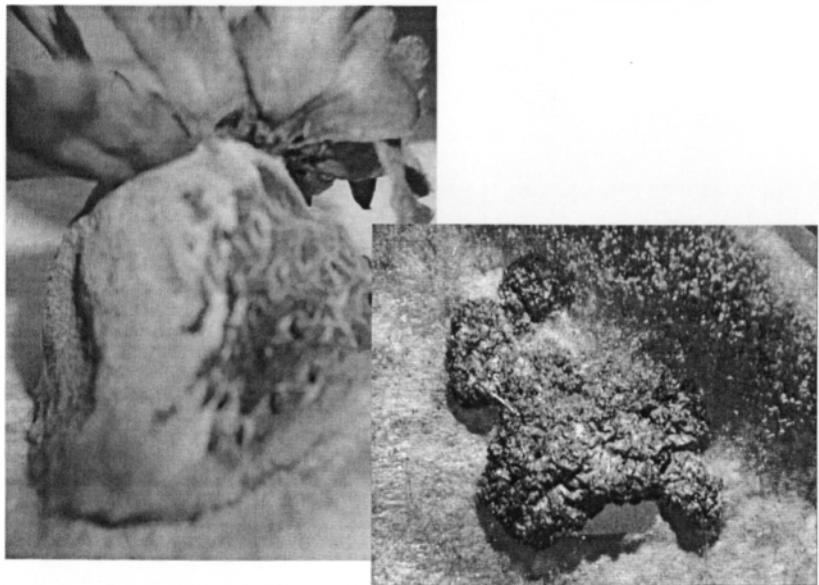




ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ  
ΑΤΕΙ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΠΡΟ ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΣΗΨΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ  
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΑΠΟ ΜΥΚΗΤΕΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *BOTRYTIS*



ΤΗΣ ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑΣ: ΖΑΜΠΕΛΗ ΚΕΡΑΣΙΑ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2013



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

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΠΡΟ ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΣΗΨΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ  
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΑΠΟ ΜΥΚΗΤΕΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *BOTRYTIS*

ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ: ΚΕΡΑΣΙΑ ΖΑΜΠΕΛΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΜΑΡΙΑ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ Ph. D.

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2013

**<<Η εργασία αυτή είναι αφιερωμένη στην οικογένειά μου  
που με στήριξαν και πίστεψαν σε εμένα>>**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε από τη φοιτήτρια Ζαμπέλη Κερασία του τμήματος Τεχνολογίας Γεωργικών Προϊόντων του Ανώτατου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Καλαμάτας κατά το ακαδημαϊκό έτος 2013-2014 υπό την επίβλεψη της καθηγήτριας Παπαδοπούλου Μαρίας.

Στην κυρία Παπαδοπούλου Μαρία οφείλω τις θερμές μου ευχαριστίες για την καθοδήγησή της και την υποστήριξή της καθ' όλη τη διάρκεια διεκπεραίωσης της παρούσας πτυχιακής.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την ανυπολόγιστη ηθική υποστήριξη, την συμπαράσταση και την κατανόηση που έδειξαν όλον αυτόν τον καιρό.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ .....	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	7
ABSTRACT .....	8
ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 .....	11
1.1 Γενικά χαρακτηριστικά μυκήτων .....	11
1.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά του μύκητα <i>Botrytis cinerea</i> .....	15
1.2 Βιολογία του μύκητα <i>B. cinerea</i> .....	17
1.3 Οι συνθήκες ανάπτυξης του παθογόνου .....	21
1.4 Παραγωγή και διασπορά κονιδίων .....	22
1. 5. Επιβίωση παθογόνου .....	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΠΡΟ- ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΒΟΛΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΜΥΚΗΤΑ <i>B. cinerea</i> .....	26
2.1. Εύρος ξενιστών .....	26
2.2. Συμπτώματα .....	29
2.3. Επιδημιολογία .....	31
2.4. Παθογένεση.....	36
2.4.1. Βλάστηση.....	36
2.4.2. Διείσδυση.....	38
2.4.3. Εγκατάσταση .....	41
2.5. Μικροκλιματικοί παράγοντες ανάπτυξης της ασθένειας.....	42
2.5.1. Θερμοκρασία .....	42
2.5.2. Σχετική υγρασία.....	43
2.5.3. Φωτισμός .....	44
2.5.4. Έδαφος και νερό .....	45
2.6. Καλλιεργητικοί παράγοντες.....	46
2.7. Θρεπτικοί παράγοντες.....	47
2.7.1. Ανόργανος Φώσφορος.....	47
2.7.2. Σίδηρος.....	47
2.7.3. Μεταλλικά άλατα.....	48
2.7.4. Άζωτο.....	48
2.7.5. Ασβέστιο .....	49
2.8. Ορμονικοί παράγοντες .....	49
2.8.1. Αυξίνες.....	49
2.8.2. Γιββεριλλικό οξύ.....	50
2.9. Άλλες ουσίες .....	50
2.10. Ισόρροπη θρέψη .....	51
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ.....	53
3.1. Πρόβλεψη επιδημίας.....	53
3.2. Καταπολέμηση του μυκητα με χημικά μέσα (Μυκητοκτόνα ).....	54
3.3. Καλλιεργητικά μέσα .....	57
3.4. Βιολογική καταπολέμηση.....	60
3.4.1. Μηχανισμοί δράσης των ανταγωνιστών του <i>Botrytis cinerea</i> .....	64
❖ Συναγωνισμός σε θρεπτικά στοιχεία και χώρο.....	64
❖ Παραγωγή αντιβιοτικών .....	65
❖ Παρασιτισμός .....	65
3.4.2. Βιολογικοί παράγοντες που δρούν εναντίον του <i>B. cinerea</i> .....	66
❖ Μύκητες.....	66

1. <i>Trichoderma</i> spp. ....	66
2. <i>Gliocladium</i> spp. ....	67
<i>Gliocladium virens</i> .....	69
3. <i>Ulocladium atrum</i> .....	69
4. <i>Coniothyrium minitans</i> .....	70
4. Άλλοι μύκητες .....	70
❖ Ζύμες .....	70
❖ Ιοί.....	72
❖ Εκχυλίσματα .....	72
1. Εκχυλίσματα από φυτικούς ιστούς .....	73
2 Εκχυλίσματα από ‘composts’ .....	74
3.5. Ιστορικό ανθεκτικότητας .....	75
3.6. Ολοκληρωμένη καταπολέμηση του <i>Botrytis cinerea</i> σε συνθήκες συντήρησης των προϊόντων.....	76
3.6.1. pH .....	77
3.6.2. Όζον.....	78
3.6.3. Αιθυλένιο.....	81
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	83
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	86

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα πτυχιακή είναι μια βιβλιογραφική ανασκόπηση της μιας πολύ σοβαρής ασθένειας των φυτών της «Τεφράς σήψης» η οποία προκαλείται από τον φυτοπαθογόνο Δευτερομύκητα *Botrytis cinerea*. Επίσης γίνεται αναλυτική περιγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών του ίδιου του μύκητα, ο οποίος είναι προαιρετικό παράσιτο και αναπτύσσεται τόσο στους διάφορους ξενιστές του, όσο και σαπροφυτικά στα οργανικά υποστρώματα όπως τα φυτικά υπολείμματα.

Στο πρώτο κεφάλαιο της πτυχιακής αναφέρονται τα στοιχεία που παθογόνου μύκητα *B. cinerea*, τα μορφολογικά χαρακτηριστικά και ταξινομική του κατάταξη, καθώς οι συνθήκες ανάπτυξη του.

Στο δεύτερο είναι συγκεντρωμένες όλες οι πληροφορίες που αφορούν την ασθένεια των φυτών γνωστή ως «Τεφρά σήψη» (συμπτώματα, επιδημιολογία, ) και τους παράγοντες που επιδρούν στη εξέλιξη της ασθένειας

Το τρίτο κεφάλαιο είναι αφιερωμένο στα μέσα αντιμετώπισης της ασθένειας. Η καταπολέμηση της ασθένειας είναι αρκετά δύσκολη καθώς ο μύκητας αναπτύσσει εύκολα ανθεκτικότητα στα μυκητοκτόνα. Έτσι τα τελευταία χρόνια οι επιστήμονες έχουν στραφεί σε άλλες μεθόδους καταπολέμησης, όπως είναι η βιολογική και τα καλλιεργητικά μέτρα.

## ABSTRACT

This thesis is a literature review of a very serious disease of plants of the "gray mold" caused by deuteromycetes plant pathogen *Botrytis cinerea*. Also there is a detailed description of the same morphological characteristics of the fungus, which is optional and parasite develops both the different hosts, and saprophytic in organic substrates such as crop residues.

In the first chapter of the dissertation containing the data pathogenic fungus *B. cinerea*, the morphological characteristics and taxonomic classification, as conditions of development.

The second is concentrated all the information relating to plant disease known as "gray mold" (symptoms, epidemiology) and factors affecting disease progression

The third chapter is devoted to the means of dealing with the disease.

Fighting the disease is quite difficult as the fungus develops resistance to fungicides easily. So in recent years, scientists have turned to other methods of control, such as organic farming and measures.



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο *Botrytis cinerea* είναι ένα πολύ σημαντικό παθογόνο των φυτών. Ανήκει στην κατηγορία των Δευτερομυκήτων ή Αδυλομυκήτων Έχει ένα πάρα πολύ μεγάλο εύρος ξενιστών και προσβάλλει πάνω από 250 είδη φυτών. Μπορεί να προσβάλλει όλα τα υπέργεια μέρη του φυτού όπως φύλλα, βλαστούς, άνθη, μπουμπούκια καθώς και καρπούς, βολβούς στους οποίους προκαλεί προ-μετασυλλεκτικές σήψεις. Στη χώρα μας παρατηρείται συνήθως από τέλη Νοέμβρη έως τις αρχές της άνοιξης και θεωρείται ως μάστιγα των θερμοκηπίων.

Η εξέλιξη της ασθένειας συχνά αυξάνεται με ρυθμούς τελείως διαφορετικούς από τους αρχικούς παίρνει δηλαδή τη μορφή επιδημίας. Η φάση αυτή της απότομης αύξησης της ασθένειας μπορεί να διαρκέσει από λίγες μέρες έως μερικές εβδομάδες.

Η επέκταση της ασθένειας με τη μορφή επιδημίας είναι πάρα πολύ επικίνδυνη καθώς μπορεί μέσα σε λίγες μέρες ή εβδομάδες να καταστρέψει την καλλιέργεια. Στη διεθνή βιβλιογραφία ο μύκητας *B. cinerea* αναφέρεται ως το παθογόνο αίτιο που προκαλεί τη λεγομένη <<τεφρά σήψη>> (gray mould) στους ξενιστές του. Για παράδειγμα, στο αμπέλι ο μύκητας προκαλεί μια από τις σοβαρότερες ασθένειες των εναέριων οργάνων, τη σήψη των βοτρώων. Τέτοιες σήψεις μπορεί να μειώσουν δραστικά την παραγωγή κατά τη συγκομιδή καθώς και την ποιότητα του κρασιού, ιδιαίτερα του κόκκινου (Bullit and Dubos, 1988). Παρ όλα αυτά, όταν μετά την προσβολή επικρατήσουν συνθήκες ξηρασίας, με διαδικασίες μερικής αφυδάτωσης, τα σταφύλια γίνονται εν μέρη λιαστά. Η συγκεκριμένη προσβολή είναι γνωστή ως <<ευγενής σήψη>> (noble rot). Τέτοια σταφύλια όταν συγκομίζονται σε ορισμένο στάδιο κατά τη διάρκεια της προσβολής μπορούν να δώσουν αξιόλογα γλυκά κρασιά Ο μύκητας *Botrytis cinerea* Pers. ανήκει στην οικογένεια *Moniliaceae*, των Αδηλομυκήτων ή Ατελών μυκήτων (Deuteromycotina). Όπως όλοι οι ατελείς έτσι και ο εν λόγω μύκητας έχει τέλεια μορφή η οποία είναι η *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetz. της οικογένειας *Heliotiaceae* των Ασκομυκήτων (Ascomycotina).

Η καταπολέμηση της ασθένειας είναι αρκετά δύσκολη καθώς ο μύκητας αναπτύσσει εύκολα ανθεκτικότητα στα μυκητοκτόνα. Έτσι τα τελευταία χρόνια οι επιστήμονες έχουν στραφεί σε άλλες μεθόδους καταπολέμησης, όπως είναι η βιολογική και τα καλλιεργητικά μέτρα.

Στα πλαίσια λοιπόν της βιολογικής καταπολέμησης έχουν μελετηθεί, από πολλούς ερευνητές παγκοσμίως διάφοροι μικροοργανισμοί. Οι έρευνες αυτές συνεχίζονται μέχρι σήμερα με ενθαρρυντικά σε αρκετές περιπτώσεις αποτελέσματα. Σήμερα κυκλοφορεί ευρύτατα στην παγκόσμια αγορά το σκευασία *Trichodex*, με δραστικό μικροοργανισμό το *T. harzianum* T39 για τη καταπολέμηση της τεφράς σήψης στην τομάτα, στο αμπέλι κ.α.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

### ΤΟ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟ ΕΙΔΟΣ ΜΥΚΗΤΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *BOTRYTIS*

#### 1.1 Γενικά χαρακτηριστικά μυκήτων

Το βασίλειο των μυκήτων περιλαμβάνει διάφορα είδη πρακτικού, επιστημονικού και φυτοπαθολογικού ενδιαφέροντος. Μερικά είδη μυκήτων παίζουν πρωταρχικό ρόλο στην αποσύνθεση νεκρών φυτικών υπολειμμάτων και συμβάλλουν στη γονιμότητα του εδάφους. Πολλά είδη μυκήτων δημιουργούν εξειδικευμένες συμβιωτικές σχέσεις με τις ρίζες πολλών ανώτερων φυτών (μυκόριζες). Αλλά είναι και η πιο πολυάριθμη ομάδα παθογόνων που προκαλούν στα καλλιεργήσιμα φυτά ασθένειες από ασήμαντες μέχρι καταστροφικές. Μπορούν να προσβάλλουν οποιοδήποτε μέρος του φυτού, το υπόγειο, το υπέργειο, το εσωτερικό ή το εξωτερικό του.

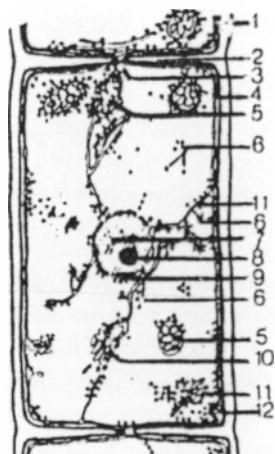
Από άποψη έμβιων όντων παρουσιάζουν πολλές ιδιομορφίες. Π.χ. οι μεμβρανώδεις σχηματισμοί των μυκήτων (η κυττοπλασματική, η πυρηνική, η μεμβράνη των μιτοχονδρίων, το ενδοπλασματικό δίκτυο) χαρακτηρίζονται από την παρουσία εργοστερόλης. Ως τόσο έχουν κυτταρική δομή και ευδιάκριτο πυρήνα, ανήκουν στους ευκαρυωτικούς μικροοργανισμούς. Θεωρούνται ετερότροφοι μικροοργανισμοί, εφόσον στερούνται τις χλωροφύλλες (πίνακας 1).

Πίνακας 1. Μικροσκοπική δομή του κυττάρου του μύκητα.

Τα μέρη του κυττάρου	+ / -	Κύρια χαρακτηριστικά γνωρίσματα των οργανιδίων
Κυτταρικό τοίχωμα	+	Από <u>πολυσακχαρίτες</u> ((β-γλυκάνες, γλυκογόνο, γαλακτοζαμίνη, πολυμερή λακτόζης) διαφορετικούς για κάθε κατηγορία μυκήτων. Το κύριο συστατικό πολλών μυκήτων είναι η <u>χιτίνη</u> σπανίως η κυτταρίνη. Υπάρχουν πρωτεΐνες και λιπίδια.
Πρωτοπλασματική μεμβράνη	+	Περιβάλλει το πρωτόπλασμα και έχει λιποπρωτεϊνική σύσταση.
Κυτταρόπλασμα	+	Στα νεαρά κύτταρα είναι πυκνόρευστο και κοκκώδες, περιέχει οργανίδια, διάφορα λιπίδια, κρύσταλλα οξαλικού ασβεστίου και πρωτεΐνες.
Πυρήνας	+	Περιβάλλεται από διπλή μεμβράνη με πολλούς πυρηνικούς πόρους. Το κύτταρο έχει 1-2 πυρήνες (σπάνια περισσότερους) με ένα, συνήθως, πυρηνίσκο και χρωμοσώματα, τα οποία έχουν συχνά μόνο μία σειρά (μονοπλοειδή) και είναι λίγα και πολύ κοντά.
Χυμοτόπια	+	<u>Οπτικά διαφανείς υδαρείς χώροι</u> . Εμφανίζονται σε ώριμα κύτταρα, συνεχώς μεγαλώνουν σε όγκο πιέζοντας το κυτταρόπλασμα προς τα τοιχώματα και προς το άκρο της υψής που αυξάνει.

Πλαστίδια	-	Οι μύκητες <u>δεν σχηματίζουν άμυλο</u> , είναι <u>ετεροτροφικοί οργανισμοί</u> και, όπως τα ζωικά όντα, αποθησαυρίζουν το <u>γλυκογόνο</u> .
Μιτοχόνδρια	+	Υπάρχουν ένα ή περισσότερα, έχουν διάμετρο 0,5-0,8 μm, είναι κυλινδρικά, καλύπτονται από διπλή μεμβράνη, περικλείουν ριβοσώματα και ένα κυκλικό DNA.
Ριβοσώματα	+	Συμβάλλουν στην πρωτεϊνοσύνθεση, έχουν μέγεθος περίπου 20-80nm, αποτελούνται από πρωτεΐνη και RNA, υπάρχουν ελεύθερα στο κυτόπλασμα ή είναι προσκολλημένα στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Επίσης υπάρχουν στους πυρήνες, στα μιτοχόνδρια.
Μικροσώματα	+	Στα μικροσώματα συμπεριλαμβάνονται τα περοξυσώματα, γλυκοξυσώματα και χυτοσώματα, που συμμετέχουν στην δομή του κυτταρικού τοιχώματος.
Λομάσωμα	+	Χαρακτηριστικό οργανίδιο των μυκήτων. Είναι ένα σύστημα κυστιδίων και μεμβρανοειδών στοιχείων και βρίσκεται μεταξύ της κυτταρικής μεμβράνης και του κυτταρικού τοιχώματος.
Πολυκυστιδικό σωματίο	+	Σύστημα κυστιδικών στοιχείων που αποκόπτονται από την κυτταροπλασματική μεμβράνη.
Ενδοπλασματικό Δίκτυο	+	Σύστημα μεμβρανών που δημιουργεί σωλήνες και σακίδια με διαστάσεις 2-3nm και 2-4nm αντίστοιχα και βοηθάει στη μεταφορά διαφόρων ουσιών.
Συσκευή Golgi (δικτυόσωμα)	+	Συνήθως είναι ένα σύστημα μεμβρανών που δημιουργεί σακίδια, όμως σε πολλούς μύκητες το δικτυόσωμα αποτελείται από ένα μόνο στοιχείο.

Λόγω του μικρού τους μεγέθους εξετάζονται με την βοήθεια του μικροσκοπίου και ανήκουν στους μικροοργανισμούς με κυτταρική δομή (εικόνα 1). Όπως και το φυτικό, το κύτταρο τους περιβάλλεται με κυτταρικό τοίχωμα το οποίο περιέχει χιτίνη (ως κύριο συστατικό), πολυσακχαρίτες και κυτταρίνη ανάλογα με κάθε κατηγορία μυκήτων. Σε αντίθεση με τα φυτικά κύτταρα, οι μύκητες στερούνται τα πλαστίδια, κατά συνέπεια δεν παράγουν άμυλο, είναι ετερότροφοι οργανισμοί και όπως τα ζωικά όντα αποθησαυρίζουν το γλυκογόνο. Έχουν πραγματικό πυρήνα που περιβάλλεται από διπλή μεμβράνη με πολλούς πυρηνικούς πόρους. Το κύτταρο έχει 1 – 2 σπάνια περισσότερους πυρήνες με ένα πυρηνίσκο και χρωμοσώματα, τα οποία έχουν συχνά μόνο μία σειρά (μονοπλοειδή), είναι λίγα και πολύ κοντά.



1. κυτταρικό τοίχωμα
2. εγκάρσιο διάφραγμα (septa)
3. οπή
4. πλασμαλήμα
5. μιτοχόνδρια
6. ριβοσώματα
7. πυρήνας
8. πυρηνίσκος
9. πυρηνική μεμβράνη
10. συσκευή Golgi
11. ενδοπλασματικό δίκτυο
12. λομάσωμα

Εικόνα 1. Αναπαράσταση της μικροσκοπικής δομής του κυττάρου ενός Ασκομύκητα. (Παπαδοπούλου, 2009).

Το σώμα ενός πραγματικού μύκητα λέγεται μυκήλιο και αποτελείται από ένα διακλαδιζόμενο σε μορφή νηματίων (υφές) ευκαρυωτικό κύτταρο (εικόνα 2). Οι υφές πολλών μυκήτων χωρίζονται σε διαμερίσματα με εγκάρσια διαχωριστικά τοιχώματα, τα διαφράγματα (septa). Τα υφικά διαμερίσματα αναφέρονται και σαν κύτταρα. Τα διαφράγματα δεν στεγανοποιούν τα κύτταρα των υφών(εικόνα 3). Τα διαφράγματα είναι δύο ειδών: α) Τα απλά διαφράγματα (simple septa) τα οποία έχουν μια οπή στη μέση, από την οποία παίρνουν ελεύθερα όλα τα οργανίδια από το ένα κύτταρο στο άλλο και β) οι δολιπόροι (dolipore septa) που έχουν μια πολύπλοκη δομή η οποία επιτρέπει το πέρασμα όλων των σωματιδίων από το ένα κύτταρο στο άλλο εκτός από τους πυρήνες.



# iat Doc

## 1.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά του μύκητα *Botrytis cinerea*

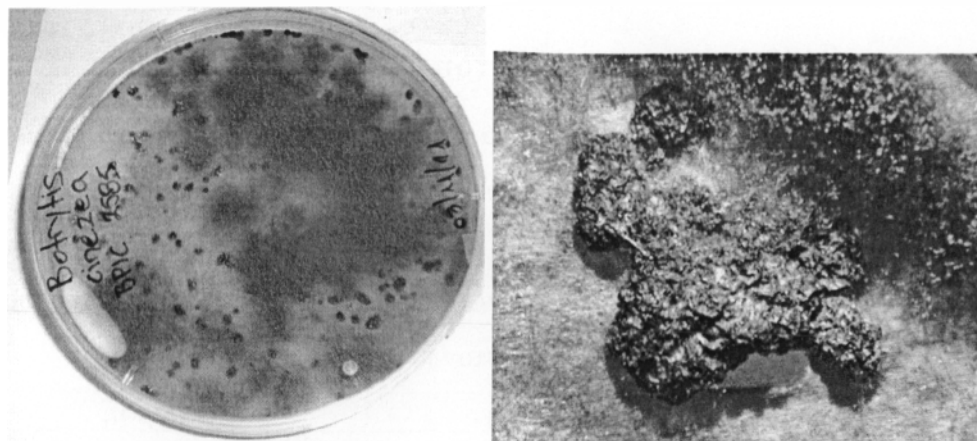
Ο μύκητας *Botrytis cinerea* Pers. ανήκει στην οικογένεια *Moniliaceae*, των Αδηλομυκήτων ή Ατελών μυκήτων (*Deuteromycotina*). Όπως όλοι οι ατελείς έτσι και ο εν λόγω μύκητας έχει τέλεια μορφή η οποία είναι η *Botryotinia fuckeliana* (*de Bary*) *Whetz.* της οικογένειας *Helotiaceae* των Ασκομυκήτων (*Ascomycotina*). Η πλήρης ταξινόμηση του μύκητα φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί

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

Το μυκήλιο του μύκητα με σέπτα απλό ή διακλαδιζόμενο, όταν είναι νεαρό είναι υαλόχροο ενώ το παλιό είναι γκριζο και διογκωμένο κοντά στα septa και σε συνθήκες καλλιέργειας έχει τεφρώδης χρώμα (εικόνα 4).

Οι κονιδιοφόροι έχουν χρώμα τεφρό, είναι επιμήκεις και διακλαδίζονται όπως ο βότρυς. Στην άκρη των διακλαδώσεων σχηματίζονται τα κονίδια. Έτσι το γένος *Botrytis*, οφείλει το όνομα του στην ελληνική λέξη βότρυς, που υποδηλώνει ότι η καρποφορία του έχει τη διάταξη της ταξιανθίας του σταφυλιού.

Τα κονίδια έχουν σχήμα ωσειδές ή σφαιρικό, χρώμα τεφρό ή υαλώδες κι είναι μμονοκύτταρα με διαστάσεις 9,7-11,1 x 7,3-8 μm (Stall 1997). Όταν οι κονιδιοφόροι ωριμάσουν απελευθερώνουν τα κονίδια με απλό τίναγμα, τα οποία ως ξηροσπόρια που είναι, μεταφέρονται σε μεγάλες αποστάσεις με τη βοήθεια του ανέμου ή με σταγόνες νερού.



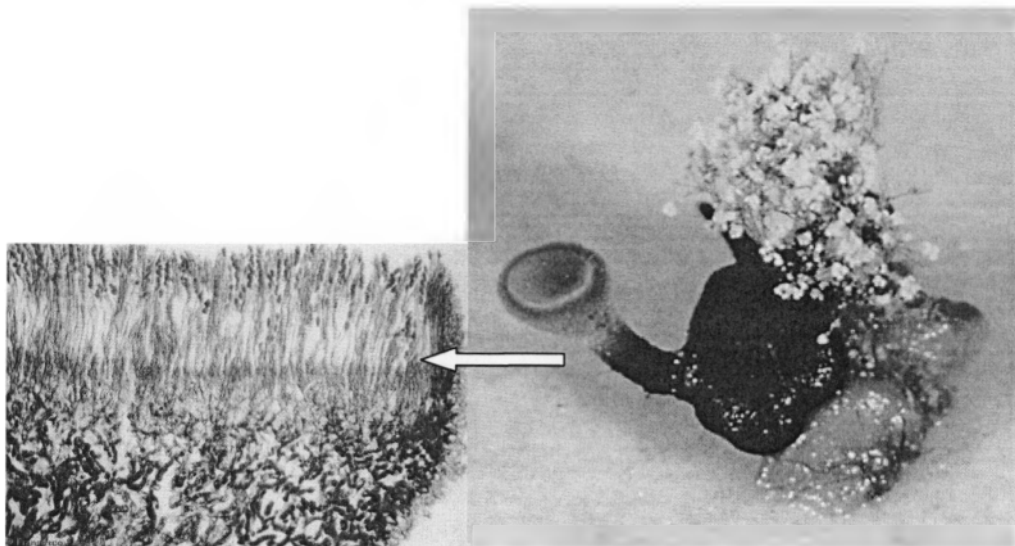
Εικόνα 4. Α- Το μυκήλιο και τα σκληρώτια του μύκητα σε τρυβλίο Petri με PDA. Β – Το σκληρώτιο του μύκητα και κονιδιοφόροι με κονίδια. (προσωπικό αρχείο Μ.Παπαδοπούλου)

Ο *B. cinerea* σχηματίζει πάνω ή μέσα στους ιστούς του ξενιστή, τα σκληρώτια, τα οποία είναι σκληρά, ανθεκτικά σώματα χρώματος καφέ ή μαύρου και σχήματος στρογγυλού ή ακανόνιστου. Το εσωτερικό τους είναι ανοιχτότερου χρώματος και αποτελείται από πυκνή μάζα υφών του μύκητα. Το μέγεθος τους είναι μεγαλύτερο από 3mm στο μήκος, επί το πλείστον 5mm και μέγιστο τα 10mm. Συγκρινόμενα με τα σκληρώτια του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* είναι συνήθως μικρότερα και λεπτότερα.

Τα σκληρώτια κάτω από ευνοϊκές συνθήκες βλαστάνουν και δίνουν μυκήλιο ή κονιδιοφόρους (εικόνα 4. Β ). Πολύ σπάνια όμως κάτω από ειδικές συνθήκες μπορούν να δώσουν τα αποθήκια (εικόνα 5) που είναι εγγενής καρποφορίες του μύκητα. Τα αποθήκια έχουν χρώμα καστανό και σχήμα κυπέλλου με μίσχο. Πάνω σε αυτά υπάρχουν οι ασκοί, οι οποίοι είναι κυλινδρικοί έως ωσειδής, συχνά ανακατεμένοι με παραφύσεις. Τα ασκοσπόρια έχουν σχήμα ωσειδές και ελευθερώνονται βίαια από τους ασκούς.

Άλλο όργανο του μύκητα είναι τα απρεσσόρια τα οποία δημιουργούνται καμιά φορά από τα βλαστάνοντα κονίδια, στην επιφάνεια του φυτού ξενιστή, μετά από ερέθισμα κατά την επαφή των κονιδίων με αυτόν. Όταν η επιφάνεια του ξενιστή είναι μαλακή τότε δεν σχηματίζονται απρεσσόρια. Η μορφή τους ποικίλει από διογκωμένες έως ποδιακλαδωμένακρες των βλαστικών υφών (Verhoeff, 1980). Αυτοί οι σχηματισμοί δημιουργούνται από επαναλαμβανόμενη διχοτομική διακλάδωση των άκρων των υφών.



