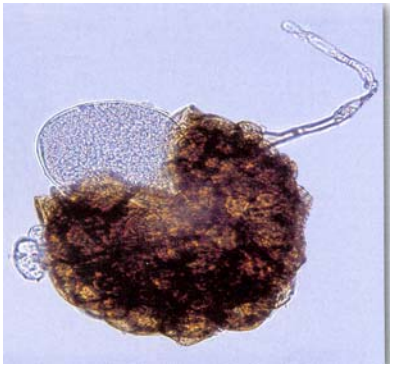
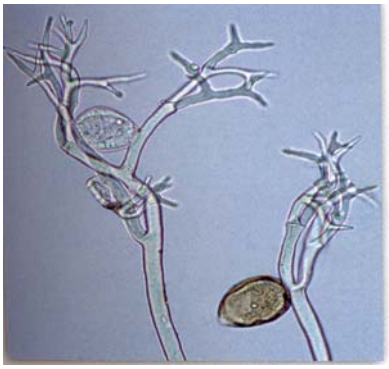
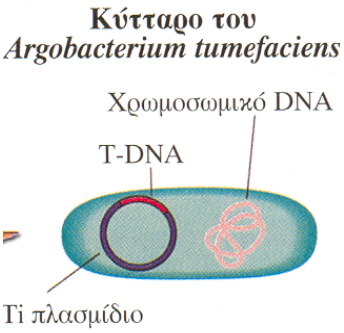
ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΑΘΟΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΑΓΓΟΥΡΙΑΣ ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΙΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟ, ΩΙΔΙΟ ΚΑΙ ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ







ΣΠΟΥΔΑΣΤΗΣ: ΜΑΝΩΛΗΣ ΚΟΥΡΟΥΠΑΚΗΣ

ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: Δρ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Ι. ΒΑΚΑΛΟΥΝΑΚΗΣ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με το πέρας της παρούσας πτυχιακής μου μελέτης κλείνει ο κύκλος των σπουδών μου στη Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας του Α.Τ.Ε.Ι. Κρήτης. Για το λόγο αυτό θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου σε όλους τους καθηγητές μου και ιδιαίτερα στο Δρα Δημήτρη Ι. Βακαλουνάκη, Τακτικό Ερευνητή του Ινστιτούτου Προστασίας Φυτών του Ε.Θ.Ι.ΑΓ.Ε. για την ανάθεση της πτυχιακής μου εργασίας και τη βοήθεια που μου πρόσφερε καθ' όλη τη διάρκειά της.

Αφιερώνεται στους
γονείς μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελ.

Α. ΕΙΣΑΓΩΓΗ …….5

Α.1. ΚΑΤΑΓΩΓΗ-ΙΣΤΟΡΙΚΟ…….....5

Α.2. ΣΗΜΕΡΙΝΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ……...5

Α.3. ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ…….....6

Α.4. ΒΟΤΑΝΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ……...7

Β. ΟΙ ΤΡΕΙΣ ΣΟΒΑΡΟΤΕΡΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΣΒΑΛΟΥΝ ΤΗΝ ΑΓΓΟΥΡΙΑ …….....9

Β.1. ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟΣ……....9

Β.2. ΩΙΔΙΟ……...11

Β.3. ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ……....14

Γ. ΟΙ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕ ΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΕΠΙΤΥΓΧΑΝΕΤΑΙ Η ΠΑΘΟΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΑΓΓΟΥΡΙΑΣ .....……...17

Γ.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ……....17

Γ.2. ΑΝΑΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΗ……..….17

Γ.2.1. ΤΑ ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΑΝΑΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΗΣ…….20

Γ.3. Η ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗΝ ΦΥΤΟΠΑΘΟΒΕΛΤΙΩΣΗ……..….21

Γ.3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΜΕ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ……..…22

Γ.3.2. ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ (ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ IN VITRO)……26

Γ.3.2.1. ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΑΝΑΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΗΣ……...28

Δ. ΦΥΤΟΠΑΘΟΒΕΛΤΙΩΣΗ…….29

Δ.1. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ…….29

Δ.2. ΑΝΤΟΧΗ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ…….….29

Δ.2.1. ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟΣ……29

Δ.2.2. ΩΙΔΙΟ…….30

Δ.2.3. ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ……..32

Δ.3. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΓΕΝΟΤΥΠΩΝ ΚΟΛΟΚΥΝΘΟΕΙΔΩΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΣΤΙΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ…….33

Δ.3.1.1. ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟΣ…….33

Δ.3.1.2. ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟΣ…….34
Δ.3.1.3. ΩΙΔΙΟ…….…….35
Δ.3.1.4. ΩΙΔΙΟ……..36
Δ.3.1.5. ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ……...37
Δ.3.1.6. ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ……...38
Δ.3.1.7. ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ……...39
Δ.3.2. ΕΠΙΛΟΓΗ ΣΤΗΡΙΖΟΜΕΝΗ ΣΕ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ……....40
Δ.4. ΕΜΠΟΡΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΚΑΙ ΥΒΡΙΔΙΑ ΑΓΓΟΥΡΙΑΣ ΜΕ ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΙΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟ, ΩΙΔΙΟ, ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ……...41
Δ.5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ…….…….49
Ε. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ……....50

Α. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Α.1. ΚΑΤΑΓΩΓΗ-ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Η αγγουριά έχει το επιστημονικό όνομα *Cucumis sativus* και ανήκει στην οικογένεια Cucurbitaceae (κολοκυνθοειδή). Πιστεύεται ότι είναι φυτό ενδογενές των Ινδιών. Προγενήτορας της αγγουριάς ίσως είναι το συγγενές είδος *Cucumis hardwickii*, το οποίο βρέθηκε στους πρόποδες των Ιμαλαΐων στο Νεπάλ. Τα φυτά του έχουν μακριούς βλαστούς, είναι ευαίσθητα στη φωτοπερίοδο και παράγουν πικρούς καρπούς. Στην Ινδία και σε άλλες γειτονικές χώρες έχουν βρεθεί κατά καιρούς φυτά με μεγάλη ποικιλομορφία όσον αφορά τα χαρακτηριστικά βλάστησης, το σχήμα του καρπού, το μέγεθος και το εξωτερικό του χρώμα.

Στο Ανατολικό Ιράν υπάρχουν αγγούρια από το 3000 π.Χ. Η αγγουριά καλλιεργείται στην Ινδία εδώ και 3000 χρόνια και στην Κίνα 2000 χρόνια. Περιηγητές 3000-4000 χρόνια πριν έφεραν το αγγούρι στις χώρες της Μεσογείου. Το 14° αιώνα καλλιεργήθηκε στη Μεγάλη Βρετανία. Οι Πορτογάλοι εξερευνητές μετέφεραν το αγγούρι στη Δυτική Αφρική. Ο Κολόμβος στη συνέχεια μετέφερε το αγγούρι στην Αμερική.

Στην Ελλάδα είναι γνωστό και καλλιεργούμενο από την αρχαιότητα. Είναι ενδεικτικό ότι ο Θεόφραστος με το όνομα "Σίκυος" περιγράφει τρεις ποικιλίες. Κατά την αρχαιότητα η θεραπευτική του ιδιότητα και κυρίως η λαχανοκομική εκτιμήθηκαν ιδιαίτερα και σήμερα εκτός από την κατανάλωσή του ως τροφή χρησιμοποιείται και για την παρασκευή διαφόρων κρεμών προσώπου.

Α.2. ΣΗΜΕΡΙΝΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ

Η αγγουριά σήμερα καλλιεργείται σε όλες τις ηπείρους. Περισσότερο από τα 75% της παγκόσμιας παραγωγής παράγεται στην Ασία και το 14% περίπου στην Ευρώπη. Οι χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης παράγουν περίπου 6% και η Ελλάδα το 0,7% της παγκόσμιας παραγωγής.

Στην Ελλάδα καλλιεργείται σε σημαντικές εκτάσεις. Σύμφωνα με τις καταγραφές του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων το 1997 καλλιεργήθηκαν συνολικά (υπαίθρια, θερμοκήπια, τούνελ) 19260 στρέμματα και παρήχθησαν 161.220 τόνοι.

Οι μεγαλύτερες ποσότητες αγγουριού παράγονται κυρίως στην Κρήτη (Τυμπάκι, Ιεράπετρα) και Πελοπόννησο (Μεσσηνία, Ηλεία, Λακωνία). Μικρότερες ποσότητες παράγονται και σε άλλα διαμερίσματα της χώρας, όπως στη Χαλκιδική και στη Θεσσαλονίκη.

Εδώ και πολλά χρόνια μεγάλες ποσότητες από την εγχώρια παραγωγή εξάγονται σε χώρες της Κεντρικής και Βόρειας Ευρώπης, κυρίως στη Γερμανία. Παρά το γεγονός ότι οι ποσότητες που εξήχθησαν ήταν σημαντικές (το 1990 εξήχθησαν 53.551 τόνοι) όπως επίσης και το συνάλλαγμα που εισέρεε στη χώρα, εν τούτοις με την πάροδο των χρόνων οι ποσότητες που εξάγονται μειώνονται συνεχώς (το 1999 εξήχθησαν 14.500 τόνοι) αποτέλεσμα του σκληρού ανταγωνισμού με άλλες χώρες και κυρίως με την Ολλανδία και την Ισπανία.

Α.3. ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Οι καλλιεργούμενες μορφές του είδους είναι διπλοειδείς συνήθως με αριθμό χρωμοσωμάτων 2χ=14, σε αντίθεση με τα άλλα είδη του γένους Cucumis που έχουν χ=12 χρωμοσώματα. Η αγγουριά γενετικά έχει μελετηθεί πολύ περισσότερο από όλα τα άλλα κολοκυνθοειδεί και μάλιστα έχουν διευκρινιστεί περίπου 55 θέσεις γόνων. Αυτές περιλαμβάνουν γόνους που ελέγχουν τις συνήθειες του φυτού, την γονιμότητα, την έκφραση του φύλλου, την καρπόδεση του καρπού, το άρωμα, την αντοχή στις ασθένειες (π.χ. ιώσεις, κλαδοσπορίαση κ.α.). Απ' αυτές τις μελέτες έχει βρεθεί και μια κατηγορία γόνων, που συχνά υπάρχει στα κολοκυνθοειδεί και είναι υπεύθυνη για την παραγωγή cucurbitacins (terpene compounds) που προκαλούν την πικρή γεύση στα φύλλα και τους καρπούς. Σημαντικό στο θέμα αυτό είναι ότι μια μετάλλαξη χωρίς cucurbitacins έδωσε τη δυνατότητα στους γενετιστές να δημιουργήσουν ποικιλίες και υβρίδια με καρπούς χωρίς πικρή γεύση.

Α.4. ΒΟΤΑΝΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ

Φυτό

Ετήσιο, έρπον, με μακρούς βλαστούς, οι οποίοι αναπτύσσονται συνεχώς, εφόσον οι περιποιήσεις συνεχίζονται.

Βλαστοί

Είναι ποώδεις, γωνιώδους διατομής, μήκους έως 3-4 μέτρα, με τρίχες. Από τις μασχάλες των φύλλων αναπτύσσονται νέοι βλαστοί, οι οποίοι παράγουν έλικες και επομένως το φυτό μπορεί να αναρριχηθεί.

Φύλλα

Εναλλασσόμενα, πλατιά, με 3-5 γωνιώδεις λοβούς ή απλά πενταγωνικά, με μακρύ μίσχο και με τριχωτή επιφάνεια.

Ρίζα

Η κύρια ρίζα είναι κοντή και δυνατή και από αυτήν αναπτύσσονται πολλές πλευρικές ρίζες.

Καρποφόρα όργανα

Άνθη μασχαλιαία, αρσενικά και θηλυκά χωριστά. Πολύ σπάνια παρουσιάζονται και ερμαφρόδιτα άνθη. Τα αρσενικά εμφανίζονται σε ομάδες 3-5 και έχουν λεπτό ποδίσκο και τα θηλυκά (διακρινόμενα από την ωοθήκη-αγγουράκι που έχουν) είναι συνήθως μονήρη. Και οι δύο τύποι ανθέων φέρουν κίτρινα περιάνθια. Ανοίγουν τις πρωινές ώρες για να παραμείνουν ανοιχτά μια και σπανιότερα δυο ημέρες ή και περισσότερες στα θηλυκά εφόσον αυτά δεν έχουν γονιμοποιηθεί. Η επικονίαση των ανθέων γίνεται με τα έντομα και κυρίως με τις μέλισσες.

Καρπός

Είναι ράγα κυλινδρικού σχήματος, μακρύς ή κοντός με επιφάνεια λεία ή με μικρές άκανθες και χρώματος πράσινου ή κιτρινοπράσινου αναλόγως της ποικιλίας. Όταν ο καρπός είναι φυσιολογικά ώριμος έχει χρώμα χρυσοκίτρινο.

Η σάρκα του καρπού είναι λευκή ή λευκοπράσινη και στο στάδιο της συγκομιδής είναι υδαρής αλλά τραγανή και περιέχει 95% νερό, 3,4% υδατάνθρακες, 0,9% πρωτεΐνες και 0,1% λίπη και είναι πλούσια σε βιταμίνη C.

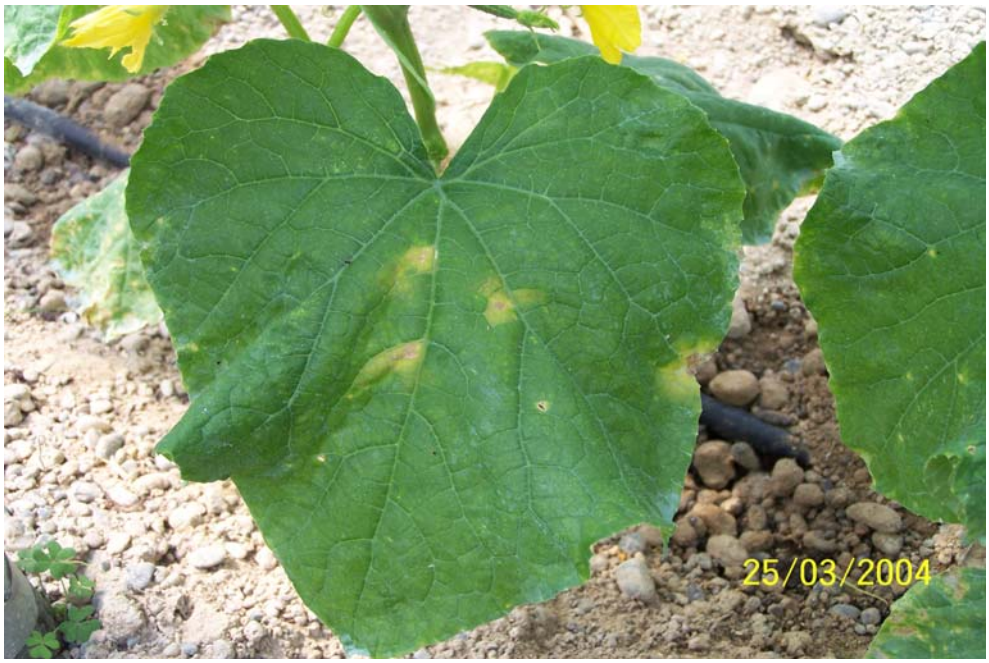
Β. ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟΣ, ΩΙΔΙΟ ΚΑΙ ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ. ΤΡΕΙΣ ΣΟΒΑΡΕΣ ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΤΗΣ ΑΓΓΟΥΡΙΑΣ

Β.1. ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟΣ

Ο περονόσπορος αποτελεί πολύ σοβαρή ασθένεια της αγγουριάς και γενικότερα των κολοκυνθοειδών. Είναι ασθένεια διαδεδομένη κυρίως σε χώρες με ζεστό και υγρό καιρό.

