



ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Η επίδραση των μυκήτων του γένους
Trichoderma στη φυτική παραγωγή»



Σπουδαστής: Βασίλειος Οικονόμου

Επιβλέπουσα: Μαρία Παπαδοπούλου
Υπεύθυνη Καθηγήτρια: Μαρίνα Παπαδέλλη

Καλαμάτα 2013



**TECHNOLOGICAL EDUCATIONAL
INSTITUTE OF PELOPONNESE
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
TECHNOLOGY DEPARTMENT OF AGRICULTURAL
PRODUCTS**

GRADUATION THESIS

**«The effect of fungi genus *Trichoderma*
in crop production»**

Student: Vassilios Oikonomou

Supervisor: Maria Papadopoulou

Tutor: Marina Papadelli

Kalamata 2013

Έγκριση

Υπογραφή

<p>Επιβλέπων:</p>	
<p>Μέλος εξεταστικής επιτροπής:</p>	
<p>Μέλος εξεταστικής επιτροπής:</p>	

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά

την επιβλέπουσα της πτυχιακής μου εργασίας
κα Παπαδοπούλου Μαρία
για την πολύτιμη βοήθειά της
στην ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας
καθώς και την υπεύθυνη κα Παπαδέλλη Μαρίνα
του Α.Τ.Ε.Ι. Πελοποννήσου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	- 9 -
ABSTRACT.....	- 11 -
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	- 12 -
1^Ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ	
ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ.....	- 14 -
1.1 Κατηγορίες ασθενειών των φυτών.....	- 14 -
1.2 Φυτοπαθογόνοι μύκητες.....	- 15 -
1.3 Οικονομικές επιπτώσεις των ασθενειών των φυτών.....	- 16 -
2^Ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ	
ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΧΘΡΩΝ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ.....	- 18 -
2.1 Μικροοργανισμοί για τον έλεγχο των ασθενειών των φυτών.....	- 18 -
2.2 Βιολογική καταπολέμηση των ασθενειών των φυτών.....	- 19 -
3^Ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ	
ΜΥΚΗΤΕΣ.....	- 23 -
3.1 Γενικά χαρακτηριστικά.....	- 23 -
3.2 Μορφολογία μυκήτων.....	- 24 -
3.3 Ανάπτυξη μυκήτων.....	- 24 -
3.4 Ταξινόμηση μυκήτων.....	- 25 -
3.5 Δευτερομύκητες.....	- 26 -
3.5.1 Διασπορά στη φύση.....	- 27 -
3.5.2 Η σημασία τους για τον άνθρωπο.....	- 27 -
3.5.3 Δομή.....	- 27 -
3.5.4 Ταξινόμηση.....	- 28 -
4^Ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ	
ΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ TRICHODERMA.....	- 30 -
4.1 Μύκητες του γένους Trichoderma.....	- 30 -
4.2 Γενετική ταξινόμηση.....	- 34 -
4.3 Κύκλος ζωής.....	- 35 -
4.4 Ευαισθησία στα φυτοφάρμακα.....	- 36 -
4.5 Χρήσεις του Trichoderma.....	- 36 -
4.6 Εφαρμογές και μηχανισμοί βιοελέγχου του γένους Trichoderma στη γεωργία.....	- 38 -
4.6.1 Μηχανισμοί βιοελέγχου.....	- 40 -
4.6.1.1 Ο βιολογικός έλεγχος από τον ανταγωνισμό (fungistasis).....	- 41 -
4.6.1.2 Ανταγωνισμός για τα θρεπτικά συστατικά (starvation).....	- 41 -
4.6.1.3 Βιο-γονιμοποίηση & τόνωση των αμυντικών μηχανισμών των φυτών.....	- 43 -
4.6.1.4 Τροποποίηση της ριζόσφαιρας.....	- 49 -
4.6.1.5 Αντιβίωση.....	- 51 -
4.6.1.6 Μυκοπαρασιτισμός.....	- 53 -
4.6.2 Εφαρμογές βιοελέγχου.....	- 55 -
4.6.3 Βιολογικά εμπορικά σκευάσματα για την πρόληψη των ασθενειών των φυτών.....	- 58 -
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	- 61 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	- 62 -

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

- Εικόνα 1:** Βλάστηση σπορίων. Α. Βλαστικός σωλήνας. Β. Ανάπτυξη του βλαστικού σωλήνα, σχηματισμός διακλαδώσεων και παραγωγή μυκηλίου..... - 24 -
- Εικόνα 2:** Ηλεκτρονιογραφία λεπτής δομής ώριμου κονιδίου του δευτερομύκητα *Trichoderma*. Διακρίνεται το κυτταρικό τοίχωμα που περιβάλλει το σπόριο, ο πυρήνας (*N*), μιτοχόνδριο (*M*) και λιπίδια (*L*)
Πηγή: (Hammill, 1974)..... - 28 -
- Εικόνα 3:** Μύκητας του γένους *Trichoderma*..... - 30 -
- Εικόνα 4:** Χαρακτηριστικά στοιχεία του γένους *Trichoderma* spp. a) *T. reesei* και b) *T. atroviride* αναπτύσσονται σε πλάκες, c) *T. reesei* ή *H. jecorina* αυξάνεται σε φως της ημέρας d) καρποφορία και σχηματισμός του *T. reesei* (e, f) *T. longibrachiatum* και αναπτύσσεται από τα ανθρώπινα κύτταρα, g, i) *T. reesei* (αριστερά) κατά τη διάρκεια της αντιπαράθεσης με *Pythium ultimum* (δεξιά), h) *T. atroviride* (αριστερά) κατά τη διάρκεια της αντιπαράθεσης με το *R. solani* (δεξιά).
(Πηγή: Schuster, 2010) - 31 -
- Εικόνα 5:** Καλλιέργειες του στελέχους *Trichoderma harzianum* T-22 (KRL-OE2) αναπτύσσονται σε άγαρ δεξτρόζης πατάτας. Οι λευκές περιοχές δεν περιέχουν σπόρια, ενώ οι χώροι πρασίνου καλύπτονται με πυκνή μάζα των σπορίων (κονίδια).
Πηγή: Harman, 2000 - 32 -
- Εικόνα 6:** *Trichoderma* που επιτίθενται σε παθογόνο
Πηγή: <http://pertanianselangor.wordpress.com>..... - 33 -
- Εικόνα 7:** Αποικισμός των ριζικών τριχιδίων του καλαμποκιού από στέλεχος του *T. harzianum* T22.
Πηγή: Harman. 2000. Cornell University - 34 -
- Εικόνα 8:** Ανάπτυξη της ρίζας καλλιέργεια φυτών καλαμποκιού ως συνέπεια του αποικισμού ρίζας από την αρμόδια ριζόσφαιρα στέλεχος *T. harzianum* T22.
Πηγή: Cornell University - 37 -
- Εικόνα 9:** Αριστερά: Βελτιωμένη επιβίωση των φυτών πιπεριάς στον αγρό ως συνέπεια της καλύτερης ανάπτυξης ριζών που προκαλείται από την παρουσία T22. Δεξιά: Η απόδοση σε καρπούς των δύο αγρών.
Πηγή: Cornell University - 37 -
- Εικόνα 10:** Γονίδια βιοελέγχου *T. harzianum* έχουν εισαχθεί σε φυτά καπνού και πατάτας, και οδήγησαν σε υψηλά επίπεδα αντοχής σε *Alternaria alternata* (καπνός) και *Rhizoctonia solani* (πατάτα).
Πηγή: Cornell University - 38 -
- Εικόνα 11:** Το στέλεχος *Trichoderma harzianum* CECT 2413, όπως εξετάστηκε από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (επάνω) και απλό μικροσκόπιο (κάτω).
Πηγή: Benitez et al., 2004 - 43 -

- Εικόνα 12:** Προστασία από *Rhizoctonia solani* και διέγερση της ανάπτυξης της ρίζας του καπνού από στέλεχος *Trichoderma harzianum* CECT 2413
 Πηγή: Benítez et al., 2004..... - 45 -
- Εικόνα 13:** Περιέλιξη του *Trichoderma* γύρω από ένα παθογόνο.
 Πηγή: Ilan Chet, Ada Viterbo and Yariv Brotman - 46 -
- Εικόνα 14:** Η μολυσματικότητα επηρεάζεται από το pH. Το μέσο ανάπτυξης για τα γλοιοσποριδία του φυτοπαθογόνου μύκητα *Colletotrichum* είτε δεν ήταν ρυθμισμένο ή ήταν ρυθμισμένο σε pH 6,0.
 (Πηγή: Benitez et al., 2004) - 50 -
- Εικόνα 15:** Υπεράναπτυξη και αναστολή της ανάπτυξης των *Rhizoctonia solani* από μετασχηματισμένα Chit42. Επώαστηκαν ελήφθησαν φωτογραφίες μετά από 7 (άνω) και 12 (κάτω) ημέρες επώασης. Κάθε πλάκα έχει *T. harzianum* στην κορυφή και *R. solani* στο κάτω μέρος.
 (Πηγή: Benitez et al., 2004) - 52 -
- Εικόνα 16:** Γραφική απεικόνιση της δράσης του μύκητα του γένους *Trichoderma* - 53 -
- Εικόνα 17:** Ηλεκτρονική μικρογραφία σάρωσης της επιφάνειας ενός φυτού μετά την απομάκρυνση υφών του παθογόνου *Rhizoctonia solani* από *Trichoderma*. Η διάβρωση του κυτταρικού τοιχώματος που οφείλεται στη δραστηριότητα των ενζύμων του κυτταρικού τοιχώματος είναι εμφανής, όπως και οι τρύπες όπου υφές *Trichoderma* διείσδυσαν στο *R. solani*
 (φωτο: Εβραϊκό Πανεπιστήμιο της Ιερουσαλήμ) (Harman, 2000)..... - 57 -
- Εικόνα 18:** Μυκοπαρασιτισμός από στέλεχος *Trichoderma* για το παθογόνο φυτού (*Rythium*) επί της επιφάνειας του σπόρου μιζελιού. Το στέλεχος *Trichoderma* βάρφηκε με πορτοκαλί φθορίζουσα χρωστική, ενώ το *Rythium* πράσινο.
 Πηγή: Hubbard et al., 1983. - 57 -
- Εικόνα 19:** *Trichoderma asperellum* B1 vs *Rhizoctonia solani*
 Πηγή: www.futoprostasia.gr - 58 -
- Εικόνα 20:** Peak Trico-H
 Πηγή: <http://trade.indiamart.com/> - 58 -
- Εικόνα 21:** MYCORMAX Οργανικό σκεύασμα μυκήτων με θετική επίδραση στην αύξηση των φυτών - 59 -
- Εικόνα 22:** Botanigard SC είναι βιολογικό εντομοκτόνο που περιέχει ζωντανά σπόρια του ωφέλιμου μύκητα *Beauveria bassiana*, εγκεκριμένο για την καταπολέμηση των: αλευρώδη, θρίπα, λεπιδόπτερα και αφίδας σε πλήθος κηπευτικών καλλιεργειών, μύγα Μεσογείου. - 59 -
- Εικόνα 23:** Βιορρυθμιστή TRICHOAGRO..... - 60 -

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Απώλειες παραγωγής ορισμένων βασικών καλλιεργειών, που οφείλονται σε παθογόνα, ζωικά παράσιτα και ζιζάνια (1988-1990).....	17 -
Πίνακας 2: Απώλειες παραγωγής ορισμένων βασικών καλλιεργειών, που οφείλονται σε παθογόνα, ζωικά παράσιτα και ζιζάνια (1988-1990) κατά γεωγραφικές περιοχές.....	17 -
Πίνακας 3: Ταξινόμηση μυκήτων	26 -
Πίνακας 4: Ταξινόμηση δευτερομυκήτων σύμφωνα με το σύστημα Saccardo (1899) ..	29 -
Πίνακας 5: Επιστημονική ταξινόμηση <i>Trichoderma</i>	30 -

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εδώ και περίπου 70 χρόνια, είναι γνωστό ότι οι μύκητες του γένους *Trichoderma* το οποίο περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό στελεχών, δρουν ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου, οι ανταγωνιστικές ιδιότητες του οποίου βασίζονται στην ενεργοποίηση των πολλαπλών μηχανισμών. Κατά τη διάρκεια αυτών των ετών και μετά από πολλές έρευνες, έχουμε μάθει πολλά τόσο για τους μηχανισμούς δράσης τους όσο και το πώς θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν εμπορικά για διάφορους σκοπούς, κυρίως δε για τη βιολογική καταπολέμηση των εχθρών των καλλιεργειών. (Harman, 2005)

Ενδιαφέρον αποτελούν οι ανακαλύψεις ότι οι μύκητες αυτοί, επηρεάζουν θετικά την ανάπτυξη των φυτών και της παραγωγικότητας. Τα *Trichoderma* ασκούν βιοέλεγχο εναντίον φυτοπαθογόνων μυκήτων, είτε έμμεσα, με τον ανταγωνισμό για τα θρεπτικά συστατικά, με την προώθηση της ανάπτυξης, των μηχανισμών άμυνας των φυτών και την αντιβίωση, είτε απευθείας, με μηχανισμούς όπως ο μυκοπαρασιτισμός. Αυτοί οι έμμεσοι και άμεσοι μηχανισμοί μπορούν να ενεργούν συντονισμένα και η σημασία τους στη διαδικασία βιολογικού ελέγχου εξαρτάται από το στέλεχος *Trichoderma*, το ανταγωνίζεται μύκητα, από τα φυτά της καλλιέργειας, και τις περιβαλλοντικές συνθήκες, συμπεριλαμβανομένης της διαθεσιμότητας θρεπτικών συστατικών, το pH, τη θερμοκρασία και τη συγκέντρωση σιδήρου. Η ενεργοποίηση του κάθε μηχανισμού συνεπάγεται την παραγωγή των ειδικών ενώσεων των μεταβολιτών, υδρολυτικών ενζύμων, αντιβιοτικών και άνθρακα.

Σκοπός της παρούσας εργασίας, είναι η βιβλιογραφική ανασκόπηση της επίδρασης των μυκήτων του γένους *Trichoderma* στη φυτική παραγωγή. Από τη μελέτη του θέματος, διαπιστώσαμε ότι υπάρχουν πολλές αναφορές και έρευνες, που αφορούν το θέμα αυτό.

Στο πρώτο κεφάλαιο, γίνεται αναφορά στις ασθένειες των φυτών, τους φυτοπαθογόνους μύκητες που τις προκαλούν και πώς αυτές επηρεάζουν οικονομικά τη γεωργική παραγωγή.

Στο δεύτερο κεφάλαιο, αναφερόμαστε στη βιολογική καταπολέμηση των εχθρών των καλλιεργειών, χρησιμοποιώντας για το σκοπό αυτό μικροοργανισμούς.

Στο τρίτο κεφάλαιο αναλύονται οι μύκητες του γένους *Trichoderma*, ως προς τη γενετική του ταξινόμηση, τον κύκλο ζωής, τις χρήσεις, του μηχανισμούς και τις εφαρμογές που έχουν στο βιολογικό έλεγχο των καλλιεργειών. Η ανάλυση αυτή βασίστηκε σε μελέτες

που έχουν γίνει από πολλούς ερευνητές, και τα αποτελέσματά τους δημοσιεύθηκαν σε διάφορα επιστημονικά περιοδικά και σε συνέδρια.

Στο τέλος αναφερόμαστε στα συμπεράσματα που προέκυψαν από την παραπάνω βιβλιοσκοπική ανασκόπηση.

ABSTRACT

For about 70 years, it is known that fungi of the genus *Trichoderma* which comprises a large number of strains, act as biological control agents, the antagonistic properties of which are based on the activation of multiple mechanisms. During these years and after much research, we have learned a lot both for their mechanisms of action and how they could be used commercially for various purposes, particularly for biological control of crop pests. (Harman, 2005).

Interest is the discovery that fungi that positively affect plant growth and productivity. The *Trichoderma* exert biocontrol against plant pathogenic fungi, or indirectly by competing for nutrients, promoting development, plant defense mechanisms and antibiotics, either direct, by mechanisms such as the mykoparasitismos. These implicit and explicit mechanisms can act in concert and their importance in the process of biological control depends on the strain of *Trichoderma*, a fungus competes, of crop plants, and environmental conditions, including nutrient availability, pH, temperature and the iron concentration. The actuation of each mechanism involves the production of specific compounds of metabolites, hydrolytic enzymes, antibiotics and carbon.

The purpose of this paper is the literature review of the effect of fungi of the genus *Trichoderma* in crop production. From the study of the subject, we found that there are many reports and inquiries concerning this matter.

In the first chapter refers to diseases of plants, the plant pathogenic fungi that cause them and how they affect economic agricultural production.

In the second chapter, refer to the biological control of crop pests, using for this purpose microorganisms.

The third chapter analyzes the fungi of the genus *Trichoderma*, as to the genetic classification, life cycle, uses, mechanisms and applications they have on biological control of crops. The analysis was based on studies done by many researchers, and the results were published in various scientific journals and conferences. In the end we refer to the conclusions drawn from the above literature review.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ασθένειες των φυτών παίζουν άμεσο ρόλο στην παραγωγή, με συνέπεια την καταστροφή των φυσικών πόρων στη γεωργία. Συγκεκριμένα, παθογόνα του εδάφους όπως οι μύκητες προκαλούν σημαντικές απώλειες. Η κατανομή των διαφόρων φυτοπαθογόνων μυκήτων, όπως *Phythium*, *Phytophthora*, *Botrytis*, *Rhizoctonia* και *Fusarium*, που έχουν εξαπλωθεί τα τελευταία χρόνια, οφείλεται σε αλλαγές που έγιναν στον τομέα της γεωργίας, με αρνητικές οικονομικές συνέπειες για τις καλλιέργειες.

Οι χημικές ενώσεις που έχουν χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο των ασθενειών των φυτών (χημικός έλεγχος), αλλά η κατάχρησή τους, ευνόησε την ανάπτυξη παθογόνων παραγόντων, οι οποίοι με την πάροδο των ετών, έγιναν ανθεκτικοί σε μυκητοκτόνα. Η επίδραση ενός χημικού σε έναν οργανισμό, αυξάνει πιθανότητα μείωσης του αποτελέσματος μέσω της γενετικής μετατόπισης του πληθυσμού, ενώ μυκητοκτόνα ευρέως φάσματος παράγουν ανεπιθύμητες συνέπειες σε μη στοχευόμενους οργανισμούς. Αντίθετα, η χρήση των μικροοργανισμών που ανταγωνίζονται παθογόνα φυτών (βιολογικός έλεγχος) είναι ακίνδυνη, και οδηγεί σε ενίσχυση των ανταγωνιστών. Επιπλέον, ο συνδυασμός αυτών των παραγόντων βιολογικού ελέγχου με μειωμένα επίπεδα του μυκητοκτόνου (ολοκληρωμένου ελέγχου) προωθεί σε ένα βαθμό την καταστολή της ασθένειας παρόμοια με εκείνη που επιτυγχάνεται με την πλήρη μυκητοκτόνο αγωγή.

Τα τελευταία χρόνια, έχουν δει το φως της δημοσιότητας μελέτες αντιμετώπισης διαφόρων φυτοπαθογόνων, με χρήση ωφέλιμων μικροοργανισμών. Οι ανταγωνιστές των φυτοπαθογόνων μυκήτων που έχουν χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο των ασθενειών των φυτών, κατά 90% έχουν πραγματοποιηθεί με διάφορα στελέχη του μύκητα *Trichoderma* (Hasman, 2005).

Οι μύκητες του γένους *Trichoderma* είναι ευρύτατα διαδεδομένοι στα καλλιεργούμενα εδάφη, με αυξανόμενη τάση εφαρμογής τους ως βιολογικοί παράγοντες εναντίον εδαφογενών φυτοπαθογόνων μυκήτων. Η αξιόμηνη βιολογική τους δράση οφείλεται στην ικανότητα παραγωγής μεταβολιτών με αντιμυκητιακή δράση, σε φαινόμενα μυκοπαρασιτισμού αλλά και διέγερσης μηχανισμών ανθεκτικότητας των καλλιεργούμενων φυτικών ειδών. Παράλληλα, στις περισσότερες των περιπτώσεων, παρατηρείται προώθηση της ανάπτυξης των φυτών καθώς και βιοαποικοδόμηση συσσωρευμένων στο έδαφος χημικών ουσιών από λανθασμένες πρακτικές συστημάτων συμβατικής γεωργίας.

