95%, χωρίς να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Η χαμηλή δόση glyphosate σε συνδυασμό με στελεχοκοπή παρουσίασε χαμηλή

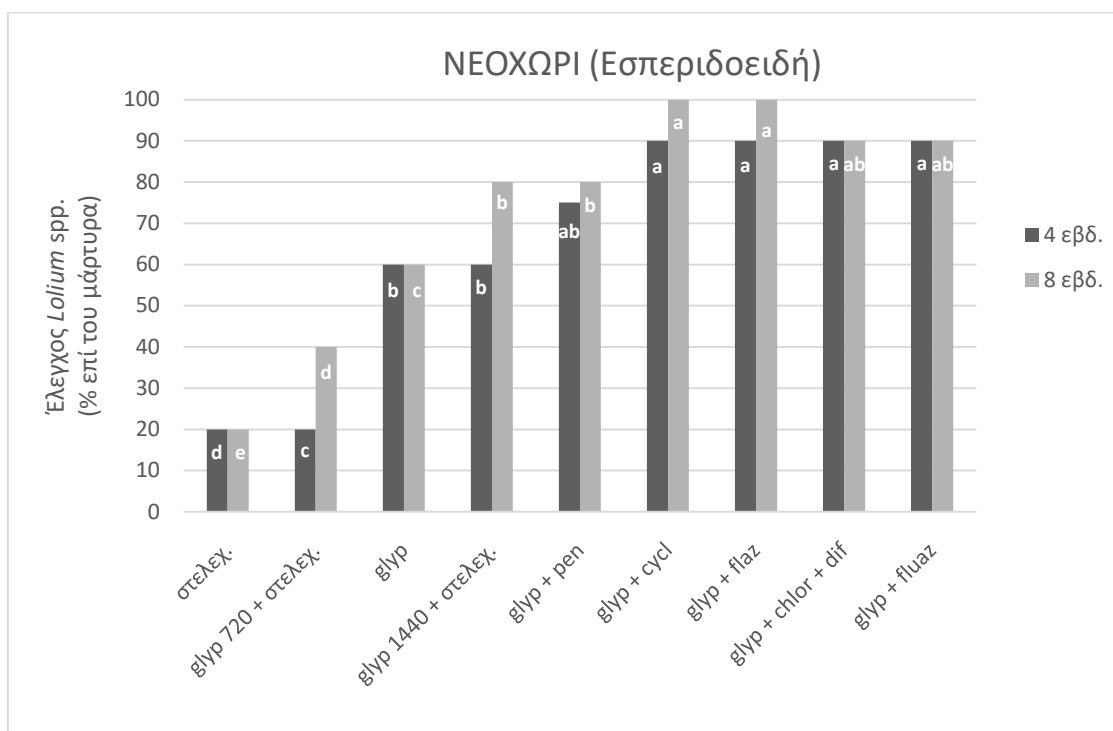
αποτελεσματικότητα (50-60%), ενώ η στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου δεν ήταν αποτελεσματική ως προς τον έλεγχο της ήρας.



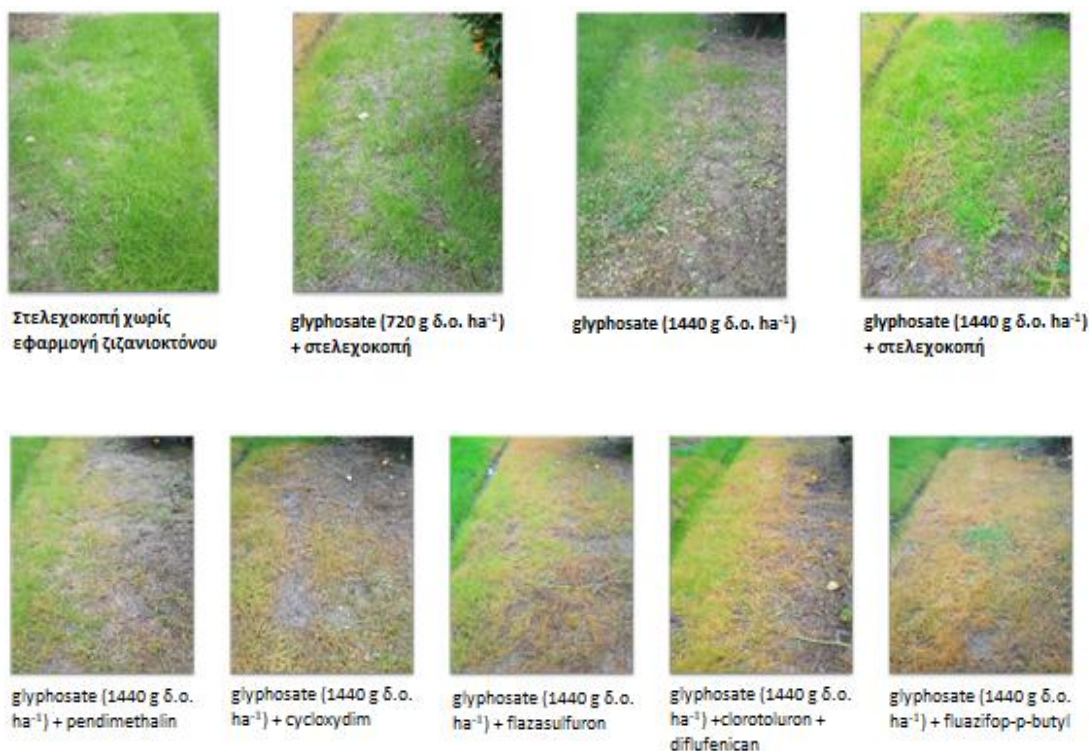
**Γράφημα 38.** Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου (στελεχ.), glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyph 720 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) (glyph), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyph 1440 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + pendimethalin (glyph + pen), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + cycloxydim (glyph + cycl), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + flazasulfuron (glyph + flaz), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + chlorotoluron + diflufenican (glyph + chlor + dif), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + fluazifop-p-butyl, (glyph + fluaz)] για τον έλεγχο του *L. rigidum* σε αμπελώνα στην περιοχή της Άσκρις, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p < 0,05) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή.

Στον πειραματικό αγρό στην περιοχή του Νεοχωρίου στην Αιτωλοακαρνανία (Γράφημα 39), στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή, οι συνδυασμοί του glyphosate με cycloxydim, flazasulfuron, chlortoluron + diflufenican και fluazifop-p-butyl κατάφεραν να ελέγξουν αποτελεσματικά την ήρα (Εικόνα 22). Επιπρόσθετα, το glyphosate στη δόση 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> χωρίς αλλά και σε συνδυασμό με τη στελεχοκοπή είχε ως αποτέλεσμα το ίδιο ποσοστό ελέγχου. Το glyphosate στη χαμηλή δόση με στελεχοκοπή, αλλά και η στελεχοκοπή από μόνη της, δεν κατάφεραν να ελέγξουν την ήρα. Στις οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή, οι συνδυασμοί του glyphosate με cycloxydim και flazasulfuron οδήγησαν σε πλήρη έλεγχο του ζιζανίου. Το glyphosate στη δόση 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> σε συνδυασμό με τη

στελεχοκοπή έδωσε ποσοστό ελέγχου της ήρας 80%. Η στελεχοκοπή από μόνη της δεν ήταν αποτελεσματική και σε αυτήν την περίπτωση.



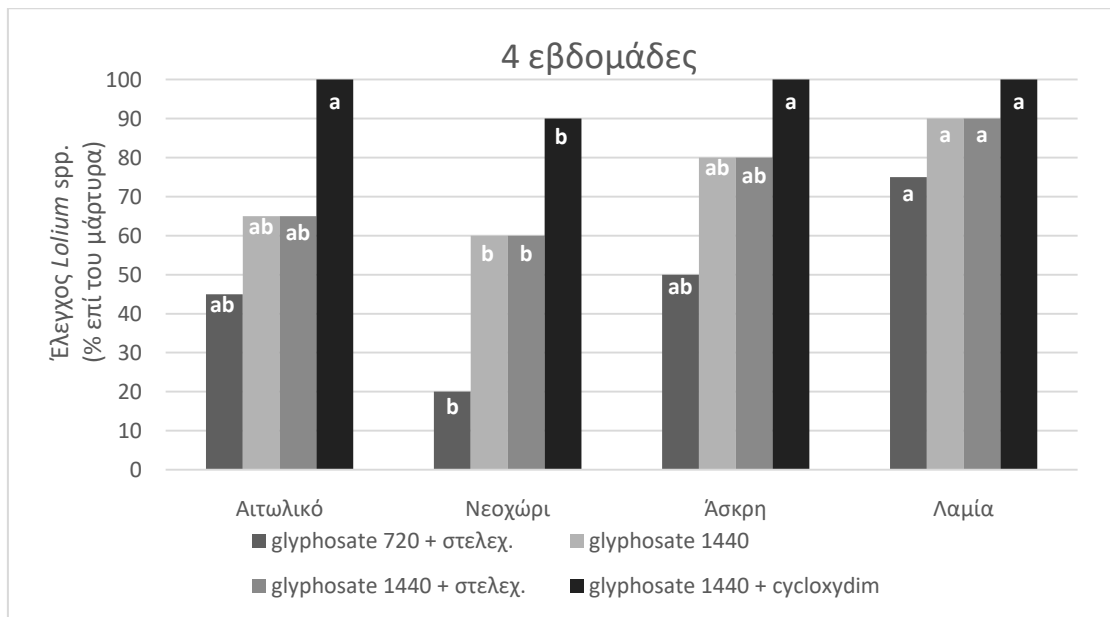
Γράφημα 39. Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου (στελεχ.), glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + στελεχοκοπή (glyph 720 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) (glyph), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + στελεχοκοπή (glyph 1440 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + pendimethalin (glyph + pen), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + cycloxydim (glyph + cycl), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + flazasulfuron (glyph + flaz), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + chlorotoluron + diflufenican (glyph + chlor + dif), glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) + fluazifop-p-butyl, (glyph + fluaz)] για τον έλεγχο του *L. rigidum* σε δενδρώνια εσπεριδοειδών στην περιοχή του Νεοχωρίου, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d, e επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p < 0,05) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή.



**Εικόνα 22. Σύγκριση διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή χωρίς εφαρμογή ζιζανιοκτόνου (στελεχ.), glyphosate (720 g δ.ο./ha) + στελεχοκοπή (glyp 720 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) (glyp), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + στελεχοκοπή (glyp 1440 + στελεχ.), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + pendimethalin (glyp + pen), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + cycloxydim (glyp + cycl), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + flazasulfuron (glyp + flaz), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + chlorotoluron + diflufenican (glyp + chlor + dif), glyphosate (1440 g δ.ο./ha) + fluazifop-p-butyl, (glyp + fluaz)] για τον έλεγχο του *L. rigidum* τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον δενδρώνα με εσπεριδοειδή στην περιοχή του Νεοχωρίου, Αιτωλοακαρνανίας.**

Στα Γραφήματα 40 και 41 παρουσιάζεται η σύγκριση ανά περιοχή για τις επεμβάσεις του glyphosate στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή, αντίστοιχα. Συγκεκριμένα, πραγματοποιείται σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων του glyphosate στην υψηλή δόση, του glyphosate στις δύο δόσεις σε συνδυασμό με στελεχοκοπή και του glyphosate σε συνδυασμό με cycloxydim. Όπως προκύπτει από τα δύο γραφήματα, υπάρχει παραλλακτικότητα μεταξύ των πληθυσμών ήρας των τεσσάρων πειραματικών αγρών ως προς την ευαισθησία στο glyphosate. Οι μεγαλύτερες διαφορές παρατηρούνται στην επέμβαση της χαμηλής δόσης glyphosate σε συνδυασμό με στελεχοκοπή. Στην επέμβαση αυτή στις 4 εβδομάδες μετά την εφαρμογή διαφέρουν στατιστικά σημαντικά οι πληθυσμοί δύο περιοχών μεταξύ τους (Λαμία-Νεοχώρι), ενώ στις οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή όλοι οι πληθυσμοί παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

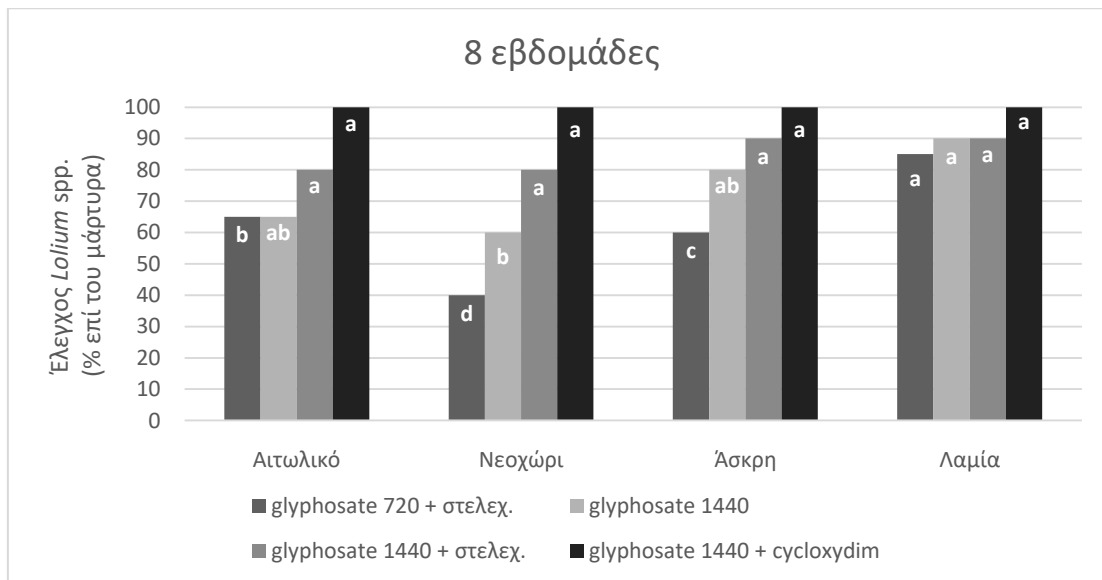




**Γράφημα 40.** Σύγκριση των πληθυσμών ήρας των τεσσάρων περιοχών (Αιτωλικό, Νεοχώρι, Άσκη, Λαμία) ως προς την αποτελεσματικότητα των επεμβάσεων του glyphosate στην υψηλή δόση (glyphosate 1440), του glyphosate στις δύο δόσεις σε συνδυασμό με στελεχοκοπή (glyphosate 720 + στελεχ. & glyphosate 1440 + στελεχ.) και glyphosate σε συνδυασμό με cycloxydim (glyphosate + cycloxydim) στις τέσσερις εβδομάδες μετά τις εφαρμογές. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των μέσων της κάθε επέμβασης ανά περιοχή.

Για την επέμβαση της υψηλής δόσης glyphosate χωρίς στελεχοκοπή υπάρχουν επίσης διαφορές ως προς τον έλεγχο των πληθυσμών ήρας με δύο περιοχές να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (Λαμία-Νεοχώρι). Ωστόσο, μικρότερες είναι οι διαφορές ως προς την αποτελεσματικότητα, στις περιπτώσεις που η υψηλή δόση glyphosate συνδυάζεται με στελεχοκοπή και εφαρμογές cycloxydim. Στις δύο αυτές επεμβάσεις στατιστικά σημαντικές διαφορές παρουσιάζει μόνο ο πληθυσμός του Νεοχωρίου με τις υπόλοιπες περιοχές.

Ο πληθυσμός ήρας στον δενδρώνα εσπεριδοειδών του Νεοχωρίου παρουσιάζει την μικρότερη ευαισθησία στις εφαρμογές του glyphosate. Ακολουθεί ως επόμενος λιγότερο ευαίσθητος ο πληθυσμός ήρας από το Αιτωλικό. Τέλος, ο πληθυσμός ήρας από τον ελαιώνα στην περιοχή της Λαμίας παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ευαισθησία στις εφαρμογές του glyphosate, καθώς ακόμα και στη χαμηλή δόση η αποτελεσματικότητα υπερβαίνει το 70%.



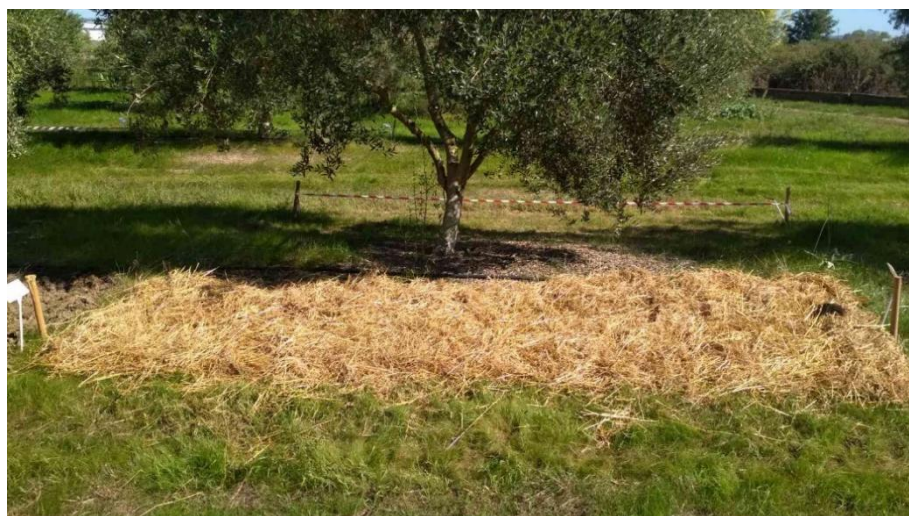
**Γράφημα 41.** Σύγκριση των πληθυσμών ήρας των τεσσάρων περιοχών (Αιτωλικό, Νεοχώρι, Άσκη, Λαμία) ως προς την αποτελεσματικότητα των επεμβάσεων του glyphosate στην υψηλή δόση (glyphosate 1440), του glyphosate στις δύο δόσεις σε συνδυασμό με στελεχοκοπή (glyphosate 720 + στελεχ. & glyphosate 1440 + στελεχ.) και glyphosate σε συνδυασμό με cycloxydim (glyphosate + cycloxydim) στις οκτώ εβδομάδες μετά τις εφαρμογές. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των μέσων της κάθε επέμβασης ανά περιοχή.

#### 4.2.2.2 Αξιολόγηση διαχείρισης ανθεκτικού πληθυσμού *L. rigidum* με μη χημικά μέσα

Στις Εικόνες 23, 24 και 25 φαίνεται ενδεικτικά μία άποψη των πειραματικών τεμαχίων των επεμβάσεων των καλλιεργειών κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι & βρώμη), της στελεχοκοπής και της εδαφοκάλυψης με επίστρωμα σανού μία εβδομάδα μετά την εγκατάσταση του πειράματος. Τα φυτά ήρας στις τέσσερις επεμβάσεις δεν είχαν αναβλαστήσει ή διαπεράσει το επίστρωμα σανού αντίστοιχα. Η αποτελεσματικότητα στον έλεγχο της ήρας για τις τρεις παραπάνω επεμβάσεις δεν αξιολογήθηκε σε αυτό το στάδιο.



**Εικόνα 23. Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι & βρώμη) μία εβδομάδα μετά την εγκατάσταση του πειράματος στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. Τα φυτά ήρας δεν έχουν αναβλαστήσει.**

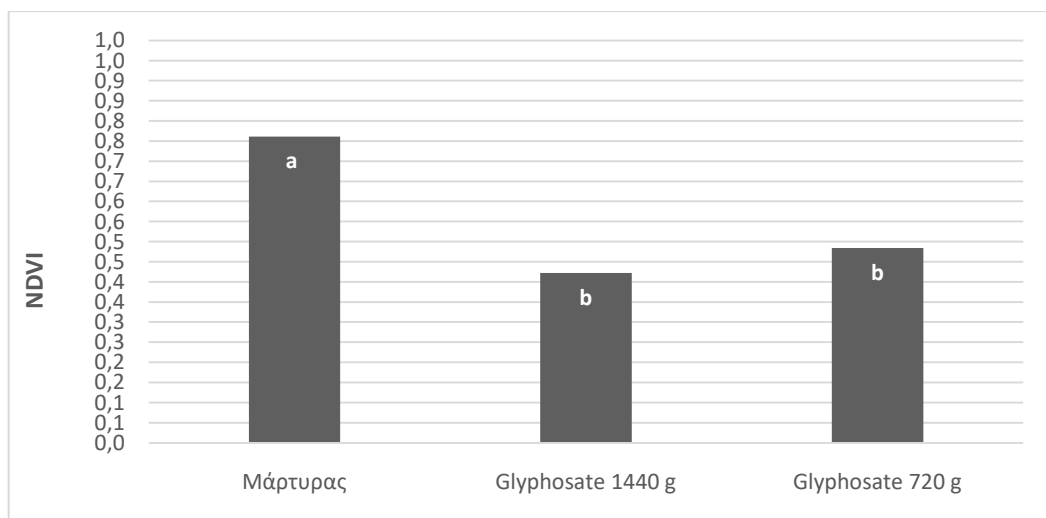


**Εικόνα 24. Επέμβαση εδαφοκάλυψης με σανό μία εβδομάδα μετά την εγκατάσταση του πειράματος στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. Τα φυτά ήρας δεν έχουν διαπεράσει το επίστρωμα σανού.**



**Εικόνα 25. Επέμβαση στελεχοκοπής μία εβδομάδα μετά την εγκατάσταση του πειράματος στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας. Τα κομμένα φυτά ήρας δεν έχουν αναβλαστήσει.**

Η αξιολόγηση των εφαρμογών του glyphosate, μία εβδομάδα μετά τις εφαρμογές, πραγματοποιήθηκε βάσει των μετρήσεων του δείκτη βλάστησης NDVI. Ο μέσος όρος των μετρήσεων NDVI για τις επεμβάσεις του μάρτυρα και των δύο δόσεων glyphosate παρουσιάζονται στο Γράφημα 42.



**Γράφημα 42. Μέσος όρος μετρήσεων NDVI για την επέμβαση του μάρτυρα και τις επεμβάσεις των δύο δόσεων glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> και 720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) στη μία εβδομάδα μετά την εγκατάσταση του πειράματος. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές (p < 0,05).**

Όπως προκύπτει από το Γράφημα 42, οι τιμές NDVI για τις δύο επεμβάσεις του glyphosate είναι μικρότερες και διαφέρουν στατιστικά σημαντικά από την τιμή NDVI στην επέμβαση του μάρτυρα. Ανάμεσα στις δύο δόσεις glyphosate, η επέμβαση της υψηλής δόσης παρουσιάζει χαμηλότερη τιμή NDVI, δίχως όμως να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την τιμή NDVI της χαμηλότερης δόσης glyphosate.

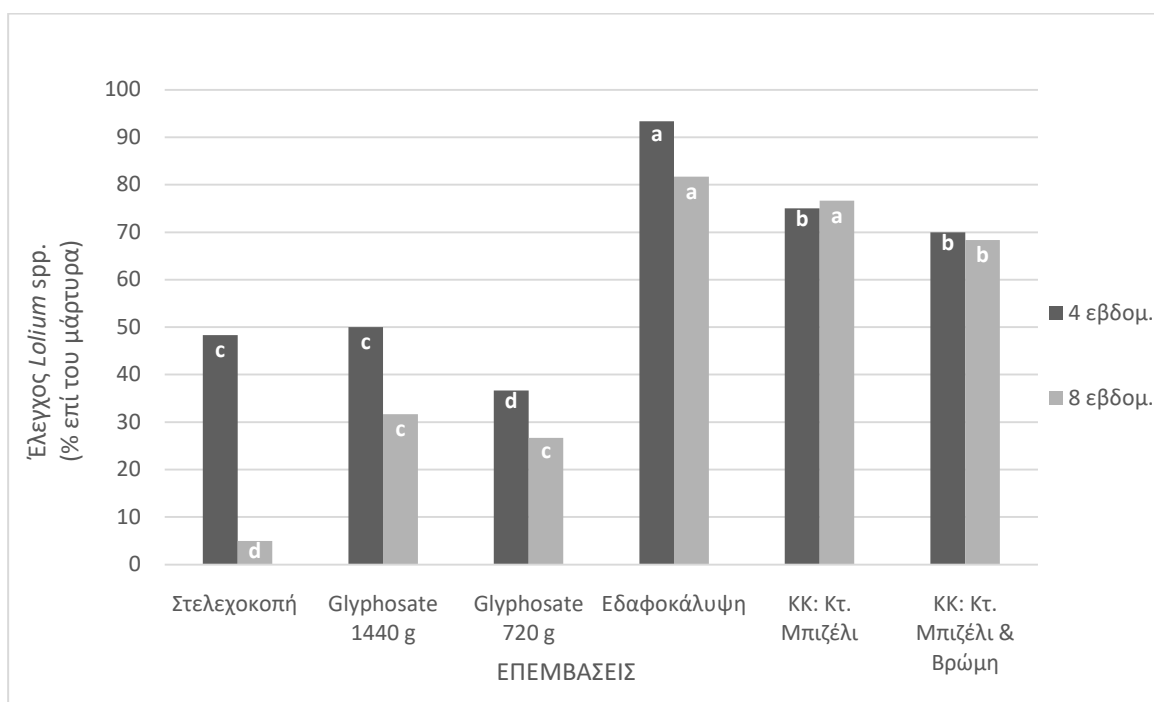
Στα πειραματικά τεμάχια των επεμβάσεων glyphosate μία εβδομάδα μετά την εφαρμογή, παρατηρήθηκε πως τα φυτά ήρας παρουσίαζαν συμπτώματα χλώρωσης (Εικόνα 26). Η εικόνα των φυτών ήρας στις δύο επεμβάσεις είναι σε αντιστοιχία με τις μετρήσεις NDVI. Τα πράσινα και εύρωστα φυτά ήρας στην επέμβαση του μάρτυρα παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές NDVI από τα χλωρωτικά φυτά στα πειραματικά τεμάχια των επεμβάσεων glyphosate. Ο δείκτης NDVI υποδεικνύει την επίδραση των εφαρμογών glyphosate στα φυτά ήρας μία εβδομάδα μετά την εφαρμογή, δίχως να παρατηρείται ολική νέκρωση των φυτών.



**Εικόνα 26. Τα φυτά ήρας παρουσιάζουν συμπτώματα χλώρωσης μία εβδομάδα μετά την εφαρμογή της δόσης glyphosate  $1440 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$  στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**

Κατά την αξιολόγηση των επεμβάσεων τέσσερις εβδομάδες μετά την εγκατάσταση του πειράματος (Γράφημα 43), η υψηλότερη αποτελεσματικότητα παρατηρήθηκε για την επέμβαση της εδαφοκάλυψης με σανό μηδικής (93%) και διέφερε στατιστικά σημαντικά από τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Μόνο πολύ λίγα μεμονωμένα φυτά ήρας είχαν τη δυνατότητα να διαπεράσουν το επίστρωμα σανού σε αυτό το στάδιο (Εικόνα

27). Οι επεμβάσεις των καλλιεργειών κάλυψης παρουσίασαν παρόμοια αποτελεσματικότητα 75% και 70% για την επέμβαση της καλλιέργειας του κτηνοτροφικού μπιζελιού και την επέμβαση συγκαλλιέργειας κτηνοτροφικού μπιζελιού και βρώμης, αντίστοιχα. Λίγα φυτά ήρας είχαν αναβλαστήσει στα πειραματικά τεμάχια των επεμβάσεων των καλλιεργειών κάλυψης σε σχέση με την πυκνότητα των φυτών ήρας στα πειραματικά τεμάχια του μάρτυρα (Εικόνα 28). Οι τιμές αποτελεσματικότητας των καλλιεργειών κάλυψης δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, αλλά διέφεραν στατιστικά σημαντικά από τις υπόλοιπες επεμβάσεις.



Γράφημα 43. Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας έξι διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή, εφαρμογή glyphosate 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, εφαρμογή glyphosate 720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, εδαφοκάλυψη με επίστρωμα σανού μηδικής, καλλιέργεια κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι), καλλιέργεια κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι + βρώμη)] ως προς τον έλεγχο του *L. rigidum* σε ελαιώνα στον Πύργο Ηλείας στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εγκατάσταση του πειράματος. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις και οκτώ εβδομάδες από την εγκατάσταση του πειράματος.



**Εικόνα 27. Επέμβαση εδαφοκάλυψης με σανό μηδικής τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**



**Εικόνα 28. Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι & βρώμη) τέσσερις εβδομάδες μετά την σπορά στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**

Η επέμβαση της στελεχοκοπής παρουσίασε μέτρια αποτελεσματικότητα (48%) 4 εβδομάδες μετά την εφαρμογή της, καθώς πολλά από τα φυτά ήρας στα αντίστοιχα πειραματικά τεμάχια είχαν αναβλαστήσει (Εικόνα 29). Επίσης, η εφαρμογή της υψηλής δόσης glyphosate ( $1440 \text{ g d.o. ha}^{-1}$ ) παρουσίασε μέτρια αποτελεσματικότητα, η οποία δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά από την αποτελεσματικότητα της στελεχοκοπής, καθώς το 50% των φυτών ήρας είχαν επιβιώσει (Εικόνα 30). Τέλος, κατά την αξιολόγηση των επεμβάσεων στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εγκατάσταση του πειράματος, τη χαμηλότερη αποτελεσματικότητα παρουσίασε η εφαρμογή της δόσης  $720 \text{ g glyphosate ha}^{-1}$ , καθώς στα πειραματικά τεμάχια της σχετικής επέμβασης τα φυτά ήρας επιβίωσαν σε ποσοστό 63% (Εικόνα 31).



**Εικόνα 29. Επέμβαση στελεχοκοπής τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**



**Εικόνα 30. Επέμβαση glyphosate ( $1440 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$ ) τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**





**Εικόνα 31. Επέμβαση glyphosate ( $720 \text{ g } \delta.\text{o. ha}^{-1}$ ) τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**

Κατά την αξιολόγηση των επεμβάσεων οκτώ εβδομάδες μετά την εγκατάσταση του πειράματος (Γράφημα 43), παρατηρήθηκε πως την υψηλότερη αποτελεσματικότητα στον έλεγχο της ήρας παρουσίασε η επέμβαση της εδαφοκάλυψης (Εικόνα 32) με σανό (82%). Ωστόσο, σε αυτό το στάδιο δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά από την αποτελεσματικότητα της επέμβασης της καλλιέργειας κάλυψης κτηνοτροφικού μπιζελιού (77%) (Εικόνα 33). Η επέμβαση της συγκαλλιέργειας κτηνοτροφικού μπιζελιού και βρώμης (Εικόνα 34) παρουσίασε λίγο χαμηλότερη αποτελεσματικότητα (68%), η οποία διέφερε στατιστικά σημαντικά από τις υπόλοιπες επεμβάσεις.



**Εικόνα 32. Επέμβαση εδαφοκάλυψης με σανό μηδικής οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**



**Εικόνα 33. Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι) οκτώ εβδομάδες μετά τη σπορά στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**



**Εικόνα 34. Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό, μπιζέλι & βρώμη) οκτώ εβδομάδες μετά τη σπορά στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**

Οι εφαρμογές του ζιζανιοκτόνου glyphosate στις δόσεις  $1440 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$  και  $720 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$  παρουσίασαν χαμηλότερη αποτελεσματικότητα, 32% και 27% αντίστοιχα, από τις υπόλοιπες επεμβάσεις, από τις οποίες διέφεραν στατιστικά σημαντικά. Οι δύο δόσεις δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους και παρουσίασαν χαμηλότερη αποτελεσματικότητα από την αντίστοιχη στην αξιολόγηση των τεσσάρων εβδομάδων. Όπως φαίνεται στις Εικόνες 35-36 από τα πειραματικά τεμάχια των εφαρμογών glyphosate, αρκετά φυτά ήρας ξεπέρασαν την αρχική επίδραση του ζιζανιοκτόνου και απέκτησαν την αρχική ευρωστία τους. Τέλος, η επέμβαση της στελεχοκοπής παρουσίασε πολύ χαμηλή αποτελεσματικότητα. Τα πειραματικά τεμάχια της στελεχοκοπής σε αυτό το στάδιο ουσιαστικά δεν παρουσίαζαν διαφορές με τον μάρτυρα. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 37 δεν είναι δυνατή η διάκριση των φυτών ήρας εντός και εκτός του πειραματικού τεμαχίου της στελεχοκοπής. Όπως αναφέρθηκε, η εφαρμογή στελεχοκοπής επαναλήφθηκε σε αυτό το στάδιο μετά τη λήψη των μετρήσεων.



