

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ



‘ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ ΚΥΡΤΟΚΑΡΠΗΣ ΚΟΛΛΗΤΣΙΔΑΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΙ ΣΕ
ΖΙΖΑΝΙΟΚΤΟΝΑ-ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ENZYMOY ALS’

Υπεύθυνος Καθηγητής: Αριστείδης Π. Παπαπαναγιώτου

Φοιτητής: Αναστάσιος Κατής (FG31549)

Φλώρινα, 2023

Δήλωση περί μη λογοκλοπής

Δηλώνω ότι είμαι ο συγγραφέας της παρούσας εργασίας με τίτλο 'Πληθυσμοί κυρτόκαρπης κολλητούδας ανθεκτικοί σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS', η οποία συντάχθηκε στα πλαίσια της πτυχιακής μου εργασίας και παραδόθηκε το μήνα Φεβρουάριο του έτους 2023. Η αναφερόμενη εργασία δεν αποτελεί αντιγραφή, ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται σαφώς στη βιβλιογραφία και στο κείμενο, ενώ κάθε εξωτερική βιόθεια, αν υπήρξε, αναγνωρίζεται ρητά.

Όνομα (κεφαλαία)

AM

Υπογραφή:

ΚΑΤΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ

FG31549

Ημερομηνία: 8/2/2023

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σε πειράματα φυτοδοχείων αξιολογήθηκαν 10 πληθυσμοί του είδους κυρτόκαρπη κολλητσίδα (*Galium tricornutum* D.) προερχόμενοι από αγρούς μονοκαλλιέργειας χειμερινού σιταριού, για την πιθανότητα επιλογής ανθεκτικότητας και σταυρανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα tribenuron methyl, pyroxsulam + florasulam και imazamox [αναστολείς της δράσης του ενζύμου οξικογαλακτική συνθάση (ALS)]. Επιπλέον, διερευνήθηκαν οι δυνατότητες εναλλακτικής χημικής καταπολέμησης των επιλεγμένων πληθυσμών κυρτόκαρπης κολλητσίδας με εφαρμογή μιγμάτων ALS-αναστολέων με ορμονικά ζιζανιοκτόνα με δράση αυξίνης (tribenuron methyl + mecoprop-P, florasulam + fluroxypyr, florasulam + aminopyralid) και τέλος του μίγματος του νιτριλίου bromoxynil με το φαινοξυαλκανοϊκό ζιζανιοκτόνο 2,4-D. Τα μίγματα αυτά είναι εγκεκριμένα για μεταφυτρωτικές εφαρμογές στις καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών για την καταπολέμηση πλατύφυλλων ζιζανίων. Οι πληθυσμοί εκτέθηκαν στη συνιστώμενη (X), διπλάσια (2X), τετραπλάσια (4X) και οκταπλάσια (8X) δόση των ALS-αναστολέων και στη συνιστώμενη (X) δόση των μιγμάτων τους με τα ζιζανιοκτόνα με δράση αυξίνης. Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκε και ένας ευαίσθητος πληθυσμός αναφοράς. Η εφαρμογή των επεμβάσεων πραγματοποιήθηκε με επιστήθιο ψεκαστήρα ακριβείας τύπου AZO, όταν τα φυτά του ζιζανίου βρίσκονταν στο στάδιο των 3-4 φύλλων. Κάθε επέμβαση είχε τρεις επαναλήψεις (φυτοδοχεία), ενώ το κάθε πείραμα επαναλήφθηκε δύο φορές. Όλοι οι πληθυσμοί εμφάνισαν υψηλής έντασης σταυρανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα tribenuron methyl, pyroxsulam + florasulam και imazamox Αντίθετα, πολλοί πληθυσμοί καταπολεμήθηκαν ικανοποιητικά με την εφαρμογή μιγμάτων των ALS-αναστολέων με ορμονικά ζιζανιοκτόνα με δράση αυξίνης στη συνιστώμενη δόση (X) εφαρμογής. Επιπλέον, η εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης του μίγματος των ζιζανιοκτόνων bromoxynil +2,4-D συνετέλεσε σε άριστη καταπολέμηση (100%) όλων των πληθυσμών κυρτόκαρπης κολλητσίδας.

Λέξεις κλειδιά: κυρτόκαρπη κολλητσίδα (*Galium tricornutum* D..), ALS-αναστολείς, σταυρανθετικότητα, σουλφονυλουρίες, ιπριαζολοπυριμιδίνες, ιμιδαζολινόνες, ορμονικά ζιζανιοκτόνα

ABSTRACT

Ten putative resistant threehorn bedstraw (*Galium tricornutum* D..) populations originating from winter wheat monoculture fields, were evaluated in whole-plant, pot experiments for possible evolution of ALS-inhibitor resistance and cross-resistance to the herbicides tribenuron methyl, pyroxsulam + florasulam and imazamox. Moreover, the possibilities of effective chemical control of the above mentioned threehorn bedstraw populations with the application of mixtures of ALS-inhibitors with hormone-type herbicides (tribenuron methyl + mecoprop-P, florasulam + fluoxypyr, florasulam + aminopyralid) and finally the mixture of the nitrile bromoxynil (photosynthesis inhibitor) with the phenoxyalcanoic 2,4-D (which are registered for post-emergence applications in winter small grain cereal crops) were also studied. The putative resistant threehorn bedstraw populations were exposed to the recommended (X), twice (2X), four times (4X) and eight times (8X) the recommended field rate of all ALS-inhibiting herbicides and to the recommended rate (X) of mixtures of ALS-inhibitors with auxinic herbicides. One herbicide susceptible (reference) population was also included in the present study. Herbicides were applied using a portable field plot AZO sprayer, when weeds reached the 3-4 leaf stage. Each treatment (herbicide by dose) had three replications (pots) and the experiment was performed twice. All populations studied, were highly cross-resistant to all ALS-inhibitors tested (tribenuron methyl, pyroxsulam + florasulam and imazamox). On the contrary, many threehorn bedstraw populations were effectively controlled with the application of the recommended (X) rate of tembotrione and dicamba. Moreover, the application of X rate of bromoxynil + 2,4-D resulted in excellent (100%) control of all threehorn bedstraw populations.

Key words: threehorn bedstraw (*Galium tricornutum* D..), ALS-inhibitors, cross-resistance, sulfonylureas, triazolopyrimidines, imidazolinones, hormone-type herbicides

Κεφάλαιο 1. ΜΟΝΟΓΡΑΦΙΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ ΚΥΡΤΟΚΑΡΠΗ ΚΟΛΛΗΤΣΙΔΑ

1.1 Βοτανική (συστηματική) κατάταξη

Η κυρτόκαρπη κολλητσίδα (*Galium tricornutum* Dandy) είναι ένα δικοτυλήδονο, ετήσιο χειμερινό φυτό με όρθια έκφυση, το οποίο ανήκει στην οικογένεια Rubiaceae (Bauer κ.ά., 2011) (Πίνακας 1). Απαντάται ως ιθαγενές είδος στην Ευρώπη και την Ασία (Βασιλάκογλου και Δήμας, 2017).

Πίνακας 1. Βοτανική ταξινόμηση του είδους κυρτόκαρπη κολλητσίδα (*Galium tricornutum* Dandy)

Βασίλειο	Plantae
Φύλο	Angiosperms
Κλάση	Dicotyledonae
Τάξη	Gentianales
Οικογένεια	Rubiaceae
Γένος	<i>Galium</i>
Είδος	<i>Galium tricornutum</i>

Στη χώρα μας εκτός από την κυρτόκαρπη κολλητσίδα, απαντώνται άλλα δύο συγγενικά είδη, η μεγαλόκαρπη (*Galium aparine* L.) και η μικρόκαρπη (*Galium spurium* L.) κολλητσίδα. Τα δύο αυτά είδη παρουσιάζονται με

μεγαλύτερη συχνότητα ιδιαίτερα στις καλλιέργειες των χειμερινών σιτηρών, αλλά και των χειμερινών ψυχανθών. Αντίθετα, το είδος *G. tricornutum* δεν είναι τόσο διαδεδομένο και αναπτύσσεται συνήθως σε αμιγείς πληθυσμούς εντός των καλλιεργούμενων αγρών με σημαντικά μικρότερη συχνότητα.

1.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά του είδους *Galium tricornutum* Dandy

Το σπορόφυτο έχει πράσινες, ελλειψοειδείς-ωοειδείς και έμμισχες, με ευδιάκριτο κεντρικό νεύρο κοτυληδόνες (Εικόνα 1, αριστερά). Οι κοτυληδόνες εμφανίζουν κυκλικό άκρο χωρίς βαθούλωμα (κόλπωση) όπως συμβαίνει στο είδος *Galium aparine* L. (μεγαλόκαρπη κολλητσίδα) (Εικόνα 1, δεξιά), ενώ. Οι κοτυληδόνες δεν έχουν τρίχες και δεν κοκκινίζουν στην κάτω επιφάνειά τους. Η υποκοτύλη είναι πράσινη χωρίς τρίχες (Βασιλάκογλου και Δήμας, 2017)



Εικ. 1. Νεαρά σπορόφυτα κυρτόκαρπης (αριστερά) και μεγαλόκαρπης κολλητσίδας (δεξιά)

Ο βλαστός έχει όρθια έκφυση, ύψος που κυμαίνεται μεταξύ 20 και 80cm, είναι πράσινος, σαρκώδης και το σχήμα του είναι τετραπλευρικό (Εικόνα 2). Στην επιφάνειά του φέρει εμφανείς κοντές και σκληρές τρίχες. Παρουσιάζει έρπουσα έκφυση ή αναρριχάται επί άλλων φυτών.



Εικ. 2. Ο βλαστός των φυτών καλύπτεται από τρίχες

Τα φύλλα είναι πράσινα, λογχοειδή και αδιαίρετα, ενώ δεν έχουν ευδιάκριτα νεύρα. Η υφή των φύλλων είναι τραχιά, καθώς φέρουν τρίχες στην άνω επιφάνεια του ελάσματος. Η διάταξη των φύλλων είναι κυκλική, φέρονται 6-9 άμισχα φύλλα σε κάθε γόνατο του βλαστού τα οποία καταλήγουν σε αγκάθι (Βασιλάκογλου και Δήμας, 2017; Ελευθεροχωρινός και Γιαννοπολίτης, 2009) (Εικόνα 3).



Εικ. 3. Τα φύλλα είναι κυκλικώς διατεταγμένα σε κάθε γόνατο του βλαστού

Τα άνθη είναι λευκού χρώματος ερμαφρόδιτα και αποτελούνται από 4 πέταλα, 4 στήμονες και ένα ύπερο, με δύο στύλους. Το άνθη σχηματίζουν βιτρυοειδή ταξιανθία. Ο ποδίσκος του άνθους είναι μακρύς, άκαμπτος και δεν φέρει τρίχες (Εικόνα 4). Η άνθιση των φυτών πραγματοποιείται το διάστημα από Μάιο μέχρι Οκτώβριο. Μετά την άνθηση ο ποδίσκος κάμπτεται και οι κυρτοί ποδίσκοι κατά την ωρίμανση των φυτών διαφοροποιούν τα φυτά του είδους από εκείνα των ειδών μεγαλόκαρπη και μικρόκαρπη κολλητσίδα.



Εικ. 4. Τα λευκά άνθη φέρονται επάκρια σε βιτρυώδη ταξιανθία

Κάθε φυτό παράγει 300-400 σφαιροειδείς και αγκαθωτούς σπόρους. Οι καρποί είναι λιγότερο αγκαθωτοί συγκριτικά με εκείνους του συγγενούς είδους μεγαλόκαρπη κολλητσίδα (*G. aparine*). Έχουν διάμετρο που κυμαίνεται μεταξύ 3 έως 5 mm και βρίσκονται σε ζεύγη (από 2 έως 4) στις μασχάλες των φυτών (Εικόνες 5 και 6).



Εικ. 5. Καρποί του είδους κυρτόκαρπη κολλητσίδα εμφανίζουν χαρακτηριστική κάμψη του ποδίσκου



Εικ. 6. Οι καρποί του είδους *G. tricornutum* είναι σφαιροειδείς και αγκαθωτοί

Οι σπόροι διατηρούν την φυτρωτική τους ικανότητα για διάστημα που κυμαίνεται μεταξύ 2 και 3 ετών.

1.3 Βιολογικός κύκλος

Το είδος κυρτόκαρπη κολλητσίδα είναι αυτογονιμοποιούμενο, αναπαράγεται με σπόρους και φυτρώνει από το φθινόπωρο ως τα τέλη του χειμώνα. Η διασπορά των σπόρων του ζιζανίου πραγματοποιείται με τα ζώα

και τον άνθρωπο, καθώς εξαιτίας της αγκαθωτής επιφάνειάς τους προσκολλώνται επί του τριχώματος των ζώων και των ενδυμάτων των παραγωγών. Ο υψηλότερος ρυθμός βλάστησης των σπόρων επιτυγχάνεται όταν επικρατούν χαμηλές θερμοκρασίες στο εδαφικό περιβάλλον και την ατμόσφαιρα, ενώ αναστέλλεται με την έκθεσή τους στο φως (Chauhan κ.ά., 2006a, b). Ειδικότερα, η βλάστηση των σπόρων του ζιζανίου είναι σημαντικά υψηλότερη όταν υπάρχει διακύμανση και ένα εύρος θερμοκρασιών ημέρας/νύχτας 13°C/7°C, σε σύγκριση με θερμοκρασίες ημέρας/νύχτας 20°C/12°C ή 25°C/15°C, αντίστοιχα (Weed Science, 2007). Η βλάστηση των σπόρων είναι υψηλότερη όταν αυτοί έχουν υποστεί μεθωρίμανση (after-ripening) και βρίσκονται εντός του εδάφους, συγκριτικά με εκείνους που παραμένουν στην επιφάνεια των καλλιεργούμενων αγρών (Chauhan κ.ά., 2006b). Επίσης, πραγματοποιείται με υψηλότερο ρυθμό όταν οι σπόροι βρίσκονται σε βάθος τρεις φορές τη διάμετρό τους (Weed Science, 2007).

Προσέτι, η βλάστηση των σπόρων του ζιζανίου παρουσιάζει μέτρια ευαισθησία στην καταπόνηση που ασκούν τα υψηλά επίπεδα αλατότητας στο έδαφος αλλά εμφανίζει μέτρια ανεκτικότητα σε συνθήκες ωσμωτικής καταπόνησης. Η βλάστηση τους δεν επηρεάζεται από την αντίδραση του εδάφους [Οι σπόροι του *G. tricornutum* έχουν την ικανότητα να φυτρώνουν σε ένα ευρύ φάσμα τιμών αντίδρασης του εδάφους (pH) οι οποίες μπορούν να κυμαίνονται από 4 (ισχυρά όξινο) έως 10 (έντονα αλκαλικό)]. Το φύτρωμα των νεαρών σποροφύτων πραγματοποιείται κυρίως από βάθος 1-2cm ενώ μειώνεται σταδιακά όταν οι σπόροι του ζιζανίου βρίσκονται σε μεγαλύτερο βάθος. Το συνολικό ποσοστό φυτρώματος κυμαίνεται μεταξύ 14 και 46% του αρχικού αριθμού των σπόρων που βρίσκονται στο έδαφος γεγονός που υποδηλώνει ότι μεγάλος αριθμός σπόρων διατηρείται για σημαντικό χρόνο στη 'δεξαμενή (seed bank) του εδάφους' (Chauhan κ.ά., 2006b). Το παρατεταμένο φύτρωμα των σπόρων και η καθυστερημένη ανάδυση νεαρών σποροφύτων επιτρέπει σε αημαντικό αριθμό φυτών του ζιζανίου να διαφεύγουν των τακτικών-μέτρων αντιμετώπισης που εφαρμόζονται προφυτρωτικά ή νωρίς μεταφυτρωτικά στους καλλιεργούμενους αγρούς (Kleeman και Gill, 2018). Οι σπόροι διατηρούν τη βιωσιμότητά τους στο

έδαφος για διάστημα 2-3 ετών αν και η μεταφορά τους σε μεγαλύτερο βάθος συντελεί σε αύξηση της διάρκειας ζωής τους (Mennan, 2003).

Το είδος κυρτόκαρπη κολλητσίδα προτιμά υγρά, λεπτόκοκκα, πλούσια σε οργανική ουσία εδάφη (Weed Science, 2007). Αναπτύσσεται καλύτερα σε ασβεστούχα και πηλώδη εδάφη. Είναι λιγότερο απαιτητικό σε υγρασία, θρεπτικά στοιχεία και επίπεδα οργανικής ουσίας από το συγγενικό είδος μεγαλόκαρπη κολλητσίδα (Ελευθεροχωρινός και Γιαννοπολίτης, 2009).

