



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

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Αξιολόγηση φυτοπαθογόνων βακτηρίων για τον βιολογικό έλεγχο
ετήσιων αγρωστωδών ζιζανίων

Αικατερίνη Α. Ζερβοπούλου

Επιβλέπων Καθηγητής

Ηλίας Τραυλός, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ, 2023

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΑΣ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Αξιολόγηση φυτοπαθογόνων βακτηρίων για τον βιολογικό έλεγχο
ετήσιων αγρωστωδών ζιζανίων

Evaluation of plant pathogenic bacteria as biological agents
for the control of annual grass weed species

Αικατερίνη Α. Ζερβοπούλου

Εξεταστική Επιτροπή

Ηλίας Τραυλός, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Γεώργιος Ζερβάκης, Καθηγητής ΓΠΑ

Ηώ Κεφαλογιάννη, ΕΔΙΠ ΓΠΑ

Αξιολόγηση φυτοπαθογόνων βακτηρίων για το βιολογικό έλεγχο ετήσιων αγρωστωδών ζιζανίων

ΠΜΣ Καινοτόμες Εφαρμογές στην Αειφορική Γεωργία, στη Βελτίωση Φυτών & στην Αγρομετεωρολογία
Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής
Εργαστήριο Γεωργίας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Πείραμα φυτοδοχείων εγκαταστάθηκε σύμφωνα με το Εντελώς Τυχαιοποιημένο Σχέδιο (ΕΤΣ) με δώδεκα επεμβάσεις και τρεις επαναλήψεις (2022-2023) για την αξιολόγηση φυτοπαθογόνων βακτηρίων (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus* spp., και *Bacillus amyloliquefaciens*) ως προς το βιολογικό έλεγχο ετήσιων αγρωστωδών ζιζανίων (*Bromus diandrus* Roth, *Lolium rigidum* Gaud., and *Avena sterilis* L.). Τα βακτήρια εφαρμόστηκαν διαφυλλικά σε νεαρά ζιζάνια (BBCH 13-14) σε δόση 10^{14} αποικιών (colony forming units; cfu) ha^{-1} , μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με τα εμπορικά σκευάσματα επιφανειοδραστικών Trend® (αιθοξυλική ισοδεκυλική αλκοόλη: 90% β/ο) και Codacide® (φυτικό έλαιο ελαιοκράμβης: 86,4% β/ο) ή με τον βιοδιεγέρτη NitroStim® που περιέχει αζωτοδεσμευτικά βακτήρια (δόση εφαρμογής: 5×10^{12} cfu ha^{-1}). Οι επεμβάσεις ήταν: απέκαστος μάρτυρας (T1), *P. fluorescens* (T2), *P. fluorescens* + Trend® (T3), *P. fluorescens* + Codacide® (T4), *P. fluorescens* + NitroStim® (T5), *P. aeruginosa* (T6), *P. aeruginosa* + Trend® (T7), *P. aeruginosa* + Codacide® (T8), *P. aeruginosa* + NitroStim® (T9), *Bacillus* sp. (T10), *Bacillus* sp. + Trend® (T11), και *B. amyloliquefaciens* (T12). Το βακτήριο *P. fluorescens* μαζί με επιφανειοδραστικά (T3 και T4) ήλεγξε το ζιζάνιο *B. diandrus* κατά 72–87%. Παρόμοιες τάσεις παρατηρήθηκαν για τις εφαρμογές του *P. aeruginosa* (T6–T9). Οι συνδυασμοί του *P. fluorescens* με επιφανειοδραστικά (T3 και T4) μείωσαν τη βιομάζα του *L. rigidum* κατά 62% και 73% σε σύγκριση με τον απέκαστο μάρτυρα (T1). Η επέμβαση T11 έδειξε την μέγιστη αποτελεσματικότητα (93%). Ομοίως, η αποτελεσματικότητα της επέμβασης T11 ήταν υψηλή στο είδος *A. sterilis* (86%), υποδεικνύοντας το ζιζανιοκτόνο δυναμικό των βακτηρίων *Bacillus* spp. όταν συνδυάζονται με το σκεύασμα Trend®. Οι επεμβάσεις με τον βιοδιεγέρτη (T5 και T9) μείωσαν σημαντικά (71–75%) τη βιομάζα του *A. sterilis*. Η επέμβαση T12 (*B. amyloliquefaciens*) έδειξε μερική αποτελεσματικότητα (65%) στα *A. sterilis* και *B. diandrus*. Σε συνέχεια της αξιολόγησης των βιολογικών παραγόντων ως προς τον έλεγχο ζιζανίων, ένα δεύτερο πείραμα φυτοδοχείων εγκαταστάθηκε σύμφωνα με το Εντελώς Τυχαιοποιημένο Σχέδιο (ΕΤΣ) με δεκαπέντε επεμβάσεις και τρεις επαναλήψεις

(2022-2023) για την αξιολόγηση φυτοπαθογόνων βακτηρίων (*Pseudomonas fluorescens* και *Bacillus amyloliquefaciens*) , μαγιάς (*Saccharomyces cerevisiae*) και γλουτενών αραβοσίτου (corn flour) και ρυζιού ως προς το βιολογικό έλεγχο του αγροστόδους ζιζανίου ήρα (*Lolium rigidum* Gaud.) σε καλλιέργεια σιταριού και ελαιοκράμβης. Τα βακτήρια εφαρμόστηκαν στο χώμα πριν τη βλάστηση του σπόρου (BBCH: 00) και διαφυλλικά σε νεαρά ζιζάνια (BBCH: 10-12) σε δόση 10^{14} cfu ha⁻¹, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με τα άλευρα και τον βιοδιεγέρτη NitroStim® που περιέχει αζωτοδεσμευτικά βακτήρια (δόση εφαρμογής: 5×10^{12} cfu ha⁻¹). Οι επεμβάσεις ήταν: απέκαστος μάρτυρας (T1), γλουτένη αραβοσίτου (T2), γλουτένη αραβοσίτου + *Pseudomonas fluorescens* (T3), γλουτένη αραβοσίτου + *Bacillus amyloliquefaciens* (T4), γλουτένη αραβοσίτου + *Saccharomyces cerevisiae* (T5), γλουτένη αραβοσίτου + NitroStim® (T6), γλουτένη ρυζιού (T7), γλουτένη ρυζιού + *P. fluorescens* (T8), γλουτένη ρυζιού + *B. amyloliquefaciens* (T9), γλουτένη ρυζιού + *Saccharomyces cerevisiae* (T10), γλουτένη ρυζιού + NitroStim® (T11), *P. fluorescens* (T12), *B. amyloliquefaciens* (T13), *Saccharomyces cerevisiae* (T14) και NitroStim® (T15). Στο σιτάρι, η CGM (T2) μείωσε τον δείκτη NDVI κατά 18,1% σε σύγκριση με τον απέκαστο μάρτυρα (T1). Ομοίως, η αποτελεσματικότητα του T2 ήταν υψηλή στο *Lolium rigidum*, μειώνοντας τη φωτοσυνθετική ικανότητα των φυτών κατά 14,1%. Η μεταχείριση με αλεύρι ρυζιού + *Bacillus amyloliquefasciens* (T9) μείωσε το ύψος του *Lolium* κατά 42,9%. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για τη διερεύνηση περισσότερων φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών για το βιολογικό έλεγχο ενός ευρύτερου φάσματος ειδών ζιζανίων.

Επιστημονική περιοχή: Ζιζανιολογία

Λέξεις κλειδιά: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus* sp., *Saccharomyces cerevisiae*, Γλουτένη αραβοσίτου, Άλευρο ρυζιού

Evaluation of plant pathogenic bacteria for biological control of annual grass weeds

MSc Innovative Applications in Sustainable Agriculture, Plant Improvement & Agro-meteorology
Department of Crop Science
Laboratory of Agriculture

ABSTRACT

A pot experiment was set up in a Completely Randomized Design (CRD) with twelve treatments and three replicates (2022-2023) to test plant pathogenic bacteria (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus* spp., and *Bacillus amyloliquefaciens*) as biological control agents for annual grass weeds (*Bromus diandrus* Roth, *Lolium rigidum* Gaud., and *Avena sterilis* L.). The bacteria were foliar-applied to weeds (BBCH 13–14) at a rate of 10^{14} colony forming units (cfu) ha^{-1} , alone or combined with the commercial surfactant products Trend® (isodecyl alcohol ethoxylate: 90% w/v concentration) and Codacide® (rapeseed oil: 86.4% w/v concentration) or NitroStim®, a biostimulant containing nitrogen-fixing bacteria (application rate: 5×10^{12} cfu ha^{-1}). Treatments included: untreated control (T1), *P. fluorescens* (T2), *P. fluorescens* + Trend® (T3), *P. fluorescens* + Codacide® (T4), *P. fluorescens* + NitroStim® (T5), *P. aeruginosa* (T6), *P. aeruginosa* + Trend® (T7), *P. aeruginosa* + Codacide® (T8), *P. aeruginosa* + NitroStim® (T9), *Bacillus* spp. (T10), *Bacillus* spp. + Trend® (T11), and *B. amyloliquefaciens* (T12). *P. fluorescens* together with surfactants (treatments T3 and T4) controlled *B. diandrus* by 72–87%. Similar trends were observed for *P. aeruginosa* treatments (T6–T9). *P. fluorescens* with surfactants (treatments T3 and T4) reduced *L. rigidum* biomass by 62% and 73% compared to T1; T11 showed the highest efficacy (93%). Similarly, the efficacy of T11 was high on *A. sterilis* (86%). Biostimulant-based treatments (T5 and T9) also resulted in notable reductions (71–75%) in *A. sterilis* biomass. T12 (*B. amyloliquefaciens*) showed some efficacy (65%) on *A. sterilis* and *B. diandrus*. An additional pot experiment was set up in a Completely Randomized Design (TRD) with fifteen treatments and three replicates (2022-2023) to evaluate plant pathogenic bacteria (*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus amyloliquefaciens*), yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), corn flour and rice gluten as biological control agents for the annual grass weed (*Lolium rigidum* Gaud.) in wheat and oilseed rape crops. The bacteria were foliar-applied to weeds (BBCH 10–12) at a rate of 10^{14} colony forming units (cfu) ha^{-1} , alone or combined with the yeast and the meals and NitroStim® biofertiliser containing nitrogen fixing bacteria (application rate: 5×10^{12} cfu ha^{-1}). Regarding the gluten and yeast treatments, these had already been

applied to the soil immediately after sowing. The treatments were: untreated control (T1), corn gluten (Corn Gluten Meal – CGM) (T2), CGM + *Pseudomonas fluorescens* (T3), CGM + *Bacillus amyloliquefaciens* (T4), CGM + yeast (T5), CGM + NitroStim® (T6), rice flour (T7), rice flour + *P. fluorescens* (T8), rice flour + *B. amyloliquefaciens* (T9), rice flour + yeast (T10), rice flour + NitroStim® (T11), *P. fluorescens* (T12), *B. amyloliquefaciens* (T13), yeast (T14) and NitroStim® (T15). In wheat, CGM (T2) reduced the NDVI by 18,1% compared to T1. Similarly, the efficacy of T2 was high in *Lolium rigidum*, by reducing the plants' photosynthetic ability by 14,1%. Rice flour + *Bacillus amyloliquefasciens* (T9) reduced the height of *Lolium* by 42,9%. Further research is required to investigate more plant pathogenic microorganisms as biological agents for the control of a broader range of weed species.

Scientific area: Weed Science

Key words: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus* sp., *Saccharomyces cerevisiae*, Corn Gluten Meal, Rice flour

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αφού ολοκλήρωσα αυτήν την πειραματική μελέτη, θα ήθελα να εκφράσω τις εγκάρδιες ευχαριστίες μου προς όλους όσους με στήριξαν κατά τη διάρκεια αυτής. Καταρχάς, θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Ηλία Τραυλό, τον επιβλέποντά μου, για την ανάθεση ενός ιδιαίτερα ενδιαφέροντος επιστημονικού θέματος, για την άριστη καθοδήγηση κατά τη διάρκεια της μελέτης και την υποδειγματική συνεργασία μας κατά τη συγγραφή της μελέτης. Ευχαριστώ επίσης τον κ. Γεώργιο Ζέρβα ως μέλος της εξεταστικής επιτροπής. Θέλω να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες προς την κυρία Ηώ Κεφαλογιάννη, η οποία όχι μόνο ανήκει στην εξεταστική επιτροπή, αλλά επίσης παρείχε ανεκτίμητη βοήθεια στην απομόνωση των βακτηριακών στελεχών που απαιτήθηκαν για το πείραμα. Επιπλέον, δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω τους συναδέλφους μου, Αλέξανδρο Ταταρίδα, Ιωάννη Γαζούλη, Νίκο Αντωνόπουλο και Δήμητρα Πετράκη, οι οποίοι παρείχαν υποστήριξη σε όλα τα τεχνικά θέματα που προέκυψαν κατά τη διάρκεια της πειραματικής μελέτης. Τέλος, ευχαριστώ τους γονείς μου για την οικονομική και ψυχολογική υποστήριξή τους καθ' όλη τη διάρκεια της ακαδημαϊκής μου πορείας.

ΣΑΣ ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ

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

Πίνακας Περιεχομένων

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1.1 Η διαχείριση των ζιζανίων στις καλλιέργειες.....	8
1.1.1 Η έννοια του ζιζανίου.....	8
1.1.2 Το πρόβλημα των ζιζανίων στη γεωργική παραγωγή.....	8
1.1.3 Χημικός έλεγχος ζιζανίων.....	9
1.1.3.1 Προβλήματα και περιορισμοί της χημικής ζιζανιοκτονίας.....	10
1.1.3.2 Το ζήτημα της ανθεκτικότητας των ζιζανίων προς τα ζιζανιοκτόνα...	10
1.1.4 Εναλλακτικοί τρόποι διαχείρισης ζιζανίων.....	11
1.1.5 Ολοκληρωμένη Διαχείριση ζιζανίων.....	13
1.1.5.1 Βιολογικός έλεγχος ζιζανίων.....	14
1.2 Βιολογικά ζιζανιοκτόνα (Bioherbicides).....	14
1.2.1 Μικροβιακά ζιζανιοκτόνα.....	15
1.2.1.1 Επιλογή του παθογόνου παράγοντα.....	16
1.2.1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> και <i>Pseudomonas fluorescens</i>	17
1.2.1.3 <i>Bacillus</i> sp.....	18
1.2.2 Φυσικά ζιζανιοκτόνα.....	19
1.2.2.1 Γλουτένη αραβοσίτου.....	20
1.2.2.2 Άλευρο ρυζιού.....	20
2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	22
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	23
3.1 Γενικά.....	23
3.2 Προέλευση φυτοπαθογόνων βακτηρίων.....	23
3.3 Φυτοπαθογόνα βακτήρια.....	24
3.4 Πειραματικό σχέδιο.....	24
3.5 Εφαρμογές.....	26
3.6 Παρατηρήσεις.....	27
3.7 Στατιστική Ανάλυση.....	28
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	29
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	55
5.1 Συζήτηση.....	55
5.2 Συμπεράσματα.....	58
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	59

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η διαχείριση των ζιζανίων στις καλλιέργειες

1.1.1 Η έννοια του ζιζανίου

Ως ζιζάνια θεωρούνται όποια φυτά είναι ανεπιθύμητα για τα αγροοικοσυστήματα (Radosevich, 2007). Η έννοια του ανεπιθύμητου είναι σχετική, αφού την ίδια στιγμή η παρουσία ορισμένων ζιζανίων ενδέχεται να συνοδεύεται τόσο από αρνητικές όσο και από θετικές επιδράσεις (Τραυλός, 2022). Εξαιτίας της πληθώρας των ορισμών για τα ζιζάνια, των πιθανών επιπτώσεων της παρουσίας τους και για να υπάρχει μία περισσότερο ολοκληρωμένη προσέγγιση, ή έννοια του ζιζανίου συχνά συνοδεύεται από ένα ή περισσότερα βιολογικά χαρακτηριστικά, όπως η βλάστηση των σπόρων σε μεγάλο εύρος συνθηκών, η μακροχρόνια επιβίωσή τους, ο υψηλός ρυθμός βλαστητικής ανάπτυξης, η ευρεία προσαρμοστικότητα, η μεγάλη ικανότητα πρόσληψης νερού και θρεπτικών ουσιών, η μεγάλη παραγωγή και η εκτεταμένη περίοδος παραγωγής σπόρων και η εύρωστη αγενής αναπαραγωγή (Baker, 1974; Zimdahl, 2013)

1.1.2 Το πρόβλημα των ζιζανίων στην γεωργική παραγωγή

Τα ζιζάνια είναι προσαρμόσιμα σε όλα τα περιβάλλοντα και ανταγωνίζονται τα καλλιεργούμενα φυτά για νερό, θρεπτικά στοιχεία, φως και χώρο υποβαθμίζοντας την ποιότητα και την ποσότητα των παραγόμενων γεωργικών προϊόντων ανάλογα με τα είδη των ζιζανίων που λυμαίνονται μια αγροτική έκταση, την πυκνότητα τους ανά μονάδα, τον χρόνο εμφάνισής τους στην καλλιέργεια, το είδος της καλλιέργειας κ.α. Τα ζιζάνια είναι από τους πλέον περιοριστικούς παράγοντες στην ανάπτυξη βιώσιμων, εντατικών συστημάτων γεωργικής παραγωγής. Παρατηρούνται ολοένα και περισσότερες καλλιεργούμενες εκτάσεις ανά τον κόσμο με αυξημένο φορτίο ζιζανίων και πρόκειται για ένα προβληματικό φαινόμενο που ολοένα και διογκώνεται παρά τις προσπάθειες αντιμετώπισής του (Mortensen et al., 2012). Τα ζιζάνια προκαλούν συνολικές απώλειες της τάξης του 5% στη γεωργική παραγωγή στις περισσότερο ανεπτυγμένες χώρες, 10% στις λιγότερο ανεπτυγμένες και 25% στις ελάχιστα ανεπτυγμένες χώρες (Oerke et al., 2004). Παρά το ότι δεν υπάρχει αξιόπιστη μελέτη που να καταγράφει την οικονομική ζημιά που προκαλούν τα ζιζάνια σε παγκόσμια κλίμακα, είναι ευρέως γνωστό ότι οι απώλειες που προκαλούνται από τα ζιζάνια έχουν υπερβεί τις απώλειες από οποιαδήποτε άλλη κατηγορία γεωργικών παρασίτων όπως έντομα, νηματώδεις, ασθένειες, τρωκτικά κλπ. Ο Rao (2000) ανέφερε ότι η συνολική

ετήσια απώλεια των γεωργικών προϊόντων οφείλεται κατά 45% στα ζιζάνια, κατά 30% στα έντομα, κατά 20% σε ασθένειες και κατά 5% σε άλλα παράσιτα. Η πιθανή απώλεια απόδοσης στη γεωργική παραγωγή απουσία πρακτικών ελέγχου των ζιζανίων εκτιμάται πως ανέρχεται σε ποσοστό 43% επί του συνόλου της γεωργικής παραγωγής (Oerke, 2006).

1.1.3 Χημικός έλεγχος ζιζανίων

Η αντιμετώπιση των ζιζανίων στηρίζεται στη χρήση συνθετικών χημικών ουσιών, οι οποίες είτε αυτούσιες είτε σε μίγματα θανατώνουν, επιβραδύνουν ή παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των διαφόρων ειδών ζιζανίων. Οι ουσίες αυτές αναφέρονται ως ζιζανιοκτόνα και η εφαρμογή τους συνδέεται με πολλαπλά πλεονεκτήματα όπως αναφέρεται και από τους Ζιώγα και Μαρκόγλου (2007):

- Έγκαιρος έλεγχος ζιζανίων σε πρώιμο στάδιο προτού δημιουργήσουν προβλήματα στην εκάστοτε καλλιέργεια.
- Έλεγχος ζιζανίων που δεν διακρίνονται εύκολα από την καλλιέργεια στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης.
- Καταπολέμηση πολυετών ζιζανίων με βαθύρριζο ριζικό σύστημα.
- Καταπολέμηση ακανθωδών ζιζανίων.
- Μειώνεται το κόστος της καλλιέργειας σε εργατικά και ανθρώπινο προσωπικό.
- Αποφεύγεται η διάβρωση των επικλινών εδαφών.
- Μειώνεται το κόστος της καταπολέμησης των ζιζανίων.
- Επιτυγχάνεται η εκμηχάνιση της γεωργικής παραγωγής σε σημαντικές αροτραίες καλλιέργειες.

Τα ζιζανιοκτόνα με βάση τα είδη των ζιζανίων που καταπολεμούν διακρίνονται σε καθολικά που είναι εξίσου φυτοτοξικά σε όλα τα φυτικά είδη και τα εκλεκτικά που διακρίνονται σε αγρωστωδοκτόνα και πλατυφυλλοκτόνα.

Με βάση τον βιοχημικό μηχανισμό δράσης τους δηλαδή την δράση τους στις κυτταρικές και μεταβολικές διεργασίες των ζιζανίων και τη φύση του δραστικού συστατικού ταξινομούνται σε (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2007) :

- Ζιζανιοκτόνα με πολλαπλή δράση στις μεταβολικές διεργασίες των ζιζανίων, που περιλαμβάνουν διάφορες ανόργανες κυρίως, αλλά και οργανικές ενώσεις.
- Ζιζανιοκτόνα με εξειδικευμένη δράση στις κυτταρικές λειτουργίες ή τις μεταβολικές διεργασίες του ζιζανίου όπως τις φωτοχημικές λειτουργίες, τη βιοσύνθεση των αμινοξέων, τη βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων, τη βιοσύνθεση των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος, τη βιοσύνθεση των βιταμινών, το φυτορμονικό σύστημα, καθώς και την κυτταρική αύξηση και διαίρεση.
- Βιοζιζανιοκτόνα, στα οποία το δραστικό συστατικό είναι κάποιος βιολογικός παράγοντας.

1.1.3.1 Προβλήματα και περιορισμοί της χημικής ζιζανιοκτονίας

Ωστόσο όπως αρκετοί επιστήμονες (Li et al., 2003; Cox, 2006; Meksawat and Pornprom, 2010; Pot et al., 2011) έχουν επισημάνει, η αυξημένη και σε κάποιο βαθμό αλόγιστη χρήση των ζιζανιοκτόνων που χαρακτηρίζει τη σύγχρονη γεωργία συνδέεται άμεσα με την εμφάνιση προβλημάτων ιδιαίτερης σημασίας. Τα προβλήματα αυτά συνοπτικά είναι τα εξής:

- Η εκδήλωση φαινομένων φυτοτοξικότητας σε φυτά που δεν αποτελούν στόχο.
- Η εκδήλωση φαινομένων φυτοτοξικότητας στην ίδια την καλλιέργεια.
- Η δυνατότητα των ζιζανιοκτόνων να βλάψουν και ζωικούς οργανισμούς που δεν αποτελούν σε καμία περίπτωση στόχο.
- Η απειλή που αποτελούν τα ζιζανιοκτόνα για την δημόσια υγεία των ανθρώπων.
- Η επιβάρυνση που προκαλούν στο φυσικό περιβάλλον.
- Η υπολειμματικότητα των καταλοίπων τους στο έδαφος και τα φυσικά ύδατα, γεγονός που υποβαθμίζει την ποιότητα του εδάφους και του διαθέσιμου νερού.
- Η αύξηση πληθυσμών ζιζανίων που εξαιτίας των συνεχιζόμενων εφαρμογών με ζιζανιοκτόνα έχουν καταστεί ανθεκτικοί σε αρκετές δραστικές ουσίες, γεγονός που καθιστά τα ζιζανιοκτόνα αναποτελεσματικά εναντίον των συγκεκριμένων πληθυσμών.

1.1.3.2 Το ζήτημα της ανθεκτικότητας των ζιζανίων προς τα ζιζανιοκτόνα

Ο όρος ανθεκτικότητα (resistance) αναφέρεται στην «κληρονομική ιδιότητα μερικών βιότυπων ενός ζιζανίου να επιβιώνουν μετά την εφαρμογή, ακόμα και μεγαλύτερης από

της συνιστώμενης δόσης, κάποιου ζιζανιοκτόνου, στο οποίο ο αρχικός πληθυσμός ήταν ευαίσθητος» (LeBaron & Gressel, 1982). Η ανθεκτικότητα ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα αναπτύχθηκε μετά από μεγαλύτερο χρονικό διάστημα από ότι συνέβη με τα άλλα φυτοπροστατευτικά προϊόντα. Για παράδειγμα, ενώ τα ζιζανιοκτόνα της οικογένειας των χλωροτριαζινών άρχισαν να χρησιμοποιούνται στο τέλος της δεκαετίας του 1950, η πρώτη περίπτωση ανθεκτικότητας αναφέρθηκε γύρω στο 1970. Ειδικότερα, ένας πληθυσμός του είδους *Senecio vulgaris* ανθεκτικός σε χλωροτριαζίνες (atrazine, simazine) απομονώθηκε από έναν αγρό στην Ουάσιγκτον, όπου το ζιζανιοκτόνο simazine είχε χρησιμοποιηθεί συνεχώς για πολλά χρόνια (Ryan, 1970). Ο αριθμός των ανθεκτικών ζιζανίων έχει από τότε αυξηθεί δραματικά, αφού έχουν καταγραφεί παγκοσμίως 194 ανθεκτικά είδη ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα (Hear, 2010).

Υπάρχουν τρία είδη ανθεκτικότητας, η απλή, η διασταυρωτή και η πολλαπλή. Η απλή ανθεκτικότητα (simple resistance) ορίζεται «η ανθεκτικότητα ενός ζιζανίου σε ένα και μόνο ένα ζιζανιοκτόνο, που φυσικά έχει ένα συγκεκριμένο μηχανισμό δράσης». Η διασταυρωτή ανθεκτικότητα (cross resistance) ορίζεται ως «η ανθεκτικότητα ενός ζιζανίου σε περισσότερα από ένα ζιζανιοκτόνα που ανήκουν στην ίδια ή σε διαφορετικές οικογένειες με ίδιο μηχανισμό δράσης ή μεταβολισμού». Η ανθεκτικότητα αυτής της μορφής ελέγχεται από ένα μόνο γονίδιο (Ελευθεροχωρινός, 2008; Hear, 2010). Η πολλαπλή ανθεκτικότητα (multiple resistance) αναφέρεται στην «ανθεκτικότητα ενός ζιζανίου σε περισσότερα από ένα ζιζανιοκτόνα που ανήκουν σε οικογένειες με διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης ή μεταβολισμού». Η ανθεκτικότητα αυτής της μορφής ελέγχεται από πολλά γονίδια (Ελευθεροχωρινός, 2008; Hear, 2010).

