



**ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΤΟΜΕΑΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ**  
**ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**Η σημασία τού Εδαφικού Μικροβιώματος στην Ενιαία  
Υγεία: Μια Ολοκληρωμένη Προοπτική**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

Κωνσταντίνος Β. Σίμογλου ΑΕΜ: 3672

Επιβλέπων Καθηγητής: Ιωάννης Κουρκουτάς, Καθηγητής

*Αλεξανδρούπολη, 2025*



**ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ**  
**ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:  
ΤΡΟΦΙΜΑ, ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**Η σημασία τού Εδαφικού Μικροβιώματος στην**  
**Ενιαία Υγεία: Μια Ολοκληρωμένη Προοπτική**

Κωνσταντίνος Β. Σίμογλου ΑΕΜ: 3672  
Δ/ση Αγροτικής Οικονομίας και Κτηνιατρικής, ΠΕ Δράμας

Η παρούσα Μεταπτυχιακή Εργασία Ειδίκευσης υποβλήθηκε στο Τμήμα Ιατρικής του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης για την απόκτηση του τίτλου μεταπτυχιακών σπουδών ειδίκευσης στις Επιστήμες των Τροφίμων, Διατροφής και Μικροβιώματος

**ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

Επιβλέπων καθηγητής: Δρ. Ιωάννης Κουρκουτάς, Καθηγητής Τμήματος Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

2ο Μέλος: Δρ. Χρυσούλα Βόιδαρου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

3ο Μέλος: Δρ. Γεώργιος Ρόζος, Προϊστάμενος Τμήματος Υγείας των Ζώων, Δ/ση Κτηνιατρικής, Περιφερειακή Ενότητα Κυκλάδων, Περιφέρεια Νοτίου Αιγαίου

*Αλεξανδρούπολη, 2025*



**DEMOCRITUS UNIVERSITY OF THRACE**  
**SCHOOL OF HEALTH SCIENCES**  
**DEPARTMENT OF MEDICINE**  
**LABORATORY OF HYGIENE AND**  
**ENVIRONMENTAL PROTECTION**

POSTGRADUATE COURSE:  
FOOD, NUTRITION AND MICROBIOME

## **MASTER DISSERTATION**

# **The importance of the Soil Microbiome in One Health: An Integrated Perspective**

Konstantinos B. Simoglou, Registration Number: 3672  
Rural Economy and Veterinary Medicine Directorate, Regional Unit of Drama,  
Greece

A thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master in Food, Nutrition and Microbiome, Department of Medicine, Democritus University of Thrace

## **COMMITTEE OF EXAMINERS**

Supervisor: Dr. Ioannis Kourkoutas, Professor of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace

Member 2: Dr. Chrysoula Voidarou Associate Professor, University of Ioannina, Greece

Member 3: Dr. Georgios Rozos Head of Animal Health Department, Directorate of Veterinary Medicine, Regional Unit of Cyclades, South Aegean Region

*Alexandroupolis, 2025*

## Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη.....	3
Abstract .....	4
Κεφάλαιο 1.....	5
Μικροβίωμα στο έδαφος και την ριζόσφαιρα – Γενικές έννοιες .....	5
Εισαγωγή .....	5
Μικροβίωμα των φυτών κάτω από το έδαφος.....	6
Αλληλεπίδραση φυτών – μικροοργανισμών στην ριζόσφαιρα.....	9
Παράγοντες που συμβάλλουν στην συγκρότηση τού μικροβιώματος της ριζόσφαιρας	10
Αξιοποίηση των μικροοργανισμών της ριζόσφαιρας και των ριζικών εκκρίσεων για την βελτίωση της θρέψης των φυτών.....	12
Συμπερασματικά σχόλια .....	15
Κεφάλαιο 2.....	16
Μικροβίωμα στο φυτό (ενδοφυτικό – επιφυτικό) .....	16
Εισαγωγή .....	16
Ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί.....	18
Τα ενδοφυτικά και επιφυτικά μικρόβια συνιστούν λειτουργικά συστατικά των φυτικών μικροβιωμάτων .....	20
Άμβλυση της αβιοτικής καταπόνησης .....	20
Προστασία από την οξειδωτική καταπόνηση .....	21
Ενισχυμένη ανοχή στην καταπόνηση μέσω της ρύθμισης τού αιθυλενίου .....	22
Ανοχή στην καταπόνηση μέσω οσμωτικής προσαρμογής με τη μεσολάβηση ενδοφύτων .....	23
Ανοχή των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις μέσω πολλαπλών μηχανισμών που ενισχύονται από μικρόβια.....	24
Προστασία από παθογόνους οργανισμούς.....	24
Επιδράσεις κατά των παρασιτικών εχθρών .....	25
Συμπερασματικά σχόλια .....	26
Κεφάλαιο 3.....	28
Μοριακός διάλογος: Αποκωδικοποιώντας την μυστική γλώσσα φυτών και μικροβίων.....	28
Οι οικολογικές διεργασίες τού αποικισμού των φυτών και της συγκρότησης των κοινοτήτων. Η ανίχνευση των φυτών και η έναρξη τού αποικισμού .....	28
Το φυτικό σύστημα ανίχνευσης και ενεργοποίησης αμυντικών αποκρίσεων .....	30
Αποφυγή της άμυνας των φυτών .....	32
Quorum sensing ή αντιληπτική ικανότητα πληθυσμιακής πυκνότητας .....	33
Τα φυτά αντιδρούν στο βακτηριακό quorum-sensing .....	34
Ανάλυση της αμφίδρομης επικοινωνίας φυτών και μικροοργανισμών στην ριζόσφαιρα .....	36
Συμπερασματικά σχόλια .....	38
Κεφάλαιο 4.....	40
Η βιολογική ρύθμιση της φυσιολογίας φυτού μέσω της ACC-απαμινάσης για την αντιμετώπιση καταπονήσεων .....	40
Γενικά.....	40
Το αιθυλένιο και ο ρόλος του στην συνολική ανάπτυξη των φυτών.....	42

Η άμβλυση των συνεπειών της καταπόνησης των φυτών .....	44
Συμπερασματικά σχόλια .....	50
Κεφάλαιο 5.....	51
Σχέσεις μεταξύ της υγείας του ανθρώπου και των φυτών με το εδαφικό μικροβίωμα.....	51
Εισαγωγή .....	51
Το έδαφος ως παράγοντας ελέγχου των παθογόνων μικροοργανισμών ανθρώπου και ζώων.....	52
(α) Παθογόνα του ανθρώπου και των ζώων στο έδαφος .....	53
Παθογόνα ανθρώπων στα φυτά.....	55
(β) Το μικροβίωμα του εδάφους ασκεί καθοριστική επίδραση στην ανάπτυξη και τον έλεγχο των παθογόνων μικροοργανισμών του ανθρώπου και των ζώων .....	58
Επιπτώσεις της Χρήσης Κοπριάς και Κομπόστ στην Υγιεινή των Καλλιεργειών: Κίνδυνοι και Στρατηγικές Μείωσης Παθογόνων Μικροοργανισμών.....	61
Φυσικοί Μηχανισμοί Ελέγχου Παθογόνων: Ο Ρόλος της Μικροβιακής Ποικιλότητας .....	65
(γ) Ο ρόλος του εδάφους στη ρύθμιση των φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών έχει καθοριστική σημασία για τη συνολική υγεία και την ευρωστία των φυτών .....	67
Παθογόνα των φυτών στο έδαφος.....	67
Η έννοια της δυσβίωσης στην ριζόσφαιρα.....	71
Μικροβίωμα και Άμυνα Φυτών: Η Σχέση με Παθογόνα και η Εδαφική Μνήμη.....	73
Συμπερασματικά σχόλια .....	74
Κεφάλαιο 6.....	76
Μεταβολές στην δομή και την λειτουργία του εδαφικού μικροβιώματος υπό την επίδραση γεωργικών φαρμάκων.....	76
Εισαγωγή .....	76
Ο ζωτικός ρόλος του εδαφικού μικροβιώματος και των ενζύμων στην διατήρηση της υγείας του εδάφους .....	80
Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των χημικών γεωργικών φαρμάκων και των εδαφικών μικροοργανισμών.....	82
Επιπτώσεις ασφαλέστερων εναλλακτικών λύσεων, βιολογικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων.....	91
Η επίδραση των γεωργικών φαρμάκων στην ανάπτυξη πολυανθεκτικών μικροοργανισμών σε κλινικά φάρμακα .....	94
Συμπερασματικά σχόλια .....	96
Βιβλιογραφία.....	97

# Πρόλογος

Η προσέγγιση της Ενιαίας Υγείας (One Health) αναγνωρίζει τη στενή αλληλεπίδραση μεταξύ της υγείας των ανθρώπων, των ζώων, των φυτών και του περιβάλλοντος. Σε έναν κόσμο όπου οι προκλήσεις της κλιματικής αλλαγής και της αύξησης του παγκόσμιου πληθυσμού γίνονται ολοένα και πιο επιτακτικές, η κατανόηση αυτών των αλληλεπιδράσεων είναι κρίσιμη για την προώθηση βιώσιμων γεωργικών πρακτικών και την εξασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων. Η παρούσα διατριβή εξετάζει τον ρόλο του μικροβιώματος στο έδαφος, στη ριζόσφαιρα και στο φυτό, εστιάζοντας στις ευεργετικές επιδράσεις των μικροοργανισμών στην ανάπτυξη και ανθεκτικότητα των φυτών, στο πλαίσιο της Ενιαίας Υγείας.

Στο πρώτο κεφάλαιο, αναλύονται οι γενικές έννοιες που σχετίζονται με το μικροβίωμα, και οι αλληλεπιδράσεις του με τα φυτά, υπογραμμίζοντας τη σημασία της κατανόησης των παραγόντων που επηρεάζουν τη συγκρότηση του μικροβιώματος. Στο δεύτερο κεφάλαιο, εστιάζουμε στους ενδοφυτικούς και επιφυτικούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι συμβάλλουν στην ανάπτυξη και ανθεκτικότητα των φυτών σε διάφορες καταπονήσεις.

Η διερεύνηση του μοριακού διαλόγου μεταξύ φυτών και μικροβίων, όπως αναλύεται στο τρίτο κεφάλαιο, αποκαλύπτει τις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις που διαμορφώνουν την υγεία των φυτών και την παραγωγικότητά τους. Στο τέταρτο κεφάλαιο, εξετάζεται μία ιδιαίτερη αλληλεπίδραση, η βιολογική ρύθμιση της φυσιολογίας των φυτών μέσω του μικροβιακού ενζύμου της ACC-απαμινάσης, το οποίο παίζει κρίσιμο ρόλο στην προσαρμογή των φυτών σε αβιοτικές και βιοτικές καταπονήσεις.

Στο πέμπτο κεφάλαιο, αναλύεται η σχέση μεταξύ της υγείας των φυτών και των ανθρώπων, στο πλαίσιο της προσέγγισης της Ενιαίας Υγείας, υπογραμμίζοντας τη σημασία της κατανόησης των αλληλεπιδράσεων μεταξύ φυτών, ανθρώπινων παθογόνων και του εδαφικού μικροβιώματος. Τέλος, το έκτο κεφάλαιο εστιάζει στις μεταβολές της δομής και της λειτουργίας του εδαφικού μικροβιώματος υπό την επίδραση γεωργικών φαρμάκων, αναδεικνύοντας την ανάγκη για ορθές και βιώσιμες γεωργικές πρακτικές.

Η παρούσα διατριβή στοχεύει να συμβάλει στην κατανόηση των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων που διέπουν το οικοσύστημα του εδάφους και να προτείνει στρατηγικές για τη βιώσιμη γεωργία, με στόχο την ενίσχυση της παραγωγικότητας και της υγείας των φυτών και συνακόλουθα των ανθρώπων. Ελπίζω ότι τα ευρήματα αυτής της έρευνας θα προσφέρουν πολύτιμες γνώσεις και θα ενθαρρύνουν περαιτέρω μελέτες στον τομέα αυτό.

Η ευκαιρία να ασχοληθώ με αυτό το θέμα ήταν μια μεγάλη πρόκληση, η οποία μου έδωσε τη δυνατότητα να εξερευνήσω νέες ατραπούς και να συμβάλω στην επιστημονική κοινότητα. Μετά από σχεδόν τρεις δεκαετίες ενασχόλησης με τη Γεωπονία, που μου έχουν προσφέρει μια βαθιά κατανόηση του κλάδου, η παρούσα εργασία στο Τμήμα Ιατρικής Δ.Π.Θ., στα πλαίσια του Π.Μ.Σ. «Τρόφιμα,

Διατροφή και Μικροβίωμα», μού προσφέρει την ευκαιρία να αξιοποιήσω την εμπειρία μου από τη Γεωπονία, στην Ενιαία Υγεία, ευελπιστώντας να συμβάλω στην πρόοδο της γνώσης.

Σε όλη τη σταδιοδρομία μου έλαβα υποστήριξη και έμπνευση από ανθρώπους όπως ο αείμνηστος †Ευάγγελος Α. Τσιαμάδης, Δρ. Κτηνίατρος. Αφιερώνω το παρόν πόνημα στη μνήμη τού εκλιπόντος φίλου και συμμαθητή μου, ο οποίος έφυγε πρόωρα από τη ζωή το 2023. Η αφοσίωσή του στην επιστήμη και η απaráμιλλη φιλομάθειά του αποτελούν πηγή έμπνευσης για όλους όσους είχαν την τύχη να τον γνωρίσουν.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στον καθηγητή μοριακής βιολογίας, Δρ. Ιωάννη Κουρκουτά, για την πολύτιμη συνεργασία του, καθώς και στη σύζυγό μου Παρασκευή Ε. Σκάρπα, για την στήριξή της κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας.

Με τιμή,

**Κωνσταντίνος Β. Σίμογλου**

Περιφέρεια Ανατολικής Μακεδονίας και Θράκης,  
Διεύθυνση Αγροτικής Οικονομίας και Κτηνιατρικής ΠΕ Δράμας  
Γεωπόνος

MSc. Επιστημών Φυτοπροστασίας, Τμήμα Γεωπονίας, ΑΠΘ  
MSc. Φυσικών Επιστημών Περιβάλλοντος, Τμήμα Χημείας, ΠΚ  
Υποψήφιος διδάκτορας Τμήματος Γεωπονίας ΕΛ.ΜΕ.ΠΑ.

Κυριακή, 01-06-2025

## Περίληψη

Η διατριβή εστιάζει στη ριζόσφαιρα, την περιοχή τού εδάφους που επηρεάζεται από το ριζικό σύστημα των φυτών, και αναλύει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτών, μικροβίων και εδάφους, οι οποίες είναι κρίσιμες για την υγεία των φυτών και την αειφόρο γεωργία. Η ριζόσφαιρα φιλοξενεί μικροοργανισμούς, όπως βακτήρια και μύκητες, που ενισχύουν την ανάπτυξη και την ανθεκτικότητα των φυτών.

Οι μικροοργανισμοί που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών (PGPM) είναι σημαντικοί για την αύξηση των αποδόσεων και τη μείωση της εξάρτησης από χημικές εισροές. Ειδικότερα, οι ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί και οι δευτερογενείς μεταβολίτες τους ενισχύουν την ανάπτυξη και την ανθεκτικότητα των φυτών μέσω μηχανισμών όπως η παραγωγή φυτοορμονών, η μείωση των επιπέδων αιθυλενίου με το ένζυμο ACC-απαμινάση και η παραγωγή ωσμοπροστατευτικών ουσιών.

Επιπλέον, η κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ φυτών και μικροβίων είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη στρατηγικών βιολογικού ελέγχου των φυτονόσων. Οι μικροβιακές κοινότητες στη ριζόσφαιρα δρουν κατά των παθογόνων μέσω μηχανισμών όπως η αντιβίωση, ο παρασιτισμός και ο ανταγωνισμός για πόρους. Η δυσβίωση, δηλαδή η διαταραχή τού μικροβιώματος, μπορεί να οδηγήσει σε ασθένειες, καθιστώντας την ομοίωση τού μικροβιώματος κρίσιμη για την υγεία των φυτών. Η ανάγκη για βιώσιμες γεωργικές πρακτικές είναι επιτακτική, καθώς ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξάνεται και η πίεση στο περιβάλλον εντείνεται. Οι μικροβιακές λύσεις προσφέρουν μια φιλική προς το περιβάλλον προσέγγιση για την αύξηση της παραγωγής και της γονιμότητας των εδαφών, ενώ ταυτόχρονα μειώνουν τις επιπτώσεις των αβιοτικών καταπονήσεων και προστατεύουν τις καλλιέργειες από επιβλαβείς οργανισμούς.

Αναλύονται επίσης οι επιπτώσεις των γεωργικών φαρμάκων στα εδαφικά μικρόβια και τις ενζυμικές τους αποκρίσεις. Η χρήση γεωργικών φαρμάκων έχει αποδειχθεί ότι επιφέρει επίδραση στα εδαφικά μικρόβια και τα εδαφικά ένζυμα, με βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες συνέπειες. Η έρευνα υποδεικνύει ότι η απόκριση των βακτηρίων στην έκθεση σε γεωργικά φάρμακα, είναι ταχεία και εξαρτάται από τη δόση και τη συχνότητα έκθεσης. Ωστόσο, οι μακροπρόθεσμες επιδράσεις απαιτούν περαιτέρω μελέτη, καθώς οι χημικές αυτές ουσίες μπορεί να προκαλέσουν σοβαρές αλλαγές στις μικροβιακές κοινότητες τού εδάφους.

Προτείνεται η αναθεώρηση τού κανονιστικού πλαισίου για την αξιολόγηση της τοξικότητας των γεωργικών φαρμάκων, προκειμένου να συμπεριληφθούν νέα και προηγμένα εργαλεία. Η ανάπτυξη της επόμενης γενιάς φυτοπροστατευτικών προϊόντων θα πρέπει να εστιάζει στην κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των αγροχημικών και τού εδαφικού μικροβιώματος.

Η κατανόηση της οικολογίας των διαταραχών είναι επίσης κρίσιμη, καθώς οι πρόσκαιροι και συγκυριακοί παράγοντες, όπως οι επιπτώσεις των αγροχημικών, μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργία τού μικροβιώματος και την υγεία των φυτών. Η διεπιστημονική προσέγγιση, που συνδυάζει γνώσεις από τη φυτοπαθολογία, τη μικροβιολογία και τη δημόσια υγεία, είναι απαραίτητη για την κατανόηση των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ φυτών, ανθρώπων και περιβάλλοντος. Επιπλέον, η μελέτη των κοινών μηχανισμών άμυνας των φυτών έναντι ανθρώποπαθογόνων και φυτοπαθογόνων μπορεί να οδηγήσει σε καινοτόμες στρατηγικές για την ενίσχυση της ασφάλειας και προστασίας των τροφίμων. Η Ενιαία Υγεία (One Health) αναγνωρίζει τη στενή σχέση μεταξύ της υγείας των ανθρώπων, των ζώων και τού περιβάλλοντος, και η κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ φυτών και παθογόνων είναι κρίσιμη για την προώθηση αυτής της προσέγγισης.

Συνολικά, η κατανόηση των αλληλεπιδράσεων φυτών-μικροβίων στη ριζόσφαιρα είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη βιώσιμων γεωργικών πρακτικών και την προώθηση της αειφορίας. Η αξιοποίηση των ευεργετικών λειτουργιών των μικροοργανισμών μπορεί να συμβάλει στην αύξηση της γεωργικής παραγωγής, στη μείωση της εξάρτησης από αγροχημικά και στην προστασία της ανθρώπινης και ζωικής υγείας. Η έρευνα στον τομέα αυτόν είναι κρίσιμη για την αντιμετώπιση των προκλήσεων που θέτει η κλιματική αλλαγή και η αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού, διασφαλίζοντας παράλληλα την υγεία του περιβάλλοντος και την ασφάλεια των τροφίμων.

Λέξεις κλειδιά: Ριζόσφαιρα, μικροβίωμα, αειφόρος γεωργία, δυσβίωση, αγροχημικά, αβιοτικές καταπονήσεις, παθογόνα, ανθεκτικότητα στην κλιματική αλλαγή

# Abstract

This dissertation focuses on the rhizosphere, the soil region influenced by plant roots, and examines the interactions among plants, microbes, and soil, which are critical for plant health and sustainable agriculture. The rhizosphere hosts microorganisms, such as bacteria and fungi, that enhance plant growth and resilience. Plant Growth-Promoting Microorganisms (PGPM) are significant for increasing yields and reducing dependence on chemical inputs. Specifically, endophytic microorganisms and their secondary metabolites promote plant growth and resilience through mechanisms such as the production of phytohormones, the reduction of ethylene levels via the enzyme ACC deaminase, and the synthesis of osmoprotectants.

Furthermore, understanding the interactions between plants and microbes is essential for developing biological control strategies against plant pathogens. Microbial communities in the rhizosphere act against pathogens through mechanisms such as antibiosis, parasitism, and competition for resources. Dysbiosis, or the disruption of the microbiome, can lead to diseases, making the homeostasis of the microbiome critical for plant health. The need for sustainable agricultural practices is urgent, as the global population increases, and environmental pressures intensify. Microbial solutions offer an environmentally friendly approach to enhancing plant productivity and soil fertility while simultaneously mitigating the effects of abiotic stressors and protecting crops from harmful organisms.

The dissertation also examines the impacts of pesticides on soil microbes and their enzymic responses. The application of pesticides has been found to disrupt soil microbial ecology and enzymatic processes, leading to both acute and chronic consequences for soil health and ecosystem function. Research indicates that bacterial responses to exposure to pesticides are rapid and dependent on dosage and frequency of exposure. However, long-term effects require further study, as these chemicals may cause significant changes in soil microbial communities.

A revision of the existing regulatory framework for evaluating pesticide toxicity is hereby proposed, with the aim of integrating novel and cutting-edge methodologies to enhance the accuracy and efficacy of risk assessments. The development of the next generation of plant protection products should focus on understanding the interactions between agrochemicals and the soil microbiome. Understanding the ecology of disturbances is also critical, as transient, and contextual factors, such as the effects of agrochemicals, can influence microbiome function and plant health. An interdisciplinary approach, combining knowledge from plant pathology, microbiology, and public health, is necessary to comprehend the complex interactions among plants, humans, and the environment.

Additionally, studying the common defence mechanisms of plants against human and plant pathogenic threats may lead to innovative strategies for enhancing food security and protection. The One Health approach recognizes the close relationship between human, animal, and environmental health, and understanding the interactions between plants and pathogens is crucial for promoting this perspective.

Overall, understanding the plant-microbe interactions in the rhizosphere is essential for developing sustainable agricultural practices and promoting sustainability. Leveraging the beneficial functions of microorganisms can contribute to increased agricultural production, reduced reliance on chemical fertilizers, and the protection of human and animal health. Research in this field is critical for addressing the challenges posed by climate change and the growing global population, while ensuring environmental health and food security.

Key words: Rhizosphere, microbiome, sustainable agriculture, dysbiosis, agrochemicals, abiotic stress, pathogens, climate change resilience

# Κεφάλαιο 1

---

## Μικροβίωμα στο έδαφος και τη ριζόσφαιρα – Γενικές έννοιες

### Εισαγωγή

Τα φυτά φιλοξενούν ποικίλους μικροβιακούς πληθυσμούς, συμπεριλαμβανομένων βακτηρίων, μυκήτων, ιών, πρωτίστων. Αυτοί οι μικροοργανισμοί αποτελούν βασικά συστατικά τού φυτού-ξενιστή και μπορούν να αποικίσουν εκτός και εντός τού φυτικού ιστού, αναφερόμενοι στη ριζόσφαιρα (μια στενή ζώνη που επηρεάζεται από τις ρίζες των φυτών), τη φυλλόσφαιρα (υπέργεια μέρη των φυτών, ιδίως τα φύλλα), την ανθόσφαιρα (μια ζώνη γύρω από τα άνθη, υποδιαίρεση της φυλλόσφαιρας), τη σπερμόσφαιρα (ένα περιβάλλον γύρω από τα σπέρματα όπου αλληλοεπιδρούν το έδαφος, τα βλαστώντα σπέρματα και οι μικροβιακές κοινότητες) και το μικροβίωμα της ενδόσφαιρας (στο εσωτερικό των φυτικών τμημάτων) (Berg et al. 2016, Xun et al. 2021). Έχει προταθεί ότι το φυτό και το συνδεδεμένο με αυτό μικροβίωμα λειτουργούν ως ολοβίωμα, το οποίο είναι συνέπεια της εξελικτικής επιλογής μεταξύ φυτών και μικροοργανισμών (Vandenkoornhuysen et al. 2015, Xun et al. 2021). Σε σύγκριση με τα άλλα διαμερίσματα των φυτών και το αδιατάρακτο έδαφος, η ριζόσφαιρα, στην οποία η αφθονία, η πυκνότητα και η δραστηριότητα των μικροβίων είναι σε μεγάλο βαθμό αυξημένες, θεωρείται ότι εμπεριέχει το δεύτερο γονιδίωμα των φυτών (Berendsen et al. 2012).

Οι ποικίλοι μικροοργανισμοί (αρχαία, βακτήρια, μύκητες και πρωτόζωα) που συνυπάρχουν με τα φυτά είναι γενικώς γνωστοί ως μικροβιακή κοινότητα των φυτών (plant microbiota) (Bulgarelli et al. 2013, Compant et al. 2019, Pantigoso et al. 2022). Η μικροβιακή κοινότητα, τα μέλη αυτής, οι οικοτόποι, τα γονιδιώματα και οι περιβαλλοντικές συνθήκες που την περιβάλλουν ονομάζονται συλλογικά φυτικό μικροβίωμα (plant microbiome) (Marchesi and Ravel 2015, Berg et al. 2020), το οποίο σήμερα θεωρείται ένα εκτεταμένο φυτικό γνώρισμα με λειτουργικές δυνατότητες που συμβάλλουν στη θρέψη, την ανάπτυξη και την ανοσία τού φυτικού ξενιστή (Vandenkoornhuysen et al. 2015, Lemanceau et al. 2017, Teixeira et al. 2019). Οι εξαιρετικά ποικιλόμορφες μικροβιακές κοινότητες που σχετίζονται με τα φυτά διαμορφώνονται από βιοτικούς και αβιοτικούς περιορισμούς που ποικίλλουν στον χρόνο και στον χώρο (Hassani et al. 2018, Xiong et al. 2021). Τα φυτά εμπλουτίζουν σταδιακά τους μικροοργανισμούς σε συγκεκριμένα φυτικά διαμερίσματα, δημιουργώντας μικροβιακά ενδιαίτηματα που συνήθως ξεκινούν από το αδιατάρακτο έδαφος και μπορούν να μετακινηθούν σε υπέργειους εσωτερικούς φυτικούς ιστούς. Έτσι, η σύνθεση τού φυτικού μικροβιώματος είναι συγκεκριμένη για κάθε διαμέρισμα, στη ριζόσφαιρα (Zhang et al. 2017), την ενδόσφαιρα (Compant et al. 2021) και την φυλλόσφαιρα (Koskella 2020). Όσο βαθύτερα κινούνται αυτά τα βακτήρια, οι μύκητες και άλλοι μικροοργανισμοί τού εδάφους σε αυτά τα διαφορετικά διαμερίσματα των φυτών, τόσο περισσότερο αναγνωρίζονται επιλεκτικά από τα μόρια σηματοδότησης και το ανοσιακό σύστημα τού φυτού (Xiong et al. 2021). Στη

ριζόσφαιρα κυριαρχούν προκαρυωτικά φύλα, συμπεριλαμβανομένων των Πρωτεοβακτηρίων, Ακτινοβακτηρίων, Βακτηριοειδών, Firmicutes και Οξεοβακτηρίων. Όσον αφορά τα μυκητολογικά φύλα, στη ριζόσφαιρα κυριαρχούν οι Ασκομύκητες και οι Βασιδιομύκητες, οι οποίοι συνιστούν τα πιο κοινά ταξινομικά φύλα στα εδάφη (Mohanram and Kumar 2019).

Η αποκρυπτογράφηση της αλληλεπίδρασης φυτών και μικροβίων είναι μια διεπιστημονική ερευνητική προσπάθεια που ενσωματώνει διάφορους κλάδους της βιολογίας, συμπεριλαμβανομένης της οικολογίας, της μικροβιακής, φυτικής και μοριακής βιολογίας, εφαρμοσμένης πληροφορικής, στατιστικής και μοντελοποίησης, καθώς και της βιοτεχνολογίας (Berg et al. 2020). Οι προσπάθειες για τη σύνδεση συγκεκριμένων μικροβιακών διεργασιών με συγκεκριμένα μικροβιακά taxa έχουν επιταχυνθεί με γονιδιωματικά δεδομένα, ομαδοποιώντας taxa ανάλογα με την ομοιότητα στρατηγικών και λειτουργικών χαρακτηριστικών (Carrion et al. 2019, Song et al. 2020). Αυτές οι μεθοδολογικές και εννοιολογικές εξελίξεις έχουν επιταχύνει την κατανόηση του φυτικού μικροβιώματος (Fierer 2017). Περιγράφοντας και κατανοώντας τις μικροβιακές κοινότητες που σχετίζονται με τα φυτά και τα λειτουργικά χαρακτηριστικά τους, μπορούμε να χειριστούμε το μικροβίωμα της ριζόσφαιρας των φυτών για να ενισχύσουμε την υγεία και την παραγωγικότητα των φυτών (Xun et al. 2021).

### **Μικροβίωμα των φυτών κάτω από το έδαφος**

Τα φυτά προσελκύουν ενεργά τους μικροοργανισμούς τους από τις περιβάλλουσες μικροβιακές δεξαμενές, συμπεριλαμβανομένων του εδάφους/ριζόσφαιρας, της φυλλόσφαιρας, της ανθόσφαιρας, της σπερμόσφαιρας και της καρπόσφαιρας (Reinhold-Hurek et al. 2015). Η πλειονότητα του μικροβιώματος της ρίζας μεταφέρεται οριζόντια, προερχόμενη από το εδαφικό περιβάλλον, το οποίο περιέχει μια εξαιρετικά πολυποίκιλη σειρά μικροοργανισμών. Σε αυτούς κυριαρχούν τα Acidobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes, Proteobacteria, Planctomycetes και Actinobacteria (Fierer 2017). Ωστόσο, τα βακτήρια μπορούν επίσης να μεταδοθούν κάθετα μέσω των σπερμάτων. Τα σπέρματα αποτελούν σημαντική πηγή μικροοργανισμών, οι οποίοι πολλαπλασιάζονται στις ρίζες του αναπτυσσόμενου φυτού (Hardoim et al. 2012, Liu et al. 2012). Τα φυτά, με το ριζικό τους σύστημα, παρέχουν μοναδικές οικολογικές θέσεις για τους εδαφικούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι αποικίζουν τη ριζόσφαιρα, τις ρίζες και σε κάποιο βαθμό τα υπέργεια μέρη. Το στενό στρώμα του εδάφους που βρίσκεται υπό την άμεση επίδραση των ριζών των φυτών, δηλαδή η ριζόσφαιρα, θεωρείται εστία μικροβιακής δραστηριότητας και αποτελεί ένα από τα πιο πολύπλοκα οικοσυστήματα (Compant et al. 2019).

Ένα σημαντικό ποσοστό (20%-60%) του φωτοσυνθετικού C διοχετεύεται κάτω από το έδαφος. Μία περιεκτική επισκόπηση του θέματος έχουν δημοσιεύσει οι Neumann and Ludewig (2023). Ανάλογα με την δραστηριότητα των ριζών, το 15-60% αυτού του άνθρακα χρησιμοποιείται για την αναπνοή των ριζών και απελευθερώνεται ως CO<sub>2</sub>. Ωστόσο, ένα σημαντικό μέρος του αφομοιωμένου άνθρακα φτάνει στη ριζόσφαιρα ως οργανική ριζοαπόθεση (rhizodeposition). Η ποσότητα και η σύνθεση των ενώσεων

που απελευθερώνονται είναι εξαιρετικά μεταβλητή και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της θρεπτικής κατάστασης των φυτών, των περιβαλλοντικών συνθηκών, των βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων και των τεχνικών δειγματοληψίας. Οι εκτιμήσεις της ριζοαπόθεσης κυμαίνονται από 800 έως 4.500 kg C ha<sup>-1</sup> y<sup>-1</sup> και μπορεί να αντιπροσωπεύει έως και το 70% του C που κατανέμεται κάτω από το έδαφος στα πολυετή φυτά και έως και το 40% στα ετήσια. Αυτό σχετίζεται με ριζική εναπόθεση N της τάξης των 15 έως 60 kg ha<sup>-1</sup> y<sup>-1</sup>. Τα ελεύθερα αμινοξέα και οι πρωτεΐνες αντιπροσωπεύουν συνήθως μόνο ένα μικρό κλάσμα των οργανικών ενώσεων που απελευθερώνονται από τις ακέραιες ρίζες των φυτών (συνήθως 1%-2% του C που απελευθερώνεται). Ως εκ τούτου, η ριζοαπόθεση N θεωρείται ότι σχετίζεται κυρίως με τον ριζικό ρυθμό ανάπτυξης ή την εκροή ανόργανων μορφών N, όπως το αμμώνιο ή τα νιτρικά άλατα (Neumann and Ludewig 2023).

Στο έδαφος γενικά, η ανάπτυξη και η δραστηριότητα των μικροοργανισμών περιορίζονται κυρίως από τη διαθεσιμότητα του οργανικού άνθρακα, η οποία είναι συνέπεια της χαμηλής αποικοδόμησης της οργανικής ύλης του εδάφους λόγω της έλλειψης προσβασιμότητας (σε μικρούς πόρους και συσσωματώματα) και της πολύπλοκης φύσης της οργανικής ύλης. Αντίθετα, τα εκκρίματα των ριζών διαθέτουν συνήθως χαμηλό μοριακό βάρος και είναι εύκολα αποδομήσιμα, με αποτέλεσμα την σημαντικά υψηλότερη μικροβιακή πυκνότητα εντός της ριζόσφαιρας σε σχέση με τον όγκο του εδάφους (Marschner 2023). Η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών ασκεί επίσης επίδραση στη σύνθεση των μικροβιακών κοινοτήτων στη ριζόσφαιρα. Στο σιτάρι, η αναλογία των παθογόνων [*Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Arx & Olivier] και των ανταγωνιστών του (*Pseudomonas* spp.) στη ριζόσφαιρα επηρεάζεται από τη μορφή του αζωτούχου λιπάσματος που παρέχεται, με το αμμώνιο και τα νιτρικά να οδηγούν σε διαφορετικά αποτελέσματα (Sarniguet et al. 1992). Η σύνθεση της βακτηριακής κοινότητας επηρεάζεται επίσης από την ποσότητα και τον τύπο του φωσφορικού λιπάσματος που χορηγείται (Marschner et al. 2004).

Οι Donn et al. (2014) έδειξαν ότι τα εκκρίματα των ριζών των φυτών επηρεάζουν τη δομή των βακτηριακών κοινοτήτων στη ριζόσφαιρα τού σιταριού. Παρατήρησαν 10 φορές μεγαλύτερη αφθονία ακτινοβακτηρίων, ψευδομονάδων, ολιγότροφων (οργανισμοί που μπορούν να ζήσουν σε περιβάλλον με πολύ χαμηλή διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών) και κοπιότροφων (οργανισμοί που βρίσκονται σε περιβάλλοντα πλούσια σε θρεπτικά συστατικά) στη ριζόσφαιρα σε σύγκριση με το αδιατάρακτο έδαφος. Επιπλέον, οι ερευνητές ανέφεραν ότι η σύνθεση των κοινοτήτων της ριζόσφαιρας και τού ριζοστρώματος άλλαξε με την πάροδο του χρόνου, ενώ ο πληθυσμός τού αδιατάρακτου εδάφους παρέμεινε ανεπηρέαστος. Παρομοίως, οι Kawasaki et al. (2016) ανέφεραν ότι στη ριζόσφαιρα τού *Brachypodium distachyon* (L.) P.Beauv. (Poaceae) κυριαρχούσαν τα Burkholderiales, Sphingobacteriales και Xanthomonadales, ενώ στο αδιατάρακτο έδαφος κυριαρχούσε η τάξη Bacillales. Είναι γνωστό ότι τα εκκρίματα των ριζών, τα οποία περιλαμβάνουν οργανικά οξέα, αμινοξέα, λιπαρά οξέα, φαινόλες, ρυθμιστές της ανάπτυξης των φυτών, νουκλεοτίδια, σάκχαρα, πουτρεσκίνη, στερόλες

και βιταμίνες, ασκούν μεγάλη επίδραση στη σύνθεση των μικροβιακών κοινοτήτων κοντά στις ρίζες, φαινόμενο γνωστό ως επίδραση της ριζόσφαιρας (Hartmann et al. 2008, Mendes et al. 2013). Για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί ότι μια ομάδα αμυντικών δευτερογενών μεταβολιτών, δηλαδή τα βενζοξασζινοειδή, που απελευθερώνονται από τις ρίζες του αραβόσιτου, μεταβάλλουν τη σύνθεση της μικροβιακής χλωρίδας που σχετίζεται με τη ρίζα. Ειδικότερα, έχει βρεθεί ότι οι μικροοργανισμοί που ανήκουν στα Actinobacteria και Proteobacteria επηρεάζονται περισσότερο από βενζοξασζινόνες (Hu et al. 2018).

Επιπλέον, οι Zhalnina et al. (2018) διερεύνησαν τους παράγοντες που συμβάλλουν στη δημιουργία βακτηριακών κοινοτήτων στη ριζόσφαιρα του *Avena barbata* Pott ex Link (Poaceae). Τα ευρήματα της έρευνας έδειξαν ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ της χημικής σύνθεσης των ριζικών εκκρίσεων και των ειδικών αναγκών των βακτηρίων σε υπόστρωμα αποτελεί τον πρωτεύοντα παράγοντα που επηρεάζει τον σχηματισμό βακτηριακών κοινοτήτων στη ριζόσφαιρα. Οι Fitzpatrick et al. (2018) παρατήρησαν ένα ευρύ φάσμα βακτηριακών ειδών της ριζόσφαιρας, με ιδιαίτερη έμφαση σε αυτά που ανήκουν στο γένος *Pseudoxanthomonas*. Οι ερευνητές διέκριναν ότι αυτά τα είδη παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στην αφθονία μεταξύ 30 διαφορετικών ειδών αγχειόσπερμων φυτών. Συμπερασματικά, η σύνθεση των ριζικών εκκρίσεων, η οποία ποικίλλει ανάλογα με το είδος και τον γονότυπο του φυτού, έχει σημαντικό αντίκτυπο στη μικροβιακή χλωρίδα της ριζόσφαιρας.

Έχει αποδειχθεί ότι οι ρίζες των φυτών αποικίζονται επίσης εσωτερικά από ένα ευρύ φάσμα βακτηριακών ενδόφυτων, τα οποία συνήθως αναφέρονται ως ριζική ενδόσφαιρα. Τα βακτηριακά ενδόφυτα αποκτούν συχνά πρόσβαση στους ιστούς των ριζών μέσω παθητικών μηχανισμών, σε διαρρήξεις της ριζοδερμίδας ή σε σημεία έκπτυξης πλευρικών ριζών. Ωστόσο, υφίστανται και ενεργητικές διαδικασίες (Compant et al. 2005). Αυτά τα ενδόφυτα μπορεί να είναι βακτήρια, ακτινοβακτήρια ή μύκητες που έχουν τη δυνατότητα να επηρεάσουν την ανάπτυξη των φυτών και την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών. Οι μικροοργανισμοί αυτοί αποκτούν συχνά πρόσβαση στο φυτό μέσω του εδάφους. Η κοινότητα των ενδόφυτων είναι λιγότερο ποικιλόμορφη από την κοινότητα της ριζόσφαιρας, υποδεικνύοντας ότι τα φυτά έχουν την ικανότητα να ασκούν κάποιο έλεγχο στα μικρόβια που αποκτούν πρόσβαση στις ρίζες. Συνήθως, αποικίζουν τη ρίζα στη ζώνη ανάδυσης των πλευρικών ριζών, όπου τόσο η επιδερμίδα όσο και η ενδοδερμίδα είναι διαταραγμένες. Στη συνέχεια, τα ενδόφυτα μετακινούνται εντός του φυτού σε άλλα φυτικά μέρη μέσω του φλοιού και του αγχειώδους ιστού του ξύλου, όπου εγκαθίστανται ενδοκυτταρικά ή εξωκυτταρικά (Marschner 2023).

Η έρευνα έχει δείξει ότι η εγκατάσταση και η εξάπλωση των ενδόφυτων στα φυτά επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της κατανομής των πόρων από το φυτό και της ικανότητας του ενδόφυτου να αποικίζει τα φυτά. Ένα ευρύ φάσμα βακτηριακών ταξινομικών ομάδων είναι ικανό να εισέλθει στους ιστούς των ριζών. Για παράδειγμα, τα πιο διαδεδομένα φύλα που παρατηρήθηκαν στις ρίζες της αμπέλου ήταν τα Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria,

Bacteroidota, Verrucomicrobia, Planctomycetes, Chloroflexota, Firmicutes και Gemmatimonadota (Burns et al. 2015, Zarraonaindia et al. 2015, Faist et al. 2016, Samad et al. 2017). Οι πιο άφθονες οικογένειες που εντοπίστηκαν στις ρίζες τού ρυζιού ήταν οι Rhizobiaceae, Comamonadaceae, Streptomycetaceae και Bradyrhizobiaceae (Edwards et al. 2015). Ένα άλλο παράδειγμα είναι η έρευνα που διεξήχθη από τους Correa-Galeote et al. (2018), η οποία έδειξε ότι τα Proteobacteria, Firmicutes και Bacteroidota ήταν τα κυρίαρχα φύλα μέσα στις ρίζες τού αραβοσίτου. Η επικράτηση αυτών των φύλων παρατηρήθηκε ότι επηρεάζεται από το ιστορικό της καλλιέργειας τού εδάφους.

Ορισμένα ενδόφυτα έχουν την ικανότητα να παράγουν φυτοορμόνες ή να ενισχύουν την ανοχή των φυτών στις καταπονήσεις. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί, για παράδειγμα, μέσω της διάσπασης τού ACC (1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid) τού πρόδρομου συστατικού σύνθεσης τού αιθυλενίου, και μέσω της αδρανοποίησης των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι τα ενδόφυτα ενισχύουν την ανθεκτικότητα στις ασθένειες επιταχύνοντας την αμυντική αντίδραση τού φυτού στην προσβολή παθογόνων (Liu et al. 2017, Marschner 2023). Όσον αφορά στη θρέψη των φυτών, τα ενδόφυτα που παράγουν σιδηροφόρες ενώσεις έχουν την ικανότητα να ενισχύουν την πρόσληψη σιδήρου (Fe). Τα ενδόφυτα που δεσμεύουν N<sub>2</sub> έχει αποδειχθεί ότι αυξάνουν τη συσσώρευση αζώτου σε μη ψυχανθή. Ωστόσο, η πλειονότητα αυτών των μελετών έχει διεξαχθεί σε ελεγχόμενες συνθήκες (Marschner 2023). Η σημασία των ενδοφυτών για την ανοχή των φυτών στην καταπόνηση και την θρέψη στον αγρό παραμένει αβέβαιη (Liu et al., 2017).

### **Αλληλεπίδραση φυτών – μικροοργανισμών στη ριζόσφαιρα**

Τα υγιή και ασυμπτωματικά φυτά διατηρούν πολύπλοκες σχέσεις με το μικροβίωμα της ριζόσφαιράς τους που υποστηρίζουν την απόδοση των φυτών (Hassani et al. 2018). Τα φυτά επηρεάζουν τοπικά τη σύνθεση και τη δραστηριότητα τού μικροβιώματος της ριζόσφαιράς τους μεταβάλλοντας το pH τού εδάφους, την δομή τού εδάφους, τη διαθεσιμότητα οξυγόνου και παρέχοντας πηγή ενέργειας από εκκρίσεις πλούσιες σε άνθρακα (Dennis et al. 2010, Jacoby et al. 2021). Τα εκκρίματα των ριζών είναι χημικά ποικίλοι πρωτογενείς και δευτερογενείς μεταβολίτες, πολλοί από τους οποίους ασκούν βιοδραστικές επιδράσεις στους μικροοργανισμούς επηρεάζοντας την σύνθεση των ειδών και την λειτουργία τους (Pascale et al. 2020). Οι εκκρίσεις των ριζών των φυτών, οι οποίες αντιπροσωπεύουν έως και το ένα τρίτο τού φωτοσυντιθέμενου άνθρακα, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό τού αποτελέσματος των χημικών αλληλεπιδράσεων (Pausch and Kuzyakov 2018, O'Banion et al. 2020). Τα ριζικά εκκρίματα διαδραματίζουν ρόλο πρωταρχικής μορφής επικοινωνίας με το βιοτικό περιβάλλον των φυτών, διευκολύνοντας μια σειρά από αντιδράσεις, όπως η απορρόφηση θρεπτικών συστατικών, ο ανταγωνισμός για τους διαθέσιμους πόρους, η σηματοδότηση μεταξύ φυτών τού ίδιου είδους, η προσέλκυση μικροοργανισμών και πολλές άλλες αλληλεπιδράσεις (Sasse et al. 2018, Rizaludin et al. 2021). Ένας σύντομος κατάλογος των κυριότερων οργανικών ενώσεων που προέρχονται από τα ριζικά εκκρίματα περιλαμβάνει σάκχαρα, αμινοξέα, οργανικά οξέα, φαινολικές ενώσεις και δευτερογενείς

μεταβολίτες που περιλαμβάνουν κουμαρίνες, γλυκοζινολίδια, βενζοξαζινοειδή, καμαλεξίνη και τριτερπένια (Jacoby et al. 2020).

Η παροχή ενός ποικίλου περιβάλλοντος πλούσιου σε άνθρακα από τα φυτικά είδη επιτρέπει την ανάπτυξη μιας ιδιαίτερης μικροβιακής κοινότητας στη ριζόσφαιρα, η οποία παρέχει διάφορα πλεονεκτήματα προσαρμοστικότητας στο φυτό-ξενιστή (Badri and Vivanco 2009, Mönchgesang et al. 2016, Trivedi et al. 2020, Pantigoso et al. 2022). Επιπλέον, οι μεταβολίτες που προέρχονται από το ριζικό έκκριμα λειτουργούν ως σημαντικοί μεσολαβητές που δομούν μια ανθεκτική στην καταπόνηση μικροβιακή χλωρίδα για την ανακούφιση των φυτών από αβιοτικές καταπονήσεις, συμπεριλαμβανομένης της χαμηλής διαθεσιμότητας θρεπτικών στοιχείων, των ασθενειών και της υδατικής καταπόνησης (Vessey 2003, Pieterse et al. 2014, , Venturi and Keel 2016, , Olanrewaju et al. 2017, Ab Rahman et al. 2018, Monohon et al. 2021). Ο προσδιορισμός του μεταβολώματος και της μικροβιακής σύνθεσης υπό συνθήκες καταπόνησης αποτελεί μια εφικτή στρατηγική για την αντιμετώπιση των αβιοτικών και βιοτικών περιορισμών, ωστόσο, οι ευεργετικές επιδράσεις των μικροβιακών ταξινομικών ομάδων που εμπλουτίζονται στη ρίζα και οδηγούνται από εξειδικευμένους μεταβολίτες που προέρχονται από τις ριζικές εκκρίσεις παραμένουν ανεπαρκώς μελετημένες (Pantigoso et al. 2020a, 2020b, Hong et al. 2021).

### **Παράγοντες που συμβάλλουν στη συγκρότηση του μικροβιώματος της ριζόσφαιρας**

Τα φυτά ξενιστές επηρεάζουν τη σύνθεση του μικροβιώματος της ριζόσφαιρας από τα κοντινά εδάφη, όπου ορισμένα μέλη του μικροβιώματος προσλαμβάνονται ειδικά από τον ξενιστή, ενώ άλλα μικροβιακά μέλη συγκεντρώνονται ευκαιριακά (Lennon and Jones 2011, Stopnisek and Shade 2021). Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους είναι ο κύριος καθοριστικός παράγοντας της σύνθεσης της βακτηριακής κοινότητας που συνδέεται με τη ρίζα και ακολουθούν οι περιβαλλοντικές συνθήκες, ο γονότυπος του ξενιστή και η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών (Lundberg et al. 2012, Yeoh et al. 2017, Ren et al. 2020, Stopnisek and Shade 2021). Τα χρονικά πρότυπα και η εξέλιξη σε μεγάλες χρονικές κλίμακες διαμορφώνουν επίσης τη σύνθεση του μικροβιώματος της ρίζας, η οποία με την σειρά της επηρεάζει τον τρόπο με τον οποίο οι ξενιστές ανταποκρίνονται σε βιοτικούς και αβιοτικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες καταπόνησης (Fitzpatrick et al. 2018). Αρκετές πρόσφατες επισκοπήσεις της σχετικής βιβλιογραφίας έχουν ασχοληθεί με τη συγκρότηση και τα μακρο-οικολογικά πρότυπα του μικροβιώματος της ρίζας (Cordovez et al. 2019, Brunel et al. 2020, Fitzpatrick et al. 2020, Munoz-Ucros et al. 2021).

Τα μικρόβια που σχετίζονται με τη ρίζα, ελεύθερα, συμβιωτικά ή ενδοφυτικά, μπορούν να παράγουν διάφορους τύπους μορίων. Τα μικρόβια της ριζόσφαιρας μετριάζουν τις αντιδράσεις των φυτών στην καταπόνηση ρυθμίζοντας τη θρεπτική και ορμονική ισορροπία τους και προκαλώντας διασυστηματική ανοχή στις βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις και στην ανάπτυξη των φυτών. Τα μικρόβια της ριζόσφαιρας έχουν την ικανότητα να συνθέτουν φυτοορμόνες όπως το αψισικό οξύ, το

ινδολυλ-οξικό οξύ, οι κυτοκινίνες, το γιββερελικό οξύ, το σαλικυλικό οξύ, οι αυξίνες μεταξύ άλλων (Egamberdieva et al. 2017). Μια άλλη κατηγορία μορίων που εκλύονται από τα μικρόβια της ριζόσφαιρας, οι πτητικές οργανικές ενώσεις, μπορούν να οδηγήσουν σε δραστική προώθηση της ανάπτυξης των φυτών (Ryu et al. 2003, Bailly et al. 2014, Sánchez-López et al. 2016). Οι VOCs (volatile organic compounds) μπορούν επίσης να επηρεάσουν την πρόσληψη συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών, όπως ο Fe και το S, από τα φυτά (del Carmen Orozco-Mosqueda et al. 2013, Meldau et al. 2013, Zhang et al. 2009), γεγονός που υποδηλώνει ότι οι VOCs, που προέρχονται από την μεταβολική δραστηριότητα των βακτηρίων, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν από τα φυτά σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών συστατικών. Ωστόσο, οι μηχανισμοί που διέπουν την προώθηση της ανάπτυξης και την απόκτηση θρεπτικών συστατικών από μικροβιακές πτητικές ουσίες είναι ακόμη ελάχιστα κατανοητοί (Pantigoso et al. 2022).

Πρόσφατες έρευνες έχουν προτείνει ότι ένας μοναδικός βακτηριακός μικρόκοσμος της ρίζας διεγείρεται από συγκεκριμένες χημικές ενώσεις (π.χ. κουμαρίνες) που παράγονται από τα φυτά σε εδάφη με περιορισμένη διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων (Stringlis et al. 2018, Voges et al. 2019, Harbort et al. 2020). Οι μελέτες αυτές έχουν δείξει ότι οι εκκρινόμενες από τη ρίζα κουμαρίνες είναι επαγωγίμες υπό συνθήκες τροφοπενίας Fe και μεσολαβούν σε μια αλληλεπίδραση μεταξύ του ξενιστή και των συμβιωτικών μικροοργανισμών που βελτιώνουν τη θρέψη του ξενιστή με Fe (Jin et al. 2007, Fourcroy et al. 2014). Αυτή η αλληλεπίδραση υποδηλώνει ότι το μικροβίωμα της ρίζας αποτελεί αναπόσπαστο συστατικό της εδαφολογικής προσαρμογής των φυτών στην ανάπτυξη σε εδάφη με χαμηλή διαθεσιμότητα Fe (Pantigoso et al. 2022). Οι Brisson et al. (2022) έδειξαν ότι τα αμινοξέα, το σικιμικό και το κινικό οξύ (quinic acid), που αυξάνονται υπό συνθήκες τροφοπενίας P αξιοποιούνται κατά προτίμηση από μικροοργανισμούς που συσχετίστηκαν θετικά με την ανάπτυξη της ρίζας. Άλλες μελέτες έχουν καταδείξει μία ευθεία συσχέτιση μεταξύ της θρεπτικής κατάστασης των φυτών σε φώσφορο, του μικροβιώματος των ριζών και της περιεκτικότητας του εδάφους σε P (Castrillo et al. 2017, Finkel et al. 2019). Αυτό μπορεί να υποδηλώνει ότι τα φυτά διαμορφώνουν το πρότυπο της ριζικής έκκρισης για να διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό ομάδων μικροοργανισμών που βοηθούν στην απόκτηση θρεπτικών συστατικών ή εμπλέκονται στη σηματοδότηση μεταξύ φυτών και μικροβίων. Παρά τις προόδους στην κατανόηση της ποικιλομορφίας και των λειτουργικών ρόλων των ριζικών εκκρίσεων στην απορρόφηση P, N και Fe στο έδαφος μεταξύ των φυτικών ειδών, το θέμα αυτό παραμένει ανεπαρκώς μελετημένο σε σύγκριση με την έρευνα για την μορφολογία των ριζών και την μικροβιακή συμβίωση για την απόκτηση θρεπτικών συστατικών από τα φυτά (Pantigoso et al. 2022). Οι Wen et al. (2021) πρότειναν ότι η ενσωμάτωση της ριζικής έκκρισης, της μορφολογίας των ριζών και της μικροβιακής συμβίωσης είναι το κλειδί για τη σφαιρική κατανόηση των αλληλεπιδράσεων στο έδαφος.

## **Αξιοποίηση των μικροοργανισμών της ριζόσφαιρας και των ριζικών εκκρίσεων για τη βελτίωση της θρέψης των φυτών**

Τα φυτά στρατολογούν την πλειονότητα των μικροβίων τους μέσα στην εγγύς εδαφική κατατομή και μπορούν να επηρεαστούν σε μεγάλο βαθμό από μικροβιακά στελέχη-κλειδιά (Sánchez-Cañizares et al. 2017). Έχουν προταθεί διάφορες στρατηγικές για τη διαχείριση και την αξιοποίηση τού μικροβιώματος της ριζόσφαιρας για την υγεία των φυτών, ωστόσο η ικανότητά τους να εφαρμοστούν με επιτυχία σε ευρύτερη κλίμακα είναι περιορισμένη (Chaparro et al. 2012, Wallenstein 2017). Επί τού παρόντος, διάφορες προσεγγίσεις είναι διαθέσιμες και εφαρμόσιμες. Μια προσέγγιση είναι η μεταβολή της ριζόσφαιρας με απευθείας εμβολιασμό βακτηριακών ή μυκητολογικών στελεχών σε εδάφη κοντά στις ρίζες των φυτών (He et al. 2019).

Παρόλο που αυτή η στρατηγική καθίσταται ευρέως χρησιμοποιούμενη, στα μειονεκτήματά της περιλαμβάνονται η δυσκολία στη λεπτομερή ρύθμιση τού μικροβιακού αποικισμού των ριζών, ο ανταγωνισμός με την ιθαγενή κοινότητα μικροοργανισμών και η διατήρηση της λειτουργικότητάς τους σε συνθήκες εντατικής γεωργίας (Kaminsky et al. 2019, Salomon et al. 2022). Αυτό μπορεί να εξηγηθεί εν μέρει από την χωρική και χρονική μεταβλητότητα που βιώνουν οι μικροοργανισμοί στον αγρό μετά την εφαρμογή τους λόγω των διαφορών στη διαχείριση, καθώς και από τις τεχνικές προκλήσεις που αντιμετωπίζονται κατά τη διαδικασία επιλογής των στελεχών, παραγωγής και τυποποίησής τους (Kaminsky et al. 2019). Η ταυτοποίηση των βασικών γονιδίων που εμπλέκονται στη σχέση των μικροοργανισμών με τις ρίζες μπορεί να συμβάλει ουσιαστικά στην καλύτερη κατανόηση του τρόπου με τον οποίο τα βακτήρια αποικίζουν τις ρίζες (Bible et al. 2021).

Οι Cole et al. (2017) εντόπισαν ένα ολοκληρωμένο σύνολο μικροβιακών γονιδίων που ελέγχουν ή επηρεάζουν τον ανταγωνιστικό αποικισμό των ριζών στο φυτό-μοντέλο *Arabidopsis* (Brassicaceae). Οι Mavrodí et al. (2021) έδειξαν πώς τα ριζικά εκκρίματα μεταβάλλουν την έκφραση ποικίλων γονιδίων μεταβολισμού, μεταφοράς, ρυθμιστικών γονιδίων και γονιδίων απόκρισης στην καταπόνηση τού *Pseudomonas* στη ριζόσφαιρα τού *Brachypodium distachyon*. Τα ευρήματα αυτά υπογραμμίζουν τις δυνατότητες διαχείρισης και βελτίωσης τού αποικισμού των ωφέλιμων για τα φυτά μικροοργανισμών. Μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει μεταγονιδιωματική ανάλυση ενδοφυτικών βακτηριακών κοινοτήτων για τον προσδιορισμό γονιδιακών τμημάτων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη βασικών χαρακτηριστικών για την επιβίωση τού μικροβίου (Sessitsch et al. 2012). Προκειμένου να αναπτυχθεί το πλήρες λειτουργικό δυναμικό ενός εδαφικού εμβολίου, πρέπει να διευκρινιστούν πλήρως οι μηχανισμοί μικροβιακού αποικισμού και επιβίωσης (Pantigoso et al. 2022).

Η δομή και η δραστηριότητα των μικροβιακών κοινοτήτων επηρεάζονται έντονα από τη βιοδιαθεσιμότητα και τη σύνθεση των οργανικών υλικών στο έδαφος. Διάφορα οργανικά υλικά με απροσδιόριστη βιοχημική σύνθεση, όπως οργανικά κατάλοιπα (π.χ. κοπριά, κομπόστ, εκχυλίσματα κομπόστ, φυτικά εκχυλίσματα, χουμικά και φουλβικά οξέα κ.λπ.), χρησιμοποιούνται για την αύξηση

της ποικιλότητας με την προσδοκία ότι αυτό θα οδηγήσει σε αυξημένη μικροβιακή λειτουργικότητα (Griffiths and Philippot 2013). Μια πιο στοχευμένη προσέγγιση προτείνει τη χρήση γνωστών οργανικών καταλοίπων για να στρέψει τα επιθυμητά αποτελέσματα προς μια ευεργετική κατεύθυνση. Αυτό επιτυγχάνεται με τη διέγερση λειτουργικών βακτηριακών ομάδων μέσω πρακτικών διαχείρισης (Chararro et al. 2012, van Agtmaal et al. 2015). Η προσθήκη οργανικών υλικών που περιέχουν πρόδρομες ουσίες για μεταβολικά μονοπάτια θα μπορούσε να οδηγήσει στην παραγωγή ενώσεων βιοελέγχου, θρεπτικών ουσιών και μορίων που αμβλύνουν την καταπόνηση από αυτόχθονα βακτήρια του εδάφους (Garbeva and Weiskopf 2020).

Για παράδειγμα, έχειδειχθεί ότι τα πτητικά συστατικά που εκλύονται κάτω από το έδαφος από βακτήρια επέδρασαν ποικιλοτρόπως στην περιεκτικότητα των φυτών σε θρεπτικά συστατικά, γεγονός που υποδεικνύει ότι τα πτητικά αυτά συστατικά μπορούν να επηρεάσουν τη θρεπτική κατάσταση των φυτών (Martín-Sánchez et al. 2020). Ομοίως, οι Tsolakidou et al. (2019) πρότειναν ότι οι μικροβιακές κοινότητες συγκεκριμένης σύνθεσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εμβολιαστές κομπόστ για την παραγωγή κομπόστ με επιθυμητά χαρακτηριστικά, όπως ο βιολογικός έλεγχος στοχευμένων παθογόνων και η προώθηση της ανάπτυξης των φυτών. Η ανάπτυξη στοχευμένων μεθόδων εμβολιασμού και συγκεκριμένων κοινοτήτων μικροοργανισμών προσφέρει έναν χώρο για την αποσαφήνιση της εγγενούς πολυπλοκότητας των αλληλεπιδράσεων *in situ*, επιτρέποντας τον προσιτό έλεγχο των υποθέσεων με χειρισμό σε γνωτοβιοτικά συστήματα. Οι προκλήσεις, οι περιορισμοί και οι ευκαιρίες των συνθετικών κοινοτήτων για τη φυτική έρευνα εξετάζονται περαιτέρω από τους Vorholt et al. (2017).

Η έρευνα στην συνθετική βιολογία έχει αρχίσει να διερευνά την βελτιστοποίηση των τροποποιημένων ριζοβακτηρίων που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών με στόχο την ανάπτυξη στελεχών προσαρμοσμένων σε δυσμενή περιβάλλοντα, με επιθυμητά γνωρίσματα για συγκεκριμένους σκοπούς (Haskett et al. 2021). Πολλοί μηχανισμοί των βακτηρίων που κινητοποιούν θρεπτικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένης της διαλυτοποίησης αζώτου, φωσφόρου και της βιοσύνθεσης φυτοορμονών, έχουν αποσαφηνιστεί με λεπτομέρεια ώστε να μπορούν να τροποποιηθούν γενετικά. Για παράδειγμα, μια πρόσφατη μελέτη χρησιμοποίησε μια συνδυαστική προσέγγιση με βάση τη συνθετική βιολογία για την δημιουργία 82 βιοχημικά διαφορετικών ενζύμων φυτάσης, τα οποία ενσωματώθηκαν στα γονιδιώματα τριών βακτηριακών στελεχών. Σε αυτή τη μελέτη, ένα κλάσμα των ενζύμων ήταν ικανό να ανοργανοποιήσει το φυτικό οξύ, μια άφθονη οργανική ένωση-πηγή φωσφορικών αλάτων σε πολλά εδάφη, συνεπώς να το καταστήσει διαθέσιμη πηγή φωσφόρου και να προωθήσει την ανάπτυξη του *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Shulze et al. 2019).

Παρομοίως, άλλες σημαντικές πρόοδοι έχουν σημειωθεί πρόσφατα προς την κατεύθυνση της ανάπτυξης εφαρμογών σε ριζοβακτήρια που δεσμεύουν N και σχετίζονται με τα σιτηρά (Ryu et al. 2020), τα οποία χρησιμοποιούν φυτοορμόνες για να ενισχύσουν τη βιομάζα, την ανοχή σε αβιοτικούς παράγοντες καταπόνησης και να βελτιώσουν τον αποικισμό των μόνιμων βακτηρίων (Zúñiga-Feest et

al. 2018, Guo et al. 2019). Ωστόσο, μια σημαντική επικρατούσα πρόκληση είναι η ανάπτυξη ριζοβακτηρίων με σημαντικές ιδιότητες για την φυσιολογία των φυτών (π.χ. δέσμευση N, διαλυτοποίηση P) χωρίς το υψηλό ενεργειακό κόστος που αναπόφευκτα συνοδεύει τέτοια επωφελή χαρακτηριστικά. Οι PGPR μικροοργανισμοί έχουν αναπτύξει αυστηρά ρυθμιστικά συστήματα για τον έλεγχο της έκφρασης των γονιδίων *PGP* και της δραστηριότητας των χαρακτηριστικών *PGP* σε απόκριση στις περιβαλλοντικές ή εσωτερικές συνθήκες, επιτρέποντας τη διατήρηση της ενέργειας και των πόρων. Η ύπαρξη αυτής της γεωργικά ανεπιθύμητης ρύθμισης σημαίνει ότι ορισμένα PGPR μπορεί να έχουν μη βέλτιστες επιδόσεις στον αγρό (Haskett et al. 2021).

Τα εκκρίματα ρίζας έχουν προταθεί ως ένας εύλογος μηχανισμός για την λεπτομερή ρύθμιση τού φυτικού μικροβιώματος λόγω της χημικά ποικίλης σύνθεσής τους με σηματοδοτικές ιδιότητες και της ικανότητάς τους να επηρεάζουν τη σύνθεση και τη λειτουργία της μικροβιακής κοινότητας της ρίζας (Jacoby et al. 2020). Προηγούμενες έρευνες διερεύνησαν τη γενετική παραλλακτικότητα για να επαγάγουν χαρακτηριστικά που αυξάνουν την έκκριση οργανικών οξέων και ευνοούν θετικές συσχετίσεις με συμβιωτικούς ή μη συμβιωτικούς οργανισμούς τού εδάφους που ευνοούν τη θρέψη των φυτών. Για παράδειγμα, η φυσική και τεχνητή γενετική ποικιλομορφία για την έκκριση καρβοξυλικών ιόντων και φωσφατάσης έχει χρησιμοποιηθεί σε σειρές καλλιεργειών με αυξημένη ικανότητα πρόσληψης P (Pearse et al. 2007, George and Richardson 2008). Ωστόσο, αν και η έκκριση καρβοξυλικών και φωσφατάσης ήταν εμφανής σε ελεγχόμενες συνθήκες, η στρατηγική αυτή έδειξε μεταβλητή επιτυχία όταν αξιολογήθηκε σε εδάφη (Pantigoso et al. 2022).

Πρόσφατα, η έρευνα σχετικά με τα χαρακτηριστικά των ριζικών εκκρίσεων από άγριους συγγενείς σύγχρονων καλλιεργειών έχει προσφέρει ευκαιρίες για τη μείωση της χρήσης αγροχημικών (Iannucci et al. 2017, Preece and Penuelas 2020). Επειδή τα άγρια φυτικά είδη είναι συχνά σε θέση να αναπτύσσονται με επιτυχία, να αναπαράγονται και να διατηρούν επαρκή θρέψη σε φτωχά σε θρεπτικά συστατικά εδάφη, έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι οι άγριοι τύποι μπορεί να παράγουν διαφορετικά εξωκυτταρικά ένζυμα και υψηλότερο ποσοστό απελευθέρωσης οργανικών ανιόντων με αποτέλεσμα την αποτελεσματικότερη διαλυτοποίηση τού P (Preece and Peñuelas 2020). Διαφορετικά πρότυπα μικροβιακής σύνθεσης στη ριζόσφαιρα σύγχρονων καλλιεργειών σε σχέση με τους άγριους προγόνους τους έχουν αναφερθεί στην πατάτα και τον αραβόσιτο (Pantigoso 2020a, 2020b, Schmidt et al. 2020). Για παράδειγμα, το μικροβίωμα της ριζόσφαιρας της άγριας πατάτας αποδείχθηκε ότι συσχετίζεται με την υψηλότερη ικανότητα πρόσληψης και αξιοποίησης τού P σε σύγκριση με τις σύγχρονες ποικιλίες πατάτας. Άλλες σημαντικές μελέτες που διερευνούν τις διαφορές στο μικροβίωμα της ριζόσφαιρας των καλλιεργούμενων φυτών σε σύγκριση με τα αντίστοιχα άγρια είδη έχουν αυξήσει την κατανόησή μας για τις μετατοπίσεις της ριζοβακτηριακής κοινότητας κατά την εξημέρωση (Mendes et al. 2018, Pérez-Jaramillo et al. 2017, 2019).