1.4 Επίπτωση του είδους *G. tricornutum* στην απόδοση των καλλιεργειών

Η κυρτόκαρπη κολλητσίδα αναπτύσσεται κυρίως εντός αροτραίων καλλιεργειών [χειμερινά σιτηρά (σκληρό-μαλακό σιτάρι, βρώμη, κριθάρι) και χειμερινά ψυχανθή (φακή, ρεβύθια), στην καλλιέργεια της ελαιοκάμβρης, καθώς και σπανιότερα σε κάποιες εαρινές καλλιέργειες (αραβόσιπος)]. Το είδος *Galium tricornutum* είναι αρκετά ανταγωνιστικό και όταν αναπτύσσεται σε αξιόλογους πληθυσμούς εντός των καλλιεργούμενων αγρών, συντελεί σε σημαντική μείωση των αποδόσεων (Kleeman και Gill, 2018; Vafeae κ.ά., 2011). Η κυρτόκαρπη κολλητσίδα αναπτύσσεται καλύτερα, ‘καταλαμβάνει’ ζωτικό χώρο και δημιουργεί υψηλούς πληθυσμούς ευκολότερα εντός αγρών καλλιέργειας χειμερινών ψυχανθών τα οποία χαρακτηρίζονται από μικρότερη ανταγωνιστική ικανότητα εναντίον του ζιζανίου σε σύγκριση με τα χειμερινά σιτηρά, ενώ ταυτόχρονα δεν υπάρχουν ιδιαίτερα αποτελεσματικά ζιζανιοκτόνα για την χημική αντιμετώπισή του (McDonald κ.ά., 2007). Σε μία μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ισπανία και αφορούσε στην ανταγωνιστική ικανότητα ζιζανίων στις καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών διαπιστώθηκε ότι το είδος *G. tricornutum* ακολουθούσε σε ανταγωνιστική ικανότητα σε βάρος των καλλιεργούμενων ειδών τα αγρωτώδη είδη *Avena sterilis* (χειμερινή αγριοβρώμη) και *Bromus diandrus* (βρώμος) ενώ εμφάνισε υψηλότερη ανταγωνιστική ικανότητα από το είδος *Veronica hederifolia* (βερόνικα) (Fernández-Quintanilla και Dorado, 2007). Οι απώλειες που προκαλούνται στην απόδοση των καλλιεργούμενων σιταγρών κυμαίνονται από 30-60% (Rola, 1971). Προσέτι, καθώς τα φυτά αναρριχώνται επί των γειτονικών

φυτών προκαλούν πλάγιασμα των καλλιεργούμενων φυτών και καθιστούν δύσκολη τη συγκομιδή των καλλιεργειών. Μια ακόμα δυσμενής επίπτωση της παρουσίας της στους αγρούς είναι το γεγονός ότι οι σπόροι του ζιζανίου μολύνουν τους συγκομισμένους σπόρους των χειμερινών σιτηρών και ψυχανθών.

1.5 Χημική αντιμετώπιση των ειδών του γένους *Galium* (*Galium spurium*, *G. aparine*, *G. tricornutum*) στις καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών

Για την αποτελεσματική αντιμετώπιση των ειδών του γένους *Galium* αλλά και άλλων σημαντικών πλατύφυλλων ζιζανίων στις καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών της χώρας μας έχει έγκριση ένας αξιόλογος αριθμός δραστικών ουσιών που ανήκουν σε διαφορετικές χημικές οικογένειες ζιζανιοκτόνων και ταυτόχρονα σε σχετικά περιορισμένο αριθμό μηχανισμών δράσης. Τα ζιζανιοκτόνα είναι εκλεκτικά (ασφαλή, εφόσον εφαρμόζονται στη συνιστώμενη δόση, σε κατάλληλο στάδιο ανάπτυξης των φυτών της καλλιέργειας και όταν τα φυτά δεν υφίστανται καταπόνηση από την επίδραση δυσμενών βιοτικών ή αβιοτικών παραγόντων) και έχουν έγκριση για την πραγματοποίηση κυρίως μεταφυτρωτικών επεμβάσεων στις καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών. Ειδικότερα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν

(1) Ζιζανιοκτόνα αναστολής της δράσης του ενζύμου οξικογαλακτική συνθάση (ALS) τα οποία ανήκουν σε τρεις διαφορετικές χημικές οικογένειες, σουλφονυλουρίες (amidosulfuron sodium, iodosulfuron-methyl, mesosulfuron-methyl, metsulfuron-methyl, tribenuron methyl, thifensulfuron-methyl, triasulfuron tritosulfuron) (chlorsulfuron), τριαζολοπυριμιδίνες (florasulam, pyroxasulam) και σουλφονυλαμινοκαρβονυλοτριαζολινόνες (propoxycarbazone sodium).

(2) Ζιζανιοκτόνα αναστολής της ροής των ηλεκτρονίων στο φωτοσύστημα II της φωτοσύνθεσης (PS II) (νιτρίλιο bromoxynil).

(3) Ζιζανιοκτόνα αναστολής της δράσης του ενζύμου οξειδάση του πρωτοπορφυρινογόνου (PPG-O) (carfentrazone-ethyl).

(4) Ορμονικά ζιζανιοκτόνα με δράση ενδογενούς αυξίνης (τα πυριδινοκαρβοξυλικά οξέα fluroxypyr και aminopyralid, το φαινοξυαλκανοϊκό mecoprop-P). Αξίζει να σημειωθεί ότι τα φαινοξυαλκανοϊκά ζιζανιοκτόνα 2,4-D και MCPA δεν έχουν αξιόλογη δράση εναντίον των ειδών του γένους (Malik και Vanden Born, 1988).

Εκτός των μεταφυτρωτικών επεμβάσεων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και κάποια ζιζανιοκτόνα σε προφυτρωτικές εφαρμογές. Σε αυτά συγκαταλέγονται το θειοκαρβαμιδικό prosulfocarb (αναστολέας της βιοσύνθεσης λιπών) και το πυριδινο-καρβοξαμίδιο diflufenican (αναστολέας της βιοσύνθεσης καροτενοειδών) σε ετοιμόχρηστο μίγμα με το παράγωγο ουρίας chlortoluron (αναστολέας της ροής ηλεκτρονίων στο φωτοσύστημα II της φωτοσύνθεσης). Βέβαια, οι προφυτρωτικές επεμβάσεις για την καταπολέμηση πλατύφυλλων καθώς και αγρωστωδών ζιζανίων δεν πραγματοποιούνται συχνά στις καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών της χώρας γιατί η αποτελεσματικότητά τους επηρεάζεται σημαντικά από κάποιες προϋποθέσεις (την άριστη κατεργασία του εδάφους και την πραγματοποίηση άρδευσης ή βροχόπτωση αμέσως μετά την εφαρμογή τους για την ενσωμάτωση/ενεργοποίησή τους στο βάθος που βρίσκονται οι σπόροι των ζιζανίων-στόχων). Προσέτι, υπάρχει κίνδυνος εκδήλωσης φυτοτοξικότητας (ιδιαίτερα για το μείγμα chlortoluron και diflufenican) αν μετά την εφαρμογή εκδηλωθούν έντονες βροχοπτώσεις οι οποίες θα προκαλέσουν τη μεταφορά υψηλής ποσότητας των ζιζανιοκτόνων στο βάθος ανάπτυξης των φυτών της καλλιέργειας).

Κεφάλαιο 2. ΖΙΖΑΝΙΟΚΤΟΝΑ-ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΖΙΖΑΝΙΩΝ ΣΕ ΖΙΖΑΝΙΟΚΤΟΝΑ

2.1 Ζιζανιοκτόνα-αναστολείς βιοσύνθεσης διακλαδισμένης αλυσίδας αμινοξέων (ALS ή AHAS)

Τα ζιζανιοκτόνα της ομάδας αυτής ανήκουν, από χημικής πλευράς, στις οικογένειες των σουλφονυλουριών, ιμιδαζολινών, πυριδινυλβενζοϊκών, τριαζολοπυριμιδινών και τέλος, των σουλφονυλαμινοκαρβονυλτριαζολινών. Στον Πίνακα 2 που ακολουθεί, παρατίθενται οι χημικές οικογένειες της ομάδας των ALS-αναστολέων με κάποια αντιπροσωπευτικά μέλη που ανήκουν σε αυτές.

Πίνακας 2. Οικογένειες ζιζανιοκτόνων που αναστέλλουν τη δράση του ενζύμου ALS (από: Χατζηλαζαρίδου, 2013).

Οικογένεια ζιζανιοκτόνων	Δραστικές ουσίες
Σουλφονυλουρίες	chlorsulfuron, tribenuron methyl
Ιμιδαζολινόνες	imazamox, imazapyr, imazaquin
Τριαζολοπυριμιδίνες	florasulam, penoxsulam
Πυριμιδινυλθειοβενζοϊκά	bispyribac, pyriproxyfen, pyriminobac
Σουλφονυλαμινοκαρβονυλοτριαζολινόνες	flucarbazone, propoxycarbazone

Χρησιμοποιούνται προφυτρωτικά ή μεταφυτρωτικά για την αντιμετώπιση ετήσιων και πολυετών ζιζανίων σε διάφορες καλλιέργειες ή σε μη γεωργικές εκτάσεις. Απορροφώνται από τις ρίζες και τα φύλλα των φυτών και μετακινούνται στους μερισματικούς ιστούς μέσω του αποπλάστη και του συμπλάστη.

Ο μηχανισμός δράσης τους σχετίζεται με αναστολή της δράσης του ενζύμου οξικογαλακτική συνθάση ή συνθάση του οξικογαλακτικού οξέος (ALS, AcetoLactate Synthase), γνωστού και ως συνθάση του ακετοϋδροξικού οξέος (AHAS, AcetoHydroxyAcid Synthase). Το ALS ή AHAS αποτελεί ένζυμο-κλειδί κατά τη βιοσύνθεση των αμινοξέων με διακλαδισμένη αλυσίδα ατόμων άνθρακα (βαλίνη, λευκίνη και ισολευκίνη), τα οποία είναι απαραίτητα (αποτελούν σημαντικές πρόδρομες ουσίες) κατά τη βιοσύνθεση δευτερογενών μεταβολιτών (κυανογενή γλυκοζίδια και γλυκοζινολικά ακυλιώμενα σάκχαρα) (Ελευθεροχωρινός, 2008).

Το ένζυμο ALS ή AHAS απαντάται στα προπλαστίδια των μεριστωματικών ιστών των φυτών και στους χλωροπλάστες των φύλλων. Ειδικότερα, το ένζυμο αυτό καταλύει την αντίδραση συμπύκνωσης δύο μορίων πυροσταφυλικού οξέος για την παραγωγή α-οξιγαλακτικού οξέος ή την αντίδραση συμπύκνωσης ενός μορίου πυροσταφυλικού οξέος και ενός μορίου α-κετοβουτυρικού οξέος για την παραγωγή CO_2 και ακετοϋδροξιβουτυρικού οξέος. Οι δύο αυτές παραχθείσες ουσίες είναι απαραίτητες (αποτελούν πρόδρομες ουσίες) για τη βιοσύνθεση των αμινοξέων βαλίνη και ισολευκίνη. Το ένζυμο ALS για να δράσει, απαιτεί FAD, θειαμινοπυροφωσφορικό (TPP), καθώς και ιόντα Mg^{2+} και Mn^{2+} . Η βιοσύνθεση του αμινοξέος λευκίνη, αν και δεν έχει μελετηθεί επαρκώς στα φυτά, εικάζεται ότι πραγματοποιείται μέσω τριών διαδοχικών ενζυμικών αντιδράσεων επί του α-κετο-ισοβαλερικού οξέος (πρόδρομος ουσία για τη βιοσύνθεση της βαλίνης) (Ελευθεροχωρινός, 2008).

Η αναστολή της βιοσύνθεσης των τριών προαναφερθέντων αμινοξέων εξαιτίας της δράσης των ζιζανιοκτόνων του συγκεκριμένου μηχανισμού δράσης έχει ως συνέπεια την αναστολή της κυτταροδιαίρεσης εντός ολίγων ημερών από την απορρόφηση των ζιζανιοκτόνων, η οποία οδηγεί σε αναστολή της αύξησης των φυτών και τελικώς στη νέκρωσή τους. Τα συμπτώματα της από εδάφους δράσης αυτών των ζιζανιοκτόνων

περιλαμβάνουν αναστολή της αύξησης των νεαρών φυτών (τα ευαίσθητα φυτά μετά την έκθεσή τους στα ζιζανιοκτόνα παραμένουν στο στάδιο των κοτυληδόνων μέχρι εκείνο των δύο πρώτων πραγματικών φύλλων), περιορισμένη ανάπτυξη (σε αριθμό και μήκος) των πλάγιων ή δευτερογενών ριζών, αυξημένη σύνθεση ανθοκυανών (ερυθρόχροα φυτά), χλώρωση και τελικά νέκρωση. Τα συμπτώματα της από φυλλώματος δράσης τους περιλαμβάνουν αναστολή της αύξησης των φυτών, αυξημένη σύνθεση ανθοκυανών, αποχρωματισμό των νεύρων των φύλλων και νέκρωση των μεριστωματικών ιστών. Τα προαναφερθέντα συμπτώματα εμφανίζονται εντός ολίγων ημερών από τη μετακίνηση των ζιζανιοκτόνων στους μεριστωματικούς ιστούς, ενώ η νέκρωση των φυτών επέρχεται 2-4 εβδομάδες αργότερα.

Η ταυτόχρονη εφαρμογή ορισμένων ζιζανιοκτόνων των σουλφονυλουριών ή πυριδινυλθειοβενζοϊκών με ορισμένα εξειδικευμένα ζιζανιοκτόνα αγρωστωδών ζιζανίων (αρυλοφαινοξυπροπιονικά, κυκλοεξανδιόνες) θα πρέπει να αποφεύγεται, επειδή μειώνει την αποτελεσματικότητα των τελευταίων εναντίον των αγρωστωδών ζιζανίων. Αυτό οφείλεται στην ανταγωνιστική δράση που αναπτύσσεται μεταξύ αυτών των μη συνδυαζόμενων ζιζανιοκτόνων, η οποία στις περισσότερες περιπτώσεις οφείλεται στην μειωμένη απορρόφηση ή/και στη μειωμένη μετακίνηση των αγρωστωδοκτόνων εξαιτίας της παρουσίας των σουλφονυλουριών ή των πυριδινυλθειοβενζοϊκών (Monaco κ.ά., 2002; από Ελευθεροχωρινός, 2008). Η ταυτόχρονη μεταφυτρωτική εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων rimsulfuron ή primisulfuron (σουλφονυλουρίες) με το βενζοϊκό παράγωγο dicamba (ζιζανιοκτόνο με δράση αυξίνης το οποίο χρησιμοποιείται για αντιμετώπιση ετήσιων και πολυετών πλατύφυλλων ζιζανίων στην καλλιέργεια του αραβοσίτου) επίσης δεν ενδείκνυται, επειδή μειώνει την αποτελεσματικότητά τους εναντίον του αγρωστώδους πολυετούς ζιζανίου βέλιουρα (*Sorghum halepense*) (Damalas και Eleftherohorinos, 2001).

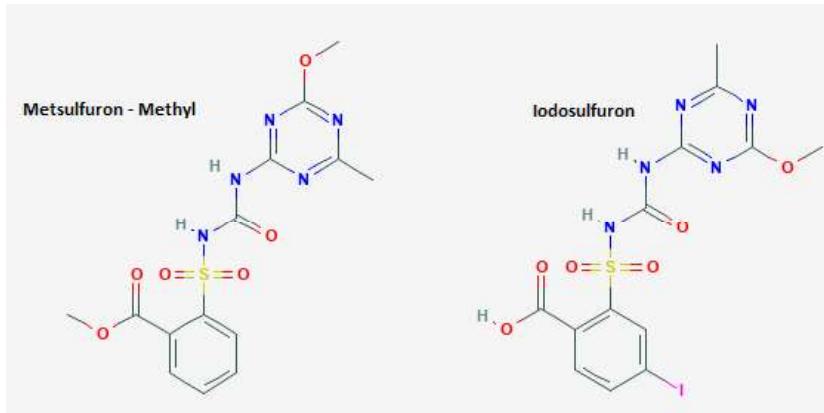
Η ταυτόχρονη εφαρμογή των ζιζανιοκτώνων nicosulfuron, rimsulfuron ή primisulfuron (σουλφονυλουρίες) με οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα φυλλώματος πρέπει να αποφεύγεται, επειδή μειώνει την εκλεκτικότητά τους (συνεργιστική δράση) στα καλλιεργούμενα φυτά. Το ίδιο ακριβώς συμβαίνει (μείωση εκλεκτικότητας) και μετά την εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων αυτών σε καλλιέργειες αραβόσιτου στις οποίες προηγήθηκε εφαρμογή διασυστηματικών

οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων εδάφους (π.χ. terbufos). Αυτό οφείλεται στο ότι η παρουσία υπολειμμάτων οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων εντός των φυτών του αραβοσίτου αναστέλλει τη δράση των ενζύμων μονοοξυγονάσες του κυτοχρώματος P₄₅₀ (CytP₄₅₀), τα οποία καταλύει την αντίδραση μεταβολισμού (υδροξυλίωση) των προαναφερθέντων τριών ζιζανιοκτόνων (Ελευθεροχωρινός, 2008).

Η διεύρυνση της εκλεκτικότητας μερικών ζιζανιοκτόνων των ιμιδαζολινών σε μη ανθεκτικά εξ αρχής καλλιεργούμενα φυτά υβριδίων αραβόσιτου κατέστη δυνατή μέσω της επιλογής ιστών μη μεταλλαγμένων φυτών με ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα αυτά (Ελευθεροχωρινός, 2008). Βέβαια, εξίσου επιτυχής ήταν και η προσπάθεια διεύρυνσης της εκλεκτικότητας ορισμένων ζιζανιοκτόνων μέσω της γενετικής μηχανικής. Ειδικότερα, η μέθοδος αυτή συνέβαλε στη δημιουργία γενετικώς τροποποιημένων ποικιλιών βαμβακιού, ζαχαρότευτλων, καπνού, σόγιας, ελαιοκράμβης και υβριδίων αραβόσιτου με ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα της οικογένειας των σουλφονυλουριών (Ελευθεροχωρινός, 2008).

2.1.1 Σουλφονυλουρίες (Sulfonylureas)

Ο βασικός τύπος των ζιζανιοκτόνων αυτής της χημικής οικογένειας αποτελείται από μια αρυλομάδα, τη σουλφονυλουρική γέφυρα και μια ετεροκυκλική ομάδα (πυριμιδίνη, τριαζίνη) (Σχήμα 1) (Ελευθεροχωρινός 2008).



Σχήμα 1. Χημική δομή των ζιζανιοκτόνων metsulfuron-methyl και iodosulfuron-methyl-sodium

Τα ζιζανιοκτόνα της οικογένειας αυτής εφαρμόζονται στο έδαφος (προφυτρωτικά) ή/και στο φύλλωμα για την αντιμετώπιση ετήσιων και πολυετών πλατύφυλλων και αγρωστωδών ζιζανίων σε διάφορες καλλιέργειες. Απορροφώνται από τις ρίζες και τα φύλλα των φυτών και μετακινούνται στους μεριστωματικούς ιστούς μέσω του αποπλάστη και του συμπλάστη.