Το είδος της ανθεκτικότητας (απλή, διασταυρωτή και πολλαπλή ανθεκτικότητα), καθώς και ο ρυθμός ανάπτυξης της επηρεάζονται από παράγοντες του ίδιου του ζιζανίου, του ζιζανιοκτόνου που εφαρμόζεται και της εφαρμοζόμενης γεωργικής πρακτικής (Gasquez, 1997; Naylor, 2002; Ελευθεροχωρινός, 2008). Η απλή ανθεκτικότητα (simple resistance) ορίζεται «η ανθεκτικότητα ενός ζιζανίου σε ένα και μόνο ένα ζιζανιοκτόνο, που φυσικά έχει ένα συγκεκριμένο μηχανισμό δράσης» (Ελευθεροχωρινός, 2008).

1.1.4 Εναλλακτικοί τρόποι διαχείρισης των ζιζανίων

Τα τελευταία χρόνια αναδεικνύεται και χρησιμοποιείται η προσέγγιση των «πολλών μικρών σφυριών» (many little hammers) αντί της χρήσης μίας και μόνο μεθόδου για την αντιμετώπιση των ζιζανίων (Liebman & Gallandt, 1997). Οι μέθοδοι διαχείρισης των ζιζανίων διακρίνονται σε: προληπτικές, καλλιεργητικές, φυσικές, μηχανικές, βιολογικές και χημικές.

Τα κυριότερα προληπτικά μέτρα που λαμβάνονται, για τη διαχείριση των ζιζανίων είναι:

- η χρήση νερού, κοπριάς και υλικών που δεν είναι μολυσμένα από σπόρους ή βλαστικά όργανα ζιζανίων
- η χρήση σπόρων σποράς που είναι απαλλαγμένοι από σπόρους ζιζανίων
- ο προσεκτικός καθαρισμός των γεωργικών μηχανημάτων

Τα κυριότερα καλλιεργητικά μέτρα που λαμβάνονται είναι:

- Η αμειψισπορά δηλαδή η εναλλαγή καλλιεργειών διαφορετικού βιολογικού κύκλου.
- Η καλή προετοιμασία της σποροκλίνης.
- Ο κατάλληλος χρόνος σποράς.
- Η επιλογή σπόρου ομοιόμορφου μεγέθους.
- Η πυκνότερη σπορά.
- Η ορθολογική χρήση νερού.
- Η αντιμετώπιση άλλων εχθρών (έντομα, μύκητες).
- Η πρακτική της ψευδοσποράς.
- Η επιλογή καλλιεργειών και ποικιλιών με αυξημένη ανταγωνιστική ικανότητα έναντι των ζιζανίων.

Τα κυριότερα φυσικά μέτρα είναι:

- Η εδαφοκάλυψη που εμποδίζει την ανάπτυξη ζιζανίων μέσω της μηχανικής αντίστασης, που ασκούν τα υλικά κάλυψης και των συνθηκών σκότους που δημιουργούν.
- Η ηλιοαπολύμανση που περιλαμβάνει την θερμική αδρανοποίηση των ζιζανίων. Επιτυγχάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας του εδάφους, μετά από την κάλυψή τους, με διαφανή ή αδιαφανή πλαστικά, σε περιόδους έντονης ηλιοφάνειας.
- Κατάκλιση ώστε να δημιουργηθούν συνθήκες έλλειψης οξυγόνου στα ζιζάνια.

Τα κυριότερα μηχανικά μέτρα αποτελούν

- Το βοτάνισμα, δηλαδή η αφαίρεση των ζιζανίων από τον αγρό χειρωνακτικώς ή η καταστροφή τους με τσάπα, σκαλιστήρι κ.ά.
- Η εδαφοκατεργασία που διενεργείται από μία μεγάλη ομάδα γεωργικών εργαλείων που προετοιμάζουν το έδαφος, πριν τη σπορά της καλλιέργειας. Για τον έλεγχο δυσκολοεξόντωτων πολυετών ζιζανίων εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται τα παραδοσιακά μηχανήματα, όπως το άροτρο.
- Η κοπή των ζιζανίων που γίνεται με τη χρήση χορτοκοπτικών μηχανημάτων, 4 έως 6 φορές ετησίως, ανάλογα από τα είδη, την πυκνότητα και το ρυθμό αύξησης των ζιζανίων.
- Το κάψιμο των ζιζανίων που γίνεται πριν το φύτευμα των καλλιεργούμενων φυτών ή επί των γραμμικών καλλιεργειών, με ειδικά φλόγιστρα, που φέρονται σε ελκυστήρες και κατευθύνουν τη φλόγα μεταξύ των γραμμών.

Οι βιολογικές μέθοδοι χρησιμοποιούν διάφορους φυσικούς οργανισμούς όπως εχθρούς, παράσιτα, μικροοργανισμούς ή και φυτά με αλληλοπαθητικές ικανότητες για την αντιμετώπιση ζιζανίων σε περιοχές όπου η χρήση των ζιζανιοκτόνων είτε είναι δύσκολη και δαπανηρή είτε δεν επιτρέπεται.

1.1.5 Ολοκληρωμένη Διαχείριση Ζιζανίων

Η Ολοκληρωμένη Διαχείριση των ζιζανίων (Integrated Weed Management) περιλαμβάνει και συνδυάζει πολλαπλές, διαφορετικές προσεγγίσεις διαχείρισης ζιζανίων, οι οποίες όμως οφείλουν να συμπληρώνονται με κατάλληλο τρόπο ώστε να ελαχιστοποιείται τόσο η απειλή των ζιζανίων προς τις καλλιέργειες απόδοση χωρίς όμως να μην γίνεται μέριμνα για την προστασία του φυσικού περιβάλλοντος.

Επομένως, κρίνεται απαραίτητος ο συνδυασμός των ήδη χρησιμοποιούμενων συμβατικών χημικών μεθόδων μαζί με καινοτόμες καλλιεργητικές και βιολογικές μεθόδους (Culliney, 2005).

1.1.5.1 Βιολογικός έλεγχος ζιζανίων

Σε αυτό το πλαίσιο, ο βιολογικός έλεγχος έχει γίνει μια αποτελεσματική εναλλακτική λύση για τον έλεγχο πολλών ζιζανίων (Cordeau et al., 2016). Σύμφωνα με την European Weed Research Society (EWRS) βιολογικός έλεγχος ορίζεται η σκοπίμη χρήση ενδημικών ή εισαγόμενων οργανισμών (κυρίως φυτοφάγων αρθρόποδων, νηματωδών και παθογόνων) για τη διαχείριση των πληθυσμών ζιζανίων – στόχων (Τραυλός, 2022).

1.2 Βιολογικά ζιζανιοκτόνα (Bioherbicides)

Τα τελευταία χρόνια έχει πραγματοποιηθεί αρκετή έρευνα γύρω από τα φυσικά ζιζανιοκτόνα, που συχνά περιλαμβάνονται στις βιολογικές μεθόδους. Με τον όρο βιοζιζανιοκτόνα (bioherbicides) περιγράφονται προϊόντα φυσικής προέλευσης που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο των ζιζανίων, δηλαδή είτε μικροοργανισμοί είτε προϊόντα/μεταβολίτες από μικροοργανισμούς και φυτά, γίνεται λόγος δηλαδή για μικροβιακά ζιζανιοκτόνα (microbial herbicides) ή φυσικά ζιζανιοκτόνα (natural herbicides) (Bailey, 2014). Στην πλειονότητα των περιπτώσεων τα βιοζιζανιοκτόνα περιλαμβάνουν έναν μύκητα ως δραστικό συστατικό, αν και υπάρχουν παραδείγματα χρήσης βακτηρίων (Anderson και Gardner, 1999- Daigle κ.ά., 2002- DeValerio και Charudattan, 1999- Imaizumi κ.ά., 1997- Weissmann κ.ά., 2003) και ιών που χρησιμοποιούνται ως βιοφυτοκτόνα (Charudattan και Hiebert, 2007- Ferrell et al., 2008). Εκτός από το δραστικό συστατικό, τα σκευάσματα των βιοζιζανιοκτόνων περιέχουν έναν φορέα (σε μεγάλο βαθμό αδρανές υλικό) και βοηθητικά που μπορεί να περιέχουν ενώσεις όπως θρεπτικά συστατικά ή/και χημικές ουσίες που βοηθούν στην επιβίωση του παθογόνου ή βοηθούν στην προστασία του δραστικού συστατικού από δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες (Hynes and Boyetchko, 2006). Τα βοηθητικά μπορούν επίσης να εξυπηρετούν και στη μόλυνση του ξενιστή.

Ένα πλεονέκτημα των βιοζιζανιοκτόνων είναι ότι αναστέλλουν τη βλάστηση και την ανάπτυξη των ζιζανίων, χωρίς να υποβαθμίζουν το περιβάλλον (Hoagland et al., 2007), είναι δηλαδή απολύτως φιλικά προς αυτό. Μπορούν να θεωρηθούν μία οικονομική μέθοδος διαχείρισης ζιζανίων, αφού όταν η εξαπόλυση του βιολογικού παράγοντα γίνει με επιτυχία δεν απαιτείται κάποια πρόσθετη δαπάνη ή επαναληπτική εφαρμογή

(Τραυλός, 2022). Από την άλλη, τα μειονεκτήματα σχετίζονται με την αργή και αβέβαιη δράση, το μεγάλο κόστος και την μακροχρόνια έρευνα που απαιτείται για τον εντοπισμό, την αξιολόγηση, τον πολ/μό και την ομαδική εξαπόλυση του βιολογικού παράγοντα, την άμεση εξάρτηση από τις συνθήκες του περιβάλλοντος και τη μικρή εκλεκτικότητα για ορισμένες καλλιέργειες. Επιπλέον, μειονέκτημα θεωρείται και το γεγονός ότι σε ορισμένες περιπτώσεις η εισαγωγή και η εξαπόλυση ορισμένων εντόμων δημιουργούν πρόβλημα σε απειλούμενα είδη (Harvens et al., 2012).

Τα βιοζιζανιοκτόνα εισήχθησαν για πρώτη φορά στις εμπορικές αγορές το 1980 και οι αγρότες στις ΗΠΑ, τον Καναδά, την Ουκρανία και την Ευρώπη ήταν οι μόνοι χρήστες των προϊόντων (Charudattan, 2001; Bailey, 2014; Cordeau et al., 2016). Παρόλο που αρκετά μικρόβια και φυτικά προϊόντα έχουν δοκιμαστεί στο εργαστήριο και έχουν δοκιμαστεί με επιτυχία στο πεδίο, μόνο λίγα από αυτά (9 μύκητες, 3 βακτήρια και 1 φυτικό εκχύλισμα) είναι εμπορικά διαθέσιμα στις σημερινές αγορές (Cordeau et al., 2016).

1.2.1 Μικροβιακά ζιζανιοκτόνα

Η πρώτη παγκοσμίως προσπάθεια για βιολογικό έλεγχο ζιζανίων με τη χρήση μικροοργανισμών έλαβε χώρα το 1971 στην Αυστραλία, όπου ο μύκητας της σκουριάς *Puccinia chondrillina* χρησιμοποιήθηκε για την καταπολέμηση της στενόφυλλης μορφής του *Chondrilla juncea* (Cullen 1973). Αρκετοί μύκητες και βακτήρια έχουν αξιοποιηθεί, όπως το *Fusarium oxysporum* και το *F. solani* για τον έλεγχο της *Striga* spp., το *Colletotrichum coccodes* για την αγριοβαμβακιά, ο μύκητας *Puccinia punctiformis* για το κίρσιο και το *Pseudomonas fluorescens* για πολλά ζιζάνια, όπως η ήρα, ο βρόμος, η μουχρίτσα κ.α. (Li et al., 2003; Banowitz et al., 2008). Τα γένη *Alternaria*, *Bacillus*, *Chondrostereum*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Dactylaria*, *Diaporthe*, *Drechslera*, *Enterobacter*, *Epicoccum*, *Exserohilum*, *Fusarium*, *Gloeocercospora*, *Microsphaeropsis*, *Mycocleptodiscus*, *Myrothecium*, *Phoma*, *Phomopsis*, *Plectosporium*, *Pseudolagarobasidium*, *Pseudomonas*, *Puccinia*, *Pyricularia*, *Pythium*, *Sclerotinia*, *Serratia*, *Stagonospora*, *Streptomyces*, *Trichoderma*, *Verticillium* και *Xanthomonas* έχουν καταγραφεί ως βιοφυτοκτόνοι παράγοντες που αναστέλλουν τη βλάστηση των σπόρων και την ανάπτυξη των ζιζανίων. Η χρήση αυτών των μικροοργανισμών στη γεωργία μπορεί να αποτρέψει τους πληθυσμούς ζιζανίων και μπορεί να προστατεύσει τους περιβάλλον (Boyette and Hoagland, 2015). Οι Bailey et al. (2011) προσπάθησαν να προσδιορίσουν την πρότυπη

οδό της μικροβιακής μόλυνσης για τον έλεγχο της ανάπτυξης των ζιζανίων και πρότειναν ότι το *Phoma macrostoma* αποικίζει και εισέρχεται στις ριζικές τρίχες ενός ξενιστή και αναπτύσσεται στους μεσοκυττάριους χώρους για να φτάσει στον πυρήνα της ρίζας. Ο πολλαπλασιασμός του μυκηλίου μολύνει την αγγειακή τραχεία για να εμποδίσει την παροχή τροφής και θρέψης. Η φυτοτοξίνη α,β-δεϋδροκορβουλαρίνη αναστέλλει τη μίτωση σε κύτταρα της κορυφής της ρίζας και σταματά την ανάπτυξη των σποροφύτων (Jiang et al., 2008). Μυκητιακή πηκτινάση διεισδύει στο κυτταρικό τοίχωμα του ξενιστή διαρρηγνύοντας τα στρώματα πολυσακχαριτών και διευρύνοντας τους πόρους στο τοίχωμα και απελευθερώνει διάφορα σηματοδοτικά και τοξικά μόρια στα μολυσμένα φυτικά κύτταρα (Bowling et al., 2010). Οι εξωκυτταρικές λιπάσες των μυκήτων χρησιμοποιούν τα λιπίδια και τις πρωτεΐνες στο ενδοσπέρμιο των σπόρων των ζιζανίων για την ανάπτυξή τους (Thomas et al., 1999). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι το *Enterobacter* sp. I-3 εκκρίνει υψηλές συγκεντρώσεις IAA και τη μεταφέρει στα ζιζάνια κατά την επαφή τους, με αποτέλεσμα την ενίσχυση των φυτικών ενδογενών IAA και του αμινοκυκλοπροπανίου-1-καρβοξυλικού (ACC) συνθάση, η οποία διεγείρει την αύξηση της βιοσύνθεσης του αιθυλενίου και προκαλεί μείωση της ανάπτυξης των ζιζανίων (Kende, 1993- Park et al., 2015). Το *Cercospora* sp. παράγει κερκοσπορίνη η οποία συμβάλλει στην αναστολή της ανάπτυξης των ζιζανίων (Moran, 2005, Tessmann et al., 2008). Άλλες βιοφυτοκτόνες ενώσεις που παράγονται από βακτήρια και μύκητες και αναστέλλουν την ανάπτυξη των ζιζανίων είναι η α,β-δεϋδροκορβουλαρίνη, η πρωτεΐνη 24-kDa (Nep1), η τριχοτεκίνης, η β-1,4-εξογλυκανάσης, η β-1,4-ενδογλυκανάσης, η γλυκοσιδάσης, η ξυλανάσης και η πηκτινάση, το 3-νιτρο-1,2-βενζενιδι-καρβοξυλικό οξύ (3-νιτροφθαλικό οξύ) και οι μακροκιδίνες.

Ο Hallett (2005) πρότεινε ότι τα παρασιτικά ζιζάνια θα μπορούσαν να προσφέρουν ένα εξειδικευμένο σύστημα για την εφαρμογή βιοζιζανιοκτόνων μιας και τα παρασιτικά ζιζάνια δεν ελέγχονται επαρκώς με τη χρήση χημικών ζιζανιοκτόνων ή των συμβατικών στρατηγικών διαχείρισης ζιζανίων. Ως παράδειγμα αυτής της προσέγγισης, τα είδη της *Cuscuta* spp. έχουν αξιολογηθεί με τη χρήση του παθογόνου μύκητα *Alternaria destruens* (Bewick et al., 2000). Δύο βιοφυτοκτόνα που βασίζονται σε αυτό το παθογόνο (στέλεχος 059) έχουν καταχωριθεί στις ΗΠΑ: Smolder G και SmolderWP (EPA Reg. No. 34704-824 και 34704-825).

1.2.1.1 Επιλογή του παθογόνου παράγοντα

Η απόφαση για το ποιοι υποψήφιοι παθογόνοι παράγοντες θα πρέπει να υποβληθούν σε αξιολόγηση προκειμένου να επιλεγθούν για την αντιμετώπιση ενός ζιζανίου - στόχου βασίζεται στις πληροφορίες που συλλέγονται στα αρχικά στάδια ενός προγράμματος βιοελέγχου και στην πρόβλεψη των επιπτώσεων που θα μπορούσαν να έχουν στο ζιζάνιο-στόχο στο νέο περιβάλλον (Sheppard AW. 2003). Οι παθογόνοι μύκητες φυλλώματος προτιμώνται επειδή είναι πιο εξειδικευμένοι και διασπείρονται ευκολότερα με τον άνεμο ή τη βροχή από ό,τι άλλοι τύποι παθογόνων. Ο υψηλός βαθμός εξειδίκευσης που παρουσιάζουν ορισμένοι μύκητες σκουριάς (Bettgenhaeuser 2014), σε συνδυασμό με την επιβλαβή επίδραση που μπορούν να έχουν στο μεταβολισμό του φυτού ξενιστή τους (Berger et al., 2007), τους έχει καταστήσει παθογόνους οργανισμούς επιλογής για τη βιολογική καταπολέμηση ζιζανίων. Αποικίζουν γρήγορα τους φυτικούς ιστούς, εκτρέπουν θρεπτικά συστατικά από το φυτό για να υποστηρίξουν τη δική τους ανάπτυξη και, ως αποτέλεσμα, μειώνουν την παραγωγικότητα των φυτών.

Μια άλλη σημαντική συνιστώσα της αρχικής αξιολόγησης είναι η δοκιμή της παθογένειας διαφορετικών απομονώσεων του υποψήφιου παθογόνου παράγοντα σε διαφορετικούς γονότυπους (εάν είναι γνωστοί) του ζιζανίου για να προσδιοριστεί εάν υπάρχει ενδοειδική παραλλαγή στο παθολογικό σύστημα. Οι παθογόνοι παράγοντες μπορεί να είναι μερικές φορές πολύ συγκεκριμένοι και απαιτείται ακριβής γενετική αντιστοιχία μεταξύ του παθογόνου παράγοντα και του ζιζανίου για να επιτύχει ο βιολογικός έλεγχος (Morin et al., 2006).

Αντίθετα, το φάσμα ξενιστών των υποψήφιων παθογόνων παραγόντων μπορεί να είναι πολύ ευρύ, καθιστώντας τους ακατάλληλους για τον κλασικό βιολογικό έλεγχο. Για τον έγκαιρο αποκλεισμό τέτοιων παθογόνων παραγόντων σε ένα πρόγραμμα βιοελέγχου, απαιτούνται προκαταρκτικές δοκιμές σε μερικούς εκπροσώπους των πιο συγγενικών φυτικών ειδών με το ζιζάνιο-στόχο, ιδίως σε βασικά αυτοφυή και καλλιεργούμενα είδη, για να διαπιστωθεί αν είναι ευαίσθητα στο υποψήφιο παθογόνο (Morin et al., 2000).

1.2.1.2 *Pseudomonas aeruginosa* και *Pseudomonas fluorescens*

Για μεγάλο χρονικό διάστημα, τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια, ιδίως τα στελέχη *Pseudomonas*, έχουν μελετηθεί εντατικά ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου (Kraus

and Loper, 1995). Πολλοί ερευνητές έχουν τεκμηριώσει τη ζιζανιοκτόνο ισχύ της *Pseudomonas* ως αξιοποιήσιμου παράγοντα βιολογικής καταπολέμησης ζιζανίων (Zermene et al., 2007; Caldwell et al., 2012; Adetunji and Oloke, 2013a,b; Dumonceaux et al., 2014; Mupondwa et al., 2015). Οι φυτοτοξίνες από ορισμένα είδη *Pseudomonas* έχουν χρησιμοποιηθεί στη διαχείριση ζιζανίων λόγω της εκλεκτικότητάς τους και του εύρους ξενιστών. Το *P. fluorescens* χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία για τη βιολογική καταπολέμηση της σετάριας (*Setaria viridis* L.) (Caldwell et al., 2012). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι οι φυτοτοξίνες του *P. fluorescens* καταστέλλουν τη βλάστηση και την πρώιμη ανάπτυξη της ρίζας του *Bromus tectorum* (Gurusiddaiah et al., 1994). Παρατηρήθηκε ότι *P. aeruginosa* που απομονώθηκε από ριζόσφαιρες ήταν σε θέση να παράγει έναν φυτοτοξικό μεταβολίτη που μπορεί να προκαλέσει νεκρωτική περιοχή στα φύλλα των ζιζανίων (Adetunji, 2017). Παραγόμενοι φυτοτοξικοί μεταβολίτες επηρεάζουν επίσης τη σύνθεση των λιπιδίων και την ακεραιότητα των μεμβρανών (Boyetchko et al. 2002). Σε πειραματική μελέτη του Lawrance (2019) παρατηρήθηκε μια αξιοσημείωτη μείωση του μήκους της ρίζας και του βλαστού του ζιζανίου *Pennisetum purpureum* κατά την εφαρμογή μεταβολιτών που παράγονται από την *Pseudomonas*, η οποία αργότερα συνδέθηκε με την παραγωγή HCN, αφού η επιβράδυνση της ανάπτυξης των φυτών είναι μια εξέχουσα ιδιότητα των ριζοβακτηρίων που παράγουν κυάνιο (Lawrance, 2019).

1.2.1.3 *Bacillus* sp.

Λόγω του ευρέος φάσματος ξενιστών τους, της ικανότητάς τους να σχηματίζουν ενδοσπόρια και να παράγουν βιολογικά δραστικές ενώσεις με ευρύ φάσμα δραστηριότητας, τα είδη του γένους *Bacillus* είναι δυνητικά χρήσιμα ως παράγοντες βιοελέγχου (Nagórska et al., 2007). Τα βακτήρια του γένους *Bacillus* είναι ίσως η μεγαλύτερη ομάδα μικροοργανισμών που παράγουν αντιμικροβιακούς μεταβολίτες και, ως εκ τούτου, χρησιμοποιούνται ευρέως ως βιοπαρασιτοκτόνα. Έχει βρεθεί ότι ένα ευρύ φάσμα αντιμικροβιακών ουσιών παράγεται από τους *Brevibacillus brevis*, *B.licheniformis*, *B.pumilus* (Munimbazi & Bullerman, 1998), *B. amyloliquefaciens* (Souto et al., 2004), και *B. Cereus* (Timmusk et al., 2005). Σύμφωνα με τον Marahiel (2004) ένα σημαντικό ποσοστό των αντιβιοτικών του *B. subtilis* που καταστέλλουν τα παθογόνα των φυτών είναι κυρίως λιποπεπτίδια (Marahiel, 2004). Οι δομές τους είναι εξαιρετικά ευέλικτες. Οι φυσικές αναδιατάξεις συμβαίνουν πολύ συχνά σε αυτά τα συστήματα, επιτρέποντας τη φυσική επιλογή ενώσεων που προσφέρουν εκλεκτικό

πλεονέκτημα (Stein, 2005). Τα λιποπεπτίδια από τις οικογένειες της ιτουρίνης και της φενγκυκίνης εμφανίζουν ισχυρή αντιμυκητιακή δράση και καταστέλλουν την ανάπτυξη ενός ευρέος φάσματος φυτοπαθογόνων (Toure et al., 2004). Οι ιτουρίνες παράγονται από τον *B.subtilis* και άλλους στενά συγγενείς βακίλους, π.χ. τον *B. amyloliquefaciens* (Souto et al., 2004). Η υπερπαραγωγή της μυκοσουβτιλίνης, μιας από τις πιο γνωστές ιτουρίνης, από ένα ανασυνδυασμένο στέλεχος *B. subtilis* BBG100, έχει σημαντική ανταγωνιστικές ιδιότητες έναντι των φυτοπαθογόνων μυκήτων *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* και *Pythium aphanidermatum*, και τους ζυμομύκητες *Pichia pastoris* και *Saccharomyces cerevisiae* (Leclere et al., 2005). Τα είδη του γένους *Bacillus* ανήκουν επίσης στην κατηγορία των PGPR - Plant Growth Promoting Bacteria. Αυτό σημαίνει ότι διαβιώνουν σε συνδυασμό με τις ρίζες των ανώτερων φυτών και ενισχύουν το προσαρμοστικό δυναμικό των ξενιστών αυξάνοντας την ανάπτυξή τους.

