

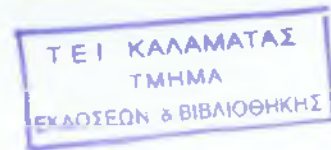
**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.) ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ
ΜΥΚΗΤΑ *Sclerotium cepivorum* Berk.**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΤΗΣ ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑΣ ΝΑΤΑΛΙΑΣ ΡΕΣΚΟΥ**

Καλαμάτα, Μάϊος 2005

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.) ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**



**ΜΕΛΕΤΗ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ
ΜΥΚΗΤΑ *Sclerotium cepivorum* Berk.**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΤΗΣ ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑΣ ΝΑΤΑΛΙΑΣ ΡΕΣΚΟΥ**

Επιβλέπων Καθηγητής: Αναστάσιος Ηλιόπουλος

Καλαμάτα, Μάϊος 2005

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	ΣΕΛ.
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	1
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ (ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ)	
Ο ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΜΥΚΗΤΑΣ <i>Sclerotium cepivorum</i> Berk. ΚΑΙ ΟΙ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥ	
1.1. ΟΙ ΞΕΝΙΣΤΕΣ	4
1.1.1. Καταγωγή - Ιστορικό	4
1.1.2. Βοτανική ταξινόμηση	4
1.1.3. Η καλλιέργεια των Βολβωδών Λαχανικών στη Χώρα μας	4
1.2. ΤΟ ΠΑΘΟΓΟΝΟ	6
1.2.1. Εδαφογενείς μύκητες	6
1.2.2. Συμπτώματα ασθενειών που προκαλούνται από εδαφογενείς μύκητες.	7
1.2.3. Κύκλος ξενιστών των εδαφογενών μυκήτων	7
1.2.4. Επιβίωση εδαφογενών μυκήτων	7
1.2.5. Ασθένειες που οφείλονται σε εδαφογενείς μύκητες	7
1.2.6. Ο μύκητας <i>Sclerotium cepivorum</i> Berk.	8
1.2.6.1. Ταξινόμηση	8
1.2.6.2. Περιγραφή-Μορφολογία	9
1.2.6.3. Βλάστηση σκληρωτίων	10
1.2.6.4. Επιβίωση	13
1.2.6.5. Γενετική παραλλακτικότητα στον πληθυσμό του μύκητα <i>S. cepivorum</i>	15
1.2.6.7. Κύκλος ξενιστών	18
1.3. Η ΑΣΘΕΝΕΙΑ	18
1.3.1. Γεωγραφική εξάπλωση	18
1.3.2. Συμπτωματολογία	19
1.3.3. Επιδημιολογία	21
1.3.4. Αντιμετώπιση	23
1.3.4.1. Καλλιεργητικά μέτρα	23
1.3.4.2. Χημικά μέσα	24
1.3.4.3. Ηλιοαπολύμανση	25
1.3.4.4. Βιολογική καταπολέμηση	26

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ (ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ)

ΜΕΛΕΤΗ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Sclerotium cepivorum* Berk.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	27
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	29
2.1. ΓΕΝΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	31
2.1.1. Θρεπτικά υλικά ανάπτυξης	31
2.1.2. Προέλευση – διατήρηση - αναβίωση απομονώσεων	31
2.1.3. Απομόνωση του μύκητα <i>S. cepivorum</i> από φυσικά μολυσμένα δείγματα εδάφους	32
2.1.4. Απομόνωση του μύκητα <i>S. cepivorum</i> από φυσικά μολυσμένα φυτά σκόρδου και κρεμμυδιού	36
2.2. ΡΥΘΜΟΣ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΑΥΞΗΣΗΣ ΜΥΚΗΛΙΟΥ	37
2.2.1. Σκοπός	37
2.2.2. Υλικά και Μέθοδοι	37
2.2.3. Αποτελέσματα	38
2.3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ <i>S. cepivorum</i>	42
2.3.1. Σκοπός	42
2.3.2. Υλικά και Μέθοδοι	42
2.3.3. Αποτελέσματα	42
2.4. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ <i>S. cepivorum</i>	48
2.4.1. Σκοπός	48
2.4.2. Υλικά και Μέθοδοι	48
2.4.3. Αποτελέσματα	50
2.5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	57
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	61

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία έγινε στο Εργαστήριο Μυκητολογίας του Τμήματος Φυτοπαθολογίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου παράλληλα με την πρακτική μου εξάσκηση και υπό την επίβλεψη της Δρος Ειρήνης Βλουτόγλου, Μυκητολόγου, Ερευνήτριας Β' βαθμίδας.

Η εργασία αποτελείται από δύο μέρη. Το πρώτο μέρος αναφέρεται στην ανασκόπηση της βιβλιογραφίας όσον αφορά στον παθογόνο μύκητα *Sclerotium cepivorum* (ταξινόμηση, περιγραφή, βιολογία, κλπ), τους ξενιστές του (κρεμμύδι, σκόρδο) και την ασθένεια ("λευκή σήψη") που αυτό προκαλεί στις καλλιέργειες του κρεμμυδιού και του σκόρδου (γεωγραφική εξάπλωση, συμπτωματολογία, επιδημιολογία, αντιμετώπιση). Το δεύτερο μέρος (πειραματικό) περιλαμβάνει τα Γενικά Υλικά και Μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν στα διάφορα πειράματα καθώς και την περιγραφή των επιμέρους πειραμάτων. Τα πειράματα αφορούν κυρίως στη συγκριτική μελέτη ελληνικών απομονώσεων του μύκητα *S. cepivorum* που προέρχονται από διάφορες περιοχές της χώρας. Πιο συγκεκριμένα, σε τρία πειράματα μελετήθηκε ο ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου, τα μορφολογικά και καλλιεργητικά χαρακτηριστικά των απομονώσεων καθώς και η γενετική συγγένειά τους. Σε κάθε ένα από τα επιμέρους πειράματα παρατίθενται, εκτός από τα υλικά, τη μεθοδολογία και τις τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν, τα αποτελέσματα με τη μορφή πινάκων. Το πειραματικό μέρος περιλαμβάνει επίσης συζήτηση και συμπεράσματα με βάση τα αποτελέσματα των πειραμάτων λαμβάνοντας υπόψη και τα μέχρι σήμερα σχετικά στοιχεία της Διεθνούς Βιβλιογραφίας. Στο τέλος του δεύτερου μέρους παρατίθεται κατάλογος των βιβλιογραφικών αναφορών στις οποίες βασίστηκε η παρούσα εργασία.

Στο σημείο αυτό αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω όλους εκείνους που συνέβαλαν στην πραγματοποίηση της πτυχιικής μου εργασίας. Ειδικότερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Δρα Ε. Βλουτόγλου για την επίβλεψη των πειραμάτων, τις πολύτιμες συμβουλές και υποδείξεις της κατά τη διάρκεια διεξαγωγής των πειραμάτων καθώς και τη βοήθεια που μου προσέφερε για τη συγγραφή και την καλύτερη παρουσίαση της εργασίας αυτής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα επίσης να απευθύνω στον Καθηγητή Φυτοπαθολογίας του Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Καλαμάτας κ. Αναστάσιο

Ηλιόπουλο για την έγκριση του θέματος της πτυχιακής εργασίας καθώς και για την κριτική ανάγνωση και διόρθωσή της.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω το ερευνητικό και τεχνικό προσωπικό του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου για την όποια βοήθεια μου προσέφερε κατά τη διάρκεια της πτυχιακής μου εργασίας.

Καλαμάτα, Μάιος 2005

Ναταλία Ρέσκου

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η “λευκή σήψη” (White rot) του κρεμμυδιού (*Allium cepa* L.) και του σκόρδου (*Allium sativum* L.), που προκαλείται από τον εδαφογενή μύκητα *Sclerotium cepivorum* Berk, είναι μια σοβαρή ασθένεια με μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση. Η ασθένεια εμφανίστηκε για πρώτη φορά σε καλλιέργεια κρεμμυδιού στην Αγγλία το 1841 και σε καλλιέργεια σκόρδου στην Ιταλία το 1903 (Pinto *et al.*, 1998). Μέχρι σήμερα η ασθένεια έχει διαπιστωθεί σε όλες σχεδόν τις περιοχές του κόσμου που καλλιεργούνται είδη του γένους *Allium*, συμπεριλαμβανομένης και της Χώρα μας. Πιο συγκεκριμένα, η παρουσία του μύκητα *S. cepivorum* έχει διαπιστωθεί στην Αφρική, την Ασία, την Αυστραλία, τη Νέα Ζηλανδία, τη Νότια και Βόρεια Αμερική και την Ευρώπη (Mordue, 1976).

Η ασθένεια, που προκαλείται από το μύκητα *S. cepivorum* στις καλλιέργειες κρεμμυδιού και σκόρδου, είναι μεγάλης οικονομικής σημασίας παγκοσμίως, καθόσον προκαλεί σημαντική μείωση της παραγωγής ή ολοκληρωτική απώλεια της καλλιέργειας με σοβαρές οικονομικές επιπτώσεις για τους παραγωγούς (Pinto *et al.*, 1998). Η μείωση της παραγωγής οφείλεται κυρίως στο ότι ο μύκητας προσβάλλει τις ρίζες και τους βολβούς των φυτών, παρεμποδίζοντας με αυτόν τον τρόπο την πρόσληψη νερού και θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος με αποτέλεσμα την ταχεία νέκρωση των προσβεβλημένων φυτών.

Ο μύκητας *S. cepivorum* επιβιώνει στο έδαφος, ακόμη και απουσία ξενιστή, με τη μορφή σκληρωτίων (Crowe, 1996). Τα σκληρώτια παραμένουν στο έδαφος σε κατάσταση ληθάργου για μεγάλα χρονικά διαστήματα (σε πολλές περιπτώσεις για περισσότερο από 15 χρόνια) μολύνοντας τις επόμενες καλλιέργειες (Coley-Smith *et al.*, 1987). Η βλάστηση των σκληρωτίων διεγείρεται κυρίως από την παρουσία πτητικών ή υδατοδιαλυτών ουσιών, που εκκρίνονται αποκλειστικά και μόνο από είδη του γένους *Allium* (Coley-Smith *et al.*, 1987).

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ (ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ)

Ο ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΜΥΚΗΤΑΣ *Sclerotium cepivorum* Berk. ΚΑΙ ΟΙ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥ

1.1. ΞΕΝΙΣΤΕΣ

1.1.1. Καταγωγή - Ιστορικό

Ο μύκητας *S. cepivorum* προσβάλλει κυρίως φυτά του γένους *Allium*. Το γένος *Allium* περιλαμβάνει πάνω από 300 είδη καλλιεργούμενων και αυτοφυών φυτών. Μεταξύ αυτών είναι το σκόρδο (*Allium sativum* L.) και το κρεμμύδι (*Allium cepa* L.), τα οποία είναι γνωστά στον άνθρωπο από την αρχαία εποχή αν και η χώρα καταγωγής τους δεν είναι απόλυτα γνωστή (Ολύμπιος, 1994). Πολύ βοτανολόγοι πιστεύουν ότι το κρεμμύδι κατάγεται από την Κ. Ασία (Περσία, Δυτικό Πακιστάν, Αφγανιστάν), όπου συναντάται κυρίως ως αυτοφύες. Η καλλιέργεια του κρεμμυδιού ήταν γνωστή στους Χαλδαίους, τους αρχαίους Αιγυπτίους και τους αρχαίους Έλληνες. Ο Vanilov υποστηρίζει ότι το κέντρο καταγωγής του σκόρδου είναι η Κ. Ασία και δευτερευόντως οι χώρες της Μεσογείου (Ολύμπιος, 1994).

Το σκόρδο μαζί με το κρεμμύδι αποτελούν τα σημαντικότερα από τα καλλιεργούμενα στη Χώρα μας βολβώδη λαχανικά. Χρησιμοποιούνται κυρίως ως τροφή ή με τη μορφή καρυκεύματος σε διάφορα φαγητά εξ αιτίας της χαρακτηριστικής οσμής και γεύσης τους. Επίσης χρησιμοποιούνται και για φαρμακευτικούς σκοπούς (Ολύμπιος, 1994).

1.1.2. Βοτανική Ταξινόμηση

Το σκόρδο (*Allium sativum* L.) και το κρεμμύδι (*Allium cepa* L.) κατατάσσονται σήμερα από τους βοτανολόγους στις Οικογένειες Liliaceae και Alliaceae, αντίστοιχα (Ολύμπιος, 1994). Παλαιότερα το κρεμμύδι κατατασσόταν από μερικούς στην Οικογένεια Amaryllidaceae και από άλλους στην Οικογένεια Liliaceae. Και τα δύο είδη ανήκουν στην Υποοικογένεια Allioideae και στην Υποκλάση Monocotyledoneae (Ολύμπιος, 1994).

1.1.3. Η καλλιέργεια των Βολβωδών Λαχανικών στη Χώρα μας

Τα καλλιεργούμενα στη Χώρα μας βολβώδη λαχανικά με μεγάλη οικονομική σημασία είναι: το κρεμμύδι (*Allium cepa* L.), το σκόρδο (*Allium sativum* L.) και το πράσο

Allium porrum L.), ενώ σε μικρότερη έκταση καλλιεργείται το κρεμμύδι το σκοροδόπρασο (*A. scorodoprasum*), το κρεμμύδι το ασκαλώνιο (*A. ascalonicum*), το κρεμμύδι το σχοινόπρασο (*A. schoenoprasum*), το κρεμμύδι το αμπελόπρασο (*A. ampeloprasum*) και το κρεμμύδι το συριγγώδες (*A. fistulosum*) (Ολύμπιος, 1994). Σύμφωνα με στοιχεία του Υπουργείου Γεωργίας (Πιν. 1, 2), μεταξύ των κηπευτικών, η καλλιέργεια του κρεμμυδιού καταλαμβάνει την τρίτη θέση σε έκταση μετά την πατάτα και την τομάτα. Το 2002 η εγχώρια παραγωγή κρεμμυδιού από μια συνολική έκταση 54.920 στρ. ανερχόταν σε 157.430 τόνους (Πιν. 1). Το 2003, αν και η καλλιεργούμενη έκταση αυξήθηκε στα 55.857 στρ., η παραγωγή μειώθηκε στους 152.064 τόνους (Πιν. 1). Οι Νομοί της Χώρας με τη μεγαλύτερη παραγωγή κρεμμυδιού είναι οι: Βοιωτίας, Λακωνίας, Ευβοίας, Τρικάλων, Ηλείας και Λαρίσης με παραγωγή 90.000, 9.200, 6.000, 5.200, 4.000 και 3.600 τόνους για το έτος 2003, αντίστοιχα (Πιν. 2). Το σκόρδο επίσης καλλιεργείται σε πολλές περιοχές της χώρας μας (Πιν. 1 & 3). Η συνολική έκταση που καλλιεργήθηκε με σκόρδο το 2002 ήταν 9.860 στρ. με συνολική παραγωγή 8.060 τόνων, ενώ το 2003 η έκταση που καλλιεργήθηκε με σκόρδο ήταν 10.943 στρ. και η παραγωγή 11.057 τόνους (Πιν. 1). Τη μεγαλύτερη καλλιεργήσιμη με σκόρδα έκταση και παραγωγή για το 2003 είχαν οι Νομοί Ευβοίας, Λαρίσης, Ορεστιάδας, Αρκαδίας, Μαγνησίας και Αχαΐας (Πιν. 3).

Πίνακας 1. Έκταση και παραγωγή κρεμμυδιού και σκόρδου στη Χώρας μας κατά την περίοδο 2002-2003 (Πηγή: Υπουργείο Γεωργίας)

Έτος	Κρεμμύδι		Σκόρδο	
	Έκταση (στρέμματα)	Παραγωγή (τόνοι)	Έκταση (στρέμματα)	Παραγωγή (τόνοι)
2002	54.920	157.430	9.860	8.060
2003	55.857	152.064	10.943	11.057

Πίνακας 2. Νομοί της Χώρας με τη μεγαλύτερη έκταση και παραγωγή κρεμμυδιού για την περίοδο 2002-2003 (Πηγή: Υπουργείο Γεωργίας)

Νομοί	2002		2003	
	Έκταση (στρέμματα)	Παραγωγή (τόνοι)	Έκταση (στρέμματα)	Παραγωγή (τόνοι)
Βοιωτίας	17.000	95.000	16.000	90.000
Λακωνίας	2.800	8.700	3.400	9.200
Ευβοίας	2.000	6.000	2.000	6.000
Τρικάλων	2.000	4.000	2.700	5.200
Ηλείας	1.400	4.000	1.600	4.000
Λαρίσης	600	3.600	600	3.600

Πίνακας 3. Νομοί της Χώρας με τη μεγαλύτερη έκταση και παραγωγή σκόρδου για την περίοδο 2002-2003 (Πηγή: Υπουργείο Γεωργίας)

Νομοί	2002		2003	
	Έκταση (στρέμματα)	Παραγωγή (τόνοι)	Έκταση (στρέμματα)	Παραγωγή (τόνοι)
Ευβοίας	1.000	1.500	2.200	4.500
Λαρίσης	700	1.050	1.300	1:500
Ορεστιάδας	1.000	690	1.000	690
Αρκαδίας	770	620	770	620
Μαγνησίας	400	430	300	400
Αχαΐας	380	300	350	300

1.2. ΠΑΘΟΓΟΝΟ

1.2.1. Εδαφογενείς μύκητες

Οι μύκητες (παθογόνοι ή σαπρόφυτοι) συνήθως εντοπίζονται στο έδαφος, τον αέρα (κυρίως ως σπόρια) και στις επιφάνειες των φυτών, σε διάφορες περιοχές του κόσμου και κάτω από διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες (τροπικές, εύκρατες, αλπικές περιοχές) (Αnonymous, 2000). Όσοι από τους μύκητες επιβιώνουν στο έδαφος ή στα φυτικά υπολείμματα που βρίσκονται στο έδαφος ονομάζονται εδαφογενείς μύκητες (soil-borne fungi). Επομένως, το έδαφος είναι μια δεξαμενή μόλυσματος αυτών των μυκήτων, οι περισσότεροι από τους οποίους είναι ευρέως διαδεδομένοι στα καλλιεργούμενα εδάφη.

Οι εδαφογενείς φυτοπαθογόνοι μύκητες προσβάλλουν συνήθως τις ρίζες και το λαιμό των καλλιεργούμενων φυτών (Αnonymous, 2000). Οι ζημιές που προκαλούνται από τους μύκητες αυτούς συνήθως περνούν απαρατήρητες μέχρι τη στιγμή που στα υπέργεια μέρη των φυτών θα εμφανιστούν τα πρώτα συμπτώματα της προσβολής. Η αντιμετώπιση των ασθενειών που προκαλούνται από εδαφογενείς μύκητες είναι δύσκολη γιατί τα παθογόνα αυτά α) έχουν την ικανότητα να επιβιώνουν στο έδαφος για μεγάλα χρονικά διαστήματα, ακόμη και απουσία ξενιστή, β) έχουν ευρύ κύκλο ξενιστών που περιλαμβάνει και μη καλλιεργούμενα φυτά (ζιζάνια), και γ) τα διάφορα φυτοπροστατευτικά προϊόντα (μυκητοκτόνα) δεν είναι συνήθως αποτελεσματικά ή εμφανίζουν πρακτικές δυσκολίες εφαρμογής τους στο έδαφος (Αnonymous, 2000).

1.2.2. Συμπτώματα ασθενειών που προκαλούνται από εδαφογενείς μύκητες.

Οι περισσότεροι από τους εδαφογενείς φυτοπαθογόνους μύκητες προσβάλλουν το ριζικό σύστημα, το λαιμό ή τα στελέχη των φυτών παρεμποδίζοντας την πρόσληψη και μεταφορά του νερού και των θρεπτικών ουσιών από το έδαφος στα φυτά (Αnonymous, 2000). Ως εκ τούτου, τα συμπτώματα που προκαλούνται στα φυτά μοιάζουν με εκείνα της ξηρασίας ή της έλλειψης θρεπτικών στοιχείων. Τέτοια συμπτώματα είναι η μάρανση, η χλώρωση, ο νανισμός και τελικά η νέκρωση του φυτού.

1.2.3. Κύκλος ξενιστών των εδαφογενών μυκήτων.

Η πλειοψηφία των εδαφογενών μυκήτων έχει μεγάλο εύρος ξενιστών και γι' αυτό, στις περισσότερες των περιπτώσεων, η αμειψισπορά δεν είναι αποτελεσματική μέθοδος αντιμετώπισης των παθογόνων αυτών (Αnonymous, 2000). Επιπλέον, οι μύκητες αυτοί συνήθως προκαλούν διαφορετικά συμπτώματα σε διάφορους ξενιστές. Για παράδειγμα, ένα είδος εδαφογενούς μύκητα μπορεί να προκαλέσει σήψη ριζών σε έναν ξενιστή, ενώ σε άλλον να μολύνει τη ρίζα δίχως την εμφάνιση συμπτωμάτων. Εντούτοις, ορισμένα είδη εδαφογενών μυκήτων έχουν πολύ μικρό κύκλο ξενιστών, όπως π.χ. οι ειδικές μορφές (*forma speciales*) του *Fusarium oxysporum* που προκαλεί τις αδροφουζαριώσεις.

1.2.4. Επιβίωση εδαφογενών μυκήτων.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, οι εδαφογενείς μύκητες μπορούν να επιβιώσουν στο έδαφος για μεγάλα χρονικά διαστήματα, σε μερικές δε περιπτώσεις για χρόνια (Αnonymous, 2000). Η επιβίωση στο έδαφος μερικών εδαφογενών μυκήτων επιτυγχάνεται συνήθως με τη μορφή διαχειμάζοντος μυκηλίου πάνω στα υπολείμματα των προσβεβλημένων φυτών. Το μόλυσμα τέτοιων παθογόνων συνήθως μειώνεται βαθμιαία καθώς αποσυντίθενται οι φυτικοί ιστοί λόγω της υψηλής θερμοκρασίας και της υγρασίας του εδάφους. Άλλα είδη εδαφογενών μυκήτων επιβιώνουν στο έδαφος με τη μορφή άλλων ανθεκτικών στις αντίξοες συνθήκες αναπαραγωγικών οργάνων, όπως είναι τα ωσπόρια, τα χλαμυδοσπόρια, τα σκληρώτια και τα μικροσκληρώτια.

1.2.5. Ασθένειες που οφείλονται σε εδαφογενείς μύκητες.

A. Σήψεις ριζών. Οι ασθένειες αυτές μπορεί να προκληθούν από ένα μεγάλο αριθμό εδαφογενών μυκήτων, που ανήκουν κυρίως στα γένη *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Armillaria* και *Cylindrocladium* (Αnonymous, 2000). Μερικοί από τους μύκητες αυτούς προκαλούν σήψη σε νεαρά ριζίδια, ενώ άλλοι προσβάλλουν

μεγαλύτερης ηλικίας ρίζες. Και στις δύο περιπτώσεις τα συμπτώματα περιλαμβάνουν μαρανση, νέκρωση και πρόωρη πτώση φύλλων, νέκρωση βλαστών και κλάδων, ενώ σε σοβαρές προσβολές προκαλείται νέκρωση ολόκληρων φυτών.

Β. Σήψεις λαιμού, στελεχών και καρπών. Και οι ασθένειες αυτές μπορεί να προκληθούν από ένα μεγάλο αριθμό εδαφογενών μυκήτων, που συνήθως ανήκουν στα γένη *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Sclerotinia*, *Fusarium* και *Aspergillus* (Anonymus, 2000). Τα συμπτώματα των ασθενειών αυτών είναι συνήθως σήψη του στελέχους στην περιοχή του λαιμού, με αποτέλεσμα τη χλώρωση και νέκρωση του υπέργειου μέρους του φυτού ή σήψη στους καρπούς (προσυλλεκτικά ή μετασυλλεκτικά).

Γ. Αδρομυκώσεις. Οι ασθένειες αυτές προκαλούνται κυρίως από τους μύκητες *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae* και *V. albo-atrum* (Anonymous, 2000). Τα συμπτώματα που προκαλούν είναι συνήθως μαρανση των φυτών, ιδιαίτερα τις θερμές ώρες της ημέρας και νέκρωση των αγγείων του στελέχους που εκδηλώνεται με μεταχρωματισμό λόγω προσβολής των αγγείων από τους παραπάνω μύκητες.

Δ. Τήξεις φυταρίων. Οι εδαφογενείς μύκητες που συνήθως προκαλούν τήξεις φυταρίων ανήκουν στα γένη *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* και *Fusarium* (Anonymous, 2000). Τα παθογόνα αυτά μολύνουν τους σπόρους κατά τη διάρκεια της βλάστησής τους ή τα νεαρά φυτάρια λίγο πριν ή αμέσως μετά την έξοδό τους από την επιφάνεια του εδάφους. Περιβαλλοντικοί ή εδαφολογικοί παράγοντες, που παρεμποδίζουν τη βλάστηση των σπόρων ή την έξοδο των νεαρών φυταρίων από το έδαφος, συνήθως προκαλούν αύξηση της έντασης των ασθενειών που προκαλούνται από τα παραπάνω παθογόνα. Πιο συγκεκριμένα, χαμηλή θερμοκρασία του εδάφους, ξηρές ή πολύ υγρές εδαφικές συνθήκες, βαριά και ασφυκτικά εδάφη, κ.λ.π. συνήθως οδηγούν στην εμφάνιση τήξεων στα νεαρά φυτάρια.