Η δράση τους από φυλλώματος εκδηλώνεται εντός ολίγων ημερών από την εφαρμογή τους με αναστολή της αύξησης των φυτών, αυξημένη σύνθεση ανθοκυανών (απόκτηση ερυθρόχρου μεταχρωματισμού στα ευαίσθητα φυτά), χλώρωση και τελικά νέκρωση των μερισματικών ιστών. Η νέκρωση όμως των φυτών επέρχεται μετά από παρέλευση διαστήματος 2-3 εβδομάδων. Η δράση τους από εδάφους εκδηλώνεται εντός ολίγων ημερών από το φύτρωμα των ζιζανίων με αναστολή της αύξησης, αυξημένη σύνθεση ανθοκυανών, χλώρωση, περιορισμένη ανάπτυξη των ριζών, ενώ η νέκρωση τους επέρχεται 2-4 εβδομάδες αργότερα (Ελευθεροχωρινός, 2008).

Τα ανθεκτικά καλλιεργούμενα φυτά δεν εμφανίζουν συμπτώματα τοξικότητας επειδή έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν ταχύτατα τα ζιζανιοκτόνα αυτά σε μη τοξικές ουσίες ή έχουν ένζυμο ALS με μειωμένη ευαισθησία στα ζιζανιοκτόνα αυτά (Ελευθεροχωρινός, 2008). Ο μεταβολισμός των περισσοτέρων ζιζανιοκτόνων της οικογένειας αυτής γίνεται μέσω υδροξυλίωσης [καταλύεται από το ένζυμο μονοοξυγονάση (CytP₄₅₀)] και στην συνέχεια σχηματισμού συμπλόκων με γλυκόζη [το ένζυμο γλυκοζυλτρανσφεράση (GT) καταλύει τη μεταφορά γλυκόζης από το υπόστρωμα της διφωσφορικής ουριδίνης-γλυκόζης] (Ελευθεροχωρινός, 2008).

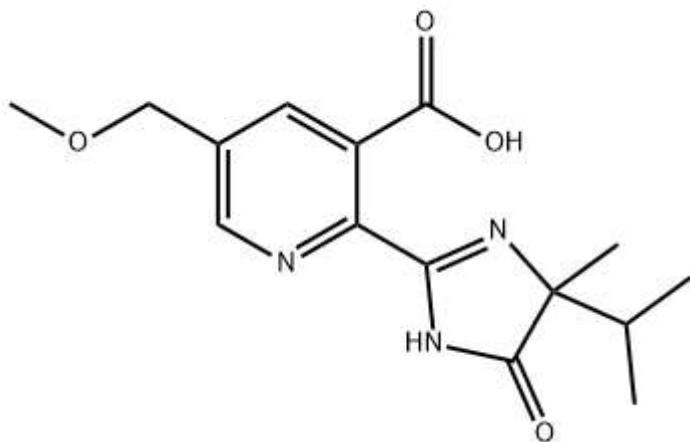
Τα ζιζανιοκτόνα των σουλφονυλουριών συμπεριφέρονται στο έδαφος ως ασθενή οξέα. Η προσρόφησή τους από τα κολλοειδή του εδάφους δεν είναι ισχυρή και γι' αυτό η πιθανότητα έκπλυσής τους είναι μεγάλη (παρουσιάζουν βαθμό έκπλυσης 3-5). Τα ζιζανιοκτόνα της οικογένειας αυτής είναι δραστικά σε δόσεις 10-100 φορές μικρότερες από εκείνες των ήδη χρησιμοποιούμενων ζιζανιοκτώνων. Ο χρόνος παραμονής μερικών ζιζανιοκτόνων των σουλφονυλουριών (chlorsulfuron, metsulfuron) αν και εφαρμόζονται σε πολύ χαμηλές δόσεις (1-2 g δ.ο./στρ), είναι συχνά μεγαλύτερος από 12 μήνες. Αυτό έχει ως συνέπεια την αδυναμία ασφαλούς εγκατάστασης (χωρίς προβλήματα

φυτοτοξικότητας) άλλων καλλιεργειών την επόμενη καλλιεργητική περίοδο, εκτός από τα χειμερινά σιτηρά στα οποία συνιστάται η χρήση τους (Ελευθεροχωρινός, 2008).

Ο χρόνος παραμονής τους στο έδαφος μειώνεται με την μείωση της δόσης εφαρμογής, του pH του εδάφους, καθώς επίσης με την αύξηση της υγρασίας και την άνοδο της θερμοκρασίας του εδάφους (Ελευθεροχωρινός, 2008). Αυτό συμβαίνει επειδή οι συνθήκες αυτές επιταχύνουν το ρυθμό της χημικής διάσπασης (υδρόλυση), η οποία είναι η κυριότερη διεργασία απομάκρυνσής τους από το έδαφος. Οι απώλειες τους λόγω εξάτμισης ή και φωτοχημικής διάσπασης κυμαίνονται από ασήμαντες μέχρι μέτριες (Ελευθεροχωρινός, 2008).

2.1.2 Ιμιδαζολινόνες (Imidazolinones)

Ο βασικός χημικός τύπος αυτής της οικογένειας των ζιζανιοκτόνων αποτελείται από έναν αρωματικό δακτύλιο (συνήθως πυριδίνη) με την καρβοξυλική ομάδα και από τον ιμιδαζολινικό δακτύλιο (Σχήμα 2).



Σχήμα 2. Χημική δομή του ζιζανιοκτόνου imazamox

Τα ζιζανιοκτόνα της οικογένειας αυτής εφαρμόζονται στο έδαφος ή και στο φύλλωμα των ζιζανίων. Απορροφώνται από τις ρίζες και τα φύλλα των φυτών και μετακινούνται στους μεριστωματικούς ιστούς, μέσω τόσο του αποπλάστη όσο και του συμπλάστη. Η δράση τους από φυλλώματος εκδηλώνεται εντός λίγων ημερών από την εφαρμογή τους με αναστολή της αύξησης των φυτών, χλώρωση και τελικά νέκρωση των μεριστωματικών

ιστών. Βέβαια, η νέκρωση των φυτών επέρχεται μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα (αρκετές εβδομάδες). Η δράση μετά από εφαρμογή τους στο έδαφος εκδηλώνεται εντός λίγων ημερών από το φύτρωμα των ζιζανίων με αναστολή της αύξησής τους, ενώ η νέκρωσή τους επέρχεται πολύ αργότερα.

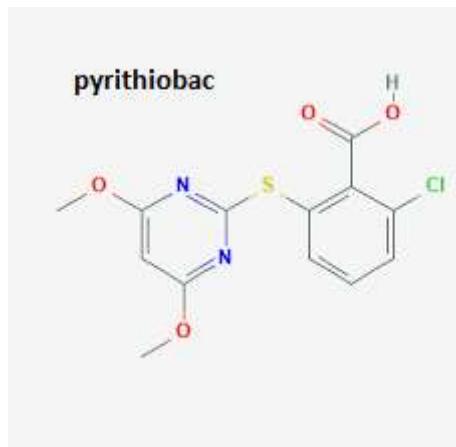
Τα ανθεκτικά καλλιεργούμενα φυτά δεν εμφανίζουν συμπτώματα τοξικότητας επειδή έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν ταχύτατα τα ζιζανιοκτόνα της χημικής οικογένειας των ιμιδαζολινών σε μη τοξικές ή να απορροφούν μικρότερες ποσότητές τους ή να έχουν ένζυμο ALS με μειωμένη ευαίσθησία στα ζιζανιοκτόνα αυτά (Ελευθεροχωρινός, 2008). Ειδικότερα, τα ζιζανιοκτόνα imazamethabenz και imazethapyr μεταβολίζονται εντός των ανθεκτικών φυτών μέσω υδροξυλίωσης και ακολούθως σχηματισμού συμπλόκου με γλυκόζη, ενώ το imazaquin μέσω δημιουργίας δακτυλίου μεταξύ της καρβοξυλικής ομάδας της κινολίνης και του N του ιμιδαζολινονικού δακτυλίου και ακολούθως υδρόλυσης ή αναγωγής. Τέλος, το imazapyr μεταβολίζεται εντός των ανθεκτικών φυτών μέσω δημιουργίας δακτυλίου που δημιουργείται μεταξύ της καρβοξυλικής ομάδας της πυριδίνης και του N ιμιδαζολινονικού δακτυλίου και ακολούθως υδρόλυσης (Ελευθεροχωρινός, 2008).

Τα ζιζανιοκτόνα των ιμιδαζολινονών συμπεριφέρονται στο έδαφος ως ασθενή οξέα. Η προσρόφησή τους από τα κολλοειδή του εδάφους δεν είναι ισχυρή με συνέπεια η πιθανότητα έκπλυσής τους να είναι μεγάλη (παρουσιάζουν βαθμό έκπλυσης 4-5). Ο χρόνος παραμονής τους στο έδαφος, αν και εφαρμόζονται σε πολύ χαμηλές δόσεις (5-10g/στρ), συχνά είναι μεγαλύτερος από 12 μήνες. Η μεγάλη υπολειμματική τους διάρκεια δεν επιτρέπει την εγκατάσταση ευαίσθητων καλλιεργειών την επόμενη καλλιεργητική περίοδο που ακολουθεί της εφαρμογής τους. Η απομάκρυνσή τους από το έδαφος γίνεται κυρίως μέσω μικροβιακής αποδόμησης και δευτερευόντως μέσω χημικής διάσπασης,. Τέλος, οι απώλειες που υφίστανται λόγω εξάτμισης ή/και φωτοχημικής διάσπασης χαρακτηρίζονται από ασήμαντες μέχρι μέτριες (Ελευθεροχωρινός, 2008).

2.1.3 Πυριμιδινυλβενζοϊκά (Pyrimidinylbenzoates)

Ο βασικός χημικός τύπος των ζιζανιοκτόνων (bispyribac, pyrithiobac, pyriminobac, pyribenzoxim, pyrifthalid) της οικογένειας αυτής αποτελείται από

έναν πυριμιδινικό δακτύλιο ενωμένο με βενζοϊκό οξύ μέσω S ή O (Σχήμα 3) (Ελευθεροχωρινός, 2008).



Σχήμα 3. Χημική δομή του ζιζανιοκτόνου pyrithiobac.

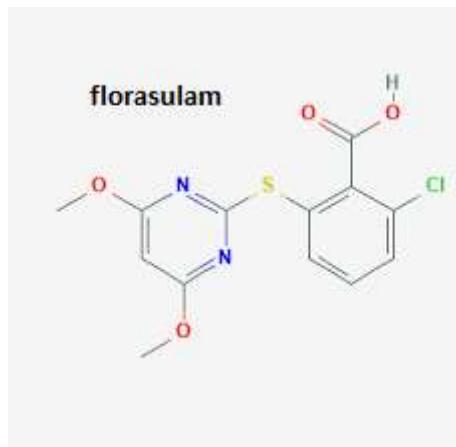
Τα ζιζανιοκτόνα της οικογένειας αυτής συμπεριφέρονται στο έδαφος ως ασθενή οξέα. Η προσρόφησή τους από τα κολλοειδή του εδάφους δεν είναι ισχυρή, με συνέπεια η πιθανότητα έκπλυσής τους είναι μεγάλη (παρουσιάζουν βαθμό έκπλυσης 3-4). Τα ζιζανιοκτόνα αυτής της χημικής αυτής οικογένειας είναι δραστικά σε πολύ μικρότερες δόσεις από ό,τι τα περισσότερα από τα ήδη χρησιμοποιούμενα ζιζανιοκτόνα (Ελευθεροχωρινός, 2008).

Ο χρόνος παραμονής του bispyribac στο έδαφος είναι μικρότερος από εκείνον του pyrithiobac με αποτέλεσμα να προκύπτει αδυναμία εγκατάστασης άλλων καλλιεργειών (εκτός από βαμβάκι) την επόμενη καλλιεργητική περίοδο χωρίς προβλήματα φυτοτοξικότητας λόγω υπολειμμάτων του pyrithiobac. Η απομάκρυνση των ζιζανιοκτόνων αυτής της χημικής οπικογένειας από το έδαφος γίνεται κυρίως μέσω μικροβιακής αποδόμησης, ενώ οι απώλειες που υφίστανται λόγω εξάτμισης ή/και φωτοχημικής διάσπασης είναι εξαιρετικά χαμηλές έως μέτριες (Ελευθεροχωρινός, 2008).

2.1.4 Τριαζολοπυριμιδίνες (Triazopyrimidines)

Ο βασικός χημικός τύπος των ζιζανιοκτόνων (cloransulam, diclosulam, florasulam, flumetsulam, metosulam, penoxsulam) της οικογένειας αυτής

αποτελείται από ένα τριαζολοπυριμιδινικό δακτύλιο, τη σουλφαμιδική γέφυρα και ένα φαινυλικό δακτύλιο (Σχήμα 4).



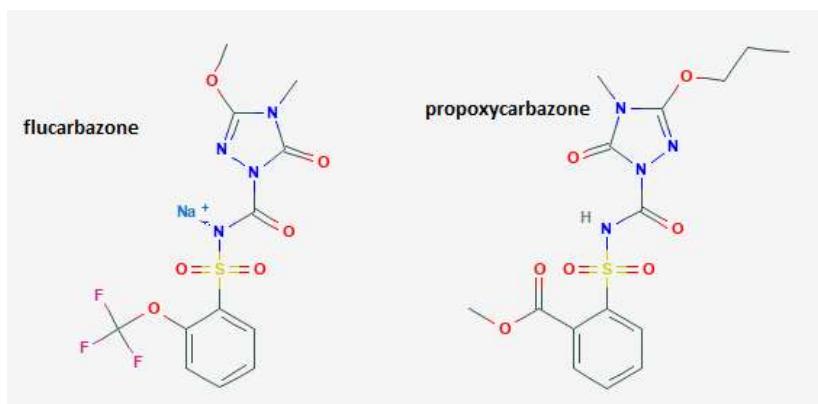
Σχήμα 4. Χημική δομή του ζιζανιοκτόνου florasulam

Τα περισσότερα ζιζανιοκτόνα των δρουν από εδάφους και φυλλώματος. Είναι αποτελεσματικά εναντίων ετήσιων πλατύφυλλων ζιζανίων, χωρίς όμως να αποκλείονται από το φάσμα δράσης τους και ορισμένα είδη ζιζανίων που ανήκουν στα κυπεροειδή (renoxsulam, εγκεκριμένο στην καλλιέργεια του ρυζιού). Απορροφώνται από τις ρίζες και τα φύλλα των ζιζανίων και μετακινούνται μέσω του αποπλάστη και του συμπλάστη, αντιστοίχως (Ελευθεροχωρινός, 2008). Τα ζιζανιοκτόνα αυτά είναι δραστικά σε πολύ μικρότερες δόσεις από ό,τι τα περισσότερα από τα είδη χρησιμοποιούμενα ζιζανιοκτόνα.

Η εκλεκτικότητα αυτών των ζιζανιοκτόνων οφείλεται στο μεταβολισμό τους από τα καλλιεργούμενα φυτά σε μη τοξικές ουσίες. Τα ζιζανιοκτόνα της οικογένειας αυτής συμπεριφέρονται στο εδαφικό διάλυμα ως ασθενή οξέα. Η προσρόφησή τους από τα κολλοειδή του εδάφους δεν είναι ισχυρή και γι' αυτό η πιθανότητα έκπλυσής τους στα περισσότερα εδάφη είναι μεγάλη (παρουσιάζουν βαθμό έκπλυσης 4-5). Η απομάκρυνσή τους πραγματοποιείται κυρίως μέσω μικροβιακής αποδόμησης (Ελευθεροχωρινός, 2008).

2.1.5 Σουλφονυλαμινοκαρβονυλοτριαζολινόνες

Στην οικογένεια αυτή ανήκουν τα ζιζανιοκτόνα φυλλώματος flucarbazone και propoxycarbazone (Σχήμα 5), καθώς και το ζιζανιοκτόνο φυλλώματος και εδάφους thiencarbazone.



Σχήμα 5. Χημική δομή των ζιζανιοκτόνων flucarbazone και propoxycarbazone

Είναι αποτελεσματικά κυρίως εναντίον ετήσιων αγρωστωδών ζιζανίων, αν και στο φάσμα δράσης τους συμπεριλαμβάνονται και ορισμένα ετήσια, πλατύφυλλα ζιζάνια. Απορροφώνται εύκολα από τα φύλλα και τις ρίζες και μετακινούνται εντός των φυτών μέσω του συμπλάστη και του αποπλάστη (Ελευθεροχωρινός, 2008). Τα ζιζανιοκτόνα αυτής της χημικής οικογένειας είναι δραστικά σε πολύ μικρότερες δόσεις από ό,τι τα περισσότερα από τα ήδη χρησιμοποιούμενα ζιζανιοκτόνα. Τα ζιζανιοκτόνα της χημικής αυτής οικογένειας συμπεριφέρονται στο εδαφικό διάλυμα ως ασθενή οξέα. Η προσρόφησή τους από τα κολλοειδή του εδάφους δεν είναι ισχυρή και γι' αυτό η πιθανότητα έκπλυσής τους στα περισσότερα εδάφη είναι μεγάλη. Η υπολειμματική τους διάρκεια στο έδαφος κυμαίνεται από 2 μέχρι 4 μήνες. Η απομάκρυνσή τους πραγματοποιείται κυρίως μέσω μικροβιακής αποδόμησης (Ελευθεροχωρινός, 2008).

