



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



ΤΜΗΜΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΤΙΤΛΟΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

***«Συστηματική ανάλυση της
επίδρασης των ζιζανιοκτόνων
στους νιτροποιητικούς
μικροοργανισμούς του εδάφους»***

Αναστασία Κόκκινου

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Ευαγγελία Παπαδοπούλου

Λάρισα, Ιούνιος 2025

**«Συστηματική ανάλυση της
επίδρασης των ζιζανιοκτόνων
στους νιτροποιητικούς
μικροοργανισμούς του εδάφους»**

***" Systematic analysis of the
impact of herbicides on soil
nitrifying microorganisms "***

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Ευαγγελία Παπαδοπούλου: Επίκουρη Καθηγήτρια Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η νιτροποίηση αποτελεί ένα από τα βασικά μικροβιακά στάδια του κύκλου του αζώτου στο έδαφος και επιτελείται από εξειδικευμένους μικροοργανισμούς που περιλαμβάνουν τα νιτροδοποιητικά αρχαία (AOA) και βακτήρια (AOB), τα νιτροποιητικά βακτήρια (NOB) και τα comammox βακτήρια. Η χρήση ζιζανιοκτόνων στη γεωργία έχει αναδειχθεί ως ένας παράγοντας που ενδέχεται να επηρεάζει την ισορροπία αυτών των μικροοργανισμών και, κατ' επέκταση, τη λειτουργικότητα των εδαφικών οικοσυστημάτων. Η παρούσα εργασία επιχειρεί μια συστηματική ανασκόπηση της σύγχρονης βιβλιογραφίας που εξετάζει την επίδραση των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους, με στόχο την ποιοτική και ποσοτική αποτίμηση των σχετικών επιδράσεων. Στο πλαίσιο αυτό αναλύθηκαν εννέα (9) πρόσφατες μελέτες (2011–2025), οι οποίες περιλάμβαναν πειράματα μικροκόσμων εδάφους και πεδίου, καθώς και μεταγονιδιωματικές ή μοριακές τεχνικές (όπως RT-qPCR, *16S rRNA* και *amoA* αλληλούχιση). Οι επιδράσεις αξιολογήθηκαν βάσει της αφθονίας, της ποικιλότητας, της γονιδιακής έκφρασης και των λειτουργικών προβλέψεων. Η ποσοτική σύνθεση των ευρημάτων πραγματοποιήθηκε μέσω συγκριτικής βαθμολόγησης της έντασης επίδρασης ανά μελέτη και μικροβιακή ομάδα. Τα αποτελέσματα αποτυπώθηκαν σε έναν συγκεντρωτικό πίνακα και ένα συνοδευτικό γράφημα. Η συνθετική αποτίμηση των ευρημάτων δείχνει ότι, αν και τα AOA συχνά εμφανίζουν ευαισθησία σε επίπεδο γονιδιακής έκφρασης και σχετικής αφθονίας, σε αρκετές περιπτώσεις τα AOB καταστέλλονται εξίσου ή και εντονότερα, ανάλογα με τη χημική ένωση και τις εδαφικές συνθήκες. Ορισμένες δραστικές ουσίες, όπως το 2,4-De, το simazine και το isoproturon, αλλά και μίγματα ζιζανιοκτόνων όπως atrazine–nicosulfuron–mesotrione, εμφανίζουν έντονη και παρατεταμένη ανασταλτική επίδραση στην ποσοτική και ποιοτική σύσταση των νιτροποιητικών μικροβιακών πληθυσμών. Τα βακτήρια του γένους *Nitrospira* (NOB/comammox) επίσης επηρεάζονται αρνητικά, υποδεικνύοντας επιδράσεις και σε μεταγενέστερα στάδια της διεργασίας της νιτροποίησης πέραν της αρχικής οξείδωσης της αμμωνίας. Επιπλέον, η ανάλυση της έκφρασης λειτουργικών γονιδίων και οι προβλέψεις μέσω του εργαλείου FAPROTAX ενισχύουν την εικόνα της επίδρασης σε λειτουργικό επίπεδο, επιβεβαιώνοντας τη μείωση της δυναμικής μικροοργανισμών που συμμετέχουν στην οξείδωση της αμμωνίας και, δευτερευόντως, σε άλλες διεργασίες του κύκλου του αζώτου. Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η χρονική διαφοροποίηση των επιπτώσεων, καθώς αρκετές μελέτες έδειξαν ότι οι επιδράσεις είναι εντονότερες στα αρχικά στάδια μετά την εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων και μειώνονται σταδιακά όσο προχωρά η αποδόμησή τους. Συνολικά, τα ευρήματα αναδεικνύουν την ανάγκη ορθολογικής χρήσης των ζιζανιοκτόνων και ενίσχυσης της παρακολούθησης των μικροβιακών λειτουργιών του εδάφους, μέσω κατάλληλων βιοδεικτών όπως τα AOA και AOB. Η καλύτερη κατανόηση των επιδράσεων αυτών θα μπορούσε να συμβάλει στην ανάπτυξη γεωργικών πρακτικών που διασφαλίζουν τη βιωσιμότητα των εδαφικών οικοσυστημάτων.

Λέξεις κλειδιά: ζιζανιοκτόνα, νιτροποίηση, νιτροποιητικοί μικροοργανισμοί, έδαφος, αφθονία, λειτουργία, ποικιλότητα, νιτροδοποιητικά βακτήρια, νιτροδοποιητικά αρχαία, νιτροποιητικά βακτήρια

ABSTRACT

Nitrification is one of the key microbial processes in the nitrogen cycle in soils, carried out by specialized microorganisms that include ammonia-oxidizing archaea (AOA) and bacteria (AOB), nitrite-oxidizing bacteria (NOB), and comammox bacteria. The use of herbicides in agriculture has emerged as a factor that may disrupt the balance of these microbial communities and, by extension, the functionality of soil ecosystems. This study presents a systematic review of the current literature addressing the impact of herbicides on nitrifying soil microorganisms, aiming to provide a qualitative and quantitative assessment of the associated effects. Nine (9) recent studies (2011–2025) were analyzed, including both soil microcosm and field experiments, as well as metagenomic and molecular techniques (e.g., RT-qPCR, *16S rRNA*, and *amoA* gene sequencing). The effects were evaluated based on changes in abundance, diversity, gene expression, and functional predictions. A quantitative synthesis was performed by scoring the intensity of herbicide effects per study and microbial group. The results were compiled into a summary table and visualized in a comparative figure. The results indicate that although AOA often show sensitivity in terms of gene expression and relative abundance, AOB can be equally or even more strongly suppressed in several cases, depending on the chemical compound and soil conditions. Certain active ingredients such as 2,4-De, simazine, and isoproturon, as well as herbicide mixtures like atrazine–nicosulfuron–mesotrione, were found to exert strong and prolonged inhibitory effects on the quantitative and qualitative composition of nitrifying communities. Bacteria of the genus *Nitrospira* (NOB/comammox) were also negatively affected, suggesting that herbicides impact later stages of nitrification beyond the initial oxidation of ammonia. Moreover, analysis of functional gene expression and predictions using tools such as FAPROTAX reinforce the picture of functional disturbance, confirming the reduced activity of microorganisms involved in ammonia oxidation, and to a lesser extent, in other nitrogen cycle processes. The temporal dynamics of the effects are also noteworthy, with several studies indicating that the impact is strongest shortly after herbicide application and progressively decreases as degradation processes advance. In summary, the findings highlight the need for rational herbicide use and improved monitoring of soil microbial functions, using appropriate bioindicators such as AOA and AOB. A better understanding of these impacts could support the development of agricultural practices that sustain the functionality and resilience of soil ecosystems.

Key words: herbicides, nitrification, soil nitrifiers, abundance, function, diversity, ammonia-oxidizing bacteria, ammonia-oxidizing archaea, nitrite-oxidizing bacteria

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
ABSTRACT	5
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1 Ζιζανιοκτόνα	8
1.1.1. Κατηγορίες ζιζανιοκτόνων βάσει του τρόπου δράσης	9
1.1.1.1. Αναστολείς της καρβοξυλάσης του ακετυλο-συνενζύμου A (ACCCase).....	10
1.1.1.2. Αναστολείς της ακετολακτατικής συνθάσης (ALS).....	10
1.1.1.3. Αναστολείς αρωματικών αμινοξέων.....	11
1.1.1.4. Ρυθμιστές ανάπτυξης φυτών.....	11
1.1.1.5. Αναστολείς ανάπτυξης ριζών	11
1.1.1.6. Αναστολείς ανάπτυξης βλαστών	12
1.1.1.7. Αναστολείς της φωτοσύνθεσης - Αναστολείς του φωτοσυστήματος I (PSI).....	12
1.1.1.8. Αναστολείς της φωτοσύνθεσης - Αναστολείς του φωτοσυστήματος II (PSII).	13
1.1.1.9. Αναστολείς της σύνθεσης της χρωστικών.....	13
1.1.1.10. Αναστολείς PPO	14
1.1.2 Τα ζιζανιοκτόνα ως περιβαλλοντικοί ρύποι	15
1.1.3 Επίδραση των ζιζανιοκτόνων στο έδαφος και στους μικροοργανισμούς του εδάφους.....	15
1.2. Οι μικροοργανισμοί του εδάφους και ο ρόλος τους στο οικοσύστημα.....	16
1.2.1. Συμμετοχή των μικροοργανισμών του εδάφους στον βιογεωχημικό κύκλο του αζώτου	17
1.3 Κύκλος του αζώτου	18
1.3.1 Νιτροποίηση.....	19
1.3.1.1. Ετεροτροφική νιτροποίηση	20
1.3.2 Μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στη νιτροποίηση.....	21
1.3.2.1 Νιτρωδοποιητικά Βακτήρια	22
1.3.2.2 Νιτρωδοποιητικά Αρχαία.....	23
1.3.2.3 Comammox Βακτήρια	23
1.3.2.4 Anammox	25
1.3.2.5 Νιτρικοποιητικά Βακτήρια.....	25
1.3.3 Σημασία των νιτροποιητικών μικροοργανισμών στην γεωργία και το περιβάλλον	26
1.4 Στόχος της εργασίας	28
2.ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	28
2.1. Στόχος της μεθοδολογίας.....	28

2.2. Πηγές αναζήτησης και βιβλιογραφικές αναφορές	29
2.3. Λέξεις κλειδιά και φράσεις αναζήτησης	29
2.4. Κριτήρια επιλογής μελετών	29
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	30
3.1 Ανάλυση επιλεγμένων μελετών για την επίδραση των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους	30
3.2. Ανασκόπηση μελετών	32
3.1. Συνθετική αποτίμηση των ευρημάτων	40
3.2.1. Επιδράσεις στη λειτουργία της νιτροποίησης.....	41
3.2.2. Επιδράσεις στην αφθονία, ποικιλότητα και δομή των μικροβιακών κοινοτήτων	41
3.2.3. Χρονική και περιβαλλοντική διαφοροποίηση των επιδράσεων	42
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	44
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	47
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	48

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ζιζανιοκτόνα

Τα ζιζανιοκτόνα αποτελούν κατηγορία οργανικών ή ανόργανων συνθετικών ενώσεων που εφαρμόζονται στη γεωργία με σκοπό τον έλεγχο των ανεπιθύμητων φυτικών ειδών, τα οποία ανταγωνίζονται τα καλλιεργούμενα φυτά για πόρους όπως το νερό, τα θρεπτικά στοιχεία και το φως. Η χρήση τους είναι ευρέως διαδεδομένη λόγω της αποτελεσματικότητάς τους, ιδιαίτερα έναντι πολυετών ζιζανίων, και της δυνατότητάς τους να εφαρμόζονται σε περιβάλλοντα όπου άλλες μέθοδοι ελέγχου (μηχανικές, βιολογικές) είναι ανεπαρκείς ή αδύνατες. Επιπλέον, προσφέρουν σημαντικά πλεονεκτήματα, όπως η απλότητα και η ταχύτητα στην καταπολέμηση των ζιζανίων, καθώς και η οικονομική αποδοτικότητα. Παρά τα πλεονεκτήματά τους, η χρήση τους συνδέεται με περιβαλλοντικές και αγρονομικές επιπτώσεις (Zimdahl, 2018).

Η εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων ενδέχεται να γίνει είτε πριν είτε μετά τη σπορά ή μεταφύτευση, ανάλογα με τις απαιτήσεις της καλλιέργειας και τη δυναμική του πληθυσμού των ζιζανίων. Ο ψεκασμός ζιζανιοκτόνων αποτρέπει ή ελαχιστοποιεί άλλη βλάστηση, μεγιστοποιεί τη φυτική παραγωγή και βελτιώνει τη συγκομιδή. Σε φυσικά οικοσυστήματα, η χρήση ζιζανιοκτόνων μπορεί να επηρεάσει τη σύνθεση της φυτικής βιοποικιλότητας, ενώ σε αγροοικοσυστήματα μπορεί να μεταβάλει τη σύνθεση του πληθυσμού των ζιζανίων. Παρόλο που η χρήση τους ενέχει περιβαλλοντικούς κινδύνους, θεωρείται προτιμητέα συγκριτικά με τις επιπτώσεις της απώλειας φυσικών οικοτόπων, της εξάπλωσης χωροκατακτητικών ειδών και της μείωσης της βιοποικιλότητας.

Η διάρκεια ζωής των ζιζανιοκτόνων αποτελεί κρίσιμο παράγοντα στη διαχείριση των ζιζανίων. Ο βασικός στόχος της χρήσης τους είναι ο αποτελεσματικός έλεγχος των ζιζανίων, ο οποίος, σύμφωνα με πειραματικά δεδομένα, πρέπει να πραγματοποιείται εντός της κρίσιμης περιόδου των 4-8 εβδομάδων μετά τη σπορά ή τη μεταφύτευση. Το ακριβές χρονικό διάστημα εξαρτάται από τον τύπο της καλλιέργειας, τις εδαφικές και κλιματικές συνθήκες, καθώς κατά τη συγκεκριμένη περίοδο τα ζιζάνια ενδέχεται να προκαλέσουν σημαντική καταστροφή στις καλλιέργειες. Από γεωργική και περιβαλλοντική άποψη, ενδιαφέρει τόσο η διάρκεια που ένα ζιζανιοκτόνο παραμένει στη φυσική του μορφή και βιολογικά ενεργό (διάρκεια ζωής-persistence) όσο και η επιπλέον περίοδος κατά την οποία παραμένει στο έδαφος ως υπόλειμμα (residues), μετά την κρίσιμη περίοδο ελέγχου των ζιζανίων. Η παραμονή ενός ζιζανιοκτόνου στο έδαφος πέρα από την κρίσιμη περίοδο είναι πιθανόν να προκαλέσει: (i) επιβλαβείς επιπτώσεις στην επόμενη καλλιέργεια στο ίδιο χωράφι, (ii) συσσώρευση του ζιζανιοκτόνου στα γεωργικά προϊόντα πάνω από τα επιτρεπτά όρια, (iii) επιβλαβείς επιπτώσεις στους μικροοργανισμούς του εδάφους με αποτέλεσμα τη μείωση της γονιμότητάς τους εδάφους, (iv) συσσώρευση του ζιζανιοκτόνου στο έδαφος αλλά και σε υπόγεια νερά εξαιτίας του φαινομένου της έκπλυσης.

Η διάρκεια ζωής των ζιζανιοκτόνων εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων, οι οποίοι κατηγοριοποιούνται σε: (1) εδαφικούς παράγοντες όπως το pH, η μηχανική σύσταση, η περιεκτικότητα σε οργανική ύλη, η σύσταση της μικροβιακής κοινότητας, (2) κλιματικούς παράγοντες όπως η υγρασία, η θερμοκρασία και η ηλιακή ακτινοβολία, (3) οι ιδιότητες του ίδιου του ζιζανιοκτόνου όπως η χημική σύνθεση, η δοσολογία, η

μέθοδος εφαρμογής, η πτητικότητα, η διάσπαση, η προσρόφηση, ο ιονισμός, η έκπλυση και η υδατοδιαλυτότητα. Η τυποποίηση του σκευάσματος έχει επίσης βρεθεί ότι επηρεάζει τη διάρκεια ζωής των ζιζανιοκτόνων. Η διαχείριση της διάρκειας ζωής των ζιζανιοκτόνων αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για την προστασία της γονιμότητας του εδάφους και τη βιωσιμότητα των γεωργικών πρακτικών. Η ακατάλληλη ή υπερβολική χρήση τους μπορεί να προκαλέσει σημαντικά προβλήματα σε επίπεδο οικοσυστήματος, επηρεάζοντας την ποιότητα του εδάφους και του υδροφόρου ορίζοντα. Η ορθολογική χρήση και η επιλογή κατάλληλων σκευασμάτων με βάση τα χαρακτηριστικά του περιβάλλοντος και της καλλιέργειας είναι ουσιώδης (Λόλας, 2007)

1.1.1. Κατηγορίες ζιζανιοκτόνων βάσει του τρόπου δράσης

Τα ζιζανιοκτόνα κατατάσσονται σε διαφορετικές κατηγορίες με βάση τον τρόπο δράσης τους, δηλαδή τον βιοχημικό μηχανισμό μέσω του οποίου επιδρούν στα φυτά-στόχους. Ο μηχανισμός δράσης καθορίζεται κυρίως από τη χημική σύνθεση του ζιζανιοκτόνου και τους βιολογικούς στόχους στους οποίους αυτό επεμβαίνει. Η δράση των ζιζανιοκτόνων μπορεί να περιλαμβάνει την αναστολή ενζύμων, τη διατάραξη της κυτταρικής διαίρεσης, την παρεμπόδιση της φωτοσύνθεσης ή τη μίμηση φυτικών ορμονών. Η αποτελεσματικότητα των ζιζανιοκτόνων είναι υψηλότερη όταν εφαρμόζονται στα αρχικά στάδια ανάπτυξης των ζιζανίων, όπως το στάδιο του σποροφύτου, ενώ μειώνεται σημαντικά στα προχωρημένα στάδια, όπως η ανθοφορία και η ωρίμανση. Η συνεχής έρευνα στον τομέα των ζιζανιοκτόνων έχει οδηγήσει στην κατηγοριοποίησή τους βάσει του τρόπου δράσης σε διάφορες ομάδες, οι οποίες παρουσιάζονται και αναλύονται λεπτομερώς στο παρόν κεφάλαιο. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι παρά τη συνολική προσέγγιση οι κατηγορίες που περιγράφονται στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, δεν καλύπτουν απόλυτα όλους τους πιθανούς μηχανισμούς δράσης των γνωστών ζιζανιοκτόνων.

Πρόσφατα ανακαλυφθείσες, καθώς και νέες ομάδες συνεχίζουν να προστίθενται στις υπάρχουσες κατηγορίες ζιζανιοκτόνων, αντικατοπτρίζοντας τις μικρές παραλλαγές στην ταξινόμηση που προκύπτουν από την πρόοδο της ερευνητικής γνώσης. Παράλληλα, διαφορετικοί επιστήμονες μπορεί να υιοθετούν ελαφρώς διαφοροποιημένες μεθόδους ταξινόμησης, οδηγώντας σε περίπου 170 διαφορετικές ομάδες ζιζανιοκτόνων, που βασίζονται στη φυσιολογία δράσης, τη χημική τους σύνθεση και την ασφάλεια χρήσης τους. Αυτές οι παραλλαγές, ωστόσο, είναι δευτερεύουσας σημασίας. Το ουσιώδες είναι η βαθιά κατανόηση του τρόπου δράσης των ζιζανιοκτόνων η οποία αποτελεί προϋπόθεση για την επιλογή του κατάλληλου ζιζανιοκτόνου για συγκεκριμένες καλλιέργειες, την αναγνώριση των συμπτωμάτων τοξικότητας, τη διαμόρφωση αποτελεσματικών στρατηγικών διαχείρισης καλλιεργειών και τη βέλτιστη και ασφαλή χρήση των ζιζανιοκτόνων.

Είναι επίσης σημαντικό να αναγνωρίζεται ότι τα ζιζανιοκτόνα με τον ίδιο τρόπο δράσης, αν και μπορεί να ανήκουν σε διαφορετικές χημικές οικογένειες, επιδρούν στον ίδιο βιολογικό στόχο. Επιπλέον, η περιβαλλοντική τύχη των ζιζανιοκτόνων συμπεριλαμβανομένων της ανθεκτικότητας, της αποδόμησης και της κινητικότητας τους, επηρεάζει σημαντικά τη μετακίνησή τους στα υπόγεια ύδατα δια μέσου του εδάφους και ως εκ τούτου τη ρύπανση του εδάφους και των υπόγειων υδάτων, καθώς

και την περιβαλλοντική και δημόσια υγεία. Η κατανόηση αυτών των παραμέτρων είναι ζωτικής σημασίας για την ασφαλή και υπεύθυνη χρήση των ζιζανιοκτόνων, σύμφωνα με τους ισχύοντες κανονισμούς, τις κατευθυντήριες οδηγίες και τις προδιαγραφές επισήμανσης. Ορισμένοι βασικοί τρόποι δράσης, των ζιζανιοκτόνων παρατίθενται παρακάτω:

1. Αναστολείς της βιοσύνθεσης των λιπιδίων
2. Αναστολείς της βιοσύνθεσης αμινοξέων
3. Ρυθμιστές ανάπτυξης φυτών (συνθετικές αυξίνες)
4. Αναστολείς της φωτοσύνθεσης (φωτοσύστημα I και II)
5. Αναστολείς χρωστικών (καροτενοειδών)
6. Διαταράκτες κυτταρικής μεμβράνης (Sherwani et al., 2015).

1.1.1.1. Αναστολείς της καρβοξυλάσης του ακετυλο-συνενζύμου A (ACCase)

Οι αναστολείς της βιοσύνθεσης των λιπιδίων, γνωστοί και ως αναστολείς της καρβοξυλάσης του ακετυλο-συνενζύμου A (ACCase), χρησιμοποιούνται κυρίως για τον έλεγχο αγρωστωδών ζιζανίων σε πλατύφυλλες καλλιέργειες ή στο πλαίσιο της αμειψισποράς. Το ένζυμο ACCase καταλύει το πρώτο στάδιο της βιοσύνθεσης των λιπαρών οξέων, απαραίτητων για τη σύνθεση των φωσφολιπιδίων, τα οποία αποτελούν βασικά δομικά στοιχεία των κυτταρικών μεμβρανών. Οι κυριότερες χημικές οικογένειες είναι τα αρυλοξυφαινοξυπροπιονικά οξέα (FOPs), οι κυκλοεξανδιόνες (DIMs) και οι φαινυλπυραζολίνες (DENs). Οι πλατύφυλλες καλλιέργειες, παρουσιάζουν φυσική ανθεκτικότητα σε αυτά τα ζιζανιοκτόνα, η οποία οφείλεται στην ύπαρξη μιας σταθερότερης και λιγότερο ευαίσθητης μορφής του ενζύμου ACCase (Manuchehri, 2017; Sherwani et al., 2015).

1.1.1.2. Αναστολείς της ακετολακτατικής συνθάσης (ALS)

Αυτή η ομάδα ζιζανιοκτόνων, γνωστή και ως αναστολείς της βιοσύνθεσης των αμινοξέων, αναστέλλει τη δράση του ενζύμου ακετολακτική συνθάση (ALS), το οποίο είναι επίσης γνωστό ως συνθάση του ακετουδροξυ οξέος (AHAS). Το ένζυμο ALS καταλύει το πρώτο βήμα στη σύνθεση των διακλαδισμένης αλυσίδας αμινοξέων, όπως η λευκίνη, ισολευκίνη και βαλίνη. Αυτά τα ζιζανιοκτόνα περιλαμβάνουν χημικές οικογένειες όπως οι ιμιδαζολινόνες, οι σουλφονυλουρίες και τριαζολοπυριμιδίνες, οι σουλφονυλαμινοκαρβονυλτριαζολινόνες και τα πυριμιδυλοθειοβενζοϊκά. Η αναστολή του ενζύμου ALS, οδηγεί σε διακοπή της φυσιολογικής ανάπτυξης και τελικά, σε θάνατο του φυτού. Η υπερβολική χρήση μπορεί να προκαλέσει εμφάνιση ανθεκτικών ζιζανίων και φαινόμενα διασταυρούμενης ανθεκτικότητας (Manuchehri, 2017; Sherwani et al., 2015).

