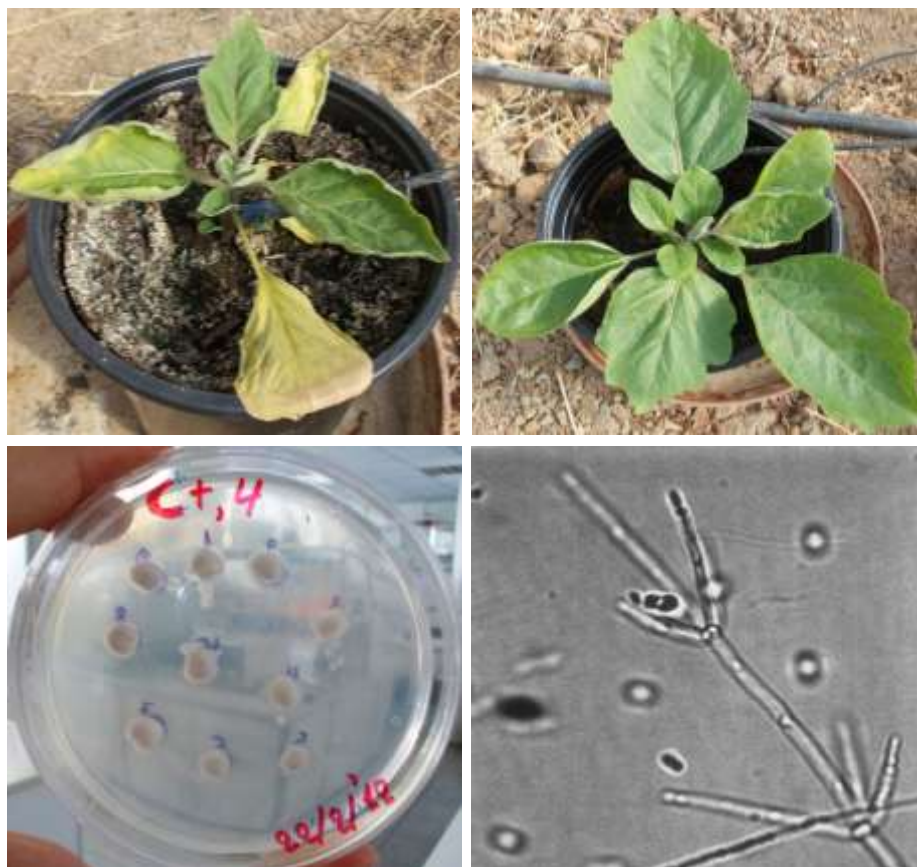


Τ.Ε.Ι. ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ
ΖΥΜΩΜΕΝΩΝ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ
(COMPOST) ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΒΕΡΤΙΣΙΛΛΙΩΣΗΣ ΤΗΣ
ΜΕΛΙΤΖΑΝΑΣ**



ΑΝΔΡΟΥΛΙΔΑΚΗ ΜΑΡΙΑ
ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ Δρ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ Α. ΜΑΡΚΑΚΗΣ
ΙΟΥΝΙΟΣ 2012

*Αφιερώνεται
Στον Τάσο μου...*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου Δρα Εμμανουήλ Μαρκάκη για τη πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση του όλον αυτό τον καιρό, τις μεθοδολογικές υποδείξεις, τη πολύτιμη και σημαντική συμβολή στο σχεδιασμό, εγκατάσταση και ανάλυση των αποτελεσμάτων του πειράματος κατά την εκπόνηση της πτυχιακής μου εργασίας καθώς επίσης για την υπομονή και ψυχολογική στήριξη που μου παρείχε. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρα Ελευθέριο Λιγοξυγκάκη για την πολύτιμη βοήθεια του, για το ενδιαφέρον που έδειξε να ολοκληρωθεί με επιτυχία η εργασία μου και για το χρόνο που αφιέρωσε καθώς και τους κυρίους Δημήτρη Γούτο και Μανώλη Γαλενιανό για την πολύτιμη βοήθειά τους στο «στήσιμο» του πειράματος. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα δύο μέλη της εξεταστικής επιτροπής, τον Καθ. Δημήτριο Γκούμα και τον Καθ. Εφαρμ. Χρήστο Γκατζιλάκη για την διόρθωση και βαθμολόγηση της πτυχιακής μου. Τις θερμές ευχαριστίες μου σε όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Επεξεργασίας υγρών και στερεών αποβλήτων του Α.Τ.Ε.Ι. για την βοήθεια που μου προσέφεραν ώστε να πραγματοποιηθούν οι μετρήσεις των αναλύσεων των κομπόστ, παρόλο που δεν παρουσιάζονται στην παρούσα εργασία καθώς οι διαδικασίες των αναλύσεων βρίσκονται ακόμα σε εξέλιξη. Ειδικότερα θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους κυρίους Ιωάννη Σαμπαθιανάκη, Μιχάλη Σαμπαθιανάκη, Γιώργο Δασκαλάκη, Μιχάλη Φουντουλάκη και τους συμφοιτητές μου Κατερίνα Πετράκη, Κωνσταντίνο Τσίτσογλου, Χαρούλα Βάμβουκα και Παύλο Αλεβυζάτο για τη βοήθεια και τη συμμετοχή τους κατά την πραγματοποίηση των μετρήσεών μου. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, και όλους όσους με στήριξαν και μου συμπαραστάθηκαν αυτό το διάστημα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η βερτισιλλίωση είναι ασθένεια των αγγείων του ξύλου (αδρομύκωση) και προκαλείται από τον εδαφογενή μύκητα *Verticillium dahliae* Kleb. Το παθογόνο έχει μεγάλο εύρος ξενιστών, όπως ελιά, σολανώδη, κολοκυνθοειδή, βιομηχανικά φυτά, πυρηνόκαρπα, ακρόδρυα, ζιζάνια και αμπέλι. Ο μύκητας έχει την ικανότητα να επιβιώνει στο έδαφος έως και 14 χρόνια απουσία ξενιστών, γεγονός που κάνει την αντιμετώπισή του πολύ δύσκολη. Τα μέχρι σήμερα διαθέσιμα χημικά μέσα έχουν υψηλό κόστος και αμφίβολο αποτέλεσμα, και έτσι η αντιμετώπιση της ασθένειας βασίζεται κυρίως στη χρήση ανθεκτικών ποικιλιών και υποκειμένων. Στις μέρες μας, αξιοσημείωτο ενδιαφέρον παρουσιάζει η βιολογική καταπολέμηση των ασθενειών των φυτών, και ειδικότερα εκείνων που δεν αντιμετωπίζονται με τα μέχρι σήμερα διαθέσιμα μέσα ή έχουν υψηλό κόστος και η εφαρμογή τους κρίνεται οικονομικά ασύμφορη.

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε μια προσπάθεια να καταπολεμηθεί ο μύκητας *V. dahliae* σε μία από τις ευπαθέστερες στην ασθένεια καλλιέργειες, τη μελιτζάνα, με τη χρήση ζυμωμένων οργανικών υποστρωμάτων (κομπόστ). Ειδικότερα, αξιολογήθηκε η κατασταλτική δράση 6 κομπόστ ως προς την ικανότητά τους να περιορίζουν την ασθένεια υπό συνθήκες υψηλής συγκεντρώσεως μολύσματος (45 μικροσκληρώτια/γραμμάριο υποστρώματος). Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε ότι 4 από τα 6 συνολικά κομπόστ είχαν την δυνατότητα να μειώνουν στατιστικά σημαντικά την ένταση των συμπτωμάτων της ασθένειας (κομπόστ Γ, Δ, Ε και Ζ), ενώ τα υπόλοιπα 2 (κομπόστ Α και Β) δεν περιόρισαν σημαντικά την ασθένεια. Από τα 4 αποτελεσματικά κομπόστ, τα 2 (κομπόστ Ε και Ζ) παρουσίασαν εντυπωσιακή κατασταλτική δράση μειώνοντας την ένταση και τη σοβαρότητα της ασθένειας σε ποσοστό 60 % και 45 % αντίστοιχα. Οι τιμές της σχετικής AUDPC για τα φυτά του μάρτυρα και των κομπόστ Ε και Ζ ήταν 34.38 %, 9.75 % και 7.21 % αντίστοιχα. Με την εκτέλεση μεγάλου αριθμού απομονώσεων του παθογόνου σε υλικό PDA, διαπιστώθηκε ότι η μειωμένη εκδήλωση των συμπτωμάτων αντιστοιχούσε και σε μειωμένη είσοδο και παρουσία του παθογόνου στα αγγεία του ξύλου, λόγω της κατασταλτικής δράσης των κομπόστ. Τα αποτελέσματα της εργασίας διεγείρουν το ενδιαφέρον για πρόσθετη μελλοντική έρευνα προκειμένου να διερευνηθούν οι μηχανισμοί καταστολής της βερτισιλλίωσης με τη χρήση των αποτελεσματικών κομπόστ, πράγμα που θα συνέβαλε αποφασιστικά στην αντιμετώπιση της σοβαρότατης αυτής ασθένειας που μαστίζει μεγάλο μέρος των καλλιεργειών ανά τον κόσμο.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

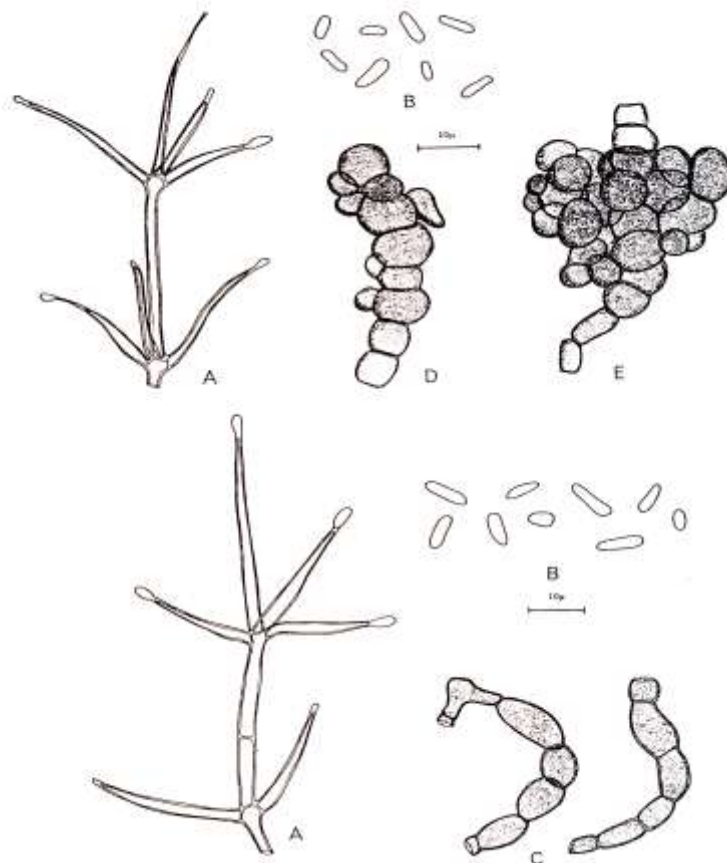
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο	6
«ΕΙΣΑΓΩΓΗ»	6
1.1. Το γένος <i>Verticillium</i>	7
1.2. Ο μύκητας <i>Verticillium dahliae</i>	10
1.1. Βιολογικός κύκλος της ασθένειας	12
1.4. Συμπτώματα	13
1.5. Αντιμετώπιση	15
Α) Καλλιεργητικά μέτρα	15
Β) Ανθεκτικές ποικιλίες	16
Γ) Χημική καταπολέμηση	17
Δ) Ηλιοαπολύμανση	17
Ε) Αποστείρωση του εδάφους	18
Στ) Βιολογική καταπολέμηση	18
1.6. Γεωγραφική εξάπλωση	19
1.7. Εύρος ξενιστών	20
1.8. Εξειδίκευση ως προς τους ξενιστές	21
1.9. Σκοπός της παρούσας εργασίας	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο	24
«ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ»	24
2.1. Προέλευση και διατήρηση απομόνωσης <i>V. dahliae</i>	25
2.2. Παρασκευή στερεού θρεπτικού υποστρώματος PDA	25
2.3. Παρασκευή οξινισμένου στερεού θρεπτικού υποστρώματος PDA (APDA)	25
2.4. Παρασκευή υγρού θρεπτικού υποστρώματος SSN	26
2.5. Παρασκευή μολύσματος-μικροσκληρωτίων	26
2.6. Φυτικό υλικό	27
2.7. Ζυμωμένα οργανικά υποστρώματα που δοκιμάστηκαν (κομπόστ)	27
2.8. Τεχνητή μόλυνση φυτών	27
2.9. Καταγραφή συμπτωμάτων	28
2.10. Επαναπομόνωση του παθογόνου από τα μολυσμένα φυτά	28
2.11. Σχεδιασμός πειράματος - στατιστική ανάλυση	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο	30
«ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ»	30
3.1. Βιοδοκιμές για την αξιολόγηση της κατασταλτικής δράσης των ζυμωμένων οργανικών υποστρωμάτων κατά της βερτισιλλίωσης σε φυτά μελιτζάνας	31
3.2. Συζήτηση-συμπεράσματα	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ^ο	43
«ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»	43
4. Βιβλιογραφία	44

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

«ΕΙΣΑΓΩΓΗ»

1.1. Το γένος *Verticillium*

Το γένος *Verticillium* είναι διαδεδομένο παγκοσμίως με πάνω από εκατό είδη μυκήτων. Ανάμεσα σε αυτά περιλαμβάνονται σαπροφυτικά, φυτοπαθογόνα, εντομοπαρασιτικά και υπερπαρασιτικά είδη. Το γένος δημιουργήθηκε από τον Nees von Essenbeck το 1816 (ex Isaac, 1967). Το γένος αυτό των Hyphomycetes με τις υαλώδεις βλαστικές υφές ονομάστηκε λόγω της μορφολογίας των κονιδιοφόρων του. Αυτοί σχηματίζονται, διαχωρίζονται με εγκάρσια διαφράγματα (septa) και διακλαδίζονται κατακόρυφα κατά σπονδύλους, στην άκρη των οποίων στηρίζονται τα λεπτά φιαλίδια (Σχήμα 1.1). Τα κονίδια είναι σχεδόν κυλινδρικά, μονοκύτταρα και υαλώδη, τα οποία σχηματίζονται στην κορυφή των φιαλιδίων σε κολλώδεις κεφαλές ή σπανιότερα σε αλυσίδες (Isaac, 1967; Domsch *et al.*, 1980).



Σχήμα 1.1. Κονιδιοφόροι (A), κονίδια (B) και διαχειμάζουσες μορφές (C, D, E) του *V. dahliae* (πάνω) και *V. albo-atrum* (κάτω).

Η διαίρεση Nigrescentia περιλαμβάνει όλα τα είδη με σκουρόχρωμες διαχειμάζουσες μορφές (Gams & van Zaayen, 1982). Μεταξύ αυτών συμπεριλαμβάνονται και τα γνωστά φυτοπαθογόνα είδη τα οποία ανήκουν στο γένος *Verticillium* που χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια. Αντιπροσωπευτικά είδη του

γένους *Verticillium* Nees 1816, απαντώνται ευρέως στα καλλιεργούμενα εδάφη (Domsch, Gams & Anderson, 1980). Το γένος περιλαμβάνει τα φυτοπαθογόνα είδη *V. dahliae* (Kleb. 1913), *V. longisporum* (Stark) (Karapapa, Bainbridge & Heale, 1997) και *V. albo-atrum* (Reinke & Berth. 1879), τα οποία έχουν ελάχιστα σαπροφυτικές ιδιότητες, το *V. theobromae* (Turc.) (Mason & Hughes) το οποίο προσβάλλει τη μπανάνα προκαλώντας τα συμπτώματα ‘καύτρα πούρου’ (cigar end) και εσωτερική σήψη στον καρπό, το *V. nubilum* (Pethybr. 1918) και *V. nigrescens* (Pethybr. 1919) τα οποία είναι σαπροφυτικά και ελάχιστα παθογόνα, και το *V. tricorpus* (Isaac. 1953) το οποίο εμφανίζει ενδιάμεσες σαπροφυτικές ιδιότητες και είναι παθογόνο σε περιορισμένο αριθμό καλλιεργειών. Όλα τα παραπάνω είδη μπορούν να συνυπάρχουν στην ίδια καλλιέργεια, π.χ. πατάτας ή τομάτας (Domsch *et al.*, 1980; Isaac, 1967; Pegg & Brady, 2002; Skotland, 1971).

Τα εν λόγω 7 είδη του γένους *Verticillium* μπορεί να διαφέρουν μορφολογικά ως προς τον τύπο της διαχειμάζουσας μορφής που σχηματίζουν εντός ή επί της επιφάνειας του φυτικού υλικού, και σε διάφορα τεχνητά θρεπτικά υποστρώματα, (π.χ. PDA). Τα είδη *V. dahliae* και *V. longisporum* σχηματίζουν μικροσκληρώτια, τα οποία είναι μαύρα μελανοποιημένα συσσωματώματα, σχηματισμένα από εκβλαστήσεις μυκηλιακών κυττάρων. Το *V. albo-atrum* σχηματίζει σκούρο διαχειμάζον μυκήλιο (Σχήμα 1.1). Τα *V. nigrescens* και *V. nubilum* σχηματίζουν χλαμυδοσπόρια ενώ το *V. tricorpus* σχηματίζει μικροσκληρώτια, σκούρο διαχειμάζον μυκήλιο και χλαμυδοσπόρια. Οι μορφολογικές διαφορές των μικροσκληρωτίων του *V. dahliae* και *V. tricorpus* σε υλικό PDA έχουν περιγραφεί από τους Isaac (1949 και 1953) και Smith (1965): το *V. tricorpus* σχηματίζει μεγάλα και ακανόνιστου σχήματος μικροσκληρώτια, συνήθως με μελανές υφές να αναπτύσσονται από αυτά, και κοντούς σκούρους κονιδιοφόρους, ενώ το *V. dahliae* σχηματίζει μικρότερα και ωοειδή έως επιμήκη μικροσκληρώτια τα οποία είναι ευδιάκριτα από το υαλώδες μυκήλιο και τους υαλώδεις κονιδιοφόρους. Επίσης, το *V. tricorpus* συχνά προκαλεί κίτρινο μεταχρωματισμό σε υλικό PDA κατά την πρώτη απομόνωση. Το *V. longisporum* είναι γνωστό ότι αποτελεί ετεροδιπλοειδές μεταξύ του *V. dahliae* και *V. albo-atrum*. Μορφολογικά το *V. longisporum* μοιάζει περισσότερο στο *V. dahliae* αλλά μπορεί να διαφέρει από αυτό σε διάφορα θρεπτικά υλικά ως προς το σχήμα των μικροσκληρωτίων, τον αριθμό των φιαλιδίων ανά σπόνδυλο και ως προς τα μεγαλύτερά του κονίδια $7,9 \times 2,5 \mu\text{m}$. Το *V. longisporum* είναι περισσότερο γνωστό για τους ξενιστές της οικογένειας Brassicaceae (συν. Cruciferae) (Karapapa *et al.*, 1997).

Τα είδη *V. dahliae* και *V. albo-atrum* είναι τα κύρια παθογόνα των φυτών. Οι ασθένειες που προκαλούνται από τα δύο αυτά είδη είναι ευρέως διαδεδομένες τόσο στις εύκρατες όσο και στις τροπικές περιοχές. Αρκετά από τα 300 είδη καλλιεργούμενων φυτών τα οποία ανήκουν σε 43 οικογένειες, συμπεριλαμβανομένων ποικιλιών από σημαντικές καλλιέργειες σε όλο τον κόσμο, είναι ευπαθή στα δυο αυτά είδη (Pegg, 1984). Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν αποτελεσματικά θεραπευτικά ή προληπτικά μέτρα για την αντιμετώπιση της ασθένειας, τα εν λόγω είδη μυκήτων αποτελούν πραγματική απειλή για την παγκόσμια γεωργία (Smith *et al.*, 1988). Τα σημαντικά αυτά είδη μυκήτων διαφέρουν ως προς τη δομή της διαχειμάζουσας μορφής τους. Στο *V. dahliae* η διαχείμαση γίνεται με σκούρα καστανά ή μαύρα μικροσκληρώτια ενώ στο *V. albo-atrum* σχηματίζεται σκούρο καστανό έως μαύρο διαχειμάζον μυκήλιο. Το είδος *V. albo-atrum* περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1879 από τους Reinke & Berthold, οι οποίοι το μελέτησαν ως παθογόνο της πατάτας. Το *V. dahliae* περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Klebahn ο οποίος το απομόνωσε από προσβεβλημένο φυτό ντάλιας το 1913 (Isaac, 1967). Από το 1913 η σχέση μεταξύ των δύο αυτών ειδών αποτελεί αντικείμενο το οποίο έχει προκαλέσει σύγχυση, καθώς πολλοί συγγραφείς τα θεωρούν ως ένα εκτενές, πολυποίκιλο είδος που ονομάζεται *V. albo-atrum*. Γι' αυτό το λόγο παλαιότερα σε πολλές αναφορές το σύνδρομο της ασθένειας αποδόθηκε στο *V. albo-atrum* ενώ ευθύνονταν το *V. dahliae* (IMI, 1970a). Σε μερικές περιπτώσεις αυτό μπορεί εύκολα να αποδειχθεί από την παρουσία των μικροσκληρωτίων τα οποία όπως προαναφέρθηκε στην περιγραφή του μύκητα παράγονται μόνο από το *V. dahliae*, ενώ οι επιστήμονες στις αναφορές τους κάνουν λόγο για το 'ms-type' (μικροσκληρωτιακό τύπο) του *V. albo-atrum*.