Συνοπτικά θα μπορούσαμε να πούμε ότι η αντιμετώπιση των εδαφογενών μυκητολογικών προβλημάτων, μπορεί να προωθηθεί με την εφαρμογή βιολογικών παραγόντων (μύκητες, βακτήρια, ιοί), τομέας που χρήζει ιδιαίτερης προσοχής εξαιτίας των σημαντικών πλεονεκτημάτων που τη χαρακτηρίζουν (μειωμένες εισροές χημικών ουσιών στο περιβάλλον, μειωμένο κόστος παραγωγής, ασφάλεια για το περιβάλλον, τον παραγωγό και τον καταναλωτή, σταθερότητα αποτελεσμάτων). (Μπάρδας, 2011)

1^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

1.1 Κατηγορίες ασθενειών των φυτών

Η διαταραχή της φυσιολογικής λειτουργίας κυττάρων ή ιστών του φυτού που οφείλεται σε συνεχή ή μακράς διάρκειας ερεθισμό από παθογόνο παράγοντα και εκδηλώνεται με φυσιολογικές ή μορφολογικές αλλοιώσεις, ονομάζεται ασθένεια. Όλα τα είδη των φυτών, άγρια και καλλιεργούμενα, υπόκεινται σε ασθένειες, η εμφάνιση και η επικράτηση των οποίων διαφέρουν από εποχή σε εποχή, ανάλογα με την παρουσία του παθογόνου, τις περιβαλλοντικές συνθήκες, καθώς και τις καλλιεργούμενες ποικιλίες. Ορισμένες ποικιλίες φυτών είναι ιδιαίτερα επιρρεπείς σε εστίες ασθενειών, και άλλες είναι πιο ανθεκτικές. Οι ασθένειες των φυτών είναι ένα μέρος της φύσης και ένας από τους πολλούς οικολογικούς παράγοντες που βοηθούν να κρατήσουν τις εκατοντάδες χιλιάδες των φυτών και των ζώων που ζουν, σε ισορροπία μεταξύ τους. Τα φυτικά κύτταρα περιέχουν ειδικά μονοπάτια σηματοδότησης που ενισχύουν την άμυνα τους από τα έντομα, τα ζώα, και τα παθογόνα. (www.britannica.com)

Για να εκδηλωθεί μια ασθένεια στα φυτά απαιτούνται τρεις παράγοντες

- α) Παρουσία του παθογόνου παράγοντα.
- β) Ευπάθεια του ξενιστή στον παθογόνο παράγοντα.
- γ) Το περιβάλλον πρέπει να ευνοεί την αλληλεπίδραση μεταξύ ξενιστή και παθογόνου. (Σημειώσεις ΤΕΙ Θεσ/νίκης, 2005)

Οι ασθένειες των φυτών, ανάλογα με την αιτία που τις προκαλεί, διακρίνονται σε παρασιτικές και μη παρασιτικές.

Μη παρασιτικές ασθένειες είναι εκείνες που οφείλονται κυρίως σε μετεωρολογικά και εδαφολογικά αίτια, τα οποία προκαλούν διάφορες ανωμαλίες.

Παρασιτικές είναι οι ασθένειες που οφείλονται σε προσβολή από παθογόνο μικροοργανισμό ή ιό και χαρακτηρίζονται από την ικανότητα του παθογόνου αυτού αιτίου να πολλαπλασιάζεται στους ιστούς του φυτού και να εξαπλώνεται σε υγιή φυτά. Για το λόγο αυτό οι παρασιτικές ασθένειες είναι και μεταδοτικές. Οι παρασιτικές ασθένειες οφείλονται σε βιοτικούς παράγοντες, και διακρίνονται κυρίως σε μυκητολογικές, βακτηριολογικές, ιολογικές και σε οφειλόμενες σε φανερόγαμα παράσιτα.

Μια παρασιτική ασθένεια μπορεί να εκδηλώνεται με ενδημική ή με επιδημική μορφή. Η ίδια ασθένεια που εκδηλώνεται με ενδημική μορφή μπορεί να εξελιχθεί σε επιδημία υπό ορισμένες ευνοϊκές συνθήκες.

Τέτοιες συνθήκες είναι:

- α) η ύπαρξη μεγάλου αριθμού ευαίσθητων ειδών ή ποικιλιών φυτών,
- β) η ύπαρξη παρασιτικού παράγοντα ισχυρής μολυσματικότητας,
- γ) η ύπαρξη ευνοϊκών για την ασθένεια συνθηκών περιβάλλοντος και
- δ) η έλλειψη μέτρων φυτοπροστασίας. (Ηλιόπουλος, 2004)

Τα συμπτώματα μιας ασθένειας είναι η αντίδραση του φυτού στην προσβολή του παθογόνου. Και ομαδοποιούνται σε έξι κατηγορίες:

- α. Συμπτώματα σχετικά με την ανάπτυξη των φυτών
- β. Εκτροπές από το φυσιολογικό χρωματισμό
- γ. Νεκρώσεις / Αποσύνθεση ιστών
- δ. Διαταραχές στην οικονομία του νερού
- ε. Εκκρίσεις των φυτών
- στ. Πτώσεις οργάνων του φυτού. (Σημειώσεις ΤΕΙ Θεσ/νικης, 2005)

1.2 Φυτοπαθογόνοι μύκητες

Στα φυτοπαθογόνα εδάφους περιλαμβάνονται είδη που ανήκουν σε διάφορες ομάδες ζωντανών οργανισμών, οι σπουδαιότερες των οποίων είναι οι μύκητες, τα βακτήρια και οι νηματώδεις. Ειδικότερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα φυτοπαθογόνα τα οποία προκαλούν ασθένειες στις ρίζες και τον λαιμό των καλλιεργούμενων φυτών και τα οποία, κατά τεκμήριο, διαβιούν στο έδαφος.

Οι φυτοπαθογόνοι μύκητες, αν και αποτελούν τη μειοψηφία των μυκήτων, είναι σε θέση να προκαλέσουν ολικές καταστροφές των καλλιεργειών. Η προσβολή του ξενιστή εξαρτάται από πολλούς παράγοντες: Το δυναμικό του μολύσματος, οι συνθήκες του περιβάλλοντος και η ευπάθεια του ξενιστή φαίνεται πως καθορίζουν την έναρξη της προσβολής και την εξέλιξη της ασθένειας. Επιπλέον η παρουσία θρεπτικών ουσιών ή η απουσία ανασταλτικών ουσιών και η ύπαρξη ανταγωνιστών παίζουν καθοριστικό ρόλο. Κατά κανόνα, οι περισσότεροι φυτοπαθογόνοι μύκητες εισέρχονται στον ξενιστή είτε με

ένα συνδυασμό μηχανικής πίεσης και ενζυμικής δράσης σχηματίζοντας ειδικές δομές τα απρεσσόρια, είτε από τα στομάτια. (Γραβάνης, 2004)

Οι φυτοπαθογόνοι μύκητες που προσβάλλουν τα φυτά είναι οι: *Verticillium dahliae*, *Phytophthora sp.*, *Fusarium sp.*, *Pythium sp.*, *Oidium sp.*, *Botrytis cinerea* και *Rhizoctonia sp.*. (Μπάρδας, 2011)

1.3 Οικονομικές επιπτώσεις των ασθενειών των φυτών

Στη γεωργία, η ασθένεια έχει άμεση σχέση με το οικονομικό αποτέλεσμα. Οι ασθένειες των φυτών είναι συχνά αιτίες σοβαρότατων απωλειών και καταστροφών της γεωργικής παραγωγής και σε ορισμένες περιπτώσεις και του φυτικού κεφαλαίου.

Υπάρχουν εκτροπές φυσιολογικών λειτουργιών χωρίς δυσμενείς επιδράσεις στο οικονομικό αποτέλεσμα, αντίθετα μάλιστα είναι επιθυμητές. Για την πληρέστερη, συνεπώς, θεώρηση της ασθένειας, θα πρέπει η διαταραχή της φυσιολογικής λειτουργίας να συνεπάγεται τη μείωση της ποσότητας ή την υποβάθμιση της ποιότητας των παραγόμενων προϊόντων με δυσμενείς επιπτώσεις στο οικονομικό αποτέλεσμα (Σημειώσεις ΤΕΙ Θεσ/νικης, 2005).

Μεγάλος αριθμός ασθενειών έχουν καταγραφεί στην ιστορία ως παράγοντες οικονομικών και κοινωνικών καταστροφών. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται ο περονόσπορος και το ωίδιο του αμπελιού, ο περονόσπορος της πατάτας, η μελάνωση της καστανιάς, οι σκωριάσεις και οι άνθρακες των σιτηρών, το μωσαϊκό του καπνού, η σκωρίαση του καφέ και άλλες.

Μετά από σχετικές έρευνες και παρότι είναι δύσκολο να υπολογισθεί με ακρίβεια το κόστος των ασθενειών των φυτών, αποδεικνύεται ότι κατά μέσο όρο οι απώλειες της φυτικής παραγωγής εξαιτίας των διαφόρων ασθενειών κυμαίνεται μεταξύ 10-15%. (Πίνακες 1 & 2).

Στην Ελλάδα, από εκτιμήσεις μερικών ασθενειών κατά τη διάρκεια 25 ετών υπάρχουν στοιχεία, από τα οποία προκύπτει ότι το μέσο ποσοστό των απωλειών ανέρχεται σε 15% (Πίνακες 3 & 4.) (Ηλιόπουλος, 2004).

Πίνακας 1. Απώλειες παραγωγής ορισμένων βασικών καλλιεργειών, που οφείλονται σε παθογόνα, ζωικά παράσιτα και ζιζάνια (1988-1990).

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ	ΑΠΩΛΕΙΕΣ %			ΣΥΝΟΛΙΚΑ
	Από παθογόνα	Από ζωικά παράσιτα	Από ζιζάνια	
Ρύζι	15,1	20,7	15,6	51,4
Σιτάρι	12,4	9,3	12,3	34,0
Κριθή	10,1	8,8	10,6	29,5
Αραβόσιτος	10,8	14,5	13,1	38,4
Πατάτα	16,4	16,1	8,9	41,4
Σόγια	9,0	10,4	13,0	32,4
Βαμβάκι	10,5	15,4	11,8	37,7
Καφές	14,5	14,9	10,3	39,7

Πίνακας 2: Απώλειες παραγωγής ορισμένων βασικών καλλιεργειών, που οφείλονται σε παθογόνα, ζωικά παράσιτα και ζιζάνια (1988-1990) κατά γεωγραφικές περιοχές

ΗΠΕΙΡΟΣ	ΑΠΩΛΕΙΕΣ %			ΣΥΝΟΛΙΚΑ
	Από παθογόνα	Από ζωικά παράσιτα	Από ζιζάνια	
Αφρική	15,6	16,7	16,6	48,9
Β. Αμερική	9,6	10,2	11,4	31,2
Ν. Αμερική	13,5	14,4	13,4	41,3
Ασία	14,2	18,7	14,2	47,1
Ευρώπη	9,8	10,2	8,3	28,3
Πρ. Σοβ. Ένωση	15,1	12,9	12,9	40,9

Πηγή: Ηλιόπουλος, 2004

2^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΧΘΡΩΝ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

2.1 Μικροοργανισμοί για τον έλεγχο των ασθενειών των φυτών

Ανταγωνιστικοί μικροοργανισμοί είναι οι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί, όπως μύκητες, βακτήρια και μυκόριζες. Αποτελούν μια μεγάλη κατηγορία ωφέλιμων μικροοργανισμών, αποστολή των οποίων είναι η προστασία του ριζικού συστήματος των φυτών από επίδοξους εισβολείς. Προστατεύουν από φυτοπαθογόνους μύκητες και φυτοπαθογόνα βακτήρια που προσβάλλουν το ριζικό σύστημα, και επίσης μέσα από αδιευκρίνιστους έως σήμερα μηχανισμούς έχει βρεθεί να προστατεύουν από μύκητες βακτήρια και ιούς που προσβάλλουν το υπέργειο μέρος των φυτών. Δεκάδες ωφέλιμοι μικροοργανισμοί (μεταξύ των οποίων και τα μυκοπαράσιτα), έχουν δοκιμασθεί για τον έλεγχο ασθενειών του ριζικού συστήματος κυρίως αλλά και των ασθενειών που προσβάλλουν το υπέργειο τμήμα και τους καρπούς των καλλιεργούμενων φυτών.

Η μικροβιακή οικολογία της ριζόσφαιρας, στηρίζεται στην αλληλεπίδραση των βιοτικών, φυσικών και χημικών διεργασιών που συμβαίνουν στο οικοσύστημα. Μερικοί από τους πιο γνωστούς είναι: *Trichoderma harzianum* (Grondona et al, 1997), *Trichoderma viride*, μη παθογόνα στελέχη *Fusarium oxysporum* (Hibar et al, 2007), *Bacillus* spp, *Pythium oligandrum* (Hibar et al, 2006), *Cladorrhinum foecundissimum*, *Laetisaria arvalis*, *Stilbella aciculosa*, *Penicillium* spp (Larkin & Fravel, 1998), *Pseudomonas fluorescence* (Thomas et al, 1998)

Ο τρόπος δράσης των βιολογικών παραγόντων εστιάζεται στα παρακάτω :

- Ύπαρξη ανταγωνισμού μεταξύ των δύο οργανισμών για την διεκδίκηση θρεπτικών στοιχείων ή οξυγόνου.
- Ύπαρξη ανταγωνισμού ως προς την κατάκτηση χώρου επί των ριζών.
- Βελτίωση της αντίστασης του φυτού, στο βλαβερό μικροοργανισμό μύκητα.
- Μυκοπαρασιτισμός, όπου ο ανταγωνιστής δρα ως τυπικό παράσιτο τρεφόμενος από τα θρεπτικά στοιχεία του παθογόνου (Nederhoff, 2001).

Ο τελικός έλεγχος που δίνουν σε κάποιες περιπτώσεις αγγίζει το 80% αλλά συνήθως συνοδεύονται από κάποια μειονεκτήματα.

Τα πιο σημαντικά από αυτά είναι τα εξής:

1. Δεν επιτυγχάνονται μόνιμα αποτελέσματα καθιστώντας απαραίτητες επανειλημμένες εισαγωγές των ανταγωνιστών.
2. Η αύξηση του πληθυσμού των ανταγωνιστών στο έδαφος δεν είναι μόνιμη και εξαρτάται από μια σωρεία παραγόντων μεταξύ των οποίων καταλυτικό ρόλο διαδραματίζει η οργανική ουσία και η ύπαρξη άλλων παθογόνων και ανταγωνιστικών μικροοργανισμών.
3. Δεν ελέγχουν όλα τα φυτοπαθογόνα.
4. Η κακή διαχείριση της υγρασίας στο έδαφος μπορεί να οδηγήσει σε άσχημες καταστάσεις εξουδετερώνοντας τον ανταγωνιστή (Γσαπικούνης, 2007).

Σύμφωνα με τους Baker & Cook, (1974), τα χαρακτηριστικά ενός καλού ανταγωνιστή συνοψίζονται στα εξής:

- Να επιζεί και να αναπτύσσεται στην ριζόσφαιρα, στο περιβάλλον του σπόρου και γενικά στο περιβάλλον του φυτού, (ώστε να αποτρέπει την μόλυνση) ή στο περιβάλλον των μολυσμάτων στο έδαφος ή στο υπέργειο μέρος (ώστε να περιορίζει την επιβίωσή τους).
- Να παράγει αντιβιοτικά ευρέως φάσματος και υψηλής τοξικότητας για το παθογόνο, έτσι ώστε να είναι αποτελεσματικά σε μικρές συγκεντρώσεις, ενώ παράλληλα να μην απορροφώνται από το έδαφος.
- Τα παραγόμενα από έναν ανταγωνιστή αντιβιοτικά, να μην επηρεάζουν άλλους ανταγωνιστές.
- Ο ανταγωνιστής να μπορεί να γίνει εμπορικά διαθέσιμος.
- Η βλάστηση των σπορίων του να γίνεται γρήγορα (όσο τουλάχιστον του παθογόνου), ενώ η είσοδός του σε ληθαργική περίοδο να είναι βραδύτερη της αντίστοιχης του παθογόνου
- Να προσαρμόζεται καλύτερα από το παθογόνο στο περιβάλλον. (Γραβάνης, 2006)

2.2 Βιολογική καταπολέμηση των ασθενειών των φυτών

Η μειωμένη αποτελεσματικότητα της εφαρμογής μυκητοκτόνων ουσιών στην αντιμετώπιση των εδαφογενών παθογόνων *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum* και *Sclerotinia sclerotiorum* σε πληθώρα καλλιεργειών έχει οδηγήσει στην αναζήτηση βιολογικών μεθόδων φυτοπροστασίας. (Μπάρδας κ.α. 2012)

Η βιολογική καταπολέμηση, και η μελέτη των μηχανισμών αυτής, αποτελεί σήμερα ένα από τα κύρια αντικείμενα επιστημονικών ερευνών στον τομέα της καταπολέμησης των ασθενειών. Σε ολόκληρο τον κόσμο γίνονται πειράματα με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Αυτό μας δίνει ελπίδες ότι η βιολογική καταπολέμηση δεν θα είναι στο μέλλον κάτι το ακατόρθωτο και ότι σύντομα θα μπορεί να εξελιχθεί σε έναν εναλλακτικό και οικονομικό τρόπο καταπολέμησης των ασθενειών και δεν θα επιβαρύνουμε πλέον το περιβάλλον με φυτοφάρμακα (ΣΒΒΕ, 2003)

Μελέτες προηγούμενων ετών, δείχνουν ότι οι μηχανισμοί αυτοί είναι πολλοί και ποικίλοι. Προκειμένου να καταστεί πιο αποτελεσματική η χρήση παραγόντων βιοελέγχου για τον έλεγχο των ασθενειών των φυτών, πρέπει να κατανοηθούν πώς λειτουργούν οι παράγοντες αυτοί και τι περιορισμοί υπάρχουν. Στη συνέχεια θα πρέπει να αναπτυχθούν αποτελεσματικά μέσα για την καλλιέργεια, την αποθήκευση, την εφαρμογή, αξιοποιώντας τους παράγοντες βιοελέγχου, ώστε να αξιοποιηθεί κάθε προσπάθεια για τον έλεγχο των ασθενειών (Howell, 2003).

Η χρησιμοποίηση μη παθογόνων μικροοργανισμών για τον έλεγχο μυκητολογικών ασθενειών άρχισε περίπου στις αρχές του 20ου αιώνα. Το 1921 ο Hartley χρησιμοποίησε ανταγωνιστές μύκητες για να καταπολεμήσει σήψεις σε σπορόφυτα κωνοφόρων. Το 1927 οι Millard και Teylor πειραματίστηκαν στην ασθένεια που προκαλείται από το παθογόνο *Streptomyces scabies* και απέδειξαν ότι η καταπολέμησή της συνδεόταν με τη δράση ανταγωνιστών μικροοργανισμών, και πιο συγκεκριμένα βακτηρίων που προήλθαν από χλωρή λίπανση. Το 1951 ο Wood εμβολίασε γερασμένα φύλλα μαρουλιού με ανταγωνιστές (*Fusarium sp. Penicillium claviforme*), για να εμποδίσει την αρχική εγκατάσταση του *B.cinerea*.

Με το πέρασμα του χρόνου, όλο και περισσότερο αύξανε ο αριθμός των δημοσιεύσεων που ανέφεραν την καταπολέμηση ασθενειών με ανταγωνιστές μικροοργανισμούς. Πολύ λίγες, όμως, είναι οι περιπτώσεις που οι ανταγωνιστές μπορούν να εφαρμοστούν σε εμπορικό επίπεδο. Σαν παράδειγμα αναφέρεται το Trichodex, ένα σκεύασμα του μύκητα *Trichoderma harzianum*, που παράγεται σε εμπορική κλίμακα από το 1985 από την εταιρεία Makteshim και βρέθηκε αποτελεσματικό για την καταπολέμηση της τεφρής σήψης. Ένα άλλο βιομυκητοκτόνο, που ονομάστηκε Mycostop και βασίστηκε στο μύκητα *Streptomyces griseovirides*, εγκρίθηκε για τον έλεγχο του μύκητα *B. Cinerea* στο μαρούλι στη Φιλανδία, μετά τις τοξικολογικές δοκιμές.

Στην πράξη χρησιμοποιούνται σκευάσματα με βάση τους μύκητες *Trichoderma* spp. *T.harzianum*, *T.viride*, όπως τα Trichotec, Trichodex-T39, Fioor κλπ. Μερικά από τα σκευάσματα αυτά περιέχουν στελέχη ανθεκτικά ή ανεκτικά σε μυκητοκτόνα, που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση της τεφρής σήψης (Benomyli, PCAF). Η ιδιότητα αυτή επιτρέπει τη συνεφαρμογή του βιολογικού σκευάσματος με ένα από τα μυκητοκτόνα αυτά.

Ο πιο αποδεκτός ορισμός για τη βιολογική καταπολέμηση είναι αυτός που δόθηκε από τους Cook και Baker (1983) και αναφέρει τα εξής: «Βιολογική καταπολέμηση των παθογόνων των φυτών είναι η μείωση της ποσότητας του μολύσματος ή της νοσογόνου δράσης τους, που πραγματοποιείται από ή διαμέσου ενός ή περισσότερων οργανισμών, άλλων από τον άνθρωπο» (ΣΒΒΕ, 2003).