Η στενή σχέση μεταξύ των ριζικών εκκρίσεων και τού μικροβιώματος της ριζόσφαιρας και οι τελευταίες ανακαλύψεις σχετικά με τη δυνατότητα κληρονόμησης τού φυτικού μικροβιώματος ενισχύουν τις προσπάθειες αξιοποίησης των ριζικών εκκρίσεων από άγριους συγγενείς για τη βελτίωση των λειτουργικών χαρακτηριστικών των σύγχρονων καλλιεργειών (Peiffer et al. 2013, Rüger et al. 2021). Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι είναι δυνατόν να επηρεαστεί η σύνθεση τού ριζικού εκκριμάτος για τον εμπλουτισμό ορισμένων βακτηριακών κοινοτήτων σε όλο το ριζικό σύστημα (Kawasaki et al. 2021). Το πλεονέκτημα αυτής της προσέγγισης είναι ότι οι ριζικές εκκρίσεις εναποτίθενται στη διεπιφάνεια ρίζας-εδάφους, όπου πιθανότατα επηρεάζουν τη μικροβιακή ανάπτυξη. Επιπλέον, η απελευθέρωση υποστρωμάτων κατά μήκος τού κύκλου ζωής τού ξενιστή μπορεί να διατηρήσει την πίεση επιλογής σε μια εγκατεστημένη κοινότητα. Εναλλακτικές προσεγγίσεις ενθαρρύνουν τον εντοπισμό, την επιλογή και τη χρήση ορισμένων ριζικών εκκριμάτων για την άμεση κινητοποίηση θρεπτικών στοιχείων στα εδάφη και την χρήση τους σε συνδυασμό με εκλυτικούς παράγοντες (elicitors) για την ενίσχυση τού πολλαπλασιασμού των εμβολίων (Garbeva and Weiszkopf 2020, Rizaludin et al. 2021).

### **Συμπερασματικά σχόλια**

Η μελέτη της ριζόσφαιρας, της περιοχής τού εδάφους που επηρεάζεται από τις ρίζες των φυτών, έχει εξαιρετική σημασία για την κατανόηση των αλληλεπιδράσεων φυτών-μικροβίων-εδάφους και των επιπτώσεών τους στην υγεία των φυτών. Έχει αποδειχθεί ότι ορισμένοι μικροοργανισμοί που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών (PGPM) ασκούν ευεργετικές επιδράσεις σε αυτά. Οι ερευνητές μελετούν μεθόδους χειρισμού τού μικροβιώματος της ριζόσφαιρας με στόχο την αύξηση των αποδόσεων των καλλιεργειών και τη μείωση της εξάρτησης από χημικές εισροές. Ωστόσο, οι λειτουργίες τού μικροβιώματος της ριζόσφαιρας επηρεάζονται τόσο από τις αβιοτικές συνθήκες όσο και από τις ποικίλες αλληλεπιδράσεις ειδών εντός της κοινότητας. Προκειμένου να αξιοποιηθούν πλήρως οι ευεργετικές λειτουργίες των μικροοργανισμών της ριζόσφαιρας, είναι απαραίτητο να κατανοηθούν οι αρχές που διέπουν τη συγκρότηση τού μικροβιώματος, όπως και οι πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ τού μικροβιώματος και τού φυτού ξενιστή. Οι γνώσεις αυτές θα συμβάλουν στην ανάπτυξη στρατηγικών για τη βιώσιμη γεωργία και στην προώθηση αποτελεσματικότερης φυτοπροστασίας από εχθρούς και περιβαλλοντικές καταπονήσεις.

## Κεφάλαιο 2

---

### Μικροβίωμα στο φυτό (ενδοφυτικό – επιφυτικό)

#### Εισαγωγή

Όλα τα φυτά στη Γη είναι μέρος ενός οικοσυστήματος με διαφορετικές μικροβιακές κοινότητες, συμπεριλαμβανομένων βακτηρίων, αρχαίων και μυκήτων. Οι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στη διασφάλιση της ανάπτυξης, της εξέλιξης και της ανθεκτικότητας των φυτών σε διάφορους παράγοντες καταπόνησης καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους (Stone et al. 2000, Cho et al. 2015). Ο όρος «ενδοφυτικός» χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον De Bary (1887) για να περιγράψει οργανισμούς που διαβιούν στους εσωτερικούς ιστούς των φυτών (Mamarasulov and Davranov 2024). Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε εκτενώς από τους Hallmann et al. (1997) για να περιγράψει βακτήρια που δεν προκαλούν σημαντική βλάβη στο φυτό-ξενιστή. Αυτός ο ορισμός των ενδοφυτικών μικροοργανισμών εφαρμόστηκε σε μικροοργανισμούς που απομονώθηκαν από πληθώρα φυτών τις τελευταίες δύο δεκαετίες (Prieto et al. 2011, Castanheira et al. 2017, Rangjaroen et al. 2017).

Οι ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί προστατεύουν τα φυτά από βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις και συμβάλλουν στην θρέψη τους. Είναι γνωστό ότι οι ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί επηρεάζουν την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών, τη δυναμική των πληθυσμών των φυτών, τη βιολογική τους ποικιλότητα και τις λειτουργίες τους στο οικοσύστημα (Egamberdiyeva and Höflich 2003, Hardoim et al. 2015). Αυτοί οι μικροοργανισμοί ενεργοποιούν όλους τους μοριακούς μηχανισμούς που διαθέτουν για να επιβιώσουν, συν-αποικίζοντας το φυτικό σώμα (Yu et al. 2010). Κατά τη μακρά εξέλιξη τόσο στα φυτά όσο και στους μικροοργανισμούς, οι ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί έχουν αναπτύξει αμυντικούς μηχανισμούς έναντι όλων των φυσικών και χημικών παραγόντων για να επιβιώσουν στους εσωτερικούς ιστούς του φυτού (Hardoim et al. 2015). Οι ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί βοήθησαν τα πρώτα φυτά στη γη να εγκατασταθούν στο έδαφος και να αυξήσουν την αντοχή τους στους διάφορους παράγοντες καταπόνησης που προκύπτουν στη φύση (Bonfante and Selosse 2010, Hashem et al. 2014). Κατά τη διάρκεια των εκατομμυρίων ετών εξέλιξης, τα ενδόφυτα έχουν προσαρμοστεί πλήρως στις γενετικές παραλλαγές του μικροπεριβάλλοντος των φυτών (Germaine et al. 2004). Ως αποτέλεσμα αυτών των εξελικτικών προσαρμογών, οι ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί έχουν αποκτήσει την ικανότητα να παράγουν βιολογικά ενεργούς δευτερογενείς μεταβολίτες και τις πρόδρομες ενώσεις τους σε μια διαδικασία που συνδέεται στενά με τον μεταβολισμό του φυτού (Mamarasulov and Davranov 2024).

Όλα τα υπάρχοντα είδη φυτών στη Γη φιλοξενούν εκατομμύρια μικροβιακά είδη (Mamarasulov and Davranov 2024). Έχουν αναγνωριστεί συνολικά 200 γένη βακτηριακών μικροοργανισμών, που ανήκουν σε 16 είδη που αποικίζουν τους εσωτερικούς ιστούς των φυτών. Η πλειονότητα αυτών των μικροοργανισμών ανήκει στα φύλα Actinobacteria και Proteobacteria (Golinska et al. 2015). Περίπου

το 76% των ταυτοποιημένων μικροοργανισμών ανήκει επίσης στο γένος *Streptomyces*. Μελέτες σχετικά με τη βιοποικιλότητα των ενδοφυτικών βακτηρίων έδειξαν ότι υπάρχουν  $10^4$ - $10^5$  ενδοφυτικά βακτήρια ανά γραμμάριο ριζικού ιστού (Bulgarelli et al. 2013). Η βιοποικιλότητα της κοινότητας των ενδοφυτικών βακτηρίων στις ρίζες των φυτών καθορίζεται από τη σύνθεση των βακτηριακών κοινοτήτων που υπάρχουν. Αυτές περιλαμβάνουν (1) Proteobacteria (50%), (2) Actinobacteria (10%), (3) Firmicutes (10%) και (4) Bacteroidetes (10%) (Compant et al. 2010). Τα ενδοφυτικά βακτήρια έχουν την ικανότητα να επιλέγουν το φυτό-ξενιστή τους, συμπεριλαμβανομένου του μεσοκυττάριου χώρου και του αποπλάστη, των πλευρικών περιοχών της ρίζας, των εξωτερικών κυτταρικών στοιβάδων, τού φλοιού της ρίζας, της φλοιώδους και ξυλώδους μοίρας τού αγγειακού συστήματος των φυτών (Reinhold-Hurek et al. 2006). Αυτή η γενετική ανταλλαγή επιτρέπει στα βακτήρια να περιηγούνται στο φυτικό σώμα, να επιδεικνύουν χημειοταξία, να εκκρίνουν ένζυμα που διασπούν το κυτταρικό τοίχωμα και να συνθέτουν δευτερογενείς μεταβολίτες, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που επηρεάζουν τον ξενιστή (Mamarasulov and Davranov 2024).

Η αύξηση και η ανάπτυξη των καλλιεργειών περιορίζεται τόσο από τις βιοτικές όσο και από τις αβιοτικές καταπονήσεις τού περιβάλλοντος. Η σχεδόν αποκλειστική προσήλωση στη χρήση αγροχημικών για την εξασφάλιση της παραγωγής έχει συχνά ως αποτέλεσμα τη διατάραξη της δομής και της σύνθεσης τού εδάφους, καθώς και την ανάδειξη τοξικολογικών παραμέτρων (Shurigin et al. 2022, Mamarasulov and Davranov 2024). Κατά την τελευταία δεκαετία έχουν διεξαχθεί πολλές επιστημονικές έρευνες για τον προσδιορισμό της λειτουργίας των ενδοφυτικών και ριζοσφαιρικών βακτηρίων στη βιωσιμότητα της γεωργίας με μακροπρόθεσμο και φιλικό προς το περιβάλλον τρόπο. Η έρευνα έχει δείξει ότι η μεταβολική δραστηριότητα αυτών των μικροοργανισμών οδηγεί στον σχηματισμό φυσιολογικά ενεργών δευτερογενών μεταβολιτών. Αυτοί έχουν σημαντικό αντίκτυπο στη βελτίωση της αύξησης και της ανάπτυξης των φυτών ξενιστών, καθώς και στην αύξηση της ανθεκτικότητάς τους σε αβιοτικές και βιοτικές καταπονήσεις. Στον κατάλογο αυτόν περιλαμβάνονται είδη των γενών *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Serratia*, *Microbacterium*, *Pseudomonas* και *Xanthomonas* που ανήκουν σε διάφορα φύλα όπως τα Actinobacteria και Proteobacteria (Mamarasulov and Davranov 2024).

Οι ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί, ιδίως βακτηριακά στελέχη των γενών *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azoarcus*, *Enterobacter*, *Serratia* και *Stenotrophomonas*, έχουν την ικανότητα να ενισχύουν την ανάπτυξη των καλλιεργούμενων φυτών. Τα βακτήρια αυτά δεσμεύουν επίσης άζωτο και παράγουν ουσίες όπως φυτοορμόνες, σιδηροφόρες ενώσεις και απαμινάση τού ACC, οι οποίες συμβάλλουν στους μηχανισμούς ανάπτυξης των φυτών (Krause et al. 2006, Taghavi et al. 2009, Coutinho et al. 2015).

Τα βακτήρια PGPR ή ριζοβακτήρια που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών, δρουν ως βιοτικοί εκλυτικοί παράγοντες (biotic elicitors), διεγείροντας την παραγωγή φυσιολογικά ενεργών δευτερογενών

μεταβολιτών από τα φυτά. Όταν τα φυτά υφίστανται μόλυνση από παθογόνα, όπως μύκητες, βακτήρια και προσβολή από ζωικά παράσιτα, αναπτύσσουν διάφορα συστήματα άμυνας. Οι μηχανισμοί άμυνας ενός φυτικού κυττάρου όταν προσβάλλεται από παθογόνα και λοιπά παράσιτα περιλαμβάνουν την αμυντική αντίδραση που συνδέεται με τον κυτταρικό θάνατο (αντίδραση υπερευπάθειας), την παραγωγή αντιμικροβιακών δευτερογενών μεταβολιτών (φυτοαλεξίνες) και την παραγωγή πρωτεϊνών PR (pathogenesis related) με αντιμικροβιακές ιδιότητες. Τα PGPR έχουν την ικανότητα να εξαλείφουν ασθένειες που προκαλούνται από παθογόνα προκαλώντας διασυστηματική αντοχή στα φυτά, μια διαδικασία γνωστή ως ISR (induced systemic resistance, επαγόμενη διασυστηματική αντοχή) (Kloepper and Beauchamp 1992, Mamarasulov and Davranov 2024).

Οι μηχανισμοί εξάλειψης των ασθενειών που χρησιμοποιούν τα ριζοβακτήρια PGPR και οι ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί στα φυτά ξενιστές τους, περιλαμβάνουν τη σύνθεση αντιβιοτικών, την ISR, τη διέγερση της ανάπτυξης των φυτών, τον ανταγωνισμό με τα παθογόνα, τον παρασιτισμό και την παρεμβολή στη σηματοδότηση. Ακόμη, το σύστημα επαγωγής αντιοξειδωτικών ενζύμων ROS, που αποτελείται από την υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), υπεροξειδάση (POX) και καταλάση (CAT), είναι ένας κοινός μηχανισμός για την αντιμετώπιση των ROS που παράγονται υπό συνθήκες καταπόνησης και μεταφέρονται στο φυτό από το περιβάλλον (Berg et al. 2017).

### **Ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί**

Οι ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί (ενδόφυτα) είναι συνήθως μη παθογόνοι μύκητες ή βακτήρια που, σε κάποιο σημείο του κύκλου ζωής τους, αποικίζουν τους εσωτερικούς χώρους των φυτικών ιστών, συμπεριλαμβανομένων των ριζών, των στελεχών, των φύλλων, των ανθέων ή των σπόρων (Stone et al. 2000, Schulz and Boyle 2006). Τα ενδόφυτα μπορεί να είναι περιορισμένα όσον αφορά στην κατανομή τους και τις μεταβολικές τους δραστηριότητες εντός των φυτικών ιστών, να εντοπίζονται σε ιστούς σε σχεδόν λανθάνουσα κατάσταση. Εναλλακτικά, οι ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί μπορεί να κατανέμονται διασυστηματικώς σε πολλούς ιστούς των φυτών (Rodríguez et al. 2009). Όσον αφορά στη θέση των ενδοφύτων εντός των κυττάρων και των ιστών του ξενιστή, κατανέμονται κυρίως στον αποπλασματικό χώρο (μεσοκυττάριο). Στην περίπτωση των βακτηριακών ενδοφύτων, μπορεί να αποκτήσουν ενδοκυτταρική διασπορά και να εισέλθουν στα κύτταρα του ξενιστή στο κυτταρόπλασμα ή να τοποθετηθούν σε περιπλασματικούς χώρους μεταξύ του κυτταρικού τοιχώματος και της πλασματικής μεμβράνης (Paungfoo-Lonhienne et al. 2010, Thomas and Sekhar 2014, White et al. 2014a). Οι επιφυτικοί μικροοργανισμοί (επίφυτα) είναι μη παθογόνοι μύκητες, βακτήρια ή φύκη που παραμένουν περιορισμένοι στην επιφάνεια του φυτού καθ' όλη τη διάρκεια του κύκλου ζωής τους, χωρίς να διεισδύουν στο εσωτερικό (Zambell and White 2014).

Οι υπέργειοι φυτικοί ιστοί, όπως τα φύλλα και τα άνθη, δημιουργούν ξεχωριστά ενδιαίτηματα που υποστηρίζουν ένα ευρύ φάσμα ενδοφύτων και επιφύτων. Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν αξιοσημείωτες διαφορές στα οικολογικά χαρακτηριστικά των βακτηρίων της ενδόσφαιρας και της φυλλόσφαιρας. Η

πλειονότητα των ενδοφύτων διασπείρεται διασυστηματικά μέσω του ξυλώδους αγγειακού συστήματος σε συγκεκριμένα μέρη του φυτού, συμπεριλαμβανομένου των βλαστών, των φύλλων και των καρπών (Compant et al. 2011, 2019). Επιπλέον, είναι ικανά να εισέρχονται στους φυτικούς ιστούς μέσω των εναέριων φυτικών τμημάτων, όπως τα άνθη και οι καρποί (Compant et al. 2011). Η σύνθεση των ενδοφυτικών κοινοτήτων εξαρτάται από το φυτό και το συγκεκριμένο φυτικό διαμέρισμα στο οποίο βρίσκονται. Έχει αποδειχθεί ότι τα βακτήρια της φυλλόσφαιρας προέρχονται από το έδαφος και επηρεάζονται τόσο από το φυτό όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Ωστόσο, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες ασκούν εντονότερη επιρροή (Vorholt 2012, Zarraindia et al. 2015, Wallace et al. 2018). Προκύπτει ότι τόσο στην ενδόσφαιρα όσο και στη φυλλόσφαιρα μπορεί να υπάρχουν διαφορετικοί μικροοργανισμοί σε επίπεδο γένους και είδους. Σε διερεύνηση των μικροοργανισμών που υπάρχουν στη φυλλόσφαιρα ή καρπόσφαιρα της αμπέλου εντοπίστηκε η παρουσία των ακόλουθων γενών: *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Frigoribacterium*, *Curtobacterium*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Erwinia*, *Citrobacter*, *Pantoea* και *Methylobacterium*. Τα επικρατέστερα γένη ταυτοποιήθηκαν ως *Burkholderia* και *Ralstonia* (Zarraindia et al. 2015, Kecskeméti et al. 2016), ενώ τα ενδόφυτα στους βότρες της αμπέλου έδειξαν σαφή κυριαρχία των γενών *Ralstonia*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Mesorhizobium*, *Propionibacterium*, *Dyella* και *Bacillus* (Campisano et al. 2014).

Σε μελέτη των Wallace et al. (2018) εξετάστηκε το μικροβίωμα των φύλλων αραβοσίτου σε 300 διαφορετικές σειρές αραβοσίτου και εντοπίστηκαν τα γένη *Sphingomonas* και *Methylobacterium* ως οι κυρίαρχες ταξινομικές ομάδες. Οι συγγραφείς έδειξαν επίσης ότι η μικροβιακή σύνθεση της φυλλόσφαιρας επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Σε άνθη μηλιάς, οι Steven et al. (2018) εντόπισαν το *Pseudomonas* και γένη της οικογένειας Enterobacteriaceae ως επικρατέστερες ομάδες. Ομοίως, πολυάριθμες μελέτες σε άνθη μηλιάς, αμυγδαλιάς, γκρέιπφρουτ, καπνού και κολοκυθιάς εντόπισαν το γένος *Pseudomonas* ως το πιο άφθονο γένος (Alekkett et al. 2014). Στα βακτήρια που σχετίζονται με τα σπέρματα διαπιστώθηκε ότι περιλαμβάνουν κυρίως είδη των φύλων Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes και Firmicutes (Johnston-Monje and Raizada 2011, Liu et al. 2012, Barret et al. 2015, Rodríguez et al. 2018). Οι μικροοργανισμοί των σπερμάτων σχετίζονται με τους μικροοργανισμούς του εδάφους αλλά και με εκείνους των ανθέων και των καρπών (Compant et al. 2010, Mitter et al. 2017, Glassner et al. 2018). Γενικά, το μικροβίωμα των υπέργειων τμημάτων των φυτών προέρχεται κυρίως από το έδαφος, τους σπόρους και την ατμόσφαιρα. Προσαρμόζεται πάνω ή εντός των φυτικών ιστών, όπου διάφοροι παράγοντες, όπως το έδαφος, το περιβάλλον και η διαχείριση της καλλιέργειας, διαμορφώνουν την σύνθεση της κοινότητας. Η ειδική για τον ξενιστή και το διαμέρισμα συγκρότηση υποδεικνύει μια ισχυρή λειτουργική σχέση μεταξύ του φυτού και τού υπέργειου μικροβιώματός του. Τα ενδόφυτα και το υπέργειο μικροβίωμα είναι γνωστά για τις

δυνατότητές τους να προάγουν την ανάπτυξη των φυτών, να βελτιώνουν την ανθεκτικότητα στις ασθένειες και να μετριάζουν την ανοχή στν καταπόνηση (Comprant et al. 2019).

### **Τα ενδοφυτικά και επιφυτικά μικρόβια συνιστούν λειτουργικά συστατικά των φυτικών μικροβιωμάτων**

Η έλευση της μεταγονιδιοματικής ανάλυσης αποκάλυψε ότι τα φυτά φιλοξενούν πλήθος μικροβίων, ενδοφυτικώς και επιφυτικώς, στις ρίζες ή στα υπέργεια μέρη των φυτών (Bulgarelli et al. 2013). Επιπλέον, έχει υποστηριχθεί ότι ένα σημαντικό ποσοστό των μικροβίων προσλαμβάνεται προερχόμενο από μικροβιακούς πληθυσμούς τού εδάφους μέσω μιας διαδικασίας που περιλαμβάνει τον εμπλουτισμό της ριζόσφαιρας με εκκρίματα της ρίζας, ακολουθούμενο από τον αποικισμό συμβατών μικροβίων στους εσωτερικούς φυτικούς ιστούς (Zarraonaindia et al. 2015). Άλλοι μικροβιακοί πληθυσμοί των φυτών, όπως τα ενδόφυτα τού γένους *Epichloë* (Fr.) Tul. (Ascomycota, Hypocreales, Clavicipitaceae), δεν προέρχονται από το έδαφος, αλλά αναπτύσσονται αποκλειστικά στα φυτά (Spatafora et al. 2007, Torres and White 2009).

Έχει διεξαχθεί σημαντικός όγκος ερευνών εδώ και αρκετές δεκαετίες σχετικά με τα μικροβιακά ενδόφυτα (Clay 1988, Petrini 1991) και τα ριζοβακτήρια (Kloepper et al. 2004), ωστόσο η εικόνα που έχει προκύψει είναι ακόμη ελλιπής. Γίνεται όλο και πιο εμφανές ότι το φυτικό μικροβίωμα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην υποστήριξη της ανάπτυξης και της επιβίωσης των φυτών. Αν και η εικόνα είναι ημιτελής, ωστόσο είναι πλέον σαφές ότι τα ενδοφυτικά και επιφυτικά μικρόβια αποτελούν λειτουργικά συστατικά τού φυτικού μικροβιώματος (White et al. 2014b). Έχει αναφερθεί ότι τα ενδοφυτικά μικρόβια ανήκουν σε μία ή περισσότερες από τρεις μεγάλες λειτουργικές ομάδες: α) Μικρόβια που αμβλύνουν την αβιοτική καταπόνηση τού φυτού ξενιστή, β) μικρόβια που προασπίζουν τα φυτά-ξενιστές από βιοτικούς παράγοντες καταπόνησης και γ) μικρόβια που υποστηρίζουν τον ξενιστή θρεπτικά, είτε μέσω παροχής αζώτου, φωσφόρου, σιδήρου ή βιταμινών. Αυτή η λειτουργική πτυχή των μη παθογόνων ενδοφύτων και επιφύτων των φυτών δημιουργεί τη δυνατότητα σχεδιασμού και χειρισμού μικροβιωμάτων για καλλιεργούμενα φυτά, προκειμένου να βελτιωθεί η καλλιέργειά τους με μειωμένες εισροές αγροχημικών και με χαμηλότερο κόστος. Ωστόσο, για την σύνθεση λειτουργικών μικροβιωμάτων, πρέπει πρώτα να κατανοηθεί ο τρόπος λειτουργίας τους (Bacon and White 2016).

### **Άμβλωση της αβιοτικής καταπόνησης**

Έχει αποδειχθεί ότι ο εμβολιασμός με μη παθογόνα μικρόβια οδηγεί σε αυξημένη ανοχή σε αβιοτική καταπόνηση, όπως στην περίπτωση των μυκορριζών (Hameed et al. 2014), των ενδοφυτικών μυκήτων και βακτηρίων (Malinowski et al. 2005, Waller et al. 2005, Rodriguez et al. 2008, Saraf et al. 2014, Gond et al. 2015α). Οι Waller et al. (2005) έδειξαν ότι ο ενδοφυτικός βασιδιομύκητας *Serendipita indica* M. Weiß, Waller, A. Zuccaro & Selosse (συν.: *Pyriiformospora indica*) (Sebaginales, Serendipitaceae) ενισχύει την ανοχή τού φυτού ξενιστή στην αλατότητα. Ο μύκητας προάγει την αντιοξειδωτική άμυνα και την έκφραση γονιδίων καταπόνησης και μπορεί να προσδώσει ανοχή στην

καταπόνηση σε καλλιέργειες και φυτά (Gill et al. 2016). Οι Malinowski et al. (2005) διαπίστωσαν ότι ο ενδοφυτικός ασκομύκητας *Epichloë coenophiala* (Morgan-Jones & W.Gams) C.W. Bacon & Schardl (Clavicipitaceae) προσδίδει αυξημένη ανοχή στην ξηρασία στο αγρωστώδες φυτό-ξενιστή του. Οι Saraf et al. (2014) και Gond et al. (2015a) απέδειξαν ότι τα φυτά που έχουν μολυνθεί με βακτηριακά ενδόφυτα παρουσιάζουν αυξημένη ανοχή στην αλατότητα. Ωστόσο, οι υποκείμενοι μηχανισμοί αυτού τού φαινομένου παραμένουν ελάχιστα κατανοητοί. Οι Rodriguez et al. (2008) πρότειναν ότι διαφορετικά ενδόφυτα μπορεί να προσαρμόζουν τα φυτά σε διαφορετικές καταπονήσεις. Η υπόθεση αυτή υποστηρίχθηκε καθώς ενδόφυτα σε παράκτια φυτά παρείχαν στα φυτά ανοχή στα άλατα, ενώ εκείνα που βρίσκονταν κοντά σε θερμές πηγές παρείχαν στα φυτά ανοχή στη θερμότητα. Παρατηρήθηκε ότι τα μικρόβια που προσέφεραν ανοχή σε ένα είδος καταπόνησης δεν προσέφεραν ανοχή στο άλλο είδος καταπόνησης. Για να κατανοήσουμε πλήρως το φαινόμενο της ενισχυμένης από ενδόφυτα ανοχής στην καταπόνηση, είναι απαραίτητο να κατανοήσουμε βαθύτερα τους ακριβείς μηχανισμούς ενίσχυσης αυτής της ανοχής (Bacon and White, 2016).

Οι μηχανισμοί με τους οποίους τα μικρόβια ενισχύουν την ανοχή των φυτών στην καταπόνηση παραμένουν ασαφείς. Έχουν προταθεί διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί, μεταξύ των οποίων οι ακόλουθοι: 1) Προστασία από την οξειδωτική καταπόνηση μέσω της αυξημένης παραγωγής αντιοξειδωτικών που παράγονται είτε από τα μικρόβια είτε από τους ξενιστές ως απόκριση στα μικρόβια. 2) Ρύθμιση των επιπέδων αιθυλενίου μέσω της μικροβιακής παραγωγής της ACC απαμινάσης, τού ενζύμου που αποδομεί την πρόδρομη ουσία τού αιθυλενίου. 3) Οσμωτική ρύθμιση μέσω της παραγωγής οσμωρυθμιστικών ενώσεων από τα μικρόβια (Bacon and White, 2016).

### **Προστασία από την οξειδωτική καταπόνηση**

Η υπόθεση αυτή διατυπώθηκε με βάση τη διαπίστωση ότι ένας σημαντικός αριθμός ενδοφύτων προκαλεί αυξημένη έκφραση αντιοξειδωτικών ενζύμων και αντιοξειδωτικών φαινολικών ενώσεων στα φυτά. Η αυξημένη παραγωγή αντιοξειδωτικών ουσιών είναι μείζονος σημασίας, καθώς συνέπεια καταστάσεων αβιοτικής καταπόνησης είναι η αύξηση της ενεργότητας τού δραστικού οξυγόνου στους φυτικούς ιστούς (White and Torres 2010). Οι Waller et al. (2005) έδειξαν ότι κατά τη μόλυνση των ριζών τού κριθαριού με τον ενδοφυτικό μύκητα *Serendipita indica*, ο ξενιστής παρουσιάζει αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας λόγω της ενεργοποίησης τού κύκλου γλουταθειόνης-ασκορβικού οξέος τού ξενιστή. Οι White και Torres (2010) πρότειναν ότι η αποφυγή της οξειδωτικής καταπόνησης μέσω της παραγωγής αντιοξειδωτικών ενώσεων θα μπορούσε να εξηγήσει την αυξημένη ανοχή στην καταπόνηση που προσδίδουν οι ενδοφυτικοί μύκητες τού γένους *Epichloë* στα αγρωστώδη φυτά-ξενιστές.

Η παραγωγή αντιοξειδωτικών ουσιών από πολυάριθμα ενδοφυτικά μικρόβια (Schulz et al. 2002, Huang et al. 2007) φαίνεται να παρέχει περαιτέρω στοιχεία για την υποστήριξη αυτού του υποθετικού μηχανισμού. Οι Hamilton et al. (2012) υποστήριξαν την υπόθεση ότι η διαμεσολάβηση των ενδοφύτων στις ενεργές μορφές οξυγόνου μπορεί να διαδραματίσει βασικό ρόλο στις αλλαγές που προκαλούνται

από ενδόφυτα στην ευπάθεια των φυτών ξενιστών στην οξειδωτική καταπόνηση. Επιπλέον, οι Hamilton and Bauerle (2012) έδειξαν ότι η αντιοξειδωτική ενεργότητα σε φυτά ξενιστές που περιέχουν ενδόφυτα ήταν αυξημένη σε συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης.

### **Ενισχυμένη ανοχή στην καταπόνηση μέσω της ρύθμισης τού αιθυλενίου**

Ένας μηχανισμός για την ενισχυμένη ανοχή στην καταπόνηση προτάθηκε από ερευνητές που μελέτησαν τις επιδράσεις των βακτηρίων PGPB στα φυτά. Βασίζεται στην παραγωγή περίσσειας αιθυλενίου υπό συνθήκες καταπόνησης. Τα φυσιολογικά επίπεδα αιθυλενίου είναι σημαντικά για τη ρύθμιση της ανάπτυξης των φυτών (Bacon and White 2016). Κατά τη διάρκεια της ωρίμασης των καρπών, οι συγκεντρώσεις αιθυλενίου είναι πολύ υψηλότερες, ενώ σε συνθήκες καταπόνησης παρατηρείται αύξηση της βιοσύνθεσης αιθυλενίου. Οι καταπονήσεις περιλαμβάνουν κατάκλυση, ξηρασία, αλατότητα, τραύμα, ακραίες θερμοκρασίες, και μόλυνση από παθογόνα (Dudeja et al. 2021). Το αιθυλένιο σε υψηλές συγκεντρώσεις αναστέλλει την ανάπτυξη των φυτών, αν και ο μηχανισμός δεν είναι σαφής (Saravanakumar and Samiyarpan 2007). Ορισμένα βακτηριακά ενδόφυτα παράγουν το ένζυμο απαμινάση τού ACC, το οποίο αποδομεί την πρόδρομη ουσία τού αιθυλενίου, το 1-αμινοκυκλοπρόπανο-1-καρβοξυλικό οξύ (ACC), προκαλώντας ανάσχεση τού σχηματισμού αιθυλενίου (Bacon and White, 2016).

Η απαμινάση τού ACC που παράγεται από το μικρόβιο διασπά το ACC, παρέχοντας σημαντικά θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξή του. Έχει προταθεί ότι η διέγερση της ανάπτυξης των φυτών από ορισμένα βακτήρια οφείλεται στη δραστικότητα της απαμινάσης τού ACC, καθώς τα βακτήρια εξαλείφουν το αιθυλένιο που καταστέλλει την ανάπτυξη, επιτρέποντας τη διέγερση αύξησης από την έκκριση αυξίνης από τα μικρόβια (Bacon and White 2016). Ωστόσο, πειραματικές μελέτες που συνέκριναν διαγονιδιακά φυτά με γονίδια απαμινάσης τού ACC και μη τροποποιημένα φυτά με συμβιωτικά βακτήρια υπό καταπόνηση, έδειξαν ότι τα μη τροποποιημένα φυτά παρουσίασαν μεγαλύτερη ανοχή και διέγερση της ανάπτυξης (Saraf et al. 2014). Αυτές οι παρατηρήσεις υποδηλώνουν την ύπαρξη πρόσθετων μηχανισμών πέραν της απαμινάσης τού ACC που συμβάλλουν στην ενισχυμένη ανοχή και ανάπτυξη των φυτών (Bacon and White 2016).

### **Ανοχή στην καταπόνηση μέσω οσμωτικής προσαρμογής με τη μεσολάβηση ενδοφύτων**

Πρώιμες μελέτες έδειξαν ότι τα ενδόφυτα έχουν τη δυνατότητα να βελτιώσουν την ανοχή στην ξηρασία ή την αλατότητα μέσω της οσμωτικής ρύθμισης (Arachevaleta et al. 1989, Elmi and West 1995). Η οσμωτική προσαρμογή είναι η ικανότητα των φυτικών κυττάρων να ρυθμίζουν τις κυτταροπλασματικές οσμωτικές ενεργές διαλυμένες ουσίες τους για να διατηρούν την πίεση σπαραγής σε απόκριση στην υδατική καταπόνηση (DaCosta and Huang 2006). Σε φυτά φεστούκας [*Lolium arundinaceum* (Schreb.) Darbysh. (συν.: *Festuca arundinacea* Schreb.) (Poaceae)] μολυσμένα από τον ενδοφυτικό μύκητα *Epichloë coenophiala*, βρέθηκε ότι η οσμωτική προσαρμογή λαμβάνει χώρα στα μεριστώματα των φυτών κατά τη διάρκεια περιόδων ξηρασίας, επιτρέποντας τη συνέχιση της ανάπτυξης

τους ταχύτερα μετά το τέλος της περιόδου ξηρασίας (Elmi and West 1995). Η σημασία της ενισχυμένης ανοχής στην υδατική καταπόνηση που αποκτά η φεστούκα από την μεσολάβηση τού ενδοφυτικού μύκητα είναι ότι επιτρέπει την επιβίωση τού φυτού σε περιοχές που είναι επιρρεπείς στην ξηρασία, όπου δεν θα μπορούσε να ενδημήσει χωρίς τον ενδοφυτικό μύκητα (Bacon and White 2016). Έχει προταθεί ότι τα εκκρινόμενα αλκαλοειδή των ενδόφυτων μυκήτων, όπως οι λολίνες, ή οι εκκρινόμενες πολυόλες των μυκήτων (π.χ. μαννιτόλη ή αραβιτόλη) μπορεί να είναι εν μέρει υπεύθυνα για την αυξημένη ικανότητα προσαρμογής της οσμωτικής ισορροπίας της φεστούκας (Richardson et al. 1992).

Η ενισχυμένη από ενδόφυτα ανοχή στην καταπόνηση που προκαλείται από την αλατότητα τού εδάφους μπορεί επίσης να σχετίζεται με τον μηχανισμό οσμωτικής προσαρμογής. Πρόσφατα, οι Gond et al. (2015a) έδειξαν ότι το ριζοβακτήριο *Pantoea agglomerans* (Ewing and Fife) Gavini et al. (Gammaproteobacteria, Enterobacteriales, Erwiniaceae) προσδίδει ανοχή στην καταπόνηση αλατότητας στον αραβόσιτο και κατέδειξαν την αυξημένη ρύθμιση αρκετών γονιδίων υδατοπορινών τού φυτού. Οι υδατοπορίνες (aquaporins) είναι υδατοπερατές πρωτεΐνες διαύλων νερού που βρίσκονται στις κυτταρικές μεμβράνες των φυτών και διευκολύνουν τη μετακίνηση τού νερού διαμέσου των μεμβρανών (Peng et al. 2007). Οι υδατοπορίνες και η μετακίνηση τού νερού μεταξύ των κυττάρων και τού αποπλάστη είναι κρίσιμες για τη ρύθμιση τού οσμωτικού δυναμικού στους φυτικούς ιστούς (Peng et al. 2007). Στο πλαίσιο αυτό, έχει ενδιαφέρον το γεγονός ότι το *P. agglomerans* έχει αποδειχθεί πως παράγει και εκκρίνει 1,3-προπανοδιόλη, μια οσμωτικά ενεργή ένωση (Barbirato et al. 1996a, 1996b). Ωστόσο, όπως επισημαίνουν οι Bacon and White (2016) δεν έχει προσδιοριστεί κατά πόσον η 1,3-προπανοδιόλη ή άλλοι εκκρινόμενοι μεταβολίτες θα μπορούσαν να προκαλούν οσμωτική προσαρμογή στον αραβόσιτο. Ομοίως, ο γράφων δεν έχει εντοπίσει έκτοτε κάποια σχετική πηγή στη βιβλιογραφία.

### **Ανοχή των φυτών στις αβιοτικές καταπονήσεις μέσω πολλαπλών μηχανισμών που ενισχύονται από μικρόβια**

Οι μηχανισμοί που διέπουν την ενίσχυση της ανοχής στην αβιοτική καταπόνηση από τα μικρόβια μπορούν να θεωρηθούν ως ανταγωνιστικές διεργασίες, αλλά είναι πιθανό να χρησιμοποιούνται πολλοί μηχανισμοί για τη δημιουργία ανοχής στην αβιοτική καταπόνηση. Μπορεί να λειτουργούν διαφορετικές διαδικασίες ανάλογα με τα εμπλεκόμενα μικρόβια, όπως η συμβιωτική σύνδεση των νιτροποιητικών βακτηρίων με τις ρίζες, η οποία τους επιτρέπει να δεσμεύουν το αμμωνιακό άζωτο και να το μετατρέπουν σε νιτρικά. Οι νιτροποιητές μπορεί να λειτουργούν μέσω τού μηχανισμού αποτοξίκωσης της αμμωνίας σε φυτά που αναπτύσσονται σε υδάτινα ενδιαιτήματα όπου η αμμωνία μπορεί να συσσωρεύεται σε υψηλές συγκεντρώσεις (Kiralý et al. 2013). Τα περισσότερα μικρόβια που σχετίζονται με τα φυτά παράγουν αυξίνη. Σε πολλά από αυτά τα μικρόβια που σχετίζονται με τα φυτά, θα μπορούσε να παράγεται η απαμινάση τού ACC για την αποικοδόμηση τού ACC ως ένας τρόπος για τα μικρόβια να εξάγουν θρεπτικά συστατικά από τα φυτά. Η αβιοτική καταπόνηση που προκαλείται από τα βαρέα μέταλλα τού εδάφους θα μπορούσε να αντιμετωπιστεί με αντιοξειδωτικά που παράγονται απευθείας

από τα μικρόβια ή από τους ξενιστές ως απόκριση στα μικρόβια. Σε περιπτώσεις όπου η ξηρασία περιορίζει σοβαρά την ανάπτυξη των φυτών, η οσμωτική προσαρμογή που διευκολύνεται από τα μικρόβια θα μπορούσε να προστατεύσει τα ευπαθή μεριστώματα στα οποία αναπτύσσονται αυτά, επιτρέποντας την ταχεία ανάκαμψη μετά το τέλος της ξηρασίας. Φαίνεται πιθανό ότι η ανοχή στην αβιοτική καταπόνηση που προκαλείται από τα μικρόβια θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα περισσότερων τού ενός μηχανισμών (Bacon and White 2016). Πολλαπλοί μηχανισμοί θα μπορούσαν να εξηγήσουν το φαινόμενο της συμβίωσης με "ανοχή στην καταπόνηση προσαρμοσμένης στον βióτοπο" που περιγράφεται από τους Rodriguez et al. (2008), όπου τα μικρόβια προσαρμόζουν τα φυτά ξενιστές σε συγκεκριμένες καταπονήσεις στο περιβάλλον τού ξενιστή. Έτσι, οι μηχανισμοί που προσαρμόζουν ένα φυτό να ανέχονται συνθήκες θερμικής καταπόνησης μπορεί να είναι διαφορετικοί από τον συνδυασμό μηχανισμών που προσαρμόζουν ένα φυτό να αντεπεξέρχεται στην καταπόνηση της αλατότητας.

### **Προστασία από παθογόνους οργανισμούς**

Τα ενδοφυτικά βακτήρια τού γένους *Bacillus* είναι γνωστό ότι παράγουν μια σειρά μυκητοκτόνων και αντιβακτηριακών λιποπεπτιδίων, συμπεριλαμβανομένων των iturins, bacillomycins, fengycins και surfactins (White et al. 2014γ, Gond et al. 2015β). Τα λιποπεπίδια αναστέλλουν τους παθογόνους μήκυτες και βακτήρια εισχωρώντας στις κυτταρικές μεμβράνες και δημιουργώντας ρήξεις της συνέχειας, οι οποίες καθιστούν τα κύτταρα διαπερατά (leaky) και εμποδίζουν την κυτταρική ανάπτυξη ή τη μεταβολική δραστηριότητα. Το λιποπεπίδιο surfactin είναι επίσης γνωστό ότι αναστέλλει τους ιούς διαλύοντας το λιπιδικό και το πρωτεϊνικό περίβλημα των σωματιδίων τού ιού (Ongena and Jacques 2008). Η συχνή εμφάνιση ενδοφύτων τού γένους *Bacillus* σε φυσικούς φυτικούς πληθυσμούς υποδηλώνει ότι πολλοί άγριοι πληθυσμοί μπορεί να έχουν προστασία από ασθένειες χρησιμοποιώντας λιποπεπίδια των ενδοφύτων *Bacillus* (White et al. 2014γ). Η μόλυνση από ενδόφυτα γενικά μπορεί να οδηγήσει στην έκφραση γονιδίων ανθεκτικότητας στο φυτό-ξενιστή έναντι σε ασθένειες. Στον αραβόσιτο, τα ενδοφυτικά είδη τού γένους *Bacillus* αποδείχθηκε ότι οδηγούν σε επαγόμενη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την άμυνα τού φυτού (Gond et al. 2015β). Σε αυτή τη μελέτη τους, οι Gond et al. (2015β) διαπίστωσαν ότι σπορόφυτα αραβόσιτου εμβολιασμένα με το ενδοφυτικό βακτήριο *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn (Bacillaceae) παρουσίασαν αυξημένη έκφραση των γονιδίων *PR1* και *PR4* που σχετίζονται με την άμυνα σε σύγκριση με σπορόφυτα που δεν εμβολιάστηκαν με το βακτήριο.

Ενισχυμένη προστασία έναντι μυκητολογικών ασθενειών έχει αποδειχθεί ότι εκδηλώνεται σε διάφορα αγρωστώδη που έχουν μολυνθεί από ενδοφυτικούς μύκητες τού γένους *Epichloë*, συμπεριλαμβανομένων των αγρωστωδών *Festuca rubra* L., *L. arundinaceum*, *L. pratense* (Huds.) Darbysh. (Gwinn and Gavin 1992, Clarke et al. 2006), *Achnatherum inebrians* (Hance) Keng (Li et al. 2007) και *L. perenne* L. (Poaceae) (Wiewióra et al. 2015). Οι Ambrose και Belanger (2012) ανακάλυψαν

γονίδια που κωδικοποιούν μυκητοκτόνες πρωτεΐνες σε ενδοφυτικούς μύκητες τού *F. rubra* που πιθανώς ευθύνονται για την ανθεκτικότητα τού φυτού σε ασθένειες.

Στη μελέτη τους, οι Moy et al. (2000) πρότειναν έναν μηχανισμό αποκλεισμού των παθογόνων για να εξηγήσουν πώς οι ενδοφυτικοί μύκητες τού γένους *Epichloë* αυξάνουν την αντοχή στις μυκητολογικές ασθένειες στα αγρωστώδη φυτά *Bromus setifolius* Presl., *Festuca ovina* L., *F. rubra* και *Poa secunda* J.Presl (συν.: *Poa ampla* Merr.) (Poaceae). Αυτό βασίστηκε σε παρατηρήσεις ύπαρξης ενός μυκηλιακού δικτύου τού ενδοφυτικού μύκητα που σχηματίζεται εξωτερικώς, στην επιφάνεια των φύλλων των αγρωστωδών. Έχει προταθεί ότι το επιφανειακό μυκήλιο διαδραματίζει αμυντικό ρόλο παρεμποδίζοντας με φυσικό τρόπο την είσοδο παθογόνων μυκήτων στα φύλλα (Tadych and White 2007).

### **Επιδράσεις κατά των παρασιτικών εχθρών**

Η αντιμετώπιση των φυτοφάγων εχθρών είναι μία από τις πρώτες τεκμηριωμένες επιδράσεις των φυτών που έχουν μολυνθεί με ενδοφυτικά μικρόβια. Οι αναφορές αυτές περιγράφουν με μεγάλη λεπτομέρεια την τοξικότητα των μολυσμένων με ενδοφυτικά μικρόβια αγρωστωδών στα βοοειδή, τα πρόβατα και άλλα ζώα (Bacon et al. 1977, Belesky and Bacon 2009, Torres and White 2009). Μετά από αυτές τις αναφορές, έχει αποδειχθεί ότι αποτρέπεται από την κατανάλωση αγρωστωδών μολυσμένων με ενδόφυτους μικροοργανισμούς ένα ευρύ φάσμα φυτοφάγων συμπεριλαμβανομένων εντόμων, ακάρεων, νηματωδών και θηλαστικών (Bush et al. 1997, Belesky and Bacon 2009, Bacetty et al. 2009α, 2009β, Ferguson et al. 2021). Οι μελέτες αυτές εξετάζουν τη σημασία των ενδοφύτων τόσο σε οικολογικό όσο και σε γεωργικό επίπεδο ενδιαφέροντος. Από την άποψη αυτή, η φύση της αντιπαρασιτικής δράσης που εκδηλώνεται από τα μολυσμένα με ενδόφυτα λειμώνια αγρωστώδη έχει λάβει τη μεγαλύτερη προσοχή, με τις περισσότερες εργασίες να επικεντρώνονται στη μολυσμένη με ενδόφυτα φεστούκα (*F. rubra*) και την πολυετή ήρα (*L. perenne*). Πολυάριθμα αλκαλοειδή τού εργοτισμού στο φύλλωμα των μολυσμένων από ενδόφυτα αγρωστωδών έχει αποδειχθεί ότι έχουν αμυντικό χαρακτήρα, χρησιμεύοντας στην απόθεση φυτοφάγων κάθε είδους (Lyons et al. 1986, Guerre 2015). Τα ενδοφυτικά είδη βακτηρίων και μυκήτων συχνά παράγουν *in planta* μία ή περισσότερες ενώσεις που δρουν ως αποτρεπτικά της βόσκησης, αν και η φυσική αποτροπή της βόσκησης δεν είναι δυνατή υπό συνθήκες γεωργικής διαχείρισης λειμώνων. Τα βοοειδή και άλλα ζώα υπό συνθήκες εκτατικής εκτροφής σε λειμώνες αναγκάζονται να καταναλώνουν χορτονομή μολυσμένη από ενδόφυτα (Bacon and White 2016).

Τα ενδοφυτικά βακτήρια είναι επίσης σημαντικά για την παραγωγή αμυντικών ενώσεων, οι οποίες στις περισσότερες περιπτώσεις δεν έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζονται σε φυτά. Ωστόσο, τέτοια στελέχη χρησιμοποιούνται ως παράγοντες βιοελέγχου για την πρόληψη ή τη μείωση της μόλυνσης από παθογόνα, ιδίως σε καλλιέργειες. Στην περίπτωση τού γένους *Bacillus*, οι περισσότερες από τις αμυντικές ενώσεις που έχουν εντοπιστεί μέχρι σήμερα περιέχουν ένα συνδυασμό ισομερών που σχετίζονται με το λιποπεπτίδιο και τις συναφείς βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες (Ali et al. 2022, Gayathiri et al. 2022).

Έτσι, οι επιφανειοδραστικές ουσίες βρίσκονται σε συνδυασμό με λιποπεπτίδια όπως fengycins, iturins, bacillomycin, lichenysins και πολλαπλά ισομερή του καθενός και η επί μέρους αφθονία τους σε ένα φυτό θα έχει συνολική επίδραση σε ένα παθογόνο (Ongena et al. 2007, Ongena and Jacques 2008, Snook et al. 2009, Bacon et al. 2012, Tanaka et al. 2014, Kumar et al. 2021).

Οι βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες σχετίζονται κυρίως με την ικανότητα αυτών να προκαλούν διάσπαση της μεμβράνης των παθογόνων μικροοργανισμών σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Οι βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες ελέγχουν αποτελεσματικά ορισμένα θετικά κατά Gram και τα περισσότερα αρνητικά κατά Gram βακτήρια και επιδεικνύουν αντι-ικές και μυκητοκτόνες ιδιότητες (Desai and Banat 1997, Heerklotz and Seelig 2001, Bee et al. 2019, Gayathiri et al. 2022). Η αποκάλυψη ότι οι επιφανειοδραστικές ουσίες μπορούν να δράσουν ως εκλυτικοί παράγοντες επαγόμενης διασυστηματικής αντοχής στα φυτά σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (Ongena et al. 2007, Jourdan et al. 2009) προσθέτει πολυπλοκότητα στους μηχανισμούς δράσης των επιφανειοδραστικών ουσιών ως παραγόντων βιοελέγχου.

Φαίνεται λοιπόν ότι η βιολογική καταπολέμηση με τη χρήση μεταβολιτών που παράγονται από ανταγωνιστικούς μικροοργανισμούς αποτελεί μια ελκυστική εναλλακτική λύση έναντι των χημικώς συντιθέμενων γεωργικών φαρμάκων (Ongena et al. 2007, Berg et al. 2017) και μπορεί να συμβάλει στον έλεγχο των φυτοπαθογόνων είτε ως φυσικός ανταγωνιστής είτε ως βιολογικό σκεύασμα.

### **Συμπερασματικά σχόλια**

Τα βακτήρια που σχετίζονται με τα φυτά διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη διασφάλιση της ανάπτυξης, της εξέλιξης και της ανθεκτικότητας των φυτών σε διάφορους παράγοντες πίεσης καθ' όλη την διάρκεια της ζωής τους. Κατά την τελευταία δεκαετία, έχουν διεξαχθεί πολλές επιστημονικές μελέτες για να προσδιοριστεί ο ρόλος των ενδοφυτικών μικροοργανισμών στη διατήρηση της βιώσιμης γεωργίας. Έχει αναφερθεί ότι οι βιολογικά ενεργοί δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από τον μεταβολισμό αυτών των μικροοργανισμών διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση της αύξησης και της ανάπτυξης των φυτών ξενιστών και της ανθεκτικότητάς τους σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις. Τα χαρακτηριστικά που εμπλέκονται στην άμβλυνση της καταπόνησης τού φυτού και τη διέγερση της ανάπτυξης των φυτών από τα ριζοβακτήρια που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών (PGPR) περιλαμβάνουν την παραγωγή φυτοορμονών, τη μείωση των επιπέδων αιθυλενίου μέσω τού ενζύμου ACC-απαμινάση και την παραγωγή ωσμοπροστατευτικών ουσιών. Η διαδικασία αυτή μπορεί να είναι ένας καλός τρόπος για την επίτευξη προστασίας από την καταπόνηση υπό συνθήκες αλατότητας, την προαγωγή της ανάπτυξης των φυτών και τη συμβιωτική απόδοση των ψυχανθών υπό δυσμενείς εδαφικές συνθήκες. Τα ενδόφυτα δρουν επίσης ως παράγοντες βιοελέγχου, προστατεύοντας τα φυτά από παθογόνα βακτήρια ή μύκητες. Οι μεταβολίτες που παράγονται από ενδοφυτικούς μύκητες προστατεύουν τα φυτά από έντομα, παράσιτα και άλλα παθογόνα.

## Κεφάλαιο 3

---

### **Μοριακός διάλογος: Αποκωδικοποιώντας τη μυστική γλώσσα φυτών και μικροβίων**

#### **Οι οικολογικές διεργασίες τού αποικισμού των φυτών και της συγκρότησης των κοινοτήτων. Η ανίχνευση των φυτών και η έναρξη τού αποικισμού**

Τα μικρόβια που σχετίζονται με τα φυτά χρησιμοποιούν τη χημειοταξία για να ανιχνεύουν και να αντιδρούν σε σήματα που προέρχονται από αυτά. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται οργανικά οξέα και σάκχαρα που βρίσκονται στα φυτικά εκκρίματα, τα οποία επιτρέπουν στα μικρόβια να εγκαθιδρύσουν αποικισμό. Κατά την ανίχνευση ενός σήματος, τα βακτήρια κατευθύνονται κυρίως προς το φυτό χρησιμοποιώντας μαστίγια. Στη συνέχεια, τα βακτήρια προσκολλώνται στην επιφάνεια της ρίζας και δημιουργούν ένα βιοϋμένιο (βιοφίλμ). Τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για τη βακτηριακή χημειοταξία, τον σχηματισμό/ανάπτυξη των μαστιγίων, την κινητικότητα, τον σχηματισμό βιοϋμενίου, τη βακτηριακή έκκριση και τα ρυθμιστικά συστήματα δύο συστατικών (two-component regulatory systems) βρίσκονται σε μεγάλη αφθονία στους μικροοργανισμούς και τις μικροβιακές κοινότητες που κατοικούν στο περιβάλλον της ρίζας, καθώς και στο περιβάλλον της ρίζας και της φυλλόσφαιρας, σε σύγκριση με το αδιατάρακτο έδαφος (Delmotte et al. 2009, Knief et al. 2012, Vorholt 2012, Liu et al. 2018, Zhang et al. 2019a). Τα βακτηριακά φύλα Proteobacteria και Firmicutes έχουν μεγαλύτερη αφθονία μεταφορέων υποστρωμάτων (substrate transporters), γεγονός που τους επιτρέπει να ευδοκιμούν σε φυτικά περιβάλλοντα πλούσια σε θρεπτικά συστατικά. Ομοίως, στα γονιδιώματα των βακτηριακών απομονώσεων που ελήφθησαν από τις ρίζες τού *A. thaliana* βρέθηκε σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό γονιδίων που σχετίζονται με τη μετακίνηση στον χώρο σε σχέση με τα απομονωμένα από το αδιατάρακτο έδαφος βακτήρια (Bai et al. 2015). Οι έρευνες δείχνουν ότι τα χαρακτηριστικά αποικισμού των ριζών υπήρχαν πριν από την απόκτηση γονιδίων συμβίωσης στα μέλη της τάξης Rhizobiales, τα οποία αποτελούν μέρος του βασικού μικροβιώματος των ψυχανθών (Garrido-Oter et al. 2018). Οι πολυαμίνες, όπως η πουτρεσκίνη, χρησιμεύουν ως μόρια σηματοδότησης στη διεπιφάνεια μεταξύ της ρίζας και της ριζόσφαιρας. Με αυτές γίνεται αντιληπτή η ύπαρξη ευκαρυωτικών ξενιστών από το μικροβίωμα. Η ανίχνευση αυτών των χημικών ουσιών δρομολογεί μια αλλαγή στη μικροβιακή απόκριση ώστε να διευκολύνεται η προσκόλληση και ο σχηματισμός βιοϋμενίων σε πολλές ομάδες μικροοργανισμών (Jiménez-Bremont et al. 2014, Liu et al. 2018). Μετά από έναν επιτυχή αποικισμό, διάφορες δράσεις τού ξενιστή, όπως η ενεργοποίηση μονοπατιών σηματοδότησης των φυτών και ο περιορισμός της ανάπτυξης των ριζών λόγω θρεπτικής καταπόνησης, μπορεί να

προκαλέσουν την αποίκηση διαφορετικών μικροβιακών ομάδων σε διαφορετικές θέσεις (Trivedi et al. 2020).

Ο μεταβολισμός των φυτών δημιουργεί χημικά διακριτά περιβάλλοντα και πολλά βασικά λειτουργικά χαρακτηριστικά, τα οποία υπερ-αντιπροσωπεύονται στα μικροβιώματα που σχετίζονται με τα φυτά, έχουν συσχετιστεί με τις ανάγκες της μικροβιακής ανάπτυξης και επιβίωσης σε τέτοια φυτικά περιβάλλοντα. Έχει αποδειχθεί θετική επιλογή για γονίδια που εμπλέκονται στον μεταβολισμό και τη μεταφορά υδατανθράκων, καθώς και για μεταγραφικούς ρυθμιστές αυτών των γονιδίων, στα γονιδιώματα φυλλογενετικά διαφορετικών βακτηρίων που σχετίζονται με φυτά (Busk and Lange 2015, Trivedi et al. 2020). Η γονιδιωματική ανάλυση έχει καταδείξει ότι τα ταχέως αναπτυσσόμενα βακτήρια, συμπεριλαμβανομένων των αλφαπρωτεοβακτηρίων και των γαμμαπρωτεοβακτηρίων, τα οποία συνήθως εμπλουτίζονται σε φυτικά περιβάλλοντα, διαθέτουν μεγάλο αριθμό συνολικών μεταφορέων, συμπεριλαμβανομένων κασετών δέσμευσης ATP, συστημάτων φωσφοροτρανσφεράσης και μεταφορέων φαρμάκων/μεταβολιτών. Αυτοί οι μεταφορείς έχουν την ικανότητα να εισάγουν ή να εξάγουν ένα ευρύ φάσμα ενώσεων (Trivedi et al. 2013, Levy et al. 2018). Η παρουσία μεταφορέων χαμηλής συγγένειας στους μικροοργανισμούς που σχετίζονται με τα φυτά επιτρέπει την ταχεία ανάπτυξη σε περιόδους αφθονίας και την ικανότητα να αντέχουν σε περιόδους έλλειψης, οι οποίες είναι χαρακτηριστικές της ριζόσφαιρας (Trivedi et al. 2020).

Η παροχή σταθερών μεταβολιτών από τους φυτικούς ξενιστές μειώνει την επιλεκτική πίεση στο σχετιζόμενο μικροβίωμα να διατηρήσει τις ικανότητες βιοσύνθεσης διαφόρων βασικών ενώσεων (Cole et al. 2017, Liu et al. 2018). Έχουν εντοπιστεί μεταλλάξεις σε 50 βακτηριακά γονίδια που απαιτούνται για τον μεταβολισμό των αμινοξέων, οι οποίες προσδίδουν επιλεκτικό πλεονέκτημα στα μεταλλάγματα σε σχέση με το στέλεχος άγριου τύπου του *Pseudomonas simiae* WCS417r (Cole et al. 2017). Γονίδια για τη βιοσύνθεση αμινοξέων βρέθηκαν να έχουν ελαττωθεί στη ριζόσφαιρα των εσπεριδοειδών σε σύγκριση με το αδιατάρακτο έδαφος (Trivedi et al. 2020). Τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η εξάρτηση ενός μικροβίου από εξωτερική παροχή συγκεκριμένων αμινοξέων προσδίδει ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα (fitness) όταν τα αμινοξέα που εκκρίνονται από τα φυτά είναι άφθονα. Ο όρος αυχotroph περιγράφει έναν οργανισμό που έχει αναπτύξει μια πρόσθετη θρεπτική απαίτηση σε σύγκριση με τον άγριο τύπο, συχνά ως αποτέλεσμα μετάλλαξης (Madigan et al. 2022). Είναι αξιοσημείωτο ότι η εξάρτηση σε θειαμίνη του ωφέλιμου για τα φυτά ενδοφυτικού μύκητα *Serendipita indica* θα μπορούσε να καλυφθεί από τον ευρέως διαδεδομένο εδαφικό μικροοργανισμό *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn (Jiang et al. 2018). Αυτό αναδεικνύει τη διακοινοτική συνεργασία των μικροβιωμάτων για την προώθηση του επιτυχημένου αποικισμού των φυτικών ενδιαιτημάτων (Trivedi et al. 2020).

Οι σιδηροφόρες ενώσεις (siderophores) είναι σημαντικοί παράγοντες για μια ποικιλία οικολογικών φαινομένων, συμπεριλαμβανομένου του βιογεωχημικού κύκλου του Fe στα εδάφη, του ανταγωνισμού με τα παθογόνα, της προώθησης της ανάπτυξης των φυτών και της διακοινοτικής (cross-kingdom)

μικροβιακής σηματοδότησης. Έχει δειχθεί ότι οι συστάδες γονιδίων που είναι υπεύθυνες για τη βιοσύνθεση σιδηροφόρων ενώσεων ήταν εμπλουτισμένες στη ριζόσφαιρα τού κριθαριού (Bulgarelli et al. 2013), των εσπεριδοειδών (Trivedi et al. 2020) και της αμπέλου (Zarraonaindia et al. 2015) σε σύγκριση με το αδιατάρακτο έδαφος. Η μετα-γονιδιωματική ανάλυση αποκάλυψε επίσης εμπλουτισμό των γονιδίων της βιοσύνθεσης σιδηροφόρων στην ενδόσφαιρα σε σύγκριση με τη ριζόσφαιρα στο *Populus deltoides* Bartram ex Marshall (Blair et al. 2018) και στο ρύζι (Sessitsch et al. 2012). Η επικράτηση συστάδων γονιδίων σιδηροφόρων σε πολλαπλές βιοσυνθετικές οδούς υποδηλώνει ότι η κατοχή χαρακτηριστικών που διευκολύνουν τον ανταγωνισμό για περιορισμένους πόρους παρέχει επιλεκτικό πλεονέκτημα στους μικροοργανισμούς που αποικίζουν τις ρίζες των φυτών (Trivedi et al. 2020).

### **Το φυτικό σύστημα ανίχνευσης και ενεργοποίησης αμυντικών αποκρίσεων**

Συνοπτικά, δύο είναι οι κύριες κατηγορίες ανοσολογικών αποκρίσεων στα φυτά:

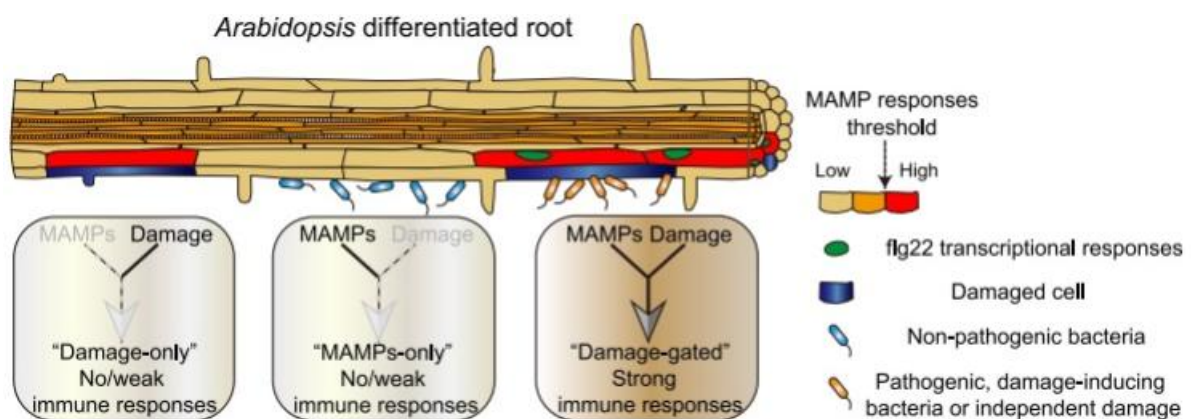
Α) Η πρώτη περιλαμβάνει διαμεμβρανικούς υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (pattern recognition receptors -PRRs) στην επιφάνεια των φυτικών κυττάρων και προσδένονται σε μικροβιακούς επίτοπους που είναι συχνά συντηρημένοι μεταξύ συγγενικών ταξινομικών μονάδων, συμπεριλαμβανομένων των βακτηρίων, όπως οι φλαγκελίνες, οι πεπτιδογλυκάνες, και των μυκήτων όπως η χιτίνη (microbe/pathogen-associated molecular patterns -MAMPs / PAMPs). Αυτοί οι υποδοχείς μεταδίδουν την ανίχνευση αυτών των ξένων σημάτων σε ενδοκυτταρικά μονοπάτια σηματοδότησης, τα οποία στη συνέχεια ενεργοποιούν αντιμικροβιακές αποκρίσεις που περιορίζουν την ανάπτυξη των παθογόνων. Οι PRRs περιέχουν συνήθως εξωκυτταρικές επαναλήψεις πλούσιες σε λευκίνη (leucin-rich repeats -LRRs) και ενδοκυτταρικές περιοχές κινάσης, αν και μπορούν επίσης να σχηματίζουν ετερομερή σύμπλοκα υποδοχέων στην επιφάνεια τού κυττάρου. Η ανοσολογική απόκριση που εκκινείται από αυτούς τους υποδοχείς χαρακτηρίζεται ως ανοσία ενεργοποιούμενη από MAMP (MAMP-triggered immunity, MTI, επίσης γνωστή και ως pattern triggered immunity -PTI) (Hacquard et al. 2017, Hüchelhoven and Schouten 2024). Οι PRRs προάγουν τις επαγόμενες από PAMP βασικές δομικές και χημικές αμυντικές αποκρίσεις, συμπεριλαμβανομένης της εναπόθεσης καλλόζης, της συσσώρευσης δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), της ενίσχυσης τού κυτταρικού τοιχώματος, την έκλυση αντιμικροβιακών φυτοαλεξινών και της συσσώρευσης πρωτεϊνών παθογένεσης (pathogenesis-related proteins -PR), όπως χιτινάσες, πρωτεϊνάσες και γλυκανάσες (De Wit 2015). Επιπλέον, το ανοσιακό σύστημα ενεργοποιείται όχι μόνο με τον εντοπισμό μοριακών προτύπων που σχετίζονται με μικρόβια (MAMPs) εκτός τού κυττάρου, αλλά και με την αναγνώριση μοριακών προτύπων που σχετίζονται με βλάβες (damage-associated molecular patterns -DAMPs). Τα DAMPs είναι μόρια που έχουν αλλοιωθεί και αποτελούν μέρος τού φυτικού οργανισμού, τα οποία αναγνωρίζονται από υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων και ενεργοποιούν αμυντικές αποκρίσεις τύπου PTI (Hacquard et al. 2017, Hüchelhoven and Schouten 2024).