2.2 Ανθεκτικότητα ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα

2.2.1 Γενικές έννοιες-ορισμοί

Ο όρος ανθεκτικότητα κατά την επικρατέστερη άποψη διεθνώς (De Prado and Franco, 2004), αναφέρεται ‘στην επιλεγμένη κληρονομική ικανότητα μερικών βιοτύπων ενός ζιζανίου να επιβιώνουν μετά από εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης ενός ζιζανιοκτόνου, στο οποίο ο αρχικός πληθυσμός του ζιζανίου ήταν ευαίσθητος’. Επομένως, σύμφωνα με τον ορισμό αυτό, οι ανθεκτικοί βιότυποι (γενότυποι) ενός ζιζανίου προϋπάρχουν με τους ευαίσθητους βιότυπους στον αρχικό πληθυσμό και επιλέγονται ως αντίδραση του ζιζανίου (με ταυτόχρονη μείωση της παραλλακτικότητας) στην επαναλαμβανόμενη εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου (Ελευθεροχωρινός, 2020). Η ευαίσθησία του αρχικού πληθυσμού του ζιζανίου (όπου αναπτύχθηκαν ανθεκτικοί βιότυποι) αποδεικνύεται από την ετικέτα της πρώτης έγκρισης του ζιζανιοκτόνου, όπου το ζιζάνιο χαρακτηρίζεται ως ευαίσθητο, αλλά κυρίως και από το γεγονός ότι το ζιζάνιο αυτό παραμένει ευαίσθητο σε εφαρμογές του ίδιου ζιζανιοκτόνου σε γειτνιάζοντες ή και μη γειτνιάζοντες αγρούς της ίδιας περιοχής ή σε αγρούς άλλων περιοχών. Επίσης, η υπόθεση της ύπαρξης των ανθεκτικών βιοτύπων στον αρχικό πληθυσμό του ευαίσθητου ζιζανίου και όχι της ανάπτυξής τους ως αποτέλεσμα της πρόκλησης μεταλλάξεων από το ζιζανιοκτόνο επαληθεύεται από τον τρόπο εμφάνισης της ανθεκτικότητας των ζιζανίων. Συγκεκριμένα, η ανθεκτικότητα εμφανίζεται σε ένα είδος ζιζανίου και σε ορισμένες περιοχές (δηλαδή εκεί όπου υπάρχουν ανθεκτικοί βιότυποι και επιλέγονται) παρά το γεγονός ότι και άλλοι ευαίσθητοι πληθυσμοί του ίδιου ζιζανίου (σε άλλες περιοχές) ή άλλα είδη ευαίσθητων ζιζανίων εκτίθενται ταυτοχρόνως στην ίδια πίεση επιλογής του ζιζανιοκτόνου. Η μη εμφάνιση ανθεκτικότητας σε άλλους πληθυσμούς του ίδιου ζιζανίου ή σε πληθυσμούς άλλων ειδών εξηγείται μόνον αν γίνει αποδεκτό ότι οι πληθυσμοί αυτών των ζιζανίων δεν είχαν εξ αρχής ανθεκτικούς βιότυπους (σε ικανοποιητική συχνότητα). Στις περισσότερες περιπτώσεις, ο μηχανισμός κληρονόμησης της ανθεκτικότητας ενός βιοτύπου ζιζανίου σε ένα ζιζανιοκτόνο ελέγχεται συνήθως από ένα γονίδιο (Ελευθεροχωρινός, 2020).

2.2.2 Αντοχή στα ζιζανιοκτόνα

Ο όρος αντοχή αναφέρεται στην ‘αρχική διαβαθμισμένη ή κλιμακούμενη (λόγω παραλλακτικότητας) μη ευαισθησία ενός ζιζανίου στη συνιστώμενη δόση ενός ζιζανιοκτόνου’ (Devine κ.ά., 1993; από Ελευθεροχωρινός, 2008). Σύμφωνα με τον ορισμό αυτό, ο αρχικός πληθυσμός του ζιζανίου δεν ήταν ευαίσθητος στη συνιστώμενη δόση του ζιζανιοκτόνου, γι’ αυτό και το ζιζάνιο στην ετικέτα της πρώτης έγκρισης του ζιζανιοκτόνου, κατατάσσεται στα ζιζάνια που δεν παρουσιάζουν ευαισθησία στο ζιζανιοκτόνο. Αξίζει όμως να σημειωθεί ότι ο πληθυσμός του ζιζανίου που διαθέτει φυσική αντοχή, σε αντίθεση με τον επιλεγμένο από το ζιζανιοκτόνο ανθεκτικό βιότυπο, συχνά αντιμετωπίζεται με αύξηση της δόσης εφαρμογής του ζιζανιοκτόνου (Ελευθεροχωρινός, 2008).

Τα όσα προαναφέρθηκαν δείχνουν ότι η ανθεκτικότητα και η αντοχή περιγράφουν το ίδιο φαινόμενο (ευαισθησία ενός ζιζανίου σε ένα ζιζανιοκτόνο), αλλά με διαφορές στην ένταση (De Prado και Franco, 2004). Ειδικότερα, η ανθεκτικότητα έχει μεγαλύτερη ένταση από εκείνη της αντοχής, γι’ αυτό και όπως προαναφέρθηκε, οι ανθεκτικοί βιότυποι συχνά δεν αντιμετωπίζονται ακόμα και με εφαρμογή εξαιρετικά υψηλότερων από την συνιστώμενη δόσεων του ζιζανιοκτόνου, ενώ τα περισσότερα ζιζάνια που έχουν φυσική αντοχή είναι δυνατόν να αντιμετωπισθούν με αύξηση της δόσης εφαρμογής του ζιζανιοκτόνου. Η άποψη αυτή δεν διαφέρει από εκείνη των Holt και LeBaron (1990), οι οποίοι υποστηρίζουν ότι η αντοχή μπορεί να χαρακτηριστεί ως μικρής έντασης ανθεκτικότητα η οποία, σε αντίθεση με την ανθεκτικότητα, εξαρτάται από την δόση εφαρμογής του ζιζανιοκτόνου.

2.2.3 Τύποι ανθεκτικότητας

Ο Ελευθεροχωρινός (2008), αναφέρει ότι ανθεκτικότητα είναι ‘η επιλεγμένη κληρονομική ικανότητα μερικών βιοτύπων ενός ζιζανίου να επιβιώνουν μετά από εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης ενός ζιζανιοκτόνου, στο οποίο ο αρχικός πληθυσμός του ζιζανίου ήταν ευαίσθητος’. Επίσης, επισημαίνει ότι υπάρχουν δύο τύποι ανθεκτικότητας, η σταυρανθεκτικότητα (cross resistance) και η πολλαπλή ανθεκτικότητα (multiple resistance).

Η σταυρανθεκτικότητα 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' (Ελευθεροχωρινός, 2008). Η ανθεκτικότητα αυτής της μορφής ελέγχεται από ένα γονίδιο.

Η πολλαπλή ανθεκτικότητα 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).

2.2.4 Μηχανισμοί ανθεκτικότητας των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα.

Η ανθεκτικότητα των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα μπορεί να οφείλεται σε φυσιολογικούς ή/και βιοχημικούς μηχανισμούς των φυτών. Οι κυριότεροι φυσιολογικοί μηχανισμοί των ζιζανίων που συμβάλλουν στην επιλογή ανθεκτικότητας μεταξύ των πληθυσμών των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα είναι: 1) η μείωση του ρυθμού απορρόφησης του ζιζανιοκτόνου, 2) η μείωση του ρυθμού μετακίνησης και 3) η τροποποίηση στην ενδοκυτταρική κατανομή των ζιζανιοκτόνων.

Οι βιοχημικοί μηχανισμοί των ζιζανίων που εξηγούν την ανθεκτικότητά τους στα ζιζανιοκτόνα σχετίζονται με 1) την ικανότητα τους να μεταβολίζουν τα ζιζανιοκτόνα μέσω α) μετατροπής-αποδόμησης (οξείδωση, υδροξυλίωση, υδρόλυση, αναγωγή) των μορίων τους, β) σχηματισμού συμπλόκων με συστατικά των κυττάρων (γλουταθειόνη, σάκχαρα, αμινοξέα κ.ά.), και γ) εναπόθεσής τους στα κυτταρικά τοιχώματα και στα χυμοτόπια, 2) την υπερπαραγωγή του ενζύμου που αποτελεί θέση δράσης του ζιζανιοκτόνου και 3) την τροποποίηση της θέσης δράσης του ζιζανιοκτόνου (Ελευθεροχωρινός, 2008). Ειδικότερα για τις διεργασίες μετατροπής-αποδόμησης, οι De Prado και Franco (2004) αναφέρουν ότι η οξείδωση και η υδροξυλίωση των ζιζανιοκτόνων καταλύονται εντός των φυτών από τα ένζυμα μονοοξυγονάσες του κυτοχρώματος P450 (CytP₄₅₀), η υδρόλυση από τις υδρολάσες (εστεράσες, αμιδάσες, νιτριλάσες, φωσφατάσες) και η αναγωγή από τις αναγωγάσες (απαμινάσες, νιτροαναγωγάσες).

2.2.5 Η ανθεκτικότητα των ζιζανίων σε παγκόσμια κλίμακα

Η πρώτη αναφορά για ανάπτυξη ανθεκτικού ζιζανίου αφορούσε στο ζιζανιοκτόνο 2,4-D (ανήκει στη χημική οικογένεια των φαινοξυαλκανοϊκών) και έγινε το 1957 στη Χαβάη (Hilton, 1957). Βέβαια, το 1968 για πρώτη φορά δημοσιεύτηκαν στοιχεία για την ανάπτυξη ανθεκτικών βιοτύπων του ζιζανίου μαρτιάκος (*Senecio vulgaris*), το οποίο παρουσίασε μειωμένη ευαισθησία στις τριαζίνες simazine και atrazine (Ryan, 1970). Έκτοτε, η πίεση επιλογής που άσκησαν οι επαναλαμβανόμενες επεμβάσεις ζιζανικτόνων με εξειδικευμένο μηχανισμό δράσης σε τεράστιες καλλιεργούμενες εκτάσεις συνετέλεσαν σε ραγδαία επιλογή ανθεκτικών πληθυσμών ζιζανίων. Μέχρι σήμερα σε παγκόσμια κλίμακα, έχουν αναφερθεί 515 ξεχωριστές περιπτώσεις (είδος ζιζανίου x μηχανισμό/θέση δράσης) ζιζανίων με ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα. Συνολικά, ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα έχει ταυτοποιηθεί σε 267 (διακόσια εξήντα επτά) είδη ζιζανίων (154 δικοτυλήδονων και 113 μονοκοτυλήδονων ειδών). Προσέτι, επιλεγεί ανθεκτικοί πληθυσμοί σε διάφορα είδη ζιζανίων στις 21 από τις συνολικά 31 υπάρχουσες θέσεις δράσης ζιζανιοκτόνων και σε 165 διαφορετικά ζιζανιοκτόνα. Σε παγκόσμια κλίμακα, έχουν αναφερθεί ανθεκτικά είδη ζιζανίων σε 97 διαφορετικές καλλιέργειες, σε 72 χώρες (Heap, 2022).

2.2.6 Εξέλιξη της ανθεκτικότητας στην Ελλάδα

Τα μέχρι σήμερα δεδομένα δείχνουν ότι στην Ελλάδα έχουν εμφανίσει ανθεκτικότητα 23 είδη ζιζανίων (Heap, 2022; Ελευθεροχωρινός, 2020) σε ζιζανιοκτόνα που αναστέλλουν: (1) τη ροή ηλεκτρονίων στο φωτοσύστημα II (PSII), (2) τη δράση του ενζύμου καρβοξυλάση του ακέτυλο-CoA (ACCase), (3) τη δράση του ενζύμου οξικογαλακτική συνθάση (ALS) και (4) τη δράση του ενζύμου EPSPS (Ελευθεροχωρινός, 2020). Αναλυτικότερα, το είδος **κοινή μουχρίτσα** (*Echinochloa crus-galli*) εμφάνισε ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο propanil, το **τραχύ βλήτο** (*Amaranthus retroflexus*) και η **λουβουδιά** (*Chenopodium album*) ανέπτυξαν ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο metribuzin (Eleftherohorinos κ.ά., 2000), η **αγριοτομάτα** (*Solanum nigrum*) ανέπτυξε ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο prometryn, η λεπτή ήρα (*Lolium rigidum*) ανέπτυξε πολλαπλή ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα chlorsulfuron, mesosulfuron+iodosulfuron, clodinafop, diclofop και tralkoxydim (Kaloumenos

κ.ά., 2012), η **κοινή παπαρούνα** (*Papaver rhoes*) ανέπτυξε σταυρανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα chlorsulfuron, tribenuron, triasulfuron, mesosulfuron+iodosulfuron, florasulam, pyrithiobac και imazamox (Kaloumenos κ.ά., 2011), το πολυετές αγρωστώδες **βέλιουρας** (*Sorghum halepense*) ανέπτυξε διασταυρωτή ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα quizalofop, propaquizafof και fluazifop-P- butyl (Παπαπαναγιώτου κ.ά., 2017a), η **χειμερινή αγριοβρώμη** (*Avena sterilis*) ανέπτυξε διασταυρωτή ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα diclofop, clodinafop, fenoxyprop, tralkoxydim και pinoxaden (Papapanagiotou κ.ά., 2012) και στους ALS-αναστολείς (mesosulfuron+iodosulfuron, pyroxslam) (Παπαπαναγιώτου κ.ά. 2017d), η **όρθια μουχρίτσα** (*Echinochloa oryzicola*) ανέπτυξε σταυρανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα penoxslam, bispyribac, imazamox, foramsulfuron, nicosulfuron και rimsulfuron (Kaloumenos κ.ά., 2013a), το **κόκκινο ρύζι** (*Oryza sativa*) ανέπτυξε σταυρανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα imazamox και imazethapyr (Kaloumenos κ.ά., 2013b), η **μικρόκαρπη φάλαρη** (*Phalaris minor*) στους ACCase-αναστολείς diclofop, clodinafop propargyl και fenoxyprop (Travlos, 2012), η **μοσχοκύπερη** (*Cyperus difformis*) στους ALS-αναστολείς azimsulfuron, halosulfuron, imazosulfuron (Ntoanidou κ.ά., 2016), το **άγριο σινάπι** (*Sinapis arvensis*) (Ntoanidou κ.ά., 2017) και το ράπιστρο (Ntoanidou κ.ά., 2019) στους ALS-αναστολείς tribenuron και imazamox και **είδη κόνυζας** (*Conyza canadensis* και *C. albida*) ανέπτυξαν ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο glyphosate (Travlos και Chachalis, 2013). Επίσης, πληθυσμοί των αγρωστωδών ζιζανίων **ανεμόχορτο** (*Apera spica-venti*) και **μίλιο** (*Milium vernale*) ανέπτυξαν ανθεκτικότητα σε ACCase- (diclofop, clodinafop propargyl) και ALS-αναστολείς (chlorsulfuron, mesosulfuron+iodosulfuron, pyroxslam) (Παπαπαναγιώτου κ.ά., 2017c), ενώ πληθυσμοί των ειδών μικρόκαρπη (*Galium spurium*), και μεγαλόκαρπη (*Galium aparine*) κολλητσίδα (Παπαπαναγιώτου κ.ά., 2017d; Papapanagiotou κ.ά., 2019) και του είδους μικρόκαρπη καμελίνα (*Camelina microcarpa*) (Παπαπαναγιώτου κ.ά., 2017e), ανέπτυξαν ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς του ενζύμου οξικογαλακτική συνθάση (ALS) (chlorsulfuron, tribenuron, florasulam, pyroxslam+florasulam, mesosulfuron+iodosulfuron).

2.2.7 Ανάπτυξη ανθεκτικότητας και σταυρανθεκτικότητας σε ζιζανιοκτόνα αναστολείς της δράσης ενζύμου ALS ή AHAS

Τα ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ALS ενζύμου αποτελούν τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα ζιζανιοκτόνα πταγκοσμίως. Οι παραγωγοί χρησιμοποιούν εκτεταμένα σε επαναλαμβανόμενες επεμβάσεις εδώ και πολλά χρόνια ζιζανιοκτόνα αυτού του μηχανισμού δράσης, επειδή είναι αποτελεσματικά εναντίον πολλών πλατύφυλλων και ορισμένων αγρωστωδών ζιζανίων, αλλά και λόγω της χαμηλής δόσης εφαρμογής, της μεγάλης υπολειμματικής τους διάρκειας, της εκλεκτικότητας και της χαμηλής τοξικότητας που εμφανίζουν στα καλλιεργούμενα φυτά (Ελευθεροχωρινός, 2008). Βέβαια, η ικανότητα τους να επιλέγουν-αναπτύσσουν εύκολα (με ταχύ ρυθμό) ανθεκτικούς βιότυπους ζιζανίων είναι το μεγαλύτερο μειονέκτημα που παρουσιάζουν (Beckie και Tardif, 2012). Αυτό τεκμαίρεται από το γεγονός ότι μετά από 4-5 χρόνια συνεχόμενων επεμβάσεων του ζιζανιοκτόνου chlorsulfuron (σουλφονυλουρία) επιλέχθηκαν στη Βόρεια Αμερική (1987) ανθεκτικοί βιότυποι των ζιζανίων *Lactuca serriola* L. (αγριομάρουλο) και *Kochia scoparia* [L.] Schrad (Ελευθεροχωρινός, 2008). Μετά την πρώτη τεκμηριωμένη αναφορά επιλογής ανθεκτικότητας, ο αριθμός των ανθεκτικών βιοτύπων ζιζανίων στους ALS-αναστολείς αυξήθηκε σημαντικά και το 2000 υπερέβαινε τον αριθμό ανθεκτικών ειδών στα διπυριδίλια και στις τριαζίνες που είχαν ήδη χρησιμοποιηθεί ήδη για 40 περίπου χρόνια.

Τα συγκεκριμένα ζιζανιοκτόνα χρησιμοποιούνται σε δόσεις μικρότερες κατά 10 ως 100 φορές σε σχέση με εκείνες που ήδη χρησιμοποιούνται. Παρόλα αυτά, ο χρόνος παραμονής ορισμένων δραστικών ουσιών της χημικής οικογένειας είναι μεγαλύτερος από έναν χρόνο, αν και οι δόσεις εφαρμογής τους είναι πολύ μικρότερες συγκριτικά με ζιζανιοκτόνα άλλων χημικών οικογενειών και μηχανισμών δράσης (Ελευθεροχωρινός, 2008). Η μεγάλη υπολειμματική τους διάρκεια εκθέτει νεαρά σπορόφυτα που προκύπτουν από συνεχόμενα ‘κύματα φυτρώματος’ στη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου σε διαρκή πίεση επιλογής συντελώντας στην ‘ανάδυση’ ανθεκτικών πληθυσμών από τους αρχικούς, ευαίσθητους

πληθυσμούς. Γενικά, η εντατική χρήση των ζιζανιοκτόνων-αναστολέων της δράσης του ενζύμου ALS για παραπάνω από 40 έτη συνέβαλε στην ανάπτυξη ανθεκτικών πληθυσμών που ανήκουν σε 171 συνολικά είδη αγρωστωδών και πλατύφυλλων ζιζανίων (Heap, 2022).