Συμπτώματα

Η προσβολή εμφανίζεται μόνο στα φύλλα και στα πρώτα στάδια θυμίζει πράσινο μωσαϊκό με εναλλαγή κατά θέσεις ανοικτού και σκούρου πράσινου χρώματος πάνω στο έλασμα. Προοδευτικά οι ανοικτοπράσινες θέσεις γίνονται κίτρινες και εμφανίζονται σαν πολυγωνικές κίτρινες κηλίδες που περιορίζονται από τις νευρώσεις του φύλλου (Εικόνα 1). Με υγρό καιρό στην κάτω επιφάνεια των φύλλων εμφανίζονται οι καρποφορίες του μύκητα (κονιδιοφόροι και κονιδιασποριάγγεια) με τη μορφή μιας εξάνθησης συνήθως πορφυρού ή λευκού χρώματος (Εικόνα 2). Όταν η προσβολή εξαπλωθεί σ' όλο το φύλλο τότε αυτό ξηραίνεται. Επί του φυτού ξηραίνονται αρχικά τα εσωτερικά φύλλα, λόγω υγρού περιβάλλοντος που ευνοεί την ασθένεια και αργότερα τα εξωτερικά φύλλα και τελικά όλο τα φυτό ξηραίνεται. Οι καρποί έμμεσα υφίστανται ζημιές (παραμένουν μικροί και χωρίς καλές οργανοληπτικές ιδιότητες) λόγω της ξήρανσης των φύλλων.



Εικόνα 1. Περονόσπορος σε φύλλο αγγουριάς.

<u>Παθογόνο αίτιο – Συνθήκες ανάπτυξης της ασθένειας</u>

Το αίτιο της ασθένειας είναι ο φυκομύκητας *Pseudoperonospora cubensis* που σχηματίζει πάνω στα φύλλα τα σποριάγγεια που έχουν λεμονοειδές σχήμα. Τα σποριάγγεια αυτά διασπείρονται σε μεγάλες αποστάσεις κυρίως με τον άνεμο, παράγουν ζωοσπόρια (πλανοκονίδια) που με την παρουσία λεπτού στρώματος νερού, είναι σε θέση να κινηθούν, να βλαστήσουν και να διεισδύσουν στα φύλλα δια μέσου των στοματίων. Στο τέλος της περιόδου επώασης, που σε ευνοϊκές συνθήκες διαρκεί μόνο 4-5 ημέρες, εξέρχονται από την κάτω επιφάνεια του φύλλου τα νέα ζωοσποριάγγεια (πάνω στους ζωοσποριαγγειοφόρους), έτοιμα να αρχίσουν νέες μολύνσεις. Κατά τη διάρκεια του χειμώνα ή τις χρονιές κατά τις οποίες ο περονόσπορος δεν παρατηρείται, η διατήρηση του μολύσματος εξασφαλίζεται με τα ωοσπόρια (εγγενή σπόρια) που διαφοροποιούνται στα υπολείμματα τις προσβλημένης βλάστησης.

Ο περονόσπορος της αγγουριάς μπορεί να μολύνει σε θερμοκρασίες από 11-30°C. Ευνοείται κυρίως σε θερμοκρασία 16-22°C και υψηλή σχετική υγρασία ή βροχή.

Εικόνα 2. Εξάνθηση περονοσπόρου στην κάτω επιφάνεια φύλλου αγγουριάς.

Καταπολέμηση

Για να προληφθούν οι προσβολές είναι αναγκαίο να συλλέγονται και να καταστρέφονται τα φυτικά υπολείμματα των προηγούμενων καλλιεργειών, να παρέχεται ο σωστός αερισμός των φυτών που καλλιεργούνται σε θερμοκήπιο, να περιορίζονται οι αρδεύσεις και να αποφεύγεται η διαβροχή του υπέργειου τμήματος του φυτού.

Η χημική καταπολέμηση είναι δύσκολη όταν η ασθένεια έχει ήδη εξαπλωθεί. Γι' αυτό είναι αναγκαίο να γίνονται προληπτικοί ψεκασμοί. Οι ψεκασμοί πρέπει να αρχίζουν νωρίς και να γίνονται τακτικά ακόμη και κάθε εβδομάδα στα αναπτυσσόμενα με γρήγορο ρυθμό φυτά. Αποτελεσματικά μυκητοκτόνα είναι τα, fosetyl, propamocarb, mancozeb, maneb κ.λπ.

Β.2.ΩΙΔΙΟ

Το ωίδιο είναι σοβαρή ασθένεια της αγγουριάς.

Συμπτώματα

Μπορεί να προσβάλει όλα τα πράσινα μέρη του φυτού, τα φύλλα, τα στελέχη και τους μίσχους. Τα πρώτα συμπτώματα εμφανίζονται συνήθως στην κάτω επιφάνεια των

φύλλων υπό μορφή υπόλευκων, αλευρωδών κηλίδων, που στη συνέχεια τείνουν να επεκταθούν και στην πάνω επιφάνεια και να καταλάβουν μεγάλο μέρος του ελάσματος (Εικόνα 3). Προοδευτικά τα φύλλα γίνονται κίτρινα έπειτα καστανά και τελικά νεκρώνονται. Αν το φυτό χάσει μεγάλο μέρος του φυλλώματος του τότε εξασθενεί, οι καρποί ωριμάζουν πρόωρα πριν πάρουν το τελικό τους μέγεθος και παθαίνουν ηλιακά εγκαύματα.

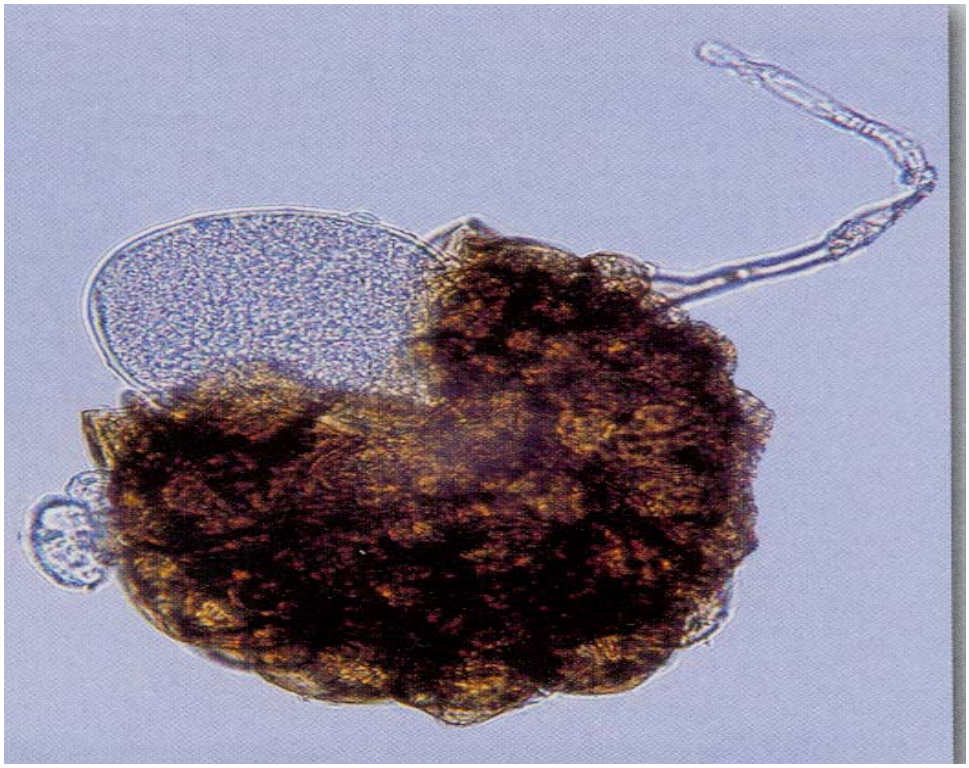
Εικόνα 3. Ωίδιο σε φύλλο αγγουριάς.

<u>Παθογόνο αίτιο – Συνθήκες ανάπτυξης της ασθένειας</u>

Το ωίδιο της αγγουριάς προκαλείται από μύκητες της οικογένειας Erysiphaceae, με πιο συχνά απαντώμενους τους *Podosphaera xanthii* (συν. *Sphaerotheca fusca, S. fuliginea), Golovinomyces cucurbitacearum* και *G. orontii* (συν. *Erysiphe orontii, E. cichoracearum)* (Εικόνα 4). Η διατήρηση αυτών των παθογόνων κατά τη διάρκεια του χειμώνα γίνεται ή με την αγενή μορφή του μυκηλίου, πάνω στα διάφορα αυτοφυή φυτά (ζιζάνια), ή με την εγγενή μορφή των κλειστοθηκίων στα υπολείμματα των προσβλημένων φυτών.

Τα ωίδια ευνοούνται από σχετικά υψηλές θερμοκρασίες 26-28°C, ενώ σε θερμοκρασίες μικρότερες των 10°C και μεγαλύτερες των 32°C οι μολύνσεις σταματάνε. Η υψηλή σχετική υγρασία (70%) ευνοεί την ανάπτυξη της ασθένειας, αν και η δραστηριότητα του μύκητα δεν σταματά και με σχετική υγρασία 46%. Η βροχή ή γενικότερα η έκπλυση των φύλλων με νερό καταστρέφει μεγάλο μέρος του

μολύσματος (επίφυτο). Στον αγρό οι πρώτες προσβολές ωιδίου παρατηρούνται συνήθως τον Ιούνιο και φτάνουν στο μέγιστο βαθμό εξάπλωσεις τον Αύγουστο-Σεπτέμβριο. Στα θερμοκήπια οι μολύνσεις είναι πιο πρώιμες αλλά οι υψηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια της ημέρας μειώνουν τη έντασή τους.



Εικόνα 4. Κλειστοθήκιο με ένα ασκό του μύκητα *Podosphaera xanthii*.

<u>Καταπολέμηση</u>

Στα θερμοκήπια πρέπει να γίνεται καλός αερισμός και να αποφεύγονται οι μεγάλες διακυμάνσεις της υγρασίας στην ατμόσφαιρα του χώρου. Ακόμα πρέπει να καταστρέφονται τα αυτοφυή ζιζάνια της οικογένειας Cucurbitaceae που υπάρχουν κοντά στις καλλιέργειες θερμοκηπίου ή υπαίθρου.

Χημικά η καταπολέμηση του ωιδίου βασίζεται, κυρίως, σε επαναλαμβανόμενες εφαρμογές θείου και dinocap. Πρέπει, όμως, να λαμβάνουμε υπόψη ότι το θειάφι παρουσιάζει φυτοτοξικότητα όταν χρησιμοποιηθεί με υψηλή θερμοκρασία (άνω των 26°C) και ότι δε δρα σε θερμοκρασίες μικρότερες των 10-15°C. Άλλα μυκητοκτόνα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι οι παρεμποδιστές βιοσύνθεσης εργοστερόλης με έγκριση χρήσης στα κολοκυνθοειδή, όπως bromuconazole, fenarimol, fenbuconazole, myclobutanil, penconazole και triadimenol ή azoxystrolin ή carbendazim ή dinocap. Οι επεμβάσεις πρέπει να γίνονται με την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων και να επαναλαμβάνονται κάθε 7-14 ημέρες ανάλογα με τη

διάρκεια δράσης της δραστικής ουσίας και την πορεία των κλιματολογικών συνθηκών. Άριστο κανόνα αποτελεί η εναλλαγή μυκητοκτόνων που ανήκουν σε διαφορετικές χημικές ομάδες, με διαφορετικό μηχανισμό δράσης ώστε να αποφεύγεται η ανάπτυξη ανθεκτικών φυλών από τα παθογόνα του ωιδίου.

Β.3. ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ

Αποτελεί σοβαρή ασθένεια της αγγουριάς και των άλλων κολοκυνθοειδών. Σε περιοχές με ψυχρό και υγρό κλίμα μπορεί να αποτελέσει τη σοβαρότερη ασθένεια στο αγγούρι.

Συμπτώματα

Εκδηλώνεται με κηλίδες σ' όλα τα όργανα του υπέργειου τμήματος του φυτού. Στα φύλλα η ασθένεια, αρχικά, προκαλεί κηλίδες ανοιχτού πράσινου χρώματος, όπου ο ιστός φαίνεται σαν βρεγμένος (υδαρείς κηλίδες), που στη συνέχεια αποκτούν γκρίζα απόχρωση και κατόπιν νεκρώνονται και συχνά σχίζονται στο κέντρο (Εικόνα 5). Παρόμοιες κηλίδες αναπτύσσονται στα στελέχη και στους μίσχους.

Πιο χαρακτηριστικά είναι τα συμπτώματα πάνω στους καρπούς όπου έχουμε στρογγυλές κηλίδες, ελαφρά συμπιεσμένες, χρώματος σκούρου γκρι, από τις οποίες εξέρχεται κολλώδες υγρό. Με την πάροδο του χρόνου, αυτές οι κηλίδες μεγαλώνουν σχίζονται στο κέντρο τους και αν το περιβάλλον είναι υγρό καλύπτονται από ένα σκουροπράσινο βελούδινο στρώμα που είναι οι καρποφορίες του μύκητα.

Εικόνα 5. Κλαδοσπορίαση σε φύλλο αγγουριάς.

Παθογόνο αίτιο-Συνθήκες ανάπτυξης της ασθένειας

Το αίτιο της ασθένειας είναι ο μύκητας *Cladosporium cucumerinum*. Ο μύκητας διαχιμάζει στα υπολείμματα της καλλιέργειας, μέσα στον σκελετό των θερμοκηπίων, ακόμα και στους σπόρους των αγγουριών. Σε περιόδους που συνδυάζουν υψηλή σχετική υγρασία και όχι πολύ υψηλές θερμοκρασίες, με άριστες τιμές 17-20°C, μπορεί να μεταφέρει τις προσβολές του στους νέους καρπούς και τα φύλλα, στα οποία, αμέσως μετά από 3-4 ημέρες, εμφανίζονται καθαρά τα συμπτώματα της ασθένειας. Πάνω στα προσβλημένα όργανα, αν το περιβάλλον είναι υγρό, διαφοροποιούνται αρκετές κονιδιακές καρποφορίες που είναι σε θέση να εξαπλωθούν στο χώρο. Η διασπορά μπορεί να γίνει με τον άνεμο, το νερό της βροχής και της άρδευσης, τα καλλιεργητικά εργαλεία και από τα ρούχα των εργαζομένων.

Καταπολέμηση

Για την αντιμετώπιση της κλαδοσπορίασης συστήνονται τα εξής μέτρα:

1. Καταστροφή των υπολειμμάτων της καλλιέργειας.
2. Στις καλλιέργειες θερμοκηπίου απολύμανση των διαφόρων υλικών που χρησιμοποιούνται στην καλλιέργεια καθώς και της ξύλινης κατασκευής του

θερμοκηπίου. Προς τούτο μπορεί να χρησιμοποιηθεί διάλυμα 3-4% φορμόλης στη δόση των 25 λίτρων/στρέμμα.

3. Στις καλλιέργειες υπαίθρου εφ' όσο εμφανίστηκε η ασθένεια να εφαρμόζεται αμειψισπορά δυο ή περισσότερων ετών.
4. Ανθεκτικές ποικιλίες αγγουριάς.
5. Απολύμανση σπόρου με thiram ή captan.
6. Μείωση υπερβολικής υγρασίας εδάφους και αέρος.
7. Ύψωση της θερμοκρασίας μέσα στο θερμοκήπιο πάνω από τους 27°C για λίγες ημέρες.
8. Ψεκασμοί με την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων, οι οποίοι συνεχίζονται κάθε 7-14 ημέρες, με διθειοκαρβαμιδικά ή βενζιμιδαζολικά.