Σήμερα, τα είδη *V. albo-atrum* και *V. dahliae* θεωρούνται ως δύο διαφορετικά είδη, όχι μόνο εξ' αιτίας των μορφολογικών τους διαφορών, αλλά και λόγω των οικοφυσιολογικών τους διαφορών, π.χ. διαφορετικές αντιδράσεις στη θερμοκρασία και στην παθογένεια (Isaac, 1967; IMI, 1970a, b; Domsch *et al.*, 1980). Η ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης για το *V. albo-atrum* είναι οι 21 °C, ενώ δεν παρατηρείται καμία ανάπτυξη στους 30 °C. Αντιθέτως, για την ανάπτυξη του *V. dahliae* ιδανική θερμοκρασία αποτελεί εκείνη των 23,5 °C, ενώ η ανάπτυξη είναι δυνατή ακόμη και στους 30 °C (Domsch *et al.*, 1980). Οι διαφορές ως προς την ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης αντικατοπτρίζονται και στη γεωγραφική κατανομή των δύο μυκήτων. Το *V. albo-atrum* είναι ευρέως διαδεδομένο στην εύκρατη ζώνη ενώ το *V. dahliae* απαντάται τόσο στις εύκρατες όσο και στις υποτροπικές περιοχές (Pegg, 1984; Smith *et al.*, 1988).

Το *V. albo-atrum* προκαλεί σημαντικές οικονομικά επιπτώσεις στη μηδική, στην αγγουριά, στο λυκίσκο, στην τομάτα και στην πατάτα. Ωστόσο, απαντάται λιγότερο συχνά σε σχέση με το *V. dahliae* το οποίο έχει ένα εξαιρετικά μεγάλο εύρος μονοετών και πολυετών δικοτυλήδων ξενιστών (Domsch *et al.*, 1980; Smith *et al.*, 1988). Οι κυριότεροι ξυλώδεις ξενιστές του *V. dahliae* είναι η ελιά, φιστικιά, ροδακινιά, βερικοκιά και δαμασκηλιά. Ανάμεσα στους ποώδεις ξενιστές του *V. dahliae* βρίσκονται η πατάτα, η τομάτα, η πιπεριά, η μελιτζάνα, το πεπόνι, το καρπούζι, το βαμβάκι, η μπάμια, η φράουλα, η ελαιοκράμβη, ο ηλίανθος, το μαρούλι και η αγκινάρα. Τα μονοκοτυλήδονα φυτά (σιτάρι, κριθάρι) και πολλά ζιζάνια αποτελούν ξενιστές του παθογόνου, χωρίς όμως να παρουσιάζουν συμπτώματα που να έχουν σημαντική επίπτωση στην παραγωγή των φυτών αυτών (Smith *et al.*, 1986; Agrios, 1988).

Γενικά, οι απομονώσεις του *V. dahliae* και *V. albo-atrum* δεν παρουσιάζουν εξειδίκευση ως προς τους ξενιστές. Απομονώσεις από ένα ξενιστή μπορούν συνήθως να προκαλέσουν ασθένεια σε πολλά άλλα είδη και γένη, ή ακόμη και να μολύνουν χωρίς να προκαλέσουν ορατά συμπτώματα (Tjamos, 1980; Smith *et al.*, 1988). Συχνά παρατηρείται ότι απομονώσεις από ποώδεις ξενιστές μπορούν επίσης να μολύνουν ξυλώδεις ξενιστές (Van den Ende, 1958; Adams & Tattar, 1975; Donohue & Morehart, 1978). Ωστόσο, απομονώσεις του *V. albo-atrum* από μηδική και του *V. dahliae* από λάχανο Βρυξελλών, πιπεριά και μέντα έχουν δείξει μερική εξειδίκευση ως προς τους ξενιστές (IMI, 1970a, b).

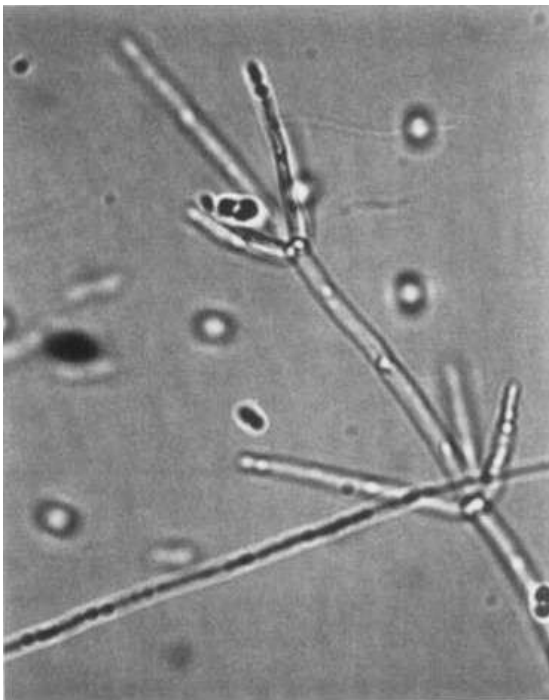
Πολλοί φυτοπαθολόγοι έχουν αναφέρει ότι το *V. albo-atrum* έχει μεγαλύτερη παθογόνο ικανότητα από το *V. dahliae* σε ξενιστές ευπαθείς και στα δύο παθογόνα π.χ. λυκίσκος, βαμβάκι, μηδική και πατάτα. Για τον ξυλώδη ξενιστή *Liriodendron tulipifera* L. αυτό επιβεβαιώθηκε από τον Morehart *et al.*, (1980). Όμως, διαφορές ως προς την παθογένεια μπορούν να παρατηρηθούν ανάμεσα και σε διαφορετικά στελέχη του ίδιου είδους (Isaac, 1967). Επομένως, ο ρόλος του στελέχους του παθογόνου ανάμεσα στο κάθε είδος θεωρείται πολύ πιο σημαντικός σε ότι αφορά την παθογένεια, από ότι η μόλυνση του ίδιου ξενιστή από το ένα ή το άλλο είδος (Pegg, 1984).

1.2. Ο μύκητας *Verticillium dahliae*

Ο μύκητας ανήκει στην οικογένεια Moniliaceae της τάξεως Moniliales των αδηλομυκήτων (Alexopoulos & Mims, 1959). Η βερτισιλλίωση στην Ελλάδα

προκαλείται σχεδόν αποκλειστικά από το είδος *V.dahliae* (Deuteromycotina, Hyphomycetes) (Kiralý *et al.*, 1970) το οποίο σχηματίζει μαύρα μικροσκληρώτια διαστάσεων (80-120 x 15-50) μm . Το παθογόνο δεν έχει εγγενείς φάσεις αναπαραγωγής. Το μυκήλιο του μύκητα φέρει εγκάρσια διαφράγματα (Deuteromycotina) και σχηματίζει στείρες μυκηλιακές υφές ή υφές οι οποίες παράγουν κονίδια (Hyphomycetes) (Kiralý *et al.*, 1970; Βαρδαβάκης, 1993).

Ο *V.dahliae* σχηματίζει ελεύθερους, άφθονους, ανορθωμένους, υαλώδεις, πολυκύτταρους κονιδιοφόρους που διακλαδίζονται χαρακτηριστικά κατά σπονδύλους σε 3-4 πλάγια, κοντά, μονοκύτταρα φιαλίδια (Εικόνα 1.1). Το μέγεθος των φιαλιδίων



Εικόνα 1.1. Μικροσκοπικό παρασκεύασμα του μύκητα *Verticillium dahliae* (Nazar *et al.*, 1991).

κυμαίνεται από (16-35 x 1-2,5) μm . Σε σπάνιες περιπτώσεις τα φιαλίδια μπορεί να φέρουν διακλαδώσεις. Τα σπόρια κυρίως είναι υαλώδη και έχουν σχήμα ελλειψοειδές έως ακανόνιστο, υποκυλινδρικό. Γενικά, δεν έχουν, αλλά μπορεί να φέρουν ένα εγκάρσιο διάφραγμα. Το είδος *V. dahliae* έχει σπόρια μεγέθους (2,5-8 x 1,4-3,2) μm (Hawksworth & Talboys, 1970). Στην κορυφή κάθε φιαλιδίου παράγονται διαδοχικά πολλά κονίδια, τα οποία συγκρατούνται μεταξύ τους με μια κολλώδη ουσία και σχηματίζονται μικρές κεφαλές κονιδίων. Η απελευθέρωση των κονιδίων γίνεται με το νερό. Το μυκήλιο είναι πολυκύτταρο και εμφανίζει σκούρο χρώμα κατά το σχηματισμό των μικροσκληρωτίων. Ως διαχειμάζουσες μορφές, ο μύκητας σχηματίζει μικροσκληρώτια. Τα μικροσκληρώτια αρχίζουν να σχηματίζονται στο κέντρο της αποικίας, έχουν χρώμα μαύρο, είναι κομβολογιοειδή ή βοτρυοειδή και αποτελούνται από διογκωμένα, σχεδόν σφαιρικά κύτταρα. Κάθε μικροσκληρώτιο σχηματίζεται από μια υφή με επαναλαμβανόμενες εκβλαστήσεις. Το μέγεθος και το σχήμα των μικροσκληρωτίων ποικίλει από επίμηκες έως σφαιρικό διαμέτρου 15-150 μm (Hawke & Lazarovits, 1994).

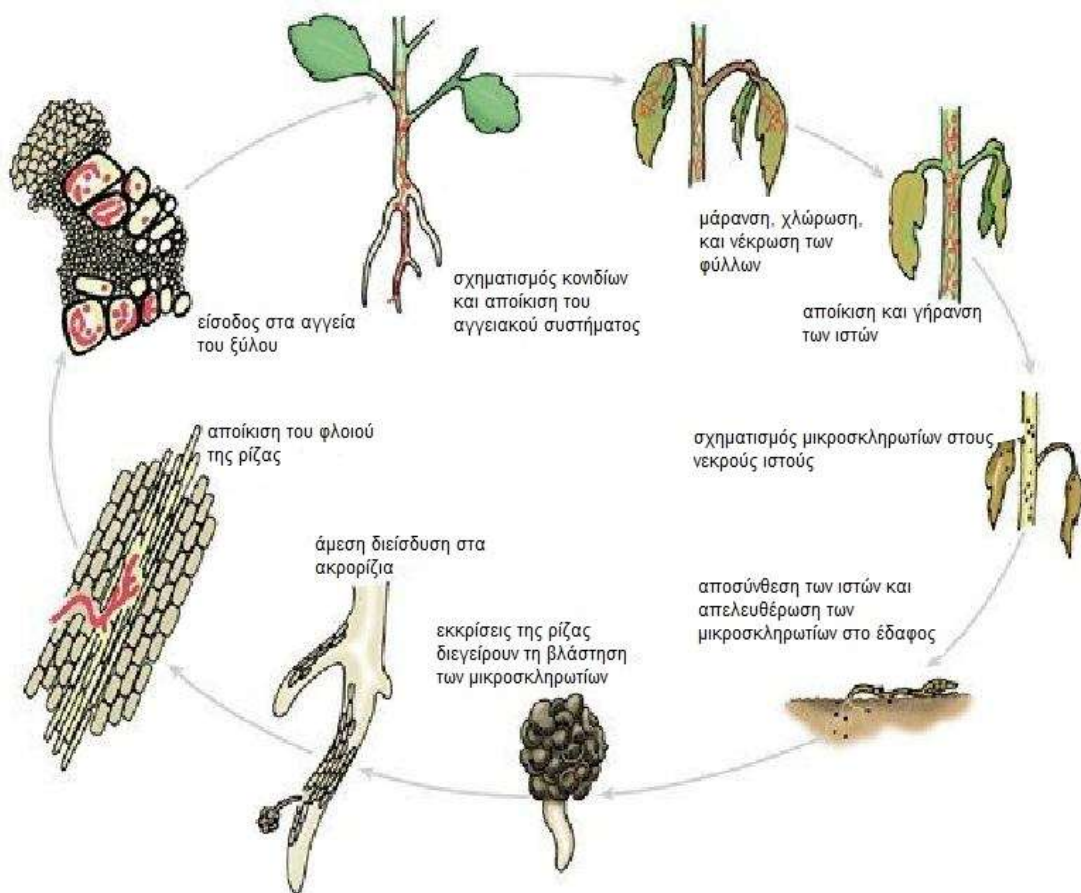
1.1. Βιολογικός κύκλος της ασθένειας

Η μόλυνση των φυτών αρχίζει με τα μικροσκληρώτια, τα οποία διεγείρονται από τις εκκρίσεις της ρίζας και βλαστάνουν (Σχήμα 1.2 Emmaty & Green, 1963). Τα μικροσκληρώτια είναι το εδαφογενές και μολυσματικό πολλαπλασιαστικό όργανο του μύκητα και με αυτή τη μορφή επιβιώνει στο έδαφος. Σχηματίζονται κατά το σαπροφυτικό στάδιο του παθογόνου, δηλαδή όταν οι προσβεβλημένοι από το παθογόνο φυτικοί ιστοί νεκρωθούν. Το παθογόνο με αυτή τη μορφή διατηρείται και επιβιώνει για 8 - 14 χρόνια, απουσία ξενιστών. Οι μολύνσεις των φυτών γίνονται κυρίως από τις ρίζες στη ζώνη επιμήκυνσής τους με απ' ευθείας είσοδο του παθογόνου. Η είσοδος του παθογόνου διευκολύνεται ιδιαίτερα από πληγές που προκαλούνται στις ρίζες από νηματώδεις ή έντομα. Οι εκκρίσεις είναι υψηλότερες στη ζώνη επιμηκύνσεως και οι περισσότερες από τις αρχικές επαφές του μύκητα γίνονται σε αυτή τη θέση. Ο μύκητας έχει τη δυνατότητα να διαπερνά απ' ευθείας τα κύτταρα, τα οποία σχηματίζουν τα ριζικά τριχίδια, την καλύπτρα της ρίζας και τα επιδερμικά κύτταρα της περιοχής αυξήσεως της ρίζας (Huisman *et al.*, 1989).

Αρχικά ο μύκητας διαπερνά ένδο- ή μεσοκυττάρια την επιδερμίδα, το παρέγχυμα και την ενδοδερμίδα και καταλήγει στα αγγεία του ξύλου (Σχήμα 1.2). Εισβάλλει με τις υφές από τα μικροσκληρώτια μέσω των ριζών στα αγγεία όμως δε διεισδύει πολύ βαθιά από το σημείο μόλυνσης (Király *et al.*, 1970). Στη συνέχεια, η ανάπτυξη επιτυγχάνεται μέσω της αναπτύξεως των υφών και της μεταφοράς των σπορίων, που παράγονται και μπορούν να μετακινηθούν ταχύτατα σε μεγάλες σχετικά αποστάσεις μέσω του ανιόντος ρεύματος. Τα κονίδια παγιδεύονται στα εγκάρσια τοιχώματα των αγγείων και είναι ικανά να βλαστήσουν και να μολύνουν μεμονωμένους βλαστούς σε διάφορα μέρη του υπέργειου τμήματος των φυτών. Η βλαστική υφή μπορεί να διαπεράσει τα τοιχώματα και να αναπτυχθεί σε γειτονικό αγγείο (Geric *et al.*, 1985; Beckman, 1987).

Μετά την είσοδο του μύκητα στις ρίζες, προχωρεί και εγκαθίσταται στα αγγεία του ξύλου. Αποτέλεσμα της μολύνσεως του ξενιστή από το παράσιτο ή και της άμεσης δράσεως του παθογόνου είναι η εμφάνιση του παθολογικού συνδρόμου της ασθένειας (Σχήμα 1.2.). Μέσα στις αγγειώδεις δεσμίδες παρατηρείται το μυκήλιο και τα κονίδια του παθογόνου. Άλλος τρόπος για την είσοδο του παθογόνου είναι η περιοχή με τα ριζικά τριχίδια. Ωστόσο, ο τρόπος αυτός δεν πρέπει να αποτελεί σημαντικό τρόπο εισβολής, γιατί παρεμβάλλονται πολλά στρώματα ανάμεσα στα αγγεία και το σημείο εισόδου (Garber & Houston, 1966).

Η βερτισιλλίωση είναι μια τυπική εδαφογενής ασθένεια. Υπάρχουν όμως δεδομένα βάσει των οποίων η μόλυνση ορισμένων καλλιεργειών π.χ. πατάτας ή μηδικής να γίνει και από φύλλα ή τομές κλαδέματος. Όμως, σε φυσικές συνθήκες οι πιθανότητες μόλυνσης των φυτών από τα υπέργεια μέρη είναι πολύ μικρές (Παναγόπουλος, 1993). Ουσιαστικά, πρόκειται για έναν κύκλο: μικροσκληρώτια συνεχώς νεκρώνονται, ενώ άλλα σχηματίζονται και απελευθερώνονται στο έδαφος, είτε κατόπιν μόλυνσης ξενιστών, είτε κατόπιν σχηματισμού τους στο ριζικό σύστημα διαφόρων μονοκοτυλήδων φυτών (σχήμα 1.2).



Σχήμα 1.2. Βιολογικός κύκλος του μύκητα *Verticillium dahliae*.

1.4. Συμπτώματα

Η βερτισιλλίωση προκαλεί έντονα συμπτώματα σε θερμοκρασίες, που κυμαίνονται μεταξύ 20 και 23 °C. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες, δηλαδή κατά την περίοδο του καλοκαιριού, η επέκταση της ασθένειας είναι βραδεία. Τα ασθενή φυτά που έχουν προσβληθεί εμφανίζουν το σύνδρομο του βραδέως μαρασμού. Πολλές φορές

εμφανίζεται με τη μορφή ημιπληγίας. Στα αρχικά στάδια η ασθένεια εκδηλώνεται με το μαρασμό μεμονωμένων φύλλων ή φυλλιδίων. Στο έλασμα των κατωτέρων φύλλων εμφανίζεται αρχικά χλώρωση μεταξύ των νευρώσεων και στη συνέχεια νέκρωση των χλωρωτικών ιστών, μάρανση (φύλλο «σημαία») και πτώση των φύλλων. Τα συμπτώματα αυτά εκδηλώνονται αργότερα και στα ανώτερα φύλλα. Τα προσβεβλημένα φυτά γίνονται καχεκτικά και τελικά μπορεί να ξηραθούν. Φυτά οποιασδήποτε ηλικίας μπορεί να προσβληθούν, αν και τα πιο έντονα συμπτώματα συνήθως εμφανίζονται μετά το στάδιο της καρπόδεσης. Τα προσβεβλημένα φυτά παράγουν λιγότερους και μικρότερους καρπούς σε σχέση με τα υγιή (Παναγόπουλος, 1993; Horst, 1990).

Το χαρακτηριστικό σύμπτωμα της αδρομυκώσεως που προκαλείται από το μύκητα *V. dahliae* στα φυτά είναι ένας καστανός ή βαθύς καστανός μεταχρωματισμός των αγγείων του ξύλου, που εμφανίζεται σε επιμήκη ή εγκάρσια τομή του στελέχους. Ο μεταχρωματισμός είναι εμφανής στις ρίζες, αλλά επεκτείνεται και σε όλο το μήκος των στελεχών και ακόμη στα αγγεία των καρπών ορισμένων φυτών. Επίσης, μπορεί να εμφανίζεται μόνο στη μία πλευρά του στελέχους ή σε ολόκληρη την έκταση των αγγείων. Τα αγγεία μεταχρωματίζονται από την οξειδωση των φαινολικών ενώσεων και σχηματίζονται τυλώσεις που φράσσουν την κυκλοφορία του νερού και των ανόργανων θρεπτικών στοιχείων, ενώ το μυκήλιο με την ενζυματική του δράση, παράλληλα με την κυκλοφορία τοξινών, οδηγεί σε διαταραχή της ανταλλαγής νερού (Huisman *et al.*, 1989; Horst, 1990). Ο μεταχρωματισμός είναι συνέπεια της εναποθέσεως ενώσεων τύπου μελανίνης στα τοιχώματα των αγγείων του ξύλου και στα γειτονικά παρεγχυματικά τους κύτταρα. Σε μικροσκοπική εξέταση εγκάρσιων τομών του στελέχους από προσβεβλημένα φυτά, παρατηρούνται άφθονες μυκηλιακές υφές μέσα στα αγγεία του ξύλου (Παναγόπουλος, 1993).

