

**Τ.Ε.Ι ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ
ALTERNARIA SOLANI, *A. BRASSICICOLA*, *A.*
CUCUMERINA ΚΑΙ *A. ALTERNATA* ΣΕ ΚΗΠΕΥΤΙΚΑ.**

ΔΑΛΑΚΟΥΡΑ Α. ΓΙΑΝΝΟΥΛΑ

ΑΘΗΝΑ 2003

**Τ.Ε.Ι ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ
ALTERNARIA SOLANI, *A. BRASSICICOLA*, *A.*
CUCUMERINA ΚΑΙ *A. ALTERNATA* ΣΕ ΚΗΠΕΥΤΙΚΑ.**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Της σπουδάστριας

ΔΑΛΑΚΟΥΡΑ Α. ΓΙΑΝΝΟΥΛΑΣ

Επιβλέπων καθηγητής: Αναστάσιος Ηλιόπουλος

ΑΘΗΝΑ 2003

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ (ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ)	2
1.1. ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΕΙΔΗ...ΤΟΥ...ΓΕΝΟΥΣ...ALTERNARIA 2	2
1.1.1 Ταξινόμηση.....	2
1.1.2. Μορφολογία.....	2
1.1.3. Βλάστηση κονιδίων-Μόλυνση.....	8
1.1.4. Παραγωγή κονιδίων.....	10
1.1.5. Διασπορά κονιδίων.....	12
1.1.6. Επιβίωση.....	14
1.1.7. Τοξίνες και ο ρόλος τους.....	17
1.1.8. Ξενιστές.....	18
1.2. ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ	19
1.2.1. Συμπτωματολογία.....	19
1.2.2. Παράγοντες που ευνοούν την ασθένεια.....	26
1.2.3. Αντιμετώπιση.....	28
1.2.3.1. Καλλιεργητική αντιμετώπιση.....	29
1.2.3.2. Βιολογική αντιμετώπιση.....	31
1.2.3.3. Χημική αντιμετώπιση.....	32
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ (ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ)	35
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	35
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	37
2.1. ΎΛΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	43
2.1.1. Θρεπτικά υλικά ανάπτυξης.....	43
2.1.2. Χρωστικές.....	44
2.1.3. Υπόστρωμα ανάπτυξης φυτών.....	44
2.1.4. Ανάπτυξη φυτών.....	44
2.1.5. Απομονώσεις των παθογόνων.....	45
2.1.6. Διατήρηση των απομονώσεων.....	45
2.1.7. Παραγωγή μολύσματος.....	47
2.1.8. Τεχνητή μόλυνση φυτών.....	49
2.1.9. Τεχνητή μόλυνση φυλλικών δίσκων.....	52
2.2. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΟΙ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ A.SOLANI, A. BRASSICICOLA, A. CUCUMERINA ΚΑΙ A.ALTERNATA	54
2.2.1. Σκοπός του πειράματος.....	54
2.2.2. Υλικά και Μέθοδοι.....	54
2.2.3. Αποτελέσματα.....	55
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.3. ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΤΕΣ ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ ΦΥΤΩΝ ΤΟΜΑΤΑΣ, ΚΑΡΠΟΥΖΙΟΥ, ΛΑΧΑΝΟΥ, ΠΕΠΟΝΙΟΥ, ΜΑΡΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΠΙΠΕΡΙΑΣ ΜΕ ΤΑ ΕΙΔΗ A. SOLANI, A. BRASSICICOLA, A. CUCUMERINA ΚΑΙ A. ALTERNATA	67

2.3.1.	Σκοπός του πειράματος.....	67
2.3.2.	Υλικά και Μέθοδοι.....	67
2.3.3.	Αποτελέσματα.....	70
2.4. ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΤΕΣ ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ ΦΥΛΛΙΚΩΝ ΔΙΣΚΩΝ ΤΟΜΑΤΑΣ, ΚΑΡΠΟΥΖΙΟΥ, ΛΑΧΑΝΟΥ, ΜΑΡΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΠΙΠΕΡΙΑΣ ΜΕ ΤΑ ΕΙΔΗ A. SOLANI, A. BRASSICICOLA, A. CUSMERINA ΚΑΙ A. ALTERNATA.....		90
2.4.1.	Σκοπός του πειράματος.....	90
2.4.2.	Υλικά και Μέθοδοι.....	90
2.4.3.	Αποτελέσματα.....	92
2.5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....		101
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....		118

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε κατά τη διάρκεια της πρακτικής μου εξάσκησης στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, στο Εργαστήριο μυκητολογίας.

Το αποτέλεσμα ήταν προϊόν συλλογικής προσπάθειας και για αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Α. Ηλιόπουλο που ανέλαβε την εποπτεία της παρούσας μελέτης.

Ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω και στην Δρα Ε. Βλουτόγλου, Ερευνήτρια του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για τις συμβουλές που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής των πειραμάτων καθώς και τις απαραίτητες διορθώσεις του τελικού κειμένου.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρα Δ. Λάσκαρη, Ερευνητή του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου για τη βοήθεια που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της πρακτικής μου εξάσκησης στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο και τον συμφοιτητή μου Χαντζάρα Αθανάσιο για τη βοήθεια του στη διεξαγωγή των πειραμάτων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.

1.1. ΤΑ ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΕΙΔΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ ALTERNARIA

1.1.1. Ταξινόμηση

Οι μύκητες *Alternaria solani*, *Alternaria brassicicola*, *Alternaria cucumerina* και *Alternaria alternata* ανήκουν στην Οικογένεια Dematiaceae, στην Τάξη Hyphomycetes και στην Υποδιαίρεση Deuteromycotina (Rotem, 1994).

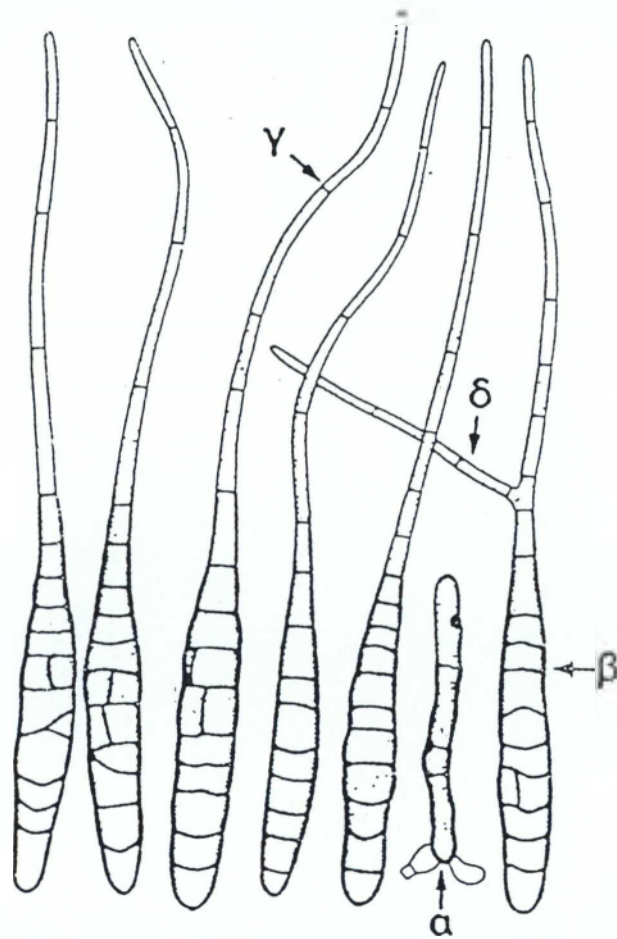
1.1.2. Μορφολογία

A) Μορφολογία του μύκητα *A. solani*

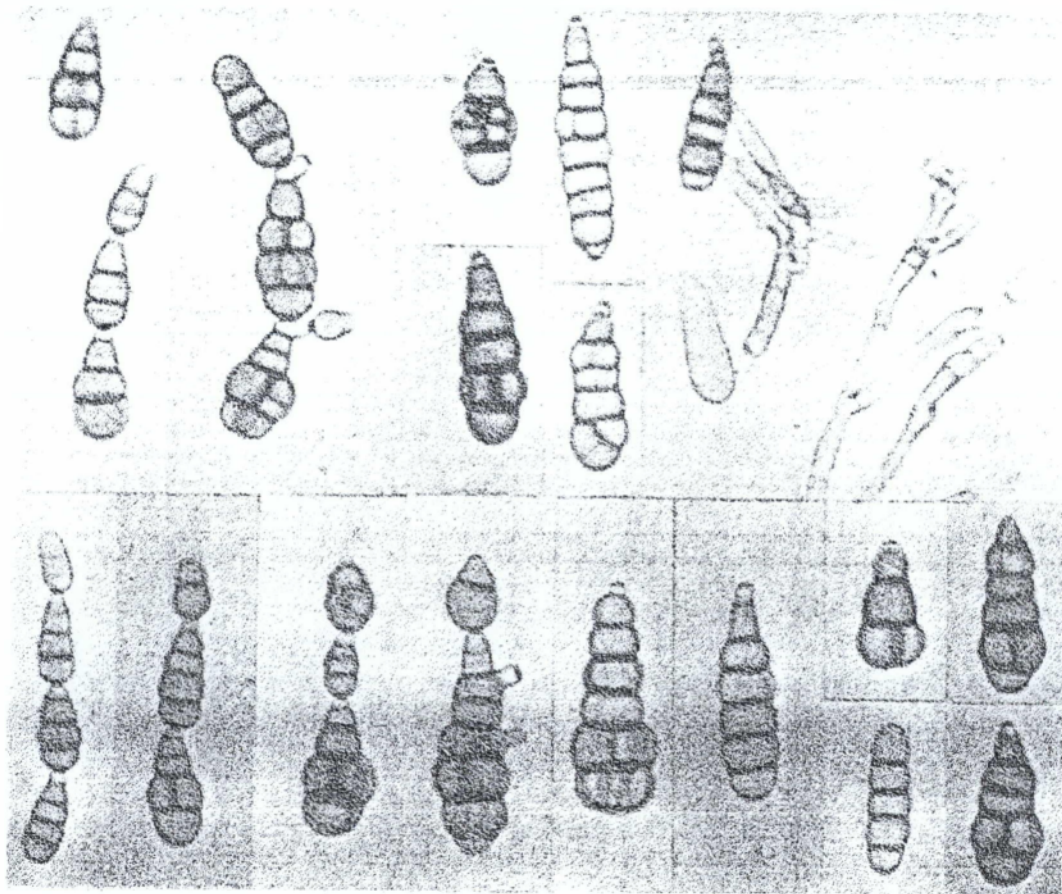
Η πρώτη περιγραφή του μύκητα *A. solani* έγινε το 1896 (Ellis & Gibson, 1975) (Εικ. 1). Οι αποικίες του μύκητα *A. solani* σχηματίζουν μυκήλιο χρώματος γκριζοκαστανού έως μαύρου. Οι κονιδιοφόροι εμφανίζονται μεμονωμένοι ή σε μικρές ομάδες, είναι ευθείς ή ελαφρώς κεκαμμένοι με διαφράγματα (septa). Έχουν χρώμα ανοιχτό καστανό έως σκούρο λαδί, με μήκος άνω των 110μm και πάχος 6-10μm. Τα κονίδια σχηματίζονται συνήθως μεμονωμένα και σπάνια σε κοντές αλυσίδες των δύο κονιδίων. Το σώμα των κονιδίων είναι επίμηκες ή ελλειψοειδές και καταλήγει σε ράμφος (beak), το οποίο συνήθως έχει το ίδιο μήκος ή λίγο μεγαλύτερο από εκείνο του κυρίως σώματος. Το χρώμα τους είναι ανοιχτό καστανό έως σκούρο λαδί, ενώ το μήκος τους είναι συνήθως 150-300μm και το πάχος τους στο ευρύτερο σημείο είναι 15-19μm. Τα κονίδια έχουν 9-11 οριζόντια και κανένα έως ελάχιστα κάθετα ή ελαφρώς κάθετα διαφράγματα. Το ράμφος τους, που είναι εύκαμπτο, χρώματος ανοιχτού καστανού και ορισμένες φορές σχηματίζει διακλαδώσεις, έχει πάχος 2,5-5μm (Ellis & Gibson, 1975) και μήκος 132,8μm (Joly, 1964), ενώ λεπταίνει σταδιακά προς την άκρη (Ellis & Gibson, 1975).

B) Μορφολογία του μύκητα *A. brassicicola*

Ο μύκητας *A. brassicicola* περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1947 (Ellis, 1968) (Εικ. 2). Σχηματίζει αποικίες που έχουν χρώμα λαδί έως σκούρο μελανό με βελούδινη εμφάνιση. Το μυκήλιο, που είναι βυθισμένο, έχει πάχος 1,5-7,5μm ενώ οι υφές διακλαδίζονται και φέρουν διαφράγματα. Οι κονιδιοφόροι, που αναπτύσσονται μεμονωμένοι ή σε ομάδες των 2-12 ή περισσότερων, εξέρχονται



Εικόνα 1. Κονιδιοφόρος (α), σώμα κονιδίου (β), ράμφος (γ) και διακλάδωση του ράμφους (δ) στο σημείο πρόσφυσης του με το κυρίως σώμα του κονιδίου του μύκητα *A. solani* (CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No 475, Ellis & Gibbson, 1975).



Εικόνα 2. Κονιδιοφόροι και κονίδια του μύκητα *A. brassicicola*. (CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No 163, Ellis, 1968).

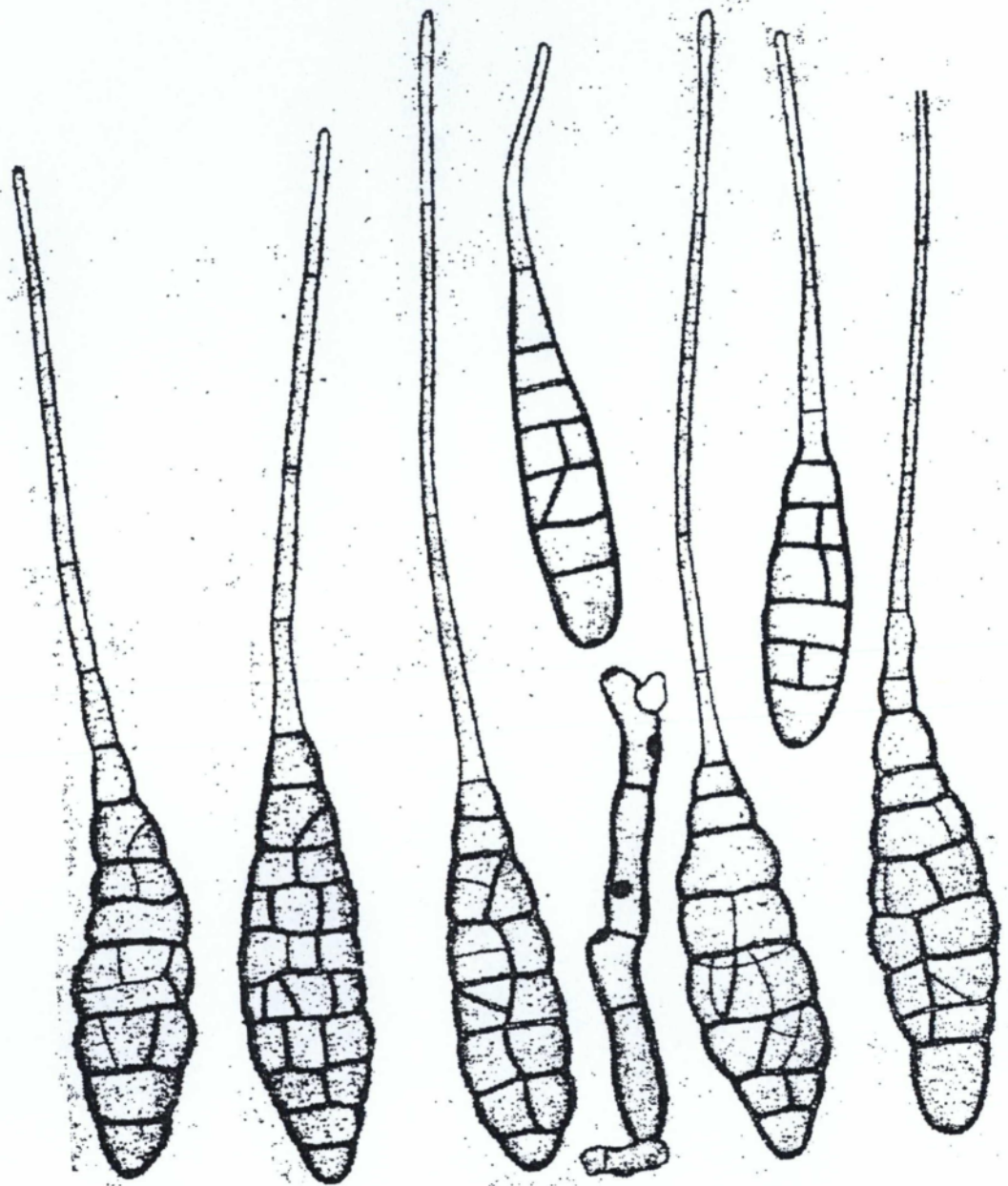
μέσω των στοματίων και είναι ευθείς ή ελαφρώς κεκαμμένοι. Το χρώμα τους είναι ανοιχτό καστανό έως σκούρο λαδί με λεία επιφάνεια. Το μήκος τους είναι μεγαλύτερο των 70μm και το πάχος τους 5-8μm. Τα κονίδια σχηματίζονται σε αλυσίδες των 20 ή περισσότερων κονιδίων, ενώ μερικές φορές οι αλυσίδες είναι διακλαδιζόμενες. Τα κονίδια έχουν σχήμα σχεδόν κυλινδρικό και συνήθως λεπταίνουν προς την κορυφή ή είναι ωσειδή στην άκρη με το κύτταρο της βάσης πλήρως αναπτυγμένο. Το ράμφος είναι σχεδόν ανύπαρκτο και το τελευταίο προς την άκρη του ράμφους κύτταρο έχει σχήμα ορθογώνιο ή κωνικό. Τα κονίδια του μύκητα είναι συνήθως κοντά και παχιά, με λιγότερα από έξι κάθετα και περισσότερα από έξι οριζόντια διαφράγματα. Το χρώμα τους είναι ανοιχτό έως σκούρο λαδί, με λεία επιφάνεια ή ελαφρώς ρυτιδωμένη ανάλογα με την ηλικία τους. Έχουν μήκος 18-30μm και πάχος 8-30μm στο ευρύτερο σημείο τους, με το ράμφος να έχει μήκος ίσο με το 1/6 του μήκους του σώματος του κονιδίου και πάχος 6-8μm.

Γ) Μορφολογία του μύκητα *A. cucumerina*

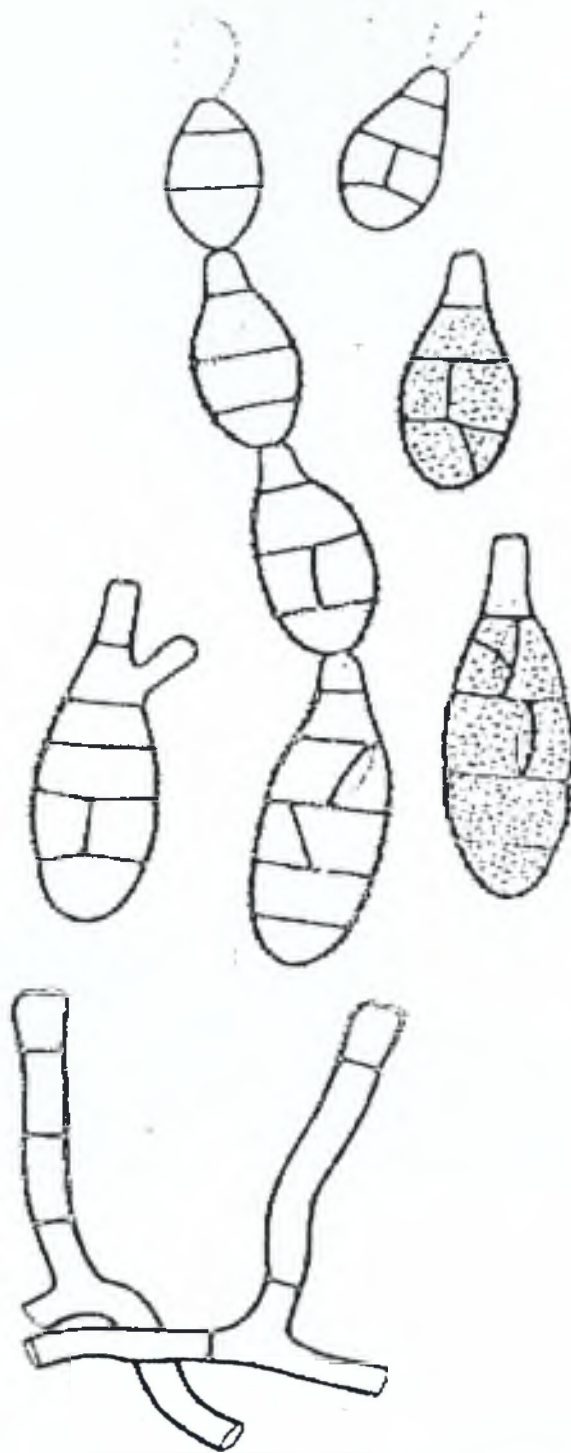
Η πρώτη περιγραφή του μύκητα *A. cucumerina* έγινε το 1917 (Ellis & Holliday, 1970) (Εικ. 3). Ο μύκητας *A. cucumerina* σχηματίζει τους κονιδιοφόρους του μεμονωμένους ή σε μικρές ομάδες. Οι κονιδιοφόροι είναι συνήθως ευθείς, εύκαμπτοι αλλά μερικές φορές εμφανίζονται κεκαμμένοι και κυλινδρικοί. Το χρώμα τους είναι ελαφρώς καστανό, το μήκος τους μεγαλύτερο από 110μm και το πάχος 6-10μm. Συνήθως πάνω στους κονιδιοφόρους διακρίνονται έντονα αναπτυγμένες ουλές στα σημεία πρόσφυσης των κονιδίων. Τα κονίδια σχηματίζονται μεμονωμένα ή σε αλυσίδες των δύο κονιδίων. Έχουν χρώμα ανοιχτό έως σκούρο καστανό, με λεία έως ρυτιδωμένη επιφάνεια. Το κυρίως σώμα έχει 6-9 κάθετα και αρκετά οριζόντια ή πλάγια διαφράγματα. Το ράμφος είναι μακρύ και συχνά μεγαλύτερο από το μήκος του κυρίως σώματος των κονιδίων. Έχει χρώμα ανοιχτό καστανό, με διαφράγματα, δεν σχηματίζει διακλαδώσεις και έχει πάχος 4-5μm στη βάση, ενώ στενεύει προς την κορυφή φτάνοντας τα 1-2μm. Το συνολικό μήκος των κονιδίων είναι 130-220 (180) μm και το πάχος 15-24 (10) μm στο ευρύτερο σημείο (Ellis & Holliday, 1970).

Δ) Μορφολογία του μύκητα *A. alternata*

Ο μύκητας *A. alternata* περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1912 (Simmons, 1992) (Εικ. 4). Οι αποικίες του μύκητα έχουν χρώμα γκριζο έως σκούρο μελανό ή και μαύρο, ενώ το μυκήλιο είναι επίπεδο με βελούδινη όψη. Η διάμετρος του



Εικόνα 3. Κονιδιοφόρος και σώμα κονιδίου του μύκητα *A. cucumerina* (CMI Descriptions of Pathogenic fungi and Bacteria, No 244, Ellis & Holliday, 1970).



Εικόνα 4. Κονιδιοφόροι και κονίδια του μύκητα *A. alternata* (Joly, 1964).

μυκηλίου, που αναπτύσσεται σε P.D.A μετά από επτά ημέρες σε θερμοκρασία 25°C, είναι 60-82μm (Simmons, 1992). Οι κονιδιοφόροι του μύκητα *A. alternata* είναι διακλαδιζόμενοι ή μη και σχηματίζονται μεμονωμένοι ή σε ομάδες των 2-6 κονιδιοφόρων. Είναι εύκαμπτοι και μερικές φορές κεκαμμένοι, με μια ή αρκετές ουλές στα σημεία πρόσφυσης των κονιδίων. Το χρώμα τους κυμαίνεται από ανοιχτό έως σκούρο καστανό, ενώ το μήκος τους είναι μεγαλύτερο από 150μm και το πάχος τους 2-6μm. Τα κονίδια σχηματίζονται σε μακριές και συχνά διακλαδιζόμενες αλυσίδες των 10 ή και περισσοτέρων κονιδίων. Το σχήμα τους είναι ωσειδές, ελλειψοειδές ή καρδιόσχημο. Τα μεγαλύτερα σε ηλικία κονίδια είναι ακανόνιστου σχήματος ή έχουν μια κοντή κυλινδρική κατασκευή που μοιάζει με ράμφος και ονομάζεται “ψευδοράμφος”. Μερικές φορές το “ψευδοράμφος” καταλήγει σε μια διογκωμένη κορυφή, η οποία μοιάζει με ουλή. Το μήκος του “ψευδοράμφους” είναι συνήθως μικρότερο από εκείνο του κονιδίου. Το χρώμα των κονιδίων είναι ανοιχτό έως σκούρο καστανό και η επιφανειά τους έχει ρυτιδωμένη όψη. Τα κονίδια έχουν 1-9 κάθετα και αρκετά οριζόντια ή πλάγια διαφράγματα, ενώ συχνά εμφανίζουν συσφίξεις στα σημεία των διαφραγμάτων. Οι διαστάσεις του κυρίου σώματος είναι 10-63 × 6-18μm (μήκος x πλάτος) ενώ το ράμφος έχει μήκος 3-10μm (Simmons, 1992).

1.1.3. Βλάστηση κονιδίων – Μόλυνση

Ο τρόπος βλάστησης των κονιδίων των ειδών του γένους *Alternaria* έχει μελετηθεί στους μύκητες *A. brassicicola* και *A. alternata* (Rotem, 1994). Τα διαχειμάζοντα κονίδια του μύκητα *A. brassicicola* έχουν χονδρά και σκούρου χρώματος τοιχώματα με πορώδη όψη. Ο βλαστικός σωλήνας εξέρχεται από εσωτερικά στρώματα του τοιχώματος του κονιδίου. Κατά τη διάρκεια της βλάστησης, τα μιτοχόνδρια και τα ριβοσωμάτια πολλαπλασιάζονται πρώτα στο βλαστικό κύτταρο και μετά στο βλαστικό σωλήνα. Γρήγορα το κυτόπλασμα συρρικνώνεται και τα χυμοτόπια καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο χώρο του κυττάρου (Campbell, 1970).

Ο Rotem (1994) αναφέρει ότι στα περισσότερα είδη του γένους *Alternaria* η άριστη θερμοκρασία για τη βλάστηση των κονιδίων είναι περίπου 25°C, ενώ η μέγιστη θερμοκρασία είναι γύρω στους 35°C. Ο Norse (1973) απέδειξε ότι η βλάστηση των κονιδίων και η αύξηση του βλαστικού σωλήνα επηρεάζονται σε διαφορετικό βαθμό από τη θερμοκρασία. Πιο συγκεκριμένα αναφέρει ότι η

βλάστηση των κονιδίων του μύκητα *A. alternata* (σε στερεό θρεπτικό υπόστρωμα και σε φύλλα καπνού) επιτυγχάνεται σε ένα μεγαλύτερο εύρος θερμοκρασιών από εκείνο της ανάπτυξης του βλαστικού σωλήνα. Έτσι η μέγιστη, η άριστη και η ελάχιστη θερμοκρασία για τη βλάστηση των κονιδίων του μύκητα είναι 35, 22,5, και 10°C, αντίστοιχα.

Τα κονίδια του μύκητα *A. solani* βλαστάνουν σε ικανοποιητικό βαθμό όταν η θερμοκρασία κυμαίνεται μεταξύ 4-36°C (Round, 1951), αλλά σύμφωνα με τον Rands (1917), η βλάστηση των κονιδίων και η ανάπτυξη του μυκηλίου μπορεί να γίνει σε ένα μεγαλύτερο εύρος θερμοκρασιών (1-45°C). Σε δοκιμές που έκανε ο Rotem (αδημοσίευτα στοιχεία) διαπιστώθηκε ότι τα κονίδια του μύκητα *A. alternata* απέτυχαν να βλαστήσουν σε θερμοκρασία 2°C για 24 ώρες, αλλά βλάστησαν στην ίδια θερμοκρασία (2°C) όταν η περίοδος επώασης αυξήθηκε στις 48 ώρες. Η άριστη θερμοκρασία για τη βλάστηση των κονιδίων του μύκητα *A. brassicicola* κυμαίνεται από 28-31°C.

Απαραίτητη προϋπόθεση για τη βλάστηση των κονιδίων των διαφόρων ειδών του γένους *Alternaria* είναι η παρουσία νερού πάνω στις φυτικές επιφάνειες (Rotem, 1994). Οι Stevenson & Pennyacker (1988) παρατήρησαν ότι η βλάστηση των κονιδίων του μύκητα *A. solani* σε σχετική υγρασία (RH) 96% σχετιζόταν με τη συγκέντρωση νερού στις φυτικές επιφάνειες. Ο Rotem (αδημοσίευτα στοιχεία) διαπίστωσε ότι τα κονίδια των μυκήτων *A. alternata* και *A. solani*, που τοποθετήθηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενης θερμοκρασίας (20±0,01°C), βλάστησαν όταν η σχετική υγρασία ήταν 100% και όχι όταν ήταν 98%.

Σε πολλά είδη του γένους *Alternaria* ο βλαστικός σωλήνας εισχωρεί στα φύλλα έμμεσα μέσω των στοματιών (Rotem, 1994). Σε άλλα είδη ο βλαστικός σωλήνας εισέρχεται μέσω των στοματιών (έμμεσα) ή μέσω των επιδερμικών κυττάρων (άμεσα) ή και με τους δύο τρόπους. Σε άλλα πάλι είδη του γένους *Alternaria* η είσοδος στον ξενιστή απαιτεί την ύπαρξη πληγής στις φυτικές επιφάνειες (Rotem, 1994).

Για τη μόλυνση του λάχανου μέσω πληγών από το μύκητα *A. brassicicola*, η άριστη θερμοκρασία είναι 25°C (Bassey & Gabrielson, 1983) και για το μύκητα *A. cucumerina* η άριστη, μέγιστη και ελάχιστη θερμοκρασία για τη μόλυνση ενός είδους πεπονιού (muskmelon) είναι 18-21, 30 και >12°C αντίστοιχα (Evans *et al.*, 1992). Έχει διαπιστωθεί ότι ο μύκητας *A. alternata* για να μολύνει το σιτάρι απαιτεί 72-96 ώρες υγρασίας (Bassey & Gabrielson, 1983).

Πειράματα που έγιναν στον αγρό έδειξαν ότι η μόλυνση φυτών τομάτας από το μύκητα *A. solani* είναι μικρή απουσία δρόσου και σε RH μικρότερη από 96% (Rotem & Reichert, 1964). Η μόλυνση των κολοκυνθοειδών από το μύκητα *A. cucumerina* ευνοείται από περιόδους ζεστού και υγρού καιρού (Watt, 1995), ενώ κρίσιμη είναι η περίοδος κατά την οποία η επιφάνεια του φύλλου διατηρείται υγρή και ως εκ τούτου επιτρέπει στα κονίδια του μύκητα να βλαστήσουν και να μολύνουν τον ξενιστή. Η μόλυνση από το μύκητα *A. cucumerina* γίνεται σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών (5-35°C), ενώ η άριστη θερμοκρασία είναι 20°C (Kucharek, 1994) παρουσία υψηλής σχετικής υγρασίας για 18 ώρες (Watt, 1995).

1.1.4. Παραγωγή κονιδίων

Ο Leach (1967) διαχωρίζει τα διάφορα γένη των μυκήτων σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τον τρόπο σπορίωσής τους. Έτσι τα διακρίνει σε α) ημερήσιους παραγωγείς κονιδίων (diurnal sporulators), όπως τα είδη του γένους *Alternaria* και β) παραγωγείς κονιδίων σταθερής θερμοκρασίας (constant-temperature sporulators), όπως τα είδη του γένους *Fusarium*. Οι ημερήσιοι παραγωγείς κονιδίων είναι καλά προσαρμοσμένοι στις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και του φωτός κατά τη διάρκεια της μέρας. Παρ' όλο που αυτοί οι οργανισμοί δεν έχουν ίδια συμπεριφορά, ο μηχανισμός της φωτοσπορογένεσης είναι παρόμοιος με δύο διακριτές φάσεις. Η πρώτη ή επαγωγική φάση οδηγεί στη διαμόρφωση των κονιδιοφόρων και η δεύτερη ή τελική φάση στην παραγωγή των κονιδίων (Leach (1967). Οι απαιτήσεις σε θερμοκρασία και φως των δύο αυτών φάσεων είναι διαφορετικές. Η επαγωγική φάση διεγείρεται από το μήκος κύματος της υπεριώδους ακτινοβολίας (NUV) των 310-400nm, ενώ η τελική φάση διεκπεραιώνεται καλύτερα στο σκοτάδι και συχνά εμποδίζεται από το φως (Leach, 1967).

Ο Rotem (1994) όμως χωρίζει τη διαδικασία της σπορίωσης στο γένος *Alternaria* σε τρεις φάσεις: 1) την αρχική φάση όπου διαμορφώνονται οι κονιδιοφόροι, 2) τη φάση κατά την οποία οι κονιδιοφόροι διεγείρονται για το σχηματισμό κονιδίων (επαγωγική), και 3) τη φάση της παραγωγής κονιδίων πάνω στους κονιδιοφόρους (τελική φάση).

Η υπεριώδης ακτινοβολία (NUV-light) έχει διαπιστωθεί ότι είναι σημαντικός παράγοντας για την παραγωγή κονιδίων *in vitro* από τα διάφορα είδη του γένους *Alternaria*. Έχει διαπιστωθεί ότι εκθέτοντας την αποικία του μύκητα

A. solani σε υπεριώδη ακτινοβολία (NUV-light) αυξάνεται η παραγωγή κονιδίων (Rands, 1917; Kunkel, 1918; Dillon Weston, 1936; McCallan & Chan, 1944; Charlton, 1953; Lukens, 1960;1963; 1966; Douglas, 1972).

Έχει παρατηρηθεί ότι το φως κάτω από συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας, έχει παρεμποδιστική δράση στην παραγωγή κονιδίων σε όλα τα είδη του γένους *Alternaria* (Aragaki, 1964). Πιο συγκεκριμένα, το φως εμπόδισε την παραγωγή κονιδίων του μύκητα *A. tomato* σε θερμοκρασία άνω των 21°C, ενώ καλλιέργειες του μύκητα *A. alternata* παρήγαγαν κονίδια παρουσία φωτός ακόμα και στους 31°C (Aragaki, 1964). Στο μύκητα *A. solani* παρατηρήθηκε ότι η *in vitro* παραγωγή κονιδίων απαιτούσε την έκθεση των καλλιεργειών του μύκητα σε φως (Rotem *et al.*, 1978). Παρεμπόδιση της τελικής φάσης της σπορίωσης από το φως και σε σχετικά υψηλή θερμοκρασία έχει παρατηρηθεί στο μύκητα *A. alternata* στο βαμβάκι και στο μύκητα *A. cucumerina* στο καρπούζι (Bashi & Rotem, 1975b), ενώ και ο μύκητας *A. solani* παρήγαγε *in vivo* κονίδια απουσία φωτός (Rotem *et al.*, 1978).

Ο μύκητας *A. solani* παράγει *in vitro* ικανοποιητικό αριθμό κονιδίων σε θερμοκρασία μεταξύ 15–23°C (Waggoner & Horsfall, 1969). Οι Pearson & Hall (1975) αναφέρουν ότι ο μύκητας *A. alternata* παράγει κονίδια *in vitro* σε θερμοκρασίες μεταξύ 5–33°C, ενώ η άριστη θερμοκρασία είναι 27°C. Για το μύκητα *A. cucumerina* η άριστη θερμοκρασία για την παραγωγή κονιδίων *in vitro* είναι 27°C (Ellis & Holiday, 1970b), ενώ για το μύκητα *A. brassicicola* η ελάχιστη, άριστη και μέγιστη θερμοκρασία για την παραγωγή κονιδίων *in vitro* είναι <12, 22 και 35°C, αντίστοιχα (Rotem, 1994).

Για το μύκητα *A. brassicicola* η ελάχιστη και η άριστη θερμοκρασία για την παραγωγή κονιδίων *in vivo* είναι <5 και 20–30°C, αντίστοιχα, ενώ για το μύκητα *A. solani* η ελάχιστη θερμοκρασία είναι 10°C, η μέγιστη 35°C και η άριστη 22,5°C (Klaus, 1940).

Έχει διαπιστωθεί ότι ο μύκητας *A. brassicicola* σε σχετική υγρασία (RH) 92–100% παράγει πολλά κονίδια, σε RH 87% λίγα κονίδια και σε RH μικρότερη από 83% ελάχιστα κονίδια (Humpherson-Jones & Phelps, 1989).

Όλα τα είδη του γένους *Alternaria* παράγουν περισσότερα κονίδια *in vitro* σε θρεπτικά υλικά φτωχά σε ζάχαρη, όπως είναι το V-8 άγαρ (Rotem, 1994). Ωστόσο τα σάκχαρα δρουν διαφορετικά στις διάφορες φάσεις της παραγωγής κονιδίων από τους μύκητες του γένους *Alternaria*. Πιο συγκεκριμένα στο μύκητα

A. solani ο αριθμός των κονιδιοφόρων αυξάνεται με την παρουσία γλυκόζης, ενώ παράλληλα μειώνεται η παραγωγή κονιδίων (Waggoner & Horsfall, 1969).

Τα περισσότερα είδη του γένους *Alternaria* για την *in vivo* παραγωγή κονιδίων απαιτούν υγρές περιόδους διάρκειας μεγαλύτερης από μία νύχτα. Άλλα είδη όμως δεν οφελούνται από τη συνεχή παρουσία υγρασίας μεγάλης διάρκειας για την παραγωγή κονιδίων αλλά χρειάζονται διακοπή της περιόδου υγρασίας από διαστήματα φωτός ή ξηρασίας (Bashi & Rotem, 1975c). Σε συνθήκες αγρού, τέτοιες διακοπές γίνονται μεταξύ της πρώτης υγρής νύχτας, κατά την οποία σχηματίζονται οι κονιδιοφόροι και της δεύτερης υγρής νύχτας, κατά την οποία παράγονται τα κονίδια (Bashi & Rotem, 1975c). Ο κύκλος αυτός των δύο υγρών νυκτών, που απαιτείται για την παραγωγή κονιδίων, έχει παρατηρηθεί στο μύκητα *A. solani* στην πατάτα και στο μύκητα *A. cucumerina* στο καρπούζι.

Επίσης έχει αναφερθεί ότι ο αριθμός των παραγομένων κονιδίων του μύκητα *A. solani* στην τομάτα και στην πατάτα αυξάνεται όσο οι χλωρωτικές κηλίδες στα φύλλα μετατρέπονται σε νεκρωτικές (Bashi & Rotem, 1975a). Η αυξημένη παραγωγή κονιδίων από τους μύκητες του γένους *Alternaria* στους νεκρούς φυτικούς ιστούς σε σχέση με τους ζωντανούς, πιθανόν να οφείλεται στη μείωση της παρεμποδιστικής δράσης της φωτοσύνθεσης που παρατηρείται στους νεκρούς φυτικούς ιστούς ή στον ανταγωνισμό μεταξύ της φυτικής βλάστησης και της σπορίωσης των συγκεκριμένων μυκήτων (Cohen & Rotem, 1970). Σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές, η φωτοσύνθεση έχει αρνητική επίδραση στον αριθμό των παραγομένων κονιδίων του μύκητα *A. solani* σε φυτά πατάτας, γεγονός που πιθανόν να σχετίζεται με την παρουσία σακχάρων στους φυτικούς ιστούς. Η υπόθεση αυτή ενισχύεται, όπως προαναφέρθηκε, από το γεγονός ότι ο αριθμός των *in vitro* παραγομένων κονιδίων μειώνεται σε θρεπτικά υλικά πλούσια σε σάκχαρα.

1.1.5. Διασπορά κονιδίων

Σε όλα τα είδη του γένους *Alternaria* ο μηχανισμός διασποράς των μολυσμάτων (κονίδια) είναι παρόμοιος (Rotem, 1994). Το κυριότερο μέσο διασποράς είναι ο άνεμος και δευτερευόντως οι σταγόνες του νερού. Στο είδος *A. alternata* (αν και σπάνια) έχει αναφερθεί η μετάδοση των μολυσμάτων του με τρωκτικά (Rotem, 1994), στο είδος *A. brassicicola* στο λάχανο με σαλιγκάρια (Hasan & Vago, 1966) και στο είδος *A. solani* σε καλλιέργεια τομάτας με εργάτες (Martin, 1918).