**Εικόνα 35. Επέμβαση glyphosate ( $1440 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$ ) στις οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**

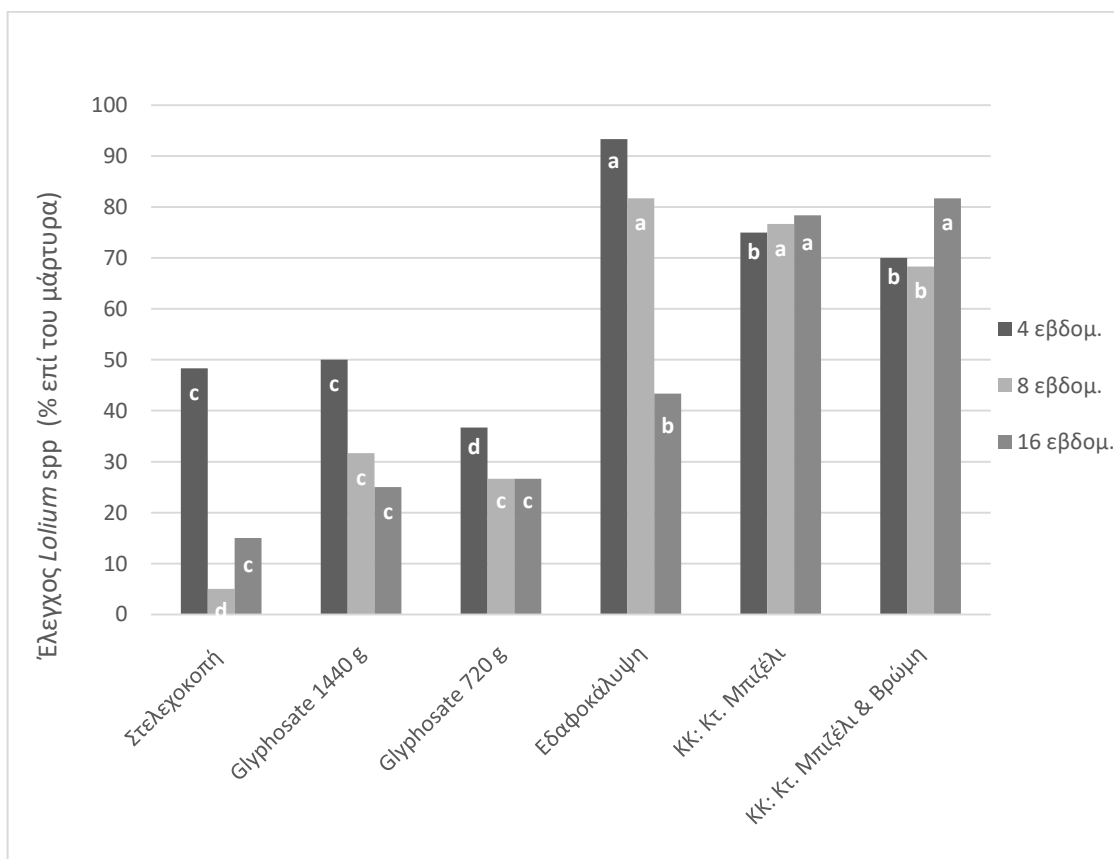


**Εικόνα 36. Επέμβαση glyphosate ( $720 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$ ) στις οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**



**Εικόνα 37. Επέμβαση στελεχοκοπής στις οκτώ εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**

Στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την εγκατάσταση του πειράματος, οι επεμβάσεις των καλλιεργειών κάλυψης (Εικόνες 38-39) παρουσίασαν την υψηλότερη αποτελεσματικότητα (78% και 82%) ως προς τον έλεγχο της ήρας, διαφέροντας στατιστικά σημαντικά από τις υπόλοιπες επεμβάσεις (Γράφημα 44). Η επέμβαση της εδαφοκάλυψης παρουσίασε μέτρια αποτελεσματικότητα (43%), καθώς, όπως φαίνεται στην Εικόνα 40, αρκετά φυτά ήρας είχαν διαπεράσει το επίστρωμα σανού στο στάδιο αυτό. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα της εφαρμογής της εδαφοκάλυψης παρέμεινε υψηλότερη των εφαρμογών glyphosate (Εικόνες 41-42), από τις οποίες διέφερε και στατιστικά σημαντικά. Η αποτελεσματικότητα των εφαρμογών glyphosate παρέμεινε στο ίδιο επίπεδο που παρουσίασαν κατά την αξιολόγηση στις οκτώ εβδομάδες. Η αποτελεσματικότητα της εφαρμογής της στελεχοκοπής (Εικόνα 43) (2 εφαρμογές: στην εγκατάσταση του πειράματος και οκτώ εβδομάδες αργότερα) ήταν και σε αυτό το στάδιο πολύ χαμηλή (15%).



**Γράφημα 44.** Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας έξι διαφορετικών επεμβάσεων [στελεχοκοπή, εφαρμογή glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>), εφαρμογή glyphosate 720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>, εδαφοκάλυψη με επίστρωμα σανού μηδικής, καλλιέργεια κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι), καλλιέργεια κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι + βρώμη)] ως προς τον έλεγχο του *L. rigidum* σε ελαιώνα στον Πύργο Ηλείας στις τέσσερις, οκτώ και δεκαέξι εβδομάδες από την εγκατάσταση του πειράματος. Τα μικρά λατινικά γράμματα a, b, c, d επισημαίνουν τις στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των μέσων, στις τέσσερις, οκτώ και δεκαέξι εβδομάδες από την εγκατάσταση του πειράματος.



**Εικόνα 38. Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι & βρώμη) στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την σπορά στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**



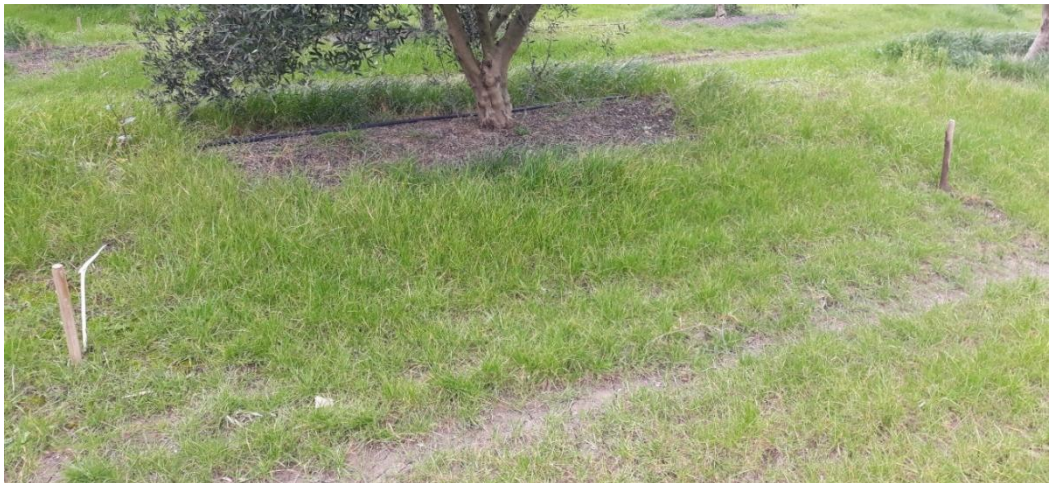
**Εικόνα 39. Επέμβαση καλλιέργειας κάλυψης (κτηνοτροφικό μπιζέλι) στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την σπορά στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**



**Εικόνα 40. Επέμβαση εδαφοκάλυψης με σανό στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**



**Εικόνα 41. Επέμβαση glyphosate (1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**



**Εικόνα 42. Επέμβαση glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**



**Εικόνα 43. Επέμβαση στελεχοκοπής στις δεκαέξι εβδομάδες μετά την 1<sup>η</sup> εφαρμογή και στις οκτώ εβδομάδες μετά τη 2<sup>η</sup> εφαρμογή στον πειραματικό ελαιώνα στην περιοχή του Πύργου Ηλείας.**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες τα ζιζανιοκτόνα έχουν αποτελέσει την κύρια μέθοδο διαχείρισης των ζιζανίων στα γεωργικά συστήματα. Η ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα είναι η εξελικτική απάντηση των ζιζανιοπληθυσμών στη συνεχή και συχνά μη ορθολογική χρήση τους. Λαμβάνοντας υπόψη ότι ελάχιστα ζιζανιοκτόνα με νέο τρόπο δράσης έχουν κυκλοφορήσει στο εμπόριο τις προηγούμενες δύο δεκαετίες (Duke, 2012), είναι απαραίτητη η λελογισμένη και αποτελεσματική χρήση των διαθέσιμων ζιζανιοκτόνων. Σήμερα, οι ανθεκτικοί βιότυποι με 513 καταγεγραμμένες περιπτώσεις ανθεκτικότητας σε 267 είδη ζιζανίων σε παγκόσμιο επίπεδο, απειλούν την αειφορική παραγωγή τροφίμων (Heap, 2022). Το είδος *Lolium rigidum* ξεχωρίζει μεταξύ των ανθεκτικών ειδών με ανθεκτικότητα σε 14 διαφορετικούς τρόπους δράσης. Από τα παραπάνω καθίσταται σαφές ότι η επιβεβαίωση της ανθεκτικότητας και η συστηματική διερεύνηση των μηχανισμών της μπορεί να οδηγήσει σε βαθύτερη κατανόηση του φυσιολογικού, μοριακού και γενετικού υπόβαθρου της και κατ'επέκταση στην ανάπτυξη στρατηγικών για την έγκαιρη και αποτελεσματική διαχείρισή της. Κάτι τέτοιο απαιτεί γρήγορες μεθόδους ανίχνευσης των ανθεκτικών βιότυπων ζιζανίων. Ένας από τους κύριους στόχους της παρούσας διατριβής υπήρξε η επιβεβαίωση της ύπαρξης ανθεκτικότητας και η περαιτέρω διερεύνηση του επιπέδου ανθεκτικότητας της ήρας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate με πειράματα σε φυτοδοχεία και χρήση διαφορετικών δοκιμών.

Όπως είναι γνωστό, το glyphosate αποτελεί ένα από τα κύρια ζιζανιοκτόνα για τη διαχείριση των ζιζανίων στις πολυετείς καλλιέργειες της Ελλάδας με αποτέλεσμα η συχνή και πολλές φορές αποκλειστική εφαρμογή του για αρκετά χρόνια να έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη ανθεκτικών βιότυπων ζιζανίων στο συγκεκριμένο ζιζανιοκτόνο (Duke & Powles, 2008). Χαρακτηριστικό παράδειγμα έχει αποτελέσει το ζιζάνιο της κόνουζας (Travlos & Chachalis, 2010). Την περίπτωση της κόνουζας ακολούθησε και το *Lolium* spp. με μια σειρά αναφορών των καλλιεργητών της Στερεάς Ελλάδας και της Πελοποννήσου για μειωμένο έλεγχο του ζιζανίου στις δενδρώδεις καλλιέργειές τους ύστερα από εφαρμογή glyphosate. Έχοντας ως αφετηρία λοιπόν τα παράπονα των καλλιεργητών, οι πρώτες περιπτώσεις ανθεκτικών φυτών ήρας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate επιβεβαιώθηκαν και διερευνήθηκαν περαιτέρω όπως παρουσιάζεται αναλυτικά στο Κεφάλαιο 4.1. της



παρούσας διατριβής. Συγκεκριμένα, επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη και προσδιορίστηκε το επίπεδο της ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate σε τέσσερις ελληνικούς βιότυπους λεπτής ήρας από ελαιώνες, αμπελώνες και δενδρώνες εσπεριδοειδών στους νομούς Αιτ/νίας, Βοιωτίας και Φθιώτιδας.

Από τα αποτελέσματα του αρχικού προκαταρκτικού πειράματος διερεύνησης ύπαρξης ανθεκτικών βιότυπων ήρας (Κεφ. 4.1.1.1.) κατά το οποίο εξετάστηκαν 54 βιότυποι ήρας, οι 28 μετά από εφαρμογή glyphosate στη συνιστώμενη δόση ( $720 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$ ) έδωσαν τιμές νωπού βάρους ήρας (εκφρασμένου ως ποσοστού του αφέκαστου μάρτυρα) μεταξύ 30 και 50%, αδυνατώντας να ελεγχθούν αποτελεσματικά από το ζιζανιοκτόνο.

Από τα αποτελέσματα του Πειράματος Α (Κεφ. 4.1.1.2.1) που ακολούθησε και κατά το οποίο εξετάστηκαν 15 βιότυποι (F2 γενιά) με εφαρμογή τριών δόσεων glyphosate [υποδιπλάσια συνιστώμενης ( $x/2$ ), συνιστώμενη ( $x$ ), διπλάσια συνιστώμενης ( $2x$ )] προέκυψαν τα παρακάτω ευρήματα: οι βιότυποι αναφοράς με επιβεβαιωμένη ανθεκτικότητα SPN.1, SPN.2, AUS.1, και AFR. έδωσαν παραπλήσιες τιμές σε σύγκριση με το Προκαταρκτικό Πείραμα και υψηλότερες σε σύγκριση με τους ελληνικούς βιότυπους του Πειράματος Α.

Από τους ελληνικούς βιότυπους υψηλότερες τιμές νωπού βάρους στη συνιστώμενη δόση παρουσίασαν οι βιότυποι ΑΙΤ.1 και ΒΟΙ.1 και ακολούθησαν οι ΦΘΙ.3 και ΑΙΤ.15. Οι μετρήσεις νωπού βάρους στη συνιστώμενη δόση για τους παραπάνω βιότυπους έδωσαν επίσης παραπλήσιες τιμές σε σύγκριση με το Προκαταρκτικό Πείραμα και μικρότερες σε σύγκριση με τους βιότυπους αναφοράς του Πειράματος Α. Κάτι τέτοιο μπορεί να δικαιολογηθεί και από το γεγονός ότι οι βιότυποι από το εξωτερικό είναι βιότυποι των οποίων η ανθεκτικότητα είναι ήδη επιβεβαιωμένη. Επιπλέον, οι διαφορές στο επίπεδο ανθεκτικότητας θα μπορούσαν να σχετίζονται και με διαφορετικές καλλιεργητικές πρακτικές και διαφορετικά ζιζανιοκτόνα που χρησιμοποιούνται μεταξύ των διαφορετικών χωρών.

Το μοτίβο δόσης-απόκρισης των ανθεκτικών βιότυπων ήρας, ως προς το επίπεδο της ανθεκτικότητας του glyphosate διατηρήθηκε και στο Πείραμα Β (Κεφ. 4.1.1.2.2). Αναλυτικά, οι δύο βιότυποι από την Αυστραλία και την Ισπανία (AUS.1 και SPN.2, αντίστοιχα) ήταν 14 έως 19 φορές πιο ανθεκτικοί, οι δύο από τους τέσσερις ελληνικούς πληθυσμούς (ΑΙΤ.1 και ΒΟΙ.1) ήταν 7 έως 9 φορές και οι υπόλοιποι δύο

(ΦΘΙ.3 και ΑΙΤ.15) ήταν 2 έως 3 φορές πιο ανθεκτικοί στο glyphosate σε σύγκριση με τον ευαίσθητο πληθυσμό αναφοράς (ΑΤΤ.51).

Τα επίπεδα ανθεκτικότητας που ανιχνεύθηκαν στους βιότυπους της λεπτής ήρας της παρούσας εργασίας είναι συγκρίσιμα με εκείνα άλλων ανθεκτικών βιότυπων ήρας στον υπόλοιπο κόσμο. Συγκεκριμένα, στην Αυστραλία, οι δείκτες ανθεκτικότητας για τέσσερις πληθυσμούς *L. rigidum* κυμαίνονταν από 4 έως 11 βάσει των LD<sub>50</sub> τιμών τους (Powles *et al.*, 1998; Wakelin *et al.*, 2004). Η ανθεκτικότητα στο glyphosate των συγκεκριμένων πληθυσμών συσχετίστηκε με μειωμένη μετακίνηση του ζιζανιοκτόνου. Παρομοίως, ανθεκτικοί πληθυσμοί *L. multiflorum* στην Καλιφόρνια, με ανθεκτικότητα λόγω τροποποίησης της θέσης δράσης (TSR), ήταν περίπου 2 έως 15 φορές πιο ανθεκτικοί στο glyphosate από τα ευαίσθητα φυτά, βάσει των GR<sub>50</sub> τιμών τους (Jasieniuk *et al.*, 2008). Αντίθετα, ένας ανθεκτικός πληθυσμός λεπτής ήρας με ίδιο μηχανισμό ανθεκτικότητας (TSR) παρουσίασε τιμές LD<sub>50</sub> που ήταν μόνο περίπου 2 έως 3 φορές υψηλότερες σε σύγκριση με τον ευαίσθητο πληθυσμό αναφοράς (Wakelin & Preston, 2006).

Ένας πληθυσμός λεπτής ήρας από τη Νότια Αφρική με μηχανισμούς ανθεκτικότητας που οφείλονταν τόσο σε τροποποίηση της θέσης δράσης (TSR) όσο και ανθεκτικότητα μη στοχευμένης δράσης (NTSR) αποδείχθηκε 14 φορές πιο ανθεκτικός στο glyphosate από τον ευαίσθητο βιότυπο αναφοράς (Yu *et al.*, 2007). Όπως είναι γνωστό, τα είδη του γένους *Lolium* είναι σταυρογονιμοποιούμενα και κατά συνέπεια διαφορετικοί μηχανισμοί ανθεκτικότητας μπορεί να προκύψουν λόγω διασταυρωτής γονιμοποίησης. Βάσει των GR<sub>50</sub> τιμών, ένας πληθυσμός λεπτής ήρας από το Όρεγκον με ανθεκτικότητα μη στοχευμένης δράσης (NTSR) και ένας πληθυσμός με ανθεκτικότητα στοχευμένης δράσης (TSR) από τη Χιλή εμφανίστηκαν και οι δύο 5 φορές πιο ανθεκτικοί στο glyphosate από τον ευαίσθητο πληθυσμό αναφοράς από το Όρεγκον (Perez-Jones *et al.*, 2005; 2007), ενώ δύο άλλοι πληθυσμοί *L. multiflorum* από τη Χιλή ήταν 2 και 4 φορές πιο ανθεκτικοί στο glyphosate από τον ευαίσθητο βιότυπο αναφοράς (Perez & Kogan 2003). Τέλος, δύο ανθεκτικοί πληθυσμοί λεπτής ήρας από αμπελώνες, παρουσίασαν 6 έως 11 φορές υψηλότερη ανθεκτικότητα στο glyphosate (Bostamam *et al.*, 2012).

Η διακύμανση στο επίπεδο ανθεκτικότητας που εμφανίζεται μεταξύ των ελληνικών ανθεκτικών βιότυπων στα πρώτα πειράματα (Προκαταρκτικό, Πείραμα Α) και ποσοτικοποιείται με τους δείκτες ανθεκτικότητας του Πειράματος Β θα μπορούσε να

συνδεθεί τόσο με διαφορετικούς μηχανισμούς ανθεκτικότητας όσο και με διαφορετικά επίπεδα πίεσης επιλογής (selection pressure).

**Για τη διαχείριση προβλημάτων ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα, είναι σημαντικό να υπάρχουν διαθέσιμες άμεσες και αξιόπιστες τεχνικές για την επιβεβαίωση της ανθεκτικότητας των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα.** Η παραδοσιακή μέθοδος που περιλαμβάνει την ανάπτυξη των πιθανά ανθεκτικών φυτών σε γλάστρες μαζί με φυτά που είναι γνωστό ότι είναι ευαίσθητα και στη συνέχεια την εφαρμογή ενός εύρους δόσεων ζιζανιοκτόνου (Burgos *et al.*, 2013) που ακολουθήθηκε και για τα πειράματα δόσης-απόκρισης της παρούσας διατριβής είναι αξιόπιστη και αποτελεσματική. Ταυτόχρονα όμως είναι και αρκετά απαιτητική από άποψη χώρου, χρόνου και ανθρώπινου δυναμικού. Επιπλέον, τα αποτελέσματά της μπορεί να εξαρτώνται από το στάδιο ανάπτυξης του ζιζανίου και τις φυσιολογικές ιδιότητες του glyphosate από άποψη σύνθεσης, βοηθητικών και επιφανειοδραστικών ουσιών και άλλων παραγόντων.

Αντίθετα, στις ταχείες δοκιμές, η ανθεκτικότητα των φυτών μπορεί να διερευνηθεί με μεθόδους *in vitro*, βιοχημικές μεθόδους, βιοδοκιμές σπόρων, ανάπτυξη των φυτών σε αδρανή υποστρώματα (Burgos *et al.*, 2013; Ghanizadeh *et al.*, 2015b) ή/και στην περίπτωση των αγρωστωδών ζιζανίων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ακόμη και τμήματα ήδη εγκατεστημένων φυτών, όπως για παράδειγμα γίνεται με τη μέθοδο που έχει περιγραφεί από τον Boutsalis (2001). Ωστόσο, ακόμη και αυτές οι μελέτες συνοδεύονται από περιορισμούς και πιθανότητα να χρειάζονται μεταφυτεύσεις σε φυτοδοχεία προκειμένου να ολοκληρωθούν. Ως εκ τούτου, ταχείες *in situ* δοκιμές για την ανίχνευση ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα συγκεντρώνουν περισσότερο ενδιαφέρον. Γενικά, ταχείες δοκιμές για τη διερεύνηση της ανθεκτικότητας ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα δεν έχουν χρησιμοποιηθεί συστηματικά μέχρι σήμερα στην Ελλάδα.

Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκε η βιοχημική μέθοδος του σικιμικού οξέος για την επιβεβαίωση της ανθεκτικότητας των ανθεκτικών βιότυπων ήρας που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα δόσης-απόκρισης του Πειράματος Β. Τα αποτελέσματα του πειράματος επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα των πειραμάτων δόσης-απόκρισης ως προς το επίπεδο ανθεκτικότητας. Συγκεκριμένα, οι βιότυποι AUS.1 και SPN.2 εμφάνισαν σημαντικά μικρότερες συγκεντρώσεις σικιμικού οξέος στις διαφορετικές συγκεντρώσεις glyphosate (0,1, 10, 50, 500 και 1000  $\mu\text{M}$ ) σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο ATT.S1. Αντίθετα, οι ελληνικοί βιότυποι AIT.1,

ΒΟΙ.1, ΦΘΙ.3 και ΑΙΤ.15, ενώ είχαν πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις σικιμικού οξέος στις μικρότερες συγκεντρώσεις glyphosate (0,1 και 10  $\mu\text{M}$ ), φάνηκε να μειώνουν σημαντικά τη διαφορά αυτή στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις glyphosate (100, 500 και 1000  $\mu\text{M}$ ). Αυτή η παρατήρηση σύμφωνα με τον Shaner (2010) μπορεί να αποδοθεί και σε ανθεκτικότητα του ζιζανίου στο glyphosate λόγω μειωμένης μετακίνησης του ζιζανιοκτόνου (Πίνακας 5.1, σελ.111).

Η συσσώρευση σικιμικού οξέος σε όλα τα φυτά ήρας, τόσο για τους ανθεκτικούς όσο και για τους ευαίσθητους βιότυπους, δείχνει ότι το glyphosate μετακινήθηκε στην περιοχή-στόχο και είχε ανασταλτική επίδραση στη λειτουργία του ενζύμου EPSPS. Ωστόσο, τα σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα σικιμικού οξέος που συσσωρεύθηκαν στους ανθεκτικούς βιότυπους ήρας σε σύγκριση με τον ευαίσθητο δείχνουν ότι η λειτουργία του ενζύμου EPSPS αναστέλλεται σε μικρότερο βαθμό από το glyphosate στους ανθεκτικούς βιότυπους σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν από τους Feng *et al.* (2004) και Mueller *et al.* (2003) για το ζιζάνιο *Conyza canadensis*. Οι Michitte *et al.* (2007) αποδίδουν τη μικρότερη ποσότητα glyphosate που φτάνει στο ένζυμο-στόχο των ανθεκτικών φυτών της πολυανθούς ήρας, στην μειωμένη απορρόφηση και συγκράτηση του ψεκαστικού υγρού, μαζί με πιθανώς μικρότερη είσοδο glyphosate στο συμπλάστη του ανθεκτικού βιότυπου λόγω μοτίβου διαφοροποιημένης μετακίνησης (altered translocation).

Τα αποτελέσματα διαφέρουν από αυτά της μελέτης των Simarmata *et al.* (2003) στην οποία ένας ανθεκτικός βιότυπος *L.rigidum* από τη βόρεια Καλιφόρνια δεν φάνηκε να παρουσιάζει σημαντική αύξηση στη συσσώρευση σικιμικού οξέος μετά από εφαρμογή 2,24 kg δ.ο. ha<sup>-1</sup> glyphosate. Οι τιμές των συγκεντρώσεων του σικιμικού οξέος στους ανθεκτικούς βιότυπους ήρας της παρούσας μελέτης ήταν σε συμφωνία με τα αποτελέσματα άλλων μελετών των οποίων οι ευαίσθητοι πληθυσμοί των ειδών *L.rigidum* και *L.multiflorum* συσσώρευσαν από 78 έως 191 φορές και από 6 έως 7 φορές περισσότερο σικιμικό οξύ σε σύγκριση με τους ανθεκτικούς πληθυσμούς, αντίστοιχα (Fernandez-Moreno *et al.*, 2017d; González-Torralva *et al.*, 2012).

Η μέθοδος του σικιμικού οξέος θεωρείται η πιο γρήγορη δοκιμή ανίχνευσης ανθεκτικότητας στο glyphosate καθώς: i) μπορεί να δώσει αποτελέσματα εντός 24-48 ωρών και ii) ένας μεγάλος αριθμός δειγμάτων μπορεί να ελεγχθεί αφού δεν απαιτεί πολύ χώρο (Shaner *et al.*, 2005). Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της συγκεκριμένης μεθόδου με τους δίσκους φύλλων είναι ότι τα δεδομένα που παράγονται είναι

ανεξάρτητα από τα μοτίβα μετατόπισης του ζιζανιοκτόνου σε ολόκληρο το φυτό μετά την εφαρμογή διασυστηματικών, μεταφυτρωτικών ζιζανιοκτόνων και τις διαφορές στην πρόσληψη ζιζανιοκτόνων μεταξύ φυτών ή πληθυσμών (Ma *et al.*, 2013).

Η βέλτιστη συγκέντρωση glyphosate για τη διαφοροποίηση των ανθεκτικών βιότυπων από τους ευαίσθητους, ως προς τα επίπεδα συγκέντρωσης σικιμικού οξέος, ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με το είδος, τον τύπο και την ηλικία του φυτικού ιστού αλλά και τον μηχανισμό ανθεκτικότητας (Shaner, 2010). Επιπλέον, έρευνα έχει διεξαχθεί και σχετικά με το κατά πόσον τα διαφορετικά είδη σκευασμάτων glyphosate μπορούν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα της βιοχημικής μεθόδου μέτρησης του σικιμικού οξέος. Οι Ghanizadeh *et al.* (2015b) ανέφεραν ότι τα αποτελέσματα της μελέτης τους στην οποία χρησιμοποίησαν δύο διαφορετικές μορφές σκευασμάτων glyphosate (ως άλατα ισοπροπυλαμίνης και καλίου) έδειξαν ότι και οι τρεις ταχείες δοκιμές που χρησιμοποίησαν (συμπεριλαμβανομένης της μεθόδου του σικιμικού οξέος) διαφοροποίησαν τους ανθεκτικούς βιότυπους από τους ευαίσθητους, ανεξάρτητα από το είδος του σκευάσματος. Εάν λάβουμε υπόψη μας ότι η ανθεκτικότητα αφορά τη δ.ο. του glyphosate αυτή καθαυτή, κάτι τέτοιο φαντάζει αναμενόμενο. Τέλος, και οι περιβαλλοντικές συνθήκες μπορούν να επηρεάσουν τη συγκεκριμένη μέθοδο, καθώς, σύμφωνα με τους Tani *et al.* (2016), ανθεκτικά φυτά κόνυζας συμπεριφέρθηκαν σαν ευαίσθητα, ως προς τη συγκέντρωση σικιμικού οξέος κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας.

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω, είναι εμφανές ότι το πρωτόκολλο της βιοδοκιμής του σικιμικού οξέος πρέπει να τροποποιείται για κάθε νέο είδος ζιζανίου και απαιτεί εξοπλισμό και τεχνογνωσία για τη διεξαγωγή του. Επιπλέον, σύμφωνα με τα ευρήματα των Singh & Shaner (1998) δίνει καλύτερα αποτελέσματα όταν χρησιμοποιούνται νεαροί φυτικοί ιστοί, γεγονός που καθιστά δύσκολη την εφαρμογή του σε εγκατεστημένα φυτά προχωρημένης ανάπτυξης. Τέλος, αυτή η μέθοδος μπορεί να είναι πιο ακριβή σε σύγκριση με άλλες δοκιμές, λόγω της υψηλότερης τιμής των αντιδραστηρίων που απαιτούνται. Για παράδειγμα, είναι αρκετά πιθανό να χρειαστεί να κατασκευαστούν πολλές πρότυπες καμπύλες σικιμικού οξέος προκειμένου να εξασφαλιστεί μια ακριβής και αξιόπιστη αντιστοίχιση μεταξύ των γνωστών συγκεντρώσεων και των τιμών απορρόφησης. Σε αυτήν την περίπτωση όμως θα πρέπει να ληφθεί υπόψη το γεγονός ότι το κόστος του αντιδραστηρίου του σικιμικού οξέος είναι υψηλό.

**Στο πλαίσιο διερεύνησης των διαθέσιμων άμεσων και αξιόπιστων τεχνικών για την επιβεβαίωση της ανθεκτικότητας της ήρας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate, δοκιμάστηκε και η μέτρηση του δείκτη βλάστησης NDVI.** Τη σχέση των δεικτών βλάστησης με τη φυτοτοξικότητα των ζιζανιοκτόνων στα είδη *Avena sativa*, *Avena strigosa*, *Lolium multiflorum* και *Secale cereale* μελέτησαν οι Thomasi *et al.* (2021). Το ζιζανιοκτόνο 2,4-D ήταν λιγότερο φυτοτοξικό για όλα τα είδη, ενώ το metribuzin και το saflufenacin προκάλεσαν υψηλότερα ποσοστά (έως και 50%) φυτοτοξικότητας.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος για το ζιζανιοκτόνο glyphosate μία εβδομάδα μετά την εφαρμογή του, οι τιμές του NDVI δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για τους διαφορετικούς βιότυπους ήρας που εξετάστηκαν, τόσο στην περίπτωση των φυτών ήρας του αφέκαστου μάρτυρα όσο και στην περίπτωση των φυτών ήρας στα οποία έγινε εφαρμογή glyphosate (με τρεις διαφορετικές δόσεις:  $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ ). Επιπλέον, οι βιότυποι δεν παρουσίασαν αναλογία της αύξησης της δόσης του glyphosate και της μείωσης των σχετικών τιμών NDVI.

Στις δύο εβδομάδες μετά την εφαρμογή του glyphosate, δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές του NDVI μεταξύ των βιότυπων στον αφέκαστο μάρτυρα, αλλά παρουσιάστηκαν για τις τρεις διαφορετικές δόσεις του glyphosate. Συγκεκριμένα, οι πλέον ανθεκτικοί βιότυποι SPN.1, SPN.2, AUS.1, AFR. παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές με τους ευαίσθητους στις  $x/2$  και  $x$  δόσεις. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε ότι, οι βιότυποι που παρουσίασαν μειωμένη ευαισθησία στο glyphosate κατά το Πείραμα A δόσης απόκρισης, παρουσίασαν μικρότερες διαφορές μεταξύ των τιμών NDVI του αφέκαστου μάρτυρα και των επεμβάσεων glyphosate σε σχέση με τους πιο ευαίσθητους βιότυπους.

Όσον αφορά τις αντίστοιχες μετρήσεις για το glufosinate, οι τιμές NDVI που ελήφθησαν μετά από τις εφαρμογές του ζιζανιοκτόνου, ανεξαρτήτως δόσης, ήταν χαμηλότερες από την τιμή του αφέκαστου μάρτυρα σχεδόν για όλους τους βιότυπους. Πιο αναλυτικά, η μεγαλύτερη διαφορά στις τιμές μεταξύ των επεμβάσεων του glufosinate και του αφέκαστου μάρτυρα παρατηρήθηκε στην περίπτωση του ευαίσθητου βιότυπου ATT.S1, ενώ η μικρότερη διαφορά παρατηρήθηκε για τον βιότυπο AIT.7, ο οποίος παρουσίασε τη χαμηλότερη ευαισθησία στο glufosinate στο Πείραμα A δόσης-απόκρισης. Επίσης, οι δύο παραπάνω βιότυποι είναι οι μόνοι που παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τιμών NDVI για όλες τις δόσεις

glufosinate. Παρ' όλα αυτά κατά τη σύγκριση μεταξύ των τιμών των υπόλοιπων βιότυπων δεν προκύπτει εμφανής αντιστοιχία της αύξησης της δόσης του glufosinate και της μείωσης των σχετικών τιμών NDVI. Από τις μετρήσεις φαίνεται πως μόνο στην περίπτωση που υπάρχει μεγάλη διαφορά στην ευαισθησία των βιότυπων, οι τιμές του NDVI διαφοροποιούνται σημαντικά. Μικρότερες διαφορές στην ευαισθησία των βιότυπων στο glufosinate δεν μπορούν να γίνουν αντιληπτές από τη συγκεκριμένη μέθοδο έως και επτά ημέρες μετά την εφαρμογή.

Η χρήση των δεικτών βλάστησης, όπως ο δείκτης βλάστησης κανονικοποιημένης διαφοράς (NDVI) ή ο δείκτης κανονικοποιημένης διαφοράς βλάστησης κοντά στο ερυθρό φάσμα (NDRE), έχουν ιδιαίτερη αξία καθώς μπορούν να αποδείξουν φυτοτοξικότητα που δεν είναι αισθητή μακροσκοπικά. Έτσι, παρέχουν τη δυνατότητα της έγκαιρης εκτίμησης ανθεκτικότητας. Ωστόσο, φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικοί σε ζιζανιοκτόνα των οποίων η δράση συνδέεται άμεσα με την φωτοσύνθεση, όπως είναι τα ζιζανιοκτόνα αναστολείς της φωτοσύνθεσης (π.χ. Ομάδα 5 κατά HRAC<sup>30</sup>). Η περίπτωση του ζιζανιοκτόνου glufosinate θα μπορούσε επίσης να σχετιστεί με μεγαλύτερη ασφάλεια με τη χρήση των δεικτών βλάστησης, λόγω έμμεσης αναστολής του PSII που οδηγεί στην ταχεία εμφάνιση χλώρωσης στα φυτά σε σύγκριση με το glyphosate. Σε κάθε περίπτωση πάντως, η εξαγωγή συμπερασμάτων απαιτεί και περαιτέρω επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων μέσω πειραμάτων εργαστηρίου ή/και πεδίου (πειράματα δόσης-απόκρισης σε φυτοδοχεία).