B) Τα επιτυχημένα παθογόνα έχουν αναπτύξει επιδραστικά μόρια-τελεστές (effectors) με στόχο την παράκαμψη αυτής της αρχικής γραμμής άμυνας. Αυτό επιτυγχάνεται είτε με την παρεμπόδιση της ανίχνευσης του παθογόνου από τον ξενιστή, είτε με την καταστολή της οδού σηματοδότησης MTI. Για να καταπολεμήσουν αυτά τα επιτυχημένα παθογόνα, τα φυτά έχουν αναπτύξει μια δεύτερη γραμμή άμυνας, στην οποία οι πρωτεΐνες ανθεκτικότητας (R) διευκολύνουν την αναγνώριση των μοριακών τελεστών (effectors) του επιτιθέμενου [παλαιότερα γνωστών ως παραγόντων ανθεκτικότητας - avirulence factors (Agrios 2005)], με αποτέλεσμα μια εξαιρετικά ισχυρή ανοσία που ενεργοποιείται από τελεστές (effector-triggered immunity -ETI) (Pieterse and Van Wees 2015). Πιο συγκεκριμένα, η δεύτερη κατηγορία ανοσολογικών υποδοχέων εντοπίζεται κυρίως εντός των φυτικών κυττάρων και περιλαμβάνει πρωτεΐνες LRR (leucine-rich repeats) που δεσμεύουν νουκλεοτίδια (NLR), οι οποίες ανιχνεύουν τις δράσεις των πρωτεϊνών (τελεστών-effectors) που διαβιβάζονται από παθογόνα και προάγουν την μολυσματικότητα (virulence-promoting effectors). Η ποικιλομορφία των μοριακών παραγόντων (effectors) που εκλύει ένα συγκεκριμένο παθογόνο στέλεχος επηρεάζει σημαντικά την ικανότητά του να προσαρμοστεί σε συγκεκριμένους ξενιστές. Οι μοριακοί παράγοντες του παθογόνου συχνά υπονομεύουν την MTI, διευκολύνοντας έτσι τον αποικισμό του ξενιστή και την εκδήλωση της νόσου (Hacquard et al. 2017). Η καταστολή της MTI μπορεί να επιτευχθεί μέσω της έκκρισης διαφόρων ενεργών παραγόντων που στοχεύουν σε συγκεκριμένα συστατικά της οδού MTI. Η διαδικασία αυτή, γνωστή ως ευπάθεια που προκαλείται από τελεστές (effector-triggered susceptibility -ETS), έχει παρατηρηθεί σε διάφορα παθοσυστήματα (Stergiopoulos and De Wit 2009). Έτσι, η ενεργοποίηση συγκεκριμένων NLRs από έναν ή περισσότερους παράγοντες έχει ως αποτέλεσμα την ανοσία που πυροδοτείται από παθογόνους παράγοντες (effector-triggered immunity -ETI), η οποία τελικά οδηγεί στον τερματισμό της ανάπτυξης του παθογόνου (Hacquard et al. 2017). Η ETI αντιπροσωπεύει μια εκδήλωση της κλασικής γονιδιακής αντίστασης (gene-for-gene resistance), η οποία συνοδεύεται από μια απόκριση υπερευπάθειας (hypersensitive response) που εμποδίζει αποτελεσματικά την περαιτέρω είσοδο βιοτροφικών παθογόνων (Agrios 2005, Pieterse and Van Wees 2015).

Ένα συναρπαστικό και διαρκές ερώτημα στον τομέα των αλληλεπιδράσεων φυτών-μικροβίων είναι πώς τα φυτά μπορούν να διακρίνουν μεταξύ παθογόνων και ωφέλιμων μικροβίων. Τόσο τα παθογόνα όσο και τα ωφέλιμα μικρόβια διαθέτουν μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με τα μικρόβια (microbe-associated molecular patterns -MAMPs) τα οποία αναγνωρίζονται από το φυτό μέσω υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων (pattern-recognition receptors -PRRs) (Zipfel and Robatzek 2010). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοβόρο ενεργοποίηση ανοσοαποκρίσεων που προκαλούνται από MAMP και προσδίδουν ανθεκτικότητα έναντι στα παθογόνα, αν και αυτό μπορεί να έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη των φυτών (Bakker et al. 2020).

Μια κρίσιμη λειτουργία που διευκολύνει τον αποικισμό πιστεύεται ότι είναι η ικανότητα ορισμένων βακτηρίων να καταστέλλουν τις αποκρίσεις MAMP, αποτρέποντας έτσι την παραγωγή αντιμικροβιακών

ενώσεων και την αναστολή της ανάπτυξης της ρίζας. Τα μικρόβια μπορούν να αποφύγουν την ανοσολογική αναγνώριση αποικοδομώντας τα MAMPs πριν αναγνωριστούν από το ανοσισιακό σύστημα τού ξενιστή. Επιπλέον, έχει αναφερθεί η καταστολή των ανοσοαποκρίσεων της ρίζας που προκαλούνται από MAMP από τα μικρόβια της ριζόσφαιρας ως μηχανισμός αποφυγής των αμυντικών φραγμών τού ξενιστή (Bakker et al. 2020). Οι Zhou et al. (2020) παρείχαν ένα πρόσθετο επίπεδο εξήγησης τού τρόπου με τον οποίο τα μη παθογόνα μικρόβια μπορούν να αποικίσουν επιτυχώς τις ρίζες. Αυτό επιτυγχάνεται με την απλή αποφυγή της βλάβης και της ισχυρής ενίσχυσης των ανοσολογικών αποκρίσεων που τη συνοδεύει (Σχήμα 3.1). Από τη σκοπιά τού φυτού, αυτή η πύλη-βλάβης (damage-gating) των ανοσοαποκρίσεων είναι ενεργειακά επωφελής, καθώς αποφεύγεται η ενεργοποίηση της άμυνας και εντοπίζεται σε σημεία όπου οι μικροβιακοί αποικιστές μπορεί να προκαλέσουν κυτταρική βλάβη ή όπου η βλάβη λόγω άλλων αιτιών έχει δημιουργήσει πιθανά σημεία εισόδου παθογόνων. Για τα βακτήρια που είναι αβλαβή και αποικίζουν τις ρίζες, ένα τέτοιο σύστημα αναιρεί την ανάγκη καταστολής της ανοσίας των φυτών, υπό την προϋπόθεση ότι ο αποικισμός συνεχίζεται χωρίς βλάβες (Zhou et al. 2020).



**Σχήμα 3.1.** Το σχηματικό μοντέλο του προτύπου έκφρασης των PRR στις ρίζες τού *Arabidopsis* και των τοπικών αποκρίσεων MAMP με πύλη βλάβης κατά την αλληλεπίδραση ρίζας-βακτηρίων καταδεικνύει ότι οι ρίζες των φυτών απαιτούν την παρουσία MAMPs και βλάβης πριν από τη δημιουργία μιας ισχυρής ανοσολογικής απόκρισης. Το μοντέλο αυτό παρέχει εικόνα των μηχανισμών με τους οποίους αυτοί οι κρίσιμοι PRRs μπορούν να αξιοποιηθούν αποτελεσματικά από τις ρίζες των φυτών, παρά τη συνεχή παρουσία υψηλών επιπέδων κοινών ή ωφέλιμων μικροβίων, διατηρώντας παράλληλα την ανθεκτικότητα σε παθογόνα βακτήρια που προκαλούν βλάβες [προσαρμογή από Zhou et al. (2020)].

### Αποφυγή της άμυνας των φυτών

Η παράκαμψη ή η καταστολή του αμυντικού συστήματος των φυτών δεν είναι μόνο ένας κρίσιμος παράγοντας για την επιτυχή μόλυνση των φυτικών ξενιστών από παθογόνα, αλλά και ένας ζωτικός μηχανισμός που επιτρέπει στα συμβιωτικά να αποικίζουν διάφορες φυτικές θέσεις. Το μικροβίωμα που σχετίζεται με τα φυτά πρέπει να αντιμετωπίσει ένα αμυντικό σύστημα τού ξενιστή που είναι ικανό να αναγνωρίζει μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με μικροοργανισμούς (MAMPs), συμπεριλαμβανομένων των flagellin, λιποπολυσακχαριτών, χιτίνης και πεπτιδίων που προέρχονται από τον παράγοντα επιμήκυνσης Tu (Melotto et al. 2014, Han 2019). Η αντίληψη των MAMPs από τα φυτά

περιλαμβάνει εξελικτικώς σταθερούς μηχανισμούς μεταγωγής σήματος, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου, της ενεργοποίησης πρωτεϊνικών κινασών ενεργοποιούμενων από μιτογόνο (mitogen-activated protein kinases – MAPKs) και της επαγωγής των μονοπατιών σηματοδότησης με σαλικυλικό και γιασμονικό οξύ (Han 2019). Προκειμένου να αποφύγουν την αμυντική επαγρύπνηση τού ξενιστή, οι μικροοργανισμοί βιοσυνθέτουν πρωτεΐνες-ενεργοποιητές (τελεστές-effectors). Ορισμένες από αυτές τις πρωτεΐνες-τελεστές έχουν προκύψει από την συγκλίνουσα εξέλιξη (convergent evolution) και την οριζόντια μεταφορά γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεϊνικές περιοχές από ευκαρυωτικούς οργανισμούς, με αποτέλεσμα οι τελεστές αυτοί να μιμούνται τις φυτικές πρωτεΐνες. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να αντιπροσωπεύει μια στρατηγική «παραλλαγής» για την αποφυγή της ανοσίας που προκαλείται από MAMP, μέσω της πρόσδεσης σε εξωκυτταρικά μόρια MAMP (π.χ. μαννόζη), λειτουργώντας έτσι ως «μοριακός μανδύας αορατότητας» (Trivedi et al. 2020). Τα γονιδιώματα των βακτηρίων που σχετίζονται με φυτά ή ρίζες παρουσιάζουν μια αξιοσημείωτη επικράτηση περιοχών που προσομοιάζουν με τα φυτά, σε σύγκριση με τα γονιδιώματα βακτηρίων που σχετίζονται με το έδαφος και βακτηρίων που δεν σχετίζονται με φυτά. Οι παρατηρήσεις αυτές παρέχουν αδιάσειστα στοιχεία για τη δυναμική της συνεξέλιξης μεταξύ φυτών και μικροβιωμάτων στην ριζόσφαιρα, που συνάδει με το μοντέλο που προτείνεται για τις δυαδικές αλληλεπιδράσεις φυτών-παθογόνων (Levy et al. 2018).

### **Quorum sensing ή αντιληπτική ικανότητα πληθυσμιακής πυκνότητας**

Η αντίληψη της κρίσιμης πυκνότητας στη μικροβιακή κοινότητα (quorum sensing -QS) αντιπροσωπεύει έναν καθιερωμένο μηχανισμό επικοινωνίας μεταξύ βακτηρίων από κύτταρο σε κύτταρο, μέσω τού οποίου πραγματοποιείται η παραγωγή και η ανίχνευση μορίων σηματοδότησης, όπως η ομοσερινική λακτόνη (*N*-acyl-homoserine lactones -AHL) μεταξύ των Πρωτεοβακτηρίων (Gram-αρνητικά), ή ολιγοπεπίδια στα Gram-θετικά βακτήρια (Chernin 2011, Madigan et al. 2022). Η παραγωγή τού ίδιου τύπου σηματοδοτικού μορίου από διαφορετικές βακτηριακές ταξινομικές μονάδες επιτρέπει είτε τη συνεργασία, είτε την παρεμπόδιση (quorum quenching) άλλων ανόμοιων ταξινομικών μονάδων. Επιπλέον, τα μόρια ανίχνευσης παίζουν ρόλο στις διακοινοτικές αλληλεπιδράσεις. Η αντίληψη των AHLs από τα φυτά οδηγεί σε διαμόρφωση τού μεταβολισμού των φυτών, της ανοσολογικής απόκρισης και της ανάπτυξης των ριζών (Hartmann and Schikora 2015).

Στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια, το κύριο σύστημα QS, το οποίο χαρακτηρίζεται ως LuxIR, ρυθμίζει την απόκριση, κυρίως μέσω της σύνθεσης μορίων σήματος AHL, τα οποία παρουσιάζουν δομικές παραλλαγές στις N-ακυλικές λιπαρές πλευρικές αλυσίδες τους. Τα συστήματα LuxIR περιλαμβάνουν τα γονίδια που εμπλέκονται στην παραγωγή και την ανίχνευση του σήματος AHL (*luxI* και *luxR*, αντίστοιχα) και τα γονίδια που ελέγχονται από το σύστημα AHL και είναι υπεύθυνα για τον παρατηρούμενο φαινότυπο που ελέγχεται από το QS (π.χ. παραγωγή αντιβιοτικών ή παραγόντων μολυσματικότητας). Σε συνθήκες χαμηλής κυτταρικής πυκνότητας ή περιορισμένης διάχυσης, το

γονίδιο *luxI* εκφράζεται με χαμηλό ρυθμό, με αποτέλεσμα ένα βασικό επίπεδο σύνθεσης AHL από το LuxI. Καθώς αυξάνεται η κυτταρική πυκνότητα, οι AHLs συσσωρεύονται στο μέσο ανάπτυξης. Όταν φτάσει σε μια κρίσιμη συγκέντρωση κατωφλίου, το μόριο AHL συνδέεται με τον συγγενή υποδοχέα του, μια πρωτεΐνη LuxR. Η αυξημένη παραγωγή σήματος μπορεί να οδηγήσει σε μαζική αύξηση της τοπικής συγκέντρωσης της AHL, η οποία με την σειρά της επάγει την έκφραση γονιδίων εντός τού βακτηριακού πληθυσμού. Η επαγωγή αυτή αντανακλάται σε μια συντονισμένη έκφραση των φαινοτυπικών γονιδίων (Chernin 2011, Hartmann et al. 2014).

### **Τα φυτά αντιδρούν στο βακτηριακό quorum-sensing**

Η πυκνότητα των βακτηρίων της ριζόσφαιρας είναι σημαντικά αυξημένη στις επιφάνειες των ριζών των φυτών, όπου τα εκκρίματα των ριζών και τα υπολείμματα των ριζικών κυττάρων παρέχουν επαρκή παροχή θρεπτικών ουσιών. Η σχετικά υψηλή συγκέντρωση των βακτηρίων της ριζόσφαιρας παρέχει μια βάση για τον εξαρτώμενο από την πυκνότητα έλεγχο πολλών ευεργετικών χαρακτηριστικών. Είναι πιθανό ότι το QS παίζει γενικό ρόλο στον αποικισμό των ριζών, καθώς στη ριζόσφαιρα βρίσκεται υψηλότερο ποσοστό βακτηρίων που παράγουν AHL απ' ό,τι στο αδιατάρακτο έδαφος. Τα μόρια AHL γίνονται επίσης αντιληπτά από τα φυτά, τα οποία συχνά παρουσιάζουν συγκεκριμένη απόκριση σε αυτά τα βακτηριακά σήματα. Η μόλυνση των φυτών από βακτήρια εξαρτάται συχνά από την ανταλλαγή σημάτων που ανιχνεύουν το QS μεταξύ γειτονικών βακτηριακών κυττάρων. Αντίστροφα, τα φυτά είναι επίσης ικανά να αντιλαμβάνονται και να ανταποκρίνονται στα μόρια AHL με συγκεκριμένο τρόπο (Chernin 2011).

Μερικά από τα ενδιαφέροντα παραδείγματα αλληλεπίδρασης των φυτών με το βακτηριακό QS που μνημονεύονται από τους Hartmann et al. (2014) ακολουθούν παρακάτω: Οι ειδικές αποκρίσεις ενός φυτού στις βακτηριακές AHLs έχουν καταδειχθεί στα ψυχανθή *Phaseolus vulgaris* L. και *Medicago truncatula* Gaertn (Fabaceae). Οι AHLs από συμβιωτικά [*Sinorhizobium meliloti* (Dangeard) De Laj. et al.] ή παθογόνα [*Pseudomonas aeruginosa* (Schröt.) Mígula] βακτήρια προκάλεσαν σημαντικές αλλαγές στη συσσώρευση πάνω από 150 πρωτεϊνών. Παρατηρήθηκε η έκφραση πρωτεϊνών που ανταποκρίνονται στην αυξίνη και εμπλέκονται στη σύνθεση φλαβονοειδών, καθώς και η έκκριση φυτικών μεταβολιτών που μιμούνται τις ενώσεις τού QS. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν τη δυνατότητα αυτών των μεταβολιτών να διαταράζουν την σηματοδότηση QS από τα σχετιζόμενα βακτήρια. Σε φυτά τομάτας, παρατηρήθηκε ειδική επαγωγή πρωτεϊνών διασυστηματικής ανοχής μετά τον εμβολιασμό των ριζών με C4- και C6- λιπαρής αλυσίδας AHL που παράγει το συμβιωτικό βακτήριο *Serratia liquefaciens* (G. & H.) Basc. et al. MG1. Ο φυτοπαθογόνος μύκητας *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. παρατηρήθηκε να είναι σημαντικά λιγότερο μολυσματικός όταν το άγριου τύπου στέλεχος τού *S. liquefaciens* MG1 εμβολιάστηκε στις ρίζες των φυτών τομάτας, σε σύγκριση με το AHL-αρνητικό μετάλλαγμα του. Αποδείχθηκε ότι τα επίπεδα σαλικυλικού οξέος (SA) ήταν αυξημένα, όπως και εκείνα των εξαρτώμενων από το SA και το αιθυλένιο γονιδίων άμυνας (π.χ. *PR1a*), στα εμβολιασμένα με MG1

φυτά. Επιπλέον, το *S. plymuthica* (Lehm. & Newm.) Grim. et al. HRO-C48, το οποίο παράγει C4-/C6-λιπαρής αλυσίδας και OHC4-/OHC6-ομοσερινικές λακτόνες (υδροξυλιωμένες στον C4/C6), έχει αποδειχθεί ότι επάγει διασυστηματική προστασία τύπου ISR σε φυτά φασολιών και τομάτας έναντι τού φυτοπαθογόνου μύκητα *Botrytis cinerea* Pers. Η απόκριση αυτή μειώθηκε σημαντικά σε μεταλλάγματα με μειωμένη παραγωγή AHL (Hartmann et al., 2014).

Οι Shrestha κ.ά. (2020) υποδεικνύουν ότι η διασυστηματικώς επαγόμενη ανοχή έναντι φυτοπαθογόνων θα μπορούσε να είναι ένα από τα σημαντικότερα αποτελέσματα της ανίχνευσης των AHL από τα φυτά. Τα αποτελέσματά τους δείχνουν ότι οι πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ πολλαπλών AHL και φυτών μπορεί να έχουν εκπληκτικά παρόμοια αποτελέσματα. Μεμονωμένα, ορισμένα από τα μόρια AHL επηρέασαν θετικά την ανάπτυξη των φυτών, ενώ άλλα προκάλεσαν την προαγωγή επαγόμενης διασυστηματικής ανοχής. Οι συνδυασμοί τους είχαν σχετικά χαμηλό αντίκτυπο στην ανάπτυξη, αλλά φάνηκε να επάγουν μηχανισμούς αντίστασης.

Η διαμεσολαβούμενη από το quorum sensing συσσώρευση τού ενδοφύτου *Enterobacter* sp. (Proteobacteria) τού φυτού *Eleusine coracana* Gaertn. (Poaceae) προς τον παθογόνο τού ριζικού συστήματος μύκητα *Fusarium graminearum* Schwabe, μαζί με την εγκατάσταση μικροαποικιών, έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό μιας πολυστρωματικής στοιβάδας ενδοφύτων και ριζικών τριχιδίων. Αυτός ο φυσικός φραγμός εμποδίζει την είσοδο ή/και παγιδεύει το παθογόνο, το οποίο στη συνέχεια νεκρώνεται (Mousa et al. 2016). Μια μεταγονιδιωματική ανάλυση των μικροβιωμάτων που σχετίζονται με τα φυτά (Xu et al. 2018) κατέδειξε έναν εμπλουτισμό των ομοσερινικών λακτονών στο περιβάλλον των φυτών σε σύγκριση με το αδιατάρακτο έδαφος.

Ο μεγαλύτερος αριθμός βακτηριακών γονιδιωμάτων που σχετίζονται με φυτά βρέθηκε να περιέχει γονίδια για τη βιοσύνθεση τερπενίων, με το 49% των απομονώσεων να φέρουν γονίδιο που κωδικοποιεί συνθετάση τερπενίων (Blair et al. 2018). Τα τερπενοειδή έχουν ποικίλες βιολογικές και οικολογικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής καροτενοειδών. Επιπλέον, χρησιμεύουν ως χημική άμυνα κατά φυτοφάγων και παθογόνων οργανισμών (Chagas et al. 2018). Έχει αποδειχθεί ότι τα βακτηριακά τερπένια διαδραματίζουν ρόλο στην διακοινοτική σηματοδότηση, ενώ οι ίδιες πτητικές ενώσεις προκαλούν σημαντικές αποκρίσεις από τα φυτά (Trivedi et al. 2020). Ο ειδικός μικροβιακός αποικισμός επάγει την μικροβιακή-προγραμματισμένη διασυστηματικώς επαγόμενη ριζική έκκριση μεταβολιτών (systemically induced root exudation of metabolites -SIREM), ενώ ο μικροβιακός αποικισμός σε απομακρυσμένο σημείο είναι το αποτέλεσμα της επικοινωνίας σε μεγάλες αποστάσεις μεταξύ μη κοινών μικροπεριβαλλόντων της ριζόσφαιρας της τομάτας (Korenblum et al. 2020). Έτσι, ο εμβολιασμός βακτηρίων που ανήκουν στις τάξεις Bacillales ή Pseudomonadales στην τοπική πλευρά (σημείο εφαρμογής) προκαλεί την συσσώρευση βακτηριοειδικών SIREM. Η μεταφορά αυτών των σημάτων μέσω τού φυτού στην απομακρυσμένη περιοχή των ριζών διευκολύνει τη συγκρότηση και τον αποικισμό μικροβιακών πληθυσμών ειδικών για SIREM στην απομακρυσμένη πλευρά.

## Ανάλυση της αμφίδρομης επικοινωνίας φυτών και μικροοργανισμών στη ριζόσφαιρα

Οι μικροοργανισμοί που σχετίζονται με τη ριζόσφαιρα αντιλαμβάνονται και ερμηνεύουν τα σήματα που παράγονται από τους ίδιους, ή άλλους μικροοργανισμούς και φυτά, και είναι ικανοί να επηρεάσουν τον φυτικό ξενιστή τους με την απελευθέρωση σηματοδοτικών μορίων. Τα σημαντικότερα αποτελέσματα αυτής της επικοινωνίας σχετίζονται με την επαγωγή της ανοσίας των φυτών, την ανοχή στην καταπόνηση, τη συνολική ανάπτυξη, την υγεία, τη θρέψη και τη διατήρηση του σχετιζόμενου με την ριζόσφαιρα μικροβιώματος (Pantigoso et al. 2022). Παραδείγματα αυτών των σηματοδοτικών μορίων είναι οι *N*-ακυλο-ομοσερινικές λακτόνες (AHLs), οι διαχεόμενοι σηματοδοτικοί παράγοντες (diffusible signal factors), οι δικετοπιπεραζίνες, οι ενώσεις με δομή παρόμοια με τις φυτοορμόνες και οι πτητικές οργανικές ενώσεις (OrtizCastro et al. 2011, Bailly and Weisskopf 2012, Oldroyd 2013, Kakkar et al. 2015, Xu et al. 2015). Αυτή η αλληλεπίδραση με το φυτό μπορεί να συμβεί σε επίπεδο μεμονωμένου στελέχους ή σε επίπεδο μικροβιώματος. Οι μεμονωμένοι μικροοργανισμοί και οι κοινότητές τους μπορούν να σχηματίσουν ευεργετικές, ουδέτερες ή επιβλαβείς αλληλεπιδράσεις (Pantigoso et al. 2022).

Ο κύριος τύπος μηχανισμών σηματοδότησης που είναι γνωστό ότι εμφανίζονται στη ριζόσφαιρα μπορεί να χωριστεί σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την οδό επικοινωνίας και τους εμπλεκόμενους φορείς:

A. Μικροοργανισμός προς μικροοργανισμό: η μικροβιακή ενδοειδική και διαειδική σηματοδότηση πραγματοποιείται κυρίως με τη σύνθεση και την ανίχνευση χημικών προαγωγέων (autoinducers) μέσω του μηχανισμού quorum sensing. Αυτοί οι χημικοί προαγωγοί ενεργοποιούν ή απενεργοποιούν τη μεταγραφή πολυάριθμων γονιδίων που ρυθμίζονται από το QS και περιλαμβάνουν τον σχηματισμό βιοϋμενίου, τη χημειοταξία και τους παράγοντες μόλυσματικότητας. Αυτό επιτρέπει στους μικροοργανισμούς εντός των μικροβιακών κοινοτήτων να παρακολουθούν την κυτταρική πυκνότητα και να συντονίζουν συλλογικές αλλαγές στη συμπεριφορά (Fuqua et al. 2001, Venturi and Keel 2016). Οι *N*-ακυλο-ομοσερινικές λακτόνες (AHL) είναι μια καλύτερα μελετημένη κατηγορία μορίων QS που δρουν σε αρνητικά κατά Gram βακτήρια, συμπεριλαμβανομένων γνωστών γενών βακτηρίων εδάφους όπως τα *Pseudomonas* spp., *Burkholderia* spp. και *Serratia* spp. Τα θετικά κατά Gram ριζοβακτήρια χρησιμοποιούν άλλα μέσα επικοινωνίας σε ενδο- και δια-ειδικό επίπεδο, όπως τα πεπτίδια (Monnet et al. 2016).

Το QS φαίνεται να είναι επίσης σημαντικό για τη διακοινοτική επικοινωνία μεταξύ βακτηρίων και μυκήτων που σχετίζονται με φυτά, ωστόσο δεν έχουν περιγραφεί ακόμη συγκεκριμένοι μηχανισμοί (Jarosz et al. 2011, Deveau et al. 2018). Η επικοινωνία QS των διαχεόμενων προαγωγέων εκτελείται συνήθως σε μικρές αποστάσεις σε επίπεδο κυττάρου και σε υψηλή συγκέντρωση σηματοδοτικών μορίων. Αντίθετα, οι πτητικές ανόργανες και οργανικές ενώσεις (volatile inorganic compounds -VICs και volatile organic compounds -VOCs) έχουν σημαντικό ρόλο ως σήματα ενδο-κοινοτικής και δια-

κοινοτικής αλληλεπίδρασης (μεταξύ Βασιλείων) σε χαμηλή συγκέντρωση και σε μεγάλες αποστάσεις (Farag et al. 2017, Schulz-Bohm et al. 2017, Weisskopf et al. 2021). Ωστόσο, υπάρχουν πολύ περιορισμένες πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο τα μικροβιακά κύτταρα αντιλαμβάνονται τα μικροβιακά πτητικά συστατικά. Εκτός από τα μόρια επαγωγέων QS και τις πτητικές οργανικές ενώσεις, έχουν αναφερθεί και άλλες πολυάριθμες ενώσεις όπως το οξαλικό οξύ, η τρεχαλόζη, η γλυκόζη ή η θειαμίνη που δρουν ως μόρια σηματοδότησης (Scherlach and Hertweck 2017). Για παράδειγμα, ο μυκορριζικός μύκητας *Laccaria bicolor* S238N απελευθερώνει τρεχαλόζη που χρησιμεύει ως χημειοελκυστικό για το συμβιωτικό των μυκορριζών βακτήριο *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8. Σε αντάλλαγμα, το βακτήριο εκκρίνει θειαμίνη η οποία προάγει την ανάπτυξη τού μυκορριζικού μύκητα. Συνολικά, αυτές οι στρατηγικές μπορούν να βοηθήσουν τους μικροοργανισμούς να επιβιώνουν σε περιβάλλοντα χαμηλής διαθεσιμότητας σε θρεπτικά συστατικά, να αποκτήσουν πρόσβαση σε έμμονες ενώσεις που δεν διασπώνται εύκολα, να απομακρύνουν τοξικούς μεταβολίτες ή να ανταλλάξουν ηλεκτρόνια (Hassani et al. 2018).

**B. Φυτό προς μικροοργανισμό:** διάφορα ριζικά εκκρίματα που είναι ευρέως διαδεδομένα στα περισσότερα φυτά έχουν ταυτοποιηθεί ως σήματα προς τους μικροοργανισμούς τού εδάφους. Για την αναγνώριση των συναφών μικροβίων της ριζόσφαιρας τα φυτά χρησιμοποιούν ειδικούς υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (pattern recognition receptors - PRRs) (Venturi and Keel 2016). Έχει αποδειχθεί ότι η σηματοδότηση από το φυτό προς τους μικροοργανισμούς μέσω των εκκρινόμενων μορίων συμμετέχει σε διάφορες ευεργετικές για τα φυτά αλληλεπιδράσεις (Mathesius et al. 2003, Mhlongo et al. 2018). Η σηματοδότηση μεταξύ φυτών και μικροοργανισμών της ριζόσφαιρας έχει μελετηθεί κυρίως σε στενές συμβιωτικές σχέσεις, ιδίως σε εκείνες που περιλαμβάνουν μυκορριζικούς μύκητες και ριζόβια βακτήρια (Kiers et al. 2011, Hassan and Mathesius 2012). Για παράδειγμα, σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών στοιχείων, το φυτό ξενιστής αυξάνει τη σύνθεση των στριγκολακτονών για να προωθήσει την ανάπτυξη των μυκορριζικών μυκήτων και την εγκαθίδρυση της συμβίωσης ως μηχανισμό απόκτησης θρεπτικών στοιχείων (Aliche et al. 2020).

Παρομοίως, έχει αποδειχθεί ότι τα φλαβονοειδή διεγείρουν τη βακτηριακή μόλυνση της ρίζας που έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό φυματίων που επιτρέπουν τη δέσμευση τού αζώτου στα ψυχανθή (Cooper 2004, Hassan and Mathesius 2012). Τα φλαβονοειδή μπορούν να επηρεάσουν έμμεσα την βιολογική ανακύκλωση τού C, τού P και τού N στα εδάφη, ενώ η σύνθεσή τους επηρεάζεται επίσης από την περιεκτικότητα και τη διαθεσιμότητα P και N στο έδαφος (Coronado et al. 1995, Juszczuk et al. 2004). Η διαλυτότητα τού P για πρόσληψη από τα φυτά μπορεί να αυξηθεί από τα φλαβονοειδή. Τα φλαβονοειδή δεσμεύουν τα φωσφορικά άλατα από τις επιφάνειες των ορυκτών της αργίλου ή διαλύουν σύμπλοκα ορυκτών με φωσφορικές ενώσεις (Cesco et al. 2012). Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι διάφορες χημικές ομάδες που εκκρίνονται από το φυτό και υπάρχουν στη ριζόσφαιρα μπορούν να χρησιμεύσουν ως πηγές τροφής και σηματοδότησης για μια ποικιλία μικροοργανισμών. Για παράδειγμα, οι Hida et al.

(2020) έδειξαν ότι το ριζοβακτήριο *Pseudomonas protegens* CHA0 που προάγει την ανάπτυξη των φυτών (PGPR) διαθέτει τέσσερις εν δυνάμει χημειοποδοχείς για αμινοξέα, ενισχύοντας την χημειοταξία προς τα αμινοξέα. Πολλά άλλα άγνωστα μόρια εμπλέκονται στις επαγόμενες από την καταπόνηση χημικές αλληλεπιδράσεις στο έδαφος, εκτός από τα καλώς χαρακτηρισμένα οργανικά οξέα χαμηλού μοριακού βάρους, τα φαινολικά, τα φλαβονοειδή, τις στριγκολακτόνες, την κυτίνη και τα μονομερή της (Rolfé et al. 2019, Rizaludin et al. 2021).

Γ. Μικροοργανισμός προς φυτό: Οι μικροοργανισμοί παράγουν σηματοδοτικά μόρια τα οποία μπορούν να ανιχνευθούν από τα φυτά και να επηρεάσουν την ανάπτυξή τους, τη γονιδιακή έκφραση και τις αντιδράσεις τους στο ανοσιακό σύστημα και την καταπόνηση (Badri and Vivanco 2009, Venturi and Keel 2016). Οι μικροοργανισμοί της ριζόσφαιρας προκαλούν την αντίδραση των φυτών μέσω μικροβιακών εκλυτικών παραγόντων, γνωστών ως μοριακά πρότυπα (molecular patterns) που σχετίζονται με τα μικρόβια (microbe-associated molecular patterns - MAMPs), όπως οι λιποπολυσακχαρίτες, οι πεπτιδογλυκάνες, η φλαγκελλίνη και η χιτίνη (Millet et al. 2010). Τα MAMPs πυροδοτούν διασυστηματικές αμυντικές αποκρίσεις (γνωστές και ως επαγόμενη διασυστηματική ανοχή [induced systemic resistance - ISR]) στα φυτά προκαλούμενες από ωφέλιμα βακτήρια της ριζόσφαιρας. Τα MAMPs μπορούν επίσης να προκαλέσουν διασυστηματική επίκτητη ανοχή (Systemic Acquired Resistance), η οποία επάγεται κυρίως από φυτοπαθογόνα (Fu and Dong 2013, Pieterse et al. 2014, Conrath et al. 2015). Άλλα καλώς μελετημένα μόρια, όπως οι παράγοντες Nod και Myc που απελευθερώνονται από τα ριζόβια βακτήρια και τις μυκόρριζες, αντιστοίχως, χρησιμοποιούνται για την έναρξη συμβίωσης με τα φυτά (Oldroyd 2013). Παρόμοια με τη σηματοδότηση μικροβίων-μικροβίων, τα μόρια QS τύπου AHL (N-acyl homoserine lactones) αναφέρεται επίσης ότι επηρεάζουν την έκφραση των γονιδίων των φυτών και τις λειτουργίες που σχετίζονται με την ανάπτυξη των φυτών, την απόκριση στην καταπόνηση και την ανοσία (Palmer et al. 2014).

### **Συμπερασματικά σχόλια**

Καθώς ο παγκόσμιος πληθυσμός συνεχίζει να αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς, υπάρχει επιτακτική ανάγκη να αυξηθεί σημαντικά η γεωργική παραγωγή χωρίς να αυξηθεί η πίεση στο περιβάλλον. Οι μικροβιακές λύσεις επιτρέπουν στους καλλιεργητές να αυξήσουν τις αποδόσεις και την παραγωγικότητα με βιώσιμο τρόπο. Προερχόμενες από μια ποικιλία μικροοργανισμών που απαντούν στη φύση, όπως βακτήρια και μύκητες, οι λύσεις αυτές μπορούν να αμβλύνουν τις συνέπειες των αβιοτικών καταπονήσεων, να προστατεύσουν τις καλλιέργειες από επιβλαβείς οργανισμούς και να βελτιώσουν την παραγωγικότητα των φυτών. Ωστόσο, η χρήση των μικροβιακών λύσεων απαιτεί την εις βάθος κατανόηση των αλληλεπιδράσεων φυτών-μικροβίων. Η διεπιφάνεια ρίζας-εδάφους είναι μια περιοχή υψηλής αλληλεπίδρασης μεταξύ μιας ποικιλίας οργανισμών που επηρεάζουν τους βιογεωχημικούς κύκλους, την ανάπτυξη των φυτών και την ανοχή στην καταπόνηση. Ομοίως, οι χημικές ενώσεις που εκκρίνονται στη ριζόσφαιρα λειτουργούν ως ελκυστικά μόρια για τους μικροοργανισμούς. Λόγω της

δυναμικής φύσης και της πολυπλοκότητάς της, η κατανόηση της βιολογίας και της δραστηριότητας της ριζόσφαιρας είναι απαραίτητη για τη διασφάλιση της βελτιωμένης λειτουργίας και παραγωγικότητας των φυτών σε ένα οικοσύστημα. Συνεπώς, οι βιώσιμες γεωργικές πρακτικές εξαρτώνται από τις μελέτες των αλληλεπιδράσεων φυτών-μικροβίων στη ριζόσφαιρα.

### **Η βιολογική ρύθμιση της φυσιολογίας φυτού μέσω της ACC-απαμινάσης για την αντιμετώπιση καταπονήσεων**

#### **Γενικά**

Η διαδικασία αποικισμού τού εδάφους από τα φυτά αποτελεί σημαντική πρόκληση, η οποία έχει ξεπεραστεί με τη βοήθεια των ωφέλιμων μικροβίων τού εδάφους. Τα φυτά συντηρούν τους μικροβιακούς εταίρους τους παρέχοντάς τους οργανικό άνθρακα, ο οποίος είναι προσβάσιμος απευθείας στο εσωτερικό τού φυτού ή απελευθερώνεται από τις ρίζες στη ριζόσφαιρα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη διέγερση μιας σειράς μικροβιακών λειτουργιών που διαμορφώνουν την ορμονική ισορροπία, παρεμβαίνουν στην επικοινωνία φυτών και μικροβίων, ενισχύουν την πρόσληψη ανόργανων θρεπτικών συστατικών και νερού από τα φυτά, προάγουν την ανάπτυξη των φυτών και καταστέλλουν ασθένειες (Πίνακας 1). Αυτές οι μικροβιακές λειτουργίες συνιστούν κρίσιμο πλεονέκτημα για το φυτό, καθώς τα μεμονωμένα φυτά δεν είναι σε θέση να εξαπλωθούν όταν οι περιβαλλοντικές συνθήκες αποκλίνουν από το βέλτιστο εύρος. Επομένως, ήταν αναγκαίο τα φυτά να αναπτύξουν στρατηγικές για την επιλογή ευεργετικών μικροβιακών κοινοτήτων. Τα χαρακτηριστικά αυτών των κοινοτήτων εξαρτώνται από τα γενετικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά τού φυτού ξενιστή, καθώς και από την τοπική μικροβιακή δεξαμενή τού εδάφους. Αυτό υποδηλώνει ότι οι μικροβιακές κοινότητες που προσλαμβάνονται από τις ρίζες από μια δεδομένη εδαφική μικροβιακή δεξαμενή ή μικροβίωμα μπορεί να διαφέρουν μεταξύ των γονότυπων των φυτών. Πράγματι, κάθε γονότυπος φυτών φαίνεται να διαμορφώνει ένα βασικό φάσμα μικροβιακών συνεργασιών. Ο λειτουργικός πυρήνας τού μικροβιώματος αντιπροσωπεύει ένα βασικό συστατικό της λειτουργίας και της επιτυχίας των φυτών και, ως εκ τούτου, θα πρέπει να αποτελέσει προτεραιότητα για περαιτέρω έρευνα (Lemanceau et al., 2017).

Στο παρόν κεφάλαιο αυτής της διατριβής θα παρουσιαστεί το ιδιαίτερα ενδιαφέρον θέμα της παρεμβολής των PGPM's (plant-growth-promoting microorganisms) στη φυσιολογία τού φυτού και ειδικότερα στη διάσπαση τού 1-αμινοκυκλοπρόπανο-1-καρβοξυλικού οξέως (ACC), προδρόμου μορίου τού μονοπατιού βιοσύνθεσης αιθυλενίου.

**Πίνακας 1.** Μικροβιακά λειτουργικά χαρακτηριστικά που προάγουν την προσαρμοστικότητα των φυτών και οι αντίστοιχοι μικροοργανισμοί [προσαρμογή από Lemanceau et al. (2017)].

Λειτουργικές ιδιότητες		Μικροοργανισμοί
<i>Ισορροπία φυτοορμονών</i>		
Αυξίνες	Ινδολυλο-3-οξικό οξύ (η πλέον διαδεδομένη στα φυτά αυξίνη)	<i>Agrobacterium, Rhizobium, Bradyrhizobium, Azospirillum, Pseudomonas, Pantoea, Enterobacter cloacae, Bacillus, Paenibacillus</i> κ.α.
	Καταβολισμός αυξινών	<i>Pseudomonas putida</i>
Βιοσύνθεση γιββερελλινών		Βακτήρια ( <i>Azospirillum, Rhizobium, Acetobacter diazotrophicus, Herbaspirillum</i> ), μύκητες ( <i>Fusarium, Gibberella</i> )
Βιοσύνθεση κυτοκινινών		<i>Bacillus</i>
Βιοσύνθεση αιθυλενίου		Βακτήρια ( <i>Azospirillum, Pseudomonas</i> , κ.α.), μύκητες ( <i>Penicillium</i> , κ.α.)
Ρύθμιση βιοσύνθεσης αιθυλενίου	1-αμινοκυκλοπρόπανο-1-καρβοξυλικό οξύ (ACC) (πρόδρομη ένωση της βιοσύνθεσης αιθυλενίου στα φυτά)	Διάφορα βακτήρια και μύκητες
Βιοσύνθεση οξειδίου του αζώτου (NO)		Διάφορα βακτήρια και αρχαία
Βιοσύνθεση σαλικυλικού οξέος		<i>Pseudomonas, Azospirillum, Mycobacterium, Paracoccus, Vibrio</i> , κ.α.
<i>Θρέψη φυτών</i>		
Διαλυτοποίηση του φωσφόρου	Pyroloquinoline quinone (συμπαράγοντας ενζύμου -GDH σύνθεσης χαμηλού μοριακού βάρους οργανικών οξέων που αυξάνουν τη διαλυτοποίηση του P)	Διάφορα Πρωτεοβακτήρια
	Σύνθεση γλυκονικών ή κιτρικών οξέων (χαμηλού μοριακού βάρους οργανικά οξέα που συμβάλλουν στη διαλυτοποίηση του P)	Γάμμα-Πρωτεοβακτήρια
	Φυτάση (φωσφατάση του φυτικού οξέος)	Διάφορα βακτήρια και μύκητες
Δέσμευση αζώτου		Διάφορα βακτήρια και αρχαία
Νιτροποίηση		<i>Nitrospira</i> και ορισμένα Proteobacteria, Thaumarchaeota
Θρέψη σιδήρου	Pyoverdines (σιδηροφόρες ενώσεις με υψηλή συγγένεια προς τον Fe <sup>3+</sup> )	<i>Pseudomonas</i> spp.
	Σιδηροφόρες (siderophores)	Διάφορα βακτήρια και μύκητες

Λειτουργικές ιδιότητες		Μικροοργανισμοί
(χηλικές ενώσεις του Fe <sup>3+</sup> )		
<i>Προσαρμογή φυτών στην υδατική καταπόνηση</i>		
Βιοσύνθεση τρεχαλόζης		<i>Rhizobium etli</i>
Σύνθεση πολυσακχαριτών		<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Καταστολή ασθενειών/αναστολή παθογόνων</i>		
Σύνθεση 2,4-διακετυλο-φλωρογλυκινόλης (2,4-diacetylphloroglucinol) (φαινολική αντιμικροβιακή ένωση)		<i>Pseudomonas</i> spp.
Σύνθεση HCN		Διάφορα Πρωτεοβακτήρια
Σύνθεση phenazin, pyrrolnitrin (αντιμικροβιακές ενώσεις)		<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
Σύνθεση pyoluteorin (αντιμικροβιακές ενώσεις)		<i>Pseudomonas protegens</i>
Σύνθεση 2-hexyl-5-propyl-alkylresorcinol		<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Ανταγωνισμός Fe με τη μεσολάβηση της πυοβερδίνης (pyoverdine)		<i>Pseudomonas</i> spp.
Iturins, fengycins, surfactins (αντιβακτηριακά λιποπεπτίδια)		<i>Bacillus</i> spp.
Orfamide, viscosin, massetolide (αντιβακτηριακά λιποπεπτίδια)		<i>Pseudomonas</i> spp.
<i>Καταστολή ασθενειών/άμυνα φυτών</i>		
Λιποπολυσακχαρίτες		Διάφορα βακτήρια (παθογόνα και PGPRs)
Φλαγκελίνη (Flagellin) (πρωτεϊνικά συστατικά του μαστιγίου βακτηρίων)		Διάφορα βακτήρια (παθογόνα και PGPRs)
Peroxidase, a-dioxygenase (ένζυμα που συμμετέχουν στην άμυνα του φυτού έναντι σε μικροβιακή μόλυνση)		<i>Trichoderma</i> spp.
2,4-διακετυλο-φλωρογλυκινόλη (φαινολική αντιμικροβιακή ένωση)		<i>Pseudomonas protegens</i>
Σιδηροφόρες ενώσεις	Pyoverdines	<i>Pseudomonas putida, Pseudomonas protegens</i>
	Pyochelin, pyocyanin	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

### Το αιθυλένιο και ο ρόλος του στη συνολική ανάπτυξη των φυτών

Οι φυτοορμόνες αποτελούν κρίσιμο συστατικό των δικτύων σηματοδότησης των φυτών, ασκώντας έτσι βαθιά επίδραση σε πλήθος διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της αύξησης, της ανάπτυξης και των αποκρίσεων σε γενετικές, βιοτικές και αβιοτικές μεταβολές. Η αρχική ανακάλυψη των κλασικών

φυτοορμονών περιλαμβάνει τις γιββερελλίνες, τις κυτοκινίνες, τις αυξίνες, το αψισικό οξύ και το αιθυλένιο (Bhardwaj et al. 2023).

Το αιθυλένιο αποτελεί το απλούστερο αέριο ολεφίνης (οργανικές ενώσεις με τουλάχιστον ένα διπλό δεσμό C=C στο μόριό τους) που βιοσυντίθεται από τα φυτά. Το αιθυλένιο (ET) είναι η φυτοορμόνη με το μικρότερο μοριακό βάρος και μία από τις πρώτες αέριες φυτοορμόνες που αναγνωρίστηκαν, πριν από περίπου έναν αιώνα. Είναι γνωστό ότι το αιθυλένιο ρυθμίζει την ωρίμαση των καρπών. Ωστόσο, ο ρόλος τού σηματοδοτικού μονοπατιού τού ET στη ρύθμιση διαφόρων πτυχών της ανάπτυξης των φυτών, της αύξησης και των αποκρίσεων σε καταπονήσεις έχει αποτελέσει αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας τις τελευταίες τρεις δεκαετίες. Το αιθυλένιο λειτουργεί ως φυτορυθμιστική ουσία μέσω διάδοσης σημάτων από κύτταρο σε κύτταρο στα φυτά και μπορεί επίσης να δράσει διαχεόμενο στα γύρω φυτά και προκαλώντας σε αυτά αποκρίσεις αιθυλενίου. Ως σηματοδοτικό μόριο, το ET είναι ικανό να ρυθμίζει μια σειρά αναπτυξιακών διεργασιών στα φυτά, συμπεριλαμβανομένης της βλάστησης των σπερμάτων, της ανάπτυξης των σποροφύτων, της ανάπτυξης των ριζών και των βλαστών, της ωρίμασης των καρπών, της γήρανσης και της απόπτωσης. Ρυθμίζει την ανάπτυξη της ρίζας μέσω μιας οδού που φαίνεται να είναι συντηρημένη σε όλα τα φυτικά είδη. Τα σήματα ET διατηρούν την ισορροπία μεταξύ των διαδικασιών κυτταρικής διαίρεσης και διαφοροποίησης και μπορούν να εμποδίσουν την αύξηση των ιστών παρεμβαίνοντας στην επιμήκυνση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Αυτή η ισορροπία μεταξύ των διαδικασιών κυτταρικής διαίρεσης, επιμήκυνσης και διαφοροποίησης, που προκαλείται από το ET και την αλληλεπίδρασή του με άλλες φυτοορμόνες, κυρίως με την αυξίνη, ελέγχει την ανάπτυξη της αρχιτεκτονικής τού ριζικού συστήματος (Gupta et al. 2023). Επιπλέον, το ET διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση τού μεταβολισμού των φυτών σε βιοχημικό και φυσιολογικό επίπεδο. Επηρεάζει τη συσσώρευση μεταβολιτών τού πρωτογενούς μεταβολισμού (π.χ. υδατάνθρακες, λιπίδια και πρωτεΐνες), καθώς και δευτερογενών μεταβολιτών (π.χ. τερπενοειδή, φαινολικές ενώσεις, αλκαλοειδή, γλυκοζινολίδια κ.α.). Αυτή η ρυθμιστική δράση επιτρέπει στα φυτά να εκτελούν τις φυσιολογικές τους λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της αύξησης, της ανάπτυξης και των μηχανισμών άμυνας (Bhardwaj et al. 2023).

Οι αβιοτικοί παράγοντες καταπόνησης, συμπεριλαμβανομένης της ξηρασίας, της αλατότητας τού εδάφους, της θερμότητας και τού ψύχους, αποτελούν σημαντικούς περιορισμούς για τη φυτική παραγωγή, τόσο όσον αφορά στα ποιοτικά όσο και στα ποσοτικά χαρακτηριστικά της. Φαίνεται αναπόφευκτο ότι οι απειλές αυτές θα γίνουν ακόμη πιο σημαντικές στο πλαίσιο της κλιματικής αλλαγής και των πιέσεων ενός συνεχώς αυξανόμενου ανθρώπινου πληθυσμού. Ο παγκόσμιος ανθρώπινος πληθυσμός έφθασε πρόσφατα τα 8 δισεκατομμύρια, ενώ οι τελευταίες προβλέψεις των Ηνωμένων Εθνών δείχνουν ότι θα μπορούσε να αυξηθεί σε περίπου 8,5 δισεκατομμύρια μέχρι το 2030 και σε 9,7 δισεκατομμύρια μέχρι το 2050. Υπό το πρίσμα αυτών των εξελίξεων, είναι προφανές ότι η περιβαλλοντική αλλαγή αποτελεί σημαντική πρόκληση για τον γεωργικό τομέα, ιδίως όσον αφορά την

κάλυψη της αυξανόμενης παγκόσμιας ζήτησης για τρόφιμα. Είναι λυπηρό το γεγονός ότι η πλειονότητα της γης είναι εκτεθειμένη σε ακραίες συνθήκες. Η αβιοτική καταπόνηση μπορεί να μειώσει τις αποδόσεις κατά περισσότερο από 60% κατά μέσο όρο. Σε παγκόσμια κλίμακα, τα ακραία καιρικά φαινόμενα παρουσιάζουν μια αυξανόμενη κλίση προς τους πόλους και τα πρότυπα μεταβλητότητας της θερμοκρασίας καταδεικνύουν την αυξανόμενη επικράτηση των ακραίων θεرمών έναντι των ψυχρών θερμοκρασιών (Korecká et al. 2023). Έχει δειχθεί ότι τα ακραία μετεωρολογικά φαινόμενα θα μπορούσαν να εξηγήσουν έως και το ήμισυ της παγκόσμιας μεταβλητότητας των αποδόσεων των καλλιεργειών (Vogel et al. 2019).

Η ξηρασία αποτελεί έναν από τους κύριους εξωγενείς παράγοντες που επηρεάζουν όχι μόνο την ανάπτυξη και την εξέλιξη των φυτών αλλά και την ποιότητα των σπερμάτων που αναπαράγουν τα φυτά. Κατά συνέπεια, αυτός ο παράγοντας καταπόνησης επιβαρύνει τη συνέχιση της ύπαρξης των φυτικών ειδών και ασκεί έμμεση επίδραση στην βιοποικιλότητα των οικοσυστημάτων. Ο οικονομικός αντίκτυπος της εδαφικής ξηρασίας είναι σημαντικός, ιδίως όσον αφορά στις μειωμένες αποδόσεις των καλλιεργειών για οικονομικά σημαντικά είδη. Εκτιμάται ότι ο συνδυασμένος αρνητικός αντίκτυπος της ξηρασίας, των υψηλών θερμοκρασιών και της αλατότητας κατά τα επόμενα 25 χρόνια θα οδηγήσει σε μείωση των αποδόσεων κατά 30%. Έχει αποδειχθεί ότι τα φυτά που ανήκουν στην οικογένεια Fabaceae (ψυχανθή), καθώς και τα *Zea mays* L. (αραβόσιτος) και *Gossypium* L. spp. (βαμβάκι), παρουσιάζουν σημαντική συσχέτιση μεταξύ της απόδοσης και των καιρικών συνθηκών. Οι πιο επιζήμιες για αυτά τα ευάλωτα είδη είναι οι υδατικές καταπονήσεις κατά τις φάσεις της ανάπτυξής τους που είναι κρίσιμες για τη βέλτιστη λειτουργία τους: την περίοδο της μεγαλύτερης αύξησης της βιομάζας, της ανθοφορίας και της ανάπτυξης των καρπών. Ως απόκριση στην έλλειψη νερού στο έδαφος, ενεργοποιούνται τόσο τοπικοί όσο και διασυστηματικοί μηχανισμοί. Το υδατικό έλλειμμα έχει ως αποτέλεσμα την υπερβολική παραγωγή ET και αμινικού οξέος, με αποτέλεσμα τον περιορισμό της διαπνοής και τη διέγερση της γήρανσης των φύλλων, ακόμη και την απόπτωση των οργάνων αυτών (Wilmowicz et al. 2023).

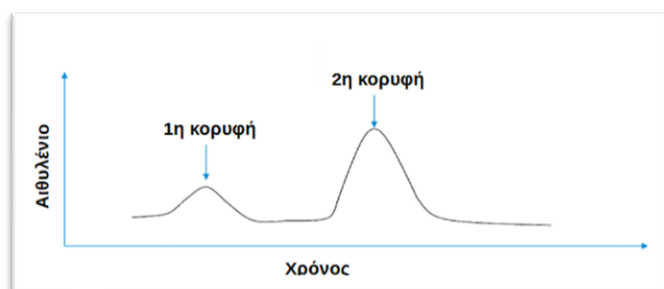
Η απώτερη πρόδρομη ένωση στη σύνθεση του ET είναι η L-μεθειονίνη μέσω της S-αδενοσυλο-L-μεθειονίνης (SAM), η οποία μετατρέπεται σε 1-αμινοκυκλοπρόπανο-1-καρβοξυλικό οξύ (ACC) από το ένζυμο ACC συνθετάση (ACS). Ο σχηματισμός της συνθετάσης του ACC επάγεται από πολλούς περιβαλλοντικούς παράγοντες: από πληγές και μηχανικές βλάβες, πλημμυρικές-ανοξικές καταστάσεις, ξηρασία και ψύχος, καθώς και από την έναρξη της γήρανσης στα άνθη και τους καρπούς. Το ACC μετατρέπεται στη συνέχεια σε ET από το ένζυμο ACC οξιδάση απελευθερώνοντας CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O και HCN ως παραπροϊόντα (Bishop et al. 2015). Το ACC είναι το τελευταίο διαλυτό ενδιάμεσο προϊόν στην ακολουθία που οδηγεί στη σύνθεση ET, ως εκ τούτου, το ACC λαμβάνεται συχνά ως δείκτης για την παραγωγή ET (Heilmann 2015).

## Η άμβλυνση των συνεπειών της καταπόνησης των φυτών

Τα φυτά ανταποκρίνονται σε διάφορους παράγοντες καταπόνησης συνθέτοντας αμυντικές πρωτεΐνες και τροποποιώντας τη φυσιολογία και τη βιοχημεία τους. Η αντίδραση των περισσότερων φυτών στην καταπόνηση περιλαμβάνει τη σύνθεση αυξημένων ποσοτήτων αιθυλενίου, το οποίο δρα ως φυτοορμόνη για να επάγει την ενεργοποίηση γονιδίων. Ο αντίκτυπος του αιθυλενίου στις αντιδράσεις των φυτών μπορεί να συνεπάγεται τον μετριασμό ή την επιδείνωση των επιπτώσεων της καταπόνησης κατά τρόπον που εξαρτάται από τις συγκεκριμένες συνθήκες. Μετά την έναρξη μιας βιοτικής ή αβιοτικής καταπόνησης, παρατηρείται συνήθως μια σύντομη αύξηση της σύνθεσης αιθυλενίου στο προσβεβλημένο φυτό. Αυτή η αιχμή αιθυλενίου είναι υπεύθυνη για την κατανάλωση της μικρής ποσότητας ACC που συνήθως υπάρχει στα μη καταπονημένα φυτά. Πιστεύεται ότι ενεργοποιεί τη σύνθεση αμυντικών πρωτεϊνών στα φυτά. Εφόσον ο παράγοντας καταπόνησης συνεχίσει να υφίσταται, την αρχική κορυφή διαδέχεται μια σημαντικά μεγαλύτερη κορυφή αιθυλενίου, η οποία εμφανίζεται αρκετές ώρες έως μερικές ημέρες αργότερα. Αυτή η δεύτερη αιχμή είναι αποτέλεσμα της μετατροπής του νεοσυντιθέμενου ACC και δρομολογεί διαδικασίες όπως η γήρανση, η χλώρωση και η αποκοπή, οι οποίες είναι ανασταλτικές για την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών (Govindasamy et al. 2011, Glick 2014, 2015, Jha et al. 2021) (Διάγραμμα 4.1). Μια επιλεκτική μείωση της δεύτερης, αλλά όχι της πρώτης, φαίνεται να είναι ευεργετική για την ανάπτυξη των φυτών. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη χρησιμοποίηση PGPBs που διαθέτουν ενζυμική δραστηριότητα ACC απαμινάσης (Govindasamy et al. 2011).

Η εφαρμογή των PGPBs μπορεί να προσδώσει ανθεκτικότητα στα φυτά σε αβιοτικούς παράγοντες καταπόνησης μέσω (i) της διευκόλυνσης της απόκτησης σιδήρου μέσω των σιδηροφόρων και (ii) της παροχής οσμωτικής προστασίας μέσω της τρεχαλόζης. Επιπλέον, (iii) βιοσυνθέτουν ινδολυλ-3-οξικό οξύ (IAA), μια φυτική ορμόνη που προάγει την ανάπτυξη, καθώς και (iv) μια δεύτερη φυτική ορμόνη, την κυτοκίνη. Τέλος, (v) παράγουν απαμινάση του ACC, η οποία μειώνει τα επίπεδα ACC στο φυτό και έτσι περιορίζει τη σύνθεση αιθυλενίου (Glick 2015).

Η υπερβολική παραγωγή αιθυλενίου στις γεωργικές καλλιέργειες μπορεί να οδηγήσει σε πρόωρη συγκομιδή των καλλιεργειών, γεγονός που μπορεί να έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην παραγωγή τροφίμων σε περιοχές που αντιμετωπίζουν ξηρασία και αλατότητα. Ως εκ τούτου, η ανάπτυξη στρατηγικών για τον έλεγχο των επιπέδων αιθυλενίου



**Διάγραμμα 4.1.** Η αναπαράσταση της παραγωγής αιθυλενίου σε φυτά που υποβάλλονται σε πανομοιότυπο αβιοτικό στρες δείχνει μια διφασική απόκριση, σύμφωνα με την οποία η αρχική έκθεση οδηγεί σε μείωση της συγκέντρωσης αιθυλενίου, ενώ οι επόμενες εκθέσεις οδηγούν σε αύξηση [προσαρμογή από Jha et al. (2021)].

σε καλλιέργειες που καλλιεργούνται κάτω από διάφορες βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις θα μπορούσε να είναι ιδιαίτερα επωφελής για την επίτευξη ποιοτικών αποδόσεων ακόμη και σε δυσμενή περιβάλλοντα (Jha et al. 2021). Όταν η συγκέντρωση του αιθυλενίου ξεπεράσει το όριο ανοχής, παρατηρούνται αρνητικές επιδράσεις, όπως η αναστολή της ανάπτυξης της ρίζας και των βλαστών, οι οποίες μπορεί τελικά να οδηγήσουν σε γήρανση και θάνατο των φυτών. Η επίδραση του αιθυλενίου στα φυτά μπορεί να εξαλειφθεί από μικροοργανισμούς στη ριζόσφαιρα των φυτών, τα οποία διαθέτουν την ικανότητα να παράγουν ACC απαμινάση (Glick 2014). Ορισμένοι ριζοσφαιρικοί μικροοργανισμοί που ευνοούν την ανάπτυξη των φυτών (PGPMs) περιέχουν ACC απαμινάση, που υδρολύει το ACC, μετατρέποντάς το σε α-κετοβουτυρικό και αμμώνιο τα οποία αξιοποιούν ως άμεση πηγή άνθρακα και αζώτου. Η διαδικασία αυτή ελέγχει την παραγωγή αιθυλενίου ανταγωνιζόμενη την ACC οξείδωση για το ACC. Το αποτέλεσμα είναι η έκλυση χαμηλότερων επιπέδων αιθυλενίου (Glick et al. 1998, Kumari et al. 2016). Τα στελέχη που συνθέτουν αυτό το ένζυμο μπορεί να αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι άλλων μικροοργανισμών στη ριζόσφαιρα, επειδή μπορούν να αποικοδομήσουν το ACC σε α-κετοβουτυρικό και αμμώνιο ως πηγές άνθρακα και αζώτου (Kumari et al. 2016).

Το ένζυμο απαμινάση του ACC είναι παρόν σε ένα ευρύ φάσμα αρνητικών κατά Gram βακτηρίων. Τα ακόλουθα βακτηριακά είδη έχουν ταυτοποιηθεί ότι παρουσιάζουν δραστηριότητα της απαμινάσης ACC: *Pseudomonas putida*, *Burkholderia phytofirmis*, *Variovorax paradoxus*, *Methylobacterium fujisawaense*, *Cronobacter sakazakii*, *Mesorhizobium* sp., *Haererehalobacter* sp. και *Halomonas* sp. Τα θετικά κατά Gram βακτήρια, μεταξύ άλλων τα *Rhodococcus* sp., *Brevibacterium iodinum*, *Bacillus licheniformis*, *Zhihengliuella alba*, *Micrococcus* sp., *Brachybacterium saurashtrense* και *Brevibacterium casei*, επιδεικνύουν επίσης δραστηριότητα ACC απαμινάσης. Έχει αποδειχθεί ότι οι μύκητες *Hansenula saturnus* και *Issatchenkia occidentalis* (ζύμες), *Penicillium citrinum*, *Phytophthora sojae* και *Trichoderma asperellum* είναι σε θέση να παράγουν σημαντικές ποσότητες ACC απαμινάσης (Jha et al. 2021). Τα ριζοσφαιρικά βακτήρια όπως τα *Azotobacter* sp., *Rhizobium* sp., *Pantoea agglomerans*, *Rhodospirillum rubrum*, *Bacillus subtilis* και *Pseudomonas fluorescens* έχουν επίσης την ικανότητα παραγωγής κυτοκινινών ή γιββερελλινών και ενισχύουν την ανάπτυξη των φυτών (Chandra and Singh 2016).

Είναι χαρακτηριστικό ότι τα φυτά αποβάλλουν ένα σημαντικό ποσοστό των μεταβολικά σταθερών αμινοξέων, σακχάρων και οργανικών οξέων τους μέσω των ριζών τους στο περιβάλλον έδαφος. Αυτά τα εκκρίματα των ριζών χρησιμεύουν ως πηγή βακτηριακής τροφής, και αυτός είναι ο κύριος λόγος για τον οποίο ο βακτηριακός πληθυσμός που υπάρχει στη ριζόσφαιρα είναι 1000 φορές υψηλότερος από ό,τι στο αδιατάρακτο έδαφος (Kumari et al. 2016, Neumann and Ludewig 2023).

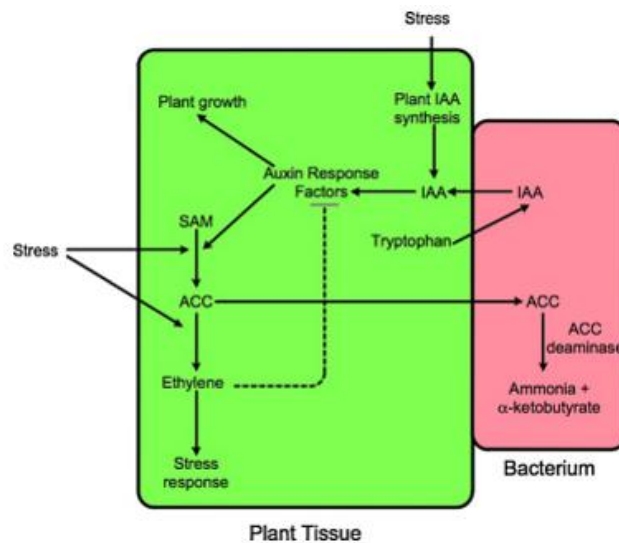
Ο ρόλος της ACC απαμινάσης στην ανάπτυξη των φυτών αποδίδεται στο γεγονός ότι οι μικροοργανισμοί PGPM παράγουν και εκκρίνουν χαμηλά επίπεδα IAA ως απόκριση σε χαμηλά επίπεδα τρυπτοφάνης που απελευθερώνονται από τις ρίζες (Glick 2015, Kumari et al. 2016). Μόλις το IAA

εισέλθει στο εσωτερικό των φυτικών κυττάρων, ασκεί την επίδρασή του με δύο διαφορετικούς τρόπους. Πρώτον, προάγει την ανάπτυξη των φυτών. Δεύτερον, διεγείρει τη μεταγραφή των φυτικών γονιδίων που κωδικοποιούν τη σύνθεση του ACC. Στην τελευταία περίπτωση, το βακτηριακό IAA θα προκαλούσε τελικά τη σύνθεση του αιθυλενίου στο φυτό (Glick 2015). Η επαγομένη από το IAA βιοσύνθεση αιθυλενίου έχει σημαντική ανασταλτική επίδραση στην ανάπτυξη μέσω της ενεργοποίησης παραγωγής αβισικού οξέος (ABA, abscisic acid) (Hansen and Grossmann 2000). Το ABA συνδέεται στενά με το κλείσιμο των στοματίων και την επακόλουθη μείωση της διαπνοής, της αφομοίωσης του CO<sub>2</sub> και της ανάπτυξης των βλαστών και των ριζών (Hopkins and Hüner 2009). Ωστόσο, η πραγματική εικόνα διαφοροποιείται σημαντικά από την παραπάνω θεωρητική προσέγγιση στην περίπτωση των PGPM.

Η δράση του IAA έχει ως αποτέλεσμα την χαλάρωση των κυτταρικών τοιχωμάτων των φυτών (Hopkins and Hüner 2009), η οποία με την σειρά της οδηγεί σε αυξημένη έκκριση θρεπτικών ουσιών που προέρχονται από τη ρίζα και προάγει με τον τρόπο αυτόν την παροχή πρόσθετων πόρων για τα βακτήρια της ριζόσφαιρας (Glick 2015). Εφόσον τα βακτήρια αυτά βιοσυνθέτουν ACC απαμινάση, το ACC που εξάγεται στο ριζόστρωμα υδρολύεται και μεταβολίζεται από τους μικροοργανισμούς με την βοήθεια του ενζύμου, που δρα ως αποδέκτης του ACC. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων ACC στο φυτό, η οποία κατά συνέπεια εμποδίζει το φυτό να παράγει τόσο αιθυλένιο όσο θα ήταν σε διαφορετική περίπτωση ικανό να βιοσυνθέσει. Έχει παρατηρηθεί ότι η παρουσία της απαμινάσης του ACC οδηγεί σε λιγότερο έντονη αύξηση των επιπέδων αιθυλενίου των φυτών από ό,τι παρατηρείται σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτών και βακτηρίων που εκκρίνουν IAA αλλά δεν συνθέτουν απαμινάση ACC. Σε αυτή την περίπτωση, το βακτηριακό IAA είναι σε θέση να διατηρήσει την ανάπτυξη των φυτών και να ενισχύσει την μεταγραφή της σύνθεσής του ACC, διατηρώντας στο ελάχιστο την ανασταλτική ανάδραση που προκαλεί το αιθυλένιο στην ανάπτυξη. Το καθαρό αποτέλεσμα αυτής της συνεργιστικής αλληλεπίδρασης μεταξύ του IAA και της απαμινάσης του ACC είναι ότι, μειώνοντας τα επίπεδα αιθυλενίου των φυτών, η απαμινάση ACC επιτρέπει στο IAA να επιτελέσει τη λειτουργία του, δηλαδή να διεγείρει την ανάπτυξη των φυτών. Κατά συνέπεια, τα φυτά που σχετίζονται με PGPM που περιέχουν απαμινάση του ACC παρουσιάζουν συνήθως επιμήκεις και πιο εκτεταμένες ρίζες και βλαστούς, μειωμένη απόπτωση φύλλων, αυξημένο ξηρό βάρος και αυξημένη περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη και πρωτεΐνες (Glick 2015).

Το ένζυμο ACC απαμινάση είναι κοινό συστατικό πολλών μικροοργανισμών του εδάφους, συμπεριλαμβανομένων βακτηρίων και μυκήτων. Είναι πολυμερές ένζυμο, που αποτελείται είτε από ομοδιμερή είτε από ομοτριμερή, με μοριακή μάζα υπομονάδας περίπου 35-42 kDa. Πρόκειται για ένα σουλφυδρυλικό ένζυμο, με ένα μόριο του απαραίτητου συμπαραγόνα φωσφορική πυριδοξάλη στενά συνδεδεμένο με κάθε υπομονάδα (Govindasamy et al. 2011). Το ένζυμο δεν εκκρίνεται από τα βακτήρια, αλλά εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα. Επιπλέον, δεν εμφανίζει ιδιαίτερη συγγένεια για το ACC.