Ο Aylor (1990) αναφέρει ότι ο άνεμος σε συνδυασμό με τη χαμηλή υγρασία είναι σημαντικός παράγοντας για την απελευθέρωση των κονιδίων των μυκήτων του γένους *Alternaria* από τα φύλλα των ξενιστών τους. Η διασπορά των κονιδίων του γένους *Alternaria* κάτω από κανονικές συνθήκες γίνεται συνήθως γύρω στο μεσημέρι (Rotem, 1994)

Τα κονίδια των ειδών του γένους *Alternaria* είναι γερά προσκολλημένα στους κονιδιοφόρους και για να αποκοπούν χρειάζονται δυνατούς ανέμους (Strandberg, 1977). Συχνά παρατηρείται συσχετισμός ανάμεσα στη διασπορά των κονιδίων μια συγκεκριμένη μέρα και στις συνθήκες που προκαλούν την παραγωγή κονιδίων την προηγούμενη νύχτα (Strandberg, 1977). Οι Datar & Mayee (1982) αναφέρουν ότι η διακύμανση της θερμοκρασίας δεν επηρέασε τη διασπορά των κονιδίων του μύκητα *A. solani* κατά τη διάρκεια της ημέρας σε αντίθεση με τη σχετική υγρασία και τη βροχόπτωση.

Απότομη αύξηση του αριθμού των διασπειρομένων κονιδίων των μυκήτων του γένους *Alternaria* παρατηρείται το πρωί, όταν στεγνώνουν τα φύλλα, η υγρασία μειώνεται και η θερμοκρασία καθώς και η ταχύτητα του ανέμου αυξάνονται (Rotem, 1994). Το μέγιστο της διασποράς παρατηρείται περίπου τις μεσημεριανές ώρες, ενώ αργότερα η συγκέντρωση των αερομεταφερομένων κονιδίων μειώνεται (Rotem, 1994). Παρόμοια στο είδος *A. alternata* διαπιστώθηκε ότι το μέγιστο της διασποράς συμπίπτει με την ημερήσια αύξηση της θερμοκρασίας και της ταχύτητας του ανέμου και την ταυτόχρονη μείωση της σχετικής υγρασίας (Pearson & Hall, 1975). Τα αερομεταφερόμενα κονίδια του μύκητα *A. brassicicola* ήταν περισσότερα νωρίς το απόγευμα με τις πιο ζεστές, στεγνές και με άνεμο ώρες (Humpherson-Jones & Maude, 1982). Στα είδη *A. cucumerina* και *A. alternata* σε καλλιέργειες καρπουζιάς παρατηρήθηκε ότι τα κονίδια δεν διασπείρονταν τις νύχτες με υγρασία αλλά τις νύχτες που επικρατούσε ξηρασία (Schenk, 1968). Παρόμοιες παρατηρήσεις έχουν γίνει και για τα κονίδια των μυκήτων *A. solani* και *A. alternata* στο Ισραήλ, όπου η παρουσία των κονιδίων στο περιβάλλον της καλλιέργειας ήταν σχεδόν ανύπαρκτη τις υγρές και χωρίς άνεμο νύχτες, ενώ αυξανόταν τις νύχτες όπου υπήρχε άνεμος και ξηρασία (Rotem, 1994).

Στην Καλιφόρνια οι χαμηλές θερμοκρασίες εμποδίζουν την παραγωγή κονιδίων και μειώνουν τον αριθμό των διασπειρομένων κονιδίων του μύκητα *A. alternata* στην τομάτα ενώ οι παρατεταμένες περιόδους με θερμοκρασίες πάνω από

15°C, μειώνουν τον αριθμό των παγιδευμένων κονιδίων αργά το φθινόπωρο (Pearson & Hall, 1975). Στην Αγγλία ο μεγαλύτερος αριθμός κονιδίων του μύκητα *A. brassicicola* που παγιδευόταν πάνω από καλλιέργεια λαχάνου παρατηρήθηκε αμέσως μετά από μια περίοδο βροχής ή παρατεταμένης υγρασίας στα φύλλα (>13 ώρες) με ελάχιστη θερμοκρασία μεγαλύτερη των 13°C (Humpherson-Jones & Maude, 1982). Σε χειμωνιάτικη καλλιέργεια τομάτας στο Negev (Ισραήλ) διαπιστώθηκε ότι κατά τη διάρκεια των πρώτων μηνών της καλλιέργειας (από Οκτώβρη έως Ιανουάριο) ελάχιστα κονίδια των μυκήτων *A. solani* και *A. alternata* παγιδεύτηκαν. Απότομη αύξηση του ρυθμού διασποράς των κονιδίων ξεκίνησε το Φεβρουάριο όταν η μόλυνση είχε φτάσει στο στάδιο, όπου τα φύλλα των φυτών είχαν νεκρωθεί και η παραγωγή κονιδίων πάνω στους νεκρούς ιστούς ήταν η μέγιστη. Ένα μήνα μετά όμως ήταν αδύνατη η παγίδευση αερομεταφερομένων κονιδίων (Rotem, 1994). Διασπορά κονιδίων των μυκήτων *A. cucumerina* και *A. alternata* παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, όταν είχαν ξεκινήσει οι καλοκαιρινές βροχοπτώσεις (Schenk, 1968). Παρατηρήσεις που έκαναν στην Καλιφόρνια οι Pearson & Hall (1975) έδειξαν ότι η παγίδευση μεγάλου αριθμού κονιδίων του μύκητα *A. alternata* πάνω από καλλιέργεια τομάτας έγινε αργά κατά την καλλιεργητική περίοδο αλλά όχι στο τέλος της, όταν οι χαμηλές φθινοπωρινές θερμοκρασίες εμπόδισαν την παραγωγή κονιδίων στους φυτικούς ιστούς. Ωστόσο ο αριθμός των αερομεταφερομένων κονιδίων διαφέρει από έτος σε έτος, ανάλογα με τις επικρατούσες κλιματικές συνθήκες, ενώ ο αριθμός των παγιδευμένων στον αέρα κονιδίων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη και αντιμετώπιση της ασθένειας που προκαλούν μύκητες του γένους *Alternaria* σε μια συγκεκριμένη καλλιέργεια (Harrison *et al.*, 1965b).

1.1.6. Επιβίωση

Όπως αναφέρει ο Sussman (1968), οι μύκητες του γένους *Alternaria* επιβιώνουν στη φύση με τη μορφή ειδικών κατασκευών, όπως είναι τα χλαμυδοσπόρια και τα σκληρώτια. Σχηματισμός χλαμυδοσπορίων έχει παρατηρηθεί στην περίπτωση του μύκητα *A. solani* (Basu, 1971). Ωστόσο οι κατασκευές αυτές σπάνια παρατηρούνται και οι περισσότερες αναφορές αφορούν την επιβίωση των μυκήτων αυτών με τη μορφή μυκηλίου και κονιδίων. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι μύκητες του γένους *Alternaria* επιβιώνουν σε μολυσμένα φυτικά υπολείμματα και σπόρους. Επιπλέον έχει αναφερθεί ότι στα

δένδρα διαχειμάζουν κυρίως στους οφθαλμούς, στο φλοιό των βλαστών και στα φύλλα της κορυφής των βλαστών, όπως έχει διαπιστωθεί για το είδος *A. alternata* στη μηλιά στην Ιαπωνία (Tanaka *et al.*, 1989), στη φιστικιά (Prasada *et al.*, 1954) καθώς και σε ετήσια φυτά, όπως σε υπολείμματα καπνού (Ramm *et al.*, 1963) και αντιδιού (Singh *et al.*, 1983). Σε πειράματα που έκανε ο Jackson (1959) διαπίστωσε ότι το 90% των κονιδίων του μύκητα *A. cucumerina* είχε επιβιώσει ύστερα από 8 μήνες διατήρησης σε θερμοκρασία 36°C, ενώ 18, 3 και 0% των κονιδίων του επιβίωσαν μετά από διατήρηση σε θερμοκρασία δωματίου για 2, 3 και 4 μήνες αντίστοιχα (Ibrahim *et al.*, 1975a). Στο μύκητα *A. brassicicola* έχει παρατηρηθεί ότι η βιωσιμότητα του μυκηλίου του φτάνει έως και 12 χρόνια (Maude *et al.*, 1980). Στο σιτάρι ο μύκητας *A. alternata* επιβίωσε με τη μορφή μυκηλίου μέχρι και 7 χρόνια (Russell, 1958).

Οι μύκητες του γένους *Alternaria* επιβιώνουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και καλύτερα με τη μορφή μυκηλίου απ' ό,τι με τη μορφή κονιδίων (Rotem, 1994). Ο μύκητας *A. cucumerina* έχει διαπιστωθεί ότι επιβιώνει για αρκετούς μήνες σε στελέχη πεπονιάς που έχουν παραμείνει στο έδαφος, ενώ όταν μολυσμένα φύλλα θάβονται στο έδαφος, το παθογόνο επιβιώνει με τη μορφή μυκηλίου και μολύνει τα φυτά της επόμενης καλλιέργειας (Jackson, 1959).

Παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση των μυκήτων του γένους *Alternaria* είναι η θερμοκρασία, η υγρασία, η ακτινοβολία και διάφοροι βιοτικοί παράγοντες. Έτσι έχει διαπιστωθεί ότι το μυκήλιο του μύκητα *A. solani* σε σύγκριση με το μυκήλιο μυκήτων άλλων γενών, επιβίωσε *in vitro* στο σκοτάδι για 67 ημέρες στους 53°C και σχετική υγρασία 14,5% (Rotem, 1994). Παρόμοιες διαπιστώσεις έχουν αναφερθεί και για την επιβίωση του μυκηλίου των μυκήτων *A. alternata* και *A. cucumerina* (Rotem, αδημοσίευτα στοιχεία). Επιπλέον, όσον αφορά το μύκητα *A. solani* έχει διαπιστωθεί ότι κάτω από διάφορους συνδυασμούς θερμοκρασίας και υγρασίας το μυκήλιο του είναι ανθεκτικότερο σε σχέση με τα κονιδιά του και επιβιώνει σε συνθήκες ξηρασίας και σε θερμοκρασίες που είναι υψηλότερες ακόμη και από εκείνες που ευνοούν την ανάπτυξη του (Rotem, 1968). Πιο συγκεκριμένα το μυκήλιο επιβίωσε για 16 μήνες στους 40°C, ενώ τα κονιδία κάτω από τις ίδιες συνθήκες επιβίωσαν μόνο για 10 μήνες. Οι μέγιστες θερμοκρασίες επιβίωσης του μυκηλίου και των κονιδίων του μύκητα *A. solani* για 24 ώρες κάτω από συνθήκες ξηρασίας, είναι 88 και 58°C, αντίστοιχα, ενώ η άριστη τιμή της σχετικής υγρασίας είναι 14-38% (στις περισσότερες

θερμοκρασίες) (Rotem, 1968). Χαμηλό ποσοστό επιβίωσης κάτω από συνθήκες υψηλής υγρασίας έχει διαπιστωθεί στην περίπτωση του μύκητα *A. alternata* (Rotem, 1994). Σε πειράματα που έκανε ο Hogg (1966) διαπίστωσε ότι ο μύκητας *A. alternata* επιβιώνει για σχεδόν 300 ημέρες σε ξηρό έδαφος και για 220 ημέρες σε έδαφος με 75 % σχετική υγρασία. Γενικά τα κονίδια όλων των ειδών του γένους *Alternaria* επιβιώνουν καλύτερα σε ξηρό έδαφος (Rotem, 1994).

Τα κονίδια του μύκητα *A. brassicicola* παραμένουν ζωντανά για 10 εβδομάδες στα φύλλα των λαχανικών-ξενιστών του που παραμένουν εντός ή εκτός αποθήκης (Humpherson-Jones *et al.*, 1989), ενώ το μυκήλιο του ίδιου μύκητα επιβιώνει σε σπόρους λαχανικών για 7-8,5 χρόνια (Neergaard, 1977). Στο Ισραήλ έχει διαπιστωθεί ότι η διαχείμαση του μύκητα *A. solani* σε υπολείμματα πατάτας και τομάτας είναι καλύτερη (περισσότερο από 8 μήνες), όταν τα υπολείμματα τοποθετούνται στην επιφάνεια του εδάφους απ' ότι όταν θάβονται σε κάποιο βάθος στο έδαφος (Rotem, 1968, 1990). Το ίδιο φαινόμενο έχει παρατηρηθεί και σε άλλα είδη του γένους *Alternaria*.

Ο Sussman (1968) παρατήρησε ότι η υπεριώδης (UV) ακτινοβολία μειώνει σημαντικά την επιβίωση των μυκήτων του γένους *Alternaria*. Η UV ακτινοβολία του ηλιακού φωτός είναι ο κυριότερος παράγοντας καταστροφής των κονιδίων, αν και στη γη φτάνει το λιγότερο βλαβερό μήκος κύματος αυτής της ακτινοβολίας (Rotem *et al.*, 1985). Κάτω από τέτοια έκθεση, τα κονίδια των μυκήτων *A. solani* στην πατάτα (Rotem *et al.*, 1985) και *A. alternata* στο βαμβάκι, είχαν νεκρωθεί σε διάστημα 5 ημερών, σχεδόν 30 φορές πιο γρήγορα από τα κονίδια που βρίσκονταν στο σκοτάδι σε παρόμοιες θερμοκρασίες (Rotem, 1994). Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις ο ξενιστής προστατεύει το παθογόνο από την επιζήμια ηλιακή ακτινοβολία. Έτσι ένα πράσινο φύλλο που εκτίθεται απ' ευθείας στο ηλιακό φως δρα ως φίλτρο στην UV ακτινοβολία και προστατεύει τα κονίδια που έχουν σχηματιστεί στην κάτω επιφάνεια του φύλλου και το μυκήλιο που αναπτύσσεται εσωτερικά του φύλλου (Rotem, *et al.*, 1985). Η πυκνή σκιά που προσφέρουν τα ενήλικα φυτά, οι σπόροι και τα υπολείμματα που φιλοξενούν τα παθογόνα στους εσωτερικούς ιστούς τους παρέχουν στους μύκητες του γένους *Alternaria* σχεδόν απόλυτη προστασία από την UV ακτινοβολία (Rotem *et al.*, 1991).

1.1.7. Τοξίνες και ο ρόλος τους.

Έχει διαπιστωθεί ότι το σκούρο χρώμα των συγκεντρικών περιοχών των κηλίδων και γενικά των νεκρωτικών συμπτωμάτων που προκαλούν οι μύκητες του γένους *Alternaria*, μπορεί να οφείλεται στη παραγωγή από τα παθογόνα τοξινών οι οποίες νεκρώνουν τα κύτταρα των ξενιστών (Bains & Tewari, 1987).

Οι μύκητες του γένους *Alternaria* παράγουν τοξίνες οι περισσότερες από τις οποίες είναι μικρού μοριακού βάρους, προκαλώντας ιστολογικές και φυσιολογικές αλλαγές στους ξενιστές των μυκήτων αυτών (Knoche & Dunick, 1987). Οι τοξίνες πιθανώς εμπλέκονται σε ορισμένα ή σε όλα τα στάδια της διαδικασίας της μόλυνσης, από το στάδιο της διείσδυσης του μύκητα στον ξενιστή έως την εγκατάσταση, εποίκηση και τη νέκρωση των κυττάρων του ξενιστή (Rotem, 1994). Οι Nishimura & Kohmoto (1983a) κατέγραψαν τις τοξίνες που παράγονται από διάφορους παθογόνους τύπους του μύκητα *A. alternata* σε συγκεκριμένους ξενιστές, όπως είναι η AM-toxin σε μηλιές, η AC-toxin σε εσπεριδοειδή, η AK-toxin σε αχλαδιές, η AL-toxin σε τομάτες και η AT-toxin σε φυτά καπνού. Έχει επίσης αναφερθεί ότι ο μύκητας *A. alternata* παράγει την AK-toxin όταν προσβάλλει ορισμένες μόνο ποικιλίες γιαπωνέζικης αχλαδιάς, ενώ σε άλλες ποικιλίες αχλαδιάς η παραπάνω τοξίνη δεν έχει καμία επίδραση (Rotem, 1994).

Αν και έχει γίνει σημαντική πρόοδος όσον αφορά την κατανόηση του μηχανισμού της δράσης των τοξινών, πολύ λίγα είναι γνωστά για τον ρόλο των τοξινών στις ασθένειες που προκαλούν οι μύκητες του γένους *Alternaria* (Ballio, 1991; Otani *et al.*, 1991). Κατά καιρούς έχει μελετηθεί ένας μεγάλος αριθμός φυτικών ειδών στα οποία διαπιστώθηκε μεγάλη παραγωγή τοξινών από το μύκητα *A. brassicicola* και τα οποία είδη, ενώ εμφάνισαν μεγάλη ευπάθεια στις συγκεκριμένες τοξίνες ήταν πιο ανθεκτικά στις μολύνσεις του παθογόνου (Ballio, 1991; Otani *et al.*, 1991). Όσον αφορά το μύκητα *A. solani* έχει διαπιστωθεί κατά καιρούς ότι μερικές απομονώσεις παράγουν λίγες ή καθόλου τοξίνες (Brian *et al.*, 1952). Σύμφωνα με τον Rotem (1994) από κηλίδες προσβεβλημένων από το παραπάνω παθογόνο φυτών ή από διήθημα κονιδίων του μύκητα έχει απομονωθεί μια ουσία η οποία προκαλεί χλώρωση και νέκρωση των φυτικών ιστών, όταν η ουσία αυτή εισαχθεί τεχνητά σε φύλλα τομάτας. Η ουσία αυτή που είναι το αλτερναρικό οξύ (Brian *et al.*, 1952) προκαλεί ζημιές ακόμα και σε φυτά μη ξενιστές του μύκητα *A. solani* (Pound & Stahman, 1951). Η συγκεκριμένη ουσία

αυξάνει τη διαπνοή του φύλλου και προκαλεί το σχηματισμό νεκρωτικών κηλίδων, αλλά μέχρι σήμερα δεν έχει εξακριβωθεί αν υπάρχει σχέση μεταξύ της παθογένειας διαφόρων απομονώσεων του μύκητα *A. solani* και της ικανότητάς τους να παράγουν τη συγκεκριμένη ουσία (Brian *et al.*, 1952). Η tentoxin, μια τοξίνη που παράγεται από το μύκητα *A. alternata* προκαλεί χλωρώσεις σε νεαρά φυτά πολλών ξενιστών του παθογόνου (Templeton *et al.*, 1967). Η tentoxin έχει την ικανότητα να προκαλεί τα τυπικά συμπτώματα της ασθένειας ακόμα και απουσία του παθογόνου, αλλά ο ρόλος της στην παθογένεια δεν έχει διευκρινιστεί (Klotz, 1988).

Γενικά ο ρόλος των διαφόρων τοξινών στην εμφάνιση και εξέλιξη των ασθενειών που προκαλούνται από διάφορα είδη του γένους *Alternaria* δεν έχει διερευνηθεί επαρκώς (Maiero *et al.*, 1991).

1.1.8. Ξενιστές

Ο μύκητας *A. solani* εκτός από την τομάτα και την πατάτα έχει αναφερθεί ότι προσβάλλει και άλλα είδη της Οικογένειας Solanaceae όπως την πιπεριά και τη μελιτζάνα στα οποία όμως προκαλεί ζημιές μικρότερου βαθμού (Rands, 1917a; Neergaard, 1945). Ακόμα έχει διαπιστωθεί ότι προσβάλλει και φυτά των παρακάτω γενών: *Datura*, *Amaranthus*, *Galinsoga*, *Hyoscyamus*, *Ipomoea*, *Petunia*, *Physalis* καθώς και είδη των Οικογενειών Cruciferae, Compositae και Moraceae (Ellis & Gibson, 1975).

Ο μύκητας *A. brassicicola* προσβάλλει είδη της Οικογένειας Cruciferae και ειδικότερα φυτά των γενών *Armoracia*, *Brassica*, *Crambe*, *Lunaria* και *Raphanus* (Ellis, 1968).

Ο μύκητας *A. cucumerina* προσβάλλει φυτά της Οικογένειας Cucurbitaceae, όπως το καρπούζι, το πεπόνι καθώς και μη καλλιεργούμενα είδη των γενών *Curcubita* και *Cyamophis* (Ellis & Holiday, 1970).

Τέλος ο μύκητας *A. alternata* θεωρείται κοσμοπολίτικο είδος και το εύρος των ξενιστών που προσβάλλει είναι μεγάλο (Farr *et al.*, 1995). Ξενιστές του είναι φυτά ή δένδρα των γενών: *Acacia*, *Acer*, *Agropyron*, *Allium*, *Alnus*, *Antirrhinum*, *Arachis*, *Arceuthobium*, *Asclepias*, *Asparagus*, *Avena*, *Beta*, *Brassica*, *Bromus*, *Calathea*, *Callistephus*, *Calocedrus*, *Camellia*, *Cannabis*, *Carica*, *Carya*, *Chrysalidocarpus*, *Chrysanthemum*, *Clarkia*, *Cucumis*, *Curcubita*, *Dahlia*, *Daucus*, *Dendrobium*, *Dichondra*, *Dimorphotheca*, *Fagopyrum*, *Ficus*, *Gladiolus*, *Glycine*,

Gossypium, Hedera, Helianthus, Hibiscus, Hordeum, Ilex, Juncus, Juniperus, Lathyrus, Lens, Ligustrum, Limum, Lycopersicon, Magnolia, Malus, Medicago, Metrisideros, Nicotiana, Oenothera, Pandanus, Pastinaca, Pelargonium, Petroselinum, Petunia, Phaseolus, Pieris, Pinus, Rhododendron, Rhus, Robinia, Secale, Spartina, Syagrus, Syringa, Tephrosia, Tragopogon, Trifolium, Trigonella, Triticum, Vaccinium, Vicia, Vigna, Vitis, Yucca, Zea (Farr et al., 1995).

1.2. ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

1.2.1. Συμπτωματολογία

Οι ασθένειες που προκαλούνται από διάφορα είδη του γένους *Alternaria* είναι γνωστές ως αλτερναριώσεις και έχουν παγκόσμια εξάπλωση. Είναι ιδιαίτερα σοβαρές στα εύκρατα και υγρά κλίματα καθώς και σε ημίξηρες περιοχές όπου σχηματίζεται νυκτερινή δρόσος (Παναγόπουλος, 2000). Στην Ευρώπη οι ασθένειες είναι περισσότερο σοβαρές στις νότιες περιοχές με υψηλή καλοκαιρινή υγρασία.

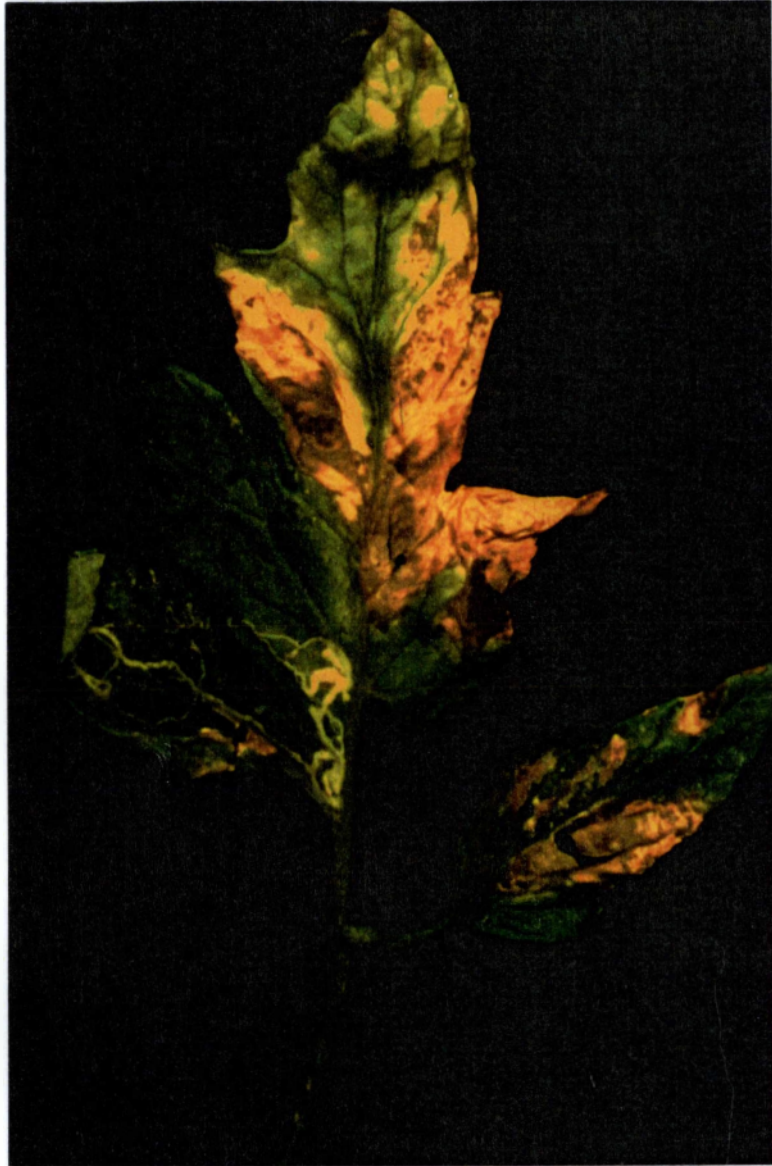
Στα διάφορα είδη της Οικογένειας Solanaceae (τομάτα, πατάτα, πιπεριά κ.λ.π.) ο μύκητας *A. solani* προσβάλλει όλα τα υπέργεια μέρη των φυτών και σε όλα τα στάδια ανάπτυξής τους (Παναγόπουλος, 2000).

Στα σπορεία παρατηρούνται προφυτρωτικές και μεταφυτρωτικές τήξεις. Στα νεαρά φυτάρια (μικρότερα από τρεις εβδομάδες) εμφανίζονται σκοτεινές περιοχές στη βάση του στελέχους κοντά στην επιφάνεια του εδάφους (Εικ. 5). Αυτές εξελίσσονται προς τα πάνω και γύρω από το στέλεχος προκαλώντας ολική ξήρανση του φυτού (Παναγόπουλος, 2000).

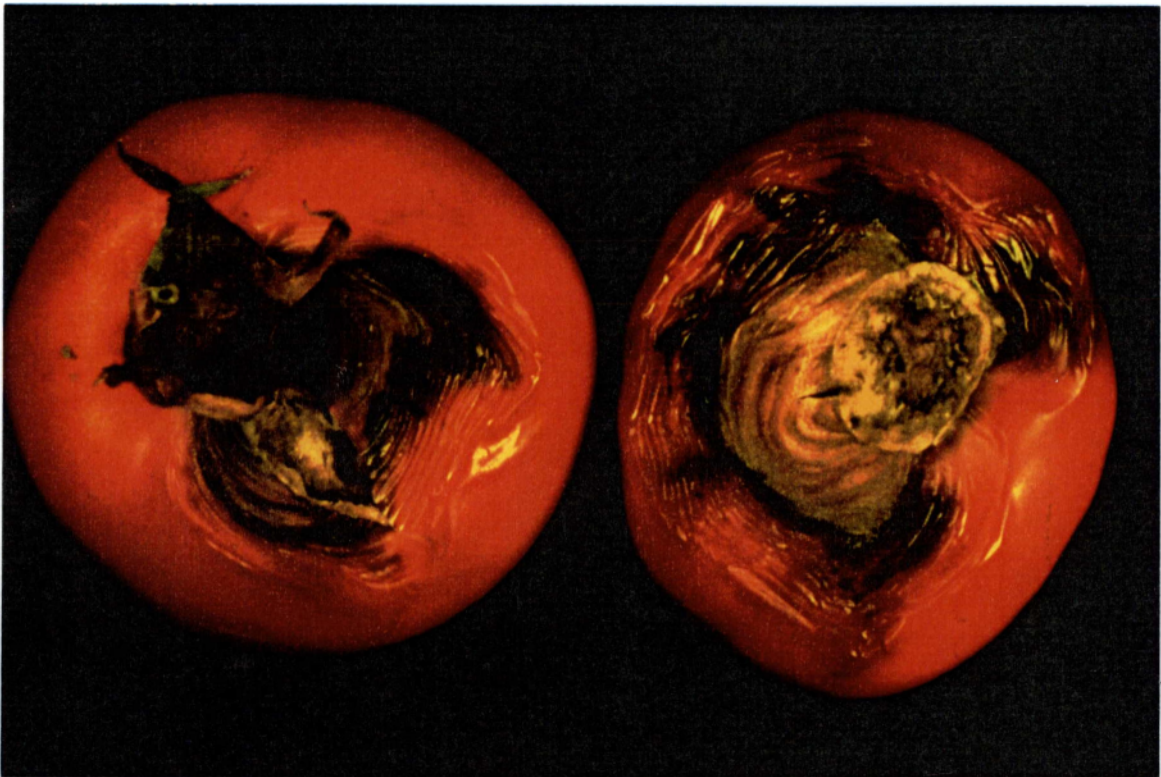
Στα ανεπτυγμένα φυτά σχηματίζονται, αρχικά στα παλαιότερα φύλλα της βάσης, κυκλικές ήγωνιώδεις καστανές ή μελανές κηλίδες με συγκεντρικούς κύκλους, διαμέτρου 3-10mm. Οι κηλίδες αυτές με την πάροδο του χρόνου συνενώνονται σχηματίζοντας μεγάλες νεκρωτικές περιοχές (Εικ. 6). Παρόμοιες κηλίδες, που συνήθως παραμένουν μικρές και έχουν χαρακτηριστική ζωνωτή εμφάνιση (μορφή στόχου) σχηματίζονται στα στελέχη, τους μίσχους των φύλλων και τους καρπούς. Οι κηλίδες στα όργανα αυτά και ιδίως στους καρπούς είναι ελαφρά βυθισμένες. Στους καρπούς η προσβολή αρχίζει με τη μορφή κηλίδας γύρω από τον κάλυκα ή σε κάποιο μικρό τραύμα ή σχισμή, με την πάροδο του χρόνου αυξάνεται σε μέγεθος και αποκτά δερματώδη υφή (Εικ. 7). Πάνω στις



Εικόνα 5. Συμπτώματα προσβολής στελεχών τομάτας από το μύκητα *A. solani* (φυσική μόλυνση).



Εικόνα 6. Συμπτώματα προσβολής φύλλου τομάτας από το μύκητα *A. solani* (φυσική μόλυνση).



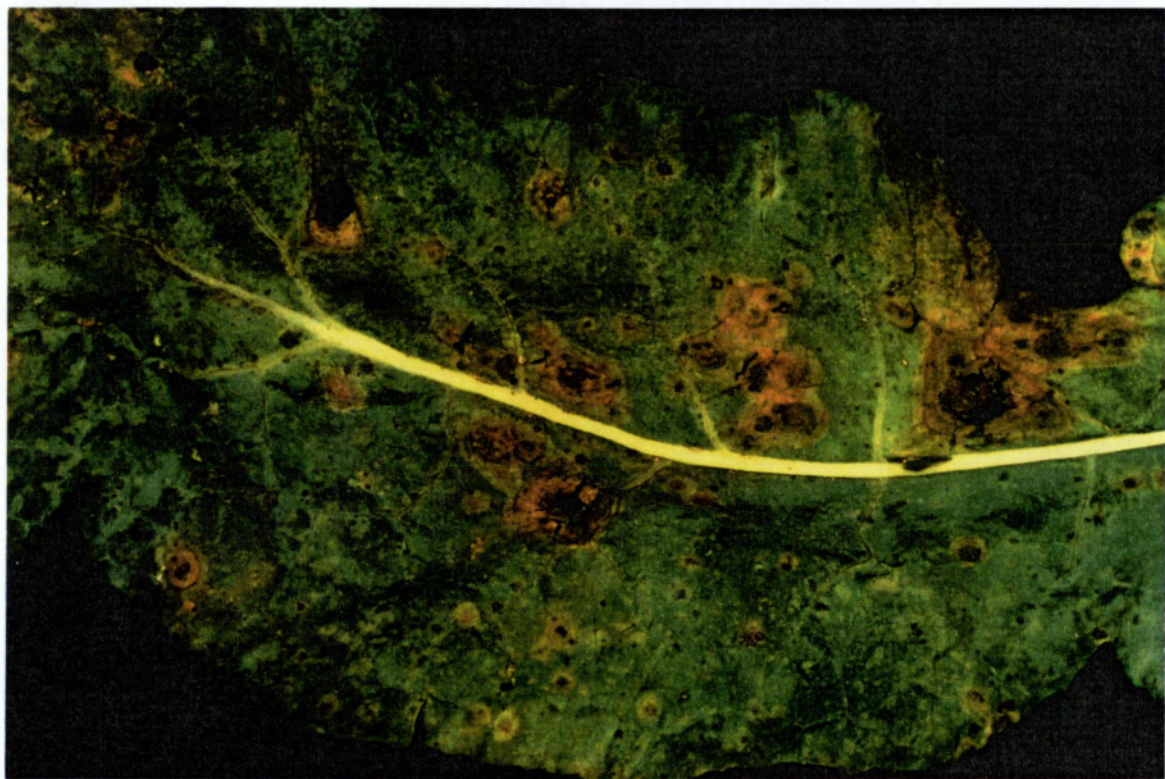
Εικόνα 7. Συμπτώματα προσβολής καρπών τομάτας από το μύκητα *A. solani* (φυσική μόλυνση).

κηλίδες σχηματίζεται μαύρη εξάνθηση που είναι οι κονιδιοφόροι και τα κονίδια του μύκητα. Στα παλαιότερα φύλλα οι κηλίδες περιβάλλονται από χλωρωτική άλω. Οι προσβεβλημένοι ιστοί γίνονται τελικά μελανοί και νεκρώνονται ενώ τα έντονα προσβεβλημένα φύλλα ξηραίνονται και πέφτουν πρόωρα (Παναγόπουλος, 2000).

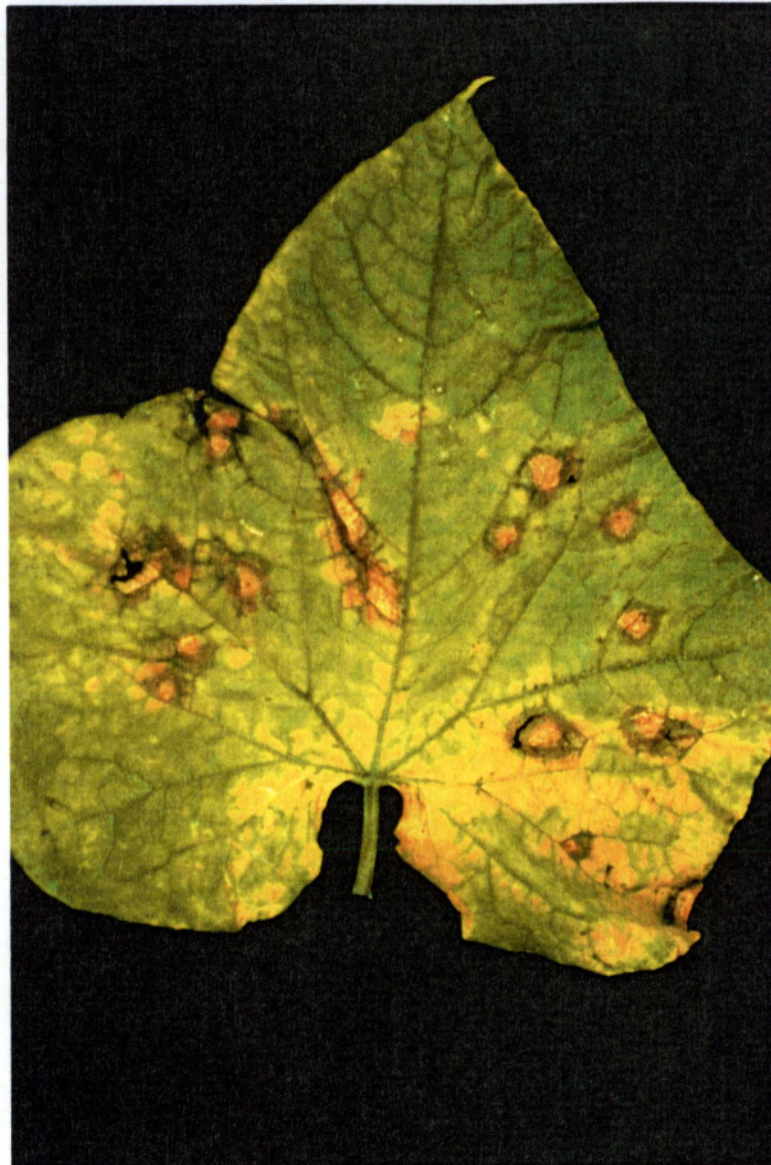
Στα Σταυρανθή ο μύκητας *A. brassicicola* προσβάλλει όλα τα υπέργεια μέρη των φυτών και σε όλα τα στάδια ανάπτυξής τους (Παναγόπουλος, 2000). Στα νεαρά φυτάρια προκαλούνται τήξεις, ενώ στα αναπτυγμένα φυτά προκαλούνται κηλιδώσεις των φύλλων και των κεφαλών. Ο μύκητας προκαλεί επίσης μετασυσπαστικές σήψεις των κεφαλών. Στα φύλλα αρχικά εμφανίζονται μικρές κίτρινες κηλίδες ή περιοχές, οι οποίες στη συνέχεια εξελίσσονται σε μελανές, ζωνωτές, κυκλικές κηλίδες ελαφρά βυθισμένες στο κέντρο, διαμέτρου μέχρι 2,5 cm ή και μεγαλύτερες (5,0-7,5cm ιδιαίτερα στα μεγάλης ηλικίας φύλλα) που συνήθως περιβάλλονται από κίτρινη άλω (Εικ. 8). Σε προχωρημένο στάδιο πάνω στις κηλίδες παρατηρείται μελανή εξάνθηση. Τελικά οι προσβεβλημένοι ιστοί ξηραίνονται και συχνά πέφτουν με αποτέλεσμα να σχηματίζονται «τρύπες από σκάγια». Παρόμοια συμπτώματα με τη μορφή επιμήκων κηλίδων σχηματίζονται στα στελέχη, τους μίσχους των φύλλων και τα φύλλα. Στις κεφαλές του κουνουπιδιού οι κηλίδες αναπτύσσονται γρήγορα και προκαλούν εκτεταμένη καστανή σήψη (Παναγόπουλος, 2000).

Τα συμπτώματα που προκαλεί ο μύκητας *A. cucumerina* στα Κολοκυνθοειδή εμφανίζονται με τη μορφή κηλίδων στην πάνω επιφάνεια των φύλλων (Watt, 1995) (Εικ. 9). Οι κηλίδες εμφανίζονται αρχικά στα παλαιότερα φύλλα με τη μορφή μικρών στιγμάτων. Τα στιγμάτα αυτά έχουν χρώμα ανοιχτό καστανό, με συγκεντρικούς κύκλους και ζωνωτή εμφάνιση (μορφή στόχου). Με την πάροδο του χρόνου οι κηλίδες στα φύλλα επεκτείνονται σε όλη τη φυλλική επιφάνεια. Στους καρπούς σχηματίζονται ελαφρά βυθισμένες καστανές κηλίδες, πάνω στις οποίες εμφανίζεται μια σκούρα καστανή εξάνθηση, που είναι οι κονιδιοφόροι και τα κονίδια του μύκητα. Η μόλυνση των φυτών συνήθως παρατηρείται μετά το τέλος της ανθοφορίας και σε πολλές περιπτώσεις οι καρποί μαυρίζουν και τελικά πέφτουν (Watt, 1995).

Ο μύκητας *A. alternata*, όπως έχει προαναφερθεί, προσβάλλει πολλά είδη φυτών όπου προκαλεί παρόμοια συμπτώματα. Έχει αναφερθεί ότι στα Κολοκυνθοειδή τα συμπτώματα που προκαλεί ο μύκητας *A. alternata* f. sp. *cucurbitae* εμφανίζονται συνήθως αργά το φθινόπωρο και κυρίως στα φύλλα που



Εικόνα 8. Συμπτώματα προσβολής φύλλου μπρόκολου από το μύκητα *A. brassicicola* (φυσική μόλυνση).



Εικόνα 9. Συμπτώματα προσβολής φύλλου αγγουριάς από το μύκητα *A. cucumerina* (φυσική μόλυνση).

