



ΑΝΩΤΑΤΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΜΑ
Α.Τ.Ε.Ι ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**«Η ΤΕΦΡΑ ΣΗΨΗ ΤΩΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΩΝ
ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΚΑΙ Η ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ»**



ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΣ ΑΝΤΩΝΗΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2013



**ΑΝΩΤΑΤΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΙΜΑ
Α.Τ.Ε.Ι ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
«Η ΤΕΦΡΑ ΣΗΨΗ ΤΩΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ
ΚΑΙ Η ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ»**

ΣΠΟΥΔΑΣΤΗΣ: ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΣ ΑΝΤΩΝΗΣ

ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ: ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑ, Ph. D.

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2013

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήταν παράλειψή μου, αν δεν ευχαριστούσα αυτούς που με οποιοδήποτε τρόπο με βοήθησαν να διεκπεραιώσω αυτή την εργασία. Καταρχήν, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου κα. Μαρία Παπαδοπούλου, που μου έδωσε τη δυνατότητα να εκπονήσω τη πτυχιακή αυτή και η οποία πέραν της εμπιστοσύνης που μου έδειξε, με υπομονή και επαγγελματισμό με καθοδηγούσε και με συμβούλευε κατά τη διάρκεια της εργασίας.

Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές του τμήματος από την οποία διδάχτηκα πολλά και ενδιαφέροντα πράγματα.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, για τη στήριξή τους, όλα αυτά τα χρόνια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	σελ. 3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	σελ. 6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	σελ. 7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των μυκήτων του γένους <i>Botrytis</i>	σελ. 9
1.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά των μυκήτων του γένους <i>Botrytis</i>	σελ. 9
1.2 Ταξινόμική κατάταξη	σελ. 13
1.3 Τα παθογόνα είδη μυκήτων του γένους <i>Botrytis</i> . Βιολογικός κύκλος του μύκητα <i>B. cinerea</i> .	σελ. 14
1.4 Γενετική δομή και παραλλακτικότητα των πληθυσμών του μύκητα <i>B. cinerea</i> από διάφορους ξενιστές	σελ. 16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Τεφρά σήψη των φυτών. Επιδημιολογία. Εύρος ξενιστών. Συμπτώματα	σελ. 18
2.1 Προσυλλεκτικές και Μετασυλλεκτικές προσβολές από το μύκητα <i>B. cinerea</i>	σελ. 18
2.2. Επιδημιολογία	σελ. 23
2.3 Παθογένεση	σελ. 25
2.3.1 Βλάστηση	σελ. 25
2.3.2 Διείδυση του παθογόνου μύκητα	σελ. 26
2.3.3 Εγκατάσταση του μύκητα στους ιστούς του ξενιστή	σελ. 29
2.4 Παραλλακτικότητα των μυκήτων στο εργαστήριο και στη φύση	σελ. 30

ΚΕΦΑΛΑΙΟ3: Τρόποι αντιμετώπισης των σήψεων σε συνθήκες αποθήκευσης των προϊόντων	σελ. 32
3.1 Χημική καταπολέμηση. Η χρήση μυκητοκτόνων στις αποθήκες	σελ. 32
3.1.1. Ανθεκτικότητα των πληθυσμών του μύκητα <i>B. cinerea</i> σε μυκητοκτόνα	σελ. 38
3.2. Καλλιεργητικά μέτρα	σελ. 44
3.2.1. Ισόρροπη θρέψη	σελ. 46
3.3. Βιολογική καταπολέμηση του μύκητα	σελ. 50
3.3.1 Βιολογικοί παράγοντες που δρουν στο <i>B. cinerea</i>	σελ. 54
3.3.1.1 Μύκητες	σελ. 54
3. 3.1. 2. Βακτήρια.	σελ. 58
3. 4. Εναλλακτικοί τρόποι αντιμετώπισης των φυτοπαθογόνων ειδών του γένους <i>Botrytis</i> , σε συνθήκες αποθήκευσης.	σελ. 59
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	σελ. 62
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	σελ. 64

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η τεφρά σήψη, που οφείλεται στο μύκητα *Botrytis cinerea*, έχει παγκόσμια εξάπλωση και προσβάλλει όλα σχεδόν τα καλλιεργούμενα φυτά. Ο παθογόνος μύκητας αναπτύσσεται επί υγιών, γερασμένων, εξασθενημένων ή νεκρών φυτικών ιστών, προσβάλλει φυτά κάθε ηλικίας, όλα σχεδόν τα φυτικά όργανα και προκαλεί αναλόγως του είδους και ηλικίας των ιστών και των συνθηκών του περιβάλλοντος, συμπτώματα διαφόρων τύπων. Ειδικά ζημιογόνο αυτό το είδος είναι στις αποθήκες με τα τρόφιμα που προκαλεί σήψη των καρπών μετά τη συγκομιδή. Η καταπολέμηση της ασθένειας είναι αρκετά δύσκολη καθώς ο μύκητας αναπτύσσει εύκολα ανθεκτικότητα στα μυκητοκτόνα. Έτσι τα τελευταία χρόνια οι επιστήμονες έχουν στραφεί σε άλλες μεθόδους καταπολέμησης, όπως είναι η βιολογική και τα καλλιεργητικά μέτρα.

Στην παρούσα εργασία, στο πρώτο κεφάλαιο θα αναλύσουμε τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του γένους *Botrytis*. Θα μελετήσουμε τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του μύκητα, την ταξινομική του κατάταξη, τη γενετική δομή και τη παραλλακτικότητα του μύκητα, από τους διάφορους ξενιστές και τέλος το βιολογικό κύκλο του μύκητα.

Στο δεύτερο κεφάλαιο, θα κάνουμε αναφορά στις προσυλλεκτικές και μετασυλλεκτικές προσβολές των φυτών – ξενιστών από το μύκητα. Επίσης την επιδημιολογία καθώς και τη διείδυση και εγκατάσταση του μύκητα στους ιστούς του ξενιστή.

Στο τρίτο και τελευταίο κεφάλαιο, θα δούμε τους τρόπους αντιμετώπισης των σήψεων στις διάφορες συνθήκες αποθήκευσης των προϊόντων, τη χημική και τη βιολογική καταπολέμηση του μύκητα, καθώς και τα διάφορα καλλιεργητικά μέτρα.

Στο τέλος θα παραθέσουμε τα συμπεράσματά μας και τη σχετική βιβλιογραφία.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σε αντίθεση με τα άλλα φυτοπαθογόνα είδη μυκήτων αυτά του γένους *Botrytis* και ειδικά ο *B. cinerea* προσβάλλει ένα πολύ μεγάλο εύρος ξενιστών παγκοσμίως και παρουσιάζεται σε όλες τις κλιματικές περιοχές του πλανήτη. Είδη του γένους *Botrytis* παρουσιάζονται οπουδήποτε αναπτύσσονται οι ξενιστές τους, από τροπικές και υποτροπικές μέχρι πολικές περιοχές. Η αντιμετώπιση της τέφρας σήψης, κάτω από συνθήκες περιβάλλοντος που ευνοούν την ανάπτυξή της, είναι δύσκολη επειδή ο μύκητας μπορεί να προσβάλλει όλα τα μέρη του φυτού σε οποιαδήποτε φάση ανάπτυξης, συχνά κατά τη διάρκεια ή κοντά στην περίοδο συγκομιδής που δεν επιτρέπουν τη χρήση χημικών τα οποία αφήνουν τοξικά υπολείμματα. Η ασθένεια προσβάλλει όλα τα υπέργεια μέρη των φυτών. Σοβαρότερη είναι η προσβολή στα στελέχη, επειδή τα φυτά πάνω από την περιοχή της προσβολής μαραίνονται και καταστρέφονται. Γενικά, η μόλυνση αρχίζει από τους γερασμένους ιστούς και τις πηγές και από εκεί στη συνέχεια εγκαθίστανται στους υγιείς ιστούς. Στους καρπούς, την αρχική εστία μόλυνσης αποτελούν τα υπολείμματα του άνθους, από τα οποία η μόλυνση περνάει στις κορυφές των καρπών, προκαλώντας μαλακή σήψη που καταλήγει στην ολοκληρωτική τους καταστροφή. Στις περιοχές προσβολής εμφανίζεται η χαρακτηριστική φαιά εξάνθηση των καρποφοριών του παθογόνου. Στα φύλλα, η ασθένεια προξενεί κηλίδες που μπορεί να επεκταθούν σχηματίζοντας μεγάλες νεκρωτικές περιοχές.

Είναι ιδιαίτερα ενεργό παθογόνο σε ενδιάμεσες θερμοκρασίες παρ' όλα αυτά η ικανότητα του μύκητα να παραμείνει ενεργός σε χαμηλές θερμοκρασίες όπως το 0°C το καθιστά ένα αρκετά επικίνδυνο παθογόνο αποθηκευμένων προϊόντων. Έτσι αποτελούν σημαντικοί παθογόνοι σπορίων, καλλωπιστικών, λαχανοκομικών και βιομηχανικών φυτών και καρπών οπωροφόρων δέντρων. Οι προσβολές βασικά εκδηλώνονται σε υπέργεια τμήματα του φυτού με μορφή σήψης.

Διεθνώς στη βιβλιογραφία ο μύκητας *B. cinerea* αναφέρεται ως το παθογόνο που προκαλεί στους ξενιστές την λεγόμενη «τέφρα σήψη». Ο μύκητας επιφέρει σημαντικές μετασυλλεκτικές απώλειες στα ακτινίδια (τα συμπτώματα γίνονται ορατά μετά από 3-4 εβδομάδες συντήρησης στους 0°C), στην φράουλα (προκαλεί εξαιρετικά σημαντικές προ και μετασυλλεκτικές σήψεις καρπών), στα ψυχανθή.

Πέραν των άμεσων απωλειών στην παραγωγή, η ανάπτυξη της ασθένειας κατά την συντήρηση των καρπών οδηγεί σε έμμεσες απώλειες, καθώς οι προσβεβλημένοι καρποί παράγουν αυξημένες ποσότητες αιθυλενίου εντός των θαλάμων συντήρησης, με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της ωρίμανσης των υγρών καρπών.

Η καταπολέμηση της ασθένειας είναι αρκετά δύσκολη καθώς ο μύκητας αναπτύσσει εύκολα ανθεκτικότητα στα μυκητοκτόνα. Έτσι τα τελευταία χρόνια οι επιστήμονες έχουν στραφεί σε άλλες μεθόδους καταπολέμησης, όπως είναι η βιολογική και τα καλλιεργητικά μέτρα. Παρότι έχουν πραγματοποιηθεί αρκετά πειράματα βιολογικής αντιμετώπισης της φαιάς σήψης, εντούτοις δεν έχει υιοθετηθεί ευρέως η εφαρμογή των βιολογικών παραγόντων λόγω της μικρής αποτελεσματικότητάς τους σε συνθήκες εμπορικής καλλιέργειας. Παρόλα, αυτά ο συνδυασμός τους με καλλιεργητικά μέτρα και επιτρεπόμενα μυκητοκτόνα θα μπορούσε να αποτελέσει ρεαλιστικό στόχο για την εφαρμογή τους σε προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης της παραγωγής.

Τα τελευταία ο Βοτρύτης αντιμετωπίζεται κυρίως με προληπτικούς ψεκασμούς. Οι ψεκασμοί πρέπει να αρχίζουν με τα πρώτα κλαδέματα και να επαναλαμβάνονται, αναλόγως της υγρασίας και της θερμοκρασίας, κάθε 7 μέρες. Η μείωση της υγρασίας στα θερμοκήπια και ο αερισμός του χώρου θεωρούνται επίσης σημαντικά μέτρα για τον περιορισμό της ασθένειας. Συνιστάται η χρήση οργανικών ή διασυστηματικών μυκητοκτόνων ή μίγματα αυτών (Τζάμος, 2007)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Botrytis*.

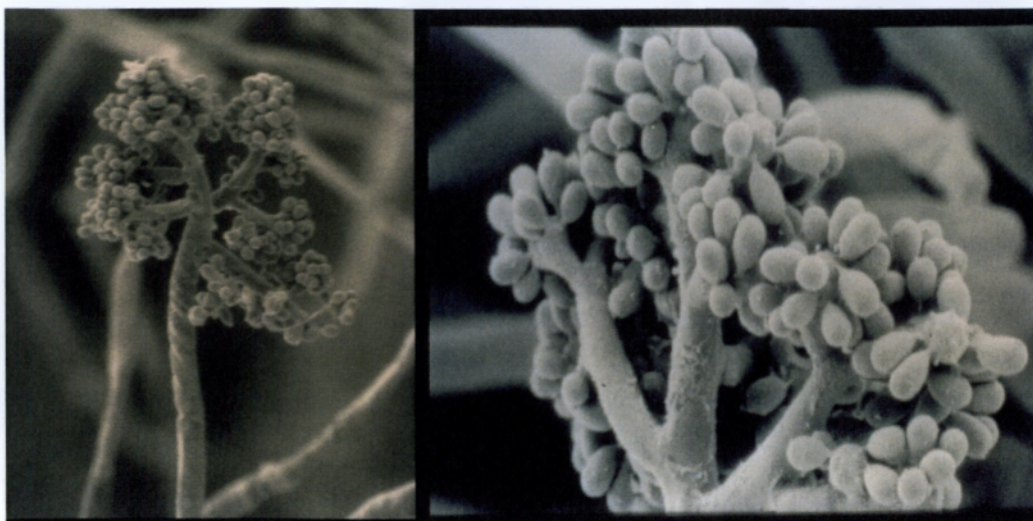
1.1 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Botrytis*.

Σε θρεπτικά υποστρώματα τα είδη του γένους *Botrytis* σχετίζονται αποκίεις γκρι ή γριζοκάστανες. Σαν ανώτεροι ευμόκητες έχουν καλά αναπτυγμένο «πολυκύτταρο» μυκήλιο με σέπτα απλού τύπου, όπως όλα τα είδη Ασκομυκήτων. Επίσης, άλλα χαρακτηριστικά των μυκήτων αυτών είναι η παντελής έλλειψη κινούμενων σπορίων.

Πολλαπλασιάζονται αγενώς και εγγενώς. Αγενώς πολλαπλασιάζονται με κονίδια τα οποία παράγονται πάνω σε ειδικές καρποφόρες υφές, που ονομάζονται κονιδιοφόροι. (Χριστιάς, 1999). Καθώς και τα φυτοπαθογόνα είδη του γένους *Botrytis* συχνά αναπαράγονται με αγενή τρόπο σχηματίζοντας κονίδια σε κονιδιοφόρους με χαρακτηριστικά για το γένους σχήματα. Όπως οι κονιδιοφόροι του μύκητα *B. cinerea* που είναι υαλώδεις, τεφρού χρώματος, επιμήκεις και διακλαδιζόμενοι. Στην άκρη των οι διακλαδώσεων φέρουν υαλώδη, ωσειδή, μονοκύτταρα κονίδια, τα οποία εμφανίζονται με τη μορφή βότρου, από όπου προέκυψε και το όνομα του γένους. Κονιδιοφόροι ευθείς, παραγόμενοι σε δέσμες, χρώματος ελαιώδους, με άφθονες διακλαδώσεις, μήκους 2 mm ή και περισσότερο και πλάτους 16-30μm, φέροντες κονίδια πάνω σε βραχεία στηρίγματα, που σχηματίζουν βότρου. Ο *B. cinerea* έχει κονίδια ξηροσπόρια, υδρόφοβα, μονοκύτταρα, ελλειψοειδή ή ωσειδή, υαλώδη έως ωχροκάστανα, με λεία επιφάνεια, διαστάσεων 6-18 * 4-11 μm, τα οποία φέρουν συχνά μια προεξέχουσα πτέρνα.

Τα σκληρώτια αρχικά είναι υπόλευκα και αργότερα μαύρα, διαστάσεων 2-4 * 1-2,5 μm, προσκολλημένα στο υπόστρωμα ή ευρισκόμενα μέσα στους ιστούς, με αριθμό, μέγεθος και σχήμα που παρουσιάζουν μεγάλη παραλλακτικότητα τόσο σε φυσικά όσο και σε τεχνητά υποστρώματα .

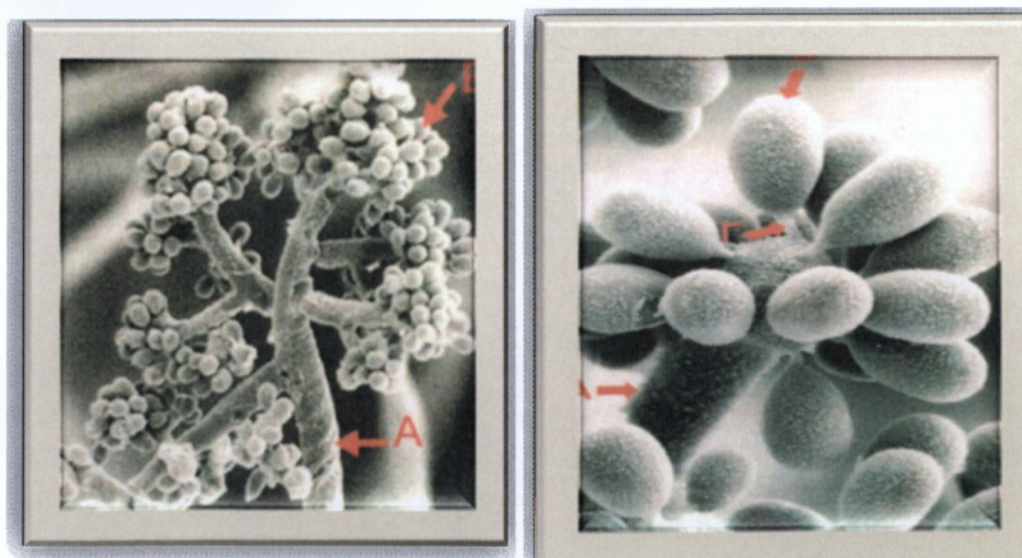
Τα προϊόντα εγγενούς αναπαραγωγής των ασκομυκήτων είναι ασκοσπόρια. Της εγγενούς αναπαραγωγής προηγείται η δημιουργία δικαρυωτικού μυκηλίου.



Εικόνα 1.1: Κονίδια και οι κονιδιοφόροι του παθογόνου μικροοργανισμού στο μικροσκόπιο

Εγγενής αναπαραγωγή συμβαίνει μια φορά το χρόνο, συνήθως αργά το φθινόπωρο. Σκοπός της αγενούς αναπαραγωγής είναι η αύξηση του πληθυσμού του είδους, ενώ της εγγενούς η δημιουργία νέων συνδυασμών γονιδίων και η εμφάνιση νέων χαρακτήρων. Οι ασκομύκητες στους οποίους ανήκουν και τα είδη του γένους *Botrytis* παράγουν πολύ μεγάλους αριθμούς σπορίων το καθένα από τα οποία μπορεί να βλαστήσει και να αναπαράγει το είδος.

Εκτός από την βλάστηση σπορίων οι ασκομύκητες μπορούν να αναπαραχθούν αγενώς με θραύσματα του μυκηλίου. (Χριστιάς, 1999, Τζαμος, 2007, Βακαλουνάκης, 2006)



Εικόνα 1.2: Κονιδιοφόρος με άφθονες διακλαδώσεις και κονίδια μύκητα *Botrytis cinerea* (δεξιά) και Εικόνα 1.4: Κονιδιοφόρος (Α) με κονίδια (Β) τα οποία φέρονται πάνω σε βραχεία στηρίγματα (Γ) του μύκητα *Botrytis cinerea* (αριστερά)

Τα κονίδια ελευθερώνονται πολύ εύκολα και μεταφέρονται πολλά μαζί και σε μεγάλες αποστάσεις, είτε με τον άνεμο είτε σε σταγόνες νερού και προκαλούν τις μολύνσεις. (Χριστιάς, 1999).

Κατά την εγγενή αναπαραγωγή τα είδη αυτά παράγουν ασκοσπόρια σε ασκούς. Τα ασκοσπόρια σχηματίζονται σε εξειδικευμένες καρποφόρες δομές τα αποθήκια. Κάτω από ειδικές συνθήκες τα σκληρώτια μπορούν να δώσουν αποθήκια που είναι η εγγενής καρποφορία του γένους *Sclerotinia*. Τα αποθήκια έχουν σχήμα κυπέλλου με ποδίσκο, καστανό χρώμα και φέρουν ασκούς (Χριστιάς, 1999).

Όλα τα είδη *Botrytis*, ανάλογα με το στέλεχος και τις συνθήκες ανάπτυξης, σχηματίζουν σκληρώτια τα οποία μπορεί να διαφέρουν σε μέγεθος και σχήμα. Τα σκληρώτια θεωρούνται γενικά οι πιο σημαντικές μυκηλιακές κατασκευές που εμπλέκονται στην επιβίωση του μύκητα. Μπορεί να επιβιώσουν υπό δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες και στη συνέχεια να βλαστήσουν προς μυκήλιο, προς κονιδιοφόρους με κονίδια ή κάτω από κατάλληλες συνθήκες και γονιμοποίηση, προς αποθήκια. (εικόνα 1.3)



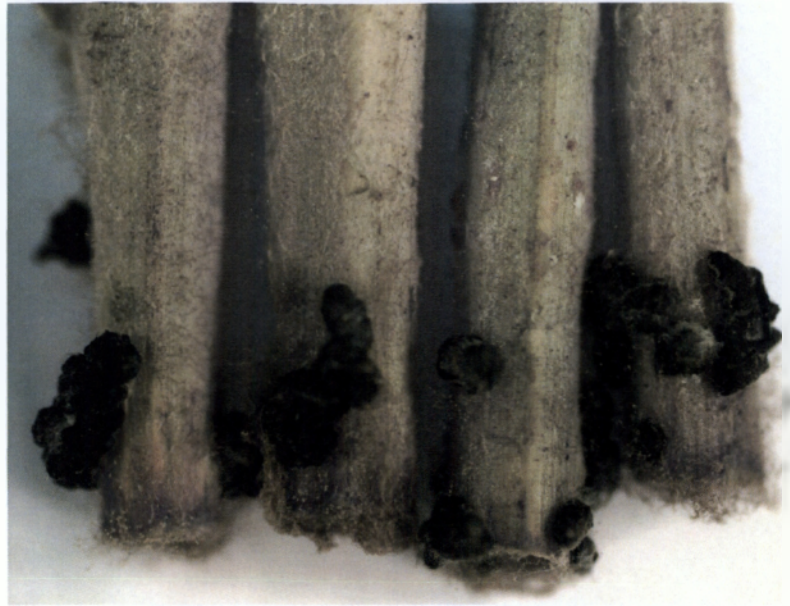
Εικόνα 1.3: Βλάστηση σκληρωτίων του *Botrytis cinerea* προς αποθήκια

Μια άλλη κατασκευή του *Botrytis cinerea* είναι τα χλαμυδοσπόρια. Τα χλαμυδοσπόρια σχηματίζονται κατά κανόνα σε γηρασμένες καλλιέργειες του μύκητα καθώς και σε καλλιέργειες που επιμολύνθηκαν με άλλους οργανισμούς. Ανάλογα με τις συνθήκες περιβάλλοντος και θρέψης σε δομές αυτές βλαστάνουν δίνοντας υφή διάτρησης, μικροκονίδια ή μακροκονίδια. Τα χλαμυδοσπόρια μπορούν επομένως να λειτουργήσουν ως δομές βραχυπρόθεσμης επιβίωσης οι οποίες ίσως βοηθούν το μύκητα να ξεπεράσει σύντομες μη ευνοϊκές περιόδους ανάπτυξης.