Γ. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕ ΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΕΠΙΤΥΓΧΑΝΕΤΑΙ Η ΠΑΘΟΒΑΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΑΓΓΟΥΡΙΑΣ ΜΕ ΤΗΝ ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

Γ.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αγγουριά αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα κηπευτικά φυτά γιατί ο καρπός της έχει ευρεία κατανάλωση από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα.

Έτσι είναι ευνόητο η αγγουριά ως φυτό να παρουσιάζει τεράστιο γενετικό ενδιαφέρον. Συνεχώς υπάρχει η προσπάθεια από τους γενετιστές να δημιουργούν καινούργιες ποικιλίες που θα έχουν ως σκοπό α)την πλήρη προσαρμοστικότητα τους στις απαιτήσεις σε κλίμα (θερμοκρασία, υγρασία) και σε έδαφος (ανθεκτικότητα σε ασθένειες εδάφους) μιας περιοχής, β) την αντοχή τους στις περισσότερες ασθένειες και γ) την παραγωγή καρπών με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά που ζητά ο καταναλωτής, όπως μέγεθος, χρώμα και γευστικότητα.

Για την παθοβελτίωση της αγγουριάς χρησιμοποιείται σήμερα στην πράξη η κλασσική προσέγγιση (αναδιασταυρώσεις), ενώ στο μέλλον θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και η βιοτεχνολογική. Η τελευταία αποσκοπεί στην επέμβαση στο γένωμα με τη χρησιμοποίηση των τεχνικών της Μοριακής Βιολογίας.

Γ.2. ΑΝΑΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΗ

Η αναδιασταύρωση είναι μια μορφή επαναλαμβανόμενου υβριδισμού με τον οποίο ένα ανώτερο χαρακτηριστικό μπορεί να προστεθεί σε μια κατά τ' άλλα επιθυμητή ποικιλία. Ο σκοπός της μεθόδου είναι, μέσα από συνεχείς αναδιασταυρώσεις δυο γονέων, να επαναφερθεί ο γονότυπος του ενός γονέα, δηλαδή της επιθυμητής ποικιλίας, όπως ακριβώς ήταν πριν τις αναδιασταυρώσεις αλλά με τη διαφορά ότι σε αυτή θα έχει προστεθεί το γονίδιο ή τα γονίδια στα οποία οφείλεται το πολύ καλό χαρακτηριστικό που έχει μια άλλη ποικιλία.

Για παράδειγμα ο ένας γονέας (ποικιλία) μπορεί να είναι μια καλή, προσαρμοσμένη και παραγωγική ποικιλία η οποία όμως στερείται ενός πολύ καλού

χαρακτηριστικού π.χ. δεν αντέχει σε μια ασθένεια. Ο άλλος γονέας (ποικιλία) με τον οποίο θα γίνει η διασταύρωση θα πρέπει να έχει πολύ καλή αντοχή στην ασθένεια αυτή.

Ο πρώτος γονέας (η καλή ποικιλία) ονομάζεται επανερχόμενος ή επαναλαμβανόμενος γονέας και είναι ο γονέας που ο γονότυπος του με την αναδιασταύρωση επανέρχεται όπως ακριβώς ήταν (εκτός από το προστιθέμενο χαρακτηριστικό). Ο δεύτερος γονέας (με την πολύ καλή αντοχή) ονομάζεται δότης γονέας και είναι ο γονέας που δωρίζει μόνο αυτό το χαρακτηριστικό χωρίς ο υπόλοιπος γονότυπος του να συμμετέχει στο προϊόν της αναδιασταύρωσης.

Το σχέδιο της αναδιασταύρωσης είναι σχετικά απλό στην εφαρμογή του. Ο επανερχόμενος γονέας διασταυρώνεται με το δότη γονέα στην αρχική διασταύρωση. Αποτέλεσμα αυτής της διασταύρωσης είναι το F_1 υβρίδιο. Στη συνέχεια το F_1 υβρίδιο διασταυρώνεται πάλι με τον επανερχόμενο γονέα. Τα φυτά που θα προκύψουν από αυτή την πρώτη αναδιασταύρωση επιλέγονται για το επιθυμητό χαρακτηριστικό και στη συνέχεια αναδιασταυρώνονται πάλι με τον επανερχόμενο γονέα. Η συγκεκριμένη αναδιασταύρωση επαναλαμβάνεται για αρκετές φορές.

Η επιλογή των φυτών που γίνεται μετά από κάθε αναδιασταύρωση βασίζεται στο αν φέρουν ή όχι το επιθυμητό χαρακτηριστικό από τον γονέα δότη. Πάντα επιλέγονται τα φυτά που φέρουν το επιθυμητό χαρακτηριστικό και πάντα αναδιασταυρώνονται με τον επανερχόμενο γονέα.

Από τα παραπάνω γίνεται κατανοητό ότι ο επανερχόμενος γονέας (επιθυμητή ποικιλία) στην οποία θα προστεθεί το επιθυμητό χαρακτηριστικό συμμετέχει σε όλες τις διαδοχικές αναδιασταυρώσεις, ενώ ο δότης γονέας (ποικιλία που φέρει το επιθυμητό χαρακτηριστικό) συμμετέχει μόνο στην αρχική διασταύρωση για την δημιουργία της F_1 γενιάς.

Ο αριθμός των απαραίτητων αναδιασταυρώσεων συνήθως κυμαίνεται από μία μέχρι τέσσερις ή και περισσότερες, ανάλογα με τον τρόπο κληρονομικότητας του επιθυμητού χαρακτηριστικού, το πόσο εύκολα αναγνωρίζεται στην επιλογή και με πόση ακρίβεια πρέπει να ξανάδημιουργηθεί ο επανερχόμενος γονέας.

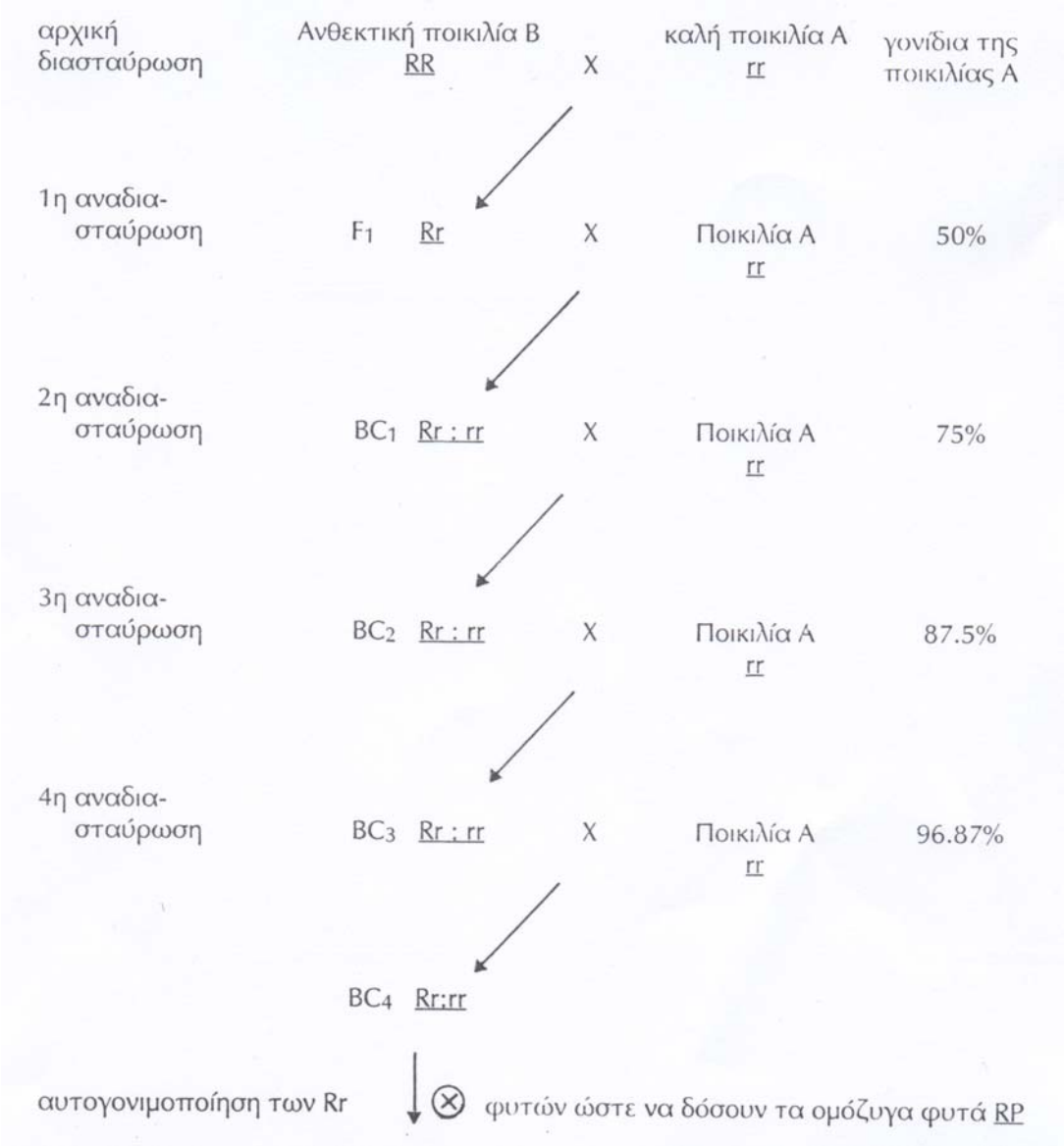
Στην Εικόνα 6 δίνεται ένα τυπικό παράδειγμα αναδιασταύρωσης. Στο παράδειγμα μας ως (rr) συμβολίζεται η καλή ποικιλία Α και ως (RR) συμβολίζεται η ανθεκτική στην ασθένεια ποικιλία Β. Επομένως ο επικρατής αλληλόμορφος (R) καθορίζει την αντοχή, ενώ ο υπολειπόμενος (r) καθορίζει την ευπάθεια. Εμείς έστω ότι θέλουμε στην ποικιλία Α που είναι μια καλή, επιθυμητή ποικιλία να διατηρήσουμε όλα της τα

επιθυμητά χαρακτηριστικά εκτός από την ευπάθεια στην ασθένεια (rr). Η ποικιλία Β παρουσιάζει ενδιαφέρον μόνο για την πολύ καλή αντοχή της στην ασθένεια (RR) και θα χρησιμοποιηθεί ως δότης γονέας.

Αρχικά γίνεται η διασταύρωση μεταξύ των δυο ποικιλιών. Απ' αυτήν την διασταύρωση θα πάρουμε την F_1 γενιά που είναι ετεροζύγωτη για την ασθένεια (Rr). Στη συνέχεια η F_1 γενιά θα διασταυρωθεί με τον επανερχόμενο γονέα (rr) για να πάρουμε τους γονότυπους (Rr) και (rr). Απ' αυτήν τη διασταύρωση μας ενδιαφέρουν τα ετεροζύγωτα φυτά (Rr) που είναι ανθεκτικά στην ασθένεια και που μπορεί κανείς να τα επιλέξει μετά από μόλυνση με την ασθένεια. Μόνο τα ανθεκτικά φυτά επιλέγονται και αναδιασταυρώνονται με την ποικιλία Α.

Η διαδικασία αυτή των διαδοχικών αναδιασταυρώσεων επαναλαμβάνεται μέχρις ότου αποκτήσουμε φυτά πανομοιότυπα με την ποικιλία Α εκτός από το γονίδιο που προσθέσαμε για την αντοχή στην ασθένεια. Στην τελευταία αναδιασταύρωση επιλέγονται τα ανθεκτικά φυτά που είναι όμως ετεροζύγωτα ακόμα (Rr). Επομένως πρέπει να αυτογονιμοποιηθούν για μια γενιά για να δώσουν σταθερή αντοχή (RR).

Σ' αυτό το παράδειγμα, το επιθυμητό χαρακτηριστικό που θέλουμε να ενσωματώσουμε στον επανερχόμενο γονέα είναι επικρατές. Στην περίπτωση που το επιθυμητό χαρακτηριστικό είναι σε υπολειπόμενη μορφή τότε η διαδικασία που ακολουθείται είναι λίγο διαφορετική. Στην περίπτωση αυτή τα ετεροζύγωτα άτομα (Rr) δεν θα μπορούσαν να αναγνωριστούν και έτσι θα είναι αναγκαίο μετά από κάθε γενιά αναδιασταύρωσης να ακολουθεί μια γενιά αυτογονιμοποίησης των απογόνων (Rr) για να βρούμε ανθεκτικά φυτά με το γονότυπο (rr). Επομένως ο αριθμός των απαραίτητων γενιών που χρειάζονται για να ενσωματώσουμε ένα υπολειπόμενο χαρακτηριστικό είναι διπλάσιος σε σχέση μ' ένα επικρατές, με αποτέλεσμα να χρειάζεται διπλάσιο χρονικό διάστημα για την ολοκλήρωση της μεθόδου.



Εικόνα 6. Ακολουθούμενη πορεία σε μια αναδιασταύρωση στην οποία ο επικρατής αλληλόμορφος R για αντοχή σε μια ασθένεια μεταφέρεται σε μια καλή προσαρμοσμένη ποικιλία A, που είναι ευπαθής στην ασθένεια.

Γ.2.1. ΤΑ ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΑΝΑΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΗΣ

- Η ίδια ποικιλία (δηλαδή ο επανερχόμενος γονέας) μπορεί να επανάδιασταυρωθεί όπως ήταν και πριν. Επομένως τα χαρακτηριστικά της ποικιλίας που θα δώσει η μέθοδος αυτή είναι δυνατόν να περιγραφούν εκ των προτέρων.

- Η αξιολόγηση των ποικιλιών που προέρχονται από αναδιασταύρωση δεν χρειάζεται πολύ χρόνο. Έχει αποδειχτεί επανειλημμένα ότι οι ποικιλίες αυτές μοιάζουν τόσο πολύ με τον επαναλαμβανόμενο γονέα, που είναι ήδη προσαρμοσμένες στη περιοχή, ώστε να χρειάζεται να γίνουν ξανά πειράματα αξιολόγησης για την καινούργια ποικιλία.

- Το βελτιωτικό πρόγραμμα μπορεί να μην εξαρτάται από το περιβάλλον. Εφ' όσον το υπό μεταφορά γνώρισμα μπορεί να εκφραστεί, η αναδιασταύρωση μπορεί να γίνει σε θερμοκήπια στο αντίθετο ημισφαίριο ή οπουδήποτε μπορεί να καλλιεργηθεί το φυτό και σε οποιαδήποτε εποχή του έτους εφόσον φυσικά οι συνθήκες του περιβάλλοντος το επιτρέπουν.

- Δεν χρειάζεται πολύς χρόνος για τη δημιουργία ποικιλιών με αναδιασταύρωση.

- Δεν χρειάζονται πολλά φυτά για να πραγματοποιηθεί το πρόγραμμα.

Γ.3. Η ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗ ΦΥΤΟΠΑΘΟΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΑΓΓΟΥΡΙΑΣ

Με τη μοριακή βιοτεχνολογία, δηλαδή η επέμβαση στο γένωμα με τη χρησιμοποίηση τεχνικών της Μοριακής Βιολογίας, είναι δυνατόν να ξεπεραστούν κάποια προβλήματα που παρουσιάζονται κατά τη δημιουργία επιθυμητών γενοτύπων μέσω της επιστήμης της Βελτίωσης των Φυτών. Για παράδειγμα, για να εισαχθεί ένα επιθυμητό χαρακτηριστικό σε μια ποικιλία θα πρέπει να γίνει μια διασταύρωση της ποικιλίας δότη με την ποικιλία δέκτη και στη συνέχεια μια σειρά απ' άλλες διασταυρώσεις, που εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες (π.χ. τρόπο κληρονόμησης του χαρακτηριστικού, πόσο εύκολα αναγνωρίζεται στην επιλογή και με πόση ακρίβεια πρέπει να ξανά δημιουργηθεί ο επανερχόμενος γονέας). Συχνά όμως αυτό το επιθυμητό χαρακτηριστικό φέρει και ορισμένες μη επιθυμητές ιδιότητες, επειδή ο συνδυασμός αφορά ολόκληρα γενώματα και όχι συγκεκριμένα γονίδια. Επιπλέον, οι διασταυρώσεις περιορίζονται μόνο σε συγγενικά είδη. Το κάθε είδος έχει βάλει φραγμούς με τους οποίους έχει απομονώσει το το γενετικό του υλικό, ώστε να μην

ανακατεύεται με το γενετικό υλικό άλλων ειδών. Μόνο σε σπάνιες περιπτώσεις είναι δυνατόν να γίνει διασταύρωση ανάμεσα σε άτομα που ανήκουν σε χωριστά συγγενικά είδη.