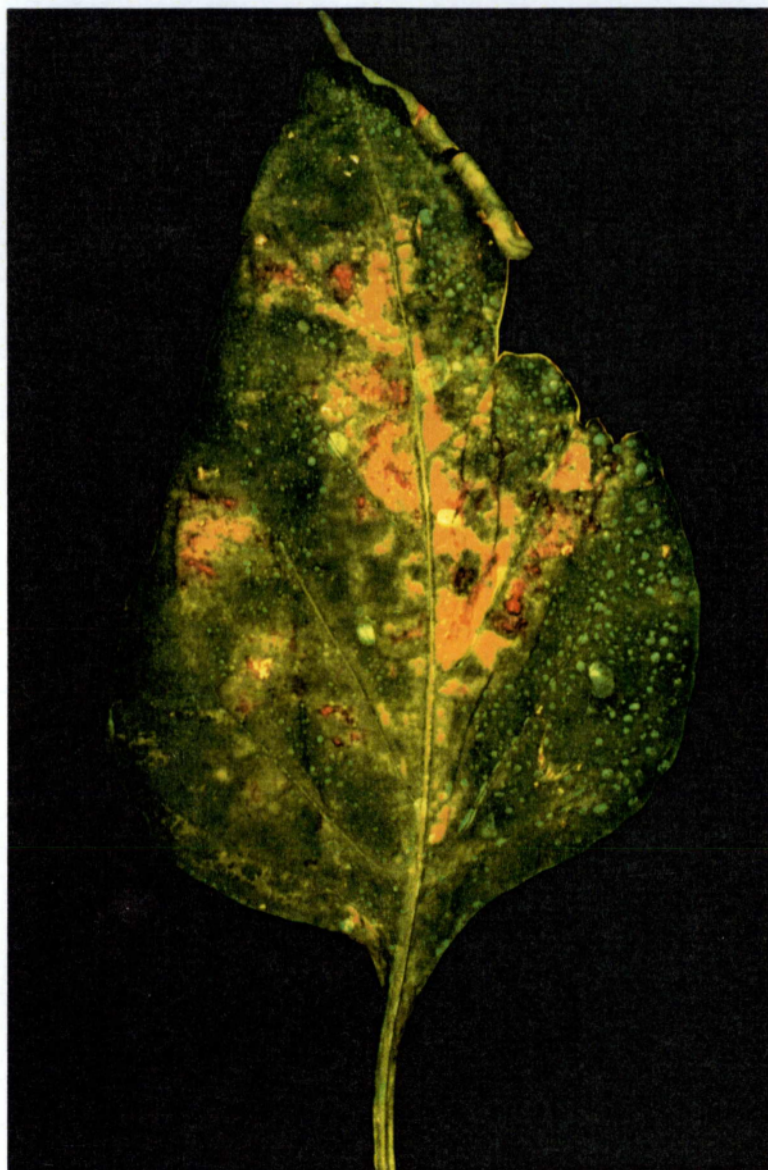
βρίσκονται στη μέση και στο πάνω μέρος του φυτού με τη μορφή νεκρωτικών κηλίδων που περιβάλλονται από χλωρωτική άλω (Vakalounakis, 1990) (Εικ. 10). Οι κηλίδες στη συνέχεια συνενώνονται και η διάμετρος τους μπορεί να φτάσει τα 5 cm ή και περισσότερο. Έχουν χρώμα σκούρο καστανό με συγκεντρικούς κύκλους ενώ πάνω στην επιφανειά τους εμφανίζονται οι κονιδιοφόροι και τα κονίδια του μύκητα. Σύμφωνα με τον Vakalounakis (1990), στα κολοκυνθοειδή συμπτώματα της ασθένειας εμφανίζονται μόνο στα φύλλα. Αντίθετα, ο μύκητας *A. alternata* f. sp. *lycopersici* προσβάλλει εκτός από τα φύλλα και τα στελέχη φυτών τομάτας σχηματίζοντας έλκη (Malathrakis, 1983). Ο μύκητας προσβάλλει και τους καρπούς σχηματίζοντας μεγάλες, καστανές, κυκλικές ή ακανόνιστου σχήματος, βυθισμένες κηλίδες οι οποίες επειδή καλύπτονται από τις πυκνές, μαύρες εξανθήσεις του μύκητα έχουν βελουδίνη όψη (Παναγόπουλος, 2000).

1.2.2 Παράγοντες που ευνοούν την ασθένεια.

Όλα τα είδη του γένους *Alternaria* μολύνουν καλύτερα σε σχετικά υψηλές θερμοκρασίες παρ' όλο που μπορούν να ανεχτούν και πιο κρύες συνθήκες (Rotem, 1994). Κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες η μόλυνση γίνεται σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, από 10 έως 35°C ή και μεγαλύτερες (Rotem, 1994). Η άριστη θερμοκρασία για τη μόλυνση του καπνού από το μύκητα *A. alternata* σύμφωνα με τους Stavelly & Main (1970) είναι 20°C, σύμφωνα με τους Ramm & Lucas (1962) 25°C, και σύμφωνα με τον Riley (1949) 30° C.

Σε μερικές περιπτώσεις η άριστη θερμοκρασία για τη μόλυνση φυτών από μύκητες του γένους *Alternaria* είναι παρόμοια με την άριστη θερμοκρασία για τη βλάστηση των κονιδίων τους (Rotem, 1994). Διαφορετική όμως είναι η τιμή της άριστης θερμοκρασίας για τη μόλυνση των διαφόρων φυτικών οργάνων, όπως έχει διαπιστωθεί για το μύκητα *A. brassicicola*, που για να μολύνει μέσω πληγών τους μίσχους των φύλλων λαχάνου, απαιτεί θερμοκρασία 25°C, ενώ η μετάδοση της ίδιας ασθένειας από μολυσμένους σπόρους επιτυγχάνεται σε θερμοκρασία 30°C (Basse & Gabrielson, 1983).

Για τα περισσότερα είδη του γένους *Alternaria* απαραίτητη προϋπόθεση για την είσοδό τους στον ξενιστή είναι η ύπαρξη συνεχούς υγρασίας, η διάρκεια της οποίας μπορεί να κυμαίνεται από 3 έως 72 ώρες (Rotem, 1994). Εξαιρεση αποτελεί ο μύκητας *A. alternata*, που για να μολύνει φυτά σίτου απαιτεί παρουσία συνεχούς υψηλής σχετικής υγρασίας για 72-96 ώρες (Ram & Joshi, 1978). Σε



Εικόνα 10. Συμπτώματα προσβολής φύλλου πιπεριάς από το μύκητα *A. alternata* (φυσική μόλυνση).

πειράματα που έγιναν με το μύκητα *A. solani* διαπιστώθηκε ότι το παθογόνο έχει την ικανότητα να μολύνει τους ξενιστές του ακόμη και όταν οι μικρές περιόδους υγρασίας διακόπτονται από περιόδους ξηρασίας (Bashi & Rotem, 1974).

Ένας άλλος παράγοντας που παίζει σημαντικό ρόλο στη μόλυνση των φυτών από διάφορα είδη του γένους *Alternaria* είναι η ηλικία του φυτού (Rotem, 1994). Οι φυτοπαθολόγοι οι οποίοι ασχολούνται με τις ασθένειες που προκαλούν οι μύκητες του γένους *Alternaria* στο χωράφι, υποστηρίζουν ότι είναι ασθένειες των ώριμων φυτών και εμφανίζονται συνήθως στο στάδιο της άνθησης. Αντίθετα οι φυτοπαθολόγοι που ασχολούνται με τη βιολογία των σπόρων υποστηρίζουν ότι είναι ασθένειες των σπόρων και των νεαρών φυταρίων (Rotem, 1994). Στη βιβλιογραφία υπάρχουν αναφορές που υποστηρίζουν και τις δύο απόψεις.

Αυξημένη ευπάθεια των ώριμων φύλλων ή φυτών στις μολύνσεις μυκήτων του γένους *Alternaria* έχει αναφερθεί για πολλά είδη φυτών, όπως την πατάτα (Droby *et al.*, 1984a), τη μελιτζάνα (Mohit *et al.*, 1986), την πετούνια (Wellman, 1949), το λάχανο Βρυξελλών (Siemer *et al.*, 1971), τον καπνό (Stavelly *et al.*, 1971), την κράμβη (Rotem, 1994), το σινάπι (Sarkar *et al.*, 1978), το κοινό λάχανο (Badadoost *et al.*, 1979) και το αντίδι (Köhle *et al.*, 1989). Σύμφωνα με τους Moore (1942) και Moore & Thomas (1943), ο μύκητας *A. solani* προκαλεί σήψεις λαιμού σε νεαρά φυτά τομάτας ή πατάτας, μεγαλώνοντας όμως τα φυτά γίνονται πιο ανθεκτικά στις μολύνσεις μέχρις ότου φτάσουν στο στάδιο της ωριμότητας, οπότε και πάλι γίνονται ευπαθή στην ασθένεια. Μεγαλύτερη ευπάθεια των νεαρών φυταρίων καθώς και των ώριμων φυτών έχει επίσης παρατηρηθεί και στα Κολοκυνθοειδή όταν μολύνονται από το μύκητα *A. cucumerina* (Ibrahim *et al.*, 1975b). Ωστόσο σε συνθήκες αγρού το αρχικό στάδιο της μόλυνσης συχνά αγνοείται ή παραβλέπεται καθόσον τήξεις σπόρων ή φυταρίων προκαλούνται και από διάφορους άλλους μύκητες ή μη παρασιτικά αίτια με αποτέλεσμα οι μολυσμένοι σπόροι να μην βλαστάνουν ή τα νεαρά προσβεβλημένα φυτάρια να εξαφανίζονται από το χωράφι (Rotem, 1994).

1.2.3. Αντιμετώπιση

Η αντιμετώπιση των ασθενειών που προκαλούνται από μύκητες του γένους *Alternaria* είναι πολύ δύσκολη μετά την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων. Ως εκ τούτου η αντιμετώπισή τους βασίζεται σε προστατευτικά μέτρα, σε μέτρα

δηλαδή που λαμβάνονται πριν από την εγκατάσταση των παθογόνων στις καλλιέργειες.

1.2.3.1. Καλλιεργητικά μέτρα.

Τα καλλιεργητικά μέτρα που λαμβάνονται έχουν ως στόχο να μειώσουν τις πηγές πρωτογενών μολυσμάτων (σπόρος, υπολείμματα καλλιέργειας, ζιζάνια) και να περιορίσουν την εξάπλωση της ασθένειας (Strandberg, 1992). Βασικό χαρακτηριστικό των ειδών του γένους *Alternaria* είναι η ικανότητά τους να επιβιώνουν στο έδαφος για μεγάλα χρονικά διαστήματα ακόμα και απουσία κατάλληλου ξενιστή (Strandberg, 1992), με τη βοήθεια κατασκευών όπως είναι το μυκήλιο, τα κονίδια και τα γλαυδοσπόρια (Rotem, 1994).

Τα είδη του γένους *Alternaria* είναι ευρέως διαδεδομένα, διότι μπορούν και μεταφέρονται σε κοντινές αποστάσεις με τη βοήθεια του ανέμου και σε μακρινές αποστάσεις με τους μολυσμένους σπόρους (Simmons, 1992). Για το λόγο αυτό στη Φιλανδία ύστερα από ζημιές που προκάλεσαν τα είδη *A. brassicae* και *A. brassicicola* θεσπίστηκε έλεγχος στα εισαγόμενα φυτικά είδη *Brassica* spp. (Valkonen & Karonen, 1990). Έτσι το υγιές πολλαπλασιαστικό υλικό περιορίζει σημαντικά τα πρωτογενή μόλυσματά του παθογόνου. Ένας άλλος τρόπος είναι η απολύμανση του σπόρου με υγρή θερμότητα, που περιορίζει την εξάπλωση της ασθένειας και μειώνει το ποσοστό προσβολής σε χαμηλά επίπεδα (Strandberg, 1992). Για την αντιμετώπιση του μύκητα *A. brassicicola* συνιστάται η απολύμανση του σπόρου με υγρή θερμότητα (50°C) για 25-30 λεπτά σε συνδυασμό με απολύμανση του εδάφους του φυτωρίου και του χωραφιού (Keller *et al.*, 1997). Επιπλέον ο ύποπτος σπόρος μπορεί να απολυμανθεί με τη χρήση μυκητοκτόνων (π.χ. thiram ή iprodione) (Παναγόπουλος, 2000)

Τα κονίδια των μυκήτων του γένους *Alternaria* έχουν την ικανότητα να μεταφέρονται από τα υγρά και μολυσμένα φύλλα με το νερό της βροχής ή της άρδευσης σε συνδυασμό με τον άνεμο και να μολύνουν γειτονικά υγιή φυτά (Rotem, 1994). Φαινόμενα μεταφοράς κονιδίων με το νερό της άρδευσης, ιδίως όταν το σύστημα άρδευσης είναι η τεχνητή βροχή, έχουν παρατηρηθεί στο μύκητα *A. brassicicola* σε είδη της Οικογένειας Cruciferae (Rangel, 1945) καθώς και στους μύκητες *A. solani* σε καλλιέργειες τομάτας και *A. cucumerina* σε κολοκυνθοειδή (Rotem, αδημοσίευτα στοιχεία). Ως εκ τούτου η άρδευση με

τεχνητή βροχή πρέπει να αποφεύγεται διότι ευνοεί την εξάπλωση της ασθένειας (Rotem, 1994).

Ένας ακόμα τρόπος αποφυγής της μόλυνσης των φυτών από τους μύκητες του γένους *Alternaria* είναι η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών (Rotem, 1994), η αντοχή των οποίων ελέγχεται από ένα κυρίαρχο γόνο (Παναγόπουλος, 2000). Υβρίδια τομάτας τα οποία καλλιεργούνται τελευταία στη χώρα μας είναι ανθεκτικά στην ασθένεια που προκαλεί ο μύκητας *A. solani* και για αυτό σήμερα η ασθένεια δεν αποτελεί πρόβλημα (Παναγόπουλος, 2000).

Η σωστή θρέψη των φυτών και οι κατάλληλες συνθήκες ανάπτυξής τους τα καθιστούν ανθεκτικότερα στις προσβολές από τους μύκητες του γένους *Alternaria* σε σχέση με τα φυτά που βρίσκονται σε κατάσταση καταπόνησης (Watt, 1995). Η έλλειψη ή ανεπάρκεια θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος κάνουν τα φυτά ευπαθή στις μολύνσεις από μύκητες του γένους *Alternaria* (Kucharek, 1994).

Ο Vakalounakis (1991) σε πειράματα που έκανε σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας όπου χρησιμοποίησε ειδικά υλικά κάλυψης θερμοκηπίων παρατήρησε μείωση της έντασης της προσβολής φυτών τομάτας από το μύκητα *A. solani*. Στα συγκεκριμένα πειράματα χρησιμοποιήθηκε η ποικιλία τομάτας Early Pak No 7 που καλλιεργήθηκε χωρίς μυκητοκτόνα τις περιόδους 1984-1985 και 1985-1986 σε θερμοκήπιο καλυμμένο με ειδικό πλαστικό κάλυψης (UVA-vinyl film) και σε θερμοκήπιο καλυμμένο με απλό πλαστικό κάλυψης (CA-vinyl film). Διαπιστώθηκε ότι στο θερμοκήπιο με το ειδικό πλαστικό κάλυψης (UVA-vinyl film) το ποσοστό μόλυνσης μειώθηκε κατά 50% σε σχέση με το ποσοστό προσβολής στο θερμοκήπιο με το απλό υλικό κάλυψης (CA-vinyl film) (Vakalounakis, 1991).

Η ύπαρξη πληγών είναι επίσης ένας άλλος παράγων που ευνοεί τη μόλυνση των φυτών από μύκητες του γένους *Alternaria* (Rotem, 1994). Πληγές μπορούν να δημιουργηθούν από χαλάζι, παγετό, προσβολές εντόμων ή κατά τη διενέργεια καλλιεργητικών εργασιών (Guba, 1945). Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι είδη του γένους *Alternaria* μόλυναν σταφύλια που είχαν προηγουμένως υποστεί ηλιακά εγκαύματα (Gartel, 1977).

Σύμφωνα με στοιχεία της διεθνούς βιβλιογραφίας, τα είδη του γένους *Alternaria* επιβιώνουν σε μολυσμένα φυτικά υπολείμματα, τα οποία αποτελούν πηγές πρωτογενών μολυσμάτων για τις επόμενες καλλιέργειες. Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητη η καταστροφή των υπολειμμάτων της προηγούμενης

καλλιέργειας μετά το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου. Αυτό επιτυγχάνεται με την εφαρμογή βαθιάς άροσης αμέσως μετά τη συγκομιδή, με σκοπό την μείωση του αριθμού των πρωτογενών μολυσμάτων (Kucharek, 1994).

Η εναλλαγή καλλιεργειών (αμειψισπορά) μπορεί επίσης να μειώσει την ένταση της προσβολής, όπως έχει παρατηρηθεί σε καλλιέργειες κολοκυνθοειδών (Keller *et al.*, 1997) και σε καλλιέργειες φυτικών ειδών του γένους *Brassica*.

1.2.3.2. Βιολογική αντιμετώπιση (ανταγωνιστικοί μικροοργανισμοί)

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν αρκετές αναφορές για τη δράση ανταγωνιστικών μικροοργανισμών εναντίον διαφόρων ειδών του γένους *Alternaria*. Πιο συγκεκριμένα, σε πειράματα *in vitro* που έκαναν οι Vannacci & Harman (1987) δοκίμασαν 42 μικροοργανισμούς για τη βιολογική καταπολέμηση των μυκήτων *A. raphani* και *A. brassicicola*. Οι μικροοργανισμοί αυτοί είτε είχαν απομονωθεί από σπόρους λαχανικών είτε είχαν ήδη χρησιμοποιηθεί εναντίον μυκήτων εδάφους του γένους *Pythium*. Από τους 42 μικροοργανισμούς που δοκιμάστηκαν, δύο μικροοργανισμοί που ανήκαν στα γένη *Trichoderma* και *Chaetomium* εμφάνισαν τη μεγαλύτερη παρεμποδιστική δράση εναντίον των μυκήτων *A. raphani* και *A. brassicicola*.

Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι το στέλεχος 679-2 του βακτηρίου *Pseudomonas* sp. είναι ένας πολύ ανταγωνιστικός μικροοργανισμός που απομονώνεται συχνά από το έδαφος. Η εισαγωγή των κυττάρων του σε φυτά τομάτας μείωσε την ένταση της ασθένειας που προκάλεσε ο μύκητας *A. solani*, ενώ ο συγκεκριμένος μικροοργανισμός δεν είχε αρνητικές επιπτώσεις στα φυτά (Casida & Lukezic, 1992).

Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι διηθήματα καλλιεργειών των βακτηρίων *Streptomyces pulcher* και *S. canescens* παρεμποδίζουν την *in vitro* βλάστηση των κονιδίων, την αύξηση του μυκηλίου και την παραγωγή κονιδίων του μύκητα *A. solani* (El-Abyad *et al.*, 1993). Τα παραπάνω είδη βακτηρίων όταν χρησιμοποιήθηκαν για την επένδυση σπόρων τομάτας, προστάτευσαν τα νεαρά φυτά από προσβολές του μύκητα *A. solani* (El-Abyad *et al.*, 1993).

Ωστόσο όλα τα παραπάνω αποτελέσματα βασίζονται σε πειράματα που έγιναν σε ελεγχόμενες συνθήκες και μάλιστα η αποτελεσματικότητα της χρήσης των συγκεκριμένων μικροοργανισμών εναντίον μυκήτων του γένους *Alternaria* ήταν στις περισσότερες των περιπτώσεων μικρότερη από εκείνη των χημικών

μέσων (Vannacci & Harman, 1987). Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν στη Διεθνή Βιβλιογραφία στοιχεία που να αφορούν την αποτελεσματικότητα των μικροοργανισμών αυτών σε συνθήκες αγρού.

1.2.3.3. Χημικά μέτρα.

Η επένδυση των σπόρων των φυτών με μυκητοκτόνα περιορίζει σημαντικά την εμφάνιση και εξάπλωση των ασθενειών που προκαλούνται από μύκητες του γένους *Alternaria* (Strandberg, 1992). Κατάλληλα μυκητοκτόνα για την επένδυση των σπόρων είναι τα thiram, benomyl ή iprodione. Με τον τρόπο αυτό περιορίζονται σε σημαντικό βαθμό οι τήξεις των νεαρών φυταρίων που προκαλούνται από μύκητες του γένους *Alternaria*. Επιπλέον έχει διαπιστωθεί ότι σε σπόρους λάχανου που επενδύθηκαν με iprodione αυξήθηκε η βλαστικότητα τους κατά 55 % καθώς και το μέγεθος και το βάρος των παραγόμενων καρπών (Maude & Humpherson-Jones, 1982).

Οι ασθένειες που προκαλούνται από μύκητες του γένους *Alternaria* μπορούν επίσης να αντιμετωπιστούν με την εφαρμογή προστατευτικών ψεκασμών στον αγρό (Agiros, 1988). Μυκητοκτόνα που συνήθως χρησιμοποιούνται στην περίπτωση αυτή είναι τα mancozeb, chlorothalonil, maneb, captafol, fentinhydroxide κ.τ.λ. (Agiros, 1988). Η εφαρμογή των παραπάνω μυκητοκτόνων γίνεται αμέσως μόλις εκπτυχθούν τα νεαρά φυτά και πριν από την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων της ασθένειας και θα πρέπει να επαναληφθούν μετά από 1-2 εβδομάδες ανάλογα με τις κλιματολογικές συνθήκες (Agiros, 1988).

Σε λαχανικά της Οικογένειας Cruciferae, το προστατευτικό πρόγραμμα των ψεκασμών για την αντιμετώπιση της ασθένειας που προκαλείται από το μύκητα *A. brassicicola*, ξεκινάει εμπειρικά πριν εμφανιστούν οι κηλίδες στα φύλλα και εφόσον οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι ευνοϊκές για την εμφάνιση της ασθένειας. Αν οι κηλίδες είναι λίγες τότε το πρόγραμμα θα πρέπει να περιλαμβάνει συνδυασμό μυκητοκτόνων. Αν το πρόγραμμα ξεκινήσει μετά την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων, τότε η αντιμετώπιση δεν είναι αποτελεσματική καθώς τα μυκητοκτόνα αυτά δεν έχουν θεραπευτική δράση (Keleg *et al.*, 1997).

Ο Βακαλουνάκης (1987) σε πειράματα που έκανε για την αντιμετώπιση του μύκητα *A. solani* στην τομάτα, διαπίστωσε ότι το chlorothalonil, το dichlofluanid, τα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα καθώς και το mancozeb ήταν τα πιο αποτελεσματικά για την αντιμετώπιση της ασθένειας. Αντίθετα τα

αποτελέσματα του έδειξαν ότι το iprodione καθώς και η εφαρμογή εβδομαδιαίων προληπτικών ψεκασμών με φθαλιμίδια, σουλφαμίδια, ή βενζιμιδαζολικά μυκητοκτόνα δεν ήταν αποτελεσματικά για την αντιμετώπιση της ασθένειας (Βακαλουνάκης, 1987). Πειράματα που έγιναν σε ελεγχόμενες συνθήκες έδειξαν ότι οι ψεκασμοί φυτών τομάτας για την αντιμετώπιση του μύκητα *A. solani* με τα μυκητοκτόνα mancozeb, prochloraz, iprodione, chlorothalonil και azoxystrobin ήταν πιο αποτελεσματικοί όταν γίνονταν προστατευτικά (1 ημέρα πριν τη μόλυνση) παρά θεραπευτικά (1 ή 2 ημέρες μετά τη μόλυνση) (Vloutoglou *et al.*, 1999). Πιο συγκεκριμένα από τα παραπάνω μυκητοκτόνα μεγαλύτερη δράση εναντίον του μύκητα *A. solani* εμφάνισαν τα prochloraz, iprodione, chlorothalonil και azoxystrobin καθώς και το σκεύασμα Τρίμανος του μυκητοκτόνου mancozeb, όταν εφαρμόστηκαν 1 ημέρα πριν την τεχνητή μόλυνση των φυτών. Αντίθετα, όταν η επέμβαση έγινε θεραπευτικά (1 ημέρα μετά τη μόλυνση) μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα εμφάνισαν τα prochloraz και azoxystrobin. Τα παραπάνω αποτελέσματα έδειξαν επίσης ότι τα περισσότερα από τα υπό δοκιμή μυκητοκτόνα δεν είχαν καμία αποτελεσματικότητα όταν εφαρμόζονταν θεραπευτικά 2 ημέρες μετά τη μόλυνση με μόνη εξαίρεση τα prochloraz και azoxystrobin, που έδωσαν τη μικρότερη ένταση ασθένειας και το μικρότερο ποσοστό φυλλόπτωσης (Vloutoglou *et al.*, 1999).

Σε πειράματα που έγιναν για τη μελέτη της αποτελεσματικότητας 12 μυκητοκτόνων στην αντιμετώπιση του μύκητα *A. alternata* f. sp. *lycopersici* στην τομάτα τόσο σε συνθήκες αγρού όσο και σε ελεγχόμενες συνθήκες, έδειξαν ότι κανένα μυκητοκτόνο δεν ήταν αποτελεσματικό στο να περιορίσει την ασθένεια (Malathrakis, 1983). Μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα εμφάνισε το dichlofluanid καθώς και το μίγμα 24 % captafol και 56 % folpet με εφαρμογή στο έδαφος και σε ποσότητα 0,75 gr ανά φυτό. Αντίθετα το chlorothalonil και το mancozeb δεν περιορίσαν την ασθένεια σε ικανοποιητικό βαθμό (Malathrakis, 1983).

Σύμφωνα με τον Watt (2002), προστατευτικοί ψεκασμοί κολοκυνθοειδών με το μυκητοκτόνο chlorothalonil μείωσε την ένταση της ασθένειας που προκάλεσε ο μύκητας *A. cucumerina*. Οι εφαρμογές των παραπάνω ψεκασμών άρχιζαν στα μέσα Ιουλίου, εποχή που συνέπιπτε με την κυκλοφορία των χυμών και την αύξηση των καρπών (Watt, 1995)

Ανθεκτικότητα του μύκητα *A. solani* δεν έχει διαπιστωθεί μέχρι σήμερα σε κανένα από τα χρησιμοποιούμενα μυκητοκτόνα. Όσον αφορά το μύκητα *A.*

brassicicola έχει διαπιστωθεί ανθεκτικότητα στο iprodione αλλά μόνο σε πειράματα *in vitro* (Huang & Levy, 1995). Ανθεκτικότητα στο iprodione έχει εμφανίσει σε ορισμένες περιπτώσεις και ο μύκητας *A. alternata* (McPhee, 1980).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ (ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ).

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκαν για πρώτη φορά σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας, σχετικής υγρασίας και φωτισμού έξι διαφορετικά εμπορικά είδη φυτών, τομάτας (ποικ. Ace 55 VF), καρπούζι (ποικ. Grimson Sweet), λάχανο (ποικ. Marima Ιαπωνίας και ντόπιο Λάρισας), πεπόνι (ποικ. Galia), μαρούλι (ποικ. Romana) και πιπεριά (ποικ. Φλωρίνης) ως προς την ευπάθειά στις μολύνσεις των παθογόνων μυκήτων *Alternaria solani*, *Alternaria brassicicola*, *Alternaria cucumerina* και *Alternaria alternata*. Πραγματοποιήθηκαν διασταυρωτές τεχνητές μολύνσεις των παθογόνων έναντι των φυτών ξενιστών και διαπιστώθηκε ότι τα παθογόνα μόλυναν τους ξενιστές, προκαλώντας συμπτώματα ή όχι της ασθένειας, καθώς. Ο μύκητας *A. solani* διαπιστώθηκε ότι ήταν ισχυρό παθογόνο στα φυτά τομάτα ανεξάρτητα από την παρουσία ή όχι πληγών, ενώ στα φυτά καρπουζιού προκάλεσε το σχηματισμό κηλίδων. Ο μύκητας *A. cucumerina* επίσης προκάλεσε συμπτώματα της ασθένειας σε φυτά τομάτα και καρπουζιού, ενώ ο μύκητας *A. brassicicola* δεν μόλυνε τα φυτά τομάτας, καρπουζιού και λάχανου. Οι απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* δεν προκάλεσαν μακροσκοπικά συμπτώματα στα φυτά πεπονιού, μαρουλιού και πιπεριάς. Επιπλέον πραγματοποιήθηκαν διασταυρωτές τεχνητές μολύνσεις και φυλλικών δίσκων των παραπάνω φυτικών ειδών με τα παθογόνα και με βάση τα αποτελέσματα των μικροσκοπικών παρατηρήσεων διαπιστώθηκε ότι ανεξάρτητα από την ύπαρξη ή μη πληγών τα όλα τα είδη των μυκήτων είχαν εποικίσει πλήρως τους ιστούς των ξενιστών. Επίσης μελετήθηκε η μορφολογία των αποικιών του κάθε είδους μύκητα (*Alternaria solani*, *Alternaria brassicicola*, *Alternaria cucumerina* και *Alternaria alternata*) καθώς και η μορφολογία και οι διαστάσεις των κονιδίων των παραπάνω παθογόνων στα οποία ύστερα από την σύγκριση τους με τα στοιχεία της διεθνούς βιβλιογραφίας διαπιστώθηκαν διαφορές. Ως

προς τα αποτελέσματα των τεχνητών μολύνσεων στα φύλλα και στους φυλλικούς δίσκους δεν έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων με στοιχεία της διεθνούς βιβλιογραφίας γιατί δεν έχουν πραγματοποιηθεί αντίστοιχα πειράματα.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

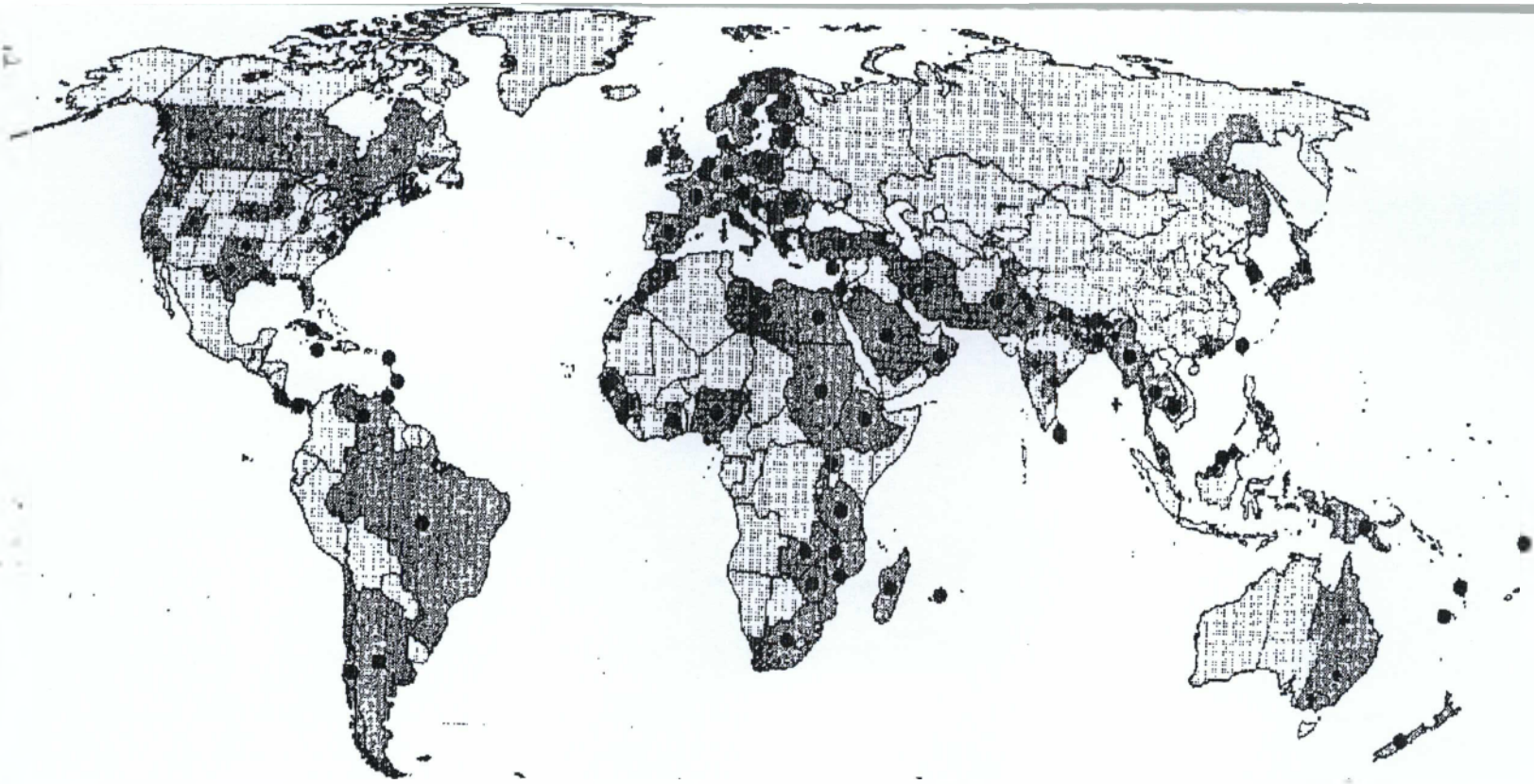
Σύμφωνα με τον Rotem (1994), το γένος *Alternaria* καθιερώθηκε το 1817 από τον Nees και σαν κύριος «εκπροσωπος» ήταν το είδος *Alternaria alternata*.

Στη τομάτα η ασθένεια είναι γνωστή και ως πρώιμος περονόσπορος (early blight), που προκαλείται από το μύκητα *A. solani* (Ell. et Mart) Sorauer και είναι μια ασθένεια με μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση (Εικ. 11). Διαπιστώθηκε πρώτα στις Η.Π.Α. το 1882 σε καλλιέργειες πατάτας και τα συμπτώματα δημιούργησαν σύγχυση με τα συμπτώματα του περονόσπορου της πατάτας (Παναγόπουλος, 2000). Έχει παγκόσμια εξάπλωση και είναι ιδιαίτερα σημαντική στα εύκρατα υγρά κλίματα καθώς και σε ημίξηρες περιοχές όταν σχηματίζεται νυκτερινή δρόσος (Παναγόπουλος, 2000). Έχει αναφερθεί ότι ο μύκητας *A. solani* προκαλεί σοβαρές ζημιές στο Ισραήλ, τις Η.Π.Α., την Αυστραλία και την Αγγλία (Jones *et all.*, 1993). Οι απώλειες της παραγωγής στην τομάτα επηρεάζονται άλλοτε έμμεσα και άλλοτε άμεσα από την ασθένεια, έμμεσα από την μερική ή ολική καταστροφή του φυλλώματος, η οποία συνεπάγεται τη μείωση της φωτοσύνθεσης και άμεσα από τη προσβολή ανθέων, καρπών ή σπόρων (Rotem, 1994). Στην Ελλάδα η ασθένεια αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Σαρεγιάννη το 1936. Από τότε και μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του '90, η ασθένεια εμφανιζόταν σποραδικά σε διάφορες περιοχές (Σκάλα Λακωνίας, Γύθειο, Καλαμάτα, Κως, Πρέβεζα κλπ) αλλά δεν αποτελούσε σοβαρό πρόβλημα για την καλλιέργεια της τομάτας (Χολέβας, *et all.*, 1990). Σύμφωνα με πρόσφατα δεδομένα η ασθένεια στην Ελλάδα μπορεί να καταστεί μια από τις σοβαρότερες παθήσεις στην τομάτα. Η ανάπτυξη και σοβαρότητα των προσβολών, εξαρτώνται από τη παθογόνο δύναμη του στελέχους του παθογόνου και την ευπάθεια της ποικιλίας ή του υβριδίου της τομάτας (Vloutoglou *et all.*, 1999).

Η ασθένεια που προσβάλλει τα σταυρανθή προκαλείται από το μύκητα *A. brassicicola* και αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον (Schw.) Wiltshire το 1947. Έχει αναφερθεί η παρουσία του μύκητα, στην Αφρική, Ασία, Αυστραλία, Ευρώπη και Η.Π.Α. (Εικ. 12)



Εικόνα 11. Γεωγραφική εξάπλωση του μύκητα *A. solani* (Ell. & Mart.) Sorauner. (CMI Distribution Maps of Plant Diseases, Map No 89, Edition 5, 1983).



Εικόνα 12. Γεωγραφική εξάπλωση του μύκητα *A. brassicicola* (Schwein.) Wiltshire. (CMI Distribution Maps of Plant Diseases, Map No 457, Edition 4, 1999).

σύμφωνα με τον (Schw.) Wiltshire. Στα σταυρανθή η ασθένεια είναι γνωστή στη διεθνή βιβλιογραφία με διάφορα κοινά ονόματα στην αγγλική γλώσσα, όπως *Alternaria leaf spot*, *dark leaf spot*, *black mold* κλπ (Παναγόπουλος, 2000). Είναι παγκοσμίως διαδεδομένη και προσβάλλει τα περισσότερα σταυρανθή (Παναγόπουλος, 2000). Οι ζημιές που προκαλεί στα σταυρανθή εμφανίζονται στα φύλλα, τους μίσχους, τα άνθη και στους καρπούς και μερικές φορές μπορεί να είναι καταστροφικές (Simmons, 1992).

Ο μύκητας *A. cucumerina* αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1917 από τον (Fr.) Keissler. Η ασθένεια που προκαλείται από το μύκητα είναι παγκοσμίως διαδεδομένη και προσβάλλει τα περισσότερα είδη κολοκυνθοειδών (Watt, 1995). Τα συμπτώματα που προκαλεί ο μύκητας εμφανίζονται αρχικά στα φύλλα και ανάλογα με την ένταση της ασθένειας μπορεί να προκληθεί ολοκληρωτική φυλλόπτωση. Το παθογόνο ευνοείται από υψηλή σχετική υγρασία και θερμοκρασία. Προσβολές από το μύκητα έχουν αναφερθεί σε διάφορες χώρες του κόσμου όπως σε καρπούς αγγουριών και πεπονιών στις Η.Π.Α. (Jackson, 1959), σε πεπόνια στη Γαλλία (Nicolas, 1934), σε καρπούζια στην Κύπρο καθώς και σε κολοκυθιές στην Ινδία (Gangopadhyay *et al.*, 1973). Η είσοδος του παθογόνου σε καρπούς γίνεται πιο εύκολα όταν η επιδερμίδα των καρπών είναι κατεστραμμένη από τον ήλιο και τον άνεμο. Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι το παθογόνο εισέρχεται στον ξενιστή κατ'ευθείαν δηλ. μέσω της επιδερμίδας, αλλά αυτό γίνεται σπάνια και κυρίως σε πεπόνια (Watt, 1995).

Πρώτη περιγραφή του μύκητα *A. alternata* έγινε από τον (Fr.) Keissler το 1912. Θεωρείται «κοσμοπολίτικο» είδος μιας και το εύρος των ξενιστών που προσβάλλει είναι πολύ μεγάλο (Simmons, 1992). Ζημιές έχουν αναφερθεί σε αρκετές περιοχές του κόσμου όπως σε τομάτες στη Γαλλία (Blancard *et al.*, 1984) και στις Η.Π.Α. (McColloch *et al.*, 1952, Stinson *et al.*, 1981 & Zitter *et al.*, 1984), σε μελιτζάνες στην Ινδία (Karoor *et al.*, 1958 & Singh *et al.*, 1986) και σε πιπεριές στο Ισραήλ (Halfon-Meirig *et al.*, 1983). Συμπτώματα της ασθένειας παρατηρούνται με τη μορφή κηλίδων σε φύλλα, καρπούς και μίσχους (Simmons, 1992). Στην Ελλάδα παρατηρήθηκε προσβολή

σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια αγγουριών στη Κρήτη και οφειλόταν στο μύκητα *A. alternata* f. sp. *cucurbitae* (Vakalounakis, 1990) καθώς επίσης και σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας, όπου οφειλόταν στο μύκητα *A. alternata* f. sp. *lycopersici* (Malathrakis, 1983). Οι καταστροφές που προκάλεσε και κατά την διάρκεια επόμενων ετών σε καλλιέργειες κολοκυνθοειδών ο μύκητας *A. alternata* f. sp. *cucurbitae* (1987-88) ήταν μεγάλες. Ζημιές παρατηρήθηκαν μόνο στα φύλλα αγγουριών, όπου εμφανιζόντουσαν νεκρωτικές κηλίδες με αποτέλεσμα τη ολοκληρωτική φυλλόπτωση μέσα σε λίγες (10) ημέρες (Vakalounakis, 1990). Ο μύκητας *A. alternata* f. sp. *lycopersici* στην καλλιέργεια τομάτας διαπιστώθηκε ότι προκάλεσε σήψεις λαιμού σε νεαρά φυτά, όπου τελικώς τα φυτά νεκρώνονταν (Malathrakis, 1983).

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν αρκετές πληροφορίες που να αφορούν τη βιολογία των παθογόνων (βλάστηση κονιδίων, είσοδος στο ξενιστή, παραγωγή κονιδίων *in vitro* και *in vivo*, διασπορά κονιδίων, διαχείμαση, κλπ), την επιδημιολογία της ασθένειας καθώς και την αποτελεσματικότητα διαφόρων μυκητοκτόνων με σκοπό την αντιμετώπιση των ασθενειών στις καλλιέργειες που προκαλούνται από τα παθογόνα του γένους *Alternaria*. Μελέτες που να αφορούν μολύνσεις των παθογόνων *Alternaria solani*, *Alternaria brassicicola*, *Alternaria cucumerina* και *Alternaria alternata* σε είδη φυτών που δεν θεωρούνται ξενιστές τους δεν έχουν πραγματοποιηθεί. Έτσι σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν :

α) Η μελέτη της μορφολογίας των αποικιών και των κονιδίων (*in vitro*) των μυκήτων *Alternaria solani*, *Alternaria brassicicola*, *Alternaria cucumerina* και *Alternaria alternata* και η σύγκρισή τους με στοιχεία της διεθνούς βιβλιογραφίας.

β) Η μελέτη του βαθμού ευπάθειας εμπορικών φυτών για τη χώρα μας τομάτας, καρπουζιού, λάχανου, πεπονιού, μαρουλιού και πιπεριάς από τις απομονώσεις των παθογόνων τους (*Alternaria solani*, *Alternaria brassicicola*, *Alternaria cucumerina* και *Alternaria alternata*) καθώς επίσης και με εκείνες τις απομονώσεις των μη παθογόνων τους (διασταυρωτές μολύνσεις φυτών).