Μερικές βασικές διαπιστώσεις (Cook, 1990) που λαμβάνονται υπόψη στην βιολογική αντιμετώπιση των φυτοπαθογόνων εδάφους είναι οι εξής:

- Ο πληθυσμός των μικροοργανισμών είναι μεγαλύτερος πλησίον των ριζών των φυτών, παρά στο έδαφος σε κάποια απόσταση από τις ρίζες.
- Η ανάπτυξη ασθενειών των ριζών ευνοείται σε αποστειρωμένο έδαφος. Όχι όμως αν εισαχθούν στο έδαφος μικροοργανισμοί ή φυσικό έδαφος προ της επανεισαγωγής του φυτοπαθογόνου.
- Η ανάπτυξη ασθενειών των ριζών σε καταστρεπτικά επίπεδα, ευνοείται από την μονοκαλλιέργεια ευπαθών φυτών. Όχι όμως όταν εφαρμόζεται αμειψισπορά.
- Οι περισσότερες ασθένειες των ριζών των φυτών παρεμποδίζονται ή ακόμη αποτρέπονται όταν προστίθεται οργανική ουσία, στο κατά φυσικό τρόπο «μολυσμένο» έδαφος. Αυτό οφείλεται στην αύξηση του ανταγωνισμού των φυτοπαθογόνων από μικροοργανισμούς, οι οποίοι ευνοούνται από τα οργανικά υλικά που προστίθενται στο έδαφος.
- Στα περισσότερα εδάφη, αν όχι σε όλα, τα σπόρια μυκήτων παραμένουν ανενεργά, μέχρις ότου διεγερθούν προς βλάστηση από μία εξωτερική πηγή θρεπτικών ουσιών και ενέργειας.

Το έδαφος αποτελεί ένα οικοσύστημα, πλούσιο σε μικροοργανισμούς, πολλοί των οποίων δρουν ως ανταγωνιστές των φυτοπαθογόνων, περιορίζοντας την εκδήλωση σοβαρών φυτονόσων και με τον χειρισμό των οποίων ασκείται η βιολογική μέθοδος αντιμετώπισης των φυτοπαθογόνων εδάφους. Αυτό επιτυγχάνεται με καλλιεργητικές

πρακτικές, όπως η αμειψισπορά, η ενσωμάτωση φυτικών υπολειμμάτων, κ.ά., οι οποίες επιφέρουν αλλαγή του περιβάλλοντος προς όφελος μερικών μικροοργανισμών (Γραβάνης, 2004).

3^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΜΥΚΗΤΕΣ

3.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Οι μύκητες είναι μικροσκοπικοί ευκαρυωτικοί οργανισμοί, οι οποίοι στερούνται χλωροφύλλης.

- Τα κύτταρά τους περιβάλλονται από κυτταρικό τοίχωμα, το οποίο συνίσταται από χιτίνη ή κυτταρίνη ή και από τις δύο.
- Σχηματίζουν αμοιβαδοειδές ή νηματοειδές διακλαδιζόμενο σώμα που λέγεται θαλλός.
- Αναπαράγονται κατά κανόνα με αγενή ή εγγενή σπόρια και ζουν σε ποικιλία υποστρωμάτων και συνθηκών ως παράσιτα ή σαπρόφυτα.

Οι μύκητες αποτελούν πολυπληθή ομάδα μικροοργανισμών. Έχουν περιγραφεί 100.000 περίπου είδη, που κατατάσσονται σε 2.500 περίπου γένη. Τα περισσότερα είδη ζουν σαπροφυτικά στο έδαφος και αλλού, ενώ άλλα είναι παράσιτα κυρίως των φυτών και μερικά του ανθρώπου και των ζώων. Μόνο 50 είδη μυκήτων προκαλούν ασθένειες στον άνθρωπο, κυρίως δερματικές παθήσεις.

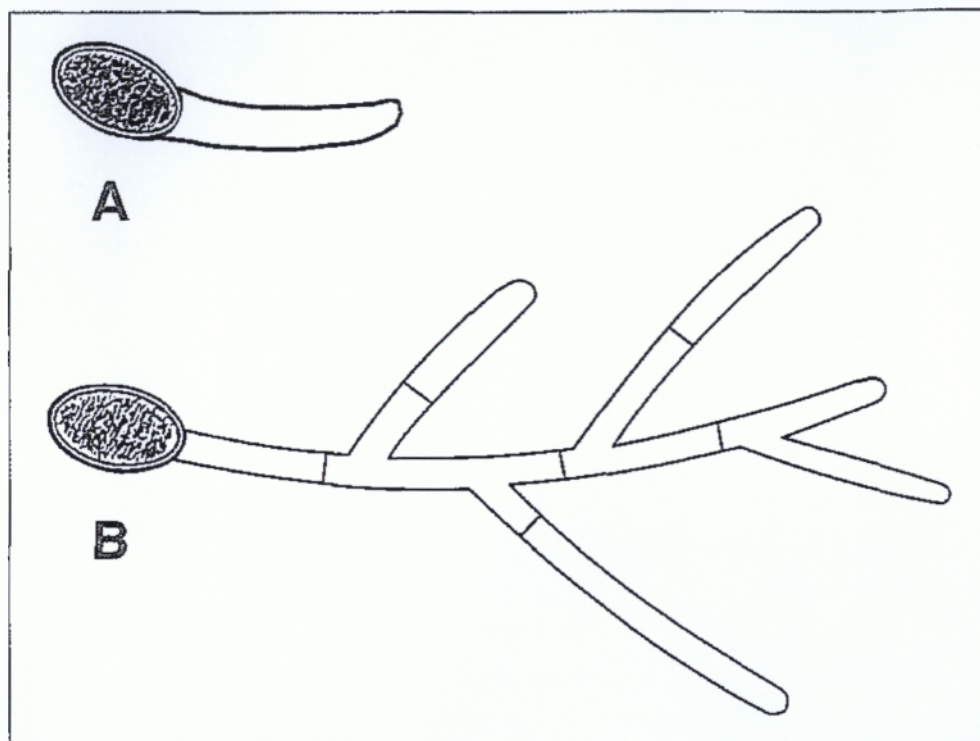
Ως παράσιτα του ανθρώπου και των ζώων οι μύκητες δεν έχουν τη σημασία των βακτηρίων και των ιών, μπορεί όμως σε ορισμένες περιπτώσεις να είναι αίτια και θανατηφόρων ακόμη ασθενειών. Ως σαπρόφυτα, οι μύκητες συμβάλλουν μαζί με τα βακτήρια και άλλους μικροοργανισμούς στη χουμοποίηση και διατήρηση της γονιμότητας του εδάφους.

Μεγάλη είναι η προσφορά ορισμένων μυκήτων στη φαρμακευτική βιομηχανία για παραγωγή αντιβιοτικών. Επίσης, σημαντική είναι η χρησιμοποίηση ορισμένων μυκήτων (σακχαρομυκήτων ή ζυμών) στην οινοποιία και την αρτοποιία, στην τυροκομία

Μερικά είδη μυκήτων δημιουργούν συμβιωτικές σχέσεις με ανώτερα φυτά, σχηματίζοντας ειδικές κατασκευές στο ριζικό τους σύστημα, τις μυκόρριζες, μέσω των οποίων επωφελούνται και οι δύο οργανισμοί.

3.2 Μορφολογία μυκήτων

Το σώμα των μυκήτων, λέγεται *θαλλός*. Οι περισσότεροι μύκητες σχηματίζουν το θαλλό τους από διακλαδιζόμενα νήματα τα οποία λέγονται *υφές*. Ο θαλλός που αποτελείται από υφές λέγεται *νηματοειδής θαλλός* ή *μυκήλιο*.



Εικόνα 1: Βλάστηση σπορίων. Α. Βλαστικός σωλήνας. Β. Ανάπτυξη του βλαστικού σωλήνα, σχηματισμός διακλαδώσεων και παραγωγή μυκηλίου.

Οι υφές πολλών μυκήτων χωρίζονται σε διαμερίσματα με εγκάρσια διαχωριστικά τοιχώματα, τα διαφράγματα, (septa)

3.3 Ανάπτυξη μυκήτων

Η ανάπτυξη των μυκήτων επηρεάζεται από φυσικούς και χημικούς παράγοντες, όπως: θερμοκρασία, σχετική υγρασία, φως, pH, θρεπτικά συστατικά, τοξικούς παράγοντες κ.λπ.

1) *Θερμοκρασία:* Οι μύκητες είναι μεσόφιλοι μικροοργανισμοί με άριστες θερμοκρασίες ανάπτυξης από 20-30°C. Μερικοί θερμόφιλοι μύκητες έχουν άριστη θερμοκρασία πάνω από 50° C και δεν αναπτύσσονται καθόλου σε θερμοκρασία κάτω από 20° C. Όλοι οι

μύκητες μπορούν να επιβιώσουν σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, όπως αυτή του υγρού N στους -196°C .

2) *ρΗ*: Άριστο *ρΗ* για μυκηλιακή ανάπτυξη είναι γύρω στο 6 για τους περισσότερους μύκητες.

3) *Φως*: Το φως είναι απαραίτητο για την σποριογένεση στους μύκητες και ιδιαίτερα στους Αδηλομύκητες.

3.4 Ταξινόμηση μυκήτων

Υπάρχουν περί τα 1,5 εκατομμύρια είδη μυκήτων στον πλανήτη. Από αυτά έχουν καταγραφεί και χαρακτηριστεί μόνο 65.000-70.000 είδη. Σαν ποσοστό, αυτό αποτελεί λιγότερο από 5% των ειδών του πλανήτη. Αντίθετα λοιπόν με επικρατούσες απόψεις, οι μύκητες φαίνεται να είναι από τους λιγότερο γνωστούς μικροοργανισμούς.

Το πρόβλημα της ταξινόμησης των μυκήτων ήταν έντονο από την αρχή της διαμόρφωσης της επιστήμης της μυκητολογίας. Ο χαρακτηρισμός γενών και κυρίως ειδών στηρίζεται μέχρι τώρα σε καθαρά μορφολογικά χαρακτηριστικά, όπως είδος, σχήμα και μέγεθος των κονιδιοφόρων, σχήμα, χρώμα, μέγεθος, τρόπος σχηματισμού σπορίων κ.λπ. Οι χαρακτήρες όμως αυτοί δεν είναι σταθεροί και ποικίλουν ανάλογα με τις φυσικές, τροφικές και άλλες συνθήκες ανάπτυξης.

Ιδιαίτερα παράγοντες όπως η θερμοκρασία, το *ρΗ*, το φως, το είδος του οργανικού άνθρακα και των λοιπών ανόργανων αλάτων στα θρεπτικά υλικά επηρεάζουν τους παραπάνω χαρακτήρες.

Πίνακας 3: Ταξινόμηση μυκήτων

Πηγή: Ηλιόπουλος, 2004)

ΜΥΚΗΤΕΣ	
ΒΑΣΙΛΕΙΟ	FUNGI (ΜΥΚΗΤΕΣ)
ΦΥΛΟ [ΔΙΑΙΡΕΣΗ] Κλάση	CHYTRIDIOMYCOTA (Χυτρίδιομύκητες) Chytridiomycetes
ΦΥΛΟ (ΔΙΑΙΡΕΣΗ) Κλάση	ZYGOMYCOTA (Ζυγομύκητες) Zygomycetes
ΦΥΛΟ [ΔΙΑΙΡΕΣΗ] Κλάσεις	ASCOMYCOTA (Ασκομύκητες)
	Archiascomycetes
	Saccharomycetes
	Plectomycetes
	Pyrenomycetes
	LoculDascoiincetes
	Discomycetes
	DEUTEROMYCETES (ατελείς μορφές ασκομυκήτων)
ΦΥΛΟ [ΔΙΑΙΡΕΣΗ]	BASIDIOMYCOTA (Βασιδιομύκητες) (υποδιαίρεση σε τάξεις)

3.5 Δευτερομύκητες

Οι Δευτερομύκητες (Αδηλομύκητες ή Αχελείς Μύκητες) είναι μια μεγάλη κατηγορία μυκήτων οι οποίοι πολλαπλασιάζονται μόνο αγενώς. Κύρια αναπαραγωγική μονάδα είναι το κονίδιο. Οι μύκητες αυτοί είτε δεν έχουν καθόλου τέλειο στάδιο είτε είναι σπάνιο στη φύση και δεν έχει παρατηρηθεί. Με βάση τα μορφολογικά και λοιπά χαρακτηριστικά τους οι δευτερομύκητες είναι ατελείς μορφές κυρίως ασκομυκήτων και σπανιότερα

βασιδιομυκήτων. Υπάρχουν περίπου 15.000 είδη δευτερομυκήτων, τα περισσότερα από τα οποία είναι κοινά σαπρόβια. Πολλά είδη όμως είναι παράσιτα των φυτών, των ζώων και του ανθρώπου.

3.5.1 Διασπορά στη φύση

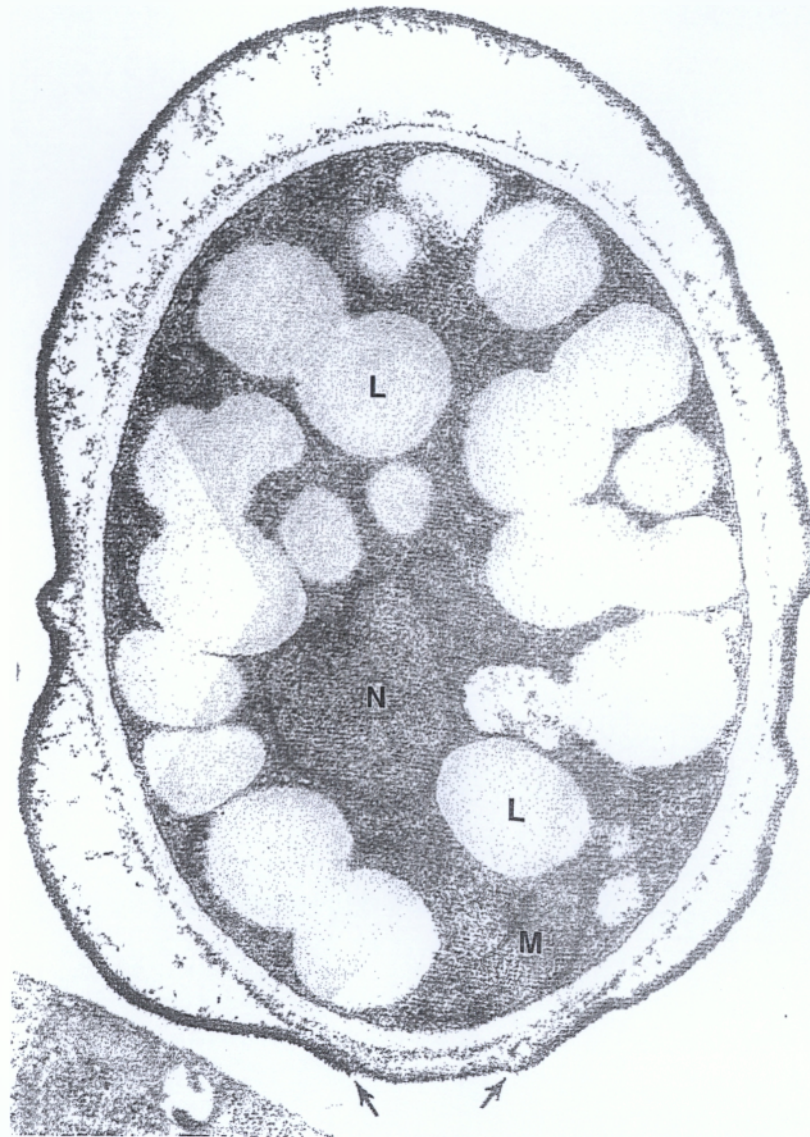
Οι δευτερομύκητες υπάρχουν παντού σε όλα τα μήκη και τα πλάτη του πλανήτη, από τους πολικούς πάγους μέχρι τον ισημερινό. Μερικά είδη θεωρούνται από τα σοβαρότερα παθογόνα των φυτών και προκαλούν τεράστιες ζημιές στη γεωργική παραγωγή. Στους δευτερομύκητες περιλαμβάνονται είδη τα οποία έχουν αναπτύξει ειδικές δομές για να παγιδεύουν και να θανατώνουν νηματώδεις σκώληκες. Άλλοι είναι παράσιτα άλλων μυκήτων που είναι παθογόνοι των καλλιεργούμενων φυτών.

3.5.2 Η σημασία τους για τον άνθρωπο

Τα τελευταία χρόνια γίνεται προσπάθεια χρησιμοποίησης αυτών των παρασίτων για τον βιολογικό έλεγχο φυτοπαθογόνων μυκήτων. Πολλοί δευτερομύκητες χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία για παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας, όπως αντιβιοτικά, οργανικά οξέα, ένζυμα, χρωστικές κ.λπ. Επίσης, πολλά είδη χρησιμοποιούνται σαν πρότυπο βιολογικό υλικό στην επιστημονική έρευνα για την διερεύνηση βασικών βιολογικών μηχανισμών.

3.5.3 Δομή

Όλοι οι δευτερομύκητες έχουν καλά ανεπτυγμένο μυκήλιο το οποίο φέρει διαφράγματα και διακλαδώσεις. Τα διαφράγματα είναι απλού τύπου, ή δολιπόροι, γεγονός που δείχνει την συγγενειά τους προς τους ασκομύκητες ή τους βασιδιομύκητες. Πολλοί δευτερομύκητες φέρουν επίσης και κρίκους. Το μυκήλιο έχει πλούσια ανάπτυξη και παράγει κονιδιοφόρους και κονίδια. Ανάλογα με το είδος, το μυκήλιο των δευτερομυκήτων παράγει επίσης απρεσσόρια, μυζητήρες, παγίδες νηματωδών σκωλικών κ. ά.



Εικόνα 2: Ηλεκτρονιογραφία λεπτής δομής ώριμου κονιδίου του δευτερομύκητα *Trichoderma*. Διακρίνεται το κυτταρικό τοίχωμα που περιβάλλει το σπόριο, ο πυρήνας (*N*), μιτοχόνδριο (*M*) και λιπίδια (*L*)

Πηγή: (Hammill, 1974)

3.5.4 Ταξινόμηση

Η ταξινόμηση των δευτερομυκήτων γίνεται ανάλογα με τον τρόπο παραγωγής σπορίων, το σχήμα, το χρώμα, την κυτταρική τους κατάσταση και σε πολλές περιπτώσεις τον ξενιστή στην περίπτωση παθογόνων ειδών. Το πρόβλημα γίνεται ακόμα πιο δύσκολο γιατί πολλοί δευτερομύκητες παράγουν περισσότερα από ένα είδος σπόρια.

Πίνακας 4: Ταξινόμηση δευτερομυκήτων σύμφωνα με το σύστημα Saccardo (1899)

Κατηγορία	Χαρακτηριστικά
Amerosporae	Κονίδια μονοκύτταρα, σφαιρικά, ωσειδή έως επιμήκη, ή βραχείς κύλινδροι.
Allantosporae	Κονίδια κυλινδρικά, κυρτά, άχροα έως ωχρά.
Hyalosporae	Κονίδια άχροα.
Phaeosporae	Κονίδια φαιόχροα.
Didymosporae	Κονίδια δικυτταρα, ωσειδή έως επιμήκη.
Hyaiodidymae	Κονίδια άχροα.
Phaeophragmia e	Κονίδια φαιόχροα.
Phragmosporae	Κονίδια δικύπαρα ή πολυκύτταρα, επιμήκη.
Hyaiophragmia e	Κονίδια άχροα.
Phaeophragmia e	Κονίδια φαιόχροα.
Dictyosporae	Κονίδια ωσειδή έως επιμήκη, με κάθετα και επιμήκη διαφράγματα.
Hyalodictyae	Κονίδια άχροα.
Phaeodictyae	Κονίδια φαιόχροα.
Scoiecosporae	Κονίδια νηματοειδή, σκωλικοειδή, με ή χωρίς διαφράγματα, άχροα ή φαιόχροα.
Staurosporae	Κονίδια αστεροειδή, άρχοα ή φαιόχροα, με ή χωρίς διαφράγματα.

4^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

ΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ TRICHODERMA

4.1 Μύκητες του γένους *Trichoderma*

Τα *Trichoderma*, είναι ελεύθερης διαβίωσης μύκητες, που συναντώνται στο έδαφος και τα ριζικά οικοσυστήματα. Είναι μη λοιμογόνοι οργανισμοί συμβιωτικοί των φυτών, που δημιουργούν ισχυρούς και μακράς διάρκειας συνοικισμούς στην επιφάνεια των ριζών των φυτών, οι οποίοι παράγουν ποικιλία ενώσεων, οι οποίες προκαλούν σημαντικές αλλαγές στο μεταβολισμό των φυτών.