Ο μηχανισμός ανθεκτικότητας των περισσότερων βιότυπων οφείλεται στην τροποποίηση της θέσης δράσης των ζιζανιοκτόνων αυτών (ένζυμο ALS ή AHAS), το οποίο κωδικοποιείται εντός του πυρήνα και μέσω ενός πεπτιδίου-μεταφορέα μεταφέρεται εντός των χλωροπλαστών όπου γίνεται η σύνθεση των τριών αμινοξέων διακλαδισμένης αλυσίδας άνθρακα (Tranel και Wright, 2002). Ωστόσο, υπάρχουν και διάφοροι πληθυσμοί ζιζανίων των οποίων η ανθεκτικότητα οφείλεται σε μεταβολισμό των ζιζανιοκτόνων-αναστολέων της δράσης του ενζύμου οξικογαλακτική συνθάση, μέσω υδροξυλίωσης και στη συνέχεια μέσω σχηματισμού ενός συμπλόκου με γλυκόζη (Cao κ.ά., 2021; Tranel και Wright, 2002).

2.2.8 Σταυρανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS

Οι περισσότερες περιπτώσεις ανθεκτικότητας πληθυσμών αγρωστωδών ή πλατύφυλλων ειδών ζιζανίων οφείλονται σε τροποποιημένη θέση-στόχο δράσης των ζιζανιοκτόνων-αναστολέων του ενζύμου ALS. Ειδικότερα, η ανθεκτικότητα οφείλεται στην ύπαρξη ενός μεταλλαγμένου γονιδίου (εμφάνιση σημειακών μεταλλάξεων στο γονίδιο *ALS*), το οποίο είναι υπεύθυνο για την εμφάνιση διαφορετικών προφίλ σταυρανθεκτικότητας σε ζιζανιοκτόνα τα οποία ανήκουν σε μία ή περισσότερες από τις χημικές οικογένειες των ζιζανιοκτόνων-αναστολέων της δράσης του ενζύμου ALS.

Μέχρι σήμερα, έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερες από 20 αντικαταστάσεις αμινοξέων σε 8 θέσεις του *ALS* γονιδίου, οι οποίες προσδίδουν ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS (Beckie και Tardif, 2012; Tranel και Wright, 2002). Οι βιότυποι των ζιζανίων, με βάση τη θέση αντικατάστασης των αμινοξέων του ενζύμου ALS ή AHAS και την επακόλουθη επιλογή/ανάπτυξη ανθεκτικότητας ή

σταυρανθεκτικότητας στα διάφορα ζιζανιοκτόνα, θα μπορούσαν να καταταγούν σε έξι ομάδες (Ελευθεροχωρινός, 2008):

Ομάδα 1. Η αντικατάσταση του αμινοξέος αλανίνη (Ala) στη θέση 122 του ALS γονιδίου από το αμινοξύ θρεονίνη (Thr) (Ala-122-Thr) προκαλεί σταυρανθεκτικότητα μόνο σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της οικογένειας των ιμιδαζολινονών, ενώ οι ανθεκτικοί βιότυποι των ζιζανίων είναι ευαίσθητοι στις σουλφονυλουρίες και στις άλλες ομάδες ζιζανιοκτόνων-αναστολέων του ενζύμου ALS.

Ομάδα 2. Η αντικατάσταση του αμινοξέος προλίνη (Pro) στη θέση 197 του ALS γονιδίου από τα αμινοξέα θρεονίνη (Thr), αλανίνη (Ala), αργινίνη (Arg), γλουταμίνη (Gln), σερίνη (Ser), ισολευκίνη (Ile), λευκίνη (Leu) ή ιστιδίνη (His) (Pro-197-) παρέχει στους βιότυπους ζιζανίων που φέρουν τις συγκεκριμένες σημειακές μεταλλάξεις σταυρανθεκτικότητα μόνο στα ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της οικογένειας των σουλφονυλουριών, ενώ οι βιότυποι παραμένουν ευαίσθητοι ή εμφανίζουν πολύ χαμηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα της χημικής οικογένειας των ιμιδαζολινών.

Ομάδα 3. Σε αυτήν ανήκουν βιότυποι ζιζανίων που φέρουν την αντικατάσταση του αμινοξέος αλανίνη (Ala) στη θέση 205 του ALS γονιδίου, το οποίο αντικαθίσταται από το αμινοξύ βαλίνη (Val) (Ala-205-Val) και καθιστά τα φυτά ανθεκτικά στις ιμιδαζολινόνες και ευαίσθητα στις σουλφονυλουρίες ή με μέτρια σταυρανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα των χημικών οικογενειών των σουλφονυλουριών, ιμιδαζολινονών, πυριμιδινυλβενζοϊκών και τριαζολοπυριμιδινών.

Ομάδα 4. Η συγκεκριμένη ομάδα περιλαμβάνει βιότυπους ζιζανίων οι οποίοι εμφανίζουν υψηλής έντασης σταυρανθεκτικότητα σε όλα τα ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS (ζιζανιοκτόνα των χημικών

οικογενειών των σουλφονυλουριών, των ιμιδαζολινών, των πυριμιδινυλθειοβενζοϊκών και των τριαζολοπυριμιδινών). Η ανθεκτικότητα αυτών των βιοτύπων οφείλεται σε αντικατάσταση του αμινοξέος τρυπτοφάνη (Trp), στη θέση 574 του ALS γονιδίου, από το αμινοξύ λευκίνη (Leu) (Trp-574Leu).

Ομάδα 5. Στην ομάδα περιλαμβάνονται ανθεκτικοί στα ζιζανιοκτόνα βιότυποι/πληθυσμοί ζιζανίων λόγω αντικατάστασης του αμινοξέος σερίνη (Ser) στη θέση 653 του ALS γονιδίου από τα ανμινοξέα θρεονίνη (Thr) ή ασπαραγίνη (Asn) (Ser-653-Thr/Asn). Οι βιότυποι που φέρουν τη συγκεκριμένη σημειακή μετάλλαξη παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στις ιμιδαζολινόνες και ευαισθησία στις σουλφονυλουρίες και τις τριαζολοπυριμιδίνες.

Ομάδα 6. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει βιότυπους ζιζανίων (είδος βλήτου *Amaranthus hybridus*), που παρουσιάζουν σταυρανθεκτικότητα σε όλα τα ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS. Η σταυρανθεκτικότητα αυτή οφείλεται σε αντικατάσταση του αμινοξέος ασταρτικού οξύ (Asp), στη θέση 376 του ALS γονιδίου, από το αμινοξύ γλουταμινικό οξύ (Glu) (Asp-376-Glu).

2.2.9 Μέτρα αντιμετώπισης της ανθεκτικότητας των ζιζανίων

Ένας σημαντικός αριθμός ειδών ζιζανίων που αναπτύσσονται εντός των καλλιεργούμενων αγρών έχουν ήδη εμφανίσει ανθεκτικούς βιοτύπους/πληθυσμούς σε ορισμένα ζιζανιοκτόνα. Αρκετά μάλιστα από αυτά τα ζιζανιοκτόνα αναπτύχθηκαν σχετικά πρόσφατα και ανήκουν στις λιγότερο επιβλαβείς στον άνθρωπο και στο περιβάλλον οικογένειες ζιζανιοκτόνων. Αυτό, όπως είναι φυσικό, καθιστά αναγκαία τη λήψη μέτρων για την αντιμετώπιση των ήδη ανθεκτικών βιοτύπων και ταυτόχρονα τη λήψη προληπτικών μέτρων για τη μείωση της πιθανότητας ανάπτυξης-επιλογής νέων βιοτύπων των ίδιων ή άλλων ειδών ζιζανίων με ανθεκτικότητα στα ίδια ή

σε άλλα ζιζανιοκτόνα. Η μείωση όμως της πιθανότητας επιλογής νέων βιοτύπων με ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα εξαρτάται από τους παράγοντες της εφαρμοζόμενης γεωργικής πρακτικής.

Υπάρχουν διάφορα μέτρα που μπορούν να ληφθούν για τη μείωση της πιθανότητας επιλογής νέων βιοτύπων/πληθυσμών με ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα. Τα μέτρα που μπορεί να ληφθούν για τη μείωση της πιθανότητας ανάπτυξης νέων βιοτύπων με ανθεκτικότητα ζιζανιοκτόνα είναι: (1) η υιοθέτηση αμειψισποράς (εναλλαγής των καλλιεργειών), (2) η εναλλαγή ζιζανιοκτόνων και η χρήση μιγμάτων ζιζανιοκτόνων με διαφορετικό μηχανισμό δράσης, (3) η χρήση κατάλληλων μέσων κατεργασίας εδάφους, (4) η εφαρμογή καλλιεργητικών μέτρων και (5) η εφαρμογή συστημάτων ολοκληρωμένης διαχείρισης των ζιζανίων (IWM, Integrated Weed Management).

Ειδικότερα, η αμειψισπορά μπορεί να αποτρέψει την επιλογή ανθεκτικών βιοτύπων ζιζανίων μέσω της δυνατότητας που παρέχει για:

1. Αποφυγή κάποιων ζιζανίων να εκτεθούν για μεγάλο χρονικό διάστημα στο ίδιο ζιζανιοκτόνο
2. Εφαρμογή άλλων μεθόδων αντιμετώπισης των ζιζανίων και σε διαφορετικό χρόνο
3. Εφαρμογή άλλων ζιζανιοκτόνων
4. Καλλιέργεια ανταγωνιστικότερων καλλιεργούμενων φυτών εναντίον των ζιζανίων

Προσέτι, η εναλλαγή ζιζανιοκτόνων και η χρήση μιγμάτων ζιζανιοκτόνων μειώνει την πιθανότητα ανάπτυξης ανθεκτικών βιοτύπων μέσω της παρεχόμενης δυνατότητας για:

1. Περιορισμένη χρήση ενός και μόνο ζιζανιοκτόνου
2. Χρήση μιγμάτων ζιζανιοκτόνων με διαφορετικό μηχανισμό δράσης
3. Διαδοχική εφαρμογή επεμβάσεων με ζιζανιοκτόνα διαφορετικού μηχανισμού δράσης
4. Χρήση μη εκλεκτικών και ευρέως φάσματος ζιζανιοκτόνων στα πρώιμα εμφανιζόμενα ζιζάνια

Τα καλλιεργητικά μέτρα που συστήνονται για την επιβράδυνση της επιλογής αλλά και τη διαχείριση ήδη επιλεγέντων βιοτύπων/πληθυσμών ζιζανίων με ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα είναι: (1) η καλή προετοιμασία της

σποροκλίνης, (2) η επιλογή σπόρου ομοιόμορφου μεγέθους, (3) η κατάλληλη εποχή σποράς, (4) η πυκνότερη και σε ομοιόμορφο βάθος σπορά και (5) η ορθή χρήση νερού και λιπασμάτων. Τα μέτρα αυτά συμβάλλουν συμπληρωματικώς στην αντιμετώπιση των ζιζανίων και στη μείωση της πιθανότητας ανάπτυξης ανθεκτικών βιοτύπων σε ζιζανιοκτόνα, γιατί εξασφαλίζουν γρήγορη και ομοιόμορφη εγκατάσταση μιας εύρωστης καλλιέργειας η οποία χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη ανταγωνιστικότητα εναντίον των ζιζανίων

Η κατεργασία του εδάφους με άροτρο με βαθύ όργωμα μειώνει την πιθανότητα και τον ρυθμό ανάπτυξης ανθεκτικών ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα σε σχέση με την ελάχιστη κατεργασία του εδάφους, επειδή το βαθύ όργωμα αναστρέψει το έδαφος και ως εκ τούτου κατανέμει τους σπόρους των ανθεκτικών ζιζανίων σε μεγάλο βάθος με αποτέλεσμα να μειώνεται η ποσότητα τους κοντά στην επιφάνεια του εδάφους, όπου οι σπόροι φυτρώνουν ευκολότερα και ακολούθως αναπτύσσονται σε ανθεκτικά φυτά (Ελευθεροχωρινός, 2008).

Η ολοκληρωμένη διαχείριση των ζιζανίων είναι το σύστημα με τη μεγαλύτερη συμβολή στη μείωση της πιθανότητας επιλογής ανθεκτικών ζιζανίων, αφού έχει ως στόχο τη διαχείριση και όχι την πλήρη εξάλειψη των ζιζανίων. Το σύστημα αυτό μπορεί να εφαρμοστεί είτε αυτοτελώς είτε μέσω προγραμμάτων που εφαρμόζονται ήδη διεθνώς και είναι γνωστά ως ολοκληρωμένη διαχείριση των εχθρών (IPM, Integrated Pest Management) ολοκληρωμένη διαχείριση φυτικής παραγωγής (ICM, Integrated Crop Management) ή ολοκληρωμένη παραγωγή (IP, Integrated Production) (Ελευθεροχωρινός, 2008).

Εφόσον η μη έγκαιρη υιοθέτηση και εφαρμογή προληπτικών μέτρων για την αποφυγή επιλογής ανθεκτικών βιοτύπων συντελέσει στην εμφάνιση ανθεκτικών βιοτύπων στους καλλιεργούμενους αγρούς, η αντιμετώπιση των ήδη αναπτυχθέντων ανθεκτικών βιοτύπων ενός ζιζανίου μπορεί να γίνει με: (1) εφαρμογή άλλων ζιζανιοκτόνων που έχουν διαφορετικό μηχανισμό δράσης (εναλλακτική χημική καταπολέμηση), (2) εφαρμογή κάποιας άλλης μη χημικής μεθόδου, (3) αμειψισπορά που επιτρέπει την εφαρμογή άλλων ζιζανιοκτόνων και άλλων μεθόδων, (4) καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων φυτών με

ανθεκτικότητα σε μεταφυτρωτικά ζιζανιοκτόνα ευρέως φάσματος (glyphosate, glufosinate).

Βέβαια, σημαντικότερη στόχευση δεν αποτελεί η διαχείριση των ήδη αναπτυχθέντων ανθεκτικών βιοτύπων αλλά η λήψη των κατάλληλων μέτρων τα οποία θα μειώσουν την πιθανότητα επιλογής και επικράτησης νέων βιοτύπων ζιζανίων με ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα.

2.2.10 Σκοπός Εργασίας

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση πιθανής επιλογής ανθεκτικότητας και σταυρανθεκτικότητας σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου οξικογαλακτική συνθάση, σε επιλεγμένους πληθυσμούς του ζιζανίου κυρτόκαρπη κολλητσίδα, οι οποίοι συλλέχθηκαν από καλλιεργούμενους αγρούς χειμερινού σιταριού στην περιοχή Τριγωνικό του νομού Κοζάνης. Επίσης, μελετήθηκε η ανταπόκριση των συγκεκριμένων πληθυσμών σε ορμονικά ζιζανιοκτόνα με δράση αυξίνης καθώς και ενός μίγματος ορμονικού ζιζανιοκτόνου με ένα ζιζανιοκτόνο που αναστέλλει τη διεργασία της φωτοσύνθεσης, για να εξεταστεί η δυνατότητα αποτελεσματικής

εναλλακτικής χημικής τους καταπολέμησης με ζιζανιοκτόνα διαφορετικού μηχανισμού δράσης.

Κεφάλαιο 3. ΥΛΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΙ

Δέκα (10) επιλεγμένοι πληθυσμοί του είδους κυρτόκαρπη κολλητσίδα (*Galium tricornutum* L.) αξιολογήθηκαν σε πειράματα φυτοδοχείων για πιθανή ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου οξικογαλακτική συνθάση (Acetolactate synthase, ALS). Οι πληθυσμοί του ζιζανίου προέρχονταν από μονοκαλλιέργεια χειμερινού σιταριού που αναπτύσσονταν σε σιταγρούς του χωριού Τριγωνικό που ανήκει στο νομό Κοζάνης (Εικόνες 7, 8 και 9). Ταυτόχρονα, διερευνήθηκαν οι δυνατότητες

αποτελεσματικής χημικής αντιμετώπισης των ανωτέρω πληθυσμών του ζιζανίου, καθώς αξιολογήθηκαν ορισμένα εκλεκτικά ζιζανιοκτόνα με δράση ενδογενούς αυξίνης που είναι εγκεκριμένα για την πραγματοποίηση μεταφυτρωτικών εφαρμογών στην καλλιέργεια των χειμερινών σιτηρών. Στα πειράματα φυτοδοχείων της παρούσας μελέτης που αφιερώθηκε στη διερεύνηση ύποπτων πληθυσμών του είδους κυρτόκαρπη κολλητσίδα για πιθανή επιλογή ανθεκτικότητας, αξιολογήθηκε και ένας ευαίσθητος πληθυσμός αναφοράς. Ο πληθυσμός που χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας, συλλέχθηκε από παρακείμενη τοποθεσία εκτός των καλλιεργούμενων αγρών και δεν είχε εκτεθεί ποτέ σε επεμβάσεις ζιζανιοκτόνων. Σε κάθε αγρό συλλέγονταν μεγάλος αριθμός ώριμων σπόρων από φυτά του ζιζανίου που αναπτύσσονταν σε διαφορετικές κηλίδες, σε όλη την επιφάνεια του σιταγρού (οι σπόροι των φυτών κάθε αγρού θεωρήθηκαν ένας διαφορετικός πληθυσμός). Οι σπόροι κάθε πληθυσμού τοποθετήθηκαν σε πλαστικές σακούλες στον αγρό και ακολούθως μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο όπου τοποθετήθηκαν σε χάρτινες σακούλες και διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι την άνοιξη της επόμενης χρονιάς για τη διακοπή του ληθάργου και την εξασφάλιση υψηλότερου και περισσότερου ομοιόμορφου φυτρώματος των φυτών στα πειράματα φυτοδοχείων που ακολούθησαν.