γ) Η μελέτη του βαθμού εποικισμού των ιστών τομάτας, καρπουζιού, λάχανου, πεπονιού, μαρουλιού και πιπεριάς (*in vivo*) από τις απομονώσεις των παθογόνων τους καθώς και των μη παθογόνων τους (διασταυρωτές μολύνσεις φυλλικών δίσκων).

2.1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1.1. Θρεπτικά υλικά ανάπτυξης.

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω θρεπτικά υλικά ανάπτυξης:

1) V-8 agar (Χυμός οκτώ λαχανικών με άγαρ)

- V-8 juice165 ml
- Ανθρακικό ασβέστιο (CaCO₃) (Sigma)1 gr
- Bacteriological Agar Type A (Biokar Diagnostics)20 gr
- Απεσταγμένο νερό810 ml

Πριν από την αποστείρωση το pH του παραπάνω διαλύματος ρυθμιζόταν σε 6,5-7 με την προσθήκη 0,1 M KOH (12,5 ml/lit υλικού).

2) S-medium (Shahin & Shepard, 1979)

- Sucrose (Merck).....20 gr
 - Ανθρακικό ασβέστιο (CaCO₃) (Sigma)30 gr
 - Bacteriological Agar Type A (Biokar Diagnostics).....20 gr
 - Απεσταγμένο νερό1 lt
- pH =7.5

3) Potato Dextrose Agar (PDA)

- Potato Dextrose Agar (Biokar Diagnostics)..... 39 gr
- Απεσταγμένο νερό 1 lt

Όλα τα παραπάνω θρεπτικά υλικά αποστειρώνονταν σε κλίβανο αποστείρωσης (1,05kg/cm²) για 30 λεπτά και σε θερμοκρασία 120°C. Στη συνέχεια τοποθετούνταν κάτω από ασηπτικές συνθήκες σε τριβλία Petri (20 ml υλικό / τριβλίο).

2.1.2 Χρωστικές.

Cotton blue in lactophenol

- Cotton blue (1 %).....5 ml
- Glacial acetic acid20 ml
- Lactophenol 100 ml

Την παραπάνω χρωστική την χρησιμοποιήσαμε για την χρώση των φυτικών ιστών, έτσι ώστε να είναι πιο εύκολη η μικροσκοπική παρατήρηση και μελέτη των βλαστημένων κονιδίων και της διείσδυσης του μυκηλίου στους φυτικούς ιστούς.

2.1.3. Υπόστρωμα ανάπτυξης φυτών

Για την ανάπτυξη των φυτών τομάτας, καρπουζιού, λάχανου, πεπονιού, μαρουλιού και πιπεριάς χρησιμοποιήθηκε το εδαφικό υπόστρωμα Floradur, Gärtnerde (Germany, Anzuchterde). Η σύνθεσή του υποστρώματος ανά m³ ήταν η εξής :

N: 100-250 mg/l

P: 100-250 mg/l

K: 100-350 mg/l

pH: 5,0-6,5

2.1.4. Ανάπτυξη φυτών

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω είδη και ποικιλίες φυτών: τομάτα (ποικιλία Ace 55 VF), καρπούζι (ποικ. Grimson Sweet), λάχανο (ποικ. Marima Ιαπωνίας και ντόπιο Λάρισας), πεπόνι (ποικ. Galia), μαρούλι (ποικ. Romana) και πιπεριά (ποικ. Φλωρίνης). Η ανάπτυξη των παραπάνω φυτών έγινε σύμφωνα με την ακόλουθη διαδικασία: οι σπόροι αρχικά τοποθετήθηκαν σε γυάλινα τριβλία στη βάση των οποίων υπήρχε βαμβάκι και δύο διηθητικά φίλτρα Whatman No1 εμποτισμένα με απεσταγμένο νερό. Τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία 22°C μέχρι τη βλάστηση των σπόρων (περίπου πέντε ημέρες). Στη συνέχεια οι προβλαστημένοι σπόροι φυτεύτηκαν σε γλαστράκια διαμέτρου 9 x 9 x 10 cm (πλάτος x μήκος x ύψος) που περιείχαν κομπόστα εδάφους (Floradur, Gärtnerde). Τα γλαστράκια

τοποθετήθηκαν στη συνέχεια σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, σχετικής υγρασίας 60-70 % και φωτισμού (ένταση φωτός $160\mu\text{ Einsteins} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$, φωτοπερίοδος 12 ωρών) (Εικ. 13). Η έκπτυξη των νεαρών φυταρίων έγινε τρεις ημέρες περίπου μετά τη φύτευση των προβλαστημένων σπόρων.

2.1.5. Απομονώσεις των παθογόνων

Οι απομονώσεις των μυκήτων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ήταν: α) AL 94, AL 95 και AL 96 του μύκητα *A. solani* από τομάτα, β) AL 55, AL 124 και AL 125 του μύκητα *A. brassicicola* από λάχανο, γ) AL 82, AL 98 και AL 100 του μύκητα *A. cucumerina* από καρπούζι, δ) AL38 και AL 39a από μαρούλι, ε) AL 43a και AL 44a από πεπόνι, και στ) AL 45a και AL 46a του μύκητα *A. alternata* από πιπεριά.

Όλες οι παραπάνω απομονώσεις προέρχονταν από φυσικά μολυσμένα φυτά και απομονώθηκαν από τα φύλλα των προσβεβλημένων φυτών με την εξής μέθοδο: τα φύλλα του κάθε φυτού που παρουσίαζαν τυπικά συμπτώματα της ασθένειας (νεκρωτικές κηλίδες) τοποθετήθηκαν σε υγρό θάλαμο (γυάλινα τριβλία στη βάση των οποίων τοποθετήθηκαν τρία διηθητικά φίλτρα Whatman No1 εμποτισμένα με απεσταγμένο νερό). Τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και τοποθετήθηκαν για 24 ώρες σε θάλαμο επώασης, θερμοκρασίας 21°C . Στη συνέχεια οι κηλίδες εξετάστηκαν στο στερεοσκόπιο για την ύπαρξη κονιδίων των παθογόνων και με τη βοήθεια μικροβιολογικής βελόνας και κάτω από ασηπτικές συνθήκες έγινε μεταφορά κονιδίων σε δοκιμαστικούς σωλήνες με θρεπτικό υλικό PDA (για τη παρασκευή υλικού βλέπε Γενικά Υλικά και Μέθοδοι παράγραφος 2.1.). Στη συνέχεια οι σωλήνες επωάστηκαν στο σκοτάδι σε θερμοκρασία 21°C για την περαιτέρω ανάπτυξη των μυκήτων.

2.1.6. Διατήρηση των απομονώσεων

Είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία ότι οι περισσότεροι μύκητες του γένους *Alternaria* χάνουν την ικανότητα παραγωγής κονιδίων *in vitro* ή την παθογένειά τους μετά από συνεχείς μεταφορές των καλλιεργειών σε συνθετικά θρεπτικά υποστρώματα. Ως εκ τούτου, για τη διατήρηση τόσο της ικανότητας παραγωγής κονιδίων όσο και της παθογένειας των απομονώσεων των μυκήτων *A. solani*, *A. cucumerina*, *A. brassicicola* και *A. alternata*, που χρησιμοποιήθηκαν στην



Εικόνα 13. Ανάπτυξη φυτών τομάτας (Ποικ. Ace 55 VF) σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών.

παρούσα μελέτη, εφαρμόστηκε η παρακάτω μέθοδος: μπουκαλάκια McCartney γεμίστηκαν μέχρι τα 2/3 του όγκου τους με μίγμα αργιλώδους εδάφους, κομπόστας και άμμου σε αναλογία 1:2:1. Στη συνέχεια σε κάθε μπουκαλάκι McCartney προστέθηκαν 4 ml απεσταγμένου νερού. Τα μπουκαλάκια αποστειρώθηκαν δύο φορές (διάστημα μεταξύ των δύο αποστειρώσεων 24 ώρες) σε θερμοκρασία 120° C για 30 λεπτά κάθε φορά. Εικοσιτέσσερις ώρες μετά την τελευταία αποστείρωση σε κάθε μπουκαλάκι τοποθετήθηκαν υπό ασηπτικές συνθήκες δύο μυκηλιακοί δίσκοι διαμέτρου 5mm ο καθένας από τις αντίστοιχες απομονώσεις. Οι μυκηλιακοί δίσκοι είχαν προηγουμένως κοπεί με τη βοήθεια ενός φελλοτρυπητή από την περιφέρεια μιας αποικίας της κάθε απομόνωσης που είχε αναπτυχθεί σε τριβλία Petri με θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ σε θερμοκρασία 21° C και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light / 12h σκότος). Μετά τον εμβολιασμό τα μπουκαλάκια McCartney επωάστηκαν για τέσσερις ημέρες περίπου σε θερμοκρασία δωματίου μέχρις ότου το εδαφικό μίγμα εποικιστεί πλήρως από το μυκήλιο της κάθε απομόνωσης. Στη συνέχεια τα μπουκαλάκια τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία 4°C όπου και διατηρήθηκαν μέχρι να χρησιμοποιηθούν στα πειράματα.

Η αναβίωση των απομονώσεων των μυκήτων από τα μπουκαλάκια McCartney γινόταν με την εξής διαδικασία: μια μικρή ποσότητα του εποικισμένου με τους μύκητες μίγμα εδάφους διασκορπιζόταν υπό ασηπτικές συνθήκες στην επιφάνεια τριβλίων με θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ. Τα τριβλία σφραγίζονταν με Parafilm και επωάζονταν σε θερμοκρασία 21°C και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light / 12h σκότος) μέχρι την πλήρη ανάπτυξη των αποικιών των απομονώσεων (περίπου 4 ημέρες).

2.1.7. Παραγωγή μολύσματος

α) Παραγωγή μολύσματος από τις απομονώσεις του μύκητα *A. solani*

Από τις απομονώσεις του μύκητα *A. solani* (Al 94, Al 95 και Al 96) που διατηρούνταν σε μίγμα εδάφους στα μπουκαλάκια McCartney και σε θερμοκρασία 4°C αφαιρέθηκε με τη βοήθεια μικροβιολογικής βελόνας κάτω από ασηπτικές συνθήκες μια μικρή ποσότητα εποικισμένου με το μύκητα μίγματος εδάφους. Η ποσότητα αυτή διασπάρθηκε στην επιφάνεια τριβλίων Petri που περιείχαν θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ (20ml/τριβλίο). Για κάθε απομόνωση χρησιμοποιήθηκαν δύο τριβλία (επαναλήψεις). Τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και

τοποθετήθηκαν για επώαση σε θερμοκρασία 21°C και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV- light/ 12h σκότος) για έξι ημέρες. Στη συνέχεια από κάθε απομόνωση κόπηκαν με τη βοήθεια ενός φελλοτρυπητή από την περιφέρεια της κάθε αποικίας μυκηλιακοί δίσκοι διαμέτρου 0,9cm. Στη συνέχεια οι δίσκοι τοποθετήθηκαν ανεστραμμένοι (με το μυκήλιο σε επαφή με το υλικό) σε νέα τριβλία με θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ, τα οποία σφραγίστηκαν με Parafilm και τοποθετήθηκαν για επώαση σε θερμοκρασία 21°C και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV- light/ 12h σκότος) για έξι ημέρες (12 τριβλία / απομόνωση). Για την απελευθέρωση και παραλαβή των κονιδίων από τις απομονώσεις του μύκητα σε κάθε τριβλίο προστέθηκαν περίπου 10 ml αποστειρωμένου, απεσταγμένου νερού που περιείχαν τον διαβρεκτικό παράγοντα Tween 80 (0,01%). Στη συνέχεια με τη βοήθεια ενός αποστειρωμένου μαχαιριδίου τρίφτηκε απαλά η επιφάνεια των αποικιών για να απελευθερωθούν τα κονίδια από τους κονιδιοφόρους. Το αιώρημα των κονιδίων της κάθε απομόνωσης (AL 94, AL 95, και AL 96), συγκεντρώθηκε σε κωνική φιάλη των 500ml. Στη συνέχεια σε κάθε φιάλη προστέθηκαν 200 ml αποστειρωμένο, απεσταγμένου νερού, το αιώρημα στη συνέχεια ανακινήθηκε και διηθήθηκε με τη βοήθεια ενός τουλουπανιού σε μια άλλη κωνική φιάλη των 500 ml. Η συγκέντρωση των κονιδίων στο αιώρημα που προέκυψε μετρήθηκε με τη βοήθεια αιματοκυττομέτρου και αραιώθηκε με την προσθήκη ποσότητας αποστειρωμένου, απιονισμένου νερού ώστε να προκύψει η επιθυμητή συγκέντρωση κονιδίων, η οποία ήταν 5×10^4 κονίδια/ml.

β) Παραγωγή μολύσματος από τις απομονώσεις του μύκητα *A. brassicicola*

Για την παραγωγή μολύσματος από τις απομονώσεις του μύκητα *A. brassicicola* ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία που περιγράφεται στην περίπτωση (α).

γ) Παραγωγή μολύσματος από τις απομονώσεις του μύκητα *A. alternata*

Ομοίως και εδώ για την παραγωγή μολύσματος ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφεται στην περίπτωση (α).

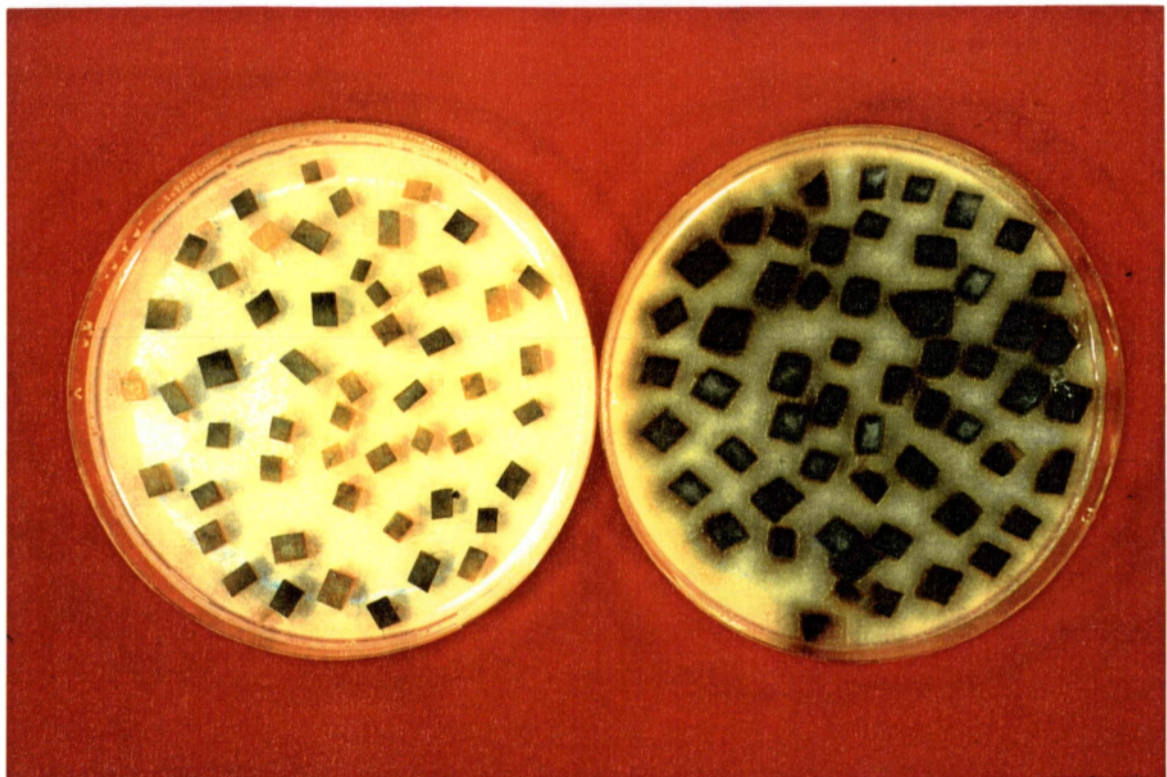
δ) Παραγωγή μολύσματος από τις απομονώσεις του μύκητα *A. cucumerina*

Σε προκατακτικά πειράματα που έγιναν διαπιστώθηκε ότι οι απομονώσεις του μύκητα *A. cucumerina* (AI 82, AI 98 και AI 100) δεν παρήγαγαν επαρκή για τις τεχνητές μολύνσεις αριθμό κονιδίων όταν εφαρμοζόταν η παραπάνω μέθοδος. Ως εκ τούτου, για την παραγωγή μολύσματος από τις συγκεκριμένες απομονώσεις

χρησιμοποιήθηκε η τροποποιημένη από την Vloutoglou (1994) μέθοδος των Shahin & Shepard (1979) (Εικ. 14). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή οι αποικίες των απομονώσεων του μύκητα *A. cucumerina* που είχαν αναπτυχθεί σε τριβλία με θρεπτικό υλικό V-8 agar, τεμαχίστηκαν κάτω από ασηπτικές συνθήκες σε μικρά τετράγωνα κομματάκια (3 x 3 mm) και με τη βοήθεια ενός νυστεριού μεταφέρθηκαν και τοποθετήθηκαν σε τριβλία Petri με θρεπτικό υλικό S-medium (για τη παρασκευή του υλικού βλέπε Γενικά Υλικά και Μέθοδοι παράγραφος 2.1.). Στη συνέχεια σε κάθε τριβλίο προστέθηκαν 4 ml περίπου αποστειρωμένου, απεσταγμένου νερού. Ακολούθως τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και επώαστηκαν για περίπου 5 ημέρες σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light / 12h σκότος) και σε θερμοκρασία 21°C. Για την απελευθέρωση και παραλαβή των κονιδίων του μύκητα *A. cucumerina* τα κομματάκια του υλικού με το μυκήλιο και τα κονίδια της κάθε απομόνωσης συγκεντρώθηκαν σε κωνικές φιάλες των 500ml στις οποίες προστέθηκαν 200 ml περίπου αποστειρωμένου, απεσταγμένου νερού, που περιείχαν τον διαβρεκτικό παράγοντα Tween 80 (0,01%) και η φιάλη ανακινήθηκε πολύ καλά για να απελευθερωθούν τα κονίδια. Στη συνέχεια με τη βοήθεια ενός τουλουπανιού το αιώρημα διηθήθηκε σε δεύτερη κωνική φιάλη όγκου 500ml. Η συγκέντρωση των κονιδίων υπολογίστηκε με τη βοήθεια αιματοκυττομέτρου και έγινε αναγωγή στην επιθυμητή συγκέντρωση (5×10^4 κονίδια/ml) μετά από διαδοχικές αραιώσεις με προσθήκη αποστειρωμένου, απεσταγμένου νερού.

2.1.8. Τεχνητή μόλυνση φυτών

Η τεχνητή μόλυνση των φυτών τομάτας καρπουζιού, λάχανου, πεπονιού, μαρουλιού και πιπεριάς έγινε με ψεκασμό των φυτών μέχρι πλήρους απορροής με το μίγμα αιωρήματος κονιδίων των επιμέρους απομονώσεων του κάθε είδους μύκητα. Η παραγωγή μολύσματος περιγράφεται στην παράγραφο 2.6. Ο ψεκασμός των φυτών έγινε με τη βοήθεια ψεκαστήρων. Στη συνέχεια τα φυτά καλύφθηκαν για 48 ώρες με πλαστικές διαφανείς σακούλες, οι οποίες είχαν προηγουμένως ψεκαστεί εσωτερικά με απεσταγμένο νερό (RH=100%) (Εικ. 15). Ακολούθως τα φυτά τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας 23°C, σχετικής υγρασίας 60-70% και φωτισμού (ένταση φωτός 160μ Einsteins \cdot m⁻² \cdot sec⁻¹, φωτοπερίοδος 12 ωρών). Μετά το πέρας της περιόδου των 48 ωρών, τα φυτά ξεσκεπάστηκαν και παρέμειναν στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών μέχρι τη



Εικόνα 14. Μέθοδος παραγωγής κονιδίων *in vitro* από τις απομονώσεις του μύκητα *A. cucumerina* από καρπούζι (Shahin & Shepard, 1979). Τριβλία με θρεπτικό υλικό S-medium α) πριν την επώαση των καλλιεργειών και β) επτά ημέρες μετά την επώαση των καλλιεργειών σε θερμοκρασία 21° C και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV light/12h σκότος). Ο μελανός μεταχρωματισμός οφείλεται στην παραγωγή κονιδιοφόρων και κονιδίων του μύκητα.



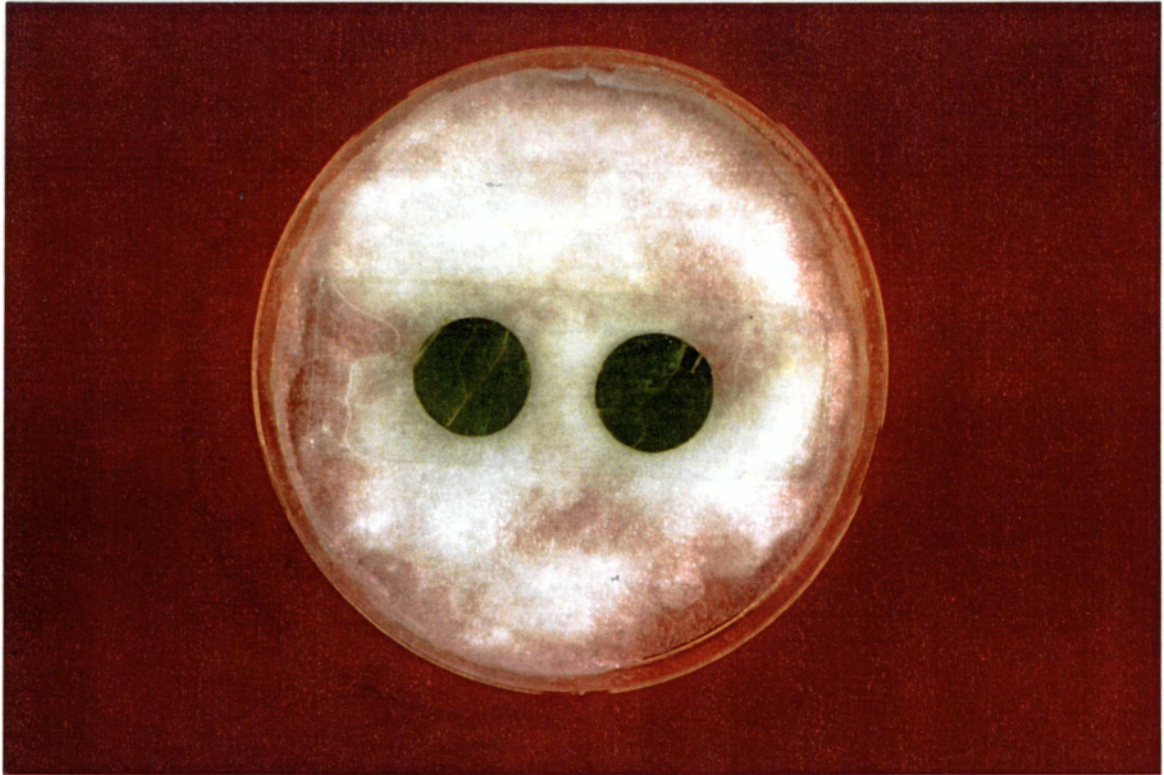
Εικόνα 15. Μέθοδος επώασης φυτών τομάτας σε συνθήκες υψηλής σχετικής υγρασίας (RH= 100%) αμέσως μετά την τεχνητή μόλυνση τους με αιώρημα κονιδίων του μύκητα *A. solani*.

λήψη των αποτελεσμάτων. Τα φυτά-μάρτυρες ψεκάστηκαν με αποστειρωμένο, απεσταγμένο νερό. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε φυτά (επαναλήψεις) για κάθε είδος μύκητα.

2.1.9. Τεχνητή μόλυνση φυλλικών δίσκων

Η τεχνητή μόλυνση των φυλλικών δίσκων από φυτά τομάτας, καρπουζιού, λάχανου, πεπονιού, μαρουλιού και πιπεριάς, έγιναν με την εξής μέθοδο: από κάθε φυτικό είδος κόπηκαν με τη βοήθεια ενός φελλοτρυπητή φυλλικοί δίσκοι διαμέτρου 1,7cm εκτός από το καρπούζι που κόπηκαν φυλλικοί δίσκοι διαμέτρου 0,9 cm.

Οι φυλλικοί δίσκοι μεταφέρθηκαν σε τριβλία Petri, στα οποία είχε προηγουμένως τοποθετηθεί ένα στρώμα υδρόφιλου βαμβακιού και ένα διηθητικό χαρτί (Whatman No 1) εμποτισμένο με αποστειρωμένο, απεσταγμένο νερό (RH=100%). Στη συνέχεια πάνω στο διηθητικό χαρτί, τοποθετήθηκε μια αντικειμενοφόρος πλάκα και πάνω σε αυτήν τοποθετήθηκαν 2 φυλλικοί δίσκοι από κάθε είδους φυτού (Εικ. 16). Για κάθε είδους φυτού χρησιμοποιήθηκαν 4 τριβλία (επαναλήψεις). Ακολουθώς στον ένα από τους δυο φυλλικούς δίσκους του κάθε τριβλίου έγιναν 10 πληγές με τη βοήθεια μιας μικροβιολογικής βελόνας και οι φυλλικοί δίσκοι ψεκάστηκαν με το μίγμα αιωρήματος κονιδίων των απομονώσεων του κάθε μύκητα. Τα τριβλία-μάρτυρες ψεκάστηκαν με απεσταγμένο νερό. Όλα τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και επώαστηκαν για 6 ημέρες στο σκοτάδι και σε θερμοκρασία 22°C.



Εικόνα 16. Μέθοδος τεχνητών μολύνσεων φυλλικών δίσκων

2.2. Μορφολογικοί και καλλιεργητικοί χαρακτήρες των μυκήτων *A. solani*, *A. brassicicola*, *A. cucumerina* και *A. alternata*.

2.2.1. Σκοπός του πειράματος

Σκοπός του πειράματος ήταν η μελέτη των μορφολογικών και καλλιεργητικών χαρακτήρων των μυκήτων *A. solani*, *A. brassicicola*, *A. cucumerina* και *A. alternata*.

2.2.2. Υλικά και μέθοδοι

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν καλλιέργειες των μυκήτων *A. solani*, *A. brassicicola*, *A. cucumerina* και *A. alternata*, που είχαν αναπτυχθεί σε τριβλία Petri με θρεπτικό υλικό V-8 agar και επώαστεί για έξι ημέρες σε θερμοκρασία 21°C και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light / 12h σκότος) (σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στη παράγραφο 2.7. Γενικά Υλικά και Μέθοδοι).

Για τη μελέτη των μορφολογικών και καλλιεργητικών χαρακτήρων των αποικιών των απομονώσεων των μυκήτων *A. solani* από τομάτα (AL 94, AL 95, AL 96), *A. cucumerina* από καρπούζι (AL 82, AL 98, AL 100), *A. brassicicola* από λάχανο (AL 55, AL 124, AL 125), *A. alternata* από μαρούλι (AL 38, AL 39a), *A. alternata* από πεπόνι (AL 43a, AL 44a) και *A. alternata* από πιπεριά (AL 45a, AL 46a) χρησιμοποιήθηκε το θρεπτικό υλικό ανάπτυξης V-8 agar. Η αναβίωση των απομονώσεων από τη Συλλογή στην οποία διατηρούνταν έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο που αναφέρεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.6). Για την διεξαγωγή του πειράματος από την κάθε απομόνωση χρησιμοποιήθηκαν 12 τριβλία Petri με V-8 agar (επαναλήψεις). Τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και επώαστηκαν για 6 ημέρες σε θερμοκρασία 21°C και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light / 12h σκότος). Για κάθε απομόνωση έγιναν μακροσκοπικές παρατηρήσεις που αφορούσαν το χρώμα της αποικίας, τον τρόπο ανάπτυξης του μυκηλίου (έρπον ή εναέριο) και τον τρόπο ανάπτυξης της αποικίας (ομοιόμορφη ή παρουσία τομέων).

Για τη μελέτη των μορφολογικών χαρακτήρων των κονιδίων των μυκήτων *A. solani* από τομάτα, *A. brassicicola* από λάχανο, *A. alternata* από μαρούλι, *A.*

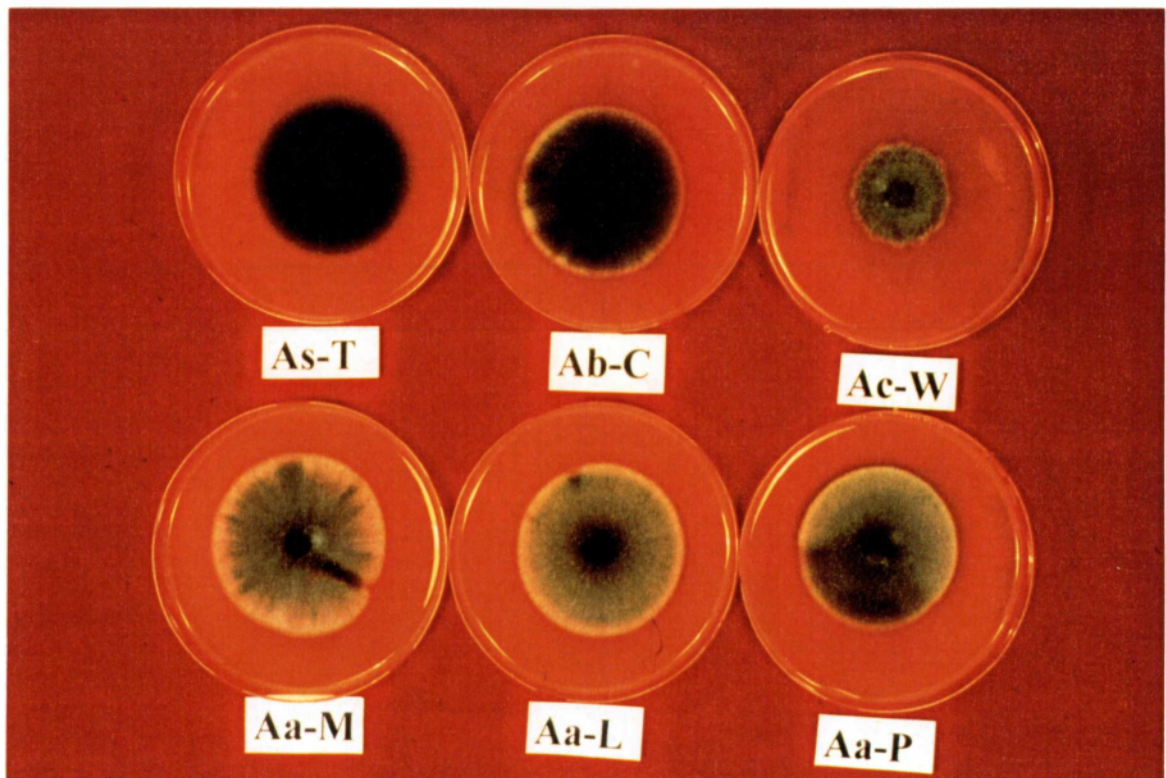
alternata από πεπόνι και *A. alternata* από πιπεριά, χρησιμοποιήθηκε το θρεπτικό υλικό V-8 agar και του μύκητα *A. cucumerina* από καρπούζι το θρεπτικό υλικό S-medium (για την παρασκευή των υλικών βλέπε Γενικά Υλικά και Μέθοδοι παράγραφος 2.1.), καθόσον σε προκατακτικά πειράματα διαπιστώθηκε ότι ο συγκεκριμένος μύκητας δεν παράγει κονίδια στο υλικό V-8 agar. Η αναβίωση των απομονώσεων όλων των μυκήτων έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.6.). Για την κάθε απομόνωση των μυκήτων *A. solani*, *A. brassicicola* και *A. alternata* χρησιμοποιήθηκαν 3 τριβλία Petri με V-8 agar (επαναλήψεις). Για την παραγωγή κονιδίων από τις απομονώσεις του μύκητα *A. cucumerina* χρησιμοποιήθηκε η τροποποιημένη από την Vloutoglou (1994) μέθοδος των Shahin & Shepard (1979) (βλέπε Γενικά Υλικά και Μέθοδοι, παράγραφος 2.1.), ενώ για κάθε απομόνωση χρησιμοποιήθηκαν 3 τριβλία με S-medium (επαναλήψεις). Όλα τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και επωάστηκαν σε θερμοκρασία 21°C και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light / 12h σκότος), για επτά ημέρες. Για κάθε είδος μύκητα έγιναν μικροσκοπικές παρατηρήσεις σε 40 κονίδια που αφορούσαν το μήκος και πλάτος του κυρίου σώματος, το μήκος του ράμφους, το συνολικό μήκος του σώματος των κονιδίων, το ποσοστό κονιδίων με μονό ή διπλό ράμφος και τον αριθμό των κονιδίων σε αλυσίδες.

2.2.3. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι η μορφολογία των αποικιών των μυκήτων *A. solani*, *A. brassicicola*, *A. cucumerina* και *A. alternata* σε θρεπτικό υλικό V-8 agar διέφερε ανάλογα με το είδος του μύκητα (Πιν. 1).

Πιο συγκεκριμένα το χρώμα των αποικιών των περισσότερων ειδών ήταν γκρίζο έως σκούρο (Εικ. 17). Ορισμένες αποικίες των μυκήτων *A. cucumerina*, *A. brassicicola* και *A. alternata* που παρουσίαζαν μυκήλιο γκρίζου χρώματος με μελανό κέντρο ή το αντίθετο, δηλ. μυκήλιο σκούρου μελανού χρώματος με γκρίζο κέντρο.

Η ανάπτυξη των περισσότερων αποικιών ήταν ομοιόμορφη με μόνη εξαίρεση μερικές απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* από μαρούλι, που εμφάνισαν μελανούς τομείς (Πιν. 1).



Εικόνα 17. Μορφολογία αποικιών των μυκήτων *A. solani* από τομάτα (As-T), *A. brassicicola* από λάχανο (Ab-C), *A. cucumerina* από καρπούζι (Ac-W), *A. alternata* από πεπόνι (Aa-M), *A. alternata* από μαρούλι (Aa-L), και *A. alternata* από πιπεριά (Aa-P) σε θρεπτικό υλικό V-8 agar.

Αναλυτικότερα όλες οι απομονώσεις του μύκητα *A. solani* (As-T) εμφάνισαν μυκήλιο μελανού χρώματος, έρπον και ομοιόμορφα αναπτυγμένο χωρίς την παρουσία τομέων άλλου χρώματος (Πιν. 1).

Πίνακας 1. Καλλιεργητικοί χαρακτήρες¹ των μυκήτων *A. solani*, *A. cucumerina*, *A. brassicicola* και *A. alternata*.

ΕΙΔΟΣ ΜΥΚΗΤΑ ²	ΧΡΩΜΑ ΑΠΟΙΚΙΑΣ	ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΠΟΙΚΙΑΣ	ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΥΚΗΛΙΟΥ
As-T (AL 94)	Μελανό	Ομοιόμορφη	Έρπουσα
As-T (AL 95)	Μελανό	Ομοιόμορφη	Έρπουσα
As-T (AL 96)	Μελανό	Ομοιόμορφη	Έρπουσα
Ab-Λ (AL 55)	Μελανό	Ομοιόμορφη	Έρπουσα
Ab-Λ (AL 124)	Γκριζο έως μελανό	Ομοιόμορφη	Μερικές αποικίες με έρπουσα ανάπτυξη, άλλες με εναέρια
Ab-Λ (AL 125)	Γκριζο με μελανό κέντρο	Ομοιόμορφη	Εναέρια
Ac-K (AL 82)	Μελανό	Ομοιόμορφη	Έρπουσα
Ac-K (AL 98)	Γκριζο	Ομοιόμορφη	Εναέρια
Ac-K (AL 100)	Μελανό	Ομοιόμορφη	Έρπουσα
Aa-Π (AL 43a)	Μελανό	Ομοιόμορφη	Έρπουσα
Aa-Π (AL 44a)	Γκριζο	Ομοιόμορφη	Ελαφρώς εναέρια
Aa-M (AL 38)	Γκριζο	Μελανοί τομείς	Εναέρια
Aa-M (AL 39)	Γκριζο με μελανό κέντρο.	Ομοιόμορφη	Ελαφρώς εναέρια
Aa-Πι (Al 45a)	Γκριζο με μελανό κέντρο	Ομοιόμορφη	Ελαφρώς εναέρια
Aa-Πι (Al 46a)	Γκριζομέλανο	Ομοιόμορφη	Εναέρια

¹ Μετά από 7 ημέρες ανάπτυξης σε τριβλία με θρεπτικό υλικό V-8 agar και επώασης σε θερμοκρασία 21°C και συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV light/12h σκότος).

² As-T: *A. solani* από φυτά τομάτας, Ab-Λ: *A. brassicicola* από φυτά λάχανου, Ac-K: *A. cucumerina* από φυτά καρπουζιού, Aa-Π: *A. alternata* από φυτά πεπονιού, Aa-M: *A. alternata* από φυτά μαρουλιού και Aa-Πι: *A. alternata* από φυτά πιπεριάς.

Οι απομονώσεις του μύκητα *A. brassicicola* από λάχανο (Ab-Λ) εμφάνισαν τα εξής χαρακτηριστικά: η απομόνωση AL 55 σχημάτιζε αποικίες μελανού χρώματος, με έρπον και ομοιόμορφα αναπτυγμένο μυκήλιο (Πιν. 1). Η AL 124 σε ορισμένα τριβλία σχημάτιζε αποικίες ανοιχτού γκριζου χρώματος με σκούρο μελανό κέντρο, των οποίων το μυκήλιο ήταν εναέριο και ομοιόμορφα αναπτυγμένο υπήρχαν όμως και αποικίες με σκούρο μελανό μυκήλιο, που ήταν έρπον και ομοιόμορφα αναπτυγμένο. Η AL 125 σχημάτιζε αποικίες ανοιχτού γκριζου χρώματος, με σκούρο μελανό κέντρο. Το μυκήλιο αυτών των αποικιών ήταν εναέριο και ομοιόμορφα αναπτυγμένο (Πιν. 1).

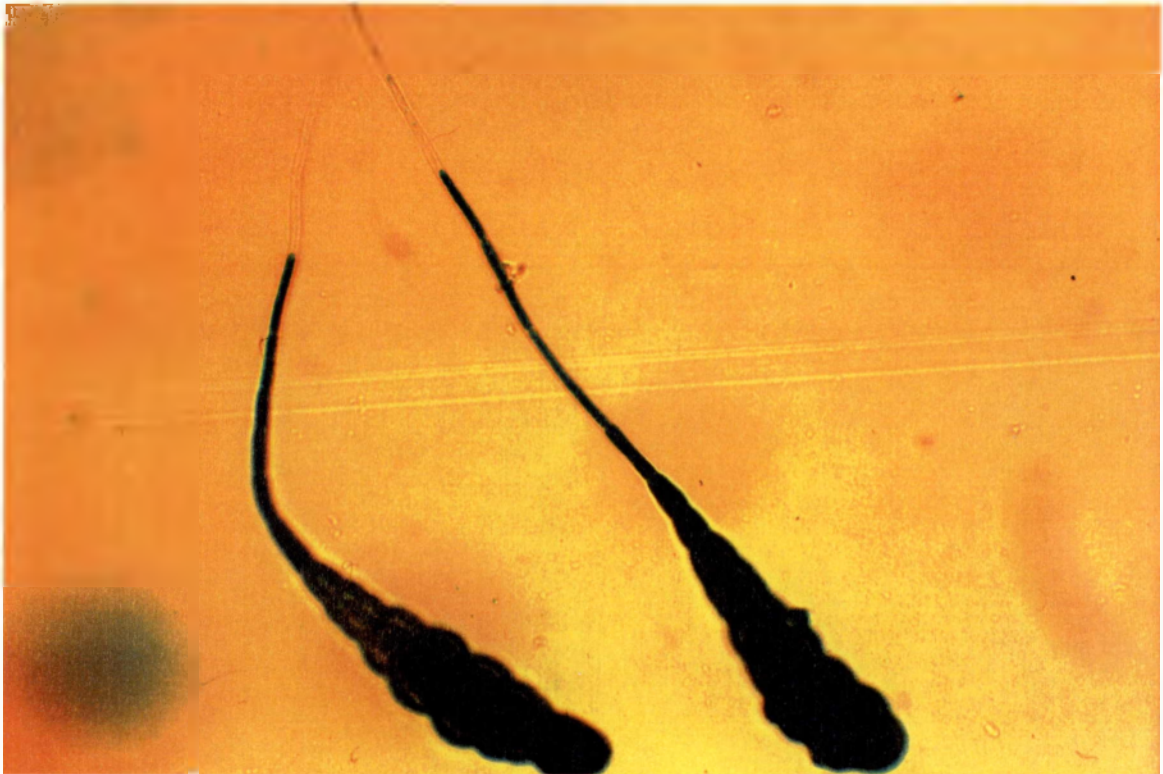
Οι απομονώσεις AL 82 και AL 100 του μύκητα *A. cucumerina* σχημάτισαν αποικίες με μυκήλιο σκούρο μελανό έρπον και ομοιόμορφα αναπτυγμένο, ενώ η απομόνωση AL 98 του ίδιου μύκητα σχημάτισε αποικίες γκριζου χρώματος με ομοιόμορφη ανάπτυξη και εναέριο μυκήλιο (Πιν. 1).