1.1.1.3. Αναστολείς αρωματικών αμινοξέων

Τα ζιζανιοκτόνα της κατηγορίας αυτής δρουν αναστέλλοντας τη σύνθεση των αρωματικών αμινοξέων (τρυπτοφάνη, τυροσίνη και φαινυλαλανίνη), μέσω της αναστολής της 5-ενωλπυρουβυλσικιμικού-3-φωσφορικής συνθετάσης (EPSP). Η δράση τους βασίζεται στην αναστολή της οδού του σικιμικού οξέος, η οποία είναι κρίσιμη για τη σύνθεση αυτών των αμινοξέων. Η αναστολή της EPSP συνθετάσης οδηγεί σε εξάντληση των απαραίτητων αρωματικών αμινοξέων και συνεπώς διακόπτει βασικές βιοσυνθετικές και μεταβολικές διαδικασίες, προκαλώντας τον θάνατο των φυτών.

Κύριος εκπρόσωπος αυτής της κατηγορίας είναι το glyphosate, ένα μη-εκλεκτικό ζιζανιοκτόνο ευρέως φάσματος που χρησιμοποιείται κυρίως σε καλλιέργειες όπως καλαμπόκι, βαμβάκι, κανόλα και σόγια. Διατίθεται σε διάφορες μορφές, όπως άλατα αμμωνίου, διαμμωνίου, διμεθυλαμμωνίου, ισοπροπυλαμίνης και καλίου, οι οποίες προσφέρουν ευκολία εφαρμογής και υψηλή αποτελεσματικότητα ακόμη και σε ζιζάνια ανθεκτικά σε άλλες ουσίες (Manuchehri, 2017; Sherwani et al., 2015).

1.1.1.4. Ρυθμιστές ανάπτυξης φυτών

Γνωστά και ως συνθετικές αυξίνες, η ομάδα αυτή περιλαμβάνει ζιζανιοκτόνα με βάση τις ορμόνες, τα οποία χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο πλατύφυλλων ζιζανίων σε καλλιέργειες καλαμποκιού, σιταριού και σόργου. Τα ζιζανιοκτόνα αυτής της κατηγορίας μιμούνται τη δράση του ενδογενούς ινδολο-3-οξικού οξέος (IAA), το οποίο είναι φυσική αυξίνη. Οι χημικές οικογένειες αυτών των ζιζανιοκτόνων περιλαμβάνουν το βενζοϊκό οξύ, το φαινοξυκαρβοξυλικό οξύ, το καρβοξυλικό πυριδινικό οξύ και το καρβοξυλικό οξύ της κινολίνης. Η ακριβής μοριακή θέση πρόσδεσης που ευθύνεται για την ενεργοποίηση του IAA από αυτά τα ζιζανιοκτόνα παραμένει άγνωστη. Αυτές οι ενώσεις διαταράσσουν τον μεταβολισμό των νουκλεϊκών οξέων και την ακεραιότητα του κυτταρικού τοιχώματος μέσω ενεργοποίησης της αντλίας πρωτονίων (ATPάσης). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων του κυτταρικού τοιχώματος. Τα ζιζανιοκτόνα αυτά μιμούνται τη δραστηριότητα του IAA, ενισχύοντας τη μεταγραφή, τη μετάφραση και τις δραστηριότητες βιοσύνθεσης των πρωτεϊνών στο κύτταρο. Η ανεξέλεγκτη ανάπτυξη που προκαλείται από αυτή τη διαδικασία οδηγεί σε κυτταρικές ρήξεις και τελικά στον θάνατο των φυτών (Manuchehri, 2017; Sherwani et al., 2015).

1.1.1.5. Αναστολείς ανάπτυξης ριζών

Γνωστοί και ως αναστολείς της ανάπτυξης των ριζών των σποροφύτων, αυτά τα ζιζανιοκτόνα αναστέλλουν την κυτταρική διαίρεση ως μέρος του τρόπου δράσης τους, ο οποίος τελικά εμποδίζει την επέκταση και την ανάπτυξη της ρίζας. Εφαρμόζονται προφυτρωτικά ή πρώιμα μεταφυτρωτικά σε λαχανικά και καλλωπιστικά φυτά. Το σημείο δράσης τους είναι οι μικροσωληνίσκοι, και η δράση τους χαρακτηρίζεται από τη συγκρότηση του συμπλόκου ζιζανιοκτόνου-τουμπουλίνης στο εσωτερικό των μικροσωληνίσκων. Αυτό το σύμπλοκο αναστέλλει τον πολυμερισμό των

μικροσωληνίσκων κατά τη συναρμολόγηση, ενώ παραμένει ανεπηρέαστο κατά τη διάρκεια του αποπολυμερισμού. Η απώλεια της δομής και της λειτουργίας των μικροσωληνίσκων προκαλεί τον κυτταρικό θάνατο, θέτοντας σε κίνδυνο τον σχηματισμό του κυτταρικού τοιχώματος λόγω της μη ευθυγράμμισης της ατράκτου των ινών και του μη διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων κατά τη μιτωτική κυτταρική διαίρεση. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει χημικές ενώσεις όπως το βενζαμίδιο, το βενζοϊκό οξύ [διμεθυλο-2,3,5,6-τετραχλωροτερεφθαλικό οξύ (DCPA), τη δινιτροανιλίνη, τα φωσφοραμιδικά και την πυριδίνη. Η δράση τους οδηγεί στο μη σχηματισμό των μικροσωληνίσκων, γεγονός που οδηγεί στην παρεμπόδιση της κυτταρικής διαίρεσης και επιμήκυνσης, όπως αποδεικνύεται από τη διόγκωση των άκρων των ριζών (Manuchehri, 2017; Sherwani et al., 2015).

1.1.1.6. Αναστολείς ανάπτυξης βλαστών

Γνωστά και ως αναστολείς της ανάπτυξης των βλαστών των σποροφύτων, τα ζιζανιοκτόνα αυτής της κατηγορίας εφαρμόζονται κατά την προετοιμασία του εδάφους και δρουν αποτελεσματικά στο στάδιο της προφυτρωτικής ανάπτυξης των αγρωστωδών και πλατύφυλλων ζιζανίων. Το σημείο δράσης των ζιζανιοκτόνων βρίσκεται στον μηχανισμό σύνθεσης λιπιδίων στην κυτταρική μεμβράνη. Τα ζιζανιοκτόνα αυτής της ομάδας περιλαμβάνουν τις χημικές οικογένειες των φωσφοροδιθειοϊκών και των θειοκαρβαμικών και αναστέλλουν τη βιοσύνθεση των λιπιδίων, των λιπαρών οξέων, των πρωτεϊνών, των ισοπρενοειδών, των φλαβονοειδών και των γιββερελινών. Το σημείο δράσης αφορά στα λιπαρά οξέα πολύ μακράς αλυσίδας (very long chain fatty acids, VLCFA) στην κυτταρική μεμβράνη. Τα ζιζανιοκτόνα της ομάδας αυτής ανήκουν στις χημικές οικογένειες των χλωροακεταμιδίων, ακεταμίδιο, οξυακεταμίδιο και τετραζολιόννη. Αυτά τα ζιζανιοκτόνα συζεύγνυνται με ακετυλο-CoA και με ορισμένα μόρια που περιέχουν σουλφυδρύλιο μέσω θειοκαρβαμιδικών σουλφοξειδίων, αναστέλλοντας τα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας κατά το στάδιο ανάπτυξης των βλαστών του φυτού και επηρεάζοντας τα ζιζάνια προφυτρωτικά (Manuchehri, 2017; Sherwani et al., 2015).

1.1.1.7. Αναστολείς της φωτοσύνθεσης - Αναστολείς του φωτοσυστήματος I (PSI)

Κατά την επαφή με το φύλλωμα του φυτού, τα ζιζανιοκτόνα αυτής της κατηγορίας δρουν διεισδύοντας και καταστρέφοντας τη λιπιδική διπλοστοιβάδα των κυττάρων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη διάσπαση των κυτταρικών μεμβρανών και ως εκ τούτου ο τρόπος δράσης τους κατηγοριοποιείται ως διαταραχή των κυτταρικών μεμβρανών. Αυτά τα ζιζανιοκτόνα είναι μη εκλεκτικά και συνήθως εφαρμόζονται πριν από τη συγκομιδή της καλλιέργειας. Περιλαμβάνουν την οικογένεια χημικών ουσιών διπυριδιλίου και είναι επίσης γνωστά ως εκτροπείς ηλεκτρονίων του φωτοσυστήματος I (PSI). Λειτουργούν δεχόμενα ηλεκτρόνια από το PSI και, κατά τη διαδικασία, παράγουν ελεύθερες ρίζες ζιζανιοκτόνων. Οι ρίζες αυτές αλληλεπιδρούν με το O₂ σχηματίζοντας ρίζες υπεροξειδίου. Παρουσία του ενζύμου υπεροξειδική δισμουτάση, οι ρίζες υπεροξειδίου μετατρέπονται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) και ρίζες υδροξυλίου. Αυτές οι αντιδραστικές ρίζες προκαλούν σοβαρές βλάβες στα ακόρεστα

λιπαρά οξέα, στη χλωροφύλλη, στα λιπίδια και στις πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης. Ως αποτέλεσμα, η κυτταρική μεμβράνη υφίσταται μη αναστρέψιμη βλάβη, προκαλώντας διαρροή του κυτταροπλάσματος. Αυτό οδηγεί σε μαρανση και τελικά στο θάνατο του φυτού (Manuchehri, 2017; Sherwani et al., 2015).

1.1.1.8. Αναστολείς της φωτοσύνθεσης - Αναστολείς του φωτοσυστήματος II (PSII)

Ο τρόπος δράσης αυτών των ζιζανιοκτόνων είναι η αναστολή της φωτοσυνθετικής οδού, συγκεκριμένα του φωτοσυστήματος II (PSII). Λόγω της υπερβολικής χρήσης τους, ορισμένα ζιζάνια έχουν αποκτήσει ανθεκτικότητα σε αυτά τα ζιζανιοκτόνα. Οι χημικές οικογένειες που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία διακρίνονται σε τρεις ομάδες. Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει τις τριαζίνες, τριαζινόνες, φαινυλοκαρβαμικά, πυριδαζίνες και ουρακίλες. Η δεύτερη ομάδα αποτελείται από τα νιτρίλια, βενζοθειαδιαζινόνες και τις φαινυλοπυριδαζίνες. Η τρίτη ομάδα περιλαμβάνει τη φαινυλοουρία και τα αμίδια. Όλες αυτές οι ομάδες διαφέρουν ως προς τη μοριακή τους δέσμευση, αλλά παρουσιάζουν ορισμένες ομοιότητες στον τρόπο δράσης. Τα ζιζανιοκτόνα του PSII αναστέλλουν τη φωτοσυνθετική οδό, δεσμεύοντας τη θέση πρόσδεσης του QB του πρωτεϊνικού συμπλόκου D1, που βρίσκεται στη θυλακοειδή μεμβράνη του χλωροπλάστη.

Η δέσμευση αυτή διακόπτει το σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETS) από το QA στο QB εμποδίζοντας επίσης τη δέσμευση του CO₂, την παραγωγή ATP και NADPH, τα οποία είναι απαραίτητα για τις βιοχημικές διεργασίες που σχετίζονται με την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών. Ως αποτέλεσμα, το φυτό αδυνατεί να επαναοξειδώσει το QA, που οδηγεί στον σχηματισμό τριπλής χλωροφύλλης (³Chl). Η τριπλή χλωροφύλλη αντιδρά με μοριακό οξυγόνο (O₂), σχηματίζοντας μονήρες οξυγόνο (¹O₂). Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα και τα λιπίδια απελευθερώνουν υδρογόνο παρουσία της τριπλής χλωροφύλλης και του μονήρους οξυγόνου, σχηματίζοντας λιπιδικές ρίζες. Αυτές οι λιπιδικές ρίζες προκαλούν υπεροξειδωση των λιπιδίων, οδηγώντας σε καταστροφή των λιπιδίων της διπλοστοιβάδας και οξειδωση πρωτεϊνών, παράγοντας δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS). Επιπλέον, ορισμένα ζιζανιοκτόνα αυτής της κατηγορίας διαταράσσουν τα βιοσυνθετικά μονοπάτια των καροτενοειδών, των ανθοκυανών και των πρωτεϊνών, ενώ επηρεάζουν και τον μηχανισμό μεταγραφής. Η οξειδωση οδηγεί στην απώλεια της χλωροφύλλης και άλλων χρωστικών ουσιών, όπως τα καροτενοειδή, από τις κυτταρικές μεμβράνες. Αυτό εκθέτει τα κύτταρα και τα οργάνidia τους σε δυσμενείς συνθήκες, προκαλώντας κατάρρευση, αποσύνθεση και τελικά θάνατο των φυτών. Λόγω της υπερβολικής χρήσης των ζιζανιοκτόνων αυτής της κατηγορίας, όπως atrazine και metribuzin, ορισμένα ζιζάνια έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα (Manuchehri, 2017; Sherwani et al., 2015).

1.1.1.9. Αναστολείς της σύνθεσης της χρωστικών

Γνωστά και ως αναστολείς της βιοσύνθεσης των καροτενοειδών, αυτά τα ζιζανιοκτόνα καταστρέφουν την πράσινη χρωστική ουσία χλωροφύλλη, η οποία είναι απαραίτητη για τη φωτοσύνθεση. Χαρακτηρίζονται επίσης ως «λευκαντικά», καθώς προκαλούν λεύκανση των φυτικών ιστών, αφήνοντας τα φυτά με λευκό χρώμα μετά την επαφή,

γεγονός που οδηγεί σε τραυματισμό των κυττάρων, μαρασμό και τελικά θάνατο των ζιζανίων. Αυτά τα ζιζανιοκτόνα αναστέλλουν τη σύνθεση της χρωστικής ουσίας, μέσω της αναστολής του ενζύμου 4-υδροξυφαινυλο-πυροσταφυλική διοξυγενάση (HPPD) και συχνά αναφέρονται ως αναστολείς HPPD. Η πρώτη ομάδα αυτής της κατηγορίας περιλαμβάνει χημικές οικογένειες όπως αμίδια, ανιλίδες, φουρανόνες, φαινοξυβουταναμίδια, πυριδαζινόνες και πυριδίνες. Τα ζιζανιοκτόνα αυτά διαταράσσουν τη βιοσύνθεση των καροτενοειδών μέσω της αναστολής της λειτουργίας του ενζύμου δεσατουράση του φυτοενίου. Μια άλλη ομάδα ζιζανιοκτόνων αυτής της κατηγορίας περιλαμβάνει τη χημική οικογένεια ισοξαζολιδινόνες, με σημείο δράσης τη σύνθεση των διτερπενίων. Η τρίτη ομάδα, που ανήκει στη χημική οικογένεια της ισοξαζόλης λειτουργεί επίσης ως αναστολέας του ενζύμου HPPD. Τα καροτενοειδή διαδραματίζουν βασικό ρόλο στην προστασία των φυτών από το οξειδωτικό στρες μέσω της απόσβεσης του μονήρους οξυγόνου ($^1\text{O}_2$). Η χρήση αυτών των ζιζανιοκτόνων μειώνει δραματικά τα επίπεδα καροτενοειδών, γεγονός που οδηγεί στην απελευθέρωση λιπιδικών ριζών. Οι λιπιδικές ρίζες προκαλούν υπεροξείδωση των λιπιδίων της μεμβράνης, απώλεια λειτουργικότητας της χλωροφύλλης, των κυτταρικών λιπιδίων και ορισμένων πρωτεϊνών, διαρροή του κυτταρικού περιεχομένου του κυττάρου που οδηγεί σε ταχεία κυτταρική καταστροφή και τελικά θάνατο του φυτού. Με αυτόν τον τρόπο, οι αναστολείς της σύνθεσης χρωστικών ουσιών οδηγούν σε πλήρη μαρασμό των φυτών-στόχων και είναι αποτελεσματικοί στην εξάλειψη ανθεκτικών ζιζανίων (Manuchehri, 2017; Sherwani et al., 2015).

1.1.1.10. Αναστολείς PPO

Οι αναστολείς της πρωτοπορφυρινογενής οξειδάσης (PPO) δρουν διαταράσσοντας τις κυτταρικές μεμβράνες και ως εκ τούτου ο τρόπος δράσης τους κατηγοριοποιείται ως διαταραχή των κυτταρικών μεμβρανών. Οι περισσότεροι από αυτούς τους τύπους ζιζανιοκτόνων εφαρμόζονται μεταφυτρωτικά, ενώ ορισμένα χρησιμοποιούνται προφυτρωτικά κατά το στάδιο του σπορόφυτου. Ο τρόπος δράσης αυτών των ζιζανιοκτόνων βασίζεται στην αναστολή του ενζύμου PPO, γνωστό επίσης και ως PPG οξειδάση ή Protox. Το ένζυμο αυτό καταλύει τη βιοσύνθεση της χλωροφύλλης και της αίμης, συγκεκριμένα την οξείδωση του πρωτοπορφυρινογόνου IX (PPGIX) σε πρωτοπορφυρίνη IX (PPIX)]. Τα ζιζανιοκτόνα αυτής της κατηγορίας ανήκουν στις χημικές οικογένειες διφαινυλαιθέρες, αρυλοτριαζολινόνες, N-φαινυλοφθαλμίδια, οξαδιαζόλες, οξαζολιδινόνες, φαινυλπυραζόλες, πυριμιδινιδίνες και θειαδιαζόλες. Καθώς το ένζυμο PPO αναστέλλεται, προκαλείται υπερσυσσώρευση της PPIX, η οποία, σε αλληλεπίδραση με το φως, σχηματίζει την τριπλέτα-PPIX. Όταν η τριπλέτα-PPIX αντιδρά με το O_2 , σχηματίζεται μονήρες οξυγόνο ($^1\text{O}_2$), το οποίο προκαλεί διάσπαση των δεσμών υδρογόνου στα ακόρεστα λιπαρά οξέα και λιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης, οδηγώντας σε υπεροξείδωση των λιπιδίων. Ως αποτέλεσμα της διαταραχής της κυτταρικής μεμβράνης, τα λιπίδια και οι πρωτεΐνες οξειδώνονται γεγονός που προκαλεί διαρροή της χλωροφύλλης και άλλων χρωστικών οδηγώντας τελικά στον θάνατο των φυτών (Manuchehri, 2017; Sherwani et al., 2015).

1.1.2 Τα ζιζανιοκτόνα ως περιβαλλοντικοί ρύποι

Η ευρεία χρήση γεωργικών φαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων των ζιζανιοκτόνων, συμβάλλει σημαντικά στην αύξηση της αγροτικής παραγωγής και την κάλυψη της παγκόσμιας ζήτησης τροφίμων. Τα ζιζανιοκτόνα, μολονότι χρήσιμα για την καταπολέμηση των ζιζανίων, περιέχουν δραστικές ουσίες που ενδέχεται να προκαλέσουν επιβλαβείς επιπτώσεις στο περιβάλλον, τη βιοποικιλότητα και την ανθρώπινη υγεία (Basu and Rao, 2020).

Οι ουσίες αυτές είναι δυνατόν να επηρεάσουν μη στοχευόμενους χερσαίους και υδρόβιους οργανισμούς όπως πτηνά, έντομα και ψάρια, ενώ παράλληλα υποβαθμίζουν την ποιότητα του εδάφους και των υδάτων. Η μακροχρόνια και επαναλαμβανόμενη χρήση τους μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας από τα ζιζάνια, μειώνοντας την αποτελεσματικότητα των εφαρμογών. Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι, η έκθεση σε ορισμένα ζιζανιοκτόνα ενδέχεται να συσχετίζεται με σοβαρούς κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία, όπως καρκίνος και νευρολογικές διαταραχές (Basu and Rao, 2020).

Η διασπορά των ζιζανιοκτόνων στο περιβάλλον πραγματοποιείται με διάφορους μηχανισμούς: μέσω εξάτμισης και σταγονιδίων ψεκασμού που εισέρχονται στην ατμόσφαιρα, μέσω απορροής και εκπλύσεων προς τα υπόγεια ή επιφανειακά ύδατα, καθώς και μέσω μεταφοράς προσκολλημένων σωματιδίων σε εδαφική σκόνη. Υδατοδιαλυτές ενώσεις μπορούν εύκολα να παρασυρθούν με το νερό, ενώ οι λιποδιαλυτές ουσίες ενδέχεται να βιοσυσσωρεύονται σε οργανισμούς, περνώντας στη διατροφική αλυσίδα (Rashid et al. 2010).

Για την ελαχιστοποίηση των αρνητικών αυτών επιπτώσεων, η χρήση ζιζανιοκτόνων πρέπει να γίνεται με σύνεση και σύμφωνα με τις οδηγίες ασφαλείας. Επιπλέον, έχουν προταθεί εναλλακτικές μέθοδοι ελέγχου ζιζανίων, όπως η βιολογική γεωργία, η εφαρμογή μη χημικών μεθόδων ελέγχου, και η προσέγγιση της ολιστικής διαχείρισης του αγροτικού οικοσυστήματος στο πλαίσιο της εφαρμογής στρατηγικών ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας (Basu and Rao, 2020).

1.1.3 Επίδραση των ζιζανιοκτόνων στο έδαφος και στους μικροοργανισμούς του εδάφους

Η χρήση ζιζανιοκτόνων στην γεωργία έχει αυξηθεί σημαντικά λόγω των πλεονεκτημάτων τους όσον αφορά τον χρόνο, την εργασία και το κόστος. Η αυξημένη χρήση ζιζανιοκτόνων, όμως, εγείρει ανησυχίες για τις πιθανές επιπτώσεις τους στο περιβάλλον, ιδιαίτερα στο έδαφος και τους οργανισμούς που ζουν σε αυτό.

Ενώ τα ζιζανιοκτόνα στοχεύουν στην καταπολέμηση των ζιζανίων, μπορούν να επηρεάσουν και άλλους οργανισμούς του εδάφους, όπως βακτήρια, μύκητες, ακτινομύκητες, νηματώδεις, έντομα και γαιοσκώληκες. Οι επιπτώσεις αυτές μπορεί να είναι άμεσες, μέσω της τοξικότητας των χημικών, ή έμμεσες, μέσω της αλλαγής της βλάστησης και της διαθέσιμης τροφής.

Σύμφωνα με την έρευνα των Barman and Varshney (2008), η επίδραση των ζιζανιοκτόνων εξαρτάται από τον τύπο της δραστικής ουσίας, τη δόση, τα χαρακτηριστικά του εδάφους, καθώς και από την ευαισθησία των οργανισμών. Πολλές μελέτες, ωστόσο, βασίζονται σε βραχυπρόθεσμα πειράματα και υπάρχει έλλειψη δεδομένων για τις μακροχρόνιες επιπτώσεις των ζιζανιοκτόνων. Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την πλήρη κατανόηση των επιπτώσεων των ζιζανιοκτόνων στη βιοποικιλότητα και τη λειτουργία του εδάφους, ειδικά σε βάθος χρόνου.

Ιδιαίτερη ανησυχία προκαλεί η τοξικότητα πολλών ζιζανιοκτόνων προς τους μικροοργανισμούς του εδάφους, όπως τα βακτήρια και οι μύκητες. Οι μικροοργανισμοί αυτοί διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της υγείας του εδάφους αλλά και στη διαθεσιμότητα των θρεπτικών ουσιών και στην αποσύνθεση των οργανικών υλικών, με αποτέλεσμα η όποια αρνητική επίδραση στη λειτουργία τους, να διαταράσσει τους κύκλους των θρεπτικών στοιχείων, επηρεάζοντας αρνητικά τη γονιμότητα του εδάφους. Επιπλέον, ορισμένα ζιζανιοκτόνα μπορεί να επηρεάσουν τη δομή του εδάφους, καθιστώντας το πιο ευαίσθητο σε διάβρωση από το νερό και τον αέρα. Η μείωση της μικροβιακής δραστηριότητας, ειδικά των αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων, μπορεί να περιορίσει τη βιοδιαθεσιμότητα του αζώτου, επηρεάζοντας αρνητικά την ανάπτυξη και την παραγωγικότητα των καλλιεργειών. Τέλος, η ευρεία χρήση ζιζανιοκτόνων έχει συνδεθεί με περιβαλλοντικούς κινδύνους και επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία, κυρίως μέσω της αποσταθεροποίησης των εδαφικών οικοσυστημάτων και των αλυσιδωτών συνεπειών στην τροφική αλυσίδα.