Βαθύτερη κατανόηση της σχέσης μεταξύ των τιμών δεικτών βλάστησης και της ανίχνευσης ανθεκτικότητας ζιζανίων σε ζιζανιοκτόνα κρίνεται αναγκαία και απαιτείται συστηματική μελέτη σε ευρεία κλίμακα ζιζανίων και ζιζανιοκτόνων. Τέτοια γνώση θα μπορούσε να φανεί ιδιαίτερα χρήσιμη για τον παραγωγό ως προς τα εξής σημεία: αξιολόγηση τυχόν αστοχιών κατά τον ψεκασμό των ζιζανιοκτόνων, εντοπισμό ανθεκτικών ζιζανίων και πρόληψη ή μετριασμό της φυτοτοξικότητας σε μη στοχευμένες περιοχές.

**Στο σημείο αυτό αξίζει να συζητηθεί και η επίδραση τόσο των ενισχυτικών ουσιών (adjuvants) και τασιενεργών-επιφανειοδραστικών ουσιών (surfactants) όσο και των διαφορετικών μορφών αλάτων στην αποτελεσματικότητα της δ.ο. του glyphosate κατά την εφαρμογή του τελικού σκευάσματος.<sup>31</sup> Όπως είναι**

<sup>30</sup> HRAC: Herbicide Resistance Action Committee (<https://www.hracglobal.com> )

<sup>31</sup> Τμήμα του κεφαλαίου έχει ήδη δημοσιευθεί:

ευρέως γνωστό, η μεταφορά των ζιζανιοκτόνων στο σημείο στόχο είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που αποτελείται από πολλά στάδια. Η σύνθεση λοιπόν κάθε ζιζανιοκτόνου μπορεί να οδηγήσει σε βελτιστοποίηση της χρήσης και της αποτελεσματικότητάς του. Έτσι και στην περίπτωση της δ.ο. του glyphosate, για την περαιτέρω αύξηση της σχετικά περιορισμένης υδατοδιαλυτότητας του (11,6 g/L στο νερό, στους 25°C), αυτό συνήθως παρασκευάζεται υπό τη μορφή αλάτων αμμωνίου, ισοπροπυλαμίνης, καλίου, νατρίου ή τριμεθυλοσουλφωνίου προκειμένου να υποβοηθηθεί η διείσδυσή του στα φύλλα (Székács & Darvas, 2012). Πολλά πειράματα έχουν επιβεβαιώσει ότι τα διαφορετικά άλατα glyphosate καθώς και οι διάφορες ενισχυτικές ουσίες βοηθούν καθοριστικά στη βελτιστοποίηση των διαδικασιών απορρόφησης και διακίνησης του ζιζανιοκτόνου. Ταυτόχρονα, υπάρχουν και αρκετές μελέτες που δεν επιβεβαιώνουν αυτές τις διαφορές (Harrington, 2005; Li *et al.*, 2005; Richardson *et al.*, 2003).

Σχετικά με τη σύνθεση των αλάτων του glyphosate, διαφορές στην αποτελεσματικότητα εντοπίζονται τόσο μεταξύ των διαφορετικών ειδών ζιζανίων όσο και εντός του ίδιου είδους. Για παράδειγμα, το είδος *Ipomoea hederacea* εμφάνισε μεγαλύτερη ευαισθησία στο glyphosate υπό τη μορφή άλατος τριμεθυλοσουλφωνίου παρά υπό τη μορφή άλατος ισοπροπυλαμίνης, ενώ απουσία σημαντικών διαφορών παρατηρήθηκε για τα είδη *Cyperus rotundus*, *Sida spinosa* και *Senna obtusifolia* ύστερα από εφαρμογή glyphosate, είτε με τη μορφή άλατος ισοπροπυλαμίνης είτε με τη μορφή άλατος τριμεθυλοσουλφωνίου (Mollin *et al.*, 2004). Παράλληλα, οι Oliveira *et al.* (2015) αξιολόγησαν την επίδραση των σκευασμάτων glyphosate στην περιοχή διαβροχής και στον χρόνο εξάτμισης των σταγονιδίων του glyphosate στις φυλλικές επιφάνειες διαφορετικών ειδών ζιζανίων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, το άλας ισοπροπυλαμίνης μείωσε την περιοχή διαβροχής και τον χρόνο εξάτμισης σε σύγκριση με τα άλατα αμμωνίου και καλίου και για τα δύο είδη ζιζανίων που εξετάστηκαν (*Bidens pilosa* και *Cenchrus echinatus*). Ορισμένες από τις παραπάνω διαφορές θα μπορούσαν να αποδοθούν και στη διαφορετική ανατομία των φύλλων και φυλλική επιφάνεια μεταξύ πλατύφυλλων και αγρωστωδών ζιζανίων. Ωστόσο, διεξοδική και εκτεταμένη έρευνα είναι απαραίτητη προκειμένου να γενικευθεί ο ισχυρισμός για έναν τέτοιο διαχωρισμό μεταξύ των ειδών των ζιζανίων.



Όσον αφορά τις διαφορετικές ενισχυτικές ουσίες, οι Sharma *et al.* (2004) έδειξαν ότι η εφαρμογή τους αύξησε σημαντικά τον έλεγχο των ζιζανίων σε σύγκριση με την εφαρμογή μόνο glyphosate. Ωστόσο, η επίδραση των ενισχυτικών ουσιών εξαρτάται τόσο από τον τύπο της καθεμίας όσο και από το είδος των ζιζανίων. Σε πειράματα πεδίου όπου το glyphosate εφαρμόστηκε μόνο του και σε συνδυασμό με επιφανειοδραστικές ουσίες, η προσθήκη των τελευταίων αύξησε σημαντικά τον έλεγχο στα είδη *Lantana camara* και *Baccharis halimifolia*. Συγκεκριμένα, η αύξηση της αποτελεσματικότητας του glyphosate ήταν σημαντικά υψηλότερη στο επιφανειοδραστικό Agral 90<sup>32</sup> σε σύγκριση με το επιφανειοδραστικό Pulse<sup>33</sup>.

Οι Sing *et al.*, 2001 επιβεβαιώνουν ότι η εφαρμογή του glyphosate με διαφορετικές ενισχυτικές και επιφανειοδραστικές ουσίες, όπως AMS<sup>34</sup>, Ortho X-77<sup>35</sup>, Agri-dex<sup>36</sup>, AN<sup>37</sup>, Kinetic<sup>38</sup>, MSO<sup>39</sup> και ουρία<sup>40</sup>, στα είδη *Solanum nigrum*, *Sinapis arvensis* και *Echinochloa crus-galli* ενίσχυσαν σημαντικά τον έλεγχο των ζιζανίων. Παρομοίως, το επιφανειοδραστικό Silwet L-77<sup>41</sup> αύξησε την αποτελεσματικότητα του είδους *Roa annua* στο glyphosate (Finlayson *et al.*, 2000). Οι Kirkwood *et al.* (2000) ανέφεραν επίσης ότι η ενσωμάτωση της επιφανειοδραστικής ουσίας MON 0818<sup>42</sup> βελτίωσε τη δράση, απορρόφηση, μετατόπιση και συσσώρευση του ζιζανιοκτόνου glyphosate. Αντίθετα, οι οργανοσιλικονούχες ενισχυτικές ουσίες ανταγωνίστηκαν τη δράση του glyphosate στην περίπτωση του είδους *Panicum maximum* (Sharma & Singh, 2000). Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, αλληλεπιδράσεις μεταξύ των επιφανειών των φύλλων των ζιζανίων και των διαφορετικών αλάτων glyphosate, ενισχυτικών ή επιφανειοδραστικών ουσιών θα πρέπει επίσης να λαμβάνονται υπόψη.

Το glyphosate εφαρμόζεται συνήθως με θειικό αμμώνιο (AMS) προκειμένου να μειωθεί η σκληρότητα του νερού καθώς τα σύμπλοκα που σχηματίζονται μεταξύ του glyphosate και των κατιόντων στο σκληρό νερό προκαλούν σχηματισμό αλάτων που δεν απορροφώνται τόσο εύκολα, με αποτέλεσμα τη μειωμένη αποτελεσματικότητα

<sup>32</sup> Μη ιονικό επιφανειοδραστικό (0,05 ή 0,1% ο/ο)

<sup>33</sup> Οργανοσιλικονούχο επιφανειοδραστικό (0,2% ο/ο)

<sup>34</sup> Θειικό αμμώνιο (1,00 %)

<sup>35</sup> Μη ιονικό επιφανειοδραστικό (0,25%)

<sup>36</sup> Μείγμα μη ιονικού επιφανειοδραστικού και ελαίου ψεκασμού (1,00%)

<sup>37</sup> Νιτρικό αμμώνιο (1,00 %)

<sup>38</sup> Μείγμα πολυαλκυλενοξειδίου τροποποιημένου πολυμεθυλοτρισιλοξανίου (οργανοσιλικονούχο) και μη ιονικού επιφανειοδραστικού (0,25%)

<sup>39</sup> Μεθυλιωμένο φυτικό έλαιο σπόρων + σπορέλαιο γαλακτωματοποιητών (1,00%)

<sup>40</sup> Ουρία (1,00%)

<sup>41</sup> Οργανοσιλικονούχο επιφανειοδραστικό (0,10%)

<sup>42</sup> Μη ιονικό επιφανειοδραστικό (πολυαιθοξυλιωμένη στεατική αμίνη - POEA)

του ζιζανιοκτόνου (Hall *et al.*, 2000; Thelen *et al.*, 1995). Έτσι, η προσθήκη θειικού αμμωνίου στο ψεκαστικό διάλυμα αυξάνει την απορρόφηση του glyphosate από τη φυλλική επιφάνεια των ζιζανίων και κατά συνέπεια αυξάνει την αποτελεσματικότητά του (Chachalis *et al.*, 2001; Penner, 2000). Οι Nurse *et al.* (2008) ισχυρίστηκαν μεγαλύτερο όφελος σε χαμηλές δόσεις glyphosate (225 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) και σχετικά νωρίς μετά την εφαρμογή (επτά ημέρες μετά την εφαρμογή). Οι Satchivi *et al.* (2000) διαπίστωσαν ότι η απορρόφηση του glyphosate στα είδη *Abutilon theophrasti* και *Setaria faberi* ενισχύθηκε με την προσθήκη 1% β/ο θειικού αμμωνίου είτε υπό τη μορφή άλατος ισοπροπυλαμίνης είτε υπό τη μορφή άλατος τριμεθυσουλφωνίου. Παρομοίως, η εφαρμογή 1% β/ο θειικού αμμωνίου στο μείγμα ψεκασμού ενίσχυσε την αποτελεσματικότητα σε έξι διαφορετικές συνθέσεις glyphosate σύμφωνα με τη μελέτη των Ramsdale *et al.* (2003).

Διαχρονικά, στην πλειονότητα των μελετών έχει επιβεβαιωθεί η θετική επίδραση του θειικού αμμωνίου στον αποτελεσματικό έλεγχο των ζιζανίων (Peterson & Thompson, 2009; Pratt *et al.*, 2003; Salisbury *et al.*, 1991; Zollinger *et al.*, 2011). Ωστόσο, διαφορές παρατηρούνται μεταξύ των διαφορετικών σκευασμάτων glyphosate, αλλά και μεταξύ των διαφορετικών ειδών ζιζανίων. Για παράδειγμα, ενώ το ζιζάνιο *Solanum carolinense* επηρεάστηκε θετικά, τα είδη *Setaria faberi*, *Chenopodium album* και *Senna obtusifolia* δεν επηρεάστηκαν από την προσθήκη θειικού αμμωνίου (Pline *et al.*, 2000). Παρομοίως, οι Mirzaei *et al.* (2019) ανέφεραν πως, ενώ η προσθήκη του θειικού αμμωνίου μπόρεσε να ξεπεράσει τις ανασταλτικές επιδράσεις του σκληρού νερού στο ψεκαστικό διάλυμα του glyphosate για τα πλατύφυλλα είδη *Amaranthus retroflexus* και *Kochia scoparia*, δεν είχε καμία επίδραση στα αγρωστώδη ζιζάνια της μελέτης, *Phalaris minor* και *Avena ludoviciana*.

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφορετικών αλάτων glyphosate και των ενισχυτικών ουσιών, από τη μία πλευρά, και της απόδοσης του glyphosate από την άλλη πλευρά, είναι πολύπλοκες και εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των εγγενών χαρακτηριστικών του ζιζανίου-στόχου, των περιβαλλοντικών συνθηκών, του είδους της ενισχυτικής ουσίας και της χημικής σύνθεσης του ζιζανιοκτόνου. Καθίσταται σαφές, λοιπόν, πως περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη για την κατανόηση της επίδρασης των ενισχυτικών ουσιών στην αύξηση της αποτελεσματικότητας του glyphosate για τη βέλτιστη χρήση αυτού του σημαντικού ζιζανιοκτόνου.

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα ενός ζιζανιοκτόνου είτε άμεσα, επηρεάζοντας την απορρόφηση και τη μετακίνησή του εντός του φυτού, είτε έμμεσα, επηρεάζοντας την ανάπτυξη και τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά του φυτού (Matzrafi, 2019; Ziska, 2016). Ενώ τα ζιζανιοκτόνα φυλλώματος επηρεάζονται από πολλούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, τα ζιζανιοκτόνα εδάφους επηρεάζονται κυρίως από την υγρασία και τη θερμοκρασία του εδάφους (Kudsk, 1992). Πιο αναλυτικά, η αποτελεσματικότητα των ζιζανιοκτόνων επαφής μπορεί να επηρεαστεί περισσότερο από τα χαρακτηριστικά του φυτού και του ψεκαστικού διαλύματος παρά από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Αντίθετα, τα διασυστηματικά ζιζανιοκτόνα, όπως το glyphosate, απορροφώνται είτε από τις ρίζες είτε από τα φύλλα του φυτού και στη συνέχεια μεταφέρονται σε άλλα μέρη του φυτού καθιστώντας έτσι εξίσου σημαντική την επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων στην αποτελεσματικότητά τους.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος (Κεφ.4.1.1.2.3) που διεξήχθη σε δύο διαφορετικά επίπεδα θερμοκρασίας, 10/4°C και 16/10°C ημέρα/νύχτα, σημαντικές διαφορές σημειώθηκαν μεταξύ των διαφορετικών βιότυπων ήρας που εξετάστηκαν. Συγκεκριμένα, η επίδραση των χαμηλών θερμοκρασιών (10/4°C) στην ευαισθησία των ανθεκτικών βιότυπων ήταν αξιοσημείωτη. Εξαίρεση αποτέλεσε ο ευαίσθητος βιότυπος ATT.S1 ο οποίος δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές στη μείωση του νωπού βάρους των φυτών ήρας κατά την ανάπτυξη του στα δύο διαφορετικά επίπεδα θερμοκρασίας και για τρεις δόσεις του glyphosate (x/2, x και 2x). Σε αντίθεση με τον ευαίσθητο βιότυπο ATT.S1, οι ανθεκτικοί βιότυποι AUS.1, SPN.2, AIT.1, BOI.1 και ΦΘΙ.3 παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση του νωπού βάρους των φυτών ήρας μετά από εφαρμογή glyphosate και στις τρεις δόσεις glyphosate όταν αναπτύχθηκαν σε χαμηλές θερμοκρασίας ημέρας/νύχτας. Εξαίρεση αποτέλεσε ο ανθεκτικός βιότυπος AIT.15.

Μάλιστα, σύμφωνα με τις παρατηρήσεις μας, τα φυτά σχεδόν όλων των ανθεκτικών βιότυπων ήρας στα οποία έγινε εφαρμογή glyphosate δεν παρουσίασαν οποιαδήποτε συμπτώματα (π.χ. χλώρωση) τέσσερις εβδομάδες μετά την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου στις υψηλότερες θερμοκρασίες, ενώ τα φυτά που διατηρήθηκαν σε χαμηλότερες συνθήκες θερμοκρασίας άρχισαν να εμφανίζουν συμπτώματα δύο εβδομάδες μετά την εφαρμογή. Εξαίρεση αποτέλεσε και πάλι ο ανθεκτικός βιότυπος

AIT.15 για τον οποίο διαφορές στην εικόνα των φυτών παρουσιάστηκαν μόνο στη διπλάσια της συνιστώμενης δόση.

Σύμφωνα με ορισμένες παλαιότερες μελέτες (Pline *et al.*, 1999; Sharma & Singh, 2001), αλλά και πιο πρόσφατες (Ganie *et al.*, 2017), η αποτελεσματικότητα του glyphosate εναντίον των ειδών *Bidens frondosa*, *Panicum maximum*, *Ambrosia artemisiifolia* και *Ambrosia trifida* αυξήθηκε στις υψηλότερες θερμοκρασίες σε σύγκριση με τις χαμηλότερες. Αντίθετα αποτελέσματα αναφέρθηκαν σε μελέτες για τα ανθεκτικά στο glyphosate είδη *Conyza canadensis* (Ge *et al.*, 2011), *Lolium rigidum* και *Sorghum halepense* (Vila-Aiub *et al.*, 2013).

Συγκεκριμένα, οι Vila-Aiub *et al.* (2013) παρατήρησαν ότι στην περίπτωση του *L.rigidum* τα ανθεκτικά φυτά παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης και υψηλότερες τιμές νωπού βάρους στους 19°C σε σύγκριση με τους 8°C. Ομοίως, για το είδος *Sorghum halepense* τα ανθεκτικά φυτά παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης και υψηλότερες τιμές νωπού βάρους στους 30°C σε σύγκριση με τους 19°C.

Οι Ge *et al.* (2011) αναφέρουν ότι η μείωση της ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate στους εξεταζόμενους βιότυπους κόνουζας υπό συνθήκες χαμηλών θερμοκρασιών υποδηλώνει ως πιθανό μηχανισμό δράσης τη μειωμένη μετακίνηση του ζιζανιοκτόνου λόγω άμεσης απομόνωσής του στα χυμοτόπια (Ge *et al.*, 2011), όπου καθίσταται ανενεργό, με τη συμμετοχή ειδικών μεταφορέων (Nol *et al.*, 2012). Συγκεκριμένα, αναφέρουν ότι τα ανθεκτικά φυτά του είδους *Conyza canadensis* ήταν ακόμα σε θέση να μετακινούν το glyphosate στο χυμοτόπιο υπό συνθήκες χαμηλών θερμοκρασιών (12/8°C ημέρα/νύχτα), αλλά ο βαθμός της μετακίνησης ήταν σημαντικά χαμηλότερος σε σύγκριση με τις συνθήκες υψηλότερων θερμοκρασιών (30/20°C ημέρα/νύχτα). Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι στην ίδια έρευνα παρατηρήθηκε πως τα φυτά ήταν σε θέση να μετακινούν το glyphosate πιο γρήγορα όταν μεταφέρθηκαν σε θερμότερες συνθήκες έως και 14 ημέρες μετά τις εφαρμογές glyphosate. Αντίθετα, εάν τα φυτά είχαν ήδη υποστεί σοβαρή τοξικότητα από το glyphosate πριν οι θερμοκρασίες αυξηθούν, τα ανθεκτικά φυτά πιθανότατα θα νεκρώνονταν ακόμη και εάν οι θερμοκρασίες παρέμειναν χαμηλές για αρκετές εβδομάδες.

Σύγκριση μεταξύ ανθεκτικών πληθυσμών ήρας του είδους *Lolium multiflorum* από την Ιταλία με εφαρμογή glyphosate σε συνθήκες χαμηλών και υψηλών θερμοκρασιών έδειξαν ότι ο πιο ανθεκτικός πληθυσμός, του οποίου η ανθεκτικότητα οφειλόταν σε σημειακή μετάλλαξη στο κωδικόνιο 106 της προλίνης σε σερίνη, δεν παρουσίασε τόσο έντονη ευαισθησία στο glyphosate στις χαμηλές θερμοκρασίες (Collavo *et al.*, 2012). Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι πολλαπλοί μηχανισμοί ανθεκτικότητας μπορούν να συμβάλλουν στον συνολικό αντίκτυπο της ανθεκτικότητας και ότι δεν είναι όλοι οι μηχανισμοί εξαρτώμενοι από τη θερμοκρασία.

Παρόλο που η μετακίνηση και απομόνωση του glyphosate στο χυμοτόπιο δεν διερευνήθηκε στους βιότυπους ήρας της παρούσας διατριβής, τα αποτελέσματα του Κεφαλαίου 4.1.1.2.3 έδειξαν ότι η ανθεκτικότητα στο glyphosate στους ελληνικούς ανθεκτικούς βιότυπους ήταν εξαρτώμενη από τη θερμοκρασία και στις χαμηλές θερμοκρασίες τα φυτά ήταν περισσότερο ευαίσθητα στις εφαρμογές του ζιζανιοκτόνου glyphosate. Το μοριακό, φυσιολογικό και βιοχημικό υπόβαθρο των μηχανισμών που καθιστούν τις χαμηλότερες θερμοκρασίες υπεύθυνες για τη μετακίνηση και απομόνωση του glyphosate στο χυμοτόπιο δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί (Sammons & Gaines, 2014). Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες προκειμένου να διερευνηθεί ο ρόλος των μεταφορέων στην απομόνωση του glyphosate στο χυμοτόπιο, καθώς και η επίδραση της θερμοκρασίας σε αυτή τη διαδικασία.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής έδειξαν ξεκάθαρα ότι η ανθεκτικότητα της ήρας στο glyphosate μπορεί να κατασταλεί υπό την επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων σε φυτοδοχεία της διατριβής ενισχύουν τα αποτελέσματα και τις καταγραφές που έγιναν στο πεδίο στις περιοχές από τις οποίες προέρχονται οι εξεταζόμενοι βιότυποι. Είναι προφανές, λοιπόν, ότι η εξακρίβωση τέτοιων αποτελεσμάτων που συνδέονται με καταστολή των μηχανισμών ανθεκτικότητας στο glyphosate σε χαμηλές θερμοκρασίες μπορεί να έχει πρακτικές εφαρμογές. Για παράδειγμα, εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου glyphosate κατά τη διάρκεια του χειμώνα μπορεί να παρέχει καλύτερο και αποτελεσματικότερο έλεγχο των ανθεκτικών βιότυπων ήρας στις δενδρώδεις καλλιέργειες.

**Στο πλαίσιο της διαχείρισης ζιζανίων σε αμπελώνες, οπωρώνες και ελαιώνες το δεύτερο πιο δημοφιλές μη εκλεκτικό ζιζανιοκτόνο, μετά το glyphosate, ήταν, και σε ορισμένες περιπτώσεις (π.χ. ΗΠΑ) παραμένει, το ζιζανιοκτόνο**

**glufosinate.** Η πολυετής χρήση του οδήγησε σε αναφορές μη αποτελεσματικής διαχείρισης της ήρας παρά το γεγονός ότι το glufosinate διαθέτει διαφορετικό μηχανισμό δράσης (Ομάδα 10 κατά HRAC<sup>43</sup>) από το glyphosate (Ομάδα 9 κατά HRAC). Έτσι, σε αυτή τη διατριβή, θεωρήθηκε σκόπιμο να διερευνηθεί η ανθεκτικότητα της λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate σε καλλιέργειες της Στερεάς Ελλάδας και της Πελοποννήσου.

Από το Πείραμα Α δόσης-απόκρισης για την επιβεβαίωση και αξιολόγηση του επιπέδου ανθεκτικότητας της ήρας στο ζιζανιοκτόνο με τρεις δόσεις glufosinate (x/2, x και 2x) προέκυψε ότι οι λιγότερο ευαίσθητοι στο glufosinate βιότυποι ήταν οι ΑΙΤ.7, ΒΟΙ.1 και ΦΘΙ.1 οι οποίοι έδωσαν τιμές νωπού βάρους  $\geq 50\%$  στη συνιστώμενη δόση του glufosinate. Οι μετρήσεις νωπού βάρους στην συνιστώμενη δόση για τους παραπάνω βιότυπους έδωσαν παραπλήσιες τιμές σε σύγκριση με το Προκαταρκτικό πείραμα, ενώ ο ευαίσθητος βιότυπος ΑΤΤ.51 παρουσίασε τιμές νωπού βάρους 14.69%, 9.2%, 0% για τις αντίστοιχες δόσεις glufosinate x/2, x και 2x.

Από το Πείραμα Β δόσης-απόκρισης που διεξήχθη (Κεφ.4.1.1.5) για τους τέσσερις βιότυπους ήρας (ΑΙΤ.7, ΦΘΙ.1, ΒΟΙ.1 και ΚΟΡ.2) από καλλιέργειες ροδιάς, μηλοειδών, αμπελιού και εσπεριδοειδών, προέκυψαν σημαντικές διαφορές μεταξύ του ευαίσθητου βιότυπου (ΑΤΤ.51) και των περισσότερων ανθεκτικών πληθυσμών (ΑΙΤ.7, ΦΘΙ.1 και ΒΟΙ.1). Μείωση του νωπού βάρους και της επιβίωσης με την αύξηση της δόσης του ζιζανιοκτόνου glufosinate καταγράφηκε και για τους πέντε βιότυπους ήρας. Σύμφωνα με τις τιμές  $GR_{50}$ , δόση 467,63 g glufosinate  $ha^{-1}$  προκάλεσε μείωση της τάξεως του 50% βιομάζας στον ευαίσθητο βιότυπο ΑΤΤ.51, ενώ η ίδια μείωση επιτεύχθει με δόση 3812,14 g δ.ο.  $ha^{-1}$  στο βιότυπο ΑΙΤ.7, με δείκτη ανθεκτικότητας 6,01.

Η συνιστώμενη δόση του ζιζανιοκτόνου glufosinate κατάφερε να ελέγξει τον πλέον ανθεκτικό βιότυπο ΑΙΤ.7 σε ποσοστό 13% και τον ευαίσθητο βιότυπο ΑΤΤ.51 σε ποσοστό 85%. Οι τιμές  $LD_{50}$  για τους επιβεβαιωμένους ανθεκτικούς βιότυπους ήρας ΑΙΤ.7 και ΦΘΙ.1 υπέδειξαν ανθεκτικότητα 15 και 13 φορές υψηλότερη σε σύγκριση με τον ευαίσθητο πληθυσμό αναφοράς. Αντίστοιχα ο δείκτης ανθεκτικότητας, βάσει  $LD_{50}$  τιμών, για τους βιότυπους ΒΟΙ.1 και ΚΟΡ.2 ήταν 5 και 2,5, αντίστοιχα.

---

<sup>43</sup> HRAC: Herbicide Resistance Action Committee (<https://www.hracglobal.com> )

Αυτές οι τιμές ήταν είτε παρόμοιες είτε χαμηλότερες από αυτές που αναφέρθηκαν για το *L. rigidum* στην Ισπανία και την Αυστραλία, αντίστοιχα (Fernández *et al.*, 2017a; Kumaratilake *et al.*, 2002). Αναλυτικά, σε πειράματα δόσης-απόκρισης ανθεκτικών στο glyphosate ειδών του γένους *Lolium* που συλλέχθηκαν από πολυετείς καλλιέργειες στην Ιβηρική Χερσόνησο διαπιστώθηκε ανθεκτικότητα και στο ζιζανιοκτόνο glufosinate. Αντίστοιχα, στην Αυστραλία, βάσει των τιμών LD<sub>50</sub>, ο δείκτης ανθεκτικότητας ήταν παρόμοιος μεταξύ των ειδών και κυμαινόταν από 10 έως 12. Οι τιμές LD<sub>50</sub> ήταν 156,4 και 411,6 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> για τα είδη *Avena sterilis* και *Lolium rigidum*, αντίστοιχα. Δηλαδή, η τριπλάσια δόση glufosinate ήταν απαραίτητη για την πρόκληση θνησιμότητας των φυτών της λεπτής ήρας κατά 50% σε σύγκριση με τα φυτά της αγριοβρώμης.

Συγκεκριμένα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων δόσης-απόκρισης της μελέτης των Ghanizadeh *et al.* (2005a), ο ανθεκτικός πληθυσμός του είδους *Eleusine indica* ήταν 5 και 14 φορές πιο ανθεκτικός σε σύγκριση με τον ευαίσθητο πληθυσμό, βάσει του δείκτη ανθεκτικότητας των τιμών GR<sub>50</sub> και LD<sub>50</sub>, αντίστοιχα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι σε ένα αυτογονιμοποιούμενο είδος, όπως η *E.indica*, ο επιλεγμένος ανθεκτικός υποπληθυσμός στο glufosinate (που προήλθε από φυτά που επιβίωσαν στις δόσεις 1485 και 1980 g a.i. ha<sup>-1</sup>) ήταν μόνο περίπου 2 φορές πιο ανθεκτικός στο glufosinate σε σχέση με τον αρχικό ανθεκτικό πληθυσμό. Για το ίδιο είδος, οι Seng *et al.* (2010) αναφέρουν ότι, βάσει των τιμών GR<sub>50</sub>, ο ανθεκτικός βιότυπος ήταν 3,4 – 3,6 φορές πιο ανθεκτικός από τον ευαίσθητο βιότυπο μετά από εφαρμογή glufosinate και paraquat, αντίστοιχα.

Στη μελέτη των Avila-Garcia & Mallory-Smith (2011) οι ανθεκτικοί βιότυποι του είδους *L.perenne* παρουσίασαν έναν μέσο δείκτη ανθεκτικότητας 2,4. Ταυτόχρονα, η συγκέντρωση glufosinate που ήταν απαραίτητη για τη μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου της συνθετάσης της γλουταμίνης (GS) κατά 50% (I<sub>50</sub>) δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ανθεκτικών και των ευαίσθητων φυτών ήρας, υποδεικνύοντας μηχανισμό ανθεκτικότητας μη στοχευμένης δράσης (NTSR). Σε άλλη μελέτη των ίδιων συγγραφέων, ο δείκτης ανθεκτικότητας για το *L.perenne* έδωσε παραπλήσια τιμή (2,8) παρόλο που αυτή τη φορά οι συγκεντρώσεις του glufosinate (μM) για τη μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου της συνθετάσης της γλουταμίνης (GS) κατά 50% (I<sub>(50)</sub>) του

ανθεκτικού πληθυσμού ήταν 78 και 18 φορές υψηλότερη από τις αντίστοιχες τιμές των δύο ευαίσθητων βιότυπων αναφοράς.

Όπως στην περίπτωση του ζιζανιοκτόνου glyphosate, που αναφέρθηκε παραπάνω, έτσι και στην περίπτωση του glufosinate, παράγοντες όπως οι περιβαλλοντικές συνθήκες μπορούν να επιδράσουν στην αποτελεσματικότητα του ζιζανιοκτόνου (Coetzer *et al.*, 2001; Kumaratilake & Preston, 2005). Πιο αναλυτικά, η αποτελεσματικότητα του ζιζανιοκτόνου μπορεί να είναι εξαρτώμενη από διάφορους παράγοντες που σχετίζονται με τις συνθήκες ψεκασμού, τη θερμοκρασία και την υγρασία αέρα καθώς και τα ζιζάνια στόχους. Σωστή τεχνολογία εφαρμογής και κατάλληλες καιρικές συνθήκες μπορούν να αυξήσουν τα επίπεδα πρόσληψης, αλλά η τελική συγκέντρωση του glufosinate στα φύλλα θα εξαρτηθεί από τον ρυθμό μεταβολισμού. Για παράδειγμα, μεγαλύτερη συγκέντρωση στον ιστό θα μεταφραστεί σε αυξημένη συσσώρευση των ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) υπό συνθήκες πλήρους ηλιοφάνειας, οδηγώντας τελικά σε καλύτερη αποτελεσματικότητα του ζιζανιοκτόνου (Devkota & Johnson, 2016; Sellers *et al.*, 2003; Takano *et al.*, 2019, 2020).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης επιβεβαιώνουν την πρώτη αναφορά ανθεκτικού ζιζανίου στο glufosinate στην Ελλάδα και συγκεκριμένα του είδους *L. rigidum*, πληρώντας όλα τα σχετικά κριτήρια για επιβεβαίωση ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα ζιζανίων (Hear, 2022). Παρά το γεγονός ότι από το 2018 η δ.ο. του glufosinate δεν είναι εγκεκριμένη σε ευρωπαϊκό επίπεδο, για τους παραγωγούς αποτελούσε πολύτιμο εργαλείο στη διαχείριση της ήρας, ειδικά στις περιπτώσεις όπου είχαν αναπτυχθεί ανθεκτικοί βιότυποι στα ήδη χρησιμοποιούμενα ζιζανιοκτόνα (π.χ. glyphosate). Έτσι, η έγκαιρη και εμπεριστατωμένη έρευνα θα επιτρέψει την ευαισθητοποίηση και την κατάλληλη χρήση του ζιζανιοκτόνου στις χώρες που η δ.ο. παραμένει εγκεκριμένη και θα παροτρύνει την υιοθέτηση πρακτικών ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων σε περιοχές ύπαρξης ή πιθανής ύπαρξης ανθεκτικού στο glufosinate *Lolium* spp. (Norsworthy *et al.*, 2012).

Εξαιρετικά κρίσιμη, βέβαια, είναι η ανάγκη για προληπτικά μέτρα που πρέπει να ληφθούν από τους παραγωγούς μαζί με την ορθολογική χρήση του glufosinate (στάδιο εφαρμογής, δόσεις και συνθήκες εφαρμογής) προκειμένου να αποφευχθεί η διασπορά της ανθεκτικότητας των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα και να διατηρηθεί η βιώσιμη χρήση φυτοφαρμάκων σε ισορροπία με τις καλλιεργητικές πρακτικές



(Mueller *et al.*, 2005). Η προληπτική διαχείριση της ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα μπορεί να περιλαμβάνει την έγκαιρη ανίχνευση της ανθεκτικότητας μέσω παρακολούθησης του πεδίου, τη σωστή διαχείριση της τράπεζας σπόρων των ζιζανίων, τη χρήση ζιζανιοκτόνων με διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης στο ίδιο βυτίο ψεκασμού και την κατάλληλη και ακριβή εφαρμογή ζιζανιοκτόνων. Αξίζει να σημειωθεί ότι θα πρέπει να ληφθούν υπόψη και τα χαρακτηριστικά των ζιζανίων.