Ο καστανός μεταχρωματισμός στα αγγεία των ετήσιων φυτών και γενικά τα συμπτώματα αδρομυκώσεως δεν είναι παθογνωμονικά και μπορεί να προκαλούνται και από άλλα αίτια, όπως τοξικότητα από την ποιότητα ή ποσότητα αχώνευτης κοπριάς, από υπερβολική λίπανση, ή από το ζεστό νερό (Τζάμος, 2004). Στην ελιά ο μεταχρωματισμός των αγγείων του ξύλου είναι συνήθως ανύπαρκτος (Παναγόπουλος, 1993). Για το λόγο αυτό δεν πρέπει να στηριζόμαστε μόνο στην κλινική διάγνωση της ασθένειας, αλλά να προχωράμε και στην εργαστηριακή εξέταση των φυτών, με απομόνωση του παθογόνου από τα αγγεία, στα κατάλληλα τεχνητά υποστρώματα.

Η εμφάνιση των μολυσμένων από το *V. dahliae* φυτών στον αγρό είναι διάσπαρτα και σπανιότερα «κατά γραμμές», κατά μήκος της γραμμής ή του αυλακιού ποτίσματος στα ετήσια και τα πολυετή (δένδρα) φυτά. Η μόλυνση είναι δυνατόν να εμφανίζεται «κατά κηλίδες» στις περιπτώσεις όπου δεν υπάρχει ικανοποιητική αποστράγγιση του εδάφους. Σε δενδρώδεις καλλιέργειες κατά μήκος της γραμμής μολύνσεως τα συμπτώματα περιορίζονται, λόγω της «δυσκολίας» στη μεταφορά του μολύσματος (Τζάμος, 2004). Σχετικά πειράματα απέδειξαν ότι οι καλλιεργητικές φροντίδες, η υγρασία του εδάφους καθώς και το πώς κατανέμεται στον αγρό ο πληθυσμός του παθογόνου αρχικά, παίζουν σημαντικό ρόλο στην διασπορά των μικροσκληρωτίων στο χωράφι (Xiao *et al.*, 1998). Έχει επίσης αποδειχθεί ότι οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη δημιουργία των μικροσκληρωτίων είναι πολλοί, ενώ η πυκνότητα του μολύσματος στο έδαφος δεν είναι η μοναδική παράμετρος για τη ένταση της μόλυνσης των φυτών της καλλιέργειας, καθώς και η μολυσματική ικανότητα του πληθυσμού του παθογόνου έχει βασικό ρόλο.

1.5. Αντιμετώπιση

Για την επιτυχή αντιμετώπιση της βερτισιλλώσεως είναι σκόπιμο να ακολουθηθεί ένα σύνολο μέτρων που στοχεύει κυρίως στην πρόληψη, παρά στη θεραπεία της ασθένειας. Έτσι οι επιστήμονες χωρίζουν τα μέτρα αντιμετώπισης στα παρακάτω:

A) Καλλιεργητικά μέτρα (Παναγόπουλος, 1993; Ζιώγας & Γεωργόπουλος, 1992):

1. Αποφυγή δημιουργίας πληγών με τα καλλιεργητικά εργαλεία στην περιοχή του λαιμού και των ριζών.
2. Η άρδευση των δένδρων να μη γίνεται με αυλάκια, γιατί τα μολύσματα μεταφέρονται με το νερό στα υγιή δένδρα ή ετήσια φυτά.
3. Χρησιμοποίηση υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού σε αμόλυντο αγρό.
4. Αποφυγή χρήση κοπριάς που μπορεί να περιέχει υπολείμματα φυτών ευαίσθητων στο μύκητα.
5. Αποφυγή συγκαλλιέργειας των δένδρων με ετήσια φυτά, καθώς και αποφυγή της μονοκαλλιέργειας.
6. Καταπολέμηση των ζιζανίων πολλά από τα οποία είναι ξενιστές και συμβάλλουν στην αύξηση και διάδοση του μολύσματος.

7. Εκρίζωση των προσβεβλημένων φυτών, απομάκρυνση και καταστροφή τους με κάψιμο. Όμοια διαδικασία ακολουθείται και για τα υπολείμματα της καλλιέργειας. Σε περιπτώσεις εκδήλωσης συμπτωμάτων στις δενδρώδεις καλλιέργειες, να γίνεται αφαίρεση των προσβεβλημένων κλάδων σε απόσταση 20-30 cm κάτω από το σημείο μαρασμού και καταστροφή με φωτιά.
8. Εφαρμογή ισορροπημένης λίπανσης και αποφυγή υπερβολικών αζωτούχων λιπάνσεων που ευνοούν την ασθένεια.
9. Αποφυγή βαθέως οργώματος-φρεζαρίσματος, επειδή δημιουργούνται πληγές στο ριζικό σύστημα.

B) Ανθεκτικές ποικιλίες

Η αντιμετώπιση μιας ασθένειας με ανθεκτικές ποικιλίες φαίνεται να αποτελεί τον πιο αποτελεσματικό τρόπο καταπολέμησης. Όμως, παρότι η δημιουργία ανθεκτικών ποικιλιών απαιτεί πολλή προσπάθεια, τα αποτελέσματα που προκύπτουν πολλές φορές είναι πρόσκαιρα. Επίσης, φαίνεται να είναι πολύ φθηνή μέθοδος σε σχέση με τη χρήση μυκητοκτόνων και για τον καλλιεργητή το κόστος καταπολέμησης μπορεί να είναι μηδενικό. Δεν είναι όμως εύκολο να δημιουργηθούν ανθεκτικές ποικιλίες για το σύνολο των καλλιεργούμενων φυτών, γιατί τα προγράμματα βελτίωσης που συνήθως επιχορηγούνται από το κράτος μπορεί να είναι πολύ δαπανηρά (Ζιώγας & Γεωργόπουλος, 1992). Υπάρχουν πολλά παραδείγματα δημιουργίας ή χρήσης ανθεκτικών ποικιλιών, υβριδίων ή υποκειμένων σε διάφορα φυτά. Στη μηδική πολλές ποικιλίες παρουσιάζουν διαφορετικά επίπεδα ανθεκτικότητας ενώ πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι υπάρχει δυνατότητα δημιουργίας ποικιλιών που δεν εκδηλώνουν τα συμπτώματα της ασθένειας με μεθόδους καλλιέργειας κυττάρων φυτικών ιστών (Pennypacker *et al.*, 1985; Lathuna-Data & Lucas, 1983).

Στην τομάτα, η αντιμετώπιση της ασθένειας στηρίζεται στη χρησιμοποίηση ανθεκτικών στη φυλή 1 του παθογόνου υβριδίων ή ποικιλιών που έχουν έναν κυρίαρχο γόνο *Ve* και έναν πολλαπλό γόνο. Μερικά υβρίδια που χρησιμοποιούνται στη χώρα μας είναι τα Jolly, GC 204 και Dombro. Ανθεκτικές ποικιλίες τομάτας στη φυλή 1 είναι: Baren, President, Walter, Diego, Carmen, Duke, Court II, Sprinter, Mountain pride, Cavalier, , Early set, Star pak, Pik red, , Floradade, Dutchess, Freedom, Jumpo (Sherf & Macnab, 1986). Στη μελιτζάνα οι ανθεκτικές ποικιλίες δε φέρουν καλά αποτελέσματα. Υπάρχει ανθεκτικότητα, αλλά είναι εξειδικευμένη για ορισμένες φυλές του μύκητα. Ποικιλίες φυτών με ικανοποιητική ανθεκτικότητα σε ένα χωράφι, ίσως να είναι

ευπαθείς σε άλλο χωράφι στο οποίο υπάρχει άλλη μορφή του μύκητα (π.χ. άλλη ειδική μορφή ή φυλή). Μια αποτελεσματική μέθοδος είναι ο εμβολιασμός της μελιτζάνας σε υποκείμενα τομάτας ανθεκτικά στην ασθένεια (π.χ. KVNTm) (Sherf & Macnab, 1986). Στο βαμβάκι χρησιμοποιούνται ευρύτατα παγκοσμίως ανεκτικές στην ασθένεια ποικιλίες (Acala, Zeta 2), αλλά και ανθεκτικές ποικιλίες (Zeta 5, Κορίνα). Ανθεκτικές ποικιλίες στην ελιά είναι η Κορωνέικη και η Καλαμών (Markakis *et al.*, 2009).

Γ) Χημική καταπολέμηση

Η χημική καταπολέμηση της βερτισιλλίωσης γίνεται με τη χρήση benomyl, carbendazim και thiophanate-methyl. Η χρήση των φαρμάκων αυτών με μεγάλες ποσότητες δραστικής ουσίας (24 - 56 kg / στρ.) έχουν υψηλό κόστος και αμφίβολο αποτέλεσμα. Αυτά τα πολλά «υποσχόμενα» διασυστηματικά μυκητοκτόνα κινούνται εντός των αγγείων του ξύλου προς τα φύλλα και όχι προς τη ρίζα, οπότε και απομακρύνονται συνεχώς από τις θέσεις που βρίσκεται το παθογόνο. Ωστόσο, η προληπτική χημική καταπολέμηση της ασθένειας στο παρελθόν στηριζόταν στην απολύμανση του εδάφους με τη χρήση του βρωμιούχου μεθυλίου (έχει πλέον καταργηθεί).

Δ) Ηλιοαπολύμανση

Η ηλιοαπολύμανση αποτελεί μια γεωργική φυτοπαθολογική τεχνική απολυμάνσεως του εδάφους. Είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος καταπολέμησης του παθογόνου και η εφαρμογή της έχει δώσει άριστα αποτελέσματα. Ανήκει στην προληπτική αντιμετώπιση παθογόνων εδάφους και εφαρμόζεται κυρίως σε ετήσιες καλλιέργειες υπαίθριες ή θερμοκηπίου. Επίσης, αποτελεί προληπτική αλλά και θεραπευτική μέθοδο στις δενδρώδεις καλλιέργειες με ελπιδοφόρα αποτελέσματα για την καταπολέμηση του *V. dahliae*, που δεν αντιμετωπίζεται με τα μέχρι σήμερα διαθέσιμα φάρμακα.

Η μέθοδος έχει αποδειχθεί αποτελεσματική για τους μύκητες *Verticillium dahliae*, *Sclerotium rolfsii*, *Pyrenochaeta terrestris* και *P. lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* και για βακτήρια (π.χ. *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*), (Αντωνίου, 1995). Αντίθετα, δεν είναι αποτελεσματική για τους μύκητες *Macrophomina phaseolina*, *Monosporascus eutypoides*, οι οποίοι παρουσιάζουν μεγάλη αντοχή σε υψηλές θερμοκρασίες. Το φάσμα δράσεώς της εκτείνεται και στους νηματώδεις και στα ζιζάνια, ενώ έχει διαπιστωθεί μεγάλη αύξηση

της παραγωγής στις καλλιέργειες εκείνες, που εγκαταστάθηκαν μετά την ηλιοαπολύμανση (Katan, 1981).

E) Αποστείρωση του εδάφους

Η αποστείρωση του εδάφους γίνεται με τη διοχέτευση θερμού ατμού ή θερμού ατμού και αέρα θερμοκρασίας 70 °C. Η μέθοδος αυτή θανατώνει όλους τους μικροοργανισμούς ωφέλιμους και μη αδιακρίτως. Δημιουργεί τελειότερο “βιολογικό κενό” από την απολύμανση του εδάφους με τα ισχυρά απολυμαντικά και ο κίνδυνος από μια επαναμόλυνση είναι μεγαλύτερος. Με την εξόντωση των νιτροποιητικών βακτηρίων μειώνει κατά κάποιο τρόπο και τη γονιμότητα των εδαφών.

Στ) Βιολογική καταπολέμηση

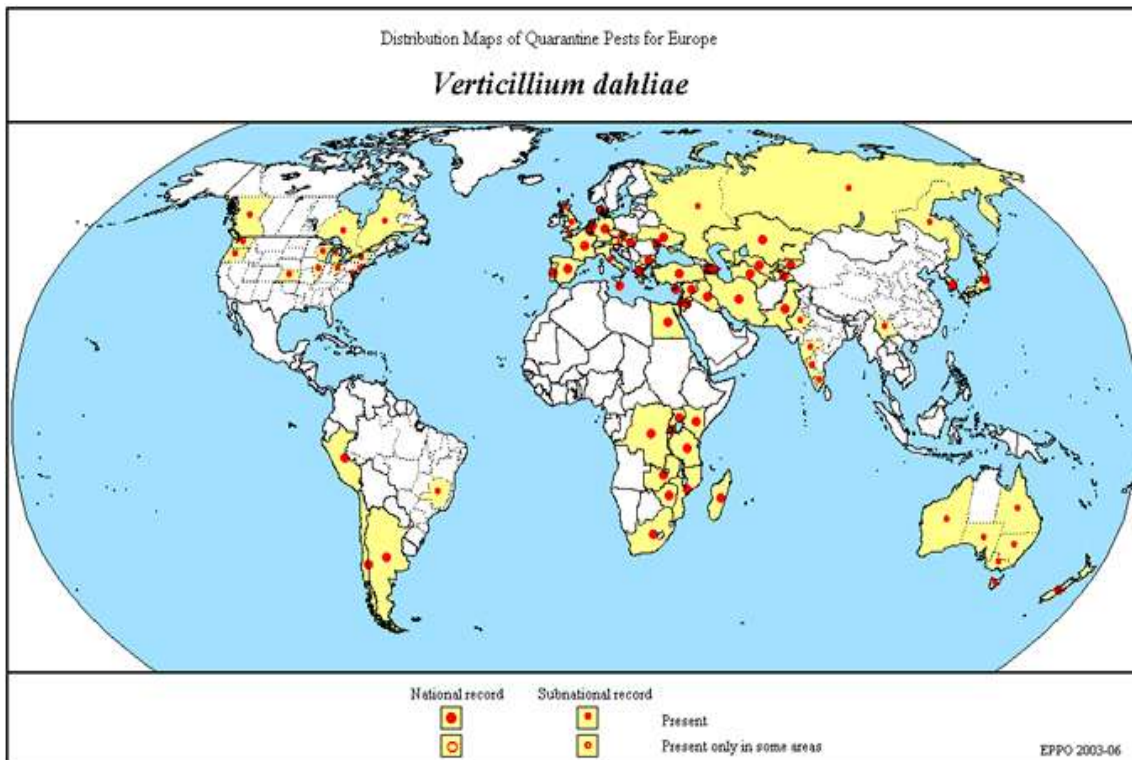
Υπό το φως των σημερινών αναγκών για την εξεύρεση εναλλακτικών μεθόδων καταπολεμήσεως ασθενειών των φυτών, που επιβάλλονται από την αλόγιστη χρήση των φυτοφαρμάκων, η βιολογική καταπολέμηση σε ερευνητικό επίπεδο αυξάνεται ραγδαία και σιγά-σιγά αποτελεί μια ελπιδοφόρα γεωργική πρακτική για την καταπολέμηση των εδαφογενών παθογόνων. Οι επιστήμονες έχουν πεισθεί, ότι παρά τις δυσκολίες, η βιολογική καταπολέμηση των ασθενειών των φυτών θα αποτελέσει το σημαντικότερο παράγοντα της ολοκληρωμένης καταπολέμησης κατά τον 21^ο αιώνα. Υπάρχει πλήθος μικροοργανισμών κυρίως μυκήτων και βακτηρίων, αλλά και ιών με δυνατότητες βιολογικής δράσης εναντίον διαφόρων ασθενειών των φυτών (Tjamos *et al.*, 2004; Malandraki *et al.*, 2008). Στις μεθόδους βιολογικής καταπολεμήσεως θα πρέπει επίσης να συμπεριλάβουμε και τη χρήση μη παθογόνων στελεχών των μικροοργανισμών αυτών και τη μέθοδο της ανοσοποιήσεως των φυτών με τη χρησιμοποίηση διαφόρων βιοτικών ή αβιοτικών παραγόντων (Baker, 1968; Cook, 1985; Tjamos, 1991). Ο Subbarao *et al.*, (1997) ανακοίνωσαν ότι υπολείμματα καλλιέργειας ανθοκράμβης μειώνουν τον αριθμό των μικροσκληρωτίων του *V. dahliae* στο έδαφος και την έκφραση της ασθένειας στον ηλίανθο. Αμειψισπορά με την ανθοκράμβη ίσως αποτελεί μια ελπιδοφόρα μέθοδο αντιμετώπισης της βερτισιλιώσεως. Συνδυάζοντας τέτοια φυτικά υπολείμματα με την ηλιοαπολύμανση, παράγονται πιο πολλές τοξικές πτητικές ενώσεις βελτιώνοντας τη θετική δράση της ηλιοαπολυμάνσεως. Η δράση αυτή μάλιστα είναι μεγαλύτερη, όταν φυτικά υπολείμματα είναι αποξηραμένα κατά τη στιγμή της ενσωματώσεώς τους στο έδαφος,

ενώ διαπιστώθηκε πώς όσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητα των γλυκοσινολινών, τόσο λιγότερα συμπτώματα εμφανίζονται στην καλλιέργεια.

1.6. Γεωγραφική εξάπλωση

Ο μύκητας είναι ευρύτατα διαδεδομένος στις τροπικές και υποτροπικές χώρες και αποτελεί πολύ μεγάλο πρόβλημα (Tjamos, 1989). Ο *V. dahliae* έχει εκτεταμένη γεωγραφική εξάπλωση (Σχήμα 1.3), (Engelhard, 1957; Sackston *et. al.*, 1957; Wooliams, 1966; Evans, 1971; Nachmias & Krikun, 1984b; Pegg, 1984) στις εύκρατες χώρες του κόσμου (Wilhelm, 1950a). Ο χάρτης CMI 366, έκδοση 2 (Anon., 1959) αναφέρει την παρουσία του *V. dahliae* σε 42 χώρες, ενώ η έκδοση 3 (Anon., 1979) σε 53 χώρες. Κατά κανόνα, ο *V. dahliae* βρίσκεται στις θερμότερες περιοχές των ΗΠΑ (Ludbrook, 1933; Devaux & Sackston, 1966; McCammon & Honma, 1983), Καναδά (Devaux & Sackston, 1966; Isaac, 1967), Ευρώπης (Isaac, 1967; Isaac & Harrison, 1968; Fletcher *et al.*, 1977) και Ασίας (Krikun & Chorin, 1966; Krikun & Susnoschi, 1971).

Αντίθετα με το *V. albo-atrum*, που φαίνεται να είναι περιορισμένος σε περιοχές όπου η μέση θερμοκρασία δεν υπερβαίνει τους 21-24 °C για το μεγαλύτερο διάστημα της καλλιεργητικής περιόδου, ο *V. dahliae* μπορεί να προσβάλλει τόσο σε ψυχρές όσο και σε θερμές περιοχές, όπου η μέση θερμοκρασία υπερβαίνει τους 24 °C για το μεγαλύτερο διάστημα της καλλιεργητικής περιόδου (Schnathorst, 1981). Όμως, ο *V. dahliae* είναι καταστροφικότερος σε θερμότερα κλίματα (Snyder & Smith, 1981; Rowe, 1985), ειδικά σε αρδευόμενες καλλιέργειες (Snyder & Smith, 1981). Γι' αυτό, ο *V. dahliae* έχει αναφερθεί στο Ισραήλ σχεδόν αποκλειστικά σε ερημικές περιοχές που αρδεύονται (Krikun & Susnoschi, 1971; Easton *et al.*, 1974; Krikun & Orion, 1979) και σε συνθήκες υψηλής εξατμισοδιαπνοής όπου ο μύκητας αποβαίνει ένας από τους κύριους περιοριστικούς παράγοντες στην παραγωγή των φυτών (Krikun & Orion, 1979). Επειδή ο *V. dahliae* ευνοείται από υψηλές μέσες θερμοκρασίες, κυριαρχεί στις θερμές περιοχές της νότιας Ευρώπης και της Μεσογείου (Παναγόπουλος, 1995).