Η υιοθέτηση στρατηγικών ολοκληρωμένης διαχείρισης ζιζανίων, όπως η αμειψισπορά και η εφαρμογή εναλλακτικών, μη χημικών μεθόδων ελέγχου, προτείνεται ως λύση για τον μετριασμό των αρνητικών επιπτώσεων των ζιζανιοκτόνων στη λειτουργικότητα και τη βιωσιμότητα των γεωργικών οικοσυστημάτων (Basu and Rao, 2020).

1.2. Οι μικροοργανισμοί του εδάφους και ο ρόλος τους στο οικοσύστημα

Οι μικροοργανισμοί του εδάφους διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στη διατήρηση και ενίσχυση των λειτουργιών του οικοσυστήματος. Υποστηρίζουν βιολογικούς μετασχηματισμούς που οδηγούν σε σταθερές δεξαμενές θρεπτικών στοιχείων, απαραίτητες για τη δημιουργία φυτικών κοινοτήτων και την ανακύκλωση των θρεπτικών συστατικών. Συμμετέχουν στους κύκλους των θρεπτικών στοιχείων και συμβάλλουν στην αύξηση της παραγωγικότητας, στον σχηματισμό του εδάφους και στην αποκατάσταση υποβαθμισμένων περιοχών. Συγκεκριμένες ομάδες μικροοργανισμών, όπως τα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια και οι μυκορριζικοί μύκητες, διευκολύνουν την πρόσληψη ζωτικών στοιχείων, όπως το άζωτο και ο φώσφορος, από τα φυτά. Σε ορισμένα οικοσυστήματα, αυτοί οι μικροοργανισμοί ευθύνονται για έως και 80 % της πρόσληψης του αζώτου και 75 % του φωσφόρου, ενώ ταυτόχρονα ενισχύουν την πρωτογενή παραγωγικότητα των φυτών μέσω της ανοργανοποίησης θρεπτικών συστατικών. Οι μικροοργανισμοί διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στους βιογεωχημικούς κύκλους, όπως αυτοί του άνθρακα και του αζώτου, μέσω διαδικασιών όπως η νιτροποίηση, η απονιτροποίηση, η οξείδωση του μεθανίου και η

μεθανιογένεση, οι οποίες είναι ζωτικής σημασίας τόσο για τη λειτουργία των οικοσυστημάτων όσο και για τη χημική σύνθεση της ατμόσφαιρας. Παράλληλα, επηρεάζουν τη δομή και τις υδρολογικές ιδιότητες του εδάφους, ενισχύοντας τη διήθηση και την κατακράτηση νερού, κάτι που είναι καίριο για την αποκατάσταση υποβαθμισμένων περιοχών και τη διατήρηση της υγείας του εδάφους.

Περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως το pH του εδάφους, η υγρασία και η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών διαμορφώνουν τη σύσταση και τη λειτουργία των μικροβιακών κοινοτήτων. Παράλληλα, η χωρική ετερογένεια του εδάφους επηρεάζει τη μικροβιακή κατανομή και δραστηριότητα. Οι πρόσφατες εξελίξεις στις γονιδιωματικές και μεταγονιδιωματικές αναλύσεις έχουν αποκαλύψει την τεράστια ποικιλότητα των μικροοργανισμών του εδάφους, όπως βακτήρια, μύκητες, αρχαία και ιοί, αναδεικνύοντας την οικολογική τους σημασία.

Συμπερασματικά, οι μικροοργανισμοί του εδάφους είναι απαραίτητοι για την υγεία και τη βιωσιμότητα των οικοσυστημάτων. Η βαθύτερη κατανόηση και ορθή διαχείριση αυτών των μικροβιακών κοινοτήτων μπορεί να ενισχύσει σημαντικά τη γονιμότητα του εδάφους και την ανθεκτικότητα του οικοσυστήματος και να υποστηρίξει την παραγωγικότητα σε συνθήκες περιβαλλοντικής αλλαγής (Chen et al., 2024).

1.2.1. Συμμετοχή των μικροοργανισμών του εδάφους στον βιογεωχημικό κύκλο του αζώτου

Οι μικροοργανισμοί του εδάφους διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στον βιογεωχημικό κύκλο του αζώτου, διεκπεραιώνοντας διεργασίες που εξασφαλίζουν τη μετατροπή του αζώτου σε μορφές αξιοποιήσιμες από τα φυτά και τα οικοσυστήματα. Μία από τις σημαντικότερες διεργασίες είναι η αζωτοδέσμευση, κατά την οποία το ατμοσφαιρικό άζωτο (N_2) μετατρέπεται σε αμμωνία (NH_3). Κατά τη συμβιωτική αζωτοδέσμευση, βακτήρια όπως τα *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* και *Azorhizobium*, τα οποία συμβιώνουν με φυτά της οικογένειας των ψυχανθών, πραγματοποιούν αυτή τη μετατροπή. Στη μη συμβιωτική αζωτοδέσμευση, ελεύθερα βακτήρια όπως τα *Azotobacter* και *Clostridium*, καθώς και κυανοβακτήρια όπως τα *Anabaena* και *Nostoc*, δεσμεύουν άζωτο ανεξάρτητα από τα φυτά ξενιστές (Madsen, 2011).

Η νιτροποίηση είναι διεργασία δύο σταδίων: στο πρώτο στάδιο, η αμμωνία (NH_3) οξειδώνεται σε νιτρώδη (NO_2^-) από βακτήρια όπως τα *Nitrosomonas* και *Nitrosospira* και αρχαία όπως τα *Nitrososphaera* και *Nitrosocosmicus*. Στο δεύτερο στάδιο, τα νιτρώδη (NO_2^-) μετατρέπονται σε νιτρικά (NO_3^-) από βακτήρια όπως τα *Nitrobacter* και *Nitrospira*.

Η απονιτροποίηση, που συντελείται σε αναερόβιες συνθήκες, αφορά στη μετατροπή των νιτρικών (NO_3^-) σε αέριες μορφές αζώτου όπως το υποξείδιο του αζώτου (N_2O) ή το στοιχειακό άζωτο (N_2), από βακτήρια όπως τα *Pseudomonas*, *Paracoccus* και *Clostridium*.

Η αμμωνιοποίηση αναφέρεται στη διάσπαση οργανικών ενώσεων που περιέχουν άζωτο, όπως πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα, σε αμμωνία (NH_3) ή ιόντα αμμωνίου

(NH_4^+), μέσω της δράσης αποικοδομητικών μικροοργανισμών όπως μύκητες και βακτήρια των γενών *Bacillus*, *Proteus* και *Clostridium*.

Σε αναερόβιες συνθήκες, βακτήρια όπως τα *Enterobacter* και *Clostridium* διεκπεραιώνουν την αναγωγή των νιτρικών σε αμμωνία (DNRA), επαναφέροντας άζωτο σε ανακτήσιμες μορφές εντός του εδάφους.

Μια εξειδικευμένη διεργασία είναι η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας (anammox) κατά την οποία βακτήρια όπως τα *Planctomycetes* συνδυάζουν ιόντα αμμωνίου (NH_4^+) και νιτρώδων (NO_2^-) για να σχηματίσουν αέριο στοιχειακό άζωτο (N_2) και νερό, περιορίζοντας την ποσότητα του αντιδραστικού αζώτου στο περιβάλλον.

Συνοψίζοντας, οι μικροοργανισμοί του εδάφους είναι απαραίτητοι για τη διατήρηση ενός ισορροπημένου κύκλου του αζώτου, μετατρέποντας το άζωτο σε μορφές που είναι διαθέσιμες για τα φυτά, αλλά και επαναφέροντας το στην ατμόσφαιρα. Η κατανόηση και η ορθολογική διαχείριση αυτών των μικροοργανισμών είναι κρίσιμη για τη βιώσιμη γεωργία και την προστασία του περιβάλλοντος (Aislabie and Deslippe, 2013).

1.3 Κύκλος του αζώτου

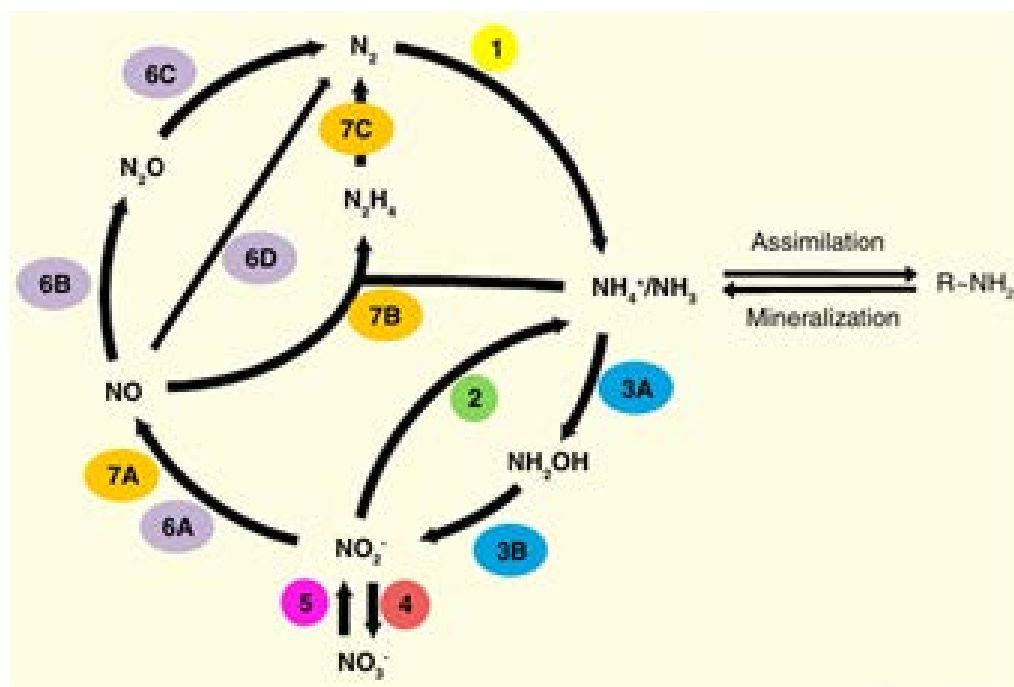
Ο κύκλος του αζώτου αποτελεί μια θεμελιώδη βιογεωχημική διεργασία μέσω της οποίας το άζωτο μετατρέπεται σε διάφορες χημικές μορφές, καθώς κυκλοφορεί μεταξύ της ατμόσφαιρας, του εδάφους, των υδάτινων σωμάτων και των ζώντων οργανισμών. Μέσω αυτών των διεργασιών το άζωτο καθίσταται διαθέσιμο σε μορφές που μπορούν να χρησιμοποιηθούν και αξιοποιηθούν από φυτά και ζώα, διατηρώντας τη γονιμότητα του εδάφους και την οικολογική ισορροπία των οικοσυστημάτων. Για την πληρέστερη κατανόηση του κύκλου του αζώτου, ακολουθεί μια συνοπτική επισκόπηση των βασικών διεργασιών και των σχέσεων τους, όπως απεικονίζονται στο Σχήμα 1.

Οι βασικές διεργασίες του κύκλου περιλαμβάνουν:

- 1. Αζωτοδέσμευση:** Το ατμοσφαιρικό άζωτο (N_2) με τη μεσολάβηση εξειδικευμένων μικροβίων μετατρέπεται σε αμμωνία (NH_3) ή ιόντα αμμωνίου (NH_4^+).
- 2. Αμμωνιοποίηση:** Οργανικές ενώσεις, όπως πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα, διασπώνται σε αμμωνία (NH_3) ή αμμωνιακά ιόντα (NH_4^+) από αποικοδομητικούς μικροοργανισμούς.
- 3. Νιτροποίηση:** Η NH_3 ή τα NH_4^+ μετατρέπονται πρώτα σε νιτρώδη (NO_2^-) και στη συνέχεια σε νιτρικά (NO_3^-), από εξειδικευμένα νιτροποιητικά βακτήρια και αρχαία.
- 4. Απονιτροποίηση:** Τα NO_3^- ανάγονται διαδοχικά σε NO_2^- , μονοξείδιο του αζώτου (NO), υποξείδιο του αζώτου (N_2O) και τελικά σε στοιχειακό άζωτο (N_2), το οποίο επιστρέφει στην ατμόσφαιρα. Αυτή η διεργασία καταλύεται από ένζυμα όπως οι οξειδοαναγωγάσες των νιτρικών (Nar), των νιτρώδων (Nir), του μονοξειδίου του αζώτου (Nor) και του υποξειδίου του αζώτου (Nos).

Ο κύκλος του αζώτου, που περιλαμβάνει τις βιολογικές διεργασίες οι οποίες περιεγράφηκαν στην ενότητα 1.2.1, αποτελεί τον θεμέλιο λίθο για την κατανόηση της

διαχείρισης του αζώτου και την εφαρμογή πρακτικών βιώσιμης γεωργίας (Stein and Klotz, 2016).



Σχήμα 1. Σχηματικό διάγραμμα του κύκλου του αζώτου (από Stein and Klotz, 2016).

Το άζωτο κυκλοφορεί στο περιβάλλον μέσω επτά κύριων μικροβιακών διεργασιών, όπως απεικονίζονται στο διάγραμμα:

1. Αζωτοδέσμευση: μετατροπή του ατμοσφαιρικού N_2 σε NH_3/NH_4^+ .
2. Αναγωγή νιτρώδων σε αμμώνιο (DNRA): Αναερόβια διεργασία κατά την οποία τα νιτρώδη ανάγονται σε NH_4^+ .
3. 3A–3B. Νιτροποίηση: Οξείδωση της NH_3 σε NO_2^- (νιτρωδοποίηση) και στη συνέχεια του NO_2^- σε NO_3^- (νιτρικοποίηση).
4. Οξείδωση νιτρώδων σε νιτρικά.
5. Αναγωγή νιτρικών σε νιτρώδη που μπορεί να τροφοδοτήσει άλλες αναγωγικές διεργασίες.
6. 6A–6D. Απονιτροποίηση: Η διαδοχική αναγωγή των $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$.
7. 7A–7C. Αναμμοξ: Αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας, κατά την οποία NH_4^+ και NO_2^- αντιδρούν προς σχηματισμό N_2 και H_2O .

1.3.1 Νιτροποίηση

Η νιτροποίηση αποτελεί μία από τις θεμελιώδεις βιολογικές διεργασίες του κύκλου του αζώτου, καθώς διαμεσολαβεί τη μετατροπή του αμμωνίου (NH_4^+) σε νιτρικά (NO_3^-), που αποτελούν μορφές αζώτου που αφομοιώνονται εύκολα από τα φυτά. Η διεργασία αυτή εξελίσσεται σε δύο στάδια:

1. **Νιτρωδοποίηση:** Στο πρώτο στάδιο, η αμμωνία (NH_3) ή το αμμώνιο (NH_4^+) οξειδώνονται σε νιτρώδη ιόντα (NO_2^-). Αυτή η διεργασία περιλαμβάνει επίσης δύο διακριτά στάδια. Αρχικά, η αμμωνία μετατρέπεται σε υδροξυλαμίνη (NH_2OH) με τη

δράση του ενζύμου μονοοξυγενάση της αμμωνίας (AMO). Στη συνέχεια, η υδροξυλαμίνη οξειδώνεται σε νιτρώδη ιόντα (NO_2^-) μέσω της δράσης του ενζύμου διυδροξυγενάση της υδροξυλαμίνης (HAO). Η νιτρωδοποίηση θεωρείται ρυθμοκαθοριστικό στάδιο για τη συνολική διαδικασία της νιτροποίησης.

2. Νιτρικοποίηση: Στο δεύτερο στάδιο, τα νιτρώδη ιόντα (NO_2^-) οξειδώνονται σε νιτρικά ιόντα (NO_3^-) με τη βοήθεια του ενζύμου οξειδοαναγωγή των νιτρωδών (NXR). Αυτό το βήμα είναι απαραίτητο για την ολοκλήρωση της νιτροποίησης.

Η νιτροποίηση είναι σημαντική όχι μόνο για την παροχή θρεπτικών στοιχείων στα φυτά αλλά και επειδή παρέχει το υπόστρωμα για την απονιτροποίηση, τη διεργασία που μετατρέπει τα νιτρικά σε αέριο άζωτο (N_2), επιστρέφοντας το άζωτο στην ατμόσφαιρα και ολοκληρώνοντας τον κύκλο του αζώτου.

Παράλληλα, έχει και ευρύτερες επιπτώσεις στο περιβάλλον, που περιλαμβάνουν: (1) Παραγωγή υποξειδίου του αζώτου (N_2O): Η νιτροποίηση μπορεί να οδηγήσει στην έκλυση υποξειδίου του αζώτου (N_2O), ισχυρού αερίου του θερμοκηπίου. (2) Κατανάλωση οξυγόνου: Ως αερόβια διεργασία, συμβάλλει στη μείωση των επιπέδων οξυγόνου σε εδάφη και υδάτινα σώματα. (3) Οξίνιση του περιβάλλοντος: Η απελευθέρωση ιόντων H^+ κατά τη διάρκεια της νιτροποίησης μπορεί να μειώσει το pH του περιβάλλοντος.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη νιτροποίηση περιλαμβάνουν τη θερμοκρασία, την αλατότητα, το pH, τη διαθεσιμότητα οξυγόνου, το οργανικό φορτίο και την ένταση του φωτός.

Η νιτροποίηση έχει σημαντικές επιπτώσεις σε διάφορα οικοσυστήματα, συμπεριλαμβανομένων των γεωργικών συστημάτων. Σε αυτά η νιτροποίηση επηρεάζει τη διαθεσιμότητα αζώτου για τα φυτά, και η χρήση παρεμποδιστών νιτροποίησης μπορεί να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα των λιπασμάτων. Επιπλέον, στην επεξεργασία λυμάτων, η νιτροποίηση είναι απαραίτητη για την απομάκρυνση του αζώτου από τα λύματα, και οργανισμοί τύπου *Anammox* αποτελούν εναλλακτικές τεχνικές για την επεξεργασία. Τέλος, σε θαλάσσια περιβάλλοντα, η νιτροποίηση επηρεάζει τη βιολογική παραγωγικότητα των ωκεανών, και σε περιοχές με χαμηλό οξυγόνο συνδέεται με την απονιτροποίηση και την έκλυση N_2O (Ward, 2013).

1.3.1.1. Ετεροτροφική νιτροποίηση

Η ετεροτροφική νιτροποίηση είναι η διαδικασία κατά την οποία ετερότροφα βακτήρια και μύκητες μετατρέπουν αναγωγικές μορφές αζώτου (ανόργανες ή οργανικές) σε περισσότερο οξειδωμένες ενώσεις, όπως τα νιτρώδη (NO_2^-). Σε φυσικά περιβάλλοντα, κατάλληλα υποστρώματα για αυτή τη διεργασία αποτελούν ενώσεις όπως οι οξίμες και τα υδροξಾಮικά οξέα, που προέρχονται από τη δραστηριότητα φυτών, ζώων και μικροβίων. Για παράδειγμα, τα υδροξಾಮικά σιδηροφόρα, τα οποία παράγονται από ετερότροφα μικρόβια του εδάφους για την πρόσληψη σιδήρου, είναι ευρέως διαδεδομένα σε παγκόσμιο επίπεδο.

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το *Alcaligenes* sp., ένα βακτήριο που απομονώθηκε από το έδαφος και εμφάνισε ισχυρή ετεροτροφική νιτροποιητική δραστηριότητα. Οξειδώνει την πυροσταφυλική οξίμη (PO) και είναι ικανό να πραγματοποιεί απονιτροποίηση, ενώ δείχνει χαμηλότερη δραστικότητα σε άλλες οξίμες.

Σύμφωνα με τη μελέτη των Castignetti και Hollocher (1983), δώδεκα απονιτροποιητικά βακτήρια από έξι διαφορετικά γένη εξετάστηκαν για την ικανότητά τους να εκτελούν ετεροτροφική νιτροποίηση της πυροσταφυλικής οξίμης. Τα αποτελέσματα έδειξαν:

- (i) Έξι βακτήρια παρουσίασαν σημαντική δραστηριότητα, παράγοντας έως και 5,8 mM νιτρώδων, με περιορισμένο ή καθόλου σχηματισμό νιτρικών.
- (ii) Τέσσερα από τα έξι ενεργά στελέχη (*Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas aeruginosa* και δύο στελέχη *Pseudomonas fluorescens*) αναπτύχθηκαν σε εκχύλισμα μαγιάς, αλλά όχι σε PO.
- (iii) Το *Pseudomonas aureofaciens* αναπτύχθηκε αργά σε PO, ενώ το *Alcaligenes faecalis* εμφάνισε ανάπτυξη σε PO μόνο παρουσία εκχυλίσματος μαγιάς.
- (iv) Οκτώ από τα δώδεκα βακτήρια μπορούσαν να οξειδώσουν υδροξυλαμίνη (NH_2OH) σε NO_2^- υπό συνθήκες ηρεμίας. Το *P. aureofaciens* παρουσίασε την υψηλότερη δραστηριότητα οξείδωσης.

Ειδικότερα, ορισμένα βακτήρια, όπως τα *Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas fluorescens* (στελέχη 400 και 402), και *Pseudomonas aeruginosa*, εμφάνισαν γρήγορη ανάπτυξη και βραδύτερη νιτροποιητική δραστηριότητα. Το *A. faecalis* αναπτύχθηκε ταχέως σε εκχύλισμα μαγιάς και PO, αλλά όχι μόνο σε PO. Στα πειράματα με μη αναπτυσσόμενα κύτταρα, το *A. faecalis* ήταν το πιο δραστικό στην οξείδωση της PO, ενώ άλλα βακτήρια έδειξαν ισχυρότερη ικανότητα οξείδωσης της υδροξυλαμίνης.

Συνολικά, η μελέτη κατέδειξε ότι αρκετοί απονιτροποιητές που είναι ενεργοί στην ετεροτροφική νιτροποίηση της PO ή της NH_2OH είναι κοινοί στα εδάφη, γεγονός που υπογραμμίζει τη σημασία τους στο μικροβιακό κύκλο του αζώτου.

1.3.2 Μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στη νιτροποίηση

Η νιτροποίηση είναι μια βιολογική διεργασία υψηλής εξειδίκευσης, στην οποία συμμετέχουν μικροοργανισμοί με την ικανότητα να παράγουν συγκεκριμένα ένζυμα μέσω εξειδικευμένων γονιδίων. Το ένζυμο μονοοξυγενάση της αμμωνίας (AMO) είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που εξαρτάται από τον χαλκό για τη λειτουργία της και απαντάται σε νιτρώδοποιητικά βακτήρια και αρχαία. Το ένζυμο διυδρογονάση της υδροξυλαμίνης (HAO) η οποία περιέχει δακτυλίους αίμης, συναντάται κυρίως σε νιτρώδοποιητικά βακτήρια και είναι υπεύθυνη για την οξείδωση της υδροξυλαμίνης σε νιτρώδη ιόντα (NO_2^-). Η οξειδοαναγωγή των νιτρώδων (NXR) ένα ένζυμο που επιτελεί το τελευταίο στάδιο της νιτροποίησης, μετατρέπει τα νιτρώδη σε νιτρικά (NO_3^-) και εντοπίζεται σε νιτρικοποιητικά βακτήρια.