Για τη φυτοπαθοβελτίωση της αγγουριάς η Μοριακή Βιοτεχνολογία συμβάλλει μέσω των παρακάτω τεχνικών:

- Με την εισαγωγή γονιδίων στα φυτά με τη γενετική μηχανική.
- Με την ιστοκαλλιέργεια (καλλιέργεια in vitro).

Γ.3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΜΕ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ

Γενετική μηχανική είναι ο κλάδος της Γενετικής ο οποίος ασχολείται με τη δημιουργία και εισαγωγή στο κύτταρο, νέωd ν τεχνητών συνδυασμών της κληρονομικής ουσίας (δηλαδή του DNA), χρησιμοποιώντας μοριακές μεθόδους και τεχνικές in vitro.

Βέβαια, με τις τεχνικές που ακολουθεί η γενετική μηχανική, δεν παράγονται νέοι οργανισμοί, αφού το μόνο που γίνεται είναι η εισαγωγή ενός γονιδίου με συγκεκριμένες ιδιότητες σ' ένα οργανισμό, χωρίς να μεταβάλλονται τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του.

Λέγοντας ότι γίνεται εισαγωγή ενός γονιδίου σ' ένα οργανισμό, εννοούμε ότι γίνεται εισαγωγή ενός μορίου DNA που «φέρει» το επιθυμητό γονίδιο στα κύτταρα του οργανισμού.

Για να γίνουν τα παραπάνω πρέπει να εφαρμοστούν μια σειρά από τεχνικές, οι οποίες για να πραγματοποιηθούν πρέπει να υπάρξουν και τα απαραίτητα βιολογικά εργαλεία, όπως:

1) Περιοριστικά ένζυμα. Είναι ένζυμα που έχουν την ικανότητα να κόβουν τα μόρια του DNA σε ειδικές θέσεις.
2) Ένα ένζυμο DNA λιγάση. Είναι ένζυμο που μπορεί να συναρμολογεί, δηλαδή να ενώνει κομμάτια του DNA, ούτως ώστε να δημιουργείται ένα νέο μόριο DNA.
3) Κινητικά γενετικά στοιχεία. Τέτοια είναι τα πλασμίδια και οι ιοί και έχουν την ιδιότητα να «φέρουν» το ξένο DNA, δηλαδή να μεταφέρουν το DNA από ένα οργανισμό σ' ένα άλλο.

Πλασμίδια: Υπάρχουν μέσα στα κύτταρα των βακτηρίων. Το DNA ενός πλασμιδίου αναπαράγεται μέσα στο κύτταρο του ξενιστή αυτόνομα, δηλαδή ανεξάρτητα από την αναπαραγωγή του DNA του κυττάρου. Τα πλασμίδια μετακινούνται εύκολα από το ένα κύτταρο στα άλλο. Ένα πλασμίδιο μπαίνοντας στο κύτταρο ενός βακτηρίου μπορεί να εκδηλώσει τη γενετική του πληροφορία, δίνοντας «εντολές» στο μεταβολισμό του κυττάρου.

Ιοί (βακτηριοφάγοι): Εισέρχονται στα κύτταρα των βακτηρίων και μπορούν να ανασυνδυάζουν το δικό τους DNA με το DNA του κυττάρου. Το DNA του κυττάρου «κόβεται» σε συγκεκριμένα σημεία (θέσης εισόδου).

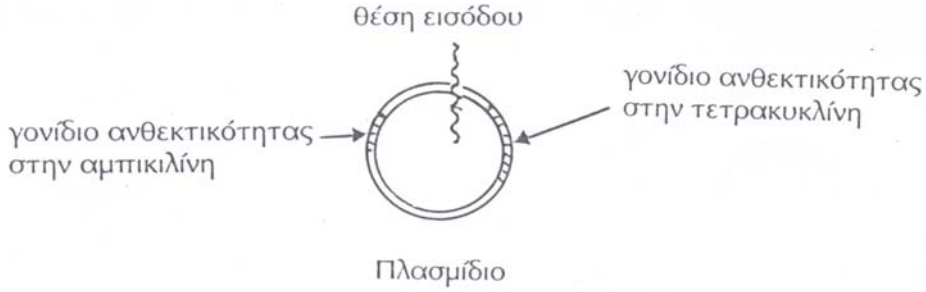
Οι βακτηριοφάγοι μπορούν να ανασυνδυάζονται και με τα πλασμίδια και στη συνέχεια με το DNA του βακτηρίου. Στη διάρκεια των ανασυνδυασμών αυτών μπορούν να ενσωματώσουν στο DNA τους γονίδια από το βακτήριο καθώς και γονίδια από τα πλασμίδια. Στη συνέχεια μπορούν να εισέλθουν σε άλλα κύτταρα και εκεί κουβαλώντας και τα γονίδια που απέσπασαν από το πλασμίδιο ή από το βακτήριο, είναι δυνατόν να τα εκδηλώσουν.

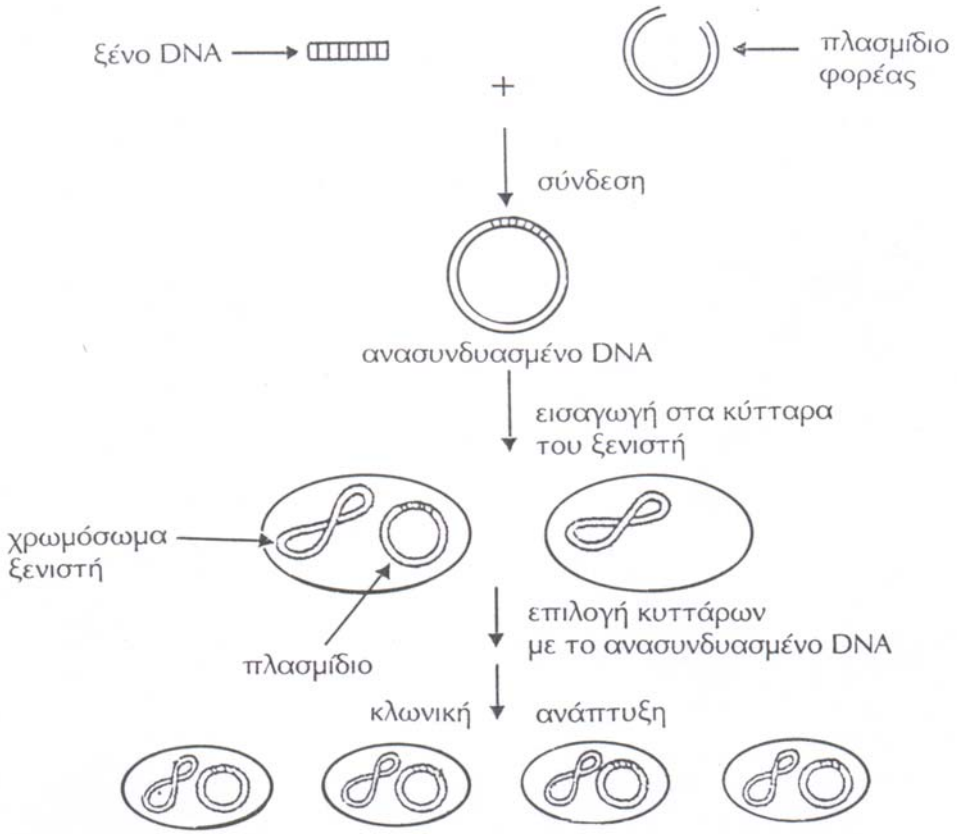
4) Κύτταρα ενός ξενιστή στον οποίο μπορεί να πολλαπλασιάζεται το DNA του γονιδίου που θέλουμε να εισάγουμε στον οργανισμό. Συνήθως χρησιμοποιείται ως ξενιστής το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*.

Ας δούμε τώρα το πώς γίνεται στην πράξη η εισαγωγή ενός γονιδίου σ' ένα οργανισμό. Έστω ότι, μέσα από διάφορες τεχνικές (τεχνική του αγγελιοφόρου DNA, τεχνική του συνθετικού DNA, τεχνική του πυρηνικού DNA) έχουμε «κόψει» (απομονώσει) ένα κομμάτι DNA που φέρει το επιθυμητό χαρακτηριστικό και θέλουμε να το εισάγουμε μέσω των πλασμιδίων στα κύτταρα του ξενιστή (*Agrobacterium tumefaciens*). Βέβαια, η διαδικασία αυτή για να πραγματοποιηθεί πρέπει να εφαρμοστούν οι παρακάτω κινήσεις.

Το DNA του πλασμιδίου (φορέας) «κόβεται» στην κατάλληλη θέση εισόδου, με τα περιοριστικά ένζυμα, ώστε να ανοίξει η διπλή αλυσίδα του DNA του πλασμιδίου και να δημιουργηθούν δυο άκρα. Στη συνέχεια με τη βοήθεια του DNA λιγάση συναρμολογείται το μόριο του DNA που φέρει το επιθυμητό γονίδιο στο DNA του πλασμιδίου. Δημιουργείται έτσι ένα νέο μόριο DNA το οποίο τώρα μπορεί να εισέρχεται στα κύτταρα του βακτηρίου κουβαλώντας μαζί του και το ξένο DNA

δηλαδή το επιθυμητό γονίδιο. Αυτό το νέο μόριο DNA ονομάζεται ανασυνδιασμένο DNA.





Εικόνα 7. Σύνδεση και πολλαπλασιασμός ανασυνδυασμένου DNA με φορέα ένα πλασμίδιο και ξενιστή το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*.

Βέβαια δεν περιέχουν όλα τα κύτταρα του ξενιστή, το ανασυνδυασμένο DNA. Αυτά όμως που το περιέχουν μπορούμε να τα ξεχωρίσουμε από τα υπόλοιπα εάν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο περιέχει και ένα άλλο χαρακτηριστικό που να το

ξεχωρίζει από τα πλασμίδια που δεν έχουν ανασυνδυαστεί π.χ. μια αντοχή σ' ένα αντιβιοτικό. Επιλέγοντας για αντοχή στο αντιβιοτικό, επιλέγουμε όσα πλασμίδια περιέχουν το ανασυνδυασμένο DNA.

Το μόνο πλέον που απομένει για να γίνει η προσβολή του οργανισμού με το βακτήριο που φέρει τα πλασμίδια με το ανασυνδιασμένο DNA, είναι να αφαιρέσουμε με απαλοιφή τα γονίδια του βακτηρίου που προκαλούν την ογκογένεση κατά την προσβολή, έτσι ώστε να παρεμποδιστεί ο σχηματισμός καρκινικών όγκων κατά την αναγέννηση των μεταμορφωμένων κυττάρων.

Στη συνέχεια προκαλούμε στα φυτικά κύτταρα του οργανισμού μας προσβολή και εισαγωγή αυτών των πλασμιδίων που φέρουν το ανασυνδυασμένο DNA και έτσι επιτυγχάνουμε και την έμμεση εισαγωγή των επιθυμητών γονιδίων στα φυτικά κύτταρα.

Εκτός, όμως, από την έμμεση εισαγωγή γονιδίων με τη χρησιμοποίηση του βακτηρίου *Agrobacterium tumefactions*, μπορούμε και άμεσα να εισάγουμε γονίδια στα φυτικά κύτταρα με τη χρησιμοποίηση φυσικών ή χημικών μέσων, όπως:

1. Με τη μικροένεση (μικροέγχυση), όπου το προς μεταφορά DNA εισάγεται στους πρωτοπλάστες ή και απευθείας στον πυρήνα του φυτικού κυττάρου, μετά από διάτρησή του με τη βοήθεια μικροσκοπίου, μίας πολύ λεπτής τροχοειδούς βελόνας και μιας μικρολαβίδας που συγκρατεί κατά τη διαδικασία το κύτταρο.
2. Την ηλεκτρική διάνοιξη πόρων (ηλεκτροπόρωση), όπου μέσω ηλεκτρικών παλμών σχηματίζονται πορώδη ανοίγματα στη μεμβράνη του πρωτοπλάστη του φυτικού κυττάρου και μέσω αυτών μεταφέρεται το DNA στο κύτταρο.
3. Τη χημική κατεργασία με πολυαιθυλενική γλυκόλη (PEG) και διάλυμα χλωριούχου ($MgCl_2$), που υποβοηθούν την πρόσληψη του DNA στα φυτικά κύτταρα με ενδοκύτωση (πρόσληψη υλικού μέσα στο κύτταρο με σχηματισμού κόλπου στην πλασματική μεμβράνη, η οποία στη συνέχεια συντήκεται και αποκόπτεται σχηματίζοντας ενδοκυτταρικό κυστίδιο).
4. Τη μικροδιάτρηση του φυτικού κυττάρου με τη βοήθεια ακτίνας λέιζερ υπεριώδους φωτός.
5. Το βομβαρδισμό των φυτικών κυττάρων με μεταλλικά σωματίδια καλυμμένα με DNA.

Στις μεθόδους αυτές, σε αντίθεση με τη μεταφορά μέσω της χρήσης του βακτηρίου *Agrobacterium tumefaciens*, το ετερόλογο DNA εισάγεται απευθείας στα φυτικά κύτταρα-δέκτες.

Γ.3.2. ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ(ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ IN VITRO)

Η ιστοκαλλιέργεια ή καλλιέργεια in vitro όπως αλλιώς συνηθίσαμε να τη λέμε, είναι μια μέθοδος πολλαπλασιασμού με την οποία μικρά ζωντανά τμήματα φυτικού ιστού απομονώνονται από το φυτό και αναπτύσσονται ασηπτικά σε καθορισμένα θρεπτικά υποστρώματα.

Επειδή στην ιστοκαλλιέργεια υπάρχει η δυνατότητα της γενετικής παραλλακτικότητας, είναι αυτονόητο η μέθοδος αυτή να έχει μεγάλη σημασία για τη γενετική, τη βελτίωση και τη γενετική μηχανική των φυτών.