Τα είδη μυκήτων του γένους *Botrytis* χαρακτηρίζονται ως νεκροτροφικά φυτοπαθογόνα τα οποία μετά την προσβολή και τα θάνατο των ιστών του ξενιστή, μπορούν να αναπτυχθούν και να αναπαράγονται σαν σαπρόφυτα στους νεκρούς ιστούς ή να σχηματίσουν μυκηλιακές κατασκευές μακροχρόνιας επιβίωσης. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται μυκηλιακές υφές, μικρο- και μακρο- κονίδια, χλαμυδοσπόρια, σκληρώτια, αποθήκια και ασκοσπόρια. Αυτές οι δομές επιβίωσης είναι δυνατόν να σχηματίζονται σε ζωντανά φυτά ή σε υπολείμματα φυτικών ιστών που βρίσκονται στο έδαφος και αποτελούν πηγή μόλυσματος. Πρακτικά κάθε τμήμα το θολού του μύκητα μπορεί να λειτουργήσει ως μια δομή επιβίωσης.



Εικόνα 1.5: Η βλάστηση του σκληρωτίου του παθογόνου μικροοργανισμού, με Κονίδια και Κονιδιοφόρους στο στερεοσκόπιο (προσωπικό αρχείο Μ. Παπαδοπούλου)



Εικόνα 1.6: Τα σκληρώτια του μύκητα στο στερεοσκόπιο (προσωπικό αρχείο Μ. Παπαδοπούλου)



Εικόνα 1.7: Τα σκληρώτια, τα Αποθήκια, τα Κονίδια και οι Κονιδιοφόροι του παθογόνου μικροοργανισμού.

1.2 ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Ταξινομικά οι μύκητες του γένους *Botrytis* με την τέλεια μορφή τους, που είναι γνωστά ως *Botryotinia* ανήκουν στην οικογένεια *Sclerotiniaceae* της κλάσης *Leotiomycetes* του φύλλου *Ascomycota*. Ο *Botrytis* αναγνωρίστηκε ως γένος από το Micheli το 1729 ενώ η σύνδεσή του με την τέλεια μορφή *Botryotinia* έγινε το 1866 από τον de Bary. Όμως στη φύση συνήθως απαντάται η ατελής μορφή του μύκητα.

Ο μύκητας *Botrytis cinerea Pers.* ανήκει στην οικογένεια *Moniliaceae*, των Αδηλομυκήτων ή Ατελών μυκήτων. Όπως όλοι οι ατελείς έτσι και ο εν λόγω

μύκητας έχει τέλεια μορφή η οποία είναι η *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetz. της οικογένειας *Helotiaceae* των Ασκομυκήτων. Η πλήρης ταξινόμηση του μύκητα φαίνεται στον Πίνακα 1 που ακολουθεί (Τζάμος, 2007)

Πίνακας 1. Ταξινόμηση του *B. cinerea* στην τέλεια και ατελή του μορφή

	Τέλεια μορφή	Ατελής μορφή
Βασίλειο	Μυκήτων	Μυκήτων
Άθροισμα	<i>Ascomycota</i>	<i>Deuteromycota</i>
Κλάση	<i>Discomycetes</i>	<i>Hyphomycetes</i>
Τάξη	<i>Helotiales</i>	<i>Moniliales</i>
Οικογένεια	<i>Sclerotiniaceae</i>	<i>Moniliaceae</i>
Γένος	<i>Botrytinia</i>	<i>Botrytis</i>
Είδος	<i>B. fuckeliana</i>	<i>B. cinerea</i>

1.3 ΤΑ ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΕΙΔΗ ΜΥΚΗΤΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *BOTRYTIS*.

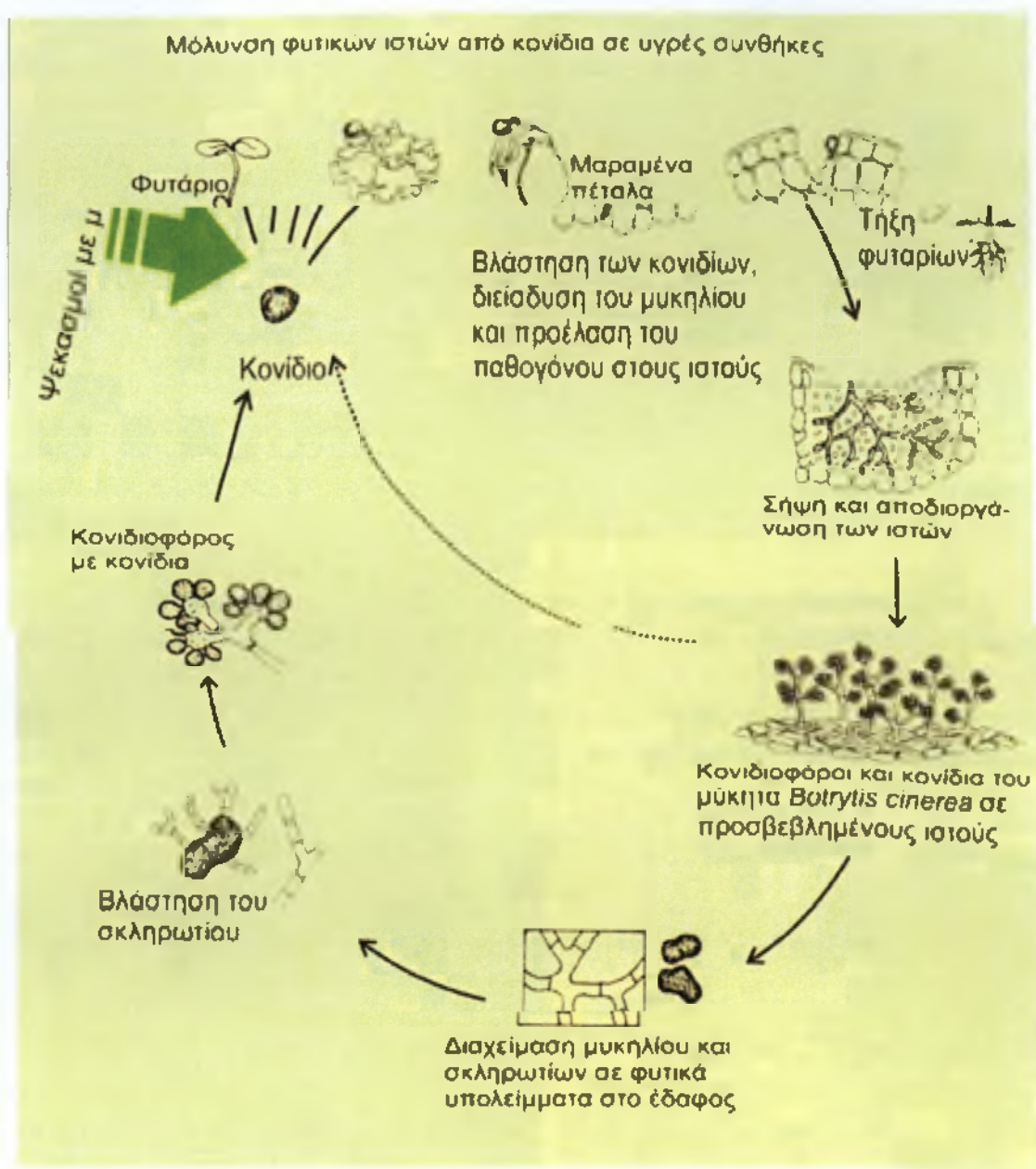
ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *B. cinerea*.

Όπως έχει προαναφερθεί, το σημαντικότερο, από φυτοπαθολογική άποψη είδος του γένους *Botrytis*, το οποίο προκαλεί μια από της σοβαρότερες ασθένειες την τεφρά σήψη, είναι το *B. cinerea*. Σε αντίθεση με τα άλλα φυτοπαθογόνα είδη μυκήτων αυτό το είδος είναι ιδιαίτερα ενεργό παθογόνο που προσβάλλει ένα πολύ μεγάλο εύρος ξενιστών παγκοσμίως και παρουσιάζεται σε όλες τις κλιματικές περιοχές του πλανήτη.

Το παθογόνο διαχειμάζει στα φυτικά υπολείμματα και στο έδαφος με τη μορφή σκληρωτίων (μυκηλιακοί σχηματισμοί), τα οποία είναι σκληρά, ανθεκτικά σώματα, καφέ χρώματος και σχήματος σφαιρικού ή ακανόνιστου. Σε δυσμενείς καιρικές συνθήκες παραμένουν με αυτή τη μορφή, ενώ κάτω από ευνοϊκές συνθήκες βλαστάνουν και δίνουν μυκήλιο ή κονιδιοφόρους. Κάτω από ειδικές συνθήκες τα σκληρώτια μπορούν να δώσουν αποθήκια (Τζάμος, 2007).

Απαραίτητες συνθήκες για την ανάπτυξη της ασθένειας είναι η υψηλή σχετική υγρασία περιβάλλοντος και οι σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες με άριστη 18-23°C ενώ πάνω από 32°C η ανάπτυξη του παθογόνου παρεμποδίζεται. Το περιβάλλον υψηλής σχετικής υγρασίας που επικρατεί μέσα στο φύλλωμα των φυτών

κατά τη διάρκεια της νύχτας είναι συνήθως επαρκές για την ανάπτυξη της ασθένειας (Τζάμος, 2007).



- Στάδιο μόλυνσεως
- Ενδοφυτική ανάπτυξη
-→ Παρουσία του παθογόνου εκτός του φυτού

Εικόνα 1.7: Βιολογικός κύκλος *Botrytis cinerea* (Τζάμος, 2007)

1.4 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *B. CINEREA* ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ

Ο μύκητας *Botrytis cinerea* είναι γνωστό ότι παρουσιάζει έντονη παραλλακτικότητα σε σωματικό, μεταβολικό αλλά και γενετικό επίπεδο. Απόγονοι προερχόμενοι από αγενή αναπαραγωγή ατομικών καλλιεργειών του *Botrytis cinerea* είναι μερικές φορές φαινοτυπικά διαφορετικοί. Αυτή η παραλλακτικότητα του μύκητα συχνά αποδίδεται στην πολυκυτταρική και ετεροκαρυωτική φύση των υφών ή των κονιδίων του και στην ανευπλοειδή κατάσταση των πυρήνων του. Παρ' όλα αυτά, η εγγενής αναπαραγωγή του μύκητα φαίνεται ότι δεν παίζει σημαντικό ρόλο στην παραλλακτικότητα του *Botrytis cinerea* λόγω του ότι αυτή σπάνια απαντά στον αγρό. Όπως έχει αποδειχθεί ο *B. fuckeliana* είναι ένα είδος βασικά ετεροθαλές με δυο αλληλόμορφα γονίδια, να ελέγχουν τον τύπο σύζευξης. Ωστόσο, μερικά στελέχη είναι ετεροκαρυωτικά ως προς τον τύπο σύζευξης περιέχοντας και τα δυο αλληλόμορφα γονίδια με αποτέλεσμα να είναι αυτογόνιμα.

Μέχρι και τα τέλη του 20^{ου} αιώνα ήταν γενικά παραδεκτό ότι ο μύκητας *Botrytis cinerea* δεν παρουσίαζε εξειδίκευση ως προς τους ξενιστές του, λόγω του γεγονότος ότι ήταν δυνατόν να απομονωθεί από διάφορα φυτά στη φύση, ενώ η μόλυνση μπορούσε να αναπαραχθεί στο εργαστήριο πάνω σε ένα ευρύ φάσμα ξενιστών.

Οι αναφορές σε σωματική, μεταβολική και γενετική παραλλακτικότητα του μύκητα αποδίδονταν στην ετεροκαρύωση και ανευπλοειδία. Επίσης, ήταν παραδεκτό ότι η εγγενής αναπαραγωγή δεν επηρέαζε, σε μεγάλο βαθμό την παραλλακτικότητα του παθογόνου εξαιτίας του γεγονότος ότι η εγγενής φάση σπάνια παρατηρείται στη φύση.

Παρ' όλα αυτά, νεότερες μελέτες γενετικής των πληθυσμών του μύκητα απέκάλυψαν ότι ο *Botrytis cinerea* πιθανώς αποτελείται από ένα σύμπλεγμα συνυπαρχόντων ειδών, με περιορισμένη ροή γονιδίων μεταξύ διαφορετικών απόκρυφων γενετικών ομάδων. Τέτοια υψηλά επίπεδα γενετικής παραλλακτικότητας στους πληθυσμούς του *Botrytis cinerea* μπορεί να προκύψουν κυρίως από:

- α) την ετεροκαρύωση και την ανευπλοειδία, οι οποίες είναι ευρέως αποδεκτές ως σημαντικές πηγές παραλλακτικότητας του μύκητα
- β) την εγγενή αναπαραγωγή, η οποία έχει αναφερθεί σε πληθυσμούς του μύκητα στη Γαλλία, στην Ισπανία, στην Ιταλία και στην Ουγγαρία,

- γ) την παρουσία και δραστηριότητα μεταθετών στοιχείων και εξωχρωμοσωμικών γενετικών στοιχείων όπως είναι η παρουσία ισοσωματίων και μιτοχονδρίων και
- δ) τις αυθόρμητες μεταλλάξεις.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΕΦΡΑ ΣΗΨΗ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ. ΕΥΡΟΣ ΞΕΝΙΣΤΩΝ. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ.

2.1 ΠΡΟΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΒΟΛΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΜΥΚΗΤΑ *B. CINEREA*

Ο μύκητας *B. cinerea*, όπως προαναφέρθηκε, προσβάλλει φυτά όλων των ηλικιών και σχεδόν όλα τα μέρη αυτών. Τα συμπτώματα γίνονται ορατά 7-8 ημέρες μετά την προσβολή η οποία ευνοείται από υψηλή υγρασία ($\Sigma.Y.>91\%$) και θερμοκρασίες 9-24 °C.

Η προσβολή μπορεί να εκδηλωθεί από τα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυτών με τη μορφή τήξεως των σπορείων. Όμως συχνότερα εμφανίζεται σε ανεπτυγμένα φυτά, ιδίως δε αν αυτά έχουν εξασθενημένους ή ξερούς ιστούς. Ιδιαίτερα ευαίσθητοι είναι οι καρποί, τους οποίους μπορεί να προσβάλει προσυλλεκτικά ή μετασυλλεκτικά, με αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής και την υποβάθμιση της ποιότητας. Οι μολύνσεις ξεκινούν συνήθως από τα άνθη και σταδιακά επεκτείνονται στους καρπούς, τα φύλλα και τα στελέχη (Δαφέρμος, 2003).

Λαιμός

Οι πρώτες προσβολές εμφανίζονται συνήθως στο λαιμό των νεαρών φυταρίων του σπορείου. Οι προσβεβλημένοι ιστοί μαλακώνουν, φαίνονται σαν λιωμένοι και συρρικνώνονται. Σχηματίζεται έτσι ένα χαρακτηριστικό ξηρό έλκος στο λαιμό του φυτού, χρώματος μπλε, που καλύπτεται από γκριζό χνούδι. Εν συνεχεία οι ιστοί νεκρώνονται και καλύπτονται τελείως από την χαρακτηριστική πυκνή εξάνθηση του μύκητα.

Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα φυτά να μαραίνονται, να διπλώνουν, να πέφτουν στο έδαφος και τελικά να ξεραίνονται. Προσβολή σπανιότερα παρατηρείται και σε σημεία πάνω από το λαιμό του φυτού με τα ίδια συμπτώματα.

Αμέσως μετά τη μεταφύτευση, συμπτώματα παρόμοια με αυτά του σπορείου παρατηρούνται στα νεαρά φυτά. Τα προσβεβλημένα από την τεφρά σήψη φυτά εμφανίζουν μαλακό, αφυδατωμένο και συρρικνωμένο λαιμό χρώματος καστανού και τελικά νεκρώνονται. (Βακαλουνάκης, 2006, Δαφέρμος, 2003).



Εικόνα 2.1 Προσβολή από τεφρά σήψη σε άνθη και καρπούς τομάτας (Παναγόπουλος, 1995)

Άνθη

Τα άνθη λόγω του ότι είναι ανοιχτά, προσβάλλονται πολύ εύκολα από την τεφρά σήψη. Πρώτα προσβάλλονται τα σέπαλα και πολύ σύντομα ολόκληρο το άνθος το οποίο αποκτά ένα χρυσοκάστανο χρώμα και νεκρώνεται. Τα νεκρά άνθη συχνά αποικίζονται από μύκητες του γένους *Penicillium* spp. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε σύγχυση σχετικά με το πραγματικό παθογόνο αίτιο.

Η μόλυνση ενός άνθους σιγά σιγά επεκτείνεται και στα υπόλοιπα της ταξιανθίας αλλά και μέσω αυτής στον κεντρικό βλαστό του φυτού. Όμως και από μολυσμένα ανθικά μέρη μπορεί να μολυνθούν καρποί και φύλλα ενώ η γύρη μπορεί να δράσει ως διεγερτικό της βλάστησης των κονιδίων αλλά ή να αυξήσει τη μολυσματικότητα του παθογόνου. (Παναγόπουλος, 1995)

Καρποί

Η μόλυνση στους καρπούς συνήθως ξεκινά από τα νεκρά υπολείμματα του άνθους, τα σέπαλα και τα πέταλα, αλλά και από το σημείο πρόσφυσης του ποδίσκου στον καρπό. Πολύ συχνά βέβαια η προσβολή μπορεί να αρχίσει από το σημείο επαφής δύο καρπών ενώ σπανιότερα από πληγές της επιδερμίδας του καρπού. (Παναγόπουλος, 1995)

Ο *B. cinerea* προκαλεί στους καρπούς τυπικές σήψεις. Αρχικά εμφανίζονται κηλίδες ανοιχτού πράσινου χρώματος που εξελίσσονται σε καστανές. Οι ιστοί του

γίνονται μαλακοί ενώ η επιδερμίδα συχνά σχίζεται. Η κηλίδα καλύπτεται από την πυκνή, τεφρού χρώματος εξάνθηση του μύκητα και αποτελεί σοβαρό μόλυσμα για την επέκταση της ασθένειας μέσα στο θερμοκήπιο. Σταδιακά η κηλίδα επεκτείνεται σε ολόκληρο τον καρπό ο οποίος μумιοποιείται και μπορεί να πέσει στο έδαφος.

Στο κέντρο του δακτυλίου υπάρχει συνήθως ένα νεκρωτικό στίγμα που θυμίζει νύγμα εντόμου. Το σύμπτωμα αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι μετά την βλάστηση του κονιδίου στην επιφάνεια του καρπού, την είσοδο του βλαστικού σωλήνα εντός του καρπού ακολουθεί θάνατος του μυκηλίου. Αυτό συμβαίνει όταν μετά από υγρές και ψυχρές συνθήκες ακολουθήσει ζεστός και ηλιόλουστος καιρός. (Παναγόπουλος, 1995, Βακαλουνάκης, 2006)

Φύλλα

Οι προσβολές της ασθένειας στα φύλλα, συχνά αρχίζουν από γερασμένους ιστούς ή από σημεία τραυματισμένα τόσο από φυσικούς όσο και χημικούς παράγοντες. Αν προσβληθεί κάποιο φυλλίδιο ή κηλίδα σταδιακά επεκτείνεται και στα υπόλοιπα φυλλίδια του σύνθετου φύλλου, στο μίσχο και από εκεί στο στέλεχος του φυτού.

Η προσβολή στα φύλλα εμφανίζεται αρχικά σαν κηλίδα η οποία έχει ανοιχτό πράσινο χρώμα. Αργότερα οι κηλίδες αποκτούν πρασινοκίτρινο χρώμα, οι ιστοί μαλακώνουν, σαπίζουν και κρέμονται. Συχνά αναπτύσσεται η τέφρα εξάνθηση του μύκητα η οποία καλύπτει την κηλίδα.



Εικόνα 2.2 Φύλλα τομάτας προσβλημένα από τεφρά σήψη (Παναγόπουλος, 1995)

Οι κηλίδες στα φύλλα και στους βλαστούς συχνά έχουν ομόκεντρους κύκλους λόγω των απότομων διακυμάνσεων της υγρασίας. Αυτό το σύμπτωμα μοιάζει με την αλτερναρίωση (*Alternaria solani*) με τη διαφορά ότι οι κηλίδες της τέφρας σήψης βρίσκονται σε φύλλα κάθε ηλικίας και έχουν γκριζο χρώμα ενώ αυτές της αλτερναρίωση μόνο σε παλιά και έχουν καστανό χρώμα. (Παναγόπουλος, 1995)



Εικόνα 2.3: Φράουλα προσβλημένη από τεφρά σήψη (Παναγόπουλος, 2007)

Ο *B. cinerea* επιβιώνει κάτω από αντίξοες συνθήκες, πολύ υψηλές ή πολύ χαμηλές θερμοκρασίες με τη μορφή σκληρωτίων. Τα σκληρώτια του μύκητα μπορούν να παραμένουν ζωντανά για αρκετά χρόνια, τουλάχιστον δύο, στο έδαφος ή στα φυτικά υπολείμματα. Ο μύκητας μπορεί επίσης να διατηρείται για μεγάλα χρονικά διαστήματα με το μυκήλιο και τα κονίδια στους νεκρούς φυτικούς ιστούς.