Παραδοσιακά, η νιτροποίηση θεωρούνταν αρθρωτή διεργασία, κατά την οποία τα δύο στάδια (οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρώδη και στη συνέχεια σε νιτρικά)

πραγματοποιούνται από διαφορετικές ομάδες μικροοργανισμών. Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι ορισμένα βακτήρια του γένους *Nitrospira*, είναι ικανά να ολοκληρώνουν και τα δύο στάδια της νιτροποίησης, δηλαδή να μετατρέπουν την αμμωνία (NH_3) απευθείας σε νιτρικά (NO_3^-). Αυτοί οι μικροοργανισμοί, γνωστοί ως *comammox* βακτήρια (complete ammonia oxidizing bacteria), αμφισβητούν την παραδοσιακή θεώρηση της αρθρωτής νιτροποίησης και εντοπίζονται σε φυσικά και τεχνητά οικοσυστήματα όπως οι μονάδες επεξεργασίας λυμάτων (van Kessel et al., 2016).

1.3.2.1 Νιτρωδοποιητικά Βακτήρια

Τα νιτρωδοποιητικά βακτήρια (AOB) είναι μια ομάδα μικροοργανισμών που παίζουν κεντρικό ρόλο στη διεργασία της νιτροποίησης. Αυτά τα βακτήρια συμμετέχουν στο πρώτο στάδιο της νιτροποίησης, μετατρέποντας την αμμωνία (NH_3) ή τα ιόντα αμμωνίου (NH_4^+) σε νιτρώδη (NO_2^-). Η αντίδραση αυτή είναι αερόβια, δηλαδή απαιτεί οξυγόνο, και αποτελεί μηχανισμό παραγωγής ενέργειας για τα βακτήρια αυτά, υποστηρίζοντας τη βιολογική τους δραστηριότητα (Radniecki and Lauchnor, 2011).

Τα AOB που έχουν απομονωθεί από χερσαία περιβάλλοντα και περιβάλλοντα γλυκού νερού ανήκουν κυρίως στη βήτα-υποκατηγορία των Πρωτεοβακτηρίων (β -Proteobacteria), ενώ εκείνα από θαλάσσια περιβάλλοντα εντάσσονται στη γάμμα-υποκατηγορία (γ -Proteobacteria). Η μονοφυλετική καταγωγή αυτών των ομάδων έχει διευκολύνει τη μοριακή τους ανάλυση και την οικολογική τους μελέτη (Kowalchuk and Stephen, 2001).

Η διεργασία της νιτρωδοποίησης στα AOB περιλαμβάνει δύο ένζυμα-κλειδιά: (1) την μονοοξυγενάση της αμμωνίας (AMO), που καταλύει την οξείδωση της αμμωνίας σε υδροξυλαμίνη (NH_2OH), και (2) την διυδρογονάση της υδροξυλαμίνης (HAO), η οποία μετατρέπει την υδροξυλαμίνη σε νιτρώδη (NO_2^-).

Τα AOB είναι διαδεδομένα σε περιβάλλοντα όπου υπάρχει αμμωνία, όπως εδάφη, γλυκά και θαλάσσια νερά, και παίζουν σημαντικό ρόλο σε ποικίλες εφαρμογές περιβαλλοντικής και βιομηχανικής σημασίας: (1) Τα AOB είναι κρίσιμα για την απομάκρυνση της αμμωνίας κατά τη βιολογική επεξεργασία λυμάτων, συμβάλλοντας στη μείωση της ρύπανσης και στην πρόληψη του ευτροφισμού σε υδάτινα οικοσυστήματα. (2) Λόγω της ικανότητάς τους να συν-οξειδώνουν ανθεκτικές οργανικές ενώσεις μέσω της AMO, τα AOB μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην απορρύπανση ρυπασμένων περιβαλλόντων, όπως εδάφη και υπόγεια ύδατα. (3) Τα AOB αξιοποιούνται σε συστήματα βιοφίλτρων για την απομάκρυνση αμμωνίας από αέρα ή νερό, ιδιαίτερα σε υδατοκαλλιέργειες ή μονάδες πόσιμου νερού.

Ωστόσο, η δράση τους μπορεί να έχει και αρνητικές επιπτώσεις. Συγκεκριμένα, τα AOB εμπλέκονται στην παραγωγή αερίων όπως τα NO και N_2O , τα οποία σχετίζονται με την καταστροφή του όζοντος και την ενίσχυση του φαινομένου του θερμοκηπίου. Επιπλέον, μπορεί να προκαλέσουν διάβρωση υλικών λόγω παραγωγής νιτρώδους οξέος και να υποβαθμίσουν την ποιότητα του πόσιμου νερού όταν αποικίζουν συστήματα ύδρευσης. Τα AOB μπορούν να αναπτυχθούν σε συστήματα αποθήκευσης

και διανομής πόσιμου νερού, μειώνοντας την ποιότητά του (Kowalchuk and Stephen, 2001).

Η μελέτη των AOB έχει προχωρήσει χάρη στη χρήση μοριακών τεχνικών, με πιο χαρακτηριστικό δείκτη το γονίδιο *amoA*, το οποίο κωδικοποιεί την α-υπομονάδα του ενζύμου AMO. Το γονίδιο αυτό χρησιμοποιείται ευρέως για την ανίχνευση, τον χαρακτηρισμό και την ποσοτική εκτίμηση των AOB σε διάφορα περιβάλλοντα. Οι μοριακές προσεγγίσεις που είχαν προταθεί ως μελλοντικές εξελίξεις, όπως η ανάπτυξη νέων γενετικών δεικτών, η σύνδεση γονιδιακής έκφρασης με λειτουργική δραστηριότητα και η χρήση τεχνολογιών όπως τα microarrays (Kowalchuk and Stephen, 2001), έχουν πλέον αξιοποιηθεί ευρέως, συμβάλλοντας σημαντικά στην κατανόηση της οικολογίας και του ρόλου των AOB στα οικοσυστήματα.

1.3.2.2 Νιτρωδοποιητικά Αρχαία

Τα νιτρωδοποιητικά αρχαία (AOA) αποτελούν πλέον τους κυρίαρχους οξειδωτικούς μικροοργανισμούς της αμμωνίας σε πολλά φυσικά περιβάλλοντα, ιδιαίτερα εκεί όπου η αμμωνία βρίσκεται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Αυτό αποδίδεται στην υψηλή συγγένειά τους προς την αμμωνία, καθώς και στην ικανότητά τους να επιβιώνουν σε ακραίες συνθήκες, όπως όξινο pH και υψηλές θερμοκρασίες, γεγονός που διευρύνει σημαντικά το φάσμα των οικοτόπων στους οποίους μπορεί να ολοκληρώνεται ο κύκλος του αζώτου (Stahl and de la Torre, 2012).

Τα AOA σχετίζονται φυλογενετικά με το φύλο Nitrososphaerota, το οποίο στο παρελθόν ήταν γνωστό ως Thaumarchaeota. Πρόκειται για μια ανεξάρτητη πρώιμη εξελικτική γραμμή εντός των αρχαίων, που έχει προσαρμοστεί σε περιβάλλοντα με χαμηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας, όξινο pH και υψηλές θερμοκρασίες (Parks et al., 2020). Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι χημειολιθοαυτότροφοι και χρησιμοποιούν μια παραλλαγή του κύκλου 3-υδροξυπροπιονικού/4-υδροξυβουτυρικού για τη δέσμευση CO₂, ενώ έχουν περιορισμένη ικανότητα χρήσης οργανικού άνθρακα για την κυτταρική τους σύνθεση. Σε αντίθεση με τα AOB, τα AOA βασίζονται κυρίως στον χαλκό και όχι στον σίδηρο για τις οξειδοαναγωγικές τους αντιδράσεις. Αν και διαθέτουν γονίδια απομακρυσμένα συγγενικά με την AMO των AOB, η ακριβής βιοχημεία της οξείδωσης της αμμωνίας στα AOA δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Δεν έχει επιβεβαιωθεί ακόμη αν το προϊόν της οξείδωσης είναι υδροξυλαμίνη, όπως στα AOB, ή κάποια άλλη ένωση όπως το νιτροξύλιο (HNO). Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι κατά την οξείδωση της αμμωνίας παράγονται μετρήσιμες ποσότητες νιτρικού οξειδίου (NO), το οποίο ενδέχεται να λειτουργεί ως ενδιάμεσο ή ηλεκτρονιακός μεταφορέας στη διαδικασία, υποδηλώνοντας μια εναλλακτική βιοχημική οδό για τα AOA σε σύγκριση με τα AOB (Wright and Lehtovirta-Morley, 2023; Stahl and de la Torre, 2012).

1.3.2.3 Comammox Βακτήρια

Η διεργασία comammox (συντομογραφία του complete ammonia oxidation) αποτελεί μια σημαντική πρόσφατη ανακάλυψη στη του κύκλου του αζώτου, καθώς εισήγαγε την

έννοια της πλήρους νιτροποίησης από έναν μόνο οργανισμό. Μέχρι το 2015, η επικρατούσα θεωρία της «αρθρωτής νιτροποίησης» όριζε ότι η νιτροποίηση πραγματοποιείται σε δύο στάδια, από διακριτές ομάδες μικροοργανισμών: 1. Τα νιτρωδοποιητικά βακτήρια (AOB) ή αρχαία (AOA) που οξειδώνουν την αμμωνία (NH_3) σε νιτρώδη (NO_2^-) και 2. Τα νιτριοποιητικά βακτήρια (NOB) που μετατρέπουν τα νιτρώδη σε νιτρικά (NO_3^-).

Η ανακάλυψη του *Candidatus Nitrospira inopinata*, ενός νέου στελέχους του γένους *Nitrospira*, έδειξε ότι ορισμένοι μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να εκτελούν και τα δύο στάδια της νιτροποίησης, μετατρέποντας απευθείας την αμμωνία σε νιτρικά ιόντα. Αυτοί οι μικροοργανισμοί ονομάστηκαν comammox (complete ammonia-oxidizers) και κατατάσσονται φυλογενετικά στο γένος *Nitrospira*, το οποίο παραδοσιακά ανήκει στην ομάδα των NOB. Ωστόσο, τα comammox διαφέρουν λειτουργικά, καθώς επιτελούν και τα δύο στάδια της νιτροποίησης.

Η σημασία αυτής της ανακάλυψης δεν περιορίζεται μόνο στη θεωρία της νιτροποίησης, αλλά εκτείνεται στην οικολογική και τεχνολογική της εφαρμογή και στην ευρεία παρουσία των comammox σε διάφορα φυσικά και τεχνητά οικοσυστήματα. Τα comammox βακτήρια έχουν ανιχνευθεί σε ποικίλα φυσικά και ανθρωπογενή οικοσυστήματα, όπως γλυκά ύδατα, υπόγειους υδροφορείς, εδάφη, καθώς και βιοφίλτρα σε μονάδες επεξεργασίας πόσιμου νερού, επισημαίνοντας τον κρίσιμο ρόλο τους στην ανακύκλωση του αζώτου. Η ικανότητά τους να εκτελούν πλήρη νιτροποίηση, τους καθιστά σημαντικούς μικροοργανισμούς για τη βελτίωση της βιολογικής απομάκρυνσης αζώτου σε συστήματα επεξεργασίας λυμάτων, μειώνοντας την ανάγκη για πολλαπλούς μικροβιακούς πληθυσμούς.

Γονιδιωματικές αναλύσεις στο *Ca. N. inopinata* αποκάλυψαν την παρουσία όλων των απαραίτητων γονιδίων για την πλήρη νιτροποίηση: amo (μονοοξυγενάση της αμμωνίας), hao (διυδρογονάση της υδροξυλαμίνης) και nxrAB (οξειδοαναγωγή των νιτρωδών). Αξιοσημείωτο είναι ότι τα comammox φέρουν μόνο ένα αντίγραφο των nxrAB γονιδίων, σε αντίθεση με τα παραδοσιακά NOB που διαθέτουν πέντε. Επιπλέον, φέρουν δύο πρόσθετα αντίγραφα του amoC σε διαφορετικά γενετικά loci, διαφοροποιώντας τα σαφώς από τα AOB (Daims et al., 2015; van Kessel et al., 2015).

Πρόσφατη μελέτη από τους Kits et al. (2017) υποδεικνύει ότι τα comammox έχουν υψηλότερη συγγένεια για το υπόστρωμα της αμμωνίας, πράγμα που τους επιτρέπει να αποκτούν πλεονέκτημα επιβίωσης σε περιβάλλοντα με χαμηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας, σε σύγκριση με τα AOB και AOA. Αν και η καλλιέργεια των comammox σε θρεπτικά μέσα είναι εξαιρετικά απαιτητική, μεταγονιδιωματικές αναλύσεις έχουν δείξει ότι αυτά τα βακτήρια είναι ευρέως διαδεδομένα σε φυσικά και τεχνητά συστήματα, όπως μονάδες επεξεργασίας λυμάτων και εδάφη με μεταβαλλόμενο pH (Pinto et al., 2015).

Συμπερασματικά, τα comammox βακτήρια αποτελούν σημαντικούς μικροοργανισμούς στον κύκλο του αζώτου, καθώς συνδυάζουν τα δύο στάδια της νιτροποίησης σε έναν ενιαίο μεταβολικό μηχανισμό. Παρόλο που η πλήρης οικολογική τους σημασία παραμένει υπό μελέτη, θεωρούνται πολλά υποσχόμενοι για εφαρμογές σε περιβαλλοντικά και βιοτεχνολογικά συστήματα.

1.3.2.4 Anammox

Η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας (anammox) αποτελεί μια κρίσιμη διεργασία του κύκλου του αζώτου, η οποία πραγματοποιείται από εξειδικευμένα βακτήρια υπό ανοξικές συνθήκες. Τα anammox βακτήρια ανήκουν στο φύλο Planctomycetota και περιλαμβάνουν κυρίως τα γένη: *Brocadia*, *Kuenenia*, *Scalindula* και *Ammonoxoglobus* (Francis et al., 2007). Η διεργασία αυτή περιλαμβάνει την οξείδωση της αμμωνίας (NH_4^+) με νιτρώδη (NO_2^-) ως δέκτες ηλεκτρονίων, παράγοντας αέριο άζωτο (N_2) και νερό, χωρίς παραγωγή νιτρικών, όπως συμβαίνει στη νιτροποίηση:



Η ανακάλυψη της διεργασίας anammox έγινε τη δεκαετία του 1990 σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων, ενώ είχαν ήδη προηγηθεί ενδείξεις απώλειας αζώτου σε ανοξικά οικοσυστήματα. Από τότε, η παρουσία των anammox βακτηρίων έχει επιβεβαιωθεί σε θαλάσσια ιζήματα, υγροτόπους, βαθιά εδάφη και υπόγεια ύδατα. Στα θαλάσσια ιζήματα, μάλιστα, θεωρούνται υπεύθυνα για το 24–67% της απώλειας αντιδραστικού αζώτου (Francis et al., 2007).

Τα βακτήρια anammox περιέχουν μια εξειδικευμένη κυτταρική δομή, το "αναμοξόσωμα", το οποίο είναι υπεύθυνο για την οξείδωση της αμμωνίας. Το αναμοξόσωμα περιβάλλεται από μεμβράνη που περιέχει ειδικά λιπίδια (ladderane λιπίδια) και καταλαμβάνει περίπου το 30% του κυτταρικού όγκου. Σε αυτό το εξειδικευμένο οργανίδιο, η υδραζίνη (N_2H_4), το ενδιάμεσο προϊόν της αντίδρασης, μετατρέπεται σε ατμοσφαιρικό άζωτο μέσω της δράσης του ενζύμου οξειδάση της υδραζίνης (Kuenen, 2008). Η διαδικασία είναι ιδιαίτερα ενεργειακά αποδοτική, καθώς δεν απαιτεί εξωτερική πηγή άνθρακα ή οξυγόνο.

Η χρήση των anammox στη βιολογική απομάκρυνση αζώτου σε μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων θεωρείται εξαιρετικά υποσχόμενη. Σε σχέση με τις κλασικές μεθόδους νιτροποίησης/απονιτροποίησης, η τεχνολογία anammox προσφέρει σημαντική εξοικονόμηση ενέργειας, μειωμένη χρήση οργανικού άνθρακα και χαμηλότερες εκπομπές N_2O , συνεισφέροντας τόσο στη βιωσιμότητα των επεξεργασιών όσο και στη μείωση του περιβαλλοντικού αποτυπώματος (Kartal et al., 2010; Lotti et al., 2014).

Συνοψίζοντας, τα anammox βακτήρια παίζουν καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση του παγκόσμιου κύκλου του αζώτου, συμμετέχοντας ενεργά τόσο σε φυσικά όσο και σε τεχνητά οικοσυστήματα.

1.3.2.5 Νιτρικοποιητικά Βακτήρια

Τα νιτρικοποιητικά βακτήρια (NOB) είναι υπεύθυνα για το δεύτερο στάδιο της νιτροποίησης, κατά το οποίο τα νιτρώδη ιόντα (NO_2^-) οξειδώνονται σε νιτρικά (NO_3^-), ολοκληρώνοντας τη μετατροπή της αμμωνίας σε μορφές αζώτου προσβάσιμες από τα φυτά. Η διεργασία αυτή είναι κρίσιμη για τη διατήρηση της ισορροπίας του βιογεωχημικού κύκλου του αζώτου. Ανήκουν στο φύλο των Πρωτεοβακτηρίων και κατατάσσονται σε έξι κύρια γένη: *Nitrospira*, *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrotoga*, *Nitrospina* και *Nitrolanceus* (Teske et al., 1994; Liu et al., 2018). Αυτά τα γένη, αν και

παρουσιάζουν δομικές και βιοχημικές διαφοροποιήσεις, όλα διαθέτουν το ένζυμο οξειδοαναγωγή των νιτρωδών (NXR), υπεύθυνο για την οξείδωση των NO_2^- σε NO_3^- (Madigan et al., 2003).

Τα NOB είναι χημειολιθότροφοι, αυτότροφοι μικροοργανισμοί, χρησιμοποιούν δηλαδή ανόργανες ενώσεις για παραγωγή ενέργειας και CO_2 ως πηγή άνθρακα. Αν και ο μηχανισμός καθήλωσης του CO_2 έχει περιγραφεί για αρκετά είδη νιτροποιητικών μικροοργανισμών, δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως για όλες τις ομάδες. Η οξείδωση των νιτρωδών συνδέεται με την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, παρέχοντας την απαιτούμενη ενέργεια για τον κυτταρικό μεταβολισμό (Lücker et al., 2010).

Παρά τις παραδοσιακές εκτιμήσεις ότι τα NOB είναι σχετικά περιορισμένα, πρόσφατες ανακαλύψεις έχουν δείξει μεγάλη ποικιλία και φυσιολογική ευελιξία. Αυτά τα βακτήρια συμμετέχουν σε πολύπλοκες μικροβιακές αλληλεπιδράσεις και μπορούν να εναλλάσσονται μεταξύ της οξείδωσης των νιτρωδών και άλλων μεταβολικών οδών, όπως η οξείδωση του H_2 ή του φορμικού οξέος (Daims et al., 2016).

Ιδιαίτερης σημασίας είναι η ανακάλυψη των comammox βακτηρίων στο γένος *Nitrospira*, τα οποία είναι ικανά να εκτελούν ολόκληρη τη νιτροποίηση, οξειδώνοντας την αμμωνία απευθείας σε νιτρικά. Αυτή η ανακάλυψη αμφισβητεί την κλασική διάκριση AOB–NOB και εμπλουτίζει την κατανόησή μας για την εξέλιξη και τη λειτουργία του κύκλου του αζώτου (Daims et al., 2015; Lücker et al., 2010).

Το γένος *Nitrospira* είναι το πιο διαδεδομένο και ποικιλόμορφο μεταξύ των NOB, με εκπροσώπους σε εδάφη, ωκεανούς, θερμές πηγές, υπόγεια ύδατα και εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, γεγονός που επιβεβαιώνει τον κομβικό τους ρόλο στην ανακύκλωση του αζώτου και στη λειτουργία φυσικών και τεχνητών οικοσυστημάτων (Lücker et al., 2010).

1.3.3 Σημασία των νιτροποιητικών μικροοργανισμών στην γεωργία και το περιβάλλον

Οι νιτροποιητικοί μικροοργανισμοί είναι κρίσιμοι τόσο για τη γεωργία όσο και για το περιβάλλον λόγω του καθοριστικού τους ρόλου στον κύκλο του αζώτου. Η ικανότητά τους να μετατρέπουν την αμμωνία (NH_3) σε νιτρικά ιόντα (NO_3^-), επηρεάζει την ισορροπία μεταξύ των διαφορετικών μορφών αζώτου που μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τα φυτά και έχει σημαντικά γεωργικά και οικολογικά οφέλη.

Οι νιτροποιητές διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην παραγωγικότητα των γεωργικών συστημάτων μετατρέποντας το άζωτο από οργανικές και ανόργανες πηγές σε μορφές που τα φυτά μπορούν να αφομοιώσουν για την ανάπτυξή τους. Η αμμωνία από αποσυντιθέμενη οργανική ύλη (όπως κοπριά ζώων ή φυτικά υπολείμματα) ή λιπάσματα μετατρέπεται από τους νιτροποιητές σε νιτρικά ιόντα, τα οποία προσλαμβάνονται από τα φυτά μέσω των ριζών τους. Η διαδικασία αυτή αυξάνει τις αποδόσεις των καλλιεργειών, ενισχύει τη γονιμότητα του εδάφους και συμβάλλει στη διατήρηση της μακροπρόθεσμης αγροτικής παραγωγικότητας (Hayatsu et al., 2021).

Επιπλέον, οι νιτροποιητικοί μικροοργανισμοί διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις πρακτικές αειφόρου γεωργίας. Η ανακύκλωση του αζώτου συμβάλλει στην πρόληψη της ανεπάρκειας αζώτου στα φυτά, οδηγώντας σε υγιέστερες καλλιέργειες με ελάχιστη ανάγκη για συνθετικά λιπάσματα. Αυτό έχει πολλά οικονομικά και περιβαλλοντικά οφέλη. Πιο συγκεκριμένα, οι νιτροποιητικοί μικροοργανισμοί μπορούν να μειώσουν την εξάρτηση από τα χημικά λιπάσματα, τα οποία είναι δαπανηρά και μπορούν να βλάψουν το περιβάλλον σε περίπτωση υπερβολικής χρήσης. Είναι ιδιαίτερα σημαντικοί στη βιολογική γεωργία, όπου δεν χρησιμοποιούνται συνθετικά αζωτούχα λιπάσματα, καθώς συμπληρώνουν το έργο των αποικοδομητών. Αφού οι αποικοδομητές διασπάσουν την οργανική ύλη (π.χ. κομπόστ, κοπριά) και παραχθεί αμμωνιακό άζωτο, οι νιτροποιητές το μετατρέπουν σε βιοδιαθέσιμα νιτρικά για τα φυτά (Hayatsu et al., 2021).

Οι νιτροποιητικοί μικροοργανισμοί παρέχουν επίσης ουσιαστικές υπηρεσίες στο ευρύτερο περιβάλλον, επηρεάζοντας κυρίως την ποιότητα του νερού και του αέρα. Σε περιβάλλοντα όπως οι υγρότοποι, τα εδάφη και τα υδατικά οικοσυστήματα, η διαδικασία νιτροποίησης μειώνει φαινόμενα τοξικότητας που οφείλονται στην αμμωνία. Τα υψηλά επίπεδα αμμωνίας μπορούν να βλάψουν τα φυτά, τους υδρόβιους οργανισμούς και την άγρια ζωή. Οι νιτροποιητικοί μικροοργανισμοί είναι ζωτικής σημασίας στα υδατικά οικοσυστήματα (τόσο στα γλυκά όσο και στα θαλάσσια ύδατα) για την απομάκρυνση της αμμωνίας και των νιτρικών, τα οποία είναι επιβλαβή για την υδρόβια ζωή σε υψηλές συγκεντρώσεις. Η διαδικασία αυτή συμβάλλει στη διατήρηση της ποιότητας του νερού και αποτρέπει τη συσσώρευση τοξικών ουσιών σε ποτάμια, λίμνες και ωκεανούς (Hayatsu et al., 2021). Επιπλέον, σε τεχνητούς υγροβιότοπους ή εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, οι νιτροποιητικοί μικροοργανισμοί χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση υπολειμμάτων αμμωνίας και άλλων αζωτούχων ενώσεων από βιομηχανικές και γεωργικές απορροές, αποτρέποντας τη ρύπανση των υδάτων (Hayatsu et al., 2021).