Όσον αφορά τις απομονώσεις του μύκητα *A. alternata*, από πεπόνι (Aa-Π) σχημάτιζαν αποικίες με μυκήλιο γκριζου έως σκούρου μελανού χρώματος, έρπον έως ελαφρώς εναέριο και ομοιόμορφη ανάπτυξη δίχως τομείς (Πιν. 1).

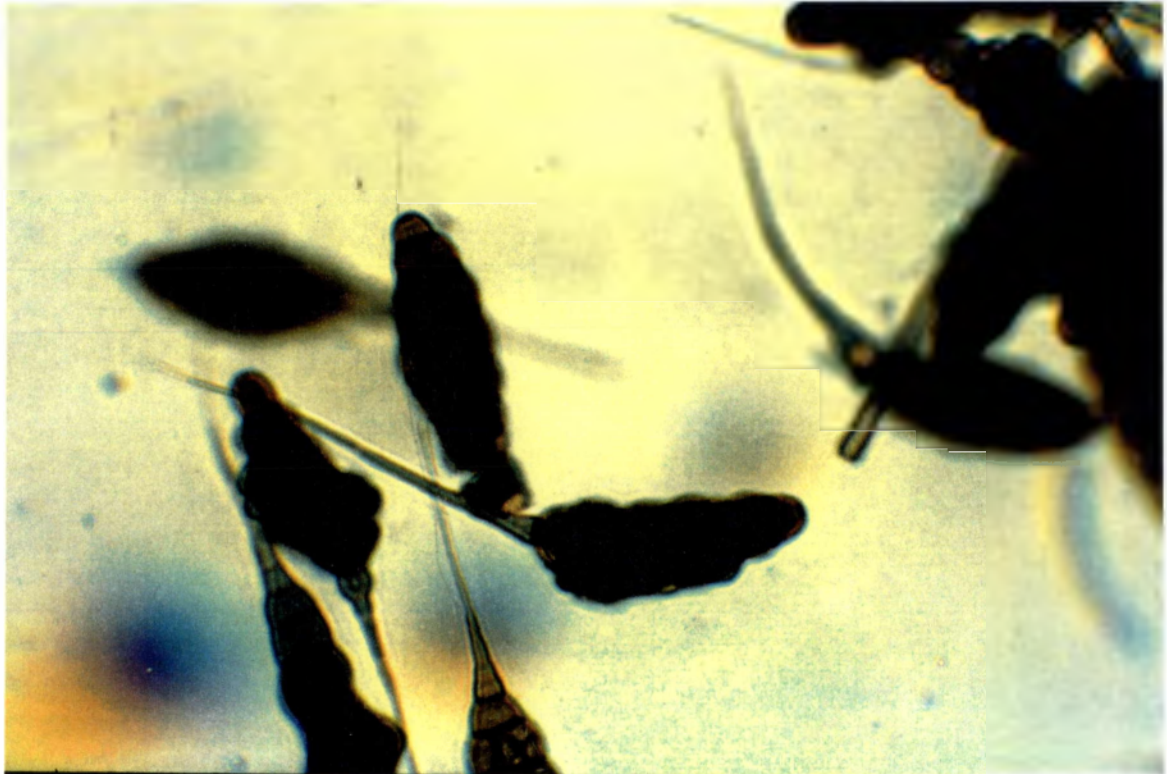
Ο μύκητας *A. alternata* από μαρούλι (Aa-M) σχημάτισε σε θρεπτικό υλικό V-8 agar αποικίες γκριζου χρώματος με μελανό κέντρο σε ορισμένες περιπτώσεις (Πιν. 1). Η ανάπτυξη του μυκηλίου των αποικιών ήταν ελαφρώς εναέρια έως εναέρια, ενώ ορισμένες απομονώσεις (AL 38) εμφάνισαν τομείς σκούρου μελανού χρώματος (Πιν. 1).

Τέλος οι αποικίες των απομονώσεων του μύκητα *A. alternata* από πιπεριά (Aa-Πι) είχαν γκριζομέλανο χρώμα και ομοιόμορφη ανάπτυξη με μυκήλιο ελαφρώς εναέριο ή εναέριο (Πιν. 1).

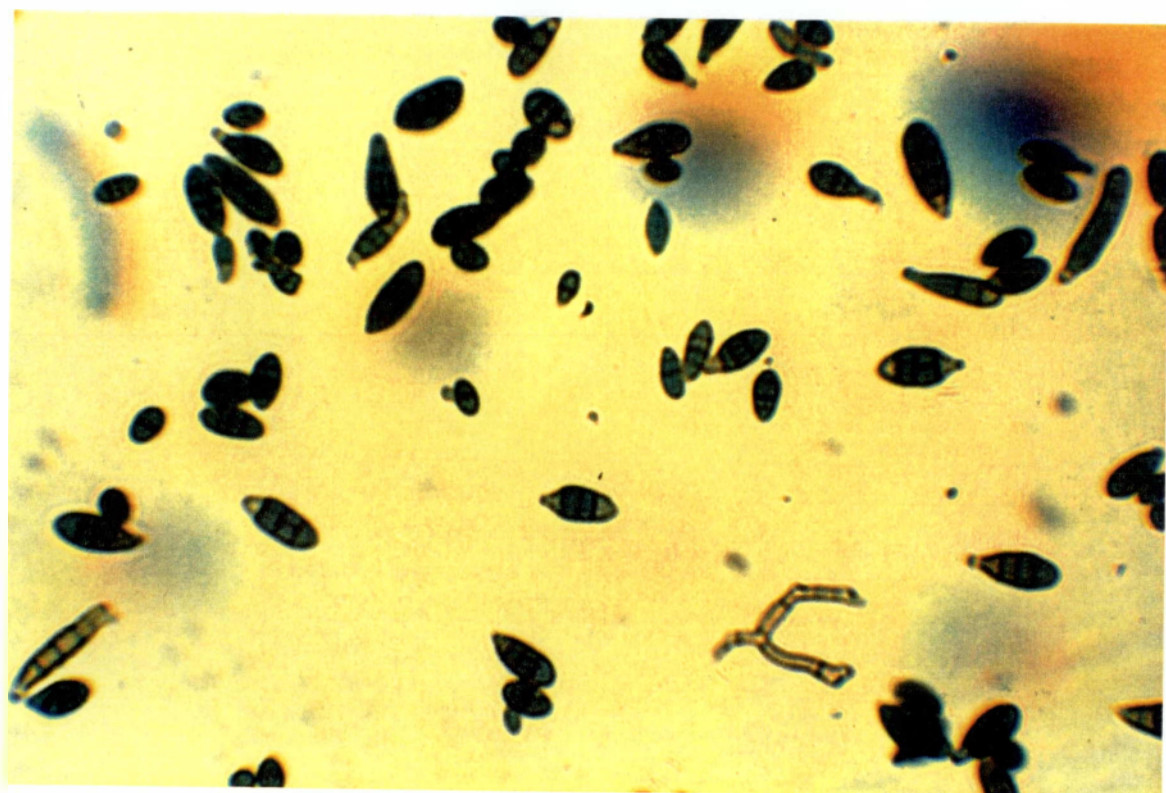
Όσον αφορά τη μορφολογία των κονιδίων των μυκήτων *A. solani*, *A. brassicicola*, *A. cucumerina* και *A. alternata* διαπιστώθηκε ότι τα κονίδια του μύκητα *A. solani* (As-T) από φυτά τομάτας είχαν το μεγαλύτερο μήκος σώματος (μέση τιμή 101,88μm) σε σχέση με τα κονίδια των άλλων ειδών (Πιν. 2) (Εικ. 18). Το μικρότερο μήκος σώματος είχαν τα κονίδια του μύκητα *A. alternata* από πεπόνι (Aa-Π) (μέση τιμή 23,50μm). Ο μύκητας *A. cucumerina* από καρπούζι (Ac-K) είχε κονίδια με μέσο μήκος σώματος 59,69μm (Εικ. 19) και ο μύκητας *A. brassicicola* από λάχανο (Ab-Λ) κονίδια με μέσο μήκος σώματος 26,37μm (Εικ. 20). Τα κονίδια του μύκητα *A. alternata* από φυτά μαρουλιού (Aa-M) είχαν μέσο μήκος σώματος 28,50μm, του μύκητα *A. alternata* από φυτά πιπεριάς (Aa-Πι) είχαν μέσο



Εικόνα 18. Κονίδια του μύκητα *A. solani* σε θρεπτικό υλικό V-8 agar.



Εικόνα 19. Κονίδια του μύκητα *A. cucumerina* σε θρεπτικό υλικό V-8 agar.



Εικόνα 20. Κονίδια του μύκητα *A. brassicicola* σε θρεπτικό υλικό V-8 agar

μήκος σώματος 27,44μm, ενώ εκείνα του μύκητα *A. alternata* από φυτά πεπονιού (Αα-Π) 23,50μm (Εικ. 21).

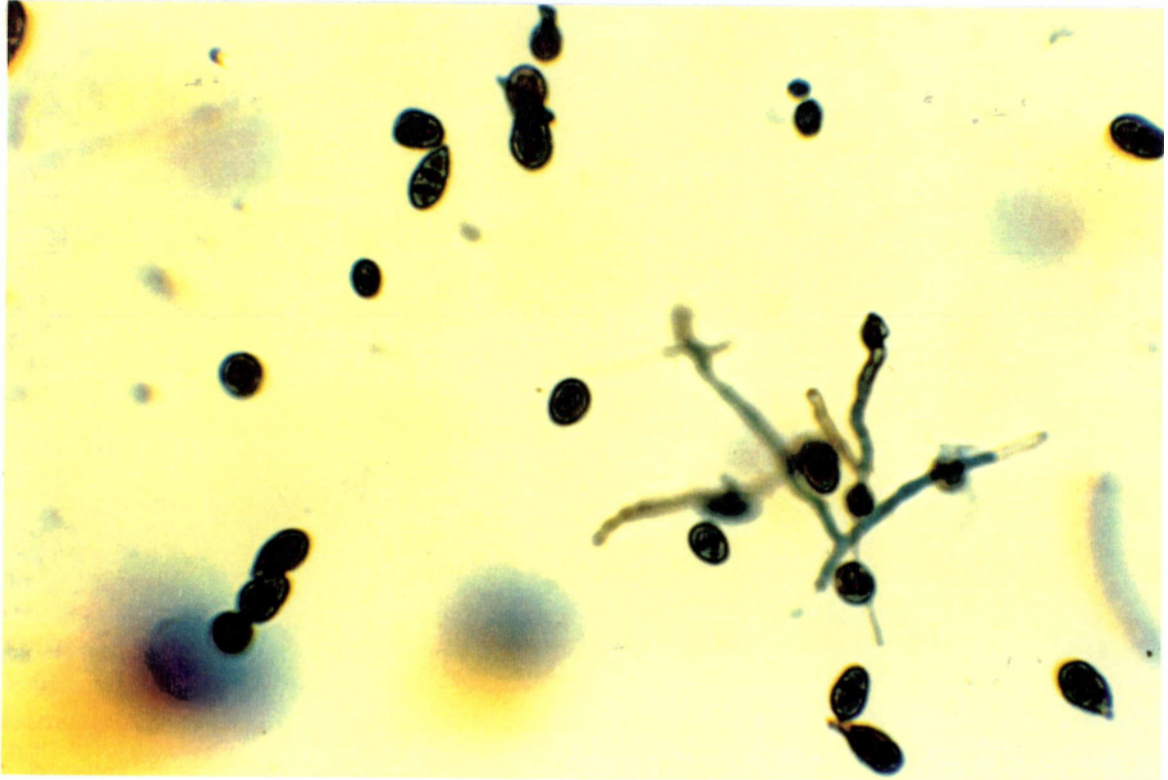
Όσον αφορά το πλάτος του κυρίως σώματος των κονιδίων των παραπάνω μυκήτων διαπιστώθηκε με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ότι τα κονίδια του μύκητα *A. cucumerina* από καρπούζι είχαν το μεγαλύτερο πλάτος (μέση τιμή 31,94μm), ενώ εκείνα του *A. alternata* από πεπόνι είχαν το μικρότερο (μέση τιμή 12,56μm) (Πιν. 2). Τέλος το μέσο πλάτος σώματος των κονιδίων των υπόλοιπων μυκήτων που μελετήθηκαν ήταν ως εξής: τα κονίδια του μύκητα *A. solani* από τομάτα είχαν μέσο πλάτος σώματος 27,25μm, του μύκητα *A. brassicicola* από φυτά λάχανου 12,81μm, τα κονίδια του μύκητα *A. alternata* από φυτά μαρουλιού 14,94μm και του μύκητα *A. alternata* από φυτά πιπεριάς 13,56μm (Πιν. 2).

Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις που έγιναν όσον αφορά τη μέση τιμή του μήκους του ράμφους έδειξαν ότι τα κονίδια του μύκητα *A. solani* από φυτά τομάτας είχαν το μεγαλύτερο σε μήκος ράμφος (μέση τιμή 190,88μm), ενώ εκείνα του μύκητα *A. alternata* από φυτά πιπεριάς είχαν το μικρότερο (μέση τιμή 5,68μm) (Πιν. 2). Τα κονίδια του μύκητα *A. cucumerina* από καρπούζι είχαν μέσο μήκος ράμφους 97,06μm ενώ του μύκητα *A. brassicicola* από λάχανο 6,13μm. Τα κονίδια του μύκητα *A. alternata* από πεπόνι είχαν μέσο μήκος ράμφους 6,5μm, ενώ τα κονίδια του μύκητα *A. alternata* από φυτά μαρουλιού είχαν μέσο μήκος ράμφους 6,56μm (Πιν. 2).

Όσον αφορά το συνολικό μήκος του κονιδίου, τα κονίδια του μύκητα *A. solani* από φυτά τομάτας είχαν το μεγαλύτερο μέσο μήκος που ήταν 292,25μm, ενώ το μικρότερο μέσο μήκος κονιδίου το είχαν τα κονίδια του μύκητα *A. alternata* από πεπόνι (30,00μm) (Πιν. 2). Το μέσο μήκος των κονιδίων του μύκητα *A. cucumerina* από καρπούζι διαπιστώθηκε ότι ήταν 159,25μm και του μύκητα *A. brassicicola* από φυτά λάχανου ήταν 32,69μm. Ο μύκητας *A. alternata* από μαρούλι είχε μέσο μήκος κονιδίου 35,06μm, ενώ ο μύκητας *A. alternata* από φυτά πιπεριάς είχε μέσο μήκος κονιδίου 33,11μm (Πιν. 2).

Κονίδια που παρουσίαζαν διακλαδιζόμενο ράμφος διαπιστώθηκαν μόνο στο μύκητα *A. solani* από φυτά τομάτας (ποσοστό 82,5%) (Πιν. 2).

Τέλος όσον αφορά την παρουσία κονιδίων σε αλυσίδες καθώς και τον αριθμό των κονιδίων ανά αλυσίδα τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι οι μύκητες *A. solani* και *A. cucumerina* σχημάτιζαν συνήθως μονήρη κονίδια και



Εικόνα 21. Κονίδια του μύκητα *A. alternata* σε θρεπτικό υλικό V-8 agar.

Πίνακας 2. Μορφολογικοί χαρακτήρες κονιδίων¹ των μυκήτων *A. solani*, *A. cucumerina*, *A. brassicicola* και *A. alternata*

Παράμετροι	As-T ²	Ac-K	Ab-Λ	Aa-Π	Aa-M	Aa-Πι
Μήκος κυρίου σώματος κονιδίου	101,88 (± 17,68)*	59,69 (± 13,70)	26,37 (± 6,53)	23,50 (± 5,96)	28,50 (± 8,47)	27,44 (± 7,08)
Εύρος μήκους σώματος	75-137,5	30,00-92,50	15,00-40,00	10,00-40,00	20,00-65,00	12,50-42,50
Πλάτος κυρίως σώματος κονιδίου	27,25 (± 3,24)	31,94 (± 9,83)	12,81 (± 2,06)	12,56 (± 2,08)	14,94 (± 2,80)	13,56 (± 2,26)
Εύρος πλάτους σώματος	22,5-35	17,50-62,50	10,00-17,50	10,00-17,50	10,00-20,00	10,00-17,50
Μήκος ράμφους κονιδίου	190,88 (± 27,88)	97,06 (± 48,40)	6,13 (± 1,96)	6,5 (± 2,18)	6,56 (± 1,85)	5,68 (± 1,53)
Εύρος μήκους ράμφους	110-242,50	35-227,5	2,5-10	2,5-10	5-10	2-7,5
Συνολικό μήκος κονιδίου	292,25 (± 27,50)	159,25 (± 52,98)	32,69 (± 6,80)	30,00 (± 6,41)	35,06 (± 9,14)	33,11 (± 7,04)
Εύρος συν. μήκους κονιδίου	220-340	100-320	20,00-47,50	20,00-47,50	25,00-72,50	17,50-47,50
Κονίδια (%) με διακλαδιζόμενο ράμφος	82,5	0	0	0	0	0
Κονίδια (%) με μονό ράμφος	17,5	100	100	100	100	100
Νο κονιδίων / αλυσίδα	1-2***	1-2***	1-12****	1-5	1-6	1-4

- 1 : Μετά από επώαση 7 ημερών σε θερμοκρασία 21°C και συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV light /σκότος και σε τριβλία με θρεπτικό υλικό V-8 agar, εκτός από το μύκητα *A. cucumerina* που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό υλικό S-medium.
- 2 : As-T = *A. solani* από τομάτα, Ac-K = *A. cucumerina* από καρπούζι, Ab-Λ = *A. brassicicola* από λάχανο, Aa-Π = *A. alternata* από πεπόνι, Aa-M = *A. alternata* από μαρούλι, Aa-Πι = *A. alternata* από πιπεριά.
- * : Μέσος όρος 40 κονιδίων (σε μm).
- ** : Οι αριθμοί στις παρενθέσεις είναι η τυπική απόκλιση του μέσου
- *** : Σπάνια 2 κονίδια/ αλυσίδα
- **** : Διακλαδιζόμενες αλυσίδες κονιδίων

σπάνια αλυσίδες των δύο κονιδίων (Πιν. 2). Αντίθετα τα κονίδια των υπολοίπων μυκήτων (*A. brassicicola* από λάχανο, *A. alternata* από πεπόνι, *A. alternata* από μαρούλι και *A. alternata* από πιπεριά) σχηματίζονταν σε αλυσίδες, ενώ ο αριθμός των κονιδίων ανά αλυσίδα εξαρτιόταν από το είδος του μύκητα (Πιν. 2). Πιο συγκεκριμένα, ο μύκητας *A. brassicicola* σχημάτιζε αλυσίδες με μέχρι και 12 κονίδια/αλυσίδα, ο μύκητας *A. alternata* από πεπόνι διαπιστώθηκε ότι είχε 1-5 κονίδια/αλυσίδα, ενώ ο μύκητας *A. alternata* από μαρούλι είχε 1-6 κονίδια/αλυσίδα και ο μύκητας *A. alternata* από πιπεριά 1-4 κονίδια/αλυσίδα (Πιν. 2). Τέλος θα πρέπει να σημειωθεί ότι ο μύκητας *A. brassicicola* σχημάτιζε συνήθως διακλαδιζόμενες αλυσίδες κονιδίων (Πιν. 2).

2.3. Διασταυρωτές μολύνσεις φυτών τομάτας, καρπουζιού, λάχανου, πεπονιού, μαρουλιού και πιπεριάς με τα είδη *A. solani*, *A. cucumerina*, *A. brassicicola* και *A. alternata*.

2.3.1. Σκοπός του πειράματος

Σκοπός των πειραμάτων ήταν η μελέτη της παθογένειας των μυκήτων *A. solani*, *A. cucumerina*, *A. brassicicola* και *A. alternata* με διασταυρωτές μολύνσεις φυτών τομάτας, καρπουζιού, λάχανου, μαρουλιού, πεπονιού και πιπεριάς.

2.3.2. Υλικά και μέθοδοι

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω είδη φυτών και οι ποικιλίες τους: τομάτα (ποικ. Ace 55VF), καρπούζι (ποικ. Grimson Sweet), λάχανο (ποικ. Magima και ντόπιο Λάρισας), πεπόνι (ποικ. Galia), μαρούλι (ποικ. Romana) και πιπεριά (ποικ. Φλωρίνης).

Η ανάπτυξη των φυτών έγινε σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας $22 \pm 2^\circ\text{C}$, σχετικής υγρασίας 60-70% και φωτισμού (ένταση φωτός $160\mu\text{ Einsteins}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$, φωτοπερίοδος 12 ωρών), μέχρι το στάδιο των 6-8 πλήρως αναπτυγμένων φύλλων, σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.4.)

Για την τεχνητή μόλυνση των φυτών χρησιμοποιήθηκαν τρεις απομονώσεις του μύκητα *A. solani* από τομάτα (AL 94, AL 95, AL 96), τρεις απομονώσεις του μύκητα *A. cucumerina* από καρπούζι (AL 82, AL 98, AL 100), τρεις απομονώσεις του μύκητα *A. brassicicola* από λάχανο (AL 55, AL 124, AL 125), δύο απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* από μαρούλι (AL 38, AL 39a), δύο απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* από πεπόνι (AL 43a, AL 44a) και δύο απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* από πιπεριά (AL 45a, AL 46a). Όλες οι απομονώσεις προέρχονταν από φυσικά μολυσμένα φυτά, από διάφορες περιοχές της χώρας.

Για την παραγωγή μολύσματος από τις παραπάνω απομονώσεις ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφεται στην παράγραφο 2.7. (Γενικά Υλικά και Μέθοδοι). Για κάθε απομόνωση του μύκητα *A. solani*, *A. brassicicola* και *A. alternata* χρησιμοποιήθηκαν 12 τριβλία-επαναλήψεις ανά απομόνωση με θρεπτικό υλικό V-8 agar, ενώ για το μύκητα *A. cucumerina* χρησιμοποιήθηκαν 12 τριβλία-επαναλήψεις ανά απομόνωση με θρεπτικό υλικό S-medium. Η τελική συγκέντρωση του αιωρήματος κονιδίων της κάθε απομόνωσης υπολογίστηκε με τη βοήθεια αιματοκυττομέτρου σε 5×10^4 κονίδια / ml. Το τελικό αιώρημα κονιδίων του κάθε μύκητα έγινε με ανάμειξη ίσων όγκων αιωρήματος από την κάθε απομόνωση του μύκητα.

Η τεχνητή μόλυνση των φυτών έγινε με ψεκασμό της πάνω και της κάτω επιφάνειας των φύλλων, μέχρι πλήρους απορροής, με το μίγμα αιωρήματος κονιδίων του κάθε είδους μύκητα. Για κάθε είδος μύκητα χρησιμοποιήθηκαν δύο ομάδες από κάθε είδος φυτού: μια ομάδα 5 φυτών (επαναλήψεις) που δεν πληγώθηκαν και μια ομάδα 5 φυτών (επαναλήψεις) που είχαν πληγωθεί λίγο πριν τη μόλυνση στο 3^ο και στο 4^ο φύλλο με τη βοήθεια μιας μικροβιολογικής βελόνας (Εικ. 22). Στο κάθε φύλλο έγιναν συνολικά 20 πληγές. Τα φυτά-μάρτυρες ψεκάστηκαν με απεσταγμένο νερό και περιελάμβαναν επίσης δύο ομάδες φυτών (πληγωμένα και απλήγωτα) των 5 φυτών η καθεμία. Στη συνέχεια τα φυτά καλύφθηκαν με διαφανείς πλαστικές σακούλες, οι οποίες είχαν ψεκάσει εσωτερικά με απεσταγμένο νερό, για να εξασφαλιστούν οι κατάλληλες συνθήκες σχετικής υγρασίας για τη μόλυνση (RH 100%). Τα καλυμμένα φυτά τοποθετήθηκαν για 48 ώρες σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας $21 \pm 2^\circ\text{C}$, σχετικής υγρασίας 60-70% και φωτισμού (ένταση φωτός $160\mu\text{ Einsteins}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$, 12 ώρες φωτοπερίοδος). Μετά το πέρας του παραπάνω διαστήματος τα φυτά ξεσκεπάστηκαν και παρέμειναν στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών μέχρι τη λήψη των αποτελεσμάτων.

Η λήψη των αποτελεσμάτων έγινε περίπου 7 ημέρες μετά τη μόλυνση και βασίστηκε στην παρουσία ή μη συμπτωμάτων στα φύλλα, στους μίσχους των φύλλων και στα στελέχη των φυτών. Μετά την ολοκλήρωση των μακροσκοπικών παρατηρήσεων των συμπτωμάτων έγινε και μικροσκοπική παρατήρηση των τεχνητά μολυνθέντων φυτικών ιστών. Για το σκοπό αυτό τεμάχια φύλλων που παρουσίαζαν συμπτώματα της ασθένειας κόπηκαν με τη βοήθεια ενός αποστειρωμένου μαχαιριδίου και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε αιθυλική αλκοόλη για 24 ώρες, ώστε να απομακρυνθεί η χλωροφύλλη και να γίνει πιο εύκολα η μικροσκοπική παρατήρηση



Εικόνα 22. Μέθοδος δημιουργίας πληγών στα φύλλα φυτών λάχανου.

των ιστών. Μετά το πέρας των 24 ωρών οι ιστοί εμβαπτίστηκαν στη χρωστική Cotton blue σε λακτοφαινόλη (βλέπε παράγραφο 2.1. Γενικά Υλικά και Μέθοδοι) και παρατηρήθηκαν στο μικροσκόπιο. Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις περιελάμβαναν την παρουσία ή μη νεκρών φυτικών κυττάρων, βλαστημένων κονιδίων, το σχηματισμό ή μη απρεσσορίων από τα βλαστημένα κονίδια των μυκήτων, το μήκος των βλαστικών υφών καθώς και το σχηματισμό ή μη νέων κονιδιοφόρων και κονιδίων πάνω στους μολυσμένους φυτικούς ιστούς.

2.3.3. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι ο μύκητας *A. solani* ήταν παθογόνος στα φυτά τομάτας, ανεξάρτητα από την παρουσία ή μη πληγών στα φύλλα (Πιν. 3). Η προσβολή αρχικά εμφανιζόταν με τη μορφή νεκρωτικών κηλίδων στα φύλλα, στους βλαστούς και στους μίσχους των φύλλων (Εικ. 23, 24). Με την πάροδο του χρόνου οι κηλίδες στα φύλλα συνενώνονταν και καταλάμβαναν μεγάλα τμήματα της επιφάνειας με αποτέλεσμα την πρόωρη πτώση των φύλλων (Πιν. 3).

Στα φυτά καρπουζιού η προσβολή από το μύκητα *A. solani* είχε πολύ μικρότερη ένταση με νεκρωτικές κηλίδες διαμέτρου 2-3mm στα απλήγωτα φύλλα, ενώ στα πληγωμένα παρουσιάστηκε μόνο περιορισμένη νέκρωση γύρω από την πληγή (Πιν. 3) (Εικ. 25).

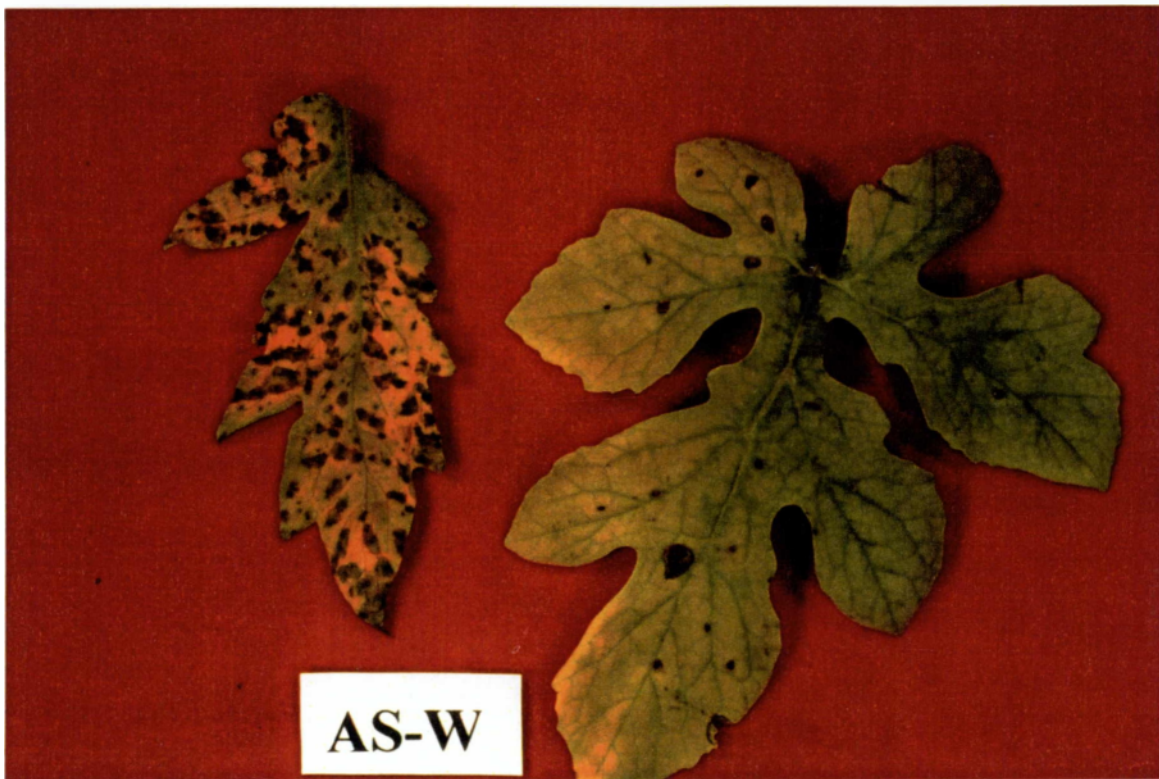
Ο μύκητας *A. brassicicola* μόλυνε τα απλήγωτα φυτά τομάτας με τη μορφή νεκρωτικών κηλίδων διαμέτρου 1-2mm, οι οποίες περιβάλλονταν από χλωρωτική άλω (Πιν. 3) (Εικ. 26). Τα πρώτα φύλλα (1^ο & 2^ο) των φυτών αυτών εμφάνιζαν πολυάριθμες μικροσκοπικές κηλίδες (<1mm) και είχαν ήδη νεκρωθεί επτά ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση. Στα πληγωμένα φυτά διαπιστώθηκε περιορισμένη νέκρωση γύρω από τις πληγές και λίγες μικροσκοπικές κηλίδες διαμέτρου <1mm σε όλα τα φύλλα (Πιν. 3) (Εικ. 27). Στα απλήγωτα φυτά καρπουζιάς ο μύκητας *A. brassicicola* δεν προκάλεσε συμπτώματα, ενώ στα πληγωμένα φυτά διαπιστώθηκε περιορισμένη νέκρωση γύρω από τις πληγές (Πιν. 3).



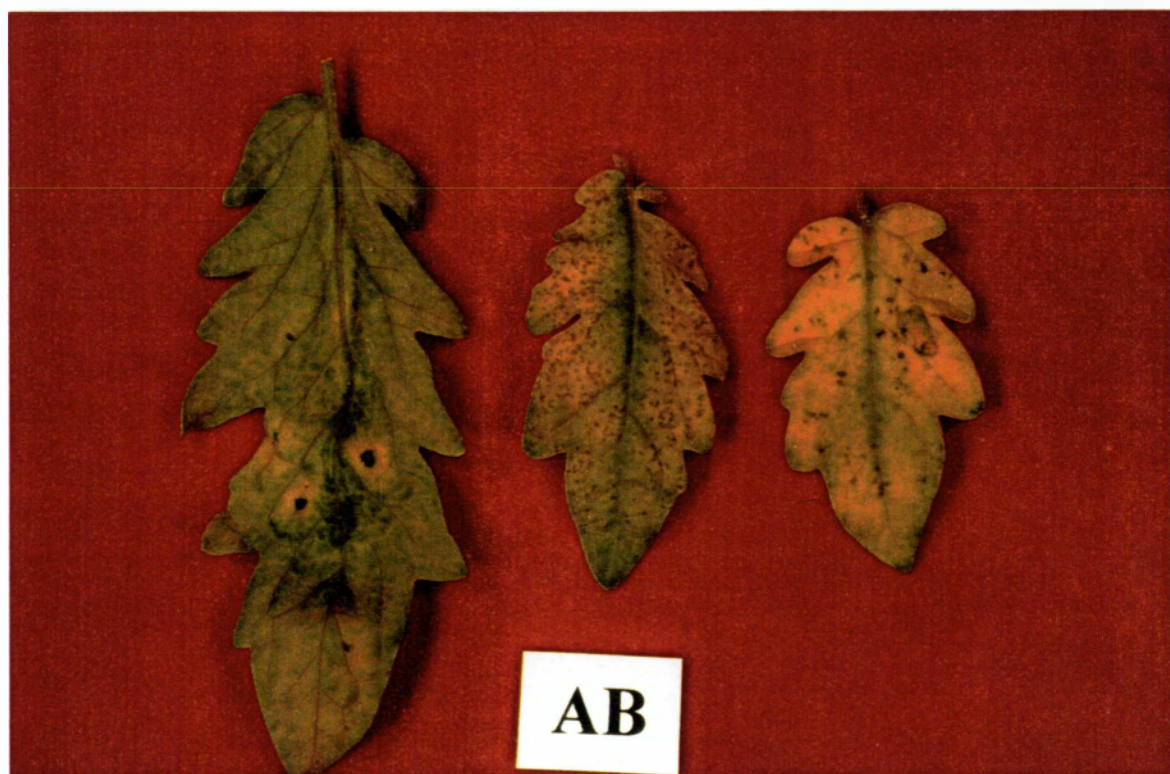
Εικόνα 23. Συμπτώματα προσβολής φύλλων τομάτας από το μύκητα *A. solani* (τεχνητές μολύνσεις).



Εικόνα 24. Συμπτώματα προσβολής μίσχων, φύλλων και βλαστών τομάτας από το μύκητα *A. solani* (τεχνητές μολύνσεις).



Εικόνα 25. Συμπτώματα προσβολής τεχνητά μολυσμένων φύλλων τομάτας (αριστερά) και καρπουζιού (δεξιά) από το μύκητα *A. solani*



Εικόνα 26. Συμπτώματα προσβολής φύλλων τομάτας από το μύκητα *A. brassicicola* (τεχνητές μολύνσεις).

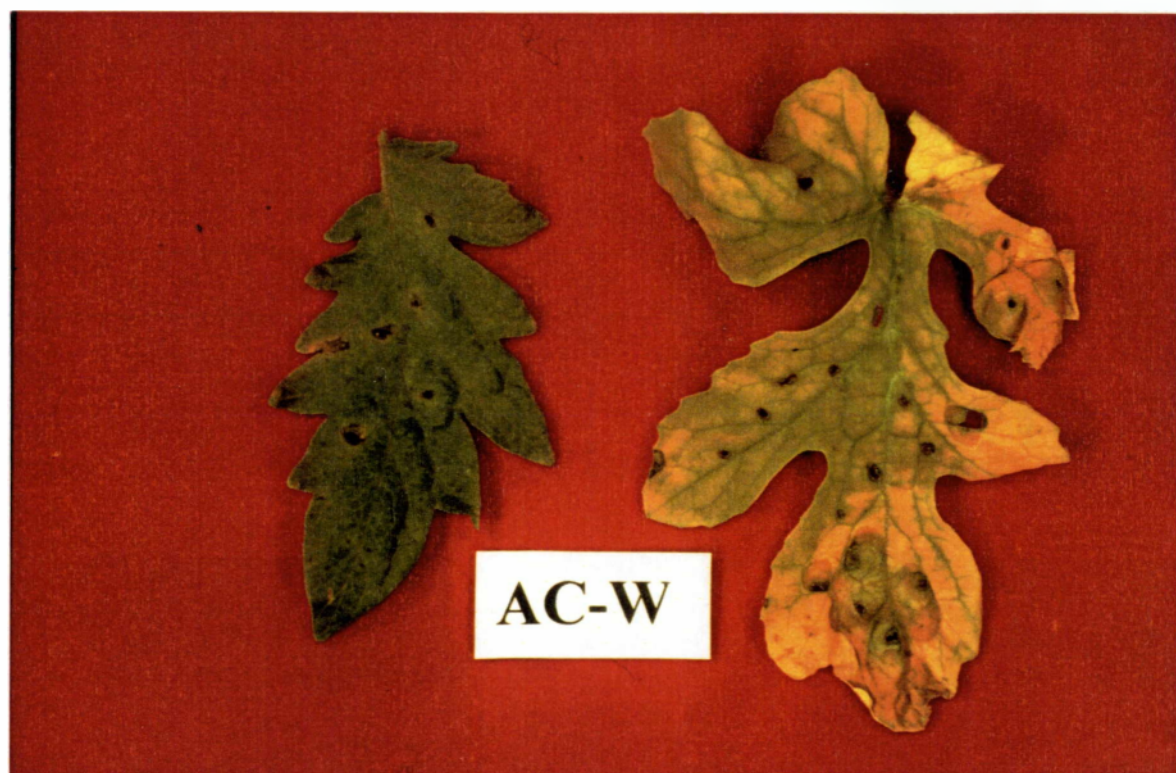


Εικόνα 27. Συμπτώματα προσβολής τεχνητά πληγωμένων και μολυσμένων φύλλων τομάτας (αριστερά) και καρπουζιού (δεξιά) από το μύκητα *A. brassicicola*.

Στα απλήγωτα φύλλα φυτών τομάτας ο μύκητας *A. cucumerina* προκάλεσε πολυάριθμες νεκρωτικές κηλίδες διαμέτρου <1mm που περιβάλλονταν από χλωρωτική άλω (Πιν. 3) (Εικ. 28). Νεκρωτικές κηλίδες εμφανίστηκαν επίσης στο στέλεχος και τους μίσχους των μολυνθέντων φυτών. Στα πληγωμένα φύλλα φυτών τομάτας ο μύκητας προκάλεσε εκτεταμένη νέκρωση γύρω από τις πληγές, η οποία περιβάλλονταν από χλωρωτική άλω (Πιν. 3) (Εικ. 29). Στα απλήγωτα φυτά καρπουζιάς, ο μύκητας *A. cucumerina* προκάλεσε την εμφάνιση μεγάλων



Εικόνα 28. Συμπτώματα προσβολής φύλλων τομάτας από το μύκητα *A. cucumerina* (τεχνητές μολύνσεις).



Εικόνα 29. Συμπτώματα προσβολής τεχνητά πληγωμένων και μολυσμένων φύλλων τομάτας (αριστερά) και καρπουζιού (δεξιά) από το μύκητα *A. cucumerina*.

Πίνακας 3. Παθογένεια απομονώσεων των μυκήτων *Alternaria solani*, *A. brassicicola* και *A. cucumerina* μετά από διασταυρωτές μολύνσεις φυτών τομάτας, καρπουζιού και λαχάνου.

ΤΟΜΑΤΑ (ποικ. ACE 55 VF)	ΚΑΡΠΟΥΖΙ (ποικ. Grimson Sweet)	ΛΑΧΑΝΟ (ποικ. Marima)	ΛΑΧΑΝΟ (ποικ. ντόπιο Λάρισας)
Α. ΔΙΧΩΣ ΠΛΗΓΗ			
As-T*	As-T	As-T	As-T
Νεκρωτικές κηλίδες σε φύλλα, στελέχη και μίσχους φύλλων. Έντονη φυλλόπτωση	Νεκρωτικές κηλίδες (2-3 mm) στα φύλλα.	Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων
Ab-Λ**	Ab-Λ	Ab-Λ	Ab-Λ
Κηλίδες στα φύλλα 1-2mm, με νεκρωτικό κέντρο & χλωρωτική άλω. Το 1 ^ο & 2 ^ο φύλλο σε όλα τα φυτά νεκρά με πολυάριθμες κηλίδες (<1mm).	Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων
Ac-K***	Ac-K	Ac-K	Ac-K
Πολυάριθμες κηλίδες (<1mm) στα φύλλα. Σε τρία φυτά παρουσία νεκρωτικών κηλίδων στο στέλεχος και στους μίσχους.	Δύο φυτά με χλωρωτικές κηλίδες (>2mm) και νεκρωτικές περιοχές στα φύλλα.	Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων

* As-T : *A. solani* από τομάτα

** Ab-Λ : *A. brassicicola* από λάχανο

*** Ac-K : *A. cucumerina* από καρπούζι.

Πίνακας 3 (συνέχεια). Παθογένεια απομονώσεων των μυκήτων *Alternaria solani*, *A. brassicicola* και *A. cucumerina* μετά από διασταυρωτές μολύνσεις φυτών τομάτας, καρπουζιού και λαχάνου.