Είναι σημαντικό ότι στην παρούσα διατριβή για τη διερεύνηση της ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας τόσο στην περίπτωση του glyphosate όσο και στην περίπτωση του glufosinate, επιλέχθηκε ένας αρκετά μεγάλος αρχικός αριθμός βιότυπων ήρας, καλύπτοντας σε μεγάλο βαθμό τις περιοχές της Στερεάς Ελλάδας και της Πελοποννήσου. Ωστόσο, ανθεκτικότητα στο glyphosate μπορεί κάλλιστα να υπάρχει σε άλλα μέρη της Ελλάδας όπου τα ζιζανιοκτόνα χρησιμοποιούνται συχνά εδώ και αρκετά χρόνια. Είναι απαραίτητο, λοιπόν, να διερευνηθεί η εξέλιξη της ανθεκτικότητας στο glyphosate και σε άλλες περιοχές και σε άλλες καλλιέργειες ή άλλα σημεία ενδιαφέροντος όπως πρανή δρόμων, σιδηρόδρομοι κ.ά., για συλλογή περισσότερων δεδομένων και παροχή πληροφοριών σχετικά με το πόσο διαδεδομένη είναι η ανθεκτικότητα των δύο ζιζανιοκτόνων στην Ελλάδα.

**Το είδος *L. rigidum* αποτελεί ένα από τα πιο ανθεκτικά ζιζάνια στα ζιζανιοκτόνα παγκοσμίως λόγω της τάσης του να αναπτύσσει διασταυρωτή και πολλαπλή ανθεκτικότητα σε διαφορετικές περιοχές δράσης (SoA).** Στις καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών, η ανθεκτικότητά του στα ζιζανιοκτόνα αναστολείς της δράσης των ενζύμων ACCase και ALS είναι ευρέως διαδεδομένη περίπτωση πολλαπλής ανθεκτικότητας (Kaundun, 2014; Yu et Powles, 2014), που έχει οδηγήσει τους παραγωγούς να βασίζονται σε προφυτρωτικά ζιζανιοκτόνα τις τελευταίες δύο δεκαετίες προκειμένου να επιτύχουν αποτελεσματικό έλεγχο των ζιζανίων. Αξιοσημείωτο είναι, επίσης, το γεγονός ότι περισσότερες από τις μισές περιπτώσεις ανθεκτικότητας ζιζανίων στο glyphosate περιλαμβάνουν περιπτώσεις πολλαπλής ανθεκτικότητας (Heap, 2022). Όπως μπορεί κανείς εύκολα να υποθέσει, η εμφάνιση πολλαπλής ανθεκτικότητας σε έναν πληθυσμό ζιζανίων περιπλέκει τη διαχείρισή του.

Πολλαπλή ανθεκτικότητα σε μη εκλεκτικά ζιζανιοκτόνα, όπως το glyphosate και το glufosinate, συναντάται συνήθως σπανιότερα λόγω του χαμηλού ποσοστού μεταλλάξεων ανθεκτικότητας που σχετίζονται με αυτά τα ζιζανιοκτόνα (Beckie, 2006). Ειδικότερα, τα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate αποτελούν δύο μη εκλεκτικά

ζιζανιοκτόνα με διαφορετικούς τρόπους δράσης (mode of action, MoA). Έως σήμερα, έχουν αναφερθεί δύο περιπτώσεις πολλαπλής ανθεκτικότητας στο glyphosate και στο glufosinate. Η πρώτη περίπτωση αναφέρεται σε διάφορους πληθυσμούς *Lolium multiflorum* από το Όρεγκον (ΗΠΑ), στους οποίους οι δείκτες ανθεκτικότητας, βάσει των GR<sub>50</sub> τιμών κυμαίνονται από 3–7 και 2–3 για το glyphosate και το glufosinate, αντίστοιχα (Avila-Garcia & Mallory-Smith, 2011) Η δεύτερη περίπτωση αναφέρεται στο είδος *Eleusine indica* από τη Μαλαισία, με τιμή GR<sub>50</sub> ίση με 156 g glufosinate ha<sup>-1</sup>, που μεταφράζεται σε δείκτη ανθεκτικότητας ίσο με 5 (Jalaludin & Powles, 2015). Επιπλέον, όσον αφορά το είδος *Lolium rigidum*, πολλαπλή ανθεκτικότητα έχει εντοπιστεί στα μη εκλεκτικά ζιζανιοκτόνα, glyphosate και paraquat, με μηχανισμούς ανθεκτικότητας που περιλαμβάνουν τόσο μειωμένη μετακίνηση του paraquat και του glyphosate όσο και μια σημειακή μετάλλαξη στο EPSPS (Pro-106-Ala) (Yu *et al.*, 2007).

Μία από τις κύριες ανησυχίες σχετικά με την εξέλιξη της ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate στην Ελλάδα είναι η εξάπλωση των γονιδίων ανθεκτικότητας σε κοντινές καλλιέργειες, όπου τα φυτά των ειδών *L. rigidum* και *L. multiflorum* είναι παρόντα. Από πρακτική άποψη, η ανθεκτικότητα που οφείλεται σε τροποποίηση της θέσης δράσης (TSR) καθορίζει την ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα με τον ίδιο μηχανισμό δράσης, ενώ η ανθεκτικότητα που βασίζεται στον μεταβολισμό μπορεί όχι μόνο να προσδώσει ανθεκτικότητα στα επιλεγμένα ζιζανιοκτόνα αλλά επίσης προσδίδει διασταυρωτή ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα που έχουν διαφορετικό SoA. Πολλά γονίδια εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα μη στοχευμένης δράσης (NTSR) της λεπτής ήρας (Gaines *et al.*, 2014; Kaloumenos *et al.*, 2012) και η γενετική ποικιλομορφία που σχετίζεται με τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης είναι παρούσα σε μικρούς πληθυσμούς και διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο για τις εξελικτικές διαδικασίες που οδηγούν στην ανθεκτικότητα των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα (Neve *et al.*, 2009). Ως εκ τούτου, η πιθανότητα ύπαρξης ανθεκτικότητας που οφείλεται σε μη στοχευμένη δράση (NTSR) που θα μπορούσε να συνδεθεί με τους περισσότερους ανθεκτικούς βιότυπους *Lolium* που διερευνήθηκαν σε αυτή τη μελέτη είναι ανησυχητικός επειδή η απλή εναλλαγή με τα χρόνια των ζιζανιοκτόνων αναστολέων του ενζύμου ALS με ζιζανιοκτόνα αναστολείς του ενζύμου ACCase δεν θα είναι αποτελεσματική, όπως επισημαίνεται από τους Collavo *et al.* (2013).

Στην παρούσα διατριβή, για τους ανθεκτικούς στο glufosinate βιότυπους ήρας ΑΙΤ.7, ΒΟΙ.1, ΚΟΡ.2 και ΦΘΙ.1 καταγράφηκε μη αποτελεσματικός έλεγχός τους και στα πειράματα διερεύνησης ανθεκτικότητας στο ζιζανιοκτόνο glyphosate (Γραφήματα 6 και 8, Κεφ.2.1). Αυτή η παρατήρηση σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η λεπτή ήρα είναι ένα σταυρογονιμοποιούμενο είδος με δυναμικό ταχείας συσσώρευσης γονιδίων με διαφορετικούς μηχανισμούς ανθεκτικότητας και γρηγορότερης εμφάνισης βιότυπων με διασταυρωτή ή/και πολλαπλή ανθεκτικότητα καθιστά αναγκαία την επαγρύπνηση των παραγωγών και τον προσεκτικό και αποτελεσματικό προγραμματισμό διαχείρισης της λεπτής ήρας στις καλλιέργειές τους.

**Καθώς η εξέλιξη της ανθεκτικότητας στο glyphosate αποτελεί ένα σημαντικό ζήτημα για τα εγχώρια γεωργικά συστήματα, κρίθηκε απαραίτητο να διερευνηθεί το πιθανό κόστος προσαρμοστικότητας των ανθεκτικών στο glyphosate βιότυπων ήρας.** Η αναγνώριση και ο προσδιορισμός ενός τέτοιου κόστους προσαρμοστικότητας σε έναν βιότυπο/πληθυσμό ανθεκτικό στα ζιζανιοκτόνα μπορεί να επηρεάσει τις στρατηγικές διαχείρισης της ανθεκτικότητας και να συμβάλει στον αποτελεσματικό έλεγχο των ανθεκτικών ζιζανίων.

Η εξελικτική θεωρία δηλώνει ότι η προσαρμοστικότητα ενός ατόμου και η ανάπτυξη μηχανισμών ανθεκτικότητας σε μία οποιαδήποτε «καταπόνηση» μπορεί να επιφέρει ένα κόστος προσαρμοστικότητας όταν το άτομο επιστρέψει στο αρχικό περιβάλλον, απουσία της καταπόνησης. Σύμφωνα με αρκετές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για τη διερεύνηση του κόστους προσαρμοστικότητας ανθεκτικών ζιζανίων σε ζιζανιοκτόνα, η σύγκριση ανθεκτικών και ευαίσθητων βιότυπων απουσία glyphosate συνδέεται τόσο με την παρουσία (Baucom & Mauricio, 2004; Pedersen *et al.*, 2007; Wakelin & Preston, 2006;) όσο και με την απουσία κόστους προσαρμοστικότητας (Vila-Auib *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2010; Zelaya *et al.*, 2004).

Αρχικά οι Bradshaw *et al.* (1997) είχαν υποστηρίξει πως, εφόσον το glyphosate προσδένεται απευθείας στο ένζυμο EPSPS, η πλειονότητα των σημειακών μεταλλάξεών του θα έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη ανθεκτικότητας αλλά και τη διακοπή της ενζυμικής δραστηριότητας οδηγώντας σε υψηλό κόστος προσαρμοστικότητας. Σύντομα όμως αποδείχθηκε ότι η αντικατάσταση του αμινοξέος προλίνη Pro στη θέση 106 από τα αμινοξέα σερίνη, αλανίνη, λευκίνη ή θρεονίνη, αποτρέπει τη σύνδεση του ενζύμου EPSPS με το glyphosate, ενώ η

λειτουργικότητα του ενζύμου εξακολουθεί να διατηρείται (Powles & Preston, 2006; Yu *et al.*, 2007).

Παρολαυτά, μέχρι σήμερα η πλειοψηφία των μελετών δεν συνδέει ανθεκτικούς βιότυπους ήρας, των οποίων η ανθεκτικότητα οφείλεται σε σημειακές μεταλλάξεις με την ύπαρξη κόστους προσαρμοστικότητας (Darmency, 2013; Kaloumenos *et al.*, 2012; Powles & Yu, 2010; Vila-Auib *et al.*, 2014). Αντίθετα, αρκετές μελέτες επιβεβαιώνουν την ύπαρξη κόστους προσαρμοστικότητας σε ανθεκτικούς βιότυπους *Lolium spp.* των οποίων η ανθεκτικότητα συνδέεται με περιορισμένη μετακίνηση του ζιζανιοκτόνου (Pedersen *et al.*, 2007; Preston *et al.*, 2009; Vila-Auib *et al.*, 2009b). Συγκεκριμένα, οι Pedersen *et al.* (2007) αναφέρουν απουσία διαφορών στην ανάπτυξη και την ανταγωνιστικότητα μεταξύ των ανθεκτικών και των ευαίσθητων φαινοτύπων *L. rigidum*, αλλά ύπαρξη χαμηλότερου συνολικού αριθμού σπόρων και υψηλότερου ατομικού βάρους σπόρων σε ανθεκτικά στο glyphosate φυτά *L. rigidum*.

Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί η σημασία της ύπαρξης ή μη ύπαρξης ανταγωνισμού στα πειράματα οικολογικής προσαρμοστικότητας. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι Pedersen *et al.* (2007) διαπίστωσαν διαφορά στον συνολικό αριθμό σπόρων του ανθεκτικού βιότυπου λεπτής ήρας που πιθανότατα υποδηλώνει ένα πλεονέκτημα προσαρμοστικότητας για τον ευαίσθητο φαινότυπο. Ωστόσο, όπως χαρακτηριστικά αναφέρουν οι συγγραφείς, καθώς ο ανταγωνισμός της ήρας με το σιτάρι αυξανόταν, η διαφορά στην παραγωγή σπόρων μεταξύ ανθεκτικών και ευαίσθητων φυτών ήρας μειώθηκε. Έτσι, το κόστος προσαρμοστικότητας των ανθεκτικών βιότυπων σε αυτή τη μελέτη φάνηκε να εξαρτάται σε κάποιο βαθμό από την ένταση του διαειδικού ανταγωνισμού. Κάτι τέτοιο είναι ιδιαίτερα σημαντικό να λαμβάνεται υπόψη καθώς πολλές φορές οι περισσότερες μελέτες διεξάγονται υπό συνθήκες μη ανταγωνιστικού χαρακτήρα και έτσι η σχετική ανάπτυξη και ανταγωνιστικότητα μεταξύ των ευαίσθητων και των ανθεκτικών βιότυπων δεν μπορεί να αξιολογηθεί πλήρως. Ακόμη και η επιλογή της ποικιλίας της ανταγωνιστικής καλλιέργειας (π.χ σιταριού) μπορεί να επηρεάσει τον βαθμό ανταγωνιστικότητας (Lemerle *et al.*, 2001).

Για τον λόγο αυτό τα πειράματα οικολογικής προσαρμοστικότητας που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή διερεύνησαν τόσο την ανταγωνιστική ικανότητα δύο επιβεβαιωμένων ανθεκτικών και ενός επιβεβαιωμένου ευαίσθητου βιότυπου ήρας στο glyphosate μεταξύ τους όσο και την ανταγωνιστική ικανότητα του

κάθε ενός βιότυπου ήρας με το σκληρό σιτάρι. Και για τα δύο πειράματα που διενεργήθηκαν επιλέχθηκε ο πειραματικός σχεδιασμός της Σειράς Αντικατάστασης (Replacement Series) που έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για την αξιολόγηση του ανταγωνισμού, της διαφοροποίησης θέσεων, της χρήσης των πόρων και της παραγωγικότητας σε απλά μείγματα ειδών (Jolliffe, 2000; Vila-Auib *et al.*, 2015). Για το Πείραμα Β χρησιμοποιήθηκε διαφορετικός ανθεκτικός βιότυπος ήρας, ενώ ο ευαίσθητος βιότυπος αναφοράς και η ποικιλία του σιταριού διατηρήθηκαν σταθερά, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν επιβεβαιώνεται το ίδιο μοτίβο κόστους προσαρμοστικότητας με το Πείραμα Α. Επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν περισσότερες αναλογίες και μετρήθηκε και το βάρος χιλίων σπόρων (ΒΧΣ) προκειμένου να διερευνηθεί με μεγαλύτερη λεπτομέρεια η ανταγωνιστική ικανότητα των ειδών.

Η υπόθεση και για τα δύο πειράματα ήταν ότι ο ανθεκτικός βιότυπος ήρας στο glyphosate παρουσιάζει χαμηλότερη ανταγωνιστική ικανότητα (μετρούμενη ανάπτυξη, απόδοση, σποροπαραγωγή) σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο σε συνθήκες ανταγωνισμού και ότι αμφότεροι οι βιότυποι ήρας παρουσιάζουν χαμηλότερη ανταγωνιστικότητα σε σύγκριση με την καλλιέργεια του σιταριού.

Στο πρώτο πείραμα σειράς αντικατάστασης μεταξύ ευαίσθητου, ανθεκτικού βιότυπου ήρας και σιταριού, ο ανθεκτικός στο glyphosate βιότυπος ήρας παρουσίασε χαμηλότερη ανταγωνιστική ικανότητα σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν και οι Vila-Aiub *et al.* (2009a), οι οποίοι καταγράφουν μάλιστα σημαντικά υψηλότερη υπέργεια βιομάζα στο βλαστικό στάδιο του ευαίσθητου φαινότυπου *L. rigidum* σε σύγκριση με τον ανθεκτικό φαινότυπο. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των Yanniccarì *et al.* (2016), τα ανθεκτικά φυτά του είδους *Lolium perenne* παρουσίασαν μείωση του ύψους κατά 12 και 16% και μείωση της βιομάζας. Παρομοίως, οι Fernández-Moreno *et al.* (2017b) επισημαίνουν μεγαλύτερη παραγωγή σπόρων έως και 47% για τους ευαίσθητους βιότυπους του είδους *L. multiflorum* σε σύγκριση με τους ανθεκτικούς και έως και 30% περισσότερους σπόρους για τους ευαίσθητους βιότυπους του είδους *L. perenne* συγκριτικά με τους ανθεκτικούς.

Ταυτόχρονα, από τα αποτελέσματα του πρώτου πειράματος προέκυψε ότι και οι δύο βιότυποι ήρας παρουσίασαν υψηλότερη ανταγωνιστικότητα σε σύγκριση με την καλλιέργεια του σιταριού. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι ο ανθεκτικός βιότυπος ήρας ανταγωνίζεται το σιτάρι. Ωστόσο, επειδή ένας πληθυσμός στη φύση μπορεί να

περιλαμβάνει και ευαίσθητα και ανθεκτικά άτομα, αυτό το κόστος προσαρμοστικότητας μπορεί να καθυστερήσει την ανάπτυξη ανθεκτικότητας ή την κυριαρχία του ανθεκτικού βιότυπου στον γενικό πληθυσμό. Έτσι, η πιθανότητα ύπαρξης ενός τέτοιου κόστους προσαρμοστικότητας στον ανθεκτικό βιότυπο ήρας θα μπορούσε να επηρεάσει τον ρυθμό με τον οποίο η ανθεκτικότητα εξελίσσεται στον συγκεκριμένο πληθυσμό ζιζανίων.

Στο δεύτερο πείραμα σειράς αντικατάστασης μεταξύ ευαίσθητου, ανθεκτικού βιότυπου ήρας και σιταριού ο ανθεκτικός στο glyphosate βιότυπος ήρας παρουσίασε χαμηλότερη ανταγωνιστική ικανότητα σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο, αλλά δεν προέκυψε προφανές κόστος προσαρμοστικότητας που να σχετίζεται με ανθεκτικότητα στο glyphosate. Παρομοίως, η μελέτη των Travlos & Chachalis (2013) έδειξε ότι σε συνθήκες απουσίας ανταγωνισμού η ανάπτυξη και η παραγωγή σπόρων δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ ενός ανθεκτικού και ενός ευαίσθητου στο glyphosate βιότυπου του είδους *Conyza bonariensis*.

Επιπλέον, όσον αφορά στο βάρος χιλίων σπόρων που μετρήθηκε σε αυτό το πείραμα, στατιστικά σημαντική διαφορά καταγράφηκε μόνο στην αναλογία 75:25 του ευαίσθητου και ανθεκτικού βιότυπου, αντίστοιχα. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις το μέσο βάρος χιλίων σπόρων που καταγράφηκε για τον ανθεκτικό πληθυσμό ήταν χαμηλότερο, χωρίς ωστόσο να παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές. Παρομοίως, οι Sabet Zangeneh *et al.* (2016) δεν εντόπισαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ανθεκτικών και των ευαίσθητων πληθυσμών που μελέτησαν σχετικά με το βάρος των χιλίων σπόρων υπό συνθήκες έλλειψης ανταγωνισμού. Στα πειράματα σειράς αντικατάστασης ήρας και σιταριού προέκυψε αρνητική επίδραση στο βάρος χιλίων σπόρων του σιταριού στα μείγματα με τον ευαίσθητο βιότυπο ήρας. Όσον αφορά τα μείγματα με τον ανθεκτικό βιότυπο, στατιστικά σημαντική διαφορά παρουσιάζεται μόνο στην αναλογία 75:25 για την ήρα και το σιτάρι αντίστοιχα, όπου η τιμή του μέσου βάρους χιλίων σπόρων του σιταριού είναι χαμηλότερη από αυτήν στη μονοκαλλιέργεια σιταριού και στις υπόλοιπες αναλογίες.

Προηγούμενες μελέτες σε διάφορα είδη ζιζανίων έδειξαν είτε μεγαλύτερη παραγωγή σπόρων για τους ανθεκτικούς πληθυσμούς σε σύγκριση με τους ευαίσθητους (Park *et al.*, 2004; Tardif *et al.*, 2006), είτε απουσία διαφορών μεταξύ των βιότυπων (Menalled & Smith, 2007; Travlos, 2013) ή ακόμη και την υπεροχή των ανθεκτικών βιότυπων στην παραγωγή σπόρου (Kaspary *et al.*, 2017).

Επιπλέον, σε αυτό το δεύτερο πείραμα σειράς αντικατάστασης, τα αποτελέσματα σε αντίθεση με τα αντίστοιχα του πρώτου πειράματος, έδειξαν αυξημένη ανταγωνιστικότητα του σιταριού προς την ήρα. Παρόμοια αποτελέσματα ως προς την ανταγωνιστική ικανότητα του σιταριού έναντι της λεπτής ήρας προκύπτουν και από τα πειράματα σειράς αντικατάστασης των Sabet Zangeneh *et al.* (2016) εναντίον ανθεκτικών και ευαίσθητων βιότυπων ήρας σε ζιζανιοκτόνα αναστολής της δράσης του ενζύμου ACCase.

Η διαφοροποίηση μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο πειραμάτων θα μπορούσε να υποδηλώνει αλληλεπίδραση του γονότυπου με το περιβάλλον. Από τα προηγούμενα πειράματα δόσης-απόκρισης, σικιμικού οξέος και επίδρασης χαμηλών θερμοκρασιών θα μπορούσε κανείς να υποστηρίξει πως οι ελληνικοί ανθεκτικοί βιότυποι AIT.1 και BOI.1 συνδέονται με μηχανισμούς ανθεκτικότητας μη στοχευμένης ανθεκτικότητας (NTSR). Ωστόσο, οι ελληνικοί ανθεκτικοί βιότυποι, AIT.1 και BOI.1 έδωσαν διαφορετικά αποτελέσματα ως προς το πιθανό κόστος προσαρμοστικότητάς τους στα Πειράματα Α και Β, αντίστοιχα. Παρ' όλα αυτά, εξακρίβωση των μηχανισμών ανθεκτικότητας κρίνεται απαραίτητη πριν την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με το κόστος προσαρμοστικότητάς τους.

Σε κάθε περίπτωση, τα αποτελέσματα τέτοιων πειραμάτων συχνά παρουσιάζουν αποκλίσεις με την ανταγωνιστική ικανότητα που παρατηρείται στο πεδίο. Ωστόσο, αποτελέσματα που υποστηρίζουν την ύπαρξη κόστους ανθεκτικότητας για διαφορετικά είδη ζιζανίων μπορούν να έχουν ως συνέπεια τη μείωση της συχνότητας των ανθεκτικών αλληλόμορφων εντός του πεδίου εάν ο ανθεκτικός πληθυσμός δεν εκτεθεί σε εφαρμογή glyphosate και μετά από πολλές γενιές η ευαισθησία σε glyphosate είναι δυνατόν να αποκατασταθεί σε ένα τέτοιο πληθυσμό. Επιπλέον έρευνα που θα λαμβάνει υπόψη της και την επίδραση του γενετικού υπόβαθρου είναι απαραίτητη για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων (Giacomini *et al.*, 2014). Αυτή η μελέτη παρέχει μια βάση πάνω στην οποία μπορεί να διεξαχθεί μελλοντική έρευνα για τον καθορισμό των καλύτερων στρατηγικών διαχείρισης ανθεκτικότητας σε επίπεδο αγρού.

**Στο πλαίσιο της ολοκληρωμένης διαχείρισης των ζιζανίων, ιδιαίτερης αξίας είναι και τα πειράματα πεδίου που στοχεύουν στη βελτιστοποίηση των στρατηγικών διαχείρισης με χρήση εναλλακτικών και υπολειμματικών ζιζανιοκτόνων. Συγκεκριμένα, τα πειράματα πεδίου μπορούν να φανούν**

**ιδιαίτερα χρήσιμα τόσο στην καλύτερη διαχείριση των ανθεκτικών πληθυσμών όσο και στην πρόληψη/αντιμετώπιση πιθανής αναβλάστησης ανθεκτικών μεμονωμένων φυτών του είδους *Lolium spp.*** Σύμφωνα με τους Antier *et al.* (2020), εφαρμογές glyphosate πραγματοποιούνται στο 60-70% της συνολικής έκτασης των δενδροκομικών καλλιεργειών της Ελλάδας. Οι παραγωγοί, από την εισαγωγή του glyphosate στην αγορά έως και σήμερα, στηρίζουν ένα πολύ μεγάλο μέρος του προγράμματος ζιζανιοκτονίας που ακολουθούν στην εφαρμογή του συγκεκριμένου ζιζανιοκτόνου, συχνά χωρίς να εφαρμόζουν εναλλακτικές καλλιεργητικές τεχνικές ή μείγματα με άλλες δραστικές ουσίες (Soteres, 2012). Γεγονός που οδήγησε, μέσω της φυσικής επιλογής, σχετικά σύντομα στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας βιότυπων πολλών ειδών ζιζανίων, μεταξύ των οποίων και η λεπτή ήρα.

Έτσι, τα τελευταία χρόνια προβάλλει επιτακτική η ανάγκη χάραξης συγκεκριμένης στρατηγικής για τον έλεγχο των ανθεκτικών βιότυπων και τον περιορισμό της εξάπλωσης της ανθεκτικότητας της ήρας στο glyphosate. Στις δενδροκομικές καλλιέργειες, όπου καλλιεργητικές τεχνικές, όπως αμειψισπορά, δεν είναι δυνατόν να εφαρμοστούν, η στρατηγική αυτή θα πρέπει να περιλαμβάνει μεταξύ άλλων και συνδυασμούς του glyphosate με κατάλληλες εγκεκριμένες δραστικές ουσίες. Επίσης, εφαρμογή καλλιεργητικών τεχνικών, όπως στελεχοκοπή, θα μπορούσαν να συμβάλουν στον περιορισμό της αναπαραγωγής και εξάπλωσης των ανθεκτικών βιότυπων ζιζανίων (Costa, 2012).

Πέραν λοιπόν της ύπαρξης, του επιπέδου και του πιθανού κόστους προσαρμοστικότητας των ανθεκτικών στο glyphosate βιότυπων *L. rigidum*, στην παρούσα διατριβή, αξιολογήθηκε ο συνδυασμός του glyphosate με δραστικές ουσίες διαφορετικού τρόπου δράσης, αλλά και η εφαρμογή εναλλακτικών τρόπων διαχείρισης των ζιζανίων. Συγκεκριμένα, η έρευνα εστίασε στην αποτελεσματικότητα ελέγχου πληθυσμών *L. rigidum* σε δενδροκομικές καλλιέργειες της Ελλάδας. Επιλέχθηκαν αγροτεμάχια στα οποία ο έλεγχος των πληθυσμών ήρας δεν ήταν επαρκής μετά από εφαρμογές glyphosate, βάσει αναφορών των ιδιοκτητών τους. Στους τέσσερις πειραματικούς αγρούς, που επιλέχθηκαν (Αιτωλικό - Ελαιώνας, Νεοχώρι – Εσπεριδοειδή, Λαμία – Ελαιώνας, Άσκηρη – Αμπελώνας), είχε γίνει πολυετής χρήση του glyphosate. Επιπλέον, η παρουσία βιότυπων χαμηλότερης ευαισθησίας στο glyphosate στους τρεις από τους τέσσερις αγρούς, επιβεβαιώθηκε



και στα πειράματα που παρουσιάζονται παραπάνω (Κεφάλαιο 4.1 – βιότυποι AIT.1, AIT.15 και BOI.1).

Στις πειραματικές εφαρμογές που πραγματοποιήθηκαν στους τέσσερις αγρούς, μετά από εφαρμογή glyphosate και συνδυασμών του (εφαρμογή στελεχοκοπής και ζιζανιοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης), παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την αποτελεσματικότητα ελέγχου του ζιζανίου *Lolium rigidum*. Οι επεμβάσεις περιελάμβαναν εφαρμογές δύο δόσεων glyphosate (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> και 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>) σε συνδυασμό με εφαρμογή στελεχοκοπής, εφαρμογή μόνο στελεχοκοπής, εφαρμογή μόνο της υψηλής δόσης του glyphosate και εφαρμογές μειγμάτων του glyphosate με τα ζιζανιοκτόνα pendimethalin, cycloxydim, flazasulfuron, chlorotoluron & diflufenican και fluazifop-p-butyl. Οι ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν είναι αντιπροσωπευτικές των κύριων τρόπων δράσης εγκεκριμένων δραστικών ουσιών στην Ευρωπαϊκή Ένωση για τον έλεγχο μονοκοτυλήδων ειδών ζιζανίων (Fogliatto *et al.*, 2020).

Στα αποτελέσματα των τεσσάρων πειραματικών δοκιμών, η εφαρμογή της στελεχοκοπής παρουσίασε πολύ χαμηλό έλεγχο του *L. rigidum*. Συγκεκριμένα, η αποτελεσματικότητα της στελεχοκοπής δεν ξεπέρασε το 30% και διέφερε στατιστικά σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες επεμβάσεις με χημικά μέσα. Στις περιπτώσεις όπου την εφαρμογή στελεχοκοπής ακολούθησε εφαρμογή glyphosate, η αποτελεσματικότητα στον έλεγχο των πληθυσμών ήρας ήταν υψηλότερη. Ωστόσο, φαίνεται πως η αύξηση της αποτελεσματικότητας σε αυτήν την περίπτωση ήταν ανάλογη της ευαισθησίας των πληθυσμών στο glyphosate. Οι εφαρμογές της χαμηλότερης δόσης του glyphosate σε συνδυασμό με στελεχοκοπή, παρουσίασαν χαμηλή έως μέτρια αποτελεσματικότητα στους τρεις από τους τέσσερις αγρούς. Μόνο στην περίπτωση του ελαιώνα στην περιοχή της Λαμίας η αποτελεσματικότητα της συγκεκριμένης επέμβασης ξεπέρασε το 80%. Η υψηλότερη αποτελεσματικότητα όμως που παρατηρήθηκε στον συγκεκριμένο αγρό, πιθανότατα οφείλεται στη μεγαλύτερη ευαισθησία που εμφανίστηκε σε όλες τις εφαρμογές glyphosate.

Παρ' όλα αυτά, μεγαλύτερη ήταν η συνεισφορά της στελεχοκοπής σε ορισμένες περιπτώσεις κατά τη σύγκριση των επεμβάσεων της υψηλής δόσης του glyphosate και του συνδυασμού στελεχοκοπής και της υψηλής δόσης glyphosate. Στους τρεις από τους τέσσερις πειραματικούς αγρούς, η εφαρμογή στελεχοκοπής αύξησε την τελική αποτελεσματικότητα, φτάνοντας σε τελικά ποσοστά ελέγχου 80%, 100% και

90% (Αιτωλικό – Ελαιώνας, Λαμία – Ελαιώνας, Άσκη – Αμπελώνας, αντίστοιχα). Στον πειραματικό αγρό στο Νεοχώρι, όπου ο πληθυσμός ήρας εμφάνισε γενικότερα τη χαμηλότερη ευαισθησία στο glyphosate, υπήρξε υψηλότερη αύξηση της αποτελεσματικότητας (αύξηση κατά 20%), όταν η εφαρμογή της υψηλότερης δόσης του glyphosate συνδυάστηκε με τη στελεχοκοπή, ενώ οι δύο επεμβάσεις διέφεραν και στατιστικά σημαντικά.

Βάσει των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, μία εφαρμογή στελεχοκοπής δεν επαρκεί για αποτελεσματικό έλεγχο σε αγρούς όπου εφαρμόζεται άρδευση και περιοχές με συχνή βροχόπτωση κατά τη χειμερινή περίοδο. Μόνο τακτικές εφαρμογές στελεχοκοπής μπορούν να περιορίσουν αποτελεσματικά την αναπαραγωγή του *L. rigidum*. Στην Ελλάδα, αλλά και διεθνώς, η χρήση χορτοκοπτικών μηχανημάτων είναι από τις πιο συχνές μεθόδους διαχείρισης των ζιζανίων, αλλά για τον επαρκή έλεγχο απαιτούνται τρεις έως τέσσερις εφαρμογές στελεχοκοπής (Ελευθεροχωρινός, 2002). Η ανάγκη των συχνών εφαρμογών αποτρέπει πολλούς παραγωγούς να επιλέξουν τη στελεχοκοπή ως μέθοδο ελέγχου των ζιζανίων, καθώς πέραν του οικονομικού κόστους, υπάρχουν και περιορισμοί λόγω καιρικών συνθηκών και αδυναμίας ταυτόχρονης αντιμετώπισης πολυετών ζιζανίων. Ωστόσο, βάσει και των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, ο συνδυασμός της στελεχοκοπής με την εφαρμογή glyphosate μείωσε σε μεγάλο βαθμό το ποσοστό επιβίωσης των διαφορετικών πληθυσμών του *L. rigidum*, ενώ υψηλή αποτελεσματικότητα από παρόμοιες επεμβάσεις έχει παρουσιαστεί και για πολυετή ζιζάνια σε αντίστοιχες εργασίες (Renz & DiTomaso, 1996, 2004, 2006).

Όσον αφορά τις επεμβάσεις του συνδυασμού του glyphosate με άλλες δραστικές ουσίες, η εφαρμογή των μειγμάτων οδήγησε σε αύξηση του ποσοστού ελέγχου των τεσσάρων πληθυσμών ήρας, χωρίς όμως να παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλες τις περιπτώσεις σε σχέση με την επέμβαση της υψηλότερης δόσης του glyphosate. Η επέμβαση με την υψηλότερη αποτελεσματικότητα, η οποία έφτασε το 100% σε όλες τις περιοχές, ήταν η εφαρμογή μείγματος glyphosate και cycloxydim. Εξαιρετικά υψηλός έλεγχος των πληθυσμών, όμως, επιτεύχθη και με τους συνδυασμούς glyphosate με τις δραστικές ουσίες flazasulfuron και fluazifop-p-butyl. Στους συνδυασμούς του glyphosate με τις δραστικές ουσίες pendimethalin και chlorotoluron & diflufenican, το ποσοστό ελέγχου δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά από αυτό της επέμβασης μόνο της υψηλότερης δόσης του glyphosate για τους δύο

πιο ευαίσθητους πληθυσμούς *L. rigidum*. Αντίθετα, στατιστικά υψηλότερη αποτελεσματικότητα υπήρξε από τις συγκεκριμένες επεμβάσεις στον έλεγχο των ανθεκτικότερων στο glyphosate πληθυσμών.