Τα σκληρώτια όταν βρεθούν κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες κυρίως υγρασίας και θερμοκρασίας βλαστάνουν και παράγουν άφθονο γκρίζο μυκήλιο και μακριούς διακλαδιζόμενους κονιδιοφόρους. Οι κονιδιοφόροι φέρουν τα κονίδια τα οποία διασκορπίζονται εύκολα με τον άνεμο ή το νερό και προσβάλλουν τα φυτά ξενιστές. Τα κονίδια βλαστάνουν, διατρύπουν τους ιστούς κυρίως από πληγές ή μετά από ανάπτυξη για μικρό χρονικό διάστημα και παράγουν μυκήλιο στα προσβλημένα μέρη του φυτού.

Έτσι η αρχική μόλυνση των φυτών γίνεται από τις βλαστικές υφές των κονιδίων τα οποία διαχείμασαν είτε σαπροφυτικά σε νεκρά φυτικά υπολείμματα είτε αναπτύχθηκαν πάνω σε σκληρώτια. Από τις προσβολές αυτές αναπτύσσεται νέο μυκήλιο το οποίο είτε θα δώσει νέους κονιδιοφόρους είτε σκληρώτια. Πάνω στα σκληρώτια σπάνια αναπτύσσονται αποθήκια.

Ο κύκλος της ασθένειας στη θερμοκρασία των 20 C διαρκεί 95 ώρες περίπου δηλαδή τέσσερις μέρες. Από αυτές η βλάστηση των κονιδίων είναι 5 ώρες, η διάρκεια της προσβολής 15 ώρες κι η ανάπτυξη του μυκηλίου και η παραγωγή των σπορίων του μύκητα 75 ώρες.

Τα σπόρια του μύκητα την πρώτη μέρα μετά την παραγωγή τους έχουν βλαστικότητα 100% η οποία σταδιακά μειώνεται για να φτάσει 35 μέρες μετά μόλις το 1%.



Εικόνα 2.4: τομάτα προσβεβλημένη από τέφρα σήψη. (Παναγόπουλος, 1995)

Τεφρά σήψη. (*Botrytis* VIVE Rot ή Gray Mold Rot).

Το παθογόνο δύναται να προσβάλλει τα προϊόντα αρκετά πριν τη συγκομιδή τους. Σχεδόν όλοι οι νωποί καρποί (αχλάδια, μήλα, ροδάκινα, σταφύλια), λαχανικά (τομάτα, αγγούρι, μαρούλι κ.α.) και βολβοί (κρεμμύδια, σκόρδα, καρότα κ.α.) προσβάλλονται από την ασθένεια αυτή κατά την αποθήκευσή τους αλλά και κατά την καλλιεργητική περίοδο.

Συμπτώματα και σημεία προσβολών στα αποθηκευμένα προϊόντα: Οι μύκητες του γένους *Botrytis* προκαλούν σήψεις χρώματος γκρι-καστανού. Η σήψη παρουσιάζεται αρχικά ως ένα ελαφρύ μαύρισμα στους ιστούς που εξελίσσονται σε καφέ σήψη με σαφή όρια και διεισδύει ταχύτατα στο φυτικό ιστό. Στους περισσότερους ξενιστές στην επιφάνεια των προσβεβλημένων με τεφρή σήψη ιστών αναπτύσσεται μια γκρι εξάνθηση με βελούδινης υφής («μούχλα») που αποτελείται από τα κονίδια και κονιδιοφόρους του μύκητα.

Μετά την καρπόδεση ο μύκητας επαναδραστηριοποιείται και σχηματίζει χαρακτηριστική νεκρωτική κηλίδα στην περιοχή του κάλυκα ή του ποδίσκου των καρπών. Στους άγουρους καρπούς ο μύκητας αναπτύσσεται με πολύ αργό ρυθμό επειδή α) οι ιστοί δεν είναι πλούσιοι σε σάκχαρα και β) περιέχουν υποστατικές ουσίες. Πολλές φορές η μόλυνση παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση μέχρι τη συγκομιδή. Στην αποθήκη (συνήθως ψυγείο), η εξέλιξη του μύκητα είναι αρκετά διαφορετική. Παρά τη χαμηλή θερμοκρασία ο μύκητας επεκτείνεται γρήγορα λόγω του κατάλληλου υποστρώματος (ώριμοι καρποί πλούσιοι σε σάκχαρα). Το μυκήλιο αναπτύσσεται και προσβάλλει παρακείμενους καρπούς είτε με μηχανική είτε με ενζυματική δράση. Σε περιβάλλον υψηλής σχετικής υγρασίας εμφανίζεται η χαρακτηριστική σταχτιά μούχλα (κονιδιοφόροι και κονίδια του μύκητα). Μέσα στην αποθήκη ο μύκητας μπορεί να προκαλέσει καθολική καταστροφή της παραγωγής καθώς δύναται να αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες από 1 μέχρι 30°C.

Στα βολβώδη λαχανικά η ασθένεια γίνεται αντιληπτή συνήθως μετά από αρκετές εβδομάδες αποθήκευσης. Παρατηρείται μαλακή σήψη των εξωτερικών χιτώνων του ανώτερου τμήματος των βολβών. Ο μύκητας προχωρεί προς τη βάση των προσβεβλημένων χιτώνων οι οποίοι γίνονται καστανοί και σπογγώδεις και μοιάζουν σαν να είναι «βρασμένοι». Αν αφαιρεθούν οι εξωτερικοί χιτώνες αποκαλύπτεται μαύρη μάζα **σκληρωτίων** και τεφρά εξάνθηση. Σε προχωρημένο στάδιο οι βολβοί σαπίζουν και καλύπτονται από την πλούσια εξάνθηση του παθογόνου.

2.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Το μόλυσμα του *B. Cinerea* θεωρείται γενικά ότι υπάρχει συνεχώς στο περιβάλλον του αγρού και ότι η παραγωγή, απελευθέρωση και διασπορά του είναι μια συνεχής διαδικασία. Ο μύκητας *B. Cinerea* μπορεί να διαχειμάσει ως μυκήλιο σε νεκρό ή ζωντανό φυτικό υλικό ή ως σκληρώτια σε φυτικά υπολείμματα στην επιφάνεια του εδάφους ή θαμμένα στο έδαφος. Από αυτές τις μορφές διαχείμασης θα προκύψουν αργά το χειμώνα και νωρίς την άνοιξη κονιδιοφόροι με κονίδια τα οποία θα αποτελέσουν το αρχικό μόλυσμα στον αγρό.

Για να επιτύχει το παθογόνο μόλυνση, πρέπει να μετακινηθεί από την αρχική πηγή σε ευαίσθητο προς μόλυνση ιστό. Κάθε τμήμα του θαλλού του μύκητα δύναται να λειτουργήσει ως μονάδα διασποράς και μόλυνσης. Οι προαναφερθείσες μονάδες

παθογόνου διασπείρονται με τον άνεμο, τη βροχή και τα έντομα. Ωστόσο, τα αερομεταφερόμενα κονίδια θεωρούνται γενικώς η πιο σημαντική μολυσματική μονάδα του *B. Cinerea*. Πέραν όμως του ανέμου και η βροχή έχει συσχετιστεί με υψηλές συγκεντρώσεις αερομεταφερόμενων κονιδίων καθώς επηρεάζει την ελευθέρωσή τους. Φαίνεται ότι οι σταγόνες βροχής χτυπώντας στους προσβεβλημένους φυτικούς ιστούς απελευθερώνουν ξηρά κονίδια τα οποία στη συνέχεια μπορούν να μεταφερθούν με τα σταγονίδια. Επίσης, ως φορείς παθογόνου αναφέρονται και αρκετά έντομα τα οποία κυρίως με την τροφική τους δραστηριότητα προσλαμβάνουν και μεταφορέων τμήματα θάλλου του μύκητα. Σε διάφορες εργασίες υποστηρίζεται ότι κονίδια του μύκητα δύναται να παγιδευτούν στην επιδερμίδα, σωματικές τρίχες και ανάγλυφες περιοχές του σώματος διαφόρων εντόμων που σχετίζονται με ξενιστές του *B. cinerea*.

Λιγότερο σημαντική αλλά όχι αμελητέα είναι και η συνεισφορά άλλων τμημάτων του θάλλου του μύκητα στη διασπορά του όπως είναι για παράδειγμα τα ασκοσπόρια, τα χλαμυδοσπόρια αλλά και τμήματα προσβεβλημένων φυτικών ιστών. Τέτοιοι ιστοί εκτός από μονάδες διασποράς του παθογόνου μπορεί να αποτελέσουν και θέσεις για παραγωγή επιπλέον γενεών κονιδίων.

Υψηλή σχετική υγρασία, ελεύθερη υγρασία στις φυτικές επιφάνειες και ενδιάμεσες θερμοκρασίες θεωρούνται οι πιο σημαντικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες για την έναρξη της προσβολής του μύκητα. Πράγματι, ο ρόλος της μεμβράνης νερού στη βλάστηση και μόλυνση έχει από καιρό αναγνωρισθεί. Ωστόσο, είναι ενδιαφέρον ότι το παθογόνο έχει αναπτύξει την ικανότητα να μολύνει φυτά ακόμη και απουσία μεμβράνης νερού. Ο *B. Cinerea* συνήθως διαπερνά τους ιστούς του ξενιστή του είτε μέσω πληγής ή μέσω φυσικών ανοιγμάτων. Όμως, ο μύκητας έχει τη δυνατότητα να διαπερνά άμεσα την επιδερμίδα των φυτών μέσω ενζυμικής διάσπασης καθώς παράγει χιτινάσες, πηκτινολυτικά ένζυμα και έναν αριθμό πολυγαλακτουρονασών, πρωτεασών και λακασών.

Γενικά, οποιοσδήποτε παράγοντας, ο οποίος μπορεί να προκαλέσει πληγές ή εξασθένηση σε φυτικούς ιστούς διευκολύνει την προσβολή από το μύκητα. Ένα φαινόμενο που σχετίζεται με τις προσβολές του *B. cinerea*, είναι η ικανότητα του παθογόνου να παραμένει ανενεργό, εντός των ιστών του ξενιστή για διάφορα χρονικά διαστήματα κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου μέχρι και τη συγκομιδή των καρπών, προκαλώντας τις λεγόμενες λανθάνουσες μολύνσεις. (Βακαλουνάκης, 2006)

2.3 ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ

Ο *B. cinerea* μπορεί να προσβάλλει ένα πολύ μεγάλο εύρος φυτών ξενιστών χωρίς φαινομενική εξειδίκευση. Οι υγιείς ιστοί μπορεί να προσβληθούν διαμέσου της επιδερμίδας λόγω της έκκρισης από το μύκητα εξωκυτταρικών ενζύμων τα οποία εμπλέκονται στην παθογένεση. Ακόμη προσβάλλονται διαμέσου αλλοιωμένων ή νεκρών ιστών, στομάτων, πληγών και τριχιδίων που υπάρχουν στις φυτικές επιφάνειες.

Η προσβολή από το μύκητα περιλαμβάνει τρεις φάσεις, όπως ακριβώς και στους άλλους μύκητες, τη βλάστηση των κονιδίων, τη διείσδυση και την εγκατάσταση του μύκητα στους ιστούς του ξενιστή. (Τζάμος, 2007)

2.3.1 ΒΛΑΣΤΗΣΗ

Τα κονίδια του μύκητα εναποτίθενται στα σημεία της προσβολής του φυτού και διατηρούνται εκεί για πάνω από 12 εβδομάδες πριν να βλαστήσουν. Για την γρήγορη βλάστηση τους χρειάζονται ένα λεπτό στρώμα νερού, ενώ οι βλαστικές υφές αναπτύσσονται ανεξάρτητα από την σχετική υγρασία του περιβάλλοντος.

Τα κονίδια προσκολλώνται στην επιφάνεια του φυτικού ιστού και προσλαμβάνουν υδατοδιαλυτές θρεπτικές ενώσεις που βρίσκονται πάνω σε αυτήν. Οι ενώσεις αυτές συνήθως προέρχονται από εκκρίσεις του φυτού ή εξωτερικές πηγές όπως οι χημικές επεμβάσεις, η γύρη, οι μελιτώδεις εκκρίσεις π.χ. εντόμων, οι αποσυντιθεμένοι ιστοί και το νεκρό φυτικό υλικό. Από αυτές τις ουσίες εξαρτάται κατά πολύ η προσβολή και η ικανότητα του μύκητα να προσβάλλει ακόμη και υγιείς ιστούς. Τέτοιες ουσίες είναι τα ελεύθερα άλατα, τα αμινοξέα, οι ρυθμιστές αύξησης και οι βιταμίνες που υπάρχουν στα φυτικά τμήματα.

Όταν τα κονίδια βρεθούν σε νερό, η βλάστηση τους στους 22 °C ξεκινά μετά από 4 ώρες επώασης. Το 50% των κονιδίων βλαστάνει μετά από 7 ώρες και το 95% στις 11 ώρες. Αν τα κονίδια κατά τη διάρκεια της βλάστησης στεγνώσουν η διαδικασία σταματά.

Τα κονίδια απουσία ελεύθερου νερού για να βλαστήσουν χρειάζονται 30 ώρες επώασης σε σχετική υγρασία (Σ.Υ.) 100% ενώ σε Σ.Υ. μικρότερη του 95% η

βλάστηση καθυστερεί τουλάχιστον 52 ώρες. Η προσβολή μειώνεται πάρα πολύ όταν η Σ.Υ. πέφτει στο 30% έστω και για πολύ σύντομο χρονικό διάστημα.

Αναστολή της βλάστησης των κονιδίων μπορεί να συμβεί από διάφορες αιτίες. Αυτές είναι τοξικές ουσίες που απελευθερώνει το φυτό, αναστολή από την φυλλική επιφάνεια της μικροχλωρίδας, ανταγωνισμός με τη φυλλική επιφάνεια της χλωρίδας για θρεπτικά στοιχεία και τέλος η ηλικία των κονιδίων κι ο αριθμός τους ανά ml μολυσματικής σταγόνας.

Παρεμπόδιση της βλάστησης των κονιδίων του *B. cinerea* παρατηρείται συχνά, όπως και στα κονίδια άλλων μυκήτων, όταν είναι πολλά μαζί. Τα κονίδια του μύκητα τυπικά δεν θα βλαστήσουν σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες ή ίσες των 10^6 κονίδια ανά ml, αλλά η ακριβής συγκέντρωση στην οποία θα παρατηρηθεί αυτό εξαρτάται από τη θρεπτική κατάσταση και την ηλικία των κονιδίων. Έτσι σε αιώρημα *B. cinerea* με συγκέντρωση κονιδίων 10^6 /ml που επώαστηκαν για 17 ώρες και μετά φυγοκεντρήθηκαν, για να απομακρυνθούν όλα τα κονίδια, το 95% αυτών δεν είχαν βλαστήσει.

Τα κονίδια του *B. cinerea* όταν βλαστήσουν παράγουν μία ή περισσότερες βλαστικές υφές διαδοχικής και ποικίλης ανάπτυξης που οφείλεται σε διάφορους παράγοντες. Έτσι βρέθηκε από τους ίδιους ερευνητές ότι ξηρά κονίδια του μύκητα σε φύλλα κουκιού παρήγαγαν κοντές υφές οι οποίες ήταν πολύ στενά προσκολλημένες στο υπόστρωμα και ικανές να διεισδύσουν κατευθείαν στους ιστούς του ξενιστή.

Όταν όμως τα κονίδια του μύκητα βλαστάνουν σε φύλλα τομάτας, οι βλαστικές του υφές ακολουθούν τους αντικλινείς, θολωτούς συνδέσμους των κυτταρικών τοιχωμάτων πριν τη δημιουργία των απρεσορίων. Οι αναπτυσσόμενες βλαστικές υφές περιέχονται σε ένα στενό περίβλημα το οποίο τις καθιστά ικανές να προσκολληθούν σε φυσικά υποστρώματα. Έχει αποδειχτεί ότι το στενό αυτό περίβλημα αποτελείται από ένα δίκτυο πρωτεϊνικών ινιδίων.

2.3.2 ΔΙΕΙΣΔΥΣΗ ΤΟΥ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΜΥΚΗΤΑ

Μετά τη βλάστηση των κονιδίων ακολουθεί η διείσδυση η οποία είναι η φάση μεταξύ της επιφανειακής ανάπτυξης του μύκητα και του σχηματισμού ενδοκυτταρικής αλλοίωσης των ιστών του ξενιστή. Σε αυτήν την φάση αναπτύσσονται οι βλαστικές υφές του μύκητα οι οποίες μπορούν είτε να διεισδύσουν

απευθείας στον φυτικό ιστό είτε σχηματίζοντας απρεσσόρια. Η παραγωγή των απρεσσορίων κι η είσοδος τους μέσω των στομάτων στους μεσοκυττάριους χώρους αναφέρθηκε από τον Elad.

Οι πληγωμένοι ιστοί του φυτού κι η παρουσία νεκρών κυττάρων στα σημεία προσβολής διευκολύνουν αρκετά την είσοδο των υφών του μύκητα στους μεσοκυττάριους χώρους. Η διαδικασία της διείσδυσης διαρκεί 2-3 ώρες και μαζί με την βλάστηση που διαρκεί 7 ώρες είναι οι φάσεις που το παθογόνο είναι εκτεθειμένο στις περιβαλλοντικές επιδράσεις δηλαδή στο σύνολο για 9-10 ώρες.

Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της διείσδυσης, παρατηρούνται με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο οι ακόλουθες διαφοροποιήσεις :

- α) η επιδερμίδα αποσυντίθεται περισσότερο,
- β) τα κυτταρικά τοιχώματα μαλακώνουν λόγω της αποσύνθεσης της πηκτίνης και τέλος
- γ) λαμβάνει χώρα το αδυνάτισμα των επιδερμικών κυτταρικών τοιχωμάτων.

Τις πρώτες ώρες της διείσδυσης μπορεί να συμβαίνει συγχρόνως η πλασμόλυση των κυττάρων κι η είσοδος των υφών.

Κατά τη διάρκεια της διείσδυσης του *B. cinerea* παράγονται διάφορα ένζυμα, όπως οι πηκτινάσες, τα οποία αποικοδομούν τους φυτικούς ιστούς παίζοντας σημαντικό ρόλο στην είσοδο του μύκητα στους μεσοκυττάριους χώρους. Τα ένζυμα αυτά ονομάζονται ένζυμα αλλοίωσης των κυτταρικών τοιχωμάτων (cell wall degrading enzymes, CWDE) και η παραγωγή τους αυξάνεται ιδιαίτερα στην φάση παραγωγής των κονιδίων. Έχουν τέσσερις πιθανούς τρόπους δράσης:

- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα κι ως εκ τούτου διευκολύνουν την ενδοκυτταρική ανάπτυξη του μύκητα.
- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα εφοδιάζοντας το μύκητα με θρεπτικά στοιχεία.
- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα μειώνοντας την ισχύ του για αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο.
- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα με αποτέλεσμα να παράγονται τοξίνες ή άλλες ουσίες που προκαλούν τον κυτταρικό θάνατο.

Η έκκριση των ενζύμων της πηκτινάσης συμβαίνει νωρίτερα κατά τη διάρκεια της βλάστησης των κονιδίων αλλά και από τις νεαρές βλαστικές υφές και μαζί με τα ένζυμα της χητινάσης παίζουν ένα πολύ σημαντικό ρόλο στα πρώτα στάδια της διείσδυσης των φυτικών ιστών (Salinas, 1992). Τα ένζυμα που εκκρίνει ο

B. cinerea και ο πιθανός ρόλος τους στην αλληλεπίδραση με τον ξενιστή, φαίνονται στον Πίνακα 3 που ακολουθεί.

Πίνακας 2. Ένζυμα τα οποία εκκρίνει ο *B. cinerea* και πιθανή αλληλεπίδραση τους με τον ξενιστή (Salinas, 1992).

ΟΥΣΙΑ	ENZYMA
Χητίνη	Χητινάση
Πηκτίνη	Πολυγαλακτουρονάσες Πηκτινάσες Πηκτινικές μεθυλεστεράσες
Πρωτεΐνη	Όξινη πρωτεϊνάση
Φαινόλες	Λακκάση
β(1-3)γλουκάνες	β(1-3) γλουκανάση
Κυτταρίνη	Κυτταρινάσες
Φωσφολιτίδια	Φωσφολιπάση, Φωσφολιπιδάση, λιπάσες

Οι πολυγαλακτουρονάσες (PGs) διαλύουν την πηκτίνη. Από αυτές το ένζυμο PG2 που αναγνωρίστηκε βρέθηκε ότι έχει διπλό ρόλο στην διείσδυση του μύκητα. Πρώτον στην προώθηση της διάτρησης των πρώτων κυτταρικών τοιχωμάτων και δεύτερον στο ξεκίνημα της αλυσιδωτής παραγωγής άλλων ενζύμων τα οποία παίρνουν μέρος στον καταβολισμό της πηκτίνης. Η παρουσία εξάλλου πολλαπλών ισόμορφων των PGs σχετίζεται με το προωθημένο στάδιο προσβολής, που το φυτικό υλικό έχει αποικοδομηθεί και αποσυντεθεί από το μύκητα.

Συνάμα έχει βρεθεί ότι η εφαρμογή μιας πρωτεΐνης, της ενδοπολυγαλακτουρονασικής ανασταλτικής πρωτεΐνης (PGIP), σε τομάτες είχε αποτέλεσμα την αύξηση της αντοχής τους στην τεφρά σήψη. Η πρωτεΐνη αυτή αναστέλλει τη δράση των PGs γι' αυτό και τα φυτά είχαν αυξημένη ανθεκτικότητα.