ΤΟΜΑΤΑ (ποικ. ACE 55 VF)	ΚΑΡΠΟΥΖΙ (ποικ. Grimson Sweet)	ΛΑΧΑΝΟ (ποικ. Marima)	ΛΑΧΑΝΟ (ποικ. ντόπιο Λάρισας)
B. ΜΕ ΠΛΗΓΗ			
As-T*	As-T	As-T	As-T
Νεκρωτικές κηλίδες σε φύλλα, στελέχη και μίσχους. Έντονη φυλλόπτωση	Περιορισμένη νέκρωση γύρω από τις πληγές (1mm).	Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων
Ab-Λ**	Ab-Λ	Ab-Λ	Ab-Λ
Περιορισμένη νέκρωση γύρω από τη πληγή, ολιγάριθμες κηλίδες (<1mm) στα φύλλα. Ένα φυτό με κηλίδες στο στέλεχος και ένα με κηλίδες στο μίσχο.	Νέκρωση γύρω από την πληγή.	Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων
Ac-K***	Ac-K	Ac-K	Ac-K
Εκτεταμένη νέκρωση γύρω από τις πληγές με χλωρωτική άλω. Δύο φυτά με κηλίδες στο στέλεχος.	Εκτεταμένη νέκρωση γύρω από την πληγή (2-4mm).	Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων

* As-T : *A. solani* από τομάτα

** Ab-Λ : *A. brassicicola* από λάχανο

*** Ac-K : *A. cucumerina* από καρπούζι

χλωρωτικών κηλίδων διαμέτρου $>2\text{mm}$ και νεκρωτικών περιοχών στα φύλλα (Πιν. 3). Στα πληγωμένα φύλλα των φυτών καρπουζιάς παρατηρήθηκε μόνο εκτεταμένη νέκρωση γύρω από τις πληγές (Πιν. 3)

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι κανένα από τα φυτά λάχανου και των δύο ποικιλιών (Magima και ντόπιο Λάρισας) που μολύνθηκαν με τα είδη *A. solani*, *A. brassicicola* και *A. cucumerina* δεν παρουσίασε συμπτώματα της ασθένειας (Πιν. 3).

Επιπλέον, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος δεν διαπιστώθηκε παρουσία συμπτωμάτων τόσο στα απλήγωτα όσο και στα πληγωμένα φυτά πεπονιού (ποικ. Gallia), μαρουλιού (ποικ. Romana) ή πιπεριάς (ποικ. Φλωρίνης) που μολύνθηκαν τεχνητά με το μύκητα *A. alternata* (Πιν. 4). Μόνη εξαίρεση αποτελούσαν τα απλήγωτα φυτά μαρουλιού που μολύνθηκαν με το μύκητα *A. alternata* από μαρούλι καθώς και τα πληγωμένα φυτά μαρουλιού που μολύνθηκαν με το μύκητα *A. alternata* από πεπόνι τα οποία εμφάνισαν στα φύλλα τους μικροσκοπικές (διάμετρος $<1\text{mm}$) χλωρωτικές κηλίδες (Πιν. 4).

Από τις μικροσκοπικές παρατηρήσεις που έγιναν στα απλήγωτα φύλλα φυτών τομάτας διαπιστώθηκε ότι τα κονίδια του μύκητα *A. solani* (As) βλάστησαν δημιουργώντας μακριές βλαστικές υφές, ενώ ο μύκητας σχημάτισε νέους κονιδιοφόρους και κονίδια πάνω στους προσβεβλημένους ιστούς (Πιν. 5). Επίσης διαπιστώθηκε ότι ο μύκητας νέκρωσε τα κύτταρα του ξενιστή του. Στα πληγωμένα φυτά δεν έγιναν μικροσκοπικές παρατηρήσεις, λόγω της καθολικής πρόωρης φυλλόπτωσης που παρατηρήθηκε (Πιν. 5).

Στους φυτικούς ιστούς καρπουζιού που προέρχονταν από απλήγωτα φυτά διαπιστώθηκε ότι ο μύκητας *A. solani* δεν νέκρωσε τα κύτταρα του ξενιστή, ενώ τα κονίδιά του είχαν βλαστήσει με μακριές βλαστικές υφές (Πιν. 5). Όσον αφορά τα πληγωμένα φύλλα των φυτών καρπουζιού διαπιστώθηκε νέκρωση των κυττάρων του ξενιστή και εποίκιση αυτών από το μυκήλιο του μύκητα *A. solani*, κυρίως στην περιοχή γύρω από τις πληγές. Επιπλέον τα βλαστημένα κονίδια του μύκητα σχημάτιζαν μακριές βλαστικές υφές (Πιν. 5).

Στους φυτικούς ιστούς που προέρχονταν από απλήγωτα και πληγωμένα φύλλα φυτών τομάτας και που είχαν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *A. cucumerina* (Ac) διαπιστώθηκε νέκρωση κυττάρων, βλάστηση κωνιδίων με μακριές βλαστικές υφές και σχηματισμός απρεσσορίων (Πιν. 5).

Πίνακας 4. Παθογένεια απομονώσεων των μυκήτων *Alternaria alternata* από πεπόνι (Αα-Π), *A. alternata* από μαρούλι (Αα-Μ) και *A. alternata* από πιπεριά (Αα-Πι) μετά από διασταυρωτές μολύνσεις σε φυτά πεπονιού, μαρουλιού και πιπεριάς.

ΠΕΠΟΝΙ (ποικ. <i>Galia</i>)	ΜΑΡΟΥΛΙ (ποικ. <i>Romana</i>)	ΠΙΠΕΡΙΑ (ποικ. <i>Φλωρίνης</i>)
Α. ΔΙΧΩΣ ΠΛΗΓΗ		
Αα-Π	Αα-Π	Αα-Π
Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων
Αα-Μ	Αα-Μ	Αα-Μ
Απουσία συμπτωμάτων	Μικρές χλωρωτικές κηλίδες διαμέτρου < 1mm.	Απουσία συμπτωμάτων
Αα-Πι	Αα-Πι	Αα-Πι
Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων
Β. ΜΕ ΠΛΗΓΗ		
Αα-Π	Αα-Π	Αα-Π
Απουσία συμπτωμάτων	Μικρές χλωρωτικές κηλίδες διαμέτρου < 1 mm.	Απουσία συμπτωμάτων
Αα-Μ	Αα-Μ	Αα-Μ
Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων
Αα-Πι	Αα-Πι	Αα-Πι
Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων	Απουσία συμπτωμάτων

Πίνακας 5. Μικροσκοπικές παρατηρήσεις φύλλων τομάτας, καρπούζιου και λάχανου επτά ημέρες μετά τις διασταυρωτές μολύνσεις με τους μύκητες *Alternaria solani*, *A. brassicicola* και *A. cucumerina*.

ΕΠΕΜΒΑΣΗ*	Βλαστημένα κονίδια	Βλαστικές υφές	Νέκρωση κυττάρων	Απρεσσόρια	ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ
Α. ΔΙΧΩΣ ΠΛΗΓΗ					
As σε τομάτα	+++	+	+	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & κονιδιοφόροι με νέα κονίδια.
As σε καρπούζι	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές.
Ac σε τομάτα	+	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές.
Ac σε καρπούζι	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές.
Ab σε τομάτα	+	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές & απρεσσόρια σε περιοχές μεγάλων κηλίδων, ενώ κοντές βλαστικές υφές & μη ύπαρξη απρεσσοριών σε περιοχές μικρών κηλίδων.
Ab σε καρπούζι	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές.
Β. ΜΕ ΠΛΗΓΗ					
As σε τομάτα	ΔΠ	ΔΠ	ΔΠ	ΔΠ	Λόγω πρόωρης καθολικής φυλλόπτωσης δεν έγιναν μετρήσεις.
As σε καρπούζι	+	+	+ [†]	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & εποικισμός των ιστών γύρω από την περιοχή των πληγών.
Ac σε τομάτα	+	+	+ [†]	+	Μακριές βλαστικές υφές.
Ac σε καρπούζι	+	+	+ [†]	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές, αποδιοργανωμένες & περιφερειακή νέκρωση.
Ab σε τομάτα	+	+	+ [†]	+	Μακριές βλαστικές υφές.
Ab σε καρπούζι	+	+	+ [†]	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές.

* As = *A. solani* από φυτά τομάτας, Ac = *A. cucumerina* από φυτά καρπούζιου, Ab = *A. brassicicola* από φυτά λάχανου

** (+) = παρουσία, ΔΠ = Δεν παρατηρήθηκαν, [†] = Νέκρωση κυττάρων μόνο γύρω από τις πληγές

Πίνακας 5 (συνέχεια). Μικροσκοπικές παρατηρήσεις μολυσμένων φύλλων πιπεριάς, μαρούλιού και πεπονιού επτά ημέρες μετά τις διασταυρωτές μολύνσεις με τους μύκητες *A. alternata* από πιπεριά, *A. alternata* από μαρούλι και *A. alternata* από πεπόνι.

ΕΠΕΜΒΑΣΗ*	Βλαστημένα κονίδια	Βλαστικές υφές	Νέκρωση κυττάρων	Ακρεσσόρια	Παρατηρήσεις
Α. ΔΙΧΩΣ ΠΛΗΓΗ					
Αα-Πι σε πιπεριά	+++	+	ΔΠ	+	Μακριές βλαστικές υφές
Αα-Πι σε πεπόνι	+	+	ΔΠ	+	Μακριές βλαστικές υφές.
Αα-Πι σε μαρούλι	+	+	ΔΠ	+	Μακριές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος.
Αα-Μ σε πιπεριά	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές.
Αα-Μ σε πεπόνι	+	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές.
Αα-Μ σε μαρούλι	+	+	†	ΔΠ	Πολύ μακριές βλαστικές υφές
Αα-Π σε πιπεριά	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Κοντές βλαστικές υφές
Αα-Π σε πεπόνι	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Βλαστικές υφές όχι πολύ μακριές
Αα-Π σε μαρούλι	+	+	+	+	Βλαστικές υφές όχι πολύ μακριές & νέκρωση των κυττάρων στα παλαιότερα φύλλα.

* Αα-Πι = *A. alternata* από πιπεριά, Αα-Μ = *A. alternata* από μαρούλι, Αα-Π = *A. alternata* από πεπόνι.

** (+) : παρουσία, ΔΠ: Δεν παρατηρήθηκε

† : Νέκρωση των κυττάρων μόνο γύρω από την περιοχή των πληγών.

Πίνακας 5 (συνέχεια). Μικροσκοπικές παρατηρήσεις μολυσμένων φύλλων πιπεριάς, μαρουλιού και πεπονιού επτά ημέρες μετά τις διασταυρωτές μολύνσεις με τους μύκητες *A. alternata* από πιπεριά, *A. alternata* από μαρούλι και *A. alternata* από πεπόνι.

ΕΠΕΜΒΑΣΗ*	Βλαστημένα κονίδια	Βλαστικές υφές	Νέκρωση κυττάρων	Απρεσσόρια	Παρατηρήσεις
Β. ΜΕ ΠΛΗΓΗ					
Αα-Πι σε πιπεριά	+++	+	ΔΠ	+	Μακριές βλαστικές υφές & ελάχιστα απρεσσόρια
Αα-Πι σε πεπόνι	+	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές.
Αα-Πι σε μαρούλι	+	+	ΔΠ	+	Μακριές βλαστικές υφές, απ' ευθείας είσοδος.
Αα-Μ σε πιπεριά	+	+	ΔΠ	+	Μακριές βλαστικές υφές & κονιδιοφόροι με νέα κονίδια γύρω από την πληγή.
Αα-Μ σε πεπόνι	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & ενδοκυττάριο μυκήλιο γύρω από την πληγή.
Αα-Μ σε μαρούλι	+	+	ΔΠ	+	Μακριές βλαστικές υφές & νέοι κονιδιοφόροι από βλαστικές υφές
Αα-Π σε πιπεριά	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & ενδοκυττάριο μυκήλιο γύρω από την πληγή.
Αα-Π σε πεπόνι	+	+	ΔΠ	+	Μακριές βλαστικές υφές & ενδοκυττάριο μυκήλιο γύρω από την πληγή
Αα-Π σε μαρούλι	+	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές, νέοι κονιδιοφόροι & κονίδια από τη βλαστική υφή, νέκρωση των κυττάρων στα παλαιότερα φύλλα

* Αα-Πι = *A. alternata* από πιπεριά, Αα-Μ = *A. alternata* από μαρούλι, Αα-Π = *A. alternata* από πεπόνι.

** (+) : παρουσία, ΔΠ: Δεν παρατηρήθηκε

Κατά τη μικροσκοπική παρατήρηση φυτικών ιστών από τα απλήγωτα φύλλα φυτών καρπουζιάς που μολύνθηκαν με το μύκητα *A. cucumerina* δεν παρατηρήθηκαν νεκρωμένα κύτταρα ή σχηματισμός απρεσσορίων, ενώ διαπιστώθηκε παρουσία βλαστημένων κονιδίων με μακριές βλαστικές υφές (Πιν. 5). Αντίθετα οι φυτικοί ιστοί των πληγωμένων φύλλων των φυτών αυτών εμφάνισαν νέκρωση κυττάρων κυρίως γύρω από τις πληγές και παρουσία βλαστημένων κονιδίων των οποίων όμως οι βλαστικές υφές ήταν αποδιοργανωμένες (Πιν. 5).

Ο μύκητας *A. brassicicola* (Ab) προκάλεσε στα απλήγωτα φύλλα φυτών τομάτας νέκρωση των κυττάρων, ενώ τα βλαστημένα κονιδιά του σχημάτιζαν μακριές βλαστικές υφές (Πιν. 5). Διαπιστώθηκε επίσης σχηματισμός απρεσσορίων από τις βλαστικές υφές, κυρίως στις περιοχές που υπήρχαν μεγάλες νεκρωτικές κηλίδες (διαμέτρου >2mm), ενώ στους ιστούς που προέρχονταν από τις περιοχές μικρών κηλίδων (διαμέτρου <1mm), οι βλαστικές υφές ήταν κοντές και δεν διαπιστώθηκε σχηματισμός απρεσσορίων. Στους φυτικούς ιστούς που προέρχονταν από τα πληγωμένα φύλλα φυτών τομάτας παρατηρήθηκε νέκρωση κυττάρων, βλάστηση κονιδίων με σχηματισμό μακρών βλαστικών υφών και δημιουργία απρεσσορίων (Πιν. 5). Στους φυτικούς ιστούς καρπουζιάς που είχαν μολυνθεί με το μύκητα *A. brassicicola* και προέρχονταν από απλήγωτα φύλλα, παρατηρήθηκε ύπαρξη βλαστημένων κονιδίων αν και οι βλαστικές υφές ήταν αποδιοργανωμένες και δεν είχαν εισχωρήσει στους ιστούς (Πιν. 5). Στα πληγωμένα φύλλα φυτών καρπουζιάς, η μικροσκοπική παρατήρηση των ιστών έδειξε νέκρωση κυττάρων και βλάστηση κονιδίων με μακριές βλαστικές υφές (Πιν. 5).

Τέλος στα απλήγωτα και πληγωμένα φυτά λάχανου, τα οποία αν και είχαν μολυνθεί τεχνητά με τους μύκητες *A. solani*, *A. brassicicola* και *A. cucumerina* δεν εμφάνισαν συμπτώματα προσβολής, έγιναν μικροσκοπικές παρατηρήσεις που έδειξαν ότι πάνω στους φυτικούς αυτούς ιστούς δεν υπήρχαν κονιδία των αντίστοιχων μυκήτων.

Στις μικροσκοπικές παρατηρήσεις που έγιναν στους απλήγωτους και πληγωμένους φυτικούς ιστούς πιπεριάς, οι οποίοι είχαν μολυνθεί με το μύκητα *A. alternata* από πιπεριά, διαπιστώθηκε παρουσία βλαστημένων κονιδίων με μακριές βλαστικές υφές και σχηματισμός ελάχιστων απρεσσορίων (Πιν. 5). Στους απλήγωτους φυτικούς ιστούς από φύλλα πεπονιού, οι οποίοι είχαν μολυνθεί με το μύκητα *A. alternata* από πιπεριά, διαπιστώθηκε ότι τα βλαστημένα κονιδία είχαν σχηματίσει μακριές

βλαστικές υφές και απρεσσόρια, ενώ στους πληγωμένους φυτικούς ιστούς παρατηρήθηκε και νέκρωση κυττάρων (Πιν. 5).

Τα αποτελέσματα των μικροσκοπικών παρατηρήσεων στα απλήγωτα και πληγωμένα φύλλα φυτών μαρουλιού που είχαν μολυνθεί με το μύκητα *A. alternata* από πιπεριά, έδειξαν την παρουσία βλαστημένων κονιδίων με μακριές βλαστικές υφές καθώς και το σχηματισμό ελάχιστων απρεσσορίων με απ' ευθείας διάτρηση του ξενιστή από τις βλαστικές υφές (Πιν. 5).

Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις των φυτικών ιστών από φύλλα φυτών πιπεριάς που είχαν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *A. alternata* από μαρούλι έδειξαν ότι στους απλήγωτους φυτικούς ιστούς τα κονίδια του μύκητα βλάστησαν και σχημάτισαν μακριές βλαστικές υφές, ενώ στα πληγωμένα φύλλα των φυτών παρατηρήθηκαν βλαστημένα κονίδια με μακριές βλαστικές υφές, σχηματισμός απρεσσορίων και παραγωγή νέων κονιδιοφόρων με κονίδια κοντά στη περιοχή των πληγών (Πιν. 5).

Στους απλήγωτους φυτικούς ιστούς πεπονιού οι οποίοι είχαν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *A. alternata* από μαρούλι παρατηρήθηκαν βλαστημένα κονίδια με μακριές βλαστικές υφές, νέκρωση κυττάρων και σχηματισμός απρεσσορίων (Πιν. 5). Στους πληγωμένους φυτικούς ιστούς αυτών των φυτών διαπιστώθηκαν βλαστημένα κονίδια με πολύ μακριές βλαστικές υφές και εποικισμός των φυτικών ιστών με το μυκήλιο του μύκητα αλλά μόνο γύρω από την περιοχή των πληγών (Πιν. 5).

Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις που έγιναν στους απλήγωτους φυτικούς ιστούς φυτών μαρουλιού που είχαν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *A. alternata* από μαρούλι έδειξαν βλάστηση κονιδίων με το σχηματισμό πολύ μακριών βλαστικών υφών καθώς και νέκρωση των κυττάρων του ξενιστή (Πιν. 5). Ομοίως οι παρατηρήσεις από τα πληγωμένα φύλλα έδειξαν την παρουσία βλαστημένων κονιδίων με μακριές βλαστικές υφές καθώς και το σχηματισμό λίγων απρεσσορίων. Επίσης διαπιστώθηκε σχηματισμός νέων κονιδιοφόρων απ' ευθείας από τις βλαστικές υφές με παραγωγή νέων κονιδίων. Επιπλέον διαπιστώθηκε παρουσία ενδοκυττάρου μυκηλίου κοντά στην περιοχή των πληγών (Πιν. 5).

Όσον αφορά τους απλήγωτους φυτικούς ιστούς φύλλων πιπεριάς, οι οποίοι είχαν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *A. alternata* από πεπόνι, οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις που έγιναν έδειξαν την παρουσία βλαστημένων κονιδίων με κοντές βλαστικές υφές, ενώ δε διαπιστώθηκε νέκρωση κυττάρων του ξενιστή ή

σχηματισμός απρεσορίων (Πιν. 5). Αντίθετα, στους πληγωμένους φυτικούς ιστούς φύλλων πιπεριάς τα βλαστημένα κονίδια του μύκητα σχημάτιζαν μακριές βλαστικές υφές, ενώ διαπιστώθηκε και παρουσία ενδοκυττάριου μυκηλίου γύρω από τις πληγές (Πιν. 5).

Τα αποτελέσματα από τις μικροσκοπικές παρατηρήσεις έδειξαν την παρουσία βλαστημένων κονιδίων με κοντές σχετικά βλαστικές υφές, ενώ δεν παρατηρήθηκε νέκρωση κυττάρων ή σχηματισμός απρεσορίων (Πιν. 5). Αντίθετα στους πληγωμένους φυτικούς ιστούς φύλλων πεπονιάς παρατηρήθηκαν βλαστημένα κονίδια του μύκητα με πολύ μακριές βλαστικές υφές, σχηματισμός απρεσορίων καθώς και εποικισμός των φυτικών ιστών γύρω από τις πληγές από το μυκήλιο του μύκητα (Πιν. 5).

Τέλος οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις των απλήγωτων φυτικών ιστών μαρουλιού που μολύνθηκαν τεχνητά με το μύκητα *A. alternata* από πεπόνι, έδειξαν την παρουσία βλαστημένων κονιδίων με σχετικά κοντές βλαστικές υφές καθώς και νέκρωση των κυττάρων δίχως τον σχηματισμό απρεσορίων (Πιν. 5). Στους πληγωμένους φυτικούς ιστούς μαρουλιού διαπιστώθηκε βλάστηση των κονιδίων του μύκητα *A. alternata* από πεπόνι με μακριές βλαστικές υφές και σχηματισμός απρεσορίων. Επιπλέον διαπιστώθηκε σχηματισμός νέων κονιδίων απ' ευθείας από τη βλαστική υφή, παρουσία ενδοκυττάριου μυκηλίου γύρω από τη περιοχή των πληγών και νέκρωση των κυττάρων του ξενιστή ιδίως στα παλαιότερα φύλλα (Πιν. 5).

2.4 Διασταυρωτές μολύνσεις φυλλικών δίσκων τομάτας, καρπουζιού, λάχανου, πεπονιού, μαρουλιού και πιπεριάς με τα είδη *A. solani*, *A. cucumerina*, *A. brassicicola* και *A. alternata*.

2.4.1. Σκοπός του πειράματος

Σκοπός του πειράματος ήταν η μελέτη της παθογένειας των μυκήτων *A. solani*, *A. cucumerina*, *A. brassicicola* και *A. alternata* με διασταυρωτές μολύνσεις φυλλικών δίσκων τομάτας, καρπουζιού, λάχανου, πεπονιού, μαρουλιού και πιπεριάς.

2.4.2. Υλικά και Μέθοδοι

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω είδη φυτών και οι ποικιλίες τους: τομάτα (ποικ. Ace 55VF), καρπούζι (ποικ. Grimson Sweet), λάχανο (ποικ. Marima και ντόπιο Λάρισας), πεπόνι (ποικ. Galia), μαρούλι (ποικ. Romana) και πιπεριά (ποικ. Φλωρίνης).

Η ανάπτυξη των φυτών έγινε σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας $22 \pm 2^\circ\text{C}$, σχετικής υγρασίας 60-70% και φωτισμού (ένταση φωτός $160\mu\text{ Einsteins}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$, φωτοπερίοδος 12 ωρών), μέχρι το στάδιο των 6-8 πλήρως αναπτυγμένων φύλλων, σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.4.)

Για την τεχνητή μόλυνση των φυλλικών δίσκων χρησιμοποιήθηκαν τρεις απομονώσεις του μύκητα *A. solani* (AL 94, AL 95, AL 96), τρεις απομονώσεις του μύκητα *A. cucumerina* (AL 82, AL 98, AL 100), τρεις απομονώσεις του μύκητα *A. brassicicola* (AL 55, AL 124, AL 125) και δύο απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* από μαρούλι (AL 38, AL 39a), δύο απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* από πεπόνι (AL 43a, AL 44a) και δύο απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* από πιπεριά (AL 45a, AL 46a). Όλες οι απομονώσεις προέρχονταν από φυσικά μολυσμένα φυτά, από διάφορες περιοχές της χώρας και διατηρούνταν σε θερμοκρασία 4°C σε μπουκαλάκια McCartney σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.6). Για την παραγωγή μολύσματος από τις παραπάνω απομονώσεις ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφεται στην παράγραφο 2.7. (Γενικά Υλικά και Μέθοδοι). Για κάθε απομόνωση των μυκήτων *A.*

solani, *A. brassicicola* και *A. alternata* χρησιμοποιήθηκαν 12 τριβλία με θρεπτικό υλικό V8 agar, ενώ για το μύκητα *A. cucumerina* χρησιμοποιήθηκαν 12 τριβλία με θρεπτικό υλικό S-medium. Η τελική συγκέντρωση του αιωρήματος κονιδίων της κάθε απομόνωσης υπολογίστηκε με τη βοήθεια αιματοκυττομέτρου σε 5×10^4 κονιδία/ml. Το τελικό αιώρημα των κονιδίων του κάθε μύκητα έγινε με ανάμειξη ίσων όγκων αιωρήματος κονιδίων από την κάθε απομόνωση του μύκητα τελικό

Οι φυλλικοί δίσκοι κόπηκαν από τα φύλλα των φυτών με τη βοήθεια ενός φελλοτρυπητή διαμέτρου 1,7cm εκτός από τα φυτά καρπουζιού που οι φυλλικοί δίσκοι κόπηκαν με φελλοτρυπητή διαμέτρου 0,9 cm λόγω του μικρότερου μεγέθους των φύλλων. Στη συνέχεια σε τριβλία Petri, στη βάση των οποίων είχε τοποθετηθεί υδρόφιλο βαμβάκι και ένα φύλλο διηθητικό χαρτί (Whatman No1) εμποτισμένο με αποστειρωμένο απεσταγμένο νερό, τοποθετήθηκε μια αντικειμενοφόρος με δύο φυλλικούς δίσκους επάνω. Σε κάθε τριβλίο ο ένας από τους δύο φυλλικούς δίσκους πληγώθηκε με τη βοήθεια μιας μικροβιολογικής βελόνας (10 πληγές/δίσκο). Η τεχνητή μόλυνση των φυλλικών δίσκων έγινε με ψεκάσμο της πάνω επιφάνειάς τους με το αιώρημα κονιδίων του κάθε είδους μύκητα. Για κάθε είδος μύκητα χρησιμοποιήθηκαν 4 τριβλία (επαναλήψεις) με δύο φυλλικούς δίσκους από το κάθε φυτικό είδος. Οι φυλλικοί δίσκοι-μάρτυρες ψεκάστηκαν με απεσταγμένο νερό. Στη συνέχεια τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο επώασης, θερμοκρασίας 22°C και σε συνεχές σκοτάδι μέχρι τη λήψη των αποτελεσμάτων. Η λήψη των αποτελεσμάτων έγινε 7 ημέρες μετά τη μόλυνση των φυλλικών δίσκων. Η μικροσκοπική παρατήρηση των φυλλικών δίσκων, που έγινε μετά από χρώση του παρασκευάσματος με Cotton blue σε λακτοφαινόλη (για την παρασκευή, βλέπε Γενικά Υλικά και Μέθοδοι, παράγραφος 2.2), βασίστηκε στην παρουσία ή μη βλαστημένων κονιδίων, το μήκος των βλαστικών υφών, την παρουσία απρεσορίων, τη νέκρωση φυτικών κυττάρων καθώς επίσης και την παραγωγή νέων κονιδιοφόρων και κονιδίων. Επιπλέον έγιναν παρατηρήσεις όσον αφορά τον τρόπο διείσδυσης του μύκητα στους ιστούς του ξενιστή (άμεσα με απ' ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας, έμμεσα μέσω των στοματίων) και τον τυχόν εποικισμό των ιστών του ξενιστή από το μυκήλιο του μύκητα.

2.4.3. Αποτελέσματα.

Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις που έγιναν στους φυλλικούς δίσκους τομάτας (απλήγωτους & πληγωμένους) έδειξαν ότι τα κονίδια του μύκητα *A. solani* βλάστησαν σχηματίζοντας μακριές βλαστικές υφές (Πιν. 6). Επίσης διαπιστώθηκε νέκρωση κυττάρων του ξενιστή και σχηματισμός απρεσσορίων. Η είσοδος του μύκητα στον ξενιστή είχε γίνει κυρίως με απ' ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας του ξενιστή (Πιν. 6).

Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις των απλήγωτων φυλλικών δίσκων καρπουζιού που είχαν μολυνθεί με το μύκητα *A. solani* έδειξαν την ύπαρξη βλαστημένων κονιδίων με μακριές βλαστικές υφές και νέκρωση των κυττάρων (Πιν. 6). Επιπλέον διαπιστώθηκε ύπαρξη νέων κονιδιοφόρων με κονίδια και πλήρης εοικισμός των φυτικών ιστών από το μυκήλιο του μύκητα (ενδοκυττάριο μυκήλιο). Στους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους διαπιστώθηκε επίσης βλάστηση κονιδίων με μακριές βλαστικές υφές, σχηματισμός απρεσσορίων, νέκρωση κυττάρων και σχηματισμός νέων κονιδιοφόρων και κονιδίων (Πιν. 6). Επιπλέον διαπιστώθηκε ότι η είσοδος του μύκητα στον ξενιστή γινόταν με απ' ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας (Πιν. 6).

Όσον αφορά τους απλήγωτους φυλλικούς δίσκους από το λάχανο (ποικ. Μαρίμα) που μολύνθηκαν τεχνητά με το μύκητα *A. solani*, οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις έδειξαν την ύπαρξη βλαστημένων κονιδίων με μακριές βλαστικές υφές (Πιν. 6). Επιπλέον, διαπιστώθηκε νέκρωση κυττάρων και σχηματισμός απρεσσορίων χωρίς όμως την παρουσία ενδοκυτταρίου μυκηλίου (Πιν. 6).

Όσον αφορά τους απλήγωτους φυλλικούς δίσκους λάχανου (ποικ. ντόπιο Λάρισας), οι οποίοι είχαν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *A. solani*, διαπιστώθηκε παρουσία βλαστημένων κονιδίων με μακριές βλαστικές υφές καθώς και νέκρωση κυττάρων (Πιν. 6). Παρατηρήθηκε επίσης σχηματισμός απρεσσορίων και απ' ευθείας είσοδος του μύκητα μέσω της επιδερμίδας του ξενιστή (Πιν. 6). Οι ίδιες παρατηρήσεις διαπιστώθηκαν και για τους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους λάχανου (ποικ. ντόπιο Λάρισας) με επιπλέον την ύπαρξη εσωτερικού μυκηλίου στους φυτικούς ιστούς (Πιν. 6).

Όσον αφορά το μύκητα *A. cucumerina* τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι στους απλήγωτους φυλλικούς δίσκους τομάτας, τα βλαστημένα κονίδια σχημάτιζαν μακριές βλαστικές υφές, ενώ διαπιστώθηκε και νέκρωση κυττάρων (Πιν. 6).

Πίνακας 6. Μικροσκοπικές παρατηρήσεις φυλλικών δίσκων τομάτας, καρπούζιου και λάχανου επτά ημέρες μετά τις διασταυρωτές μολύνσεις τους με τους μύκητες *A. solani* από τομάτα, *A. cucumerina* από καρπούζι και *A. brassicicola* από λάχανο.

ΕΠΕΜΒΑΣΗ*	Βλαστημένα κονίδια	Βλαστικές υφές	Απρεσσόρια	Νέκρωση κυττάρων	Νέα κονίδια	Ενδοκυττάριο μυκήλιο	Παρατηρήσεις
Α. ΔΙΧΩΣ ΠΛΗΓΗ							
As σε τομάτα	+++	+	+	+	+	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος.
As σε καρπούζι	+	+	ΔΠ	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές & ύπαρξη κονιδιοφόρων
As σε λάχανο (ποικ. Marima).	+	+	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές
As σε λάχανο (ποικ. ντόπιο Λάρισας)	+	+	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές Απ' ευθείας είσοδος
Ac σε τομάτα	+	+	ΔΠ	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος
Ac σε καρπούζι	+	+	+	ΔΠ	+	+	Μακριές βλαστικές υφές, είσοδος απ' ευθείας και από στομάτια
Ac σε λάχανο ποικ. Marima).	+	+	ΔΠ	ΔΠ	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές
Ac σε λάχανο (ποικ. ντόπιο Λάρισας)	+	+	ΔΠ	ΔΠ	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές
Ab σε τομάτα	+	+	ΔΠ	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές & νέα κονίδια σε αλυσίδες (4- 8)
Ab σε καρπούζι	+	+	ΔΠ	+	ΔΠ	ΔΠ	Κοντές βλαστικές υφές
Ab σε λάχανο (ποικ. Marima).	+	+	+	+	ΔΠ	+	Κοντές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος
Ab σε λάχανο (ποικ. ντόπιο Λάρισας).	+	+	+	+	ΔΠ	+	Κοντές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος

* As = *A. solani* από τομάτα, Ac = *A. cucumerina* από καρπούζι, Ab = *A. brassicicola* από λάχανο.

**(+): παρουσία, ΔΠ: Δεν παρατηρήθηκε

Πίνακας 6 (συνέχεια). Μικροσκοπικές παρατηρήσεις φυλλικών δίσκων τομάτας, καρπούζιου και λάχανου επτά ημέρες μετά τις διασταυρωτές μολύνσεις τους με τους μύκητες *A. solani* από τομάτα, *A. cucumerina* από καρπούζι και *A. brassicicola* από λάχανο.

ΕΠΕΜΒΑΣΗ*	Βλαστημένα κονίδια	Βλαστικές υφές	Απρεσσορία	Νέκρωση κυττάρων	Νέα κονίδια	Ενδοκυττάριο μυκήλιο	Παρατηρήσεις
B. ΜΕ ΠΛΗΓΗ							
As σε τομάτα	+**	+	+	+	+	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος
As σε καρπούζι	+	+	+	+	+	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές.
As σε λάχανο (ποικ. Μαρίμα).	+	+	+	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές, απ' ευθείας είσοδος και είσοδος από στομάτια
As σε λάχανο (ποικ. ντόπιο Λάρισας).	+	+	+	+	ΔΠ	+	Απ' ευθείας είσοδος
Ac σε τομάτα	+	+	ΔΠ	+	ΔΠ	+	Μακριές βλαστικές υφές
Ac σε καρπούζι	+	+	ΔΠ	+	ΔΠ	+	Μακριές βλαστικές υφές
Ac σε λάχανο (ποικ. Μαρίμα).	+	+	ΔΠ	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές
Ac σε λάχανο (ποικ. ντόπιο Λάρισας).	+	+	ΔΠ	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές
Ab σε τομάτα	+	+	+	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές & νέα κονίδια σε αλυσίδες
Ab σε καρπούζι	+	+	ΔΠ	+	+	+	Νέα κονίδια σε αλυσίδες
Ab σε λάχανο (ποικ. Μαρίμα).	+	+	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Κοντές βλαστικές υφές.
Ab σε λάχανο (ποικ. ντόπιο Λάρισας).	+	+	+	+	+	+	Κοντές βλαστικές υφές, απ' ευθείας είσοδος και είσοδος από στομάτια

* As = *A. solani* από τομάτα, Ac = *A. cucumerina* από καρπούζι, Ab = *A. brassicicola* από λάχανο.

** (+) : παρουσία, ΔΠ : Δεν παρατηρήθηκε. † : Νέκρωση κυττάρων μόνο γύρω από την περιοχή των πληγών.

Η είσοδος στον ξενιστή γινόταν με απ'ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας, ενώ παρατηρήθηκε και σχηματισμός νέων κονιδίων. Ο μύκητας επιπλέον είχε σχηματίσει άφθονο ενδοκυττάριο μυκήλιο. Στους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους τομάτας υπήρχαν βλαστημένα κονίδια του μύκητα *A. cucumerina* με μακριές βλαστικές υφές ενώ διαπιστώθηκε νέκρωση κυττάρων και εποικισμός των ιστών του ξενιστή από το μυκήλιο του μύκητα (Πιν. 6).

Η μόλυνση των απλήγωτων φυλλικών δίσκων καρπουζιού με το μύκητα *A. cucumerina* και οι παρατηρήσεις που έγιναν έδειξαν ότι τα κονίδια του μύκητα βλάστησαν, σχηματίζοντας μακριές βλαστικές υφές και απρεσσόρια (Πιν. 6). Η είσοδος του μύκητα στον ξενιστή γινόταν κυρίως από τα στομάτια των φύλλων και δευτερευόντως με απ'ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας. Επιπλέον παρατηρήθηκε σχηματισμός νέων κονιδιοφόρων και κονιδίων καθώς και παρουσία ενδοκυτταρίου μυκηλίου. Στους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους καρπουζιού παρατηρήθηκαν βλαστημένα κονίδια με μακριές βλαστικές υφές όπως και νεκρά κύτταρα (Πιν. 6). Τέλος διαπιστώθηκε ότι οι φυτικοί ιστοί του ξενιστή είχαν εποικιστεί από το μυκήλιο του μύκητα (Πιν. 6).

Στους απλήγωτους και πληγωμένους φυλλικούς δίσκους λάχανου (ποικ. Μαρίμα), οι οποίοι είχαν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *A. cucumerina* παρατηρήθηκε ότι τα βλαστημένα κονίδια σχημάτιζαν μακριές βλαστικές υφές, ενώ διαπιστώθηκε και νέκρωση κυττάρων μόνο όμως γύρω από τη περιοχή των πληγών (Πιν. 6). Τέλος στους απλήγωτους φυλλικούς δίσκους του λάχανου (ποικ. ντόπιο Λάρισας) διαπιστώθηκε ότι τα βλαστημένα κονίδια του μύκητα *A. cucumerina* σχημάτιζαν μακριές σχετικά βλαστικές υφές δίχως νέκρωση κυττάρων, ενώ στους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους τα βλαστημένα κονίδια του μύκητα είχαν προκαλέσει και νέκρωση κυττάρων (Πιν. 6).

Στους φυλλικούς δίσκους τομάτας (απλήγωτους και πληγωμένους) που είχαν μολυνθεί με το μύκητα *A. brassicicola* οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις έδειξαν παρουσία βλαστημένων κονιδίων με μακριές βλαστικές υφές και νέκρωση κυττάρων (Πιν. 6). Επιπλέον ο μύκητας *A. brassicicola* σχημάτισε νέους κονιδιοφόρους και κονίδια σε αλυσίδες των 4-8 κονιδίων πάνω στους μολυσμένους φυτικούς ιστούς. Επίσης παρατηρήθηκε εποικισμός των φυτικών ιστών από το μυκήλιο του μύκητα καθώς και σχηματισμός απρεσσορίων τα οποία παρατηρήθηκαν με δυσκολία και μόνο στους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους (Πιν. 6).

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν επιπλέον ότι στους απλήγωτους φυλλικούς δίσκους καρπουζιού, οι οποίοι είχαν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *A. brassicicola*, ελάχιστα από τα κονίδια του μύκητα είχαν βλαστήσει πάνω στους φυτικούς ιστούς με κοντές βλαστικές υφές, ενώ παρατηρήθηκε νέκρωση κυττάρων (Πιν. 6). Στους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους καρπουζιού διαπιστώθηκε ότι τα κονίδια του μύκητα είχαν επίσης βλαστήσει με κοντές βλαστικές υφές (Πιν. 6). Επιπλέον διαπιστώθηκε νέκρωση κυττάρων, σχηματισμός νέων κονιδίων σε αλυσίδες και εποικισμός των μολυσμένων φυτικών ιστών από το μυκήλιο του μύκητα.

Στους απλήγωτους φυλλικούς δίσκους του λάχανου (ποικ. Μαρίμα), που μολύνθηκαν τεχνητά με το μύκητα *A. brassicicola*, διαπιστώθηκε ότι οι βλαστικές υφές που σχηματίζονταν από τα βλαστημένα κονίδια του μύκητα ήταν σχετικά κοντές (Πιν. 6). Επίσης παρατηρήθηκε νέκρωση κυττάρων και σχηματισμός απρεσσορίων. Στις περισσότερες περιπτώσεις η είσοδος του μύκητα στους ιστούς του ξενιστή γινόταν με απ' ευθείας διάτρηση, ενώ υπήρχε και ενδοκυττάριο μυκήλιο (Πιν. 6). Όσον αφορά τους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους λάχανου (ποικ. Μαρίμα) τα βλαστημένα κονίδια του μύκητα *A. brassicicola* σχημάτιζαν κοντές βλαστικές υφές, ενώ διαπιστώθηκε και σχηματισμός απρεσσορίων. Ο μύκητας είχε νεκρώσει τα κύτταρα του ξενιστή, χωρίς όμως να παρατηρηθεί ύπαρξη ενδοκυττάριου μυκηλίου (Πιν. 6).

Στους απλήγωτους φυλλικούς δίσκους του λάχανου (ποικ. ντόπιο Λάρισας), οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις που έγιναν, έδειξαν την ύπαρξη βλαστημένων κονιδίων με κοντές βλαστικές υφές και νέκρωση των κυττάρων του ξενιστή. Διαπιστώθηκε επίσης σχηματισμός απρεσσορίων και είσοδος του μύκητα με απ' ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας του ξενιστή. Επίσης παρατηρήθηκε παρουσία ενδοκυττάριου μυκηλίου στους ιστούς του ξενιστή. Στους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους του λάχανου (ποικ. ντόπιο Λάρισας) παρατηρήθηκε βλάστηση των κονιδίων με κοντές βλαστικές υφές και νέκρωση κυττάρων, σχηματισμός απρεσσορίων και είσοδος του μύκητα τόσο με απ' ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας του ξενιστή όσο και μέσω στοματίων. Επιπλέον, διαπιστώθηκε σχηματισμός νέων κονιδιοφόρων και κονιδίων, ενώ το μυκήλιο του μύκητα είχε εποικήσει τους φυτικούς ιστούς του ξενιστή (Πιν. 6).

Όσον αφορά το μύκητα *A. alternata* από πεπεριά (Αα-Πι), τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι τα κονιδιά του βλάστησαν με πολύ μακριές βλαστικές υφές τόσο στους απλήγωτους όσο και στους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους φυτών μαρουλιού (Πιν. 7). Επιπλέον διαπιστώθηκε ότι ο μύκητας προκάλεσε νέκρωση των κυττάρων του ξενιστή.

Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις έδειξαν επίσης την ύπαρξη νέων κονιδίων σε κοντές αλυσίδες των 2-3 κονιδίων καθώς και είσοδο του μύκητα κυρίως μέσω των στοματίων του ξενιστή (Πιν. 7)

Στους απλήγωτους φυλλικούς δίσκους πεπονιού διαπιστώθηκε ότι τα κονίδια του μύκητα *A. alternata* από πιπεριά (Aa-Πι) είχαν βλαστήσει και σχηματίσει σχετικά μακριές βλαστικές υφές καθώς και απρεσσόρια, ενώ δεν παρατηρήθηκε νέκρωση κυττάρων του ξενιστή (Πιν. 7). Στους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους αυτών των φυτών παρατηρήθηκε βλάστηση κονιδίων με σχετικά μακριές βλαστικές υφές, σχηματισμός απρεσσορίων και απ' ευθείας είσοδος του μύκητα στους ιστούς του ξενιστή (Πιν. 7).

Τα αποτελέσματα των μικροσκοπικών παρατηρήσεων του πειράματος έδειξαν ότι στους απλήγωτους και πληγωμένους φυλλικούς δίσκους πιπεριάς, οι οποίοι είχαν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *A. alternata* από πιπεριά (Aa-Πι) παρατηρήθηκαν βλαστημένα κονίδια με σχετικά μακριές βλαστικές υφές και σχηματισμός απρεσσορίων. Επίσης διαπιστώθηκε νέκρωση κυττάρων και είσοδος του μύκητα τόσο με απ' ευθείας διάτρηση όσο και μέσω στοματίων (Πιν. 7).

Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις των απλήγωτων και πληγωμένων φυλλικών δίσκων μαρουλιού τεχνητά μολυσμένων με το μύκητα *A. alternata* από μαρούλι (Aa-M) έδειξαν ότι τα κονίδια του μύκητα βλάστησαν σχηματίζοντας μακριές βλαστικές υφές καθώς και απρεσσόρια. Επίσης παρατηρήθηκε νέκρωση των κυττάρων του ξενιστή καθώς και σχηματισμός νέων κονιδιοφόρων και κονιδίων σε αλυσίδες (Πιν. 7). Η είσοδος του μύκητα στον ξενιστή γινόταν τόσο με απ' ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας όσο και μέσω στοματίων (Πιν. 7).

Στους απλήγωτους και πληγωμένους φυλλικούς δίσκους πεπονιού, οι οποίοι είχαν μολυνθεί με το μύκητα *A. alternata* από μαρούλι (Aa-M), παρατηρήθηκε ότι τα κονίδια του μύκητα βλάστησαν και σχημάτισαν μακριές βλαστικές υφές και απρεσσόρια χωρίς ταυτόχρονη νέκρωση των κυττάρων του ξενιστή (Πιν. 7).

Όσον αφορά τους απλήγωτους και πληγωμένους φυλλικούς δίσκους πιπεριάς, που μολύνθηκαν τεχνητά με το μύκητα *A. alternata* από μαρούλι (Aa-M) διαπιστώθηκε η παρουσία βλαστημένων κονιδίων με πολύ μακριές βλαστικές υφές

Πίνακας 7. Μικροσκοπικές παρατηρήσεις φυλλικών δίσκων μαρουλιού, πεπονιού και πιπεριάς επτά ημέρες μετά τις διασταυρωτές μολύνσεις τους με τους μύκητες *A. alternata* από μαρούλι, *A. alternata* από πεπόνι και *A. alternata* από πιπεριά.

ΕΠΕΜΒΑΣΗ*	Βλαστημένα κονίδια	Βλαστικές υφές	Απρεσσόρια	Νέκρωση κυττάρων	Νέα κονίδια	Παρατηρήσεις
Α. ΔΙΧΩΣ ΠΛΗΓΗ						
Αα-Πι σε Μαρούλι	***	+	ΔΠ	+	+	Μακριές βλαστικές υφές & νέα κονίδια σε αλυσίδες 2-3 κονιδίων. Είσοδος κυρίως από στομάτια.
Αα-Πι σε Πεπόνι	+	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές.
Αα-Πι σε Πιπεριά	+	+	+	+	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος κυρίως.
Αα-Μ- σε Μαρούλι	+	+	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές & νέα κονίδια σε αλυσίδες. Απ' ευθείας είσοδος κυρίως.
Αα-Μ σε Πεπόνι	+	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές.
Αα-Μ σε Πιπεριά	+	+	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές & κονιδιοφόροι με νέα κονίδια. Απ' ευθείας είσοδος κυρίως.
Αα-Π σε Μαρούλι	+	+	+	+	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές. Απ' ευθείας είσοδος κυρίως.
Αα-Π σε Πεπόνι	+	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές.
Αα-Π σε Πιπεριά	+	+	+	+	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος κυρίως.

* Αα-Πι = *A.alternata* από πιπεριά, Αα-Μ= *A. alternata* από μαρούλι, Αα-Π = *A. alternata* από πεπόνι.

** (+) : παρουσία, ΔΠ: Δεν παρατηρήθηκε.

Πίνακας 7 (συνέχεια). Μικροσκοπικές παρατηρήσεις φυλλικών δίσκων μαρουλιού, πεπονιού και πιπεριάς επτά ημέρες μετά τις διασταυρωτές μολύνσεις τους με τους μύκητες *A. alternata* από μαρούλι, *A. alternata* από πεπόνι και *A. alternata* από πιπεριά.

ΕΠΕΜΒΑΣΗ*	Βλαστημένα κονίδια	Βλαστικές υφές	Απρεσσόρια	Νέκρωση κυττάρων	Νέα κονίδια	Παρατηρήσεις
Β. ΜΕ ΠΛΗΓΗ						
Αα-Πι σε Μαρούλι	+++	+	ΔΠ	+	+	Μακριές βλαστικές υφές & νέα κονίδια σε αλυσίδες 2-3 κονιδίων. Είσοδος κυρίως από στομάτια.
Αα-Πι σε Πεπόνι	+	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος.
Αα-Πι σε Πιπεριά	+	+	+	+	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος κυρίως.
Αα-Μ σε Μαρούλι	+	+	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές & νέα κονίδια σε αλυσίδες. Απ' ευθείας είσοδος κυρίως.
Αα-Μ σε Πεπόνι	+	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές.
Αα-Μ σε Πιπεριά	+	+	+	+	+	Μακριές βλαστικές υφές & κονιδιοφόροι με νέα κονίδια. Απ' ευθείας είσοδος.
Αα-Π σε Μαρούλι	+	+	+	+	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος.
Αα-Π σε Πεπόνι	+	+	+	ΔΠ	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές.
Αα-Π σε Πιπεριά	+	+	+	+	ΔΠ	Μακριές βλαστικές υφές & απ' ευθείας είσοδος κυρίως.

* Αα-Πι = *A. alternata* από πιπεριά, Αα-Μ = *A. alternata* από μαρούλι, Αα-Π = *A. alternata* από πεπόνι.

** (+) : παρουσία, ΔΠ: Δεν παρατηρήθηκε.

καθώς και απρεσσορίων. Επίσης παρατηρήθηκε νέκρωση κυττάρων και είσοδος του μύκητα στον ξενιστή κυρίως με απ' ευθείας διάτρηση και δευτερευόντως μέσω στοματίων. Επιπλέον διαπιστώθηκε σχηματισμός λίγων νέων κονιδιοφόρων με κονίδια (Πιν. 7).

Στους απλήγωτους και πληγωμένους φυλλικούς δίσκους μαρουλιού που μολύνθηκαν τεχνητά με το μύκητα *A. alternata* από πεπόνι (Αα-Π), παρατηρήθηκαν βλαστημένα κονίδια με μακριές βλαστικές υφές (Πιν. 7). Επίσης οι παρατηρήσεις έδειξαν σχηματισμό απρεσσορίων καθώς και νέκρωση κυττάρων του ξενιστή. Η είσοδος του μύκητα στον ξενιστή γινόταν τόσο με απ' ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας όσο και μέσω στοματίων (Πιν. 7).

Στους φυλλικούς δίσκους πεπονιού (απλήγωτους και πληγωμένους), οι παρατηρήσεις έδειξαν ότι τα κονίδια του μύκητα *A. alternata* από πεπόνι (Αα-Π) βλάστησαν με μακριές βλαστικές υφές ενώ διαπιστώθηκε και σχηματισμός απρεσσορίων. Ο μύκητας δεν προκάλεσε νέκρωση των κυττάρων του ξενιστή (Πιν. 7).

Τέλος στους φυλλικούς δίσκους πιπεριάς (απλήγωτους και πληγωμένους), οι οποίοι είχαν μολυνθεί με το μύκητα *A. alternata* από πεπόνι (Αα-Π), διαπιστώθηκε η παρουσία βλαστημένων κονιδίων με σχετικά μακριές βλαστικές υφές. Επίσης διαπιστώθηκε σχηματισμός απρεσσορίων καθώς και νέκρωση των κυττάρων του ξενιστή. Η είσοδος του μύκητα στο ξενιστή, γινόταν κυρίως με απ' ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας και σε μικρότερο βαθμό από τα στομάτια (Πιν. 7).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.5. Συζήτηση-Συμπεράσματα

Η παρούσα μελέτη έδειξε για πρώτη φορά διεθνώς ότι οι μύκητες *Alternaria solani*, *A. cucumerina*, *A. brassicicola* και *A. alternata*, εκτός από τα φυτά-ξενιστές τους, μολύνουν και άλλα είδη καλλιεργούμενων κηπευτικών με ή χωρίς την παρουσία συμπτωμάτων. *In vitro* πειράματα έδειξαν ότι οι παραπάνω μύκητες διαφέρουν μεταξύ τους τόσο στους καλλιεργητικούς όσο και στους μορφολογικούς χαρακτήρες τους. Η παρούσα μελέτη έδειξε επίσης ότι διαφορές στους καλλιεργητικούς και μορφολογικούς χαρακτήρες υπάρχουν ακόμα και μεταξύ διαφορετικών απομονώσεων του ίδιου είδους ανάλογα με την προέλευση των απομονώσεων.

2.5.1. Μορφολογία αποικιών

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης όσον αφορά τη μορφολογία των αποικιών των μυκήτων *A. solani*, *A. brassicicola*, *A. cucumerina* και *A. alternata*, διαπιστώθηκε ότι σε θρεπτικό υλικό V-8 agar και ύστερα από επώαση των καλλιεργειών για επτά ημέρες σε θερμοκρασία 21°C και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV light/12h σκότος), υπήρχαν διαφορές ανάλογα με το είδος του μύκητα και σε μερικές περιπτώσεις ανάλογα με τον ξενιστή από τον οποίον προήλθαν.

Όλες οι απομονώσεις του μύκητα *A. solani* σχημάτισαν αποικίες μελανού χρώματος, με έρπον και ομοιόμορφα αναπτυγμένο μυκήλιο χωρίς την παρουσία τομέων διαφορετικού χρώματος. Παρόμοια είναι και τα στοιχεία της διεθνούς βιβλιογραφίας, τα οποία όμως αναφέρουν για τον ίδιο μύκητα, ότι σχηματίζει αποικίες χρώματος γκριζοκαστανού έως μελανού, αλλά χωρίς να γίνεται λόγος για το είδος του θρεπτικού υλικού (Ellis & Gibson, 1975).

Στις καλλιέργειες του μύκητα *A. brassicicola* διαπιστώθηκε ανομοιομορφία ανάλογα με την απομόνωση. Ορισμένες απομονώσεις εμφάνισαν αποικίες χρώματος μελανού, με έρπον και ομοιόμορφα αναπτυγμένο μυκήλιο, ενώ άλλες απομονώσεις εμφάνισαν αποικίες χρώματος ανοιχτού γκριζου, με εναέριο μυκήλιο και με το κέντρο της αποικίας να είναι σκούρου μελανού χρώματος. Αντίθετα ο Ellis (1968) αναφέρει ότι οι αποικίες του μύκητα *A. brassicicola*, έχουν χρώμα λαδί έως σκούρο μελανό, με βελούδινη εμφάνιση και βυθισμένο στο υλικό μυκήλιο. Οι διαφορές αυτές πιθανόν να οφείλονται στις διαφορετικές συνθήκες επώασης ή στο διαφορετικό θρεπτικό υλικό ανάπτυξης αν και ο Ellis (1968) δεν αναφέρει στοιχεία για τις συνθήκες επώασης και το είδος του θρεπτικού υλικού.

Παρόμοια, στο μύκητα *A. cucumerina* διαπιστώθηκε επίσης ανομοιομορφία μεταξύ των απομονώσεων. Υπήρξαν απομονώσεις που σχημάτιζαν αποικίες χρώματος σκούρου μελανού, με έρπον και ομοιόμορφα αναπτυγμένο μυκήλιο, ενώ υπήρξαν και απομονώσεις που σχημάτιζαν αποικίες χρώματος γκριζου, με εναέριο μυκήλιο. Δυστυχώς στη διεθνή βιβλιογραφία δεν βρέθηκαν στοιχεία, που να αφορούν τη μορφολογία των αποικιών του μύκητα *A. cucumerina*.

Τέλος όσον αφορά τις απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* παρατηρήθηκε ανομοιομορφία στη μορφολογία τους και ειδικά μεταξύ απομονώσεων που προέρχονταν από διαφορετικούς ξενιστές. Πιο συγκεκριμένα ορισμένες από τις απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* που προέρχονταν από φυσικά μολυσμένα φυτά πεπονιού, σχημάτιζαν αποικίες χρώματος σκούρου μελανού, με έρπον και ομοιόμορφα αναπτυγμένο μυκήλιο, ενώ σε ορισμένες άλλες απομονώσεις διαπιστώθηκε ότι οι αποικίες ήταν χρώματος γκριζου, με ελαφρώς εναέριο αλλά ομοιόμορφα αναπτυγμένο μυκήλιο. Οι απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* που προέρχονταν από φυτά μαρουλιού, διαπιστώθηκε ότι σε ορισμένες περιπτώσεις σχημάτιζαν αποικίες γκριζου χρώματος, με εναέριο μυκήλιο και παρουσία μελανών τομέων. Σε άλλες περιπτώσεις όμως σχημάτιζαν αποικίες γκριζου χρώματος με σκούρο μελανό κέντρο και ελαφρώς εναέριο μυκήλιο. Τέλος όσον αφορά τις απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* από φυτά πιπεριάς διαπιστώθηκε ότι ορισμένες απομονώσεις σχημάτιζαν αποικίες γκριζου χρώματος, με σκούρο μελανό κέντρο και ελαφρώς εναέριο μυκήλιο. Υπήρχαν όμως και απομονώσεις που σχημάτιζαν αποικίες χρώματος γκριζου έως γκριζομελανού, με εναέριο μυκήλιο και ομοιόμορφη ανάπτυξη. Σύμφωνα με τον Simmons (1992), ο μύκητας *A. alternata* σχηματίζει αποικίες γκριζου έως σκούρου μελανού ή και μαύρου χρώματος, με έρπον μυκήλιο, το οποίο έχει βελούδινη όψη.

2.5.2. Μορφολογία κονιδίων

α) Όσον αφορά τη μορφολογία των κονιδίων, διαπιστώθηκε με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ότι από τα τέσσερα είδη μυκήτων του γένους *Alternaria* που μελετήθηκαν, ο μύκητας *A. solani* είχε κονίδια με το μεγαλύτερο μήκος κυρίως σώματος (μέση τιμή 101,88μm) (Πιν. 8). Οι μύκητες *A. brassicicola* και *A. alternata* είχαν τα μικρότερα ως προς το μήκος του κυρίως σώματος κονίδια (μέσες τιμές 26,37 και 28,5μm, αντίστοιχα) (Πιν. 9) και ο μύκητας *A. cucumerina* είχε ενδιάμεσο μέσο μήκος κυρίως σώματος (59,69μm) (Πιν.10).

Στοιχεία στη διεθνή βιβλιογραφία που να αναφέρονται στο μήκος του κυρίως σώματος για τους μύκητες *A. solani* και *A. brassicicola* δεν βρέθηκαν, ενώ για το μύκητα *A. cucumerina* αναφέρεται από τον Jackson (1958), ότι η ελάχιστη και μέγιστη (min-max) τιμή του κυρίως σώματος των κονιδίων που σχηματίζονται πάνω στον ξενιστή είναι 57-87μm (Πιν. 10). Η τιμή αυτή είναι παρόμοια με την ελάχιστη και μέγιστη τιμή που διαπιστώθηκε στην παρούσα μελέτη (30-92,5μm) (Πιν. 10). Επίσης ο Simmons (1992), αναφέρει ότι για το μύκητα *A. alternata* το μήκος του κυρίως σώματος είναι 30,9μm, χωρίς όμως να αναφέρει το θρεπτικό υλικό, ενώ ο Neergaard (1945), αναφέρει ότι το μήκος του κυρίως σώματος των κονιδίων του ίδιου μύκητα είναι 25,7μm (Πιν. 11). Οι Vakalounakis & Malathrakis αναφέρουν ότι το μήκος του κυρίως σώματος των κονιδίων του μύκητα *A. alternata* σε PDA είναι 20,1μm (μέση τιμή), ενώ σε πεπόνι είναι 38,4μm (μέση τιμή). Τέλος ο Neergaard (1945) αναφέρει ότι σε θρεπτικό υλικό 5% Malt agar το μήκος του κυρίως σώματος των κονιδίων του μύκητα *A. alternata* είναι 26,3μm και στον ξενιστή 31,7μm (μέση τιμή) (Πιν. 11).

β) Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, όσον αφορά το πλάτος του κυρίως σώματος έδειξαν ότι το μεγαλύτερο πλάτος κυρίως σώματος το είχαν τα κονίδια του μύκητα *A. cucumerina* (31,94μm) (Πιν. 10). Ο μύκητας *A. solani* είχε πλάτος κυρίου σώματος 27,25μm (μέση τιμή) (Πιν.8), ο μύκητας *A. brassicicola* είχε 12,81μm (μέση τιμή) (Πιν. 9) ενώ η αντίστοιχη τιμή για το μύκητα *A. alternata* κυμαινόταν από 12,56-14,94μm ανάλογα με την προέλευση των απομονώσεων (Πιν. 11). Ο Joly (1964) αναφέρει ότι το πλάτος του κυρίως σώματος των κονιδίων του μύκητα *A. solani* σε 5% Malt agar είναι 19,3μm (μέση τιμή), ενώ ο Ellis (1975) αναφέρει μόνο την ελάχιστη και μέγιστη (min-max) τιμή η οποία είναι 15-19μm (Πιν. 8). Στοιχεία για το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποίησε ο Ellis (1975) δεν αναφέρονται. Όσον αφορά το μύκητα *A. cucumerina*, ο Joly (1964) αναφέρει ότι το πλάτος του κυρίως σώματος των κονιδίων του σε 5% Malt agar είναι 21,3μm (μέση τιμή), ενώ οι Ellis & Holliday (1970) αναφέρουν ότι είναι 10μm (Πιν. 10). Τέλος, ο Jackson (1958) αναφέρει ότι η ελάχιστη και μέγιστη τιμή του πλάτους του κυρίως σώματος του ίδιου μύκητα είναι 18 και 21μm αντίστοιχα(Πιν. 10).

Διαφορές υπήρξαν και στα στοιχεία που αναφέρονται στη Διεθνή Βιβλιογραφία για το πλάτος του κυρίως σώματος των κονιδίων του μύκητα *A. alternata*. Πιο συγκεκριμένα ο Joly (1964) αναφέρει ότι σε θρεπτικό υλικό 5% Malt agar το πλάτος του κυρίως σώματος των κονιδίων είναι 12,2μm, ενώ ο Neergaard

(1945) στο ίδιο θρεπτικό υλικό υποστηρίζει ότι είναι 10,7μm (μέση τιμή) (Πιν. 11). Μία ακόμα τιμή για το πλάτος του κυρίως σώματος του μύκητα *A. alternata* δίνεται από τον Simmons (1967), ο οποίος αναφέρει ότι είναι 12,6μm (μέση τιμή), ενώ οι Groves & Skolko (1944), αναφέρουν ότι η ελάχιστη και μέγιστη (min-max) είναι τιμή 10 και 16μm (μέση τιμή) αντίστοιχα, η οποία όμως δεν διαφέρει σημαντικά από την ελάχιστη και μέγιστη τιμή (min-max) της παρούσας μελέτης (10-20μm) (Πιν. 11). Οι Vakalounakis & Malathrakis διαπίστωσαν ότι σε PDA και σε φυτά πεπονιού το πλάτος του κυρίως σώματος των κονιδίων του παραπάνω μύκητα είναι 9,7μm και 14,6μm (μέσες τιμές) αντίστοιχα. Τέλος ο Neergaard (1945) διαπίστωσε ότι το πλάτος του σώματος των κονιδίων του μύκητα *A. alternata* που σχηματίζονται πάνω σε φυτά είναι 12,1μm (μέση τιμή) (Πιν. 11).

γ) Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν επίσης ότι τα κονίδια του μύκητα *A. solani* είχαν το μεγαλύτερο ράμφος (μέση τιμή 190,88μm) (Πιν. 8). Ακολουθεί ο μύκητας *A. cucumerina* με μήκος ράμφους 97,06μm (μέση τιμή) (Πιν. 9) και οι μύκητες *A. brassicicola* και *A. alternata* που είχαν τα μικρότερα σε μήκος ράμφη (6,13μm και 5,6-6,56μm αντίστοιχα) (Πιν. 9 & 11). Ο Joly (1964) αναφέρει ότι το ράμφος των κονιδίων του μύκητα *A. solani* είναι 79,4μm (Πιν. 8), ενώ του μύκητα *A. cucumerina* σε θρεπτικό υλικό 5% Malt agar 68μm (μέση τιμή). Ο Jackson (1958) διαπίστωσε ελάχιστη και μέγιστη τιμή (min-max) μήκους ράμφους κονιδίων για το μύκητα *A. cucumerina* 106 και 135μm αντίστοιχα (Πιν. 10). Στοιχεία για το μήκος του ράμφους των κονιδίων του μύκητα *A. brassicicola* δεν αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία. Ο Simmons (1967) αναφέρει για το μύκητα *A. alternata* το μήκος του ράμφους των κονιδίων του είναι 2,5μm, ενώ ο Joly υποστηρίζει ότι είναι 3,7μm (μέση τιμή) σε 5% Malt agar (Πιν. 11). Στοιχεία για το μήκος ράμφους των κονιδίων του μύκητα *A. alternata* υπάρχουν και από τον Neergaard (1945) που αναφέρει ότι σε 5% Malt agar μέση τιμή είναι 5,6μm, ενώ σε άγνωστο θρεπτικό υλικό ο ίδιος ερευνητής αναφέρει μόνο την ελάχιστη και μέγιστη τιμή (min-max) που είναι 1 και 58μm αντίστοιχα, ενώ σε φυτικό ξενιστή ο ίδιος μύκητας έχει κονίδια με μήκος ράμφους 4,0μm (μέση τιμή). Τέλος, οι Vakalounakis & Malathrakis αναφέρουν για το μύκητα *A. alternata* ότι το μήκος του ράμφους των κονιδίων του σε PDA είναι 5,1μm (μέση τιμή), ενώ σε πεπόνι είναι 6,3μm (μέση τιμή) (Πιν. 11).

δ) Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, όσον αφορά το συνολικό μήκος σώματος του κονιδίου, διαπιστώθηκε ότι ο μύκητας *A. solani* είχε συνολικό μήκος κονιδίου 292,25μm (μέση τιμή) (Πιν. 8) και ήταν το μεγαλύτερο σε

σχέση με τα υπόλοιπα είδη μυκήτων του γένους *Alternaria* που μελετήθηκαν. Ο μύκητας *A. brassicicola* είχε συνολικό μήκος κονιδίου 32,96μm (μέση τιμή) και ο μύκητας *A. cucumerina* είχε 159,25μm, ενώ του μύκητα *A. alternata* το συνολικό μήκος των κονιδίων, κυμαινόταν από 30,0-35,06μm ανάλογα με την προέλευση της απομόνωσης (Πιν. 9, 10 & 11). Διαφορές υπάρχουν μεταξύ των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης και των στοιχείων της βιβλιογραφίας όσον αφορά το συνολικό μήκος των κονιδίων. Πιο αναλυτικά, για το μύκητα *A. solani* ο Joly (1964) αναφέρει ότι σε θρεπτικό υλικό 5% Malt agar τα κονιδιά του έχουν συνολικό μήκος 132,8μm (μέση τιμή). Ο Ellis (1975), υποστηρίζει ότι η ελάχιστη και μέγιστη (min-max) τιμή μήκους των κονιδίων του ίδιου μύκητα είναι 150 και 300μm αντίστοιχα, ενώ στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι οι αντίστοιχες τιμές είναι 220 και 340μm (Πιν. 8). Για το μύκητα *A. brassicicola* ο Joly (1964) αναφέρει ότι το συνολικό μήκος των κονιδίων του σε θρεπτικό υλικό 5% Malt agar είναι 21,9μm, ενώ και εδώ τα αποτελέσματα του Ellis (1975) αναφέρουν μόνο την ελάχιστη και μέγιστη τιμή, η οποία είναι 18 και 130μm αντίστοιχα, ενώ οι αντίστοιχες τιμές της παρούσας μελέτης είναι 20-47,5μm (Πιν. 9). Ο Joly (1964) επίσης αναφέρει ότι σε θρεπτικό υλικό 5% Malt agar τα κονιδία του μύκητα *A. cucumerina* έχουν συνολικό μήκος 112,8μm, ενώ οι Ellis & Holliday (1970) αναφέρουν ότι ο συγκεκριμένος μύκητας έχει κονιδία με συνολικό μήκος σώματος 180μm (μέση τιμή) (Πιν. 10). Τέλος, όσον αφορά το συνολικό μήκος σώματος των κονιδίων του μύκητα *A. alternata* ο Joly (1964) αναφέρει ότι σε 5% Malt agar είναι 22,9μm (μέση τιμή), ενώ ο Neergaard (1945) αναφέρει ότι στο ίδιο θρεπτικό υλικό, η ελάχιστη και μέγιστη (min-max) τιμή του σώματος των κονιδίων του ίδιου μύκητα είναι 15,0-51,0μm (Πιν. 11). Επίσης οι Groves & Skolko (1944) αναφέρουν ότι η ελάχιστη και μέγιστη τιμή του μήκους των κονιδίων είναι 20-50μm και ο Neergaard (1945) ότι είναι 7-72μm. Ο Neergaard (1945) επίσης αναφέρει ότι σε φυτικό ξενιστή τα κονιδία του ίδιου μύκητα έχουν συνολικό μήκος 16,5μm, ενώ τα αποτελέσματα των Vakalounakis & Malathrakis σε θρεπτικό υλικό PDA και σε πεπόνι έδειξαν ότι το συνολικό μήκος κονιδίων είναι 25,3μm και 42,2μm (μέσες τιμές) αντίστοιχα (Πιν. 11). Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης οι αντίστοιχες τιμές για το μύκητα *A. alternata* κυμαίνονται από 17,5-47,5 (ελάχιστη) έως 25,0-72,5μm (μέγιστη) ανάλογα με την προέλευση των απομονώσεων.

Κονιδία με διπλό ράμφος, βάση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης διαπιστώθηκαν σε ένα μικρό ποσοστό (17,5 %) μόνο στο μύκητα *A. solani*.

Παρουσία κονιδίων στο μύκητα *A. solani* με διπλό ράμφος, έχει αναφερθεί και από τους Ellis & Gibson (1975).

ε) Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν επίσης ότι υπήρχαν διαφορές ως προς τις διαστάσεις των κονιδίων του μύκητα *A. alternata*, ανάλογα με το είδος του ξενιστή από τον οποίο προέρχονταν οι απομονώσεις. Πιο συγκεκριμένα τα κονίδια της απομόνωσης του μύκητα *A. alternata* από μαρούλι, είχαν το μεγαλύτερο μήκος κυρίως σώματος (28,5μm), ενώ τα αντίστοιχα μήκη των απομονώσεων από πιπεριά και από πεπόνι ήταν 27,44μm και 23,5μm αντίστοιχα (Πιν. 11). Για το πλάτος του κυρίως σώματος διαπιστώθηκε από τα αποτελέσματα του πειράματος, ότι το μεγαλύτερο το είχε επίσης η απομόνωση από μαρούλι με (14,94μm μέση τιμή), ακολουθούσε η απομόνωση από πιπεριά με πλάτος κυρίως σώματος 13,56μm (μέση τιμή) και τέλος η απομόνωση από πεπόνι είχε το μικρότερο πλάτος κυρίως σώματος 12,56μm (Πιν. 11). Όσον αφορά το μήκος του ράμφους διαπιστώθηκε ότι το μεγαλύτερο το είχε η απομόνωση από μαρούλι (6,56μm μέση τιμή), ενώ η απομόνωση από πιπεριά είχε το μικρότερο (5,68μm μέση τιμή). Τέλος το μήκος του ράμφους της απομόνωσης από πεπόνι ήταν 6,5μm (μέση τιμή) (Πιν. 11). Οι απομονώσεις του μύκητα *A. alternata* που προέρχονταν από μαρούλι, διαπιστώθηκε με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είχαν κονίδια με το μεγαλύτερο συνολικό μήκος (35,06μm μέση τιμή), σε αντίθεση με εκείνα της απομόνωσης από πεπόνι που είχαν το μικρότερο συνολικό μέσο μήκος κονιδίου (30,00μm) (Πιν. 11). Το συνολικό μήκος των κονιδίων της απομόνωσης του μύκητα *A. alternata* από πιπεριά διαπιστώθηκε από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ότι ήταν 33,11μm (μέση τιμή). Τέλος όσον αφορά τον αριθμό των κονιδίων/αλυσίδα, της απομόνωσης από μαρούλι ήταν 1-6 κονίδια/αλυσίδα, της απομόνωσης από πεπόνι ήταν 1-5 κονίδια/αλυσίδα και τέλος της απομόνωσης από πιπεριά ήταν 1-4 κονίδια/αλυσίδα (Πιν. 11).

Στη διεθνή βιβλιογραφία βρέθηκαν στοιχεία που αναφέρονται στη μορφολογία των κονιδίων των απομονώσεων του μύκητα *A. alternata*, που χρησιμοποιήθηκαν στη παρούσα μελέτη (Πιν. 11). Πιο συγκεκριμένα αναφέρεται από τον Neergaard (1945) ότι ο μύκητας *A. alternata* από μαρούλι είχε μήκος κυρίως σώματος 13-37μm και πλάτος κυρίως σώματος 7-15μm, ενώ όσον αφορά το μήκος του ράμφους, αυτό ήταν 4μm. Τέλος το συνολικό μήκος σώματος διαπιστώθηκε ότι ήταν 16-37μm (Πιν. 11).

Από τα παραπάνω διαπιστώνουμε ότι όσον αφορά τη μορφολογία των κονιδίων των τεσσάρων ειδών του γένους *Alternaria* που εξετάσαμε στην παρούσα μελέτη (*A. solani*, *A. brassicicola*, *A. cucumerina* και *A. alternata*), διάφοροι ερευνητές δίνουν διαφορετικές διαστάσεις κονιδίων για το ένα και το αυτό είδος. Σύμφωνα με τον Rotem (1994), αυτό πιθανόν να οφείλεται στα διαφορετικά θρεπτικά υλικά ανάπτυξης που χρησιμοποιήθηκαν από διάφορους ερευνητές, στην ηλικία των κονιδίων ή στις συνθήκες επώασης των καλλιεργειών. Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκαν επίσης διαφορές στη μορφολογία των κονιδίων μεταξύ των τριών ομάδων απομονώσεων του μύκητα *A. alternata* (απομονώσεις από φυτά μαρουλιού, πεπονιάς, πιπεριάς). Η παραπάνω ποικιλομορφία δεν μπορεί να αποδοθεί σε κανένα από τους παραπάνω παράγοντες καθώς το θρεπτικό υλικό ανάπτυξης, η ηλικία των κονιδίων καθώς και οι συνθήκες επώασης των καλλιεργειών ήταν ίδιες. Είναι λοιπόν πιθανόν οι τρεις ομάδες απομονώσεων του μύκητα *A. alternata* που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη να ανήκουν σε τρεις διαφορετικές τυπικές μορφές (*formae speciales*) με εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή.

2.5.3. Αριθμός κονιδίων ανά αλυσίδα

Τέλος όσον αφορά τον αριθμό των κονιδίων/αλυσίδα, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι τα είδη *A. solani* και *A. cucumerina* ήταν τα μοναδικά που συνήθως σχημάτιζαν μονήρη κονίδια πάνω στους κονιδιοφόρους (σπάνια παρατηρήθηκαν 2 κονίδια/αλυσίδα), ενώ τα είδη *A. brassicicola* και *A. alternata* σχημάτιζαν αλυσίδες των 1-8 και 1-6 κονίδια/αλυσίδα, αντίστοιχα. (Πιν. 8,9,10,11). Οι Ellis (1975) και Ellis & Holliday (1970) αναφέρουν επίσης ότι οι μύκητες *A. solani* και *A. cucumerina* σχηματίζουν μονήρη κονίδια, ενώ για το μύκητα *A. brassicicola* οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν ότι ο αριθμός των κονιδίων/αλυσίδα είναι μεγαλύτερες από 20 (Πιν. 8 & 9). Τέλος ο Simmons (1967) αναφέρει για το μύκητα *A. alternata* σχηματισμό αλυσίδων με 8 κονίδια/αλυσίδα (Πιν. 10 & 11).

2.5.4. Παθογένεια σε όμοιους ξενιστές

α) Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, τα είδη του γένους *Alternaria* που χρησιμοποιήθηκαν (*A. solani*, *A. cucumerina*, *A. brassicicola* και *A. alternata*) μόλυναν τους ξενιστές από τους οποίους προήλθαν.

Πιο συγκεκριμένα η παρούσα εργασία έδειξε ότι σε θερμοκρασία $21\pm 2^{\circ}\text{C}$, σχετική υγρασία 60-70% και φωτοπερίοδο 12 ωρών, οι απομονώσεις του μύκητα *A.*

solani που προέρχονταν από φυτά τομάτας εμφάνισαν μεγάλη παθογένεια σε φυτά τομάτας. Τα πρώτα συμπτώματα εμφανίστηκαν, ανεξάρτητα από την παρουσία ή μη πληγών, με τη μορφή νεκρωτικών κηλίδων στα φύλλα, στους βλαστούς και στους μίσχους των φύλλων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των μικροσκοπικών παρατηρήσεων που έγιναν τόσο στα φύλλα όσο και σε φυλλικούς δίσκους τεχνητά μολυσμένων φυτών τομάτας διαπιστώθηκε ότι οι βλαστικές υφές των κονιδίων του μύκητα *A. solani* εισήλθαν στον ξενιστή με απ'ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας.

β) Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας επίσης έδειξαν ότι ο μύκητας *A. brassicicola* δε μόλυνε καμία από τις δύο ποικιλίες φυτών λάχανου που δοκιμάστηκαν (ποικ. *Magima* Ιαπωνίας και ντόπιο Λάρισας) ανεξάρτητα από την παρουσία ή μη πληγών στα φύλλα των φυτών. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στο ότι κατά τη διάρκεια της τεχνητής μόλυνσης το μόλυσμα δεν συγκρατούνταν πάνω στην επιδερμίδα των φυτών γεγονός το οποίο επιβεβαιώθηκε και από τις μικροσκοπικές παρατηρήσεις των τεχνητά μολυσμένων φύλλων οι οποίες έδειξαν ότι δεν υπήρχαν κονίδια του μύκητα πάνω στους ιστούς των τεχνητά μολυσμένων φυτών. Η αδυναμία συγκράτησης του μολύσματος πάνω στους φυτικούς ιστούς των φυτών λάχανου πιθανόν να οφείλεται στην παρουσία στρώματος κηρού πάνω στην επιδερμίδα των φύλλων. Εντούτοις οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις που έγιναν στους φυλλικούς δίσκους φυτών λάχανου, οι οποίοι είχαν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *A. brassicicola*, έδειξαν την παρουσία βλαστημένων κονιδίων. Επίσης παρατηρήθηκε σχηματισμός απρεσσορίων και στις δύο ομάδες φυλλικών δίσκων (απλήγωτοι-πληγωμένοι) και είσοδος του παθογόνου στον ξενιστή είτε με απ'ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας είτε μέσω στοματίων, γεγονός το οποίο επιβεβαιώνεται και από στοιχεία της βιβλιογραφίας (Ellis, 1968) σύμφωνα με τα οποία ο μύκητας *A. brassicicola* προσβάλλει είδη του γένους *Brassica*.

γ) Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης διαπιστώθηκε ότι ο μύκητας *A. cucumerina* μόλυνε τα απλήγωτα φυτά καρπουζιού χωρίς όμως να προκαλέσει έντονα ή εκτεταμένα συμπτώματα. Στα πληγωμένα όμως φύλλα ο μύκητας προκάλεσε εκτεταμένη νέκρωση που εντοπιζόταν στην περιοχή γύρω από τις πληγές. Η νέκρωση αυτή των κυττάρων του ξενιστή γύρω από τις πληγές επιβεβαιώθηκε και από τις μικροσκοπικές παρατηρήσεις των τεχνητά μολυσμένων φύλλων. Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις των τεχνητά μολυσμένων φυλλικών δίσκων φυτών καρπουζιού επιβεβαίωσαν την ικανότητα του μύκητα *A. cucumerina* να μολύνει φυτά καρπουζιού καθόσον, ανεξάρτητα από την παρουσία ή όχι πληγών

διαπιστώθηκε είσοδος του παθογόνου στον ξενιστή και εποικισμό των ιστών του ξενιστή από το μυκήλιο του παθογόνου. Επιπλέον διαπιστώθηκε ότι ο μύκητας σχημάτισε νέες καρποφορίες πάνω στους ιστούς του ξενιστή. Στοιχεία της Διεθνούς Βιβλιογραφίας αναφέρουν ότι απομονώσεις του μύκητα *A. cucumerina* που προέρχονται από διάφορους ξενιστές, έχουν διαφορετικό βαθμό παθογένειας σε διάφορα είδη κολοκυνθοειδών. Στις Η.Π.Α. έχει διαπιστωθεί ότι, ενώ σε φυτά πεπονιού ο μύκητας *A. cucumerina* προκαλούσε έντονα συμπτώματα, σε άλλα είδη της Οικογένειας Cucurbitaceae δεν προκάλεσε σχεδόν καθόλου συμπτώματα (Author, 1996).

δ) Ο μύκητας *A. alternata* από πεπόνι δεν προκάλεσε συμπτώματα στα φύλλα φυτών πεπονιού ανεξάρτητα από την παρουσία ή μη πληγών. Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις των φύλλων αυτών, έδειξαν ότι τα κονίδια του παθογόνου δεν μπόρεσαν να μολύνουν τον ξενιστή καθόσον δεν διαπιστώθηκε είσοδος στους ιστούς του ξενιστή ή νέκρωση των κυττάρων του. Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν όμως ότι η παρουσία πληγών στα φύλλα φυτών πεπονιού ευνόησε την είσοδο και εγκατάσταση του παθογόνου στην περιοχή γύρω από τις πληγές. Όπως αναφέρει ο Vakalounakis (1990), η ασθένεια αυτή είναι πολύ σοβαρή σε καλλιέργειες κολοκυνθοειδών καθώς το παθογόνο εισέρχεται μέσω της επιδερμίδας των ξενιστών και προσβάλλει κυρίως πολύ ώριμους ή μηχανικά τραυματισμένους καρπούς. Όσον αφορά το μύκητα *A. alternata* από μαρούλι διαπιστώθηκε ότι προκάλεσε το σχηματισμό μικροσκοπικών νεκρωτικών κηλίδων μόνο στα απλήγωτα φύλλα φυτών μαρουλιού, ενώ οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις έδειξαν πλήρη εποικισμό των ιστών από το μυκήλιο του παθογόνου καθώς και παραγωγή νέων καρποφοριών του μύκητα στους μολυσμένους ιστούς του ξενιστή. Όπως διαπιστώθηκε από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ο μύκητας *A. alternata* από πιπεριά, ανεξάρτητα από την παρουσία ή όχι πληγών, δεν προκάλεσε συμπτώματα στα φύλλα φυτών πιπεριάς, ενώ οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις έδειξαν ότι το μυκήλιο του μύκητα είχε εποικίσει πλήρως τους ιστούς του ξενιστή. Επίσης παρατηρήθηκε και παραγωγή νέων κονιδιοφόρων με κονίδια πάνω στους ιστούς του ξενιστή.

2.5.5 Παθογένεια σε διαφορετικούς ξενιστές

Τα αποτελέσματα όμως της παρούσας μελέτης έδειξαν για πρώτη φορά διεθνώς ότι οι μύκητες *A. solani*, *A. brassicicola*, *A. cucumerina* και *A. alternata*, εκτός από τους

ξενιστές τους (τομάτα, λάχανο, καρπούζι, πεπόνι, μαρούλι και πιπεριά), μπορούν να μολύνουν και άλλα είδη κηπευτικών με ή χωρίς την παρουσία συμπτωμάτων.