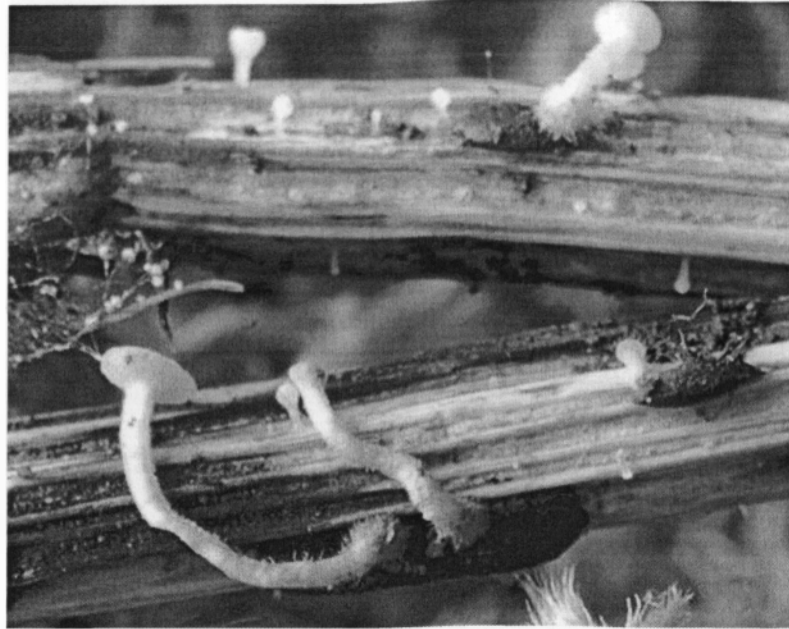


Εικόνα 5. Το σκληρώτιο που βλαστάνει δίνοντας είτε κονίδια είτε αποθήκια (δεξιά). Το αποθήκιο έχει εγγενή σπόρια τα ασκοσπόρια σε ασκούς (αριστερά)

## 1.2 Βιολογία του μύκητα *B. cinerea*

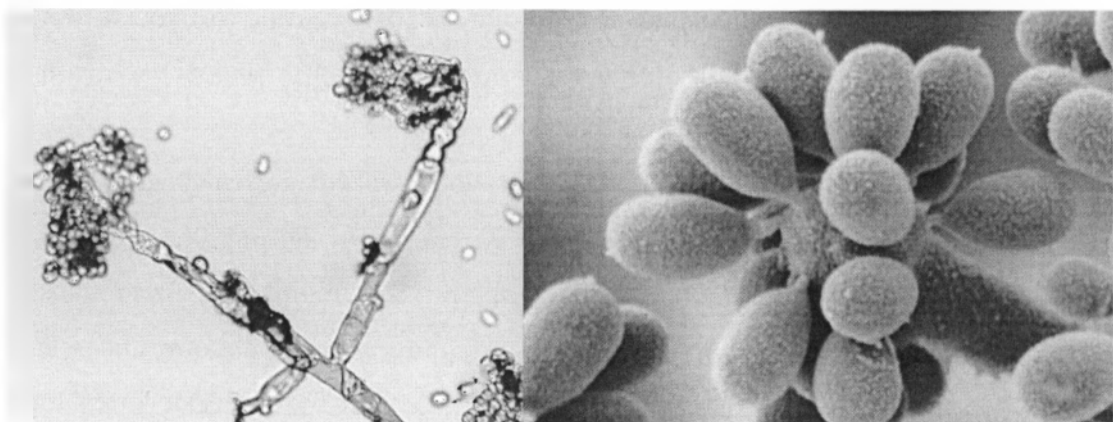
Ο *B. cinerea* είναι ένα νεκροτροφικό φυτοπαθογόνο το οποίο μετά την προσβολή και το θάνατο των ιστών του ξενιστή, μπορεί να αναπτυχθεί και να σποροποιήσει σαν σαπρόφυτο στους νεκρούς ιστούς ή να σχηματίσει μυκηλιακές κατασκευές μακροχρόνιας επιβίωσης. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται μυκηλιακές υφές, μικρο- και μάκρο- κονίδια, γλαυδοσπόρια, σκληρώτια, αποθήκια και ασκοσπόρια (Jarvis, 1980). Αυτές οι δομές επιβίωσης είναι δυνατόν να σχηματίζονται σε ζωντανά φυτά ή σε υπολείμματα φυτικών ιστών που βρίσκονται στο έδαφος και αποτελούν πηγή μόλυσματος. Πρακτικά, κάθε τμήμα του θαλλού του μύκητα μπορεί να λειτουργήσει ως μια δομή επιβίωσης. (Holz et al., 2004).

Όλα τα είδη *Botrytis*, ανάλογα με το στέλεχος και τις συνθήκες ανάπτυξης, σχηματίζουν σκληρώτια τα οποία μπορεί να διαφέρουν σε μέγεθος και σχήμα. Τα σκληρώτια θεωρούνται γενικά οι πιο σημαντικές μυκηλιακές κατασκευές που εμπλέκονται στην επιβίωση του μύκητα. Μπορούν να επιβιώσουν υπό δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες και στην συνέχεια να βλαστήσουν προς μυκήλιο, προς κονιδιοφόρους με κονίδια ή κάτω από κατάλληλες συνθήκες και γονιμοποίηση προς αποθήκια (Beever and Weeds, 2004 Coley-Smith, 1980).



**ΕΙΚΟΝΑ:** Βλάστηση σκληρωτίων του *B. cinerea* προς αποθήκια

Μια άλλη κατασκευή επιβίωσης του *B. cinerea* είναι χλαμυδοσπόρια. Τα χλαμυδοσπόρια σχηματίζονται κατά κανόνα σε γερασμένες καλλιέργειες του μύκητα καθώς και σε καλλιέργειες που επιμολυνθήκαν με άλλους οργανισμούς. Ανάλογα με τις συνθήκες περιβάλλοντος και θρέψης οι δομές αυτές βλαστάνουν δίνοντας υφή διατήρησης, μικροκονίδια ή μακροκονίδια (Holz et al., 2004). Τα χλαμυδοσπόρια μπορούν επομένως να λειτουργήσουν ως δομές βραχυπρόθεσμης επιβίωσης οι οποίες ίσως βοηθούν το μύκητα να ξεπεράσει σύντομες μη ευνοϊκές περιόδους ανάπτυξης (Holz et al., 2004).



**ΕΙΚΟΝΕΣ:** Κονιδιοφόροι με κονίδια του *B. cinerea* όπως φαίνονται από μικροσκόπιο (αριστερά) και από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (δεξιά)

Σε αντίθεση με τα σκληρώτια και τα χλαμυδοσπόρια, τα κονίδια του *B. cinerea* θεωρούνται γενικά ως βραχύβιες δομές πολλαπλασιασμού στον αγρο. Η επιβίωση τους καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία, τη διαθεσιμότητα υγρασίας, τη μικροβιακή δραστηριότητα και την έκθεση στο ηλιακό φως (Holz et al., 2004). Ο σημαντικότερος όμως περιβαλλοντικός παράγοντας που επηρεάζει τη θνησιμότητα των κονιδίων, φαίνεται να είναι η υπεριώδης (UV) ακτινοβολία του ηλιακού φωτός. Πέραν των μακροκονιδίων, στο *B. cinerea* παρατηρείται και παραγωγή μικροκονιδίων τα οποία προσδίδουν μια εναλλακτική μορφή πολλαπλασιασμού του παθογόνου όταν αυτό βρεθεί να αναπτύσσεται σε δυσμενείς συνθήκες. Γενικά τα συναντάμε σε γηρασμένες καλλιέργειες του μύκητα ή σε επιμολυσμένες με άλλους οργανισμούς (Jarvis, 1980).

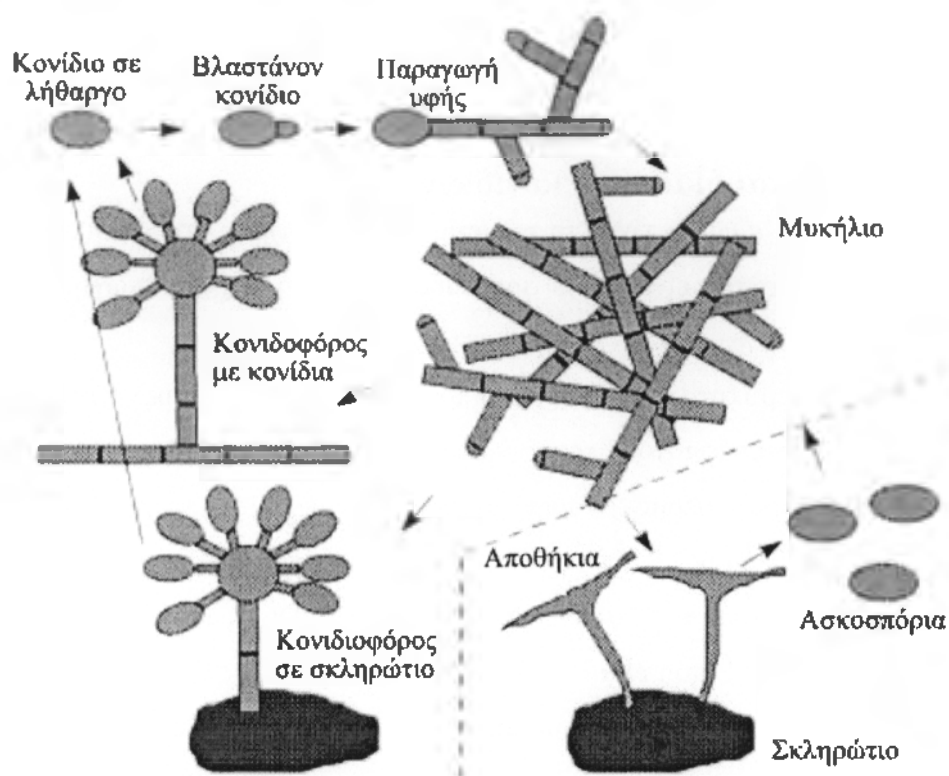
Ο μύκητας *B. cinerea* είναι γνωστό ότι παρουσιάζει έντονη παραλλακτικότητα σε σωματικό, μεταβολικό αλλά και γενετικό επίπεδο (Munoz et al., 2002). Απόγονοι προερχόμενοι από αγνή αναπαραγωγή ατομικών καλλιεργειών του *B. cinerea* είναι μερικές φορές φαινοτυπικά διαφορετικοί (Logenz, 1983). Αυτή η παραλλακτικότητα του μύκητα συχνά αποδίδεται στην πολυκυτταρική και ετεροκαρυωτική φύση των υφών ή των κονιδίων του και στην ανευπλοειδή κατάσταση των πυρήνων του (Buttner et al., 1994). Παρ' όλα αυτά, η εγγενής αναπαραγωγή του μύκητα φαίνεται ότι δεν παίζει σημαντικό ρόλο στην παραλλακτικότητα του *B. cinerea* λόγω του ότι αυτή πολύ σπάνια απαντά στον αγρό (Faretra et al., 1988). Όπως έχει αποδειχθεί ο *B. fuckeliana* είναι ένα είδος βασικά ετεροθαλές με δύο αλληλόμορφα γονίδια (MAT 1-1 και MAT 1-2) να ελέγχουν τον τύπο σύζευξης. Ωστόσο, μερικά στελέχη είναι ετεροκαρυωτικά ως προς τον τύπο σύζευξης περιέχοντας και τα δύο αλληλόμορφα γονίδια με αποτέλεσμα να είναι αυτογόνιμα (δευτερογενώς ομόθαλλα) (Faretra and Pollastro, 1993).

Επιβεβαίωση της σπουδαιότητας της ετεροκαρυώσης στα στελέχη του μύκητα έρχεται από μελέτες του γονιδίου που ελέγχει τον τύπο σύζευξης. Οι Faretra et al. (1988) διαπίστωσαν ότι μονοκονιδιακές απομονώσεις από ομόθαλλες απομονώσεις αγρού είτε παρέμεναν ομόθαλλες (δηλαδή ήταν πιθανώς ετεροκάρυα MAT 1 -1 και MAT 1 -2) ή συμπεριφέρονταν ως ετερόθαλλες (ήταν δηλαδή πιθανώς είτε MAT 1 -1 ή MAT 1 -2 ομοκάρυα). Επίσης μερικές αποδείξεις της ύπαρξης και της σημασίας της ετεροκαρυώσης προκύπτουν από μελέτες ανθεκτικότητας σε μυκητοκτόνα. Βρέθηκε ότι μερικές απομονώσεις του παθογόνου δεν μεταφέρουν πάντα την ανθεκτικότητα

τους στους εγγενείς απογόνους τους ή η ανθεκτικότητα χάνεται από μερικούς αγενείς απογόνους. Αυτό δείχνει ότι οι μητρικές απομονώσεις ήταν ετεροκάρυα μεταξύ ανθεκτικών και ευαίσθητων νουκλεοτύπων (Farettra and Pollastro, 1993, Pollastro et al., 1996).

Όπως προαναφέρθηκε η γενετική παραλλακτικότητα των πληθυσμών του *B. cinerea* είναι ιδιαίτερα υψηλή και οι πληθυσμοί μοιάζουν συχνά με ένα μείγμα διαφορετικών φυλών χωρίς καμία συσχέτιση μεταξύ καταγωγής και ιδιοτήτων των φυλών (Alfonso et al., 2000). Η ύπαρξη ομάδων βλαστικής συμβατότητας παρέχει τη δυνατότητα υποκατηγοριοποίησης (subdividing/sub-structuring) των φυλών του μύκητα. Φυλές οι οποίες φέρουν πανομοιότυπα αλληλόμορφα σε όλους τους γονιδιακούς τύπους είναι ικανές να σχηματίσουν βιώσιμα ετεροκάρυα μεταξύ τους, χαρακτηρίζονται ως βλαστικά συμβατές και είναι μέλη της ίδιας ομάδας βλαστικής συμβατότητας (Vegetative Compatibility Group) (Leslie, 1993). Μέλη της ίδιας ομάδας βλαστικής συμβατότητας μπορούν να υφίστανται συγχώνευση με δυνατότητα μεταφοράς πυρηνικών και κυτοπλασμικών στοιχείων (Korolev et al., 2008). Παρ' όλα αυτά, η βλαστική ασυμβατότητα στους πληθυσμούς του *B. fuckeliana* μπορεί να δρα αποτρεπτικά στο σχηματισμό ετεροκαρύων όπως έχει προταθεί και για άλλους ασκομύκητες (Delcan and Melgarejo, 2002).

Επίσης εξωχρωμοσωμικά στοιχεία πιθανόν να εμπλέκονται στην παραλλακτικότητα και εξέλιξη του παθογόνου. Οι μύκητες γενικά και ο *B. cinerea* ειδικότερα, διαθέτουν μια ποικιλία εξωχρωμοσωμικών γενετικών στοιχείων συμπεριλαμβανόμενων των μιτοχονδρίων, ιών, πλασμιδίων και μεταθετών στοιχείων (Rosewich and Kister, 2000). Πέραν των μιτοχονδρίων, τα υπόλοιπα στοιχεία γενικά θεωρούνται περιττά για το κύτταρο και συμπεριφέρονται ως «εγωιστικά γενετικά στοιχεία». Κάποια από αυτά τα στοιχεία έχουν τη δυνατότητα να ενσωματώνονται στα χρωμοσώματα και ίσως διαδραματίζουν ένα σημαντικό μακροπρόθεσμο ρόλο στην εξέλιξη του παθογόνου. (Kidwell and Lisch, 2001).



ΕΙΚΟΝΑ : Βιολογικός κύκλος του μύκητα *B. cinerea*

### 1.3 Οι συνθήκες ανάπτυξης του παθογόνου

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

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

Τα σπόρια του μύκητα την πρώτη μέρα μετά την παραγωγή τους έχουν βλαστικότητα 100% η οποία σταδιακά μειώνεται για να φτάσει 35 μέρες μετά μόλις το 1% ([www.grofert.com/sw\\_11115.asp](http://www.grofert.com/sw_11115.asp)).

#### 1.4 Παραγωγή και διασπορά κονιδίων

Τα κονίδια του *B. cinerea* είναι το πιο σημαντικό στοιχείο στη διαδικασία της προσβολής κι ως εκ τούτου είναι πολύ σημαντική η μελέτη της παραγωγής και της διασποράς τους.

Τα κονίδια του μύκητα παράγονται από τους κονιδιοφόρους πάνω στους προσβεβλημένους φυτικούς ιστούς του ξενιστή. Η παραγωγή τους μπορεί να λάβει χώρα σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών ακόμη και μέσα σε ψυγείο, με πολύ αργότερους βέβαια ρυθμούς. Κάτι παρόμοιο συμβαίνει και με την ποιότητα του φωτισμού που καθοριστικά την παραγωγή των κονιδίων. Όμως κονίδια παράγονται ακόμη και στο σκοτάδι. (Epton *et al.*, 1980; Jarvis, 1980). Τέλος η παρουσία λεπτού στρώματος νερού πάνω σε έναν καλυμμένο από μυκήλιο ιστό, παρεμποδίζει την παραγωγή κονιδίων.

Τα κονίδια του *B. cinerea* ως ξηροσπόρια που είναι μεταφέρονται και διασπείρονται σε μεγάλες αποστάσεις με τη βοήθεια του ανέμου. Σε μικρότερες αποστάσεις διασπείρονται με τα σταγονίδια του νερού. Η απελευθέρωση των κονιδίων λαμβάνει χώρα όταν μειωθεί απότομα η σχετική υγρασία του αέρα (Jarvis, 1980).

#### 1.5 Επιβίωση παθογόνου

Η επιβίωση του *B. cinerea* επηρεάζεται πάρα πολύ από την θερμοκρασία και λιγότερο από άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η υγρασία.

Στην Κεντρική Ευρώπη που το κλίμα είναι ψυχρό και υγρό, ο μύκητας είναι ενεργός το καλοκαίρι σε αμπελώνες και θερμοκήπια και το χειμώνα σε θερμαινόμενα θερμοκήπια αφού περιοριστικός παράγοντας σε αυτές τις συνθήκες είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες κυρίως του χειμώνα.

Σε περιοχές με Μεσογειακό κλίμα, όπως η χώρα μας, όπου τα καλοκαίρια είναι θερμά και ξηρά ο μύκητας αναπτύσσεται το χειμώνα σε μη θερμαινόμενα θερμοκήπια και το φθινόπωρο σε αμπελώνες (Yunis *et al.*, 1989).

Σε αυτές τις συνθήκες ο μύκητας επιβιώνει σε φυτικά υπολείμματα και η σε προσβεβλημένους βλαστούς ξενιστών του. Η θέση αυτή αποτελεί την καλύτερη

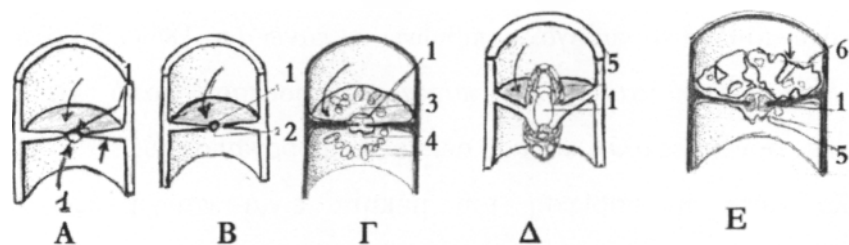
οικολογικά λόγω του ότι το παθογόνο επιβιώνει σε πάνω από 18% είδη βλαστών των οποίων οι εσωτερικοί ιστοί ίσως παρέχουν προστασία από τις δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες αλλά και από άλλους μικροοργανισμούς.

Παρ' όλα αυτά η επιβίωση του μύκητα είναι φτωχή έξω από τους προσβεβλημένους ιστούς ή σε καρπούς και άνθη καθώς σε αυτήν την περίπτωση τα κονίδια βρίσκονται στην επιφάνεια των νεκρών φυτικών υλικών εκτεθειμένα στις περιβαλλοντικές συνθήκες. Οι Coley & Smith (1980) βρήκαν ότι ακόμη και στις λιγότερο δυσμενείς συνθήκες τα κονίδια δεν επέζησαν πάνω από 53 ημέρες. Ένας άλλος τρόπος επιβίωσης του παθογόνου το καλοκαίρι είναι η αλλαγή ξενιστή καθώς ο *B. cinerea* έχει απομονωθεί από διάφορες ευαίσθητες καλλιέργειες και ζιζάνια ενώ περιστασιακά εμφανίζεται και σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τριανταφυλλιάς ή άλλων γλαστρικών φυτών, κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. Στις περιπτώσεις αυτές υπάρχουν οριακές συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας στις οποίες το παθογόνο μπορεί να αναπτυχθεί.

Βέβαια και τα διάφορα στελέχη του μύκητα παρουσιάζουν διαφορετική ικανότητα επιβίωσης το καλοκαίρι. Αυτό διαπιστώθηκε σε έρευνα των Raposo *et al.* (2000). Οι εν λόγω ερευνητές διαπίστωσαν ότι το μυκήλιο στελεχών του *B. cinerea*, που ήταν ανθεκτικές στα δικαρβοξυμιδικά μυκητοκτόνα, ήταν πιο ανθεκτικό στην επιβίωση το καλοκαίρι, όταν εκτέθηκαν για 110 ημέρες σε συνθήκες εκτός θερμοκηπίου.

Η επιβίωση του παθογόνου με τη μορφή σκληρωτίων, για το Μεσογειακό κλίμα, είναι άνευ σημασίας αφού δεν μπορούν να επιβιώσουν σε ξηρές συνθήκες και υψηλές θερμοκρασίες. Εκτός αυτού τα σκληρώτια εμφανίζονται σπάνια σε προσβεβλημένα από το μύκητα φυτά και δεν παράγονται ποτέ το καλοκαίρι (Yunis *et al.*, 1989).

Στους κατώτερους μυκηλιακούς μύκητες το μύκηλιο δεν έχει διαφράγματα και το κυτταρόπλασμα ρέει ελεύθερα και ανεμπόδιστα στις υφές και μαζί του όλα τα οργανίδια. Ένα τέτοιο μυκήλιο λέγεται κοινόκυττο (coenocytic ή non-septate). (Χριστιάς, 1999).



Εικόνα 3. Η δομή των διαφραγμάτων (septa). Α, Β, Γ - Απλά Δ, Ε – Δολιπόροι σέπτα. (Μ.Παπαδοπούλου 2009)

Ένας νέος οργανισμός (θαλλός) αρχίζει με τη βλάστηση ενός σπορίου. Ο βλαστικός σωλήνας σύντομα αρχίζει να διακλαδίζεται έτσι ώστε η ανάπτυξη προχωρά σε όλες τις κατευθύνσεις.

Οι μύκητες δεν έχουν εξειδικευμένα αναπαραγωγικά όργανα. Ωστόσο κατέχουν ειδικούς μηχανισμούς με τους οποίους φτιάχνουν όμοιες με τον εαυτό τους μορφές, εξασφαλίζοντας έτσι τη ζωή και τη διαίωσιση του είδους τους. Πρόκειται για τα φαινόμενα του πολλαπλασιασμού και της αναπαραγωγής.

Στους μύκητες διακρίνονται και τα δύο είδη αναπαραγωγής, η εγγενής και η αγενής. Κατά την αγενή και εγγενή αναπαραγωγή σχηματίζονται τα λεγόμενα σπόρια. Τα σπόρια αυτά διαφέρουν σημαντικά από τα σπέρματα των φυτών με το ότι είναι πάντα απλοειδής και δεν έχουν προσχηματισμένο έμβρυο.

Τα αγενή σπόρια διαμορφώνονται από ένα οποιοδήποτε τμήμα μυκηλίου ενός μόνο οργανισμού, ενώ τα εγγενή σπόρια σχηματίζονται μετά από την ένωση δύο πυρήνων διαφορετικού συζευκτικού τύπου (γαμετών).

Κάθε χρόνο οι μύκητες έχουν πολλούς κύκλους αγενών σπορίων (κονιδίων) τα, οποία έχουν μεγάλη σημασία για την αύξηση του πληθυσμού τους και τη διασπορά τους. Από την άλλη μεριά, τα εγγενή σπόρια συνήθως υπηρετούν τις ανάγκες επιβίωσης των μυκήτων σε αντίξοες συνθήκες.

Στους περισσότερους μύκητες τα αναπαραγωγικά όργανα σχηματίζονται από ένα τμήμα του αναπτυγμένου θαλλού. Στους μύκητες αυτούς που λέγονται ευκαρπικοί, το βλαστικό και το αναπαραγωγικό στάδιο συνυπάρχουν στον ίδιο χρόνο και το ίδιο άτομο. Σε άλλες περιπτώσεις οι μύκητες κατά την αναπαραγωγή τους μετατρέπουν ολόκληρο θαλλό σε ένα ή περισσότερα αναπαραγωγικά στοιχεία και λέγονται ολοκαρπικοί. Εδώ υπάρχει πλήρης διαχωρισμός μεταξύ της βλαστικής και της αναπαραγωγικής φάσης του βιολογικού κύκλου του μύκητα.



Τα αγενή σπόρια παράγονται από ειδικές υφές του μυκηλίου. Όλα σχεδόν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους εμφανίζουν μεγάλη ποικιλομορφία από είδος σε είδος και χρησιμοποιούνται στην ταξινόμηση των μυκήτων, στην αναγνώρισή τους και στη διαγνωστική των ασθενειών.

Με βάση τη διαδικασία παραγωγής τους, τα αγενή σπόρια χωρίζονται σε δύο τύπους: α) τα σποριαγγειοσπόρια και β) τα κονίδια.

Το χαρακτηριστικό γνώρισμα των κονιδίων είναι ότι παράγονται κατευθείαν από τα άκρα ειδικών βραχιόνων του μυκηλίου, των κονιδιοφόρων. Σε μερικά είδη μυκήτων τα κονίδια μόνο σχηματίζονται στο εσωτερικό των κονιδιοφόρων και ονομάζονται ενδοκονίδια. Είναι πάντα εφήμερα με λεπτά κυτταρικά τοιχώματα και, όπως οι κονιδιοφόροι, έχουν ποικίλα σχήματα.

Σύμφωνα με τα τελευταία φυλογενετικά δεδομένα, οι μύκητες περιλαμβάνονται από το 1983 πλέον στο ξεχωριστό βασίλειο, το βασίλειο των μυκήτων (Regnum Fungi) Στραμενόπιλων, ή και σε τέσσερα διαφορετικά φύλλα του βασιλείου των Πρωτίστων. Αναλυτικότερα, το βασίλειο Μύκητες αποτελείται από 4 φύλλα: *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*. Το βασίλειο Στραμενόπιλα περιλαμβάνει μεταξύ άλλων τα φύλλα: *Oomycota*, *Hyphochytriomycota* και *Labyrinthulomycota*, που προγενέστερα εξετάζονταν ως μύκητες. Επίσης, το βασίλειο των Πρωτίστων αποτελούν τα παρακάτω 4 φύλλα: *Myxomycota*, *Dictyosteliomycota*, *Acrasiomycota* και *Piasmodiophoromycota*. (Ζερβάκης, 1998).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΠΡΟ- ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΒΟΛΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΜΥΚΗΤΑ *B. cinerea*

### 2.1. Εύρος ξενιστών

Έχει ένα πάρα πολύ μεγάλο εύρος ξενιστών και προσβάλλει πάνω από 250 είδη φυτών. Μπορεί να προσβάλλει όλα τα υπέργεια μέρη του φυτού όπως φύλλα, βλαστούς, άνθη, μπουμπούκια καθώς και καρπούς, βολβούς στους οποίους προκαλεί προ-μετασυλλεκτικές σήψεις.

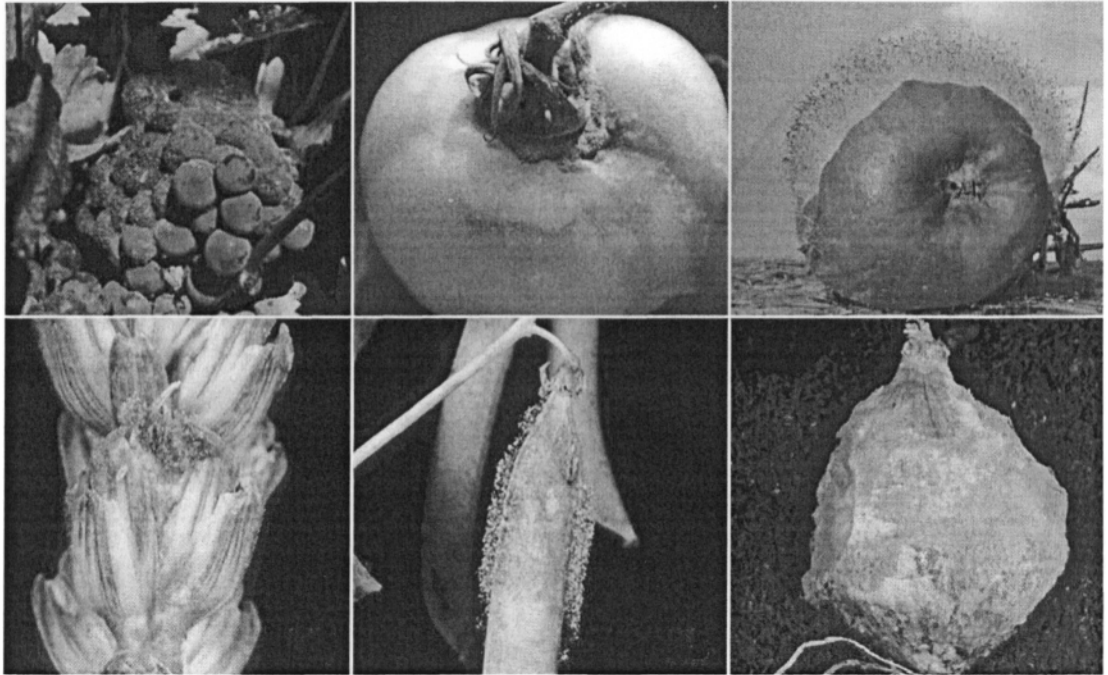
Στον πίνακα 2 που ακολουθεί αναφέρονται τα φυτά και τα αντίστοιχα φυτικά μέρη του καθενός που προσβάλλει ο μύκητας

Πίνακας 2. Τα φυτά που προσβάλλονται από το μύκητα *B. cinerea*

Κηλίδωση ή μάρανση των φύλλων	Νέκρωση ή μάρανση βλαστών	Κατάρρευση ή μαρανση ανθέων	Σήψη καρπών ή βολβών
Αντίδι	Ορτανσία	Ανεμόνα	Αμπέλι
Βιολέτα	Πανσές	Γεράνι	Βατόμουρο
Γαρυφαλιά	Παντζάρι	Καλέντουλα	Κολοκυνθοειδή
Γεράνι	Πατάτα	Μυρτιά	Κρεμμύδι
Γογγύλι	Πεονία	Πεονία	Μελιτζάνα
Κολοκυνθοειδή	Πιπεριά	Ρείκι	Μήλοειδη
Κρασιά	Ραδίκι	Σκυλάκι	Μπανάνα
Κρεμμύδι	Σταυρανθή	Σπαράγγι	Πιπεριά
Λάχανο	Τομάτα	Τομάτα	Πυρηνόκαρπα
Μαρούλι	Τουλίπα	Τουλίπα	Τομάτα
Μελιτζάνα		Τριανταφυλλιά	Τουλίπα
Μπιγκόνια		Φούξια	Φασόλι
Μυρτιά		Χρυσάνθεμο	Φράουλα

Μέχρι και τα τέλη του 20<sup>ου</sup> αιώνα ήταν γενικά παραδεκτό ότι ο μύκητας *B. cinerea* δεν παρουσίαζε εξειδίκευση ως προς τους ξενιστές του, λόγω του γεγονότος ότι ήταν δυνατόν να απομονωθεί από διάφορα φυτά στη φύση, ενώ η μόλυνση μπορούσε να αναπαραχθεί στο εργαστήριο πάνω σε ένα ευρύ φάσμα ξενιστών (Jarvis, 1980). Οι αναφορές σε σωματική, μεταβολική και γενετική παραλλακτικότητα του μύκητα αποδιδόταν στην ετεροκαρύωση και ανευπλοειδία (Munoz et al., 2002).

Επίσης ήταν παραδεκτό ότι η εγγενής αναπαραγωγή δεν επηρέαζε, σε μεγάλο βαθμό, την παραλλακτικότητα του παθογόνου εξαιτίας του γεγονότος ότι η εγγενής φάση σπάνια παρατηρείται στη φύση (Jarvis, 1980).