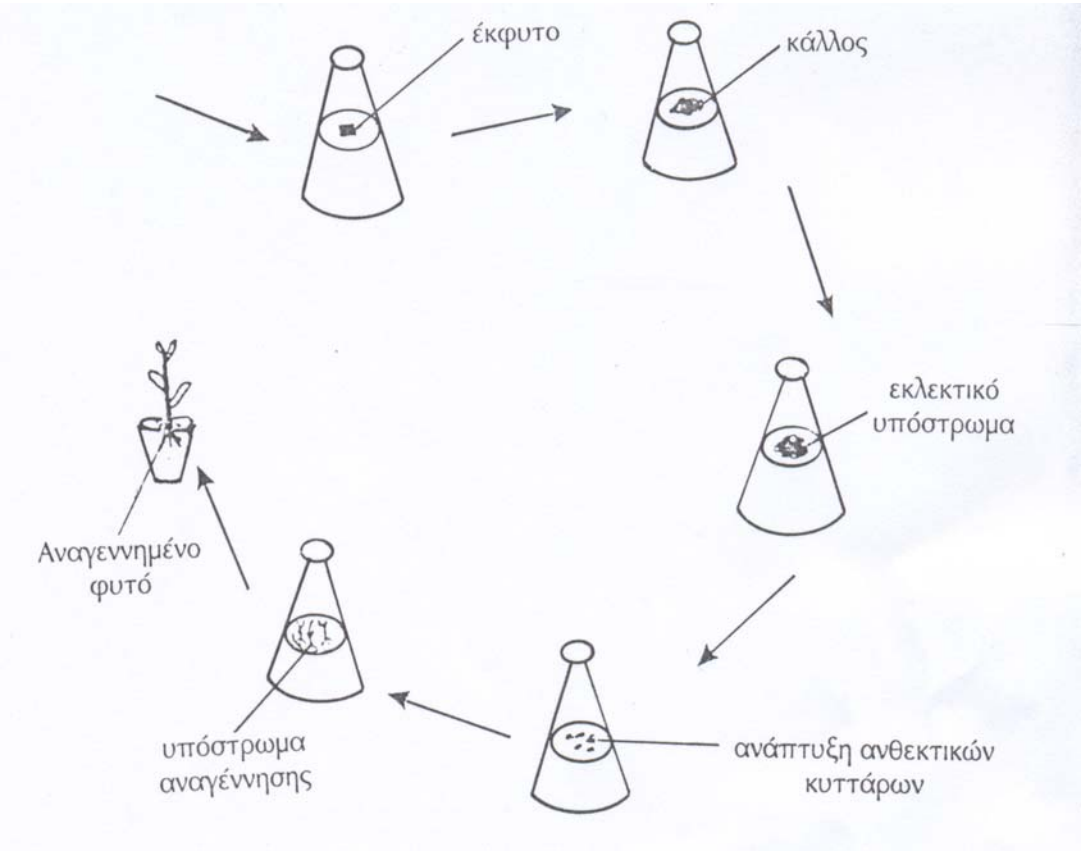
Η μεθοδολογία αλλά και όλες οι εφαρμογές της ιστοκαλλιέργειας στηρίζονται σε μια θεμελιώδη ιδιότητα του φυτικού κυττάρου που ονομάζεται ολοδυναμικότητα (totipotency). Θα μπορούσαμε να ορίσουμε την ολοδυναμικότητα ως την ικανότητα ενός απλού φυτικού κυττάρου να πολλαπλασιάζεται αγενώς και να αναγεννά το φαινότυπο ενός πλήρους και διαφοροποιημένου φυτού όπως ήταν εκείνο από το οποίο προήλθε το αρχικό κύτταρο. Με άλλα λόγια τα κύτταρα των φυτών υπό ορισμένες συνθήκες μπορούν να αναπτύσσουν τις αναπαραγωγικές τους ικανότητες και να εξελίσσονται σε φυτά πλήρη και πανομοιότυπα με το αρχικό από το οποίο προήλθαν.

Οι πρώτες προσπάθειες για την ανάπτυξη νέων φυτών με καλλιέργεια in vitro ενός φυτικού μέρους άρχισαν από τις αρχές του 20° αιώνα. Όμως η ουσιαστική εφαρμογή της ιστοκαλλιέργειας άρχισε κατά τη δεκαετία του 1960, μετά τις διαδοχικές ανακαλύψεις σχετικά με το ρόλο των αυξορρυθμιστικών ουσιών (αυξίνες, κυτοκινίνες) στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίησης των κυττάρων.

Συγχρόνως τελειοποιήθηκαν τα θρεπτικά υποστρώματα με τους κατάλληλους συνδυασμούς ανόργανων θρεπτικών στοιχείων και οργανικών ουσιών (βιταμινών, ρυθμιστικών ουσιών κ.λπ.), ώστε να κατευθύνεται η τεχνική προς συγκεκριμένο επιθυμητό αποτέλεσμα.

Ακολούθησε τελειοποίηση των μεθόδων και εφαρμογή εξειδικευμένων τεχνικών με αποτέλεσμα την ανακάλυψη πολλοί σημαντικών μεθόδων μικροπολλαπλασιασμού, όπως η σωματική εμβρυογένεση (σχηματισμός ή παραγωγή in vitro εμβρύων από

μικρή ομάδα κυττάρων ή από ένα μόνο σωματικό κύτταρο) από καλλιέργειες κάλλου (αναπτυσσόμενος φυτικός ιστός που αποτελείται από αδιαφοροποίητα κύτταρα), η καλλιέργεια ανθήρων ή ωοθηκών (δημιουργία απλοειδών φυτών από την καλλιέργεια ανθήρων ή ωοθηκών), η απομόνωση και καλλιέργεια πρωτοπλαστών (πρωτοπλάστης είναι το περιεχόμενο ενός φυτικού κυττάρου μετά την αφαίρεση του κυτταρικού τοιχώματος), ο σωματικός υβριδισμός (συγχώνευση πρωτοπλαστών προερχόμενων από διαφορετικά είδη σε ένα πρωτοπλάστη-υβρίδιο και αναγέννηση ολόκληρου φυτού από αυτόν).



Εικόνα 8. Βασικά στάδια που ακολουθούνται σε ένα κύκλο επιλογής κυττάρων σε καλλιέργεια in vitro.

Γ.3.2.1. ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Πλεονεκτήματα:

- Η κλωνική αναπαραγωγή των μητρικών φυτών, δηλαδή η παραγωγή γενετικά όμοιων φυτών-απογόνων, κυρίως όταν χρησιμοποιούνται μεριστωματικά έκφυτα.
- Η αυξημένη παραγωγή φυτών σε σύντομο χρονικό διάστημα. Έτσι, με καλλιέργεια ενός και μόνο έκφυτου μπορούν να παραχθούν, με συνεχείς υποκαλλιέργειες, χιλιάδες φυτά ετησίως.
- Η εξοικονόμηση χώρου: εργαστηριακός χώρος 100 τετραγωνικών μέτρων είναι αρκετός για τη παραγωγή 1 εκ. φυτών ετησίως, ενώ θα απαιτείτο υπερπολλαπλάσιος χώρος για συμβατική παραγωγή στο χωράφι ή το θερμοκήπιο.
- Η αποδέσμευση της παραγωγής από εξωτερικές περιβαλλοντικές συνθήκες και περιορισμούς, επειδή όλη η διαδικασία της ιστοκαλλιέργειας πραγματοποιείται σε κλειστό εργαστηριακό χώρο.
- Η παραγωγή άνοσου φυτικού υλικού, κυρίως όσον αφορά τις ιώσεις.
- Για ορισμένα φυτικά είδη (κυρίως γλαστρικά και κηποτεχνικά εξωτερικού χώρου) ο μικροπολλαπλασιασμός εξακολουθεί να είναι η μοναδική μέθοδος πολλαπλασιασμού.

Μειονεκτήματα:

- Απαιτεί υψηλό επενδυτικό κόστος (τόσο σε πάγιο εξοπλισμό όσο και σε λειτουργικά έξοδα).
- Προϋποθέτει υψηλή επάρκεια σε τεχνογνωσία καθώς και αποτελεσματική επίβλεψη και έλεγχο όλων ανεξαιρέτως των σταδίων παραγωγής.
- Το κόστος της in vitro παραγωγής φυτών είναι, προς το παρόν τουλάχιστον, σημαντικά μεγαλύτερο.

Δ. ΠΑΘΟΒΕΛΤΙΩΣΗ ΑΓΓΟΥΡΙΑΣ ΓΙΑ ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟ, ΩΙΔΙΟ ΚΑΙ ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ

Δ.1. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ

Η καλλιέργεια της αγγουριάς, από την εποχή που άρχισε να καλλιεργείται στη χώρα μας, θεωρείται ότι αποτελεί στις μέρες μας μια από τις δυναμικότερες μορφές και ένα από τους σημαντικότερους τομείς της ελληνικής γεωργίας.

Λόγω αυτού, συνεχώς γίνεται προσπάθεια από τους γενετιστές να βρεθούν νέες ποικιλίες ή να γίνει βελτίωση των υπαρχόντων ποικιλιών με σκοπό να είναι αυτές πιο παραγωγικές και να παρουσιάζουν μεγάλη προσαρμοστικότητα στις απαιτήσεις σε κλίμα και αντοχή στις ασθένειες του εδάφους που παρουσιάζει η κάθε περιοχή στις οποίες καλλιεργείται η αγγουριά.

Στη χώρα μας όμως, παρόλο που η καλλιέργεια της αγγουριάς είναι ευρεία διαδεδομένη, η επίτευξη του ανώτερου στόχου δεν είναι εφικτή, επειδή δεν υπάρχει σοβαρή οργάνωση της εφαρμοσμένης έρευνας βελτίωσης, γενικά των κηπευτικών, στα Πανεπιστήμια, ΑΤΕΙ και Ερευνητικά Ινστιτούτα του Ε.Θ.Ι.Α.Γ.Ε., στα οποία το εξειδικευμένο επιστημονικό προσωπικό στη βελτίωση των κηπευτικών είναι σήμερα ανεπαρκές.

Σημαντικό μερίδιο στη βελτίωση της αγγουριάς κατέχει η βελτίωση της γενετικής της αντοχής στα παθογόνα (φυτοπαθοβελτίωση) και σε αυτό θα αναφερθούμε στην ενότητα αυτή. Συγκεκριμένα θα αναφερθούμε στην αντοχή στις ασθένειες περονόσπορο, ωίδιο, κλαδοσπορίαση που παρουσιάζουν οι ποικιλίες και τα υβρίδια αγγουριάς μετά την βελτίωση που έχουν υποστεί.

Δ.2. ΑΝΤΟΧΗ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Δ.2.1. ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟΣ

Η ασθένεια έχει διαπιστωθεί σε κάθε περιοχή του κόσμου που η υγρασία είναι επαρκής για τις μολύνσεις και οι θερμοκρασία είναι μετρίως υψηλή. Στη χώρα μας

προκαλεί σημαντικές ζημιές, περισσότερο στις θερμοκηπιακές και λιγότερο στις υπαίθριες καλλιέργειες της αγγουριάς.

Παθογόνο αίτιο της ασθένειας είναι ο ωομύκητας *Pseudoperonospora cubensis*, του οποίου το εύρος των ξενιστών περιορίζεται στην οικογένεια Cucurbitaceae. Στις Η.Π.Α βρέθηκαν πέντε παθότυποι και στην Βουλγαρία δύο φυλές του μύκητα στην αγγουριά. Πρόσφατα στις Η.Π.Α, Πολωνια και Ασία αναφέρθηκε η παρουσία δυο φυλών στην αγγουριά σε έρευνα που πραγματοποίησαν στην Πολωνία, τις Η.Π.Α και την Ασία.

Στην αγγουριά έχει βρεθεί το γονίδιο *dm* (συν. *P*), το οποίο προσφέρει αντοχή στο περονόσπορο. Υπάρχουν, όμως ενδείξεις για έλεγχο της αντοχής από περισσότερα γονίδια. Πρόσφατα αναφέρθηκαν τρία υπολειπόμενα γονίδια (*dm-1*, *dm-2* και *dm-3*) στη "WI4783". Όμως, δεν έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα δοκιμασίες αλληλομορφισμού για να γίνει έλεγχος της σχέσεις των γονιδίων αυτών με το γονίδιο *dm*.

Από μελέτες που έχουν γίνει έχει διαπιστωθεί ότι η αντοχή της αγγουριάς στον περονόσπορο είναι συνδεδεμένη γενετικά με την αντοχή στο ωίδιο. Έτσι, εάν μια ποικιλία ή ένα υβρίδιο είναι ανθεκτικό στον περονόσπορο τότε θα είναι ανθεκτικό και στο ωίδιο. Πρόσφατα βρέθηκε μια καινούργια ποικιλία αγγουριάς με υψηλά επίπεδα αντοχής τόσο έναντι της φυλής του παθογόνου που υπάρχει στην Πολωνία και τις Η.Π.Α, όσο και έναντι της φυλής που υπάρχει στην Ασία.

Δ.2.2. ΩΙΔΙΟ

Το ωίδιο είναι πολύ διαδεδομένη ασθένεια σ' όλες τις περιοχές της χώρας και προκαλεί συχνά σημαντικές ζημιές στις καλλιέργειες αγγουριάς τόσο στην ύπαιθρο, όσο και στα θερμοκήπια.

Παθογόνο αίτιο της ασθένειας είναι οι ασκομύκητες: α) *Podosphaera xanthii* (ατελής μορφή *Oidium citrulli*), β) *Golovinomyces orontii* (ατελής μορφή *Oidium violae*), γ) *Golovinomyces cucurbitacearum* (ατελής μορφή *Oidium* sp.) και δ) *Leveillula taurica* (ατελής μορφή *Oidiopsis sicula*).

Στη χώρα μας έχουν βρεθεί τα είδη *Podosphaera xanthii*, *Golovinomyces cucurbitacearum* και *Leveillula taurica*, από τα οποία κυριαρχεί το πρώτο.

Στην αγγουριά αντοχή στο ωίδιο βρέθηκε σε γενετικό υλικό προερχόμενο από την Ιαπωνία, την Κίνα, την Ινδία και άλλες Ασιατικές χώρες. Αρχικά το υλικό αυτό, μέσα από τα προγράμματα φυτοπαθοβελτίωσης, χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία ποικιλιών ανθεκτικών σε διάφορες ασθένειες αφού μέχρι τότε δεν είχε διαπιστωθεί η αντοχή του στο ωίδιο. Στη συνέχεια και μέσα από τις νέες αυτές ποικιλίες που δημιουργήθηκαν, διαπιστώθηκε η αντοχή τους και στο ωίδιο, η οποία προφανώς ενσωματώθηκε τυχαία.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η ποικιλία "Chinese Long" η οποία αρχικά χρησιμοποιήθηκε στα προγράμματα Βελτίωσης για την αντοχή της στον CMV. Μέσα από αυτά τα προγράμματα Βελτίωσης δημιουργήθηκε η ποικιλία "Tablegreen" η οποία, βέβαια, είναι ανθεκτική στον CMV. Αργότερα όμως, διαπιστώθηκε ότι είχε κληρονομήσει από την "Chinese Long" μέτριο βαθμό αντοχής στο ωίδιο. Μελέτες πάνω στον τρόπο κληρονόμησης της αντοχής της αγγουριάς έναντι του μύκητα *Podosphaera xanthii* έδειξαν ότι η αντοχή στο ωίδιο στην ποικιλία "Natsufushinari" ρυθμίζεται από την παρουσία δυο υπολειπόμενων γονιδίων (*pm-1* και *pm-2*) και ενός ακόμα υπολειπόμενου γονιδίου (*pm-3*) στις εισαγωγές PI 200815 και PI 200818. Από άλλη μελέτη κληρονόμησης αποδείχθηκε ότι η αντοχή στο ωίδιο, που έχει μια ποικιλία, ρυθμίζεται από: α) ένα υπολειπόμενο γονίδιο (*S*, συν. *pm-s*), στο οποίο οφείλεται η αντοχή του υποκοτυλίου και σε σημαντικό βαθμό η αντοχή των φύλλων, β) ένα κυρίαρχο γονίδιο (*R*), το οποίο σε συνάρτηση με την παρουσία *pm-s*, προσδίδει την αντοχή των φύλλων και γ) ένα κυρίαρχο γονίδιο (*I*), το οποίο παρεμποδίζει την έκφραση του γονιδίου *R*, αλλά δεν επηρεάζει το γονίδιο *pm-s*.