Αντίθετα, το υπόστρωμα ACC αποβάλλεται από τα φυτά μέσω των ριζών τους και στη συνέχεια προσλαμβάνεται από τα PGPM που περιέχουν την ACC απαμινάση (Kumari et al. 2016) (Διάγραμμα 4.2).



**Διάγραμμα 4.2.** Σχηματικό μοντέλο του τρόπου με τον οποίο τα βακτήρια που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών (PGPR), παράγουν απαμινάση ACC και συνθέτουν IAA μπορούν να διευκολύνουν την ανάπτυξη των φυτών. Το ένζυμο ACC συνθετάση μετατρέπει την SAM σε ACC, η οποία στη συνέχεια μετατρέπεται σε αιθυλένιο από την ACC οξειδάση. Η βιοσύνθεση του IAA, τόσο στα βακτήρια όσο και στα φυτά, είναι μια πολύπλοκη διαδικασία πολλαπλών ενζύμων/πρωτεϊνών, όπως και η μεταγωγή σήματος του IAA. Συντομογραφίες: ACC: 1-αμινοκυκλοπρόπανο-1-καρβοξυλικό οξύ, IAA: ινδολυλ-3-οξικό οξύ, SAM: S-αδενοσυλομεθειονίνη [προσαρμογή από (Glick 2014)]

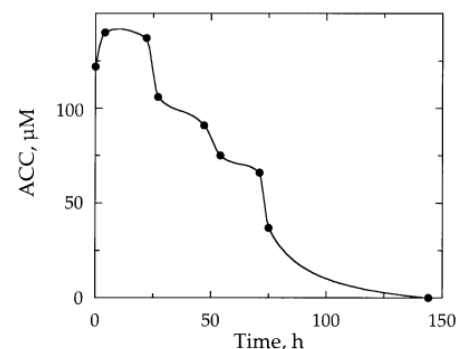
Το ένζυμο είναι παρόν στα βακτηριακά κύτταρα σε χαμηλή συγκέντρωση μέχρι να επαχθεί η βιοσύνθεσή του. Μετά την επιβολή ενός περιβαλλοντικού παράγοντα καταπόνησης, παρατηρείται ότι η δεξαμενή ACC στο φυτό και το επίπεδο της απαμινάσης του ACC βρίσκονται σε χαμηλή συγκέντρωση. Η ταχεία επαγωγή της οξειδάσης του ACC στο φυτό έχει ως αποτέλεσμα την αρχική μικρή αιχμή αιθυλενίου. Με την πάροδο του χρόνου επάγεται η βακτηριακή ACC απαμινάση, με αποτέλεσμα την αξιοσημείωτη μείωση της δεύτερης, επιβλαβούς αιθυλενικής αιχμής. Παρ' όλα αυτά, η δεύτερη αιχμή δεν εξαλείφεται ποτέ εντελώς, καθώς η ACC οξείδωση παρουσιάζει μεγαλύτερη συγγένεια για το ACC από ό,τι η ACC απαμινάση. Κατά συνέπεια, η συγκέντρωση του αιθυλενίου εξαρτάται από την αναλογία της οξείδωσης ACC προς τη απαμινάση ACC, υπό την προϋπόθεση ότι υπάρχουν βακτήρια ικανά να τη βιοσυνθέτουν (Govindasamy et al., 2011).

Το αμμώνιο και το α-κετοβουτυρικό οξύ είναι τα προϊόντα αποικοδόμησης του ACC που χρησιμοποιούνται ως πηγή αζώτου από τα βακτήρια που αποικοδομούν το ACC, με αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων αιθυλενίου στα φυτά ξενιστές. Όταν τα βακτήρια που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών (PGPB) και περιέχουν το ένζυμο απαμινάση του ACC προσκολληθούν στο περίβλημα του σπέρματος ενός αναπτυσσόμενου σπορόφυτου, μπορούν να λειτουργήσουν ως αποδέκτης του ACC και, συνεπώς, ως μηχανισμός που εξασφαλίζει ότι τα επίπεδα αιθυλενίου δεν θα αυξηθούν σε σημείο που να

μειωθεί η ανάπτυξη της ρίζας. Ο σχηματισμός μεγαλύτερου ριζικού συστήματος που εξασφαλίζουν αυτοί οι μικροοργανισμοί επιτρέπει την επιβίωση υψηλότερου αριθμού φυταρίων, ιδίως κατά τις κρίσιμες αρχικές ημέρες μετά τη σπορά. Ο σχηματισμός μεγαλύτερων ριζών ενισχύει την ικανότητα του φυτού να αντιστέκεται στις ανασταλτικές επιδράσεις τού αιθυλενίου στην ανάπτυξη. Αυτό είναι ιδιαίτερα εμφανές στο πλαίσιο της τοξικότητας από βαρέα μέταλλα, της μόλυνσης από παθογόνα, της ξηρασίας, των πλημμυρών, της υφαλμύρωσης τού υπόγειου νερού και της υψηλής αλατότητας τού εδάφους (Jha et al. 2021).

Όταν οι ρίζες φυτών τοματιάς καταπονούνται επειδή εκτίθενται σε μειωμένες συγκεντρώσεις οξυγόνου ως αποτέλεσμα κατάκλυσης, η σύνθεση τού ACC επάγεται και συντίθενται σχετικά μεγάλες ποσότητες ACC (Grichko and Glick 2001). Ωστόσο, η μετατροπή τού ACC σε αιθυλένιο δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί στις ρίζες λόγω υποξικών συνθηκών, καθώς υπάρχει ισχυρή περιοριστική επίδραση στη δραστηριότητα τής ACC οξειδάσης σε χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου (Vriezen et al. 1999), οπότε το συσσωρευμένο ACC μεταφέρεται μέσω τού φυτού στο αερόβιο περιβάλλον των βλαστών, όπου το ACC μετατρέπεται σε αιθυλένιο από την ACC οξειδάση (Jackson 1997, Mohorović et al. 2023). Η σύνθεση αιθυλενίου προκαλεί επινασσία, μάρανση, χλώρωση και νέκρωση των φύλλων και σημαντική απώλεια βιομάζας. Ωστόσο, τα φυτά τοματιάς που καλλιεργήθηκαν από σπέρματα που είχαν υποστεί μεταχείριση με μικροοργανισμούς που εκφράζουν την απαμινάση τού ACC έδειξαν σημαντική ανοχή στην καταπόνηση από την κατάκλυση. Η μεταχείριση αφορούσε στον εμβολιασμό των σπερμάτων με στελέχη των βακτηρίων *Enterobacter cloacae* CAL2 και UW4, που αξιοποιούν το ACC ως την μοναδική πηγή αζώτου, και *Pseudomonas putida* ATCC17399, χωρίς ικανότητα παραγωγής ACC απαμινάσης (Grichko and Glick 2001).

Ως μέρος της αντίδρασής τους στην καταπόνηση λόγω κατάκλυσης, τα φυτά τοματιάς απελευθερώνουν ACC στο περιβάλλον εδαφικό διάλυμα, το οποίο μπορεί να διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των προαιρετικών αναερόβιων μικροοργανισμών με δραστηριότητα σύνθεσης απαμινάσης τού ACC, όπως το *E. cloacae* UW4. Τα φυτά τοματιάς που υποβλήθηκαν σε μεταχείριση με βακτήρια που περιέχουν απαμινάση ACC παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερη ανοχή στην καταπόνηση από ό,τι τα φυτά-μάρτυρες, ή αυτά που υποβλήθηκαν σε μεταχείριση με βακτήρια που δεν επιδεικνύουν δραστηριότητα απαμινάσης. Η προστασία από την καταπόνηση λόγω κατακλύσεως που παρέχεται από την παρουσία βακτηρίων που βιοσυνθέτουν ACC απαμινάση είχε ως αποτέλεσμα στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη συνολική ανάπτυξη των φυτών,



**Διάγραμμα 4.3.** Απελευθέρωση ACC από τις ρίζες της τομάτας στο εδαφικό διάλυμα μετά από καταπόνηση κατάκλυσης [προσαρμογή από Grichko and Glick (2001)]

στην περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη και στην σημαντικά μειωμένη παραγωγή αιθυλενίου στον ιστό του μίσχου των φύλλων (Grichko and Glick 2001).

Οι Dey et al. (2004) ανέφεραν ότι η ενίσχυση του μήκους της ρίζας από τη δραστικότητα της απαμινάσης ACC των εμβολιασμένων στελεχών PGPR είχε σημαντική επίδραση στην πλειονότητα των παραμέτρων ανάπτυξης, απόδοσης και πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων στις ποικιλίες αραχίδιας GG2 τόσο σε συνθήκες φυτοδοχείου όσο και σε συνθήκες αγρού. Ο εμβολιασμός αραβοσίτου με PGPR που περιέχουν ACC απαμινάση προάγει την ανάπτυξη των ριζών και την απόδοση του αραβοσίτου σε αξενικές συνθήκες (Shaharoona et al. 2006α), ενώ ακόμη και όταν τα αζωτούχα λιπάσματα εφαρμόζονταν σε βέλτιστα επίπεδα, ο εμβολιασμός με ριζοβακτήρια που περιέχουν ACC απαμινάση θα μπορούσε να αποτελέσει αποτελεσματική στρατηγική για την βελτίωση της ανάπτυξης και της απόδοσης των εμβολιασμένων καλλιεργούμενων φυτών (Shaharoona et al. 2006β).

Η αλληλεπίδραση μυκήτων τού γένους *Trichoderma* με τις ρίζες των φυτών είναι γνωστό ότι επηρεάζει τα επίπεδα αιθυλενίου μέσω της δράσης της ACC απαμινάσης. Ο *Trichoderma longibrachiatum* Rifai (στέλεχος TL-6) και ο *T. asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg (T203) είναι δύο μύκητες με την ικανότητα να παράγουν απαμινάση τού ACC. Το TL-6 προάγει την ανάπτυξη τού σιταριού (*Triticum aestivum* L.) και αυξάνει την ικανότητα τού φυτού να ανέχεται την καταπόνηση NaCl (Zhang et al. 2019β). Από την άλλη πλευρά, το T203 ρυθμίζει τα επίπεδα ACC στο φυτό και διεγείρει την επιμήκυνση της ρίζας (Viterbo et al. 2010), ενώ παράλληλα αυξάνει την ανοχή τού φυτού στην αβιοτική καταπόνηση (Bal et al. 2013). Επιπλέον, η βιοσύνθεση και η έκφραση των γονιδίων σηματοδότησης τού αιθυλενίου μειώθηκε ύστερα από τον εμβολιασμό τού *T. aestivum* με τον *T. asperellum* (MAP1) σε συνθήκες κατάκλυσης. Στην ίδια μελέτη, το MAP1 έδειξε την ικανότητα να παράγει IAA, προλίνη, ολικά φαινολικά και φλαβονοειδή, ενώ παρατηρήθηκε επίσης δυναμικό εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών και επαγωγή γονιδίων *ACC deaminase* κατά τη χορήγηση ACC, υποδεικνύοντας τον πιθανό ρόλο τού στελέχους στην επαγωγή μηχανισμών απόκρισης στην καταπόνηση και ανοχής στα φυτά (Rauf et al., 2021).

### **Συμπερασματικά σχόλια**

Οι μικροοργανισμοί με χαρακτηριστικά PGPM (Plant Growth Promoting Microorganisms) που διαθέτουν το ένζυμο ACC απαμινάση αποτελούν μια σημαντική κατηγορία μικροοργανισμών με ευεργετική επίδραση στην ανάπτυξη και ανθεκτικότητα των φυτών. Το ένζυμο ACC απαμινάση συμβάλλει στη μείωση των επιπέδων της φυτοορμόνης αιθυλενίου, το οποίο συσσωρεύεται υπό συνθήκες αβιοτικών καταπονήσεων, όπως ξηρασία, αλατότητα, παγετός, και βιοτικών καταπονήσεων (μόλυνση από φυτοπαθογόνα). Η μείωση των επιπέδων αιθυλενίου αποτρέπει την υπερβολική ανασχεση της ανάπτυξης τού φυτού σε τέτοιες συνθήκες και την πρόωρη γήρανση, επιτρέποντας την καλύτερη προσαρμογή του σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες.

Τα PGPM με ACC απαμινάση έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά στην ενίσχυση της ανάπτυξης και της ανθεκτικότητας των φυτών σε καταπονήσεις. Έχουν παρατηρηθεί βελτιώσεις στο ριζικό σύστημα, τη βλαστική ανάπτυξη, την παραγωγή βιομάζας και την απόδοση των καλλιεργειών σε συνθήκες καταπόνησης. Η αξιοποίηση της ιδιότητας αυτών των μικροοργανισμών αποτελεί μια φιλική προς το περιβάλλον και βιώσιμη προσέγγιση για την αντιμετώπιση των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής και την ενίσχυση της αειφόρου γεωργίας.

## Κεφάλαιο 5

---

### Σχέσεις μεταξύ της υγείας τού ανθρώπου και των φυτών με το εδαφικό μικροβίωμα

#### Εισαγωγή

Η βιοποικιλότητα τού εδάφους έχει μεγάλη σημασία για τη ρύθμιση των επιπτώσεων των παθογόνων μικροοργανισμών και των παρασίτων στα φυτά, τα ζώα και τον άνθρωπο. Το περίπλοκο μωσαϊκό των εδαφικών κοινοτήτων και μικροπεριβαλλόντων προσφέρει πληθώρα μηχανισμών και πιθανών λύσεων για τη ρύθμιση των επιβλαβών οργανισμών. Το έδαφος φιλοξενεί τις πιο ποικιλόμορφες βιολογικές κοινότητες στη Γη, με περίπλοκες διαμορφώσεις ανόργανων και οργανικών ουσιών που δημιουργούν ένα ευρύ φάσμα οικολογικών θέσεων. Ένα σημαντικό ποσοστό αυτών εμπλέκεται άμεσα ή έμμεσα στη ρύθμιση οργανισμών που μπορεί να έχουν βλαβερές συνέπειες για τον άνθρωπο. Επιπλέον, το έδαφος χρησιμεύει ως αποθήκη για βακτηριακά, μυκητολογικά και ιολογικά παθογόνα που έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν ασθένειες σε φυτά, ζώα ή ανθρώπους. Η ποικιλομορφία των μικροβιακών κοινοτήτων τού εδάφους έχει μεγάλη σημασία για την αποτροπή της εγκατάστασης και της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών. Τα υψηλά επίπεδα βιοποικιλότητας οδηγούν επίσης σε μεγαλύτερη οικολογική ανθεκτικότητα, η οποία ορίζεται από την ποικιλομορφία απόκρισης ή το εύρος των αποκρίσεων σε διαταραχές. Ωστόσο, οι επαναλαμβανόμενες διαταραχές που μειώνουν τη μικροβιακή ποικιλότητα τού εδάφους μπορούν να μειώσουν την ποικιλομορφία απόκρισης, δημιουργώντας ευκαιρίες για εισβολή μη ιθαγενών οργανισμών. Οι στοχευμένες πρακτικές διαχείρισης που αυξάνουν την ποικιλότητα και τη βιομάζα των μικροβίων τού εδάφους μπορούν να ενισχύσουν τις ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις και να συμβάλουν στη ρύθμιση των επιβλαβών οργανισμών (Samaddar et al. 2021).

Τα νωπά προϊόντα έχουν αναγνωριστεί ως δυνητικός φορέας μετάδοσης τροφιμογενών παθογόνων μικροοργανισμών. Το *Salmonella enterica* (Kauffmann & Edwards) Le Minor & Popoff είναι η κύρια αιτία των βακτηριακών τροφιμογενών επιδημιών που σχετίζονται με τα προϊόντα στις Ηνωμένες Πολιτείες. Η κατανάλωση μολυσμένων με σαλμονέλα προϊόντων έχει οδηγήσει σε αρκετές διεθνείς επιδημίες σαλμονέλωσης. Επιπλέον, έχουν εμφανιστεί αρκετά κρούσματα σαλμονέλωσης που σχετίζονται με κατανάλωση π.χ. μολυσμένης τομάτας που ενδεχομένως έφερε μόλυνση από τον αγρό. Έχει αποδειχθεί ότι το νερό άρδευσης και η κόπρος πουλερικών μπορούν να λειτουργήσουν ως πηγή μόλυνσης για τα προϊόντα στον αγρό, με τη δυνατότητα να φιλοξενούν τροφιμογενείς παθογόνους μικροοργανισμούς (Gu et al. 2018).

Στο πλαίσιο των νωπών και ελάχιστα επεξεργασμένων τροφίμων μη ζωικής προέλευσης, εκείνα που παρουσιάζουν τον μεγαλύτερο κίνδυνο εντός της ΕΕ ανήκουν τα φυλλώδη λαχανικά, τα λαχανικά με βολβούς και στελέχη, οι τομάτες, τα πεπόνια, οι φρέσκοι λοβοί, τα όσπρια ή τα δημητριακά, οι σπόροι και τα μούρα. Οι σημαντικότεροι συνδυασμοί τροφίμων και παθογόνων μικροοργανισμών είναι εκείνοι που αφορούν στη σαλμονέλα και τα νωπά φυλλώδη λαχανικά, ακολουθούμενοι από τη σαλμονέλα και τους βολβούς και τους βλαστούς λαχανικών, τη σαλμονέλα και τις τομάτες, τη σαλμονέλα και τα πεπόνια, και στο *Escherichia coli* (Migula) Castellani & Chalmers και τους νωπούς λοβούς οσπρίων ή τα δημητριακά. Επιπλέον, άλλα παθογόνα που μπορούν να μεταδοθούν είναι ο νοροϊός, το *Shigella*, το *Bacillus* και το *Yersinia*, καθώς και ο ιός της ηπατίτιδας Α. Ενίοτε, ωστόσο, η κατανάλωση αυτών των τροφίμων μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρή ασθένεια και, σε ορισμένες περιπτώσεις, ακόμη και σε θάνατο. Για παράδειγμα, η επιδημία του 2011 στη Γερμανία από το *E. coli* που παράγει τοξίνη Shiga, η οποία συνδέθηκε με κατανάλωση φύτρων σπόρων, είχε ως αποτέλεσμα 53 θανάτους και πάνω από 2.300 νοσηλείες. Στην ΕΕ, αναφέρονται ετησίως πάνω από 91.000 περιπτώσεις σαλμονέλλωσης. Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) έχει εκτιμήσει ότι η συνολική οικονομική επιβάρυνση από τη σαλμονέλλωση στους ανθρώπους μπορεί να φτάσει τα 3 δισεκατομμύρια ευρώ ετησίως. Το 2022, το 4,9% τού συνόλου των τροφιμογενών κρουσμάτων με ισχυρά στοιχεία προκλήθηκαν από την κατανάλωση λαχανικών και χυμών και προϊόντων τους στην ΕΕ, με αποτέλεσμα το 4,4% των περιπτώσεων να οδηγηθεί σε νοσηλεία, εκ των οποίων το 19,4% να καταλήξει. Συνολικά 0,14% των δειγμάτων από την κατηγορία των έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων, συγκεκριμένα φρούτων, λαχανικών και χυμών, βρέθηκαν θετικά για *E. coli* που παράγουν τοξίνη Shiga (STEC), ενώ 2,6% των δειγμάτων βρέθηκαν θετικά για *Listeria monocytogenes* (Murray et al.) Pirie. Όσον αφορά στον αριθμό των θετικών δειγμάτων για *Salmonella*, η συντριπτική πλειοψηφία των δειγματιζόμενων μη ζωικών, έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων παρουσίασε εξαιρετικά χαμηλά ποσοστά, με εξαίρεση τα «μπαχαρικά και βότανα», για τα οποία ο αριθμός των θετικών δειγμάτων, ωστόσο, ήταν σχετικά χαμηλός (1,1%) (EFSA and ECDC 2023).

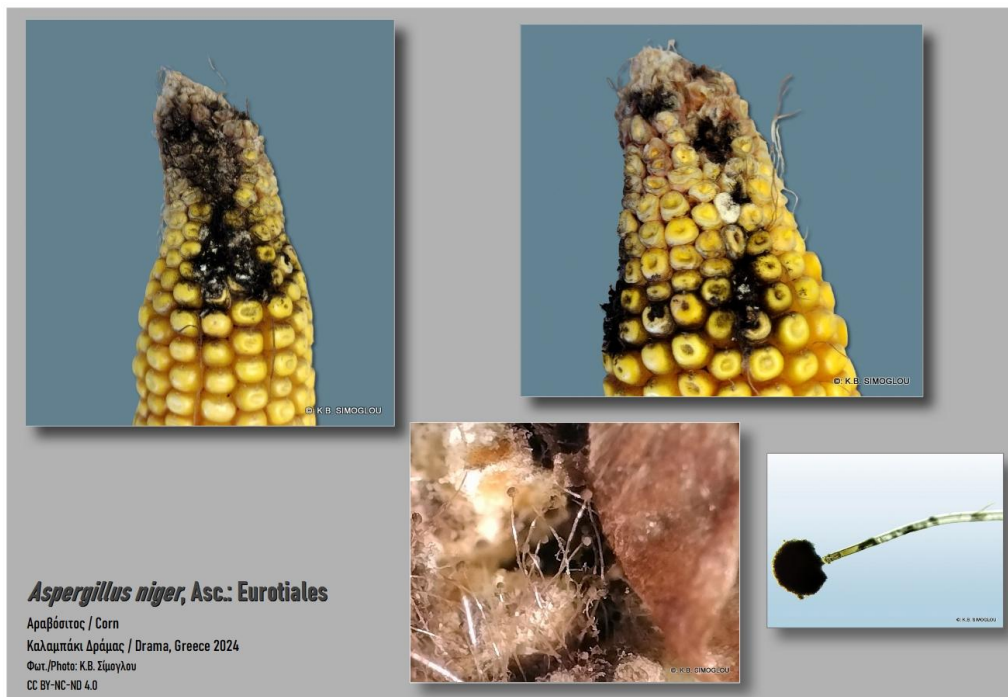
### **Το έδαφος ως παράγοντας ελέγχου των παθογόνων μικροοργανισμών ανθρώπου και ζώων**

Οι ασθένειες που σχετίζονται με το έδαφος έχουν κατηγοριοποιηθεί με βάση την προέλευση τού αιτιολογικού τους παράγοντα, όπως ακολούθως: (1) Ασθένειες που προκαλούνται από ευκαιριακά ή αναδυόμενα παθογόνα που ανήκουν στη φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα τού εδάφους. Για παράδειγμα, ο *Aspergillus fumigatus* Fresenius είναι ένας πολύ κοινός μύκητας που απαντάται στο έδαφος και μπορεί να μολύνει τους πνεύμονες μέσω της εισπνοής των σπορίων του. (2) Ασθένειες που οδηγούν σε δηλητηρίαση από την κατάποση τροφίμων μολυσμένων με εντερο- ή νευροτοξίνες. Το *Clostridium botulinum* van Ermengem και το *Clostridium perfringens* (Veillon & Zuber) Hauduroy et al. είναι παραδείγματα αυτών των παθογόνων. (3) Ασθένειες που προκαλούνται από παθογόνα που

ενδημούν στο έδαφος, συμπεριλαμβανομένων των *Clostridium tetani* Flügge, *Bacillus anthracis* Cohn και *C. perfringens*. (4) Ασθένειες που μεταδίδονται από το έδαφος και προκαλούνται από εντερικά παθογόνα τα οποία εισέρχονται στο έδαφος μέσω ανθρώπινων ή ζωικών αποβλήτων (Santamaría and Toranzos, 2003).

#### (α) Παθογόνα τού ανθρώπου και των ζώων στο έδαφος

Το έδαφος αποτελεί δεξαμενή για μια ποικιλία μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων βακτηρίων, μυκήτων, πρωτόζωων και ιών, οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν ασθένειες σε ανθρώπους και ζώα. Το έδαφος μπορεί να φιλοξενήσει μια σειρά παθογόνων μικροβίων για τον άνθρωπο, συμπεριλαμβανομένων ευρύτερα γνωστών όπως εκείνων που προκαλούν τέτανο (*C. tetani*), αλλαντίαση (*C. botulinum*), λιστερίωση [*Listeria monocytogenes* (E. Murray et al.) Pirie], νοκαρδίαση (είδη *Nocardia*) και άνθρακα (*B. anthracis*) (Kemper et al. 2021), αλλά και λιγότερο γνωστών όπως τα *Providencia alcalifaciens* (Hadley, Elkins & Caldwell) και *Serratia liquefaciens* Grimes & Hennerty που προκαλούν γαστρεντερίδες και σηψαιμία, αντίστοιχα, στον άνθρωπο (Ferraresso et al. 2020). Οι παθογόνοι μύκητες τού εδάφους περιλαμβάνουν είδη τού γένους *Aspergillus* (Ascomycota, Eurotiales) που περιλαμβάνει φυτοπαθογόνα είδη (Εικόνα 5.1), που ωστόσο μπορεί να προκαλέσει ιγμορίτιδα, αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση και άλλες νοσηρότητες.



**Εικόνα 5.1.** Προσβολή σπαδικών αραβόσιτου από τον μύκητα *Aspergillus niger* (©: Κ.Β. Σίμογλου, 2024)

Πνευμονία ή σηψαιμία (συνήθως σε ασθενείς με εξασθενημένο ανοσιακό σύστημα ή σε άτομα με γενετικές διαταραχές όπως η κυστική ίνωση) μπορεί επίσης να εκδηλωθεί από την έκθεση σε εδαφογενή

παθογόνα. Σε αυτά περιλαμβάνονται είδη των γενών *Blastomyces*, *Histoplasma* και *Coccidioides* (Ascomycota, Onygenales), τα οποία μπορούν να προκαλέσουν πνευμονία, καθώς και είδη μυκήτων της οικογένειας Mucorales, τα οποία μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές λοιμώξεις σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα, και είδη του γένους *Cryptococcus* (Basidiomycota, Trammellales), τα οποία μπορούν να προκαλέσουν μηνιγγίτιδα σε άτομα που έχουν ήδη μολυνθεί από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV). Στα παθογόνα πρωτόζωα του εδάφους περιλαμβάνονται τα *Entamoeba histolytica* (Schaudinn) Lesage, *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux), *Giardia* και *Cryptosporidium parvum* Tyzzer (Kemper et al. 2021).

Ορισμένες ασθένειες που μεταδίδονται από το έδαφος είναι ικανές να μεταδοθούν μέσω του αέρα (π.χ. πυρετός Q, ασπεργίλλωση, σποροτρίχωση) και μπορούν στη συνέχεια να μεταφερθούν με τη σκόνη. Μπορεί εύλογα να συναχθεί το συμπέρασμα ότι οι ασθένειες αυτές είναι οι πλέον δεκτικές σε μεταβολές ως συνέπεια των τροποποιήσεων των πρακτικών διαχείρισης της γης και της αλλαγής των χρήσεών της. Φαίνεται εύλογο να υποθέσουμε ότι κάθε δραστηριότητα που συνδέεται με αυξημένη διάβρωση από τον άνεμο είναι πιθανό να οδηγήσει σε αυξημένη συχνότητα εμφάνισης τέτοιων ασθενειών στη γύρω περιοχή. Οι συναφείς δραστηριότητες μπορεί να περιλαμβάνουν την αλλαγή της χρήσης γης, για παράδειγμα την μετατροπή χορτολιβαδικών εκτάσεων σε καλλιεργήσιμες, το όργωμα ή την κατεργασία του εδάφους που είναι πολύ ξηρό κ.λπ. Επιπλέον, οι συνθήκες αυτές μπορεί να γίνουν πιο διαδεδομένες στο πλαίσιο της κλιματικής αλλαγής, δεδομένης της πιθανής αύξησης της συχνότητας και της σοβαρότητας των ξηρασιών (Nieder et al. 2018).

Αυτοί οι παθογόνοι μικροοργανισμοί μπορούν να ταξινομηθούν σε τέσσερις ακόμη κατηγορίες: μόνιμοι, περιοδικοί, παροδικοί και τυχαίοι. Οι μόνιμοι παθογόνοι μικροοργανισμοί, όπως το *C. botulinum* και το *C. tetani*, είναι ικανοί να παράγουν νευροτοξίνες όταν καταναλώνονται τρόφιμα μολυσμένα με αυτούς τους παθογόνους μικροοργανισμούς ή όταν δημιουργούνται πληγές. Αντίθετα, τα περιοδικά παθογόνα, με παράδειγμα το *B. anthracis*, εξαρτώνται από το εδαφικό περιβάλλον για την ολοκλήρωση του κύκλου ζωής τους. Οι παροδικοί οργανισμοί, όπως το *Giardia lamblia* Stiles, είναι φυσιολογικά παρόντες στο έδαφος λόγω της επαφής των ξενιστών τους με το περιβάλλον, αλλά δεν απαιτούν το έδαφος για την επιβίωσή τους. Οι τυχαίοι παθογόνοι οργανισμοί, όπως οι εντερικοί παθογόνοι οργανισμοί *Salmonella enterica* subsp. *enterica* και *E. coli* (STEC), εισάγονται στο έδαφος μέσω ανθρωπογενών πηγών, ανθρώπινων και ζωικών δραστηριοτήτων ή άλλων διαύλων, αλλά επιβιώνουν στο έδαφος μόνο για μικρά χρονικά διαστήματα. Η ικανότητα των παθογόνων μικροοργανισμών να παραμένουν στο έδαφος έχει μεγάλη σημασία, καθώς καθορίζει τους πιθανούς μηχανισμούς καταστολής που μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Οι επιπτώσεις των μικροβιακών παθογόνων του εδάφους στα σπονδυλωτά έχουν αποτελέσει αντικείμενο εκτενούς μελέτης (Samaddar et al. 2021).

Τα παθογόνα αντιδρούν διαφορετικά στην καταπόνηση και στις μη βέλτιστες συνθήκες επιβίωσης στο έδαφος. Έτσι, το *Listeria* spp. είναι ιδιαίτερα προσαρμοσμένο σε περιβάλλοντα εδάφους με χαμηλή διαθεσιμότητα νερού, χαμηλό pH και χαμηλή θερμοκρασία. Η θερμοκρασία έχει προταθεί ως βασικός παράγοντας για την ικανότητα του *Campylobacter* να επιβιώνει στο περιβάλλον. Η επιβίωση του *Campylobacter jejuni* (Jones et al. ) Véron & Chatelain στις ρίζες και τα φύλλα των φυτών είναι καλύτερη σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (10 και 16°C) από ό,τι σε υψηλότερες (33 και 37°C). Το *E. coli* προσαρμόζεται και επιβιώνει σε χαμηλότερες θερμοκρασίες και μπορεί αυτές να διαδραματίζουν ρόλο στην επιβίωσή του στο έδαφος. Στο έδαφος, με ή χωρίς χορήγηση κόπρου, το *Salmonella typhimurium* (Loeffler) Castellani & Chalmers έχει αποδειχθεί ότι εμμένει περισσότερο σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (Black et al. 2021).

Χαρακτηριστικά του εδάφους, όπως η υψηλή περιεκτικότητα σε μολυβδαίνιο (Mo), έχουν αναφερθεί ότι υποστηρίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις του *L. monocytogenes*, γεγονός που υποδηλώνει ότι τέτοιες συνθήκες μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένη επιβίωση (Black et al. 2021). Υψηλή διαθεσιμότητα Mo μπορεί να εμφανιστεί σε υγρά εδάφη, με υψηλό pH και υψηλή περιεκτικότητα σε OM. Σε αντίθεση με άλλα μικροθρεπτικά συστατικά, η διαθεσιμότητα του  $\text{MoO}_4^{2-}$  αυξάνεται περίπου κατά δέκα φορές ανά μονάδα αύξησης του pH του εδάφους (Havlin et al. 2016).

#### Παθογόνα ανθρώπων στα φυτά

Η μελέτη των ανθρώπινων παθογόνων μικροοργανισμών στα φυτά αποτελεί έναν νέο τομέα έρευνας, που μόλις πρόσφατα προσέλυσε την προσοχή των βιολόγων φυτών και των φυτοπαθολόγων. Τα φυτά έχουν αναπτύξει ένα εξελιγμένο ανοσοσυστήμα για να αμύνονται κατά των παθογόνων μικροοργανισμών. Τα φυτά είναι ικανά να οργανώνουν μια γενικευμένη αντίδραση, η οποία ενεργοποιείται από τροποποιημένα, ή αποικοδομημένα φυτικά μόρια, ή συντηρημένα μόρια παθογόνων (δηλαδή μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με βλάβες ή παθογόνα, DAMP/PAMP). Σε πολλές περιπτώσεις, τα συντηρημένα PAMPs είναι συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων και των επιφανειακών δομών, συμπεριλαμβανομένης της flagellin, των λιποπολυσακχαριτών και της χιτίνης. Τα PAMPs αναγνωρίζονται από υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRs), οι οποίοι διαβιβάζουν ενδοκυτταρικά σήματα, εκκινώντας μια σειρά αμυντικών μορίων για να σταματήσουν την εισβολή των παθογόνων μικροοργανισμών. Αυτός ο κλάδος του ανοσοποιητικού συστήματος συνιστά την ενεργοποιούμενη από παθογόνα ανοσία (PTI) και αποτελεί την αρχική γραμμή ενεργού άμυνας κατά της μόλυνσης (Holden et al. 2009, Melotto et al. 2014).

Οι πρώτες αντιδράσεις συμβαίνουν μέσα σε δευτερόλεπτα έως λεπτά από την αναγνώριση, συμπεριλαμβανομένης εκροής ιόντων, εξωκυτταρικής αλκαλοποίησης και οξειδωτικής έξαρσης. Οι ενδιάμεσες αποκρίσεις εμφανίζονται μέσα σε λίγα λεπτά έως ώρες, συμπεριλαμβανομένου του κλεισίματος των στοματίων, της παραγωγής αιθυλενίου, της σηματοδότησης της πρωτεϊνικής κινάσης που ενεργοποιείται από μιτογόνο (MAPK) και του μεταγραφικού επαναπρογραμματισμού. Οι όψιμες

αποκρίσεις λαμβάνουν χώρα σε διάστημα ωρών έως ημερών και περιλαμβάνουν την εναπόθεση καλλόζης (πολυσακχαρίτης που αποτελείται από μόρια γλυκόζης συνδεδεμένα με β-1,3-γλυκοζιτικούς δεσμούς), τη συσσώρευση σαλικυλικού οξέος και την μεταγραφή αμυντικών γονιδίων (Zipfel and Robatzek 2010). Αυτές οι χαρακτηριστικές κυτταρικές άμυνες των φυτών έχουν επίσης καταγραφεί τόσο για το *E. coli* όσο και για το *S. enterica*. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι η μόλυνση των φύλλων του *Arabidopsis* από *S. enterica* έχει ως αποτέλεσμα την επαγωγή της δραστηριότητας της κινάσης MPK3/MPK6 και των γονιδίων *PDF1.2*, *PR1* και *PR2* που σχετίζονται με την άμυνα των φυτών, καθώς και των γονιδίων *PR1*, *PR4* και *PR5* στο μαρούλι (Melotto et al. 2014).

Η υπόθεση ότι τα φυτά χρησιμοποιούνται ως εναλλακτικοί ξενιστές από τα ζωικά παθογόνα εντεροβακτήρια επιβεβαιώνεται από σημαντικό αριθμό στοιχείων (Holden et al. 2009). Έχει αποδειχθεί ότι το *Salmonella* είναι ικανό να παραμείνει στο γεωργικό έδαφος για παρατεταμένες περιόδους, να μεταναστεύσει στη συνέχεια σε μη μολυσμένα μέρη τού φυτού και να αποικίσει ολόκληρο το φυτό, θέτοντας έτσι σημαντικό κίνδυνο για τη δημόσια υγεία. Η μόλυνση των καλλιεργειών μπορεί να συμβεί είτε πριν είτε μετά τη συγκομιδή της καλλιέργειας. Η μόλυνση πριν από τη συγκομιδή μπορεί να προκύψει ως αποτέλεσμα της χρήσης μολυσμένου νερού άρδευσης, της παρουσίας μολυσμένου προσωπικού, της ανεπαρκούς εφαρμογής των διαδικασιών υγιεινής ή της παρουσίας μόλυνσης από ζωικά απόβλητα (Zarkani and Schikora 2021). Η μετασυλλεκτική μόλυνση μπορεί να συμβεί κατά τη μεταφορά, τη μεταποίηση και τη συσκευασία. Είναι προφανές ότι η μη εφαρμογή και συμμόρφωση με τις απαιτούμενες ορθές πρακτικές υγιεινής μπορεί να οδηγήσει σε μόλυνση με ιούς και παθογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα να μειώσουν σημαντικά τη μικροβιολογική ποιότητα και την ασφάλεια των εν λόγω προϊόντων (Paramithiotis et al. 2017). Επιπλέον, η μηχανική βλάβη κατά τη μεταφορά μπορεί να αυξήσει την επιβίωση των παθογόνων τού ανθρώπου στην επιφάνεια διαφόρων φυτών. Είναι αξιοσημείωτο ότι το *Salmonella* δεν είναι ένα κοινό βακτήριο που απαντάται σε συστήματα γεωργικής παραγωγής και το ποσοστό μόλυνσης των φυτών είναι σχετικά χαμηλό. Ωστόσο, η χαμηλή μολυσματική δόση (για ορισμένα στελέχη μόλις 10<sup>2</sup> κύτταρα) καθιστά αναγκαία την εφαρμογή αποτελεσματικών στρατηγικών πρόληψης (Schierstaedt et al. 2019, Zarkani and Schikora 2021).

Πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι τα φυτά είναι ικανά να ανιχνεύουν PAMPs τού *Salmonella*, συμπεριλαμβανομένου τού πεπτιδίου flagellin -flg22 και να εκκινούν αμυντικές αποκρίσεις ανοσίας ενεργοποιούμενης από PAMP (PTI) (Garcia and Hirt 2014). Παρά το γεγονός ότι τα PAMPs τού *Salmonella* μπορούν να γίνουν αντιληπτά από τους PRRs τού φυτού, η PTI που προκαλείται μπορεί να αποδειχθεί ανεπαρκής για την εξάλειψη ολόκληρου τού πληθυσμού τού *Salmonella*. Αυτό επιτρέπει στο βακτήριο να παραμείνει στον αποπλάστη τού φυτού για παρατεταμένο χρονικό διάστημα (Zarkani and Schikora 2021). Εναλλακτικά, μια άλλη στρατηγική παράκαμψης των αμυντικών αποκρίσεων μπορεί να βασίζεται στο σύστημα έκκρισης τύπου III (T3SS), καθώς διαπιστώθηκε ότι τα μεταλλάγματα T3SS

επάγουν ισχυρότερες αμυντικές αποκρίσεις των φυτών από ό,τι τα άγρια στελέχη. Επιπλέον, η έκφραση των τελεστών (effectors) του *Salmonella* στους φυτικούς ιστούς καταδεικνύει ότι τα βακτήρια αυτά διαθέτουν επίσης αποτελεσματικά μέσα για τον χειρισμό του ανοσιακού συστήματος των φυτών (Garcia and Hirt 2014). Επιπροσθέτως, οι Jo et al. (2019) διαπίστωσαν ότι τελεστές T3SSs, οι οποίοι ρυθμίζουν την παθογένεση του *Shigella* στον άνθρωπο, διαδραματίζουν επίσης κεντρικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων στο *Arabidopsis*. Τα ευρήματα αυτά καταδεικνύουν ότι το ανθρωποπαθογόνο βακτήριο *Shigella* μπορεί να πολλαπλασιάζεται στα φυτά προσαρμόζοντας ανοσοκατασταλτικούς μηχανισμούς που χρησιμοποιούνται στον αρχικό ανθρώπινο ξενιστή του. Ωστόσο, στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι δεν έχουν βρεθεί στοιχεία που να υποδηλώνουν ότι τα ανθρώπινα παθογόνα είναι ικανά να εισαγάγουν τελεστές T3SS σε φυτικά κύτταρα (Garcia and Hirt 2014, Melotto et al. 2014, Zarkani and Schikora 2021).

Η μετανάστευση των ανθρωποπαθογόνων εντεροβακτηρίων που εμβολιάστηκαν στο υπόστρωμα ανάπτυξης του *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. αποδείχθηκε ότι πραγματοποιείται κατά μήκος της επιφάνειας των φυτών, με επακόλουθη απομόνωση από τα φύλλα και τα άνθη. Ωστόσο, παρατηρήθηκε επίσης εγκατάσταση εντός του φυτικού ιστού, με την πλειονότητα των βακτηρίων να εντοπίζεται στις ρίζες. Από εκεί δε, ήταν εμφανής η μετανάστευση εντός του φυτικού ιστού προς το φύλλωμα (Holden et al. 2009).

Έχει δειχθεί ότι στελέχη *Salmonella* έχουν την ικανότητα να εγκαθίστανται εσωτερικώς στους φυτικούς ιστούς στα είδη *Lactuca sativa* L. (μαρούλι) και *Valleriana locusta* L. (είδος λαχανοκομικής βαλλεριάνας), από το έδαφος μέσω του ριζικού συστήματος. Επιπλέον, φαίνεται ότι το *S. enterica* sv. Typhimurium ανταποκρίνεται στην έκθεσή του σε μέσα που σχετίζονται με το μαρούλι, ρυθμίζοντας πολλαπλά γονίδια που σχετίζονται με τον μεταβολισμό, την απόκριση στην καταπόνηση, τον σχηματισμό βιοϋμενίων και τη μολυσματικότητα (Jechalke et al. 2019).

Η μόλυνση και η επακόλουθη εσωτερική εγκατάσταση ως ενδόφυτο της σαλμονέλας στους ιστούς της τομάτας μπορεί να συμβεί όταν, για παράδειγμα, το νερό άρδευσης είναι μολυσμένο, με την πιθανότητα αυτό να εξαρτάται από το στέλεχος και την πυκνότητα του μολύσματος. Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι η μόλυνση του εδάφους έχει ως αποτέλεσμα την ανίχνευση πληθυσμών *S. enterica* στη φυλλόσφαιρα, γεγονός που συνεπάγεται κίνδυνο μόλυνσης των καρπών και επακόλουθης ανθρώπινης νόσου όταν το έδαφος είναι μολυσμένο. Τα πιθανά σημεία εισόδου του *Salmonella* στα φυτά τομάτας αποτέλεσαν αντικείμενο διερεύνησης σε διάφορες μελέτες. Η παρουσία φυσικών ανοιγμάτων στα φύλλα των φυτών, όπως τα στομάτια ή τα υδατώδη, έχει προταθεί ως πιθανή οδός πρόσβασης των βακτηρίων στο εσωτερικό. Επιπλέον, η περίπτωση των τριχών και της εσωτερικής μετακίνησης από τα φύλλα μέσω των ηθμωδών σωλήνων έχει προταθεί ως ένας τρόπος με τον οποίο το *Salmonella* μπορεί να φτάσει στους καρπούς της τομάτας (Zarkani and Schikora 2021). Υπάρχουν επίσης αναφορές ότι οι

ώριμες, κόκκινες τομάτες ευνοούν περισσότερο την ανάπτυξη της σαλμονέλας σε σχέση με τις άωρες πράσινες τομάτες (Marvasi et al. 2013).

Με βάση τις προαναφερθείσες εκτιμήσεις σχετικά με την ικανότητα της εσωτερικής διείσδυσης, είναι λογικό να συμπεράνουμε ότι όταν τα βακτήρια εγκατασταθούν σε έναν ιστό, είναι σχεδόν αδύνατο να εξαλειφθούν, δεδομένου ότι δύσκολα προσεγγίζονται από αντισηπτικά. Είναι προφανές ότι η αποτελεσματικότητα των εφαρμοζόμενων μεθοδολογιών απολύμανσης περιορίζεται στην επιφάνεια του φυτικού ιστού (Paramithiotis et al. 2017, Schierstaedt et al. 2019). Επιπλέον, η απολύμανση της τομάτας με υπεριώδη ακτινοβολία μετά τη συγκομιδή μπορεί να ενισχύσει την ανάπτυξη του *S. enterica*, πιθανότατα μειώνοντας τον πλούτο και την ανταγωνιστικότητα άλλων βακτηρίων (Marvasi et al. 2013).

Η προσυλλεκτική επιμόλυνση νωπών προϊόντων από *L. monocytogenes* έχει καταγραφεί σε αρκετές περιπτώσεις, με τις φράουλες, τις πατάτες και τον μαϊντανό να είναι οι πιο συχνά προσβεβλημένες καλλιέργειες. Ωστόσο, ο επιπολασμός της μόλυνσης ποικίλλει ανάλογα με τη στρατηγική λίπανσης που χρησιμοποιείται, με τα οργανικά λιπάσματα να αποτελούν τις κύριες πηγές μόλυνσης. Αυτό έδειξε ότι η παρουσία του βακτηρίου σε φρούτα και λαχανικά θα μπορούσε να αποδοθεί, τουλάχιστον εν μέρει, σε επιμόλυνση από οργανικά λιπάσματα που προέρχονται από κτηνοτροφικά απόβλητα. Άλλες μελέτες ανέφεραν επιμόλυνση λάχανου, καρότου, σπανακιού και άλλων φυλλωδών κηπευτικών συμπεριλαμβανομένων του βασιλικού, του άνηθου, του κάρδαμου, της λαχανίδας kale, του μαρουλιού, της μέντας, του μαϊντανού, της γλυστρίδας και της ρόκας. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώνουν τη μεταφορά του *L. monocytogenes* προσυλλεκτικά σε αναπτυσσόμενα φυτά (Miceli and Settanni 2019, Truong et al. 2021).

### (β) Το μικροβίωμα του εδάφους ασκεί καθοριστική επίδραση στην ανάπτυξη και τον έλεγχο των παθογόνων μικροοργανισμών του ανθρώπου και των ζώων

Προσπαθώντας να εκμεταλλευτούμε τον ανταγωνισμό του μικροβιώματος κατά των ανθρωποπαθογόνων μικροοργανισμών, είναι δυνατόν να αντλήσουμε πληροφορίες από τον έλεγχο των φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών. Το φαινόμενο της κατασταλτικότητας του εδάφους διαμορφώνεται από περίπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φυτών, του εδάφους, του περιβάλλοντος και των μικροοργανισμών. Παρ' όλα αυτά, η διαδικασία προσδιορισμού της κατασταλτικότητας είναι εγγενώς πιο δύσκολη αναφορικά με τα ανθρώπινα παθογόνα, δεδομένου ότι ο αποικισμός δεν προκαλεί φαινότυπο ασθένειας στο φυτό-ξενιστή. Επιπλέον, οι χαμηλές συγκεντρώσεις ανθρώπινων παθογόνων στα φυτά, συχνά κάτω από τα όρια ανίχνευσης, έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν ασθένεια στον άνθρωπο παρά το γεγονός ότι δεν ανιχνεύονται (Brennan et al. 2022).

Το εδαφικό περιβάλλον και οι αυτόχθονες μικροβιακές κοινότητες του ασκούν σημαντική επίδραση στην ικανότητα ενός παθογόνου να αποικίζει και να εγκαθίσταται στο έδαφος, καθώς και στη δυνατότητά του να μολύνει έναν οργανισμό-ξενιστή. Οι μηχανισμοί αυτοί μπορεί να περιλαμβάνουν

διάχυτες ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ τού παθογόνου και ολόκληρης της μικροβιακής κοινότητας, οι οποίες είναι ανάλογες με το φαινόμενο της «γενικής καταστολής», όπως περιγράφεται στη βιβλιογραφία για τα παθογόνα των φυτών (βλ. παρακάτω). Για παράδειγμα, οι μικροβιακές κοινότητες που είναι μεγαλύτερες και πιο ποικιλόμορφες, όπως αυτές που απαντώνται σε εδάφη με βιολογική διαχείριση, μπορεί να αποδειχθούν πιο αποτελεσματικές από εκείνες που βρίσκονται υπό συμβατική διαχείριση στην καταστολή τού παθογόνου *E. coli*. Ομοίως, μελέτες έχουν δείξει ότι εδάφη με αυξημένη μικροβιακή ποικιλομορφία παρουσιάζουν αυξημένη αποτελεσματικότητα στη μείωση της αφθονίας και τού χρόνου επιβίωσης τού *Salmonella*. Αντίθετα, η επιβίωση των παθογόνων μικροοργανισμών συχνά αυξάνεται σημαντικά όταν εισάγονται σε εδάφη που έχουν υποστεί απολύμανση. Τα ποσοστά επιβίωσης των εισαγόμενων ανθρώπινων εντερικών βακτηρίων βρέθηκαν να είναι χαμηλότερα σε εδάφη με υψηλή μικροβιακή ποικιλότητα, γεγονός που υποστηρίζει την ιδέα ότι η εισβολή μπορεί να είναι παροδική και περιορισμένη (Samaddar et al. 2021).

Οι φυσικές ιδιότητες τού εδάφους είναι επίσης σημαντικές για τη ρύθμιση της εγκατάστασης και της επιβίωσης των παθογόνων μικροοργανισμών στο έδαφος. Πρώτον, η μηχανική ανάλυση τού εδάφους (δηλαδή η σχετική αναλογία των σωματιδίων άμμου, ιλύος και αργίλου) είναι βασικός παράγοντας για τον καθορισμό της παραμονής και της εγκατάστασης πολλών παθογόνων μικροοργανισμών. Για παράδειγμα, τα αργιλώδη εδάφη με λεπτή υφή μπορεί να ευνοούν περισσότερο την επιβίωση των παθογόνων (Samaddar et al. 2021). Έχει αποδειχθεί ότι η ανθεκτικότητα στελεχών *Salmonella* ήταν ανώτερη σε αργιλώδη εδάφη σε σύγκριση με αμμώδη εδάφη, που αποδόθηκε είτε στην υψηλότερη περιεκτικότητα σε άζωτο και οργανικό άνθρακα στο αργιλώδες έδαφος, είτε στις διαφορετικές δομές της βακτηριακής κοινότητας (Jechalke et al. 2019). Ο βαθμός κορεσμού τού εδάφους με βάσεις (Base Cation Saturation Ratio - BCSR) προσδιορίστηκε ως ο σημαντικότερος παράγοντας που επηρεάζει τη βραχυπρόθεσμη επιβίωση τού *L. monocytogenes*, ενώ η μηχανική σύσταση τού εδάφους και οι βιοτικοί παράγοντες (εδαφική μικροχλωρίδα) προσδιορίστηκαν ως κρίσιμοι για τη μακροπρόθεσμη επιβίωση (Locatelli et al., 2013). Τόσο τα σωματίδια της αργίλου, όσο και η οργανική ουσία παρουσιάζουν αρνητικό φορτίο, το οποίο τους επιτρέπει να δεσμεύουν και να απελευθερώνουν θετικά φορτισμένα θρεπτικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένων των κατιόντων ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ) (Strawn et al. 2020). Μπορεί εύλογα να συναχθεί το συμπέρασμα ότι η περιεκτικότητα σε άργιλο και οργανική ύλη καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (cation exchange capacity, CEC) και τον BCSR ενός εδάφους. Η σύσταση τού εδάφους και η περιεκτικότητα σε άργιλο είναι επίσης σημαντικοί παράγοντες για τη διατήρηση μιας επαρκούς δεξαμενής βασικών κατιόντων, η οποία είναι απαραίτητη για τη ζωή των βακτηρίων. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι τα εδάφη με λεπτότερη δομή, ιδίως τα αργιλώδη εδάφη, υποστηρίζουν την παρατεταμένη επιβίωση των εισαγόμενων βακτηριακών παθογόνων σε σύγκριση με τα εδάφη με πιο χονδροειδή σύσταση, όπως τα

αμμώδη εδάφη. Περαιτέρω, η κατασταλτική επίδραση της εδαφικής μικροχλωρίδας στην επιβίωση τού *L. monocytogenes* έχει αποδειχθεί ότι είναι ισχυρότερη σε εδάφη με υψηλό pH (Locatelli et al., 2013).

Η βροχόπτωση και η εδαφική υγρασία προσδιορίστηκαν ως κρίσιμα στοιχεία που επηρεάζουν την επιβίωση των παθογόνων *E. coli*. Αντίθετα, η μικροβιακή ανάπτυξη αναστέλλεται όταν μειώνεται η εδαφική υγρασία, καθώς τα ξηρά εδάφη μπορούν να εμποδίσουν την κινητικότητα των μικροβίων, να περιορίσουν τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών και να επιβραδύνουν τη διάχυση των θρεπτικών συστατικών μέσω των μεμβρανών. Η περιεκτικότητα τού εδάφους σε οργανική ουσία μπορεί επίσης να επηρεάσει την επιβίωση των παθογόνων μικροοργανισμών. Η επιβίωση τού *Salmonella* sp. βρέθηκε να είναι μεγαλύτερη σε εδάφη με υψηλότερη περιεκτικότητα σε οργανική ουσία- ωστόσο, άλλες μελέτες έχουν καταδείξει την αντίθετη τάση, με την υψηλότερη οργανική ουσία να υποστηρίζει μεγαλύτερη βιολογικά επαγόμενη καταστολή (Locatelli et al. 2013, Samaddar et al. 2021).

Οι απομονώσεις τού *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) που ελήφθησαν από διάφορα δείγματα εδάφους στην επαρχία Punjab τού Πακιστάν χαρακτηρίστηκαν και υποβλήθηκαν σε διερεύνηση της αντιμικροβιακής και συντηρητικής σε τρόφιμα δράσης τους (Hussain et al. 2017). Τα ευρήματα έδειξαν ότι το *Staphylococcus aureus* Rosenbach παρουσίασε τη μεγαλύτερη ευαισθησία στη βακτηριοκίνη που προέρχεται από το *B. subtilis*, ακολουθούμενο από το *E. coli* και το *Salmonella enteritidis*. Επιπλέον, το *B. subtilis* L-Q11, το οποίο απομονώθηκε από έδαφος οπωρώνων στο Πεκίνο της Κίνας και παράγει τη βακτηριοκίνη Subtilin L-Q11, επέδειξε ανασταλτική δράση έναντι μιας σειράς βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων παθογόνων για τον άνθρωπο και βακτηρίων αλλοίωσης τροφίμων, ιδίως τού *S. aureus* (Qin et al. 2019). Οι ερευνητές έδειξαν ότι η ποσότητα τού σημαντικού ανθρώπινου ευκαιριακού παθογόνου και βακτηρίου μόλυνσης τροφίμων *S. aureus* ATCC 29213 μειώθηκε κατά 100 φορές μετά από 3ωρη μεταχείριση με Subtilin L-Q11.

Τα γαλακτικά βακτήρια βρίσκονται σε ποικίλα ενδιαιτήματα, όπως τρόφιμα και ζωοτροφές, νερό, έδαφος και λύματα, καθώς και στο στοματικό, αναπνευστικό, γαστρεντερικό και γεννητικό σύστημα ανθρώπων και ζώων, καθώς και οπουδήποτε υπάρχουν διαθέσιμα υδατανθρακικά υποστρώματα (Yanagida et al. 2006, Mokoena et al. 2021). Τα γαλακτικά βακτήρια που απομονώνονται από ζυμωμένα λαχανικά παράγουν αντιβακτηριακές ουσίες (βακτηριοκίνες) τόσο κατά των θετικών όσο και αρνητικών κατά Gram κοινών βακτηριακών παθογόνων που μεταδίδονται με τα τρόφιμα (Mokoena et al. 2021). Τα βιοϋμένια των γαλακτικών βακτηρίων χρησιμεύουν ως ανταγωνιστικοί φορείς δράσης έναντι των περισσότερων τροφιμογενών παθογόνων και αλλοιογόνων βιοϋμενίων, τα οποία σήμερα αποτελούν σημαντικό παράγοντα κινδύνου στη βιομηχανία τροφίμων λόγω της ανθεκτικότητάς τους σε διάφορα επίπεδα απολυμαντικών (Kubota et al. 2008). Οι Jalilsoosd et al. (2015) διερεύνησαν τον ισχυρό σχηματισμό βιοϋμενίων ενός πρόσφατα απομονωμένου *Lactobacillus plantarum* PA21 έναντι παθογόνων και σηπτικών μικροοργανισμών τροφίμων, όπως *Bacillus cereus* Frankland & Frankland, *Pseudomonas fluorescens* Migula και *Aeromonas hydrophila* (Chester) Stanier. Οι λακτοβάκιλλοι που

απομονώθηκαν από το κομπόστ ήταν αποτελεσματικοί έναντι μιας ποικιλίας παθογόνων μικροοργανισμών (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *B. cereus*, *S. aureus*, *S. faecium*, *Salmonella* sp., *P. aeruginosa* και *Proteus mirabilis*) τόσο σε αερόβιες όσο και σε αναερόβιες συνθήκες (Ligocka and Paluszak 2005).

Οι πολυποίκιλες κοινότητες έχουν συχνά ενδημικά είδη που είναι ανταγωνιστικώς ανώτερα από τα ξενικά είδη, είτε ως άτομα είτε ως αλληλεπιδρώντα είδη. Η χρονική στιγμή της εισαγωγής παθογόνων είναι κρίσιμη για τις αρνητικές αλληλεπιδράσεις. Η μέγιστη επίδραση εμφανίζεται όταν το φυτικό μικροβίωμα είναι καλά εγκατεστημένο πριν από την είσοδο του παθογόνου στο σύστημα. Τα πρώιμα στάδια ανάπτυξης μπορεί να είναι πιο επιρρεπή στην εγκατάσταση παθογόνου. Ωστόσο, οι δυναμικές αλλαγές μπορούν να αποσταθεροποιήσουν το ενδημικό μικροβιακό δίκτυο και να παρέχουν ευκαιρίες για την εγκατάσταση παθογόνων (Brennan et al. 2022). Οι διαταραχές μπορούν να μειώσουν τη μικροβιακή αφθονία και ποικιλομορφία, αυξάνοντας την πιθανότητα εμφάνισης παθογόνων. Η εγκατάσταση των εισβολέων εξαρτάται από την ικανότητά τους να καταλαμβάνουν διαθέσιμο χώρο σε εξειδικευμένες θέσεις στη διαταραγμένη μικροβιακή κοινότητα (Kinnunen et al. 2016). Έχει αποδειχθεί ότι οι μεγάλοι μακροπόροι του εδάφους υπό συνθήκες ακαλλιέργειας (μειωμένης κατεργασίας του εδάφους) παρέχουν ένα ευνοϊκότερο ενδιαίτημα για βακτήρια και μύκητες σε ένα αγροοικοσύστημα μονοκαλλιέργειας αραβοσίτου, σε σύγκριση με το όργωμα. Οι πρακτικές ακαλλιέργειας οδηγούν σε λιγότερη διατάραξη και συμπίεση του εδάφους σε σχέση με το όργωμα με αναστροφή (υνιοφόρο άροτρο), γεγονός που θα μπορούσε ενδεχομένως να ενισχύσει την διαθεσιμότητα εδαφικών ενδαιτημάτων για τους μικροοργανισμούς του εδάφους (Sun et al. 2020).

#### Επιπτώσεις της Χρήσης Κόπρου και Κομπόστ στην Υγιεινή των Καλλιεργειών: Κίνδυνοι και Στρατηγικές Μείωσης Παθογόνων Μικροοργανισμών

Η παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών στην κόπρω αποτελεί πιθανή πηγή μικροβιακής επιμόλυνσης του εδάφους (Holden et al. 2015). Βακτηριακά παθογόνα όπως το *E. coli* O157:H7 και το *Salmonella* έχουν απομονωθεί από ζωική κόπρω, συμπεριλαμβανομένης των βοοειδών, πουλερικών και αλόγων. Ο επικράτηση αυτών των παθογόνων ποικίλλει ανάλογα με το ζώο προέλευσης. Ο κίνδυνος μεταφοράς παθογόνων μικροοργανισμών από την κόπρω σε καλλιέργειες που καλλιεργούνται σε αγρούς που έχουν τροποποιηθεί με μολυσμένη κόπρω εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις δυνατότητες επιβίωσης των παθογόνων μικροοργανισμών στην κόπρω και στα εδάφη που έχουν τροποποιηθεί με αυτή. Ενώ η κομποστοποίηση της ζωικής κόπρω μπορεί να μετριάσει τον επιπολασμό και τη συγκέντρωση των μικροβιακών παθογόνων, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο μικροβιακής μόλυνσης στις καλλιέργειες παραγωγής, η ακατέργαστη κόπρω μπορεί να εξακολουθεί να περιέχει τροφιμογενή παθογόνα και να αποτελεί κίνδυνο επιμόλυνσης για φυτά που καλλιεργούνται στον αγρό, εάν εφαρμοστεί απευθείας στον αγρό (Miceli and Settanni 2019, Pradhan et al. 2019). Μια περίοδος 90

ημερών αντιπροσωπεύει μια ασφαλή απόσταση μεταξύ της λίπανσης με μολυσμένο υλικό και της συγκομιδής για να περιοριστεί ο κίνδυνος μεταφοράς του *L. monocytogenes* (Miceli and Settanni 2019).

Σύμφωνα με τον Κώδικα ορθής γεωργικής πρακτικής που αφορά στην προστασία των υδάτων από τη νιτρορύπανση γεωργικής προέλευσης [Υ.Α. με αρ. 1848/278812/08-10-2021 (ΦΕΚ Β' 4855)], τα στερεά κτηνοτροφικά απόβλητα (κόπρος) πρέπει να παραμένουν στον κοπροσωρό για διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών για ικανοποιητική χώνευση (άρθρο 6, παράγραφος 4). Το διάστημα αυτό μπορεί να μειωθεί έως τους 3 μήνες με κατάλληλη συστηματική επεξεργασία (κομποστοποίηση), η οποία συνίσταται στη δημιουργία μιγμάτων με την επιλογή και προσθήκη στα στερεά κτηνοτροφικά απόβλητα τυχόν διαθέσιμων υλικών, όπως υπολείμματα εκκοκκιστηρίων βάμβακος, λέπυρα ρυζιού, τρίμματα λιγνίτη, τριμμένη ελαφρόπετρα, ζεόλιθος, πριονίδι, άχυρο κ.ά., που βελτιώνουν την αναλογία άνθρακα προς άζωτο (C/N ιδανικά 25:1 έως 35:1), μειώνουν την υπερβολική υγρασία των νωπών στερεών αποβλήτων και βοηθούν την κυκλοφορία του αέρα στο εσωτερικό του κομποστοσωρού. Στη συνέχεια, ο παραγωγός παρεμβαίνει με αναστροφή (γύρισμα) του κομποστοσωρού για καλύτερο έλεγχο του αερισμού και των ακραίων θερμοκρασιών και, αν χρειάζεται, διαβροχή (ύγρανση) με νερό ή επεξεργασμένα υγρά απόβλητα, για την εξασφάλιση ιδανικών συνθηκών δραστηριοποίησης των αερόβιων μικροοργανισμών ζύμωσης. Με αυτό τον τρόπο, επιτυγχάνεται ταχύτερη χώνευση, μειωμένη έκλυση δυσάρεστων οσμών (κυρίως αμμωνίας), καλύτερη εξυγίανση του υλικού (μείωση παθογόνων), αδρανοποίηση σπόρων ζιζανίων και εντόμων (άρθρο 6, παράγραφος 9). Επιπλέον, ανεξαρτήτως του γεγονότος ότι ο Κώδικας αφορά στην προστασία των υδάτων από τη νιτρορύπανση, στο άρθρο 7, παράγραφος 3, υπάρχει σαφής διάταξη που απαγορεύει τη διάθεση των κτηνοτροφικών αποβλήτων σε εδαφικούς αποδέκτες σε ανεπεξέργαστη μορφή (αχώνευτα).

Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Hofmann et al. (2014), η μεταφορά των παθογόνων βακτηρίων *S. enterica* sv. Wletevreden και *L. monocytogenes* sv. 4b σε φυτά (*Spinacia oleracea* L. και *V. locusta*) μέσω οργανικών λιπασμάτων παρατηρήθηκε συχνότερα και σε χαμηλότερες αρχικές δόσεις εμβολιασμού όταν η λίπανση πραγματοποιήθηκε με εμβολιασμένη ρευστή κόπρος σε σύγκριση με εμβολιασμένη στερεή κόπρος. Η υψηλότερη υγρασία της ρευστής κόπρου σε σύγκριση με τη στερεή μπορεί επομένως να ενισχύσει την επιβίωση των παθογόνων βακτηρίων αρχικά στο οργανικό λίπασμα και στη συνέχεια στο έδαφος. Επιπλέον, αποδείχθηκε ότι η εισαγωγή ενός απλού βήματος πλύσης είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της βακτηριακής μόλυνσης στην πλειονότητα των περιπτώσεων, με πλήρη απομάκρυνση σε ορισμένες περιπτώσεις.

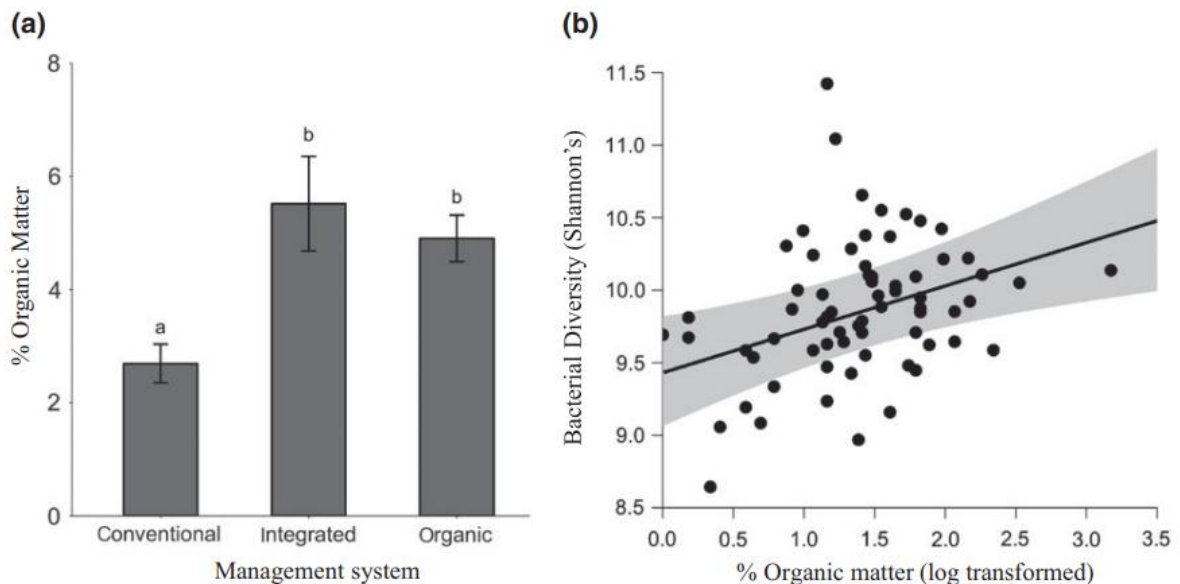
Η υπόθεση ότι το *E. coli* O157:H7 μπορεί να μεταδοθεί από μολυσμένη κόπρος μέσω του εδάφους στο μαρούλι δεν υποστηρίχθηκε από τα ευρήματα των Johannessen et al. (2005). Οι ερευνητές εντόπισαν πέντε απομονώσεις του *P. fluorescens* που παρουσίασαν ανασταλτικές επιδράσεις στην ανάπτυξη του *E. coli* O157:H7. Ωστόσο, άλλες μελέτες που εξέτασαν τους πιθανούς κινδύνους που συνδέονται με τη χρήση κόπρου ως λιπάσματος στα κηπευτικά εντόπισαν περιπτώσεις όπου μπορεί να

συμβεί μετάδοση, τόσο σε ελεγχόμενο περιβάλλον όσο και σε δοκιμές σε αγρό. Οι Solomon et al. (2002) διεξήγαγαν μελέτη στην οποία σπάρθηκαν σπέρματα μαρουλιού σε μικρές εδαφικές κλίνες που είχαν λιπανθεί προηγουμένως με εμβολιασμένη κοπριά. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι κύτταρα του *E. coli* O157:H7 μπορούσαν να ανακτηθούν από τα σπορόφυτα. Η μελέτη που διεξήχθη από τους Warriner κ.ά. (2003) έδειξε ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ *E. coli* και σπανακιού εξαρτάται από το στάδιο εφαρμογής του βακτηρίου. Μετά τη σπορά εμβολιασμένων σπερμάτων σπανακιού στο έδαφος και την επακόλουθη καλλιέργεια για περίοδο 42 ημερών, το *E. coli* ανακτήθηκε από τις εξωτερικές επιφάνειες των ριζών και των φύλλων του σπανακιού, καθώς και από επιφανειακά αποστειρωμένες ρίζες. Ωστόσο, όταν φυτά σπανακιού ηλικίας 20 ημερών (από μη εμβολιασμένα σπέρματα) μεταφέρθηκαν σε έδαφος εμβολιασμένο με *E. coli*, το βακτήριο εγκαταστάθηκε στην επιφάνεια του φυτού, αλλά η ανάκτησή του από τον εσωτερικό ιστό της ρίζας ήταν περιορισμένη. Στη μελέτη που διεξήχθη από τους Johannessen κ.ά. (2005), το παθογόνο εισήχθη σε χρόνο κατά τον οποίο το φυτό είχε φθάσει στο στάδιο ανάπτυξης των σπορόφυτων. Αυτό μπορεί να είχε ως αποτέλεσμα μειωμένη ευπάθεια στην πρόσληψη των παθογόνων βακτηρίων του ανθρώπου. Επιπλέον, τα ευρήματα των μελετών Solomon κ.ά. (2002) και Johannessen κ.ά. (2005) υποδηλώνουν ότι ο χρόνος εισαγωγής του παθογόνου, αλλά και η συγκέντρωσή του επηρεάζουν την έκταση της πρόσληψης βακτηρίων. Οι Mukherjee et al. (2004) παρατήρησαν ότι η χρήση κόπρου βοοειδών και η χρήση κόπρου που είχε αποθηκευτεί για λιγότερο από ένα έτος (6 έως 12 μήνες) είχε ως αποτέλεσμα υψηλότερο επιπολασμό του *E. coli* O157:H7 από ό,τι παρατηρήθηκε σε εκμεταλλεύσεις που χρησιμοποιούσαν κόπρο άλλης προέλευσης ή παλαιότερη του ενός έτους. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε μια βιολογική εκμετάλλευση με 90% επιπολασμό της επιμόλυνσης κηπευτικών από *E. coli*, η κόπρος διασπείρονταν ανεπεξέργαστη ακόμη και κατά τη διάρκεια της περιόδου συγκομιδής.