**ΕΙΚΟΝΕΣ:** Ανάπτυξη προσβολής του μύκητα *B. cinerea* σε διάφορους ξενιστές (σταφύλι, καρπό τομάτας, μήλο, στάχυ σιταριού, λοβό μπιζελιού, βολβό κρεμμυδιού) (πυγή)

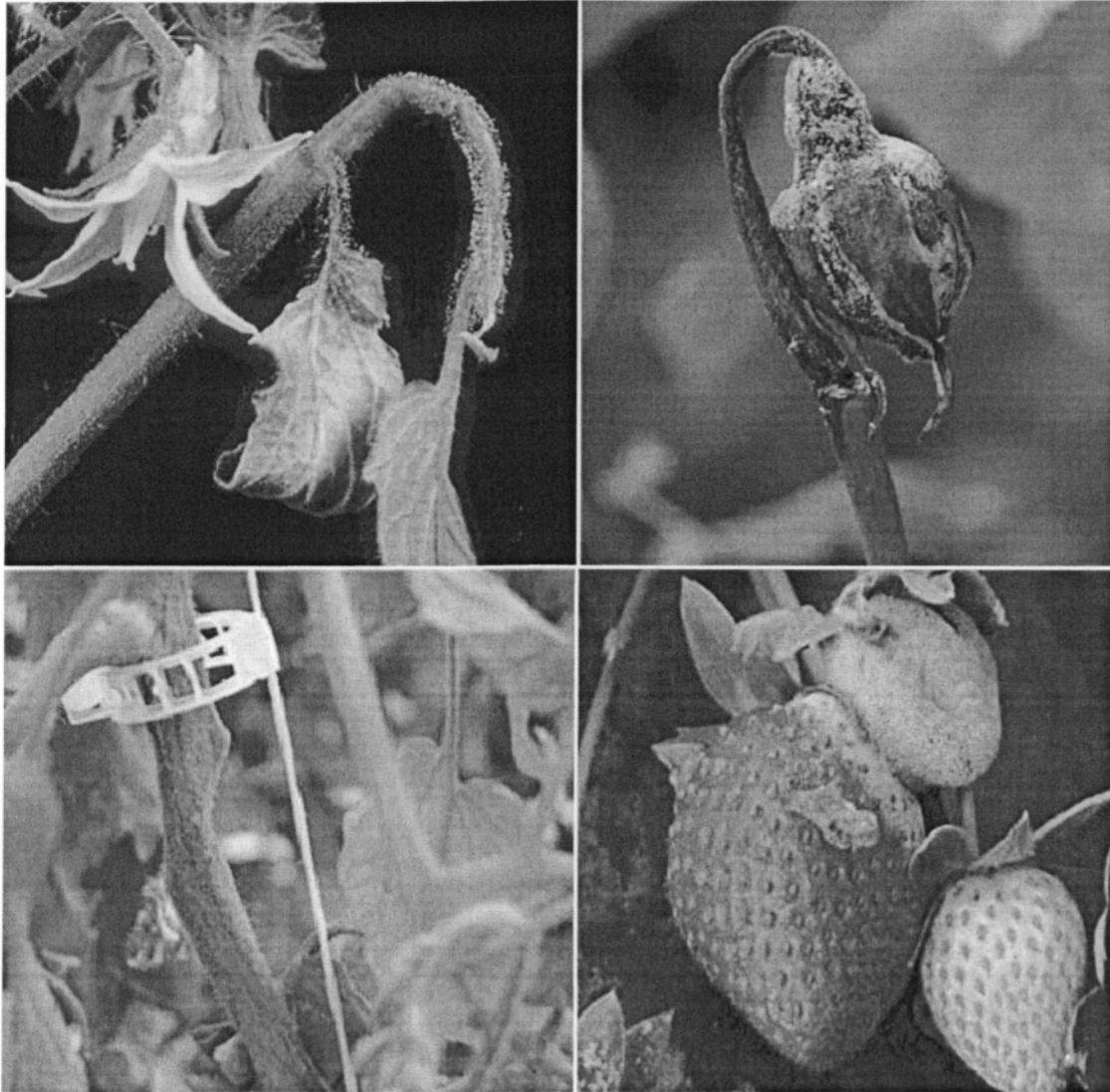
Παρ όλα αυτά, νεότερες μελέτες γενετικής των πληθυσμών του μύκητα απεκάλυψαν ότι ο *B. cinerea* πιθανώς αποτελείται από ένα σύμπλεγμα συνυπαρχόντων ειδών, με περιορισμένη ροή γονιδίων μεταξύ διαφορετικών απόκρυφων γενετικών ομάδων (Fournier and Giraud, 2008).

Σε αντίθεση με τα άλλα είδη του γένους *Botrytis*, ο *B. cinerea* παρουσιάζει ένα πολύ μεγάλο εύρος ξενιστών και παγκόσμια διάδοση σε όλες τις κλιματικές περιοχές του πλανήτη. Είδη του γένους *Botrytis* παρουσιάζονται οπουδήποτε αναπτύσσονται οι ξενιστές τους, από τροπικές και υποτροπικές περιοχές μέχρι πολικές (Elad et al., 2004). Είναι ιδιαίτερα ενεργό παθογόνο σε ενδιάμεσες θερμοκρασίες, παρ όλα αυτά, η ικανότητα του μύκητα να είναι ενεργός σε θερμοκρασίες τόσο χαμηλές όσο οι 0°C (Brooks and Cooley, 1917) τον καθιστά ένα σημαντικό παθογόνο αποθηκευμένων προϊόντων.

Το εύρος των ξενιστών του *Botrytis cinerea* περιλαμβάνει 235 είδη τα οποία ανήκουν σε διαφορές οικογένειες (Jarvis, 1977). Ο *B. cinerea*, όπως και άλλα είδη

του ιδίου γένους, αποτελεί σημαντικό παθογόνο σπορίων, καλλωπιστικών, λαχανοκομικών και βιομηχανικών φυτών καθώς και καρπών οπωροφόρων δένδρων κατά της φύσης αποθήκευσης – συντήρησης και μεταφοράς τους (Elad et al., 2004). Οι προσβολές εκδηλώνονται κατεξοχήν στα υπέργεια όργανα των φυτών όπως φύλλα, άνθη, οφθαλμούς, στελέχη και καρπούς με τη μορφή σήψης. Πέραν αυτών προσβολές του μύκητα έχουν αναφερθεί και σε βολβούς, σπόρους καθώς και σε άλλα είδη πολλαπλασιαστικού υλικού όπου επίσης προκαλεί σημαντικές απώλειες (Elad et al., 2004).

Στη διεθνή βιβλιογραφία ο μύκητας *B. cinerea* αναφέρεται ως το παθογόνο αίτιο που προκαλεί τη λεγομένη <<τεφρά σήψη>> (gray mould) στους ξενιστές του. Για παράδειγμα, στο αμπέλι ο μύκητας προκαλεί μια από τις σοβαρότερες ασθένειες των εναέριων οργάνων, τη σήψη των βοτρέων. Τέτοιες σήψεις μπορεί να μειώσουν δραστικά την παραγωγή κατά τη συγκομιδή καθώς και την ποιότητα του κρασιού, ιδιαίτερα του κόκκινου (Bullit and Dubos, 1988). Παρ όλα αυτά, όταν μετά την προσβολή επικρατήσουν συνθήκες ξηρασίας, με διαδικασίες μερικής αφυδάτωσης, τα σταφύλια γίνονται εν μέρη λιαστά. Η συγκεκριμένη προσβολή είναι γνωστή ως <<ευγενής σήψη>> (noble rot). Τέτοια σταφύλια όταν συγκομίζονται σε ορισμένο στάδιο κατά τη διάρκεια της προσβολής μπορούν να δώσουν αξιόλογα γλυκά κρασιά (Vaczy et al., 2010).



**ΕΙΚΟΝΕΣ:** ανάπτυξη προσβολής τεφράς σήψης σε φύλλα τομάτας (1), σε ανθοφόρο οφθαλμό τριανταφυλλιάς (2), σε βλαστό τομάτας (3), σε καρπούς φράουλας (4) (πηγή )

## 2.2. Συμπτώματα

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

Η προσβολή μπορεί να εκδηλωθεί από τα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυτών με τη μορφή τήξεως των σπορειών. Όμως συχνότερα εμφανίζεται σε ανεπτυγμένα φυτά, ιδίως δε αν αυτά έχουν εξασθενημένους ή ξηρούς ιστούς. Ιδιαίτερα ευαίσθητοι είναι οι καρποί, τους οποίους μπορεί να προσβάλει προσυλλεκτικά ή

μετασυλλεκτικά, με αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής και την υποβάθμιση της ποιότητας. Οι μολύνσεις ξεκινούν συνήθως από τα άνθη και σταδιακά επεκτείνονται στους καρπούς, τα φύλλα και τα στελέχη.

Στη τομάτα σε μη θερμαινόμενα θερμοκήπια προσβάλλει άνθη, καρπούς, φύλλα και στελέχη με τη μορφή σήψης (Elad and Yunis, 1993), ενώ σε θερμαινόμενα θερμοκήπια οι προσβολές του *Botrytis* περιορίζονται στα στελέχη (Elad et al., 1995).

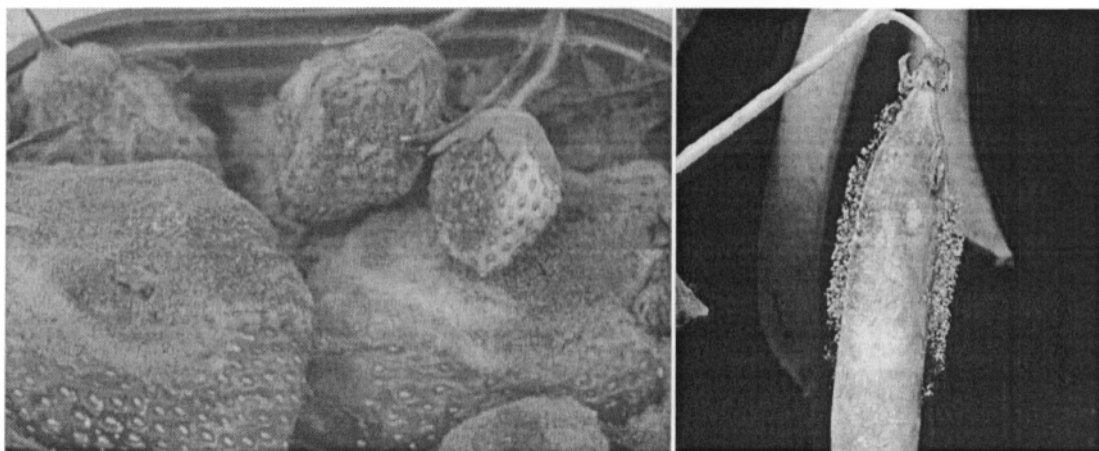
Αντίστοιχη είναι η συμπτωματολογία της ασθένειας και στις υπόλοιπες καλλιέργειες λαχανικών θερμοκηπίου. Ενώ σε θερμαινόμενα θερμοκήπια οι μολύνσεις περιορίζονται σε γερασμένα φύλλα και πληγωμένους ιστούς σε μη θερμαινόμενα θερμοκήπια με καλλιέργειες για παράδειγμα αγγουριών και πιπεριάς παρατηρούνται σήψεις καρπών (Yunis et al. 1994; Elad and Shtienberg, 1995). Η τεφρά σήψη αποτελεί μια εξαιρετικά σημαντική ασθένεια και για την καλλιέργεια της φράουλας στην οποία κυρίως προκαλεί προσυλλεκτικές ή μετασυλλεκτικές σήψεις καρπών (Boff et al., 2001). Στα δρεπτά άνθη όπως για παράδειγμα τα τριαντάφυλλα και η ζέρμπερα είναι επίσης πολύ καταστρεπτική. Στα θερμαινόμενα θερμοκήπια οι προσβολές ανθέων κατά την περίοδο της παραγωγής σπανίζουν. Παρ όλα αυτά, κονίδια που υπάρχουν στα φυτά και λανθάνουσες μολύνσεις προκαλούν ορατά συμπτώματα μετασυλλεκτικά κατά την αποθήκευση σε ψυγεία (Dik and Wubben, 2004).



**ΕΙΚΟΝΕΣ:** Σήψη σε καρπούς ντομάτας και πιπεριάς

Πέραν των προσβολών και τη μείωση της παραγωγής που προκαλεί σε σποροφόρα, λαχανικά και καλλωπιστικά φυτά, ο *Botrytis cinerea* ευθύνεται και για σημαντικές προσβολές και απώλειες στα ψυχανθή. Στα ρεβίθια προκαλεί σήψη σε

φύλλα, στελέχη και λοβούς τα οποία καλύπτονται με την τεφρή επάνθηση του παθογόνου (Haware, 1998). Ο ίδιος ο μύκητας οφείλεται και για την τήξη σποροφύτων φακής (Morrall et al., 1994) και ρεβιθιού (Burgess et al., 1997) μετά από σπορομετάδοση. Σε τέτοιες καλλιέργειες τα συμπτώματα εμφανίζονται διάσπαρτα στον αγρό και υπό ευνοϊκές συνθήκες εξαπλώνονται ραγδαία. Αρκετά είδη του γένους *Botrytis* μεταξύ των οποίων και ο *B. cinerea* προσβάλλουν και φυτά της οικογένειας Λειριωδών. Για παράδειγμα στα κρεμμύδια ο *Botrytis* ευθύνεται για την καστανή κηλίδωση των εξωτερικών χειτώνων του βολβού (Clark and Lorbeer 1973).



**ΕΙΚΟΝΕΣ:** εμφάνιση μετασυλλεκτικής σήψης σε καρπούς φράουλας και προσυλλεκτική σήψη σε λοβό μιτζελιού

### 2.3. Επιδημιολογία

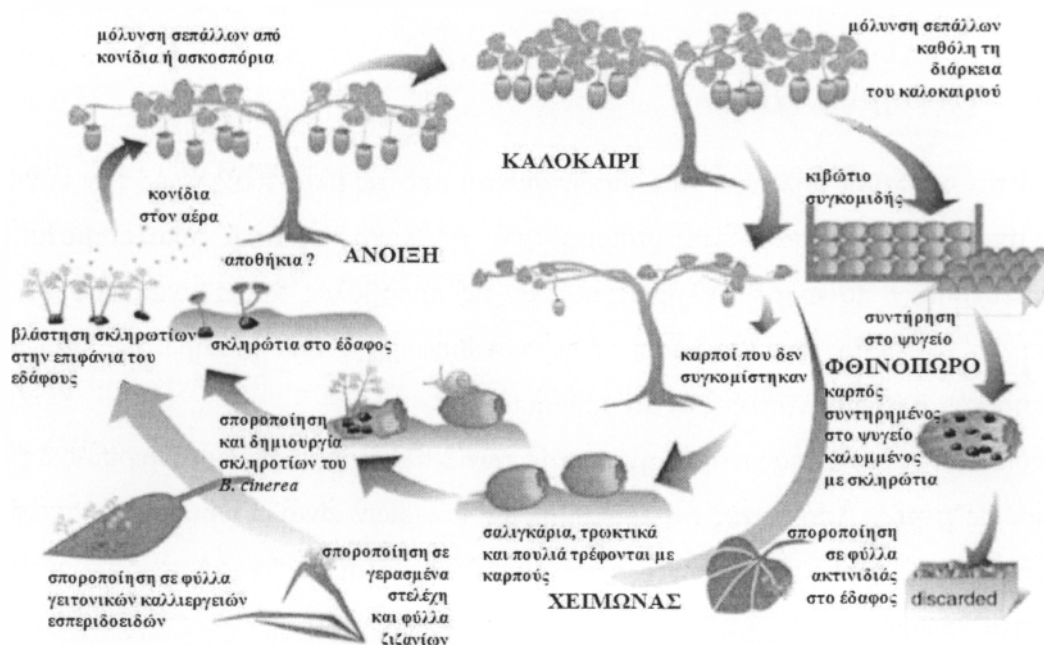
Έτσι η αρχική μόλυνση των φυτών γίνεται από τις βλαστικές υφές των κονιδίων τα οποία διαχειμάσαν είτε σαπροφυτικά σε νεκρά φυτικά υπολείμματα είτε αναπτύχθηκαν πάνω σε σκληρώτια. Από τις προσβολές αυτές αναπτύσσεται νέο μυκήλιο το οποίο είτε θα δώσει νέους κονιδιοφόρους είτε σκληρώτια. Πάνω στα σκληρώτια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

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

Το μόλυσμα του *B. cinerea* θεωρείται γενικά ότι υπάρχει συνεχώς στο περιβάλλον του αγρού και ότι η παραγωγή, απελευθέρωση και διασπορά του είναι μια συνεχής διαδικασία (Jarvis, 1980). Ο μύκητας *B. cinerea* μπορεί να διαχειμάσει ως μυκήλιο σε

νεκρό ή ζωντανό φυτικό υλικό ή ως σκληρώτια σε φυτικά υπολείμματα στην επιφάνεια του εδάφους ή θαμμένα στο έδαφος (Strameng et al. 2009). Από αυτές τις μορφές διαχείμασης θα προκύψουν αργά το χειμώνα και νωρίς την άνοιξη κονιδιοφόροι με κονίδια τα οποία θα αποτελέσουν το αρχικό μόλυσμα στον αγρό.

Οι Strameng et al. (2009) σε πρόσφατη εργασία τους απέδειξαν ότι στη Νορβηγία τα υπολείμματα των φυτών φράουλας είναι η πιο σημαντική πηγή κονιδίων την άνοιξη και έτσι, τα μέτρα ελέγχου της ασθένειας πρέπει να στοχεύουν σε αυτά τα υλικά. Σε αμπελώνες της Καλιφόρνιας η παραγωγή κονιδίων αρχίζει από σκληρώτια και μυκήλιο τα οποία διατηρούνται σε βότρες που παρέμειναν στις κληματίδες καθώς και σε μίσχους φύλλων και ελάσματα που βρίσκονται στο έδαφος του αμπελώνα (Elmer and Michailides, 2004). Παρόμοιες πηγές μόλυσματος εντοπίζονται και σε οπωρώνες ακτινιδίων όπου παρατηρείται άφθονη σποροποίηση σε γηρασμένα φύλλα ζιζανίων, σε νεκρά φύλλα και υπολείμματα καρπών στο έδαφος και σπανιότερα σε υπολείμματα ανθικών ιστών αρσενικών δένδρων (Michailides and Elmer, 2000). Πέραν των φυτικών υπολειμμάτων, πηγή μόλυσματος δύναται να αποτελέσουν και μολυσμένοι σπόροι σε ορισμένες καλλιέργειες. Σε σπόρους ρεβιθιού για παράδειγμα, ο *B. cinerea* βρέθηκε να επιβιώνει για τουλάχιστον 5 χρόνια (Grewal and Laha, 1983).



ΕΙΚΟΝΑ : Βιολογικός κύκλος του μύκητα *B. cinerea* σε καλλιέργεια ακτινιδίου



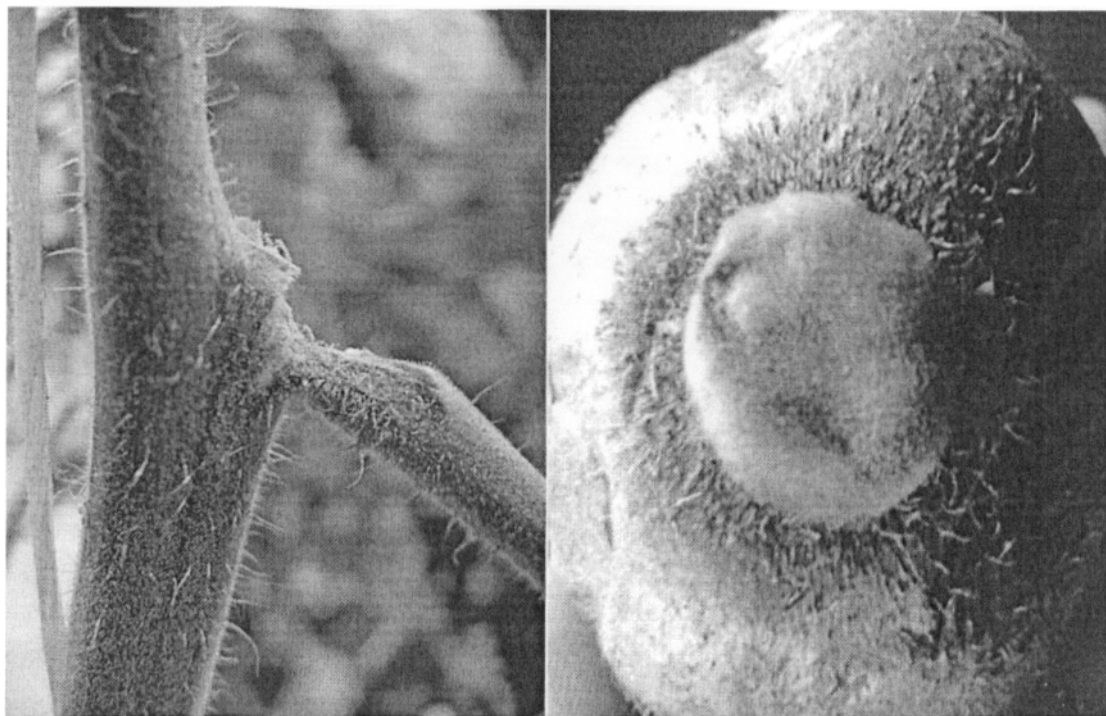
Για να επιτύχει το παθογόνο μόλυνση, πρέπει να μετακινηθεί από την αρχική πηγή σε ευαίσθητο προς μόλυνση ιστό. Κάθε τμήμα του θαλλού του μύκητα (μυκήλιο, κονίδια, χλαμυδοσπόρια, σκληρώτια και ασκοσπόρια) δύναται να λειτουργήσει ως μονάδα διασποράς και μόλυνσης. Οι προαναφερθείσες μολυσματικές μονάδες του παθογόνου διασπείρονται με τον άνεμο, τη βροχή και τα έντομα. Ωστόσο, τα αερομεταφερόμενα κονίδια θεωρούνται γενικώς η πιο σημαντική μολυσματική μονάδα του *B. cinerea*. Πέραν όμως του ανέμου και η βροχή έχει συσχετιστεί με υψηλές συγκεντρώσεις αερομεταφερόμενων κονιδίων καθώς επηρεάζει την ελευθέρωσή τους. Φαίνεται ότι οι σταγόνες βροχής χτυπώντας στους προσβεβλημένους φυτικούς ιστούς απελευθερώνουν ξηρά κονίδια τα οποία στη συνέχεια μπορούν να μεταφερθούν με τα σταγονίδια (Jarvis, 1962). Επίσης, ως φορείς του παθογόνου αναφέρονται και αρκετά έντομα τα οποία κυρίως με την τροφική τους δραστηριότητα προσλαμβάνουν και μεταφέρουν τμήματα θαλλού του μύκητα. Σε διάφορες εργασίες υποστηρίζεται ότι κονίδια του μύκητα δύναται να παγιδευτούν στην επιδερμίδα, σωματικές τρίχες και ανάγλυφες περιοχές του σώματος διαφόρων εντόμων που σχετίζονται με ξενιστές του *B. cinerea*. Τέτοια έντομα είναι η Ευδεμίδα της αμπέλου, *Lobesia botrana* (Ferland and Le Menn, 1989), ο θρίπας *Thrips obscuratus* (Schmidt et al., 2007) και η μύγα της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Engelbrecht, 2002). Ειδικότερα, η μύγα της Μεσογείου φαίνεται να έχει την τάση να τρέφεται σε λιωμένους ιστούς καρπών με αποικίες του *B. cinerea*, κάτι που κάνει το έντομο ένα ιδανικό φορέα του παθογόνου (Holz et al., 2004). Επίσης, οι Louis et al. (1996), απέδειξαν ότι κονίδια του μύκητα που προσλαμβάνονται από τη *Drosophila melanogaster* βλαστάνουν στο πρόσθιο έντερο του εντόμου και αναπτύσσονται σε μυκήλιο. Το τελευταίο διαφοροποιείται σε μικροσκληρώτια τα οποία μεταφέρονται από το έντομο καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του.

Λιγότερο σημαντική αλλά όχι αμελητέα είναι και η συνεισφορά άλλων τμημάτων του θαλλού του μύκητα στη διασπορά του όπως είναι για παράδειγμα τα ασκοσπόρια, τα χλαμυδοσπόρια αλλά και τμήματα προσβεβλημένων φυτικών ιστών. Τέτοιοι ιστοί εκτός από μονάδες διασποράς του παθογόνου μπορεί να αποτελέσουν και θέσεις για παραγωγή επιπλέον γενεών κονιδίων (Holz et al., 2004).

Υψηλή σχετική υγρασία, ελεύθερη υγρασία στις φυτικές επιφάνειες και ενδιάμεσες θερμοκρασίες θεωρούνται οι πιο σημαντικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες για την έναρξη της προσβολής από το μύκητα (O' Neill et al., 1997). Πράγματι, ο

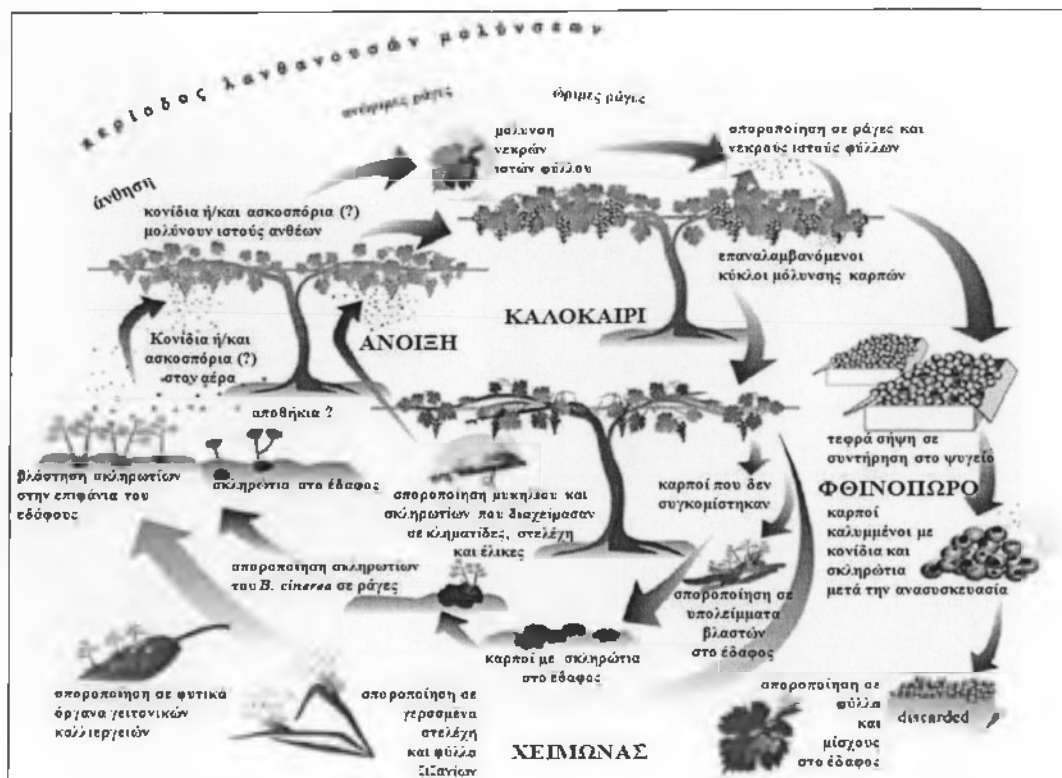
ρόλος της μεμβράνης νερού στη βλάστηση και μόλυνση έχει από καιρό αναγνωρισθεί. Ωστόσο, είναι ενδιαφέρον ότι το παθογόνο έχει αναπτύξει την ικανότητα να μολύνει φυτά ακόμη και απουσία μεμβράνης νερού (Elad, 2004). Ο *B. cinerea* συνήθως διαπερνά τους ιστούς του ξενιστή του είτε μέσω πληγής ή μέσω φυσικών ανοιγμάτων. Όμως, ο μύκητας έχει τη δυνατότητα να διαπερνά άμεσα την επιδερμίδα των φυτών μέσω ενζυμικής διάσπασης (Cotoras and Silva, 2005) καθώς παράγει χιτινάσες, πηκτινολυτικά ένζυμα όπως η μέθυλο-εστεράση της πηκτίνης και η πηκτινολιάση, και έναν αριθμό διάφορων πολυγαλακτουρονασών, πρωτεασών και λακασών (Cotoras and Silva, 2005).

Γενικά, οποιοσδήποτε παράγοντας (βιοτικός ή αβιοτικός) ο οποίος μπορεί να προκαλέσει πληγές ή εξασθένηση σε φυτικούς ιστούς διευκολύνει την προσβολή από το μύκητα. Στην καλλιέργεια τομάτας θερμοκηπίου οι πληγές κλαδέματος για απομάκρυνση φύλλων και μασχαλαίων οφθαλμών ευθύνονται για τις προσβολές των στελεχών (Decognet et al., 2009). Ένα φαινόμενο που σχετίζεται με τις προσβολές του *Botrytis*, είναι η ικανότητα του παθογόνου να παραμένει ανενεργό (σε λανθάνουσα κατάσταση) εντός των ιστών του ξενιστή για διάφορα χρονικά διαστήματα κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου μέχρι και τη συγκομιδή των καρπών, προκαλώντας τις λεγόμενες λανθάνουσες μολύνσεις (Elad, 2004). Στα ακτινίδια, μελέτες μολυσματικότητας απέδειξαν τη συσχέτιση μεταξύ αποικισμού γηρασμένων ανθικών ιστών την άνοιξη και της εμφάνισης μετασυλλεκτικής σήψης του καρπού στην περιοχή του ποδίσκου (stem-end rot) (Beever et al., 1984). Κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας των ακτινιδίων, τα πέταλα και οι ανθήρες μολύνονται και πιστεύεται ότι αυτοί οι ιστοί παρέχουν το μόλυσμα για τις μολύνσεις των σεπάλων και της ανθοδόχης. Τα σέπαλα παραμένουν ευπαθή καθ' όλη τη βλαστική περίοδο μέχρι την συγκομιδή των καρπών. Οι μολύνσεις των σεπάλων και της ανθοδόχης παραμένουν σε λανθάνουσα μορφή εφόσον δεν υπάρχουν ορατά συμπτώματα (Michailides and Elmer, 2000). Επιπλέον, πληγές στην επιφάνεια των καρπών ακτινιδίου που προκλήθηκαν από κακές πρακτικές χειρισμού κατά τη συγκομιδή, μπορούν να αποτελέσουν σημεία εισόδου για το παθογόνο το οποίο θα προκαλέσει στην συνέχεια τις πλευρικές σήψεις ("side rot"). Όμως, αυτός ο τύπος προσβολής των ακτινιδίων είναι μικρής σημασίας (Michailides and Elmer, 2000).