1.2.2 Φυσικά ζιζανιοκτόνα

Στα φυσικά ζιζανιοκτόνα ανήκουν ουσίες όπως η γλουτένη αραβοσίτου, το οξικό οξύ, το άλευρο σπόρων από σταυρανθή, τοξίνες και δευτερογενείς μεταβολίτες μικροβιακής ή φυσικής προέλευσης (Travlos et al., 2020). Τα φυσικά ζιζανιοκτόνα έχουν συνήθως μεγαλύτερη διάρκεια ζωής, ευκολότερο χειρισμό, ευρύτερο φάσμα δράσης και ταχύτερη δράση από τα μικροβιακά σκευάσματα. Από την άλλη, η συχνά μέτρια αποτελεσματικότητά τους σε συνθήκες αγρού, η μικρή εκλεκτικότητα, η ανάγκη επαναληπτικής εφαρμογής και τα λίγα στοιχεία γύρω από την οξεία και χρόνια τοξικότητα των ουσιών αυτών αποτελούν περιοριστικούς παράγοντες για την περαιτέρω ανάπτυξή τους (Harding & Raizada, 2015).

1.2.2.1 Γλουτένη αραβοσίτου

Ένα υλικό που έχει λάβει μεγάλη προσοχή τα τελευταία χρόνια είναι το υποπροϊόν από την άλεση του καλαμποκιού (*Zea mays*) που ονομάζεται αλεύρι γλουτένης καλαμποκιού (corn gluten meal - CGM). Το υλικό αυτό διατίθεται ευρέως στην αγορά των Ηνωμένων Πολιτειών και του Καναδά ως βιολογικό προφυτρωτικό ζιζανιοκτόνο και πηγή αζώτου. Η ιδέα της χρήσης του αλεύρου γλουτένης καλαμποκιού ως φυσικό ζιζανιοκτόνο ξεκίνησε από το Πανεπιστήμιο της Αϊόβα τη δεκαετία του 1980 και όλο και περισσότερες μελέτες την υποστηρίζουν (Hussein et al., 2009). Υποστηρίζεται ότι έχει ανασταλτική επίδραση στο φύτρωμα τόσο αγρωστωδών όσο και πλατύφυλλων

ζιζανίων (Christians, 1995). Σε μελέτες θερμοκηπίου, ο Bingaman (1995) διαπίστωσε ότι η γλουτένη αραβοσίτου μείωσε την επιβίωση των φυτών, το μήκος των βλαστών και την ανάπτυξη των ριζών για 22 είδη ζιζανίων που εξετάστηκαν, είτε εφαρμόστηκε στην επιφάνεια του εδάφους ως προφυτρωτικό ζιζανιοκτόνο είτε αναμείχθηκε στην κορυφή του εδάφους. Η Liu (1996) προσδιόρισε ότι πέντε μεμονωμένα διπεπτίδια είχαν την ικανότητα να αναστέλλουν τον σχηματισμό ριζών σε σπορόφυτα που βλαστάνουν. Πιο συγκεκριμένα, τα καθιστούν ευάλωτα σε αφυδάτωση εάν το έδαφος στεγνώσει. Τα εδραιωμένα φυτά δεν επηρεάζονται. Τα διπεπτίδια αυτά ήταν η γλουταμινυλ-γλουταμίνη, η γλυσινυλ-αλανίνη, η αλανινυλ-γλουταμίνη, η αλανινυλ-ασπαραγίνη και η αλανινυλ-αλανίνη. Επίσης, το χαμηλό ποσοστό διάλυσης της γλουτένης καλαμποκιού μπορεί να περιορίσει το διαθέσιμο φυσικό χώρο για τη βλάστηση των σπόρων των ζιζανίων (Hébert & Lyons, 2011).

1.2.2.2 Άλευρο ρυζιού

Πολλές φυτοτοξικές ενώσεις από διάφορες χημικές κατηγορίες, όπως λιπαρά οξέα, βενζοξάζινοειδή, ινδόλες, φαινολικά οξέα, φαινυλαλκανοϊκά οξέα και τερπενοειδή έχουν βρεθεί στο ρύζι και στα εκχυλίσματα ρυζιού (Belz, 2007). Τα βασικά αλληλοχημικά που έχουν βρεθεί σε ποικιλίες ρυζιού είναι η τρικίνη και η μομιλακτόνη B (KatoNoguchi and Ino, 2003). Διάφορα φαινολικά οξέα, όπως το υδροξυβενζοϊκό, το βανιλικό, το φερουλικό, το ο-υδροξυφαινυλακετικό και το συριγγικό οξύ βρέθηκαν σε υπολείμματα ρυζιού (Chou et al., 1981). Υπολείμματα ρυζιού που ενσωματώθηκαν στο έδαφος σε βάθος 5 έως 6 εκατοστών σε ποσότητα 5 τόνων/στρέμμα μείωσαν την ανάπτυξη της *Echinochloa colona*, της *Ammannia baccifera*, και του *Phyllanthus fraternus* (Khan and Vaishya, 1992). Υπολείμματα ρυζιού από ποικιλίες με υψηλή αλληλοπαθητική δράση μείωσαν την ανάπτυξη του ζιζανίου *Cyperus iria* (Lin et al., 1992). Τα υπολείμματα ρυζιού περιέχουν φαινολικά οξέα, όπως p-υδροξυβενζοϊκό, p-κουμαρικό, συριγγικό βανιλικό, φερουλικό και ο-υδροξυφαινυλακετικό οξύ και άλλες τοξίνες (Chou και Lin, 1976). Αυτά τα έχουν αποδειχθεί ότι αναστέλλουν την ανάπτυξη των ζιζανίων του ορυζώνα και αυξάνουν την απόδοση του ρυζιού (Xuan et al., 2005). Η ενσωμάτωση των άχυρου ρυζιού, ρυζάλευρου και φλοιού ρυζιού μπορεί να χρησιμοποιηθεί άμεσα ως συστατικό ενός προγράμματος ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων.

2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπό της παρούσας μελέτης αποτελεί η αξιολόγηση των φυτοπαθογόνων βακτηρίων *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus amyloliquefaciens* και *Bacillus* sp. για τον έλεγχο των αγρωστωδών ζιζανίων βρόμος (*Bromus diandrus* Roth.), λεπτή ήρα (*Lolium rigidum* Gaud.) και αγριοβρώμη (*Avena sterilis* L.), καθώς και η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας συνδυασμών των παραπάνω βακτηρίων μαζί με εμπορικά σκευάσματα επιφανειοδραστικών ουσιών & μικροβιακών βιοδιεγερτών. Αξιολογείται επίσης η αποτελεσματικότητα της γλουτένης αραβοσίτου, της γλουτένης ρυζιού και του *Saccharomyces cerevisiae* στην παρεμπόδιση της βλάστησης του ζιζανίου λεπτή ήρα σε καλλιέργειες σιταριού και ελαιοκράμβης.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Γενικά

Για την εκπόνηση της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκαν συνολικά δύο πειράματα. Το πρώτο πείραμα αφορούσε την αξιολόγηση των φυτοπαθογόνων βακτηρίων *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus amyloliquefaciens* και *Bacillus sp.* για τον έλεγχο των αγρωστωδών ζιζανίων βρόμος (*Bromus diandrus* Roth.), λεπτή ήρα (*Lolium rigidum* Gaud.) και αγριοβρώμη (*Avena sterilis* L.), καθώς και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας συνδυασμών των παραπάνω βακτηρίων μαζί με τα εμπορικά σκευάσματα επιφανειοδραστικών ουσιών & μικροβιακών βιοδιεγερτών Nitrostim®, Codacide® και Trend®. Το δεύτερο πείραμα πραγματοποιήθηκε προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα της γλουτένης αραβοσίτου, της γλουτένης ρυζιού και της μαγιάς στην παρεμπόδιση της βλάστησης των σπόρων του ζιζανίου λεπτή ήρα σε καλλιέργειες σιταριού και ελαιοκράμβης.

3.2 Προέλευση φυτοπαθογόνων βακτηρίων

Πείραμα 1

Η απομόνωση των βακτηρίων έγινε στο Εργαστήριο Γενικής & Γεωργικής Μικροβιολογίας από το προϊόν της κομποστοποίησης των πράσινων απορριμμάτων του ΓΠΑ. Η διαδικασία της απομόνωσης ήταν η εξής:

- Προσθήκη 10 g κομπόστ σε 90 ml δ/τος Ringer
- Ανάδευση σε 100 rpm για 30 min (25 °C)
- Διαδοχικές αραιώσεις και 0,1 ml κάθε αραιώσης μεταφέρθηκε σε θρεπτικό άγαρ.
- Επάση αποικιών και αποθήκευση στους 4 °C.
- Χαρακτηρισμός DNA βακτηρίων με PCR και σύγκριση με αλληλουχίες καταχωρημένες στη βάση δεδομένων GenBank.

Πείραμα 2

Η προέλευση και η διαδικασία απομόνωσης του *Pseudomonas fluorescens* είναι η ίδια όπως στο Πείραμα 1. Το *Bacillus amyloliquefaciens* (former *subtilis*) QST 713 προέρχεται από τη χρήση του σκευάσματος SERENADE ASO®.

3.3 Φυτοπαθογόνα βακτήρια

Πείραμα 1

Τα φυτοπαθογόνα βακτήρια που αξιολογήθηκαν ως προς τον βιολογικό έλεγχο των ετησίων αγρωστωδών ζιζανίων ήταν τα *Pseudomonas fluorescens* (EPPO code: PSMDFL), *Pseudomonas aeruginosa* (EPPO code: PSMDFL) και *Bacillus sp.* (EPPO code: BACISP).

Πείραμα 2

- Τα φυτοπαθογόνα βακτήρια που αξιολογήθηκαν ως προς τον βιολογικό έλεγχο των ετησίων αγρωστωδών ζιζανίων ήταν τα *Pseudomonas fluorescens* (EPPO code: PSMDFL) και *Bacillus amyloliquefaciens* (EPPO Code: BACIAM). Η μαγιά που χρησιμοποιήθηκε ήταν υγρή από εμπορικό σκεύασμα υγρής πυτιάς *Saccharomyces cerevisiae* (EPPO Code: SACCCCE)

3.4 Πειραματικό σχέδιο

Πείραμα 1

Το πείραμα εγκαταστάθηκε σε φυτοδοχεία σύμφωνα με το Εντελώς Τυχαιοποιημένο Σχέδιο (ΕΤΣ) με δώδεκα επεμβάσεις και τρεις επαναλήψεις (2022-2023) για την αξιολόγηση φυτοπαθογόνων βακτηρίων (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus spp.*, και *Bacillus amyloliquefaciens*) ως προς το βιολογικό έλεγχο ετήσιων αγρωστωδών ζιζανίων (*Bromus diandrus* Roth, *Lolium rigidum* Gaud., and *Avena sterilis* L.). Τα βακτήρια εφαρμόστηκαν διαφυλλικά σε νεαρά ζιζάνια (BBCH 13-14) σε δόση 10^{14} αποικιών (colony forming units; cfu) ha^{-1} , μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με τα εμπορικά σκευάσματα επιφανειοδραστικών Trend® (αιθοξυλική ισοδεκυλική αλκοόλη: 90% β/ο) και Codacide® (φυτικό έλαιο ελαιοκράμβης: 86,4% β/ο) ή με τον βιοδιεγέρτη NitroStim® που περιέχει αζωτοδεσμευτικά βακτήρια (δόση

εφαρμογής: 5×10^{12} cfu ha⁻¹). Οι επεμβάσεις ήταν: απέκαστος μάρτυρας (T1), *P. fluorescens* (T2), *P. fluorescens* + Trend® (T3), *P. fluorescens* + Codacide® (T4), *P. fluorescens* + NitroStim® (T5), *P. aeruginosa* (T6), *P. aeruginosa* + Trend® (T7), *P. aeruginosa* + Codacide® (T8), *P. aeruginosa* + NitroStim® (T9), *Bacillus* spp. (T10), *Bacillus* spp. + Trend® (T11), και *B. amyloliquefaciens* (T12).



Εικόνα 1: Διάταξη φυτοδοχείων πειράματος 1. Τα νούμερα 1 έως 15 απεικονίζουν τις διαφορετικές επεμβάσεις.

Πείραμα 2

Το πείραμα εγκαταστάθηκε σε φυτοδοχεία σύμφωνα με το Εντελώς Τυχαίοποιημένο Σχέδιο (ΕΤΣ) με δεκαπέντε επεμβάσεις και τρεις επαναλήψεις (2022-2023) για την αξιολόγηση φυτοπαθογόνων βακτηρίων (*Pseudomonas fluorescens* και *Bacillus amyloliquefaciens*), μαγιάς (*Saccharomyces cerevisiae*), γλουτένης αραβοσίτου (corn gluten meal - CGM) και άλευρου ρυζιού ως προς το βιολογικό έλεγχο του αγροστόδου ζιζανίου λεπτή ήρα (*Lolium rigidum* Gaud.) σε καλλιέργεια σιταριού και ελαιοκράμβης. Τα βακτήρια εφαρμόστηκαν στο χώμα πριν τη βλάστηση των σπόρων των ζιζανίων και των καλλιεργειών (BBCH: 00) αλλά και διαφυλλικά σε νεαρά φυτάρια (BBCH: 10-12) σε δόση 10^{14} cfu ha⁻¹, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με τα άλευρα και τον βιοδιεγέρτη NitroStim® που περιέχει αζωτοδεσμευτικά βακτήρια (δόση εφαρμογής: 5×10^{12} cfu ha⁻¹). Οι επεμβάσεις ήταν: απέκαστος μάρτυρας (T1),

γλουτένη αραβοσίτου (T2), γλουτένη αραβοσίτου + *Pseudomonas fluorescens* (T3), γλουτένη αραβοσίτου + *Bacillus amyloliquefaciens* (T4), γλουτένη αραβοσίτου + *Saccharomyces cerevisiae* (T5), γλουτένη αραβοσίτου + Nitrostim® (T6), άλευρο ρυζιού (T7), άλευρο ρυζιού + *P. fluorescens* (T8), άλευρο ρυζιού + *B. amyloliquefaciens* (T9), άλευρο ρυζιού + *Saccharomyces cerevisiae* (T10), άλευρο ρυζιού + Nitrostim® (T11), *P. fluorescens* (T12), *B. amyloliquefaciens* (T13), *Saccharomyces cerevisiae* (T14) και Nitrostim® (T15).



Εικόνα 2: Διάταξη φυτοδοχείων πειράματος 2, πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) τη βλάστηση των σπόρων.

3.5 Εφαρμογές

Πείραμα 1

Πραγματοποιήθηκαν διαφυλλικές εφαρμογές με ψεκαστήρα πίεσεως 1 L (200 kPa) σε νεαρά ζιζάνια (BBCH: 13-14). Η συγκέντρωση των αποικιών των φυτοπαθογόνων βακτηρίων (PSMDFL, PSDMAE, BACISP, BACIAM) ήταν 10^{12} cfu L⁻¹. Η δόση εφαρμογής ήταν 3×10^{14} cfu ha⁻¹. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης οι επιφανειοδραστικές ουσίες Trend® 90 SL (αιθοξυλική ισοδεκυλική αλκοόλη 90% β/ο) με δόση εφαρμογής 300 cc ha⁻¹ (T3, T7, T11) και Codacide® EC (φυτικό έλαιο ελαιοκράμβης: 86,4% β/ο) με δόση εφαρμογής 1250 cc ha⁻¹ (T4 και T8). Έγινε επίσης χρήση του βιοδιεγέρτη

Nitrostim ®, ο οποίος περιέχει αζωτοδεσμευτικά βακτήρια σε συγκέντρωση 10^{12} cfu L^{-1} με δόση εφαρμογής 5×10^{12} cfu ha^{-1} (T5 και T9).

Η σπορά πραγματοποιήθηκε την 1^η Οκτωβρίου 2022. Στις 11 Οκτωβρίου τα νεαρά φυτάρια αραιώθηκαν και μεταφυτεύθηκαν σε φυτοδοχεία (5 φυτά/φυτοδοχείο). Στις 30 ημέρες μετά τη σπορά (DAS;Days After Sowing) πραγματοποιήθηκε η πρώτη εφαρμογή των φυτοπαθόνων μικροοργανισμών. Ακολούθησαν δύο επαναληπτικοί ψεκασμοί, στις 7 ημέρες μετά την πρώτη εφαρμογή (Days After Treatment; DAT) και στις 28 DAT.

Πείραμα 2

Πραγματοποιήθηκαν εφαρμογές στο χώμα σε ζιζάνια και καλλιέργειες σίτου και ελαιοκράμβης πριν τη βλάστηση του σπόρου (BBCH: 00) αλλά και διαφυλλικές εφαρμογές με ψεκαστήρα πίεσεως 1 L (200 kPa) και σε νεαρά φυτάρια (BBCH: 10-12). Η συγκέντρωση των αποικιών των φυτοπαθόνων βακτηρίων (PSMDFL,BACIAM) ήταν 10^{12} cfu L^{-1} . Η δόση εφαρμογής ήταν 3×10^{14} cfu ha^{-1} . Χρησιμοποιήθηκε επίσης βιοδιεγέρτης Nitrostim ®, ο οποίος περιέχει αζωτοδεσμευτικά βακτήρια σε συγκέντρωση 10^{12} cfu L^{-1} με δόση εφαρμογής 5×10^{12} cfu ha^{-1} (T6, T11 και T15). Η μαγιά που χρησιμοποιήθηκε ήταν υγρή (εμπορικό σκεύασμα υγρής πυτιάς) και εφαρμόστηκε με διαβροχή του χώματος με ψεκαστήρα πίεσεως 1 L (200 kPa), έπειτα από αραιώση ποσότητας 10ml σε 1L νερό. Η ποσότητα γλουτένης αραβοσίτου (T2, T3, T4, T5 και T6) και ρυζιού (T7, T8, T9, T10 και T11) που χρησιμοποιήθηκε ήταν 32g/ φυτοδοχείο. Η γλουτένη αραβοσίτου, το άλευρο ρυζιού και ο *Saccharomyces cerevisiae* εφαρμόστηκαν με επίπαση στο χώμα αμέσως μετά την σπορά του σιταριού, της ελαιοκράμβης και της ήρας.

Η σπορά πραγματοποιήθηκε στις 6 Δεκεμβρίου 2022. Την ίδια ημέρα πραγματοποιήθηκε η επίπαση με τα άλευρα καθώς και η πρώτη εφαρμογή των φυτοπαθόνων βακτηρίων και της μαγιάς. Στις 20 Δεκεμβρίου 2022 (14 DAS/DAT) πραγματοποιήθηκε επαναληπτική εφαρμογή των αλεύρων και των μικροοργανισμών.

3.6 Παρατηρήσεις

Πείραμα 1

Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις του δείκτη βλάστησης NDVI στις 21 DAT με τον αισθητήρα Trimble® GreenSeeker®.

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

Πραγματοποιήθηκαν επίσης μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης (λόγος FV/Fm) στις 21 DAT με το φθορόμετρο FluorPen FP 110 ® καθώς και μετρήσεις ξηρού βάρους στις 42 DAT. Τα ξηρά βάρη εκφράστηκαν ως ποσοστό (%) επί του μάρτυρα.

Πείραμα 2

Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της βλαστικότητας των φυτών στις 9 DAT και εκφράστηκαν ως ποσοστό (%) επί του απέκαστου μάρτυρα. Στις 9 DAT, 25 DAT και 36 DAT μετρήθηκαν επίσης τα ύψη των φυτών. Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις του δείκτη βλάστησης NDVI στις 9 DAT, 25 DAT και 36 DAT με τον αισθητήρα Trimble® GreenSeeker®. Πραγματοποιήθηκαν επίσης μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης (λόγος FV/Fm) στις 36 DAT με το φθορόμετρο FluorPen FP 110 ®.

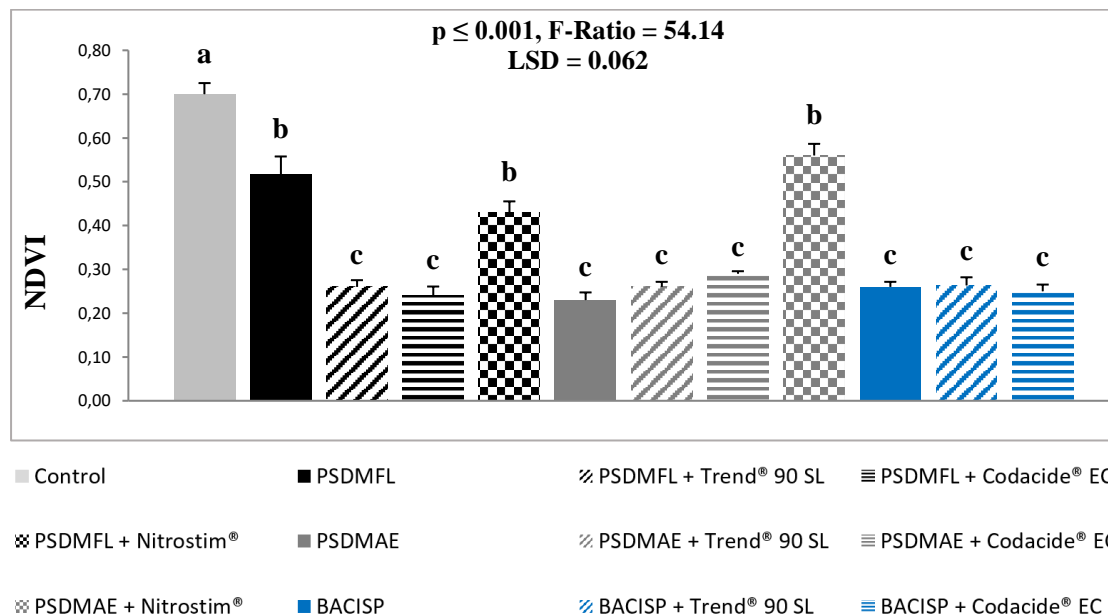
3.7 Στατιστική Ανάλυση

Τα πειραματικά δεδομένα αναλύθηκαν με το στατιστικό πακέτο STATGRAPHICS Centurion 2019 Version statistical software (Statpoint Technologies Inc., The Plains, VA, USA). Σε όλα τα δεδομένα έγινε ανάλυση διασποράς μίας κατεύθυνσης One Way Anova (dfεπεμβάσεων = 11 για το Πείραμα 1 και dfεπεμβάσεων=14 για το Πείραμα 2). Οι μέσοι των τιμών των μεταχειρίσεων διαχωρίστηκαν και αναλύθηκαν με χρήση του Fisher's protected LSD test σε επίπεδο σημαντικότητας 95%.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

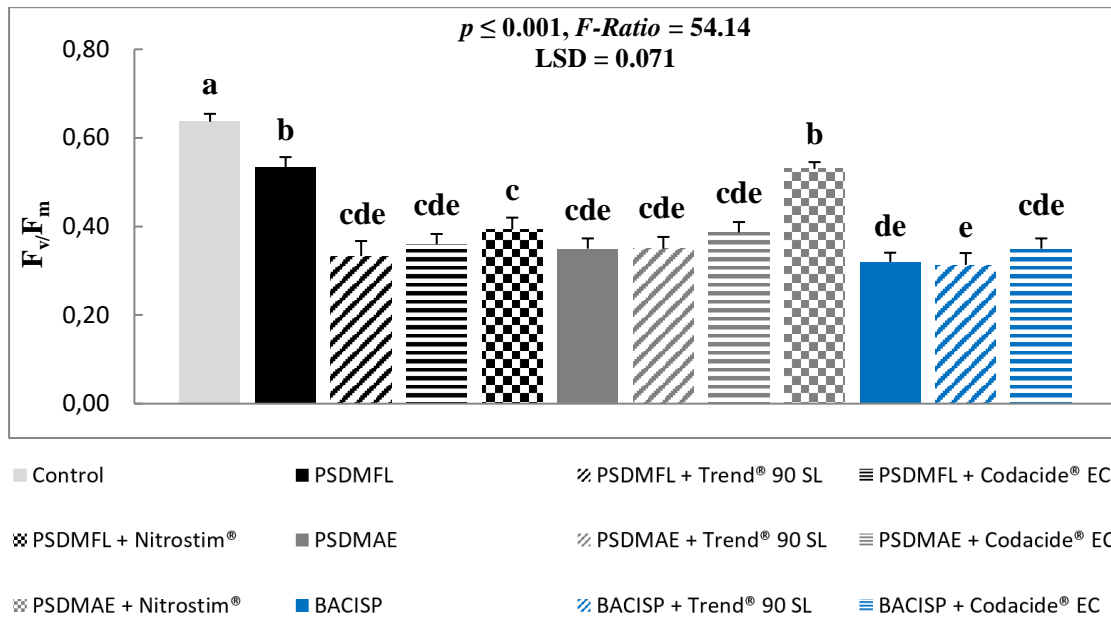
Πείραμα 1

Βρόμος (*Bromus diandrus* Roth.)



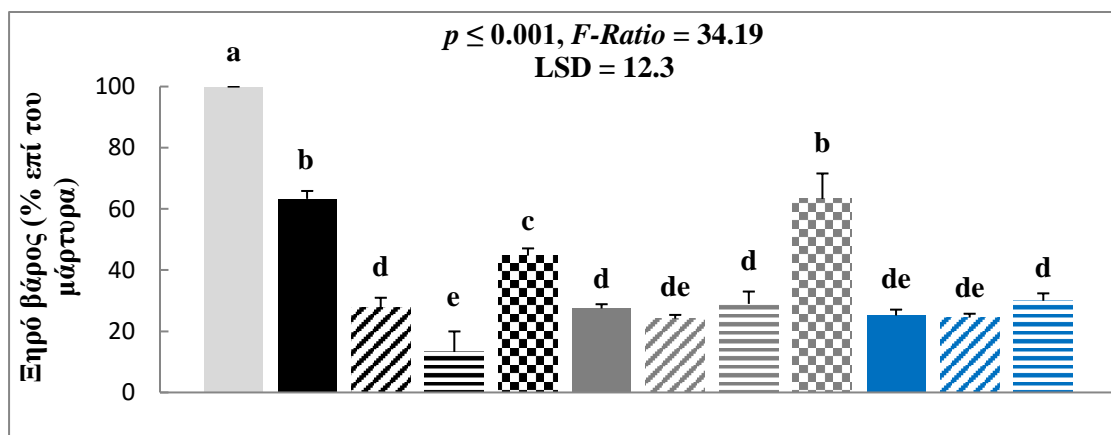
Γράφημα 4.1: Μετρήσεις του δείκτη βλάστησης NDVI ανά φυτό βρόμου την 21η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Παρόλο που δεν σημειώθηκαν πολλές στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων, παρατηρείται μεγάλη μείωση των τιμών του δείκτη βλάστησης των μεταχειρίσεων σε σύγκριση με το μάρτυρα. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι η τιμή του δείκτη βλάστησης NDVI μειώθηκε κατά 25,72% στην επέμβαση με *Pseudomonas fluorescens* (T2) συγκριτικά με το μάρτυρα. Η υψηλότερη τιμή του δείκτη βλάστησης εντοπίζεται στον μάρτυρα (NDVI = 0.7) με την αμέσως επόμενη να εντοπίζεται στην επέμβαση με *Pseudomonas aeruginosa* + Nitrostim® (NDVI = 0.56). Η μικρότερη τιμή NDVI παρατηρείται στην επέμβαση με *Pseudomonas aeruginosa* (T6), η οποία καταδεικνύει μείωση κατά 67,15% συγκριτικά με το μάρτυρα.