Στα τέλη της δεκαετίας του 1960 δημιουργήθηκε μια ανθεκτική σειρά αγγουριάς, η NPI, της οποίας το υψηλό επίπεδο αντοχής προερχόταν από την ενσωμάτωση των αντοχών που είχαν στη ποικιλία "Natsufushinari" και στην εισαγωγή PI 200815. Αυτή η ανθεκτική, στο ωίδιο, σειρά της αγγουριάς χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα στην Ολλανδία για την δημιουργία ανθεκτικών υβριδίων. Όμως, τα ανθεκτικά αυτά υβρίδια που προερχόταν από την NPI παρουσίαζαν ένα σοβαρό μειονέκτημα. Κατά την διάρκεια του φθινοπώρου, του χειμώνα και των αρχών της άνοιξης κάτω από τις συνθήκες ελλιπούς φωτισμού στα υβρίδια αυτά παρουσιαζόταν μια χλώρωση στα παλαιότερα φύλλα με αποτέλεσμα να μειώνεται σημαντικά η παραγωγή τους. Λόγω αυτού του μειονεκτήματος που παρουσιάζουν το υβρίδια αυτά, είναι αδύνατη η καλλιέργεια τους στις χώρες της βόρειας Ευρώπης, όπου ο φυσικός φωτισμός των καλλιεργειών κατά τις περιόδους αυτές είναι ανεπαρκής. Παρά τις τεράστιες

προσπάθειες που έχουν γίνει τα τελευταία δεν έχει επιτευχθεί ο διαχωρισμός της αντοχής στο ωίδιο από την ευπάθεια στην χλώρωση. Βέβαια, στην χώρα μας η καλλιέργεια αυτών των υβριδίων γίνεται χωρίς να παρατηρείται το παραπάνω μειονέκτημα, καθώς ο φυσικός φωτισμός κατά την διάρκεια του χειμώνα είναι επαρκής.

Από έρευνα που έγινε σε 177 εισαγωγές αγγουριάς, οι *Cucumis sativus* 2145, *Cucumis sativus* LV 41, RI 188807, Vladivostokij και White & Yellow 1 βρέθηκαν να διαθέτουν ένα ή περισσότερα υπολειπόμενα γονίδια αντοχής, τα οποία πιθανόν είναι διαφορετικά από εκείνα που υπάρχουν στη σειρά NPI.

Δ.2.3. ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ

Η ασθένεια είναι διαδεδομένη σε διάφορες περιοχές της Βορείου Αμερικής, της Ασίας, της Αφρικής και της Ευρώπης, όπου επικρατούν ψυχρότερες κλιματολογικές συνθήκες (Ευρώπη: Αυστρία, Βουλγαρία, Γαλλία, Γερμανία, Δανία, Εσθονία, Ιταλία, Μ. Βρετανία, Λιθουανία, Νορβηγία, Ολλανδία, Ουγγαρία, Πολωνία, Πορτογαλία, πρώην Γιουγκοσλαβία, Ρουμανία, Ρωσία, Σουηδία, Τσεχία,Φινλαδία. Ασία: Ιαπωνία, Ινδία, Ιράν, Ισραήλ, Κίνα, Κορέα, Κύπρος, Μπουτάν, Λίβανος, Πακιστάν, Ταϊλάνδη, Τουρκία, Υεμένη. Αφρική: Ζάμπια, Ζιμπάμπουε, Κένυα, Μαρόκο, Νότια Αφρική. Αμερική: Ελ Σαβαδόρ, ΗΠΑ, Καναδάς, Κούβα, Μεξικό, Μπαρμπάντος, Παναμάς, Πόρτο Ρίκο, Χιλή). Στη χώρα μας, λόγω μη ευνοϊκών κλιματολογικών συνθηκών αλλά και λόγω καλλιέργειας ανθεκτικών υβριδίων, δεν προκαλεί ζημιές.

Παθογόνο αίτιο της ασθένειας είναι ο ατελής μύκητας *Cladosporium cucumerinum*, ο οποίος μέχρι σήμερα δεν έχει εμφανίσει φυσιολογικές φυλλές.

Στα περισσότερα εμπορικά υβρίδια αγγουριάς Ολλανδικού τύπου, καθώς και σε πολλές Αμερικάνικες ποικιλίες και υβρίδια έχει βρεθεί αντοχή της αγγουριά έναντι της κλαδοσπορίασης. Η αντοχή αυτή οφείλεται στο κυρίαρχο γονίδιο *Ccu*.

Δ.3. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΓΕΝΟΤΥΠΩΝ ΚΟΛΟΚΥΝΘΟΕΙΔΩΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Δ.3.1. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΣΤΗΡΙΖΟΜΕΝΕΣ ΣΕ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ

Στα αμέσως επόμενα υποκεφάλαια θα αναφερθούμε σε μερικά παραδείγματα τεχνητών μολύνσεων που χρησιμοποιούνται σήμερα στην αγγουριά για την επιλογή των ανθεκτικών γενοτύπων στις ασθένειες περονόσπορο, ωίδιο, κλαδοσπορίαση

Δ.3.1.1. ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟΣ

Παθογόνο: *Pseudoperonospora cubensis.*

Διατήρηση παθογόνου: Ο μύκητας διατηρείται σε ευπαθή σπορόφυτα αγγουριάς (“SMR-18”, “Straight-8”) στους 16˚C για 3-4 εβδομάδες μετά τη μόλυνση. Μολυσμένες κοτυληδόνες με σποριάγγεια του μύκητα τοποθετούνται σε πλαστικές σακούλες και διατηρούνται σε κατάψυξη έως και 10 εβδομάδες, αλλά με μειωμένη βιωσιμότητα.

Παραγωγή μολύσματος: Οι τεχνητές μολύνσεις γίνονται σε κοτυληδόνες σπορόφυτων αγγουριάς ποικιλίας “Straight-8”. Κατόπιν ακολουθεί επώαση στο σκοτάδι για 48 ώρες στους 20˚C με 100% σχετική υγρασία. Στη συνέχεια τα μολυσμένα σπορόφυτα μεταφέρονται σε θάλαμο ανάπτυξης φυτών, διατηρούμενα στους 16˚C και ποτίζονται τρεις φορές εβδομαδιαίως με διάλυμα Hoagland. Για να γίνει παραγωγή σποροαγγείων τα σπορόφυτα, μετά από 2-3 εβδομάδες αφού έχει γίνει η μόλυνση, ψεκάζονται με νερό και τοποθετούνται σε θάλαμο δρόσου στο σκοτάδι για 24 ώρες σε συνθήκες 20˚C και 100% σχετικής υγρασίας. Στη συνέχεια ακολουθεί κοπή των κοτυληδόνων και βαπτίσει τους σε αποσταγμένο νερό για την απομάκρυνση των υπάρχωντων εκκρίσεων των φύλλων μετά την κοπή. Τέλος, οι κοτυληδόνες τοποθετούνται σε κύπελλο με απεσταγμένο νερό, όπου με ελαφριά τριβή με το χέρι αποσπούνται τα σποριάγγεια. Η πυκνότητα των σποριαγγείων ρυθμίζεται, με τη βοήθεια αιματοκυτταρόμετρου, στα 10^5 σποριάγγεια / ml.

Διαδικασία τεχνητής μόλυνσης: Με τη βοήθεια πιπέτας Pasteur τοποθετείται μια σταγόνα από το μόλυσμα όγκου 0,01-0,03 ml στην πάνω επιφάνεια κάθε κοτυληδόνας σποροφύτου ηλικίας 3-4 ημερών, όταν οι κοτυληδόνες έχουν εκπτυχθεί πλήρως.

Μάρτυρες: Ανθεκτική ποικιλία αγγουριάς: “GY14”.

Ευπαθής ποικιλία αγγουριάς: “Straight 8”.

Ανάπτυξη ασθένειας: Αφού γίνει η μόλυνση των κοτυληδόνων τα σπορόφυτα τοποθετούνται σε θάλαμο δρόσου στο σκοτάδι για 48 ώρες και σε συνθήκες 20˚C και 100% σχετικής υγρασίας. Στη συνέχεια τοποθετούνται για 7-8 ημέρες σε θάλαμο ανάπτυξης ή σε θερμοκήπιο και σε θερμοκρασία 24-28˚C.

Αξιολόγηση αλληλεπιδρώντων φαινοτύπων: Τα φυτά ταξινομούνται σε ανθεκτικά ή ευπαθή. Τα ανθεκτικά φυτά είναι είτε χωρίς συμπτώματα είτε παρουσιάζουν ελλιπής τοπική χλώρωση, ενώ τα ευπαθή φυτά παρουσιάζουν έντονη χλώρωση.

Δ.3.1.2. ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟΣ

Παθογόνο: *Pseudoperonospora cubensis.*

Διατήρηση παθογόνου: Ο μύκητας διατηρείται σε φύλλα του ευπαθούς υβριδίου αγγουριάς “Stella”.

Παραγωγή μολύσματος: Το μόλυσμα λαμβάνεται από τα φύλλα του υβριδίου αγγουριάς “Stella”, στα οποία έχει διατηρηθεί ο μύκητας. Τα φύλλα αυτά φέρουν σποριάγγεια του παθογόνου ηλικίας 2-3 ημερών, αφού προηγουμένως έχει γίνει πλύσιμο της επιφάνειας τους με απεσταγμένο νερό. Η πυκνότητα του μολύσματος ρυθμίζεται με αιματοκυτταρόμετρο στα 10^5 σποριάγγεια / ml.

Διαδικασία τεχνητής μόλυνσης: Από φυτά, ηλικίας 6-9 εβδομαδών, κόβονται φύλλα που βρίσκονται στο κατώτερο και μεσαίο μέρος του, με τη βοήθεια του φελλοτρυπητή, δίσκοι διαμέτρου 20 mm, οι οποίοι τοποθετούνται με την κάτω επιφάνεια τους πάνω σε υγρό διηθητικό χαρτί, μέσα σε πλαστικά κουτιά διαστάσεων 50X34 cm. Στη συνέχεια οι δίσκοι αυτοί μολύνονται με ψεκασμό της επιφάνειας τους με το αιώρημα των σπορίων.

Μάρτυρες: Ανθεκτική ποικιλία αγγουριάς “GY14”.

Ευπαθής ποικιλία αγγουριάς “Stella” F1.

Ανάπτυξη ασθένειας: Αφού γίνει η μόλυνση, τα κουτιά με τους δίσκους κλείνονται με τζάμι και επωάζονται σε θάλαμο ανάπτυξης για 10-13 ημέρες στους 15˚C με 12ωρη φωτοπερίοδο.

Αξιολόγηση αλληλεπιδρώντων φαινοτύπων: Χρησιμοποιείται κλίμακα αξιολόγησης από 0 έως 4, όπου: 0=όχι συμπτώματα, 1=<25% της επιφάνειας του δίσκου καλυμμένη με σποριοαγγειοφόρους, 2=<50% της επιφάνειας του δίσκου καλυμμένη με

σποριαγγειοφόρους, 3=<75% της επιφάνειας του δίσκου καλυμμένη με σποριοαγγειοφόρους, 4=>75% της επιφάνειας του δίσκου καλυμμένη με σποριοαγγειοφόρους. Η αξιολόγηση γίνεται οπτικά. Οι αλληλεπιδρώντες φαινότυποι εκτιμώνται ως τα ποσοστά του μέγιστου βαθμού σπορίωσης (ευπαθείς γενότυποι >35%, ανθεκτικοί γενότυποι 35%).

Δ.3.1.3. ΩΙΔΙΟ

Παθογόνα: α)*Podosphaera xanthii*, β)*Golovinomyces cucurbitacearum*.

Διατήρηση παθογόνων: Οι μύκητες διατηρούνται σε κομμένες και απολυμασμένες κοτυληδόνες αγγουριάς από την ποικιλία Κνωσός (Εικόνα 9). Οι κοτυληδόνες είναι τοποθετημένες πάνω σε κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα (20 gr μαννιτόλη, 10 gr σακχαρόζη, 5 γρ agar και 1L απιονισμένο νερό) μέσα σε τρυβλία Petri διαμέτρου 6 cm. Αφού γίνει αποστείρωση (115°C επί 20 min) και εφόσον το υλικό έχει θερμοκρασία περίπου 45˚C προστίθεται 25mg τετρακυκλίνη. Στη συνέχεια τα τρυβλία τοποθετούνται σε θαλάμους ανάπτυξης φυτών στους 17˚C με 12ωρη φωτοπερίοδο και ένταση φωτός περίπου ίση προς 100μmol/s/m², όπου και παραμένουν για 20 περίπου ημέρες.

Παραγωγή μολύσματος: Στην πάνω επιφάνεια των κοτυληδόνων αγγουριάς που είναι μέσα στα τρυβλία Petri, μεταφέρονται κάτω από ασηπτικές συνθήκες, κονίδια του επιθυμητού είδους ή και φυλής του παθογόνου. Η επώαση των αποικιών γίνεται επί 8 ημέρες σε θαλάμους ανάπτυξης φυτών στους 21˚C με 12ωρη φωτοπερίοδο και ένταση φωτός περίπου ίση προς 100μmol/s/m².

Διαδικασία τεχνητής μόλυνσης: Από τα υπό αξιολόγηση φυτά, ηλικίας 2-3 μηνών κόβονται τα δυο νεώτερα πλήρως αναπτυγμένα φύλλα, με τη βοήθεια του φελλοτρυπυτή, δίσκοι διαμέτρου 15mm οι οποίοι τοποθετούνται, με την πάνω επιφάνεια τους προς τα επάνω, σε διηθητικό χαρτί, με την προσθήκη 30ml διαλύματος, το οποίο περιέχει 30gr/L μαννιτόλη και 30ppm βενζιμιδαζόλη. Αυτό έχει ως σκοπό την καθυστέρηση του γηρασμού των φυλλικών δίσκων και την προστασία τους από stress οσμωτικής πίεσης. Σε κάθε τρυβλίο τοποθετούνται τέσσερις υπό αξιολόγηση ποικιλίες με πέντε φυλλικούς δίσκους από κάθε μία ποικιλία. Κάθε τρυβλίο τοποθετείται στον πυθμένα ενός πλαστικού πύργου διαμέτρου 25cm και ύψος 1m. Κάθε πύργος στην κορυφή του έχει πλαστικό κάλυμμα που στο κέντρο του φέρει οπή διαμέτρου 4cm. Για να γίνει η μόλυνση, πάνω από αυτήν την οπή κρατείται μια

κοτυληδόνα που φέρει τα κονίδια του μύκητα και με την βοήθεια μιας πιπέτας Pasteur γίνεται φύσημα με το στόμα πάνω στην επιφάνεια της κοτυληδόνας ώστε να μεταφερθούν τα κονίδια στο εσωτερικό του πύργου.

Μάρτυρες: Ανθεκτικές ποικιλίες αγγουριάς "WI2757", "Andro".

Ευπαθείς ποικιλίες αγγουριάς "Κνωσός", "SMR18".

Εικόνα 9. Καθαρή καλλιέργεια *Podosphaera xanthii* σε κομμένες κοτυληδόνες αγγουριάς κάτω από ασηπτικές συνθήκες.

Ανάπτυξη ασθένειας: Αφού γίνει η μόλυνση των φυλλικών δίσκων τα τρυβλία μεταφέρονται σε θάλαμο ανάπτυξης, όπου επωάζονται για 10 ημέρες στους 21˚C, με 12ωρη φωτοπερίοδο και ένταση φωτός στο επίπεδο των τρυβλίων ίση περίπου προς 100μmol/s/m².

Αξιολόγηση αλληλεπιδρώντων φαινοτύπων: Χρησιμοποιείται οπτική κλίμακα αξιολόγησης από 0 έως 9, όπου 0=όχι συμπτώματα, 1=1-2 πολύ μικρές αποικίες ανά φυλλικό δίσκο, 3=3-4 πολύ μικρές αποικίες ανά φυλλικό δίσκο, 5=πολλές μικρές αποικίες ανά φυλλικό δίσκο, 7=πολλές μεγάλες αποικίες ανά φυλλικό δίσκο και 9=ολόκληρη η επιφάνεια του δίσκου καλυμμένη με μυκήλιο και σπόρια. Οι αλληλεπιδρώντες φαινότυποι από 0-3 δείχνουν ανθεκτικές αντιδράσεις, ενώ από 5-9 δείχνουν ευπαθείς αντιδράσεις.