Εικ. 7. Φυτά κυρτόκαρπης κολλητσίδας που επιβίωσαν των

επεμβάσεων των ζιζανιοκτόνων (Τριγωνικό, Ιούνιος 2021)



Εικ. 8. Φυτά κυρτόκαρπης κολλητοσίδας λίγο πριν
τη συγκομιδή (Τριγωνικό, Ιούνιος 2021)



Εικ. 9. Ο έντονος ανταγωνισμός που ασκούν τα φυτά του
ζιζανίου συντελεί σε μειωμένο αδέλφωμα και ποσοτική
υποβάθμιση της παραγωγής των χειμερινών σιτηρών

Τα πειράματα εγκαταστάθηκαν στο αγρόκτημα του Τμήματος Γεωπονίας της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Δυτικής Μακεδονίας, στη Φλώρινα, από τα τέλη Μαρτίου έως τα τέλη Ιουνίου του έτους 2022 (Εικόνα 10).



Εικ. 10. Γενική όψη του πειράματος φυτοδοχείων το οποίο εκαταστάθηκε στο αγρόκτημα του Τμήματος Γεωπονίας στη Φλώρινα την άνοιξη του έτους 2022

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε πλαστικά φυτοδοχεία διαστάσεων 10x10x9cm. Η σπορά των σπόρων των πληθυσμών κυρτόκαρπης κολλητσίδας πραγματοποιήθηκε σε εδαφικό μίγμα που αποτελούνταν από έδαφος (με τα ακόλουθα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά: 48.0% πηλός, 31.6% άργιλλος, 20.4% άμμος, περιεκτικότητας 1.3% σε οργανική ουσία και 7.8 τιμή οξύτητας (pH) [1:1 H₂O], τύρφη και άμμο σε αναλογία 1:1 (o/o). Σε κάθε φυτοδοχείο τοποθετήθηκαν 30 περίπου σπόροι του ζιζανίου, οι οποίοι καλύφθηκαν προσεκτικά με λεπτό στρώμα 1cm του ίδιου εδαφικού μίγματος.

Όταν τα νεαρά σπορόφυτα έφτασαν στο στάδιο των δύο φύλλων αραιώθηκαν με προσοχή, ώστε τελικά να παραμείνουν και να αναπτυχθούν

έξι ομοιόμορφα φυτά κυρτόκαρπης κολλητσίδας σε κάθε φυτοδοχείο. Η κανονική ανάπτυξη των φυτών κυρτόκαρπης κολλητσίδας και η κάλυψη των αναγκών τους σε θρεπτικά στοιχεία διασφαλίζονταν με εφαρμογή πλήρους διαφυλλικού λιπάσματος μία φορά την εβδομάδα, ενώ η άρδευση πραγματοποιούνταν δύο φορές την εβδομάδα μέχρι το στάδιο κορεσμού του εδάφους. Κάθε εβδομάδα γίνονταν εκ νέου τυχαιοποίηση των φυτοδοχείων ώστε τα φυτά του ζιζανίου να αναπτύσσονται σε ομοιόμορφες συνθήκες περιβάλλοντος.

Οι επεμβάσεις των ζιζανιοκτόνων πραγματοποιήθηκαν όταν τα φυτά του ζιζανίου βρίσκονταν στο στάδιο των 3-4 πραγματικών φύλλων. Για κάθε πληθυσμό υπήρχαν φυτοδοχεία που δεν δέχθηκαν επεμβάσεις των ζιζανιοκτόνων (μάρτυρες). Οι επεμβάσεις πραγματοποιήθηκαν με φορητό ψεκαστήρα ακριβείας τύπου AZO (AZP-SPRAYERS, P.O. Box 350-6710 BJ EDE Ολλανδία), ο οποίος φέρει ιστό έξι ακροφυσίων τύπου ριπιδίου 8002 (TeeJet Spray Systems, Co., P.O. Box 7900, Wheaton, IL 60188, Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής) και έχει πλάτος 2,4m. Ο ψεκαστήρας ακριβείας ήταν ρυθμισμένος ώστε να εφαρμόζει όγκο ψεκαστικού υγρού 30lt/στρέμμα και λειτουργούσε με σταθερή πίεση ψεκασμού 280kPa.

Εναντίον του ύποπτου για επιλογή ανθεκτικότητας πληθυσμού του ζιζανίου κυρτόκαρπης κολλητσίδας αξιολογήθηκαν τα ακόλουθα σκευάσματα ζιζανιοκτόνων, στη συνιστώμενη (X), τη διπλάσια της συνιστώμενης (2X), την τετραπλάσια της συνιστώμενης (4X) και τέλος την οκταπλάσια της συνιστώμενης (8X) δόσης εφαρμογής:: **tribenuron methyl** (Granstar WG, FMC) (1.5, 3, 6, 12 g δ.ο./στρ) με την προσθήκη του επιφανειοδραστικού παράγοντα Trend® 90SL (iodecyl alcohol ethoxylate 90% β/ο), σε αναλογία 0.1% o/o, **pyroxsulam + florasulam** (Broadway 85WG, Corteva Agriscience) (1.88+0.37, 3.76+0.74, 7.5+1.5, 15+3 g δ.ο./στρ) με την προσθήκη του επιφανειοδραστικού παράγοντα Biopower 276.5 SL (alkylethersulfate sodium salt 38.35% β/β), σε αναλογία 0.4% o/o και **imazamox** (Pulsar R 4 SL, BASF Hellas) (5, 10, 20, 40 g δ.ο./στρ) με την προσθήκη του επιφανειοδραστικού παράγοντα Dash® HC [μεθυλικοί εστέρες λιπαρών οξέων, ολεϊκό οξύ, φωσφορικοί εστέρες, γαλακτωματοποιήσιμο σκεύασμα (EC)], σε αναλογία 0.4% o/o. Επίσης, στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα

τριων ετοιμόχρηστων μιγμάτων ζιζανιοκτόνων-αναστολέων της δράσης του ενζύμου και ορμονικών ζιζανιοκτόνων με δράση αυξίνης εναντίον των ύποπτων για επιλογή ανθεκτικότητας στους ALS-αναστολέις πληθυσμούς κυρτόκαρπης κολλητσίδας. Τα σκευάσματα που ακολουθούν αξιολογήθηκαν στη συνιστώμενη (X) δόση εφαρμογής τους: **tribenuron+mecoprop-P** (Granstar® Combi SG, FMC) (1.09+80g δ.ο./στρ), **florasulam+fluroxypyr** (0.18+18g δ.ο./στρ) (Starane™ Gold SE, K.N. Efthymiadis S.A.), **florasulam+aminopyralid** (Lancelot 450WG, Corteva Agriscience) (0.5+1 g δ.ο./στρ). **Bromoxynil+2,4-D** (Brominal® Nuevo EC, Bayer CropScience) (42+42 g δ.ο./στρ). Το πείραμα των φυτοδοχείων επαναλήφθηκε δύο φορές.

Η αποτελεσματικότητα της κάθε επέμβασης των ζιζανιοκτόνων εναντίον των πληθυσμών του είδους *Galium tricorbutum* αξιολογήθηκε με προσδιορισμό της υπέργειας φυτομάζας (συνολικού χλωρού βάρους) των φυτών σε κάθε φυτοδοχείο, τέσσερις εβδομάδες μετά την πραγματοποίηση των επεμβάσεων. Το χλωρό βάρος αποτελεί μια από τις απλούστερες παραμέτρους που καταδεικνύει την ευρωστία των φυτών και χρησιμοποιείται ευρύτατα για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των επεμβάσεων των ζιζανιοκτόνων. Ακολούθως, το χλωρό βάρος; εκφράστηκε σε % αναστολή της ανάπτυξης των φυτών [% αποτελεσματικότητα της επέμβασης (δόσης εφαρμογής) κάθε ζιζανιοκτόνου], σε σχέση με τον αψέκαστο μάρτυρα κάθε πληθυσμού.

Η στατιστική επεξεργασία (ανάλυση της παραλλακτικότητας, ANOVA) πραγματοποίηθηκε χρησιμοποιώντας τα δεδομένα χλωρού βάρους των φυτών του ζιζανίου *Galium tricorbutum* που εκτέθηκαν στην εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων-αναστολέων του ενζύμου ALS- (tribenuron, pyroxsulam+florasulam, imazamox) για τους ύποπτους για επιλογή ανθεκτικότητας πληθυσμούς. Το πειραματικό σχέδιο ήταν το πλήρως τυχαιοποιημένο (Complete random Design, CRD) και για κάθε επέμβαση ζιζανιοκτόνου υπήρχαν τρεις επαναλήψεις. Η ομοιογένεια των δεδομένων που προέκυψαν από τον πειραματισμό ελέγχθηκε χρησιμοποιώντας τη δοκιμή (test) Barlett (Scedenor και Cochram, 1989), σύμφωνα με την οποία δεν παρατηρήθηκαν αποκλίσεις από την κανονικότητα (δεν καταγράφηκαν διαφορές μεταξύ των δύο πειραμάτων). Έτσι, τα στοιχεία αναλύθηκαν

συνολικά για τα δύο πειράματα που πραγματοποιήθηκαν για τη διερεύνηση της ενδεχόμενης επιλογής ανθεκτικότητας σε κάθε ένα από τα δύο είδη ζιζανίων. Οι διαφορές στους μέσους όρους των επεμβάσεων συγκρίθηκαν σε επίπεδο σημαντικότητας 5%, χρησιμοποιώντας το κριτήριο της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς (LSD).

Κεφάλαιο 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης που επικεντρώθηκε στη διερεύνηση της πιθανής ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε μεταφυτωτικά ζιζανιοκτόνα εγκεκριμένα στην καλλιέργεια των χειμερινών σιτηρών για την καταπολέμηση πλατύφυλλων ζιζανίων και τα οποία δρουν αναστέλλοντας τη δράση του ενζύμου οξικογαλακτική συνθάση (Acetolactate synthase, ALS) σε πειράματα φυτοδοχείων παρουσιάζεται στον Πίνακα 3 που ακολουθεί.

Πίνακας 3. Ανταπόκριση (αποτελεσματικότητα %) πληθυσμών κυρτόκαρπης κολλητσίδας στη συνιστώμενη (X), διπλάσια (2X), τετραπλάσια (4X) και οκταπλάσια (8X) δόση, ALS-αναστολέων εγκεκριμένων για την πραγματοποίηση μεταφυτρωτικών επεμβάσεων στα χειμερινά σιτηρά της χώρας (G=tribenuron-methyl, B=pyroxsulam+florasulam, P=imazamox) (οι τιμές αποτελούν μέσους όρους έξι επαναλήψεων/φυτοδοχείων).

Ζιζανιοκτόνα /Δόσεις	Πληθυσμοί κυρτόκαρπης κολλητσίδας (<i>Gallium tricornutum</i> D.)									
	Gt1	Gt2	Gt3	Gt4	Gt5	Gt6	Gt7	Gt8	Gt9	Gt10
Gx	7.2	0	0	19	0	5.8	2.4	0.2	0	4.8
G2x	14.5	0	8.1	24	0	12	14	12.4	0.5	18
G4x	22.6	2.8	21.4	33.1	11.6	14.2	16	13.9	10.2	37.4
G8x	30	34.8	27.3	40.8	17.9	18.3	22.4	21.6	31.5	45.3
Bx	9.2	0	1.1	6	22.6	23.4	13.3	14.7	0	17.3
B2x	18.5	10	16.8	16	26.7	32.1	22.4	18.1	23.3	27.3
B4x	20.3	21.6	19.5	49.3	37.7	35.2	34.4	33.1	34.6	36.2
B8x	44.8	32.8	28.5	56.8	42.4	57.6	46.4	42.4	53.5	47.2
Px	29.6	23.5	0	26.8	9.4	27.3	5.1	0	20.7	38.6
P2x	39.1	32.3	21.6	32.5	23.5	36.3	7.3	33.7	38.4	42.2
P4x	44.3	40.8	26.9	35.9	33	42.6	18.6	55.6	43.8	64.2
P8x	53.5	44	32.8	67.7	38	68.2	52.6	71	61.7	69

Τα δεδομένα που προέκυψαν καταδεικνύουν την επιλογή υψηλής έντασης σταυρανθεκτικότητας σε όλους του ύποπτους πληθυσμούς του είδους κυρτόκαρπη κολλητσίδα οι οποίοι προέρχονταν από μονοκαλλιέργεια χειμερινού σιταριού που αναπτύσσονταν στο Τριγωνικό του νομού Κοζάνης και αξιολογήθηκαν σε πειράματα φυτοδοχείων στην παρούσα μελέτη. Ειδικότερα, η εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης (X) της σουλφονυλουρίας tribenuron-methyl συνετέλεσε στη μείωση του χλωρού βάρους των φυτών που εκτέθηκαν στην επέμβαση κατά 0-7.2% σε 9 πληθυσμούς κυρτόκαρπης κολλητσίδας ενώ ένας πληθυσμός (Gt4) υπέστη μείωση του χλωρού βάρους των φυτών του κατά μόλις 19%. Η αποτελεσματικότητα του tribenuron-methyl εναντίον των ύποπτων για επιλογή ανθεκτικότητας πληθυσμών του ζιζανίων παρέμεινε εξαιρετικά χαμηλή και με την εφαρμογή της διπλάσιας της συνιστώμενης (2X) δόσης του ζιζανιοκτόνου, καθώς καταγράφηκε μείωση του χλωρού βάρος των φυτών κατά 0-14.5% σε 8 πληθυσμούς, ενώ οι πληθυσμοί Gt10 και Gt4 εμφάνισαν μείωση του χλωρού βάρους κατά 18% και 24%, αντίστοιχα (Πίνακας 3). Η εφαρμογή της τετραπλάσιας της συνιστώμενης (4X) δόσης συνετέλεσε σε επίπεδα αποτελεσματικότητας 2.8-22.6% εναντίον 8 πληθυσμών ενώ οι πληθυσμοί Gt4 και Gt10 καταπολεμήθηκαν κατά 33.1% και 37.4%, αντίστοιχα. Τέλος, η αποτελεσματικότητα της οκταπλάσιας της συνιστώμενης (8X) δόσης του tribenuron-methyl προκάλεσε μείωση του χλωρού βάρους των φυτών που εκτέθηκαν στην επέμβαση κατά 18.3-34.8% σε 8 πληθυσμούς κυρτόκαρπης κολλητσίδας, ενώ οι πληθυσμοί Gt4 και Gt10 καταπολεμήθηκαν κατά 40.8% και 45.3%, αντίστοιχα (Εικόνες 11 και 12, 14 και 15) (Πίνακας 3). Η σουλφονυλουρία tribenuron-methyl χρησιμοποιήθηκε σε επαναλαμβανόμενες επεμβάσεις επί σειρά ετών για την αντιμετώπιση των ειδών (κυρτόκαρπη, μεγαλόκαρπη και μικρόκαρπη κολλητσίδα), της μπιφόρας (*Bifora radians*), της παπαρούνας (*Papaver rhoeas L.*) και άλλων σημαντικών πλατύφυλλων ειδών που αναπτύσσονται στους αγρούς καλλιέργειας μαλακού σιταριού στην περιοχή του Τριγωνικού. Οι εφαρμογές του ζιζανιοκτόνου επί σειρά ετών πιθανώς αποτέλεσαν τον παράγοντα επιλογής της ανθεκτικότητας για τους πληθυσμούς του ζιζανίου. Ομοίως, το tribenuron-methyl μετά από 30 περίπου χρόνια εντατικής χρήσης και επαναλαμβανόμενων επεμβάσεων στις καλλιέργειες σιτηρών στις επαρχίες Shandong και Henan στην Κίνα προκάλεσε την επιλογή ανθεκτικών πληθυσμών του συγγενούς είδους

μεγαλόκαρπη κολλητσίδα (*Galium aparine* L.), όπως αναφέρθηκε πρόσφατα από τους Deng κ.ά. (2019). Οι επιλεγμένοι πληθυσμοί μεγαλόκαρπης κολλητσίδας εμφάνισαν σταυρανθεκτικότητα και στους ALS-αναστολείς pyrazosulfuron-ethyl, flumetsulam, flucarbazone και imazethapyr.

Η εφαρμογή του ετοιμόχρηστου μίγματος των ζιζανιοκτόνων pyroxsulam και florasulam που ανήκουν στη χημική οικογένεια των τριαζολοπυριμιδινών επίσης αποδείχθηκε ανεπαρκής για το ενδεχόμενο να αποτελέσει αποτελεσματική εναλλακτική λύση για τη χημική αντιμετώπιση των πληθυσμών με επιλεγμέσα ανθεκτικότητα στο tribenuron-methyl. Ειδικότερα, η εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης (X) συνετέλεσε σε επίπεδα καταπολέμησης που κυμάνθηκαν μεταξύ 0% και 17.3% εναντίον 8 πληθυσμών, ενώ οι πληθυσμοί Gt5 και Gt6 παρουσίασαν επίπεδα καταπολέμησης 22.6% και 23.4%, αντίστοιχα. Η αποτελεσματικότητα της εφαρμογής της διπλάσιας της συνιστώμενης δόσης των pyroxsulam και florasulam παρέμεινε επίσης χαμηλή καθώς προκάλεσε μείωση του χλωρού βάρους που κυμάνθηκε μεταξύ 10 και 27.3% σε 9 πληθυσμούς του ζιζανίου ενώ ο πληθυσμός Gt6 παρουσίασε επίπεδα καταπολέμησης 32.1% (Πίνακας 3). Ομοίως, η τετραπλάσια της συνιστώμενης δόσης των τριαζολοπυριμιδινών pyroxsulam και florasulam προκάλεσε μείωση του χλωρού βάρους των φυτών κυρτόκαρπης κολλητσίδας κατά 19.5% έως 37.7% εναντίον 9 πληθυσμών, ενώ ο πληθυσμός Gt4 υπέστη μείωση του χλωρού βάρους κατά 49.3% (Εικόνες 12 και 15). Τέλος, η εφαρμογή της οκταπλάσιας της συνιστώμενης δόσης (8X) των pyroxsulam και florasulam μείωσε το χλωρό βάρος των φυτών 8 πληθυσμών κατά 42.4-57.6%, ενώ οι πληθυσμοί Gt3 και Gt2 καταπολεμήθηκαν σε ποσοστό 28.5% και 32.8%, αντίστοιχα (Πίνακας 3).