Γράφημα 4.2: Μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης ανά φυτό βρόμου την 21η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Από τα δεδομένα που προέκυψαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων φαίνεται ότι ο φθορισμός της χλωροφύλλης επηρεάστηκε από τις διαφορετικές μεταχειρίσεις. Πιο συγκεκριμένα, εντοπίστηκαν οι παρακάτω στατιστικά σημαντικές διαφορές. Στις επεμβάσεις T10 και T11, όπου εφαρμόστηκε *Bacillus* sp., σημειώθηκε η μεγαλύτερη μείωση του λόγου F_v/F_m, η οποία ανέρχεται στο 50 και 51,5% αντίστοιχα, συγκριτικά με το μάρτυρα. Σημαντική επίσης μείωση του φθορισμού της χλωροφύλλης σε σύγκριση με το μάρτυρα (48,5%) παρατηρήθηκε στην επέμβαση όπου εφαρμόστηκε *Pseudomonas fluorescens* + Nitrostim®. Οι επεμβάσεις T2 και T9 δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους.



- Control
- PSDMFL
- ⌘ PSDMFL + Trend® 90 SL
- ≡ PSDMFL + Codacide® EC
- ⊗ PSDMFL + Nitrostim®
- PSDMAE
- ⌘ PSDMAE + Trend® 90 SL
- ≡ PSDMAE + Codacide® EC
- ⊗ PSDMAE + Nitrostim®
- BACISP
- ⌘ BACISP + Trend® 90 SL
- ≡ BACISP + Codacide® EC

Γράφημα 4.3: Μετρήσεις του ξηρού βάρους ανά φυτό βρόμου την 42η ημέρα μετά την εφαρμογή. Τα ξηρά βάρη εκφράστηκαν ως ποσοστό επί του μάρτυρα. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Η χαμηλότερη τιμή του ξηρού βάρους ανά φυτού βρόμου (ως ποσοστό επί του μάρτυρα) καταγράφηκε στην επέμβαση όπου εφαρμόστηκε *Pseudomonas fluorescens* + Codacide (T4). Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση του ξηρού βάρους κατά 86,75% συγκριτικά με το μάρτυρα. Αποτελεσματικές ήταν επίσης και οι υπόλοιπες επεμβάσεις, με την μικρότερη μείωση του ξηρού βάρους να ανέρχεται στο 50% σε σύγκριση με το μάρτυρα (T2). Οι επεμβάσεις T3, T6, T8 και T12 δεν είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.

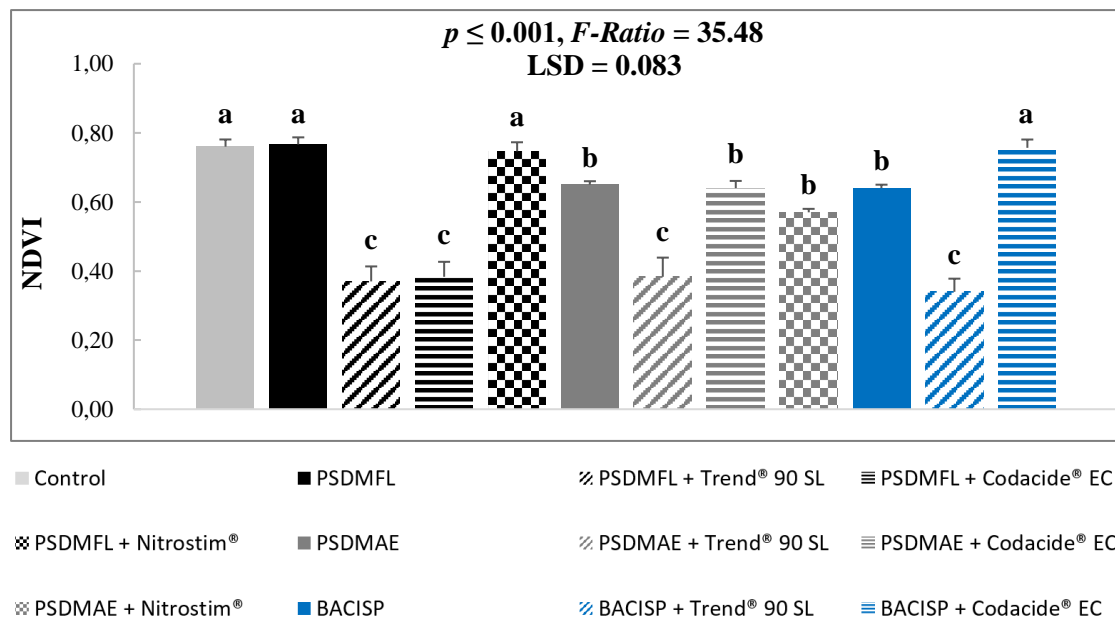


Εικόνα 3: Φυτά βρόμου. Απεικονίζονται οι επεμβάσεις T1 (αγέκαστος μάρτυρας), T4 (*Pseudomonas fluorescens* + Codacide®) και T5 (*Pseudomonas fluorescens* + Nitrostim®), από αριστερά προς τα δεξιά. (45 DAT)



Εικόνα 4: Φυτά βρόμου. Απεικονίζονται ο απέκαστος μάρτυρας (αριστερά) και η επέμβαση με *Bacillus* sp. + Trend® (δεξιά). (45 DAT)

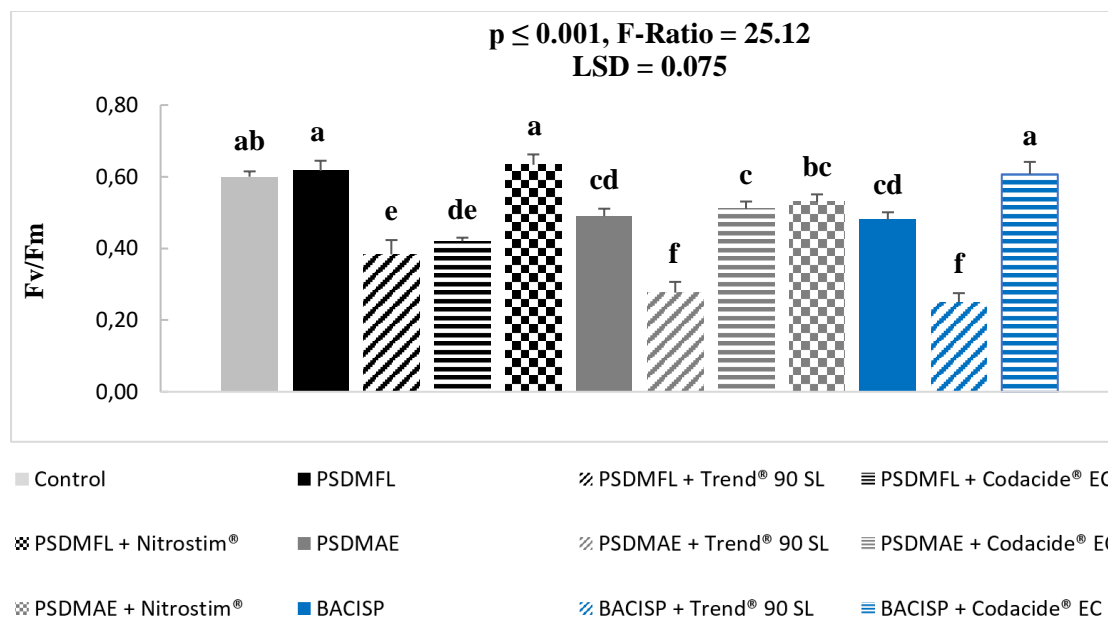
Λεπτή ήρα (*Lolium rigidum* Gaud.)



Γράφημα 4.4: Μετρήσεις του δείκτη βλάστησης NDVI ανά φυτό ήρας την 21η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

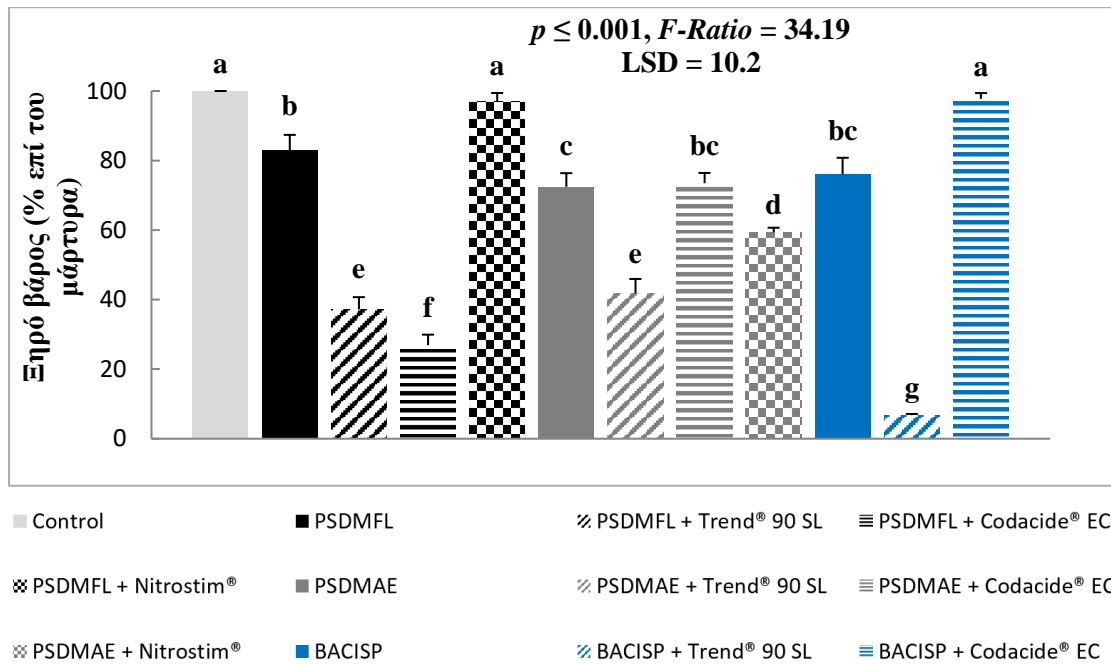
Από τα δεδομένα που προέκυψαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων φαίνεται ότι παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων. Οι υψηλότερες τιμές του δείκτη βλάστησης NDVI καταγράφηκαν στις επεμβάσεις T2, T5 και T12, οι οποίες πλησίασαν την τιμή του μάρτυρα (0,76). Χαμηλότερες τιμές NDVI παρατηρήθηκαν στις επεμβάσεις T6, T8, T9 και T10 ενώ

ακόμη χαμηλότερες τιμές παρατηρήθηκαν στις επεμβάσεις T3, T4, T7 και T11. Πιο συγκεκριμένα, η χαμηλότερη τιμή του δείκτη παρατηρήθηκε στην επέμβαση T11, όπου σημειώθηκε μείωση κατά 55,3% συγκριτικά με το μάρτυρα.



Γράφημα 4.5: Μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης ανά φυτό ήρας την 21η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν φαίνεται ότι οι περισσότερες επεμβάσεις διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Ειδικότερα, οι επεμβάσεις στις οποίες εφαρμόστηκε *Pseudomonas fluorescens* και *Pseudomonas fluorescens* + Nitrostim® είχαν υψηλότερο δείκτη βλάστησης NDVI από το φυτό μάρτυρα κατά 3,2% και 4,8% αντίστοιχα. Οι χαμηλότερες τιμές του δείκτη παρατηρήθηκαν στις επεμβάσεις T7 και T11, όπου σημειώθηκε σημαντικό ποσοστό μείωσης του NDVI, το οποίο ανέρχεται στο 53,3 και 58,3% αντίστοιχα, συγκριτικά με το μάρτυρα. Χαμηλή τιμή του δείκτη βλάστησης παρατηρήθηκε επίσης στην επέμβαση όπου εφαρμόστηκε *Pseudomonas fluorescens* + Trend.



Γράφημα 4.6: Μετρήσεις του ξηρού βάρους ανά φυτό ήρας την 42η ημέρα μετά την εφαρμογή. Τα ξηρά βάρη εκφράστηκαν ως ποσοστό επί του μάρτυρα. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Σύμφωνα με τα δεδομένα που προέκυψαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων, φαίνεται ότι το ξηρό βάρος της ήρας επηρεάστηκε σημαντικά από τις διαφορετικές επεμβάσεις. Χαμηλές τιμές ξηρού βάρους παρατηρούνται στις επεμβάσεις T3, T4 και T7. Η χαμηλότερη τιμή παρατηρείται στην επέμβαση T11, όπου εφαρμόστηκε *Bacillus* sp. + Trend. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση κατά 93,2% συγκριτικά με το μάρτυρα. Οι επεμβάσεις T8 και T10 επέφεραν επίσης μείωση του ξηρού βάρους της λεπτής ήρας, σε ποσοστό 26,5 και 24% αντίστοιχα. Οι επεμβάσεις T5 και T12 φαίνεται να μην διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά από το μάρτυρα.

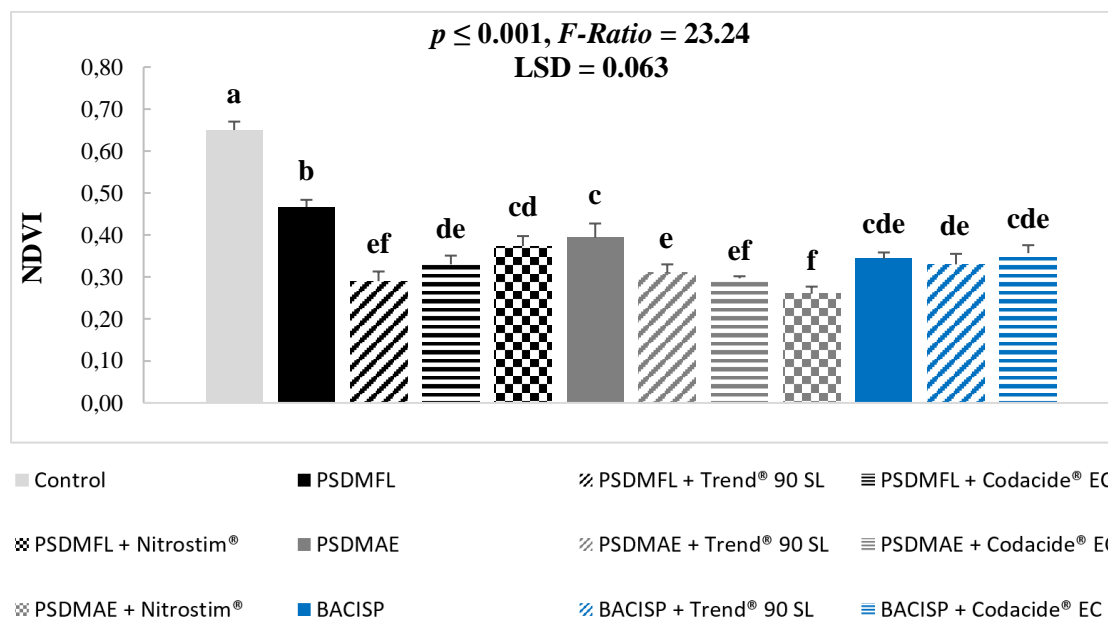


Εικόνα 5: Φυτά ήρας. Απεικονίζονται οι επεμβάσεις T1 (αφέκαστος μάρτυρας), T5 (*Pseudomonas fluorescens* + Nitrostim®) και T6 (*Pseudomonas aeruginosa*), από αριστερά προς τα δεξιά. (45 DAT)



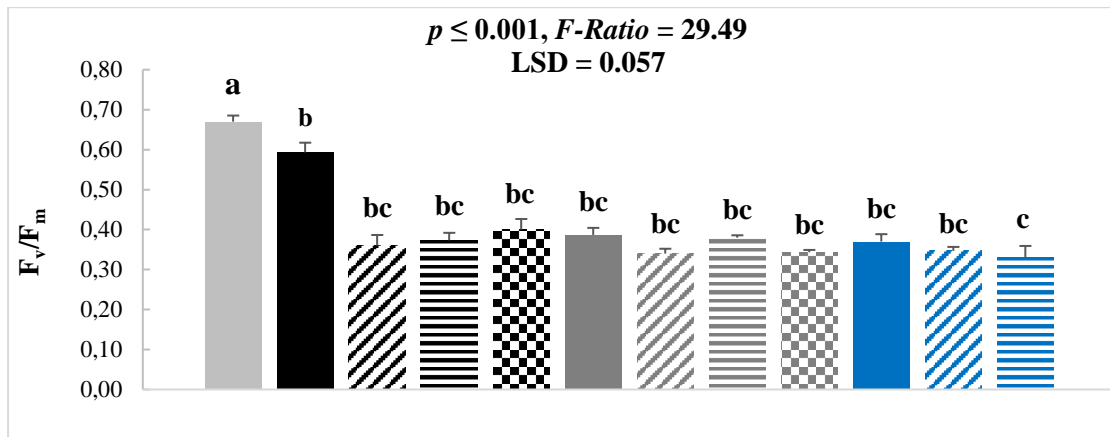
Εικόνα 6: Φυτά ήρας. Απεικονίζονται ο αφέκαστος μάρτυρας (αριστερά) και η επέμβαση με *Pseudomonas fluorescens* + Codacide®. (45 DAT)

Αγριοβρώμη (*Avena sterilis* L.)



Γράφημα 4.7: Μετρήσεις του δείκτη βλάστησης NDVI ανά φυτό αγριοβρώμης την 21η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

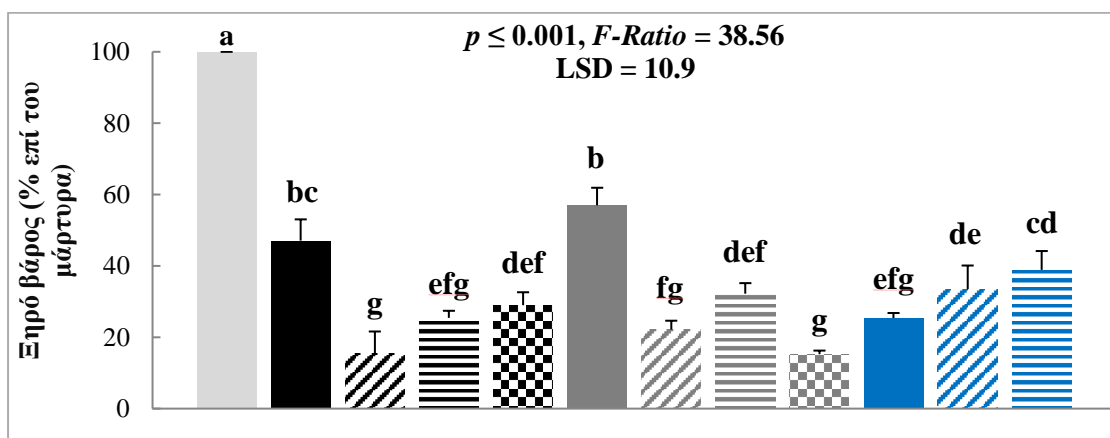
Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που καταγράφηκαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σχεδόν μεταξύ όλων των μέσων των πειραματικών επεμβάσεων. Όταν εφαρμόστηκε το *Pseudomonas fluorescens*, παρατηρήθηκε μείωση του δείκτη κατά 27,8% σε σύγκριση με το μάρτυρα. Στην επέμβαση όπου εφαρμόστηκε *Pseudomonas aeruginosa* σημειώθηκε μείωση κατά 38,6%. Ακόμα μεγαλύτερη μείωση του δείκτη παρατηρείται στην επέμβαση με *Bacillus* sp. αλλά και με *Bacillus* sp. + Codacide, η οποία ισούται με 47,7 και 44,6% αντίστοιχα, συγκριτικά με το φυτό μάρτυρα. Χαμηλότερες τιμές επίσης σημειώθηκαν στις επεμβάσεις με *Pseudomonas fluorescens* + Trend και *Pseudomonas aeruginosa* + Codacide. Η χαμηλότερη τιμή του δείκτη NDVI εντοπίζεται όπου εφαρμόστηκε *Pseudomonas aeruginosa* + Nitrostim®, όπου παρατηρείται μείωση κατά 60% σε σύγκριση με το μάρτυρα.



- Control
- PSDMFL
- ⊘ PSDMFL + Trend® 90 SL
- ≡ PSDMFL + Codacide® EC
- ⊗ PSDMFL + Nitrostim®
- PSDMAE
- ⊘ PSDMAE + Trend® 90 SL
- ≡ PSDMAE + Codacide® EC
- ⊗ PSDMAE + Nitrostim®
- BACISP
- ⊘ BACISP + Trend® 90 SL
- ≡ BACISP + Codacide® EC

Γράφημα 4.8: Μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης ανά φυτό αγριοβρώμης την 21η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Παρόμοιες φαίνεται να ήταν οι τιμές του φθορισμού της χλωροφύλλης που καταγράφηκαν στις περισσότερες επεμβάσεις. Ωστόσο, φαίνεται ότι η υψηλότερη τιμή φθορισμού μετά το φυτό - μάρτυρα σημειώθηκε στην επέμβαση με *Pseudomonas fluorescens*, με διαφορά από το μάρτυρα 12%. Η χαμηλότερη τιμή του λόγου Fv/Fm παρατηρείται όπου εφαρμόστηκε *Bacillus* sp. + Codacide. Η μείωση που παρατηρήθηκε ήταν 51,8% συγκριτικά με το μάρτυρα.



- Control
- PSDMFL
- ⊘ PSDMFL + Trend® 90 SL
- ≡ PSDMFL + Codacide® EC
- ⊗ PSDMFL + Nitrostim®
- PSDMAE
- ⊘ PSDMAE + Trend® 90 SL
- ≡ PSDMAE + Codacide® EC
- ⊗ PSDMAE + Nitrostim®
- BACISP
- ⊘ BACISP + Trend® 90 SL
- ≡ BACISP + Codacide® EC

Γράφημα 4.9: Μετρήσεις του ξηρού βάρους ανά φυτό αγριοβρώμης την 42η ημέρα μετά την εφαρμογή. Τα ξηρά βάρη εκφράστηκαν ως ποσοστό επί του μάρτυρα. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

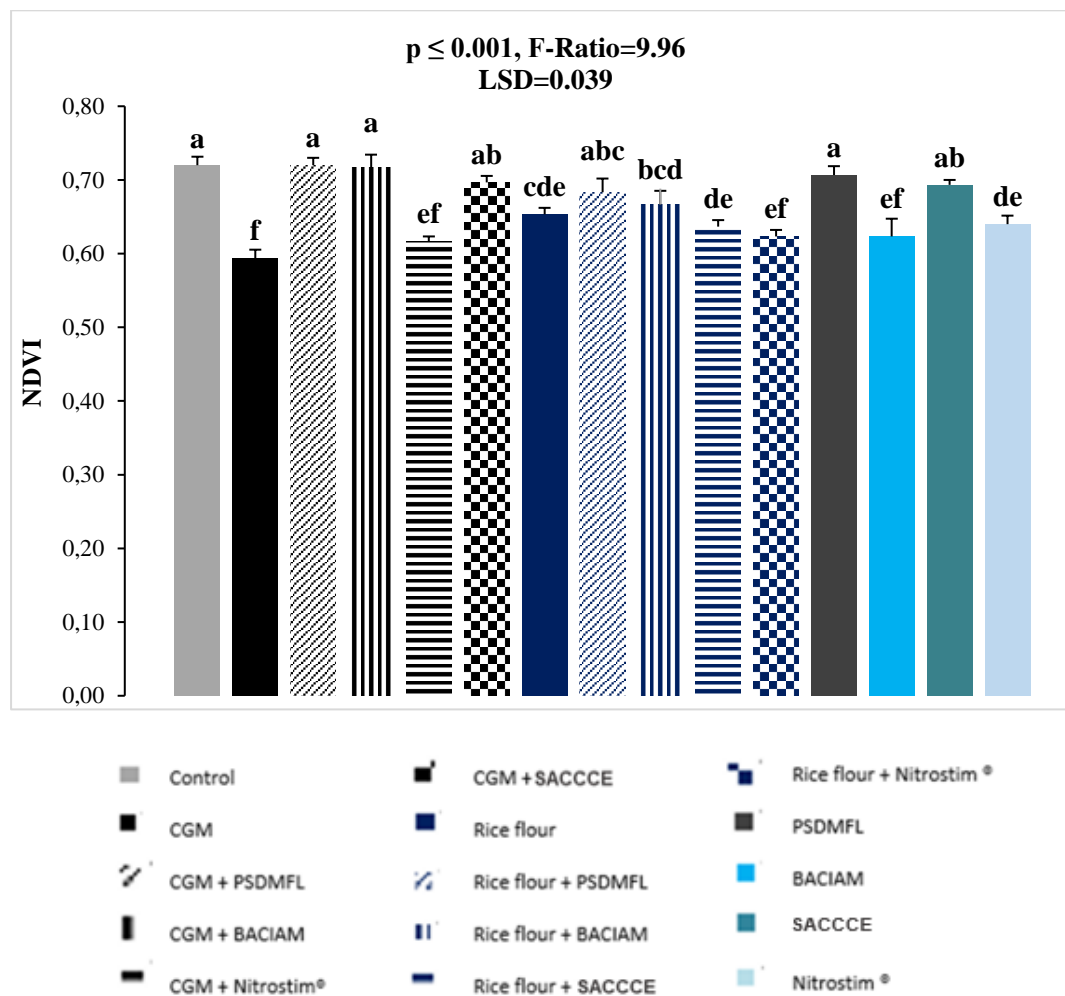
Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που καταγράφηκαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ όλων των μέσων των πειραματικών επεμβάσεων. Πιο συγκεκριμένα, το ξηρό βάρος της αγριοβρώμης μειώθηκε κατά 43,1% μετά την εφαρμογή του *Pseudomonas aeruginosa* και κατά 52,9% μετά την εφαρμογή του *Pseudomonas fluorescens*. Σημαντική μείωση του βάρους παρατηρήθηκε επίσης στην επέμβαση με *Bacillus* sp. + Codacide. Ακόμα χαμηλότερο βάρος παρατηρήθηκε στην επέμβαση με *Pseudomonas fluorescens* + Nitrostim®, όπου καταγράφηκε μείωση 71% συγκριτικά με το μάρτυρα. Η χαμηλότερη τιμή ξηρού βάρους παρατηρήθηκε μετά την εφαρμογή του *Pseudomonas aeruginosa* + Nitrostim®, με μείωση κατά 84,7% σε σύγκριση με το μάρτυρα.