Δ.3.1.4. ΩΙΔΙΟ

Παθογόνο: *Podosphaera xanthii*.

Διατήρηση παθογόνου: Ο μύκητας διατηρείται σε ζωντανά φυτά.

Παραγωγή μολύσματος: Από φύλλα που είναι μολυσμένα με τον μύκητα συλλέγονται τα κονίδια σε νερό, από το οποίο παρασκευάζεται αιώρημα πυκνότητας 10^5 σπόρια/ml. Πριν τη μόλυνση το αιώρημα των κονιδίων διηθείται μέσω γάζας.

Διαδικασία τεχνητής μόλυνσης: Από την κάθε υπό αξιολόγηση ποικιλία παίρνουμε 30 σπορόφυτα που είναι σε γλαστράκια και στο στάδιο που είναι πλήρως εκπτυγμένες οι κοτυληδόνες. Τα σπορόφυτα αυτά πλένονται με νερό και στην συνέχεια μολύνονται δια ψεκασμού με το αιώρημα των σπορίων. Η τεχνητή μόλυνση επαναλαμβάνεται την επόμενη ημέρα καθώς και μετά από 5 ημέρες.

Μάρτυρες: Ανθεκτική ποικιλία αγγουριάς "Cordoba".

Ευπαθής ποικιλία αγγουριάς "Beth Alpha".

Ανάπτυξη ασθένειας: Αφού γίνει η μόλυνση τα φυτάρια μεταφέρονται σε θερμοκήπιο ρυθμιζόμενων συνθηκών. Εκεί παραμένουν για 12 ημέρες σε συνθήκες 20˚C και 16 τουλάχιστο ώρες φωτοπερίοδο.

Αξιολόγηση αλληλεπιδρώντων φαινοτύπων: Τα φυτάρια αξιολογούνται ως ανθεκτικά ή ευπαθή με βάση τα συμπτώματα (έκταση κηλίδων, βαθμός σπορίασης κ.λπ.).

Δ.3.1.5. ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ

Παθογόνο: *Cladosporium cucumerinum.*

Διατήρηση παθογόνου: Ο μύκητας διατηρείται σε σωλήνες με PDA στους 4˚C για 3 μήνες και με τη χρήση παραφινελαίου για 1 χρόνο.

Παραγωγή μολύσματος: Μεταφέρεται αιώρημα σπορίων του μύκητα στην επιφάνεια τρυβλίου με PDA και σε θερμοκρασία 20˚C θα γίνει επώαση, σε διάστημα 3-5 ημέρες, των κονιδίων που θα χρησιμοποιηθούν στην συνέχεια για τις τεχνητές μολύνσεις. Τα κονίδια που θα σχηματιστούν στην επιφάνεια της αποικίας παραλαμβάνονται από τα τρυβλία με τη βοήθεια χειρουργικής λεπίδας (σκαρπέλο), εφόσον όμως , πρώτα έχει γίνει προσθήκη νερού και ελαφρό τρίψιμο της επιφάνειας της αποικίας. Για να απομακρυνθούν τα τεμάχια του μυκηλίου ακολουθεί διήθηση σε τρία επίπεδα γάζας και φυγοκέντριση δύο φορές στα 3.000 rpm για 10 min. Στη συνέχεια ακολουθεί ρύθμιση του αιωρήματος στα $2X10^5$ κονίδια/ml ή στα $4X10^5$ κονίδια/ml, ανάλογα με τη μέθοδο της μόλυνσης.

Διαδικασία τεχνητής μόλυνσης: Πραγματοποιείται με τρεις μεθόδους και είναι οι εξής:

1η Μέθοδος τεχνητής μόλυνσης: Γίνεται με ψεκασμό του υποκοτυλίου του σποροφύτου με αιώρημα σπορίων πυκνότητας $2X10^5$ κονίδια/ml.

2η Μέθοδος τεχνητής μόλυνσης: Σε σπορόφυτα ηλικίας 3-4 ημερών (είναι το στάδιο όπου οι κοτυληδόνες είναι πλήρως εκπτυγμένες) τοποθετείται, με την βοήθεια πιπέτας Pasteur, μια σταγόνα μολύσματος όγκου 0,01-0,03 ml και πυκνότητας $4X10^5$ κονίδια/ml στην πάνω επιφάνεια κάθε κοτυληδόνας.

3η Μέθοδος τεχνητής μόλυνσης: Γίνεται ψεκασμός της αυξανόμενης κορυφής και των νεαρών φύλλων φυταρίων ευρισκόμενων μεταξύ σταδίου κοτυληδόνας και 5ου πραγματικού φύλλου. Σε ορισμένα φυτά που είναι ανθεκτικά μπορεί να παρατηρηθεί μια μικρή ζημιά στην αυξανόμενη κορυφή.

Μάρτυρες: Ανθεκτικές ποικιλίες αγγουριάς "SMR-18" και "WI-2757".

Ευπαθής ποικιλία αγγουριάς "Straight-8".

Ανάπτυξη ασθένειας: Αφού γίνει η μόλυνση των κοτυληδόνων, τα σπορόφυτα τοποθετούνται σε θάλαμο δρόσου (100% σχετική υγρασία) στο σκοτάδι για 48 ώρες στους 20˚C και στην συνέχεια για 5-7 ημέρες σε θάλαμο ανάπτυξης φυτών με θερμοκρασία 17-20˚C.

Αξιολόγηση αλληλεπιδρόντων φαινότυπων: Η ταξινόμηση των φυτών γίνεται μεταξύ ανθεκτικών ή ευπαθών φυτών.

1η Μέθοδος τεχνητής μόλυνσης: Τα ευπαθή φυτά στο υποκοτύλιο παρουσιάζουν βυθισμένες, νεκρωτικές πληγές, ενώ τα ανθεκτικά φυτά στο υποκοτύλιο παρουσιάζουν ανεπαίσθητη υδατώδη πληγή.

2η Μέθοδος τεχνητής μόλυνσης: Τα ευπαθή φυτά στην κοτυληδόνα παρουσιάζουν βυθισμένη νεκρωτική κηλίδα, ενώ στην κοτυληδόνα των ανθεκτικών φυτών αυτή η νεκρωτική κηλίδα είναι απούσα ή ανεπαίσθητη.

3η Μέθοδος τεχνητής μόλυνσης: Στα ευπαθή φυτά νεκρώνεται η αυξανόμενη κορυφή και στα νεαρά φύλλα δημιουργούνται νεκρωτικές πληγές. Τα υγιή φυτά παραμένουν υγιή, αν και μπορεί να παρατηρηθεί κάποια νέκρωση στην αυξανόμενη κορυφή.

Δ.3.1.6. ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ

Παθογόνο: *Cladosporium cucumerinum.*

Διαδικασία τεχνητής μόλυνσης: Σπορόφυτα 1 ημέρας που έχουν αναπτυχθεί αποστειρωμένο βερμικουλίτη μέσα σε θάλαμο ανάπτυξης φυτών με 14ωρη φωτοπερίοδο, ένταση φωτός 200 μmol/s/m² και θερμοκρασία 20-24˚C μολύνονται στο

κέντρο κάθε κοτυληδόνας με σταγόνα μολύσματος όγκου 5μl και πυκνότητας $2X10_6$ κονίδια/ml. Η μόλυνση των κοτυληδόνων καλό είναι να γίνεται κοντά στα νεύρα γιατί έτσι παρέχονται πιο αξιόπιστα αποτελέσματα.

Μάρτυρες: Ανθεκτικές ποικιλίες αγγουριάς "SMR-18" και "WI27-57".

Ευπαθής ποικιλία αγγουριάς "Straight-8".

Ανάπτυξη ασθένειας: Αφού γίνει η μόλυνση των κοτυληδόνων τα σπορόφυτα μεταφέρονται σε σκοτεινό θάλαμο δρόσου (100% σχετική υγρασία) για 48 ώρες, σε θερμοκρασία 20˚C και μετά για 6 ημέρες σε θάλαμο ανάπτυξης φυτών στην ίδια θερμοκρασία και με 12ωρη φωτοπερίοδο. Εάν οι θερμοκρασίες είναι υψηλότερες τότε τα ευπαθή φυτά δίνουν ανθεκτικές αντιδράσεις. Τυχόν διακυμάνσεις της έντασης του φωτός δεν επηρεάζουν την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Αξιολόγηση αλληλεπιδρώντων φαινοτύπων: Χρησιμοποιείται οπτική κλίμακα αξιολόγησης από 0-9, όπου: 0=όχι συμπτώματα, 1=στιλπνή κηλίδα με λιγότερο από 4 νεκρωτικά στίγματα, 3=περισσότερα από 5 νεκρωτικά στίγματα που μπορεί να συνενώνονται, 5=νεκρωτικές κηλίδες συνήθως περιβαλλόμενες από ανοικτό πράσινο περιθώριο, 7=μικρές βυθισμένες νεκρωτικές πληγές συνήθως προβαλλόμενες από ένα ανοικτό πράσινο περιθώριο, 9=βυθισμένες νεκρωτικές πληγές μεγαλύτερες από 8mm, συνήθως περιβαλλόμενες από ανοικτό πράσινο περιθώριο. Οι αλληλεπιδρώντες φαινότυποι από 0-3 δείχνουν ανθεκτικές αντιδράσεις, ενώ από 5-9 δείχνουν ευπαθείς αντιδράσεις.

Η παραπάνω μέθοδος που αναπτύξαμε έχει δυο σπουδαία πλεονεκτήματα. 1) Αξιολογείται μεγάλος αριθμός φυτών μέσα σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα και με μικρές απαιτήσεις χώρου σε θαλάμους ανάπτυξης. 2) Τα ευπαθή φυτά δεν καταστρέφονται από την ασθένεια και έτσι μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε περαιτέρω μελέτες. Τέλος για να γίνει με επιτυχία η παραπάνω μέθοδος απαραίτητη προυπόθεση είναι η ομοιόμορφη ανάπτυξη των σποροφύτων σε θερμοκρασία 20˚C και η τεχνητή μόλυνση των κοτυληδόνων 1 ημέρα μετά την έξοδο των σποροφύτων από το υπόστρωμα.

Δ.3.1.7. ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ

Παθογόνο: *Cladosporium cucumerinum.*

Διατήρηση παθογόνου: Ο μύκητας διατηρείται σε θρεπτικό υλικό CDA στους 4˚C.

Παραγωγή μολύσματος: Ο μύκητας αναπτύσσεται σε θρεπτικό υλικό CDA στους 20-22˚C επί 8-10 ημέρες. Αφού γίνει προσθήκη στα τρυβλία 1% CDA + 0,08% Sandovit, με την βοήθεια χειρουργικής λεπίδας (σκαρπέλο) παραλαμβάνονται τα σπόρια. Στη συνέχεια ακολουθεί ρύθμιση της πυκνότητας του αιωρήματος στα 10_4-10^5 σπόρια/ml.

Διαδικασία τεχνητής μόλυνσης: Σπορόφυτα αγγουριάς που βρίσκονται στο στάδιο των πλήρως αναπτυγμένων κοτυληδόνων ψεκάζονται με το αιώρημα των σπορίων του παθογόνου.

Ανάπτυξη ασθένειας: Αφού γίνει η τεχνητή μόλυνση τα σπορόφυτα επωάζονται στο σκοτάδι για 24 ώρες και ακολούθως μεταφέρονται σε θάλαμο δρόσου (100% σχετική υγρασία), όπου και παραμένουν για 12-13 ημέρες σε συνθήκες, 15-18˚C, 12ωρη φωτοπερίοδο και ένταση φωτός περίπου 300W/m².

Αξιολόγηση αλληλεπιδρώντων φαινοτύπων: Χρησιμοποιείται οπτική κλίμακα αξιολόγησης αριθμισμένη από 0-3, όπου: 0=όχι συμπτώματα, 1=το υποκοτύλιο και οι κοτυληδόνες δεν εμφανίζουν συμπτώματα, ενώ τα αναπτυσσόμενα πρώτα φύλλα φέρουν προσβολή στα περιθώρια, 2=οι κοτυληδόνες, τα φύλλα και το υποκοτύλιο φέρουν νεκρωτικές κηλίδες, τα πρώτα πραγματικά φύλλα νεκρώνονται και εντέλει τα φυτά επιβιώνουν και 3=τα φυτά χάνουν την ευρωστία τους, οι κοτυληδόνες νεκρώνονται, το υποκοτύλιο γίνεται υδαρές και σπάζει και εντέλει τα φυτά υποκύπτουν.

Δ.3.2.ΕΠΙΛΟΓΗ ΣΤΗΡΙΖΟΜΕΝΗ ΣΕ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ

Στη φυτοπαθοβελτίωση μπορεί να διευκολυνθεί ο έλεγχος της πιθανής αντοχής ενός φυτού σε μία ασθένεια, η οποία ρυθμίζεται μονογονιδιακά, εάν γίνει επισήμανση ενός άλλου γονιδίου (gene marker) που βρίσκεται σε στενή γενετική σύνδεση με το γονίδιο της αντοχής. Έτσι, κάνοντας έλεγχο της έκφρασης του γονιδίου δείκτη παίρνονται πληροφορίες για την παρουσία του γονιδίου αντοχής στο γένωμα του φυτού, χωρίς να απαιτούνται δοκιμές παθογένειας για τη διαπίστωση της αντοχής, οι οποίες είναι χρονοβόρες και συχνά κοπιώδεις. Συγκεκριμένα, κατά τη διαδικασία επιλογής ανθεκτικών γενοτύπων, οι δοκιμές παθογένειας αντικαθίστανται με βιοχημικούς ή μοριακούς δείκτες, οι οποίοι ελέγχονται με μεγαλύτερη ακρίβεια, απαιτούν λιγότερη εργασία και δίνουν ταχύτερα αποτελέσματα.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα βιοχημικού δείκτη που έχει χρησιμοποιηθεί στη φυτοπαθοβελτίωση της αγγουριάς αποτελεί η ενζυμική δραστικότητα της υπεροξειδάσης, καθώς και η χρησιμοποίηση πέντε RAPD δεικτών (G14800, X151100, AS5800, BC5191100 και BC5261000) για επιλογή των ανθεκτικών γενοτύπων έναντι του μύκητα *Pseudoperonospora cubensis.*

Δ.4. ΕΜΠΟΡΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΚΑΙ ΥΒΡΙΔΙΑ ΑΓΓΟΥΡΙΑΣ ΜΕ ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΙΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΩΙΔΙΟ, ΠΕΡΟΝΟΣΠΟΡΟ, ΚΛΑΔΟΣΠΟΡΙΑΣΗ

Στην αγορά κυκλοφορούν πάρα πολλά υβρίδια και ποικιλίες αγγουριάς που παρουσιάζουν αντοχή στις ασθένειες, ωίδιο, περονόσπορο, κλαδοσπορίαση. Άλλα υβρίδια και ποικιλίες, μπορεί να παρουσιάζουν αντοχή σε μία από τις παραπάνω ασθένειες και άλλα ακόμα και στις τρεις αυτές ασθένειες.

Στους Πίνακες 1,2,3 και 4 αναφέρονται τα υβρίδια και οι ποικιλίες αγγουριάς (είτε κυκλοφορούν στην παγκόσμια αγορά, είτε κυκλοφόρησαν στο παρελθόν αλλά σήμερα έχουν αποσυρθεί) και που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα έναντι του ωιδίου, του περονόσπορου, της κλαδοσπορίασης.