Ακόμη ο μύκητας παράγει διάφορες τοξίνες οι οποίες θεωρούνται πολύ σημαντικές για την παθογένεση αλλά ο ρόλος τους δεν έχει ακόμη ξεκαθαρίσει. Ο *B. cinerea* στα πρώτα στάδια της βλάστησης των κονιδίων παράγει κάποια τοξίνη η οποία τον καθιστά ικανό να νεκρώνει τα κύτταρα του ξενιστή.

Τέλος ο *B. cinerea*, όπως και πολλοί άλλοι φυτοπαθογόνοι μύκητες έχει αποδειχθεί ότι παράγει φυτορμόνες.

2.3.3 ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ

Η είσοδος του μύκητα ακολουθείται από την εγκατάσταση του, δηλαδή τον χρόνο από την προσβολή έως την εμφάνιση των συμπτωμάτων, αλλά και την εξάπλωση της αλλοίωσης των φυτικών ιστών. Στο στάδιο αυτό το μυκήλιο που διαπέρασε την επιδερμίδα, αναπτύσσεται στα κύτταρα που νεκρώθηκαν από το μύκητα, λόγω της παραγωγής τοξινών και ενζύμων. Η διάχυση των τοξινών και των ενζύμων φέρνει αποτέλεσμα σε μια κλίμακα τοξικών εκκρίσεων.

Στην περιφέρεια της αλλοίωσης μπορεί να διακριθούν οι παρακάτω ζώνες:

- α) Η ζώνη 0 που βρίσκεται κοντά στο νεκρωτικό κέντρο των αλλοιώσεων με τις άκρες των υφών του μύκητα να εκκρίνουν τοξίνες και ένζυμα.
- β) η ζώνη I που είναι η ζώνη διάχυσης των τοξικών συγκεντρώσεων τοξινών και ενζύμων,
- γ) η ζώνη II στην οποία υπάρχουν υποθανατηφόρες συγκεντρώσεις από τις ουσίες και των δύο τύπων και τέλος
- δ) τη ζώνη III στην οποία υπάρχει ο υγιής ιστός.

Στη συνέχεια το παθογόνο αναπτύσσεται στον ιστό που απελευθερώνει θρεπτικά στοιχεία απαραίτητα για την αύξηση του. Υπάρχει ένα μοντέλο για την επέκταση των αλλοιώσεων το οποίο βασίζεται στη διάχυση. Η διάχυση των εκκρίσεων ίσως συμβαίνει στους ζωντανούς ενδοκυττάριους χώρους. Την ίδια στιγμή οι εκκρίσεις ίσως εισέρχονται στα κυτταρικά τοιχώματα και το κυτόπλασμα.

Από τους νόμους της διάχυσης, προκύπτει ότι η απόσταση στην οποία τα κύτταρα νεκρώνονταν και η αλλοίωση επεκτεινόταν, βασικά εξαρτάται από το ενδοκυτταρικό υδατικό περιεχόμενο και σε μικρότερο βαθμό από την συγκέντρωση των τοξινών και των ενζύμων που παράγονται από τις άκρες των υφών. Το ενδοκυτταρικό υδατικό περιεχόμενο με τη σειρά του εξαρτάται από την Σ.Υ. ή το εξατμιζόμενο υδατικό έλλειμμα, το άνοιγμα των στοματίων και άλλα.

Τα ελεύθερα στοιχεία έχει αποδειχτεί ότι έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του μύκητα. Μετά από μια περίοδο η οποία εξαρτάται από τον ξενιστή, τις επικρατούσες καιρικές συνθήκες, το στέλεχος του μύκητα και άλλους παράγοντες, εμφανίζονται οι πρώτες κηλίδες της τέφρας σήψης. Πολύ σπουδαίος παράγοντας είναι η εναλλαγή υγρών νυχτών και ξηρών ημερών, που μπορεί να προκαλέσει τυπικές ζώνες ανάπτυξης των κηλίδων.

2.4 ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΑΙ ΣΤΗ ΦΥΣΗ

Παραλλακτικότητα μετά από απομόνωση από την φύση

Οι μύκητες που ανήκουν στα υποχρεωτικά παράσιτα διατηρούνται και αναπτύσσονται αποκλειστικώς πάνω στους ξενιστές τους. Αντιθέτως, πολλοί φυτοπαθογόνοι μύκητες μπορεί να καλλιεργηθούν σε τεχνητά θρεπτικά υποστρώματα. Ο ενδεδειγμένος πολλαπλασιασμός των μυκήτων πρέπει να αρχίζει από μονόσπορες καλλιέργειες και να εξασφαλίζεται η γενετική ομοιομορφία της αποικίας σε σύγκριση με τα μείγματα σπορίων και υφών που δίδουν ετερογενείς αποικίες. Στους Αδηλομύκητες που παράγουν πολλά απλοειδή σπόρια και στους μύκητες που είναι αυτόστειροι οι καλλιέργειες που προέρχονται από ένα απλοειδές κύτταρο θα πρέπει να δώσουν όλες τις φάσεις του βιολογικού τους κύκλου. Οι απλοειδείς φυλές ενός μύκητα που διαφέρουν στο συζευκτικό τύπο αλλά είναι γενετικά ταυτόσημες ή σχεδόν ταυτόσημες μπορεί να αποκτηθούν με επαναλαμβανόμενες επαναδιασταυρώσεις διαδοχικών γενεών με μια από τις μητρικές φυλές (Τζάμος, 2007).

Μερικοί μύκητες διακρίνονται για τη μεγάλη παραλλακτικότητα τους στις καλλιέργειες. Διακρίνονται επίσης για τις μορφολογικές αλλαγές που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια επαναλαμβανόμενων μεταφυτεύσεων σε τεχνητά θρεπτικά υλικά. Είναι πιθανόν πως αυτές οι διαφορές μεταξύ των ειδών δε σχετίζονται με τη δυνατότητα παραλλακτικότητας αλλά από τη διαφοροποίηση των συνθηκών αναπτύξεως στην εργαστηριακή καλλιέργεια σε σύγκριση με τη φύση. Συνεχής μεταφορές και καλλιέργεια των μυκήτων σε τεχνητά θρεπτικά υποστρώματα οδηγεί στην εμφάνιση αλλαγών στη μορφολογία τους. Μεταφορές τεμαχίων θρεπτικού υλικού με καλλιέργεια του μύκητα δίνει αποικία από ανάπτυξη μυκηλίου και όχι από βλάστηση σπορίων. Με αυτή τη διαδικασία δεν υφίσταται επιλογή κατά μεταλλαγών που είναι υπολειπόμενες ως προς τη σποροποίηση με αποτέλεσμα να χάνεται ταχύτατα η ιδιότητα αυτή. Η διατήρηση της ικανότητας σποροποίησης επιτυγχάνεται με τη μεταφορά όχι μόνο αγενώς αλλά και εγγενώς παραχθέντων σπορίων (Τζάμος, 2007).

Παραμονή των μυκήτων για παρατεταμένο χρονικό διάστημα σε τεχνητά θρεπτικά υποστρώματα με επαναλαμβανόμενες μεταφορές σε υλικά μπορεί να

οδηγήσει σε γενετικές αλλαγές. Είναι έτσι προτιμότερο οι καλλιέργειες να διατηρούνται αποθηκευμένες μετά την πρώτη απομόνωση ή στελέχη με πολύτιμες ιδιότητες να διατηρούνται σε συνθήκες που επιτρέπουν διατήρηση επί μακρόν όπως σε κατάψυξη υγρού αζώτου. (Τζάμος, 2007).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΩΝ ΣΗΨΕΩΝ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

Συνοπτικά τα μέτρα καταπολέμησης της τέφρας σήψης χωρίζονται στα καλλιεργητικά, τα χημικά και τα βιολογικά. Από αυτά τα πρώτα είναι κυρίως προληπτικά, τα χημικά είναι είτε προληπτικά είτε καταπολέμησης ενώ τα βιολογικά τα οποία είναι ακόμη σε στάδιο μελέτης είναι κυρίως προληπτικά.

Πέραν της χημικής καταπολέμησης, σημαντική συνεισφορά στον περιορισμό της ασθένειας έχουν τα καλλιεργητικά μέτρα και τα μέτρα υγιεινής τα οποία επηρεάζουν άμεσα ή έμμεσα τους παράγοντες προδιάθεσης των ιστών του ξενιστή σε προσβολές του παθογόνου. Ως εκ τούτου, καλλιεργητικές τεχνικές όπως κλάδεμα και αφαίρεση φύλλων στη ζώνη κοντά στους καρπούς, αυξάνουν τον αερισμό και το φωτισμό της κόμης των φυτών αποτρέποντας την ανάπτυξη ευνοϊκών συνθηκών για το *B. cinerea*. Μια από τις εναλλακτικές μεθόδους για έλεγχο του *B. cinerea* που εφαρμόζεται στις καλλιέργειες θερμοκηπίων είναι η πρόληψη σχηματισμού υγρασίας στα φυτά με θέρμανση και αερισμό. Επίσης, εναλλακτικές στρατηγικές ελέγχου της ασθένειας, όπως είναι ο βιολογικός έλεγχος, φαίνεται αρκετά υποσχόμενος καθώς έχουν το πλεονέκτημα της καλύτερης αποδοχής από το κοινό και της μειωμένης περιβαλλοντικής επιβάρυνσης. Ο βιολογικός έλεγχος προσφέρει μια ελκυστική εναλλακτική ή συμπληρωματική μέθοδο της συμβατικής για έλεγχο των ασθενειών καθώς οι μικροβιακοί παράγοντες βιοελέγχου θεωρούνται λιγότερο επιβλαβείς στο περιβάλλον και γενικά ο σύνθετος τρόπος δράσης τους μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης ανθεκτικότητας.

3.1 ΧΗΜΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ. Η ΧΡΗΣΗ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΩΝ ΣΕ ΑΠΟΘΗΚΕΣ

Ο χημικός έλεγχος παραμένει μέχρι και σήμερα ο κυριότερος τρόπος αντιμετώπισης και μείωσης συχνότητας εμφάνισης του *B. Cinerea*. Οι πιο κοινές επεμβάσεις περιλαμβάνουν ψεκάσμο των εναέριων τμημάτων των φυτών με μυκητοκτόνα. Επεμβάσεις σε μυκητοκτόνα γίνονται επίσης σε σπόρους και βολβούς καθώς και σε συγκομισμένους καρπούς που προορίζονται για μακροχρόνια συντήρηση. Ο αριθμός των επεμβάσεων κατά τη διάρκεια μιας καλλιεργητικής περιόδου κυμαίνεται από μια με δυο μέχρι πέραν των είκοσι. Παρ' όλα αυτά τα

τελευταία χρόνια υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί στο χημικό έλεγχο του μύκητα λόγω ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε αρκετά βοτρυδοκτόνα και λόγω της αρνητικής αντίληψης του κοινού που σχετίζεται με την ασφάλεια των βιοκτόνων.

Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας του *B. cinerea* οφείλεται:

- Στην ικανότητα του παθογόνου να μεταλλάσσεται
- Στη φύση του παθογόνου όσον αφορά την ένταση της ασθένειας, το ρυθμό αναπαραγωγής του και την εύκολη μετακίνηση των σπορίων του
- Στην ένταση της χρήσης των μυκητοκτόνων, η οποία εξαρτάται από παράγοντες όπως η δόση εφαρμογής, ο αριθμός εφαρμογών ανά καλλιεργητική περίοδο καθώς και η περιοχή προσβολής. Αυτός είναι και ο σημαντικότερος παράγοντας και μπορεί να ελεγχθεί μόνο από τον παραγωγό.

Έτσι υπάρχουν αρκετές περιπτώσεις μυκητοκτόνων τα οποία ενώ στην αρχή ήταν πολύ αποτελεσματικά ενάντια στην τεφρά σήψη, προοδευτικά έχασαν την αποτελεσματικότητά τους λόγω επιλογής ανθεκτικών στελεχών του μύκητα.

Τα συνιστώμενα μυκητοκτόνα για την καταπολέμηση της τέφρας σήψης στην τομάτα χωρίζονται στις εξής δύο κατηγορίες:

A. Οργανικά μυκητοκτόνα όπως τα διθειοκαρβαμιδικά, τα δικαρβοξιμιδικά, τα φθαλιμίδια και οι φαινολικές ενώσεις.

B. Οργανικά μυκητοκτόνα με εξειδικευμένο τρόπο δράσης όπως τα βενζιμιδαζολικά, τα οργανοφωσφορικά και από τους παρεμποδιστές βιοσύνθεσης της εργοστερόλης τα πυριμιδινικά και τα τριαζολικά (Παναγόπουλος, 2007).

Τα μυκητοκτόνα που χρησιμοποιήθηκαν και χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση του *B. cinerea* φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3. Μυκητοκτόνα τα οποία καταπολεμούν την τεφρά σήψη σε διάφορες καλλιέργειες

ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΑ			
Διθειοκαρβαμιδικά	Δικαρβοξιμιδικά	Φθαλιμίδια	Φαινολικές ενώσεις
Thiram	Iprodione	Captan	
	Vinclozoni	Folpet	
	Procymidone	Dichlofluanid	Chlorothanoli
	chlozolate		

ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΑ ΜΕ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΔΡΑΣΗ			
Βενζιμιδαζολικά	Οργανοφωσφορικά	Πυριμιδινικά	Τριαζολικά
Benomyl	Fosetyl-Al	Pyrimethanil	Tebuconazole
Carbendazim		fenethanil	Fenduconazole
Thiophanate-methyl			fenetazole
thiabendazole			

Τα μυκητοκτόνα της πρώτης κατηγορίας πλην των δικαρβοξιμιδικών έχουν μικρότερη αποτελεσματικότητα σε σχέση με εκείνα της δεύτερης. Όμως στα μυκητοκτόνα της πρώτης κατηγορίας αναπτύσσεται πιο δύσκολα ανθεκτικότητα αλλά είναι πιο επικίνδυνα από άποψη τοξικότητας.

Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο μίγματα μυκητοκτόνων και κυρίως των δικαρβοξιμιδικών, τα οποία είναι πιο αποτελεσματικά λόγω δυσκολίας του μύκητα να αναπτύξει ανθεκτικότητα.

Σύμφωνα με τον Βακαλουνάκη (2006) για την καλύτερη δυνατή καταπολέμηση της τέφρας σήψης συνιστάται να γίνονται προληπτικοί ψεκασμοί, σε περιόδους με ευνοϊκές για την ανάπτυξη του μύκητα συνθήκες κι οι οποίοι να επαναλαμβάνονται ανά διάστημα επτά έως δεκαπέντε ημερών ανάλογα με τις εκάστοτε συνθήκες.

- Χημική καταπολέμηση:
 - Συνιστώνται προληπτικοί ψεκασμοί, ανά 7 ημέρες, με ένα οργανικό μυκητοκτόνο όπως thiram, chlorothalonil κ.α. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί το διασυστηματικό carbendazim. Πολύ αποτελεσματικά εναντίον του παθογόνου θεωρούνται και τα μυκητοκτόνα της ομάδας των δικαρβοξιμιδίων όπως vinclozolin, procymidone, iprodion και βενζιμιδαζολικού μυκητοκτόνου (π.χ. carbendazim). Επίσης αποτελεσματικά είναι: το μίγμα diethofencarb+carbendazim, ETEM, maneb + carbendazim και το thiophanate.
 - Για την προστασία του λαιμού των φυτών συνιστάται κατά τη φύτευση, ενσωμάτωση στο έδαφος του απολυμαντικού πενταχλωρονιτροβενζόλιο.

Έγιναν έρευνες για την εφαρμογή της χημικής καταπολέμηση της τεφράς σήψης σε υδροπονική καλλιέργεια μαρουλιού συνάμα ερευνήθηκε και υπολείμματα μυκητοκτόνων κατά τη συγκομιδή. Για δύο συνεχή χρόνια (2010, 2011) αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα διαφόρων προγραμμάτων χημικών επεμβάσεων κατά του βοτρώτη σε μαρούλια υδροπονικής καλλιέργειας. Στα πειράματα έγιναν δύο ψεκασμοί ασφαλείας στο σπορείο σε συνδυασμό με μία ή δύο επιπλέον επεμβάσεις μετά τη μεταφύτευση, ανά 15μερα διαστήματα. Η συγκομιδή έγινε τουλάχιστον 4 εβδομάδες μετά την τελευταία επέμβαση μυκητοκτόνου. Οι ψεκασμοί ασφαλείας στο σπορείο με κάθε ένα από τα Daconil SC (chlorothalonil 50%) 3ml/lit, Teldor WG (fenhexamid 50%) 1.5g/lit, SignumWG (boscalid 26.7% + pyraclostrobin 6.7%) 1.5g/lit, SwitchWG (fludioxonil 25% + cyprodinil 37.5%) 0.5g/lit και Ortiva Opti SC (azoxystrobin 8% + chlorothalonil 40%) 2.5ml/lit, μείωσαν σημαντικά τη συχνότητα και την ένταση της προσβολής σε σχέση με το μάρτυρα. Τα μυκητοκτόνα SwitchWG και SignumWG έδωσαν την καλύτερη καταπολέμηση ενώ τα Teldor WG και Daconil SC ήταν λιγότερο αποτελεσματικά. Η εφαρμογή ενός ή δύο επιπλέον ψεκασμών μετά τη μεταφύτευση μείωσαν περαιτέρω το επίπεδο της ασθένειας. Για τη μείωση του κινδύνου ανάπτυξης ανθεκτικότητας η εναλλαγή μυκητοκτόνων στο πρόγραμμα επεμβάσεων βρέθηκε απαραίτητη. Με εξαίρεση τις επεμβάσεις μετά τη μεταφύτευση με Daconil SC (chlorothalonil 50%), σε όλες τις άλλες περιπτώσεις είτε δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα μυκητοκτόνων κατά τη συγκομιδή ή ανευρέθηκαν σε συγκεντρώσεις κατώτερες από αυτές που έχουν θεσπιστεί από την Ευρωπαϊκή Κοινότητα. (Χατζηδημόπουλος, 2012)

Πρόσφατα δοκιμαστικό νέο μυκητοκτόνο για τον έλεγχο του Βοτρώτη σε αμπέλι, λαχανικά, φράουλα και της Μονίλια σε πυρηνόκαρπα (Tanaka κ.α. 2012), το PROLECTUSTM που είναι η εμπορική ονομασία μυκητοκτόνου σκευάσματος με βάση τη fenpyrazamine (S-2188) που εξελίχθηκε από τη Sumitomo Chemical Co., Ltd., για εφαρμογές φυλλώματος. Η δραστική ουσία fenpyrazamine ανήκει στη χημική ομάδα της Πυραζολινόνης (pyrazolinone) και χαρακτηρίζεται από έμμονη δράση και υψηλή αποτελεσματικότητα ενάντια σε εύρος μυκήτων, συμπεριλαμβάνοντας είδη του γένους *Botrytis*, *Sclerotinia sclerotiorum*, και είδη του γένους *Monilia*. Το προϊόν έχει διελασματική κίνηση και δρα ενάντια στο παθογόνο της τεφράς σήψης παρεμποδίζοντας τη βλάστηση των σπορίων, την ανάπτυξη του μυκηλίου, το σχηματισμό σπορίων στις προσβεβλημένες περιοχές, παρεμποδίζοντας την εξέλιξη της προσβολής. Δρα στη βιοσύνθεση της εργοστερόλης. Δεν έχει

παρατηρηθεί διασταυρωτή ανθεκτικότητα με μυκητοκτόνα που ανήκουν στις ομάδες των δικαρβοξυμιδικών, βενζιμιδαζολών, στρομπιλουρινών, τριαζολών και πυριδιναμινών. Το PROLECTUSTM θα κυκλοφορήσει σε μορφή υδατοδιαλυτών κόκκων περιεκτικότητας 50% σε fenpyrazamine. Έχει πολύ καλό προφίλ σε σχέση με την υγεία του χρήστη, των εργατών και των τυχαία παραβρισκόμενων, με αποτέλεσμα να είναι αταξινόμητο από τοξικολογικής άποψης. Το ίδιο ισχύει και για τις φυσικοχημικές του ιδιότητες. Τα αποτελέσματα πειραμάτων υπολειμμάτων υποστηρίζουν διάστημα τελευταίας επέμβασης πριν τησυγκομιδή (PHI) 14 έως 7 ημερών για το αμπέλι (οινοποιήσιμα ή επιτραπέζια) και 1 ημέρας σε λαχανικά. Το PROLECTUSTM είναι επίσης ασφαλές για τους ωφέλιμους οργανισμούς. Το PROLECTUSTM σε δόση μεταξύ 80 και 120 γρ./στρέμμα επιδεικνύει υψηλή αποτελεσματικότητα ενάντια στο *Botrytis cinerea* στο αμπέλι, στα λαχανικά και στη φράουλα. Το φάσμα δράσης του επεκτείνεται επίσης σε μύκητες των γενών *Monilia* και *Sclerotinia*. Η ποιότητα του προϊόντος προκύπτει επίσης από την εξαιρετική εκλεκτικότητα και αντοχή στη βροχή, στη μεγάλη διάρκεια δράσης, την ήπια ταξινόμηση, και το μικρό PHI. Το PROLECTUSTM είναι επομένως ο ιδανικός συνεργάτης για προγράμματα IPM, σύμφωνα με τις ανάγκες της σύγχρονης στρατηγικής θεωρούν οι δημιουργοί του. (Tanaka κ.α. 2012),

Μεγάλος αριθμός χημικών ουσιών χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση παθογόνων που προκαλούν μετασυλλεκτικές ασθένειες σε οπωροκηπευτικά (πίνακας 4). Η χρήση τους υπόκειται σε περιορισμούς που ορίζει η νομοθεσία κάθε χώρας ώστε να αποφεύγεται η παρουσία υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε προϊόντα. Η συγκέντρωση των ανεκτών υπολειμμάτων εξαρτάται από τη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας, από το χρόνο της εφαρμογής, από το χρόνο αποθήκευσης, από τη μορφή στην οποία εφαρμόζεται η δραστική ουσία και από το προϊόν.

Πίνακας 4. Ουσίες που συνιστώνται για μετασυλλεκτική χρήση για τον έλεγχο ασθενειών οπωροκηπευτικών.