Ωστόσο, η δραστηριότητα των νιτροποιητών ενέχει και ορισμένες περιβαλλοντικές προκλήσεις. Η νιτροποίηση μπορεί να προκαλέσει έκλυση υποξειδίου του αζώτου (N_2O), ενός ισχυρού αερίου του θερμοκηπίου. Επιπλέον, η υπερβολική δραστηριότητα των νιτροποιητών μπορεί να οδηγήσει σε έκπλυση νιτρικών στα υπόγεια ύδατα, επιβαρύνοντας την ποιότητα του πόσιμου νερού, καθώς και στην οξίνιση του εδάφους, δημιουργώντας συνθήκες που επηρεάζουν τη γονιμότητά του μακροπρόθεσμα (Hayatsu et al., 2021).

Συμπερασματικά, οι νιτροποιητικοί μικροοργανισμοί αποτελούν βασικούς ρυθμιστές του κύκλου του αζώτου, προωθώντας διαδικασίες που είναι θεμελιώδεις για την αγροτική παραγωγικότητα και την υγεία του περιβάλλοντος. Ενισχύουν τη θρέψη των φυτών, μειώνουν την ανάγκη για συνθετικά λιπάσματα, μετριάζουν τη ρύπανση και διατηρούν την ποιότητα των υδάτων και του εδάφους. Η σωστή διαχείριση αυτών των μικροοργανισμών μπορεί να οδηγήσει σε πιο βιώσιμη γεωργία και να συμβάλει στην προστασία των οικοσυστημάτων από τις ανισορροπίες των θρεπτικών στοιχείων και τη ρύπανση.

1.4 Στόχος της εργασίας

Στόχος της παρούσας διατριβής είναι να εξετάσει συστηματικά τις επιδράσεις των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους, οι οποίοι παίζουν καθοριστικό ρόλο στον κύκλο του αζώτου και στη διατήρηση της γονιμότητας των εδαφικών οικοσυστημάτων. Συγκεκριμένα, μέσω της ανάλυσης επιστημονικών ερευνών και δεδομένων, η παρούσα εργασία επιδιώκει (1) να διερευνήσει πώς οι διαφορετικοί τύποι ζιζανιοκτόνων επηρεάζουν τη λειτουργία, την ποικιλότητα και την αφθονία των νιτροποιητικών μικροοργανισμών στο έδαφος, (2) να αποσαφηνίσει τους μηχανισμούς μέσω των οποίων τα χημικά συστατικά των ζιζανιοκτόνων επιδρούν σε επιμέρους ομάδες των νιτροποιητικών πληθυσμών, αναδεικνύοντας τη σημασία της μοριακής και λειτουργικής τους ευαισθησίας, (3) να εκτιμήσει τις μακροπρόθεσμες επιπτώσεις των ζιζανιοκτόνων στις διεργασίες της νιτροποίησης αναδεικνύοντας τους πιθανούς κινδύνους που προκύπτουν από τη χρήση των ζιζανιοκτόνων για τη γονιμότητα του εδάφους και την περιβαλλοντική ισορροπία, (4) να διατυπώσει προτάσεις για βέλτιστες πρακτικές χρήσης ζιζανιοκτόνων, με στόχο τη διασφάλιση της λειτουργικότητας των νιτροποιητικών μικροοργανισμών και τη διατήρηση βιώσιμων γεωργικών πρακτικών. Συνοψίζοντας, η εργασία αυτή αναμένεται να συνεισφέρει στην κατανόηση των επιπτώσεων των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς, με στόχο την ελαχιστοποίηση των αρνητικών τους επιδράσεων στις κρίσιμες διεργασίες του εδάφους και την ενίσχυση της αειφορίας στη γεωργία.

2.ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1. Στόχος της μεθοδολογίας

Ο στόχος της μεθοδολογίας της παρούσας μελέτης είναι να αποτυπώσει με ακρίβεια την επίδραση των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους, καθώς και να συγκεντρώσει, να αξιολογήσει και να συνθέσει τις διαθέσιμες επιστημονικές πληροφορίες που σχετίζονται με το συγκεκριμένο θέμα. Η εργασία επικεντρώνεται στην αποτίμηση των επιδράσεων των ζιζανιοκτόνων στις βασικές ομάδες των νιτροποιητικών μικροοργανισμών, με στόχο τον προσδιορισμό της έκτασης και των μηχανισμών μέσω των οποίων αυτές οι ενώσεις επηρεάζουν την ποικιλότητα, τη λειτουργία και τη δυναμική των μικροβιακών πληθυσμών του εδάφους. Ειδικότερα, εξετάζονται οι επιδράσεις των ζιζανιοκτόνων στις παρακάτω ομάδες νιτροποιητικών μικροοργανισμών: (1) νιτροδοποιητικά βακτήρια (AOB), (2) νιτροδοποιητικά αρχαία (AOA), (3) *comammox* βακτήρια και (4) νιτροποιητικά βακτήρια (NOB). Η μεθοδολογική προσέγγιση βασίζεται στη συστηματική ανασκόπηση ερευνητικών εργασιών που εξετάζουν τις επιδράσεις των ζιζανιοκτόνων στη δομή και τη λειτουργικότητα αυτών των μικροβιακών κοινοτήτων. Στόχος της συνολικής μεθοδολογικής προσέγγισης είναι η διαμόρφωση μιας ολοκληρωμένης και τεκμηριωμένης εικόνας των επιπτώσεων των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους. Η κατανόηση αυτή αναμένεται να ενισχύσει τη γνώση γύρω από τις επιδράσεις των γεωργικών πρακτικών στη μικροβιακή οικολογία του εδάφους και να συμβάλει στη διαμόρφωση βιώσιμων στρατηγικών χρήσης ζιζανιοκτόνων, με στόχο την προστασία της λειτουργικότητας των εδαφικών οικοσυστημάτων και τη διατήρηση της αειφορίας στα αγροτικά οικοσυστήματα.

2.2. Πηγές αναζήτησης και βιβλιογραφικές αναφορές

Η συλλογή των επιστημονικών δεδομένων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή βασίστηκε στις ακόλουθες πηγές: 1. στις ακαδημαϊκές βάσεις δεδομένων PubMed, Scopus και Web of Science, 2. στις ηλεκτρονικές βιβλιοθήκες Google Scholar, SpringerLink και ScienceDirect, καθώς και σε άλλες πηγές όπως αναφορές διεθνών οργανισμών, πανεπιστημιακά αρχεία και ιστοσελίδες επιστημονικών οργανισμών.

2.3. Λέξεις κλειδιά και φράσεις αναζήτησης

Για την συστηματική αναζήτηση της σχετικής βιβλιογραφίας χρησιμοποιήθηκαν οι εξειδικευμένες λέξεις-κλειδιά όπως: ammonia-oxidizing microorganisms (νιτροδοποιητικοί μικροοργανισμοί, AOM), ammonia oxidizing archaea and bacteria (νιτροδοποιητικά αρχαία και βακτήρια), nitrite oxidizing bacteria (νιτροκοποιητικά βακτήρια), comammox bacteria (βακτήρια πλήρους νιτροποίησης), καθώς και όροι όπως herbicides (ζιζανιοκτόνα), soil nitrifiers (νιτροποιητές εδάφους) και toxicity (τοξικότητα). Επιπλέον, εφαρμόστηκαν συνδυασμοί πιο σύνθετων φράσεων όπως: nitrification inhibition by herbicides, herbicide toxicity on nitrogen cycle, nitrogen cycle disruption due to herbicides, impact of herbicide residues on nitrifiers, herbicide-induced inhibition of nitrification, long-term herbicide effects on soil nitrifiers, long-term effects of herbicides on soil nitrifying communities, herbicide effects on nitrifier community composition and function, herbicide effects on nitrifier abundance, comammox bacterial response to herbicides, nitrite-oxidizing bacteria (NOB) and herbicide sensitivity. Η αναζήτηση βελτιστοποιήθηκε μέσω της χρήσης λογικών τελεστών (AND, OR, NOT), ώστε να επιτευχθεί μεγαλύτερη ακρίβεια και σχετικότητα στα αποτελέσματα.

2.4. Κριτήρια επιλογής μελετών

Για την επιλογή των επιστημονικών μελετών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, δόθηκε έμφαση σε έρευνες που εξετάζουν τις επιπτώσεις των ζιζανιοκτόνων στη λειτουργία, την αφθονία, και την ποικιλότητα των νιτροποιητικών μικροοργανισμών. Για το σκοπό αυτό περιλήφθηκαν μελέτες που χρησιμοποίησαν δείγματα εδάφους από πειράματα εργαστηρίου και αγρού για τη μελέτη της τοξικότητας των ζιζανιοκτόνων εφαρμόζοντας μετρήσιμες, επαναλήψιμες και επιστημονικά αποδεκτές μεθόδους. Για τη διασφάλιση της επικαιρότητας και της επιστημονικής εγκυρότητας, της βιβλιογραφίας, εφαρμόστηκε χρονικός περιορισμός στην αναζήτηση, περιλαμβάνοντας άρθρα που δημοσιεύθηκαν την τελευταία δεκαπενταετία. Επιπλέον, επιλέχθηκαν μελέτες με: (1) Σαφή περιγραφή του πειραματικού σχεδιασμού, συμπεριλαμβανομένων των συνθηκών ελέγχου και μεταβλητών, (2) Αξιόπιστες και έγκυρες μεθόδους ανάλυσης, όπως μοριακές τεχνικές για τη μελέτη της μικροβιακής κοινότητας (π.χ. qPCR, αλληλούχιση DNA) ή βιοχημικές μετρήσεις ενζυμικής δραστηριότητας. (3) Ορθή στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και τεκμηριωμένη αξιολόγηση των δεδομένων. (4) Διαφάνεια ως προς την προέλευση των εδαφικών δειγμάτων, τα είδη των ζιζανιοκτόνων που εξετάζονται και τις συγκεντρώσεις τους.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Ανάλυση επιλεγμένων μελετών για την επίδραση των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους

Στο πλαίσιο της παρούσας πτυχιακής, πραγματοποιήθηκε συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας με σκοπό τον εντοπισμό των μελετών που εξετάζουν την επίδραση των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους. Από τις 27 μελέτες που ανακτήθηκαν εξ' αρχής οι 14 επιλέχθηκαν για περαιτέρω αξιολόγηση με βάση τον τίτλο τους και τις περιλήψεις τους, καθώς περιείχαν ενδείξεις ότι σχετίζονται με την επίδραση συγκεκριμένων ζιζανιοκτόνων στους ΑΟΑ, ΑΟΒ αλλά και ΝΟΒ/Comammox.

Με βάση τα κριτήρια επιλογής (θεματική συνάφεια, σαφή περιγραφή πειραματικού σχεδιασμού, χρονική επικαιρότητα, αξιοπιστία μεθοδολογικής προσέγγισης), επιλέχθηκαν τελικά οι 9 για ποιοτική και ποσοτική ανάλυση.

Οι υπόλοιπες μελέτες αποκλείστηκαν είτε επειδή δεν αναφερόταν συγκεκριμένα στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους αλλά στη γενικότερη μικροβιακή κοινότητα του εδάφους, είτε γιατί δεν παρείχαν επαρκή ποσοτικά δεδομένα ή δεν ήταν χρονικά επίκαιρες.

Πριν την παρουσίαση των επιλεγμένων μελετών παρατίθεται συνοπτικός πίνακας (Πίνακας 1) στον οποίο καταγράφονται και αξιολογούνται οι παραπάνω μελέτες.

Πίνακας 1. Κατάλογος των επιστημονικών μελετών που αξιολογήθηκαν για την παρούσα εργασία, ταξινομημένων σε επιλεγμένες και μη επιλεγμένες βάσει των κριτηρίων ένταξης που περιγράφηκαν στο Κεφάλαιο 2.

ΜΕΛΕΤΗ	ΕΠΙΛΟΓΗ	ΣΧΟΛΙΟ
Das et al., 2011	ΟΧΙ	Εξετάστηκε η επίδραση των pendimethalin και quizalofop σε αζωτοδεσμευτικά βακτήρια
Hernández et al., 2011	ΝΑΙ	Εξετάστηκε η επίδραση του ζιζανιοκτόνου simazine στη διεργασία της νιτροποίησης και τους νιτροδοποιητικούς μικροοργανισμούς
Karpouzas et al., 2014	ΟΧΙ	Εξετάστηκε η επίδραση του ζιζανιοκτόνου nicosulfuron στην αφθονία και την ποικιλότητα των δενδρόμορφων μυκορριζικών μυκήτων

Wan et al., 2014	NAI	Εξετάσε την επίδραση του ζιζανιοκτόνου simazine στη δομή και τη σύσταση των μικροβιακών κοινοτήτων AOB & AOA
Rose et al., 2016	OXI	Εξετάστηκε η επίδραση των ζιζανιοκτόνων στην ευρύτερη μικροβιακή κοινότητα του εδάφους
Jenkins et al., 2017	NAI	Διερευνήθηκε η επίδραση του glyphosate στις ομάδες AOA/AOB
Ding et al., 2017	NAI	Εξετάστηκε το 2,4Dbe με δράση συνθετικής αυξίνης που σχετίζεται με τον κύκλο του αζώτου
Karas et al., 2018	NAI	Διερευνήθηκε η τοξικότητα του ζιζανιοκτόνου isoproturon στη δομή και λειτουργία των νιτροποιητικών μικροοργανισμών του εδάφους
Zhang et al., 2018	NAI	Διερευνήθηκαν ζιζανιοκτόνα όπως η atrazine και το glyphosate σε μια σειρά παραμέτρων του κύκλου του αζώτου σε εδαφικά μικροπεριβάλλοντα καλλιέργειας ζαχαροκάλαμου
Ding et al., 2019	NAI	Εξετάστηκε η ικανότητα 8 ζιζανιοκτόνων να αναστέλλουν τη διεργασία της νιτροποίησης σε γεωργικά εδάφη
Mohamed et al., 2021	OXI	Αναφέρεται σε επιδράσεις ζιζανιοκτόνων (glyphosate & paraquat) σε μικροοργανισμούς του κύκλου του αζώτου συγκεκριμένα σε αζωτοδεσμευτικά βακτήρια και όχι σε νιτροποιητές
Sim et al., 2022	NAI	Συγκριτική επίδραση σε 12 ζιζανιοκτόνα σε κρίσιμες

		λειτουργίες του μικροβιακού κύκλου του αζώτου
Jeyaseelan et al., 2024	OXI	Άρθρο ανασκόπησης της επίδρασης ζιζανιοκτόνων και εντομοκτόνων στη μικροβιακή κοινότητα του εδάφους
Ma et al., 2025	NAI	Επίδραση των ζιζανιοκτόνων atrazine,nicosulfuron, mesotrione σε νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς

3.2. Ανασκόπηση μελετών

Στην παρούσα ενότητα παρουσιάζονται αναλυτικά οι επιμέρους μελέτες που εξετάζουν τις επιδράσεις διαφόρων τύπων ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους. Κάθε μελέτη αξιολογήθηκε βάσει του πειραματικού της σχεδιασμού, των χρησιμοποιούμενων χημικών ουσιών, των μεθόδων ανάλυσης και των κύριων ευρημάτων σε επίπεδο αφθονίας, ποικιλότητας, λειτουργίας και δομής των μικροβιακών κοινοτήτων. Η επιλογή των μελετών έγινε με σκοπό να καλυφθεί ένα ευρύ φάσμα συνθηκών (εργαστηριακών και πεδίου), τύπων εδάφους και κατηγοριών ζιζανιοκτόνων, ώστε να αποτυπωθεί η πολυπλοκότητα και ποικιλομορφία των μικροβιακών αποκρίσεων στην έκθεση σε αντίστοιχες φυτοπροστατευτικές ουσίες.

1. Hernández et al. (2011) - Simazine application inhibits nitrification and changes the ammonia-oxidizing bacterial communities in a fertilized agricultural soil

Η μελέτη των Hernández et al. (2011) με τίτλο “*Simazine application inhibits nitrification and changes the ammonia-oxidizing bacterial communities in a fertilized agricultural soil*” εξέτασε την επίδραση του ζιζανιοκτόνου simazine (χημική ομάδα: s-triazine, τροπος δράσης: αναστολή της φωτοσύνθεσης στο φωτοσύστημα II) στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς εδάφους, και ειδικότερα στα νιτρωδοποιητικά βακτήρια και αρχαία που συμμετέχουν στην οξείδωση της αμμωνίας στο πλαίσιο της νιτροποίησης.

Το έδαφος που χρησιμοποιήθηκε προήλθε από πειραματικό αγροτεμάχιο του Πανεπιστημίου του Giessen (Rauischolzhausen, Γερμανία), όπου εφαρμόζεται αμειψισπορά με σιτάρι, καλαμπόκι και κριθάρι. Πρόκειται για ουδέτερο έδαφος (pH 6,9), με περιεκτικότητα σε συνολικό άζωτο 0,11% κ.β., συνολικό οργανικό άνθρακα 1,04% κ.β., αμμωνιακό άζωτο 4,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ και νιτρικό άζωτο 10 $\mu\text{g g}^{-1}$. Η υδατοχωρητική

ικανότητα του εδάφους ήταν 42,8% και το έδαφος είχε ιστορικό χημικής λίπανσης (120 kg ha^{-1} ουρία και 50 kg ha^{-1} διαλύματος αμμωνίου-νιτρικών-ουρίας) αλλά όχι χρήσης s-triazines για τουλάχιστον 18 χρόνια. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε επίπεδο μικροκόσμων εδάφους με προσθήκη θεικού αμμωνίου $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ ως πηγή αμμωνίας, σε συγκεντρώσεις $150 \text{ } \mu\text{g NH}_4^+-\text{N g}^{-1}$ ξ.β. εδάφους (στη βραχυπρόθεσμη δοκιμή 5 ημερών) και $70 \text{ } \mu\text{g NH}_4^+-\text{N g}^{-1}$ ξ.β. εδάφους (σε επαναλαμβανόμενη εφαρμογή εβδομαδιαίως για 4 εβδομάδες). Το simazine εφαρμόστηκε σε συγκεντρώσεις 10 και $50 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β. εδάφους.

Η εφαρμογή του simazine ($50 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β. εδάφους) ανέστειλε πλήρως τη διαδικασία της νιτροποίησης σε εδαφικούς μικρόκοσμους εμπλουτισμένους με αμμωνία, τόσο σε πειράματα διάρκειας 5 ημερών όσο και σε πειράματα τεσσάρων εβδομάδων. Η αναστολή ήταν ισοδύναμη με εκείνη που προκαλεί ο παρεμποδιστής νιτροποίησης ακετυλένιο (C_2H_2), ενώ συγκέντρωση simazine $10 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ξ.β. εδάφους είχε ηπιότερη δράση.

Σε επίπεδο μικροβιακής κοινότητας, η PCR-DGGE των γονιδίων *amoA* έδειξε ότι το simazine μετέβαλε σημαντικά τη δομή των νιτροποιητικών βακτηρίων (AOB), με έντονη μείωση παρουσίας ειδών του γένους *Nitrosospira*. Αντίθετα, δεν καταγράφηκε καμία μεταβολή στη δομή των AOA, ανεξαρτήτως προσθήκης αμμωνίας ή simazine, γεγονός που αποδόθηκε σε ανοχή των AOA ή μη επηρεαζόμενη δραστηριότητά τους από το συγκεκριμένο ζιζανιοκτόνο. Οι αλληλουχίες των *amoA* των AOA αντιστοιχούσαν σε μη καλλιεργήσιμα Crenarchaeota, διακριτά σε τρεις εδαφικά σχετιζόμενες φυλογενετικές ομάδες

Η μελέτη αναδεικνύει ότι το simazine μπορεί να παρεμποδίζει τη νιτροποίηση τόσο βραχυπρόθεσμα όσο και μακροπρόθεσμα, μέσω αναστολής των AOB, χωρίς να μεταβάλλει τη σύνθεση των AOA, τονίζοντας έτσι την εκλεκτική τοξικότητά του σε κρίσιμους λειτουργικούς μικροοργανισμούς του κύκλου του αζώτου.

2. Wan et al. (2014) - Dynamics of communities of bacteria and ammonia-oxidizing microorganisms in response to simazine attenuation in agricultural soil

Η μελέτη των Wan et al. (2014) με τίτλο “Dynamics of communities of bacteria and ammonia-oxidizing microorganisms in response to simazine attenuation in agricultural soil” εξέτασε την επίδραση του ζιζανιοκτόνου simazine (s-triazine· αναστολέας φωτοσυστήματος II) στη σύνθεση και δομή των AOB και AOA, σε γεωργικό έδαφος προσαρμοσμένο σε μακροχρόνια χρήση ζιζανιοκτόνων της ομάδας των τριαζινών. Το έδαφος είχε υποστεί συστηματική εφαρμογή simazine ($4\text{--}5 \text{ mg kg}^{-1}$) για πάνω από 20 χρόνια, χωρίς ανιχνεύσιμο υπόλειμμα κατά τη δειγματοληψία. Το έδαφος είχε pH 8.2, περιεκτικότητα σε αμμωνιακό άζωτο 9.1 mg kg^{-1} , άνθρακα 15.5 g kg^{-1} , και αμμοπηλώδη υφή.

Σε πειράματα μικροκόσμων εδάφους, εφαρμόστηκε simazine σε υψηλή συγκέντρωση (100 mg kg^{-1} ξ.β. εδάφους) και παρακολούθηθηκε η επίδρασή του σε προ-λιπασμένα δείγματα, με εφαρμογή $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ($70 \text{ mg NH}_4^+-\text{N kg}^{-1}$ ξ.β. εδάφους) κατά την

εκκίνηση και σε εβδομαδιαία βάση. Η αμμωνιακή λίπανση προσομοίωσε συνθήκες εντατικής γεωργίας και στόχευε στη διέγερση της νιτροποίησης.

Η εφαρμογή του simazine είχε ισχυρή ανασταλτική επίδραση στην κοινότητα των νιτροποιητικών μικροοργανισμών, με σαφή μεταβολή της δομής των AOB και AOA κατά την περίοδο των 29 ημερών. Τα AOA εμφάνισαν εντονότερες και πιο διακριτές διαφοροποιήσεις σε σχέση με τα AOB, υποδεικνύοντας μεγαλύτερη ευαισθησία στην έκθεση στο ζιζανιοκτόνο. Η δομή των κοινοτήτων AOA μεταβαλλόταν διαρκώς με τον χρόνο, ενώ η διάκριση μεταξύ επιβαρυνμένων και μη εδαφών ήταν εμφανής καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Παράλληλα, ανιχνεύθηκε γρήγορη φυσική αποδόμηση του simazine λόγω παρουσίας αυτοχθόνων μικροοργανισμών, με πλήρη αποδόμηση του ζιζανιοκτόνου εντός 10 ημερών και σημαντική αύξηση της σχετικής αφθονίας του γονιδίου *atzC* (ένζυμο αποδόμησης triazines) από 0.04% σε 4.62%. Αν και η παρουσία αυτών των αποικοδομητών φαίνεται να προσφέρει δυναμική αυτορρύθμισης, το simazine εξακολουθεί να διαταράσσει σημαντικά τη δομή των νιτροποιητικών πληθυσμών, έστω και παροδικά.

Συμπερασματικά, η εργασία ανέδειξε ότι το simazine, ακόμα και σε έδαφος προσαρμοσμένο στη μακροχρόνια χρήση του, μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τη σύσταση των μικροβιακών κοινοτήτων AOB και AOA, με τα AOA να ανταποκρίνονται εντονότερα, γεγονός που επιβεβαιώνει την καταλληλότητά τους ως δείκτες οικοτοξικότητας για τη λειτουργία της νιτροποίησης στο έδαφος.