Η εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης (X) της ιμιδαζολινόνης imazamox απέτυχε να καταπολεμήσει ικανοποιητικά τους επιλεγμένους πληθυσμούς κυρτόκαρπης κολλητσίδας καθώς 9 πληθυσμοί υπέστησαν μείωση του χλωρού βάρους των φυτών κατά 0-29.6% ενώ ένας πληθυσμός (Gt10) εμφάνισε επίπεδα καταπολέμησης 38.6%. Επίσης, η εφαρμογή της διπλάσιας της συνιστώμενης (2X) δόσης του ζιζανιοκτόνου συνετέλεσε σε επίπεδα καταπολέμησης που κυμάνθηκαν μεταξύ 7.3 και 39.1% για 9 πληθυσμούς κυρτόκαρπης κολλητσίδας ενώ ο πληθυσμός Gt10 εμφάνισε μείωση του

χλωρού βάρους κατά 42.2% (Εικόνες 11 και 14) (Πίνακας 3). Προσέτι, η τετραπλάσια της μέγιστης συνιστώμενης δόσης αγρού (4X) του imazamox προκάλεσε μείωση του χλωρού βάρους 8 πληθυσμών κατά 18.6% έως 44.3%, ενώ εναντίον των πληθυσμών Gt8 και Gt10 καταγράφηκαν επίπεδα καταπολέμησης 55.6% και 64.2%, αντίστοιχα (Πίνακας 3). Τέλος, ακόμα και μετά από έκθεση των πληθυσμών του ζιζανίου σε δόση οκταπλάσια της συνιστώμενης (8X) τα επίπεδα καταπολέμησης εναντίον 7 πληθυσμών κυμάνθηκαν μεταξύ 52.6 έως 71%. Οι υπόλοιποι τρεις πληθυσμοί (Gt2, Gt3 και Gt5) εμφάνισαν μείωση του χλωρού βάρους των φυτών που εκτέθηκαν στην επέμβαση 8X κατά 44%, 32.8% και 38%, αντίστοιχα (Πίνακας 3).

Συμπερασματικά, όλοι οι ύποπτοι για επιλογή ανθεκτικότητας πληθυσμοί κυρτόκαρπης κολλητσίδας εμφάνισαν υψηλή ένταση σταυρανθεκτικότητας σε τέσσερις (tribenuron-methyl, pyroxsulam, florasulam, imazamox) δραστικές ουσίες που ανήκουν σε τρεις διαφορετικές χημικές οικογένειες (σουλφονυλουρίες, τριαζολοπυριμιδίνες, ιμιδαζολινόνες) των αναστολέων της δράσης του ενζύμου οξικογαλακτική συνθάση (ALS). Το ζιζανιοκτόνο tribenuron-methyl (σουλφονυλουρία) και το μίγμα pyroxsulam+florasulam (τριαζολοπυριμιδίνες) χρησιμοποιούνται εκτεταμένα για την καταπολέμηση πλατύφυλλων ζιζανίων στις καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών, ενώ το imazamox μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ποικιλίες ελαιοκράμβης τεχνολογίας Clearfield® και χειμερινών ψυχανθών που συχνά αντικαθιστούν τα χειμερινά σιστηρά στο σύστημα αμειψισποράς. Η σταυρανθεκτικότητα που επιλέχθηκε πιθανότατα καθιστά αναποτελεσματική τη χρήση και άλλων δραστικών ουσιών που ανήκουν στη χημική οικογένεια των σουλφονυλουριών (metsulfuron, thifensulfuron) τα οποία δεν αξιολογήθηκαν στην παρούσα μελέτη, αποστερώντας τους παραγωγούς χειμερινών σιτηρών από όλα τα ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS. Επομένως, οι συγκεκριμένοι πληθυσμοί μπορούν να αντιμετωπιστούν ικανοποιητικά μόνο με ζιζανιοκτόνα που διαθέτουν διαφορετικό/ούς μηχανισμό/ούς δράσης και παρέχουν δυνατότητες διαχείρισης των ήδη επιλεχθέντων ανθεκτικών πληθυσμών του ζιζανίου.

Σταυρανθεκτικότητα έχει επιλεγεί σε σημαντικό αριθμό πληθυσμών των ειδών άγριο σινάπι (*Sinapis arvensis* L.) (Ntoanidou κ.ά., 2017) και ράπτιστρο

[*Rapistrum rugosum* (L.) All.] (Ntoanidou κ.ά., 2019), τα οποία ανήκουν στην οικογένεια Brassicaceae και αποτελούν κοινά ζιζάνια στις καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών στη χώρα μας. Η σταυρανθεκτικότητα που επιλέχθηκε κατέστησε αναποτελεσματική τη χρησιμοποίηση όλων ανεξαιρέτως των ALS-αναστολέων που έχουν εξασφαλίσει έγκριση εφαρμογής μεταφυτρωτικών επεμβάσεων στις καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών στη χώρα μας. Η υψηλής έντασης ευρεία σταυρανθεκτικότητα οφείλεται σε σημειακή μεταλλαξη στο ALS γονίδιο που κωδικοποιεί για την παραγωγή ενός τροποποιημένου ενζύμου ALS οποίο αδυνατούν να προσδεθούν και να προκαλέσουν την αναστολή της δράσης του τα ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS [μηχανισμός ανθεκτικότητας λόγω τροποποίησης της θέσης δράσης (target-site mediated herbicide resistance)]. Ειδικότερα, στη θέση 574 του ALS γονιδίου το αμινοξύ τρυπτοφάνη (Trp) βρέθηκε ότι αντικαθίσταται από το αμινοξύ λευκίνη (Leu) (Trp574Leu). Η συγκεκριμένη αντικατάσταση αμινοξέος είναι μαζί με εκείνη της αντικατάστασης του αμινοξέος προλίνη στη θέση 197 του ALS γονιδίου (Pro197) από διάφορα αμινοξέα.[θρεονίνη (Thr), αλανίνη (Ala), λευκίνη (Leu), σερίνη (Ser), αργινίνη (Arg), ισολευκίνη (Ile), γλουταμίνη (Glu), ασπαραγκίνη (Asn) και ιστιδίνη (His)] (Ελευθεροχωρινός, 2020), είναι υπεύθυνες για τις συχνότερα καταγεγραμμένες σημειακές μεταλλάξεις μεταξύ των ανθεκτικών πληθυσμών ζιζανίων που αχρηστεύουν την αποτλεσματικότητα των ζιζανιοκτόνων με το συγκεκριμένο μηχανισμό δράσης (Beckie και Tardif, 2012).

Η μελέτη που πραγματοποίησαν οι Deng κ.ά. (2019) σε 20 πληθυσμούς μεγαλόκαρπης κολλητσίδας (*Galium aparine* L.), οι οποίοι αναπτύσσονταν σε καλλιέργειες σιτηρών σε παραγωγικά συστήματα στην Κίνα ανέδειξε την ύπαρξη-επιλογή πέντε σημειακών μεταλλάξεων στο ALS γονίδιο. Συγκεκριμένα, στη μελέτη μοριακής διερεύνησης των ALS-ανθεκτικών πληθυσμών μεγαλόκαρπης κολλητσίδας διαπιστώθηκε η αντικατάσταση του αμινοξέος προλίνη (Pro) στη θέση 197 του ALS γονιδίου από τα αμινοξέα σερίνη (Ser), λευκίνη (Leu) και ιστιδίνη (His) [Pro-197-Ser, Pro-197-Leu, Pro-197-His], η αντικατάσταση του ασπαρτικού (Asp) από γλουταμικό οξύ (Glu) στη θέση 376 [Asp-376-Glu] και τέλος η αντικατάσταση του αμινοξέος τρυπτοφάνη (Trp) από λευκίνη (Leu) στη θέση 574 του ALS γονιδίου [Trp-

574-Leu]. Με βάση τα δεδομένα των πειραμάτων φυτοδοχείων που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, είναι πολύ πιθανό υπεύθυνη για την καταγραφείσα υψηλής έντασης σταυρανθεκτικότητα (αδυναμία ικανοποιητικής καταπολέμησης ακόμα και μετά από έκθεση των φυτών των επιλεγμένων πληθυσμών του ζιζανίου σε δόση οκταπλάσια της μέγιστης συνιστώμενης δόσης αγρού) στα ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS να είναι η σημειακή μετάλλαξη Trp574Leu. Η πραγματοποίηση της μοριακής μελέτης που βρίσκεται σε εξέλιξη θα αποκαλύψει τη μοριακή βάση της ανθεκτικότητας που επιλέχθηκε στους συγκεκριμένους πληθυσμούς του είδους κυρτόκαρπη κολλητσίδα.

Σε αντίθεση, η εκτεταμένη ανθεκτικότητα που καταγράφηκε πρωτίστως στη σουλφονυλουρία tribenuron methyl σε σημαντικό αριθμό πληθυσμών του είδους κοινή παπαρούνα (*Papaver rhoeas* L.) σε καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών στη χώρα μας αποδείχθηκε ότι οφείλονταν στην αντικατάσταση του αμινοξέος προλίνη (Pro) από τα αμινοξέα Ala (αλανίνη), Ser (σερίνη), Arg (αργινίνη) και Thr (θρεονίνη) (Kaloumenos κ.ά., 2011). Η συγκεκριμένη σημειακή μετάλλαξη κατάστησε τους πληθυσμούς του ζιζανίου ανθεκτικούς στις σουλφονυλουρίες tribenuron-methyl και chlorsulfuronη οι οποίες (συνέπεια της εκτεταμένης και πολύχρονης εφαρογής τους) αποτέλεσαν τους παράγοντες επιλογής της ανθεκτικότητας. Όμως, οι ανθεκτικοί στις σουλφονυλουρίες πληθυσμοί παρουσίασαν μικρότερη ένταση ανθεκτικότητας στην τριαζολοπυριμιδίνη florasulam, ενώ ήταν ευαίσθητοι στην ιμιδαζολινόνη imazamox (Kaloumenos κ.ά., 2008; 2011).

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε επίσης η δυνατότητα αποτελεσματικής καταπολέμησης των πληθυσμών του ζιζανίου *G. tricornutum* με την εφαρμογή αποκλειστικά της μέγιστης συνιστώμενης δόσης (X) μιγμάτων ALS-αναστολέων με ορμονικά ζιζανιοκτόνα με δράση ενδογενούς αυξίνης. Ειδικότερα, αξιολογήθηκαν τα ετοιμόχρηστα μίγματα των tribenuron+mecoprop-P, florasulam+fluroxypyr, florasulam+aminopyralid, καθώς και το μίγμα ενός νιτριλίου (bromoxynil) με ένα φαινοξυαλκανοϊκό ζιζανιοκτόνο (2,4-D). Η ανταπόκριση των επιλεγμένων πληθυσμών του ζιζανίου στα ετοιμόχρηστα μίγματα των ALS-αναστολέων και των ορμονικών ζιζανιοκτόνων παρουσιάζεται στον Πίνακα 4 που ακολουθεί.

Πίνακας 4. Ανταπόκριση (αποτελεσματικότητα %) πληθυσμών κυρτόκαρπης κολλητσίδας στη συνιστώμενη δόση (X) ορισμένων ετοιμόχρηστων μιγμάτων ALS-αναστολέων με ορμονικά ζιζανιοκτόνα με δράση αυξίνης εγκεκριμένων για την πραγματοποίηση μεταφυτρωτικών επεμβάσεων στα χειμερινά σιτηρά (GC=tribenuron+mecoprop-P, SG=florasulam+fluroxypyr, L=florasulam+aminopyralid και BN=bromoxynil+2,4-D) (οι τιμές αποτελούν μέσους όρους έξι επαναλήψεων/φυτοδοχείων).

Ζιζανιοκτόνα /Δόσεις	Πληθυσμοί κυρτόκαρπης κολλητσίδας (<i>Gallium tricornutum</i> D.)									
	Gt1	Gt2	Gt3	Gt4	Gt5	Gt6	Gt7	Gt8	Gt9	Gt10
GCx	77.8	91.1	87.5	76.8	82.6	78.9	100	96.4	86.6	91
SGx	87	83	78.5	76.1	73.6	78.2	100	91.8	100	100
Lx	65.5	55.8	60.4	70.1	68.2	64.3	70	65.8	50.2	80
BNx	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Τα ετοιμόχρηστα μίγματα των ALS-αναστολέων με επιλεγμένα ορμονικά ζιζανιοκτόνα καταπολέμησαν ικανοποιητικά μέχρι άριστα τους ισχυρά σταυρανθεκτικούς πληθυσμούς κυρτόκαρπης κολλητσίδας στα ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS (Πίνακας 4). Ειδικότερα, η αποτελεσματικότητα της συνιστώμενης δόσης (X) του μίγματος tribenuron-methyl+mecoprop-P προκάλεσε πολύ καλή μέχρι άριστη καταπολέμηση (82.6-100%) 7 πληθυσμών κυρτόκαρπης κολλητσίδας, ενώ σε τρεις πληθυσμούς του ζιζανίου προκάλεσε μείωση του χλωρού βάρους των φυτών που εκτέθηκαν στην επέμβαση κατά 76.8-78.8%, σε σύγκριση με τα φυτά του αφέκαστου μάρτυρα (Πίνακας 4). Το μίγμα των ζιζανιοκτόνων florasulam+fluroxypyr ακολούθησε σε αποτελεσματικότητα αυτό των tribenuron-methyl+mecoprop-P καθώς επέφερε άριστη (91.8-100%) καταπολέμηση 4 πληθυσμών του ζιζανίου ενώ 6 πληθυσμοί

καταπολεμήθηκαν ικανοποιητικά έως καλά (επίπεδα καταπολέμησης 73.6-87%). Το μίγμα florasulam+aminopyralid, αποδείχθηκε ανεπαρκές ως εναλλακτική λύση για την διαχείριση πληθυσμών κυρτόκαρπης κολλητσίδας με ανθεκτικότητα στους αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS. Πιο συγκεκριμένα, 6 πληθυσμοί κυρτόκαρπης κολλητσίδας υπέστησαν μείωση του χλωρού βάρους των φυτών τους κατά 55.8-68.2%, ενώ δύο (*Gt4* και *Gt7*) και ένας πληθυσμός (*Gt10*) εμφάνισαν μείωση του χλωρού τους βάρους κατά 70% και 80%, αντίστοιχα (Πίνακας 4). Τέλος, ο πληθυσμός *Gt9* καταπολεμήθηκε μόλις κατά 50.2% μετά την εφαρμογή της συνιστώμενης δόσης των ζιζανιοκτόνων florasulam+aminopyralid. Το μίγμα αυτό χρησιμοποιήθηκε αρκετά για να αντιμετωπίσει πληθυσμούς του ζιζανίου μπιφόρα (*Bifora radians*) που εμφάνισαν μειωμένη ευαισθησία σε αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS μετά από συνεχείς, επαναλαμβανόμενες εφαρμογές των ζιζανιοκτόνων chlorsulfuron και tribenuron methyl που ανήκουν στη χημική οικογένεια των σουλφονυλουριών. Ενδεχομένως, η τακτική έκθεσή τους στο ζιζανιοκτόνο aminopyralid συνετέλεσε στην επιλογή κάποιων πληθυσμών με μειωμένη ευαισθησία στο ζιζανιοκτόνο και αυτό να εξηγεί τη χαμηλή του αποτελεσματικότητα, τουλάχιστον στη συνιστώμενη (X) δόση εφαρμογής.

Η χρησιμοποίηση ορμονικών ζιζανιοκτόνων για την αποτελεσματική διαχείριση ήδη επιλεγέντων, ανθεκτικών στους ALS-αναστολείς πληθυσμών πλατύφυλλων ζιζανίων αποτελεί μια ευρέως χρησιμοποιούμενη πρακτική διαχείρισης προβλημάτων ανθεκτικότητας στις καλλιέργειες σιτηρών (Hada κ.ά., 2022; Zargar κ.ά., 2019). Ειδικότερα, οι Zargar κ.ά. (2019) ανέφεραν ότι τα μίγματα σουλφονυλουριών με ζιζανιοκτόνα με δράση αυξίνης (tribenuron-methyl+fluroxypyr, metsulfuron+fluroxypyr) μπορούν να αξιοποηθούν για την επιβράδυνση της επιλογής ανθεκτικότητας στους ALS-αναστολείς (tribenuron, metsulfuron). Προσέτι, οι ισχυρά σταυρανθεκτικοί στους ALS-αναστολείς πληθυσμοί του ζιζανίου αγριομαργαρίτα (*Chrysanthemum segetum*) που επιλέχθηκαν σε καλλιέργειες σκληρού σιταριού στη χώρα μας καταπολεμήθηκαν αποτελεσματικά από επιλεγμένα μίγματα ALS-αναστολέων και ορμονικών ζιζανιοκτόνων (Papapanagiotou κ.ά., αδημοσίευτα δεδομένα). Όμως, αξίζει να σημειωθεί ότι καμία πρακτική διαχείρισης με τη

χρησιμοποίηση εναλλακτικών ζιζανιοκτόνων με διαφορετικό μηχανισμό δράσης δεν στερείται κινδύνου επιλογής ανθεκτικότητας μεταξύ των πληθυσμών των ζιζανίων, καθώς όπως ανέφεραν οι Van Eerd κ.ά. (2005) ένας πληθυσμός μικρόκαρπης κολλητσίδας ανέπτυξε ανθεκτικότητα στο ορμονικό ζιζανιοκτόνο quinclorac της οικογένειας των κινολινοκαρβοξυλικών οξέων, ενώ οι Van Eerd κ.ά. (2004) ανέφεραν επιλογή πολλαπλής ανθεκτικότητας πληθυσμών του ίδιου είδους, τόσο στους ALS-αναστολείς, όσο και το quinclorac.