Δραστική Ουσία	Παθογόνο
2-aminobutane	<i>Colletotrichum, Penicillium, Monilia</i>
benomyl	<i>Penicillium, Sclerotinia, Botrytis</i>
biphenil	<i>Penicillium, Diplodia</i>
captan	<i>Botyrtis, Sclerotinia</i>

carbendazim	<i>Colletotrichum, Penicillium, Sclerotinia, Botrytis κ.α.</i>
dichlorofluanid	<i>Botrytis</i>
Dichloran	<i>Botrytis, Rhizopus</i>
etaconazole	<i>Geotrichum, Alternaria, Colletotrichum, Penicillium</i>
guazatine	<i>Geotrichum, Penicillium</i>
Imazalil	<i>Alternaria, Penicillium</i>
Iprodione	<i>Botrytis, Rhizopus, Colletotrichum, Gloeosporium, Monilia</i>
lime sulfur	<i>Sclerotinia</i>
mancozeb	<i>Pythium, Phytophthora</i>
maneb	<i>Pythium, Phytophthora</i>
metalaxyl	<i>Phytophthora</i>
nitrogen	<i>Penicillium</i>
o-phenilphenol	<i>Penicillium, βακτήρια</i>
prochloraz	<i>Penicillium, Alternaria</i>
propionazole	<i>Penicillium, Alternaria, Colletotrichum, Geotrichum</i>
sodium carbonate	<i>Penicillium</i>
sodium o-phenylphenate	<i>Penicillium, βακτήρια</i>
sorbic acid	<i>Alternaria, Cladosporium</i>
sulphur dioxide	<i>Botrytis</i>
thiabendazole	<i>Penicillium, Colletotrichum, Botrytis, Sclerotinia</i>
thiram	<i>Botrytis, Cladosporium</i>
thioacetamid	<i>Diplodia</i>
ziram	<i>Alternaria</i>

3.1.1 ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *B. cinerea* ΣΕ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΑ

Ιστορικό ανθεκτικότητας

Πριν από το 1970, σχεδόν όλα τα μυκητοκτόνα που χρησιμοποιούνταν για τον έλεγχο φυτοπαθογόνων ήταν πολυθεσικοί αναστολείς με προστατευτική δράση. Παρά την ευρεία τους χρήση, η ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε αυτές τις ουσίες ήταν ένα σπάνιο φαινόμενο. Ωστόσο, μετά την εισαγωγή των μυκητοκτόνων εξειδικευμένου τρόπου δράσης, στα τέλη της δεκαετίας του 1960, η ανθεκτικότητα των φυτοπαθογόνων μυκήτων στα μυκητοκτόνα έχει γίνει ένα σοβαρό πρόβλημα στη φυτοπραστασία.

Η ανθεκτικότητα στα μυκητοκτόνα είναι μια σταθερή, κληρονομήσιμη προσαρμογή ενός μύκητα σε ένα μυκητοκτόνο με αποτέλεσμα τα μειωμένη ευαισθησία του μύκητα σε αυτό. Έχουν προσδιοριστεί διάφοροι μηχανισμοί ανθεκτικότητας, ωστόσο, αλλαγές στη πρωτεΐνη - στόχο, η οποία παραμένει λειτουργική αλλά είναι λιγότερο ευαίσθητη στα μυκητοκτόνα, είναι ο πιο κοινός μηχανισμός ανθεκτικότητας στους φυτοπαθογόνους μύκητες. Αλλαγές του σημείου-στόχου προκύπτουν από σημειακές μεταλλάξεις στο αντίστοιχο γονίδιο. Ωστόσο, και άλλοι μηχανισμοί έχουν αναφερθεί, σε χαμηλότερες συχνότητες, και αφορούν :

- Υπερέκφραση του στόχου
- Ενεργοποίηση ενός εναλλακτικού μονοπατιού αντικαθιστώντας το κύριο μονοπάτι
- Ταχύτερη αποτοξίνωση του μυκητοκτόνου ή χαμηλότερα επίπεδα προ-μυκητοκτόνου ενεργοποίησης
- Μείωση της εισροής μυκητοκτόνου ή αύξηση της εκροής του με αποτέλεσμα τη χαμηλότερη συγκέντρωση του εντός του κυττάρου.

Ανθεκτικά στελέχη τυπικά υπάρχουν στη φύση σε πολύ χαμηλές συχνότητες. Δεδομένου ότι ένα μυκητοκτόνο μπορεί να ελέγξει αποτελεσματικά τα ευαίσθητα στελέχη, τα ανθεκτικά στελέχη επικρατούν στους πληθυσμούς του παθογόνου υπό την πίεση επιλογής που δημιουργεί η επαναλαμβανόμενη χρήση ενός μυκητοκτόνου. Το αποτέλεσμα της επιλογής ανθεκτικών στελεχών μπορεί να είναι ο περιορισμός ή και η πλήρης απώλεια της αποτελεσματικότητας του μυκητοκτόνου.

Είναι γνωστό ότι ο μύκητας *B. cinerea* αντιπροσωπεύει ένα κλασσικό παθογόνο υψηλού κινδύνου όσον αφορά την ανάπτυξη της ανθεκτικότητας, στα μυκητοκτόνα εξαιτίας:

- της υψηλής γενετικής παραλλακτικότητας του,
- της άφθονης σποροποίησης,
- του σύντομου βιολογικού κύκλου
- και του μεγάλου εύρους ξενιστών του.

Ως εκ τούτου, η ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών του παθογόνου στα χρησιμοποιούμενα βοτρυδιοκτόνα ήταν αναμενόμενη.

Αμέσως μετά την εισαγωγή των βενζιμιδαζολικών μυκητοκτόνων στη γεωργική πράξη καταγράφηκαν και οι πρώτες αναφορές ανθεκτικότητας εξαιτίας μεταλλάξεων στο γονίδιο της β-υπομονάδας της τουμπουλίνης. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα βενζιμιδαζολικά μυκητοκτόνα οφείλεται σε μεταλλάξεις αμινοξέων στις θέσεις 198 και 200 του γονιδίου β-τουμπουλίνης. Ωστόσο τα περισσότερα στελέχη του *B. cinerea* τα οποία ήταν ανθεκτικά στα βενζιμιδαζολικά μυκητοκτόνα, στελέχη με την E198A μεταλλαγή, ήταν ταυτοχρόνως πολύ ευαίσθητα στο diethofencarb και αντιστρόφως. Η διαπίστωση του φαινομένου της αρνητικής διασταυρωτής ανθεκτικότητας οδήγησε στην εισαγωγή ενός μίγματος carbendazim και diethofencarb στα τέλη της δεκαετίας του 1980. Σύντομα όμως, μετά την εισαγωγή του μίγματος, στελέχη του *B. cinerea* με την E198K μετάλλαξη τα οποία εμφανίζουν διπλή ανθεκτικότητα σε βενζιμιδαζολικά μυκητοκτόνα και το diethofencarb επιλέχθηκαν στους πληθυσμούς του παθογόνου.

Με την χρήση τεχνικών μοριακής βιολογίας από μια ομάδα ερευνητών είχαν απομονωθεί στελέχη του μύκητα *Botrytis cinerea* με μέσο επίπεδο ανθεκτικότητας στα βενζιμιδαζολικά (Rf: 10-20) και χωρίς ευαισθησία στο φαινυλοκαρβαμιδικό diethofencarb απομονώθηκαν σε χαμηλή συχνότητα ($6,7 \times 10^{-8}$), μετά από μεταλλαξιγένεση με *N*-μεθυλο-*N*-νιτροζογουανιδίνη (MNNG) και επιλογή σε υλικό που περιείχε carbendazim και diethofencarb. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στελέχη με υψηλό επίπεδο ανθεκτικότητας στα βενζιμιδαζολικά (Rf: >100), αλλά ευαίσθητα στο diethofencarb απομονώθηκαν σε υψηλή συχνότητα ($5,3 \times 10^{-4}$) από υλικό που περιείχε μόνο carbendazim. Απομονώσεις στελεχών του παθογόνου από τον αγρό έδειξαν ότι όλα τα στελέχη ήταν υψηλής ανθεκτικότητας στο carbendazim και ευαίσθητα στο diethofencarb. Μελέτη της φυτοπαθογόνου προσαρμοστικότητας των ευαίσθητων στο diethofencarb στελεχών του *B. cinerea* έδειξε ότι οι μεταλλαγές ανθεκτικότητας δεν επηρεάζουν τις παραμέτρους προσαρμοστικότητας. Αντίθετα, τα ανθεκτικά και στο diethofencarb στελέχη χαρακτηρίζονται από μειωμένη φυτοπαθογόνο προσαρμοστικότητα. Μοριακή ανάλυση της β-τουμπουλίνης, θέση

δράσης των βενδιμιδαζολικών, σε άγρια και ανθεκτικά στελέχη έδειξε την παρουσία δύο μεταλλαγών: (α) αντικατάσταση του γλουταμικού οξέος από την αλανίνη στη θέση 198 (E198A) στα στελέχη υψηλής ανθεκτικότητας, μία γνωστή μεταλλαγή ανθεκτικότητας, και (β) αντικατάσταση του γλουταμικού οξέος από γλυκίνη στην ίδια θέση (E198G) σε στελέχη με μέση ανθεκτικότητα. Η δεύτερη μεταλλαγή αναφέρεται για πρώτη φορά στο μύκητα *Botrytis cinerea* (. Ζιώγας κ. α. . 2006)

Τα μυκητοκτόνα που επηρεάζουν την ωσμωρύθμιση συνιστούν χημικά ετερογενή ομάδα. Αυτό όμως, δεν εμπόδισε την ανάπτυξη διασταυρωτής ανθεκτικότητας μεταξύ των ουσιών αυτών. Έλεγχοι πληθυσμών του *B. cinerea* από διάφορες καλλιέργειες έδειξαν την παρουσία στελεχών μέτρια ανθεκτικών στα δικαρβοξαμιδικά μυκητοκτόνα με διασταυρωτή ανθεκτικότητα στους αρωματικούς υδρογονάνθρακες αλλά όχι με τα φαινολοπυρρόλια. Σε κάποια στελέχη αγρού, η ανθεκτικότητα περιορίζεται στα δικαρβοξαμιδικά ή στα φαινολοπυρρόλια. Συγκεκριμένα, για τα δικαρβοξαμιδικά, ανάλογα με τις μεταλλάξεις στο γονίδιο της κινάσης της ιστιδίνης, η ανθεκτικότητα διαχωρίζεται σε τρεις τύπους.

Όσον αφορά, την ανθεκτικότητα του *B. cinerea* στις ανιλινοπυριμιδίνες, αυτή έχει αναφερθεί σε πολλές καλλιέργειες, σε διάφορες χώρες. Έχουν προσδιοριστεί διάφοροι φαινότυποι ανθεκτικότητας στις ανιλινοπυριμιδίνες με επίπεδα ανθεκτικότητας που κυμαίνονται από χαμηλά ως πολύ ψηλά.

Σε έρευνα που έγινε κατά τα έτη 2004-2006, μελετήθηκε η ευαισθησία 55 μονόσπορων απομονώσεων του μύκητα *Botrytis cinerea* σε 5 ομάδες μυκητοκτόνων: στα ανιλινοπυριμιδινικά (cyprodinil και pyrimethanil), στα υδροξυανιλιδικά (fenhexamid), στα φαινολοπυρρολικά (fludioxonil), στα δικαρβοξιμιδικά (iprodione) και στα βενζιμιδαζολικά (carbendazim). Οι απομονώσεις συλλέχθηκαν από θερμοκηπιακές καλλιέργειες κηπευτικών (αγγούρι, μελιτζάνα, τομάτα) στην Κρήτη. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι 61,81% των απομονώσεων ήταν ανθεκτικές στο carbendazim και 18,18% στο iprodione. Για πρώτη φορά βρέθηκε η ανάπτυξη ισχυρής ανθεκτικότητας του μύκητα *B. cinerea* σε ανιλινοπυριμιδινικά μυκητοκτόνα σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες κηπευτικών στην Κρήτη καθώς παρατηρήθηκαν υψηλά ποσοστά ανθεκτικότητας της τάξης του 57,40% και 48,14% για τα cyprodinil και pyrimethanil, αντίστοιχα. Επιπλέον, μία απομόνωση βρέθηκε να είναι ανθεκτική στο υδροξυανιλιδικό μυκητοκτόνο fenhexamid, ενώ δεν βρέθηκαν ανθεκτικά στελέχη στο φαινολοπυρρολικό μυκητοκτόνο fludioxonil. Από τις 55 απομονώσεις που μελετήθηκαν, τέσσερις ήταν ανθεκτικές τόσο στο carbendazim όσο και στο iprodione, 13 ήταν ανθεκτικές στο carbendazim και στα

ανιλινοπυριμιδινικά, έξι ήταν ανθεκτικές στο iprodione και στα ανιλινοπυριμιδινικά, μία απομόνωση ήταν ανθεκτική στα carbendazim, iprodione καθώς επίσης και στο cyprodinil, μία ήταν ανθεκτική στα ανιλινοπυριμιδινικά και στο fenhexamid, ενώ μόνο οκτώ απομονώσεις ήταν ευαίσθητες σε όλα τα μυκητοκτόνα που δοκιμάστηκαν. Η μελέτη διασταυρωτής-ανθεκτικότητας έδειξε ότι υπάρχει ισχυρή σχέση μεταξύ των δύο ανιλινοπυριμιδινικών μυκητοκτόνων cyprodinil και pyrimethanil ($r = 0,71$). Παρά την παρουσία αρκετών φαινοτύπων με ταυτόχρονη ανθεκτικότητα σε χημικά μη συγγενείς δραστικές ουσίες, σε κανένα από τα υπόλοιπα u960 πιθανά ζεύγη μυκητοκτόνων δεν παρατηρήθηκε κάποιο είδος διασταυρωτής-ανθεκτικότητας. (Μυρεσιώτης, 2006)

Τα μυκητοκτόνα που ανήκουν στην ομάδα των αναστολέων βιοσύνθεσης στερολών παρουσιάζουν αποτελεσματική δράση στην αναστολή της μυκηλιακής ανάπτυξης του *B. cinerea*. Ωστόσο, υπήρξαν αναφορές ότι κάποια μυκητοκτόνα αυτής της ομάδας έχουν εξαιρετική δράση *in vitro* κατά του *B. cinerea* αλλά περιορισμένη αποτελεσματικότητα στο χωράφι. Αυτό κυρίως προκαλείται : από α) τις σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις εφαρμογής στο χωράφι που συστήνονται για τα DMIs και β) την υψηλή γενετική παραλλακτικότητα στην ευαισθησία των πληθυσμών του *B. cinerea* στους DMIs. Παρόλα αυτά, η εφαρμογή υψηλότερων δόσεων, οι οποίες θα επέτρεπαν καλύτερο έλεγχο της τέφρας σήψης, δεν ενδείκνυται λόγω φυτοτοξικότητας. Αυτό το πρόβλημα μπορεί να ξεπεραστεί με τη χρήση μιγμάτων με πολυθεσικά μυκητοκτόνα.

Το πιο αποτελεσματικό μυκητοκτόνο της ομάδας των αναστολέων βιοσύνθεσης στερολών κατά του *B. cinerea* είναι το υδροξυανιλίδιο fenhexamid. Ωστόσο, πριν ακόμη η δραστική ουσία χρησιμοποιηθεί σε εμπορικό επίπεδο, στελέχη ανθεκτικά στο μυκητοκτόνο ήταν εύκολα ανιχνεύσιμα στους πληθυσμούς αγρού του *B. cinerea*.

Ο ουσιαστικός κίνδυνος για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα πολυθεσικά μυκητοκτόνα, παρόλο που αυτά χρησιμοποιούνται εδώ και χρόνια στα προγράμματα αντιμετώπισης του *B. cinerea* θεωρείται χαμηλός.

Ερευνήθηκε η συχνότητα και εξάπλωση ανθεκτικών στα μυκητοκτόνα απομονώσεων του *Botrytis cinerea* σε καλλιέργειες μαρουλιού. Με τη μέθοδο της σημειακής εναπόθεσης σπορίων σε θρεπτικά υποστρώματα εμπλουτισμένα με διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεως βοτρυδιοκτόνων από εννιά διαφορετικές ομάδες, προσδιορίστηκε η ελάχιστη παρεμποδιστική συγκέντρωση (MIC) της βλάστησης των σπορίων και του σχηματισμού αποικίας σε 447 απομονώσεις του *B.*

cinerea. Τρεις φαινότυποι με πολλαπλή ανθεκτικότητα [QoIHRBosHRHydHRAniHRPhenMRDicMRBenHR, QoIHRBosHRAniHRDicMRBenHR, QoIHRBosHRDicMRBenHR] στις στρομπιλουρίνες (QoI), τα καρβοξαμιδικά (Bos), τις υδροξυανιλίδες (Hyd), τις ανιλινοπυριμιδίνες (Ani), τις φαινυλπυρρόλες (Phen), τα δικαρβοξυμιδικά (Dic) και τα βενζιμιδαζολικά (Ben), ανευρέθηκαν σε συχνότητα 7%, 12% και 6%, αντίστοιχα. Οι φαινότυποι αυτοί εντοπίστηκαν κυρίως σε καλλιέργεια θερμοκηπίου μαρουλιού στη περιοχή της Θεσσαλίας. Απομονώσεις ανθεκτικές μόνο στα βενζιμιδαζολικά (BenHR) βρέθηκαν στο 11% του δείγματος και προέρχονταν κυρίως από υπαίθριες καλλιέργειες μαρουλιού στη Μακεδονία και Πελοπόννησο. Σε χαμηλότερη συχνότητα (<5%) διαπιστώθηκαν φαινότυποι που παρουσίαζαν από 1 έως 5 διαφορετικούς συνδυασμούς ανθεκτικότητας στις χημικές ομάδες. Στο σύνολο των απομονώσεων που εξετάστηκαν δεν ανευρέθηκαν ανθεκτικά στελέχη στα μυκητοκτόνα fluazinam(δινιτροανιλίνες) και chlorothalonil (φθαλονιτρίλια). Από τα ευρήματα διαπιστώθηκε για πρώτη φορά στην Ελλάδα η παρουσία φαινοτύπων του *B. cinerea* με πολλαπλή ανθεκτικότητα σε 7 διαφορετικές ομάδες μυκητοκτόνων και η παρουσία στελεχών με υψηλή ανθεκτικότητα στο fenhexamid (Hyd) και μέτρια στο fludioxonil (Phen), αντίστοιχα. (Χατζηδημόπουλος Μ. 2012). Επίσης μελετήθηκε η ανθεκτικότητα πληθυσμών του μύκητα *Botrytis cinerea* από καλλιέργειες φράουλας και θερμοκηπιακής τομάτας σε βοτρυδιοκτόνα. Στόχος της εργασίας ήταν να διερευνηθεί το προφίλ ευαισθησίας πληθυσμών του παθογόνου από καλλιέργειες φράουλας (περιοχή Ηλείας και Πιερίας) και θερμοκήπια τομάτας (περιοχές Πρέβεζας, Κυπαρισσίας και Κρήτης). Συνολικά 1.160 απομονώσεις μελετήθηκαν ως προς την ευαισθησία τους στα μυκητοκτόνα cyprodinil (ανιλινοπυριμιδινικό), fenhexamid (υδοξυανιλίδιο), fludioxonil (φαινυλοπυρρολικό), carbendazim(βενζιμιδαζολικό), pyraclostrobin (QoIs) και boscalid (SDHIs). Οι απομονώσεις διαχωρίστηκαν σε ανθεκτικές ή ευαίσθητες σε κάθε ένα από τα μυκητοκτόνα μετά από βιοδοκιμή σε κατάλληλη δόση διαχωρισμού. Ο διαχωρισμός κατηγοριοποίησε τις απομονώσεις σε διαφορετικούς φαινοτύπους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στους πληθυσμούς του μύκητα που προέρχονταν από θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας στην Κρήτη κυρίαρχος φαινότυπος ήταν η διπλή ανθεκτικότητα σε βενζιμιδαζολικά και ανιλινοπυριμιδινικά μυκητοκτόνα (48.9 % του πληθυσμού), στους αντίστοιχους πληθυσμούς από την περιοχή Πρέβεζας κυριάρχησαν οι απομονώσεις με ανθεκτικότητα στα βενζιμιδαζολικά (57.4% του πληθυσμού), ενώ η χαμηλότερη συχνότητα ανθεκτικών στελεχών καταγράφηκε στην

