

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

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

**ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ 2 ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ**  
***VERTICILLIUM DAHLIAE* ΣΤΗΝ ΕΛΙΑ**



**ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΧΑΡ. ΔΟΞΑΣ**

**ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: ΧΡΗΣΤΟΣ Ε. ΓΚΑΤΖΙΛΑΚΗΣ**

**ΜΑΡΤΙΟΣ 2013**

**Αφιερώνω την Πτυχιακή μου εργασία στην μνήμη  
του πατέρα μου.**

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Με την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω το Δρ. Ελευθέριο Λιγοξυγκάκη για την πολύτιμη βοήθειά του και καθοδήγηση σε όλη την διάρκεια της πτυχιακής μου εργασίας καθώς και για το υλικό που μας έφερε για την συγγραφή της.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Χρήστο Γκατζιλάκη για την πολύτιμη βοήθεια και τις συμβουλές του καθοριστικές για την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και όλους όσους με στήριξαν με κάθε τρόπο και μου συμπαραστάθηκαν όλο αυτό το διάστημα.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο φυτοπαθογόνος μύκητας *Verticillium dahliae* Kleb είναι ευρέως διαδεδομένος και εδαφογενής, προκαλεί αδρομύκωση και μπορεί να νεκρώσει τους ξενιστές του μειώνοντας σημαντικά την παραγωγή τους. Το φάσμα των ξενιστών του υπερβαίνει τα 400 είδη (καλλιεργούμενα και αυτοφυή), στους οποίους περιλαμβάνονται: ψυχανθεί και φυτά μεγάλης καλλιέργειας, λαχανικά, οπωροφόρα δέντρα, μικρά φρούτα, ακρόδρυα, βιομηχανικά, ανθοκομικά και ξυλώδη καλλωπιστικά φυτά. Μεταξύ των ευπαθών ποωδών ξενιστών του είναι οι: πατάτα, μελιτζάνα, ντομάτα, μπάμια, φράουλα, πεπόνια, καρπούζια κ.α. ενώ μεταξύ των ξυλωδών ξενιστών του οι: ελιά, φιστικιά, βερικοκιά, κ.ά. Το εν λόγω παθογόνο μπορεί να επιβιώνει για πολλά χρόνια στο έδαφος με τα μικροσκληρώτια που παράγονται σε γηράσκοντες ιστούς ασθενών φυτών, που αποτελούν τα μολύνοντα και διασπείροντα όργανά του.

Όταν ο μύκητας καλλιεργηθεί σε θρεπτικό υπόστρωμα σχηματίζει λευκές βαμβακώδεις αποικίες, οι οποίες αργότερα μπορεί να γίνονται μαύρες λόγω σχηματισμού των μικροσκληρωτίων, τα οποία αποτελούν τις διαχειμάζουσες μορφές του παθογόνου.

Ο *V. dahliae* έχει δύο φυσιολογικές φυλές (την 1 και την 2), που έχουν αναγνωρισθεί σε ευπαθείς και ανθεκτικές ποικιλίες και υβρίδια τομάτας και μαρουλιού.

Γενικά, ο μύκητας δεν εμφανίζει εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή, εκτός απομονώσεων του από πιπεριά, λάχανο Βρυξελλών, μηδική κ.ά.

Στην Ιαπωνία έχουν καταταχθεί Ιαπωνικές απομονώσεις του μύκητα σε τέσσερις παθοτύπους (πιπεριές, τομάτας, μελιτζάνας και σταυρανθών). Παρομοίως, στην Ελλάδα έχουν καταταχθεί απομονώσεις του μύκητα, προερχόμενες από διάφορες περιοχές της Κρήτης, σε τρεις παθότυπους.

Η αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης γίνεται με διάφορα μέτρα: καλλιεργητικά και βιολογικά.

Ο **μονοκυκλικός (monocyclic) χαρακτήρας** της Βερτισιλλίωσης απαιτεί μια στρατηγική αντιμετώπισης που να βασίζεται κυρίως στη μείωση του αρχικού μολύσματος του μύκητα στο έδαφος (Powelson *et al.* 1993). Γι'αυτό πρέπει να εφαρμόζονται στρατηγικές **ολοκληρωμένης αντιμετώπισης (integrated control strategies)** όπως η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών, οι οποίες βασίζονται σε εναλλακτικά μέτρα αντιμετώπισης (alternative control measures) που αντικαθιστούν ή μειώνουν τη χημική καταπολέμηση (Blanco-Lopez & Jimenez-Diaz 1995, Hiemstra & Harris 1998, Lopez-Escudero *et al.* 2006). Ένα μέτρο-κλειδί (key- control measure) στην εν λόγω στρατηγική είναι η χρησιμοποίηση αμόλυντου (ελεύθερου παθογόνου: pathogen- free) φυτικού υλικού για πολλαπλασιασμό και για εγκατάσταση νέων ελαιώνων, κυρίως όταν η φύτευση γίνεται σε περιοχές αμόλυντες (ελεύθερες: free) από το μύκητα *V. dahliae* (Mercado- Blanco κ.α., 2001).

Ένα υποσχόμενο στοιχείο μιας τέτοιας προληπτικής στρατηγικής (preventive strategy) είναι η προστασία του ελεύθερου-παθογόνου (pathogen-free) φυτευτικού υλικού από πρόωμη προσβολή του *V. dahliae* κατά τη διάρκεια πολλαπλασιασμών του φυτού και/ή της μεταφύτευσης. Αυτό θα μπορούσε να επιτευχθεί με τη χρησιμοποίηση βιολογικών παραγόντων καταπολέμησης (biocontrol agents, BCAs).

Η αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης της ελιάς είναι δύσκολη επειδή: i) ο *V. dahliae* είναι ένα ευρέως διαδεδομένο εδαφογενές (soil-born) παθογόνο που επιβιώνει στο έδαφος για μεγάλες χρονικές περιόδους με μορφή μικροσκληρωτίων, παρουσία ξενιστών ή απουσία ξενιστών, ii) προκαλεί σοβαρές απώλειες σε ευρύ φάσμα (wide range) ποωδών και ξυλωδών ξενιστών και iii) τα υπάρχοντα χημικά σκευάσματα (π.χ. βενζιμιδαζόλες) δεν είναι αποτελεσματικά.

Όμως, η αντιμετώπιση της ασθένειας γίνεται πιο δύσκολη επειδή η ελιά προσβάλλεται και από απομονώσεις του *V. dahliae* που ανήκουν στη φυλή 2 (race) της τομάτας ή στον αποφυλλωτικό παθότυπο (defoliating pathotype) του βαμβακιού.

# **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup>**

## **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

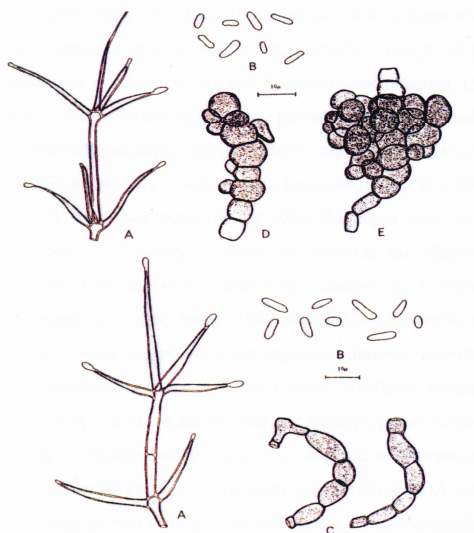
## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο.....	1
ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	1
1. Το γένος <i>Verticillium</i> .....	7
1.1 Ο Μύκητας <i>V. dahliae</i> .....	8
1.1.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά του μύκητα <i>V. dahliae</i> .....	8
1.1.2 Φυσιολογικά χαρακτηριστικά του μύκητα <i>V. dahliae</i> .....	9
1.1.3 Φάσμα ξενιστών του μύκητα <i>V. dahliae</i> .....	9
1.1.4 Εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή του μύκητα <i>V. dahliae</i> .....	11
1.1.5 Συμπτωματολογία .....	13
1.1.6 Βιολογία - Επιδημιολογία του μύκητα <i>V. dahliae</i> .....	17
1.1.7 Βιολογικός κύκλος του μύκητα <i>V. dahliae</i> .....	19
1.1.8 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του <i>V. dahliae</i> και την εξέλιξη της ασθένειας.....	21
1.1.9 Τρόποι εξάπλωσης του μύκητα <i>V. dahliae</i> .....	22
1.1.10 Απώλειες από τη Βερτισιλλίωση των καλλιεργούμενων φυτών.....	24
1.1.11 Τρόποι αντιμετώπισης του μύκητα <i>V. dahliae</i> .....	26
1.1.11.1 Καλλιέργεια ανθεκτικών και ανεκτικών ποικιλιών και υβριδίων .....	26
1.1.11.2 Εμβολιασμός ευπαθών ειδών σολονοδών σε ανθεκτικά υποκείμενα .....	28
1.1.11.3 Χημική απολύμανση εδάφους .....	29
1.1.11.4 Απολύμανση εδάφους με ατμό (ατμοαπολύμανση) .....	29
1.1.11.5 Ηλιοαπολύμανση.....	30
1.1.11.6 Χημική αντιμετώπιση .....	31
1.1.11.7 Αμειψισπορά .....	32
1.1.11.8 Εφαρμογή διαφόρων καλλιεργητικών φροντίδων .....	32
1.1.11.9 Βιολογική αντιμετώπιση (χρησιμοποίηση βιολογικών σκευασμάτων) .....	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο.....	36
Η ΒΕΡΤΙΣΙΛΛΙΩΣΗ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ (UWO).....	36
2. Η Καλλιέργεια της ελιάς παγκοσμίως.....	37
ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	37
2.1. Η Βερτισιλλίωση της ελιάς παγκοσμίως στις ελαιοπαραγωγικές χώρες ....	38
2.2. Παθότυποι του <i>V. dahliae</i> που προσβάλλουν την ελιά.....	39
2.3. Συμπτωματολογία .....	41
2.4. Απομόνωση του παθογόνου από φυσικούς ιστούς.....	45
2.5. Απώλειες της παραγωγής .....	46
2.6. Σχέση μεταξύ του <i>V. DAHLIAE</i> στο έδαφος και της προόδου της βερτισιλλίωσης της ελιάς.....	47
2.7. Μέτρα αντιμετώπισης (Control Measures) .....	47
2.7.1 Εφαρμογή κατάλληλων καλλιεργητικών πρακτικών.....	48
2.7.2 Καλλιέργεια ανθεκτικών ποικιλιών ελιάς .....	50
2.7.3 Βιοχημικοί μηχανισμοί άμυνας της ελιάς στη Βερτισιλλίωση .....	57
2.7.4 Εμβολιασμός ευπαθών ποικιλιών σε ανθεκτικά υποκείμενα.....	58
2.7.5 Ηλιοαπολύμανση.....	61
2.7.6 Βιολογική καταπολέμηση .....	62
2.7.7 Χημική αντιμετώπιση – εφαρμογή μυκητοκτόνων .....	64
2.7.8 Χημική απολύμανση του εδάφους (Chemical disinfection of the soil) .....	64
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	65

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1. Το γένος *Verticillium*

Το γένος *Verticillium* δημιουργήθηκε το 1816 από τον Nees von Essemberg και περιλαμβάνει μια κοσμοπολίτικη ομάδα φυτοπαθογόνων ειδών μυκήτων που προκαλούν αδρομυκώσεις σε ευρύ φάσμα ξενιστών (host range). Η διάκριση του γένους βασίστηκε στους σπονδυλωτά διακλαδισμένους κονιδιοφόρους που καταλήγουν σε χαρακτηριστικά φιαλίδια (phialides), τα οποία περιέχουν πολυάριθμα κονίδια. Το εν λόγω γένος των Hyrhomycetes με τις υαλώδεις βλαστικές υφές ονομάστηκε έτσι λόγω της μορφολογίας των κονιδιοφόρων του (Εικόνα 1). Αυτοί διαχωρίζονται με εγκάρσια διαφράγματα (septa) και διακλαδίζονται κατακόρυφα κατά σπονδύλους, στην άκρη των οποίων στηρίζονται τα λεπτά φιαλίδια. Τα κονίδια είναι σχεδόν κυλινδρικά, μονοκύτταρα, υαλώδη (Εικόνα 1) και σχηματίζονται στην κορυφή των φιαλιδίων σε κολλώδεις κεφαλές ή σπανιότερα σε αλυσίδες (Εικόνα 1).



**Εικόνα 1:** Κονιδιοφόροι (A), κονίδια (B) και διαχειμάζουσες μορφές (C, D, E) του *V. dahliae* (πάνω) και *V. albo-atrum* (κάτω).

Τα είδη του γένους *Verticillium* διακρίνονται βάσει του τύπου των διαχειμαζόντων οργάνων, δηλαδή: σκοτεινόχρωμο διαχειμάζον μυκήλιο (dark resting mycelium, dm), σκοτεινόχρωμα μικροσκληρώτια (microsclerotia, ms) και χλαμυδοσπόρια (chlamydosporia). Επίσης, η διάκρισή τους βασίζεται στα μορφολογικά αλλά και σε φυσιολογικά χαρακτηριστικά, όπως αναφέρονται παρακάτω.

Αντιπροσωπευτικά είδη του γένους *Verticillium* Nees 1816 απαντώνται ευρέως στα καλλιεργούμενα εδάφη. Το γένος περιλαμβάνει τα φυτοπαθογόνα είδη *V. dahliae*, *V. longisporum*



(Stark ) και *V. albo-atrum* τα οποία έχουν ελάχιστες σαπροφυτικές ιδιότητες, το *V. theobromae*, τα *V. nubilum* και *V. nigrescens* τα οποία είναι σαπροφυτικά και ελάχιστα παθογόνα, και το *V. tricorpus* το οποίο εμφανίζει ενδιάμεσες σαπροφυτικές ιδιότητες και είναι παθογόνο σε περιορισμένο αριθμό καλλιεργειών. Παρ' όλα αυτά, ο Zare *et al.* (2007) ανακατάταξε τα *V. nigrescens* και *V. theobromae* ως είδη στα γένη *Gibbelulopsis* και *Musicillium*, αντίστοιχα.

Όλα τα παραπάνω είδη μπορούν να συνυπάρχουν στην ίδια καλλιέργεια, π.χ. πατάτας ή τομάτας.

## 1.1 Ο Μύκητας *V. dahliae*

### 1.1.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά του μύκητα *V. dahliae*

Ο μύκητας *V. dahliae*, όταν καλλιεργηθεί σε θρεπτικό υπόστρωμα σχηματίζει λευκές βαμβακώδεις αποικίες που αναπτύσσονται αργά, εμφανίζονται υπόλευκες μετά από μια εβδομάδα ενώ αργότερα μπορεί να γίνονται μαύρες λόγω σχηματισμού μικροσκληρωτίων.

Το μυκήλιο είναι υαλώδες, οι κονιδιοφόροι είναι επίσης υαλώδεις, ελεύθεροι, πολυκύτταροι, ανορθωμένοι με χαρακτηριστική διακλάδωση κατά σπονδύλους. Στα εγκάρσια τοιχώματα των κονιδιοφόρων σχηματίζονται 3-4 πλάγια, κοντά και μονοκύτταρα φιαλίδια (διαστάσεων 16-35x1-2,5 μm), τα οποία έχουν διάφορα σχήματα και μερικές φορές είναι δευτερογενώς διακλαδισμένα.

Τα φιαλιδόσπορια ή κονίδια του μύκητα σχηματίζονται στα ανοίγματα των φιαλιδίων και είναι μονοκύτταρα, υαλώδη με σχήμα ωοειδές μέχρι ελλειψοειδές, διαστάσεων 2,5-8x1,4-3,2 μm. Στην κορυφή κάθε φιαλιδίου παράγονται διαδοχικά πολλά κονίδια, τα οποία συγκρατούνται μεταξύ τους με κολλώδη ουσία και σχηματίζονται συνήθως μικρές κεφαλές κονιδίων.

Επίσης, ο μύκητας σχηματίζει μικροσκληρώτα (microsclerotia) ή ψευδοσκληρώτια (psendosclerotia) από τη διαφοροποίηση συναφών υφών ή μιας υφής σε όλες τις κατευθύνσεις. Τα μικροσκληρώτια είναι διαστάσεων 40-80 μm, έχουν παχιά κυτταρικά τοιχώματα, σκοτεινό καφέ μέχρι μαύρο χρώμα, ακανόνιστο σχήμα και μέγεθος, ανώμαλη επιφάνεια και συνενώνονται πλευρικά μεταξύ τους.

Γενικά, η διάκριση του *V. dahliae* από το *V. albo-atrum* βασίζεται στα εξής μορφολογικά χαρακτηριστικά:

- i. την παραγωγή μελανόμορφων μικροσκληρωτίων ως όργανα επιβίωσης από το *V. dahliae*, σε αντίθεση με τον *V. albo-atrum* που παράγει μελανόμορφες υφές (όχι μικροσκληρώτια).
- ii. την μορφολογία των αποικιών τους σε καθαρή καλλιέργεια: οι αποικίες του *V. dahliae* παράγουν μικροσκληρώτια και εμφανίζονται εντελώς μαύρες, όταν η επώαση γίνεται σε 30 °C (Smith 1965) ενώ δεν σχηματίζουν σκοτεινόχρωμο διατηρητικό μυκήλιο (Isaac 1949).

Επίσης, όπως προαναφέρθηκε, το είδος *V. longisporum* διακρίνεται από το *V. dahliae* βάσει του μήκους και του σχήματος των κονιδίων: ο *V. dahliae* σχηματίζει μικρά και κυλινδρικά κονίδια, μήκους 3,5-6 μm, ενώ ο *V. longisporum* επιμήκη κονίδια, μήκους 6,5-12 μm.

### 1.1.2 Φυσιολογικά χαρακτηριστικά του μύκητα *V. dahliae*

Η διάκριση των ειδών του γένους *Verticillium* μπορεί να βασισθεί εκτός από μορφολογικά και σε φυσιολογικά ή φυσιοπαθολογικά χαρακτηριστικά. Τέτοια χαρακτηριστικά είναι το φάσμα των ξενιστών, η παθογόνος ικανότητα των στελεχών σε πολλούς ξενιστές, οι διαφορές στην ανάπτυξη τους σε θρεπτικό μέσο σε διαφορετικό pH, η αντοχή τους στο υπεριώδες φως, η επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη τους κ.ά.

Όσον αφορά το *V. dahliae*:

- i. χαρακτηρίζεται από σχετική αντοχή στο υπεριώδες φως, σε αντίθεση με το *V. albo-atrum* που είναι πολύ ευαίσθητες,
- ii. παρόλο που ο *V. albo-atrum* δεν αναπτύσσεται σε τεχνητή καλλιέργεια (τριβλία με PDA) ή προσβεβλημένα φυτά σε 30 °C, ο *V. dahliae* αναπτύσσεται και μολύνει ευπαθή φυτά σε 30°C ανεμπόδιστα και
- iii. η ανάπτυξη απομονώσεων του μικροσκληρωτιακού άγριου τύπου (wild type) μειώνεται απότομα πάνω από τους 28-29 °C, ενώ του διατηρητικού μυκήλιου πάνω από τους 23-24 °C.

### 1.1.3 Φάσμα ξενιστών του μύκητα *V. dahliae*

Ο *V. dahliae* είναι ένα από τα σπουδαιότερα παθογόνα του αγγειακού συστήματος των ανώτερων φυτών. Έχει ευρύτατο φάσμα ξενιστών (host range) και προσβάλλει περισσότερα από 400 είδη φυτών, στα οποία περιλαμβάνονται λαχανοκομικά και ανθοκομικά φυτά με μεγάλη οικονομική σημασία, ψυχανθή και φυτά μεγάλης καλλιέργειας, καθώς επίσης οπωροφόρα και καλλωπιστικά δένδρα και μεγάλο αριθμό αυτοφυών. Είδη των οικογενειών Asteraceae (συν. Compositae), Brassicaceae (συν. Cruciferae), Cucurbitaceae, Fabaceae (συν. Leguminosae), Malvaceae και Solanaceae περιλαμβάνονται μεταξύ των κυριότερων ξενιστών του *V. dahliae*. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο αριθμός των ειδών που προσβάλλονται από τον μύκητα συνεχώς αυξάνεται, καθώς η εκδήλωση της ασθένειας καταγράφεται σε νέους ξενιστές.

Μεταξύ των ευπαθών λαχανοκομικών ειδών, που προσβάλλονται από τον μύκητα, περιλαμβάνονται τα **εξής**: τομάτα, πατάτα, μελιτζάνα, πιπεριά, αγγουριά, πεπονιά, καρπουζιά, κολοκυθιά, μπάμια, φασόλι, αγκινάρα κ.ά. ενώ σπάνια προσβάλλονται τα είδη σινάπι, κρεμμύδι, σκόρδο, σπαράγγι, σέλινο, κ.ά. (Sherf & MacNab, 1986).

Ο Ligoxigakis *et. al.* 12002a σε μελέτη που αφορούσε τον προσδιορισμό των νέων ξενιστών

του μύκητα μεταξύ των καλλιεργούμενων ειδών στην Κρήτη, διαπίστωσαν ότι ο μύκητας προσβάλλει και τα εξής είδη: άνηθο, βίκο, παπούλα (νέοι ξενιστές διεθνώς) σπανάκι, αντίδι, μαρούλι, ραδίκι, ραπάνι, λάχανο, κουνουπίδι, μπρόκολο (νέοι ξενιστές στην Ελλάδα) [Πίνακας 1].

Στις δένδροκομικές καλλιέργειες οι αδρομυκώσεις προκαλούνται αποκλειστικά από τον μύκητα *V. dahliae* και συγκεκριμένα στη χώρα μας έχει παρατηρηθεί ότι ο μύκητας προσβάλλει τα εξής είδη: βερικοκιά, **ελιά**, φιστικιά, αμυγδαλιά, ροδακινιά και δαμασκηνιά [Πίνακας 1].

Διάφορα είδη αυτοφυών φυτών έχουν αναφερθεί ως ευπαθείς ξενιστές του *V. dahliae*, όπως το βλήτο, η καψέλα, η μολόχα, το μαρτιάκο, η περιπλοκάδα, ο στύφνος, το βρωμολάχανο, η λουβουδιά, η ανθεμίδα κ.ά. [Πίνακας 1].

Επίσης ο μύκητας είναι ικανός να επιβιώσει σε μερικά είδη καλλιεργούμενων και αυτοφυών φυτών που είναι **ασυμπτωματικά (asymptomatic)**, τα οποία αν και φιλοξενούν το παθογόνο δεν παρουσιάζουν συμπτώματα της ασθένειας. Είδη της οικογένειας Poaceae (συν. Gramineae) έχουν αναφερθεί ως ασυμπτωματικοί φορείς (asymptomatic carriers) του μύκητα ενώ παλαιότερα θεωρούνταν ότι ανήκουν στα ανθεκτικά είδη, όπως για παράδειγμα η βρώμη και η αγριοβρώμη.

**Πίνακας 1. Κατάλογος των ξενιστών του μύκητα *V. dahliae* στη χώρα μας (Λιγοξυγκάκης 1998)**

<b>Κατηγορία ξενιστών</b>	<b>Είδη ξενιστών</b>
Δένδρα	<i>Olea europaea, Pistacia vera, Prunus armeniaca, Prunus domestica, Prunus dulcis, Prunus persica</i>
Μικρά φρούτα	<i>Fragaria vesca, Vitis vinifera ssp. vinifera</i>
Λαχανικά	<i>Abelmoschus esculentus, Allium porrum, Anethum graveolens, Beta vulgaris ssp. sicla, Brassica oleracea var. botrytis, Brassica oleracea var. capitata, Brassica oleracea var. italica, Capsicum annuum, Cichorium endivia, Cichorium intybus, Citrullus vulgaris, Cucumis melo, Cucumis sativus, Cynara scolymus, Foeniculum vulgare, Lathyrus ochrus, Lycopersicon esculentum, Phaseolus vulgaris, Raphanus sativus, Solarium melongena, Solanum tuberosum, Vicia faba</i>
Όσπρια	<i>Cicer arietinum, Lens culinaris, Pisum sativum</i>
Βιομηχανικά	<i>Gossypium hirsutum, Mentha piperita</i>
Καλλωπιστικά	<i>Calendula sp., Cercis siliquastrum, Chrysanthemum sp., Dahlia sp., Dimorphotheca sp., Gerbera sp., Hedera helix, Impatiens balsamina, Koerleuteria sp., Laurus nobilis, Laurus tinus, Lonicera japonica, Rosa sp., Tagetes erecta</i>

Κτηνοτροφικά	<i>Avena sativa, Medicago sativa, Vicia sativa</i>
Αυτοφυή φυτά	<i>Amaranthus</i> sp., <i>Amaranthus retroflexus</i> , <i>Anthemis melanolepis</i> , <i>Avena fatua</i> , <i>Calendula arvensis</i> , <i>Callistephus sinensis</i> , <i>Capsella bursa-pastoris</i> , <i>Cardaria draba</i> , <i>Chenopodium album</i> , <i>Erodium</i> sp., <i>Euphorbia helioscopia</i> , <i>Euphorbia</i> sp., <i>Geranium</i> sp., <i>Geranium dissectum</i> , <i>Helminthotheca echioides</i> , <i>Lactuca serriola</i> , <i>Malva sylvestris</i> , <i>Raphanus raphanistrum</i> , <i>Rubus</i> sp., <i>Senecio vulgaris</i> , <i>Sinapis alba</i> , <i>Sinapis arvensis</i> , <i>Solanum nigrum</i> , <i>Sonchus oleraceus</i> , <i>Trifolium</i> sp., <i>Xanthium spinosum</i> , <i>Xanthium strumarium</i>

#### 1.1.4 Εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή του μύκητα *V. dahliae*

Οι απομονώσεις ειδών του γένους *Verticillium*, που προέρχονται από διάφορα είδη φυτών, δεν εμφανίζουν συνήθως εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή (host specificity), όμως μεταξύ των απομονώσεων του *V. dahliae* υπάρχει μεγάλη παραλλακτικότητα στην παθογόνο ικανότητά τους. Σε πειράματα τεχνητών μολύνσεων οι εξειδικευμένες απομονώσεις (specific isolates) του *V. dahliae* είτε προκαλούν έντονα συμπτώματα στους ομόλογους (homologous) ξενιστές και δεν προσβάλλουν άλλα είδη φυτών, είτε προσβάλλουν έντονα τους ομόλογους και συγγενικούς ξενιστές και ελαφρότερα διάφορα άλλα είδη φυτών.

Έχει αναφερθεί εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή σε απομονώσεις του *V. dahliae* από **μέντα** (*Mentha piperita* L.), **πιπεριά** (*Capsicum annuum* L.), **λάχανο Βρυξελλών** (*Brassica oleracea* var. *Gemnifera* D.C.), **μηδική** (*Medicago sativa* L.), **καπνό** (*Nicotiana tabacum* L.) και **κακάο** (*Theobroma cacao* L.).

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

- **Ομάδα Α, παθότυπος της μελιτζάνας**, που περιλαμβάνει απομονώσεις παθογόνες σε μελιτζάνα και ρέβα
- **Ομάδα Β, παθότυπος της τομάτας**, που περιλαμβάνει απομονώσεις παθογόνες σε μελιτζάνα, τομάτα και ρέβα
- **Ομάδα C, παθότυπος της γλοκειάς πιπεριάς**, που περιλαμβάνει απομονώσεις

παθογόνες σε μελιτζάνα, γλυκιά πιπεριά και ρέβα

- **Ομάδα D, παθότυπος των σταυρανθών**, που περιλαμβάνει απομονώσεις παθογόνες μόνο σε ρέβα (Hagiwara 1990, Horiuchi et al. 1990).

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

Επίσης, στην **Ελλάδα**, ελέγχθηκε η παθογόνος ικανότητα απομονώσεων του μύκητα από 37 είδη φυτών (25 καλλιεργούμενα και 12 αυτοφυή), τα οποία είχαν συλλεχθεί από διάφορες περιοχές της Κρήτης, σε τέσσερα διαφορίζοντα φυτικά είδη: τη ρέβα, την γλυκιά πιπεριά, την τομάτα και τη μελιτζάνα.

Οι εν λόγω απομονώσεις κατατάχθηκαν σε τρεις παθότυπους:

- στον **Παθότυπο I**, που περιλαμβάνει απομονώσεις παθογόνες σε τομάτα, μελιτζάνα και ρέβα και προέρχονται από 22 καλλιεργούμενα και 9 αυτοφυή είδη.
- στον **Παθότυπο II**, που περιλαμβάνει απομονώσεις παθογόνες σε μελιτζάνα και ρέβα και προέρχονται από 10 καλλιεργούμενα και 6 αυτοφυή είδη.
- στον **Παθότυπο III**, που περιλαμβάνει απομονώσεις παθογόνες και στα τέσσερα διαφορίζοντα φυτικά είδη και προέρχονται από δύο καλλιεργούμενα είδη (Λιγοξυγκάκης κ.ά., 2002).

Επίσης, έχει αναφερθεί η ύπαρξη **εξειδικευμένων στελεχών** (specific strains) ή **παθοτύπων** (pathotypes) που παρουσιάζουν ιδιαίτερα υψηλή παθογόνο δύναμη και έντονη αποφύλλωση σε ένα συγκεκριμένο ξενιστή, ενώ προσβάλλουν σε πολύ μικρότερο βαθμό και άλλα είδη φυτών, όπως αναλύεται παρακάτω.

Ο Schnathorst (1964) ανέφερε ότι ένα πολύ παθογόνο αποφυλλωτικό στέλεχος του μύκητα προκαλούσε σημαντικές απώλειες στην παραγωγή βαμβακιού (*Gossypium hirsutum* L.) στην Καλιφόρνια. Το στέλεχος αυτό ονομάστηκε T-1 από τους, οι οποίοι πρότειναν τη διάκρισή του από το λιγότερο παθογόνο και ευρέως εξαπλωμένο στέλεχος SS-4. Με τεχνητές μολύνσεις, διάφορα άλλα είδη φυτών διαφοροποιούν επίσης τα στελέχη T-1 και SS-4. Τέτοιοι **διαφορίζοντες ξενιστές** (differential hosts) είναι η τομάτα, το αντίρρινο και η ατρακτυλίδα, ο ηλιάνθος και η ελιά.

Ειδικές μορφές (formae speciales) δεν έχουν αναφερθεί στο *V. dahliae*, όμως υπάρχουν **φυσιολογικές φυλές** (physiological races) του μύκητα.

Συγκεκριμένα, υπάρχουν δύο φυλές, οι οποίες διαφοροποιούνται σε **υβρίδια και ποικιλίες τομάτας** (π.χ. Earlypak No 7 και ACE 55 VF). Το γονίδιο αντοχής *Ve*, που βρέθηκε στην αυτοφυή τομάτα του Περού (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. *cerasiformae*) παρέχει αντοχή στη φυλή 1 του *V. dahliae*. Απομονώσεις παθογόνες σε ευπαθείς γονότυπους τομάτας, όπως η Earlypak No 7

που στερείται το γόνο αντοχής *Ve*, αλλά μη παθογόνες σε ανθεκτικούς γονότυπους, όπως η ACE 55 VF που διαθέτει το γονίδιο *Ve*, έχουν καταταχθεί στη φυλή 1 (race 1) ή στο στέλεχος 1 (strain 1) της τομάτας. Αντίθετα, απομονώσεις παθογόνες τόσο σε ευπαθείς όσο και σε ανθεκτικούς γονότυπους τομάτας έχουν καταταχθεί στη φυλή 2 ή στο στέλεχος 2 της τομάτας. Η γεωγραφική εξάπλωση και οι ξενιστές της φυλής 2 του *V. dahliae* παρουσιάζονται στον Πίνακα 2 (Ligoxigakis & Vakalounakis 2004).

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

**Πίνακας 2.** Γεωγραφική εξάπλωση και ξενιστές της φυλής 2 του μύκητα *V. dahliae* (Ligoxigakis & Vakalounakis 2000)

<b>ΑΦΡΙΚΗ</b>	Τομάτα	
Μαρόκο		Besri <i>et al</i> (1984)
Νότια Αφρική	Τομάτα	Ferreira <i>et al</i> (1990)
<b>ΑΣΙΑ</b>	Τομάτα	
Ιαπωνία		Kobayashi <i>etal</i> (1990)
<b>ΕΥΡΩΠΗ</b>		
Μεγάλη Βρετανία	Τομάτα	Griffiths & Isaac (1966), Pegg (1974)
Γαλλία	Τομάτα	Laterrot & Pecaut (1966)
Ελλάδα	Μελιτζάνα	Tjamos (1980, 1981)
Ελλάδα	Τομάτα, Καρπουζιά	Παπλωματάς & συνεργ. (1996)
Ελλάδα	Τομάτα, Αγγουριά	Ligoxigakis (1991), Ligoxigakis & Vakalounakis (1992, 1994)*"
Ολλανδία	Τομάτα	Paternotte & van Kesteren (1993)
Ιταλία	Πεπονιά	Cirulli (1969)
Ιταλία	Τομάτα, Πιπεριά	Matta & Garibaldi (1984)
Ρουμανία	Αγγουριά	Costache & Tomescu (1990)
Ισπανία	Αγγουριά	Baergen & Hewitt (1988)
<b>Η.Π.Α.</b>		
Καλιφόρνια	Τομάτα	Hall <i>et al</i> (1972), Grogan <i>etal</i> (1979), Puhalla (1979)
Καρολίνα	Τομάτα	Bender & Shoemaker (1977, 1984)
Φλόριδα	Τομάτα	Jones & Overman (1985)
Οχάιο	Τομάτα	Alexander (1962)
Ουισκόνσιν	Τομάτα	Robinson <i>et al</i> (1957)
<b>ΝΟΤΙΑ ΑΜΕΡΙΚΗ</b>		
Βραζιλία	Τομάτα	Laierrrot <i>etal</i> (1983), Laterrot (1984)
Χιλή	Τομάτα	de Badilla (1974)
<b>ΩΚΕΑΝΙΑ</b>		
Αυστραλία	Τομάτα	O'Brien & Hutton (1981) /

### 1.1.5 Συμπτωματολογία

Τα συμπτώματα που παρατηρούνται στα φυτά, μετά τη προσβολή τους από το *V. dahliae*

είναι παρόμοια στους διάφορους ξενιστές και μερικές φορές μπορεί να συγχέονται με τα συμπτώματα των φουζαριώσεων, αδροβακτηριώσεων και ασθενειών του ριζικού συστήματος (π.χ. σηψιρριζίες).

Τα κυριότερα συμπτώματα είναι: **χλώρωση, μαρασμός και ξήρανση των κατώτερων φύλλων, νανισμός των προσβεβλημένων φυτών, καθώς και καστανός μεταχρωματισμός των αγγείων του ξύλου**. Επίσης, παρουσιάζονται και άλλα συμπτώματα, τα οποία διαφέρουν ανάλογα τον ξενιστή, όπως για παράδειγμα **επιναστία (epinasty) των φύλλων, ημιπληγία, αποπληξία κ.ά.**

Στα **λαχανοκομικά** είδη (τομάτα, πατάτα, μελιτζάνα, αγγουριά, πεπονιά, μπάμια κ.ά.), τα πιο χαρακτηριστικά συμπτώματα είναι ο παροδικός μαρασμός των φύλλων και οι κίτρινομπρούτζινες κηλίδες στα κατώτερα φύλλα, που αργότερα γίνονται νεκρωτικές. Επίσης, διακρίνεται ελαφρώς καστανός έως μαύρος μεταχρωματισμός των αγγείων του ξύλου. Σε προχωρημένα στάδια της ασθένειας, παρατηρείται αποφύλλωση και μονόπλευρη ξήρανση των φυτών.

Η τάση μαρασμού που παρουσιάζει ένα συγκεκριμένο είδος όταν μολυνθεί από το *V. dahliae*, εξαρτάται από: το γονότυπο, το είδος ή/και τη φυλή του μύκητα και τις κλιματικές συνθήκες.

Τα συμπτώματα μπορεί να εμφανισθούν σε κάθε στάδιο ανάπτυξης των λαχανοκομικών φυτών, όμως τα χαρακτηριστικά συμπτώματα εμφανίζονται συνήθως μετά την καρπόδεση. Όσο νωρίτερα εμφανισθούν τα συμπτώματα σε σχέση με την ηλικία ενός λαχανοκομικού είδους, τόσο μεγαλύτερη είναι η σοβαρότητα της και κατά συνέπεια οι ζημιές της καλλιέργειας.

Η εξέλιξη της συμπτωματολογικής κατάστασης εξαρτάται από: το χρόνο προσβολής (πρώιμη ή όψιμη), τις κλιματικές συνθήκες, την πυκνότητα του μολύσματος, την ύπαρξη ή απουσία εξειδικευμένου στελέχους ή φυσιολογικής φυλής του μύκητα, το είδος, την ποικιλία ή το υβρίδιο του καλλιεργούμενου φυτού, τις καλλιεργητικές φροντίδες (άρδευση, λίπανση) κ.ά..

Στις **δενδροκομικές** καλλιέργειες, τα συμπτώματα εμφανίζονται σε ένα ή περισσότερα δένδρα. Αρχικά, παρατηρείται ανοικτότερο πράσινο χρώμα των φύλλων, που αργότερα γίνεται κίτρινο. Τα φύλλα μαραίνονται και πέφτουν, με αποτέλεσμα την αποφύλλωση και ξήρανση των ακραίων κλαδίσκων. Στη συνέχεια, τα συμπτώματα επεκτείνονται και σε μεγαλύτερους κλάδους. Τα συμπτώματα εμφανίζονται συνήθως στη μία πλευρά του δένδρου με τη μορφή ημιπληγίας, όμως στη συνέχεια προσβάλλεται και η άλλη πλευρά του και συχνά ακολουθεί η ολική νέκρωσή του. Συνήθως το δέντρο παραμένει προσβεβλημένο για διάστημα πολλών ετών, εμφανίζοντας συμπτώματα προσβολής καθώς και νανισμό (Θανασουλόπουλος 1992).

Στα **πυρηνόκαρπα** (βερικοκιά, ροδακινιά, δαμασκηνιά και κερασιά) και την **αμυγδαλιά** τα πρώτα συμπτώματα της προσβολής παρατηρούνται νωρίς ή στα μέσα του καλοκαιριού, που λόγω

των υψηλών θερμοκρασιών τα φύλλα βρίσκονται σε συνθήκες έλλειψης ύδατος. Τα συμπτώματα που εμφανίζουν τα προσβεβλημένα δένδρα είναι: χλώρωση και μαρασμός των φύλλων, πρόωμη αποφύλλωση μερικών βραχιόνων ή σε μερικές περιπτώσεις του μισού ή σχεδόν ολόκληρου του δένδρου. Συνήθως, οι προσβεβλημένοι βραχίονες και κλάδοι εμφανίζουν μεταχρωματισμό των αγγείων του ξύλου. Οι **προσβεβλημένοι** βραχίονες όλων των πυρηνοκάρπων μπορεί να αποφυλλώνονται μερικώς για δύο ή περισσότερα χρόνια και στη συνέχεια να εξυγιαίνονται και να εμφανίζονται σχεδόν κανονικοί (**Blodgett 1964**). Σε μερικές περιπτώσεις, νεκρώνονται ξαφνικά ολόκληρα τα δένδρα και τα νεκρωμένα φύλλα παραμένουν στους κλάδους τους. Κατά κανόνα, τα νεαρά δένδρα μέχρι 6 ετών είναι πιο ευπαθή από τα ηλικιωμένα.

Στην **φιστικιά**, τα συμπτώματα της προσβολής μοιάζουν με τα συμπτώματα των πυρηνοκάρπων, όμως τα προσβεβλημένα φύλλα ξηραίνονται χωρίς να πέφτουν από τους κλάδους τους.

Στο **αμπέλι**, η βερτισιλλίωση εμφανίζεται κατά την διάρκεια του καλοκαιριού. Συνήθως παρατηρείται απότομος μαρασμός και αποξήρανση των φύλλων μερικών κληματίδων και σπανιότερα ολόκληρου του πρέμνου. Οι προσβεβλημένες κληματίδες και ο κορμός του πρέμνου εμφανίζουν χαρακτηριστικό έντονο καστανό μεταχρωματισμό των αγγείων του ξύλου.

Τα συμπτώματα της βερτισιλλίωσης είναι ιδιαίτερα έντονα: α) σε αρδευόμενους οπωρώνες, β) σε περιοχές όπου έχουν καλλιεργηθεί επανειλημμένα ή καλλιεργούνται συνεχώς για πολλά χρόνια διάφορα είδη ευπαθών φυτών και γ) όπου γίνεται συγκαλλιέργεια ευπαθών δενδρωδών (π.χ. ελιά) με ευπαθή κηπευτικά (πατάτα, τομάτα, μελιτζάνα κ.ά.) ή βαμβάκι.

Όπως σημαίνει το κοινό αγγλοσαξονικό όνομα της ασθένειας '**Verticillium wilt**', το επικρατέστερο σύμπτωμά της είναι ο **μαρασμός**, (Εικόνα 2) χωρίς όμως να έχει διευκρινιστεί πλήρως η φυσιολογική αιτία του εν λόγω συμπτώματος. Υπάρχουν διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί, που μόνοι τους ή από κοινού θα μπορούσαν να προκαλέσουν μαρασμό των προσβλημένων φυτών (Threlfall 1959). Δύο κύριες θεωρίες έχουν αναπτυχθεί για την ερμηνεία του φαινομένου αυτού. Η μια υποστηρίζει ότι η φυσική απόφραξη των αγγείων των προσβλημένων φυτών, μειώνει τη ροή του νερού στα φύλλα. Η άλλη υποστηρίζει ότι παράγονται διάφορες ουσίες από το παθογόνο, που είναι τοξικές στα φύλλα. Το πιθανότερο είναι να ισχύουν και οι δύο θεωρίες, όπως αναφέρουν πολλοί ερευνητές.





**Εικόνα 2:** Δενδρύλιο με ξηραμένο και απογυμνομένο κλάδο της κορυφής λόγω προσβολής από Βερτισιλλίωση.

Στα αγγεία του ξύλου των προσβλημένων φυτών παρατηρούνται διάφορες αλλαγές όπως: αποθέσεις καστανών χρωστικών, επικάλυψη με ανώμαλης μορφής υλικό (π.χ. πλούσιο σε λιπίδια), απόφραξη με γόμες, πηκτές ή τυλώσεις, αποδιοργάνωση των παρεγχυματικών κυττάρων και συσσώρευση σημασμένων υλικών στα κυτταρικά τοιχώματα. (Εικόνα 3)



**Εικόνα 3:** Μεταχρωματισμός του κεντρικού κυλίνδρου κλαδίσκου προσβεβλημένο από Βερτισιλλίωση

Έχει αναφερθεί ότι υφές του μύκητα αποφράσσουν μερικά αγγεία του ξύλου και ότι η απόφραξή τους μπορεί να ενισχυθεί με ουσίες που παράγονται από το παθογόνο ή απελευθερώνονται λόγω της δράσης διαφόρων ενζύμων του παθογόνου στο ξενιστή. Οι ουσίες που απεκκρίνει ο μύκητας, βλάπτουν το φυτό άμεσα ή έμμεσα, προκαλώντας απόφραξη των αγγείων του. Όμως, δεν υπάρχει συμφωνία για τη φύση και τη δραστηριότητα των ουσιών αυτών (Wood 1961). Οι εν λόγω ουσίες μπορεί να είναι: **α) εξοκυτταρικά ένζυμα** και ιδιαίτερα αυτά που δρουν στις κυτταρικές μεμβράνες και προκαλούν βλάβη στην ημιπερατότητά τους, με αποτέλεσμα απώλεια ύδατος από τα μολυσμένα φυτά **β) τοξίνες**, **γ) μακρομόρια που είναι πρωτεϊνο-λιποπολυσακχαρίτες (PLP)** και **δ) ρυθμιστές αύξησης**.

### 1.1.6 Βιολογία - Επιδημιολογία του μύκητα *V. dahliae*

Ο *V. dahliae* είναι ένας **εδαφογενής** (soilborne) μύκητας που μπορεί να ενταχθεί στην κατηγορία των «αποικιστών της ρίζας» (root inhabitants) του, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη εκτεταμένης παρασιτικής φάσης στο ζωντανό ιστό του ξενιστή και από περιορισμένη σαπροφυτική φάση στα φυτικά υπολείμματα.

Ο μύκητας επιβιώνει στο έδαφος, συνήθως σε βάθος έως 60-70 cm, για πάρα πολλά χρόνια (8-14 χρόνια) κυρίως με τη μορφή μικροσκληρωτίων, καθώς επίσης με μυκήλιο και κονίδια σε προσβεβλημένα υπολείμματα καλλιεργειών (κυρίως ετήσιων φυτών).

Ένας άλλος τρόπος διαίωσης του μύκητα και αύξησης των μολυσμάτων του στο έδαφος είναι διάφορα είδη ζιζανίων. Αρκετά είδη ζιζανίων, παρόλο που έχουν προσβληθεί από τον μύκητα, δεν εκδηλώνουν συμπτώματα (ασυμπτωματικοί φορείς) και όταν με τα γεωργικά μηχανήματα ενσωματωθούν στο έδαφος συντελούν στον εμπλουτισμό του με μολύσματα του μύκητα (κυρίως μικροσκληρώτια). Επίσης, **πολλά είδη ζιζανίων παράγουν μολυσμένο σπόρο**, με τον οποίο μπορεί να μολυνθεί ο αγρός ή ακόμα και γειτονικοί αγροί.

Τα **κονίδια** επιβιώνουν για μικρό χρονικό διάστημα στο έδαφος και δεν έχουν επιδημιολογική σημασία, επειδή με τη μορφή αυτή ο μύκητας δεν μπορεί να επιβιώσει μακριά από τον ξενιστή περισσότερο από μερικούς μήνες. Τα κονίδια που παράγονται σε μολυσμένες νεκρές ρίζες και στελέχη ευπαθών ξενιστών είναι δυνατό να δρουν ως μόλυσμα για περισσότερες από τρεις εβδομάδες πριν νεκρωθούν ή αφυδατωθούν. Η περίοδος παραγωγής των κονιδίων μπορεί να είναι μακρά και εξαρτάται από την επάρκεια θρεπτικών στοιχείων στα φυτικά υπολείμματα.

Τα **μικροσκληρώτια** ζουν για πολλά χρόνια στο έδαφος και σε ευνοϊκές συνθήκες περιβάλλοντος βλαστάνουν και δίνουν μολυσματική υφή. Τα μικροσκληρώτια αναπτύσσονται μονήρη ή σε μικρές ομάδες και είναι βυθισμένα σε τεμάχια φυτικού ιστού (π.χ. στελέχη πατάτας). Με τη μορφή μικροσκληρωτίων ο μύκητας μπορεί να επιβιώσει σε ακαλλιέργητο έδαφος για 3-6 χρόνια, απουσία ξενιστών, ενώ η επιβίωση του σκοτεινόχρωμου διατηρητικού μυκηλίου του *V. albo-atrum* περιορίζεται σε 2-5 χρόνια. Γενικά, αναφέρεται ότι απαιτούνται από 10 μέχρι 20 χρόνια για να μηδενισθεί ο πληθυσμός του *V. dahliae* σε καλλιεργούμενο και μολυσμένο έδαφος.

Τα μικροσκληρώτια μολύνουν τα φυτά με απευθείας είσοδο του μύκητα από τις ρίζες. Η μόλυνση διευκολύνεται ιδιαίτερα από την ύπαρξη πληγών που προκαλούνται στις ρίζες από νηματώδεις ή έντομα. Τα μικροσκληρώτια βλαστάνουν λόγω των εκκρίσεων που παράγονται στο άκρο της ρίζας και στη συνέχεια οι βλαστάνουσες υφές εισέρχονται στους ιστούς της ρίζας, από όπου αρχίζει η ανάπτυξη του μύκητα εντός των αγγειωδών δεσμίδων του φυτού.

Έχει αναφερθεί ότι τα μικροσκληρώτια βλαστάνουν στο έδαφος πολλές φορές. Όταν ένα μικροσκληρώτιο έχει βλαστήσει επανειλημμένα εξαιτίας των εκκρίσεων της ρίζας ενός φυτού, μπορεί να περιέλθει ξανά σε κατάσταση λήθαργου μέχρι να διεγερθεί ξανά από κάποια άλλη ρίζα.

Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι όταν τα μικροσκληρώτια βλαστήσουν η πυκνότητα μολύσματος του μύκητα στο έδαφος αυξάνεται δυο έως έξι φορές.

Η ταχεία εξάπλωση της ασθένειας από ένα μολυσμένο φυτό, δεν αποδίδεται σε ανάπτυξη του μυκηλίου που υπάρχει στο έδαφος προς τα γειτονικά φυτά, αλλά στην ανάπτυξη των ριζών των φυτών στο μολυσμένο έδαφος γύρω από το μολυσμένο φυτό. Οι ρίζες των υγιών φυτών μπορεί να μολυνθούν όταν έλθουν σε επαφή με το μύκητα που βρίσκεται σε μολυσμένα φυτικά υπολείμματα ή με διάφορα όργανα του μύκητα, όπως: μικροσκληρώτια, μυκήλιο ή κονίδια που βρίσκονται στο έδαφος. Η ύπαρξη τραυματισμένων ριζών συντελεί στην ταχεία διασυστηματική προσβολή των ευπαθών φυτών. Τραυματισμοί μπορεί να συμβούν κατά τη μεταφύτευση, κατά την καλλιέργεια του εδάφους και λόγω προσβολής των ριζών από νηματώδεις που ανήκουν στην οικογένεια Tylenchoidea.

Η μυκοστατική ιδιότητα του εδάφους διατηρεί το **λήθαργο των μικροσκληρωτίων** του *V. dahliae*, όταν δεν υπάρχουν φυτά σε αυτό (Εικόνα 4). Αλλαγές στη ριζόσφαιρα που προκαλούνται από εκκρίσεις των ριζών, διεγείρουν τη βλάστηση των μικροσκληρωτίων και επιτρέπουν σε αυτά να εισέλθουν στη διαδικασία της μόλυνσης, είτε μέσω άμεσης διείσδυσης των ριζών των ξενιστών από βλαστικούς σωλήνες των μικροσκληρωτίων ή έμμεσα από κονίδια που παράγονται μετά τη βλάστηση των μικροσκληρωτίων. Εκκρίσεις ριζών ανθεκτικών ξενιστών, όπως το σιτάρι, θα μπορούσαν να διεγείρουν τη βλάστηση των μικροσκληρωτίων, όχι όμως τόσο πολύ όσο οι ρίζες ευπαθών ξενιστών, όπως η τομάτα.

Ο **αποικισμός της ρίζας** από το *V. dahliae* συμβαίνει πολύ νωρίς στη ζωή της και καθόλη τη διάρκεια ανάπτυξης της. Τα ακρορίζα παίζουν σοβαρό ρόλο στη διαδικασία του αποικισμού, καθώς και η ζώνη επιμήκυνσης της ρίζας, γιατί είναι περιοχές από τις οποίες εκλύονται μεγάλες ποσότητες εκκρίσεων. Δεδομένης της ταχύτητας αύξησης των ριζών, που σύμφωνα με το κυμαίνεται μεταξύ 3 και 10 mm ημερησίως, και της μικρής απόστασης αντίδρασης, που είναι μικρότερη από 1 mm για τους περισσότερους μύκητες, θα πρέπει το μικροσκληρώτιο το οποίο ληθαργεί στο έδαφος να αντιδράσει ταχέως στις απεκκρίσεις της ρίζας που διέρχεται πλησίον του, για να μπορέσει να την προσβάλλει. Γι' αυτό, όταν τα διαστήματα αντίδρασης των μικροσκληρωτίων είναι πολύ μεγαλύτερα από μερικές ώρες, είναι δύσκολο στο μύκητα να έρθει σε επαφή με το κινούμενο άκρο της ρίζας.

Ο αποικισμός της ρίζας μπορεί να θεωρηθεί ότι αποτελείται από δυο ξεχωριστές *φάσεις*. Η πρώτη φάση περιλαμβάνει την ενεργοποίηση των μικροσκληρωτίων του μύκητα που ληθαργούν, καθώς επίσης τη βλάστηση και αρχική επαφή τους με το άκρο ή με σημεία κοντά στο άκρο της ρίζας. Η δεύτερη φάση περιλαμβάνει την εγκατάσταση και ανάπτυξη του μύκητα επί ή εντός της επιδερμίδας της ρίζας. Η αλληλεπίδραση μεταξύ του *V. dahliae* και των ριζών ευπαθών φυτών διαιρείται σε δύο ξεχωριστές φάσεις. Η πρώτη φάση είναι ο αποικισμός της επιδερμίδας της ρίζας

και η δεύτερη η είσοδος στα αγγεία του ξύλου (Εικόνα 4). Η πρώτη φάση μπορεί να θεωρηθεί ως επιφυτική, παρόλο που γίνεται εισβολή στον ιστό του ξενιστή η οποία παρατηρείται τόσο στα ευπαθή όσο και στα ασυμπτωματικά φυτά. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα ευπαθή φυτά διαφέρουν από τα ασυμπτωματικά στο ότι τα αγγεία του ξύλου τους προσβάλλονται διασυστηματικά από τον μύκητα.

Ο *V. dahliae* ενίοτε μπορεί να προσβάλλει τα **φύλλα** ευπαθών ξενιστών με **αερομεταφερόμενα κονίδια**, που έχει ως αποτέλεσμα τη διασυστηματική προσβολή τους. Προσβολή των φύλλων έχει αναφερθεί στην τομάτα, μελιτζάνα, πατάτα, χρυσάνθεμο, αραβίδαψη (*Arabidopsis thaliana*) και ελιά.

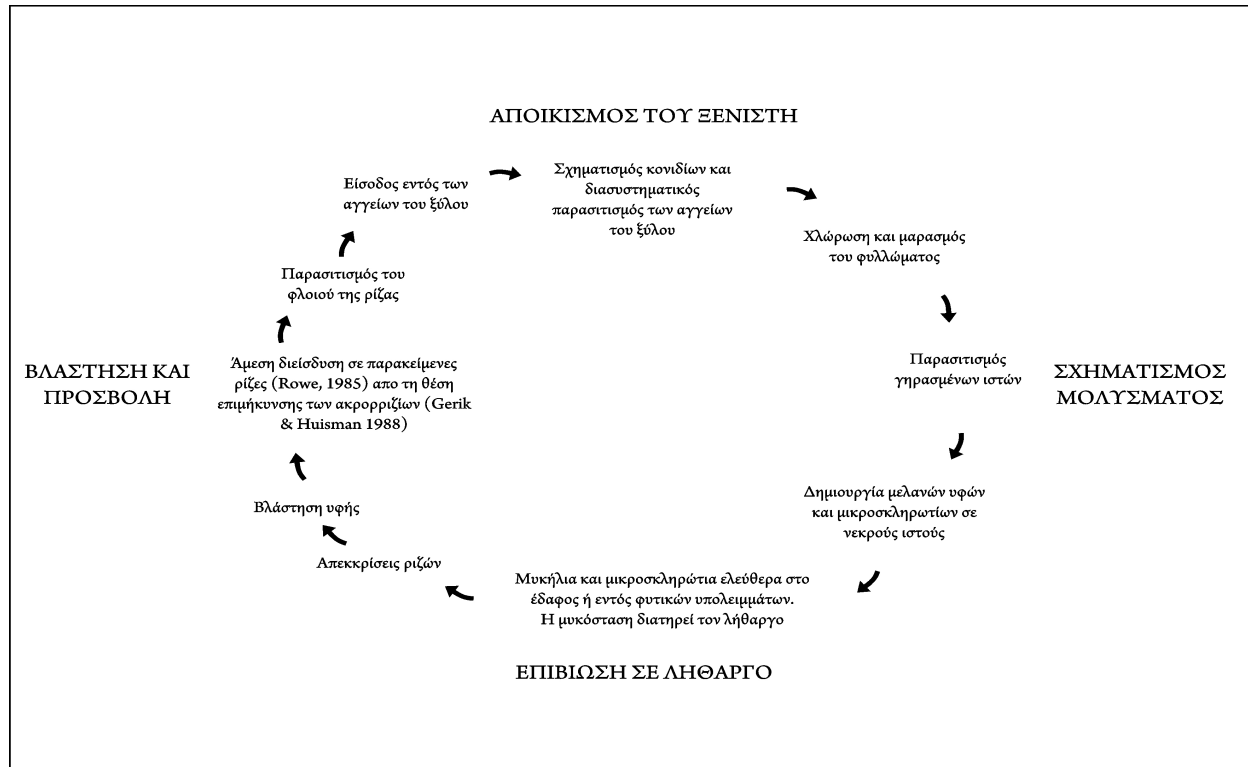
Όσον αφορά την επιβίωση του μύκητα **εκτός εδάφους** (σε τεχνητά θρεπτικά υλικά), ο *V. dahliae* παραμένει ζωντανός για τουλάχιστον τρία χρόνια σε θρεπτικά υποστρώματα με άγαρ (Isaac 1946), ενώ είναι ικανός να επιβιώνει σε ξηρές τεχνητές καλλιέργειες για 13 χρόνια περίπου. Όταν εξετάστηκαν καθαρές καλλιέργειες του μύκητα, που η ηλικία τους κυμαινόταν μεταξύ 13 και 22 χρονών, βρέθηκαν ζωντανές μόνο όσες ήταν ηλικίας μέχρι 13 ετών.

### 1.1.7 Βιολογικός κύκλος του μύκητα *V. dahliae*

Αρκετές έρευνες έχουν γίνει για την πλήρη μελέτη του βιολογικού κύκλου του *V. dahliae* (Εικόνα 4) που απαρτίζεται από τα εξής 9 στάδια:

1. Διέγερση της βλάστησης των μικροσκληρωτιών από τις απεκκρίσεις των ριζών του ξενιστή. Αυτό συμβαίνει ιδιαίτερα την εποχή της άνοιξης.
2. Παραγωγή μεγάλων απλοειδών κονιδίων που βλαστάνουν ταχέως και μολύνουν τις ρίζες.
3. Είσοδος του μύκητα στο αγγειακό σύστημα με την εισχώρησης απλοειδών υφών.
4. Εγκατάσταση του μύκητα στα αγγεία και παραγωγή κονιδίων τα οποία μεταφέρονται και διαχέονται με το ανιόν ρεύμα.
5. Νέκρωση των ιστών του ξενιστή, ιδιαίτερα των φύλλων, από την απλοειδή μορφή του μύκητα.
6. Δευτερογενής εισβολή στους νεκρούς ιστούς του ξενιστή από απλοειδή μυκήλια, παραγωγή περισσότερων κονιδίων από σπονδυλωτούς πλέον κονιδιοφόρους.
7. Μετάπτωση του μυκηλίου από απλοειδές σε διπλοειδές εντός των ανεπτυγμένων υφών και κονιδίων για την παραγωγή ανθεκτικών μορφών (μικροσκληρωτιών) στους ήδη νεκρωμένους ιστούς.
8. Ενηλικίωση των μικροσκληρωτιών.
9. Απελευθέρωση των ώριμων πλέον μικροσκληρωτιών από αποσυντεθημένα υπολείμματα προσβεβλημένων φυτών, τυχαία βλάστηση των λιγότερο

ληθαργούντων μικροσκληρωτίων που αφήνουν τα περισσότερα ληθαργούντα μικροσκληρώτια να διεργεθούν από τα εκκρίματα των ριζών της νέας καλλιέργειας.



Εικόνα 4. Βιολογικός κύκλος του μύκητα *Verticillium dahliae* (Tolmsoff, 1973).

### 1.1.8 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του *V. dahliae* και την εξέλιξη της ασθένειας

Διάφοροι παράγοντες, (π.χ. η θερμοκρασία εδάφους και αέρα, το φως, η υγρασία εδάφους, η πυκνότητα του μολύσματος κ.ά.) επηρεάζουν σημαντικά τη μόλυνση των ξενιστών του *V. dahliae* και την εξέλιξη της ασθένειας.

Η **θερμοκρασία** είναι ένας σπουδαίος παράγοντας που επηρεάζει τον ξενιστή, το παθογόνο, τις αλληλεπιδράσεις τους και τελικά την προσβολή και την ανάπτυξη της ασθένειας. Ο *V. dahliae* προκαλεί συμπτώματα προσβολής στα διάφορα είδη φυτών σε θερμοκρασίες μεταξύ 12-30 °C και είναι φανερό ότι σε αυτές τις θερμοκρασίες οι περισσότερες καλλιέργειες κινδυνεύουν να προσβληθούν.

Το **φως** έχει σημαντική επίδραση στην αύξηση και sporίωση πολυάριθμων ειδών μυκήτων, συμπεριλαμβανομένου του *V. dahliae*. Σε υψηλή **ένταση** φωτισμού παρατηρείται οριστική καταστολή του σχηματισμού μικροσκληρωτίων και μελανίνης και γενικότερα η μείωση της έντασης του φωτός μπορεί να συντελέσει σε κακή ανάπτυξη των φυτών και σε αύξηση της ευπάθειάς τους στις προσβολές διαφόρων μυκήτων. Η **φωτοπερίοδος** επιδρά σημαντικά στη sporίωση και στην εξέλιξη της ασθένειας. Η συνεχής έκθεση σε λευκό φως διαφόρων απομονώσεων του μύκητα *V. dahliae* είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγής των κονιδίων του. Όμως, η sporίωση του μύκητα μειώθηκε δραστικά όταν οι απομονώσεις εκτέθηκαν σε 12h φως /12h σκοτάδι. Επίσης, ο συνεχής φωτισμός επέδρασε θετικά στην ανάπτυξη μικροσκληρωτίων του μύκητα. Η **ποιότητα** του φωτός επιδρά στην εξέλιξη της ασθένειας. Για παράδειγμα, μια απομόνωση του *V. dahliae* παρήγαγε περισσότερα σπόρια κάτω από κυανό φως ενώ κάτω από ερυθρό και υπέρυθρο φως και στο σκοτάδι παρήγαγε άφθονα μικροσκληρώτια.

Σχετικά με την επίδραση της **υγρασίας του εδάφους** στην επιβίωση του *V. dahliae* υπάρχουν αντιφατικά δεδομένα. Για παράδειγμα, ο Brinkerhoff (1969) ανέφερε ότι παράχθηκαν άφθονα μικροσκληρώτια του *V. dahliae* σε πεσμένα φύλλα βαμβακιού, που προέρχονταν από μολυσμένα φυτά, όταν η υγρασία εδάφους έφθανε στον κορεσμό. Αντιθέτως, ο Menzies (1962) διαπίστωσε ότι πλημμύρισμα του εδάφους, για διάστημα έξι εβδομάδων, είχε ως αποτέλεσμα την καταστροφή των μικροσκληρωτίων του *V. dahliae*. Επίσης, αναφέρεται ότι η υγρασία του εδάφους δεν είναι σοβαρός περιοριστικός παράγοντας στην επιβίωση των μικροσκληρωτίων του μύκητα, εκτός αν είναι στο επίπεδο κορεσμού και συνδυάζεται με θερμοκρασία 28 °C.

Όσον αφορά τον **αερισμό του εδάφους**, έχει αναφερθεί ότι η ανάπτυξη και η επιβίωση του *V. dahliae*, ιδιαίτερα η βλαστικότητα των μικροσκληρωτίων που υπάρχουν στο έδαφος εξαρτάται από τον αερισμό του. Ο Ioannou *et al.* (1977) παρατήρησε ότι η παραγωγή

μικροσκληρωτίων του *V. dahliae* ήταν μέγιστη σε 20,9% O<sub>2</sub> και μειώθηκε προοδευτικά με κάθε μείωση της συγκέντρωσης του O<sub>2</sub>.

Επειδή η βερτισιλλίωση είναι μονοκυκλική (single-cycle) ασθένεια, η **πυκνότητα του μολύσματος** κατά τη σπορά ή τη φύτευση παίζει κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη της ασθένειας και συσχετίζεται αρνητικά με την παραγωγή πολλών ειδών φυτών. Το οριακό επίπεδο μικροσκληρωτίων που απαιτείται να υπάρχει στο έδαφος για να προκληθεί ασθένεια εξαρτάται από το είδος του φυτού, την ποικιλία του, τις τοπικές εδαφικές και κλιματικές συνθήκες κ.ά. Η αναλογία των μολυσμένων φυτών, όταν αυξάνεται η πυκνότητα του μολύσματος στο έδαφος, εξαρτάται από το είδος και την ποικιλία των φυτών.

Επίσης, **βιοτικοί παράγοντες** συντελούν στην αύξηση της συχνότητας προσβολής των φυτών από το *V. dahliae*, όπως για παράδειγμα διάφορα είδη νηματωδών και εντόμων εδάφους, που δημιουργούν πληγές στις ρίζες διευκολύνοντας τη μόλυνσή τους από τον μύκητα.

### 1.1.9 Τρόποι εξάπλωσης του μύκητα *V. dahliae*

Η εξάπλωση του μύκητα *V. dahliae* μπορεί να γίνει με:

- i) Με **σπόρους καλλιεργούμενων φυτών** (λαχανικά, βιομηχανικά κ.ά.), με **κονδύλους πατάτας** και με **σπόρους αυτοφυών φυτών** (Sherf & MacNab 1986, Parnis & Sackston 1979) (Πίνακας 3)

**Πίνακας 3.** Σπόροι διαφόρων ειδών καλλιεργούμενων και αυτοφυών φυτών που είναι πηγές εξάπλωσής του μύκητα *V. dahliae* (Λιγοξυγκάκης 1998)

Κατηγορία φυτών	Είδος
Λαχανικά	Κόνδυλοι πατάτας ( <i>Solanum tuberosum</i> ), Μελιτζάνα ( <i>Solanum melongena</i> ), Τομάτα ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill), Σπανάκι ( <i>Spinacia oleracea</i> L.), Τεύτλα ( <i>Beta vulgaris</i> L.)
Βιομηχανικά	Βαμβάκι ( <i>Gossypium hirsutum</i> L.), Ηλιάνθος ( <i>Helianthus annuus</i> L.), Ατρακτυλίδα ( <i>Carthamus tinctorius</i> )
Κτηνοτροφικά	Σόργο ( <i>Sorghum bicolor</i> ), Μηδική ( <i>Medicago sativa</i> L.), Άσπρο λούπινο ( <i>Lupinus albus</i> ), Κίτρινο λούπινο ( <i>Lupinus luteus</i> )
Αυτοφυή	<i>Senecio vulgaris</i> L., <i>Xanthium canadense</i> , <i>Xanthium pungens</i> , <i>Xanthium spinosum</i> L., <i>Carthamus lanatus</i> L., <i>Verbesina encelioides</i> .

Ο μύκητας βρίσκεται στο μολυσμένο σπόρο με τη μορφή μυκηλίου ή μικροσκληρωτίων. Η ικανότητα του μύκητα να προσβάλλει το σπόρο εξαρτάται από την παθογόνο ικανότητα του συγκεκριμένου στελέχους και από το χρόνο προσβολής του φυτού (πρώιμα ή όψιμα).

Έχουν αναφερθεί αρκετές περιπτώσεις φυτικών ειδών που προσβάλλονται συχνά από το *V. dahliae*. Για παράδειγμα, ο Kadow (1934) απομόνωσε το *V. dahliae* από το 40-50% των σπόρων **μελιτζάνας** και **τομάτας** και από το 25-40% των επιφανειακά απολυμασμένων σπόρων των ειδών αυτών. Το 9% του σπόρου εμπορικού δείγματος **σπανακιού**, που είχε απολυμανθεί επιφανειακά, βρέθηκε μολυσμένο από το *V. dahliae*. Επίσης, ο du Toit *et al.* (2005) εξέτασαν 75 παρτίδες εμπορικών σπόρων σπανακιού που παράχθηκαν στις Ηνωμένες Πολιτείες και στην Ευρώπη και βρήκαν ότι οι 68 είχαν προσβληθεί από είδη του γένους *Verticillium*.

Ο Easton *et al.* (1972) εξέτασαν 244 πιστοποιημένες παρτίδες **πατατόσπορου**, που προέρχονταν από δέκα πολιτείες των ΗΠΑ και από τον Καναδά και διαπίστωσαν ότι το 40% περίπου των παρτίδων αυτών ήταν μολυσμένες από το *V. albo-atrum* ή το *V. dahliae*. Ο Robinson *et al.* (1957) χρησιμοποίησαν κονδύλους από ένα μολυσμένο αγρό και διαπίστωσαν ότι η προσβολή των φυτών, που προήλθαν από τους κονδύλους αυτούς, έφθανε το 33%.

Επίσης, έχει αναφερθεί η προσβολή σπόρων διαφόρων **ζιζανίων** από το *V. dahliae* (Πίνακας 2). Ο Evans (1968) διαπίστωσε ότι περίπου το 40% ανώριμων και ώριμων περιβλημάτων των καρπών του ξάνθιου (*Xanthium pungens* Wallr.) ήταν μολυσμένα από το *V. dahliae*. Επίσης το 1971 διαπίστωσε ότι το 33% περίπου των καρπών που προέρχονταν από προσβεβλημένα φυτά *Xanthium spinosum* L. και *Carthamus lanatus* L. ήταν και αυτοί μολυσμένοι από το *V. dahliae*. Ο Vallad *et al.* (2006) διαπίστωσε ότι αρκετά είδη ζιζανίων, που αναπτύσσονταν σε καλλιέργειες μαρουλιού στην Καλιφόρνια, συνέβαλαν στην επιβίωση του *V. dahliae* και από τα οποία βρέθηκαν αρκετά στελέχη του μύκητα, που ήταν ιδιαίτερα ζημιογόνα στο μαρούλι.

- ii) **Με φύτευση βλαστικού πολλαπλασιαστικού υλικού σε μολυσμένο έδαφος ή φύτευση βλαστικού πολλαπλασιαστικού υλικού που έχει αναπτυχθεί σε μολυσμένο έδαφος.**
- iii) **Με μολυσμένα φυτικά υπολείμματα των καλλιεργειών, τα οποία όταν ενσωματωθούν στο έδαφος συντελούν στον εμπλουτισμό του με μολύσματα του μύκητα.**
- iv) **Με διασπορά μολυσμένου εδάφους, το οποίο μεταφέρεται κυρίως με τον άνθρωπο, τα γεωργικά μηχανήματα και εργαλεία, με φυτοφάγα ζώα και έντομα κ.ά..**



- v) Με την **άρδευση**, ιδιαίτερα όταν γίνεται με τη μέθοδο της κατάκλισης, επειδή τα κονίδια και τα μικροσκληρώτια του μύκητα διασπείρονται πολύ εύκολα με το νερό άρδευσης.
- vi) **Με επαφή των ριζών ασθενούς και υγιούς φυτού.**

#### **1.1.10 Απώλειες από τη Βερτισιλλίωση των καλλιεργούμενων φυτών**

Οι αδρομυκώσεις που προκαλούνται από είδη του γένους *Verticillium* είναι μεγάλης οικονομικής σπουδαιότητας παγκοσμίως. Όμως ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η αδρομύκωση που προκαλείται από το *V. dahliae* σε καλλιέργειες λαχανικών και βαμβακιού. Η ασθένεια αυτή είναι η κυριότερη ή μία από τις κυριότερες ασθένειες της **τομάτας**, η κυριότερη της **πατάτας**, η κυριότερη της **μελιτζάνας**, μία από τις τρεις κυριότερες του **βαμβακιού**, η κυριότερη της **ελιάς**, η κυριότερη της **φιστικιάς** ( Tjamos *et al.* 1991) και η κυριότερη της **βερικοκιάς**.

Απώλειες της παραγωγής της τάξεως 13-25% έχουν αναφερθεί στην πατάτα ή ακόμα υψηλότερες όταν είναι παρόντες και νηματώδεις, και μέχρι 90% στο σφένδαμνο (maple) και την ελιά.

Στην **πατάτα**, η μείωση της παραγωγής εξαιτίας της Βερτισιλλίωσης, οφείλεται σε συνδυασμό της μειωμένης φωτοσυνθετικής δραστηριότητας των ιστών που παραμένουν στο φυτό και της μειωμένης απορρόφησης ηλιακής ακτινοβολίας, λόγω μειωμένης διάρκειας ζωής των φύλλων και πρόωρο θάνατο των φυτών.

Οι απώλειες της παραγωγής των φυτών εξαιτίας της Βερτισιλλίωσης διαφέρουν ανάλογα με:

- ❖ Το είδος των φυτών, τη σοβαρότητα της προσβολής και το στάδιο ανάπτυξης των φυτών πριν εμφανιστούν τα πρώτα συμπτώματα.
- ❖ Την ποικιλία ή το υβρίδιο.
- ❖ Την πυκνότητα φύτευσης.
- ❖ Την πυκνότητα του μολύσματος που υπάρχει στο έδαφος κατά τη σπορά ή φύτευση.
- ❖ Το παθότυπο ή τους παθότυπους του μύκητα που υπάρχουν στο έδαφος.
- ❖ Την δράση και/ή την αλληλεπίδραση διαφόρων μικροοργανισμών του εδάφους με το *V. dahliae* ή το *V. albo-atrum*.
- ❖ Τον τύπο του εδάφους.
- ❖ Τη μέθοδο άρδευσης και/ή την ποιότητα του εφαρμοζόμενου νερού άρδευσης.
- ❖ Τη λίπανση που εφαρμόζεται στο έδαφος και ιδιαίτερα την ποσότητα του αζώτου και

❖ Τους κλιματικούς παράγοντες.

Θα πρέπει να υπογραμμισθεί ότι οι απώλειες της παραγωγής είναι μεγάλες και η ασθένεια αποτελεί σοβαρό πρόβλημα σε περιοχές όπου καλλιεργούνται συνεχώς για πολλά χρόνια διάφορα είδη ευπαθών φυτών (πατάτα, τομάτα, κ.ά.) στο *V. dahliae* και όταν γίνεται εντατική παραγωγή τους.

Στις ΗΠΑ έχουν αναφερθεί απώλειες της παραγωγής από τη Βερτισιλλίωση που κυμαίνονται μεταξύ 33% και 67% σε ευπαθείς γενότυπους **τομάτας** και μέχρι 30-50% σε **πατάτες**. Έχουν αναφερθεί επίσης απώλειες της παραγωγής πατάτας μέχρι 30% στο Όρεγκον και μέχρι 46% στο Αϊντάχο. Οι μέσες απώλειες αντιστοιχούσαν σε 560-1120 kg κονδύλων ανά στρέμμα στο Αϊντάχο. Στο Οχάϊο των ΗΠΑ έχει αναφερθεί ότι οι απώλειες της παραγωγής της πρώιμης ποικιλίας πατάτας Superior, υπερέβαιναν τα 1100 kg ανά στρέμμα. Στο Ισραήλ, σε περιοχές με αμμώδη εδάφη, έχουν αναφερθεί απώλειες της παραγωγής **τομάτας** μέχρι 50% και **πατάτας** μέχρι 50% ή και περισσότερο. Οι μέσες απώλειες αντιστοιχούσαν σε 500-1000 kg κονδύλων ανά στρέμμα. Ακόμα και όταν καλλιεργούνται ανθεκτικές ποικιλίες πατάτας, μπορεί να παρατηρείται απώλεια της παραγωγής που να φτάνει το 20-30%, εφ' όσον δεν εφαρμόζονται κατάλληλα μέτρα αντιμετώπισης. Στην Ελλάδα οι απώλειες παραγωγής τομάτας μπορεί να είναι 50% ή περισσότερο.

Στις ΗΠΑ έχουν αναφερθεί απώλειες της παραγωγής **μελιτζάνας** από 60% μέχρι 100%, στο Ισραήλ μέχρι 100% σε μία παροχή με αμμώδη εδάφη, στην Τουρκία από 37% μέχρι 60% και στην Ιταλία από 54% μέχρι 85%.

Στη Βουλγαρία, οι απώλειες της παραγωγής **πιπεριάς** το 1951 έφτασαν μέχρι 90% και το 1954 μέχρι 80%. Στην Καλιφόρνια, η απώλεια της παραγωγής πιπεριάς ήταν 20% σε ένα αγρό στον οποίο είχαν καλλιεργηθεί πιπεριές για πέντε χρόνια.

Στις ΗΠΑ, οι απώλειες της παραγωγής **βαμβακιού**, την περίοδο 1952-1981, ήταν 2,37% όμως σε μερικούς αγρούς οι ετήσιες απώλειες της παραγωγής ξεπερνούσαν το 75%. Στην Καλιφόρνια, οι απώλειες της συνολικής παραγωγής βαμβακιού ήταν 7,6% το 1976 και 2,8% το 1979. Στην Ισπανία, το 74-82% των αγορών της κοιλάδας του Guadalquivir όπου καλλιεργείται βαμβάκι, είναι μολυσμένοι και προσβάλλεται συνήθως το 15-26% των φυτών.

Οι απώλειες της παραγωγής της **μέντας** στο νομό Ροδόπης μπορεί να φτάσει το 100%.

Στην **Κρήτη**, σε φυτοϋγειονομικό έλεγχο που διεξήχθη το 1989 από το Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο στο Κέντρο Ελέγχου και Πιστοποίησης Πολλαπλασιαστικού Υλικού Πατάτας του Οροπεδίου Λασιθίου, βρέθηκαν ότι μεγάλος αριθμός καλλιεργειών ήταν προσβλημένες από το *V. dahliae*. Σε πολλές καλλιέργειες το 2-40% των φυτών ήταν προσβλημένα. Οι σοβαρές προσβλημένες καλλιέργειες είχαν 30-40% μολυσμένα φυτά, ενώ οι ελαφρά προσβλημένες είχαν 5-7% μολυσμένα φυτά (Αλιβιζάτος 1989).

### 1.1.11 Τρόποι αντιμετώπισης του μύκητα *V. dahliae*

Η αντιμετώπιση του *V. dahliae* είναι ιδιαίτερα δύσκολη εξαιτίας: i) της μακρόχρονης διατήρησης του μύκητα στο έδαφος, ii) του ευρύτατου φάσματος ξενιστών του, iii) της έλλειψης γενετικής αντοχής των πλείστων ξενιστών του και iv) του απροσπέλαστου του μύκητα κατά τη διάρκεια της μόλυνσης.

Οι κυριότεροι τρόποι αντιμετώπισης του μύκητα είναι οι εξής:

#### 1.1.11.1 Καλλιέργεια ανθεκτικών και ανεκτικών ποικιλιών και υβριδίων

Η καλλιέργεια ανθεκτικών γονοτύπων είναι μία αποτελεσματική, οικονομική και ευρύτατα χρησιμοποιούμενη μέθοδος αντιμετώπισης του *V. dahliae*. Έχουν δημιουργηθεί ανθεκτικές ή ανεκτικές στο *V. dahliae* ποικιλίες και υβρίδια ορισμένων κηπευτικών (τομάτα, πατάτα), καθώς επίσης ανθεκτικές στο μύκητα ποικιλίες καρποφόρων δένδρων, που χρησιμοποιούνται ως υποκείμενα (ελιά, φιστικιά κ.ά.) [Πίνακας 4&9]. Όμως, στους περισσότερους ξενιστές δεν έχει βρεθεί οικονομικά αποδεκτή αντοχή στο *V. dahliae*.

**Πίνακας 4.** Ποικιλίες και υβρίδια διαφόρων ειδών καλλιεργούμενων φυτών με αντοχή στη Βερτισιλλίωση και ανθεκτικά είδη ή ποικιλίες μερικών ειδών καρποφόρων δένδρων που χρησιμοποιούνται ως υποκείμενα.

Είδος φυτού	Ανθεκτικές ή ανεκτικές ποικιλίες, υβρίδια και υποκείμενα
Τομάτα ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	Ποικιλίες και υβρίδια που έχουν το γόνο <i>Ve</i> , Tropic, Florida MH-1 κ.ά.
Μελιτζάνα ( <i>Solanum melongena</i> L.)	Florida Market, Harris 468 Special Hibush, Harris Hybrid 77631, Santa Genebra, AC4. Διειδικό υβρίδιο <i>Solanum melongena</i> x <i>S. torvum</i> . R1 και R2 ανθεκτικές σειρές.
Πιπεριά ( <i>Capsicum annuum</i> . L)	Mariza 786, California Wonder, 1005 και Sirria. Μία καθαρή σειρά του <i>C. annuum</i> .
Πατάτα ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	Fredericton, Shoshoni, Cascade (Hoymann 1969), Abnaki, Desiree, Spunta, Mirka, Alpha, Katahdin, Targhee και Russet Burbank, Targhee, A66107-51, A68113-4, Campbell 14; Avandel, Cara, κλώνοι A66107-51, A68113-4, Russette, Reddale, Mondial.
Φράουλα ( <i>Fragaria vesca</i> L.)	Τύπου Marshall (Banner Oregon, Oregon Plum) και Klondike. Ανεκτικές ποικιλίες Blakemore, Sierra και μερικοί κλώνοι της <i>F. chiloensis</i> , Talisman, Climax, Magoon, Auchincruive No 6, Redgauntler, Catskill, Siletz, Supercrop, Vermilion, Wiltguard, Redgauntlet (πολύ ανθεκτική) καθώς και Bogota, Cambridge Favourite, Rhapsody, Pandora και Tamella (μέτρια ανθεκτικές).
Βατόμουρο ( <i>Rubus</i> sp.)	Cuthbert, Evergreen, Himalaya, Lawton ( <b>Zeller 1936</b> ). Cory's Thornless, Logan, Mammouth,

	<b>Ollalie (McCain et al. 1974).</b>
Βαμβάκι ( <i>Gossypium</i> spp.)	Ανεκτικές ποικιλίες Acala του <i>G. hirsutum</i> L. (Tjamos & Kornaros 1977, 1978, Butterfield et al. 1978, Ashworth et al. 1979a, Pullman et al. 1981; Paplomatas et al. 1992), Acala (4-42) [Schnathorst & Mathre 1966a, Garber & Huston 1967, Krikun et al. 1982] και ποικιλίες SJ2 (Krikun et al. 1982), ανεκτικές ποικιλίες SJ2, SJ3 (Krikun et al. 1982), Acala GC 510 (Melero-Vara et al. 1995). Η ποικιλία Sea Island Sea Brook (SISB) του <i>G. barbadense</i> (Bugbee & Presley 1967). Δύο καθαρές σειρές του <i>G. barbadense</i> και μία άγρια σειρά του <i>G. hirsutum</i> . Ανεκτικές ποικιλίες Tanguis και Seabrook Sea Island I2B2 (SB51) του <i>G. barbadense</i> .
Λυκίσκος ( <i>Humulus lupulus</i> L.)	Ανεκτική ποικιλία Keyworth's Midseason (Talboys 1958a), ανθεκτική ποικιλία WGV (Sewell & Wilson 1967a, 1967b, 1967c, 1969), ανθεκτικές ποικιλίες OR55, D1, D2 και J2 (Sewell & Wilson 1967b).
Ηλιάνθος ( <i>Helianthus annuus</i> L.)	CM 144 (Moser & Sackston, 1973; Sackston 1980a, 1980b: HA 89 (Klisiewicz 1981).
Μέντα ( <i>Mentha piperita</i> L.)	Prilukskaja-6 (Θανασουλόπουλος & Γκολιάρης 1991).
Μηδική ( <i>Medicago sativa</i> L.)	Vertus, NAPB 108, NAPB 110, Apollo 11, CW 8015. WC 316. Cimmaron, Saranac, AR: Maris Kabul και NAPB-34 (Ireland Leath 1987), κλώνος 1079.
<b>Ελιά (<i>Olea europea</i> L.)</b>	Oblonga και Allegra, Oblonga No 113, Frangivento και Frantoio (Cirulli & Montemurro 1976a).
Πιστακία ( <i>Pistacia vera</i> L.)	Υποκείμενο <i>P. integerrima</i> και ποικιλία Pioneer Gold του <i>P. integerrima</i> .
Δαμασκηνιά ( <i>Prunus domestica</i> L.)	Η δαμασκηνιά χρησιμοποιείται ως υποκείμενο της βερικοκιάς.
Κερασιά ( <i>Prunus avium</i> L.)	Ανθεκτικά υποκείμενα.
Κερασιά μυροβάλανος ( <i>Prunus cerasifera</i> L.)	Η μυροβάλανος κερασιά χρησιμοποιείται ως ανεκτικό υποκείμενο της βερικοκιάς.
Τριανταφυλλιά ( <i>Rosa</i> sp.)	Η ανθεκτική ποικιλία Manetti χρησιμοποιείται ως υποκείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Παράδειγμα εμπορικών υποκειμένων που χρησιμοποιούνται για εμβολιασμό τομάτας ή τομάτας και μελιτζάνας (Βακαλονάκης 2010)

Εμπορικό όνομα υβριδίου	Σποροπαραγωγός οίκος / (Ελληνική εταιρεία εμπορίας σπόρων)	Χαρακτηριστικά
Beaufort F <sub>1</sub>	DE RUITER SEEDS (RIGAKIS SEEDS A.E.B.E.)	Κατάλληλο για εμβολιασμό <b>τομάτας και μελιτζάνας</b> . Παρέχει ευρωστία στο εμβόλιο. Διαθέτει τις αντοχές V, F <sub>2</sub> , For, PI, Cf <sub>1-5</sub> , ToMV, N.
Eldorado F <sub>1</sub>	ENZA ZADEN (ΑΓΡΟΤΙΚΟΣ ΟΙΚΟΣ ΣΠΥΡΟΥ A.E.B.E.)	Παρουσιάζει άριστη συμβατότητα με τα καλλιεργούμενα υβρίδια <b>τομάτας</b> . Διαθέτει πλούσιο ριζικό σύστημα που συντελεί στην επέκταση της καλλιεργητικής περιόδου. Διαθέτει τις αντοχές V, F <sub>2</sub> , For, Cf <sub>1-5</sub> , P, ToMV <sub>0-2</sub> , N.
He-Man F <sub>1</sub>	S & G (ΕΛΑΝΚΟ ΕΛΛΑΣ A.E.B.E.)	Κατάλληλο για εμβολιασμό <b>τομάτας και μελιτζάνας</b> . Διαθέτει πλούσιο ριζικό σύστημα που συντελεί στην ισορροπημένη απορρόφηση θρεπτικών στοιχείων και καλύτερη συμπεριφορά στις υψηλές αγωγιμότητες. Διαθέτει τις αντοχές V, F <sub>2</sub> , For, Cf <sub>1-5</sub> , P, ToMV <sub>0-2</sub> , N.
Karlo Magno	RIJK ZWAAN (AGROSYSTEM A.E.)	Διαθέτει τις αντοχές V, F <sub>2</sub> , For, PI, ToMV, N Κατάλληλο για εμβολιασμό <b>τομάτας και μελιτζάνας</b> . Παρέχει υψηλή ευρωστία στο εμβόλιο και συντελεί στην αύξηση της παραγωγής και στη βελτίωση της ποιότητας καρπών. Διαθέτει τις αντοχές V, F <sub>2</sub> , For, PI, ToMV, N.
King-Kong F <sub>1</sub>	RIJK ZWAAN (AGROSYSTEM A.E.)	Κατάλληλο για εμβολιασμό <b>τομάτας</b> . Παρέχει ευρωστία στο εμβόλιο και συντελεί στη δημιουργία μικρών μεσογονάτιων διαστημάτων. Διαθέτει τις αντοχές V, F <sub>2</sub> , For, PI, ToMV, N.
Resistar F <sub>1</sub>	HAZERA GENETICS (HAZERA HELLAS S.A.)	Κατάλληλο για εμβολιασμό <b>τομάτας</b> σε φθινοπωρινά φυτέματα. Παρέχει ευρωστία στο εμβόλιο. Διαθέτει τις αντοχές V, F <sub>2</sub> , For, PI, ToMV, N.
Resistrong F <sub>1</sub>	HAZERA GENETICS (HAZERA HELLAS S.A.)	Κατάλληλο για εμβολιασμό <b>τομάτας και μελιτζάνας</b> . Παρέχει ευρωστία στο εμβόλιο και συντελεί στην αύξηση της παραγωγής και στη βελτίωση της ποιότητας καρπών. Διαθέτει τις αντοχές V, F <sub>2</sub> , For, PI, ToMV, N.
Yedi F <sub>1</sub>	RIJK ZWAAN (AGROSYSTEM A.E.)	Κατάλληλο για εμβολιασμό <b>τομάτας και μελιτζάνας</b> . Παρέχει ευρωστία στο εμβόλιο και συντελεί στην αύξηση της παραγωγής και στη βελτίωση της ποιότητας καρπών. Διαθέτει τις αντοχές V, F <sub>2</sub> , For, PI, ToMV, N.

Επεξηγήσεις των συμβόλων των αντοχών της τομάτας σε βιοτικούς παράγοντες (παράσιτα)

<b>V</b>	<i>Verticillium dahliae</i>
<b>F<sub>2</sub></b>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> , φυλές 1 και 2
<b>For</b>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis-lycopersici</i>
<b>PI</b>	<i>Pyrenochaeta lycopersici</i>
<b>Cf<sub>1-5</sub></b>	<i>Mycovellosiella fulva</i> (συν. <i>Fulvia fulva</i> , <i>Cladosporium fulvum</i> ) φυλές A, B, C, D, και E
<b>ToMV</b>	Tomato mosaic virus (ιός του μωσαικού της τομάτας)
<b>N</b>	<i>Meloidogyne</i> spp. (κομβονηματώδεις) (η αντοχή "σπάει" σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 28 °C)

### 1.1.11.2 Εμβολιασμός ευπαθών ειδών σολανοδών σε ανθεκτικά υποκείμενα

Απουσία ανθεκτικών ή ανεκτικών ποικιλιών και υβριδίων διαφόρων ειδών, ποωδών και ξυλωδών φυτών συνιστάται εμβολιασμός σε ανθεκτικά υποκείμενα (Πίνακες 4 και 5).

Σήμερα στις αναπτυγμένες χώρες χρησιμοποιούνται εμβολιασμένα φυτά σε καλλιέργειες κολοκυνθοειδών (π.χ. καρπουζιάς, αγγούρια) και σολανωδών (τομάτες,

μελιτζάνες).

Στις χώρες της Δ. Ευρώπης ο εμβολιασμός των καρποδοτικών κηπευτικών άρχισε να έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια (μετά το 2005) λόγω απαγόρευσης χρήσης του βρωμιούχου μεθυλίου (MeBr) και αφετέρου της αυξημένης ζήτησης “ποιοτικών” αγροτικών προϊόντων, στα πλαίσια της ολοκληρωμένης και βιολογικής γεωργίας.

Στη χώρα μας ο εμβολιασμός καρποδοτικής κηπευτικής εφαρμόζεται κυρίως στις νότιες περιοχές (Πελοπόννησος, Κρήτη) σε πρώιμες καλλιέργειες καρπουζιών, πεπονιών, μελιτζάνας, τομάτας κ.ά.

Ο εμβολιασμός είναι σήμερα η σημαντικότερη τεχνική αειφορικής παραγωγής πηγών ειδών καρποδοτικών κηπευτικής σε θερμοκηπιακές ή και υπαίθριας καλλιέργειας, όπου εφαρμόζονται εντατικές και συνεχής καλλιέργειες.

Σημειωτέον ότι η σημαντικότερη ιδιότητα που πρέπει να διαθέτει ένα υποκείμενο κηπευτικών είναι η αντοχή σε ζημιογόνους μύκητες εδάφους. (π.χ. *Verticillium* spp, *Fusarium oxysporum* spp.) [Πίνακας 4]

#### **1.1.11.3 Χημική απολύμανση εδάφους**

Το αποτελεσματικό χημικό απολυμαντικό σε περιπτώσεις μόλυνσης του εδάφους από είδη του γένους *Verticillium* ήταν το methyl bromide (βρωμιούχο μεθύλιο). Όμως, η κατάργηση κυκλοφορίας του, εξαιτίας των δυσμενών επιδράσεων του στο περιβάλλον και τον άνθρωπο, προκάλεσε πρόσθετα προβλήματα στους καλλιεργητές λόγω μη ύπαρξης άλλου απολυμαντικού εδάφους που να έχει ικανοποιητική αποτελεσματικότητα εναντίον των *Verticillium* spp.

Ένα απολυμαντικό εδάφους που χρησιμοποιείται σήμερα για την καταπολέμηση των βερτισιλλιώσεων είναι το metham sodium (Vapam), το οποίο εφαρμόζεται πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας μέσω του συστήματος στάγδην άρδευσης. Για την εφαρμογή του εν λόγω σκευάσματος, το έδαφος θα πρέπει να είναι ψιλοχωματισμένο, να είναι στο ρώγο του και η θερμοκρασία του σε βάθος 10 cm να κυμαίνεται μεταξύ 10-30 °C.

Η αποτελεσματικότητα της χημικής απολύμανσης του εδάφους εξαρτάται τόσο από τα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά του εδάφους (χημική σύσταση, μηχανική σύσταση, θερμοκρασία κ.ά.) όσο και από το είδος του απολυμαντικού (χημική δράση, σταθερότητα, διαλυτότητα κ.ά.)

#### **1.1.11.4 Απολύμανση εδάφους με ατμό (ατμοαπολύμανση)**

Η ατμοαπολύμανση χρησιμοποιείται για την απαλλαγή του εδάφους από μύκητες, βακτήρια, νηματώδεις, έντομα, ζιζάνια και ιούς. Η μέθοδος στηρίζεται στη θέρμανση του εδάφους σε βάθος 20-30 cm, μέχρι 90-100 °C, με τη διοχέτευση εντός αυτού υπέρθερμου ατμού, που έχει ως αποτέλεσμα το θάνατο όλων των μικροοργανισμών που υπάρχουν σε

αυτό.

Έχει αποδειχθεί ότι η θέρμανση του εδάφους μέχρι το βάθος των 30 cm μπορεί να το διατηρήσει αμόλυμτο τουλάχιστον για μια καλλιεργητική περίοδο, αρκεί να αποφευχθούν οι αναμολύνσεις του. Όμως, σε περίπτωση αναμόλυνσης του εδάφους παρατηρείται ταχεία εξάπλωση του παθογόνου, λόγω εξολόθρευσης των φυσικών ανταγωνιστών του κατά την εφαρμογή της μεθόδου.

#### 1.1.11.5 Ηλιοαπολύμανση

Η ηλιοαπολύμανση (soil solarization) του εδάφους είναι μια εναλλακτική μέθοδος που χρησιμοποιείται η ηλιακή ακτινοβολία με στόχο τη μείωση των φυτοπαθογόνων οργανισμών του εδάφους. Είναι μια υδροθερμική μέθοδος, που η θερμότητα της ηλιακής ακτινοβολίας απορροφάται από το υγρό έδαφος, το οποίο τους καλοκαιρινούς μήνες είναι καλυμμένο με φύλλο λεπτού και διαφανούς πλαστικού πολυαιθυλενίου.

Η περίοδος κάλυψης του εδάφους θα πρέπει να είναι ικανοποιητική, συνήθως τέσσερις εβδομάδες ή μεγαλύτερη, για να καταστραφούν σε μεγάλο βάθος οι εχθροί και τα παθογόνα που υπάρχουν σε αυτό. Μακράς διάρκειας ηλιοαπολύμανση του εδάφους συντελεί στην καταστροφή του *V. dahliae* σε βάθος 50 cm ή περισσότερο και γενικά στη μείωση του επιπέδου μόλυσματος του μύκητα στο έδαφος.

Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι η ηλιοαπολύμανση συντελεί σε αυξημένη ανάπτυξη των φυτών και σε αυξημένη παραγωγή τους, όμως είναι αποτελεσματική σε θερμά και εύκρατα κλίματα.

Επαγόμενη κατασταλτικότητα (induced suppressiveness) σε ηλιοαπολυμασμένα εδάφη συντελεί σε παρατεταμένη θετική αντίδραση της ηλιοαπολύμανσης στην καταπολέμηση εδαφογενών παθογόνων, όπως τα *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasifentum*, *V. dahliae* και *Rosellinia necatrix*. Ανταγωνιστικά ριζοσφαιρικά βακτήρια επιβιώνουν της ηλιοαπολύμανσης και συνεισφέρουν στο βιολογικό τρόπο δράσης (mode of action) της ηλιοαπολύμανσης του εδάφους. Επειδή είχε παρατηρηθεί ότι ηλιοαπολυμασμένα εδάφη επέφεραν αξιοσημείωτη κατασταλτικότητα εδάφους εναντίον του μύκητα *V. dahliae* σε καλλιέργειες μελιτζάνας, εγκατεστημένες σε ηλιοαπολυμασμένα εδάφη μερικά χρόνια μετά την εφαρμογή της ηλιοαπολύμανσής τους, έγιναν έρευνες που εστίασαν σε βιολογικούς παράγοντες καταπολέμησης των εν λόγω απολυμασμένων εδαφών. Σημειωτέον ότι ο Berg *et al.* (1994) έχει καταδείξει ότι φυσικά ριζοσφαιρικά βακτήρια (naturally occurring rhizosphere bacteria) είναι αποτελεσματικά ως παράγοντες βιολογικής καταπολέμησης κατά του *V. dahliae*. Επίσης ο Zhengjun *et al.* (1996) κατέγραψε ριζοσφαιρικά και ενδοφυτικά βακτήρια (rhizosphere and endophytic bacteria) ικανά να καταπολεμούν τη Βερτισιλλίωση του βαμβακιού. Επίσης, οι Berg and Lottman (2000) δημοσίευσαν ότι η Βερτισιλλίωση της

ελαιοκράμβης (oil seed rape) μπορούσε να καταπολεμηθεί από ένα βακτηριακό στέλεχος που ανήκει στο *Stenotrophomonas maltophilia*. Θα πρέπει να υπογραμμισθεί ότι βακτήρια που προάγουν την αύξηση της ριζόσφαιρας του φυτού (plant growth promoting rhizobacteria, PPR) που ανήκουν στα *Pseudomonas putida* και *Serratia marcescens* έχει αποδειχτεί ότι είναι δυνητικοί παράγοντες βιολογικής καταπολέμησης εναντίον της αδροφουζαρίωσης της αγγουριάς. Ο Huisman (1998) και ο Huisman & Gerik (1989) έχουν αποδείξει ότι τα άκρα των ριζών είναι οι δραστικές θέσεις εισόδου αγγειακών παθογόνων σε διάφορους ξενιστές, δηλώνοντας έτσι ότι η πρώτη θέση επέμβασης ενός επιτυχούς ανταγωνιστή πρέπει να είναι κυρίως η περιοχή της ζώνης της ριζικής επιμήκυνσης (root elongation zone). Ο Tjamos *et al.* (2004) συγκέντρωσε ανταγωνιστικά του *V. dahliae* ενδοριζοσφαιρικά βακτήρια από άκρα της ρίζας φυτών τομάτας που αναπτύχθηκαν σε ηλιοαπολυμασμένα εδάφη. Οι 53 από τις 435 απομονώσεις που συλλέχθηκαν βρέθηκαν ότι ήταν ανταγωνιστικές κατά του *V. dahliae* και διαφόρων άλλων εδαφογενών παθογόνων σε διπλές καλλιέργειες (dual cultures) στο εργαστήριο. Σημαντική δραστηριότητα βιολογικής καταπολέμησης κατά του *V. dahliae* σε πειράματα θερμοκηπίων, διαπιστώθηκε σε τρεις από τις 18 αξιολογησθες ανταγωνιστικές απομονώσεις, που αναγνωρίστηκαν ως *Bacillus* sp. Και οι φθορίζουσες ψευδομονάδες (fluorescent pseudomonads) απομονώθηκαν επίσης από τα άκρα ρίζας φυτών τομάτας, τελικά δεν διαπιστώθηκε να έχουν σημαντική ανταγωνιστική δραστηριότητα κατά του *V. dahliae* σε διπλές καλλιέργειες στο εργαστήριο. Τελικά δύο από τις αποτελεσματικότερες βακτηριακές απομονώσεις, η K-165 που ανήκει στον *Paenibacillus alvei* και η B-127 που ανήκει στο *Bacillus amiloliquefaciens* έδειξαν ότι είναι αποικιστές της ριζόσφαιρας, πολύ αποτελεσματικοί στην παρεμπόδιση της μυκηλιακής αύξησης του *V. dahliae* σε διπλές καλλιέργειες στο εργαστήριο και καταπολεμούν επιτυχώς τη Βερτισιλλίωση σε ξενιστές που ανήκουν στα σωλανώδη.

#### 1.1.11.6 Χημική αντιμετώπιση

Επειδή ο μύκητας *V. dahliae* αναπτύσσεται, στα αγγεία του ξύλου των προσβλημένων φυτών δεν είναι εύκολη η αντιμετώπισή του με διασυστηματικά μυκητοκτόνα, που εφαρμόζονται στα φύλλα. Τα πρώτα δραστικά φάρμακα εναντίον παθογόνων των αγγείων του ξύλου των φυτών ήταν τα μυκητοκτόνα της ομάδας των βενζιμιδαζολών. Αυτά τα σκευάσματα εφαρμόστηκαν αρχικά σε ριζοποτίσματα και εξασφάλισαν υψηλό βαθμό αντιμετώπισης της βερτισιλλίωσης για μερικές εβδομάδες ή μήνες.

Σήμερα η χρησιμοποίηση των εν λόγω σκευασμάτων έχει περιορισθεί επειδή παρουσιάζουν συνήθως βασικά μειονεκτήματα, όπως η μειωμένη αποτελεσματικότητα στην αντιμετώπιση της ασθένειας και η ανάπτυξη ανθεκτικότητας τού μύκητα.

Μέχρι σήμερα δεν έχουν βρεθεί διασυστηματικά μυκητοκτόνα που να αντιμετωπίζουν



αποτελεσματικά τη βερτισιλλίωση. Γι' αυτό απαιτείται η δημιουργία βελτιωμένων σκευασμάτων που να διαθέτουν επιθυμητά χαρακτηριστικά όπως: κινητικότητα στο έδαφος, μεγάλη σταθερότητα, μετακίνηση από τα φύλλα προς τις ρίζες, δραστηριότητα στο ξύλο κ.ά..

#### **1.1.11.7 Αμειψισπορά**

Η αμειψισπορά είναι μια ενδιαφέρουσα μέθοδος αντιμετώπισης του μύκητα στα είδη των φυτών, στα οποία δεν υπάρχουν ανθεκτικές ποικιλίες και υβρίδια. Όμως, οι μικρής διάρκειας (2-3 έτη) αμειψισπορές δεν είναι αποτελεσματικές στην αντιμετώπιση του *V. dahliae* επειδή τα μικροσκληρώτια του μύκητα επιβιώνουν στο έδαφος για μακρύ χρονικό διάστημα, απουσία ξενιστών.

Η επιτυχία της μεθόδου αυτής εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως:

- i) Η επιβίωση του μύκητα σε ασυμπτωματικούς φορείς.
- ii) Η ικανότητα του μύκητα να παραμένει για πολλά χρόνια στο έδαφος ή σε φυτικά υπολείμματα.
- iii) Η πυκνότητα μολύσματος (inoculum density) του μύκητα στο έδαφος.
- iv) Οι κλιματικές συνθήκες της περιοχής.
- v) Η εποχή καλλιέργειας ενός ευπαθούς είδους.

Επίσης, η έλλειψη εξειδίκευσης του μύκητα ως προς τον ξενιστή, η μακροχρόνια επιβίωση των μικροσκληρωτίων στο έδαφος απουσία ξενιστών και ο σχηματισμός μικροσκληρωτίων σε ηλικιωμένους ιστούς διαφόρων αυτοφυών φυτών και σε φύλλα καλλιεργούμενων φυτών συντελούν στη αποτυχία διαφόρων προγραμμάτων αμειψισποράς.

#### **1.1.11.8 Εφαρμογή διαφόρων καλλιεργητικών φροντίδων**

Η αντιμετώπιση της βερτισιλλίωσης έχει στηριχθεί επίσης και στην εφαρμογή διαφόρων καλλιεργητικών φροντίδων (λίπανση, άρδευση, ζιζανιοκτονία, νηματωδοκτονία, κλάδεμα των δένδρων, απομάκρυνση και καταστροφή των υπολειμμάτων των φυτών κ.ά.), που αποσκοπούν στη μείωση της προσβολής και της σοβαρότητας της ασθένειας.

Έχει αναφερθεί ότι διάφοροι καλλιεργητικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του αζώτου (N), του φωσφόρου (P) και της ηλεκτρικής αγωγιμότητας, ευθύνονται για το 71% της παραλλακτικότητας του αγρού που αφορά τη σοβαρότητα της Βερτισιλλίωσης.

Η **λίπανση** των καλλιεργειών θα πρέπει να είναι ισορροπημένη και να αποφεύγεται η εφαρμογή υπερβολικής ποσότητας αζώτου.

Έχει διαπιστωθεί ότι ορισμένα **εδαφοβελτιωτικά** μειώνουν τη συχνότητα της Βερτισιλλίωσης στις καλλιέργειες που ακολουθούν σε μολυσμένο αγρό, όμως δεν είναι βέβαιο αν αυτό σχετίζεται με επίδρασή τους πάνω: στο παθογόνο, τον ξενιστή ή και στα δύο. Οι Green & Papavizas (1968) ανέφεραν ότι μετά την εφαρμογή ορισμένων εδαφοβελτιωτικών στο έδαφος, τα μικροσκληρώτια του *V. dahliae* που υπάρχουν σε αυτό, βλαστάνουν και

παράγουν δευτερεύουσες αναπαραγωγικές μονάδες.

Έχει διαπιστωθεί ότι **εδαφοβελτιωτικά ξερού λάχανου (*Brassica oleracea* var. *capitata*)**, μπρόκολου (*B. leracea* var. *italica*) ή χιτίνης σε συγκέντρωση 1% β/β, μείωσαν τον αριθμό των μικροσκληρωτίων του *V. dahliae* μέχρι 100%, μετά από επώαση φυσικά μολυσμένων εδαφών σε σφραγισμένα μπουκάλια για 15 ημέρες. Γι' αυτό, αναφέρθηκε ότι τα εδαφοβελτιωτικά σταυρανθών και η χιτίνη θα μπορούσε να χρησιμοποιηθούν στην αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης σε διάφορες καλλιέργειες. Έχει αναφερθεί ότι ο αριθμός των μικροσκληρωτίων του *V. dahliae* μειώθηκε, όταν προστέθηκαν υπολείμματα μπρόκολου σε πειράματα που έγιναν σε θαλάμους ανάπτυξης φυτών και στο θερμοκήπιο, όπου το φρέσκο **μπρόκολο** είχε σημαντικά μεγαλύτερη επίδραση απ' ό,τι το ξηρό.

Η προσβολή της **φιστικιάς** από την ασθένεια, σε αγρούς της Καλιφόρνιας με χαμηλή πυκνότητα μικροσκληρωτίων (0,02-0,2 ms/g) του *V. dahliae*, αυξήθηκε σημαντικά εντός δύο ετών σε δέντρα που είχαν χαμηλά επίπεδα Κ στα φύλλα. Όταν όμως εφαρμόστηκε 1,5 Kg/δέντρο, τα συμπτώματα μειώθηκαν κατά 35% τον επόμενο χρόνο. Αναφέρθηκε επίσης ότι η τροφопενία Ρ αύξησε την ευπάθεια των δέντρων φιστικιάς στην ασθένεια.

Η **άρδευση** των καλλιεργειών με αυλάκια αυξάνει τη σοβαρότητα της ασθένειας σε σχέση με την άρδευση με σταλακτήρες, λόγω πιθανής διασποράς αναπαραγωγικών μονάδων του μύκητα. Σε μια λίμνη καθίζησης, που βρισκόταν 160 m περίπου από μια προσβεβλημένη καλλιέργεια πατάτας, βρέθηκαν 4.388-15.410 αναπαραγωγικές μονάδες του μύκητα ανά λίτρο ακάθαρτου νερού. Αναφέρθηκε επίσης ότι το νερό άρδευσης που ήταν καθαρό στην αφετηρία των αυλακιών, όταν έφτασε στο τέρμα τους περιείχε μέχρι 301.314 αναπαραγωγικές μονάδες του μύκητα ανά λίτρο. Αυτό σημαίνει ότι το νερό άρδευσης των αυλακιών συγκεντρώνει και μεταφέρει αναπαραγωγικές μονάδες του μύκητα, όταν διέρχεται μέσω μολυσμένων χωραφιών. Γι' αυτό, θα πρέπει το νερό να μη διέρχεται μέσω μολυσμένων αγρών, όταν η άρδευση της καλλιέργειας γίνεται με αυλάκια.

Η **ποσότητα του εφαρμοζόμενου νερού άρδευσης** επηρεάζει επίσης την ανάπτυξη του μύκητα διότι έχει διαπιστωθεί ότι σε εδάφη με αυξημένη υγρασία αυξάνεται η σοβαρότητα της ασθένειας (**Cappaert et al. 1992**).

**Πλημμύρισμα** του μολυσμένου εδάφους είχε ως αποτέλεσμα αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης (Nadakavukaren & Horner 1961, Menzies 1962, Butterfield & DeVay 1977).

Η **νηματοδοκτονία** θα πρέπει να γίνεται έγκαιρα, με χρησιμοποίηση των κατάλληλων απολυμαντικών εδάφους. Η νηματοδοκτονία έχει ιδιαίτερη σημασία στην καλλιέργεια της πατάτας και τομάτας. Οι Krikun *et al.* (1984) διαπίστωσαν ότι η εφαρμογή του metham sodium μέσω του συστήματος άρδευσης με καταιονισμό, σε δόσεις 25 lt ανά στρέμμα, αύξησε την παραγωγή της πατάτας στο Ισραήλ μέχρι 75%.

Το **κλάδεμα** των προσβλημένων δέντρων θα πρέπει να γίνεται έγκαιρα με αφαίρεση

των κλάδων 10 cm κάτω από το σημείο που έχουν νεκρωθεί.

**Η καλλιέργεια του εδάφους θα πρέπει να γίνεται με προσοχή για να αποφεύγονται οι τραυματισμοί των ριζών.** Σε περίπτωση δέντρων με επιφανειακό ριζικό σύστημα θα πρέπει να αποφεύγεται η άροση ή το φρεζάρισμα, επειδή τραυματίζουν τις ρίζες και διευκολύνουν την προσβολή τους από το μύκητα. Παρατηρήθηκε ότι βαθειά άροση οργανικών εδαφών που καλλιεργούνταν με μέντα, με αναστροφή του επιφανειακού στρώματος, πάχους 30,5-35,5 cm, και απόθεσή του στο προηγούμενο αυλάκι, είχε ως αποτέλεσμα μείωση της προσβολής από 57,2% σε 4,0% τον πρώτο χρόνο μετά την επέμβαση και από 85% σε 10,2% το δεύτερο χρόνο.

Η **συγκαλλιέργεια** δενδρωδών με ευπαθή ποώδη φυτά θα πρέπει να αποφεύγεται, επειδή συνήθως μολύνονται οι οπωρώνες από το μύκητα.

#### **1.1.11.9 Βιολογική αντιμετώπιση (χρησιμοποίηση βιολογικών σκευασμάτων)**

Η τάση που επικρατεί σήμερα στη γεωργία είναι η παραγωγή γεωργικών προϊόντων με όσο το δυνατόν λιγότερη επιβάρυνση χημικών ουσιών. Γι' αυτό, η χρησιμοποίηση ανταγωνιστικών μυκήτων και βακτηρίων είναι μια από τις μελλοντικές ελπίδες για την αποτελεσματική αντιμετώπιση της βερτισιλλίωσης αν ληφθεί υπόψη ότι δεν υπάρχουν αποτελεσματικά χημικά σκευάσματα για την ακταπολέμηση της ασθένειας.

Για να είναι αποτελεσματική η χρήση ενός βιολογικού σκευάσματος όπως προαναφέρθηκε,

Απαιτούνται σύμφωνα με την Fravel (1989) οι εξής προϋποθέσεις:

- Να έχει την ικανότητα παραγωγής μεγάλου αριθμού σπορίων
- Να είναι δυνατή η μαζική παραγωγή
- Να είναι μεγάλη ανταγωνιστικότητα σε σχέση με την σαπροφυτική χλωρίδα του εδάφους
- Να έχει ταχεία βλάστηση και ανάπτυξη
- Να παράγει (αν έχει τη δυνατότητα) αντιβιοτικά εβρέως φάσματός
- Να μπορεί να προσαρμόζεται καλύτερα σε αντίξοες συνθήκες διατροφής και ανάπτυξης.

Οι σπουδαιότεροι βιολογικοί εχθροί του γένους *Verticillium* είναι:

- α) ανταγωνιστές μύκητες που επηρεάζουν την επιβίωση των μικροσκληρωτίων που έχουν ήδη εξασθενήσει από την ηλιοαπολύμανση ή την χημική απολύμανση του εδάφους και
- β) ανταγωνιστές μύκητες ή βακτήρια που εμποδίζουν την προσβολή των φυτών από τα μικροσκληρώτια τα οποία βλαστάνουν στο έδαφος (Tjamos, 1997).

Τα ανταγωνιστικά βακτήρια επιβιώνουν της ηλιοπαλύμανσης και συνεισφέρουν στο βιολογικό τρόπο δράσης της ηλιοαπαλύμανσης του εδάφους (Gamliel & Katan, 1991;

Antoniou *et al.*, 1995). Ο Berg *et al.* (1994) έχει καταδείξει ότι φυσικά ριζοσφαιρικά βακτήρια είναι αποτελεσματικά ως παράγοντες βιολογικής καταπολέμησης κατά του *V. dahliae*. Ο Zhengjium *et al.* (1996) κατέγραψε ριζοσφαιρικά και ενδοφυτικά βακτήρια ικανά να καταπολεμούν την βερτισιλλίωση της ελαιοκράμβης μπορεί να καταπολεμηθεί από ένα βακτηριακό στέλεχος του είδους *Stemotrophomonas maltophilia*.

Ο Mercado-Blanco *et al.* (2004) διαπίστωσε ότι στελέχη του γένους *Pseudomonas*, που αναπτύσσονται στις ρίζες της ελιάς, μπορούν να ανταγωνιστούν τον μύκητα *V. dahliae* και να καταστρέψουν αποτελεσματικά την βερτισιλλίωση της ελιάς, που προκαλείται από τον αποφυλλωτικό παθότυπο. Επίσης, έχει αναφερθεί ότι στελέχη του γένους *Pseudomonas* είναι ωφέλιμα στα φυτά λόγω της ικανότητάς τους να προάγουν την ανάπτυξη των φυτών και/ή να δρουν ως παράγοντες βιολογικής καταπολέμησης και μερικά από αυτά τα στελέχη μπορούν να εγκαταστηθούν ενδοφυτικά (Rosenblueth & Martinez-Romero, 2006; Mercado-Blanco & Bakker, 2007).

Συνοπτικά, θα πρέπει να σημειωθεί ότι για την αντιμετώπιση του *V. dahliae* οι κυριότεροι ανταγωνιστές είναι ο εδαφογενής ασκομύκητας *Talaromyces flavus* (ατελής μορφή *Penicillium dangeardii*) και διάφορα βακτήρια της ριζόσφαιρας και ενδοριζόσφαιρας που ανήκουν στα γένη *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Glucobacterium*, *Bacillus* και *Streptomyces* (Azad *et al.*, 1985; Sherf & MacNab, 1986; Azad *et al.*, 1987).

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο**  
**Η ΒΕΡΤΙΣΙΛΛΙΩΣΗ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ**  
**(UWO)**

## 2. Η Καλλιέργεια της ελιάς παγκοσμίως

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Ελιά (*Olea europaea* L.) καλλιεργείται εκτεταμένα και εντατικά κυρίως στην περιοχή της λεκάνης της Μεσογείου (Mediterranean basin) και στην Καλιφόρνια.

Η **Ισπανία** είναι η πρώτη χώρα παραγωγής ελαιολάδου (μέση παραγωγή 1300 χιλιάδες tn. ετησίως, περίπου) και επιτραπέζιων ελαίων, παγκοσμίως, στην οποία οι ελαιώνες καλύπτουν από 25 εκατομμύρια στρέμματα (από τα οποία τα 15 βρίσκονται στην Ανδαλουσία).

Η αναποτελεσματικότητα χημικών σκευασμάτων να καταπολεμήσουν προσβολές της ελιάς από το *V. dahliae* κάνει αναγκαία τη διενέργεια μιάς **ολοκληρωμένης στρατηγικής αντιμετώπισης (integrated control strategy)**, βασισμένης στη χρήση ανθεκτικών ποικιλιών. Στη Ισπανία, οι προσπάθειες έχουν εστιασθεί σε ένα πρόγραμμα επιλογής ανθεκτικότητας, που άρχισε το 1994 και εμπλέκει κυρίως ισπανικές και άλλες ποικιλίες ελιάς από την **Παγκόσμια Τράπεζα Γενετικού Υλικού (Olive World Germplasm Bank)**. Τα αρχικά αποτελέσματα υποδήλωσαν ότι οι ποικιλίες ελιάς Empeltre, Frantoio και Oblonga θα μπορούσαν να είναι χρήσιμες σε ένα πρόγραμμα υβριδισμού ή ως υποκείμενα για εμβολιασμό ευπαθών ποικιλιών ελιάς.

Προσεγγιστικά, στην Ισπανία καλλιεργούνται 260 ποικιλίες ελιάς, εκ των οποίων οι τρεις (Picual, Hojiblanca και Cornicabra) καλύπτουν τη μισή έκταση ελαιοκαλλιέργειας της χώρας. Δυστυχώς, αυτές οι τρεις ποικιλίες είναι λίαν ευπαθείς στον αποφυλλωτικό (D) παθότυπο του *V. dahliae* και ευπαθείς (Picual και Hojiblanca) ή λίαν ευπαθείς (Cornicabra) στο μη αποφυλλωτικό (ND) παθότυπο.

Η μεγάλη ποικιλομορφία των ποικιλιών ελιάς, οι περισσότερες από τις οποίες είναι τοπικές ποικιλίες που επιλέγηκαν από παραγωγούς για εκατοντάδες χρόνια, μπορεί να προμηθεύσει μια σπουδαία γενετική πηγή για αντοχή στη Βερτισιλλίωση.

Η **Ιταλία** είναι η δεύτερη χώρα παραγωγής ελαιολάδου, (μέση παραγωγή 460 χιλιάδες tn.ετησίως περίπου) παγκοσμίως, στην οποία καλλιεργούνται 25 εκατομμύρια στρέμματα.

Η **Ελλάδα** είναι η τρίτη ελαιοπαραγωγική χώρα, παγκοσμίως (μέση παραγωγή 350 χιλιάδες tn. ετησίως περίπου ενώ η μέση παραγωγή της Κρήτης είναι 80 χιλιάδες tn.περίπου).

Το **Μαρόκο** είναι η τέταρτη ελαιοπαραγωγική χώρα, παγκοσμίως, στην οποία καλλιεργούνται περισσότερα από **4,12** εκατομμύρια στρέμματα (**47 εκατομμύρια δέντρα**).

Η **Βερτισιλλίωση** (verticillium wilt), που οφείλεται στο μύκητα *Verticillium dahliae* Kleb, περιορίζει την παραγωγή μεγάλης απόδοσης και υψηλής ποιότητας ποικιλιών ελιάς

(olive cultivars) σε όλες τις περιοχές καλλιέργειάς τους.

Ο μύκητας *V. dahliae* είναι παθογόνο των **αγγείων του ξύλου**, που συναντάται ευρέως σε όλη την έκταση των υποτροπικών και εύκρατων ζωνών, μεταξύ 60° Β και 50° Ν γεωγραφικού πλάτους.

Η **Βερτισιλλίωση της ελιάς** (verticillium wilt of olive, **VWO**) καταγράφηκε για πρώτη φορά στη Σικελία το 1946 και ακολούθως σε πολλές περιοχές της Ιταλίας, στην Ελλάδα, σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες, στη Μέση Ανατολή και στην Καλιφόρνια.

Η **Βερτισιλλίωση** είναι η σοβαρότερη ασθένεια της ελιάς στις ελαιοπαραγωγικές χώρες: **Ελλάδα, Ισπανία, Ιταλία, Γαλλία, Τουρκία, Αλγερία, Μαρόκο, Συρία, και Καλιφόρνια.**

### **2.1. Η Βερτισιλλίωση της ελιάς παγκοσμίως στις ελαιοπαραγωγικές χώρες**

Μεταξύ των βιοτικών παραγόντων που ζημιώνουν την ελαιοκαλλιέργεια, η Βερτισιλλίωση της ελιάς (Verticillium wilt of olive, VWO) αποτελεί την πιο σοβαρή απειλή της, παγκοσμίως, προκαλώντας σοβαρές απώλειες της παραγωγής και θνησιμότητα των δένδρων.

Η συχνότητα της ασθένειας (disease incidence) και η σοβαρότητά της (disease severity) είναι συνήθως μεγαλύτερες σε νεαρά δένδρα (Al-Ahmad & Mosli, 1993; Blanco-Lopez *et al.* 1984, Serrhini & Zeroual 1995, Wilhelm & Taylor 1965). Οι νέοι ελαιώνες που εγκαταστάθηκαν στην Ισπανία κατά τη διάρκεια των τελευταίων 15-20 ετών έχουν αυξήσει την σπουδαιότητα της Βερτισιλλίωσης. Η εξάπλωση (spread) της ασθένειας είναι συνδεδεμένη με φύτευση ελαιοδέντρων σε αγρούς οι οποίοι προηγουμένως χρησιμοποιήθηκαν για καλλιέργεια ευπαθών ξενιστών στον αποφυλλωτικό παθότυπο (Blanco-Lopez *et al.* 1984), ή σε αγρούς που βρίσκονται πλησίον σε «βαμβακοχώραφα» μολυσμένα από το μύκητα (Bejarano *et al.* 1996, Lopez-Escudero & Blanco-Lopez 2001, Wilhelm & Taylor 1965).

Η διάδοση και η αύξηση της σοβαρότητας της ασθένειας της Βερτισιλλίωσης αποδίδονται κυρίως στη χρήση μολυσμένου φυτευτικού υλικού φύτευσης (Thanassoulopoulos 1973), στην εγκατάσταση ελαιώνων σε μολυσμένα εδάφη (Blanco-Lopez *et al.* 1894; Lopez-Escudero & Blanco-Lopez 2001) και σε διάφορες καλλιεργητικές πρακτικές που χρησιμοποιούνται συνήθως για να βελτιώσουν την παραγωγή της καλλιέργειας, **όπως εφαρμογή αυξημένης ποσότητας αζώτου και άρδευσης ιδιαίτερα σε νέους ελαιώνες.** Η άρδευση έχει θεωρηθεί ως αιτία που αυξάνει τη σοβαρότητα της αδρομύκωσης τόσο σε περιπτώσεις εντατικής παραγωγής ελαιολάδου (Cirulli 1981) όσο και σε περίπτωση εντατικής παραγωγής (Blanco-Lopez *et al.* 1984, Al-Ahmad & Mosli 1993, Serrhini & Zeroual 1995, Lopez-Esudero & Blanco-Lopez 2005a).

Η σοβαρότητα της ασθένειας (disease severity) στην ελιά εμφανίζεται σε διάφορες διαβαθμίσεις επηρεαζόμενη από διάφορους παράγοντες, όπως περιβαλλοντικούς, φυσιολογική και γενετική κατάσταση του δένδρου και καλλιεργητικές πρακτικές (cultural practices). Επιπλέον, οι απομονώσεις του μύκητα *V. dahliae* που προέρχονται από διάφορους ελαιώνες του Μαρόκου παρουσιάζουν παραλλακτικότητα (**variability**) τόσο στο βαθμό της παθογόνου δύναμης (virulence) όσο και στα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους (Serrhini & Zeroual 1994).

Οι κύριες αιτίες για την **αύξηση στη Βερτισιλλίωση της ελιάς στην Ισπανία** είναι: η εγκατάσταση νέων ελαιώνων κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών σε εδάφη που είχαν προηγουμένως καλλιεργηθεί με ευπαθείς ξενιστές του *V. dahliae* (βαμβάκι, λαχανικά, μηδική κ.ά.), η χρησιμοποίηση μολυσμένων φυτευτικών υλικών, η εξάπλωση ισχυρά παθογόνων (highly virulent) απομονώσεων (αποφυλλωτικών παθοτύπων) του μύκητα, και η αναποτελεσματική διαχείριση της ασθένειας που είχε επιτρέψει σε αυτόν να εξαπλωθεί εντός και μεταξύ ελαιώνων (Martos-Morreno *et al.* 2006).

## **2.2. Παθότυποι του *V. dahliae* που προσβάλλουν την ελιά**

Η σοβαρότητα των προσβολών από το μύκητα *V. dahliae* βασίζεται πάνω στην παθογόνο δύναμη (**virulence**) [π.χ. το ποσό της ασθένειας που προκαλείται στο γονότυπο ενός ξενιστή] των απομονώσεων του παθογόνου. Οι απομονώσεις του *V. dahliae* που προσβάλλουν την ελιά ταξινομούνται σε **αποφυλλωτικούς** (defoliating, D) και **μη αποφυλλωτικούς** (no defoliating, ND) παθότυπους, βάσει της ικανότητάς τους να προκαλούν αποφύλλωση ή μη αποφύλλωση των πράσινων φύλλων από βλαστούς και βραχίονες του δένδρου. Διαφορική παθογόνος δύναμη απομονώσεων του *V. dahliae* έχει διαπιστωθεί επίσης στο βαμβάκι (*Gossypium hirsutum* L.). Ενώ απομονώσεις από βαμβάκι και ελιά δείχνουν διασταυρωτή παθογόνο δύναμη (cross-virulence) σε ελαιόδενδρα. Προσβολές από τον αποφυλλωτικό παθότυπο μπορεί να είναι θανατηφόρες στην ελιά, όμως ελαιόδενδρα προσβλημένα από το μη αποφυλλωτικό παθότυπο μπορεί να μην εμφανίζουν συμπτώματα. Ο αποφυλλωτικός παθότυπος διαπιστώθηκε για πρώτη φορά στην Ισπανία σε μια περιοχή εντατικής καλλιέργειας βαμβακιού, έχει εξαπλωθεί σε μακρινές ελαιοκομικές περιοχές και σήμερα προκαλεί σοβαρά συμπτώματα της ασθένειας σε νεοεγκατεστημένους εντατικά διαχειριζόμενους ελαιώνες.

**Μη αποφυλλωτικοί παθότυποι** του μύκητα προκαλούν μέτρια συμπτώματα σε ευπαθείς ποικιλίες ελιάς, όπως “Arbequina” και η “Picual” που μπορεί να αναρρώνουν από την ασθένεια όταν διατηρηθούν για εκτεταμένη χρονική περίοδο μετά τη μόλυνσή τους. Αντίθετα, προσβολές από αποφυλλωτικούς παθότυπους του μύκητα μπορεί να είναι



θανατηφόρες στις εν λόγω ποικιλίες ελιάς.

Οπωσδήποτε, ο αποφυλλωτικός παθότυπος του μύκητα ήταν ελαφρά παθογόνος στο γονότυπο ελιάς Acebuche-L, που εμφάνισε αντοχή σε τεχνητές μολύνσεις με αυτόν.

Μέχρι πρόσφατα, προσβολές από Βερτισιλλίωση σε ελαιώνες στη Ισπανία προκαλούνταν από μη αποφυλλωτικούς παθότυπους του *V. dahliae*. Όμως, ο αποφυλλωτικός παθότυπος έχει διαδοθεί τώρα από περιοχή της νότιας Ισπανίας, όπου αναφέρθηκε για πρώτη φορά (Bejarano-Alcazar *et al.* 1996) σε μακρινούς ελαιώνες στην ίδια περιοχή, προκαλώντας σοβαρές ζημιές σε πρόσφατα εγκατεστημένους ελαιώνες.

Στην χώρα μας έχει αναφερθεί η παρουσία των αποφυλλωτικών παθότυπων του βαμβακιού (Ελενα Γ. Παπλωματά 1998), εντούτοις δεν έχει μέχρι σήμερα απομονωθεί από φυσικά μολυσμένα ελαιόδεντρα.

Όμως, στην Κρήτη έχει διαπιστωθεί προσβολή ελαιοδέντρων από τη φυλή 2 του μύκητα στην περιοχή της Μεσσαράς, σε άγρους που συγκαλλιέργούνται ευπαθής είδη λαχανικών (Ligoxigakis & Vakalounakis 2000)

Πίνακας 6. Απομονώσεις του μύκητα *V. dahliae* από διάφορες ποικιλίες ελιάς (*Olea europaea* L.) που καλλιεργούνταν σε διάφορες περιοχές

Κωδικός αριθμός απομόνωσης	Τοποθεσία	Ποικιλία	Είδη καλλιέργειας	Όργανο του φυτού από το οποίο έγινε η απομόνωση
68-1	Γόρτυνα Μεσσαράς	Αμφίσσης	Πειραματικός Ελαιώνας	Κλαδίσκος
68-2	-II-	-II-	-II-	-II-
68-3	-II-	-II-	-II-	-II-
68-4	-II-	-II-	-II-	-II-
68-5	-II-	-II-	-II-	-II-
77-1	Άγιοι Δέκα Μεσσαράς	Τσουνάτη	Ελαιώνας	-II-
77-2	-II-	-II-	-II-	-II-
77-3	-II-	-II-	-II-	-II-
77-4	-II-	-II-	-II-	-II-
123-3	Άγιος Μύρωνας	Κορωνέικη	-II-	-II-
269-1	Βώρροι εσσαράς	Ψιλλοιά	-II-	-II-
269-2	-II-	-II-	-II-	-II-
269-3	-II-	-II-	-II-	-II-
287-1	Γαλιά Μεσσαράς	-II-	-II-	-II-
- 300-1	Καρτεράς Ηρακλείου	Κορωνέικη	-II-	-II-
322-1	Αγία Βαρβάρα	Χονδρολιά	-II-	-II-
323-1	Χουστουλιανά Μεσσαράς	Ψιλλοιά	-II-	-II-
329-1	Πέρι Μεσσαράς	-II-	-II-	-II-
329-2	-II-		-II-	-II-
359-1	Βαγιονιά Μεσσαράς	Χονδρολιά	-II-	-II-
359-2	-II-	-II-	-II-	-II-
363-1	Πεδιάδα Μεσσαράς	-II-	-II-	-II-
396-1	Πλώρα Μεσσαράς	Ψιλλοιά ή Κορωνέικη	-II-	-II-
439-1	-II-	Ψιλλοιά	-II-	-II-
598-1	Γκαγκαλιανά Μεσσαρά	Αιανολιά	-II-	-II-
298-2	-II-	Ψιλλοιά	-II-	-II-
598-3	-II-	-II-	-II-	-II-
598-4	-II-	-II-	-II-	-II-
598-5	-II-	-II-	-II-	-II-
634-1	Άγιος Μύρωνας	Κορωνέικη	-II-	-II-
639-1	Απόστολος Πεδιάδος	Χονδρολιά	-II-	-II-

### 2.3. Συμπτωματολογία

Στην ελιά, η Βερτισιλλίωση προσβάλλει δένδρα κάθε ηλικίας στους ελαιώνες (Sarejanni *et al.* 1952, Zachos 1963, Thanassoulopoulos *et al.* 1979) και στα φυτώρια (Demetriades *et al.* 1958). Η ασθένεια παρατηρείται σε μεμονωμένα δένδρα του ελαιώνα ή σε μεγάλο αριθμό δένδρων (Zachos 1963). Η ασθένεια εκδηλώνεται με **δύο μορφές:** α) το σύνδρομο του απότομου μαρασμού ή της αποπληξίας και β) το σύνδρομο της βραδείας αποξήρανσης (Zachos 1963, Cirulli 1975, 1981, Blanco-Lopez *et al.* 1984, Zimenez-Diaz *et al.* 1984, Rodriguez-Jurado *et al.* 1993). Η αποπληξία εμφανίζεται συνήθως στα φυτώρια και

τα νεαρά δένδρα στον αγρό. Τα φύλλα μερικών κλάδων ‘καρουλιάζουν’ ή ‘στρίβουν’ και τελικά ξηραίνονται γρήγορα χωρίς να πέφτουν από τους κλάδους τους (Zachos 1963). Αρχικά, τα φύλλα των προσβλημένων κλάδων χάνουν το βαθύ πράσινο χρώμα τους, γίνονται άτονα πράσινα και στη συνέχεια καστανά και συγχρόνως ‘καρουλιάζουν’ (Caballero *et al.* 1980). Η αποπληξία χαρακτηρίζεται από ταχεία ξήρανση των κλάδων και βραχιόνων ή νέκρωση ολόκληρων των ελαιόδεντρων και αναπτύσσεται από αργά το χειμώνα μέχρι νωρίς την άνοιξη. Η αποπληξία αναπτύσσεται πιο συχνά σε δένδρα που έχουν προσβληθεί τον προηγούμενο χρόνο. Η βραδεία αποξήρανση εκδηλώνεται ημιπληγικά και βαθμιαία. Τα φύλλα των προσβλημένων κλάδων γίνονται χλωρωτικά ή κίτρινα και τελικά ξηραίνονται και αποπίπτουν με αποτέλεσμα την απογύμνωση και ξήρανση των κλάδων αυτών. Η βραδεία αποξήρανση αναπτύσσεται σταδιακά από αργά την άνοιξη μέχρι νωρίς το καλοκαίρι και χαρακτηρίζεται από νέκρωση των φύλλων και ανθοταξιών και ξήρανση των κλάδων. Τα προσβλημένα ελαιόδεντρα αντιδρούν έντονα στη μόλυνση του μύκητα. Βραχίονες, πλευρές ή ολόκληρη η κόμη των δένδρων μπορεί να νεκρωθούν σε μια περίοδο. Σπανίως νεκρώνεται το παλαιό δένδρο, που τείνει να αναγεννάτε από μη προσβλημένα τμήματα και παραφυάδες της βάσης του. Η ηλικία των ελαιόδεντρων παίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της ασθένειας. Γενικά, η ευπάθεια των δένδρων είναι μεγαλύτερη όσο μικρότερη είναι η ηλικία τους. Νεαρά δένδρα μέχρι 5 ή 6 ετών είναι πιο ευπαθή από δένδρα μεγαλύτερης ηλικίας. Όμως, δένδρα ηλικίας έως 50 ή και 100 ετών είναι ευπαθή. Σε ενήλικα δέντρα η προβολή του μύκητα γενικά εξαπλώνεται αργά, αλλά όταν αυτά είναι σοβαρά προσβεβλημένα τότε πεθαίνουν. Όταν οι προσβολές είναι ελαφρές, τα ασθενή δέντρα μπορεί να αναρρώσουν, όμως όταν είναι σοβαρές τότε πεθαίνουν σε μία περίοδο.

Η **ανάρρωση** (recovery) είναι ένα φυσικό φαινόμενο (natural phenomenon) που είναι συνήθως συνδεδεμένο με μηχανισμούς οι οποίοι επιτρέπουν στα δένδρα να παρακάμπτουν βλάβη και σήψη και μπορεί να ενεργοποιηθεί μετά από προσβολές που προκαλούνται από παθογόνα του αγγειακού συστήματος (vascular pathogens), όπως ο μύκητας *V. dahliae*. Σε ξυλώδεις ξενιστές, προσβλημένους από Βερτισιλλίωση, έχει διαπιστωθεί ανάρρωση στην **αμυγδαλιά** και τη **ροδακινιά**, Cirulli *et al.* 1998), τη **βερικοκιά**, τη **μελιά** και το **Νορβηγικό σφένδαμο (Norway maple)**, τη **φιστικιά**, το **κακάο** και το **αβοκάντο**.

Στην **ελιά**, φυσική ανάρρωση έχει ιδιαίτερα παρατηρηθεί κάτω από συνθήκες αγρού σε ελαιώνες. Το φαινόμενο της ανάρρωσης είναι δύσκολο να αξιολογηθεί στην ελιά επειδή είναι συνδεδεμένο με την ύπαρξη ασυμπτωματικών προσβολών, ασυνέχεια και εποχιακές διακυμάνσεις. Αυτό επηρεάζει την ευχέρεια απομόνωσης του παθογόνου από προσβεβλημένα ελαιόδεντρα. Το εν λόγω φαινόμενο έχει ερμηνευθεί κυρίως ευρέως με την ενεργητική αντίδραση του δένδρου. Η πολύ διαμερισματοποιημένη δομή του ξύλου σε συνδυασμό με τη δραστηριότητα του καμβίου, που παράγει νέα στρώματα ιστού για να αντικαταστήσει το

παλιό ή ασθενές ξύλο, διευκολύνουν την **ανάρρωση** του δένδρου. Έχει διαπιστωθεί από τους Wilhelm & Taylor (1965) και Tjamos *et al.* (1991) ότι ελαιόδενδρα προσβλημένα από Βερτισιλλίωση εκτίθενται σε **εποχιακές** (seasonal) και **παροδικές** (transient) προσβολές από το *V. dahliae*. Αυτό σημαίνει ότι θα ήταν αναγκαίες νέες μολύνσεις για να αναπτυχθούν νέα συμπτώματα μετά από μία περίοδο ανάρρωσης και καθιστά ικανή την αντιμετώπιση της ασθένειας με πρόληψη νέων προσβολών των ριζιδίων, με επεμβάσεις στο έδαφος, όπως για παράδειγμα, η ηλιοαπολύμανση (soil solarization) [Lopez-Escudero & Blanco- Lopez 2001; Tjamos *et al.* 2001], που μειώνουν την πυκνότητα μολύσματος (inoculum density) του *V. dahliae* στο έδαφος γύρω από το δένδρο.

Σε εμπορικούς ελαιώνες της Ισπανίας, η **φυσική ανάρρωση (natural recovery)** έχει παρατηρηθεί ως ένα φαινόμενο που θα μπορούσε να παίξει σπουδαίο ρόλο στην παράκαμψη εποχιακών προσβολών από το *V. dahliae*, ειδικά σε νέους ελαιώνες, επικρατώντας περισσότερο σε εδάφη με μικρότερες πυκνότητες μολύσματος του μη-αποφυλλωτικού παθότυπου. Επιπλέον, η ανάρρωση έχει επίσης συνδεθεί με το επίπεδο αντοχής (resistance level) της ποικιλίας που καλλιεργείται σε δεδομένο αγρό, όπως αναφέρθηκε από τον Resende *et al.* (1995) στο **κακάο**.

Η **ανάρρωση** από τη Βερτισιλλίωση είναι ένας σπουδαίος φυσικός μηχανισμός που συμβαίνει σε υψηλή αναλογία προσβεβλημένων ελαιοδένδρων της Ισπανίας και μπορεί να συμπληρώσει την αντοχή της ποικιλίας, ιδιαίτερα σε συνθήκες χαμηλών πυκνοτήτων μολύσματος, μικρής μολυσματικότητας απομονώσεων του μύκητα στο έδαφος.

Η **φυσική ανάρρωση** από συμπτώματα αδρομύκωσης αξιολογήθηκε πειραματικά στην Ισπανία, σε δενδρύλλια ελιάς, που αφού μολύνθηκαν τεχνητά (root dip inoculation technique) με *V. dahliae* (μία με D και μία με ND παθότυπο) τοποθετήθηκαν, σε θάλαμο ανάπτυξης (growth chamber) όπου διατηρήθηκαν για 12 εβδομάδες και στη συνέχεια μεταφυτεύθηκαν σε αμόλυντο από το *V. dahliae* θερμοκήπιο στο οποίο κρατήθηκαν για **127 εβδομάδες**. Ανάρρωση σε ένα μεμονωμένο ελαιόδενδρο θεωρήθηκε ότι συνέβαινε όταν αυτό έδειχνε ελάττωση των συμπτωμάτων της ασθένειας μετά που είχε φθάσει μία μέγιστη τιμή σοβαρότητας των συμπτωμάτων της (disease severity). Η ανάρρωση αντιστοιχούσε στο 53% των 464 ελαιόδεντρων που έδειξαν συμπτώματα προσβολής ενώ τα υπόλοιπα νεκρώθηκαν λόγω της προσβολής. Επανεμφάνιση συμπτωμάτων αδρομύκωσης δεν παρατηρήθηκε στα αναρρωμένα δένδρα και η ανάρρωση συνοδεύτηκε με την παραγωγή νέων πράσινων ιστών. Η ανάρρωση ήταν σαφώς υψηλότερη σε δένδρα τεχνητά μολυσμένα με μία μη-αποφυλλωτική (ND) απομόνωση του μύκητα απ' ότι σε δένδρα μολυσμένα με μία αποφυλλωτική (D) απομόνωση.

**Σημειωτέον** ότι η αναλογία ανάρρωσης των ελαιοδένδρων και το επίπεδο αντοχής τους ήταν σημαντικά συσχετισμένα. Η ανάρρωση αντιστοιχούσε στο 32,1% των

περιπτώσεων σε ανθεκτικές και μέτρια ευπαθείς ποικιλίες, φθάνοντας το 100% σε δένδρα μολυσμένα με τη μη-αποφυλλωτική απομόνωση, ενώ ήταν τρεις φορές μεγαλύτερη (30,1% των ελαιοδένδρων) σε ευπαθείς και λίαν ευπαθείς ποικιλίες.

Περιοδικές απομονώσεις από αγγειακό ιστό, για καταγραφή της προόδου προσβολής κατά τη διάρκεια των 127 εβδομάδων του πειράματος σε αναρρωθέντα ελαιόδενδρα, έδειξε ότι το παθογόνο μπορούσε να απομονωθεί από δένδρα 19 εβδομάδες μετά τη μόλυνσή τους. Η απομόνωση του παθογόνου ήταν σημαντικά υψηλότερη από ευπαθείς και λίαν εξαιρετικά ευπαθείς ποικιλίες (84,6%) απ' ότι από ανθεκτικές και μέτρια ευπαθείς (33,3%).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αν ένα ελαιόδενδρο παρακάμψει τη μόλυνση από το παθογόνο, που προέρχεται από μια απλή μόλυνση (single inoculation) και είναι ικανό να αρχίσει μια αναρρωτική διαδικασία, δεν θα εμφανίσει συμπτώματα αδρομύκωσης ξανά όταν αναπτύσσεται σε περιβάλλον ελεύθερο του εν λόγω παθογόνου. Το παθογόνο παρέμενε αδρανές ή νεκρό με την πάροδο του χρόνου σε αναρρωθέντα δένδρα. Έτσι, νέες προσβολές στο ριζίδιο των ελαιοδέντρων θα ήταν αναγκαίες για να εμφανίσουν αυτά νέα συμπτώματα της ασθένειας.

Στα ελαιόδενδρα, ο μύκητας είναι ενεργός κατά τη διάρκεια του χειμώνα και της άνοιξης, όμως τείνει να εξαφανίζεται κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού και του φθινοπώρου, που συχνά τα συμπτώματα της μόλυνσης είναι σοβαρά στην κόμη τους. Αν προληφθούν νέες μολύνσεις μέσω των ριζών, τότε τα δένδρα αναρρώνουν. Ηλικιωμένα δένδρα μπορεί να αναρρώνουν από την ασθένεια, που συντελεί στη διακύμανση της έντασης της προσβολής με την πάροδο του χρόνου, όπως συμβαίνει και στα πυρηνόκαρπα. Η **εξυγίανση** των δένδρων αποδίδεται πιθανώς σε αδρανοποίηση του παθογόνου στο ετήσιο δακτύλιο του ξύλου. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι κάθε παράγοντας που είναι ικανός να μειώσει το επίπεδο μολύσματος του μύκητα στο έδαφος, θα μπορούσε να βοηθήσει στην εξυγίανση των προσβλημένων δένδρων.

Στην ελιά, ο **μεταχρωματισμός των αγγείων του ξύλου** φαίνεται πολύ σπάνια και πολύ δύσκολα ή απουσιάζει. Η απουσία μεταχρωματισμού των αγγείων δυσχεραίνει τη διάγνωση της ασθένειας στην ελιά. Εξάλλου, τα συμπτώματα της Βερτισιλλίωσης στην ελιά μπορεί να μπερδευτούν με τα συμπτώματα που προκαλούν διάφορα άλλα αίτια όπως: *Phoma incorta*, *Phialophora parasitica*, σηψιρριζίες οφειλόμενες στους μύκητες *Armillaria mellea* και *Rosellinia necatrix*, τροφοπενίες βορίου και καλίου, ξηρασία, παγετό, τοξικότητες λιπασμάτων κ.ά.. Γι' αυτό, απαιτείται η απομόνωση του παθογόνου, προκειμένου να γίνει ασφαλής διάγνωση της ασθένειας (Θανασουλόπουλος 1992).

Τα **συμπτώματα** της Βερτισιλλίωσης είναι ιδιαίτερα έντονα: α) σε αρδευόμενες δενδρώνες, β) σε περιοχές όπου έχουν καλλιεργηθεί επανειλημμένα ή καλλιεργούνται συνεχώς για πολλά χρόνια διάφορα ευπαθή είδη φυτών και γ) όπου γίνεται συγκαλλιέργεια

ευπαθών δενδρωδών (π.χ. ελιάς) με ευπαθή κηπευτικά (πατάτα, τομάτα, μελιτζάνα, κ.α.) ή βαμβάκι.

#### 2.4. Απομόνωση του παθογόνου από φυτικούς ιστούς

Θα πρέπει να υπογραμμισθεί ότι υπάρχει δυσκολία να αποκαλυφθεί ακριβώς η παρουσία και η ταχύτητα εξάπλωσης του *Verticillium* spp. σε φυτικούς ιστούς, σε τρυβλία με εκλεκτικό θρεπτικό υλικό (selective medium).

Στα ελαιόδενδρα, διαφορές στην επιτυχία απομόνωσης του παθογόνου παρερχομένου του χρόνου δείχνουν ότι απουσία συνεχών προσβολών το παθογόνο εγκλωβίζεται στα αγγεία του ξύλου και πιθανώς καθίσταται αδρανές ή πεθαίνει.

Ο χαρακτηρισμός ελαιοδένδρων ως ελεύθερων-παθογόνου (pathogen-free) με προσπάθεια απομόνωσης του *V. dahliae*, σε τρυβλία με κατάλληλο φυτικό υπόστρωμα, δεν ισχύει πάντα λόγω της ασυνέπειας ανάκτησης του μύκητα από προσβλημένους ιστούς ξύλου.

Στη χώρα μας έχει διαπιστωθεί ότι η επιτυχία των θετικών απομονώσεων του μύκητα *V. dahliae* από τα αγγεία του ξύλου ασθενών ελαιοδέντρων δεν υπερβαίνει το 50%.

Στο Ισραήλ, σε πειραματική εργασία που έγινε για τρία χρόνια σε τρία εδαφοτεμάχια (plots) στα οποία είχαν προηγουμένως καλλιεργηθεί πολύ ευπαθείς ξενιστές του μύκητα *V. dahliae* διαπιστώθηκαν τα εξής: i) Εποχιακές μεταβολές στα ποσοστά θετικών απομονώσεων του μύκητα από τα ασθενή δένδρα, οι πιο υψηλές αναλογίες απομόνωσης στα ασθενή δένδρα ήταν το χειμώνα (34%) και την άνοιξη (45%) και οι χαμηλότερες ήταν το φθινόπωρο και το καλοκαίρι (19-20%), ii) Ο μύκητας *V. dahliae* απομονώθηκε κατά μέσο όρο 27%, 28% και 19% από το κατώτερο τμήμα, τη μέση και την κορυφή της κόμης των ασθενών δένδρων, αντίστοιχα. iii) Ο μύκητας απομονώθηκε από δένδρα με ή χωρίς συμπτώματα προσβολής.

Επειδή η απομόνωση του παθογόνου από φυτικούς ιστούς είναι χρονοβόρα και δεν δίδει πληροφορίες για τον παθότυπο που προσβάλλει το φυτό. Γι' αυτό απαιτούνται νέες διαγνωστικές μέθοδοι (diagnostic methods) για την έγκαιρη, ταχεία, ειδική και αξιόπιστη αποκάλυψη του μύκητα *V. dahliae* σε φυτικό υλικό.

Τα τελευταία χρόνια έχουν χρησιμοποιηθεί μερικοί διαφορετικοί τύποι μοριακών τεχνικών για το χαρακτηρισμό απομονώσεων του *V. dahliae* που διαφέρουν ως προς το κύκλο ξενιστών (host range) ή την παθογόνο δύναμη (virulence) [Heale 2000]. Η τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR) έχει χρησιμοποιηθεί για την αποκάλυψη και ποσοτικοποίηση παθογόνων της Βερτισιλλίωσης σε ποώδεις ξενιστές. Επίσης μία εμφωλευμένη (nested) PCR έχει αναπτυχθεί για την αποκάλυψη στα φυτά (in planta) του μη-αποφυλλωτικού παθότυπου του μύκητα, που είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε δενδρύλλια ελιάς παραγόμενα σε φυτώρια. Επίσης, εκκινητές (primers) PCR βασισμένοι πάνω σε αλληλουχίες του ITS rDNA έχουν σχεδιασθεί για αποκάλυψη του μύκητα *V.*

*dahliae*.

## 2.5. Απώλειες της παραγωγής

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η οικονομική ζημιά που προκαλείται από τη Βερτισιλλίωση στην ελιά έχει αυξηθεί κατά τη διάρκεια των τελευταίων 20 χρόνων λόγω της υπερβολικής άρδευσης (extensive irrigation) και της συγκαλλιέργειας (intercropping) με ευπαθείς στο *V. dahliae* ξενιστές. Η εξάπλωση της ασθένειας μπορεί να είναι αποτέλεσμα της εγκατάστασης νέων ελαιώνων σε έδαφος μολυσμένο από το *V. dahliae* και/ή τη χρησιμοποίηση φυτευτικού υλικού μολυσμένου από το μύκητα.

Έχει διαπιστωθεί ότι η συχνότητα της ασθένειας (disease incidence) στους ελαιώνες κυμάνθηκε από 2% μέχρι 3% στα 14 εκατομμύρια δένδρα στην Ελλάδα και από 0,85% μέχρι 4,5% στα 6,5 εκατομμύρια δένδρων στη Συρία. Στην Ισπανία, σε τρεις ελαιώνες, που επιλέγηκαν για να γίνουν πειραματικές αρδεύσεις, η συχνότητα της Βερτισιλλίωσης κυμαινόταν σε 30-50%. Σε πειράματα που έγιναν στη νότια Ισπανία, το 38,5% των 122 ελαιώνων και το 39,3 των 112 των νεοεγκατεστημένων ελαιώνων που ελέχθησαν, το 1994 και το 1996, βρέθηκαν μολυσμένα από την ασθένεια. Στο Μαρόκο, όπου καλλιεργούνται 47 εκατομμύρια ελαιόδενδρα σε 4,12 εκατομμύρια στρέμματα, η βερτισιλλίωση είναι ευρέως διαδεδομένη. Σημειωτέον, ότι η λίαν ευπαθής ποικιλία Picholine καλλιεργείται στο 98% περίπου της εν λόγω έκτασης.

Έχει διαπιστωθεί ότι η συχνότητα της βερτισιλλίωσης στην ελιά είναι συνδεδεμένη με την άρδευση. Για παράδειγμα, η συχνότητα της ασθένειας σε αρδευόμενους ελαιώνες ήταν 21%, 40% και 13% στο Μαρόκο, στη νότια Ισπανία και στη Συρία αντίστοιχα.

Σε πειραματική καλλιέργεια ελιάς ποικιλίας Picual, που έγινε στο Ισραήλ για τρία χρόνια σε τρία εδαφοτεμάχια (plots), που αρδευόταν με αλατούχο νερό, στα οποία είχαν προηγουμένως καλλιεργηθεί ευπαθείς ξενιστές του μύκητα *V. dahliae*, διαπιστώθηκαν: α) Η συχνότητας της προσβολής από το μύκητα αυξήθηκε 2.2, 2.6 και 1.5 φορές στα τρία εδαφοτεμάχια, αντίστοιχα, εντός 39, 25 και 15 μηνών. β) Η συχνότητα και η σοβαρότητα της ασθένειας των δένδρων αυξήθηκαν κατά τη διάρκεια του χειμώνα-άνοιξης και μειώθηκαν κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. γ) Η παραγωγή καρπών από ασθενή ελαιόδεντρα μειώθηκε κατά μέσον όρο 75%, συγκριτικά με ασυμπτωματικά δένδρα, σε ένα αγροτεμάχιο κάθε χρόνο και 89% σε ένα άλλο αγροτεμάχιο τον ένα μόνο χρόνο. Δηλαδή, η σοβαρή έκφραση της ασθένειας και η επίδρασή της στην παραγωγή του ελαιοκάρπου θα μπορούσε να οφείλεται στο ότι ο ελαιώνας ήταν εγκατεστημένος σε έδαφος μολυσμένο από το μύκητα και στο ότι η άρδευση με αλατούχο νερό όξυνε το πρόβλημα.

## 2.6. Σχέση μεταξύ του *V. DAHLIAE* στο έδαφος και της προόδου της βερτισιλλίωσης της ελιάς.

Στην Ισπανία έγινε ένα πείραμα στο οποίο χρησιμοποιήθηκε η ευπαθής στο μύκητα *V. dahliae* ισπανική ποικιλία ελιάς Picual για να προσδιορισθεί η σχέση μεταξύ της πυκνότητας μολύσματος του μύκητα και της προόδου της Βερτισιλλίωσης της ελιάς. Το πείραμα έγινε σε μικροτεμάχια εδάφους (microplots) τα οποία μολύνθηκαν τεχνητά με μία αποφυλλωτική απομόνωση του μύκητα χρησιμοποιώντας επτά επεμβάσεις πυκνδιακής μόλυνσης, που κυμαίνονταν από 0 μέχρι 10 μικροσκληρώτια ανά γραμμάριο εδάφους (ppg). **Τα συμπτώματα πρωτοεμφανίστηκαν 30 μήνες** μετά τη μεταφύτευση των δενδρυλλίων στο τεχνητά μολυσμένο έδαφος. Περίοδοι αυξημένης συχνότητας της ασθένειας ήταν κυρίως κατά τη διάρκεια της **άνοιξης και του φθινοπώρου**, ιδιαίτερα το δεύτερο έτος μετά τη φύτευση. Τα ελαιόδεντρα εμφάνισαν υψηλή ευπάθεια στον αποφυλλωτικό παθότυπο (D) του παθογόνου, ακόμα και σε χαμηλά επίπεδα μολύσματος. Συγκεκριμένα, ασθενή δένδρα καταμετρήθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος ανεξάρτητα από την επέμβαση της πυκνότητας μολύσματος. Πυκνότητες μολύσματος μεγαλύτερες από 3 ppg στο έδαφος είχαν ως αποτέλεσμα τελική συχνότητα της ασθένειας μεγαλύτερη από 50% για τα ελαιόδενδρα μετά από 2,5 χρόνια. Γι' αυτό, οι εν λόγω πυκνότητες μολύσματος πρέπει να θεωρηθούν πολύ υψηλές για την ελιά. Δεν υπήρχαν διαφορές στην τελική συχνότητα της ασθένειας, στη μέση σοβαρότητα των συμπτωμάτων, μεταξύ εδαφοτεμαχιδίων μολυσμένων με 10 ή με 3,33 ppg, ενώ άλλες επεμβάσεις παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές για κάθε μία από τις εν λόγω παραμέτρους της ασθένειας. Θετική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ της αρχικής πυκνότητας μολύσματος του μύκητα και των τιμών της τελικής συχνότητας της ασθένειας μετά την περίοδο της μελέτης (Lopez- Escudero & Blanco-Lopez 2007).