Βέβαια, από όλα τα μίγματα που αξιολογήθηκαν για τη δυνατότητά τους να αποτελέσουν μια αξιόπιστη εναλλακτική λύση για την αποτελεσματική χημική καταπολέμηση των πληθυσμών του ζιζανίου που επιλέχθηκαν στους καλλιεργούμενους σιταγρούς και ανέπτυξαν ανθεκτικότητα στους ALS-αναστολείς, αποτελεσματικότερο αποδείχθηκε το μίγμα του νιτριλίου bromoxynil (που δρα αναστέλλοντας τη ροή των ηλεκτρονίων στο φωτοσύστημα II) με το φαινοξυαλκανοϊκό ζιζανιοκτόνο 2,4-D (εκδηλώνει δράση ενδογενούς αυξίνης). Το τελευταίο δεν εμφανίζει αξιόλογη δράση εναντίον των ειδών *Galium* spp. (Malik και Vanden Born, 1988), αλλά ο συνδυασμός του με το bromoxynil συνετέλεσε σε άριστη δράση και εξαιρετική (100%) καταπολέμηση των φυτών όλων των πληθυσμών κυρτόκαρπης κολλητσίδας που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη (Εικόνες 13 και 16) (Πίνακας 3). Συνεπώς, το μίγμα των bromoxynil και 2,4-D αξιολογείται ως μια άριστη εναλλακτική λύση για την αποτελεσματική χημική αντιμετώπιση των ALS-ανθεκτικών πληθυσμών κυρτόκαρπης κολλητσίδας [καθώς και εκείνων της μεγαλόκαρπης (*G. aparine*) και της μικρόκαρπης (*G. spurium* L.) κολλητσίδας οι οποίοι αναφέρθηκαν ως ανθεκτικοί στους ALS-αναστολείς σε προηγούμενη μελέτη (Papapanagiotou κ.ά., 2019)].



Εικ. 11. Ανταπόκριση του πληθυσμού *Gf3* στις δόσεις X, 2X, 4X και 8X στη σουλφονυλουρίας tribenuron-methyl (G) και της ιμιδαζολινόνης imazamox (I)



Εικ. 12. Ανταπόκριση του πληθυσμού *Gf3* στις δόσεις X, 2X, 4X και 8X στη σουλφονυλουρίας *tribenuron-methyl* (G) και στις τριαζολοπυριμιδίνες *pyroxsulam+florasulam* (B)



Εικ. 13. Ανταπόκριση του πληθυσμού *Gt3* στις δόσεις X, 2X, 4X, 8X της σουλφονυλουρίας tribenuron (G) και της δόσης X των μιγμάτων SG (florasulam+floroxypryl), GC (tribenuron+mecoprop-P), L (florasulam+aminopyralid) και BN (bromoxynil+2,4-D)



Εικ. 14. Ανταπόκριση του πληθυσμού *Gt10* στις δόσεις X, 2X, 4X και 8X στη σουλφονυλουρίας tribenuron-methyl (G) και της ιμιδαζολινόνης imazamox (I)



Εικ. 15. Ανταπόκριση του πληθυσμού Gt10 στις δόσεις X, 2X, 4X και 8X στη σουλφονυλουρίας tribenuron-methyl (G) και στις τριαζολοπυριμιδίνες pyroxasulam+florasulam (B)



Εικ. 16. Ανταπόκριση του πληθυσμού Gt10 στις δόσεις X, 2X, 4X, 8X της σουλφονυλουρίας tribenuron (G) και της δόσης X των μιγμάτων SG (florasulam+floroxypr), GC (tribenuron+mecoprop-P), L (florasulam+aminopyralid) και BN (bromoxynil+2,4-D)

Είναι σημαντικό για την αντιμετώπιση των πληθυσμών κυρτόκαρπης κολλητσίδας που εμφανίζουν μειωμένη ευαισθησία ή υψηλής έντασης ανθεκτικότητα στα ευρείας χρήσης μεταφυτρωτικά ζιζανιοκτόνα (ζιζανιοκτόνα που αναστέλλουν τη δράση του ενζύμου ALS), να εναλλάσσονται ζιζανιοκτόνα με διαφορετικό μηχανισμό δράσης. Η εναλλαγή αυτή επιτρέπει την επιβράδυνση της επιλογής πληθυσμών με ανθεκτικότητα στα προαναφερθέντα ζιζανιοκτόνα ή καθιστά δυνατή την αποτελεσματική διαχείριση ήδη ανθεκτικών πληθυσμών του ζιζανίου. Πέραν όμως των δυνατοτήτων που παρέχονται για εναλλακτική χημική καταπολέμηση των ανθεκτικών πληθυσμών/βιοτύπων ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα, είναι απαραίτητη η ανάπτυξη/υιοθέτηση ενός σημαντικού εύρους στρατηγικών και ο συνδυασμός της ορθότερης χρήσης των ζιζανιοκτόνων με άλλες μεθόδους

άμεσης αντιμετώπισης των ζιζανίων, με μεθόδους μείωσης της εμφάνισης αλλά και μείωσης της ανταγωνιστικής τους ικανότητας, στα πλαίσια της ολοκληρωμένης διαχείρισής τους (Integrated Weed Management) (Ελευθεροχωρινός, 2008).

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βασιλάκογλου, Ι. και Κ. Δήμας. 2017. Ζιζάνια. Σύγχρονος οδηγός αναγνώρισης και αντιμετώπισης. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη, σελ. 294-297.

Ελευθεροχωρινός Η.Γ. 2008. Ζιζανιολογία: Ζιζάνια, Ζιζανιοκτόνα, Περιβάλλον, Αρχές και Μέθοδοι Διαχείρισης (3η έκδοση), Εκδόσεις Αγροτύπος, Αθήνα, σελ. 408.

Ελευθεροχωρινός Η.Γ. 2020. Ζιζανιολογία Βιολογία και Διαχείριση Ζιζανίων Ζιζανιοκτόνα, Φυτά και Περιβάλλον (5η έκδοση), Εκδόσεις Αγροτύπος, Αθήνα, σελ. 497.

Ελευθεροχωρινός Η.Γ., Κ.Ν. Γιαννοπολίτης. 2009. Ζιζάνια: Οδηγός αναγνώρισης, Εκδόσεις Αγροτύπος Α.Ε., Αθήνα, σελ. 38-39, 144-145.

Παπαπαναγιώτου, Α., Γ. Μενεξές, Ή. Ελευθεροχωρινός. 2017a. Πληθυσμός βέλιουρα με διασταυρωτή ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς του ενζύμου ACCase. 19^ο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας, Νέα Ορεστειάδα, 29-31 Μαρτίου 2017, Πρακτικά, σελ. 92-94.

Παπαπαναγιώτου, Α., Γ. Μενεξές, Ή. Ελευθεροχωρινός. 2017b. Πληθυσμοί αγριοβρώμης με διασταυρωτή ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς του ενζύμου ALS και μελέτη της προσαρμοστικότητάς τους. 19^ο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας, Νέα Ορεστειάδα, 29-31 Μαρτίου 2017. Πρακτικά, σελ. 26-28.

Παπαπαναγιώτου, Α., Γ. Μενεξές, Η. Ελευθεροχωρινός. 2017c. Πληθυσμοί μίλιου και ανεμόχορτου ανθεκτικοί σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς των ενζύμων ACCase και ALS. 19^ο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας, Νέα Ορεστειάδα, 29-31 Μαρτίου 2017. Πρακτικά, σελ. 25-26.

Παπαπαναγιώτου, Α., Γ. Μενεξές, Η. Ελευθεροχωρινός. 2017d. Πληθυσμοί μικρόκαρπης κολλητσίδας και μπιφόρας ανθεκτικοί σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς του ενζύμου ALS. 19^ο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας, Νέα Ορεστειάδα, 29-31 Μαρτίου 2017. Πρακτικά, σελ. 28-30.

Παπαπαναγιώτου, Α., Ι. Βασιλάκογλου, Κ. Δήμας, Η. Ελευθεροχωρινός. 2017e. Διερεύνηση της ανάπτυξης διασταυρούμενης ανθεκτικότητας του *Sinapis arvensis* και της ευαισθησίας του *Camelina microcarpa* σε ζιζανιοκτόνα-αναστολείς της δράσης του ενζύμου ALS. 19^ο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρίας, Νέα Ορεστειάδα, 29-31 Μαρτίου 2017. Πρακτικά, σελ. 17-18.

Χατζηλαζαρίδου, Σ.Λ. 2013. Διερεύνηση ανθεκτικότητας 29 πληθυσμών διαφόρων ειδών μουχρίτσας (*Echinochloa* spp.) σε ζιζανιοκτόνα. Μεταπτυχιακή διατριβή, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Beckie, H.J., F.J. Tardif. 2012. Herbicide cross resistance in weeds. *Crop Prot.* 35: 15-28.

Cao, Y., S. Wei, H. Huang, W. Li, C. Zhang, Z. Huang. 2021. Target-site mutation and enhanced metabolism confer resistance to thifensulfuron-methyl in a multiple-resistant redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) population. *Weed Sci.* 69: 161-166.

Chauhan, B.S., G. Gill, C. Preston. 2006a. Factors affecting seed germination of threehorn bedstraw (*Galium tricornutum*) in Australia. *Weed Sci.* 54: 471-477.

Chauhan, B.S., G. Gill, C. Preston. 2006b. Seed germination and seedling emergence of threehorn bedstraw (*Galium tricornutum*). *Weed Sci.* 54: 867-872.

Deng, W., Y. Di, J. Cai, Y. Chen, S. Yuan. 2019. Target-site resistance mechanisms to tribenuron methyl and cross-resistance patterns to ALS-inhibiting herbicides of catchweed bedstraw (*Galium aparine*) with different ALS mutations. *Weed Sci.* 67: 183-188.

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

Devine, M.D., S.O. Duke, C. Fedtake. 1993. Physiology of Herbicide Action. PTR prentice hall, Englewwod Cliffs, NJ. 441 p.

Eleftherohorinos, I.G., I.B. Vasilakoglou, K.V. Dhima. 2000. Metribuzin resistance in *Amaranthus retroflexus* and *Chenopodium album* in Greece. Weed Sci. 48: 69-74.

Fernández-Quintanilla, C., J. Dorado. 2007. Damages and benefits caused by weeds. Mahlerbologia 193: 12-16.

Hada, Z., Khammassi, M., Houda, J., Menchari, Y., Torra, J., Souissi, T. 2022. Approach to demography of ALS-resistant *Glebionis coronaria* as influenced by management factors: tillage, allelopathic crops and herbicides. Agron. doi: 10.3390/Agronomy12051083.

Heap, I. 2022. International survey of herbicide resistant weeds. Available at web site <http://www.weedresearch.com/in.asp>

Hilton, H.W. 1957. Herbicide tolerant strain of weeds. Hawain Sugar Planters Association Annual reports, pp. 69.

Holt, J.S., H.M. Le Baron. 1990. Significance and distribution of herbicide resistance. Weed Technol. 4: 141-155.

Kaloumenos, N.S., I.G. Eleftherohorinos. 2008. Corn poppy (*Papaver rhoeas*) resistance to ALS-inhibiting herbicides and its impact on growth rate. Weed Sci. 56: 789-796.

Kaloumenos, N.S., V.N. Adamoudi, C. Dordas, I. Eleftherohorinos. 2011. Corn poppy (*Papaver rhoeas*) cross-resistance to ALS-inhibiting herbicides. Pest Manag. Sci. 67: 574-585.

Kaloumenos, N.S., V.C. Tsioni, E.G. Daliani, S.E. Papavassileiou, A.G. Vassileiou, P.N. Laoutidou, I.G. Eleftherohorinos. 2012. Multiple Pro-197 substitutions in the acetolactate synthase of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) and their impact on chlorsulfuron activity and plant growth. Crop prot. 38: 35-43.

Kaloumenos, N.S., S.L. Chatzilazaridou, P.V. Mylona, A.N. Polydoros, I.G. Eleftherohorinos. 2013a. Target-site mutation associated with cross-resistance to ALS-inhibiting herbicides in late watergrass (*Echinochloa oryzicola* Vasing). Pest Manag. Sci. 69: 865-873.

Kaloumenos, N.S., N. Capote, A. Aguado, I.G. Eleftherohorinos. 2013b. Red rice (*Oryza sativa*) cross-resistance to imidazolinone herbicides used in resistant rice cultivars grown in northern Greece. Pest. Biochem. Physiol. 105: 177-183.

Karkanis, A., E. Tsipni. 2019. Cleavers (*Galium aparine* L.) resistance to acetolactate synthase (ALS)-inhibiting herbicides and its impact on growth rate. Proceedings of the 18th International Conference 'Life Sciences for

Sustainable Development', 26-28 September, 2019, Cluz-Napoca, Romania, pp. 349.

Kleeman, S.G.L., G.S. Gill. 2018. Ecology of threehorn bedstraw (*Galium tricornutum*): Implications for management and harvest weed seed control. 21st Australasian Weed Conference, 9-12 September, Sydney, Australia, pp. 148-152.

Malik, N., W.H. Vanden Born. 1988. The biology of Canadian Weeds. *Galium aparine* L. and *Galium spurium* L. Can J. Plant Sci. 68: 481-499.

McDonald, G.K., K.L. Hollaway, L. McMurray. 2007. Increasing plant density improves weed competition in lentil (*Lens culinaris*). Austr. J. Exper. Agric. 47: 48-56.

Mennan, H. 2003. The effects of depth and duration of burial on seasonal germination, dormancy and viability of *Galium aparine* and *Bifora radians* seeds. J. Agron. Crop Sci. 189: 304-309.

Monaco, J.T., S.C. Weller, F.M. Ashton. 2002. Weed Science. Principles and Practices. John Wiley and Sons, Inc. Ny, USA, 671 p.

Nandula, V.K., D.A. Giacomini, J.D. Ray. 2020. Resistance to acetolactate synthase inhibitors is due to a W 574 to L amino acid substitution in the ALS gene of redroot pigweed and tall waterhemp. PLoS One 2020; 15(6): e0235394.

Ntoanidou, S., N. Kaloumenos, G. Diamantidis, P. Madesis, I. Eleftherohorinos. 2016. Molecular basis of *Cyperus difformis* cross-resistance to ALS-inhibiting herbicides. Pest. Bioch. Physiol. 127: 38-45.

Ntoanidou, S., P. Madesis, G. Diamantidis, I. Eleftherohorinos. 2017. Trp 574 substitution in the acetolactate synthase of *Sinapis arvensis* confers cross-resistance to tribenuron and imazamox. Pest. Bioch. Physiol. 142: 9-14.

Ntoanidou, S., P. Madesis, I. Eleftherohorinos. 2019. Resistance of *Rapistrum rugosum* to tribenuron and imazamox due to Trp574 or Pro197 substitution in the acetolactate synthase. Pest Manag. Sci. 154: 1-6.

Papapanagiotou, A.P., N.S. Kaloumenos, I.G. Eleftherohorinos. 2012. Sterile oat (*Avena sterilis* L.) cross-resistance profile to ACCase-inhibiting herbicides in Greece. Crop Prot. 35: 118-126.

Papapanagiotou, A.P., C.A. Damalas, I. Bosmali, P. Madesis, I.G. Eleftherohorinos. 2019. *Galium spurium* and *G. aparine* resistance to ALS-inhibiting herbicides in northern Greece. Planta Daninha 37, e019207288.

Rola, J. 1971. Causes and effects of weed compensation in crops. Weed Abstr. 20: 425.

Ryan, G.F. 1970. Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. Weed Sci. 18: 614-616.

Snedecor, G.W., W.G. Cochran. 1989. Statistical Methods, 8th ed. Iowa State University Press, Iowa, USA.

Tranel, P.J., T.R. Wright. 2002. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? *Weed Sci.* 50: 700-712.

Travlos, I.S. 2012. Evaluation of herbicide-resistance status on populations of littleseed canarygrass (*Phalaris minor* Retz.) from Southern Greece and suggestions for their effective control. *J. Plant Prot. Res.* 52: 308-313.

Travlos, I.S., D. Chachalis. 2013. Assessment of glyphosate resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.) and fleabane (*Conyza albida* Willd. Ex Spreng) populations from perennial crops in Greece. *Int. J. Plant Prod.* 7: 665-676.

Vafaee, B.S., V. Narimani, A. Farokhzad, R. Chasemzadeh. 2011. Quantitative evaluation of predominant weeds in winter wheat and barley fields in Eastern Azerbaijan, Iran. *Rev. Cient. UDO Agric.* 11: 126-133.

Van Eerd, L.L., M.D. McLean, G.R. Stephenson, J.C. Hall. 2004. Resistance to quinclorac and ALS-inhibiting herbicides in *Galium spurium* is conferred by two distinct genes. *Weed Res.* 44: 355-365.

Van Eerd, L.L., G.R. Stephenson, J. Kwiatkowski, K. Grossmann, J.C. Hall. 2005. Physiological and biochemical characterization of quinclorac resistance in a false cleavers (*Galium spurium* L.) biotype. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1144-1151.

Weber, J.B., G.G. Winkerson, H.M. Linker, J.W. Wilcut, R.B. Leidy, S.S. Senseman, W.W. Witt, M. Barret, W.K. Vencill, D.R. Shaw, T.C. Mueller, D.K. Miller, B.J. Brecke, R.E. Talbert, T.F. Peepert. 2000. A proposal to standardize soil/solution herbicide distribution coefficients. *Weed Sci.* 48: 75-88.

WSSA (Weed Science Society of America). 2007. Herbicide Handbook. In S.A. Senseman 9th ed. WSSA, Lawrence, KS USA.

Zagar, M., M. Bayat, E. Romanova, E. Izadi-Darbandi. 2019. POST herbicide programmes utilizing tribenuron for cleavers (*Galium aparine* L.) control in winter wheat cultivars. Archiv. Agron. Soil Sci. 66: 1235-1243.