περιοχή της Κυπαρισσίας με κυρίαρχο φαινότυπο τις ευαίσθητες απομονώσεις (52.8 % του πληθυσμού). Σε ότι αφορά του πληθυσμούς του μύκητα που προέρχονταν από καλλιέργεια φράουλας διαπιστώθηκε εκτεταμένη παρουσία στελεχών με πολλαπλή ανθεκτικότητα και κυρίαρχο φαινότυπο την ταυτόχρονη ανθεκτικότητα σε ανιλινοπυριμιδικά, βενζιμιδαζολικά, QoI και SDHI μυκητοκτόνα σε ποσοστό 57% του πληθυσμού. Καμία απομόνωση δεν βρέθηκε να είναι ανθεκτική στις ομάδες των υδροξυανιλιδίων και των φαινυλοπυρρολικών. Σε ότι αφορά το boscalid τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ήταν ιδιαίτερα αυξημένη η συχνότητα των ανθεκτικών στελεχών στους πληθυσμούς από φράουλα (46.7% και 76.8% στις περιοχές Πιερίας και Ηλείας, αντίστοιχα). Αντίθετα, στους πληθυσμούς που προέρχονταν από θερμοκήπια τομάτας η συχνότητα ανθεκτικότητας στο boscalid ήταν χαμηλότερη με τιμές 0.8, 9.8 και 13.2% στην Κρήτη, Κυπαρισσία και Πρέβεζα, αντίστοιχα. Στις απομονώσεις που εμφάνισαν ανθεκτικότητα στο boscalid έγινε επιπλέον και ανίχνευση της μεταλλαγής που συνδέονταν με την ανθεκτικότητα με εφαρμογή τεχνικής PIRA-PCR. Η ανίχνευση των μεταλλαγών της *sdhB* έδειξε ότι σε όλους τους πληθυσμούς που μελετήθηκαν κυρίαρχη μεταλλαγή ήταν η H272R. (Καλογεροπούλου, 2012). Τέλος διερευνήθηκε η ευαισθησίας απομονώσεων του μύκητα *Botrytis cinerea* από καλλιέργειες ροδιάς στα μυκητοκτόνα fludioxonil και cyprodinil Η ροδιά αποτελεί μια νέα, δυναμική καλλιέργεια για τη χώρα μας, η οποία όμως ήδη αντιμετωπίζει σημαντικά προβλήματα μετασυλλεκτικών προσβολών. Ο μύκητας *Botrytis cinerea* Whetzel προκαλεί την κυριότερη μετασυλλεκτική ασθένεια της ροδιάς, παγκοσμίως, αλλά κανένα βοτρυδιοκτόνο σκεύασμα δεν έχει έγκριση για την ροδιά στη χώρα μας. Κατά το 2011 πραγματοποιήθηκε συλλογή απομονώσεων του μύκητα από προσβεβλημένους καρπούς από τις περιοχές του Κιλκίς, των Σερρών (ποικιλία Wonderfull) και της Εύβοιας (τοπική ποικιλία). Τριάντα τέσσερις από αυτές επελέγησαν με βάση μορφολογικά χαρακτηριστικά για τις δοκιμές. Στην μελέτη καταγράφηκε η ευαισθησία των απομονώσεων στα μυκητοκτόνα fludioxonil και cyprodinil και σε συγκεντρώσεις 0,01, 0,025, 0,05, 0,1 και 0,25 ppm. Τα αποτελέσματα καταγράφηκαν ως % παρεμπόδιση της ανάπτυξης του μυκηλίου σε σχέση με το μάρτυρα. Το fludioxonil παρεμπόδισε σε ποσοστό πάνω από 50% την ανάπτυξη των περισσότερων απομονώσεων, ήδη από την πρώτη ημέρα, ακόμη και στη μικρότερη συγκέντρωση. Στο cyprodinil τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν από 5% έως 20%, για τις περισσότερες απομονώσεις, με μόνο δύο απομονώσεις να εμφανίζουν μεγαλύτερη ευαισθησία (παρεμπόδιση 30-40%). Πλήρη παρεμπόδιση, για το σύνολο των

απομονώσεων, καταγράφηκε στη συγκέντρωση 0,25 ppm για το fludioxonil, ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά για το cyprodinil ήταν 40%-93%. Σημαντικές διαφορές καταγράφηκαν επίσης μεταξύ των απομονώσεων των τριών περιοχών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το fludioxonil μπορεί να αντιμετωπίσει αποτελεσματικότερα από το cyprodinil τις μετασυλλεκτικές σήψεις της ροδιάς που προκαλούνται από τον *B. cinerea*. (Τσιούρη, 2012)

3.2 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ

Τα καλλιεργητικά μέτρα είναι πολύ βασικά για την έναρξη και την εξάπλωση της τέφρας σήψης και η τήρηση τους μπορεί να περιορίσει αρκετά το πρόβλημα. Πολύ βασική είναι η τήρηση καλής υγιεινής του θερμοκηπίου. Όλα τα υπολείμματα των καλλιεργειών, παλαιότερων ή και της υπάρχουσας, πρέπει να απομακρύνονται αμέσως από το θερμοκήπιο και ιδίως τα προσβεβλημένα μέρη ή και ολόκληρα τα φυτά αν έχουν μολυνθεί σε μεγάλο βαθμό. Σημαντικό είναι επίσης να γίνεται επιμελημένη αφαίρεση των ζιζανίων τόσο εντός όσο και εκτός θερμοκηπίου καθώς αποτελούν εστία μολύνσεων.

Πολύ σπουδαίος παράγοντας είναι η ρύθμιση των συνθηκών του περιβάλλοντος του θερμοκηπίου. Καλό θα ήταν να διαθέτει σύστημα εξαερισμού και θέρμανσης ώστε τα φυτά να αερίζονται ικανοποιητικά και να αναπτύσσονται σε κανονική θερμοκρασία. Έτσι ελέγχεται επαρκώς η σχετική υγρασία και μειώνεται η πιθανότητα ανάπτυξης της ασθένειας. Επίσης, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην άρδευση και τους ψεκασμούς τα οποία πρέπει να γίνονται πριν το μεσημέρι ώστε να μειώνεται η σχετική υγρασία μέχρι το απόγευμα ενώ το νερό δεν πρέπει να είναι παγωμένο γιατί τα φυτά θα είναι ευαίσθητα στην ασθένεια (Βακαλουνάκης, 2006).

Συγχρόνως η χρήση υλικού κάλυψης του θερμοκηπίου, το οποίο παρεμποδίζει τη διέλευση υπεριώδους δυσκολεύει την ανάπτυξη των κονιδίων του μύκητα. Τέτοιο υλικό είναι το πολυαιθυλένιο, το οποίο όμως μπλοκάρει την UVA ακτινοβολία όχι όμως και την UVB. Βέβαια το υλικό κάλυψης πρέπει να διατηρείτε πάντα καθαρό (Βακαλουνάκης, 2006).

Αρκετά σημαντική είναι επίσης η σωστή τακτική άρδευσης και λίπανσης ώστε τα φυτά να είναι εύρωστα με κανονική ανάπτυξη. Κάποιο ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει στην ανάπτυξη της ασθένειας και το έδαφος στο οποίο αναπτύσσονται τα φυτά. Έτσι η τεφρά σήψη φαίνεται ότι ευνοείται σε μέσης σύστασης, αμμώδη,

όξινα εδάφη τα οποία δίδουν στους ιστούς του μίσχου των φύλλων, ένα λόγο ασβεστίου προς φώσφορο ίσο με 2 ή και μεγαλύτερο.

Σημαντικό επίσης είναι να χρησιμοποιείται υγιής και απολυμασμένος σπόρος και να τηρούνται όλοι οι όροι υγιεινής στο φυτώριο ώστε τα φυτά να μεταφέρονται υγιή στο θερμοκήπιο. Η φύτευση πρέπει να γίνεται αραιά ώστε να υπάρχει ο απαραίτητος χώρος για αερισμό των φυτών αλλά και να μην σκιάζονται μεταξύ τους. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί και με τη χρήση κατάλληλων ποικιλιών οι οποίες δεν αναπτύσσουν μεγάλη φυλλική επιφάνεια ή έχουν ανοιχτή ανάπτυξη, όπως π.χ. υβρίδια αραιόφυλλα – ορθόφυλλα

Ομοίως μπορεί να επιλεγθούν ποικιλίες οι οποίες να αποβάλουν γρήγορα τα πέταλα, να έχουν μικρά σέπαλα και σκληρό φλοιό στον καρπό ώστε να αποφεύγεται κατά το μέγιστο δυνατό η προσβολή από την ασθένεια.

Βασικό στοιχείο για την προστασία της καλλιέργειας είναι η αποφυγή παντός είδους πληγών στα φυτά γιατί μέσω αυτών ο *B. cinerea* μπορεί να προσβάλει τα φυτά. Σημαντικότερο είναι να γίνονται σωστά οι τομές του κλαδέματος. Αυτές πρέπει να γίνονται με μαχαίρι το οποίο εμβαπτίζεται συχνά σε οινόπνευμα και να γίνονται κοντά στο στέλεχος ώστε να μη μένει καθόλου κομμάτι μίσχου πάνω στο στέλεχος. Όμως και ο σπάγκος υποστύλωσης δεν πρέπει να δένεται πάνω στο φυτό, αλλά να είναι χαλαρός γιατί σε αντίθετη περίπτωση προκαλούνται πληγές στο στέλεχος των φυτών. Η συνοπτική περιγραφή των καλλιεργητικών μέτρων μπορεί να είναι :

- Καλλιεργητικά μέτρα:

- Μείωση της υγρασίας. Στον αγρό αυτό επιτυγχάνεται με αραιή φύτευση, με φύτευση σε γραμμές κατευθυνόμενες από βορρά προς νότο ώστε καμία πλευρά του φυτού να μη βρίσκεται συνέχεια στη σκιά. Στα θερμοκήπια να αποφεύγονται οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας, οι οποίες συντελούν στη συμπύκνωση των υδρατμών και επικάθηση σταγονιδίων νερού στα φυτά. Επίσης, καλός αερισμός του χώρου, αραιή φύτευση και η άρδευση να γίνεται πρωινές ώρες ώστε να εξατμίζεται το νερό από την επιφάνεια των φυτών.

Τήρηση καλής υγιεινής στην φυτεία. Αφαίρεση και καταστροφή των προσβεβλημένων φυτών και φυτικών οργάνων διότι αυτά αποτελούν εστίες μόλυνσης αλλά και σημεία εισόδου του παθογόνου.

3.2.1 ΙΣΟΡΡΟΠΗ ΘΡΕΨΗ

Όπως προαναφέρθηκε, ο *B. cinerea* επηρεάζεται στη δράση του από διάφορους θρεπτικούς παράγοντες. Πολλοί ερευνητές έχουν αποδείξει τη σπουδαιότητα διαφόρων στοιχείων στην ευαισθησία των φυτικών μερών στο μύκητα.

Η ύπαρξη στη φυλλική επιφάνεια των φυτών, διαφόρων ανόργανων στοιχείων επηρεάζει τη δράση του μύκητα. Έτσι πρέπει να αποφεύγονται εφαρμογές φωσφόρου, σιδήρου και μεταλλικών αλάτων και δη του ψευδαργύρου. Τα τελευταία περιέχονται σε μεγάλες ποσότητες στα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως, κυρίως ενάντια του περονόσπορου. Άρα είναι πολύ σημαντικό για την καταπολέμηση της τέφρας σήψης η ορθολογική χρησιμοποίηση τους.

Όμως και στοιχεία τα οποία βρίσκονται μέσα στο φυτό έχουν σημαντικό ρόλο. Το N όταν βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα στο έδαφος έχει διαπιστωθεί ότι μειώνει την ευαισθησία φυτών τομάτας στην τεφρά σήψη. Από την άλλη έχει αναφερθεί ότι το αυξημένο N, που ευνοεί την ανάπτυξη πλούσιου φυλλώματος ευνοεί και νεκροτροφικά παθογόνα όπως ο *B. cinerea*.

Άλλο σημαντικό στοιχείο στην ευαισθησία των φυτών στην ασθένεια είναι το ασβέστιο. Έχει βρεθεί ότι η λίπανση με Ca μειώνει την τεφρά σήψη στην τριανταφυλλιά σε τομάτα, πιπεριά και μελιτζάνα. Βέβαια σπουδαίο ρόλο φαίνεται να έχουν και διάφοροι ορμονικοί παράγοντες. Έτσι οι αυξίνες βοηθούν στην καρπόδεση και την αύξηση του καρπού χωρίς προβλήματα από την ασθένεια, σε μελιτζάνα και τομάτα. Άλλος παράγοντας είναι το γιββεριλλινικό οξύ το οποίο έχει βρεθεί ότι μειώνει την ευαισθησία των ανθέων τριανταφυλλιάς λόγω της μείωσης του εκλυόμενου αιθυλενίου και ως εκ τούτου της αναστολής γηρασμού των πετάλων.

❖ **Οι χειρισμοί που εφαρμόζονται για τη μείωση των μετασυλλεκτικών απωλειών στα τρόφιμα.**

Από παθογόνους μικροοργανισμούς των γεωργικών προϊόντων διακρίνονται στις εξής κατηγορίες : προσυλλεκτικοί χειρισμοί, χειρισμοί κατά τη συγκομιδή και μετασυλλεκτικοί χειρισμοί.

Οι μετασυλλεκτικοί χειρισμοί είναι:

Έλεγχος Θερμοκρασίας

Ο έλεγχος της θερμοκρασίας αποτελεί τον πιο αποτελεσματικό τρόπο για παράταση ζωής των νωπών οπωροκηπευτικών προϊόντων. Αρχίζει με πρόψυξη ώστε να αφαιρεθεί η «θερμότητα αγρού». Η πρόψυξη γίνεται με διάφορες μεθόδους (με αέρα, υπό κενό, υδρόψυξη με πάγο κ.α.)

Έλεγχος σχετικής υγρασίας

Η σχετική υγρασία επηρεάζει τις απώλειες ύδατος του προϊόντος, την ανάπτυξη μικροοργανισμών, την εμφάνιση φυσιολογικών ανωμαλιών και την ομοιομορφία της ωρίμανσης. Η ρύθμιση της σχετικής υγρασίας μπορεί να επιτευχθεί με τους εξής τρόπους :

- Προσθήκη υγρασίας με υδροσταγονίδια (mist).
- Ρύθμιση της κυκλοφορίας του αέρα σε σχέση με το αποθηκευμένο φορτίο.
- Διατήρηση της θερμοκρασίας του εξατμιστήρα 1-3°C χαμηλότερα από τη θερμοκρασία του αέρα.
- Εξασφάλιση ικανοποιητικού φράγματος υδρατμών στα τοιχώματα των ψυγείων και των οχημάτων μεταφοράς.
- Κάλυψη κιβωτίων μεταφοράς με πολυαιθυλένιο εξασφαλίζει τη διατήρηση της υγρασίας.
- Προσθήκη παγοκρυστάλλων στα οχήματα μεταφοράς.
- Περιοδικός υδροψεκασμός των νωπών προϊόντων στα σημεία πώλησής τους.

Έλεγχος ατμοσφαιρικής σύστασης

Η εφαρμογή νέων τεχνολογιών ελεγχόμενης και τροποποιημένης ατμόσφαιρας είναι δυνατόν να συντελέσουν στην παράταση της συντηρησιμότητας των νωπών οπωροκηπευτικών. Η μέθοδος αποσκοπεί στη μείωση της συγκέντρωσης O₂ και CO₂ της ατμόσφαιρας της αποθήκης.

Με τον τρόπο αυτό, εκτός από την παρεμπόδιση της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών, μειώνεται η αναπνευστική δραστηριότητα, αναστέλλεται η

παραγωγή αιθυλενίου και επιβραδύνονται οι μεταβολικές δραστηριότητες οι οποίες προκαλούν την ωρίμανση και τη γήρανση.

Συμπληρωματικές μεταχειρίσεις

- Σχηματισμός περιδέρματος στα ριζώδη-κονδυλώδη λαχανικά
- Καθαρισμός του προϊόντος πριν την αποθήκευση που συνοδεύεται από την αφαίρεση της περίσσειας υγρασίας στην επιφάνεια του προϊόντος
- Διαλογή για απομάκρυνση των υποβαθμισμένων προϊόντων
- Κάλυψη της επιφάνειας του προϊόντος με κερί και άλλες ουσίες
- Θερμική μεταχείριση (ζεστό νερό ή ατμός)
- Μετασυλλεκτικές επεμβάσεις με μυκητοκτόνα
- Προσθήκη ουσιών που εμποδίζουν την προβλάστηση
- Επεμβάσεις με ειδικές ουσίες (αντιοξειδωτικές ουσίες, νιτρικό ασβέστιο, ορμόνες κ.α.) για τον έλεγχο φυσιολογικών διαταραχών (επιφανειακό έγκαυμα, πικρή στιγμάτωση μήλων κ.α.)
- Επεμβάσεις με αιθυλένιο για αποπρασινισμό ή τεχνητή ωρίμανση

❖ Αντιμετώπιση Μετασυλλεκτικών μυκητολογικών σήψεων νωπών καρπών

- Διατήρηση των δενδροκομείων σε καλή κατάσταση υγείας (προστατευτικοί ψεκασμοί, μέτρα υγιεινής κ.α.)
- Ορθολογική λίπανση και άρδευση ώστε οι καρποί να έχουν ισορροπημένη χημική σύσταση.
- Προστασία των αναπτυσσόμενων καρπών από προσυλλεκτικές μυκητολογικές και εντομολογικές προσβολές.
- Η συγκομιδή να γίνεται με ξηρό καιρό και στο κατάλληλο στάδιο ωρίμανσης.
- Να αποφεύγονται οι τραυματισμοί των καρπών κατά τη διάρκεια της συγκομιδής, διαλογής, συσκευασίας, διακινήσεως και αποθήκευσης.

- Άμεση απομάκρυνση προσβεβλημένων, τραυματισμένων ή μολωπισμένων καρπών από το προς αποθήκευση προϊόν.
- Λήψη μέτρων υγιεινής στους χώρους συσκευασίας και αποθήκευσης.
- Διατήρηση των καρπών σε ψυκτικούς θαλάμους με κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και ατμοσφαιρικής σύνθεσης, το συντομότερο δυνατό μετά τη συγκομιδή.
- Για την καταπολέμηση ορισμένων παθογόνων, ιδιαίτερα όταν οι καρποί πρόκειται να αποθηκευτούν επί μακρόν, συνιστώνται επεμβάσεις αμέσως μετά τη συγκομιδή με κατάλληλα μυκητοκτόνα (π.χ. benomyl ή vinclozoniλ για Botrytis, benomyl ή imazalil για Penicillium, captan ή matalaxyl + carbendazim για Phytophthora) (βλ. Χημική Καταπολέμηση).
- Αποτελεσματική καταπολέμηση επιτυγχάνεται και με τη χρησιμοποίηση ανταγωνιστικών μικροοργανισμών ή μεταβολιτών τους (βλ. 3.5. Βιολογική Καταπολέμηση).

❖ Αντιμετώπιση Μετασυλλεκτικών μυκητολογικών σήψεων λαχανικών

Εκτός των γενικών μέτρων προστασίας που προαναφέρθηκαν, συνιστώνται :

- Διαβροχή κεφαλών σταυρανθών με iprodione ή άλλες κατάλληλες δραστικές ουσίες αμέσως μετά τη συγκομιδή
- Αποξήρανση των βολβών με έκθεσή τους σε ρεύμα αέρα θερμοκρασίας 30oC.

❖ Αντιμετώπιση μετασυλλεκτικών σήψεων σπόρων σιτηρών και οσπρίων

Προκειμένου να αποφευχθούν απώλειες από μετασυλλεκτικές σήψεις σε αποθήκες σπόρων σιτηρών και οσπρίων συνιστώνται τα εξής:

- Η υγρασία των σπόρων διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα (<14%) ώστε να παρεμποδίζεται η ανάπτυξη των περισσοτέρων μυκήτων. Εξάιρεση αποτελούν τα είδη του μύκητα *Aspergillus* τα οποία δύνανται να αναπτυχθούν σε σπόρους σιτηρών ή οσπρίων με υγρασία 13% και 11,5%, αντίστοιχα.
- Η θερμοκρασία του χώρου αποθήκευσης διατηρείται σε όσο το δυνατόν χαμηλότερα επίπεδα. Οι περισσότεροι μύκητες αναπτύσσονται ταχύτατα σε θερμοκρασίες άνω των 30oC, ενώ η δράση τους παρεμποδίζεται στους 12 – 15oC και πεθαίνουν σε 5 - 8 oC.

- Καταπολέμηση εντόμων και ακάρεων αποθηκών ώστε να αποφεύγονται δευτερογενείς προσβολές από παθογόνα.
- Αποφυγή αποθήκευσης ανώριμων, σπασμένων ή υπερώριμων σπόρων.
- Χρησιμοποίηση συστημάτων αερισμού ώστε να απομακρύνεται η περίσσεια υγρασίας και να ελέγχεται η θερμοκρασία. (Ηλιοπουλος 2005)

3.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ

Βιολογική καταπολέμηση είναι η καταπολέμηση των παθογόνων των φυτών, που πραγματοποιείται μεταξύ ενός ή περισσοτέρων οργανισμών συμπεριλαμβανομένου και του ξενιστή. Η πρώτη εφαρμογή της έγινε πριν από εξήντα χρόνια τουλάχιστον. Αφορμή στάθηκε η παρατήρηση ότι σε θερμοκήπιο της Αγγλίας το έντομο *Encarsia formosa* καταπολεμούσε τον Αλευρώδη των θερμοκηπίων *Trialeurodes vaporariorum*.

Βέβαια η μεγάλη ανάγκη για τρόφιμα εκείνα τα χρόνια και ιδίως μετά το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο οδήγησε στην τεράστια χρήση χημικών ιδίως μέσα στα θερμοκήπια. Όμως ένα τόσο ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη ασθενειών, όπως είναι αυτό του θερμοκηπίου απαιτούσε πολύ συχνούς ψεκασμούς πράγμα το οποίο οδήγησε σε γρήγορη ανάπτυξη ανθεκτικότητας από τα φυτοπαθογόνα, στα διάφορα φυτοφάρμακα.

Έτσι λόγω κυρίως αυτού αλλά και τις συνολικής μόλυνσης του περιβάλλοντος σιγά σιγά άρχισαν οι άνθρωποι να στρέφονται σε μεθόδους καταπολέμησης πιο ήπιες και φιλικές. Οι πρώτες προσπάθειες προς αυτήν την κατεύθυνση άρχισαν το 1960. Όμως η ουσιαστική επέκταση της μεθόδου λαμβάνει χώρα τα τελευταία είκοσι χρόνια με την άνοδο του βιοτικού επιπέδου ιδίως των λαών τη Ευρώπης.

Τα περισσότερα παθογόνα εξαρτώνται για ένα μεγάλο μέρος ή και ολόκληρο το βιολογικό τους κύκλο σε μεγάλο βαθμό από τον ξενιστή τους. Έτσι οι στρατηγικές που προσανατολίζονται στην καταπολέμηση πρέπει να θεωρούν τον ξενιστή ως ένα αναπόσπαστο κομμάτι τους. Οι στρατηγικές που οι ερευνητές πρέπει να ακολουθούν όταν εισάγουν ένα μικροοργανισμό για τη βιολογική καταπολέμηση κάποιας ασθένειας είναι:

α) Μείωση ή ρύθμιση του πληθυσμού του παθογόνου κάτω από ένα οικονομικό κατώφλι ώστε να υφίσταται οικονομικό συμφέρον της παραγωγής,

β) Ύπαρξη προσβολής του ξενιστή από το παθογόνο και

γ) Οριοθέτηση της ανάπτυξης της ασθένειας μετά την προσβολή

Όμως παρά το ότι οι έρευνες και οι αναφορές που περιγράφουν βιολογικούς παράγοντες αντιμετώπισης ασθενειών των φυτών συνεχώς αυξάνουν, πολύ σπάνια κάποιος από αυτούς στέφεται με επιτυχία. Η μελλοντική ανάπτυξη της γεωργίας με μειωμένες εισροές αγροχημικών θα αναβαθμίσει ακόμη περισσότερο το ρόλο της βιολογικής καταπολέμησης στην αγροτική παραγωγή. Αυτό γιατί η γεωργία θα πρέπει να είναι εμπορική αλλά και πιο φιλική προς το περιβάλλον και έτσι οι φυτοπαθολόγοι γενικά θα έχουν να αντιμετωπίσουν αρκετά προβλήματα. Γι' αυτό η βιολογική καταπολέμηση πρέπει να αναπτυχθεί ακόμη περισσότερο και να βελτιωθεί ώστε να μπορεί να αποτελέσει ένα σοβαρό εργαλείο στην αντιμετώπιση των ασθενειών. (Τσαλικούνης, 1996.)