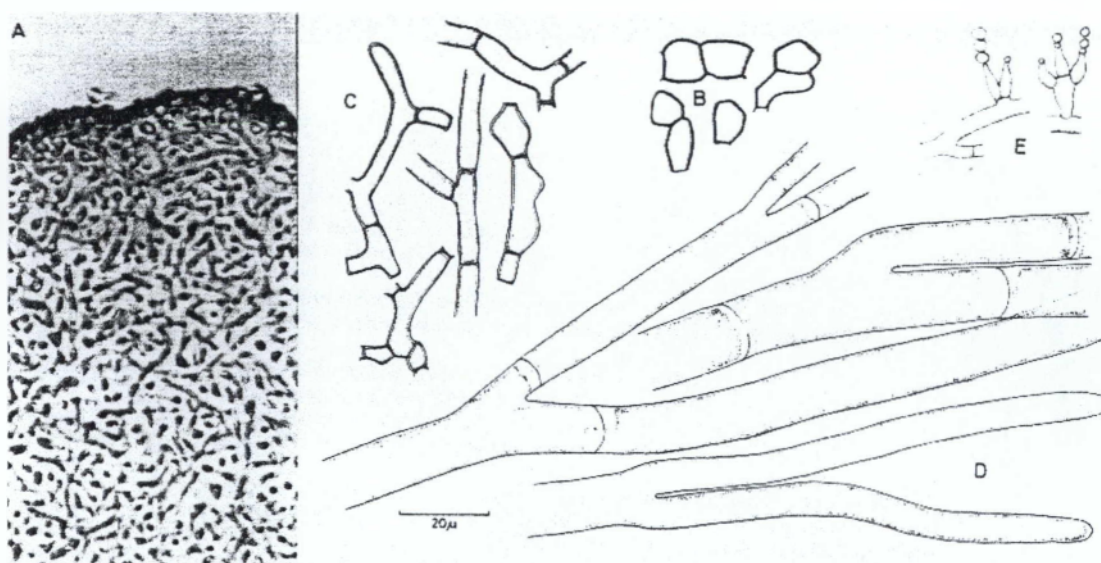
1.2.6. Ο μύκητας *Sclerotium cepivorum* Berk.

1.2.6.1. Ταξινόμηση

Ο μύκητας *S. cepivorum* Berk. [συν. *Stromatinia cepivorum* (Berk.) Whetzel] ανήκει στην Οικογένεια Sclerotiniaceae, στην Τάξη Agonomycetales (Myceliales), στην Κλάση Agonomycetes (Mycelia Sterilia) και στην Υποδιαίρεση Deuteromycotina (Ηλιόπουλος, 2004).

1.2.6.2. Περιγραφή-Μορφολογία

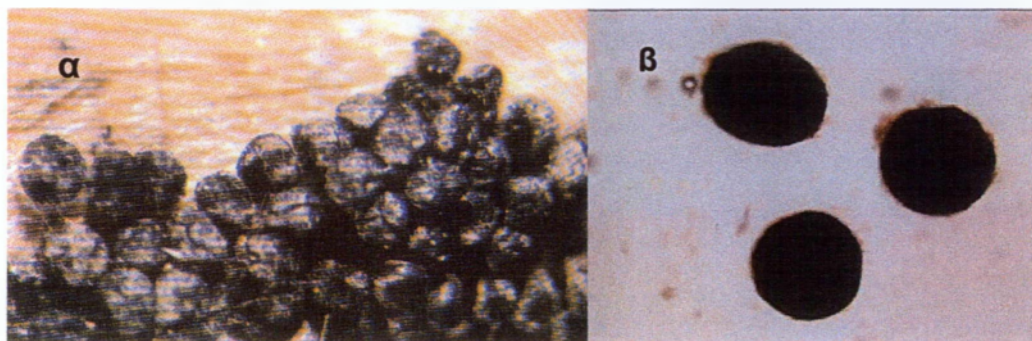
Ο μύκητας *S. cerivorum* σχηματίζει σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA (potato dextrose agar) αποικίες λευκού ή ελαφρώς καστανογκρίζου χρώματος που αποτελούνται από ένα σχετικά ομοιόμορφο στρώμα εναέριου μυκηλίου στο οποίο, σε μερικές περιπτώσεις, εμφανίζονται κατά θέσεις σημεία με μακρύτερες και πυκνότερες υφές (Mordue, 1976). Τα κύτταρα των πρωταρχικών υφών στην άκρη της αποικίας έχουν λεπτά τοιχώματα, πυκνό κοκκώδες περιεχόμενο και πλάτος που κυμαίνεται από 9 έως 14 μm (Mordue, 1976). Το ακραίο κύτταρο των υφών έχει συνήθως μήκος 300-400 μm, ενώ συχνά διχοτομείται λίγο πριν από την εμφάνιση του πρώτου διαφράγματος (septum) (Εικ. 1D). Τα κύτταρα των πρωταρχικών υφών, που βρίσκονται πίσω από το ακραίο κύτταρο, έχουν μήκος 30-100 μm, ενώ τα κύτταρα των υπολοίπων υφών (δευτερογενών και διακλαδώσεων) είναι συνήθως στενότερα από εκείνα των πρωταρχικών.



Εικόνα 1. (A) Τομή σκληρωτίου, (B) κύτταρα επιδερμίδας σκληρωτίου, (C) κύτταρα ψευδοπαρεγχύματος, (D) μορφολογία υφής στην άκρη της αποικίας, και (E) σπερμάτια του μύκητα *S. cerivorum* (CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, Mordue, 1976).

Στην επιφάνεια της αποικίας αναπτύσσονται μικροσκοπικά (διάμετρος 200-500 μm), μαύρα, με λεία ή ελαφρώς ανώμαλη επιφάνεια και σχεδόν σφαιρικά, σκληρώτια. (Mordue, 1976) (Εικ. 2). Σύμφωνα με τον Crowe (1996), παρουσία σκληρωτίων του παθογόνου μεγαλύτερου μεγέθους (5-25 mm σε διάμετρο) και ακανονίστου σχήματος έχει αναφερθεί σε καλλιέργειες κρεμμυδιού στην Αίγυπτο, Νέα Ζηλανδία και Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Ανάλογα με την απομόνωση του μύκητα, τα σκληρώτια μπορεί να

εμφανίζονται σε συγκεντρικούς κύκλους ή ομοιόμορφα διάσπαρτα πάνω στην αποικία. Τα σκληρώτια σχηματίζονται συνήθως μεμονωμένα στις άκρες των διακλαδώσεων των υφών (Mordue, 1976).



Εικόνα 2. Σκληρώτια του μύκητα *S. cepivorum*: (α) συσσωματώματα σκληρωτίων στο στερεοσκόπιο, και (β) μεμονωμένα σκληρώτια στο μικροσκόπιο (x100).

Τα ώριμα σκληρώτια αποτελούνται από ένα εξωτερικό, παχύ και έντονα χρωματισμένο τοίχωμα, ένα ενδιάμεσο λεπτό φλοιό πάχους 2-3 κυττάρων και ένα εσωτερικό πυκνό πλέγμα λεπτών (4-12 μm σε διάμετρο), άχρωμων μυκηλιακών υφών (ψευδοπαρέγχυμα). Τα σκληρώτια του μύκητα *S. cepivorum* συνήθως βλαστάνουν μόνο μια φορά, αν και ένα ποσοστό 1-2% των σκληρωτίων μπορεί να σχηματίσει ένα ή περισσότερα δευτερογενή σκληρώτια, μικρότερου όμως μεγέθους (Crowe, 1996).

Μέχρι σήμερα δεν έχει βρεθεί η τέλεια μορφή του μύκητα *S. cepivorum* (Mordue, 1976). Το παθογόνο δεν παράγει λειτουργικά σπόρια εκτός από κάποια μικροκονίδια που μοιάζουν με σπερμάτια (Εικ. 1Ε) και τα οποία σχηματίζονται σε *in vitro* καλλιέργειες του μύκητα, ιδιαίτερα σε θρεπτικό υπόστρωμα WA (water agar) (Crowe, 1996).

1.2.6.3. Βλάστηση σκληρωτίων

Η βλάστηση των σκληρωτίων του μύκητα *S. cepivorum* λαμβάνει χώρα με δύο τρόπους: α) με διάρρηξη του σκληρωτίου (συνήθης τρόπος), διαδικασία η οποία υποκινείται από τον ξενιστή, και β) με το σχηματισμό άφθονων μυκηλιακών υφών, που εξέρχονται από την επιφάνεια του άθικτου σκληρωτίου, διαδικασία η οποία είναι ανεξάρτητη από την παρουσία ξενιστή (New *et al.*, 1984).

Στην πρώτη περίπτωση, στην επιφάνεια του σκληρωτίου εμφανίζεται αρχικά μια διόγκωση, το σκληρώτιο σπάει στο σημείο αυτό, πιθανόν λόγω της αυξημένης πίεσης που

ασκείται από το εσωτερικό του και στη συνέχεια παρατηρείται έξοδος από το σημείο αυτό μιας πυκνής μάζας μυκηλίου (Coley-Smith, 1960). Σε μερικές μάλιστα περιπτώσεις, ιδιαίτερα παρουσία εκχυλισμάτων των ειδών *Allium sativum*, *A. vineale* και *A. ursinum*, έχει παρατηρηθεί έξοδος μυκηλιακών υφών από διαφορετικά σημεία της επιφάνειας σκληρωτίων του μύκητα *S. cepivorum*. Στη συνέχεια οι μυκηλιακές αυτές υφές επιμηκύνονται, ενώ κατά θέσεις παρατηρούνται και αναστομώσεις του μυκηλίου. Παράλληλα, το βλαστημένο σκληρώτιο σπάζει αποκαλύπτοντας το εσωτερικό πυκνό πλέγμα κυττάρων του (ψευδοπαρέγχυμα), που συνήθως καλύπτεται από δέσμες μικροκονιδίων του μύκητα (Coley-Smith, 1960). Μετά από διάστημα 2-3 ημερών από την έναρξη της βλάστησης του σκληρωτίου, στις άκρες μερικών μυκηλιακών υφών εμφανίζονται διογκώσεις που μοιάζουν με τα αρχικά στάδια σχηματισμού σκληρωτίων. Εντούτοις σε ελάχιστες μόνο περιπτώσεις οι διογκώσεις αυτές παράγουν ώριμα σκληρώτια (Coley-Smith, 1960). Επιπλέον, απευθείας πάνω στις μυκηλιακές υφές ή σε μικρές πλευρικές διακλαδώσεις των υφών παρατηρείται σχηματισμός φιαλιδίων σε δέσμες, πάνω στα οποία παράγονται σε αλυσίδες τα μικροκονίδια του μύκητα διαμέτρου 1,6-2 μm. Σύμφωνα με τους Gindro & L'Hoste (1997), αν και τα μικροκονίδια του μύκητα έχουν την ικανότητα να βλαστάνουν και να μολύνουν φυτά κρεμμυδιού, δεν είναι γνωστός ο ρόλος τους στην επιβίωση και τη διασπορά του παθογόνου. Εντούτοις, δεδομένης της ομοιότητάς τους με τα σπερμάτια που παράγονται από άλλα είδη της Οικογένειας Sclerotiniaceae, είναι πιθανόν και τα μικροκονίδια του μύκητα *S. cepivorum* να είναι σπερμάτια (Uhm & Fugii, 1983). Δέκα με 15 ημέρες μετά τη βλάστηση των σκληρωτίων και απουσία ευπαθούς ξενιστή παρατηρείται αποδιοργάνωση των μυκηλιακών υφών, των διογκώσεων που σχηματίζονται στις άκρες τους και των σκληρωτίων, τα οποία σκληρώτια εμφανίζονται ως σπασμένα, άδεια κελύφη (Coley-Smith, 1960). Αντίθετα, στην περίπτωση της βλάστησης σκληρωτίων με τη μορφή άφθονων μυκηλιακών υφών, που εξέρχονται από την επιφάνειά τους (δεύτερος τρόπος βλάστησης), τα σκληρώτια δεν αποδιοργανώνονται και έχουν την ικανότητα να βλαστήσουν ξανά (New *et al.*, 1984).

Σύμφωνα με τους Entwistle & Munasinghe (1981), ο μύκητας *S. cepivorum* έχει την ικανότητα να σχηματίζει και δευτερογενή σκληρώτια, που είναι μικρότερου μεγέθους (<200 μm) από τα τυπικά σκληρώτια και τα οποία παράγονται στο εσωτερικό ήδη βλαστημένων πρωτογενών σκληρωτίων. Τα δευτερογενή σκληρώτια βλαστάνουν όπως ακριβώς και τα μητρικά τους (πρωτογενή) και πιθανόν να σχηματίζονται όταν, κατά τη διάρκεια βλάστησης των μητρικών σκληρωτίων, επικρατήσουν συνθήκες δυσμενείς για την ολοκλήρωση της διαδικασίας βλάστησης (Entwistle & Munasinghe, 1981). Οι παραπάνω

ερευνητές αναφέρουν επίσης ότι τα δευτερογενή σκληρώτια του μύκητα μπορούν να μολύνουν τις ρίζες φυτών κρεμμυδιού και επομένως να συμβάλουν στην αύξηση της έντασης της ασθένειας στο χωράφι.

Απουσία ξενιστή, τα σκληρώτια του μύκητα *S. cepivorum* συνήθως επιβιώνουν στο έδαφος για πολλά χρόνια σε κατάσταση λήθαργου, φαινόμενο που οφείλεται σε εξωγενείς παράγοντες (εξωγενής λήθαργος) και ειδικότερα στη μυκόσταση του εδάφους (Coley-Smith, 1960; Coley-Smith *et al.*, 1967; Bristow & Lockwood, 1975; Coley-Smith, 1983). Η έξοδος των σκληρωτίων από τον εξωγενή λήθαργο επιτυγχάνεται με την παρουσία ειδών του γένους *Allium* ή μετά από επίδραση πτητικών ή υδατοδιαλυτών ουσιών, όπως είναι τα S-alk(en)yl-L-cysteine σουλφοξειδία ή ουσιών στις οποίες αποδομούνται τα σουλφοξειδία, όπως είναι οι 1-propyl disulphide και 2-propenyl (=diallyl) disulphide (Coley-Smith & King, 1969; Coley-Smith & Cooke, 1971; Crowe, 1996). Οι παραπάνω ουσίες, που εκκρίνονται αποκλειστικά και μόνο από τις ρίζες ειδών του γένους *Allium*, διεγείρουν τη βλάστηση σκληρωτίων του μύκητα *S. cepivorum* ακόμη και εκείνων που βρίσκονται σε αποστάσεις 10 cm από τις ρίζες των φυτών (Coley-Smith & King, 1969; King & Coley-Smith, 1969; Coley-Smith & Cooke, 1971; Crowe, 1996).

Εκτός όμως από τον εξωγενή λήθαργο, τα σκληρώτια του μύκητα, ιδιαίτερα εκείνα που σχηματίζονται πάνω στον ξενιστή ή σε καλλιέργειες *in vitro*, εμφανίζουν και ένα δεύτερο τύπο λήθαργου (βασικός λήθαργος), που διαρκεί 1-3 μήνες και ο οποίος δεν επηρεάζεται από τις παραπάνω ουσίες ή την παρουσία φυτών του γένους *Allium* (Coley-Smith, 1960; Coley-Smith *et al.*, 1987). Σύμφωνα με τους Coley-Smith *et al.* (1987), η έξοδος των σκληρωτίων από το βασικό λήθαργο επιτυγχάνεται μόνο όταν τα σκληρώτια μεταφερθούν σε φυσικό, μη αποστειρωμένο έδαφος. Γενικά όμως στη Διεθνή Βιβλιογραφία δεν υπάρχουν στοιχεία όσον αφορά στους φυσιολογικούς ή/και βιοχημικούς παράγοντες που επηρεάζουν το βασικό λήθαργο των σκληρωτίων του μύκητα *S. cepivorum*.

Η βλάστηση των σκληρωτίων του μύκητα *S. cepivorum* επηρεάζεται και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, ο σημαντικότερος των οποίων είναι η θερμοκρασία του εδάφους. Πιο συγκεκριμένα, η διαδικασία της βλάστησης είναι αργή σε θερμοκρασίες εδάφους μικρότερες των 9°C, άριστη σε θερμοκρασίες 14-18°C, ενώ σταματά σε θερμοκρασίες γύρω στους 24°C (Crowe, 1996). Σύμφωνα με τον Gerbrandy (1989), ο ρυθμός βλάστησης των σκληρωτίων, το ποσοστό βλάστησης καθώς και ο βαθμός διέγερσης των σκληρωτίων από ουσίες που εκκρίνονται από φυτά του γένους *Allium* επηρεάζονται και από τη θερμοκρασία του εδάφους κατά την περίοδο που προηγείται της έναρξης της διαδικασίας βλάστησης. Πιο συγκεκριμένα, σκληρώτια που υπέστησαν μια περίοδο με

θερμοκρασίες εδάφους γύρω στους 5⁰C βλάστησαν σε υψηλό ποσοστό (90%), ακόμα και χωρίς την παρουσία ξενιστή, μόνο όταν στη συνέχεια η θερμοκρασία του εδάφους αυξήθηκε στους 15 ή 20⁰C. Αντίθετα, όταν η θερμοκρασία του εδάφους κατά την περίοδο που προηγήθηκε της βλάστησης των σκληρωτίων ήταν 20⁰C, το υψηλότερο ποσοστό βλάστησης παρατηρήθηκε όταν στη συνέχεια η θερμοκρασία μειώθηκε στους 10 ή 5⁰C (Gerbrandy, 1989).

Ένας άλλος παράγοντας που επηρεάζει τη βλάστηση των σκληρωτίων είναι η υγρασία του εδάφους. Σύμφωνα με τον Crowe (1996), οι άριστες συνθήκες για τη βλάστηση των σκληρωτίων του παθογόνου από πλευράς εδαφικής υγρασίας είναι εκείνες που ευνοούν την ανάπτυξη των ριζών του ξενιστή (-300 mbar).

1.2.6.4. Επιβίωση

Ο μύκητας *S. cepivorum* επιβιώνει στο έδαφος για μεγάλα χρονικά διαστήματα, ακόμη και απουσία ξενιστή, με τη μορφή σκληρωτίων. Εμφάνιση της ασθένειας σε φυτά κρεμμυδιού, που καλλιεργήθηκαν σε εδάφη στα οποία δεν είχε καλλιεργηθεί για χρόνια άλλος ευπαθής ξενιστής, αποδίδεται συνήθως στην παρουσία ζωντανών σκληρωτίων του μύκητα στο έδαφος (Coley-Smith *et al.*, 1990). Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η αναφορά των Croxall *et al.* (1953) για προσβολή καλλιέργειας κρεμμυδιού από το παθογόνο σε εδάφη που καλλιεργούνται με κτηνοτροφικά φυτά για περίπου 20 χρόνια. Οι Crowe *et al.* (1980), διαπίστωσαν παρουσία ζωντανών σκληρωτίων του μύκητα σε αγρούς της Καλιφόρνιας που δεν είχαν καλλιεργηθεί με κρεμμύδια τα τελευταία 10-15 χρόνια. Εκτός από τις παραπάνω έμμεσες αναφορές, οι Coley-Smith & Sansford (1986) αναφέρουν ότι σκληρώτια που προέρχονταν από καλλιέργεια του μύκητα *S. cepivorum* σε συνθετικό θρεπτικό υπόστρωμα (*in vitro*) διατηρήθηκαν στο έδαφος για 18 χρόνια. Σε αντίθεση με όλα τα παραπάνω όμως υπάρχουν και αναφορές για αδυναμία των σκληρωτίων του παθογόνου να επιβιώσουν στο έδαφος για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Πιο συγκεκριμένα, οι Leggett *et al.* (1983) και Leggett & Rahe (1985) αναφέρουν ότι μόνο το 24% των σκληρωτίων που ενσωματώθηκαν στο έδαφος επιβίωσαν μετά από 16 μήνες. Παρόμοια οι Alexander & Stewart (1994) διαπίστωσαν ότι μόνο το 22 και 3% των σκληρωτίων του μύκητα επιβίωσε για 3 και 11 μήνες, αντίστοιχα, σε εδάφη της Ν. Ζηλανδίας.

Πολλοί αβιοτικοί και βιοτικοί παράγοντες φαίνεται ότι επηρεάζουν τη διάρκεια επιβίωσης των σκληρωτίων του μύκητα *S. cepivorum* στο έδαφος. Σύμφωνα με τους Coley-Smith *et al.* (1990) και Entwistle & Munasinghe (1975), η επιβίωση στο έδαφος των σκληρωτίων που προέρχονταν από *in vitro* καλλιέργεια του μύκητα ήταν καλύτερη από

εκείνη των σκληρωτίων που προέρχονταν από μολυσμένους βολβούς κρεμμυδιών. Πιο συγκεκριμένα, οι Entwistle & Munasinghe (1975) αναφέρουν ότι μόνο το 30% των σκληρωτίων, που συλλέχθηκαν από το έδαφος προσβελημένων με το μύκητα *S. cepivorum* καλλιεργειών κρεμμυδιού, επιβίωσε για 3 μήνες στο έδαφος, ενώ για την ίδια περίοδο επιβίωσε πάνω από το 90% των σκληρωτίων που προέρχονταν από *in vitro* καλλιέργεια του μύκητα. Οι Leggett & Rahe (1985) διαπίστωσαν ότι σκληρώτια του μύκητα που είχαν θαφτεί σε οργανικό έδαφος αποσυντέθηκαν με την πάροδο του χρόνου και η αποσύνθεση αυτή σχετιζόταν με την για μεγάλα χρονικά διαστήματα κατάκλιση του εδάφους με νερό κατά τη διάρκεια του χειμώνα. Σημαντική μείωση της βιωσιμότητας των σκληρωτίων του μύκητα διαπιστώθηκε από τους Porter & Merriman (1983) σε θερμά εδάφη της Ν. Αυστραλίας, ιδιαίτερα στα επιφανειακά στρώματα του εδάφους όπου παρατηρήθηκαν ακραίες τιμές θερμοκρασίας και υγρασίας. Σύμφωνα με τον Adams (1987), η βιωσιμότητα των σκληρωτίων του μύκητα *S. cepivorum* μειώθηκε κατά 50% σε διάστημα 39, 6 ή 2 h όταν η θερμοκρασία του εδάφους ήταν 40, 45 ή 50°C, αντίστοιχα. Αντίθετα, τα σκληρώτια επιβίωσαν αρκετά καλά σε θερμοκρασίες εδάφους μικρότερες των 35°C.

Καταστροφή των σκληρωτίων του μύκητα *S. cepivorum* διαπιστώθηκε από τους Coley-Smith *et al.* (1990) μετά από μεγάλη περίοδο παραμονής τους στο έδαφος. Αυτό πιθανόν να οφείλεται είτε στη σταδιακή απώλεια του περιεχομένου τους, λόγω εναλλαγής υγρών και ξηρών συνθηκών είτε στη δράση διαφόρων μικροοργανισμών του εδάφους (Coley-Smith *et al.*, 1990). Σύμφωνα με τους Smith (1972) και Coley-Smith *et al.* (1974), ο μύκητας *Trichoderma hamatum* προσέβαλε σκληρώτια του παθογόνου μύκητα *S. cepivorum* μόνο εφόσον αυτά είχαν χάσει ένα σημαντικό μέρος του περιεχομένου τους λόγω αφυδάτωσης. Παρόμοια, οι Uecker *et al.* (1978) διαπίστωσαν συσχέτιση της παρουσίας του μυκοπαράσιτου *Sporidesmium sclerotivorum* και της φυσικής μείωσης στον πληθυσμό του *S. cepivorum* στα εδάφη των ΗΠΑ. Αντίθετα, οι Perez & Garcia Espinosa (1986) και Coley-Smith *et al.* (1990) δε διαπίστωσαν καμιά μείωση στον πληθυσμό των σκληρωτίων του μύκητα στα εδάφη του Μεξικού και του Ηνωμένου Βασιλείου από την παρουσία των μυκοπαράσιτων *S. sclerotivorum* και *Teratosperma oligocladium*, αντίστοιχα.

Η διάρκεια όμως επιβίωσης των σκληρωτίων στο έδαφος εξαρτάται και από την ηλικία τους. Πιο συγκεκριμένα, όπως διαπίστωσαν οι Harper *et al.* (2002), σκληρώτια του μύκητα *S. cepivorum* που συλλέχθηκαν στην αρχή της καλλιεργητικής περιόδου εμφάνισαν μεγαλύτερο ποσοστό επιβίωσης (100%) σε σχέση με εκείνα που συλλέχθηκαν προς το τέλος της (82%). Αυτό πιθανόν οφείλεται στο γεγονός ότι τα σκληρώτια που συλλέχθηκαν

στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου είχαν υποστεί τη δυσμενή επίδραση αντίξοων περιβαλλοντικών συνθηκών και διαφόρων βιοτικών παραγόντων (μικροοργανισμοί εδάφους). Σύμφωνα με τους Coley-Smith *et al.* (1990) μερικά από τα νεοσχηματιζόμενα σκληρώτια καταστρέφονται μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα από τον σχηματισμό τους. Εκείνα όμως που κατορθώνουν να επιβιώσουν για κάποιο αρχικό διάστημα, συνήθως διατηρούν τη βιωσιμότητά τους για μεγάλα χρονικά διαστήματα.