Αποτελεσματικός έλεγχος ανθεκτικών βιότυπων *L. rigidum* στο glyphosate, παρουσιάζεται και στην έρευνα των Fernandez-Moreno *et al.* (2017c). Συγκεκριμένα, εφαρμογή των δύο δραστικών ουσιών, cycloxydim και flazasulfuron μεταφυτρωτικά σε πρώιμο στάδιο (3-8 φύλλα) οδήγησε σε ποσοστό ελέγχου άνω του 90%, ενώ η αποτελεσματικότητα εφαρμογών glyphosate δεν ξεπέρασε το 33%. Την υψηλότερη αποτελεσματικότητα στον έλεγχο του ανθεκτικού βιότυπου ήρας παρουσίασε και η εφαρμογή μείγματος glyphosate και flazasulfuron. Επιπρόσθετα, οι συγγραφείς διαπίστωσαν πως ακόμα και όταν οι εφαρμογές δεν έγιναν σε πρώιμο, αλλά σε προχωρημένο στάδιο ανάπτυξης των φυτών ήρας, μετά από εφαρμογές σε δύο διαδοχικά έτη, υπήρξε υψηλή μείωση της τράπεζας σπόρων στο έδαφος σε όλες τις περιπτώσεις. Μοναδική εξαίρεση αποτέλεσαν οι διαδοχικές εφαρμογές glyphosate, χωρίς κάποια άλλη δραστική ουσία, κατά τις οποίες η τράπεζα σπόρων του *L. rigidum* παρουσίασε μέτρια μείωση.

Υψηλότερη αποτελεσματικότητα μετά από εφαρμογές σε μικρότερα στάδια ανάπτυξης *L. multiflorum* παρατηρήθηκε και στην μελέτη των Christoffoleti *et al.* (2005). Εφαρμογές μόνο με glyphosate σε πολύ υψηλή δόση ήλεγξαν αποτελεσματικά τον ανθεκτικό βιότυπο *L. multiflorum*, ενώ αποτελεσματικός έλεγχος (100%), υπήρξε και μετά από εφαρμογή της δραστικής ουσίας clethodim, αλλά και μείγματος της με glyphosate στη δόση 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>. Το clethodim ανήκει στην ίδια χημική ομάδα και διαθέτει τον ίδιο τρόπο δράσης με το cycloxydim, το οποίο παρουσίασε αντίστοιχα υψηλή αποτελεσματικότητα στην παρούσα μελέτη μετά από εφαρμογή μείγματος με την ίδια δόση glyphosate. Επιπρόσθετα, η υψηλή αποτελεσματικότητα του μείγματος glyphosate και clethodim επιβεβαιώνεται και σε πειραματική εφαρμογή των Adu-Yeboah *et al.* (2014), όπου επέμβαση με το μείγμα απέτρεψε την παραγωγή σπόρου του *L. rigidum*.

Στην παρούσα διατριβή, καταγράφηκε υψηλός έλεγχος των πληθυσμών *L. rigidum* σε δενδρώδεις καλλιέργειες από ζιζανιοκτόνα των Ομάδων 1 (Παρεμποδιστές της βιοσύνθεσης λιπαρών οξέων – ένζυμο ACCase) και 2 (Παρεμποδιστές της

βιοσύνθεσης διακλαδισμένης αλυσίδας αμινοξέων – ένζυμο ALS) κατά HRAC<sup>44</sup>, στις οποίες ανήκουν οι δραστικές ουσίες cycloxydim, flazasulfuron και fluazifop-p-butyl. Προσοχή, όμως, θα πρέπει να δοθεί στις μεταφυτρωτικές εφαρμογές αυτών των δραστικών ουσιών, καθώς εντατικές εφαρμογές μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας στους συγκεκριμένους τρόπους δράσης από τους πληθυσμούς *L. rigidum*, που αναπτύσσονται σε εκτάσεις δενδροκομικών καλλιεργειών. Στην Ιβηρική χερσόνησο, ως εναλλακτική λύση στην αντιμετώπιση ζιζανίων, τα οποία έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στο glyphosate, υπήρχε η χρήση των ευρέως φάσματος δραστικών ουσιών glufosinate-ammonium και oxyfluorfen. Η εντατικοποίηση της χρήσης των δύο δραστικών, δίχως να εφαρμόζεται εναλλαγή ζιζανιοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης οδήγησε στην εμφάνιση πληθυσμών *Lolium* spp. (*L. rigidum*, *L. perenne*, *L. multiflorum*) με πολλαπλή ανθεκτικότητα στις δραστικές ουσίες glyphosate, glufosinate-ammonium και oxyfluorfen (Fernández *et al.*, 2017a).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα-παρεμποδιστές των ενζύμων ACCase και ALS, έχουν ήδη αναπτύξει πολλοί πληθυσμοί *L. rigidum* μετά από πολυετείς μεταφυτρωτικές εφαρμογές σε σιτηρά και άλλες καλλιέργειες μεγάλης έκτασης, σε παγκόσμιο επίπεδο (Torra *et al.*, 2021). Για τη διαχείριση της ανθεκτικότητας σε αυτές τις καλλιέργειες, πλέον προτείνονται εφαρμογές προφυτρωτικών ζιζανιοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης, όπως οι δραστικές ουσίες pendimethalin, chlorotoluron και diflufenican (Papapanagiotou *et al.*, 2020; Tanji & Boutfirass, 2018). Όπως στην περίπτωση των ανθεκτικών βιότυπων σε παρεμποδιστές ACCase και ALS, έτσι και στην περίπτωση ανθεκτικών στο glyphosate βιότυπων, δραστικές ουσίες με διαφορετικό τρόπο δράσης μπορούν να αποτελέσουν χρήσιμο εργαλείο στον περιορισμό της ανθεκτικότητας, αλλά και στην αποφυγή εμφάνισής της σε πληθυσμούς, οι οποίοι παραμένουν ευαίσθητοι. Ένα σημαντικό μειονέκτημα των εναλλακτικών εγκεκριμένων δραστικών ουσιών είναι το περιορισμένο τους φάσμα δράσης, καθώς συνήθως είναι αποτελεσματικές εναντίον είτε μονοκοτυλήδων είτε δικοτυλήδων φυτών. Για παράδειγμα, τα ζιζανιοκτόνα glufosinate και diquat, τα οποία χρησιμοποιούνταν ευρέως στις δενδροκομικές καλλιέργειες και στην Ευρώπη, δεν είναι πλέον διαθέσιμα στα χέρια των παραγωγών (Fogliatto *et al.*, 2020). Νέες δραστικές ουσίες, όπως το πελαργονικό οξύ, έχουν

---

<sup>44</sup> HRAC: Herbicide Resistance Action Committee (<https://www.hracglobal.com>)

παρουσιάζει ικανοποιητική αποτελεσματικότητα εναντίον πλατύφυλλων ζιζανίων, ενώ αντικρουόμενες απόψεις υπάρχουν σχετικά με την αποτελεσματικότητα σε αγρωστώδη ζιζάνια όπως η λεπτή ήρα (Travlos *et al.*, 2020).

Συμπερασματικά, οι εναλλακτικές ή συνδυαστικές εφαρμογές του glyphosate θα πρέπει να περιλαμβάνουν συνδυασμούς εφαρμογών προφυτρωτικών και μεταφυτρωτικών ζιζανιοκτόνων, ενώ θα πρέπει να υιοθετούνται και πρακτικές μη χημικής αντιμετώπισης. Η χημική αντιμετώπιση μπορεί να περιοριστεί και μόνο σε εφαρμογές επί των γραμμών φύτευσης, ώστε να μειωθεί τόσο το οικονομικό κόστος των εφαρμογών όσο και το περιβαλλοντικό αποτύπωμα, καθώς η διατήρηση χαμηλής βλάστησης ανάμεσα στις γραμμές φύτευσης επιλέγεται από αρκετούς καλλιεργητές για τα πλεονεκτήματα που παρέχει (περιορισμός της διάβρωσης του εδάφους, διατήρηση περάσματος για γεωργικούς ελκυστήρες, διατήρηση περιβάλλοντος ανάπτυξης ωφέλιμων οργανισμών κ.α.) (Mia *et al.*, 2020a).

**Όπως είναι ευρέως γνωστό, για την αποτελεσματική διαχείριση του φαινομένου της ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα εκτός από την εφαρμογή προγραμμάτων εναλλαγής δραστικών ουσιών με διαφορετικό τρόπο δράσης, είναι απαραίτητη και η εφαρμογή εναλλακτικών μεθόδων μη χημικής αντιμετώπισης.** Τις τελευταίες δεκαετίες, οι ισχυρισμοί για τις επιπτώσεις της εφαρμογής συνθετικών ζιζανιοκτόνων στο φυσικό περιβάλλον είναι ολοένα αυξανόμενοι. Συγκεκριμένα στο πλαίσιο της Πράσινης Συμφωνίας σε επίπεδο Ευρωπαϊκής Ένωσης έχουν ορισθεί συγκεκριμένοι στόχοι, μεταξύ των οποίων βρίσκεται και η μείωση της χρήσης των χημικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων κατά 50%. Ανάμεσα στις δραστικές ουσίες των οποίων το μέλλον στην Ευρωπαϊκή Ένωση είναι «αβέβαιο» βρίσκεται και το glyphosate, η έγκριση του οποίου ανανεώθηκε στα τέλη του 2017 για πέντε χρόνια με μία νέα απόφαση για τη μελλοντική του πορεία να αναμένεται εντός του 2022 (Fogliatto *et al.*, 2020). Τόσο λοιπόν η ανάγκη διαχείρισης ανάπτυξης ανθεκτικότητας στο glyphosate, όσο και η πιθανή μη έγκρισή του μελλοντικά, καθιστούν απαραίτητη τη διερεύνηση εναλλακτικών, μη χημικών λύσεων (Kudsk & Mathiassen, 2020). Το είδος του ζιζανίου-στόχου και η καλλιέργεια (πεδίο εφαρμογής), βρίσκονται μεταξύ των παραγόντων, που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην επιλογή των κατάλληλων μεθόδων (Hammermeister, 2016).

Στην παρούσα εργασία αξιολογήθηκε η διαχείριση ενός ανθεκτικού στο glyphosate πληθυσμού ήρας με μη χημικά μέσα σε ελαιώνα του νομού Ηλείας. Όπως παρουσιάστηκε στο Κεφ. 3.2.2.2, οι μη χημικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν περιελάμβαναν την εφαρμογή στελεχοκοπής (δύο εφαρμογές), την εφαρμογή επιστρώματος σανού ως εδαφοκάλυψη και δύο επεμβάσεις καλλιεργειών κάλυψης (καλλιέργεια κτηνοτροφικού μπιζελιού και συγκαλλιέργεια κτηνοτροφικού μπιζελιού και βρώμης), ενώ στις επεμβάσεις συμπεριελήφθησαν και εφαρμογές glyphosate σε δύο δόσεις ( $720 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$ ,  $1440 \text{ g δ.ο. ha}^{-1}$ ). Στις παρατηρήσεις που πραγματοποιήθηκαν μία εβδομάδα μετά την εγκατάσταση του πειράματος η διεξαγωγή συμπερασμάτων δεν ήταν δυνατή για τις μη χημικές επεμβάσεις. Ωστόσο, στις μετρήσεις NDVI που πραγματοποιήθηκαν, υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών των φυτών του αφέκαστου μάρτυρα και των φυτών στις επεμβάσεις του glyphosate. Οι χαμηλές τιμές NDVI στις τιμές των επεμβάσεων glyphosate ήταν σε συμφωνία με τα συμπτώματα χλώρωσης που εμφάνισαν τα φυτά ήρας στα αντίστοιχα πειραματικά τεμάχια. Φαίνεται πως ο δείκτης NDVI έδωσε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τα πειράματα σε φυτοδοχεία (Κεφ. 4.1.1.) και πως μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας εφαρμογών glyphosate σε συνθήκες αγρού και σε στάδιο που δεν υπάρχει ολοκληρωτική νέκρωση των φυτών, όπως έχει παρουσιαστεί και σε αντίστοιχες μελέτες (Kanatats *et al.*, 2021; Travlos *et al.*, 2021).

Παρά την αρχική επίδραση στα φυτά ήρας των σχετικών πειραματικών τεμαχίων, οι εφαρμογές glyphosate και στις δύο δόσεις δεν περιόρισαν αποτελεσματικά την επιβίωση των φυτών ήρας. Στις επεμβάσεις των δύο δόσεων glyphosate, το τελικό ποσοστό ελέγχου δεν ξεπέρασε το 27%, επιβεβαιώνοντας την πολύ χαμηλή ευαισθησία του πληθυσμού στο glyphosate.

Στις τέσσερις εβδομάδες μετά την εγκατάσταση του πειράματος, η υψηλότερη αποτελεσματικότητα παρατηρήθηκε στην επέμβαση της εδαφοκάλυψης, στην οποία το ποσοστό ελέγχου των φυτών ήρας ξεπέρασε το 90%, ενώ η υψηλή αποτελεσματικότητα διατηρήθηκε έως και 8 εβδομάδες μετά την εφαρμογή της (>80%). Ωστόσο, κατά την αξιολόγηση της εφαρμογής εδαφοκάλυψης 16 εβδομάδες μετά, το ποσοστό ελέγχου είχε πέσει στο 43%, καθώς λόγω της φυσικής φθοράς του στρώματος σανού, φυτά ήρας είχαν διαπεράσει την επίστρωση. Παρ' όλα αυτά, από τα τελικά αποτελέσματα φαίνεται πως η εφαρμογή εδαφοκάλυψης μπορεί να

συνεισφέρει σε υψηλό βαθμό στη μείωση του ποσοστού επιβίωσης των πληθυσμών *Lolium rigidum* και κατά συνέπεια στη σημαντική μείωση της τράπεζας σπόρων του είδους στο έδαφος των αγρών.

Στην παρούσα εργασία για την εφαρμογή της εδαφοκάλυψης χρησιμοποιήθηκε σανός μηδικής, ενώ και άλλα οργανικά υλικά μπορούν να επιλεγθούν στη συγκεκριμένη μέθοδο. Μεταξύ των διαθέσιμων επιλογών οργανικών υλικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν βρίσκονται το πριονίδι, το ροκανίδι, ο φλοιός και τα φύλλα φυτών, υπολείμματα καλλιεργειών και ζιζάνια τα οποία έχουν αφαιρεθεί από τον αγρό κ.α. (Mia *et al.*, 2020a). Ως ένα από τα πιο αποτελεσματικά υλικά εδαφοκάλυψης για την αντιμετώπιση ζιζανίων σε δένδροκομικές καλλιέργειες έχει αναφερθεί το ροκανίδι (Ingels *et al.*, 2013). Ωστόσο, η προμήθεια του συγκεκριμένου υλικού έχει πολύ υψηλό κόστος (Tahir *et al.*, 2015). Η χρησιμοποίηση σανού ή άχυρου ως εδαφοκάλυψη για την αντιμετώπιση ζιζανίων έχει αξιολογηθεί και σε άλλες σχετικές μελέτες. Σε εργασία των Shehata *et al.* (2018), εδαφοκάλυψη με άχυρο ρυζιού, παρείχε αποτελεσματικό έλεγχο των ζιζανίων κατά 90% για χρονικό διάστημα άνω των ενενήντα ημερών, ενώ απόλυτος έλεγχος ζιζανίων επιτεύχθη σε μελέτη όπου η εδαφοκάλυψη με άχυρο συνδυάστηκε με εφαρμογή glyphosate (Hussain *et al.*, 2020). Υψηλός έλεγχος ζιζανίων (>90%) επιτεύχθη και μετά τον συνδυασμό εδαφοκάλυψης με άχυρο και εφαρμογή atrazine (Bhullar *et al.* 2015).

Συμπερασματικά, η εφαρμογή εδαφοκάλυψης με οργανικά υλικά μπορεί να ενισχύσει την αποτελεσματική διαχείριση των ζιζανίων στο πλαίσιο της ολοκληρωμένης αντιμετώπισης, παρέχοντας και άλλα οφέλη στην καλλιέργεια, όπως προστασία του εδάφους από διάβρωση, απώλεια υγρασίας και θερμότητας (Shruti *et al.*, 2018). Επίσης, μπορεί να συνδυαστεί και με άλλες μεθόδους, όπως χημική αντιμετώπιση για την αύξηση της αποτελεσματικότητας και καλλιέργειες κάλυψης, οι οποίες με την ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εδαφοκάλυψη (Campiglia *et al.*, 2012).

Σε αντίθεση με την εφαρμογή της εδαφοκάλυψης, η αποτελεσματικότητα των εφαρμογών της στελεχοκοπής ήταν χαμηλή σε όλες τις αξιολογήσεις που πραγματοποιήθηκαν, με το τελικό ποσοστό ελέγχου να μην ξεπερνάει το 15%. Όπως προκύπτει και από τις συγκεκριμένες πειραματικές εφαρμογές, ο έλεγχος του είδους *L. rigidum* απαιτεί αρκετές εφαρμογές σε τακτά χρονικά διαστήματα, καθώς δύο μήνες μετά την κάθε εφαρμογή στελεχοκοπής δεν υπήρχε εμφανής μακροσκοπική

διαφοροποίηση στα πειραματικά τεμάχια της στελεχοκοπής και του μάρτυρα. Ωστόσο, κατάλληλος αριθμός εφαρμογών στελεχοκοπής, μπορεί να επιτύχει επαρκή περιορισμό της ανάπτυξης των ζιζανίων και των αρνητικών συνεπειών στην απόδοση των καλλιεργειών.

Παράλληλα, η διατήρηση της φυτικής βλάστησης μπορεί να επιφέρει αρκετά πλεονεκτήματα (Mia *et al.*, 2020a). Σε πειραματικές δοκιμές στην Ιταλία, διατήρηση χαμηλής βλάστησης, μετά από συχνές εφαρμογές στελεχοκοπής (5-7 ανά καλλιεργητική περίοδο) επί της γραμμής των δέντρων, βελτίωσε την ποιότητα του εδάφους και επέδρασε θετικά στη βιοποικιλότητα του αγρού, χωρίς αρνητικό αντίκτυπο στην απόδοση της καλλιέργειας (Mia *et al.*, 2020b). Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου όμως εξαρτάται και από το είδος του ζιζανίου-στόχου. Όπως παρουσιάστηκε σε σχετική μελέτη, ακόμα και μία εφαρμογή στελεχοκοπής παρείχε αποτελεσματική ζιζανιοκτονία εναντίον πλατύφυλλων ζιζανίων (Kanatas *et al.*, 2021). Σε κάθε περίπτωση, η στελεχοκοπή αποτελεί για πολλά χρόνια και θα συνεχίσει να αποτελεί παραδοσιακή μέθοδο για τον έλεγχο των ζιζανίων στις δενδροκομικές καλλιέργειες. Η ένταξη της μεθόδου στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση και ο συνδυασμός της με άλλες μεθόδους, μπορούν να προσφέρουν σημαντικές λύσεις στη διαχείριση της ανθεκτικότητας του glyphosate αλλά και άλλων δραστικών ουσιών.

Στην παρούσα διατριβή, την υψηλότερη αποτελεσματικότητα στον περιορισμό του ποσοστού επιβίωσης της λεπτής ήρας μεταξύ των πειραματικών τεμαχίων, παρείχαν οι επεμβάσεις των καλλιεργειών κάλυψης με τελικά ποσοστά ελέγχου 78% και 82% για τις επεμβάσεις του κτηνοτροφικού μπιζελιού και της συγκαλλιέργειας κτηνοτροφικού μπιζελιού και βρώμης, αντίστοιχα. Μεταξύ των δύο επεμβάσεων των καλλιεργειών κάλυψης δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά. Καθώς οι καλλιέργειες κάλυψης εξετάζονται ως μέθοδος αντιμετώπισης των ζιζανίων τα τελευταία χρόνια, χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση για την επιλογή των κατάλληλων ειδών φυτών ή συνδυασμών τους για την επίτευξη της καλύτερης δυνατής διαχείρισης των πληθυσμών ζιζανίων. Τα αποτελέσματα της παγκόσμιας έρευνας αυτή τη στιγμή είναι αντικρουόμενα, σχετικά με το αν μονοκαλλιέργεια ή συγκαλλιέργεια διαφορετικών ειδών καταστέλλει σε μεγαλύτερο βαθμό την ανάπτυξη των ζιζανίων (Osterholz *et al.*, 2021).



Βάσει των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης, η εφαρμογή καλλιεργειών κάλυψης αποδεικνύεται επιτυχής μέθοδος για τη μείωση της τράπεζας σπόρων σε εδάφη όπου είναι έντονη η παρουσία της λεπτής ήρας, λόγω περιορισμού του ποσοστού επιβίωσης του είδους στους αγρούς και εν συνεχεία ως αποτελεσματικός εναλλακτικός (μη χημικός) τρόπος διαχείρισης ανθεκτικών στο glyphosate πληθυσμών. Μάλιστα, λαμβάνοντας υπόψη την πιθανότητα ύπαρξης κόστους προσαρμοστικότητας, όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, για τους ανθεκτικούς στο glyphosate βιότυπους ήρας, η εφαρμογή των καλλιεργειών κάλυψης για τον έλεγχο των συγκεκριμένων βιότυπων μπορεί να παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα, λόγω αυξημένου ανταγωνισμού, καθιστώντας τη συγκεκριμένη μέθοδο ιδανική για την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας.

Αποτελεσματικός έλεγχος του *L. rigidum* επιτεύχθη και με την επιλογή του είδους *Avena strigosa* ως καλλιέργεια κάλυψης στη μελέτη των Flower *et al.* (2012). Επιπρόσθετα, καλλιέργειες κάλυψης όπως η σίκαλη, ο βίκος, η μαύρη βρώμη και το ραπανάκι, μείωσαν την τράπεζα σπόρων στο έδαφος για το *Lolium perenne* subsp. *multiflorum* από 80%, μετά τον πρώτο χρόνο, και έως 96% μετά από 3 χρόνια συνεχούς καλλιέργειας (Cechin *et al.*, 2022). Η παρούσα διατριβή ήταν προσανατολισμένη στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των καλλιεργειών κάλυψης ως προς τη μείωση της πυκνότητας του *L. rigidum* στον αγρό. Ωστόσο, για την κατάλληλη επιλογή καλλιέργειας κάλυψης πολλοί παράγοντες πρέπει να ληφθούν υπόψη. Τα πιο αποτελεσματικά είδη είναι αυτά που συνδυάζουν αλληλοπαθητικές ιδιότητες, γρήγορη ανάπτυξη και καλή κάλυψη της επιφάνειας του εδάφους (Tursun *et al.*, 2018). Επίσης, στις δένδροκομικές καλλιέργειες, οι απόψεις αντικρούονται σχετικά με την αρνητική επίδραση ή όχι των καλλιεργειών κάλυψης στις κύριες καλλιέργειες (Winter *et al.*, 2018).

Οι καλλιέργειες κάλυψης αποτελούν μία υποσχόμενη μέθοδο για το μέλλον της γεωργίας, η οποία μπορεί να προσαρμοστεί πολύ καλά σε προγράμματα ολοκληρωμένης αντιμετώπισης, καθώς μπορεί να συνδυαστεί αποτελεσματικά και με άλλες εναλλακτικές μεθόδους, όπως η εδαφοκάλυψη. Ένα άλλο ζιζάνιο του οποίου πολλοί βιότυποι έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα σε δένδροκομικές καλλιέργειες στην Ελλάδα είναι η κόνυζα (*Conyza* spp.) (Travlos & Chachalis, 2010). Ως παράδειγμα ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων και πιο συγκεκριμένα ανθεκτικών βιότυπων *L. rigidum* και *C. boraniensis*, υπολείμματα χειμερινών καλλιεργειών κάλυψης, που

χρησιμοποιήθηκαν για τον περιορισμό του ανθεκτικού βιότυπου ήρας, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εδαφοκάλυψη για τον έλεγχο του ανθεκτικού βιότυπου κόνυζας που αναπτύσσεται στον ίδιο αγρό (Cholette *et al.*, 2018; Pittman *et al.*, 2019).

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής, επιβεβαιώνουν την αναγκαιότητα υιοθέτησης περισσότερης ποικιλότητας στα συστήματα καλλιέργειας μέσω της εφαρμογής ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων. Κάτι τέτοιο είναι δυνατόν να επιτευχθεί μέσω εναλλαγής ζιζανιοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης, συμπεριλαμβανομένων προφυτρωτικών εφαρμογών και μειγμάτων μεταφυτρωτικών εφαρμογών αλλά και υιοθέτηση μη χημικών μεθόδων. Σε εθνικό επίπεδο, είναι ιδιαίτερα σημαντικό η αποτελεσματικότητα του ζιζανιοκτόνου glyphosate να διατηρηθεί σε υψηλά επίπεδα προκειμένου να αποτραπεί ή να καθυστερήσει όσο το δυνατόν περισσότερο η εξέλιξη της πολλαπλής ανθεκτικότητας. Περισσότερες παρόμοιες μελέτες σε διαφορετικές περιοχές και συνθήκες είναι αναγκαίες προκειμένου η επιστημονική κοινότητα να είναι σε θέση να μεταφέρει ένα κοινό και αποτελεσματικό επιστημονικό μήνυμα προς τους παραγωγούς και όλους τους ενδιαφερόμενους φορείς.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΣΥΝΟΨΗ

Βάσει των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής και της αξιολόγησής τους, συνοψίζονται τα ακόλουθα σημεία:

- Από τα αποτελέσματα του αρχικού προκαταρκτικού πειράματος διερεύνησης ύπαρξης ανθεκτικών βιότυπων λεπτής ήρας κατά το οποίο εξετάστηκαν 54 βιότυποι στη συνιστώμενη δόση ( $x = 720 \text{ g } \delta.o. \text{ ha}^{-1}$ ), 6 βιότυποι ήρας παρουσίασαν τιμές νωπού βάρους (εκφρασμένου ως ποσοστού μάρτυρα) μεγαλύτερες ή ίσες από/με το ποσοστό 50% και 28 βιότυποι εμφάνισαν τιμές μεταξύ των ποσοστών 30 και 50%, αδυνατώντας να ελεγχθούν αποτελεσματικά από το ζιζανιοκτόνο.
- Από τα αποτελέσματα του Πειράματος A δόσης-απόκρισης που ακολούθησε και κατά το οποίο εξετάστηκαν 15 βιότυποι λεπτής ήρας (F2 γενιά) με εφαρμογή τριών δόσεων glyphosate ( $x/2$ ,  $x$ ,  $2x$ ) οι βιότυποι αναφοράς με επιβεβαιωμένη ανθεκτικότητα SPN.1, SPN.2, AUS.1, και AFR. έδωσαν παραπλήσιες τιμές σε σύγκριση με το Προκαταρκτικό Πείραμα και υψηλότερες σε σύγκριση με τους ελληνικούς βιότυπους του Πειράματος A. Από τους ελληνικούς βιότυπους υψηλότερες τιμές νωπού βάρους στην συνιστώμενη δόση παρουσίασαν οι βιότυποι AIT.1 και BOI.1 και ακολούθησαν οι ΦΘΙ.3 και AIT.15. Οι μετρήσεις νωπού βάρους στη συνιστώμενη δόση για τους παραπάνω βιότυπους έδωσαν επίσης παραπλήσιες τιμές σε σύγκριση με το Προκαταρκτικό Πείραμα και μικρότερες σε σύγκριση με τους βιότυπους αναφοράς του Πειράματος A.
- Το μοτίβο δόσης-απόκρισης των ανθεκτικών βιότυπων λεπτής ήρας, ως προς το επίπεδο της ανθεκτικότητας του glyphosate, διατηρήθηκε και στο Πείραμα B δόσης-απόκρισης με εφαρμογή οκτώ δόσεων glyphosate ( $x/8$ ,  $x/4$ ,  $x/2$ ,  $x$ ,  $2x$ ,  $4x$  και  $8x$ ). Αναλυτικά, οι δύο βιότυποι από την Αυστραλία και την Ισπανία (AUS.1 και SPN.2, αντίστοιχα) ήταν 14 έως 19 φορές πιο ανθεκτικοί, οι δύο από τους τέσσερις ελληνικούς βιότυπους (AIT.1 και BOI.1) ήταν 7 έως 9 φορές και οι υπόλοιποι δύο (ΦΘΙ.3 και AIT.15) ήταν 2 έως 3 φορές πιο ανθεκτικοί στο glyphosate σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο αναφοράς (ATT.S1).
- Τα αποτελέσματα της βιοχημικής μεθόδου του σικιμικού οξέος επιβεβαίωσαν την ανθεκτικότητα των βιότυπων λεπτής ήρας που χρησιμοποιήθηκαν στο Πείραμα B δόσης-απόκρισης. Συγκεκριμένα, οι βιότυποι AUS.1 και SPN.2

εμφάνισαν σημαντικά μικρότερες συγκεντρώσεις σικιμικού οξέος στις διαφορετικές συγκεντρώσεις glyphosate (0,1, 10, 50, 500 και 1000  $\mu\text{M}$ ) σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βióτυπο ATT.S1. Αντίθετα, οι ελληνικοί βióτυποι AIT.1, BOI.1, ΦΘΙ.3 και AIT.15 ενώ είχαν πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις σικιμικού οξέος στις μικρότερες συγκεντρώσεις glyphosate (0,1 και 10  $\mu\text{M}$ ), φάνηκε να μειώνουν σημαντικά τη διαφορά αυτή στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις glyphosate (100, 500 και 1000  $\mu\text{M}$ ).

- Όσον αφορά τις μετρήσεις του δείκτη βλάστησης NDVI, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος για το ζιζανιοκτόνο glyphosate μία εβδομάδα μετά την εφαρμογή του, οι τιμές του NDVI δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για τους διαφορετικούς βióτυπους ήρας που εξετάστηκαν, τόσο στην περίπτωση των φυτών ήρας του αφέκαστου μάρτυρα όσο και στην περίπτωση των φυτών ήρας στα οποία έγινε εφαρμογή glyphosate (με τρεις διαφορετικές δόσεις:  $x/2$ ,  $x$  και  $2x$ ). Αντίθετα, στις δύο εβδομάδες μετά την εφαρμογή του glyphosate παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις τρεις διαφορετικές δόσεις του glyphosate. Συγκεκριμένα, οι πλέον ανθεκτικοί βióτυποι SPN.1, SPN.2, AUS.1, AFR. παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές με τους ευαίσθητους στις  $x/2$  και  $x$  δόσεις. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε ότι οι βióτυποι που παρουσίασαν μειωμένη ευαισθησία στο glyphosate κατά το Πείραμα A δόσης απόκρισης παρουσίασαν μικρότερες διαφορές μεταξύ των τιμών NDVI του αφέκαστου μάρτυρα και των επεμβάσεων glyphosate σε σχέση με τους πιο ευαίσθητους βióτυπους.
- Στις αντίστοιχες μετρήσεις για το glufosinate, οι τιμές NDVI που ελήφθησαν μετά από τις εφαρμογές του ζιζανιοκτόνου, ανεξαρτήτως δόσης, ήταν χαμηλότερες από την τιμή του αφέκαστου μάρτυρα σχεδόν για όλους τους βióτυπους. Συγκεκριμένα, η μεγαλύτερη διαφορά στις τιμές μεταξύ των επεμβάσεων του glufosinate και του αφέκαστου μάρτυρα παρατηρήθηκε στην περίπτωση του ευαίσθητου βióτυπου ATT.S1, ενώ η μικρότερη διαφορά παρατηρήθηκε για τον βióτυπο AIT.7, ο οποίος παρουσίασε τη χαμηλότερη ευαισθησία στο glufosinate στο Πείραμα A δόσης-απόκρισης. Επίσης, αυτοί οι δύο βióτυποι είναι οι μόνοι που παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τιμών NDVI για όλες τις δόσεις glufosinate.

- Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος που διεξήχθη σε δύο διαφορετικά επίπεδα θερμοκρασίας, 10/4°C και 16/10°C ημέρα/νύχτα, με σκοπό να μελετήσει την επίδραση της θερμοκρασίας στην ευαισθησία του ζιζανιοκτόνου glyphosate, σημαντικές διαφορές σημειώθηκαν μεταξύ των διαφορετικών βιότυπων ήρας που εξετάστηκαν. Συγκεκριμένα, η επίδραση των χαμηλών θερμοκρασιών (10/4°C) στην ευαισθησία των ανθεκτικών βιότυπων ήταν αξιοσημείωτη. Εξαίρεση αποτέλεσε ο ευαίσθητος βιότυπος ΑΤΤ.51 ο οποίος δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές στη μείωση του νωπού βάρους των φυτών ήρας κατά την ανάπτυξή του στα δύο διαφορετικά επίπεδα θερμοκρασίας και για τρεις δόσεις του glyphosate (x/2, x και 2x). Σε αντίθεση με τον ευαίσθητο βιότυπο ΑΤΤ.51, οι ανθεκτικοί βιότυποι ΑΥ5.1, ΣΡΝ.2, ΑΙΤ.1, ΒΟΙ.1 και ΦΘΙ.3 παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση του νωπού βάρους των φυτών ήρας μετά από εφαρμογή glyphosate και στις τρεις δόσεις glyphosate όταν αναπτύχθηκαν σε χαμηλές θερμοκρασίας ημέρας/νύχτας. Εξαίρεση αποτέλεσε ο ανθεκτικός βιότυπος ΑΙΤ.15.
- Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του προκαταρκτικού πειράματος διερεύνησης ανθεκτικότητας 39 βιότυπων ήρας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate με μία μόνο δόση ζιζανιοκτόνου (750 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>), τέσσερις βιότυποι ήρας παρουσίασαν τιμές νωπού βάρους (εκφρασμένου ως ποσοστού μάρτυρα) μεγαλύτερες ή ίσες από το 50% και οκτώ βιότυποι ήρας τιμές μεταξύ 30 και 50%, αδυνατώντας να ελεγχθούν αποτελεσματικά από το ζιζανιοκτόνο.
- Από το Πείραμα Α δόσης-απόκρισης για την επιβεβαίωση και αξιολόγηση του επιπέδου ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας στο ζιζανιοκτόνο glufosinate με τρεις δόσεις (x/2, x και 2x) προέκυψε ότι οι λιγότερο ευαίσθητοι στο glufosinate βιότυποι ήταν οι ΑΙΤ.7, ΒΟΙ.1 και ΦΘΙ.1 οι οποίοι έδωσαν τιμές νωπού βάρους ≥ 50% στη συνιστώμενη δόση του glufosinate.
- Από το Πείραμα Β δόσης-απόκρισης που διεξήχθη (για τους τέσσερις βιότυπους ήρας (ΑΙΤ.7, ΦΘΙ.1, ΒΟΙ.1 και ΚΟΡ.2) μείωση του νωπού βάρους και της επιβίωσης με την αύξηση της δόσης του ζιζανιοκτόνου glufosinate καταγράφηκε και για τους πέντε βιότυπους ήρας. Η συνιστώμενη δόση του ζιζανιοκτόνου glufosinate κατάφερε να ελέγξει τον πλέον ανθεκτικό βιότυπο ΑΙΤ.7 σε ποσοστό 13% και οι τιμές LD<sub>50</sub> για τους επιβεβαιωμένους ανθεκτικούς βιότυπους ήρας ΑΙΤ.7 και ΦΘΙ.1 υπέδειξαν

ανθεκτικότητα 15 και 13 φορές υψηλότερη σε σύγκριση με τον ευαίσθητο πληθυσμό αναφοράς. Αντίστοιχα ο δείκτης ανθεκτικότητας, βάσει LD<sub>50</sub> τιμών, για τους βιότυπους BOI.1 και KOP.2 ήταν 5 και 2,5, αντίστοιχα.

- Στο πρώτο πείραμα σειράς αντικατάστασης μεταξύ ευαίσθητου, ανθεκτικού βιότυπου λεπτής ήρας και σιταριού ο ανθεκτικός στο glyphosate βιότυπος παρουσίασε χαμηλότερη ανταγωνιστική ικανότητα σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο. Ταυτόχρονα, από τα αποτελέσματα του πρώτου πειράματος προέκυψε ότι και οι δύο βιότυποι ήρας παρουσίασαν υψηλότερη ανταγωνιστικότητα σε σύγκριση με την καλλιέργεια του σιταριού. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι ο ανθεκτικός βιότυπος ήρας ανταγωνίζεται το σιτάρι. Ωστόσο, επειδή ένας πληθυσμός στη φύση μπορεί να περιλαμβάνει και ευαίσθητα και ανθεκτικά άτομα, αυτό το κόστος προσαρμοστικότητας μπορεί να καθυστερήσει την ανάπτυξη ανθεκτικότητας ή την κυριαρχία του ανθεκτικού βιότυπου στον γενικό πληθυσμό. Έτσι, η πιθανότητα ύπαρξης ενός τέτοιου κόστους προσαρμοστικότητας στον ανθεκτικό βιότυπο ήρας θα μπορούσε να επηρεάσει τον ρυθμό με τον οποίο η ανθεκτικότητα εξελίσσεται στον συγκεκριμένο πληθυσμό ζιζανίων.
- Αντίθετα, στο δεύτερο πείραμα σειράς αντικατάστασης μεταξύ ευαίσθητου, ανθεκτικού στο glyphosate βιότυπου λεπτής ήρας και σιταριού ο ανθεκτικός στο glyphosate βιότυπος ήρας παρουσίασε χαμηλότερη ανταγωνιστική ικανότητα σε σύγκριση με τον ευαίσθητο βιότυπο, αλλά δεν προέκυψε προφανές κόστος προσαρμοστικότητας που να σχετίζεται με ανθεκτικότητα στο glyphosate. Επιπλέον, όσον αφορά το βάρος χιλίων σπόρων που μετρήθηκε σε αυτό το πείραμα, στατιστικά σημαντική διαφορά καταγράφηκε μόνο στην αναλογία 75:25 του ευαίσθητου και ανθεκτικού βιότυπου, αντίστοιχα. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις το μέσο βάρος χιλίων σπόρων που καταγράφηκε για τον ανθεκτικό πληθυσμό ήταν χαμηλότερο, χωρίς ωστόσο να παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές. Όσον αφορά τα μείγματα ανθεκτικού βιότυπου λεπτής ήρας και σιταριού, στατιστικά σημαντική διαφορά παρουσιάζεται μόνο στην αναλογία 75:25 για την ήρα και το σιτάρι αντίστοιχα, όπου η τιμή του μέσου βάρους χιλίων σπόρων του σιταριού είναι χαμηλότερη από αυτήν στην μονοκαλλιέργεια σιταριού και στις υπόλοιπες αναλογίες. Επιπλέον, σε αυτό το δεύτερο πείραμα σειράς αντικατάστασης, τα

- αποτελέσματα σε αντίθεση με τα αντίστοιχα του πρώτου πειράματος, έδειξαν αυξημένη ανταγωνιστικότητα του σιταριού προς την ήρα.
- Η ασυμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο πειραμάτων θα μπορούσε να υποδηλώνει αλληλεπίδραση του γονότυπου με το περιβάλλον. Από τα προηγούμενα πειράματα δόσης-απόκρισης, σικιμικού οξέος και επίδρασης χαμηλών θερμοκρασιών θα μπορούσε κανείς να υποστηρίξει πως οι ελληνικοί ανθεκτικοί βιότυποι AIT.1 και BOI.1 συνδέονται με μηχανισμούς ανθεκτικότητας μη στοχευμένης ανθεκτικότητας (NTSR). Ωστόσο, οι ελληνικοί ανθεκτικοί βιότυποι, AIT.1 και BOI.1 έδωσαν διαφορετικά αποτελέσματα ως προς το πιθανό κόστος προσαρμοστικότητάς τους στα Πειράματα Α και Β, αντίστοιχα. Έτσι, η εξακρίβωση των μηχανισμών ανθεκτικότητας σε μοριακό επίπεδο κρίνεται απαραίτητη για την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας των βιότυπων πριν τη εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με το κόστος προσαρμοστικότητάς τους.
  - Στις πειραματικές εφαρμογές που πραγματοποιήθηκαν στους τέσσερις αγρούς, μετά από εφαρμογή glyphosate και συνδυασμών του (εφαρμογή στελεχοκοπής και ζιζανιοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης-pendimethalin, cycloxydim, flazasulfuron, chlorotoluron & diflufenican και fluazifop-p-butyl), παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την αποτελεσματικότητα ελέγχου του ζιζανιού *Lolium rigidum*. Συγκεκριμένα, η εφαρμογή της στελεχοκοπής παρουσίασε πολύ χαμηλό έλεγχο του *Lolium rigidum*. Βάσει των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, μία εφαρμογή στελεχοκοπής δεν επαρκεί για αποτελεσματικό έλεγχο σε αγρούς όπου εφαρμόζεται άρδευση και περιοχές με συχνή βροχόπτωση κατά τη χειμερινή περίοδο. Μόνο τακτικές εφαρμογές στελεχοκοπής μπορούν να περιορίσουν αποτελεσματικά την αναπαραγωγή του *L. rigidum*.
  - Στις περιπτώσεις, όπου την εφαρμογή στελεχοκοπής ακολούθησε εφαρμογή glyphosate, η αποτελεσματικότητα στον έλεγχο των πληθυσμών ήρας ήταν υψηλότερη. Οι εφαρμογές της χαμηλότερης δόσης του glyphosate σε συνδυασμό με στελεχοκοπή, παρουσίασαν χαμηλή έως μέτρια αποτελεσματικότητα στους τρεις από τους τέσσερις αγρούς, με εξαίρεση τον ελαιώνα στην περιοχή της Λαμίας του οποίου η αποτελεσματικότητα πιθανότατα οφείλεται στη μεγαλύτερη ευαισθησία που εμφανίστηκε σε όλες τις εφαρμογές glyphosate.

- Παρ' όλα αυτά, μεγαλύτερη ήταν η συνεισφορά της στελεχοκοπής σε ορισμένες περιπτώσεις συνδυασμού στελεχοκοπής και υψηλής δόσης glyphosate. Στους τρεις από τους τέσσερις πειραματικούς αγρούς, η εφαρμογή στελεχοκοπής αύξησε την τελική αποτελεσματικότητα, φτάνοντας σε τελικά ποσοστά ελέγχου 80%, 100% και 90% (Αιτωλικό – Ελαιώνας, Λαμία – Ελαιώνας, Άσκη – Αμπελώνας, αντίστοιχα).
- Όσον αφορά τις επεμβάσεις του συνδυασμού του glyphosate με άλλες δραστικές ουσίες, η εφαρμογή των μειγμάτων οδήγησε σε αύξηση του ποσοστού ελέγχου των τεσσάρων πληθυσμών ήρας, χωρίς όμως να παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλες τις περιπτώσεις σε σύγκριση με την επέμβαση της υψηλότερης δόσης του glyphosate. Η επέμβαση με την υψηλότερη αποτελεσματικότητα, η οποία έφτασε το 100% σε όλες τις περιοχές, ήταν η εφαρμογή μείγματος glyphosate και cycloxydim. Εξαιρετικά υψηλός έλεγχος των πληθυσμών όμως, επιτεύχθη και με τους συνδυασμούς glyphosate με τις δραστικές ουσίες flazasulfuron και fluazifop-p-butyl. Στους συνδυασμούς του glyphosate με τις δραστικές ουσίες pendimethalin και chlorotoluron & diflufenican, το ποσοστό ελέγχου δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά από αυτό της επέμβασης μόνο της υψηλότερης δόσης του glyphosate για τους δύο πιο ευαίσθητους πληθυσμούς *L. rigidum*. Αντίθετα, στατιστικά υψηλότερη αποτελεσματικότητα υπήρξε από τις συγκεκριμένες επεμβάσεις στον έλεγχο των ανθεκτικότερων στο glyphosate πληθυσμών.
- Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τη διαχείριση ενός ανθεκτικού στο glyphosate πληθυσμού ήρας με μη χημικά μέσα σε ελαιώνα του νομού Ηλείας, την υψηλότερη αποτελεσματικότητα στον περιορισμό του ποσοστού επιβίωσης της λεπτής ήρας μεταξύ των πειραματικών τεμαχίων, παρείχαν οι επεμβάσεις των καλλιεργειών κάλυψης. Συγκεκριμένα, οι επεμβάσεις του κτηνοτροφικού μπιζελιού και της συγκαλλιέργειας κτηνοτροφικού μπιζελιού και βρώμης παρουσίασαν ποσοστά ελέγχου 78% και 82%, αντίστοιχα. Αντίθετα, το ποσοστό ελέγχου με εφαρμογή glyphosate δεν ξεπέρασε το 27%, και για τις δύο δόσεις (720 g δ.ο. ha<sup>-1</sup> και 1440 g δ.ο. ha<sup>-1</sup>), επιβεβαιώνοντας τη χαμηλή ευαισθησία του πληθυσμού στο glyphosate. Η επέμβαση της εδαφοκάλυψης ενώ αρχικά (οκτώ εβδομάδες) παρείχε υψηλή αποτελεσματικότητα (>80%) στη συνέχεια (δεκαέξι εβδομάδες) έδωσε χαμηλά



ποσοστά ελέγχου (43%). Ωστόσο, από τα τελικά αποτελέσματα φαίνεται πως η εφαρμογή εδαφοκάλυψης μπορεί να συνεισφέρει σε υψηλό βαθμό στη μείωση του ποσοστού επιβίωσης των πληθυσμών *L. rigidum* και κατά συνέπεια τη σημαντική μείωση της τράπεζας σπόρων του είδους στο έδαφος των αγρών. Τέλος, δύο εφαρμογές στελεχοκοπής δεν κατάφεραν να ελέγξουν αποτελεσματικά τον πληθυσμό με το τελικό ποσοστό ελέγχου να μην υπερβαίνει το 15%. Όπως καταγράφηκε και από τα προηγούμενα πειράματα αγρού, περισσότερες εφαρμογές στελεχοκοπής κρίνονται απαραίτητες προκειμένου να εξασφαλιστεί ικανοποιητικός έλεγχος του ζιζανίου.

Καταλήγοντας, η παρούσα διατριβή είχε ως στόχο την ολιστική προσέγγιση της διαχείρισης της ανθεκτικότητας της λεπτής ήρας στα ζιζανιοκτόνα glyphosate και glufosinate. Για την υλοποίηση της συγκεκριμένης προσέγγισης, αρχικά επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη ανθεκτικών βιότυπων λεπτής ήρας με αξιόπιστες επιστημονικές μεθόδους, ενώ ταυτόχρονα έγινε και προσπάθεια ένταξης ταχύτερων εναλλακτικών μεθόδων στο πλαίσιο της άμεσης και αξιόπιστης αναγνώρισης της ανθεκτικότητας. Στη συνέχεια, αξιολογήθηκε η ύπαρξη πιθανού κόστους προσαρμοστικότητας δύο επιβεβαιωμένων ανθεκτικών βιότυπων ήρας με σκοπό να τονιστεί η σημασία τέτοιων αποτελεσμάτων στη χάραξη των στρατηγικών διαχείρισης της ανθεκτικότητας των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα. Τέλος, επιχειρήθηκε η ανάδειξη εναλλακτικών χημικών και μη χημικών πρακτικών ως πολύτιμων εργαλείων στα χέρια των παραγωγών για τη διαχείριση των ανθεκτικών ζιζανίων.

Σήμερα η διεπιστημονική έρευνα προσφέρει νέες τεχνολογίες, όπως αυτές της γεωργίας ακριβείας, της τεχνητής νοημοσύνης κ.ά. που έχουν προσελκύσει αυξανόμενη προσοχή και φαίνεται να μπορούν να προσφέρουν και στον τομέα της φυτοπροστασίας και συγκεκριμένα στη διαχείριση των ζιζανίων στα σύγχρονα γεωργικά συστήματα. Ταυτόχρονα, ιδιαίτερα σημαντική θεωρείται και η βέλτιστη αξιοποίηση των ήδη διαθέσιμων εργαλείων, καθώς και ο αποτελεσματικός συνδυασμός τους στο πλαίσιο συστημάτων ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων.

Από όλα τα παραπάνω καθίσταται σαφές ότι η συστηματική και ενδεδειγμένη έρευνα των ήδη υπαρχόντων αλλά και των καινοτόμων τεχνικών μπορεί να συμβάλει τα μέγιστα στην Ολοκληρωμένη Διαχείριση των Ζιζανίων και κατ' επέκταση στην επίτευξη μιας αειφόρου-παραγωγικής γεωργίας, έτσι ακριβώς όπως την οφείλουμε στις επόμενες γενιές.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Acciaresi, H. A., Chidichimo, H. O., & Sarandón, S. J. (2001). Traits related to competitive ability of wheat (*Triticum aestivum*) varieties against Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *Biological Agriculture & Horticulture*, 19(3), 275-286. doi: <https://doi.org/10.1080/01448765.2001.9754930>
- Adu-Yeboah, P., Boutsalis, P., Hooper, P., Gill, G. S., & Preston, C. (2014). Use of alternative herbicide mixtures to manage glyphosate-resistant *Lolium rigidum* Gaud. along crop margins in South Australia. *Crop and Pasture Science*, 65(12), 1349-1356. doi: <https://doi.org/10.1071/CP14066>
- Ahloowalia, B. S. (1967). Colchicine induced polyploids in ryegrass. *Euphytica*, 16(1), 49-60. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00034098>
- Alcántara, C., Pujadas, A., & Saavedra, M. (2011). Management of *Sinapis alba* subsp. *mairei* winter cover crop residues for summer weed control in southern Spain. *Crop protection*, 30(9), 1239-1244. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.04.007>
- Antier, C., Andersson, R., Auskalnienė, O., Barić, K., Baret, P., Besenhofer, G., ... & Wirth, J. (2020). A survey on the uses of glyphosate in European countries. *INRAE*. doi: <https://doi.org/10.15454/A30K-D531>
- Anzalone, A., Cirujeda, A., Aibar, J., Pardo, G., & Zaragoza, C. (2010). Effect of biodegradable mulch materials on weed control in processing tomatoes. *Weed Technology*, 24(3), 369-377. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-09-020.1>
- Appleby, A. P., & Brewster, B. D. (1992). Seeding arrangement on winter wheat (*Triticum aestivum*) grain yield and interaction with Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *Weed Technology*, 6(4), 820-823. doi: <https://doi.org/10.1017/S0890037X00036320>
- Appleby, A. P., Olson, P. D., & Colbert, D. R. (1976). Winter wheat yield reduction from interference by Italian ryegrass. *Agronomy Journal*, 68(3), 463-466. doi: <https://doi.org/10.2134/agronj1976.00021962006800030007x>
- Avila-Garcia, W. V., & Mallory-Smith, C. (2011). Glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium perenne*) populations also exhibit resistance to glufosinate. *Weed Science*, 59(3), 305-309. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00012.1>

Avila-Garcia, W. V., Sanchez-Olguin, E., Hulting, A. G., & Mallory-Smith, C. (2012). Target-site mutation associated with glufosinate resistance in Italian ryegrass (*Lolium perenne* L. ssp. *multiflorum*). *Pest Management Science*, 68(9), 1248-1254. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3286>

Baerson, S. R., Rodriguez, D. J., Tran, M., Feng, Y., Biest, N. A., & Dill, G. M. (2002). Glyphosate-resistant goosegrass. Identification of a mutation in the target enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Plant Physiology*, 129(3), 1265-1275. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.001560>

Balfourier, F., Imbert, C., & Charmet, G. (2000). Evidence for phylogeographic structure in *Lolium* species related to the spread of agriculture in Europe. A cpDNA study. *Theoretical and Applied Genetics*, 101(1), 131-138. doi: <https://doi.org/10.1007/s001220051461>

Baraibar, B., Hunter, M. C., Schipanski, M. E., Hamilton, A., & Mortensen, D. A. (2018). Weed suppression in cover crop monocultures and mixtures. *Weed Science*, 66(1), 121-133. doi: <https://doi.org/10.1017/wsc.2017.59>

Bararpour, M., Norsworthy, J., Burgos, N., Korres, N., & Gbur, E. (2017). Identification and Biological Characteristics of Ryegrass (*Lolium* spp.) Accessions in Arkansas. *Weed Science*, 65(3), 350-360. doi: [10.1017/wsc.2016.28](https://doi.org/10.1017/wsc.2016.28)

Baucom, R. S., & Mauricio, R. (2004). Fitness costs and benefits of novel herbicide tolerance in a noxious weed. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(36), 13386-13390. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0404306101>

Baumgartner, K., Steenwerth, K. L., & Veilleux, L. (2007). Effects of organic and conventional practices on weed control in a perennial cropping system. *Weed Science*, 55(4), 352-358. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-06-171>

Baumgartner, K., Steenwerth, K. L., & Veilleux, L. (2008). Cover-crop systems affect weed communities in a California vineyard. *Weed Science*, 56(4), 596-605. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-07-181.1>

Bayer, V. E., Gugel, K. H., Hägele, K., Hagenmaier, H., Jessipow, S., König, W. A., & Zähner, H. (1972). Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. 98. Mitteilung.

Phosphinothricin und Phosphinothricyl-Alanyl-Alanin. *Helvetica Chimica Acta*, 55(1), 224-239. doi:[10.1002/hlca.19720550126](https://doi.org/10.1002/hlca.19720550126)

Beckie, H. J. (2006). Herbicide-resistant weeds: management tactics and practices. *Weed technology*, 20(3), 793-814. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-05-084R1.1>

Beckie, H. J. (2011). Herbicide-resistant weed management: focus on glyphosate. *Pest Management Science*, 67(9), 1037-1048. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.2195>

Beckie, H. J., & Tardif, F. J. (2012). Herbicide cross resistance in weeds. *Crop Protection*, 35, 15-28. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.12.018>

Beddows, A. R. (1973). *Lolium multiflorum* Lam. *Journal of Ecology*, 61(2), 587-600. doi: <https://www.jstor.org/stable/2259046>

Bennett, S. J., Hayward, M. D., & Marshall, D. F. (2000). Morphological differentiation in four species of the genus *Lolium*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47(3), 247-255. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1008751026645>

Benvenuti, S. (2007). Weed seed movement and dispersal strategies in the agricultural environment. *Weed biology and management*, 7(3), 141-157. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2007.00249.x>

Bergelson, J., & Purrington, C. B. (1996). Surveying patterns in the cost of resistance in plants. *The American Naturalist*, 148(3), 536-558. doi: <https://doi.org/10.1086/285938>

Bernard, S. M., & Habash, D. Z. (2009). The importance of cytosolic glutamine synthetase in nitrogen assimilation and recycling. *New Phytologist*, 182(3), 608-620. doi:[10.1111/j.1469-8137.2009.02823.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02823.x)

Bhullar, M. S., Kaur, S., Kaur, T., & Jhala, A. J. (2015). Integrated weed management in potato using straw mulch and atrazine. *HortTechnology*, 25(3), 335-339. doi: <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.25.3.335>

Bonny, S. (2016). Genetically modified herbicide-tolerant crops, weeds, and herbicides: overview and impact. *Environmental management*, 57(1), 31-48. doi: <https://doi.org/10.1007/s00267-015-0589-7>

Bostamam, Y., Malone, J., Dolman, F., Boutsalis, P., & Preston, C. (2012). Rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) populations containing a target site mutation in EPSPS and reduced glyphosate translocation are more resistant to glyphosate. *Weed Science*, 60(3), 474-479. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00154.1>

Boutsalis, P. (2001). Syngenta quick-test: a rapid whole-plant test for herbicide resistance. *Weed Technology*, 15(2), 257-263. doi: [https://doi.org/10.1614/0890-037X\(2001\)015\[0257:SQTARW\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0890-037X(2001)015[0257:SQTARW]2.0.CO;2)

Boutsalis, P., Gill, G. S., & Preston, C. (2012). Incidence of herbicide resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) across southeastern Australia. *Weed Technology*, 26(3), 391-398. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-D-11-00150.1>

Bradshaw, L. D., Padgett, S. R., Kimball, S. L., & Wells, B. H. (1997). Perspectives on glyphosate resistance. *Weed Technology*, 11(1), 189-198. doi: <https://doi.org/10.1017/S0890037X00041567>

Breccia, G., Vega, T., Nestares, G., Mayor, M. L., Zorzoli, R., & Picardi, L. (2011). Rapid test for detection of imidazolinone resistance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Breeding*, 130(1), 109-113. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2009.01756.x>

Brennan, E. B., & Smith, R. F. (2005). Winter cover crop growth and weed suppression on the central coast of California. *Weed Technology*, 19(4), 1017-1024. <https://doi.org/10.1614/WT-04-246R1.1>

Brennan, E. B., Boyd, N. S., Smith, R. F., & Foster, P. (2009). Seeding rate and planting arrangement effects on growth and weed suppression of a legume-oat cover crop for organic vegetable systems. *Agronomy Journal*, 101(4), 979-988. <https://doi.org/10.2134/agronj2008.0194x>

Brunton, D. J., Boutsalis, P., Gill, G., & Preston, C. (2018). Resistance to multiple PRE herbicides in a field-evolved rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) population. *Weed Science*, 66(5), 581-585. doi: <https://doi.org/10.1017/wsc.2018.31>

Burgos, N. R. (2015). Whole-plant and seed bioassays for resistance confirmation. *Weed Science*, 63(SP1), 152-165. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-14-00019.1>

Burgos, N. R., Tranel, P. J., Streibig, J. C., Davis, V. M., Shaner, D., Norsworthy, J. K., & Ritz, C. (2013). Confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance levels. *Weed Science*, 61(1), 4-20. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-12-00032.1>

Burgos, N., Culpepper, S., Dotray, P., Kendig, J. A., Wilcut, J., & Nichols, R. (2006). Managing herbicide resistance in cotton cropping systems. *Cotton Inc. Tech. Bull. for the southern US*. <http://www.cottoninc.com/fiber/AgriculturalDisciplines/Weed-Management/Herbicide-Resistance-Cotton-Cropping-Systems/Managing-Herbicide-Resistance.pdf>.

Busi, R., & Powles, S. B. (2009). Evolution of glyphosate resistance in a *Lolium rigidum* population by glyphosate selection at sublethal doses. *Heredity*, 103(4), 318–325. doi: <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.64>

Busi, R., Goggin, D. E., Heap, I. M., Horak, M. J., Jugulam, M., Masters, R. A., ... & Westra, P. (2018). Weed resistance to synthetic auxin herbicides. *Pest Management Science*, 74(10), 2265-2276. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.4823>

Busi, R., Yu, Q., Barrett-Lennard, R., & Powles, S. (2008). Long distance pollen-mediated flow of herbicide resistance genes in *Lolium rigidum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 117(8), 1281-1290. doi: <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0862-8>

Campiglia, E., Paolini, R., Colla, G., & Mancinelli, R. (2009). The effects of cover cropping on yield and weed control of potato in a transitional system. *Field Crops Research*, 112(1), 16-23. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.01.010>

Campiglia, E., Radicetti, E., & Mancinelli, R. (2012). Weed control strategies and yield response in a pepper crop (*Capsicum annuum* L.) mulched with hairy vetch (*Vicia villosa* Roth.) and oat (*Avena sativa* L.) residues. *Crop Protection*, 33, 65-73. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.09.016>

Caseley, J. C., & Coupland, D. (1985). Environmental and plant factors affecting glyphosate uptake, movement and activity. *Herbicide glyphosate/edited by E. Grossbard, D. Atkinson*.

- Catalán, P., Kellogg, E. A., & Olmstead, R. G. (1997). Phylogeny of Poaceae subfamily pooideae based on chloroplastndhf gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 8(2), 150-166. doi: <https://doi.org/10.1006/mpev.1997.0416>
- Cechin, J., Schmitz, M. F., Hencks, J. R., Vargas, A. A. M., Agostinetto, D., & Vargas, L. (2020). Burial depths favor Italian ryegrass persistence in the soil seed bank. *Scientia Agricola*, 78. doi: <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2019-0078>
- Cechin, J., Schmitz, M. F., Torchelsen, J. S., Durigon, M. R., Agostinetto, D., & Vargas, L. (2022). Winter cover crops reduce the soil seed bank and infestations of Italian ryegrass in no-tillage system. *Crop Science*, 62(1), 479-488. doi: <https://doi.org/10.1002/csc2.20651>
- Chachalis, D., Reddy, K. N., & Elmore, C. D. (2001). Characterization of leaf surface, wax composition, and control of redvine and trumpetcreeper with glyphosate. *Weed Science*, 49(2), 156-163. doi: [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2001\)049\[0156:COLSWC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2001)049[0156:COLSWC]2.0.CO;2)
- Chahal, G. S., & Johnson, W. G. (2012). Influence of glyphosate or glufosinate combinations with growth regulator herbicides and other agrochemicals in controlling glyphosate-resistant weeds. *Weed Technology*, 26(4), 638-643. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-D-12-00058.1>
- Charmet, G., Balfourier, F., & Chatard, V. (1996). Taxonomic relationships and interspecific hybridization in the genus *Lolium* (grasses). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 43(4), 319-327. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00132951>
- Chauhan, B. S., Gill, G., & Preston, C. (2006). Influence of tillage systems on vertical distribution, seedling recruitment and persistence of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) seed bank. *Weed Science*, 54(4), 669-676. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-05-184R.1>
- Chen, J., Huang, H., Zhang, C., Wei, S., Huang, Z., Chen, J., & Wang, X. (2015). Mutations and amplification of EPSPS gene confer resistance to glyphosate in goosegrass (*Eleusine indica*). *Planta*, 242(4), 859-868. doi: <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2324-2>

Cholette, T. B., Soltani, N., Hooker, D. C., Robinson, D. E., & Sikkema, P. H. (2018). Suppression of glyphosate-resistant Canada fleabane (*Conyza canadensis*) in corn with cover crops seeded after wheat harvest the previous year. *Weed Technology*, 32(3), 244-250. doi: <https://doi.org/10.1017/wet.2018.19>

Christoffoleti 1, P. J., Trentin 2, R., Tocchetto 2, S., Marochi 2, A., Galli 2, A. J. B., López-Ovejero 1, R. F., & Nicolai 1, M. (2005). Alternative herbicides to manage Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam) resistant to glyphosate at different phenological stages. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 40(1), 59-67. doi: <https://doi.org/10.1081/LESB-200034221>

Clayton, W.D., Vorontsova, M.S., Harman, K.T., Williamson, H., 2020. GrassBase - The Online World Grass Flora. <http://www.kew.org/data/grasses-db.html>

Coetzer, E., Al-Khatib, K., & Loughin, T. M. (2001). Glufosinate efficacy, absorption, and translocation in amaranth as affected by relative humidity and temperature. *Weed Science*, 49(1), 8-13. doi: [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2001\)049\[0008:GEAATI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2001)049[0008:GEAATI]2.0.CO;2)

Collavo, A., & Sattin, M. (2012). Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum* selected in Italian perennial crops: bioevaluation, management and molecular bases of target-site resistance. *Weed Research*, 52(1), 16-24. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2011.00883.x>

Collavo, A., Strek, H., Beffa, R., & Sattin, M. (2013). Management of an ACCase-inhibitor-resistant *Lolium rigidum* population based on the use of ALS inhibitors: weed population evolution observed over a 7 year field-scale investigation. *Pest management science*, 69(2), 200-208. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3449>

Costa, J. (2012, May). *Integrated control of glyphosate resistant weeds: a tiered approach?* [Paper presentation]. International Workshop on “Glyphosate weed resistance: European status and solutions”, Cordoba, Spain.

Culpepper, A. S. (2006). Glyphosate-induced weed shifts. *Weed Technology*, 277-281. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-04-155R.1>



Darmency, H. (2013). Pleiotropic effects of herbicide-resistance genes on crop yield: A review. *Pest Management Science*, 69(8), 897-904. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3522>

Darmency, H. (2019). Does genetic variability in weeds respond to non-chemical selection pressure in arable fields?. *Weed Research*, 59(4), 260-264. doi: <https://doi.org/10.1111/wre.12370>

Dayan, F. E., Barker, A., Bough, R., Ortiz, M., Takano, H., and Duke, S. O. (2019) Herbicide mechanisms of action and persistence. In *Comprehensive Biotechnology* (Moo-Young, M. ed.), 3rd Ed., Pergamon, Oxford. pp 36-48 doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64046-8.00211-1>

Dayan, F., Owens, D., Corniani, N., Silva, F., Watson, S., Howell, J., & Shaner, D. (2015). Biochemical markers and enzyme assays for herbicide mode of action and resistance studies. *Weed Science*, 63(SP1), 23-63. doi:[10.1614/WS-D-13-00063.1](https://doi.org/10.1614/WS-D-13-00063.1)

De Wit, C. T. (1960). On competition (No. 66.8). Pudoc.

Délye, C., Jasieniuk, M., & Le Corre, V. (2013). Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. *Trends in Genetics: TIG*, 29(11), 649–658. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2013.06.001>

Devine, M. D. (1997). Physiological, biochemical and molecular aspects of herbicide resistance based on altered target sites. *Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology*.

Devkota, P., & Johnson, W. G. (2016). Glufosinate efficacy as influenced by carrier water pH, hardness, foliar fertilizer, and ammonium sulfate. *Weed Technology*, 30(4), 848-859. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-D-16-00053.1>

Dinelli, G., Marotti, I., Bonetti, A., Catizone, P., Urbano, J. M., & Barnes, J. (2008). Physiological and molecular bases of glyphosate resistance in *Coryza bonariensis* biotypes from Spain. *Weed Research*, 48(3), 257-265. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2008.00623.x>

Dominguez-Valenzuela, J. A., Gharekhloo, J., Fernández-Moreno, P. T., Cruz-Hipolito, H. E., Alcántara-de la Cruz, R., Sánchez-González, E., & De Prado, R. (2017). First confirmation and characterization of target and non-target site resistance to glyphosate in

Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) from Mexico. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 212-218. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.03.022>

Dorn, B., Jossi, W., & van der Heijden, M. G. (2015). Weed suppression by cover crops: comparative on-farm experiments under integrated and organic conservation tillage. *Weed Research*, 55(6), 586-597. doi: <https://doi.org/10.1111/wre.12175>

Duke, S. O. (2005). Taking stock of herbicide-resistant crops ten years after introduction. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 61(3), 211-218. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.1024>

Duke, S. O. (2012). Why have no new herbicide modes of action appeared in recent years?. *Pest Management Science*, 68(4), 505-512. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.2333>

Duke, S. O. (2015). Perspectives on transgenic, herbicide-resistant crops in the United States almost 20 years after introduction. *Pest Management Science*, 71(5), 652-657. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3863>

Duke, S. O. (2018). The history and current status of glyphosate. *Pest Management Science*, 74(5), 1027-1034. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.4652>

Duke, S. O., & Powles, S. B. (2008). Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 64(4), 319-325. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.1518>

EFSA (European Food Safety Authority). (2015). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance ferric phosphate. *EFSA Journal*, 13(1).

Ellery, A. J., Gallagher, R. S., Dudley, S. V., Nicolas, G., Bradford, K. J., Come, D., & Pritchard, H. W. (2003). Dormancy and germination ecology of annual ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.). *The Biology of Seeds: Recent Research Advances* (G. Nicolás, KJ Bradford, D. Côme, HW Pritchard, eds.), Cambridge, CAB International, Wallingford, UK, 389-396.

Espacenet. (1974). Espacenet. Ανάκτηση από Espacenet PatentSearch:<https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/022619662/publication/US3799758A?q=pn%3DUS3799758>

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization). (2016). Pesticide Residues in Food 2016—Special Session of the Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues.