3. Ding et al., (2017) – Impact of herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid butyl ester on soil nitrogen-transforming bacterial populations in two soils

Η μελέτη των Ding et al., (2017) με τίτλο *“Impact of herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid butyl ester on soil nitrogen-transforming bacterial populations in two soils”* εξέτασε τις επιδράσεις του ζιζανιοκτόνου 2,4-dichlorophenoxyacetic acid butyl ester (2,4-DbE), με δράση συνθετικής αυξίνης (μιμητής φυτικών αυξητικών ορμονών), σε πληθυσμούς μικροοργανισμών που σχετίζονται με τον κύκλο του αζώτου σε δύο διαφορετικούς τύπους εδάφους: Oxisol (όξινο, pH 5.9) και Fluvo-aquic (αλκαλικό, pH 8.3). Το ζιζανιοκτόνο εφαρμόστηκε σε τρεις δόσεις: 0 (μάρτυρας), 5 mg kg⁻¹ (συνιστώμενη για εφαρμογή στον αγρό) και 50 mg kg⁻¹ (10πλάσια της συνιστώμενης), σε εργαστηριακή επώαση 45 ημερών. Χρησιμοποιήθηκαν καλλιέργειες σε θρεπτικά υλικά και μέθοδοι πιθανολογούμενου αριθμού (MPN) για την ποσοτική εκτίμηση επιμέρους ομάδων μικροβίων.

Η εφαρμογή του 2,4-DbE είχε έντονα διαφοροποιημένες επιδράσεις ανάλογα με τον τύπο του εδάφους και τη συγκέντρωση. Στο Oxisol, τα αερόβια βακτήρια και οι ακτινομύκητες παρουσίασαν σημαντική αναστολή, ενώ στο Fluvo-aquic διεγέρθηκαν, πιθανώς λόγω της υψηλότερης τιμής pH. Αντίθετα, οι μύκητες μειώθηκαν σημαντικά και στους δύο τύπους εδαφών ($p < 0.05$), και ιδιαίτερα με την υψηλή δόση του ζιζανιοκτόνου, υποδεικνύοντας αυξημένη ευαισθησία τους. Όσον αφορά τους μικροοργανισμούς του κύκλου του αζώτου, η δόση των 5 mg kg⁻¹ προκάλεσε διέγερση των αμμωνιοποιητών, χωρίς αξιοσημείωτες επιδράσεις σε *Nitrosomonas* και

απονιτροποιητικά βακτήρια. Αντιθέτως, η υψηλή δόση (50 mg kg^{-1}) προκάλεσε γενικευμένη αναστολή όλων των ανωτέρω ομάδων ($p < 0.05$). Επιπλέον, και οι δύο δόσεις ανέστειλαν τους αυτότροφους νιτροποιητές, ενώ οι ετερότροφοι νιτροποιητές αυξήθηκαν ελαφρώς ή σημαντικά στους δύο τύπους εδαφών. Συνεπώς, η τοξικότητα του 2,4-De αποδείχθηκε ιδιαίτερα έντονη στους αυτότροφους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς, των οποίων οι πληθυσμοί μειώθηκαν αισθητά, υποδηλώνοντας πιθανή αναστολή των ενζυμικών λειτουργιών οξείδωσης αμμωνίας σε NO_2^- , ενώ οι ετερότροφοι νιτροποιητές εμφάνισαν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η σύνθεση του εδάφους και το pH επηρεάζουν καθοριστικά την ευπάθεια των νιτροποιητικών μικροοργανισμών στην έκθεση στο 2,4-De, με το Oxisol να εμφανίζει μεγαλύτερη ευαισθησία γενικά.

4. Jenkins et al. (2017) - Impact of glyphosate-resistant corn, glyphosate applications and tillage on soil nutrient ratios, exoenzyme activities and nutrient acquisition ratios

Οι Jenkins et al. (2017) στη μελέτη τους με τίτλο *“Impact of glyphosate-resistant corn, glyphosate applications and tillage on soil nutrient ratios, exoenzyme activities and nutrient acquisition ratios”* διερεύνουν την επίδραση της μακροχρόνιας εφαρμογής του ζιζανιοκτόνου glyphosate (αναστολέας της συνθετάσης του ενζύμου EPSPS) στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους, εστιάζοντας στις ομάδες των AOB και AOA. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε αγροτεμάχια με διαφορετικά καλλιεργητικά συστήματα – συμβατική (CT) και μειωμένη κατεργασία (RT) – και με χρήση γενετικά τροποποιημένου (ανθεκτικού στο glyphosate) καλαμποκιού (GR) και συμβατικού μη-ανθεκτικού (nonGR), επί επτά συναπτά έτη. Το πείραμα σχεδιάστηκε σε σύστημα split-split plot με τέσσερις επαναλήψεις, ενώ η εφαρμογή του glyphosate γινόταν δύο φορές ανά έτος στα αντίστοιχα αγροτεμάχια ($0,84 \text{ kg a.i. ha}^{-1}$ ανά εφαρμογή), σε σύγκριση με αγροτεμάχια χωρίς glyphosate. Η αζωτούχα λίπανση σε όλα τα αγροτεμάχια ήταν υψηλή, με προσθήκη 225 kg N ha^{-1} , υπό μορφή μίγματος ουρίας και νιτρικού αμμωνίου, τρεις εβδομάδες μετά τη σπορά. Επιπλέον, εφαρμόστηκαν τα ζιζανιοκτόνα atrazine (αναστολέας της φωτοσύνθεσης μέσω του φωτοσυστήματος II) και metolachlor (αναστολέας της βιοσύνθεσης των λιπαρών οξέων), πριν την εμφάνιση της καλλιέργειας, στο πλαίσιο αγρονομικών πρακτικών ζιζανιοκτονίας. Τα εδαφικά δείγματα συλλέχθηκαν τόσο από μαζικό έδαφος όσο και από τη ριζόσφαιρα, στη φάση R2 ανάπτυξης του καλαμποκιού (42 ημέρες μετά την τελευταία εφαρμογή glyphosate), κατά τα έτη 2013 και 2014. Σκοπός των συγγραφέων ήταν να εκτιμήσουν την επίδραση της καλλιέργειας GR καλαμποκιού με και χωρίς glyphosate, στη δυναμική των νιτροποιητικών κοινοτήτων και στις σχετικές σχέσεις με τη ριζόσφαιρα.

Η ανάλυση έδειξε ότι οι ρυθμοί δυνητικής νιτροποίησης ήταν γενικά υψηλότεροι στα αγροτεμάχια χωρίς εφαρμογή glyphosate, ιδίως σε ριζόσφαιρα και μαζικό έδαφος υπό μειωμένη κατεργασία και συμβατικό καλαμπόκι. Ωστόσο, η επίδραση του glyphosate δεν ήταν συνεπής και ποικίλε ανάμεσα στα έτη και στους τύπους εδαφών. Σε επίπεδο μικροβιακών κοινοτήτων, οι AOA υπερτερούσαν αριθμητικά των AOB, ιδίως στη ριζόσφαιρα, όπου η σχέση $\text{amoA AOA} / \text{amoA AOB}$ κυμαινόταν μεταξύ 3,5 και 11,2, αναδεικνύοντας την προσαρμογή των AOA σε περιβάλλοντα με χαμηλότερη

συγκέντρωση αμμωνίου. Αντιθέτως, στο μαζικό έδαφος παρατηρήθηκε μεγαλύτερη σχετική αφθονία των AOB. Οι αναλύσεις PCR κατέδειξαν επίσης υψηλότερους λόγους *amoA/16S rRNA* για AOA στη ριζόσφαιρα συγκριτικά με το μαζικό έδαφος, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι τα AOA κυριαρχούν ως νιτροδοποιητές κοντά στη ριζική ζώνη, ενώ τα βακτήρια επικρατούν μακρύτερα από τη ριζόσφαιρα. Οι συσχετίσεις μεταξύ δυνητικής νιτροποίησης και μικροβιακών, χημικών και ενζυμικών παραμέτρων ήταν ισχυρότερες στο μαζικό έδαφος, και μειώνονταν παρουσία glyphosate στη ριζόσφαιρα, γεγονός που υποδηλώνει πιθανή διατάραξη των μικροβιακών σχέσεων από το ζιζανιοκτόνο. Συνολικά, η μελέτη υποδεικνύει ότι η μακροχρόνια χρήση glyphosate μπορεί να επηρεάσει την αφθονία και κατανομή των νιτροδοποιητικών μικροοργανισμών, χωρίς όμως να προκαλεί σταθερές ή γραμμικές μεταβολές, ιδιαίτερα στο σύνθετο περιβάλλον της ριζόσφαιρας.

5. Karas et al. (2018)- Assessment of the impact of three pesticides on microbial dynamics and functions in a lab-to-field experimental approach

Η μελέτη των Karas et al. (2018) με τίτλο “*Assessment of the impact of three pesticides on microbial dynamics and functions in a lab-to-field experimental approach*” διερεύνησε την τοξικότητα τριών ευρέως χρησιμοποιούμενων γεωργικών φαρμάκων – του εντομοκτόνου chlorpyrifos (CHL), του ζιζανιοκτόνου isoproturon (IPU) και του μυκητοκτόνου tebuconazole (TBZ) – στη δομή και λειτουργία των εδαφικών μικροοργανισμών, με έμφαση στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς. Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε μέσω μιας πολυεπίπεδης προσέγγισης μικροκόσμων εδάφους και πειραμάτων πεδίου, με εφαρμογή των γεωργικών φαρμάκων σε τρεις συγκεντρώσεις (1×, 2× και 10× ή 5× της συνιστώμενης δόσης) και διαδοχικές δειγματοληψίες έως και 100 ή 125 ημέρες αντίστοιχα. Το έδαφος που χρησιμοποιήθηκε προήλθε από αγροτική περιοχή στη Βόρεια Ιταλία (Piacenza, Italy) καλλιεργούμενη με χειμερινά σιτηρά (loamy sand: 4,2% άργιλος, 13,5% ιλύς, 82,2% άμμος), pH 7,5, οργανικό άνθρακα 1,5% και μικροβιακή βιομάζα 160,2 mg C kg⁻¹ εδάφους. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, το IPU (αναστολέας της φωτοσύνθεσης στο φωτοσύστημα II) δεν προκάλεσε μείωση της αφθονίας των AOA και AOB στα πειράματα εργαστηρίου. Ωστόσο, στο πεδίο προκάλεσε σημαντική και έμμενη αναστολή της αφθονίας των AOA σε όλες τις συγκεντρώσεις, ενώ δεν παρατηρήθηκε αντίστοιχη επίδραση στους AOB. Η επίδραση αυτή δεν σχετίστηκε άμεσα με την παρουσία του μητρικού μορίου του IPU, αλλά με τους μεταβολίτες του (MD-IPU και DD-IPU), οι οποίοι παρουσίασαν αρνητική συσχέτιση με ένζυμα κύκλου του φωσφόρου (AcP, AlkP) και του αζώτου (Leu). Συνολικά, τα AOA αναδείχθηκαν ως η πιο ευαίσθητη λειτουργική ομάδα μικροοργανισμών στα γεωργικά φάρμακα που δοκιμάστηκαν, παρουσιάζοντας έντονη και παρατεταμένη αναστολή, γεγονός που ενισχύει τη δυνητική χρήση τους ως βιοδεικτών οικοτοξικότητας για τον μικροβιακό κύκλο του αζώτου στο έδαφος.

6. Zhang et al. (2018) - Effects of nitrification inhibitor and herbicides on nitrification, nitrite, and nitrate consumptions and nitrous oxide emission in an Australian sugarcane soil

Η μελέτη των Zhang et al. (2018) με τίτλο “*Effects of nitrification inhibitor and herbicides on nitrification, nitrite and nitrate consumption and nitrous oxide emission*”

in an Australian sugarcane soil” διερεύνησε τις επιδράσεις του συνθετικού παρεμποδιστή νιτροποίησης DMPP (3,4-dimethylpyrazole phosphate) και των ζιζανιοκτόνων atrazine (αναστολέας φωτοσυστήματος II) και glyphosate (αναστολέας της ενζυμικής συνθετάσης EPSPS) σε μια σειρά παραμέτρων του κύκλου του αζώτου, σε εδαφικά μικροπεριβάλλοντα καλλιέργειας ζαχαροκάλαμου στην περιοχή Ingham, Queensland, Αυστραλία. Το έδαφος προερχόταν από τεμάχιο καλλιέργειας με ιστορικό εφαρμογής φυτικών υπολειμμάτων και υψηλή ετήσια βροχόπτωση, με βασικά χαρακτηριστικά: pH 5.0, 62% άμμος, 19% άργιλος, οργανικός άνθρακας 10.8 g kg⁻¹ και ολικό άζωτο 0.84 g kg⁻¹. Το πείραμα περιλάμβανε τέσσερις μεταχειρίσεις: μάρτυρας αναφοράς (CK), DMPP (NI), atrazine (ATR) και glyphosate (GLY). Το DMPP εφαρμόστηκε σε ποσοστό 1% της εφαρμοζόμενης ποσότητας NH₄⁺-N, το atrazine σε δόση 2.25 mg a.i. kg⁻¹ εδάφους (≈3.00 kg a.i. ha⁻¹) και το glyphosate σε 2.16 mg a.i. kg⁻¹ (≈2.88 kg a.i. ha⁻¹). Η λίπανση έγινε με (NH₄)₂SO₄ και KNO₃, 50 mg N kg⁻¹ ξηρού εδάφους από κάθε ένωση, ενώ προστέθηκε και ισοτοπικά επισημασμένο K¹⁵NO₃ (5 at% ¹⁵N) για τον υπολογισμό των μικροβιακών ρυθμών. Η επώαση πραγματοποιήθηκε αρχικά στους 55% της υδατοχωρητικότητας (WHC) και κατόπιν στους 75% WHC. Η εφαρμογή του DMPP μείωσε σημαντικά τις εκπομπές N₂O, τις αφθονίες των AOB (*amoA*), τους ρυθμούς κατανάλωσης NO₂⁻+NO₃⁻ και τα λειτουργικά γονίδια της απονιτροποίησης (*nirS*, *nirK*) στο 75% WHC. Αντίστοιχα, τα ζιζανιοκτόνα atrazine και glyphosate οδήγησαν σε μείωση της αφθονίας του γονιδίου *amoA* τόσο των AOA όσο και των AOB, καθώς και σε καταστολή των ρυθμών νιτροποίησης και κατανάλωσης ανόργανου αζώτου. Παρατηρήθηκε επίσης μείωση της αφθονίας των *nirS* και *nosZ* απονιτροποιητικών γονιδίων, ιδίως κατά την πρώτη εβδομάδα εφαρμογής. Η πολυπαραγοντική ανάλυση αποκάλυψε ότι τα γονίδια AOB-*amoA* και *nirS* εξηγούν σημαντικό μέρος της διακύμανσης στους ρυθμούς νιτροποίησης και κατανάλωσης NO₂⁻+NO₃⁻, με τον ρόλο των AOB να εμφανίζεται πιο καθοριστικός από εκείνον των AOA. Τα ευρήματα τεκμηριώνουν τη λειτουργική καταστολή τόσο της νιτροποίησης όσο και της απονιτροποίησης υπό την επίδραση DMPP και ζιζανιοκτόνων, ενώ καταδεικνύεται και η δυνατότητα χρήσης λειτουργικών γονιδίων (π.χ. *amoA*, *nirS*) ως δείκτες οικοτοξικότητας μικροβιακών διεργασιών του κύκλου του αζώτου.

7. Ding et al., (2019) – Inhibitory effects of different types and doses of herbicides on soil nitrification potentials

Η μελέτη των Ding et al. (2019) με τίτλο “*Inhibitory effects of different types and doses of herbicides on soil nitrification potentials*” διερεύνησε την ικανότητα οκτώ ζιζανιοκτόνων να αναστέλλουν τη διεργασία της νιτροποίησης σε γεωργικά εδάφη. Τα επιλεγμένα ζιζανιοκτόνα, τα οποία αντιπροσώπευαν διαφορετικές χημικές κατηγορίες, ήταν: 2,4-De (2,4-dichlorophenoxyacetic acid butyl ester – συνθετική αυξίνη), puma (fenoxaprop-P-ethyl – αναστολέας ACCase), tribenuron-methyl (αναστολέας ALS), acetochlor (αναστολέας σύνθεσης λιπαρών οξέων), atrazine (αναστολέας φωτοσυστήματος II), dicamba (συνθετική αυξίνη), isoproturon (αναστολέας φωτοσύνθεσης στο PSII) και paraquat (παραγωγή ROS μέσω της φωτοαναγωγής του PSI). Τα ζιζανιοκτόνα εφαρμόστηκαν σε δόση 10 mg a.i. kg⁻¹ ξηρού βάρους (ξ.β.) εδάφους, σε πέντε διαφορετικούς τύπους εδαφών (καλλιεργούμενο κόκκινο έδαφος λαχανικών, ανώτερο ξηρό κόκκινο έδαφος, μαύρο έδαφος Shajiang, προσχωσιγενές-υγρό έδαφος και ασβεστώδες cambisol), με προσθήκη ουρίας 200 mg N kg⁻¹ ξ. β.

εδάφους ως πηγή αζώτου. Η επώαση έγινε υπό 28 ± 1 °C, και τα επίπεδα νιτρικών και αμμωνιακών προσδιορίστηκαν μέσω εκχύλισης με KCl και κατάλληλη περαιτέρω ανάλυση.

Από τα οκτώ ζιζανιοκτόνα, το 2,4-Dbc παρουσίασε την ισχυρότερη αναστολή της νιτροποίησης, μειώνοντας τη μετατροπή του NH_4^+ σε NO_3^- έως και 65% στα κόκκινα εδάφη και 45% στο προσχωσιγενές-υγρό έδαφος εντός των πρώτων 9 ημερών. Η επίδραση του 2,4-Dbc ήταν δόσο-εξαρτώμενη, με τα 50–100 mg kg⁻¹ ξ.β. εδάφους να προκαλούν αναστολή διάρκειας άνω των 32 ημερών στα κόκκινα εδάφη. Σε εδάφη με ισχυρή εγγενή ικανότητα νιτροποίησης, όπως το προσχωσιγενές-υγρό έδαφος, η αναστολή ήταν μικρής διάρκειας (3–9 ημέρες), ενώ σε εδάφη με χαμηλή δραστηριότητα νιτροποίησης (π.χ. μαύρο έδαφος Shajiang), η αναστολή διήρκεσε πέραν των 60 ημερών και ήταν συγκρίσιμη με αυτή του γνωστού συνθετικού παρεμποδιστή νιτροποίησης DCD (dicyandiamide).

Το puma και το tribenuron-methyl προκάλεσαν μέτρια αναστολή, περίπου 30–35% τις πρώτες 9–13 ημέρες στα κόκκινα εδάφη, χωρίς όμως παρατεταμένη διάρκεια, ενώ τα υπόλοιπα πέντε ζιζανιοκτόνα (acetochlor, atrazine, dicamba, isoproturon, paraquat) δεν παρουσίασαν σημαντική επίδραση στη νιτροποίηση ($p > 0.05$).

Σε συγκριτικές δοκιμές με πέντε αναγνωρισμένους παρεμποδιστές νιτροποίησης (DCD, nitrapyrin, DMPP, SU, AM), η επίδραση του 2,4-Dbc ήταν ανώτερη από τους SU και AM, και ισοδύναμη με DCD και DMPP σε red soils, ιδίως σε δόση 10 mg kg⁻¹ ξ.β. εδάφους.

Συνολικά, η μελέτη καταδεικνύει ότι το 2,4-Dbc διαθέτει ισχυρή, δόσο-εξαρτώμενη και εδαφοεξαρτώμενη ικανότητα αναστολής της νιτροποίησης, καθιστώντας το ιδιαίτερα δραστικό ως πιθανό παρεμποδιστή νιτροποίησης. Ωστόσο, δεν μετρήθηκαν άμεσα δείκτες αφθονίας ή ποικιλότητας των νιτροποιητικών μικροοργανισμών (π.χ. *amoA*, *nirA*), καθώς η εκτίμηση βασίστηκε αποκλειστικά στις μεταβολές των ανόργανων αζωτούχων ενώσεων (NH_4^+ και NO_3^-).

8. Sim et al., (2022) - Pesticide effects on nitrogen cycle related microbial functions and community composition

Η μελέτη των Sim et al. (2022), με τίτλο “*Pesticide effects on nitrogen cycle related microbial functions and community composition*”, εξέτασε για πρώτη φορά τη συγκριτική επίδραση είκοσι εμπορικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων, μεταξύ αυτών και 12 ζιζανιοκτόνων (chlorsulfuron & imazamox: αναστολείς ALS, atrazine: αναστολέας του φωτοσυστήματος II, trifluralin: αναστολέας μικροσωληνίσκων, propyzamide: αναστολέας σχηματισμού μικροσωληνίσκων, prosulfocarb: αναστολέας σύνθεσης λιπιδίων, metolachlor: αναστολέας σύνθεσης λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας, pyroxasulfone: αναστολέας σύνθεσης λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας, isoxaflutole: αναστολέας HPPD, clopyralid: συνθετική αυξίνη, paraquat: αναστολέας του φωτοσυστήματος I και glyphosate: αναστολέας του ενζύμου EPSPS) σε κρίσιμες λειτουργίες του μικροβιακού κύκλου του αζώτου, σε τρεις τύπους αγροτικών εδαφών της Νότιας Αυστραλίας. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς (AOA, AOB και NOB), μέσω μετρήσεων της δυνητικής

νιτροποίησης (potential nitrification), της απόλυτης αφθονίας των γονιδίων *amoA* (AOB και AOA) και της σύστασης της μικροβιακής κοινότητας με αλληλούχιση του γονιδίου *16S rRNA*. Τα εδάφη δέχθηκαν εφαρμογή των γεωργικών φαρμάκων σε δύο δόσεις (συνιστώμενη και 5× συνιστώμενη) και επωάστηκαν επί 28 ημέρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η επίδραση των ζιζανιοκτόνων δεν ήταν δοσο-εξαρτώμενη, αλλά επηρεαζόταν κυρίως από τον τύπο του εδάφους. Στο αλκαλικό αργιλώδες έδαφος (Hart), παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αναστολή του ρυθμού δυνητικής νιτροποίησης από τα ζιζανιοκτόνα chlorsulfuron (αναστολέας συνθετάσης βαλίνης/ισολευκίνης), isoxaflutole (αναστολέας HPPD) και paraquat (παραγωγός ROS μέσω φωτοοξειδωσης) ($p < 0.05$). Ωστόσο, η αφθονία των *amoA* γονιδίων των AOB και AOA δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές μεταβολές για κανένα από τα μελετούμενα ζιζανιοκτόνα ($p > 0.05$). Η σύσταση της κοινότητας των νιτροποιητικών μικροοργανισμών εξετάστηκε με αλληλούχιση, όπου ανιχνεύθηκαν 135 ASVs (Amplicon Sequence Variants)¹, ταξινομημένα σε AOB (*Nitrosomonadaceae*), AOA (κυρίως *Nitrososphaeraceae*) και NOB (*Nitrospira*, *Nitrobacter*). Η πιο σημαντική μεταβολή παρατηρήθηκε στα AOA της οικογένειας Nitrososphaeraceae, των οποίων η σχετική αφθονία επηρεάστηκε εντονότερα από τα ζιζανιοκτόνα ($p = 0.005$). Παράλληλα, ASVs που ανήκαν στους *Nitrospira* (NOB/Comammox) και στους Nitrosomonadaceae (AOB) εμφάνισαν σημαντική μείωση στη σχετική αφθονία τους με εφαρμογή της υψηλής δόσης γεωργικών φαρμάκων (5×). Ειδικότερα, οι ASV01955 και ASV03712 (AOB τύπου *Nitrosospira*) και ο ASV02950 (NOB τύπου *Nitrospira*) παρουσίασαν πτώση >40–60% στη σχετική αφθονία.