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την επιβίωση του παθογόνου στο έδαφος είναι το βάθος στο οποίο βρίσκονται τα σκληρώτια. Στοιχεία της Διεθνούς Βιβλιογραφίας αναφέρουν ότι τα σκληρώτια του μύκητα *S. cepivorum* είναι συνήθως ομοιόμορφα κατανεμημένα μέχρι του βάθους των 20-25 cm από την επιφάνεια του εδάφους και ότι δυνητικά κάθε ένα από αυτά τα σκληρώτια έχει την ικανότητα να προκαλέσει ασθένεια (Crowe & Hall, 1980). Εντούτοις, τα σκληρώτια που βρίσκονται σε βάθος 0-2 cm από την επιφάνεια του εδάφους συνήθως καταστρέφονται σε σύντομο χρονικό διάστημα λόγω της δυσμενούς επίδρασης της υψηλής εδαφικής θερμοκρασίας και της χαμηλής υγρασίας (Adams, 1987), σε αντίθεση με τα σκληρώτια που βρίσκονται σε μεγαλύτερα βάθη. Οι Crowe & Hall (1980) αναφέρουν ότι σκληρώτια του μύκητα *S. cepivorum* που είχαν θαφτεί σε βάθος 30 cm από την επιφάνεια του εδάφους μόλυναν φυτά σκόρδου. Ως εκ τούτου, η εφαρμογή της μεθόδου της ηλιοαπολύμανσης δεν είναι πολύ αποτελεσματική για την αντιμετώπιση της ασθένειας στο χωράφι. Πιο συγκεκριμένα, σε πειράματα που έγιναν σε καλλιέργειες κρεμμυδιού, όπου η μέση θερμοκρασία κάτω από το πλαστικό της ηλιοαπολύμανσης σε βάθη 5, 15 και 30 cm από την επιφάνεια του εδάφους ήταν 47, 37 και 28°C διαπιστώθηκε ότι οι θερμοκρασίες του εδάφους σε βάθη μεγαλύτερα των 15 cm δεν ήταν αρκετά υψηλές ώστε να νεκρώσουν τα σκληρώτια του μύκητα *S. cepivorum* (Adams, 1987). Επομένως, αν μετά την ηλιοαπολύμανση ακολουθήσει όργωμα του χωραφιού, τα σκληρώτια που βρίσκονται σε μεγάλα βάθη και τα οποία δεν καταστρέφονται με την ηλιοαπολύμανση θα μεταφερθούν στα επιφανειακά στρώματα του εδάφους και θα μολύνουν την επόμενη καλλιέργεια (Adams, 1987).

1.2.6.5. Γενετική παραλλακτικότητα στον πληθυσμό του μύκητα *S. cepivorum*

Μια έμμεση μέθοδος μελέτης της γενετικής παραλλακτικότητας ή γενετικής ετερογένειας στον πληθυσμό ενός μύκητα είναι η κατάταξη των απομονώσεων σε ομάδες που εμφανίζουν βλαστική ή μυκηλιακή συμβατότητα [vegetative compatibility groups (VGCs) ή mycelial compatibility groups (MCGs)] (Leslie, 1993). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, μόνο οι απομονώσεις που ανήκουν στην ίδια ομάδα μυκηλιακής συμβατότητας

μπορούν να σχηματίσουν σταθερά ετεροκάρυα μυκήλια (Puhalla, 1985). Ως εκ τούτου, η μυκηλιακή συμβατότητα αποτελεί δείκτη της συγγένειας ή της ύπαρξης κοινών προγόνων μεταξύ διαφόρων απομονώσεων στον πληθυσμό ενός μύκητα (Elias *et al.*, 1993).

Η μέθοδος των ομάδων μυκηλιακής συμβατότητας (MCGs) έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για τη μελέτη της γενετικής παραλλακτικότητας στους πληθυσμούς διαφόρων φυτοπαθογόνων μυκήτων, όπως στα είδη *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (Kohn *et al.*, 1990), *Fusarium oxysporum* Schltdl. (Harveson & Rush, 1997) και *Phomopsis subordinaria* (Desm.) Traverso (Meijer *et al.*, 1994). Σε πολλά είδη μυκήτων η βλαστική ασυμβατότητα μεταξύ δύο απομονώσεων εκφράζεται με τη δημιουργία μακροσκοπικά ορατής “ζώνης αντίδρασης” (barrage) στο σημείο συνάντησης των αποικιών τους. Το φαινόμενο αυτό συνήθως ερμηνεύεται ως μια βεβιασμένη αντίδραση των απομονώσεων, που είναι αποτέλεσμα της μη “αυτο-αναγνώρισης” (“non-self”) (Leslie, 1993). Οι Kohn *et al.* (1991) καθόρισαν τη μυκηλιακή ασυμβατότητα μεταξύ δύο απομονώσεων ενός μύκητα, όταν αυτές αναπτύσσονται στο ίδιο τρυβλίο, ως την αδυναμία των δύο απομονώσεων να συγχωνευτούν και να σχηματίσουν μια ομοιόμορφη αποικία με αποτέλεσμα την εμφάνιση μιας “ζώνης αντίδρασης” στην περιοχή επαφής των δύο αποικιών. Αντίθετα, οι ίδιοι επιστήμονες καθόρισαν ως μυκηλιακή συμβατότητα την ικανότητα δύο απομονώσεων του ίδιου μύκητα να συγχωνεύονται και να σχηματίζουν ένα σταθερό ετεροκάρυο μυκήλιο, που συνήθως εμφανίζεται ως μια ομοιόμορφη αποικία δίχως την παρουσία “ζώνης αντίδρασης”. Σύμφωνα με τους Kohn *et al.* (1990), ο σχηματισμός της “ζώνης αντίδρασης” μεταξύ δύο μυκηλιακά ασύμβατων απομονώσεων είναι το αποτέλεσμα είτε της μη αναστόμωσης των μυκηλιακών υφών στο σημείο συνάντησής τους είτε της νέκρωσης των κυττάρων αμέσως μετά την αναστόμωση των μυκηλιακών υφών.

Η μορφολογία της “ζώνης αντίδρασης” ή της ανταγωνιστικής αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο απομονώσεων ποικίλει ανάλογα με το είδος του μύκητα (McCallum *et al.*, 2004). Μερικά κοινά χαρακτηριστικά της “ζώνης αντίδρασης” μπορεί να είναι μια κεντρική περιοχή νεκρών κυττάρων ή μια περιοχή με σκούρο μυκήλιο ή μια περιοχή με αραιό μυκήλιο.

Ο μύκητας *S. cepivorum* είναι ένα εδαφογενές παθογόνο η τέλεια μορφή του οποίου δεν έχει διαπιστωθεί μέχρι σήμερα. Απουσία ξενιστών το παθογόνο επιβιώνει στο έδαφος με τη μορφή μικρών, μελανών σκληρωτίων τα οποία μπορούν να παραμείνουν ζωντανά μέχρι και 20 χρόνια μολύνοντας τις επόμενες καλλιέργειες (Coley-Smith *et al.*, 1990). Η συχνότητα και η ένταση της ασθένειας που προκαλεί ο μύκητας στις καλλιέργειες του κρεμμυδιού και σκόρδου διεθνώς διαφέρουν τόσο μεταξύ περιοχών όσο και μεταξύ

ποικιλιών στην ίδια περιοχή, αν και μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν ποικιλίες ανθεκτικές στο παθογόνο (Earnshaw *et al.*, 2000). Επιπλέον, έχουν διαπιστωθεί μεγάλες διαφορές ως προς την αποτελεσματικότητα των διαφόρων μεθόδων (χημικών, βιολογικών, καλλιεργητικών) που εφαρμόζονται για την αντιμετώπιση της ασθένειας διεθνώς (Earnshaw & Boland, 1997). Αν και δεν υπάρχουν επαρκείς πληροφορίες σχετικά με την επίδραση της γενετικής παραλλακτικότητας του πληθυσμού του μύκητα *S. cereivorum* στην αντίδραση σε μυκητοκτόνα, τη διάρκεια επιβίωσης ή την ικανότητα βλάστησης των σκληρωτίων του κλπ., οι Earnshaw *et al.* (2000) διαπίστωσαν διαφορές στην παθογένεια απομονώσεων του παθογόνου, που σχετίζονταν με το γεγονός ότι οι υπό μελέτη απομονώσεις του μύκητα ανήκαν σε διαφορετικές γενετικές ομάδες. Σύμφωνα με τους Tyson & Fullerton (αδημοσίευτα στοιχεία), οι διαφορές που διαπιστώθηκαν στην αντίδραση στα μυκητοκτόνα απομονώσεων του μύκητα *S. cereivorum*, που προέρχονταν από διάφορες περιοχές της Ν. Ζηλανδίας, υποδηλώνουν ότι υπάρχει γενετική παραλλακτικότητα στον πληθυσμό του παθογόνου. Οι Earnshaw & Boland (1997) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της μυκηλιακής συμβατότητας για τη μελέτη της γενετικής παραλλακτικότητας 146 απομονώσεων απομονώσεων του μύκητα *S. cereivorum*, που προέρχονταν από τον Καναδά και 23 απομονώσεων από άλλες περιοχές του κόσμου (Αγγλία, Νέα Ζηλανδία, Αυστραλία, Ελβετία και Ισπανία), διαπίστωσαν ότι οι απομονώσεις αυτές κατατάσσονταν σε εννέα ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας (mycelial compatibility groups, MCGs). Πιο συγκεκριμένα, απομονώσεις από τον Καναδά που προέρχονταν από τον ίδιο αγρό ανήκαν στο ίδιο MCG, ενώ απομονώσεις που προέρχονταν από διαφορετικούς αγρούς κατατάχθηκαν σε δύο MCGs. Αντίθετα, οι απομονώσεις που προέρχονταν από άλλες περιοχές του κόσμου ανήκαν σε επτά νέα MCGs, το καθένα από τα οποία περιελάμβανε 1-8 απομονώσεις (Earnshaw & Boland, 1997). Οι Tyson *et al.* (2002) μελετώντας επίσης με τη μέθοδο των ομάδων μυκηλιακής συμβατότητας τη γενετική παραλλακτικότητα απομονώσεων του μύκητα *S. cereivorum* που προέρχονταν από τη Νέα Ζηλανδία (231 απομονώσεις) και από οκτώ άλλες χώρες (25 απομονώσεις) και χρησιμοποιώντας ως απομονώσεις αναφοράς αντιπροσωπευτικές των εννέα MCGs των πειραμάτων των Earnshaw & Boland (1997) διαπίστωσαν ότι υπήρχε μεγάλη γενετική ετερογένεια μεταξύ των απομονώσεων από τη Νέα Ζηλανδία τόσο σε επίπεδο αγρού όσο και σε επίπεδο περιοχών. Πιο συγκεκριμένα, οι περισσότερες απομονώσεις από Νέα Ζηλανδία ανήκαν σε έξι από τα εννέα MCGs που είχαν οριστεί από τους Earnshaw & Boland. Επιπλέον, οι Tyson *et al.* (2002) διαπίστωσαν στον πληθυσμό του μύκητα από τη Νέα Ζηλανδία την ύπαρξη δύο νέων MCGs, διαφορετικών από εκείνων των Earnshaw & Boland. Η μεγάλη

γενετική παραλλακτικότητα που διαπιστώθηκε στον πληθυσμό του μύκητα από τη Νέα Ζηλανδία με τη μέθοδο της μυκηλιακής συμβατότητας επιβεβαιώθηκε και με τη χρήση μοριακών τεχνικών (PCR και RAPD) (Tyson *et al.*, 2002). Μοριακές τεχνικές, όπως π.χ. η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR), η μέθοδος του τυχαίου ενισχυμένου πολυμορφικού DNA (Random Amplified Length Polymorphic DNA, RAPD) καθώς και οι μέθοδοι του πολυμορφισμού μεγέθους περιοριστικών τμημάτων DNA (Restriction Fragment Length Polymorphic DNA, RFLP) και του πολυμορφισμού μήκους ενισχυμένων τμημάτων DNA (Amplified Fragment Length Polymorphic DNA, AFLP) αποτελούν άμεσες μεθόδους μελέτης της γενετικής παραλλακτικότητας στον πληθυσμό ενός μύκητα. Οι μέθοδοι αυτές, σε αντίθεση με τη μέθοδο της μυκηλιακής συμβατότητας, έχουν τη δυνατότητα να προσδιορίζουν και το βαθμό συγγένειας μεταξύ των διαφόρων απομονώσεων στον πληθυσμό ενός μύκητα (Earnshaw & Boland, 1997).

1.2.6.6. Κύκλος ξενιστών

Ο μύκητας *S. cepivorum* προσβάλλει το σκόρδο (*Allium sativum* L.) και το κρεμμύδι (*Allium cepa* L.) καθώς και άλλα είδη του γένους *Allium*, όπως τα *A. fistulosum*, *A. schoenoprasum* (σχινοπράσο), *A. porrum* (πράσο), *A. ascalonicum* (κρεμμύδι το ασκαλωνικόν), *A. canadense* και *A. vineale* (Mordue, 1976). Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι προσβάλλει φυτά του γένους *Zephyranthes*, το λινάρι (*Linum usitatissimum* L.), το τριφύλλι (*Trifolium* spp.), το λάχανο (*Brassica oleracea* L.) και την τομάτα (*Solanum lycopersicum* L.) μετά από τεχνητές μολύνσεις των φυτών. Τέλος, ο μύκητας έχει βρεθεί σε φυτά του είδους *Belamcanda chinensis* στα οποία ζει κυρίως σαπροφυτικά (Mordue, 1976).

1.3. Η ΑΣΘΕΝΕΙΑ

1.3.1. Γεωγραφική εξάπλωση

Ο μύκητας *S. cepivorum* έχει μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση (Ευκ. 3). Έχει διαπιστωθεί σε όλες σχεδόν τις χώρες όπου καλλιεργούνται κρεμμύδια και σκόρδα. Πιο συγκεκριμένα η παρουσία του έχει αναφερθεί στην Αφρική (Αίγυπτος, Λιβύη, Ροδεσία, Ν. Αφρική), την Ασία (Ινδία, Πακιστάν, Ιαπωνία), την Αυστραλία, τη Νέα Ζηλανδία, τη Νότια και Βόρεια Αμερική (Καναδάς, ΗΠΑ, Αργεντινή, Βολιβία, Βραζιλία, Περού, Κολομβία, Ουρουγουάη) και την Ευρώπη (Γαλλία, Ιταλία, Γερμανία, Ισπανία, Ελλάδα, Ελβετία,

Γιουγκοσλαβία, Ολλανδία, Δανία, Ηνωμένο Βασίλειο, Ρουμανία, Νορβηγία, Σουηδία) (Mordue, 1976).



Εικόνα 3. Γεωγραφική εξάπλωση του μύκητα *S. cepivorum* Berk. (CMI, Distribution Maps of Plant Diseases, No 331, Edition 4, 1985).

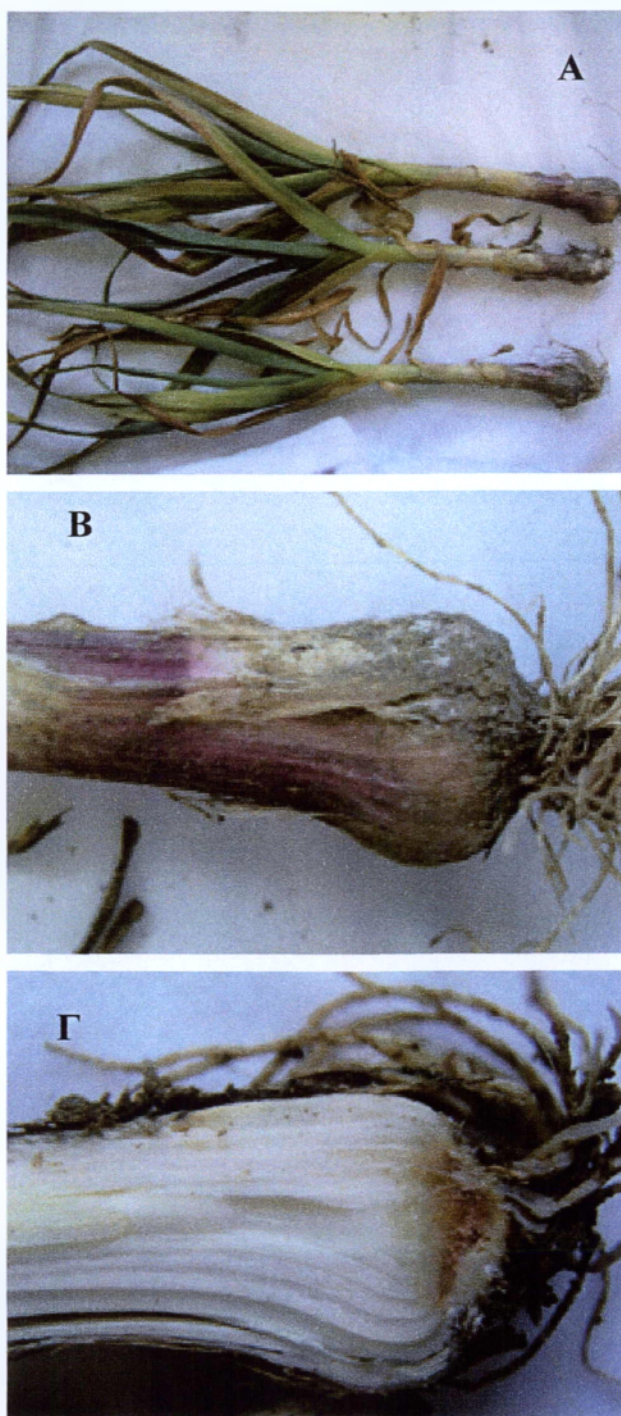
1.3.2. Συμπτωματολογία

Εφόσον οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι ευνοϊκές, ο μύκητας *S. cepivorum* μπορεί να προσβάλλει τα φυτά σε όλα τα στάδια ανάπτυξής τους (Παναγόπουλος, 1995). Αντίθετα, στην Καλιφόρνια τα συμπτώματα της ασθένειας συνήθως εμφανίζονται από τη μέση της καλλιεργητικής περιόδου μέχρι και τη συγκομιδή (Snowdon, 1991). Χαρακτηριστικό σύμπτωμα της ασθένειας είναι η μαλακή σήψη των βολβών και η ανάπτυξη πυκνού, λευκού μυκηλίου στη βάση των βολβών.

Όταν το παθογόνο προσβάλλει τα φυτά σε νεαρή ηλικία συνήθως δεν προκαλεί νέκρωση των φυταρίων (Crowe, 1996). Η δραστηριότητα του παθογόνου αυξάνει καθώς αναπτύσσεται το ριζικό σύστημα των φυτών, τα συμπτώματα όμως της ασθένειας εμφανίζονται στα φύλλα μόνο μετά την είσοδο του μύκητα στο στέλεχος των φυτών ή στους βολβούς (Crowe, 1996).

Τα αρχικά συμπτώματα της ασθένειας είναι πρόωρη χλόρωση και νέκρωση των φύλλων, ιδιαίτερα των παλαιότερων, που προχωρά από την κορυφή προς τη βάση τους (Εικ. 4Α), καθυστέρηση στην ανάπτυξη των φυτών και νέκρωση όλων των φύλλων (Crowe, 1996). Συνήθως τα προσβεβλημένα φύλλα εμφανίζουν μαλακή σήψη στη βάση τους με αποτέλεσμα τα φυτά να αποσπώνται εύκολα με ένα ελαφρύ τράβηγμα (Παναγόπουλος,

1995). Παρόμοια σήψη εμφανίζεται στις ρίζες και τους βολβούς των ασθενών φυτών. Πάνω στους προσβεβλημένους ιστούς, ιδιαίτερα στη βάση των φύλλων και των βολβών, αναπτύσσεται πυκνό, λευκό μυκήλιο (Παναγόπουλος, 1995) (Εικ. 4B).



Εικόνα 4. Συμπτώματα προσβολής σκόρδου από το μύκητα *S. cepivorum* (φυσικές μολύνσεις). Συμπτώματα στα φύλλα (Α), παρουσία μυκηλίου στην επιφάνεια του βολβού (Β), και σήψη στο εσωτερικό της βάσης του φυτού (Γ).

Με την πάροδο του χρόνου το μυκήλιο γίνεται πυκνότερο και λιγότερο εμφανές, ενώ πολυάριθμα, μικροσκοπικά (200-500 μm σε διάμετρο), μαύρα, στρογγυλά σκληρώτια σχηματίζονται πάνω στο στρώμα του μυκηλίου. Στην παρουσία αυτών των μικροσκοπικών σκληρωτίων βασίζεται συνήθως η διάγνωση της ασθένειας (Crowe, 1996). Οι προσβεβλημένοι βολβοί εμφανίζουν σήψη στη βάση τους (Εικ. 4Γ), γίνονται υδαρείς, ενώ οι εξωτερικοί χιτώνες τους εμφανίζουν σχισμές καθώς ξηραίνονται (Παναγόπουλος, 1995). Οι βολβοί που μολύνονται στα τελευταία στάδια της καλλιεργητικής περιόδου, συνήθως δεν εμφανίζουν συμπτώματα κατά τη συγκομιδή αλλά η σήψη εξελίσσεται αργότερα στην αποθήκη (Παναγόπουλος, 1995). Σε περιπτώσεις έντονα μολυσμένων με το παθογόνο αγρών, τα φυτά συνήθως νεκρώνονται ξαφνικά και μάλιστα σε μεγάλη έκταση (Crowe, 1996). Αντίθετα, στις περισσότερες περιπτώσεις τα προσβεβλημένα με το παθογόνο φυτά εμφανίζονται μέσα στον αγρό διάσπαρτα σε ομάδες των 2-40 φυτών (Crowe, 1996)

1.3.3. Επιδημιολογία

Ο μύκητας *S. cepivorum* δεν σχηματίζει καρποφορίες και επιβιώνει στο έδαφος με τη μορφή σκληρωτίων (Παναγόπουλος, 1995). Τα σκληρώτια του παθογόνου παραμένουν στο έδαφος σε κατάσταση ληθάργου για αρκετές βδομάδες μέχρι και μήνες μετά το σχηματισμό τους πάνω στα προσβεβλημένα φυτικά υπολείμματα (Crowe, 1996). Ο λήθαργός τους στο έδαφος μπορεί να συνεχιστεί και για αρκετά χρόνια μέχρις ότου οι ρίζες ευπαθών ξενιστών (είδη του γένους *Allium*) αρχίσουν να αναπτύσσονται σε μικρή απόσταση από αυτά. Στην περίπτωση αυτή, πτητικές ή υδατοδιαλυτές ουσίες, όπως είναι τα S-alk(en)yl-L-cysteine σουλφοξειδία ή ουσίες στις οποίες αποδομούνται τα σουλφοξειδία, όπως είναι οι 1-propyl disulphide και 2-propenyl (=diallyl) disulphide, που εκκρίνονται αποκλειστικά και μόνο από τις ρίζες ειδών του γένους *Allium*, διεγείρουν τη βλάστηση των σκληρωτίων του μύκητα *S. cepivorum*, κυρίως εκείνων που βρίσκονται σε απόσταση μέχρι και 10 cm από τις ρίζες των φυτών (Coley-Smith & King, 1969; Coley-Smith & Cooke, 1971; Crowe, 1996).

Η διαδικασία της βλάστησης των σκληρωτίων είναι σχετικά αργή σε θερμοκρασία εδάφους 9°C, άριστη σε θερμοκρασίες 14-18°C, ενώ σταματά σε θερμοκρασίες $\geq 24^{\circ}\text{C}$ (Crowe, 1996). Επίπεδα εδαφικής υγρασίας που ευνοούν την ανάπτυξη των ριζών του ξενιστή (-300 mbar) ευνοούν ταυτόχρονα και τη βλάστηση των σκληρωτίων του παθογόνου. Η βλάστηση των σκληρωτίων γίνεται με την ανάπτυξη μυκηλίου που εξέρχεται από ένα ή περισσότερα σημεία της επιδερμίδας του σκληρωτίου (Crowe, 1996). Η αύξηση του μυκηλίου του μύκητα *S. cepivorum* ευνοείται από θερμοκρασίες εδάφους 1-35°C με

άριστη εκείνη των 20°C (Mordue, 1976). Αντίθετα, σύμφωνα με τον Growe (1996), οι θερμοκρασίες που ευνοούν την αύξηση του μυκηλίου του παθογόνου κυμαίνονται μεταξύ 5-27°C, ενώ θερμοκρασίες $\geq 27^\circ\text{C}$ την σταματούν. Αν κατά την αύξησή του το μυκήλιο συναντήσει ρίζες ευπαθούς ξενιστή, τότε σχηματίζει απρεσσόρια, εισέρχεται στον ξενιστή και συνεχίζει την αύξησή του κατά μήκος των ριζών και ανάμεσα στα επιδερμικά κύτταρα μέχρις ότου συναντήσει τη βάση των βολβών. Το μυκήλιο έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε αποστάσεις έως και 2 cm από τις ήδη προσβεβλημένες ρίζες μολύνοντας με αυτό τον τρόπο τις ρίζες γειτονικών φυτών (Growe, 1996). Ο μύκητας *S. cepivorum* μπορεί να μολύνει φυτά σκόρδου ή κρεμμυδιού ακόμη και όταν τα μολύσματά του (σκληρώτια) βρίσκονται σε βάθος 30 cm από τη βάση των φυτών. Το παθογόνο μολύνει τις ρίζες, τους βολβούς και τα στελέχη των φυτών-ξενιστών προκαλώντας μαλακή σήψη των προσβεβλημένων οργάνων, πάνω στα οποία όργανα στη συνέχεια σχηματίζονται πολυάριθμα, μικρά (200-500μm), στρογγυλά, μελανά σκληρώτια του παθογόνου. Τα σκληρώτια αυτά απελευθερώνονται στο έδαφος αμέσως μετά την αποσύνθεση των προσβεβλημένων φυτικών υπολειμμάτων της καλλιέργειας (Growe, 1996).