Εικόνα 6: Φυτά αγριοβρώμης. Απεικονίζονται οι επεμβάσεις T1 (αψέκαστος μάρτυρας), T3 (*Pseudomonas fluorescens* + Trend®) και T6 (*Pseudomonas aeruginosa*) (45 DAT)

Πείραμα 2

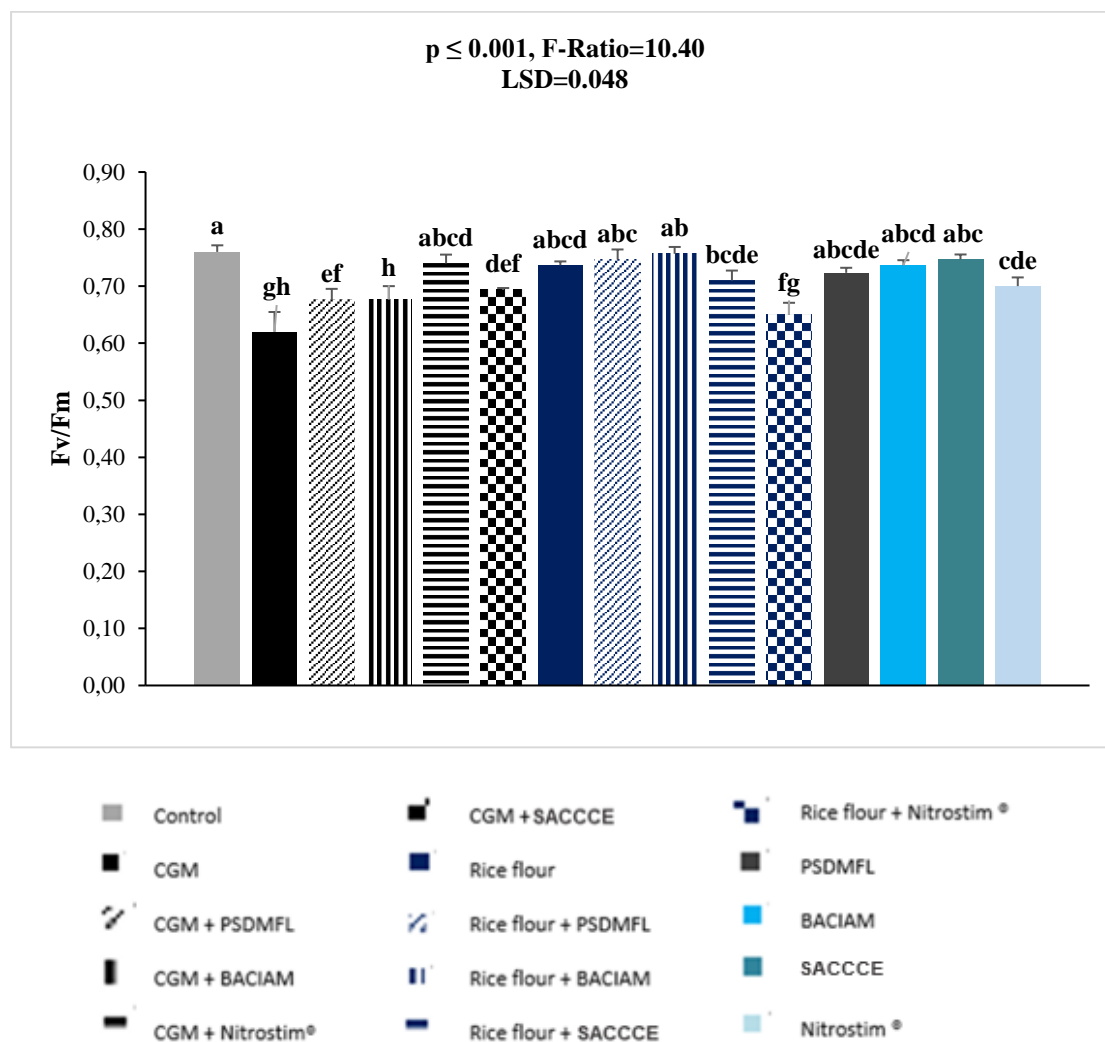
Σιτάρι



Γράφημα 4.10: Μετρήσεις του δείκτη βλάστησης NDVI ανά φυτό σιταριού την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που καταγράφηκαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων φαίνεται ότι προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Ο χαμηλότερος μέσος φαίνεται να εμφανίζεται στην επέμβαση T2, όπου εφαρμόστηκε αποκλειστικά γλουτένη αραβοσίτου. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται μείωση 18,1% σε σχέση με το μάρτυρα. Χαμηλότερες τιμές του δείκτη βλάστησης NDVI εντοπίζονται επίσης στις επεμβάσεις T5, T11 και T13. Στις επεμβάσεις αυτές εφαρμόστηκε γλουτένη αραβοσίτου + Nitrostim®, γλουτένη ρυζιού + Nitrostim® και *Bacillus amyloliquefasciens* αντίστοιχα, και επιτεύχθηκε μείωση 15,3% συγκριτικά με το μάρτυρα. Οι επεμβάσεις T10 και T15 επίσης φαίνεται να έχουν επίδραση στο δείκτη

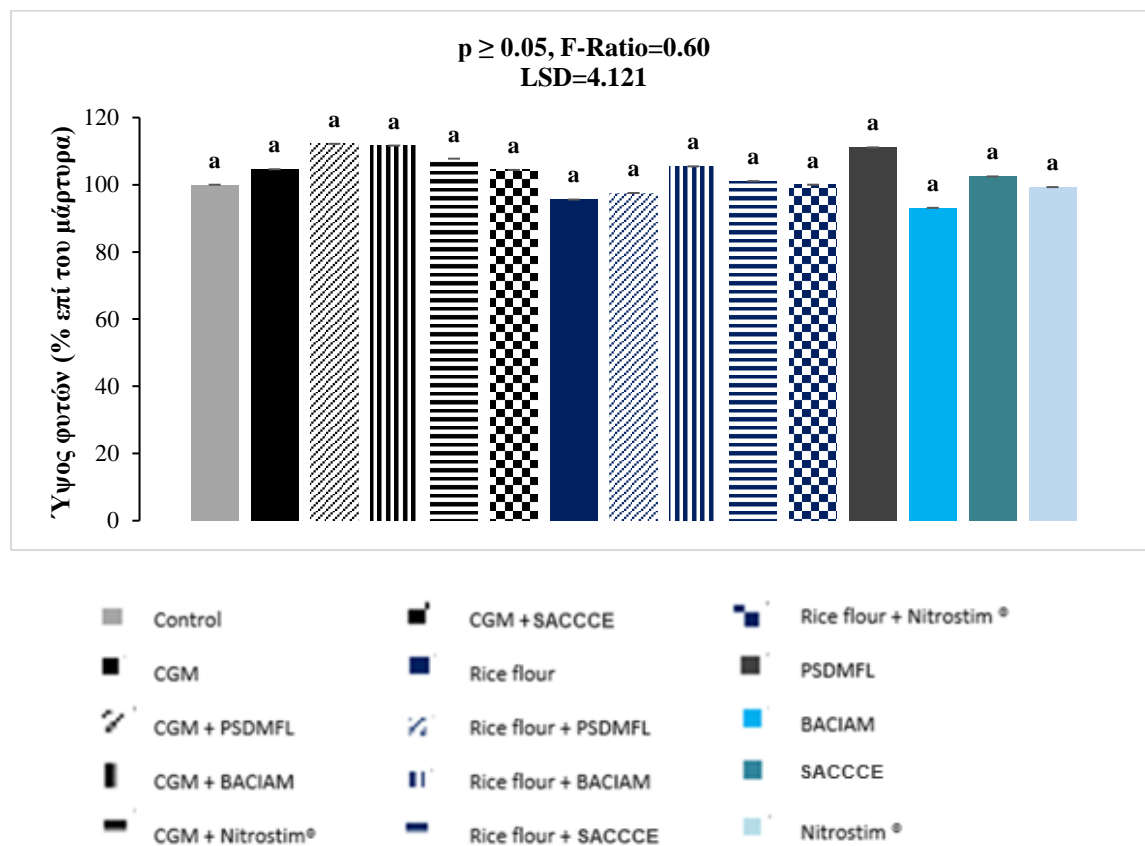
NDVI, πετυχαίνοντας μείωση 11,1% σε σύγκριση με τα φυτά του μάρτυρα. Ειδικότερα, στις επεμβάσεις αυτές εφαρμόστηκε γλουτένη ρυζιού + *Saccharomyces cerevisiae* και Nitrostim®, αντίστοιχα.



Γράφημα 4.11: Μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης ανά φυτό σιταριού την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν, φαίνεται ότι οι περισσότερες επεμβάσεις διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται μείωση του φθορισμού της χλωροφύλλης στα φυτά του σιταριού, με τη μεγαλύτερη διαφορά να εντοπίζεται στην επέμβαση T2 (18,4 % χαμηλότερο συγκριτικά με το μάρτυρα), όπου εφαρμόστηκε γλουτένη αραβοσίτου. Μεγάλη μείωση του λόγου Fv/Fm φαίνεται να παρατηρείται στην επέμβαση T11. Στην επέμβαση αυτή

εφαρμόστηκε γλουτένη ρυζιού + Nitrostim® και καταγράφηκε μείωση 14,5% σε σύγκριση με το φυτό – μάρτυρα. Οι συνδυασμοί γλουτένης αραβοσίτου + *Bacillus amyloliquefasciens* (T4) όπως και γλουτένης αραβοσίτου + *Pseudomonas fluorescens* (T3) παρατηρείται ότι μείωσαν το λόγο φθορισμού της χλωροφύλλης κατά 10,5% συγκριτικά με το μάρτυρα.



Γράφημα 4.12: Μετρήσεις του ύψους ανά φυτό σιταριού την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή, ως ποσοστό επί του μάρτυρα. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον δεν φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά

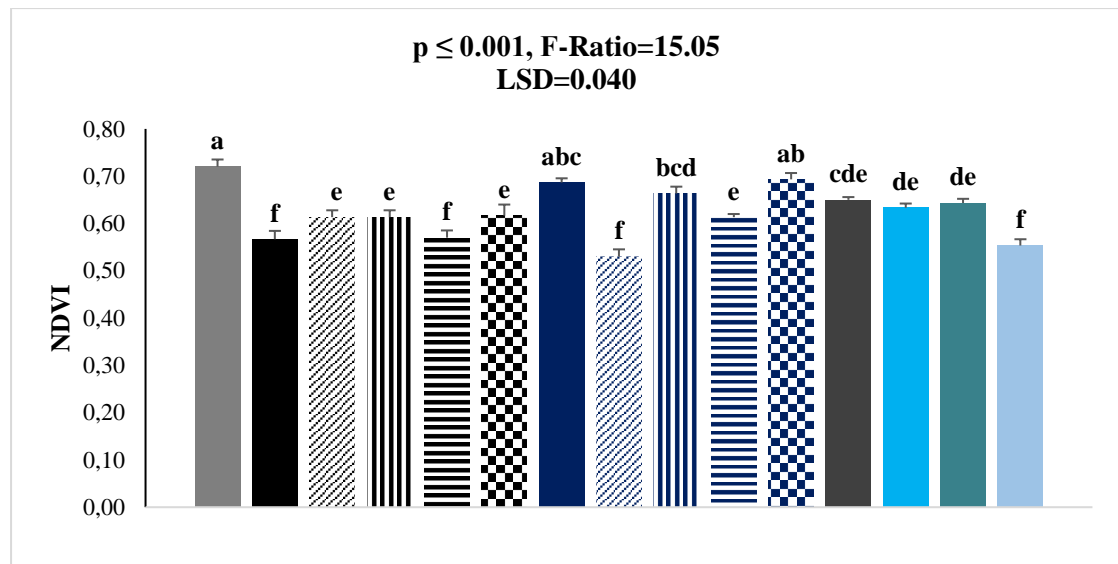
Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που καταγράφηκαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων δεν φαίνεται να προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Ωστόσο, το μεγαλύτερο ύψος παρατηρήθηκε στη μεταχείριση T3 όπου ξεπέρασε τα 21 εκατοστά. Στην επέμβαση αυτή εφαρμόστηκε γλουτένη αραβοσίτου + *Pseudomonas fluorescens*. Αντίθετα, το μικρότερο ύψος παρατηρήθηκε στην μεταχείριση T13 (17,6 εκατοστά), με τις μεταχειρίσεις T8 (18,43 εκατοστά) και T15 (18,77 εκατοστά) να ακολουθούν. Αξίζει να σημειωθεί πως μελετώντας το ύψος

των φυτών καμία μεταχείριση δεν αύξησε το ύψος των φυτών κατά περισσότερο από 12% εν συγκρίσει με το μάρτυρα.



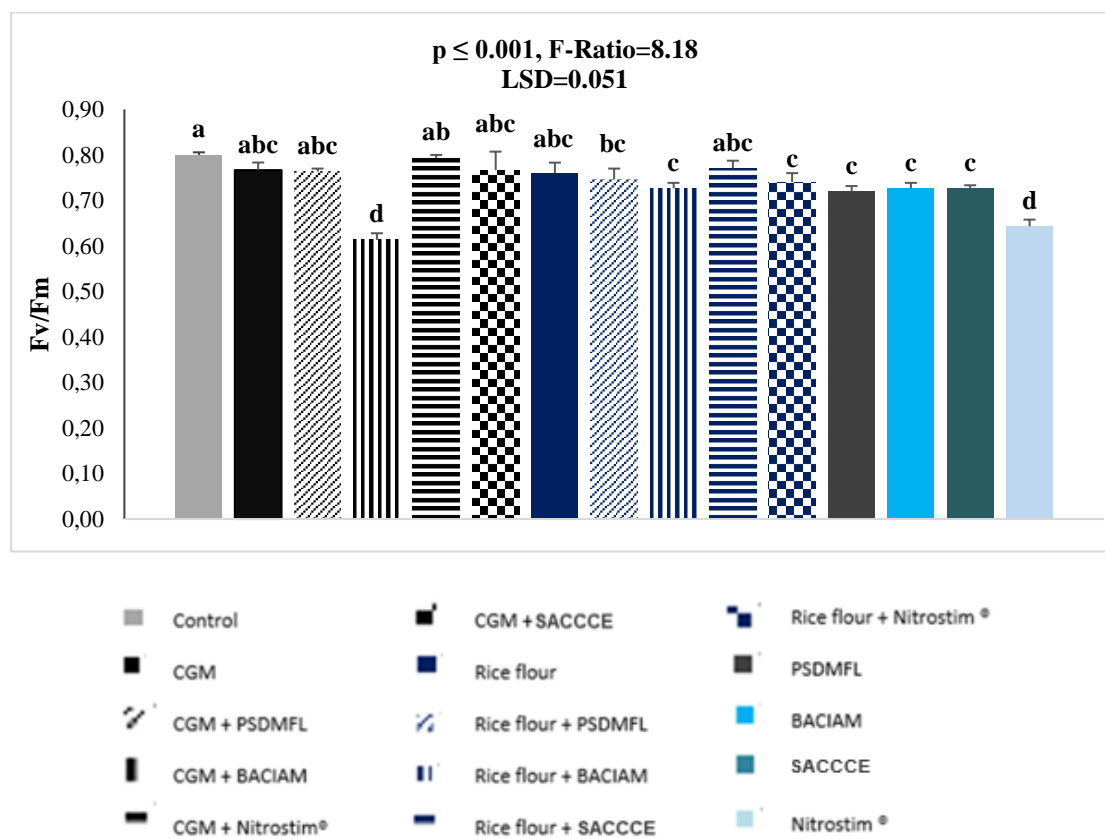
Εικόνα 7: Φυτά σιταριού. Απεικονίζονται ο αγέκαστος μάρτυρας (αριστερά) και η επέμβαση με CGM + *Pseudomonas fluorescens*. (11 DAT)

Σιτάρι/Ηρα



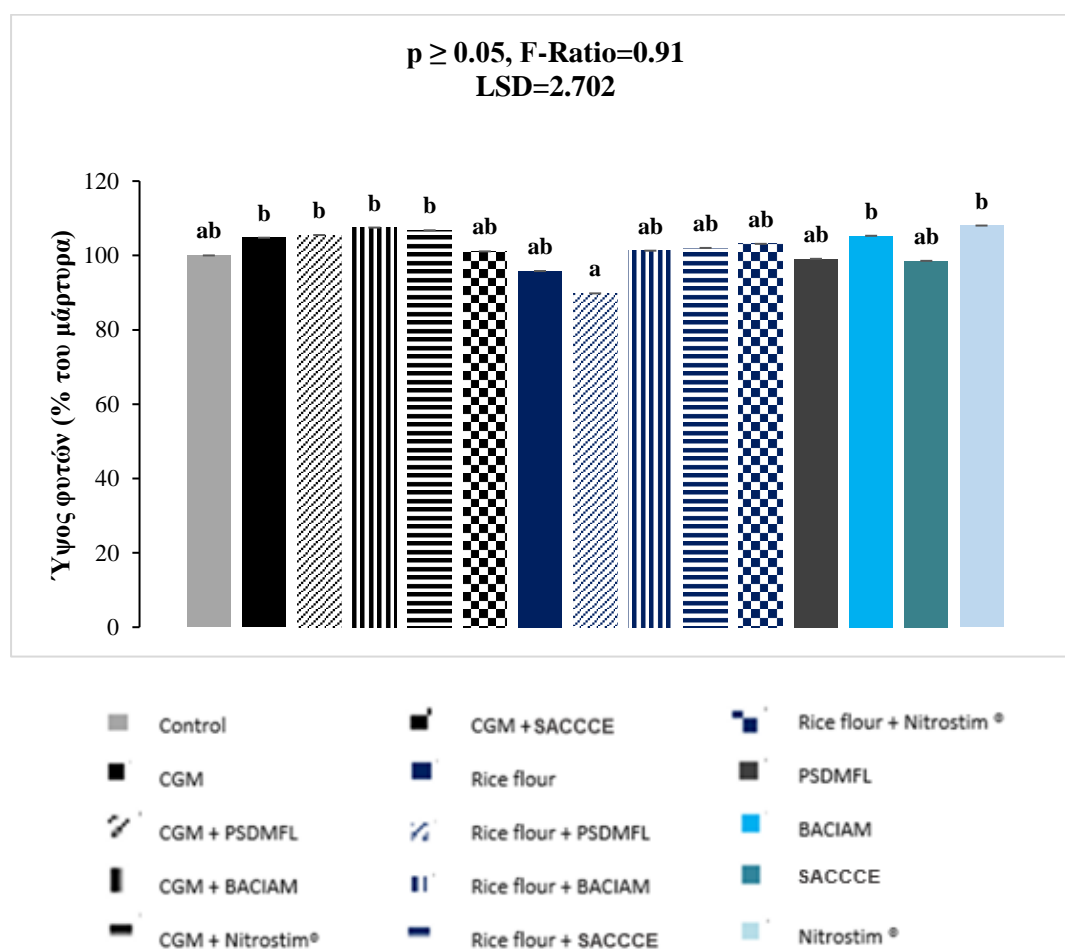
Γράφημα 4.13: Μετρήσεις του δείκτη βλάστησης NDVI ανά φυτό σιταριού την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Από τα δεδομένα που προέκυψαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων φαίνεται ότι ο δείκτης βλάστησης NDVI επηρεάστηκε από τις διαφορετικές μεταχειρίσεις. Πιο συγκεκριμένα, η χαμηλότερη τιμή του δείκτη (0,53) εντοπίζεται στη μεταχείριση T8, όπου παρατηρείται μείωση 26,4% συγκριτικά με το μάρτυρα. Στη μεταχείριση αυτή εφαρμόστηκε άλευρο ρυζιού + *Pseudomonas fluorescens*. Μείωση του δείκτη φαίνεται να προκάλεσε επίσης η εφαρμογή γλουτένης καλαμποκιού (T2), όπου παρατηρείται μείωση 27,8% συγκριτικά με το φυτό – μάρτυρα. Αντιθέτως, η τιμή που βρίσκεται πιο κοντά στο μάρτυρα (0,69) παρατηρείται στις μεταχειρίσεις T7 και T11, όπου εφαρμόστηκαν άλευρο ρυζιού και άλευρο ρυζιού + Nitrostim®, αντίστοιχα.



Γράφημα 4.14: Μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης ανά φυτό σιταριού την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Λιγότερες φαίνεται να είναι οι διαφορές των μέσων των επεμβάσεων, όσον αφορά το λόγο φθορισμού της χλωροφύλλης για τα φυτά του σιταριού. Η χαμηλότερη τιμή του λόγου εντοπίζεται στην επέμβαση T4, όπου εφαρμόστηκε γλουτένη αραβοσίτου + *Bacillus amyloliquefasciens*. Ειδικότερα, παρατηρείται μείωση 23,7% εν συγκρίσει με το μάρτυρα. Η εφαρμογή σκέτου Nitrostim® (T15) επίσης φαίνεται να επηρέασε το λόγο Fv/Fm, αφού παρατηρείται μείωση 20% σε σχέση με το φυτό – μάρτυρα. Ακολουθούν οι επεμβάσεις T12, T13 και T14, οι οποίες μείωσαν το φθορισμό της χλωροφύλλης κατά 8,7% συγκριτικά με το μάρτυρα. Η εφαρμογή γλουτένης ρυζιού + *Pseudomonas fluorescens* (T8) μείωσε το λόγο κατά 6,2% σε σχέση με το μάρτυρα. Οι υπόλοιπες επεμβάσεις δεν φαίνεται να επηρέασαν σημαντικά το λόγο Fv/Fm.

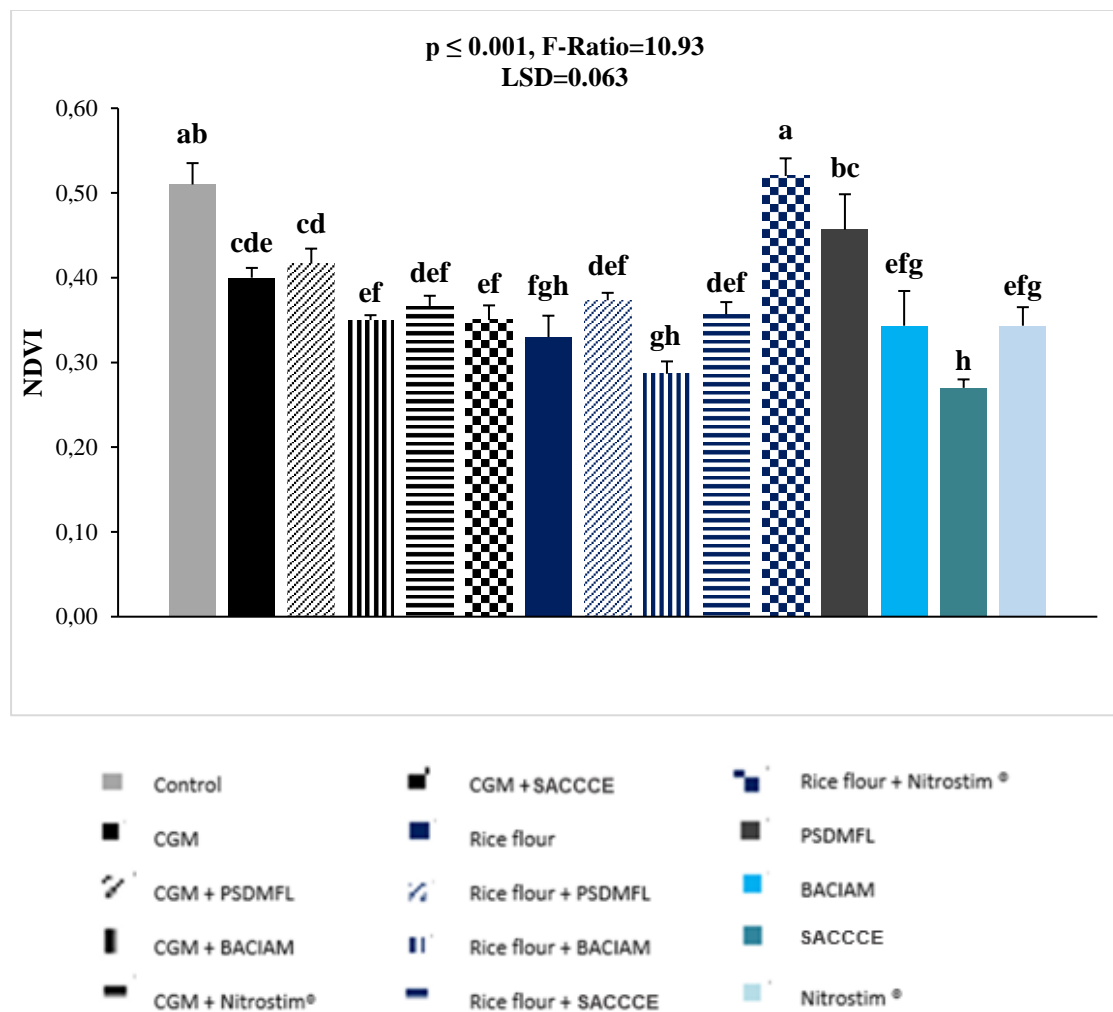


Γράφημα 4.15: Μετρήσεις ύψους ανά φυτό σιταριού την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές έχουν υπολογιστεί ως ποσοστό επί του μάρτυρα. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικά σημαντικά.