**ΕΙΚΟΝΕΣ:** Εναρξη προσβολής του μύκητα *B. cinerea* σε φυτό τομάτας και πρόκληση μετασυλλεκτικής σήψης σε καρπό ακτινιδίου στην περιοχή του ποδίσκου

Στα σταφύλια οι αρχικές μολύνσεις πραγματοποιούνται κατά την άνθηση μέσω αποικισμού των άφθονων νεκρών ανθικών υπολειμμάτων (Martinez et al., 2005). Πέραν αυτής της οδού, μολύνσεις καρπών πραγματοποιούνται και μέσω του ποδίσκου των ραγών. Μελέτες έδειξαν ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των μετασυλλεκτικών προσβολών στα σταφύλια προερχόταν από μολύνσεις των βότρεων κατά την έναρξη της άνθησης και κατά την πλήρη άνθηση (Michailides et al., 2000).



ΕΙΚΟΝΑ : Ο βιολογικός κύκλος του *B. cinerea* στο αμπέλι

## 2.4. Παθογένεση.

Ο *B. cinerea* μπορεί να προσβάλλει ένα πολύ μεγάλο εύρος φυτών ξενιστών χωρίς φαινομενική εξειδίκευση. Οι υγιείς ιστοί μπορεί να προσβληθούν διαμέσου της επιδερμίδας λόγω της έκκρισης από το μύκητα εξωκυτταρικών ενζύμων τα οποία εμπλέκονται στην παθογένεση (Kusters-van Someren *et al.*, 1992). Ακόμη προσβάλλονται διαμέσου αλλοιωμένων ή νεκρών ιστών, στομάτων, πληγών και τριχιδίων που υπάρχουν στις φυτικές επιφάνειες.

Η προσβολή από το μύκητα περιλαμβάνει τρεις φάσεις, όπως ακριβώς και στους άλλους μύκητες, τη βλάστηση των κονιδίων, τη διείσδυση και την εγκατάσταση του μύκητα στους ιστούς του ξενιστή (Goodman *et al.*, 1986).

### 2.4.1. Βλάστηση

Τα κονίδια του μύκητα εναποτίθενται στα σημεία της προσβολής του φυτού και διατηρούνται εκεί για πάνω από 12 εβδομάδες πριν να βλαστήσουν (Jarvis, 1989).

Για την γρήγορη βλάστηση τους χρειάζονται ένα λεπτό στρώμα νερού, ενώ οι βλαστικές υφές αναπτύσσονται ανεξάρτητα από την σχετική υγρασία του περιβάλλοντος (Care *et al.*, 1984).

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

Όταν τα κονίδια βρεθούν σε νερό, η βλάστηση τους στους 22°C ξεκινά μετά από 4 ώρες επώασης. Το 50% των κονιδίων βλαστάνει μετά από 7 ώρες και το 95% στις 11 ώρες. Αν τα κονίδια κατά τη διάρκεια της βλάστησης στεγνώσουν η διαδικασία σταματά (Yunis *et al.*, 1990).

Τα κονίδια απουσία ελεύθερου νερού για να βλαστήσουν χρειάζονται 30 ώρες επώασης σε σχετική υγρασία (Σ.Υ.) 100% ενώ σε Σ.Υ. μικρότερη του 95% η βλάστηση καθυστερεί τουλάχιστον 52 ώρες (Yunis *et al.*, 1990). Η προσβολή μειώνεται πάρα πολύ όταν η Σ.Υ. πέφτει στο 30% έστω και για πολύ σύντομο χρονικό διάστημα. (Alderman *et al.*, 1985).

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

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

φυγοκεντρήθηκαν, για να απομακρυνθούν όλα τα κονίδια, το 95% αυτών δεν είχαν βλαστήσει (Sharrock, 2000).

Τα κονίδια του *B. cinerea* όταν βλαστήσουν παράγουν μία ή περισσότερες βλαστικές υφές διαδοχικής και ποικίλης ανάπτυξης που οφείλεται σε διάφορους παράγοντες (Cole *et al.*, 1996). Έτσι βρέθηκε από τους ίδιους ερευνητές ότι ξηρά κονίδια του μύκητα σε φύλλα κουκιού παρήγαγαν κοντές υφές οι οποίες ήταν πολύ στενά προσκολλημένες στο υπόστρωμα και ικανές να διεισδύσουν κατευθείαν στους ιστούς του ξενιστή.

Όταν όμως τα κονίδια του μύκητα βλαστάνουν σε φύλλα τομάτας, οι βλαστικές του υφές ακολουθούν τους αντικλινείς, θολωτούς συνδέσμους των κυτταρικών τοιχωμάτων πριν τη δημιουργία των απρεσσορίων (Verhoeff, 1980). Οι αναπτυσσόμενες βλαστικές υφές περιέχονται σε ένα στενό περίβλημα το οποίο τις καθιστά ικανές να προσκολληθούν σε φυσικά υποστρώματα (Kunoh *et al.*, 1991). Έχει αποδειχτεί ότι το στενό αυτό περίβλημα αποτελείται από ένα δίκτυο πρωτεϊνικών ινιδίων.

#### 2.4.2. Διείσδυση

Μετά τη βλάστηση των κονιδίων ακολουθεί η διείσδυση η οποία είναι η φάση μεταξύ της επιφανειακής ανάπτυξης του μύκητα και του σχηματισμού ενδοκυτταρικής αλλοίωσης των ιστών του ξενιστή. Σε αυτήν την φάση αναπτύσσονται οι βλαστικές υφές του μύκητα οι οποίες μπορούν είτε να διεισδύσουν απευθείας στον φυτικό ιστό είτε σχηματίζοντας απρεσσόρια. Η παραγωγή των απρεσσορίων κι η είσοδος τους μέσω των στομάτων στους μεσοκυττάριους χώρους αναφέρθηκε από τον Elad (1988).

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

Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της διείσδυσης, παρατηρούνται με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο οι ακόλουθες διαφοροποιήσεις : α) η επιδερμίδα αποσυντίθεται

περισσότερο (Verhoeff, 1980), β) τα κυτταρικά τοιχώματα μαλακώνουν λόγω της αποσύνθεσης της πηκτίνης (Puchen-Planté & Mercier, 1983) και τέλος γ) λαμβάνει χώρα το αδυνάτισμα των επιδερμικών κυτταρικών τοιχωμάτων (Pie and De Leeuw, 1991). Τις πρώτες ώρες της διεσόδου μπορεί να συμβαίνει συγχρόνως η πλασμólυση των κυττάρων κι η είσοδος των υφών.

Κατά τη διάρκεια της διεσόδου του *B. cinerea* παράγονται διάφορα ένζυμα, όπως οι πηκτινάσες, τα οποία αποικοδομούν τους φυτικούς ιστούς παίζοντας σημαντικό ρόλο στην είσοδο του μύκητα στους μεσοκυττάριους χώρους. Τα ένζυμα αυτά ονομάζονται ένζυμα αλλοίωσης των κυτταρικών τοιχωμάτων (cell wall degrading enzymes, CWDE) και η παραγωγή τους αυξάνεται ιδιαίτερα στην φάση παραγωγής των κονιδίων (Have, 2000). Έχουν τέσσερις πιθανούς τρόπους δράσης:

- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα κι ως εκ τούτου διευκολύνουν την ενδοκυτταρική ανάπτυξη του μύκητα.
- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα εφοδιάζοντας το μύκητα με θρεπτικά στοιχεία.
- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα μειώνοντας την ισχύ του για αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο.
- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα με αποτέλεσμα να παράγονται τοξίνες ή άλλες ουσίες που προκαλούν τον κυτταρικό θάνατο (Have, 2000).

Η έκκριση των ενζύμων της πηκτινάσης συμβαίνει νωρίτερα κατά τη διάρκεια της βλάστησης των κονιδίων αλλά και από τις νεαρές βλαστικές υφές και μαζί με τα ένζυμα της χητινάσης παίζουν ένα πολύ σημαντικό ρόλο στα πρώτα στάδια της διεσόδου των φυτικών ιστών (Salinas, 1992). Τα ένζυμα που εκκρίνει ο *B. cinerea* και ο πιθανός ρόλος τους στην αλληλεπίδραση με τον ξενιστή, φαίνονται στον Πίνακα που ακολουθεί.

ΟΥΣΙΑ	ΕΝΖΥΜΑ
Χητίνη (Εφυμενίδα)	Χητινάση
Πηκτίνη (Κυτ. τοίχωμα)	Πολυγαλακτουρονάσες Πηκτινάσες Πηκτικικές μεθυλεστεράσες
Πρωτεΐνη (Κυτ. τοίχωμα)	Όξινη πρωτεϊνάση
Φαινόλες	Λακκάση

β(1-3)γλουκάνες	β(1-3)γλουκανάση
Κυτταρίνη	Κυτταρινάσες
Φωσφολιπίδια (Μεμβράνες)	Φωσφολιπάση, Φωσφολιπιδάση, Λιπάσες

Οι πολυγαλακτορουνάσες (PGs) διαλύουν την πηκτίνη. Από αυτές το ένζυμο PG2 που αναγνωρίστηκε βρέθηκε ότι έχει διπλό ρόλο στην διεϊσδυση του μύκητα. Πρώτον στην προώθηση της διάτρησης των πρώτων κυτταρικών τοιχωμάτων και δεύτερον στο ξεκίνημα της αλυσιδωτής παραγωγής άλλων ενζύμων τα οποία παίρνουν μέρος στον καταβολισμό της πηκτίνης. Η παρουσία εξάλλου πολλαπλών ισομόρφων των PGs σχετίζεται με το προωθημένο στάδιο προσβολής, που το φυτικό υλικό έχει αποικοδομηθεί και αποσυντεθεί από το μύκητα (Leone, 1992).

Συνάμα έχει βρεθεί ότι η εφαρμογή μιας πρωτεΐνης, της ενδοπολυγαλακτουρονασικής ανασταλτικής πρωτεΐνης (PGIP), σε τομάτες είχε αποτέλεσμα την αύξηση της αντοχής τους στην τεφρά σήψη (Kan, 2003). Η πρωτεΐνη αυτή αναστέλλει τη δράση των PGs γι' αυτό και τα φυτά είχαν αυξημένη ανθεκτικότητα.

Ακόμη ο μύκητας παράγει διάφορες τοξίνες οι οποίες θεωρούνται πολύ σημαντικές για την παθογένεση αλλά ο ρόλος τους δεν έχει ακόμη ξεκαθαρίσει. Ο *B. cinerea* στα πρώτα στάδια της βλάστησης των κονιδίων παράγει κάποια τοξίνη η οποία τον καθιστά ικανό να νεκρώνει τα κύτταρα του ξενιστή. Άλλες ουσίες με πιθανή τοξική δράση είναι το οξαλικό οξύ και η θειουρία η οποία παράγεται από τον μύκητα και προκαλεί χλώρωση και μάρανση σε φυτά τομάτας (Verhoeff, 1980). Μερικές από τις τοξίνες αυτές φαίνονται στον παρακάτω πίνακα

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΕΚΚΡΙΝΟΜΕΝΕΣ ΟΥΣΙΕΣ
Πολυσακχαρίτες	Γλυκάνες Ραμνο-γαλακτο-μαννάνες
Οργανικά Οξέα	Κιτρικό οξύ Οξαλικό οξύ
Άλλες Ουσίες	Θειουρία Ουρία



Τέλος ο *B. cinerea*, όπως και πολλοί άλλοι φυτοπαθογόνοι μύκητες έχει αποδειχθεί ότι παράγει φυτορμόνες. Πειράματα των Tudzynski *et al.* (2000) με αρκετά στελέχη του μύκητα έδειξαν ότι παράγονται μεγάλες ποσότητες αιθυλενίου και μικρές ποσότητες αυξινών. Μερικές από τις απομονώσεις παρήγαγαν διάφορα επίπεδα αμπισοϊκού οξέος (ABA), όπου πολύ λίγα από αυτά παρήχθησαν με τη μεσολάβηση του μονοπατιού του γιβεριλλικού οξέος.

### 2.4.3. Εγκατάσταση

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

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

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

Από τους νόμους της διάχυσης, προκύπτει ότι η απόσταση στην οποία τα κύτταρα νεκρώνονταν και η αλλοίωση επεκτεινόταν, βασικά εξαρτάται από το ενδοκυτταρικό υδατικό περιεχόμενο και σε μικρότερο βαθμό από την συγκέντρωση των τοξινών και των ενζύμων που παράγονται από τις άκρες των υφών. Το ενδοκυτταρικό υδατικό περιεχόμενο με τη σειρά του εξαρτάται από την Σ.Υ. ή το εξατμιζόμενο υδατικό έλλειμμα, το άνοιγμα των στοματίων και άλλα. Μια εναλλακτική υπόθεση για την επέκταση των κηλίδων βασίζεται στην αραίωση και έχει προταθεί από τον Harisson (1988).

Τα ελεύθερα στοιχεία έχει αποδειχτεί ότι έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του μύκητα (Jarvis, 1992). Μετά από μια περίοδο η οποία εξαρτάται από τον ξενιστή, τις επικρατούσες καιρικές συνθήκες, το στέλεχος του μύκητα και άλλους παράγοντες, εμφανίζονται οι πρώτες κηλίδες της τεφράς σήψης. Πολύ σπουδαίος παράγοντας είναι η εναλλαγή υγρών νυχτών και ξηρών ημερών, που μπορεί να προκαλέσει τυπικές ζώνες ανάπτυξης των κηλίδων.

## **2.5. Μικροκλιματικοί παράγοντες ανάπτυξης της ασθένειας.**

Οι μικροκλιματικοί παράγοντες είναι σίγουρα οι σημαντικότεροι που επηρεάζουν την τεφρά σήψη καθώς η ανάπτυξη της ασθένειας εξαρτάται άμεσα από αυτούς. Η ασθένεια χαρακτηρίζεται από δύο φάσεις σύμφωνα με το ρυθμό ανάπτυξης της και τις μικροκλιματικές συνθήκες που την επηρεάζουν. Στην πρώτη φάση της επιδημίας εμφανίστηκε μια μεγάλη αλληλεξάρτηση μεταξύ των προσβεβλημένων καρπών, της θερμοκρασίας του αέρα στους 11-25 °C, της σχετικής υγρασίας στο 97-100% και τη διάρκεια διύγρανσης των φύλλων. Στη δεύτερη φάση, η εξάπλωση της ασθένειας, είναι ταχύτερη σε θερμοκρασία 11-16°C και Σ.Υ. > 85%, αλλά δεν υπάρχει συσχέτιση της ασθένειας και του χρόνου διύγρανσης των φύλλων (Junis *et al.* 1990).

### **2.5.1. Θερμοκρασία**

Η θερμοκρασία είναι ο παράγοντας που επηρεάζει καθοριστικά τόσο την ανάπτυξη του φυτού όσο και του παθογόνου μύκητα. Η άριστη θερμοκρασία για την βλαστική ανάπτυξη της τομάτας είναι μεταξύ 20-25 °C, για την παραγωγή καρπών 19-21 °C κατά τη διάρκεια της μέρας και 17-18 °C τη νύχτα και τέλος θερμοκρασία εδάφους 14 °C (Porlingis, 1988). Αυτές οι θερμοκρασίες δεν είναι σταθερές και εξαρτώνται από την εποχή και την γεωγραφική περιοχή.

Εξάλλου οι άριστες θερμοκρασίες για την ανάπτυξη της τεφράς σήψης ποικίλουν ανάλογα με τον ξενιστή. Η ιδανική θερμοκρασία για τη βλάστηση των κονιδίων είναι κατά τον Jarvis (1992) οι 20 °C όμως ο Kochenco (1972) είχε βρει ότι τα κονίδια βλαστάνουν πάνω από τους 20 °C κι οι άριστες θερμοκρασίες είναι 22-24 °C Πάνω από τους 24 °C μειώνεται συνεχώς η βλάστηση των κονιδίων. Τα απρεσσόρια με τη σειρά τους σχηματίζονται κατά τον Jarvis (1992) στους 27-28 °C. Για την ανάπτυξη

του μυκηλίου ο πρώτος αναφέρει ως άριστη θερμοκρασία τους 22 °C ενώ οι άλλοι, θερμοκρασίες 20-30 °C.

Γενικότερα άριστες θερμοκρασίες για την προσβολή σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες είναι μεταξύ 10-20 °C αλλά αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί και από 2 °C έως και πάνω από 25 °C (Elad *et al.*, 1996). Όμως η ανάπτυξη της ασθένειας αναστέλλεται σε θερμοκρασίες άνω των 32 °C (Stall, 1997). Σύμφωνα με τον Morgan (1984) η προσβολή της τομάτας στο θερμοκήπιο είναι εντονότερη στους 20 °C, όταν η σχετική υγρασία είναι 95%.

Η βέλτιστη θερμοκρασία για την προσβολή στελεχών τομάτας από το παθογόνο είναι γύρω στους 15 °C ενώ μπορεί να πραγματοποιηθεί μεταξύ 5-26 °C (O'Neil *et al.*, 1996a).

Όμως και η επιβίωση του μυκηλίου του *B. cinerea* εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία καθώς και από τη σχετική υγρασία και το στέλεχος του μύκητα. Σε Σ.Υ. >95% το μυκήλιο επιβιώνει πάνω από ένα χρόνο όμως αν αυτή πέσει κάτω από αυτό το όριο κι η θερμοκρασία είναι 20 °C, τότε αντέχει λιγότερο από ένα μήνα. Τα σκληρώτια με τη σειρά τους επιβιώνουν σε ένα εύρος θερμοκρασιών μεταξύ των -70 °C και των 25 °C (Coley & Smith, 1980). Όμως οι ιδανική θερμοκρασία για το σχηματισμό τους είναι 11-13 °C (Jarvis, 1992).

### 2.5.2. Σχετική υγρασία

Ένας εξίσου σημαντικός παράγοντας για την προσβολή και την ανάπτυξη της ασθένειας είναι η σχετική υγρασία (Σ.Υ.) του περιβάλλοντος και το νερό που βρίσκεται πάνω στους φυτικούς ιστούς. Παρ' όλα αυτά οι αναφορές που υπάρχουν για τη Σ.Υ. που απαιτείται για την προσβολή, είναι αντιφατικές (Marois *et al.*, 1988).

Η βλάστηση των κονιδίων του *B. cinerea* στην τομάτα γίνεται όταν η σχετική υγρασία είναι τουλάχιστον 94% ή υπάρχει ελεύθερο νερό στην φυλλική επιφάνεια για 8-12 ώρες. Όσο μεγαλύτερη είναι η Σ.Υ. ή η διάρκεια διύγρανσης των φύλλων τόσο πιθανότερη είναι κι η έναρξη της προσβολής και η επέκταση της ασθένειας. Πάντως είναι γνωστό ότι για τη βλάστηση των κονιδίων του μύκητα είναι απαραίτητο ένα λεπτό στρώμα νερού. Ο Sirry (1957) βρήκε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης των κονιδίων του *B. cinerea* είναι όταν η Σ.Υ. είναι 100% και η θερμοκρασία στους

21 °C. Βέβαια οι Erton *et al.* (1980), ανέφεραν ότι οι υψηλές τιμές Σ.Υ. μειώνουν την παραγωγή κονιδίων του μύκητα.

Το 1970 οι Winspear *et al.*, απέδειξαν ότι οι κηλίδες φάντασμα που εμφανίζονται στους καρπούς της τομάτας μπορεί να μειωθούν αισθητά όταν η Σ.Υ. είναι μικρότερη του 90% και να εξαφανιστούν σε Σ.Υ.<75%.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω τα κονίδια όταν βρεθούν σε νερό, η βλάστηση τους στους 22°C ξεκινά μετά από 4 ώρες, το 50% των κονιδίων βλαστάνει μετά από 7 ώρες και το 95% στις 11 ώρες. Αν τα κονίδια κατά τη διάρκεια της βλάστησης στεγνώσουν η διαδικασία σταματά. Τα κονίδια απουσία ελεύθερου νερού για να βλαστήσουν χρειάζονται 30 ώρες επώασης σε Σ.Υ. 100% ενώ σε Σ.Υ. μικρότερη του 95% η βλάστηση καθυστερεί τουλάχιστον 52 ώρες (Yunis *et al.*, 1990).

Στα μη θερμαινόμενα θερμοκήπια της χώρας μας παρατηρείται πολύ συχνά κατά τη διάρκεια του χειμώνα υγροποίηση των υδρατμών όταν πέσει η θερμοκρασία. Έτσι δημιουργείται στην επιφάνεια των φυτών στρώμα νερού που ευνοεί τη βλάστηση των κονιδίων.

Ένας ακόμη λόγος που η υψηλή Σ.Υ. ευνοεί την προσβολή από την τεφρά σήψη είναι το ότι τα φυτά αναπτύσσονται ταχύτερα με αποτέλεσμα να είναι περισσότερο τρυφερά και πιο ευαίσθητα στην ασθένεια αλλά και σε άλλες ασθένειες οι οποίες δημιουργούν πληγές και την ευνοούν εμμέσως. Επίσης, αν η υψηλή Σ.Υ. συνδυάζεται με κακό εξαερισμό, μειώνεται η διαπνοή των φυτών με αποτέλεσμα τη μειωμένη μεταφορά θρεπτικών συστατικών από τις ρίζες στα υπόλοιπα μέρη του φυτού, την εξασθένηση των ρύπων και την ευκολότερη προσβολή από το μύκητα *B. cinerea* που είναι παράσιτο αδυναμίας.

### 2.5.3. Φωτισμός

Η επίδραση του φωτισμού στην ανάπτυξη του μύκητα *B. cinerea* στο θερμοκήπιο, εξαρτάται από την ένταση του φωτισμού αλλά και την ποιότητα του και συναρτάται τόσο με το μύκητα και με τα ίδια τα φυτά.

Τα θερμοκήπια οποιοδήποτε υλικό κάλυψης και αν έχουν (τζάμι, πλαστικό, κ.α.) είναι, όταν είναι καθαρά, περατά στην φωτεινή ακτινοβολία κατά 80-90%. Όμως λόγω της σκόνης που επικάθεται στα υλικά κάλυψης, των υδρατμών στην οροφή των θερμοκηπίων, αλλά και του σκελετού στήριξης των θερμοκηπίων, ο φωτισμός μειώνεται και πέφτει κάτω από το 70% του εξωτερικού.

Έτσι λόγω της μεγάλης φυλλικής επιφάνειας των φυτών, ο ανταγωνισμός σε φωτισμό είναι πολύ μεγάλος και ιδιαίτερα στα φύλλα της βάσης. Αυτό είναι ιδιαίτερα αισθητό το χειμώνα που η ηλιοφάνεια είναι περιορισμένη και σε συνδυασμό με τις χαμηλές θερμοκρασίες συντελεί συχνά στη δημιουργία χλωρωτικών φυτών και στην κακή ανάπτυξη τους. Βέβαια στις χαμηλές θερμοκρασίες μέσα στο θερμοκήπιο το χειμώνα συντελεί καθοριστικά ο μειωμένος φωτισμός. Αποτέλεσμα όλων αυτών είναι η ευκολότερη προσβολή των φυτών από ασθένειες και άμεσα ή έμμεσα από την τεφρά σήψη.

Ο *B. cinerea* καθαυτός είναι γνωστό ότι επηρεάζεται από τον φωτισμό. Η παραγωγή κονιδίων περιορίζεται από το κυανό και το κόκκινο φως ενώ επάγεται από περιοχές του φάσματος ανάμεσα στις υπεριώδεις και τις υπέρυθρες. Σε παλαιότερη έρευνα βρέθηκε ότι τα έγχρωμα υλικά κάλυψης και ειδικότερα τα μπλε και τα ροζ βοηθούσαν στην ανάπτυξη της ασθένειας πιο πολύ από τα διάφανα ενώ άλλη έρευνα αναφέρει ότι ο φωτισμός σε μήκος κύματος 430-490 nm παρεμποδίζει τη σποριογένεση του μύκητα ενώ σε μήκος 300-420 την προάγει (Jarvis, 1992).

Νεότερη έρευνα των Rayfield & Johnson (2000) έδειξε ότι η σπορογένεση του *B. cinerea* αυξάνεται τόσο στη UVA ακτινοβολία δηλαδή σε μήκος κύματος 320-400nm όσο και στη UVB δηλαδή 280-320nm. Μάλιστα η UVB βρέθηκε ότι προάγει την σποροπαραγωγή σε πολύ μικρότερο κυμαινόμενο βαθμό από ότι η UVA. Άλλη έρευνα των Shafia *et al.* (2001), έδειξε ότι η βλάστηση των κονιδίων, η επιμήκυνση των βλαστικών υφών και η επί της εκατό φυλλική επιφάνεια με κονιδιοφόρους του *B. cinerea*, γενικά αυξήθηκαν, καθώς μειώθηκε η ένταση του φωτός και αυξήθηκε ο αριθμός των ημερών σε χαμηλή ένταση φωτός.

#### 2.5.4. Έδαφος και νερό

Η εντατική καλλιέργεια των θερμοκηπίων, χωρίς αγρανάπαυση, οδηγεί στην απορρόφηση από το έδαφος μεγάλων ποσοτήτων ιχνοστοιχείων, τα οποία δύσκολα αναπληρώνονται ή δεν αποδίδονται από το έδαφος στα φυτά, με αποτέλεσμα την εμφάνιση τροφοπενιών στις καλλιέργειες. Συγχρόνως η αλατότητα του εδάφους, εξαιτίας μεγάλων ποσοτήτων λιπασμάτων, κακής ποιότητας αρδευτικού νερού και μη έκπλυσης του εδάφους, ανέρχεται σε πολύ επιβλαβή επίπεδα για τα φυτά.

Γενικά οποιοσδήποτε παράγοντας επιδρά αρνητικά στη θρέψη των φυτών, έχει ως αποτέλεσμα την κακή τους ανάπτυξη και τη δημιουργία χλωρωτικών ιστών τα οποία

καθιστούν τα φυτά ευπαθή σε παράσιτα αδυναμίας όπως ο *B. cinerea*. Η τεφρά σήψη φαίνεται ιδιαίτερα σοβαρή σε φυτά τομάτας τα οποία καλλιεργούνται σε ελαφράς συστάσεως, αμμώδη, όξινα εδάφη με περίσσεια υγρασίας (Παναγόπουλος, 1995) πιθανότατα λόγω κακής θρέψης.

## 2.6. Καλλιεργητικοί παράγοντες

Η ανάπτυξη της τεφράς σήψης στο θερμοκήπιο κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου συχνά οφείλεται σε λάθος καλλιεργητικές τεχνικές του ίδιου του παραγωγού, είτε από αμέλεια είτε από την αποφυγή εκτέλεσης κάποιων εργασιών.

Καταρχήν η ενσωμάτωση στο έδαφος των υπολειμμάτων της προηγούμενης καλλιέργειας είναι ένα συχνό σφάλμα των γεωργών, ιδίως δε αν δεν ακολουθείτε από καλή απολύμανση. Ο *B. cinerea* ως σαπροφυτικός μύκητας που είναι διατηρείται στα υπολείμματα και όταν βρεθεί στις κατάλληλες συνθήκες προσβάλλει τη νέα καλλιέργεια. Όμως και η ύπαρξη ζιζανίων εντός και εκτός του θερμοκηπίου, μπορεί να αποτελέσει πηγή μόλυνσης για τη νέα καλλιέργεια.

Η έλλειψη συστήματος εξαερισμού και θέρμανσης, εκτός από τις άμεσες συνέπειες στα φυτά, είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία υδρατμών πάνω στο υλικό κάλυψης με αποτέλεσμα τα φυτά να είναι συνεχώς βρεγμένα. Όμως, στις σταγόνες των υδρατμών αναπτύσσονται και τοξίνες οφειλόμενες στη δράση μικροοργανισμών οι οποίες όταν πέσουν πάνω στα φυτά προκαλούν βλάβες στους ιστούς αυτών. Έτσι ευνοείται η δράση του μύκητα άμεσα ή έμμεσα.

Ταυτόχρονα ο τρόπος και ο χρόνος άρδευσης είναι σημαντικός καθώς μπορεί να αυξάνεται πολύ η Σ.Υ. του θερμοκηπίου ιδίως αν η άρδευση γίνεται αργά το απόγευμα. Συγχρόνως άρδευση με κρύο νερό είναι σημαντικό λάθος καθώς τα φυτά παγώνουν και γίνονται πιο ευάλωτα στην τεφρά σήψη.

Πολύ συχνό επίσης λάθος είναι και οι πυκνές φυτεύσεις με ποικιλίες οι οποίες έχουν μεγάλη φυλλική επιφάνεια και εμποδίζουν τον καλό αερισμό και φωτισμό των φυτών ευνοώντας έτσι την ανάπτυξη της τεφράς σήψης.

Βέβαια πολλές φορές και το κλάδεμα γίνεται λάθος καθώς τα φύλλα αφαιρούνται πρόχειρα και μένει κομμάτι του μίσχου με μία ανώμαλη τομή. Όσο πιο μεγάλο είναι το κομμάτι του μίσχου που μένει πάνω στο στέλεχος κι όσο πιο ανώμαλη είναι η τομή τόσο πιο πιθανή είναι η προσβολή από την τεφρά σήψη (Macnab *et al.*, 1986).

## 2.7. Θρεπτικοί παράγοντες

Ο *B. cinerea* για να δράσει πάνω στους φυτικούς ιστούς χρειάζεται διάφορες ουσίες. Η προσβολή ιδίως υγιών πράσινων φύλων από τις βλαστικές υφές των κονιδίων του μύκητα, συνήθως εξαρτάται από την παρουσία εξωτερικά ανόργανων στοιχείων, πιθανόν λόγω σπανιότητας των στοιχείων αυτών στα φύλλα, αν συγκριθούν με επιφάνειες λουλουδιών και φρούτων που είναι πιο ευπαθή σε προσβολή.

### 2.7.1. Ανόργανος Φώσφορος

Ο ανόργανος φώσφορος ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) και τα παράγωγα των νουκλεοτιδίων της πουρίνης διεγείρουν την προσβολή των φυτικών ιστών από τον *B. cinerea* (Kō *et al.*, 1981). Αυτό οφείλεται στην αύξηση της δράσης των πολυγακτουρονασών, που όπως προαναφέρθηκε ευνοούν τη δράση του μύκητα.

### 2.7.2. Σίδηρος

Ο σίδηρος παίζει ειδικό ρόλο στη δράση του *B. cinerea* ο οποίος συνδέεται με την αντίδραση Fenton που είναι η κύρια βιολογική πηγή των καταλυτικών ριζών υδροξυλίου:  $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^\cdot + \text{HO}^\cdot$ .

Ο μύκητας κατά τη διάρκεια της προσβολής των φυτικών ιστών παράγει υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) το οποίο είναι μια πολύ επικίνδυνη χημική ουσία. Όμως ένας οργανισμός που εκκρίνει μια τόσο επικίνδυνη χημική ουσία πρέπει να προστατεύει και τον εαυτό του. Έτσι εκκρίνει οξαλικό οξύ, το οποίο είναι απαραίτητο για τη διαλυτοποίηση του σιδήρου, που παίρνει μέρος στην αντίδραση και αποφεύγει την τοξική δράση του  $\text{H}_2\text{O}_2$  εναντίον του. Φαίνεται λοιπόν ότι ο σίδηρος είναι πάρα πολύ απαραίτητος για τη δράση του μύκητα (Wood *et al.*, 2000).