Όταν οι μολύνσεις των βολβών και της βάσης του στελέχους των φυτών από το μύκητα *S. cepivorum* γίνουν προς το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου, η ζημιά που παρατηρείται στην καλλιέργεια κατά τη συγκομιδή είναι συνήθως μικρή αλλά η σήψη των βολβών μπορεί να συνεχιστεί κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους (Παναγόπουλος, 1995).

Σε πειράματα σταθερών θερμοκρασιών εδάφους διαπιστώθηκε ότι η ασθένεια αναπτυσσόταν καλύτερα σε θερμοκρασίες 10-20°C, ενώ σε θερμοκρασίες $\geq 24^\circ\text{C}$ τα φυτά δεν προσβλήθηκαν από το μύκητα ακόμη και όταν καλλιεργήθηκαν σε έντονα μολυσμένα εδάφη (Παναγόπουλος, 1995). Σύμφωνα με τον Παναγόπουλο (1995), ταχύτερη ανάπτυξη της ασθένειας παρατηρήθηκε σε σχετικά ξηρό έδαφος (40% υδατοχωρητικότητα) σε σύγκριση με υγρό έδαφος (60-80% υδατοχωρητικότητα). Αντίθετα, οι Hannan & Sorensen (2001) αναφέρουν ότι η ανάπτυξη της ασθένειας ευνοείται σε δροσερά και υγρά εδάφη. Εδάφη με pH=5-7 εμφανίζουν υψηλά ποσοστά μόλυνσης αν και σε μερικές περιπτώσεις υψηλότερα ποσοστά μόλυνσης έχουν καταγραφεί σε εδάφη με pH=8 (Mordue, 1976).

Η μετάδοση της ασθένειας σε αμόλυντα εδάφη γίνεται με τη φύτευση μολυσμένου πολλαπλασιαστικού υλικού (βολβοί κρεμμυδιών, σκελίδες σκόρδου, κλπ), τα περιττώματα των ζώων που έχουν τραφεί με μολυσμένους βολβούς, τη μεταφορά μολυσμένου εδάφους με τα γεωργικά μηχανήματα, τα κιβώτια συγκομιδής ή τα παπούτσια των καλλιεργητών και το πότισμα, ιδιαίτερα όταν αυτό γίνεται με κατάκλιση (Harrison, 1954, Crowe, 1996).

1.3.4. Αντιμετώπιση

Η αντιμετώπιση του μύκητα *S. cepivorum* είναι πολύ δύσκολη καθώς το συγκεκριμένο παθογόνο έχει την ικανότητα να επιβιώνει στο έδαφος για πολλά χρόνια ακόμη και απουσία ευπαθών ξενιστών. Η αποτελεσματικότητα των διαφόρων μέτρων αντιμετώπισής του εξαρτάται, εκτός των άλλων, και από τον αριθμό των μολυσμάτων του μύκητα στο έδαφος. Επειδή στις περισσότερες περιπτώσεις, έντονα μολυσμένοι αγροί συνήθως δεν ξανακαλλιεργούνται με κρεμμύδια ή σκόρδα (Avila & Lopez, 1996), τα μέτρα που συνήθως λαμβάνονται και που περιγράφονται παρακάτω έχουν ως σκοπό τη μείωση των μολυσμάτων στο έδαφος ελαφρά μολυσμένων με το παθογόνο αγρών ή τον περιορισμό της εξάπλωσης της ασθένειας σε μη μολυσμένους αγρούς.

1.3.4.1. Καλλιεργητικά μέτρα

Μια σειρά από καλλιεργητικά μέτρα μπορούν να συμβάλουν στη μείωση του αριθμού των μολυσμάτων (σκληρωτίων) του μύκητα *S. cepivorum* στο έδαφος και να παρεμποδίσουν την εξάπλωση της ασθένειας είτε μέσα στον αγρό είτε σε άλλες αμόλυντες με το παθογόνο περιοχές.

Στις θερμές περιοχές έχει διαπιστωθεί ότι η ασθένεια δεν εμφανίζεται σε καλλιέργειες κρεμμυδιού ή σκόρδου που φυτεύονται την άνοιξη (Crowe, 1996). Αυτό οφείλεται κυρίως στο ότι οι υψηλές θερμοκρασίες που επικρατούν το καλοκαίρι στα επιφανειακά στρώματα του εδάφους (>20°C) παρεμποδίζουν τη βλάστηση των σκληρωτίων και την ανάπτυξη του παθογόνου στην περιοχή γύρω από το ριζικό σύστημα των φυτών (Metcalf *et al.*, 2004). Ως εκτούτου, σε τέτοιες περιοχές συνιστάται όπως για την αποφυγή εμφάνισης της ασθένειας η καλλιέργεια του κρεμμυδιού και του σκόρδου γίνεται κατά τη διάρκεια της θερμής περιόδου του έτους (Crowe, 1996).

Όπως ήδη αναφέρθηκε, τα σκληρώτια του παθογόνου αποσυντίθενται στο έδαφος με την πάροδο του χρόνου και η αποσύνθεση αυτή σχετίζεται αφενός με τη θερμοκρασία αφετέρου με την για μεγάλα χρονικά διαστήματα κατάκλιση του εδάφους με νερό κατά τη διάρκεια του χειμώνα (Leggett & Rahe, 1985). Αν και σε περιοχές με ψυχρό κλίμα, η κατάκλιση του αγρού με νερό μπορεί να μειώσει τον αριθμό των βιώσιμων σκληρωτίων στο έδαφος εντούτοις στην πράξη αυτή η μέθοδος δεν είναι πάντα εφικτή.

Η αμειψισπορά είναι μια καλλιεργητική μέθοδος αντιμετώπισης πολλών εδαφογενών φυτοπαθογόνων μυκήτων, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις εκείνες που τα παθογόνα έχουν λίγους ξενιστές. Αν και ο μύκητας *S. cepivorum* έχει περιορισμένο εύρος ξενιστών (μόνο είδη του γένους *Allium*), εντούτοις για να είναι αποτελεσματική η αμειψισπορά με

φυτά μη ξενιστές του παθογόνου θα πρέπει να διαρκεί αρκετά χρόνια, καθόσον το παθογόνο έχει την ικανότητα να επιβιώνει στο έδαφος για περισσότερα από 20 χρόνια απουσία ξενιστή (Crowe *et al.*, 1980, Coley-Smith *et al.*, 1990).

Εξίσου σημαντικά με τα παραπάνω καλλιεργητικά μέτρα είναι και τα μέτρα υγιεινής που πρέπει να λαμβάνονται στα αρχικά στάδια μόλυνσης ενός αγρού και τα οποία αποσκοπούν κυρίως στην αποφυγή εξάπλωσης του μολύσματος (Entwistle, 1992). Πιο συγκεκριμένα, τα φυτά που θα εμφανίσουν συμπτώματα θα πρέπει να απομακρύνονται και να καταστρέφονται μαζί με το ριζικό τους σύστημα. Επιπλέον, θα πρέπει να περιορίζεται η χρήση μηχανημάτων στους μολυσμένους αγρούς καθώς και η μεταφορά φυτικού υλικού από μολυσμένες σε μη μολυσμένες περιοχές (Crowe, 1996).

Σύμφωνα με τον Crowe (1996) δεν υπάρχουν είδη του γένους *Allium* ή ποικιλίες κρεμμυδιού και σκόρδου που να είναι ανθεκτικές στις μολύνσεις του μύκητα *S. cepivorum*, αν και ορισμένα είδη (π.χ. πράσο) φαίνεται να είναι περισσότερο ανεκτικά από το κρεμμύδι ή το σκόρδο. Τέτοιες διαφορές ως προς το βαθμό ανεκτικότητας μεταξύ διαφόρων ειδών πιθανόν να σχετίζονται με την παραγωγή από το ριζικό σύστημα των φυτών ουσιών που υποκινούν τη βλάστηση των σκληρωτίων (germination stimulants) (Crowe, 1996).

1.3.4.2. Χημικά μέσα

Μέχρι πρόσφατα η αντιμετώπιση του μύκητα *S. cepivorum* διεθνώς βασιζόταν στην αποκλειστική χρήση χημικών ουσιών κυρίως της ομάδας των δικαρβοξιμιδικών μυκητοκτόνων (iprodione, vinclozolin) (Kay & Stewart, 1994). Εντούτοις, τα τελευταία χρόνια διαπιστώθηκε μια μείωση στην αποτελεσματικότητα αυτών των μυκητοκτόνων (Entwistle & Riddle, 1984, Fullerton & Stewart, 1991) ως αποτέλεσμα της ταχείας αποδόμησης των χημικών αυτών ουσιών από τους μικροοργανισμούς του εδάφους (Entwistle & Hawling, 1984, Bugaret *et al.*, 1996). Πολύ καλά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση της ασθένειας είχε δώσει στο παρελθόν και το δικαρβοξιμιδικό μυκητοκτόνο procymidone όταν εφαρμοζόταν συνδυαστικά για επένδυση του σπόρου και για ψεκασμούς των φυτών στον αγρό (Porter, 1990, Fullerton *et al.*, 1995). Σύμφωνα με τον Dennis (1997), το μυκητοκτόνο tebuconazole της ομάδας των τριαζολών ήταν επίσης αποτελεσματικό όταν εφαρμοζόταν στο έδαφος ή στις σκελίδες του σκόρδου, πριν τη φύτευση. Αντίθετα, όταν το ίδιο μυκητοκτόνο εφαρμοζόταν ως επενδυτικό στο σπόρο κρεμμυδιού προκαλούσε συμπτώματα φυτοτοξικότητας (νέκρωση σπόρων και νεαρών φυταρίων) (Fullerton *et al.*, 1995). Εντούτοις, ο Mordue (1996) αναφέρει ότι οι εφαρμογές με μυκητοκτόνα σε καλλιέργειες κρεμμυδιού ή σκόρδου είναι αποτελεσματικές όταν η ποσότητα του

μολύσματος στο έδαφος των αγρών είναι μικρή ή όταν οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι δυσμενείς για την εμφάνιση και εξέλιξη της ασθένειας.

Σύμφωνα με στοιχεία της Διεθνούς Βιβλιογραφίας (Crowe *et al.*, 1991), τα σκληρώτια του μύκητα *S. cepivorum* βλαστάνουν παρουσία ουσιών που εκκρίνονται από τις ρίζες φυτών του γένους *Allium*. Ως εκ τούτου, η βλάστηση των σκληρωτίων μπορεί να υποκινηθεί από προϊόντα φυσικής προέλευσης (π.χ. έλαια από κρεμμύδι ή σκόρδο) που περιέχουν τις παραπάνω ή παρόμοιες με αυτές ουσίες. Εκτός όμως από τα προϊόντα φυσικής προέλευσης, στο εμπόριο κυκλοφορούν και συνθετικά σκευάσματα που βασίζονται στο πετρέλαιο και υποκινούν τη βλάστηση των σκληρωτίων του μύκητα (Crowe *et al.*, 1991). Στα σκευάσματα αυτά περιλαμβάνεται το diallyl disulfide (DADS), ένα πρωτογενές προϊόν αποσύνθεσης της αλλισίνης (Block, 1992), ουσίας που εκκρίνεται από από τις ρίζες φυτών κρεμμυδιού και σκόρδου και το di-*N*-propyl disulfide (DPDS). Βασίζόμενοι στα παραπάνω, οι Utkehede & Rahe (1982) και Crowe *et al.* (1994) διαπίστωσαν ότι η εφαρμογή, πριν την εγκατάσταση της νέας καλλιέργειας κρεμμυδιού ή σκόρδου, ουσιών υποκινήτων βλάστησης στο έδαφος αγρών μολυσμένων με το μύκητα *S. cepivorum* μείωσε την ποσότητα του διαθέσιμου μολύσματος. Πιο συγκεκριμένα, εφαρμογές στο έδαφος της ουσίας DADS σε δύο διαδοχικές καλλιεργητικές περιόδους είχαν ως αποτέλεσμα την κατά 84-100% μείωση της ασθένειας στην επόμενη καλλιέργεια σκόρδου (Crowe *et al.*, 1994). Οι Hovius & McDonald (2002) διαπίστωσαν ότι η επιβίωση σκληρωτίων του μύκητα *S. cepivorum*, που τοποθετήθηκαν για τρεις μήνες σε έδαφος στο οποίο είχε γίνει εφαρμογή με DADS ή DPDS, μειώθηκε σημαντικά σε σχέση με εκείνα που είχαν τοποθετηθεί στο έδαφος-μάρτυρα.

1.3.4.3. Ηλιοαπολύμανση

Η εφαρμογή της μεθόδου της ηλιοαπολύμανσης (κάλυψη του εδάφους με ειδικό πλαστικό με σκοπό την αύξηση της θερμοκρασίας του εδάφους) σε περιοχές με κατάλληλες κλιματολογικές συνθήκες είναι αποτελεσματική για τη μείωση των μολυσμάτων του παθογόνου στο έδαφος (Coley-Smith, 1987, Satour *et al.*, 1989, Melero *et al.*, 1989, Basallote-Ureba & Melero-Vara, 1993). Επιπλέον, η ηλιοαπολύμανση ευνοεί την ανάπτυξη ανταγωνιστικής του παθογόνου μικροχλωρίδας. Εντούτοις, σύμφωνα με τον Adams (1987), η μέθοδος της ηλιοαπολύμανσης δεν είναι πολύ αποτελεσματική στην περίπτωση του μύκητα *S. cepivorum* καθόσον οι θερμοκρασίες του εδάφους που συνήθως επιτυγχάνονται με την ηλιοαπολύμανση σε βάθη μεγαλύτερα των 15 cm (28-37°C) δεν είναι αρκετά υψηλές ώστε να νεκρώσουν τα σκληρώτια του μύκητα *S. cepivorum*. Ως εκ τούτου, αν μετά την

ηλιοαπολύμανση ακολουθήσει όργωμα του χωραφιού, τα σκληρώτια που βρίσκονται σε μεγάλα βάθη και τα οποία δεν καταστρέφονται με την ηλιοαπολύμανση θα μεταφερθούν στα επιφανειακά στρώματα του εδάφους και θα μολύνουν την επόμενη καλλιέργεια (Adams, 1987).

1.3.4.4. Βιολογική καταπολέμηση

Η χρησιμοποίηση τα τελευταία χρόνια διαφόρων μικροοργανισμών, που δρουν ανταγωνιστικά εναντίον φυτοπαθογόνων μυκήτων, προσφέρει τη δυνατότητα αντιμετώπισης των ασθενειών χωρίς τη χρήση χημικών ουσιών ενώ παράλληλα αποτελεί μια φιλική προς το περιβάλλον μέθοδο. Ένας μεγάλος αριθμός μικροοργανισμών στους οποίους περιλαμβάνονται μύκητες και βακτήρια έχουν μελετηθεί τα τελευταία χρόνια ως προς την ανταγωνιστική τους δράση εναντίον του μύκητα *S. cepivorum* με ποικίλα αποτελέσματα (Mordue, 1976, Utkhede & Rahe, 1980, de Oliveira *et al.*, 1984, Harrison & Stewart, 1988, Reddy *et al.*, 1992, Kay & Stewart, 1994, McDonald *et al.*, 1999). Πιο συγκεκριμένα, οι μύκητες *Chaetomium globosum*, *Gliocladium virens*, *Trichoderma harzianum*, *T. vitide* καθώς και ένα απροσδιόριστο είδος του γένους *Trichoderma* (*Trichoderma* sp.) όταν εφαρμόστηκαν στο έδαφος μείωσαν την ασθένεια σε ποσοστά ανάλογα με εκείνα των συμβατικών μυκητοκτόνων που εφαρμόστηκαν ως επενδυτικά σπόρων (π.χ. procymidone) (Kay & Stewart, 1994). Τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσαν οι μύκητες *C. globosum* και *Trichoderma* sp., που μείωσαν την ασθένεια κατά 78 και 73%, αντίστοιχα σε σχέση με το μάρτυρα. Αντίθετα οι αναφέρουν ότι κανένα από τα εμπορικά σκευάσματα του βιολογικού παράγοντα *T. harzianum* που δοκιμάστηκαν σε πειράματα αγρού δεν μείωσε τη βιωσιμότητα των σκληρωτίων και επομένως την ασθένεια. Σύμφωνα με τους Utkhede & Rahe (1983a & b) και Reddy *et al.* (1992), ο *Bacillus subtilis* παρεμπόδισε την *in vitro* ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *S. cepivorum* μέσω αντιβίωσης. Οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν ότι όταν σε πειράματα αγρού εφαρμόστηκε μετά την ηλιοαπολύμανση ο μύκητας *T. harzianum*, ήταν περισσότερο αποτελεσματικός στην αντιμετώπιση του *S. cepivorum* σε σχέση με τον *B. subtilis*.

Εκτός από τους παραπάνω μικροοργανισμούς, έχει διαπιστωθεί ότι οι μύκητες *Coniothyrium minitans* και *Penicillium nigricans* παρασιτούν *in vitro* τα σκληρώτια του *S. cepivorum* (Mordue, 1976). Η αποτελεσματικότητα όμως των διαφόρων ανταγωνιστικών μυκήτων ή βακτηρίων που έχουν δοκιμαστεί, κυρίως *in vitro*, για την αντιμετώπιση του μύκητα *S. cepivorum* είτε δεν είναι σταθερή είτε δεν είναι εξίσου καλή σε συνθήκες αγρού.

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ (ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ)

ΜΕΛΕΤΗ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Sclerotium cepivorum* Berk.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Περισσότερες από εκατό (100) απομονώσεις του μύκητα *S. cepivorum*, που προέρχονταν από φυσικά μολυσμένα δείγματα εδάφους ή φυτών κρεμμυδιού και σκόρδου από διάφορες περιοχές της Χώρας (Ορεστιάδα, Χαλκίδα, Λευκάδα, Θήβα, Λακωνία), μελετήθηκαν ως προς το ρυθμό της γραμμικής αύξησης του μυκηλίου τους, τα μορφολογικά και καλλιεργητικά χαρακτηριστικά των αποικιών τους και τη γενετική παραλλακτικότητά τους. Ο ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου εκατόν δεκαέξι (116) απομονώσεων του παθογόνου, σε θρεπτικό υλικό PDA και σε θερμοκρασία 21⁰C, κυμαινόταν από 0,92 έως 2,75 cm/ημέρα και ήταν ανεξάρτητος από τη γεωγραφική περιοχή ή το είδος του δείγματος από το οποίο προερχόταν η κάθε απομόνωση. Με βάση τα μορφολογικά και καλλιεργητικά χαρακτηριστικά των αποικιών τους και το σχηματισμό ή μη σκληρωτίων σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 21⁰C, οι παραπάνω απομονώσεις κατατάχθηκαν σε τέσσερις μορφολογικές ομάδες, τις Α, Β, Γ και Δ. Το μεγαλύτερο ποσοστό (54,31%) των απομονώσεων, ανεξάρτητα από την περιοχή προέλευσής τους, ανήκαν στη μορφολογική ομάδα Α, το 25,86% στη ομάδα Γ, το 18,97% στην ομάδα Β και το 0,86% στην ομάδα Δ. Διαπιστώθηκε επίσης κάποια συσχέτιση μεταξύ των μορφολογικών και καλλιεργητικών χαρακτηριστικών και της περιοχής από την οποίαν προέρχονταν οι απομονώσεις. Στις περιοχές της Ορεστιάδας και της Χαλκίδας επικρατούν απομονώσεις που ανήκουν στη μορφολογική ομάδα Α, ενώ στην περιοχή της Λακωνίας επικρατούν απομονώσεις που ανήκουν στη μορφολογική ομάδα Γ. Οι δύο απομονώσεις που μελετήθηκαν από τις περιοχές της Θήβας και της Λευκάδας, αντίστοιχα, ανήκαν στη μορφολογική ομάδα Α. Εφαρμόζοντας τη μέθοδο της μυκηλιακής συμβατότητας διαπιστώθηκε ότι ο ελληνικός πληθυσμός του μύκητα *S. cepivorum* εμφανίζει μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα που σχετίζεται με τη γεωγραφική περιοχή προέλευσης των απομονώσεων. Από τις εκατόν δώδεκα (112) απομονώσεις του μύκητα που μελετήθηκαν και οι οποίες προέρχονταν από τις περιοχές της Ορεστιάδας, της Χαλκίδας και της Λακωνίας, οι 90 (80,36%) ανήκαν στην ομάδα μυκηλιακής συμβατότητας 1 (MCG-1), οι 5

(4,46%) στην ομάδα MCG-3 και οι 16 (14,29%) στην ομάδα MCG-4. Μια απομόνωση ήταν μυκηλιακά συμβατή ταυτόχρονα με τις ομάδες MCG-1, MCG-2 και MCG-4. Τη μεγαλύτερη γενετική παραλλακτικότητα εμφάνιζε ο πληθυσμός του μύκητα από την περιοχή της Ορεστιάδας με το 78,43% των απομονώσεων να ανήκει στην ομάδα MCG-1, το 4,90% στην ομάδα MCG-3 και το 15,69% στην ομάδα MCG-4. Οι πληθυσμοί του μύκητα από τις περιοχές της Χαλκίδας και της Λακωνίας δεν εμφάνισαν γενετική παραλλακτικότητα καθόσον όλες οι απομονώσεις που εξετάστηκαν ανήκαν στην ομάδα MCG-1.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η “λευκή σήψη” είναι μια από τις σοβαρότερες ασθένειες στις καλλιέργειες κρεμμυδιού και σκόρδου στη Χώρα μας, ιδιαίτερα σε περιοχές με ψυχρά και υγρά εδάφη ή σε περιοχές όπου καλλιεργούνται αποκλειστικά και μόνο τα παραπάνω είδη (Ορεστιάδα, Χαλκίδα, Θήβα) (στοιχεία του Μπενακειού Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου). Η ικανότητα του παθογόνου να επιβιώνει για περισσότερα από 15 χρόνια στο έδαφος, ακόμη και απουσία ευπαθούς ξενιστή, καθιστά την αντιμετώπιση της ασθένειας πολύ δύσκολη, ιδιαίτερα στις περιοχές της Χώρας όπου καλλιεργείται συστηματικά το κρεμμύδι και το σκόρδο.

Η συχνότητα και η ένταση της ασθένειας διαφέρουν τόσο μεταξύ περιοχών όσο και μεταξύ ποικιλιών στην ίδια περιοχή (Earnshaw *et al.*, 2000). Οι διαφορές αυτές οφείλονται κυρίως σε διαφορές στις κλιματολογικές συνθήκες, στις φυσικοχημικές και βιολογικές (παρουσία ανταγωνιστών) ιδιότητες των εδαφών, στις καλλιεργητικές τεχνικές και στο βαθμό ευπάθειας των καλλιεργούμενων ειδών και ποικιλιών, αν και δεν υπάρχουν ποικιλίες ανθεκτικές στο παθογόνο (Earnshaw *et al.*, 2000).

Διαφορές στη συχνότητα και την ένταση της ασθένειας πιθανόν να σχετίζονται και με διαφορές στην παθογένεια απομονώσεων του παθογόνου που προέρχονται από διαφορετικές περιοχές. Η παραπάνω υπόθεση ενισχύεται από τη διαπίστωση των Earnshaw & Boland (1997) περί ύπαρξης γενετικής ετερογένειας στον πληθυσμό του μύκητα. Σύμφωνα με τους Earnshaw *et al.* (2000) και Tyson & Fullerton (αδημοσίευτα στοιχεία), έχουν διαπιστωθεί διαφορές στην αποτελεσματικότητα των καλλιεργητικών, χημικών ή βιολογικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται διεθνώς για την αντιμετώπιση της ασθένειας, οι οποίες διαφορές οφείλονται, εκτός των άλλων παραγόντων, και στη μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα του πληθυσμού του μύκητα. Εντούτοις, στη Χώρα μας η ασθένεια δεν έχει μελετηθεί, ενώ δεν υπάρχουν στοιχεία για τον πληθυσμό του παθογόνου μύκητα *S. cepivorum* στις διάφορες περιοχές.

Η παρούσα εργασία αποτελεί την πρώτη προσπάθεια συγκριτικής μελέτης απομονώσεων του μύκητα *S. cepivorum* που προέρχονται από διάφορες περιοχές της Χώρας, όπου καλλιεργείται το κρεμμύδι και το σκόρδο (Ορεστιάδα, Χαλκίδα, Λακωνία, Θήβα, κλπ). Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν ο ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου, τα μορφολογικά και καλλιεργητικά χαρακτηριστικά των αποικιών των απομονώσεων

καθώς και η ύπαρξη ή μη γενετικής παραλλακτικότητας στον ελληνικό πληθυσμό του μύκητα.

2.1. ΓΕΝΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1.1. Θρεπτικά υλικά ανάπτυξης

Σε όλα τα πειράματα ως θρεπτικό υλικό απομόνωσης και ανάπτυξης του μύκητα *S. cerevivorum* χρησιμοποιήθηκε το Potato Dextrose Agar (PDA). Για την παρασκευή του χρησιμοποιήθηκαν τα εξής:

- PDA (Biotkar Diagnostics) 39 gr
- Απεσταγμένο νερό..... 1 lt

Αμέσως μετά την παρασκευή του το υλικό αποστειρωνόταν για 30' σε ειδικό κλίβανο αποστείρωσης (1,05 kg/cm²), σε θερμοκρασία 120°C και στη συνέχεια τοποθετείτο κάτω από ασηπτικές συνθήκες σε πλαστικά τρυβλία Petri (20 ml/τρυβλίο).