Από τα δεδομένα που προέκυψαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων φαίνεται ότι το ύψος των φυτών του σιταριού επηρεάστηκε από τις

διαφορετικές μεταχειρίσεις. Παρόλα αυτά ανιχνευτήκαν λιγότερες διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων. Η μεγαλύτερη διαφορά ύψους παρατηρείται στην επέμβαση T8 (11.2 % χαμηλότερο εν συγκρίσει με το μάρτυρα), όπου εφαρμόστηκε άλευρο ρυζιού + *Pseudomonas fluorescens*. Αντιθέτως, το μεγαλύτερο ύψος σημειώθηκε στην επέμβαση T15 (8% μεγαλύτερο συγκριτικά με το φυτό – μάρτυρα), με τις επεμβάσεις T4 (7,5%) και T5 (6,8%) να ακολουθούν.

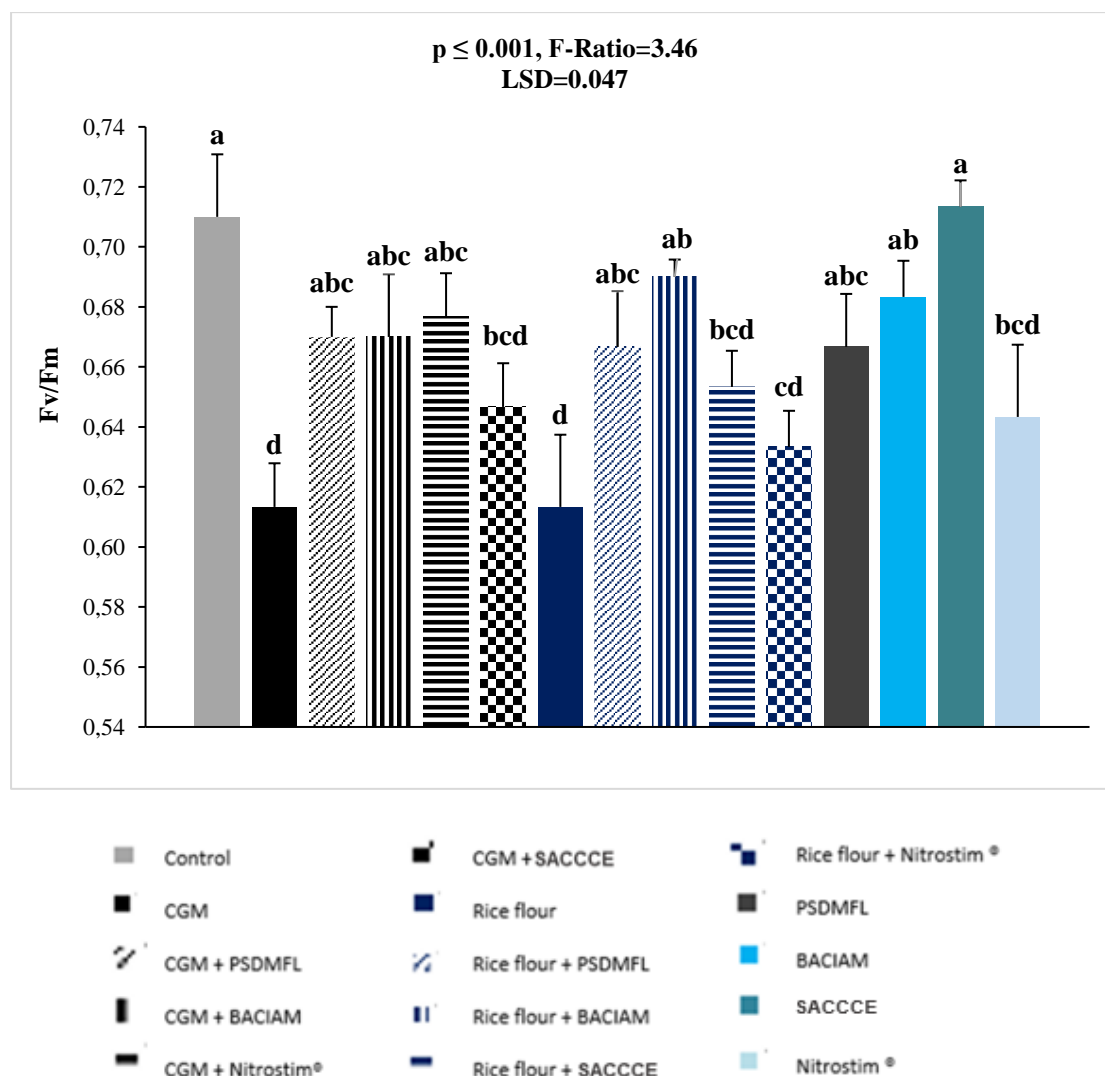
Ήρα



Γράφημα 4.16: Μετρήσεις του δείκτη βλάστησης NDVI ανά φυτό ήρας την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

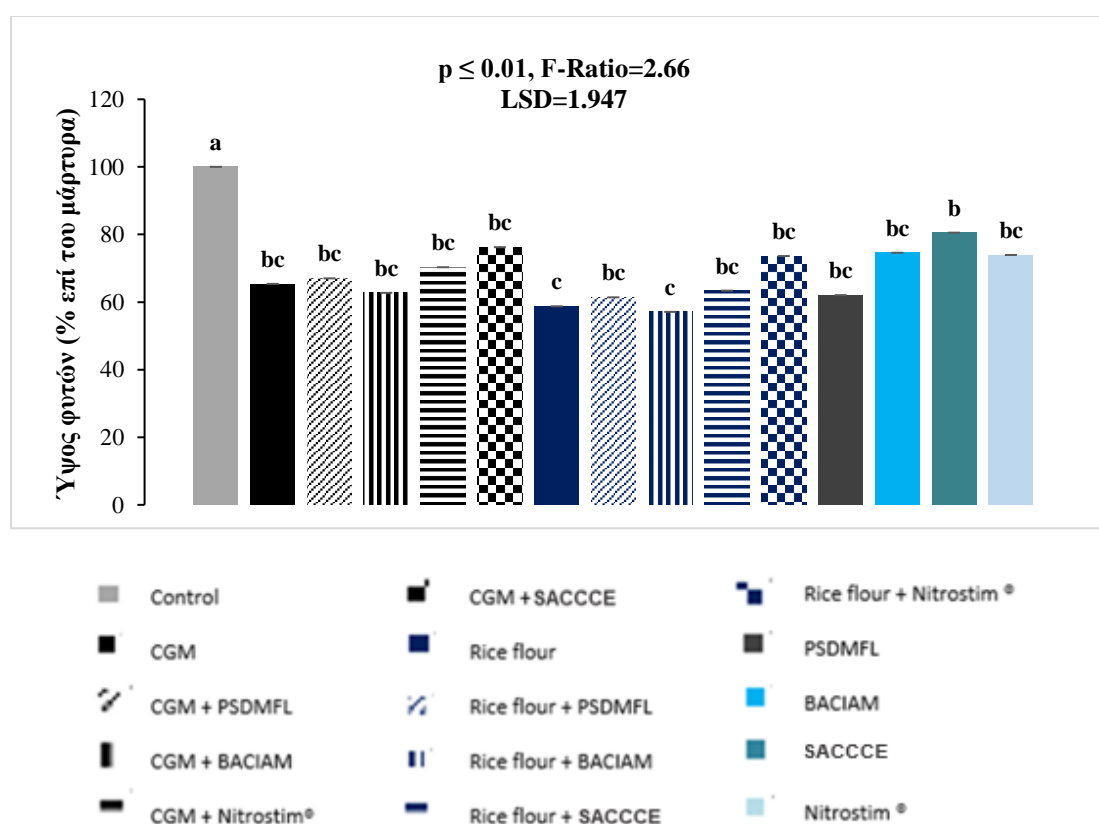
Σύμφωνα με τα δεδομένα που προέκυψαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων, φαίνεται ότι ο δείκτης NDVI για τα φυτά της ήρας

επηρεάστηκε σημαντικά από τις διαφορετικές επεμβάσεις, με μόνη εξαίρεση την επέμβαση T11, όπου δεν παρατηρείται μεγάλη διαφορά μεταξύ των μέσων, συγκριτικά με το μάρτυρα. Η μεγαλύτερη διαφορά εντοπίζεται στην επέμβαση T14, όπου εφαρμόστηκε σκέτη μαγιά και παρατηρήθηκε μείωση του δείκτη βλάστησης κατά 47,1% σε σύγκριση με το φυτό – μάρτυρα. Η επέμβαση με σκέτη γλουτένη ρυζιού και γλουτένη ρυζιού + *Bacillus amyloliquefasciens* προκάλεσε επίσης μείωση στο δείκτη NDVI κατά 35,3% και 43,1%, αντίστοιχα. Οι συνδυασμοί γλουτένης αραβοσίτου + *Bacillus amyloliquefasciens* καθώς και γλουτένης αραβοσίτου + *Saccharomyces cerevisiae* προκάλεσαν μείωση του δείκτη βλάστησης κατά 31,4%, σε σύγκριση με το μάρτυρα. Παρατηρείται επίσης μείωση του δείκτη NDVI κατά 27,5% στις επεμβάσεις όπου εφαρμόστηκε γλουτένη αραβοσίτου + Nitrostim®, γλουτένη ρυζιού + *Pseudomonas fluorescens* και γλουτένη ρυζιού + *Saccharomyces cerevisiae*.



Γράφημα 4.17: Μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης ανά φυτό ήρας την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Λιγότερες φαίνεται να είναι οι διαφορές των μέσων των επεμβάσεων, όσον αφορά το λόγο φθορισμού της χλωροφύλλης για τα φυτά της ήρας. Σε αυτήν την περίπτωση, η επέμβαση T14, όπου εφαρμόστηκε σκέτη μαγιά δεν φαίνεται να επηρέασε σημαντικά το λόγο Fv/Fm. Η μεγαλύτερη διαφορά (14,1% μικρότερος λόγος συγκριτικά με το φυτό – μάρτυρα) παρατηρείται στις επεμβάσεις T2 και T7, όπου έγινε επέμβαση με σκέτη γλουτένη αραβοσίτου και σκέτη γλουτένη ρυζιού, αντίστοιχα. Μείωση του φθορισμού κατά 8,5% εντοπίζεται στις μεταχειρίσεις όπου εφαρμόστηκαν γλουτένη αραβοσίτου + *Saccharomyces cerevisiae* (T6), γλουτένη ρυζιού + *Saccharomyces cerevisiae* (T10), καθώς και σκέτο Nitrostim® (T15). Όπου εφαρμόστηκε γλουτένη ρυζιού + *Bacillus amyloliquefasciens* (T9), καθώς και *Bacillus amyloliquefasciens* (T13), καταγράφηκε μείωση του λόγου φθορισμού της χλωροφύλλης κατά 4,3%, σε σύγκριση με το μάρτυρα.

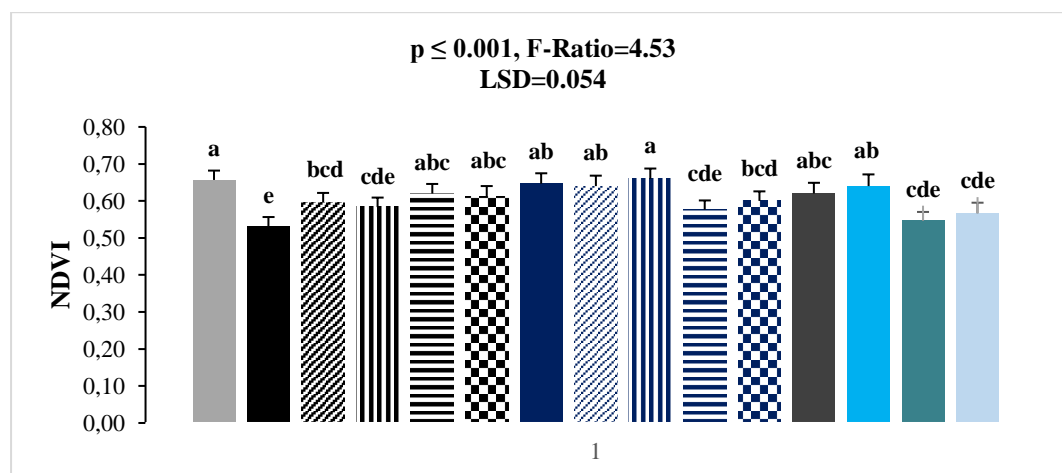


Γράφημα 4.18: Μετρήσεις ύψους ανά φυτό ήρας την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές έχουν υπολογιστεί ως ποσοστό επί του μάρτυρα. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση

με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά

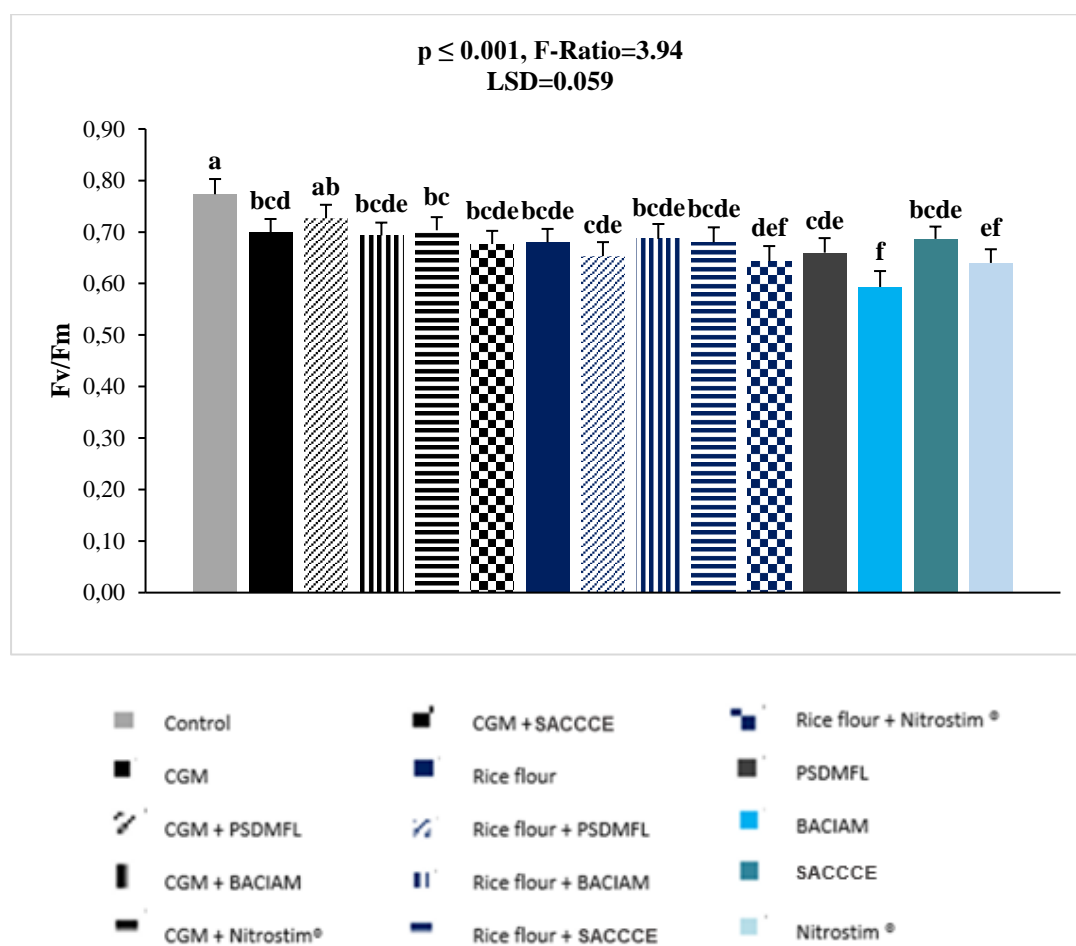
Σύμφωνα με τα δεδομένα που προέκυψαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων, φαίνεται ότι το ύψος των φυτών της ήρας επηρεάστηκε σημαντικά από τις διαφορετικές επεμβάσεις. Το χαμηλότερο ύψος (42,9 % χαμηλότερο σε σχέση με το μάρτυρα) εντοπίζεται στην επέμβαση T9, όπου εφαρμόστηκε άλευρο ρυζιού + *Bacillus amyloliquefasciens*, με την επέμβαση T7 να ακολουθεί (41,25% χαμηλότερο ύψος από το μάρτυρα). Η εφαρμογή ρυζάλευρου + *Pseudomonas fluorescens* (T7) επίσης φαίνεται να προκάλεσε μείωση στο ύψος της ήρας σε ποσοστό 38,6% συγκριτικά με το φυτό – μάρτυρα. Αποτελεσματική φαίνεται να είναι η επίδραση της γλουτένης καλαμποκιού + *Bacillus amyloliquefasciens* (T4), όπου παρατηρείται μείωση του ύψους κατά 37,3% σε σύγκριση με το μάρτυρα.

Ελαιοκράμβη



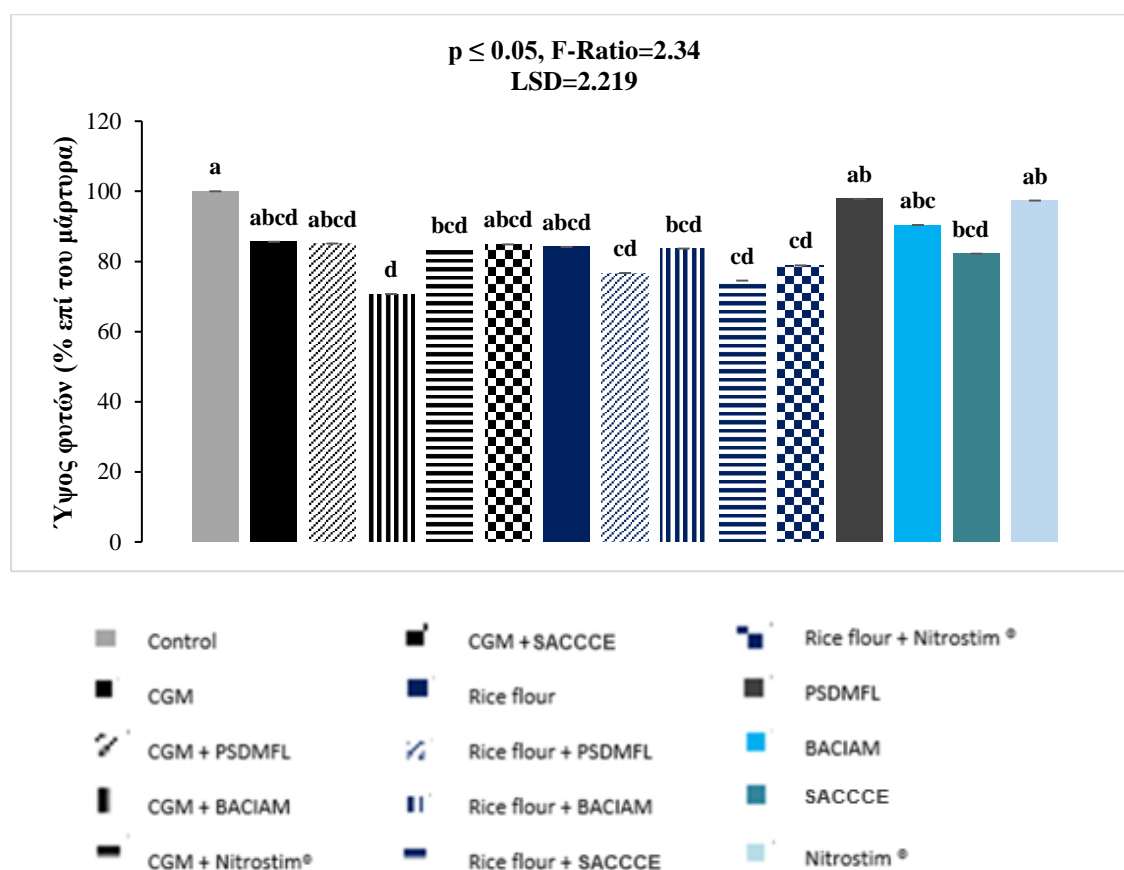
Γράφημα 4.19: Μετρήσεις του δείκτη βλάστησης NDVI ανά φυτό ελαιοκράμβης την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Από τα δεδομένα που προέκυψαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων φαίνεται ότι ο δείκτης βλάστησης NDVI επηρεάστηκε από τις διαφορετικές μεταχειρίσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι επεμβάσεις με γλουτένη ρυζιού, γλουτένη ρυζιού + *Pseudomonas fluorescens* και *Bacillus amyloliquefasciens* μείωσαν το δείκτη κατά 1,5%. Ακόμα μεγαλύτερη μείωση καταγράφεται στις επεμβάσεις T4, T10, T14 και T15, όπου εντοπίζεται μείωση του δείκτη κατά 12,1%, συγκριτικά με το μάρτυρα. Η μεγαλύτερη διαφορά (19,7% χαμηλότερο NDVI σε σύγκριση με το φυτό – μάρτυρα) παρατηρείται στην επέμβαση T2, όπου εφαρμόστηκε γλουτένη αραβοσίτου. Η επέμβαση με γλουτένη ρυζιού + *Bacillus amyloliquefasciens* δεν φαίνεται να είχε σημαντική επίδραση στο δείκτη βλάστησης.



Γράφημα 4.20: Μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης ανά φυτό ελαιοκράμβης την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Με βάση τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τις πολλαπλές συγκρίσεις των μέσων των επεμβάσεων παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτών. Ο χαμηλότερος λόγος φθορισμού χλωροφύλλης εντοπίζεται στην επέμβαση T13, όπου εφαρμόστηκε *Bacillus amyloliquefasciens*. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται μείωση του λόγου κατά 23,4%, συγκριτικά με το μάρτυρα. Επίδραση στο λόγο Fv/Fm φαίνεται να έχουν επίσης οι επεμβάσεις T8 και T12, όπου σημειώνεται μείωση κατά 14,3%. Στις επεμβάσεις αυτές εφαρμόστηκε γλουτένη ρυζιού + *Pseudomonas fluorescens* και σκέτο *P. fluorescens*, αντίστοιχα. Στην επέμβαση T3, όπου έγινε εφαρμογή γλουτένης αραβοσίτου + *Pseudomonas fluorescens*, καταγράφηκε μείωση του φθορισμού της χλωροφύλλης κατά 5,2%, σε σύγκριση με το φυτό – μάρτυρα.

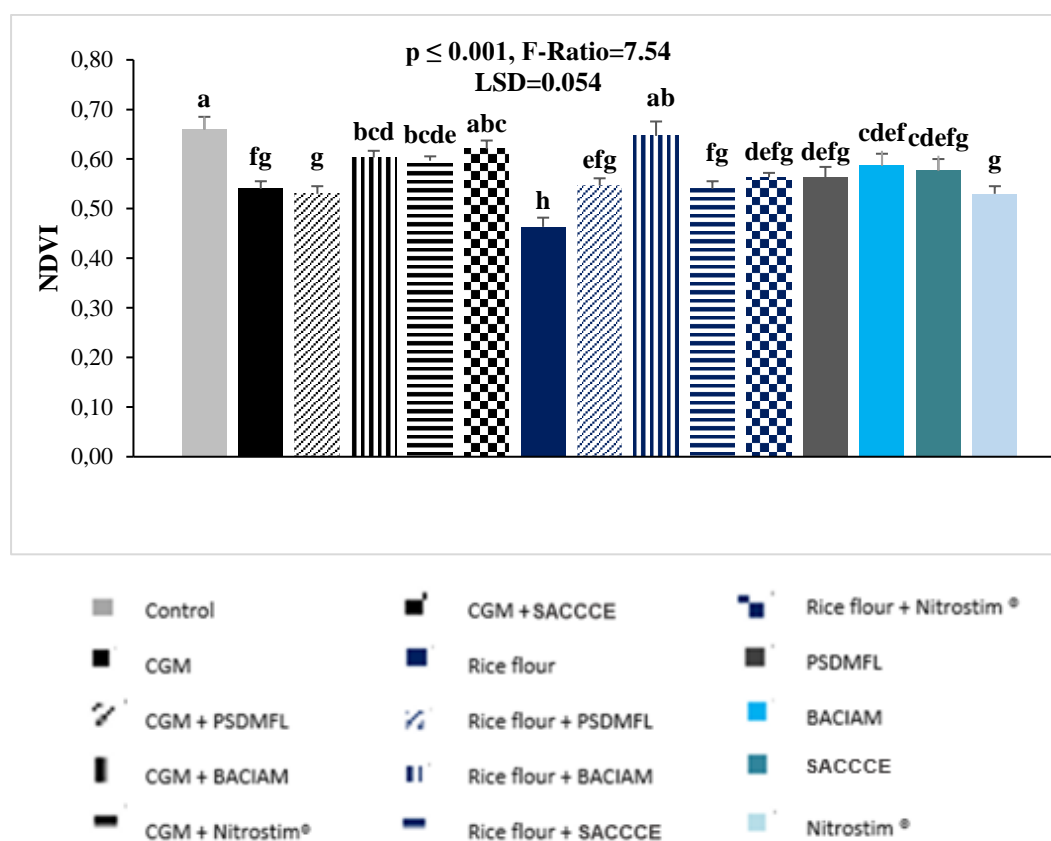


Γράφημα 4.21: Μετρήσεις ύψους ανά φυτό ελαιοκράμβης την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές έχουν υπολογιστεί ως ποσοστό επί του μάρτυρα. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Με βάση τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τις πολλαπλές συγκρίσεις των μέσων των επεμβάσεων παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτών. Το

χαμηλότερο ύψος εντοπίζεται στην επέμβαση T4 (30% χαμηλότερο σε σχέση με το μάρτυρα), όπου εφαρμόστηκε γλουτένη αραβοσίτου + *Bacillus amyloliquefasciens*. Ακολουθούν οι επεμβάσεις T8, T10 και T1, οι οποίες προκάλεσαν μείωση 23,3%, 25,5% και 21,1%, αντίστοιχα, εν συγκρίσει με το φυτό – μάρτυρα. Η μικρότερη διαφορά παρατηρείται στην επέμβαση T12 (2,2% χαμηλότερο ύψος από το μάρτυρα), όπου εφαρμόστηκε *Pseudomonas fluorescens*. Αξίζει να σημειωθεί πως μελετώντας το ύψος των φυτών καμία μεταχείριση δεν αύξησε το ύψος των φυτών περισσότερο από το μάρτυρα.