Σχήμα 1.3. Γεωγραφική εξάπλωση του μύκητα *Verticillium dahliae*.

1.7. Εύρος ξενιστών

Το εύρος των ξενιστών του παθογόνου είναι πολύ μεγάλο. Οι ξενιστές του υπολογίζεται ότι ξεπερνούν τα τετρακόσια είδη μονοετών και πολυετών δικοτυλήδων φυτών, πολλοί από τους οποίους υφίστανται σοβαρές ζημιές (Agrios, 1988; Bell, 1992; Horst, 1990), ενώ ο Schnathorst (1981) αναφέρει ότι ο μύκητας προκαλεί τυλώσεις στα αγγεία πάνω από εκατόν εξήντα φυτικών ειδών.

Από τα καλλιεργούμενα είδη προσβάλλονται κυρίως αυτά που ανήκουν στην οικογένεια Solanaceae (τομάτα, πατάτα, μελιτζάνα, πιπεριά), Cucurbitaceae (πεπονιά, καρπουζιά), Malvaceae (μπάμια, βαμβάκι), Rosaceae (τριανταφυλλιά, φράουλα), Asteraceae (συν. Compositae) (αγκινάρα). Από τις δενδρώδεις καλλιέργειες προσβάλλονται κυρίως η ελιά, η φιστικιά, είδη του γένους *Prunus* (βερικοκιά, ροδακινιά, δαμασκηνιά, αμυγδαλιά), το αβοκάντο κ.α. Από τα δασικά δένδρα προσβάλλονται η δρύς και είδη των γενών *Acer*, *Catalpa*, και *Koerleuteria*. Στην Ελλάδα υπάρχουν αναφορές για την προσβολή των ανωτέρω φυτών από το παθογόνο, εκτός του αβοκάντο και της δρύος. Επιπλέον, υπάρχουν αναφορές για το αμπέλι, το φασόλι, τα κουκιά, το μαρούλι, το σκόρδο, το αγγούρι, φυτά που ανήκουν στα γένη

Dahlia, *Chrysanthemum*, *Geranium* και τέλος φυτά που ανήκουν στα γένη *Cercis*, *Hedera*, *Lonicera* κ.α. (Thanassouloupoulos & Kitsos, 1972; Ligoxigakis *et al.*, 2002). Οι πιο ευπαθείς καλλιέργειες είναι της βερικοκιάς, ροδακινιάς, αμυγδαλιάς, δαμασκηνιάς, ελιάς, φιστικιάς (δενδρώδεις καλλιέργειες), τομάτας, μελιτζάνας, πιπεριάς, αγκινάρας, κολοκυνθοειδών και σπανιότερα φασολιού, κουκιών και μαρουλιού (ετήσια καλλιεργούμενα) (Παναγόπουλος, 1993 και 1995). Τα μονοκοτυλήδονα φυτά (σιτάρι, κριθάρι) και πολλά είδη ζιζανίων αποτελούν ξενιστές του παθογόνου, χωρίς όμως να παρουσιάζουν συμπτώματα που έχουν επίπτωση στην παραγωγή τους (Smith *et al.*, 1986; Agrios, 1988).

Κατά την περίοδο 1992-2000 στην Κρήτη, ο Ligoxigakis *et al.*, (2002) πραγματοποίησαν επισκόπηση σε λαχανοκομικά, κτηνοτροφικά και άλλα ευρέως καλλιεργούμενα φυτικά είδη σε φυσικά μολυσμένους αγρούς με *V. dahliae*. Επτά από τα είδη που εξετάστηκαν αποδείχθηκε για πρώτη φορά παγκοσμίως ότι αποτελούν ξενιστές του παθογόνου. Οι νέοι αυτοί ξενιστές είναι: ο άνηθος (*Anethum graveolens*), το τεύτλο (*Beta vulgaris* ssp. *cicla*), το ρεβύθι (*Cicer arietinum*), η παπούλα (*Lathyrus ochrus*), η φακή (*Lens culinaris*), ο κατιφές (*Tagetes erecta*) και ο βίκος (*Vicia sativa*). Επίσης 12 είδη αναφέρθηκαν για πρώτη φορά στην Ελλάδα ως ξενιστές του παθογόνου: το φινόκιο (*Foeniculum vulgare* ssp. *vulgare*), το αντίδι (*Cichorium endivia*), το ραδίκι (*Cichorium intybus*), το κουνουπίδι (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), το λάχανο (*Brassica oleracea* var. *capitata*), το μπρόκολο (*Brassica oleracea* var. *italica*), το ραπάνι (*Raphanus sativus*), ο αρακάς (*Pisum sativum*), το μαρούλι τύπου “Ρωμάνο ή Κώς” (*Lactuca sativa* var. *Longifolia*), ο έρωτας (*Impatiens balsamina*), το σπανάκι (*Spinacia oleracea*) και το κολοκύθι (*Cucurbita pepo*).

1.8. Εξειδίκευση ως προς τους ξενιστές

Οι απομονώσεις ειδών του γένους *Verticillium*, που προέρχονται από διάφορα είδη φυτών, δεν εμφανίζουν συνήθως εξειδίκευση ως προς κάποιον ξενιστή (Isaac, 1949), όμως μεταξύ των απομονώσεων του *V. dahliae* υπάρχει μεγάλη παραλλακτικότητα ως προς την παθογόνο ικανότητά τους (Kaiser, 1964; Tolmsoff, 1972).

Σε πειράματα τεχνητών μολύνσεων οι εξειδικευμένες απομονώσεις του *V. dahliae* είτε προκαλούν έντονα συμπτώματα στους ομόλογους ξενιστές και δεν προσβάλλουν άλλα είδη φυτών (Riley & Bosland, 1997), είτε προσβάλλουν έντονα τους ομόλογους και συγγενικούς ξενιστές και ελαφρότερα διάφορα άλλα είδη φυτών

(Heale & Isaac, 1963). Γενικά, έχει αναφερθεί εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή σε απομονώσεις του *V. dahliae* από μέντα (*Mentha* sp.) (Horner, 1954), πιπεριά (*Capsicum annuum* L.) (Louis & Linn, 1953), λάχανο Βρυξελλών (*Brassica oleracea* L. var *italica* L.), μηδική (*Medicago sativa* L.) (Isaac, 1957), καπνό (*Nicotiana tabacum* L.) (Taylor, 1969) και κακάο (*Theobroma cacao*) (Resende *et al.*, 1994).

Στην Ιαπωνία έχει επίσης αναφερθεί εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή διαφόρων απομονώσεων του *V. dahliae* στα είδη: **μελιτζάνα** (*Solanum melongena* L.), **τομάτα** (*Lycopersicon esculentum* Mill.), **γλυκιά πιπεριά** (*Capsicum annuum* L. var. *grossum* L.), **διάφορα σταυρανθή**, όπως το κινέζικο λάχανο (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*), τη ρέβα (*Brassica rapa* L.) και το ραπάνι (*Raphanus sativus* L.). Οι εν λόγω απομονώσεις κατατάχθηκαν σε τέσσερις μεγάλες ομάδες:

- **Ομάδα Α, παθότυπος της μελιτζάνας:** περιλαμβάνει απομονώσεις παθογόνες σε μελιτζάνα και ρέβα
- **Ομάδα Β, παθότυπος της τομάτας:** περιλαμβάνει απομονώσεις παθογόνες σε μελιτζάνα, τομάτα και ρέβα
- **Ομάδα C, παθότυπος της γλυκείας πιπεριάς:** περιλαμβάνει απομονώσεις παθογόνες σε μελιτζάνα, γλυκιά πιπεριά και ρέβα
- **Ομάδα D, παθότυπος των σταυρανθών:** περιλαμβάνει απομονώσεις παθογόνες μόνο σε ρέβα (Hagiwara, 1990; Horiuchi *et al.*, 1990).

Η παραπάνω διάκριση των παθότυπων σε Ιαπωνικές απομονώσεις του μύκητα έχει αποδειχθεί περαιτέρω και από τα διαφορετικά ηλεκτροφορητικά τους πρότυπα RAPD-PCR (Koike *et al.*, 1996).

Επίσης, έχει αναφερθεί η ύπαρξη εξειδικευμένων στελεχών ή παθοτύπων που παρουσιάζουν ιδιαίτερα υψηλή παθογόνο δύναμη και έντονη αποφύλλωση σε ένα συγκεκριμένο ξενιστή, ενώ προσβάλλουν σε πολύ μικρότερο βαθμό και άλλα είδη φυτών. Συγκεκριμένα, ο Schnathorst (1964) ανέφερε ότι ένα πολύ παθογόνο αποφυλλωτικό στέλεχος του μύκητα προκαλούσε σημαντικές απώλειες στην παραγωγή βαμβακιού (*Gossypium hirsutum* L.) στην Καλιφόρνια. Το στέλεχος αυτό ονομάστηκε T-1 από τους Schnathorst & Mathre (1966b), οι οποίοι πρότειναν τη διάκρισή του από το λιγότερο παθογόνο και ευρέως εξαπλωμένο στέλεχος SS-4. Με τεχνητές μολύνσεις, διάφορα άλλα είδη φυτών διαφοροποιούν επίσης τα στελέχη T-1 και SS-4. Τέτοιοι διαφορίζοντες ξενιστές (differential hosts) είναι η τομάτα, το αντίρρινο και η ατρακτυλίδα (Schnathorst & Mathre, 1966a), ο ηλίανθος (Klisiewicz, 1981) και η ελιά (Schnathorst & Sibbett, 1971a; 1971b).

Ειδικές μορφές (*formae speciales*) δεν έχουν αναφερθεί στο *V. dahliae* (Puhalla, 1979), όμως υπάρχουν **φυσιολογικές φυλές** του μύκητα. Συγκεκριμένα, υπάρχουν 2 φυλές, οι οποίες διαφοροποιούνται σε υβρίδια και ποικιλίες **τομάτας** (π.χ. Earlypak No 7 και ACE 55 VF). Το γονίδιο αντοχής *Ve*, που βρέθηκε στην αυτοφυή τομάτα του Περού (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. *cerasiformae*) παρέχει αντοχή στη φυλή 1 του *V. dahliae*. Απομονώσεις παθογόνες σε ευπαθείς γονότυπους τομάτας, όπως η Earlypak No 7 που στερείται το γόνο αντοχής *Ve*, αλλά μη παθογόνες σε ανθεκτικούς γονότυπους, όπως η ACE 55VF που διαθέτει το γονίδιο *Ve*, κατατάσσονται στη φυλή 1 ή στο στέλεχος 1 της τομάτας. Αντίθετα, απομονώσεις παθογόνες τόσο σε ευπαθείς όσο και σε ανθεκτικούς γονότυπους τομάτας κατατάσσονται στη φυλή 2 ή στο στέλεχος 2 της τομάτας (Hall *et al.*, 1972; Grogan *et al.*, 1979; Ligoixigakis, 1991; Ligoixigakis & Vakalounakis, 1992).

Στο μαρούλι, υπάρχουν επίσης 2 φυλές: η φυλή 1 περιλαμβάνει απομονώσεις του *V. dahliae* που είναι παθογόνες σε ευπαθείς ποικιλίες μαρουλιού π.χ (Salinas) και η φυλή 2 περιλαμβάνει απομονώσεις του *V. dahliae* που είναι παθογόνες σε ευπαθείς αλλά και ανθεκτικές ποικιλίες μαρουλιού π.χ. (La Brillante) (Hayes *et al.*, 2007).

1.9. Σκοπός της παρούσας εργασίας

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι: α) η διερεύνηση της ενδεχόμενης κατασταλτικής δράσης 6 επιλεγμένων ζυμωμένων οργανικών υποστρωμάτων (κομπόστ) κατά της βερτισιλλίωσης της μελιτζάνας και β) η μελέτη της επίδρασης αυτών στην ανάπτυξη και ευρωστία των φυτών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο
«ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ»

2.1. Προέλευση και διατήρηση της απομονώσης *V. dahliae*

Για την πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκε μια απομόνωση του μύκητα *V. dahliae* προερχόμενη από ασθενή μελιτζάνα η οποία συλλέχθηκε από την περιοχή του Οροπεδίου Λασιθίου και ανήκει στη φυλή 1 (999-1, Ligoxigakis and Markakis, 2012). Οι εν λόγω απομόνωση είχε συλλεχθεί κατά την περίοδο 2000 από τον Δρα Ελευθέριο Κ. Λιγοξυγκάκη και διατηρήθηκε ως καθαρή καλλιέργεια σε δοκιμαστικούς σωλήνες σε θερμοκρασία 4 °C. Για την μακρά διατήρησή της η απομόνωση φυλάσσονταν σε ειδικούς θαλάμους θερμοκρασίας -80 °C ως αιώρημα κονιδίων σε κρυοφυαλίδια όγκου 2 ml, με διάλυμα γλυκερόλης 20 %. Η εν λόγω απομόνωση ανήκει στη συλλογή του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Ινστιτούτου Προστασίας Φυτών Ηρακλείου. Μία εβδομάδα πριν χρησιμοποιηθεί, η απομόνωση μεταφέρθηκε σε τριβλία με θρεπτικό υπόστρωμα PDA (Potato Dextroze Agar) και επωάστηκε σε θερμοκρασία 22±0.5 °C για 7 ημέρες.

2.2. Παρασκευή στερεού θρεπτικού υποστρώματος PDA

Για την παρασκευή 1 λίτρου στερεού θρεπτικού υποστρώματος PDA (Potato Dextroze Agar), σε κωνική φιάλη χωρητικότητας 2 λίτρων προστέθηκαν 0.5 λίτρα απεσταγμένου νερού και 200 γραμμάρια καθαρισμένων κονδύλων πατάτας, τεμαχισμένων σε μικρούς κύβους. Η κωνική φιάλη τοποθετήθηκε σε χύτρα με νερό που έβραζε (100 °C) για τρεις (3) ώρες. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε διήθηση του περιεχόμενου της κωνικής, χρησιμοποιώντας τουλουπάνι (cheesecloth), για την παραλαβή του εκχυλίσματος. Το διήθημα μεταφέρθηκε σε κωνική φιάλη χωρητικότητας δύο (2) λίτρων, η οποία συμπληρώθηκε με απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου ενός (1) λίτρου. Ακολούθως προστέθηκαν 20 γραμμάρια δεξτρόζης (dextroze) και 20 γραμμάρια άγαρ, και η κωνική τοποθετήθηκε σε κλίβανο θερμοκρασίας 180 °C και πίεσης 1 Atm για 30 λεπτά, για αποστείρωση. Μετά το πέρας της αποστείρωσης, η κωνική φιάλη μεταφέρθηκε στο θάλαμο νηματικής ροής και όταν η θερμοκρασία του υλικού ήταν περίπου 60 °C προστέθηκαν 120 σταγόνες διαλύματος γαλακτικού οξέος (12 %). Στη συνέχεια το περιεχόμενο της κωνικής επιστρώθηκε σε τριβλία διαμέτρου 8.5 cm (περίπου 20 ml υλικού/τριβλίο) υπό ασηπτικές συνθήκες.

2.3. Παρασκευή οξιμισμένου στερεού θρεπτικού υποστρώματος PDA (APDA)

Η παρασκευή του οξινισμένου στερεού θρεπτικού υποστρώματος PDA (Acidified PDA) πραγματοποιήθηκε ακριβώς όπως και το προηγούμενο υλικό (PDA) με τη διαφορά ότι προστέθηκαν 10 ml γαλακτικού οξέος (25%) σε καθένα τρυβλίο Petri, στο οποίο έπειτα επιστρώθηκε το PDA.

2.4. Παρασκευή υγρού θρεπτικού υποστρώματος SSN

Για την 1 λίτρον υγρού θρεπτικού υποστρώματος SSN (Sucrose Sodium Nitrate), σε κωνική φιάλη 2 λίτρων προστέθηκαν 1000 ml απεσταγμένου νερού, 15 γραμμάρια σουκρόζης ($C_{12}H_{22}O_{11}$) (Serva), 1 γραμμάριο δισόξινο φωσφορικό καλίου (KH_2PO_4) (Ferak Berlin), 2 γραμμάρια νιτρικού νατρίου ($NaNO_3$) (Merck), 0.5 γραμμάρια χλωριούχου καλίου (KCL) (Merck) και 1 ml διαλύματος ιχνοστοιχείων (Trace element solution). Για την παρασκευή του διαλύματος ιχνοστοιχείων (Trace element solution), σε 100 ml απεσταγμένου νερού προστέθηκαν 249 mg ένυδρου θειικού σιδήρου ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) (Merck), 40 mg ένυδρου θειικού χαλκού ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) (Mallinckrodt), 44 mg ένυδρου θειικού ψευδαργύρου ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) (B.D L.T.D), 41 mg ένυδρου θειικού μαγγανίου ($MgSO_4 \cdot 4H_2O$) (Merck) και 51 mg ένυδρου μολυβδαινικού νατρίου ($NaMoO_4 \cdot 2H_2O$) (Merck). Το διάλυμα ιχνοστοιχείων (Trace element solution) διατηρήθηκε στους 4 °C. Το υγρό θρεπτικό υπόστρωμα SSN τοποθετήθηκε σε κλίβανο θερμοκρασίας 180 °C και πίεσης 1 Atm για 30 λεπτά, για αποστείρωση.

2.5. Παρασκευή μολύσματος-μικροσκληρωτίων

Τα μικροσκληρώτια του παθογόνου παρασκευάστηκαν σε υγρή καλλιέργεια SSN, μέσα σε κωνικές φιάλες Earlenmayer χωρητικότητας 250 ml οι οποίες περιείχαν 100 ml υλικού. Τεμάχια φρέσκιας καλλιέργειας του μύκητα από υλικό PDA (ηλικίας 7 ημερών) μεταφέρθηκαν στο υγρό υλικό και οι κωνικές επώαστηκαν σε περιστρεφόμενο επωαστικό θάλαμο στις 120 στροφές/λεπτό, σε θερμοκρασία 22 °C και σε συνθήκες σκότους για τρεις εβδομάδες. Ακολούθησε διαχωρισμός των μικροσκληρωτίων σε ηλεκτρικό ομογενοποιητή (OMNI), φυγοκέντρωση στα 10.000 g σε θερμοκρασία 25 °C για 10 λεπτά ώστε να απομακρυνθεί το υλικό της καλλιέργειας και επίστρωση σε γυάλινα αποστειρωμένα τρυβλία στο θάλαμο αναστρεφόμενης νηματικής ροής αέρα για τρεις ώρες προκειμένου να στεγνώσουν. Τα τρυβλία με τα μικροσκληρώτια

μεταφέρθηκαν σε σκοτεινό επωαστικό θάλαμο θερμοκρασίας 28 °C για δύο ημέρες και έπειτα αποθηκεύτηκαν στους 4 °C μέχρι να χρησιμοποιηθούν.

2.6. Φυτικό υλικό

Το φυτικό υλικό του πειράματος αποτελούνταν από φυτάρια μελιτζάνας (ποικιλίας Black Beauty) στο στάδιο του 2^{ov} πραγματικού φύλλου.

2.7. Ζυμωμένα οργανικά υποστρώματα που δοκιμάστηκαν (κομπόστ)

Στην παρούσα εργασία αξιολογήθηκαν 6 επιλεγμένα οργανικά υποστρώματα (κομπόστ) προερχόμενα από το Εργαστήριο Επεξεργασίας Υγρών και Στερεών Αποβλήτων (Κομπόστ Α- Κλαδιά από κλαδέματα δέντρων και κήπων, Κομπόστ Β- Λάσπη βιολογικού, Κομπόστ Γ- Στέμφυλα, Κομπόστ Δ- Πελτές, πριονίδι και κλαδιά), από τη Διαδημοτική Επιχείρηση Διαχείρισης Στερεών Αποβλήτων (ΔΕΔΙΣΑ) Χανίων (Κομπόστ Ε- Φυτικά υπολείμματα και αποφάγια ΔΕΔΙΣΑ) και από το Εργαστήριο Μικροβιολογίας του Γεωπονικού Παν/μίου Αθηνών (Κομπόστ Ζ- Φύλλα ελιάς, πυρηνόξυλο και κατσίγαρος).