Οι σημαντικότεροι λόγοι για την περιορισμένη χρήση βιολογικών παραγόντων μέχρι σήμερα είναι:

1. Διαθεσιμότητα φτηνών και αποτελεσματικών μυκητοκτόνων, που έχουν άμεση δράση και εύκολη εφαρμογή
2. Οι συνθήκες στη φυλλική επιφάνεια δεν ευνοούν την επιβίωση και τη δράση των νεοεισαγόμενων μικροοργανισμών
3. Κάποια βιολογικά συστήματα είναι λιγότερο αποτελεσματικά από ότι τα δραστικά χημικά. η αποτελεσματικότητά τους δεν είναι σταθερή και καταπολεμούν ένα περιορισμένο φάσμα ασθενειών
4. Η προετοιμασία των βιολογικών παραγόντων, καθώς κι η εφαρμογή τους είναι πιο δύσκολη από τα χημικά. Εξάλλου η αποτελεσματικότητά πολλών βιολογικών παραγόντων δεν αναμένεται να είναι η ίδια με αυτή ενός πολύ καλού μυκητοκτόνου.

Τα κύρια μειονεκτήματα των βιολογικών παραγόντων είναι:

- Η ανικανότητά τους να αποτρέψουν την εισβολή στο φυτικό ιστό και
- Η μη ενεργή δράση τους σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας

Τα κύρια πλεονεκτήματα των βιολογικών παραγόντων είναι:

- Δε δημιουργούν ανθεκτικότητα στα φυτοπαθογόνα
- Δε μολύνουν το περιβάλλον
- Δεν επιβαρύνουν την ανάπτυξη του φυτού αφού δεν είναι φυτοτοξικά

Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη βιολογική καταπολέμηση του *B. cinerea* είναι πολλοί και διάφοροι. Οι βιολογικοί παράγοντες μπορούν να παρέμβουν σε διάφορες φάσεις του κύκλου ανάπτυξης του παθογόνου και παρεμποδίζουν τη μόλυνση με έναν από τους παρακάτω τρόπους:

- Συναγωνισμός για θρεπτικά στοιχεία και χώρο
- Παραγωγή αντιβιοτικών
- Υπερπαρασιτισμός
- Επαγωγή ανθεκτικότητας στο φυτό ξενιστή
- Πολλαπλοί τρόποι δράσης

Συναγωνισμός σε θρεπτικά στοιχεία και χώρο

Για την προσβολή της φυλλικής επιφάνειας από κάποιο παθογόνο είναι απαραίτητη η ύπαρξη πάνω της θρεπτικών στοιχείων. Τα στοιχεία αυτά έχει αποδειχτεί ότι προωθούν τη βλάστηση των σπορίων, την ανάπτυξη του μυκηλίου ή τη δημιουργία απρεσσορίων στα φύλλα ή προωθούν την ανάπτυξη κηλίδων από νεκροτροφικά παθογόνα όπως ο *B. cinerea*.

Τα βακτήρια και ορισμένες ζύμες έχει βρεθεί ότι απορροφούν στοιχεία από το υδατικό διάλυμα της σταγόνας, πιο γρήγορα και σε μεγαλύτερη ποσότητα από ότι οι βλαστικές υφές των παθογόνων μυκήτων. Έτσι αν ο μύκητας βρεθεί σε τέτοιες συνθήκες δε βλαστάνει ή βλαστάνει πολύ φτωχά με αποτέλεσμα την αποτυχία της προσβολής.

Ο άλλος τρόπος δράσης είναι ο συναγωνισμός για χώρο, γνωστός και ως αποικισμός. Σε αυτήν την περίπτωση ανταγωνιστής αποικίζει τις επιφάνειες του φυτού πριν την άφιξη του παθογόνου. Έτσι ο υπάρχον αποικισμός του ανταγωνιστή μειώνει τη δυνατότητα του παθογόνου να αποικίσει στο ίδιο μέρος

Παραγωγή αντιβιοτικών

Ο όρος αντιβίωση χρησιμοποιείται με την ευρεία έννοια, όπου μεταβολικά προϊόντα ή προϊόν από ένα μικροοργανισμό αναστέλλουν την ανάπτυξη ή καταστρέφουν κάποιον άλλον. Τα αντιβιοτικά έχουν δηλαδή μυκοστατική ή βακτηριοστατική δράση. Τέτοιες ουσίες είναι ορισμένα οργανικά οξέα, υπεροξειδία και αλκοόλες που παράγονται δευτερογενώς από το μεταβολισμό ορισμένων μικροοργανισμών.

Πολλά είδη μικροοργανισμών έχει αποδειχτεί ότι παράγουν αντιβιοτικά *in vitro*. Τέτοια είναι διάφορα είδη μυκήτων, βακτήρια και ζύμες. Τα αντιβιοτικά βέβαια μπορεί να δημιουργήσουν και προβλήματα στα φυτά αφού ορισμένα εμφανίζουν φυτοτοξική δράση καθώς και τοξική δράση στην ωφέλιμη μικροχλωρίδα.

Παρασιτισμός

Παρασιτισμός συμβαίνει όταν ένας παράγοντας βιολογικής καταπολέμησης αντλεί την τροφή του από το ζωντανό φυτικό παθογόνο. Το παράσιτο συνήθως αναπτύσσεται μέσα ή πάνω στα κύτταρα του ξενιστή του, δηλαδή του φυτοπαθογόνου .

Ο πιο σημαντικός τύπος παρασιτισμού είναι ο μυκοπαρασιτισμός δηλαδή ο παρασιτισμός ενός μύκητα από έναν άλλο. Τα μυκοπαράσιτα χωρίζονται σε δύο τύπους: τα βιοτροφικά και τα νεκροτροφικά. Βιοτροφικό μυκοπαράσιτο μπορεί να χαρακτηριστεί ένας μύκητας που βρίσκεται σε στενή συσχέτιση με κάποιον άλλο από τον οποίο παίρνει κάποια ή όλα τα θρεπτικά του στοιχεία. Αντίθετα τα νεκροτροφικά μυκοπαράσιτα σκοτώνουν τα κύτταρα των ξενιστών συχνά πριν τη διείσδυση.

Τα μυκοπαράσιτα προσβάλλουν τα όργανα του ξενιστή τους, τα οποία είναι συνήθως οι υφές ή τα σπόρια. Έτσι στις υφές μπορεί να παρατηρηθούν ανωμαλίες κατά την ανάπτυξη τους και τη δημιουργία διακλαδώσεων, λίγο πριν την επαφή, που προκαλούνται από τη δράση, από σχετικά μικρές αποστάσεις μυκοστατικών ή μυκοτοξικών ουσιών

Επαγωγή ανθεκτικότητας στο φυτό ξενιστή

Η επαγωγή ανθεκτικότητας έχει αναγνωριστεί ως ένα σημαντικό κομμάτι της βιολογικής καταπολέμησης. Η επαγωγή της συστηματικής ανθεκτικότητας στο παθογόνο μπορεί να λάβει χώρα στα φυτά πριν τη μόλυνση τους, με διάφορους μικροοργανισμούς ή με χημικές ουσίες, που επάγουν την ανθεκτικότητα των φυτών.

Πολλαπλοί τρόποι δράσης

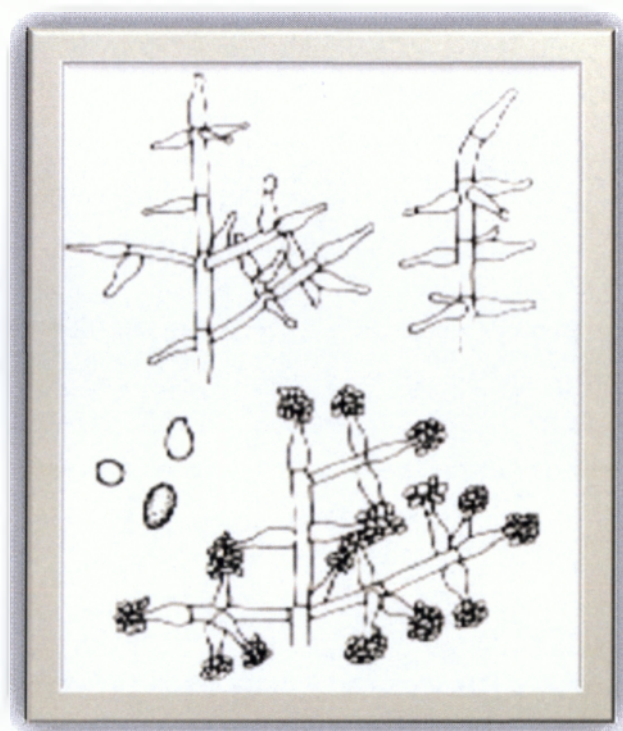
Όταν ένας βιολογικός παράγοντας δρα με περισσότερους από ένα τρόπους σε διαφορετικά υπέργεια φυτικά μέρη, τότε λέμε ότι έχει πολλαπλό τρόπο δράσης.

3.3.1 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΔΡΟΥΝ ΕΝΑΝΤΙΑ ΣΤΟ *B. cinerea*

3.3.1.1 ΜΥΚΗΤΕΣ

Trichoderma spp.

Περιέχει πολλά είδη που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην καταπολέμηση φυτοπαθογόνων μυκήτων. Η τέλεια μορφή ανήκει στους Ασκομύκητες στην τάξη Hygrocreales και διατηρούνται στο έδαφος. Η ατελής μορφή σχηματίζει υαλώδεις υφές με septa, κονιδιοφόρους, φιαλίδια και κονίδια. Ορισμένα είδη όπως το *T. viride* παράγουν επίσης και χλαμυδοσπόρια. Οι κονιδιοφόροι είναι υαλώδεις, διακλαδιζόμενοι και φέρουν υαλώδη φιαλόμορφα φιαλίδια. Τα κονίδια είναι μονοκύτταρα και στρογγυλά ή ελλειψοειδή με διάμετρο 3μm περίπου.



Εικόνα 3.1: Σχεδιάγραμμα καρποφοριών του μύκητα *Trichoderma spp.*

Έχουν ταχύτατο ρυθμό ανάπτυξης, πλούσια σπορογένεση και ανταγωνίζονται καλά άλλους μικροοργανισμούς του εδάφους. Η άριστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη τους είναι οι 20-28 °C με ελάχιστη τους 0 °C και μέγιστη τους 30°C. Έχουν δείξει ανθεκτικότητα στα χημικά μυκητοκτόνα και παράγουν διάφορα αντιβιοτικά όπως η γλοιτοξίνη κι η βιριντίνη.

Έχουν γίνει πολλές έρευνες για την αντιμετώπιση της τέφρας σήψης από τα είδη του γένους *Trichoderma* και δύο από αυτά, το *T. harzianum* και το *T. viride*, βρέθηκαν ότι προστατεύουν αποτελεσματικά διάφορες κηπευτικές και ανθοκομικές καλλιέργειες.

Σήμερα κυκλοφορεί ευρύτατα στην παγκόσμια αγορά το σκεύασμα Trichodex, υπό τη μορφή βρέξιμης σκόνης, με δραστικό μικροοργανισμό το *T. harzianum*. Το σκεύασμα αυτό συνιστάται για την καταπολέμηση της τέφρας σήψης στην τομάτα και άλλα κηπευτικά, στο αμπέλι κ.α.

Ο τρόπος δράσης των ειδών του *Trichoderma* ενάντια στο *B. cinerea* δεν είναι μέχρι σήμερα καλά γνωστός. Το *Trichoderma* παράγει τόσο μη πτητικά όσο και πτητικά αντιβιοτικά τα οποία αναστέλλουν τη βλάστηση των κονιδίων και την επιμήκυνση των υφών του μύκητα. Όμως έχει αναφερθεί ότι δρα και ως υπερπαρασίτο των σκληρωτίων του *B. cinerea* σε διάφορα κηπευτικά.

Έτσι η καταπολέμηση του μύκητα με το *Trichoderma* spp πιστεύεται ότι είναι αποτέλεσμα της συλλογικής δράσης τους ή της αλλαγής των μικροπεριβαλλοντικών συνθηκών που εμποδίζουν την ανάπτυξη του πρώτου. Αυτό βασίζεται στο ότι υπάρχει διαφοροποίηση στις συνθήκες οι οποίες ευνοούν τη βλάστηση των σπορίων του *B. cinerea* και την ανταγωνιστική δράση του *T. harzianum* T39, αφού αυτό δεν χρειάζεται παρουσία ελεύθερου νερού, θέλει 80-97% σχετική υγρασία και θερμοκρασία 20-26^ο C. Έτσι ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες άλλοτε η αποτελεσματικότητα του ανταγωνιστή είναι ικανοποιητική και άλλοτε όχι. (Τσαλικούνης, 1996.)

Gliocladium spp.

Οι μύκητες του γένους *Gliocladium* έχουν τέλεια μορφή που ανήκει στους Ασκομύκητες στην τάξη *Hyrocerales*. Είναι νηματοειδής μύκητες οι οποίοι βρίσκονται πολύ συχνά στο έδαφος ή σε αποσυντεθειμένα φυτικά μέρη. Παράγουν υαλώδεις υφές με septa και όρθιους κονιδιοφόρους που διακλαδίζονται στα άκρα τους. Οι ακραίες διακλαδώσεις καταλήγουν σε φιαλόμορφα φιαλίδια και αυτά δίνουν ωοειδή έως κυλινδρικά μονοκύτταρα κονίδια.

- *Gliocladium roseum*

Ο μύκητας αυτός αναστέλλει τη βλάστηση των κονιδίων και την ανάπτυξη των βλαστικών υφών του *B. cinerea*.

Οι βλαστικές υφές αναπτύσσονται πάνω, τυλίγουν γύρω-γύρω, διατρυπούν και αναπτύσσονται μέσα στις υφές του φυτοπαθογόνου. Τα παρασιτισμένα κονίδια και οι βλαστικές υφές του *B. cinerea* έχουν δείγματα κυττοπλασμικής αποσύνθεσης. Στους στήμονες ο ανταγωνιστής αυτός μειώνει την ευαισθησία αποικισμού από το μύκητα, όμως δεν αναστέλλει τη βλάστηση, ανάπτυξη και δημιουργία των απρεσορίων του. Έτσι έχει πολλαπλό τρόπο δράσης καθώς τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία στα φυτικά όργανα παίζουν σημαντικό ρόλο στον ανταγωνισμό. Οι ιδανικές θερμοκρασίες για τη βλάστηση και την μυκηλιακή ανάπτυξη του ανταγωνιστή είναι μεταξύ 27-39 °C και σε αυτές τα κονίδια του βλαστάνουν σε 10 ώρες.

- *Gliocladium virens*

Ο μύκητας *Gliocladium virens* αναστέλλει τη βλάστηση των κονιδίων του *B. cinerea* και την επιμήκυνση των υφών αφού παράγει το αντιβιοτικό γλοιιοτοξίνη.



Εικόνα 3.2: Σχεδιάγραμμα των καρποφοριών του μύκητα *Gliocladium* spp.

Ulocladium atrum

Η τέλεια μορφή ανήκει στους Ασκομύκητες στην τάξη Pleosporales. Αναπτύσσει καστανόχρωμες υφές με septa και καστανόχρωμους απλούς ή διακλαδισμένους επίπεδους κονιδιοφόρους που είναι λυγισμένοι κάθετα στο σημείο παραγωγής των κονιδίων. Τα κονίδια έχουν χρώμα καστανό έως μαύρο, σχήμα

ωοειδές έως στρογγυλό, μέγεθος 13-30 x 6-19 μm, είναι επίπεδα ή ανώμαλα και έχουν δικτυωτά χωρίσματα.

Είναι σαπροφυτικός και έχει την ικανότητα να παρεμποδίζει την παραγωγή κονιδίων του *B. cinerea*. Αυτό συμβαίνει διότι ανταγωνίζεται το σαπροφυτικά αναπτυσσόμενο μυκήλιο του παθογόνου. Σε πρόσφατα πειράματα στη φράουλα έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Άριστες θερμοκρασίες για τη βλάστηση και τη μυκηλιακή ανάπτυξη είναι μεταξύ 27-3 °C και σε αυτές η βλάστηση γινόταν σε 2,6 ώρες θερμοκρασίας.

Έτσι το *U. atrum* είναι ένας πολλά υποσχόμενος βιολογικός παράγοντας για την προστασία των πληγών κλαδέματος και του βλαστού στα θερμοκήπια από την τεφρά σήψη.



Εικόνα 3.3: Κονιδιοφόρος και κονίδια του μύκητα *Ulocladium atrum*.

Coniothyrium minitans

Ο *C. minitans* ανήκει στους Αδηλομύκητες στην τάξη Melancoliales. Είναι ευρύτατα γνωστός ως μυκοπαρσιτικός μύκητας των σκληρωτίων, που παράγονται από μύκητες όπως ο *B. cinerea* και ο *Sclerotinia spp.*

Άλλοι μύκητες

Άλλοι μύκητες που δρουν κατά του *B. cinerea* είναι οι *Penicillium sp.*, *Athirinium montagnei*, *Alternaria alternata*, *Ghaetonium globosum* και ο *Gliocladium catenulatum*

3.3.1.2 ΒΑΚΤΗΡΙΑ

Bacillus sp.

Τα βακτήρια του γένους *Bacillus sp* έχουν δύο χαρακτηριστικά γνωρίσματα τα οποία τα κάνουν ισχυρούς παράγοντες βιολογικής καταπολέμησης ασθενειών των φυτών. Καταρχήν παράγουν μια σειρά από αντιβιοτικά τα οποία σε πολλές περιπτώσεις είναι τοξικά για φυτοπαθογόνους μύκητες (Walker *et al.*,1998) και δεύτερον παράγουν σπόρια τα οποία είναι ανθεκτικές μορφές με μεγάλη διάρκεια παραμονής στα φυτικά μέρη. Η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους είναι 30 °C ενώ είναι θετικά κατά Gram.

• *Bacillus subtilis*

Οι φυλές του *B. subtilis* παράγουν διάφορους μεταβολίτες όπως τα αντιβιοτικά πεπτίδια καθώς και τα παράγωγα φυτοορμονών (ειδικά αυξίνες) τα οποία έχουν δράση στην φυτική ανάπτυξη και ενισχύουν την υγεία των φυτών (Boshov, 1995). Τα αντιβιοτικά αυτά είναι τα bacitracin, mycobacillin, subtilin, bacilycin, fengumicin, neocidins και άλλα (Loeffler *et al.*, 1990). Το βακτήριο αυτό έχει δοκιμαστεί κι έχει δώσει θετικά αποτελέσματα για την καταπολέμηση της τέφρας σήψης της τομάτας (Markellou, 1999).

• *Bacillus brevis* Nagano Wild-Type (WT)

Ο βάκιλος αυτός έχει δύο τρόπους δράσης ενάντια στο *B. cinerea*. Καταρχήν παράγει βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες οι οποίες μειώνουν τις περιόδους φυλλικής διύγρανσης που είναι απαραίτητες για την προσβολή και παράγει και το τοξικό για το μύκητα αντιβιοτικό, gramicidin S, ένα κυκλικό δεκαπεπτίδιο, που αναστέλλει τη βλάστηση των κονιδίων (Mc Hugh & Seddon, 2000).

Το αντιβιοτικό αυτό είτε καθαρό είτε μεταφερόμενο από κονίδια αναστέλλει το παθογόνο σε πάνω από ένα στάδια του βιολογικού του κύκλου (Edwards, 1993, Walker *et al.*, 1998).

• *Bacillus brevis* E1

Ο βάκιλος αυτός παράγει όπως και ο προηγούμενος επιφανειοδραστικές ουσίες, δεν παράγει όμως το αντιβιοτικό gramicidin S. Βέβαια η αποτελεσματικότητά τους εναντίον της τέφρας σήψης είναι ανάλογη.

3.4 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΙ ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Botrytis*, ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ

Η βιολογική καταπολέμηση των ασθενειών των φυτών στηρίζεται στις δυνατότητες των διάφορων βιολογικών παραγόντων, που χρησιμοποιούνται, να ανταγωνίζονται το παθογόνο αίτιο. Η αποτελεσματική βιολογική καταπολέμηση περιλαμβάνει επίσης την ικανότητα του ανταγωνιστικού παράγοντα να επιβιώνει και να διατηρείται στη θέση που εφαρμόζεται. Αυτή η ιδιότητα των ανταγωνιστών αν και είναι πολύ σπουδαία και βασική για τη βιολογική καταπολέμηση, ελάχιστες είναι οι μελέτες που έχουν γίνει για την επιβίωσή τους στις φυτικές επιφάνειες αλλά και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που τους ευνοούν.

Ασφαλώς ένας βιολογικός παράγοντας παραμένει ενεργός και αποτελεσματικός μόνο όταν προσαρμοστεί στο μικροκλίμα του φυτού. Έτσι ο εισαγόμενος βιολογικός παράγοντας πρέπει να ανταγωνιστεί άλλους μικροοργανισμούς και να αναπτύξει έναν ενεργό πληθυσμό στην φυλλόσφαιρα.

Συμπερασματικά είναι πολύ σημαντικό όχι μόνο να είναι γνωστός ο τρόπος δράσης ενός παράγοντα αλλά και οι συνθήκες της φυλλόσφαιρας και του περιβάλλοντος στις οποίες μπορεί να είναι ανταγωνιστικός ως προς το παθογόνο. Για αυτό ακριβώς οι έρευνες δεν πρέπει να περιορίζονται στη μελέτη της επίδρασης του ανταγωνιστή στο παθογόνο. Με αυτόν τον τρόπο η βιολογική καταπολέμηση ίσως μπορέσει πλέον να αποτελέσει ένα ικανοποιητικό όπλο μόνη της, χωρίς την ανάγκη συνδυασμού με χημικά.