2.1.2. Προέλευση – Διατήρηση – Αναβίωση απομονώσεων

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 164 απομονώσεις του μύκητα *S. cerevivorum* που προήλθαν από φυσικά μολυσμένα δείγματα εδάφους και φυτών σκόρδου και κρεμμυδιού, που στάλθηκαν στο Εργαστήριο Μυκητολογίας του Μπενακειού Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου από διάφορες περιοχές της χώρας (Μουρίκι Θηβών, Λευκάδα, Ορεστιάδα, Νεάπολη Λακωνίας, Χαλκίδα) κατά την περίοδο Μαΐος 2003 – Ιούλιος 2004 (Πιν. 4).

Πίνακας 4. Κωδικοί, αριθμός απομονώσεων και προέλευση απομονώσεων του μύκητα *S. cerevivorum* που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα.

Κωδικός απομόνωσης	Αριθμός απομονώσεων	Προέλευση απομονώσεων	Είδος δείγματος
Sc 3	1	Νεοχώρι Θηβών	Φυτό κρεμμυδιού
Sc 55	1	Λευκάδα	Φυτό σκόρδου
Sc 96	1	Ορεστιάδα	Έδαφος
Sc 100	1	Χαλκίδα	Φυτό σκόρδου
Sc 115 έως Sc 213	99	Ορεστιάδα	Φυτά σκόρδου
Sc 214 έως Sc 215	2	Ορεστιάδα	Έδαφος
Sc 216 έως Sc 224	9	Νεάπολη Λακωνίας	Φυτά κρεμμυδιού
Sc 229 έως Sc 248	20	Ορεστιάδα	Φυτά σκόρδου
Sc 249 έως Sc 258	10	Χαλκίδα	Φυτά σκόρδου
Sc 259 έως Sc 278	20	Ορεστιάδα	Έδαφος
Σύνολο απομονώσεων	164		

Οι απομονώσεις αυτές ανήκαν στη Συλλογή απομονώσεων του μύκητα *S. cerevivorum* του Εργαστηρίου Μυκητολογίας και διατηρούνταν σε δοκιμαστικούς σωλήνες με θρεπτικό

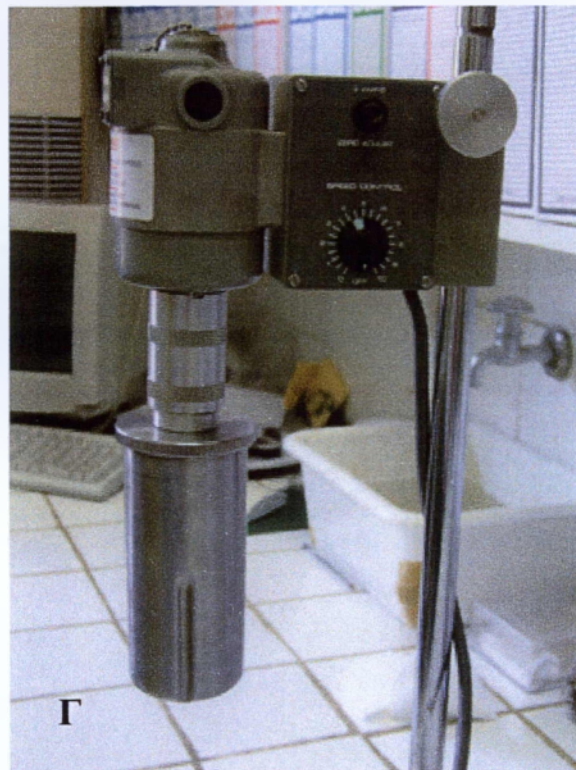
υλικό PDA σε θερμοκρασία 21⁰C. Η αναβίωση των απομονώσεων από τη Συλλογή γινόταν με τη μεταφορά και τοποθέτηση, κάτω από ασηπτικές συνθήκες, ενός μικρού τεμαχίου υλικού με μυκήλιο από την κάθε απομόνωση στο κέντρο πλαστικού τρυβλίου Petri με θρεπτικό υλικό PDA. Στη συνέχεια τα τρυβλία σφραγίζονταν με Parafilm και επωάζονταν σε θερμοκρασία 21⁰C μέχρι την ανάπτυξη της αποικίας.

2.1.3. Απομόνωση του μύκητα *S. cerevisiae* από φυσικά μολυσμένα δείγματα εδάφους

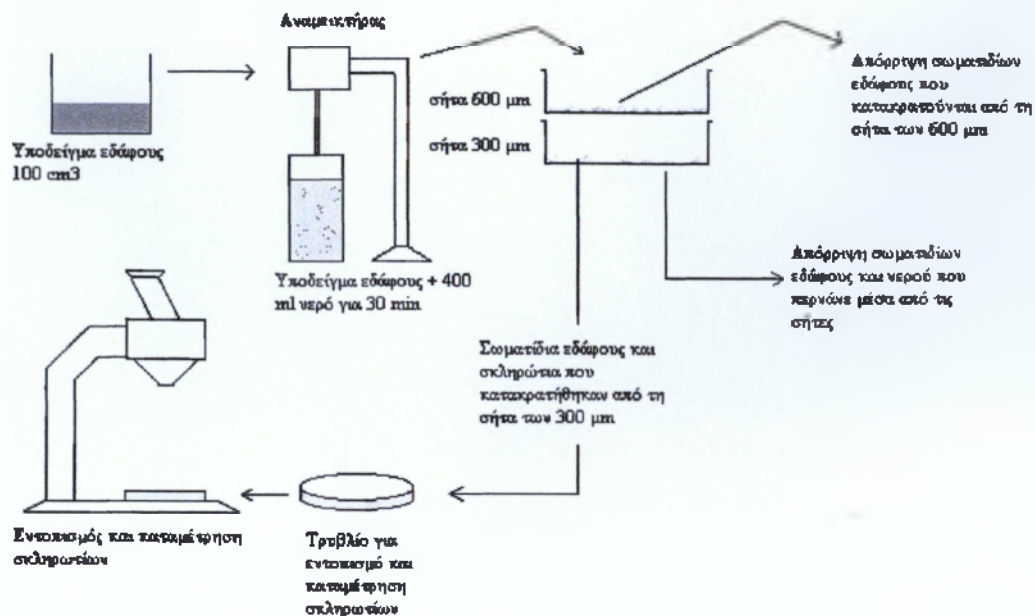
Η μέθοδος για την απομόνωση του μύκητα από τα δείγματα εδάφους βασίστηκε στην ικανότητα του παθογόνου να επιβιώνει στο έδαφος με τη μορφή σκληρωτίων. Τα δείγματα εδάφους, που συλλέχθηκαν με τη βοήθεια ενός μικρού φτυαριού από τα πρώτα 10 cm του εδάφους του κάθε αγρού, τοποθετήθηκαν μεμονωμένα σε πλαστικές διαφανείς σακούλες και διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία 4⁰C. Για την εξαγωγή των σκληρωτίων του μύκητα από κάθε δείγμα εδάφους εφαρμόστηκε η παρακάτω μέθοδος, που βασίστηκε στη μέθοδο των Abd-Elrazik & Lorbeer (1980):

1. Τα δείγματα εδάφους αρχικά εκτέθηκαν στον αέρα για 24 h με σκοπό την απομάκρυνση της περίσσειας υγρασίας (Εικ. 5Α).
2. Ακολούθησε επιμελημένο “σπάσιμο” των συσσωματωμάτων με μηχανική πίεση (Εικ. 5Β).
3. Από κάθε δείγμα εδάφους λήφθηκε ένα υποδείγμα όγκου 100 cm³ που τοποθετήθηκε μαζί με 400 ml νερού βρύσης σε αναμεικτήρα (mixer) (Sorvall Omni-mixer, DuPont Instruments, USA) (Εικ. 5Γ).
4. Στη συνέχεια το μίγμα αναδεύτηκε για περίπου 30 min, με σκοπό το “σπάσιμο” των συσσωματωμάτων εδάφους και την ελευθέρωση των σκληρωτίων του μύκητα από αυτά.
5. Το αιώρημα που προέκυψε τοποθετήθηκε σε κωνική φιάλη όγκου 3 lt.
6. Ακολούθησε καλό ξέπλυμα του δοχείου του αναμεικτήρα με νερό βρύσης για να απομακρυνθούν τα σκληρώτια που τυχόν είχαν προσκολληθεί στα τοιχώματα του δοχείου και τα εκπλύματα τοποθετήθηκαν και αυτά στην κωνική φιάλη.
7. Για το διαχωρισμό των σκληρωτίων από το αιώρημα του εδάφους χρησιμοποιήθηκαν δύο σήτες, μια των 600 μm και μια των 300 μm, που τοποθετήθηκαν με τέτοιο τρόπο ώστε εκείνη των 600 μm να βρίσκεται πάνω από την σήτα των 300 μm (Εικ. 6). Στη συνέχεια το αιώρημα του εδάφους μεταφέρθηκε από την κωνική φιάλη στη σήτα των 600 μm. Με αυτόν τον τρόπο στη σήτα των 600 μm κατακρατήθηκαν τα μεγάλα σωματίδια εδάφους ενώ τα μικρότερα

συμπεριλαμβανομένων των σκληρωτίων συγκρατήθηκαν από τη δεύτερη σήτα των 300 μm .

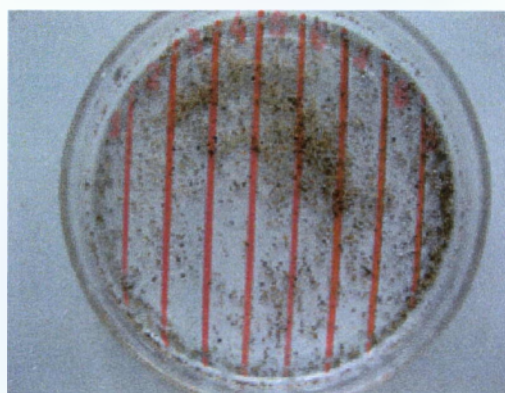


Εικόνα 5. Στέγνωμα δειγμάτων εδάφους με έκθεσή τους στον αέρα (Α), “σπάσιμο” των συσσωματωμάτων εδάφους με μηχανική πίεση (Β), και αναμεικτήρας (blender) για την ανάμειξη του δείγματος εδάφους (Γ).



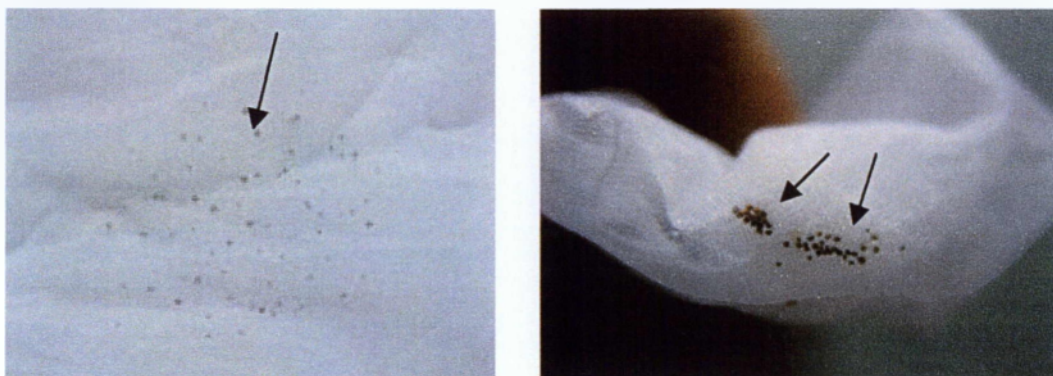
Εικόνα 6. Σχηματική παράσταση της τροποποιημένης μεθόδου των Abd-Elrazik & Lorbeer (1980) που εφαρμόστηκε για την απομόνωση των σκληρωτίων του μύκητα *Sclerotium cereivorum* από το έδαφος.

8. Ακολούθως η κωνική φιάλη ξεπλύθηκε τρεις φορές με νερό βρύσης και τα εκπλύματα μεταφέρθηκαν στη σήτα των 600 µm.
9. Τα σκληρώτια και τα κλάσματα του εδάφους που κατακρατήθηκαν στη σήτα των 300 µm συγκεντρώθηκαν με τη βοήθεια νερού στη μια πλευρά της σήτας. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε ένας υδροβολέας.
10. Στη συνέχεια και με τη βοήθεια μιας πλαστικής πιπέτας μιας χρήσης των 3 ml τα σκληρώτια μαζί με τα σωματίδια εδάφους μεταφέρθηκαν από τη σήτα των 300 µm και τοποθετήθηκαν σε γάλινο τρυβλίο, το κάτω μέρος του οποίου είχε χωριστεί σε τμήματα με τη βοήθεια παράλληλων γραμμών (Εικ. 7) ώστε να διευκολυνθεί ο εντοπισμός και η καταμέτρηση των σκληρωτίων.



Εικόνα 7. Τρυβλίο για την καταμέτρηση των σκληρωτίων.

11. Η περίσσεια νερού απομακρύνθηκε από το τρυβλίο με τη βοήθεια μιας πλαστικής πιπέτας μιας χρήσης των 3 ml στην άκρη της οποίας είχε προσαρμοστεί λεπτό φίλτρο για να αποφευχθεί η απομάκρυνση των σκληρωτίων από το τρυβλίο.
12. Ακολούθησε εντοπισμός και καταμέτρηση των σκληρωτίων με τη βοήθεια στερεοσκοπίου (Εικ. 6), τα σκληρώτια τοποθετήθηκαν σε λεπτό τούλι (Εικ. 8) και απολυμάνθηκαν επιφανειακά με εμβάπτισή τους σε 10% διάλυμα χλωρίνης του εμπορίου για 3 min.
13. Ακολούθησε στέγνωμα των σκληρωτίων με αποστειρωμένο διηθητικό χαρτί και τοποθέτησή τους, με τη βοήθεια αποστειρωμένης λαβίδας και κάτω από ασηπτικές συνθήκες, σε πλαστικά τρυβλία Petri που περιείχαν θρεπτικό υλικό PDA (για παρασκευή PDA βλέπε Γενικά Υλικά και Μέθοδοι, παράγραφος 2.1.1). Πριν την τοποθέτηση στα τρυβλία τα σκληρώτια συμπίεζονταν με τη βοήθεια της λαβίδας ώστε να σπάσουν και να διευκολυνθεί η βλάστησή τους. Σε κάθε τρυβλίο τοποθετήθηκαν 10 σκληρώτια, τα τρυβλία στη συνέχεια σφραγίστηκαν με Parafilm και επωάστηκαν σε θερμοκρασία 21⁰C.



Εικόνα 8. Τοποθέτηση των σκληρωτίων σε λεπτό τούλι.

14. Ο έλεγχος των τρυβλίων για τυχόν βλάστηση των σκληρωτίων γινόταν με τη βοήθεια του στερεοσκοπίου ανά 24 h μετά την τοποθέτηση των σκληρωτίων σε αυτά (Εικ. 6). Με την εμφάνιση των πρώτων μυκηλιακών υφών από τα βλαστημένα σκληρώτια γινόταν, κάτω από ασηπτικές συνθήκες, μεταφορά τμήματος των μυκηλιακών υφών του κάθε σκληρωτίου σε δοκιμαστικούς σωλήνες PDA. Για κάθε βλαστημένο σκληρώτιο χρησιμοποιήθηκε ένας δοκιμαστικός σωλήνας.
15. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες στη συνέχεια επωάζονταν σε θερμοκρασία 21⁰C μέχρι την πλήρη ανάπτυξη των αποικιών και την ταυτοποίηση του μύκητα *S. cereivorum*.

2.1.4. Απομόνωση του μύκητα *S. cereivorum* από φυσικά μολυσμένα φυτά σκόρδου και κρεμμυδιού

Για την απομόνωση του μύκητα από φυσικά μολυσμένα φυτά σκόρδου ή/και κρεμμυδιού εφαρμόστηκε η παρακάτω μέθοδος: βολβοί των παραπάνω δειγμάτων εξετάστηκαν στο στερεοσκόπιο για την παρουσία σκληρωτίων του μύκητα. Στη συνέχεια και με τη βοήθεια μιας αποστειρωμένης λαβίδας, τα σκληρώτια από κάθε βολβό μεταφέρθηκαν μεμονωμένα σε λεπτό τούλι και απολυμάνθηκαν επιφανειακά με εμβάπτισή τους σε 10% διάλυμα χλωρίνης του εμπορίου για 3 min. Ακολούθησε στέγνωμα των σκληρωτίων με αποστειρωμένο διηθητικό χαρτί και μεταφορά τους, με τη βοήθεια αποστειρωμένης λαβίδας και κάτω από ασηπτικές συνθήκες, σε πλαστικά τρυβλία Petri που περιείχαν θρεπτικό υλικό PDA (20 ml/τρυβλίο). Τα τρυβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και επωάστηκαν σε θερμοκρασία 21°C, μέχρι την εμφάνιση των αποικιών του μύκητα. Στη συνέχεια ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία όπως και στην περίπτωση απομόνωσης του μύκητα από τα δείγματα εδάφους (στάδια 14 και 15 της παραγράφου 2.1.3.). Από κάθε φυτό κρατήθηκε μόνο μια απομόνωση του μύκητα, η οποία τοποθετήθηκε στη Συλλογή του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Μπεννακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου.

2.2. ΡΥΘΜΟΣ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΑΥΞΗΣΗΣ ΜΥΚΗΛΙΟΥ

2.2.1. Σκοπός

Σκοπός των πειραμάτων ήταν να συγκριθούν οι απομονώσεις του μύκητα *S. cerevisium*, που προέρχονταν από διάφορες περιοχές της Χώρας, ως προς το ρυθμό γραμμικής αύξησης του μυκηλίου τους.

2.2.2. Υλικά και Μέθοδοι

Για τη συγκριτική μελέτη του ρυθμού γραμμικής αύξησης του μυκηλίου απομονώσεων του μύκητα *S. cerevisium* έγιναν δύο πειράματα στα οποία χρησιμοποιήθηκαν 83 και 33 απομονώσεις του παθογόνου, αντίστοιχα. Οι απομονώσεις προέρχονταν από φυσικά μολυσμένα δείγματα εδάφους ή φυτών σκόρδου και κρεμμυδιού από διάφορες περιοχές της Χώρας (Πιν. 5) και διατηρούνταν στη Συλλογή του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Μπενακειού Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου σε δοκιμαστικούς σωλήνες με θρεπτικό υλικό PDA και σε θερμοκρασία 21⁰C.

Η αναβίωση των απομονώσεων από τη Συλλογή έγινε με τη μέθοδο που περιγράφεται στα Γενικά Υλικά και Μεθόδους, παράγραφος 2.1.2. Τα τρυβλία επωάστηκαν σε θερμοκρασία 21⁰C για 5 ημέρες. Στη συνέχεια και κάτω από ασηπτικές συνθήκες κόπηκαν από την περιφέρεια της κάθε αποικίας με τη βοήθεια φελλοτρυπητή (cork borer) μυκηλιακοί δίσκοι διαμέτρου 5 mm, που τοποθετήθηκαν ανεστραμμένοι (το μυκήλιο σε επαφή με το υλικό) στο κέντρο πλαστικών τρυβλίων Petri που περιείχαν θρεπτικό υλικό PDA (20 ml/τρυβλίο, ένας μυκηλιακός δίσκος/τρυβλίο). Για κάθε απομόνωση χρησιμοποιήθηκαν τρία τρυβλία ως επαναλήψεις. Τα τρυβλία στη συνέχεια σφραγίστηκαν με Parafilm και επωάστηκαν σε θερμοκρασία 21⁰C μέχρι τη λήψη των αποτελεσμάτων. Στο πρώτο πείραμα η λήψη των αποτελεσμάτων έγινε 24 και 48 h μετά τον εμβολιασμό των τρυβλίων, ενώ στο δεύτερο πείραμα έγινε 24, 48 και 72 h μετά τον εμβολιασμό των τρυβλίων. Σε όλες τις περιπτώσεις μετρήθηκαν δύο κάθετοι διάμετροι της αποικίας της κάθε απομόνωσης του μύκητα σε cm, υπολογίστηκε ο μέσος όρος τους και αφαιρέθηκε η σταθερά 0,5, που αντιστοιχούσε στη διάμετρο του μυκηλιακού δίσκου (αρχικό μόλυσμα) σύμφωνα με τον τύπο:

$$x = [(\delta_1 + \delta_2) / 2] - y$$

Όπου: x = γραμμική αύξηση μυκηλίου (cm)

δ_1 & δ_2 = δύο κάθετοι διάμετροι της αποικίας (cm)

y = σταθερά ίση με τη διάμετρο του μυκηλιακού δίσκου του αρχικού μολύσματος (0,5 cm)

Στη συνέχεια υπολογίστηκε ο ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου της κάθε απομόνωσης του μύκητα σε cm ανά ημέρα σύμφωνα με τον τύπο:

$$\text{Ρυθμός γραμμικής αύξησης} = x_2 - x_1$$

Όπου: x_2 = γραμμική αύξηση μυκηλίου x h μετά τον εμβολιασμό των τρυβλίων, και
 x_1 = γραμμική αύξηση μυκηλίου $x-24$ h μετά τον εμβολιασμό των τρυβλίων.

Πίνακας 5. Κωδικοί απομονώσεων, περιοχή προέλευσης και είδος δείγματος από το οποίο προήλθαν οι 116 απομονώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη του ρυθμού γραμμικής αύξησης του μυκηλίου του μύκητα *S. cereviorum*.

Κωδικοί απομονώσεων	Αριθμός απομονώσεων	Προέλευση απομονώσεων	Είδος δείγματος
Πείραμα 1			
Sc 3	1	Νεοχώρι Θηβών	Φυτό κρεμμυδιού
Sc 55	1	Λευκάδα	Φυτό σκόρδου
Sc 96	1	Ορεστιάδα	Έδαφος
Sc 100	1	Χαλκίδα	Φυτό σκόρδου
Sc 115 - Sc 138	24	Ορεστιάδα	Φυτά σκόρδου
Sc 158 - Sc 205	48	Ορεστιάδα	Φυτά σκόρδου
Sc 214 - Sc 215	2	Ορεστιάδα	Έδαφος
Sc 216, Sc 218, Sc 220, Sc 222 & Sc 224	5	Νεάπολη Λακωνίας	Φυτά κρεμμυδιού
Σύνολο απομονώσεων	83		
Πείραμα 2			
Sc 229, Sc 232, Sc 235, Sc 237, Sc 239, Sc 240, Sc 241 & Sc 242	8	Ορεστιάδα	Φυτά σκόρδου
Sc 249, Sc 251, Sc 253, Sc 255 & Sc 257	5	Χαλκίδα	Φυτά σκόρδου
Sc 259 - Sc 278	20	Ορεστιάδα	Έδαφος
Σύνολο απομονώσεων	33		

2.2.3. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα των δύο πειραμάτων έδειξαν ότι, σε θρεπτικό υλικό PDA και σε θερμοκρασία 21^oC, ο ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου των 116 απομονώσεων του μύκητα *S. cereviorum*, που προέρχονταν από διάφορες περιοχές της χώρας, εξαρτάται από την ίδια την απομόνωση (Πίνακες 6 & 7).

Πίνακας 6. Ρυθμός γραμμικής αύξησης μυκηλίου 83 απομονώσεων του μύκητα *S. cereviorum* σε τρυβλία με θρεπτικό υλικό PDA μετά από επώαση σε θερμοκρασία 21⁰C.