### 2.7.3. Μεταλλικά άλατα

Άλλες ουσίες που έχει αποδειχτεί ότι η παρουσία τους στο φύλλωμα αυξάνει την ευαισθησία των φυτών στην προσβολή και τη σοβαρότητα της τεφράς σήψης, είναι τα μεταλλικά άλατα και ιδίως αυτά του ψευδαργύρου. Τέτοια στοιχεία περιέχονται σε μεγάλες ποσότητες στα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα τα οποία αν εφαρμόζονται συχνά αυξάνουν την προσβολή από την ασθένεια (Stall, 1997).

Όμως την ευαισθησία των φυτών στην τεφρά σήψη μπορούν να επηρεάσουν και θρεπτικά στοιχεία, τα οποία απορροφούν τα φυτά από το έδαφος όπως το άζωτο και το ασβέστιο.

### 2.7.4. Άζωτο

Η επίδραση του αζώτου στην ασθένεια, εξαρτάται από τα φυτικά είδη αλλά και από τις περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες αναπτύσσονται. Για παράδειγμα παλαιότερα βρέθηκε μείωση της ευαισθησίας στην τεφρά σήψη φυτών τομάτας όταν η καλλιέργεια τους γινόταν σε έδαφος με υψηλό επίπεδο αζώτου. Όμως οι Hobbs και Waters (1964) είχαν βρει τα αντίθετα αποτελέσματα για το χρυσάνθεμο.

Σε νεότερη έρευνα των Hoffland *et al.* (1999) τα φύλλα των φυτών τομάτας που αναπτύχθηκαν σε χαμηλή διαθεσιμότητα N και είχαν υψηλή σχέση άνθρακα προς άζωτο ( $C/N=21$ ) στα φύλλα, είχαν και περίπου 2,5 φορές μεγαλύτερη ευαισθησία στις αρχικές προσβολές από την τεφρά σήψη. Συγκρινόμενα με τα φυτά τα οποία αναπτύχθηκαν σε υψηλή διαθεσιμότητα N, με χαμηλή σχέση C/N (11) στα φύλλα. Τα φύλλα με υψηλή αναλογία C/N περιείχαν περισσότερη α-τοματίνη, η οποία δημιουργεί ανθεκτικότητα και παρ' όλα αυτά ήταν πιο ευαίσθητα στο μύκητα. Αυτό εξηγείται λόγω του ότι τα φύλλα αυτά περιείχαν επίσης περισσότερους υδατοδιαλυτούς υδρογονάνθρακες οι οποίοι πιθανόν ευνοούν τη δράση του *B. cinerea*.

Σε άλλη έρευνα ο Sol (1967) είχε βρει ότι τα φυτά κουκιού όταν λιπάνθηκαν με αμμωνία ήταν πιο ευαίσθητα στην ασθένεια από άλλα τα οποία δέχτηκαν νιτρικό άζωτο. Σε διάφορα πειράματα που έχουν γίνει, έχει βρεθεί ότι το N δεν επηρεάζει την ευαισθησία στην τεφρά σήψη, φυτών μελιτζάνας και πιπεριάς ενώ τα νιτρικά λιπάσματα προκαλούν μείωση της αντοχής φυτών αγγουριάς



### 2.7.5. Ασβέστιο

Ένα άλλο στοιχείο το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της τεφράς σήψης είναι το ασβέστιο. Το Ca βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών. Τα ιόντα του Ca παρεμποδίζουν πολλές ασθένειες. Αυτό σχετίζεται με την ιδιότητα τους να ισχυροποιούν τα κυτταρικά τοιχώματα και να αναστέλλουν τη αλλοίωση τους από τα πηκτινολυτικά ένζυμα (Liptay *et al.*, 1987).

Επίσης, η παρουσία του συνδέεται με την καθυστέρηση της γήρανσης των φυτικών ιστών λόγω της μείωσης της αναπνοής και της παραγωγής αιθυλενίου, καθώς και διατήρηση της συνεκτικότητας των φρέσκων καρπών καθιστώντας τους ανθεκτικότερους στην επίδραση των ενζύμων του *B. cinerea* (Ferguson, 1984). Τέλος η προσθήκη  $Ca^{2+}$  στους φυτικούς ιστούς μειώνει τα όρια περατότητας της κυτταρικής μεμβράνης.

Έχει βρεθεί ότι η λίπανση με Ca μειώνει την τεφρά σήψη στην τριανταφυλλιά (Volpin *et al.*, 1991), την τομάτα (Stall, 1963), την πιπεριά και τη μελιτζάνα αλλά στο αγγούρι τα αποτελέσματα δεν ήταν ξεκάθαρα (Yunis *et al.* 1991). Η μετακίνηση του ασβεστίου στα ανώτερα μέρη του φυτού περιορίζεται από υψηλή υγρασία. Με αυτόν τον τρόπο μειώνεται γενικά το περιεχόμενο του στους φυτικούς ιστούς, με αποτέλεσμα την ευαισθησία αυτών στο *B. cinerea* και αυτό παρατηρείται σε φυτά τομάτας, μελιτζάνας και πιπεριάς. Ακόμη προσθήκη αλάτων ασβεστίου και ειδικά  $CaCl_2$ , έχει βρεθεί ότι προστατεύει καρπούς, από σήψεις προκαλούμενες από το μύκητα (<http://ipm.osu.edu/mini/96m-5.htm>).

## 2.8. Ορμονικοί παράγοντες

Εκτός όμως από τα θρεπτικά στοιχεία, σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της ασθένειας παίζουν διάφοροι ο παράγοντες ανάπτυξης των φυτών.

### 2.8.1. Αυξίνες

Ένας από αυτούς είναι οι αυξίνες οι οποίες στη μελιτζάνα και στην τομάτα βοηθούν στην καρπόδεση και την ανάπτυξη του καρπού. Μεταφέρονται από τα μεριστώματα, τα άνθη και τους νεαρούς καρπούς και συνδέονται με τη μεταφορά του ασβεστίου μέσα στα όργανα αυτά και στα κύτταρα τους. Οι αυξίνες φαίνεται να

έχουν κάποιο ιδιαίτερο ρόλο στην αντίσταση των νεαρών καρπών στην ασθένεια (Yunis *et al.*, 1991).

### 2.8.2. Γιββεριλλικό οξύ

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας αύξησης είναι το γιββεριλλικό οξύ ( $GA_3$ ). Η ανάπτυξη της τεφράς σήψης σε αποσπασμένα πέταλα και άθικτα μπουμπούκια με ή χωρίς εισαγωγή κονιδίων αναστελλόταν με την προσθήκη 1mM διαλύματος  $GA_3$ . Η επίδραση του  $GA_3$  παρατηρήθηκε σε διάφορες καλλιέργειες τριανταφυλλιάς ενώ προσθήκη μεγαλύτερης ποσότητας  $GA_3$  στο διάλυμα, δεν επιδρά ούτε στην ανάπτυξη του μυκηλίου ούτε στη βλάστηση των κονιδίων (Shaul *et al.*, 1992).

Παρόλα αυτά η αναστολή της ανάπτυξης του *B. cinerea* σε άνθη τριανταφυλλιάς που ψεκάστηκαν με  $GA_3$  μπορεί να φέρει αποτέλεσμα μειώνοντας την ευαισθησία των ιστών στο παθογόνο οφειλόμενη στην αναστολή της γήρανσης των πετάλων από το  $GA_3$ . Εξάλλου το  $GA_3$  μειώνει την ευαισθησία των πετάλων στο αιθυλένιο.

## 2.9. Άλλες ουσίες

Ο *B. cinerea* ως γνωστόν είναι το παθογόνο των φυτών με το μεγαλύτερο εύρος ξενιστών και είναι ικανό να προσβάλει σχεδόν όλα τα φυτικά μέρη πολλών διαφορετικών ειδών. Τα διάφορα φυτικά όργανα όμως περιέχουν διαφορετικές χημικές ουσίες και διαθέτουν διαφορετικές ενώσεις για την άμυνα τους. Για να αναπτύσσεται λοιπόν σε διαφορετικά υποστρώματα ο μύκητας είναι γνωστό ότι είναι ικανός να ρυθμίζει τη σύνθεση διαφόρων τοξικών παραγόντων.

Για τη ρύθμιση της έκκρισης των τοξικών παραγόντων έχουν προταθεί διάφορες ουσίες όπως τα πηκτικά τεμάχια, το γαλλικό οξύ, η γλυκόζη και διάφορες πρωτεΐνες. Όμως στην έρευνα των Manteau *et al.* (2000) βρέθηκε ότι και το εξωτερικό pH είναι επίσης ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στην τοξική στρατηγική του μύκητα.

Έτσι ο *B. cinerea* όταν αναπτύχθηκε σε φτωχή ανόργανη ύλη με pH 3-7 με γλυκόζη ως βάση άνθρακα, είχε την καλύτερη ανάπτυξη σε pH μεταξύ 4 και 5. Αυτό συμβαίνει γιατί το pH είχε άμεση επίδραση στην έκκριση από το μύκητα τριών βασικών ομάδων ενζύμων που παράγει, τις πρωτεάσες, τις πολυγαλακτουρονάσες και τις λακκάσες.

Τα ένζυμα αυτά του *B. cinerea* είτε προήλθαν από στελέχη που απομονώθηκαν από φυτά τομάτας είτε από στελέχη που απομονώθηκαν από αμπέλι έδωσαν παρόμοια αποτελέσματα που είναι μέγιστα σε τιμές pH στα άκρα, δηλαδή pH=3 και pH=6, του άριστου pH=5. Το μέτριο pH λογικά πρέπει να υποβοηθά την έκκριση τοξικών ενζύμων που βοηθούν δεδομένο στέλεχος του μύκητα, να παράγει πιστή ανάπτυξη τοξικών παραγόντων για να αποικίσει, τους καρπούς οι οποίοι έχουν υψηλό pH, καθώς και τα φύλλα τα οποία έχουν χαμηλό pH, κάποιου από τα φυτά ξενιστές του (Manteau *et al.*, 2000).

## 2.10. Ισορροπη θρέψη

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

Η ύπαρξη στη φυλλική επιφάνεια των φυτών, διαφόρων ανόργανων στοιχείων επηρεάζει τη δράση του μύκητα. Έτσι πρέπει να αποφεύγονται εφαρμογές φωσφόρου, σιδήρου και μεταλλικών αλάτων και δη του ψευδαργύρου. Τα τελευταία περιέχονται σε μεγάλες ποσότητες στα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως, κυρίως ενάντια του περονόσπορου (Stall, 1997). Άρα είναι πολύ σημαντικό για την καταπολέμηση της τεφράς σήψης η ορθολογική χρησιμοποίησή τους.

Όμως και στοιχεία τα οποία βρίσκονται μέσα στο φυτό έχουν σημαντικό ρόλο. Το N όταν βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα στο έδαφος έχει διαπιστωθεί ότι μειώνει την ευαισθησία φυτών τομάτας στην τεφρά σήψη. Από την άλλη έχει αναφερθεί ότι το αυξημένο N, που ευνοεί την ανάπτυξη πλούσιου φυλλώματος ευνοεί και νεκροτροφικά παθογόνα όπως ο *B. cinerea* (Jarvis, 1992). Σε έρευνα όμως των Hoffland *et al.* (1999) διαπιστώθηκε ότι φυτά τομάτας με χαμηλή αναλογία C/N στα φύλλα είχαν αρκετά μεγαλύτερη ανθεκτικότητα από άλλα με υψηλή. Αυτό δείχνει ότι στην τομάτα τα υψηλά επίπεδα N μάλλον βοηθούν τα φυτά στην αντιμετώπιση του μύκητα.

Άλλο σημαντικό στοιχείο στην ευαισθησία των φυτών στην ασθένεια είναι το ασβέστιο. Έχει βρεθεί ότι η λίπανση με Ca μειώνει την τεφρά σήψη στην τριανταφυλλιά σε τομάτα, πιπεριά και μελιτζάνα.

Βέβαια σπουδαίο ρόλο φαίνεται να έχουν και διάφοροι ορμονικοί παράγοντες. Έτσι οι αυξίνες βοηθούν στην καρπόδεση και την αύξηση του καρπού χωρίς προβλήματα από την ασθένεια, σε μελιτζάνα και τομάτα (Elad *et al.*, 1992). Άλλος παράγοντας είναι το γιββεριλλινικό οξύ το οποίο έχει βρεθεί ότι μειώνει την ευαισθησία των ανθέων τριανταφυλλιάς λόγω της μείωσης του εκλυόμενου αιθυλενίου και ως εκ τούτου της αναστολής γηρασμού των πετάλων

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

### 3.1. Πρόβλεψη επιδημίας

Η εξέλιξη της ασθένειας συχνά αυξάνεται με ρυθμούς τελείως διαφορετικούς από τους αρχικούς παίρνει δηλαδή τη μορφή επιδημίας. Η φάση αυτή της απότομης αύξησης της ασθένειας μπορεί να διαρκέσει από λίγες μέρες έως μερικές εβδομάδες.

Η επέκταση της ασθένειας με τη μορφή επιδημίας είναι πάρα πολύ επικίνδυνη καθώς μπορεί μέσα σε λίγες μέρες ή εβδομάδες να καταστρέψει την καλλιέργεια. Έτσι έχουν γίνει προσπάθειες από διάφορους επιστήμονες ώστε να προβλέψουν με βάση κάποιο πρότυπο την φάση της απότομης αύξησης με σκοπό να εφαρμοστεί η κατάλληλη αντιμετώπιση, την κατάλληλη στιγμή και να αποφευχθεί η επιδημία με το μικρότερο δυνατό οικονομικό και οικολογικό κόστος.

Μετά από αρκετές προσπάθειες όπως του Jarvis (1980), των Vincelli και Lorbreer (1988) και άλλων, το 1994 αναπτύχθηκε από τους Junis *et al.* ένα μοντέλο το οποίο βασίζεται στη συσχέτιση των περιβαλλοντικών παραγόντων με την προσβολή των καρπών και των βλαστών αγγουριού από την τεφρά σήψη σε μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο. Οι δύο σημαντικοί παράγοντες που σχετίζονταν με την εμφάνιση της επιδημίας ήταν η διάρκεια διύγρανσης των φύλλων και ωρών θερμοκρασίας μεταξύ 9-21°C κατά τις νυχτερινές ώρες. Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό η επιδημία αναμένεται όταν οι ημερήσιοι μέσοι όροι είναι 7 ώρες ανά ημέρα για την υγρή περίοδο και 9,5 ώρες για τη διάρκεια των άριστων θερμοκρασιών.

Η καλή γνώση της επιδημιολογίας της ασθένειας και η αναγνώριση των περιόδων που είναι επικίνδυνες για την ανάπτυξη της μπορεί να οδηγήσουν στη μείωση του αριθμού των εφαρμογών μυκητοκτόνων (Nikot and Baille, 1996). Βασικά στοιχεία στην πρόβλεψη της ασθένειας είναι η ύπαρξη νερού στην υγρή φάση δηλαδή βροχή ή δροσιά και η σχετική υγρασία.

Οι μελλοντικές πάντως έρευνες σε αυτό το θέμα θα πρέπει να προσανατολίζονται στην ενσωμάτωση της καταπολέμησης του *B. cinerea* σε ένα πιο ολοκληρωμένο σύστημα το οποίο θα είναι συμβατό με την καταπολέμηση των εντόμων, τα

συστήματα παραγωγής προϊόντων και την αποδοτικότητα των καλλιεργειών (Jarvis, 1992) για μια πιο αειφορική μορφή γεωργίας.

### 3.2. Καταπολέμηση του μυκητα με χημικά μέσα (Μυκητοκτόνα )

Στη φυτοπροστασία χρησιμοποιούνται χημικές ουσίες για την αντιμετώπιση ασθενειών που οφείλονται σε μύκητες, αλλά και σε βακτήρια ή μυκοπλάσματα. Μολονότι είναι γνωστές ενώσεις που έχουν δράση εναντίων ιών, π.χ. παρεμποδίζοντας τον πολλαπλασιασμό τους, αυτές δεν έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι τώρα στην πράξη.

Οι όροι 'μυκητοκτόνο' και 'βακτηριοκτόνο' ετυμολογικά υποδηλώνουν ενώσεις που θανατώνουν τους αντίστοιχους μικροοργανισμούς. Οι ίδιοι όροι όμως χρησιμοποιούνται και στην περίπτωση ενώσεων που δεν προκαλούν το θάνατο, αλλά μόνο παρεμποδίζουν την αύξηση των φυτοπαθογόνων, έχουν δηλαδή μυκητοστατική ή βακτηριοστατική δράση.

Στη χημική καταπολέμηση φυτοπαθογόνων θα πρέπει να περιληφθεί και η χρήση ενώσεων που δεν εμποδίζουν την ανάπτυξη του παθογόνου, αλλά μόνο την παραγωγή σποριών (αντισπορογόνα), καθώς και ενώσεων που αυξάνουν την ανοχή του ξενιστή ή επηρεάζουν την αλληλεπίδραση ξενιστή - παθογόνου παρεμποδίζοντας την παραγωγή ασθένειας ή μειώνοντας την ένταση της (αντιπαθογονικοί παράγοντες). Πρόσφατες εργασίες επιτρέπουν να ελπίζουμε ότι ενώσεις της τελευταίας αυτής κατηγορίας μπορεί να εισαχθούν σύντομα για ευρεία χρήση στη γεωργική πράξη.

Για την αντιμετώπιση των ασθενειών των φυτών έχει χρησιμοποιηθεί μέχρι τώρα ένας μεγάλος αριθμός χημικών ενώσεων. Αυτές θα μπορούσαν να διακριθούν στις κατηγορίες: ανόργανα μυκητοκτόνα, οργανομεταλλικά, προστατευτικά οργανικά, διασυστηματικά και αντιβιοτικά.

Ο χημικός έλεγχος παραμένει μέχρι και σήμερα ο κυριότερος τρόπος αντιμετώπισης και μείωσης της συχνότητας εμφάνισης του *B. cinerea*. Οι πιο κοινές επεμβάσεις περιλαμβάνουν ψεκασμό των εναέριων τμημάτων των φυτών με μυκητοκτόνα. Επεμβάσεις με μυκητοκτόνα γίνονται επίσης σε σπόρους και βολβούς καθώς και σε συγκομισμένους καρπούς που προορίζονται για μακροχρόνια συντήρηση. Ο αριθμός των επεμβάσεων κατά τη διάρκεια μιας καλλιεργητικής

περιόδου κυμαίνεται από μια με δύο μέχρι πέραν των είκοσι (Leroux, 2004). Είναι διαθέσιμες διάφορες ομάδες συνθετικών βοτρυδιοκτόνων οι οποίες μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με το βιοχημικό τρόπο δράσης τους σε πέντε κατηγορίες : α) μυκητοκτόνα που παρεμβαίνουν στη μίτωση και κυτταροδιαίρεση β) ενώσεις που επηρεάζουν την ωσμωρύθμιση, γ) μυκητοκτόνα αναστολής της βιοσύνθεσης αμινοξέων, δ) μυκητοκτόνα αναστολής της βιοσύνθεσης στερολών, ε) μυκητοκτόνα που παρεμβαίνουν στην αλυσίδα της αναπνοής. Παρ' όλα αυτά τα τελευταία χρόνια υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί στο χημικό έλεγχο του μύκητα λόγω ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε αρκετά βοτρυδιοκτόνα και λόγω της αρνητικής αντίληψης του κοινού που σχετίζεται με την ασφάλεια των βιοκτόνων.

Μια σχετικά νέα ομάδα μυκητοκτόνων τα οποία εισήχθησαν σε διάφορες ευρωπαϊκές χώρες στα μέσα της δεκαετίας του 1990 είναι οι ανιλινοπυριμιδίνες. Η ομάδα αυτή αντιπροσωπεύεται από τρεις δραστικές ουσίες, το cyprodinil, mepanipyrium, pyrimethanil. Τα μυκητοκτόνα της ομάδας αυτής ελέγχουν ικανοποιητικά το *B. cinerea* και είναι αποτελεσματικά κατά πληθυσμών του μύκητα ανθεκτικών στα βενζιμιδαζολικά και δικαρβοξυμιδικά μυκητοκτόνα (Leroux et al., 1999).

Ο συνηθέστερος τρόπος αντιμετώπισης φυτοπαθογόνων είναι η χημική καταπολέμηση, η χρήση δηλαδή ουσιών που θανατώνουν το παθογόνο ή επιβραδύνουν ή παρεμποδίζουν την ανάπτυξή του. Πάντως αναλογικά η χρήση χημικών μέσων για την καταπολέμηση φυτοπαθογόνων μυκήτων ή βακτηρίων είναι παγκόσμια μικρότερη από ότι για την καταπολέμηση εντόμων και ακάρεων ή ζιζανίων. Αυτό οφείλεται κατά ένα μεγάλο μέρος στη χρησιμοποίηση ποικιλιών φυτών που είναι ανθεκτικές στις ασθένειες.

Άλλες εναλλακτικές μέθοδοι θα μπορούσαν επίσης να αναπτυχθούν εναντίων ασθενειών που σήμερα αντιμετωπίζονται με χημική καταπολέμηση. Και πάλι όμως δεν υπάρχουν προοπτικές για υποκατάσταση των φυτοφαρμάκων παρά σε μικρό μόνο ποσοστό. Πάντως βελτιώσεις είναι δυνατές όσον αφορά τον περιορισμό των περιττών εφαρμογών φυτοφαρμάκων και την ελάττωση των κινδύνων που αυτές συνεπάγονται.

Μολονότι το όφελος από την εφαρμογή φυτοφαρμάκων μπορεί να είναι μεγάλο, αυτό δεν συμβαίνει πάντοτε, και ειδικά στις περιπτώσεις ήπιων προσβολών. Όταν μάλιστα γίνει εφαρμογή φαρμάκου χωρίς να υπάρξει προσβολή παθογόνου, τότε ο

γεωργός έχει οικονομική ζημιά. Οι συνθήκες που υπαγορεύουν την ανάγκη εφαρμογής φυτοφαρμάκων σε μια φυτεία για την καταπολέμηση συγκεκριμένης ασθένειας δεν είναι πάντα γνωστές. Έτσι οι γεωργοί συνήθως κάνουν εφαρμογές σύμφωνα με προδιαγεγραμμένο πρόγραμμα ψεκασμών. Το κόστος των καταπολεμήσεων είναι δυνατό να ελαττωθεί σημαντικά αν βασίζονται σε σύστημα γεωργικών προειδοποιήσεων.

Ως τόσο η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος αντιμετώπισης της τεφράς σήψης όπως και των περισσότερων ασθενειών είναι η χημική καταπολέμηση. Όμως ο *B. cinerea* αναπτύσσει πολύ εύκολα ανθεκτικότητα στα μυκητοκτόνα που χρησιμοποιούνται εναντίον του με αποτέλεσμα την ανάγκη για συνεχή ανανέωση τους, πράγμα το οποίο οδηγεί σε αύξηση του κόστους της μεθόδου.

Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας του *B. cinerea* οφείλεται:

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

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

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

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

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

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



ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΑ			
Διθειοκαρβαμιδικά	Δικαρβοξιμιδικά	Φθαλμίδια	Φαινολικές ενώσεις
Thiram	Iprodione Vinclozonil Procymidone Chlozolate	Captan Folpet Dichlofluanid	Chlorothanoli
ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΑ ΜΕ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΔΡΑΣΗ			
Βενζιμιδαζολικά	Οργανοφωσφορικά	Πυριμιδινικά	Τριαζολικά
Benomyl Carbendazim Thiophanate- methyl Thiabendazole	Fosetyl-Al	Pyrimethanil Fenethanil	Tebuconazole Fenbuconazole Fenetazole

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

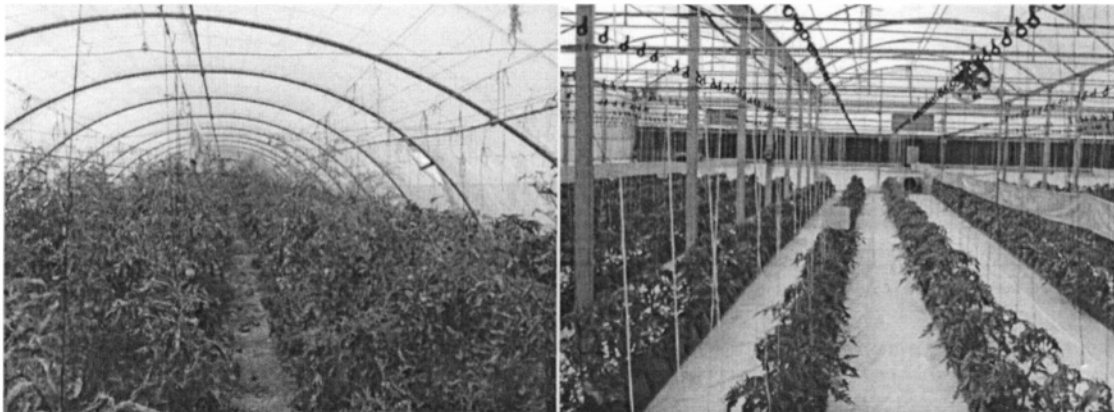
Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο μίγματα μυκητοκτόνων και κυρίως των δικαρβοξιμιδικών, τα οποία είναι πιο αποτελεσματικά λόγω δυσκολίας του μύκητα να αναπτύξει ανθεκτικότητα.

Για την καλύτερη δυνατή καταπολέμηση της τεφράς σήψης συνιστάται να γίνονται προληπτικοί ψεκασμοί, σε περιόδους με ευνοϊκές για την ανάπτυξη του μύκητα συνθήκες κι οι οποίοι να επαναλαμβάνονται ανά διάστημα επτά έως δεκαπέντε ημερών ανάλογα με τις εκάστοτε συνθήκες.

### 3.3. Καλλιεργητικά μέσα.

Πέραν της χημικής καταπολέμησης, σημαντική συνεισφορά στο περιορισμό της ασθένειας έχουν τα καλλιεργητικά μέτρα και τα μέτρα υγιεινής τα οποία επηρεάζουν άμεσα ή έμμεσα τους παράγοντες προδιάθεσης των ιστών του ξενιστή σε προσβολές του παθογόνου. Για παράδειγμα η περίσσια ή η έλλειψη κάποιων θρεπτικών στοιχείων (π.χ. άζωτο και ασβέστιο) επηρεάζει έμμεσα την ευπάθεια των ιστών του ξενιστή στο μύκητα (Elmer and Michailides, 2004). Επίσης, τα μορφολογικά, ανατομικά και χημικά χαρακτηριστικά υποκειμένου και ποικιλίας στο αμπέλι, θεωρούνται από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν την εκδήλωση επιδημιών του *B. cinerea* (Mlikota Gabler et al., 2003; Ferreira and Marais, 1987). Στο αμπέλι, η πυκνότητα της κόμης των πρέμων έχει σχετιστεί με αυξημένες προσβολές

από το μύκητα (Steel, 2001), ενώ στα ακτινίδια με το ποσοστό μετασυλλεκτικής σήψης κατά τη συντήρηση σε ψυκτικούς θαλάμους (Michailides and Elmer, 2000). Ως εκ τούτου, καλλιεργητικές τεχνικές όπως κλάδεμα και αφαίρεση φύλλων στη ζώνη κοντά στους καρπούς, αυξάνουν τον αερισμό και το φωτισμό της κόμης των φυτών αποτρέποντας την ανάπτυξη ευνοϊκών συνθηκών για το *B. cinerea*. Μια από τις εναλλακτικές μεθόδους για έλεγχο του *Botrytis* που εφαρμόζεται στις καλλιέργειες θερμοκηπίων είναι η πρόληψη σχηματισμού υγρασίας στα φυτά με θέρμανση και αερισμό (Morgan, 1984). Στη Νορβηγία, τα φυτικά υπολείμματα φράουλας θεωρούνται ως η σημαντικότερη πηγή κονιδίων του *B. cinerea* την άνοιξη στη καλλιέργεια και έτσι, τα μέτρα για την αντιμετώπιση του μύκητα πρέπει να στοχεύουν στη μείωσή τους. Σε αυτή τη περίπτωση η απομάκρυνση των υπολειμμάτων μείωσε την εκδήλωση της ασθένειας την επόμενη χρονιά (Strameng et al. 2009).



**ΕΙΚΟΝΕΣ:** Καλλιέργεια τομάτας με ελλιπή καλλιεργητικά μέτρα και μέτρα υγιεινής και πρότυπη θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας με συστήματα ψύξης, θέρμανσης και ανακύκλωσης του αέρα και εξαερισμού για ρύθμιση της θερμοκρασίας και υγρασίας του θερμοκηπίου

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

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

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

Αρκετά σημαντική είναι επίσης η σωστή τακτική άρδευσης και λίπανσης ώστε τα φυτά να είναι εύρωστα με κανονική ανάπτυξη. Κάποιο ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει στην ανάπτυξη της ασθένειας και το έδαφος στο οποίο αναπτύσσονται τα φυτά. Έτσι η τεφρά σήψη φαίνεται ότι ευνοεί σε μέσης σύστασης, αμμώδη, όξινα εδάφη τα οποία δίδουν στους ιστούς του μίσχου των φύλλων, ένα λόγο ασβεστίου προς φώσφορο ίσο με 2 ή και μεγαλύτερο (Stall, 1997).

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

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

Βασικό στοιχείο για την προστασία της καλλιέργειας είναι η αποφυγή παντός είδους πληγών στα φυτά γιατί μέσω αυτών ο *B. cinerea* μπορεί να προσβάλει τα φυτά. Σημαντικότερο είναι να γίνονται σωστά οι τομές του κλαδέματος. Αυτές πρέπει να γίνονται με μαχαίρι το οποίο εμβαπτίζεται συχνά σε οινόπνευμα και να γίνονται κοντά στο στέλεχος ώστε να μη μένει καθόλου κομμάτι μίσχου πάνω στο στέλεχος

(Macnab & Sherf, 1986). Όμως και ο σπάγκος υποστύλωσης δεν πρέπει να δένεται πάνω στο φυτό, αλλά να είναι χαλαρός γιατί σε αντίθετη περίπτωση προκαλούνται πληγές στο στέλεχος των φυτών.