Η ολοκληρωμένη καταπολέμηση των ασθενειών ουσιαστικά δεν αποτελεί καινοτομία, αλλά ένα συνδυασμό με ορθολογικό τρόπο όλων των μεθόδων που είναι

διαθέσιμες, προκειμένου να προστατευτούν οι καλλιέργειες από παθογόνους μικροοργανισμούς. Το σημαντικότερο στοιχείο της μεθόδου αυτής είναι η δυνατότητα καταπολέμησης των παθογόνων με πολύ λιγότερες ποσότητες μυκητοκτόνων μειώνοντας τα υπολείμματα στα προϊόντα αλλά και τις πιθανότητες δημιουργίας ανθεκτικών στελεχών.

Η Ολοκληρωμένη Διαχείριση περιλαμβάνει την πρόληψη και τον έλεγχο εχθρών και ασθενειών και την αντιμετώπιση των ζιζανίων με τη χρήση όλων των διαθέσιμων βιολογικών, χημικών, καλλιεργητικών και άλλων μεθόδων με σκοπό την επικερδή και αποτελεσματική παραγωγή, που δεν διαταράσσει την ισορροπία της φύσης και προστατεύει το περιβάλλον.

Η Ολοκληρωμένη καταπολέμηση αποσκοπεί στη μείωση των δυσμενών επιδράσεων της χημικής καταπολέμησης και στην παραγωγή προϊόντων υψηλής ποιότητας, με τα λιγότερα δυνατόν τοξικά υπολείμματα και με την ελάχιστη δυνατή επιβάρυνση του περιβάλλοντος από αυτά. Παράλληλα, στοχεύει στη διατήρηση της βιολογικής ισορροπίας στη φύση, στην προστασία του περιβάλλοντος αλλά και στην προστασία της υγείας του καταναλωτή.

Το σύστημα της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης είναι ένα σύστημα οργάνωσης μιας γεωργικής εκμετάλλευσης που περιλαμβάνει μεταξύ και άλλων την Ορθή Γεωργική Πρακτική, την Ασφάλεια και Υγιεινή των εργαζομένων και την Ασφάλεια των Προϊόντων. Βασίζεται σε εναλλακτικές μεθόδους αντιμετώπισης, δηλαδή σε βιολογικά, μηχανικά, γενετικά, καλλιεργητικά μέτρα. Η χρησιμοποίηση των παρασιτοκτόνων ουσιών γίνεται μόνο όταν οι άλλες εναλλακτικές μέθοδοι δεν είναι αποτελεσματικές και με την προϋπόθεση οι ουσίες αυτές να έχουν εκλεκτική δράση και να διασφαλίζουν την προστασία των ωφέλιμων και την ασφάλεια του χρήστη. Φυτοπροστατευτικά προϊόντα, όπως φερομόνες, άλλες ελκυστικές ουσίες και εντομοπαγίδες, χρησιμοποιούνται ευρέως στην Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση.

Η πρόληψη της εμφάνισης ενός εχθρού ή μιας ασθένειας έχει μεγάλη σημασία στην εφαρμογή της Ολοκληρωμένης Φυτοπροστασίας και στη μείωση της έντασης της προσβολής και καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από την εφαρμογή των Γεωργικών Προειδοποιήσεων.

Ο συχνός έλεγχος στην καλλιέργεια είναι αποφασιστικής σημασίας για την ορθολογική αντιμετώπιση των προβλημάτων φυτοπροστασίας. Ο σωστός σχεδιασμός Προγράμματος Φυτοπροστασίας αποτελεί βασικό στοιχείο της επιτυχίας της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης.

Φυτικές πτητικές ουσίες οι οποίες έχουν *in vitro* αντιμυκητική δράση μπορεί να αποτελούν πιθανά μετασυλλεκτικά σκευάσματα, για των έλεγχο μυκήτων οι οποίοι προκαλούν μετασυλλεκτικές σήψεις. Αντικείμενο της έρευνας ήταν η εκτίμηση της επίδρασης στην ανάπτυξη του *Botrytis cinerea in vitro* φυσικών πτητικών ουσιών σταφυλιών, ποικιλίας ανθεκτικής στο μύκητα. Ανά πέντε τρυβλία με PDA εμβολιασμένα με το μύκητα *Botrytis cinerea* τοποθετήθηκαν μέσα σε 12 μικροθαλάμους. Στη βάση των μικροθαλάμων τοποθετήθηκαν καρποί διαφόρου σταδίου ωριμότητας, άωροι και ώριμοι της ανθεκτικής ποικιλίας, καθώς επίσης και καρποί της ευπαθούς ποικιλίας. Η εκτίμηση μετά από 15 ημέρες έδειξε ότι οι φυσικές πτητικές ουσίες της ανθεκτικής ποικιλίας ανέστειλαν τη δημιουργία σκληρωτίων ανεξάρτητα από το στάδιο ωριμότητας των καρπών, ενώ οι φυσικές πτητικές ουσίες των άωρων καρπών της, δεν επέτρεψαν την παραγωγή κονιδίων από το μύκητα. (Κουλακιώτη κ.α., 2000.)

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο βοτρυτής έχει παγκόσμια εξάπλωση και προσβάλλει σχεδόν όλα τα καλλιεργούμενα φυτά. Αποτελεί πραγματική απειλή για την εμπορεύσιμη παραγωγή, διότι εκτός από τις ποσοτικές απώλειες υποβαθμίζει και την ποιότητα των προϊόντων.

Τα κονίδια του *B. cinerea* είναι το πιο σημαντικό στοιχείο στη διαδικασία της προσβολής κι ως εκ τούτου είναι πολύ σημαντική η μελέτη της παραγωγής και της διασποράς τους. Τα κονίδια του μύκητα παράγονται από τους κονιδιοφόρους πάνω στους προσβεβλημένους φυτικούς ιστούς του ξενιστή. Η παραγωγή τους μπορεί να λάβει χώρα σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών ακόμη και μέσα σε ψυγείο, με πολύ αργότερους βέβαια ρυθμούς. Κάτι παρόμοιο συμβαίνει και με την ποιότητα του φωτισμού που καθοριστικά την παραγωγή των κονιδίων. Όμως κονίδια παράγονται ακόμη και στο σκοτάδι. Τέλος η παρουσία λεπτού στρώματος νερού πάνω σε έναν καλυμμένο από μυκήλιο ιστό, παρεμποδίζει την παραγωγή κονιδίων. Τα κονίδια του *B. cinerea* ως ξηροσπόρια που είναι μεταφέρονται και διασπείρονται σε μεγάλες αποστάσεις με τη βοήθεια του ανέμου. Σε μικρότερες αποστάσεις διασπείρονται με τα σταγονίδια του νερού. Η απελευθέρωση των κονιδίων λαμβάνει χώρα όταν μειωθεί απότομα η σχετική υγρασία του αέρα.

Η επιβίωση του *B. cinerea* επηρεάζεται πάρα πολύ από την θερμοκρασία και λιγότερο από άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η υγρασία. Σε περιοχές με Μεσογειακό κλίμα, όπως η χώρα μας, όπου τα καλοκαίρια είναι θερμά και ξηρά ο μύκητας αναπτύσσεται το χειμώνα σε μη θερμαινόμενα θερμοκήπια και το φθινόπωρο σε αμπελώνες.

Σε αυτές τις συνθήκες ο μύκητας επιβιώνει σε φυτικά υπολείμματα και η σε προσβεβλημένους βλαστούς ξενιστών του. Η θέση αυτή αποτελεί την καλύτερη οικολογικά λόγω του ότι το παθογόνο επιβιώνει σε πάνω από 18% είδη βλαστών των οποίων οι εσωτερικοί ιστοί ίσως παρέχουν προστασία από τις δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες αλλά και από άλλους μικροοργανισμού.

Η καλή γνώση της επιδημιολογίας της ασθένειας και η αναγνώριση των περιόδων που είναι επικίνδυνες για την ανάπτυξη της μπορεί να οδηγήσουν στη μείωση του αριθμού των εφαρμογών μυκητοκτόνων. Βασικά στοιχεία στην πρόβλεψη της ασθένειας είναι η ύπαρξη νερού στην υγρή φάση δηλαδή βροχή ή δροσιά και η σχετική υγρασία.

Οι μελλοντικές πάντως έρευνες σε αυτό το θέμα θα πρέπει να προσανατολίζονται στην ενσωμάτωση της καταπολέμησης του *B. cinerea* σε ένα πιο ολοκληρωμένο σύστημα το οποίο θα είναι συμβατό με την καταπολέμηση των εντόμων, τα συστήματα παραγωγής προϊόντων και την αποδοτικότητα των καλλιεργειών για μια πιο αειφορική μορφή γεωργίας

Καταπολέμηση

- Καλλιεργητικά μέτρα:
 - Μείωση της υγρασίας. Στον αγρό αυτό επιτυγχάνεται με αραιή φύτευση, με φύτευση σε γραμμές κατευθυνόμενες από βορρά προς νότο ώστε καμία πλευρά του φυτού να μη βρίσκεται συνέχεια στη σκιά. Στα θερμοκήπια να αποφεύγονται οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας, οι οποίες συντελούν στη συμπύκνωση των υδρατμών και επικάθηση σταγονιδίων νερού στα φυτά. Επίσης, καλός αερισμός του χώρου, αραιή φύτευση και η άρδευση να γίνεται πρωινές ώρες ώστε να εξατμίζεται το νερό από την επιφάνεια των φυτών.
 - Τήρηση καλής υγιεινής στην φυτεία. Αφαίρεση και καταστροφή των προσβεβλημένων φυτών και φυτικών οργάνων διότι αυτά αποτελούν εστίες μόλυνσης αλλά και σημεία εισόδου του παθογόνου.
- Χημική καταπολέμηση:
 - Συνιστώνται προληπτικοί ψεκασμοί, ανά 7 ημέρες, με ένα οργανικό μυκητοκτόνο όπως thiram, chlorothalonil κ.α. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί το διασυστηματικό carbendazim. Πολύ αποτελεσματικά εναντίον του παθογόνου θεωρούνται και τα μυκητοκτόνα της ομάδας των δικαρβοξιμιδίων όπως vinclozolin, procymidone, iprodion. Επίσης αποτελεσματικά είναι: το μίγμα diethofencarb+carbendazim, ETEM, maneb + carbendazim και το thiophanate.
 - Για την προστασία του λαιμού των φυτών συνιστάται κατά τη φύτευση, ενσωμάτωση στο έδαφος του απολυμαντικού πενταχλωρονιτροβενζόλιο.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agrios G.N., 1988.** Plant Pathology. 3rd edition. Academic Press Inc., San Diego, California. Pp. 803
- Baker K. F., 1987.** Evolving concepts of biological control of plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathology* **25**, 67-85.
- Blakeman, J., P. & Fokkema, N., J., 1982.** Potential for the biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annu. Rev. Phytopathology* **20**, 167-192.
- Böff, P., Geriaf, M., Horsten, P., Lombaers-van der Plas C.H. & Köhl J., 2003.** Sporulation suppression of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* on strawberries. In Dlo-research institute for plant protection, Wageningen, The Netherlands.
- Care ,D. D. & Coyier, D.L., 1984.** Influence of atmospheric humidity and free water on germ tube growth of *botrytis cinerea*. In *Phytopathology* **74**, 1136.
- Cole, L., Dewey, F. M. & Hawes, C. R. 1996.** Infection mechanism of *Botrytis* species: pre-penetration and pre-infection process of dry and wet conidia. *Myc. Research* **100** (3): 277-286.
- Coley-Smith J. R. 1980.** Sclerotia and other structures in survival. In *The biology of Botrytis*, (Eds. J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff & W. R. Jarvis), pp. 85-114. Academic Press, London.
- Cook, J. R. & Baker, K. F. 1983.** The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS: St. Paul.
- Cook, J. R. 1993.** Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathology* **31**, 53-80.
- Elad, Y., 1988** Involvement of ethylene in the pathogenicity of *Botrytis cinerea* Pers. on rose and carnation flowers and the possibility of control. In *Ann. appl. Biol.* **113**, 589-598.
- Elad, Y., 1988.** Latent infection of *Botrytis cinerea* in rose flowers and combined chemical physiological control of the disease. In *Crop Prot.* **7**, 361-366.
- Elad, Y., 1996.** Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. *Eur. J. In Plant Pathol.* **102**, 719-732. (Review)
- Epton H. A. S. & Richmond, D. V. 1980.** Formation, structure and germination of conidia. In *The biology of Botrytis*, (eds. J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff & W. R. Jarvis) Academic Press, London., pp. 41-84.

- Filonow, A. B., Vishniac, H. S., Anderson, J. A. & Janisiewicz, W. J. 1996.** Biological control of *Botrytis cinerea* in apple by yeasts from various habitats and their putative mechanisms of antagonism. *Biological Control* **7**, 212-220.
- Fokkema, N. J. 1996.** Biological control of fungal plant diseases. *Entomophaga* **41**, 333-342.
- Fruit, L. & Nicot, P. 2000.** Effects of temperature and relative humidity on control of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* on tomato stem wounds. In 12th International Botrytis Symposium. Reims, France, (Abstracts).
- Guetsky, R., Elad, Y., Shtienberg, D., & Dinoor, A., 2002.** Improved biological control of *Botrytis cinerea* in strawberry by adding nutritional supplements to a mixture of *Pichia guilemondii* and *Bacillus mycooides*. In *Biocontrol Science and Technology*: in press.
- Harisson, J.G., 1988.** The biology of *Botrytis* spp. on *Vicia* beans and chocolate spot disease- a review. In *Plant Pathology* **37**, 168-201.
- Have, A. 2000.** The *Botrytis cinerea* endopolygalacturonase gene family. [S.l.:s.n.]. Thesis Wageningen University. 1-120.
- Hobbs, E.L. & Waters, W.E., 1964.** Influence of nitrogen and potassium on susceptibility of *Chrysanthemum morifolium* to *Botrytis cinerea*. In *Phytopathology* **54**, 674-676.
- Jarvis, W. R. 1980.** Taxonomy. In *The biology of Botrytis*, (Eds. J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff & W. R. Jarvis), pp. 1-17. Academic Press, London.
- Jarvis, W. R. 1989.** Managing diseases in greenhouse crops. *Plant Disease* **73**, 190-194.
- Jarvis, W.R. (ed). 1977.** *Botryotinia and Botrytis Species: Taxonomy, Physiology and Pathogenicity*. Agriculture Canada, Hignell Printing Limited, pp. 195.
- Leifert, C., Sigee, D. C., Stanley, R., Knight, C. & Epton, H. A. S. 1993.** Biocontrol of *Botrytis cinerea* and *Alternaria brassicicola* on Dutch white cabbage by bacterial antagonists at cold-store temperatures. *Pl. Pathology* **42**, 270-279.
- Malathrakis, N. E. & Klironomou, E. J., 1992.** Control of Grey mould of tomatoes in greenhouses with fungicides and antagonists, In *Proceedings of the 10th International Botrytis Symposium*, Heraclion Crete, Greece, 282-286.

Tanaka1 S., Kimura1 N. και Senechal Y. PROLEcTUSTM (Fenpyrazamine): Νέο μυκητοκτόνο για τον έλεγχο του Βοτρύτη σε αμπέλι, λαχανικά, φράουλα και της Μονίλια σε πυρηνόκαρπα. Πρόγραμμα και Περιλήψεις Εργασιών. 16^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο. 16-18 Οκτωβρίου 2012 Porto Palace Hotel , Θεσσαλονίκη. σ.162

Βακαλουνάκης, Δ. 2006. Ασθένειες των κολοκυνθοειδών. Εκδόσεις Βακαλουνάκης, Ηράκλειο. Κρήτης.

Ηλιοπουλος Π. 2005. Μετασυλλεκτικές ασθένειες και ζωικοί εχθροί αποθηκών. Σημειώσεις μαθήματος ΤΕΙ Καλαμάτας. Καλαμάτα

Ζιώγας, Β.Ν. , Νίκου Δ.Χ., Μάρκογλου Α.Ν., Μαλανδράκης Α.Α., και Βόντας Ι.Γ. 2006. Μοριακή ανάλυση και ανίχνευση ανθεκτικότητας φυτοπαθογόνων μυκήτων στα μυκητοκτόνα: το παράδειγμα της ανθεκτικότητας του *Botrytis cinerea* στα βενδιμιδαζολικά. Περιλήψεις του 13ο Πανελλήνιου Φυτοπαθολογικού Συνεδρίου , 16-19 Οκτωβρίου 2006, Αθήνα. σ. 33.

Καλογεροπούλου Π., Βελούκας Θ. και Καραογλανίδης Γ.Σ. 2012. Ανθεκτικότητα πληθυσμών του μύκητα *Botrytis cinerea* από καλλιέργειες φράουλας και θερμοκηπιακής τομάτας σε βοτρυδιοκτόνα. Πρόγραμμα και Περιλήψεις Εργασιών. 16^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο. 16-18 Οκτωβρίου 2012 Porto Palace Hotel , Θεσσαλονίκη. σ. 55.

Κουλακιώτη Ε.Κ., Θανασουλόπουλος Κ.Κ., Σφακιωτάκης Ε.Μ. 2000. Επίδραση στην ανάπτυξη του *Botrytis cinerea* Pers. των πτητικών ουσιών σταφυλιών. Περιλήψεις Εργασιών. 10^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο. 3 – 5 Οκτωβρίου 2000. Καλαμάτα. σελ. 57

Μυρεσιώτης Χ.Κ., Καραογλανίδης Γ.Σ. και Τζαβέλλα-Κλωνάρη Κ. 2006. Μελέτη ευαισθησίας απομονώσεων του μύκητα *Botrytis cinerea* σε ανιλνοπυριμιδικά, φαινυλοπυρρολικά, υδροξυανιλιδικά, βενζιμιδαζολικά και δικαρβοξιμιδικά μυκητοκτόνα. Περιλήψεις του 13ο Πανελλήνιου Φυτοπαθολογικού Συνεδρίου , 16-19 Οκτωβρίου 2006, Αθήνα. σ. 141.

Παναγόπουλος, Χ. 1995. Ασθένειες κηπευτικών καλλιεργειών. pp. 76-97. Σταμούλης, Αθήνα, Πειραιάς.

Παναγόπουλος, Χ. 2007. Ασθένειες καρποφόρων δέντρων & αμπέλου. pp. 510-518. Σταμούλης, Αθήνα, Πειραιάς.

Τζάμος Ελευθέριος. 2007. Φυτοπαθολογία. Έκδοση. Εκδόσεις Σταμούλης Α. Ε. Αθήνα.

Τσαπικούνης, Φ. 1996. Βιολογική και ολοκληρωμένη καταπολέμηση στο θερμοκήπιο. pp. 191-198. Σταμούλης, Αθήνα.

Τσιούρη Μ., Χατζηβασιλείου Ε.Κ. και Δημακοπούλου Μ. 2012. Διερεύνηση της ευαισθησίας απομονώσεων του μύκητα *Botrytis cinerea* από καλλιέργειες ροδιάς στα μυκητοκτόνα fludioxonil και cyprodinil. Πρόγραμμα και Περίληψεις Εργασιών. 16^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο. 16-18 Οκτωβρίου 2012 Porto Palace Hotel , Θεσσαλονίκη. σ. 164

Χατζηδημόπουλος Μ. και Παππάς Α.Χ. 2012. Χαρακτηρισμός, συχνότητα και εξάπλωση ανθεκτικών στα μυκητοκτόνα απομονώσεων του *Botrytis cinerea* σε καλλιέργειες μαρουλιού Πρόγραμμα και Περίληψεις Εργασιών. 16^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο. 16-18 Οκτωβρίου 2012 Porto Palace Hotel , Θεσσαλονίκη. σ. 53

Χατζηδημόπουλος Μ., Λίγκας Ι., και Παππάς Α.Χ. 2012. Χημική καταπολέμηση της τεφράς σήψης σε υδροπονική καλλιέργεια μαρουλιού και υπολείμματα μυκητοκτόνων κατά τη συγκομιδή. Πρόγραμμα και Περίληψεις Εργασιών. 16^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο. 16-18 Οκτωβρίου 2012 Porto Palace Hotel , Θεσσαλονίκη. σ. 70.

Χρίστιας, Χ. 1999. Μυκητολογία. Pp 93-129. Αγρότυπος, Αθήνα

ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΕΣ ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΙΣ INTERNET

- http://www.plantprotection.hu/modulok/gorog/tomato/greymold_tom
- http://www.bayercropscience.gr/index.asp?a_id=210&sel1=sell1a,1,3&sel2=sell2a,6&asth_id=125
- <http://www.greensupport.gr/index.php/bibliotheca/diseases/menu-fungus-diseases/item/255-tefra-sipsi>
- <http://nefeli.lib.teicrete.gr/browse2/steg/fp/2006/Marinou/document.tkl>
- http://www.bayercropscience.gr/index.asp?a_id=210&sel1=sell1a,17,49&sel2=sell2a,6&asth_id=269
- <http://nefeli.lib.teicrete.gr/browse/steg/fp/2003/DafermosNikolaos/document.tkl>
- <http://www.infowine.gr/el/winepedia/viticulture/226/?nid=370>
- <http://plantdirect.blogspot.gr/2012/09/botrytis-cinerea.html>
- <http://invenio.lib.auth.gr/record/125753/files/GRI-2011-6202.pdf?version=1>

- <http://greensupport.gr/index.php/bibliotheca/organisms/menu-fungus/item/157>
- <http://www.kalliergo.gr/odigos-kalliergiti/article/2-%CE%95%CF%87%CE%B8%CF%81%CE%BF%CE%AF%20%CE%BA%CE%B1%CE%B9%20%CE%91%CF%83%CE%B8%CE%AD%CE%BD%CE%B5%CE%B9%CE%B5%CF%82%20%CE%A6%CF%85%CF%84%CF%8E%CE%BD/89-votrytis-gray-mold.html>