Οι γεωργικές πρακτικές που μειώνουν τις διαταραχές και αυξάνουν την ποικιλομορφία, τον γενετικό πλούτο και την κατάληψη θέσεων σε ενδημικές κοινότητες του εδάφους μπορεί να αυξήσουν τον ανταγωνισμό προς τα ανθρώπινα παθογόνα. Οι γεωργικές πρακτικές που επηρεάζουν τη μικροβιακή ποικιλομορφία και τον πλούτο του εδάφους, όπως η εξάντληση της οργανικής ύλης, η μειωμένη ποικιλομορφία των φυτών, η διάβρωση, η υπερλίπανση και η συμπίεση, είναι πιθανό να αυξάνουν τον κίνδυνο εγκατάστασης παθογόνων (Brennan et al. 2022).

Διαπιστώθηκε θετική σχέση μεταξύ του ποσοστού της οργανικής ύλης στο έδαφος και της βακτηριακής ποικιλότητας (δείκτης Shannon). Επιπλέον, η αύξηση της βακτηριακής ποικιλότητας του εδάφους συσχετίστηκε με μείωση της επιβίωσης του *E. coli* (Jones et al. 2019) (Σχήμα 5.2). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι το κομπόστ καταστέλλει την επιβίωση των τροφιμογενών παθογόνων στον άνθρωπο μικροοργανισμών αυξάνοντας την ενδημική μικροβιακή ποικιλομορφία και βιομάζα (Jones et al. 2019, Devarajan et al. 2021). Ο ανταγωνισμός μεταξύ των μικροβίων του εδάφους και των τροφιμογενών παθογόνων μικροβίων για χώρο και πόρους (π.χ. άνθρακα, άζωτο και άλλα θρεπτικά συστατικά) μπορεί να αποτρέψει την επιβίωση των παθογόνων μικροβίων (Henault-Ethier et al. 2016). Κατά συνέπεια, η

υψηλότερη μικροβιακή ποικιλότητα τού εδάφους συχνά συνδέεται με χαμηλότερη επιβίωση των τροφιμογενών παθογόνων στο έδαφος (Jones et al. 2019, Baker et al. 2020). Είναι πιθανό ότι γεωργικές εκμεταλλεύσεις που υιοθετούν διαχειριστικές προσεγγίσεις που μειώνουν την πολυπλοκότητα τού αγροοικοσυστήματος (π.χ. μέσω της χρήσης τεχνητών υποστρωμάτων καλλιέργειας και της εκτεταμένης χρήσης ανόργανων λιπασμάτων ή χημικών εισροών) μπορεί να είναι πιο ευάλωτα στην επιτυχή εγκατάσταση παθογόνων, δεδομένου ότι τα συστήματα αυτά τείνουν να έχουν χαμηλότερη μικροβιακή ποικιλότητα (Brennan et al. 2022). Έχει παρατηρηθεί αρνητική συσχέτιση μεταξύ της μικροβιακής ποικιλότητας του εδάφους και της επιβίωσης τού εισβολέα *E. coli* O157:H7. Η σχέση αυτή μπορεί να αποδοθεί στη μείωση της ανταγωνιστικής ικανότητας τού εισβάλλοντος σε βακτηριακές κοινότητες με υψηλή ποικιλότητα σε σχέση με αντίστοιχες χαμηλής ποικιλότητας, όπως αποδεικνύεται από την ποσότητα των φυσικών πόρων που χρησιμοποιούνται και τον ρυθμό κατανάλωσής τους (Van Elsas et al., 2012).



**Σχήμα 5.2.** Σημαντικές επιδράσεις από την οργανική ύλη τού εδάφους. (α) Το ποσοστό της οργανικής ουσίας τού εδάφους ήταν σημαντικά υψηλότερο στις ολοκληρωμένες διαχειρίσεις και βιολογικές εκμεταλλεύσεις από ό,τι στις συμβατικές εκμεταλλεύσεις- τα δεδομένα είναι μέσοι όροι  $\pm$  SE. (β) Διαπιστώθηκε θετική σχέση μεταξύ της % οργανικής ουσίας τού εδάφους και της βακτηριακής ποικιλότητας (δείκτης Shannon). Πηγή: Jones et al.

Οι Henault-Ethier et al. (2016) έχουν εντοπίσει αρκετούς βακτηριακούς ανταγωνιστές από το βερμικόποστ. Έξι από αυτά τα μικρόβια είναι ανταγωνιστές ανθρώπινων ή ζωικών παθογόνων μικροβίων. Για παράδειγμα, το *Brevibacterium* spp. ανέστειλε την ανάπτυξη τού *L. monocytogenes*. Το *Bacillus licheniformis* περιόρισε την ανάπτυξη τού *L. monocytogenes*, τού *Bacillus cereus* και κλινικών απομονώσεων τού *Streptococcus* spp. Τα είδη *Cupriavidus* και *Bacillus* εμπόδισαν την ανάπτυξη τού *Aspergillus flavus* που παράγει αφλατοξίνες. Το *Klebsiella* spp. ανέστειλε το *Shigella flexneri* και ορισμένα είδη *Pseudomonas* σταμάτησαν την ανάπτυξη τού *E. coli*.

Ομοίως, παρατηρήθηκε αύξηση της βακτηριακής ποικιλότητας με την αύξηση της οργανικής ύλης και των μακροθρεπτικών συστατικών, η οποία έφθασε στα υψηλότερα επίπεδά της σε εδάφη που επεξεργάστηκαν τόσο με καλλιέργειες κάλυψης όσο και με κομπόστ. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι η προσθήκη κομπόστ σε εδάφη δεν διευκολύνει την επιβίωση των τροφιμογενών παθογόνων μικροοργανισμών και μπορεί ακόμη και να οδηγήσει σε εδάφη που είναι πιο κατασταλτικά για τα *Salmonella* και *Listeria* (Devarajan et al. 2021).

Η μεταφορά ανθεκτικών και παθογόνων βακτηρίων, η οποία τελικά διευκολύνει την εξάπλωση της μικροβιακής αντοχής στο περιβάλλον μέσω της ζωικής κόπρου ως λιπάσματος, αποτελεί λανθάνοντα κίνδυνο για τη μεταφορά γονιδίων μικροβιακής αντοχής (ARG) από τα ζώα και τα ζωικά υποπροϊόντα στο ανθρώπινο μικροβίωμα. Για παράδειγμα, η μεταφορά γονιδίων από το έδαφος με χορήγηση κόπρου στα λαχανικά έχει παρατηρηθεί στο παρελθόν στο μαρούλι, γεγονός που υπογραμμίζει τους πιθανούς κινδύνους της μετάβασης ενός τροποποιημένου ανθεκτικού μικροβίου από τα φυτά στην ανθρώπινη τροφική αλυσίδα (Zhang et al. 2019γ). Η εφαρμογή νωπής κόπρου παρατηρήθηκε ότι οδηγεί σε μεγαλύτερη επαγωγή ARGs στο έδαφος από ό,τι παρατηρήθηκε με την αποθηκευμένη κοπριά, η οποία εισάγει μικρότερη ποσότητα ARGs. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας κομποστοποίησης, η ένταση των γονιδίων ανθεκτικότητας στην ερυθρομυκίνη, τη σουλφαμεθαζίνη και την τετρακυκλίνη μπορεί να μειωθεί. Ωστόσο, άλλα γονίδια μπορεί να παραμείνουν σταθερά και συνιστώνται παρατεταμένες θερμοφίλες φάσεις κομποστοποίησης για να μειωθεί η διάδοση των ARGs στο περιβάλλον κατά την εφαρμογή της κομποστοποιημένης κόπρου στον αγρό (Black et al. 2021). Τα παραπάνω συνιστούν έναν ακόμη ουσιαστικό λόγο για τη χρήση καλώς χωνευμένης, ή ορθότερα, κομποστοποιημένης κόπρου στην γεωργική πρακτική.

#### Φυσικοί Μηχανισμοί Ελέγχου Παθογόνων: Ο Ρόλος της Μικροβιακής Ποικιλότητας

Έχει προταθεί ότι τα εδάφη με πιο ποικίλο βακτηριακό ταξινομικό προφίλ είναι λιγότερο δεκτικά στην εγκατάσταση ενός ξένου μικροβίου που εισάγεται στο έδαφος. Η ιδέα αυτή αξιολογήθηκε με έμφαση στην εγκατάσταση και επιβίωση τροφιμογενών παθογόνων μικροοργανισμών σε εδάφη με βάση την βιοποικιλότητα. Η ποικιλομορφία των βακτηριακών πληθυσμών σε φυσικά δείγματα εδάφους ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με τα δείγματα εδάφους που υποβλήθηκαν σε μεταχείριση κλιβάνου, όπως υποδεικνύεται από τον αριθμό των λειτουργικών ταξινομικών μονάδων (OTU) που προσδιορίστηκαν μέσω της αλληλούχισης κάθε δείγματος. Οι Vidovic κ.ά. (2007) ποσοτικοποίησαν τις επιδράσεις δύο τύπων ιλαιοαργιλοπηλώδους εδάφους (με υψηλή ή χαμηλή περιεκτικότητα σε άνθρακα, αντίστοιχα) στο *E. coli* O157:H7 είτε υπό αποστειρωμένες (σε κλίβανο) είτε υπό μη αποστειρωμένες συνθήκες. Οι ερευνητές πρότειναν ότι οι πλέον θνησιγενείς επιδράσεις στο *E. coli* O157:H7 στο αποστειρωμένο σύστημα συνέβησαν μέσω της συνέργειας τού περιορισμού των θρεπτικών συστατικών και της ψυχρής καταπόνησης. Αντίθετα, στο μη αποστειρωμένο σύστημα, η θνησιμότητα οφειλόταν στην αναστολή από τους αυτόχθονες μικροοργανισμούς τού εδάφους και την έλλειψη θρεπτικών.

Ομοίως, οι Baker et al. (2021) διερεύνησαν την επιβίωση του *E. coli* O157 σε αποστειρωμένα σε κλίβανο και φυσικά (μη αποστειρωμένα) αμμώδη εδάφη. Η ποικιλομορφία των βακτηριακών πληθυσμών στα φυσικά δείγματα εδάφους ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη που παρατηρήθηκε μεταξύ των δειγμάτων εδάφους που υπέστησαν την μεταχείριση σε κλίβανο. Παρατήρησαν τη μεγαλύτερη μείωση του *E. coli* O157 σε φυσικά εδάφη, γεγονός που υποδηλώνει ότι η παρουσία συγκεκριμένων βακτηριακών ταξινομικών μονάδων μπορεί να συμβάλει στη μείωση του *E. coli* O157.

Μεταξύ των βακτηρίων του εδάφους που είναι σε θέση να ανταγωνίζονται *in situ* το *L. monocytogenes* με την παραγωγή βακτηριοσινών, τα είδη του γένους *Bacillus* είναι ιδιαίτερα σημαντικά. Τα *B. cereus*, *B. coagulans*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. thermoleovorans* και *B. thuringiensis* είναι παραγωγοί αντιμικροβιακών βακτηριοσινών. Ωστόσο, μέχρι σήμερα δεν έχουν αξιολογηθεί εφαρμογές στο έδαφος με αυτό τον σκοπό (Miceli and Settanni 2019). Έχει αναφερθεί ότι η ικανότητα των φθοριζουσών ψευδομονάδων (*Pseudomonas*) να παρεμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό παθογόνων μικροοργανισμών στον άνθρωπο, όπως το *L. monocytogenes* οφείλεται κυρίως στην ικανότητά τους να παράγουν σιδηροφόρες ενώσεις. Έχει αποδειχθεί ότι στελέχη της εγγενούς μικροχλωρίδας των πράσινων πιπεριών, του μαρουλιού τύπου Romaine και των καρότων, που ταυτοποιήθηκαν ως είδη *Bacillus*, *P. aeruginosa* και *P. fluorescens*, αναστέλλουν την ανάπτυξη του *L. monocytogenes*, του *E. coli*, όπως και του *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Dye (φυτοπαθογόνο βακτήριο) (Liao and Fett 2001).

Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Tran et al. (2020), πάνω από 8.000 βακτήρια που σχετίζονται με τη φυλλόσφαιρα των φυτών ελέγχθηκαν ως προς την ικανότητά τους να αναστέλλουν την ανάπτυξη του *L. monocytogenes*. Μεταξύ των απομονώσεων που προσδιορίστηκαν, το *Bacillus amyloliquefaciens* Priest et al. ALB65 επέδειξε την ικανότητα να αναπτύσσεται, να εμμένει και να μειώνει την ανάπτυξη του *L. monocytogenes* στο πεπόνι. Η ανάλυση της αλληλουχίας του γονιδιώματος αποκάλυψε την παρουσία πολλαπλών συστάδων γονιδίων που εκτιμάται να παράγουν αντιβακτηριακές ενώσεις.

Παρόλο που τα ίδια τα εντερικά παθογόνα είναι ικανά να επάγουν αμυντικές αποκρίσεις των φυτών, η επαγόμενη αντίσταση των φυτών μέσω SAR και ISR μπορεί να ενισχύσει την αναστολή αυτών των μικροβιακών μολυσματικών παραγόντων και συνεπώς την ασφάλεια των καλλιεργειών. Οι Chalupowicz et al. (2021) εμβολίασαν τις ρίζες μαρουλιού και βασιλικού με μικροβιακά στελέχη πριν από τον εμβολιασμό των φύλλων με *Salmonella*. Το στέλεχος Y13 του ζυμομύκητα *Rhodotorula glutinis* (Fresenius) F.C.Harrison προκάλεσε την μεγαλύτερη αναστολή του αποικισμού των φυτών από αμφότερα τα στελέχη του *Salmonella* (sv. Senftenberg, sv. Typhimurium), με 63 και 120 φορές μείωση του μεγέθους του ενδοφυτικού πληθυσμού του *Salmonella* στους αποπλάστες του βασιλικού και του μαρουλιού, αντίστοιχα. Οι μικροοργανισμοί που προκαλούν ISR *Trichoderma harzianum* Rifai T39 και *Pichia guilliermondii* S2 είχαν μικρότερη αλλά σημαντικά ανασταλτική επίδραση στον αποπλαστικό αποικισμό του *S. sv. Typhimurium* στο μαρούλι. Επίσης, το acibenzolar-S-methyl (γνωστότερο με το

εμπορικό όνομα BION) και το DL-β-αμινο-βουτυρικό οξύ (BABA), δύο γνωστές χημικές ουσίες που προκαλούν ISR, μείωσαν τα μεγέθη του πληθυσμού του *S. sv. Senftenberg* στον αποπλάστη του βασιλικού κατά 6 φορές όταν εφαρμόστηκαν στο έδαφος. Η δυνατότητα προετοιμασίας της άμυνας των φυτών για την ελαχιστοποίηση της μικροβιακής μόλυνσης των καλλιεργειών θα μπορούσε να έχει σημαντικό ενδιαφέρον, ιδίως επειδή μπορεί επίσης να μειώσει την συχνότητα εμφάνισης ορισμένων ασθενειών των φυτών. Έτσι, η ενισχυμένη ανοσία των φυτών μέσω της πρόκλησης μπορεί να συμβάλει σε ένα φάσμα εργαλείων με βάση τα φυτά για τη μείωση της πιθανότητας επιβίωσης και πολλαπλασιασμού των εντερικών παθογόνων στις καλλιέργειες (Chalupowicz et al. 2021).

Το *Paenibacillus alvei* (Cheshire & Cheyne) Ash et al. είναι ένας βιολογικός παράγοντας ελέγχου που έχει αποτελέσει αντικείμενο εκτενούς έρευνας για τον έλεγχο διαφόρων φυτοπαθογόνων (Markakis et al. 2016, Fatouros et al. 2018, Gkikas et al. 2021). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει στη μείωση των πληθυσμών του *E. coli* O157:H7 μετά από τρεις ημέρες επώασης (Baker et al. 2021). Επιπροσθέτως, διαπιστώθηκε η αποτελεσματικότητα του *P. alvei* TS-15 εναντίον του *Salmonella* στα άνθη και τα φύλλα των φυτών τομάτας (Allard et al. 2014), και συνεπώς δικαιολογείται περαιτέρω διερεύνηση.

Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι τα στελέχη μυκήτων του γένους *Trichoderma* είναι ικανά να παράγουν μια πληθώρα ενεργών μεταβολιτών που είναι υπεύθυνοι για την μυκητοκτόνο τους δράση κατά ενός πλήθους φυτοπαθογόνων μυκήτων. Σε αντίθεση με την μυκητοκτόνο δράση των ειδών *Trichoderma*, η οποία οφείλεται κυρίως στη δράση υδρολυτικών ενζύμων, δηλαδή χιτινασών, γλυκανασών και πρωτεασών που διευκολύνουν τον μυκοπαρσιτισμό, έχει καταδειχθεί και αντιβακτηριακή δράση που οφείλεται κυρίως σε δευτερογενείς μεταβολίτες (Kurchenko et al. 2023). Ορισμένα είδη του γένους *Trichoderma*, συμπεριλαμβανομένων των *T. asperellum*, *T. viride* Persoon, *T. hamatum* (Bonorden) Bainier, *T. atroviride* P. Karsten και *T. harzianum*, έχει παρατηρηθεί ότι επιδεικνύουν αντιβακτηριακή δράση τόσο έναντι των θετικών κατά Gram γνωστών ή δυνητικών ανθρωποπαθογόνων βακτηρίων *Bacillus mycoides* Flügge, *Micrococcus luteus* (Schroeter) Cohn, συμπεριλαμβανομένου του ανθεκτικού στην μεθικιλίνη *S. aureus*, όσο και των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων *E. coli* και *Comamonas terrigena* De Vos et al. (Sadykova et al. 2015). Τα παραπάνω καταδεικνύουν το δυναμικό και την συνολική ικανότητα των ειδών *Trichoderma* για τον βιολογικό έλεγχο βακτηριακών παθογόνων.

(γ) Ο ρόλος του εδάφους στη ρύθμιση των φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών έχει καθοριστική σημασία για τη συνολική υγεία και την ευρωστία των φυτών

Παθογόνα των φυτών στο έδαφος

Οι μοναδικές προκλήσεις που θέτουν οι εδαφογενείς ασθένειες για τα φυτά έχουν τις αιτίες τους στο γεγονός ότι τα φυτά είναι εγκατεστημένα στο έδαφος και δεν έχουν την ευκαιρία να διαφύγουν από

αυτό. Ωστόσο, αυτή η στενή σχέση επιτρέπει στα φυτά να δημιουργούν συμβιωτικές σχέσεις με τους οργανισμούς της ριζόσφαιρας, ρυθμίζοντας έτσι τις επιπτώσεις των παθογόνων μικροοργανισμών. Τα εδάφη που είναι ικανά να καταστέλλουν την εγκατάσταση, την παραμονή ή την επίδραση παθογόνων μικροοργανισμών αποτελούν παραδείγματα της δυνατότητας του εδάφους να ρυθμίζει τους επιβλαβείς οργανισμούς. Η δυνατότητα και η σοβαρότητα των επιπτώσεων ενός παθογόνου στα φυτά ρυθμίζονται τόσο από αβιοτικές όσο και από βιοτικές διεργασίες στο έδαφος. Η πρωταρχική θεώρηση είναι η παραμονή του παθογόνου στο έδαφος, η οποία επηρεάζεται από το αν το παθογόνο αποτελεί μέρος της μικροβιακής κοινότητας του εδάφους, αν επιβιώνει στο έδαφος για μεγάλο χρονικό διάστημα, ή αν είναι παροδική οντότητα. Αυτό καθορίζει την αλληλεπίδρασή του με τις εδαφικές κοινότητες και τους αβιοτικούς παράγοντες (Samaddar et al. 2021).

Η καταστολή των ασθενειών στο έδαφος ορίζεται ως μείωση της εμφάνισης ασθενειών που μεταδίδονται διά του εδάφους, ακόμη και με την παρουσία φυτού ξενιστή και μολύσματος στο έδαφος. Η ικανότητα καταστολής των ασθενειών αποδίδεται στις ποικίλες μικροβιακές κοινότητες που υπάρχουν στο έδαφος, οι οποίες δρουν κατά των εδαφογενών παθογόνων με πολύπλευρους τρόπους. Αυτοί οι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν συγκεκριμένες λειτουργίες, όπως αντιβίωση, παρασιτισμό, ανταγωνισμό για πόρους (Jayaraman et al. 2021, Malik et al. 2021). Το φαινόμενο της «γενικής καταστολής» αποδίδεται στις δραστηριότητες κοινοπραξιών ή κοινοτήτων μικροοργανισμών, όπου ο ανταγωνισμός για πόρους ή οι ανταγωνιστικές δραστηριότητες οδηγούν στον αποτελεσματικό έλεγχο μιας ποικιλίας φυτονόσων (Weller et al. 2002, Garbeva et al. 2004, Schlatter et al. 2017). Οι ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις επηρεάζονται από την παροχή θρεπτικών ουσιών και ενέργειας που είναι διαθέσιμες για την ανάπτυξη στο έδαφος τόσο του παθογόνου όσο και του ξενιστή του. Υποτίθεται ότι η διέγερση των εγχώριων μικροβιακών κοινοτήτων έχει ως αποτέλεσμα την εξάντληση των περιοριστικών πόρων για την ανάπτυξη και την μόλυνση του παθογόνου (Samaddar et al. 2021). Η ενσωμάτωση στο έδαφος υλικών όπως το βερμικόποστ (εδαφοβελτιωτικό που προκύπτει από την εκτροφή γεωσκωλήκων), το άχυρο ρυζιού, η κόπρος και η χλωρά λίπανση, τα οποία είναι ευρέως διαθέσιμα, έχει αποδειχθεί ότι έχουν ιδιότητες καταστολής ασθενειών ως συνέπεια της επίδρασής τους στις μικροβιακές κοινότητες του εδάφους (Jayaraman et al. 2021).

Η καταστολή της σήψης που προκαλούν μύκητες του γένους *Phytophthora* αποτελεί ενδεικτικό παράδειγμα αυτού του φαινομένου. Η ενσωμάτωση στο έδαφος υπολειμμάτων σταυρανθών φυτών ή δημητριακών, έχει αποδειχθεί ότι εμπλουτίζει τους *Streptomyces* spp. και βοηθά στην καταστολή του παθογόνου μύκητα *Fusarium oxysporum* Schlecht. και της ακτινομύκωσης της πατάτας [*Streptomyces scabiei* (Thaxter) Lambert & Loria]. Δευτερογενείς μεταβολίτες, τόσο πτητικοί όσο και διαλυτοί, που παράγονται από πολυάριθμα βακτηριακά είδη ως απάντηση στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ειδών, θεωρείται επίσης ότι παίζουν ρόλο στη γενική καταστολή (Samaddar et al. 2021).

Η «ειδική κατασταλτικότητα» είναι συνέπεια της παρουσίας συγκεκριμένων μικροβιακών ταξινομικών ομάδων και μπορεί να μεταδοθεί μεταξύ των τύπων εδάφους. Η προσέγγιση αυτή είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική στην καταστολή της ασθένειας των λευκών στάχων σε δημητριακά που προκαλείται από τον μύκητα *Gaeumannomyces graminis* (Saccardo) von Arx & Olivieris (Schlatter et al. 2017, Jayaraman et al. 2021). Η διαδικασία της αντιβίωσης εμπλέκεται σε αυτή την καταστολή, με την παραγωγή αντιβιοτικών από βακτήρια *Pseudomonas* spp. Επιπλέον, οι ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις παρασίτων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καταστολή νηματωδών, όπως ο *Heterodera schachtii* Schmidt (Tylenchida, Heteroderidae), μέσω της χρήσης μυκήτων, συγκεκριμένα των *Dactylella oviparasitica* G.R. Stirling & Mankau και *F. oxysporum*. Είναι αξιοσημείωτο ότι ένας σημαντικός αριθμός ριζοβακτηρίων που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών έχει παρατηρηθεί ότι απελευθερώνουν αντιμικροβιακές ή μυκητοκτόνες ενώσεις (Samaddar et al. 2021).

Ωστόσο, το έδαφος είναι ένα πολύπλοκο φυσικό και βιολογικό σύστημα. Έχει αναφερθεί λοιπόν ότι ο βαθμός καταστολής συνδέεται με διάφορους παράγοντες, όπως οι φυσικές συνθήκες του εδάφους, το επίπεδο γονιμότητας, η βιοποικιλότητα και οι πληθυσμοί των εδαφικών οργανισμών, καθώς και οι πρακτικές διαχείρισης του εδάφους. Για παράδειγμα, η εφαρμογή ζωικής κόπρου τροποποιεί ορισμένες εδαφικές παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένων φυσικών, χημικών και βιολογικών παραγόντων, οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν άμεσα την μόλυνση των καλλιεργειών και την επιβίωση των παθογόνων. Η καταστολή ασθενειών που προκαλούνται από μύκητες του γένους *Pythium* συνδέεται με την εξαέρωση της αμμωνίας, κατά την ανοργανοποίηση του αζώτου, ύστερα από χορήγηση κόπρου στο έδαφος (Jayaraman et al. 2021).

Σε μεταανάλυση της τρέχουσας πρόσφατης επιστημονικής βιβλιογραφίας σχετικά με τη χρήση της οργανικής ύλης ως μεθόδου καταπολέμησης εχθρών και ασθενειών, οι Silva and Canellas (2022) βρήκαν ότι η μείωση των μυκητολογικών και βακτηριολογικών ασθενειών ήταν περίπου 75% και 72%, αντίστοιχα, γεγονός που υποδηλώνει τις μεγάλες δυνατότητες των βιολογικών μεθόδων στη μείωση των αρνητικών επιδράσεων και στη βελτίωση της ανθεκτικότητας των καλλιεργειών στις βιοτικές καταπονήσεις.

Η έρευνα εντόπισε μεγαλύτερη επικράτηση των χαρακτηριστικών που καταστέλλουν την ασθένεια μεταξύ των Proteobacteria, Firmicutes και Actinobacteria. Η παρουσία άλλων ειδών που καταστέλλουν τα παθογόνα παρατηρείται συχνά, συμπεριλαμβανομένων των Xylariaceae, Lactobacillaceae, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Flavobacterium aluminium* Harrison, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Penicillium* και *Trichoderma*. Τα Ακτινοβακτήρια φημίζονται για την εγγενή ικανότητά τους να παράγουν πλήθος βιοδραστικών δευτερογενών μεταβολιτών, συμπεριλαμβανομένων της 2,4-διακετυλοφλωρογλυκινόλης (DAPG), η οποία έχει τη δυνατότητα να αναστέλλει την ανάπτυξη εδαφογενών παθογόνων μικροοργανισμών. Τα εδάφη με υψηλή κατασταλτικότητα ασθενειών συνδέονται επίσης με υψηλότερη ποικιλότητα μυκήτων. Οι μυκόρριζες αυξάνουν τη θρεπτική κατάσταση του φυτού ξενιστή

και συμβάλλουν έμμεσα στην καταστολή ασθενειών των φυτών. Αυξάνουν τον διαθέσιμο φώσφορο και έχει διαπιστωθεί ότι προάγουν την ανοχή των φυτών στις βλάβες από παθογόνα. Παρατηρούνται επίσης αλλαγές στα πρότυπα φυτικών εκκρίσεων, ενεργοποίηση των συστημάτων άμυνας των φυτών και αυξημένη λιγνινοποίηση των κυτταρικών τοιχωμάτων, καθώς και χωρικός ανταγωνισμός με τα παθογόνα (Jayaraman et al. 2021).

Η επιτυχής χρήση των ειδών *Trichoderma* spp. ως παραγόντων βιοελέγχου οφείλεται στην ικανότητά τους να επιβιώνουν κάτω από διάφορες δυσμενείς συνθήκες, στην υψηλή αναπαραγωγική τους ικανότητα (υψηλός ρυθμός ανάπτυξης, ένταση της σποριοποίησης), στην αποτελεσματική χρήση των θρεπτικών πηγών, στην ικανότητά τους να επηρεάζουν θετικά τη σύνθεση της ριζόσφαιρας, και στον ισχυρό ανταγωνισμό με τους φυτοπαθογόνους μύκητες και βακτήρια. Αυτά τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά καθορίζουν την ικανότητα των ειδών *Trichoderma* να υπάρχουν σε ποικίλα φυσικά και ανθρωπογενή περιβάλλοντα. Είδη όπως το *T. asperellum*, το *T. harzianum*, το *T. virens*, το *T. viride*, το *T. hamatum* και άλλα χαρακτηρίζονται από υψηλή ανταγωνιστική ικανότητα έναντι φυτοπαθογόνων. Μεταξύ των βιολογικών παραγόντων ελέγχου των φυτοπαθογόνων μυκήτων, η αναζήτηση στελεχών *Trichoderma* spp. με υψηλή ανταγωνιστική δράση είναι μια από τις πιο αποτελεσματικές μεθόδους. Τα στελέχη *Trichoderma* spp. είναι πολύ αποτελεσματικοί ανταγωνιστές των παθογόνων των φυτών λόγω των χαρακτηριστικών τους: υψηλός ρυθμός ανάπτυξης και σύνθεση χιτινολυτικών ενζύμων και μυκητοκτόνων δευτερογενών μεταβολιτών. Έτσι, πολύ δραστικά στελέχη *Trichoderma* έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για τον έλεγχο απομονωμένων φυτοπαθογόνων στελεχών των *Fusarium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Sclerotinia*, *Verticillium*, *Pythium* και άλλων γενών (Kurchenko et al. 2023). Εκτός από την καταστροφή των κυτταρικών τοιχωμάτων του μύκητα-στόχου, αυτοί οι παράγοντες βιοελέγχου αδρανοποιούν τις πηκτινάσες του μύκητα, παρεμποδίζοντας έτοιμο παθογόνο να εισέλθει στα κύτταρα του φυτού-ξενιστή (Harman et al. 2004). Οι *Trichoderma* spp. ανταποκρίνονται στην παρουσία φυτοπαθογόνων μυκήτων στη ριζόσφαιρα με την ενεργό εξάπλωσή τους προς τη ζώνη του παθογόνου (Zeilinger et al. 1999). Επιδεικνύουν επίσης αποτελεσματικότητα κατά των φυτοπαθογόνων βακτηρίων *Ralstonia solanacearum* (Smith) (αρνητικό κατά Gram) και *Clavibacter michiganensis* (Smith) Davis (θετικό κατά Gram) (Leylaie and Zafari 2018).

Φαίνεται ότι η εγκατάσταση και η εμμονή των βιολογικών παραγόντων ελέγχου (*Bacillus subtilis* GB03, *Trichoderma virens* GI-21, *Trichoderma harzianum* T-22) στις μικροβιακές κοινότητες τού εδάφους εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, με την εισαγωγή μιας υποστηρικτικής αμειψισποράς να παίζει προφανώς σημαντικό ρόλο. Ο σχετικός αντίκτυπος της αμειψισποράς βρέθηκε μεγαλύτερος από εκείνον των βιολογικών παραγόντων, υποδεικνύοντας ότι η αμειψισπορά μπορεί να έχει μεγαλύτερη επίδραση στη διαμόρφωση των μικροβιακών κοινοτήτων (Larkin 2008). Αυτό υποδηλώνει ότι η αμειψισπορά θα μπορούσε ενδεχομένως να χρησιμοποιηθεί ως ένα εργαλείο με μεγαλύτερη επίδραση στον χειρισμό των μικροβιακών κοινοτήτων τού εδάφους προκειμένου να επιτευχθεί η καταστολή των

ασθενειών σε καλλιέργεια πατάτας. Ωστόσο, μία μεμονωμένη διαχειριστική προσέγγιση, όπως η χορήγηση βιολογικών παραγόντων ελέγχου ή η αμειψισπορά, είναι πιθανό να είναι αναποτελεσματική. Προκειμένου να επιτευχθεί η καταστολή των ασθενειών, είναι απαραίτητο να βελτιστοποιηθούν και να συντονιστούν πολλαπλές προσεγγίσεις, όπως συνδυασμοί αμειψισποράς, καλλιεργειών κάλυψης, εφαρμογή οργανικής λίπανσης και βιολογικών παραγόντων ελέγχου, στο πλαίσιο ενός προγράμματος ολοκληρωμένης διαχείρισης. Επομένως, οι αμειψισπορές σιτηρών έχουν ως αποτέλεσμα αυξημένες εισροές οργανικής ύλης, C και N στο έδαφος ως καλλιεργητικά υπολείμματα που απουσιάζουν από την μονοκαλλιέργεια της πατάτας. Η παρουσία αυτών των υπολειμμάτων των καλλιεργειών εδαφοκάλυψης έχει σημαντική επίδραση στις μικροβιακές κοινότητες τού εδάφους (Larkin and Honeycutt 2006). Αξίζει να σημειωθεί στο σημείο αυτό ότι, βάσει τού [Στρατηγικού Σχεδίου της Χώρας μας για την νέα ΚΑΠ 2023-2027](#), στα πλαίσια τού Κανονισμού (ΕΕ) 2021/2115 σε ό,τι αφορά στην προώθηση της βιώσιμης ανάπτυξης και της αποτελεσματικής διαχείρισης των φυσικών πόρων, επιβάλλεται η καλλιέργεια διαφορετικών ειδών σε έναν τριετή κύκλο αμειψισποράς, καθώς και η εγκατάσταση χειμερινών καλλιεργειών εδαφοκάλυψης (σιτηρά, ψυχανθή), π.χ. πριν τη σπορά εαρινών καλλιεργειών.

#### Η έννοια της δυσβίωσης στη ριζόσφαιρα

Το φυτικό μικροβίωμα αποτελείται από ένα πλήθος μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων βακτηρίων, μυκήτων, αρχαίων, ιών και πρωτίστων. Ένα σημαντικό σύνολο δεδομένων υπογραμμίζει τον καθοριστικό ρόλο των μικροοργανισμών στην εξέλιξη των φυτών. Οι δυσλειτουργίες αυτού τού μικροβιώματος μπορούν να οδηγήσουν σε «δυσβίωση», η οποία θεωρείται ευρέως επιβλαβής για τον ξενιστή. Οι Arnault et al. (2023) ορίζουν την δυσβίωση ως μια παροδική μείωση της ικανότητας τού ξενιστή να ρυθμίζει το μικροβίωμά του, που συνεπάγεται απώλεια λειτουργίας που οδηγεί σε μείωση της φυσικής κατάστασης τού ξενιστή.

Η δυσβίωση μπορεί να εκδηλωθεί σε διάφορα επίπεδα τού φυτικού μικροβιώματος, συμπεριλαμβανομένης της φυλλόσφαιρας, της ριζόσφαιρας και της ενδόσφαιρας (Bass et al., 2019, Arnault et al. 2023). Η δυσβίωση εντός τού ολοβιοτικού συστήματος τού φυτού μπορεί να οδηγήσει σε μια σειρά ασθενειών με ποικίλα συμπτώματα, όπως ο σχηματισμός υπερπλασιών, η νέκρωση, ο νανισμός, η ανάπτυξη ελκών και το σύνδρομο τού βραδέος μαρασμού.

Το δυσβιωτικό μικροβίωμα μπορεί να αποτελεί αιτιολογικό παράγοντα για την ανάπτυξη της νόσου ή την εκδήλωση συμπτωμάτων στο φυτό. Μια μελέτη σχετικά με την ασθένεια της καστανής σήψης της τομάτας, που προκαλείται από το Gram-αρνητικό βακτήριο *R. solanacearum*, έδειξε ότι η δυσβίωση μπορεί να προκαλέσει την έλλειψη της προστατευτικής Gram-θετικής βακτηριακής κοινότητας, η οποία αποτελείται από τα *Brevibacterium frigoritolerans* Delaporte and Sasson, *Bacillus niacini* Nagel and Andreesen, *Solibacillus silvestris* (Rheims et al.) Krishnamurthi et al. και *Bacillus luciferensis* Logan et al. Αυτή η κοινότητα ενεργοποιεί την επαγόμενη άμυνα των φυτών και είναι επομένως απαραίτητη για την ανθεκτικότητα στην ασθένεια (Lee et al. 2021). Η παρουσία εξωτερικών

αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης και παθογόνων μικροοργανισμών μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη δυσβίωσης, η οποία μπορεί να θεωρηθεί ως συνέπεια αυτών των εξωτερικών παραγόντων. Ο φυτοπαθόγonos μύκητας *Verticillium dahliae* Kleb. έχει βρεθεί ότι χρησιμοποιεί πρωτεΐνες-ενεργοποιητές (effectors) που εμφανίζουν αντιμικροβιακή δράση και διευκολύνουν τον αποικισμό των φυτών τομάτας και βαμβακιού. Αυτό επιτυγχάνεται με την καταστολή ανταγωνιστικών βακτηρίων που διαφορετικά θα διατηρούσαν ένα υγιές μικροβίωμα στα φυτά ξενιστές. Στη συνέχεια, το παθογόνο χρησιμοποιεί αυτό το τροποποιημένο μικροβίωμα προς όφελός του, επιτρέποντάς του να αποικίζει τα φυτά πιο αποτελεσματικά και να προκαλεί ασθένεια (Snelders et al. 2020).

Το μικροβίωμα λειτουργεί ως προέκταση τού ανοσολογικού συστήματος τού φυτού, διευρύνοντας την ικανότητά του να αμύνεται έναντι εξωτερικών απειλών. Η μελέτη των ασθενειών των φυτών έχει παραδοσιακά επικεντρωθεί στην δυαδική σχέση μεταξύ ενός φυτού-ξενιστή και ενός παθογόνου. Ωστόσο, πρόσφατες έρευνες έχουν αναδείξει τον ρόλο τού μικροβιώματος στην ενίσχυση των αμυντικών ικανοτήτων ενός φυτού και στην επίδραση της έκβασης των αλληλεπιδράσεων φυτού-παθογόνου. Αυτό συχνά περιλαμβάνει την πρόληψη ή τον μετριασμό της ανάπτυξης ασθενειών μέσω μηχανισμών που δεν είναι πλήρως κατανοητοί αλλά αναφέρονται συλλογικά ως «βιοέλεγχος» (Klopper et al. 2004, Teixeira et al., 2019).

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ μικροοργανισμών διαδραματίζουν ολοένα και πιο εμφανή ρόλο στην καταστολή των παθογόνων και μπορούν να χρησιμεύσουν ως πρώτη γραμμή άμυνας κατά των παθογόνων μικροοργανισμών στα φυτά (Teixeira et al. 2019). Για παράδειγμα, βακτηριακοί παράγοντες ελέγχου εκκρίνουν λιποπεπτιδικά αντιβιοτικά, παράγωγα φαιναζίνης και άλλους μυτοκτόνους μεταβολίτες για την άμεση καταστολή τού *Fusarium graminearum* Schwabe σε σιτηρά. Αρκετά βακτηριακά στελέχη, συμπεριλαμβανομένων των *Bacillus* spp. *Pseudomonas* spp. και *Streptomyces* spp. έχουν αναφερθεί ότι μειώνουν με επιτυχία την επίπτωση και την σοβαρότητα της σήψης των στάχων (*Fusarium* spp.) στον αγρό (Legrand et al., 2017). Οι Chen et al. (2018) δημιούργησαν ένα σύστημα αλληλεπίδρασης βακτηρίων-μυκήτων για να κατανοήσουν τον ρόλο των συμβιωτικών βακτηρίων στην καταστολή των μυκητολογικών ασθενειών, ελέγχοντας περισσότερα από 12.000 καλλιεργήσιμα ωφέλιμα βακτήρια από το μικροβίωμα τού στάχου τού σιταριού. Ανέφεραν ότι η αύξηση τού πληθυσμού τού ανταγωνιστικού είδους *Pseudomonas piscium* ZJU60 στον στάχου μπορεί να καταστείλει την ασθένεια σήψης των στάχων (*F. graminearum*) (Chen et al. 2018). Ωστόσο, είναι πιθανό ότι πολλοί άλλοι παράγοντες συμβάλλουν στον άμεσο έλεγχο των παθογόνων από το μικροβίωμα. Ειδικότερα, ο ανταγωνισμός για την επάρκεια πόρων (επικάλυψη θέσεων) από τα ενδημικά μικρόβια έχει προταθεί ως σημαντικός παράγοντας που περιορίζει την μόλυνση των φυτών από παθογόνα (Berg and Koskella 2018). Αυτό είναι ανάλογο με τον προστατευτικό ρόλο που διαδραματίζουν τα κοινά μικρόβια στο έντερο των ζώων, όπου υπερτερούν έναντι παθογόνων μικροβίων και η ανάπτυξή τους καταστέλλεται από το ήδη εγκατεστημένο μικροβίωμα τού ξενιστή. Η απομάκρυνση των προστατευτικών βακτηρίων

οδηγεί σε ασθένειες, αναδεικνύοντας την σημασία της ομοιόστασης τού μικροβιώματος και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ μικροοργανισμών για την υγεία των φυτών (Teixeira et al. 2019).

### **Μικροβίωμα και Άμυνα Φυτών: Η Σχέση με Παθογόνα και η Εδαφική Μνήμη**

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το μικροβίωμα των φυτών είναι δυναμικό και ανταποκρίνεται στην παρουσία παθογόνων και παρασίτων. Το εύρημα αυτό ενισχύει την υπόθεση ότι τα φυτά επιλέγουν ενεργά το προστατευτικό μικροβίωμα για την καταπολέμηση ασθενειών υπό ορισμένες συνθήκες. Διαπιστώθηκε ότι η ανάπτυξη τού *A. thaliana* σε έδαφος από ολλανδικό αγρό προάγει τον πολλαπλασιασμό τριών συγκεκριμένων βακτηρίων (*Xanthomonas*, *Microbacterium* και *Stenotrophomonas*) που προκαλούν ISR στη ριζόσφαιρα μετά την μόλυνση των φύλλων από το παθογόνο τού περονόσπορου, *Hyaloperonospora arabidopsidis* (Gäumann).

Είναι αξιοσημείωτο ότι αυτά τα προστατευτικά βακτήρια φαίνεται να έχουν παραμείνει στο έδαφος και να παρέχουν ενισχυμένη προστασία έναντι τού περονόσπορου σε έναν επόμενο πληθυσμό φυτών (Berendsen et al. 2018). Η μόλυνση των φύλλων *Arabidopsis* από *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye & Wilkie οδήγησε επίσης σε παρόμοια εδαφική κληρονομιά, προσφέροντας προστασία σε μια επόμενη γενεά φυτών. Τα στοιχεία αυτά υποστηρίζουν την υπόθεση ότι το φυτό-ξενιστής διαδραματίζει ενεργό ρόλο στην αναδιαμόρφωση τού μικροβιώματός του. Τα μολυσμένα φυτά εμφάνισαν τροποποιημένα προφίλ ριζικής έκκρισης, τα οποία πιθανώς προσέλκυσαν ευεργετικά βακτήρια (Yuan et al. 2018) (Σχήμα 5.1). Επιπλέον, έχουν παρατηρηθεί μεταβολές στη σύνθεση τού μικροβιώματος και εμπλουτισμός των δυνητικά ωφέλιμων μικροοργανισμών σε ρίζες κριθαριού που έχουν μολυνθεί με *F. graminearum* (Dudenhöffer et al. 2016) και σε φυτά πιπεριάς που έχουν προσβληθεί από αλευρώδεις *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera, Aleyrodidae) (Kong et al. 2016). Τα εν λόγω αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι τα φυτά μπορούν να εμπλέκουν ωφέλιμα μικρόβια ως απάντηση στην προσβολή από παθογόνα, δημιουργώντας έτσι μια εδαφική μνήμη ή μια «εδαφική κληρονομιά» που ενισχύει την ανθεκτικότητα των επόμενων γενεών στις βλαβερές συνέπειες τού παθογόνου (Yuan et al. 2018).

Τα φυτά έχουν περιορισμένο εύρος επιλογών όταν πρόκειται να επιλέξουν εταίρους που μπορούν να παρέχουν μια συγκεκριμένη λειτουργία, όπως η προστασία από ασθένειες. Οι Dudenhöffer et al. (2016) διατύπωσαν την υπόθεση ότι οι ανατροφοδοτικοί κύκλοι, όπως η ενισχυμένη ριζική έκκριση παρουσία τού μυκητοκτόνου μεταβολίτη 2,4-διακετυλο-φλωρογλυκινόλη, μπορεί να χρησιμεύσει ως μηχανισμός ανταμοιβής που θα μπορούσε να διευκολύνει την πρόσληψη βακτηρίων που διαθέτουν μυκητοκτόνα χαρακτηριστικά. Η στρατολόγηση βακτηρίων μπορεί να οφείλεται σε μια ειδική έλξη προς τα εκκρίματα ή σε υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης στις ρίζες. Η χημειοταξία αναγνωρίστηκε ως σημαντικός παράγοντας. Τα εκκρίματα από μολυσμένα φυτά κριθαριού που είχαν προσβληθεί από *F.*

*graminearum* ήταν πιο ελκυστικά για το *Pseudomonas protegens* Ramette et al. CHA0, ένα πρότυπο στέλεχος που διαθέτει τα απαραίτητα γονίδια για την παραγωγή τόσο του 2,4-DAPG όσο και του HCN (τα δύο γονίδια που εμπλουτίζονται συστηματικά στη ριζόσφαιρα των μολυσμένων φυτών), σε σχέση με τα εκκρίματα από μη μολυσμένα φυτά κριθαριού (Dudenhöffer et al. 2016).

Τα θετικά κατά Gram *Bacillus* (*Bacillus amyloliquefaciens* 937a, *B. subtilis* 937b και *B. pumilus* SE34) δρουν ως βιολογικό έναυσμα για την πρόκληση διασυστηματικής άμυνας στα φυτά έναντι μεταγενέστερης προσβολής από *B. tabaci* σε συνθήκες αγρού (Murphy et al. 2000). Έχει παρατηρηθεί ότι η προσβολή από αλευρώδεις *B. tabaci* οδηγεί σε αύξηση του πληθυσμού των θετικών κατά Gram βακτηρίων στη ριζόσφαιρα. Τα βακτήρια αυτά έχει αποδειχθεί ότι ασκούν ευεργετικές επιδράσεις στα φυτά (Klopper et al. 2004). Παρομοίως, οι αφίδες *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera, Aphididae), που είναι μυζητικά έντομα όπως οι αλευρώδεις, προκαλούν μεταβολές στις πληθυσμιακές πυκνότητες του *B. subtilis* GB03, καθώς και του αρνητικού κατά Gram βακτηρίου *P. fluorescens* Pf-5, στη ριζόσφαιρα της πιπεριάς (Lee et al. 2012).

### **Συμπερασματικά σχόλια**

Η κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των φυτών και των ανθρώπινων παθογόνων που δεν προκαλούν εμφανή συμπτώματα στα φυτά είναι σημαντική για την προώθηση της Ενιαίας Υγείας (One Health). Η Ενιαία Υγεία είναι μια συνολική προσέγγιση που αναγνωρίζει τη στενή σχέση μεταξύ της υγείας των ανθρώπων, των ζώων, των φυτών και του περιβάλλοντος. Στο πλαίσιο αυτό, η μελέτη των κοινών μηχανισμών άμυνας των φυτών έναντι ανθρώπινων και φυτο-παθογόνων μπορεί να οδηγήσει σε καινοτόμες στρατηγικές για την ενίσχυση της ασφάλειας και προστασίας των τροφίμων. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για την πλήρη κατανόηση της πολυπλοκότητας αυτών των αλληλεπιδράσεων και την ανάπτυξη στρατηγικών μετριασμού των κινδύνων. Επιπλέον, η σχέση μεταξύ της διαχείρισης της ζωικής κόπρου, του μικροβιακού περιεχομένου, της εφαρμογής της στο έδαφος και της επιβίωσης των παθογόνων είναι σημαντική για την επίτευξη ισορροπίας μεταξύ γεωργικής παραγωγής και προστασίας της ανθρώπινης, ζωικής και φυτικής υγείας.

Η κατανόηση του φυτικού ανοσιακού συστήματος έχει επιτευχθεί κυρίως μέσω έρευνας των αλληλεπιδράσεων φυτών-παθογόνων, αλλά επαναξιολογείται υπό το πρίσμα των μικροβιωμάτων. Τα φυτά αλληλεπιδρούν τόσο με παθογόνα όσο και με κοινά μικρόβια, καθώς οι υποδοχείς ανοσίας αναγνωρίζουν κοινά μοριακά πρότυπα σε αυτούς τους μικροοργανισμούς. Αυτό υποδηλώνει ότι ο αποικισμός των φυτικών ιστών από μικρόβια περιλαμβάνει την καταστολή ή την αποφυγή της ανοσίας του ξενιστή, ανεξάρτητα από τον τρόπο ζωής των μικροοργανισμών. Το μικροβίωμα λειτουργεί ως ένα πρόσθετο στρώμα ανοσίας, καταστέλλοντας άμεσα ή έμμεσα τις ασθένειες. Συνεπώς, τα παθογόνα πρέπει να έχουν αναπτύξει στρατηγικές για να ξεπεράσουν τον ανοσολογικό φραγμό που επιβάλλει το μικροβίωμα, προκειμένου να προκαλέσουν μόλυνση στο φυτό.

Τα φυτά αντιμετωπίζουν ιδιαίτερες προκλήσεις από εδαφογενείς ασθένειες, καθώς είναι ακινητοποιημένα στο έδαφος και δεν έχουν τη δυνατότητα να αποφυγής των προσβολών. Ωστόσο, αυτή η στενή σχέση επιτρέπει στα φυτά να δημιουργούν συμβιωτικές σχέσεις με τους οργανισμούς της ριζόσφαιρας, ρυθμίζοντας τις επιπτώσεις των παθογόνων. Η καταστολή των ασθενειών στο έδαφος οφείλεται στις ποικίλες μικροβιακές κοινότητες που δρουν κατά των παθογόνων με μηχανισμούς όπως αντιβίωση, παρασιτισμός και ανταγωνισμός για πόρους. Η δυσβίωση, δηλαδή η διαταραχή τού μικροβιώματος, μπορεί να οδηγήσει σε ασθένειες. Η ομοίωση τού μικροβιώματος είναι κρίσιμη για την υγεία των φυτών. Η κατανόηση αυτών των αλληλεπιδράσεων μπορεί να οδηγήσει σε βελτιωμένες στρατηγικές βιολογικού ελέγχου των φυτικών ασθενειών.

Συμπερασματικά, η διεπιστημονική έρευνα που συνδυάζει τη γνώση από τους τομείς της φυτοπαθολογίας, της μικροβιολογίας και της δημόσιας υγείας είναι απαραίτητη για την πλήρη κατανόηση της πολυπλοκότητας των αλληλεπιδράσεων μεταξύ φυτών, ανθρώπων και περιβάλλοντος, προς όφελος της Ενιαίας Υγείας.

## Κεφάλαιο 6

---

### **Μεταβολές στη δομή και τη λειτουργία τού εδαφικού μικροβιώματος υπό την επίδραση γεωργικών φαρμάκων**

#### **Εισαγωγή**

Τα οικοσυστήματα υποστηρίζονται από πολύπλοκες αλληλεξαρτήσεις μεταξύ των οργανισμών και τού περιβάλλοντος στο οποίο ευδοκιμούν. Αυτές περιλαμβάνουν σχέσεις μεταξύ φυτικών, εδαφικών και μικροβιακών κοινοτήτων, οι οποίες είναι όλες συνδεδεμένες μεταξύ τους. Οι μικροβιακές κοινότητες τού εδάφους συνιστούν ένα ποικιλόμορφο δίκτυο αλληλένδετων και αλληλοεξαρτώμενων ομάδων κοινοτήτων, από βακτήρια έως μύκητες, οι οποίες παίζουν συλλογικά ζωτικό ρόλο στον καθορισμό της πορείας της γονιμότητας τού εδάφους. Οι εδαφικές μικροβιακές κοινότητες ενισχύουν τη γονιμότητα τού εδάφους παρέχοντας μια μεγάλη και κινητή δεξαμενή λειτουργιών που συντηρούν τη ζωή, όπως ο κύκλος των θρεπτικών στοιχείων, οι βιοχημικές διεργασίες και η αποσύνθεση της οργανικής ύλης (Singh et al. 2020).

Η «Ενιαία Υγεία» (One Health) είναι ένας αναδυόμενος διεπιστημονικός τομέας μελέτης που επικεντρώνεται στην διατήρηση και την ευημερία όλων των φυσικών πόρων, τόσο των έμβιων όσο και των άβιων. Η εκμετάλλευση και η εφαρμογή αυτών των πόρων τείνει να επηρεάσει το περιβάλλον και την υγεία των οργανισμών που επιβιώνουν σε αυτό. Η εντατικοποίηση της χρήσης αγροχημικών είναι συνέπεια της γεωμετρικής αύξησης τού πληθυσμού και της ανάγκης λήψης μέτρων για την επίτευξη επισιτιστικής ασφάλειας (Wahab et al. 2023). Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα παραμένουν ο βασικός πυλώνας της σύγχρονης γεωργίας. Ωστόσο, η εστίαση της αγοράς γεωργικών φαρμάκων έχει μετατοπιστεί τα τελευταία 20 χρόνια από δραστικές ουσίες (δ.ο.) υψηλής δοσολογίας και χαμηλής δραστηριότητας, σε δ.ο. χαμηλής δοσολογίας και υψηλής δραστηριότητας. Η μετατόπιση αυτή συνέπεσε με την εφαρμογή, σε επίπεδο ΕΕ και πέραν αυτής, ενός αυστηρού ρυθμιστικού πλαισίου για την έγκριση των γεωργικών φαρμάκων (γ.φ.), αντανακλώντας την αυξανόμενη ανησυχία τού κοινού για την ανίχνευση υπολειμμάτων γ.φ. στα νωπά προϊόντα, στους φυσικούς υδάτινους πόρους και στο έδαφος. Αυτό το κανονιστικό πλαίσιο οικοδομήθηκε γύρω από την εμβληματική οδηγία 91/414 ΕΚ, η οποία περιέγραφε τις δοκιμές και τις διαδικασίες που απαιτούντο για τη διάθεση ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος (ΦΠΠ) στην αγορά. Αυτό συμπληρώθηκε από (1) την οδηγία-πλαίσιο για τα ύδατα (2000/60/ΕΚ), η οποία προσδιόρισε αρκετά γ.φ. ως ρύπους προτεραιότητας για τα ύδατα, και (2) την οδηγία ΕΚ 128/2009, η οποία θέσπισε διαδικασίες για τη βιώσιμη χρήση των γ.φ. Τέλος, το 2009, η οδηγία 91/414/ΕΚ αντικαταστάθηκε από τον Κανονισμό ΕΚ 1107/2009, ο οποίος διέπει πλέον τον τρόπο με τον οποίο ένα γ.φ. εγκρίνεται για χρήση στην αγορά της ΕΕ (Karrouzas 2021).

Η Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ) διαθέτει το πιο προηγμένο ρυθμιστικό σύστημα για τα γ.φ. στον κόσμο (Handford et al. 2015). Αυτό αντικατοπτρίζεται στον αριθμό των αδειών κυκλοφορίας γ.φ. που έχουν ανακληθεί (Karabelas et al. 2009). Σήμερα υπάρχουν 424 δραστικές ουσίες καταχωρισμένες στην ΕΕ. Από αυτές, 69 είναι μικροβιακά γ.φ., 26 είναι βασικές ουσίες (π.χ. ζύδι, ηλιέλαιο κ.λ.π.) και συνολικά 72 θεωρούνται γ.φ. χαμηλού κινδύνου (EU Pesticide Data Base 2024). Ωστόσο, υπάρχει αυξανόμενη ανησυχία μεταξύ των βασικών ενδιαφερομένων μερών (π.χ. αγρότες, επιστημονικές εταιρείες φυτοπροστασίας, ενώσεις παραγωγών γ.φ. κ.λπ.) ότι οι διαθέσιμες σήμερα δραστικές ουσίες είναι πιθανό να παρέχουν ανεπαρκή έλεγχο των επιβλαβών οργανισμών, οδηγώντας σε αύξηση της ανθεκτικότητας ορισμένων ειδών, με δυνητικά σοβαρές αρνητικές επιπτώσεις στις αποδόσεις των καλλιεργειών και ακόμη και στην ανθρώπινη υγεία (Karabelas et al. 2009). Παράλληλα, άλλες ομάδες ενδιαφερομένων με αντίθετες απόψεις (π.χ. οι καταναλωτές, το ευρύ κοινό), φορείς έντονης ανησυχίας, μπορούν να διαδραματίσουν εξίσου σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της πολιτικής της Ε.Ε. για τα γ.φ. (Karabelas et al. 2009, Simoglou and Roditakis 2022). Ως εκ τούτου, καθίσταται διαρκώς σημαντικότερο να αναπτυχθούν καλύτερα μέσα επικοινωνίας με το κοινό σχετικά με τα θέματα αυτά, συμπεριλαμβανομένης της διαδικασίας ανάλυσης κινδύνων, της διαχείρισης κινδύνων και της λήψης σχετικών αποφάσεων (Simoglou et al. 2023).

Παρά το γεγονός ότι αποτελούν έναν από τους πιο επικίνδυνους ρύπους, τα σύγχρονα γ.φ. είναι ταχείας δράσης και, σε ορισμένες περιπτώσεις, διαθέτουν μοναδικές ιδιότητες που τα καθιστούν αποτελεσματικά κατά συγκεκριμένων επιβλαβών οργανισμών. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο μεγάλων προσβολών και, κατά συνέπεια, να αυξήσουν την απόδοση των καλλιεργειών μειώνοντας τις απώλειες. Συνολικά, τα γ.φ. φαίνεται να συμβάλλουν σημαντικά στην ανθρώπινη ευημερία. Ωστόσο, οι κίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία που συνδέονται με τη χρήση τους κατατέθηκαν άμεσα μεταξύ των διαφόρων ομάδων πληθυσμού (Karabelas et al. 2009), όπως είναι για παράδειγμα οι χρήστες γ.φ. Η σύγχρονη γεωργία βασίζεται σχεδόν εξ ολοκλήρου στις θετικές επιδράσεις των λιπασμάτων και των γ.φ. για την κάλυψη των παγκόσμιων αναγκών σε τρόφιμα. Εκτός από τα οφέλη που εκτιμούμε από τις εισροές γ.φ., είναι επίσης σημαντικό να σημειωθούν οι αρνητικές επιπτώσεις που εκδηλώνονται στην μικροβιακή κοινότητα του εδάφους, η οποία αποτελεί αναπόσπαστο μέρος της διατήρησης της γονιμότητας του εδάφους για την επόμενη καλλιεργητική περίοδο (Singh et al. 2020).

Η μικροβιακή βιομάζα του εδάφους αποτελείται κυρίως από βακτήρια και μύκητες, που αντιπροσωπεύουν περίπου το 1-4% της συνολικής οργανικής ουσίας του εδάφους. Στα συμβατικά συστήματα κατεργασίας του εδάφους κυριαρχεί η βακτηριακή βιομάζα, ενώ στα συστήματα χωρίς κατεργασία του εδάφους κυριαρχεί η μυκητολογική βιομάζα. Σε σύγκριση με τους πληθυσμούς μυκήτων, τα βακτήρια και οι ακτινομύκητες παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντίσταση στις εδαφικές διαταραχές στα καλλιεργούμενα εδάφη και επιδεικνύουν αυξημένη ικανότητα εγκατάστασης υπό αυτές τις συνθήκες (Prashar and Shah 2016).

Οι μικροβιακές κοινότητες τού εδάφους συγκροτούν ένα ποικιλόμορφο δίκτυο αλληλοεξαρτώμενων ομάδων οργανισμών, από βακτήρια έως και μύκητες, οι οποίες παίζουν συλλογικά καθοριστικό ρόλο στον καθορισμό της τύχης της γονιμότητας τού εδάφους. Οι εδαφικές μικροβιακές κοινότητες ενισχύουν τον πλούτο τού εδάφους αποτελώντας μια κύρια και κινητή δεξαμενή βασικών για τη ζωή λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένης της ανακύκλωσης των θρεπτικών συστατικών, των βιοχημικών διεργασιών και της αποσύνθεσης οργανικού υλικού. Το μικρό μέγεθος των μικροοργανισμών και η αυξημένη αναλογία επιφάνειας προς όγκο τους προσδίδουν μια τεράστια διεπαφή με το γειτονικό τους περιβάλλον. Κατά συνέπεια, οι μικροοργανισμοί τού εδάφους παρουσιάζουν έντονη ευαισθησία στις περιβαλλοντικές τροποποιήσεις και χρησιμεύουν ως αποτελεσματικοί βιοδείκτες για τη ρύπανση από γ.φ. και άλλες διαταραχές τού οικοσυστήματος (Singh et al. 2020).

Η σχέση μεταξύ των γ.φ. και τού μικροβιώματος τού εδάφους είναι μια σύνθετη σειρά αλληλεπιδράσεων που επηρεάζει σημαντικούς βιογεωχημικούς κύκλους που καθοδηγούνται από μικροοργανισμούς. Έχουν υπάρξει πολλές αντικρουόμενες αναφορές σχετικά με τις επιπτώσεις της χρήσης γ.φ. στη μικροβιακή κοινότητα τού εδάφους, λόγω της πολυπλοκότητας τού μικροβιακού περιβάλλοντος τού εδάφους. Ενώ ορισμένες μικροβιακές κοινότητες είναι εξαιρετικά ευαίσθητες στην εφαρμογή γ.φ., άλλες διαδραματίζουν βασικό ρόλο στον καθορισμό της τύχης τού μεταβολισμού των γ.φ. στο έδαφος. Αν και ορισμένες παροδικές διαταραχές τού μικροβιώματος τού εδάφους μπορεί να εκδηλωθούν από την εφαρμογή γ.φ. σε συνιστώμενα επίπεδα, είναι σαφές από διάφορες πηγές ότι οι επαναλαμβανόμενες εφαρμογές γ.φ. μπορούν να προκαλέσουν απώλεια γονιμότητας και παραγωγικότητας. Η επαναλαμβανόμενη χρήση γ.φ. οδηγεί στη συσσώρευση τοξικών μεταβολιτών, οι οποίοι αποτελούν σοβαρή απειλή για τη γονιμότητα τού εδάφους, η οποία αντανακλάται στην απόδοση των καλλιεργειών, καθώς επηρεάζονται οι σχετιζόμενοι με τα φυτά προβιοτικοί μικροοργανισμοί τού εδάφους (Singh et al. 2020).

Στην επισκόπηση των Prashar and Shah (2016) επισημαίνεται ότι η τοξικότητα των γ.φ. στο εδαφικό μικροβίωμα εξαρτάται από διάφορους βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες που υπάρχουν στο έδαφος. Οι διάφοροι εδαφικοί οργανισμοί ανταποκρίνονται με διαφορετικό τρόπο στο ίδιο γ.φ. Η δοσολογία στην οποία εφαρμόζεται το γ.φ. έχει επίσης μεγάλη σημασία, καθώς καθορίζει την υπολειμματική συγκέντρωση και τη μακροπρόθεσμη τοξικότητα. Έχει αποδειχθεί ότι οι χαμηλές δόσεις είναι μη τοξικές ή έχουν μικρότερες επιβλαβείς επιπτώσεις στη μικροχλωρίδα τού εδάφους. Καθώς αυξάνεται η αρχική δόση, αυξάνονται επίσης η υπολειμματική συγκέντρωση τού γ.φ. στο έδαφος και η τοξικότητα αυτού. Οι τοξικές επιδράσεις των γ.φ. στη μικροχλωρίδα επηρεάζονται επίσης σημαντικά από τα χαρακτηριστικά τού εδάφους (μηχανική σύσταση, φυσικοχημικές ιδιότητες). Άλλοι παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη είναι το στάδιο εφαρμογής, η επανάληψη της εφαρμογής, η παρουσία οργανικών υπολειμμάτων και η ηλικία της καλλιέργειας. Έχει παρατηρηθεί ότι η επαναλαμβανόμενη

εφαρμογή ζιζανιοκτόνων σε ετήσια βάση ασκεί εντονότερη επίδραση στις βιολογικές διεργασίες τού εδάφους από ό,τι μια εφάπαξ εφαρμογή. Η μακροχρόνια χρήση ενός συγκεκριμένου χημικού παράγοντα έχει τη δυνατότητα να προκαλέσει ουσιαστικές και διαρκείς μεταβολές στη δομική ποικιλότητα των εδαφικών μικροβίων (Prashar and Shah 2016).