Πίνακας 5: Επιστημονική ταξινόμηση *Trichoderma*

Βασίλειο:	Μύκητες
Διεύθυνση:	Ascomycota
Υποδιαίρεση:	Pezizomycotina
Κατηγορία:	Sordariomycetes
Παραγγελία:	Hypocreales
Οικογένεια:	Hypocreaceae
Γένος:	<i>Trichoderma</i>

Πηγή: <http://en.wikipedia.org/>

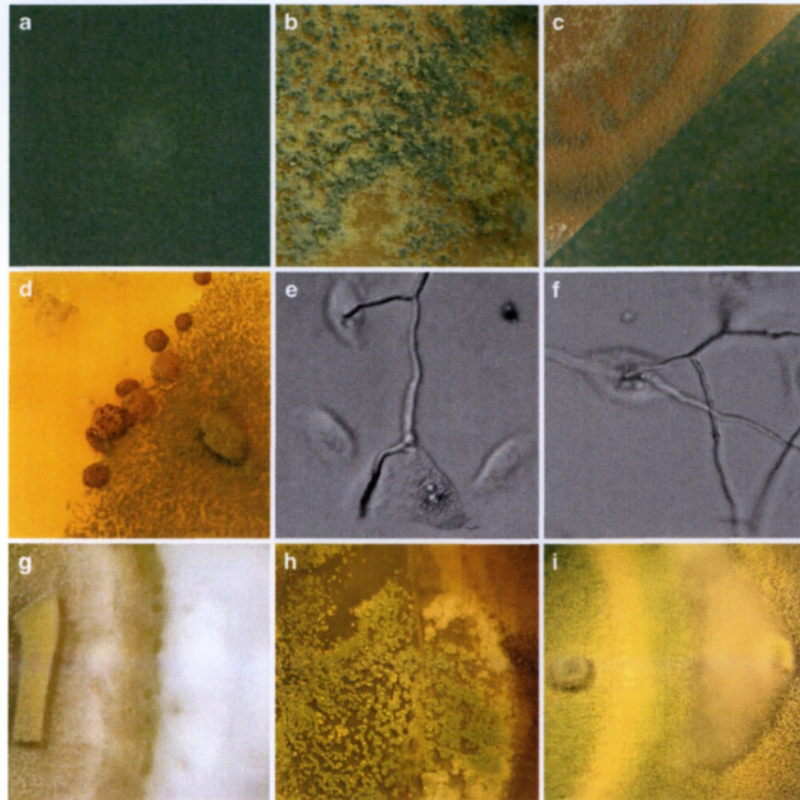
Οι μύκητες του γένους *Trichoderma* (Εικόνα 1), ήταν γνωστοί τουλάχιστον από το 1920 για την ικανότητά τους να δρουν ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου κατά παθογόνων φυτών. (Harman, 2005).



Εικόνα 3: Μύκητας του γένους *Trichoderma*

Τα μέλη του γένους *Trichoderma* είναι νηματοειδείς μύκητες που μπορούν να απομονωθούν σε πολλούς τύπους εδάφους. Είναι μέρος ενός υγιούς περιβάλλοντος εδάφους με πολλά είδη που βρίσκονται σε όλο τον κόσμο (Hayes, 1998).

Το γένος *Trichoderma* περιλαμβάνει πάνω από 100 είδη με πιο συνήθη τα *T. aureoviride*, *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* Rifai, *T. koningii*, *T. hamatum*, *T. piluliferum*, *T. polysporum*, *T. pseudokoningii* και *T. viride*. (Εικόνα 2)



Εικόνα 4:Χαρακτηριστικά στοιχεία του γένους *Trichoderma* spp. a) *T. reesei* και b) *T. atroviride* αναπτύσσονται σε πλάκες, c) *T. reesei* ή *H. jecorina* αυξάνεται σε φως της ημέρας d) καρποφορία και σχηματισμός του *T. reesei* (e, f) *T. longibrachiatum* και αναπτύσσεται από τα ανθρώπινα κύτταρα, g, i) *T. reesei* (αριστερά) κατά τη διάρκεια της αντιπαράθεσης με *Pythium ultimum* (δεξιά), h) *T. atroviride* (αριστερά) κατά τη διάρκεια της αντιπαράθεσης με το *R. solani* (δεξιά).
(Πηγή: Schuster, 2010)

Τα είδη του γένους *Trichoderma* είναι εκείνα που έχουν μελετηθεί περισσότερο και έχουν βρεθεί να έχουν θετικές επιδράσεις και σε πειράματα στον αγρό. Πολλές μελέτες και έρευνες σε διεθνή περιοδικά δημοσιεύονται κάθε χρόνο, για την χρήση του *Trichoderma* sp. ως μέσου για την αντιμετώπιση φυτοπαθογόνων εδάφους (Merriman & Russell, 1990), και αυτό αποτελεί ένα μικρό μέρος της έρευνας που διενεργείται. Από τότε που για πρώτη φορά αναφέρθηκε το είδος *T. lignorum* ως βιολογικός παράγοντας κατά ειδών όπως το

Rhizoctonia solani, ένας μεγάλος αριθμός ειδών μυκήτων εδάφους, διαπιστώθηκε να έχουν ανταγωνιστική δράση εναντίον πολλών φυτοπαθογόνων. Πολλά πειραματικά δεδομένα υπάρχουν, που αποδεικνύουν την βιολογική δράση ανταγωνιστών και ειδικότερα ειδών του γένους *Trichoderma* εναντίον διαφόρων φυτοπαθογόνων (Γραβάνης, 2006).

Μερικά από αυτά παράγουν ένζυμα και αντιβιοτικά και κάποια έχουν καλή δράση σαν παράγοντες βιολογικού έλεγχου με αποτέλεσμα να είναι οικονομικώς σημαντικά. Οι μύκητες του γένους *Trichoderma* είναι ευρέως διαδεδομένοι στα εδάφη, ιδιαίτερα στα οργανικά, όπου ζουν σαπροφυτικά ή παρασιτικά πάνω σε άλλους μύκητες. Αν και οι μύκητες αυτοί δοκιμάζονται για εφαρμογές σε θερμοκήπια και αγρούς, κάποια πειράματα έδειξαν ότι θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν και για τη μετασυλλεκτική προστασία των φυτών έναντι των φυτοπαθογόνων μυκήτων.

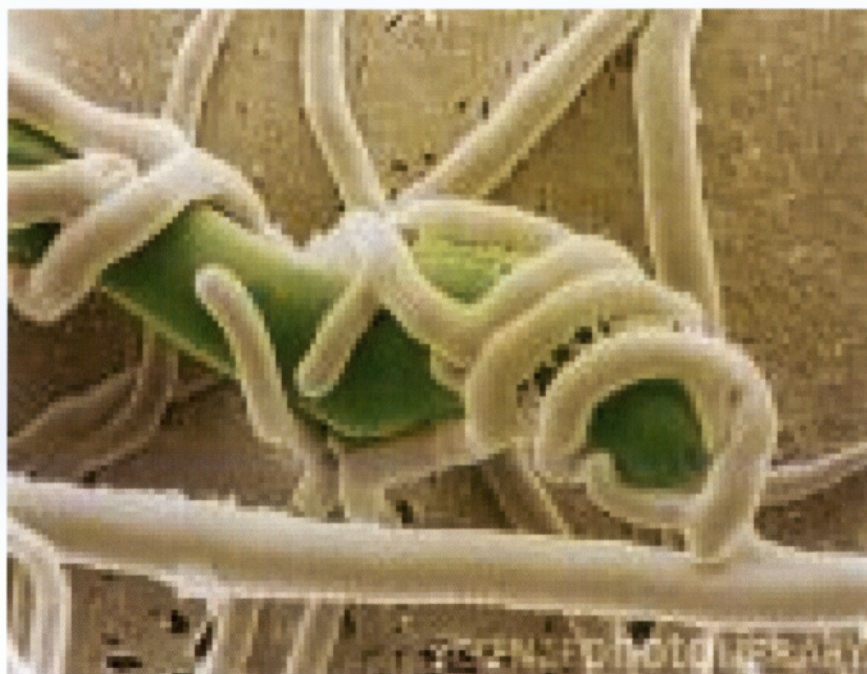
Η αυξημένη βιολογική δράση τους οφείλεται στην ικανότητα παραγωγής μεταβολιτών με αντιμυκητιακή δράση, σε φαινόμενα μυκοπαρασιτισμού αλλά και διέγερσης μηχανισμών ανθεκτικότητας των καλλιεργούμενων φυτικών ειδών. Παράλληλα, στις περισσότερες των περιπτώσεων, παρατηρείται προώθηση της ανάπτυξης των φυτών καθώς και βιοαποικοδόμηση συσσωρευμένων στο έδαφος χημικών ουσιών από λανθασμένες πρακτικές συστημάτων συμβατικής γεωργίας. (Μπάρδας, 2011)



Εικόνα 5: Καλλιέργειες του στελέχους *Trichoderma harzianum* T-22 (KRL-OE2) αναπτύσσονται σε άγαρ δεξτρόζης πατάτας. Οι λευκές περιοχές δεν περιέχουν σπόρια, ενώ οι χώροι πρασίνου καλύπτονται με πυκνή μάζα των σπορίων (κονίδια).

Πηγή: Harman, 2000

Πολλοί παράγοντες επηρεάζουν την εγκατάσταση, ανάπτυξη, πολλαπλασιασμό, και δράση των μυκοπαράσιτων αυτών. Από τους πιο σημαντικούς είναι η θερμοκρασία, η υγρασία, η οργανική ουσία, ο ανταγωνισμός και τα απολυμαντικά ευρέως φάσματος (Abd-El-Moity & Shatla 1981, Papavizas 1985, Luo et al., 1987, Knudsen et al., 1991). Ο ανταγωνισμός στα εδάφη από την μικροχλωρίδα είναι έντονος (Davet, 1987). Η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης για τους μύκητες του γένους *Trichoderma* είναι γύρω στους 25-30° C όμως οι *T. viride* και *T. polysporum* μπορούν να αναπτυχθούν ακόμα και στους 2° C, οι *T. harzianum* και *T. longibrachiatum* δεν αναπτύσσονται κάτω από τους 5° C (Tronsmo & Dennis, 1978), ενώ ο *T. pseudokoningii* ξεκινά να αναπτύσσεται γύρω στους 9° C (Tronsmo & Raa, 1977). Είναι φωτοευαίσθητα και παράγουν κονίδια και γλαυδοσπόρια.

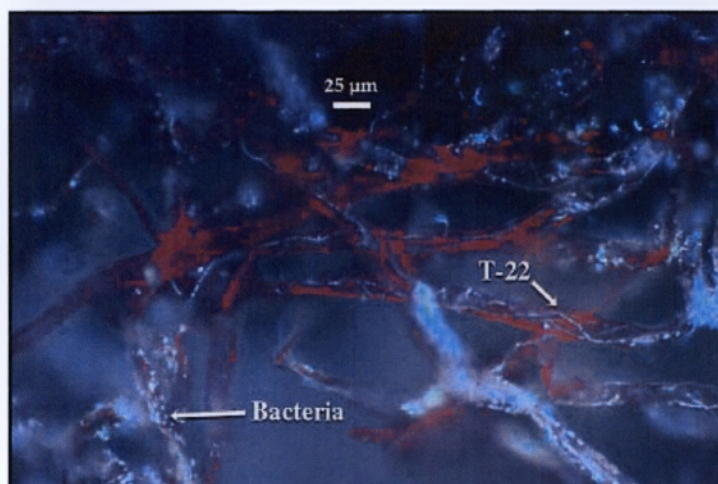


Εικόνα 6: *Trichoderma* που επιτίθενται σε παθογόνο

Πηγή: <http://pertanianselangor.wordpress.com>

Ευνοούνται από την παρουσία υψηλών ριζικών επιπέδων των φυτών, τα οποία αποικίζουν εύκολα (Εικόνα 4). Ορισμένα στελέχη είναι ιδιαίτερα ριζόσφαιρα και είναι σε θέση να αποικίσουν και να αναπτυχθούν από τις ρίζες. Μόλις έρθουν σε επαφή με τις ρίζες, μπορούν αποικίζουν την επιφάνεια φλοιού ρίζας, ανάλογα με το στέλεχος, ακόμη και όταν οι ρίζες είναι ένα μέτρο ή περισσότερο κάτω από την επιφάνεια του εδάφους και μπορούν να επιμένουν σε χρήσιμους αριθμούς έως 18 μήνες μετά την εφαρμογή. Τα

Trichoderma spp. αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται καλύτερα όταν υπάρχουν άφθονες υγιείς ρίζες (Harman, 2000).



Εικόνα 7: Αποικισμός των ριζικών τριχιδίων του καλαμποκιού από στέλεχος του *T. harzianum* T22.

Πηγή: Harman, 2000. Cornell University

Εκτός από τον αποικισμό των ριζών, τα *Trichoderma* spp. παρασιτούν και διατρέφονται από άλλους μύκητες.

Ωστόσο, υπάρχουν περιορισμοί ως προς το πεδίο των φυτών που προστατεύουν και των παθογόνων που ελέγχουν. Για παράδειγμα, ένα στέλεχος μπορεί να ελέγξει τον μύκητα *Pythium* και να αναπτυχθεί σε ψυχρά εδάφη, ενώ ένα άλλο μπορεί να ελέγξει τον *Rhizoctonia* και να αποικίζει το ριζικό σύστημα. Για να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί, ερευνητές του Πανεπιστημίου Cornell των Η.Π.Α. παράγαν ένα υβριδικό στέλεχος, που είχε ενισχυμένα χαρακτηριστικά των γονέων. Το στέλεχος T-22, το οποίο προστατεύει το ριζικό σύστημα εναντίον των *Fusarium*, *Pythium* και *Rhizoctonia* σε μια σειρά καλλιεργειών όπως καλαμπόκι, σόγια, πατάτες, ντομάτες, φασόλια (πράσινα και ξηρά), το λάχανο, τα αγγούρια, το βαμβάκι, φιστίκια, χλοοτάπητα, δέντρα, θάμνους και καλλωπιστικά φυτά. Το στέλεχος T-22 είναι σε θέση να αναπτυχθεί σε μια σειρά από τύπους εδάφους και σε θερμοκρασίες πάνω από 10°C. Εξαιτίας των ανώτερων ιδιοτήτων του, το T-22 έχει αναπτυχθεί εμπορικά ως ένα από τα πρώτα βιο-μυκητοκτόνα.

4.2 Γενετική ταξινόμηση

Τα περισσότερα στελέχη του *Trichoderma* έχουν ταξινομηθεί ως ατελείς μύκητες δεδομένου ότι δεν έχουν κανένα σεξουαλικό στάδιο, αλλά αντίθετα παράγουν μόνο αγενή

σπόρια. Ωστόσο, για μερικά στελέχη το σεξουαλικό στάδιο είναι γνωστό όπως π.χ. στους Ασκομύκητες του γένους *Hypocrea*, αλλά όχι για τα στελέχη εκείνα που χρησιμοποιούνται για τον βιοέλεγχο των ασθενειών.

Η ταξινόμηση βασίστηκε στις διαφορές στην μορφολογία της αγενούς διάταξης της σποροπαραγωγής, Σήμερα χρησιμοποιούνται μοριακές προσεγγίσεις για την ταξινόμηση και αυτό είχε σαν αποτέλεσμα, οι ταξινομικές βαθμίδες από εννέα που ήταν στο παρελθόν να είναι σήμερα τουλάχιστον τριάντα τρεις.

Τα περισσότερα στελέχη είναι εξαιρετικά προσαρμοσμένα σε ένα ασεξουαλικό κύκλο ζωής. Σε αυτή τη περίπτωση, η πλαστικότητα χρωμοσωμάτων είναι κανόνας, καθώς διάφορα στελέχη έχουν διαφορετικούς αριθμούς και μεγέθη χρωμοσωμάτων. Τα περισσότερα κύτταρα έχουν πολλούς πυρήνες, με κάποια φυτικά κύτταρα να έχουν πάνω από 100. Διάφοροι ασεξουαλικοί γενετικοί παράγοντες, όπως οι παραφυλετικοί ανασυνδυασμοί, η μετάλλαξη και άλλες διαδικασίες συμβάλλουν στην διακύμανση μεταξύ των πυρήνων σε ένα μόνο οργανισμό. Έτσι, οι μύκητες είναι πολύ ευπροσάρμοστοι και εξελίσσονται με ταχείς ρυθμούς. Υπάρχει μεγάλη ποικιλία στο φαινότυπο και γονότυπο των άγριων στελεχών.

Ενώ τα άγρια στελέχη είναι πολύ ευπροσάρμοστα και μπορεί να ετεροκαρυωτικά δηλαδή να περιέχουν πυρήνες ανόμοιων γονότυπων σε ένα ενιαίο οργανισμό και ως εκ τούτου να είναι εξαιρετικά μεταβλητοί, τα στελέχη που χρησιμοποιούνται για βιοέλεγχο στην εμπορική γεωργία είναι, ή θα έπρεπε να είναι, ομοκαρυωτικά, δηλαδή οι πυρήνες να είναι όλοι γενετικά παρόμοιοι ή πανομοιότυποι. Αυτό, σε συνδυασμό με τον αυστηρό έλεγχο της διακύμανσης μέσω της γενετικής παρέκκλισης, επιτρέπει σε αυτά τα εμπορικά στελέχη να είναι γενετικά διακριτά και μεταβλητά. Αυτό είναι ένα εξαιρετικά σημαντικό στοιχείο ελέγχου ποιότητας για κάθε εταιρεία που θέλει να εμπορευματοποιήσει αυτούς τους οργανισμούς. (Harman, 2000)

4.3 Κύκλος ζωής

Ο οργανισμός αναπτύσσεται και διακλαδώνεται ως τυπικός μύκητας υφής, με διάμετρο 5 έως 10 μm . Η αγενής σποροπαραγωγή εμφανίζεται ως μονοκύτταρα πράσινα κονίδια με διάμετρο 3 έως 5 μm , που απελευθερώνονται σε μεγάλους αριθμούς. Εμβόλιμα αναπαύονται χλαμυδοσπόρια τα οποία είναι επίσης, μονοκύτταρα, αν και δύο ή περισσότερα χλαμυδοσπόρια μπορούν να συγχωνεύονται μαζί.

4.4 Ευαισθησία στα φυτοφάρμακα

Οι μύκητες *Trichoderma* spp. διαθέτουν έμφυτη αντοχή στα περισσότερα γεωργικά χημικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των μυκητοκτόνων, αν και επιμέρους στελέχη διαφέρουν ως προς στην αντοχή τους. Ορισμένα είδη έχουν επιλεγεί ή τροποποιηθεί ώστε να είναι ανθεκτικά σε συγκεκριμένα γεωργικά χημικά προϊόντα. Οι περισσότεροι κατασκευαστές των στελεχών του *Trichoderma*, για βιολογικό έλεγχο, έχουν εκτεταμένους καταλόγους ευαισθησιών ή αντίστασης σε ένα εύρος φυτοφαρμάκων. (Harman, 2000)

4.5 Χρήσεις του *Trichoderma*

Αυτά οι ευέλικτοι μύκητες χρησιμοποιούνται εμπορικά με ποικίλους τρόπους, συμπεριλαμβανομένων των εξής:

- **Στα τρόφιμα και τα κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα:**

Οι *Trichoderma* spp. είναι ιδιαίτερα αποδοτικοί παραγωγοί πολλών εξωκυτταρικών ενζύμων. Χρησιμοποιούνται εμπορικά για την παραγωγή των κυτταρινάσεων και άλλων ένζυμων που αποικοδομούν σύνθετοι πολυσακχαρίτες. Συχνά χρησιμοποιούνται στις βιομηχανίες ειδών διατροφής και στις κλωστοϋφαντουργίες για τους σκοπούς αυτούς.

- **Ως παράγοντες βιοελέγχου**

Οι μύκητες αυτοί χρησιμοποιούνται, για τον έλεγχο των ασθενειών των φυτών. Υπάρχουν αρκετές αξιόπιστες εταιρείες που κατασκευάζουν προϊόντα βιοελέγχου.

- **Ως προωθητές της ανάπτυξης των φυτών**

Για πολλά χρόνια, η ικανότητα αυτών των μυκήτων για την αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης των φυτών, συμπεριλαμβανομένης, της ικανότητάς τους να προκαλούν την παραγωγή πιο εύρωστων ριζών δεν ήταν γνωστή. Οι μηχανισμοί για αυτές τις ικανότητες, μόλις τα τελευταία χρόνια γνωστοποιήθηκε μετά από πολλές μελέτες. Μερικές από αυτές τις ικανότητες είναι πιθανό να είναι αρκετά βαθιές. Πρόσφατα, ανακαλύφθηκε ότι ένα στέλεχος αυξάνει τους αριθμούς του, ακόμη και σε βαθιές ρίζες, σε πάνω από ένα μέτρο κάτω από την επιφάνεια του εδάφους. Τέτοια βαθιά ριζικά συστήματα έχουν καλλιέργειες, όπως το καλαμπόκι, και διάφορα καλλωπιστικά φυτά.