Απομόνωση	Ρυθμός γραμμικής αύξησης μυκηλίου (cm/ημέρα)*	Απομόνωση	Γραμμική αύξηση μυκηλίου (cm/ημέρα)*	Απομόνωση	Ρυθμός γραμμικής αύξησης μυκηλίου (cm/ημέρα)*
Sc 115	2,69 ± 0,22**	Sc 162	1,54 ± 0,01	Sc 190	1,64 ± 0,47
Sc 116	2,69 ± 0,26	Sc 163	1,87 ± 0,05	Sc 191	2,19 ± 0,59
Sc 117	2,39 ± 0,08	Sc 164	2,00 ± 0,61	Sc 192	2,02 ± 0,59
Sc 118	2,47 ± 0,09	Sc 165	1,74 ± 0,37	Sc 193	2,32 ± 0,21
Sc 119	2,47 ± 0,09	Sc 166	1,84 ± 0,47	Sc 194	2,32 ± 0,30
Sc 120	2,25 ± 0,78	Sc 167	1,40 ± 0,10	Sc 195	2,45 ± 0,68
Sc 121	2,15 ± 0,92	Sc 168	2,42 ± 0,77	Sc 196	2,54 ± 0,94
Sc 122	2,20 ± 0,89	Sc 169	2,22 ± 0,77	Sc 197	2,49 ± 0,69
Sc 123	2,69 ± 0,26	Sc 170	2,20 ± 0,99	Sc 198	2,37 ± 0,42
Sc 124	2,44 ± 0,29	Sc 171	1,79 ± 0,69	Sc 199	2,32 ± 0,40
Sc 125	2,75 ± 0,25	Sc 172	1,82 ± 0,64	Sc 200	2,42 ± 0,97
Sc 126	2,57 ± 0,23	Sc 173	1,90 ± 0,52	Sc 201	2,04 ± 0,66
Sc 127	2,62 ± 0,26	Sc 174	2,02 ± 0,73	Sc 202	1,79 ± 0,50
Sc 128	2,65 ± 0,31	Sc 175	1,72 ± 1,05	Sc 203	2,14 ± 0,90
Sc 129	2,44 ± 0,15	Sc 176	1,72 ± 0,77	Sc 204	0,92 ± 1,05
Sc 130	2,45 ± 0,17	Sc 177	1,60 ± 0,75	Sc 205	1,27 ± 0,76
Sc 131	2,37 ± 0,52	Sc 178	1,65 ± 0,88	Sc 214	1,27 ± 0,66
Sc 132	2,29 ± 0,59	Sc 179	1,54 ± 0,76	Sc 215	2,32 ± 0,26
Sc 133	2,07 ± 0,42	Sc 180	1,20 ± 0,57	Sc 216	2,12 ± 0,21
Sc 134	2,44 ± 0,47	Sc 181	2,24 ± 0,90	Sc 218	2,42 ± 0,49
Sc 135	2,55 ± 0,78	Sc 182	2,20 ± 0,66	Sc 220	2,57 ± 0,20
Sc 136	1,82 ± 0,16	Sc 183	2,10 ± 0,57	Sc 222	2,57 ± 0,20
Sc 137	2,32 ± 0,45	Sc 184	2,09 ± 0,59	Sc 224	2,15 ± 0,25
Sc 138	2,49 ± 0,69	Sc 185	2,24 ± 0,66	Sc 3	2,07 ± 0,10
Sc 158	1,47 ± 0,19	Sc 186	2,17 ± 0,42	Sc 55	1,77 ± 0,13
Sc 159	1,79 ± 0,50	Sc 187	2,09 ± 0,59	Sc 96	1,67 ± 0,10
Sc 160	1,62 ± 0,40	Sc 188	2,07 ± 0,42	Sc 100	2,32 ± 0,54
Sc 161	2,19 ± 0,64	Sc 189	2,12 ± 0,40		

Μέσος ρυθμός γραμμικής αύξησης (cm/ημέρα)

2,11

Ελάχιστη τιμή ρυθμού γραμμικής αύξησης (cm/ημέρα)

0,92

Μέγιστη τιμή ρυθμού γραμμικής αύξησης (cm/ημέρα)

2,75

Μέση τιμή τυπικής απόκλισης

0,39

* Μέσος όρος δύο μετρήσεων (24 και 48h μετά τον εμβολιασμό των τρυβλίων).

** Τυπική απόκλιση μέσου

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, ο μέσος ρυθμός γραμμικής αύξησης των 116 απομονώσεων κυμαινόταν από 2,11 cm/ημέρα (για τις 83 απομονώσεις του μύκητα, που μελετήθηκαν στο Πείραμα 1) (Πιν. 6) έως 2,15 cm/ημέρα (για τις 33 απομονώσεις που εξετάστηκαν στο Πείραμα 2) (Πιν. 7). Η απομόνωση Sc 204, που προερχόταν από φυτά σκόρδου από την περιοχή της Ορεστιάδας (Πιν. 5 & 6) εμφάνισε το μικρότερο ρυθμό γραμμικής αύξησης (0,92 cm/ημέρα), ενώ η απομόνωση Sc 125, που προερχόταν επίσης από φυτά σκόρδου από την ίδια περιοχή, εμφάνισε το μεγαλύτερο ρυθμό γραμμικής αύξησης (2,75 cm/ημέρα) (Πιν. 5 & 6).

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων έδειξαν επίσης ότι ο ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου των απομονώσεων που μελετήθηκαν ήταν ανεξάρτητος από την περιοχή από την οποία προέρχονταν οι απομονώσεις. Πιο συγκεκριμένα, ο ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου των 75 (Πείραμα 1) και 28 (Πείραμα 2) απομονώσεων του μύκητα *S. cereviorum*, που προέρχονταν από την περιοχή της Ορεστιάδας, κυμαινόταν από 0,92 έως 2,75 cm/ημέρα και από 1,64 έως 2,44 cm/ημέρα, αντίστοιχα (Πιν. 5, 6 & 7).

Ο ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου των πέντε απομονώσεων που προέρχονταν από την περιοχή της Λακωνίας κυμαινόταν από 2,12 έως 2,57 cm/ημέρα (Πείραμα 1) (Πιν. 5 & 6), ενώ ο ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου των έξι απομονώσεων του μύκητα, που προέρχονταν από την περιοχή της Χαλκίδας κυμαινόταν από 1,98 έως 2,46 cm/ημέρα (Πειράματα 1 & 2) (Πιν. 5, 6 & 7). Οι απομονώσεις του μύκητα που προέρχονταν από τις περιοχές της Θήβας και της Λευκάδας (μια απομόνωση ανά περιοχή) εμφάνισαν ρυθμό γραμμικής αύξησης του μυκηλίου τους 2,07 και 1,77 cm/ημέρα, αντίστοιχα (Πείραμα 1) (Πιν. 5 & 6).

Τέλος, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων, ο ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου των 116 απομονώσεων του μύκητα *S. cereviorum* ήταν ανεξάρτητος από το είδος του δείγματος από το οποίο προήλθαν (φυτά σκόρδου, κρεμμυδιού ή έδαφος) (Πιν. 5, 6 & 7).

Πίνακας 7. Ρυθμός γραμμικής αύξησης μυκηλίου 33 απομονώσεων του μύκητα *S. cereivorum* σε τρυβλία με θρεπτικό υλικό PDA μετά από επώαση σε θερμοκρασία 21°C.

Απομόνωση	Ρυθμός γραμμικής αύξησης μυκηλίου (cm/ημέρα)*	Απομόνωση	Ρυθμός γραμμικής αύξησης μυκηλίου (cm/ημέρα)*
Sc 229	1,89 ± 1,14**	Sc 263	1,99 ± 1,35
Sc 232	2,18 ± 1,32	Sc 264	2,17 ± 0,60
Sc 235	2,24 ± 0,99	Sc 265	2,24 ± 1,07
Sc 237	2,38 ± 1,17	Sc 266	2,03 ± 0,79
Sc 239	2,44 ± 1,28	Sc 267	2,32 ± 1,26
Sc 240	2,11 ± 1,06	Sc 268	1,83 ± 1,04
Sc 241	2,11 ± 1,67	Sc 269	1,97 ± 1,70
Sc 242	2,24 ± 1,42	Sc 270	2,33 ± 0,70
Sc 249	2,46 ± 0,89	Sc 271	2,10 ± 1,42
Sc 251	2,07 ± 1,44	Sc 272	2,02 ± 1,01
Sc 253	2,31 ± 1,09	Sc 273	2,18 ± 0,81
Sc 255	1,98 ± 1,22	Sc 274	2,28 ± 0,96
Sc 257	2,30 ± 0,98	Sc 275	2,06 ± 0,67
Sc 259	2,22 ± 1,33	Sc 276	2,28 ± 0,96
Sc 260	2,27 ± 1,17	Sc 277	1,64 ± 0,87
Sc 261	1,99 ± 0,40	Sc 278	2,26 ± 0,88
Sc 262	2,21 ± 1,30		

Μέσος ρυθμός γραμμικής αύξησης (cm/ημέρα)

2,15

Ελάχιστη τιμή ρυθμού γραμμικής αύξησης (cm/ημέρα)

1,64

Μέγιστη τιμή ρυθμού γραμμικής αύξησης (cm/ημέρα)

2,46

Μέση τιμή τυπικής απόκλισης

0,18

* Μέσος όρος τριών μετρήσεων (24, 48 και 72h μετά τον εμβολιασμό των τρυβλίων).

** Τυπική απόκλιση μέσου

2.3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *S. CEPIVORUM*

2.3.1. Σκοπός

Σκοπός του πειράματος ήταν η συγκριτική μελέτη των μορφολογικών και καλλιεργητικών χαρακτηριστικών απομονώσεων του μύκητα *S. cepivorum*, που προέρχονταν από διάφορες περιοχές της Χώρας.

2.3.2. Υλικά και μέθοδοι

Για τη σύγκριση των απομονώσεων του μύκητα *S. cepivorum* ως προς τα μορφολογικά και καλλιεργητικά χαρακτηριστικά τους χρησιμοποιήθηκαν οι 116 απομονώσεις του πειράματος μελέτης του ρυθμού γραμμικής αύξησης του μυκηλίου (βλέπε παράγραφο 2.2.2., Πιν. 5).

Η αναβίωση των απομονώσεων από τη Συλλογή στην οποία διατηρούνταν έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στη παράγραφο 2.1.2. (Γενικά Υλικά και Μέθοδοι). Τα τρυβλία επωάστηκαν σε θερμοκρασία 21⁰C για 5 ημέρες. Στη συνέχεια, από την περιφέρεια της κάθε αποικίας κόπηκαν με τη βοήθεια φελλοτρυπητή (cork borer) και κάτω από ασηπτικές συνθήκες μυκηλιακοί δίσκοι διαμέτρου 5 mm, οι οποίοι τοποθετήθηκαν ανεστραμμένοι (το μυκήλιο σε επαφή με το υλικό) στο κέντρο πλαστικών τρυβλίων Petri που περιείχαν θρεπτικό υλικό PDA (20ml/τρυβλίο, ένας μυκηλιακός δίσκος/τρυβλίο). Για κάθε απομόνωση χρησιμοποιήθηκαν τρία τρυβλία ως επαναλήψεις τα οποία στη συνέχεια σφραγίστηκαν με Parafilm και επωάστηκαν σε θερμοκρασία 21⁰C.

Εικοσιπέντε (25) ημέρες περίπου μετά τον εμβολιασμό των τρυβλίων, όταν οι αποικίες των απομονώσεων είχαν αναπτυχθεί σε όλη την επιφάνεια του τρυβλίου και είχαν σχηματιστεί τα σκληρώτια του μύκητα, έγινε η λήψη των αποτελεσμάτων. Για κάθε απομόνωση του μύκητα εκτιμήθηκαν: α) η μορφολογία και το χρώμα της αποικίας, και β) η παρουσία ή μη σκληρωτίων. Και στις δυο περιπτώσεις οι παρατηρήσεις γίνονταν στο κέντρο και την περιφέρεια της αποικίας τόσο στο άνω όσο και στο κάτω μέρος του τρυβλίου.

2.3.3 Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι οι 116 απομονώσεις του μύκητα *S. cepivorum*, που μελετήθηκαν ως προς τη μορφολογία, το χρώμα των αποικιών και την

παρουσία ή μη σκληρωτίων σε θρεπτικό υλικό PDA, κατατάσσονται σε τέσσερις μορφολογικές ομάδες, τις οποίες ονομάσαμε αυθαίρετα Α, Β, Γ και Δ (Πιν. 8).

Οι απομονώσεις που παρουσιάζαν, τόσο στην άνω όσο και στην κάτω επιφάνεια του τρυβλίου, ανάπτυξη υπόλευκου μυκήλιου, αραιού στο κέντρο και πυκνού στην περιφέρεια της αποικίας, με σχηματισμό άφθονων σκληρωτίων αλλά μόνο στην περιφέρεια, κατατάχθηκαν στη μορφολογική ομάδα Α (Πιν. 8 & Εικ. 9). Αντίθετα, στην ομάδα Β κατατάχθηκαν απομονώσεις που εμφάνιζαν στην άνω επιφάνεια του τρυβλίου υπόλευκο έως σκούρο γκρίζο μυκήλιο, που ήταν πυκνό κατά θέσεις, με άφθονα σκληρώτια τόσο στο κέντρο όσο και στην περιφέρεια της αποικίας. Η μορφολογία των αποικιών αυτών των απομονώσεων ήταν διαφορετική στην κάτω επιφάνεια του τρυβλίου από ό,τι στην πάνω επιφάνεια. Πιο συγκεκριμένα, στην κάτω επιφάνεια του τρυβλίου, οι αποικίες είχαν κατά θέσεις σκούρο γκρίζο έως μελανό χρώμα, με σχηματισμό σκληρωτίων που κατά θέσεις ήταν δυσδιάκριτα (Πιν. 8 & Εικ. 9). Οι αποικίες των απομονώσεων που κατατάχθηκαν στην ομάδα Γ εμφάνιζαν την ίδια μορφολογία στην άνω και κάτω επιφάνεια του τρυβλίου. Πιο συγκεκριμένα, οι αποικίες αποτελούνταν από πυκνό, υπόλευκο μυκήλιο τόσο στο κέντρο όσο και στην περιφέρειά τους, με άφθονα σκληρώτια σε όλη την επιφάνεια της αποικίας (Πιν. 8 & Εικ. 9). Οι αποικίες των απομονώσεων της ομάδας Δ εμφάνιζαν στην άνω επιφάνεια του τρυβλίου την ίδια μορφολογία με εκείνων της ομάδας Α (Πιν. 8 & Εικ. 9). Στην κάτω όμως επιφάνεια του τρυβλίου οι αποικίες εμφάνιζαν στο κέντρο υποκάστανο έως καστανό χρωματισμό ενώ τα σκληρώτια που σχηματίζονταν μόνο στην περιφέρεια της αποικίας δεν ήταν τόσο ευδιάκριτα όσο στην περίπτωση των απομονώσεων της ομάδας Α (Πιν. 8 & Εικ. 9).

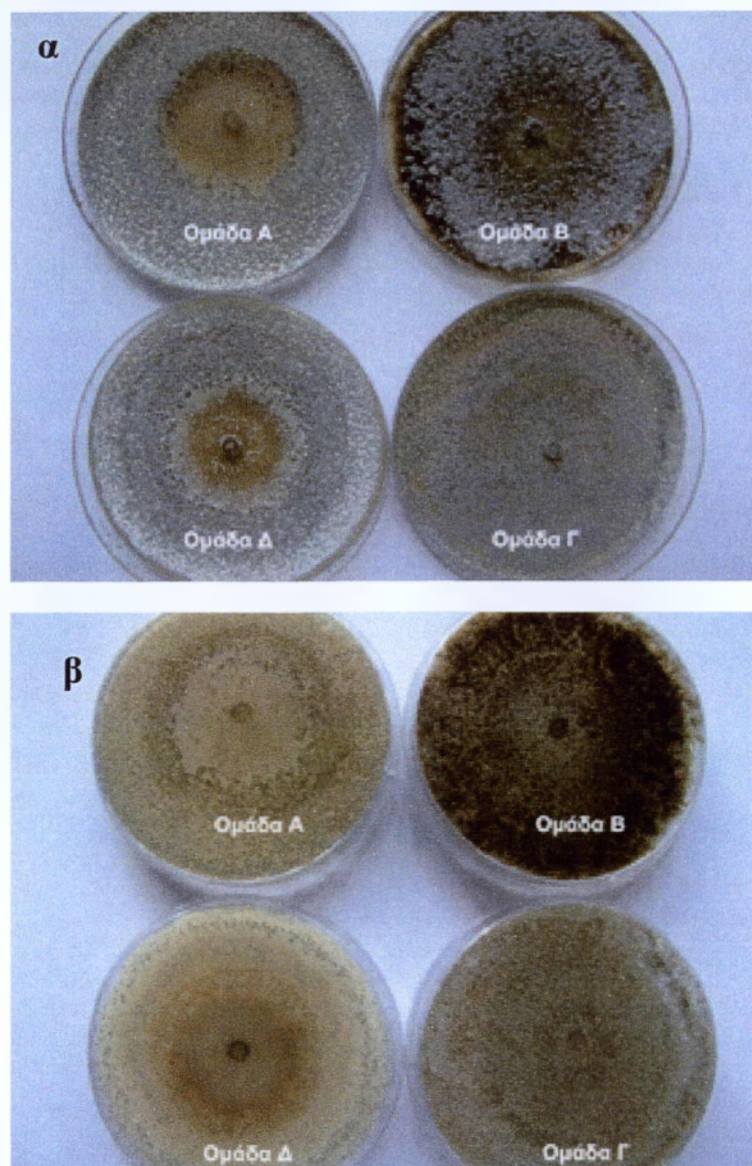
Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν επίσης ότι το μεγαλύτερο ποσοστό (54,31%) των απομονώσεων που μελετήθηκαν ανήκαν στη μορφολογική ομάδα Α, ενώ το μικρότερο ποσοστό (0,86%), που αντιπροσώπευε μια μόνο απομόνωση, ανήκε στη μορφολογική ομάδα Δ (Πιν. 9). Επιπλέον, το 25,86% των απομονώσεων ανήκε στην μορφολογική ομάδα Γ, ενώ ένα ποσοστό 18,97% ανήκε στη μορφολογική ομάδα Β (Πιν. 9).

Από τα αποτελέσματα φαίνεται επίσης ότι υπάρχει κάποια συσχέτιση μεταξύ των μορφολογικών και καλλιεργητικών χαρακτηριστικών των απομονώσεων και της προέλευσής τους (Πιν. 10). Πιο συγκεκριμένα, και οι πέντε απομονώσεις (100%) που προέρχονταν από την περιοχή της Λακωνίας ανήκαν στη μορφολογική ομάδα Γ. Οι τέσσερις (80%) από τις πέντε απομονώσεις, που προέρχονταν από την περιοχή της Χαλκίδας, ανήκαν στη μορφολογική ομάδα Α, ενώ η πέμπτη απομόνωση (20%) ανήκε στη μορφολογική ομάδα Γ (Πιν. 10).

Πίνακας 8. Μορφολογικά και καλλιεργητικά χαρακτηριστικά απομονώσεων του μύκητα *S. cereivorum* σε θρεπτικό υλικό PDA, μετά από επώαση των αποικιών σε θερμοκρασία 21⁰C για 25 ημέρες.

Μορφολογική Ομάδα	Μορφολογικά – Καλλιεργητικά χαρακτηριστικά					
	Ανω επιφάνεια τρυβλίου			Κάτω επιφάνεια τρυβλίου		
	Κέντρο αποικίας	Περιφέρεια αποικίας	Παρουσία σκληρωτίων	Κέντρο αποικίας	Περιφέρεια αποικίας	Παρουσία σκληρωτίων
A (Εικ. 9)	Αραιό, υπόλευκο μυκήλιο	Πυκνό, υπόλευκο μυκήλιο	Άφθονα σκληρώτια μόνο στην περιφέρεια	Αραιό, υπόλευκο μυκήλιο	Πυκνό, υπόλευκο μυκήλιο	Άφθονα σκληρώτια μόνο στην περιφέρεια
B (Εικ. 9)	Υπόλευκο έως γκριζο μυκήλιο, πυκνό κατά θέσεις	Υπόλευκο έως γκριζο μυκήλιο, πυκνό κατά θέσεις	Άφθονα σκληρώτια στο κέντρο και την περιφέρεια	Ανοικτό έως σκούρο γκριζο (κατά θέσεις) μυκήλιο	Σκούρο γκριζο έως μελανό (κατά θέσεις) μυκήλιο	Άφθονα σκληρώτια στο κέντρο και την περιφέρεια, δυσδιάκριτα κατά θέσεις
Γ (Εικ. 9)	Πυκνό, υπόλευκο μυκήλιο	Πυκνό, υπόλευκο μυκήλιο	Άφθονα σκληρώτια σε όλη την επιφάνεια της αποικίας	Πυκνό, υπόλευκο μυκήλιο	Πυκνό, υπόλευκο μυκήλιο	Άφθονα σκληρώτια σε όλη την επιφάνεια της αποικίας
Δ (Εικ. 9)	Αραιό, υπόλευκο μυκήλιο	Πυκνό, υπόλευκο μυκήλιο	Άφθονα σκληρώτια μόνο στην περιφέρεια	Αραιό μυκήλιο με υποκάστανο έως καστανό χρώμα	Πυκνό, υπόλευκο μυκήλιο	Δυσδιάκριτα σκληρώτια μόνο στην περιφέρεια

Όσον αφορά στις απομονώσεις από την περιοχή της Ορεστιάδας, το 59,13% ανήκε στη μορφολογική ομάδα Α, ενώ το 19,13, 20,87 και 0,87% των απομονώσεων ανήκε στις μορφολογικές ομάδες Β, Γ και Δ, αντίστοιχα (Πιν. 10). Τέλος, οι δυο απομονώσεις που προέρχονταν από τις περιοχές της Θήβας και της Λευκάδας, αντίστοιχα, ανήκαν στη μορφολογική ομάδα Α (Πιν. 10).



Εικόνα 9. Μορφολογικά και καλλιεργητικά χαρακτηριστικά των τεσσάρων ομάδων (Α, Β, Γ, Δ) στις οποίες κατατάχθηκαν οι απομονώσεις του μύκητα *S. cerivorum*. Μορφολογία αποικιών στην άνω (α) και κάτω (β) επιφάνεια των τρυβλίων.

Πίνακας 9. Κατάταξη 116 απομονώσεων του μύκητα *S. cereivorum* σε μορφολογικές ομάδες με βάση τα μορφολογικά και καλλιεργητικά χαρακτηριστικά των αποικιών τους σε τρυβλία με θρεπτικό υλικό ανάπτυξης PDA μετά από επώαση για 25 ημέρες σε θερμοκρασία 21⁰C.

Μορφολογική Ομάδα	Κωδικοί απομονώσεων	Αριθμός απομονώσεων	Ποσοστό (%) απομονώσεων στην κάθε ομάδα
A	Sc 3	1	54,31 (63)*
	Sc 55	1	
	Sc 100	1	
	Sc 115 - Sc 133	19	
	Sc 136 - Sc 138	3	
	Sc 169	1	
	Sc 181 - Sc 215	27	
	Sc 232 - Sc 240	5	
	Sc 242, Sc 249, Sc 251,	5	
	Sc 253 & Sc 255		
B	Sc 158 - Sc 168	11	18,97 (22)
	Sc 170 - Sc 180	11	
Γ	Sc 134 - Sc 135	2	25,86 (30)
	Sc 216 - Sc 224	5	
	Sc 229	1	
	Sc 241	1	
	Sc 257 - Sc 278	21	
Δ	Sc 96	1	0,86 (1)

* Στην παρένθεση είναι ο αριθμός των απομονώσεων σε κάθε μορφολογική ομάδα

Πίνακας 10. Ποσοστό απομονώσεων του μύκητα *S. cerevivorum* που αντιστοιχούν σε κάθε μορφολογική ομάδα σε σχέση με την προέλευσή τους.

Προέλευση απομονώσεων	Σύνολο απομονώσεων ανά περιοχή	Ποσοστό απομονώσεων (%)	Μορφολογική Ομάδα
Χαλκίδα	6	66,67 (4)*	A
		0 (0)	B
		33,33 (2)	Γ
		0 (0)	Δ
Λακωνία	5	0 (0)	A
		0 (0)	B
		100 (5)	Γ
		0 (0)	Δ
Θήβα	1	100 (1)	A
		0 (0)	B
		0 (0)	Γ
		0 (0)	Δ
Λευκάδα	1	100 (1)	A
		0 (0)	B
		0 (0)	Γ
		0 (0)	Δ
Ορεστιάδα	103	55,34 (57)	A
		21,36 (22)	B
		22,33 (23)	Γ
		0,97 (1)	Δ

* Οι αριθμοί στις παρενθέσεις αντιστοιχούν στον αριθμό των απομονώσεων που ανήκαν στις μορφολογικές ομάδες A, B, Γ ή Δ.

2.4. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *S. CERIVORUM*

2.4.1. Σκοπός

Σκοπός του πειράματος ήταν η μελέτη, με τη μέθοδο της μυκηλιακής συμβατότητας, της γενετικής παραλλακτικότητας απομονώσεων του μύκητα *S. cerivorum*, που προέρχονταν από διάφορες περιοχές της Χώρας.

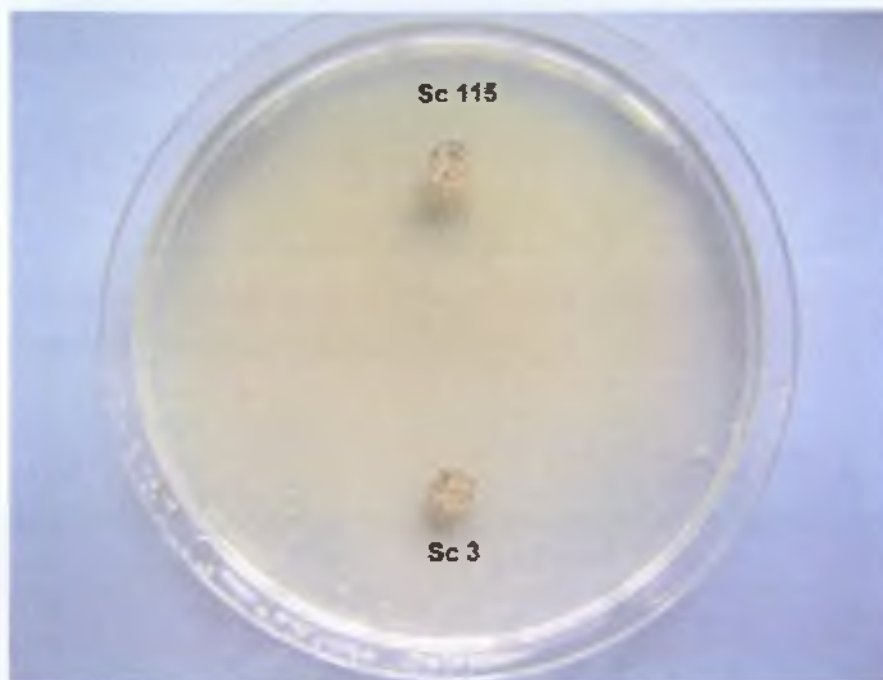
2.4.2. Υλικά και Μέθοδοι

Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 112 απομονώσεις του μύκητα *S. cerivorum*, που προέρχονταν από τρεις διαφορετικές περιοχές της Χώρας. Πιο συγκεκριμένα, 102 απομονώσεις προέρχονταν από την περιοχή της Ορεστιάδας, 5 απομονώσεις από την περιοχή της Χαλκίδας και 5 απομονώσεις από τη Νεάπολη Λακωνίας. Οι απομονώσεις αυτές, που προέρχονταν από φυσικά μολυσμένα φυτά ή εδάφη, απομονώθηκαν την περίοδο Μαΐου-Ιουλίου 2004. Η κάθε απομόνωση διασταυρώθηκε ξεχωριστά με τέσσερις απομονώσεις του ίδιου μύκητα και πιο συγκεκριμένα τις Sc 3, Sc 55, Sc 96 και Sc 100, η καθεμιά από τις οποίες αντιπροσώπευε τις ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας (MCG, mycelial compatibility group) MCG-1, MCG-2, MCG-3 και MCG-4, αντίστοιχα. Η απομόνωση των Sc 3, Sc 55, Sc 96 και Sc 100 είχε γίνει τον Ιούνιο του 2003, ενώ οι παραπάνω τέσσερις ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας είχαν καθοριστεί στο παρελθόν αυθαίρετα από τους ερευνητές του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του ΜΦΙ μετά από διασταυρώσεις διαφόρων απομονώσεων του μύκητα που προέρχονταν από τις περιοχές των Θηβών και της Ορεστιάδας.