2.8. Τεχνητή μόλυνση φυτών

Τα μικροσκληρώτια αποσπάστηκαν από τα γυάλινα τρυβλία με αποστειρωμένο νυστέρι και επαναιωρηματοποιήθηκαν σε απεσταγμένο-αποστειρωμένο νερό. Ακολούθησε διαχωρισμός των μικροσκληρωτίων και διήθηση μέσω πλέγματος με διάμετρο οπών 70 μ. και επιλογή των μικροσκληρωτίων εκείνων των οποίων η διάμετρος ήταν μεγαλύτερη από 70 μ. προκειμένου να χρησιμοποιηθούν για το πείραμα (Tjamos & Fravel, 1995). Ο διαχωρισμός αυτός πραγματοποιήθηκε καθώς έχει αποδειχτεί ότι τα μεγαλύτερα μικροσκληρώτια έχουν υψηλότερο δυναμικό μόλυνσης και παρουσιάζουν υψηλότερο ποσοστό βλαστικότητας και μολυσματικής ικανότητας (Hawke & Lazarovits, 1994). Παρασκευάστηκε υδατικό αιώρημα όγκου 500 ml, το οποίο περιείχε την επιθυμητή ποσότητα μικροσκληρωτίων του *V. dahliae*, το οποίο εγχύθηκε και αναμείχθηκε σταδιακά με το χώμα (HUMIN SUBSTRAT N3, NEWHOUSE, produced by Klasmann-Dailman GMBH-49744GEESTE, Germany) ή με το μείγμα 80 % κομπόστ-20 % χώματος προκειμένου να επιτευχθεί η καλύτερη δυνατή κατανομή του μολύσματος στο υπόστρωμα (Tjamos & Fravel, 1995). Τα φυτάρια μεταφυτεύτηκαν σε πλαστικές γλάστρες χωρητικότητας 3.5 λίτρων, οι οποίες περιείχαν μολυσμένο χώμα με

συγκέντρωση μολύσματος 45 μικροσκληρώτια ανά γραμμάριο υποστρώματος. Μετά την ολοκλήρωση της μεταφύτευσης των φυταρίων, το φυτικό υλικό μεταφέρθηκε σε μη κλιματιζόμενο θερμοκήπιο, σε φυσικές συνθήκες θερμοκρασίας με εύρος θερμοκρασιών 0-36 °C και φωτοπεριόδου περίπου 12 ωρών.

2.9. Καταγραφή συμπτωμάτων

Για την καταγραφή των συμπτωμάτων της ασθένειας, σε καθένα φυτό πραγματοποιήθηκαν τέσσερις παρατηρήσεις ανά εβδομαδιαία χρονικά διαστήματα (26, 33, 40, 47, 54, 61 και 68 ημέρες από τη μόλυνση), όπου υπολογίστηκε ο αριθμός των προσβεβλημένων φύλλων προς το συνολικό αριθμό των φύλλων, και αποδόθηκε ως ποσοστό επί τοις εκατό (%). Το ποσοστό των ασθενών φύλλων υπολογίστηκε και αποτυπώθηκε γραφικά σε σχέση με το χρόνο προκειμένου να προσδιοριστεί η καμπύλη εξέλιξης της ασθένειας. Ακολούθως υπολογίστηκε το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη εξέλιξης της ασθένειας (Area Under Disease Progress Curve, AUDPC) σύμφωνα με τη μέθοδο της τραπεζοειδούς ολοκλήρωσης (Campbell & Madden, 1990). Η ασθένεια τέλος, εκφράστηκε ως ποσοστό επί του μεγαλύτερου δυνατού εμβαδού που θα ορίζονταν αν επιτυγχάνονταν η υψηλότερη δυνατή ασθένεια από την έναρξη και καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, και αναφέρεται ως "Σχετική AUDPC" (Korovel *et al.*, 2001).

2.10. Επαναπομόνωση του παθογόνου από τα μολυσμένα φυτά

Για τον έλεγχο της συχνότητας παρουσίας του *V. dahliae* στα αγγεία των μολυσμένων φυτών προκειμένου να εκτιμηθεί η βιομάζα του παθογόνου στο άδρωμα των φυτών και για να διασφαλιστεί σε κάποιες περιπτώσεις ότι τα συμπτώματα οφείλονταν στο παθογόνο, πραγματοποιήθηκαν απομονώσεις σε APDA. Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος, τα στελέχη του κάθε φυτού απολυμάνθηκαν επιφανειακά με αιθανόλη (100 %), ο φλοιός απομακρύνθηκε και 10 τεμαχίδια από τα αγγεία από διαφορετικά σημεία κατά μήκος του στελέχους τοποθετήθηκαν σε APDA (Εικ. 2.2). Τα τριβλία επωάστηκαν στους 22 °C σε συνθήκες σκότους για 10 ημέρες. Στη συνέχεια εκτιμήθηκε η συχνότητα των θετικών απομονώσεων παρατηρώντας τα τριβλία μακροσκοπικά ή και με τη χρήση μικροσκοπίου.

2.11. Σχεδιασμός πειράματος - στατιστική ανάλυση

Για την εκτέλεση της συγκεκριμένης εργασίας χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 6 ζυμωμένα οργανικά υποστρώματα (κομπόστς) προκειμένου να αξιολογηθεί ικανότητά τους να καταστέλλουν τη βερτισιλλίωση σε φυτά μελιτζάνας. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν 4 επαναλήψεις του πειράματος με 7 φυτά/επέμβαση/επανάληψη. Όπου οι μεταβλητές δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή, τα δεδομένα μετασχηματίστηκαν σύμφωνα με τη μετατροπή του τόξου ημιτόνου (\arcsin) πριν να εφαρμοστεί η μέθοδος ανάλυσης της διασποράς (ANOVA). Ακολούθως πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Όπου διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές χρησιμοποιώντας τη στατιστική δοκιμασία του F (για $P \leq 0.05$), τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε διαχωρισμό των μέσων όρων σύμφωνα με τη στατιστική δοκιμασία του Tukey.

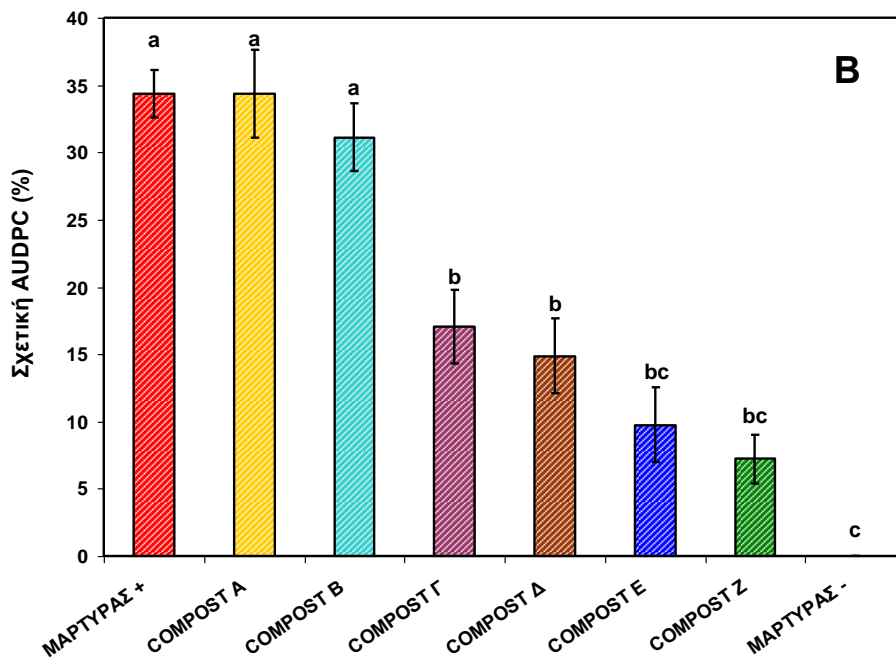
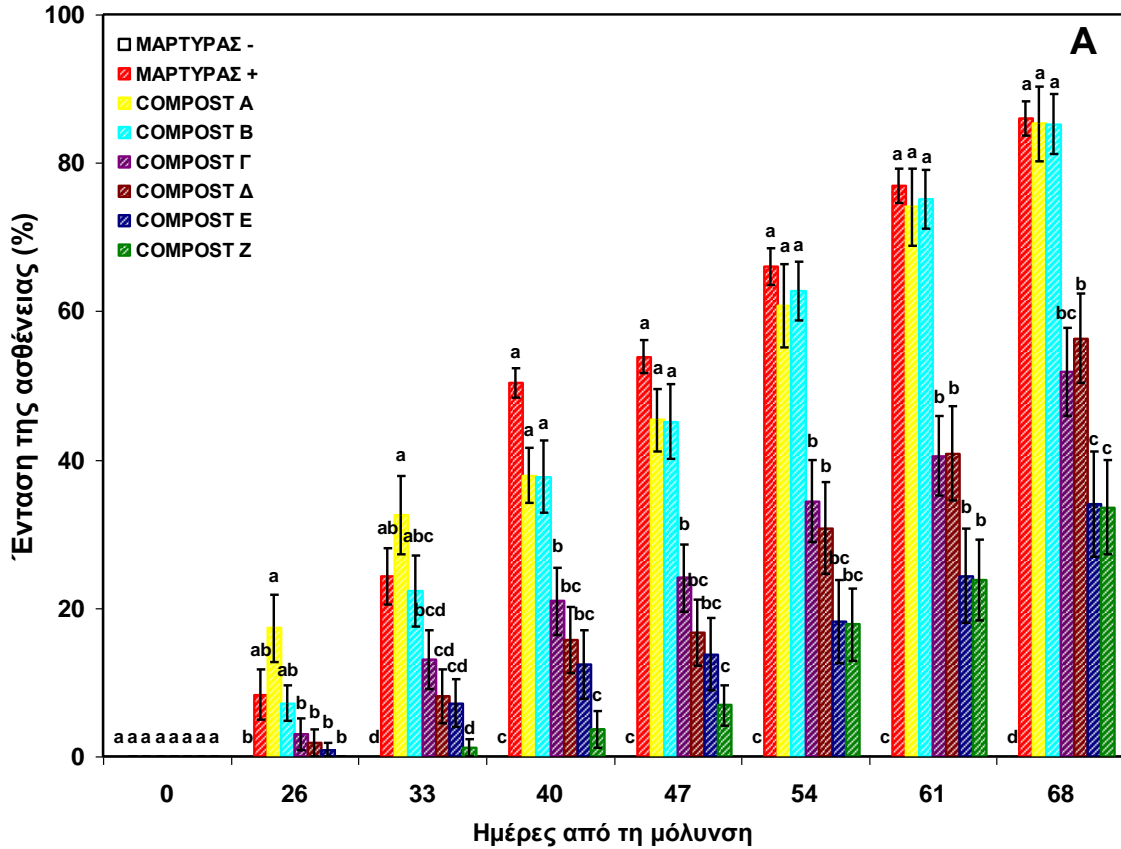
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

«ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ»

3.1. Βιοδοκιμές για την αξιολόγηση της κατασταλτικής δράσης των ζυμωμένων οργανικών υποστρωμάτων κατά της βερτισιλλίωσης σε φυτά μελιτζάνας

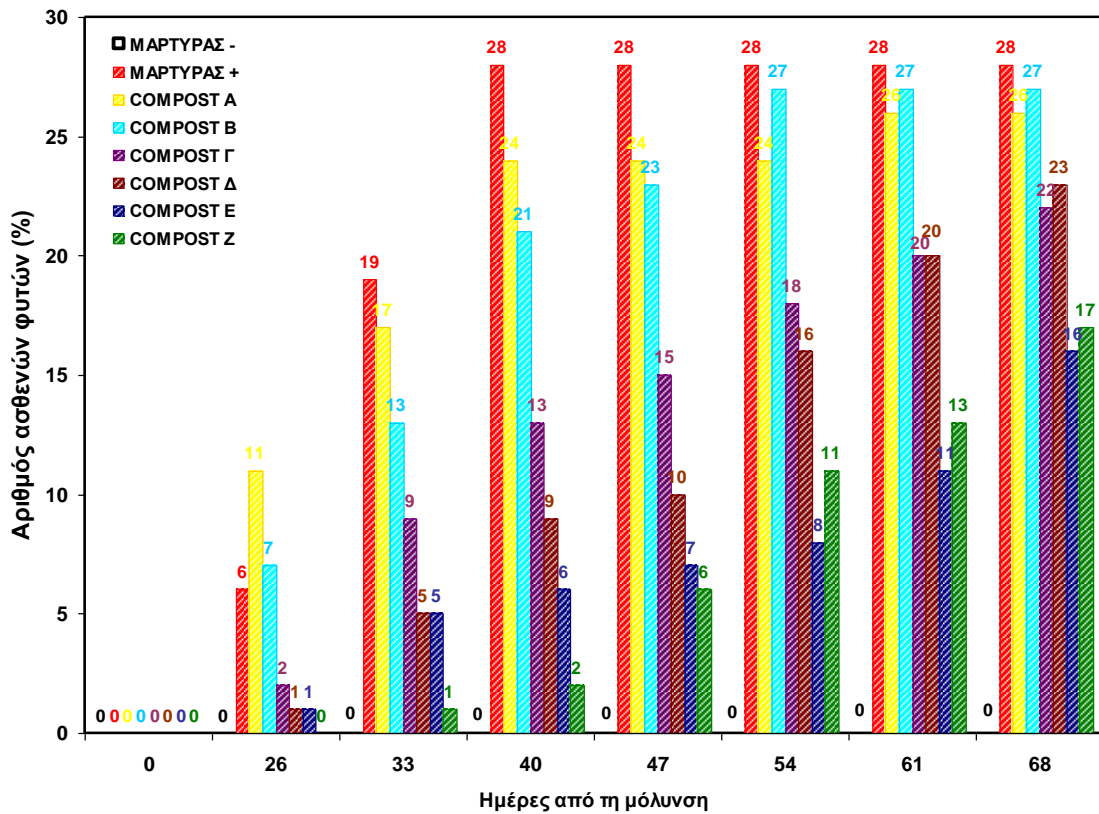
Η ικανότητα των 6 ζυμωμένων οργανικών υποστρωμάτων (κομπόστς) να καταστέλλουν τη βερτισιλλίωση της μελιτζάνας αξιολογήθηκε σε πείραμα θερμοκηπίου. Τα πρώτα συμπτώματα της ασθένειας εκδηλώθηκαν 26 ημέρες μετά τη μεταφύτευση των φυταρίων στα μολυσμένα με μικροσκληρώτια υποστρώματα, και η καταγραφή της έντασης της ασθένειας πραγματοποιούνταν ανά εβδομαδιαία χρονικά διαστήματα μέχρι και τις 68 ημέρες από τη στιγμή της μόλυνσης. Όπως απεικονίζεται στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 3.1A), τα κομπόστ Γ, Δ, Ε και Ζ περιόρισαν στατιστικά την ένταση της ασθένειας σε σχέση με το θετικό μάρτυρα (M+, φυτόχωμα όπου είχαν ενσωματωθεί μικροσκληρώτια του *V. dahliae*), ενώ τα κομπόστ Α και Β δεν είχαν καμία επίδραση. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι στις 68 ημέρες από τη μόλυνση, η ένταση της ασθένειας στα φυτά του θετικού μάρτυρα και σε εκείνα των κομπόστ Α, Β, Γ, Δ, Ε και Ζ ήταν 86 %, 85 %, 85 %, 51 %, 56 %, 34 % και 33 % αντίστοιχα. Αντίθετα, τα φυτά του αρνητικού μάρτυρα (M-, φυτόχωμα χωρίς την προσθήκη μικροσκληρωτίων) δεν εμφάνισαν συμπτώματα της ασθένειας και η τελική ένταση της ασθένειας ήταν 0 % (Εικ. 3.1).

Στο γράφημα 3.1B, απεικονίζονται οι τιμές της σχετικής AUDPC (Εμβαδόν κάτω από την καμπύλη εξέλιξης της ασθένειας). Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα, οι τιμές της σχετικής AUDPC στα φυτά των υποστρωμάτων Γ, Δ, Ε και Ζ ήταν στατιστικά χαμηλότερες σε σχέση με τα φυτά του θετικού μάρτυρα και εκείνα των υποστρωμάτων Α και Β. Ειδικότερα, οι τιμές της σχετικής AUDPC που υπολογίστηκαν για τα φυτά των επεμβάσεων M+, Α, Β, Γ, Δ, Ε, Ζ και M- ήταν 35 %, 34 %, 31 %, 17 %, 14 %, 9 %, 7 % και 0 % αντίστοιχα.



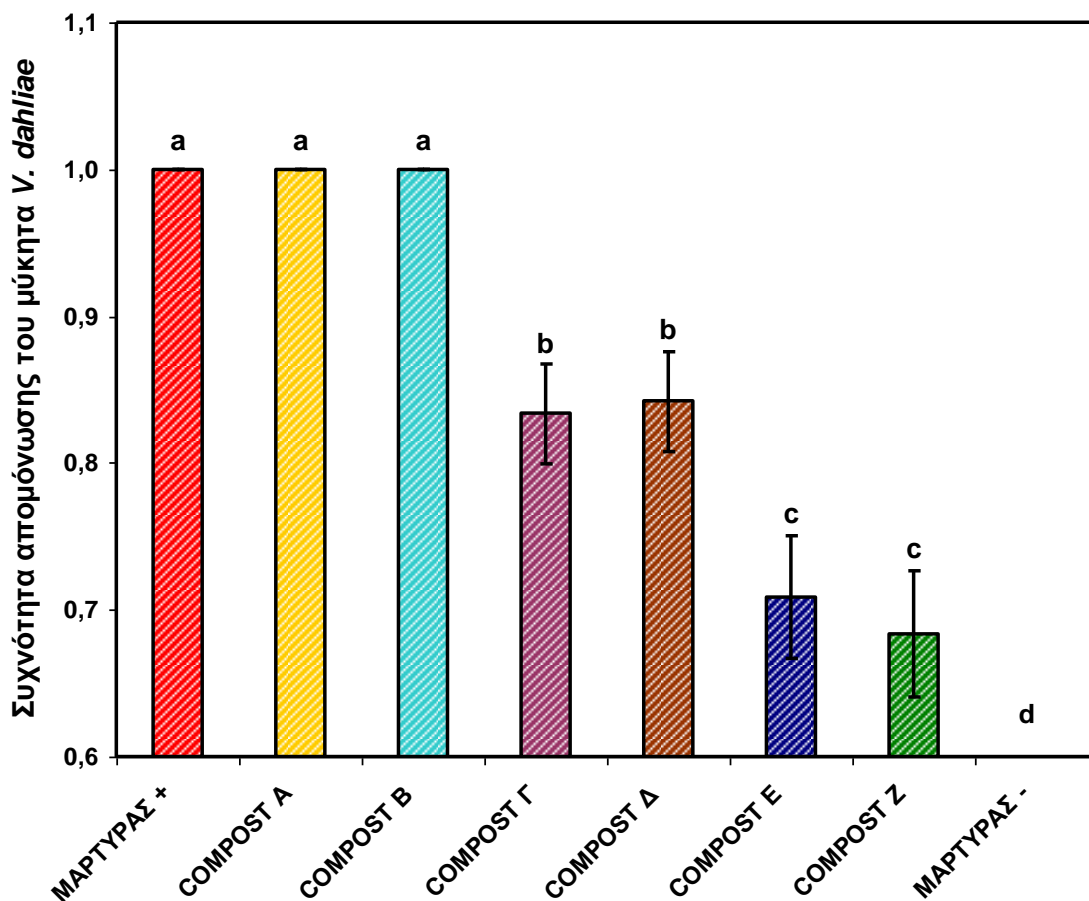
Γράφημα 3.1. A: Ένταση της ασθένειας και **B:** Σχετική AUDPC (Εμβαδόν Κάτω από την Καμπύλη Εξέλιξης της Ασθένειας) σε φυτά μελιτζάνας για την αξιολόγηση της κατασταλτικής δράσης 6 ζυμωμένων οργανικών υποστρωμάτων (A, B, Γ, Δ, E και Z) σε σχέση με το θετικό μάρτυρα (M+) και τον αρνητικό μάρτυρα (M-). Οι διακλαδιζόμενες γραμμές απεικονίζουν το τυπικό σφάλμα, ενώ οι στήλες που δεν συνδέονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με τη στατιστική δοκιμασία του Tukey για $P \leq 0.05$.

Ακολούθως, υπολογίστηκε ο αριθμός των ασθενών φυτών (συχνά αναφέρεται και ως Σοβαρότητα της ασθένειας) από την κάθε επέμβαση ως παράγοντας αξιολόγησης της δυνατότητας των 6 επιλεγμένων οργανικών υποστρώματων να περιορίζουν την ασθένεια σε σχέση με τον μάρτυρα. Όπως παρουσιάζεται στο γράφημα 3.2, και τα έξι υποστρώματα είχαν τη δυνατότητα να περιορίζουν τον αριθμό των ασθενών φυτών σε σχέση με το μάρτυρα, με τα υποστρώματα Γ, Δ, Ε και Ζ να εμφανίζουν το πιο θεαματικό αποτέλεσμα. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι στις 40 ημέρες από τη μόλυνση, ο αριθμός των ασθενών φυτών που καταγράφηκαν από τις επεμβάσεις M+, A και B ήταν 28, 24 και 21 αντίστοιχα, ενώ για τις επεμβάσεις Γ, Δ, Ε και Ζ ο αριθμός αυτός ήταν 13, 9, 6 και 2 φυτά αντίστοιχα, από συνολικά 28 φυτά ανά επέμβαση.

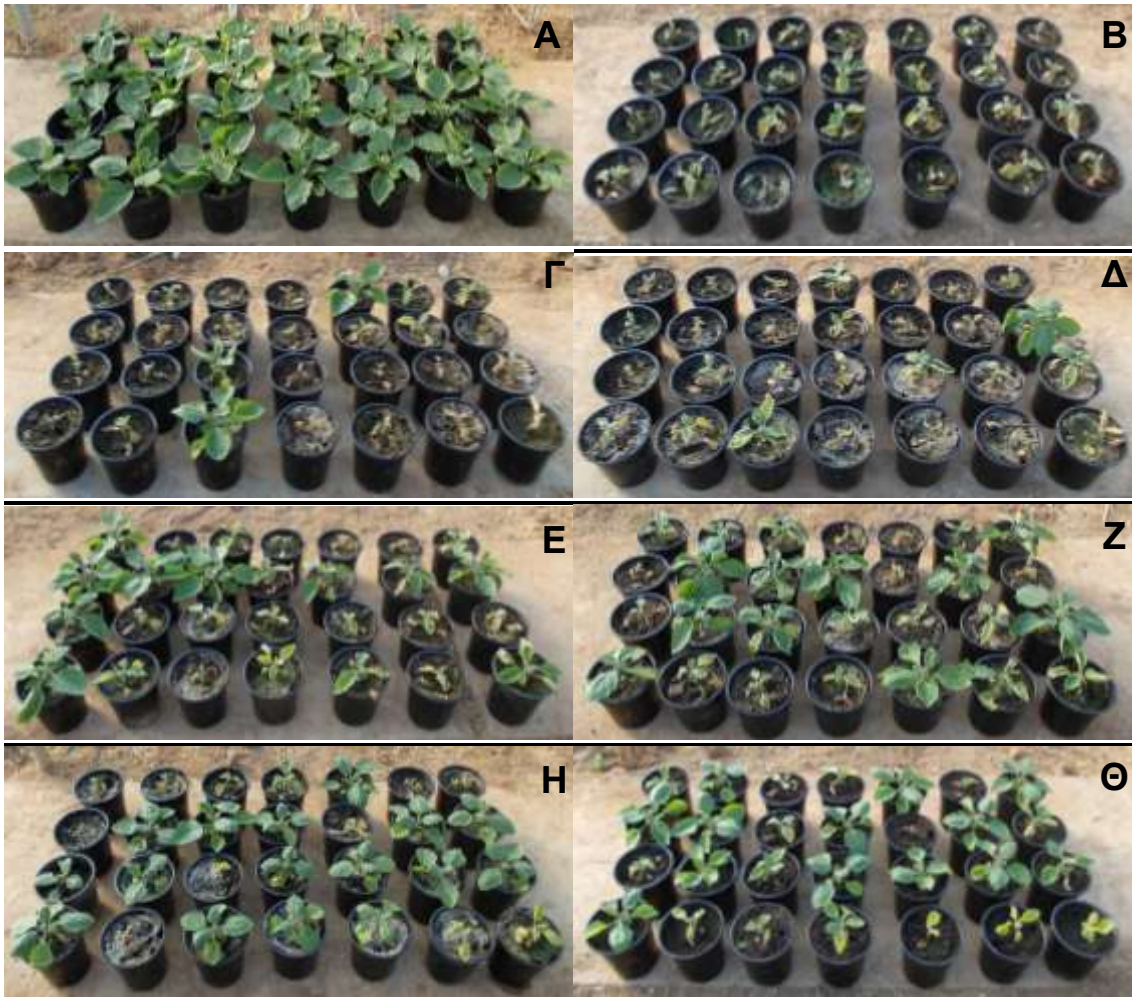


Γράφημα 3.2. Αριθμός ασθενών φυτών μελιτζάνας για τις επεμβάσεις M+, A, B, Γ, Δ, Ε, Ζ και M-, στις 0, 26, 33, 40, 47, 54, 61 και 68 ημέρες από τη μόλυνση. Για κάθε μια από τις παραπάνω επεμβάσεις αντιστοιχούν 28 φυτά μελιτζάνας.

Προκειμένου να διερευνηθεί εάν η μειωμένη εκδήλωση των συμπτωμάτων της ασθένειας σε κάποιες από τις επεμβάσεις συσχετίζεται και με μειωμένη παρουσία του μύκητα *Verticillium dahliae* στα αγγεία του ξύλου, πραγματοποιήθηκαν απομονώσεις ως ένδειξη της βιομάζας του παθογόνου που είχε αποικήσει τα αγγεία των φυτών της κάθε επέμβασης (Εικ. 3.2). Έτσι, η συχνότητα των θετικών απομονώσεων του *V.dahliae* στα φυτά του θετικού μάρτυρα (M+) καθώς και σε εκείνα των επεμβάσεων Α και Β ήταν στατιστικά υψηλότερη (τιμές 1, 1 και 1 αντίστοιχα) σε σχέση με τη συχνότητα των επεμβάσεων Γ, Δ, Ε και Ζ (τιμές 0.83, 0.84, 0,71 και 0.68 αντίστοιχα) (Γράφημα 3.3).



Γράφημα 3.3. Συχνότητα απομόνωσης του μύκητα *V. dahliae* από στελέχη φυτών μελιτζάνας σε θρεπτικό υλικό PDA, ως ένδειξη της βιομάζας του παθογόνου που έχει αποικήσει τα αγγεία του ξύλου. Οι τιμές που απεικονίζονται αποτελούν το μέσο όρο από 16 φυτά για κάθε μία από τις επεμβάσεις M+, A, B, Γ, Δ, Ε, Ζ και M-. Οι διακλαδιζόμενες γραμμές απεικονίζουν το τυπικό σφάλμα, ενώ οι στήλες που δεν συνδέονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με τη στατιστική δοκιμασία του Tukey για $P \leq 0.05$.

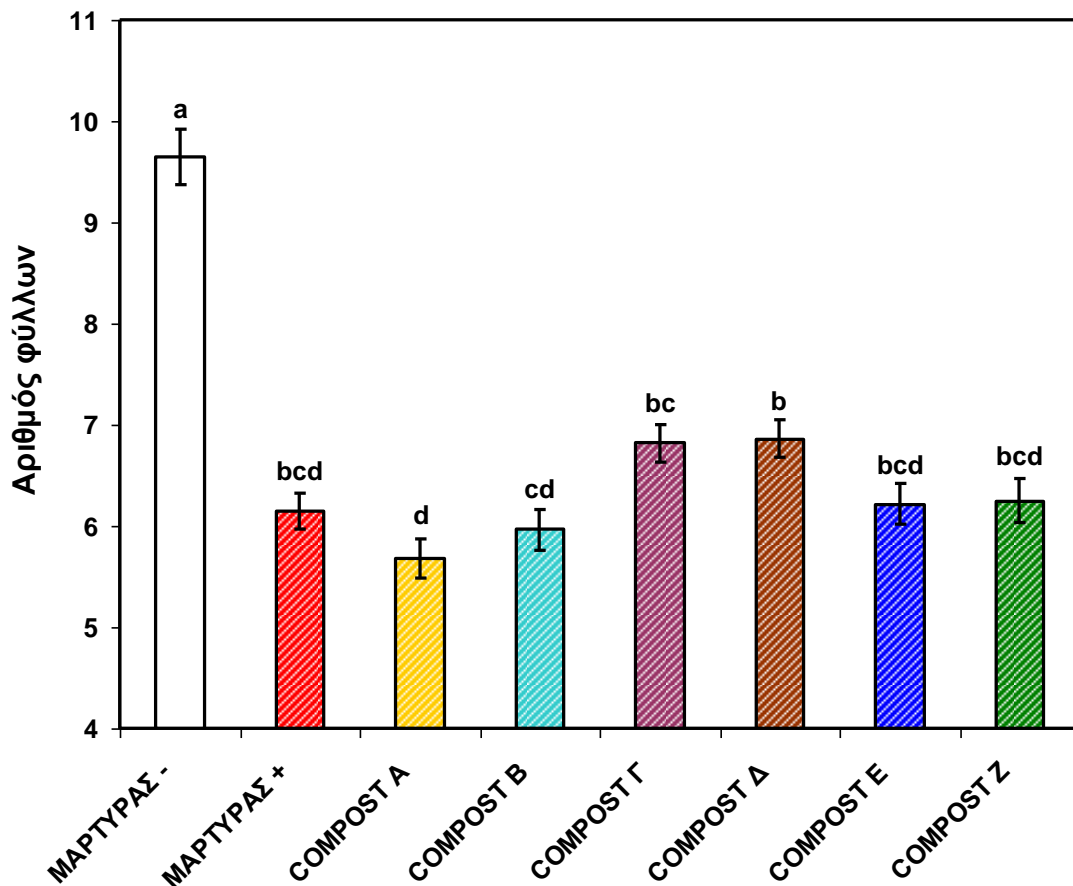


Εικόνα 3.1. Συγκριτική διαφοροποίηση των συμπτωμάτων της ασθένειας σε φυτά μελιτζάνας των επεμβάσεων: Α: Αρνητικός μάρτυρας, Β: Θετικός μάρτυρας, Γ: Κομπόστ Α, Δ: Κομπόστ Β, Ε: Κομπόστ Γ, Ζ: Κομπόστ Δ, Η: Κομπόστ Ε, Θ: Κομπόστ Ζ, στις 68 ημέρες από την μόλυνση.

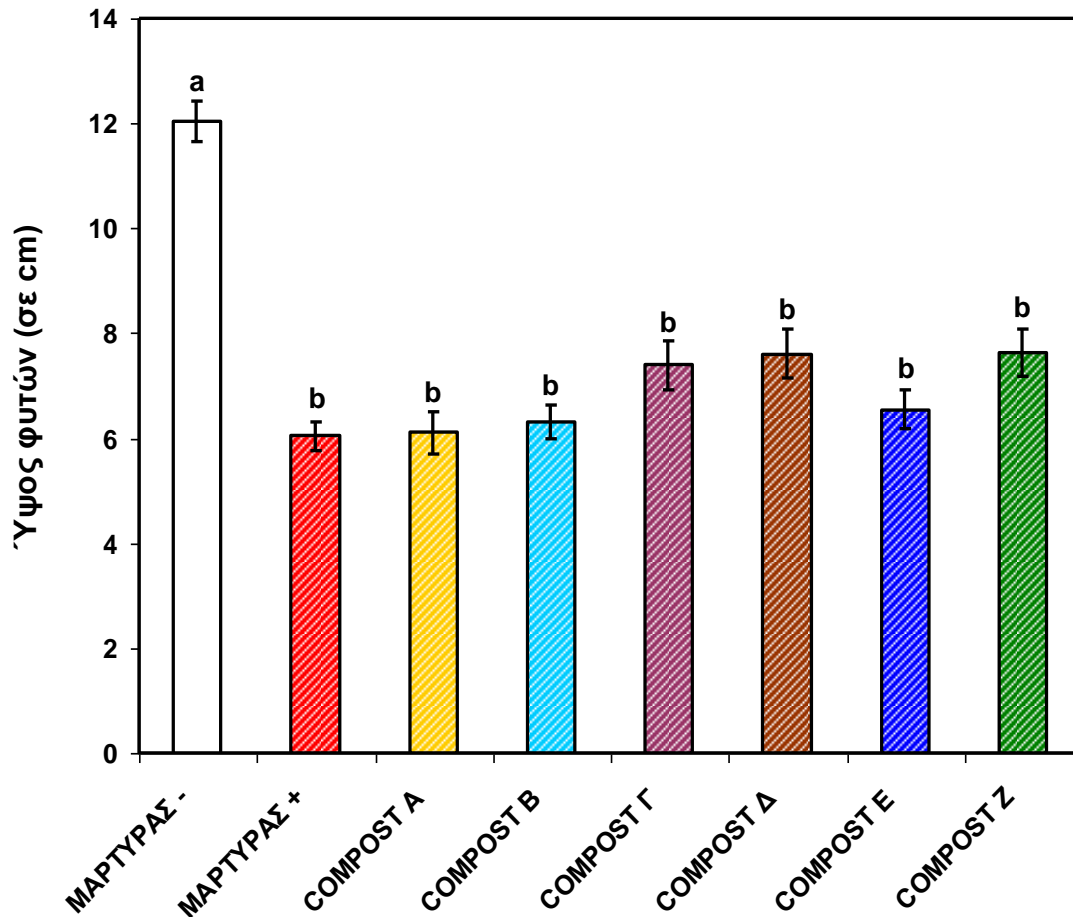


Εικόνα 3.2. Συγκριτική διαφοροποίηση ως προς τη συχνότητα απομόνωσης του μύκητα *V. dahliae* από τα αγγεία των φυτών μελιτζάνας για τις επεμβάσεις C-: Αρνητικός μάρτυρας, C+: Θετικός μάρτυρας, Α: Κομπόστ Α, Β: Κομπόστ Β, Γ: Κομπόστ Γ, Δ: Κομπόστ Δ, Ε: Κομπόστ Ε, Ζ: Κομπόστ Ζ. Οι απομονώσεις πραγματοποιήθηκαν σε οξιμισμένο PDA. Για κάθε επέμβαση χρησιμοποιήθηκαν 16 τυχαία επιλεγμένα φυτά μελιτζάνας.

Η επίδραση των 6 διαφορετικών κομπόστ στην ανάπτυξη των φυτών αξιολογήθηκε με τη μέτρηση του αριθμού των φύλλων, του ύψους και του νωπού βάρους των φυτών κατά το πέρας του πειράματος. Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε ότι κανένα από τα υπό αξιολόγηση υποστρώματα δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση ως προς τον αριθμό των φύλλων σε σύγκριση με τον θετικό μάρτυρα. Η μόνη στατιστικά σημαντική διαφορά που διαπιστώθηκε, αφορούσε στον αριθμό των φύλλων του αρνητικού μάρτυρα με τιμή σχεδόν διπλάσια σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες επεμβάσεις (Γράφημα 3.4). Αντίστοιχα είναι τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις μετρήσεις του ύψους των φυτών κατά το τέλος του πειράματος. Όπως απεικονίζεται στο γράφημα 3.5, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς το ύψος μεταξύ των φυτών των διαφορετικών επεμβάσεων, παρά μόνο στην περίπτωση του αρνητικού μάρτυρα όπου το μέσο ύψος των φυτών ήταν επίσης διπλάσιο σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες επεμβάσεις.

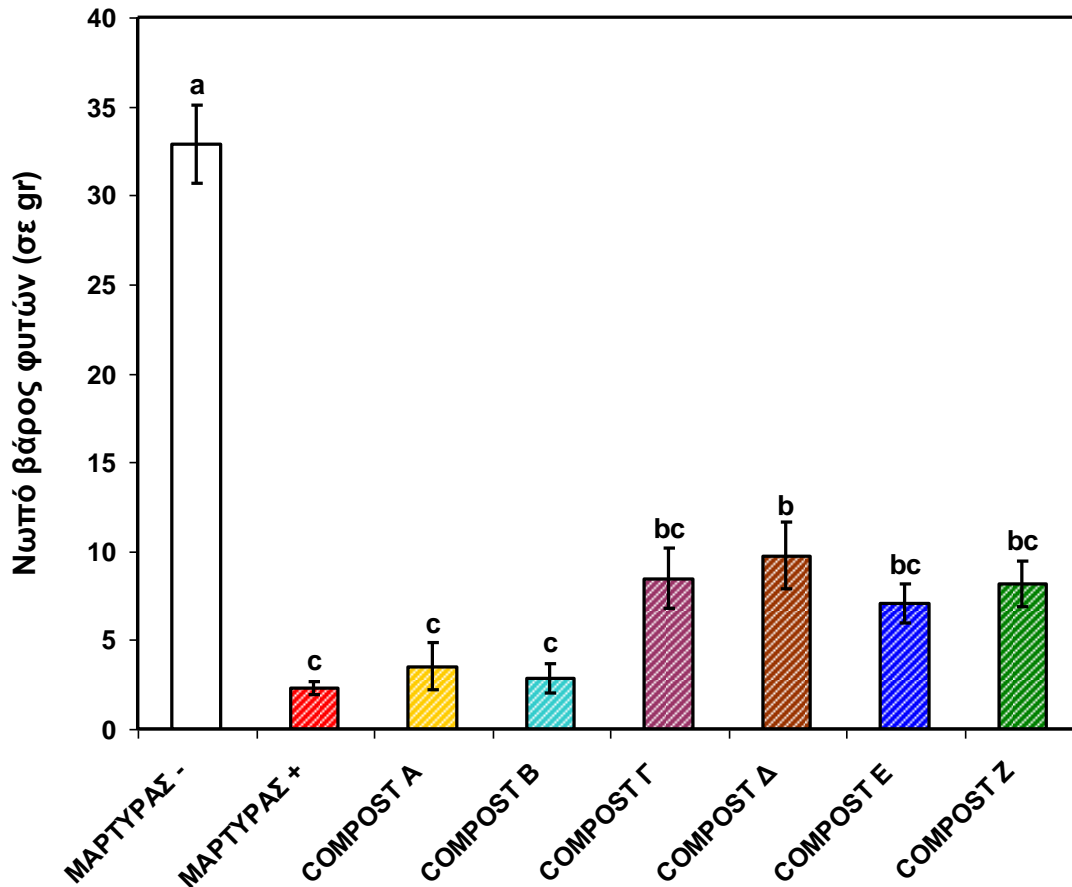


Γράφημα 3.4. Συγκριτική διαφοροποίηση του μέσου αριθμού φύλλων σε φυτά μελιτζάνας ως αποτέλεσμα της επίδρασης των 6 διαφορετικών κομπόστ (A, B, Γ, Δ, E και Ζ) σε σχέση με το θετικό μάρτυρα (M+) και τον αρνητικό μάρτυρα (M-), 68 ημέρες μετά τη μόλυνση. Οι διακλαδιζόμενες γραμμές απεικονίζουν το τυπικό σφάλμα, ενώ οι στήλες που δεν συνδέονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με τη στατιστική δοκιμασία του Tukey για $P \leq 0.05$.



Γράφημα 3.5. Συγκριτική διαφοροποίηση του μέσου ύψους των φυτών μελιτζάνας ως αποτέλεσμα της επίδρασης των 6 διαφορετικών κομπόστ (A, B, Γ, Δ, E και Z) σε σχέση με το θετικό μάρτυρα (M+) και τον αρνητικό μάρτυρα (M-), 68 ημέρες μετά τη μόλυνση. Οι διακλαδιζόμενες γραμμές απεικονίζουν το τυπικό σφάλμα, ενώ οι στήλες που δεν συνδέονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με τη στατιστική δοκιμασία του Tukey για $P \leq 0.05$.

Ο τελευταίος παράγοντας που εκτιμήθηκε, προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην ανάπτυξη των φυτών ήταν η μέτρηση του νωπού τους βάρους. Ειδικότερα, διαπιστώθηκε ότι το κομπόστ Δ επέδρασε σημαντικά στην ανάπτυξη με αποτέλεσμα τα φυτά της επέμβασης αυτής να παρουσιάσουν στατιστικά υψηλότερες τιμές νωπού βάρους σε σχέση με τον θετικό μάρτυρα (Γράφημα 3.6). Αντίθετα, κανένα από τα υπόλοιπα 5 οργανικά υποστρώματα δεν είχε σημαντική επίδραση στον παράγοντα αυτό, ενώ τα φυτά του αμόλυντου μάρτυρα, όπως ήταν αναμενόμενο, παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες επεμβάσεις.



Γράφημα 3.6. Συγκριτική διαφοροποίηση του νωπού βάρους των φυτών μελιτζάνας ως αποτέλεσμα της επίδρασης των 6 διαφορετικών κομπόστ (A, B, Γ, Δ, E και Z) σε σχέση με το θετικό μάρτυρα (M+) και τον αρνητικό μάρτυρα (M-), 68 ημέρες μετά τη μόλυνση. Οι διακλαδιζόμενες γραμμές απεικονίζουν το τυπικό σφάλμα, ενώ οι στήλες που δεν συνδέονται με το ίδιο γράμμα διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με τη στατιστική δοκιμασία του Tukey για $P \leq 0.05$.