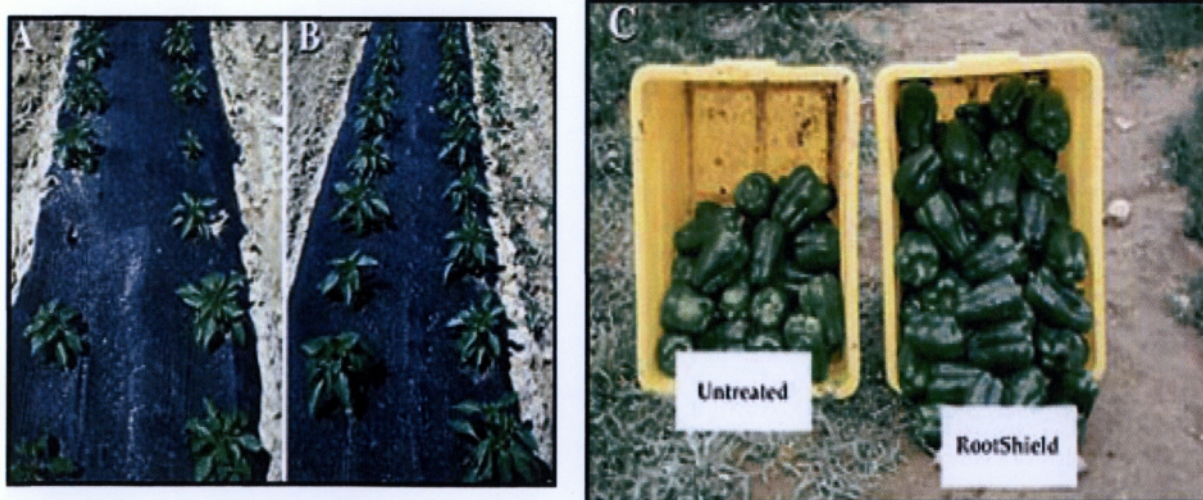
Ίσως ακόμη πιο σημαντικό, μια πρόσφατη έρευνα του Πανεπιστημίου Cornell των Η.Π.Α., η οποία δείχνει ότι το καλαμπόκι που οι ρίζες αποικίστηκαν από στέλεχος

Trichoderma T-22 απαιτούν περίπου 40% λιγότερο λίπασμα αζώτου σε σχέση με το καλαμπόκι του οποίου οι ρίζες δεν έχουν τον μύκητα. Δεδομένου ότι η χρήση αζωτούχων λιπασμάτων είναι πιθανό να περιοριστούν λόγω της περιβαλλοντικής μόλυνσης, η χρήση του μύκητα αυτού μπορεί να παρέχει μια μέθοδο για τους αγρότες να διατηρήσουν υψηλή γεωργική παραγωγικότητα, ενώ δεν θα μολύνουν το περιβάλλον. (Harman, 2000).



Εικόνα 8: Ανάπτυξη της ρίζας καλλιέργεια φυτών καλαμποκιού ως συνέπεια του αποικισμού ρίζας από την αρμόδια ριζόσφαιρα στέλεχος *T. harzianum* T22.

Πηγή: Cornell University

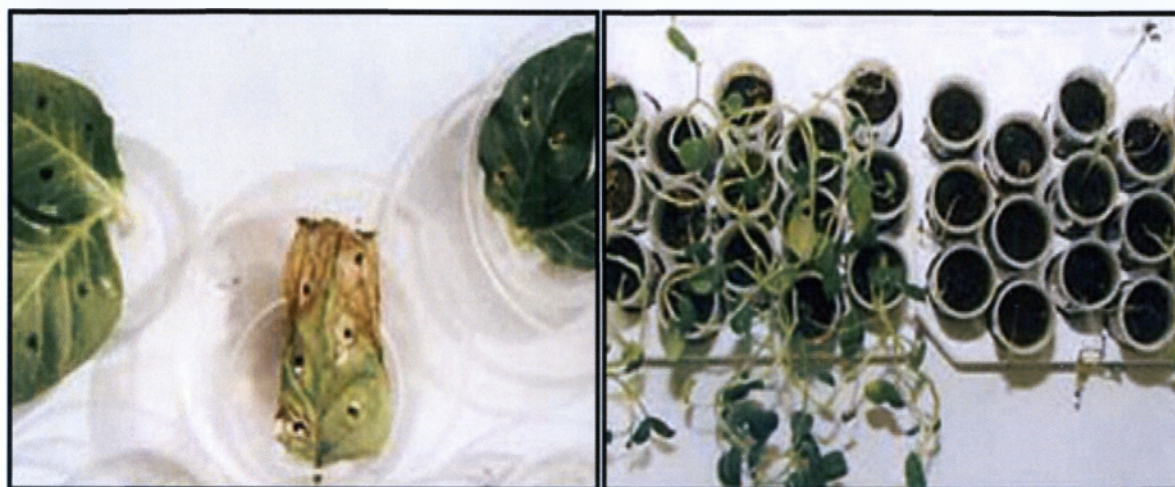


Εικόνα 9: Αριστερά: Βελτιωμένη επιβίωση των φυτών πιπεριάς στον αγρό ως συνέπεια της καλύτερης ανάπτυξης ριζών που προκαλείται από την παρουσία T22. Δεξιά: Η απόδοση σε καρπούς των δύο αγρών.

Πηγή: Cornell University

- Ως πηγή των διαγονιδίων.

Οι μικροοργανισμοί βιοελέγχου, σχεδόν εξ ορισμού, πρέπει να περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό κωδικοποιημένων γονιδίων που επιτρέπουν να συμβεί ο βιοέλεγχος. Αρκετά γονίδια έχουν κλωνοποιηθεί από το *Trichoderma* spp. τα οποία υπόσχονται πολλά ως διαγονίδια, για την παραγωγή φυτών που είναι ανθεκτικά στις ασθένειες. Τέτοια γονίδια δεν είναι ακόμα διαθέσιμα στο εμπόριο, αλλά η έρευνα ενός αριθμού αυτών, βρίσκεται ήδη σε εξέλιξη. Αυτά τα γονίδια, τα οποία περιέχονται σε *Trichoderma* spp. και πολλά άλλα ευεργετικά μικρόβια, είναι η βάση για τη φυσική βιολογική προστασία των καλλιεργειών και την παραγωγή. (Harman, 2000)



Εικόνα 10: Γονίδια βιοελέγχου *T. harzianum* έχουν εισαχθεί σε φυτά καπνού και πατάτας, και οδήγησαν σε υψηλά επίπεδα ανοχής σε *Alternaria alternata* (καπνός) και *Rhizoctonia solani* (πατάτα).

Πηγή: Cornell University

4.6 Εφαρμογές και μηχανισμοί βιοελέγχου του γένους *Trichoderma* στη γεωργία

Οι μύκητες του γένους *Trichoderma* αναγνωρίζουν και προσδένονται στον φυτοπαθογόνο μύκητα (ξενιστή) και ξεκινούν να εκκρίνουν εξωκυτταρικά λυτικά ένζυμα όπως β-1,3-γλυκανάση, χιτινάση, πρωτεάση και λιπάση (Chet and Inbar, 1994). Οι σημαντικότεροι μηχανισμοί που διαθέτουν τα είδη του γένους αυτού είναι παρασιτισμός, αντιβίωση, τοξίνες, ένζυμα που αποικοδομούν το κυτταρικό τοίχωμα (β-1,3-γλυκανάσες, χιτινάσες και πρωτεάσες), ανταγωνισμός για θρεπτικά και επαγόμενη ανθεκτικότητα (Goldman και συνεργάτες, 1994, Correia και συνεργάτες, 1995).

Σήμερα ουσίες με τοξική δράση είναι γνωστές σαν γλιοτοξίνη, βιριντίνη, τριχοδερμίνη και τριχορζιανίνες. Είδη του γένους *Trichoderma* παράγουν εξωκυτταρικά ένζυμα, αντιβιοτικά ή τοξίνες με σκοπό την παρεμπόδιση της δραστηριότητας, της αύξησης ή την καταστροφή άλλων μυκήτων με ή χωρίς άμεση επαφή. Η δράση των τοξινών συχνά κατευθύνεται στο πρωτόπλασμα προκαλώντας εκροή ή συρρίκνωση.

Η ανταγωνιστική και μυκοπαρασιτική ικανότητα ποικίλει τόσο μεταξύ των ειδών όσο και μεταξύ των απομονώσεων στο γένος *Trichoderma* με το *T. viride* να θεωρείται το πλέον αποτελεσματικό (Lee and Wu, 1984). Η ωφέλιμη δράση του μυκοπαράσιτου μπορεί προφανώς να ξεπεραστεί κάτω από την υψηλή πίεση της ασθένειας (Locke et al., 1985).

Στα πειράματα φαίνεται πως ο χρόνος εφαρμογής του μυκοπαράσιτου σε σχέση με το χρόνο εφαρμογής του φυτοπαθογόνου φαίνεται να παίζει κάποιο ρόλο. Σύμφωνα με τους Mukerji and Garg (1988), η χρήση των μυκοπαράσιτων αυτών για βιολογικό έλεγχο έχει τα εξής πλεονεκτήματα:

1. Τα συναντάμε σχεδόν παντού
2. Είναι εύκολη η απομόνωση και καλλιέργεια τους
3. Σπάνια είναι παθογόνα των φυτών
4. Δρουν ως μυκοπαράσιτα
5. Ανταγωνίζονται ικανοποιητικά για τα θρεπτικά συστατικά
6. Παράγουν ένζυμα και αντιβιοτικά

Ο *T. harzianum* βρέθηκε να παρασιτεί το μυκήλιο και τα σκληρώτια του *S.sclerotiorum* in vitro και να καταστρέφει εντελώς τα τελευταία μετά από επώαση σε χώμα σε μια περίοδο 15 ημερών, ενώ όταν εφαρμόστηκε στον αγρό με πίτουρα σιταριού έδωσε σημαντικό έλεγχο της ασθένειας και αύξηση της παραγωγής (Singh 1991). Ο *T.viride* έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα σε διπλές καλλιέργειες με τον *S. sclerotiorum* αλλά και πειράματα με σκληρώτια in vitro (Lee and Wu 1984). Πειράματα με άλλους εδαφογενείς φυτοπαθογόνους μύκητες έχουν δώσει πολύ καλά αποτελέσματα καθιστώντας τους μύκητες του γένους *Trichoderma* ανταγωνιστές ευρέως φάσματος (Elad και συνεργάτες, 1982, Locke και συνεργάτες, 1985, Lewis and Papavizas, 1987, Sivan και συνεργάτες, 1987, Wilson και συνεργάτες, 1988, Coley-Smith και συνεργάτες, 1991, Wolffhechel and Jensen, 1992), ενώ η εφαρμογή τους κατά των ασθενειών στο υπέργειο

μέρος οδηγεί σε μάλλον μέτρια έως καλά αποτελέσματα (Tronsmo and Raa, 1977, Latunde-Dada, 1991, Elad 1994).

Οι περισσότερο δοκιμασμένοι τρόποι εφαρμογής ενός μυκοπαράσιτου είναι: ο εμβολιασμός σπόρων, η ενσωμάτωση στο μείγμα σποράς, η ενσωμάτωση στο υπόστρωμα μεταφύτευσης (τύρφης+πίτουρα ή καλάμποκάλευρο+ περλίτης), η ευρεία εφαρμογή με την μορφή σφαιριδίων στο θερμοκήπιο και το χωράφι, η εφαρμογή στην γραμμή σποράς και το ριζοπότισμα κατά την μεταφύτευση. Στελέχη *Trichoderma* έχουν χρησιμοποιηθεί για τον επιτυχή έλεγχο των φυτοπαθογόνων *Pythium* και *Rhizoctonia* ως επικάλυψη σπόρου (Nelson και συνεργάτες, 1998). Το *T. harzianum* όταν εφαρμόστηκε στον αγρό με πίτουρα σιταριού, πριονίδι και κοπριά έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα ενώ τόσο στο θερμοκήπιο όσο και στον αγρό το μυκηλιακό παρασκεύασμα έδωσε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με το παρασκεύασμα των σπορίων (Singh, 1991). Μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα του μυκηλιακού παρασκευάσματος έναντι των σπορίων για τον *T. harzianum* αναφέρουν και οι Sharma and Singh (1990).

4.6.1 Μηχανισμοί βιοελέγχου

Οι βιολεγκτές είναι ζωντανοί οργανισμοί των οποίων οι δραστηριότητες εξαρτώνται κυρίως από τις διάφορες φυσικοχημικές περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες υποβάλλονται. Για το λόγο αυτό, ο βιοέλεγχος που εξασκείται από στελέχη του γένους *Trichoderma*, μερικές φορές είναι απρόβλεπτος. Η κατανόηση τόσο της γενετικής ποικιλομορφίας των στελεχών του γένους *Trichoderma*, όσο και των μηχανισμών βιοελέγχου, θα οδηγήσει σε βελτιωμένη εφαρμογή των διαφόρων στελεχών, ως βιοελεγκτών. Επειδή οι μηχανισμοί αυτοί είναι πολύπλοκοι, αυτό που έχει οριστεί ως βιοέλεγχος είναι το τελικό αποτέλεσμα των διαφορετικών μηχανισμών που συνεργούν για να επιτύχουν τον έλεγχο της νόσου.

Τα αποτελέσματα του βιοελέγχου προκύπτουν είτε από τον ανταγωνισμό για τα θρεπτικά συστατικά, είτε ως αποτέλεσμα της ικανότητας του *Trichoderma* να παράγει / ή να αντισταθεί στους μεταβολίτες που εμποδίζουν τη βλάστηση των σπορίων (fungistasis), είτε να σκοτώσουν τα κύτταρα (αντιβίωση) ή να τροποποιήσουν την ριζόσφαιρα, π.χ. με την οξίνιση εδάφους, έτσι ώστε παθογόνα να μην μπορούν να αναπτυχθούν. Βιοέλεγχος μπορεί επίσης να προκύψει, από μια άμεση αλληλεπίδραση μεταξύ του παθογόνου με τον ίδιο το βιοελεγκτή, όπως στην περίπτωση μυκοπααρασιτισμού, η οποία περιλαμβάνει τη

φυσική επαφή και τη σύνθεση υδρολυτικών ενζύμων, που δρουν συνεργατικά με τα ένζυμα. Μικρογραφήματα ηλεκτρονίων δείχνουν πώς αυτά τα ένζυμα διαλύουν το κυτταρικό τοίχωμα και δημιουργούν οπές στο παθογόνο (Εικόνα 7). Μόλις καταστραφεί, το ίδιο το παθογόνο γίνεται το θήραμα της μικροχλωρίδας του εδάφους.

Τα *Trichoderma* μπορούν να ασκήσουν ακόμα θετικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη των φυτών (biofertilization) και στη διέγερση των φυτο-αμυντικών μηχανισμών (Benitez et al., 2004)

4.6.1.1 Ο βιολογικός έλεγχος από τον ανταγωνισμό (fungistasis)

Οι καλοί ανταγωνιστές είναι συνήθως σε θέση να ξεπεράσουν το μυκητοστατικό αποτέλεσμα του εδάφους που προκύπτει από την παρουσία μεταβολιτών που παράγονται από άλλα είδη, συμπεριλαμβανομένων των φυτών, και να επιβιώνουν κάτω από πολύ ακραίες συνθήκες ανταγωνισμού. Τα στελέχη *Trichoderma*, αναπτύσσονται με ταχείς ρυθμούς όταν εμβολιάζονται στο έδαφος, επειδή είναι φυσικά ανθεκτικά σε πολλά τοξικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των ζιζανιοκτόνων, μυκητοκτόνων και παρασιτοκτόνων, όπως το DDT, και οι φαινολικές ενώσεις και επειδή τα στελέχη ανακτώνται πολύ γρήγορα μετά την προσθήκη μη θανατηφόρων δόσεων μερικών από τις ενώσεις αυτές. Η αντίσταση σε τοξικές ενώσεις μπορεί να σχετίζεται με την παρουσία στελεχών *Trichoderma* στα συστήματα μεταφοράς. Για το λόγο αυτό, τα παρασκευάσματα των στελεχών *Trichoderma* είναι πολύ αποτελεσματικά στον έλεγχο πολλών φυτοπαθογόνων, όπως *R. solani*, *P. ultimum* ή *Sclerotium rolfsii*, όταν εναλλάσσονται με βρωμιούχο μεθύλιο, μενομύλ, καπτάν ή άλλες χημικές ουσίες (Benitez et al., 2004)

4.6.1.2 Ανταγωνισμός για τα θρεπτικά συστατικά (starvation)

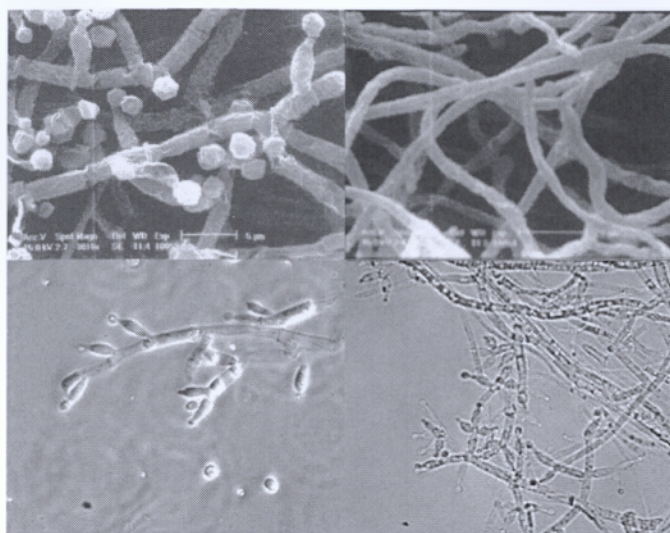
Η έλλειψη θρεπτικών συστατικών, είναι η πιο κοινή αιτία θανάτου για τους μικροοργανισμούς. Για το λόγο αυτό, ο ανταγωνισμός για τον περιορισμό των θρεπτικών αποτελεσμάτων, είναι βασικό στοιχείο στο βιολογικό έλεγχο των φυτοπαθογόνων μυκήτων. Για παράδειγμα, στους περισσότερους νηματοειδείς μύκητες, η πρόσληψη σιδήρου είναι απαραίτητη για τη βιωσιμότητά τους, οπότε σε συνθήκες έλλειψης σιδήρου, οι περισσότεροι μύκητες εκκρίνουν χαμηλού μοριακού βάρους τρισθενή σίδηρο, για την κινητοποίηση του περιβάλλοντος σιδήρου. Στη συνέχεια, ο σίδηρος ανακτάται μέσω συγκεκριμένων μηχανισμών πρόσληψης. Στους *Aspergillus fumigatus* και *Aspergillus*

nidulans , η βιοσύνθεση σιδήρου, ρυθμίζεται αρνητικά από την πηγή άνθρακα. Στον *Ustilago maydis*, τα προϊόντα γονιδίων που σχετίζονται με την πρόσληψη σιδήρου επηρεάζουν την ανάπτυξη των ασθενειών των φυτών.

Μερικά *Trichoderma* παράγουν υψηλής απόδοσης σιδηροφόρα από χηλικό σίδηρο και σταματούν την ανάπτυξη των άλλων μυκήτων. Για το λόγο αυτό, η σύνθεση του εδάφους επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της βιολογικής καταπολέμησης του μήκυτα *Pythium* από *Trichoderma* ανάλογα με τη διαθεσιμότητα του σιδήρου. Επιπλέον, ο *T. harzianum* T35, ελέγχει τον *Fusarium oxysporum*, με τον ανταγωνισμό του αποικισμού στη ριζόσφαιρα και των θρεπτικών συστατικών, με το βιοέλεγχο να καθίσταται πιο αποτελεσματικός καθώς η συγκέντρωση θρεπτικών στοιχείων μειώνεται. Ο ανταγωνισμός έχει αποδειχθεί ότι είναι ιδιαίτερα σημαντικός για τον βιοέλεγχο των φυτοπαθογόνων, όπως ο *Botrytis cinerea*, ο κύριος παθογόνος παράγοντας των φυτικών προϊόντων, προ-και μετά τη συγκομιδή σε πολλές χώρες. Η γενετική μεταβλητότητα αυτού του μύκητα, καθιστά δυνατόν, σε νέα στελέχη ουσιαστικά να γίνουν ανθεκτικά, σε οποιοδήποτε χημικό νέο μυκητοκτόνο είναι εκτεθειμένα. Το πλεονέκτημα της χρήσης *Trichoderma* για τον έλεγχο της *B. cinerea* είναι ο συντονισμός των διαφόρων μηχανισμών ταυτόχρονα, καθιστώντας έτσι πρακτικά αδύνατο να εμφανιστούν ανθεκτικά στελέχη. Μεταξύ αυτών των μηχανισμών, ο πιο σημαντικός είναι ο θρεπτικός ανταγωνισμός, εφόσον *B. cinerea* είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην έλλειψη θρεπτικών συστατικών. (Benitez et al., 2004).