Όλες οι απομονώσεις διατηρούνταν στη Συλλογή του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου και η αναβίωσή τους έγινε με τη μέθοδο που περιγράφεται στα Γενικά Υλικά και Μεθόδους, παράγραφος 2.1.2. Τα τρυβλία επωάστηκαν σε θερμοκρασία 21⁰C για 5 ημέρες. Στη συνέχεια και κάτω από ασηπτικές συνθήκες κόπηκαν από την περιφέρεια της κάθε αποικίας με τη βοήθεια φελλοτρυπητή (cork borer) μυκηλιακοί δίσκοι διαμέτρου 5 mm. Μυκηλιακοί δίσκοι από κάθε απομόνωση μεταφέρθηκαν και τοποθετήθηκαν ανεστραμμένοι (το μυκήλιο σε επαφή με το υλικό) στη μια πλευρά πλαστικών τρυβλίων Petri με θρεπτικό υλικό PDA.

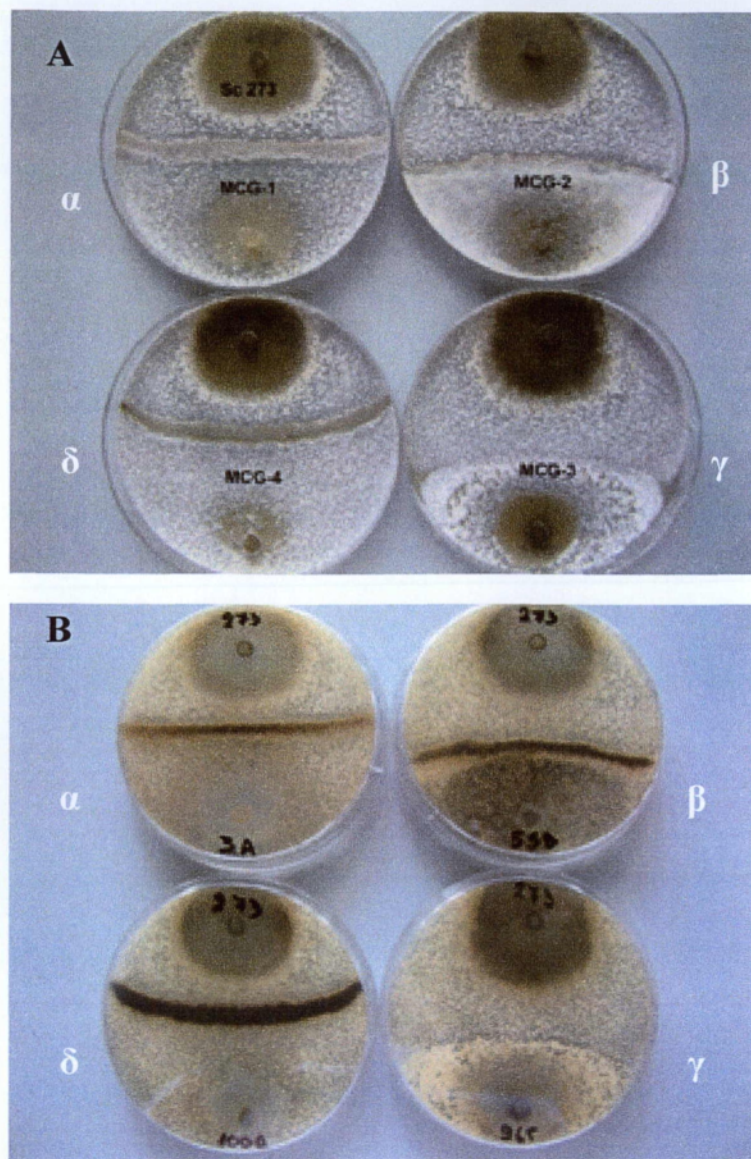
Στη συνέχεια σε κάθε τρυβλίο αλλά αντιδιαμετρικά και σε απόσταση περίπου 3,5 cm μεταξύ τους τοποθετήθηκαν ανεστραμμένοι δύο μυκηλιακοί δίσκοι (Εικ. 10). Ο ένας

μυκηλιακός δίσκος προερχόταν από τις υπό μελέτη απομονώσεις (π.χ. Sc 115) και ο άλλος από τις αντιπροσωπευτικές των τεσσάρων ομάδων μυκηλιακής συμβατότητας, δηλ τις απομονώσεις Sc 3, Sc 55, Sc 96 ή Sc 100. Για κάθε συνδυασμό χρησιμοποιήθηκε ένα τρυβλίο. Στη συνέχεια τα τρυβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και επώαστηκαν σε θερμοκρασία 21°C.



Εικόνα 10. Τρόπος τοποθέτησης των μυκηλιακών δίσκων κατά την εφαρμογή της μεθόδου της μυκηλιακής συμβατότητας, όπου Sc 115 είναι μια από τις υπό μελέτη απομονώσεις και Sc 3 απομόνωση που ανήκει σε γνωστή ομάδα μυκηλιακής συμβατότητας (MCG-1).

Η λήψη των αποτελεσμάτων έγινε 5 ημέρες μετά τον εμβολιασμό των τρυβλίων. Κατά την εκτίμηση των αποτελεσμάτων του πειράματος, δύο απομονώσεις του μύκητα *S. cereviorum* χαρακτηρίζονταν ως μυκηλιακά συμβατές και επομένως ανήκαν στην ίδια ομάδα MCG όταν, αναπτυσσόμενες στο ίδιο τρυβλίο, σχημάτιζαν μια ενιαία αποικία δίχως την παρουσία διαχωριστικής ζώνης στο σημείο συνάντησής τους (Εικ. 11, τρυβλία γ). Αντίθετα, δύο απομονώσεις χαρακτηρίζονταν ως μυκηλιακά ασύμβατες και επομένως ανήκαν σε διαφορετικές ομάδες MCG όταν σχημάτιζαν δύο διακριτές αποικίες που στο σημείο συνάντησής τους εμφανιζόταν διαχωριστική ζώνη που αποτελείτο από μυκήλιο ανοικτού γκριζού, σκούρου γκριζού, ανοικτού καστανού ή καστανομελανού χρώματος, δίχως την παρουσία σκληρωτίων επί της διαχωριστικής ζώνης (Εικ. 11, τρυβλία α, β και δ).



Εικόνα 11. Σχηματισμός (τρυβλία α, β και δ) ή μη (τρυβλία γ) “ζώνης αντίδρασης” (barriage) μεταξύ μυκηλιακά ασύμβατων και συμβατών, αντίστοιχα, απομονώσεων του μύκητα *S. cerevivorum*. Άνω (A) και κάτω (B) επιφάνεια των τρυβλίων.

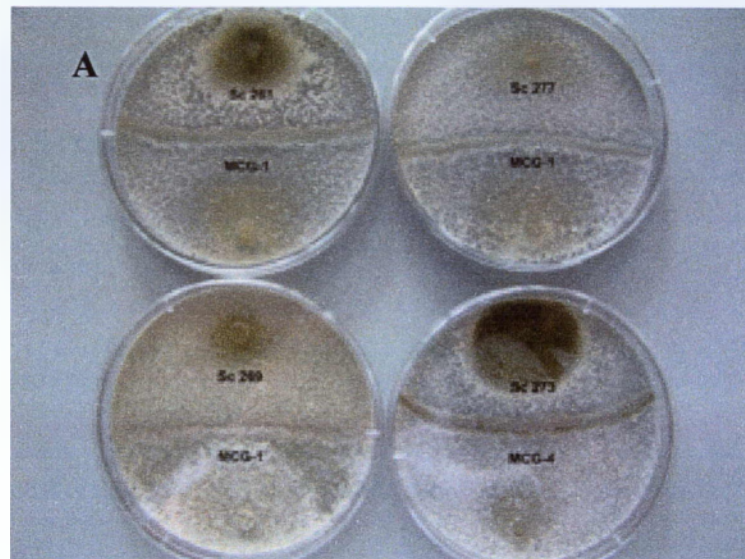
2.4.2. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι υπάρχει γενετική παραλλακτικότητα στον πληθυσμό του μύκητα *S. cerevivorum* στη Χώρα μας (Πιν. 11). Με βάση τη δημιουργία ή μη “ζώνης αντίδρασης” μεταξύ των υπό μελέτη απομονώσεων του μύκητα *S. cerevivorum* και των τεσσάρων (Sc 3, Sc 55, Sc 96, Sc 100) απομονώσεων του ίδιου μύκητα, που

αντιπροσώπευαν τις ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας MCG-1, MCG-2, MCG-3 και MCG-4, αντίστοιχα, οι 111 από τις 112 απομονώσεις κατατάχτηκαν σε τρεις ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας, τις MCG-1, MCG-3 και MCG-4 (Πιν. 11 & 12). Μια απομόνωση από τις 112, η Sc 162, ήταν συμβατή μυκηλιακά ταυτόχρονα με τις ομάδες MCG-1, MCG-2 και MCG-3 (Πιν. 11 & 12). Ως μυκηλιακά συμβατές ή αλλιώς απομονώσεις που ανήκαν στην ίδια ομάδα μυκηλιακής συμβατότητας (MCG) χαρακτηρίζονταν δύο απομονώσεις όταν, αναπτυσσόμενες στο ίδιο τρυβλίο, σχημάτιζαν μια ενιαία αποικία δίχως την παρουσία διαχωριστικής ζώνης στην περιοχή επαφής τους (Εικ. 11, τρυβλίο γ). Αντίθετα, δύο απομονώσεις χαρακτηρίζονταν ως μυκηλιακά ασύμβατες ή αλλιώς απομονώσεις που ανήκαν σε διαφορετικές ομάδες MCG όταν σχημάτιζαν δύο διακριτές αποικίες και στην περιοχή επαφής των αποικιών εμφανιζόταν σαφής διαχωριστική ζώνη (“ζώνη αντίδρασης”), η οποία ήταν περισσότερο εμφανής στην κάτω επιφάνεια του τρυβλίου (Εικ. 11, τρυβλία α, β και δ). Στις περισσότερες των περιπτώσεων οι μυκηλιακά ασύμβατες απομονώσεις δεν σχημάτιζαν σκληρώτια πάνω στη “ζώνη αντίδρασης”. Το χρώμα της “ζώνης αντίδρασης” κυμαινόταν από ανοικτό γκρίζο, σκούρο γκρίζο, ανοικτό καστανό έως καστανομέλαν, ανάλογα με τον συνδυασμό των απομονώσεων στο τρυβλίο (Εικ. 12B).

Το μεγαλύτερο ποσοστό (80,36%) των απομονώσεων που μελετήθηκαν ανήκαν στην ομάδα μυκηλιακής συμβατότητας 1 (MCG-1), ένα μικρότερο ποσοστό (14,29%) στην ομάδα MCG-4 και ένα πολύ μικρό ποσοστό (4,46%) στην ομάδα MCG-3.

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν επίσης ότι τη μεγαλύτερη γενετική παραλλακτικότητα εμφάνιζαν οι απομονώσεις που προέρχονταν από την περιοχή της Ορεστιάδας (Πιν. 13), ενώ οι πληθυσμοί του μύκητα από τις περιοχές της Χαλκίδας και της Νεάπολης Λακωνίας δεν εμφάνισαν γενετική παραλλακτικότητα, καθόσον όλες ανήκαν στην ομάδα MCG-1 (Πιν. 13). Όσον αφορά στις απομονώσεις του μύκητα που προέρχονταν από την περιοχή της Ορεστιάδας τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι το 78,43% των απομονώσεων αυτών ανήκαν στην ομάδα MCG-1, το 15,69% στην ομάδα MCG-4 και το 4,90% στην ομάδα MCG-3 (Πιν. 13).



Εικόνα 12. Μορφολογία της “ζώνης αντίδρασης” που δημιουργήθηκε στην περιοχή επαφής των αποικιών δύο μυκηλιακά ασύμβατων απομονώσεων του μύκητα *S. cerevisiae*. Άνω (A) και κάτω (B) επιφάνεια των τρυβλίων.

Πίνακας 11. Κατάταξη απομονώσεων του μύκητα *S. cereivorum* σε ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας (MCGs) μετά από επώαση των καλλιεργειών σε θερμοκρασία 21⁰C για 5 ημέρες.

Απομόνωση	Προέλευση	Ομάδες Μυκηλιακής Συμβατότητας (MCG)*			
		MCG-1 (Sc 3)	MCG-2 (Sc 55)	MCG-3 (Sc 96)	MCG-4 (Sc 100)
Sc 115	Ορεστιάδα	C**	I	I	I
Sc 116	”	C	I	I	I
Sc 117	”	C	I	I	I
Sc 118	”	C	I	I	I
Sc 119	”	C	I	I	I
Sc 120	”	C	I	I	I
Sc 121	”	C	I	I	I
Sc 122	”	C	I	I	I
Sc 123	”	C	I	I	I
Sc 124	”	C	I	I	I
Sc 125	”	C	I	I	I
Sc 126	”	C	I	I	I
Sc 127	”	C	I	I	I
Sc 128	”	C	I	I	I
Sc 129	”	C	I	I	I
Sc 130	”	C	I	I	I
Sc 131	”	C	I	I	I
Sc 132	”	C	I	I	I
Sc 133	”	C	I	I	I
Sc 134	”	C	I	I	I
Sc 135	”	C	I	I	I
Sc 136	”	C	I	I	I
Sc 137	”	C	I	I	I
Sc 138	”	C	I	I	I
Sc 158	”	C	I	I	I
Sc 159	”	C	I	I	I
Sc 160	”	C	I	I	I
Sc 161	”	C	I	I	I
Sc 162	”	C	C	C	I
Sc 163	”	C	I	I	I
Sc 164	”	C	I	I	I
Sc 165	”	C	I	I	I
Sc 166	”	C	I	I	I
Sc 167	”	C	I	I	I
Sc 168	”	C	I	I	I
Sc 169	”	C	I	I	I
Sc 170	”	C	I	I	I
Sc 171	”	C	I	I	I
Sc 172	”	C	I	I	I
Sc 173	”	C	I	I	I
Sc 174	”	C	I	I	I

* Προέλευση απομονώσεων αντιπροσωπευτικών των τεσσάρων ομάδων MCGs: Sc 3=Θήβα, Sc 55=Λευκάδα, Sc 96 & Sc 100= Ορεστιάδα

** C=απομονώσεις μυκηλιακά συμβατές, I=απομονώσεις μυκηλιακά ασύμβατες (σχηματισμός διαχωριστικής ζώνης στην περιοχή επαφής των αποικιών)

Πίνακας 11. (συνέχεια) Κατάταξη απομονώσεων του μύκητα *S. cereivorum* σε ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας (MCGs) μετά από επώαση των καλλιεργειών σε θερμοκρασία 21⁰C για 5 ημέρες.

Απομόνωση	Προέλευση	Ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας (MCG)*			
		MCG-1 (Sc 3)	MCG-2 (Sc 55)	MCG-3 (Sc 96)	MCG-4 (Sc 100)
Sc 175	"	C	I	I	I
Sc 176	"	C	I	I	I
Sc 177	Ορεστιάδα	C	I	I	I
Sc 178	"	C	I	I	I
Sc 179	"	C	I	I	I
Sc 180	"	C	I	I	I
Sc 181	"	C	I	I	I
Sc 182	"	C	I	I	I
Sc 183	"	C	I	I	I
Sc 184	"	C	I	I	I
Sc 185	"	C	I	I	I
Sc 186	"	C	I	I	I
Sc 187	"	C	I	I	I
Sc 188	"	C	I	I	I
Sc 189	"	C	I	I	I
Sc 190	"	C	I	I	I
Sc 191	"	C	I	I	I
Sc 192	"	C	I	I	I
Sc 193	"	C	I	I	I
Sc 194	"	C	I	I	I
Sc 195	"	C	I	I	I
Sc 196	"	C	I	I	I
Sc 197	"	C	I	I	I
Sc 198	"	C	I	I	I
Sc 199	"	C	I	I	I
Sc 200	"	C	I	I	I
Sc 201	"	C	I	I	I
Sc 202	"	C	I	I	I
Sc 203	"	C	I	I	I
Sc 204	"	C	I	I	I
Sc 205	"	C	I	I	I
Sc 214	"	C	I	I	I
Sc 215	"	C	I	I	I
Sc 216	Νεάπολη Λακωνίας	C	I	I	I
Sc 218	"	C	I	I	I
Sc 220	"	C	I	I	I
Sc 222	"	C	I	I	I
Sc 224	"	C	I	I	I
Sc 229	Ορεστιάδα	I	I	I	C
Sc 232	"	C	I	I	I

* Προέλευση απομονώσεων αντιπροσωπευτικών των τεσσάρων ομάδων MCGs: Sc 3=Θήβα, Sc 55=Λευκάδα, Sc 96 & Sc 100= Ορεστιάδα

** C=απομονώσεις μυκηλιακά συμβατές, I=απομονώσεις μυκηλιακά ασύμβατες (σχηματισμός διαχωριστικής ζώνης στην περιοχή επαφής των αποικιών)

Πίνακας 11. (συνέχεια) Κατάταξη απομονώσεων του μύκητα *S. cereivorum* σε ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας (MCGs) μετά από επώαση των καλλιεργειών σε θερμοκρασία 21⁰C για 5 ημέρες.

Απομόνωση	Πρόέλευση	Ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας (MCG)*			
		MCG-1 (Sc 3)	MCG-2 (Sc 55)	MCG-3 (Sc 96)	MCG-4 (Sc 100)
Sc 235	Ορεστιάδα	C	I	I	I
Sc 237	"	C	I	I	I
Sc 239	"	C	I	I	I
Sc 240	"	C	I	I	I
Sc 241	"	I	I	I	C
Sc 242	"	C	I	I	I
Sc 249	Χαλκίδα	C	I	I	I
Sc 251	"	C	I	I	I
Sc 253	"	C	I	I	I
Sc 255	"	C	I	I	I
Sc 257	"	C	I	I	I
Sc 259	Ορεστιάδα	I	I	I	C
Sc 260	"	I	I	I	C
Sc 261	"	C	I	I	I
Sc 262	"	I	I	I	C
Sc 263	"	I	I	I	C
Sc 264	"	I	I	C	I
Sc 265	"	I	I	C	I
Sc 266	"	I	I	C	I
Sc 267	"	I	I	I	C
Sc 268	"	I	I	I	C
Sc 269	"	I	I	I	C
Sc 270	"	I	I	C	I
Sc 271	"	I	I	I	C
Sc 272	"	I	I	I	C
Sc 273	"	I	I	C	I
Sc 274	"	I	I	I	C
Sc 275	"	I	I	I	C
Sc 276	"	I	I	I	C
Sc 277	"	I	I	I	C
Sc 278	"	I	I	I	C

* Πρόελευση απομονώσεων αντιπροσωπευτικών των τεσσάρων ομάδων MCGs: Sc 3=Θήβα, Sc 55=Λευκάδα, Sc 96 & Sc 100= Ορεστιάδα

** C=απομονώσεις μυκηλιακά συμβατές, I=απομονώσεις μυκηλιακά ασύμβατες (σχηματισμός διαχωριστικής ζώνης στην περιοχή επαφής των αποικιών)

Πίνακας 12. Αριθμός και ποσοστό (%) απομονώσεων ανά ομάδα μυκηλιακής συμβατότητας (MCG) ανεξάρτητα από την προέλευση των απομονώσεων.

Ομάδα Μυκηλιακής Συμβατότητας (MCG)	Αριθμός απομονώσεων	Ποσοστό απομονώσεων (%)
MCG-1	90	80,36
MCG-2	0	0
MCG-3	5	4,46
MCG-4	16	14,29
	1*	0,89

* Απομόνωση μυκηλιακά συμβατή με απομονώσεις των ομάδων MCG-1, MCG-2 και MCG-3

Πίνακας 13. Κατάταξη των απομονώσεων του μύκητα *S. cerevivorum* σε ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας (MCGs) ανά γεωγραφική περιοχή της Χώρας.

Περιοχή	Σύνολο εξετασθέντων απομονώσεων	Ποσοστό (%) απομονώσεων ανά Ομάδα Μυκηλιακής Συμβατότητας (MCG)				
		MCG-1	MCG-2	MCG-3	MCG-4	
Ορεστιάδα	102	78,43 (80)*	0 (0)	4,90 (5)	15,69 (16)	0,98 (1**)
Χαλκίδα	5	100 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
Νεάπολη Λακωνίας	5	100 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-

* Οι αριθμοί στις παρενθέσεις δηλώνουν τον αριθμό των απομονώσεων σε κάθε ομάδα μυκηλιακής συμβατότητας.

** Απομόνωση μυκηλιακά συμβατή με απομονώσεις των ομάδων MCG-1, MCG-2 και MCG-3

2.5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν για πρώτη φορά διεθνώς ο ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου καθώς και τα καλλιεργητικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά ενός μεγάλου αριθμού ελληνικών απομονώσεων του μύκητα *S. cepivorum*. Επιπλέον, μελετήθηκε για πρώτη φορά στη Χώρα μας η γενετική συγγένεια απομονώσεων του παθογόνου, που προέρχονταν από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές όπου καλλιεργείται το κρεμμύδι και το σκόρδο.

Η συγκριτική μελέτη, σε τρυβλία με θρεπτικό υλικό PDA και σε θερμοκρασία 21⁰C, του ρυθμού γραμμικής αύξησης του μυκηλίου 116 απομονώσεων του μύκητα *S. cepivorum*, που προέρχονταν από φυσικά μολυσμένα δείγματα εδάφους και φυτών κρεμμυδιού και σκόρδου από περιοχές της Ορεστιάδας, Χαλκίδας, Λακωνίας, Λευκάδας και Θηβών, έδειξε ότι η γραμμική αύξηση του μυκηλίου τους ανά ημέρα ήταν ανεξάρτητη από τη γεωγραφική προέλευσή τους ή από το είδος του δείγματος (έδαφος, φυτό κρεμμυδιού ή σκόρδου) από το οποίο προήλθαν. Στις συνθήκες του πειράματος, ο μεγαλύτερος ρυθμός γραμμικής αύξησης του μυκηλίου ήταν 2,75 cm/ημέρα και ο μικρότερος 0,92 cm/ημέρα. Δυστυχώς, στη Διεθνή Βιβλιογραφία δεν υπάρχουν άλλες αναφορές σχετικές με το ρυθμό γραμμικής αύξησης του μυκηλίου απομονώσεων του μύκητα *S. cepivorum*.

Όταν μελετήθηκαν τα μορφολογικά και καλλιεργητικά χαρακτηριστικά των παραπάνω απομονώσεων του μύκητα σε θρεπτικό υλικό ανάπτυξης PDA διαπιστώθηκαν διαφορές μεταξύ των απομονώσεων ως προς τη μορφολογία των αποικιών και το σχηματισμό ή μη σκληρωτίων. Με βάση τις διαφορές αυτές, οι απομονώσεις που εξετάστηκαν κατατάχθηκαν σε τέσσερις μορφολογικές ομάδες, οι οποίες ονομάστηκαν αυθαίρετα Α, Β, Γ και Δ. Αυτή είναι η πρώτη αναφορά παγκοσμίως για ύπαρξη μορφολογικών ομάδων στον πληθυσμό του μύκητα *S. cepivorum*. Η μόνη αναφορά που υπάρχει και αναφέρεται στα μορφολογικά και καλλιεργητικά χαρακτηριστικά του μύκητα είναι εκείνη του Mordue (1976) σύμφωνα με την οποίαν, οι αποικίες του μύκητα σε θρεπτικό υλικό PDA έχουν χρώμα λευκό έως γκριζοκάστανο, με ένα λεπτό στρώμα εναέριου μυκηλίου. Σε μερικές περιπτώσεις πάνω στην επιφάνεια της αποικίας παρατηρείται σχηματισμός κατά θέσεις μακρύτερων υφών. Τα σκληρώτια του μύκητα εμφανίζονται είτε ομοιόμορφα κατανεμημένα είτε σε συγκεντρικούς κύκλους (λόγω της επίδρασης της εναλλαγής ημέρας και νύκτας) πάνω στην επιφάνεια της αποικίας (Mordue, 1976).

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης και ανεξάρτητα από την περιοχή προέλευσης, το 54,31% των απομονώσεων που μελετήθηκαν (63 απομονώσεις) ανήκαν στη μορφολογική ομάδα Α, ενώ το 18,97% (22 απομονώσεις), 25,86% (30 απομονώσεις) και 0,86% (1 απομόνωση) των απομονώσεων ανήκαν στις μορφολογικές ομάδες Β, Γ και Δ, αντίστοιχα. Οι απομονώσεις του μύκητα που προέρχονταν από την περιοχή της Ορεστιάδας, οι οποίες ήταν και οι περισσότερες που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία (103 απομονώσεις), κατανέμονταν και στις τέσσερις μορφολογικές ομάδες, υπερίσχυαν όμως εκείνες της ομάδας Α (55,34%). Οι απομονώσεις που προέρχονταν από την περιοχή της Χαλκίδας ανήκαν μόνο σε δύο μορφολογικές ομάδες, την Α (66,67%) και τη Γ (33,33%), ενώ όλες οι απομονώσεις από την περιοχή της Λακωνίας (100%) ανήκαν στη μορφολογική ομάδα Γ. Τέλος, οι απομονώσεις του μύκητα που προέρχονταν από την περιοχή των Θηβών και της Λευκάδας (μια απομόνωση ανά περιοχή) ανήκαν στη μορφολογική ομάδα Α. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν επίσης ότι δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ των μορφολογικών ομάδων των απομονώσεων και του είδους του δείγματος (έδαφος, φυτό κρεμμυδιού ή σκόρδου) από το οποίο προήλθαν οι απομονώσεις.

Η παρούσα εργασία έδειξε ότι υπάρχει γενετική παραλλακτικότητα στον ελληνικό πληθυσμό του μύκητα *S. cepivorum*. Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της μυκηλιακής συμβατότητας διαπιστώθηκε ότι οι 111 από τις 112 απομονώσεις του μύκητα που μελετήθηκαν ανήκαν σε τρεις ομάδες μυκηλιακής συμβατότητας (MCGs), ήτοι τις MCG-1, MCG-3 και MCG-4, ενώ η μια από τις 112 απομονώσεις (η Sc 162 από την περιοχή της Ορεστιάδας) ήταν μυκηλιακά συμβατή ταυτόχρονα με τρεις μυκηλιακές ομάδες, τις MCG-1, MCG-2 και MCG-3.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν επίσης ότι σε όλες τις περιπτώσεις μυκηλιακά ασύμβατων απομονώσεων του μύκητα *S. cepivorum* που αναπτύσσονταν στο ίδιο τρυβλίο δημιουργήθηκε στην περιοχή συνάντησης των αποικιών τους μια “ζώνη αντίδρασης” (barrage). Η “ζώνη αντίδρασης” εμφανιζόταν σαν μια ζώνη μυκηλίου του οποίου όμως το χρώμα διέφερε από εκείνο των αποικιών και κυμαινόταν από ανοικτό γκριζό, σκούρο γκριζό, ανοικτό καστανό έως καστανομέλαν, ανάλογα με το ζεύγος των μυκηλιακά ασύμβατων απομονώσεων που αναπτύσσονταν στο ίδιο τρυβλίο. Σε καμία περίπτωση δεν διαπιστώθηκε σχηματισμός σκληρωτίων πάνω στη “ζώνη αντίδρασης”. Σχηματισμό σκούρου χρώματος “ζώνης αντίδρασης” μεταξύ μυκηλιακά ασύμβατων απομονώσεων του μύκητα *S. cepivorum* διαπίστωσαν και οι Tyson *et al.* (2002). Οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν επίσης ότι σε μερικές περιπτώσεις μυκηλιακά ασύμβατων

απομονώσεων παρατηρήθηκε αντί της σκούρου χρώματος “ζώνης αντίδρασης” σχηματισμός μιας ζώνης αραιού μυκηλίου ή ένα σταμάτημα της ανάπτυξης των αποικιών στην περιοχή συνάντησής τους. Οι Earnshaw & Boland (1997) επίσης παρατήρησαν ότι η “ζώνη αντίδρασης” μεταξύ μυκηλιακά ασύμβατων απομονώσεων του μύκητα *S. cereivorum* ήταν ή μια σκούρου χρώματος διαχωριστική ζώνη που αποτελείτο από νεκρό μυκήλιο ή μια ζώνη λεπτού και αραιού μυκηλίου δίχως την παρουσία σκληρωτίων ή μια ασαφής ζώνη μυκηλίου χρώματος καστανού. Παρατηρώντας στο μικροσκόπιο την περιοχή συνάντησης δύο μυκηλιακά συμβατών απομονώσεων, οι παραπάνω ερευνητές διαπίστωσαν την παρουσία πολυάριθμων αναστομώνσεων (συγχωνεύσεων) μεταξύ των υφών των δύο αποικιών. Αποτέλεσμα των αναστομώνσεων αυτών ήταν η συνένωση των αποικιών και η εμφάνιση μιας ενιαίας αποικίας δίχως το σχηματισμό “ζώνης αντίδρασης” (Earnshaw & Boland, 1997). Αντίθετα, στις περιπτώσεις μυκηλιακά ασύμβατων απομονώσεων οι Earnshaw & Boland (1997) παρατήρησαν ότι στην περιοχή συνάντησης των δύο αποικιών είτε οι υφές αρχικά αναστομώνονταν στο σημείο συνάντησής τους (όπως και στην περίπτωση των μυκηλιακά συμβατών απομονώσεων) αλλά στη συνέχεια τα κύτταρα των υφών αυτών νεκρώνονταν και αποκτούσαν ένα σκούρο γκριζό ή καστανοκόκκινο χρωματισμό είτε οι υφές των δύο αποικιών δεν αναστομώνονταν αλλά προσπερνούσε ή απωθούσε η μια την άλλη με αποτέλεσμα το σχηματισμό μιας ζώνης αραιού μυκηλίου ή μιας ζώνης κενής μυκηλίου (blank strip).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν επίσης ότι ο πληθυσμός του μύκητα *S. cereivorum* στη Χώρα μας είναι ετερογενής καθόσον το 80,36% των απομονώσεων που εξετάστηκαν ανήκε στην ομάδα MCG-1, το 4,46% στη ομάδα MCG-3 και το 14,29% στην ομάδα MCG-4. Το γεγονός δε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των απομονώσεων (80,36%) ανήκε σε μια ομάδα, την MCG-1, δείχνει ότι η παραλλακτικότητα μεταξύ των απομονώσεων στον πληθυσμό του μύκητα στη Χώρα μας είναι σχετικά μικρή. Σε μια πρόσφατη μελέτη τους οι Tyson *et al.* (2002) διαπίστωσαν την παρουσία έξι ομάδων MCGs στον πληθυσμό του μύκητα από τη Νέα Ζηλανδία. Ανάλογη μελέτη από τους Couch & Kohn (2000) έδειξε την παρουσία τεσσάρων ομάδων MCGs στον πληθυσμό του μύκητα *S. cereivorum* που προερχόταν από τις ανατολικές περιοχές του Καναδά. Επιπλέον, οι ίδιοι ερευνητές, εξετάζοντας απομονώσεις από διάφορες περιοχές του κόσμου, διαπίστωσαν την ύπαρξη συνολικά 12 ομάδων MCGs παγκοσμίως. Το γεγονός δε ότι οι απομονώσεις του παθογόνου από διάφορες περιοχές της Ιταλίας ανήκαν σε έξι ομάδες MCGs οδήγησε τους Couch & Kohn (2000) να υποθέσουν ότι η γενετική παραλλακτικότητα του Ευρωπαϊκού πληθυσμού του μύκητα είναι μεγαλύτερη σε σχέση με εκείνη του πληθυσμού από άλλες

περιοχές του κόσμου και ότι πιθανόν η Ευρώπη υπήρξε το κέντρο διασποράς του μύκητα *S. cereivorum* σε άλλες περιοχές όπου καλλιεργείται το κρεμμύδι και το σκόρδο.

Στην παρούσα εργασία επίσης διαπιστώθηκε ότι ο πληθυσμός του μύκητα που προέρχεται από την περιοχή της Ορεστιάδας ήταν ετερογενής, καθόσον οι απομονώσεις ανήκαν σε τρεις διαφορετικές ομάδες MCGs, με το μεγαλύτερο ποσοστό των απομονώσεων (78,43%) να ανήκει στην ομάδα MCG-1, το 4,90% στην ομάδα MCG-3 και το 15,69% στην ομάδα MCG-4. Επειδή δεν έχει διαπιστωθεί αγενής αναπαραγωγή στο μύκητα *S. cereivorum*, η παρουσία περισσότερων της μιας ομάδας MCG στην περιοχή της Ορεστιάδας πιθανόν να οφείλεται σε πολλαπλές εισαγωγές του μύκητα από άλλες περιοχές της Χώρας ή από άλλες χώρες, κυρίως με το πολλαπλασιαστικό υλικό (βολβοί κρεμμυδιού ή σκόρδου). Αντίθετα, το γεγονός ότι όλες οι απομονώσεις που προέρχονταν από τις περιοχές της Χαλκίδας και της Λακωνίας ανήκαν στην ομάδα MCG-1 οδηγεί στην υπόθεση ότι οι πληθυσμοί του μύκητα στις περιοχές αυτές είναι ομοιογενείς. Επειδή όμως στη συγκεκριμένη μελέτη συμπεριλήφθηκε μόνο ένας μικρός αριθμός απομονώσεων από τη Χαλκίδα και τη Λακωνία (πέντε ανά περιοχή), για να επιβεβαιωθεί η παραπάνω υπόθεση είναι απαραίτητο στο μέλλον να εξεταστούν περισσότερες απομονώσεις από τις περιοχές αυτές.

Επιπλέον, σε συνέχεια της παρούσας μελέτης προτείνεται όπως συγκριθούν οι τέσσερις ομάδες MCGs του ελληνικού πληθυσμού του μύκητα με τις εννέα ομάδες MCGs που καθόρισαν οι Earnshaw & Boland (1997) για να διαπιστωθεί αν ο πληθυσμός του μύκητα στη Χώρα μας διαφέρει ή μη γενετικά από τους πληθυσμούς του μύκητα άλλων χωρών, όπως του Καναδά, της Αυστραλίας, της Νέας Ζηλανδίας, κλπ.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abd-Elrazik, A.A. and Lorbeer, J.W. 1980.** Rapid separation of *Sclerotinia minor* sclerotia from artificially and naturally infested organic soil. *Phytopathology* **70**: 892-894.
- Adams, P.B. 1987.** Comparison of isolates of *Sporidesmium sclerotivorum* *in vitro* and in soil for potential use as active agents in microbial pesticides. *Phytopathology* **77**: 575-578.
- Alexander, B.J.R. and Stewart, A. 1994.** Survival of sclerotia of *Sclerotinia* and *Sclerotium* spp. in New Zealand horticultural soil. *Soil Biology and Biochemistry* **26**: 1323-1329.
- Anonymous, 2000.** General information on soil-borne diseases.
http://www.rbg Syd.nsw.gov.au/consrvation_research/plant_pathology_research/
- Avila, de Moreno, C. and Lopez, A. 1996.** Manejo fitosanitario del ajo y de las cebollas. *Boletín de Sanidad Vegetal* **8**: 24-25.
- Basallote-Ureba, M.J. and Melero-Vara, J.M. 1993.** Control of garlic white rot by soil solarization. *Crop Protection* **12**: 219-223.
- Bristow, P.R. and Lockwood, J.L. 1975.** Soil fungistasis: role of spore exudates in the inhibition of nutrient-independent propagules. *Journal of General Microbiology* **90**: 140-146.
- Bugaret, Y., Sauris, P. and Marin, H. 1996.** Pourriture blanche et rouille de l'ail. *Phytoma* **487**: 45-47.
- Cindron, C. and L'Hoste, G.L. 1997.** Germination and infection potential of microconidia of *Sclerotium cepivorum*. *Journal of Phytopathology* **45**: 171-175.
- Coley-Smith, J.R. 1960.** Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. VI. Germination of sclerotia. *Annals of Applied Biology* **48**: 8-18.
- Coley-Smith, J.R. 1983.** Integrated control of *Sclerotium cepivorum*. In: *Proceedings of the Second International Workshop on Allium White rot*. Beltsville, USA. pp. 87-98.
- Coley-Smith, J.R. 1987.** Alternative methods of controlling white rot disease of *Allium*. In: Innovative Approaches to Plant Disease Control (Ed. Chet, I.), John Wiley, New York, USA. pp. 161-177.
- Coley-Smith, J.R. and Cooke, R.C. 1971.** Survival and germination of fungal sclerotia. *Annual Review of Phytopathology* **9**: 65-92.

- Coley-Smith, J.R. and King, J.E. 1969.** The production by species of *Allium* of alkyl sulphides and their effect on germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* Berk. *Annals of Applied Biology* 64: 289-301.
- Coley-Smith, J.R. and Sansford, C.E. 1986.** Survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum*. In: *Proceedings of the Third International Workshop on Allium White Rot*, (Ed. Entwistle, A.R.), Wellesbourne, UK. pp. 11-16.
- Coley-Smith, J.R., Ghaffar, A. and Javed, Z.U.R. 1974.** The effect of dry conditions on subsequent leakage and rotting of fungal sclerotia. *Soil Biology and Biochemistry* 6: 307-312.
- Coley-Smith, J.R., King, J.E., Dickinson, D.J. and Holt, R.W. 1967.** Germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* Berk. under aseptic conditions. *Annals of Applied Biology* 60:109-115.
- Coley-Smith, J.R., Mitchell, C.M. and Sansford, C.E. 1990.** Long-term survival of sclerotia of *Sclerotia cepivorum* and *Stromatinia gladioli*. *Plant Pathology* 39: 58-69.
- Coley-Smith, J.R., Parfitt, D., Taylor, I.M. and Reese, R.A. 1987.** Studies of dormancy in sclerotia of *Sclerotium cepivorum*. *Plant Pathology* 36: 594-599.
- Couch, B.C. and Kohn, L.M. 2000.** Clonal spread of *Sclerotium cepivorum* in onion production with evidence of past recombination events. *Phytopathology* 90: 514-521.
- Crowe, F.J. 1996.** White rot. In: Compendium of Onion and Garlic Diseases (Eds Schwartz, H.F. & Mohan, S.K.). Second Edition. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. pp. 14-16.
- Crowe, F.J. and Hall, D.H. 1980.** Soil temperature and moisture effects on sclerotium germination and infection of onion seedlings by *Sclerotium cepivorum* *Phytopathology* 70: 74-78.
- Crowe, F.J., Hall, D.H., Greathead, A.S. and Baghott, K.W. 1980.** Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and the incidence of white rot of onion and garlic. *Phytopathology* 70: 64-69.
- Crowe, F.J., Debons, J., Darnell, T., McGrath, D., Thornton, M., Koepsell, P., Davis, M., Laborde, J. and Redondo Juarez, E. 1991.** Use of synthetic stimulants of sclerotial germination of *Sclerotium cepivorum*. In: *Proceedings of the National Onion Research Conference*, Savannah, Cornell University, Ithaca, New York. pp. 128-138.
- Crowe, F.J., Debons, J., Darnell, T., Thornton, M., McGrath, D., Koepsell, P., Laborde, J. and Redondo, J. 1994.** Control of *Allium* white rot with DADS and related products. In: *Proceedings of the 5th International Workshop on Allium White Rot*, Cordoba, Spain.

- Croxall, H.E., Sidwell, R.W. and Jenkins, J.E.E. 1953.** White rot (*Sclerotium cepivorum*) of onions in Worcestershire with special reference to control by seed treatment with calomel. *Annals of Applied Biology* **40**: 166-175.
- De Oliveira, V.L., De M Bellei, M. and Borges, A.C. 1984.** Control of white rot of garlic by antagonistic fungi under controlled environmental conditions. *Canadian Journal of Microbiology* **30**: 884-889.
- Dennis, J.J.C. 1997.** Progress towards an integrated control strategy for onion white rot disease, including the use of artificial germination stimulants. *2nd International Symposium on Edible Alliaceae*, Adelaide, Australia. p. 39.
- Earnshaw, D. and Boland, G.J. 1997.** Mycelial compatibility groups in *Sclerotium cepivorum*. *Plant Pathology* **46**: 229-238.
- Earnshaw, D., McDonald, M.R. and Boland, G.J. 2000.** Interactions among isolates and mycelial compatibility groups of *Sclerotium cepivorum* and cultivars of onion (*Allium cepa*). *Canadian Journal of Plant Pathology* **22**: 387-391.
- Elias, K.S., Zamir, D., Lichtman-Pleban, T. and Katan, T. 1993.** Population structure of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*: Restriction fragment length polymorphism provide genetic evidence that vegetative compatibility group is an indicator of evolution origin. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **5**: 565-572.
- Entwistle, A.R. 1992.** Controlling *Allium* white rot (*Sclerotium cepivorum*) without chemicals. *Phytoparasitica* **20**: 121-125.
- Entwistle, A.R. and Hawling, S.L. 1984.** Changes in response of white rot to vinclozolin and iprodione. *Report of the National Vegetable Research Station for 1983*, Wellesbourne, UK. p. 67.
- Entwistle, A.R. and Munasinghe, H.L. 1975.** White rot disease of salad onions. *Report of the National Vegetable Research Station for 1974*, Wellesbourne, UK. pp. 110-111.
- Entwistle, A.R. and Munasinghe, H.L. 1981.** Formation of secondary sclerotia by *Sclerotium cepivorum*. *Transactions of the British Mycological Society* **77**: 432-434.
- Entwistle, A.R. and Riddle, S. 1984.** Changes in effectiveness of iprodione and vinclozolin. In: *35th Annual Report of the National Vegetable Research Station for 1984*, Wellesbourne, UK. pp. 66-67.
- Fullerton, R.A. and Stewart, A. 1991.** Chemical control of onion white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.) in the Pukekohe district of New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* **19**: 121-127.
- Fullerton, R.A., Stewart, A., and Slade, E.A. 1995.** Use of dimethyl inhibiting fungicides (DMIs) for the control of onion white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.) in New Zealand. *Journal of Crop and Horticultural Science* **23**: 121-125.

- Gerbrandy, S.J.** 1989. The effects of various temperatures during storage in soil on subsequent germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum*. *Netherlands Journal of Plant Pathology* **95**: 319-326
- Ηλιόπουλος, Α.Γ.** 2004. Γενική Φυτοπαθολογία. Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.
- Hannan, R.M. and Sorensen, E.J.** 2001. White rot.
<http://www.ipmcenters.org/cropprofiles/docs/WAGarlic.html>
- Harrison, D.E.** 1954. White rot of onions in Victoria. *Faculty Department of Agriculture* **52**: 510.
- Harrison, Y.A. and Stewart, A.** 1988. Selection of fungal antagonists for biological control of onion white rot in New Zealand. *Journal of Experimental Agriculture* **16**: 249-256.
- Harper, G.E., Frampton, C.M. and Stewart, A.** 2002. Factors influencing survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* in New Zealand soils. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* **30**: 29-35.
- Harveson, R.M. and Rush, C.M.** 1997. Genetic variability among *Fusarium oxysporum* isolates from sugar beet as determined by vegetative compatibility. *Plant Disease* **81**: 85-88.
- Hovius, M.H.Y. and McDonald, M.R.** 2002. Mngement of *Allium* white rot (*Sclerotium cepivorum*) in onions on organic soil with soil applied diallyl disulfide and di-N-propyl disulfide. *Canadian Journal of Plant Pathology* **24**: 281-286.
- Kay, A. and Stewart, A.** 1994. Evaluation of fungal antagonists for control of onion white rot in soil box trials. *Plant Pathology* **43**: 371.
- King, J.E. and Coley-Smith, J.R.** 1969. Production of volatile alkyl sulphides by microbial degradation of synthetic alliin and alliin-like compounds in relation to germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* Berk. *Annals of Applied Biology* **64**: 303-314.
- Kohn, L.M., Carbone, I. and Anderson, J.B.** 1990. Mycelial interactions in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Experimental Mycology* **14**: 255-267.
- Kohn, L.M., Stasovski, E., Carbone, I., Royer, J. and Anderson, J.B.** 1991. Mycelial incompatibility and molecular markers identify genetic variability in field populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology* **81**: 480-485.
- Leggett, M.E. and Rahe, J.** 1985. Factors affecting the survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* in the Fraser Valley of British Columbia. *Annals of Applied Biology* **106**: 255-263.
- Leggett, M.E. and Rahe, J. and Uthkede, R.S.** 1983. Survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* in muck soil as affected by drying and location of sclerotia in soil. *Soil Biology and Biochemistry* **15**: 325-327.

- Leslie, J.F. 1993. Fungal vegetative compatibility. *Annual Review of Phytopathology* 31: 127-150.
- McCallum, B.D., Tekanz, A. and Gilbert, J. 2004. Barrage zone formation between vegetatively incompatible *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*) isolates. *Phytopathology* 94: 432-437.
- McDonald, M.R., Traquair, J., Boland, G. and Ripley, B. 1999. Improved quality and storability of onions and carrots through sustainable management of soil-borne diseases.
http://res2.agr.ca/London/orep/mcdonald_25_rep_e.htm
- Meijer, G., Megnegneau, B. and Linders, E.G.A. 1994. Variability for isozyme, vegetative compatibility and RAPD markers in natural populations of *Phomopsis subordinaria*. *Mycological Research* 98: 267-276.
- Melero, J.M., Gonzalez, R., Gomez, J., Bejarano, J. and Basallote, M.J. 1989. Solarization of soils in Andalusia using plastic film. *Plasticulture* 82: 73-82.
- Metcalf, D.A., Dennis, J.J.C. and Wilson, G.R. 2004. Effect of inoculum density of *Sclerotium cepivorum* on the ability of *Trichoderma koningii* to suppress white rot of onion. *Plant Disease* 88: 287-291.
- Mordue, J.E.M. 1976. *Sclerotium cepivorum*. *Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*, No 512, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- New, C.M., Coley-Smith, G.R. and Georgy, N.I. 1984. Scanning electron microscopy of sclerotial germination in *Sclerotium cepivorum*. *Transactions of the British Mycological Society* 83: 690-693.
- Ολύμπιος, Χ.Μ. 1994. Τα Βολβώδη Λαχανικά. Εκδόσεις Α. Σταμούλης, Αθήνα, 235 σελίδες.
- Παναγόπουλος, Χ.Γ. 1995. Σκληρωτινίαση. Εις: Ασθένειες Κηπευτικών Καλλιεργειών. Εκδόσεις Α. Σταμούλης, Αθήνα, σελίδες 59-63.
- Perez, O.R. and Garcia Espinosa, R. 1986. An attempt at biological control of white rot of garlic (*Allium sativum* L.) caused by *Sclerotium cepivorum* Berk. by means of *Sporidesmium sclerotivorum* Uecker, Ayers and Adams. *Revista Mexicana de Fitopatologie* 4: 29-30.
- Pinto, C.M.F., Maffia, L.A., Berger, R.D., Mizubuti, E.S.G. and Casali V.W.D., 1998. Progress of white rot on garlic cultivars planted at different times. *Plant Disease* 82: 1142-1146.
- Porter, I.J. 1990. Improved methods of applying procymidone to control white rot (*Sclerotium cepivorum*) of onions in Victoria, Australia. In: *Proceedings of the 4th Workshop on Allium White Rot*, Neustadt-Weinstrasse, Germany. pp. 108-114.

- Porter, I.J. and Merriman, P.R. 1983.** Effects of solarization of soil on nematode and fungal pathogens at two sites in Victoria. *Soil Biology and Biochemistry* **15**: 39-44.
- Puhalla, J.E. 1985.** Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany* **63**: 179-183.
- Reddy, M.S., Rahe, J.E. and Levesque, C.A. 1992.** Influence of onion seed bacterization on germination and mycosphere microflora of *Sclerotium cepivorum* sclerotia. *Canadian Journal of Microbiology* **38**: 1135-1143.
- Satour, M.M., Abdel_Rahim, M.F., El-Yamani, T., Radwan, A., Grinstein, A., Rabinowitch, H.D. and Katan, J. 1989.** Soil solarization in onion fields in Egypt and Israel; short- and long-term effects. *Acta Horticulturae* **225**: 151-159.
- Smith, A.M. 1972.** Biological control of fungal sclerotia in soil. *Soil Biology and Biochemistry* **4**: 131-134.
- Snowdon, A.L. 1991.** White rot of spring onions, leeks and chives caused by *Sclerotium cepivorum* Berk. In: *A Colour Atlas of Post-harvest Diseases & Disorders of Fruits & Vegetables*, Vol. 2: Vegetables. Wolfe Scientific Ltd, UK. pp. 230-231.
- Tyson, J.L., Ridgway, H.J., Fullerton, R.A. and Stewart, A. 2002.** Genetic diversity in New Zealand populations of *Sclerotium cepivorum*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* **30**: 37-48.
- Uecker, F.A., Ayers, W.A. and Adams, P.B. 1978.** A new hyphomycete on sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Mycotaxon* **7**: 275-282.
- Uhm, J.Y. and Fujii, H. 1983.** Heterothallism and mating type mutations in *Sclerotinia trifoliorum*. *Phytopathology* **73**: 569-572.
- Utkhed, R.S. and Rahe, J.E. 1980.** Biological control of onion white rot. *Soil Biology and Biochemistry* **26**: 101-102.
- Utkhed, R.S. and Rahe, J.E. 1982.** Treatment of muck soil with onion oil to control onion white rot. *Canadian Journal of Plant Pathology* **4**: 78-80.
- Utkhed, R.S. and Rahe, J.E. 1983.** Interaction of antagonists and pathogen in biological control of onion white rot. *Phytopathology* **73**: 890-893.