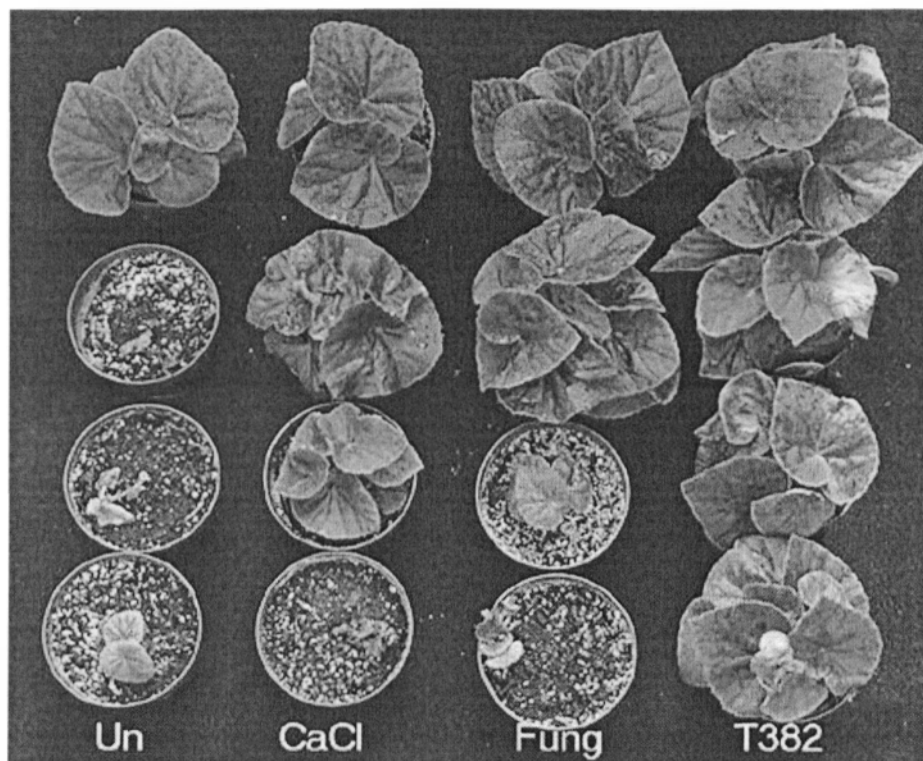
### 3.4. Βιολογική καταπολέμηση

Βιολογική καταπολέμηση είναι η καταπολέμηση των παθογόνων των φυτών, που πραγματοποιείται μεταξύ ενός ή περισσοτέρων οργανισμών συμπεριλαμβανομένου και του ξενιστή (Cook & Baker, 1983). Η πρώτη εφαρμογή της έγινε πριν από εξήντα χρόνια τουλάχιστον. Αφορμή στάθηκε η παρατήρηση ότι σε θερμοκήπιο της Αγγλίας το έντομο *Encarsia formosa* καταπολεμούσε τον Αλευρώδη των θερμοκηπίων *Trialeurodes vaporariorum* (Lenteren, 1999).

Βέβαια η μεγάλη ανάγκη για τρόφιμα εκείνα τα χρόνια και ιδίως μετά το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο οδήγησε στην τεράστια χρήση χημικών ιδίως μέσα στα θερμοκήπια. Όμως ένα τόσο ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη ασθενειών, όπως είναι αυτό του θερμοκηπίου απαιτούσε πολύ συχνούς ψεκασμούς πράμα το οποίο οδήγησε σε γρήγορη ανάπτυξη ανθεκτικότητας από τα φυτοπαθογόνα, στα διάφορα φυτοφάρμακα (Lenteren, 1999).

Επίσης, εναλλακτικές στρατηγικές ελέγχου της ασθένειας, όπως είναι ο βιολογικός έλεγχος, φαίνονται αρκετά υποσχόμενες καθώς έχουν το πλεονέκτημα τις καλύτερης αποδοχής από το κοινό και της μειωμένης περιβαλλοντικής επιβάρυνσης (Duncan, 1991). Ο βιολογικός έλεγχος προσφέρει μια ελκυστική εναλλακτική ή συμπληρωματική μέθοδο της συμβατικής για έλεγχο των ασθενειών καθώς οι μικροβιακοί παράγοντες βιοελέγχου θεωρούνται λιγότερο επιβλαβείς στο περιβάλλον και γενικά ο σύνθετος τρόπος δράσης τους μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης ανθεκτικότητας (Elad and Stewart, 2004). Γένη μικροοργανισμών που έχουν δείξει τη μεγαλύτερη ικανότητα βιολογικού ελέγχου της ασθένειας που προκαλεί ο *B. cinerea* περιλαμβάνουν τους μύκητες *Trichoderma*, *Gliocladium* και *Ulocladium*, τα βακτήρια *Bacillus* και *Pseudomonas* και τις ζύμες *Pichia* και *Candida*. Εμπορική επιτυχία έχει επιτευχθεί στο θερμοκήπιο και σε μετασυλλεκτικά περιβάλλοντα όπου οι σταθερές περιβαλλοντικές συνθήκες επιτρέπουν μεγαλύτερο έλεγχο κατά την εφαρμογή του βιολογικού παράγοντα και έκφραση της βιολογικής του δράσης.

Ωστόσο, έχει γίνει σημαντική πρόοδος και στην επίτευξη πιο σταθερού βιολογικού ελέγχου κάτω από συνθήκες αγρού (Elad and Stewart, 2004).



**ΕΙΚΟΝΑ:** Βιολογικός έλεγχος του *Botrytis cinerea* σε φυτά βεγόνιας. Από δεξιά προς αριστερά: φυτά που δεν δέχθηκαν καμία επέμβαση (Un), φυτά που δέχθηκαν επέμβαση με  $\text{CaCl}_2$  ( $\text{CaCl}_2$ ), με chlorothalonil (Fung), και φυτά που δέχθηκαν επέμβαση με το παράγοντα βιοελέγχου *Trichoderma hamatum* T382.

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

Τα περισσότερα παθογόνα εξαρτώνται για ένα μεγάλο μέρος ή και ολόκληρο το βιολογικό τους κύκλο σε μεγάλο βαθμό από τον ξενιστή τους. Έτσι οι στρατηγικές που προσανατολίζονται στην καταπολέμηση πρέπει να θεωρούν τον ξενιστή ως ένα αναπόσπαστο κομμάτι τους (Cook, 1993). Οι στρατηγικές που οι ερευνητές πρέπει να ακολουθούν όταν εισάγουν ένα μικροοργανισμό για τη βιολογική καταπολέμηση κάποιας ασθένειας είναι:

- a) Μείωση ή ρύθμιση του πληθυσμού του παθογόνου κάτω από ένα οικονομικό κατώφλι ώστε να υφίσταται οικονομικό συμφέρον της παραγωγής,
- b) Ύπαρξη προσβολής του ξενιστή από το παθογόνο και
- c) Οριοθέτηση της ανάπτυξης της ασθένειας μετά την προσβολή (Cook, 1993).

Όμως παρά το ότι οι έρευνες και οι αναφορές που περιγράφουν βιολογικούς παράγοντες αντιμετώπισης ασθενειών των φυτών συνεχώς αυξάνουν, πολύ σπάνια κάποιος από αυτούς στέφεται με επιτυχία (Elad *et al.*, 1996). Η μελλοντική ανάπτυξη της γεωργίας με μειωμένες εισροές αγροχημικών θα αναβαθμίσει ακόμη περισσότερο το ρόλο της βιολογικής καταπολέμησης στην αγροτική παραγωγή (Fokkema, 1996). Αυτό γιατί η γεωργία θα πρέπει να είναι εμπορική αλλά και πιο φιλική προς το περιβάλλον (Dubos, 1992) και έτσι οι φυτοπαθολόγοι γενικά θα έχουν να αντιμετωπίσουν αρκετά προβλήματα. Γι' αυτό η βιολογική καταπολέμηση πρέπει να αναπτυχθεί ακόμη περισσότερο και να βελτιωθεί ώστε να μπορεί να αποτελέσει ένα σοβαρό εργαλείο στην αντιμετώπιση των ασθενειών.

Το παθογόνο αντιμετωπίζεται με τα παρακάτω μέτρα και μεθόδους:

- Επιθεώρηση των κληματίδων κατά το κλάδεμα, ώστε να διαπιστωθεί το μολυσματικό δυναμικό που υπάρχει σε αυτές από την προηγούμενη καλλιεργητική περίοδο. Κληματίδες με κατά θέσεις σκληρές μαύρες και ανώμαλες μάζες αποδεικνύουν έντονη προσβολή τους από το παθογόνο.
- Αποφυγή ζωηρής βλάστησης. Τα οργανικά λιπάσματα με μεγάλη περιεκτικότητα σε N πρέπει να αποφεύγονται.
- Ορθολογικό κλάδεμα, ώστε τα φυτά να αερίζονται κανονικά.
- Αποφυγή προσβολών των ραγών από ωίδιο ή ευδεμίδα.
- Τα χαλκούχα στους τελευταίους ψεκασμούς για τον περονόσπορο σκληραγωγούν την επιδερμίδα των ραγών και την καθιστούν απείραχτη από το παθογόνο. Κάτι ανάλογο ισχύει με τα άλατα λιπαρών οξέων του καλίου και το ρητινικό χαλκό.
- Το άλας του χαλκού του πικρικού οξέος ελέγχει τον βοτρυτή.
- Τα παραφινικά και φυτικά λάδια δρουν ικανοποιητικά.

- Το αιθέριο έλαιο του θυμαριού και της ρίγανης, καθώς και η αλανοσίνη από το *Streptomyces alanicus* σε in vitro και in vivo δοκιμές, περιόρισαν σημαντικά τον μύκητα.
- Οι ανταγωνιστές *Trichoderma* spp, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *Epicoccum* sp κλπ. περιορίζουν σημαντικά τον μύκητα.
- Το εκχύλισμα των αγουρίδων διεγείρει το αμυντικό σύστημα του φυτού και περιορίζει την εγκατάσταση του βοτρυτή. Οι άγουρες ρώγες περιέχουν οργανικά οξέα τα οποία παρεμποδίζουν την βλάστηση των σπορίων του βοτρυτή.
- Το εκχύλισμα των διαφόρων οργανικών ουσιών και ιδιαίτερα κόμπος.
- Χρησιμοποίηση ανθεκτικών καλλιεργούμενων ποικιλιών. Το υβρίδιο Gamete, προϊόν διασταύρωσης Gamy x Reichensteiner χρησιμοποιείται στην Ελβετία με πολύ καλά αποτελέσματα.

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

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

Τα κύρια μειονεκτήματα των βιολογικών παραγόντων είναι:

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

Τα κύρια πλεονεκτήματα των βιολογικών παραγόντων είναι:

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

### 3.4.1. Μηχανισμοί δράσης των ανταγωνιστών του *Botrytis cinerea*

Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη βιολογική καταπολέμηση του *B. cinerea* είναι πολλοί και διάφοροι (Elad, 1996). Οι βιολογικοί παράγοντες μπορούν να παρέμβουν σε διάφορες φάσεις του κύκλου ανάπτυξης του παθογόνου και παρεμποδίζουν τη μόλυνση με έναν από τους παρακάτω τρόπους:

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

#### ❖ Συναγωνισμός σε θρεπτικά στοιχεία και χώρο

Για την προσβολή της φυλλικής επιφάνειας από κάποιο παθογόνο είναι απαραίτητη η ύπαρξη πάνω της θρεπτικών στοιχείων (Harper *et al.*, 1981). Τα στοιχεία αυτά έχει αποδειχτεί ότι προωθούν τη βλάστηση των σπορίων, την ανάπτυξη του μυκηλίου ή τη δημιουργία απρεσσορίων στα φύλλα ή προωθούν την ανάπτυξη κηλίδων από νεκροτροφικά παθογόνα όπως ο *B. cinerea* (Blakeman *et al.*, 1982).

Τα βακτήρια και ορισμένες ζύμες έχει βρεθεί ότι απορροφούν στοιχεία από το υδατικό διάλυμα της σταγόνας, πιο γρήγορα και σε μεγαλύτερη ποσότητα από ότι οι βλαστικές υφές των παθογόνων μυκήτων. Έτσι αν ο μύκητας βρεθεί σε τέτοιες συνθήκες δε βλαστάνει ή βλαστάνει πολύ φτωχά με αποτέλεσμα την αποτυχία της προσβολής (Blakeman, 1985).



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

#### ❖ Παραγωγή αντιβιοτικών

Ο όρος αντιβίωση χρησιμοποιείται με την ευρεία έννοια, όπου μεταβολικά προϊόντα ή προϊόν από ένα μικροοργανισμό αναστέλλουν την ανάπτυξη ή καταστρέφουν κάποιον άλλον (Baker, 1987). Τα αντιβιοτικά έχουν δηλαδή μυκοστατική ή βακτηριοστατική δράση. Τέτοιες ουσίες είναι ορισμένα οργανικά οξέα, υπεροξειδία και αλκοόλες που παράγονται δευτερογενώς από το μεταβολισμό ορισμένων μικροοργανισμών.

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

#### ❖ Παρασιτισμός

Παρασιτισμός συμβαίνει όταν ένας παράγοντας βιολογικής καταπολέμησης αντλεί την τροφή του από το ζωντανό φυτικό παθογόνο. Το παράσιτο συνήθως αναπτύσσεται μέσα ή πάνω στα κύτταρα του ξενιστή του, δηλαδή του φυτοπαθογόνου (Lawrence, 2000).

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

Τα μυκοπαράσιτα προσβάλλουν τα όργανα του ξενιστή τους, τα οποία είναι συνήθως οι υφές ή τα σπόρια. Έτσι στις υφές μπορεί να παρατηρηθούν ανωμαλίες

κατά την ανάπτυξη τους και τη δημιουργία διακλαδώσεων, λίγο πριν την επαφή, που προκαλούνται από τη δράση, από σχετικά μικρές αποστάσεις μυκοστατικών ή μυκοτοξικών ουσιών.

### 3.4.2. Βιολογικοί παράγοντες που δρουν εναντίον του *B. cinerea*

#### ❖ Μύκητες

##### 1. *Trichoderma spp.*

Περιέχει πολλά είδη που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην καταπολέμηση φυτοπαθογόνων μυκήτων. Η τέλεια μορφή ανήκει στους Ασκομύκητες στην τάξη *Hypocreales* και διατηρούνται στο έδαφος. Η ατελής μορφή σχηματίζει υαλώδεις υφές με septa, κονιδιοφόρους, φιαλίδια και κονίδια. Ορισμένα είδη όπως το *T. viride* παράγουν επίσης και γλαμυδοσπόρια. Οι κονιδιοφόροι είναι υαλώδεις, διακλαδιζόμενοι και φέρουν υαλώδη φιαλόμορφα φιαλίδια. Τα κονίδια είναι μονοκύτταρα και στρογγυλά ή ελλειψοειδή με διάμετρο 3μm περίπου (Bissett, 1991). Έχουν ταχύτατο ρυθμό ανάπτυξης, πλούσια σπορογένεση και ανταγωνίζονται καλά άλλους μικροοργανισμούς του εδάφους. Η άριστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη τους είναι οι 20-28°C με ελάχιστη τους 0°C και μέγιστη τους 30 °C. Έχουν δείξει ανθεκτικότητα στα χημικά μυκητοκτόνα και παράγουν διάφορα αντιβιοτικά όπως η γλοιιοτοξίνη κι η βιριντίνη (Lamboy *et al.*, 2001).

Έχουν γίνει πολλές έρευνες για την αντιμετώπιση της τεφράς σήψης από τα είδη του γένους *Trichoderma* και δύο από αυτά, το *T. harzianum* και το *T. viride* (Peng *et al.*, 1990), βρέθηκαν ότι προστατεύουν αποτελεσματικά διάφορες κηπευτικές και ανθοκομικές καλλιέργειες.



**ΕΙΚΟΝΑ :** Σχεδιάγραμμα καρποφοριών του μύκητα *Trichoderma spp.*

Σήμερα κυκλοφορεί ευρύτατα στην παγκόσμια αγορά το σκεύασμα Trichodex, υπό τη μορφή βρέξιμης σκόνης, με δραστικό μικροοργανισμό το *T. harzianum*. Το σκεύασμα αυτό συνιστάται για την καταπολέμηση της τεφράς σήψης στην τομάτα και άλλα κηπευτικά, στο αμπέλι κ.α. (O' Neil *et al.*, 1996)

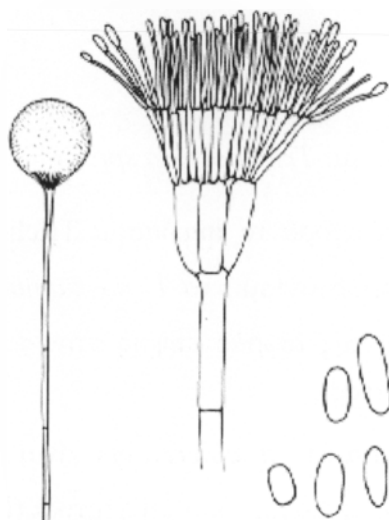
Ο τρόπος δράσης των ειδών του *Trichoderma* ενάντια στο *B. cinerea* δεν είναι μέχρι σήμερα καλά γνωστός (Elad, 1996). Το *Trichoderma* παράγει τόσο μη πτητικά (Denis *et al.*, 1971) όσο και πτητικά αντιβιοτικά (Roulston & Lane, 1988) τα οποία αναστέλλουν τη βλάστηση των κονιδίων και την επιμήκυνση των υφών του μύκητα. Όμως έχει αναφερθεί ότι δράει και ως υπερπαράσιτο των σκληρωτίων του *B. cinerea* σε διάφορα κηπευτικά (Coley *et al.*, 1980, Dubos, 1992).

Έτσι η καταπολέμηση του μύκητα με το *Trichoderma spp* πιστεύεται ότι είναι αποτέλεσμα της συλλογικής δράσης τους ή της αλλαγής των μικροπεριβαλλοντικών συνθηκών που εμποδίζουν την ανάπτυξη του πρώτου (O' Neil *et al.*, 1996). Αυτό βασίζεται στο ότι υπάρχει διαφοροποίηση στις συνθήκες οι οποίες ευνοούν τη βλάστηση των σπορίων του *B. cinerea* και την ανταγωνιστική δράση του *T. harzianum* T39, αφού αυτό δεν χρειάζεται παρουσία ελεύθερου νερού, θέλει 80-97% σχετική υγρασία και θερμοκρασία 20-26°C. Έτσι ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες άλλοτε η αποτελεσματικότητα του ανταγωνιστή είναι ικανοποιητική και άλλοτε όχι (Shtienberg & Elad, 1997).

## **2. *Gliocladium spp.***

Οι μύκητες του γένους *Gliocladium* έχουν τέλεια μορφή που ανήκει στους Ασκομύκητες στην τάξη *Hypocreales*. Είναι νηματοειδής μύκητες οι οποίοι

βρίσκονται πολύ συχνά στο έδαφος ή σε αποσυντεθειμένα φυτικά μέρη. Παράγουν υαλώδεις υφές με septa και όρθιους κονιδιοφόρους που διακλαδίζονται στα άκρα τους. Οι ακραίες διακλαδώσεις καταλήγουν σε φιαλόμορφα φιαλίδια και αυτά δίνουν ωοειδή έως κυλινδρικά μονοκύτταρα κονίδια.



**ΕΙΚΟΝΑ :** Σχεδιάγραμμα των καρποφοριών του μύκητα *Gliocladium spp.*

### ***Gliocladium roseum***

Ο μύκητας αυτός αναστέλλει τη βλάστηση των κονιδίων και την ανάπτυξη των βλαστικών υφών του *B. cinerea*. Οι βλαστικές υφές αναπτύσσονται πάνω, τυλίγουν γύρω-γύρω, διατρυπούν και αναπτύσσονται μέσα στις υφές του φυτοπαθογόνου. Τα παρασιτισμένα κονίδια και οι βλαστικές υφές του *B. cinerea* έχουν δείγματα κυττοπλασμικής αποσύνθεσης (Li *et al.*, 2002).

Στους στήμονες ο ανταγωνιστής αυτός μειώνει την ευαισθησία αποικισμού από το μύκητα, όμως δεν αναστέλλει τη βλάστηση, ανάπτυξη και δημιουργία των απρεσορίων του. Έτσι έχει πολλαπλό τρόπο δράσης καθώς τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία στα φυτικά όργανα παίζουν σημαντικό ρόλο στον ανταγωνισμό (Yu & Sutton, 1997). Οι ιδανικές θερμοκρασίες για τη βλάστηση και την μυκηλιακή ανάπτυξη του ανταγωνιστή είναι μεταξύ 27-39°C και σε αυτές τα κονίδια του βλαστάνουν σε 10 ώρες.

### ***Gliocladium virens***

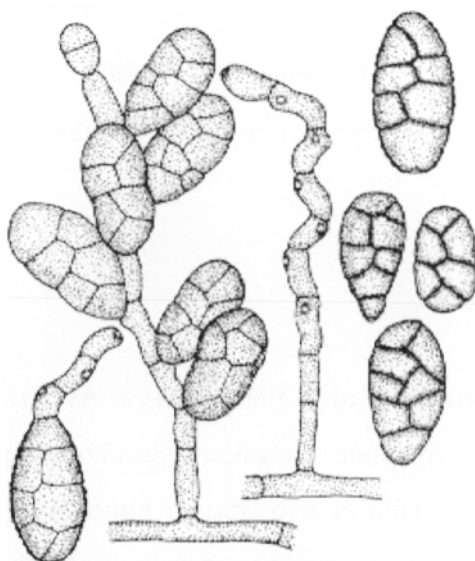
Ο μύκητας *Gliocladium virens* αναστέλλει τη βλάστηση των κονιδίων του *B. cinerea* και την επιμήκυνση των υφών αφού παράγει το αντιβιοτικό γλοιιοτοξίνη (Schirmboeck *et al.*, 1994).

### **3. *Ulocladium atrum***

Η τέλεια μορφή ανήκει στους Ασκομύκητες στην τάξη *Pleosporales*. Αναπτύσσει καστανόχρωμες υφές με septa και καστανόχρωμους απλούς ή διακλαδισμένους επίπεδους κονιδιοφόρους που είναι λυγισμένοι κάθετα στο σημείο παραγωγής των κονιδίων. Τα κονίδια έχουν χρώμα καστανό έως μαύρο, σχήμα ωοειδές έως στρογγυλό, μέγεθος 13-30 x 6-19 μm, είναι επίπεδα ή ανώμαλα και έχουν δικτυωτά χωρίσματα (Ellis, 1976).

Είναι σαπροφυτικός και έχει την ικανότητα να παρεμποδίζει την παραγωγή κονιδίων του *B. cinerea*. Αυτό συμβαίνει διότι ανταγωνίζεται το σαπροφυτικά αναπτυσσόμενο μυκήλιο του παθογόνου (Köhl *et al.*, 1995). Σε πρόσφατα πειράματα στη φράουλα έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Άριστες θερμοκρασίες για τη βλάστηση και τη μυκηλιακή ανάπτυξη είναι μεταξύ 27-30°C και σε αυτές η βλάστηση γινόταν σε 2,6 ώρες (Böff *et al.*, 2003). Σε πείραμα των Fruit *et al.* (2000) σε φυτά τομάτας το *U. atrum* μείωσε την προσβολή από την τεφρά σήψη, σε πληγές κλαδέματος και αποικίες του μύκητα στους βλαστούς. Αυτό επετεύχθη σε 15 διαφορετικούς συνδυασμούς υγρασίας και θερμοκρασίας. Μάλιστα ακόμη και σε θερμοκρασία 20-25°C, που είναι η ευνοϊκότερη για την επέκταση των κηλίδων του μύκητα στους βλαστούς, ο ανταγωνιστής έδωσε καλά αποτελέσματα. Όταν το *U. atrum* εφαρμόστηκε σε συγκέντρωση ίση με τον *B. cinerea* επετεύχθη υψηλή προστασία ενώ σε 10 φορές υψηλότερη, η προστασία ήταν ολική.

Έτσι το *U. atrum* είναι ένας πολλά υποσχόμενος βιολογικός παράγοντας για την προστασία των πληγών κλαδέματος και του βλαστού της τομάτας στα θερμοκήπια από την τεφρά σήψη (Fruit *et al.*, 2000).



ΕΙΚΟΝΑ: κονιδιοφόρος και κονίδια του μυκητα *Ulocladium atrum*

#### 4. *Coniothyrium minitans*

Ο *C. minitans* ανήκει στους Αδηλομύκητες στην τάξη *Melanconiales*. Είναι ευρύτατα γνωστός ως μυκοπαρασιτικός μύκητας των σκληρωτίων, που παράγονται από μύκητες όπως ο *B. cinerea* και ο *Sclerotinia spp.*. Παράλληλα μειώνει το ρυθμό αποικισμού ιστών, των υπέργειων φυτικών μερών, φυτών τομάτας (Gerlagh *et al.*, 1996)

#### 4. Άλλοι μύκητες

Άλλοι μύκητες που δρουν κατά του *B. cinerea* είναι οι *Penicillium sp.*, *Athirinium montagnei*, *Alternaria alternata*, *Ghaetonium globosum* (Elad *et al.*, 1994) και ο *Gliocladium catemulatum* (Köhl *et al.*, 1995).

#### ❖ Ζύμες

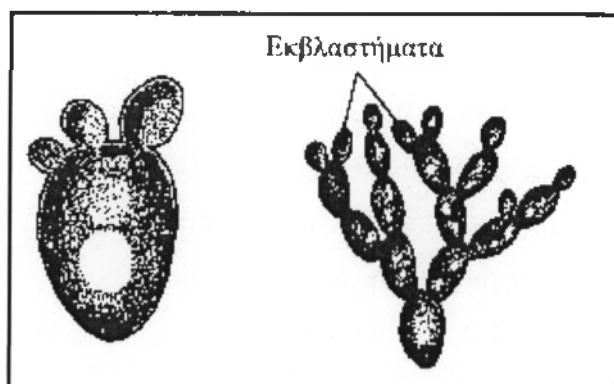
Ο όρος ζύμες αντιστοιχεί περισσότερο σε ένα τρόπο ανάπτυξης κάποιων μυκήτων παρά σε κάποια φυλογενετική ταξινόμηση (Fowell, 1969). Οι ζύμες είναι μονοκύτταροι μύκητες οι οποίοι παράγουν θυγατρικά κύτταρα είτε με εκβλάστηση είτε με αναπαραγωγή κυττάρου. Η διαφορά τους από τους περισσότερους μύκητες

είναι ότι αυτοί αναπτύσσονται με επιμήκεις υφές. Οι ζύμες που πολλαπλασιάζονται με εκβλάστηση είναι πραγματικοί μύκητες και ανήκουν στους Ασκομύκητες στην τάξη *Saccharomycetales* ([http://www.yeastgenome.org/VL-what\\_are\\_yeast.html](http://www.yeastgenome.org/VL-what_are_yeast.html)). Βέβαια αρκετές ζύμες ανήκουν στους Βασιδιομύκητες αλλά και στους Αδηλομύκητες.

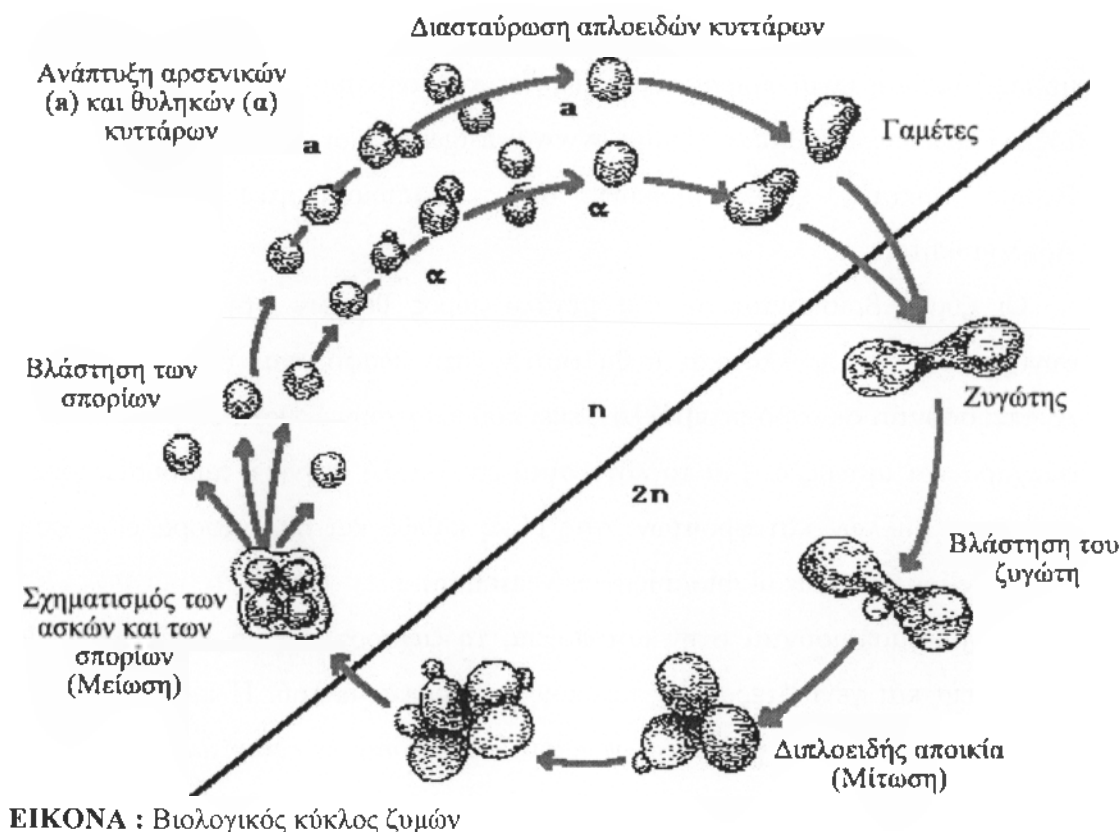
Οι ζύμες βρίσκονται σε ένα μεγάλο εύρος θέσεων στη φύση. Είναι πολύ συνηθισμένες σε φύλλα και άνθη φυτών, στο έδαφος και στο αλατούχο νερό. Αναπτύσσονται σε υγρό περιβάλλον, εκεί που υπάρχουν άφθονα διαλυτά άλατα όπως σάκχαρα και αμινοξέα. Για το λόγο αυτό είναι πολύ συχνή η παρουσία τους στην επιφάνεια φύλλων και φρούτων, στις ρίζες καθώς και σε διάφορα είδη φαγητού (<http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/yeast.htm>).

Ζύμες χρησιμοποιούνται στην αρτοποιία, τη ζαχαροπλαστική, την οينوποιία, τη ζυθοποιία και γενικότερα την ποτοποιία αλλά και αλλού. Η πιο ευρέως γνωστή ζύμη είναι η λεγόμενη μαγιά του ψωμιού *Saccharomyces cerevisiae* (Fowell, 1969). Όμως μερικές από αυτές είναι επικίνδυνες για την ανθρώπινη υγεία επειδή προκαλούν κάποιες ασθένειες. Τέτοιες ζύμες είναι η *Cryptococcus neoformans* και η *Candida albicans*.

Ο πολλαπλασιασμός των ζυμών γίνεται ως επί το πλείστον με εκβλαστήματα του μητρικού κυττάρου. Ο κύκλος ξεκινάει από ένα μη εκβλαστημένο κύτταρο. Το κύτταρο βλαστάνει, το εκβλάστημα μεγαλώνει και όταν τελικά αποκτήσει μέγεθος σχεδόν ίσο με του μητρικού αποχωρίζονται, ώστε να αποτελέσουν δύο νέα κύτταρα



ΕΙΚΟΝΑ: Βλάστηση ζύμων



### ❖ Ιοί

Οι Howitt *et al.* (2000) ανακάλυψαν ένα νέο μυκητοϊό ο οποίος προσβάλλει το μύκητα *B.cinerea*. Πρόκειται για τον *Botrytis virus flexuosus* (BVF) που περιέχει ssRNA και γονιδίωμα με 6827 νουκλεοτίδια. Αυτή είναι μια πολύ σημαντική εξέλιξη στην προσπάθεια για βιολογική καταπολέμηση της τεφράς σήψης και θα πρέπει να γίνουν και άλλες έρευνες προς αυτήν την κατεύθυνση.