Τα στελέχη του γένους *Trichoderma*, έχουν μια ανώτερη ικανότητα να κινητοποιούνται και να λαμβάνουν τις θρεπτικές ουσίες του εδάφους σε σύγκριση με άλλους οργανισμούς. Η αποτελεσματική χρήση των διαθέσιμων θρεπτικών ουσιών βασίζεται στην ικανότητα των στελεχών *Trichoderma* να λαμβάνουν συστατικά από το μεταβολισμό των διαφόρων σακχάρων, όπως αυτές που προέρχονται από πολυμερές μύκητες σε ευρεία περιβάλλοντα, όπως: κυτταρίνη, χιτίνη γλυκάνη. Τα βασικά συστατικά του μεταβολισμού της γλυκόζης περιλαμβάνουν ένζυμα αφομοίωσης και περμεάσες, μαζί με τις πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη μεμβράνη και στα κυτταρικά τοιχώματα. Ενώ ο ρόλος του συστήματος μεταφοράς της γλυκόζης απομένει να ανακαλυφθεί, η αποτελεσματικότητά του μπορεί να είναι ζωτικής σημασίας για τον ανταγωνισμό, όπως υποστηρίζεται από την απομόνωση ενός μεταφορέα γλυκόζης υψηλής συγγένειας, το Gtt1, στο *Trichoderma harzianum* CECT 2413. Αυτό το στέλεχος είναι παρόν σε περιβάλλοντα πολύ φτωχά σε θρεπτικά συστατικά, και η επιβίωσή του στηρίζεται σε εξωκυτταρικές

υδρολάσες. Το Gtt1 εκφράζεται μόνο σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης, δηλ. όταν η μεταφορά σακχάρων αναμένεται να είναι περιοριστική σε θρεπτικό ανταγωνισμό.



Εικόνα 11: Το στέλεχος *Trichoderma harzianum* CECT 2413, όπως εξετάστηκε από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο(επάνω) και απλό μικροσκόπιο (κάτω).

Πηγή: Benitez et al., 2004

Στην πραγματικότητα, η πρόσληψη της γλυκόζης αυξήθηκε τρεις έως τέσσερις φορές σε ένα μετασχηματισμένο παράγωγο που περιέχει ένα επιπλέον αντίγραφο του γονιδίου του μεταφορέα. Μόνο δύο άλλα γονίδια που κωδικοποιούν τους μεταφορείς γλυκόζης έχουν περιγραφεί σε νηματοειδείς μύκητες, ένας από αυτούς είναι ο *Uromyces fabae*. Αυτός ο βασιδιομύκητας έχει ένα συζευγμένο σύστημα μεταφοράς γλυκόζης, που εκφράζεται κατά τη διάρκεια της μόλυνσης του *Vicia faba*. Αυτό υποδηλώνει έναν πρόσθετο ανταγωνιστικό ρόλο για το Gtt1, επιτρέποντας στους μύκητες να λάβουν ενέργεια από πολυμερή που υδρολύονται και μεταφέρουν ταχέως σάκχαρα στα κύτταρα. Κατά συνέπεια, επειδή τα μετασχηματισμένα είναι σε θέση να μεταφέρουν γλυκόζη πιο γρήγορα από ό, τι εκείνα του άγριου τύπου, θα πρέπει να είναι πιο αποτελεσματικά ως βιοελεγκτές. Αυτό αποτελεί έναν πολύ χρήσιμο μηχανισμό θρεπτικού ανταγωνισμού κατά τη διάρκεια αλληλεπιδράσεων μυκοπαρασιτισμού (Benitez et al., 2004).

4.6.1.3 Βιο-γονιμοποίηση & τόνωση των αμυντικών μηχανισμών των φυτών

Τα στελέχη *Trichoderma*, πάντα συνδέονται με τις ρίζες των φυτών και των ριζικών οικοσυστημάτων. Από πολλούς ερευνητές ορίζονται ως ευκαιριακοί μη λοιμογόνοι

οργανισμοί, οι οποίοι είναι σε θέση να αποικίζουν τις ρίζες των φυτών με μηχανισμούς παρόμοιους με εκείνους των μυκορριζικών μυκήτων για την παραγωγή ενώσεων που διεγείρουν την ανάπτυξη των φυτών και των μηχανισμών άμυνας. (Benitez et al., 2004)

Αποικισμός της ρίζας των φυτών: Ο επιτυχής αποικισμός, εξαρτάται αποκλειστικά από τη δυνατότητα του οργανισμού να υπερασπιστεί την οικολογική του θέση και να ευδοκιμήσει, παρά τον ανταγωνισμό για θρεπτικά συστατικά, χώρο και φως (Schuster, 2010).

Τα *Trichoderma* πρέπει να αποικίζουν τις ρίζες των φυτών πριν από την διέγερση της ανάπτυξης των φυτών και της προστασίας τους έναντι των λοιμώξεων. Με την έννοια του αποικισμού νοείται η ικανότητα να προσκολλώνται και να αναγνωρίζουν τις ρίζες των φυτών, να διεισδύσουν σ' αυτές και να αντέχουν στους τοξικούς μεταβολίτες που παράγονται από τα φυτά, όταν εισβάλλει σ' αυτά ένας ξένος οργανισμός, είτε είναι παθογόνος είτε όχι.

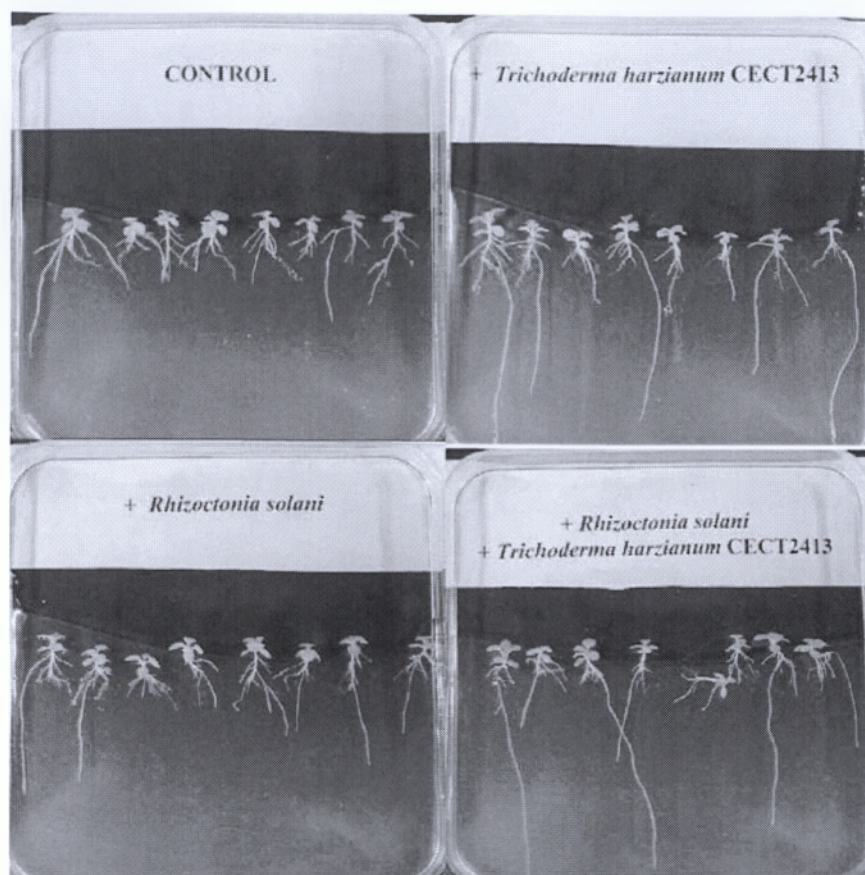
Αποτελούν ασπίδα αντοχής του ριζικού συστήματος σε διάφορα είδη στρες (ακραία θερμοκρασία, υγρασία, αλατότητα, διατροφικές ελλείψεις κ.λ.π.) (Μπάρδας, 2011)

Δεν υπάρχουν στοιχεία στη βιβλιογραφία σχετικά με το ποιά είναι τα γονίδια του *Trichoderma*, που εκφράζονται ειδικά κατά τη διάρκεια της αλληλεπίδρασης μεταξύ του μύκητα και των ρίζες των φυτών, αλλά υπάρχουν αρκετές αναφορές σχετικά με αλλαγές στην έκφραση γονιδίων κατά την μυκητορριζική ανάπτυξη.

Αρκετά από τα είδη του γένους *Trichoderma* όπως τα *T. viride*, *T. koningii*, *T. harzianum*, *T. pseudokoningii* και *T. hamatum* έχουν δοκιμαστεί για την ικανότητα τους ενάντια σε διάφορα εδαφογενή φυτοπαθογόνα (Santos and Dhingra 1982, Menendez and Godeas 1998), στο εργαστήριο και τον αγρό. Ωστόσο σύμφωνα με τους Chao και συνεργάτες (1986), τα συγκεκριμένα είδη δεν φαίνεται να συνιστούν αποτελεσματικούς ανταγωνιστές στη ριζόσφαιρα και η επιτυχής έκβαση ενός παράγοντα βιολογικού έλεγχου εξαρτάται από την ικανότητα του να επιβιώνει, αναπτύσσεται και πολλαπλασιάζεται στη ριζόσφαιρα. Αντίθετα όμως είναι τα ευρήματα των Sivan και συνεργάτες (1987) πάνω στο *Fusarium oxysporum f. sp. radicis lycopersici* και των Tsahouridou and Thanassoulouropoulos (2002) πάνω στο *S. rolfsii*.

Αν και μειώνουν την ένταση της ασθένειας, τα είδη του γένους *Trichoderma* συχνά αποτυγχάνουν να εγκατασταθούν στη ριζόσφαιρα ή δεν είναι τόσο αποτελεσματικά όσο τα μυκητοκτόνα σαν επικάλυψη σπόρων και γι αυτό διάφορες στρατηγικές έχουν αναπτυχθεί

ώστε να βελτιώσουν τη δραστηριότητα και αποτελεσματικότητά τους (Nelson et al., 1988).



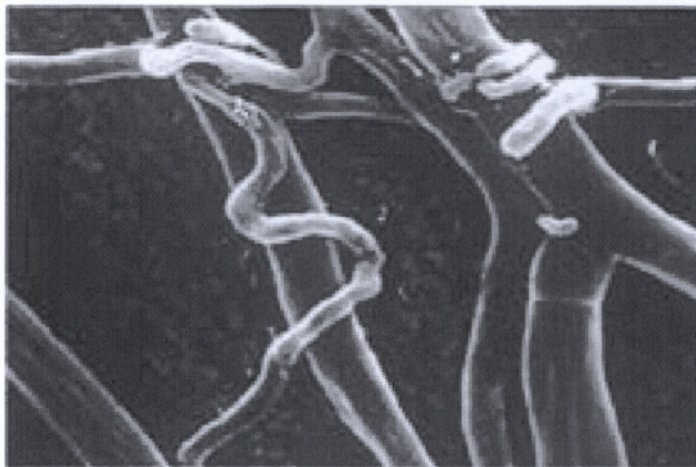
Εικόνα 12: Προστασία από *Rhizoctonia solani* και διέγερση της ανάπτυξης της ρίζας του καπνού από στέλεχος *Trichoderma harzianum* CECT 2413

Πηγή: Benitez et al., 2004

Η ριζική αλληλεπίδραση των μυκήτων, διαμορφώνεται από τα φλαβονοειδή των φυτών, που ακολουθείται από μορφογενετικά γεγονότα τα οποία περιλαμβάνουν την ανάπτυξη. Επιπλέον, τα γονίδια που κωδικοποιούν τις υδροφοβίνες και άλλες δομικές πρωτεΐνες του κυτταρικού τοιχώματος, είτε εκφράζονται ειδικά, είτε η έκφρασή τους ρυθμίζεται αυξητικά. Οι υδροφοβίνες και τα εντομοαπωθητικά είναι λειτουργικά παρόμοια με τις υδρόφοβες πρωτεΐνες, που διαδραματίζουν θεμελιώδη ρόλο στη μορφογένεση των μυκήτων, συμπεριλαμβανομένων των δομών της μόλυνσης, των υφών της συνάθροισης, της επικοινωνίας των κυττάρων, και της προσάρτησης των υφών σε υδρόφοβες επιφάνειες. Στις έρευνες διαπιστώθηκε ότι το στέλεχος *Trichoderma harzianum* CECT 2413, διεγείρει

την ανάπτυξη των φυτών καπνού, τομάτας και βαμβακιού, και τα προστατεύει έναντι διαφόρων παθογόνων μυκήτων των φυτών (Εικόνες 12 & 13).

Μερικά στελέχη *Trichoderma*, δημιουργούν αποικισμό των ριζών των φυτών μακράς διάρκειας διεισδύοντας στην επιδερμίδα. Εκεί, παράγουν ή απελευθερώνουν ενώσεις που προκαλούν τοπική ή συστηματική ανθεκτικότητα των φυτών. Τα φυτά αντιδρούν στην εισβολή, συνθέτοντας και συσσωρεύοντας φυτοαλεξίνες, φλαβονοειδή και τερπενοειδή, φαινολικά παράγωγα, άγλυκα και άλλες αντιμικροβιακές ενώσεις. Τα στελέχη *Trichoderma*, είναι γενικά πιο ανθεκτικά σε αυτές τις ενώσεις από ό, τι οι περισσότεροι μύκητες, ωστόσο, η ικανότητά τους να αποικίζουν τις ρίζες των φυτών εξαρτάται έντονα από την ικανότητα κάθε στελέχους να τους ανέχεται. Η απομόνωση των στελεχών είναι ιδιαίτερα ανθεκτική σε τοξικές ενώσεις, όπως τα μυκητοκτόνα και τα ζιζανιοκτόνα και αυξάνουν τον αποικισμό, δεδομένου ότι τέτοια στελέχη εμφανίζουν συχνά διασταυρούμενη αντοχή σε αντιμικροβιακές ενώσεις που συντίθεται από τα φυτά (Benitez et al., 2004).



Εικόνα 13: Περιέλιξη του *Trichoderma* γύρω από ένα παθογόνο.

Πηγή: Ilan Chet, Ada Viterbo and Yariv Brotman

Βιο-γονιμοποίηση (Biofertilization): Ο αποικισμός των ριζών από στελέχη *Trichoderma*, συχνά ενισχύει την ανάπτυξη των ριζών και την ανάπτυξη και την παραγωγικότητα των καλλιεργειών, την αντοχή σε αβιοτικές πιέσεις και την υιοθέτηση και χρήση των θρεπτικών ουσιών. Η παραγωγικότητα των καλλιεργειών, μπορεί να αυξηθεί έως και 300% μετά την προσθήκη του στελέχους *Trichoderma hamatum* ή του *Trichoderma koningii*. Σε πειράματα που διεξήχθησαν σε θερμοκήπια, υπήρχε επίσης μια

σημαντική αύξηση της απόδοσης, όταν σε σπόρους φυτών έγινε προηγουμένως αγωγή με σπόρια από *Trichoderma*. Η ίδια αύξηση παρατηρήθηκε όταν οι σπόροι διαχωρίστηκαν από τα *Trichoderma* με μία μεμβράνη από σελοφάν, κάτι το οποίο δείχνει ότι τα στελέχη *Trichoderma* παράγουν αυξητικούς παράγοντες που συμβάλλουν αύξηση της βλάστησης των σπόρων.

Ωστόσο, υπάρχουν πολύ λίγες αναφορές σχετικά με τα στελέχη που παράγουν αυξητικούς παράγοντες οι οποίοι έχουν ανιχνευθεί και ταυτοποιηθεί στο εργαστήριο (αυξίνες, κυτοκινίνες και αιθυλένιο), παρά την ταυτοποίηση πολλών νηματοειδών μυκήτων που παράγουν φυτοορμόνες, όπως οξικό οξύ και αιθυλένιο, των οποίων οι μεταβολικές οδοί έχουν αναγνωρισθεί. Τα στελέχη *Trichoderma* που παράγουν μόρια που μοιάζουν με κυτοκινίνες όπως τα μόρια, π.χ. zeatyn και gibberellin GA3 ή GA3 έχουν εντοπισθεί πολύ πρόσφατα. Η ελεγχόμενη παραγωγή αυτών των ενώσεων θα μπορούσε να βελτιώσει τη βιογονιμοποίηση. Μαζί με τη σύνθεση ή την διέγερση της παραγωγής φυτοορμόνης, τα περισσότερα στελέχη του μήκυτα *Trichoderma* μετατρέπουν σε όξινο το περιβάλλον τους με την έκκριση οργανικών οξέων, όπως γλυκονικό, κιτρικό ή φουμαρικό οξύ. Αυτά τα οργανικά οξέα τα οποία είναι αποτέλεσμα το μεταβολισμού πηγών άνθρακα, κυρίως γλυκόζης, με τη σειρά τους είναι σε θέση να διαλύουν φωσφορικά άλατα, ιχνοστοιχεία και ανόργανα κατιόντα όπως σίδηρο, μαγγάνιο και μαγνήσιο.

Ως εκ τούτου, η προσθήκη του *Trichoderma* σε εδάφη όπου τα κατιόντα είναι λιγοστά, έχει σαν αποτέλεσμα την βιογονιμοποίηση με διάλυση των μετάλλων και την αύξηση της παραγωγικότητας των καλλιεργειών. Όσο φτωχότερο είναι το έδαφος, τόσο πιο σημαντική είναι η επακόλουθη αύξηση της απόδοσης (Benitez et al., 2004).

Διέγερση της αντίστασης και των μηχανισμών άμυνας των φυτών. Η ικανότητα των στελεχών *Trichoderma*, για την προστασία των φυτών έναντι παθογόνων του ριζικού συστήματος, έχει αποδοθεί σε μια ανταγωνιστική επεμβατική δράση έναντι του παθογόνου. Ωστόσο, αυτές οι ενώσεις των ριζικών μηκύτων, διεγείρουν επίσης τους αμυντικούς μηχανισμούς των φυτών. Στελέχη του *Trichoderma* όταν προστίθενται στην ριζόσφαιρα προστατεύουν τα φυτά έναντι πολλών κατηγοριών παθογόνων, π.χ. εκείνες που παράγουν εναέριες λοιμώξεις, συμπεριλαμβανομένων ιών, βακτηρίων και παθογόνων μυκήτων, και προκαλούν την επαγωγή των μηχανισμών αντοχής. Σε μοριακό επίπεδο, τα αποτελέσματα αντοχής σε μια αύξηση της συγκέντρωσης των μεταβολιτών και των ενζύμων που σχετίζονται με αμυντικούς μηχανισμούς, όπως τα ένζυμα φαινυλαλανίνης

αμμωνιολυάσης και συνθάσης χαλκόνης, εμπλέκονται στη βιοσύνθεση της φυτοαλεξίνης, των χιτινάσεων και των γλυκανάσεων. Αυτά αποτελούνται από πρωτεΐνες και ένζυμα που σχετίζονται με την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες.

Τα γονίδια των φυτών ανταποκρίνονται στους παθογόνους παράγοντες και διεγέρτες. Για το λόγο αυτό, οι μηχανισμοί άμυνας των φυτών δεν απαιτούν κατ' ανάγκη τη διέγερση από ζωντανό οργανισμό. Η προσθήκη μεταβολιτών του *Trichoderma*, οι οποίοι μπορούν να ενεργούν ως διεγέρτες της αντίστασης του φυτού, είναι επίσης αποτελεσματικοί στην σύνθεση φυτοαλεξίνης, πρωτεϊνών και άλλων ενώσεων, καθώς και στην αύξηση της αντίστασης κατά αρκετών παθογόνων των φυτών, συμπεριλαμβανομένων των μυκήτων και των βακτηριδίων, καθώς και στην αντίσταση εχθρικών αβιοτικών συνθηκών.

Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε κριθάρι στο οποίο προστέθηκε *Trichoderma atroviride* endochitinase Ech42, παρουσιάστηκε αυξημένη αντίσταση έναντι της λοίμωξης από *Fusarium*. Έκφραση της χιτινάσης Chit42 από *T. harzianum* στον καπνό και σε φυτά πατάτας οδήγησε σε διαγονιδιακές σειρές εξαιρετικά ανεκτικές ή πλήρως ανθεκτικές στα παθογόνα φυλλώματος *Alternaria alternata*, *Alternaria solani* και *Botrytis cinerea* και για το παθογόνο *Rhizoctonia solani* (Εικόνα 8). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν ληφθεί σε φράουλες οι οποίες είχαν μολυνθεί με *Colletotrichum*. Με βάση τα παραπάνω, φαίνεται ότι η προστασία των φυτών εξαρτάται αποκλειστικά από την αύξηση των ενζυματικών δραστηριοτήτων.

Η ενεργοποίηση των αποκρίσεων άμυνας που χρησιμοποιούν διεγέρτες, θα μπορούσε να είναι πολύτιμη στρατηγική -ως εναλλακτική λύση για τη χρήση των διαγονιδιακών φυτών- στην προστασία των φυτών έναντι των παθογόνων. Η προσθήκη laminarin, σε αμπέλια προκάλεσε πολλά γονίδια άμυνας και μειωμένη μόλυνση από *B. cinerea* και *Plasmopara viticola*. Η *Phytophthora parasitica* παράγει μια γλυκοπρωτεΐνη, και προκαλεί αποκρίσεις άμυνας στο φυτό ξενιστή. Η διείσδυση της γλυκοπρωτεΐνης σε φυτά, μη-ξενιστές, προκάλεσε επίσης αντιδράσεις άμυνας.

Μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι, όταν στα φυτά υπάρχει παρουσία του *Trichoderma*, η αντοχή τους συνεχίστηκε για μεγάλες χρονικές περιόδους, που φτάνουν έως και αρκετούς μήνες. Ένα παρόμοιο αποτέλεσμα θα μπορούσε να λάβει χώρα μετά την προσθήκη διεγερτών του *Trichoderma*, οι οποίοι είναι ιδιαίτερα σημαντικοί για την προστασία λοιμώξεων των καρπών μετά τη συγκομιδή. (Benitez et al., 2004)

4.6.1.4 Τροποποίηση της ριζόσφαιρας

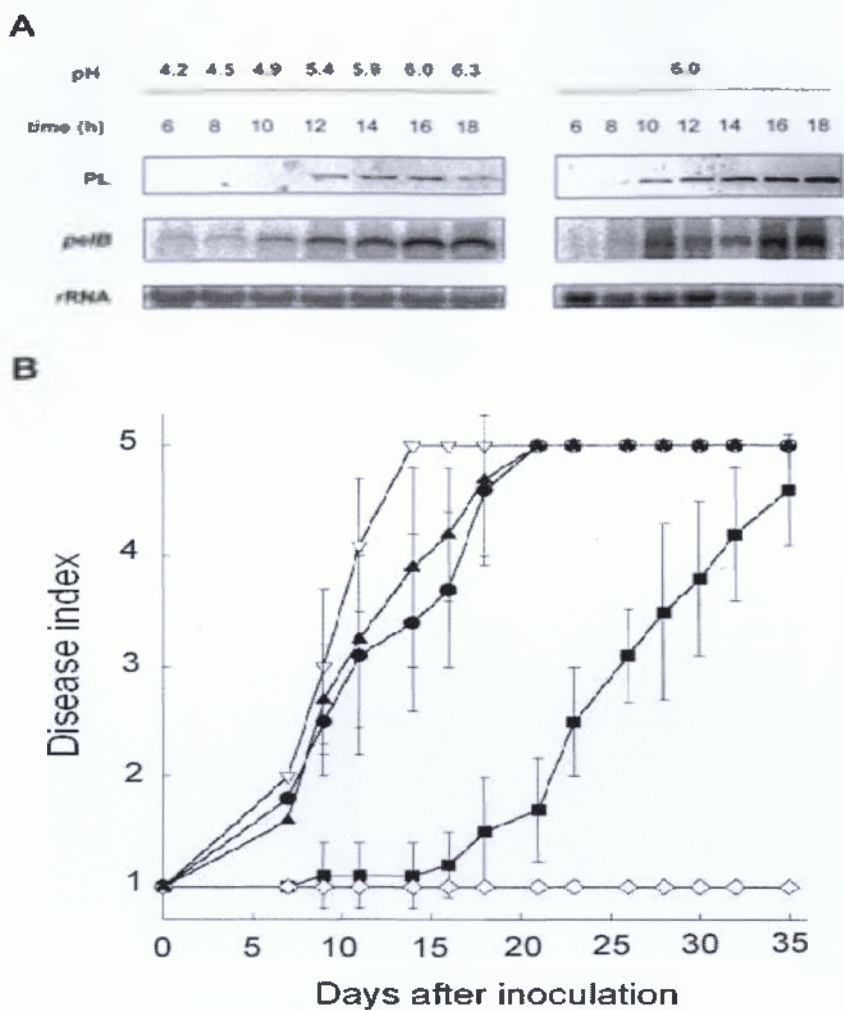
Η ανάπτυξη ενός οργανισμού στη ριζόσφαιρα είναι σημαντική, επειδή ένας παράγοντας βιολογικού ελέγχου, δεν μπορεί να ανταγωνίζεται για το χώρο και τα θρεπτικά συστατικά, αν είναι ανίκανος να αναπτυχθεί στη ριζόσφαιρα. Οι μύκητες του γένους *Trichoderma*, είτε προστίθενται στο έδαφος, είτε εφαρμόζονται ως θεραπεία των σπόρων, αναπτύσσονται εύκολα μαζί με το αναπτυσσόμενο ριζικό σύστημα (Howell, 2003).

Το περιβάλλον του εδάφους επηρεάζει τη βλάστηση των σπορίων, το σχηματισμό γλαμυδοσπορίων και την παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών, όπως σιδηροφόρα, αντιβιοτικά και ένζυμα. Υπάρχουν άφθονα στοιχεία στη βιβλιογραφία που περιγράφουν τις τροποποιήσεις της ριζόσφαιρας από βιοελεγκτές, που εμποδίζουν τον αποικισμό των παθογόνων. Το pH του περιβάλλοντος, είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν τη δραστηριότητα των *Trichoderma* και των παραγόντων παθογένειας που εκκρίνονται από διαφορετικούς μικροοργανισμούς. Μερικά αντιβιοτικά αλλοιώνονται σε υψηλό pH, π.χ. ξηρή ατμόσφαιρα και χαμηλό pH μπορεί να προκαλέσει αλλοίωση των ενζύμων από όξινες πρωτεάσες.

Επίσης η ανάπτυξη πολλών μυκήτων αναστέλλεται από ασθενή οξέα, όπως το σορβικό οξύ, που οφείλεται σε ραγδαία πτώση του pH των χυμοτοπίων. Ως εκ τούτου, η δυνατότητα να ευδοκιμήσουν σε μεγάλη ποικιλία εξωτερικών συνθηκών pH είναι ένα σημαντικό συστατικό του συνόλου των χαρακτηριστικών, που το γένος *Trichoderma*, αντιμετωπίζει κατά την αλληλεπίδρασή του με άλλους οργανισμούς Ένας από τους μηχανισμούς των στελεχών *Trichoderma* για την επίτευξη αποικιοκρατίας και τον έλεγχο των παθογόνων σε ένα δυναμικό περιβάλλον pH αποτελεί την κατάλληλη απάντηση σε κάθε δεδομένη κατάσταση του pH.

Ορισμένα στελέχη του *T. harzianum* ελέγχουν το εξωτερικό pH αυστηρά, εξασφαλίζοντας βέλτιστες τιμές για τις εκκρίσεις των ενζύμων τους. Διαφορετικές εξωκυτταρικές πρωτεΐνες συντίθενται σε διαφορετικά pH. Επιπλέον, στο μεταγραφικό επίπεδο, αρκετές πρωτεάσες, γλυκανάσες, πρωτεΐνες του κυτταρικού τοιχώματος και ένας μεταφορέας γλυκόζης είναι pH-ελεγχόμενες, κάτι το οποίο σημαίνει ότι η αντίδραση των διαφόρων ενζύμων είναι εξαρτώμενη από το pH. Το εξωτερικό pH, είναι επίσης σημαντικό για τα παθογόνα επειδή οι παράγοντες της παθογένειάς τους, παράγονται μόνο μέσα σε ένα πολύ στενό εύρος pH (Εικόνα 15), έτσι ώστε η τροποποίηση του pH να

προσδιορίζει την ικανότητα του παθογόνου για την επιτυχή εισβολή και αποίκηση στον στοχευόμενο ξενιστή.



Εικόνα 14: Η μολυσματικότητα επηρεάζεται από το pH.

Το μέσο ανάπτυξης για τα γλοιοσπορίδια του φυτοπαθογόνου μύκητα *Colletotrichum* είτε δεν ήταν ρυθμισμένο ή ήταν ρυθμισμένο σε pH 6,0.

(Πηγή: Benitez et al., 2004)

Τα στελέχη *Trichoderma* είναι σε θέση να τροποποιήσουν το εξωτερικό pH και να προσαρμόσουν τον ίδιο το μεταβολισμό τους στις περιβάλλουσες συνθήκες, με συνέπεια να μειωθεί η τοξικότητα των παθογόνων επειδή οι περισσότεροι παράγοντες παθογένειας δεν θα μπορούσαν να συντεθούν. Η ικανότητα του *Trichoderma* να αλλάζει το pH, μπορεί να επηρεαστεί από τις περιβαλλοντικές συνθήκες, έτσι ώστε ένα δεδομένο στέλεχος να μπορεί να ασκήσει διαφορετικό είδος ελέγχου σε διαφορετικά pH. (Benitez et al., 2004).

Η εισαγωγή του *T. harzianum* στη ριζόσφαιρα φυτών τομάτας μέσω μείγματος πίτουρων και τύρφης φαίνεται πως συμβάλει θετικά στην επιτυχή εγκατάσταση του μυκοπαράσιτου στη ριζόσφαιρα. Μετά από μετρήσεις βρέθηκαν 740 σπόρια ανά γραμμάριο χώματος για το μυκοπαράσιτο και 10 σπόρια ανά γραμμάριο χώματος για τους φυσικούς πληθυσμούς των *Trichoderma* όπου δεν είχε εφαρμοστεί το παραπάνω μείγμα (Sivan και συνεργάτες, 1987). Υψηλότεροι πληθυσμοί αποκτήθηκαν όταν σφαιρίδια προστέθηκαν στο έδαφος που έφεραν γλαυδοσπόρια αντί κονιδίων και πίτουρα αντί каоλινίτη (Lewis and Papavizas, 1985). Οι υψηλοί πληθυσμοί πιθανόν να οφείλονται στο σχηματισμό κονιδίων και γλαυδοσπορίων στην επιφάνεια των σφαιριδίων (Lewis and Papavizas, 1985).

Η αποτελεσματικότητα βιολογικού έλεγχου των *T. koningii* και *T. Harzianum* ενάντια στο *Pythium* αυξήθηκε κατά 48% για το πρώτο και 44% για το δεύτερο όταν προστέθηκαν επιλεγμένες ουσίες στο σπόρο. Οργανικά οξέα συνέβαλαν σημαντικά στη δράση του *T. koningii* και πολυσακχαρίτες και πολυύδροξυ-αλκοόλες στη δράση του *T. harzianum*. Τα μυκοπαράσιτα αυτά έχουν εφαρμοστεί σε φυτά αρακά με εμβολιασμό των σπόρων (Nelson και συνεργάτες, 1988). Για να είναι πρακτική η χρήση, θα πρέπει η ποσότητα του παρασκευάσματος του μυκοπαράσιτου να μειωθεί και αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε επιλέγοντας πιο αποτελεσματικά στελέχη, είτε αλλάζοντας την τροφική βάση, είτε τροποποιώντας το εμβόλιο (Coley-Smith et al., 1991). Η αποτελεσματικότητα των μυκήτων του γένους *Trichoderma* σε πειράματα πεδίου φαίνεται να αυξάνεται με την παρουσία θρεπτικού υποστρώματος όπως τα πίτουρα (Αγγελάκη, 2001). (Τσαπικούνης, 2007).

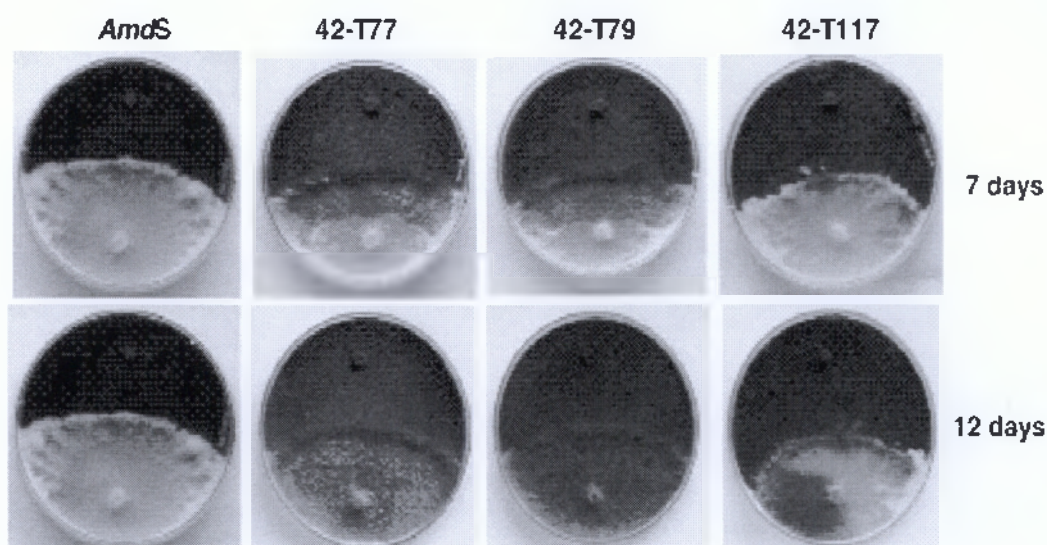
4.6.1.5 Αντιβίωση

Η σημασία των αντιβιοτικών για το βιοέλεγχο των ασθενειών των φυτών, αποδείχθηκε σε αρκετές μελέτες.

Η αντιβίωση εμφανίζεται κατά τη διάρκεια αλληλεπιδράσεων με τη συμμετοχή ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους ή από αντιβιοτικά που παράγονται από στελέχη *Trichoderma* τα οποία αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών. Τα περισσότερα στελέχη *Trichoderma* παράγουν πτητικούς και μη πτητικούς τοξικούς μεταβολίτες που εμποδίζουν τον αποικισμό από ανταγωνιστικούς μικροοργανισμούς. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η παραγωγή αντιβιοτικού συσχετίζεται με την ικανότητα

βιολογικού ελέγχου. Ωστόσο, υπάρχουν επίσης παραδείγματα αντιβιοτικών να υπερπαράγουν στελέχη, όπως π.χ. το γλιονιρίν υπερπαράγει μεταλλάκτες *T. virens*, οι οποίοι παρέχουν έλεγχο παρόμοιο με εκείνο του άγριου τύπου, και ανεπαρκείς μεταλλάξεις του γλιονιρίν τα οποία απέτυχαν να προστατεύσουν φυτά βαμβακιού από *ultimum Phytium*. Σε γενικές γραμμές, τα στελέχη του *T. virens* με την καλύτερη απόδοση ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου είναι σε θέση να παράγουν γλιονιρίν.

Ο συνδυασμός των υδρολυτικών ενζύμων και αντιβιοτικών οδηγεί σε ένα υψηλότερο επίπεδο ανταγωνισμού από εκείνο που λαμβάνεται με κάθε μηχανισμό ξεχωριστά. Τα αποτελέσματα συνέργειας μεταξύ ενδοχιτινάσων από τον *T. harzianum* και gliotoxin, και μεταξύ των υδρολυτικών ενζύμων, για τη βλάστηση των κονιδίων *B. cinerea* είναι γνωστά. Μια μετάλλαξη από το στέλεχος 2413 που είχε υψηλότερα επίπεδα εξωκυτταρικών ενζύμων και του α-πυρόνης απέδωσε καλύτερα από ό, τι το άγριου τύπου σε in-vitro πειράματα, εναντίον *R. solani* και σε δοκιμασίες της προστασίας των σταφυλιών έναντι *B. cinerea*, τόσο υπό καταστολή όσο και σε συνθήκες αποκαταστολής. Ομοίως, σε μετασχηματισμένα κύτταρα του στελέχους 2413 που υπερεκφράζονται με χιτινάση Chit42, η δραστηριότητα του βιοελέγχου συσχετίζεται με την παραγωγή χιτινάσης, εκτός από ένα προϊόν μετασχηματισμού το οποίο δεν ήταν σε θέση να υπερκαλύψει πλήρως τον *R. solani*. (Εικόνα 16).

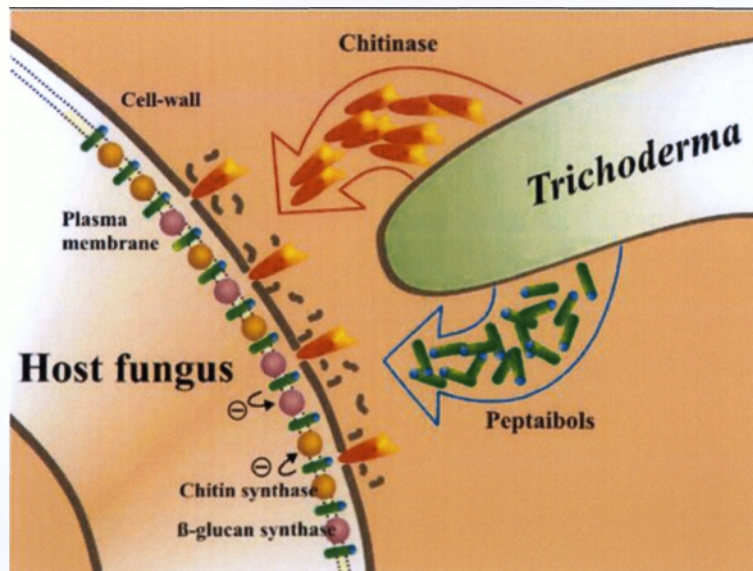


Εικόνα 15: Υπερανάπτυξη και αναστολή της ανάπτυξης των *Rhizoctonia solani* από μετασχηματισμένα Chit42. Επώαστηκαν ελήφθησαν φωτογραφίες μετά από 7 (άνω) και 12 (κάτω) ημέρες επώασης. Κάθε πλάκα έχει *T. harzianum* στην κορυφή και *R. solani* στο κάτω μέρος.

(Πηγή: Benitaz et al., 2004)

Επιπλέον, έχουν περιγραφεί οι διαδοχικοί ρόλοι αντιβίωσης και υδρολυτικών ενζύμων κατά τη διάρκεια μυκητισιακών αλληλεπιδράσεων. Όταν εφαρμόστηκαν συνδυασμοί αντιβιοτικών και διαφόρων ειδών υδρολυτικών ενζύμων σε *B. cinerea* και *F. oxysporum*, επετεύχθη συνέργεια, η οποία ήταν μικρότερη όταν τα ένζυμα προστέθηκαν μετά τα αντιβιοτικά, υποδεικνύοντας ότι η αποικοδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος ήταν απαραίτητη για να καθοριστεί το μέγεθος της αλληλεπίδρασης.

Τα Peptaibols-μια κατηγορία των γραμμικών πεπτιδίων που έχουν γενικά ισχυρή αντιμικροβιακή δραστηριότητα έναντι των gram-θετικών βακτηριδίων και μυκήτων-δρουν συνεργικά με ένζυμα αποικοδόμησης του κυτταρικού τοιχώματος, ώστε να αναστέλλουν την ανάπτυξη των παθογόνων μυκήτων και να προκαλούν ανθεκτικότητα των φυτών σε παθογόνα (Εικόνα 17). Σε φυτά καπνού, εξωγενείς εφαρμογές peptaibols, προκαλούν αμυντική αντίδραση και μειώνουν την ευαισθησία στον ιό μωσαϊκού του καπνού. Μια σύνθεση peptaibol από *T. virens* έχει καθορισθεί πρόσφατα, και το αντίστοιχο γονίδιο, το οποίο έχει κλωνοποιηθεί, θα διευκολύνει τις μελέτες αυτής της ένωσης και τη συμβολή τους στο βιολογικό έλεγχο.



Εικόνα 16: Γραφική απεικόνιση της δράσης του μύκητα του γένους *Trichoderma*

4.6.1.6 Μυκοπαρασιτισμός

Μυκοπαρασιτισμός, είναι η άμεση επίθεση ενός μύκητα σε έναν άλλο. Είναι μια εξαιρετικά πολύπλοκη διαδικασία που περιλαμβάνει διαδοχικές εκδηλώσεις, η οποία

συμπεριλαμβάνει τη διείσδυση, την αναγνώριση, την επίθεση και την επακόλουθη θανάτωση του ξενιστή.

Ο μύκητας του γένους *Trichoderma spp.* μπορεί να ασκήσει άμεσο βιολογικό έλεγχο, παρασιτώντας μια σειρά από μύκητες, ανιχνεύοντας άλλους μύκητες, αυξανόμενος εις βάρος τους. Πιστεύεται ότι οι μύκητες εκκρίνουν εξωχιτινάσες σε χαμηλά επίπεδα. Όταν οι χιτινάσες υποβαθμίσουν τα κυτταρικά τοιχώματα των μυκήτων, απελευθερώνουν ολιγομερή που προκαλούν τις εξωχιτινάσες, και η επίθεση ξεκινά (Benitez et al., 2004)

Τις δυο τελευταίες δεκαετίες έχουν γίνει πολλές προσπάθειες να καταδειχτεί μια σχέση ανάμεσα στην παρασιτική ικανότητα του μυκοπαράσιτου και τα εκκρινόμενα από αυτό ένζυμα αλλά χωρίς ιδιαίτερη επιτυχία. Η μυκοπαρασιτική ικανότητα ενός στελέχους *Trichoderma* βρέθηκε να σχετίζεται θετικά με την δραστηριότητα των ενζύμων χιτινάση και β (1-3) γλυκανάση (Davet 1987).

Αντίθετα, το περισσότερο αποτελεσματικό στέλεχος του *T. viride* που προσβάλλει το φυτοπαθογόνο, *R. solani*, (Coley-Smith και συνεργάτες 1991), παρήγαγε μικρές μόνο ποσότητες των 1-3,β-D-γλυκανάση και χιτινάση (Ridout και συνεργάτες 1986). Επίσης έχουν βρεθεί στελέχη του *T. harzianum* με χαμηλό παρασιτισμό έναντι του *R. solani* τα οποία παρουσίαζαν υψηλή ενζυματική δραστηριότητα (Coley-Smith και συνεργάτες 1991).