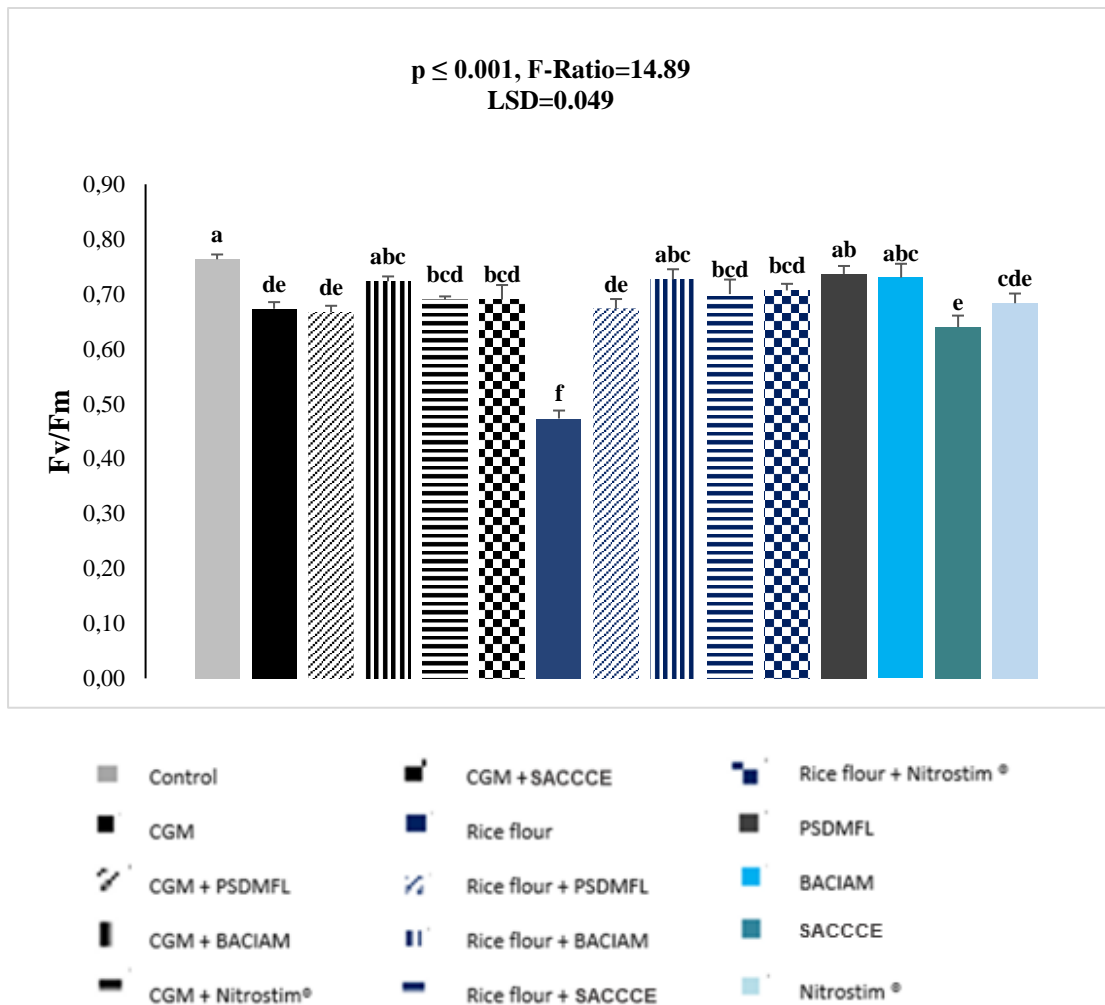
Ελαιοκράμβη/Ηρα



Γράφημα 4.22: Μετρήσεις του δείκτη βλάστησης NDVI ανά φυτό ελαιοκράμβης την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Σύμφωνα με τα δεδομένα που προέκυψαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων, φαίνεται ότι ο δείκτης NDVI για τα φυτά της ελαιοκράμβης επηρεάστηκε σημαντικά από τις διαφορετικές επεμβάσεις. Ο χαμηλότερος δείκτης (30,3% μείωση συγκριτικά με το μάρτυρα) εντοπίζεται στην επέμβαση T7, όπου εφαρμόστηκε άλευρο ρυζιού. Σημαντική επίδραση στο δείκτη NDVI φαίνεται να έχουν

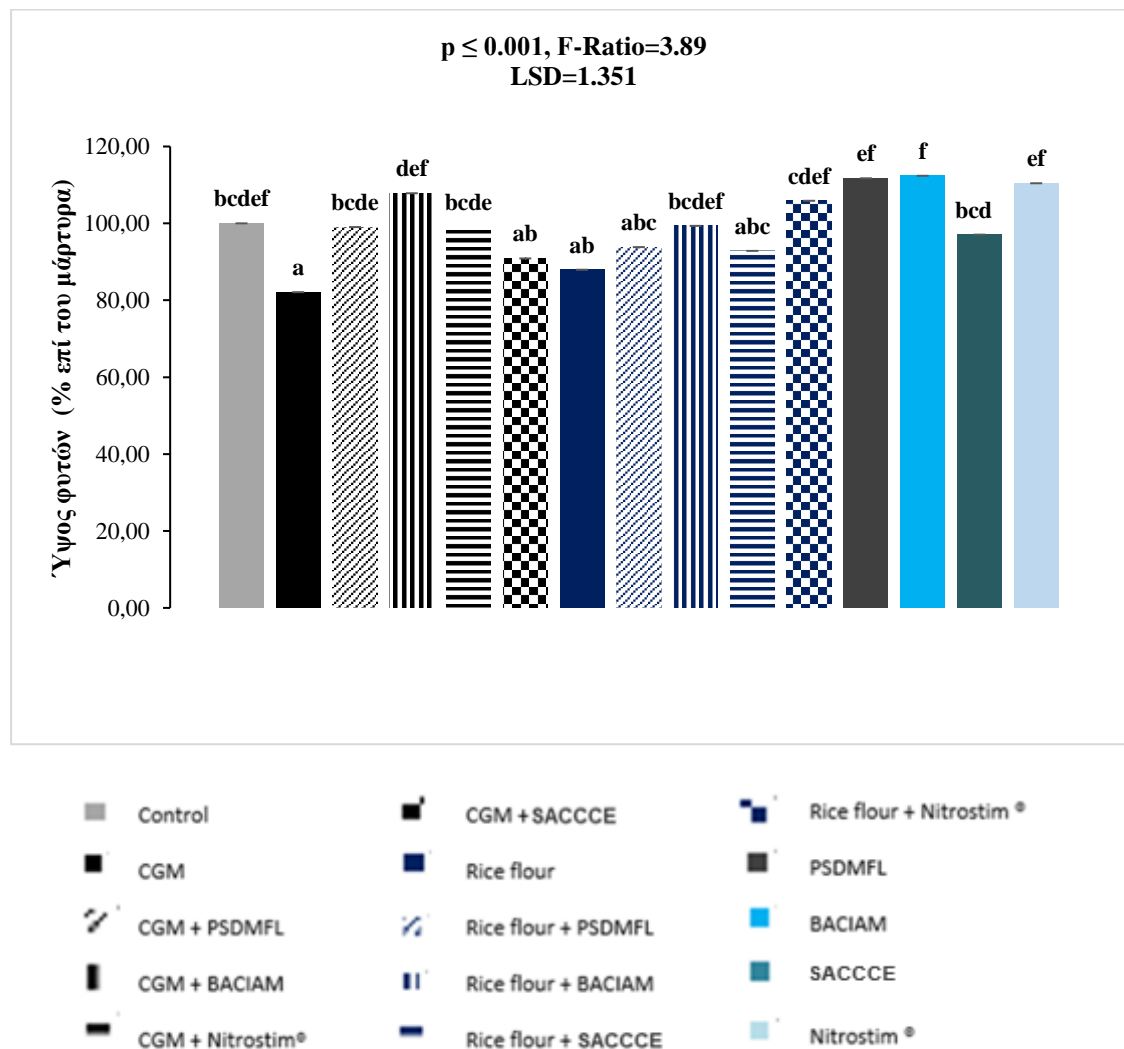
και οι επεμβάσεις όπου εφαρμόστηκε γλουτένη αραβοσίτου + *Pseudomonas fluorescens* (T3) και Nitrostim® (T15). Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται μείωση του δείκτη κατά 19,7% σε σχέση με το φυτό – μάρτυρα. Οι εφαρμογές αλεύρου ρυζιού + Nitrostim® (T11) και *Saccharomyces cerevisiae* (T14) προκάλεσαν μείωση του δείκτη βλάστησης κατά 15,1% και 12,1% αντίστοιχα, συγκριτικά με το φυτό μάρτυρα.



Γράφημα 4.23: Μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης ανά φυτό ελαιοκράμβης την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Με βάση τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τις πολλαπλές συγκρίσεις των μέσων των επεμβάσεων παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτών. Η εφαρμογή αλεύρου ρυζιού (T7) φαίνεται ότι προκάλεσε τη μεγαλύτερη μείωση του λόγου Fv/Fm, 38,2% συγκριτικά με το μάρτυρα. Οι επεμβάσεις με γλουτένη αραβοσίτου + Nitrostim®, γλουτένη αραβοσίτου + *Saccharomyces cerevisiae*,

αλεύρου ρυζιού + Nitrostim® αλλά και αλεύρου ρυζιού + μαγιά φαίνεται ότι είχαν παρόμοια επίδραση στο λόγο φθορισμού χλωροφύλλης για την ελαιοκράμβη, προκαλώντας μείωση 9,2% σε σχέση με το φυτό – μάρτυρα.



Γράφημα 4.24: Μετρήσεις ύψους ανά φυτό ελαιοκράμβης την 36η ημέρα μετά την εφαρμογή. Οι τιμές έχουν υπολογιστεί ως ποσοστό επί του μάρτυρα. Οι τιμές περιλαμβάνουν τους μέσους όρους ανά μεταχείριση με το τυπικό σφάλμα. Οι μεταχειρίσεις εφόσον φέρουν διαφορετικό λατινικό γράμμα, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Σύμφωνα με τα δεδομένα που προέκυψαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των μέσων των επεμβάσεων, φαίνεται ότι το ύψος για τα φυτά της ελαιοκράμβης επηρεάστηκε από τις διαφορετικές επεμβάσεις. Πιο συγκεκριμένα, η χαμηλότερη τιμή (18% χαμηλότερο ύψος από το φυτό – μάρτυρα) παρατηρείται στην επέμβαση T2, όπου εφαρμόστηκε γλουτένη αραβοσίτου. Ακολουθεί η επέμβαση T7, η οποία μείωσε το ύψος κατά 12% εν συγκρίσει με το μάρτυρα. Η εφαρμογή με άλευρο ρυζιού + *Bacillus amyloliquefasciens* (T9) δεν φαίνεται να επηρέασε σημαντικά το ύψος των φυτών της

ελαιοκράμβης. Αξίζει να σημειωθεί πως μελετώντας το ύψος των φυτών καμία μεταχείριση δεν αύξησε το ύψος των φυτών κατά περισσότερο από 12,4% εν συγκρίσει με το μάρτυρα.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

5.1 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πρώτου πειράματος, οι μεταχειρίσεις ως επί το πλείστο ήταν αποτελεσματικές κατά τη διαχείριση των ζιζανίων. Τόσο στο βρόμο, όσο και στην ήρα και την αγριοβρόμη οι μεταχειρίσεις με τα φυτοπαθογόνα βακτήρια μείωσαν σημαντικά τις τιμές του NDVI, τις τιμές φθορισμού της χλωροφύλλης, αλλά και το ξηρό βάρος των ζιζανίων. Σε ορισμένες περιπτώσεις μάλιστα η μείωση αυτή ξεπέρασε το 80%.

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, τα βακτήρια *Pseudomonas fluorescens* και *Pseudomonas aeruginosa* συγκαταλέγονται στα δυναμικά βιοζιζανιοκτόνα. Πολλοί ερευνητές έχουν τεκμηριώσει τη ζιζανιοκτόνο ισχύ της *Pseudomonas* ως εκμεταλλεύσιμου βιολογικού παράγοντα ελέγχου ζιζανίων (Zermane et al., 2007; Caldwell et al., 2012; Dumonceaux et al., 2014; Mupondwa et al., 2015). Τα στελέχη τους αποικίζουν το μεσοκυττάριο χώρο στις ρίζες των ζιζανίων και με τοξίνες που παράγουν επηρεάζουν την ανάπτυξη του φυτού αναστέλλοντας τη βιοσύνθεση της κυτταρικής μεμβράνης στα κύτταρα της ρίζας (Tekiel, 2020a). Οι φυτοτοξίνες από ορισμένα είδη *Pseudomonas* έχουν χρησιμοποιηθεί στη διαχείριση ζιζανίων λόγω της εκλεκτικότητάς τους και του δυναμικού εύρους ξενιστών τους. Το *P. fluorescens* χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία για τη βιολογική καταπολέμηση της *Setaria viridis* L. (Caldwell et al., 2012). Επιπλέον, οι φυτοτοξίνες του *P. fluorescens* (Gurusiddaiah et al., 1994) και του *Pseudomonas syringae* (Gealy et al., 1996) αναφέρθηκαν επίσης στη βιβλιογραφία ότι καταστέλλουν τη βλάστηση και την πρώιμη ανάπτυξη της ρίζας του *Bromus tectorum*. Στο βρόμο υπάρχουν αρκετές αναφορές για αποτελεσματική διαχείριση του ζιζανίου με χρήση των εν λόγω μικροοργανισμών. Σε πειράματα που πραγματοποίησαν σε τρυβλία Petri και σε θαλάμους ανάπτυξης οι Johnson et al. (1993) και οι Ibekwe et al. (2010) κατέγραψαν τη ζιζανιοκτόνο δράση του *P. fluorescens*. Σε συνθήκες αγρού, ο Kennedy (2017) ανέφερε πως η εφαρμογή σκευασμάτων που περιέχουν στελέχη του *P. fluorescens* σε νεαρά φυτά βρόμου μπορούν να μειώσουν τη βιομάζα τους και την ανάπτυξη της ρίζας κατά 20%. Παρεμφερή αποτελέσματα καταγράφηκαν και στην παρούσα μελέτη (Γράφημα 4.3) όπου η εφαρμογή των *P. fluorescens* και *P. aeruginosa* περιόρισε τη βιομάζα των φυτών του βρόμου κατά 40% και 70% αντιστοίχως, εν συγκρίσει με το μάρτυρα. Ωστόσο, σε άλλες μελέτες δε παρατηρήθηκε κάποια ουσιαστική δράση του *P. fluorescens* στην ανάπτυξη του ζιζανίου

(Reinhart et al., 2020; Tekiela, 2020b). Οι διαφορές στην αποτελεσματικότητα του μικροοργανισμού μπορεί να οφείλονται στα διαφορετικά μικροβιακά σκευάσματα, τις διαφορές στην εφαρμογή ή και τα διαφορετικά στελέχη των βακτηρίων αυτών (Tekiela, 2020a). Ο Mejri (2010) διαπίστωσε ότι η ξηρή βιομάζα του βρόμου μειώθηκε σε φυτά που είχαν επιμολυνθεί με *Pseudomonas trivialis*. Ομοίως με το βρόμο, θετικά αποτελέσματα αναφέρονται στη βιβλιογραφία και για τη διαχείριση αγριοβρώμης. Σε μελέτη τους οι Jaffar et al. (2023) βρήκαν ότι τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas* μπορούν να μειώσουν τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα σε φυτά αγριοβρώμης κατά 26%. Στην παρούσα μελέτη, η εφαρμογή σκευασμάτων που περιείχαν στελέχη *P. fluorescens* και *P. aeruginosa* μείωσε τις τιμές φθορισμού της χλωροφύλλης κατά 20% και 50% αντίστοιχα. Ωστόσο, πρέπει να αναφερθεί ότι στη μελέτη τους οι Jaffar et al. (2023) χρησιμοποίησαν συνθετικά ζιζανιοκτόνα παράλληλα με τα βιοζιζανιοκτόνα που περιείχαν βακτήρια *Pseudomonas*. Ακόμα, μελέτες αναφέρουν τη δυνατότητα διαχείρισης ήρας με τα βακτήρια αυτά (Canadian Intellectual Property Office, 2006), ωστόσο η βιβλιογραφία είναι ελλιπής. Σύμφωνα με τους Adetunji et al. (2017), ο φυτοτοξικός μεταβολίτης που παρήγαγε η *P. aeruginosa* προκάλεσε νεκρωτική επιφάνεια 3,5 mm² και 2,7 mm² ($P \leq 0,05$) στα φύλλα της *Chromolaena odorata* και της *Echinochola crus-galli*, αντίστοιχα, όχι όμως στα φύλλα του σόργου. Οι ίδιοι (2019) παρατήρησαν ότι το ακατέργαστο εκχύλισμα που λαμβάνεται από το στέλεχος *P. aeruginosa* C1501 παρουσίασε ασήμαντη φυτοτοξικότητα σε καλλιέργειες σόργου, βρώμης και ρυζιού αλλά ήταν ιδιαίτερα φυτοτοξικό στα ζιζάνια *Amaranthus hybridus*, *Parthenium hysterophorus* L., *Tridax procumbens* L., *Trifolium incarnatum* L., *Coccinia grandis* L. και στο *Datura stramonium* L.. Ο Lawrence (2019) διαπίστωσε αισθητή μείωση του μήκους των ριζών και των βλαστών του *Pennisetum purpureum* κατά την εφαρμογή μεταβολιτών που παράγονται από την *Pseudomonas*, οι οποίοι αργότερα συνδέθηκαν με παραγωγή HCN.

Τα βακτήρια του γένους *Bacillus* μπορούν να καταστείλουν την ανάπτυξη των ζιζανίων παράγοντας φυτοορμόνες οι οποίες επηρεάζουν διάφορες βιοχημικές διαδικασίες ανάπτυξης των φυτών (Dahiya et al., 2019). Έχει αναφερθεί ότι η υψηλή συγκέντρωση φυτοορμονών επηρεάζει αρνητικά τη βλάστηση και την ανάπτυξη των ζιζανίων (Barazani & Friedman, 1999). Το ALA που παράγεται από ριζοβακτήρια έχει επίσης αναφερθεί ως αποτελεσματικό φυσικό βιοδιασπώμενο ζιζανιοκτόνο μαζί με την αυξητική του επίδραση σε διάφορες καλλιέργειες και λαχανικά (Sasikala et al., 1994). Στην παρούσα μελέτη η εφαρμογή των βακτηρίων αυτών μείωσε σημαντικά τις τιμές

του NDVI και του φθορισμού της χλωροφύλλης και στα τρία είδη ζιζανίων, κάτι που πιθανώς υποδεικνύει μειωμένη φωτοσυνθετική δραστηριότητα και αιτιολογεί και τη σημαντική μείωση της βιομάζας των ζιζανίων. Παρεμφερή αποτελέσματα έχουν καταγραφεί στην διεθνή βιβλιογραφία, ομολογουμένως όχι για τα τρία είδη που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη αλλά για συγγενικά τους είδη. Ενδεικτικά, οι Li et al. (2021) και οι Dahiya et al. (2021) βρήκαν ότι τα βακτήρια του γένους *Bacillus* μειώνουν σημαντικά (κατά 75%) τόσο την βλαστικότητα των σπόρων αγριοβρώμης (*A. fatua*) σε καλλιέργεια σιταριού όσο και τη βιομάζα των ζιζανίων που έχουν αναπτυχθεί, υποστηρίζοντας ότι οι δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από *Bacillus* sp. στο έδαφος της ριζόσφαιρας του σιταριού είχαν ζιζανιοκτόνο δράση. Οι Tawfik et al. (2019) διαπίστωσαν ότι βακτήρια του γένους *Bacillus* μείωσαν το νωπό βάρος των ζιζανίων *Convolvulus arvensis* και *Portulaca oleracea*, κατά 35,6% και 38,4%, αντίστοιχα. Οι Verdugo et al. (2021) διαπίστωσαν ότι απομονώσεις του *Bacillus* sp. επηρέασαν αρνητικά την ανάπτυξη των σποροφύτων του *Amaranthus palmeri*, χωρίς να επηρεάζουν το φύτρωμα και την ανάπτυξη του αραβοσίτου και του κοινού φασολιού. Οι Mendoza et al. (2012) αξιολόγησαν τις επιδράσεις τριών διαφορετικών στελεχών *B. subtilis* στη βλάστηση σπόρων ζιζανίων *Amaranthus hybridus* και *Sorghum halepense*, όπου παρατήρησαν μείωση του ποσοστού βλάστησης (περίπου 50% και για τα δύο είδη) σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Επιπλέον, οι παραγόμενοι μεταβολίτες του *Bacillus velezensis* αποδείχθηκαν σημαντικά αποτελεσματικοί στην αναστολή της ανάπτυξης του *Amaranthus hybridus* (Schein et al., 2022). Έχει βρεθεί ότι ένα ευρύ φάσμα αντιμικροβιακών ουσιών παράγεται από τους *Brevibacillus brevis*, *B.licheniformis*, *B.pumilus* (Munimbazi & Bullerman, 1998), *B. amyloliquefaciens* (Souto et al., 2004), και *B. Cereus* (Timmusk et al., 2005). Στο σημείο αυτό, αξίζει να αναφερθεί ότι οι περισσότεροι ερευνητές εστιάζουν στις αντιβιοτικές ικανότητες των βάκιλλων, καθώς και στην ιδιότητά τους ως Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB). Τα PGPB εκτός από τη μείωση των ανασταλτικών επιδράσεων διαφόρων παθογόνων παραγόντων στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτών (δρώντας δηλαδή ως βακτήρια βιοελέγχου), μπορούν να προάγουν την ανάπτυξη των φυτών είτε διευκολύνοντας την απόκτηση πόρων είτε ρυθμίζοντας τα επίπεδα των φυτικών ορμονών (Glick, 1995). Όταν προστίθενται στα φυτά, οι PGPB μπορεί να χρησιμοποιούν μία ή περισσότερες από πολλές διαφορετικές μηχανιστικές στρατηγικές σε μια προσπάθεια να βοηθήσουν το φυτό να προσαρμόσει το μεταβολισμό του για να ξεπεράσει το στρες. Αυτό πιθανώς να γίνεται αντιληπτό στο δεύτερο πείραμα, όπου συνυπήρχαν δύο είδη φυτών (καλλιέργεια – ζιζάνιο) στα

φυτοδοχεία (Σιτάρι – Ήρα και Ελαιοκράμβη – Ήρα). Στις επεμβάσεις όπου εφαρμόστηκε *Bacillus amyloliquefasciens* (T4, T9, T13) παρατηρούνται αρκετές τιμές ίδιες με το μάρτυρα και σε κάποιες περιπτώσεις ελαφρώς καλύτερες (Γράφημα 4.24). Αυτό ενδεχομένως να υποδεικνύει ότι τα φυτά σιταριού και ελαιοκράμβης διαχειρίστηκαν καλύτερα το πιθανό στρες που προκλήθηκε από τον ανταγωνισμό της καλλιέργειας με την ήρα.

Τέλος, η χρήση των επιφανειοδραστικών σκευασμάτων Trend® και Codacide® επηρέασε τα αποτελέσματα σημαντικά στις περισσότερες των περιπτώσεων. Ιδιαίτερα στην περίπτωση του *P. fluorescens* όπου εφαρμόστηκε σε συνδυασμό με το σκεύασμα Trend®. Το εύρημα αυτό είναι σύμφωνο με τη βιβλιογραφία καθώς οι επιφανειοδραστικές ουσίες είναι γνωστό ότι βελτιώνουν την αποτελεσματικότητα των βιοζιζανιοκτόνων μεταβάλλοντας τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες (Hasan et al., 2021). Σύμφωνα με μελέτη των Deveau et al. (2018) όταν τα επιφανειοδραστικά αναμιγνύονται κατάλληλα με ένα υδατικό εναιώρημα ενός βακτηριακού, τα βακτήρια εισβάλλουν αποτελεσματικότερα στα φύλλα των φυτών, ενώ παράλληλα επεκτείνεται και το εύρος των ξενιστών τους. Η χρήση βιοδιεργετών αντίθετα δεν φαίνεται να επέφερε κάποια σημαντική βελτίωση στη δραστηριότητα των βακτηριακών σκευασμάτων.