Συνολικά, η μελέτη ανέδειξε ότι τα ζιζανιοκτόνα μπορούν να επηρεάσουν επιλεκτικά τους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς. Η αρχική αύξηση ορισμένων AOA συνοδεύτηκε από έντονη καταστολή άλλων AOA, αλλά κυρίως των AOB και NOB, υποδεικνύοντας ότι η σύνθεση και λειτουργικότητα των νιτροποιητικών κοινοτήτων μπορεί να διαταραχθεί έντονα υπό έκθεση σε φυτοπροστατευτικές ουσίες, ακόμη και στις συνιστώμενες δόσεις.

9. Ma et al., (2025) - Effects of herbicide mixtures on the diversity and composition of microbial community and nitrogen cycling function on agricultural soil: A field experiment in Northeast China

Η μελέτη των Ma et al. (2025), με τίτλο “*Effects of herbicide mixtures on the diversity and composition of microbial community and nitrogen cycling function on agricultural soil: A field experiment in Northeast China*”, πραγματοποιήθηκε σε γεωργικό αγρό στην Harbin της Βορειοανατολικής Κίνας, με τύπο εδάφους μαύρο ασβεστολιθικό (black calcium soil), pH 6.26, υψηλό οργανικό άνθρακα (26.07 g kg^{-1}) και αρχική περιεκτικότητα σε ανόργανο άζωτο ($\text{NH}_4^+\text{-N}$: 23.45 mg kg^{-1} , $\text{NO}_3^-\text{-N}$: 28.57 mg kg^{-1}). Πραγματοποιήθηκε ψεκασμός με μίγματα τριών ζιζανιοκτόνων: atrazine (αναστολέας φωτοσύνθεσης μέσω του φωτοσυστήματος II), nicosulfuron (αναστολέας του ενζύμου ALS) και mesotrione (αναστολέας HPPD). Τα ζιζανιοκτόνα εφαρμόστηκαν

¹ ASVs (Amplicon Sequence Variants): διακριτές αλληλουχίες DNA που αντιπροσωπεύουν μοναδικούς μικροβιακούς πληθυσμούς σε δεδομένα αλληλούχισης γονιδίων και χρησιμοποιούνται για υψηλής ανάλυσης χαρακτηρισμό της μικροβιακής ποικιλότητας.

αποκλειστικά ως μίγμα σε τρεις συγκεντρώσεις: 0.5× (T1), 1× (T2, συνιστώμενη) και 10× (T3) της συνιστώμενης δόσης. Τα πειραματικά τεμάχια λιπάνθηκαν με άζωτο (200 mg N kg⁻¹ ξ.β. εδάφους, ως ουρία).

Η γονιδιακή έκφραση αξιολογήθηκε με ποσοτική PCR (qPCR), ενώ η λειτουργική δυναμική διερευνήθηκε μέσω FAPROTAX² (Functional Annotation of Prokaryotic Taxa) βάσει *16S rRNA*. Στο στάδιο σποράς του αραβόσιτου, παρατηρήθηκε σημαντική καταστολή της έκφρασης των AOA-*amoA* και *nifH* υπό όλους τους ψεκασμούς ζιζανιοκτόνων, με τη μέγιστη καταστολή στο T3 (−40% και −50% αντίστοιχα έναντι του ελέγχου), ενώ το AOB-*amoA* δεν επηρεάστηκε αρχικά. Αντίθετα, στο στάδιο ωρίμανσης, η έκφραση του AOA-*amoA* παρουσίασε ανάκαμψη (+35% στο T1) ενώ το AOB-*amoA* καταστέλλεται σημαντικά μόνο στο T3 (−25–30%). Η FAPROTAX κατέδειξε αναστολή των λειτουργιών νιτροποίησης, οξείδωσης αμμωνίας και της αναερόβιας αναπνοής νιτρικού/νιτρώδους στα αρχικά στάδια ανάπτυξης της καλλιέργειας. Η αφθονία και η κατανομή των νιτροποιητικών βακτηρίων επηρεάστηκε σημαντικά. Ειδικότερα, η παρουσία του γένους *Nitrospira* μειώθηκε έως 50% και κατατάχθηκε μεταξύ των βιοδεικτών που καταστέλλονται σταθερά από τα μίγματα ζιζανιοκτόνων σε όλα τα επίπεδα συγκέντρωσης. Ομοίως, τα *Bradyrhizobium* και *Gemmatimonas* καταστέλλονται, γεγονός που υποδεικνύει γενική αναστολή λειτουργιών του κύκλου του αζώτου, όπως η νιτροποίηση και η αζωτοδέσμευση.

Από πλευράς χρονικής επίδρασης, οι αναστολές ήταν εντονότερες στα αρχικά στάδια ανάπτυξης των φυτών (σπορά και γόνατο) και λιγότερες στο στάδιο ωρίμανσης, παρακολουθώντας και τη μερική αποδόμηση των ζιζανιοκτόνων στο έδαφος (με 80.4% αποδόμηση για nicosulfuron και 73.6% για atrazine εντός 35 ημερών). Η συσχέτιση μεταβολών μικροβιακής κοινότητας και χημικών παραμέτρων του εδάφους ανέδειξε το NO₃⁻-N, το NH₄⁺-N και το διαθέσιμο P ως σημαντικότερους ρυθμιστές της δομής των νιτροποιητικών ομάδων. Η αρνητική συσχέτιση των *Nitrospirae* και *Bradyrhizobium* με το επίπεδο των ζιζανιοκτόνων αποδόθηκε στη λειτουργική ευαισθησία τους σε στρεσογόνους παράγοντες.

Συνολικά, η μελέτη αποδεικνύει την ισχυρή και πολυπαραγοντική επίδραση των μιγμάτων atrazine, mesotrione και nicosulfuron στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους, με καταστολή τόσο στην αφθονία όσο και στη λειτουργία τους, ιδίως στα πρώιμα στάδια της καλλιέργειας.

3.1. Συνθετική αποτίμηση των ευρημάτων

Η βιβλιογραφική διερεύνηση ανέδειξε ένα ευρύ φάσμα επιδράσεων των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους, οι οποίες εξαρτώνται από τον τύπο του χημικού, τη δόση, τις συνθήκες του εδάφους και το στάδιο ανάπτυξης της

² Το FAPROTAX (Functional Annotation of Prokaryotic Taxa) αποτελεί ένα εργαλείο που συσχετίζει ταξινομικές ομάδες μικροοργανισμών (κυρίως βακτηρίων και αρχαίων) με λειτουργικούς ρόλους στο οικοσύστημα, βασίζόμενο σε βιβλιογραφικά δεδομένα από καλλιεργημένα στελέχη. Χρησιμοποιείται ευρέως για την πρόβλεψη οικολογικών λειτουργιών μικροβιακών κοινοτήτων, ειδικά όταν η μελέτη βασίζεται σε δεδομένα αλληλούχισης του γονιδίου *16S rRNA*. Η χρήση του FAPROTAX σε αναλύσεις περιβαλλοντικών δειγμάτων, όπως αυτά του εδάφους, επιτρέπει την αποτύπωση πιθανών λειτουργικών χαρακτηριστικών μικροβίων (π.χ. νιτροποίηση, αναγωγή θεικών, μεθανιογένεση), παρόλο που δεν διαθέτουμε πλήρη μεταγονιδιωμικά δεδομένα (Sansupa et al., 2021).

καλλιέργειας. Τα συνολικά ευρήματα των επιλεγμένων μελετών για τις επιδράσεις των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς παρουσιάζονται συνοπτικά στον Πίνακα 2.

3.2.1. Επιδράσεις στη λειτουργία της νιτροποίησης

Η μελέτη των Ding et al. (2019) κατέδειξε ότι το ζιζανιοκτόνο 2,4-DBE προκαλεί ισχυρή, δόσο-εξαρτώμενη και έμμενη αναστολή της νιτροποίησης, ιδίως σε εδάφη με χαμηλή εγγενή ικανότητα νιτροποίησης. Αντίστοιχα, οι Hernández et al. (2011) και Sim et al. (2022) ανέφεραν αναστολή της δυνητικής νιτροποίησης σε μικροκόσμους εδάφους μετά από έκθεση σε simazine και άλλα ζιζανιοκτόνα, με ένταση αντίστοιχη ή και ισχυρότερη από εκείνη γνωστών παρεμποδιστών νιτροποίησης, όπως το ακετυλένιο ή το DCD. Επιπλέον, η μελέτη των Ma et al. (2025) ανέδειξε σημαντική καταστολή της έκφρασης του γονιδίου *amoA* των AOA μετά από εφαρμογή μίγματος atrazine, nicosulfuron και mesotrione, υποδεικνύοντας λειτουργική παρεμπόδιση του αρχικού σταδίου της νιτροποίησης. Αντίστοιχα, στη μελέτη των Zhang et al. (2018) επιβεβαιώνει τις παραπάνω διαπιστώσεις, καταγράφοντας σημαντική καταστολή της νιτροποίησης μετά από εφαρμογή atrazine και glyphosate, καθώς και μείωση της κατανάλωσης NO_2^- και NO_3^- . Παράλληλα, η εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων προκάλεσε μείωση των εκπομπών N_2O , υποδεικνύοντας λειτουργική αναστολή των σχετικών μικροβιακών διεργασιών.

3.2.2. Επιδράσεις στην αφθονία, ποικιλότητα και δομή των μικροβιακών κοινοτήτων

Η επίδραση των ζιζανιοκτόνων στους μικροοργανισμούς του εδάφους δεν περιορίζεται μόνο στη μείωση της αφθονίας, αλλά εκτείνεται και σε μεταβολές της ποικιλότητας και της δομής τόσο των νιτροποιητικών πληθυσμών όσο και της ευρύτερης μικροβιακής κοινότητας. Πλήθος μελετών καταδεικνύει ότι τα AOA παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία στην επίδραση των ζιζανιοκτόνων σε σύγκριση με τα AOB. Ενδεικτικά, στη μελέτη των Ma et al. (2025), η έκθεση σε μίγματα atrazine, nicosulfuron και mesotrione οδήγησε σε δραστική μείωση στην αφθονία των AOA καθώς και του νιτροποιητικού γένους *Nitrospira*, υποδεικνύοντας αναστολή κρίσιμων σταδίων της νιτροποίησης. Αντίστοιχα, οι Karas et al. (2018) ανέδειξαν σημαντική καταστολή των AOA από το ζιζανιοκτόνο isoproturon και τα παραγόμενα προϊόντα μετασχηματισμού του, MD-IPU και DD-IPU, ενώ τα AOB δεν επηρεάστηκαν. Παρόμοια ευρήματα προκύπτουν και από τη μελέτη των Wan et al. (2014), όπου η έκθεση σε simazine οδήγησε σε σημαντική αναδιάρθρωση της μικροβιακής κοινότητας, με εντονότερες μεταβολές στη δομή των AOA συγκριτικά με τους AOB. Η μεγαλύτερη ευαισθησία των AOA έναντι των AOB ενδέχεται να σχετίζεται με τις διαφορετικές τους οικολογικές στρατηγικές και τη δομή του ενζύμου AMO. Επιπλέον, η βραδύτερη αναπαραγωγική δυναμική των AOA σε σχέση με τα AOB περιορίζει την ικανότητά τους να ανταποκρίνονται αποτελεσματικά σε χημικά στρες όπως εκείνα που προκαλούνται από την εφαρμογή ζιζανιοκτόνων (Martens-Habbena et al., 2009; Prosser and Nicol, 2012; Stahl & de la Torre, 2012). Οι μελέτες των Zhang et al. (2018) και Hernández et al. (2011) ωστόσο, έρχονται σε αντίθεση με τα παραπάνω συμπεράσματα, αναδεικνύοντας ταυτόχρονη μείωση της αφθονίας του *amoA* γονιδίου

τόσο στους AOA όσο και στους AOB ή ακόμα και εκλεκτική τοξικότητα ζιζανιοκτόνων όπως το simazine έναντι των AOB. Επιπλέον, η συνθετική ανάλυση έδειξε ότι οι AOB επηρεάζουν σε μεγαλύτερο βαθμό τη συνολική απόδοση της νιτροποίησης σε σύγκριση με τους AOA, ενώ οι Ding et al. (2017) παρατήρησαν ότι οι αυτότροφοι νιτροποιητές επηρεάστηκαν εντονότερα από τις υψηλές συγκεντρώσεις 2,4-De σε σύγκριση με τους ετερότροφους.

Σημαντικές μεταβολές στη δομή των νιτροποιητικών πληθυσμών παρατηρήθηκαν σε μελέτες όπως των Sim et al. (2022) και Wan et al. (2014), με τη σχετική αφθονία οικογενειών όπως οι *Nitrososphaeraceae* (AOA), *Nitrosomonadaceae* (AOB) και οι *Nitrospira* (NOB/Comammox) να μειώνεται σημαντικά υπό την επίδραση ζιζανιοκτόνων. Οι αλλαγές αυτές συνδέθηκαν με διαταραχή της οξειδωσης αμμωνίας και της νιτροποίησης συνολικά, αντανakλώντας μεταβολή της λειτουργικής ισορροπίας των σχετικών μικροβιακών κοινοτήτων. Παράλληλα, οι ζιζανιοκτόνες ουσίες επέδρασαν και στη γενικότερη μικροβιακή κοινότητα, επηρεάζοντας λειτουργικές ομάδες πέραν των νιτροποιητών. Στη μελέτη των Ma et al. (2025), παρατηρήθηκε καταστολή γενών όπως τα *Bradyrhizobium* και *Gemmatimonas*, που συνδέονται με την αζωτοδέσμευση και άλλες λειτουργίες του κύκλου του αζώτου. Επίσης, η αυξημένη έκφραση του γονιδίου *atzC* (Wan et al., 2014), ενδεικτική της ενεργοποίησης αποικοδομητικών μικροοργανισμών, υποδηλώνει την έμμεση επίδραση των αποικοδομητών στη μικροβιακή ισορροπία του εδάφους.

Η επίδραση των ζιζανιοκτόνων, λοιπόν, εκτείνεται τόσο οριζόντια (σε όλο το φάσμα της μικροβιακής ποικιλότητας) όσο και κατακόρυφα (σε λειτουργίες κρίσιμες για τον κύκλο του αζώτου), με επιλεκτική καταστολή συγκεκριμένων γενών και διατάραξη της μικροβιακής ισορροπίας.

3.2.3. Χρονική και περιβαλλοντική διαφοροποίηση των επιδράσεων

Οι Jenkins et al. (2017) τόνισαν ότι η επίδραση του glyphosate εξαρτάται από το αγρονομικό σύστημα, το είδος της καλλιέργειας και τις συνθήκες κατεργασίας του εδάφους, χωρίς να είναι απαραίτητα γραμμική ή σταθερή στον χρόνο. Αντίστοιχα, στη μελέτη των Ma et al. (2025), οι επιδράσεις ήταν εντονότερες στα αρχικά στάδια της καλλιέργειας και φθίνουσες κατά την ωρίμανση, υποδεικνύοντας την επίδραση της αποδόμησης των ζιζανιοκτόνων στη μείωση της τοξικότητας. Αντίστοιχα, οι Wan et al. (2014) έδειξαν ότι ακόμη και σε έδαφος προσαρμοσμένο σε μακροχρόνια χρήση simazine, η δομή των AOB και AOA εξακολουθεί να διαταράσσεται, παρά την ταχεία αποδόμηση του ζιζανιοκτόνου, υποδεικνύοντας παροδικές αλλά σημαντικές επιπτώσεις. Αν και η μελέτη των Zhang et al. (2018) διεξήχθη σε ελεγχόμενο περιβάλλον εργαστηριακών μικροκόσμων, η παρατήρηση διαφοροποιημένων επιδράσεων ανά επίπεδο υγρασίας (55% έναντι 75% WHC) τονίζει τη σημασία των περιβαλλοντικών παραμέτρων στην ένταση και έκταση των μικροβιακών αποκρίσεων.

Πίνακας 2. Σύνοψη βασικών ευρημάτων επιλεγμένων μελετών για τις επιδράσεις των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς.

Μελέτη	Τύποι ζιζανιοκτόνων /Μεταχείριση	ΑΟΑ	ΑΟΒ	NOB	Λειτουργική επίδραση	Σχόλια
Hernández et al. (2011)	Simazine (lab, μικρόκοσμοι)	Δεν επηρεάστηκαν Έντονη μεταβολή στη δομή της μικροβιακής κοινότητας	Μείωση <i>Nitrosospira</i> Μεταβολή στη δομή της μικροβιακής κοινότητας Μείωση <i>Nitrosomonas</i> σε υψηλή δόση (10x συνιστώμενη,)	Δεν εξετάστηκε	Πλήρης αναστολή νιτροποίησης (50 $\mu\text{g g}^{-1}$)	Εκλεκτική τοξικότητα για ΑΟΒ
Wan et al. (2014)	Simazine (lab, προσαρμοσμένο έδαφος)			Μείωση <i>Nitrospira</i>	Αναστολή νιτροποίησης	Ταχεία αποδόμηση simazine, ενεργοποίηση αποικοδομητών
Ding et al. (2017)	2,4-Dbc σε δύο εδάφη (lab)	Δεν γίνεται αναφορά		Δεν εξετάστηκε	Αναστολή αμμωνιοποίησης & νιτροποίησης	Ετερότροφοι νιτροποιητές λιγότερο ευαίσθητοι από τους αυτότροφους
Jenkins et al. (2017)	Glyphosate (field, GR καλαμπόκι, CT/RT)	Μικρή έως μεταβλητή επίδραση	Μεταβλητή επίδραση	Δεν εξετάστηκε	Μικρότερη νιτροποίηση με glyphosate	Εξαρτάται από σύστημα καλλιέργειας και εδαφικές πρακτικές
Karas et al. (2018)	Isoproturon (lab & field)	Καταστολή μόνο στα πειράματα πεδίου	Καμία Μείωση της αφθονίας και της νιτροποιητικής δραστηριότητας	Δεν εξετάστηκε	Επίδραση μέσω μεταβολιτών	ΑΟΑ πιο ευαίσθητα – δυνητικοί βιοδείκτες
Zhang et al. (2018)	Atrazine, Glyphosate	Μείωση της αφθονίας		Δεν εξετάστηκε	Μείωση $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ και εκπομπών N_2O	Συνδυαστική καταστολή νιτροποίησης και απονιτροποίησης
Ding et al. (2019)	2,4-Dbc & 8 επιπλέον ζιζανιοκτόνα (lab)	Δεν εξετάστηκε	Δεν εξετάστηκε	Δεν εξετάστηκε	Ισχυρή αναστολή νιτροποίησης (εώς 65%)	Δόσο- και εδαφο-εξαρτώμενη επίδραση
Sim et al. (2022)	12 ζιζανιοκτόνα (lab, 3 εδάφη)	Μεταβολή <i>Nitrososphaeraceae</i>	Μείωση σε ASVs <i>Nitrosomonadaceae</i> Καταστολή μόνο στη μέγιστη εφαρμοζόμενη δόση (10x συνιστώμενη, έως 30%)	Μείωση <i>Nitrospira</i>	Αναστολή δυνητικής νιτροποίησης	Επιλεκτικές επιδράσεις σε ASVs
Ma et al. (2025)	Atrazine + Nicosulfuron + Mesotrione (field)	Καταστολή <i>amoA</i> σε όλες τις εφαρμοζόμενες δόσεις (έως 40%)		Μείωση αφθονίας των <i>Nitrospira</i> (-50%)	Αναστολή νιτροποίησης (και αζωτοδέσμευσης)	Διαφοροποίηση με στάδιο καλλιέργειας



Γράφημα 1. Συγκριτική εκτίμηση της επίδρασης ζιζανιοκτόνων στις βασικές ομάδες νιτροποιητικών μικροοργανισμών του εδάφους (AOA, AOB, NOB) βάσει των επιλεγμένων μελετών. Η εκτίμηση βασίστηκε σε ποσοτικά και ποιοτικά δεδομένα από κάθε μελέτη, όπως μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση (*amoA*), στην αφθονία ή σχετική αφθονία μικροοργανισμών και στη λειτουργική δραστηριότητα της νιτροποίησης. Οι τιμές (0–5) αποτυπώνουν τον βαθμό έντασης και διάρκειας των επιδράσεων.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση ανέδειξε σημαντικές και πολυδιάστατες επιδράσεις των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους, επιβεβαιώνοντας ότι οι επιδράσεις αυτές είναι έντονα εξαρτώμενες από τον τύπο της δραστικής ουσίας, τη δόση εφαρμογής, τα χαρακτηριστικά του εδάφους και το εξεταζόμενο χρονικό στάδιο.

Καταρχάς, τα αποτελέσματα των μελετών συντείνουν στο ότι οι επιδράσεις των ζιζανιοκτόνων στους AOA και AOB δεν είναι σταθερές ή γραμμικά προβλέψιμες. Αν και ορισμένες μελέτες ανέφεραν μεγαλύτερη ευαισθησία των AOA, όπως στις εργασίες των Karas et al. (2018) και Ma et al. (2025) η συγκριτική ποσοτική αποτίμηση υποδεικνύει ότι σε αρκετές περιπτώσεις οι AOB καταστέλλονται εξίσου ή περισσότερο από τους AOA. Ειδικότερα, στη μελέτη των Hernández et al. (2011), καταγράφηκε εκλεκτική καταστολή των AOB χωρίς αντίστοιχη επίδραση στους AOA, ενώ και οι Sim et al. (2022) ανέφεραν υψηλή καταστολή ASVs που σχετίζονται με AOB. Στη μελέτη των Zhang et al. (2018), παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της αφθονίας του γονιδίου *amoA* και στους AOA και στους AOB, υποδεικνύοντας ότι και οι δύο ομάδες είναι ευάλωτες στην έκθεση σε atrazine και glyphosate. Τα δεδομένα αυτά καθιστούν σαφές ότι δεν υφίσταται ενιαίο πρότυπο ευαισθησίας και ότι οι αποκρίσεις είναι εξαρτώμενες από το μικροβιακό υπόβαθρο, τις συνθήκες του πειράματος και τον μηχανισμό δράσης κάθε ζιζανιοκτόνου.

Η επίδραση στη λειτουργικότητα του κύκλου του αζώτου ήταν επίσης εμφανής. Η εφαρμογή ζιζανιοκτόνων συσχετίστηκε με αναστολή της νιτροποίησης σε ποικίλες μελέτες (π.χ. Hernández et al., 2011, Sim et al., 2022), ακόμη και σε επίπεδα ίσα ή

μικρότερα αυτών γνωστών παρεμποδιστών νιτροποίησης όπως το DCD ή το ακετυλένιο. Οι Ding et al. (2019) και Ma et al. (2025) ανέδειξαν καταστολή τόσο της νιτροποίησης όσο και της γονιδιακής έκφρασης AOA-*amoA* και *nifH*, ενδείξεις απορρύθμισης βασικών λειτουργιών του κύκλου του αζώτου. Οι Karas et al. (2018) παρατήρησαν έντονες επιδράσεις και από μεταβολίτες του isoproturon (MD-IPU, DD-IPU), γεγονός που υπογραμμίζει τη σημασία της εξέτασης όχι μόνο των αρχικών δραστικών ουσιών αλλά και των παραγόμενων ενδιάμεσων. Αντίστοιχα, στη μελέτη των Zhang et al. (2018), καταγράφηκε μείωση των ρυθμών κατανάλωσης NO_2^- και NO_3^- και σημαντική καταστολή των γονιδίων απονιτροποίησης *nirS* και *nosZ*, ενδείξεις γενικευμένης παρεμπόδισης της λειτουργίας του κύκλου του αζώτου.

Αξιοσημείωτη ήταν η επιλεκτικότητα των επιδράσεων: συγκεκριμένα γένη όπως τα *Nitrosospira*, *Nitrospira*, *Bradyrhizobium* και *Gemmatimonas* φάνηκαν ιδιαίτερα ευάλωτα, πιθανόν λόγω της οικολογικής τους εξειδίκευσης ή της συμμετοχής τους σε ευαίσθητες διεργασίες όπως η αζωτοδέσμευση ή η πλήρης νιτροποίηση (comammox). Οι Ma et al. (2025) και Hernández et al. (2011) τεκμηρίωσαν την καταστολή των *Nitrospira* και *Nitrosospira*, αντίστοιχα, ενώ οι Sim et al. (2022) εντόπισαν διακριτές επιδράσεις σε ASVs με ταξινομική ταυτότητα εντός των *Nitrososphaeraceae*, *Nitrosomonadaceae* και *Nitrospirae*.