Feng, P. C., Tran, M., Chiu, T., Sammons, R. D., Heck, G. R., & CaJacob, C. A. (2004). Investigations into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. *Weed Science*, 52(4), 498-505. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-03-137R>

Feng, P., Ryerse, J., & Sammons, R. (1998). Correlation of leaf damage with uptake and translocation of glyphosate in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). *Weed Technology*, 12(2), 300-307. doi: <https://doi.org/10.1017/S0890037X00043852>

Fernández, P., Alcántara, R., Osuna, M. D., Vila-Aiub, M. M., & Prado, R. D. (2017a). Forward selection for multiple resistance across the non-selective glyphosate, glufosinate and oxyfluorfen herbicides in *Lolium* weed species. *Pest Management Science*, 73(5), 936-944. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.4368>

Fernández-Moreno, P. T., Alcántara-de la Cruz, R., Smeda, R. J., & De Prado, R. (2017b). Differential resistance mechanisms to glyphosate result in fitness cost for *Lolium perenne* and *L. multiflorum*. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1796. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01796>

Fernandez-Moreno, P. T., Bastida, F., & De Prado, R. (2017c). Evidence, mechanism and alternative chemical seedbank-level control of glyphosate resistance of a rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) biotype from southern Spain. *Frontiers in Plant Science*, 8, 450. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00450>

Fernandez-Moreno, P. T., Rojano-Delgado, A. M., Menendez, J., & De Prado, R. (2017d). First Case of Multiple Resistance to Glyphosate and PPO-inhibiting Herbicides in Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum*) in Spain. *Weed Science*, 65(6), 690–698. doi: <https://doi.org/10.1017/wsc.2017.49>

Fernandez-Quintanilla, , Barroso, , Recasens, , Sans, , Torner, and Sanchez Del Arco, (2000). Demography of *Lolium rigidum* in winter barley crops: analysis of recruitment, survival and reproduction. *Weed Research*, 40: 281-291. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2000.00187.x>

Finlayson, M. P., & Dastgheib, F. (2000). The effect of herbicides and surfactants on turf grasses and annual poa. *New Zealand Plant Protection*, 53, 277-283. doi: <https://doi.org/10.30843/nzpp.2000.53.3708>

Flower, K. C., Cordingley, N., Ward, P. R., & Weeks, C. (2012). Nitrogen, weed management and economics with cover crops in conservation agriculture in a Mediterranean climate. *Field Crops Research*, 132, 63-75. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.09.011>

Fogliatto, S., Ferrero, A., & Vidotto, F. (2020). Current and future scenarios of glyphosate use in Europe: Are there alternatives?. *Advances in Agronomy*, 163, 219-278. doi: <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2020.05.005>

Fracchiolla, M., Terzi, M., Frabboni, L., Caramia, D., Lasorella, C., De Giorgio, D., Montemurro, P., & Cazzato, E. (2016). Influence of different soil management practices on ground-flora vegetation in an almond orchard. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 31(4), 300-308. doi: <https://doi.org/10.1017/S1742170515000241>

Fry, J. D. (2003). Detecting ecological trade-offs using selection experiments. *Ecology*, 84(7), 1672-1678. doi: [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2003\)084\[1672:DETUSE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2003)084[1672:DETUSE]2.0.CO;2)

Gaines, T. A., Duke, S. O., Morran, S., Rigon, C. A., Tranel, P. J., Küpper, A., & Dayan, F. E. (2020). Mechanisms of evolved herbicide resistance. *Journal of Biological Chemistry*, doi: [10.1074/jbc.REV120.013572](https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.013572)

Gaines, T. A., Lorentz, L., Figge, A., Herrmann, J., Maiwald, F., Ott, M. C., ... & Beffa, R. (2014). RNA-Seq transcriptome analysis to identify genes involved in metabolism-based diclofop resistance in *Lolium rigidum*. *The Plant Journal*, 78(5), 865-876. doi: <https://doi.org/10.1111/tpj.12514>

Gallagher, R. S., Steadman, K. J., & Crawford, A. D. (2004). Alleviation of dormancy in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) seeds by hydration and after-ripening. *Weed Science*, 52(6), 968-975. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-04-075R>

Ganie, Z. A., Jugulam, M., & Jhala, A. J. (2017). Temperature influences efficacy, absorption, and translocation of 2, 4-D or glyphosate in glyphosate-resistant and

glyphosate-susceptible common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) and giant ragweed (*Ambrosia trifida*). *Weed Science*, 65(5), 588-602. <https://doi.org/10.1017/wsc.2017.32>

Ge, X., d'Avignon, D. A., Ackerman, J. J., & Sammons, R. D. (2014). In vivo <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance studies of glyphosate uptake, vacuolar sequestration, and tonoplast pump activity in glyphosate-resistant horseweed. *Plant Physiology*, 166(3), 1255-1268. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.114.247197>

Ge, X., d'Avignon, D. A., Ackerman, J. J., & Sammons, R. D. (2010). Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 66(4), 345-348. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.1911>

Ge, X., d'Avignon, D. A., Ackerman, J. J., Collavo, A., Sattin, M., Ostrander, E. L., Hall, E. L., Sammons, R. D., & Preston, C. (2012). Vacuolar glyphosate-sequestration correlates with glyphosate resistance in ryegrass (*Lolium* spp.) from Australia, South America, and Europe: a <sup>31</sup>P NMR investigation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(5), 1243–1250. doi: <https://doi.org/10.1021/jf203472s>

Ge, X., d'Avignon, D. A., Ackerman, J. J., Duncan, B., Spaur, M. B., & Sammons, R. D. (2011). Glyphosate-resistant horseweed made sensitive to glyphosate: low-temperature suppression of glyphosate vacuolar sequestration revealed by <sup>31</sup>P NMR. *Pest Management Science*, 67(10), 1215–1221. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.216>

Gerwick, B. C. (2010). Thirty years of herbicide discovery: surveying the past and contemplating the future. *Chapters VII–IX in Agrow Report. (Silver Jubilee Edition)*. London, UK: Informa.

Ghanizadeh, H., Harrington, K. C., & James, T. K. (2015a). Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* and *Lolium perenne* populations from New Zealand are also resistant to glufosinate and amitrole. *Crop Protection*, 78, 1-4. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3286>

Ghanizadeh, H., Harrington, K. C., James, T. K., & Woolley, D. J. (2015b). Quick tests for detecting glyphosate-resistant Italian and perennial ryegrass. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 58(2), 108-120. doi: <https://doi.org/10.1080/00288233.2014.981344>

Giacomini, D., Westra, P., & Ward, S. M. (2014). Impact of genetic background in fitness cost studies: an example from glyphosate-resistant *Palmer amaranth*. *Weed Science*, 62(1), 29-37. <https://doi.org/10.1614/WS-D-13-00066.1>

Giannopolitis, C. N., & Vassiliou, G. (1989). Propanil tolerance in *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. *International Journal of Pest Management*, 35(1), 6-7. doi:[10.1080/09670878909371310](https://doi.org/10.1080/09670878909371310)

Gill, G. (1996). Why annual ryegrass is a problem in Australian agriculture. *Plant Protection Quarterly*, 11(Supplement 1), 193-195. doi: <http://hdl.handle.net/2440/27837>

Gómez, J. A., Campos, M., Guzmán, G., Castillo-Llanque, F., Vanwalleggem, T., Lora, Á., & Giráldez, J. V. (2018). Soil erosion control, plant diversity, and arthropod communities under heterogeneous cover crops in an olive orchard. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(2), 977-989. doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8339-9>

González-Torralva, F., Gil-Humanes, J., Barro, F., Brants, I., & De Prado, R. (2012). Target site mutation and reduced translocation are present in a glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* Lam. biotype from Spain. *Plant physiology and biochemistry*, 58, 16-22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.06.001>

Gougler, J. A., & Geiger, D. R. (1981). Uptake and distribution of N-phosphonomethylglycine in sugar beet plants. *Plant physiology*, 68(3), 668-672. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.68.3.668>

Granatstein, D., Andrews, P., & Groff, A. (2014). Productivity, economics, and fruit and soil quality of weed management systems in commercial organic orchards in Washington State, USA. *Organic Agriculture*, 4(3), 197-207. doi: <https://doi.org/10.1007/s13165-014-0068-0>

Gray, A. S. A. (1879). The pertinacity and predominance of weeds. *American Journal of Science*, 3(105), 161-167. doi: <https://doi.org/10.2475/ajs.s3-18.105.161>

Gressel, J. (2009). Evolving understanding of the evolution of herbicide resistance. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(11), 1164-1173. doi:[10.1002/ps.1842](https://doi.org/10.1002/ps.1842)

Gressel, J., & Segel, L. A. (1978). The paucity of plants evolving genetic resistance to herbicides: possible reasons and implications. *Journal of Theoretical Biology*, 75(3), 349-371. doi: [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(78\)90340-5](https://doi.org/10.1016/0022-5193(78)90340-5)

Guan, X., Yuyama, N., Stewart, A., Ding, C., Xu, N., Kiyoshi, T., & Cai, H. (2017). Genetic diversity and structure of *Lolium* species surveyed on nuclear simple sequence repeat and cytoplasmic markers. *Frontiers in Plant Science*, 8, 584. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00584>

Hall, G. J., Hart, C. A., & Jones, C. A. (2000). Plants as sources of cations antagonistic to glyphosate activity. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 56(4), 351-358. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1526-4998\(200004\)56:4<351::AID-PS151>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1526-4998(200004)56:4<351::AID-PS151>3.0.CO;2-A)

Hammermeister, A. M. (2016). Organic weed management in perennial fruits. *Scientia Horticulturae*, 208, 28-42. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.02.004>

Han, H., Yu, Q., Owen, M. J., Cawthray, G. R., & Powles, S. B. (2016). Widespread occurrence of both metabolic and target-site herbicide resistance mechanisms in *Lolium rigidum* populations. *Pest Management Science*, 72(2), 255-263. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3995>

Hannaway, D. B., Fransen, S., Cropper, J. B., Teel, M., Chaney, M., Griggs, T. D., ... & Lane, W. (1999). Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Corvallis, Or. : Extension Service, Oregon State University.

Harker, K. N., & O'Donovan, J. T. (2013). Recent weed control, weed management, and integrated weed management. *Weed Technology*, 27(1), 1-11. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-D-12-00109.1>

Harker, K. N., O'Donovan, J. T., Blackshaw, R. E., Beckie, H. J., Mallory-Smith, C., & Maxwell, B. D. (2012). Our view. *Weed Science*, 60(2), 143-144. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00177.1>

Harper JL. 1977. Plant population biology. San Diego (CA): Academic Press

Harrington, T. B., & Miller, J. H. (2005). Effects of application rate, timing, and formulation of glyphosate and triclopyr on control of Chinese privet (*Ligustrum sinense*). *Weed Technology*, 19(1), 47-54. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-03-220R2>

Hashem, A., Radosevich, S. R., & Roush, M. L. (1998). Effect of proximity factors on competition between winter wheat (*Triticum aestivum*) and Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *Weed Science*, 46(2), 181-190. doi: <https://doi.org/10.1017/S0043174500090391>

Heap, I. (2022). The international herbicide-resistant weed database. Available online: [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)

Heil, M., & Baldwin, I. T. (2002). Fitness costs of induced resistance: emerging experimental support for a slippery concept. *Trends in Plant Science*, 7(2), 61-67. doi: [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)02186-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)02186-0)

Hill, R. J., LeBaron, H. M., & Gressel, J. (1982). Taxonomy and biological considerations of herbicide-resistant and herbicide-tolerant biotypes. *Herbicide Resistance in Plants: LeBaron HM, Gressel J, Eds, John Wiley & Sons, New York*, 81-98.

Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California agricultural experiment station*, 347 (2nd edit).

Hoerlein, G. (1994). Glufosinate (phosphinothricin), a natural amino acid with unexpected herbicidal properties. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 73-145. doi: [10.1007/978-1-4612-2672-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2672-7_4)

Hubbard, C. E. (1968). Grasses. Penguin Books, Harmondsworth.

Hulke, B. S., Watkins, E., Wyse, D. L., & Ehlke, N. J. (2008). Freezing tolerance of selected perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) accessions and its association with field winterhardiness and turf traits. *Euphytica*, 163(1), 131-141. doi: <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9631-z>

Hulting, A. G., Dauer, J. T., Hinds-Cook, B., Curtis, D., Koepke-Hill, R. M., & Mallory-Smith, C. (2012). Management of Italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) in



western Oregon with preemergence applications of pyroxasulfone in winter wheat. *Weed Technology*, 26(2), 230-235. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-D-11-00059.1>

Humphreys, M., Feuerstein, U., Vandewalle, M., & Baert, J. (2010). Ryegrasses. In B. Boller, U. Posselt, & F. Veronesi (Eds.), *Handbook of Plant Breeding: Fodder Crops and Amenity Grasses* (Vol. 5, pp. 211-260). Springer-Verlag. doi: <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0760-8>

Huqi, B., Dhima, K., Vasilakoglou, I., Keco, R., & Salaku, F. (2009). Weed flora and weed management in established olive groves in Albania. *Weed Biology and Management*, 9(4), 276-285. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2009.00351.x>

Hussain, S., Sharma, M. K., War, A. R., & Hussain, B. (2020). Weed management in apple cv. *Royal Delicious* by using different orchard floor management practices. *International Journal of Fruit Science*, 20(4), 891-921. doi: <https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1700405>

IARC (International Agency for Research on Cancer). (2015). Volume 112: Some organophosphate insecticides and herbicides: Tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon and glyphosate.

Ichihara, M., Yamashita, M., Sawada, H., Kida, Y., & Asai, M. (2009). Influence of after-ripening environments on the germination characteristics and seed fate of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *Weed Biology and Management*, 9(3), 217-224. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2009.00342.x>

Ingels, C. A., Lanini, T., Klonsky, K. M., & Demoura, R. (2012, June). Effects of weed and nutrient management practices in organic pear orchards. In *II International Organic Fruit Symposium 1001* (pp. 175-183).

Izquierdo i Figarola, J., Recasens i Guinjuan, J., Fernández-Quintanilla, C., & Gill, G. (2003). Effects of crop and weed densities on the interactions between barley and *Lolium rigidum* in several Mediterranean locations. *Agronomie*, 2003, vol. 23, núm. 7, p. 529-536. doi: [10.1051/agro:2003028ff.ffhal-00886213](https://doi.org/10.1051/agro:2003028ff.ffhal-00886213)

Jabran, K., Mahmood, K., Melander, B., Bajwa, A. A., & Kudsk, P. (2017). Weed dynamics and management in wheat. *Advances in Agronomy*, 145, 97-166. doi: <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2017.05.002>

Jachetta, J. J., Appleby, A. P., & Boersma, L. (1986). Apoplastic and symplastic pathways of atrazine and glyphosate transport in shoots of seedling sunflower. *Plant Physiology*, 82(4), 1000-1007. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.82.4.1000>

Jalaludin, A., Ngim, J., Bakar, B. H., & Alias, Z. (2010). Preliminary findings of potentially resistant goosegrass (*Eleusine indica*) to glufosinate-ammonium in Malaysia. *Weed Biology and Management*, 10(4), 256-260. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2010.00392.x>

Jalaludin, A., Yu, Q., & Powles, S. B. (2015). Multiple resistance across glufosinate, glyphosate, paraquat and ACC ase-inhibiting herbicides in an *Eleusine indica* population. *Weed Research*, 55(1), 82-89. doi: <https://doi.org/10.1111/wre.12118>

Jasieniuk, M., Ahmad, R., Sherwood, A., Firestone, J., Perez-Jones, A., Lanini, W., . . . Stednick, Z. (2008). Glyphosate-Resistant Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum*) in California: Distribution, Response to Glyphosate, and Molecular Evidence for an Altered Target Enzyme. *Weed Science*, 56(4), 496-502. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-08-020.1>

Jiang, X. J., Liu, W., Wang, E., Zhou, T., & Xin, P. (2017). Residual plastic mulch fragments effects on soil physical properties and water flow behavior in the Minqin Oasis, northwestern China. *Soil and Tillage Research*, 166, 100-107. doi: <https://doi.org/10.1016/j.still.2016.10.011>

Jolliffe, P. A. (2000). The replacement series. *Journal of Ecology*, 88(3), 371-385. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2000.00470.x>

Jones, R. E., Vere, D. T., Alemseged, Y., & Medd, R. W. (2005). Estimating the economic cost of weeds in Australian annual winter crops. *Agricultural Economics*, 32(3), 253-265. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-0862.2005.00217.x>

Kaloumenos, N. S., Tsioni, V. C., Daliani, E. G., Papavassileiou, S. E., Vassileiou, A. G., Laoutidou, P. N., & Eleftherohorinos, I. G. (2012). Multiple Pro-197 substitutions in the acetolactate synthase of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) and their impact on chlorsulfuron activity and plant growth. *Crop Protection*, 38, 35-43. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.03.002>

- Kanatas, P., Antonopoulos, N., Gazoulis, I., & Travlos, I. S. (2021). Screening glyphosate-alternative weed control options in important perennial crops. *Weed Science*, 69(6), 704-718. doi: <https://doi.org/10.1017/wsc.2021.55>
- Kaspary, T. E., Lamego, F. P., Cutti, L., Aguiar, A. C. D. M., Rigon, C. A. G., & Basso, C. J. (2017). Growth, phenology, and seed viability between glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible hairy fleabane. *Bragantia*, 76, 92-101. doi: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.542>
- Kaundun, S. S. (2014). Resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides. *Pest Management Science*, 70(9), 1405-1417. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3790>
- Kaundun, S. S., Hutchings, S. J., Dale, R. P., Bailly, G. C., & Glanfield, P. (2011). Syngenta 'RISQ'test: a novel in-season method for detecting resistance to post-emergence ACCase and ALS inhibitor herbicides in grass weeds. *Weed Research*, 51(3), 284-293. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2011.00841.x>
- Kaundun, S. S., Jackson, L. V., Hutchings, S. J., Galloway, J., Marchegiani, E., Howell, A., ... & Moreno, R. (2019). Evolution of target-site resistance to glyphosate in an *Amaranthus palmeri* population from Argentina and its expression at different plant growth temperatures. *Plants*, 8(11), 512. doi: <https://doi.org/10.3390/plants8110512>
- Kaundun, S. S., Zelaya, I. A., Dale, R. P., Lycett, A. J., Carter, P., Sharples, K. R., & McIndoe, E. (2008). Importance of the P106S target-site mutation in conferring resistance to glyphosate in a goosegrass (*Eleusine indica*) population from the Philippines. *Weed Science*, 56(5), 637-646. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-07-148.1>
- Kirkwood, R. C., Hetherington, R., Reynolds, T. L., & Marshall, G. (2000). Absorption, localisation, translocation and activity of glyphosate in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L) Beauv): influence of herbicide and surfactant concentration. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 56(4), 359-367. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1526-4998\(200004\)56:4<359::AID-PS145>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1526-4998(200004)56:4<359::AID-PS145>3.0.CO;2-S)
- Kloot PM, 1983. The genus *Lolium* in Australia. *Australian Journal of Botany*, 31:421-435.
- Krähmer, H. (2016). Europe. In *Atlas of Weed Mapping*, H. Krähmer (Ed.). doi: <https://doi.org/10.1002/9781118720691.ch1>

Kudsk, P., & Kristensen, J. L. (1992, February). Effect of environmental factors on herbicide performance. In *Proceedings of the first international weed control congress* (Vol. 1, pp. 173-186). Victoria, Australia: Weed Science Society of Victoria.

Kudsk, P., & Mathiassen, S. K. (2020). Pesticide regulation in the European Union and the glyphosate controversy. *Weed Science*, 68(3), 214-222. <https://doi.org/10.1017/wsc.2019.59>

Kudsk, P., & Streibig, J. C. (2003). Herbicides—a two-edged sword. *Weed Research*, 43(2), 90-102. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2003.00328.x>

Kumar, V., Bellinder, R. R., Brainard, D. C., Malik, R. K., & Gupta, R. K. (2008). Risks of herbicide-resistant rice in India: A review. *Crop Protection*, 27(3-5), 320-329. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.05.017>

Kumaratilake, A. R., & Preston, C. (2005). Low temperature reduces glufosinate activity and translocation in wild radish (*Raphanus raphanistrum*). *Weed science*, 53(1), 10-16. <https://doi.org/10.1614/WS-03-140R>

Kumaratilake, A. R., Lorraine-Colwill, D. F., & Preston, C. (2002). A comparative study of glufosinate efficacy in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) and sterile oat (*Avena sterilis*). *Weed science*, 50(5), 560-566. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2002\)050\[0560:ACSOGE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2002)050[0560:ACSOGE]2.0.CO;2)

Kurata, K., Ichihara, M., Ishida, Y., Shimono, Y., & Tominaga, T. (2017). Glufosinate-resistant Italian ryegrass populations emerge from glyphosate-resistant populations in Japan. *Int Inv J Agric. Soil Sci*, 5, 21-25.

Lagacherie, P., Coulouma, G., Ariagno, P., Virat, P., Boizard, H., & Richard, G. (2006). Spatial variability of soil compaction over a vineyard region in relation with soils and cultivation operations. *Geoderma*, 134(1-2), 207-216. doi: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2005.10.006>

Lea, P. J., Joy, K. W., Ramos, J. L., & Guerrero, M. G. (1984). The action of 2-amino-4-(methylphosphinyl)-butanoic acid (phosphinothricin) and its 2-oxo-derivative on the metabolism of cyanobacteria and higher plants. *Phytochemistry*, 23(1), 1-6. doi: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(84\)83066-6](https://doi.org/10.1016/0031-9422(84)83066-6)

Lee, L. J., & Ngim, J. (2000). A first report of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica* (L) Gaertn) in Malaysia. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 56(4), 336-339. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1526-4998\(200004\)56:4<336::AID-PS123>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1526-4998(200004)56:4<336::AID-PS123>3.0.CO;2-8)

Lemerle, D., Lockley, P., Koetz, E., & Diffey, S. (2013). Herbicide efficacy for control of annual ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.) is influenced more by wheat seeding rate than row spacing. *Crop and Pasture Science*, 64(7), 708-715. doi: <https://doi.org/10.1071/CP13211>

Lemerle, D., Verbeek, B., & Coombes, N. (1995). Losses in grain yield of winter crops from *Lolium rigidum* competition depend on crop species, cultivar and season. *Weed Research*, 35(6), 503-509. doi: [10.1111/j.1365-3180.1995.tb01648.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1995.tb01648.x)

Lemerle, D., Verbeek, B., & Orchard, B. (2001). Ranking the ability of wheat varieties to compete with *Lolium rigidum*. *Weed Research*, 41(3), 197-209. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2001.00232.x>

Li, J., Smeda, R. J., Sellers, B. A., & Johnson, W. G. (2005). Influence of formulation and glyphosate salt on absorption and translocation in three annual weeds. *Weed Science*, 53(2), 153-159. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-03-075R1>

Liebman, M., & Gallandt, E. R. (1997). Many little hammers: ecological management of crop-weed interactions. *Ecology in agriculture*, 1, 291-343.

Lisek, J. (2014). Possibilities and limitations of weed management in fruit crops of the temperate climate zone. *Journal of Plant Protection Research*. doi: <https://doi.org/10.2478/jppr-2014-0048>

Lorraine-Colwill, D. F., Powles, S. B., Hawkes, T. R., Hollinshead, P., Warner, S. A. J., & Preston, C. (2002). Investigations into the mechanism of glyphosate resistance in *Lolium rigidum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 74(2), 62-72. doi: [https://doi.org/10.1016/S0048-3575\(03\)00007-5](https://doi.org/10.1016/S0048-3575(03)00007-5)

Lucas, S. T. (2021). Sustainable Suppression of Weeds through Ecological Use of Cover Crops. In *Cover Crops and Sustainable Agriculture* (pp. 69-83). CRC Press.

Ma, R., Skelton, J. J., & Riechers, D. E. (2015). Measuring rates of herbicide metabolism in dicot weeds with an excised leaf assay. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (103), e53236. doi: <https://doi.org/10.3791/53236>

Madsen, K. H., Valverde, B. E., & Jensen, J. E. (2002). Risk assessment of herbicide-resistant crops: A Latin American perspective using rice (*Oryza sativa*) as a model. *Weed Technology*, 16(1), 215-223. doi: [https://doi.org/10.1614/0890-037X\(2002\)016\[0215:RAOHRC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0890-037X(2002)016[0215:RAOHRC]2.0.CO;2)

Matzrafi, M. (2019). Climate change exacerbates pest damage through reduced pesticide efficacy. *Pest Management Science*, 75(1), 9-13. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.5121>

Matzrafi, M., Brunharo, C., Tehranchian, P., Hanson, B. D., & Jasieniuk, M. (2019). Increased temperatures and elevated CO<sub>2</sub> levels reduce the sensitivity of *Conyza canadensis* and *Chenopodium album* to glyphosate. *Scientific reports*, 9(1), 1-11. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38729-x>

Matzrafi, M., Morran, S., & Jasieniuk, M. (2020). Recurrent selection with glufosinate at low rates reduces the susceptibility of a *Lolium perenne* ssp. *multiflorum* population to glufosinate. *Agronomy*, 10(9), 1288. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy10091288>

Mauro, R. P., Anastasi, U., Lombardo, S., Pandino, G., Pesce, R., Alessia, R., & Mauromicale, G. (2015). Cover crops for managing weeds, soil chemical fertility and nutritional status of organically grown orange orchard in Sicily. *Italian Journal of Agronomy*, 10(2), 101-104.

McCloskey, W. B., & Holt, J. S. (1990). Triazine resistance in *Senecio vulgaris* parental and nearly isonuclear backcrossed biotypes is correlated with reduced productivity. *Plant Physiology*, 92(4), 954-962. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.92.4.954>

McCraw, J. M., & Spoor, W. (1983). Self-incompatibility in *Lolium* species. *Heredity*, 50(1), 29-33. doi: <https://doi.org/10.1038/hdy.1983.4>

Medd, R. W., Auld, B. A., Kemp, D. R., & Murison, R. D. (1985). The influence of wheat density and spatial arrangement on annual ryegrass, *Lolium rigidum* Gaudin, competition.

*Australian Journal of Agricultural Research*, 36(3), 361-371. doi: <https://doi.org/10.1071/AR9850361>

Menalled, F., & Smith, R. (2007). Competitiveness of herbicide-resistant and herbicide-susceptible kochia (*Kochia scoparia* (L. Schrad.) under contrasting management practises. *Weed Biology and Management*, 7(2), 115-119. <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2007.00244.x>

Mennan, H., & Ngouajio, M. (2012). Effect of brassica cover crops and hazelnut husk mulch on weed control in hazelnut orchards. *HortTechnology*, 22(1), 99-105. doi: <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.22.1.99>

Mia, M. J., Massetani, F., Murri, G., & Neri, D. (2020a). Sustainable alternatives to chemicals for weed control in the orchard—A review. *Horticultural Science*, 47(1), 1-12. doi: <https://doi.org/10.17221/29/2019-HORTSCI>

Mia, M. J., Massetani, F., Murri, G., Facchi, J., Monaci, E., Amadio, L., & Neri, D. (2020b). Integrated weed management in high density fruit orchards. *Agronomy*, 10(10), 1492. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy10101492>

Michitte, P., De Prado, R., Espinoza, N., Ruiz-Santaella, J. P., & Gauvrit, C. (2007). Mechanisms of resistance to glyphosate in a ryegrass (*Lolium multiflorum*) biotype from Chile. *Weed Science*, 55(5), 435-440. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-06-167.1>

Mirzaei, M., Rastgoo, M., Hajmohammadnia Ghalibaf, K., & Zand, E. (2019). The response of different weed species to glyphosate using ammonium sulfate and hard water. *Planta Daninha*, 37. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100041>

Mithila, J., Hall, J. C., Johnson, W. G., Kelley, K. B., & Riechers, D. E. (2011). Evolution of resistance to auxinic herbicides: historical perspectives, mechanisms of resistance, and implications for broadleaf weed management in agronomic crops. *Weed Science*, 59(4), 445-457. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00062.1>

Molin, W. T., & Hirase, K. (2004). Comparison of commercial glyphosate formulations for control of prickly sida, purple nutsedge, morningglory and sicklepod. *Weed Biology and Management*, 4(3), 136-141. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2004.00130.x>

Monaco, T. J., Weller, S. C., & Ashton, F. M. (2002). *Weed science: principles and practices*. John Wiley & Sons.

Montanaro, G., Xiloyannis, C., Nuzzo, V., & Dichio, B. (2017). Orchard management, soil organic carbon and ecosystem services in Mediterranean fruit tree crops. *Scientia Horticulturae*, 217, 92-101. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.012>

Moretti, M. L. (2021). POST control of Italian ryegrass in hazelnut orchards. *Weed Technology*, 35(4), 638-643. doi: <https://doi.org/10.1017/wet.2021.41>

Moss, S. (1999). Detecting herbicide resistance: guidelines for conducting diagnostic tests and interpreting results. *Herbicide Resistance Action Committee* <http://www.hracglobal.com/Education/DetectingHerbicideResistance.aspx>

Mueller, T. C., Massey, J. H., Hayes, R. M., Main, C. L., & Stewart, C. N. (2003). Shikimate accumulates in both glyphosate-sensitive and glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 680-684. doi: <https://doi.org/10.1021/jf026006k>

Mueller, T. C., Mitchell, P. D., Young, B. G., & Culpepper, A. S. (2005). Proactive versus reactive management of glyphosate-resistant or-tolerant weeds. *Weed Technology*, 19(4), 924-933. <https://doi.org/10.1614/WT-04-297R.1>

Nagy, P. T., Kincses, I., Lang, T., Szőke, S. L., Nyéki, J., & Szabó, Z. (2010). Importance of orchard floor management in organic fruit growing (nutritional aspects). *International Journal of Horticultural Science*, 16(3), 61-67. doi: <https://doi.org/10.31421/IJHS/16/3/898>

Nandula, V. K., Ray, J. D., Ribeiro, D. N., Pan, Z., & Reddy, K. N. (2013). Glyphosate resistance in tall waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) from Mississippi is due to both altered target-site and nontarget-site mechanisms. *Weed Science*, 61(3), 374-383. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-12-00155.1>

Narwal, S., Sindel, B. M., & Jessop, R. S. (2008). Dormancy and longevity of annual ryegrass (*Lolium rigidum*) as affected by soil type, depth, rainfall, and duration of burial. *Plant and Soil*, 310(1), 225-234. doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9649-6>



Neilsen, G. H., Lowery, D. T., Forge, T. A., & Neilsen, D. (2009). Organic fruit production in British Columbia. *Canadian Journal of Plant Science*, 89(4), 677-692. doi: <https://doi.org/10.4141/CJPS08167>

Neve, P., Vila-Aiub, M., & Roux, F. (2009). Evolutionary-thinking in agricultural weed management. *New Phytologist*, 184(4), 783-793. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03034.x>

Ng, C. H., Wickneswari, R., Salmijah, S., Teng, Y. T., & Ismail, B. S. (2003). Gene polymorphisms in glyphosate-resistant and-susceptible biotypes of *Eleusine indica* from Malaysia. *Weed Research*, 43(2), 108-115. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2003.00322.x>

Ngo, T. D., Krishnan, M., Boutsalis, P., Gill, G., & Preston, C. (2018). Target-site mutations conferring resistance to glyphosate in feathertop Rhodes grass (*Chloris virgata*) populations in Australia. *Pest management science*, 74(5), 1094-1100. <https://doi.org/10.1002/ps.4512>

Nichols, V., Verhulst, N., Cox, R., & Govaerts, B. (2015). Weed dynamics and conservation agriculture principles: A review. *Field Crops Research*, 183, 56-68. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.07.012>

Nol, N., Tsikou, D., Eid, M., Livieratos, I. C., & Giannopolitis, C. N. (2012). Shikimate leaf disc assay for early detection of glyphosate resistance in *Conyza canadensis* and relative transcript levels of EPSPS and ABC transporter genes. *Weed Research*, 52(3), 233-241. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2012.00911.x>

Norsworthy, J. K., Jha, P., Steckel, L. E., & Scott, R. C. (2010). Confirmation and control of glyphosate-resistant giant ragweed (*Ambrosia trifida*) in Tennessee. *Weed Technology*, 24(1), 64-70. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-D-09-00019.1>

Norsworthy, J. K., Ward, S. M., Shaw, D. R., Llewellyn, R. S., Nichols, R. L., Webster, T. M., ... & Barrett, M. (2012). Reducing the risks of herbicide resistance: best management practices and recommendations. *Weed science*, 60(SP1), 31-62. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00155.1>

Oliveira, B. S., Ambrosini, V. G., Trapp, T., dos Santos, M. A., Sete, P. B., Lovato, P. E., Loss, A., Comin, J.J., Lourenzi, C.R., da Rosa Couto, R., Toselli, M., & Brunetto, G. (2016). Nutrition, productivity and soil chemical properties in an apple orchard under weed management. *Nutrient cycling in agroecosystems*, 104(2), 247-258. doi: <https://doi.org/10.1007/s10705-016-9769-y>

Oliveira, M. T., & Merwin, I. A. (2001). Soil physical conditions in a New York orchard after eight years under different groundcover management systems. *Plant and Soil*, 234(2), 233-237. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1017992810626>

Oliveira, R. D., Dario, G., Alves, K. A., & Gandolfo, M. A. (2015). Influence of the glyphosate formulations on wettability and evaporation time of droplets on different targets. *Planta daninha*, 33, 599-606. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582015000300022>

Olofsdotter, M., Valverde, B. E., & Madsen, K. H. (2000). Herbicide resistant rice (*Oryza sativa* L.): Global implications for weedy rice and weed management. *Annals of Applied Biology*, 137(3), 279-295. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2000.tb00069.x>

Orr H. A. (2009). Fitness and its role in evolutionary genetics. *Nature reviews. Genetics*, 10(8), 531–539. doi: <https://doi.org/10.1038/nrg2603>

Osterholz, W. R., Culman, S. W., Herms, C., Joaquim de Oliveira, F., Robinson, A., & Doohan, D. (2021). Knowledge gaps in organic research: Understanding interactions of cover crops and tillage for weed control and soil health. *Organic Agriculture*, 11(1), 13-25. doi: <https://doi.org/10.1007/s13165-020-00313-3>