Όσον αφορά το δεύτερο πείραμα, τα αποτελέσματα ήταν σε γενικές γραμμές παρεμφερή με τα αντίστοιχα του πρώτου. Στο σιτάρι οι μεταχειρίσεις επηρέασαν τόσο το NDVI, όσο και το φθορισμό χλωροφύλλης, αλλά όχι το ύψος. Στο NDVI και στο φθορισμό χλωροφύλλης γενικά το CGM και το αλεύρι του ρυζιού φάνηκε να δρουν αρνητικά στο σιτάρι. Αυτό ωστόσο δε μεταφράζεται στα αγρονομικά χαρακτηριστικά του σιταριού, συνεπώς λογικά οι διαφορές αυτές στο NDVI και στο φθορισμό χλωροφύλλης δεν μπορούν να θεωρηθούν αρκετά σημαντικές σε επίπεδο καλλιέργειας. Αντίθετα στην ελαιοκράμβη οι μεταχειρίσεις επηρέασαν τα αγρονομικά χαρακτηριστικά των φυτών. Πιο συγκεκριμένα, η εφαρμογή γλουτένης αραβοσίτου φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά τα φυτά της ελαιοκράμβης σε όλους τους πιθανούς συνδυασμούς συνεφαρμογής άλλων βιολογικών παραγόντων (PSDMFL, BACIAM, Nitrostim®, SACCCE). Ομοίως και στην ήρα όλες οι μετρήσεις δείχνουν πως οι μεταχειρίσεις επηρέασαν αρνητικά τα φυτά. Τα ευρήματα που αφορούν τα σκευάσματα βακτηρίων βρίσκονται σε συμφωνία με τα αντίστοιχα του πρώτου πειράματος. Το CGM έχει παρατηρηθεί πως καταστέλλει τα ζιζάνια και δρα ως προφυτρωτικό ζιζανιοκτόνο, και μάλιστα η βιβλιογραφία προτείνει πως αυτό συμβαίνει γιατί παρεμποδίζει την ανάπτυξη της ρίζας (Christians, 1993). Σε

μελέτες θερμοκηπίου, ο Bingaman (1995) διαπίστωσε ότι η γλουτένη αραβοσίτου μείωσε την επιβίωση των φυτών, το μήκος των βλαστών και την ανάπτυξη των ριζών για 22 είδη ζιζανίων που εξετάστηκαν, είτε εφαρμόστηκε στην επιφάνεια του εδάφους ως προφυτρωτικό ζιζανιοκτόνο είτε αναμείχθηκε στην κορυφή του εδάφους. Επίσης, σύμφωνα με τους Herbert και Lyons (2011), το χαμηλό ποσοστό διάλυσης της γλουτένης καλαμποκιού μπορεί να περιορίσει το διαθέσιμο φυσικό χώρο για τη βλάστηση των σπόρων των ζιζανίων. Ομοίως για το ρυζάλευρο, τα υπολείμματα ρυζιού περιέχουν φαινολικά οξέα, όπως p-υδροξυβενζοϊκό, p-κουμαρικό, συριγγικό βανιλικό, φερουλικό και ο-υδροξυφαινυλακετικό οξύ και άλλες αυτοτοξίνες (Chou & Lin, 1976). Οι ενώσεις αυτές έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλουν την ανάπτυξη των ζιζανίων σε ορυζώνες και αυξάνουν την απόδοση του ρυζιού (Xuan et al., 2005). Για αυτό το ρυζάλευρο μπορεί να χρησιμοποιηθεί άμεσα ως συστατικό ενός προγράμματος ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων (Khamare et al., 2022). Στην περίπτωση της ήρας, η εφαρμογή σκέτου ρυζάλευρου (T7) φαίνεται να περιορίσει σημαντικά όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (Γραφήματα 4.16, 4.17, 4.18).

Παράλληλα, η εφαρμογή βιοδιεγέρτη αντιτάχθηκε αποτελεσματικά στη δράση των άλλων επεμβάσεων. Χαρακτηριστικά, στην ελαιοκράμβη η επέμβαση με CGM μείωσε το ύψος των φυτών κατά 20%. Η παράλληλη εφαρμογή όμως CGM και βιοδιεγέρτη δεν επέφερε σημαντικές διαφορές στο ύψος της ελαιοκράμβης ενώ ταυτόχρονα κατέστειλε πλήρως τα ζιζάνια. Αυτή η παρατήρηση συμβαδίζει με τα ευρήματα των Kanatas et al. (2022) που πρότειναν πως η χρήση βιοδιεγερτών σε συνδυασμό με ζιζανιοκτόνα σκευάσματα μπορεί να βελτιώσει τις αποδόσεις σε αρκετές καλλιέργειες. Οι Matysiak et al. (2018) έδειξαν ότι στην πλειονότητα των περιπτώσεων, η συνδυασμένη χρήση βιοδιεγερτών με ζιζανιοκτόνα ήταν επωφελής για την καλλιέργεια σε σύγκριση με το μάρτυρα, με αύξηση της απόδοσης έως και 18,3% ανάλογα με το βιοδιεγέρτη, το ζιζανιοκτόνο, το έτος και τη μέθοδο εφαρμογής (μείγμα ή διαδοχικά). Στο σιτάρι και την πατάτα, η συνδυασμένη χρήση βιοδιεγερτών με ζιζανιοκτόνα πέτυχε αύξηση της απόδοσης έως και 14,7% σε σύγκριση με τα ζιζανιοκτόνα. Ταυτόχρονα, φάνηκε να υπάρχει περιορισμένος ανταγωνισμός μεταξύ των περισσότερων ζιζανιοκτόνων και βιοδιεγερτικών, έτσι ώστε στις περισσότερες περιπτώσεις να διατηρείται ο έλεγχος των ζιζανίων. Η ποιότητα των καλλιεργειών βελτιώθηκε επίσης με παραμέτρους όπως η γλουτένη, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στο σιτάρι και η περιεκτικότητα σε άμυλο και πρωτεΐνες στην πατάτα (Ginter 2022; Matysiak 2018). Εδώ βέβαια πρέπει να αναφερθεί

ότι τα ζιζανιοκτόνα ήταν χημικά. Η βιβλιογραφία σχετικά με τη συνδυασμένη δράση βιοδιεγερτών και βιολογικών ζιζανιοκτόνων είναι ελλιπής.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης οι μετρήσεις NDVI συμβάδιζαν με αυτές της χλωροφύλλης και του βάρους. Η δράση των βιοζιζανιοκτόνων φαίνεται από τη μείωση της βιομάζας. Κατ' επέκταση οι μετρήσεις NDVI επιβεβαιώνουν τη χρησιμότητα του δείκτη αυτού ως μέσο ένδειξης της κατάστασης των φυτών και της αποτελεσματικότητας των σκευασμάτων διαχείρισης ζιζανίων. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνει για μια ακόμη φορά τα ευρήματα των Kanatas et al. (2023) που κατέληξαν ότι το NDVI μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αξιόπιστος, μη υποκειμενικός δείκτης της αποτελεσματικότητας και της επιλεκτικότητας των ζιζανιοκτόνων σε χειμερινά σιτηρά, αλλά και σε άλλες καλλιέργειες.

Συνοψίζοντας, μέσα από την παρούσα μελέτη αναδεικνύεται το δυναμικό των φυτοπαθογόνων βακτηρίων και των φυσικών προϊόντων ως εργαλεία στη διαχείριση των ζιζανίων. Το ενδιαφέρον για τις βιολογικές μεθόδους αντιμετώπισης ζιζανίων έχει ενταθεί τα τελευταία χρόνια και αναμένεται να αυξηθεί ακόμη περισσότερο λόγω της ευρωπαϊκής «Πράσινης Συμφωνίας» (EU Green Deal). Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για τη διερεύνηση περισσότερων φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών και φυσικών ουσιών για το βιολογικό έλεγχο ενός ευρύτερου φάσματος ειδών ζιζανίων.

5.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Οι διαφυλλικές εφαρμογές των βακτηρίων μείωσαν το δείκτη NDVI, το λόγο Fv/Fm και τη βιομάζα των ζιζανίων στη παρούσα μελέτη.
- Παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις στις αποκρίσεις των 3 ειδών στις απλές εφαρμογές (χωρίς προσθήκη επιφανειοδραστικών) των διαφορετικών βακτηρίων.
- Η προσθήκη των επιφανειοδραστικών στο ψεκαστικό υγρό αύξησε την αποτελεσματικότητα των εφαρμογών και στα 3 είδη.
- Η εφαρμογή βακτηρίων μαζί με επιφανειοδραστικές ουσίες ικανές να διεισδύουν σε στομάτια και μικροπληγές επιτρέπει τη συνεχή μόλυνση των ζιζανίων-ξενιστών.
- Η εφαρμογή γλουτένης αραβοσίτου φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά τα φυτά της ελαιοκράμβης σε όλους τους πιθανούς συνδυασμούς συνεφαρμογής άλλων βιολογικών παραγόντων (PSDMFL, BACIAM, Nitrostim®, SACCCCE). Ομοίως και στην ήρα.
- Είναι αναγκαία η αξιολόγηση περισσότερων βακτηρίων και μικροοργανισμών γενικότερα για την ανάπτυξη φυσικών ζιζανιοκτόνων σε ένα ευρύτερο φάσμα ειδών ζιζανίων.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική

Ελευθεροχωρινός Η. (2008). Ζιζανιολογία: Ζιζάνια, Ζιζανιοκτόνα, Περιβάλλον, Αρχές και Μέθοδοι Διαχείρισης. Εκδόσεις Αγρότυπος, Αθήνα, σελ. 333-359.

Ζιώγας, Β. Ν., Α. Ν. Μαρκόγλου. 2007. Γεωργική Φαρμακολογία. Βιοχημεία, Μηχανισμοί Δράσης και Χρήσεις των Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων.

Η. Τραυλός, Π.Κανάτας 2022. Ζιζανιολογία & Γεωργία. Εκδόσεις Πεδίο, Αθήνα, σελ 131-198.

Ξενόγλωσση

Abouziena, H. F., Omar, A. A., Sharma, S. D., & Singh, M. (2009). Efficacy comparison of some new natural-product herbicides for weed control at two growth stages. *Weed Technology*, 23(3), 431-437.

Adetunji, C. O., Oloke, J. K., Prasad, G., & Akpor, O. B. (2017). ENVIRONMENTAL INFLUENCE OF CULTURALMEDIUM ON BIOHERBICIDAL ACTIVITIES OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA C1501ON MONO AND DICO WEEDS. *Polish Journal of Natural Sciences*, 32(4), 659-670.

Anderson, R. C., & Gardner, D. E. (1999). An evaluation of the wilt-causing bacterium *Ralstonia solanacearum* as a potential biological control agent for the alien kahili ginger (*Hedychium gardnerianum*) in Hawaiian forests. *Biological Control*, 15(2), 89-96.

Åström, B., & Gerhardson, B. (1989). Wheat cultivar reactions to deleterious rhizosphere bacteria under gnotobiotic conditions. *Plant and Soil*, 117, 157-165.

Barazani O, Friedman J. Allelopathic bacteria and their impact on higher plants. *Crit Rev Plant Sci*. 1999;18:741–755.

Berger, S., Sinha, A. K., & Roitsch, T. (2007). Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant–pathogen interactions. *Journal of experimental botany*, 58(15-16), 4019-4026.

Bettgenhaeuser, J., Gilbert, B., Ayliffe, M., & Moscou, M. J. (2014). Nonhost resistance to rust pathogens—a continuation of continua. *Frontiers in plant science*, 5, 664.

Bewick, T. A., Porter, J. C., & Ostrowski, R. C. (2000). Smolder™: A bioherbicide for suppression of dodder (*Cuscuta* spp.). In Proceedings of the Annual Meeting-Southern Weed Science Society (Vol. 53, pp. 152-152).

Bingaman, B. R., & Christians, N. E. (1995). Greenhouse screening of corn gluten meal as a natural control product for broadleaf and grass weeds. *HortScience*, 30(6), 1256-1259.

Boyette, C. D., & Hoagland, R. E. (2015). Bioherbicidal potential of *Xanthomonas campestris* for controlling *Conyza canadensis*. *Biocontrol Science and Technology*, 25(2), 229-237.

Canadian Intellectual Property Office (2006). Biocontrol of weeds using *Pseudomonas* compositions. Available online: <https://patentimages.storage.googleapis.com/e3/78/97/66edc39ddff948/CA2377054C.pdf>

Charudattan, R., & Hiebert, E. (2007). A plant virus as a bioherbicide for tropical soda apple, *Solanum viarum*. *Outlooks on Pest Management*, 18(4), 167.

Chou, C., Lin, H. (1976). Auto-intoxication mechanism of *Oryza sativa* i. phytotoxic effects of decomposing rice residues in soil. *J. Of Chem. Ecol.* 2 (3), 353–367

Christians, N. E. (1993). The use of corn gluten meal as a natural preemergence weed control in turf. *Intl. Turfgrass Soc. Res. J.*, 7, 284-290.

Cordeau, S., Triolet, M., Wayman, S., Steinberg, C., & Guillemin, J. P. (2016). Bioherbicides: Dead in the water? A review of the existing products for integrated weed management. *Crop protection*, 87, 44-49.

Cox C (2006) Ten reasons not to use pesticides. *Journal of Pesticide Reform* 26, 10-12

Cox, C. A. R. O. L. I. N. E. (2005). Corn gluten meal—a natural lawn care herbicide. *Journal of Pesticide Reform* 25 (4): 6, 7.

Cullen, J. M., Kable, P. F., & Catt, M. (1973). Epidemic spread of a rust imported for biological control. *Nature*, 244(5416), 462-464.

Culliney, T.W., (2005). Benefits of classical biological control for managing invasive plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 24 (2), 131–150.

Dahiya, A., Sharma, R., Sindhu, S., & Sindhu, S. S. (2019). Resource partitioning in the rhizosphere by inoculated *Bacillus* spp. towards growth stimulation of wheat and

suppression of wild oat (*Avena fatua* L.) weed. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25, 1483-1495.

Dahiya, A.; Sharma, R.; Sindhu, S.; Sindhu, S.S. Resource partitioning in the rhizosphere by inoculated *Bacillus* spp. towards growth stimulation of wheat and suppression of wild oat (*Avena fatua* L.) weed. *Physiol. Mol. Biol. Plants* **2019**, 25,1483–1495

DeValerio, J. T., & Charudattan, R. (1999). Field testing of *Ralstonia solanacearum*

[Smith] Yabuuchi et al. as a biocontrol agent for tropical soda apple (*Solanum viarum* Dunal). In Weed Science Society of America Abstracts (Vol. 39, p. 70).

Deveau, A., Bonito, G., Uehling, J., Paoletti, M., Becker, M., Bindschedler, S., ... & Wick, L. Y. (2018). Bacterial–fungal interactions: ecology, mechanisms, and challenges. *FEMS microbiology reviews*, 42(3), 335-352.

Domanskaya, O. V., Bome, N. A., Iashnikov, A. V., Vasilchenko, A. V., & Vasilchenko, A. S. (2021). The Multiple Activities and the Plant Beneficial Potential of *Bacillus* spp. Derived from the Permafrost of Western Siberia. *Agronomy*, 11(11), 2347.

Douglas Boyette, C., Bowling, A. J., Vaughn, K. C., Hoagland, R. E., & Stetina, K. C. (2010). Induction of infection in *Sesbania exaltata* by *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* formulated in an invert emulsion. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 951-956.

Egamberdieva, D. (2009). Alleviation of salt stress by plant growth regulators and IAA producing bacteria in wheat. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(4), 861-864.

Ferrell, J., Charudattan, R., Elliott, M., & Hiebert, E. (2008). Effects of selected herbicides on the efficacy of Tobacco mild green mosaic virus to control tropical soda apple (*Solanum viarum*). *Weed science*, 56(1), 128-132.

Gasquez J. (1997). Genetics of herbicide resistance within weeds. Factors of evolution, inheritance and fitness. In De Prado, J. Jorrin and L. Garcia-Torres (ed.). *Weed and Crop Resistance to Herbicides*. Kluwer Academic Publishers: 181-189.

B. R. Glick, “The enhancement of plant growth by free-living bacteria,” *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 41, no. 2, pp. 109–117, 1995.

Hasan, M., Ahmad-Hamdani, M. S., Rosli, A. M., & Hamdan, H. (2021). Bioherbicides: An eco-friendly tool for sustainable weed management. *Plants*, 10(6), 1212.

Heap I. (2010) International Survey of Herbicide Resistant Weeds (ISHRW) <http://www.weedscience.com>

Hebert, F., & Lyons, E. (2011). What is the future for Corn Gluten Meal Based products for Controlling Weeds.

Hoagland, R. E., Boyette, C. D., Weaver, M. A., & Abbas, H. K. (2007). Bioherbicides: research and risks. *Toxin Reviews*, 26(4), 313-342.

Hynes, R. K., & Boyetchko, S. M. (2006). Research initiatives in the art and science of biopesticide formulations. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(4), 845-849.

Ibekwe, A. M., A. C. Kennedy, and T. L. Stubbs. 2010. An assessment of environmental conditions for 308 control of downy brome by *Pseudomonas fluorescens* D7. *International Journal of Environmental 309 Technology and Management* 12:27-46.

Jaffar, M. T., Zahir, Z. A., Zhang, J., Dar, A., Ayyub, M., & Asghar, H. N. (2023). Harmonious impacts of allelopathic bacteria with chemical herbicides for sustainable production of wheat (*Triticum aestivum* L.) under wild oat (*Avena fatua* L.) infestation. *Italian Journal of Agronomy*.

Jallouli, W., Driss, F., Fillaudeau, L., & Rouis, S. (2020). Review on biopesticide production by *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki since 1990: Focus on bioprocess parameters. *Process Biochemistry*, 98, 224-232.

Johnson, B. N., A. C. Kennedy, and A. G. Ogg. 1993. Suppression of downy brome growth by a 312 rhizobacterium in controlled environments. *Soil Science Society of America Journal* 57:73-77. 313 Kennedy, A. C. 2016. *Pseudomonas fluorescens* strains selectively suppress annual bluegrass (*Poa annua* 314 L.). *Biological Control* 103:210-217.

Kanatas, P., Gazoulis, I., Antonopoulos, N., Tataridas, A., & Travlos, I. (2023). The Potential of a Precision Agriculture (PA) Practice for In Situ Evaluation of Herbicide Efficacy and Selectivity in Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.). *Agronomy*, 13(3), 732.

Kanatas, P., Travlos, I., Gazoulis, I., Antonopoulos, N., Tataridas, A., Mpechliouli, N., & Petraki, D. (2022). Biostimulants and Herbicides: A Promising Approach towards Green Deal Implementation. *Agronomy*, 12(12), 3205.

Kende, H. (1993). Ethylene biosynthesis. *Annual review of plant biology*, 44(1), 283-307.

Kennedy, A. C. 2017. *Pseudomonas* species having weed-suppressive activity and benign soil survival 316 traits for annual grass weed management.). United States Patent. USA: The United States of America, as 317 represented by the Secretary of Agriculture

Khamare, Y., Chen, J., & Marble, S. C. (2022). Allelopathy and its application as a weed management tool: A review. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1034649.

Lawrance, S., Varghese, S., Varghese, E. M., & Asok, A. K. (2019). Quinoline derivatives producing *Pseudomonas aeruginosa* H6 as an efficient bioherbicide for weed management. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18, 101096.

LeBaron H.M. & Gressel J. (1982) *Herbicide Resistance in Plants*. Wiley, New York

Li Y, Sun Z, Zhuang X, Xu L, Chen S, and Li M (2003) Research progress on microbial herbicides. *Crop Protection* 22, 247-252.

Li, W., Shen, S., & Chen, H. (2021). Bio-herbicidal potential of wheat rhizosphere bacteria on *Avena fatua* L. grass. *Bioengineered*, 12(1), 516-526.

Li, W.; Shen, S.; Chen, H. Bio-herbicidal potential of wheat rhizosphere bacteria on *Avena fatua* L. grass. *Bioengineered* **2021**, 12, 516–526

Liu, D. L. Y., & Christians, N. E. (1994). Isolation and identification of root-inhibiting compounds from corn gluten hydrolysate. *Journal of Plant Growth Regulation*, 13, 227-230.

Liu, D. L. Y., Christians, N. E., & Garbutt, J. T. (1994). Herbicidal activity of hydrolyzed corn gluten meal on three grass species under controlled environments. *Journal of Plant Growth Regulation*, 13, 221-226.

Liu, D. L., & Christians, N. E. (1997). The use of hydrolyzed corn gluten meal as a natural preemergence weed control in turf. *Intl. Turfgrass Soc. Res. J*, 8, 1043-1050.

Martínez-Mendoza, E. K., & Mena-Violante, H. G. (2012). Effects of *Bacillus subtilis* extracts on weed seed germination of *Sorghum halepense* and *Amaranthus hybridus*. *African Journal of Microbiology Research*, 6(9), 1887-1892.

Matysiak, K.; Miziniak, W.; Kaczmarek, S.; Kierzek, R. Herbicides with natural and synthetic biostimulants in spring wheat. *Ciência Rural* 2018, 48

McDade, M. C., & Christians, N. E. (2000). Corn gluten meal—a natural preemergence herbicide: effect on vegetable seedling survival and weed cover. *American Journal of Alternative Agriculture*, 15(4), 189-191.

Mejri, D., Gamalero, E., & Souissi, T. (2013). Formulation development of the deleterious rhizobacterium *Pseudomonas trivialis* X33d for biocontrol of brome (*Bromus diandrus*) in durum wheat. *Journal of applied microbiology*, 114(1), 219-228.

Meksawat S and Pornprom T (2010) Allelopathic effect of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) on seed germination and plant growth. *Weed Biology and Management* 10, 16-24.

Moran, P. J. (2005). Leaf scarring by the weevils *Neochetina eichhorniae* and *N. bruchi* enhances infection by the fungus *Cercospora piaropi* on waterhyacinth, *Eichhornia crassipes*. *BioControl*, 50, 511-524.

Morin, L. (2020). Progress in biological control of weeds with plant pathogens. *Annual review of phytopathology*, 58, 201-223.

Morin, L., Evans, K. J., & Sheppard, A. W. (2006). Selection of pathogen agents in weed biological control: critical issues and peculiarities in relation to arthropod agents. *Australian Journal of Entomology*, 45(4), 349-365.

Morin, L., Jourdan, M., & Paynter, Q. (2000). The gloomy future of the broom rust as a biocontrol agent. In *Proceedings of the X International Symposium on Biological Control of Weeds* (pp. 633-638). Montana State University.

Mortensen, D. A., Egan, J. F., Maxwell, B. D., Ryan, M. R., & Smith, R. G. (2012). Navigating a critical juncture for sustainable weed management. *BioScience*, 62(1), 75-84.

Nagórska, K., Bikowski, M., & Obuchowski, M. (2007). Multicellular behaviour and production of a wide variety of toxic substances support usage of *Bacillus subtilis* as a powerful biocontrol agent. *Acta Biochimica Polonica*, 54(3), 495-508.

Naylor R.E.L. (2002). *Weed Management Handbook*. Blackwell Science, Oxford. p. 424.

Oerke, E. C., & Dehne, H. W. (2004). Safeguarding production—losses in major crops and the role of crop protection. *Crop protection*, 23(4), 275-285.

Oerke, E., C. (2006). Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43.

Pot V, Benoit P, Le Menn M., Eklo OM, Sveistrup T and Kvaerner J (2011) Metribuzin transport in undisturbed soil cores under controlled water potential conditions: experiments and modeling to evaluate the risk of leaching in a sandy loam soil profile. *Pest Management Science* 67, 397-407

Rao V.S. (2000). Principles of weed science (2nd ed.), Science Publishers, New York, p.526.

Reinhart, K. O., Carlson, C. H., Feris, K. P., Germino, M. J., Jandreau, C. J., Lazarus, B. E., ... & Valliant, M. (2020). Weed-suppressive bacteria fail to control *Bromus tectorum* under field conditions. *Rangeland Ecology & Management*, 73(6), 760-765.

Ryan G.F (1970). Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. *Weed Science* 18: 614-616.

Sasikala C, Ramana CV, Rao PR. 5-aminolevulinic acid: a potential herbicide/insecticide from microorganisms. *Biotechnol Program*. 1994;10:451–459

Sauerborn, J., Müller-Stöver, D., & Hershshorn, J. (2007). The role of biological control in managing parasitic weeds. *Crop protection*, 26(3), 246-254.

Schein, D., Santos, M. S., Schmaltz, S., Nicola, L. E., Bianchin, C. F., Ninaus, R. G., & Mazutti, M. A. (2022). Microbial Prospecction for Bioherbicide Production and Evaluation of Methodologies for Maximizing Phytotoxic Activity. *Processes*, 10(10), 2001.

Sheppard, A. W., Heard, T. A., & Briese, D. T. (2003). What is needed to improve the selection, testing and evaluation of weed biological control agents: workshop synthesis and recommendations. *CRC for Australian Weed Management: Technical Series*, (7), 87-100.

Tekiela, D. R. (2020a). Use of *Pseudomonas fluorescens* as a bioherbicide for cheatgrass and other invasive winter annual grass control. Available online: <https://www.uwyo.edu/ipm/files/docs/ag-ipm-docs/weed-ipm-docs/use-of-pseudomonas-fluorescens-as-a-bioherbicide-for-cheatgrass-and-other-invasive-winter-annual-grass-control.pdf>

Tekiela, D. R. (2020b). Effect of the bioherbicide *Pseudomonas fluorescens* D7 on downy brome (*Bromus tectorum*). *Rangeland Ecology & Management*, 73(6), 753-755.

Tessmann, D. J., Charudattan, R., & Preston, J. F. (2008). Variability in aggressiveness, cultural characteristics, cercosporin production and fatty acid profile of *Cercospora piaropi*, a biocontrol agent of water hyacinth. *Plant pathology*, 57(5), 957-966.

Verdugo-Navarrete, C., Maldonado-Mendoza, I. E., Castro-Martínez, C., Leyva-Madrigal, K. Y., & Martínez-Álvarez, J. C. (2021). Selection of rhizobacteria isolates with bioherbicide potential against Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri* S. Wats.). *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(3), 1443-1450.

Webber III, C. L., & Shrefler, J. W. (2006, December). Corn gluten meal and spring-transplanted onions (*Allium cepa* L.): crop safety, weed control, and yields. In National Allium Research Conference. College Station, TX: Texas A&M (pp. 87-97).

Xuan, T., Shinkichi, T., Khanh, T., Chung, I. (2005). Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant allelopathy: an overview. *Crop Prot.* 24 (3), 197–206

Yi, Y., Luan, P., Liu, S., Shan, Y., Hou, Z., Zhao, S., ... & Li, R. (2022). Efficacy of *Bacillus subtilis* XZ18-3 as a Biocontrol Agent against *Rhizoctonia cerealis* on Wheat. *Agriculture*, 12(2), 258.