α) Πιο συγκεκριμένα ο μύκητας *A. solani* διαπιστώθηκε με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ότι προκάλεσε το σχηματισμό νεκρωτικών κηλίδων σε φύλλα καρπουζιάς, ανεξάρτητα από την παρουσία ή μη πληγών. Τα αποτελέσματα των μικροσκοπικών παρατηρήσεων έδειξαν πλήρη εποικισμό των ιστών του ξενιστή από το μυκήλιο του παθογόνου καθώς και παραγωγή νέων κονιδιοφόρων και κονιδίων πάνω στους ιστούς του ξενιστή. Στοιχεία στη διεθνή βιβλιογραφία για προσβολές από το μύκητα *A. solani* σε φυτά καρπουζιού ή σε άλλα είδη της Οικογένειας *Cucurbitaceae* δεν έχουν αναφερθεί και τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αποτελούν την πρώτη αναφορά για την παρουσία συμπτωμάτων από το μύκητα *A. solani* σε είδη της Οικογένειας *Cucurbitaceae*.

β) Τεχνητές μολύνσεις φυτών τομάτας με το μύκητα *A. brassicicola*, ένα κατεξοχήν παθογόνο φυτών του γένους *Brassica*, έδειξαν για πρώτη φορά ότι ο μύκητας προκαλεί συμπτώματα, ανεξάρτητα από την ύπαρξη ή όχι πληγών στα φύλλα των φυτών τομάτας. Επιπλέον τα αποτελέσματα των μικροσκοπικών παρατηρήσεων σε φύλλα και φυλλικούς δίσκους έδειξαν τον πλήρη εποικισμό των ιστών από το μυκήλιο του μύκητα, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις διαπιστώθηκε και σχηματισμός νέων καρποφοριών στους μολυσμένους φυτικούς ιστούς. Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα προσβολές ειδών της Οικογένειας *Solanaceae* από το μύκητα *A. brassicicola*. Στα φυτά καρπουζιού ο ίδιος μύκητας προκάλεσε συμπτώματα μόνο παρουσία πληγών (περιορισμένη νέκρωση γύρω από τις πληγές). Τα αποτελέσματα των μικροσκοπικών παρατηρήσεων στους πληγωμένους φυλλικούς δίσκους φυτών καρπουζιού, έδειξαν ότι το μυκήλιο του μύκητα, είχε όχι μόνο εποικίσει τους ιστούς αλλά είχε σχηματίσει και νέες καρποφορίες. Το γεγονός ότι ο μύκητας μόλυνε τα φυτά καρπουζιού μόνο παρουσία πληγών δείχνει ότι το συγκεκριμένο παθογόνο κυρίως φυτών του γένους *Brassica* μπορεί παρουσία πυλών εισόδου (πληγές) να εγκατασταθεί και σε φυτά της Οικογένειας *Cucurbitaceae*.

γ) Η παρούσα μελέτη έδειξε επίσης για πρώτη φορά διεθνώς ότι φυτά τομάτας και λάχανου μπορούν να μολυνθούν από το μύκητα *A. cucumerina* που είναι κυρίως παθογόνο των ειδών της Οικογένειας *Cucurbitaceae*. Πιο συγκεκριμένα τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι στα απλήγωτα φύλλα φυτών τομάτας, ο μύκητας *A. cucumerina* προκαλεί πολυάριθμες νεκρωτικές κηλίδες, οι οποίες

περιβάλλονται από χλωρωτική άλω, ενώ στα πληγωμένα φύλλα των φυτών προκαλεί νέκρωση κυττάρων που περιορίζεται όμως μόνο γύρω από τις πληγές. Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις στα τεχνητά μολυσμένα φύλλα, έδειξαν είσοδο του παθογόνου στους ιστούς του ξενιστή και πλήρη εποικισμό αυτών από το μυκήλιο. Στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν σχετικές αναφορές για προσβολή ειδών της Οικογένειας Solanaceae από το μύκητα *A. cucumerina*.

δ) Στην παρούσα μελέτη όταν τα φυτά λάχανου μολύνθηκαν τεχνητά με το μύκητα *A. solani*, που σύμφωνα με τα στοιχεία της Διεθνούς Βιβλιογραφίας είναι παθογόνο ειδών της Οικογένειας Solanaceae, δεν διαπιστώθηκε παρουσία συμπτωμάτων στα φύλλα. Αυτό οφειλόταν στη μη συγκράτηση των σταγονιδίων του μολύσματος από τις φυτικές επιφάνειες λόγω της παρουσίας κηρού, γεγονός που επιβεβαιώθηκε από τις μικροσκοπικές παρατηρήσεις των τεχνητά μολυσμένων φύλλων. Αντίθετα οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις των φυλλικών δίσκων έδειξαν ότι ο μύκητας *A. solani* ανεξάρτητα από την ύπαρξη πληγών ή όχι, είχε εισέλθει στους ιστούς του ξενιστή είτε με απ' ευθείας διάτρησης της επιδερμίδας είτε μέσω των στοματιών. Επίσης διαπιστώθηκε ότι το μυκήλιο του μύκητα *A. solani* είχε εποικίσει πλήρως τους ιστούς των φύλλων λάχανου. Παρουσία συμπτωμάτων στα φυτά λάχανου δεν προκάλεσε ούτε ο μύκητας *A. cucumerina* και σύμφωνα με τις μικροσκοπικές παρατηρήσεις των φύλλων, όπως και στην περίπτωση του μύκητα *A. solani*, το μόλυσμα δεν είχε συγκρατηθεί από τα φύλλα. Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις όμως των φυλλικών δίσκων έδειξαν μόνο ύπαρξη βλαστημένων κονιδίων δίχως να παρατηρηθεί είσοδος του μύκητα στους ιστούς των φύλλων.

ε) Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις ιστών πεπονιού έδειξαν ότι ο μύκητας *A. alternata* από φυτά πιπεριάς είχε εποικίσει πλήρως τους ιστούς του ξενιστή, ανεξάρτητα από την παρουσία ή όχι πληγών στα φύλλα των φυτών και χωρίς να προκαλέσει την εμφάνιση συμπτωμάτων της ασθένειας. Ασυμπτωματικά ήταν και τα φυτά μαρουλιού που μολύνθηκαν τεχνητά με το μύκητα *A. alternata* από φυτά πιπεριάς. Τα αποτελέσματα των μικροσκοπικών παρατηρήσεων έδειξαν όμως ότι το παθογόνο εκτός από τον πλήρη εποικισμό των ιστών του ξενιστή είχε σχηματίσει και νέες καρποφορίες πάνω στους ιστούς.

στ) Επιπλέον τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι ο μύκητας *A. alternata* από φυτά μαρουλιού δεν προκάλεσε την εμφάνιση συμπτωμάτων σε φυτά πιπεριάς. Με βάση όμως τα αποτελέσματα των μικροσκοπικών παρατηρήσεων, διαπιστώθηκε ότι το παθογόνο είχε εποικίσει πλήρως τους ιστούς του ξενιστή.

Ασυμπτωματικά διαπιστώθηκε ότι ήταν και τα φυτά πεπονιού, που είχαν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *A. alternata* από φυτά μαρουλιού. Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις των ιστών έδειξαν όμως ότι η παρουσία πληγών στα φύλλα των φυτών πεπονιού, ευνόησαν την είσοδο του μύκητα στους ιστούς και τον εποικισμό αυτών από το μυκήλιο, κυρίως γύρω από την περιοχή των πληγών.

ζ) Όσον αφορά το μύκητα *A. alternata* από φυτά πεπονιού τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν για πρώτη φορά ότι ανεξάρτητα από την παρουσία πληγών στα φύλλα, ο μύκητας δεν προκάλεσε συμπτώματα σε φυτά πιπεριάς. Από τα αποτελέσματα όμως των μικροσκοπικών παρατηρήσεων διαπιστώθηκε ότι ο μύκητας εισήλθε στους ιστούς φύλλων πιπεριάς κυρίως μέσω της επιδερμίδας. Σε φυτά μαρουλιού ο ίδιος μύκητας προκάλεσε το σχηματισμό μικροσκοπικών νεκρωτικών κηλίδων, αλλά μόνο στα φύλλα που υπήρχαν πληγές. Οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις όμως τόσο των φύλλων όσο και των φυλλικών δίσκων έδειξαν ότι το μυκήλιο του μύκητα είχε εποικίσει πλήρως τους ιστούς των φύλλων μαρουλιού και επιπλέον είχε σχηματίσει κονιδιοφόρους με νέα κονίδια πάνω στις φυτικές επιφάνειες, ανεξάρτητα από την παρουσία ή μη πληγών.

Είναι γνωστό, με βάση τα στοιχεία της διεθνούς βιβλιογραφίας, ότι οι μύκητες *Alternaria solani*, *A. brassicicola* και *A. cucumerina* είναι παθογόνα φυτών (καλλιεργούμενων ή μη) των Οικογενειών Solanaceae (τομάτα, πατάτα, μελιτζάνα, πιπεριάς, κλπ), Cruciferae, Cucurbitaceae, αντίστοιχα. Η παρούσα μελέτη έδειξε για πρώτη φορά διεθνώς ότι κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), σχετικής υγρασίας (60-70%) και φωτισμού (160 Einsteins $\text{m}^{-1} \text{sec}^{-1}$, 12h φωτοπερίοδος), οι παραπάνω μύκητες έχουν την ικανότητα να μολύνουν, με ή δίχως την παρουσία συμπτωμάτων, φυτά και άλλων Οικογενειών.

Πιο συγκεκριμένα ο μύκητας *A. solani* μόλυνε φυτά καρπουζιού (Οικογένεια Cucurbitaceae) με την εμφάνιση τυπικών συμπτωμάτων της ασθένειας στα φύλλα των φυτών καθώς και φυτά λάχανου (Οικογένεια Cruciferae) δίχως όμως την εμφάνιση συμπτωμάτων (ασυμπτωματικά φυτά). Ο μύκητας *A. brassicicola* μόλυνε φυτά τομάτας (Οικογένεια Solanaceae) προκαλώντας την εμφάνιση συμπτωμάτων στα φύλλα των φυτών και φυτά καρπουζιού (Οικογένεια Cucurbitaceae) στα οποία προκάλεσε συμπτώματα αλλά μόνο παρουσία πληγών. Τέλος ο μύκητας *A. cucumerina* προκάλεσε συμπτώματα σε φυτά τομάτας (Οικογένεια Solanaceae), ανεξάρτητα από την παρουσία ή μη πληγών στα φύλλα των φυτών.

Σύμφωνα με τον Rotem (1994), ο μύκητας *A. alternata* περιλαμβάνει στον πληθυσμό του τόσο ειδικές μορφές (*formae speciales*) με εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή όσο και απομονώσεις που συμπεριφέρονται σαπροφυτικά. Στην παρούσα μελέτη όταν εξετάστηκε με διασταυρωτές μολύνσεις η παθογένεια τριών ομάδων απομονώσεων του παραπάνω μύκητα με διαφορετική προέλευση (απομονώσεις από φυτά πιπεριάς, μαρουλιού και πεπονιού), διαπιστώθηκε ότι στις περισσότερες περιπτώσεις ο μύκητας μόλυνε τα πειραματικά φυτά δίχως όμως την εμφάνιση συμπτωμάτων (ασυμπτωματικά φυτά). Πιο συγκεκριμένα, οι απομονώσεις του μύκητα από φυτά μαρουλιού (*Compositae*) μόλυναν φυτά πιπεριάς (*Solanaceae*) και πεπονιού (*Cucurbitaceae*), ανεξάρτητα από την παρουσία ή μη πληγών στα φύλλα των φυτών. Παρόμοια οι απομονώσεις του ίδιου μύκητα από φυτά πεπονιού (*Cucurbitaceae*) και πιπεριάς (*Solanaceae*) μόλυναν φυτά πιπεριάς και πεπονιού, αντίστοιχα. Σε όλες τις παραπάνω περιπτώσεις δεν διαπιστώθηκε παρουσία συμπτωμάτων αν και το μυκήλιο του μύκητα είχε εποικίσει πλήρως τους ιστούς των φύλλων των τεχνητά μολυνθέντων φυτών. Το γεγονός ότι τα παραπάνω είδη μυκήτων του γένους *Alternaria* μπορούν να μολύνουν (με ή δίχως την παρουσία συμπτωμάτων) και άλλα, εκτός των ξενιστών τους, είδη καλλιεργούμενων φυτών σημαίνει ότι πιθανόν κάτω από φυσικές συνθήκες οι μύκητες αυτοί να επιβιώνουν εκτός των άλλων (μολυσμένα φυτικά υπολείμματα, ζιζάνια, κλπ) και με αυτόν τον τρόπο σε περιόδους όπου δεν υπάρχει ο ξενιστής τους.

Πίνακας 8. Σύγκριση μορφολογικών χαρακτήρων των κονιδίων του μύκητα *A. solani* της παρούσας μελέτης και εκείνων που αναφέρονται στη Διεθνή Βιβλιογραφία.

Παράμετροι	Παρούσα μελέτη	Joly (1964)	M.B.Ellis (1975)
	V-8 agar	Malt agar (5%)	
Μήκος σώματος	101,88* ($\pm 17,68^{**}$)		
Min-max	75-137,5		
Πλάτος σώματος	27,25 ($\pm 3,24$)	19,3($\pm 0,29$)	
Min-max	22,5-35	13-24	15-19
Μήκος ράμφους	190,88 ($\pm 27,88$)	132,8 ($\pm 3,44$)	
Min-max	110-242,50	48-305	
Συνολικό μήκος κονιδίου	292,25 ($\pm 27,50$)	79,4 ($\pm 1,35$)	
Min-max	220-340	38-126	150-300
Κονίδια (%) με μονό ράμφος	82,5 %		
Κονίδια (%) με διπλό ράμφος	17,5		
Νο κονιδίων / αλυσίδα	1-2 ^{***}		1

* Σε μm

** Οι αριθμοί στις παρενθέσεις είναι η τυπική απόκλιση του μέσου

*** Σπάνια αλυσίδες των 2 κονιδίων.

Πίνακας 9. Σύγκριση μορφολογικών χαρακτήρων των κονιδίων του μύκητα *A. brassicicola* της παρούσας μελέτης και εκείνων που αναφέρονται στη Διεθνή Βιβλιογραφία

Παράμετροι	Παρούσα μελέτη	Joly (1964)	M.B.Ellis (1975)
	V-8 agar	Malt agar (5%)	
Μήκος σώματος	26,37* (\pm 6,53**)		
Min-max	15,00-40,00		
Πλάτος σώματος	12,81(\pm 2,06)	9,2 (\pm 0,11)	
Min-max	10,00-17,50	5-14	8-30
Μήκος ράμφους	6,13 (\pm 1,96)		
Min-max	2,5-10		
Συνολικό μήκος κονιδίου	32,69 (\pm 6,80)	21,9(\pm 0,55)	
Min-max	20,00-47,50	9-62	18-130
Κονίδια (%) με μονό ράμφος	100		
Κονίδια (%) με διπλό ράμφος	0		
Νο κονιδίων / αλυσίδα	1-12		Έως 20

* Σε μm

** Οι αριθμοί στις παρενθέσεις είναι η τυπική απόκλιση του μέσου

Πίνακας 10. Σύγκριση μορφολογικών χαρακτήρων των κονιδίων του μύκητα *A. cucumerina* της παρούσας μελέτης και εκείνων που αναφέρονται στη Διεθνή Βιβλιογραφία

Παράμετροι	Παρούσα μελέτη	Jackson (1958)	Ellis & Holliday (1970)	Joly (1964)
	V-8 agar	Host		Malt agar (5%)
Μήκος σώματος	59,69* (± 13,70**)			
Min-max	30,00-92,50	57-87		
Πλάτος σώματος	31,94 (± 9,83)		10	21,3 (± 0,31)
Min-max	17,50-62,50	18-21	15-24	13-32
Μήκος ράμφους	97,06 (± 48,40)			112,8 (± 2,74)
Min-max	35-227,5	106-13		41-275
Συνολικό μήκος κονιδίου	159,25 (± 52,98)		180	68,0 (± 1,92)
Min-max	100-320		130-220	34-93
Κονίδια (%) με μονό ράμφος	100			
Κονίδια (%) με διπλό ράμφος	0			
Νο κονιδίων / αλυσίδα	1		1	

* Σε μm

** Οι αριθμοί στις παρενθέσεις είναι η τυπική απόκλιση του μέσου

Πίνακας 11. Σύγκριση μορφολογικών χαρακτήρων των κονιδίων του μύκητα *A. alternata* της παρούσας μελέτης και εκείνων που αναφέρονται στη Διεθνή Βιβλιογραφία

Παράμετροι	Aa-Π ¹	Aa-M ²	Aa-Πι ³	Simmons (1967)	Joly (1964)	Groves & Skolko 1944	Neergaard (1945)	Vakalounakis & Malathrakis		Neergaard (1945)	
	V-8 agar	V-8 agar	V-8 agar		Malt agar (5%)			PDA	Malt agar (5%)	Host	Cucumber
Μήκος σώματος	23,50* (±5,96**)	28,50 (±8,47)	27,44 (±7,08)	30,9			25,7	20,1 (± 4,80)	26,3 (± 0,63)	31,7 (± 0,89)	38,4 (± 12,00)
Min-max	10,00-40,00	20,00-65,00	12,50-42,50	18-47			7-70	12-29			15-68
Πλάτος σώματος	12,56 (±2,08)	14,94 (±2,80)	13,56 (±2,26)	12,6	12,2 (±0,15)		11,2	9,7 (± 1,96)	10,7 (± 0,25)	12,1 (± 0,19)	14,6 (± 3,30)
Min-max	10,00-17,50	10,00-20,00	10,00-17,50	7,0-18,0	7-20	10-16	6-22	6-14			9-24
Μήκος ράμφους	6,5 (±2,18)	6,56 (±1,85)	5,68 (±1,53)	Έως 25	3,7 (±0,14)			5,1 (± 2,28)	5,6 (± 0,32)	4,0 (± 0,20)	6,3 (± 4,40)
Min-max	2,5-10	5,0-10	2-7,5		2-7		1-58	3-12			1-21
Συνολικό μήκος κονιδίου	30,00 (±6,41)	35,06 (±9,14)	33,11 (±7,04)		22,9 (±0,43)			25,3 (± 4,47)			42,2 (± 14,30)
Min-max	20,00-47,00	25,00-72,50	17,50-47,50		9-57	20-50	7-72	17-34	15,0-51,0	16,5 (± 59,3)	15-73
Κονίδια (%) με μονό ράμφος	100	100	100								
Κονίδια (%) με διπλό ράμφος	0	0	0								
No κονιδίων / αλυσίδα	1-5	1-6	1-4	8							

Σε μμ.

Οι αριθμοί στις παρενθέσεις είναι η τυπική απόκλιση του μέσου.

¹ Aa-Π- *A. alternata* από πεπόνι

² Aa-M- *A. alternata* από μαρούλι

³ Aa-Πι- *A. alternata* από πιπεριά

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Agrios, G.N. 1988. *Alternaria* diseases In: Plant Pathology Academic Press, Inc, USA. pp.345-348.

Aragaki, M. 1964. Relation of radiation and temperature to the sporulation of *Alternaria tomato* and other fungi. *Phytopathology* **54**: 565-569.

Aylor, D.E. 1990. The role of intermittent wind in the dispersal of fungal pathogens. *Annual Review of Phytopathology* **28**: 73-92.

Badadoost, M. and Gabrielson, R.L. 1979. Pathogens causing *Alternaria* diseases of *Brassica* seed crops in western Washington. *Plant Disease Reporter* **63**: 815-820.

Bains, P.S. and Tewari, J.P. 1987. Purification, chemical characterization and host-specificity of the toxin produced by *Alternaria brassicae*. *Physiological Molecular Plant Pathology* **30**: 259-271.

Βακαλουνάκης, Ι. Δ. 1987. Αξιολόγηση διαφόρων μυκητοκτόνων εναντίον της αλτερναρίωσης της τομάτας (*Alternaria solani*). *Γεωργική Έρευνα* **11**: 195-204.

Ballio, A. 1991. Non-host selective fungal phytotoxins: biochemical aspects of their mode of action. *Experientia* **47**: 783-790.

Bashi, E. and Rotem, J. 1974. Adaptation of four pathogens to semi-arid habitats as conditioned by penetration rate and germinating spore survival. *Phytopathology* **64**:1035-1039.

Bashi, E. and Rotem, J. 1975a. Host and biotic factors affecting sporulation of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* on tomatoes and *Alternaria porri* f. sp. *solani* on potatoes. *Phytoparasitica* **3**: 27-38.

Bashi, E. and Rotem, J. 1975b. Effect of light on sporulation of *Alternaria porri* f. sp. *solani* and of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* *in vivo*. *Phytoparasitica* **3**: 63-67.

Bashi, E. and Rotem, J. 1975c. Sporulation of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* in tomatoes and of *Alternaria porri* f. sp. *solani* in potatoes under alternating wet-dry regimes. *Phytopathology* **65**: 532-535.

Bassey, E.O. and Gabrielson, R.L. 1983. The effects of humidity, seed infection level, temperature and nutrient stress on cabbage seedlings disease caused by *Alternaria brassicicola*. *Seed Science and Technology* **11**: 403-410.

Basu, P.K. 1971. Existence of chlamydospores of *Alternaria porri* f.sp. *solani* as overwintering propagules in soil. *Phytopathology* **61**: 1347-1350.

Blancard, D., Jamme, M. de la & Lemaire, J.M. 1984. L' alterariose des fruits des cultures de tomato de conserve. *Revue Horticole* No 252, 11-13.

Βλουτόγλου, Ε., Δάρρας, Α. και Σταμέλου, Ε., 2000. Αξιολόγηση μυκητοκτόνων και του χρόνου εφαρμογής τους στην αντιμετώπιση του πρώιμου περονόσπορου (*Alternaria solani* Sorauer) της τομάτας. Εις: Περίληψεις εργασιών 10^{ου} Πανελληνίου Φυτοπαθολογικού Συνεδρίου, Καλαμάτας 3-5 Οκτωβρίου 2000 σελ. 33.

Brian, P.W., Elson, G.W., Hemming, H.G. and Wright, J.M. 1952. The phytotoxic properties of alternaric acid in relation to the etiology of plant disease caused by *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Grout. *Annals of Applied Biology* **39**: 308-321.

Campbell, R. 1970. An electron microscope study of exogenously dormant spores, spore germination, hyphae and conidiophores of *Alternaria brassicicola*. *New Phytologist* **69**: 287-293.

Casida, L.E. and Lukezic, F.L. 1992. Control of leaf spot of alfalfa and tomato with applications of the bacterial predator *Pseudomonas* strain 679-2. *Plant Disease* **76**: 1217-1220.

Charlton, K.M. 1953. The sporulation of *Alternaria solani* in culture. *Transactions of the British Mycological Society* **36**: 349-355.

Cohen, Y. and Rotem, J. 1970. The relationship of sporulation to photosynthesis in some obligatory and facultative parasites. *Phytopathology* **60**: 1600-1604.

Datar, V.V. and Mayee, C.D. 1982. Conidial dispersal of *Alternaria solani* in tomato. *Indian Phytopathology* **35**: 68-70.

Δημητράκης, Κ.Γ. 1967. Λαχανοκομία. Εκδόσεις “ Ανθοκηπουρική” σελ. 196, 227-228.

Dillon Weston, W.A.R. 1936. The sporulation of *Helminthosporium avenae* and *Alternaria solani* in artificial culture. *Transactions of the British Mycology Society* 20:112-115.

Douglas, D. R. 1972. The effect of light and temperature on the sporulation of different isolates of *Alternaria solani*. *Canadian Journal of Botany* 50: 629-634.

Droby, S., Dinoor, A., Prusky, D. and Barkai-Golan, R. 1984a. Pathogenicity of *Alternaria alternata* on potato in Israel. *Phytopathology* 74: 537-542.

El-Abyad, M.S., El-Sayed, M.A., El-Shanshoury, A.R. and El-Sabbagh, S.M. 1993. Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic *Streptomyces* spp. *Plant and Soil* 149: 185-195.

Ellis, M.B. 1968. *Alternaria brassicicola*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No 163. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.

Ellis, M.B. and Holliday, P. 1970. *Alternaria cucumerina*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No 244. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.

Ellis, M.B. and Gibson, I.A.S. 1975. *Alternaria solani*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No 475. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, UK.

Evans, K.J., Nyquist, W.E. and Latin, R. X. 1992. A model based on temperature and leaf wetness duration for establishment of *Alternaria* leaf blight of muskmelon. *Phytopathology* 82: 890-895.

Farr, D.F., Bills, G.F., Chamuris, G.P. and Rossman A.Y. 1995. Fungi on Plants production in the U.S.A. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota U.S.A. pp. 561-562.

Gangopadhyay, S. & Kapoor, K.S. 1973. Fruit rot of summer squash and its control. *Indian Phytopathology* 26: 751-753.

Guba, E.F. 1945. Carnation wilt diseases and their control. Massachusetts Agricultural Experiment Station Control Series Bulletin 427.

Groves, J.W. & Skolko, A.J. 1944. Notes on seed-borne fungi I. *Stemphylium*. Canadian Journal of Reserts Sect. C. xxii, 4, pp.190-199, 5 pl.

Halfon-Meiri A. & Rylski I. 1983. Internal mold caused in sweet peper by *Alternaria alternata*: fungal ingress. *Phytopathology* 73: 67-70 illus.

Harrison, M.D., Livingston, C.H. and Oshima, N. 1965b. Control of potato early blight in Colorado. II Spores traps as a guide for initiating of fungicides. *American Potato Journal* 42: 333-340.

Hasan, S. and Vago, C. 1966. Transmission of *Alternaria brassicicola* by slugs. *Plant Disease Reporter* 50: 764-767.

Hogg, B. M. 1966. Microfungi on leaves of *Fagus sylvatica*. II Duration of survival, spore viability and cellulolytic activity. *Transactions of the British Mycological Society* 49:193-204.

Huang, R. and Levy, Y. 1995. Characterization of iprodione-resistance isolates of *Alternaria brassicicola*. *Plant Disease* 79: 828-833.

Humpherson-Jones, F.M. and Maude, R.B. 1982. Studies on the epidemiology of *Alternaria brassicicola* in *Brassica oleracea* seed production crops. *Annals of Applied Biology* 100: 61-71.

Humpherson-Jones, F.M. and Phelps, K. 1989. Climatic factors influencing spore production in *Alternaria brassicae* and *Alternaria brassicicola*. *Annals of Applied Biology* 114: 449-458.

Ibrahim, A.N., Abdel-Hank, T.M. and Mahrous, M.M. 1975. Survival of *Alternaria cucumerina*, the causal organism of leaf spot disease of cucurbits. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hung.* 10: 309-313.

Ibrahim, A.N., Fadl, F.A. and Mahrous, M.M., 1975. *Alternaria cucumerina* (Ell. And Ev.) Elliot, the causal organism of watermelon leaf spot disease in: *Egyptian Journal of Phytopathology* 7: 39-48.

Jackson, C.R. 1958. Alternaria leafspot disease of Cucurbits. Diseases abstracts, 19, 5, p. 940.

Jackson, C.R. 1959. Symptoms and host-parasite relations of the Alternaria leafspot disease of cucurbits. *Phytopathology* 49: 85-88.

Joly, P. 1964. Le Genre Alternaria P. Lechevalier, Paris. 250pp.

Jones, J.B., Stall, R.E. and Zitter, T.A. 1993. Compendium of tomato diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, p. 13-14.

Keller, M., Collins, G. and Bell, K. 1997. Diseases of Brassicas and Potatoes. The University of Adelaide, Australia.
<http://www.waite.adelaide.edu.au/Teaching/Diagnosis>

Klaus, H. 1940. Untersuchungen über *Alternaria solani* Jones et Grout, insbesondere über seine Pathogenität an Kartoffelknollen in Abhängigkeit von den Aussenfaktoren. *Phytopathologische Zeitschrift* 13: 126-195.

Klotz, M.G. 1988. The action of tentoxin on membrane processes in plants. *Physiologia Plantarum* 74: 575-582.

Knoche, H.W. and Duvick, J.P. 1987. The role of fungal toxins in plant disease. In: *Fungal Infection of Plants*. (Eds G. F. Pegg, P. G. Ayres.) Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp 158-192.

Köhle, H. and Hoffmann, G.M. 1989. Untersuchungen zur Physiologie des *Alternaria*-Befalls von Raps. *Zeitschrift Pflanzenkrankheiten Pflanzenschutz* 96: 225-238.

Kucharek, T. 1994. *Alternaria* Leafspot of Cucurbits. University of Florida.
<http://edis.ifas.ufl.edu/>

Kucharek, T. 2002. *Alternaria* Diseases of Crucifers. University of Florida.
<http://edis.ifas.ufl.edu/>

Kunkel, L.O. 1918. A method of obtaining abundant sporulation in cultures of *Macrosporium solani* E. & M. *Brooklyn Botany Garden Memoirs* 1: 306-312.

Leach, C.M. 1967. Interaction of near-ultraviolet light and temperature on sporulation of the fungi *Alternaria*, *Cercospora*, *Fusarium*, *Helminthosporium* and *Stemphylium*. *Canadian Journal of Botany* 45: 1999-2016.

Lukens, R.J. 1960. Conidial production from filter paper cultures of *Helminthosporium vagans* and *Alternaria solani*. *Phytopathology* 50: 867-868.

Lukens, R.J. 1963. Photo-inhibition of sporulation in *Alternaria solani*. *American Journal of Botany* 50:720-724.

Lukens, R.J. 1966. Interference of low temperature with the control of tomato early blight through use of nocturnal illumination. *Phytopathology* 56: 1430-1431.

Maiero, M. Bean, G.A. and Ng, T.J. 1991. Toxin production by *Alternaria solani* and its related phytotoxicity to tomato breeding lines. *Phytopathology* 81: 1030-1033.

Malathrakis, N.E. 1983. *Alternaria* stem canker of tomato in Greece. *Phytopathologia Mediterranea* 22: 33-38.

Martin, W.H. 1918. Dissemination of *Septoria lycopersici* Speg. by insects and pickers. *Phytopathology* 8: 365-372.

Maude, R.B. and Humpherson-Jones, F.M. 1980. Studies on the seedborne phases of dark leaf spot (*Alternaria brassicicola*) and gray leaf spot (*Alternaria brassicae*) of brassicas. *Annals of Applied Biology* 95: 311-319.

Maude, R.B. and Humpherson-Jones, F.M. 1982. Control of dark leaf spot (*Alternaria brassicicola*) of *Brassica oleracea* seed production with iprodione. *Annals of Applied Biology* 100 (1982) 94-105.

McCallan, S.E.A. and Chan, S.Y. 1944. Inducing sporulation of *Alternaria solani* in culture. *Contributions Boyce Thompson Institute* 13: 323-335.

McColloch, L.P. & Worthington, J.T. 1952. Low temperature as a factor in the susceptibility of mature-green tomatoes to *Alternaria* rot. *Phytopathology* 42: 425-427 illus.

McPhee, W.J. 1980. Some characteristics of *Alternaria alternata* strains resistant to iprodione. *Plant Disease* **64**: 847-849.

Mohit, S. and Shukla, T.N. 1986. Epidemiology of *Alternaria* leaf spot and fruit rot of brinjal. *Indian Phytopathology* **39**: 119-120.

Moore, W.D. 1942. Some factors affecting the infection of tomato seedlings by *Alternaria solani*. *Phytopathology* **32**: 399-403.

Moore, W.D. and Thomas, H.R. 1943. Some cultural practices that influence the development of *Alternaria solani* on tomato seedlings. *Phytopathology* **33**: 1176-1184.

Neergaard, P. 1945. Danish Species of *Alternaria* and *Stemphylium*. Oxford University Press, London UK. pp 87-129.

Neergaard, P. 1977. Seed Pathology. Macmillan, London UK. pp 396-400.

Nicolas, G. 1943. Sur un *Alternaria* parasites du melon. *Revue de pathologie vegetable et d'entomologie agricole de France*. **21** : 15-17.

Nishimura, S. and Kohmoto, K. 1983a. Host-specific toxins and chemical structures from *Alternaria* species. *Annual Review of Phytopathology* **21**: 87-116.

Norse, D. 1973. Some factors influencing spore germination and penetration of *Alternaria longipes*. *Annals of Applied Biology* **69**: 297-306.

Otani, H., Kohmoto, K. Kodama, M. and Nishimura, S. 1991 Role of host-specific toxins in the pathogenesis of *Alternaria alternata* in: Molecular Strategies of Pathogens and Host Plants (Eds S. Patil., Ouchi D. Mills and C. Vance) pp. 123-156. Springer Verlag New York.

Παναγόπουλος, Χ.Γ. 2000. Ασθένειες κηπευτικών καλλιεργειών. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα. σελ. 34-270.

Pearson, R.C. and Hall, D.H. 1975. Factors affecting the occurrence and severity of blackmold of ripe tomato fruit caused by *Alternaria alternata*. *Phytopathology* **65**: 1352-1359.

Pound, G.S. 1951. Effect of air temperature on incidence and development of the early blight disease of tomato. *Phytopathology* **41**: 127-135.

Pound, G.S. and Stahmann, M.A. 1951. The production of a toxic material by *Alternaria solani* and its relation to the early blight disease of tomato. *Phytopathology* **41**: 1104-1114.

Prasada, R., Khandelwal, G.L. and Jain, J.P. 1954. Epidemiology, forecasting and control of *Alternaria* blight of cucurbits. *Review of Plant Pathology* **54**:75.

Ram, B. and Joshi, L.M. 1978. Role of saturated atmosphere and temperature on infection and development of leaf blight of wheat. *Indian Phytopathology* **31**: 550-551.

Ramm, C. von and Lucas, G.B. 1962. Influence of temperature and light on brown spot of tobacco. *Journal of Elisha Mitchell Scientific Society* **78**:94.

Ramm, C. von and Lucas, G.B. 1963. Epiphytology of tobacco brown spot caused by *Alternaria longipes*. *Phytopathology* **53**: 450-455.

Rands, R.D. 1917a. The production of spores by *Alternaria solani* in pure culture. *Phytopathology* **7**: 316-317.

Rands, R.D. 1917b. Early blight of potato and related plants. *Wisconsin Agricultural Experiment Station Bulletin* **42**:1-48.

Rangel, J.F. 1945. Two *Alternaria* diseases of cruciferous plants. *Phytopathology* **35**: 1002-1007.

Riley, E.A. 1949. Pathological and physiological studies on the brown spot disease of tobacco caused by *Alternaria longipes* (Ell. & Ev.) Mason. *Mem. Dep. Agric. South. Rhod.* **3**: 1-32.

Rotem, J. and Reichert, I. 1964. Dew-A principal moisture factor enabling early blight epidemics in a semiarid region of Israel. *Plant Disease Reporter* **48**: 211-215.

Rotem, J. 1968. Thermoxerophytic properties of *Alternaria porri* f. sp. *solani*. *Phytopathology* **58**: 1284-1287.

Rotem, J. Cohen, Y. and Bashi, E. 1978. Host and environmental influences on sporulation *in vivo*. *Annual Review of Phytopathology* **16**: 83-101.

Rotem, J., Wooding, B. and Aylor, D.E. 1985. The role of solar radiation, especially ultraviolet, in the mortality of fungal spores. *Phytopathology* **75**: 510-514.

Rotem, J. 1990. Overwintering of *Alternaria macrospora* in cotton debris. *Phytoparasitica* **18**: 143-152.

Rotem, J. and Aust, H.J. 1991. The effect of ultraviolet and solar radiation and temperature on survival of fungal propagules. *Journal of Phytopathology* **133**: 76-84.

Rotem, J.B. 1994. The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology and Pathogenicity. APS Press. The American Phytopathological Society, St., Paul Minnesota, 313pp.

Russel, R.C. 1958. Longevity studies with wheat seed and certain seed-borne fungi. *Canadian Journal of Plant Science* **38**: 29-33.

Sarkar, B. and Sen Gupta, P.K. 1978. Studies on some aspects of the epidemiology of *Alternaria* leaf blight of mustard (*Brassica* sp). *Beitraege Tropischen Landwirtschaft Veterinarmedizin* **16**: 91-96.

Schenk, N.C. 1968. Incidence of airborne fungus spores over watermelon fields in Florida. *Phytopathology* **58**: 91-94.

Shahin, E.A. and Shepard, J. F. 1979. An efficient technique for inducing profuse sporulation of *Alternaria* species. *Phytopathology* **69**, 618-620.

Siemer, S.R., Vaughan, E.K. and Newburg, W. 1971. Studies on the cause of basal sprout rot in Jade variety Brussels sprouts. *Plant Disease Reporter* **55**: 297-301.

Simmons, E.G., 1967. Typification of *Alternaria*, *Stemphylium* and *Ulocladium*. *Mycologia* **59** (1) : 67-92.

Simmons, E.G. 1992. *Alternaria* taxonomy: Current status, viewpoint, challenge In: *Alternaria* Biology, Plant diseases and Metabolites. (Eds. Chelkowski J. & Visconti) A. Elsevier science publishers Amsterdams-Netherlands.

Singh, D., Mathur, S.B. and Neergaard, P. 1983. Systemic seed transmission of *Alternaria sesamicola* in *Sesamum indicum*. *Transactions of the British Mycological Society* **80**: 570-571.

Stavely, J.R. and Main, C.E. 1970. Influence of temperature and other factors on initiation of tobacco brown spot. *Phytopathology* **60**: 1591-1596.

Stavely, J. R. and Slana, L.J. 1971. Relation of leaf age to the reaction of tobacco to *Alternaria alternata*. *Phytopathology* **61**: 73-78.

Stevenson, R.E. and Pennypacker, S.P. 1988. Effect of radiation, temperature, and moisture on conidial germination of *Alternaria solani*. *Phytopathology* **78**: 926-930.

Stinson E.E., Osman, S.F., Heisler, E.G., Siciliano, J. & Bills, D.D. 1981. Mycotoxin production in whole tomatoes, apples, oranges and lemons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **29**: 790-792.

Strandberg, J.O. 1977. Spore production and dispersal of *Alternaria dauci*. *Phytopathology* **67**: 1262-1266.

Strandberg, J.O. 1992. *Alternaria* diseases that attack vegetables crops: biology and options for disease management. In: *Alternaria: Plant Disease and Metabolites* (Eds. J. Chelkowski & A. Visconti), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 175-208

Sussman, A. S. 1968. Logevity and survivability of fungi. In: *The Fungi: An Advanced Treatise*. Vol. 3. (Eds C. C. Ainsworth & A. S. Sussman,.) Academic Press, New York, pp.447-486.

Tanaka, S., Shimomura, S., Takashima, S., Katumuto, K. and Nishi, Y. 1989. Occurrence of fungicide-resistant strains of *Alternaria mali* in Tokusa, Ato-cho, Yamaguchi Prefecture. (In Japanese, with English summary.) *Bulletin of the Faculty Agriculture Yamagucchi Univ.* **37**: 49-60.

Templeton, G.E., Grable, C.L., Fulton, N.D. and Bollenbacher, K. 1967. Factors affecting the amount and pattern of chlorosis caused by a metabolite of *Alternaria tenuis*. *Phytopathology* **57**: 516-518.

Thomas, C.E. 1996. Fungal Diseases Of Aerial Parts. In: Compendium of Cucurbit Diseases. (Eds. Zitter, T.A., Hopkins, D.L. & Thomas, C.E.). APS Press The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota 55121-2097, USA pp. 23.

Vakalounakis, D.J. 1990. Host range of *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae* causing leaf spot of cucumber. *Plant Disease* **74**: 227-230.

Vakalounakis, D.J., 1991. Control of early blight of greenhouse tomato, caused by *Alternaria solani*, by inhibiting sporulation with ultraviolet-absorbing vinyl film. *Plant Disease* **75**: 795-797.

Valkonem, J.P.T. and Koponen, H. 1990. The seed-borne fungi in chinese cabbage (*Brassica pekinensis*), their pathogenicity and control. *Plant Pathology* **39**: 510-516.

Vannacci, G. and Harman, G.E. 1987. Biocontrol of seed-borne *Alternaria raphani* and *Alternaria brassicicola*. *Canadian Journal of Microbiology*. **33**: 850-856.

Vloutoglou, I. 1994. Epidemiology of *Alternaria linicola* on linseed (*Linum usitatissimum*) Ph D. Thesis, University of Nottingham, University Park, Nottingham, UK. 378p.

Waggoner, P.E. and Horsfall, J.G. 1969. EPIDEM: A simulator of plant disease written for a computer. *Connecticut Agricultural Experiment Station Bulletin* p.698.

Watt, B.A. 1995. *Alternaria* Leaf Blight of Cucurbits. University of Maine. <http://pmo.umext.maine.edu/factsht/altercuc.htm>

Wellman, F.L. 1949. Successful spray control of *Alternaria* blight of petunias grown for seed in Costa Rica. *Plant Disease Reporter* **33**: 69-72.

Χολέβας, Κ.Α., Γαβαλάς, Ν.Α., Χιτζανιδου, Α., Κουγεα, Η., Τζάμος, Ε.Κ., Παππάς, Α.Χ., Ελένα, Κ., Θεοχάρη, Ι., Κορνάρου, Ε., Παναγόπουλος, Χ.Γ., Ψαλλίδας, Π.Γ., Αλιβιζάτος, Α.Σ., Κυριακοπούλου, Π.Η. & Μπέμ, Φ. 1990. Ασθένειες που παρατηρήθηκαν στην Ελλάδα κατά την περίοδο 1970-1980. *Χρονικά Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου (Ν.Σ.)* **16**: 1-82.

Zitter T.A. & Wien H.C. 1984. Out break of *Alternaria alternata* causing fruit rot of tomato in upstate New York. *Plant Disease* **68**:628.