Όσον αφορά την ποσότητα, μικρότερες ποσότητες εμβολίου του μυκοπαράσιτου έδωσαν τα ίδια αποτελέσματα στην αντιμετώπιση του φυτοπαθογόνου με μεγαλύτερες ποσότητες (Lewis and Paravizas 1987). Φαίνεται δηλαδή πως δεν υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στην πληθυσμιακή πυκνότητα του μυκοπαράσιτου και την ικανότητα του να μειώνει το παθογόνο στο έδαφος (Lewis and Paravizas 1987). Η αναγνώριση του ξενιστή από το μυκοπαράσιτο είναι ένας ακόμα χώρος με αρκετά σκοτεινά σημεία. Τα *Trichoderma* φαίνεται πως μπορούν να ανιχνεύσουν το ξενιστή τους από κάποια απόσταση (Goldman και συνεργάτες, 1994) ενώ οι λεκτίνες φαίνεται πως εμπλέκονται στην αναγνώριση μεταξύ *Trichoderma* και ξενιστών (Chet and Inbar, 1994).

Σε καρπούς κολοκυθιάς παρατηρήθηκε ότι το μυκοπαράσιτο *T. koningii*, έχει την ικανότητα να ακολουθεί και να παρασιτεί τις υφές του *S. sclerotiorum* όταν αυτές εισέλθουν εντός των κυττάρων του καρπού (Αγγελάκη 1996), ενώ επί υγιών ριζών καρπού η ανάπτυξη του μυκοπαράσιτου περιορίζεται μόνο σε αλλοιωμένα σημεία του φλοιού (Αγγελάκη, 2001). Το *T. koningii* αναπτύχθηκε σε επιδερμική γλοιώδη ουσία πάνω

σε ρίζες κρεμμυδιού χωρίς να εισέλθει σε υγιείς ιστούς. Παρουσία όμως του *S. cepivorum* ο το μυκοπαράσιτο αποίκισε επιδερμικά κύτταρα και σε μικρό βαθμό άλλους επιδερμικούς ιστούς, διακλαδώθηκε και κινήθηκε προς ιστούς κατεστραμμένους από ένζυμα και τοξίνες του φυτοπαθογόνου. Το μυκοπαράσιτο εμπόδισε τη μόλυνση, και όταν αποίκισε τους μολυσμένους ιστούς πολλές υφές του φυτοπαράσιτου αποχωρίστηκαν στα διαφράγματα, κυτταρικά τοιχώματα αποδιοργανώθηκαν όπως και πολλά κορυφαία τμήματα υφών (Metcalf and Wilson 2001).

Μορφολογικές αλλαγές. Ο μυκοπαρσιτισμός περιλαμβάνει μορφολογικές αλλαγές, όπως η περιέλιξη και ο σχηματισμός δομών, οι οποίες χρησιμεύουν για να διαπεράσει τον ξενιστή και περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις διαλυμένων ουσιών οσμωτικής όπως γλυκερόλη. Το *Trichoderma* συνδέεται με το παθογόνο με τους υδατάνθρακες του κυτταρικού τοιχώματος. Μόλις το *Trichoderma* έρθει σε επαφή με τα παθογόνα σχηματίζει γύρω του πηνίο (Εικόνες 4 & 14). Το επόμενο βήμα είναι η παραγωγή ενζύμων, τα οποία διευκολύνουν την είσοδο του *Trichoderma* μέσα στον παρασιτισμένο μύκητα, αλλά και την αφομοίωση του περιεχομένου του κυτταρικού τοιχώματος. (Benitez et al., 2004)

4.6.2 Εφαρμογές βιοελέγχου

Σε πολλές περιπτώσεις, παρατηρείται βιοαποικοδόμηση συσσωρευμένων στο έδαφος χημικών ουσιών από λανθασμένες πρακτικές συστημάτων συμβατικής γεωργίας. Στοχεύοντας στη διερεύνηση των δυνατοτήτων των μυκήτων του γένους *Trichoderma* για βιολογικό έλεγχο φυτοπαθογόνων μυκήτων είναι αναγκαίος ο προσδιορισμός και η βελτιστοποίηση παραμέτρων όπως: η επιλογή της καταλληλότερης μεθόδου εφαρμογής τους, ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης και της ποσότητας του εφαρμοζόμενου μολύσματος, η προσαρμογή των τεχνικών εφαρμογής ανάλογα με το είδος των φυτοπαθογόνων μυκήτων – στόχων και των συνθηκών του μικροπεριβάλλοντος κάθε φορά.

Η εφαρμογή των απομονώσεων του γένους *Trichoderma* με σκοπό την αντιμετώπιση εδαφογενών μυκήτων μπορεί να πραγματοποιηθεί σε τρεις φάσεις κατά την ανάπτυξη των φυτών δενδροκομικού ενδιαφέροντος:

- 1) στο φυτώριο πριν τον εμβολιασμό των υποκειμένων,
- 2) στο φυτώριο στα εμβολιασμένα υποκείμενα,

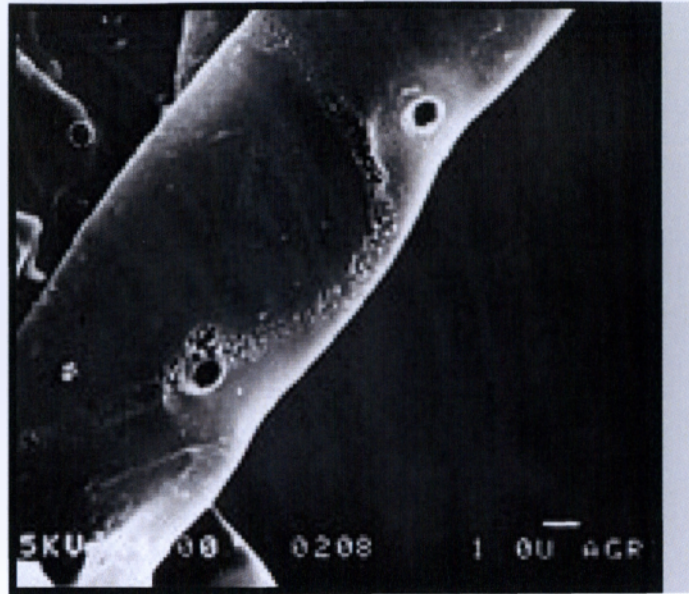
- 3) στον οπωρώνα κατά την φύτευση των νεαρών δενδρυλλίων,
- 4) στον οπωρώνα με ριζοπότισμα σε ανεπτυγμένα δένδρα και
- 5) στον οπωρώνα σε συμπτωματικά – προσβεβλημένα δένδρα με σκοπό την αποφυγή μετάδοσης του ή των παθογόνων στην υπόλοιπη γεωργική εκμετάλλευση. (Μπάρδας, 2011)

Οι πιο κοινοί βιοελεγκτές του γένους *Trichoderma* είναι στελέχη του *T. virens*, *T. viride* και πάνω από όλα, *T. harzianum*, το οποίο είναι ένα είδος που περιλαμβάνει διαφορετικά στελέχη που χρησιμοποιούνται ως βιοελεγκτές φυτοπαθογόνων μυκήτων και ιογενών φορέων. Ο μοριακός χαρακτηρισμός και φυλογενετική ανάλυση επέτρεψαν στα στελέχη του *T. harzianum* αρχικά να προσδιορίζονται ως τα ίδια είδη, τα οποία ομαδοποιούνται σε διακριτές ενότητες και ομάδες.

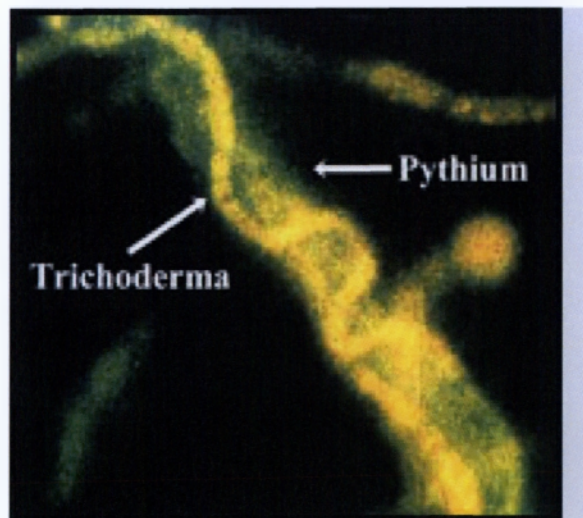
Η επιτυχία των στελεχών του γένους *Trichoderma*, ως βιοελεγκτές, οφείλεται:

- στην υψηλή αναπαραγωγική ικανότητα,
- την ικανότητα τους να επιβιώνουν υπό πολύ αντίξοες συνθήκες,
- στην αποτελεσματικότητα της χρησιμοποίησης των θρεπτικών ουσιών,
- στην ικανότητα να τροποποιήσουν την ριζόσφαιρα,
- στην ισχυρή επιθετικότητα εναντίον φυτοπαθογόνων μυκήτων, στην αποτελεσματικότητα
- στην προώθηση της ανάπτυξης των φυτών και
- στην διέγερση των μηχανισμών άμυνας των φυτών.

Αυτές οι ιδιότητες έχουν κάνει τους μύκητες *Trichoderma* να είναι πανταχού παρόντες σε οποιοδήποτε βιότοπο και σε υψηλές πληθυσμιακές πυκνότητες. Οι βιοελεγκτές του γένους *Trichoderma*, ελέγχουν ασκομύκητες, δευτερομύκητες, βασιδιομήκυτες και μύκητες οι οποίοι βρίσκονται στο έδαφος, αλλά και αερομεταφερόμενα παθογόνα. Οι *Trichoderma* είναι πιο αποτελεσματικοί περισσότερο σε όξινα παρά σε αλκαλικά εδάφη. Εξαιρετικά αποτελέσματα ολοκληρωμένης καταπολέμησης έχουν επιτευχθεί με στελέχη του *T. virens* εναντίον *Pythium ultimum* σε μολυσμένο βαμβάκι, του *T. harzianum* κατά του *Verticillium dahliae* σε μολυσμένες πατάτες, του *T. virens* εναντίον *Rhizoctonia solani* σε μολυσμένο καπνό, και άλλοι. (Hasman, 2005)

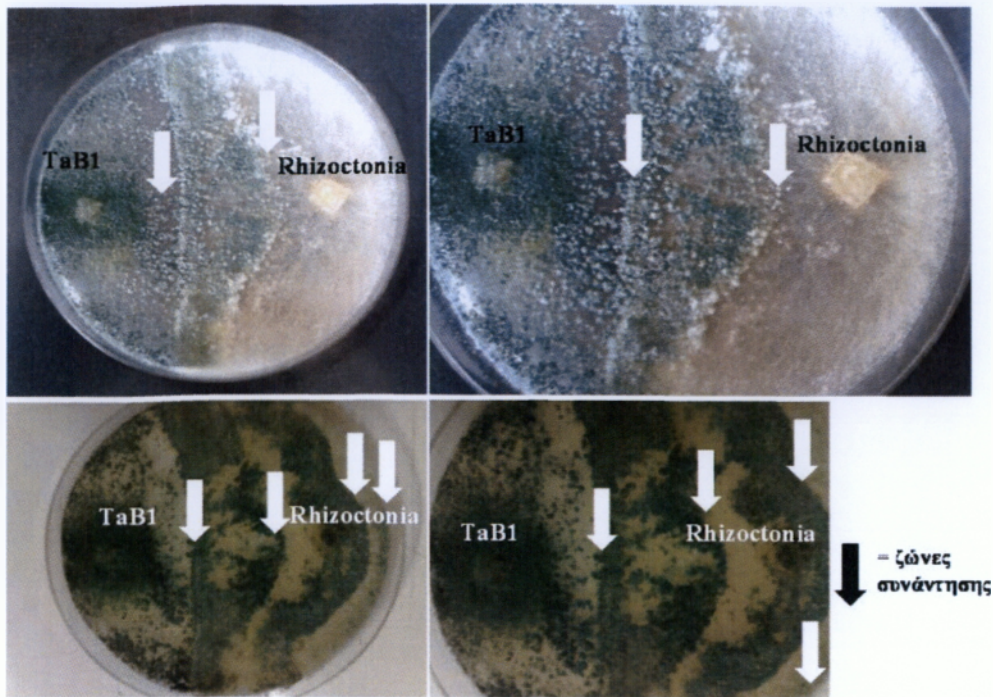


Εικόνα 17: Ηλεκτρονική μικρογραφία σάρωσης της επιφάνειας ενός φυτού μετά τον την απομάκρυνση υφών του παθογόνου *Rhizoctonia solani* από *Trichoderma*. Η διάβρωση του κυτταρικού τοιχώματος που οφείλεται στη δραστηριότητα των ενζύμων του κυτταρικού τοιχώματος είναι εμφανής, όπως και οι τρύπες όπου υφές *Trichoderma* διείσδυσαν στο *R. solani*
(φωτο: Εβραϊκό Πανεπιστήμιο της Ιερουσαλήμ) (Harman, 2000)



Εικόνα 18: Μυκοπαρασιτισμός από στέλεχος *Trichoderma* για το παθογόνο φυτού (*Pythium*) επί της επιφάνειας του σπόρου μπιζελιού. Το στέλεχος *Trichoderma* βάφτηκε με πορτοκαλί φθορίζουσα χρωστική, ενώ το *Pythium* πράσινο.

Πηγή: Hubbard et al., 1983.



Εικόνα 19: *Trichoderma asperellum* B1 vs *Rhizoctonia solani*

Πηγή: www.futoprostasia.gr

4.6.3 Βιολογικά εμπορικά σκευάσματα για την πρόληψη των ασθενειών των φυτών

Πλήθος σκευασμάτων κυκλοφορεί στο εμπόριο, τα οποία περιέχουν τον μύκητα *Trichoderma sp*, για τη βιολογική καταπολέμηση των ασθενειών των φυτών



Εικόνα 20: Peak Trico-H

Πηγή: <http://trade.ipdiamart.com/>

Το Peak Trico-H είναι ένα υγρό με βάση το βιολογικό μυκητοκτόνο που περιέχει τον ανταγωνιστικό μύκητα *Trichoderma harzianum*. Είναι ένας παράγοντας βιο-ελέγχου, ο οποίος προστατεύει το ριζικό σύστημα κατά των ασθενειών που προκαλούνται από παθογόνους οργανισμούς του εδάφους. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σαν σπρέι



Εικόνα 21: MYCORMAX Οργανικό σκεύασμα μυκήτων με θετική επίδραση στην αύξηση των φυτών



Εικόνα 22: Botanigard SC είναι βιολογικό εντομοκτόνο που περιέχει ζωντανά σπόρια του ωφέλιμου μύκητα *Beauveria bassiana*, εγκεκριμένο για την καταπολέμηση των: αλευρώδη, θρίπα, λεπιδόπτερα και αφίδας σε πλήθος κηπευτικών καλλιεργειών, μύγα Μεσογείου.



Εικόνα 23: Βιορρυθμιστή TRICHOAGRO

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μειωμένη αποτελεσματικότητα της εφαρμογής μυκητοκτόνων ουσιών στην αντιμετώπιση των εδαφογενών παθογόνων, σε πληθώρα καλλιεργειών, έχει οδηγήσει στην αναζήτηση βιολογικών μεθόδων φυτοπροστασίας. Πολλές έρευνες έχουν γίνει, τα αποτελέσματα των οποίων φανερώνουν ποικιλομορφία μεταξύ των απομονώσεων των βιοπαραγόντων, όσο αφορά τη βιολογική τους δράση.

Η έρευνα σχετικά με τους μηχανισμούς οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τον βιοέλεγχο που ασκείται από τους μύκητες του γένους *Trichoderma spp.* επί φυτοπαθογόνων μυκήτων έχουν οδηγήσει σε καλύτερη κατανόηση αυτών των μηχανισμών, καθώς και στην απομόνωση αρκετών γονιδίων που κωδικοποιούν είτε ένζυμα και δομικές ή ρυθμιστικές πρωτεΐνες, είτε συστατικά, τα οποία εμπλέκονται σε διαδικασίες όπως η ειδική αναγνώριση των ξενιστών από στελέχη *Trichoderma*.

Τα εργαλεία αυτά θα επιτρέψουν την απομόνωση των βελτιωμένων στελεχών και επομένως στην παρασκευή αποτελεσματικών σκευασμάτων, για τον έλεγχο των παθογόνων μυκήτων σε προ-και μετά-τη συγκομιδή περιόδους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

Benitez T., Rincon A., Limon C.M., Codon A. (2004). «*Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains*». International Microbiology. University of Sevilla, Spain

Harman G.E., (2000). «*Trichoderma spp including T. harzianum and other spp Deuteromycetes, Moniales (asexual classification system)*». Cornell University, Geneva, N.Y.

Harman G.E., (2000). «*Myths and Dogmas of biocontrol- Changes in Perceptions derived from research on Trichoderma harzianum T-22*». Cornell University, Geneva, N.Y.

Harman G.E., (2005). «*Overview of mechanisms and uses of Trichoderma spp*». Cornell University, Geneva, N.Y.

Harman G.E., Bjorkman Th., Ondik K., Shores M., (2008). «*Trichoderma spp. for biocontrol*». Department of Horticultural Sciences, Cornell University, Geneva, N.Y.

Hayes Ch., (1998). «*Trichoderma harzianum, Strain T-22*» Midwest Biological Control News. <http://www.entomology.wisc.edu>

Nederhoff E.U., (2001). «*Biological control of root diseases – especially with Trichoderma*». Grower, New Zealand.

Schuster A., Schmoll M., (2010). «*Biology and biotechnology of Trichoderma*». Institute of Chemical Engineering, Vienna University of Technology. Vienna, Austria.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

Αγγελάκη, Μ.Α. (1996). «*Βιολογικές σχέσεις ειδών του γένους Trichoderma με τον μύκητα Sclerotinia sclerotiorum*». Διατριβή Μεταπτυχιακού Διπλώματος ΑΠΘ. Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας. Σελ. 50.

Αγγελάκη, Μ.Α. (2001). «*Βιολογική καταπολέμηση του μύκητα Sclerotinia sclerotiorum από το μυκοπαράσιτο Trichoderma koningii*». Διδακτορική Διατριβή. Θεσσαλονίκη 2001. Σελ 155.

Γραβάνης Φ., (2004). «*Η φυτοπροστασία στη βιολογική γεωργία*» στο *Θέματα Βιολογικής Γεωργίας*. Εκδόσεις Κ.Ε.Κ. ΑΙΓΕΑΣ, Λάρισα.

Ηλιόπουλος Α.Γ. (2004). Γενική Φυτοπαθολογία. Εκδόσεις Έμβρυο

Μπάρδας Γ.Α.(2011). «*Αντιμετώπιση των εδαφογενών μυκήτων με χρήση βιοπαραγόντων*». Διαθέσιμο στην ιστοσελίδα <http://www.futoprostasia.gr>

Μπάρδας Γ.Α., Αγγελοπούλου Π., Ευστρατίου Χ., Τζινίγλου Γ., Μουτούλη Γ., Τσανακτσίδου Α., Παλάτος Γ., Στεφάνου Σ. (2012). «Αξιολόγηση ελληνικών απομονώσεων του γένους *Trichoderma* ως βιολογικοί παράγοντες αντιμετώπισης εδαφογενών φυτοπαθογόνων μυκήτων». Ερευνητικές εργασίες 16^{ου} Πανελληνίου Φυτοπαθολογικού Συνεδρίου. Θεσσαλονίκη

Σ.Β.Β.Ε. (2003). «Ανάλυση σεναρίων για το μέλλον της βιολογικής γεωργίας στην Ελλάδα» στο *Αριστεία στην Κεντρική Μακεδονία*. Δίκτυο βιολογικών Προϊόντων. Θεσσαλονίκη.

Τσαπικούνης Φ., (2007) «Απομόνωση, αξιολόγηση και χρησιμοποίηση γηγενών μυκοπαράσιτων των σκληρωτίων για τον έλεγχο του φυτοπαθογόνου μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum*» Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών. Πάτρα.

ΤΕΙ Θεσ/νικης, (2005). Σημειώσεις μαθήματος: Γενική και Ειδική Φυτοπαθολογία

Χουρδάκη Α., (2012). «Διερεύνηση της επισχετικότητας οργανικών υποστρωμάτων από αγροτοβιομηχανικά υπολείμματα και αστικά απορρίμματα, έναντι του μύκητα *Fusarium oxysporum fsp.* σε καλλιέργεια τομάτας». Πτυχιακή εργασία. Ηράκλειο, Κρήτη.

Χριστιάς Χ., (1999). «Μυκητολογία». Εκδόσεις Αγροτύπος. Αθήνα 1999

ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/463327/plant-disease>

<http://www.wikipedia.org>