### ❖ Εκχυλίσματα

Στην προσπάθεια του ανθρώπου για βιολογική καταπολέμηση των φυτοπαρασίτων, σημαντικό ρόλο έχουν τα εκχυλίσματα. Αυτά είτε είναι εκχυλίσματα φυτών τα οποία περιέχουν ουσίες με μυκοστατικές ιδιότητες, είτε προέρχονται από compost στα οποία υπάρχει μεγάλος βαθμός βιολογικής δραστηριότητας.



## 1. Εκχυλίσματα από φυτικούς ιστούς

Τα φυτά για να αντιμετωπίσουν τους εχθρούς και τις ασθένειες τους, για αυτοάμυνα δηλαδή, παράγουν μια ποικιλία ουσιών με τοξικές ιδιότητες για τα φυτοπαράσιτα. Οι ουσίες αυτές έχουν μυκοστατική δράση και αποτελούν σημαντικό κομμάτι της αλληλεπίδρασης φυτού-παθογόνου.

Επιπρόσθετα σε περιόδους stress που τα φυτά παρουσιάζουν σημαντικές αλλαγές στο μεταβολισμό τους, παράγουν και συσσωρεύουν φυτοαλεξίνες ακριβώς για να αμυνθούν ενάντια στα παθογόνα. Έτσι σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη μόλυνση αρχίζει η σύνθεση κι η συσσώρευση φυτοαλεξινών κύρια στην περιοχή της μόλυνσης. Οι φυτοαλεξίνες από χημική άποψη είναι διαφορετικής σύστασης στις διάφορες ταξινομικές κατηγορίες φυτών, παρουσιάζουν δηλαδή ένα βαθμό εξειδίκευσης στη δράση τους. Γενικά όμως είναι ουσίες με μικρό μοριακό βάρος που δρουν ενάντια στην ανάπτυξη παθογόνων μέσα στο φυτό.

Το 1959 οι Ark & Thompson έδειξαν ότι εκχυλίσματα από σκόρδο περιέχουν ουσίες με μυκητοκτόνες ιδιότητες. Τρεις από τις ουσίες αυτές, η βενζαλδεΐδη, το αιθυλοβενζόλιο και το methyl salicate, βρέθηκε ότι παρεμποδίζουν εντελώς την ανάπτυξη του *B. cinerea* στα ροδάκινα.

Ένα άλλο εκχύλισμα είναι αυτό του φυτού *Reynoutria sachalinensis* που είναι γνωστό ότι αυξάνει την αντοχή των φυτών στα παθογόνα. Το εκχύλισμα αυτό είναι αποτελεσματικό ενάντια σε ασθένειες των κηπευτικών όπως τα ωϊδία και η τεφρά σήψη. Σήμερα δεν έχει ξεκαθαρίσει από ποιες ακριβώς μυκητοκτόνες ουσίες αποτελείται, όμως θεωρείται πιθανόν να είναι το physior, το emodin και οι γλυκοζίτες (Schmitt *et al.*, 1998).

Η δράση του εκχυλίσματος αυτού σε φυτά αγγουριάς ενάντια στο μύκητα *Sphaerotheca fuliginea*, οφείλεται στην ενίσχυση της άμυνας του φυτού απέναντι στο παθογόνο κι όχι σε μυκητοκτόνες ιδιότητες. Το συμπέρασμα αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι σε πείραμα των Daayf *et al.* (1997), μετά από προστατευτικό ψεκασμό με Milsana (σκεύασμα με βάση το εκχύλισμα του *R. sachalinensis*) τα φύλλα των αγγουριών παρουσίασαν αυξημένες ποσότητες φαινολικών ενώσεων, που θεωρούνται ότι έχουν μυκητοκτόνο δράση, ενώ ακόμη μεγαλύτερες ήταν οι ποσότητες σε εποχή που τα φυτά ξενιστές προσβάλλονται από το παθογόνο.

Τα εκχυλίσματα των φυτών που χρησιμοποιούνται ως μυκητοκτόνα, δεν πρέπει να θεωρούνται εντελώς αθώα λόγω της φυσικής προέλευσης τους. Η χρήση τους ενδέχεται να έχει βλαβερές συνέπειες για την ανθρώπινη υγεία καθώς και αυτήν των ζώων.

Σύμφωνα με τους Wilson & Wisniewski (Ames, 1987), τα φυσικά μυκητοκτόνα έχουν καρκινογενετικές ιδιότητες ανάλογες με τα συνθετικά. Συχνά μάλιστα ορισμένες ουσίες από τα φυτικά εκχυλίσματα μπορεί να επιβαρύνουν πολύ περισσότερο τον ανθρώπινο οργανισμό. Βέβαια αυτό δεν πρέπει να εμποδίζει την παραπέρα μελέτη και έρευνα για την ανακάλυψη νέων ουσιών οι οποίες μπορούν να συνεισφέρουν στην καταπολέμηση διαφόρων ασθενειών.

## 2 Εκχυλίσματα από ‘composts’

Όπως προαναφέρθηκε οι μη παθογόνοι για τα φυτά οργανισμοί μπορούν να περιορίζουν τη δράση και τον πληθυσμό των παθογόνων. Σε ένα όμως οργανικό υλικό που χουμοποιείται, όπως είναι ένα compost αναπτύσσεται μια έντονα ενεργός μη παθογόνος μικροχλωρίδα, που είναι αρκετά ανταγωνιστική απέναντι στους παθογόνους μύκητες και βακτήρια. Η αποτελεσματικότητα αυτή των κομποστών εναντίον κάποιων ασθενειών των φυτών οφείλεται στην ανάπτυξη επαγόμενης ανθεκτικότητας σε συνδυασμό με την παρεμπόδιση του παθογόνου. Έτσι είναι δυνατόν τα εκχυλίσματα αυτά να χρησιμοποιηθούν ως ψεκαστικά υγρά για την καταπολέμηση των παθογόνων όπως ο *B. cinerea*.

Συγκεκριμένα για το *B. cinerea*, ο Weltzien (1991) επεσήμανε τη δυνατότητα να κατασταλεί με μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται σε “compost”. Συγχρόνως ο ίδιος ερευνητής αναφέρει ότι η χρήση “compost” από περιττώματα ζώων, έδωσε εκχύλισμα το οποίο είχε θετικότερα αποτελέσματα στην αντιμετώπιση της τεφράς σήψης, ανάλογα με αυτά των γνωστών μυκητοκτόνων dichlofluanid και procymidon.

Για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των εκχυλισμάτων αυτών ενάντια στην τεφρά σήψη προστέθηκαν ορισμένα θρεπτικά στοιχεία, όπως πρωτεΐνες για την ενδυνάμωση με αυτόν τον τρόπο των μη παθογόνων μικροοργανισμών του εκχυλίσματος (Tränkner, 1992). Σε άλλη έρευνα των Ketteter *et al.* (1991) αναφέρεται ότι η αποτελεσματικότητα της καταπολέμησης του μύκητα με

εκχυλίσματα από “composts” όχι μόνο εξαρτάται από την προσθήκη θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα αλλά και βελτιώνεται μέσω αυτής.

Εν κατακλείδι τα εκχυλίσματα από κομπόστες αποτελούν πηγές εύκολης, φτηνής και απλής εξεύρεσης βιολογικών παραγόντων, αφού δεν χρειάζονται ιδιαίτερη τεχνολογία. Έτσι η μέθοδος αυτή παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον και καλές προοπτικές για το μέλλον. Όμως από την άλλη η μη σταθερή σύσταση αυτών των υλικών και η σταθερή διαδικασία της ζύμωσης (κομποστοποίηση) δημιουργούν λογικές αμφιβολίες για το κατά πόσο θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την καταπολέμηση διαφόρων παθογόνων.

### 3.5. Ιστορικό ανθεκτικότητας

Πριν από το 1970, σχεδόν όλα τα μυκητοκτόνα που χρησιμοποιούνταν για τον έλεγχο των φυτοπαθογόνων ήταν πολυθεσικοί αναστολείς με προστατευτική δράση. Παρά την ευρεία τους χρήση, η ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε αυτές τις ουσίες ήταν ένα σπάνι φαινόμενο. Ωστόσο, μετά την εισαγωγή των μυκητοκτόνων εξειδικευμένου τρόπου δράσης στα τέλη της δεκαετίας του 1960, η ανθεκτικότητα των φυτοπαθογόνων μύκητων στα μυκητοκτόνα έχει γίνει ένα σοβαρό πρόβλημα στη φυτοπροστασία (Brent, 1995).

Η ανθεκτικότητα στα μυκητοκτόνα είναι μια σταθερή κληρονομήσιμη προσαρμογή ενός μύκητα σε ένα μυκητοκτόνο με αποτέλεσμα τη μειωμένη ευαισθησία του μύκητα σε αυτό. Έχουν προσδιοριστεί διάφοροι μηχανισμοί ανθεκτικότητας, ωστόσο, αλλαγές στην πρωτεΐνη-στόχο, η οποία παραμένει λειτουργική αλλά είναι λιγότερο ευαίσθητη στα μυκητοκτόνα, είναι ο πιο κοινός μηχανισμός ανθεκτικότητας στους φυτοπαθογόνους μύκητες. Αλλαγές του σημείου-στόχου προκύπτουν από σημειακές μεταλλάξεις στο αντίστοιχο γονίδιο. (Brent and Hollomon, 2007; Leroux et al., 2010)

Είναι ευρέως γνωστό ότι ο μύκητας *B. cinerea* αντιπροσωπεύει ένα κλασικό παθογόνου υψηλού κινδύνου όσον αφορά την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα μυκητοκτόνα εξαιτίας της υψηλής γενετικής παραλλακτικότητας του, της άφθονης σποροποίησης, του σύντομου βιολογικού του κύκλου και του μεγάλου εύρους ξενιστών του (Myresiotis et al., 2008).

### 3.6. Ολοκληρωμένη καταπολέμηση του *Botrytis cinerea* σε συνθήκες συντήρησης των προϊόντων

Η ολοκληρωμένη καταπολέμηση της τεφράς σήψης εμπεριέχει την σωστή και αρμονική χρησιμοποίηση όλων των διαθέσιμων τεχνικών και μεθόδων, με τον καλύτερο δυνατό τρόπο περιορίζοντας στο μεγαλύτερο δυνατό βαθμό την ασθένεια αλλά και ελαχιστοποιώντας τις δυσμενείς επιπτώσεις στην οικολογική ισορροπία.

Βέβαια αυτό που οδήγησε ουσιαστικά στην ολοκληρωμένη καταπολέμηση είναι η μέτρια αποτελεσματικότητα της βιολογικής μέχρι σήμερα τουλάχιστον. Έτσι φαίνεται αναπόφευκτη η συνδυασμένη χρήση της με τις άλλες μεθόδους. Σήμερα ο συνδυασμός βιολογικής και χημικής καταπολέμησης βασίζεται στη χρήση προγραμμάτων πρόγνωσης τα οποία χρησιμοποιούν μοντέλα τα οποία προβλέπουν την εμφάνιση του παθογόνου. Βέβαια ο τελικός στόχος είναι η ανάπτυξη ενός ολοκληρωμένου προγράμματος καταπολέμησης, το οποίο θα βασίζεται κυρίως στη βιολογική καταπολέμηση ενώ η χημική θα είναι μόνο βοηθητική.

Σύμφωνα με τους Shtienberg και Elad (1996), η ολοκληρωμένη καταπολέμηση της τεφράς σήψης σε καλλιέργειες κηπευτικών, σε μη θερμαινόμενα θερμοκήπια, έδειξε ανάλογη αποτελεσματικότητα με τη χημική. Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιήθηκε μυκητοκτόνο καθώς και το βιολογικό σκεύασμα *Trichodex* (*T. harzianum*). Οι εφαρμογές γίνονται ανάλογα με τις αναμενόμενες προσβολές από την τεφρά σήψη ενώ στην περίπτωση που αναμένεται προσβολή δε γίνεται κανένας ψεκασμός. Όταν αναμένεται έντονη προσβολή γίνεται ψεκασμός με μυκητοκτόνο ενώ στις άλλες περιπτώσεις με *Trichodex*.

Σε άλλη εργασία των Malathraki & Klironomou (1992), δοκιμάστηκε η αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου iprodione σε συνδυασμό με τους ανταγωνιστικούς μύκητες *T. hartzianum*, *Penicillium sp.* και *Acremonium alternatum* για την καταπολέμηση του *B. cinerea*. Από το πείραμα αυτό βρέθηκε ότι οι ανταγωνιστές που χρησιμοποιήθηκαν και τα μυκητοκτόνα (iprodione και dichlofluanid) δεν έδωσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση της τεφράς σήψης. Αντίθετα ο συνδυασμός των μη παθογόνων μυκήτων με το iprodione έδωσε καλύτερα αποτελέσματα, όταν χρησιμοποιήθηκε σε μεσοδιάστημα τριών εβδομάδων, ενώ έδωσε ανάλογα αποτελέσματα με τη χρήση του iprodione σε μεσοδιάστημα των 15 ημερών.

Η ολοκληρωμένη καταπολέμηση των ασθενειών ουσιαστικά δεν αποτελεί καινοτομία, αλλά ένα συνδυασμό με ορθολογικό τρόπο όλων των μεθόδων που είναι διαθέσιμες, προκειμένου να προστατευτούν οι καλλιέργειες από παθογόνους μικροοργανισμούς. Το σημαντικότερο στοιχείο της μεθόδου αυτής είναι η δυνατότητα καταπολέμησης των παθογόνων με πολύ λιγότερες ποσότητες μυκητοκτόνων μειώνοντας τα υπολείμματα στα προϊόντα αλλά και τις πιθανότητες δημιουργίας ανθεκτικών στελεχών.

### 3.6.1. pH

Ο *B. cinerea* ως γνωστόν είναι το παθογόνο των φυτών με το μεγαλύτερο εύρος ξενιστών και είναι ικανό να προσβάλλει σχεδόν όλα τα φυτικά μέρη πολλών διαφορετικών ειδών. Τα διάφορα φυτικά όργανα όμως περιέχουν διαφορετικές χημικές ουσίες και διαθέτουν διαφορετικές ενώσεις για την άμυνα τους. Για να αναπτύσσεται λοιπόν σε διαφορετικά υποστρώματα ο μύκητας είναι γνωστό ότι είναι ικανός να ρυθμίζει τη σύνθεση διαφόρων τοξικών παραγόντων.

Για τη ρύθμιση της έκκρισης των τοξικών παραγόντων έχουν προταθεί διάφορες ουσίες όπως τα πηκτικά τεμάχια, το γαλλικό οξύ, η γλυκόζη και διάφορες πρωτεΐνες. Όμως στην έρευνα των Manteau *et al.* (2000) βρέθηκε ότι και το εξωτερικό pH είναι επίσης ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στην τοξική στρατηγική του μύκητα.

Έτσι ο *B. cinerea* όταν αναπτύχθηκε σε φτωχή ανόργανη ύλη με pH 3-7 με γλυκόζη ως βάση άνθρακα, είχε την καλύτερη ανάπτυξη σε pH μεταξύ 4 και 5. Αυτό συμβαίνει γιατί το pH είχε άμεση επίδραση στην έκκριση από το μύκητα τριών βασικών ομάδων ενζύμων που παράγει, τις πρωτεάσες, τις πολυγαλακτουρονάσες και τις λακκάσες.

Τα ένζυμα αυτά του *B. cinerea* είτε προήλθαν από στελέχη που απομονώθηκαν από φυτά τομάτας είτε από στελέχη που απομονώθηκαν από αμπέλι έδωσαν παρόμοια αποτελέσματα που είναι μέγιστα σε τιμές pH στα άκρα, δηλαδή pH=3 και pH=6, του άριστου pH=5. Το μέτριο pH λογικά πρέπει να υποβοηθά την έκκριση τοξικών ενζύμων που βοηθούν δεδομένο στέλεχος του μύκητα, να παράγει πιστή ανάπτυξη τοξικών παραγόντων για να αποικίσει, τους καρπούς οι οποίοι έχουν υψηλό pH, καθώς και τα φύλλα τα οποία έχουν χαμηλό pH, κάποιου από τα φυτά ξενιστές του (Manteau *et al.*, 2000).

### 3.6.2. Όζον

Το όζον είναι αέριο ανοικτού κυανού χρώματος και απαντάται στα χαμηλότερα επίπεδα της στρατόσφαιρας (15 έως 30 km πάνω από την επιφάνεια της γης, «στιβάδα του όζοντος»). Η οσμή του είναι χαρακτηριστική και γίνεται αντιληπτή από τον άνθρωπο όταν η ελάχιστη συγκέντρωση κυμαίνεται ανάμεσα σε 5 και 20 ppb (ανάλογα με την οσφρητική ικανότητα του ατόμου). Σχηματίζεται κυρίως από την αντίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) με το οξυγόνο σύμφωνα με την αντίδραση:  $3O_2 \rightarrow 2O_3 + \text{θερμότητα} + \text{φως}$ .

Η υπεριώδης ακτινοβολία διασπά το μοριακό  $O_2$  σε δυο μονήρη  $O\cdot$ , μερικά από αυτά αντιδρούν με το  $O_2$  και έτσι σχηματίζεται το όζον ( $O_3$ ). Το όζον σχηματίζεται επίσης στην ατμόσφαιρα από τις ηλεκτρικές εκκενώσεις κατά τη διάρκεια καταιγίδων. Ο καθαρός αέρας στην τροπόσφαιρα (ύψος μέχρι 15 km) περιέχει όζον σε συγκέντρωση μικρότερη των 40 ppb. Αυξημένα επίπεδα όζοντος στην τροπόσφαιρα (>40 ppb) οφείλονται στη φωτοχημική ρύπανση και είναι ιδιαίτερα επικίνδυνα για την υγεία του ανθρώπου.

Η οσμή του όζοντος στα όρια που γίνεται αισθητή μπορεί να θεωρηθεί έως και ευχάριστη, αφού δίνει την αίσθηση φρέσκου και καθαρού αέρα. Η σύντομη εισπνοή όζοντος σε μεγάλες σχετικά συγκεντρώσεις αφήνει την αίσθηση της οσμής του για αρκετή ώρα μετά την εισπνοή και στη συνέχεια μπορεί να απευαισθητοποιήσει την όσφρηση.

Το όζον έχει μοριακό βάρος 48 (βαρύτερο από τον αέρα), πυκνότητα 2,144 g l<sup>-1</sup> (1 ppm  $O_3 = 1 \mu\text{l l}^{-1} = 1 \text{ ml m}^{-3} = 2,14 \text{ mg m}^{-3} O_3, \text{ v/v}$ ), οξειδοαναγωγικό δυναμικό 2,07 V και διαλυτότητα στο νερό 190 mg l<sup>-1</sup> (0°C). Το όζον είναι ασταθές και από τη στιγμή που σχηματίζεται αμέσως αρχίζει και διασπάται σε μονήρες  $O\cdot$  και  $O_2$ . Πέρα από το μονήρες οξυγόνο, που είναι πολύ ενεργό, παρουσία νερού ή υψηλής σχετικής υγρασίας σχηματίζεται και η ρίζα του  $OH\cdot$  η οποία μαζί με το  $O_3$  και το  $O\cdot$  συμπεριλαμβάνεται στις ενεργές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) οι οποίες οξειδώνουν οργανικές ενώσεις και είναι υπεύθυνες για το οξειδωτικό στρες των ζωικών και φυτικών οργανισμών.

Η ημιζωή του όζοντος στον αέρα επηρεάζεται σημαντικά από τη θερμοκρασία και από τη σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας. Επειδή το όζον αντιδρά με

οσμές, καπνό, βακτήρια, σπόρια μυκήτων και υδρατμούς που αιωρούνται στην ατμόσφαιρα στην πραγματικότητα η ημιζωή του όζοντος στον αέρα, υπό συνήθεις συνθήκες θερμοκρασίας, δεν διαρκεί περισσότερο από 30 min.

Η ημιζωή του όζοντος στο νερό είναι πολύ συντομότερη από ότι στον αέρα. Η διαλυτότητα του όζοντος στους 25 είναι 109 mg l<sup>-1</sup> ενώ η διαλυτότητα του οξυγόνου είναι 8 mg l<sup>-1</sup>. δηλαδή το όζον είναι 13 φορές ποιο διαλυτό στο νερό από ότι είναι το οξυγόνο. Διασπάται ταχύτατα σε όξινα διαλύματα, ενώ είναι πολύ σταθερότερο σε αλκαλικά. Τα παραπάνω φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του όζοντος από άποψη διαλυτότητας στο νερό και δραστηριότητας το καθιστούν χρήσιμο εργαλείο στη βιομηχανία τροφίμων, ως εναλλακτικό της χρήσης ενώσεων χλωρίου, για την αποστείρωση του εξοπλισμού και την απολύμανση των τροφίμων (απολυμαντικό και αποστειρωτικό).

Το όζον όμως δεν είναι τοξικό μόνο για τους μικροοργανισμούς είναι εξίσου τοξικό και για τον άνθρωπο. Οι εργαζόμενοι που έρχονται σε επαφή με το όζον πρέπει να λαμβάνουν μέτρα ατομικής προστασίας, από τη στιγμή που το αέριο επιδρά άμεσα στο αναπνευστικό σύστημα, προκαλώντας ζαλάδα και ερεθισμό στα μάτια και στον λάρυγγα. Ωστόσο, σε χαμηλές συγκεντρώσεις το όζον δεν είναι τοξικό για τον άνθρωπο. Με βάση αυτά τα δεδομένα ο οργανισμός ασφαλείας και υγείας των εργαζομένων των ΗΠΑ (Occupational Safety & Health Administration, OSHA) έχει προτείνει ως ανώτατο όριο έκθεσης για τους εργαζομένους τα 15 min σε συγκέντρωση 0,3 ppm και 8 h σε συγκέντρωση 0,1 ppm. Πάνω από συγκέντρωση 0,2 ppm μπορεί να προκαλέσει ζημιά στο αναπνευστικό σύστημα του ανθρώπου, ενώ τα 5 ppm θεωρούνται ως συγκέντρωση άμεσα επικίνδυνη για τη ζωή και την υγεία του ανθρώπου (Immediately Dangerous to Health & Life, IDHL). Αυτή είναι και η μέγιστη συγκέντρωση για την οποία υπάρχουν εγκεκριμένες αναπνευστικές μάσκες και υψηλότερα επίπεδα όζοντος από αυτή τη συγκέντρωση είναι επικίνδυνα και απαιτούν ειδικό ατομικό αναπνευστικό εξοπλισμό.

Το όζον μπορεί να εφαρμόζεται ως αέριο για την απολύμανση θαλάμων συντήρησης τροφίμων και εξοπλισμού στη βιομηχανία τροφίμων καθώς και για τη συντήρηση φρούτων και λαχανικών σε θαλάμους ψυχρής συντήρησης, επιτυγχάνοντας τον περιορισμό των σήψεων συγχρόνως με την απομάκρυνση του αιθυλενίου. Είναι ένα μέσο φιλικό προς το περιβάλλον γιατί δεν αφήνει υπολείμματα και η σύγχρονη τεχνολογία επιτρέπει την ασφαλή εφαρμογή του στη βιομηχανία των

οπωροκηπευτικών. Όμως, ως πολύ ισχυρό οξειδωτικό μέσο, το όζον είναι επικίνδυνο για τον άνθρωπο και μπορεί να προκαλέσει ανεπανόρθωτες βλάβες στο αναπνευστικό του σύστημα. Για το λόγο αυτό έχουν θεσπιστεί ανώτερα επιτρεπτά όρια έκθεσης των εργαζομένων στους χώρους εφαρμογής του τα οποία θα πρέπει να τηρούνται αυστηρά και επιπλέον όπου εφαρμόζεται το όζον θα πρέπει να εγκαθίστανται συστήματα ανίχνευσης και προειδοποίησης.

Οι μετασυλλεκτικές ασθένειες των νωπών φρούτων και λαχανικών, που εκδηλώνονται κατά τη διάρκεια της συντήρησης στα ψυγεία ή και στα ράφια των καταστημάτων αποτελούν τον κύριο παράγοντα πρόκλησης ποσοτικών απωλειών αλλά και ποιοτικής υποβάθμισης και οφείλονται σε μη παρασιτικά και παρασιτικά αίτια (μύκητες, βακτήρια). Οι μη παρασιτικές μετασυλλεκτικές ασθένειες ή φυσιολογικές ανωμαλίες συνήθως οφείλονται σε ανισορροπία ανόργανων στοιχείων (Ca, K, Mg) και βασικά σε έλλειψη ασβεστίου (Ca), βορίου (B), ψευδαργύρου (Zn), ακατάλληλο στάδιο ωρίμανσης για συγκομιδή (πρώιμη ή πολύ όψιμη συγκομιδή), σε ακατάλληλες συνθήκες συντήρησης (θερμοκρασία, υγρασία) και σε παρατεταμένη διάρκεια συντήρησης. Οι μετασυλλεκτικές παρασιτικές ασθένειες ή μετασυλλεκτικές σήψεις προκαλούνται κυρίως από μυκητολογικής αιτιολογίας παθογόνα, ενώ σπανιότερα από τη δράση φυτοπαθογόνων βακτηρίων. Ο κίνδυνος των μετασυλλεκτικών σήψεων μοιλονότι υπαρκτός σε καρπούς βραχείας συντήρησης, όπως το ροδάκινο και το κεράσι, αυξάνει ακόμη περισσότερο σε ευαίσθητα λαχανικά (μαρούλι, κουνουπίδι, μπρόκολο), καθώς και σε προϊόντα που συντηρούνται επί μακρόν (μήλα, αχλάδια ακτινίδια) ή τεμαχίζονται (φρέσκες φρουτοσαλάτες ή σαλάτες λαχανικών, fresh cuts).

Τα γένη των μυκήτων και βακτηρίων που προκαλούν τις σημαντικότερες μετασυλλεκτικές σήψεις των αγροτικών προϊόντων είναι τα: *Botrytis*, *Monilia*, *Penicillium*, *Mucor*, *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Diplodia*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Erwinia*. Οι μετασυλλεκτικές σήψεις οφείλονται σε προ- και μετα-συλλεκτικούς παράγοντες και μπορεί να είναι το αποτέλεσμα προσυλλεκτικών λανθανουσών μολύνσεων ή επιμολύνσεων και προσβολών από μύκητες και βακτήρια κατά τη συγκομιδή. Τα συμπτώματα των προσβολών εμφανίζονται κατά την αποθήκευση, την μεταφορά ή και μετά την αγορά των νωπών προϊόντων από τον καταναλωτή. Η αντιμετώπισή τους στηρίζεται κυρίως στην εφαρμογή χημικών



φυτοπροστατευτικών προϊόντων (ΦΠΠ) προσυλλεκτικά (μυκητοκτόνα) και σε ορισμένες περιπτώσεις μετασυλλεκτικά (απολυμαντικά με βάση το χλώριο, SOPP, διάφορα μυκητοκτόνα κ.α.). Χρήση μυκητοκτόνων (π.χ. imazalil) μετασυλλεκτικά επιτρέπεται μόνο σε ορισμένα φρούτα (εσπεριδοειδή) των οποίων ο φλοιός, που έρχεται σε άμεση επαφή με το μυκητοκτόνο, δεν αποτελεί το εδώδιμο τμήμα του καρπού.

Η ολοένα αυξανόμενη ανησυχία των καταναλωτών για τα θέματα της ασφάλειας των τροφίμων οδήγησε την Ευρωπαϊκή Ένωση στην επιβολή περιορισμών στη χρήση ΦΠΠ κατά τη διαδικασία της παραγωγής των αγροτικών προϊόντων. Οι περιορισμοί αυτοί είναι ακόμη μεγαλύτεροι για την αγορά της Ρωσίας που αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους προορισμούς για τα ελληνικά αγροτικά προϊόντα. Οι αρχές της «Ολοκληρωμένης Παραγωγής» φρούτων και λαχανικών επιτρέπουν τη χρήση εγκεκριμένων μυκητοκτόνων προσυλλεκτικά, όμως η χρήση τους μετασυλλεκτικά είναι κάτι αδιανόητο για τα περισσότερα φρούτα και λαχανικά. Επομένως η στροφή προς μεθόδους φιλικές για τον καταναλωτή και το περιβάλλον, εναλλακτικές της χημικής αντιμετώπισης των μετασυλλεκτικών ασθενειών είναι σήμερα επιτακτική. Τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να αξιολογείται ερευνητικά αλλά και να εφαρμόζεται σε εμπορικό επίπεδο η χρήση του όζοντος, είτε ως απολυμαντικό είτε για την οξείδωση του αιθυλενίου και ταυτόχρονα για την αναστολή αύξησης των μυκήτων, που προκαλούν μετασυλλεκτικές σήψεις ή ακόμη και για τη διάσπαση των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών ουσιών.

### 3.6.3. Αιθυλένιο

Σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του μύκητα έχει αποδειχτεί ότι διαδραματίζει το αιθυλένιο (Elad, 1988). Αυτό έχει στηριχθεί στο γεγονός ότι οι αναστολές της παραγωγής ή της δράσης του αιθυλενίου μπορεί να μειώσουν την ένταση της ασθένειας (Elad *et al.*, 1988). Κομμένα λουλούδια τριανταφυλλιάς λιπαινόμενα με θρεπτικά διαλύματα, τα οποία περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων Ca, παράγουν λιγότερο αιθυλένιο και είναι λιγότερο προσβλημένα από την τεφρά σήψη απ' ό,τι αυτά με χαμηλότερα επίπεδα Ca<sup>2+</sup> (Elad *et al.*, 1988).

Το αιθυλένιο είναι υδρογονάνθρακας με ένα διπλό δεσμό (CH<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>), άοσμο και άχρωμο και ελαφρύτερο από τον αέρα. Είναι αέρια φυτική ορμόνη ωρίμανσης και

γηρασμού. Σχηματίζεται κατά την ωρίμανση των κλιμακτηρικών καρπών (μήλο, ακτινίδιο, μπανάνα, τομάτα κ.ά.), αλλά και από την καύση οργανικών ενώσεων, επηρεάζει σημαντικά τη διάρκεια της μετασυλλεκτικής ζωής των οπωροκηπευτικών, την εμφάνιση φυσιολογικών ασθενειών και την ευαισθησία τους στις σήψεις. Το αιθυλένιο έχει θετικά και αρνητικά χαρακτηριστικά. Στη βιομηχανία των οπωροκηπευτικών χρησιμοποιείται ευρέως για την τεχνητή ωρίμανση της μπανάνας, του ακτινιδίου, τον αποπρασινισμό των εσπεριδοειδών. Χρησιμοποιείται επίσης ως αντιφυτρωτικό της πατάτας κατά τη συντήρηση. Όμως προκαλεί και προβλήματα κατά τη συντήρηση πολλών ευαίσθητων στο εξωγενές αιθυλένιο οπωροκηπευτικών, τα οποία όταν εκτίθενται στο αιθυλένιο τότε παρουσιάζουν φυσιολογικές ανωμαλίες (κιτρίνισμα, μαλάκωμα σάρκας, κηλιδώσεις) και τελικά γηράσκουν και σαπίζουν.