3.2. Συζήτηση-συμπεράσματα

Η βερτισιλλώση που προκαλείται από τον μύκητα *V. dahliae* αποτελεί σοβαρή απειλή για τις κηπευτικές και δενδροκομικές καλλιέργειες παγκοσμίως, καθώς δεν υπάρχουν αποτελεσματικά χημικά μέσα καταπολέμησης. Έτσι, γίνεται επιτακτική η ανάγκη εύρεσης εναλλακτικών μεθόδων αντιμετώπισης της ασθένειας. Τέτοιες μέθοδοι αποτελούν η ηλιοαπολύμανση, η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών και υποκειμένων, η εφαρμογή βιολογικών παραγόντων και η εφαρμογή οργανικών εδαφοβελτιωτικών όπως είναι τα ζυμωμένα οργανικά υποστρώματα (κομπόστ).

Η αύξηση της χρήσης των κομπόστ στις κηπευτικές και δενδροκομικές καλλιέργειες ως εδαφοβελτιωτικά και πηγή θρεπτικών ενώσεων για τα φυτά, με την επίδραση των μικροβιακών πληθυσμών του εδάφους θα συνέβαλε στην ανακύκλωση

των αποβλήτων και στη μείωση των μη ανακυκλώσιμων χημικών λιπασμάτων. Επίσης, τα κομπόστ αποτελούν υπόστρωμα για μικροοργανισμούς ή εξειδικευμένους παράγοντες οι οποίοι είναι δυνατόν να ανταγωνίζονται, να προκαλούν αντιβίωση ή να επάγουν την αντοχή των φυτών, εναντίων των φυτοπαθογόνων (Hoitink and Boehm, 1999; De Clercq et al., 2004). Ήδη πριν από έξι δεκαετίες περίπου, ο Wilhelm (1951) διαπίστωσε ότι η χρήση ιχθυαλεύρων ως εδαφοβελτιωτικά είχε τη δυνατότητα να μειώνει τη βερτισιλλίωση της τομάτας σε πειράματα θερμοκηπίου. Σε μεταγενέστερες εργασίες (Lazarovits et al., 1999; Conn and Lazarovits, 1999) διαπιστώθηκε ότι η χρήση ιχθυαλεύρων, αλεύρων από σόγια και κοπριάς πουλερικών, είχε σημαντική επίδραση στη μείωση της σοβαρότητας της ασθένειας σε πειράματα αγρού. Η κατασταλτική δράση των παραπάνω οργανικών πρόσθετων αποδόθηκε από πολλούς ερευνητές στην απελευθέρωση ποσοτήτων αμμωνίας (Gilpatrick, 1969; Huber and Watson, 1970; Tenuta and Lazarovits, 2002).

Πρόσφατα, μία ομάδα ερευνητών από χώρες της Ευρώπης αξιολόγησαν ένα μεγάλο αριθμό κομπόστ, ως προς τη δυνατότητά τους να καταστέλλουν ένα ευρύ φάσμα ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου και του μύκητα *V. dahliae* (Termorshuizen et al., 2006). Για ορισμένα κομπόστ έχει διαπιστωθεί ότι μηχανισμός της κατασταλτικής τους δράσης είναι η επαγόμενη διασυστηματική αντοχή (ISR) (Zhang et al., 1996; Paplomatas et al., 2005; Markakis et al., 2008) ενώ για κάποια άλλα όχι (Paplomatas et al., 2005; Markakis et al., 2008). Σε αρκετές εργασίες έχει αναφερθεί απώλεια της κατασταλτικής δράσης των κομπόστ μετά από αποστείρωση ή παστερίωση (Cotxarrera et al., 2002; Reuveni et al., 2002; Malandraki et al., 2007). Συνεπώς, στις περιπτώσεις αυτές η κατασταλτική δράση οφείλεται κυρίως σε βιολογικούς και όχι σε χημικούς ή φυσιολογικούς παράγοντες (Noble and Coventry, 2005; Malandraki et al., 2007) οι οποίοι μπορεί να έχουν άμεση ή έμμεση επίδραση στην υγεία των φυτών.

Στην παρούσα εργασία αξιολογήθηκε η κατασταλτική δράση διαφόρων κομπόστ, κατά της βερτισιλλίωσης σε έναν από τους πιο ευπαθείς στην ασθένεια ξενιστές, τη μελιτζάνα. Παρά την υψηλή συγκέντρωση μολύσματος που εφαρμόστηκε (45 μικροσκληρώτια/γρ. χώματος), η οποία σπάνια απαντά σε συνθήκες φυσικής μόλυνσης, διαπιστώθηκε ότι κάποια από τα υπό δοκιμή κομπόστ (Γ, Δ, Ε, και Ζ) είχαν τη δυνατότητα να καταστέλλουν σημαντικά την ένταση και τη σοβαρότητα της ασθένειας σε σχέση με τον μάρτυρα. Σε προηγούμενη εργασία, οι Markakis et al., (2008) διαπίστωσαν ότι 2 από συνολικά 7 επιλεγμένα κομπόστ είχαν τη δυνατότητα να περιορίζουν τα συμπτώματα της βερτισιλλίωσης στη μελιτζάνα σε πειράματα

θερμοκηπίου, ενώ μόνο το ένα από αυτά είχε τη δυνατότητα να επάγει τη διασυστηματική αντοχή (ISR) στην αραβίδοψη (*Arabidopsis thaliana*), κατά του *V. dahliae*. Σε άλλη εργασία, οι Malandraki et al. (2007) δημοσίευσαν την δυνατότητα του Ελληνικής προελεύσεως κομπόστ GR6 να καταστέλλει τη βερτισιλλίωση της μελιτζάνας σε πειράματα θερμοκηπίου και αγρού, χωρίς όμως να επιφέρει σημαντική αύξηση στην παραγωγή. Στην ίδια εργασία, διαπιστώθηκε η απώλεια της κατασταλτικής δράσης του κομπόστ, όταν αυτό αποστειρώθηκε, υποδηλώνοντας την παρουσία μικροβίου, ως παράγοντα καταστολής.

Παρά το μεγάλο αριθμό εργασιών που αφορούν στην καταστολή της βερτισιλλίωσης με τη χρήση κομπόστ (Gilpatrick, 1969; Huber and Watson, 1970; Tenuta and Lazarovits, 2002; Paplomatas et al., 2005; Termorshuizen et al., 2006; Malandraki et al., 2007; Markakis et al., 2008), σε καμία έως τώρα εργασία δεν έχει διερευνηθεί εάν η μειωμένη εκδήλωση των συμπτωμάτων αντιστοιχούσε και σε μειωμένη παρουσία του παθογόνου στα αγγεία των φυτών. Από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, διαπιστώθηκε ότι η μείωση της έντασης των συμπτωμάτων είναι συνάρτηση της μειωμένης παρουσίας του μύκητα στα αγγεία του ξύλου, ενώ όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός καταστολής της ασθένειας, τόσο χαμηλότερο ήταν το ποσοστό των θετικών απομονώσεων του *V. dahliae*. Η μειωμένη παρουσία του παθογόνου στα αγγεία του ξύλου με τη χρήση των κομπόστ θα μπορούσε να αποβεί σωτήρια για τα φυτικά είδη που χαρακτηρίζονται από το φαινόμενο της αναρρώσεως από τη βερτισιλλίωση (Hiemsta, 1998), όπως η ελιά, η αμυγδαλιά, η ροδακινιά, η βερικοκιά, η φλαμουριά, η φυστικιά, το κακαόδενδρο και το αβοκάντο (Lopez escudero and Blanco Lopez, 2005).

Ωστόσο, παρά τα εντυπωσιακά αποτελέσματα ορισμένων από τα κομπόστ, ως προς τη δυνατότητά τους να καταστέλλουν την ασθένεια και να περιορίζουν την είσοδο του παθογόνου στα αγγεία του ξύλου, δεν παρατηρήθηκαν αντίστοιχα εντυπωσιακές διαφορές ως προς την ανάπτυξη των φυτών αυτών. Έτσι, ενώ τα κομπόστ E και Z επέφεραν μείωση των συμπτωμάτων κατά 60 % περίπου σε σχέση με το μάρτυρα, δεν παρατηρήθηκε αντίστοιχη αύξηση στην ανάπτυξη των φυτών (ύψος, νωπό βάρος, συνολικός αριθμός φύλλων). Αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες που επικρατούσαν κατά τη διάρκεια του πειράματος (το πείραμα εκτελέστηκε κατά τη χειμερινή περίοδο σε μη κλιματιζόμενο θερμοκήπιο με τιμές που συχνά προσέγγιζαν τους 0 °C), οι οποίες δεν επέτρεψαν στα φυτά των διαφορετικών επεμβάσεων να εξελιχθούν κανονικά, ώστε να διαφοροποιηθούν σημαντικά ως προς

την ανάπτυξή τους. Η μόνη στατιστική διαφορά που παρατηρήθηκε, αφορούσε το αυξημένο νωπό βάρος των φυτών ως αποτέλεσμα της επίδρασης του κομπόστ Δ σε σχέση με το μάρτυρα, υποδηλώνοντας ενδεχομένως και την αυξημένη συγκέντρωση του συγκεκριμένου κομπόστ σε θρεπτικά στοιχεία.

Τα αποτελέσματα τις παρούσας εργασίας διεγείρουν το ενδιαφέρον για πρόσθετη μελλοντική έρευνα προκειμένου να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητα των 4 κομπόστ (Γ, Δ, Ε και Ζ) και σε πειράματα αγρού, υπό συνθήκες φυσικής μόλυνσης, και να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητά τους στην πράξη. Στη συνέχεια, θα πρέπει να διερευνηθεί ο μηχανισμός της κατασταλτικής δράσης των πιο αποτελεσματικών κομπόστ. Όπως αναφέρθηκε και πριν, υπάρχουν περιπτώσεις που η κατασταλτική δράση οφείλεται κυρίως σε χημικούς ή φυσιολογικούς παράγοντες (Gilpatrick, 1969; Huber and Watson, 1970; Tenuta and Lazarovits, 2002; Noble and Coventry, 2005; Malandraki et al., 2007). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον ωστόσο παρουσιάζουν οι περιπτώσεις απομόνωσης και αξιολόγησης μεμονωμένων ή ομάδων βιολογικών παραγόντων που αναπτύσσονται μέσα στα κομπόστ, ως παράγοντες καταπολέμησης των ασθενειών των φυτών (Tjamos et al., 2004; Malandraki et al., 2007). Οι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί μπορεί να επιδρούν αρνητικά στα παθογόνα με την παραγωγή αντιβιοτικών (Whipps, 1997), λυτικά ή άλλα εξωκυτταρικά ένζυμα και ενώσεις (Lorito et al., 1994), ανταγωνίζοντας σε θρεπτικά στοιχεία (Hoitink et al., 1993;1997), χώρο ή οξυγόνο, παρασιτισμό και προκαλώντας την επαγόμενη διασυστηματική ανοχή στα φυτά (Weller, 1988). Σημαντικό παράγοντα στη βιολογική καταπολέμηση των εδαφογενών παθογόνων αποτελεί η ικανότητα του βιολογικού παράγοντα να αποικίζει τη ριζόσφαιρα και η δυνατότητά του για ενδοφυτική ανάπτυξη, καθώς η ριζόσφαιρα αποτελεί των πρώτη γραμμή άμυνας των φυτών, ενάντια στα επιτιθέμενα παθογόνα (Weller, 1988; Tjamos et al., 2004). Επίσης, η ενδοφυτική ανάπτυξη του βιολογικού παράγοντα του παρέχει τη δυνατότητα να επιβιώνει εντός των φυτών με ελάχιστο ή ανύπαρκτο ανταγωνισμό. Ως εκ τούτου, μπορούν να παρέχουν στα φυτά μια σταθερή προστασία κατά των ασθενειών των αγγείων (Nejad and Johnson, 2000).

Συμπερασματικά, γίνεται αντιληπτό ότι η χρήση των κομπόστ ως εδαφοβελτιωτικά αποτελεί πολλά υποσχόμενη προσέγγιση σε ότι αφορά την προσπάθεια αντιμετώπισης της βερτισιλλώσεως ή και άλλων παθογόνων που προκαλούν αδρωμκώσεις στα φυτά. Σε μελλοντικά πειράματα θα πρέπει να δοθεί έμφαση στην προσπάθεια εύρεσης του παράγοντα ή των παραγόντων καταστολής (μικροβιακοί, χημικοί ή φυσιολογικοί παράγοντες) που προέρχονται από τέτοιου τύπου

εδαφοβελτιωτικά, καθώς τα κομπόστ χαρακτηρίζονται από έλλειψη σταθερότητας της βιολογικής, φυσιολογικής και χημικής τους σύστασης. Η αστάθεια των ζυμωμένων οργανικών υποστρωμάτων αποτελεί τον κυριότερη ίσως αιτία που αποτρέπει την ευρεία χρήση τους στις κηπευτικές και δενδροκομικές καλλιέργειες ως παράγοντες καταστολής.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο
«ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

4. Βιβλιογραφία

- Adams, D.R. and Tattar, T.A. 1975. Effect of host source of inoculum on pathogenicity of *Verticillium albo-atrum* isolates in sugar maple. Proceedings of American Phytopathological Society 2: 93-94.
- Agrios, G.N. 1988. Plant pathology. Academic Press, New York, London. 3rd ed., 803 pp.
- Alexopoulos, C.J. and Mims, C.W. 1959. Introductory Mycology. 3rd. John Wiley & Sons.
- Anonymous. 1959. *Verticillium albo-atrum* Reinke and Berth. Map No 365. Edition 2. Commonwealth Mycological Institute, Kew.
- Anonymous. 1979. *Verticillium albo-atrum* Reinke and Berth. Map No 365. Edition 3. Commonwealth Mycological Institute, Kew.
- Baker, R., 1968 Mechanism of Biological control of soilborne pathogens. Annual Review of Phytopathology 6: 901-903.
- Beckman, C.H. 1987. The Nature of Wilt Diseases of Plants. APS Press, St. Paul, Minnesota. 175 pp.
- Bell, A.A. 1992. Verticillium wilt. Pagew 87-126 in :Cotton Diseases. R.j.Hillocks, ed. C.A.B International, Wallingford, UK.
- Bender, C.G., Shoemaker, P.B. 1984. Rrevalence of Verticillium wilt of tomato and virulence of *verticillium dahliae* race 1 and race 2 isolates in western North Carolina. Plant Disease 68: 305-309.
- Bhat, R.G., Smith R.F., Koike S.T., Wu B.M., Subbarao K.V. 2003. Characterization of *Verticillium dahliae* isolates and wilt epidemics of pepper. Plant Disease 87:789-797.
- Bhat R.G. and Subbarao K.V. 1999. Host range specificity in *Verticillium dahliae*. Phytopathology 89: 1218-1225.
- Conn, K.L., Lazarovits, G., 1999. Impact of animal manures on verticillium wilt, potato scab, and soil microbial populations. Canadian Journal of Plant Pathology 21: 81–92. Cook, R.J., 1985.
- Biological control of plant pathogens: Theory of application. Phytopathology 75: pp. 25-29.

- Cotxarrera, L., Trillas-Gay, M.I., Steinberg, C., Alabouvette, C., 2002. Use of sewage sludge κομπόστ and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *Fusarium* wilt of tomato. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 467–476.
- Dayyf, F., Nicole M. and Geiger J.P. 1995. Differentiation of *Verticillium dahliae* populations on the basis of vegetative compatibility and pathogenicity on cotton. *European Journal of Plant Pathology* 101: 69-79.
- De Clercq D, Vandesteene L, Coosemans J, Ryckeboer J. Use of κομπόστ as suppressor of plant diseases. In: Lens P, Hamelers B, Hoitink HAJ, Bidlingmaier W (eds), *Resource Recovery and Reuse in Organic Solid Waste Management*, London, UK, IWA Publishing, 2004, pp. 317–337.
- Dervis, S., Yetisir, H., Yildirim, H., Tok, F.M., Kurt, S. and Karaca, F. 2009. Genetic and pathogenic characterization of *Verticillium dahliae* isolates from eggplant in Turkey. *Phytoparasitica* 37: 467-476.
- Devaux, A.L. and Sackston, W.E. 1966. Taxonomy of *Verticillium* species causing wilt of horticultural crops in Quebec. *Canadian Journal of Botany* 44: 803-811.
- Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T.H. 1980. *Compendium of Soil Fungi*, Volume 1. Academic Press, London, U K.
- Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T.H. 1980. *Compendium of Soil Fungi*, Volume 1. Academic Press, London, U K.
- Donohue, F.M. III and Morehart, A.L. 1978. The pathogenicity of isolates of *Verticillium* spp. to yellow poplar. *Phytopathology News* 12: 68 (abstract).
- Easton, G.D., Nagle, M.E. and Bailey, D.L. 1974. Fumigants rates and application methods affecting *Verticillium* wilt incidence and potato yield. *American Potato Journal* 51: 71-77.
- Ebihara, Y., Nagao, H., Koike, M., Shiraishi, T. 2009. Assesment of Vegetative Compatibility of Japanese Isolates of *Verticillium dahliae* with Standardized VCG Testers. In: *Advances in Verticillium Research and Disease Management. Proceedings of Seventh International Verticillium Symposium*. CAPE SOUNION, Greece. October 1997. American Phytopathological Society, St. Paul. 117-121.
- Emmaty, D.A., Green R.J., 1963. Fungistasis and the behaviour of the microsclerotia formed by *Verticillium albo-atrum* in soil. *Phytopathology* 59. 260-264.
- Engelhard, A.W. 1957. Host index of *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold (including *Verticillium dahliae* Kleb.). *Plant Disease Reporter Supplement* 244: 23-49.

- Erhan-Core, M. 2009. Vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium dahliae* isolates from chrysanthemum in Turkey. *Phytoparasitica* 37: 87-94.
- Evans, G. 1971. Influence of weed hosts on the ecology of *Verticillium dahliae* in newly cultivated areas in the Namoi Valley, New South Wales. *Annales of Applied Biology* 67: 169-175.
- Fletcher, J.T., Harris, P.A., Bant, J.H. and Colins, C. 1977. Survey of diseases of glasshouse tomato crops in Yorkshire and Lancashire in 1974 and 1975. *Plant Pathology* 26: 49-57.
- Gams, W. and van Zaayen, A. 1982. Contribution to the taxonomy and pathogenicity of fungicolous *Verticillium* species. I. Taxonomy. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 88: 57-78.
- Garber, R.H. and Houston, B.R. 1966. Penetration and development of *Verticillium albo-atrum* in the cotton plant. *Phytopathology* 56: 1121-1126.
- Geric, J.S. & Huisman, O.C., 1985. Mode of colonization of roots by *Verticillium dahliae* and *Fusarium*. In : Parker C.A., Rovita A.D., Moore K.J. & Wong P.T.W. Eds. *Ecology and Management of Soilborn Plant Pathogens*. American Phytopathological Society, St. Paul 80-83.
- Gilpatrick, J.D., 1969. Role of ammonia in the control of avocado root rot with alfalfa meal soil amendment. *Phytopathology* 59: 973-978.
- Grogan, R.G., Ioannou N., Schneider R.W., Sall M.A. and Kimble K.A. 1979. *Verticillium* wilt on resistant tomato cultivars in California: Virulence of isolates from plant and soil and relationship of inoculum density to disease incidence. *Phytopathology* 69: 1176-1180.
- Hall, D.H., Kimble K.A. and Smith P.G. 1972. An isolate of *Verticillium* found pathogenic to wilt-resistant tomatoes. *Calif. Agric.* 26: 3.
- Hayes, R.J., Vallad G.E., Qin Q.M., Grube R.C. and Subbarao K.V. 2007. Variation for resistance to *Verticillium* wilt in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Plant Disease*. 91: 439-445.
- Hagiwara, H. 1990. Differentiation of the pathogenicity of *Verticillium dahliae* in Japan. *Plant Protection* 44: 299-303.
- Hawke, M.A. and Lazarovits, G. 1994. Production and manipulation of individual microsclerotia of *Verticillium dahliae* for use in studies of survival. *Phytopathology* 84: 883-890.

