



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ  
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

## ΔΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ



### ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

---

**"Νέα προϊόντα βιολογικής προέλευσης στη γεωργική πρακτική:  
Πλεονεκτήματα και προβλήματα της υιοθέτησής τους σε επίπεδο  
παραγωγής και περιβαλλοντικής προστασίας- Κανονιστικά πλαίσια  
εφαρμογής τους"**

---

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ ΚΑΛΛΙΟΠΗ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΑΝΔΡΙΚΟΠΟΥΛΟΣ  
Α.Μ. 00047  
ΑΘΗΝΑ, 2022**

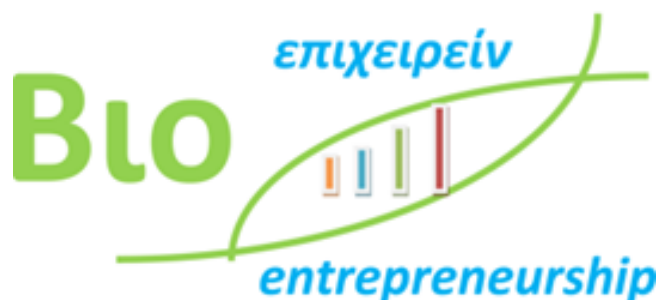


UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY



NATIONAL HELLENIC RESEARCH FOUNDATION  
INSTITUTE OF BIOLOGY, MEDICINAL CHEMISTRY & BIOTECHNOLOGY

**INTERSTITUTIONAL PROGRAM OF POSTGRADUATE STUDIES  
IN  
BIOENTREPRENEURSHIP**



**MASTER THESIS**

---

**“New products of biological origin in agricultural practice: Advantages and problems of their adoption in terms of production and environmental protection - Regulatory frameworks for their implementation”**

---

**SUPERVISOR: PAPAPOPOULOU KALLIOPE, PROFESSOR AT UNIVERSITY OF THESSALY**

**NIKOLAOS ANDRIKOPOULOS**  
**Registration Number: 00047**  
**ATHENS, 2022**

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο σπουδών για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στο

## **ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ**

που απονέμει το Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Εγκρίθηκε την ..... από την τριμελή εξεταστική επιτροπή:

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

<b>ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ</b>	<b>ΒΑΘΜΙΔΑ</b>	<b>ΥΠΟΓΡΑΦΗ</b>
Παπαδοπούλου Καλλιόπη	Καθηγήτρια, Παν/μιο Θεσσαλίας	
Ζωγράφος Σπυρίδων	Ερευνητής Α, ΕΙΕ	
Πλέτσα Βασιλική	Ερευνήτρια Β, ΕΙΕ	

## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην επιβλέπουσα Καθηγήτριά μου, κ. Παπαδοπούλου Καλλιόπη, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και μου ανάθεσε το εξαιρετικά ενδιαφέρον θέμα της παρούσας διατριβής. Την ευχαριστώ για τις συζητήσεις μας, μέσα από τις οποίες προέκυψαν τα ερωτήματα στα οποία βασίστηκε η παρούσα διατριβή, το ενδιαφέρον της και την επιστημονική καθοδήγησή της σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ .....	1
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	3
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	5
1.1. Σκοπός της εργασίας.....	6
2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	8
2.1. Βιολιπάσματα – Νέα βιολιπάσματα .....	8
2.1.1. Ορισμός βιολιπάσματος .....	8
2.1.2. Τύποι βιολιπασμάτων .....	8
2.1.3. Νέα βιολιπάσματα.....	15
2.1.4. Αποτελέσματα δράσης των νανοβιολιπασμάτων.....	22
2.1.5. Σύγκριση νανοβιολιπασμάτων και συμβατικών λιπασμάτων .....	25
2.1.6. Ασφάλεια χρήσης των νανοβιολιπασμάτων.....	27
2.1.7. Παγκόσμια και Ευρωπαϊκή αγορά βιολιπασμάτων .....	28
2.1.8. Νανοϋλικά και νανοτεχνολογία στην Ευρωπαϊκή Ένωση .....	32
2.1.9. Ευρωπαϊκοί και Διεθνείς Κανονισμοί .....	34
2.2. Βιοπαρασιτοκτόνα – Νέα βιοπαρασιτοκτόνα.....	38
2.2.1 Ορισμός βιοπαρασιτοκτόνων .....	38
2.2.2 Κατηγορίες βιοπαρασιτοκτόνων .....	38
2.2.3 Πλεονεκτήματα βιοπαρασιτοκτόνων.....	42
2.2.4 Νέα βιοπαρασιτοκτόνα.....	42
2.2.5 Τρέχουσα κατάσταση στην αγορά βιοπαρασιτοκτόνων .....	54
2.2.6 Κανονισμοί Ευρωπαϊκής Ένωσης για τα βιοπαρασιτοκτόνα.....	55
2.2.7 Επικείμενες αλλαγές στην Ευρωπαϊκή αγορά.....	58
2.2.8 Κανονισμοί βιοπαρασιτοκτόνων στις ΗΠΑ.....	58
3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	60
3.1. Βιολιπάσματα - Νανοβιολιπάσματα.....	60
3.2. Βιοπαρασιτοκτόνα - Νανοβιοπαρασιτοκτόνα.....	64

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	68
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	70

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

- Εικόνα 1.** Οδοί πρόσληψης, μετατόπισης και βιομετατροπής των διαφόρων νανοσωματιδίων στο εσωτερικό του φυτού. Αριστερά, παριστάνεται ένα φυτό με την επιλεκτική πρόσληψη και μετατόπιση των νανοσωματιδίων. Δεξιά, σε μία εγκάρσια τομή της ζώνη προσρόφησης της ρίζας παριστάνεται η διαφοροποιημένη αλληλεπίδραση των νανοσωματιδίων κατά την έκθεση. (πηγή: Rico et al., 2011).....18
- Εικόνα 2.** Σύγκριση του δείκτη υγείας εδάφους σε εφαρμογές λιπασμάτων διαφορετικών γενεών (1G πρώτη γενιά – χημικό λίπασμα, 2G δεύτερη γενιά – οργανικό λίπασμα, 3G τρίτη γενιά – ενισχυτές ανάπτυξης, 4G τέταρτη γενιά – νανοβιολίπασμα) (Πηγή: Tarafdar, 2021). .....23
- Εικόνα 3.** Μερίδιο αγοράς των διαφόρων Ευρωπαϊκών κρατών στην ευρωπαϊκή αγορά βιολιπασμάτων (πηγή: <https://www.researchandmarkets.com/>) .....31

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

- Πίνακας 1.** Μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται ευρέως στη σύνθεση νανοβιολιπασμάτων, ο αριθμός πρόσβασης αυτών των μικροοργανισμών και το αντίστοιχο είδος νανοβιολιπάσματος που προκύπτει από τη χρήση του κάθε μικροοργανισμού.....20
- Πίνακας 2.** Βέλτιστες συγκεντρώσεις (σε ppm) διαφόρων θρεπτικών στοιχείων νανοβιολιπασμάτων για χρήση τους σε διαφυλλική εφαρμογή σε καλλιέργειες αγρωστωδών και ψυχανθών.....22
- Πίνακας 3.** Βιοχημικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως βιοπαρασιτοκτόνα, προέλευση αυτών και μηχανισμός δράσης τους (Προσαρμογή από Campos et al. (2019, Acheuk et al., 2022). .....40
- Πίνακας 5.** Πηγές βιοσύνθεσης νανοσωματιδίων, είδη και μεγέθη αυτών. ....49



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διατριβή διερευνήθηκαν τα νέα είδη βιολιπασμάτων και βιοπαρασιτοκτόνων. Αρχικά, ορίστηκαν τα βιολιπάσματα και οι τύποι αυτών. Στην ενότητα των νέων βιολιπασμάτων, περιγράφηκαν τα νανοβιολιπάσματα, ως ένας υβριδικός συνδυασμός βιολιπασμάτων και νανοσωματιδίων. Στη συνέχεια, διερευνήθηκε η σύνθεσή τους, κατά την οποία πραγματοποιείται ενθυλάκωση του βιολιπάσματος με νανοσωματίδια. Περιγράφηκαν οι βασικές κατηγορίες νανοσωματιδίων και η λειτουργία τους, στην οποία βασίζεται ο τρόπος δράσης των νανοβιολιπασμάτων. Συζητήθηκαν τα πλεονεκτήματα των νανοβιολιπασμάτων έναντι των χημικών λιπασμάτων, ως προϊόντα περιβαλλοντικά ασφαλή και οικονομικά βιώσιμα. Έγινε αναφορά στα προϊόντα βιολίπανσης και στην παρούσα κατάσταση της παγκόσμιας αγοράς. Τέλος, διερευνήθηκαν τα νομοθετικά πλαίσια που διέπουν την παραγωγή και διακίνησή τους. Τα νανοβιολιπάσματα ακόμη δεν καλύπτονται από τους Κανονισμούς στις διάφορες χώρες ανά τον κόσμο. Στις ΗΠΑ, η παραγωγή και χρήση των βιολιπασμάτων έχει ήδη οριστεί, ωστόσο στην Ευρωπαϊκή Ένωση, ο νέος Κανονισμός (ΕΚ) 1009/2019, ο οποίος θα τεθεί σε εφαρμογή τον Ιούλιο του 2022, εισάγει για πρώτη φορά τα βιολιπάσματα ως προϊόντα λίπανσης. Επιπλέον νομοθετικά κενά χρήζουν περαιτέρω προσοχής.

Στην ενότητα των βιοπαρασιτοκτόνων ορίστηκαν τα βιοπαρασιτοκτόνα, οι κατηγορίες και ο τρόπος δράσης τους. Στη συνέχεια, διερευνήθηκαν τα νέα βιοπαρασιτοκτόνα. Έγινε αναφορά στα νέα μικροβιακά στελέχη και τις νέες βιοδραστικές ουσίες, στην μέθοδο του συνδυασμού-συνέργειας δραστικών ουσιών, καθώς και στο συνδυασμό μεθόδων ελέγχου παρασίτων. Στη συνέχεια περιγράφηκαν τα dsRNAi φυτοπροστατευτικά, που αποτελούν γενετικά τροποποιημένα φυτά που ασκούν φυτοπροστατευτική δράση, αναφέρθηκαν οι προβληματισμοί για τη χρήση τους καθώς και οι περιορισμοί στην ευρύτερη εφαρμογή τους. Κατόπιν, έγινε αναφορά στα νανοβιοπαρασιτοκτόνα, που αποτελούν την εφαρμογή μεθόδων βιο και νανο-τεχνολογίας στα φυτοπροστατευτικά προϊόντα και αποτελούν την πλέον εξελιγμένη μορφή φυτοπροστασίας, καθώς βιομόρια δραστικών ουσιών, DNA, RNA και πρωτεϊνών μεταφέρονται στις θέσεις-στόχους μέσω νανοσωματιδίων. Διερευνήθηκε το νομοθετικό πλαίσιο παραγωγής και διακίνησης αυτών των προϊόντων. Στις ΗΠΑ, εγκρίθηκε και τέθηκε σε κυκλοφορία για πρώτη φορά dsRNAi φυτοπροστατευτικό, ενώ η Ευρώπη βρίσκεται ακόμη στη διαδικασία ελέγχου της ασφάλειας χρήσης τους.

**Λέξεις κλειδιά:** βιοπροϊόντα, γενετικά τροποποιημένα φυτά, νανοβιολιπάσματα, νανοβιοπαρασιτοκτόνα, νανοσωματίδια, νανοτεχνολογία

## SUMMARY

In the present thesis the new types of biofertilizers and bioparasiticides were investigated. Initially, biofertilizers and their types were defined. In the section regarding new biofertilizers, nanofertilizers were described as a hybrid combination of biofertilizers and nanoparticles. Next, their composition was investigated, during which the biofertilizer is encapsulated with nanoparticles. Following that, the main categories of nanoparticles and their properties were described, as the mode of action of nanofertilizers is based on those properties. The advantages of nanofertilizers over chemical fertilizers were discussed next, highlighting their economic viability and safe profile towards the environment. Reference was also made to bio-lubrication products and the current state of the world market. Finally, the legal frameworks governing their production and distribution were examined. Nanofertilizers are not yet covered by Regulations in various countries around the world. In the US, the production and use of biofertilizers has already been defined, however in the European Union, the new Regulation (EC) 1009/2019, which will enter into force in July 2022, introduces for the first time biofertilizers as fertilization products. Additional legislative gaps need further attention.

The section regarding bioparasiticides defines bioparasiticides, their categories and their mode of action. The new bioparasiticides were investigated next. Reference was made to the new microbial strains and the new bioactive substances, to the method of combination-synergy of active substances, as well as to the combination of methods of pest control. The dsRNAi plant protection products were then described. These products are genetically modified plants that exert plant protection activities. The concerns regarding their use as well as the limitations regarding their wider application were also mentioned. Then, reference was made to nanobioparasiticides, which are the application of bio- and nano-technology methods in plant protection products. Nanobioparasiticides are the most advanced form of plant protection, as their mode of action includes biomolecules of active substances, DNA, RNA and proteins being transported to target sites via nanoparticles. Finally, the legal framework for the production and distribution of these products was investigated. In the US, a dsRNAi plant protection product was approved and released for the first time, while Europe is still in the process of investigating the safety of such products

**Keywords:** bioproducts, genetically modified plants, nanobiofertilizers, nanobioparasiticides, nanoparticles, nanotechnology

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η γεωργία υπήρξε βασικός μοχλός ανάπτυξης και ανόδου του ανθρώπινου πολιτισμού, παρέχοντας τα μέσα για την ικανοποίηση των διατροφικών αναγκών του παγκόσμιου πληθυσμού, ο οποίος αναμένεται να αυξηθεί κατά 50% περίπου μέχρι το 2050. Οι συνεχώς αυξανόμενες ανάγκες παραγωγής τροφίμων έχουν επιφέρει τεράστιες αλλαγές στη γεωργική πράξη προκειμένου να ανταπεξέλθει στη ζήτηση με βιώσιμο τρόπο (Mishra et al., 2018).

Στα πλαίσια της Πράσινης Επανάστασης, τη δεκαετία του 1960, αναπτύχθηκαν ποικιλίες υψηλών αποδόσεων, η διατήρηση των οποίων προκάλεσε την αλόγιστη χρήση των συνθετικών λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων. Ωστόσο, οι δυσμενείς επιπτώσεις που είχαν στη γονιμότητα των εδαφών, στα υπόγεια ύδατα και στα διάφορα οικοσυστήματα, έθεσαν ερωτηματικά για την ασφάλεια της συνέχισης της χρήσης των συνθετικών αγροχημικών (Thompson et al., 2007). Η στροφή σε προϊόντα οργανικής και βιολογικής προέλευσης, των οποίων το περιβαλλοντικό αποτύπωμα θα ήταν ασφαλέστερο και πιο βιώσιμο, οδήγησε στην ανάπτυξη των βιολιπασμάτων και βιοπαρασιτοκτόνων. Η δράση αυτών των προϊόντων βασίζεται σε ωφέλιμους ζωντανούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι μέσω διαφόρων άμεσων και έμμεσων μηχανισμών προάγουν τη θρέψη των φυτών και την προστασία τους από παθογόνα μικρόβια και άλλες αβιοτικές καταπονήσεις (Fendrihan, 2016). Τα βιολιπάσματα και τα βιοπαρασιτοκτόνα αποτελούν μία οικονομικότερη και περιβαλλοντικά φιλική λύση στα πλαίσια μιας βιώσιμης γεωργίας, όπου οι υψηλές αποδόσεις και η προστασία του περιβάλλοντος συνδυάζονται προς όφελος της υγείας των ανθρώπων και των ζώων (Chojnacka, 2015).

Ωστόσο, παρά τα οφέλη που έχουν τα βιολιπάσματα και τα βιοπαρασιτοκτόνα στη εφαρμογή οικολογικών μεθόδων λίπανσης και φυτοπροστασίας, τα βασικά μειονεκτήματα που διαθέτουν, όπως η μικρή διάρκεια ζωής και τα ασταθή αποτελέσματα που έχουν σε ιδιαίτερα επιβαρυνμένα περιβάλλοντα, περιορίζουν την αποτελεσματικότητα της δράσης τους στην γεωργική πράξη. Η ανάγκη αντιμετώπισης αυτών των περιορισμών που θέτουν τα βιοπροϊόντα λίπανσης και φυτοπροστασίας οδήγησε τους ερευνητές στην ανάπτυξη νέων μεθόδων, περισσότερο αποτελεσματικών και ταυτόχρονα ασφαλών για το περιβάλλον και τον άνθρωπο.

Η γεωργία ακριβείας που έχει ήδη ξεκινήσει να εφαρμόζεται αποτελεί μία τεράστια επανάσταση στη γεωργία, η οποία από πολλούς θεωρείται ως η Τέταρτη Αγροτική Επανάσταση (Sung, 2018). Στη γεωργία ακριβείας συνδυάζεται η μεγιστοποίηση της απόδοσης των καλλιεργειών με την ελαχιστοποίηση των χρησιμοποιούμενων πόρων (π.χ. λιπάσματα, φυτοπροστατευτικά προϊόντα, νερό), με τη χρήση προηγμένων

εργαλείων και τεχνολογιών, για την παρακολούθηση των περιβαλλοντικών παραμέτρων. Η νανοτεχνολογία θεωρείται ένας από τους σημαντικότερους μοχλούς της γεωργίας ακριβείας, καθώς οι μοναδικές καινοτόμες ιδιότητες των νανοϋλικών θα επιτρέψουν την ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών στρατηγικών για τη διαχείριση των καλλιεργειών (Duhan et al., 2017).

Η νανοτεχνολογία αποτελεί την έκτη κατά σειρά επαναστατικότερη τεχνολογία μετά τη Βιομηχανική Επανάσταση και την Πράσινη Επανάσταση (NAAS, 2013). Η τεχνολογία αυτή προσφέρει τη δυνατότητα να αντιμετωπιστούν αποτελεσματικά διάφορες γεωργικές και περιβαλλοντικές προκλήσεις, όπως οι περιορισμένοι φυσικοί πόροι, η ανάπτυξη ασφαλέστερων φυτοφαρμάκων ως υποκατάστατων των αντίστοιχων συμβατικών, η περιβαλλοντική ρύπανση, η ανάπτυξη ανθεκτικών παρασίτων έναντι των περισσότερων χρησιμοποιούμενων φυτοφαρμάκων, η τοξικότητα για οργανισμούς μη στόχους και τον άνθρωπο, η ασφάλεια των τροφίμων και η παραγωγή ενέργειας (Kim et al., 2018; Kumar et al., 2019). Ταυτόχρονα, προσφέρει βελτιστοποίηση των γεωργικών πρακτικών με στόχο τον αποτελεσματικότερο έλεγχο των θρεπτικών στοιχείων, που είναι απαραίτητα για την επίτευξη υψηλών αποδόσεων, καθώς και των εχθρών-παρασίτων που υποβαθμίζουν τις καλλιέργειες, με περιβαλλοντικά φιλικό τρόπο (Lowry et al., 2019). Το πεδίο εφαρμογής της περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα επιστημών, συμπεριλαμβανομένων της ιατρικής, των φαρμακευτικών προϊόντων, των ηλεκτρονικών και της γεωργίας (Chen et al., 2013). Ειδικότερα, ο αγροτικός τομέας έχει πραγματοποιήσει τεράστια άλματα με την εφαρμογή νανοτεχνολογικών μεθόδων σε τομείς όπως η γενετική βελτίωση, η νανοβιοεπεξεργασία, η λίπανση και η φυτοπροστασία (Mishra et al., 2018).

Τα νανολιπάσματα και τα νανοπαρασιτοκτόνα ήταν το πρώτο βήμα προς την κατεύθυνση ενσωμάτωσης της νανοτεχνολογίας στην γεωργική πράξη (Jogaiah, 2021). Αποτέλεσαν τη νέα γενιά βιολιπασμάτων και παρασιτοκτόνων, την πλέον καινοτόμο προσέγγιση για μια οικολογικότερη γεωργία, περισσότερο φιλική προς την περιβάλλον και τον άνθρωπο.

Στην παρούσα διατριβή παρουσιάζονται τα νανοβιολιπάσματα, ως τα νέα βιολιπάσματα, και τα νανοβιοπαρασιτοκτόνα, ως τα νέα βιοπαρασιτοκτόνα και διερευνάται η δράση τους, η ασφάλεια της χρήσης τους και οι κανονισμοί που διέπουν την παραγωγή και διακίνησή τους σε ευρωπαϊκό και παγκόσμιο επίπεδο.

## **1.1. Σκοπός της εργασίας**

Τα βιολογικά προϊόντα λίπανσης και φυτοπροστασίας αποτέλεσαν την αρχή για μία περιβαλλοντικά φιλική γεωργική πράξη. Σε συνέχεια αυτών, αναπτύχθηκαν νέα

βιοπροϊόντα που διαθέτουν πιο σταθερά και αξιόπιστα χαρακτηριστικά. Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να διερευνηθούν τα νέα είδη βιολιπασμάτων και βιοπαρασιτοκτόνων, που αναπτύχθηκαν και συνεχίζουν να αναπτύσσονται με βάση σύγχρονες καινοτόμες μεθόδους (νανοτεχνολογία και βιοτεχνολογία) και αποτελούν το επόμενο βήμα σε μία οικονομικά βιώσιμη και πράσινη γεωργία. Στους επιμέρους στόχους αναφέρονται:

- 1) Ορισμός και κατηγοριοποίηση των βιολιπασμάτων και βιοπαρασιτοκτόνων.
- 2) Διερεύνηση των νέων μορφών αυτών των βιοπροϊόντων.
- 3) Εκτίμηση της βιολογικής και οικονομικής σημασίας τους.
- 4) Πλεονεκτήματα που διαθέτουν σε σχέση με τα συμβατικά προϊόντα λίπανσης και φυτοπροστασίας.
- 5) Θέματα ασφάλειας και περιβαλλοντικής προστασίας που προκύπτουν κατά την εφαρμογή τους.
- 6) Κανονισμοί που διέπουν την παραγωγή και διάθεση τους σε ευρωπαϊκό και παγκόσμιο επίπεδο και πιθανά κενά αυτών.
- 7) Ανασκόπηση της ευρωπαϊκής και παγκόσμιας αγοράς βιολιπασμάτων και βιοπαρασιτοκτόνων.

## 2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

### 2.1. Βιολιπάσματα – Νέα βιολιπάσματα

#### 2.1.1. Ορισμός βιολιπάσματος

Ο όρος βιολογικό λίπασμα ή βιολίπασμα έχει οριστεί από διάφορους συγγραφείς. Ο (Vessey, 2003) ορίζει το βιολίπασμα ως «*μία ουσία που περιέχει ζωντανούς μικροοργανισμούς οι οποίοι, όταν εφαρμοστούν σε σπόρους, φυτικές επιφάνειες ή στο έδαφος, αποικίζουν τη ριζόσφαιρα ή το εσωτερικό του φυτού και προάγουν την ανάπτυξη ενισχύοντας την παροχή ή τη διαθεσιμότητα των πρωτογενών θρεπτικών συστατικών στο φυτό ξενιστή*». Οι Herrmann και Lesueur (2013) αναφέρουν ότι βιολίπασμα είναι κάθε προϊόν το οποίο περιέχει μικροοργανισμούς εδάφους και το οποίο εφαρμόζεται στα φυτά με σκοπό την προώθηση της ανάπτυξής τους. Οι Suyal et al. (2016) ορίζουν το βιολίπασμα ως «*ένα σκεύασμα στο οποίο περιέχονται σε ενεργή ή λανθάνουσα κατάσταση στελέχη μικροοργανισμών, κυρίως βακτηρίων, μεμονωμένων ή σε συνδυασμό με φύκια ή μύκητες, τα οποία μπορούν να αποκαταστήσουν άμεσα ή έμμεσα τη μικροβιακή δραστηριότητα, προκειμένου να ενισχυθεί η κινητοποίηση των θρεπτικών ουσιών του εδάφους*». Οι Singh et al. (2019) ορίζουν το βιολίπασμα ως «*τεχνητά διατηρούμενες καλλιέργειες μικροοργανισμών εδάφους που μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τη μορφή μικροβιακών εμβολίων ή εμβολίων εδάφους για τη βελτίωση της γονιμότητας του εδάφους και της παραγωγικότητας των φυτών*». Στους Aloo et al. (2021) αναφέρεται ότι τα βιολιπάσματα είναι ενεργοί βιολογικοί παράγοντες οι οποίοι προάγουν την ανάπτυξη των φυτών ενισχύοντας τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών ουσιών στη ριζόσφαιρα μέσω μιας ποικιλίας βιογεωχημικών διεργασιών. Από τους παραπάνω ορισμούς προκύπτει ότι αναγκαία προϋπόθεση για τη δράση του βιολιπάσματος είναι η ύπαρξη σε αυτό ζωντανών μικροοργανισμών, οι οποίοι μέσω της συνεργασίας τους με το φυτό-ξενιστή θα επιφέρουν τα ευεργετικά αποτελέσματα στο επίπεδο θρέψης του (Vessey, 2003). Οι μικροοργανισμοί, επομένως, που περιέχονται σε ένα βιολίπασμα είναι αυτοί που καθορίζουν τον τρόπο δράσης του βιολιπάσματος και τα οφέλη της εφαρμογής του. Ως εκ τούτου, τα βιολιπάσματα ταξινομούνται ανάλογα με τους μικροοργανισμούς που περιέχουν και τον τρόπο δράσης αυτών (Itelima et al., 2018).

#### 2.1.2. Τύποι βιολιπασμάτων

##### 2.1.2.1. Βιολιπάσματα δέσμευσης αζώτου

Η δέσμευση του αζώτου (*nitrogen fixation, NF*) αναφέρεται στη διαδικασία μετατροπής του ανενεργού ατμοσφαιρικού αζώτου σε αφομοιώσιμες για το φυτό μορφές (π.χ.  $\text{NH}_3$ ) μέσω της δράσης διαφόρων μικροοργανισμών, όπως τα βακτήρια *Rhizobium*, τα *Azotobacter* sp., τα *Azospirillum* sp. και τα *Cyanobacteria* sp. (García-Fraile et al., 2015).

***Rhizobium***. Στην κατηγορία αυτή, η οποία συναντάται μόνο στα ψυχανθή, εντάσσονται τα γένη *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium* και *Allorhizobium*, με το γενικό όνομα *Rhizobia* (Patel & Sinha, 2011). Τα *Rhizobia*, ανάλογα με το είδος του φυτού ξενιστή, μπορούν να δεσμεύσουν από 50 έως 100 kg N/ha/έτος (Shridhar, 2012). Επομένως, κατά την παραγωγή βιολιπασμάτων πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συμβατότητα μεταξύ των οργανισμών (Macik et al., 2020). Τα *Rhizobia* σχηματίζουν τα φυμάτια στο ριζικό σύστημα των φυτών, εκτός από τα στελέχη του είδους *Azorhizobium*, τα οποία σχηματίζουν βλαστικά φυμάτια (Gourion et al., 2015). Τα *Azorhizobium* μπορούν να παράγουν μεγάλες ποσότητες ινδολο-οξικού οξέος (IAA), της αυξητικής ορμόνης που προάγει την ανάπτυξη του φυτού.

Οι έρευνες έδειξαν ότι η εφαρμογή ριζοβιακών εμβολίων αυξάνει την απόδοση των καλλιεργειών. Το είδος *Bradyrhizobium* προάγει την ανάπτυξη των φυτών, τον μικροβιακό πληθυσμό του εδάφους και τη φυτική βιομάζα, περιορίζοντας ταυτόχρονα τον πληθυσμό των ζιζανίων (Youssef & Eissa, 2014). Εμβόλια *Rhizobium* σε καλλιέργεια φασολιού αύξησαν κατά 68% τη δραστηριότητα της νιτρογενάσης, 25-30% το φύλλωμα των φυτών και κατά 16% το περιεχόμενο άζωτο των καρπών (Glick, 2015). Ορισμένα στελέχη *Rhizobia* μπορούν να βιοσυνθέτουν το ένζυμο ACC δεαμινάση, το οποίο περιορίζει την παραγωγή αιθυλενίου στα φυτά και αυξάνει τη βιομάζα των φυτών (Zahir et al., 2011). Ριζοβιακά στελέχη που δε διαθέτουν αυτή τη δυνατότητα μπορούν να τροποποιηθούν γενετικά ώστε να αποκτήσουν αυτό το χαρακτηριστικό (Glick, 2014).

***Azotobacter***. Τα βακτήρια αυτά μπορούν να δεσμεύσουν έως και 20 kg N/ha/έτος (Mahanty et al 2017), χωρίς το σχηματισμό φυματίων. Επίσης, βιοσυνθέτουν ενώσεις απαραίτητες για την ανάπτυξη των φυτών (γιββεριλίνες, αυξίνες, κυτοκινίνες, νικοτινικό και πανθοτενικό οξύ, βιταμίνες συμπλέγματος B), καθώς και αντιβιοτικές ενώσεις που προστατεύουν τα φυτά από διάφορα παθογόνα στη ριζόσφαιρα. Επιπλέον, διεγείρουν τη δραστηριότητα των ενδογενών εδαφικών μικροοργανισμών, αυξάνοντας τη φυτική παραγωγή (Mahato & Kafle, 2018). Το *Azotobacter chroococcum* αποτελεί το πιο κοινό είδος σε καλλιεργήσιμα εδάφη (Moraditochae et al., 2014), ενώ έχουν επίσης αναφερθεί είδη όπως τα *A. vinelandii*, *A. beijerinckii*, *A. insignis* και *A. macrocytogenes* (Mishra et al., 2013).

**Azospirillum.** Μπορούν να δεσμεύσουν 20–40 kg N/ha/έτος και ο εμβολιασμός των φυτών οδηγεί σε αύξηση των αποδόσεων κατά 5–10%. Τα είδη *A. lipoferum* και *A. brasilense* αποτελούν τα κυριότερα είδη που χρησιμοποιούνται ως βιολιπάσματα (Mishra et al. 2013). Χρησιμοποιούνται κατά βάση σε καλλιέργειες αραβοσίτου, ζαχαροκάλαμου και σόργου. Παράγουν αυξητικούς παράγοντες (IAA, γιββεριλίνες και κυτοκίνη), και ενισχύουν την ανάπτυξη των ριζών παρέχοντας μεγαλύτερη ριζική επιφάνεια για την απορρόφηση επαρκών ποσοτήτων θρεπτικών συστατικών (N, P και K) (Saikia et al. 2013). Ο εμβολιασμός, επομένως, με είδη *Azospirillum* βελτιώνει την υδατική κατάσταση του φυτού και τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών.

**Cyanobacteria – Azolla.** Τα περισσότερα κυανοβακτήρια (ή μπλε-πράσινα άλγη, BGA) προέρχονται από διάφορα γένη, όπως *Nostoc*, *Anabaena*, *Aulosira*, *Cylindrospermum*, *Calothrix*, *Tolypothrix* και *Stigonema*. Η αζωτοδέσμευση πραγματοποιείται σε εξειδικευμένα κύτταρα που διαθέτουν αυτοί οι μικροοργανισμοί, τις ετεροκύστες (Kumar et al., 2010). Ωστόσο, ικανότητα αζωτοδέσμευσης διαθέτουν και τα μονοκύτταρα γένη κυανοβακτηρίων *Aphanothece*, *Chroococciopsis* και *Dermocapsa*, που δεν έχουν ετεροκύστες, καθώς και τα νηματοειδή γένη *Oscillatoria*, *Schizothrix* και *Trichodesmium* (Berrendero et al., 2016). Τα βακτήρια *Azolla* αποσυντίθεται εύκολα στο έδαφος και παρέχουν στα φυτά άμεσα διαθέσιμο άζωτο. Επιπλέον, διαλυτοποιούν τις αδιάλυτες φωσφορικές ενώσεις βελτιώνοντας με αυτόν τον τρόπο τη διαθεσιμότητα του φωσφόρου του εδάφους στα φυτά (Rai et al., 2019). Συμβάλλουν επίσης στην παροχή καλίου, ψευδαργύρου, σιδήρου, μολυβδαινίου και άλλων μικροθρεπτικών συστατικών. Τα κυανοβακτήρια παράγουν ποικίλες ενώσεις που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών (αμινοξέα, πολυπεπτίδια, βιταμίνες), αντιβακτηριακές / αντιμυκητιασικές ενώσεις καθώς και φυτοορμόνες (αυξίνες, ινδολο-οξικό οξύ (IAA), γιββεριλίνες) (Rathod et al., 2018).

#### 2.1.2.2. Βιολιπάσματα φωσφόρου

Το έδαφος περιέχει μεγάλες ποσότητες φωσφόρου ωστόσο το 95-99% αυτού του φωσφόρου είναι αδιάλυτο (είτε ως ανόργανη ύλη, είτε ως κάποια φωσφορική ένωση) κι επομένως μη διαθέσιμο για τα φυτά (Mahdi et al., 2012). Ακόμη και κατά την εφαρμογή χημικών φωσφορικών λιπασμάτων, το μεγαλύτερο ποσοστό (περίπου 70-90%) του φωσφόρου ακινητοποιείται πολύ γρήγορα μετά την εφαρμογή του λιπάσματος, καθώς ο φώσφορος σε όξινα εδάφη σχηματίζει ισχυρούς δεσμούς με σίδηρο και αλουμίνιο και σε αλκαλικά εδάφη δεσμούς με μαγνήσιο και ασβέστιο (Chen et al., 2008). Ο φώσφορος καθίσταται διαθέσιμος στα φυτά (σε μονοβασική ( $H_2PO_4^-$ ) και διβασική ( $HPO_4^{2-}$ ) μορφή) μέσω της δράσης διάφορων αερόβιων και αναερόβιων βακτηρίων. Τα φωσφορικά



βιολιπάσματα διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: σε αυτά που διαλυτοποιούν το φώσφορο και σε αυτά που τον κινητοποιούν.

**Βιολιπάσματα διαλυτοποίησης - ανοργανοποίησης φωσφόρου.** Στην κατηγορία αυτή συμπεριλαμβάνονται στελέχη βακτηρίων και μυκήτων, όπως τα γένη *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Acetobacter*, *Flavobacterium*, και *Erwinia*, που διαλυτοποιούν τις αδιάλυτες ανόργανες και ανοργανοποιούν τις οργανικές φωσφορικές ενώσεις. Συγκεκριμένα, κατά τη διαδικασία διαλυτοποίησης του ανόργανου φωσφόρου, τα διάφορα βακτηριακά στελέχη παράγουν χαμηλού μοριακού βάρους οργανικά οξέα, όπως το γλυκονικό και το κιτρικό (Glick, 2012). Τα οξέα αυτά διαθέτουν υδροξυλικές και καρβοξυλικές ομάδες που μπορούν να χηλιώσουν τα κατιόντα που είναι ενωμένα με το φώσφορο, με αποτέλεσμα ο αδιάλυτος φώσφορος να μετατρέπεται σε διαλυτό (Mahanty et al., 2018). Από την άλλη, η ανοργανοποίηση του οργανικού φωσφόρου πραγματοποιείται μέσω της σύνθεσης διαφορετικών φωσφατασών, οι οποίες καταλύουν την υδρόλυση των φωσφορικών εστέρων (Mc Comb et al. 2013). Η διαδικασία αυτή επηρεάζεται από τις φυσικοχημικές και βιοχημικές ιδιότητες των οργανικών φωσφορικών ενώσεων. Για παράδειγμα, τα νουκλεϊκά οξέα, τα φωσφολιπίδια και τα φωσφορικά σάκχαρα ανοργανοποιούνται πιο εύκολα σε σύγκριση με τα φυτικά, τα πολυφωσφορικά και τα φωσφονικά οξέα. Οι δύο διαδικασίες, διαλυτοποίηση και ανοργανοποίηση του φωσφόρου, πραγματοποιούνται από κοινά βακτηριακά στελέχη (Pereira & Castro, 2014), τα οποία διεγείρουν επίσης την αποτελεσματικότητα των αζωτοδεσμευτικών μικροοργανισμών (Mohammadi & Sohrabi, 2012). Βιολιπάσματα διαλυτοποίησης του φωσφόρου έχουν δώσει θετικά αποτελέσματα σε διάφορες καλλιέργειες, όπως αραβόσιτος, σιτάρι, βρώμη, φασόλι, ζαχαροκάλαμο κ.α. (Shrivastava et al., 2018).

**Βιολιπάσματα κινητοποίησης φωσφόρου (μυκόρριζες).** Οι μικροοργανισμοί αυτής της κατηγορίας αυξάνουν την πρόσληψη του φωσφόρου από το φυτό κινητοποιώντας τον φώσφορο του εδάφους αντί να διαλυτοποιούν τις φωσφορικές ενώσεις. Οι μυκορριζικοί μύκητες (*Mycorrhizal fungi*) ή μυκόρριζες (*Mycorrhiza*) αποτελούν τους πιο σημαντικούς κινητοποιητές φωσφόρου, καθώς σχηματίζουν μία συμβιωτική σχέση με τα διάφορα φυτά, με την οποία πραγματοποιείται μία «αμφίδρομη μεταφορά θρεπτικών στοιχείων μεταξύ φυτού-ξενιστή και μύκητα: το φυτό προμηθεύει τους μύκητες με σάκχαρα που παράγονται από τη φωτοσύνθεση, ενώ οι μύκητες βελτιώνουν την ικανότητα του φυτού να απορροφά νερό και θρεπτικά συστατικά» (Smith & Read, 2008). Οι μυκόρριζες διακρίνονται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με το βάθος διείσδυσης των μυκηλίων στον ριζικό ιστό: α) στις **ενδομυκόρριζες**, όπου οι μυκηλιακές υφές διεισδύουν στα κύτταρα του φλοιού (ενδοκυτταρικά) και σχηματίζουν κύστες και, β) στις

**εκτομυκόρριζες**, όπου οι μυκηλιακές υφές δεν εισβάλλουν στο κυτταρικό πρωτόπλασμα της ρίζας και σχηματίζουν (διακυτταρικά) υφές διχτυού.

Οι πιο γνωστές ενδομυκόρριζες είναι οι *Arbuscular Fungi Mycorrhiza* (AFM) οι οποίες περιλαμβάνουν τα γένη *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis*, *Scutellospora* (Sadhana, 2014). Οι μυκόρριζες αυξάνουν την επιφάνεια των ριζών σχηματίζοντας ένα δίκτυο στην ριζόσφαιρα, την κινητικότητα θρεπτικών συστατικών όπως ο φώσφορος και ο ψευδάργυρος, και τη διαθεσιμότητα του νερού σε συνθήκες ξηρασίας. Επίσης, βελτιώνουν την αντοχή των φυτών στα βαρέα μέταλλα, δρουν με διασυστηματικό τρόπο ενάντια σε παθογόνους έχθρους ενώ ταυτόχρονα βελτιώνουν και τη δομή του εδάφους (Bi et al., 2018).

### **2.1.2.3. Βιολιπάσματα διαλυτοποίησης καλίου**

Το κάλιο (K) βρίσκεται στο έδαφος σε τρεις διαφορετικές μορφές: μη διαθέσιμες, βραδέως διαθέσιμες και άμεσα διαθέσιμες μορφές (Cui et al., 2019). Οι άμεσα διαθέσιμες μορφές αποτελούν μόνο ένα ελάχιστο ποσοστό, καθώς το 90–98% του εδαφικού καλίου είναι σε ανόργανη μορφή κι επομένως μη διαθέσιμο για τα φυτά (Etesami et al., 2017). Τα βιολιπάσματα διαλυτοποιούν το μη διαθέσιμο K, καθιστώντας το με αυτό τον τρόπο άμεσα αφομιώσιμο για τα φυτά. Τα βακτήρια, οι μύκητες και οι ακτινομύκητες αποτελούν μικροοργανισμούς που αυξάνουν τη διαθεσιμότητα του καλίου, μέσω της παραγωγής διαφόρων οργανικών οξέων (κιτρικού, οξαλικού, ταρταρικού, κουμαρικού και μαλικού οξέος) και πολυσακχαριτών καθώς και μέσω διαφόρων ενζυμικών αντιδράσεων (Etesami et al., 2017, Kumar et al., 2018). Τέτοιοι μικροοργανισμοί είναι βακτηριακά στελέχη, όπως *Frateriia aurantia*, καθώς και τα συμβιωτικά αζωτοδεσμευτικά βακτήρια του είδους *Herbospirillum* sp. (Mazid & Khan, 2014). Εμβολιασμός των φυτών με βακτήρια γένους *Herbospirillum* αυξάνει την αζωτοδέσμευση και ενισχύει την πρόσληψη καλίου και φωσφόρου. Βοηθάει επίσης στην παραγωγή ορμονών, όπως αυξίνης και γιββεριλίνης (Khan et al., 2011). Στην κατηγορία αυτή ανήκουν επίσης και τα γένη *Aspergillus*, *Bacillus* και *Clostridium* καθώς και τα είδη *Burkholderia* sp., *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Arthrobacter* sp., *Paenibacillus mucilaginosus*, *P. frequentans*, *Cladosporium* sp., *Aminobacter* sp., *Sphingomonas* sp., *Paenibacillus glucanolyticus*, και *Enterobacter hormaechei* (Meena et al., 2016).

### **2.1.2.4. Βιολιπάσματα οξειδωσης – ανοργανοποίησης θείου**

Το θείο βρίσκεται στο έδαφος σε οργανική και ανόργανη μορφή, ωστόσο τα φυτά μπορούν να απορροφήσουν μόνο τις ανόργανες θειικές ενώσεις (π.χ.  $SO_4^{2-}$ ). Όμως, το

ποσοστό του θείου που βρίσκεται σε αυτή την αφομοιώσιμη μορφή είναι λιγότερο από 5% του συνολικού S του εδάφους. Προκειμένου το S να μπορεί να καταστεί βιοδιαθέσιμο για τα φυτά, θα πρέπει να υποστεί χημικές μεταβολές που θα μετατρέψουν το οργανικό S σε ανόργανες μορφές, αφομοιώσιμες από το φυτό. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται από οξειδωτικά βακτήρια, όπως τα γένη *Xanthobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus* και *Pseudomonas*, τα είδη *Thiobacillus ferrooxidans*, *T. denitrificans*, *T. thiooxidans*, *T. Thioparus* (Kumar et al., 2022), τους μύκητες *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., και τους ακτινομύκητες *Streptomyces* sp., με τα βακτήρια να αποτελούν τους πιο αποτελεσματικούς μετατροπείς.

#### **2.1.2.5. Βιολιπάσματα απομόνωσης – διαλυτοποίησης σιδήρου**

Τα φυτά μπορούν να χρησιμοποιήσουν το σίδηρο είτε σε δισθενή ( $Fe^{2+}$ ) είτε σε τρισθενή ( $Fe^{3+}$ ) μορφή. Σε αερόβια περιβάλλοντα συναντάται κυρίως ως  $Fe^{3+}$ , όπου σχηματίζει διαλυτά υδροξείδια και οξυ-υδροξείδια (Mahdi et al., 2010), με αποτέλεσμα το μεγαλύτερο μέρος του σιδήρου να παραμένει μη διαθέσιμο για τα φυτά. Τα βακτήρια προσλαμβάνουν σίδηρο μέσω των σιδηροφόρων, ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους με υψηλή συγγένεια με τα ιόντα σιδήρου (Mahdi et al., 2010, Hider & Kong, 2010). Στην μεμβράνη των βακτηρίων ο  $Fe^{3+}$  μετατρέπεται σε  $Fe^{2+}$ . Τα ιόντα  $Fe^{2+}$  στη συνέχεια απελευθερώνονται από τα σιδηροφόρα στο εσωτερικό του κυττάρου μέσω ενός καναλιού που ενώνει τις εσωτερικές με τις εξωτερικές μεμβράνες (Mahanty et al., 2017). Με αυτόν τον τρόπο, τα σιδηροφόρα δρουν ως παράγοντες διαλυτοποίησης του σιδήρου από τις ανόργανες και οργανικές ενώσεις (Rajkumar et al., 2010). Τα σιδηροφόρα μπορούν επίσης να σχηματίσουν σταθερές ενώσεις με άλλα βαρέα μέταλλα καθώς και ραδιενεργά σωματίδια, όπως το ουράνιο και το ποσειδώνιο (Rajkumar et al. 2012), μειώνοντας με αυτό τον τρόπο την καταπόνηση των φυτών από τις υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στο έδαφος (Glick, 2012).

#### **2.1.2.6. Βιολιπάσματα διαλυτοποίησης ψευδαργύρου**

Ο ψευδάργυρος αποτελεί ένα βασικό ιχνοστοιχείο, που απαιτείται σε χαμηλές συγκεντρώσεις (5–100 mg/kg) για την επίτευξη της άριστης ανάπτυξης των φυτών. Ωστόσο, σε αναερόβιες συνθήκες, τα φυτά χρησιμοποιούν μόνο το 1-4% του συνολικά διαθέσιμου ψευδαργύρου, ενώ κατά την εφαρμογή συμβατικών λιπασμάτων το 75% του ψευδαργύρου δεσμεύεται, σχηματίζοντας αδιάλυτες ενώσεις ψευδαργύρου (Hafeez et al., 2013). Οι μικροοργανισμοί που έχουν την ικανότητα να αυξήσουν τη βιοδιαθεσιμότητα του ψευδαργύρου του εδάφους είναι στελέχη των ριζοβακτηρίων

*Pseudomonas* sp. και *Rhizobium* sp., τα είδη *Bacillus aryabhattai*, *Azospirillum* sp. και *Bacillus* sp. Η διαλυτοποίηση του ψευδαργύρου πραγματοποιείται με διαφορετικό τρόπο, ανάλογα με το pH του εδάφους. Σε όξινα εδάφη βασίζεται στην ανταλλαγή κατιόντων. Σε αλκαλικά εδάφη, ο ψευδάργυρος ενώνεται με το ανθρακικό ασβέστιο ( $\text{CaCO}_3$ ) σχηματίζοντας  $\text{ZnCaCO}_3$ . Άλλοι μηχανισμοί διαλυτοποίησης ψευδαργύρου περιλαμβάνουν τη σύνθεση σιδηροφόρων (Saravanan et al, 2011) και οργανικών οξέων, όπως το γλυκονικό. Ορισμένα βακτηριακά στελέχη, όπως το είδος *Bacillus* sp. μπορούν να βιοσυνθέσουν πλήθος οργανικών οξέων, τα οποία μειώνουν το pH του μικροπεριβάλλοντος γύρω από τη ριζόσφαιρα, με αποτέλεσμα ο ψευδάργυρος να καθίσταται αφομοιώσιμος από τα φυτά. Συγκεκριμένα, οι Zeb et al. (2018) αναφέρουν ότι αύξηση του pH του εδάφους κατά μία μονάδα, οδηγεί σε μείωση της διαθεσιμότητας του ψευδαργύρου κατά 100 φορές.

#### **2.1.2.7. Βιολιπάσματα ενισχυτικά ανάπτυξης**

Στην κατηγορία αυτή εντάσσονται τα γενετικά τροποποιημένα ριζοβακτήρια που ενισχύουν την ανάπτυξη των φυτών και αναφέρονται στη βιβλιογραφία με τον όρο PGPR (Plant growth promoting rhizobacteria)(Nelson, 2004, Agora et al., 2010). Περιλαμβάνουν τα γένη *Actinoplanes*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Amorphosporangium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Streptomyces* and *Xanthomonas*. Τα ενισχυτικά ανάπτυξης προάγουν την ανάπτυξη των φυτών μέσω διαφόρων μηχανισμών, όπως η προστασία από ασθένειες (βιοπροστατευτικά), αυξημένη πρόσληψη θρεπτικών (βιολιπάσματα), ή παραγωγή φυτοορμονών (βιοδιεγέρτες). Τα στελέχη των PGPR μικροοργανισμών παράγουν σιδηροφόρα, αντιβιοτικά, αυξητικές ορμόνες, όπως το ινδολο-οξικό οξύ (IAA), κυτοκίνινες και γιββεριλίνες ως βιοδιεγέρτες και προάγουν την ανάπτυξη των φυτών αυξάνοντας την επιφάνεια απορρόφησης για την πρόσληψη του νερού και των θρεπτικών στοιχείων (Adesemoye et al., 2009). Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των PGPR είναι ότι έχουν διττή δράση, δηλαδή μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε ως βιολιπάσματα είτε ως βιοπαρασιτοκτόνα. Για παράδειγμα, στελέχη του *Burkholderia cepacia* βιοελέγχουν τις συγκεντρώσεις του *Fusarium* sp., το οποίο παράγει μυκοτοξίνες, ενώ έχουν τη δυνατότητα να παράγουν σιδηροφόρα, τα οποία προάγουν την ανάπτυξη των φυτών σε συνθήκες έλλειψης σιδήρου (Bhattacharyya & Jha, 2012).

#### **2.1.2.8. Αξιολόγηση βιολιπασμάτων**

Οι μικροοργανισμοί που περιέχονται στα βιολιπάσματα μπορούν να είναι είτε ριζοσφαιρικοί (να αποικίζουν ενδοκυτταρικά ή εξωκυτταρικά το ριζικό σύστημα των φυτών) είτε ενδοφυτικοί (να αποικίζουν διάφορους ιστούς των φυτών) (Gupta et al., 2012; Raimi et al., 2017). Εκτός από την άμεση δράση τους στην παραγωγή των βασικών μακρο- και μικρο-θρεπτικών συστατικών, παράγουν φυτοορμόνες (αυξίνες, γιββεριλίνες, κυτοκίνινες και αιθυλένιο) και διάφορους πρωτογενείς και δευτερογενείς μεταβολίτες, όπως βιταμίνες και ανόργανα στοιχεία, αντιβιοτικά και πρωτεΐνες, που βελτιώνουν την ανθεκτικότητα των φυτών σε αβιοτικές (ξηρασία, αλατότητα, παρουσία βαρέων μετάλλων) και βιοτικές (εδαφικά και φυτικά παθογόνα) καταπονήσεις (Singh et al., 2017, (Akhtar et al., 2022).

Τα βιολιπάσματα αποτελούν μία ασφαλή, οικολογική εναλλακτική λύση σε σχέση με τα μέχρι τώρα χρησιμοποιούμενα συμβατικά λιπάσματα, τα οποία επιβάρυναν το περιβάλλον προκαλώντας ευτροφισμό, απώλεια βιοποικιλότητας, ανάπτυξη ανθεκτικών ζιζανίων κλπ. (Sharma et al., 2021). Η ένταξή τους, επομένως, στη γεωργική πρακτική αποτελεί σημαντικό βήμα στη βελτίωση παραμέτρων που σχετίζονται με την αύξηση της γονιμότητας του εδάφους, της βιοποικιλότητας και των αποδόσεων των καλλιεργειών (Mishra et al., 2013). Ωστόσο, παρά τα πλεονεκτήματά τους σε σχέση με τα συμβατικά λιπάσματα και τα οφέλη που παρέχουν στα πλαίσια της βιώσιμης γεωργίας, η μικρή διάρκεια ζωής τους, η αστάθεια που παρουσιάζουν στις διάφορες συνθήκες του περιβάλλοντος, η έλλειψη κατάλληλων βακτηριακών στελεχών και, κυρίως, οι μεγάλες δόσεις που απαιτούνται για την κάλυψη μεγάλων επιφανειών, αποτελούν προβλήματα που δυσχεραίνουν την ευρεία χρήση και εφαρμογή τους (Kumari & Singh, 2019, Ajinath Dukare et al., 2019).

### **2.1.3. Νέα βιολιπάσματα**

Η χρήση της νανοτεχνολογίας στη γεωργία αποτελεί μία νέα καινοτόμα προσέγγιση που κερδίζει συνεχώς έδαφος, τόσο στις ανεπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες. Τα βιολιπάσματα αποτελούν εναλλακτικές λύσεις, που ελαχιστοποιούν την ποσότητα των χρησιμοποιούμενων λιπασμάτων και προσφέρουν αποτελεσματική χρήση των φυσικών πόρων και αυξημένη παραγωγή με την ελάχιστη διαταραχή της εδαφικής ισορροπίας (Akhtar et al., 2022). Ωστόσο, τα διάφορα μειονεκτήματά τους που τα καθιστούν, ακόμη, ένα βήμα πίσω από τα συμβατικά λιπάσματα στις προτιμήσεις των καταναλωτών, ώθησε τους ερευνητές στην ανάπτυξη νέων τεχνολογιών, που θα προσέφεραν, μελλοντικά, λύσεις οικονομικά και περιβαλλοντικά βιώσιμες.

### 2.1.3.1. **Νανοβιολιπάσματα - Ορισμός**

Τα **νανοβιολιπάσματα** αποτελούν την τελευταία λέξη της εφαρμοσμένης νανοτεχνολογίας και βιοτεχνολογίας στη γεωργία. Σαφής ορισμός για τα νανοβιολιπάσματα δεν υπάρχει στη διεθνή βιβλιογραφία (Thirugnanasambandan, 2019, Perveen & Mushtaq, 2019). Η έννοια του όρου νανοβιολίπασμα προκύπτει από τους όρους «νανο-υλικό» και «βιολίπασμα». Οι φυσικές ιδιότητες των νανοϋλικών και οι εφαρμογές των βιολιπασμάτων είναι αυτές που καθορίζουν την έννοια του νανοβιολιπάσματος. Τα **νανοβιολιπάσματα** αποτελούν έναν υβριδικό συνδυασμό βιολιπασμάτων και νανοσωματιδίων, όπου τα βιολιπάσματα ενθυλακώνονται με νανοσωματίδια (Thirugnanasambandan, 2019). Το τελικό προϊόν διαθέτει τα χαρακτηριστικά και τα πλεονεκτήματα τόσο των βιολιπασμάτων όσο και των νανοσωματιδίων: περιέχει μικροοργανισμούς, που δρουν με διάφορους τρόπος (αζωτοδέσμευση, διαλυτοποίηση φωσφόρου και λοιπών θρεπτικών στοιχείων, παραγωγή σιδηροφόρων, μεταβολιτών, πρωτεϊνών και φυτοορμονών) ενθυλακωμένους με νανοϋλικά, που τους παρέχουν προστασία από τις περιβαλλοντικές συνθήκες και επιτρέπουν την ελεγχόμενη απελευθέρωση και απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, αυξάνοντας την αποτελεσματική χρησιμοποίησή τους από τα φυτά.

Η ενθυλάκωση μιας δραστικής ουσίας με νανοϋλικά ή, διαφορετικά, νανοενθυλάκωση, είναι η διαδικασία κατά την οποία η δραστική ουσία εγκλωβίζεται (δηλαδή ενσωματώνεται, απορροφάται ή διασπείρεται) μέσα σε αδρανή νανοϋλικά, τα νανοσωματίδια (Janhavi et al., 2020). Η νανοενθυλάκωση προστατεύει τις δραστικές ουσίες (πολυφαινόλες, λιπίδια, ένζυμα, αντιοξειδωτικά, αντιμικροβιακά και βιοδιεγέρτες) από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το οξυγόνο, το φως και οι ελεύθερες ρίζες και αυξάνει την αποτελεσματικότητά τους. Οι ενθυλακωμένες ενώσεις απελευθερώνονται, στη συνέχεια, στα σημεία-στόχους με ελεγχόμενο και διαρκή τρόπο όταν ενεργοποιούνται από εξωτερικά ερεθίσματα όπως το pH, διάφορα ένζυμα, υγρασία και θερμοκρασία (Bazana et al., 2019).

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να διευκρινιστεί ότι το συνθετικό «νανο» (που αφορά μεγέθη υλικών 1-100 nm) στο νανοβιολίπασμα αναφέρεται αποκλειστικά και μόνο στα νανοσωματίδια, με τα οποία το βιολίπασμα ενθυλακώνεται, και όχι στους μικροοργανισμούς του βιολιπάσματος. Το μέγεθος των μικροοργανισμών μετριέται σε μm και δεν μπορεί να μειωθεί σε νανομεγέθη, καθώς οποιαδήποτε τέτοια προσπάθεια μείωσης του μεγέθους τους θα οδηγούσε σε θανάτωσή τους (Thirugnanasambandan, 2019).

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές αντιφάσεις σχετικά με τα νανοβιολιπάσματα. Ανόργανα νανοϋλικά (π.χ. ZnO) αναφέρονται ως νανοβιολιπάσματα και ως νανολιπάσματα, ανόργανα νανοϋλικά (π.χ. όπως η φυσική άργιλος) θεωρούνται νανοβιολιπάσματα, ανόργανα νανοϋλικά (π.χ. RP) θεωρούνται νανολιπάσματα, ανόργανες νανοενώσεις (π.χ. CZ και RP) θεωρούνται νανολιπάσματα, μεταλλικά νανοσωματίδια (π.χ. αργύρου) με βιολιπάσματα θεωρούνται νανοβιολιπάσματα. Η έλλειψη σαφών επεξηγήσεων και ορισμών για τα νανοβιολιπάσματα στη διεθνή βιβλιογραφία, έχει οδηγήσει πολλές φορές σε λανθασμένη χρήση του όρου «νανοβιολίπασμα», παρόλο που, σήμερα, θεωρείται ως η πιο προηγμένη τεχνολογία που μπορεί να εφαρμοστεί στη γεωργική πράξη (Thirugnanasambandan, 2019).

### 2.1.3.2. *Νανοσωματίδια*

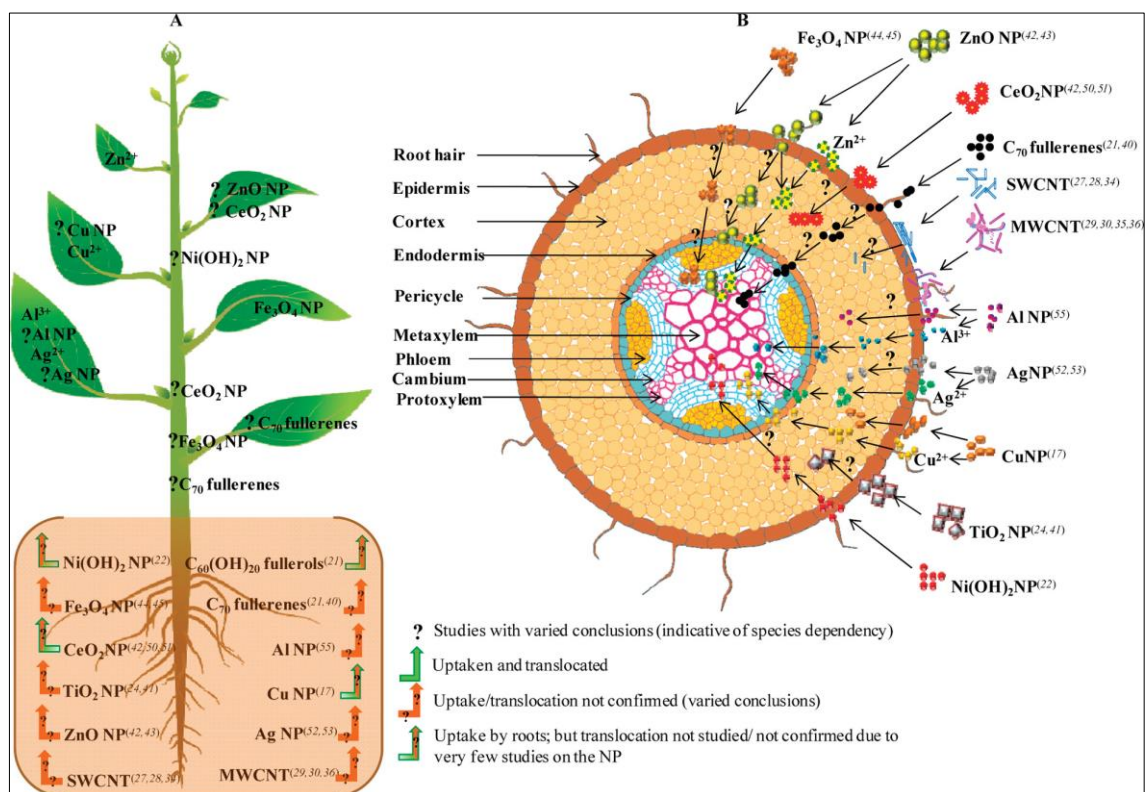
Τα νανοσωματίδια (*NanoParticles, NPs*) είναι σωματίδια μεγέθους από 1 έως 100 nm. Εξαιτίας του νανομεγέθους τους (η διάμετρός τους είναι μικρότερη από το μέγεθος των κυτταρικών πόρων) μπορούν να διαπερνούν τα κυτταρικά τοιχώματα και να διεισδύουν στους κυτταρικούς ιστούς (Nasr et al., 2020). Τα νανοσωματίδια χαρακτηρίζονται από α) υψηλή αναλογία επιφάνειας προ όγκο, β) υψηλή αντιδραστικότητα, εξαιτίας συγκεκριμένων ενεργών θέσεων και λειτουργικών ομάδων στην επιφάνειά τους, γ) επαρκή ικανότητα προσρόφησης, δ) ενισχυμένες φυσικές, ηλεκτρικές, χημικές και οπτικές ιδιότητες, ε) αυξημένη σταθερότητα (Mittal et al., 2013, Marchiol, 2018). Τα νανοσωματίδια διακρίνονται σε:

- **Οργανικά**, π.χ. πολυμερικά νανοσωματίδια, όπου το πολυμερές είναι κάποια πρωτεΐνη (όπως μετάξι, κολλαγόνο, ζελατίνη, β-καζεΐνη, αλβουμίνη), κάποιο πολυπεπτίδιο-μιμητής πρωτεΐνης ή κάποιος πολυσακχαρίτης (χιτοζάνη, αλγινικό, πουλλουλάνη, άμυλο και ηπαρίνη) (Nitta και Numata, 2013),
- **Ανόργανα** (π.χ. νανοσωλήνες άνθρακα και μεταλλικά νανοσωματίδια, όπως χρυσού και αργύρου), και
- **Υβριδικά σωματίδια**, π.χ. κατασκευασμένα νανοσωματίδια με συνδυασμό οργανικών και ανόργανων υλικών, όπως οι συστοιχίες DNA-νανοσωλήνων άνθρακα (Makarucha et al., 2011).

Η σύνθεση των νανοσωματιδίων γίνεται με φυσικές, χημικές και βιολογικές μεθόδους, από τις οποίες η βιολογική (κατά την οποία χρησιμοποιούνται μικροοργανισμοί για τη σύνθεσή τους) θεωρείται ως η οικονομικότερη και πιο οικολογικά φιλική (Patel και Krishnamurthy, 2015).

Τα πιο συνηθισμένα νανοσωματίδια που χρησιμοποιούνται στην σύνθεση των νανοβιολιπασμάτων είναι πυριτίου (SiNPs), ψευδαργύρου (ZnNPs), χαλκού (CuNPs), σιδήρου (FeNPs) και αργύρου (AgNPs). Η χημική τους σύνθεση, το σχήμα, το μέγεθος και η κατάσταση συσσωμάτωσης επηρεάζουν την πρόσληψή τους από τα φυτά και τη συσσώρευσή τους στους φυτικούς ιστούς. Συγκεκριμένα, τα νανοσωματίδια που έχουν μεγαλύτερο μέγεθος μετατοπίζονται δυσκολότερα στο εσωτερικό των φυτών. Επίσης, εξαιτίας του διαφορετικού τρόπου που απορροφούνται από τα διαφορετικά φυτά, δρουν διαφορετικά σε κάθε ένα από αυτά. Έτσι, ένα φυτό μπορεί να συσσωρεύει έναν τύπο νανοσωματιδίου και να αποκλείει έναν άλλο (Akhtar et al., 2022).

Η πρόσληψη, η μετατόπιση και η συσσώρευση των νανοσωματιδίων στους φυτικούς ιστούς εξαρτάται από το είδος και την ηλικία του φυτού καθώς και το περιβάλλον στο οποίο αυτό αναπτύσσεται. Επίσης, από τις διάφορες φυσικοχημικές ιδιότητες των νανοσωματιδίων, τη συγκεκριμένη δράση που έχουν να επιτελέσουν, τη σταθερότητά τους και τους μηχανισμούς παράδοσης των θρεπτικών στις στοχευμένες θέσεις (Εικόνα 1) (Peters et al., 2016, Rico et al., 2011).



**Εικόνα 1.** Οδοί πρόσληψης, μετατόπισης και βιομετατροπής των διαφόρων νανοσωματιδίων στο εσωτερικό του φυτού. Αριστερά, παριστάνεται ένα φυτό με την επιλεκτική πρόσληψη και μετατόπιση των νανοσωματιδίων. Δεξιά, σε μία εγκάρσια τομή της ζώνης προσρόφησης της ρίζας παριστάνεται η διαφοροποιημένη αλληλεπίδραση των νανοσωματιδίων κατά την έκθεση. (πηγή: Rico et al., 2011)



Μετά την είσοδό τους στους φυτικούς ιστούς, τα νανοσωματίδια μετακινούνται στο εσωτερικό των φυτών ακολουθώντας συμπλαστικές ή αποπλαστικές οδούς, ανάλογα με το είδος του φυτού και τον τύπο του νανοσωματιδίου (Sharma et al., 2021, Akhtar et al., 2021). Η είσοδος των νανοσωματιδίων στο εσωτερικό των κυττάρων εξαρτάται από τη διάμετρο των πόρων των κυτταρικών τοιχωμάτων (5-20 nm). Κατά την αλληλεπίδραση των λειτουργικών νανοσωματιδίων με τα κυτταρικά τοιχώματα, είναι δυνατόν να αυξηθεί η διάμετρος των κυτταρικών πόρων ή να σχηματιστούν νέοι πόροι στο κυτταρικό τοίχωμα για την ενίσχυση της πρόσληψής τους (Hussein et al., 2019). Ωστόσο, ο μηχανισμός πρόσληψης των νανοσωματιδίων δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός. Αφού φτάσουν στο κυτταρόπλασμα, τα νανοσωματίδια κατευθύνονται προς διαφορετικά κυτταρικά οργάνια και παρεμβαίνουν στις μεταβολικές τους διεργασίες (Zuverza-Mena et al., 2017). Το μέγεθος των νανοσωματιδίων παίζει σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα του νανοβιολιπάσματος. Γενικά, νανοσωματίδια μεγέθους 5-20 οδηγούν σε υψηλότερες αποδόσεις καλλιεργειών καθώς διαπερνούν ευκολότερα τα κυτταρικά τοιχώματα (Schreiber 2011).

### **2.1.3.3. Σύνθεση των νανοβιολιπασμάτων**

Η σύνθεση των νανοβιολιπασμάτων γίνεται με χρήση περιβαλλοντικά φιλικών και ασφαλών μεθόδων, όπου χρησιμοποιούνται μόνο βιολογικά υλικά. Αυτά τα βιο-υλικά που εμπλέκονται στη σύνθεση των νανοσωματιδίων είναι κυρίως βακτήρια, τα οποία μπορούν να παράγουν, σε ενδοκυτταρικό και εξωκυτταρικό επίπεδο, ανόργανα προϊόντα (Sharma et al., 2021).

Τα νανοβιολιπάσματα συντίθενται με συνδυασμό νανοσωματιδίων και βιολιπασμάτων. Η σύνθεσή τους περιλαμβάνει τρία βασικά στάδια: (1) την ανάπτυξη της βακτηριακής καλλιέργειας που θα χρησιμοποιηθεί ως βιολίπασμα, (2) την ενθυλάκωσή της με τα νανοσωματίδια, και (3) την αξιολόγηση της ποιότητας, της αποτελεσματικότητας, της καθαρότητας και της διάρκειας ζωής του παρασκευάσματος. Η ενθυλάκωση των βιολιπασμάτων με νανοσωματίδια είναι η διαδικασία εγκλεισμού του βιολιπάσματος σε έναν θύλακα (κάψουλα), ο οποίος είναι κατασκευασμένος από κάποιο νανοϋλικό, όπως χιτοζάνη, πολυμερικά, μεταλλικά κλπ. (Akhtar et al., 2022). Η νανοενθυλάκωση του βιολιπάσματος προστατεύει τα ενεργά συστατικά του στις διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες, αυξάνει τη διάρκεια ζωής του βιολιπάσματος και επιτρέπει την ελεγχόμενη απελευθέρωση των θρεπτικών συστατικών κατά την εφαρμογή του. Το βιολίπασμα περιέχει την κατάλληλη καλλιέργεια μικροοργανισμών (π.χ. PGPR) καθώς και θρεπτικά συστατικά. Τα νανοσωματίδια στα οποία το βιολίπασμα είναι ενθυλακωμένο θα

μεταφέρουν τα θρεπτικά συστατικά του στους φυτικούς ιστούς. Αυτή η μεταφορά σημαίνει ότι τα θρεπτικά συστατικά «φορτώνονται» στα νανοσωματίδια με διάφορους τρόπους, όπως προσκόλληση, απορρόφηση, ενθουλάκωση, παγίδευση, σύνδεση και σύνθεση, και στη συνέχεια απελευθερώνονται στοχευμένα στους φυτικούς ιστούς.

Από τις πρόσφατες έρευνες προκύπτει ότι νανοβιολιπάσματα μπορούν επίσης να παρασκευαστούν και από άλλα υλικά, σε άλλες μορφές ή άλλες διαδικασίες. Η διαδικασία σύνθεσης νανοβιολιπασμάτων από οργανικά απόβλητα όπως άνθη, ζωική κοπριά, και οικιακά απόβλητα περιλαμβάνει ξέπλυμα με νερό των οργανικών αποβλήτων για να απομακρυνθούν οι ρύποι, τον τεμαχισμό τους σε μικρά κομμάτια, και την αποικοδόμηση ή την πυρόλυσή τους. Αυτό το μερικώς αποικοδομημένο ή πυρολυμένο υλικό συνδυάζεται με νανοσωματίδια για σύνθεση νανοβιολιπασματος (Singh et al., 2019). Η σύνθεση σε μορφή μικροκάψουλας περιλαμβάνει την ανάμιξη, σε αναλογία 2:1, εναιωρήματος PGPR με μείγμα 1,5% αλγινικού νατρίου, 3% αμύλου και 4% μπεντονίτη. Το παρασκεύασμα που προκύπτει επικαλύπτεται με διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου και οι μικροκάψουλες ξεπλένονται με απεσταγμένο νερό (Saberi-Rise & Moradi-Pour, 2020). Μία άλλη διαδικασία σύνθεσης νανοβιολιπασμάτων περιλαμβάνει το συνδυασμό νανοσωματιδίων και σαλικυλικού οξέος. Συγκεκριμένα, το βιολίπασμα αναμειγνύεται με 2% αλγινικό νάτριο, 1 μg/mL νανοσωματίδια ψευδαργύρου, και 1,5 mM σαλικυλικό οξύ. Το διάλυμα επικαλύπτεται με 3% διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου. Με τη μέθοδο αυτή, προκύπτουν σωματίδια 1 mm, τα οποία αποξηραίνονται στον αέρα και επωάζονται στους 4oC (Panichikkal et al., 2021).

Κατά τη διαδικασία σύνθεσης των νανοβιολιπασμάτων θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα ώστε το τελικό παρασκεύασμα να διαθέτει όλες τις επιθυμητές ιδιότητες, δηλαδή υψηλή διαλυτότητα και σταθερότητα, ενίσχυση της στοχευμένης δράσης με αποτελεσματική συγκέντρωση στο σημείο-στόχο, εύκολη παράδοση και απόρριψη, χρονοελεγχόμενη και περιβαλλοντικά φιλική απελευθέρωση. Η χρήση των μυκήτων στην ανάπτυξη της μυκονανοτεχνολογίας αποτελεί μία πρόσφατη ερευνητική τάση, καθώς οι μύκητες μπορούν να παράξουν περισσότερα εξυκτυπιακά και ενδοκυτταρικά προϊόντα σε σχέση με τα βακτήρια και τους ακτινομύκητες (Sharma et al., 2021). Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται ορισμένα είδη μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται στη σύνθεση νανοβιολιπασμάτων.

**Πίνακας 1.** Μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται ευρέως στη σύνθεση νανοβιολιπασμάτων, ο αριθμός πρόσβασης αυτών των μικροοργανισμών και το αντίστοιχο είδος νανοβιολιπασματος που προκύπτει από τη χρήση του κάθε μικροοργανισμού.

Μικροοργανισμός	Αριθμός πρόσβασης*	Είδος νανοβιολιπασματος
<i>Aspergillus flavus</i>	CZR2 JF681301	Zn

<i>Aspergillus fumigatus</i>	TFR8 JQ675291	Mg
<i>Aspergillus japonicum</i>	AJP01 JF770435	Fe
<i>Aspergillus oryzae</i>	TFR23 KC806053	K
<i>Bacillus megaterium</i>	JCT13 JX442240	P
<i>Emmericella quadrilineata</i>	TFR25 KC806055	N
<i>Straphylotrichum coccosporum</i>	TFR27 KF729586	B
<i>Penicillium limosum</i>	TFR26 KF729585	S

\*Ο αριθμός πρόσβασης είναι ο αριθμός με τον οποίο αντλούνται επιπλέον πληροφορίες για τον μικροοργανισμό από τη Γενετική Βιβλιοθήκη της Εθνικής Βιβλιοθήκης Φαρμάκων των ΗΠΑ (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (πηγή: Tarafdar, 2021).

#### 2.1.3.4. Εφαρμογή και δόσεις των νανοβιολιπασμάτων στις καλλιέργειες

Το νανοβιολίπασμα μπορεί να εφαρμοστεί με δύο τρόπους:

- (α) **Ως διαφυλλικό σπρέυ:** τα νανοσωματίδια διαχέονται μέσα από τα στόματα και τα υδατώδη των φύλλων και εισέρχονται άμεσα στο εσωτερικό των φυτικών κυττάρων μέσω των κυτταρικών πόρων. Ο ψεκασμός (νεφελοποιητής) αποτελεί την καλύτερη μέθοδο (Tarafdar, 2012).
- (β) **Απευθείας στο έδαφος:** τα νανοσωματίδια αρχικά διαλυτοποιούνται, απορροφούνται από το ριζικό σύστημα των φυτών είτε μέσω ενδοκυττωσης, μέσω πρωτεϊνών-μεταφορέων είτε μέσω των πλασμοδεσμάτων, και στη συνέχεια απελευθερώνονται στο εσωτερικό των φυτών ως διαλυτά ιόντα. Σε σχέση με τα συμβατικά λιπάσματα, η διαλυτοποίησή τους στο έδαφος ή το νερό είναι υψηλότερη εξαιτίας του νανομεγέθους τους και της αυξημένης επιφάνειά τους.

Κατά την εφαρμογή των νανοβιολιπασμάτων θα πρέπει να χρησιμοποιούνται γάντια νιτριλίου μίας χρήσης καθώς και προστατευτική μάσκα προσώπου. Επίσης, κατά τον ψεκασμό θα πρέπει να χρησιμοποιείται πολύ λεπτό ακροφύσιο, προκειμένου να ελαχιστοποιούνται οι απώλειες στο περιβάλλον (Tarafdar et al., 2012). Ο κατάλληλος χρόνος εφαρμογής των νανοβιολιπασμάτων είναι σε φυτά 2-3 εβδομάδων και εάν απαιτείται δεύτερη εφαρμογή τότε αυτή θα πρέπει να γίνεται σε κριτικά στάδια ανάπτυξης των φυτών (Tarafdar, 2012).

Οι δόσεις εφαρμογής των νανοβιολιπασμάτων εξαρτώνται από την καλλιέργεια (αγρωστώδη, ψυχανθή) και το θρεπτικό στοιχείο που απαιτείται (Tarafdar, 2021). Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται οι δόσεις χορήγησης ορισμένων θρεπτικών στοιχείων.

**Πίνακας 2.** Βέλτιστες συγκεντρώσεις (σε ppm) διαφόρων θρεπτικών στοιχείων νανοβιολιπασμάτων για χρήση τους σε διαφυλλική εφαρμογή σε καλλιέργειες αγρωστωδών και ψυχανθών.

Τύπος νανοβιολιπασματος	Συγκέντρωση θρεπτικού στοιχείου (σε ppm)	
	Αγρωστώδη	Ψυχανθή
N	80–100	80–90
P	40–50	40
K	40	20–30
Mg	20–30	20
Zn	10	10
Fe	30	30
B	04–06	10
Mo	6	2

(Πηγή: Tarafdar, 2021).

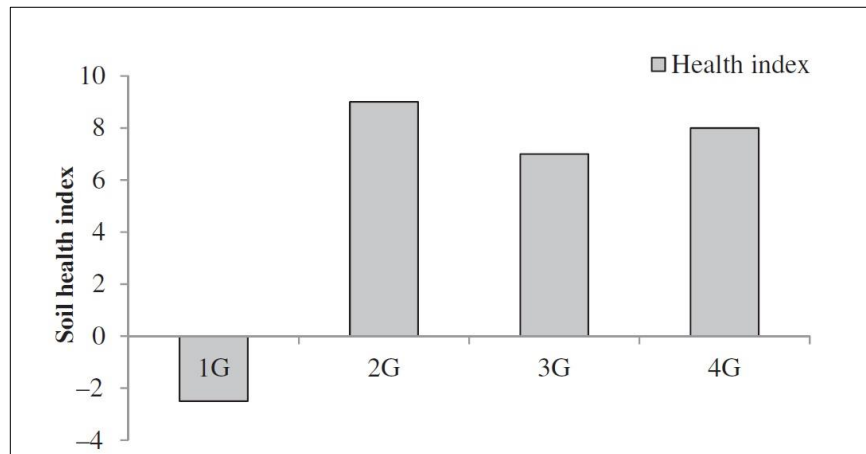
Για τις καλλιέργειες κηπευτικών, απαιτούνται περίπου 5-10% υψηλότερες συγκεντρώσεις, από αυτές που αναφέρονται στον Πίνακα 2. Επιπλέον, φυτά με στενό φύλλωμα απαιτούν υψηλότερες δόσεις απ' ό,τι πλατύφυλλα φυτά εξαιτίας των απωλειών κατά την διαφυλλική εφαρμογή των νανοβιολιπασμάτων. Γενικά, οι ποσότητες νανοβιολιπασματος σε σχέση με τα συμβατικά λιπάσματα που απαιτούνται για την επίτευξη των ίδιων αποδόσεων στις καλλιέργειες είναι εξαιρετικά μικρότερες, γεγονός που τα καθιστά περισσότερο οικονομικά σε σχέση με τα συμβατικά λιπάσματα. Για παράδειγμα, 640 mg βιονανο-P σε διαφυλλική εφαρμογή δίνει ισοδύναμη απόδοση με εφαρμογή 80 kg P (με μορφή P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) σε ξηρικές καλλιέργειες δημητριακών και ψυχανθών. Επίσης, η μέση αύξηση της απόδοσης είναι υψηλότερη κατά τη χρήση νανοβιολιπασμάτων σε σχέση με άλλες γενεές λιπασμάτων (χημικό λίπασμα, οργανικό λίπασμα, ενισχυτές ανάπτυξης).

#### 2.1.4. Αποτελέσματα δράσης των νανοβιολιπασμάτων

##### 2.1.4.1. Βελτίωση του εδάφους

Τα νανοβιολιπάσματα βελτιώνουν την εδαφική ισορροπία με διάφορους τρόπους: **(α)** Ενισχύουν την ικανότητα απορρόφησης θρεπτικών στοιχείων του εδάφους, **(β)** Αποκαθιστούν τις ελλείψεις σε θρεπτικά στοιχεία, μέσω της αζωτοδέσμευσης και της διαλυτοποίησης του φωσφόρου, **(γ)** Παράγουν σιδηροφόρα, τα οποία καθιστούν διαθέσιμο τον σίδηρο στα φυτά, και δεσμεύουν τα βαρέα μέταλλα για να μην καταπονούνται τα φυτά, **(δ)** Παράγουν φυτοορμόνες και διάφορους άλλους μεταβολίτες

που ενισχύουν την ανάπτυξη των φυτών, **(ε)** Διατηρούν την εδαφική υγρασία, **(στ)** Καθιστούν ανθεκτικά τα φυτά στις βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις, και **(ζ)** Βελτιώνουν την ικανότητα πρόσληψης των φυτών σε θρεπτικά στοιχεία (Akhtar et al., 2019).



**Εικόνα 2.** Σύγκριση του δείκτη υγείας εδάφους σε εφαρμογές λιπασμάτων διαφορετικών γενεών (1G πρώτη γενιά – χημικό λίπασμα, 2G δεύτερη γενιά – οργανικό λίπασμα, 3G τρίτη γενιά – ενισχυτές ανάπτυξης, 4G τέταρτη γενιά – νανοβιολίπασμα) (Πηγή: Tarafdar, 2021).

Στην Εικόνα 2, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τα πειράματα που διεξήχθησαν σχετικά με το δείκτη υγείας του εδάφους, μετά από 5 χρόνια συνεχούς εφαρμογής λιπασμάτων διαφορετικής γενιάς. Το νανοβιολίπασμα έχει εξίσου καλά αποτελέσματα στη διατήρηση της υγείας του εδάφους με το οργανικό λίπασμα και πολύ καλύτερα από το χημικό λίπασμα και τα ενισχυτικά ανάπτυξης.

#### **2.1.4.2. Ενίσχυση της ανάπτυξης των φυτών**

Υπάρχει πλήθος πρόσφατων ερευνητικών εργασιών σχετικά με την ευεργετική δράση των νανοβιολιπασμάτων στην ανάπτυξη, την παραγωγικότητα, και τις αποδόσεις των φυτών. Η χρήση νανοβιολιπασμάτων με νανοσωματίδια χρυσού επιτάχυνε την απόδοση των μικροοργανισμών *Bacillus subtilis* (33%), *Pseudomonas fluorescens* (57%) και *P. elgii*, και ταυτόχρονα βελτίωσε την ανάπτυξη των φυτών (Shukla et al., 2015). Εφαρμογή βιολιπασμάτων *Rhizobium* με ZnNPs σε συνδυασμό με οργανικό λίπασμα σε καλλιέργειες *Phaseolus vulgaris* L. αύξησε το ύψος των φυτών, τη φυτική βιομάζα του φυλλώματος και τον αριθμό των φύλλων ανά φυτό. Ενίσχυσε επίσης την πρόσληψη των θρεπτικών, τον αριθμό των λοβών και την περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες και πρωτεΐνες των λοβών (Morsy et al., 2017). Εφαρμογή βιονάνο-Zn και βιονάνο-Fe λιπασμάτων οδήγησε σε υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και χαμηλότερη

δραστηριότητα του υπεροξειδίου της δισμουτάσης κι επομένως σε αύξηση της ανθεκτικότητας των φυτών ενάντια στις καταπονήσεις (Tarafdar et al., 2018).

Τα νανοβιολιπάσματα βελτιώνουν επίσης την ποιότητα των καλλιεργειών, καθώς αυξάνεται η παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών, όπως ένζυμα (καταλάση, υπεροξειδική δισμουτάση, υπεροξειδάση) και μη-ενζυματικά αντιοξειδωτικά (φαινόλες και φλαβονοειδή), τα οποία αυξάνουν τη διάρκεια ζωής των φρούτων και των λαχανικών στην αγορά και έχουν διάφορα οφέλη στην υγεία του ανθρώπου (Paschalidis et al., 2021).

Η ενθυλάκωση των βιολιπασμάτων με νανοσωματίδια, καθιστά τα βιολιπάσματα ενεργά για μεγάλο χρονικό διάστημα ενώ τα νανοσωματίδια απελευθερώνονται με βραδύ και σταθερό ρυθμό στην ριζόσφαιρα μεταφέροντας θρεπτικά συστατικά σε όλους τους φυτικούς ιστούς. Η ενθυλάκωση νανοβιολιπασμάτων PGPR, όπως *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* και *Paenibacillus elgii* σε AgNPs και AuNPs και η εφαρμογή τους σε διάφορες καλλιέργειες αύξησαν τις αποδόσεις σε σύγκριση με τη χρήση απλών νανολιπασμάτων (Dikshit et al., 2013). Επίσης, νανοβιολιπάσματα που περιείχαν έλαιο neem και PGPR αύξησαν τις αποδόσεις σε καλλιέργειες ψυχανθών μέσω της αύξησης του ρυθμού βλάστησης των νεαρών φυταρίων (Rahman & Zhang, 2018). Τα νανοβιολιπάσματα περιορίζουν επίσης την έκπλυση θρεπτικών (Ali et al., 2021). Εφαρμογή νανοβιολιπασματος *Azospirillum*, *Pseudomonas* και *Azotobacter* με νανοσωματίδια Fe και Zn σε καλλιέργεια *Triticum aestivum* αύξησε τα υδατοδιαλυτά σάκχαρα, την προλίνη και την ενζυματική δραστηριότητα (Sharifi et al., 2020).

Η εφαρμογή νανοβιολιπασμάτων αύξησε τον αριθμό των κόκκων ανά σπάδικα, τον αριθμό των σειρών ανά σπάδικα, τη σποροπαραγωγή, τη βιομάζα και το δείκτη συγκομιδής σε καλλιέργεια αραβοσίτου (*Z. mays*) με περιορισμένους υδάτινους πόρους (Farnia & Omid, 2015). Νανοβιολιπάσματα PGPR με SiNPs σε καλλιέργειες αραβοσίτου σε συνθήκες ξηρασίας βελτίωσε το ρυθμό φωτοσύνθεσης, τη σχετική περιεκτικότητα νερού, και τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Προκάλεσε επίσης αύξηση στην εσοδεία και στην πρόσληψη των θρεπτικών (Hafez et al., 2021).

Τα βιολιπάσματα PGPR ελέγχουν τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στο έδαφος, συμπεριλαμβανομένων και των νανοσωματιδίων. Από πείραμα που διεξήχθη για να διερευνηθεί ο ρόλος των νανοσωματιδίων σε καλλιέργειες *S. lycopersicum* με και χωρίς βιολίπασμα *Azotobacter salinestris* προέκυψε ότι το *Azotobacter salinestris* συνθέτετε εξωπολυσακχαρίτες (EPS), οι οποίοι εγκλωβίζουν τα νανοσωματίδια, διατηρούσαν την συγκέντρωσή τους στη ριζόσφαιρα και ελαχιστοποιούσαν τις δυσμενείς επιδράσεις των υψηλών συγκεντρώσεων άλλων νανοσωματιδίων (Ahmed et al., 2021).

Εμβολιασμός καλλιέργειες *Cucumis melo* L. με βιολίπασμα *Bacillus fortis* και νανοσωματίδια Zn σε συνθήκες υψηλής περιεκτικότητας Cd ενίσχυσαν την παραγωγή φωτοσυνθετικών χρωστικών, τη φυτική βιομάζα, την περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή και φαινολικά, τη διαπνοή και τη στοματική αγωγιμότητα. Μείωσε επίσης την πρόσληψη, μεταφορά και συγκέντρωση των ιόντων Cd στα φυτά (Shah et al., 2021).

Εφαρμογή βιολιπάσματος *Bacillus subtilis* με FeNPs σε καλλιέργεια *Cucurbita moschata* Duchesne μείωσε τις βλαβερές επιδράσεις της τοξικότητας αρσενικού. Βελτίωσε το ρυθμό φωτοσύνθεσης και τις ανταλλαγές αερίων και αύξησε την παραγωγή υπεροξειδικής δισμουτάσης και καταλάσης (Mushtaq et al., 2021).

#### **2.1.4.3. Ενίσχυση της ανθεκτικότητας των φυτών σε παθογόνα**

Τα νανοβιολιπάσματα καθιστούν ανθεκτικά τα φυτά στις ασθένειες που προκαλούνται από παθογόνα και έντομα. Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν μελέτες για τη χρήση νανοβιολιπασμάτων στη θεραπεία παρασιτολογικών προσβολών των φυτών. Για παράδειγμα, χρησιμοποιήθηκε για την αντιμετώπιση της προσβολής από το παθογόνο *Ralstonia solanacearum* σε καλλιέργεια τομάτας (Gatahi et al., 2015). Επίσης, σε καλλιέργεια ψυχανθών τα βιοοργανικά συστατικά των νανοβιολιπασμάτων δρουν ως άμυνα των φυτών ενάντια στα παθογόνα (Gouda et al., 2018). Νανοβιολιπάσματα με TiNPs βοηθούν στην αντιμετώπιση μυκητολογικών προσβολών (Mishra & Kumar, 2009).. Σε καλλιέργεια γαρί, η χρήση νανοσωματιδίων πηλού ως ενθυλακωτές του βιολιπάσματος που περιείχε είδη των μικροοργανισμών *Trichoderma* και *Pseudomonas* αντιμετώπισε αποτελεσματικά προσβολές από μύκητες και νηματώδη (Mukhopadhyay & De, 2014). Η χρήση των μυκορριζών *Arbuscular mycorrhizal* έχουν δώσει εξαιρετικά αποτελέσματα (Sharma, 2013).

#### **2.1.5. Σύγκριση νανοβιολιπασμάτων και συμβατικών λιπασμάτων**

Η ευρεία χρήση των συμβατικών λιπασμάτων τις τελευταίες δεκαετίες στα πλαίσια κάλυψης των διατροφικών αναγκών του παγκόσμιου πληθυσμού έχει οδηγήσει σε μόλυνση των υπογείων υδάτων, στη διάβρωση του εδάφους και την απώλεια της ισορροπίας και της γονιμότητάς του καθώς και τη μείωση της βιοποικιλότητας. Από τις ποσότητες των λιπασμάτων που εφαρμόζονται στην καλλιεργητική πράξη, το μεγαλύτερο μέρος τους καθίσταται μη διαθέσιμο για τα φυτά, με αποτέλεσμα να μεταφέρεται στο έδαφος και τα υπόγεια ύδατα, καθώς επίσης και στις τροφές που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση (Singh et al., 2019).

Τα νανοβιολιπάσματα παρουσιάζουν σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τα συμβατικά λιπάσματα καθώς αυξάνουν τη γονιμότητα του εδάφους και τις ποιοτικές παραμέτρους της καλλιέργειας. Συγκεκριμένα, τα νανοβιολιπάσματα έχουν:

- υψηλότερη διαλυτότητα,
- υψηλότερο ποσοστό πρόσληψης των θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά, καθώς το νανομέγεθός τους επιτρέπει την άμεση απορρόφησή τους
- μειωμένη εδαφική προσρόφηση και δέσμευση
- αποτελεσματικότερη χρήση των θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά, με αποτέλεσμα να απαιτούνται μικρότερες δόσεις λιπάσματος
- Ελεγχόμενος ρυθμός απελευθέρωσης των θρεπτικών και στοχευμένη δράση, σε αντίθεση με τα συμβατικά λιπάσματα όπου η απελευθέρωση των θρεπτικών είναι μη ελεγχόμενη, γεγονός που οδηγεί σε τοξικότητες και εδαφική ανισορροπία.
- Παρατεταμένη αποτελεσματική δράση καθ' όλη τη διάρκεια της ανάπτυξης του φυτού, σε αντίθεση με τα χημικά λιπάσματα τα οποία χρησιμοποιούνται από το φυτό κατά τη στιγμή της εφαρμογής του και το υπόλοιπο μετατρέπεται σε αδιάλυτη μορφή και άρα καθίσταται μη διαθέσιμο
- Μειωμένες απώλειες θρεπτικών σε σχέση με τα χημικά λιπάσματα, στα οποία παρατηρείται υψηλός βαθμός απωλειών εξαιτίας της έκπλυσης και απορροής.
- Συμβάλλουν στη διατήρηση της εδαφικής ισορροπίας αντίθετα από τα συμβατικά λιπάσματα που μακροπρόθεσμα επιβαρύνουν και καταστρέφουν την υγεία του εδάφους.
- Είναι περιβαλλοντικά φιλικά και δεν μολύνουν το περιβάλλον (Tarafdar, 2021, Dikshit et al., 2013, Rahman & Zhang, 2018).

#### **2.1.5.1. Μειονεκτήματα νανοβιολιπασμάτων**

- Τα νανοβιολιπάσματα θα πρέπει να αξιολογηθούν προτού τεθούν σε ευρεία χρήση στη γεωργική πράξη, καθώς ορισμένα νανοϋλικά έχουν τοξική δράση. Η χρήση νανοϋλικών που είναι μη-τοξικά, βιοσυμβατά και βιοαποικοδομήσιμα είναι απαραίτητη.
- Το υψηλό κόστος σύνθεσής τους, σε σχέση με τις υπόλοιπες διαθέσιμες επιλογές.



- Έλλειψη τυποποίησης στη διαδικασία σύνθεσης, με αποτέλεσμα ορισμένα νανοϋλικά να συμπεριφέρονται διαφορετικά υπό διαφορετικές συνθήκες.
- Έλλειψη εμπειρογνωμοσύνης.
- Επίπονη διαδικασία σύνθεσης.

### **2.1.6. Ασφάλεια χρήσης των νανοβιολιπασμάτων**

Παρά τις απεριόριστες εφαρμογές των νανοσωματιδίων στη γεωργία και τα πλεονεκτήματά τους, υπάρχουν ακόμη πολλά θέματα τα οποία χρήζουν προσοχής και περαιτέρω μελέτης, προτού τα νανοσωματίδια γίνουν πλήρως αποδεκτά και εισαχθούν στην καθημερινή πρακτική (Khan et al., 2017). Εξαιτίας των χαρακτηριστικών που διαθέτουν (όπως το νανομέγεθος, το σχήμα τους και η αυξημένη αναλογία επιφάνειας προς όγκο) μπορούν να εισχωρούν σε ιστούς, οργανίδια και κύτταρα και να αλληλεπιδρούν με βιομόρια, όπως τα ριβοσώματα και το DNA. Αυτή η δυνατότητα ωστόσο μπορεί να συμβάλλει σε πιθανή κυτταρική και γενετική τοξικότητα (Landsiedel et al., 2009, Kovacic & Somanathan , 2010).

Μέχρι σήμερα ελάχιστες είναι οι μελέτες σχετικά με τη γενετική απόκριση και την τοξικότητα που πιθανόν προκαλούν τα νανοσωματίδια στα βρώσιμα φυτά (Navarro et al., 2008). Ειδικά, τα φυτικά είδη με μικρό αριθμό χρωμοσωμάτων θεωρείται ότι αποτελούν εξαιρετικά κυτταρογενετικά συστήματα, όπου μπορούν να συμβούν διάφορες γενετικές μεταβολές, όπως γονιδιακές μεταλλάξεις βλάβες στο DNA (Kumari et al., 2009). Από διάφορες μελέτες έχει φανεί ότι δεν εκδηλώνουν όλα τα φυτά τοξικότητα στα νανοσωματίδια. Για την ακρίβεια, οι περισσότερες μελέτες υποδεικνύουν είτε θετική επίδραση των νανοσωματιδίων στα φυτά είτε καμία αρνητική επίδραση. Ωστόσο, η εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την επίδραση συγκεκριμένων νανοσωματιδίων θα πρέπει να γίνεται προσεκτικά, καθώς οι φυσιολογικές ή οπτικές τοξικολογικές επιδράσεις μπορεί να μην αποτελούν ικανοποιητικό δείκτη τοξικότητας και να πρέπει να διεξαχθούν μελέτες σχετικά με την επίδρασή τους σε πρωτεομικό, γονιδιωματικό και μεταβολικό επίπεδο (Rico et al., 2011).

Επίσης, παρόλο που έως σήμερα, καμία ανθρώπινη ασθένεια δεν έχει συσχετισθεί με τα νανοσωματίδια, η άμεση ή η έμμεση επίδρασή τους στον άνθρωπο δεν θα πρέπει να αγνοηθεί (Ali et al., 2021). Υπάρχει ανάγκη για περαιτέρω μελέτη σχετικά με τις περιβαλλοντικά ασφαλείς δόσεις κατά την εφαρμογή των νανοβιολιπασμάτων. Ωστόσο, η ανίχνευση και αξιολόγηση της τοξικότητάς τους καθίσταται δύσκολη εξαιτίας της έλλειψης τυποποιημένων μεθοδολογιών κατά τη σύνθεσή τους. Ως εκ τούτου, η εκτίμηση

κινδύνου για τα νανοβιολιπάσματα καθώς και τα ηθικά ζητήματα που προκύπτουν από τη χρήση τους πρέπει να γίνεται κατά περίπτωση (Pandey, 2018).

## 2.1.7. Παγκόσμια και Ευρωπαϊκή αγορά βιολιπασμάτων

### 2.1.7.1. Παγκόσμια αγορά βιολιπασμάτων

Τα βιολιπάσματα δεν αποτελούν νέα προϊόντα στην αγορά. Τα πρώτα βιολιπάσματα είχαν κυκλοφορήσει στην αγορά περίπου πριν από 120 χρόνια, με την εγγραφή του σκευάσματος Nitragin, το οποίο ήταν ένα *Rhizobium* εμβόλιο για τις καλλιέργειες ψυχανθών. Για περισσότερα από 100 χρόνια, τα ριζοβιακά στελέχη ήταν διαθέσιμα στην αγορά ως βιοεμβόλια (O'Callaghan, 2016). Ωστόσο, τις τελευταίες δεκαετίες, η αγορά βιολιπασμάτων γνώρισε μια παγκόσμια άνθιση στην παραγωγή και χρήση τους, κυρίως εξαιτίας της έλλειψης διαθέσιμης καλλιεργήσιμης γης για την κάλυψη των αναγκών του συνεχώς αυξανόμενου παγκόσμιου πληθυσμού σε αγροτικά προϊόντα (Basu et al. 2021), αλλά και στα πλαίσια ενός παγκόσμιου κινήματος προστασίας του περιβάλλοντος, όπου οι καταναλωτές επιδιώκουν ασφαλέστερα τρόφιμα και περιβάλλον. Τα αυξημένα επίπεδα φυτοφαρμάκων σε προϊόντα διατροφής οδήγησαν τους καταναλωτές στην επιλογή προϊόντων χωρίς χημικά (Kumar et al., 2022). Παρόλ' αυτά, στην παγκόσμια αγορά των λιπασμάτων, τα βιολιπάσματα αντιπροσωπεύουν ένα μικρό κλάσμα αυτής, περίπου το 5% της συνολικής ποσότητας λιπασμάτων που διατίθεται στην αγορά (Timmusk et al., 2017; Verma et al., (2019). Τα αζωτοδεσμευτικά βιολιπάσματα, με κυριότερα τα είδη *Rhizobium* spp., *Azotobacter* spp. και *Azospirillum* spp., κυριαρχούν στην αγορά καταλαμβάνοντας μερίδιο περίπου 80%. Ακολουθούν τα βιολιπάσματα διαλυτοποίησης του φωσφόρου, με μερίδιο αγοράς που αγγίζει το 14%.

Η παγκόσμια αγορά βιολιπασμάτων χαρακτηρίζεται ανάλογα με:

- Τον **μικροοργανισμό** που χρησιμοποιείται κατά την παρασκευή του (*Rhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Blue-green Algae*, *Phosphate Solubilizing Bacteria*, *Mycorrhiza*, και άλλους μικροοργανισμούς)
- Τον **τύπο** του βιολιπασματος (βιολιπάσματα φορείς, υγρά βιολιπάσματα, και άλλοι τύποι)
- Τον **τρόπο εφαρμογής** του βιολιπασματος (επεξεργασία σπόρων και επεξεργασία εδάφους)
- Το **είδος της καλλιέργειας** (Σιτηρά και δημητριακά, όσπρια και ελαιούχοι σπόροι, φρούτα και λαχανικά, εμπορικές καλλιέργειες και άλλοι τύποι καλλιεργειών), και

- Τη **γεωγραφική περιοχή** [Βόρεια Αμερική (ΗΠΑ, Καναδάς και Μεξικό), Ευρώπη (Γερμανία, Μεγάλη Βρετανία, Ισπανία, Ιταλία, Ρωσία, υπόλοιπη Ευρώπη), Ασιατικές χώρες στον Ειρηνικό Ωκεανό (Κίνα, Ιαπωνία, Ινδία, Αυστραλία, Νέα Ζηλανδία και υπόλοιπη Ασία), Νότια Αμερική (Βραζιλία, Αργεντινή, υπόλοιπη Νότια Αμερική), Μέση Ανατολή και Αφρική (Νότια Αφρική, υπόλοιπη Αφρική)].

Μεταξύ των γεωγραφικών περιοχών, οι Ασιατικές χώρες του Ειρηνικού έχουν την ταχύτερη αναπτυσσόμενη αγορά βιολιπασμάτων (Biofertilizers Market, 2018). Η Βόρεια Αμερική κυριαρχεί οικονομικά στην παγκόσμια αγορά, ακολουθούμενη από την Ευρώπη, και τις Ασιατικές χώρες του Ειρηνικού. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, το Υπουργείο Γεωργίας (US EPA) εγκαινίασε το 2017 το Εθνικό Βιολογικό Πρόγραμμα, για την πιστοποίηση γεωργικών εκτάσεων για καλλιεργητές που θα μετέτρεπαν τις καλλιέργειές τους σε βιολογικές. Σύμφωνα με την Organic Trade Association (OTA, 2022), μέσω της πιστοποίησης οι καλλιεργητές θα μπορούσαν να διαθέτουν τα βιολογικά προϊόντα τους στην αγορά σε υψηλότερες τιμές απ' ό,τι τα συμβατικά προϊόντα. Στόχος αυτού του προγράμματος ήταν η εξάπλωση της χρήσης των βιολιπασμάτων κι επομένως η επέκταση της αγοράς βιολιπασμάτων στις Ηνωμένες Πολιτείες. Τα βιολιπάσματα με βάση τα ριζόβια καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο τμήμα της αγοράς βιολιπασμάτων στις ΗΠΑ, και συγκεκριμένα τα είδη *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium* και *Allorhizobium*.

Η εμπορία βιολιπασμάτων κατά το 2017, έφερε στη Βόρεια Αμερική κέρδη 495 εκατομμυρίων δολαρίων, 450 εκατομμύρια δολάρια στην Ευρώπη, 284 εκατομμύρια δολάρια στις Ασιατικές χώρες του Ειρηνικού, 240 εκατομμύρια στη Νότια Αμερική και 44 εκατομμύρια δολάρια στην Αφρική. Εκτιμάται ότι η παγκόσμια αγορά βιολιπασμάτων μέχρι το 2025 θα αγγίξει κέρδη πάνω από 3.5 δισεκατομμύρια δολάρια.

Η παγκόσμια αγορά βιολιπασμάτων είναι διασπασμένη με πολλές μικρές και μεγάλες εταιρείες, στις διάφορες γεωγραφικές περιοχές. Ορισμένες από αυτές είναι η T Stanes & Company Ltd. (Ινδία), η Novozymes (Δανία), η International Panacea Limited (Ινδία), η SOM Phytopharma Ltd. (Ινδία), η Bayer CropScience (Γερμανία), η Symborg (Ισπανία), η Madras Fertilizers Limited (Ινδία), η Kan Biosys (Ινδία), η Kiwa Bio-Tech Products Group Corporation (Κίνα), η Gujarat State Fertilizers and Chemicals Ltd. (Ινδία), η Mapleton Agribiotech (Αυστραλία), η National Fertilizers Limited (Ινδία), η Lallemand Inc. (Καναδάς), η Rashtriya Chemicals & Fertilizers Ltd (Ινδία) και η Rizobacter Argentina S.A (Αργεντινή). Από αυτές, η Kiwa Bio-Tech Products Group Corporation, η Lallemand Inc., Bayer CropScience, Rizobacter και η BASF SE αποτελούν μερικές από τις βασικές εταιρείες στην παγκόσμια αγορά, καθώς επενδύουν τεράστια ποσά στην ανάπτυξη νέων προϊόντων (<https://www.Mordorintelligence.com> 2022).

Για παράδειγμα, τον Ιανουάριο 2021, η Lallemand Inc. συγχωνεύτηκε με την Biotec BetaGlucans AS (BBG), θυγατρική της εταιρείας Articzymes Technologies ASA (AZT) που ειδικεύεται στην ανάπτυξη, παραγωγή και διάθεση προϊόντων βήτα-γλυκάνης υψηλής καθαρότητας, από κυτταρικά τοιχώματα ζυμομυκήτων. Επίσης, τον Μάιο 2021, η εταιρεία Rizobacter Argentina SA κυκλοφόρησε ένα νέο βιολίπασμα, με την ονομασία Microstar Bio, το οποίο περιέχει βακτηριακά στελέχη σε μικροκάψουλες.

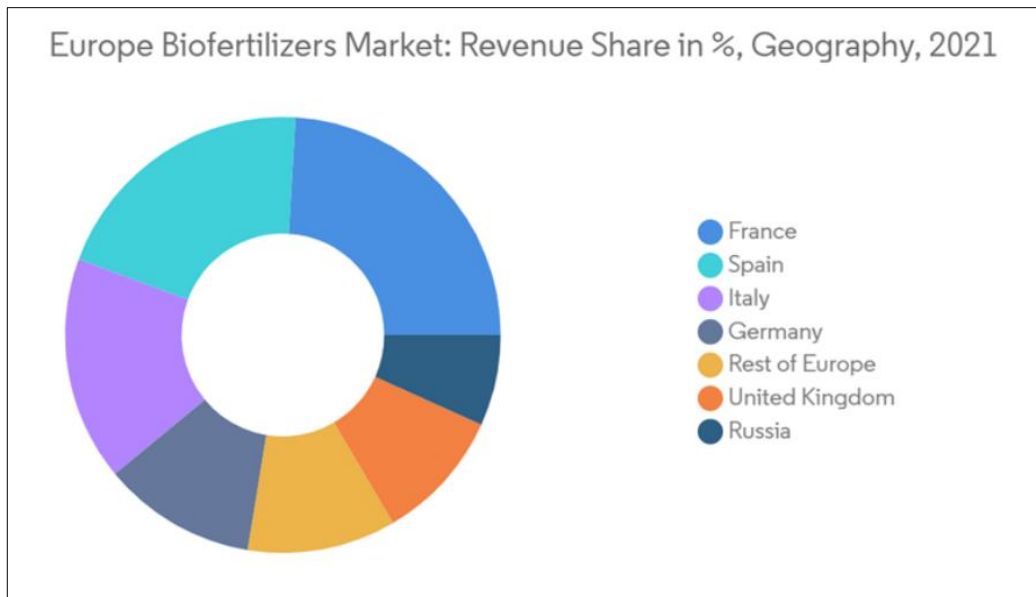
#### **2.1.7.2. Ευρωπαϊκή αγορά βιολιπασμάτων**

Η Ευρώπη αποτελεί τον δεύτερο μεγαλύτερο καταναλωτή βιολιπασμάτων στον κόσμο και κατέχει μερίδιο 30% στην παγκόσμια αγορά βιολιπασμάτων το 2019. Ο νέος Ευρωπαϊκός Κανονισμός σχετικά με τα προϊόντα λίπανσης, που θα τεθεί σε εφαρμογή τον Ιούλιο 2022, εισάγει για πρώτη φορά τα βιολιπάσματα και ενθαρρύνει τη χρήση τους ως περισσότερο οικονομικά και περιβαλλοντικά βιώσιμα.

Η ανάπτυξη της ευρωπαϊκής αγοράς βιολιπασμάτων οφείλεται κυρίως στην αυξανόμενη διείσδυση των βιολιπασμάτων στη γεωργία. Η ζήτηση για βιολιπάσματα στην Ευρωπαϊκή Ένωση παρουσιάζει αυξητικές τάσεις εξαιτίας της μεταστροφής των συμβατικών καλλιεργειών σε βιολογικές. Σύμφωνα με το Ινστιτούτο Έρευνας Βιολογικής Γεωργίας (FiBL, 2022), η συνολική έκταση βιολογικής καλλιέργειας αυξήθηκε από 12,81 εκατομμύρια εκτάρια το 2017 σε 14,57 εκατομμύρια εκτάρια το 2019. Το 2017, οι χώρες με τη μεγαλύτερη έκταση βιολογικών καλλιεργειών αποτελούσαν η Ισπανία (16.6%), η Ιταλία (15.2%), η Γαλλία (13.9%) και η Γερμανία (9.1%), ενώ σε 10 Ευρωπαϊκές χώρες, οι αρδευόμενες καλλιέργειες καταλάμβαναν πάνω από το 50% των βιολογικών καλλιεργειών, ακολουθούμενες από τις μόνιμες καλλιέργειες και τους μόνιμους λειμώνες. Επιπλέον, την τελευταία δεκαετία, παρατηρήθηκε μία αυξανόμενη ζήτηση για βιολογικά προϊόντα, η οποία οφείλεται στη συνειδητοποίηση των καταναλωτών σχετικά με ζητήματα τοξικότητας των συμβατικών λιπασμάτων. Η τάση αυτή είχε ως αποτέλεσμα οι αγρότες να μετατρέψουν τις καλλιέργειες τους σε βιολογικές, οι οποίες αποδίδουν υψηλότερα εισοδήματα. Οι δύο αυτοί παράγοντες οδήγησαν στην αύξηση της ζήτησης των βιολιπασμάτων. Τα Rhizobium αποτελούν τα κυριότερα βιολιπάσματα που κυκλοφορούν στην ευρωπαϊκή αγορά.

Η Ισπανία και η Γαλλία κατέχουν τις πρώτες θέσεις στη ευρωπαϊκή αγορά βιολιπασμάτων (<https://www.researchandmarkets.com> 2022,). Τα Ισπανικά βιολιπάσματα εκτιμάται ότι απέφεραν κέρδη 91,4 εκατομμύρια USD, το 2018. Στο Κέντρο Βιοτεχνολογίας και Γονιδιωματικής των Φυτών της Μαδρίτης αναπτύχθηκε, το 2015, μία μέθοδος σύνθεσης βιολιπασμάτων υψηλής καθαρότητας, με χρήση χιτίνης

προερχόμενης από τον εξωσκελετό καρκινοειδών και εντόμων (Gii research, 2022). Το 2021, ωστόσο, η Γαλλία φαίνεται να κατέχει την πρωτιά στην ευρωπαϊκή αγορά (Εικόνα 3) (Research and Markets, 2022).



**Εικόνα 3.** Μεριδίο αγοράς των διαφόρων Ευρωπαϊκών κρατών στην ευρωπαϊκή αγορά βιολιπασμάτων (Πηγή [Research and Markets](#), 2022)

Στην Ευρώπη, η αγορά των βιολιπασμάτων είναι επίσης διασπασμένη. Οι διάφορες εταιρείες που δραστηριοποιούνται στον τομέα, υιοθετούν διάφορες επιχειρηματικές στρατηγικές, όπως ανάπτυξη νέων προϊόντων και συνεργασίες, ώστε να επιτύχουν υψηλότερο μερίδιο στην αγορά. Οι επενδύσεις στην R&D και η εισαγωγή νέων προϊόντων είναι οι πρωταρχικοί στόχοι όλων των εταιρειών παραγωγής βιολιπασμάτων. Οι κυριότερες εταιρείες που δραστηριοποιούνται στην Ευρώπη είναι:

- η Ισπανική Symborg SL (<https://symborg.com/en/>), η οποία εξειδικεύεται σε βιολιπάσματα, όπως το Vitasoil και το Qlimax, το οποίο βασίζεται σε βιομόρια με πρεβιωτική δράση, που συλλέγονται μέσω βιοτεχνολογικών μεθόδων, καθώς και σε βιοδιεγέρτες,
- η Ισπανική Ficosterra (<https://www.ficosterra.com/>), η οποία παράγει βιολιπάσματα και βιοδιεγέρτες, 100% μη προερχόμενα από ζωικά προϊόντα,
- η Γερμανική ASB Greenworld (<https://asbgreenworld.com/en/>), η οποία διανέμει προϊόντα σε όλη την Ευρώπη, Βόρεια Αμερική και Καναδά,
- η Δανέζικη Biocorrection AS (<http://www.biocorrection.com/>), η οποία παράγει εξειδικευμένα προϊόντα βασισμένα σε χουμικές ενώσεις, που αποτελούν κατά βάση βιοκαταλύτες και βιοδιεγέρτες,

- η Λιθουανική UAB Bioenergy (<https://www.agriculture-xprt.com/companies/uab-bioenergy-lt-76897>), η οποία παράγει βιολιπάσματα (π.χ. Bactoforce, Azofix, Biofert από βακτηριακές καλλιέργειες) που διακινούνται παγκοσμίως,
- η Καναδέζικη Agrinos AS (<https://agrinos.com/>), με έδρες, μεταξύ άλλων, στην Ισπανία και την Ουκρανία, η οποία παράγει βιολιπάσματα, όπως τα iNvigoate, B Sure και Agrinos, με έμφαση στην ενίσχυση του εδαφικού μικροβιώματος και την μεταφορά βιοδιαθέσιμων θρεπτικών στοιχείων στα φυτά.
- η Ινδική Biomax Naturals (<http://www.biomaxnaturals.com/>), η οποία παράγει υψηλής απόδοσης μικροβιακά βιολιπάσματα εξειδικευμένα για διάφορες καλλιέργειες (πατάτες, ρύζι, σιτάρι κλπ.), το βιολίπασμα πολλαπλών χρήσεων Biomix, καθώς και το διαλυτοποιητή ψευδαργύρου BioZinc, και
- η Αργεντινική Rizobacter Argentina SA (<https://www.rizobacter.com.ar/>), η οποία παράγει βιολιπάσματα με βάση μικροοργανισμούς PGPR του είδους *Pseudomonas fluorescens*, όπως το Rizofos.

Οι εταιρείες αυτές δε διαθέτουν νανολιπάσματα και νανοβιολιπάσματα, τουλάχιστον όπως περιγράφονται στην παρούσα διατριβή. Η ισπανική εταιρεία Symborg, σύμφωνα με τα όσα αναφέρει στην ιστοσελίδα της, φαίνεται να είναι η μοναδική που έχει εφαρμόσει καινοτόμες βιοτεχνολογικές μεθόδους στην ανάπτυξη του προϊόντος της, το Qlimax. Παρά την εκτενή έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο διαδίκτυο, δεν υπάρχουν νανοβιοπροϊόντα που παράγονται ή/και διακινούνται στην ευρωπαϊκή αγορά.

### **2.1.8. Νανοϋλικά και νανοτεχνολογία στην Ευρωπαϊκή Ένωση**

Το νανοϋλικό ορίστηκε για πρώτη φορά στην Ευρωπαϊκή Ένωση το 2011 με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό (ΕΚ) 2011/696 ως «κάθε φυσικό, περιστασιακό ή μεταποιημένο υλικό που περιέχει σωματίδια, σε μη δεσμευμένη μορφή ή ως σύμπηγμα ή συσσωμάτωμα και εφόσον, σύμφωνα με την κατανομή των αριθμητικών μεγεθών, τουλάχιστον το 50 % των σωματιδίων έχει μία ή περισσότερες εξωτερικές διαστάσεις εντός της κλίμακας μεγέθους 1 nm — 100 nm». Η συνολική ετήσια ποσότητα των διακινούμενων νανοϋλικών στην παγκόσμια αγορά άγγιζε τα 11 εκατομμύρια τόνους, αποδίδοντας κατά μέσο όρο 20 δις ευρώ ετησίως, με τον μαύρο άνθρακα και το άμορφο πυρίτιο να κυριαρχούν μεταξύ των παραγόμενων νανοϋλικών. Ωστόσο, το νανο-διοξειδίο του τιτανίου (TO<sub>2</sub>NPs), το νανο-οξειδίο του ψευδαργύρου (ZnO<sub>2</sub>NPs), τα φουλερένια, οι νανοσωλήνες άνθρακα και τα νανοϋλικά αργύρου αποτελούσαν ένα εξαιρετικά γρήγορα αναπτυσσόμενο τμήμα της αγοράς (ΕΕ, 2012).

Το 2012, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή πρότεινε αναθεώρηση των κανονισμών, θέτοντας παράλληλα ζητήματα ασφάλειας ανθρώπων και περιβάλλοντος, συστήνοντας τον Ευρωπαϊκό Φορέα Χημικών (European Chemicals Agency) (ECHA, 2012), ο οποίος μέσω των κανονισμών REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals – Καταχώρησης, Αξιολόγησης, Αδειοδότησης και Απαγόρευσης των Χημικών) (REACH, 2022), CLP (Classification, Labelling and Packaging – Ταξινόμησης, Επισήμανσης και Συσκευασίας) (CLP, 2022) και BPR (Biocidal Products Regulation) (BRB, 2022) εφαρμόζει τα κανονιστικά πλαίσια για την παραγωγή και διακίνηση χημικών και βιοκτόνων ουσιών, συμπεριλαμβανομένων και των νανοϋλικών, στην Ευρωπαϊκή αγορά.

Για να μπορούν να παρασκευάζονται ή να εισάγονται νόμιμα στην ΕΕ, όλες οι ουσίες που εμπίπτουν στο πεδίο εφαρμογής του REACH θα πρέπει να είναι καταχωρημένες. Ανάλογα με τον όγκο που διατίθεται στην αγορά, οι κατασκευαστές ή/και οι εισαγωγείς, στο πλαίσιο της καταχώρισής τους, πρέπει να υποβάλλουν πληροφορίες τόσο για τις επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία όσο και για το περιβάλλον, καθώς και για τις επικίνδυνες ναυμορφές – μια εκτίμηση της έκθεσης σε όλο τον κύκλο ζωής.

Οι ίδιες υποχρεώσεις ισχύουν για τα νανοϋλικά. Όταν οι ουσίες έχουν επικίνδυνες ιδιότητες, ο Κανονισμός CLP απαιτεί να κοινοποιούνται στον ECHA και να επισημαίνονται και να συσκευάζονται ώστε οι ουσίες να μπορούν να χρησιμοποιηθούν με ασφάλεια. Οι εταιρείες θα πρέπει να είναι διαφανείς στην καταχώρισή τους στο REACH για να υποδεικνύουν με σαφήνεια τον τρόπο αντιμετώπισης της ασφάλειας των ναυμορφών, συμπεριλαμβανομένων των μέτρων που απαιτούνται για τον επαρκή έλεγχο του πιθανού κινδύνου.

Τα έγγραφα καθοδήγησης του ECHA παρέχουν περαιτέρω υποστήριξη στις εταιρείες σχετικά με τον τρόπο αναγνώρισης και αναφοράς ιδιοτήτων των ναυμορφών τους. Εκτός από το REACH και το CLP, υπάρχει επίσης τομεακή νομοθεσία στην ΕΕ για συγκεκριμένες ομάδες προϊόντων. Καλύπτουν για παράδειγμα βιοκτόνα, φυτοπροστατευτικά προϊόντα, καλλυντικά, φαρμακευτικά προϊόντα, παιχνίδια, τρόφιμα και ηλεκτρονικά είδη. Η νομοθεσία για την προστασία του περιβάλλοντος, των εργαζομένων και των καταναλωτών εφαρμόζεται συνήθως στην ΕΕ μέσω οδηγιών. Εάν τα νανοϋλικά αποτελούν κίνδυνο για το περιβάλλον, τους εργαζόμενους ή τους καταναλωτές, οι γενικοί κανόνες που ορίζονται στη νομοθεσία ισχύουν με τον ίδιο τρόπο για τα νανοϋλικά όπως και για άλλες μορφές ουσίας.

Ωστόσο, κατά την αναζήτηση που πραγματοποιήσαμε στην βάση δεδομένων του ECHA για νανοβιολιπάσματα (nanofertilizers) και νανοβιοπαρασιτοκτόνα (nanopesticides), προέκυψε ότι δεν υπάρχουν καταχωρημένες αυτές οι ορολογίες (ECHA, 2022).

### **2.1.9. 3Ευρωπαϊκοί και Διεθνείς Κανονισμοί**

Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχοντας ως στόχο την εναρμόνιση των προτύπων παραγωγής, διακίνησης και σήμανσης των προϊόντων λίπανσης στην ενιαία αγορά της, θέσπισε τον νέο Ευρωπαϊκό Κανονισμό (ΕΕ) 2019/1009 (ΕΕ, 2019) τροποποιώντας ταυτόχρονα παλαιότερους κανονισμούς (1609/2009 και 1107/2009), ώστε να υπάρξει εναρμόνιση στην ευρωπαϊκή αγορά των βιολιπασμάτων και βιοδιεγερτών.

Αντίστοιχα, στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, ήδη από τον Δεκέμβριο 2018, οι Πράξεις Βελτίωσης της Γεωργίας έγιναν νόμος, ενώ ταυτόχρονα λαμβάνουν χώρα διαβουλεύσεις από την Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος (United States Environmental Protection Agency, US EPA) για την θέσπιση νέων κανονισμών που αφορούν τη γεωργία και τη χρήση των βιολιπασμάτων και βιοδιεγερτών. Έτσι, στις ΗΠΑ και την Ευρώπη, τα προϊόντα αυτά πλέον ορίζονται και καθορίζεται η χρήση τους.

Ωστόσο, σε άλλες χώρες του κόσμου, τα προϊόντα αυτά καλύπτονται μόνο από την εθνική τους νομοθεσία, η οποία κατά περίπτωση τα κατηγοριοποιεί σε οργανικά λιπάσματα, λιπάσματα, βιολιπάσματα, ενισχυτές ανάπτυξης φυτών ή ενισχυτές φυτών. Για παράδειγμα, στην Ινδία, οι δύο κύριες κατηγορίες των βιοδιεγερτών είναι τα βιολιπάσματα και τα οργανικά λιπάσματα, σύμφωνα με τον Κανόνα Ελέγχου Λιπασμάτων (Fertilizer Control Order, FCO) του 1985, ενώ στη Βραζιλία, ο Κανονισμός Lei Ordinária No. 6.894/1980 ταξινομεί τους βιοδιεγέρτες ως εμβόλια ή βιολιπάσματα.

#### **2.1.9.1. Νέος Ευρωπαϊκός Κανονισμός (ΕΚ) 2019/1009**

Στις 5 Ιουνίου 2019, κατόπιν τριετών διαβουλεύσεων που είχαν αρχίσει τον Μάρτιο του 2016 στην Ευρωπαϊκή Επιτροπή, εγκρίθηκε ο νέος Κανονισμός (ΕΚ) 2019/1009, με τον οποίο θεσπίστηκε το νέο κανονιστικό πλαίσιο σχετικά με την παραγωγή, διάθεση και εμπορία προϊόντων λίπανσης στην αγορά της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ L 170/25.6.2019, σ. 1-114). Ο Κανονισμός αυτός θα τεθεί σε εφαρμογή στις 16 Ιουλίου 2022 και θα αντικαταστήσει τον προηγούμενο Κανονισμό (ΕΚ) 2003/2003, ο οποίος κάλυπτε σχεδόν αποκλειστικά τα λιπάσματα από ορυκτά ή από χημικώς παραγόμενα ανόργανα υλικά ενώ δεν συμπεριλάμβανε είδη λιπασμάτων που προέρχονταν από τη αξιοποίηση ανακυκλωμένων ή οργανικών υλικών (ΕΕ L 304/ 21.11.2003



Με το νέο Κανονισμό ανοίγει η νέα αγορά σε νέες κατηγορίες προϊόντων λίπανσης, οι οποίες δεν καλύπτονταν μέχρι πρότινος από κανόνες εναρμόνισης. Ταυτόχρονα, θεσπίζονται κοινοί αυστηροί κανόνες σχετικά με τις απαιτήσεις ασφάλειας, ποιότητας και επισήμανσης για όλα τα προϊόντα λίπανσης που θα διατίθενται ελεύθερα στην ενιαία αγορά. Ορίζονται διαφορετικές κατηγορίες για τα προϊόντα λίπανσης της ΕΕ, καθώς επίσης και διαφορετικές κατηγορίες για τα συστατικά τους στοιχεία. Κάθε κατηγορία υπόκειται σε συγκεκριμένες απαιτήσεις παραγωγής, ασφάλειας και ποιότητας. Ένα σημαντικό σημείο του νέου κανονισμού είναι ότι εισάγονται για πρώτη φορά όρια για τους τοξικούς επιμολυντές, με στόχο τη διασφάλιση της προστασίας του εδάφους και τη μείωση των κινδύνων που αφορούν την υγεία και το περιβάλλον.

Ο κανονισμός καλύπτει ως προϊόντα λίπανσης τα οργανικά, οργανο-ανόργανα και ανόργανα λιπάσματα, τα υλικά ασβέστωσης, τα οργανικά και ανόργανα βελτιωτικά εδάφους, τα υποστρώματα καλλιεργειών, τους αναστολείς νιτροποίησης, απονίτρωσης και ουρεάσης και τα σύμμεικτα λιπάσματα. Ως μία ξεχωριστή κατηγορία (6<sup>η</sup> κατηγορία προϊόντων λίπανσης του κανονισμού) αναφέρονται πλέον τα βιολιπάσματα:

«**Βιοδιεγέρτης φυτών** (προϊόν λίπανσης της ΕΕ που έχει ως λειτουργία να διεγείρει τις διαδικασίες θρέψης των φυτών ανεξάρτητα από την περιεκτικότητα του προϊόντος σε θρεπτικά στοιχεία, με μοναδικό σκοπό τη βελτίωση της αποδοτικότητας της χρήσης των θρεπτικών στοιχείων, της αντοχής σε αβιοτικές καταπονήσεις, των χαρακτηριστικών ποιότητας, ή της διαθεσιμότητας των θρεπτικών στοιχείων που συγκρατούνται στο έδαφος ή στη ριζόσφαιρα). Διακρίνεται σε: **Μικροβιακό** (αποτελείται από έναν μικροοργανισμό ή συμβιωτική κοινότητα μικροοργανισμών, όπως τα είδη *Azotobacter* spp., Μυκορριζικοί μύκητες, *Rhizobium* spp. και *Azospirillum* spp., οι οποίοι δεν έχουν υποστεί άλλη επεξεργασία εκτός από ξήρανση ή λυοφιλίωση), και **Μη μικροβιακό** (είναι βιοδιεγέρτης φυτών άλλος από τους μικροβιακούς βιοδιεγέρτες φυτών).»

Για κάθε κατηγορία λιπάσματος, ο κανονισμός καθορίζει α) Τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα επιμολυντών. Ως επιμολυντές αναφέρονται το κάδμιο, το εξασθενές χρώμιο, ο υδράργυρος, το νικέλιο, ο μόλυβδος, το αρσενικό, η διουρία και το υπερχλωρικό, β) Την ελάχιστη περιεκτικότητα σε μικροθρεπτικά στοιχεία (χαλκός και ψευδάργυρος) και γ) Τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα παθογόνων παραγόντων. Ως τέτοιοι αναφέρονται η *Salmonella* spp. και η *Escherichia coli* ή *Enterococcaceae*, και για την κατηγορία των μικροβιακών διεγερτών αναφέρονται επίσης και η *Listeria monocytogenes*, *Vibrio* spp., *Shigella* spp. και *Staphylococcus aureus*.

### 2.1.9.2. Πλεονεκτήματα της εφαρμογής του νέου Κανονισμού

Τα κυριότερα πλεονεκτήματα της εφαρμογής του νέου κανονισμού αναφέρονται συνοπτικά παρακάτω:

- Ενισχύεται η χρήση οργανικών λιπασμάτων και ιδιαίτερα των βιολιπασμάτων και διευκολύνεται η πρόσβασή τους στην αγορά.
- Προωθείται η χρήση ανακυκλώσιμων υλικών στην παραγωγή λιπασμάτων και παράλληλα μειώνεται η εξάρτηση από εισαγόμενα θρεπτικά συστατικά.
- Καθιερώνονται σαφή κριτήρια ποιότητας, ασφάλειας και περιβάλλοντος σε επίπεδο ΕΕ για τα λιπάσματα με το σήμα «CE».
- Θεσπίζονται μέγιστα επίπεδα για τους επιμολυντές, και ιδιαίτερα το κάδμιο, στα οργανικά και στα βιολογικά προϊόντα λίπανσης.
- Οι αγρότες, ως τελικοί χρήστες των προϊόντων λίπανσης, έχουν περισσότερες επιλογές λίπανσης για τις καλλιέργειές τους, διασφαλίζοντας υψηλότερη προστασία για την υγεία τους και για το περιβάλλον.
- Αυξάνεται η εμπιστοσύνη του καταναλωτή στην ασφάλεια των προϊόντων λίπανσης σε σχέση με την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον (ιδίως όσον αφορά τα τοξικά στοιχεία, οργανικούς ρύπους).

### **2.1.9.3. Νομοθετικά κενά**

Οι όροι για τη διάθεση λιπασμάτων στην εσωτερική αγορά έχουν εναρμονιστεί εν μέρει μέσω του νέου Ευρωπαϊκού Κανονικού (ΕΚ) αριθ. 2019/1009. Ωστόσο, νομοθετικά κενά εξακολουθούν να υπάρχουν προκαλώντας προβληματισμό ως προς τη χρήση τους. Συγκεκριμένα:

- Με τις διατάξεις του νέου κανονισμού αναγνωρίζονται πλέον το κάδμιο, το ουράνιο και άλλα στοιχεία ως τοξικά, που σημαίνει ότι οι προσμείξεις στα προϊόντα λίπανσης της ΕΕ αποτελούν εν δυνάμει κίνδυνο για την υγεία του ανθρώπου, των ζώων και των φυτών, καθώς και για την ασφάλεια του περιβάλλοντος.
- Η λίστα των μικροοργανισμών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιολιπάσματα περιορίζεται μόνο σε τέσσερα διαφορετικά γένη (*Azotobacter*, *Mycorrhiza*, *Rhizobium* και *Azospirillum*). Ωστόσο, η επιλογή αυτών των μικροοργανισμών πραγματοποιήθηκε με απόλυτα ταξονομικά κριτήρια, γεγονός που δεν εγγυάται πλήρως την ασφάλεια των στελεχών που έχουν εγκριθεί να εγγραφούν ως ασφαλή (Barros-Rodriguez et al., 2020). Τα διάφορα στελέχη ενός είδους μικροοργανισμού μπορεί να είναι αβλαβή αλλά και παθογόνα. Το γεγονός ότι δεν έχει εντοπιστεί μέχρι

σήμερα κανένα παθογόνο είδος στα γένη που αναφέρονται στον κανονισμό, δεν αποτελεί εγγύηση ότι δεν υπάρχουν πιθανά παθογόνα τα οποία δεν έχουν αναγνωρισθεί ακόμη.

- Ο περιορισμός στα (4-5) είδη που είναι ήδη γνωστά δεν επιτρέπει την ανάπτυξη καινοτόμων προϊόντων με δυνητικά πολύ πιο αποτελεσματικό ή εναλλακτικό τρόπο δράσης

## 2.2. Βιοπαρασιτοκτόνα – Νέα βιοπαρασιτοκτόνα

### 2.2.1 Ορισμός βιοπαρασιτοκτόνων

Ως βιοπαρασιτοκτόνα ορίζονται οι ενώσεις που προέρχονται από ζώα, φυτά ή μικροοργανισμούς και χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο των γεωργικών παρασίτων μέσω συγκεκριμένων βιολογικών μηχανισμών (Gupta & Dikshit, 2010, Abbey et al., 2020). Κάθε είδος παθογόνου που μπορεί να προκαλέσει βλάβη στα φυτά, στα ζώα και τους ανθρώπους θεωρείται παράσιτο (Deepti Srivastava et al., 2022, Abdollahdokht et al., 2022). Ειδικότερα, ως γεωργικά παράσιτα θεωρούνται τα παθογόνα των οποίων η δράση έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής των καλλιεργειών καθώς και την αναστολή των διαδικασιών επεξεργασίας, αποθήκευσης, διακίνησης και εμπορίας τροφίμων και αγροτικών προϊόντων. Έτσι, στα παράσιτα συμπεριλαμβάνονται τα βακτήρια, οι μύκητες, οι ιοί, οι νηματώδεις, τα ζιζάνια, τα έντομα και τα τρωκτικά (Deepti Srivastava et al., 2020). Σύμφωνα με τον Φορέα Περιβαλλοντικής Προστασίας των Ηνωμένων Πολιτειών (US EPA, 2022), τα βιοπαρασιτοκτόνα περιλαμβάνουν φυσικές ουσίες που ελέγχουν τα παράσιτα (βιοχημικά παρασιτοκτόνα), μικροοργανισμούς που ελέγχουν τα παράσιτα (μικροβιακά παρασιτοκτόνα) και παρασιτοκτόνες ουσίες που παράγονται από γενετικώς τροποποιημένα φυτά (ενσωματωμένα παρασιτοκτόνα).

### 2.2.2 Κατηγορίες βιοπαρασιτοκτόνων

Τα βιοπαρασιτοκτόνα χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες, ανάλογα με τη δραστική ουσία που περιέχουν (US EPA, 2022).

#### 2.2.2.1. Μικροβιακά

Τα μικροβιακά βιοπαρασιτοκτόνα περιέχουν ως δραστικό συστατικό μικροοργανισμούς (όπως βακτήρια, μύκητες, ιούς, φύκη, και πρωτόζωα), κάθε ένας από τους οποίους εξειδικεύεται σε συγκεκριμένο παράσιτο-στόχο, μέσω της παραγωγής συγκεκριμένων τοξινών (Sharma & Malik, 2012). Το βακτηριακό είδος *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) αποτελεί το πιο διαδεδομένο και οικονομικότερο μικροβιακό βιοπαρασιτοκτόνο. Το βακτήριο *Bt* παράγει την κρυσταλλική πρωτεΐνη δ-ενδοτοξίνη, η κατανάλωση της οποίας από το παθογόνο έντομο-στόχο έχει ως αποτέλεσμα την παράλυση του πεπτικού του σωλήνα και κατ' επέκταση την εξόντωσή του μέσα σε 24–48 ώρες. Μέχρι σήμερα, έχουν αναπτυχθεί περισσότερα από εκατό *Bt* βιοπαρασιτοκτόνα, βασισμένα σε διαφορετικά στελέχη του μικροβίου, τα οποία παράγουν εξειδικευμένες ενδοτοξίνες για κάθε έντομο ή ομάδες εντόμων (Kumar, 2012, Dhir, 2017).

Οι βακουλοϊοί και οι μύκητες αποτελούν ένα άλλο είδος μικροβιακών βιοπαρασιτοκτόνων. Οι βακουλοϊοί έχουν υψηλή εξειδίκευση στην καταπολέμηση κυρίως εντόμων και ορισμένων αρθρόποδων. Χωρίζονται σε δύο είδη: τους Πυρηνοπολυεδροϊούς (*Nucleopolyhedrovirus*, NPV) και τους Γκρανουλοϊούς (*Granulovirus*, GV). Παγκοσμίως, υπάρχουν περίπου 13 εγγεγραμμένα βιοπαρασιτοκτόνα που βασίζονται σε NPV ιούς (Thakore, 2006), οι οποίοι καταπολεμούν 525 είδη εντόμων (Nawaz et al., 2016). Αναφορικά με τους μύκητες, υπάρχουν τουλάχιστον 170 διαφορετικά βιοπαρασιτοκτόνα που βασίζονται σε εντομοπαθογόνους μύκητες που έχουν αναπτυχθεί για φυτοπροστατευτική χρήση σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες, σπυροφόρα δένδρα, και λαχανικά καθώς και σε μεγάλες καλλιέργειες. Το *Trichoderma harzianum* χρησιμοποιείται, επίσης, ως βιοπαρασιτοκτόνο για τα εδαφικά παθογόνα *Rhizoctonia*, *Pythium* και *Fusarium* (Harman 2006). Ωστόσο, τα μικροβιακά βιοεντομοκτόνα πρέπει να παρακολουθούνται τακτικά προκειμένου να διασφαλιστεί ότι δεν αποτελούν κίνδυνο για οργανισμούς μη-στόχους, συμπεριλαμβανομένων ανθρώπων και άλλων ωφέλιμων οργανισμών (Mazid et al., 2011).

#### **2.2.2.2. Βιοχημικά**

Στα βιοχημικά βιοπαρασιτοκτόνα συμπεριλαμβάνονται οι φερομόνες (γνωστές και ως σημειοχημικά) καθώς και οι δευτερογενείς μεταβολίτες, όπως αλκαλοειδή, αιθέρια έλαια, φλαβονοειδή, φαινολικά, φυτοστερόλες, και πολυκετίδια (Acheuk et al., 2022). Οι φερομόνες χρησιμοποιούνται στην καταπολέμηση πάνω από 30 παθογόνων εντόμων (Nawaz et al., 2016). Με τις φερομόνες, τα παράσιτα προσελκύονται, παγιδεύονται και θανατώνονται (Norin, 2007). Οι δευτερογενείς μεταβολίτες εκκρίνονται σε καταστάσεις χημικής, φυσικής ή βιοτικής καταπόνησης του φυτού και αποτελούν τον αμυντικό μηχανισμό των φυτών ενάντια σε παρασιτολογικές προσβολές, τους παρέχουν προστασία από τη βόσκηση των χορτοφάγων θηλαστικών, ενώ επίσης προσελκύουν τους επικονιαστές (War et al., 2012, Pavela & Benelli, 2016).

Σε σύγκριση με τα συμβατικά παρασιτοκτόνα, τα οποία επηρεάζουν και καταστρέφουν άμεσα τον στόχο τους, τα βιοχημικά ελέγχουν τα παράσιτα μέσω μη τοξικών μηχανισμών, όπως παρεμπόδιση της διαδικασίας πέψης, παράλυση του νευρικού συστήματος, αναστολή της ανάπτυξης τους και της αναπαραγωγής τους (Πίνακας 3) (Regnault-Rogers, 2012). Στα βακτήρια και τους μύκητες, διαλύουν τα κυτταρικά τοιχώματα και τις κυτταροπλασματικές μεμβράνες οδηγώντας σε λύση των κυττάρων και απώλεια των ενδुकυτταρικών συστατικών (Devi et al., 2010).

Τα κυριότερα βιοχημικά παρασιτοκτόνα είναι τα αιθέρια έλαια των φυτών (Isman, 2000), με τις πυρεθρίνες να κυριαρχούν στην καταπολέμηση διαφόρων εντόμων (Acheuk et al., 2022). Επίσης, η αζαδιραχτίνη, δραστική ουσία του ελαίου neem, που εξάγεται από τους σπόρους τους δένδρου neem (*Azadirachta indica*) αποτελεί μία ευρέως χρησιμοποιούμενη βιοχημική ένωση (Schmutterer, 1990), η οποία χρησιμοποιείται ως βιοεντομοκτόνο σε πολλά σκευάσματα (Margosom<sup>®</sup>, AZA-Direct R<sup>®</sup>, AzeraTM<sup>®</sup>, Azamax<sup>®</sup>, NeemAzal T/S<sup>®</sup>) από διάφορες φαρμακευτικές εταιρίες σε όλο τον κόσμο [Agri Life (Ινδία), Gowan Company και MGK (ΗΠΑ), UPL Ltda. (Βραζιλία), Trifolio-M (Γερμανία)].

**Πίνακας 3.** Βιοχημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται ως βιοπαρασιτοκτόνα, προέλευση αυτών και μηχανισμός δράσης τους(προσαρμογή από Campos et al., 2018, Acheuk et al., 2022).

Βιοχημική ένωση	Προέλευση	Μηχανισμός δράσης
Πυρεθρίνη	<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	Διαταραχή της ανταλλαγής ιόντων νατρίου και καλίου στις νευρικές ίνες εντόμων, οδηγώντας σε άμεση παράλυση.
Θυμόλη (αιθέριο έλαιο)	<i>Thymus vulgaris</i>	Διεγείρει τους υποδοχείς GABA <sub>A</sub>
Αζαδιραχτίνη (λιμονοειδές)	<i>Azadirachta indica</i>	Αναστέλλει τη δραστηριότητα της ακετυλοχολινεστεράσης. Δρα ως απωθητικό. Προκαλεί στειρότητα στα ενήλικα θηλυκά.
Λιναλουόλη (αιθέριο έλαιο)	<i>Aniba rosaeodora</i>	Ανταγωνιστική και αναστρέψιμη αναστολή της δράσης της ακετυλοχολινεστεράσης
Καρβακρόλη (αιθέριο έλαιο)	<i>Origanum vulgare</i>	Ενώνεται στους νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης
Ευγενόλη (αιθέριο έλαιο)	<i>Syzygium aromaticum</i>	Διεγείρει τους υποδοχείς οκταπαμίνης
Μενθόλη (αιθέριο έλαιο)	<i>Mentha piperita</i>	Θετικός αλλοστερικός ρυθμιστής των υποδοχέων GABA <sub>A</sub>
α-Τερπενιόλη (αιθέριο έλαιο)	<i>Citrus sinensis</i>	Μειώνει τα ενδοκυττάρια επίπεδα του δεύτερου αγγελιοφόρου cAMP (υποδοχείς τυραμίνης)
1,8-Σινεόλη (ευκαλυπτόλη) (αιθέριο έλαιο)	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Ανταγωνιστής των υποδοχέων οκτοπαμίνης
Σιναμαλδεΰλη	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Ανταγωνιστής της οκτοπαμίνης
Νικοτίνη (αλκαλοειδές) **	<i>Nicotiana</i> sp.	Μιμείται τον νευροδιαβιβαστή της ακετυλοχολίνης
Ρυανοδίνη (αλκαλοειδές)	<i>Ryania speciosa</i>	Δηλητήριο στομάχου, οι υποδοχείς ρυανοδίνης επηρεάζουν την έκκριση Ca <sup>2+</sup> .
Ροτενόνη (φαινολικό)	<i>Derris</i> sp.	Μιτοχονδριακή κυτοτοξίνη. Είναι νευροτοξικό, προκαλεί παράλυση και θάνατο

Σιτρονελλόλη, σιτρονελλάλη, γερανιόλη (μονοτερπένια) (αιθέριο έλαιο σιτρονέλλας)	<i>Cymbopogon nardus</i>	Ανταγωνιστής της οκτοπαμίνης
--	--------------------------	------------------------------

\*\* Απαγορεύτηκε στην Ευρωπαϊκή Ένωση το 2018, εξαιτίας της βλαβερής επίδρασης που είχε στις μέλισσες.

Ορισμένα άλλα βιολογικά σκευάσματα, όπως αυτά που παρασκευάζονται από το αιθέριο έλαιο του σκόρδου (*Allium sativum* L.), το αιθέριο έλαιο καρβακρόλη από τη ρίγανη (*Origanum vulgare*), τη ροτενόνη και τη νικοτίνη (*Nictiana tabacum* L.) έχουν επίσης εντομοκτόνο δράση, ενώ τα αιθέρια έλαια λιμονένη και λιναλουόλη από το πορτοκάλι (*Citrus sinensis* L.) και τα έλαια από το θυμάρι (*Thymus vulgaris*) έχουν ταυτόχρονα εντομοκτόνο και εντομοαπωθητική δράση (Campos et al., 2019).

### **2.2.2.3. Ενσωματωμένα φυτοπροστατευτικά**

Τα ενσωματωμένα φυτοπροστατευτικά ή PIPs, όπως αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία από τον αγγλικό όρο *Plant Incorporated Protectants*, αποτελούν την εφαρμογή μεθόδων βιοτεχνολογίας στη γεωργία. Τα PIPs είναι βιοπαρασιτοκτόνες ουσίες που παράγονται από γενετικά τροποποιημένα φυτά (Gupta & Dikshit, 2010), στα οποία έχουν εισαχθεί γονίδια που κωδικοποιούν και εκφράζουν συγκεκριμένες παρασιτοκτόνες πρωτεΐνες. Το πιο γνωστό παράδειγμα αποτελούν οι *Bt* καλλιέργειες, οι οποίες περιέχουν μία ή περισσότερες αλληλουχίες γονιδίων από το βακτήριο *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) που κωδικοποιούν την κρυσταλλική πρωτεΐνη (*cry protein*) δ-ενδοτοξίνη, η οποία έχει παρασιτοκτόνο δράση (Parker & Sander, 2017). Τα PIPs εκφράζονται άμεσα στον ιστό των γενετικά τροποποιημένων φυτών. Οι πρωτεΐνες *cry* συνδέονται με συγκεκριμένους υποδοχείς που βρίσκονται σε επιθηλιακά κύτταρα στο εσωτερικό του εντέρου του εντόμου, εισέρχονται στην κυτταρική μεμβράνη και σχηματίζουν διαμεμβρανικούς πόρους, οδηγώντας στη λύση των κυττάρων και, τελικά, στο θάνατο του παρασίτου (Bravo et al., 2007, Chang et al., 2006). Η θανατηφόρος δράση αυτών των δ-ενδοτοξινών του *Bt* εξαρτάται από το αλκαλικό περιβάλλον στο έντερο του εντόμου, γεγονός το οποίο διασφαλίζει ότι αυτές οι τοξίνες δεν είναι ενεργές στα σπονδυλωτά και ιδιαίτερα στους ανθρώπους (Zhang et al., 2017). Υπάρχουν πολλά είδη πρωτεϊνών *cry*, η δομή και η τοξικότητα της κάθε μίας είναι εξειδικευμένη για συγκεκριμένες τάξεις εντόμων. Έτσι, οι πρωτεΐνες *cry1* εξειδικεύονται στα λεπιδόπτερα ενώ οι *cry3* στα κολεόπτερα (π.χ. *Diabrotica* sp.) (Clark et al., 2005). Οι πρωτεΐνες *cry* αποτελούν τα εντομοκτόνα PIPs πρώτης γενιάς, ενώ πρόσφατα, εγκρίθηκαν και τα *dsRNA* PIPs, τα οποία αναφέρονται αναλυτικότερα στην επόμενη ενότητα, καθώς θεωρούνται ως βιοεντομοκτόνα νέας γενιάς (Abdollahdokht et al., 2022).

### 2.2.3 Πλεονεκτήματα βιοπαρασιτοκτόνων

Τα βιοπαρασιτοκτόνα βασίζονται στη χρήση ωφέλιμων μικροοργανισμών ή άλλων ασφαλών ενεργών βιολογικών συστατικών (Sharma & Malik, 2012) και αποτελούν αναπόσπαστο τμήμα του συστήματος ολοκληρωμένης διαχείρισης παρασίτων (Integrated Pest Management, IPM) (Chandler &., 2011). Τα βιοπαρασιτοκτόνα α) είναι λιγότερο τοξικά σε σύγκριση με τα συμβατικά παρασιτοκτόνα, β) έχουν στοχευμένη δράση, καθώς είναι σχεδιασμένα να επιδρούν μόνο σε συγκεκριμένα παράσιτα στόχους ή στενά συνδεδεμένα είδη, σε αντίθεση με τα συμβατικά παρασιτοκτόνα που μπορεί να επηρεάσουν και διάφορους άλλους οργανισμούς, όπως πουλιά, έντομα και θηλαστικά, γ) είναι αποτελεσματικά σε μικρότερες ποσότητες και αποσυντίθενται γρηγορότερα, περιορίζοντας έτσι τις δυσμενείς επιδράσεις στο περιβάλλον, και δ) αντικαθιστούν τα συμβατικά παρασιτοκτόνα στα πλαίσια του συστήματος ολοκληρωμένης διαχείρισης παρασίτων χωρίς να μειώνονται οι αποδόσεις των καλλιεργειών (U.S. Environmental Protection Agency, EPA, 2017 [www.epa.gov](http://www.epa.gov)).

### 2.2.4 Νέα βιοπαρασιτοκτόνα

#### 2.2.4.1. Νέες βιοπαρασιτοκτόνες ουσίες

Την τελευταία δεκαετία, πλήθος νέων ουσιών αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία ως υποσχόμενα νέα βιοπαρασιτοκτόνα. Συγκεκριμένα, κλάσματα εκχύλισης από το φυτικό είδος *Clitoria ternatea* χρησιμοποιήθηκαν στην ανάπτυξη ενός εμπορικού προϊόντος (με την ονομασία Serog-X), το οποίο εκτός από τα λεπιδόπτερα είδη του γένους *Helicoverpa* ελέγχει τους πληθυσμούς και άλλων μυζητικών εντόμων, σημαντικών εχθρών των καλλιεργειών βάμβακος και αραβοσίτου (Mensah et al., 2014). Η αλκαλοειδής ουσία οξυματρίνη είχε αποτελεσματική δράση στον έλεγχο των ειδών *Spodoptera litura*, *Helicoverpa armigera*, και *Aphis gossypii*, ενώ βρέθηκε ότι ήταν ασφαλής για ωφέλιμους οργανισμούς, όπως η πασχαλίτσα *Coccinella* spp. και το *Trichogramma* spp., υποδηλώνοντας ότι τα αλκαλοειδή είναι δυνατό να είναι ασφαλή για οργανισμούς μη-στόχους (Rao & Kumari, 2017). Το στέλεχος Xd3 (Btt-Xd3) *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* είχε τη αποτελεσματικότερη εντομοκτόνο δράση σε προνύμφες και ενήλικα έντομα του μαύρο σκαθαριού *Agelastica alni* (Eski et al., 2017). Προϊόντα ζύμωσης του βακτηριακού στελέχους LPT-111 *Lactobacillus casei* (με το όνομα Tivano), είχαν κατασταλτική δράση στην ασθένεια της κηλίδωσης των φύλλων, που προκαλείται από το βακτήριο *Xanthomonas fragariae* (Dubois et al., 2017). Στιλβένια που απομονώθηκαν από εκχυλίσματα σταφυλιού προκάλεσαν χρόνια θνησιμότητα στον πληθυσμό των προνυμφών του εντόμου *Spodoptera littoralis* (Pavela et al., 2017). Τα απόβλητα



ελαιοτριβείων περιέχουν ουσίες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στον έλεγχο των παρασίτων στην περιοχή της Μεσογείου, ωστόσο χρειάζεται περισσότερη έρευνα για να αξιολογηθεί η δράση τους σε συγκεκριμένα παρασιτολογικά προβλήματα που εμφανίζονται σε διάφορες καλλιέργειες και κατ' επέκταση η δυνητική χρήση τους στην γεωργική πρακτική (El-Abbassi et al., 2017)

#### **2.2.4.2. Συνδυασμός – συνέργεια δραστικών ενώσεων**

Ο συνδυασμός διαφορετικών δραστικών ενώσεων αποτελεί μία πρακτική που οδηγεί σε βελτιωμένη βιολογική δραστηριότητα σε σχέση με τη δραστηριότητα που θα είχαν οι μεμονωμένες ενώσεις. Ταυτόχρονα, κατά την εφαρμογή μειγμάτων δραστικών ενώσεων απαιτούνται μικρότερες δόσεις των δραστικών ουσιών, μειώνοντας κατ' επέκταση το κόστος εφαρμογής και τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις (Akhtar & Isman, 2013). Επιπλέον, με τη χρήση τους αποφεύγεται η ανάπτυξη ανθεκτικότητας και προσαρμογής των παρασίτων (Akhtar & Isman, 2013, Pavela & Benelli, 2016).

Ωστόσο, η συνεργιστική δράση μεταξύ των δραστικών ουσιών θα πρέπει να ελέγχεται σε κάθε περίπτωση, καθώς είναι δυνατό να δρουν ανταγωνιστικά μεταξύ τους. Οι Koul et al., 2013 είχαν μελετήσει τη συνεργιστική δράση διαφόρων αιθέριων ελαίων στον έλεγχο των πληθυσμών των *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera litura* και *Chilo partellus*, αναδεικνύοντας τη θετική συνέργεια της θυμόλης και της λιναλουόλης στον έλεγχο των τριών παρασίτων, και την ανταγωνιστική δράση της καρβακρόλης με τα υπόλοιπα αιθέρια έλαια. Επίσης, οι Kumrungsee et al. (2014) αναφέρουν ότι σε πειράματα που διεξήγαγαν για τη συνέργεια της θυμόλης, 1,8-σινεόλης, λιναλουόλης και της πουλεγόνης (το αιθέριο έλαιο της *Mentha pulegium*) στον έλεγχο του *Plutella xylostella*, διαπίστωσαν ότι η πουλεγόνη δρούσε συνεργιστικά με τη θυμόλη και την 1,8-σινεόλη. Ωστόσο, ενώ οι δύο τελευταίες ενώσεις είχαν, μεμονωμένα, εντομοκτόνο δράση κατά του παρασίτου *P. xylostella*, δρούσαν ανταγωνιστικά όταν βρίσκονταν σε συνδυασμό μεταξύ τους. Η λιναλουόλη, επίσης, δρούσε ανταγωνιστικά σε όλους τους συνδυασμούς.

#### **2.2.4.3. Συνδυασμός μεθόδων ελέγχου παρασίτων**

Ο συνδυασμός δύο ή περισσότερων εναλλακτικών μεθόδων ελέγχου των παρασίτων αποτελούν μία νέα υποσχόμενη τεχνική για τον έλεγχο των γεωργικών παρασίτων (Reddy & Chowdary, 2021). Η χρήση των βιοχημικών παρασιτοκτόνων σε συνδυασμό με βακτηριακά βιοεντομοκτόνα είναι δυνατό να ενισχύσει τα αποτελέσματα και το εύρος των παρασίτων-στόχων, επηρεάζοντας διαφορετικά είδη ή διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του ίδιου είδους. Αυτό συμβαίνει επειδή τα βιοχημικά παρασιτοκτόνα

προκαλούν καταπόνηση στα παράσιτα, διευκολύνοντας επομένως τον έλεγχό τους από βακτηριακούς οργανισμούς, των οποίων οι τοξίνες δρουν πιο γρήγορα κι επομένως αυξάνουν το ρυθμό θνησιμότητας των παρασίτων (Ansari et al., 2012, Ezhil Vandan, 2016, Raja, 2013, Wezel et al., 2014).

#### **2.2.4.4. RNAi βιοπαρασιτοκτόνα (dsRNAs PIPs)**

Μία νέα γενιά γενετικά τροποποιημένων φυτών αποτελούν αυτά που εκφράζουν τα *dsRNAs* (*double-stranded RNAs*, δίκλιωνα RNA) φυτοπροστατευτικά (Parker & Sander, 2017). Η μέθοδος αυτή βασίζεται στον κυτταρικό μηχανισμό παρεμβολής του RNA (*RNA interference, RNAi*), ο οποίος αποτελεί ένα εργαλείο σίγασης γονιδίων, που ελέγχουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά (Dutta et al., 2015). Τα *dsRNAs* αποτελούν γονιδιακές αλληλουχίες που προέρχονται από βασικά γονίδια του εντόμου-στόχου και τα οποία διεγείρουν τον μηχανισμό RNAi του εντόμου όταν το έντομο-στόχος καταναλώσει ένα φυτό *dsRNA PIP* (Zhang et al., 2017). Συγκεκριμένα, μετά την κατάποση ενός *dsRNA PIP* φυτού από το έντομο στόχο, τα *dsRNA PIPs* μεταφέρονται στα επιθηλιακά κύτταρα του στομάχου του, όπου και διαιρούνται σε μικρά παρεμβαλλόμενα μόρια RNA (*small interfering RNAs, siRNAs*) και σε μικρομόρια RNA (*microRNAs, miRNAs*) (Mujtaba et al., 2021). Αυτά πυροδοτούν τον μηχανισμό RNAi του εντόμου ο οποίος θα σταματήσει την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων του, που βιοσυνθέτουν πρωτεΐνες απαραίτητες για την ανάπτυξή του, με αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξής του ή το θάνατό του (Zhang et al., 2017, Abdollahdokht et al., 2022).

Τα *RNAi* βιοπαρασιτοκτόνα αποτελούν μία εναλλακτική λύση στα χημικά παρασιτοκτόνα (Klumper & Qaim, 2014), και στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας των παρασίτων στα *Bt* βιοπαρασιτοκτόνα (Gatehouse, 2008). Ωστόσο, η πρακτική τους εφαρμογή αποτελεί μία πρόκληση καθώς είναι δύσκολη η παραγωγή επαρκών ποσοτήτων *dsRNAs* στα φυτά με τους συμβατικούς τρόπους της διαγονιδιωματικής τεχνολογίας, παρά τις νέες βιοτεχνολογικές μεθόδους (TALENs, CRISPR/Cas9) που έχουν αναπτυχθεί για τον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης (Nanddy et al., 2020).

#### **2.2.4.5 Εξωγενώς χορηγούμενα RNAi φυτοπροστατευτικά (non GMO μεθόδους)**

Τα *RNAi* φυτοπροστατευτικά μπορούν να εφαρμοστούν στις καλλιέργειες με διαφυλλική εφαρμογή, ως εξωγενώς χορηγούμενα *dsRNA* παρασιτοκτόνα (Mitter et al., 2017). Ωστόσο, πολλά έντομα-παράσιτα δεν ανταποκρίνονται ικανοποιητικά ή δεν μεταφέρονται στο κυτταρόπλασμα (Zhang et al., 2017). Οι Cunnigham et al. (2018) αναφέρουν ότι όταν αυτά τα βιομόρια (*dsRNAs, siRNAs*) χορηγούνται εξωγενώς,

κατέστρεφαν τους ιούς στην προσπάθειά τους να διαπεράσουν τα κυτταρικά τυχώματα και να εισέλθουν στο εσωτερικό του κυττάρου, ενώ δρουν μόνο σε περιορισμένο αριθμό καλλιεργειών. Η εφαρμογή των μεθόδων της νανοτεχνολογίας στην μεταφορά τέτοιων βιομορίων αποτελεί ένα νέο εργαλείο φυτοπροστασίας, καθώς τα νανοσωματίδια προσφέρουν τη δυνατότητα μεταφοράς μορίων DNA, RNA και πρωτεϊνών χωρίς να καταστρέφουν τους φυτικούς ιστούς και χωρίς περιορισμούς στα φυτικά είδη (Cunningham et al., 2018). Σύμφωνα με τους Dalakouras et al. (2020), η χρήση νανοσωματιδίων και πρωτεϊνών-φορέων κατά την εξωγενή χορήγηση μορίων RNA αυξάνει την ανθεκτικότητα των μορίων αυτών στις νουκλεάσες και την αποτελεσματικότητα της μεταφοράς τους στο εσωτερικό των ιστών. Ειδικότερα, όταν η εξωγενής χορήγηση πραγματοποιείται με ψεκασμό υψηλής πίεσης, τότε τα μόρια RNA χρησιμοποιούν συμπλαστικές οδούς μεταφοράς, ενώ όταν χορηγούνται μέσω των μίσχων ή/και των βλαστών των φυτών, η μεταφορά τους γίνεται μέσω αποπλαστικών οδών (Dalakouras et al., 2020). Με αυτόν τον τρόπο τα χορηγούμενα μόρια RNA μπορούν να διεγείρουν αποτελεσματικά τον μηχανισμό παρεμβολής RNAi φυτών, ιών, ιοειδών, μυκήτων, εντόμων και ακάρεων, χωρίς να απαιτείται γενετική τροποποίηση των φυτών (Dalakouras et al., 2020).

#### **2.2.4.6. Ασφάλεια χρήσης RNAi βιοπαρασιτοκτόνων**

Ο μηχανισμός RNAi φαίνεται ότι παρέχει αποτελεσματική προστασία ενάντια σε φυτοπαθογόνα, όπως έντομα, νηματώδη, ιούς και μύκητες (Koch & Kogel, 2014). Την τελευταία δεκαετία υπάρχουν πολλές μελέτες σχετικά με την εφαρμογή γονιδιακών τεχνολογιών στη φυτοπροστασία έναντι διαφόρων παθογόνων, όπως οι Zhou et al. (2020) για την αντιμετώπιση του *Fusarium* στον αραβόσιτο, οι Natarajan et al., 2018 για την φυτόφθορα σε καλλιέργεια ντομάτας.

Ωστόσο, υπάρχουν πολλοί προβληματισμοί σχετικά με τα περιβαλλοντικά κατάλοιπα της εφαρμογής της RNAi βιοτεχνολογίας στις γεωργικές καλλιέργειες, καθώς τα μόρια αυτά καταλήγουν στο έδαφος ή/και σε δευτερεύοντα περιβάλλοντα (Parker & Sander, 2017). Η κατανόηση της πορείας και της εξέλιξης των dsRNAs μορίων στο έδαφος δεν είναι ακόμη πλήρης, με αποτέλεσμα να υπάρχουν αβεβαιότητες στην επιστημονική κοινότητα σχετικά με τις επιτρεπτές συγκεντρώσεις αυτών των μορίων προκειμένου να καθίστανται ασφαλή για οργανισμούς μη-στόχους (Parker et al., 2019). Αυτοί οι προβληματισμοί αλλά και το συνεχές ενδιαφέρον για τις γενετικά μεταλλαγμένες καλλιέργειες RNAi όπου εκφράζονται τα dsRNA PIPs, ώθησαν τη US EPA όπως και η ευρωπαϊκή EFSA (European Food Safety Authority) να διερευνήσουν, ήδη από το 2014 και 2016, τα

επιστημονικά δεδομένα που θα επιτρέψουν την ευρεία κυκλοφορία και χρήση αυτών των προϊόντων, προκειμένου να εκτιμηθεί ο κίνδυνος για την ασφάλεια της υγείας των ανθρώπων και την προστασία του περιβάλλοντος (Zhang et al., 2017).

Τον Ιούνιο του 2017, η Υπηρεσία Περιβαλλοντικής Προστασίας των Ηνωμένων Πολιτειών (U.S. EPA) ενέκρινε σπόρους αραβοσίτου (με την ονομασία SmartStax PRO της εταιρείας Monsanto Bayer) που περιέχουν RNAi ενσωματωμένο φυτοπροστατευτικό, για τον έλεγχο του εντόμου *Diabrotica virgifera*. Το προϊόν κυκλοφόρησε το 2022. Η δράση του συνίσταται στην διακοπή της σύνθεσης της Snf7 πρωτεΐνης, η οποία αποτελεί μία σημαντική πρωτεΐνη σχηματισμού των κυτταρικών κενοτοπίων (Zotti et al., 2018). Σύμφωνα με όσα αναφέρει η US EPA, τα RNAi ενσωματωμένα φυτοπροστατευτικά καταπολεμούν συγκεκριμένα έντομα-στόχους χωρίς να επηρεάζουν άλλους ζωντανούς οργανισμούς (έντομα ή ζώα) και δεν αφήνουν κατάλοιπα ούτε στο περιβάλλον ούτε στα παραγόμενα τρόφιμα (US EPA, 2022).

#### **2.2.4.7. Νανοβιοπαρασιτοκτόνα**

Η χρήση της νανοτεχνολογίας στην παραγωγή βιοπαρασιτοκτόνων νέας γενιάς αποτελεί τη νέα τάση στην καταπολέμηση των γεωργικών παρασίτων. Τα νανοσωματίδια μπορούν να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη, να εισέλθουν στο εσωτερικό του ξενιστή και να προκαλέσουν τη θανάτωσή του (Ellenbecker & Tsai, 2015). Τα νανοσωματίδια, όπως και στην περίπτωση των νανοβιολιπασμάτων, χρησιμοποιούνται για την ενθυλάκωση των βιοπαρασιτοκτόνων και είναι σχεδιασμένα να ελέγχουν την σταδιακή απελευθέρωσή τους. Με την νανοενθυλάκωση αυξάνεται η σταθερότητα της δραστικής ένωσης κι επομένως η αποτελεσματικότητα του βιοπαρασιτοκτόνου, και ταυτόχρονα μειώνεται η τοξικότητά του για οργανισμούς μη-στόχους, περιορίζοντας με αυτόν τον τρόπο τις δυσμενείς επιπτώσεις στον άνθρωπο και το περιβάλλον (Campos et al., 2018, Lade et al., 2019). Ωστόσο, οι χαμηλές οικονομικές αποδόσεις, η έλλειψη ρυθμιστικών κανόνων, η έλλειψη αξιόπιστων μεθόδων ελέγχου και αξιολόγησης της ασφάλειας αυτών των ενώσεων, και ιδιαίτερα η ελλιπής ακόμη γνώση αναφορικά με τις πιθανές τοξικές επιδράσεις των ενώσεων αυτών στον άνθρωπο και το περιβάλλον, δεν επιτρέπουν προς το παρόν την ευρύτερη χρήση της νανοτεχνολογίας στην καθημερινή γεωργική πρακτική (Damalas & Koutroubas, 2018).

#### **2.2.4.8. Νανογαλακτώματα**

Ένας από τους τρόπους νανοενθυλάκωσης βιοπαρασιτοκτόνων ουσιών είναι τα νανογαλακτώματα. Χρησιμοποιούνται κυρίως για την ενθυλάκωση δραστικών ουσιών με χαμηλή υδατοδιαλυτική ικανότητα προκειμένου να ενισχυθεί η σταθερότητα, η κατανομή και η βιοδιαθεσιμότητά τους. Τα νανογαλακτώματα σχηματίζονται με διαφορετικά υλικά, ανάλογα με την απαιτούμενη δομή και εφαρμογή της δραστικής ένωσης. Τα πιο κοινά νανογαλακτώματα είναι τα γαλακτώματα ελαίου σε νερό (Oil/Water), όπου τα σταγονίδια ελαίου (μεγέθους από 100 nm έως 1 μm) διασπείρονται στην υδατική φάση και η ενδιάμεση φάση σταθεροποιείται από γαλακτωματοποιητές (Chevalier & Bolzinger, 2019). Οι ιδιαίτερες φυσικοχημικές ιδιότητες των νανογαλακτωμάτων, τους προσδίδουν ομοιογένεια και σταθερότητα καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του προϊόντος (Wani et al., 2018). Τα νανοσταγονίδια που μεταφέρουν τη δραστική ουσία διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη του παθογόνου μικροοργανισμού, προκαλούν διαρροή των ενδοκυτταρικών συστατικών, και επέρχεται έτσι η εξόντωση του παθογόνου (Blanco-Padilla et al., 2014).

Το έλαιο σιτρονέλλας και το έλαιο neem αποτελούν δύο έλαια, τα οποία δοκιμάστηκαν στην παρασκευή νανογαλακτωμάτων με φυτοπροστατευτική δράση εναντίον μυκητολογικών προσβολών από *Rhizoctonia solani* και *Sclerotium rolfsii* (Osman Mohamed Ali et al., 2017). Επίσης, οι Wan et al. (2019) μελέτησαν την επίδραση των συνθηκών ομογενοποίησης διαφόρων αιθέριων ελαίων στη σύνθεση και σταθερότητα νανογαλακτωμάτων στο νερό. Τα νανογαλακτώματα είχαν αντιμυκητιασική δράση καθώς και ανασταλτική δράση εναντίον μυκοτοξινών. Αυτές οι ανασταλτικές βιολογικές δράσεις αυξήθηκαν σημαντικά με τη μορφή νανογαλακτωμάτων (λόγω της υψηλότερης διαλυτότητας των αιθέριων ελαίων).

#### **2.2.4.9. Νανოსωματίδια**

Διαφορετικοί τύποι νανოსωματιδίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ενθυλάκωση βιοπαρασιτοκτόνων. Τα πολυμερικά νανοςωματίδια αποτελούν την τελευταία λέξη της τεχνολογίας στον τομέα των νανοςωματιδίων, καθώς διαθέτουν σημαντικά πλεονεκτήματα: (1) είναι εύκολη η σύνθεση και διαθεσιμότητά τους, (2) είναι βιοσυμβατά και βιοαποικοδομήσιμα, (3) επιδρούν ελάχιστα σε οργανισμούς μη στόχους, (4) προστατεύουν τις δραστικές ουσίες από την αποδόμησή τους σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες, (5) διαλύονται εύκολα, (6) ελέγχουν αποτελεσματικά την απελευθέρωση της δραστικής ουσίας και (6) προσφέρουν βελτιωμένη αποτελεσματικότητα των δραστικών συστατικών (Pascoli et al., 2018).

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει πλήθος πρόσφατων μελετών σχετικά με την αποτελεσματικότητα ενθυλακωμένων βιοχημικών ουσιών στον έλεγχο εντομολογικών

προσβολών. Οι Campolo et al. (2017) αναφέρουν ότι τα ενθυλακωμένα αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών (*Citrus peel Essential Oils, CEO*) σε νανοσωματίδια πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG) είχαν αποτελεσματική εντομοκτόνο δράση στην καταπολέμηση του λεπιδόπτερου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια ντομάτας όταν αυτά καταναλώνονταν από τις προνύμφες του εντόμου, σε σχέση με τα γαλακτώματα CEOs, τα οποία ήταν αποτελεσματικά όταν αυτά έρχονταν σε επαφή με τα αβγά και τις προνύμφες του εντόμου. Οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν ότι τα ενθυλακωμένα CEOs στα νανοσωματίδια είχαν μειωμένη τοξική επίδραση στα φυτά ντομάτας.

Επιπλέον, οι Khoobdel et al. (2017) αναφέρουν ότι η ενθυλάκωση του αιθέριου ελαίου (δραστική ουσία α-Pinene) του *Rosmarinus officinalis* σε πολυμερείς νανοκάψουλες για τον έλεγχο του κολεόπτερου *Tribolium castaneum* σε αποθηκευμένους σπόρους καλλιεργειών είχε σημαντικά υψηλότερη τοξική δράση για το έντομο σε σχέση με το μη ενθυλακωμένο αιθέριο έλαιο.

Ενθυλακωμένα αιθέρια έλαια του *Thymus eriocalyx* (δραστική ουσία θυμόλη) και *Thymus kotschyanus* (δραστική ουσία καμφαίνη) σε νανοσωματίδια πυριτίου MCM-41 είχαν ισχυρότερη ακαεροκτόνο δράση σε θηλυκά ενήλικα του *Tetranychus urticae* (Ebadollahi et al., 2017) σε σχέση με μη ενθυλακωμένα αιθέρια έλαια.

**Πολυμερικά μικροσωματίδια.** Τα μικροσωματίδια είναι συστήματα μεγέθους από 10 έως 100 μm και χρησιμοποιούνται στην ενθυλάκωση και στην απελευθέρωση δραστικών ουσιών με συγκεκριμένη χρονική διάρκεια. Όπως τα νανοσωματίδια, μπορούν να προκύψουν από διαφορετικές μήτρες (Milani et al., 2017). Τα βιοαποδομήσιμα πολυμερή αποτελούν τα πιο συνηθισμένα υλικά στην κατασκευή αυτών των συστημάτων, καθώς μπορούν να αποικοδομηθούν στο περιβάλλον μέσω της δράσης ενζύμων και μικροοργανισμών σε διοξείδιο του άνθρακα, νερό και βιομάζα (Chagas et al., 2018).

Η ενθυλάκωση αιθέριων ελαίων κανέλας και ρίγανης σε φιλμ νανοϊνών β-κυκλοδεξτρίνης (β-CD) και χιτοζάνης είχαν θετικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση μυκητολογικών προσβολών του βοτρώτη *Botrytis* sp. (Munhuweyi et al., 2018). Μικροσωματίδια-φορείς αιθέριου ελαίου *Peumus boldus*, τα οποία κατασκευάστηκαν από ζελατίνη και αραβικό κόμμι χρησιμοποιήθηκαν σε μυκητολογικές προσβολές αποθηκευμένων σπόρων φυσιτικού (Girardi et al., 2018), και φάνηκε ότι μετά το τέλος της αποθήκευσης των σπόρων, οι συνθέσεις των αιθέριων ελαίων είχαν αυξημένη δράση κατά των μυκητολογικών προσβολών.

Ενθυλακώσεις αιθέριου ελαίου *Rosmarinus officinalis* σε κάψουλες παρασκευασμένες από άμυλο σίτου είχαν θετικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση των ζιζανίων *Amaranthus retroflexus* και *Rhaphanus sativus* σε συνθήκες θερμοκηπίου (Alipour et

al., 2019). Συγκεκριμένα, οι ερευνητές βρήκαν ότι το αιθέριο έλαιο μείωσε το ποσοστό βλάστησης των ζιζανίων και η τοξικότητά του ήταν ανάλογη της συγκέντρωσής του, ενώ το ποσοστό χλωροφύλλης στα ζιζάνια μειώθηκε όσο αυξανόταν η συγκέντρωση των αιθέριων ελαίων.

Οι Kavetsou et al. (2019) χρησιμοποίησαν κύτταρα ζυμομυκήτων για να ενθυλακώσουν αιθέριο έλαιο *Mentha pulegium* προκειμένου να το εφαρμόσουν στον έλεγχο της πράσινης αφίδας της ροδακινιάς (*Myzus persicae*). Η ενθυλάκωση είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της θερμικής σταθερότητας του αιθέριου ελαίου, και την αύξηση του ποσοστού θνησιμότητας του παρασίτου μετά από 72 ώρες από την εφαρμογή της σύνθεσης. Η ενθυλάκωση παρέτεινε τη εντομοκτόνο δράση του αιθέριου ελαίου για 3 ημέρες.

**Βιογενή νανοσωματίδια.** Τα νανοσωματίδια συντίθεται με φυσικές, χημικές και βιολογικές μεθόδους (Ingale & Chaudhary, 2013). Ωστόσο, η χρήση ακτινοβολίας ή τοξικών παραγόντων (υδροζαμίνη, υδροξυλαμίνη κλπ.) στις φυσικές και χημικές μεθόδους τις καθιστά επικίνδυνες για τον άνθρωπο και το περιβάλλον, ενώ είναι ενεργειακά και οικονομικά ασύμφωρες (Gouda et al., 2019). Αντίθετα, οι βιολογικές μέθοδοι (γνωστές με τον γενικότερο όρο «πράσινη σύνθεση») είναι περιβαλλοντικά φιλικές, χαμηλού κόστους και άμεσα διαθέσιμες καθώς προσφέρουν εύκολη και γρήγορη σύνθεση των νανοσωματιδίων, έλεγχο του μεγέθους και της τοξικότητάς τους (Maroufprui et al., 2020). Τα φυτά και οι διάφοροι μικροοργανισμοί (μύκητες, βακτήρια, ζύμες, ακτινομύκητες κλπ.) αποτελούν διάφορους φορείς βιοσύνθεσης νανοσωματιδίων (Πίνακας 4) (Ingale & Chaudhary, 2013). Επιπλέον, βιομόρια, όπως πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες, πεπτιδία, αμινοξέα και βιταμίνες, τα οποία βρίσκονται στα φυτικά εκχυλίσματα καθώς και στις εκκρίσεις των μικροοργανισμών μπορούν να δράσουν ως αναγωγικά μέσα και είναι σημαντικά στη διαμόρφωση του μεγέθους, του σχήματος, της πολυδιασποράς και άλλων χαρακτηριστικών των νανοσωματιδίων (Akther & Hemalatha, 2019, Chhira, 2019). Τα νανοσωματίδια μπορεί να είναι χρυσού, αργύρου, πλατίνας, ζirkόνιου, παλλάδιου, σιδήρου και καδμίου και οξειδία μετάλλων όπως οξειδίο του τιτανίου, οξειδίο του ψευδαργυρού κλπ. (Hasan, 2015), ενώ η σύνθεσή τους μπορεί να είναι εξωκυτταρική ή ενδοκυτταρική (Hulkoti & Taranath, 2014)..

**Πίνακας 4.** Πηγές βιοσύνθεσης νανοσωματιδίων, είδη και μεγέθη αυτών.

Πηγή βιοσύνθεσης νανοσωματιδίων	Είδος και μέγεθος νανοσωματιδίων (nm)
<b>Φυτά</b>	
<i>Azadirachta indica</i>	Ag,Au 50/100
<i>Aloe vera</i>	Au 50/350

<i>Cinnamomum camphora</i>	Ag 50
<i>Szygium aromaticum</i>	Ag,Au --
<i>Murraya koenigii</i>	Ag
<i>Plumeria rubra</i>	Ag
<i>Citrus aurantium</i>	Ag
Geranium leaf plant extract	Ag 16/40
<i>Jatropha curcas</i>	Ag >20
<i>Tridax procumbens</i>	Ag >20
<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	Ag 13/20
<b>Βακτήρια</b>	
<i>Bacillus cereus</i>	Ag 50
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Ag 10/20
<i>Escherichia coli</i>	Ag 30/50
<i>Escherichia coli</i>	Cds---
<i>Lactobacillus</i> strains	Ag,Au 15/40
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Ag>200
<i>Corynebacterium</i>	Ag 5/15
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ag 150/180
<i>Ureibacillus thermosphaericus</i>	Ag 1/100
<b>Μύκητες</b>	
<i>Aspergillus niger</i>	Ag 20
<i>Aspergillus oryzae</i>	Ag 5-50
<i>Fusarium oxysporum</i>	Ag 1/5
<i>Fusarium solani</i>	Ag 5/35
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Ag 5/50
<i>Trichoderma viride</i>	Ag 10/40
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Se 100/400
<b>Ζυμομύκητες</b>	
Silver-tolerant strain MKY3	Ag 2/20
<i>Candida glabrata</i>	CdS 50/150
<i>Schizosaccharomyce pombe</i>	CdS 50/150
Extremophilic yeast	Ag
<i>Rhodospiridium dibovatum</i>	PbS
<b>Βιομόρια</b>	
DNA	Au/CdS
Πρωτεΐνες	Au
Ανοσογλοβουλίνες, αλβουμίνες ορού	Au

\*Προσαρμογή από Ingale και Chaudhary, 2013



Διάφορα νανοσωματίδια, νανο-οξειδία ψευδαργύρου (ZnO), νανο-πυριτικά (SiO<sub>2</sub>), νανο-αργύρου (Ag), νανο-διοξειδίο τιτανίου (TiO<sub>2</sub>), νανο-χαλκού (Cu), νανοσωλήνες άνθρακα (CNT), και νανο-αλουμινίου (Al), έχουν μελετηθεί για τις πιθανές χρήσεις τους στην γεωργία και κυριότερα για τη φυτοπροστασία, με τα μισά περίπου συστατικά αυτών να προορίζονται για δραστικό συστατικό και τα άλλα μισά ως πρόσθετα. Από τους διάφορους τύπους νανοσωματιδίων, τα νανοσωματίδια αργύρου (AgNPs) φαίνεται να είναι τα πιο αποτελεσματικά στην καταπολέμηση των διαφόρων φυτικών παρασίτων (Barat et al., 2022).

Νανασωματίδια οξειδίου του σιδήρου (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs) που συντέθηκαν βιογενώς με χρήση εκχυλίσματος φύλλων από το *Skimmia laureola* έδειξαν καλά αποτελέσματα στην καταπολέμηση του βακτηριακού παθογόνου *Ralstonia solanacearum* in vitro και σε φυτά (Alam κ.α, 2019). Συγκεκριμένα, η μελέτη έδειξε ότι σε συνθήκες in vitro, καλλιέργεια μέσου που περιείχε 6 mg/mL Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs ανέστειλε δραστικά τη βακτηριακή ανάπτυξη, μέσω της λύσης των κυτταρικών τοιχωμάτων του βακτηρίου. Επιπλέον, η έκταση της προσβολής περιορίστηκε σημαντικά στα πειραματικά φυτά, κατόπιν εφαρμογής στη ριζική ζώνη 6% w/v Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs, ενώ τα νεαρά βλαστάρια, το μήκος των ριζών και η νωπή βιομάζα βελτιώθηκαν κατόπιν επεξεργασίας τους με NPs.

Οι Kumari κ.α (2019) χρησιμοποιώντας NPs αργύρου, που συντέθηκαν βιογενώς μέσω του *Trichoderma viridecell filtrate* (BSNP), είχαν θετικά αποτελέσματα σε μυκητολογικές προσβολές *Fusarium oxysporum* και *Alternaria brassicicola*. Συγκεκριμένα, στο είδος *A. brassicicola* προκλήθηκε οσμωτική ανισοροπία και λύση της κυτταρικής μεμβράνης των μυκήτων. Επίσης, οι Johaiah et al. (2019) που μελέτησαν NPs αργύρου τα οποία είχαν συντεθεί βιογενώς από το είδος *Ganoderma appalantum*, ανέφεραν ότι τα NPs αργύρου είχαν σημαντική ανασταλτική δράση κατά του *Botrytis cinerea* και του *Colletotrichum gloeosporioides* σε καλλιέργειες φράουλας και ντομάτας. Κατέγραψαν επίσης ανταγωνιστική δράση με άλλα κλινικά παθογόνα, *Staphylococcus aureus* και *Escherichia coli*. Οι Joshi et al. (2019) διερεύνησαν την δράση των βιογενώς συντιθέμενων νανασωματιδίων σεληνίου (SNPs) από το είδος *Trichoderma atroviride* εναντίον μεγάλου εύρους μυκητολογικών προσβολών. Τα χαρακτηρισμένα νανασωματίδια, που κυμαίνονταν από 60.48 to 123.16 nm, είχαν σημαντική δραστηριότητα in vitro εναντίον των ειδών μυκήτων *Pyricularia grisea*, *Alternaria solani* και *Colletotrichum capsici* σε καλλιέργειες τομάτας και φύλλα από τσίλι, σε χαμηλές συγκεντρώσεις.

Νανασωματίδια οξειδίου του ψευδαργύρου (ZnONPs) που προέκυψαν από βιογενή σύνθεση μέσω εκχυλίσματος φύλλων από *Pongamia pinnata* εφαρμόστηκαν σε καλλιέργειες για να διερευνηθεί η εντομοκτόνος δράση τους κατά του εντόμου *Callosobruchus maculatus*, προκαλώντας το θάνατο των εντόμων ή αλλαγές στη δράση

των ενζύμων πέψης του στομάχου (Malaikoshundan & Vinodhin, 2019). Η μείωση στην ωοτοκία και εκκόλαψη των αβγών των ενήλικων θηλυκών *C. maculatus* ήταν ανάλογη της δόσης των ZnONPs. Επιπλέον, καταγράφηκε μειωμένο ποσοστό ανάπτυξης των εντόμων σε διάφορα στάδια του κύκλου ζωής τους (προνύμφη, νύμφη και συνολική ανάπτυξη) και ποσοστό θνησιμότητας 100% σε συγκεντρώσεις 25 µg/mL και το LD50 ήταν 10.85 µg/mL. Τα ένζυμα πέψης του υπό εξέταση εντόμου *C. maculatus*, όπως α-αμυλάση, πρωτεάση κυστεΐνης, α-γλυκοσιδάση, β-γλυκοσιδάση, S-τρανσφεράση γλουταθειόνης (GST) και λιπάση είχαν εξαιρετικά μειωμένη δραστηριότητα μετά την επεξεργασία με τα νανοσωματίδια.

Οι Kaman και Dutta (2019) μελέτησαν την δράση νανοσωματιδίων AuNPs με βιοσύνθεσή τους από τον μύκητα *Trichoderma asperellum*, κατά των μυκήτων εδάφους *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* και *Sclerotium rolfsii* και τη συνέκριναν με το εμπορικό μυκητοκτόνο Carbendazim (3000 ppm). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα AuNPs σε συγκέντρωση 100 ppm είχαν σημαντικά υψηλότερη αποτελεσματικότητα στην αναστολή της ανάπτυξης των παθογόνων σε σύγκριση με το εμπορικό σκεύασμα.

Οι Hu et al. (2019) χρησιμοποίησαν νανοσωματίδια σεληνίου που συντέθηκαν βιογενώς από *Trichoderma harzianum* JF309 (TSNP) και διέθεταν συγκεκριμένες λειτουργίες ελέγχου που προέρχονταν από διάφορους μεταβολίτες αναγνώρισης (όπως ψωρομικό οξύ, β-δικυκλοβενζοϊκό οξύ, γλουκαρικό λακτικό οξύ, κλπ.), στην καταπολέμηση μυκοτοξινών *Alternaria* και *Fusarium* (fumonisin B1 και deoxyvalenol). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η επεξεργασία με TSNP είχαν αυξημένη δράση κατά της μυκητολογικής προσβολής σε σχέση με τα SNP, με σημαντική μείωση της παραγωγής των μυκοτοξινών και αναστολής της δράσης των γονιδίων τους. Επιπλέον, τα TSNP δεν είχαν καμία σημαντική επίδραση στα χρησιμοποιούμενα ανθρώπινα κύτταρα.

Οι Malandrakis et al. (2021) μελέτησαν την επίδραση νανοσωματιδίων χαλκού (Cu και CuO NPs), αργύρου (AgNPs) και αξειδίου του ψευδαργύρου (ZnO NPs) στην ανάπτυξη και στις φυσιολογικές ιδιότητες φυτών ντομάτας και την συμβιώτική σχέση με το στέλεχος FSK του ενδυφυτικού μικροοργανισμού *Fusarium solani*. Βρήκαν ότι τα νανοσωματίδια Cu και Zn έλεγξαν αποτελεσματικότερα τον μικροοργανισμό έναντι των νανοσωματιδίων CuO και Ag. Τα νανοσωματίδια ήταν πιο δραστικά κατά του *Fusarium* σε σχέση με τα χυδην ομόλογά τους, εκτός από το AgNPs. Επίσης, τα νανοσωματίδια επηρέασαν τα επίπεδα της οξειδωτικής καταπόνησης, της ανάπτυξης και της φωτοσύνθεσης, χωρίς ωστόσο να επηρεάσουν τον αποικισμό του ριζικού συστήματος των φυτών από το στέλεχος του μύκητα (Malandrakis et al., 2021).

**Μικροβιακά νανοπαρσιτοκτόνα.** Οι μικροοργανισμοί (βακτήρια, ιοί, μύκητες, νηματώδη) που χρησιμοποιούνται στα μικροβιακά βιοπαρσιτοκτόνα αποτελούν ένα σημαντικό τμήμα της βιολογικής καταπολέμησης των γεωργικών παθογόνων. Υπάρχουν αρκετά εγγεγραμμένα μικροβιακά εμπορικά σκευάσματα σε όλον τον κόσμο (Lade et al., 2019). Ωστόσο, οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι στις περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία, υγρασία, ηλιακή ακτινοβολία), με αποτέλεσμα η δράση τους να διαφοροποιείται σημαντικά (Vimala Devi et al., 2019). Η χρήση της νανοτεχνολογίας σε καινοτόμες συνθέσεις βακτηριακών παρσιτοκτόνων αποτελεί ένα νέο εργαλείο που εγγυάται την ενίσχυση της αποτελεσματικότητας της δράσης αυτών των μικροοργανισμών στη γεωργική πράξη, παρόλο που, εξαιτίας του μεγέθους τους, οι συνθέσεις που αναπτύχθηκαν είχαν μεγαλύτερα μεγέθη (Das et al., 2019).

Σε μελέτη που διεξήγαγαν οι Murthy et al. (2014) χρησιμοποίησαν μία τεχνητή σκόνη του στελέχους *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* (DOR Bt-1) για να παρασκευάσουν από ομογενοποίηση υπό συνθήκες υψηλής πίεσης νανοσωματίδια βακίλου (DOR Bt-1NPs). Το σχήμα και το μέγεθος των παρασκευασθέντων NPs χαρακτηρίστηκε με διαφορετικές τεχνικές. Το μέγεθος των NPs κυμαινόταν 32 έως 1106 nm, και τα μεγαλύτερα σωματίδια ήταν κυρίως σπόρια Bt μήκους και πλάτους 1139 and 813 nm, αντίστοιχα. Τα DOR Bt-1NPs οδήγησαν σε υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας της προνύμφης του *Helicoverpa armigera* σε χαμηλότερες δόσεις. Επιπλέον, καταγράφηκε υψηλότερη διαλυτότητα τοξινών στο στομάχι του εντόμου, προκαλώντας, έτσι, υψηλότερη θνησιμότητα και ταχύτερη εξόντωση του παρασίτου.

Οι Li et al. (2015) ετοίμασαν ανασυνδυασμένους βακουλοϊούς (*Autographa californica* πολλαπλοί πυρηνοπολυεδροϊοί) τους οποίους συνέδεσαν σε νανοσωματίδια ψευδαργύρου (νανο-ZnO). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπό εργαστηριακές συνθήκες, η δραστηριότητα του συστήματος ήταν περίπου εννέα φορές υψηλότερη από ό,τι χωρίς τα ZnONPs μετά την UV-B ακτινοβολία. Το πείραμα στα δοχεία έδειξε ότι ο χρόνος ημίσειας ζωής του συστήματος (ανασυνδυασμένος βακουλοϊός συνδεδεμένος με νανο ZnONPs) ήταν 3.360,15 ημέρες, ο οποίος ήταν σημαντικά μακρύτερος από ό,τι ο ιός ελέγχου (0.4960,06 days). Τα αποτελέσματα δίνουν μία νέα προοπτική στην προστασία των βακτηριακών εντομοκτόνων κατά της υπερϊώδους UV ακτινοβολίας στη γεωργική πράξη.

Οι Vineela et al. (2017) έδειξαν ότι το εμπορικό σκευάσμα του *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* (Btk), που περιέχει σωματίδια μεγέθους 105 μm, αλέστηκε σε μύλο με σφαιρίδια, ώστε μετά την επεξεργασία το μέγεθος των σωματιδίων μειώθηκε μεταξύ 210 -1170 nm. Η αλεσμένη σκόνη έδειξε υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας σε λάρβες *Spodoptera*

*litura* σε σχέση με την μη αλεσμένη σκόνη του *Bt*. Συγκεκριμένα, με την αλεσμένη σκόνη παρασκευάστηκε μία σύνθεση συμπυκνωμένου εναιωρήματος, το οποίο περιείχε 0.95 mg Btk. Σε αξιολόγηση της δράσης κατά του *S. litura*, το παρασκευασθέν συμπυκνωμένο εναιώρημα, συγκέντρωσης 3.0 mL/L, οδήγησε σε 96% ποσοστό μείωσης των προνυμφών, σε σχέση με το ποσοστό μείωσης 68% της μη αλεσμένης σκόνης.

Στη μελέτη των Hu et al. (2019) διερευνήθηκε η χρήση του βακουλοϊού πολυεδροϊού ως ένα νέο νανοβιοϋλικό. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν ανθρώπινη φερριτίνη αλυσίδας-H (FTH) ως σκελετό και το *Gaussia luciferase* (hGluc) ως φθοριούχο μόριο σήμανσης. Μετά την παρασκευή, τον χαρακτηρισμό και την ανάλυση φθορισμού, φάνηκε ότι τα NPs που σχηματίστηκαν από τη σύντηξη των πρωτεϊνών FTH και Polh ήταν μία πυρηνική δομή διπλού κελύφους, ένα νανοβιοϋλικό που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε νέες νανοβιοτεχνολογικές εφαρμογές.

### **2.2.5 Τρέχουσα κατάσταση στην αγορά βιοπαρασιτοκτόνων**

Τα *Bt* βιοπαρασιτοκτόνα αποτελούν το 75% όλων των βιοπαρασιτοκτόνων στην παγκόσμια αγορά (Olson, 2015). Ωστόσο, υπάρχουν πολλοί προβληματισμοί σχετικά με την εμφάνιση ανθεκτικότητας των παθογόνων (Parker & Sander, 2017, Tangtrakulwanich & Reddy, 2014). Τα τελευταία χρόνια, επίσης, έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες σχετικά με τις δυνατότητες που προσφέρουν τα βιοχημικά παρασιτοκτόνα στην αντιμετώπιση και τον έλεγχο των παρασιτολογικών προσβολών στη γεωργική πράξη. Ωστόσο, τα αποτελέσματα από τις έρευνες αυτές δεν είναι, πολλές φορές, πρακτικά εφαρμόσιμα (Acheuk et al., 2022).

Επιπλέον, υπάρχουν πολλοί ακόμη περιοριστικοί παράγοντες που δεν επιτρέπουν την καθολική χρήση των βιοχημικών παρασιτοκτόνων, ώστε αυτά να καταφέρουν να υποσκελίσουν τα χημικά ανάλογά τους στην παγκόσμια αγορά αγροχημικών προϊόντων. Μεταξύ αυτών των περιοριστικών παραγόντων είναι: οι υψηλές τιμές που τα καθιστούν απρόσιτα στο ευρύ καταναλωτικό κοινό, η αυστηρή νομοθεσία, η βραδεία δράση τους, η αστάθεια που παρουσιάζουν σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες, η μη συστηματική διακίνησή τους, και τέλος, οι διαφορετικές συνθέσεις σε δραστικές ουσίες που προέρχονται από διαφορετικές κλιματικές συνθήκες, οι οποίες έχουν δυνητικά ασθενέστερες επιδράσεις στον έλεγχο των παρασίτων και πιθανότητα μεταβλητότητα μεταξύ των παρτίδων (Damalas & Koutroubas, 2018, Lade et al., 2019, Acheuk et al., 2022). Επιπρόσθετα, ανεπαρκείς ρυθμιστικοί κανόνες και δυσκολίες στην κατοχύρωση των πνευματικών δικαιωμάτων των φυσικών προϊόντων αποτελούν επιπλέον

παράγοντες που καθυστερούν την εμπορική ανάπτυξη των βιοχημικών παρασιτοκτόνων (Lade et al., 2019).

Η εφαρμογή και χρήση των βιοπαρασιτοκτόνων είναι ακόμη περιορισμένη σε σχέση με τα συνθετικά χημικά ανάλογά τους. Από τα κυριότερα μειονεκτήματα των βιοπαρασιτοκτόνων είναι η μειωμένη σταθερότητα που παρουσιάζουν κατά την αποθήκευσή τους και η αυξημένη ευπάθεια στις περιβαλλοντικές συνθήκες, με αποτέλεσμα να διατηρούνται για μικρότερο χρονικό διάστημα στα ράφια των καταστημάτων. Ταυτόχρονα, το υψηλότερο κόστος παραγωγής τους, τα προβλήματα στις διαδικασίες ελέγχου καθώς και τα χαμηλά επίπεδα ευαισθητοποίησης των τελικών καταναλωτών αποτελούν παράγοντες που αναστέλλουν την γενικευμένη εφαρμογή τους (Samada & Tambunan, 2020). Σε παγκόσμιο επίπεδο τα χημικά προϊόντα εξακολουθούν να επικρατούν στη γεωργική πράξη και η αντικατάστασή τους από τα βιοπαρασιτοκτόνα πραγματοποιείται με βραδείς ρυθμούς (Mishra et al., 2015).

Η παγκόσμια αγορά βιοπαρασιτοκτόνων υπολογίστηκε σε 2466,7 εκατομμύρια USD το 2015 και αναμένεται να φτάσει τα 3,2 δισεκατομμύρια το 2017. Παρά τα χαμηλά επίπεδα τοξικότητας και περιβαλλοντικών επιπτώσεων, η υιοθέτηση βιοφαρμάκων περιορίζεται από το υψηλό κόστος, τη σπανιότητα, τη σύντομη διάρκεια ζωής και την υψηλή ειδικότητα. Κατά συνέπεια, δεν είναι προσιτό στους περισσότερους καλλιεργητές και δυνητικά προσθέτει στο συνολικό κόστος παραγωγής. Η αύξηση της έρευνας και της ανακάλυψης και η διευκόλυνση των διαδικασιών εγγραφής και αδειοδότησης εκτός από τις επιδοτήσεις θα διευκολύνουν την υιοθέτησή της και θα μειώσουν το κόστος του προϊόντος για τους καλλιεργητές. Επιπλέον, η αύξηση της ευαισθητοποίησης σχετικά με τα πλεονεκτήματα των βιοπαρασιτοκτόνων μεταξύ των καλλιεργητών, εκτός από την ευκολία πρόσβασης, θα οδηγήσει περαιτέρω την αγορά προς τα εμπρός (Abbey et al., 2020).

Οι νανοτεχνολογικές μέθοδοι φυτοπροστασίας βρίσκονται ακόμη σε ερευνητικό στάδιο (Parker & Sander, 2017) . Επιπλέον, ο συνδυασμός τους με τις νέες βιοτεχνολογικές μεθόδους γενετικής τροποποίησης των φυτών απαιτεί έρευνα για να διαλευκανθούν θέματα που σχετίζονται με την ασφαλή χρήση των νανοϋλικών και των βιομορίων στο περιβάλλον και τον άνθρωπο (Cunningham et al., 2018).

### **2.2.6 Κανονισμοί Ευρωπαϊκής Ένωσης για τα βιοπαρασιτοκτόνα**

Επί του παρόντος, σε ευρωπαϊκό επίπεδο τα βιοπαρασιτοκτόνα δεν έχουν οριστεί ακόμη επίσημα. Ωστόσο, η Ευρωπαϊκή Ένωση βρίσκεται σε διαδικασία αναθεώρησης, τροποποίησης ή κατάργησης των υπαρχόντων κανονισμών της, με στόχο να εισάγει

ευκολότερες διαδικασίες για την ένταξη των μικροοργανισμών ως φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

Ο Ευρωπαϊκός Κανονισμός (ΕΚ) 1107/2009, σχετικά με τη διάθεση φυτοπροστατευτικών προϊόντων στην αγορά, όριζε ως φυτοπροστατευτικά προϊόντα «τα προϊόντα που αποτελούνται από δραστικές ουσίες, αντιφυτοτοξικά ή συνεργιστικά ή περιέχουν τέτοιες ουσίες, και προορίζονται για: α) να προστατεύουν τα φυτά ή τα φυτικά προϊόντα από κάθε είδους επιβλαβείς οργανισμούς ή να προλαμβάνουν τη δράση των οργανισμών αυτών [...], β) να επηρεάζουν τις φυσιολογικές διεργασίες των φυτών, όπως τις ουσίες που επηρεάζουν την ανάπτυξη τους, εκτός αν πρόκειται για θρεπτικά στοιχεία, [...], δ) να καταστρέφουν ανεπιθύμητα φυτά ή μέρη φυτών, εκτός από τα φύκη, εκτός αν τα προϊόντα χρησιμοποιούνται στο έδαφος ή το νερό για να προστατεύουν τα φυτά, και ε) να επιβραδύνουν ή να προλαμβάνουν την ανεπιθύμητη ανάπτυξη φυτών, εκτός από τα φύκη, εκτός αν τα προϊόντα χρησιμοποιούνται στο έδαφος ή το νερό για να προστατεύουν τα φυτά.» Επιπλέον, ως δραστική ουσία οριζόταν «κάθε ουσία, συμπεριλαμβανομένων των μικροοργανισμών, που έχουν γενική ή ειδική δράση προστασίας από επιβλαβείς οργανισμούς ή επί φυτών, μερών φυτών ή φυτικών προϊόντων».

Είναι σαφές ότι, παρόλο που τα βιοπαρασιτοκτόνα ενέπιπταν στο πεδίο εφαρμογής του παρόντος κανονισμού, δεν αποτελούσαν μία ξεχωριστή ρυθμιστική κατηγορία. Το 2017, ο Ευρωπαϊκός Κανονισμός (ΕΚ) 2017/1432, ο οποίος τροποποίησε τον 1107/2009, εισήγαγε τον όρο «βασικές ουσίες» (οι οποίες είναι δραστικές ουσίες, που δεν χρησιμοποιούνται κυρίως ως φυτοπροστατευτικά προϊόντα, αλλά ενδέχεται να έχουν αξία ως φυτοπροστατευτικά προϊόντα), καθώς επίσης και τις «δραστικές ουσίες χαμηλού κινδύνου», και ταυτόχρονα πρότεινε τον καθορισμό κριτηρίων χαμηλού κινδύνου για τους μικροοργανισμούς με βάση τις τρέχουσες επιστημονικές και τεχνικές γνώσεις. Συγκεκριμένα, πρότεινε την αξιολόγηση των μικροοργανισμών που πρέπει να περιέχονταν σε φυτοπροστατευτικά προϊόντα σε επίπεδο στελέχους, με το σκεπτικό ότι οι τοξικολογικές ιδιότητες των διαφόρων στελεχών που ανήκουν στο ίδιο είδος μικροοργανισμού μπορεί να διαφέρουν σημαντικά.

Σε συνέχεια αυτών των πράξεων, τον Μάιο του 2020, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή πρότεινε ένα σχέδιο μείωσης των 505 χρήσεων των χημικών παρασιτοκτόνων και την αύξηση του ποσοστού της οργανικής γεωργίας από το 8% στο 25% έως το 2030, ενισχύοντας τις αξιολογήσεις κινδύνου των φυτοφαρμάκων, διευκολύνοντας τις εγκρίσεις βιοπαρασιτοκτόνων και βελτιώνοντας τη διαδικασία έγκρισής τους από τα κράτη μέλη. Στις 8 Φεβρουαρίου 2022, τα κράτη μέλη ενέκριναν τέσσερις Εκτελεστικούς Κανονισμούς

που τροποποιούν τους ισχύοντες κανόνες για τους μικροοργανισμούς. Οι νέοι κανόνες αντικατοπτρίζουν τις τελευταίες επιστημονικές εξελίξεις και βασίζονται στις συγκεκριμένες βιολογικές ιδιότητες των μικροοργανισμών. Οι νέοι κανόνες θα έχουν ως στόχο τη διευκόλυνση της έγκρισης μικροοργανισμών ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δραστικές ουσίες σε φυτοπροστατευτικά προϊόντα και την έγκριση των προϊόντων που τους περιέχουν. Ειδικότερα, από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή έχουν κατατεθεί σχέδια νέων κανονισμών τα οποία θα τροποποιούν:

α) τον κανονισμό (ΕΕ) αριθ. 283/2013 σχετικά με τις πληροφορίες που πρέπει να υποβάλλονται για τις δραστικές ουσίες και τις ειδικές απαιτήσεις δεδομένων για τους μικροοργανισμούς,

β) τον κανονισμό (ΕΕ) αριθ. 284/2013 όσον αφορά τις πληροφορίες που πρέπει να υποβάλλονται για τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα και τις ειδικές απαιτήσεις δεδομένων για τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα που περιέχουν μικροοργανισμούς,

γ) τον κανονισμό (ΕΕ) αριθ. 546/2011 σχετικά με τις ειδικές ενιαίες αρχές αξιολόγησης και έγκρισης φυτοπροστατευτικών προϊόντων που περιέχουν μικροοργανισμούς, και

δ) το Παράρτημα ΙΙ του Κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1107/2009 όσον αφορά τα ειδικά κριτήρια για την έγκριση δραστικών ουσιών που είναι μικροοργανισμοί.

Ήδη, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή στα πλαίσια της εκστρατείας «Ασφάλεια τροφίμων», αναγνωρίζει ότι μικροοργανισμοί όπως βακτήρια, μύκητες, ιοί και πρωτόζωα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φυτοπροστατευτικά προϊόντα, καθώς οι βιολογικές ιδιότητες που διαθέτουν τους καθιστούν εδώ και δεκαετίες κατάλληλους για τον βιολογικό έλεγχο των παρασίτων και των φυτικών ασθενειών, τόσο σε παγκόσμιο επίπεδο όσο και σε ευρωπαϊκό. Οι μικροοργανισμοί απαντώνται φυσικά στο περιβάλλον και τα στελέχη με τις καταλληλότερες ιδιότητες είναι αυτά που χρησιμοποιούνται στον βιολογικό έλεγχο για την καταπολέμηση παρασίτων και ασθενειών στην προστασία των καλλιεργειών. Ωστόσο, πριν επιτραπεί η χρήση μικροοργανισμών, είναι απαραίτητο να επαληθευτεί ότι η χρήση τους είναι ασφαλής και δεν έχει αρνητικές συνέπειες για την υγεία των ανθρώπων, των ζώων ή άλλων οργανισμών μη στόχων. Το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και το Συμβούλιο βρίσκεται σε διαδικασία ελέγχου αυτών των Εκτελεστικών Κανονισμών, προκειμένου να υιοθετηθούν και να γίνουν εφαρμοστέοι το Φθινόπωρο του 2022.

### 2.2.7 Επικείμενες αλλαγές στην Ευρωπαϊκή αγορά

Οι νέοι Κανονισμοί σκοπό έχουν να ενθαρρύνουν την είσοδο στην αγορά των μικροοργανισμών ως φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Μέχρι στιγμής, οι απαιτήσεις για τους μικροοργανισμούς βασίζονταν σε αρχές παρόμοιες με εκείνες που εφαρμόζονταν για τις χημικές δραστικές ουσίες. Με τις νέες πράξεις, όμως, επιχειρείται μια διαφορετική προσέγγιση, η οποία θα έχει ως βάση τη βιολογία και την οικολογία κάθε μικροοργανισμού και θα λαμβάνει υπόψη τις πιο πρόσφατες επιστημονικές γνώσεις. Ειδικότερα, στις εκτιμήσεις κινδύνου που πρέπει να γίνουν πριν την έγκριση των νέων εκτελεστικών πράξεων, θα ληφθούν υπόψη οι βιολογικές ιδιότητες των μικροοργανισμών, έτσι ώστε η έγκριση ενός μικροοργανισμού, ως ασφαλούς για χρήση, να προκύψει μόνο εάν αποδειχθεί ότι δεν προκαλεί ασθένεια σε ανθρώπους ή ζώα. Με αυτόν τον τρόπο, οι κανονιστικές απαιτήσεις για τους μικροοργανισμούς θα αφορούν συγκεκριμένους σκοπούς και, ως εκ τούτου, θα είναι πιο ευέλικτες. Αυτό συνεπάγεται απλούστερη διαδικασία αξιολόγησης κινδύνου και συντομότερα χρονοδιαγράμματα πρόσβασης αυτών των προϊόντων στην αγορά της ΕΕ. Επί του παρόντος, περισσότεροι από 60 μικροοργανισμοί έχουν εγκριθεί στην ΕΕ μετά από επιστημονική αξιολόγηση κινδύνου που επιβεβαίωσε ότι η χρήση τους ως φυτοπροστατευτικά προϊόντα είναι ασφαλής. Η τελευταία εγγραφή πραγματοποιήθηκε την 1<sup>η</sup> Μαρτίου 2022, κατόπιν της 2022/19 εκτελεστικής πράξης της Ευρωπαϊκής Επιτροπής με την οποία ανανεώθηκε η έγκριση της δραστικής ουσίας *Purpureocillium lilacinum* strain 251. Ωστόσο, στην αγορά των ΗΠΑ υπάρχουν διαθέσιμα περισσότερα από 200 βιοπαρασιτοκτόνα, αριθμός ιδιαίτερα υψηλός σε σχέση με την Ευρωπαϊκή Ένωση, η οποία βρίσκεται πίσω ακόμα και από αναπτυσσόμενες χώρες όπως η Ινδία, η Βραζιλία και η Κίνα. Αυτός ο περιορισμένος αριθμός καταγεγραμμένων βιοπαρασιτοκτόνων στην αγορά της ΕΕ σχετίζεται με την έως τώρα πολύπλοκη διαδικασία εγγραφής και έγκρισης τους. Οι νέοι Κανονισμοί, ωστόσο, βασιζόμενοι στις πλέον πρόσφατες επιστημονικές εξελίξεις έχουν ως σκοπό να καταστήσουν την ΕΕ μία από τις πιο προηγμένες ρυθμιστικές αρχές στην παγκόσμια σκηνή για αυτά τα προϊόντα.

### 2.2.8 Κανονισμοί βιοπαρασιτοκτόνων στις ΗΠΑ

Στις ΗΠΑ, τα βιοπαρασιτοκτόνα ρυθμίζονται από την Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος (US EPA), την Υπηρεσία Επιθεώρησης Υγείας των Ζώων και Φυτών του Υπουργείου Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών (USDA APHIS) και την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA). Ο ορισμός των βιοπαρασιτοκτόνων δίνεται από την **US EPA**. Σύμφωνα με αυτόν, ως βιοπαρασιτοκτόνο ορίζεται κάθε παράγοντας προστασίας



των καλλιεργειών που προέρχεται από φυσικά υλικά όπως ζώα, φυτά, βακτήρια και ορισμένα ανόργανα στοιχεία. Για παράδειγμα, το λάδι canola και η μαγειρική σόδα έχουν φυτοφαρμακευτικές ιδιότητες και θεωρούνται βιοπαρασιτοκτόνα.

Για να μπορέσει να διατεθεί στην αγορά ένα φυτοφάρμακο στην αγορά των Ηνωμένων Πολιτειών θα πρέπει να περάσει από στάδια αξιολόγησης, προκειμένου να διασφαλιστεί η ασφάλεια της χρήσης του. Με τον «Ομοσπονδιακό Νόμο περί εντομοκτόνων, μυκητοκτόνων και τρωκτικοκτόνων» (Federal Insecticide, Fungicide, Rodenticide Act, FIFRA) ρυθμίζεται η διανομή, πώληση και χρήση φυτοφαρμάκων εντός των Ηνωμένων Πολιτειών. Όλα τα φυτοφάρμακα που διανέμονται ή πωλούνται στις Ηνωμένες Πολιτείες πρέπει να είναι εγγεγραμμένα (με άδεια) από την EPA. Προτού η EPA καταχωρίσει ένα φυτοφάρμακο στο πλαίσιο της FIFRA, ο αιτών έχει την υποχρέωση να αποδείξει, μεταξύ άλλων, ότι η χρήση του φυτοφαρμάκου σύμφωνα με τις προδιαγραφές *«δεν θα προκαλέσει γενικά αδικαιολόγητες δυσμενείς επιπτώσεις στο περιβάλλον»*. Αυτές οι *«αδικαιολόγητες δυσμενείς επιπτώσεις στο περιβάλλον»* είναι επίσης καθορισμένες από την FIFRA ως *«(1) οποιοσδήποτε αδικαιολόγητος κίνδυνος για τον άνθρωπο ή το περιβάλλον, λαμβάνοντας υπόψη το οικονομικό, κοινωνικό και περιβαλλοντικό κόστος και όφελος από τη χρήση οποιουδήποτε φυτοφαρμάκου, ή (2) ένας διατροφικός κίνδυνος για τον άνθρωπο από υπολείμματα που προκύπτουν από τη χρήση φυτοφαρμάκου σε οποιοδήποτε τρόφιμο που δεν συνάδει με το πρότυπο που καθορίζονται από την ομοσπονδιακή πράξη για τα τρόφιμα, τα φάρμακα και τα καλλυντικά (FFDCA), όπως τροποποιήθηκε από το Νόμο για την Προστασία της Ποιότητας Τροφίμων (FQPA)»*. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, υπάρχουν 390 ενεργά συστατικά βιοπαρασιτοκτόνων (που έχουν καταχωρηθεί από την EPA ως τις 31 Αυγούστου 2020 (.

## 3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 3.1. Βιολιπάσματα - Νανοβιολιπάσματα

Τα βιολιπάσματα είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί, όπως βακτήρια, μύκητες και φύκη. Τα ίδια δεν αποτελούν θρεπτικά στοιχεία, αλλά η δράση τους είναι να ενισχύουν την ανάπτυξη των φυτών μέσω άμεσων βιοχημικών διαδικασιών, όπως η αζωτοδέσμευση, η διαλυτοποίηση και η κινητοποίηση του φωσφόρου, η κινητοποίηση του καλίου, η διαλυτοποίηση του ψευδαργύρου καθώς και η κινητοποίηση λοιπών μικροθρεπτικών (Kumar, 2018, Meena et al., 2016). Εκτός όμως από αυτές τις λειτουργίες, οι μικροοργανισμοί είναι χρήσιμοι στην ανάπτυξη των φυτών μέσω διαφόρων έμμεσων μηχανισμών, όπως η παραγωγή ορμονών (αυξίνες, κυτοκινίνες, γιββεριλλίνες κ.ά.) οι οποίες έχουν άμεση αυξητική επίδραση στα φυτά, η παραγωγή αντιβιοτικών ουσιών, η έκκριση σιδηροφόρων, η παραγωγή χαμηλού μοριακού βάρους μεταβολιτών (όπως το υδροκυάνιο), η παραγωγή ενζύμων, ο ανταγωνισμός με διάφορα φυτικά παθογόνα για θρεπτικά στοιχεία και ο αποικισμός του ριζικού συστήματος του φυτού, καθώς επίσης και η ενίσχυση της αντίστασης του φυτού στις διάφορες προσβολές (Meena et al., 2016).

Τα βιολιπάσματα διαθέτουν μοναδικά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τα συμβατικά, όπως βελτιώνουν την πρόσληψη των θρεπτικών (έως και 25%), μειώνουν την ποσότητα των χρησιμοποιούμενων λιπασμάτων (έως και 25%), βελτιώνουν τις καλλιεργητικές αποδόσεις (έως και 15%), βελτιώνουν την ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων, ενισχύουν την αντίσταση των φυτών στις βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις, δίνουν πιο γερά μοσχεύματα που εγκλιματίζονται ευκολότερα, βελτιώνουν τη γονιμότητα του εδάφους, μειώνουν την επιβάρυνση στο περιβάλλον, δεν αφήνουν κατάλοιπα στο περιβάλλον, είναι οικονομικά, οικολογικά και εύκολα στη χορήγηση και τη χρήση τους (Kumar, 2018, Basu et al., 2021, Mohanty et al., 2021). Ωστόσο, ορισμένα μειονεκτήματά τους, όπως η αστάθεια στη δράση τους σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες και η μικρή διάρκεια ζωής τους στα εμπορικά καταστήματα αποτελούν περιοριστικούς παράγοντες της καθολικής χρήσης τους παγκοσμίως.

Το γεγονός αυτό οδήγησε τους ερευνητές στην αναζήτηση λύσεων, ώστε διατηρώντας τις περιβαλλοντικά φιλικές ιδιότητες των βιολιπασμάτων, να αναπτύξουν νέες τεχνικές οι οποίες να τα καθιστούν περισσότερο αποτελεσματικά. Αυτό σημαίνει ότι οι έρευνα εστίασε τα τελευταία χρόνια στη βελτίωση των χαρακτηριστικών των βιολιπασμάτων, αναφορικά με τη σταθερότητα της χρήσης τους, την βραδύτερη αποικοδόμησή τους, τη μεγαλύτερη διάρκεια ζωής τους και την ακριβέστερη δράση τους στα σημεία-στόχους (Sharma et al., 2021).

Η νανοτεχνολογία αποτέλεσε το εργαλείο προς αυτή την κατεύθυνση. Τα νανοσωματίδια που χρησιμοποιούνται στην καινοτόμο αυτή τεχνολογία έχουν διάσταση μικρότερη των 100 nm. Τα μεταλλικά νανοσωματίδια παρασκευάζονται κυρίως από ευγενή μέταλλα όπως ο χρυσός, το ασήμι και η πλατίνα. Επίσης, οξείδια μετάλλων (τιτανίου, ψευδαργύρου, αργύρου και μαγνησίου), κεραμικά, πυριτικά, μαγνητικά υλικά, κβαντικές κουκκίδες ημιαγωγών (QDs), λιπίδια, πολυμερή, δένδριτες και γαλακτώματα έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή NP. Τα νανοϋλικά είναι τόσο οργανικής όσο και ανόργανης προέλευσης και συντίθενται με φυσικές, χημικές και βιολογικές μεθόδους (Owolade et al. 2008).

Η εφαρμογή μεθόδων νανοτεχνολογίας στη γεωργία είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία των νανοβιολιπασμάτων, τα οποία διαθέτουν καινοτόμα χαρακτηριστικά που τα καθιστούν χαμηλού κόστους και φιλικά προς το περιβάλλον (Duhon et al., 2017). Τα νανοβιολιπάσματα είναι ο συνδυασμός των βιολιπασμάτων και των νανοσωματιδίων (Akhtar et al., 2022). Τα νανοσωματίδια, και γενικότερα τα νανοϋλικά, χρησιμοποιούνται εκτενώς σε διάφορους τομείς. Διαθέτουν μεγάλη αναλογία επιφάνειας προς όγκο, μία ιδιότητα που τους παρέχει περισσότερα σημεία αντίδρασης ενώ τους δίνει τη δυνατότητα να «φιλοξενούν» τα βιομόρια των δραστικών ουσιών των βιολιπασμάτων, με τη διαδικασία της ενθυλάκωσης. Η ενθυλάκωση προστατεύει τις δραστικές ουσίες από τις αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες, παρέχοντάς τους με αυτό τον τρόπο μεγαλύτερη σταθερότητα, ακρίβεια και ελεγχόμενη αποδέσμευση σε συγκεκριμένα σημεία στόχους (Tarafdar et al., 2015).

Τα νανοβιολιπάσματα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη γεωργία καθώς βελτιώνουν τις αποδόσεις των καλλιεργειών και τις παραμέτρους ποιότητας και αποδοτικότητας χρήσης των θρεπτικών ουσιών. Με τη χρήση των νανοβιολιπασμάτων μειώνονται οι ποσότητες των χρησιμοποιούμενων λιπασμάτων καθώς και η συχνότητα εφαρμογής τους, και κατ' επέκταση το κόστος καλλιέργειας. Με τα νανοβιολιπάσματα πραγματοποιείται ακριβής διαχείριση των θρεπτικών συστατικών: η ελεγχόμενη αποδέσμευση των θρεπτικών στοιχείων κατά τη διάρκεια μεγαλύτερου χρονικού διαστήματος παρέχει στο φυτό τις απαιτούμενες ποσότητες θρεπτικών σε συγκεκριμένα στάδια ανάπτυξης καθ' όλη την περίοδο ανάπτυξης της καλλιέργειας. Παρέχει επίσης μεγαλύτερη επιφάνεια για διαφορετικές μεταβολικές αντιδράσεις στα φυτά, με αποτέλεσμα την αύξηση του ρυθμού φωτοσύνθεσης και την παραγωγή μεγαλύτερης ποσότητας ξηρής ουσίας και άρα υψηλότερης παραγωγής. Τα φυτά γίνονται πιο δραστήρια καθώς ενεργοποιούνται ποικίλα φυτικά και μικροβιακό συνενζυμικά συστήματα, προστατεύοντας τα φυτά από τις βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις (Burman et al., 2013). Εκτός από την τεράστια αύξηση της αποτελεσματικότητας χρήσης

θρεπτικών ουσιών, τα νανοβιολιπάσματα βοηθούν στην μείωση της τοξικότητας του εδάφους, στη βελτίωση της γονιμότητάς του, στην ελαχιστοποίηση των πιθανών αρνητικών επιπτώσεων που σχετίζονται με την υπερδοσολογία και μειώνει τη συχνότητα και την ποσότητα εφαρμογής (Kumar et al., 2014).

Τα νανοβιολιπάσματα δεν ορίζονται ακόμη σε καμία χώρα του κόσμου. Οι παγκόσμιοι και ευρωπαϊκοί κανονισμοί καλύπτουν μόνο τη χρήση των βιολιπασμάτων. Απαιτούνται πολλά βήματα ακόμη από τις διάφορες επιτροπές ελέγχου που ελέγχουν την ασφάλεια αυτών των σκευασμάτων, ώστε τα βιολιπάσματα να αποτελέσουν εργαλείο στην καθημερινή γεωργική πράξη το οποίο θα μπορέσει να αντικαταστήσει και να υποσκελίσει τελείως τα συμβατικά λιπάσματα.

Η νομοθεσία για τη χρήση των βιολιπασμάτων δεν είναι ενιαία σε παγκόσμιο επίπεδο. Στις περισσότερες χώρες του κόσμου, η χρήση τους ρυθμίζεται σε εθνικό επίπεδο, με αποτέλεσμα να υπάρχει ευρύ χάσμα στην νομοθεσία και τους κανονισμούς που εφαρμόζονται μεταξύ των χωρών, κι επομένως μεροληπτική χρήση και διαθεσιμότητα των προϊόντων αυτών στην παγκόσμια αγορά. Ωστόσο, με τις νέες καινοτόμες τεχνολογίες που ανοίγουν έναν καινούργιο ορίζοντα και παρέχουν μία νέα οπτική στη βιώσιμη γεωργία, η ανάγκη δημιουργίας, μίας κοινής αγοράς με μεγαλύτερη συνοχή μεταξύ των κανονισμών παραγωγής, διακίνησης και εμπορίας αυτών των προϊόντων είναι περισσότερο από ποτέ επιτακτική.

Ο τρέχων Ευρωπαϊκός Κανονισμός 2003/2003, ο οποίος θα βρίσκεται σε ισχύ μέχρι τον Ιούλιο του 2022, είχε εναρμονίσει εν μέρει τη διάθεση λιπασμάτων στην εσωτερική ευρωπαϊκή αγορά, καθώς κάλυπτε σχεδόν αποκλειστικά τα λιπάσματα από ορυκτά ή χημικώς παραγόμενα ανόργανα υλικά. Συγκεκριμένα, τα λιπάσματα που παράγονται από οργανικά υλικά και απόβλητα ή είναι συνδυασμός οργανικών και ανόργανων υλικών παρά το γεγονός ότι αποτελούν τα μισά περίπου από τα λιπάσματα που κυκλοφορούν στην ευρωπαϊκή αγορά και παρά τη συνεχώς αυξανόμενη ζήτηση και παραγωγή τους δεν καλύπτονται από τον υπάρχοντα κανονισμό. Την ίδια μοίρα έχουν και άλλα προϊόντα βιολογικής προέλευσης, όπως βελτιωτές εδάφους ή μέσα ενίσχυσης.

Επιπλέον, οι διατάξεις του τρέχοντος κανονισμού 2003/2003 δεν καθόριζαν ένα σαφές πλαίσιο που θα κάλυπτε θέματα ασφαλείας σχετικά με το περιβάλλον και τα ανόργανα υλικά που χρησιμοποιούνται στη σύνθεση των λιπασμάτων. Το κάδμιο, το ουράνιο και άλλα πιθανά τοξικά στοιχεία είναι συστατικά των φωσφορικών αλάτων, γεγονός που σημαίνει ότι τα ορυκτά φωσφορικά λιπάσματα περιέχουν τοξικά στοιχεία προερχόμενα από το αρχικό κοίτασμα. Αυτά τα τοξικά στοιχεία είναι πιθανόν να αποτελούν κίνδυνο για την υγεία των ανθρώπων, των ζώων και των φυτών καθώς και για τη ασφάλεια του

περιβάλλοντος εφόσον είναι γνωστό ότι συσσωρεύονται στο έδαφος και εισέρχονται στην διατροφική αλυσίδα.

Ένα βασικό πρόβλημα ήταν να αναγνωριστούν οι πρώτες ύλες με υψηλή οικονομική σημασία, για τις οποίες δεν υπήρχε αξιόπιστη και απρόσκοπτη πρόσβαση. Ειδικότερα για τα φωσφορικά λιπάσματα, η προμήθειά τους βασιζόταν σε εισαγωγές φωσφορικών πετρωμάτων από χώρες εκτός ΕΕ (περισσότερα από το 90% των φωσφορικών λιπασμάτων που χρησιμοποιούνται στην Ευρωπαϊκή Ένωση είναι εισαγόμενα, κυρίως από το Μαρόκο, την Τυνησία και τη Ρωσία). Ταυτόχρονα η ανακύκλωση των οικιακών αποβλήτων, των οποίων η περιεκτικότητα σε φώσφορο είναι υψηλή, σύμφωνα με το ευρωπαϊκό μοντέλο της κυκλικής οικονομίας, θα μπορούσαν δυνητικά να καλύψουν τουλάχιστον το 20-30% των αναγκών της Ευρωπαϊκής Ένωσης σε φωσφορικά λιπάσματα.

Η εφαρμογή του νέου Κανονισμού θα επιφέρει σημαντικές αλλαγές στην παραγωγή και εμπορία των προϊόντων λίπανσης στην Ευρωπαϊκή Ένωση, καθώς φαίνεται ότι υπάρχει μία διαφορετική, καινοτόμα, προσέγγιση στην παραγωγή, διακίνηση και εμπορία τους που διαφοροποιεί ριζικά την υπάρχουσα κατάσταση. Συγκεκριμένα, τα συστατικά που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή ενός προϊόντος λίπανσης, πλέον ορίζονται σαφώς από τον κανονισμό, καθώς επίσης και όλες οι απαραίτητες διεργασίες και έλεγχοι, στις οποίες θα πρέπει να υποβάλλονται τα προϊόντα λίπανσης προκειμένου να συμμορφώνονται με τις βασικές απαιτήσεις ποιότητας, ασφάλειας και επισήμανσης που περιγράφονται στα παραρτήματα του κανονισμού.

Με αυτόν τον τρόπο, η αλυσίδα εφοδιασμού λιπασμάτων θα αλλάξει πρόσωπο, καθώς θα είναι πλέον αναγκαία η συμμόρφωση με το σήμα CE της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τη διάθεση των προϊόντων λίπανσης στην ενιαία αγορά, ενώ ο προηγούμενος κανονισμός έθετε απλά την τήρηση των νομικών απαιτήσεων και την ορθή επισήμανση. Έτσι, κάθε πρόσωπο ή φορέας που παράγει λιπάσματα θα έχει την υποχρέωση να αναθέτει σε κατάλληλο φορέα, διαπιστευμένο από τις αρμόδιες εθνικές αρχές, την αξιολόγηση των χαρακτηριστικών τους προϊόντος που παράγει και αν το προϊόν αυτό είναι σύμφωνο με τις απαιτήσεις του κανονισμού. Οι έλεγχοι, επομένως, μπορεί να περιλαμβάνουν, επί παραδείγματι, αν ένα προϊόν λίπανσης τηρεί τα όρια περιεκτικότητας σε βαρέα μέταλλα ή σε μολυσματικές ουσίες. Η πραγματοποίηση των ελέγχων θα βασίζεται σε κατάλληλες δοκιμές σύμφωνα με καθορισμένα πρότυπα, τα οποία ορίζουν σαφώς τις αναλυτικές μεθόδους που πρέπει να υιοθετηθούν.

### 3.2. Βιοπαρασιτοκτόνα - Νανοβιοπαρασιτοκτόνα

Ο όρος βιοπαρασιτοκτόνα περιλαμβάνει τους μικροβιακούς οργανισμούς (ιούς, βακτήρια και μύκητες), τα φυτοφάρμακα φυτικής προέλευσης (βιοχημικά και σημειοχημικά), καθώς και τα ενσωματωμένα φυτοπροστατευτικά, τα οποία αποτελούν γενετικά τροποποιημένα φυτά που εκφράζουν ανθεκτικότητα στις διάφορες παρασιτολογικές προσβολές. Τα βιοπαρασιτοκτόνα προορίζονται για την καταπολέμηση συγκεκριμένων παρασίτων ή ομάδων συγγενών παρασίτων και δρουν με πολύ συγκεκριμένο τρόπο. Κυρίως καταστέλλουν τους πληθυσμούς των παθογόνων αλλά δεν τους εξαλείφουν. Αποδεδειγμένα αργά, ως εκ τούτου ο χρόνος εφαρμογής τους συνιστά κρίσιμο παράγοντα στην αποτελεσματικότητα της δράσης τους. Επιπλέον, αποικοδομούνται εύκολα χωρίς να αφήνουν υπολείμματα στο περιβάλλον, είναι ασφαλή για οργανισμούς-μη στόχους και είναι εύκολα στη χρήση και τη σύνθεσή τους. Τα βιοπαρασιτοκτόνα εμφανίζουν χωρίς αμφιβολία μεγάλες δυνατότητες στον έλεγχο εντόμων, ζιζανίων και ασθενειών που μεταδίδονται από παθογόνους φορείς, καταλαμβάνοντας ένα συνεχώς αυξανόμενο μερίδιο στην παγκόσμια αγορά των φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων και υποσκελίζοντας τα συμβατικά φυτοφάρμακα.

Η έλευση των νανοβιοπαρασιτοκτόνων, ωστόσο, έχει φέρει επανάσταση στη σύγχρονη φυτοπροστασία και αποτελεί το μέλλον αυτής. Το νανο-μέγεθος, η δομή και η φύση των νανοσωματιδίων που χρησιμοποιούνται στη σύνθεση των νανοβιοπαρασιτοκτόνων τους προσδίδουν την ιδιαίτερη δράση και λειτουργία τους. Η ενθυλάκωση βιοπαρασιτοκτόνων ουσιών με νανοσωματίδια προσφέρει αποτελεσματική δράση στον έλεγχο των παθογόνων είτε καταστρέφοντας σημαντικούς μηχανισμούς αυτών που οδηγούν στην εξόντωσή τους είτε, απλά, απωθώντας τα (Kremer, 2019). Επιπλέον, τα βιοϊλικά που χρησιμοποιούνται στη σύνθεση των νανοσωματιδίων έχουν αυξημένη ικανότητα αποικοδόμησης, ενώ ταυτόχρονα προσφέρουν στις βιοδραστικές ουσίες αυξημένη σταθερότητα και άρα υψηλότερη αποτελεσματικότητα. Τα νανοβιοπαρασιτοκτόνα χορηγούνται σε μικρότερες ποσότητες σε σχέση με τα συμβατικά παρασιτοκτόνα, γεγονός που τα καθιστά περιβαλλοντικά φιλικά. Ο οικολογικός χαρακτήρας των νανοβιοπαρασιτοκτόνων δεν περιορίζεται, όμως, μόνο στη δόσολογία. Τα μεταλλικά νανοσωματίδια, ιδίως του ψευδαργύρου, του χρυσού, αργύρου, νικελίου και τιτανίου, διαθέτουν ισχυρές αντιμικροβιακές ιδιότητες, οι οποίες βοηθούν στην επιδιόρθωση των βλαβών που προκαλούν τα διάφορα παθογόνα στους φυτικούς ιστούς. Τα νανοβιοπαρασιτοκτόνα έχουν αυξημένη ικανότητα διαλυτοποίησης και στοχευμένης δράσης, που ενισχύουν την αποτελεσματικότητά τους ακόμη περισσότερο.

Όπως παρατηρήθηκε με τα νανοβιολιπάσματα, το ίδιο καθεστώς ισχύει και για τα νανοβιοπαρασιτοκτόνα. Τα τελευταία δεν ορίζονται από κανέναν κανονισμό σε καμία

χώρα του κόσμου. Η έρευνα σχετικά με τα νανοβιοπαρασιτοκτόνα έχει να διανύσει πολύ δρόμο ώστε να διαλευκανθούν όλες οι πτυχές της δράσης τους, της αποτελεσματικότητάς τους και κυρίως της ασφάλειάς τους για τους οργανισμούς μη-στόχους, το περιβάλλον, τα ζώα και τον άνθρωπο.

Στην αγορά προς το παρόν διατίθενται μόνο βιοπαρασιτοκτόνα, πέρα από τα συμβατικά φυτοφάρμακα. Οι πυρεθρίνες και η αζαδιραχτίνη αποτελούν τις κυριότερες βιοπαρασιτοκτόνες ουσίες στην παγκόσμια αγορά βιοφαρμάκων, με την πυρεθρίνη να αντιπροσωπεύει το 80% του συνόλου. Η Κένυα είναι η πρώτη χώρα παγκοσμίως στην παραγωγή πυρεθρινών, διακινώντας το 70% της συνολικής παραγωγής. Αναφορικά με την αζαδιραχτίνη που παράγεται από τους σπόρους neem, η Ινδία είναι η κυριότερη χώρα παραγωγής. Υπολογίζεται ότι στο τέλος της τρέχουσας δεκαετίας, τα βιοπαρασιτοκτόνα θα ξεπεράσουν τα 4 δισεκατομμύρια USD σε παγκόσμιο επίπεδο, ενώ μέχρι το έτος 2025 θα καταλαμβάνουν το μισό περίπου της παγκόσμιας αγοράς. Περισσότερα από 1400 βιοπαρασιτοκτόνα είναι εγγεγραμμένα παγκοσμίως, με την Ευρώπη να βρίσκεται στις χαμηλότερες θέσεις εγγραφών, εξαιτίας του σύνθετου ρυθμιστικού της συστήματος. Συγκεκριμένα, στην Ευρωπαϊκή αγορά διατίθεται περίπου 60 βιοπροϊόντα φυτοπροστασίας ενώ στην αγορά της Βόρειας Αμερικής διακινούνται περισσότερα από 200 τέτοια σκευάσματα.

Οι αυστηροί κανονισμοί στη χρήση των χημικών φυτοφαρμάκων, οι ανησυχίες για την ασφάλεια του περιβάλλοντος και την υγεία ανθρώπων, ζώων και φυτών, καθώς και τα νέα τεχνολογικά επιτεύγματα αποτέλεσαν τους κυριότερους παράγοντες που ώθησαν την κατανάλωση βιοπαρασιτοκτόνων και αύξησαν το μερίδιό τους στην παγκόσμια αγορά. Πολλές χώρες στη Βόρεια Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική επέδειξαν πολιτική βούληση να μειώσουν τη χρήση των συμβατικών φυτοφαρμάκων και να ενισχύσουν την κατανάλωση των αντίστοιχων βιολογικών προϊόντων, όχι μόνο θέτοντας αυστηρότερους περιορισμούς αναφορικά με τη χρήση των συνθετικών σκευασμάτων αλλά και επενδύοντας στην ανάπτυξη των βιολογικών παραγόντων και παρέχοντας κίνητρα για την ευρύτερη χρήση τους.

Προς το παρόν, ωστόσο, η χρήση των βιοπαρασιτοκτόνων είναι περιορισμένη συγκρινόμενη με αυτή των συνθετικών φυτοφαρμάκων. Η μη άμεση δράση τους, η σύνθετη διαδικασία παραγωγής τους, η χαμηλή επενδυτική τους απόδοση, οι περιορισμένες δυνατότητες σύνθεσής τους, και οι παλαιότερες φήμες περί χαμηλών αποδόσεων στη φυτοπροστασία των καλλιεργειών καθιστούν εμπόδια στην μαζική εξάπλωση της χρήσης τους. Επιπλέον, οι κανονισμοί που ισχύουν σε πολλές χώρες θέτουν όρια στην προώθηση και διακίνησή τους. Είναι αναγκαία επομένως μία ταχεία και απλή διαδικασία εγγραφής, που θα επιτρέψει την αποτελεσματική επικοινωνία μεταξύ

φορέων παραγωγής βιοφαρμάκων και Αρχών, θα διευκολύνει την ανταλλαγή γνώσεων και πληροφοριών και θα βελτιώσει την οργάνωση προς όφελος της επέκτασης της παγκόσμιας αγοράς βιοσκευασμάτων. Ειδικότερα, στις Ηνωμένες Πολιτείες, η απλούστευση της διαδικασίας σε συνδυασμό με τη μείωση των τελών εγγραφής από την US EPA αύξησε τον αριθμό των εγγραφών βιοπαρασιτοκτόνων, αποτελώντας ένα καλό παράδειγμα προς μίμηση για άλλες χώρες. Το γεγονός ότι η εγγραφή τέτοιων προϊόντων στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής είναι οικονομικότερη και λιγότερο χρονοβόρα όσον αφορά την προετοιμασία του φακέλου της αίτησης και την απόκτηση του πιστοποιητικού εγγραφής σε σύγκριση με τα συνθετικά παράγωγα συνέβαλαν επίσης στην διείσδυση των βιοπαρασιτοκτόνων στις παγκόσμιες αγορές φυτοφαρμάκων εκτός Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Περιορισμοί που εμποδίζουν την ευρεία κατανάλωση των βιοφυτοφαρμάκων (Isman & Grieneisen, 2014) αποτελούν τα μη εφαρμόσιμα σε εμπορική κλίματα αποτελέσματα των διαφόρων ερευνητικών μελετών, ο περιορισμένος αριθμός βιοπροστατευτικών προϊόντων χαμηλού κόστους, το αυστηρό νομοθετικό πλαίσιο για την αδειοδότηση, η μικρή διάρκεια ζωής των προϊόντων αυτών στα ράφια των καταστημάτων, και η διακύμανση στη σύνθεσή τους εξαιτίας των διαφορετικών κλιματικών συνθηκών παραγωγής τους. Ωστόσο, για να καταστεί ένα φυτοφάρμακο εμπορεύσιμο, θα πρέπει να διασφαλίζεται η διαθεσιμότητά του σε επαρκείς ποσότητες. Ταυτόχρονα, θα πρέπει να δοθούν κίνητρα ενίσχυσης και εμπορευματοποίησης των βιοφαρμάκων που βασίζονται σε καινοτόμες τεχνικές παρασκευής (γενετική μηχανική, βιοτεχνολογία, νανοτεχνολογία).

Με βάση την υφιστάμενη κατάσταση αναφορικά με τα βιοπαρασιτοκτόνα, η αξιολόγηση των βιοπαρασιτοκτόνων και των σχετικών με αυτά προϊόντων πρέπει να πραγματοποιείται στα πλαίσια ενός περισσότερο βιολογικού και οικολογικού σχεδιασμού. Είναι απαραίτητο να απλοποιηθεί η διαδικασία αδειοδότησης ώστε να ενισχυθεί η περαιτέρω διείσδυση των βιοπαρασιτοκτόνων στην αγορά των φυτοφαρμάκων, και η εφαρμοζόμενη γεωργική πρακτική να μετατοπιστεί σε περισσότερο βιώσιμα συστήματα διαχείρισης των παρασίτων. Καθίσταται αναγκαία η ενοποίηση της νομοθεσίας για τα χαμηλού κινδύνου βιολογικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα, με διαχωρισμό της αξιολόγησής τους από τα συμβατικά χημικά παρασιτοκτόνα, εστιάζοντας ταυτόχρονα στην ασφάλεια των τροφίμων, την υγεία των ανθρώπων και την προστασία του περιβάλλοντος. Η παροχή οικονομικής και επιστημονικής υποστήριξης μέσω προγραμμάτων έρευνας θα διευκολύνει τις μικρές και μεσαίου μεγέθους επιχειρήσεις να αναπτύξουν μεγαλύτερο αριθμό βιολογικών προϊόντων ελέγχου και οι μεγάλοι παραγωγοί φυτοφαρμάκων να στραφούν σε πιο



βιώσιμα προϊόντα. Ισχυρό δίκτυο επικοινωνίας με τους αγρότες, τις μικρομεσαίες επιχειρήσεις και τη βιομηχανία παραγωγής βιοφαρμάκων θα τονώσει περαιτέρω την αγορά αυτών των προϊόντων.

## 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε μία ανασκόπηση βιβλιογραφίας σχετικά με τα νανοβιολιπάσματα και τα νανοβιοπαρασιτοκτόνα, τα οποία αποτελούν τα βιοπροϊόντα λίπανσης και φυτοπροστασίας νέας γενιάς. Τα νανοβιολιπάσματα και τα νανοβιοπαρασιτοκτόνα προέρχονται από τον συνδυασμό αυτών των βιοπροϊόντων με νανοσωματίδια, τα οποία διαθέτουν ιδιότητες που καθιστούν τη χρήση τους στη γεωργία εύκολη και αποτελεσματική. Η νανοβιοτεχνολογία φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενη προς την κατεύθυνση τέτοιων νανοσκευασμάτων, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη βελτίωση της σταθερότητας και της αποτελεσματικότητας των δραστικών ουσιών τόσο των βιολιπασμάτων όσο και των βιοπαρασιτοκτόνων. Τα νανοβιοπροϊόντα μπορούν να παρέχουν στοχευμένη και ελεγχόμενη απελευθέρωση των δραστικών ουσιών στο σημείο δράσης, ελαχιστοποιώντας τις πιθανές τοξικές επιδράσεις σε οργανισμούς μη στόχους και ταυτόχρονα αποτρέποντας την αποικοδόμηση του δραστικού παράγοντα λόγω των διαφόρων περιβαλλοντικών συνθηκών. Αν και υπάρχει ερευνητικά και βιομηχανική δραστηριότητα που στοχεύει προς την κατεύθυνση της βελτίωσης αυτών των ιδιοτήτων, μεγάλα ερωτήματα εξακολουθούν να υφίστανται σχετικά με τους ρυθμούς απελευθέρωσης, τη σταθερότητα αποθήκευσης και την αποτελεσματικότητα του κόστους.

Τα νανοβιοπροϊόντα θεωρείται ότι είναι ασφαλέστερα περιβαλλοντικά και οικονομικότερα. Ωστόσο, θέματα ασφαλείας αναφορικά με την μακροπρόθεσμη επίδρασή τους στο περιβάλλον εξακολουθούν να προβληματίζουν τους ερευνητές. Επιπλέον, παρόλο που τα βιοπροϊόντα αυτά καταλαμβάνουν ένα σημαντικό μερίδιο στην παγκόσμια αγορά αγροχημικών, υστερούν σημαντικά στην προτίμηση των τελικών καταναλωτών σε σχέση με τα συμβατικά λιπάσματα και φυτοφάρμακα, εξαιτίας της περιορισμένης διάρκειας ζωής τους και του ασταθούς αποτελέσματος που έχουν κατά τη χρήση τους.

Τα νανοβιολιπάσματα και τα νανοβιοπαρασιτοκτόνα δεν έχουν οριστεί ακόμη σε ευρωπαϊκό και σε παγκόσμιο επίπεδο από επίσημα κανονιστικά πλαίσια. Διεθνείς και Ευρωπαϊκοί Κανονισμοί υπάρχουν μόνο για να βιολιπάσματα και τα βιοπαρασιτοκτόνα. Ειδικότερα, ο νέος ευρωπαϊκός κανονισμός για τα βιολιπάσματα είναι εξαιρετικά πρόσφατος και θα εφαρμοστεί τον Ιούλιο του 2022, παρά την ευρεία χρήση των βιολιπασμάτων στη γεωργική πράξη. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει μία καθυστερημένη αντίδραση της Ευρωπαϊκής Ένωσης στις νέες εξελίξεις αναφορικά με την ενσωμάτωση νέων τεχνολογιών στη γεωργία. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, τα βιολιπάσματα έχουν οριστεί

ήδη από το 2018, ανοίγοντας δρόμο για την ακόμη ευρύτερη χρήση αυτών των προϊόντων από παραγωγούς και τελικούς χρήστες.

Έρευνες πρέπει να πραγματοποιηθούν με στόχο τη διερεύνηση και αξιολόγηση των παραγόντων κινδύνου που σχετίζονται με τη χρήση ναοσωματιδίων στο περιβάλλον και τον άνθρωπο, επειδή επί του παρόντος δεν υπάρχει ακόμη πλήρης γνώση για την μακροπρόθεσμη επίπτωση των ναοσωματιδίων στα διάφορα αγροοικοσυστήματα μετά την απελευθέρωσή τους στο περιβάλλον.

Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τη λεπτομερή εκτίμηση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων και επίσης για τον προσδιορισμό της μη τοξικής συγκέντρωσης για κάθε καλλιέργεια. Τα αποτελέσματα που έχουν ληφθεί μέχρι στιγμής έχουν προτείνει ότι είναι το καλύτερο υλικό για να αντικαταστήσει το χημικό λίπασμα στη μελλοντική παγκόσμια γεωργία και να υπερισχύει των άλλων γενεών λιπασμάτων.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abdollahdokht, D., Gao, Y., Faramarz, F., Poustforoosh, A., Abbasi M., Asadikaram, G., & Nematollahi, M.H. (2022). Conventional agrochemicals towards nano-biopesticides: an overview on recent advances, *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 9 (13). <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00281-0>
- Abbey, L., Abbey, J., Adedayo Leke-Aladekoba, Ekene Mark-Anthony Iheshiulo, & Ijenyo, M. (2019). Biopesticides and Biofertilizers. Types, Production, Benefits, and Utilization. <https://doi.org/10.1002/9781119383956.ch20>
- Acheuk, F., Basiouni, S., Shehata, A.A., Dick, K., Hajri, H., Lasram, S., Yilmaz, M., Emekci, M., Tsiamis, G., Spona-Friedl, M., May-Simera, H., Eisenreich, W., & Ntougias, S. (2007). Status and Prospects of Botanical Biopesticides in Europe and Mediterranean Countries, *Biomolecules*, 12 (2), 311. <https://doi.org/10.3390/biom12020311>
- Adesemoye, A.O., Torbert, H.A., & Kloepper, J.W. (2009). Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers, *Microbial Ecology*, 58(4), 921–929. doi: 10.1007/s00248-009-9531-y
- Ahmed, B., Syed, A., Rizvi, A., Shahid, M., Bahkali, A.H., Khan, M.S., & Musarrat, J. (2021). Impact of metal-oxide nanoparticles on growth, physiology and yield of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) modulated by *Azotobacter salinestris* strain ASM, *Environmental Pollution*, 269, 116218. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116218>
- Ajinath Dukare, Sangeeta Paul, Roshan Kumar & Vikas Sharma (2021). Microbial-based inoculants in sustainable agriculture: Current perspectives and future prospects. Στο Rakshit, A., Meena, V.S., Parihar, M., Singh, H.B. & Singh, A.K. (Eds), *Biofertilizers*, Woodhead Publishing, pp. 167-181. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00019-1>.
- Akhtar, N.; Ilyas, N.; Meraj, T.A.; Pour-Aboughadareh, A.; Sayyed, R.Z.; Mashwani, Z.-u.-R.; & Poczai, P. (2022) Improvement of Plant Responses by Nanobiofertilizer: A Step towards Sustainable Agriculture, *Nanomaterials*, 12 (6), 965. <https://doi.org/10.3390/nano12060965>
- Akhtar, Y. & Isman, M.B. (2013). Plant natural products for pest management: the magic of mixtures. Στο Ishaaya, I., Palli, S.R., Horowitz, A.R. (Eds.), *Advanced Technologies for Managing Insect Pests*. Springer, Netherlands, pp. 231–247. [http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-4497-4\\_11](http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-4497-4_11).

- Akther, T. & Hemalatha, S. (2019). Mycosilver nanoparticles: synthesis, characterization and its efficacy against plant pathogenic fungi, *Bio Nano Science*, 9, 296-301. doi: <https://doi.org/10.1007/s12668-019-0607-y>
- Alam, T., Khan, R.A.A., Ali, A., Sher, H., Ullah, Z., & Ali, M. (2019). Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles via *Skimmia laureola* and their antibacterial efficacy against bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*, *Materials Science and Engineering: C*, 98, 101-108. doi: 10.1016/j.msec.2018.12.117
- Ali, S.S., Darwesh, O.M., Kornaros, M., Al-Tohamy, R., Manni, A., El-Shanshoury, A.E.-R.R., Metwally, M.A., Elsamahy, T., & Sun, J. (2021). Nano-biofertilizers: Synthesis, advantages, and applications. Στο Rakshit, A., Meena, V.S., Parihar, M., Singh, H.B., Singh, A.K. (Eds), *Biofertilizers Volume 1: Advances in Bio-inoculants*, Woodhead Publishing Series, 359–370. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00007-5>
- Alipour, M., Saharkhiz, M.J., Niakousari, M., & Seidi Damyeh, M. (2019). Phytotoxicity of encapsulated essential oil of rosemary on germination and morphophysiological features of amaranth and radish seedlings, *Scientia Horticulturae*, 243, 131-139. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.023>
- Aloo, N., Makumba, B.A. & Mbega, E.R. (2021). Status of biofertilizer research, commercialization, and practical applications: A global perspective. Στο Rakshit, A., Meena, V.S., Parihar, M., Singh, H.B. & Singh, A.K. (Eds), *Biofertilizers*. Woodhead Publishing, pp. 191-208. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00017-8>.
- Ansari, M.S., Ahmad, N., & Hasan, F. (2012). Potential of biopesticides in sustainable agriculture. Στο Malik, A., Grohmann, E. (Eds.), *Environmental Protection Strategies for Sustainable Development, Strategies for Sustainability*. Springer, Netherlands, pp. 529–595. [http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-1591-2\\_17](http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-1591-2_17).
- Arora, N.K., Maheshwari, D.K. & Khare, E. (2010). Plant growth promoting rhizobacteria: constraints in bioformulation, commercialization and future strategies. Στο Maheshwari, D.K. (Ed.), *Bacteria and Plant Health*. Berlin: Springer, pp. 97–116.
- Bapat, M.S., Singh, H., Shukla, S.K., Singh, P.P., Vo, D.V.N., Yadav, A., Goyal, A., Sharma, A., & Kumar, D. (2022). Evaluating green silver nanoparticles as prospective biopesticides: An environmental standpoint, *Chemosphere*, 286 (2), 131761. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131761>
- Barros-Rodríguez, A., Rangseekaew, P., Lasudee, K., Pathom-aree, W., & Manzanera, M. (2020). Regulatory risks associated with bacteria as biostimulants and

biofertilizers in the frame of the European Regulation (EU) 2019/1009 2020, *Science of The Total Environment*, 740,140239. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.140239.

- Basu, A., Prasad, P., Das, S.N., Kalam, S., Sayyed, R.Z., Reddy, M.S., & El Enshasy, H. (2021). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects, *Sustainability*, 13 (3), 1140. <https://doi.org/10.3390/su13031140>
- Bazana, M.T., Codevilla, C.F., & de Menezes, C.R., (2019). Nanoencapsulation of bioactive compounds: challenges and perspectives, *Current Opinion in Food Science*, 26, 47-56. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.03.005>
- Berrendero Gómez, E., Johansen, J. R., Kaštovský, J., Bohunická, M., & Čapková, K. (2016). Macrochaete gen. nov. (*Nostocales*, *Cyanobacteria*), a taxon morphologically and molecularly distinct from *Calothrix*. *Journal of Phycology*, 52(4), 638-655. doi: 10.1111/jpy.12425
- Bhattacharyya, P.N. & Jha, D.K. (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28 (4), 1327–1350. doi: 10.1007/s11274-011-0979-9
- Bi, Y., Zhang, Y., & Zou, H. (2018). Plant growth and their root development after inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi in coal mine subsided areas, *International Journal of Coal Science & Technology*, 5, 47-53. <https://doi.org/10.1007/s40789-018-0201-x>
- Blanco-Padilla, A., Soto, K.M., Iturriaga, M.H., & Mendoza, S. (2014). Food antimicrobials nanocarriers, *The Scientific World Journal*, 2014, 837215. <https://doi.org/10.1155/2014/837215>.
- BPR (2022). Biological Products Regulation. <https://echa.europa.eu/regulations/biocidal-products-regulation/understanding-bpr>. (Ημερομηνία τελευταίας πρόσβασης: 20-4-2022)
- Bravo, A., Gill, S.S., & Soberón, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control, *Toxicon*, 49 (4), 423–435. doi: 10.1016/j.toxicon.2006.11.022
- Burman, U., Tarafdar, J.C., Kaul, R.K., Saini, M., Kumar, K., Kumar, P. (2013). Changes in carbon partitioning in pearl millet (*Pennisetum glaucum*) and clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba*) in response to ZnO nanoparticle application. *Indian Journal of Agricultural Science*, 83, 352–354.

- Campolo, O., Cherif, A., Ricupero, M., Siscaro, G., Grissa-Lebdi, K., Russo, A., et al. (2017). Citrus peel essential oil nanoformulations to control the tomato borer, *Tuta absoluta*: chemical properties and biological activity, *Scientific Reports* 7, 13036. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13413-0>
- Campos, E.V.R., Proença, P.L.F., Oliveira, J.L., Bakshi, M., Abhilash, P.C., & Fraceto, L.F. (2018). Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: future perspectives, *Ecological Indicators*, 105, 483-495. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.038>.
- Chagas, J.O., Gomes, J.M., Cunha, I.C., de, M., de Melo, N.F.S., Fraceto, L.F., et al. (2018). Polymeric microparticles for modified release of NPK in agricultural applications, *Arabian Journal of Chemistry*, 1, 2084-2095. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.03.007>.
- Chandler, D., Bailey, A.S., Tatchell, G.M., Davidson, G., Greaves, J., & Grant, W.P. (2011). The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 366 (1573), 1987–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0390>
- Chang, X., Candas, M., Griko, N. B., Taussig, R., & Bulla, L. A., Jr (2006). A mechanism of cell death involving an adenylyl cyclase/PKA signaling pathway is induced by the Cry1Ab toxin of *Bacillus thuringiensis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(26), 9897–9902. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604017103>.
- Chen, H., Roco, M.C., Son, J., Jiang, S., Larson, C.A. & Gao, Q. (2013) Global nanotechnology development from 1991 to 2012: patents, scientific publications, and effect of NSF funding, *Journal of Nanoparticle Research*, 15 (9), 1951. DOI: 10.1007/s11051-013-1951-4
- Chen, Z., Ma, S., & Lio, L. (2008). Studies on phosphorus solubilizing activities of a strain of phosphobacteria isolated from chestnut type soil in China, *Bioresource Technology*, 99 (14), 6702–6707. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.03.064
- Chevalier, Y. & Bolzinger, M.-A. (2019). Micelles and nanoemulsions. Στο Cornier, J., Keck, C. M., Van de Voorde, M. (Eds.), *Nanocosmetics: From Ideas to Products*, Springer Nature Switzerland, pp. 47-72. Διαθέσιμο ηλεκτρονικά στο: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-030-16573-4.pdf>
- Chhipa, H. (2019). Mycosynthesis of nanoparticles for smart agricultural practice: a green and eco-friendly approach. Στο Shukla, A.K., Iravani, S. (Eds.), *Green*

- Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*, Elsevier, pp. 87-109.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102579-6.00005-8>
- Chojnacka, K. (2015). Innovative bio-products for agriculture, *Open Chemistry*, 13 (1), 000010151520150111. <https://doi.org/10.1515/chem-2015-0111>
- Clark, B.W., Phillips, T.A., & Coats, J.R. (2005). Environmental Fate and Effects of *Bacillus thuringiensis* (Bt) Proteins from Transgenic Crops: a Review, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (12), 4643–4653. doi: 10.1021/jf040442k
- CLP (2022). Classification, Labelling and Packaging. <https://echa.europa.eu/regulations/clp/understanding-clp>. (Ημερομηνία τελευταίας πρόσβασης: 20-4-2022)
- Cui, J., Abadie, C., Carroll, A., Lamade, E., & Tcherkez, G. (2019). Responses to K deficiency and waterlogging interact via respiratory and nitrogen metabolism, *Plant, Cell & Environment*, 42 (2), 647-658. <https://doi.org/10.1111/pce.13450>
- Cunningham, F.J., Goh, N.S., Demirer, G.S., Matos, J.L., & Landry, M.P. (2018). Nanoparticle-Mediated Delivery towards Advancing Plant Genetic Engineering. *Trends in Biotechnology*, 36 (9), 882-897. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.03.009>
- Dalakouras, A., Wassenegger, M., Dadami, E., Ganopoulos, I., Pappas, M.L., & Papadopoulou, K. (2020). Genetically Modified Organism-Free RNA Interference: Exogenous Application of RNA Molecules in Plants, *Plant Physiology*, 182 (1), 38–50. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00570>
- Damalas, C. & Koutroubas, S. (2018). Current status and recent developments in biopesticide use, *Agriculture*, 8 (1), 13. <https://doi.org/10.3390/agriculture8010013>
- Das, S., Goswami, A., & Debnath, N. (2019). Application of baculoviruses as biopesticides and the possibilities of nanoparticle mediated delivery, *Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives*, 261-280. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815829-6.00011-5>
- Deepti Srivastava, Rashmi Maurya, Nadeem Khan, Md. Abu Nayyer, Alka Mishra, Faria Fatima, Salman Ahmad, Saba Siddiqui, & Mohd Haris Siddiqui (2022). General Introduction of Bio-Inputs Versus Chemical Inputs in Agriculture and III Effects. Στο *Biofertilizers and biopesticides in sustainable agriculture*, Kaushik, B.D., Deepak Kumar, Md. Shamim (Eds.), σελ. 1-22, Apple Academic Press, Canada and USA.
- Devi, K.P., Nisha, S.A., Sakthivel, R., & Pandian, S.K. (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the



- cellular membrane, *Journal of Ethnopharmacology*, 130 (1), 107–115.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2010.04.025>.
- Dhir, B. (2017). Biofertilizers and Biopesticides: Eco-friendly Biological Agents. Στο Kumar, R., Sharma, A. & Ahluwalia, S. (Eds), *Advances in Environmental Biotechnology*. Springer Nature Singapore Pte Ltd, pp. 167-180.  
[https://doi.org/10.1007/978-981-10-4041-2\\_10](https://doi.org/10.1007/978-981-10-4041-2_10)
- Dikshit, A., Shukla, S.K., & Mishra, R.K., (2013). *Exploring nanomaterials with PGPR in current agricultural scenario*, LAP Lambert Academic Publishing, Saarbrücken, pp. 1-31.
- Dubois, C., Arsenault-Labrecque, G., & Pickford, J. (2017). Evaluation of a new biopesticide against angular leaf spot in a commercial operation system, *Acta Horticulturae*, 1156, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1156.111> 757–764.
- Duhan, J.S., Kumar, R., Kumar, N., Kaur, P., Nehra, K., Duhan, S. (2017). Nanotechnology: The new perspective in precision agriculture, *Biotechnology Reports*, 15, 11-23. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.03.002>
- Dutta, T., Banakar, P, & Rao, U. (2015). The status of RNAi-based transgenic research in plant nematology, *Frontiers in Microbiology*.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00760>
- ECHA (2012). European Chemical Agency. <https://echa.europa.eu/el/>. (Ημερομηνία τελευταία πρόσβασης: 20-4-2022)
- Ebadollahi, A., Sendi, J.J., & Aliakbar, A. (2017). Efficacy of nanoencapsulated *Thymus eriocalyx* and *Thymus kotschyanus* essential oils by a mesoporous material MCM-41 against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), *Journal of Economic Entomology*, 110 (6), 2413-2420. doi: 10.1093/jee/tox234
- EE (2019). European Regulation EE 1009/2019 (EE L 170/25.6.2019, σ. 1-114)
- EE (2003). European Regulation EE 2002/2003 (EE L 304 της 21.11.2003, σ. 1-194)
- El-Abbassi, A., Saadaoui, N., Kiai, H., Raiti, J., & Hafidi, A. (2017). Potential applications of olive mill wastewater as biopesticide for crops protection, *Science of The Total Environment*, 576, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.032>
- Ellenbecker, M.J. & Tsai, C.S.J. (2015). What is a nanoparticle. Στο Exposure Assessment and Safety Considerations for Working with Engineered Nanoparticles. 8-27. <https://doi.org/10.1002/9781118998694.ch2>

- Eski, A., Demir, D., Sezen, K., & Demirbağ, Z.A. (2017). A new biopesticide from a local *Bacillus thuringiensis* var. tenebrionis (Xd3) against alder leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae), *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33 (5), 95. doi: 10.1007/s11274-017-2263-0
- Etesami, H., Emami, S., & Alikhani, H.A. (2017). Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects—a review, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(4), 897-911. <https://doi.org/10.4067/s0718-95162017000400005>
- Ezhil Vendan, S. (2016). Current scenario of biopesticides and eco-friendly insect pest management in India, *South Indian Journal of Biological Sciences*, 2 (2), 268. <https://doi.org/10.22205/sijbs/2016/v2/i2/100315>.
- Farnia, A. & Omid, M. (2015). Effect of nano-zinc chelate and nano-biofertilizer on yield and yield components of maize (*Zea mays* L.), under water stress condition, *Indian Journal of Natural Sciences*, 5 (9), 4614-4707.
- Fendrihan, S. (2016). Bioproducts with living microorganisms used in agriculture, *Romanian Journal for Plant Protection*, 9, 10-14.
- FiBL (2022). Research Institute of Organic Agriculture (FiBL). <https://www.fibl.org/en>
- García-Fraile, P., Menéndez, E. & Rivas, R. (2015). Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry, *AIMS Bioengineering*, 2 (3), 183-205. DOI: 10.3934/bioeng. 2015.3.183
- Gatahi, D.M., Wanyika, H., Kihurani, A.W., Ateka, E., & Kavoo, A. (2015). Use of bio-nanocomposites in enhancing bacterial wilt plant resistance, and water conservation in greenhouse farming. Στο *The 2015 JKUAT scientific conference. Agricultural sciences, technologies and global networking*, pp. 41-52. (ημερομηνία πρόσβασης: 15-4-2022)
- Gatehouse, J.A. (2008). Biotechnological prospects for engineering insect-resistant plants, *Plant Physiology*, 146 (3), 881-887. <https://doi.org/10.1104/pp.107.111096>
- Gii research (2022). <https://www.giiresearch.com/>
- Girardi, N.S., Passone, M.A., García, D., Nesci, A., & Etcheverry, M. (2018). Microencapsulation of *Peumus boldus* essential oil and its impact on peanut seed quality preservation, *Industrial Crops and Products*, 114, 108-114. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.036>
- Glick, B.R. (2012). Plant growth promoting bacteria: mechanisms and applications, *Scientifica*, 15. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>

- Glick, B.R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world, *Microbiology Research*, 169 (1), 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>
- Glick, B.R. (2015). Resource acquisition. Στο Glick, B.R., *Beneficial plant-bacterial interactions*, Springer International Publishing, pp. 29–63. DOI:10.1007/978-3-319-13921-0
- Gouda, S., Kerry, R.G, Das, G., & Kumar Patra, J. (2019). Synthesis of nanoparticles utilizing sources from the mangrove environment and their potential applications: an overview. Στο Tripathi, D.K., Ahmad, P., Sharma, S., Chauhan, D.K., Dubey, N.K. (Eds.), *Nanomaterials in Plants, Algae and Microorganisms*. Academic Press, pp. 219-235. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811488-9.00011-1>
- Gouda, S., Kerry, R.G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.S. & Patra, J.K. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture, *Microbiology Research*, 206, 131–140. doi: 10.1016/j.micres.2017.08.016
- Gourion, B., Berrabah, F., Ratet, Pl., & Stacey, G. (2015). Rhizobium–legume symbioses: the crucial role of plant immunity, *Trends in Plant Science*, 20(3),186–194. DOI: 10.1016/j.tplants.2014.11.008
- Gowardhan Kumar Chouhan, Durgesh Kumar Jaiswal, Aanad Kumar Gaurav, Arpan Mukherjee & Jay Prakash Verma (2021). PGPM as a potential bioinoculant for enhancing crop productivity under sustainable agriculture. Στο Rakshit, A., Meena, V.S., Parihar, M., Singh, H.B. & A.K. Singh (Eds), *Biofertilizers*, Woodhead Publishing, pp. 221-237, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00009-9>.
- Gupta, G., Panwar, J., Akhtar, M.S., & Jha, P.N. (2012). Endophytic nitrogen-fixing bacteria as biofertilizer, *Sustainable Agriculture Reviews*, New York: Springer, 11, 183-221. doi: 10.1007/978-94-007-5449-2\_8
- Gupta, S. & Dikshit, A.K. (2010). Biopesticides: an eco-friendly approach for pest control, *Journal of Biopesticides*, 3 (1), 86–188. Διαθέσιμο ηλεκτρονικά στο: [http://www.jbiopest.com/users/lw8/efiles/suman\\_gupta\\_v31.pdf](http://www.jbiopest.com/users/lw8/efiles/suman_gupta_v31.pdf)
- Hafeez, B., Khanif, Y.M., & Saleem, M. (2013). Role of zinc in plant nutrition – a review, *American Journal of Experimental Agriculture International*, 3 (2), 374–391. doi: 10.9734/AJEA/2013/2746
- Hafez, E.M., Osman, H.S., Gowayed, S.M., Okasha, S.A., Omara, A.E.-D., Sami, R., Abd El-Monem A.M., Abd El-Razek, U.A. (2021). Minimizing the Adversely Impacts

- of Water Deficit and Soil Salinity on Maize Growth and Productivity in Response to the Application of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Silica Nanoparticles, *Agronomy*, 11 (4), 676. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040676>
- Harman, G. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp., *Phytopathology*, 96(2),190-194. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190>.
- Hasan, S. (2015). A review on nanoparticles: their synthesis and types, *Research Journal of Recent Sciences*, 4, 2277, 9–11. ISSN 2277-2502. Διαθέσιμο ηλεκτρονικά στο: <http://www.isca.in/rjrs/archive/v4/iISC-2014/3.ISCA-ISC-2014-Poster-3BS-63.pdf>
- Herrmann, L. & Lesueur, D. (2013). Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation, *Applied microbiology and biotechnology*, 97(20), 8859–8873. DOI: 10.1007/s00253-013-5228-8
- Hider, R.C. & Kong, X. (2010). Chemistry and biology of siderophores, *Natural Product Reports*, 27 (5), 637–657. doi: 10.1039/b906679a
- Hu, D., Yu, S., Yu, D., Liu, N., Tang, Y., Fan, Y., et al. (2019). Biogenic *Trichoderma harzianum*-derived selenium nanoparticles with control functionalities originating from diverse recognition metabolites against phytopathogens and mycotoxins, *Food Control*, 106, 106748. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106748>
- Hulkoti, N.I. & Taranath, T. (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474–483. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.05.027>
- Hussein, H.A., Darwesh, O.M., Mekki, B.B., & El-Hallouty, S.M., (2019). Evaluation of cytotoxicity, biochemical profile and yield components of groundnut plants treated with nano-selenium, *Biotechnology Reports*, 24, e00377. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00377>
- Ingale, A.G. & Chaudhari, A.N. (2013). Biogenic Synthesis of Nanoparticles and Potential Applications: An Eco-Friendly Approach, *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 4 (2), 165. doi:10.4172/2157-7439.1000165
- Isman, M.B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. Στο *Crop Prot XIVth International Plant Protection Congress*, 19, 603–608. [http://dx.doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X).
- Isman, M.B. & Grieneisen, M.L. (2014). Botanical insecticide research: many publications, limited useful data, *Trends in plant science*, 19(3), 140–145. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.11.005>

- Itelima, J.U., Bang, W.J., Onyimba, I.A., Sila, M.D. & Egbere, O.J. (2018). A review: biofertilizers—a key player in enhancing soil fertility and crop productivity, *Direct Research Journal of Agriculture and Food Science*, 6(3), 73-83. DOI: <https://doi.org/10.26765/DRJAFS.2018.4815>
- Janhavi, P., Natasha, J., Neelam, R., & Ravindra, P.V. (2020). Nanotechnology and nutrigenomics. Στο Ghorbanpour, M., Bhargava, P., Varma, A., Choudhary, D.K. (Eds), *Biogenic Nano-Particles and their Use in Agro-ecosystems*, Springer Nature Singapore Pte Ltd, pp. 359-370. doi: 10.1007/978-981-15-2985-6\_19
- Jogaiah, S., Kurjogi, M., Abdelrahman, M., Nagabhushana, H., & Tran, L.-S.P. (2019). *Ganoderma applanatum*-mediated green synthesis of silver nanoparticles: structural characterization and in vitro and in vivo biomedical and agrochemical properties, *Arabian Journal of Chemistry*, 12 (7), 1108-1120. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.12.002>
- Jogaiah, S., Singh, H.B., Fraceto, L.F. & de Lima, R. (2021). *Advances in Nano-Fertilizers and Nano-Pesticides in Agriculture. A Smart Delivery System for Crop Improvement*. Woodhead Publishing, σελ. 634.
- Joshi, S.M., De Britto, S., Jogaiah, S., & Ito, S. (2019). Mycogenic selenium nanoparticles as potential new generation broad spectrum antifungal molecules, *Biomolecules*, 9 (9), 419. doi: 10.3390/biom9090419
- Kaman, P.K. & Dutta, P. (2019). Synthesis, characterization and antifungal activity of biosynthesized silver nanoparticle, *Indian Phytopathology*, 72, 79-88. <https://doi.org/10.1007/s42360-018-0081-4>
- Kavetsou, E., Koutsoukos, S., Daferera, D., Polissiou, M.G., Karagiannis, D., Perdakis, D.C., et al. (2019). Encapsulation of *Mentha pulegium* essential oil in yeast cell microcarriers: an approach to environmentally friendly pesticides, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67 (17), 4746-4753. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05149>
- Khan, M.N., Mobin, M., Abbas, Z.K., AlMutairi, K.A., & Siddiqui, Z.H., (2017). Role of nanomaterials in plants under challenging environments, *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 194–209. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.038>
- Khan, T.A., Mazid, M., & Mohammad, F. (2011). Ascorbic acid: an enigmatic molecule to developmental and environmental stress in plant, *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2 (3), 468–483.

- Khoobdel, M., Ahsaei, S.M., & Farzaneh, M. (2017). Insecticidal activity of polycaprolactone nanocapsules loaded with *Rosmarinus officinalis* essential oil in *Tribolium castaneum* (Herbst), *Entomological Research*, 47, 175-184. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12212>
- Kim, D.-Y., Kadam, A., Shinde, S., Saratale, R.G., Patra, J. & Ghodake, G. (2018). Recent developments in nanotechnology transforming the agricultural sector: a transition replete with opportunities: nanotechnology in agriculture, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 849864. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8749>.
- Klumper, W. & Qaim, M. (2014). A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops, *PLoS One*, 9 (11): e111629. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111629>
- Koch, A. & Kogel, K. H. (2014). New wind in the sails: improving the agronomic value of crop plants through RNAi-mediated gene silencing, *Plant Biotechnology Journal*, 12 (7), 821–831. doi: 10.1111/pbi.12226
- Koul, O., Singh, R., Kaur, B., & Kanda, D. (2013). Comparative study on the behavioral response and acute toxicity of some essential oil compounds and their binary mixtures to larvae of *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera litura* and *Chilo partellus*, *Industrial Crops and Products*, 49, 428–436. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.032>
- Kovacic, P. & Somanathan, R., (2010). Biomechanisms of nanoparticles (toxicants, antioxidants and therapeutics): electron transfer and reactive oxygen species, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 10 (12), 7919-7930. doi: 10.1166/jnn.2010.3028.
- Kremer, R.J. (2019). Bioherbicides and nanotechnology: Current status and future trends. Στο Koul, O. (Ed.), *Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives* (pp. 353–366), Academic Press: Cambridge, MA, USA.
- Kumar, K., Mella-Herrera, R A., & Golden, J.W. (2010). Cyanobacterial heterocysts. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(4), a000315. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000315>
- Kumar, S. (2012). Biopesticides: a need for food and environmental safety, *Journal of Biofertilizers & Biopesticides*, 3 (4). <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6202.1000e107>
- Kumar, V.V. (2018). Biofertilizers and Biopesticides in Sustainable Agriculture. Στο Meena, V. (eds), *Role of Rhizospheric Microbes in Soil*, Springer, Singapore, pp. 377-398. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-8402-7\\_14](https://doi.org/10.1007/978-981-10-8402-7_14)

- Kumar, S., Nehra, M., Dilbaghi, N., Marrazza, G., Hassan, A.A. & Kim, K.-H. (2019). Nanobased smart pesticide formulations: emerging opportunities for agriculture, *Journal of Controlled Release*, 294, 131153. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.12.012>.
- Kumari, M., Giri, V.P., Pandey, S., Kumar, M., Katiyar, R., Nautiyal, C.S., et al. (2019). An insight into the mechanism of antifungal activity of biogenic nanoparticles than their chemical counterparts *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 157, 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.03.005>
- Kumari, M., Mukherjee, A., & Chadraseskaran, N., (2009). Genotoxicity of silver nanoparticle in *Allium cepa*, *Science of the Total Environment*, 407 (19), 5243–5246. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2009.06.024
- Kumari, R. & Singh, D.P. (2019). Nano-biofertilizer: An Emerging Eco-friendly Approach for Sustainable Agriculture. Στο *Proceedings of the National Academy of Sciences, India, Section B: Biological Sciences*, 90, 733-741. <https://doi.org/10.1007/s40011-019-01133-6>
- Kumrungsee, N., Pluempanupat, W., Koul, O., & Bullangpoti, V. (2014). Toxicity of essential oil compounds against diamondback moth, *Plutella xylostella*, and their impact on detoxification enzyme activities, *Journal of Pest Science*, 87, 721–729. <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-014-0602-6>.
- Lade, B.D., Gogle, D.P., Lade, D.B., Moon, G.M., Nandeshwar, S.B., & Kumbhare, S.D. (2019). Nanobiopesticide formulations: application strategies today and future perspectives. Στο Opendar Koul (Ed), *Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives*, pp. 179-206. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815829-6.00007-3>
- Landsiedel, R., Kapp, M.D., Schulz, M., Wiench, K., & Oesch, F. (2009). Genotoxicity investigations on nanomaterials: methods, preparation and characterization of test material, potential artifacts and limitations – many questions, some answers. *Mutation Research*, 681 (2-3), 241–258. doi: 10.1016/j.mrrev.2008.10.002.
- Li, J., Zhou, Y., Lei, C., Fang, W., & Sun, X. (2015). Improvement in the UV resistance of baculoviruses by displaying nano-zinc oxide-binding peptides on the surfaces of their occlusion bodies, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99 (16), 6841-6853. doi: 10.1007/s00253-015-6581-6
- Lowry, G.V., Avellan, A. & Gilbertson, L.M. (2019). Opportunities and challenges for nanotechnology in the agri-tech revolution, *Nature Nanotechnology*, 14, 517522. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0461-7>

- Macik, M., Gryta, A., & Frac, M. (2020). Biofertilizers in agriculture: An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms. Στο Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*, Academic Press, 162, 31-87. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2020.02.001>.
- Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P., Das, B., Ghosh, A., & Tribedi, P. (2017). Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental science and pollution research international*, 24(4), 3315–3335. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8104-0>
- Mahato, S. & Kafle, A. (2018). Comparative study of Azotobacter with or without other fertilizers on growth and yield of wheat in Western hills of Nepal, *Annals of Agrarian Science*, 16 (3), 250-256. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2018.04.004>.
- Mahdi, S.S., Hassan, G.I., Samoon, S.A., Rather, H.A., Dar, S.A., & Zehra, B. (2010). Bio-fertilizers in organic agriculture, *Journal of Phytology*, 2 (10), 42–54. Ανακτήθηκε από: <https://updatepublishing.com/journal/index.php/jp/article/view/2180>
- Makarucha, A., Todorova, N. & Yarovsky, I. (2011). Nanomaterials in biological environment: a review of computer modelling studies, *European Biophysics Journal*, 40(2), 103-115. DOI: 10.1007/s00249-010-0651-6
- Malaikozhundan, B. & Vinodhini, J. (2018). Nanopesticidal effects of *Pongamia pinnata* leaf extract coated zinc oxide nanoparticle against the Pulse beetle, *Callosobruchus maculatus*, *Materials Today Communications*, 14, 106-115. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2017.12.015>
- Malandrakis AA, Kavroulakis N, Avramidou M, Papadopoulou, K.K., Tsaniklidis, G., & Chrysikopoulos, C.V. (2021). Metal nanoparticles: Phytotoxicity on tomato and effect on symbiosis with the *Fusarium solani* FsK strain. *The Science of the Total Environment*, 787,147606. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.147606. PMID: 33991907.
- Marchiol, L. (2018). Nanotechnology in agriculture: new opportunities and perspectives, Στο: *New Visions in Plant Science*. London: IntechOpen.
- Maroufpour, N., Mousavi, M., Asgari Lajayer, B., Ghorbanpour, M. (2020). Biogenic Nanoparticles in the Insect World: Challenges and Constraints. Στο Ghorbanpour, M., Bhargava, P., Varma, A., Choudhary, D. (eds), *Biogenic Nano-Particles and their Use in Agro-ecosystems*, Springer Nature Singapore Pte Ltd., pp. 173-186. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-2985-6\\_10](https://doi.org/10.1007/978-981-15-2985-6_10)



- Mazid, M. & Khan, T.A. (2014). Future of bio-fertilizers in Indian agriculture: an overview, *International Journal of Agricultural and Food Research*, 3 (3), 10–23. doi:10.24102/IJAFR.V3I3.132
- Mazid, S., Kalida, J.C., & Rajkhowa, R.C. (2011). A review on the use of biopesticides in insect pest management, *International Journal of Science and Advanced Technology*, 1, 169–178.
- McComb, R.B., Bowers, Jr. G.N., & Posen, S. (2013). Alkaline phosphatase. Plenum Press. New York and London. Σελ. 986.
- Meena, V.S., Bahadur, I., Maurya, B.R., Kumar, A., Meena, R.K., Meena, S.K., & Verma, J.P. (2016). Potassium-solubilizing microorganism in evergreen agriculture: an overview. Στο Meena, V.S. (Ed.), *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*, India: Springer, pp. 1-20. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2776-2>
- Mensah, R., Moore, C., Watts, N., Deseo, M.A., Glennie, P., & Pitt, A. (2014). Discovery and development of a new semiochemical biopesticide for cotton pest management: Assessment of extract effects on the cotton pest *Helicoverpa* spp., *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 152 (1), 1–15. doi: <https://doi.org/10.1111/eea.12198>
- Milani, P., Franca, D., Balieiro, A.G., Faez, R., Milani, P., Franca, D., et al. (2017). Polymers and its applications in agriculture, *Polimeros*, 27, 256-266. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.09316>
- Mishra, D., Rajvir, S., Mishra, U., & Kumar, S. (2013). Role of bio-fertilizer in organic agriculture: a review, *Research Journal of Recent Sciences*, 2 (1), 39–41. ISSN 2277-2502
- Mishra, J., Tewari, S., Singh, S., & Arora, N.K. (2015). Biopesticides: Where we stand. *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets*, 9: 37-75. DOI: 10.1007/978-81-322-2068-8
- Mishra, S., Fraceto, L.F., Yang, X. & Singh, H.B. (2018). Rewinding the history of agriculture and emergence of nanotechnology in agriculture. Στο Singh, H.B., Mishra, S., Fraceto, L.F. & de Lima, R. (Eds.), *Emerging trends in agri-nanotechnology. Fundamental and applied aspects*, CAB International, pp. 324.
- Mishra, V.K. & Kumar, A. (2009). Impact of metal nanoparticles on the plant growth promoting rhizobacteria, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 4(3), 587-592.

- Mittal, A., Christi, Y. & Banerjee, U. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts, *Biotechnology Advances*, 31 (2), 346-356. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.01.003
- Mitter, N., Worrall, E. A., Robinson, K. E., Li, P., Jain, R. G., Taochy, C., Fletcher, S. J., Carroll, B. J., Lu, G. Q. M., & Xu, Z. P. (2017). Clay nanosheets for topical delivery of RNAi for sustained protection against plant viruses, *Nature Plants*, 3 (2), 16207. <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.207>
- Mohammadi, K. & Sohrabi, Y. (2012) Bacterial Biofertilizers for Sustainable Crop Production: A Review. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 7, 307-316. I SSN 199 0- 61 45
- Mohanty, P., Singh, P.K., Chakraborty, D., Mishra, S., & Pattnaik, R. (2021). Insight into the role of PGPR in sustainable agriculture and environment, *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 667.150 <https://doi.org/10.3389/sufs.2021.667150>.
- Moraditochae M, Azarpour E, Bozorgi HR (2014) Study effects of bio-fertilizers, nitrogen fertilizer and farmyard manure on yield and physiochemical properties of soil in lentil farming. *International Journal of Biosciences* 4(4):41–48. ISSN: 2220-6655
- MordorIntelligence (2022). Global biofertilizers market industry. Διαθέσιμο ηλεκτρονικά: <https://www.Mordorintelligence.com/industry-reports/global-biofertilizers-market-industry> (Ημερομηνία τελευταία πρόσβασης: 20-4-2022).
- Morsy, N.M., Shams, A.S., & Abdel-Salam, M.A. (2017). Zinc foliar spray on snap beans using nano-Zn with N-soil application using mineral, organic and biofertilizer, *Middle East Journal of Agriculture Research*, 6, 1301–1312. ISSN 2077-4605
- Mujtaba, M., Wang, D., Bragança Carvalho, L., Luiz Oliveira, J., Anderson do Espirito Santo Pereira, Sharif, R., Jogaiah, S., Murali Krishna Paidi, Wang, L, Ali, Q., & Fraceto, L.F. (2021). Nanocarrier-Mediated Delivery of miRNA, RNAi, and CRISPR-Cas for Plant Protection: Current Trends and Future Directions. *ACS Agricultural Science and Technology*, 1 (5), 417–435. <https://doi.org/10.1021/acsagscitech.1c00146>
- Mukhopadhyay, R. & De, N. (2014). Nano clay polymer composite: synthesis, characterization, properties and application in rainfed agriculture, *Global Journal of Bio-science and Biotechnology*, 3 (2), 133–138. ISSN 2278 – 9103
- Munhuweyi, K., Caleb, O.J., van Reenen, A.J., & Opara, U.L. (2018). Physical and antifungal properties of  $\beta$ -cyclodextrin microcapsules and nanofibre films containing

cinnamon and oregano essential oils, *LWT Food Science and Technology*, 87, 413-422. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.012>

- Murthy, K., Vineela, V., & Devi, P.S. (2014). Generation of nanoparticles from technical powder of the insecticidal bacterium *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki for improving efficacy, *International Journal of Biomedical Nanoscience and Nanotechnology*, 3 (3), 236-250. doi: [10.1504/IJBNN.2014.065470](https://doi.org/10.1504/IJBNN.2014.065470)
- Mushtaq, T., Shah, A., Akram, W., & Yasin, N.A. (2020). Synergistic ameliorative effect of iron oxide nanoparticles and *Bacillus subtilis* S4 against arsenic toxicity in *Cucurbita moschata*: Polyamines, antioxidants, and physiochemical studies, *International Journal of Phytoremediation*, 22, 1408–1419. doi: [10.1080/15226514.2020.1781052](https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1781052).
- NAAS, (2013) Nanotechnology in Agriculture: Scope and Current Relevance, Policy paper no. 63, National Academy of Agricultural Sciences, New Delhi.
- Nandy, D., Maity, A., & Mitra, A.K. (2020). Target-specific gene delivery in plant systems and their expression: Insights into recent developments, *Journal of Biosciences*, 45 (30). doi: [10.1007/s12038-020-0008-y](https://doi.org/10.1007/s12038-020-0008-y)
- Nasr, H.A., Nassar, O.M., El-Sayed, M.H., & Kobisi, A.A. (2020). Characterization and Antimicrobial Activity of Lemon Peel Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles. *International Journal of Biology and Chemistry* 12 (2):56-63. <https://doi.org/10.26577/ijbch-2019-v2-7>.
- Natarajan, B., Kalsi, H.S., Godbole, P., Malankar, N., Thiagarayaselvam, A., Siddappa, S., Thulasiram, H.V., Chakrabarti, S.K., & Banerjee, A.K. (2018). MiRNA160 is associated with local defense and systemic acquired resistance against *Phytophthora infestans* infection in potato, *Journal of Experimental Botany*, 69 (8), 2023–2036. doi: [10.1093/jxb/ery025](https://doi.org/10.1093/jxb/ery025)
- Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L., & Behra, R., (2008). Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science Technology*, 42 (23), 8959–8964. <https://doi.org/10.1021/es801785m>
- Nawaz, M., Mabubu, J.I., & Hua, H.X. (2016). Current status and advancement of biopesticides: Microbial and botanical pesticides, *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4 (2), 241-246. E-ISSN: 2320-7078. Διαθέσιμο ηλεκτρονικά στο: <https://www.entomoljournal.com/archives/2016/vol4issue2/PartD/4-2-45.pdf>

- Nelson, L.M. (2004). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Prospects for new inoculants, *Crop Management*, 3 (1), 1-7. doi:10.1094/CM-2004-0301-05-RV.
- Nitta, S. & Numata, K. (2013). Biopolymer-based nanoparticles for drug/gene delivery and tissue engineering, *International journal of molecular sciences*, 14 (1), 1629-1654. DOI: 10.3390/ijms14011629
- Norin, T. (2007). Semiochemicals for insect pest management, *Pure and Applied Chemistry*, 79 (12), 2129-2136. <https://doi.org/10.1351/pac200779122129>
- O'Callaghan, M. (2016). Microbial inoculation of seed for improved crop performance: issues and opportunities, *Applied Microbiology & Biotechnology*, 100, 5729-5746. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7590-9>
- Olson, S. (2015). An Analysis of the Biopesticide Market Now and Where it is Going. [Outlooks on Pest Management](https://doi.org/10.1564/v26_oct_04), 26 (5), 203-206(4). DOI: [https://doi.org/10.1564/v26\\_oct\\_04](https://doi.org/10.1564/v26_oct_04)
- Osman Mohamed Ali, E., Shakil, N.A., Rana, V.S., Sarkar, D.J., Majumder, S., Kaushik, P., et al. (2017). Antifungal activity of nano emulsions of neem and citronella oils against phytopathogenic fungi, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*, *Industrial Crops and Products*, 108, 379-387. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.061>
- OTA (2022). Organic Trade Association. <https://www.ota.com>
- Owolade, O.F., Ogunleti, D.O. & Adenekan, M.O. (2008) Titanium dioxide affects disease development and yield of edible cowpea, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 7(50), 2942–2947. ISSN: 1579-4377
- Pandey, G. (2018). Challenges and future prospects of agri-nanotechnology for sustainable agriculture in India, *Environmental Technology & Innovation*, 11, 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2018.06.012>
- Panichikkal, J., Prathap, G., Nair, R.A., & Krishnankutty, R.E. (2021). Evaluation of plant probiotic performance of *Pseudomonas* sp. encapsulated in alginate supplemented with salicylic acid and zinc oxide nano-particles, *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 138–143. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.110>
- Parker, K. & Sander, M. (2017). Environmental Fate of Insecticidal Plant-Incorporated Protectants from Genetically Modified Crops: Knowledge Gaps and Research Opportunities, *Environmental Science & Technology*, 51, 21, 12049–12057. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03456>
- Parker, K.M., Barragán Borrero, V., van Leeuwen, D.M., Lever, M.A., Mateescu, B., & Sander, M. (2019). Environmental Fate of RNA Interference Pesticides: Adsorption

and Degradation of Double-Stranded RNA Molecules in Agricultural Soils, *Environmental Science & Technology*, 53 (6), 3027–3036. doi: 10.1021/acs.est.8b05576

- Paschalidis, K., Fanourakis, D., Tsaniklidis, G., Tzanakakis, V.A., Biliadis, F., Samara, E., Kalogiannakis, K., Debouba, F.J., Ipsilantis, I., Tsoktouridis, G., et al. (2021). Pilot cultivation of the vulnerable cretan endemic *Verbascum arcturus* L. (Scrophulariaceae): Effect of fertilization on growth and quality features, *Sustainability*, 13 (24), 14030. <https://doi.org/10.3390/su132414030>
- Pascoli, M., Lopes-Oliveira, P.J., Fraceto, L.F., Seabra, A.B., & Oliveira, H.C. (2018). State of the art of polymeric nanoparticles as carrier systems with agricultural applications: a minireview, *Energy, Ecology and Environment*, 3, 137-148. <https://doi.org/10.1007/s40974-018-0090-2>
- Patel, H. & Krishnamurthy, R., (2015) Antimicrobial efficiency of biologically synthesized nanoparticles using root extract of *Plumbago zeylanica* as bio-fertilizer application, *International Journal of Bioassays*, 4 11, 4473-4475. ISSN: 2278-778X
- Patel, U. & Sinha, S. (2011). Rhizobia species: a boon for “plant genetic engineering, *Indian Journal of Microbiology*, 51, 521-527. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0149-7>
- Pavela, R. & Benelli, G. (2016). Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints, *Trends in Plant Science*, 21 (12), 1000–1007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>.
- Pavela, R., Waffo-Teguo, P., Biais, B., Richard, T., & Mérillon, J.-M. (2017). *Vitis vinifera* canes, a source of stilbenoids against *Spodoptera littoralis* larvae, *Journal of Pest Science*, 90, 961–970. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0836-1>
- Pereira, S.I.A. & Castro, P.M.L. (2014). Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance *Zea mays* growth in agricultural P-deficient soils, *Ecological Engineering*, 73, 526-535.
- Perveen, Z. & Mushtaq, A. (2019). Environment friendly nanofertilizers for sustainable crop management: A review, *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 15, 87-93.
- Peters, R.B., Bouwmeester, H., Gottardo, S., Amenta, V., et al. (2016). Nanomaterials for products and application in agriculture, feed and food, *Trends in Food Science & Technology*, 54, 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.06.008>

- Rahman, K.M.A. & Zhang, D. (2018). Effects of fertilizer broadcasting on the excessive use of inorganic fertilizers and environmental sustainability, *Sustainability*, 10 (3), 759. <https://doi.org/10.3390/su10030759>
- Rai, A.N., Singh, Arvind, Syiem, Mayashree. (2019). Plant Growth-Promoting Abilities. Στο *Cyanobacteria*. Σελ.459-476. 10.1016/B978-0-12-814667-5.00023-4.
- Raimi, A., Adeleke, R., & Roopnarain, A. (2017). Soil fertility challenges and biofertiliser as a viable alternative for increasing smallholder farmer crop productivity in sub-Saharan Africa, *Cogent Food and Agriculture*, 3 (1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2017.1400933>
- Raja, N. (2013). Biopesticides and biofertilizers: ecofriendly sources for sustainable agriculture, *Journal of Biofertilizers & Biopesticides*, 4. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6202.1000e112>.
- Rajkumar M, Ae N, Prasad MN, Freitas H (2010) Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends Biotechnol* 28(3):142–149.
- Rajkumar, M., Sandhya, S., Prasad, M.N., & Freitas, H. (2012). Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoextraction, *Biotechnology Advances*, 30 (6), 1562–1574. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.04.011>
- Rao, P.V.M. & Kumari, A., (2017). Effect of oxymatrine 0.5% EC on predators and parasites of important pests on certain vegetable crops cultivated in Ranga Reddy District (Telangana), *Pestology*, 40 (8), 15–18.
- Rathod, J.P., Rathod, P., Rathod, D.R., & Gade, R.M. (2018). Anabaena, Coriandrum, Biostimulant, Foliar, Growth parameters *Int. Journal of Current Microbiology Applied Science*, 7(12): 25-32. doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.712.003>
- REACH (2022). Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals. <https://echa.europa.eu/el/regulations/reach/understanding-reach>. (Ημερομηνία τελευταίας πρόσβασης: 20-4-2022)
- Research and Markets (2022). <https://www.researchandmarkets.com/>,
- Reddy, D.S. & Chowdary, N.M. (2021). Botanical biopesticide combination concept—a viable option for pest management in organic farming, *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31 (23). <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00366-w>
- Regnault-Roger, C., Vincent, C., & Arnason, J.T. (2012). Essential oils in insect control: low risk products in a high-stakes world, *Annual Review of Entomology*, 57, 405–424. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100554>

- Rico, C.M., Majumdar, S., Duarte-Gardea, M., Peralta-Videa, J.R., & Gardea-Torresdey, J.L., (2011). Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (8), 3485–3498. <https://doi.org/10.1021/jf104517j>
- Saberi-Rise, R. & Moradi-Pour, M. (2020). The effect of *Bacillus subtilis* Vru1 encapsulated in alginate-bentonite coating enriched with titanium nanoparticles against *Rhizoctonia solani* on bean, *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 1089–1097. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.197>
- Sadhana, B. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) as a biofertilizers—a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3 (4), 384–400.
- Saikia, S.P., Bora, D., Goswami, A., Mudoi, K.D., & Gogoi, A. (2012). A review on the role of *Azospirillum* in the yield improvement of non leguminous crops. *African Journal of Microbiology Research*, 6(6), 1085-1102. <https://doi.org/10.5897/AJMRX11.019>
- Samada, L.H. & Tambunan, U.S.F. (2020). Biopesticides as Promising Alternatives to Chemical Pesticides: A Review of Their Current and Future Status. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 20(2), 66-76. <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2020.66.76>
- Saravanan, V.S., Kumar, M.R., & Sa, T.M. (2011). Microbial zinc solubilization and their role on plants. Σto Maheshwari, D.K. (Ed.), *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Nutrient Management*, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 47-63. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-21061-7>
- Satish Kumar, Diksha, Satyavir S. Sindhu & Rakesh Kumar (2022). Biofertilizers: An ecofriendly technology for nutrient recycling and environmental sustainability, *Current Research in Microbial Sciences*, 3, 100094, <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100094>.
- Schmutterer, H. (1990). Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, (*Azadirachta indica*). *Annual Review of Entomology* 35: 271–297.
- Schreiber, L., (2011). Transport barriers made of cutin, suberin and associated waxes, *Trends in Plant Science*, 15 (10), 546–553. doi: 10.1016/j.tplants.2010.06.004.
- Shah, A.A., Aslam, S., Akbar, M., Ahmad, A., Khan, W.U., Yasin, N.A., Ali, B., Rizwan, M., & Ali, S. (2021). Combined effect of *Bacillus fortis* IAGS 223 and zinc oxide nanoparticles to alleviate cadmium phytotoxicity in *Cucumis melo*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 158, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.011>

- Sharifi, R.S., Khalilzadeh, R., Pirzad, A., & Anwar, S. (2020). Effects of biofertilizers and nano zinc-iron oxide on yield and physicochemical properties of wheat under water deficit conditions, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51 (19), 2511–2524. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1845350>
- Sharma, A. (2013). Comparative efficacy of nematicides with VAM fungi against *Heterodera avenae* infecting wheat, *International Journal of Bio-Technology and Research*, 3 (1), 11-16. ISSN 2249-6858
- Sharma, A., Patel, S., & Menghani, E. (2021). Synthesis, application and prospects of nano-biofertilizers: A reappraisal, *Journal of Phytological Research*, 34 (1), 79–85. ISSN 0970-5767
- Sharma, S. & Malik, P. (2012). Bio-pesticides: types and applications, *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, 1 (4), 2277–4688. ISSN: 2277 – 4688. Διαθέσιμο ηλεκτρονικά στο: <https://www.ijapbc.com/files/15-1430.pdf>
- Shridhar, B.S. (2012). Review: nitrogen fixing microorganisms, *International Journal of Microbiological Research*, 3 (1), 46-52. <https://doi.org/10.5829/idosi.ijmr.2012.3.1.61103>
- Shrivastava, M., Srivastava, P.C., & D'Souza, S.F. (2018). Phosphate-solubilizing microbes: diversity and phosphates solubilization mechanism. Στο Meena, V.S. (Ed.), *Role of Rhizospheric Microbes in Soil Volume 2: Nutrient Management and Crop Improvement*, Springer Nature Singapore Pte Ltd., pp. 137-165. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-0044-8>
- Shukla, S.K., Kumar, R., Mishra, R.K., Pandey, A., Pathak, A., Zaidi, M., Srivastava, S.K., & Dikshit, A. (2015). Prediction and validation of gold nanoparticles (GNPs) on plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A step toward development of nano-biofertilizers, *Nanotechnology Reviews*, 4, 439–448. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2015-0036>
- Singh, D., Thapa, S., Geat, N., Mehriya, M.L., & Rajawat, M.V.S. (2021). Biofertilizers: Mechanisms and application. Στο Rakshit, A., Meena, V.S., Parihar, M., Singh, H.B., Singh, A.K. (Eds), *Biofertilizers, Volume 1: Advances in Bio-inoculants*, pp. 151-166. doi:10.1016/B978-0-12-821667-5.00024-5
- Singh, M., Singh, D., Gupta, A., Pandey, K.D., Singh, P.K. & Ajay Kumar, A. (2019). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Application in Biofertilizers and Biocontrol of Phytopathogens. Στο Singh, A.K., Kumar, A. & Singh, P.K. (Eds) *Amelioration in*



*Sustainable Agriculture. Food Security and Environmental Management.*  
s.l.:Woodhead Publishing, pp. 41-66.

- Singh, P., Ghosh, D., Manyapu, V., Yadav, M., & Majumder, S. (2019). Synergistic impact of iron (iii) oxide nano-particles and organic waste on growth and development of *Solanum lycopersicum* plants: New paradigm in nanobiofertilizer, *Plant Archives*, 19 (1), 339–344. ISSN:0972-5210
- Smith, S.E. & Read, D.J. (2008) *Mycorrhizal symbiosis*. London: Academic Press. doi <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-652840-4.X5000-1>
- Sung, J. (2018). The fourth Industrial revolution and precision agriculture, *IntechOpen*, DOI:[10.5772/intechopen.71582](https://doi.org/10.5772/intechopen.71582)
- Suyal, D.C., Soni, R., Sai, S. & Goel, R. (2016). Microbial Inoculants as Biofertilizer. Στο: *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity. Vol. 1: Research Perspectives*. s.l.:Springer, pp. 311-318.
- Tangtrakulwanich, K. & Reddy, G.V.P. (2014). Development of Insect Resistance to Plant Biopesticides: An Overview. Στο Singh, D. (ed), *Advances in Plant Biopesticides*. Springer, New Delhi, pp. 47-62. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2006-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2006-0_4)
- Tarafdar, J.C. (2021). Bionanofertilizer: A new invention for global farming. Στο Rakshit, A., Meena, V.S., Parihar, M., Singh, H.B., Singh, A.K. (Eds), *Biofertilizers Volume 1: Advances in Bio-inoculants*, Woodhead Publishing Series, pp. 347-358.
- Tarafdar, J.C., Rathore, I., Kaur, R., & Jain, A., (2018). Biosynthesis of nanonutrients for agricultural applications. Στο: Singh, B. (Ed.), *NanoAgrochemicals and NanoPhytoChemicals*, CRC Press, Boca Raton, FL, United States, pp. 15–30. doi: <https://doi.org/10.1201/9781351139281>
- Tarafdar, J.C., Xiang, Y., Wang, W.N., Dong, Q., & Biswas, P., (2012). Standardization of size, shape and concentration of nanoparticles for plant application, *Applied Biological Research*, 14 (2), 138–144.
- Thakore, Y. (2006). The biopesticide market for global agricultural use, *Industrial Biotechnology*, 2 (3), 194–208. <https://doi.org/10.1089/ind.2006.2.194>
- Thirugnanasambandan, T. (2019). Advances and trends in nanobiofertilizers, *SSRN*, 59. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3306998>
- Thompson, J., Millstone, E., Scoones, I., Ely, A., Marshall, F., Shah, E. & Stagl, S. (2007). *Agri-Food System Dynamics: Pathways to Sustainability in an Era of Uncertainty*.

- STEPS Working Paper 4*. STEPS Centre, Brighton. Διαθέσιμο στο: [www.stepscentre.org/PDFs/Finalstepsagriculture.pdf](http://www.stepscentre.org/PDFs/Finalstepsagriculture.pdf).
- Timmusk, S., Behers, L., Muthoni, J., Muraya, A., & Aronsson, A.C., (2017). Perspectives and challenges of microbial application for crop improvement, *Frontiers in Plant Science*, 8, 49. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00049>
- US EPA, USA Environmental Protection Agency (2022). <https://www.epa.gov/>
- US EPA, USA Environmental Protection Agency (2022). Registers Innovative Tool to Control Corn Rootworm. Διαθέσιμο ηλεκτρονικά στο: <https://www.epa.gov/pesticide-registration/epa-registers-innovative-tool-control-corn-rootworm>
- US EPA, USA Environmental Protection Agency (2020). Biopesticide active ingredients. Διαθέσιμο ηλεκτρονικά: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/biopesticide-active-ingredients>)
- Verma, M., Mishra, J., & Arora, N.K., (2019). Plant growth-promoting rhizobacteria: diversity and applications. Στο Sobti, R.C. (Ed.), *Environmental Biotechnology: For Sustainable Future*, Springer Nature Singapore Pte Ltd, 129–173. doi: 10.1007/978-981-10-7284-0\_6
- Vessey, J. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers, *Plant Soil*, 255, 571–586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>
- Vimala Devi, P.S., Duraimurugan, P., & Chandrika, K.S.V.P. (2019). *Bacillus thuringiensis*-based nanopesticides for crop protection. Στο Opendar Koul (Ed.), *Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives*. Academic Press, pp. 249-260. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815829-6.00010-3>
- Vineela, V., Nataraj, T., Reddy, G., & Devi, P.S.V. (2017). Enhanced bioefficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) through particle size reduction and formulation as a suspension concentrate, *Biocontrol Science and Technology*, 27, 58-69. <https://doi.org/10.1080/09583157.2016.1247433>
- Wan, J., Zhong, S., Schwarz, P., Chen, B., & Rao, J. (2019). Physical properties, antifungal and mycotoxin inhibitory activities of five essential oil nanoemulsions: Impact of oil compositions and processing parameters, *Food Chemistry*, 291, 199-206. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.04.032
- Wani, T.A., Masoodi, F.A., Jafari, S.M., & McClements, D.J. (2018). Safety of nanoemulsions and their regulatory status. Στο Jafari, S.M., McClements, D.J.

- (Eds.), *Nanoemulsions*, Academic Press, pp. 613-628.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811838-2.00019-9>
- War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., & Sharma, H. C. (2012). Mechanisms of plant defense against insect herbivores, *Plant signaling & behavior*, 7 (10), 1306–1320. <https://doi.org/10.4161/psb.21663>
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.-F., Ferrer, A., & Peigné, J. (2014). Agroecological practices for sustainable agriculture. A review, *Agronomy for Sustainable Development*, 34 (1), 20. <http://dx.doi.org/10.1007/s13593-013-0180-7>.  
[www.mordorintelligence.com](http://www.mordorintelligence.com) (2022). Global biofertilizers market. Growth, trends, Covid-19 impact, and forecasts (2022 - 2027). (ημερομηνία πρόσβασης: 13-4-2022)
- Youssef, M.M.A. & Eissa, M.F.M. (2014). Biofertilizers and their role in management of plant parasitic nematodes. A review, *Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research*, 5(1),1–6. <http://www.e3journals.org>
- Zahir, Z.A., Zafar-ul-Hye, M., Sajjad, S., & Naveed, M. (2011). Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for coinoculation with *Rhizobium leguminosarum* to improve growth, nodulation, and yield of lentil, *Biology and Fertility of Soils*, 47(4), 457–465. DOI:10.1007/s00374-011-0551-7
- Zeb, H., Hussain, A., Naveed, M., Ditta, A., Ahmad, S., Jamshaid, M.U., Ahmad, H.T., Hussain, M.B., Aziz, R., & Haider, M.S. (2018). Compost enriched with ZnO and Zn-solubilising bacteria improves yield and Zn-fortification in flooded rice, *Italian Journal of Agronomy*, 13 (4), 310-316. <https://doi.org/10.4081/ija.2018.1295>
- Zhang, J., Khan, S.A., Heckel, D., & Bock, R. (2017). Next-Generation Insect-Resistant Plants: RNAi-Mediated Crop Protection, *Trends in Biotechnology*, 35 (9), 871-882. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.04.009>
- Zhou, Z., Cao, Y., Li, T., Wang, X., Chen, J., He, H., Yao, W., Wu, J., & Zhang, H. (2020). MicroRNAs Are Involved in Maize Immunity Against *Fusarium verticillioides* Ear Rot, *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 18 (3), 241–255. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2019.11.006>
- Zotti, M., Dos Santos, E.A., Cagliari, D., Christiaens, O., Taning, C.N.T., & Smagghe, G. (2018). RNA interference technology in crop protection against arthropod pests, pathogens and nematodes, *Pest Management Science*, 74(6), 1239–50. DOI: 10.1002/ps.4813
- Zuverza-Mena, N., Martinez-Fernandez, D., Du, W., et al. (2017). Exposure of engineered nanomaterials to plants: insights into the physiological and biochemical

responses—a review, *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 236–264.  
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.037>