Οι τομείς της υδατικής και της χερσαίας οικοτοξικολογίας συνέβαλαν καθοριστικά στην ανάπτυξη ενός ολοκληρωμένου συνόλου τυποποιημένων μεθοδολογιών για την αξιολόγηση της τοξικότητας των γ.φ. στους μακρο-οργανισμούς. Αντίθετα, η πιθανή τοξικότητα των γ.φ. στους μικρο-οργανισμούς τού εδάφους έχει σε μεγάλο βαθμό αγνοηθεί. Οι μικροοργανισμοί τού εδάφους είναι γνωστοί ως οι κινητήριες δυνάμεις ανάπτυξης των χερσαίων οικοσυστημάτων για διάφορους λόγους. Πρώτον, ελέγχουν αρκετές βασικές αντιδράσεις στον κύκλο των θρεπτικών ουσιών, ο οποίος ρυθμίζει τη γονιμότητα τού εδάφους και την παραγωγή αερίων τού θερμοκηπίου. Δεύτερον, αλληλεπιδρούν με τις καλλιέργειες, με το αποτέλεσμα να είναι συχνά ευεργετικό. Τρίτον, υποστηρίζουν τη δομή τού εδάφους. Τέλος, παρέχουν πλούσια λειτουργική βιοποικιλότητα, η οποία θα μπορούσε να αξιοποιηθεί από τη βιοτεχνολογία. Προς υποστήριξη των προαναφερθέντων σημείων, η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) έχει επισημάνει την ύπαρξη ρυθμιστικών κενών στην αξιολόγηση της τοξικότητας των γ.φ. στους μικροοργανισμούς τού εδάφους και έχει προσδιορίσει τα εδαφικά μικρόβια ως ειδικό στόχο προστασίας (EFSA 2010). Ωστόσο, η αξιολόγηση της τοξικότητας των γ.φ. στους μικροοργανισμούς τού εδάφους εξακολουθεί να βασίζεται σε μια πεπερασμένη και μη ευαίσθητη δοκιμή ανοργανοποίησης N (OECD 216), η οποία προσφέρει μια κατ' αποκοπήν μέτρηση τού ρυθμού αμμωνιοποίησης και νιτροποίησης στο έδαφος (Karpouzas 2021, Pedrinho et al. 2024). Υπό το πρίσμα αυτό, η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) εξέδωσε επιστημονική γνωμοδότηση (EFSA Panel et al. 2017), η οποία αναγνωρίζει την ανάγκη τροποποίησης τού σχετικού νομοθετικού πλαισίου. Η προτεινόμενη νέα στρατηγική δοκιμών λαμβάνει υπόψη τις σχετικές οδούς έκθεσης για τους οργανισμούς που διαβιούν στο έδαφος και τις πιθανές άμεσες και έμμεσες επιπτώσεις. Κατά τον Ntzas (2016) η φαρμακοκινητική μελέτη (πρόσληψη και μεταφορά) των γ.φ. στα φυτά, τα οργανίδια και τις βιολογικές μεμβράνες των οργανισμών-στόχων θα πρέπει να μελετηθεί όχι μόνο σε σχέση με τον τρόπο δράσης τους, αλλά και υπό το πρίσμα των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μετα-οργανισμών και της χημικής οικολογίας.

Στην παρούσα επισκόπηση καταβάλλεται προσπάθεια να καλυφθεί σφαιρικά το ευρύ αυτό επιστημονικό πεδίο. Με δεδομένη την πολυδιάστατη φύση τού θέματος δίδεται έμφαση σε δραστικές ουσίες γ.φ. που είναι εγκεκριμένες σε επίπεδο Ε.Ε. δυνάμει τού Κανονισμού (ΕΚ) 1107/2009. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές μελέτες, παλαιότερες ή και νεότερες, που αφορούν στο εδαφικό μικροβίωμα και στις επιδράσεις σε αυτό δραστικών ουσιών που δεν αναφέρονται στο Παράρτημα τού Εκτελεστικού Κανονισμού (ΕΕ) 540/2011 «Εγκεκριμένες δραστικές ουσίες» (όπως έχει τροποποιηθεί και ισχύει). Παρά τον φαινομενικά περιορισμένο αριθμό δραστικών ουσιών που πραγματεύεται η

παρούσα επισκόπηση, κρίθηκε σκόπιμο οι μελέτες που αφορούν σε μη εγκεκριμένα πλέον γεωργικά φάρμακα να αποκλειστούν, ή όπου αναφέρονται αναπόφευκτα κάποιες παλαιές δραστικές edώ, να γίνεται σαφής διάκριση μεταξύ εγκεκριμένων (\*) και μη εγκεκριμένων (\*\*) στην Ε.Ε. δραστικών ουσιών.

### **Ο ζωτικός ρόλος τού εδαφικού μικροβιώματος και των ενζύμων στη διατήρηση της υγείας τού εδάφους**

Το έδαφος είναι ένας θεμελιώδης πόρος για τις ανθρώπινες δραστηριότητες, αλλά η διαχείρισή του είναι υψίστης σημασίας λόγω της εντεινόμενης ζήτησης τού αυξανόμενου πληθυσμού για αξιόπιστη παροχή τροφίμων. Είναι επιτακτική ανάγκη να επανεκτιμηθεί ο ρόλος των αγροχημικών, προκειμένου να διατηρηθεί η απόδοση των καλλιεργειών και να βελτιωθεί η ποιότητα τού εδάφους, δεδομένων των περιορισμών που αντιμετωπίζει σήμερα η παραγωγή τροφίμων (Bergna et al. 2022).

Ο οικολογικός ρόλος τού εδάφους οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στη μικροβιακή τού χλωρίδα, η οποία παρουσιάζει εξαιρετική ταξινομική και λειτουργική ποικιλότητα. Το εδαφικό μικροβίωμα διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση πολλών βασικών διεργασιών, όπως η δυναμική τού άνθρακα, τα αέρια τού θερμοκηπίου, η διάβρωση τού εδάφους, η αποικοδόμηση των ρύπων, η αντίδραση τού εδάφους και η ανακύκλωση των θρεπτικών συστατικών. Οι κύκλοι μετασχηματισμού βασικών στοιχείων για τη ζωή των φυτών και των ζώων, όπως το άζωτο, ο φώσφορος, το θείο και ο άνθρακας, επηρεάζονται άμεσα από τους μικροοργανισμούς τού εδάφους. Είναι ζωτικής σημασίας να κατανοήσουμε την αναγκαιότητα διαφόρων ταξινομικών ομάδων βακτηρίων, μυκήτων και αρχαίων για αυτούς τους κύκλους. Οι πιο αξιόπιστοι δείκτες της υγείας τού εδάφους είναι τα μικροβιακά δίκτυα, τα οποία περιλαμβάνουν συμπληρωματικά γενετικά και ενζυμικά συστήματα. Αυτά τα δίκτυα, που περιλαμβάνουν βακτήρια, μύκητες και αρχαία, διευκολύνουν τις διαδικασίες που διατηρούν την υγεία τού εδάφους, υπογραμμίζοντας τη σημασία της μελέτης τού τρόπου με τον οποίο απαιτούνται πολλαπλές ταξινομικές ομάδες για αυτούς τους κύκλους (Bardgett and Van Der Putten 2014, Fierer 2017).

Τα εδαφικά ένζυμα διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη δέσμευση τού αζώτου, αποικοδόμηση της οργανικής ύλης και στην ανακύκλωση των θρεπτικών στοιχείων στη ριζόσφαιρα, επηρεάζοντας τα φυτά και τα μικρόβια τού εδάφους και με τον τρόπο αυτόν υποδεικνύουν το επίπεδο γονιμότητας τού εδάφους. Ωστόσο, τα γ.φ. μπορούν να διαταράξουν την ενζυμική τους δραστηριότητα, διαταράσσοντας τη λεπτή ισορροπία τού εδαφικού περιβάλλοντος. Τα ένζυμα τού εδάφους, τα οποία προέρχονται κυρίως από μικροοργανισμούς αλλά και από τα φυτικά και ζωικά υπολείμματα, μπορούν να είναι είτε ελεύθερα είτε σταθεροποιημένα στην οργανική ουσία τού εδάφους. Λόγω της σταθερότητας και της ευαισθησίας τους, τα εδαφικά ένζυμα χρησιμοποιούνται ως δείκτες της υγείας τού εδάφους (Nannipieri and Landi 2000, Rao et al. 2014, Shahid and Khan 2022). Είναι πιθανό το ίδιο ένζυμο να υποστεί αλλαγή θέσης μέσα στο έδαφος. Μπορεί να βρίσκεται ενδοκυτταρικά σε ένα βιώσιμο κύτταρο, να συνδέεται με τα

κυτταρικά υπολείμματα μετά τον κυτταρικό θάνατο, να απελευθερώνεται στην υδατική φάση καθώς οι κυτταρικές μεμβράνες διασπώνται και τελικά να προσρροφάται από τα κολλοειδή τού εδάφους. Είναι πιθανό ότι οι δραστηριότητες που προκύπτουν από ελεύθερα ένζυμα στο εδαφικό διάλυμα είναι αμελητέες λόγω της μικρής διάρκειας ζωής αυτών των ενζύμων (Nannipieri and Landi 2000).

Τα ακόλουθα είναι παραδείγματα εδαφικών ενζύμων που αναφέρονται σε πολλές μελέτες αλληλεπιδράσεων γ.φ. με το εδαφικό μικροβίωμα: Η αφυδρογονάση είναι ένα ένζυμο που υπάρχει σε όλα τα ζωντανά μικροβιακά κύτταρα και χρησιμεύει ως κρίσιμος δείκτης της μικροβιακής δραστηριότητας τού εδάφους. Η δραστηριότητά του είναι ευπαθής στις επιδράσεις των γ.φ. Η δραστηριότητα της υδρολάσης της δι-οξικής φλουοροσεΐνης, η οποία υδρολύεται από τις πρωτεάσες, τις λιπάσες και τις εστεράσες, αποτελεί σημαντικό παράγοντα των ενζυμικών δραστηριοτήτων τού εδάφους. Η β-γλυκοσιδάση και η κυτταρινάση είναι απαραίτητες για την αποικοδόμηση της οργανικής ύλης στο έδαφος, παράγοντας γλυκόζη ως πηγή άνθρακα για τους μικροοργανισμούς. Οι φωσφατάσες, συμπεριλαμβανομένης της όξινης και της αλκαλικής φωσφατάσης, καταλύουν την υδρόλυση των εστέρων και των ανυδριτών τού φωσφορικού οξέος, διαδραματίζοντας κρίσιμο ρόλο στον κύκλο του φωσφόρου. Η ουρεάση, ένα ένζυμο, καταλύει την υδρόλυση της ουρίας σε διοξείδιο του άνθρακα και αμμωνία, συμβάλλοντας στον κύκλο του αζώτου (Riah et al. 2014).

Στην μελέτη των επιδράσεων των γ.φ. στο εδαφικό μικροβίωμα, η εξέταση τού χρονικού πλαισίου έχει σημαντική βαρύτητα, δεδομένου ότι ένα μεμονωμένο φαινόμενο μπορεί να αποτελεί διαταραχή σε μια χρονική κλίμακα, αλλά όχι σε μια άλλη. Ενδεικτικά, εάν μια μεταχείριση έχει αντίκτυπο στις μικροβιακές λειτουργίες τού εδάφους, μια μελέτη που θα διεξαχθεί σε μικρότερο χρονικό διάστημα θα παρατηρήσει πιθανότατα μια σημαντική διαταραχή στην τοπική μικροβιακή κοινότητα. Αντίθετα, μια μελέτη που καλύπτει μεγαλύτερο χρονικό διάστημα θα μπορούσε επίσης να ανιχνεύσει την επακόλουθη αποκατάσταση της προσωρινά χαμένης λειτουργίας. Παρομοίως, μια βραχυπρόθεσμη μελέτη που βασίζεται σε μια μόνο εφαρμογή αγροχημικών μπορεί να μην εντοπίσει πιθανές μακροπρόθεσμες διαταραχές που σχετίζονται με τη συσσώρευσή τους στο έδαφος. Οι μακροχρόνιες μελέτες, επομένως, επιτρέπουν την κατανόηση των βασικών οικολογικών παραμέτρων της δυναμικής της κοινότητας, διακρίνοντας μεταξύ οξέων διαταραχών και χρόνιων διαταραχών, ενώ αξιολογούν τη σταθερότητα, την αντοχή/ευαισθησία και την ανθεκτικότητα της κοινότητας (Bergna et al. 2022).

Στο πλαίσιο ενός πολύπλοκου συστήματος, όπου βιοτικοί και αβιοτικοί παράγοντες χρησιμεύουν ως πρωταρχικοί συντελεστές της δομής της μικροβιακής κοινότητας τού εδάφους, η δράση και η αποικοδόμηση των αγροχημικών εξαρτώνται επίσης από παράγοντες και διεργασίες που σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά τού εδάφους. Η φυσική και χημική κατάσταση τού εδάφους, οι διεργασίες προσρόφησης και εκρρόφησης, η αλληλεπίδραση με το φυτό (πρόσληψη από τα φυτά), οι διεργασίες εξαέρωσης, φωτόλυσης, έκπλυσης και χημικής μετατροπής μπορούν να τροποποιήσουν την επίδραση των αγροχημικών στις μικροβιακές κοινότητες και τη σταθερότητά τους στο έδαφος. Ο αποκλεισμός

τού αγρονομικού πλαισίου από τις μελέτες και ο περιορισμός της έρευνας σε μελέτες ελεγχόμενων συνθηκών μπορεί να οδηγήσει σε υπερβολική έμφαση στις άμεσες επιδράσεις τοξικότητας, οι οποίες δεν είναι ενδεικτικές, ενώ δυνητικά αποκρύπτει τις εκτός στόχου επιδράσεις που απαιτούν ένα πιο σύνθετο σύστημα για τη διερεύνησή τους (Chakravarty and Chatarpaul 1990, Storck et al. 2018, Bergna et al. 2022).

### **Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των χημικών γεωργικών φαρμάκων και των εδαφικών μικροοργανισμών**

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες ενός γ.φ., σε συνδυασμό με την αλληλεπίδρασή του με το έδαφος, το φυτικό μικροβίωμα, το νερό και τις χημικές ουσίες στη ριζόσφαιρα, καθορίζουν τη συμπεριφορά τού γ.φ. στο φυτό. Αυτό περιλαμβάνει τις διαδικασίες της πρόσληψης, της μετατόπισης, της δράσης, της αποτοξικοποίησης και της απέκκρισης. Ο μεταβολισμός και η μορφολογία των φυτών, το μικροβίωμά τους και τα γ.φ. αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με έναν πολύπλοκο και εγγενή τρόπο, ο οποίος μπορεί να επηρεάσει, θετικά ή αρνητικά, την ορθή λειτουργία τού ολοβιώματος. Το μικροβίωμα της ρίζας συνδέεται στενά με την υγεία των φυτών. Τυχόν μεταβολές στη σύνθεση τού βασικού μικροβιώματος μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη ασθενειών που προκαλούν βλάβη στη φυτοϋγεία, όπως αποδεικνύεται από τη σχέση μεταξύ τού μικροβιώματος τού εντέρου και της ανθρώπινης υγείας (Vryzas 2016).

Η επίδραση των γ.φ. στις μικροβιακές κοινότητες εξετάστηκε από τους Yen et al. (2009), οι οποίοι διερεύνησαν την επίδραση δύο μυκητοκτόνων, τού triadimefon (\*\*\*) και τού propiconazole (\*\*), σε συγκεντρώσεις 10 mg kg<sup>-1</sup> και 100 mg kg<sup>-1</sup> στις ριζοβακτηριακές κοινότητες φυτών φράουλας. Παρ' όλη την αύξηση τού μικροβιακού πληθυσμού που παρατηρήθηκε αρχικώς (10 ημέρες μετά την εφαρμογή), οι υψηλότερες συγκεντρώσεις propiconazole βρέθηκαν ιδιαίτερα τοξικές για τις μικροβιακές κοινότητες. Επιπλέον, οι διαταραχές στη σύνθεση των μικροβιακών κοινοτήτων ήταν εμφανείς έως και 75 ημέρες μετά τη μεταχείριση με γ.φ., γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι οι διαταραχές που προκαλούνται από τη χρήση των δύο παραπάνω δραστικών δεν μπορούν να αποκατασταθούν πλήρως έως αυτό το χρονικό σημείο.

Οι επιδράσεις των diuron (\*\*), tebuthiuron (\*\*), linuron (\*\*), chlorotoluron (\*\*\*) και bromacil (\*\*\*) (ζιζανιοκτόνα ουρίας) μελετήθηκαν από τους El Fantroussi et al. (1999) στις μικροβιακές κοινότητες σε εδάφη που υποβλήθηκαν σε δεκαετή μεταχείριση. Τα ζιζανιοκτόνα αυτά δεν είναι πλέον εγκεκριμένα στην ΕΕ. Ωστόσο, τα συμπεράσματα της μελέτης έχουν ενδιαφέρον, καθώς υποστηρίζουν ότι η υπερβολική χρήση χημικών γ.φ. δεν είναι ο μόνος παράγοντας που ευθύνεται για την απώλεια της γονιμότητας τού εδάφους, αλλά ότι και οι εκτεταμένες και επαναλαμβανόμενες εφαρμογές προκαλούν επίσης ανισορροπίες στο μικροβίωμα τού εδάφους.

Τα χημικά γ.φ. μπορούν να επηρεάσουν μεμονωμένα βακτηριακά είδη αναστέλλοντας ένζυμα και γονίδια που εμπλέκονται σε ζωτικές διεργασίες. Αυτή η μεταβολή της λειτουργίας επηρεάζει άμεσα την ικανότητα επιβίωσης των μικροβίων και μεταβάλλει επίσης τις απαραίτητες βιοχημικές διεργασίες που σχετίζονται άμεσα με την διατήρηση τού εδαφικού οικοσυστήματος. Οι Boldt and Jacobsen (1998) έδειξαν τις επιδράσεις διαφορετικών συγκεντρώσεων ζιζανιοκτόνων σουλφονουρίας metsulfuron-methyl (\*), chlorsulfuron (\*\*), και thifensulfuron-methyl (\*) σε 77 διαφορετικά στελέχη *Pseudomonas*. Τα ζιζανιοκτόνα προκάλεσαν μείωση της ανάπτυξης στο *Pseudomonas*, αλλά η ευαισθησία διέφερε μεταξύ των στελεχών, γεγονός που προτάθηκε ως αποτέλεσμα των διαφορών στο ένζυμο-στόχο οξικογαλακτική συνθετάση (ALS), ένα βασικό ένζυμο στη σύνθεση της αμινοξέων διακλαδισμένης αλυσίδας (βαλίνη, λευκίνη και ισολευκίνη).

Επίσης, η υψηλή δόση τού μυκητοκτόνου azoxystrobin (\*) ανέστειλε τη δραστηριότητα των αφυδρογονασών, της αλκαλικής φωσφατάσης, της όξινης φωσφατάσης και της ουρεάσης, ενώ η εγκεκριμένη δόση του ενίσχυσε τις δραστηριότητες όλων των αναλυθέντων ενζύμων τού εδάφους. Η καταλάση ήταν η πιο ανθεκτική στο azoxystrobin, όπως αποδεικνύεται από την ενισχυμένη δραστηριότητά της στο έδαφος που είχε υποστεί μεταχείριση με αυτή την ένωση. Η αύξηση της δραστηριότητάς της μπορεί να υποδηλώνει ότι ορισμένοι μικροοργανισμοί χρησιμοποίησαν το azoxystrobin ως πηγή άνθρακα και ενέργειας απαραίτητης για την ανάπτυξή τους, γεγονός που συνέβαλε στην ενισχυμένη έκκριση καταλάσης από τα κύτταρά τους. Οι θετικές ή αρνητικές επιδράσεις τού μυκητοκτόνου στα εδαφικά ένζυμα σχετίζονται κυρίως με τη δόση και τη διάρκεια παραμονής του στο έδαφος (Baćmaga et al. 2024).

Οι Sahu κ.ά. (2019) μελέτησαν τις επιδράσεις τού chlorantraniliprole (\*) στους μικροοργανισμούς τού εδάφους. Διαπίστωσαν ότι οι διάφορες δόσεις τού εντομοκτόνου δεν είχαν σημαντική αρνητική επίδραση στους ακτινομύκητες, τους μύκητες, αζωτοδεσμευτικά βακτήρια και τα βακτήρια που διαλυτοποιούν τον φώσφορο. Μεταξύ των μεταχειρίσεων, η διπλάσια της συνιστώμενης δόση προκάλεσε την χαμηλότερη δραστηριότητα της αφυδρογονάσης, της δι-οξικής υδρολάσης της φλουροσεΐνης, της όξινης και αλκαλικής φωσφατάσης και ακολούθωσε η μεταχείριση της συνιστώμενης δόσης. Ο άνθρακας της μικροβιακής βιομάζας, η β-γλυκοσιδάση και η ουρεάση δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών δόσεων τού chlorantraniliprole.

Μια μελέτη των Zhang et al. (2019δ) αξιολόγησε τις επιδράσεις τού μυκητοκτόνου fluoxastrobin (\*) στις ενζυμικές δραστηριότητες (β-γλυκοσιδάση, αφυδρογονάση και ουρεάση) στο έδαφος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι δραστηριότητες των ενζύμων που εξετάστηκαν ήταν χαμηλότερες από εκείνες στους μάρτυρες, σε κάθε δόση σε διαφορετικό βαθμό. Η μικροβιακή ποικιλότητα τού εδάφους φάνηκε να επηρεάζεται σε κάποιο βαθμό από το fluoxastrobin σύμφωνα με τον δείκτη Simpson. Ωστόσο, ο δείκτης Shannon σε κάθε δόση και χρονική στιγμή δεν διέφερε σημαντικά από εκείνον των μαρτύρων.

Η ανταπόκριση της β-γλυκοσιδάσης, της ουρεάσης και της όξινης φωσφατάσης τού εδάφους στην έκθεση σε mesotrione (\*) διερευνήθηκε από τους Du et al. (2018). Οι δραστηριότητες των ενζύμων ήταν σχετικά σταθερές, με αυτή της β-γλυκοσιδάσης να επηρεάζεται μόνο από την υψηλότερη έκθεση σε mesotrione και της ουρεάσης και όξινης φωσφατάσης να επηρεάζονται μόνο στα αρχικά στάδια. Ωστόσο, σε αντίθεση με τη σταθερότητα αυτών των ενζύμων, η αφθονία των εδαφικών βακτηρίων, μυκήτων και ακτινομυκήτων μειώθηκε σημαντικά ακόμη και στην χαμηλότερη συγκέντρωση mesotrione. Ο πιθανότερος λόγος θα μπορούσε να είναι ότι, αν και η αφθονία των εδαφικών μικροβίων μειώθηκε, οι συνθετικές δραστηριότητες αυτών των ενζύμων στα μικρόβια αυξήθηκαν (Du et al. 2018). Παρομοίως, σε μελέτες των Crouzet et al. (2010) που διερεύνησαν μικροβιακές κοινότητες υπό την επίδραση mesotrione σε τεχνητή μορφή ή υπό εμπορική μορφοποίηση (Callisto®) που εφαρμόστηκε σε τρεις διαφορετικές δόσεις (συνιστώμενη, 10x και 100x), οι μικροβιακές δραστηριότητες τού εδάφους βρέθηκαν να αυξάνονται αναλογικά υπό την έκθεση στο mesotrione.

Η ευρεία χρήση γ.φ. ωθεί τους μικροοργανισμούς τού εδάφους να αναπτύξουν ικανότητες αποικοδόμησης των γ.φ. Αρκετά βακτήρια και μύκητες όπως τα *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Aspergillus* και *Trichoderma* έχουν αναφερθεί ότι χρησιμοποιούν γ.φ., ιδίως εντομοκτόνα, ως πηγές άνθρακα. Τα δείγματα εδάφους που υποβλήθηκαν σε μεταχείριση με τα εντομοκτόνα fipronil (\*\*) και imidacloprid (\*\*) και το μυκητοκτόνο metalaxyl-M (\*) παρουσίασαν υψηλότερη απόλυτη αφθονία μικροοργανισμών σε σύγκριση με το εντομοκτόνο acypermethrin (\*\*), το ζιζανιοκτόνο metolachlor (\*\*) και το μυκητοκτόνο azoxystrobin (\*), και αυτό ήταν πιο έντονο για ορισμένους ευκαρυωτικούς μικροοργανισμούς, ιδίως για τους *Pyrenophora*, *Phaeosphaeria*, *Neurospora* και *Xenopus* στα δείγματα που υποβλήθηκαν σε μεταχείριση με imidacloprid και για τους *Neurospora*, *Chaetomium*, *Podospora* και *Penicillium* στα δείγματα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με metalaxyl-M. Τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε μεταχείριση με fipronil παρουσίασαν την υψηλότερη ενεργότητα χιτίνωσης και κυτταρινάσης, ακολουθούμενα από εκείνα που υποβλήθηκαν σε μεταχείριση με το imidacloprid και το metalaxyl-M (Sim et al. 2022).

Το μυκητοκτόνο azoxystrobin (\*) που εφαρμόστηκε σε συνιστώμενες δόσεις αγρού ενίσχυσε την ανάπτυξη οργανοτροφικών βακτηρίων και ακτινοβακτηρίων, αλλά ανέστειλε την ανάπτυξη μυκήτων. Αντιθέτως, σε υψηλή δόση μείωσε τους πληθυσμούς όλων των εξετασθέντων ομάδων μικροοργανισμών. Μια μικρή ποσότητα τού μυκητοκτόνου στο έδαφος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως πηγή θρεπτικών ουσιών από τα οργανοτροφικά βακτήρια και τα ακτινομυκήτριά, επομένως, η συνιστώμενη δόση azoxystrobin θα μπορούσε να αυξήσει τον αριθμό τους. Ωστόσο, μια δόση μυκητοκτόνου που είναι λίγες ή αρκετές φορές υψηλότερη από τη γεωργική δόση μπορεί να έχει άμεση επίδραση στην επιβίωση των μικροοργανισμών παρεμβαίνοντας στα μεταβολικά μονοπάτια των κυττάρων τους (Baćmaga et al. 2024). Ομοίως, η πειραματική προσέγγιση των Crouzet et al. (2010) έδειξε ότι το ζιζανιοκτόνο mesotrione (\*) και το εμπορικό του σκεύασμα Callisto® επηρέασαν τις μικροβιακές

κοινότητες του εδάφους, αλλά οι επιδράσεις εντοπίστηκαν μόνο σε δόσεις πολύ υψηλότερες από τις συνιστώμενες στον αγρό.

Οι Mahapatra et al. (2017) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η εφαρμογή imidacloprid (\*\*) είχε παροδικές επιπτώσεις στα μικρόβια του εδάφους. Ανέφεραν ότι παρατηρήθηκαν αρνητικές επιδράσεις της εφαρμογής imidacloprid κατά των εδαφικών μικροβίων και των ενζύμων του εδάφους. Με εξαίρεση τη δραστηριότητα της αφυδρογονάσης και της αλκαλικής φωσφατάσης, όλα τα άλλα εδαφικά ένζυμα, δηλαδή η β-γλυκοσιδάση, η δι-οξική υδρολάση της φλουροροσεΐνης, η όξινη φωσφατάση και η ουρεάση, αντέδρασαν αρνητικά στην εφαρμογή του imidacloprid. Η έκταση της αρνητικής επίδρασης του imidacloprid εξαρτάται από τη δόση και τον χρόνο έκθεσης. Η επίδραση μπορεί να είναι μια βραχυπρόθεσμη παροδική αλλαγή στις μικροβιακές παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένης της μικροβιακής βιομάζας του εδάφους. Ωστόσο, σε υψηλότερες δόσεις, το imidacloprid είχε συγκεκριμένη αρνητική επίδραση στις μικροβιακές παραμέτρους του εδάφους.

Οι Myresiotis et al. (2012) διερεύνησαν τις αλληλεπιδράσεις πέντε γ.φ. που εφαρμόζονται στο έδαφος: metribuzin (\*), napropamide (\*) (ζιζανιοκτόνα), propamocarb hydrochloride (\*) (μηκητοκτόνο) και acibenzolar-S-methyl (\*\*) (ενεργοποιητής άμυνας ISR) και thiamethoxam (\*\*) (εντομοκτόνο). Δοκιμάστηκαν σε συνδυασμό με δύο στελέχη *Bacillus subtilis* GB03 και FZB24, τα οποία είχαν τυποποιηθεί ως PGPR (ριζοβακτήρια που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών), *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a, και *Bacillus pumilus* SE34. Αποδείχθηκε ότι σε όλες τις μεταχειρίσεις εδάφους, τα στελέχη PGPR παρουσίασαν ισχυρή ανάπτυξη παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων γ.φ. και δεν παρατηρήθηκε ανασταλτική επίδραση των γ.φ. στους πληθυσμούς των στελεχών PGPR. Η εφαρμογή των PGPR έχει τη δυνατότητα να ενισχύσει σημαντικά την αποικοδόμηση ορισμένων γ.φ. Όλα τα στελέχη PGPR που εξετάστηκαν έδειξαν την ικανότητα να αποικοδομούν το acibenzolar-S-methyl. Σε υγρή καλλιέργεια, τα στελέχη PGPR παρουσίασαν ποικίλους βαθμούς αποικοδόμησης των metribuzin, napropamide, propamocarb hydrochloride και thiamethoxam εντός 72 ωρών. Ωστόσο, σε πειράματα ελεγχόμενων συνθηκών, τα στελέχη PGPR δεν μπόρεσαν να αποικοδομήσουν τα metribuzin και napropamide.

Η έκθεση των γεωργικών εδαφών στο νεονικοτινοειδές εντομοκτόνο thiamethoxam (\*\*) δεν φαίνεται ότι επιφέρει διακριτή επίδραση στη σχετική αφθονία των κυρίαρχων φυλών. Ωστόσο, σε αυξημένες συγκεντρώσεις, παρατηρήθηκε να μειώνει την ποικιλομορφία της βακτηριακής κοινότητας του εδάφους. Όπως έδειξαν οι Zhang et al. (2021), ο δείκτης Shannon και ο πλούτος των λειτουργικών ταξινομικών μονάδων (OTU) των βακτηριακών κοινοτήτων του εδάφους παρουσίασαν ελαφρά μείωση σε χαμηλές και ενδιάμεσες συγκεντρώσεις thiamethoxam. Ωστόσο, η επίπτωση αυτή επιδεινώθηκε στην υψηλότερη συγκέντρωση. Ομοίως, η έκθεση στο νεονικοτινοειδές εντομοκτόνο imidacloprid (\*\*) είχε περιορισμένη και παροδική επίδραση στον πλούτο των βακτηρίων του εδάφους στη συνιστώμενη δόση, αλλά η επίδραση αυτή ενισχύθηκε στη 10πλάσια της συνιστώμενης δόση (Cyccon et al. 2013). Ορισμένα

βακτήρια είναι ικανά να χρησιμοποιούν το νεονικοτινοειδές thiamethoxam (\*\*\*) ως υπόστρωμα, γεγονός που θα μπορούσε να προκαλέσει αύξηση του μεγέθους του πληθυσμού τους στο έδαφος. Κατά συνέπεια, η μείωση της ποικιλότητας της βακτηριακής κοινότητας του εδάφους από την εφαρμογή του thiamethoxam μπορεί να αποδοθεί σε ανταγωνιστική επιλογή και γενετική προσαρμογή σε συνθήκες επιβαρυνμένες με thiamethoxam (Zhang et al. 2021).

Μετά την εφαρμογή τους, τα ζιζανιοκτόνα υφίστανται φυσικούς και βιοχημικούς μετασχηματισμούς για την παραγωγή μιας σειράς δευτερογενών μεταβολιτών που μπορεί να είναι πιο έμμονοι και τοξικοί για τις μικροβιακές κοινότητες μη-στόχους (Meena et al. 2019), όπως φαίνεται από την επίδραση των μεταβολιτών του 2,4-D (\*) στο *Burkholderia cepacia* (Palleroni & Holmes) Yabuuchi, ένα αρνητικό κατά Gram βακτήριο. Η ζιζανιοκτόνος δράση εξαρτάται επίσης από τον τύπο του σκευάσματος που χρησιμοποιείται εκτός από το δραστικό συστατικό, όπως η επιφανειοδραστικές ουσίες και οι διαλύτες. Η προσθήκη της επιφανειοδραστικής ουσίας πολυοξυαιθυλεναμίνης στο ζιζανιοκτόνο glyphosate (\*) το καθιστά πιο τοξικό για το βακτήριο *Vibrio fischeri* (Beijerinck) Lehmann & Neumann από ό,τι το τεχνικό glyphosate αμιγώς (Tsui and Chu 2003).

Τα ζιζανιοκτόνα μπορούν να μειώσουν την ανάπτυξη φυματίων στη ρίζα ψυχανθών, την ξηρή φυτική ύλη, τη δραστηριότητα της νιτρογονάσης και τη σύνθεση τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) από τα συμβιωτικά είδη *Rhizobium* και συνεπώς τη συμβιωτική δέσμευση N<sub>2</sub> (Meena et al. 2019). Τα ζιζανιοκτόνα που ανήκουν στις τριαζίνες terbutryn (\*\*), simazine (\*\*), prometryn (\*\*) και bentazone (\*) μειώνουν τη λειτουργικότητα των ριζοβίων σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από την εγκεκριμένη δόση (Singh and Wright 2002). Αντίθετα, ζιζανιοκτόνα όπως το sethoxydim (\*\*), το alachlor (\*\*), το fluazifop-butyl (\*) και το metolachlor (\*\*) δεν είχαν αρνητική επίδραση στη βιολογική αζωτοδέσμευση στη σόγια σε συνιστώμενες δόσεις στον αγρό. Ωστόσο, τα μη εκλεκτικά ζιζανιοκτόνα paraquat (\*\*) και glyphosate (\*) (dos Santos et al. 2005) ενδέχεται να μειώσουν τη δέσμευση N<sub>2</sub> στη σόγια. Το ζιζανιοκτόνο pendimethalin (\*) μπορεί να επιβραδύνει τη διαδικασία συμβίωσης του ριζοβίου στις καλλιέργειες (Strandberg and Scott-Fordsmand 2004).

Οι επιδράσεις των ζιζανιοκτόνων στις μυκόρριζες εξαρτώνται από την περίπτωση και παράγοντες όπως η σύνθεση των ανόργανων συστατικών του εδάφους, ο τύπος του ξενιστή, η καταλληλότητα των φυτών και η φύση των συμβιωτικών αλληλεπιδράσεων φυτών-μυκήτων με όρους αμοιβαιότητας μπορούν να διαδραματίσουν βασικό ρόλο στον καθορισμό της συνολικής αιτίας και του αποτελέσματος. Το oxyfluorfen (\*) και oxadiazon (\*\*) διεγείρουν σημαντικά τον μυκορριζικόπληθυσμό και μπορούν να αυξήσουν τη διαθεσιμότητα P στο ρύζι (Das et al. 2003). Το glyphosate μειώνει σημαντικά τις μυκόρριζες κατά 40%, τη βιομάζα των σπορίων του μυκορριζικού μύκητα στο έδαφος και τα κυστίδια του στις ρίζες σε συνθήκες θερμοκηπίου (Zaller et al. 2014). Οι Pasaribu et al. (2013) δεν διαπίστωσαν σημαντικές επιδράσεις του glyphosate (\*) στον μυκορριζικό μύκητα *Glomus mosseae* (Nicolson & Gerdemann) Gerdemann & Trappe, η εισροή P μέσω των μυκορριζικών υφών αυξήθηκε σημαντικά με

την εφαρμογή του, ενώ η ευπάθεια τού μύκητα στο alachlor (\*\*\*) ήταν σημαντικά υψηλότερη από ό,τι στο glyphosate.

Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Chakravarty και Chatarpaul (1990), το ζιζανιοκτόνο glyphosate (\*) εφαρμόστηκε σε μελέτη αγρού τόσο στη συνιστώμενη δόση όσο και σε εξαιρετικά υψηλή δόση. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις, το ζιζανιοκτόνο δεν είχε καμία διακριτή επίδραση ή προκάλεσε μόνο μικρή αρχική αναστολή της ανάπτυξης των εκτομυκορριζικών μυκήτων. Ωστόσο, σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, το ζιζανιοκτόνο κατέστειλε σημαντικά την ανάπτυξη των μυκήτων. Παρ' όλα αυτά, στην πλειονότητα των περιπτώσεων όπου παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της ανάπτυξης των μυκήτων, οι δόσεις ζιζανιοκτόνου ήταν σημαντικά υψηλότερες από τις συνιστώμενες δόσεις εφαρμογής. Σε συνθήκες αγρού, πολυάριθμοι παράγοντες, όπως τα σωματίδια και τα κολλοειδή τού εδάφους, μπορούν να μετριάσουν την τοξικότητα των γ.φ. Οι συγγραφείς πρότειναν ότι τα εργαστηριακά αποτελέσματα ενδεχομένως δεν είναι άμεσα συγκρίσιμα με εκείνα που λαμβάνονται στον αγρό (Chakravarty and Chatarpaul 1990). Ομοίως, η αποικοδόμηση τού chlorantraniliprole (\*) από αγρό καλλιεργούμενο με ρύζι βρέθηκε να είναι ταχύτερη από ό,τι σε ελεγχόμενες συνθήκες. Η βελτιωμένη ανάπτυξη των μικροοργανισμών και οι περιβαλλοντικές συνθήκες ήταν οι βασικοί παράγοντες (Sahu et al. 2019).

Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Zhang κ.ά. (2021), αποδείχθηκε ότι σε αργιλώδη εδάφη, η έκθεση σε thiamethoxam (\*\*\*) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της σχετικής αφθονίας των μικροοργανισμών τού γένους *Nitrospira*, ενώ παρατηρήθηκε μείωση της σχετικής αφθονίας των *Actinobacteria*. Ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι η σχετική αφθονία των *Nitrospira* μειώθηκε σε ιλυώδη εδάφη, ενώ παρέμεινε σχετικά σταθερή σε αργιλώδη εδάφη. Επιπλέον, η περιβαλλοντική τύχη και η βιοδιαθεσιμότητα τού thiamethoxam διέφερε μεταξύ των εδαφών λόγω των διαφορετικών εδαφικών παραγόντων τους, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει έμμεσα τη βακτηριακή κοινότητα τού εδάφους. Επιπλέον, οι εδαφικοί παράγοντες τού εδάφους, όπως η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (CEC), άσκησαν επίδραση στις σχετικές μεταβολές της βακτηριακής κοινότητας ως απόκριση στο thiamethoxam. Παρατηρήθηκε χαμηλότερη βιοδιαθεσιμότητα τού thiamethoxam σε αργιλώδες έδαφος, η οποία μπορεί να αποδοθεί στην υψηλότερη ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (CEC). Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη καταπόνηση της βακτηριακής κοινότητας σε σύγκριση με τους υπόλοιπους τύπους εδάφους. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι πρόσθετοι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της οργανικής ουσίας, τού pH και τού ολικού αζώτου, σχετίζονται επίσης με τις παρατηρούμενες αλλαγές στη βακτηριακή κοινότητα και/ή στα πρότυπα συνύπαρξης μετά την έκθεση στο thiamethoxam. Αυτοί οι παράγοντες έχει αποδειχθεί ευρέως ότι επηρεάζουν τη δομή και την ποικιλότητα της βακτηριακής κοινότητας, καθώς και την περιβαλλοντική τύχη των γ.φ. στα εδάφη (Zhang et al. 2021). Η περιεκτικότητα σε άργιλο είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής τού chlorantraniliprole (\*) σε ένα έδαφος με περιεκτικότητα σε άργιλο 52% σε σύγκριση με ένα έδαφος με περιεκτικότητα σε άργιλο

18%. Η υψηλή προσρόφηση στην επιφάνεια της αργίλου έπαιξε κρίσιμο ρόλο στην αποικοδόμηση του chlorantraniliprole (Sahu et al. 2019). Η επιβαρυντική επίδραση των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων chlorpyrifos (\*\*\*) και quinalphos (\*\*\*) στην μικροβιακή ποικιλότητα του εδάφους ήταν πιο έντονη σε πηλοαμμώδες έδαφος από ό,τι σε αμμοπηλώδες έδαφος λόγω της αυξημένης βιοδιαθεσιμότητάς τους στον πρώτο εδαφικό τύπο (Mukherjee 2022).

Η επίδραση των γ.φ. στον μικροβιακό κύκλο του αζώτου διαπιστώθηκε ότι εξαρτάται από τον τύπο του εδάφους. Τα μυκητοκτόνα flutriafol (\*\*\*) και azoxystrobin (\*), το ζιζανιοκτόνο chlorsulfuron (\*\*\*) και το εντομοκτόνο fipronil (\*\*\*) βρέθηκε ότι προκαλούν σημαντική μείωση της εν δυνάμει νιτροποίησης και της δραστηριότητας της β-1,4-N-ακετυλο-γλυκοζαμινιδάσης σε αλκαλικό πηλώδες έδαφος με χαμηλή περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα. Αυτός ο τύπος εδάφους χαρακτηρίζεται από ιδιότητες που συνήθως ευνοούν τη βιοδιαθεσιμότητα των γ.φ. και, ως εκ τούτου, την πιθανή τοξικότητα (Sim et al. 2022). Οι Crouzet et al. (2016) διερεύνησαν επίσης τις λειτουργικές και δομικές αποκρίσεις των μικροβιακών κοινοτήτων του εδάφους που ανακυκλώνουν το N στο ζιζανιοκτόνο mesotrione (\*) και διαπίστωσαν ότι το mesotrione στη συνιστώμενη δόση του (0,45 mg/kg) δεν επηρέασε έντονα τη δυναμική των μορφών του N στο έδαφος, ενώ σε 100× δόση (45 mg/kg) προκάλεσε βραχυπρόθεσμη αναστολή της νιτροποίησης και διαρκή διέγερση της απονιτροποίησης.

Μια διαφορετική οπτική του θέματος παρουσιάστηκε σε μια επισκόπηση της έρευνας σχετικά με τη συσχέτιση μεταξύ του glyphosate (\*) και των ασθενειών των σιτηρών στον Καναδά. Οι Fernandez κ.ά. (2009) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η προηγούμενη χρήση glyphosate σχετίζεται σταθερά με υψηλότερα επίπεδα σήψης των στάχων που προκαλείται από τους παθογόνους μύκητες *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. και *Fusarium graminearum* Schwabe. Ο μύκητας *Cochliobolus sativus* (S.I. & Kurib.) Drechsl. ex Dastur, που προκαλεί σήψη ριζών και προσβολή φυλλώματος, βρέθηκε να έχει αρνητική συσχέτιση με την προηγούμενη χρήση glyphosate. Αντίθετα, ο *F. avenaceum*, ο *F. graminearum* και άλλοι μύκητες παρουσίασαν θετική συσχέτιση, υποδεικνύοντας ότι το glyphosate μπορεί να προκαλέσει μεταβολές στις μυκητολογικές κοινότητες του εδάφους επιδρώντας έμμεσα στα παθογόνα (Fernandez et al. 2009).

Οι Ipsilantis et al. (2012) παρατήρησαν ότι η εφαρμογή πύρεθρου (\*), τερπενίων (\*) και spinosad (\*) δεν επηρέασε σημαντικά την δομή και τη ικανότητα αποικισμού των ριζών της κοινότητας των μυκορριζικών μυκήτων. Ωστόσο, οι μεταχειρίσεις με carbendazim (\*\*\*) ανέστειλαν πλήρως τον αποικισμό της μυκόρριζας.

Στη βιβλιογραφική τους επισκόπηση, οι Roman et al. (2021) εξέτασαν τις επιπτώσεις των τριαζολικών μυκητοκτόνων, που χρησιμοποιούνται συνήθως για την προστασία των καλλιεργειών, στους μικροοργανισμούς του εδάφους. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα tebuconazole (\*), difenoconazole (\*) και tetraconazole (\*) επιφέρουν εν δυνάμει δυσμενείς επιπτώσεις στην μικροβιακή βιομάζα και δραστηριότητα του εδάφους, η οποία με τη σειρά της επηρεάζει τη δομή των

μικροβιακών κοινοτήτων και τη δραστικότητα πολλών ενζύμων τού εδάφους. Επιπλέον, επεσήμαναν ότι το propriconazole (\*\*\*) μειώνει τον συνολικό μικροβιακό πληθυσμό, μεταβάλλει τη διαμόρφωση των μικροβιακών κοινοτήτων και μειώνει τις δραστικότητες της ουρεάσης και της φωσφατάσης. Τα ευρήματα της επισκόπησής τους δείχνουν ότι τα τριαζολικά μυκητοκτόνα, όταν εφαρμόζονται στην συνιστώμενη δόση στον αγρό, δεν αποτελούν κίνδυνο για το περιβάλλον. Η υπερβολική εφαρμογή τριαζολικών μυκητοκτόνων οδηγεί συνήθως σε επιζήμιες επιπτώσεις στους μικροβιακούς πληθυσμούς τού εδάφους και στη δραστικότητα των ενζύμων. Σε δόσεις αγρού, αυτά τα μυκητοκτόνα μπορούν να αποικοδομηθούν από τους μικροοργανισμούς τού εδάφους, οδηγώντας στην ανάκαμψη μικροβιακών πληθυσμών που μπορούν να τα χρησιμοποιήσουν ως πηγή άνθρακα. Υψηλότερες δόσεις μυκητοκτόνων έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν τον συνολικό μικροβιακό πληθυσμό και μεταβάλλουν τη δομική του σύνθεση (Roman et al. 2021). Δεν έχει ακόμη επιτευχθεί συναίνεση σχετικά με τις ελάχιστες δόσεις τριαζολικών μυκητοκτόνων που είναι επιβλαβείς για τα χαρακτηριστικά τού εδάφους, λόγω της επιρροής διαφόρων παραγόντων, όπως ο τύπος του εδάφους, οι περίοδοι αξιολόγησης, η θερμοκρασία επώασης των δειγμάτων για εργαστηριακές συνθήκες, οι πιθανές συνεργιστικές/ανταγωνιστικές επιδράσεις μεταξύ τού μυκητοκτόνου και των βοηθητικών ουσιών και οι μέθοδοι διαχείρισης τού εδάφους, όπως κατέδειξαν οι Roman et al. (2021). Η μελέτη υποδεικνύει την αναγκαιότητα μιας τυποποιημένης μεθοδολογίας για την αξιολόγηση των επιπτώσεων των γ.φ. στην υγεία τού εδάφους, λαμβάνοντας υπόψη παράγοντες όπως ο τύπος τού εδάφους και οι φυσικοχημικές του ιδιότητες, το ιστορικό της καλλιέργειας, το ιστορικό της εφαρμογής γ.φ. και ο εξοπλισμός εφαρμογής. Αυτό θα διευκόλυνε την εξαγωγή οριστικών συμπερασμάτων και θα βελτίωνε την κατανόηση των επιπτώσεων των μυκητοκτόνων στην υγεία τού εδάφους.

Ένα στέλεχος βακτηρίων που απομονώθηκε από ρυπασμένο με γ.φ. αγρό, το οποίο ταυτοποιήθηκε ως *Pseudomonas* sp. RPT52, ήταν ικανό να αποικοδομεί τα imidacloprid (\*\*), endosulfan-α (\*\*), endosulfan-β (\*\*\*) και chlorantraniliprole (\*), τα οποία ανήκουν σε διαφορετικές χημικές ομάδες, όταν παρέχονται ως μοναδική πηγή άνθρακα και ενέργειας (Gupta et al. 2016).

Το ζιζανιοκτόνο oxyfluorfen (\*) και το εντομοκτόνο chlorpyrifos (\*\*\*) που εφαρμόστηκαν σε αρδευόμενα εδάφη είχαν τοξική επίδραση στη δραστικότητα των ενζύμων τού εδάφους (αφυδρογονάση, β-γλυκοσιδάση, φωσφατάση) και στην εδαφική ποικιλομορφία, ιδίως σε δόση διπλάσια από τη συνιστώμενη. Οι ίδιες δραστικές όταν εφαρμόστηκαν σε μη αρδευόμενα εδάφη είχαν μεγαλύτερη ανασταλτική επίδραση στα εδαφικά ένζυμα και τους μικροβιακούς πληθυσμούς, λόγω της τοξικότητας και της ξηρότητας τού εδάφους (Franco-Andreu et al. 2016). Η δραστικότητα της β-γλυκοσιδάσης βρέθηκε να μειώνεται στη μεταχείριση με την υψηλή δόση (5,0 mg/kg) τού ζιζανιοκτόνου mesotrione (\*), γεγονός που υποδεικνύει ότι το mesotrione σε υψηλότερες συγκεντρώσεις μπορεί να μειώσει τη διαδικασία αποικοδόμησης της κυτταρίνης στο έδαφος. Αυτό μπορεί επίσης να μειώσει τη

διαθεσιμότητα γλυκόζης και να συμβάλει στη μείωση της αφθονίας των μικροβίων του εδάφους (Crouzet et al. 2010).

Η βιοαποικοδόμηση τού νεονικοτινοειδούς εντομοκτόνου clothianidin (\*\*\*) από βακτηριακές ομάδες που αποτελούνται από *Ochrobactrum anthropi* (SCA-1), *Enterobacter asburiae* (SCA-2), *Acinetobacter johnsonii* (SCA-3), *Pseudomonas* sp. (SCA-13) και *Stenotrophomonas maltophilia* (SCA-16) διερευνήθηκε από τους Wang et al. (2019). Αποδείχθηκε ότι η βιοαποικοδόμηση τού clothianidin από τη βακτηριακή σύμπραξη ήταν πιο αποτελεσματική από εκείνη των αμιγών καλλιιεργειών τους.

Οι Du et al. (2018) διερεύνησαν τις μακροπρόθεσμες επιπτώσεις της έκθεσης στο ζιζανιοκτόνο clomazone (\*) στις μικροβιακές κοινότητες τού εδάφους και στις λειτουργίες τους ως προς τον κύκλο τού αζώτου (N). Το clomazone εφαρμόστηκε σε δύο τυπικά εδάφη από την Κίνα (ιλυοπηλώδες και ιλυοαργιλώδες) σε τρεις συγκεντρώσεις (συνιστώμενη δόση, 10x και 100x) και το μείγμα επώαστηκε για 90 ημέρες. Η συνιστώμενη δόση clomazone δεν είχε σχεδόν καμία επίδραση στις βακτηριακές κοινότητες τού εδάφους και στην ανακύκλωση τού N, ενώ η 100πλάσια της συνιστώμενης δόση τού clomazone επηρέασε τις βακτηριακές κοινότητες τού εδάφους και την ανακύκλωση τού N, με τα *Sphingomonas* και *Arthrobacter* να είναι τα κυρίαρχα βακτηριακά είδη υπό την επίδραση τού clomazone. Διαπίστωσαν επίσης ότι παρατηρήθηκε αυξημένη θετική επίδραση στην αφθονία των μυκήτων την ημέρα 60 και 90 ανεξαρτήτως τού τύπου εδάφους. Η σταδιακή προσαρμογή των μυκήτων στην καταπόνηση με clomazone μπορεί να είναι ο πιθανότερος λόγος.

Έχει επισημανθεί ότι η εφαρμογή χημικών γ.φ. έχει ως αποτέλεσμα την κυριαρχία περιορισμένου αριθμού λειτουργικών ομάδων στο έδαφος, η οποία με τη σειρά της επηρεάζει τη συνολική δομή της κοινότητας και το φάσμα των βιολογικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα στο έδαφος. Ακόμα και αν δεν καταγράφονται διακριτές επιδράσεις των γ.φ. στη μικροβιακή βιομάζα τού εδάφους ή στη λειτουργική μικροβιακή ποικιλότητα, οι συνολικές λειτουργικές δομές των βακτηρίων τού εδάφους αναμφισβήτητα μεταβάλλονται (Prashar and Shah 2016). Οι αλλαγές που προκαλούνται από τα γ.φ. στη λειτουργία της νιτροποίησης συμβαίνουν ταυτόχρονα (για τα αρχαία που οξειδώνουν το αμμώνιο - AOA) ή νωρίτερα (για τα βακτήρια που οξειδώνουν το αμμώνιο - AOB) από τις διαρθρωτικές αλλαγές στην κοινότητα, αλλά οι τελευταίες διαρκούν περισσότερο. Οι Puglisi et al. (2012) έδειξαν σε ελεγχόμενες συνθήκες και προτεινόμενες δόσεις εφαρμογής μυκητοκτόνων, ότι οι δομικές αλλαγές που προκαλούνται από το μυκητοκτόνο penconazole (\*) παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά την 21η ημέρα και παρέμειναν μέχρι τις 100 ημέρες, ενώ η αναστολή τής εν δυνάμει νιτροποίησης στην ίδια μεταχείριση περιορίστηκε στις πρώτες 21 ημέρες. Για το cyprodinil (\*), οι δομικές αλλαγές στην κοινότητα AOB που παρατηρήθηκαν από την 56η ημέρα και μετά δεν ήταν συναφείς με την άμεση αναστολή τής εν δυνάμει νιτροποίησης που παρατηρήθηκε αμέσως μετά την εφαρμογή τού μυκητοκτόνου. Όσον αφορά στα AOA, το penconazole και το cyprodinil προκάλεσαν αλλαγές στην

κοινότητά τους οι οποίες εμφανίστηκαν στην ημέρα 0 και διήρκεσαν έως και 56 ημέρες, σε αντίθεση με την προσωρινή αναστολή (που διήρκεσε μόνο 7 ημέρες μετά την εφαρμογή) της εν δυνάμει νιτροποίησης που προκάλεσαν τα δύο μυκητοκτόνα (Puglisi et al. 2012). Ομοίως, οι Crouzet et al. (2013) διαπίστωσαν ότι το ζιζανιοκτόνο mesotrione (\*) με εφαρμογή του σε συγκέντρωση 100x της συνιστώμενης δόσης προκάλεσε καθυστερημένες δομικές αλλαγές στην κοινότητα AOB (42 ημέρες) σε σύγκριση με μια προσωρινή αναστολή της εν δυνάμει νιτροποίησης που διήρκεσε μόνον 6 ημέρες. Για να εξηγήσουν την χρονική υστέρηση μεταξύ της αναστολής της νιτροποίησης και των δομικών αλλαγών στη μικροβιακή κοινότητα, οι Puglisi et al. (2012) πρότειναν ότι τα επίπεδα υπολειμμάτων των δύο μυκητοκτόνων (penconazole και cyprodinil) εξακολουθούν να είναι ικανά, μετά την παρέλευση ικανού χρόνου, να προκαλέσουν διαρθρωτικές αλλαγές σε επίπεδο κοινότητας, αλλά όχι επαρκή για να αναστείλουν τις μικροβιακές λειτουργίες (νιτροποίηση). Κατέληξαν επίσης στο συμπέρασμα ότι η πλεονάζουσα μικροβιακή ικανότητα (microbial redundancy) να διατηρεί τις κρίσιμες λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της νιτροποίησης, εξακολουθεί να υπάρχει σε διαταραγμένα περιβάλλοντα.

Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα περιλαμβάνουν έναν συνδυασμό εκδόχων συστατικών, εκτός από την δ.ο., τα οποία διευκολύνουν συλλογικά τη μεταφορά της μέγιστης επιτρεπόμενης ποσότητας γ.φ. στον επιδιωκόμενο στόχο. Η ταυτότητα αυτών των συστατικών είναι σπανίως γνωστή, αλλά φαίνεται ότι συμβάλλουν στην τοξικότητα των γ.φ. στους μικροοργανισμούς του εδάφους, είτε μερικώς είτε σε μεγάλο βαθμό. Σε μια συγκριτική μελέτη, οι Crouzet et al. (2013) απέδειξαν ότι το εμπορικό σκεύασμα του ζιζανιοκτόνου mesotrione (\*), όταν εφαρμόστηκε σε συγκέντρωση 10 ή 100 φορές μεγαλύτερη από την συνιστώμενη δόση, προκάλεσε εντονότερες επιδράσεις στις μικροβιακές κοινότητες φωτοσυνθετικών μικροβίων του εδάφους, ιδίως στα κυανοβακτήρια, σε σύγκριση με την τεχνική δ.ο. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε καμία διακριτή επίδραση σε εδάφη που υποβλήθηκαν σε μεταχείριση με τη συνιστώμενη δόση εφαρμογής, ανεξάρτητα από τη μορφοποίηση της δραστικής ή του σκευάσματος ζιζανιοκτόνου.

### **Επιπτώσεις ασφαλέστερων εναλλακτικών λύσεων, βιολογικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων**

Η αυξανόμενη ανησυχία τού κοινού για τις επιπτώσεις των συνθετικών γ.φ. στην ποιότητα τού περιβάλλοντος και την υγεία τού εδάφους έχει οδηγήσει σε στροφή της προσοχής προς τα βιο-φυτοπροστατευτικά, τα οποία έχουν κερδίσει έδαφος στην αγορά γ.φ. Τα βιο-φυτοπροστατευτικά είναι μια διαφορετική ομάδα γ.φ. που προέρχονται από βιολογικές πηγές. Μπορούν να ταξινομηθούν σε γενικές γραμμές σε δύο κύριες κατηγορίες: (α) μικροβιακά, τα οποία χρησιμοποιούν μικροοργανισμούς για την προστασία των καλλιεργειών από προσβολές από μύκητες, βακτήρια και έντομα και (β) φυσικά προϊόντα, τα οποία περιλαμβάνουν βιοχημικά και βοτανικά που είναι βιογενείς ενώσεις, προϊόντα τού δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών και των μικροοργανισμών με ισχυρή βιοκτόνο δράση. Δεδομένης της βιολογικής τους προέλευσης, τα βιο-φυτοπροστατευτικά θεωρούνται συνήθως ότι

ενέχουν ελάχιστο κίνδυνο. Ωστόσο, η υπόθεση αυτή μένει να επικυρωθεί εμπειρικά από μια σειρά εξειδικευμένων μελετών (Kargouzas 2021). Σύμφωνα με το πλαίσιο έγκρισης στην Ε.Ε., τα βιοφυτοπροστατευτικά προϊόντα θεωρούνται εν δυνάμει ως ενώσεις χαμηλού κινδύνου (Ευρωπαϊκή Επιτροπή 2018).

Τα βιολογικά γ.φ. είναι φυσικές ουσίες που θεωρείται ότι ελέγχουν τα παθογόνα και τους εχθρούς χωρίς να βλάπτουν τους οργανισμούς-μη στόχους (Singh et al. 2020). Τα βιολογικά γ.φ. περιλαμβάνουν ζωντανούς οργανισμούς, όπως βακτήρια, μύκητες, ιούς, ή τα προϊόντα τους (μικροβιακά προϊόντα, φυτοχημικά) και ζωντανούς οργανισμούς που είναι γνωστοί ως βιολογικοί παράγοντες ελέγχου. Πολλές μελέτες έχουν αναφέρει τις επιπτώσεις της χρήσης βιολογικών παραγόντων στο μικροβίωμα του εδάφους. Οι Johansen et al. (2005) μελέτησαν τις επιδράσεις των *Pseudomonas fluorescens* DR54 και *Clonostachys rosea* IK726 στη μικροχλωρίδα του αδιατάρακτου εδάφους και της ριζόσφαιρας του κριθαριού και των ζαχαρότευτλων σε πείραμα θερμοκηπίου. Το DR54 εκτόπισε τα αυτόχθονα είδη *Pseudomonas*, ενώ το IK726 είχε μια γενική ευνοϊκή επίδραση στη δραστηριότητα των μικροβιακών ενζύμων του εδάφους και στην μικροχλωρίδα του εδάφους. Παρατήρησαν διαταραχές στη δομή της κοινότητας της ριζόσφαιρας υπό μεταχείριση και στο τέλος του πειράματος (193 ημέρες) παρατηρήθηκε μείωση του μικροβιακού πληθυσμού της ριζόσφαιρας. Οι παράγοντες βιοελέγχου είναι αποτελεσματικοί στον έλεγχο των ασθενειών των φυτών, αλλά μπορεί επίσης να αποτελέσουν απειλή για οργανισμούς που δεν αποτελούν στόχο, συμπεριλαμβανομένων των σαπροφυτικών μυκήτων, των μυκορριζικών μυκήτων, των βακτηρίων του εδάφους κ.λπ. (Singh et al. 2020).

Οι Ipsilantis et al. (2012) κατέδειξαν τα αποτελέσματα από την εφαρμογή των φυτικής προέλευσης (και επιτρεπόμενων στη βιολογική γεωργία) εντομοκτόνων azadirachtin (\*), spinosad (\*), pyrethrum (\*) και τερπενίων (\*) και του συνθετικού μυκητοκτόνου carbendazim (\*\*) σε μυκορριζικούς (AM) μύκητες σε φυτοδοχεία και πειράματα αγρού. Η ανάλυση έδειξε ότι τα spinosad, pyrethrum και τερπένια δεν είχαν καμία επίδραση στη δομή της κοινότητας των μυκορριζικών AM. Από την άλλη πλευρά, το azadirachtin ανέστειλε επιλεκτικά τον μυκορριζικό μύκητα *Glomus etunicatum* W.N. Becker & Gerd. σε εργαστηριακά πειράματα και παρουσίασε σημαντική αύξηση και έμμονη μεταβολή στον αποικισμό των μυκήτων AM σε συνθήκες αγρού. Το μυκητοκτόνο carbendazim αύξησε τον αποικισμό των AM στο εργαστήριο, ενώ είχε παροδική επίδραση στη δομή της κοινότητας στον αγρό.

Οι Pedrinho κ.ά. (2024) επιβεβαίωσαν την υπόθεση ότι η επίσημη δοκιμή N-μετασχηματισμού του ΟΟΣΑ 216 (OECD 216) αποτυγχάνει να ανιχνεύσει τις δυσμενείς επιπτώσεις στον εδαφικό μικροβιόκοσμο και ζήτησαν την ανάγκη αναθεώρησης του υφιστάμενου κανονιστικού πλαισίου για την αξιολόγηση της τοξικότητας των γ.φ. στο εδαφικό μικροβίωμα. Το spinosad (\*) δεν άσκησε σταθερή και μακροχρόνια ανασταλτική επίδραση στον μετασχηματισμό του N σε κανένα από τα εδάφη που εξετάστηκαν με τη δοκιμή OECD 216. Όταν χρησιμοποιήθηκαν μετρήσεις q-PCR, ωστόσο, κατέδειξαν την ανασταλτική επίδραση του spinosad στην αφθονία των βακτηρίων και των μυκήτων, ακόμη και

στην συνιστώμενη αγρονομική δόση. Οι συγγραφείς επιχειρηματολόγησαν υπέρ της συμπερίληψης νέων, προηγμένων και καλά τυποποιημένων εργαλείων που είναι διαθέσιμα στην μικροβιολογία τού εδάφους τις τελευταίες δύο δεκαετίες. Τα εργαλεία αυτά θα μπορούσαν να επιτρέψουν μια αξιόπιστη αξιολόγηση της τοξικότητας των γ.φ. στους μικροοργανισμούς τού εδάφους, η οποία θα διευκολυνόταν περαιτέρω από τον καθορισμό σχετικών ρυθμιστικών ορίων για αυτά τα νέα μικροβιακά προϊόντα.

Η δ.ο. azadirachtin (\*) (εντομοκτόνο) είναι το πιο μελετημένο φυσικό προϊόν όσον αφορά την πιθανότητα τοξικότητας εκτός στόχου στους μικροοργανισμούς τού εδάφους. Τα διαθέσιμα στοιχεία δεν υποστηρίζουν τον ισχυρισμό ότι μπορεί να θεωρηθεί ένωση χαμηλού κινδύνου (Kargouzas 2021). Μελέτες εδάφους έδειξαν ότι το azadirachtin, ακόμη και στην συνιστώμενη δόση, ανέστειλε σταθερά την αφθονία και τη μεταγραφική δραστηριότητα των μικροοργανισμών που οξειδώνουν αμμώνιο, των βακτηρίων που δεσμεύουν N και των βακτηρίων της απονιτροποίησης (Gopal et al. 2007, Singh et al. 2015α). Οι παρατηρούμενες επιδράσεις ήταν συγκρίσιμες ή ακόμη και πιο έντονες από εκείνες που προκαλούνται από άλλα συνθετικά γ.φ.: chlorpyrifos (\*\*), cypermethrin (\*). Επιπλέον, επηρέασε αρνητικά την ποικιλότητα των βακτηρίων, των μυκήτων και των μυκορριζών (Ipsilantis et al. 2012, Singh et al. 2015β). Σε συγκεντρώσεις δύο και πέντε φορές της συνιστώμενης δόσης το azadirachtin επέδειξε σημαντικά αυξημένες βιοκτόνες επιδράσεις στους μικροοργανισμούς τού εδάφους και τις δραστηριότητές τους. Ωστόσο, η ανάλυση των δεδομένων με τη χρήση τού δείκτη Shannon-Wiener αποκάλυψε ότι το azadirachtin μείωσε τόσο τη μορφή όσο και τη λειτουργική μικροβιακή ποικιλότητα σε όλες τις δόσεις (Gopal et al. 2007).

Οι μελέτες αυτές αξιολόγησαν την επίδραση τού azadirachtin στους μικροοργανισμούς τού εδάφους, χρησιμοποιώντας μη εμπορικά παρασκευάσματα (π.χ. εμποτισμένους κόκκους αργίλου ή υπόστρωμα neem) (Gopal et al. 2007), ή επικεντρώθηκαν σε συγκεκριμένες εδαφικές θέσεις, όπως η ριζόσφαιρα (Singh et al. 2015α, 2015β), η οποία αποτελεί ένα ιδιαίτερα ανταγωνιστικό περιβάλλον για τους μικροοργανισμούς που τους καθιστά περισσότερο ευάλωτους σε γ.φ. (Suciu et al. 2019). Ωστόσο, οι Suciu κ.ά. (2019) εξέτασαν την επίδραση τού azadirachtin και τού trifloxistrobilin (\*), ενός νεότερου, χαμηλής δόσης και χαμηλής εμμονής στο έδαφος μυκητοκτόνου, σε βασικές μικροβιακές διεργασίες τού εδάφους, χρησιμοποιώντας εμπορικά σκευάσματα σε πειράματα αδιατάρακτου εδάφους, όπου οι μικροοργανισμοί εκτίθενται σταθερά στα γ.φ. σε απουσία ριζών φυτών. Η εφαρμογή trifloxystrobin και azadirachtin σε δόσεις  $\times 100$  της συνιστώμενης δεν προκάλεσε σημαντικές αρνητικές επιδράσεις στην δραστηριότητα μιας σειράς μικροβιακών ενζύμων με καθοριστικό ρόλο στους κύκλους άνθρακα, αζώτου, θείου και φωσφόρου. Δεν παρατηρήθηκαν δόσοεξαρτώμενες ανασταλτικές επιδράσεις στην αφθονία των βακτηρίων και αρχαίων που οξειδώνουν την αμμωνία, των βακτηρίων που οξειδώνουν το θείο ή τής εν δυνάμει νιτροποίησης (potential nitrification). Ωστόσο, οι ερευνητές εντόπισαν μια διεγερτική επίδραση και των δύο γ.φ. στην εν δυνάμει νιτροποίηση, η οποία θα μπορούσε ενδεχομένως να οδηγήσει

σε αυξημένα επίπεδα NO<sub>3</sub>-N στα εδάφη. Αυτό ενδέχεται να οδηγήσει είτε σε έκπλυση στα υπόγεια ύδατα, είτε σε απονιτροποίηση, αλλά απαιτείται περαιτέρω έρευνα.