Σημειώνεται ότι οι αναφερόμενες αντοχές στις παραπάνω ασθένειες που παρουσιάζουν τα αναφερόμενα υβρίδια και οι ποικιλίες προέρχονται από τα πληροφοριακά δελτία των Οίκων Παραγωγής ή Εμπορίας ή από τις ετικέτες των φακέλων συσκευασίας.

Πίνακας 1. Υβρίδια αγγουριάς με αντοχή στο ωίδιο, περονόσπορο και κλαδοσπορίαση, τα οποία είναι μακριά με λεία επιφάνεια, παρθενοκαρπικά, "Ολλανδικού" τύπου, για υπό κάλυψη καλλιέργεια.

ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ	ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ
Adora	Cl	Bella	Cl,O
Aidas	Cl	Bellisima	Cl,M,O
Akritas	Cl,M,O	Birgit	Cl
Alcor	Cl,M,O	Boloria	Cl
Almeria	O	Bonami	Cl
Almon	O	Boneva	Cl
Amazing	O	Brio	Cl
Amazone	Cl	Bronco	Cl
Aminex	Cl	Brucona	Cl
Antiskari	Cl,M,O	Brudania	Cl
Aramon	Cl,O	Brunex	Cl
Ariadni	Cl	C445	Cl
Astrid	Cl	C561	Cl
Aurelia	Cl	Camirex	Cl,O
Avir	Cl	Cargo	M
Baloo	M,O	Casanoca	Cl,M,O
Bambina	Cl	Cilla	Cl
Bellita	Cl	Colias	Cl
Cordoba	Cl,O	Mazurka	O
Corona	Cl	Mesa	Cl
Daleva	Cl	Mildana	Cl,M,O
Dalibor	Cl	Millio	Cl,O
Danora	M,O	Modicos	M,O
Destiny	Cl	Monac	O
Dinasty (388)	Cl,O	Mustang	Cl
Dorian	Cl	Noval	Cl,M
Dymamite	O	Ophelia	Cl,M

ONOMA	ANTOXH	ONOMA	ANTOXH
Elka	Cl	Palladium	M,O
Etalon	Cl	Palmera	Cl
Euphya	O	Pandex	Cl
Faican	Cl	Pandorex	Cl
Falko	Cl	Papilio	Cl
Famosa	Cl	Pepinex	Cl
Farbio	Cl	Pepinova	Cl,M
Farbiola	Cl	Perex	Cl,M,O
Farona	Cl	Primio	Cl
Fembasy	Cl,M,O	Profito	O
Fertila	Cl	Radja	Cl
Fidelio	Cl,M,O	Rayo	Cl
Filabres	Cl,O	Regina	Cl
Fitness	Cl,O	Reno	Cl,M,O
Flair	Cl	Rival	Cl
Frixos	M,O	Salvador	Cl
Futura	O	Samba	Cl
Fytos	Cl,O	Sanabel	Cl
Gador	Cl,O	Sandoro	Cl
Girola	Cl	Sandra	Cl
Grandiosa	Cl	Santo	Cl,M,O
Gremio	M,O	Saskia	Cl
Ingrid	Cl	Serami	Cl
Jessica	Cl	Sofia	Cl
Ilectra	Cl,M	Sortena	Cl
Kalunga 481	Cl,O	Stamina	O
Kamaron	Cl	Stereo	Cl
Kivia	Cl	Superator	Cl
Luberon	Cl,O	Super Dinasty	Cl,O
Lucinde	Cl	Suprami	Cl,O
Manu	Cl	Tiffany	O

ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ	ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ
Marillo	Cl,O	Toska 70	Cl
Marumba	Cl	Trueno	Cl
Valore	Cl	Vitalis	Cl
Ventura	Cl	Zakros	Cl
Venus	Cl	Ziros	Cl
Verana	Cl	717	Cl
Viking	M,O	951	Cl

Πίνακας 2. Υβρίδια αγγουριάς με αντοχή στο ωίδιο, περονόσπορο και κλαδοσπορίαση που έχουν λεία επιφάνεια, τύπου "Mini" ή "Bet Alpha", για υπό κάλυψη και/ή υπαίθρια καλλιέργεια.

ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ	ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ
Akhdar	Cl,O	Katia	Cl
Arabio	Cl,O	Lara	Cl
Astarte	Cl	Luna	Cl,O
Atar	O	Majid	Cl,O
Banza	Cl,O	Manar	O
Baron	Cl	Maram	Cl
Caprice	Cl	Meta	Cl,O
Carlton	M	Midistar	M,O
Comet A	Cl,O	Mildos	Cl,M,O
Concordia	Cl,O	Minibar	Cl
Condesa RZ	Cl,O	Minisol	Cl
Cardito	Cl,O	Monarch	Cl,M,O
Cypria	O	Mubis	Cl,O
Danimas	Cl	Nabil	Cl,M,O
Dedalos	M,O	Noor	Cl,O
Dina	Cl	Oasis	Cl
Emily	Cl	Pamfilia	Cl
Esmeralda	Cl	Paska	Cl,O

ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ	ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ
Extram	Cl	Petita	Cl
Farid	Cl,M,O	Picobello	Cl
Farol	Cl,O	Pigal	Cl,M,O
Figaro	Cl,O	Raheed	Cl
Hamada	M,O	Rawa	Cl,M,O
Hana	Cl	Rector RZ	Cl,O
Harvest	Cl	Reem	M,O
Hatem	Cl	Rocket 4300	O
Ikaros	Cl	Rodeo 503	Cl,O
Ilas	Cl,M,O	Safaa	M,O
Jabal	Cl,M,O	Sahara	Cl
Jamil	Cl,M,O	Samar	Cl,O
Janeen	Cl	Sarig	O
Karim	Cl,M,O	Shurok	Cl,M,O
Supram	Cl	Unibeit	M,O
Taha	Cl,M,O	Victory 4309	O
Tavla	Cl	WSM 55	Cl,O
Tetila RZ	Cl,O	WSM 64	Cl,O
Timor	M,O	Zeira	M,O
Tivera	M,O	1165	Cl,O
Tornac	O	1270	Cl,O

Πίνακας 3. Υβρίδια αγγουριάς με αντοχή στο ωίδιο, περονόσπορο και κλαδοσπορίαση που είναι κοντά, αγκαθωτά και χρησιμοποιούνται για τουρσί (πίκλες), για υπό κάλυψη και/ή υπαίθρια καλλιέργεια.

ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ	ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ
Accordia	Cl,O	Donja	Cl, M, O
Adonis	Cl,M	Doplus	Cl,O
Alert	Cl,M	Dura	Cl,O
Alvira	Cl,O	Elena	Cl,O

ONOMA	ANTOXH	ONOMA	ANTOXH
Amanda	Cl,O	Elon	Cl,O
Anka	Cl,O	Endeavor	Cl,M,O
Anuschka	Cl,M,O	Eureka	Cl,M,O
Arena	Cl,M	Fablo	Cl
Armada	Cl,M,O	Fancipak	Cl,M,O
Bix Domino	Cl,M,O	Fanfare	Cl,O
Blitz	Cl,M,O	Flurry	Cl,M,O
Bounty	Cl,M,O	Fortos	Cl,O
Brine Time	Cl	Ginor	Cl
Burgos	Cl,M,O	High tide	Cl,M,O
Calypso	Cl,M,O	Ilonca	Cl,O
Capir	Cl,M,O	Inge	Cl,O
Carduro	Cl,O	Kobus	Cl,M,O
Carolina	Cl,M,O	Leonore	Cl,O
Carpadon	Cl,O	Levina	Cl,O
Ceto	Cl	Levo	Cl
Christine	Cl	Lucky Strike	Cl,M,O
Colet	Cl	Marinda	Cl,O
Conda	O	Maxor	Cl
Conquest	Cl,M,O	Medusa	Cl,O
Coravo	Cl	Melani	Cl,O
Cross Country	Cl,M,O	Meresto	Cl,O
Davista	Cl	Metula	Cl,O
Milex	Cl,O	Premier	Cl,M,O
Milglas	Cl,O	Profi	Cl,O
Minerva	Cl,O	Quest	Cl,M,O
Naf Fanto	Cl,O	Santana	Cl,O
Olympia	Cl,O	Score	Cl,O
Osiris	Cl,O	Sena	Cl,M
Othello	Cl,O	Spear-It	Cl,M,O
Ouverture	Cl,O	Talgo	Cl,O

ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ	ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ
Parifin	Cl	Tamor	Cl,M,O
Parker	Cl,O	Tarca	Cl,O
Parmel	Cl,O	Tomara	Cl,O
Parnita	M,O	Transamerica	Cl,M,O
Paula	Cl,O	Triple Crown	Cl,O
Pepito	Cl,O	Vertice	Cl,O
Peto Triplemech	Cl,M,O	Wellington	Cl,O
Pik Rite	Cl,M,O	Wilma	Cl,O
Pionneer	Cl	Witlo	Cl

Πίνακας 4. Υβρίδια αγγουριάς με αντοχή στο ωίδιο, περονόσπορο και κλαδοσπορίαση, που είναι αγκαθωτά και προορίζονται για σαλάτα, τύπου "Slicer", για υπό κάλυψη και/ή υπαίθρια καλλιέργεια.

ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ	ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ
Amiral	Cl,O	Daytona	CL,O
Assia	O	Early Green Cluster	Cl
Astrea	Cl,O	Early Pride	M,O
Belair	M,O	Encore	Cl,M
Belcanto	Cl,O	Fanfare	Cl,M,O
Bellando	Cl,M,O	General Lee	Cl,M,O
Breso	Cl,O	Greensleeves	Cl,M,O
Burpless	M,O	Gynial	Cl
Bush Baby	Cl,M,O	Highmark	Cl,M
Bush Pickle	Cl	Indio	
Cas	Cl,O	Indy	Cl,M,O
Celabrity	O	Jazzer	Cl,M,O
Comet A	Cl,M,O	Lightning	Cl,M,O
Conquistador	O	Marathon	Cl,O
Cyclone	Cl,M,O	Marenka	Cl,M,O
Cypress	Cl	Marketmore 76	Cl,M,O

ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ	ΟΝΟΜΑ	ΑΝΤΟΧΗ
Dancer	Cl,M,O	Medalist	Cl,M,O
Darina	Cl,M,O	Meteor	Cl,M,O
Dasher II	Cl,M,O	Monarch	Cl,M,O
No 70	Cl,O	Sprint 440	Cl,M,O
Olympian	Cl,M,O	Streamliner	M,O
Orient Express	Cl,M,O	Striker	M,O
Panther	Cl,M,O	Supersett	Cl,M,O
Poinsett 76	Cl,M,O	Sweet Salad	M,O
Potluck	Cl	Sweet Slice	Cl,M,O
Prancer	Cl,M,O	Tastie Green	M,O
Rambo	Cl	Tasty Bright	M,O
Salad bush	Cl	Tasty Jade	M,O
Seneca Longbow	Cl,M,O	Thunder	Cl,M,O
Serit	Cl	Thunderbird	Cl,O
Sirco	Cl	Tropicuke	Cl,M,O
Slice King	M,O	Turbo	Cl,M,O
Solverde	Cl	Ultrapak	Cl,M,O
Speedway	Cl,M,O	Victory	Cl,M,O
Sprint	Cl,O		

Επεξήγηση των συμβόλων των παθογόνων (ωίδιο, περονόσπορο, κλαδοσπορίαση) στα οποία παρουσιάζουν αντοχή οι ποικιλίες και τα υβρίδια αγγουριάς που αναφέρονται στους Πίνακες 1,2,3 και 4.

Cl	*Cladosporim cucumerinum* (κλαδοσπορίαση)
M	*Pseudoperonospora cubensis* (περονόσπορος)
O	*Podosphaera xanthii* και/ή *Golovinomyces orontii*, *Golovinomyces cucurbitacearum* (*Oidium* spp.) (ωίδιο)

Δ.5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει σημαντικές προσπάθειες και έχουν βρεθεί πολύ σημαντικές τεχνικές που αποσκοπούν στο να βελτιωθεί η γενετική αντοχή της αγγουριάς (φυτοπαθοβελτίωση) έναντι των ασθενειών.

Όμως, παρ' όλα αυτά, υπάρχουν και κάποια προβλήματα που δεν κάνουν εφικτή την αντιμετώπιση γενικά ή με γενετική αντοχή. Τα σημαντικότερα από αυτά είναι:

- Δεν υπάρχουν διαθέσιμες πηγές αντοχής για πολλές ασθένειες.
- Η δυνατότητα εμφάνισης νέων φυλών των παθογόνων με ικανότητα προσβολής των υφιστάμενων ανθεκτικών ποικιλιών.
- Ορισμένες αντοχές είναι συνδεδεμένες με ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά του φυτού (π.χ. τα πολύ υψηλά επίπεδα αντοχής έναντι του ωιδίου σχετίζονται με χλωρώσεις στην αγγουριά κατά τη διάρκεια περιόδων με ημέρες βραχείας διάρκειας και χαμηλά επίπεδα φωτισμού).
- Ορισμένες φορές προσβολές των φυτών από μία δήθεν νέα φυλή μπορεί στην πραγματικότητα να οφείλεται στην ύπαρξη διαφορετικού παθογόνου το οποίο προξενεί παρόμοια συμπτώματα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα παθογόνα *Golovinomyces orontii*, *Golovinomyces cucurbitacearum* και *Podosphaera xanthii*, που προκαλούν συμπτώματα στα φυτά που δεν ξεχωρίζουν μακροσκοπικά. Έτσι, μια ποικιλία η οποία είναι ανθεκτική στους μύκητες *Golovinomyces orontii* και *Golovinomyces cucurbitacearum*, αλλά ευπαθείς στο μύκητα *Podosphaera xanthii* δεν προσβάλλεται από το ωίδιο σε μια περιοχή που επικρατεί ο μύκητας *Golovinomyces orontii* ή ο μύκητας *Golovinomyces cucurbitacearum*, ενώ προσβάλλεται σε μια άλλη περιοχή όπου επικρατεί ο μύκητας *Podosphaera xanthii*. Στην δεύτερη περίπτωση η προσβολή δεν θα πρέπει να εκληφθεί ότι οφείλεται στην απώλεια της αντοχής της ποικιλίας λόγω εμφάνισης του μύκητα *Golovinomyces orontii* ή του μύκητα *Golovinomyces cucurbitacearum*, αλλά προφανώς στην ύπαρξη στην περιοχή διαφορετικού είδους παθογόνου.

Ε. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βακαλουνάκης Δ.Ι., Φραγκιαδάκης Γ. 1998. Φυτοπαθοβελτίωση με έμφαση στην τομάτα και τα κολοκυνθοειδή. Βακαλουνάκης Δ.Ι. , Ηράκλειο.

Δημητράκης Κ.Γ. 1998. Λαχανοκομία. Εκδόσεις Αγρότυπος Α.Ε., Αθήνα.

Φανουράκης Ν. 1999. Γενετική Βελτίωση Φυτών. Εκδόσεις ΙΩΝ, Αθήνα.

Κίντζιος Σ.Ε. 1994. Επιχειρηματική ιστοκαλλιέργεια. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα.

Ελευθερίου Π. 1994. Τεχνολογία φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού. Εκδόσεις Art of Text, Θεσσαλονίκη.

Τζαβέλα-Κλωνάρη Κ., Κατής Ν. 1994. Πανεπιστημιακές παραδόσεις. Θεσσαλονίκη 1994.

Ivan P., Laffi F. 2000. Μυκητολογικές ασθένειες των κηπευτικών. Εκδόσεις ΖΕΥS Α.Ε., Αθήνα.

Καλτσίκης Π.Ι. 1998. Βελτίωση Φυτών. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα.

Ολυμπίου Μ. 2001. Η τεχνική της καλλιέργειας των κηπευτικών στα θερμοκήπια. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα.

Παναγόπουλος Χ.Γ. 1995. Ασθένειες κηπευτικών καλλιεργειών. ΄Β έκδοση. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα.