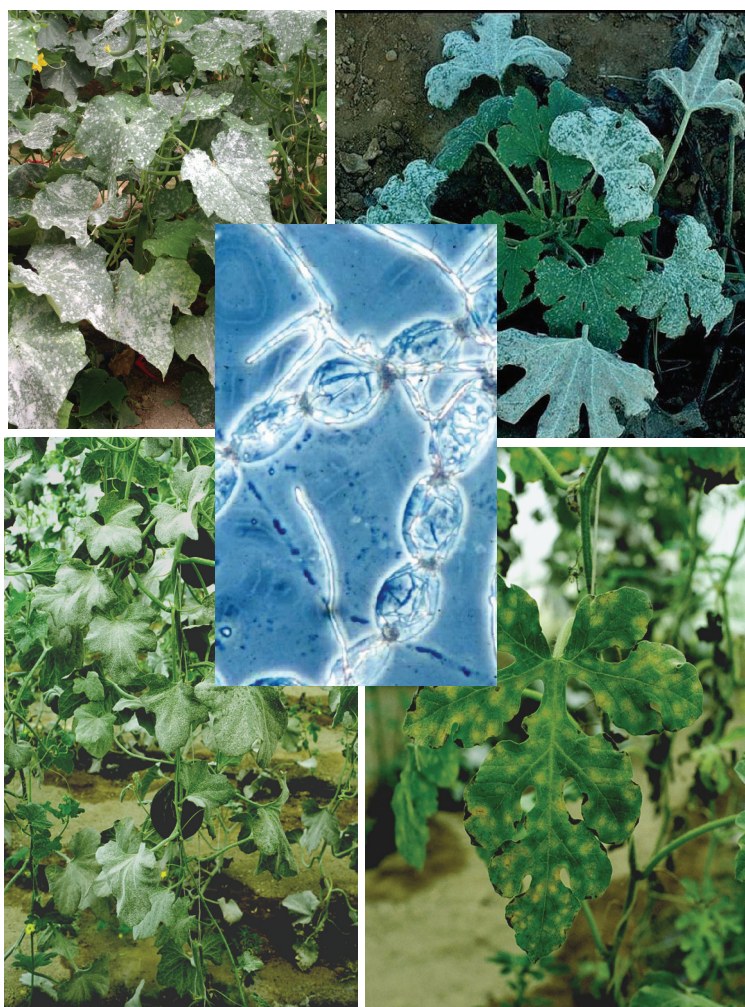


**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**

**ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΜΥΚΗΤΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΣΒΑΛΛΟΥΝ
ΤΑ ΚΟΛΟΚΥΝΘΟΕΙΔΗ ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΟ ΩΪΔΙΟ, *Podosphaera xan-*
thii, ΜΕ ΤΕΣΣΕΡΙΣ ΥΠΕΡΠΑΡΑΣΙΤΙΚΟΥΣ ΜΥΚΗΤΕΣ**



**ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ : ΜΑΡΑΚΗ ΔΕΣΠΟΙΝΑ
ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: ΚΑΣΣΕΛΑΚΗ ANNA**

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2007

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ωΐδιο των κολοκυνθοειδών *Podosphaera xanthii*, είναι πολύ διαδεδομένη ασθένεια και προσβάλει κάθε χρόνο τις καλλιέργειες των κολοκυνθοειδών στην χώρα μας. Στα φυτά της αγγουριάς προκαλεί μεγάλες ζημιές αφού υποβαθμίζεται η ποιότητα του καρπού και μειώνονται οι αποδόσεις.

Οι κλιματολογικές συνθήκες της χώρας μας είναι ιδανικές για την ανάπτυξη του μύκητα. Επομένως, οι προσβολή σε ένα θερμοκήπιο είναι σχεδόν σίγουρη.'

Τα τελευταία χρόνια η επιστήμη έχει στρέψει το ενδιαφέρον της για νέες μεθόδους καταπολέμησης του ωΐδιου. Για την αποφυγή της συνεχούς χρήσης των φυτοφαρμάκων, η βιολογική καταπολέμηση δείχνει να είναι μια ελπιδοφόρα και αποτελεσματική προσέγγιση. Η βιολογική καταπολέμηση είναι ικανή να περιορίσει την εξάπλωση του παθογόνου με διάφορους τρόπους.

Έχουν βρεθεί διάφοροι μύκητες οι οποίοι ζουν παρασιτικά στο θαλλό του μύκητα *Podosphaera xanthii*. Οι μύκητες αυτοί μελετούνται ώστε σύντομα να μπορεί να καταπολεμηθεί βιολογικά με κάποιο υπερπαρασίτο.

Στο πείραμα που περιγράφεται ασχοληθήκαμε με την δράση τεσσάρων υπερπαρασιτικών μυκήτων κατά του ωΐδιου, με σκοπό να εξάγουμε συμπεράσματα για την επίδρασή τους στον περιορισμό της μόλυνσης. Οι μύκητες αυτοί είναι: *Acremonium alternatum*, *Ampelomyces quisqualis*, *Fusarium oxysporum* και *Pseudozyma flocculosa*.

Από τις μελέτες που έχουν γίνει, προκύπτουν ενδείξεις πως οι μύκητες αυτοί επάγουν την αντοχή των φυτών. Έτσι οι επεμβάσεις στα φυτά γίνονται με νεκρά και ζωντανά σπόρια για να διαπιστωθεί ότι εάν δρουν μόνο με παρασιτισμό ή αν παράλληλα επάγουν την αντοχή των φυτών.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Θερμοκηπιακές Καλλιέργειες

Η καλλιέργεια σε θερμοκήπια είναι πολύ διαδεδομένη γιατί είναι μια μορφή εντατικής εκμετάλλευσης που είναι κατάλληλη όπου ο κλήρος είναι μικρός. Παράλληλα οι καλλιέργειες αυτές που έχουν στόχο την πρώιμη παραγωγή όπου οι περιβαλλοντικές συνθήκες δεν είναι κατάλληλες. Κατά τα τέλη της δεκαετίας του '50 και αρχές της δεκαετίας του '60 οι καλλιέργειες σε θερμοκήπια είχαν μεγάλη ανάπτυξη, κυρίως στην Ολλανδία και στις Μεσογειακές χώρες (Gullino *et al.*, 1999). Στην αρχή τα περισσότερα θερμοκήπια προορίζονταν για την καλλιέργεια λαχανικών. Σήμερα οι καλλιέργειες σε θερμοκήπια σε όλο τον κόσμο φτάνουν τα 3.070.000 στρέμματα από τα οποία τα 2.660.000 στρέμματα είναι θερμοκήπια καλυμμένα με πλαστικό υλικό. Τα περισσότερα θερμοκήπια υπάρχουν στην Ασία και ακολουθούν οι χώρες της Μεσογείου. Οι καλλιέργειες των λαχανικών καλύπτουν πλέον μόλις το 65% (Gullino *et al.*, 1999).

Ο κύριος στόχος των καλλιεργειών σε θερμοκήπια είναι η υψηλή απόδοση αλλά τώρα πλέον και η άριστη ποιότητα. Για να πετύχει ο παραγωγός αυτούς τους στόχους απαιτείται εντατική φροντίδα για την αντιμετώπιση των ζιζανίων και των ασθενειών. Σε μια τόσο εντατική καλλιέργεια οι ανάγκες για την φροντίδα των φυτών είναι τεράστιες, κυρίως για να καταπολεμηθούν οι διάφορες ασθένειες που εμφανίζονται απρόοπτα. Αν δεν γίνουν επεμβάσεις έγκαιρα τότε η ποιότητα αλλά και η ποσότητα της παραγωγής θα είναι περιορισμένη (Gullino *et al.*, 1999, Elad *et al.*, 1996; Elad, 1997, Μαλαθράκης και Γκούμας, 1999).

1.1.1. Θερμοκηπιακές καλλιέργειες στην Ελλάδα

Η Ελλάδα λόγω των κλιματολογικών συνθηκών είναι η χώρα που ευνοείται η καλλιέργεια λαχανικών σε θερμοκήπια κατά τους χειμερινούς μήνες. Από τη

συνολική έκταση των θερμοκηπίων στην Ελλάδα το 90% καλλιεργείται κυρίως για παραγωγή λαχανικών, όπως τομάτα, αγγούρι, λάχανο, μελιτζάνα και πιπεριά.

Στην Κρήτη οι εκτάσεις των θερμοκηπίων αγγίζουν τα 20.000 στρέμματα όπου καλλιεργούνται κυρίως λαχανικά, (τομάτα και αγγούρι). Παράγονται περίπου ετησίως 200.000 τόνοι από τους οποίους το 50% προορίζεται για άμεση κατανάλωση στην Ελληνική αγορά.

Τα θερμοκήπια που καλύπτονται από πλαστικό σχεδόν πάντα έχουν περισσότερη υγρασία, μεγαλύτερες διακυμάνσεις στη θερμοκρασία κατά την διάρκεια της ημέρας και αερίζονται δύσκολα (Jarvis, 1992). Η υψηλή υγρασία, η υψηλή θερμοκρασία και γενικότερα οι κλιματολογικές συνθήκες του θερμοκηπίου σε συνδυασμό με την κατασκευή βοηθούν πολύ την ανάπτυξη των ασθενειών και αυξάνουν τις απώλειες στην παραγωγή (Μαλαθράκης, 1991).

1.1.2. Καλλιέργεια αγγουριάς σε θερμοκήπιο

Η καλλιέργεια της αγγουριάς στην χώρα μας καταλαμβάνει έκταση περίπου 30-40.000 στρέμματα, από τα οποία σχεδόν τα 10.000 στρέμματα είναι καλλιέργειες εκτός εποχής, δηλαδή θερμοκηπιακές καλλιέργειες. Καλλιεργείται σε περιοχές της Κρήτης και της Πελοποννήσου αλλά και στην Χαλκιδική (Δημητράκης, 1998.).

Η ετήσια παραγωγή αγγουριών στην Ελλάδα κυμαίνεται μεταξύ 130-140.000 τόνων. Από την ποσότητα αυτή εξάγεται το 30% περίπου στις χώρες της Δ. Ευρώπης. Ο μεγαλύτερος όγκος παράγεται από τις αρχές Νοεμβρίου έως τα μέσα Ιανουαρίου περίπου, αξιοποιώντας δηλαδή τις υψηλές θερμοκρασίες του φθινοπώρου. (Ζιώγας & Ντέλης 1992).

1.1.3. Ταξινόμηση- Κλιματολογικές απαιτήσεις

Η αγγουριά, *Cucumis sativus*, ανήκει στην οικογένεια των *Cucurbitaceae*, είναι φυτό πολυετές αλλά καλλιεργείται σαν ετήσιο, είναι ποώδες, έρπον ή αναρριχώμενο, τα φύλλα είναι απλά με λωβούς γωνιώδους απολήξεως και τα άνθη του, κίτρινα, είναι μόνοικα.

Η αγγουριά είναι φυτό θερμής εποχής και απαιτητικό σε υψηλή σχετική υγρασία (80 με 90%) και ζημιώνεται σε θερμοκρασία κάτω των 10° C. (Δημητράκης, 1987). Οι

άριστες θερμοκρασίες ανάπτυξης του φυτού κυμαίνονται μεταξύ 18° και 24° C (μέγιστη την ημέρα και ελάχιστη τη νύχτα). Σε θερμοκρασίες εδάφους κάτω των 18° C το ριζικό σύστημα γίνεται ευαίσθητο σε μυκητολογικές προσβολές, (Ramakers & O' Neill, 1999). Αναπτύσσεται σε πολλούς τύπους εδαφών αλλά προτιμά έδαφος αμμοπηλώδες, γόνιμο, καλά στραγγιζόμενο, πλούσιο σε οργανική ουσία, με pH 5,5-7,0.

1.1.4. Κυριότερες ασθένειες που προσβάλλουν τις θερμοκηπιακές καλλιέργειες

Είναι πλέον γνωστό ότι τα φυτά όπως κάθε ζωντανός οργανισμός, από την στιγμή της σποράς τους μέχρι να αναπτυχθούν διατρέχουν κινδύνους από εντομολογικές προσβολές, μυκητολογικές, βακτηριολογικές ασθένειες και ιώσεις. Επίσης τα φυτά συναγωνίζονται για τα θρεπτικά στοιχεία που προσφέρει το έδαφος με διάφορα ζιζάνια. Τα φυτά μεγαλώνουν κανονικά και είναι υγιή όσο οι συνθήκες είναι κατάλληλες για την ανάπτυξή τους. Όταν η ισορροπία των αναγκών του φυτού αλλάξει τα φυτά αρρωσταίνουν, γίνονται καχεκτικά, ευάλωτα σε ασθένειες και σε εχθρούς.

Οι φυτοπαθολόγοι έχουν προσδιορίσει τα αίτια και τη φύση πολλών ασθενειών που προσβάλλουν τα φυτά και έχουν ανακαλύψει μέτρα, χημικά ή εναλλακτικά, για να καταπολεμήσουν αποτελεσματικά τις περισσότερες από αυτές τις ασθένειες. Παρόλα αυτά υπάρχει ακόμη και στις μέρες τεράστια απώλεια παραγωγής λόγω των ασθενειών. Πιο συγκεκριμένα έχει παρατηρηθεί απώλεια της τάξης του 25% λόγω ασθενειών και εντόμων. Έτσι γίνονται έρευνες με σκοπό να μειωθούν οι απώλειες φρούτων και λαχανικών στον παραγωγό και στον καταναλωτή.

1.2. Μυκητολογικές ασθένειες

Έχουν αναφερθεί πάνω από 76.000 είδη μυκήτων και κάθε χρόνο ανακαλύπτονται περισσότεροι. Οι μύκητες είναι οι πιο σημαντικοί εχθροί των φυτών. Κάθε μύκητας δρα και προσβάλλει με διαφορετικό τρόπο τον κάθε ξενιστή, σε οποιοδήποτε σημείο του φυτού και αν εγκατασταθεί. Τα σπόριά τους είναι λίγο πολύ ανθεκτικά στην ξηρασία και στην έντονη ηλιακή ακτινοβολία (Manners, 1993) και διασπείρονται

εύκολα με τον άνεμο και τη βροχή. Πολλές φορές τα σπόρια των μυκήτων είναι ικανά να μεταφερθούν με τον άνεμο ακόμα και χιλιόμετρα μακριά, όπως συμβαίνει στην περίπτωση των ουρεδοσπορίων των σκωριάσεων και τα κονίδια των περονοσπόρων (Manners, 1993). Οι περισσότερες ασθένειες των λαχανικών οφείλονται σε μύκητες. Η μόλυνση γίνεται είτε με απευθείας διάτρηση είτε εισχωρώντας μέσω κάποιας πληγής ή κάποιου φυσικού ανοίγματος όπως τα στομάτια (Niks & Rubiales, 2002). Κάποιοι παθογόνοι μύκητες που είναι γνωστοί σαν υποχρεωτικά παράσιτα, επιζούν μόνο όταν υπάρχει δεκτικός ζωντανός ξενιστής για να τον παρασιτήσουν, ενώ κάποιοι άλλοι μπορούν να αναπτύσσονται πάνω σε νεκρά φυτά ή μέσα στο έδαφος.

1.2.1. Μυκητολογικές ασθένειες αγγουριάς.

Υπάρχουν τουλάχιστον 40 μυκητολογικές ασθένειες που προσβάλλουν την αγγουριά και προκαλούν σοβαρές απώλειες στην παραγωγή και στην ποιότητα των καρπών.

Πίνακας 1. Κυριότερες μυκητολογικές ασθένειες της αγγουριάς.

Κοινή ονομασία	Επιστημονική ονομασία
Αλτερναρίωση	<i>Alternaria alternatum</i>
Βερτισιλλίωση	<i>Verticillium albo-atrum</i> and <i>Verticillium dahliae</i>
Σκληρωτινίαση	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Σηψηρριζία	<i>Pythium</i> spp.
Τεφρά σήψη	<i>Botrytis cinerea</i>
Περονόσπορος	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>
Ωΐδιο	<i>Podosphaera xanthii</i>
Φουζαρίωση	<i>Fusarium oxysporum</i>

(Παναγόπουλος, 1995)

1.3. Ωΐδιο των κολοκυνθοειδών

Το ωΐδιο είναι πολύ διαδεδομένη ασθένεια σε όλες τις περιοχές της χώρας και προκαλούν συχνά σημαντικές ζημιές στις καλλιέργειες των κολοκυνθοειδών, και όχι μόνο, τόσο στην ύπαιθρο όσο και σε θερμοκήπια.

Οι μύκητες που προκαλούν τα ωΐδια ανήκουν στην οικογένεια *Erysiphaceae*, και στην τάξη *Erysiphales* και είναι υποχρεωτικά παράσιτα. Το ωΐδιο στα κολοκυνθοειδή παρατηρήθηκε πρώτη φορά γύρω στο 1800 σε υπαίθριες καλλιέργειες, σε διάφορες περιοχές ανά τον κόσμο (Zitter, 1996). Είναι από τις κυριότερες ασθένειες της αγγουριάς και όταν τα φυτά προσβληθούν παρατηρείται μείωση της παραγωγής και υποβάθμιση της ποιότητας των καρπών. Το ωΐδιο δεν προκαλεί το θάνατο του ξενιστή του αλλά απορροφά τα θρεπτικά του στοιχεία, μειώνεται η φωτοσύνθεση, αυξάνεται η ταχύτητα αναπνοής. Έτσι παρατηρείται καχεξία στα φυτά και μείωση της παραγωγής και υποβάθμιση της ποιότητας των καρπών. Οι απώλειες μπορούν να ξεπεράσουν το 40% (Verhaar, 1998).

Έχουν βρεθεί τρία γένη και έξι είδη της οικογένειας *Erysiphaceae*, που προσβάλλουν τα κολοκυνθοειδή. Στη χώρα μας τα σπουδαιότερα από αυτά είναι το *Podosphaera xanthii* (συνων. *Sphaerotheca fuliginea*), *Erysiphe cichoracearum* και *Leveillula taurica*.

1.3.1. *Podosphaera xanthii*. Περιγραφή- Ταξινόμηση

Ο μύκητας ανήκει στην κλάση *Pyrenomycetes*, στην Τάξη *Erysiphales* και στην Οικογένεια *Erysiphaceae*. Οι κονιδιοφόροι της ατελούς μορφής του μύκητα είναι του τύπου *Oidium*. Διατηρείται πάνω σε καλλιεργούμενα φυτά ή σε ζιζάνια, από τα οποία προέρχονται τα μολύσματα για τις αρχικές μολύνσεις. Στις νέες καλλιέργειες τα κονίδια μεταφέρονται με τον άνεμο και όταν βρεθούν πάνω στο φυτό βλαστάνουν ακόμη και με σχετική υγρασία 46% και προκαλούν μολύνσεις (Παναγόπουλος, 1995).

1.3.2. Βιολογία- Επιδημιολογία- Ζημιές

Σε ευνοϊκές συνθήκες ο μύκητας αναπτύσσεται πολύ γρήγορα. Ο χρόνος μεταξύ προσβολής και εμφάνισης συμπτωμάτων είναι συνήθως 3-7 μέρες και στο διάστημα αυτό μπορεί να παραχθεί μεγάλος αριθμός σπορίων.

Ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξη του μύκητα είναι η πυκνή φύτευση και χαμηλή ένταση φωτισμού, ενώ η υψηλή σχετική υγρασία ευνοεί τις προσβολές και την

επιβίωση των κονιδίων. Οι ξηρικές συνθήκες ευνοούν τον αποικισμό, την παραγωγή σπορίων και την διασπορά τους. Η ασθένεια αναπτύσσεται ικανοποιητικά σε θερμοκρασίες από 20-27° C, ενώ σε θερμοκρασίες πάνω από τους 38° C αναστέλλεται η ανάπτυξη του (Mac Grath & Thomas, 1996).

Τα προσβεβλημένα φυτά αγγουριάς εμφανίζουν μικρές, λευκές κηλίδες στα φύλλα (στην πάνω επιφάνεια του ελάσματος), στους μίσχους και στους βλαστούς, στις οποίες παρατηρούνται οι χαρακτηριστικές αλευρώδεις εξανθήσεις των ωιδίων. Συνήθως προσβάλλονται πρώτα τα γηραιότερα φύλλα, ενώ τα νεαρά φύλλα δεν προσβάλλονται πολύ εύκολα. Ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες η προσβολή μπορεί να καταλάβει ολόκληρο το έλασμα του φύλλου και να καλύψει μεγάλη επιφάνεια του βλαστού. Μερικές φορές πάνω στην λευκή εξάνθιση εμφανίζονται μικρά στίγματα μαύρου χρώματος, τα κλειστοθήκια που είναι οι καρποφορίες τέλειας μορφής του παθογόνου μύκητα. Σαν συνέπεια της προσβολής και ανάλογα με την έντασή της προκαλείται μείωση της παραγωγής και υποβάθμιση της ποιότητας των καρπών, καθώς και μείωση της διατηρησιμότητάς τους (Παναγόπουλος, 1995).

1.3.3. Καταπολέμηση

Η καταπολέμηση του ωιδίου είναι αρκετά δύσκολη, καθώς ο μύκητας δεν προσβάλλει μόνο τα κολοκυνθοειδή αλλά και άλλα κηπευτικά. Επίσης σε κλίματα όπως αυτό της χώρας μας είναι ιδανικές οι συνθήκες για την ανάπτυξη του μύκητα επομένως η μόλυνση σε μια καλλιέργεια είναι αναπόφευκτη.

Χημικές ουσίες όπως είναι τα fenarimol, triadimefon, trioforine, nuarimol, και pyrazophos, δίνουν καλά αποτελέσματα για την αντιμετώπισή του όμως έχουν όλες τις βλαβερές συνέπειες για τον άνθρωπο, το περιβάλλον και την καλλιέργεια που έχουν όλα τα μυκητοκτόνα. Ένας άλλος τρόπος που μπορεί να αντιμετωπιστεί το ωίδιο είναι με βιολογικά σκευάσματα Τα μέχρι σήμερα αποτελέσματα από τα πειράματα που έχουν γίνει μας κάνουν αισιόδοξους.

1.4. Βιολογική καταπολέμηση ασθενειών

Η εντατικοποίηση των καλλιεργειών με κύριο στόχο την αύξηση της παραγωγής, οδήγησε τον άνθρωπο στη συνεχή και αλόγιστη χρήση φυτοφαρμάκων. Ένα από τα αρνητικά αποτελέσματα ήταν να αναπτύξουν τα παθογόνα ανθεκτικότητα στα διάφορα φυτοφάρμακα. Επίσης οι επιπτώσεις στο περιβάλλον αλλά και στον ίδιο τον άνθρωπο ήταν αναπόφευκτες. Για τους λόγους αυτούς τα τελευταία 20 χρόνια ο άνθρωπος στράφηκε σε άλλες μεθόδους όπως είναι η βιολογική καταπολέμηση.

Κατά τον ορισμό των Cook και Baker βιολογική καταπολέμηση είναι η μείωση της ποσότητας του μολύσματος ή της νοσογόνου δράσης του παθογόνου, που πραγματοποιούνται από ή δια μέσου ενός ή περισσότερων οργανισμών, εκτός από τον άνθρωπο (Cook & Baker, 1983). Η βιολογική καταπολέμηση αποτελεί σήμερα ένα από τα κύρια αντικείμενα επιστημονικών ερευνών και γίνονται πειράματα σε ολόκληρο τον κόσμο με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Αυτό δίνει ελπίδες ότι η βιολογική καταπολέμηση δεν θα είναι στο μέλλον κάτι ακατόρθωτο και ότι σύντομα θα μπορεί να εξελιχθεί σε έναν εναλλακτικό και οικονομικό τρόπο καταπολέμησης των ασθενειών και δεν θα επιβαρύνουμε πλέον το περιβάλλον και την υγεία μας με φυτοφάρμακα.

Κύριος τρόπος δράσης των βιολογικών παραγόντων είναι ο ανταγωνισμός, με τους παθογόνους οργανισμούς.

1.4.1. Ανταγωνιστές

Ανταγωνιστές χαρακτηρίζονται όλοι οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται στο ίδιο περιβάλλον με το παθογόνο και μειώνουν τη δυνατότητά του να προκαλέσει ασθένεια με οποιονδήποτε τρόπο.

1.4.1.1. Συναγωνισμός

Συναγωνισμός είναι ένας έμμεσος τρόπος δράσης βιολογικής καταπολέμησης όπου οι διάφοροι μικροοργανισμοί αδυνατούν να απορροφήσουν θρεπτικά στοιχεία που είναι απαραίτητα για τη διαβίωσή τους. Τέτοια στοιχεία είναι ο σίδηρος, οι διάφοροι υδατάνθρακες, οι αζωτούχες ενώσεις, κ.α. Είναι γνωστό ότι η προσβολή ενός φυτού από οποιοδήποτε μύκητα ή βακτήριο είναι ανάλογη με την ποσότητα των θρεπτικών στοιχείων που είναι διαθέσιμα (Cook & Baker, 1983). Σε περίπτωση μείωσης των θρεπτικών στοιχείων, έχουμε σαν αποτέλεσμα τον περιορισμό της προσβολής του φυτού ή και την απουσία τους (Blakeman & Fokkema, 1982).

Υπάρχουν μικροοργανισμοί, παθογόνοι ή μη που έχουν την ικανότητα να λαμβάνουν πρώτοι αυτοί τα θρεπτικά στοιχεία που χρειάζονται να υπερτερούν των άλλων και τους στερούν την τροφή που χρειάζονται.

1.4.1.2. Αντιβίωση

Ορισμένοι μικροοργανισμοί, όπου και αν βρίσκονται, έχουν την ικανότητα να παράγουν ουσίες που είναι βλαπτικές για άλλους μικροοργανισμούς. Οι ουσίες αυτές λέγονται αντιβιοτικά και ο τρόπος δράσης τους αντιβίωση.

Πολλοί οργανισμοί κυρίως μύκητες εδάφους και βακτήρια παράγουν αντιβιοτικά. Παράδειγμα είναι τα διάφορα είδη του γένους *Pseudomonas* που αναστέλλουν τη δράση μικροοργανισμών που προκαλούν ασθένειες του εδάφους με τα αντιβιοτικά που παράγουν.

1.4.1.3. Παρασιτισμός

Παρασιτισμός είναι η άμεση εκμετάλλευση ενός οργανισμού από έναν άλλο με κύριο στόχο την πρόσληψη τροφής. Ο παρασιτισμός των μυκήτων από άλλους μύκητες χαρακτηρίζεται μυκοπαρασιτισμός και τα παθογόνα μυκοπαράσιτα. Έτσι στην

βιολογική καταπολέμηση εκμεταλλευόμαστε το γεγονός ότι κάποιοι παθογόνοι μύκητες παρασιτούνται από κάποιους άλλους, δηλαδή έχουμε φαινόμενο υπερπαρασιτισμού. (Blakeman, 1988· Burge, 1988).

Ο παρασιτισμός ενός μύκητα από άλλο περιλαμβάνει τα ίδια στάδια που παρατηρούνται στη μόλυνση ενός φυτού από ένα παθογόνο μύκητα και στην απλοποιημένη του μορφή έχει ως εξής: Αρχικά το υπερπαρασίτιο πλησιάζει τον ξενιστή, προφανώς ελκόμενο από κάποιο χημειοελκυστικό. Ακολουθεί η αναγνώριση του ξενιστή, η διάλυση των κυτταρικών τοιχωμάτων με την παραγωγή των κατάλληλων ενζύμων και η είσοδος της υφής του υπερπαρασίτου στον μύκητα ξενιστή.

1.4.2. Υπερπαρασίτια κατά του *Podosphaera xanthii*

Ορισμένα γνωστά υπερπαρασίτια του μύκητα *Podosphaera xanthii* που προκαλεί το ωΐδιο των κολοκυνθοειδών είναι τα εξής:

- *Acremonium alternatum*
- *Ampelomyces quisqualis*
- *Fusarium oxysporum*
- *Pseudozyma flocculosa*

1.4.2.1. *Acremonium alternatum*

Οι μύκητες του γένους *Acremonium sp.* έχουν αναφερθεί ότι παρασιτούν πολλούς παθογόνους μύκητες των φυτών. Ανήκουν στους Αδηλομύκητες και στην τάξη *Moniliales*. Το είδος *Acremonium alternatum*, είναι ένα νεκροτροφικό υπερπαρασίτιο, που έχει πολλές φορές απομονωθεί από το θαλλό του *Podosphaera xanthii*, από διάφορες περιοχές της Κρήτης που υπήρχαν καλλιέργειες αγγουριάς κατά τους καλοκαιρινούς μήνες (Μαλαθράκης, 1985). Σε έρευνες που έγιναν, μελετήθηκε η ανάπτυξη του μυκηλίου, ο σχηματισμός σπορίων, και η παρασιτική του δράση σε φύλλα που είχαν προσβληθεί από τον μύκητα *Podosphaera xanthii*, σε εύρος

θερμοκρασιών μεταξύ 18-30° C. Όταν το υπερπαράσιτο καλλιεργήθηκε σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA η άριστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη του μυκηλίου ήταν στους 20° C με μέγιστη τους 29° C. Η δημιουργία σπορίων ήταν δυνατή σε όλο το εύρος θερμοκρασιών. Το υπερπαράσιτο, σε θερμοκρασία μεταξύ 27°- 30° C παρατηρήθηκε ότι μπορεί να παρασιτήσει πλήρως τον μύκητα *Podosphaera xanthii* που έχει μολύνει ένα φύλλο μέσα σε διάρκεια 3-4 ημερών. Οι αποικίες πάνω στις οποίες έχει αρχίσει να δρα το υπερπαράσιτο ξεχωρίζουν εύκολα από τις μη παρασιτισμένες από την αλευρώδη εξάνθηση του ωιδίου που παραμένει. Στο μικροσκόπιο, μπορούν να παρατηρηθούν το λεπτό υαλώδες μυκήλιο και άφθονοι κονιδιοφόροι του *Acremonium alternatum*. Τα αποτελέσματα μέσα σε θερμοκήπιο ήταν βραδύτερα και όχι τόσο θεαματικά. Αποτελεί μια μέθοδο μέτριας αντιμετώπισης του ωιδίου στα φυτά αγγουριάς.

1.4.2.2. *Ampelomyces quisqualis*

Ο μύκητας αυτός είναι νεκροτροφικό υπερπαράσιτο του ωιδίου, το οποίο περιγράφηκε πρώτη φορά από τον Cesati το 1952. Έχει πολλούς ξενιστές της οικογένειας *Eryshipaceae* τόσο σε εύκρατα όσο και σε τροπικά κλίματα (Sundheim, 1982).

Ο *A. quisqualis* διεισδύει στα κύτταρα και περνά από κύτταρο σε κύτταρο μέσα από τα σέπτα και συνεχίζει να αναπτύσσεται νεκρώνοντας τα κύτταρα του μύκητα που παρασιτεί. Τα πυκνίδια του *A. quisqualis*, αναπτύσσονται σε λιγότερο από πέντε μέρες πάνω σε ώριμα κονίδια, κονιδιοφόρους και υφές του *P. xanthii* (Sundheim & Kreckling, 1982). Επίσης, από αρκετούς ερευνητές έχει αναφερθεί ότι ο μύκητας αυτός παρασιτεί το ωίδιο και σε φυτά στα οποία δεν είχε γίνει επέμβαση με το συγκεκριμένο υπερπαράσιτο, γεγονός που επιβεβαιώνει ότι τα σπόριά του μεταφέρονται με τον άνεμο (Elad *et al.*, 1996).

Έχει αναφερθεί ότι το συγκεκριμένο υπερπαράσιτο είναι αποτελεσματικό μόνο όταν υπάρχει υψηλή υγρασία για αυτό και είναι και κατάλληλο για θερμοκηπιακές καλλιέργειες. Επίσης προτείνεται η επέμβαση με τον *A. quisqualis*, να γίνεται με ψεκασμό ώστε να μειώνεται η ανάγκη του για υψηλή υγρασία.

1.4.2.3. *Pseudozyma flocculosa*

Ο μύκητας *P.flocculosa*, είναι ο πιο αποτελεσματικός φυσικός ανταγωνιστής του ωϊδίου. Ανακαλύφθηκε μαζί με τον *Pseudozyma rugulosa* (Jarvis, 1988). Από πειράματα που έγιναν αποδείχθηκε ότι και τα δύο αυτά είδη δρουν κατά του *P. xanthii* αλλά ο *P. flocculosa*, ήταν περισσότερο αποτελεσματικός στις υπαίθριες και στις θερμοκηπιακές καλλιέργειες.

Αποδείχτηκε ότι ο *P. flocculosa* δεν εισχωρεί στο μυκήλιο του ξενιστή, αλλά προκαλεί πλασμόλυση στα κύτταρα του παθογόνου, (Hajlaoui, Benhamou, Belanger 1992). Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο *P. flocculosa*, δρα με κάποιο αντιβιοτικό και όχι τόσο με το μηχανισμό του παρασιτισμού.

1.4.3. Καταπολέμηση των ασθενειών με ανταγωνιστές

Η καταπολέμηση με ανταγωνιστές μελετάται σε πολλές ασθένειες του εδάφους όπως σηψιρριζίες από είδη του γένους *Pythium*, προσβολές από το μύκητα *Rhizoctonia solani*, τη φουζαρίωση της τομάτας, της πεπονιάς και του γαρίφαλου (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *melonis*, *dianthi*), σε ασθένειες του υπέργειου μέρους, όπως τον περονόσπορο της πατάτας (*Phytophthora infenstans*), το ωϊδιο του αμπελιού (*Erysiphe necator* συν. *Uncinula necator*), το ωϊδιο των κολοκυνθοειδών (*Podosphaera xanthii*), ορισμένες σκωριάσεις, ασθένειες που προκαλούνται από μύκητες του γένους *Botrytis* και *Sclerotinia*, σε μετασυλλεκτικές ασθένειες, όπως η φαιά σήψη των μηλοειδών, οι σήψεις των εσπεριδοειδών από μύκητες του γένους *Penicillium* κ.α.

Έχουν μελετηθεί αρκετοί ανταγωνιστές και έχουν δώσει πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα σε πειράματα που έχουν γίνει στο εργαστήριο. Όμως σε πειράματα που έγιναν στην ύπαιθρο και σε θερμοκήπια λίγοι ανταγωνιστές έδωσαν ελπιδοφόρα αποτελέσματα.

1.4.3.1. Χρησιμοποίηση παρεμποδιστικών υποστρωμάτων

Εδώ και πολλά χρόνια έχει βρεθεί ότι ορισμένα εδάφη και υποστρώματα ανάπτυξης φυτών είναι ικανά να παρεμποδίζουν τις μολύνσεις από ορισμένα παθογόνα και ακόμη ότι η ιδιότητα αυτή μεταδίδεται στα καλλιεργούμενα εδάφη αν σε αυτά προστίθετο παρεμποδιστικό υποστρώμα. Η μέθοδος αυτή ενδείκνυται για καλλιέργειες όπου τα φυτά αναπτύσσονται σε γλάστρες και μάλιστα είναι αποτελεσματική ή για πολλές ασθένειες του ριζικού συστήματος. Ο τρόπος δράσης των υποστρωμάτων αυτών είναι πολύπλοκος, φαίνεται όμως πως επάγουν την αντοχή των φυτών και έτσι αναστέλλουν τη δράση των παθογόνων (Wertzien, 1992).

1.4.3.2. Εφαρμογές στελεχών του είδους *Fusarium oxysporum* και βακτηρίων του γένους *Pseudomonas*

Από μελέτες που έγιναν, βρέθηκε ότι ο τρόπος με τον οποίο δρουν τα παρεμποδιστικά υποστρώματα οφείλεται σε μη παθογόνα στελέχη του μύκητα *Fusarium oxysporum*, και βακτηρίων του γένους *Pseudomonas*. Τα βακτήρια του γένους αυτού έχουν την ικανότητα να βοηθούν τα φυτά στην ανάπτυξή τους. Τα στελέχη αυτά απομονώθηκαν και ορισμένα αποδείχθηκαν αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση των φουζαριώσεων πολλών κηπευτικών και ανθοκομικών φυτών, όπως η φουζαρίωση της τομάτας, της γαριφαλιάς, κ.α. Η αποτελεσματικότητά τους αποδίδεται στον ανταγωνισμό για τους υδατάνθρακες και το σίδηρο του εδάφους.

1.4.3.3. Εφαρμογές του γένους *Trichoderma*

Οι μύκητες του γένους *Trichoderma* και ιδιαίτερα τα είδη *T. hamatum* και *T. harzuanum*, έχουν μελετηθεί και βρέθηκαν αποτελεσματικοί εναντίον πολλών ασθενειών όπως: η τεφρά σήψη στα αμπέλια και τα κηπευτικά, ορισμένες φουζαριώσεις, σηψιρριζίες από μύκητες του γένους *Pythium*, προσβολές από το μύκητα *Rhizoctonia solani*, κ.α. Κατά του ωιδίου των κολοκυνθοειδών *P. xanthii*, τα αποτελέσματα δεν ήταν ικανοποιητικά, αν και βρέθηκε να έχουν καλύτερα

αποτελέσματα όταν το φυτό ήταν σε νεαρή ηλικία ή σε νεαρά φύλλα (Elad, *et al*, 1998). Η αποτελεσματικότητά τους οφείλεται σε αντιβίωση, υπερπαρασιτισμό κ.α. (προσωπικές σημειώσεις κ. Μαλαθράκη)

1.4.3.4. Καταπολέμηση του *Agrobacterium tumefaciens* με εφαρμογή του στελέχους K84 του *Agrobacterium radiobacter*

Η καταπολέμηση του βακτηριακού καρκίνου πολλών φυτών (*Agrobacterium tumefaciens*) με το στέλεχος K84 του *Agrobacterium radiobacter*, είναι η πιο πετυχημένη περίπτωση εφαρμογής ανταγωνιστών για την καταπολέμηση ασθενειών των φυτών. Η εφαρμογή του γίνεται με εμφύτευση του ριζικού συστήματος του ξενιστή σε αιώρημα του βακτηρίου με πυκνότητα 10⁸- 10⁹ κύτταρα/ml, πριν από το φύτεμα. Το K84 είναι αποτελεσματικό, σε ποσοστό που πλησιάζει το 100%, εναντίον των στελεχών του *Agrobacterium tumefaciens*, που προσβάλλουν τα δένδρα αλλά δεν είναι αποτελεσματικό κατά του *A. vitis*, που προσβάλλει το αμπέλι. Μία βακτηριοσίνη, η agrosin 84, φαίνεται να εμπλέκεται στον μηχανισμό δράσης του.

1.5. Βιολογικά σκευάσματα

Η έρευνα για την βιολογική καταπολέμηση έχει δώσει ελπιδοφόρα αποτελέσματα για εφαρμογές στην πράξη. Για να μειωθεί η χρήση των φυτοφαρμάκων έχουν δημιουργηθεί και κυκλοφορούν στο εμπόριο διάφορα σκευάσματα για κάθε ασθένεια και σίγουρα θα ακολουθήσουν περισσότερα.

Στις Ηνωμένες Πολιτείες, έχουν αναπτυχθεί και κυκλοφορούν στο εμπόριο διάφορα σκευάσματα που περιέχουν βακτήρια στο γένος *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, και *Streptomyces*, και σκευάσματα από μύκητες όπως μύκητες του γένους *Ampelomyces*, *Candida*, *Coniothyrium* και *Trichoderma*, (www.epa.gov).

Κατά του ωιδίου έχουν κυκλοφορήσει διάφορα βιολογικά σκευάσματα. Για παράδειγμα, κατά τα τέλη της δεκαετίας του '80 δημιουργήθηκε ένα προϊόν με βάση τον *Ampelomyces quisqualis* αλλά η ανάγκη του για υψηλή υγρασία εμπόδιζε την αποτελεσματική του δράση. Πρόσφατα δημιουργήθηκε το AQ-10® με μορφή

υδατοδιαλυτών κόκκων, βασισμένο σε ένα μοντέλο το οποίο είναι ικανό να αντέχει σε χαμηλά επίπεδα υγρασίας (Feldam K, *et al*, 1993).

Στον Πίνακα 1 περιέχονται βιολογικά σκευάσματα που αναπτύχθηκαν από διάφορους ανταγωνιστές.

Πίνακας 1. Λίστα προϊόντων βιολογικής καταπολέμησης που διατίθενται στο εμπόριο για τον έλεγχο των παθογόνων των φυτών.

Βακτήρια	
Agrobacterium radiobacter	Galltrol Nogal
Bacillus spp.	Companion HiStick N/T Kodiak Serenade YieldShield
Burkholderia cepacia	Deny Intercept
Pseudomonas spp.	BioJect Spot-Less Bio-save BlightBan Cedomon
Streptomyces spp.	Actinovate Mycostop
Μύκητες	
Ampelomyces quisqualis	AQ10
Candida oleophila	Aspire
Coniothirium minitans	Contans WG/Intercept WG
Myrothecium verrucaria (νεκρά)	DiTera
Trichoderma spp./ Gliocaldium spp.	Soilgard Primastop
Ενεργοποιητές φυτών	
Βακτήρια	Serenade, YieldShield
Βακτηριακή πρωτεΐνη	Messenger
Συνθετικά χημικά	Actigard

Πίνακας 2. Βιορυθμιστικά προϊόντα που κυκλοφορούν στο εμπόριο, με αλφαβητική σειρά.

Actigard	
Δραστικό μέσο	Acibenzolar-S-methyl

Παθογόνο/ασθένεια	Πολλοί
Καλλιέργεια	Καπνός, τομάτα, μαρούλι, σπανάκι
Μορφή	Υδατοδιαλυτοί κόκκοι
Τρόπος εφαρμογής	Με διαβροχή
Παρασκευαστής/διανομέας	Syngenta Crop Protection P.O.Box 18300, Greensboro, NC 27419 www.syngentacropprotection-us.com/
Actinovate	
Δραστικό μέσο	Streptomyces lydicus
Καταπολέμηση παθογόνου/ασθένειας	Εδαφογενών
Καλλιέργεια	Θερμοκηπιακές καλλιέργειες και σε φυτώρια, γρασίδι
Μορφή σκευάσματος	Υδατοδιαλυτοί κόκκοι
Τρόπος εφαρμογής	Με διαβροχή
Παρασκευαστής/διανομέας	Natural Industries, Inc. 6223 Theal, Houston, TX.77066 Phone: 888-261-4731, FAX: 281-440-9206. www.naturalindustries.com/index.htm
AQ10 Biofungicide	
Δραστικό μέσο	Ampelomyces quisqualis (M10)
Καταπολέμηση παθογόνου/ ασθένειας	Περονόσπορος
Καλλιέργεια	Μηλοειδή, κολοκυνθοειδή, αμπέλι, καλλωπιστικά, φράουλες και τομάτες
Μορφή σκευάσματος	Υδατοδιαλυτοί κόκκοι
Τρόπος εφαρμογής	Με ψεκασμό
Παρασκευαστής/διανομέας	Ecogen, Inc. 2005 Cabot Blvd. West, Langhorne, PA 19074 Phone: 1-215-757-1590 FAX: 1-215-752-2461.
Aspire	
Δραστικό μέσο	Candida oleophila (I-182)
Καταπολέμηση παθογόνου/ασθένειας	Botrytis spp., Penicillium spp.
Καλλιέργεια	Εσπεριδοειδή, γιγαρτόκαρπα
Μορφή σκευάσματος	Βρέξιμη σκόνη
Τρόπος εφαρμογής	Διαβροχή των φρούτων μετασυλλεκτικά
Παρασκευαστής/διανομέας	Ecogen, Inc. 2005 Cabot Blvd. West, Langhorne, PA 19074 Phone: 1-215-757-1590 FAX: 1-215-752-2461.
BioJect Spot-Less	
Δραστικό μέσο	Pseudomonas aureofaciens
Καταπολέμηση παθογόνου/ ασθένειας	Pythium,
Καλλιέργεια	Γρασίδι κ.α.
Μορφή σκευάσματος	Υγρό
Τρόπος εφαρμογής	Με υδρονέφωση, με ειδικό μηχανισμό
Παρασκευαστής/ διανομέας	Eco Soil Systems, Inc.

	10740 Thornmint Rd., San Diego, CA 92127. Phone:1-800-331-8773. FAX: 858- 675-1662 www.ecosoil.com
Bio-save 10LP, 110	
Δραστικό μέσο	<i>Pseudomonas syringae</i>
Καταπολέμηση παθογόνου/ ασθένειας	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Mucor</i> <i>pyroformis</i> , <i>Geotrichum candidum</i>
Καλλιέργεια	Σαρκώδη φρούτα, εσπεριδοειδή, κεράσια, και πατάτα
Μορφή σκευάσματος	Λυοφιλικό προϊόν, παγωμένα κύτταρα συγκεντρωμένα σε κόκκους.
Τρόπος εφαρμογής	Διαλύονται οι κόκκοι στο νερό και εμβαπτίζονται ή ψεκάζονται τα φρούτα.
Παρασκευαστής/ διανομέας	Village Farms LLC 153 Sable Palm Dr., Longwood, FL32779 Phone: 1-407-682-8542 www.villagefarms.com/biosave/index.html .
BlightBan A506	
Δραστικό μέσο	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (A506)
Καταπολέμηση παθογόνου/ ασθένειας	<i>Erwinia amylovora</i> ,
Καλλιέργεια	Αμυγδαλιά, μηλιά, βερικοκιά, βατόμουρο, κερασιά, ροδακινιά, αχλαδιά, πατάτα, φράουλα, τομάτα
Μορφή σκευάσματος	Βρέξιμη σκόνη
Τρόπος εφαρμογής	Ψεκάσμός την εποχή άνθισης και ψεκάσμός των φρούτων
Παρασκευαστής/ διανομέας	NuFarm Inc., 1-708-754-3330. www.nufarm.com .
Cedomon	
Δραστικό μέσο	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> strain
Καταπολέμηση παθογόνου/ασθένειας	<i>Fysarium</i> sp.,
Καλλιέργεια	Κριθάρι και βρώμη
Μορφή σκευάσματος	Επέμβαση σε σπόρους
Τρόπος εφαρμογής	Εμβάπτιση σπόρων
Παρασκευαστής/διανομέας.	BioAgri AB P.O.Box 914 Phone: 46(0)18-67 49 00 FAX: 46(0)18- 67-4901 www.bioagri.se .
Companion	
Δραστικό μέσο	<i>Bacillus subtilis</i> (GB03), <i>B. subtilis</i> , <i>B.</i> <i>lichenformis</i> , <i>B. megaterium</i> .
Καταπολέμηση παθογόνου/ ασθένειας	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> , και <i>Phytophthora</i> .
Καλλιέργεια	Σε θερμοκήπια και σε φυτώρια
Μορφή σκευάσματος	Υγρό
Μέθοδος εφαρμογής	Διαβροχή την εποχή σποράς ή ψεκάσμός για το γρασίδι.

ΠαΡασκευαστής/ διανομέας	Growth Products PO Box 1259, Westmoreland Ave., White Plains, NY 10602 USA Phone: 1-800-648-7626. www.growthproducts.com
Contans WG, Intercept WG	
Δραστικό μέσο	Coniothyrium minitans
Καταπολέμηση παθογόνου/ασθένειας	Sclerotinia sclerotiorum, S. minor
Καλλιέργεια	Σε όλα τα αγροστώδη
Μορφή σκευάσματος	Υδατοδιαλυτοί κόκοι
Μέθοδος εφαρμογής	Με ψεκάσμο
ΠαΡασκευαστής/ διανομέας	Prophyta Biologister Pflanzenschutz GmbH, Inselstrasse 12, D-23999 Malchow?Poel, Germany. Phone: 49 38425-2323. www.prophyta.com US Distributor:Encore Technologies LLC, Minnetonka, MN 55305. Phone 952-404-9596. www.encoretechllc.com
Deny	
Δραστικό μέσο	Burkholderia ceraciatype. Wisconsin
Καταπολέμηση	Rhizoctonia, Pythium, Fusarium, και ασθένειες που προκαλούνται από νηματώδεις.
Καλλιέργεια	Τριφύλλι, κριθάρι, βαμβάκι, σόργο, σιτάρι και λαχανοκομικά
Μορφή σκευάσματος	
Μέθοδος εφαρμογής	Το υδατικό διάλυμα χρησιμοποιείται κατά την άρδευση ή γίνεται εμβάπτιση των σπόρων.
ΠαΡασκευαστής/ διανομέας	Stine Microbial Products 6613 Haskins, Shawnee, KS 66216. Phone & FAX: 1-913-268-7504. Helena Chemicals, Memphis, TN www.helenachemical.com
DiTera Biocontrol	
Δραστικό μέσο	Προϊόν ζύμωσης από νεκρά κύτταρα του Myrothecium verrucaria
Καταπολέμηση	Παρασιτικούς νηματώδεις
Καλλιέργεια	Λαχανοκομικά, αμπέλι, καλλωπιστικά, γρασίδι, κ.α.
Μορφή σκευάσματος	Σκόνη και υγρό
Μέθοδος εφαρμογής	Απλώνεται στο έδαφος και ενσωματώνεται με διάφορους τρόπους
ΠαΡασκευαστής/ διανομέας	Valent Biosciences, Inc. 1333 N. California Boulevard 600, Walnut Creek, CA 94596, USA. Phone: 800-6-VALENT. www.valent.com .
Galltrol	
Δραστικό μέσο	Agrobacterium radiobacter Strain 84

Καταπολέμηση	Καρκίνος των φυτών που προκαλείται από το <i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Καλλιέργεια	Σε φρούτα, δημητριακά, και μικρά καλλωπιστικά φυτά.
Μορφή σκευάσματος	Καλλιεργείται σε τριβλία Petri σε θρεπτικό υπόστρωμα με agar.
Μέθοδος εφαρμογής	Η βακτηριακή μάζα μεταφέρεται σε ένα γαλόνι νερού, (μη χλωριωμένου). Το αιώρημα εφαρμόζεται στους σπόρους, στις ρίζες, στους βλαστούς και στο έδαφος με διαβροχή.
Κατασκευαστής/διανομέας	AgBioChem, Inc. 3 Fleetwood Ct., Orinda, CA 94563, USA. Phone: 1-925-254-0789 www.crowngall.com
HiStick N/T	
Δραστικό μέσο	<i>Bacillus subtilis</i> MB1600
Καταπολέμηση	<i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Aspergillus</i> .
Καλλιέργεια	Σόγια, τριφύλλι, φασόλι, φιστίκι
Μέθοδος εφαρμογής	
Κατασκευαστής/ διανομέας	Becker Underwood Inc. Microbio Group, Ltd. Unit 2 Centro, Boundary Way, Hemel Hempstead, Herts HT2, 7SU, UK. Phone 01442399123 www.microbiogroup.com . Διανομέας: Helena Chemicals, Memphis TN www.helenachemical.com
Intercept	
Δραστικό μέσο	<i>Burkholderia cepacia</i>
Καταπολέμηση	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp.
Καλλιέργειες	Λαχανικά, βαμβάκι, καλαμπόκι
Κατασκευαστής/ διανομέας	Soil Technologies Crop 2102 185 th St., Fairfield, IA 52556, USA. Phone: 1-641-472-3963. www.soiltechcorp.com
Kodiak (διάφορες μορφές)	
Δραστικό μέσο	<i>Bacillus subtilis</i> (GB03)
Καταπολέμηση παθογόνου/ασθένειας	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp. <i>Alternaria</i> spp., <i>aspergillus</i> spp.(που προσβάλλει τις ρίζες)
Καλλιέργεια	Βαμβάκι και όσπρια
Μορφή σκευάσματος	Σκόνη, συνήθως εφαρμόζεται με χημικό μυκητοκτόνο
Εφαρμογή	Εφαρμογή διαλύματος σε σπόρους.
Παρασκευαστής/ διανομέας	Gustafson Inc. 1400 Preston Rd. Plano TX 75093 USA. Phone: 1-800-248-6907. www.gustafson.com
Messenger	

Δραστικό μέσο	Erwinia amylovora, hrpN
Καταπολέμηση	Πολλές
Καλλιέργεια	Καλλωπιστικά, αγροστώδη, και λαχανοκομικά.
Μορφή σκευάσματος	Σκόνη
Εφαρμογή	Με διαβροχή ή ψεκασμός
Παρασκευαστής/ διανομέας	EDEN bioscience Corporation. 11816 North Creek Parkway North, Bothel, WA 980110-8205, 1-800-635-6866. www.edendio.com
Mycostop	
Δραστικό μέσο	Streptomyces griseoviridis (K61)
Καταπολέμηση	Fusarium spp., Alternaria brassicola, rhomopsis spp., Botrytis spp., Pythium spp., και Phytophthora spp. που προκαλεί μάρανση.
Καλλιέργεια	Αγροστώδη, καλλωπιστικά, και λαχανοκομικά φυτά.
Μορφή σκευάσματος	Σκόνη
Εφαρμογή	Με διαβροχή ή μέσο του συστήματος άρδευσης.
Παρασκευαστής/ διανομέας	Kemira Agro Oy, Porkkalankaatu 3, P.O. Box. 330, 00101 Helsinki, Finland. Phone: 358-0-13-211. FAX: 358-0-694-1375. U.S. διανομέας: AgBio Development Inc., 9915 Ralein St. Westminster, CO 80031. phone: 877-268-2020, 303-469-9221. www.agbio-inc.com
Nogall	
Δραστικό μέσο	Agrobacterium radibacter (K1026)
Καταπολέμηση	Καρκίνος των φυτών που προκαλείται από Agrobacterium tumefaciens.
Καλλιέργεια	Φρούτα, καλλωπιστικά και δημητριακά
Μορφή	Αναπτύσσεται σε τριβλία με άγαρ.
Μέθοδος εφαρμογής	Η βακτηριακή μάζα μεταφέρεται σε ένα γαλόνι νερού, (μη χλωριωμένου). Το αιώρημα εφαρμόζεται στους σπόρους, στις ρίζες, στους βλαστούς και στο έδαφος με διαβροχή.
Παρασκευαστής/ διανομέας	Bio-care Technology, Australia/NewBioproducts, Inc. 2166 NW Fritz Place, Corvallis, OR 97330. phone :541-752-2045. FAX: 541-754-3968. www.newbioproducts.com
Primastop	
Δραστικό μέσο	Gliocladium catenulatum
Καταπολέμηση	Παθογόνα εδάφους που προκαλούν μάρανση στο φυτό.
Καλλιέργεια	Καλλωπιστικά, λαχανοκομικά και σε

	δενδρώδεις καλλιέργειες
Μορφή σκευάσματος	Σκόνη
Εφαρμογή	Με διαβροχή, ή μέσο του συστήματος άρδευσης.
Παρασκευαστής	Kemira Agro Oy, Porkkalankaatu 3, P.O. Box. 330, 00101 Helsinki, Finland. Phone: 358-0-13-211. FAX: 358-0-694-1375. U.S.
Διανομέας	Agabio Development Inc., 9915 Raleigh St., Westminster, CO 80031. phone : 877-268-2020, 303-469-9221. FAX: 303-469-9598. www.agbio-inc.com
RootShield, Plant Shield, T-22 Planter box	
Δραστικό μέσο	Trichoderma harziarium γένος KRL-AG2 (T-22)
Καταπολέμηση	Pythium spp., Rhizoctonia solani, Fusarium spp.
Καλλιέργεια	Σε δενδρώδη, σε θαμνώδη, σε μοσχεύματα, σε όλα τα καλλωπιστικά, σε τομάτα και κολοκυνθοειδή.
Μορφή	Κόκκοι ή βρέξιμη σκόνη
Εφαρμογή	Οι κόκκοι ανακατεύονται στο έδαφος και με τη σκόνη αναμιγνύοντας την με νερό γίνεται διαβροχή του εδάφους.
Παρασκευαστής/ διανομέας	Bioworks, Inc. 122 North Genesee st., Geneva, NY14456 USA. Phone : 1-315-781-1703. FAX: 1-315-781-1793. www.bioworksbiocontrol.com
Serenade	
Δραστικό μέσο	Bacillus subtilis (QST71 6).
Καταπολέμηση	Cercospora, περονόσπορος,
Καλλιέργεια	Κολοκυνθοειδή, αμπέλι, γιγαρτόκαρπα, πυρηνόκαρπα κ.α.
Μορφή	Βρέξιμη σκόνη
Εφαρμογή	Με ψεκάσμο
Παρασκευαστής/ διανομέας	AgraQuest, Inc. 1530 Drew Avenue, Davis, CA 95616 USA. Phone : 1-530-750-0153. www.agraquest.com
SoilGuard	
Δραστικό μέσο	Gliocladium virens (GL-21)
Καταπολέμηση	Rhizoctonia solani και Pythium spp.
Καλλιέργεια	Καλλωπιστικά και
Μορφή	Κόκκοι
Εφαρμογή	Οι κόκκοι ενσωματώνονται στο έδαφος ή σε καλλιέργειες εκτός εδάφους η ενσωμάτωση προηγείται της σποράς
Παρασκευαστής/ διανομέας	Certis Inc., 9145 Guilford Road, Suite 175, Columbia, MD 21046 USA. Phone : 1-301-604-7340. FAX: 1 301-604-7015.

	www.certisusa.com
YieldShield	
Δραστικό μέσο	Bacillus pumillus (GB34)
Καταπολέμηση	Μύκητες εδάφους που προκαλούν ασθένειες στο ριζικό σύστημα.
Καλλιέργεια	Σόγια
Εφαρμογή	Η σκόνη αναμιγνύεται με υδατικό διάλυμα και εφαρμόζεται στους σπόρους.
Παρασκευαστής/ διανομέας	Gustafson, Inc. 1400 Preston Rd, Plano TX 75093 USA. Phone: 1-800-248-6907 ή 1-972-985-8877. FAX: 1-972-985-1696. www.gustafson.com

1.5.1. Εφαρμογές των βιολογικών σκευασμάτων

Για να γίνει σωστή χρήση των βιολογικών σκευασμάτων χρειάζεται γνώση και προσεκτική εφαρμογή. Θα πρέπει ο παραγωγός- καλλιεργητής να μπορεί να υπολογίσει και να εκτιμήσει τα οφέλη που θα έχει κάνοντας βιολογική καταπολέμηση. Κάνοντας έτσι σωστή διαχείριση το αποτέλεσμα που θα έχει θα είναι κερδοφόρο.

Ο καλλιεργητής θα πρέπει να προγραμματίσει τις παρεμβάσεις που θα πρέπει να κάνει κατά τη διάρκεια μιας καλλιεργητικής περιόδου, χωρίς να επαναπαύεται στη χρήση των βιολογικών σκευασμάτων. Ένα σωστό πρόγραμμα για να έχει καλά αποτελέσματα απαιτεί εναλλαγή καλλιεργειών, με φυτά που κατά το δυνατόν δεν έχουν τα ίδια παθογόνα, αγρανάπαυση, αφαίρεση ζιζανίων και άλλες καλλιεργητικές φροντίδες, όπως σωστή άρδευση και οτιδήποτε έχει να κάνει με τη διατήρηση της υγρασίας σε μία καλλιέργεια. Επίσης, η επιλογή ανθεκτικών υβριδίων, σπόρων απολυμασμένων και απαλλαγμένων από ασθένειες είναι παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν. Όλοι αυτοί οι παράγοντες συμβάλλουν σε καλύτερη αντιμετώπιση παθογόνων και εχθρών σε μια οποιαδήποτε καλλιέργεια.

1.6. Μηχανισμοί άμυνας των φυτών

Τα φυτά έχουν την ικανότητα να επιβιώνουν από τις προσβολές των διαφόρων παθογόνων, και αυτό γιατί έχουν αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς ώστε να προφυλάσσονται.

Η σχέση μεταξύ φυτού και παθογόνου κυμαίνεται από την ανοσία μέχρι την πλήρη ευπάθεια. Δηλαδή ένα φυτό μπορεί να είναι ανθεκτικό σε κάποιο παθογόνο, να είναι ευπαθές, ή να έχει ανοσία σε αυτό. Έτσι, οι ζημιά και οι προσβολή που θα προκαλέσει το παθογόνο στο φυτό θα είναι ανάλογη σε κάθε περίπτωση.

1.6.1. Παθητική αντοχή

Παθητική ανθεκτικότητα είναι εκείνη η οποία στηρίζεται σε ανατομικά και βιοχημικά στοιχεία, που κληρονομούνται και υπάρχουν στο φυτό πριν τη μόλυνσή του από το παθογόνο, και παρεμποδίζουν ή καθυστερούν την είσοδο ή την εγκατάσταση του παθογόνου (Ζάχος, 1984). Η μόλυνση εμποδίζεται με την παθητική ανθεκτικότητα με τους παρακάτω τρόπους.

1.6.1.1. Προστατευτικά στρώματα της επιφάνειας του φυτού και φυσικά ανοίγματα

Η κηρώδης επίστρωση που σχηματίζεται στην επιφάνεια των φύλλων, αποτρέπει την εκροή θρεπτικών στοιχείων απαραίτητων για την ανάπτυξη των παθογόνων ιδιαίτερα στα αρχικά τους στάδια. Επίσης οι τρίχες, που υπάρχουν σε φυτικές επιφάνειες παρεμποδίζουν τη δημιουργία σταγονιδίων νερού ή την παραμονή της απαραίτητης υγρασίας για τη βλάστηση των σπορίων των παθογόνων μυκήτων και τον πολλαπλασιασμό παθογόνων βακτηρίων. Πιθανή είναι ακόμα η είσοδος των παθογόνων οργανισμών από τα στομάτια και τα φακίδια. Ορισμένα βακτήρια έχουν την ικανότητα να εισβάλουν από τα στομάτια ορισμένων φυτών ακόμα και όταν αυτά είναι κλειστά, σε συνθήκες με υψηλή ατμοσφαιρική υγρασία (Wood 1967, Singh 1986, Agrios 1997).

1.6.1.2. Κυτταρικά τοιχώματα και ιστοί του φυτού

Το πάχος και η σκληρότητα των κυτταρικών τοιχωμάτων των ιστών των φυτών μπορεί να επηρεάσει την περαιτέρω εξάπλωση παθογόνων μυκήτων και βακτηρίων, που έχουν ήδη εισέλθει στο φυτό. Για παράδειγμα η παρουσία εκτεταμένων περιοχών σκληροεργχυματικών κυττάρων στα στελέχη διαφόρων σιτηρών, μπορεί να σταματήσει την εξάπλωση του παθογόνου που προκαλεί τη σκωρίαση του στελέχους (Agrios, 1997).

1.6.1.3. Αντιμικροβιακές ουσίες που εκκρίνει το φυτό στο περιβάλλον του

Είναι ουσίες που εκκρίνει το φυτό και επηρεάζουν άμεσα ή έμμεσα την μόλυνσή του. Αυτές οι ουσίες εκκρίνονται από τα υπέργεια ή υπόγεια τμήματά του και μπορεί να παραμένουν στην επιφάνεια των φυτικών μερών ή να απομακρύνονται από την υγρασία ή το νερό της βροχής ή άρδευσης.

1.6.1.4. Απουσία στο φυτό ουσιών που είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη του παθογόνου

Τα παθογόνα τρέφονται από διάφορες ουσίες που βρίσκονται και παράγονται από τα φυτά. Έτσι είναι δυνατόν όταν κάποιο στοιχείο ή κάποια ουσία δεν υπάρχει στο φυτό ή υπάρχει σε μειωμένες ποσότητες και είναι απαραίτητη στο παθογόνο να μην προσβάλλεται εύκολα από αυτό, αφού δεν μπορεί να αναπτυχθεί. Έτσι το φυτό γίνεται ανθεκτικό στο συγκεκριμένο παθογόνο. Η ανθεκτικότητα του μπορεί να μειωθεί όταν στους ιστούς του φυτού προστεθεί η ουσία αυτή.

1.6.1.5. Απουσία υποδοχέων στον ξενιστή ή θέσεων ευαισθησίας για τις τοξίνες του παθογόνου

Στα συστήματα παθογόνου- ξενιστή, στα οποία το παθογόνο παράγει μία εξειδικευμένη τοξίνη για τον ξενιστή η οποία είναι υπεύθυνη για την πρόκληση των συμπτωμάτων, αναπτύσσεται ασθένεια μόνο στα φυτά των ποικιλιών εκείνων των οποίων τα κύτταρα διαθέτουν εξειδικευμένους υποδοχείς ή μόρια-στόχους στους οποίους μπορεί να δράσει η τοξίνη. Φυτά από άλλες ποικιλίες ή είδη, που δε διαθέτουν υποδοχείς ή θέσεις ευαισθησίας για την τοξίνη, παρουσιάζουν ανθεκτικότητα και δεν αναπτύσσουν συμπτώματα της ασθένειας (Otani, 1998).

1.6.1.6. Οσμωτική πίεση, περιεκτικότητα σε νερό και ενεργό οξύτητα του φυτικού κυττάρου

Η σχέση οσμωτικής πίεσης μεταξύ κυττάρων φυτού και ξενιστή παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του παθογόνου και κατά συνέπεια της ασθένειας. Η οσμωτική πίεση των κυττάρων του παθογόνου είναι μεγαλύτερη από αυτή των κυττάρων του φυτού. Αυτή η διαφορά έχει ως αποτέλεσμα την μεταφορά νερού και κατά συνέπεια θρεπτικών στοιχείων από τα κύτταρα του φυτού στα κύτταρα του παθογόνου. Στην περίπτωση που τα κύτταρα του φυτού έχουν μεγαλύτερη οσμωτική πίεση από αυτά του παθογόνου, παρατηρείται ανθεκτικότητα της συγκεκριμένης ποικιλίας έναντι του παθογόνου.

Το pH είναι ακόμα ένας παράγοντας που έχει παρατηρηθεί να επηρεάζει την μόλυνση των φυτών από παθογόνους οργανισμούς. Έχει παρατηρηθεί ότι το χαμηλό pH ιδιαίτερα σε καρπούς δεν βοηθά την ανάπτυξη πολλών βακτηρίων.

1.6.2. Ενεργητική αντοχή

Ασθένεια σε ένα φυτό προκαλείται όταν ένα παθογόνο αρχικά παρακάμπτει την παθητική άμυνα του φυτού και στη συνέχεια το φυτό αδυνατεί να ενεργοποιήσει έγκαιρα τις ενεργητικές αμυντικές αντιδράσεις του ή αναστέλλει την επαγωγή των αντιδράσεων αυτών μέσω της έκκρισης συγκεκριμένων βιολογικών μορίων (Knogge, 1996).

Ενεργητική αντοχή, υπό γενική έννοια, είναι η ανθεκτικότητα που προέρχεται από αντιδράσεις ξενιστή, οι οποίες ενεργοποιούνται μετά τη μόλυνσή του από το παθογόνο και αναπτύσσονται σε συνάρτηση με αυτό. Οι αντιδράσεις αυτές, απαιτούν τη συμμετοχή του μεταβολισμού του φυτού- ξενιστή έχουν χαρακτήρα δυναμικής αντιμετώπισης του παθογόνου ή των μεταβολικών προϊόντων του. Οι αντιδράσεις αυτές χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες:

- i. Άμεση αντίδραση των κυττάρων που δέχονται την εισβολή από το παθογόνο, ξεκινώντας από την αναγνώριση του σήματος και την μεταβίβασή του. Συχνά καταλήγει σε γρήγορο θάνατο των κυττάρων, ονομάζεται αντίδραση

υπερευαισθησίας (HR) και λειτουργεί μόνο από υψηλής ειδικευσης αναγνωρισμένα μόρια διεγερτών (elicitors) (Shah, 1995).

Η αντίδραση υπερευαισθησίας συνοδεύεται από υψηλή τοπική συσσώρευση φαινολικών συστατικών και ενίσχυση του τοιχώματος των κυττάρων που περιβάλλουν την περιοχή των νεκρωμένων κυττάρων. Η διαρροή ηλεκτρολυτών από τα φυτικά κύτταρα, η διακοπή της φυσιολογικής ροής ιόντων K^+ / H^+ , η εισροή ιόντων Ca^{2+} , η παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου και η συσσώρευση φυτοαλεξινών είναι μερικές από τις αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στα φυτικά κύτταρα πριν από το θάνατό τους (Atkinson, 1993).

Η αντίδραση υπερευαισθησίας γενικά αναγνωρίζεται από την παρουσία καστανών, νεκρών κυττάρων στο σημείο της μόλυνσης του φυτού, των οποίων ο αριθμός μπορεί να κυμαίνεται, ανάλογα με το παθογόνο, από ένα έως πολλά. Εάν νεκρώνεται ένα ή λίγα κύτταρα τότε μία αποτελεσματική αντίδραση υπερευαισθησίας σε ένα ανθεκτικό φυτό μπορεί να μην είναι ορατή με γυμνό μάτι, ενώ αν νεκρώνονται αρκετά κύτταρα, τότε στη νεκρωμένη περιοχή συνήθως είναι ορατή η προαναφερθείσα καστανή αλλοίωση (Health, 2000).

Γίνεται δεκτό ότι ορισμένες μορφές της αντίδρασης υπερευαισθησίας παρουσιάζουν κάποιες ομοιότητες με τον αναπτυξιακό προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο των φυτικών κυττάρων. Όμως το γεγονός ότι τον κυτταρικό θάνατο, τον ακολουθεί πάντα η ενεργοποίηση της άμυνας του φυτού αποτελεί ένδειξη ότι τα παθογόνα διεγείρουν όχι ένα αναπτυξιακά προγραμματισμένο, αλλά ένα εξειδικευμένο και αμυντικά προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (Health, 1998).

ii. Εντοπισμένη ενεργοποίηση των γονιδίων γύρω από το σημείο της μόλυνσης, καταλήγοντας σε σύνθεση δευτερευουσών ουσιών που μεταβάλουν τη δομή και την περατότητα των κυτταρικών μεμβρανών. Οι πιο σημαντικές μεταβολές είναι:

- Η απελευθέρωση μορίων απαραίτητων για τη μεταγωγή του σήματος της αντίδρασης άμυνας μέσα και γύρω από το κύτταρο και πιθανόν διασυστηματικά σε ολόκληρο το φυτό.
- Η οξείδωση φαινολικών ενώσεων, η ενεργοποίηση αντιοξειδωτικών ενζύμων (Nicholson 1992, Baker 1995) και η απελευθέρωση και

συσσώρευση ενεργών ριζών οξυγόνου O_2 , H_2O_2 και OH^\cdot (reactive oxygen radicals).

Η συσσώρευση υπεροξειδίου του υδρογόνου και των συγγενικών ριζών οξυγόνου (ROS), για τα οποία υπάρχουν στοιχεία ότι μπορεί να έχουν σημαντικό ρόλο στη συσσώρευση σαλικυλικού οξέος φαίνεται να επηρεάζουν με πολλούς τρόπους την άμυνα του φυτού: α) στοχεύουν τοπικά στο θάνατο των υπερευαίσθητων κυττάρων, β) κατευθύνουν αντιμικροβιακές ενέργειες εναντίον του παθογόνου, γ) συμμετέχουν στην ενίσχυση του κυτταρικού τοιχώματος του φυτού (Lamb, 1997). Το υπεροξειδίο του υδρογόνου μπορεί να δράσει σαν ένα διάχυτο σήμα για την επαγωγή της αντοχής σε γειτονικούς ιστούς.

- iii. Διασυστηματική ενεργοποίηση γονιδίων που κωδικοποιούν την παραγωγή πρωτεϊνών σχετικών με την παθογένεση (PR-proteins), παρεμποδίζοντας άμεσα ή έμμεσα το παθογόνο (Kombink & Schemelzer, 2001). Οι PR πρωτεΐνες περιλαμβάνουν τις γλουκανάσες (PR-2), τις χιτινάσες (PR-3), ένζυμα που υδρολύουν τα κυτταρικά τοιχώματα των μυκήτων, και πρωτεΐνες παρόμοιες με τις thaumatines (PR-5) (Ooostendorp *et al.*, 2001).

Το στάδιο ανάπτυξης του φυτού παίζει σημαντικό ρόλο. Φυτά που παρουσιάζονται ανθεκτικά σε ένα στάδιο ανάπτυξης μπορεί να είναι ευπαθή σε ένα άλλο στάδιο. Τέλος οι περιβαλλοντικές συνθήκες συντελούν στην ανθεκτικότητα ή την ευπάθεια ενός φυτού σε ένα παθογόνο.

1.6.3. Επαγόμενη αντοχή

Όταν τα φυτά μολύνονται με μη-παθογόνα στελέχη ή μεταβολίτες παθογόνων μικροοργανισμών, με μη-παθογόνους μικροοργανισμούς, ή υφίστανται επιδράσεις από ορισμένους χημικούς ή φυσικούς παράγοντες, συχνά παρουσιάζουν μειωμένη ευπάθεια στη μόλυνση από ένα παθογόνο. Το φαινόμενο αυτό, το οποίο στην πραγματικότητα περιλαμβάνει ενεργοποίηση των λανθανόντων μηχανισμών αντοχής του φυτού, ονομάζεται επαγόμενη αντοχή (Kuc 2000, Hammerschmidt *et al* 2001).

Κατά την δεκαετία του 70 άρχισαν οι πρώτες δημοσιεύσεις του καθηγητή Joe Kuc και της ομάδας του που αναφέρονταν στη διασυστηματική διέγερση μηχανισμών αντοχής σε μυκητολογικές, βακτηριολογικές και ιολογικές ασθένειες των κολοκυνθοειδών. Πρόκειται για μία μορφή – ανοσοποιήσεως -, η οποία προκαλείται από βιολογικούς παράγοντες (μύκητες, βακτήρια, ή ιούς) εναντίον των ίδιων ή διαφορετικών σε σύγκριση με εκείνα τα παθογόνα που προκάλεσαν τη διέγερση.

Επίκτητη ή επαγόμενη διασυστηματική αντοχή είναι η βιολογική, βιοχημική ή χημική διέγερση λανθανόντων μηχανισμών αντοχής, ώστε ένα φυτό ευπαθές σε ένα συγκεκριμένο παθογόνου να καθίσταται ανθεκτικό στο ίδιο παθογόνο (Τζάμος, 2004).

Η επαγόμενη αντοχή χωρίζεται σε δύο μορφές που αναλύονται παρακάτω.

1.6.3.1. Διασυστηματική αντοχή

Η διασυστηματική αντοχή διακρίνεται σε:

1. Επίκτητη διασυστηματική αντοχή (Systemic Acquired Resistance/SAR), όταν ενεργοποιείται κατόπιν μόλυνσεως του ξενιστή με ένα παθογόνο
2. Επαγόμενη διασυστηματική αντοχή (Induced Systemic Resistance/ISR), όταν επιτυγχάνεται με βιολογικούς παράγοντες που δεν προκαλούν τοπική νέκρωση, π.χ. ριζοβακτήρια.

Μεταφορά σήματος.

Η διασυστηματική αντοχή καλύπτει ολόκληρο το φυτό. Από την έναρξη της μόλυνσης και την εμφάνιση της πρώτης νεκρωτικής κηλίδας μεταφέρονται στο φυτό σήματα έτσι ώστε να ειδοποιηθεί και να αρχίσουν οι διεργασίες εκείνες που θα εμποδίσουν την περαιτέρω μόλυνση. Το σήμα μεταφέρεται κατά μήκος του φυτού μέσω των αγγείων και ακολουθεί μοριακή αναγνώριση των σημάτων του παθογόνου από τα φυτικά κύτταρα. Σε περίπτωση που το παθογόνο δεν εισβάλλει στα φυτικά κύτταρα, η αναγνώριση του παθογόνου υποτίθεται ότι συμβαίνει εκτός του φυτικού κυττάρου μεταξύ μορίων και υποδοχέων που βρίσκονται στην κυτταροπλασματική του μεμβράνη και μορίων-διεγερτών που παράγονται από

την εισβολή του παθογόνου, ικανών να διαχέονται και να διαπερνούν το κυτταρικό τοίχωμα (Keen & Holiday 1982, Gabriel & Rolfe 1990).

1.6.3.2. Τοπική επαγόμενη αντοχή (Local Acquired Resistance/LAR)

Η τοπική επαγόμενη αντοχή εκφράζεται μόνο στο σημείο εισβολής του παθογόνου στο φυτό με νέκρωση και ξήρανση των ιστών και σχετίζεται με την αντίδραση υπερευαισθησίας.

Η τοπική επαγόμενη αντοχή σε μολυσμένα φύλλα συνήθως αναπτύσσεται δύο μέρες μετά την μόλυνση, ενώ η διασυστηματική αντοχή συνήθως αναπτύσσεται επτά ή περισσότερες μέρες μετά την πρώτη μόλυνση και μπορεί να διαρκέσει από 3-5 εβδομάδες ή ακόμα και μήνες (Kombriak & Schmelzer 2001, Agrios 1997).

Σήμερα θεωρείται ότι η αφύπνιση των λανθανόντων μηχανισμών αντοχής επάγεται ή αποκτάται κατόπιν διεγέρσεως, οπότε και τα δύο φαινόμενα (διασυστηματική και τοπική) είναι με μορφή ανοσοποίησης με διαφορετικούς παράγοντες διεγέρσεως και με ίδιους ή διαφορετικούς μηχανισμούς αντοχής (Τζάμος, 2004).

1.7. Παράγοντες που διεγείρουν την διασυστηματική αντοχή στα φυτά

Έχει διαπιστωθεί ότι πέραν από τα ίδια τα παθογόνα, διεγερση των λανθανόντων μηχανισμών μπορούν να προκαλέσουν βιολογικοί, βιοχημικοί και χημικοί παράγοντες.

Πιο συγκεκριμένα έχει αποδειχθεί ότι επαγωγή αντοχής επιτυγχάνεται με την εφαρμογή μη παθογόνων μικροοργανισμών όπως είναι πολλά ριζοβακτήρια του γένους *Pseudomonas* και του γένους *Bacillus*.

Επίσης πολλές φυσικές ενώσεις, όπως πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, αλλά και συνθετικές ενώσεις (χημικές), όπως είναι το 2,6 δίχλωροϊσονικοτινικό οξύ (INA),

το βένζο [1,2,3] θειανταζόλ-7 –καρβοθειϊκό οξύ – S-μεθυλεστέρας (BTH) και το DL-β-αμινοβουτυρικό οξύ (BABA), δρουν ως επαγωγείς αντοχής.

Το INA δεν έχει αντιμικροβιακή δράση *in vitro* και *in vivo* και δεν μετατρέπεται σε αντιμικροβιακό μεταβολίτη. Το INA είναι διεγέρτης αποτελεσματικός εναντίον του TMV, μυκήτων και βακτηρίων στον καπνό και μυκήτων ή βακτηρίων στο φυτό *Arabidopsis thaliana*. Έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλά είδη φυτών μεταξύ των οποίων και η αγγουριά (Metraux *et al.*, 1991). Το BTH είναι ανάλογο του σαλικυλικού οξέος και κυκλοφορεί σαν εμπορικό σκεύασμα με το όνομα Bion (Kessmann *et al.*, 1995· Ruess *et. al.*, 1995). Τα BTH προστατεύει τα φυτά από μύκητες, βακτήρια και ιούς και βρέθηκε να είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό σε μονοκότυλα φυτά.

Μεταξύ των οργανικών χημικών ενώσεων που δρουν ως επαγωγείς αντοχής είναι και τα μυκητοκτόνα Fosetyl-Al Metalaxyl, κ.α. Σημαντικοί διεγέρτες που κατατάσσονται μεταξύ των χημικών ενώσεων είναι και διάφορες ανόργανες ενώσεις όπως τα φωσφορικά και τα οξαλικά άλατα (Τζάμος, 2004).

Τέλος, αβιοτικοί παράγοντες όπως η ξηρασία και η έλλειψη θρεπτικών στοιχείων είναι ικανοί να επηρεάσουν την αντοχή.

1.7.1. Σαλικυλικό οξύ, ως διεγέρτης αντοχής

Εξωγενής εφαρμογή του σαλικυλικού οξέος απέδειξε ότι διεγείρει μηχανισμούς αντοχής εναντίον του ιού του μωσαϊκού του καπνού (TMV) (Raskin, 1992). Αργότερα παρατηρήθηκε ότι μετά από μόλυνση φυτών καπνού με TMV αυξανόταν η συγκέντρωση σαλικυλικού οξέος στο φυτό τοπικά και διασυστηματικά. Τα δεδομένα αυτά οδήγησαν στην περαιτέρω μελέτη και στον τρόπο δράσης του σαλικυλικού οξέος.

Το σαλικυλικό οξύ παράγεται στους χλωροπλάστες των φυτών. Είναι προϊόν του μεταβολισμού των φαινυλοπροπανοειδών και σχηματίζεται μέσω της αποκαρβοξυλίωσης του trans-κινναμικού οξέος σε βενζοϊκό οξύ με επακόλουθη 2-υδροξυλίωση του τελευταίου σε σαλικυλικό οξύ. Το σαλικυλικό οξύ έχει φυσικές ιδιότητες που το καθιστούν ιδανικό για τη μεταφορά του μέσα στον

ηθμό. Πράγματι, μπορεί να μετακινηθεί ταχέως από το σημείο της αρχικής εφαρμογής ή συνθέσεώς του σε απομακρυσμένους φυτικούς ιστούς. Έχει επίσης ανιχνευθεί στο χυμό του ηθμού προσβλημένης αγγουριάς. Ελεύθερο ή συνδεδεμένο σαλικυλικό οξύ ανιχνεύτηκε γύρω από νεκρωτική κηλίδα στον καπνό, ενώ το ελεύθερο ή συνδεδεμένο σαλικυλικό οξύ αυξήθηκε τοπικά και διασυστηματικά μετά από προσβολή κολοκυθιάς και της *Arabidopsis thaliana* από παθογόνους οργανισμούς.

Θεωρείται ότι το σαλικυλικό οξύ παίζει κάποιο ρόλο στη διάχυση-μεταφορά του σήματος μετά τη μόλυνση από το παθογόνο. Πιστεύεται, επίσης, ότι είναι διεγέρτης της συσσώρευσης των πρωτεϊνικών σχετικών με την παθογένεση (PR πρωτεϊνών). Εξωγενής εφαρμογή σαλικυλικού οξέος ή του ισοτονικού οξέος και του βενζοθειαζολίου επάγουν τη σύνθεση πρωτεϊνών παθογενέσεως, κυρίως στη θέση εφαρμογής, σε αντίθεση με τα παθογόνα που επάγουν τη σύνθεση των πρωτεϊνών παθογενέσεως διασυστηματικά. Οι γόννοι των πρωτεϊνών παθογενέσεως εκφράζονται τόσο με εξωγενή εφαρμογή σαλικυλικού οξέος, όσο και κατά τη διάρκεια της βιολογικής διεγέρσεως της διασυστηματικής αντοχής. Ακολουθεί διασυστηματική σύνθεση των πρωτεϊνών, οι οποίες παρεμποδίζουν την ανάπτυξη του παθογόνου.

Αν και το σαλικυλικό οξύ απαιτείται για τη SAR, ωστόσο δε φαίνεται να αποτελεί τη μεταφερόμενη ουσία ως σήμα. Μάλιστα, το σήμα μπορεί να παραχθεί χωρίς τη συσσώρευση σημαντικών ποσοτήτων σαλικυλικού οξέος, αλλά η συσσώρευση σαλικυλικού οξέος απαιτείται για τη μετακίνηση του σήματος στους φυτικούς ιστούς (Verhoeven 1995, Meuwly *et. al.* 1995)

1.7.1.1. Τρόπος δράσης του σαλικυλικού οξέος

Από τις τελευταίες μελέτες διαπιστώθηκε ότι ένας υποδοχέας του σαλικυλικού οξέος είναι προσδένουσα πρωτεΐνη 240-289 kDa, ίδια με τους γόνους που κωδικοποιούν καταλάσες. Το σαλικυλικό οξύ αναστέλλει την ικανότητα της καταλάσης να μετατρέπει το H₂O₂ σε O₂ και H₂O. Έτσι τα μεγάλα επίπεδα συγκεντρώσεως κυτταρικού H₂O₂ συμβάλλουν, από τη στιγμή που το σαλικυλικό οξύ παρεμποδίζει τη δράση της προσδένουσας καταλάσης, στην επαγωγή της εκφράσεως του γόνου PR-1. Πράγματι, αύξηση της συγκέντρωσης του H₂O₂

επάγει τη συσσώρευση σαλικυλικού οξέος. Αυτό αποδεικνύει ότι το H_2O_2 , ίσως δρώντας ως δευτερογενές σήμα, επάγει και τη συσσώρευση των PR-1, mRNA μέσω της επαγωγής του σαλικυλικού οξέος (Raskin I., 1992)

Οι σημαντικότερες αποδείξεις για το ρόλο του σαλικυλικού οξέος στην αμυντική ικανότητα των φυτών είναι:

1. εξωγενείς εφαρμογή σαλικυλικού οξέος επάγει την έκφραση των πρωτεϊνών παθογενέσεως και προσφέρει διασυστηματική προστασία κατά των παθογόνων,
2. αυξήσεις ενδογενούς σαλικυλικού οξέος επάγει την έκφραση των γόνων αμόνης και αναπτύξεως της αντοχής.
3. το σαλικυλικό οξύ διεγείρει τους ίδιους εννέα γόνους που ενεργοποιούνται διασυστηματικώς μετά τη μόλυνση με το TMV και
4. έκφραση του γόνου της σαλικυλικής υδροξυλάσης στα διαγονιδιακά φυτά καπνού αναστέλλει τη συσσώρευση του σαλικυλικού οξέος και παρεμποδίζει την περαιτέρω ανάπτυξη της ανοσοποίησης.

1.8. Διεργασίες του φυτού κατά την ανάπτυξη διασυστηματικής αντοχής

Η επαγόμενη διασυστηματική αντοχή (ISR), συνοδεύεται με την επαγωγή διαφόρων γονιδίων και τα προϊόντα των πρωτεϊνών τους σε όλα τα μέρη του φυτού. Αυτές οι διεργασίες έχουν να κάνουν με μια σειρά οξυδασών και πέντε ομάδες πρωτεϊνών που είναι γνωστές σαν PR-πρωτεΐνες (Kessmann *et al.*, 1994).

1.8.1. PR-πρωτεΐνες

Η επαγόμενη διασυστηματική αντοχή στα διάφορα είδη φυτών συσχετίζεται με τη συσσώρευση των πρωτεϊνών που υπάρχουν σε κάθε σημείο του φυτού. Αυτές οι πρωτεΐνες, είναι γνωστές ως PR-πρωτεΐνες, και έχουν μελετηθεί ευρέως σε φυτά

καπνού όπου κατεγράφησαν πέντε διαφορετικές τάξεις. Η εμφάνιση των πρωτεϊνών αυτών είναι αποτέλεσμα μιας αντιγραφής και μεταγραφής, και η σύνθεσή τους προκαλείται από το σαλικυλικό οξύ.

Λειτουργίες για διάφορες PR-πρωτεΐνες διεκρινιστήκαν τις τελευταίες δεκαετίες. Για παράδειγμα, οι πρωτεΐνες που ανήκουν στην τάξη των PR-2 πρωτεϊνών είναι β -1,3,- γλουκανάσες και αυτές που ανήκουν στην τάξη PR-3 είναι χιτινάσες οι οποίες έχουν τη δυνατότητα να υδρολύουν το κυτταρικό τοίχωμα των μυκήτων. Και οι δύο κατηγορίες αυτές ενζύμων μπορούν να επηρεάζουν την αντοχή του φυτού δρώντας στα κυτταρικά τοιχώματα του μύκητα. Είναι λογικό ότι αφού τα κυτταρικά τοιχώματα του φυτού δεν περιέχουν χιτίνη, αναγκάζεται να συνθέσει χιτινάσες για να προστατευτεί από τα παθογόνα που περιέχουν χιτίνη. Οι πρωτεΐνες που ανήκουν στις κατηγορίες PR-1 και PR-5 έχουν μέχρι στιγμής άγνωστη λειτουργία αλλά έχει βρεθεί ότι και οι δύο έχουν αντιμυκητιακή δράση (Τζάμος 2004). Τέλος έχει αναφερθεί και η ομάδα PR-9 των περοξειδάσων που συμβάλλει στην ενδυνάμωση των φυτικών κυττάρων, καταλύοντας την εναπόθεση λιγνίνης κατά τη διείδυση των μυκήτων.

Οι πρωτεΐνες αυτές συσσωρεύονται στη θέση μόλυνσης, αλλά μερικές από αυτές ανιχνεύονται σε μικρότερα επίπεδα και σε υγιείς ιστούς αποδεικνύοντας έτσι την διασυστηματική τους δράση. Οι περισσότερες βρίσκονται στους μεσοκυττάριους χώρους ή στα χυμοτόπια. Αυτές που βρίσκονται στους μεσοκυττάριους χώρους είναι σε άμεση επαφή με το παθογόνο, ενώ αυτές που βρίσκονται στα χυμοτόπια συμβάλλουν στην άμυνα του φυτού μετά τον αποχωρισμό τους από τα φυτικά κύτταρα.

1.8.2. Οξειδωτικά ένζυμα

Εκτός από τις PR πρωτεΐνες έχει βρεθεί και ότι η δράση της περοξειδάσης, της φαινολοξειδάσης και της λιποξειγενάσης, αυξάνουν την διασυστηματική αντοχή (Stermer, 1995).

Η περοξειδάση η οποία έχει ευρέως μελετηθεί φαίνεται πως λειτουργεί σαν καταλύτης και αυξάνει την ταχύτητα δημιουργίας και εναπόθεση λιγνίνης στις

δευτερογενείς ρίζες των φυτών που τα προστατεύει από μύκητες που προκαλούν αδρομυκώσεις. Επίσης σχετίζεται άμεσα με τη δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Η περοξειδάση που βρίσκεται στα κυτταρικά τοιχώματα χρησιμοποιεί NADH ή NADPH και παράγει υπεροξειδίο και H₂O₂ (Rasmussen, 1995)

1.8.3. Δευτερογενείς μεταβολίτες

Πολλοί αντιμικροβιακοί δευτερογενείς μεταβολίτες, όπως είναι και οι φυτοαλεξίνες δείχνουν να εμπλέκονται στην ανοχή των φυτών κατά των παθογόνων. Ο ρόλος αυτών των μεταβολιτών στην διασυστηματική επαγόμενη ανοχή δεν είναι ακόμα πλήρως γνωστός. Όμως έχει παρατηρηθεί γρήγορη εμφάνιση και αύξηση φυτοαλεξινών σε ιστούς φυτών κατά τη διάρκεια διασυστηματικής επαγόμενης ανοχής.

1.8.3.1. Φυτοαλεξίνες- Βιοχημικές αλλαγές μετά την προσβολή παθογόνου

Οι φυτοαλεξίνες είναι λιπόφιλες ουσίες που ως προς τη χημική τους σύσταση παρουσιάζουν τεράστιες διαφορές. Η σύνθεση φυτοαλεξινών έχει παρατηρηθεί σε όλα τα μέρη των φυτών, σε στελέχη, ρίζες, κονδύλους, καρπούς, φύλλα κ.τ.λ. κυρίως κατά την μόλυνση εντοπίζονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο κέντρο των κηλίδων και στην περιφέρειά τους.

Γενικά, έχει διαπιστωθεί ότι το επίπεδο συγκέντρωσης των φυτοαλεξινών είναι μεγαλύτερο στα ανθεκτικά φυτά σε σύγκριση με τα ευαίσθητα και ότι τα ανθεκτικά φυτά σε παθογόνα, βακτήρια και ιούς έχουν την ικανότητα να συσσωρεύουν ταχύτερα και σε μεγαλύτερες ποσότητες φυτοαλεξίνες στα σημεία προσβολής από ότι τα ευαίσθητα. Αυτό δείχνει ότι η συσσώρευση φυτοαλεξινών παρεμποδίζει την ανάπτυξη παθογόνων.

Είναι αποδεδειγμένο ότι τα φυτά με κάποιο τρόπο επιταχύνουν τη δημιουργία των φυτοαλεξινών και προκαλούν τη συσσώρευσή τους. Όμως υπάρχουν διάφοροι φυσικοί και χημικοί διεγέρτες των φυτοαλεξινών, όπως είναι τα ανόργανα άλατα, οι ολιγογλυκάνες, το αιθυλενιο, ακόρεστα λιπαρά οξέα, πολυπεπίδια, διάφορα

μυκητοκτόνα, η υπεριώδης ακτινοβολία αλλά και συστατικά των ίδιων των φυτών.

1.9. Γενικά συμπεράσματα για την επαγόμενη αντοχή

Τα φυτά από την έναρξη της μόλυνσης έχουν την ικανότητα να αναπτύσσουν μηχανισμούς και να παράγουν ουσίες ώστε να μπορέσουν να σταματήσουν ή να περιορίσουν ως ένα βαθμό τη μόλυνση. Παρά το γεγονός όμως ότι το φαινόμενο της επαγόμενης αντοχής μελετάται για πολλά χρόνια, έχουν γίνει λίγες προσπάθειες για να τεθεί σε εφαρμογή ως μέρος της βιολογικής καταπολέμησης σε καλλιέργειες. Αυτή η καθυστέρηση οφείλεται στο μεγάλο εύρος φυτοφαρμάκων που κυκλοφορούν και χρησιμοποιούνται σε οποιαδήποτε περίπτωση, που είναι σαφώς ευκολότερη η χρήση τους. Τα τελευταία όμως χρόνια γίνεται χρήση μη χημικών μέσων για την καταπολέμηση ασθενειών και αυτό μας δείχνει ότι στο μέλλον η επαγόμενη αντοχή μπορεί να αποτελέσει ισχυρό μέσο καταπολέμησης αν συνδυαστεί με άλλες μεθόδους.

Οι γνώσεις μας για την επαγωγή αντοχής στα φυτά είναι ακόμα, παρά τις χρόνιες έρευνες, περιορισμένες, γιατί οι περισσότερες έρευνες σε βιολογικό και μοριακό επίπεδο είναι περιορισμένες σε μερικά μόνο είδη φυτών. Έτσι υπάρχουν ακόμη πολλές απορίες και αναπάντητα ερωτήματα σε ότι αφορά την αλληλεπίδραση με άλλους παράγοντες. Όμως το γεγονός ότι η επαγόμενη αντοχή αξιοποιεί διάφορους μηχανισμούς άμυνας του φυτού μας κάνει να πιστεύουμε ότι μπορεί στο μέλλον αξιοποιώντας τις γνώσεις μας, τα φυτά να έχουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα και για μεγαλύτερη χρονική διάρκεια από αυτή που έχουν ήδη τα γονίδια τους.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Γενικά

Στόχος του πειράματος ήταν να διερευνηθεί η ενδεχόμενη επαγωγή της αντοχής στην αγγουριά, στο μύκητα *Podoshara xantii* από τα υπερπαρασίτα *Acremonium alternatum*, *Ampelomyces quisqualis*, *Fusarium oxysporum* και *Pseudozyma flocullosa*.

2.2. Διαδικασία σποράς και φύτευσης

Το πείραμα ξεκίνησε την 1^η Ιουνίου του 2006 και τελείωσε στις 17 Αυγούστου 2006. Χρησιμοποιήθηκε σπόρος που είχε παραχθεί από το εργαστήριο της γενετικής βελτίωσης του Τ.Ε.Ι. Ηρακλείου (καθ. κ. Φανουράκη) τον 9^ο μήνα του 2005. 130 σπόροι τοποθετήθηκαν σε τριβλία των 9cm. και έμειναν σε θάλαμο προβλάστησης στους 30 C για 24 ώρες. Την επόμενη μέρα έγινε η σπορά σε πλαστικούς δίσκους 58 θέσεων και χρησιμοποιήθηκε υπόστρωμα κομπόστας με εμπορική ονομασία Kekkila Sustrato. Τα χαρακτηριστικά της φαίνονται στον πίνακα 1

Πίνακας 1 Σύσταση της κομπόστας που χρησιμοποιήθηκε κατά τη σπορά και την φύτευση των φυτών αγγουριάς.

Οργανική ουσία	90%
Υγρασία	50%
PH	5,8-6,3
N	0,2%
P	0,1%
Ca	0,5%
Mg	0,1%

Fe	0,2%
Cl	1,5 mg/kg

Οι δίσκοι τοποθετήθηκαν σε θάλαμο με ελεγχόμενες συνθήκες, στους 25°C για τρεις μέρες. Όταν οι σπόροι βλάστησαν και αναπτύχθηκαν οι κοτυληδόνες, μετεφέρθηκαν στο θερμοκήπιο. Η μεταφύτευση έγινε 12 ημέρες μετά την σπορά (14^η Ιουνίου) σε γλάστρες των 15l. Το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν 50% κομπόστα εμπορίου Kekkila Substrato, το υπόλοιπο 50% του υποστρώματος ήταν χώμα από ελαιώνα που βρίσκεται στο αγρόκτημα του Τ.Ε.Ι. Ηρακλείου.

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 90 φυτά για 10 επεμβάσεις, που τοποθετήθηκαν στο θερμοκήπιο λαχανοκομίας στο αγρόκτημα της σχολής. Τα φυτά τοποθετήθηκαν σε 18 σειρές και σε κάθε σειρά τοποθετήθηκαν 5 γλάστρες.

Οι επεμβάσεις που εφαρμόστηκαν ήταν:

1. *Acremonium alternatum*, με ζωντανά σπόρια.
2. >> >> , με νεκρά σπόρια.
3. *Fusarium sp. (CK1)* , με ζωντανά σπόρια.
4. >> >> , με νεκρά σπόρια.
5. *Ampelomyces quisqualis*, με ζωντανά σπόρια.
6. >> >> , με νεκρά σπόρια.
7. *Pseudozyma flocculosa* , με ζωντανά σπόρια.
8. >> >> , με νεκρά σπόρια.
9. Νερό
10. Μάρτυρας

Σχεδιάγραμμα 1 : διάταξη των φυτών στο θερμοκήπιο. Κάθε αριθμός αντιστοιχεί σε μία επέμβαση όπως φαίνεται παρακάτω.

Πειραματικό τεμάχιο 1	2	7	6	9	4
	3	5	10	1	8
Πειραματικό τεμάχιο 2	1	6	5	10	2
	7	3	4	9	8
Πειραματικό τεμάχιο 3	5	4	1	10	6

	8	3	7	2	9
Πειραματικό τεμάχιο 4	7	2	3	9	5
	4	1	10	8	6
Πειραματικό τεμάχιο 5	1	8	7	10	6
	3	4	9	2	5
Πειραματικό τεμάχιο 6	1	6	2	4	7
	3	5	10	8	9
Πειραματικό τεμάχιο 7	6	5	10	2	4
	3	9	8	7	1
Πειραματικό τεμάχιο 8	6	5	8	10	4
	9	7	2	1	3
Πειραματικό τεμάχιο 9	8	9	4	7	6
	5	3	1	10	2

Σε κάθε έναν αριθμό αντιστοιχεί μία από τις προηγούμενες επεμβάσεις.

Οι καλλιέργειες των μυκήτων έγιναν σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA (Potato Dextrose Agar).

2.2. Παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος PDA:

Για την παρασκευή του χρησιμοποιήθηκαν,

200 g Πατάτας

20 g Dextrose

15 g Agar

Η παρασκευή έγινε ως εξής:

Σε 1l εμφιαλωμένο νερό προστείθονταν 15g Agar., 20g Δεξτρόζης, και το εκχύλισμα από 200g πατάτας . Ακολουθούσε η προσθήκη γαλακτικού οξέος για τη ρύθμιση του pH στο 5,5 περίπου, ώστε να αποφευχθεί η ανάπτυξη βακτηρίων. Η αποστείρωση γινόταν στον κλίβανο στους 121° C για 15 λεπτά. Μετά την ολοκλήρωση της αποστείρωσης και αφού το θρεπτικό υπόστρωμα είχε κρυώσει λίγο, (χλιαρό), προστείθονταν 1 ml ,αντιβιοτικού (καναμυκίνης) για την αποφυγή βακτηρίων. Το θρεπτικό υπόστρωμα μοιράζονταν σε τριβλία (περίπου 20 ml./τριβλίο), υπό

ασηπτικές συνθήκες και φυλάσσονταν στο ψυγείο για την διατήρηση του μέχρι την χρήση του.

2.3. Καλλιέργεια και διατήρηση των υπερπαρασιτικών μυκήτων

Η καλλιέργεια των μυκήτων γινόταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα έτσι ώστε όταν χρησιμοποιούνταν για τα αιωρήματα να έχουν ηλικία 10 ημερών. Οι καλλιέργειες των μυκήτων *Acremonium alternatum*, *Fusarium sp.*, και *Pseudomyza flocculosa*, προέρχονταν από τριβλία stock που υπήρχαν σε ψυγείο στο εργαστήριο (Εικόνα 1.). Από το stock τριβλίο μεταφέρονταν μικρά κομμάτια μυκηλίου με μέρος του θρεπτικού υποστρώματος, σε νέο τριβλίο με το θρεπτικό υπόστρωμα του PDA. Τοποθετούνταν περίπου 10 κομμάτια ανά τριβλίο και στη συνέχεια παρέμεναν σε θάλαμο ανάπτυξης στους 24° C, μέχρι να αναπτυχθούν και να χρησιμοποιηθούν. Για την καλλιέργεια του υπερπαρασιτικού μύκητα *Ampelomyces quiquialis*, ακολουθούνταν η εξής διαδικασία: Από το αρχικό τριβλίο παίρνονταν τα σπόρια του μύκητα με έκπλυσή του με αποστειρωμένο νυστέρι. Για κάθε νέα καλλιέργεια χρειάζονταν 0,5 ml αιωρήματος που παίρνονταν με τη βοήθεια της πιπέτας. Το υγρό με γυάλινη ράβδο απλώνονταν στο τριβλίο μέχρι να απορροφηθεί τελείως από το άγαρ. Στη συνέχεια τα τριβλία τοποθετούνταν σε θάλαμο ανάπτυξης στους 21° C για 24 ώρες και κατόπιν σε θάλαμο ανάπτυξης στους 22° C με ακτίνες UV για την γρηγορότερη ανάπτυξη και παραγωγή σπορίων. Ένας άλλος τρόπος για την παραγωγή σπορίων του συγκεκριμένου μύκητα, και μάλιστα περισσότερος αποτελεσματικός, ήταν ο εξής: Μικρά κομμάτια από τα σημεία που είχαν αναπτυχθεί τα πυκνίδια του μύκητα και τοποθετούνταν σε τριβλία με θρεπτικό υπόστρωμα PDA (περίπου 5 κομμάτια σε κάθε τριβλίο). Τα τριβλία αυτά παρέμεναν σε θάλαμο με ελεγχόμενες συνθήκες στους 21° C με 12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι κατά τη διάρκεια του 24ώρου.

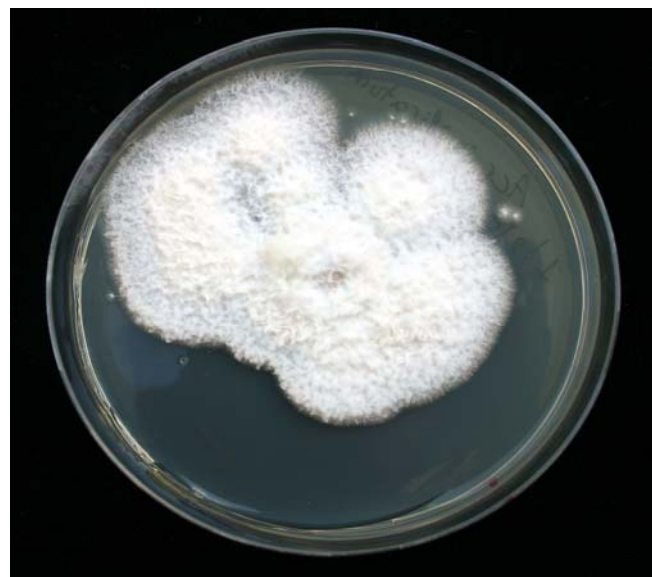
1.α)



1.β)



1.γ)



Εικόνα 1. Καλλιέργειες τριών υπερπαρασιτικών μυκήτων. α) *Pseudozyma flocculosa*
β) *Ampelomyces quisqualis* και γ) *Acremonium alternatum*

2.4. Προετοιμασία των αιωρημάτων των επεμβάσεων

Για τις επεμβάσεις που αναφέρθηκαν παραπάνω προετοιμάζονταν αιωρήματα με τα σπόριά τους που χρησιμοποιούνταν για ψεκάσμό. Η συλλογή των σπορίων γινόταν με την έκπλυση των τριβλίων με αποστειρωμένο και απιονισμένο νερό και με αποστειρωμένο μαλακό πινέλο γινόταν η απομάκρυνση των σπορίων από το μυκήλιο. Η μέτρηση των σπορίων γινόταν με τη βοήθεια του αιματοκυστώμετρου. Επειδή το αρχικό αιώρημα ήταν πυκνό ακολούθησε αραιώση ώστε η τελική συγκέντρωση των σπορίων να είναι 10^6 για όλες τις επεμβάσεις. Η θανάτωση των σπορίων γινόταν στον κλίβανο. Τα αιωρήματα των επεμβάσεων που προορίζονταν για τα νεκρά σπόρια παρέμεναν στον κλίβανο στους 121°C για 15 λεπτά.

2.5. Επεμβάσεις και καλλιεργητικές φροντίδες

Η πρώτη εφαρμογή των επεμβάσεων έγινε όταν τα φυτά είχαν αναπτύξει το δεύτερο φύλλο και επαναλαμβάνονταν κάθε εβδομάδα με ψεκαστηράκι των 2 l σε κάθε φύλλο χωριστά για μεγαλύτερη ομοιομορφία. Συνολικά έγιναν 10 ψεκασμοί. Επίσης τα φυτά λιπαίνονταν κάθε εβδομάδα με KNO_3 (13-0-40).

2.6. Μέθοδος προσδιορισμού ύπαρξης του H_2O_2

Η προσπάθεια για την ανίχνευση ύπαρξης του H_2O_2 στους ιστούς των φύλλων, έγινε στις 12/07/06, μία ημέρα μετά τον 4^ο ψεκάσμό. Για τον προσδιορισμό κόπηκαν 10 φύλλα συνολικά, συγκεκριμένα, το έβδομο φύλλο από ένα τυχαίο φυτό για κάθε επέμβαση. Η διαδικασία του προσδιορισμού αυτού ξεκίνησε αμέσως μετά την κοπή των φύλλων έτσι ώστε να μην χάσουν τη ζωνρότητα τους.

Τα φύλλα εμβαπτίζονται σε διάλυμα DAB (3,3-diaminobenzidine) σε συγκέντρωση 1 mg/ml απιονισμένου νερού. Αυτή η χρωστική, λόγω της σύνθεσής της, έχει την ικανότητα να δεσμεύει το H_2O_2 . Στη συνέχεια τα δείγματα τοποθετούνται σε κενό αέρος για 5 λεπτά, κατόπιν παραμένουν σε συνθήκες περιβάλλοντος για 5 λεπτά. Αυτή η διαδικασία επαναλαμβάνεται 3 φορές έως όταν η χρωστική να εισχωρήσει

στους ιστούς του φύλλου. Έπειτα παραμένουν στο σκοτάδι να επωάσουν για 1 ώρα περίπου. Τέλος τα φύλλα τοποθετούνταν σε ένα δοχείο βρασμού που περιείχε αιθανόλη 90% και ζεσταίνονταν στους 70° C μέχρι να απομακρυνθεί όλη η χλωροφύλλη από τους ιστούς. Η συσσώρευση του H₂O₂ παρατηρείται με την ύπαρξη καστανού μεταχρωματισμού στους ιστούς των φύλλων.

Η αυτή είναι κατάλληλη και ενδείκνυται για φύλλα που έχουν λεία επιφάνεια και η χρωστική μπορεί εύκολα να εισχωρήσει στους ιστούς. Στην αγγουριά λόγω της τραχιάς επιφάνειας των φύλλων, των τριχιδίων, και των πολλών δευτερευόντων νευρώσεων ήταν δύσκολο να εισχωρήσει η χρωστική ομοιόμορφα και τα αποτελέσματα δεν θα ήταν σαφή. Για αυτούς τους λόγους χρησιμοποιήθηκε διπλάσια ποσότητα χρωστικής δηλαδή διάλυμα με συγκέντρωση 2mg/ml και τα φύλλα τοποθετήθηκαν στο κενό αέρος 5 με έξι φορές επί 5 λεπτά. Για να μην καταστραφεί το μεσόφυλλο τους λόγω της μεγάλης διαφοράς πίεσης, τα φύλλα κάθε φορά που τελείωνε ο πρώτος κύκλος στο κενό αέρος παρέμεναν σε συνθήκες περιβάλλοντος για τουλάχιστον δέκα λεπτά.

2.7. Εκτίμηση της προσβολής

Η εκτίμηση της προσβολής δεν έγινε διότι προσβολή από ωΐδιο λόγω υψηλών θερμοκρασιών δεν έγινε.

Η εκτίμηση έπρεπε να γίνεται ανά 7 μέρες μετρώντας τον αριθμό των κηλίδων που υπήρχαν σε κάθε φύλλο φτιάχνοντας έτσι ένα ποσοστό προσβολής για κάθε φυτό χωριστά και στη συνέχεια για όλα τα φυτά της κάθε επέμβασης. Με αυτόν τον τρόπο η μέτρηση είναι πιο ακριβείς με μικρή απόκλιση λάθους.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Αποτελέσματα του πειράματος είχαμε μόνο κατά τη μέθοδο προσδιορισμού παρουσίας του H_2O_2 στα φύλλα αγγουριάς.

Τα αποτελέσματα δείχνουν πως τα φύλλα που κόπηκαν από το φυτό μάρτυρα και μάρτυρα-νερό, δεν παρουσιάζουν κανέναν μεταχρωματισμό στους ιστούς τους, δηλαδή δεν υπάρχει συσσώρευση του H_2O_2 όπως και ήταν βέβαια αναμενόμενο.

Σε όλα τα υπόλοιπα φύλλα παρατηρήθηκε μεταχρωματισμός στους ιστούς που δήλωνε την παρουσία του H_2O_2 , σε κάποια από αυτά ήταν έντονος ενώ σε κάποια δυσδιάκριτος. Αυτό που παρατηρήθηκε επίσης ήταν ότι σε κάθε επέμβαση τα φύλλα που είχαν ψεκασθεί με τα νεκρά σπόρια του μύκητα είχαν και μεγαλύτερη συσσώρευση H_2O_2 από ότι εκείνα του μύκητα με τα ζωντανά σπόρια.

Πιο συγκεκριμένα ο μύκητας *Pseudozyma flocculosa*, παρουσίασε τη μεγαλύτερη συσσώρευση H_2O_2 στα φύλλα της αγγουριάς, σε σύγκριση με τους άλλους μύκητες, όταν είχε γίνει επέμβαση με τα νεκρά του σπόρια. Ενώ, όταν τα φύλλα είχαν ψεκασθεί με ζωντανά σπόρια η παρουσία H_2O_2 ήταν ελάχιστη. Επίσης, αυτό που παρατηρήθηκε ήταν πως ενώ με τα ζωντανά σπόρια ο μεταχρωματισμός δημιουργήθηκε στο παρέγχυμα, τα φύλλα που είχαν δεχτεί την επέμβαση με τα νεκρά σπόρια η παρουσία του H_2O_2 ήταν έντονη στις νευρώσεις.

Για τον μύκητα *Ampelomyces quisqualis*, η συσσώρευση του H_2O_2 ήταν αρκετά μεγάλη αλλά και μικρότερη από εκείνη του μύκητα *Pseudozyma flocculosa*. Και σε αυτήν την περίπτωση τα φύλλα που είχαν ψεκασθεί με τα νεκρά σπόρια του μύκητα είχαν λίγο μεγαλύτερη συγκέντρωση

Ελάχιστη όμως ήταν η παρουσία του H_2O_2 και για τους μύκητες, *Acremonium alternatum*, και *Fusarium oxysporum*. Υπήρχε όμως και σε αυτήν την περίπτωση κάποια μικρή διαφορά ανάμεσα στις επεμβάσεις με νεκρά και σε εκείνες με τα ζωντανά σπόρια, που όμως ήταν πολύ μικρή.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η καλλιέργεια της αγγουριάς είναι υψηλής οικονομικής σημασίας για την χώρα μας κυρίως όταν καλλιεργείται εντατικά σε θερμοκήπια, όπως γίνεται στην περιοχή της Κρήτης, για πρώιμη παραγωγή. Όμως, δέχεται προσβολές σε κάθε εποχή φύτευσης παρατηρούνται ζημιές από έντομα, ασθένειες μυκητολογικές, βακτηριολογικές και ιολογικές. Αυτές που προκαλούν μεγαλύτερες ζημιές, επειδή παρατηρούνται συχνές προσβολές, είναι οι μυκητολογικές ασθένειες. Για να τις αποφύγουμε, ολοένα και περισσότερο γίνεται χρήση φυτοφαρμάκων. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη μόλυνση του περιβάλλοντος και επιπτώσεις στους χρήστες των φυτοφαρμάκων (παραγωγοί) και του καταναλωτές αλλά και την ανάπτυξη ανθεκτικότητας των παθογόνων. Λόγω αυτών των αρνητικών αποτελεσμάτων κρίνεται απαραίτητο, η καταπολέμηση να γίνεται με άλλους τρόπους, δηλαδή με βιολογικά μέσα και βιολογικά σκευάσματα. Τέτοια βιολογικά σκευάσματα, έχουν αναπτυχθεί είτε από ανταγωνιστικούς μικροοργανισμούς, μύκητες ή βακτήρια, είτε από παράγοντες που επάγουν αντοχή των φυτών.

Από έρευνες που έχουν γίνει στο παρελθόν έχει αποδειχθεί ότι κάποιοι μύκητες δρουν ανταγωνιστικά με κάποιους άλλους. Αυτοί οι μύκητες δρουν παρασιτικά εναντίον κάποιων παθογόνων. Με βάση αυτό, έχουν παρασκευαστεί διάφορα σκευάσματα με δραστικό μέσο τους υπερπαρασιτικούς μύκητες. Τα σκευάσματα αυτά δείχνουν ικανοποιητικά αποτελέσματα μέχρι στιγμής στις διάφορες καλλιέργειες και βελτιώνονται συνεχώς.

Τα φυτά έχουν την ικανότητα να αντιστέκονται και να είναι ανθεκτικά στις διάφορες ασθένειες και στα παθογόνα που τα προσβάλουν. Αυτό συμβαίνει διότι έχουν μορφολογικά χαρακτηριστικά που τους επιτρέπουν να αντιστέκονται στις προσβολές από εχθρούς και ασθένειες. Παράλληλα αναπτύσσουν διάφορους μηχανισμούς ώστε, μετά την προσβολή μπορούν και μειώνουν την ένταση της ζημιάς. Όταν το παθογόνο εισέλθει στα φυτικά κύτταρα και αρχίσει η προσβολή τότε το φυτό αντιστέκεται μέσω κάποιων διεργασιών και διαφόρων αντιδράσεων.

Κάποια άλλη μορφή ανοσοποίησης είναι και αυτή της επαγόμενης αντοχής. Με την επίδραση κάποιων παραγόντων, μπορεί ένα φυτό από ευπαθές να γίνει ανθεκτικό σε κάποιο παθογόνο.

Το πείραμα είχε σαν στόχο να ερευνήσει όχι μόνο την υπερπαρασιτική δράση των μυκήτων *Acremonium alternatum*, *Ampelomyces quisqualis*, *Pseudozyma flocculosa* και *Fusarium oxysporum*, ενάντια του ωιδίου *Podosphaera xanthii*, αλλά και την εμφάνιση της διασυστηματικής αντοχής. Οι μύκητες αυτοί, έχουν μελετηθεί και έχει αποδειχθεί η υπερπαρασιτική τους δράση ενάντια του ωιδίου των κολοκυνθοειδών. Για αυτό υπάρχουν πλέον και σκευάσματα που η δράση τους βασίζεται σε αυτούς τους μύκητες.

Από τα αποτελέσματα που πήραμε για την ύπαρξη του H_2O_2 στα φύλλα της αγγουριάς, μας κάνει να πιστεύουμε πως εκτός από τον παρασιτισμό ο τρόπος δράσης τους μπορεί να είναι και με την επαγωγή αντοχής. Αυτό συμπεραίνεται από το γεγονός ότι τα φύλλα που είχαν δεχτεί επεμβάσεις με τα νεκρά σπόρια του μύκητα είχαν ακόμη υψηλότερη συγκέντρωση H_2O_2 από ότι τα φύλλα που είχαν ψεκασθεί με τα ζωντανά σπόρια του μύκητα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Βακαουνάκης Δ. Ι., Φραγκιαδάκης Γ. Α., 2003.** Φυτοπαθοβελτίωση με έμφαση στη τομάτα και τα κολοκυνθοειδή.
- Ζιώγας Ν., Ντέλης Δ., Σχορτσανίτης Κ., 1992.** Κόστος και οικονομικά αποτελέσματα. Από *Κόστος παραγωγής αγροτικών προϊόντων και αποδοτικότητα της ελληνικής γεωργίας (1969-1989)*. Εκδόσεις 'ΓΡΑΜΜΑ'.
- Παναγόπουλος Χ. Γ., 1995.** Ασθένειες κολοκυνθοειδών. Από *Ασθένειες κηπευτικών καλλιεργειών*. Εκδόσεις Α. ΣΤΑΜΟΥΛΗΣ.
- Agrios G. N., 1997.** Plant Pathology. Academic Press.
- Atkinson M. M., 1993.** Molecular mechanisms of pathogen recognition by plants. *Plant Pathology* 10.
- Baker J. C., Stavely J. R., 1985.** Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field condition. *Plant Disease* 69.
- Baker K. F., 1987.** Evolving Concepts of Biological Control of Plant Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*.
- Cook R. J., Baker K. F., 1983.** *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. APS Press.
- Elad Y., Kirshner B., Yehuda N., Sztenjnberg A., 1998.** Management of powdery mildew and grey mould of cucumber by *Trichoderma harzianum* T39 and *Ampelomyces quisqualis* AQ10. *Biocontrol* 43.
- Elad, Y., 1997b.** Effect of filtration of solar light on the production of conidia by field isolates of *Botrytis cinerea* and on several diseases of greenhouse-grown vegetables. *Crop Protection* 16.
- Elad, Y., Malathrakis, N. E., Dik, A., 1996.** Biological control of *Botrytis*-incited diseases and powdery mildews in greenhouse crops. *Crop Protection* 15.
- Gullino M. L., Albajes R., Van Lenteren J. C., 1999.** Setting the stage: Characteristics of protected cultivation and tools for sustainable crop protection. In: *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*.
- Hammerschmidt R., & Kuc J., 1992.** Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber, *Physiol. Plant Pathology*.
- Hammerschmidt R., Metraux J. R., Vanloon L. C., 2001.** Inducing resistance: a summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant diseases, Corfu, May 2000. *European Journal of Plant Pathology* 107.
- Health M. C., 1998.** Apoptosis, programmed cell death and hypersensitive response. *European Journal of Plant Pathology* 107.
- Health M. C., 2000.** Hypersensitive response-related death. *Plant Molecular Biology*.
- Health M. C., 2000.** hypersensitive response-related death. *Plant Molecular Biology* 44.
- Health, M. C., 2000.** Hypersensitive response-related death. *Plant Molecular Biology*.
- Heath M.C., 1998.** Apoptosis, programmed cell death and hypersensitive response. *European Journal of Plant Pathology*.
- Jarvis, W. R., 1992.** *Managing diseases in greenhouse crops*. APS Press.
- Knogge W., 1996.** Fungal infection of plants. *Plant Cell* 8.
- Kombrink E. & Schmelzer E., 2001.** The hypersensitive response and its role in local and systemic disease resistance. *European Journal of Plant Pathology* 107.
- Kombrink E., & Schmelzer E., 2001.** The hypersensitive response and its role in local and systemic disease resistance. *European Journal of Plant Pathology*.

- Kuc J. A., 2000.** Development and future direction of induced systemic resistance in plants. *Crop protection*.
- Kuc J. A., 2000.** Development and future direction of induced systemic resistance in plants. *Crop protection*.
- Malathrakis N. E., 1991.** Development and management of greenhouse diseases. *Bulletin of Phytopathological Society of Greece* 2.
- Malathrakis N. E., Goumas D. E., 1999.** Fungal and Bacterial Diseases. *Intergrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*.
- McGrath M. T., Thomas C. E., 1996.** Powdery Mildew In: *Compendium of Cucurbit Diseases*. APS Press.
- Niks R. E., Rubiales D., 2002.** Potentially durable resistance mechanisms in plants to specialised fungal pathogens. *Euphytica* 124.
- Oostendorp M., Kunz W., Dietrich B. & Staub T., 2001.** Induced disease resistance in plants by chemicals. *European Journal of Plant Pathology* 107.
- Ramakers M. J. P., O'Neill M. T., 1999.** Cucurbits. In: *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*, Albajes, R., Gullino, M. L., Van Lenteren, J. C., Elad, Y. (Eds), *Kluwer Academic Publishers*.
- Shah D. M., Rommens C. M. T., Beachy R. N., 1995.** Resistence to disease and insects in transgenic plants: progress and applications to agriculture. *Trends Biotechnology* 13.
- Sundheim, L., 1982.** Control of cucumber powdery mildew by the hyperparasite *Ampelomyces quisqualis* and fungicides. *Plant Pathology* 31.
- Weltzien H. C., 1992.** Biocontrol of Foliar Fungal Diseases with Composts Extracts. In: *Microbial Ecology of Leaves*..
- Zitter T. A., 1996.** Cucurbit diseases. *Compendium of Cucurbit Diseases*..., APS Press.

Δικτυακοί Τόποι

www.epa.gov

www.nps.ars.udso.doy

www.rci.rutgers.edu