Επιπλέον, υπάρχει αξιοσημείωτη έλλειψη μελετών που διερευνούν τη χρήση μικροβιακών γ.φ. Οι πιθανές επιπτώσεις της τοξικότητας των βιολογικών παραγόντων ελέγχου στην μικροβιακή κοινότητα του εδάφους εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τον τρόπο δράσης τού εν λόγω μικροβιακού γ.φ. Ως εκ τούτου, τα μικροβιακά γ.φ. που βασίζονται σε μικροοργανισμούς που δεν δρουν μέσω της παραγωγής βιοκτόνων ενώσεων δεν αναμένεται γενικά να επηρεάσουν τους μικροοργανισμούς τού εδάφους. Στην μελέτη των Rousidou et al. (2013) μελετήθηκε η επίδραση τού νηματοπαρασιτικού μύκητα *Paecilomyces lilacinus* (\*) στέλεχος PL251, τού εκχυλίσματος τού φυτού *Quillajia saponaria* Molina (Fabales, Quillajaceae) (\*\*) με νηματοκτόνες ιδιότητες, καθώς και τού συνθετικού νηματοκτόνου oxamyl (\*\*), στις συνιστώμενες δόσεις τους. Η εφαρμογή τού *P. lilacinus* PL251 διαπιστώθηκε ότι ασκεί παροδική ανασταλτική επίδραση στην αφθονία, την ποικιλότητα και τη λειτουργική ικανότητα των βακτηρίων και αρχαίων που οξειδώνουν αμμωνία. Οι παρατηρούμενες επιδράσεις αποδόθηκαν στην έμμεση επίδραση των βοηθητικών συστατικών τού εμπορικού σκευάσματος BIOACT® (γλυκόζη και σκόνη αποβουτυρωμένου γάλακτος) και όχι στην ίδια την απομόνωση τού μύκητα. Τα εν λόγω έκδοχα αποδείχθηκε ότι προκαλούν ανταγωνιστικό αποκλεισμό των μικροοργανισμών που οξειδώνουν αμμωνία από κοπιότροφα βακτήρια και μύκητες που είναι ικανά για ταχεία ανάπτυξη ως απόκριση στα έκδοχα συστατικά τού σκευάσματος τού γ.φ. Δεν διαπιστώθηκε άμεση ανασταλτική δράση στους μικροοργανισμούς που οξειδώνουν αμμωνία από το εκχύλισμα *Q. saponaria* και το oxamyl (Rousidou et al. 2013). Αντίθετα, οι Yu et al. (2015) απέδειξαν ότι ένα διαφορετικό στέλεχος τού *P. lilacinus*, το PL1210, είχε ισχυρή ανασταλτική επίδραση στη νιτροποίηση και την αφθονία των μικροοργανισμών που οξειδώνουν αμμωνία. Οι επιδράσεις αυτές αποδόθηκαν σε αντιμικροβιακούς μεταβολίτες που παρήγαγε το εξεταζόμενο στέλεχος. Άλλες σχετικές μελέτες έδειξαν ότι τα μικροβιακά γ.φ. που βασίζονται σε μικροοργανισμούς που δρουν μέσω παρασιτισμού ή ανταγωνισμού [π.χ. *Metarhizium brunneum* (\*\*), *Fusarium oxysporum* f.sp. *stringae* (\*\*) και *Bacillus amyloliquefaciens* (\*)] δεν φαίνεται να προκαλούν έντονες και διαρκείς επιδράσεις στη μικροβιακή κοινότητα τού εδάφους (Karpouzas 2021).

Έχει εκφραστεί η ανησυχία, ότι η ενδεχόμενη διαταραχή των μικροβιακών συστημάτων επικοινωνίας από τους βιολογικούς παράγοντες ελέγχου μπορεί να προκαλέσει μολυσματική ικανότητα σε αυτόχθονα μικροβιακά είδη. Το φαινόμενο αυτό έχει αποδειχθεί στην περίπτωση τού παθογόνου βακτηρίου της καρκίνωσης της ελιάς *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και τού μη παθογόνου ενδοφύτου *Erwinia toletana* sp. nov. (Rojas et al. 2004). Στην περίπτωση αυτή, τα δύο βακτηριακά είδη σχηματίζουν μια σταθερή κοινότητα εντός των υπερπλασιών στην ελιά, μοιράζονται σήματα quorum-sensing και συνεργάζονται, με αποτέλεσμα μια πιο επιθετική ασθένεια (Caballo-Ponce et al. 2018).

## Η επίδραση των γεωργικών φαρμάκων στην ανάπτυξη πολυανθεκτικών μικροοργανισμών σε κλινικά φάρμακα

Η επικράτηση της πολυανθεκτικότητας μεταξύ των βακτηρίων τού εδάφους είναι ένα καλά τεκμηριωμένο φαινόμενο. Η διαδικασία φυσικής επιλογής στο εδαφικό οικοσύστημα επιτρέπει στους μικροοργανισμούς να προσαρμόζονται στα γ.φ. που εφαρμόζονται στο έδαφος. Κατά συνέπεια, η παρουσία υπολειμμάτων γ.φ. ευνοεί πληθυσμούς που είναι σε θέση να αναπτυχθούν παρουσία τόσο γ.φ. όσο και αντιβιοτικών. Η παρατεταμένη εφαρμογή γ.φ./αντιβιοτικών σε μη βέλτιστες συγκεντρώσεις έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί την προσαρμογή των μικροοργανισμών και ενδεχομένως την ανάπτυξη πραγματικής ανθεκτικότητας. Υπάρχουν δεδομένα στη βιβλιογραφία που υποστηρίζουν ότι τα γ.φ. επιφέρουν τροποποιήσεις σε ένζυμα που συνδέονται με την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά. Είναι παραδεκτό ότι η ανθεκτικότητα στα κλινικά φάρμακα μπορεί να προκύψει από την υπερπαραγωγή ενός ενζύμου που διασπά τα γ.φ. Τα υπολείμματα γ.φ. μπορούν να προκαλέσουν διασταυρούμενη ανοχή, οδηγώντας στην εμφάνιση πολλαπλής ανθεκτικότητας στα κλινικά φάρμακα μεταξύ των εδαφικών κοινοτήτων (Curutiu et al. 2017, Kirubakaran et al. 2019).

Οι Kurenbach et al. (2015) διερεύνησαν την έκθεση των *E. coli* και *Salmonella enterica* serovar Typhimurium σε εμπορικά ζιζανιοκτόνα σκευάσματα. Το *S.e. sv. Typhimurium* που εκτέθηκε σε dicamba (\*) και 2,4-D (\*) παρουσίασε αυξημένη ανοχή στην αμπικιλίνη, τη χλωραμφενικόλη, τη σιπροφλοξασίνη και την τετρακυκλίνη, αλλά μεγαλύτερη ευαισθησία στην καναμυκίνη. Το glyphosate (\*) αύξησε την ανοχή στην καναμυκίνη και την σιπροφλοξασίνη. Το dicamba και το 2,4-D είχαν παρόμοιες επιδράσεις στο *E. coli*, χωρίς όμως αύξηση της ανοχής στην αμπικιλίνη. Μετά την έκθεση στο glyphosate, αυξήθηκε η ανοχή τού *E. coli* στην καναμυκίνη και την σιπροφλοξασίνη. Η μεγαλύτερη επίδραση παρατηρήθηκε σε περιπτώσεις ταυτόχρονης έκθεσης σε αντιβιοτικά και ζιζανιοκτόνα.

Η μελέτη των Faria-Ramos et al. (2014) είχε ως στόχο να διαπιστώσει εάν το prochloraz (\*\*), ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο τριαζολικό μυκητοκτόνο (το οποίο ωστόσο πλέον δεν είναι εγκεκριμένο στην Ε.Ε.), θα μπορούσε να προκαλέσει διασταυρούμενη ανθεκτικότητα στον *Aspergillus fumigatus* Fresen (Eurotiales). Οι κλινικές τριαζόλες επηρεάζουν τον *A. fumigatus*, ο οποίος συνδέεται με αλλεργικά σύνδρομα, μη διεισδυτικές λοιμώξεις και διεισδυτική ασπεργίλλωση, μια σοβαρή κατάσταση στον άνθρωπο. Το βακτήριο επιβιώνει στο έδαφος και στα φυτά. Η μελέτη έδειξε ότι η έκθεση στο prochloraz οδήγησε σε φαινοτυπικές αλλοιώσεις και διασταυρούμενη ανοχή. Μετά από μια αρχική έκθεση, η MIC (minimum inhibitory concentration) τού prochloraz παρατηρήθηκε ότι αυξήθηκε κατά 256 φορές. Επιπλέον, παρατηρήθηκε διασταυρούμενη ανθεκτικότητα σε όλες τις κλινικές τριαζόλες που εξετάστηκαν (posaconazole, itraconazole και voriconazole).

## Συμπερασματικά σχόλια

Η χρήση γεωργικών φαρμάκων έχει αποδειχθεί ότι έχει αρνητικές επιπτώσεις στα εδαφικά μικρόβια και ένζυμα, με βραχυπρόθεσμες παροδικές αλλαγές στις μικροβιακές παραμέτρους. Ωστόσο, σε υψηλότερες δόσεις, οι χημικές αυτές ουσίες επιφέρουν συγκεκριμένες αρνητικές επιδράσεις στις εδαφικές μικροβιακές κοινότητες, καθώς οδηγούν σε υψηλή συσσώρευση και παρατεταμένη παραμονή στο έδαφος, προκαλώντας δυσμενείς επιπτώσεις στο εδαφικό περιβάλλον. Οι διαδικασίες και οι μηχανισμοί που εμπλέκονται σε αυτές τις επιδράσεις είναι ακόμη ελάχιστα κατανοητοί. Μελέτες δείχνουν ότι η απόκριση και η ανάκαμψη των βακτηρίων στην έκθεση σε γεωργικά φάρμακα είναι ταχεία και εξαρτάται από τη δόση τού γεωργικού φαρμάκου και τη συχνότητα έκθεσης. Ωστόσο, η απόδειξη της εξάρτησης από τη δόση είναι πιο πολύπλοκη και συχνά εξαρτάται από τις πειραματικές μεθόδους, τα χαρακτηριστικά των ενώσεων και τις ιδιότητες τού εδάφους.

Η ενζυμική απόκριση των βακτηρίων τού εδάφους στα γεωργικά φάρμακα επηρεάζεται επίσης από τις φυσικοχημικές ιδιότητες τού εδάφους και τις γεωργικές πρακτικές, οι οποίες επιδρούν έντονα στη διαθεσιμότητα των δραστικών ουσιών που δρουν στους μικροοργανισμούς τού εδάφους. Το βιοδιαθέσιμο κλάσμα των δραστικών ουσιών ελέγχεται από τις ιδιότητες τού εδάφους, ιδίως την περιεκτικότητα σε οργανική ουσία, και τις φυσικοχημικές ιδιότητες τού ίδιου τού δραστικού μορίου.

Η έρευνα δείχνει ότι το υφιστάμενο κανονιστικό πλαίσιο για την αξιολόγηση της τοξικότητας των γεωργικών φαρμάκων στους μικροοργανισμούς τού εδάφους πρέπει να αναθεωρηθεί ώστε να συμπεριλάβει νέα, προηγμένα και καλά τυποποιημένα εργαλεία. Η ανάπτυξη της επόμενης γενιάς φυτοπροστατευτικών προϊόντων πρέπει να θέσει ως προτεραιότητα τη διερεύνηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ αγροχημικών και εδαφικού μικροβιώματος. Αυτό θα απαιτήσει την εφαρμογή καλά σχεδιασμένων μελετών που θα αξιολογούν τις μακροπρόθεσμες επιδράσεις αυτών των προϊόντων σε γεωργικά περιβάλλοντα. Η κατανόηση της οικολογίας των διαταραχών απαιτεί την εξέταση των πρόσκαιρων και συγκυριακών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των επιπτώσεων των αγροχημικών.

# Βιβλιογραφία

---

- Agrios, G.N., 2005. Plant pathology, 5th ed. ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston.
- Aleklett, K., Hart, M., Shade, A., 2014. The microbial ecology of flowers: an emerging frontier in phyllosphere research. *Botany* 92, 253–266. <https://doi.org/10.1139/cjb-2013-0166>
- Ali, N., Pang, Z., Wang, F., Xu, B., El-Seedi, H.R., 2022. Lipopeptide Biosurfactants from *Bacillus* spp.: Types, Production, Biological Activities, and Applications in Food. *Journal of Food Quality* 2022, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2022/3930112>
- Aliche, E.B., Screpanti, C., De Mesmaeker, A., Munnik, T., Bouwmeester, H.J., 2020. Science and application of strigolactones. *New Phytologist* 227, 1001–1011. <https://doi.org/10.1111/nph.16489>
- Allard, S., Enurah, A., Strain, E., Millner, P., Rideout, S.L., Brown, E.W., Zheng, J., 2014. *In Situ* Evaluation of *Paenibacillus alvei* in Reducing Carriage of *Salmonella enterica* Serovar Newport on Whole Tomato Plants. *Appl Environ Microbiol* 80, 3842–3849. <https://doi.org/10.1128/AEM.00835-14>
- Ambrose, K.V., Belanger, F.C., 2012. SOLiD-SAGE of Endophyte-Infected Red Fescue Reveals Numerous Effects on Host Transcriptome and an Abundance of Highly Expressed Fungal Secreted Proteins. *PLoS ONE* 7, e53214. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053214>
- Arachevaleta, M., Bacon, C.W., Hoveland, C.S., Radcliffe, D.E., 1989. Effect of the Tall Fescue Endophyte on Plant Response to Environmental Stress. *Agronomy Journal* 81, 83–90. <https://doi.org/10.2134/agronj1989.00021962008100010015x>
- Arnault, G., Mony, C., Vandenkoornhuysse, P., 2023. Plant microbiota dysbiosis and the Anna Karenina Principle. *Trends in Plant Science* 28, 18–30. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.08.012>
- Bacetty, A.A., Snook, M.E., Glenn, A.E., Noe, J.P., Hill, N., Culbreath, A., Timper, P., Nagabhyru, P., Bacon, C.W., 2009α. Toxicity of Endophyte-Infected Tall Fescue Alkaloids and Grass Metabolites on *Pratylenchus scribneri*. *Phytopathology* 99, 1336–1345. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-12-1336>
- Bacetty, A.A., Snook, M.E., Glenn, A.E., Noe, J.P., Nagabhyru, P., Bacon, C.W., 2009β. Chemotaxis Disruption in *Pratylenchus Scribneri* by Tall Fescue Root Extracts and Alkaloids. *J Chem Ecol* 35, 844–850. <https://doi.org/10.1007/s10886-009-9657-x>
- Baámaga, M., Wyszowska, J., Kucharski, J., 2024. Response of Soil Microbiota, Enzymes, and Plants to the Fungicide Azoxystrobin. *IJMS* 25, 8104. <https://doi.org/10.3390/ijms25158104>
- Bacon, C.W., Hinton, D.M., Mitchell, T.R., Snook, M.E., Olubajo, B., 2012. Characterization of endophytic strains of *Bacillus mojavensis* and their production of surfactin isomers. *Biological Control* 62, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.03.006>
- Bacon, C.W., Porter, J.K., Robbins, J.D., Luttrell, E.S., 1977. Epichloë typhina from toxic tall fescue grasses. *Appl Environ Microbiol* 34, 576–581. <https://doi.org/10.1128/aem.34.5.576-581.1977>
- Bacon, C.W., White, J.F., 2016. Functions, mechanisms and regulation of endophytic and epiphytic microbial communities of plants. *Symbiosis* 68, 87–98. <https://doi.org/10.1007/s13199-015-0350-2>

- Badri, D.V., Chaparro, J.M., Zhang, R., Shen, Q., Vivanco, J.M., 2013. Application of Natural Blends of Phytochemicals Derived from the Root Exudates of Arabidopsis to the Soil Reveal That Phenolic-related Compounds Predominantly Modulate the Soil Microbiome. *Journal of Biological Chemistry* 288, 4502–4512. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.433300>
- Badri, D.V., Vivanco, J.M., 2009. Regulation and function of root exudates. *Plant Cell & Environment* 32, 666–681. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01926.x>
- Badri, D.V., Vivanco, J.M., 2009. Regulation and function of root exudates. *Plant Cell & Environment* 32, 666–681. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01926.x>
- Bai, Y., Müller, D.B., Srinivas, G., Garrido-Oter, R., Potthoff, E., Rott, M., Dombrowski, N., Münch, P.C., Spaepen, S., Remus-Emsermann, M., Hüttel, B., McHardy, A.C., Vorholt, J.A., Schulze-Lefert, P., 2015. Functional overlap of the Arabidopsis leaf and root microbiota. *Nature* 528, 364–369. <https://doi.org/10.1038/nature16192>
- Bailly, A., Groenhagen, U., Schulz, S., Geisler, M., Eberl, L., Weiskopf, L., 2014. The inter-kingdom volatile signal indole promotes root development by interfering with auxin signalling. *The Plant Journal* 80, 758–771. <https://doi.org/10.1111/tpj.12666>
- Bailly, A., Weiskopf, L., 2012. The modulating effect of bacterial volatiles on plant growth: Current knowledge and future challenges. *Plant Signaling & Behavior* 7, 79–85. <https://doi.org/10.4161/psb.7.1.18418>
- Baker, C.A., De, J., Schneider, K.R., 2021. Influence of soil microbes on *Escherichia coli* O157:H7 survival in soil rinse and artificial soil. *J of Applied Microbiology* 131, 1531–1538. <https://doi.org/10.1111/jam.15039>
- Baker, C.A., Lee, S., De, J., Jeong, K.C., Schneider, K.R., 2020. Survival of *Escherichia coli* O157 in autoclaved and natural sandy soil mesocosms. *PLoS ONE* 15, e0234562. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234562>
- Bakker, P.A.H.M., Berendsen, R.L., Van Pelt, J.A., Vismans, G., Yu, K., Li, E., Van Bentum, S., Poppeliers, S.W.M., Sanchez Gil, J.J., Zhang, H., Goossens, P., Stringlis, I.A., Song, Y., De Jonge, R., Pieterse, C.M.J., 2020. The Soil-Borne Identity and Microbiome-Assisted Agriculture: Looking Back to the Future. *Molecular Plant* 13, 1394–1401. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.09.017>
- Bal, H.B., Nayak, L., Das, S., Adhya, T.K., 2013. Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress. *Plant Soil* 366, 93–105. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1402-5>
- Barbirato, F., Grivet, J.P., Soucaille, P., Bories, A., 1996 $\alpha$ . 3-Hydroxypropionaldehyde, an inhibitory metabolite of glycerol fermentation to 1,3-propanediol by enterobacterial species. *Appl Environ Microbiol* 62, 1448–1451. <https://doi.org/10.1128/aem.62.4.1448-1451.1996>
- Barbirato, F., Soucaille, P., Bories, A., 1996 $\beta$ . Physiologic Mechanisms Involved in Accumulation of 3-Hydroxypropionaldehyde during Fermentation of Glycerol by Enterobacter agglomerans. *Appl Environ Microbiol* 62, 4405–4409. <https://doi.org/10.1128/aem.62.12.4405-4409.1996>
- Barret, M., Briand, M., Bonneau, S., Prévieux, A., Valière, S., Bouchez, O., Hunault, G., Simoneau, P., Jacques, M.-A., 2015. Emergence Shapes the Structure of the Seed Microbiota. *Appl Environ Microbiol* 81, 1257–1266. <https://doi.org/10.1128/AEM.03722-14>

- Bass, D., Stentiford, G.D., Wang, H.-C., Koskella, B., Tyler, C.R., 2019. The Pathobiome in Animal and Plant Diseases. *Trends in Ecology & Evolution* 34, 996–1008. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.07.012>
- Bee, H., Khan, M.Y., Sayyed, R.Z., 2019. Microbial Surfactants and Their Significance in Agriculture, in: Sayyed, R.Z., Reddy, M.S., Antonius, S. (Eds.), *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Prospects for Sustainable Agriculture*. Springer Singapore, Singapore, pp. 205–215. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-6790-8\\_18](https://doi.org/10.1007/978-981-13-6790-8_18)
- Belesky, D.P., Bacon, C.W., 2009. Tall fescue and associated mutualistic toxic fungal endophytes in agroecosystems. *Toxin Reviews* 28, 102–117. <https://doi.org/10.1080/15569540903082143>
- Berendsen RL, Pieterse CMJ, Bakker PAHM. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci* 2012;17(8):478–86. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Berendsen, R.L., Vismans, G., Yu, K., Song, Y., De Jonge, R., Burgman, W.P., Burmølle, M., Herschend, J., Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J., 2018. Disease-induced assemblage of a plant-beneficial bacterial consortium. *The ISME Journal* 12, 1496–1507. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0093-1>
- Berg G, Rybakova D, Grube M, Köberl M. The plant microbiome explored: implications for experimental botany. *J Exp Bot* 2016;67(4):995–1002. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv466>
- Berg, G., Köberl, M., Rybakova, D., Müller, H., Grosch, R., Smalla, K., 2017. Plant microbial diversity is suggested as the key to future biocontrol and health trends. *FEMS Microbiology Ecology* 93. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix050>
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M.-C.C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G.H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J.A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., Mitter, B., Ryan, M., Sarand, I., Smidt, H., Schelkle, B., Roume, H., Kiran, G.S., Selvin, J., Souza, R.S.C.D., Van Overbeek, L., Singh, B.K., Wagner, M., Walsh, A., Sessitsch, A., Schloter, M., 2020. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome* 8, 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- Berg, M., Koskella, B., 2018. Nutrient- and Dose-Dependent Microbiome-Mediated Protection against a Plant Pathogen. *Current Biology* 28, 2487-2492.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.085>
- Bergna, A., Maund, S.J., Screpanti, C., 2022. The Soil Microbiota Recovery in the Agroecosystem: Minimal Information and a New Framework for Sustainable Agriculture. *IJERPH* 19, 5423. <https://doi.org/10.3390/ijerph19095423>
- Bhardwaj, S., Verma, T., Kapoor, D., 2023. Ethylene and Regulation of Metabolites in Plants. In: Singh, S. (Ed.). *Ethylene in plant biology*, First edition. ed. Wiley, Hoboken, NJ. ISBN 9781119744696
- Bible, A.N., Chang, M., Morrell-Falvey, J.L., 2021. Identification of a diguanylate cyclase expressed in the presence of plants and its application for discovering candidate gene products involved in plant colonization by *Pantoea* sp. YR343. *PLoS ONE* 16, e0248607. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248607>
- Bible, A.N., Chang, M., Morrell-Falvey, J.L., 2021. Identification of a diguanylate cyclase expressed in the presence of plants and its application for discovering candidate gene products involved in plant colonization by *Pantoea* sp. YR343. *PLoS ONE* 16, e0248607. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248607>

- Bishop, G., Sakakibara, H., Seo, M., Yamaguchi, S., 2015. Biosynthesis of Hormones: Ethylene. In: Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L. (Eds.). *Biochemistry & molecular biology of plants*, Second edition. ed. John Wiley & Sons Inc, Chichester, West Sussex; Hoboken, NJ. ISBN: 9780470714218
- Black, Z., Balta, I., Black, L., Naughton, P.J., Dooley, J.S.G., Corcionivoschi, N., 2021. The Fate of Foodborne Pathogens in Manure Treated Soil. *Front. Microbiol.* 12, 781357. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.781357>
- Black, Z., Balta, I., Black, L., Naughton, P.J., Dooley, J.S.G., Corcionivoschi, N., 2021. The Fate of Foodborne Pathogens in Manure Treated Soil. *Front. Microbiol.* 12, 781357. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.781357>
- Blair, P.M., Land, M.L., Piatek, M.J., Jacobson, D.A., Lu, T.-Y.S., Doktycz, M.J., Pelletier, D.A., 2018. Exploration of the Biosynthetic Potential of the *Populus* Microbiome. *mSystems* 3, e00045-18. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00045-18>
- Blair, P.M., Land, M.L., Piatek, M.J., Jacobson, D.A., Lu, T.-Y.S., Doktycz, M.J., Pelletier, D.A., 2018. Exploration of the Biosynthetic Potential of the *Populus* Microbiome. *mSystems* 3, e00045-18. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00045-18>
- Boldt, T.S., Jacobsen, C.S., 1998. Different toxic effects of the sulfonyleurea herbicides metsulfuron methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron methyl on fluorescent pseudomonads isolated from an agricultural soil. *FEMS Microbiology Letters* 161, 29–35. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb12925.x>
- Bonfante, P., Selosse, M., 2010. A glimpse into the past of land plants and of their mycorrhizal affairs: from fossils to evo-devo. *New Phytologist* 186, 267–270. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03196.x>
- Brennan, F.P., Alsanus, B.W., Allende, A., Burgess, C.M., Moreira, H., Johannessen, G.S., Castro, P.M.L., Uyttendaele, M., Truchado, P., Holden, N.J., 2022. Harnessing agricultural microbiomes for human pathogen control. *ISME Communications* 2, 44. <https://doi.org/10.1038/s43705-022-00127-2>
- Brunel, C., Pouteau, R., Dawson, W., Pester, M., Ramirez, K.S., Van Kleunen, M., 2020. Towards Unraveling Macroecological Patterns in Rhizosphere Microbiomes. *Trends in Plant Science* 25, 1017–1029. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.04.015>
- Bulgarelli, D., Schlaeppli, K., Spaepen, S., Van Themaat, E.V.L., Schulze-Lefert, P., 2013. Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 807–838. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120106>
- Burns, K.N., Kluepfel, D.A., Strauss, S.L., Bokulich, N.A., Cantu, D., Steenwerth, K.L., 2015. Vineyard soil bacterial diversity and composition revealed by 16S rRNA genes: Differentiation by geographic features. *Soil Biology and Biochemistry* 91, 232–247. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.09.002>
- Bush, L.P., Wilkinson, H.H., Schardl, C.L., 1997. Bioprotective Alkaloids of Grass-Fungal Endophyte Symbioses. *Plant Physiology* 114, 1–7. <https://doi.org/10.1104/pp.114.1.1>
- Busk, P.K., Lange, L., 2015. Classification of fungal and bacterial lytic polysaccharide monoxygenases. *BMC Genomics* 16, 368. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1601-6>
- Caballo-Ponce, E., Meng, X., Uzelac, G., Halliday, N., Cámara, M., Licastro, D., Passos Da Silva, D., Ramos, C., Venturi, V., 2018. Quorum Sensing in *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* and *Erwinia toletana*: Role in

- Virulence and Interspecies Interactions in the Olive Knot. *Appl Environ Microbiol* 84, e00950-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.00950-18>
- Campisano, A., Antonielli, L., Pancher, M., Yousaf, S., Pindo, M., Pertot, I., 2014. Bacterial Endophytic Communities in the Grapevine Depend on Pest Management. *PLoS ONE* 9, e112763. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112763>
- Carrión, V.J., Perez-Jaramillo, J., Cordovez, V., Tracanna, V., De Hollander, M., Ruiz-Buck, D., Mendes, L.W., Van Ijcken, W.F.J., Gomez-Exposito, R., Elsayed, S.S., Mohanraju, P., Arifah, A., Van Der Oost, J., Paulson, J.N., Mendes, R., Van Wezel, G.P., Medema, M.H., Raaijmakers, J.M., 2019. Pathogen-induced activation of disease-suppressive functions in the endophytic root microbiome. *Science* 366, 606–612. <https://doi.org/10.1126/science.aaw9285>
- Castanheira, N.L., Dourado, A.C., Pais, I., Semedo, J., Scotti-Campos, P., Borges, N., Carvalho, G., Barreto Crespo, M.T., Fareleira, P., 2017. Colonization and beneficial effects on annual ryegrass by mixed inoculation with plant growth promoting bacteria. *Microbiological Research* 198, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.01.009>
- Castrillo, G., Teixeira, P.J.P.L., Paredes, S.H., Law, T.F., De Lorenzo, L., Feltcher, M.E., Finkel, O.M., Breakfield, N.W., Mieczkowski, P., Jones, C.D., Paz-Ares, J., Dangl, J.L., 2017. Root microbiota drive direct integration of phosphate stress and immunity. *Nature* 543, 513–518. <https://doi.org/10.1038/nature21417>
- Cesco, S., Mimmo, T., Tonon, G., Tomasi, N., Pinton, R., Terzano, R., Neumann, G., Weisskopf, L., Renella, G., Landi, L., Nannipieri, P., 2012. Plant-borne flavonoids released into the rhizosphere: impact on soil bio-activities related to plant nutrition. A review. *Biol Fertil Soils* 48, 123–149. <https://doi.org/10.1007/s00374-011-0653-2>
- Chagas, F.O., Pessotti, R.D.C., Caraballo-Rodríguez, A.M., Pupo, M.T., 2018. Chemical signaling involved in plant–microbe interactions. *Chem. Soc. Rev.* 47, 1652–1704. <https://doi.org/10.1039/C7CS00343A>
- Chakravarty, P., Chatarpaul, L., 1990. Non-target effect of herbicides: I. effect of glyphosate and hexazinone on soil microbial activity. Microbial population, and in-vitro growth of ectomycorrhizal fungi. *Pestic. Sci.* 28, 233–241. <https://doi.org/10.1002/ps.2780280302>
- Chalupowicz, L., Manulis-Sasson, S., Barash, I., Elad, Y., Rav-David, D., Brandl, M.T., 2021. Effect of Plant Systemic Resistance Elicited by Biological and Chemical Inducers on the Colonization of the Lettuce and Basil Leaf Apoplast by *Salmonella enterica*. *Appl Environ Microbiol* 87, e01151-21. <https://doi.org/10.1128/AEM.01151-21>
- Chandra, P., Singh, E., 2016. Applications and Mechanisms of Plant Growth-Stimulating Rhizobacteria, in: Choudhary, D.K., Varma, A., Tuteja, N. (Eds.), *Plant-Microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture*. Springer Singapore, Singapore, pp. 37–62. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-2854-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-10-2854-0_3)
- Chaparro, J.M., Sheflin, A.M., Manter, D.K., Vivanco, J.M., 2012. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. *Biol Fertil Soils* 48, 489–499. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0691-4>
- Chen, Y., Wang, J., Yang, N., Wen, Z., Sun, X., Chai, Y., Ma, Z., 2018. Wheat microbiome bacteria can reduce virulence of a plant pathogenic fungus by altering histone acetylation. *Nat Commun* 9, 3429. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05683-7>

- Chernin, L.S., 2011. Quorum-Sensing Signals as Mediators of PGPRs' Beneficial Traits, in: Maheshwari, D.K. (Ed.), *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Nutrient Management*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 209–236. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-21061-7\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-642-21061-7_9)
- Cho, S.-T., Chang, H.-H., Egamberdieva, D., Kamilova, F., Lugtenberg, B., Kuo, C.-H., 2015. Genome Analysis of *Pseudomonas fluorescens* PCL1751: A Rhizobacterium that Controls Root Diseases and Alleviates Salt Stress for Its Plant Host. *PLoS ONE* 10, e0140231. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140231>
- Clarke, B.B., White, J.F., Hurley, R.H., Torres, M.S., Sun, S., Huff, D.R., 2006. Endophyte-Mediated Suppression of Dollar Spot Disease in Fine Fescues. *Plant Disease* 90, 994–998. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0994>
- Cole, B.J., Feltcher, M.E., Waters, R.J., Wetmore, K.M., Mucyn, T.S., Ryan, E.M., Wang, G., Ul-Hasan, S., McDonald, M., Yoshikuni, Y., Malmstrom, R.R., Deutschbauer, A.M., Dangl, J.L., Visel, A., 2017. Genome-wide identification of bacterial plant colonization genes. *PLoS Biol* 15, e2002860. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2002860>
- Compant, S., Cambon, M.C., Vacher, C., Mitter, B., Samad, A., Sessitsch, A., 2021. The plant endosphere world – bacterial life within plants. *Environmental Microbiology* 23, 1812–1829. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15240>
- Compant, S., Clément, C., Sessitsch, A., 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 669–678. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>
- Compant, S., Clément, C., Sessitsch, A., 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 669–678. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>
- Compant, S., Mitter, B., Colli-Mull, J.G., Gangl, H., Sessitsch, A., 2011. Endophytes of Grapevine Flowers, Berries, and Seeds: Identification of Cultivable Bacteria, Comparison with Other Plant Parts, and Visualization of Niches of Colonization. *Microb Ecol* 62, 188–197. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9883-y>
- Compant, S., Reiter, B., Sessitsch, A., Nowak, J., Clément, C., Ait Barka, E., 2005. Endophytic Colonization of *Vitis vinifera* L. by Plant Growth-Promoting Bacterium *Burkholderia* sp. Strain PsJN. *Appl Environ Microbiol* 71, 1685–1693. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.4.1685-1693.2005>
- Compant, S., Samad, A., Faist, H., Sessitsch, A., 2019. A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of Advanced Research* 19, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.004>
- Conrath, U., Beckers, G.J.M., Langenbach, C.J.G., Jaskiewicz, M.R., 2015. Priming for Enhanced Defense. *Annu. Rev. Phytopathol.* 53, 97–119. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120132>
- Cooper, J.E., 2004. Multiple Responses of Rhizobia to Flavonoids During Legume Root Infection, in: *Advances in Botanical Research*. Elsevier, pp. 1–62. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(04\)41001-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(04)41001-5)
- Cordovez, V., Dini-Andreote, F., Carrión, V.J., Raaijmakers, J.M., 2019. Ecology and Evolution of Plant Microbiomes. *Annu. Rev. Microbiol.* 73, 69–88. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090817-062524>

- Coronado, C., Zuanazzi, Jas., Sallaud, C., Quirion, J.C., Esnault, R., Husson, H.P., Kondorosi, A., Ratet, P., 1995. Alfalfa Root Flavonoid Production Is Nitrogen Regulated. *Plant Physiol.* 108, 533–542. <https://doi.org/10.1104/pp.108.2.533>
- Correa-Galeote, D., Bedmar, E.J., Arone, G.J., 2018. Maize Endophytic Bacterial Diversity as Affected by Soil Cultivation History. *Front. Microbiol.* 9, 484. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00484>
- Coutinho, B.G., Licastro, D., Mendonça-Previato, L., Cámara, M., Venturi, V., 2015. Plant-Influenced Gene Expression in the Rice Endophyte *Burkholderia kururiensis* M130. *MPMI* 28, 10–21. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-14-0225-R>
- Crouzet, O., Batisson, I., Besse-Hoggan, P., Bonnemoy, F., Bardot, C., Poly, F., Bohatier, J., Mallet, C., 2010. Response of soil microbial communities to the herbicide mesotrione: A dose-effect microcosm approach. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 193–202. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.016>
- Crouzet, O., Poly, F., Bonnemoy, F., Bru, D., Batisson, I., Bohatier, J., Philippot, L., Mallet, C., 2016. Functional and structural responses of soil N-cycling microbial communities to the herbicide mesotrione: a dose-effect microcosm approach. *Environ Sci Pollut Res* 23, 4207–4217. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4797-8>
- Crouzet, O., Wiszniowski, J., Donnadieu, F., Bonnemoy, F., Bohatier, J., Mallet, C., 2013. Dose-Dependent Effects of the Herbicide Mesotrione on Soil Cyanobacterial Communities. *Arch Environ Contam Toxicol* 64, 23–31. <https://doi.org/10.1007/s00244-012-9809-9>
- Curutiu, C., Lazar, V., Chifiriuc, M.C., 2017. Pesticides and antimicrobial resistance: from environmental compartments to animal and human infections, in: *New Pesticides and Soil Sensors*. Elsevier, pp. 373–392. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804299-1.00011-4>
- Cycoń, M., Markowicz, A., Borymski, S., Wójcik, M., Piotrowska-Seget, Z., 2013. Imidacloprid induces changes in the structure, genetic diversity and catabolic activity of soil microbial communities. *Journal of Environmental Management* 131, 55–65. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.09.041>
- DaCosta, M., Huang, B., 2006. Osmotic Adjustment Associated with Variation in Bentgrass Tolerance to Drought Stress. *JASHS* 131, 338–344. <https://doi.org/10.21273/JASHS.131.3.338>
- Das, A.C., Debnath, A., Mukherjee, D., 2003. Effect of the herbicides oxadiazon and oxyfluorfen on phosphates solubilizing microorganisms and their persistence in rice fields. *Chemosphere* 53, 217–221. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00440-5](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00440-5)
- de Barry, 1886. *Lectures on bacteria*. Oxford, Clarendon Press. Available at: <https://archive.org/details/cu31924003206038>
- De Wit, P.J.G.M., 2015. Plant Pathogenic Fungi and Oomycetes, in: Lugtenberg, B. (Ed.), *Principles of Plant-Microbe Interactions*. Springer International Publishing, Cham, pp. 79–90. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3_10)
- Del Carmen Orozco-Mosqueda, Ma., Macías-Rodríguez, L.I., Santoyo, G., Fariás-Rodríguez, R., Valencia-Cantero, E., 2013. *Medicago truncatula* increases its iron-uptake mechanisms in response to volatile organic compounds produced by *Sinorhizobium meliloti*. *Folia Microbiol* 58, 579–585. <https://doi.org/10.1007/s12223-013-0243-9>

- Delmotte, N., Knief, C., Chaffron, S., Innerebner, G., Roschitzki, B., Schlapbach, R., Von Mering, C., Vorholt, J.A., 2009. Community proteogenomics reveals insights into the physiology of phyllosphere bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 16428–16433. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905240106>
- Dennis, P.G., Miller, A.J., Hirsch, P.R., 2010. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? Root exudates and rhizosphere bacteria. *FEMS Microbiology Ecology* 72, 313–327. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00860.x>
- Desai, J.D., Banat, I.M., 1997. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol Mol Biol Rev* 61, 47–64. <https://doi.org/10.1128/membr.61.1.47-64.1997>
- Devarajan, N., McGarvey, J.A., Scow, K., Jones, M.S., Lee, S., Samaddar, S., S., Schmidt, R., Tran, T.D., Karp, D.S., 2021. Cascading effects of composts and cover crops on soil chemistry, bacterial communities and the survival of foodborne pathogens. *Journal of Applied Microbiology* 131, 1564–1577. <https://doi.org/10.1111/jam.15054>
- Deveau, A., Bonito, G., Uehling, J., Paoletti, M., Becker, M., Bindschedler, S., Hacquard, S., Hervé, V., Labbé, J., Lastovetsky, O.A., Mieszkina, S., Millet, L.J., Vajna, B., Junier, P., Bonfante, P., Krom, B.P., Olsson, S., Van Elsas, J.D., Wick, L.Y., 2018. Bacterial–fungal interactions: ecology, mechanisms and challenges. *FEMS Microbiology Reviews* 42, 335–352. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy008>
- Dey, R., Pal, K.K., Bhatt, D.M., Chauhan, S.M., 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiological Research* 159, 371–394. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2004.08.004>
- Donn, S., Kirkegaard, J.A., Perera, G., Richardson, A.E., Watt, M., 2015. Evolution of bacterial communities in the wheat crop rhizosphere. *Environmental Microbiology* 17, 610–621. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12452>
- Dos Santos, J.B., Ferreira, E.A., Kasuya, M.C.M., Da Silva, A.A., Procópio, S.D.O., 2005. Tolerance of *Bradyrhizobium* strains to glyphosate formulations. *Crop Protection* 24, 543–547. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2004.10.007>
- Du, P., Wu, X., Xu, J., Dong, F., Liu, X., Zhang, Y., Zheng, Y., 2018. Clomazone influence soil microbial community and soil nitrogen cycling. *Science of The Total Environment* 644, 475–485. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.214>
- Du, Z., Zhu, Y., Zhu, L., Zhang, J., Li, B., Wang, Jinhua, Wang, Jun, Zhang, C., Cheng, C., 2018. Effects of the herbicide mesotrione on soil enzyme activity and microbial communities. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 164, 571–578. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.075>
- Dudeja, S.S., Suneja-Madan, P., Paul, M., Maheswari, R., Kothe, E., 2021. Bacterial endophytes: Molecular interactions with their hosts. *J Basic Microbiol* 61, 475–505. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000657>
- Dudenhöffer, J., Scheu, S., Jousset, A., 2016. Systemic enrichment of antifungal traits in the rhizosphere microbiome after pathogen attack. *Journal of Ecology* 104, 1566–1575. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12626>
- Edwards, J., Johnson, C., Santos-Medellín, C., Lurie, E., Podishetty, N.K., Bhatnagar, S., Eisen, J.A., Sundaresan, V., 2015. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112. <https://doi.org/10.1073/pnas.1414592112>

- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR), Ockleford, C., Adriaanse, P., Berny, P., Brock, T., Duquesne, S., Grilli, S., Hernandez-Jerez, A.F., Bennekou, S.H., Klein, M., Kuhl, T., Laskowski, R., Machera, K., Pelkonen, O., Pieper, S., Stemmer, M., Sundh, I., Teodorovic, I., Tiktak, A., Topping, C.J., Wolterink, G., Craig, P., de Jong, F., Manachini, B., Sousa, P., Swarowsky, K., Auteri, D., Arena, M., Rob, S., 2017. Scientific Opinion addressing the state of the science on risk assessment of plant protection products for in-soil organisms. EFS2 15. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4690>
- EFSA, 2010. Scientific Opinion on the development of specific protection goal options for environmental risk assessment of pesticides, in particular in relation to the revision of the Guidance Documents on Aquatic and Terrestrial Ecotoxicology (SANCO/3268/2001 and SANCO/10329/2002). EFSA Journal 8(10), 1821. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1821>
- Egamberdieva, D., Wirth, S.J., Alqarawi, A.A., Abd\_Allah, E.F., Hashem, A., 2017. Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness. Front. Microbiol. 8, 2104. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02104>
- Egamberdiyeva, D., Höflich, G., 2003. Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures. Soil Biology and Biochemistry 35, 973–978. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00158-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00158-5)
- El Fantroussi, S., Verschuere, L., Verstraete, W., Top, E.M., 1999. Effect of Phenylurea Herbicides on Soil Microbial Communities Estimated by Analysis of 16S rRNA Gene Fingerprints and Community-Level Physiological Profiles. Appl Environ Microbiol 65, 982–988. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.3.982-988.1999>
- Elmi, A.A., West, C.P., 1995. Endophyte infection effects on stomatal conductance, osmotic adjustment and drought recovery of tall fescue. New Phytologist 131, 61–67. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1995.tb03055.x>
- EU Pesticide Data Base, 2024. European Commission. Πρόσβαση: 02-10-2024. Διαθέσιμο: [https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/eu-pesticides-database\\_en](https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/eu-pesticides-database_en)
- Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2018. Ανακοίνωση της Επιτροπής με αρ. 2018/C265/02 σχετικά με κατάλογο εγκεκριμένων για φυτοπροστατευτική χρήση δραστικών ουσιών ενδεχομένως χαμηλού κινδύνου. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/?uri=CELEX%3A52018XC0727%2801%29&qid=1726984798216>
- European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2023. The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. EFS2 21. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8442>
- Faist, H., Keller, A., Hentschel, U., Deeken, R., 2016. Grapevine (*Vitis vinifera*) Crown Galls Host Distinct Microbiota. Appl Environ Microbiol 82, 5542–5552. <https://doi.org/10.1128/AEM.01131-16>
- Farag, M.A., Song, G.C., Park, Y.-S., Audrain, B., Lee, S., Ghigo, J.-M., Kloepper, J.W., Ryu, C.-M., 2017. Biological and chemical strategies for exploring inter- and intra-kingdom communication mediated via bacterial volatile signals. Nat Protoc 12, 1359–1377. <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.023>
- Faria-Ramos, I., Farinha, S., Neves-Maia, J., Tavares, P.R., Miranda, I.M., Estevinho, L.M., Pina-Vaz, C., Rodrigues, A.G., 2014. Development of cross-resistance by *Aspergillus fumigatus* to clinical azoles following exposure to prochloraz, an agricultural azole. BMC Microbiol 14, 155. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-155>

- Fatouros, G., Gkizi, D., Fragkogeorgi, G.A., Paplomatas, E.J., Tjamos, S.E., 2018. Biological control of *Pythium*, *Rhizoctonia* and *Sclerotinia* in lettuce: association of the plant protective activity of the bacterium *Paenibacillus alvei* K165 with the induction of systemic resistance. *Plant Pathology* 67, 418–425. <https://doi.org/10.1111/ppa.12747>
- Ferguson, T.D., Vanzant, E.S., McLeod, K.R., 2021. Endophyte Infected Tall Fescue: Plant Symbiosis to Animal Toxicosis. *Front. Vet. Sci.* 8, 774287. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.774287>
- Fernandez, M.R., Zentner, R.P., Basnyat, P., Gehl, D., Selles, F., Huber, D., 2009. Glyphosate associations with cereal diseases caused by *Fusarium* spp. in the Canadian Prairies. *European Journal of Agronomy* 31, 133–143. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2009.07.003>
- Ferraresso, J., Lawton, B., Bayliss, S., Sheppard, S., Cardazzo, B., Gaze, W., Buckling, A., Vos, M., 2020. Determining the prevalence, identity and possible origin of bacterial pathogens in soil. *Environmental Microbiology* 22, 5327–5340. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15243>
- Fierer, N., 2017. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nat Rev Microbiol* 15, 579–590. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>
- Fierer, N., 2017. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nat Rev Microbiol* 15, 579–590. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>
- Finkel, O.M., Salas-González, I., Castrillo, G., Spaepen, S., Law, T.F., Teixeira, P.J.P.L., Jones, C.D., Dangl, J.L., 2019. The effects of soil phosphorus content on plant microbiota are driven by the plant phosphate starvation response. *PLoS Biol* 17, e3000534. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000534>
- Fitzpatrick, C.R., Copeland, J., Wang, P.W., Guttman, D.S., Kotanen, P.M., Johnson, M.T.J., 2018. Assembly and ecological function of the root microbiome across angiosperm plant species. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717617115>
- Fitzpatrick, C.R., Salas-González, I., Conway, J.M., Finkel, O.M., Gilbert, S., Russ, D., Teixeira, P.J.P.L., Dangl, J.L., 2020. The Plant Microbiome: From Ecology to Reductionism and Beyond. *Annu. Rev. Microbiol.* 74, 81–100. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-022620-014327>
- Fourcroy, P., Sisó-Terraza, P., Sudre, D., Savirón, M., Reyt, G., Gaymard, F., Abadía, A., Abadía, J., Álvarez-Fernández, A., Briat, J., 2014. Involvement of the ABCG 37 transporter in secretion of scopoletin and derivatives by *Arabidopsis* roots in response to iron deficiency. *New Phytologist* 201, 155–167. <https://doi.org/10.1111/nph.12471>
- Franco-Andreu, L., Gómez, I., Parrado, J., García, C., Hernández, T., Tejada, M., 2016. Behavior of two pesticides in a soil subjected to severe drought. Effects on soil biology. *Applied Soil Ecology* 105, 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.04.001>
- Fu, Z.Q., Dong, X., 2013. Systemic Acquired Resistance: Turning Local Infection into Global Defense. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 839–863. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105606>
- Fuqua, C., Parsek, M.R., Greenberg, E.P., 2001. Regulation of Gene Expression by Cell-to-Cell Communication: Acyl-Homoserine Lactone Quorum Sensing. *Annu. Rev. Genet.* 35, 439–468. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.35.102401.090913>

- Garbeva, P., Van Veen, J.A., Van Elsas, J.D., 2004. Microbial diversity in soil: Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease Suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 243–270. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.012604.135455>
- Garbeva, P., Weiskopf, L., 2020. Airborne medicine: bacterial volatiles and their influence on plant health. *New Phytologist* 226, 32–43. <https://doi.org/10.1111/nph.16282>
- Garcia, A.V., Hirt, H., 2014. Salmonella enterica induces and subverts the plant immune system. *Front. Microbiol.* 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00141>
- Garrido-Oter, R., Nakano, R.T., Dombrowski, N., Ma, K.-W., McHardy, A.C., Schulze-Lefert, P., 2018. Modular Traits of the Rhizobiales Root Microbiota and Their Evolutionary Relationship with Symbiotic Rhizobia. *Cell Host & Microbe* 24, 155-167.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.06.006>
- Gayathiri, E., Prakash, P., Karmegam, N., Varjani, S., Awasthi, M.K., Ravindran, B., 2022. Biosurfactants: Potential and Eco-Friendly Material for Sustainable Agriculture and Environmental Safety—A Review. *Agronomy* 12, 662. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030662>
- George, T.S. and Richardson, A.E. (2008) Potential and limitations to improving crops for enhanced phosphorus utilization, pp. 247–270. In: White, P.J., Hammond (eds). *The ecophysiology of plant-phosphorus interactions, Plant ecophysiology.* Springer, Dordrecht London.
- Germaine, K., Keogh, E., Garcia-Cabellos, G., Borremans, B., Lelie, D., Barac, T., Oeyen, L., Vangronsveld, J., Moore, F.P., Moore, E.R.B., Campbell, C.D., Ryan, D., Dowling, D.N., 2004. Colonisation of poplar trees by gfp expressing bacterial endophytes. *FEMS Microbiology Ecology* 48, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2003.12.009>
- Gill, S.S., Gill, R., Trivedi, D.K., Anjum, N.A., Sharma, K.K., Ansari, M.W., Ansari, A.A., Johri, A.K., Prasad, R., Pereira, E., Varma, A., Tuteja, N., 2016. Piriformospora indica: Potential and Significance in Plant Stress Tolerance. *Front. Microbiol.* 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00332>
- Glassner, H., Zchori-Fein, E., Yaron, S., Sessitsch, A., Sauer, U., Compant, S., 2018. Bacterial niches inside seeds of Cucumis melo L. *Plant Soil* 422, 101–113. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3175-3>
- Glick, B.R., 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research* 169, 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>
- Glick, B.R., 2015. Stress Control and ACC Deaminase, in: Lugtenberg, B. (Ed.), *Principles of Plant-Microbe Interactions.* Springer International Publishing, Cham, pp. 257–264. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3\\_27](https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3_27)
- Glick, B.R., Penrose, D.M., Li, J., 1998. A Model For the Lowering of Plant Ethylene Concentrations by Plant Growth-promoting Bacteria. *Journal of Theoretical Biology* 190, 63–68. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1997.0532>
- Golinska, P., Wypij, M., Agarkar, G., Rathod, D., Dahm, H., Rai, M., 2015. Endophytic actinobacteria of medicinal plants: diversity and bioactivity. *Antonie van Leeuwenhoek* 108, 267–289. <https://doi.org/10.1007/s10482-015-0502-7>

- Gond, S.K., Bergen, M.S., Torres, M.S., White Jr, J.F., 2015β. Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defence gene expression in maize. *Microbiological Research* 172, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.11.004>
- Gond, S.K., Torres, M.S., Bergen, M.S., Hessel, Z., White, J.F., 2015α. Induction of salt tolerance and up-regulation of aquaporin genes in tropical corn by rhizobacterium *Pantoea agglomerans*. *Lett Appl Microbiol* 60, 392–399. <https://doi.org/10.1111/lam.12385>
- Gopal, M., Gupta, A., Arunachalam, V., Magu, S.P., 2007. Impact of azadirachtin, an insecticidal allelochemical from neem on soil microflora, enzyme and respiratory activities. *Bioresource Technology* 98, 3154–3158. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.010>
- Govindasamy, V., Senthilkumar, M., Bose, P., Kumar, L.V., Ramadoss, D., Annapurna, K., 2011. ACC Deaminase Containing PGPR for Potential Exploitation in Agriculture, in: Maheshwari, D.K. (Ed.), *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Nutrient Management*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 183–208. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-21061-7\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-642-21061-7_8)
- Grichko, V.P., Glick, B.R., 2001. Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria. *Plant Physiology and Biochemistry* 39, 11–17. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)01212-2](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)01212-2)
- Griffiths, B.S., Philippot, L., 2013. Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS Microbiol Rev* 37, 112–129. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00343.x>
- Gu, G., Strawn, L.K., Oryang, D.O., Zheng, J., Reed, E.A., Ottesen, A.R., Bell, R.L., Chen, Y., Duret, S., Ingram, D.T., Reiter, M.S., Pfuntner, R., Brown, E.W., Rideout, S.L., 2018. Agricultural Practices Influence *Salmonella* Contamination and Survival in Pre-harvest Tomato Production. *Front. Microbiol.* 9, 2451. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02451>
- Guerre, P., 2015. Ergot Alkaloids Produced by Endophytic Fungi of the Genus *Epichloë*. *Toxins* 7, 773–790. <https://doi.org/10.3390/toxins7030773>
- Guo, Q., Yan, L., Korpelainen, H., Niinemets, Ü., Li, C., 2019. Plant-plant interactions and N fertilization shape soil bacterial and fungal communities. *Soil Biology and Biochemistry* 128, 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.10.018>
- Gupta, A., Rastogi, A., Singh, M., 2023. Ethylene Implication in Root Development. In: Singh, S. (Ed.). *Ethylene in plant biology*, First edition. ed. Wiley, Hoboken, NJ. ISBN 9781119744696
- Gupta, M., Mathur, S., Sharma, T.K., Rana, M., Gairola, A., Navani, N.K., Pathania, R., 2016. A study on metabolic prowess of *Pseudomonas* sp. RPT 52 to degrade imidacloprid, endosulfan and coragen. *Journal of Hazardous Materials* 301, 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.08.055>
- Gwinn, K.D., 1992. Relationship Between Endophyte Infestation Level of Tall Fescue Seed Lots and *Rhizoctonia zeae* Seedling Disease. *Plant Dis.* 76, 911. <https://doi.org/10.1094/PD-76-0911>
- Hacquard, S., Spaepen, S., Garrido-Oter, R., Schulze-Lefert, P., 2017. Interplay Between Innate Immunity and the Plant Microbiota. *Annu. Rev. Phytopathol.* 55, 565–589. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516-035623>

- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W.F., Kloepper, J.W., 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* 43, 895–914. <https://doi.org/10.1139/m97-131>
- Hamilton, C.E., Bauerle, T.L., 2012. A new currency for mutualism? Fungal endophytes alter antioxidant activity in hosts responding to drought. *Fungal Diversity* 54, 39–49. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0156-y>
- Hamilton, C.E., Gundel, P.E., Helander, M., Saikkonen, K., 2012. Endophytic mediation of reactive oxygen species and antioxidant activity in plants: a review. *Fungal Diversity* 54, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0158-9>
- Han, G., 2019. Origin and evolution of the plant immune system. *New Phytologist* 222, 70–83. <https://doi.org/10.1111/nph.15596>
- Handford, C.E., Elliott, C.T., Campbell, K., 2015. A review of the global pesticide legislation and the scale of challenge in reaching the global harmonization of food safety standards. *Integr Environ Assess & Manag* 11, 525–536. <https://doi.org/10.1002/ieam.1635>
- Hansen, H., Grossmann, K., 2000. Auxin-Induced Ethylene Triggers Abscisic Acid Biosynthesis and Growth Inhibition. *Plant Physiology* 124, 1437–1448. <https://doi.org/10.1104/pp.124.3.1437>
- Harbort, C.J., Hashimoto, M., Inoue, H., Niu, Y., Guan, R., Rombolà, A.D., Kopriva, S., Voges, M.J.E.E.E., Sattely, E.S., Garrido-Oter, R., Schulze-Lefert, P., 2020. Root-Secreted Coumarins and the Microbiota Interact to Improve Iron Nutrition in Arabidopsis. *Cell Host & Microbe* 28, 825–837.e6. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.09.006>
- Hardoim, P.R., Hardoim, C.C.P., Van Overbeek, L.S., Van Elsas, J.D., 2012. Dynamics of Seed-Borne Rice Endophytes on Early Plant Growth Stages. *PLoS ONE* 7, e30438. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030438>
- Hardoim, P.R., Van Overbeek, L.S., Berg, G., Pirttilä, A.M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., Sessitsch, A., 2015. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiol Mol Biol Rev* 79, 293–320. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14>
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M., 2004. Trichoderma species — opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev Microbiol* 2, 43–56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- Hartmann, A., Rothballer, M., Schmid, M., 2008. Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant Soil* 312, 7–14. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9514-z>
- Hartmann, A., Schikora, A., 2015. Editorial: Plant responses to bacterial quorum sensing molecules. *Front. Plant Sci.* 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00643>
- Hashem, A., Abd\_Allah, E.F., Alqarawi, A.A., Al Huqail, A.A., Egamberdieva, D., 2014. Alleviation of abiotic salt stress in *Ochradenus baccatus* (Del.) by *Trichoderma hamatum* (Bonord.) Bainier. *Journal of Plant Interactions* 9, 857–868. <https://doi.org/10.1080/17429145.2014.983568>
- Haskett, T.L., Tkacz, A., Poole, P.S., 2021. Engineering rhizobacteria for sustainable agriculture. *The ISME Journal* 15, 949–964. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00835-4>
- Hassan, S., Mathesius, U., 2012. The role of flavonoids in root-rhizosphere signalling: opportunities and challenges for improving plant-microbe interactions. *Journal of Experimental Botany* 63, 3429–3444. <https://doi.org/10.1093/jxb/err430>

- Hassani, M.A., Durán, P., Hacquard, S., 2018. Microbial interactions within the plant holobiont. *Microbiome* 6, 58. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0445-0>
- Havlin, J., Tisdale, S.L., Nelson, W.L., Beaton, J.D., 2016. Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management, Eighth edition. ed. Pearson, Tamil Nadu, India. ISBN 978-93-325-7034-4
- He, Y., Pantigoso, H.A., Wu, Z., Vivanco, J.M., 2019. Co-inoculation of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas putida* at different development stages acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of tomato. *J Appl Microbiol* 127, 196–207. <https://doi.org/10.1111/jam.14273>
- Heerklotz, H., Seelig, J., 2001. Detergent-Like Action of the Antibiotic Peptide Surfactin on Lipid Membranes. *Biophysical Journal* 81, 1547–1554. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(01\)75808-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(01)75808-0)
- Heilmann, I., 2015. Information Processing and Survival Strategies. In: Krauss, G.J., Nies, D.H. (Eds.), 2015. *Ecological biochemistry: environmental and interspecies interactions*. Wiley-VCH-Verl, Weinheim.
- Sonneward, U., 2013. Physiology of Development. In: Bresinsky, A. (edr.). *Strasburger's plant sciences: including prokaryotes and fungi*. Springer, New York. ISBN 978-3-642-15518-5
- Hénault-Ethier, L., Martin, V.J.J., Gélinas, Y., 2016. Persistence of *Escherichia coli* in batch and continuous vermicomposting systems. *Waste Management* 56, 88–99. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.07.033>
- Hida, A., Oku, S., Miura, M., Matsuda, H., Tajima, T., Kato, J., 2020. Characterization of methyl-accepting chemotaxis proteins (MCPs) for amino acids in plant-growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas protegens* CHA0 and enhancement of amino acid chemotaxis by MCP genes overexpression. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 84, 1948–1957. <https://doi.org/10.1080/09168451.2020.1780112>
- Hofmann, A., Fischer, D., Hartmann, A., Schmid, M., 2014. Colonization of plants by human pathogenic bacteria in the course of organic vegetable production. *Front. Microbiol.* 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00191>
- Holden, N., Pritchard, L., Toth, I., 2009. Colonization outwith the colon: plants as an alternative environmental reservoir for human pathogenic enterobacteria. *FEMS Microbiol Rev* 33, 689–703. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00153.x>
- Holden, N.J., Jackson, R.W., Schikora, A., 2015. Editorial on plants as alternative hosts for human and animal pathogens. *Front. Microbiol.* 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00397>
- Hong, Y., Zhou, Q., Hao, Y., Huang, A.C., 2022. Crafting the plant root metabolome for improved microbe-assisted stress resilience. *New Phytologist* 234, 1945–1950. <https://doi.org/10.1111/nph.17908>
- Hopkins, W.G., Hüner, N.P.A., 2009. *Introduction to plant physiology*, 4th ed. ed. Wiley, Hoboken. ISBN 978-0-470-24766-2
- Hu, L., Robert, C.A.M., Cadot, S., Zhang, X., Ye, M., Li, B., Manzo, D., Chervet, N., Steinger, T., Van Der Heijden, M.G.A., Schlaeppi, K., Erb, M., 2018. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nat Commun* 9, 2738. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05122-7>
- Huang, W.-Y., Cai, Y.-Z., Xing, J., Corke, H., Sun, M., 2007. A Potential Antioxidant Resource: Endophytic Fungi from Medicinal Plants. *Economic Botany* 61, 14–30. [https://doi.org/10.1663/0013-0001\(2007\)61\[14:APAREF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0013-0001(2007)61[14:APAREF]2.0.CO;2)

- Hückelhoven, R., Schouten, A., 2024. Plant immunity and plant defense, in: *Agrios' Plant Pathology*. Elsevier, pp. 161–210. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822429-8.00005-4>
- Hussain, S.N., Ashraf, M., Hanif, H., Jamil, M. 2017. Antagonistic effect of bacteriocin from *Bacillus subtilis* against food-borne pathogens. *Pure Appl. Biol.*, 6(2): 585-594. <http://dx.doi.org/10.19045/bspab.2017.60060>
- Iannucci, A., Fragasso, M., Beleggia, R., Nigro, F., Papa, R., 2017. Evolution of the Crop Rhizosphere: Impact of Domestication on Root Exudates in Tetraploid Wheat (*Triticum turgidum* L.). *Front. Plant Sci.* 8, 2124. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02124>
- Ipsilantis, I., Samourelis, C., Karpouzas, D.G., 2012. The impact of biological pesticides on arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry* 45, 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.08.007>
- Jackson, M., 1997. Hormones from roots as signals for the shoots of stressed plants. *Trends in Plant Science* 2, 22–28. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(96\)10050-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(96)10050-9)
- Jacoby, R.P., Chen, L., Schwier, M., Koprivova, A., Kopriva, S., 2020. Recent advances in the role of plant metabolites in shaping the root microbiome. *F1000Res* 9, 151. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21796.1>
- Jacoby, R.P., Koprivova, A., Kopriva, S., 2021. Pinpointing secondary metabolites that shape the composition and function of the plant microbiome. *Journal of Experimental Botany* 72, 57–69. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa424>
- Jalilsood, T., Baradaran, A., Song, A.A.-L., Foo, H.L., Mustafa, S., Saad, W.Z., Yusoff, K., Rahim, R.A., 2015. Inhibition of pathogenic and spoilage bacteria by a novel biofilm-forming *Lactobacillus* isolate: a potential host for the expression of heterologous proteins. *Microb Cell Fact* 14, 96. <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0283-8>
- Jarosz, L.M., Ovchinnikova, E.S., Meijler, M.M., Krom, B.P., 2011. Microbial Spy Games and Host Response: Roles of a *Pseudomonas aeruginosa* Small Molecule in Communication with Other Species. *PLoS Pathog* 7, e1002312. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002312>
- Jayaraman, S., Naorem, A.K., Lal, R., Dalal, R.C., Sinha, N.K., Patra, A.K., Chaudhari, S.K., 2021. Disease-Suppressive Soils—Beyond Food Production: a Critical Review. *J Soil Sci Plant Nutr* 21, 1437–1465. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00451-x>
- Jechalke, S., Schierstaedt, J., Becker, M., Flemer, B., Grosch, R., Smalla, K., Schikora, A., 2019. Salmonella Establishment in Agricultural Soil and Colonization of Crop Plants Depend on Soil Type and Plant Species. *Front. Microbiol.* 10, 967. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00967>
- Jha, C.K., Sharma, P., Shukla, A., Parmar, P., Patel, R., Goswami, D., Saraf, M., 2021. Microbial enzyme, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase: An elixir for plant under stress. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 115, 101664. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101664>
- Jiménez-Bremont, J.F., Marina, M., Guerrero-González, M.D.L.L., Rossi, F.R., Sánchez-Rangel, D., Rodríguez-Kessler, M., Ruiz, O.A., Gárriz, A., 2014. Physiological and molecular implications of plant polyamine metabolism during biotic interactions. *Front. Plant Sci.* 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00095>
- Jin, C.W., You, G.Y., He, Y.F., Tang, C., Wu, P., Zheng, S.J., 2007. Iron Deficiency-Induced Secretion of Phenolics Facilitates the Reutilization of Root Apoplastic Iron in Red Clover. *Plant Physiol.* 144, 278–285. <https://doi.org/10.1104/pp.107.095794>

- Jo, S.H., Lee, J., Park, E., Kim, D.W., Lee, D.H., Ryu, C.M., Choi, D., Park, J.M., 2019. A human pathogenic bacterium *Shigella* proliferates in plants through adoption of type III effectors for shigellosis. *Plant Cell & Environment* 42, 2962–2978. <https://doi.org/10.1111/pce.13603>
- Johannessen, G.S., Bengtsson, G.B., Heier, B.T., Bredholt, S., Wasteson, Y., Rørvik, L.M., 2005. Potential Uptake of *Escherichia coli* O157:H7 from Organic Manure into Crisphead Lettuce. *Appl Environ Microbiol* 71, 2221–2225. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.5.2221-2225.2005>
- Johansen, A., Knudsen, I., Binnerup, S., Winding, A., Johansen, J., Jensen, L., Andersen, K., Svenning, M., Bonde, T., 2005. Non-target effects of the microbial control agents DR54 and IK726 in soils cropped with barley followed by sugar beet: a greenhouse assessment. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 2225–2239. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.04.004>
- Jones, M.S., Fu, Z., Reganold, J.P., Karp, D.S., Besser, T.E., Tylianakis, J.M., Snyder, W.E., 2019. Organic farming promotes biotic resistance to foodborne human pathogens. *Journal of Applied Ecology* 56, 1117–1127. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13365>
- Jourdan, E., Henry, G., Duby, F., Dommès, J., Barthélemy, J.P., Thonart, P., Ongena, M., 2009. Insights into the Defense-Related Events Occurring in Plant Cells Following Perception of Surfactin-Type Lipopeptide from *Bacillus subtilis*. *MPMI* 22, 456–468. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-4-0456>
- Juszczuk, I.M., Wiktorowska, A., Malusá, E., Rychter, A.M., 2004. Changes in the concentration of phenolic compounds and exudation induced by phosphate deficiency in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Soil* 267, 41–49. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-2569-9>
- Kakkar, A., Nizampatnam, N.R., Kondreddy, A., Pradhan, B.B., Chatterjee, S., 2015. *Xanthomonas campestris* cell–cell signalling molecule DSF (diffusible signal factor) elicits innate immunity in plants and is suppressed by the exopolysaccharide xanthan. *EXBOTJ* 66, 6697–6714. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv377>
- Kaminsky, L.M., Trexler, R.V., Malik, R.J., Hockett, K.L., Bell, T.H., 2019. The Inherent Conflicts in Developing Soil Microbial Inoculants. *Trends in Biotechnology* 37, 140–151. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.11.011>
- Karabelas, A.J., Plakas, K.V., Solomou, E.S., Drossou, V., Sarigiannis, D.A., 2009. Impact of European legislation on marketed pesticides — A view from the standpoint of health impact assessment studies. *Environment International* 35, 1096–1107. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.06.011>
- Karpouzias, D.G., 2021. Assessing the Effects of Pesticides on the Soil Microbial Community: Advances, Standardization of Methods and the Need for a New Regulatory Framework, in: Rodríguez-Cruz, M.S., Sánchez-Martín, M.J. (Eds.), *Pesticides in Soils, The Handbook of Environmental Chemistry*. Springer International Publishing, Cham, pp. 81–105. [https://doi.org/10.1007/978\\_2021\\_797](https://doi.org/10.1007/978_2021_797)
- Kawasaki, A., Dennis, P.G., Forstner, C., Raghavendra, A.K.H., Mathesius, U., Richardson, A.E., Delhaize, E., Gilliam, M., Watt, M., Ryan, P.R., 2021. Manipulating exudate composition from root apices shapes the microbiome throughout the root system. *Plant Physiology* 187, 2279–2295. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab337>

- Kawasaki, A., Donn, S., Ryan, P.R., Mathesius, U., Devilla, R., Jones, A., Watt, M., 2016. Microbiome and Exudates of the Root and Rhizosphere of *Brachypodium distachyon*, a Model for Wheat. PLoS ONE 11, e0164533. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164533>
- Kecskeméti, E., Berkelmann-Löhnertz, B., Reineke, A., 2016. Are Epiphytic Microbial Communities in the Carposphere of Ripening Grape Clusters (*Vitis vinifera* L.) Different between Conventional, Organic, and Biodynamic Grapes? PLoS ONE 11, e0160852. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160852>
- Kemper, K.J., Xia, Y., Lakritz, J., Lal, R. 2021. Health of Soil, Plants, Animals, and People. In: Lal, R. (Ed.), 2021. The soil-human health-nexus, First edition. ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL. ISBN 9780367822736
- Kiers, E.T., Duhamel, M., Beesetty, Y., Mensah, J.A., Franken, O., Verbruggen, E., Fellbaum, C.R., Kowalchuk, G.A., Hart, M.M., Bago, A., Palmer, T.M., West, S.A., Vandenkoornhuys, P., Jansa, J., Bücking, H., 2011. Reciprocal Rewards Stabilize Cooperation in the Mycorrhizal Symbiosis. Science 333, 880–882. <https://doi.org/10.1126/science.1208473>
- Kinnunen, M., Dechesne, A., Proctor, C., Hammes, F., Johnson, D., Quintela-Baluja, M., Graham, D., Daffonchio, D., Fodelianakis, S., Hahn, N., Boon, N., Smets, B.F., 2016. A conceptual framework for invasion in microbial communities. The ISME Journal 10, 2773–2779. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.75>
- Kirubakaran, R., Murugan, A., Shameem, N., Parray, J.A., 2019. Pesticide Residues in the Soil Cause Cross-Resistance Among Soil Bacteria, in: Sayyed, R.Z., Arora, N.K., Reddy, M.S. (Eds.), Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stress Management, Microorganisms for Sustainability. Springer Singapore, Singapore, pp. 205–218. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-6536-2\\_11](https://doi.org/10.1007/978-981-13-6536-2_11)
- Kloepper, J.W., Beauchamp, C.J., 1992. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. Can. J. Microbiol. 38, 1219–1232. <https://doi.org/10.1139/m92-202>
- Kloepper, J.W., Ryu, C.-M., Zhang, S., 2004. Induced Systemic Resistance and Promotion of Plant Growth by *Bacillus* spp. Phytopathology® 94, 1259–1266. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1259>
- Knief, C., Delmotte, N., Chaffron, S., Stark, M., Innerebner, G., Wassmann, R., Von Mering, C., Vorholt, J.A., 2012. Metaproteogenomic analysis of microbial communities in the phyllosphere and rhizosphere of rice. The ISME Journal 6, 1378–1390. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.192>
- Kong, H.G., Kim, B.K., Song, G.C., Lee, S., Ryu, C.-M., 2016. Aboveground Whitefly Infestation-Mediated Reshaping of the Root Microbiota. Front. Microbiol. 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01314>
- Kopecká, R., Kameniarová, M., Černý, M., Brzobohatý, B., Novák, J., 2023. Abiotic Stress in Crop Production. IJMS 24, 6603. <https://doi.org/10.3390/ijms24076603>
- Korenblum, E., Dong, Y., Szymanski, J., Panda, S., Jozwiak, A., Massalha, H., Meir, S., Rogachev, I., Aharoni, A., 2020. Rhizosphere microbiome mediates systemic root metabolite exudation by root-to-root signaling. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 117, 3874–3883. <https://doi.org/10.1073/pnas.1912130117>
- Koskella, B., 2020. The phyllosphere. Current Biology 30, R1143–R1146. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.07.037>

- Krause, A., Ramakumar, A., Bartels, D., Battistoni, F., Bekel, T., Boch, J., Böhm, M., Friedrich, F., Hurek, T., Krause, L., Linke, B., McHardy, A.C., Sarkar, A., Schneiker, S., Syed, A.A., Thauer, R., Vorhölter, F.-J., Weidner, S., Pühler, A., Reinhold-Hurek, B., Kaiser, O., Goesmann, A., 2006. Complete genome of the mutualistic, N<sub>2</sub>-fixing grass endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72. *Nat Biotechnol* 24, 1384–1390. <https://doi.org/10.1038/nbt1243>
- Kubota, H., Senda, S., Nomura, N., Tokuda, H., Uchiyama, H., 2008. Biofilm Formation by Lactic Acid Bacteria and Resistance to Environmental Stress. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 106, 381–386. <https://doi.org/10.1263/jbb.106.381>
- Kumar, A., Rabha, J., Jha, D.K., 2021. Antagonistic activity of lipopeptide-biosurfactant producing *Bacillus subtilis* AKP, against *Colletotrichum capsici*, the causal organism of anthracnose disease of chilli. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 36, 102133. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102133>
- Kumari, S., Varma, A., Tuteja, N., Choudhary, D.K., 2016. Bacterial ACC-deaminase: An Eco-friendly Strategy to Cope Abiotic Stresses for Sustainable Agriculture, in: Choudhary, Devendra K., Varma, A., Tuteja, N. (Eds.), *Plant-Microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture*. Springer Singapore, Singapore, pp. 165–185. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-2854-0\\_8](https://doi.org/10.1007/978-981-10-2854-0_8)
- Kurchenko, I., Patyka, V., Kalinichenko, A., Kopylov, Y., 2023. The genus *Trichoderma* as biocontrol agent of plant pathogens, in: *The Chemical Dialogue Between Plants and Beneficial Microorganisms*. Elsevier, pp. 153–165. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91734-6.00012-0>
- Kurenbach, B., Marjoshi, D., Amábile-Cuevas, C.F., Ferguson, G.C., Godsoe, W., Gibson, P., Heinemann, J.A., 2015. Sublethal Exposure to Commercial Formulations of the Herbicides Dicamba, 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid, and Glyphosate Cause Changes in Antibiotic Susceptibility in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *mBio* 6, e00009-15. <https://doi.org/10.1128/mBio.00009-15>
- Larkin, R.P., 2008. Relative effects of biological amendments and crop rotations on soil microbial communities and soilborne diseases of potato. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1341–1351. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.03.005>
- Larkin, R.P., Honeycutt, C.W., 2006. Effects of Different 3-Year Cropping Systems on Soil Microbial Communities and Rhizoctonia Diseases of Potato. *Phytopathology*® 96, 68–79. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0068>
- Lee, B., Lee, S., Ryu, C.-M., 2012. Foliar aphid feeding recruits rhizosphere bacteria and primes plant immunity against pathogenic and non-pathogenic bacteria in pepper. *Annals of Botany* 110, 281–290. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs055>
- Lee, S.-M., Kong, H.G., Song, G.C., Ryu, C.-M., 2021. Disruption of Firmicutes and Actinobacteria abundance in tomato rhizosphere causes the incidence of bacterial wilt disease. *The ISME Journal* 15, 330–347. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00785-x>
- Legrand, F., Picot, A., Cobo-Díaz, J.F., Chen, W., Le Floch, G., 2017. Challenges facing the biological control strategies for the management of Fusarium Head Blight of cereals caused by *F. graminearum*. *Biological Control* 113, 26–38. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.06.011>

- Lemanceau, P., Barret, M., Mazurier, S., Mondy, S., Pivato, B., Fort, T., Vacher, C., 2017. Plant Communication with Associated Microbiota in the Spermophyte, Rhizosphere and Phyllosphere, in: Advances in Botanical Research. Elsevier, pp. 101–133. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.10.007>
- Lemanceau, P., Blouin, M., Muller, D., Moëgne-Loccoz, Y., 2017. Let the Core Microbiota Be Functional. Trends in Plant Science 22, 583–595. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.04.008>
- Lennon, J.T., Jones, S.E., 2011. Microbial seed banks: the ecological and evolutionary implications of dormancy. Nat Rev Microbiol 9, 119–130. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2504>
- Levy, A., Salas Gonzalez, I., Mittelviehhaus, M., Clingenpeel, S., Herrera Paredes, S., Miao, J., Wang, K., Devescovi, G., Stillman, K., Monteiro, F., Rangel Alvarez, B., Lundberg, D.S., Lu, T.-Y., Lebeis, S., Jin, Z., McDonald, M., Klein, A.P., Feltcher, M.E., Rio, T.G., Grant, S.R., Doty, S.L., Ley, R.E., Zhao, B., Venturi, V., Pelletier, D.A., Vorholt, J.A., Tringe, S.G., Woyke, T., Dangl, J.L., 2018. Genomic features of bacterial adaptation to plants. Nat Genet 50, 138–150. <https://doi.org/10.1038/s41588-017-0012-9>
- Leylaie, S., Zafari, D., 2018. Antiproliferative and Antimicrobial Activities of Secondary Metabolites and Phylogenetic Study of Endophytic *Trichoderma* Species From Vinca Plants. Front. Microbiol. 9, 1484. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01484>
- Li, C., Gao, J., Nan, Z., 2007. Interactions of *Neotyphodium gansuense*, *Achnatherum inebrians*, and plant-pathogenic fungi. Mycological Research 111, 1220–1227. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.08.012>
- Liao, C.-H., Fett, W.F., 2001. Analysis of Native Microflora and Selection of Strains Antagonistic to Human Pathogens on Fresh Produce. Journal of Food Protection 64, 1110–1115. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.8.1110>
- Ligocka, A., Paluszak, Z., 2005. Capability of lactic acid bacteria to inhibit pathogens in sewage sludge subjected to biotechnological processes. Bull. Veter. Inst. Pulawy, 49, 23-27. <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-19344363166&origin=inward&txGid=c6e22ccc29a819cdf1e272f49c63f7d#metrics>
- Liu, Y., Zuo, S., Xu, L., Zou, Y., Song, W., 2012. Study on diversity of endophytic bacterial communities in seeds of hybrid maize and their parental lines. Arch Microbiol 194, 1001–1012. <https://doi.org/10.1007/s00203-012-0836-8>
- Liu, Z., Beskrovnaya, P., Melnyk, R.A., Hossain, S.S., Khorasani, S., O'Sullivan, L.R., Wiesmann, C.L., Bush, J., Richard, J.D., Haney, C.H., 2018. A Genome-Wide Screen Identifies Genes in Rhizosphere-Associated *Pseudomonas* Required to Evade Plant Defenses. mBio 9, e00433-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.00433-18>
- Locatelli, A., Spor, A., Jolivet, C., Piveteau, P., Hartmann, A., 2013. Biotic and Abiotic Soil Properties Influence Survival of *Listeria monocytogenes* in Soil. PLoS ONE 8, e75969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075969>
- Lundberg, D.S., Lebeis, S.L., Paredes, S.H., Yourstone, S., Gehring, J., Malfatti, S., Tremblay, J., Engelbrekton, A., Kunin, V., Rio, T.G.D., Edgar, R.C., Eickhorst, T., Ley, R.E., Hugenholtz, P., Tringe, S.G., Dangl, J.L., 2012. Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. Nature 488, 86–90. <https://doi.org/10.1038/nature11237>
- Lyons, P.C., Plattner, R.D., Bacon, C.W., 1986. Occurrence of Peptide and Clavine Ergot Alkaloids in Tall Fescue Grass. Science 232, 487–489. <https://doi.org/10.1126/science.3008328>

- Madigan, M.T., Bender, K.S., Buckley, D.H., Sattley, W.M., Stahl, D.A., 2022. Brock biology of microorganisms, Sixteenth edition. Global edition. ed. Pearson Education Limited, Harlow, United Kingdom.
- Mahapatra, B., Adak, T., Patil, N.K.B., Pandi G, G.P., Gowda, G.B., Jambhulkar, N.N., Yadav, M.K., Panneerselvam, P., Kumar, U., Munda, S., Jena, M., 2017. Imidacloprid application changes microbial dynamics and enzymes in rice soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 144, 123–130. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.013>
- Malik, M.T., Rehman, A.U., Naqvi, S.A.H., Hasnain, A., Umar, U.U.D., Azeem, H., Shahid, M., Umair, M., 2021. A critical review of research on exploitation of microbial antagonists for the control of bacterial diseases in crop plants. *Pak. J. Phytopathol.* 33, 217–232. <https://doi.org/10.33866/phytopathol.033.01.0669>
- Mamorasulov, B., Davranov, K., 2024. Plant endophytes: diversity and ecology, in: Egamberdieva, D., Parray, J.A and Davranov, K. (eds). *Plant Endophytes and Secondary Metabolites*. Elsevier, pp. 1–23. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-13365-7.00008-7>
- Marchesi, J.R., Ravel, J., 2015. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome* 3, 31, s40168-015-0094–5. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0094-5>
- Markakis, E.A., Tjamos, S.E., Antoniou, P.P., Paplomatas, E.J., Tjamos, E.C., 2016. Biological control of *Verticillium* wilt of olive by *Paenibacillus alvei*, strain K165. *BioControl* 61, 293–303. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9669-0>
- Marschner, P., 2023. Rhizosphere biology, in: Marschner’s Mineral Nutrition of Plants. Elsevier, pp. 587–614. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819773-8.00004-6>
- Marschner, P., Crowley, D., Yang, C.H., 2004. Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type. *Plant and Soil* 261, 199–208. <https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000035569.80747.c5>
- Martín-Sánchez, L., Ariotti, C., Garbeva, P., Vigani, G., 2020. Investigating the effect of belowground microbial volatiles on plant nutrient status: perspective and limitations. *Journal of Plant Interactions* 15, 188–195. <https://doi.org/10.1080/17429145.2020.1776408>
- Marvasi, M., Hochmuth, G.J., Giurcanu, M.C., George, A.S., Noel, J.T., Bartz, J., Teplitski, M., 2013. Factors That Affect Proliferation of Salmonella in Tomatoes Post-Harvest: The Roles of Seasonal Effects, Irrigation Regime, Crop and Pathogen Genotype. *PLoS ONE* 8, e80871. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080871>
- Mathesius, U., Mulders, S., Gao, M., Teplitski, M., Caetano-Anollés, G., Rolfe, B.G., Bauer, W.D., 2003. Extensive and specific responses of a eukaryote to bacterial quorum-sensing signals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 1444–1449. <https://doi.org/10.1073/pnas.262672599>
- Mavrodi, O.V., McWilliams, J.R., Peter, J.O., Berim, A., Hassan, K.A., Elbourne, L.D.H., LeTourneau, M.K., Gang, D.R., Paulsen, I.T., Weller, D.M., Thomashow, L.S., Flynt, A.S., Mavrodi, D.V., 2021. Root Exudates Alter the Expression of Diverse Metabolic, Transport, Regulatory, and Stress Response Genes in Rhizosphere *Pseudomonas*. *Front. Microbiol.* 12, 651282. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.651282>

- Meena, R., Kumar, S., Datta, R., Lal, R., Vijayakumar, V., Brtnicky, M., Sharma, M., Yadav, G., Jhariya, M., Jangir, C., Pathan, S., Dokulilova, T., Pecina, V., Marfo, T., 2020. Impact of Agrochemicals on Soil Microbiota and Management: A Review. *Land* 9, 34. <https://doi.org/10.3390/land9020034>
- Meldau, D.G., Meldau, S., Hoang, L.H., Underberg, S., Wunsche, H., Baldwin, I.T., 2013. Dimethyl Disulfide Produced by the Naturally Associated Bacterium *Bacillus* sp B55 Promotes *Nicotiana attenuata* Growth by Enhancing Sulfur Nutrition. *The Plant Cell* 25, 2731–2747. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.114744>
- Melotto, M., Panchal, S., Roy, D., 2014. Plant innate immunity against human bacterial pathogens. *Front. Microbiol.* 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00411>
- Mendes, L.W., Mendes, R., Raaijmakers, J.M., Tsai, S.M., 2018. Breeding for soil-borne pathogen resistance impacts active rhizosphere microbiome of common bean. *The ISME Journal* 12, 3038–3042. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0234-6>
- Mendes, R., Garbeva, P., Raaijmakers, J.M., 2013. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol Rev* 37, 634–663. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>
- Mhlongo, M.I., Piater, L.A., Madala, N.E., Labuschagne, N., Dubery, I.A., 2018. The Chemistry of Plant–Microbe Interactions in the Rhizosphere and the Potential for Metabolomics to Reveal Signaling Related to Defense Priming and Induced Systemic Resistance. *Front. Plant Sci.* 9, 112. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00112>
- Miceli, A., Settanni, L., 2019. Influence of agronomic practices and pre-harvest conditions on the attachment and development of *Listeria monocytogenes* in vegetables. *Ann Microbiol* 69, 185–199. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-1435-6>
- Millet, Y.A., Danna, C.H., Clay, N.K., Songnuan, W., Simon, M.D., Werck-Reichhart, D., Ausubel, F.M., 2010. Innate Immune Responses Activated in *Arabidopsis* Roots by Microbe-Associated Molecular Patterns. *The Plant Cell* 22, 973–990. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.069658>
- Mitter, B., Pfaffenbichler, N., Flavell, R., Compant, S., Antonielli, L., Petric, A., Berninger, T., Naveed, M., Sheibani-Tezerji, R., Von Maltzahn, G., Sessitsch, A., 2017. A New Approach to Modify Plant Microbiomes and Traits by Introducing Beneficial Bacteria at Flowering into Progeny Seeds. *Front. Microbiol.* 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00011>
- Mohanram, S., Kumar, P., 2019. Rhizosphere microbiome: revisiting the synergy of plant-microbe interactions. *Ann Microbiol* 69, 307–320. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01448-9>
- Mohorović, P., Geldhof, B., Holsteens, K., Rinia, M., Ceusters, J., Van De Poel, B., 2023. Effect of ethylene pretreatment on tomato plant responses to salt, drought, and waterlogging stress. *Plant Direct* 7, e548. <https://doi.org/10.1002/pld3.548>
- Mokoena, M.P., Omatola, C.A., Olaniran, A.O., 2021. Applications of Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins against Food Spoilage Microorganisms and Foodborne Pathogens. *Molecules* 26, 7055. <https://doi.org/10.3390/molecules26227055>

- Mönchgesang, S., Strehmel, N., Schmidt, S., Westphal, L., Taruttis, F., Müller, E., Herklotz, S., Neumann, S., Scheel, D., 2016. Natural variation of root exudates in *Arabidopsis thaliana*-linking metabolomic and genomic data. *Sci Rep* 6, 29033. <https://doi.org/10.1038/srep29033>
- Monnet, V., Juillard, V., Gardan, R., 2014. Peptide conversations in Gram-positive bacteria. *Critical Reviews in Microbiology* 1–13. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.948804>
- Monohon, S.J., Manter, D.K., Vivanco, J.M., 2021. Conditioned soils reveal plant-selected microbial communities that impact plant drought response. *Sci Rep* 11, 21153. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00593-z>
- Mousa, W.K., Shearer, C., Limay-Rios, V., Ettinger, C.L., Eisen, J.A., Raizada, M.N., 2016. Root-hair endophyte stacking in finger millet creates a physicochemical barrier to trap the fungal pathogen *Fusarium graminearum*. *Nat Microbiol* 1, 16167. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.167>
- Moy, M., Belanger, F., Duncan, R., Freehoff, A., Leary, C., Meyer, W., Sullivan, R., White, J.F., Jr. 2000. Identification of Epiphyllous Mycelial Nets on Leaves of Grasses Infected by Clavicipitaceous Endophytes. *Symbiosis* 28, 291-302. Available at: <http://hdl.handle.net/10222/77715>
- Mukherjee, A., Speh, D., Dyck, E., Diez-Gonzalez, F., 2004. Preharvest Evaluation of Coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in Organic and Conventional Produce Grown by Minnesota Farmers. *Journal of Food Protection* 67, 894–900. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.5.894>
- Mukherjee, S., 2022. Impact of Pesticides and Fertilizers on Soil Microbial Diversity, in: *Current Topics in Soil Science*. Springer International Publishing, Cham, pp. 209–214. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-92669-4\\_20](https://doi.org/10.1007/978-3-030-92669-4_20)
- Munoz-Ucos, J., Zwetsloot, M.J., Cuellar-Gempeler, C., Bauerle, T.L., 2021. Spatiotemporal patterns of rhizosphere microbiome assembly: From ecological theory to agricultural application. *Journal of Applied Ecology* 58, 894–904. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13850>
- Murphy, J.F., Zehnder, G.W., Schuster, D.J., Sikora, E.J., Polston, J.E., Kloepper, J.W., 2000. Plant Growth-Promoting Rhizobacterial Mediated Protection in Tomato Against *Tomato mottle virus*. *Plant Disease* 84, 779–784. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.7.779>
- Myresiotis, C.K., Vryzas, Z., Papadopoulou-Mourkidou, E., 2012. Biodegradation of soil-applied pesticides by selected strains of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and their effects on bacterial growth. *Biodegradation* 23, 297–310. <https://doi.org/10.1007/s10532-011-9509-6>
- Nannipieri, P., Landi, L., 2000. Soil Enzymes, p. C-129. In: Sumner, M.E. (edr.), 2000. *Handbook of soil science*. CRC press, Boca Raton (Fla.). ISBN: 978-0-8493-3136-7.
- Neumann, G., Ludewig, U., 2023. Rhizosphere chemistry influencing plant nutrition, in: *Marschner’s Mineral Nutrition of Plants*. Elsevier, pp. 545–585. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819773-8.00013-7>
- Nieder, R., Benbi, D.K., Reichl, F.X., 2018. Soil as a Transmitter of Human Pathogens, in: *Soil Components and Human Health*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 723–827. [https://doi.org/10.1007/978-94-024-1222-2\\_13](https://doi.org/10.1007/978-94-024-1222-2_13)
- Nurfarahin, A.H., Mohamed, M.S., Phang, L.Y., 2018. Culture Medium Development for Microbial-Derived Surfactants Production—An Overview. *Molecules* 23, 1049. <https://doi.org/10.3390/molecules23051049>

- O'Banion, B.S., O'Neal, L., Alexandre, G., Lebeis, S.L., 2020. Bridging the Gap Between Single-Strain and Community-Level Plant-Microbe Chemical Interactions. *MPMI* 33, 124–134. <https://doi.org/10.1094/MPMI-04-19-0115-CR>
- Olanrewaju, O.S., Glick, B.R., Babalola, O.O., 2017. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World J Microbiol Biotechnol* 33, 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- Oldroyd, G.E.D., 2013. Speak, friend, and enter: signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. *Nat Rev Microbiol* 11, 252–263. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2990>
- Ongena, M., Jacques, P., 2008. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology* 16, 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.009>
- Ongena, M., Jourdan, E., Adam, A., Paquot, M., Brans, A., Joris, B., Arpigny, J., Thonart, P., 2007. Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. *Environmental Microbiology* 9, 1084–1090. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01202.x>
- Ortiz-Castro, R., Díaz-Pérez, C., Martínez-Trujillo, M., Del Río, R.E., Campos-García, J., López-Bucio, J., 2011. Transkingdom signaling based on bacterial cyclodipeptides with auxin activity in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 7253–7258. <https://doi.org/10.1073/pnas.1006740108>
- Palmer, A.G., Senechal, A.C., Mukherjee, A., Ané, J.-M., Blackwell, H.E., 2014. Plant Responses to Bacterial *N*-Acyl L -Homoserine Lactones are Dependent on Enzymatic Degradation to L -Homoserine. *ACS Chem. Biol.* 9, 1834–1845. <https://doi.org/10.1021/cb500191a>
- Pantigoso, H.A., Manter, D.K., Vivanco, J.M., 2020a. Differential Effects of Phosphorus Fertilization on Plant Uptake and Rhizosphere Microbiome of Cultivated and Non-cultivated Potatoes. *Microb Ecol* 80, 169–180. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01486-w>
- Pantigoso, H.A., Newberger, D., Vivanco, J.M., 2022. The rhizosphere microbiome: Plant–microbial interactions for resource acquisition. *Journal of Applied Microbiology* 133, 2864–2876. <https://doi.org/10.1111/jam.15686>
- Pantigoso, H.A., Yuan, J., He, Y., Guo, Q., Vollmer, C., Vivanco, J.M., 2020b. Role of root exudates on assimilation of phosphorus in young and old *Arabidopsis thaliana* plants. *PLoS ONE* 15, e0234216. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234216>
- Paramithiotis, S., Drosinos, E.H., Skandamis, P.N., 2017. Food recalls and warnings due to the presence of foodborne pathogens — a focus on fresh fruits, vegetables, dairy and eggs. *Current Opinion in Food Science* 18, 71–75. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.11.007>
- Pasaribu, A., Mohamad, R.B., Hashim, A., Rahman, Z. A., Omar, D., Morshed, Md.M. 2013. Effect of herbicide on sporulation and infectivity of vesicular arbuscular mycorrhizal (*Glomus mosseae*) symbiosis with peanut plant. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 23(6): 1671-1678. Available at: <https://thejaps.org.pk/docs/v-23-6/30.pdf>
- Pascale, A., Proietti, S., Pantelides, I.S., Stringlis, I.A., 2020. Modulation of the Root Microbiome by Plant Molecules: The Basis for Targeted Disease Suppression and Plant Growth Promotion. *Front. Plant Sci.* 10, 1741. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01741>

- Paungfoo-Lonhienne, C., Rentsch, D., Robatzek, S., Webb, R.I., Sagulenko, E., Näsholm, T., Schmidt, S., Lonhienne, T.G.A., 2010. Turning the Table: Plants Consume Microbes as a Source of Nutrients. *PLoS ONE* 5, e11915. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011915>
- Paungfoo-Lonhienne, C., Schmidt, S., Webb, R.I., Lonhienne, T.G.A., 2013. Rhizophagy—A New Dimension of Plant–Microbe Interactions, in: De Bruijn, F.J. (Ed.), *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*. Wiley, pp. 1199–1207. <https://doi.org/10.1002/9781118297674.ch115>
- Pausch, J., Kuzyakov, Y., 2018. Carbon input by roots into the soil: Quantification of rhizodeposition from root to ecosystem scale. *Global Change Biology* 24, 1–12. <https://doi.org/10.1111/gcb.13850>
- Pearse, S.J., Veneklaas, E.J., Cawthray, G., Bolland, M.D.A., Lambers, H., 2007. Carboxylate composition of root exudates does not relate consistently to a crop species' ability to use phosphorus from aluminium, iron or calcium phosphate sources. *New Phytologist* 173, 181–190. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01897.x>
- Pedrinho, A., Karas, P.A., Kanellopoulos, A., Feray, E., Korman, I., Wittenberg, G., Ramot, O., Karpouzas, D.G., 2024. The effect of natural products used as pesticides on the soil microbiota: OECD 216 nitrogen transformation test fails to identify effects that were detected *via* Q-PCR microbial abundance measurement. *Pest Management Science* 80, 2563–2576. <https://doi.org/10.1002/ps.7961>
- Peiffer, J.A., Spor, A., Koren, O., Jin, Z., Tringe, S.G., Dangl, J.L., Buckler, E.S., Ley, R.E., 2013. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 6548–6553. <https://doi.org/10.1073/pnas.1302837110>
- Pérez-Jaramillo, J.E., Carrión, V.J., Bosse, M., Ferrão, L.F.V., De Hollander, M., Garcia, A.A.F., Ramírez, C.A., Mendes, R., Raaijmakers, J.M., 2017. Linking rhizosphere microbiome composition of wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* to genotypic and root phenotypic traits. *The ISME Journal* 11, 2244–2257. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.85>
- Pérez-Jaramillo, J.E., De Hollander, M., Ramírez, C.A., Mendes, R., Raaijmakers, J.M., Carrión, V.J., 2019. Deciphering rhizosphere microbiome assembly of wild and modern common bean (*Phaseolus vulgaris*) in native and agricultural soils from Colombia. *Microbiome* 7, 114. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0727-1>
- Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., 2015. Induced Disease Resistance, in: Lugtenberg, B. (Ed.), *Principles of Plant-Microbe Interactions*. Springer International Publishing, Cham, pp. 123–133. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3_14)
- Pieterse, C.M.J., Zamioudis, C., Berendsen, R.L., Weller, D.M., Van Wees, S.C.M., Bakker, P.A.H.M., 2014. Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 52, 347–375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Pradhan, A.K., Pang, H., Mishra, A., 2019. Foodborne Disease Outbreaks Associated With Organic Foods: Animal and Plant Products, in: *Safety and Practice for Organic Food*. Elsevier, pp. 135–150. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812060-6.00006-4>
- Prashar, P., Shah, S., 2016. Impact of Fertilizers and Pesticides on Soil Microflora in Agriculture, in: Lichtfouse, E. (Ed.), *Sustainable Agriculture Reviews, Sustainable Agriculture Reviews*. Springer International Publishing, Cham, pp. 331–361. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7_8)

- Preece, C., Peñuelas, J., 2020. A Return to the Wild: Root Exudates and Food Security. *Trends in Plant Science* 25, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.09.010>
- Prieto, P., Schilirò, E., Maldonado-González, M.M., Valderrama, R., Barroso-Albarracín, J.B., Mercado-Blanco, J., 2011. Root Hairs Play a Key Role in the Endophytic Colonization of Olive Roots by *Pseudomonas* spp. with Biocontrol Activity. *Microb Ecol* 62, 435–445. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9827-6>
- Puglisi, E., Vasileiadis, S., Demiris, K., Bassi, D., Karpouzas, D.G., Capri, E., Cocconcelli, P.S., Trevisan, M., 2012. Impact of Fungicides on the Diversity and Function of Non-target Ammonia-Oxidizing Microorganisms Residing in a Litter Soil Cover. *Microb Ecol* 64, 692–701. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0064-4>
- Qin, Y., Wang, Y., He, Y., Zhang, Y., She, Q., Chai, Y., Li, P., Shang, Q., 2019. Characterization of Subtilin L-Q11, a Novel Class I Bacteriocin Synthesized by *Bacillus subtilis* L-Q11 Isolated From Orchard Soil. *Front. Microbiol.* 10, 484. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00484>
- Rangjaroen, C., Sungthong, R., Rerkasem, B., Teaumroong, N., Noisangiam, R., Lumyong, S., 2017. Untapped Endophytic Colonization and Plant Growth-Promoting Potential of the Genus *Novosphingobium* to Optimize Rice Cultivation. *Microbes and environments* 32, 84–87. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME16112>
- Rao, M.A., Scelza, R., Acevedo, F., Diez, M.C., Gianfreda, L., 2014. Enzymes as useful tools for environmental purposes. *Chemosphere* 107, 145–162. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.059>
- Rauf, M., Awais, M., Ud-Din, A., Ali, K., Gul, H., Rahman, M.M., Hamayun, M., Arif, M., 2021. Molecular Mechanisms of the 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid (ACC) Deaminase Producing *Trichoderma asperellum* MAP1 in Enhancing Wheat Tolerance to Waterlogging Stress. *Front. Plant Sci.* 11, 614971. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.614971>
- Reinhold-Hurek, B., Büniger, W., Burbano, C.S., Sabale, M., Hurek, T., 2015. Roots Shaping Their Microbiome: Global Hotspots for Microbial Activity. *Annu. Rev. Phytopathol.* 53, 403–424. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102342>
- Reinhold-Hurek, B., Maes, T., Gemmer, S., Van Montagu, M., Hurek, T., 2006. An Endoglucanase Is Involved in Infection of Rice Roots by the Not-Cellulose-Metabolizing Endophyte *Azoarcus* Sp. Strain BH72. *MPMI* 19, 181–188. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0181>
- Ren, Y., Xun, W., Yan, H., Ma, A., Xiong, W., Shen, Q., Zhang, R., 2020. Functional compensation dominates the assembly of plant rhizospheric bacterial community. *Soil Biology and Biochemistry* 150, 107968. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107968>
- Riah, W., Laval, K., Laroche-Ajzenberg, E., Mougín, C., Latour, X., Trinsoutrot-Gattin, I., 2014. Effects of pesticides on soil enzymes: a review. *Environ Chem Lett* 12, 257–273. <https://doi.org/10.1007/s10311-014-0458-2>
- Richardson, M.D., Chapman, G.W., Hoveland, C.S., Bacon, C.W., 1992. Sugar Alcohols in Endophyte-Infected Tall Fescue Under Drought. *Crop Science* 32, 1060–1061. <https://doi.org/10.2135/cropsci1992.0011183X003200040045x>
- Rizaludin, M.S., Stopnisek, N., Raaijmakers, J.M., Garbeva, P., 2021. The Chemistry of Stress: Understanding the ‘Cry for Help’ of Plant Roots. *Metabolites* 11, 357. <https://doi.org/10.3390/metabo11060357>

- Rizaludin, M.S., Stopnisek, N., Raaijmakers, J.M., Garbeva, P., 2021. The Chemistry of Stress: Understanding the ‘Cry for Help’ of Plant Roots. *Metabolites* 11, 357. <https://doi.org/10.3390/metabo11060357>
- Rodríguez, C.E., Mitter, B., Barret, M., Sessitsch, A., Compant, S., 2018. Commentary: seed bacterial inhabitants and their routes of colonization. *Plant Soil* 422, 129–134. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3368-9>
- Rodriguez, R.J., White Jr, J.F., Arnold, A.E., Redman, R.S., 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist* 182, 314–330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>
- Rojas, A.M., Rios, J.E.G.D.L., Saux, M.F.-L., Jimenez, P., Reche, P., Bonneau, S., Sutra, L., Mathieu-Daudé, F., McClelland, M., 2004. *Erwinia toletana* sp. nov., associated with *Pseudomonas savastanoi*-induced tree knots. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54, 2217–2222. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02924-0>
- Rolfé, S.A., Griffiths, J., Ton, J., 2019. Crying out for help with root exudates: adaptive mechanisms by which stressed plants assemble health-promoting soil microbiomes. *Current Opinion in Microbiology* 49, 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.003>
- Roman, D.L., Voiculescu, D.I., Filip, M., Ostafe, V., Isvoran, A., 2021. Effects of Triazole Fungicides on Soil Microbiota and on the Activities of Enzymes Found in Soil: A Review. *Agriculture* 11, 893. <https://doi.org/10.3390/agriculture11090893>
- Rousidou, C., Papadopoulou, E.S., Kortsinidou, M., Giannakou, I.O., Singh, B.K., Menkissoglu-Spiroudi, U., Karpouzias, D.G., 2013. Bio-pesticides: Harmful or harmless to ammonia oxidizing microorganisms? The case of a *Paecilomyces lilacinus*-based nematicide. *Soil Biology and Biochemistry* 67, 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.014>
- Rüger, L., Feng, K., Dumack, K., Freudenthal, J., Chen, Y., Sun, R., Wilson, M., Yu, P., Sun, B., Deng, Y., Hochholdinger, F., Vetterlein, D., Bonkowski, M., 2021. Assembly Patterns of the Rhizosphere Microbiome Along the Longitudinal Root Axis of Maize (*Zea mays* L.). *Front. Microbiol.* 12, 614501. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.614501>
- Ryu, C.-M., Farag, M.A., Hu, C.-H., Reddy, M.S., Wei, H.-X., Paré, P.W., Kloepper, J.W., 2003. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 4927–4932. <https://doi.org/10.1073/pnas.0730845100>
- Ryu, M.-H., Zhang, J., Toth, T., Khokhani, D., Geddes, B.A., Mus, F., Garcia-Costas, A., Peters, J.W., Poole, P.S., Ané, J.-M., Voigt, C.A., 2019. Control of nitrogen fixation in bacteria that associate with cereals. *Nat Microbiol* 5, 314–330. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0631-2>
- Sadykova, V.S., Kurakov, A.V., Kuvarina, A.E., Rogozhin, E.A., 2015. Antimicrobial activity of fungi strains of *Trichoderma* from Middle Siberia. *Appl Biochem Microbiol* 51, 355–361. <https://doi.org/10.1134/S000368381503014X>
- Shaharoona, B., Arshad, M., Zahir, Z.A., 2006a. Effect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase on maize (*Zea mays* L.) growth under axenic conditions and on nodulation in mung bean (*Vigna radiata* L.). *Lett Appl Microbiol* 42, 155–159. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01827.x>

- Shaharoon, B., Arshad, M., Zahir, Z., Khalid, A., 2006β. Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 2971–2975. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.03.024>
- Sahu, M., Adak, T., Patil, N.B., Pandi G, G.P., Gowda, G.B., Yadav, M.K., Annamalai, M., Golive, P., Rath, P.C., Jena, M., 2019. Dissipation of chlorantraniliprole in contrasting soils and its effect on soil microbes and enzymes. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 180, 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.024>
- Salomon, M.J., Demarmels, R., Watts-Williams, S.J., McLaughlin, M.J., Kafle, A., Ketelsen, C., Soupir, A., Bücking, H., Cavagnaro, T.R., Van Der Heijden, M.G.A., 2022. Global evaluation of commercial arbuscular mycorrhizal inoculants under greenhouse and field conditions. *Applied Soil Ecology* 169, 104225. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104225>
- Samad, A., Trognitz, F., Compant, S., Antonielli, L., Sessitsch, A., 2017. Shared and host-specific microbiome diversity and functioning of grapevine and accompanying weed plants. *Environmental Microbiology* 19, 1407–1424. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13618>
- Samaddar, S., Karp, D.S., Schmidt, R., Devarajan, N., McGarvey, J.A., Pires, A.F.A., Scow, K., 2021. Role of soil in the regulation of human and plant pathogens: soils' contributions to people. *Phil. Trans. R. Soc. B* 376, 20200179. <https://doi.org/10.1098/rstb.2020.0179>
- Sánchez-Cañizares, C., Jorrín, B., Poole, P.S., Tkacz, A., 2017. Understanding the holobiont: the interdependence of plants and their microbiome. *Current Opinion in Microbiology* 38, 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.07.001>
- Sánchez-López, Á.M., Baslam, M., De Diego, N., Muñoz, F.J., Bahaji, A., Almagro, G., Ricarte-Bermejo, A., García-Gómez, P., Li, J., Humplík, J.F., Novák, O., Spíchal, L., Doležal, K., Baroja-Fernández, E., Pozueta-Romero, J., 2016. Volatile compounds emitted by diverse phytopathogenic microorganisms promote plant growth and flowering through cytokinin action. *Plant Cell & Environment* 39, 2592–2608. <https://doi.org/10.1111/pce.12759>
- Santamaría, J., Toranzos, G.A., 2003. Enteric pathogens and soil: a short review. *Int Microbiol* 6, 5–9. <https://doi.org/10.1007/s10123-003-0096-1>
- Saraf, M., Jha, C.K., Patel, D., 2010. The Role of ACC Deaminase Producing PGPR in Sustainable Agriculture, in: Maheshwari, D.K. (Ed.), *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*, Microbiology Monographs. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 365–385. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_16)
- Sarniguet, A., Lucas, P., Lucas, M., Samson, R., 1992. Soil conduciveness to take-all of wheat: Influence of the nitrogen fertilizers on the structure of populations of fluorescent pseudomonads. *Plant Soil* 145, 29–36. <https://doi.org/10.1007/BF00009538>
- Sasse, J., Martinoia, E., Northen, T., 2018. Feed Your Friends: Do Plant Exudates Shape the Root Microbiome? *Trends in Plant Science* 23, 25–41. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.09.003>
- Scherlach, K., Hertweck, C., 2018. Mediators of mutualistic microbe–microbe interactions. *Nat. Prod. Rep.* 35, 303–308. <https://doi.org/10.1039/C7NP00035A>

- Schierstaedt, J., Grosch, R., Schikora, A., 2019. Agricultural production systems can serve as reservoir for human pathogens. *FEMS Microbiology Letters* 366, fnaa016. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa016>
- Schlatter, D., Kinkel, L., Thomashow, L., Weller, D., Paulitz, T., 2017. Disease Suppressive Soils: New Insights from the Soil Microbiome. *Phytopathology* 107, 1284–1297. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-17-0111-RVW>
- Schmidt, J.E., Mazza Rodrigues, J.L., Brisson, V.L., Kent, A., Gaudin, A.C.M., 2020. Impacts of directed evolution and soil management legacy on the maize rhizobiome. *Soil Biology and Biochemistry* 145, 107794. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107794>
- Schulz-Bohm, K., Martín-Sánchez, L., Garbeva, P., 2017. Microbial Volatiles: Small Molecules with an Important Role in Intra- and Inter-Kingdom Interactions. *Front. Microbiol.* 8, 2484. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02484>
- Schulz, B., Boyle, C. 2006. What are endophytes? In: Schulz, B.J.E., Boyle, C.J.C., Sieber, T.N. (Eds.), 2006. *Microbial root endophytes*, Soil biology. Springer, Berlin.
- Schulz, B., Boyle, C., Draeger, S., Römmert, A.-K., Krohn, K., 2002. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research* 106, 996–1004. <https://doi.org/10.1017/S0953756202006342>
- Sessitsch, A., Hardoim, P., Döring, J., Weilharter, A., Krause, A., Woyke, T., Mitter, B., Hauberg-Lotte, L., Friedrich, F., Rahalkar, M., Hurek, T., Sarkar, A., Bodrossy, L., Van Overbeek, L., Brar, D., Van Elsas, J.D., Reinhold-Hurek, B., 2012. Functional Characteristics of an Endophyte Community Colonizing Rice Roots as Revealed by Metagenomic Analysis. *MPMI* 25, 28–36. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0204>
- Shaharoon, B., Arshad, M., Zahir, Z., Khalid, A., 2006β. Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 2971–2975. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.03.024>
- Shaharoon, B., Arshad, M., Zahir, Z.A., 2006α. Effect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase on maize (*Zea mays* L.) growth under axenic conditions and on nodulation in mung bean (*Vigna radiata* L.). *Lett Appl Microbiol* 42, 155–159. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01827.x>
- Shahid, M., Khan, M.S., 2022. Ecotoxicological implications of residual pesticides to beneficial soil bacteria: A review. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 188, 105272. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105272>
- Shrestha, A., Grimm, M., Ojiro, I., Krumwiede, J., Schikora, A., 2020. Impact of Quorum Sensing Molecules on Plant Growth and Immune System. *Front. Microbiol.* 11, 1545. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01545>
- Shulse, C.N., Chovatia, M., Agosto, C., Wang, G., Hamilton, M., Deutsch, S., Yoshikuni, Y., Blow, M.J., 2019. Engineered Root Bacteria Release Plant-Available Phosphate from Phytate. *Appl Environ Microbiol* 85, e01210-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01210-19>
- Shurigin, V., Alimov, J., Davranov, K., Gulyamova, T., Egamberdieva, D., 2022. The diversity of bacterial endophytes from *Iris pseudacorus* L. and their plant beneficial traits. *Current Research in Microbial Sciences* 3, 100133. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100133>
- Silva, R.M., Canellas, L.P., 2022. Organic matter in the pest and plant disease control: a meta-analysis. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 9, 70. <https://doi.org/10.1186/s40538-022-00332-0>

- Sim, J.X.F., Doolette, C.L., Vasileiadis, S., Drigo, B., Wyrsh, E.R., Djordjevic, S.P., Donner, E., Karpouzas, D.G., Lombi, E., 2022. Pesticide effects on nitrogen cycle related microbial functions and community composition. *Science of The Total Environment* 807, 150734. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150734>
- Sim, J.X.F., Drigo, B., Doolette, C.L., Vasileiadis, S., Karpouzas, D.G., Lombi, E., 2022. Impact of twenty pesticides on soil carbon microbial functions and community composition. *Chemosphere* 307, 135820. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135820>
- Simoglou, K.B., Roditakis, E., 2022. Consumers' Benefit—Risk Perception on Pesticides and Food Safety—A Survey in Greece. *Agriculture* 12, 192. <https://doi.org/10.3390/agriculture12020192>
- Simoglou, K.B., Skarpa, P.El., Roditakis, E., 2023. Pesticide Safety in Greek Plant Foods from the Consumer Perspective: The Importance of Reliable Information. *Agrochemicals* 2, 484–502. <https://doi.org/10.3390/agrochemicals2040027>
- Singh, G., Wright, D., 2002. In vitro studies on the effects of herbicides on the growth of rhizobia. *Lett Appl Microbiol* 35, 12–16. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2002.01117.x>
- Singh, S., Gupta, R., Kumari, M., Sharma, S., 2015α. Nontarget effects of chemical pesticides and biological pesticide on rhizospheric microbial community structure and function in *Vigna radiata*. *Environ Sci Pollut Res* 22, 11290–11300. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4341-x>
- Singh, S., Gupta, R., Sharma, S., 2015β. Effects of chemical and biological pesticides on plant growth parameters and rhizospheric bacterial community structure in *Vigna radiata*. *Journal of Hazardous Materials* 291, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.053>
- Singh, U., Walvekar, V.A., Sharma, S., 2020. Microbiome as Sensitive Markers for Risk Assessment of Pesticides, in: Srivastava, P.K., Singh, V.P., Singh, A., Tripathi, D.K., Singh, S., Prasad, S.M., Chauhan, D.K. (Eds.), *Pesticides in Crop Production*. Wiley, pp. 89–108. <https://doi.org/10.1002/9781119432241.ch6>
- Snelders, N.C., Rovenich, H., Petti, G.C., Rocafort, M., Van Den Berg, G.C.M., Vorholt, J.A., Mesters, J.R., Seidl, M.F., Nijland, R., Thomma, B.P.H.J., 2020. Microbiome manipulation by a soil-borne fungal plant pathogen using effector proteins. *Nat. Plants* 6, 1365–1374. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-00799-5>
- Snook, M.E., Mitchell, T., Hinton, D.M., Bacon, C.W., 2009. Isolation and Characterization of Leu<sup>7</sup>-Surfactin from the Endophytic Bacterium *Bacillus mojavensis* RRC 101, a Biocontrol Agent for *Fusarium verticillioides*. *J. Agric. Food Chem.* 57, 4287–4292. <https://doi.org/10.1021/jf900164h>
- Solomon, E.B., Yaron, S., Matthews, K.R., 2002. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from Contaminated Manure and Irrigation Water to Lettuce Plant Tissue and Its Subsequent Internalization. *Appl Environ Microbiol* 68, 397–400. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.1.397-400.2002>
- Song, C., Zhu, F., Carrión, V.J., Cordovez, V., 2020. Beyond Plant Microbiome Composition: Exploiting Microbial Functions and Plant Traits via Integrated Approaches. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8, 896. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00896>
- Spatafora, J.W., Sung, G. -H., Sung, J. -M., Hywel-Jones, N.L., White, J.F., 2007. Phylogenetic evidence for an animal pathogen origin of ergot and the grass endophytes. *Molecular Ecology* 16, 1701–1711. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03225.x>

- Stergiopoulos, I., De Wit, P.J.G.M., 2009. Fungal Effector Proteins. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47, 233–263. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.112408.132637>
- Steven, B., Huntley, R.B., Zeng, Q., 2018. The Influence of Flower Anatomy and Apple Cultivar on the Apple Flower Phytobiome. *Phytobiomes Journal* 2, 171–179. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-03-18-0015-R>
- Stone, J.K., Bacon, C.W., White, J.F., 2000. An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: Bacon, C.W., White, J.F. (Eds.), *Microbial Endophytes*. Marcel Dekker Inc, New York, pp. 3-29. Available at: [https://www.researchgate.net/publication/285798002\\_An\\_overview\\_of\\_endophytic\\_microbes/link/5730f8b108ae6cca19a1f936/download?tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIiwicGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIn19](https://www.researchgate.net/publication/285798002_An_overview_of_endophytic_microbes/link/5730f8b108ae6cca19a1f936/download?tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIiwicGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIn19)
- Stopnisek, N., Shade, A., 2021. Persistent microbiome members in the common bean rhizosphere: an integrated analysis of space, time, and plant genotype. *The ISME Journal* 15, 2708–2722. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00955-5>
- Storck, V., Nikolaki, S., Perruchon, C., Chabanis, C., Sacchi, A., Pertile, G., Baguelin, C., Karas, P.A., Spor, A., Devers-Lamrani, M., Papadopoulou, E.S., Sibourg, O., Malandain, C., Trevisan, M., Ferrari, F., Karpouzas, D.G., Tsiamis, G., Martin-Laurent, F., 2018. Lab to Field Assessment of the Ecotoxicological Impact of Chlorpyrifos, Isoproturon, or Tebuconazole on the Diversity and Composition of the Soil Bacterial Community. *Front. Microbiol.* 9, 1412. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01412>
- Strandberg, M., Scott-Fordsmand, J.J., 2004. Effects of pendimethalin at lower trophic levels—a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57, 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.07.010>
- Strawn, D., Bohn, H.L., O'Connor, G.A., 2020. *Soil chemistry*, Fifth edition. ed. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ. ISBN 9781119515159
- Stringlis, I.A., Yu, K., Feussner, K., De Jonge, R., Van Bentum, S., Van Verk, M.C., Berendsen, R.L., Bakker, P.A.H.M., Feussner, I., Pieterse, C.M.J., 2018. MYB72-dependent coumarin exudation shapes root microbiome assembly to promote plant health. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115. <https://doi.org/10.1073/pnas.1722335115>
- Suciu, N., Vasileiadis, S., Puglisi, E., Pertile, G., Tourna, M., Karas, P.A., Papolla, A., Ferrarini, A., Sulowic, S., Fornasier, F., Lucini, L., Karpouzas, D.G., Trevisan, M., 2019. Azadirachtin and trifloxystrobin had no inhibitory effects on key soil microbial functions even at high dose rates. *Applied Soil Ecology* 137, 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.01.016>
- Sun, B., Chen, X., Zhang, X., Liang, A., Whalen, J.K., McLaughlin, N.B., 2020. Greater fungal and bacterial biomass in soil large macropores under no-tillage than mouldboard ploughing. *European Journal of Soil Biology* 97, 103155. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2020.103155>
- Syed Ab Rahman, S.F., Singh, E., Pieterse, C.M.J., Schenk, P.M., 2018. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science* 267, 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.11.012>
- Tadych, M., Vorsa, N., Wang, Y., Bergen, M.S., Johnson-Cicalese, J., Polashock, J.J., White, J.F., 2015. Interactions between cranberries and fungi: the proposed function of organic acids in virulence suppression of fruit rot fungi. *Front. Microbiol.* 6, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00835>

- Taghavi, S., Garafola, C., Monchy, S., Newman, L., Hoffman, A., Weyens, N., Barac, T., Vangronsveld, J., Van Der Lelie, D., 2009. Genome Survey and Characterization of Endophytic Bacteria Exhibiting a Beneficial Effect on Growth and Development of Poplar Trees. *Appl Environ Microbiol* 75, 748–757. <https://doi.org/10.1128/AEM.02239-08>
- Tanaka, K., Ishihara, A., Nakajima, H., 2014. Isolation of *anteiso* -C 17 , *iso* -C 17 , *iso* -C 16 , and *iso* -C 15 Bacillomycin D from *Bacillus amyloliquefaciens* SD-32 and Their Antifungal Activities against Plant Pathogens. *J. Agric. Food Chem.* 62, 1469–1476. <https://doi.org/10.1021/jf404531t>
- Teixeira, P.J.P., Colaianni, N.R., Fitzpatrick, C.R., Dangl, J.L., 2019. Beyond pathogens: microbiota interactions with the plant immune system. *Current Opinion in Microbiology* 49, 7–17. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.08.003>
- Teixeira, P.J.P., Colaianni, N.R., Fitzpatrick, C.R., Dangl, J.L., 2019. Beyond pathogens: microbiota interactions with the plant immune system. *Current Opinion in Microbiology* 49, 7–17. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.08.003>
- Thomas, P., Sekhar, A.C., 2014. Live cell imaging reveals extensive intracellular cytoplasmic colonization of banana by normally non-cultivable endophytic bacteria. *AoB PLANTS* 6:plu002. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plu002>
- Torres, M.S., White, J.F., 2009. Clavicipitaceae: Free-Living and Saprotophs to Plant Endophytes, in: *Encyclopedia of Microbiology*. Elsevier, pp. 422–430. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00329-1>
- Torres, M.S., White, J.F., 2009. Clavicipitaceae: Free-Living and Saprotophs to Plant Endophytes, in: *Encyclopedia of Microbiology*. Elsevier, pp. 422–430. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00329-1>
- Tran, T.D., Del Cid, C., Hnasko, R., Gorski, L., McGarvey, J.A., 2020. *Bacillus amyloliquefaciens* ALB65 Inhibits the Growth of *Listeria monocytogenes* on Cantaloupe Melons. *Appl Environ Microbiol* 87, e01926-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.01926-20>
- Trivedi, P., Anderson, I.C., Singh, B.K., 2013. Microbial modulators of soil carbon storage: integrating genomic and metabolic knowledge for global prediction. *Trends in Microbiology* 21, 641–651. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.09.005>
- Trivedi, P., Leach, J.E., Tringe, S.G., Sa, T., Singh, B.K., 2020. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nat Rev Microbiol* 18, 607–621. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>
- Truong, H., Garmyn, D., Gal, L., Fournier, C., Sevellec, Y., Jeandroz, S., Piveteau, P., 2021. Plants as a realized niche for *Listeria monocytogenes*. *MicrobiologyOpen* 10, e1255. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1255>
- Tsolakidou, M.-D., Stringlis, I.A., Fanega-Sleziak, N., Papageorgiou, S., Tsalakou, A., Pantelides, I.S., 2019. Rhizosphere-enriched microbes as a pool to design synthetic communities for reproducible beneficial outputs. *FEMS Microbiology Ecology* fiz138. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz138>
- Tsui, M.T.K., Chu, L.M., 2003. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere* 52, 1189–1197. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00306-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00306-0)

- van Agtmaal, M., Van Os, G.J., Hol, W.H.G., Hundscheid, M.P.J., Runia, W.T., Hordijk, C.A., De Boer, W., 2015. Legacy effects of anaerobic soil disinfestation on soil bacterial community composition and production of pathogen-suppressing volatiles. *Front. Microbiol.* 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00701>
- Van Elsas, J.D., Chiurazzi, M., Mallon, C.A., Elhottová, D., Křišťůfek, V., Salles, J.F., 2012. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 1159–1164. <https://doi.org/10.1073/pnas.1109326109>
- Vandenkoornhuysen P, Quaiser A, Duhamel M, Le Van A, Dufresne A. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytol* 2015;206 (4):1196–206. <https://doi.org/10.1111/nph.2015.206.issue-410.1111/nph.13312>
- Venturi, V., Keel, C., 2016. Signaling in the Rhizosphere. *Trends in Plant Science* 21, 187–198. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.005>
- Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255, 571–586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>
- Vidovic, S., Block, H.C., Korber, D.R., 2007. Effect of soil composition, temperature, indigenous microflora, and environmental conditions on the survival of *Escherichia coli* O157:H7. *Can. J. Microbiol.* 53, 822–829. <https://doi.org/10.1139/W07-041>
- Viterbo, A., Landau, U., Kim, S., Chernin, L., Chet, I., 2010. Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203: ACC deaminase characterization in *Trichoderma*. *FEMS Microbiology Letters* 305, 42–48. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.01910.x>
- Vogel, E., Donat, M.G., Alexander, L.V., Meinshausen, M., Ray, D.K., Karoly, D., Meinshausen, N., Frieler, K., 2019. The effects of climate extremes on global agricultural yields. *Environ. Res. Lett.* 14, 054010. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab154b>
- Voges, M.J.E.E., Bai, Y., Schulze-Lefert, P., Sattely, E.S., 2019. Plant-derived coumarins shape the composition of an *Arabidopsis* synthetic root microbiome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 116, 12558–12565. <https://doi.org/10.1073/pnas.1820691116>
- Vorholt, J.A., 2012. Microbial life in the phyllosphere. *Nat Rev Microbiol* 10, 828–840. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2910>
- Vorholt, J.A., Vogel, C., Carlström, C.I., Müller, D.B., 2017. Establishing Causality: Opportunities of Synthetic Communities for Plant Microbiome Research. *Cell Host & Microbe* 22, 142–155. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.07.004>
- Vriezen, W.H., Hulzink, R., Mariani, C., Voeseek, L.A.C.J., 1999. 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Oxidase Activity Limits Ethylene Biosynthesis in *Rumex palustris* during Submergence. *Plant Physiology* 121, 189–196. <https://doi.org/10.1104/pp.121.1.189>
- Vryzas, Z., 2016. The Plant as Metaorganism and Research on Next-Generation Systemic Pesticides – Prospects and Challenges. *Front. Microbiol.* 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01968>
- Wahab, M.K.A., Iyiola, A.O., Abdulwahab, U.F., 2023. Mitigating the One Health Impacts of Agrochemicals Through Sustainable Policies and Regulations, in: Ogwu, M.C., Chibueze Izah, S. (Eds.), *One Health Implications*

- of Agrochemicals and Their Sustainable Alternatives, Sustainable Development and Biodiversity. Springer Nature Singapore, Singapore, pp. 211–243. [https://doi.org/10.1007/978-981-99-3439-3\\_8](https://doi.org/10.1007/978-981-99-3439-3_8)
- Wallace, J.G., Kremling, K.A., Kovar, L.L., Buckler, E.S., 2018. Quantitative Genetics of the Maize Leaf Microbiome. *Phytobiomes Journal* 2, 208–224. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-02-18-0008-R>
- Wallenstein, M.D., 2017. Managing and manipulating the rhizosphere microbiome for plant health: A systems approach. *Rhizosphere* 3, 230–232. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.04.004>
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Hückelhoven, R., Neumann, C., Von Wettstein, D., Franken, P., Kogel, K.-H., 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 13386–13391. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504423102>
- Wang, X., Xue, L., Chang, S., He, X., Fan, T., Wu, J., Niu, J., Emaneghemi, B., 2019. Bioremediation and metabolism of clothianidin by mixed bacterial consortia enriched from contaminated soils in Chinese greenhouse. *Process Biochemistry* 78, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.12.031>
- Weisskopf, L., Schulz, S., Garbeva, P., 2021. Microbial volatile organic compounds in intra-kingdom and inter-kingdom interactions. *Nat Rev Microbiol* 19, 391–404. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00508-1>
- Weller, D.M., Raaijmakers, J.M., Gardener, B.B.M., Thomashow, L.S., 2002. Microbial Populations Responsible for Specific Soil Suppressiveness to Plant Pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40, 309–348. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.030402.110010>
- Wen, Z., White, P.J., Shen, J., Lambers, H., 2022. Linking root exudation to belowground economic traits for resource acquisition. *New Phytologist* 233, 1620–1635. <https://doi.org/10.1111/nph.17854>
- White, J.F., Torres, M.S., 2010. Is plant endophyte-mediated defensive mutualism the result of oxidative stress protection? *Physiologia Plantarum* 138, 440–446. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01332.x>
- White, J.F., Torres, M.S., Johnson, H., Irizarry, I., Tadych, M., 2014β. A Functional View of Plant Microbiomes: Endosymbiotic Systems That Enhance Plant Growth and Survival, in: Verma, V.C., Gange, A.C. (Eds.), *Advances in Endophytic Research*. Springer India, New Delhi, pp. 425–439. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-1575-2\\_21](https://doi.org/10.1007/978-81-322-1575-2_21)
- White, J.F., Torres, M.S., Somu, M.P., Johnson, H., Irizarry, I., Chen, Q., Zhang, N., Walsh, E., Tadych, M., Bergen, M., 2014α. Hydrogen peroxide staining to visualize intracellular bacterial infections of seedling root cells. *Microscopy Res & Technique* 77, 566–573. <https://doi.org/10.1002/jemt.22375>
- White, J.F., Torres, M.S., Sullivan, R.F., Jabbour, R.E., Chen, Q., Tadych, M., Irizarry, I., Bergen, M.S., Havkin-Frenkel, D., Belanger, F.C., 2014γ. Occurrence of *Bacillus amyloliquefaciens* as a systemic endophyte of vanilla orchids: *B. Amyloliquefaciens* as a Systemic Endophyte of Vanilla Orchids. *Microsc. Res. Tech.* 77, 874–885. <https://doi.org/10.1002/jemt.22410>
- Wiewióra, B., Żurek, G., Żurek, M., 2015. Endophyte-mediated disease resistance in wild populations of perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Fungal Ecology* 15, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.01.004>
- Wilmowicz, E., Kućko, A., Burchardt, S., Karwaszewski, J., 2023. In: Singh, S. (Ed.). *Ethylene in plant biology*, First edition. ed. Wiley, Hoboken, NJ. ISBN 9781119744696

- Xiong, C., Zhu, Y., Wang, J., Singh, B., Han, L., Shen, J., Li, P., Wang, G., Wu, C., Ge, A., Zhang, L., He, J., 2021. Host selection shapes crop microbiome assembly and network complexity. *New Phytologist* 229, 1091–1104. <https://doi.org/10.1111/nph.16890>
- Xu, J., Zhang, Y., Zhang, P., Trivedi, P., Riera, N., Wang, Y., Liu, X., Fan, G., Tang, J., Coletta-Filho, H.D., Cubero, J., Deng, X., Ancona, V., Lu, Z., Zhong, B., Roper, M.C., Capote, N., Catara, V., Pietersen, G., Vernière, C., Al-Sadi, A.M., Li, L., Yang, F., Xu, X., Wang, J., Yang, H., Jin, T., Wang, N., 2018. The structure and function of the global citrus rhizosphere microbiome. *Nat Commun* 9, 4894. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07343-2>
- Xu, J., Zhou, L., Venturi, V., He, Y.-W., Kojima, M., Sakakibari, H., Höfte, M., De Vleeschauwer, D., 2015. Phytohormone-mediated interkingdom signaling shapes the outcome of rice-*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* interactions. *BMC Plant Biol* 15, 10. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0411-3>
- Xun, W., Shao, J., Shen, Q., Zhang, R., 2021. Rhizosphere microbiome: Functional compensatory assembly for plant fitness. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 19, 5487–5493. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.09.035>
- Yanagida, F., Chen, Y., Shinohara, T., 2006. Searching for bacteriocin-producing lactic acid bacteria in soil. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 52, 21–28. <https://doi.org/10.2323/jgam.52.21>
- Yen, J.-H., Chang, J.-S., Huang, P.-J., Wang, Y.-S., 2009. Effects of fungicides triadimefon and propiconazole on soil bacterial communities. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 44, 681–689. <https://doi.org/10.1080/03601230903163715>
- Yeoh, Y.K., Dennis, P.G., Paungfoo-Lonhienne, C., Weber, L., Brackin, R., Ragan, M.A., Schmidt, S., Hugenholtz, P., 2017. Evolutionary conservation of a core root microbiome across plant phyla along a tropical soil chronosequence. *Nat Commun* 8, 215. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00262-8>
- Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, L., Li, W., Sun, P., Qin, L., 2010. Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiological Research* 165, 437–449. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.11.009>
- Yuan, J., Zhao, J., Wen, T., Zhao, M., Li, R., Goossens, P., Huang, Q., Bai, Y., Vivanco, J.M., Kowalchuk, G.A., Berendsen, R.L., Shen, Q., 2018. Root exudates drive the soil-borne legacy of aboveground pathogen infection. *Microbiome* 6, 156. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0537-x>
- Zaller, J.G., Heigl, F., Ruess, L., Grabmaier, A., 2014. Glyphosate herbicide affects belowground interactions between earthworms and symbiotic mycorrhizal fungi in a model ecosystem. *Sci Rep* 4, 5634. <https://doi.org/10.1038/srep05634>
- Zambell, C.B., White, J.F., 2015. In the forest vine *Smilax rotundifolia*, fungal epiphytes show site-wide spatial correlation, while endophytes show evidence of niche partitioning. *Fungal Diversity* 75, 279–297. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0316-3>
- Zarkani, A.A., Schikora, A., 2021. Mechanisms adopted by *Salmonella* to colonize plant hosts. *Food Microbiology* 99, 103833. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103833>

- Zarraonaindia, I., Owens, S.M., Weisenhorn, P., West, K., Hampton-Marcell, J., Lax, S., Bokulich, N.A., Mills, D.A., Martin, G., Taghavi, S., Van Der Lelie, D., Gilbert, J.A., 2015. The Soil Microbiome Influences Grapevine-Associated Microbiota. *mBio* 6, e02527-14. <https://doi.org/10.1128/mBio.02527-14>
- Zarraonaindia, I., Owens, S.M., Weisenhorn, P., West, K., Hampton-Marcell, J., Lax, S., Bokulich, N.A., Mills, D.A., Martin, G., Taghavi, S., Van Der Lelie, D., Gilbert, J.A., 2015. The Soil Microbiome Influences Grapevine-Associated Microbiota. *mBio* 6, e02527-14. <https://doi.org/10.1128/mBio.02527-14>
- Zeilinger, S., Galhaup, C., Payer, K., Woo, S.L., Mach, R.L., Fekete, C., Lorito, M., Kubicek, C.P., 1999. Chitinase Gene Expression during Mycoparasitic Interaction of *Trichoderma harzianum* with Its Host. *Fungal Genetics and Biology* 26, 131–140. <https://doi.org/10.1006/fgbi.1998.1111>
- Zhalnina, K., Louie, K.B., Hao, Z., Mansoori, N., Da Rocha, U.N., Shi, S., Cho, H., Karaoz, U., Loqué, D., Bowen, B.P., Firestone, M.K., Northen, T.R., Brodie, E.L., 2018. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nat Microbiol* 3, 470–480. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0129-3>
- Zhang, C., Zhou, T., Zhu, L., Du, Z., Li, B., Wang, Jun, Wang, Jinhua, Sun, Y., 2019δ. Using enzyme activities and soil microbial diversity to understand the effects of fluoxastrobin on microorganisms in fluvo-aquic soil. *Science of The Total Environment* 666, 89–93. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.240>
- Zhang, H., Sun, Y., Xie, X., Kim, M., Dowd, S.E., Paré, P.W., 2009. A soil bacterium regulates plant acquisition of iron via deficiency-inducible mechanisms. *The Plant Journal* 58, 568–577. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03803.x>
- Zhang, H., Zhang, Z., Song, J., Mei, J., Fang, H., Gui, W., 2021. Reduced bacterial network complexity in agricultural soils after application of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam. *Environmental Pollution* 274, 116540. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116540>
- Zhang, J., Liu, Y.-X., Zhang, N., Hu, B., Jin, T., Xu, H., Qin, Y., Yan, P., Zhang, X., Guo, X., Hui, J., Cao, S., Wang, X., Wang, C., Wang, H., Qu, B., Fan, G., Yuan, L., Garrido-Oter, R., Chu, C., Bai, Y., 2019α. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice. *Nat Biotechnol* 37, 676–684. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0104-4>
- Zhang, R., Vivanco, J.M., Shen, Q., 2017. The unseen rhizosphere root–soil–microbe interactions for crop production. *Current Opinion in Microbiology* 37, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.03.008>
- Zhang, S., Gan, Y., Xu, B., 2019β. Mechanisms of the IAA and ACC-deaminase producing strain of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in enhancing wheat seedling tolerance to NaCl stress. *BMC Plant Biol* 19, 22. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1618-5>
- Zhang, Y.-J., Hu, H.-W., Chen, Q.-L., Singh, B.K., Yan, H., Chen, D., He, J.-Z., 2019γ. Transfer of antibiotic resistance from manure-amended soils to vegetable microbiomes. *Environment International* 130, 104912. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104912>
- Zhou, F., Emonet, A., Dénervaud Tendon, V., Marhavy, P., Wu, D., Lahaye, T., Geldner, N., 2020. Co-occurrence of Damage and Microbial Patterns Controls Localized Immune Responses in Roots. *Cell* 180, 440-453.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.013>

Zipfel, C., Robatzek, S., 2010. Pathogen-Associated Molecular Pattern-Triggered Immunity: Veni, Vidi...? *Plant Physiology* 154, 551–554. <https://doi.org/10.1104/pp.110.161547>

Zúñiga-Feest, A., Muñoz, G., Bustos-Salazar, A., Ramírez, F., Delgado, M., Valle, S., Díaz, L., 2018. The nitrogen fixing species *Sophora cassioides* (Fabaceae), is nutritionally favored and their rhizosphere bacteria modified when is co-cultivated with the cluster root forming *Embothrium coccineum* (Proteaceae). *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 0–0. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162018005001801>