- Hawksworth, D.L. and Talboys, P.W. 1970 *Verticillium dahliae*. Production of pathogenic fungi and bacteria No 256. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- Heale, J.B. and Isaac I. 1963. Wilt of lucerne caused by species of *Verticillium*. IV. Pathogenicity of *V. albo-atrum* and *V. dahliae* to lucerne and other crops: spread and survival of *V. albo-atrum* in soil and in weeds, effect upon lucerne production. *Annales of Applied Biology* 52: 439-451.
- Hiemstra, J.A. 1998. Some general features of *Verticillium* wilt in trees. In: *Compendium of Verticillium wilt in Tree Species* (pp. 5-110) Ponsen & Looijen, Wageningen, The Netherlands.
- Hoitink, H.A.J., Inbar, Y., Boehm, M.J., 1993. Κομπόστ can suppress soil-borne diseases in container media. *American Nurseryman* 178: 91-94.
- Hoitink, H.A.J., Stone, A.G., Han, D.Y., 1997. Suppression of plant disease by κομπόστς. *Horticulture Science* 32: 184-187.
- Hoitink HAJ, Boehm MJ. (1999) Biocontrol within the context of soil microbial communities: a soil-dependent phenomenon. *Ann. Rev. Phytopathol* 37: 427-446.
- Horiuchi, S., Hagiwara H. and Takeuchi S. 1990. Host specificity of isolates of *Verticillium dahliae* towards cruciferous and solanaceous plants. Pages 285-298 in: *Biological Control of Soil-Borne Plant Pathogens*. D. Hornby, ed. Wallingford, Oxon, U.K. CAB International. (In Review of Pathology 69: 5308, 1990).
- Horner, C.E. 1954. Pathogenicity of *Verticillium* isolates to peppermint. *Phytopathology* 44: 239-242.
- Horst, K.R. 1990. Westcott 's Plant Disease Handbook. 5th edition.
- Huber, D.M. and Watson, R.D., 1970. Effect of organic amendment on soilborne plant pathogens. *Phytopathology* 60: 22-26.
- Huisman, O.C. and Gerik, J.S. 1989. Dynamics of colonization of plant roots by *Verticillium dahliae* and other fungi. Pages 1-17 in: Tjamos, E.C. and Beckman, C.H. (eds.). *Vascular Wilt Diseases of Plants. Basic studies and control*. Springer, Berlin (NATO-ASI Series, Vol. H28) 590 pp.
- IMI (International Mycological Institute); 1970a. *Verticillium albo-atrum*. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No. 255. CAB International, Wallingford. Oxon UK. 2 pp.

- IMI (International Mycological Institute); 1970a. *Verticillium dahliae*. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No. 256. CAB International, Wallingford. Oxon UK. 2 pp.
- Isaac, I. 1949. A comparative study of pathogenic isolates of *Verticillium*. Transactions of the British Mycological Society 32: 137-159.
- Isaac, I. 1953. A further comparative study of pathogenic isolates of *Verticillium*: *V. nubilum* Pethybr. and *V. tricorpus* sp. nov. Transactions of the British Mycological Society 36: 180-195.
- Isaac I. 1957. Verticillium wilt of brussels sprout. Annales of Applied Biology. 45: 276-283
- Isaac, I. 1967. Speciation in *Verticillium*. Annual Review of Phytopathology 5: 201-222.
- Isaac, I. and Harrison, J.A.C. 1968. The symptoms and causal agents of early-dying disease (*Verticillium* wilt) of potatoes. Annales of Applied Biology. 61: 231-244.
- Jabnoun-Kniareddine, H., Daami-Remadi, M., Ayed, F., EI Mabjour, M. 2007. Incidence and distribution of *Verticillium dahliae* races infecting tomato in Tunisia. Tunisian Journal of Plant Protection 2: 63-70.
- Jimenez-Diaz, R.M., Mercado-Blanco J., Olivares-Garcia C., Collado-Romero M., Bejarano-Alcazar J. 2006. Genetic and virulence diversity in *Verticillium dahliae* populations infecting artichoke in eastern-central Spain. Phytopathology 96: 288-298.
- Kaiser, W.J. 1964. Effects of light on growth and sporulation of the *Verticillium* wilt fungus. Phytopathology 54: 765-770.
- Karapapa, V.K., Bainbridge, B.W. and Heale, J.B. 1997. Morphological and molecular characterization of *Verticillium longisporum* comb. nov., pathogenic to oilseed rape. Mycological Research 101: 1281-1294.
- Katan, J., 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. Annual Review of Phytopathology 19: 211-213.
- Kiraly, Z., Klement, Z., Solymosy, F. and Voros, J. 1970. Methods in Plant Pathology. Akademiai Kiado, Budapest.
- Klisiewicz, J.M. 1981. Reaction of sunflower and safflower germ plasm to *Verticillium dahliae*. Plant Disease 65: 237-239.

- Koike, M., Fujita M., Nagao H. and Oshima S. 1996. Random amplified polymorphic DNA analysis of Japanese isolates of *Verticillium dahliae* and *V. albo-atrum*. Plant Disease 80: 1224-1227.
- Korolev, N. Perez-Artes, E. Bejarano-Alcazar, J. Rodriguez-Jurado, D. Katan, J. Katan, T. and Jimenez-Diaz, R.M. (2001). Comparative study of genetic diversity and pathogenicity among populations of *Verticillium dahliae* from cotton in Spain and Israel. European Journal of Plant Pathology 107: 443–456.
- Krikun, J. and Chorin, M. 1966. *Verticillium* - A new soil pathogen in the Neveg region of Israel. Israel Journal of Agricultural Research 16: 177-178.
- Krikun, J. and Orion, D. 1979. Verticillium wilt of potato: Importance and control. Phytoparasitica 7: 107-116.
- Krikun, J. and Susnoschi, M. 1971. Introduction and establishment of *Verticillium dahliae* in a newly - developed arid zone (Abstr.) Page 38 in: Proc. 1st International Verticillium Symposium, Sept. 19-23, Wye College, Ashfold Kent, England.
- Latuda-Data, A.O. and Lucas, J.A., 1983. Resistance plants as symptomless carriers of *Verticillium albo-atrum*. Plant Disease 69: 510-511.
- Lazarovits, G., Conn, K.L., Potter, J., 1999. Reduction of potato scab, Verticillium wilt, and nematodes by soymeal and meat and bone meal in two Ontario potato fields. Canadian Journal of Plant Pathology 21: 345–353.
- Ligoxigakis, E.K. 1991. Identification of physiological races of *Verticillium dahliae* on tomatoes in Crete. Master Thesis, M.A.I.C.H. pp.64.
- Ligoxigakis, E.K. and Markakis, E.A. 2012. Incidence and pathogenicity of races and isolates of *Verticillium dahliae* in Crete (Southern Greece). Phytoparasitica (accepted).
- Ligoxigakis, E.K. and Vakalounakis D.J. 1992. Occurrence of race 2 of *Verticillium dahliae* on tomatoes in Crete. Plant Pathology 41: 774-776.
- Ligoxigakis, E.K. and Vakalounakis, D.J. 1994. The incidence and distribution of races of *Verticillium dahliae* in Crete. Plant Pathology 43: 755-758.
- Ligoxigakis, E.K., Vakalounakis D.J. and Thanassouloupoulos C.C. 2002a. Host range of *Verticillium dahliae* in cultivated species in Crete. Phytoparasitica 30(2): 141-146.

- Ligoxigakis, E.K., Vakalounakis D.J. and Thanassoulopoulos C.C. 2002b. Weed hosts of *Verticillium dahliae* in Crete: Susceptibility, symptomatology and significance. *Phytoparasitica* 30(5): 511-518.
- Lopez-Escudero, F.J. and Blanco-Lopez, M.A. 2005. Recovery of young olive trees from *Verticillium dahliae*. *European Journal of Plant Pathology* 113: 367-375.
- Lorito, M., Peterbauer, C., Hayes, C.K., Harman, G.E., 1994. Synergistic interaction between fungal cell wall degrading enzymes and different antifungal compounds enhances inhibition of spore germination. *Microbiology* 140: 623–629.
- Louis, B. and Linn M.B. 1953. Studies on *Verticillium albo-atrum* isolated from pepper and eggplant. (Abstr.) *Phytopathology* 43: 466.
- Ludbrook, W.V. 1933. Pathogenicity and environal studies on *Verticillium hadromycosis*. *Phytopathology* 23: 117-154
- Malandraki, I., Tjamos S.E., Pantelides I.S. and Paplomatas E.J. 2007. Thermal Inactivation of κομπόστ suppressiveness implicates possible biological factors in disease management. *Biological Control* 44: 180-187.
- Markakis, A.E., Tjamos, S.E., Chatzipavlidis, I., Antoniou, P.P. and Paplomatas, E.J. 2008. Evaluation of κομπόστ amendments against vascular wilt pathogens. *European Journal of Plant Pathology* 156: 622-627.
- Markakis, E.A., Tjamos S.E., Antoniou P.P., Paplomatas E.J. and Tjamos E.C. 2009. Symptom development, pathogen isolation and Real-Time QPCR quantification as factors for evaluating the resistance of olive cultivars to *Verticillium* pathotypes. *European Journal of Plant Pathology* 124: 603-611.
- McCammom, K.R. and Honma, S. 1983. Morphological and cytogenetic analyses of an interspecific hybrid eggplant, *Solanum melongena* x *Solanum torvum*. *HortScience* 18: 894-895.
- Mercado-Blanco, J., Collado-Romero, M., Parrilla-Araujo, S., Rodriguez-Jurado, D. and Jimenez-Diaz, R.M. 2003. Quantitative monitoring of colonization of olive genotypes by *Verticillium dahliae* pathotypes with real-time polymerase chain reaction. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 63: 91-105.
- Morehart, A.L., Donohue, F.M. and Melchior, G.L. 1980. *Verticillium* wilt of yellow poplar (*Liriodendron tulipifera* L). *Phytopathology* 70: 756-760.
- Nachmias, A. and Kridun, J. 1984b. The role of toxins in the pathogenesis of *Verticillium dahliae* on potato. *Phytopathologia Mediterranea* 23: 210.

- Nazar, R.N., Hu, X., Schmidt, J., Culham, D. and Robb, J. 1991. Potential use of PCR-amplified ribosomal intergenic sequences in the detection and differentiation of *verticillium* wilt pathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 39: 1-11.
- Nejad, P. and Johnson, P.A., 2000. Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. *Biological Control* 18: 208–215.
- Neubauer, C., Heitmann, B. and Vogel, C. 2009. Morphology, vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium dahliae* isolates from woody ornamentals in Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection* 116: 109-114.
- Operating Manual for Gerhardt 's Kjeldahl System.
- Noble, R., Coventry, E., 2005. Suppression of soil-borne plant diseases with κομπόστς: a review. *Biocontrol Science and Technology* 15: 3–20.
- Paplomatas, E.J., Tjamos, S.E., Malandrakis, A.A., Kafka, A., Zouvelou, V.S., 2005. Evaluation of κομπόστς amendments for suppressiveness against *Verticillium* wilt of eggplant and study of mode of action using a novel *Arabidopsis* pathosystem. *European Journal of Plant Pathology* 110: 35–44.
- Pegg, G.F. 1974. *Verticillium* diseases. *Review of Plant Pathology* 53: 157-182.
- Pegg, G.F. 1984. The impact of *Verticillium* diseases in agriculture. *Phytopathologia Mediterranea* 23: 176-192.
- Pegg, G.F. and Brady, B.L. 2002. *Verticillium* Wilts. CABI Publishing, Wallingford, U. K.
- Pennypacker, B.W., Leat, K.T. and Hill R.R.Jr., 1985. Resistant plants as symptomless carriers of *V.albo-atrum*. *Plant Disease* 69: pp. 510-511.
- Puhalla, J.E. 1979. Classification of isolates of *Verticillium dahliae* based on heterokaryon incompatibility. *Phytopathology* 69:1186-1189.
- Resende, M.L., Flood V.J. and Cooper R.M. 1994. Host specialization of *Verticillium dahliae*, with emphasis on isolates from cocoa (*Theobroma cacao*). *Plant Pathology* 43: 104-111.
- Reuveni, R., Raviv, M., Krasnovsky, A., Freiman, L., Medina, S., Bar, A., Orion, D., 2002. Κομπόστς induces protection against *Fusarium oxysporum* in sweet basil. *Crop Protection* 21: 583–587.
- Riley, M.K. and Bosland P.W. 1997. Host specificity of United States tomato and chile isolates of *Verticillium dahliae*. *Capsicum & Eggplant Newsletter* 16: 98-100.

- Rowe, R.C. 1985. Potato early dying - a serious threat to the potato industry. *American Potato Journal* 62: 157-161.
- Sackston, W.E., McDonald, W.C. and Martens, J. 1957. Leaf mottle or *Verticillium* wilt of sunflower. *Plant Disease Reporter* 41: 337-343.
- Schaible, L., Cannon O.S. and Waddoups V. 1951. Inheritance of resistance to *Verticillium* wilt in a tomato cross. *Phytopathology* 41:986-990.
- Schnathorst, W.C. 1964. A fungal complex associated with the sudden wilt syndrome in California cotton. *Plant Disease Reporter* 48: 90-92.
- Schnathorst, W.C. and Mathre D.E.. 1966b. Cross-protection in cotton strains of *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology* 56: 1204-1209.
- Schnathorst, W.C. and Sibbett G.S. 1971a. T-1 *Verticillium* strain... a major factor in cotton and olive wilt. *California Agriculture*. XXV: 3-5.
- Schnathorst, W.C. and Sibbett G.S. 1971b. The relation of strains of *Verticillium albo-atrum* to severity of *Verticillium* wilt in *Gossypium hirsutum* and *Olea europaea* in California. *Plant Disease Reporter* 55:780-782.
- Schubert, P., Gollmack, J., Schwarzel, H. and Lentzsch P. 2008. Pathogenicity in *Verticillium* on strawberry plants. In: Boos, Markus (Ed.) *Ecofruit - 13th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing: Proceedings to the Conference from 18th February to 20th February 2008 at Weinsberg/Germany*, pp. 138-143.
- Scnathorst, W.C. 1981. Life-cycle and epidemiology of *Verticillium*. In: Mace, M.E., Bell, A.A., Beckman, C.H. Eds. *Fungal wilt diseases of plants*. Academic press, New York, pp. 82-111.
- Sherf, A.F. & Macnab, A.A., 1986. *Vegetable diseases and their control*. 2nd edition. John Wiley and sons, Chichester, England
- Smith, H.C. 1965. The morphology of *Verticillium albo-atrum*, *V. dahliae*, and *V. tricorpus*. *New Journal of Agricultural Research*. 8: 450-478.
- Smith, I.M., Dunez, J., Phillips, P.H., Lelliot, R.A. and Archer S.A. 1986. *European handbook of plant diseases*. Blackwell Scientific Publications pp. 299-302.
- Smith, I.M., Dunez, J., Lelliot, R.A., Phillips, D.H. and Archer, S.A. 1988. *European Hand book of Plant Diseases*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 583 pp.
- Skotland, C.B. 1971. Pathogenic and non-pathogenic *Verticillium* species from South Central Washington. *Phytopathology* 61: 435-436.

- Snyder, W.C. and Smith, S.N. 1981. Current Status. In: Fungal Wilt Diseases of Plants. Mace, M.E., Bell, A.A. and Beckman, C.H. eds. Academic Press, Inc. 111 Fifth Ave., New York 10003, pp. 640.
- Subbarao, K.V., Hubbard J.C., Greathead A.S., Spencer G.A. 1997. Verticillium wilt: In Compendium of Lettuce Diseases, ed. Davis R.M., Subbarao K.V., Raid R.N., Kurtz E.A., pp. 26-27. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society.
- Taylor, J.B. 1969. Host specificity of *Verticillium dahliae* to tobacco. N. Z. J. Sci. 12: 701-712.
- Tenuta, M. and Lazarovits, G., 2002. Ammonia and nitrous acid from nitrogenous amendments kill microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 92: 255–264.
- Termorshuizen, A.J., Van Rijn, E., Van der Gaag, D.J., Alabouvette, C., Chen, Y., Lagerlof, J., Malandrakis, A.A., Paplomatas, E.J., Ramerte, B., Ryckeboerg, J., Steinberg, C., Zmora-Nahum, S., 2006. Suppressiveness of 18 κομπόστς against 7 pathosystems: variability in pathogen response. Soil Biology and Biochemistry 38: 2461–2477.
- Thanassouloupoulos, C.C. and Kitsos, G.T. 1972. Verticillium wilt in Greece. Plant Disease Reporter 56: 264-267.
- Tjamos, E.C. 1981. Virulence of *Verticillium dahliae* and *Verticillium albo-atrum* isolates in tomato seedlings in relation to their host of origin and the applied cropping system. Phytopathology 71: 98-100.
- Tjamos, E.C. 1989. *Verticillium dahliae* kleb. In: European handbook of plant diseases pp. 503. Edt. Smith I.M., Dunez J., Lelliot R.A., Phillips D.H., Arcer S.A.
- Tjamos, E.C. 1989. Problems and prospects in controlling Verticillium wilt. In: Vascular Wilt Diseases of Plants pp. 441-456. Springer-Verlag Berlin / Heidelberg.
- Tjamos, E.C. 1991. Recovery of olive trees with Verticillium wilt after individual application of soil solarization in established orchards. Plant Disease 75: 557-562.
- Tjamos, E.C., Tsitsiyannis D.I., Tjamos S.E., Antoniou P.P. and Katinakis P. 2004. Selection and screening of endorhizosphere bacteria from solarized soils as biocontrol agents against *Verticillium dahliae* of solanaceous hosts. European Journal of Plant Pathology 110: 35-44.
- Tolmsoff, W.J. 1972. Diploidization and heritable gene repression-derepression as major sources for variability in morphology, metabolism and pathogenicity of *Verticillium* species. Phytopathology 62: 407-413.

- Usami, T., Fukaya, M. and Amemiya, Y. 2008. Electrophoretic karyotyping and mapping of pathotype-specific DNA sequences in Japanese isolates of *Verticillium dahliae*. *Journal of General Plant Pathology* 74: 61-65.
- Vallad, G.E., Qin Q.M., Grube R., Hayes R.J. and Subbarao K.V., 2006. Characterization of race-specific interactions among isolates of *Verticillium dahliae* pathogenic on lettuce. *Phytopathology* 96: 1380-1387.
- Van den Ende, G. 1958. Untersuchungen über den Pflanzenparasiten *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth. Dissertatie LH-250, Landbouwhogeschool Wageningen (PhD-thesis LH-250 Agricultural University Wageningen). XII+85pp. Also published in: Mededeling No. 21, Phytopathologisch Laboratorium "Willie Commelin Scholten", Baarn; and in: *Acta Botanica Neerlandica* 7: 665-740.
- Weller, D.M., 1988. Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 26: 379-407.
- Whipps, J.M., 1997. Developments in the biological control of soilborne plant pathogens. *Advances in Botanical Research* 26: 1-134.
- Wilhelm, S. 1950a. Vertical distribution of *Verticillium albo-atrum* in soils. *Phytopathology* 40: 368-376.
- Wilhelm, S., 1951. Effect of various soil amendments on the inoculum potential of the *Verticillium* wilt fungus. *Phytopathology* 41: 684-690.
- Woolliams, G.E. 1966. Host range and symptomatology of *Verticillium dahliae* in conomic, weed and native plants in interior British Columbia. *Canadian Journal of Plant Science* 46: 661-669.
- Xiao, C.L., Subbarao K.V., Schulbach K.F. and Koike S.T. 1998. Effects of crop rotation and irrigation on *Verticillium dahliae* microsclerotia in soil in wilt in cauliflower. *Phytopathology* 88: 1108-1115.
- Zhang, W., Hoitink, H.A.J., Dick, W.A., 1996. Κομπόστ-induced systemic acquired resistance in cucumber to *Pythium* root rot and anthracnose. *Phytopathology* 86: 1066-1070.
- Αντωνίου, Π.Π., 1995. Συμβολή της ηλιοαπολύμανσης του εδάφους στην αντιμετώπιση φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών και η επίδραση της στην ανταγωνιστική μικροχλωρίδα του εδάφους. Διδακτορική διατριβή, Γ.Π.Α., Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας.
- Βαρδαβάκης, Μ., 1993 Συστηματική Βοτανική, τόμος I, έκδοση 3^η, εκδ. Σαλονικίδης, σελ. 42 & 89. Βιβλίο Γ.Π.Α.

- Ζιώγας, Β.Ν. & Γεωργόπουλος Σ.Γ., 1992. Αρχές και μέθοδοι καταπολέμηση των Ασθενειών των Φυτών. Σημειώσεις Γ.Π.Α.
- Παναγόπουλος, Χ.Γ. 1993. Ασθένειες Καρποφόρων Δέντρων και Αμπέλου. Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα σελ. 169-178.
- Παναγόπουλος, Χ.Γ. 1995. Ασθένειες Κηπευτικών Καλλιεργειών. Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα σελ. 67-73. Τζάμος, Ε.Κ., 1980. Παρουσία της φυλής 2 του *Verticillium dahliae* στην Ελλάδα.
- Χρονικά του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου 12: 217-218.
- Τζάμος, Ε.Κ., 2004. Μαθήματα φυτοπαθολογίας. Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε. pp. 89-91.