Ευπαθή οπωροκηπευτικά στο εξωγενές αιθυλένιο είναι το ακτινίδιο, το σπαράγγι, τα αντίδια, η ρόκα, το αγγούρι, το κουνουπίδι, το μπρόκολο, το μαρούλι και τα δρεπτά άνθη (κυρίως το γαρύφαλλο). Για τους παραπάνω λόγους θα πρέπει να αποφεύγεται η άμεση έκθεση των ευαίσθητων προϊόντων στο εξωγενές αιθυλένιο, ακόμη και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, κατά τη διάρκεια της συντήρησής τους στους ψυκτικούς θαλάμους.

Η αντιμετώπιση του αιθυλενίου στους χώρους συντήρησης των οπωροκηπευτικών γίνεται με α) την αφαίρεση ή οξείδωση του αιθυλενίου από τους ψυκτικούς χώρους ή από τις κλειστές συσκευασίες, β) τη χρήση αναστολέων σχηματισμού αιθυλενίου (AVG, aminoethoxyvinylglycine, εμπορικό σκεύασμα ReTain™, STS, silver thiosulfate, χρήση σε δρεπτά άνθη) και γ) ανταγωνιστών δράσης αιθυλενίου (CO<sub>2</sub>, χρήση κατά τη διάρκεια του αποπρασινισμού, 1-MCP, 1-methylcyclopropene, εμπορικά σκευάσματα Smart Fresh<sup>SM</sup> και EthylBloc™).

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην επιφάνεια των αποικισμένων ιστών, ο μύκητας παράγει το γκρι μυκήλιο και μάζες μικροσκοπικών κονιδίων (άφυλλα σπόρια) σε μικρές ομάδες όπως είναι περίπου τα σταφύλια. Είναι υαλοειδείς ή σε καφέ χρώμα με διαστάσεις 7-21 × 2,4-10 μm.

Η ουσία *Botrytis* παράγει επίσης sclerotia, τα οποία διαμορφώνονται στον αποικισμένο ιστό ή στο μυκήλιο. Είναι μαύροι, συμπαγείς, με διάμετρο 1-5 χιλ. Τα sclerotia παράγουν γενικά κονίδια προϊόντων, και περιστασιακά αποτελούν υφές μόλυνσης, όπου μπορούν να διαπεράσουν άμεσα. Επίσης παράγει, apothecia (ένα σεξουαλικό φρουτώδες σώμα), το οποίο στη συνέχεια, παράγει σπόρους που είναι επίσης μολυσμένοι

Η σήψη *Botrytis* έχει επιπτώσεις στις περισσότερες συγκομιδές λαχανικών και φρούτων και ανήκει στα σημαντικότερα παθογόνα. Ο μύκητας προκαλεί κυρίως αποσύνθεση στα φρούτα και στις ρίζες. Ο *Botrytis* αποτελεί πρόβλημα στα φρούτα και στα λαχανικά κατά τη διάρκεια της κρίας αποθήκευση και συνεπώς στην μεταφορά, επειδή μπορεί να λειτουργήσει σε θερμοκρασίες ψύξεως. Εκτός από κάποιες εξαιρέσεις ο *Botrytis*, επιτίθεται κυρίως στους τρυφερούς ιστούς (πέταλα, οφθαλμοί ή σπορόφυτα λουλουδιών), στους αποδυναμωμένους ή τραυματισμένους ιστούς και στους γηραιούς νεκρούς ιστούς. Οι ενεργοί ιστοί ανάπτυξης, εκτός από τα πέταλα, δέχονται άμεσα εισβολή.

Τα γενικά συμπτώματα περιλαμβάνουν έναν γκρι προς καφετί αποχρωματισμό, την διαπότιση νερού, και ένα συγκεκριμένο υπόλευκο, γκρι προς μαύρο μούχλιασμα (μυκήλιο και σπόρια) αναπτύσσοντας στις επιφάνειες των επηρεασμένων περιοχών. Κάτω από δροσερές και υγρές συνθήκες το έδαφος παραμένει άσπρο. Τα σπορόφυτα καταρρέουν από μια μαλακή, μαύρη προς καφετί, υγρή αποσύνθεση του μίσχου, πάνω ή κοντά στην εδαφολογική γραμμή. Το χαρακτηριστικό γκρι μούχλιασμα αναπτύσσεται σύντομα στον αποσυντεθειμένο ιστό. Η κατάρρευση των λαχανικών και των σπορόφυτων λουλουδιών από τον *Botrytis* εμφανίζονται κυρίως στα κρία μέρη όπου η υγρασία είναι υψηλή, αλλά μπορεί επίσης να εμφανιστεί στο χώμα όπου οι σπόροι είναι μολυσμένοι με sclerotia ή μυκήλιο ή αν υπάρχει στο έδαφος ο *Botrytis*

Η ασθένεια μπορεί να κατασταλεί με την αποφυγή της υπερβολικής άρδευσης και του πρωινού ποτίσματος για να αφηθεί χρόνος στα λουλούδια και τα φύλλα για να στεγνώσουν. Η κατάλληλη απόσταση των φυτών μπορεί να βελτιώσει την ξήρανση αέρα και την ταχύτερη ξήρανση φύλλων. Ο έλεγχος συνοψίζεται παρακάτω:

- Αγορά υψηλής ποιότητας σπόρου των συνιστώμενων ποικιλιών.
- Αποφυγή βαριών χωμάτων, βαριάς σποράς, υπερκαλλιέργειας, φτωχής κυκλοφορίας του αέρα, του βαθιού φυτέματος, της υπερλίπανσης (ειδικά με άζωτο), και των υγρών στρωμάτων φύλλων.
- Λίπανση φυτών βάσει εδαφολογικής δοκιμής.
- Ξηρό θερμοκήπιο και χώμα μετά τη φύτευση. Άφθονο φως στα φυτά.
- Στα θερμοκήπια χρειάζεται η μέγιστη κυκλοφορία αέρα για την αποφυγή υπερβολικής υγρασίας, και δεν χρειάζεται το νερό για τη διαμόρφωση φυλλώματος. Τη νύχτα, η θερμοκρασία θερμοκηπίου πρέπει να είναι υψηλότερη από την υπαίθρια, για την αποφυγή συμπύκνωσης νερού στα φύλλα.
- Πρακτική εφαρμογή του επιφανειακού ποτίσματος. Απομάκρυνση του νερού από το φύλλωμα. Πότισμα των φυτών νωρίς το πρωί, ώστε το φύλλωμα να προλάβει να στεγνώσει ως το ηλιοβασίλεμα.
- Αποφυγή καταστροφής των ριζών κατά τη διάρκεια συγκομιδής και απομάκρυνση των κατεστραμμένων φυτών από τις περιοχές αποθήκευσης. Αποθήκευση μόνο καθαρών λαχανικών, σε δροσερό περιβάλλον, όπου η υγρασία είναι αρκετά υψηλή για να εμποδίσει το ζάρωμα και δεν επιτρέπει τη διαμόρφωση ελεύθερης υγρασίας. Η υγρασία για τα περισσότερα λαχανικά πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο παγωμένη.
- Μετά τη σοδειά, χρειάζεται προσεκτική συλλογή, αφαίρεση και κάψιμο, ή καθάρισμα με άροτρο όλων των απομεινόντων φυτών.
- Τα μυκητοκτόνα είναι σπάνια ή μη καταγεγραμμένα για τη φυλλώδη εφαρμογή στις περισσότερες χώρες.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

**Alderman, S. C. & Lacy, M.L., 1985.** Influence of interruptions of dew periods on number of lesions produced on onion by *Botrytis squamosa*. In *Phytopathology* **75**, 808-810.

**Alfonso C., Raposo R. and Melgarejo P. (2000).** Genetic diversity in *Botrytis cinerea* populations on vegetable crops in greenhouses in south-eastern Spain. *Plant Pathology* **49**: 243-251.

**Baker K. F., 1987.** Evolving concepts of biological control of plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathology* **25**, 67-85.

**Beever D.J., McGrath H.J.W., Clarke D.L. and Todd M. (1984).** Field application and residues of fungicides for the control of *Botrytis* storage rot of kiwifruit. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture* **12**: 339-346

**Beever R.E. and Weeds L. (2004).** Taxonomy and Genetic Variation of *Botrytis* and *Botyotinia*. p.29-52 Elad Y., Williamson B., Tudzynski P. and Delen N. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*.

**Bissett, J. 1991c.** A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional notes on section *Longibrachiatum*. *Can. J. Bot.* **69**, 2418-2420.

**Blakeman, J. P. 1985.** Ecological succession of leaf surface microorganisms in relation to biological control. In *Biological control on the phylloplane*, (Eds. C. E. Windels & S. E. Lindow), pp.6-30. APS, St. Paul.

**Blakeman, J., P. & Fokkema, N., J., 1982.** Potential for the biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annu. Rev. Phytopathology* **20**, 167-192.

**Boff P., Kastelein P., de Kraker J., Gerlagh M. and Kohl J. (2001).** Epidemiology of grey mould in annual waiting-bed production of strawberry. *European Journal of Plant Pathology* **107**: 615-624.

**Böff, P., Geriaf, M., Horsten, P., Lombaers-van der Plas C.H. & Köhl J., 2003.** Sporulation suppression of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* on strawberries. In Dlo-research institute for plant protection, Wageningen, The Netherlands

**Brent K.J. (1995).** Fungicide Resistance in Crop Pathogens, How Can it be Managed. Global Crop Protection Federation, Brussels.

**Brent J.K. and Hollomon D.W. (2007).** Fungicide resistance: the assessment of risk. FRAC Monograph no2: 1-28.

**Bulit J. and Dubos B. (1988).** *Botrytis* bunch rot and blight. Pages 13-15 in *Compendium of Grape Diseases*. R.C. Pearson and A. C. Goheen, eds. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

**Burgess D.R., Bretag T.W. and Keane P.J. (1997).** Seed to seedling transmission of *Botrytis cinerea* in chickpea and disinfestations of seed with moist heat. *Australian Journal of Experimental Agriculture* **37**: 223-229.

**Buttner P., Koch F., Voigt K., Quidde T., Risch S., Blaich R., Bruckner B. and Tudzynski P. (1994).** Variation in ploidy among isolates of *Botrytis cinerea*: Implications for genetic and molecular analyses. *Current Genetics* **25**: 445-450.

**Brooks C. and Cooley J.S. (1917).** Temperature relations of apple-rot fungi. *Journal of Agricultural Research* **8**: 139-164.

**Care ,D. D. & Coyier, D.L., 1984.** Influence of atmospheric humidity and free water on germ tube growth of *botrytis cinerea*. In *Phytopathology* **74**, 1136.

**Clark C.A and Lorbeer J.W. (1973).** Reaction of onion cultivars to *Botrytis* brown stain. *Plant Disease Reporter* **57**: 210-214.

**Cole, L., Dewey, F. M. & Hawes, C. R. 1996.** Infection mechanism of *Botrytis* species: pre-penetration and pre-infection process of dry and wet conidia. *Myc. Research* **100** (3): 277-286.

**Coley-Smith J. R. 1980.** Sclerotia and other structures in survival. In *The biology of Botrytis*, (Eds. J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff & W. R. Jarvis), pp. 85-114. Academic Press, London.

**Cook, J. R. 1993.** Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathology* **31**, 53-80.

**Cook, J. R. & Baker, K. F. 1983.** The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS: St. Paul.

**Cotoras M. and Silva E. (2005).** Differences in the initial events of infection of *Botrytis cinerea* strains isolated from tomato and grape. *Mycologia* **97**: 485-492.

**Decognet V., Bardin M., Trottin-Caudal Y. and Nicot P.C. (2009).** Rapid change in the genetic diversity of *Botrytis cinerea* populations after the introduction of strains in a tomato glasshouse. *Phytopathology* **99**: 185-193.

**Delcan J. and Melgarejo P. (2002).** Mating behavior and vegetative compatibility in Spanish populations of *Botryotinia fuckeliana*. *European Journal of Plant Pathology* **108**: 391-400.

**Dik A.J. and Wubben J.P. (2004).** Epidemiology of *Botrytis Cinerea* Diseases in Greenhouses. p.319-333. In Y. Elad, Williamson B., Tudzynski P. and Delen N., *Botrytis: Biology, Pathology and Control*.

**Dubos, B. 1992.** Biological control of *Botrytis*: state-of-the-art. In *Recent advances in Botrytis research* (Eds. K. Verhoeff, N. E. Malathrakis & B. Williamson), pp. 169-178; 10th International *Botrytis* Symposium, Heraklion, Crete, Greece. Pudoc, Wageningen, Netherlands.

**Duncan R. (1991).** Biological control of *Botrytis cinerea* on kiwifruit through field applications of antagonistic microorganisms. M.S. thesis. California State University Fresno.

**Elad Y. (1992).** Reduced sensitivity of *Botrytis cinerea* to two sterol biosynthesis-inhibiting fungicides: fenetrazole and fenethanil. *Plant Pathology* **41**: 47-54.

**Elad Y. (2007).** Epidemiology and Ecology of *Botrytis* Spp. 14th International *Botrytis* Symposium 21-26 October 2007-Cape Town, South Africa. Abstract book, page 43.

**Elad, Y., 1988.** Latent infection of *Botrytis cinerea* in rose flowers and combined chemical physiological control of the disease. In *Crop Prot.* **7**, 361-366.

**Elad, Y., 1988** Involvement of ethylene in the pathogenicity of *Botrytis cinerea* Pers. on rose and carnation flowers and the possibility of control. In *Ann. appl. Biol.* **113**, 589-598

**Elad, Y., 1994.** Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. In *Crop Prot.* **13**, 35-38.

**Elad, Y., 1996.** Effect of filtration of solar light on the production of conidia by field isolates of *Botrytis cinerea* and on several diseases of greenhouse crops. In *Crop Prot.* **16**, 635-642.

**Elad, Y., 1996.** Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. *Eur. J. In Plant Pathol.* **102**, 719-732. (Review)

**Elad, Y., 1997.** Responses of plants to infection by *Botrytis cinerea* and novel means involved in reducing their susceptibility to infection. In *Biol. Rev.* **72**, 381-422

**Elad Y., Gullino M.L., Shtienberg D. and Aloï C. (1995).** Managing *Botrytis cinerea* on tomatoes in greenhouses in the Mediterranean. *Crop Protection* **14**: 105-109.

**Elad, Y., Kohl, J. & Fokkema, N. J., 1994.** Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. In *Phytopathology* **84**, 1193-1200.

**Elad Y. and Shtienberg D. (1995).** *Botrytis cinerea* in greenhouse vegetables: chemical, cultural, physiological and biological controls and their integration. *Integrated Pest Management Reviews* **1**: 15-29.

**Elad Y. and Stewart A. (2004).** Microbial Control of *Botrytis* Spp. p. 223-241. In Elad Y., Williamson B., Tudzynski P. and Deloën N., *Botrytis: Biology, Pathology and Control*.

**Elad Y. and Yunis H. (1993).** Effect of microclimate and nutrients on development of cucumber gray mold (*Botrytis cinerea*). *Phytoparasitica* **21**: 257-268.

**Elad Y., Yunis H. and Katan T. (1992).** Multiple fungicide resistance to benzimidazoles, dicarboximides and diethofencarb in field isolates of *Botrytis cinerea* in Israel. *Plant Pathology* **41**: 41-46.

**Elad, Y. & Volpin, H., 1991.** Heat treatment for the control of rose and carnation grey mould (*Botrytis cinerea*). In *Plant Pathol.* **40**, 278-286.

**Elad Y., Williamson B., Tudzynski P. and Delen N. (2004).** Botrytis spp. and diseases they cause in agricultural systems-an introduction. p. 1-8. In Elad Y., Williamson B., Tudzynski P. and Deloën N., *Botrytis: Biology, Pathology and Control*.

**Ellis, M.B. 1976.** More Dematiaceous Hyphomycetes. *Commonwealth Mycol. Inst., Kew*

**Elmer P.A.G. and Michailides T.J. (2004).** Epidemiology of *Botrytis cinerea* in Orchard and Vine Crops. p. 243-272. In Elad Y., Williamson B., Tudzynski P. and Deloën N., *Botrytis: Biology, Pathology and Control*.

**Epton H. A. S. & Richmond, D. V. 1980.** Formation, structure and germination of conidia. In *The biology of Botrytis*, (eds. J. R. Coley-Smith, K. Verhoëff & W. R. Jarvis) Academic Press, London., pp. 41-84.

**Faretra F. and Pollastro S. (1993).** Genetics of sexual compatibility and resistance to benzimidazole and dicarboximide fungicides in isolates of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) from nine countries. *Plant Pathology* **42**: 48-57.

**Faretra F., Antonacci E. and Pollastro S. (1988a).** Sexual behavior and mating system of *Botryotinia fuckeliana*, teleomorph of *Botrytis cinerea*. *Journal of General Microbiology* **134**: 2543-2550

**Fokkema, N. J. 1996.** Biological control of fungal plant diseases. *Entomophaga* **41**, 333-342.

**Fermaud M. and Le Menn R. (1989).** Association of *Botrytis cinerea* with grape berry moth larvae. *Phytopathology* **79**: 651-656.

**Ferreira J.H.S and Marais P.G. (1987).** Effect of rootstock cultivar, pruning method and crop load on *Botrytis cinerea* rot of *Vitis vinifera* cv. Chenin Blanc grapes. *South African Journal for Enology and Viticulture* **8**: 41-44.

**Fowell, R. 1969.** Life Cycles in Yeasts. In A.H. Rose & J.S. Harrison (Eds.), *The Yeasts*. pp. 461-471. London: Academic Press Inc. Ltd

**Fruit, L. & Nicot, P. 2000.** Effects of temperature and relative humidity on control of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* on tomato stem wounds. In 12th International Botrytis Symposium. Reims, France, (Abstracts).

**Gerlagh, M., Whipps, J. M., Budge, S. P. & GoossenvandeGeijn, H. M. 1996.** Efficiency of isolates of *Coniothyrium minitans* as mycoparasites of *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum* and *Botrytis cinerea* on tomato stem pieces. *Europ. J. Pl. Pathology* **102**, 787-793.



- Goodman, R. N., Kiraly, Z. & Wood, K. R. 1986.** The biochemistry and Physiology of Plant Disease. Columbia: MO. University of Missouri Press, pp.100.
- Grewal J.S. and Laha S.K. (1983).** Chemical control of botrytis blight of chickpea. Indian Journal of Phytopathology 36: 516-520.
- Harisson, J.G., 1988.** The biology of Botrytis spp. on Vicia beans and chocolate spot disease- a review. In Plant Pathology 37, 168-201.
- Harper, A. M. & Strange, R. N. 1981.** Characterization of nutrients required by Botrytis cinerea to infect broad bean leaves. Phys. Pl. Pathology 19, 153-167.
- Have, A. 2000.** The Botrytis cinerea endopolygalacturonase gene family. [S.l.:s.n.]. Thesis Wageningen University. 1-120.
- Haware M.P. (1998).** Diseases of chickpea. In: Allen D.J and Lenne J.M. (eds). The Pathology of Food and Pasture Legumes. (pp. 473-516) CAB International, Wallingford, UK.
- Hoffland, E., van Beusichem, M. & Jeger, M. 1999.** Nitrogen availability and susceptibility of tomato leaves to Botrytis cinerea. Plant and Soil 210, 263-272.
- Holz G., Coertze S. and Williamson B. (2004)** The Ecology of *Botrytis* on Plant surfaces. p. 9-27. In Elad Y., Williamson B., Tudzynski P. and Deloien N., *Botrytis: Biology, Pathology and Control*.
- Howitt, R. L. J., Beever R. E., Pearson M. N. & Forster R. L. S., 2000.** Genome characterization of Botrytis virus F, a flexuous rod-shaped mycovirus resembling plant 'potex-like' viruses In Journal of General Virology 82, 67-78.
- Jarvis W.R. (1962).** Splash dispersal of spores of *Botrytis cinerea* Pers. Nature (London) 193:599
- Jarvis, W.R. (ed). 1977.** Botryotinia and Botrytis Species: Taxonomy, Physiology and Pathogenicity. Agriculture Canada, Hignell Printing Limited, pp. 195.
- Jarvis, W. R. 1980.** Taxonomy. In The biology of Botrytis, (Eds. J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff & W. R. Jarvis), pp. 1-17. Academic Press, London.
- Jarvis W.R. (1980a).** Taxonomy. In: Coley-Smith J.R, Verhoeff K. and Jarvis W.R. (eds). The Biology of *Botrytis*. (pp. 1-18) Academic Press, London, UK.
- Jarvis W.R. (1980b).** Epidemiology. In The Biology of Botrytis (J.R. Coley-Smith, K. Verhoeff & W. R. Jarvis, eds): 219-250. Academic Press, London.
- Jarvis, W. R. 1989.** Managing diseases in greenhouse crops. Plant Disease 73, 190-194.
- Jarvis, W.R. 1992.** Managing diseases in greenhouse crops. The American Phytopathological Society (APS) Press, pp 288.
- Kidwell M.G. and Lisch D.R. (2001).** Perspective: transposable elements, parasitic DNA, and genome evolution. Evolution 55: 1-24
- Köhl, J., Vanderplas, C. H., Molhoek, W. M. L. & Fokkema, N. J. 1995.** Effect of interrupted leaf wetness periods on suppression of sporulation of Botrytis-allii and Botrytis cinerea by antagonists on dead onion leaves. Europ. J. Pl. Pathology 101, 627-637.
- Korolev N., Elad Y. and Katan T. (2008).** Vegetative compatibility grouping in *Botrytis cinerea* using sulphate non-utilizing mutants. European Journal of Plant Pathology 122: 369-383.
- Kunoh, H., Nicholson, R. L. & Kobayashi, I. 1991.** Extracellular materials of fungal structures: their significance at pre-penetration stages of infection. In Electron Microscopy of plant pathogens, (Eds. K. Medgen & D. E. Lesemann), pp. 223-234. Springer-Verlag, Berlin.
- Kusters-van Someren, M. A., Manders, B. G. J. & Visser, J. 1992.** Pectin degradation by Botrytis cinerea: a molecular genetic approach. In Recent Advances In

Botrytis Research, (Eds. K., Verhoeff, N. E. Malathrakis & B. Williamson), pp. 30-36. 10th International Botrytis Symposium, Heraklion, Crete, Greece, Pudoc, Wageningen, Netherlands

**Lamboy, J., Dillard, H. & Lamboy, W. 2001.** Microbial and Synthetic Products for Management of Botrytis Grey Mold in Tomato. New York State Integrated Pest Management Program, Online Publications.

**Lawrence, E., 2000.** Henderson's dictionary of biological terms 12ed, Prentice hall.

**Lenteren, J., 1999.** Integrated Control in Greenhouses. In Proceedings of the IOBC/WPRS working group. Bulletin IOBC/WPRS 22 (1) 1999, 294.

**Leone, G. 1992.** Significance of polygalacturonase production by *Botrytis cinerea* in pathogenesis. In Recent advances in Botrytis research (Eds. K. Verhoeff, N. E. Malathrakis & B. Williamson), pp. 63-68; 10th International Botrytis Symposium, Heraklion, Crete, Greece. Pudoc, Wageningen, Netherlands

**Leroux P. (2004).** Chemical Control of *Botrytis* and its Resistance to chemical Fungicides. p. 195-222. In Elad Y., Williamson B., Tudzynski P. and Deloën N., *Botrytis: Biology, Pathology and Control*.

**Leslie J.F. (1993).** Fungal vegetative compatibility. *Annual Review of Phytopathology* 31: 127-151.

**Lorenz D.H. (1983).** Analysis of morphological variation and pathogenesis in *Botrytis cinerea* Pers. & *Botryotinia fuckeliana* Whetz. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 90: 622-33.

**Leroux P., Gredt M., Leroch M. and Walker A-S. (2010).** Exploring mechanisms of resistance to respiratory inhibitors in field strains of *Botrytis cinerea*, the causal agent of gray mold. *Applied and Environmental Microbiology* 76: 6615-6630.

**Li G.Q., Huang, H.C., Kokko, E.G., & Acharya, S.N. 2002.** Mycoparasitism of *Gliocladium roseum* on *Botrytis cinerea*. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 43, 211-218.

**Malathrakis, N. E. & Klironomou, E. J., 1992.** Control of Grey mould of tomatoes in greenhouses with fungicides and antagonists, In Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Botrytis Symposium, Heraclion Crete, Greece, 282-286.

**Manteau, S., Aboune, S., Lambert B. & Legendre, L. 2000.** Influence of external pH on the secretion of proteases, polygalacturonases and laccases by *Botrytis cinerea*. In 12th International Botrytis Symposium. Reims, France, (Abstracts).

**Martinez F., Dubos B. and Fermaud M. (2005).** The role of saprotrophy and virulence in the population dynamics of *Botrytis cinerea* in vineyards. *Phytopathology* 95: 692-700

**Michailides T.J. and Elmer P.A.G. (2000).** Botrytis Gray Mold of kiwifruit caused by *Botrytis cinerea* in the United States and New Zealand. *Plant Disease* 84: 208-223.

**Michailides T.J., Morgan D.P., Felts D. and Peacock B. (2000).** Infection of California table grapes and detection and significance of symptomless latent infection by *Botrytis cinerea*. Abstracts of the XII International Botrytis Symposium. Reims, France, P48.

**Mlikota Gabler F., Smilanick J.L., Mansour M., Ramming D.W. and Mackey B.E. (2003).** Correlations of morphological, anatomical, and chemical features of grape berries with resistance to *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 93: 1263-1273.

**Munoz G., Hinrichsen P., Brygoo Y. and Giraud T. (2002).** Genetic characterization of *Botrytis cinerea* populations in Chile. *Mycol. Res.* 106: 594-601.

**Myresiotis C.K., Bardas G.A. and Karaoglanidis G.S. (2008).** Baseline sensitivity of *Botrytis cinerea* to pyraclostrobin and boscalid and control of anilinopyrimidine- and benzimidazole resistant strains by these fungicides. *Plant Disease* 92: 1427-1431.

**O'Neil, T. M., Niv, A., Elad, Y. & Shtienberg, D. 1996.** Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato stem wounds with *Trichoderma harzianum*. In *Europ. J. Pl. Pathology* 102, 635-643.

**O'Neil, T.M., Elad, Y., Shtienberg, D., & Cohen, A., 1996.** Control of grapevine grey mould with *Trichoderma harzianum* T39. In *Biocontrol Science and Technology* 6, 139-146.

**O'Neill T.M., Shtienberg D. and Elad Y. (1997).** Effect of some host and microclimate factors on infection of tomato stems by *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 81: 36-40.

**Pollastro S., Faretra F., Canio V. and De Guido A. (1996).** Characterization and genetic analysis of field isolates of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) resistant to dichlofluanid. *European Journal of Plant Pathology* 102: 607-613.

**Raposo, R., Gómez, V. & Melgarejo, P. 2000.** Oversummering of *Botrytis cinerea* and fitness of isolates with multiple fungicide resistance in southeastern Spanish greenhouses. In 12th International *Botrytis* Symposium. Reims, France, (Abstracts).

**Rosewich U.L. and Kistler H.C. (2000).** Role of horizontal gene transfer in the evolution of fungi. *Annual Review of Phytopathology* 38: 325-363.

**Salinas, J. 1992.** Function of cytinolytic enzymes in the infection process of gerbera flowers by *Botrytis cinerea*. Ph.D. Thesis, University of Utrecht, The Netherlands, pp.105

**Schirmbock, M. Lorito, M. Hayers, C. K., Arisan-Atac, I, Scala, F. Harman, G. E. & Kubicet, C., 1994.** Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanism involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Appl. Environ. Microb.* 60, 4364-4370.

**Sharrock, K., Henzell, R. & Parry, F., 2000.** Self-inhibition of germination of *Botrytis cinerea* conidia. In 12th International *Botrytis* Symposium. Reims, France, (Abstracts).

**Shtienberg, D., & Elad, Y., 1997.** Incorporation of weather forecasting to integrated, chemical-biological management of *Botrytis cinerea*. In *Phytopathology* 87, 332-340.

**Shtienberg, D., Elad, Y., Niv, A., Nitzani, Y., and Kirshner, B., 1988.** Significance of leaf infection by *Botrytis cinerea* in stem rotting of tomatoes grown in non - heated greenhouses. In *European Journal of Plant Pathology* 104, 753-763

**Stall, R. E., Jones, J.B. & Zitter, T.A. 1997.** Compendium of tomato diseases. pp. 16-17. APS Press, St. Paul.

**Steel C.C. (2001).** Effects of altered U.V. light and climate change on the susceptibility of grapevines to fungal diseases. *The Australian Grapegrower and Winemaker* June: 13-15.

**Stromeng G.M., Hjeljord L.G. and Stensvand A. (2009).** Relative contribution of various sources of *Botrytis cinerea* inoculum in strawberry fields in Norway. *Plant Disease* 93: 1305-1310.

**Tudzynski, P., Sharon, A., Siewers, V. & Tudzynski, B. 2000.** Phytohormone production in *Botrytis cinerea*. In 12th International Botrytis Symposium. Reims, France, (Abstracts).

**Váczy Z., Váczy K.Z., Karaffa L. and Sandor E. (2010).** Differences between *Botrytis cinerea* populations causing grey mould and noble rot in two Hungarian vineyards. XV International Botrytis Symposium. Cadiz, Spain: 31st May-4th June 2010. Abstract book page 36.

**Verhoeff, K., Rijkenberg, & F. H. J. De Leeuw, G. T. N., 1980.** Light and electron microscopy studies on the infection of tomato fruits by *Botrytis cinerea*. Can. J. of Botany **58**, 1394-1404.

**Vincelli, P. C. & Lorbeer, J. W. 1988b.** Relationship of precipitation probability to infection potential of *Botrytis squamosa* on onion. Phytopathology **78**, 1078-1082.

**Weltzien, H. C. 1991.** Biocontrol of foliar fungal diseases with compost extracts. In Microbial ecology of leaves, (Eds. J. H. Andrews & S. S. Hirano), pp.430-450. Springer-Verlag, New York, Berlin.

**Yu, H. & Sutton, J. C. 1997.** Morphological development and interactions of *Gliocladium roseum* and *Botrytis cinerea* in raspberry. Can. J. Pl. Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie **19**, 237-246.

**Yunis, H., Shtienberg, D., Elad, Y. & Mahrer, Y., 1994.** Qualitative approach for modeling outbreaks of grey mould epidemics in non-heated cucumber greenhouses. In Crop protection **13**, 99-104.

**Yunis, H. & Elad, Y., 1989.** Survival of *Botrytis cinerea* in plant debris during summer in Israel. In Phytoparasitica **17**, 13-21.

**Χριστιάς, Χ. 1999** Μυκητολογία, pp. 11-14. ΑγρόΤυπος Α.Ε., Αθήνα.

Παπαδοπούλου Μ., 2009. Εργαστηριακές ασκήσεις γενικής φυτοπαθολογίας. Σημειώσεις ΤΕΙ Καλαμάτας. Καλαμάτα.

Παναγοπουλος Χ. Γ., 2000. Ασθένειες Κηπευτικών Καλλιεργειών. Β' έκδοση. Εκδ. Σταμούλη, Αθήνα.