Τα παρατηρούμενα αποτελέσματα στις μικροβιακές κοινότητες του εδάφους μπορούν, σε μεγάλο βαθμό, να ερμηνευτούν με βάση τον μηχανισμό δράσης των επιμέρους ζιζανιοκτόνων. Για παράδειγμα, το 2,4-De, ως συνθετική αυξίνη, επηρεάζει την κυτταρική ανάπτυξη μέσω διαταραχών της αυξινικής σηματοδότησης, οδηγώντας πιθανόν σε οξειδωτικό στρες και αναστολή του μικροβιακού μεταβολισμού (Rai, 1992, Ding et al., 2017). Αυτό αιτιολογεί την ισχυρή επίδραση στους αυτότροφους νιτροποιητές που παρατηρήθηκε.

Ομοίως, τα s-triazines όπως το simazine, δρουν αναστέλλοντας τη φωτοσύνθεση στο φωτοσύστημα II, αλλά έχει παρατηρηθεί ότι προκαλούν παράλληλα αναστολή ενζύμων οξειδωσης αμμωνίας, πιθανώς μέσω μη-ειδικών κυτταρικών παρεμβολών (Hernández et al., 2011, Morgante et al., 2010). Το simazine μειώνει δραστικά τους AOB, όπως οι *Nitrosospira*, ενώ αφήνει τους AOA αμετάβλητους – υποδεικνύοντας εκλεκτικότητα στοχευόμενης αναστολής. Ωστόσο, σε άλλες triazines όπως το atrazine (Zhang et al., 2018), καταγράφηκε αναστολή και των δύο ομάδων (AOA και AOB), γεγονός που αναδεικνύει διαφοροποίηση εντός της ίδιας χημικής κατηγορίας και ενισχύει την ανάγκη να αποφεύγονται υπεραπλουστεύσεις ως προς τον μηχανισμό τοξικής επίδρασης.

Οι αναστολείς του ALS (π.χ. nicosulfuron) έχουν συσχετιστεί με διακοπή στη σύνθεση αμινοξέων (βάλινη, λευκίνη, ισολευκίνη), η οποία μπορεί να πλήξει τη μικροβιακή αύξηση και ανάπτυξη (Ma et al., 2025). Η παρατηρούμενη μείωση της έκφρασης του *nifH* και του *amoA* (AOA) στις εφαρμογές nicosulfuron, ενισχύει την υπόθεση αυτή.

Ανάλογα, τα ζιζανιοκτόνα τύπου HPPD όπως το mesotrione, αναστέλλουν τη βιοσύνθεση πλαστοκινόνων, ουσιών με ρόλο και σε μη φωτοσυνθετικές

μεταβολικές οδούς, και συνδέονται με διαταραχή λειτουργιών του κύκλου του αζώτου (Du et al., 2018, Ma et al., 2025).

Τέλος, η επίδραση του chlorsulfuron, αναστολέα της συνθετάσης ALS, φαίνεται να εκτείνεται και σε μη στοχευόμενες μικροβιακές ομάδες, όπως οι AOA (Sim et al., 2022), πιθανόν λόγω ομολογίας του στόχου ενζύμου μεταξύ φυτικών και μικροβιακών οργανισμών (Pampulha and Oliveira, 2006). Παρόμοια, οι Zhang et al. (2018) έδειξαν ότι τα ζιζανιοκτόνα glyphosate και atrazine, παρότι έχουν διαφορετικούς μηχανισμούς στόχευσης (EPSPS και φωτοσύστημα II αντίστοιχα), οδηγούν και τα δύο σε μείωση λειτουργικών γονιδίων νιτροποίησης και απονιτροποίησης (*amoA*, *nirS*, *nosZ*), καταδεικνύοντας ότι οι επιδράσεις δεν περιορίζονται στον πρωτεύοντα βιοχημικό στόχο αλλά εξαπλώνονται σε ευρύτερες μικροβιακές διεργασίες. Συνολικά, η σύνδεση του μηχανισμού δράσης των ζιζανιοκτόνων με τις μικροβιακές αποκρίσεις παρέχει ένα ισχυρό ερμηνευτικό πλαίσιο για την κατανόηση των διαφορών που παρατηρούνται μεταξύ ενώσεων, εδαφών και οργανισμών-στόχων.

Σημαντική ήταν και η χρονολογική διακύμανση των επιδράσεων. Οι Ma et al. (2025) έδειξαν εντονότερη αναστολή της νιτροποίησης στα αρχικά στάδια της καλλιέργειας (σπορά, γόνατο), με ανάκαμψη στη φάση ωρίμανσης, γεγονός που συνδέθηκε με την αποδόμηση των ζιζανιοκτόνων. Παρόμοια, οι Jenkins et al. (2017) τόνισαν τη χρονική ασυνέπεια των επιδράσεων του glyphosate, υποδηλώνοντας την αλληλεπίδραση φυσικοχημικών παραμέτρων εδάφους, τύπου καλλιέργειας και κατεργασίας.

Από τα παραπάνω καθίσταται σαφές ότι τα ζιζανιοκτόνα δεν επηρεάζουν γραμμικά ούτε ομοιόμορφα τους μικροοργανισμούς του κύκλου του αζώτου, συμπεριλαμβανομένων των νιτροποιητικών μικροοργανισμών. Η επίδρασή τους εξαρτάται από ένα σύνθετο πλέγμα παραμέτρων, όπως η ευπάθεια συγκεκριμένων γενών, η περιεκτικότητα του εδάφους σε άζωτο και οργανική ύλη, το pH και το ιστορικό χρήσης των ζιζανιοκτόνων. Ιδιαίτερα οι νιτρωδοποιητικοί μικροοργανισμοί (AOB και AOA) φαίνεται να αποτελούν αξιόπιστους βιοδείκτες ευαισθησίας, λόγω της συνεπούς καταστολής τους σε πληθώρα μελετών, όπως προτείνουν και οι Papadopoulou et al. (2016) και Singh et al. (2015).

Τέλος, απαιτούνται μακροχρόνιες και πολυεπίπεδες μελέτες που να λαμβάνουν υπόψη τη συνολική λειτουργία του οικοσυστήματος, καθώς οι επιδράσεις των ζιζανιοκτόνων μπορεί να σωρεύονται με τον χρόνο. Κρίσιμη είναι η διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στη μικροβιακή ποικιλότητα, τη λειτουργική δυναμική και την αγροοικολογική απόδοση, με χρήση δεικτών όπως η γονιδιακή έκφραση και η ανάλυση μικροβιακών δικτύων.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα συστηματική ανασκόπηση ανέδειξε τη σημαντική και πολυδιάστατη επίδραση των ζιζανιοκτόνων στους νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς του εδάφους, τόσο σε επίπεδο αφθονίας όσο και λειτουργίας. Τα διαθέσιμα δεδομένα καταδεικνύουν ότι η ένταση και η φύση της επίδρασης εξαρτώνται έντονα από τον τύπο της δραστικής ουσίας, τη χορηγούμενη δόση, τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του εδάφους και το στάδιο ανάπτυξης της καλλιέργειας. Αν και πολλές μελέτες αναδεικνύουν αυξημένη ευαισθησία των ΑΟΑ, τα συγκεντρωτικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι οι επιδράσεις των ζιζανιοκτόνων στους ΑΟΑ και ΑΟΒ διαφέρουν ανάλογα με τη χημική ένωση. Σε ορισμένες περιπτώσεις (π.χ. simazine, isoproturon), οι ΑΟΑ καταστέλλονται εντονότερα, ενώ σε άλλες (π.χ. atrazine) οι ΑΟΒ εμφανίζονται περισσότερο ευαίσθητοι γεγονός που επιβεβαιώνει την ανάγκη αποφυγής γενικεύσεων. Ζιζανιοκτόνα όπως το 2,4-De, το simazine, το isoproturon και τα μίγματα atrazine–nicosulfuron–mesotrione αποδείχθηκαν ιδιαίτερα δραστικά, προκαλώντας παρατεταμένη αναστολή της διεργασίας της νιτροποίησης και σαφείς μεταβολές στη δομή των κοινοτήτων των νιτροποιητικών μικροοργανισμών. Ταυτόχρονα, η καταγραφή διαφοροποιήσεων στην έκφραση λειτουργικών γονιδίων, καθώς και οι προβλέψεις μέσω εργαλείων όπως το FAPROTAX, επιβεβαιώνουν ότι τα ζιζανιοκτόνα διαταράσσουν κρίσιμες μικροβιακές λειτουργίες του κύκλου του αζώτου στο έδαφος, με πιο χαρακτηριστική την οξείδωση της αμμωνίας. Επιπλέον, η διαταραχή δεν φαίνεται να περιορίζεται αποκλειστικά στους νιτροποιητές, αλλά εκτείνεται και σε άλλες λειτουργικές ομάδες του κύκλου του αζώτου, όπως τα *Bradyrhizobium*, που εμπλέκονται στην αζωτοδέσμευση, καθώς και σε μικροοργανισμούς αποικοδομητές με γονίδια όπως το *atzC*. Ιδιαίτερη σημασία αποκτά και η χρονική διάσταση της επίδρασης, καθώς παρατηρείται ότι οι επιδράσεις είναι εντονότερες στα αρχικά στάδια της καλλιέργειας και τείνουν να υποχωρούν σταδιακά με την αποδόμηση των ζιζανιοκτόνων. Συνολικά, τα ευρήματα υπογραμμίζουν την ανάγκη για ορθολογική χρήση των ζιζανιοκτόνων, αλλά και για περαιτέρω διερεύνηση που να εστιάζει σε λειτουργικούς δείκτες και μικροβιακούς βιοδείκτες οικοτοξικότητας, όπως τα νιτροδοποιητικά βακτήρια και αρχαία και λαμβάνοντας υπόψη τη διαφοροποιημένη ευαισθησία τους, προκειμένου να διασφαλιστεί η αποτελεσματική παρακολούθηση και διατήρηση της μικροβιακής ισορροπίας των γεωργικών εδαφών.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aislabie, J., Deslippe, J.R. 2013. Soil microbes and their contribution to soil services. In: Dymond, J.R. (Ed.), *Ecosystem services in New Zealand – conditions and trends*. Manaaki Whenua Press, Lincoln, New Zealand, pp. 143–161.
- Das, A.C., Nayek, H., Nongthombam, S.D., 2011. Effect of pendimethalin and quizalofop on N₂-fixing bacteria in relation to availability of nitrogen in a Typic Haplustept soil of West Bengal, India. *Environ. Monit. Assess.* 184, 1985–1989.
- Barman, K.K., Varshney, J.G. 2008. Impact of herbicides on soil environment. *Indian Journal of Weed Science* 40(1&2), 10–17.
- Basu, S., Rao, Y.V. 2020. Environmental effects and management strategies of the herbicides. *International Journal of Bio-resource and Stress Management* 11(6), 518–535. <https://doi.org/10.23910/1.2020.2069d>
- Castignetti, D., Hollocher, T.C. 1983. Heterotrophic nitrification among denitrifiers. *Applied and Environmental Microbiology* 45, 1137–1143.
- Chen, Q., Song, Y., An, Y., Lu, Y., Zhong, G. Soil Microorganisms: Their Role in Enhancing Crop Nutrition and Health. *Diversity* 2024, 16, 734. <https://doi.org/10.3390/d16120734>
- Daims, H., Lebedeva, E.V., Pjevac, P., Han, P., Herbold, C., Albertsen, M., Jehmlich, N., Palatinszky, M., Vierheilig, J., Bulaev, A., Kirkegaard, R.H., von Bergen, M., Rattei, T., Bendinger, B., Nielsen, P.H., Wagner, M. 2015. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature* 528, 504–509.
- Daims, H., Lückner, S., & Wagner, M. 2016. A new perspective on microbes formerly known as nitrite-oxidizing bacteria. *Trends in Microbiology*, 24(9), 699–712. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.05.004>
- Dennis, P.G., Kukulies, T., Forstner, C., Orton, T.G., Pattison, A.B. 2018. The effects of glyphosate, glufosinate, paraquat and paraquat-diquat on soil microbial activity and bacterial, archaeal and nematode diversity. *Scientific Reports* 8, 2119.
- Karpouzias, D.G., Papadopoulou, E., Ipsilantis, I., Friedel, I., Petric, I., Udikovic-Kolic, N., Djuric, S., Kandeler, E., Menkissoglu-Spiroudi, U., Martin-Laurent, F., 2014. Effects of nicosulfuron on the abundance and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi used as indicators of pesticide soil microbial toxicity. *Ecol. Indic.* 39, 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.12.004>
- Ding, H., Zhang, J., Fang, Y., Zheng, X., Zhang, Y., & Chen, D. (2017). Impact of herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid butyl ester on soil nitrogen-transforming bacterial populations in two soils. *International Journal of Agriculture and Biology*, 19, 812–816. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0367>
- Ding, H., Zou, Y., Zheng, X. et al. (2019). Inhibitory effects of different types and doses of herbicides on soil nitrification potentials. *Water Air Soil Pollut*, 230, 198. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4253-3>
- Du, Z., Zhu, Y., Zhu, L., Zhang, J., Li, B., Wang, Jinhua, Wang, Jun, Zhang, C., Cheng, C., 2018. Effects of the herbicide mesotrione on soil enzyme activity and microbial

communities. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 164, 571–578. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.075>

- Francis, C.A., Beman, J.M., Kuypers, M.M.M. 2007. New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation. *ISME Journal* 1, 19–27.
- Hayatsu, M., Katsuyama, C., Tago, K. 2021. Overview of recent researches on nitrifying microorganisms in soil. *Soil Science and Plant Nutrition* 67, 1–12.
- Hernández, M., Dumont, M.G., Yuan, Q., Conrad, R. (2011). Simazine application inhibits nitrification and changes the ammonia-oxidizing bacterial communities in a fertilized agricultural soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 78(3), 511–519.
- Jeyaseelan A, Murugesan K, Thayanithi S, Palanisamy SB. A review of the impact of herbicides and insecticides on the microbial communities. *Environ Res.* 2024 Mar 15;245:118020. doi: 10.1016/j.envres.2023.118020.
- Jenkins, M.B., Locke, M.A., Reddy, K.N., McChesney, D.S., Steinriede, R.W. (2017). Impact of glyphosate-resistant corn, glyphosate applications and tillage on soil nutrient ratios, exoenzyme activities and nutrient acquisition ratios. *Pest Management Science*, 73(1), 78–86. <https://doi.org/10.1002/ps.4413>
- Karas, P.A., Baguelin, C., Pertile, G., Papadopoulou, E.S., Nikolaki, S., Storck, V., Ferrari, F., Trevisan, M., Ferrarini, A., Fornasier, F., Vasileiadis, S., Tsiamis, G., Martin-Laurent, F., & Karpouzas, D.G. (2018). Assessment of the impact of three pesticides on microbial dynamics and functions in a lab-to-field experimental approach. *Science of The Total Environment*, 637–638, 636–646. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.073>
- Kartal, B., Kuenen, J.G., & van Loosdrecht, M.C.M. (2010). Sewage treatment with anammox. *Science*, 328(5979), 702–703. <https://doi.org/10.1126/science.1185941>
- Kits, K.D., Sedlacek, C.J., Lebedeva, E.V., Han, P., Bulaev, A., Pjevac, P., Daebeler, A., Romano, S., Albertsen, M., Stein, L.Y., Daims, H., Wagner, M. 2017. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle. *Nature* 549, 269–272.
- Kowalchuk, G.A., Stephen, J.R. 2001. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology. *Annual Review of Microbiology* 55, 485–529.
- Kucharski, J., Włodarczyk, T., Nowak, M., Baćmaga, M. 2009. Effect of soil contamination with herbicides on the nitrification process. *Ecological Chemistry and Engineering A* 16(8), 1005–1012.
- Kuenen, J.G. 2008. Anammox bacteria: from discovery to application. *Nature Reviews Microbiology* 6, 320–326.
- Lotti, T., Kleerebezem, R., & van Loosdrecht, M.C.M. (2014). Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture. *Water Research*, 60, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.04.017>
- Lücker, S., Wagner, M., Maixner, F., Pelletier, E., Koch, H., Vacherie, B., Rattei, T., Damsté, J.S.S., Spieck, E., Le Paslier, D., Daims, H. 2010. A *Nitrospira* metagenome illuminates the physiology and evolution of globally important nitrite-

- oxidizing bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 107, 13479–13484.
- Ma, Q., Zhou, Y., Parales, R.E., Jiao, S., Ruan, Z., Li, L. (2025). Effects of herbicide mixtures on the diversity and composition of microbial community and nitrogen cycling function on agricultural soil: A field experiment in Northeast China. *Environmental Pollution*, 372, 125965. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2025.125965>
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. 2003. *Brock Biology of Microorganisms*, 10th edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.
- Mandic, L., Kendirlioglu, G., Schöler, A., Chen, H., Streit, W.R. 2021. Glyphosate application affects the soil microbiome and nitrogen cycling. *Environmental Microbiome* 16, 17.
- Madsen, E.L. 2011. Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. *Current Opinion in Biotechnology* 22, 456–464.
- Manuchehri, M. 2017. *Herbicide How-To: Understanding Herbicide Mode of Action*. Oklahoma State University Extension.
- Martens-Habbena, W., Berube, P.M., Urakawa, H., de la Torre, J.R., & Stahl, D.A. (2009). Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying archaea and bacteria. *Nature*, 461, 976–979. <https://doi.org/10.1038/nature08465>
- Morgante, V., López-López, A., Flores, C., González, M., González, B., Vásquez, M., Rosselló-Móra, R., & Seeger, M. (2010). Bioaugmentation with *Pseudomonas* sp. strain MHP41 promotes simazine attenuation and bacterial community changes in agricultural soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 71(1), 114–126. Erratum in *FEMS Microbiology Ecology*, 72, 152.
- Mohamed, M., Aliyat, F.Z., Ben Messaoud, B. et al. Effects of Pesticides Use (Glyphosate & Paraquat) on Biological Nitrogen Fixation. *Water Air Soil Pollut* 232, 419 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05367-x>
- Pampulha, M.E., Oliveira, A., 2006. Impact of an herbicide combination of bromoxynil and prosulfuron on soil microorganisms. *Curr. Microbiol.* 53 (3), 238–243. <https://doi.org/10.1007/s00284-006-0116-4>
- Papadopoulou, E.S., Tsachidou, P., Sulowic, S., Menkissoglu-Spiroudi, U., Karpouzas, D.G., 2016. Land spreading of wastewaters from the fruit packaging industry and potential effects on soil microbes: effects of the antioxidant ethoxyquin and its metabolites on ammonia oxidizers. *Appl. Environ. Microbiol.* 82, 747–755.
- Parks, D.H., Chuvochina, M., Chaumeil, P.A., Rinke, C., Mussig, A.J., & Hugenholtz, P. (2020). A complete domain-to-species taxonomy for Bacteria and Archaea. *Nature Biotechnology*, 38, 1079–1086. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0501-8>
- Pinto, A.J., Marcus, D.N., Ijaz, U.Z., Bautista-de los Santos, Q.M., Dick, G.J., Raskin, L. 2015. Metagenomic evidence for the presence of comammox Nitrospira-like bacteria in a drinking water system. *mSphere* 1, e00054-15.
- Prosser, J.I., Nicol, G.W. (2012). Archaeal and bacterial ammonia-oxidisers in soil: The quest for niche specialisation and differentiation. *Trends in Microbiology*, 20(11), 523–531. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.08.001>

- Radniecki, T.S., Lauchnor, E.G. 2011. Nitric oxide metabolism of nitrifying bacteria. In: Ward, B.B., Arp, D.J., Klotz, M.G. (Eds.), *Nitrification*. American Society for Microbiology, Washington, DC, pp. 249–261.
- Rai, J.P.N., 1992. Effects of long-term 2,4-D application on microbial populations and biochemical processes in cultivated soil. *Biol. Fertil. Soils*, 13: 187–191
- Rashid, B., Husnain, T., Riazuddin, S. 2010. Herbicides and Pesticides as Potential Pollutants: A Global Problem. In: Ashraf, M., Öztürk, M., Ahmad, M.S.A., Aksoy, A. (eds) *Plant Adaptation and Phytoremediation*. Springer, Dordrecht. Chapter 19, pp. 427–447.
- Sansupa, C., Wahdan, S., Hossen, S., Disayathanoowat, T., Wubet, T., & Purahong, W. (2021). Can We Use Functional Annotation of Prokaryotic Taxa (FAPROTAX) to Assign the Ecological Functions of Soil Bacteria? *Applied Sciences*, 11(2), 688. <https://doi.org/10.3390/app11020688>
- Sherwani, S.I., Arif, I.A., Khan, H.A. 2015. Modes of action of different classes of herbicides. In: *Herbicides, Physiology of Action, and Safety*. IntechOpen.
- Sim, J.X.F., Doolette, C.L., Vasileiadis, S., et al. (2022). Pesticide effects on nitrogen cycle related microbial functions and community composition. *Science of The Total Environment*, 807(1), 150734. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150734>
- Singh, S., Gupta, R., Kumari, M., Sharma, S., 2015. Non-target effects of chemical pesticides and biological pesticide on rhizospheric microbial community structure and function in Vignaradiata. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 11290–11300.
- Singh, S., Kumar, V., Gill, J.P.K., Datta, S., Singh, S., Dhaka, V., Kapoor, D., Wani, A.B., Dhanjal, D.S., Kumar, M., Harikumar, S.L., Singh, J., 2018. Herbicide Glyphosate: Toxicity and Microbial Degradation. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15, 219.
- Stahl, D.A., de la Torre, J.R. 2012. Physiology and diversity of ammonia-oxidizing archaea. *Annual Review of Microbiology* 66, 83–101.
- Stein, L.Y., Klotz, M.G. 2016. The nitrogen cycle. *Current Biology* 26, R94–R98.
- Teske, A., Alm, E., Regan, J.M., Toze, S., Rittmann, B.E., Stahl, D.A. 1994. Evolutionary relationships among ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria. *Journal of Bacteriology* 176, 6623–6630.
- van Kessel, M.A.H.J., Speth, D.R., Albertsen, M., Nielsen, P.H., Op den Camp, H.J.M., Kartal, B., Jetten, M.S.M., Lüscher, S. 2015. Complete nitrification by a single microorganism. *Nature* 528, 555–559.
- Wan, R., Wang, Z., Xie, S. (2014). Dynamics of communities of bacteria and ammonia-oxidizing microorganisms in response to simazine attenuation in agricultural soil. *Science of The Total Environment*, 472, 502–508. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.090>
- Ward, B.B. 2013. *Nitrification*. Princeton University, Princeton, NJ, USA.
- Wright, C.L., & Lehtovirta-Morley, L.E. (2023). Nitrification and beyond: metabolic versatility of ammonia oxidising archaea. *The ISME Journal*, 17(9), 1358–1368. <https://doi.org/10.1038/s41396-023-01467-0>

- Zain, N.M., Mohamad, R.B., Husni, M.H.A., Ahmad, D. 2013. Effects of selected herbicides on soil microbial populations in oil palm plantation. *African Journal of Microbiology Research* 7(24), 3081–3087.
- Zhang, M., Wang, W., Tang, L., Heenan, M., & Xu, Z. (2018). Effects of nitrification inhibitor and herbicides on nitrification, nitrite and nitrate consumptions and nitrous oxide emission in an Australian sugarcane soil. *Biology and Fertility of Soils*, 54(6), 697–706. doi:10.1007/s00374-018-1293-6
- Zimdahl, R.L. 2018. *Fundamentals of Weed Science*. 5th ed. Academic Press.
- Λόλας Π. 2007. *Ζιζανιολογία, Ζιζάνια-Ζιζανιοκτόνα, Τύχη και Συμπεριφορά στο Περιβάλλον*. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, 2η έκδοση.