Owen M. D. (2008). Weed species shifts in glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science*, 64(4), 377–387. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.1539>

Owen, M. J., Walsh, M. J., Llewellyn, R. S., & Powles, S. B. (2007). Widespread occurrence of multiple herbicide resistance in Western Australian annual ryegrass (*Lolium rigidum*) populations. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58(7), 711-718. doi: <https://doi.org/10.1071/AR06283>

- Panozzo S, Collavo A, Sattin M. Sensitivity Analysis of Italian *Lolium* spp. to Glyphosate in Agricultural Environments. *Plants*. 2020; 9(2):165. doi: <https://doi.org/10.3390/plants9020165>
- Papapanagiotou, A. P., Damalas, C. A., Menexes, G. C., & Eleftherohorinos, I. G. (2020). Resistance levels and chemical control options of sterile oat (*Avena sterilis* L.) in Northern Greece. *International Journal of Pest Management*, 66(2), 106-115. doi: <https://doi.org/10.1080/09670874.2019.1569285>
- Paris, M., Roux, F., Berard, A., & Reboud, X. (2008). The effects of the genetic background on herbicide resistance fitness cost and its associated dominance in *Arabidopsis thaliana*. *Heredity*, 101(6), 499-506. doi: <https://doi.org/10.1038/hdy.2008.92>
- Park, K. W., Mallory-Smith, C. A., Ball, D. A., & Mueller-Warrant, G. W. (2004). Ecological fitness of acetolactate synthase inhibitor-resistant and-susceptible downy brome (*Bromus tectorum*) biotypes. *Weed Science*, 52(5), 768-773. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-04-081R>
- Paynter, B. H., & Hills, A. L. (2009). Barley and rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) competition is influenced by crop cultivar and density. *Weed Technology*, 23(1), 40-48. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-08-093.1>
- Pearson, A., Cogan, N. O., Baillie, R. C., Hand, M. L., Bandaranayake, C. K., Erb, S., ... & Forster, J. W. (2011). Identification of QTLs for morphological traits influencing waterlogging tolerance in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 122(3), 609-622. doi: <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1473-8>
- Pedersen, B. P., Neve, P., Andreasen, C., & Powles, S. B. (2007). Ecological fitness of a glyphosate-resistant *Lolium rigidum* population: growth and seed production along a competition gradient. *Basic and Applied Ecology*, 8(3), 258-268. doi: <https://doi.org/10.1016/j.baae.2006.01.002>
- Penner, D. (2000). Activator adjuvants. *Weed technology*, 14(4), 785-791. doi: [https://doi.org/10.1614/0890-037X\(2000\)014\[0785:AA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0890-037X(2000)014[0785:AA]2.0.CO;2)

- Perez, A., & Kogan, M. (2003). Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. *Weed Research*, 43(1), 12-19. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2003.00311.x>
- Perez-Jones, A., Park, K. W., Colquhoun, J., Mallory-Smith, C., & Shaner, D. (2005). Identification of glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in Oregon. *Weed Science*, 53(6), 775-779. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-04-200R.1>
- Perez-Jones, A., Park, K. W., Polge, N., Colquhoun, J., & Mallory-Smith, C. A. (2007). Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. *Planta*, 226(2), 395-404. doi: <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0490-6>
- Peterson, D., & Thompson, C. (2009, January). Glyphosate Weed Control Enhancement with Ammonium Sulfate and Commercial Water Conditioning Agents. In *29th Symposium on Pesticide Formulations and Delivery Systems*. ASTM International.
- Pittman, K. B., Barney, J. N., & Flessner, M. L. (2019). Horseweed (*Conyza canadensis*) suppression from cover crop mixtures and fall-applied residual herbicides. *Weed Technology*, 33(2), 303-311. doi: <https://doi.org/10.1017/wet.2018.111>
- Pline, W. A., Hatzios, K. K., & Hagood, E. S. (2000). Weed and herbicide-resistant soybean (*Glycine max*) response to glufosinate and glyphosate plus ammonium sulfate and pelargonic acid. *Weed Technology*, 14(4), 667-674. doi: [https://doi.org/10.1614/0890-037X\(2000\)014\[0667:WAHRSG\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0890-037X(2000)014[0667:WAHRSG]2.0.CO;2)
- Pline, W. A., Wu, J., & Hatzios, K. K. (1999). Effects of temperature and chemical additives on the response of transgenic herbicide-resistant soybeans to glufosinate and glyphosate applications. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 65(2), 119-131. doi: <https://doi.org/10.1006/pest.1999.2437>
- Powles S. B. (2008). Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. *Pest Management Science*, 64(4), 360–365. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.1525>
- Powles, S. B., & Preston, C. (2006). Evolved glyphosate resistance in plants: biochemical and genetic basis of resistance. *Weed Technology*, 20(2), 282-289. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-04-142R.1>

Powles, S. B., & Yu, Q. (2010). Evolution in action: plants resistant to herbicides. *Annual review of plant biology*, 61, 317-347. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112119>

Powles, S. B., & Yu, Q. (2010). Evolution in action: plants resistant to herbicides. *Annual review of plant biology*, 61, 317-347. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112119>

Powles, S. B., Lorraine-Colwill, D. F., Dellow, J. J., & Preston, C. (1998). Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. *Weed science*, 46(5), 604-607. doi: <http://www.jstor.org/stable/4045968>

Powles, S. B., Preston, C., Bryan, I. B., & Jutsum, A. R. (1996). Herbicide resistance: impact and management. In *Advances in Agronomy* (Vol. 58, pp. 57-93). Academic Press. doi: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60253-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60253-9)

Pratt, D., Kells, J. J., & Penner, D. (2003). Substitutes for ammonium sulfate as additives with glyphosate and glufosinate. *Weed Technology*, 17(3), 576-581. doi: [https://doi.org/10.1614/0890-037X\(2003\)017\[0576:SFASAA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0890-037X(2003)017[0576:SFASAA]2.0.CO;2)

Preston, A., Moore, J., Pratley, J., & Thelen, G. (2015). A quick test for glyphosate resistance in annual ryegrass. In *Proceedings of the 17th ASA Conference, 20-24 September, Hobart, Australia* (pp. 1-4).

Preston, C., & Wakelin, A. M. (2008). Resistance to glyphosate from altered herbicide translocation patterns. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 64(4), 372-376. doi: [10.1002/ps.1489](https://doi.org/10.1002/ps.1489)

Preston, C., Wakelin, A. M., Dolman, F. C., Bostamam, Y., & Boutsalis, P. (2009). A decade of glyphosate-resistant *Lolium* around the world: mechanisms, genes, fitness, and agronomic management. *Weed Science*, 57(4), 435-441. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-08-181.1>

Radosevich, S. R., Holt, J. S., & Ghersa, C. (2007). *Weed ecology: implications for management* 3rd Ed. New York, John Wiley & Sons, 454 p.

Ramsdale, B. K., Messersmith, C. G., & Nalewaja, J. D. (2003). Spray volume, formulation, ammonium sulfate, and nozzle effects on glyphosate efficacy. *Weed Technology*, 17(3), 589-598. doi: <https://doi.org/10.1614/WT02-157>

Renz, M. J., & DiTomaso, J. M. (1998). The Effectiveness of Mowing and Herbicides to Control Perennial Pepperweed in Rangeland & Roadside Habitats. In Proceedings-Western Society Of Weed Science (Vol. 51, pp. 129-129). WESTERN SOCIETY OF WEED SCIENCE.

Renz, M. J., & DiTomaso, J. M. (2004). Mechanism for the enhanced effect of mowing followed by glyphosate application to resprouts of perennial pepperweed (*Lepidium latifolium*). *Weed Science*, 52(1), 14-23. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-03-024R>

Renz, M. J., & DiTomaso, J. M. (2006). Early season mowing improves the effectiveness of chlorsulfuron and glyphosate for control of perennial pepperweed (*Lepidium latifolium*). *Weed Technology*, 20(1), 32-36. doi: <http://dx.doi.org/10.1614/WT-05-007R1.1>

Rerkasem, K., Stern, W. R., & Goodchild, N. A. (1980). Associated growth of wheat and annual ryegrass. 1. Effect of varying total density and proportion in mixtures of wheat and annual ryegrass. *Australian Journal of Agricultural Research*, 31(4), 649-658. doi: <https://doi.org/10.1071/AR9800649>

Richardson, R. J., Bailey, W. A., Armel, G. R., Whaley, C. M., Wilson, H. P., & Hines, T. E. (2003). Responses of selected weeds and glyphosate-resistant cotton and soybean to two glyphosate salts. *Weed technology*, 17(3), 560-564. doi: [https://doi.org/10.1614/0890-037X\(2003\)017\[0560:ROSWAG\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0890-037X(2003)017[0560:ROSWAG]2.0.CO;2)

Riemens, M., Sønderkov, M., Moonen, A. C., Storkey, J., & Kudsk, P. (2022). An integrated weed management framework: a pan-European perspective. *European Journal of Agronomy*, 133, 126443. doi: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2021.126443>

Rodriguez, A. M., Jacobo, E. J., & Deregibus, V. A. (1998). Germination behaviour of Italian ryegrass in flooding pampa rangelands. *Seed Science Research*, 8(4), 521-528. doi: <https://doi.org/10.1017/S0960258500004499>

Roux, F., Gasquez, J., & Reboud, X. (2004). The dominance of the herbicide resistance cost in several *Arabidopsis thaliana* mutant lines. *Genetics*, 166(1), 449-460. doi: <https://doi.org/10.1534/genetics.166.1.449>

Roux, F., Matejicek, A., & Reboud, X. (2005). Response of *Arabidopsis thaliana* to 22 ALS inhibitors: baseline toxicity and cross-resistance of *csr1-1* and *csr1-2* resistant mutants. *Weed Research*, 45(3), 220-227. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2005.00450.x>

Rowley, M. A., Ransom, C. V., Reeve, J. R., & Black, B. L. (2011). Mulch and organic herbicide combinations for in-row orchard weed suppression. *International Journal of Fruit Science*, 11(4), 316-331. doi: <https://doi.org/10.1080/15538362.2011.630295>

Sabet Zangeneh, H., Mohammaddust Chamanabad, H. R., Zand, E., Asghari, A., Alamisaeid, K., Travlos, I. S., & Alebrahim, M. T. (2016). Study of fitness cost in three rigid ryegrass populations susceptible and resistant to acetyl-CoA carboxylase inhibiting herbicides. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 4, 142. doi: <https://doi.org/10.3389/fevo.2016.00142>

Salas, R. A., Dayan, F. E., Pan, Z., Watson, S. B., Dickson, J. W., Scott, R. C., & Burgos, N. R. (2012). EPSPS gene amplification in glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) from Arkansas. *Pest Management Science*, 68(9), 1223-1230. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3342>

Salisbury, C. D., Chandler, J. M., & Merkle, M. G. (1991). Ammonium sulfate enhancement of glyphosate and SC-0224 control of johnsongrass (*Sorghum halepense*). *Weed Technology*, 5(1), 18-21. doi: <https://doi.org/10.1017/S0890037X00033182>

Sammons, R. D., & Gaines, T. A. (2014). Glyphosate resistance: state of knowledge. *Pest Management Science*, 70(9), 1367-1377. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3743>

Samson, D. A., & Werk, K. S. (1986). Size-dependent effects in the analysis of reproductive effort in plants. *The American Naturalist*, 127(5), 667-680. doi: <https://doi.org/10.1086/284512>

Sansom, M., Saborido, A. A., & Dubois, M. (2013). Control of *Conyza* spp. with glyphosate-a review of the situation in Europe. *Plant Protection Science*, 49(1), 44-53. doi: <https://doi.org/10.17221/67/2011-PPS>

Satchivi, N. M., Wax, L. M., Stoller, E. W., & Briskin, D. P. (2000). Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. *Weed Science*, 48(6), 675-679. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0675:AATOGI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0675:AATOGI]2.0.CO;2)

Sattell, R., Dick, R., Karow, R. S., McGrath, D., & Peachey, R. E. (1998). Annual ryegrass (*Lolium multiflorum*). Corvallis, Or. : Extension Service, Oregon State University.

Savage, S., & Zorner, P. (1996). The use of pelargonic acid as a weed management tool. In Proc. Calif. Weed Conf (Vol. 48, pp. 46-47).

Scarabel, L., Panozzo, S., Loddo, D., Mathiassen, S. K., Kristensen, M., Kudsk, P., ... & Sattin, M. (2020). Diversified resistance mechanisms in multi-resistant *Lolium* spp. in three European countries. *Frontiers in Plant Science*, 11, 608845. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.608845>

Schonbeck, M. W. (1999). Weed suppression and labor costs associated with organic, plastic, and paper mulches in small-scale vegetable production. *Journal of Sustainable Agriculture*, 13(2), 13-33. doi: [https://doi.org/10.1300/J064v13n02\\_04](https://doi.org/10.1300/J064v13n02_04)

Sellers, B. A., Smeda, R. J., & Johnson, W. G. (2003). Diurnal fluctuations and leaf angle reduce glufosinate efficacy. *Weed Technology*, 17(2), 302-306. doi: [https://doi.org/10.1614/0890-037X\(2003\)017\[0302:DFALAR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0890-037X(2003)017[0302:DFALAR]2.0.CO;2)

Seng, C. T., Van Lun, L. O. W., San, C. T., & SAHID, I. B. (2010). Initial report of glufosinate and paraquat multiple resistance that evolved in a biotype of goosegrass (*Eleusine indica*) in Malaysia. *Weed Biology and Management*, 10(4), 229-233. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2010.00388.x>

Shaner, D. L. (2009). Role of translocation as a mechanism of resistance to glyphosate. *Weed Science*, 57(1), 118-123. DOI: 10.1614/WS-08-050.1



Shaner, D. L. (2014a) *Herbicide Handbook*. 10th Edition, Weed Science Society of America, Lawrence, 513 p.

Shaner, D. L. (2014b). Lessons learned from the history of herbicide resistance. *Weed Science*, 62(2), 427-431. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-13-00109.1>

Shaner, D. L., & Beckie, H. J. (2014). The future for weed control and technology. *Pest Management Science*, 70(9), 1329-1339. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3706>

Shaner, D. L., Nadler-Hassar, T., Henry, W. B., & Koger, C. H. (2005). A rapid in vivo shikimate accumulation assay with excised leaf discs. *Weed Science*, 53(6), 769-774. <https://doi.org/10.1614/WS-05-009R.1>

Shaner, D.L. (2010). Testing methods for glyphosate resistance. in glyphosate resistance in crops and weeds, V.K. Nandula (Ed.).doi: <https://doi.org/10.1002/9780470634394.ch5>

Sharma, G., Shrestha, S., Kunwar, S., & Tseng, T. M. (2021). Crop diversification for improved weed management: A review. *Agriculture*, 11(5), 461. doi: <https://doi.org/10.3390/agriculture11050461>

Sharma, S. D., & Singh, M. (2000). Optimizing foliar activity of glyphosate on *Bidens frondosa* and *Panicum maximum* with different adjuvant types. *Weed Research*, 40(6), 523-533. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2000.00209.x>

Sharma, S. D., Chandrasena, N., & Singh, M. (2004, November). Glyphosate adjuvant interactions: A review of recent experiences. In *Proceedings of the 20th Asia-Pacific Weed Science Society Conference, Ho-Chi-Minh City, Vietnam* (pp. 7-11).

Shehata, S. A., Abouziena, H. F., Abdelgawad, K. F., & Elkhawaga, F. A. (2019). Weed control efficacy, growth and yield of potato (*Solanum tuberosum* L.) as affected by alternative weed control methods. *Potato Research*, 62(2), 139-155. doi: <https://doi.org/10.1007/s11540-018-9404-1>

Shelp, B. J., Swanton, C. J., & Hall, J. C. (1992). Glufosinate (phosphinothricin) mobility in young soybean shoots. *Journal of Plant Physiology*, 139(5), 626-628. doi: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)80382-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80382-2)

Shruti, P. G., Hanchinamani, C. N., & Hadimani, H. P. (2018). Mulching: A novel boon impacting on soil health and crop production in agriculture. *International Journal of Chemical Studies*, 6(2), 3206-3208.

Simarmata, M., & Penner, D. (2008). The Basis for Glyphosate Resistance in Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum*) from California. *Weed Science*, 56(2), 181-188. doi:[10.1614/WS-07-057.1](https://doi.org/10.1614/WS-07-057.1)

Simarmata, M., Kaufmann, J. E., & Penner, D. (2003). Potential basis of glyphosate resistance in California rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science*, 51(5), 678-682. <http://dx.doi.org/10.1614/P2002-124>

Singh, B. K., & Shaner, D. L. (1998). Rapid determination of glyphosate injury to plants and identification of glyphosate-resistant plants. *Weed Technology*, 12(3), 527-530. doi: <https://doi.org/10.1017/S0890037X00044250>

Singh, M., & Sharma, S. (2001, December). Different adjuvant types and glyphosate efficacy on some weeds. In *Proc. Fla. State Hortic. Soc* (Vol. 114, pp. 132-135).

Soper, K., & Mitchell, K. J. (1956). The developmental anatomy of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *New Zealand Journal of Science and Technology*, 37(6), 484-504.

Soriano, M. A., Álvarez, S., Landa, B. B., & Gómez, J. A. (2014). Soil properties in organic olive orchards following different weed management in a rolling landscape of Andalusia, Spain. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 29(1), 83-91. doi: <https://doi.org/10.1017/S1742170512000361>

Soteres, J. (2012, May). *Glyphosate Resistance Management in Trees and Vine Markets: Global Learnings* [Paper presentation]. International Workshop on “Glyphosate WeedResistance: European Status and Solutions”, Cordoba, Spain.

Stanton, R., Piltz, J., Pratley, J., Kaiser, A., Hudson, D., & Dill, G. (2002). Annual ryegrass (*Lolium rigidum*) seed survival and digestibility in cattle and sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 42(2), 111-115. doi: <https://doi.org/10.1071/EA01069>

Steadman, K. J. (2004). Dormancy release during hydrated storage in *Lolium rigidum* seeds is dependent on temperature, light quality, and hydration status. *Journal of Experimental Botany*, 55(398), 929-937. doi: <https://doi.org/10.1093/jxb/erh099>

Steenwerth, K. L., McElrone, A. J., Calderón-Orellana, A., Hanifin, R. C., Storm, C., Collatz, W., & Manuck, C. (2013). Cover crops and tillage in a mature Merlot vineyard show few effects on grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64(4), 515-521. doi: [10.5344/ajev.2013.12119](https://doi.org/10.5344/ajev.2013.12119)

Steinmetz, Z., Wollmann, C., Schaefer, M., Buchmann, C., David, J., Tröger, J., Muñoz, K., Frörd, O., & Schaumann, G. E. (2016). Plastic mulching in agriculture. Trading short-term agronomic benefits for long-term soil degradation?. *Science of the total environment*, 550, 690-705. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.153>

Steinrücken, H. C., & Amrhein, N. (1980). The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimic acid-3-phosphate synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 94(4), 1207-1212. doi: [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(80\)90547-1](https://doi.org/10.1016/0006-291X(80)90547-1)

Storkey, J., & Neve, P. (2018). What good is weed diversity?. *Weed Research*, 58(4), 239-243. doi: <https://doi.org/10.1111/wre.12310>

Suzukawa, A. K., Bobadilla, L. K., Mallory-Smith, C., & Brunharo, C. A. (2021). Non-target-site resistance in *Lolium* spp. globally: a review. *Frontiers in Plant Science*, 11, 609209. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.609209>

Swanton, C., Nkoa, R., & Blackshaw, R. (2015). Experimental Methods for Crop–Weed Competition Studies. *Weed Science*, 63(SP1), 2-11. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-13-00062.1>

Székács, A., & Darvas, B. (2012). Forty Years with Glyphosate. In (Ed.), *Herbicides - Properties, Synthesis and Control of Weeds*. IntechOpen. doi: <https://doi.org/10.5772/32491>

Tahir, I. I., Svensson, S. E., & Hansson, D. (2015). Floor management systems in an organic apple orchard affect fruit quality and storage life. *HortScience*, 50(3), 434-441. doi: <http://dx.doi.org/10.21273/HORTSCI.50.3.434>

Tahmasebi, B. K., Alebrahim, M. T., Roldán-Gómez, R. A., da Silveira, H. M., de Carvalho, L. B., Alcántara-de la Cruz, R., & De Prado, R. (2018). Effectiveness of alternative herbicides on three *Coryza* species from Europe with and without glyphosate

resistance. *Crop Protection*, 112, 350-355. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.06.021>

Takano, H. K., Beffa, R., Preston, C., Westra, P., & Dayan, F. E. (2019). Reactive oxygen species trigger the fast action of glufosinate. *Planta*, 249(6), 1837-1849. doi: <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03124-3>

Takano, H. K., Beffa, R., Preston, C., Westra, P., & Dayan, F. E. (2020). Physiological factors affecting uptake and translocation of glufosinate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(10), 3026-3032. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07046>

Tamarin, R. H. (1999). Principles of genetics. McGraw-Hill College Division, New York.

Tani, E., Chachalis, D., Travlos, I. S., & Bilalis, D. (2016). Environmental Conditions Influence Induction of Key ABC-Transporter Genes Affecting Glyphosate Resistance Mechanism in *Conyza canadensis*. *International journal of Molecular Sciences*, 17(4), 342. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms17040342>

Tanji, A., & Boutfirass, M. (2018). Effective preemergence herbicides for rigid ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.) control in irrigated bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Agricultural Science*, 10(4), 79-85. doi: <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v10n4p79>

Tardif, F. J., Rajcan, I., & Costea, M. (2006). A mutation in the herbicide target site acetohydroxyacid synthase produces morphological and structural alterations and reduces fitness in *Amaranthus powellii*. *New Phytologist*, 169(2), 251-264. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01596.x>

Tehranian, P., Nandula, V., Jugulam, M., Putta, K., & Jasieniuk, M. (2018). Multiple resistance to glyphosate, paraquat and ACCase-inhibiting herbicides in Italian ryegrass populations from California: confirmation and mechanisms of resistance. *Pest Management science*, 74(4), 868-877. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.4774>

Terrell, E. E. (1968). *A taxonomic revision of the genus Lolium* (Vol. 1392). US Dept. of Agriculture, 2.

Thelen, K. D., Jackson, E. P., & Penner, D. (1995). The basis for the hard-water antagonism of glyphosate activity. *Weed Science*, 43(4), 541-548. doi: <https://doi.org/10.1017/S0043174500081613>

Thomasi, R. M., Lúcio, A. D., Amado, T. J., Pott, L. P., Zanon Junior, A., Werle, I. S., ... & Ulguim, A. R. (2021). Relationship of vegetation indices with herbicide phytotoxicity in winter cereals. *Advances in Weed Science*, 39. doi: <https://doi.org/10.51694/AdvWeedSci/2021;39:00017>

Torra, J., Montull, J. M., Taberner, A., Onkokesung, N., Boonham, N., & Edwards, R. (2021). Target-site and non-target-site resistance mechanisms confer multiple and cross-resistance to ALS and ACCase inhibiting herbicides in *Lolium rigidum* from Spain. *Frontiers in Plant Science*, 12, 625138. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.625138>

Travlos, I. S. (2013). Competition between ACCase-inhibitor resistant and susceptible sterile wild oat (*Avena sterilis*) biotypes. *Weed science*, 61(1), 26-31. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-12-00065.1>

Travlos, I. S., & Chachalis, D. (2010). Glyphosate-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) is reported in Greece. *Weed Technology*, 24(4), 569-573. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-D-09-00080.1>

Travlos, I. S., & Chachalis, D. (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). doi: [10.22069/IJPP.2013.1263](https://doi.org/10.22069/IJPP.2013.1263)

Travlos, I. S., Cheimona, N., De Prado, R., Jhala, A. J., Chachalis, D., & Tani, E. (2018). First case of glufosinate-resistant rigid ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.) in Greece. *Agronomy*, 8(4), 35. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy8040035>

Travlos, I., Cheimona, N., & Bilalis, D. (2017). Glyphosate efficacy of different salt formulations and adjuvant additives on various weeds. *Agronomy*, 7(3), 60. doi: [10.3390/agronomy7030060](https://doi.org/10.3390/agronomy7030060)

Travlos, I., Rapti, E., Gazoulis, I., Kanatas, P., Tataridas, A., Kakabouki, I., & Papastylianou, P. (2020). The herbicidal potential of different pelargonic acid products and essential oils against several important weed species. *Agronomy*, 10(11), 1687. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy10111687>

Travlos, I., Tsekoura, A., Antonopoulos, N., Kanatas, P., & Gazoulis, I. (2021). Novel sensor-based method (quick test) for the in-season rapid evaluation of herbicide efficacy under real field conditions in durum wheat. *Weed Science*, 69(2), 147-160. doi: <https://doi.org/10.1017/wsc.2021.8>

Tursun, N., Işık, D., Demir, Z., & Jabran, K. (2018). Use of living, mowed, and soil-incorporated cover crops for weed control in apricot orchards. *Agronomy*, 8(8), 150. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy8080150>

Ujváry, I. (2010). Pest control agents from natural products. In *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology* (pp. 119-229). Academic Press. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374367-1.00003-3>

Ulguim, A. D. R., Agostinetto, D., Vargas, L., Silva, J. D. G. D., Schneider, T., & Silva, B. M. D. (2019). Mixture of glufosinate and atrazine for ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) control and its effect on seeds' quality. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 72(1), 8655-8661. doi: <https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n1.69093>

Ullrich, W. R., Ullrich-Eberius, C. I., & Köcher, H. (1990). Uptake of glufosinate and concomitant membrane potential changes in *Lemna gibba* G1. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 37(1), 1-11. doi: [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(90\)90103-9](https://doi.org/10.1016/0048-3575(90)90103-9)

Vazquez-Garcia, J. G., Palma-Bautista, C., Rojano-Delgado, A. M., De Prado, R., & Menendez, J. (2020). The first case of glyphosate resistance in johnsongrass (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) in Europe. *Plants*, 9(3), 313. doi: <https://doi.org/10.3390/plants9030313>

Vencill, W. K. (2002). Herbicide handbook (No. Ed. 8). *Weed Science Society of America*, Lawrence, KS. 493 pp.

- Vigueira, C. C., Olsen, K. M., & Caicedo, A. L. (2013). The red queen in the corn: agricultural weeds as models of rapid adaptive evolution. *Heredity*, 110(4), 303-311. doi: <https://doi.org/10.1038/hdy.2012.104>
- Vila-Aiub, M. M., Goh, S. S., Gaines, T. A., Han, H., Busi, R., Yu, Q., & Powles, S. B. (2014). No fitness cost of glyphosate resistance endowed by massive EPSPS gene amplification in *Amaranthus palmeri*. *Planta*, 239(4), 793-801. doi: <https://doi.org/10.1007/s00425-013-2022-x>
- Vila-Aiub, M. M., Gundel, P. E., & Preston, C. (2015). Experimental methods for estimation of plant fitness costs associated with herbicide-resistance genes. *Weed Science*, 63(SP1), 203-216. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-14-00062.1>
- Vila-Aiub, M. M., Gundel, P. E., Yu, Q., & Powles, S. B. (2013). Glyphosate resistance in *Sorghum halepense* and *Lolium rigidum* is reduced at suboptimal growing temperatures. *Pest Management Science*, 69(2), 228–232. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3464>
- Vila-Aiub, M. M., Neve, P., & Powles, S. B. (2005). Resistance cost of a cytochrome P450 herbicide metabolism mechanism but not an ACCase target site mutation in a multiple resistant *Lolium rigidum* population. *New Phytologist*, 167(3), 787-796. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01465.x>
- Vila-Aiub, M. M., Neve, P., & Powles, S. B. (2009a). Evidence for an ecological cost of enhanced herbicide metabolism in *Lolium rigidum*. *Journal of Ecology*, 97(4), 772-780. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01511.x>
- Vila-Aiub, M. M., Neve, P., & Powles, S. B. (2009b). Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. *New Phytologist*, 184(4), 751-767. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03055.x>
- Vila-Aiub, M. M., Neve, P., & Roux, F. (2011). A unified approach to the estimation and interpretation of resistance costs in plants. *Heredity*, 107(5), 386-394. doi: <https://doi.org/10.1038/hdy.2011.29>
- Wakelin, A. M., & Preston, C. (2006). A target-site mutation is present in a glyphosate-resistant *Lolium rigidum* population. *Weed Research*, 46(5), 432-440. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2006.00527.x>

Wakelin, A. M., Lorraine-Colwill, D. F., & Preston, C. (2004). Glyphosate resistance in four different populations of *Lolium rigidum* is associated with reduced translocation of glyphosate to meristematic zones. *Weed Research*, 44(6), 453-459. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2004.00421.x>

Wang, T., Picard, J. C., Tian, X., & Darmency, H. (2010). A herbicide-resistant ACCase 1781 *Setaria* mutant shows higher fitness than wild type. *Heredity*, 105(4), 394-400. doi: <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.183>

Webster, T. M., & Nichols, R. L. (2012). Changes in the prevalence of weed species in the major agronomic crops of the Southern United States: 1994/1995 to 2008/2009. *Weed Science*, 60(2), 145-157. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00092.1>

Weed Science Society of America (WSSA). 1998. Herbicide resistance and tolerance defined. *Weed Technology* 12:789

Wild, A., Sauer, H., & Rühle, W. (1987). The Effect of Phosphinothricin (Glufosinate) on Photosynthesis I. Inhibition of Photosynthesis and Accumulation of Ammonia, *Zeitschrift für Naturforschung C*, 42(3), 263-269. doi: <https://doi.org/10.1515/znc-1987-0316>

Winter, S., Bauer, T., Strauss, P., Kratschmer, S., Paredes, D., Popescu, D., ... & Batáry, P. (2018). Effects of vegetation management intensity on biodiversity and ecosystem services in vineyards: A meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 55(5), 2484-2495. doi: <https://doi.org/10.1111%2F1365-2664.13124>

Wyse, D. L. (1992). Future of weed science research. *Weed Technology*, 6(1), 162-165. doi: <https://doi.org/10.1017/S0890037X00034497>

Yannicari, M., Gómez-Lobato, M. E., Istilart, C., Natalucci, C., Giménez, D. O., & Castro, A. M. (2017). Mechanism of Resistance to Glyphosate in *Lolium perenne* from Argentina. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 5, 123. doi: <https://doi.org/10.3389/fevo.2017.00123>

Yannicari, M., Istilart, C., Giménez, D. O., & Castro, A. M. (2012). Glyphosate resistance in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) from Argentina. *Crop Protection*, 32, 12-16. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.09.021>



- Yu, Q., & Powles, S. B. (2014). Resistance to AHAS inhibitor herbicides: current understanding. *Pest Management Science*, 70(9), 1340-1350. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3710>
- Yu, Q., Cairns, A., & Powles, S. (2007). Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. *Planta*, 225(2), 499-513. doi: <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0364-3>
- Yu, Q., Jalaludin, A., Han, H., Chen, M., Sammons, R. D., & Powles, S. B. (2015). Evolution of a double amino acid substitution in the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase in *Eleusine indica* conferring high-level glyphosate resistance. *Plant Physiology*, 167(4), 1440-1447. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.15.00146>
- Yuan, J. S., Tranel, P. J., & Stewart Jr, C. N. (2007). Non-target-site herbicide resistance: a family business. *Trends in Plant Science*, 12(1), 6-13. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.11.001>
- Zanin, G., Berti, A., & Toniolo, L. (1993). Estimation of economic thresholds for weed control in winter wheat. *Weed Research*, 33(6), 459-467. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1993.tb01962.x>
- Zelaya, I. A., Owen, M. D. K., & VanGessel, M. J. (2004). Inheritance of evolved glyphosate resistance in *Coryza canadensis* (L.) Cronq. *Theoretical and Applied Genetics*, 110(1), 58-70. doi: <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1804-8>
- Żelazny, W. R., & Licznar-Małańczuk, M. (2018). Soil quality and tree status in a twelve-year-old apple orchard under three mulch-based floor management systems. *Soil and Tillage Research*, 180, 250-258.
- Zimdahl, R. L. (1994). Who are you and where are you going?. *Weed Technology*, 8(2), 388-391. doi: <http://www.jstor.org/stable/3988123>.
- Ziska, L. H. (2016). The role of climate change and increasing atmospheric carbon dioxide on weed management: herbicide efficacy. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 231, 304-309. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.07.014>

Zollinger, R., Nalewaja, J., Peterson, D., & Young, B. (2011). Effect of hard water and ammonium sulfate on weak acid herbicide activity. In *Pesticide Formulations and Delivery Systems, 30th Volume: Regulations and Innovation*. ASTM International.

Βασιλάκογλου, Ι. (2004). Ζιζάνια: Αναγνώριση και Αντιμετώπιση. Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα.

Βερεσόγλου Δ. Σ. (2004). Οικολογία. Εκδόσεις «έλλα», Λάρισα.

Ελευθεροχωρινός, Η. Γ. (2002). Ζιζανιολογία: Ζιζάνια, Ζιζανιοκτόνα, Περιβάλλον, Αρχές και Μέθοδοι Διαχείρισης (3η έκδοση). Εκδόσεις ΑγροΤύπος, Αθήνα.

Ελευθεροχωρινός, Η. Γ., & Γιαννοπολίτης, Κ. Ν. (2009). Ζιζάνια: Οδηγός Αναγνώρισης. Αθηνά, σελ, 270

Ζιώγας, Β. Ν., & Μαρκόγλου, Α. (2010). Γεωργική Φαρμακολογία. Βιοχημεία, Φυσιολογία, Μηχανισμοί Δράσης και Χρήσεις των Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων, Αθήνα

Λόλας, Π. Σ. (2014). Ζιζάνια: Αναγνώριση, μορφολογία, βιολογία, κατάταξη, ζημιές, ωφέλειες, διαχείριση. Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.

Τραυλός, Η. Σ. & Κανάτας Π. Ι. (2022). Ζιζανιολογία και Γεωργία. Εκδόσεις Πεδίο, Αθήνα.