Τα αποτελέσματα των εν λόγω πειραμάτων αποδεικνύουν ότι ευπαθείς ποικιλίες ελιάς δεν πρέπει να φυτεύονται σε εδάφη μολυσμένα με αποφυλλωτικούς παθότυπους του *V. dahliae*. Τα αποτελέσματα επίσης αποδεικνύουν ότι επίπεδα πυκνότητας μολύσματος, που λαμβάνονται από αναλύσεις εδάφους του αγρού, μπορεί να χρησιμοποιηθούν για να δημιουργηθεί ένα σύστημα πρόβλεψης ρίσκου (risk prediction system) για την αντιμετώπιση της βερτισιλλίωσης σε ελαιώνες.

## 2.7. Μέτρα αντιμετώπισης (Control Measures)

Η αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης της ελιάς είναι δύσκολη επειδή: i) ο *V. dahliae* είναι ένα ευρέως διαδεδομένο εδαφογενές (soil-born) παθογόνο που επιβιώνει στο έδαφος για μεγάλες χρονικές περιόδους με μορφή μικροσκληρωτίων, παρουσία ξενιστών ή απουσία ξενιστών, ii) προκαλεί σοβαρές απώλειες σε ευρύ φάσμα (wide range) ποωδών και ξυλωδών ξενιστών και iii) τα υπάρχοντα χημικά σκευάσματα (π.χ. βενζιμιδαζόλες) δεν είναι



αποτελεσματικά.

Όμως η αντιμετώπιση της ασθένειας γίνεται πιο δύσκολη λόγω της παρουσίας: α) Δύο ομάδων απομονώσεων του *V. dahliae* που προσβάλλουν το βαμβάκι και την ελιά: αποφυλλωτικές (D) και μη αποφυλλωτικές (ND) παθότυποι (Schanathorst 1973). Ο ND παθότυπος είναι μετρίως σοβαρός και ο D παθότυπος είναι αρκετά μολυσματικός και στους δύο ξενιστές (Schanathorst & Sibbett, 1971; Rodriguez-Jurado, 1993, Lopez-Escudero 1999). Στην Ισπανία, αμφότεροι οι παθότυποι του μύκητα βρέθηκαν να προσβάλλουν το βαμβάκι (Bejarano-Alcazar *et al.* 1995, 1996, Blanco-Lopez *et al.* 1989) και την ελιά (Lopez-Escudero & Blanco-Lopez 2001, Lopez-Escudero *et al.* 2004). Οι εν λόγω παθότυποι υπάρχουν σε ελαιοκομικές περιοχές φυτεμένες με τις Ισπανικές ποικιλίες Cornicabra, Hojiblanca, και Picual (Lopez-Escudero *et al.* 2004) και β) της φυλής 2 (race 2) της τομάτας που προσβάλλει την τομάτα, διάφορα είδη λαχανικών και την ελιά (Ligoxirakis & Vakalounakis 2000).

Ο μονοκυκλικός (monocyclic) χαρακτήρας της Βερτισιλλίωσης απαιτεί μια στρατηγική αντιμετώπισης που να βασίζεται κυρίως στη μείωση του αρχικού μολύσματος του μύκητα στο έδαφος. Γι' αυτό πρέπει να εφαρμόζονται στρατηγικές **ολοκληρωμένης αντιμετώπισης (integrated control strategies)** όπως η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών, οι οποίες βασίζονται σε εναλλακτικά μέτρα αντιμετώπισης (**alternative control measures**) που αντικαθιστούν ή μειώνουν τη χημική καταπολέμηση. Ένα μέτρο-κλειδί (key-control measure) στην εν λόγω στρατηγική είναι η χρησιμοποίηση αμόλυντου (ελεύθερου παθογόνου: pathogen-free) φυτικού υλικού για πολλαπλασιασμό και για εγκατάσταση νέων ελαιώνων, κυρίως όταν η φύτευση γίνεται σε περιοχές αμόλυντες από το μύκητα *V. dahliae*.

Ένα υποσχόμενο στοιχείο μιας προληπτικής στρατηγικής (preventive strategy) είναι η προστασία του ελεύθερου-παθογόνου (pathogen-free) φυτευτικού υλικού από πρόωμη προσβολή του *V. dahliae* κατά τη διάρκεια του πολλαπλασιασμού της ελιάς και/ή της μεταφύτευσης. Αυτό θα μπορούσε να επιτευχθεί με τη χρησιμοποίηση βιολογικών παραγόντων καταπολέμησης (biocontrol agents, BCAs).

Προς το παρόν, η αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης της ελιάς βασίζεται σε προληπτικά καλλιεργητικά μέτρα, όπως η χρησιμοποίηση ελεύθερων παθογόνων (pathogen-free) δενδρυλλίων και μη-μολυσμένων (non-infested) εδάφους κατά την εγκατάσταση νέων ελαιώνων.

### 2.7.1 Εφαρμογή κατάλληλων καλλιεργητικών πρακτικών

**Καλλιεργητικές πρακτικές** (cultural practices), όπως εδαφόβελτίωση (soil amendment) με ζωϊκά ή φυτικά οργανικά υπολείμματα, έχουν χρησιμοποιηθεί για να μειώσουν διάφορες ασθένειες των φυτών και οι επιδράσεις τους έχουν τεκμηριωθεί επαρκώς. Χημικές ενώσεις που προκύπτουν από την αποσύνθεση της οργανικής ουσίας μπορεί να έχουν άμεση ή έμμεση

επίδραση στα μικροσκληρώτια του παθογόνου ή στην ανάπτυξη της ασθένειας, διεγείρουν ανταγωνιστές του παθογόνου ή έχουν φυτοτοξικές (phytotoxic) επιδράσεις στον ξενιστή. Ιδιαίτερος, ο πληθυσμός του παθογόνου και η συχνότητα της ασθένειας σε αδρομυκώσεις, όπως η Βερτισιλλίωση που προκαλείται από το *V. dahliae* μπορεί να μειωθούν προσθέτοντας οργανική ουσία (organic matter) στο έδαφος. Ορισμένοι ερευνητές έχουν αποδώσει την απενεργοποίηση των μικροσκληρωτίων του *V. dahliae* σε τοξικά και πτητικά προϊόντα των γλουκοσινολιτών (glucosinolates) που απελευθερώνονται από τις τροποποιήσεις του εδάφους με υπολείμματα σταυρανθών, όπως το μπρόκολο (*Brassica oleracea* L. var. *italica* L.) ή άλλα προϊόντα, όπως μεθάνιο, αιθυλένιο, οργανικά οξέα ή αλκοόλες που παράγονται κατά τη διάρκεια των αναερόβιων συνθηκών μετά την ενσωμάτωση φυτικών υπολειμμάτων (plant residues) στο έδαφος, όπως το *Lolium perenne* L. (Blok *et al.* 2000).

Στην Ανδαλουσία (νότια Ισπανία), οι γεωργοί δοκιμάζουν διάφορα καλλιεργητικά μέτρα και γενικά βιομηχανικά υποπροϊόντα (by-products) που είναι διαθέσιμα πλησίον των ελαιώνων τους, για την αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης. Τα εν λόγω υποπροϊόντα, περιέχουν ουσίες τόσο διαφορετικές όσο τα ζυμωμένα οργανικά υλικά, βιομηχανικά υπολείμματα, (π.χ. πριονίδι), ζωική κοπριά, πεσμένα φύλλα, υπολείμματα κλαδέματος και ζιζάνια ή θάμνους, προερχόμενα από γειτονικές δασικές ζώνες. Μερικά από τα φυτικά υπολείμματα, που θα μπορούσε να είναι ωφέλιμα ως εδαφοβελτιωτικά κοντά σε ελαιώνες, προέρχονται από είδη των οικογενειών Brassicaceae, Cistaceae και Lamiaceae, όπως, θυμάρι, η λεβάντα ή ζιζάνια (*Brassica* spp.).

Μία απλή μέθοδος που βοηθά το δένδρο να αποφύγει την προσβολή του μύκητα είναι να το άφθονο πότισμα κατά τη διάρκεια της ξηρής περιόδου, χωρίς απορροές που μεταφέρουν τα μικροσκληρώτια. Μια άλλη τεχνική για να βοηθήσουμε το δένδρο να ανταπεξέλθει είναι η εφαρμογή θειικού καλίου, όταν εμφανιστούν τα πρώτα συμπτώματα της προσβολής του. Σχετικά με την αζωτούχο λίπανση, οι γνώμες είναι αντιφατικές. Μερικοί ερευνητές θεωρούν ότι η αζωτούχος λίπανση θα μπορούσε να χειροτερεύσει το πρόβλημα, όμως άλλοι τη συνιστούν για να ενθαρρύνουν τη βλάστηση.

Θα πρέπει να καταπολεμούνται οι **νηματώδεις**, επειδή αυξάνουν τη σοβαρότητα της ασθένειας (disease severity). Επίσης, θα πρέπει να αποφεύγεται η εγκατάσταση νέων ελαιώνων σε αγρούς που είχαν προηγουμένως καλλιεργηθεί με ευπαθή ποώδη είδη φυτών (π.χ. πατάτα, τομάτα, μελιτζάνα, βαμβάκι). Θα πρέπει επίσης να εξολοθρεύονται τα ζιζάνια, επειδή είναι πιθανοί ξενιστές του μύκητα.

Είναι αναγκαίο να κλαδεύονται οι προσβεβλημένοι βραχίονες και να εκριζώνονται τα έντονα προσβεβλημένα δένδρα με το μεγαλύτερο δυνατό μέρος των ριζών τους (Adams & Thomas 1998) και να καταστρέφονται (Hartman 1998) με κάψιμο (Pogras *et al.* 2003). Το

κλάδεμα των προσβεβλημένων δέντρων θα πρέπει να γίνεται έγκαιρα με αφαίρεση των κλάδων 10 cm κάτω από το σημείο που έχουν νεκρωθεί (Θανασόπουλος 1992).

### 2.7.2 Καλλιέργεια ανθεκτικών ποικιλιών ελιάς

Διάφορα χαρακτηριστικά του παθογόνου κάνουν δύσκολη την αντιμετώπιση της ασθένειας (Blanco-Lopez & Jimenez-Diaz 1995, Tjamos & Jimenez-Diaz 1998). Το παθογόνο επιβιώνει στο έδαφος για μεγάλες περιόδους (Wilhelm, 1995), έχει ευρύ φάσμα ξενιστών (Heale, 1998; Sinclair *et al.* 1987, Vargas-Machuca 1987) και χημικά σκευάσματα δεν είναι αποτελεσματικά (Lopez-Escudero *et al.* 2004). **Η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών** στην αδρομύκωση, όπως και σε άλλες αδρομυκώσεις (Blanco-Lopez *et al.* 1998), πιθανώς να είναι αποτελεσματική για την ελιά (Lopez-Escudero *et al.* 2004).

Όπως στις άλλες αδρομυκώσεις, η **χρήση γενετικής αντοχής** είναι το πιο αποτελεσματικό εργαλείο για την αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης της ελιάς. Στο θέμα αυτό, η ελιά διαθέτει ένα μεγάλο γενετικό πλεονέκτημα, επειδή περισσότερες από **800 ποικιλίες** της έχουν εισαχθεί, σε συλλογές γύρω από τον κόσμο. Για παράδειγμα, στην Ισπανία καλλιεργούνται περίπου 260 ποικιλίες ελιάς, εκ των οποίων οι τρεις (Picual, Hojiblanca και Cornicabra) καλύπτουν τη μισή έκταση ελαιοκαλλιέργειας της χώρας. Όμως, οι εν λόγω ποικιλίες είναι λίαν ευπαθής στον αποφυλλωτικό παθότυπο του *V. dahliae* και ευπαθής (Picual και Hojiblanca) ή λίαν ευπαθής (Cornicabra) στο μη-αποφυλλωτικό παθότυπο. Στην Ελλάδα, οι ενδιαφέρουσες ποικιλίες ελιάς Αμφισσης, Κονσερβολιά, Μεγαρίτικη και Βαλανιδιά είναι ευπαθείς στο μύκητα. Δυστυχώς, κύριες ποικιλίες ελιάς από τις κυριότερες ελαιοπαραγωγικές χώρες είναι ευπαθείς στο *V. dahliae*.

Στην Ισπανία έχουν γίνει πειράματα εκτίμησης της αντοχής της ελιάς στη Βερτισιλλίωση με στόχο την επιλογή ανθεκτικών ποικιλιών για προγράμματα βελτίωσης ή επιλογής υποκειμένων ή για την επαναφύτευση δένδρων που νεκρώθηκαν από την ασθένεια σε εγκατεστημένους ελαιώνες. Χρησιμοποιήθηκε φυτικό υλικό από την **Παγκόσμια Τράπεζα Γενετικού Υλικού (Olive World Germplasm Bank-OWGB) της Κορδόβα**. Στα εν λόγω πειράματα η πιο κοινή τεχνική αξιολόγησης της αντοχής της ελιάς στη Βερτισιλλίωση ήταν η τεχνητή μόλυνση του ριζικού συστήματος (root dip inoculation), επειδή αναπαράγει αξιόπιστα τη διαδικασία μόλυνσης των δένδρων από το μύκητα *V. dahliae*. Όμως, άλλες εργασίες έχουν αποκαλύψει ότι μόλυνση του κορμού με τρύπημα (stem puncture inoculation) μπορεί επίσης να είναι μια χρήσιμη μέθοδος για εκτίμηση της αντοχής της ελιάς στη βερτισιλλίωση. Σημειωτέον ότι η εν λόγω μέθοδος θα μπορούσε να παρέχει μία προκαταρκτική εκτίμηση της αντοχής, που μπορεί ενωρίτερα και ταχύτερα να πραγματοποιηθεί και στη συνέχεια να επιβεβαιωθεί με την τεχνική μόλυνσης του ριζικού συστήματος, χρησιμοποιώντας τις ποικιλίες που εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα αντοχής στη

Βερτισιλλίωση.

Η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών ελιάς στη Βερτισιλλίωση είναι το πλέον αποτελεσματικό και οικολογικά υποστηρικτικό (sunstainable) μέσο αντιμετώπισης της ασθένειας (Lopez-Escudero *et al.* 2004). Ερευνητικές εργασίες στην Ιταλία, Ισπανία και άλλες χώρες απέδειξαν ότι ορισμένες ποικιλίες ελιάς είναι ευπαθείς στο μη αποφυλλωτικό παθότυπο του μύκητα.

Όμως, δεν υπάρχουν ποικιλίες ελιάς ανθεκτικές στον αποφυλλωτικό παθότυπο του μύκητα. Σε μια μελέτη, που έγινε στην Ισπανία, διαπιστώθηκε ότι οι ποικιλίες Embeltre, Frantoio και Oblonga ήταν μέτρια ευπαθείς στον αποφυλλωτικό παθότυπο του μύκητα.

Επειδή η ελιά είναι σταυρογονιμοποιημένο (open-pollinated) φυτό, το γενετικό υλικό της ελιάς σε όλη την έκταση της Μεσογείου μπορεί να περιλαμβάνει πολύτιμες πηγές νέων και πιο αποτελεσματικών αντοχών στον αποφυλλωτικό και μη αποφυλλωτικό παθότυπο του μύκητα.

α) Στην Ισπανία εκτιμήθηκε πειραματικά η αντοχή 23 ποικιλιών ελιάς σε δύο απομονώσεις από βαμβάκι (μία D και μία ND). Οι πλείστες ποικιλίες βρέθηκαν ευπαθείς, και σε διαφορετικά στάδια και στις 11 απομονώσεις του μύκητα. Όλες οι ποικιλίες ήταν πιο ευπαθείς στο D παθογόνο απ' ότι στο ND. Μια ομάδα δύο ποικιλιών, περιλαμβανομένων μερικών σπουδαίων Ισπανικών, βρέθηκαν ευπαθείς ή λιαν ευπαθείς και στους δύο παθότυπους. Μια δεύτερη ομάδα παρουσίασε διαφορές της αντοχής που εξαρτιόταν από το παθότυπο που χρησιμοποιήθηκε. Δηλαδή, ήταν ευπαθείς ή λιαν ευπαθείς στο D παθότυπο και ανθεκτικό ή λιαν ανθεκτικό στο ND παθότυπο. Τελικά, οι ποικιλίες Frantoio, Oblonga και Empeltre ήταν μέτρια ευπαθείς στο D παθότυπο και ανθεκτικές στο ND παθότυπο. Η αντοχή της ποικιλίας Empeltre ήταν εμφανής από την ικανότητα του φυτού να αναρρώνει από προσβολή τόσο του D όσο και του ND παθότυπου. Η εν λόγω ποικιλία θεωρείται ότι είναι πολύτιμη σε προγράμματα υβριδισμού για την αντοχή στη βερτισιλλίωση (Lopez-Escudero *et al.* 2004). (Πίνακας 7&8)

**Πίνακας 7: Αντοχή ποικιλιών ελιάς στη Βερτισιλλίωση που προκλήθηκε από μια αποφυλλωτική (D) και μια μη-αποφυλλωτική (ND) απομόνωση του *V. dahliae* (Lopez-Escudero *et al.* 2004).**

Ευπάθεια 1,2		Ποικιλίες
D	ND	
E	E	Cornicabra, <b>Valanolia</b>
E	S	Arbegnina, Hendeno, Hojiblanca, Manzanilla Piquito, Negral, Ocal, Picual, Villalonga
S	S	Neradillo Negro
E	MS	Leccino, Lechin de Granada, Meski, Pajarero, Picudo
E	R	Cobrancosa, Manzanilla Sevilla, Morisca, Verdial Alcandete
MS	R	Empeltre, Frantoio, Oblonga

1. R=resistant (ανθεκτική), MS=moderately resistant (μετρίως ανθεκτική), S=susceptible (ευπαθής), E=extremely susceptible (άκρως ευπαθής). Η ευπάθεια έχει προσδιοριστεί σύμφωνα με τις τιμές της AUDPC, PDP σε 12 βδομάδες μετά την τεχνητή μόλυνση και με άλλα συμπληρωματικά κριτήρια όπως το όχημα της AUDPC και η ανάρρωση από την ασθένεια.

2. Κατηγορίες αντοχής αντιστοιχούν στο ακόλουθο διάστημα τιμών της AUDPC για τους D/ND απομόνωσης του *V. dahliae* : HR = 0-10% / 0-10%, R=11-30%/11-30%, MS = 31-50%/31-40%, S = 51- 0%/41-60%, E = 71-100%/61-100%.

Πίνακας 8: Ποικιλίες ελιάς ανθεκτικές ή ευπαθείς στο μη-αποφυλλωτικά (non - defoliating) παθότυπο του *V. dahliae*.

ΑΝΘΕΚΤΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	ΕΥΠΑΘΕΙΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ
Allegra (Κλώνος της	Arbequina
Arbequina)	Ascolana Tenera
Arbosana	Agyalik
Changlot Real	Borriolenca
Cipresino	Bouteillan
Cobrancosa	Callosina
Coratina	Carrasqueno Lucena
Empeltre	Cellino
Frantoio	Cima di Mola
Frangivento	Cornicabra
<b>Kalamon</b>	Dokkar
<b>Kalogerida</b>	Fulla di Salce
<b>Koroneiki</b>	Gordal de Hellin
Lechin	Hendeno
Lechin de Granada	Hojiblanca
Leccino	Imperial de Jaen
Mantanilla Sevilla	<b>Konservolia</b>
Meski	Leccino
Morisca	Manzanillo/Manzanilla
Oblunga	Manzanilla Piquito
Pajarero	<b>Megaritiki</b>
Picual	Mission
Picudo	Morona
Serillenca	Nabali
Verdial Alcandete	Nepral
	Negro del Carpio
	Nevadillo Blanco de Jaen
	Nevadillo Negra
	Ocal
	Pandulino
	Picholine
	Picual
	<b>Valanolia</b>
	Villalonga
	Zarza

Σε πειράματα που έγιναν στην Ισπανία εκτιμήθηκε η αντοχή 33 κύριων ποικιλιών ελιάς στον αποφυλλωτικό παθότυπο του *V. dahliae*. Εννέα μηνών φυτωριακά δενδρύλλια ελιάς μολύνθηκαν τεχνητά με μία **αποφυλλωτική απομόνωση** του μύκητα. Η αντοχή αξιολογήθηκε με εκτίμηση της έντασης των συμπτωμάτων χρησιμοποιώντας μια βαθμολογική κλίμακα 0–4 και υπολογίζοντας την περιοχή κάτω από τις καμπύλες προόδου της ασθένειας με αναφορά στην τιμή που έφτασε δυναμικά κατά την διάρκεια της περιόδου εκτίμησης (AUDPCP). Η αναλογία των νεκρωμένων δενδρυλλίων και εκείνη των

δενδρυλλίων που ανάρρωσαν από την ασθένεια χρησιμοποιήθηκαν ως πρόσθετοι παράγοντες για καταταγή των ποικιλιών.

Διαπιστώθηκαν ότι οι 26 από τις 33 ποικιλίες ήταν ευπαθείς ή λίαν ευπαθείς στην αποφυλλωτική απομόνωση του μύκητα. Οι ποικιλίες αυτές είχαν τιμές για τον AUDPCP υψηλότερες από 45% με νέκρωση υψηλότερη από 37,5% (**Πίνακας 9**). Μια δεύτερη ομάδα ποικιλιών, που περιελάμβαναν τις: Ciprecino, **Koroneiki**, **Oblonga** και Sevilencia, κατατάχθηκαν ως μέτρια ανθεκτικές επειδή εμφάνισαν μία σημαντική μείωση τεχνικών μέσων τιμών σοβαρότητας της ασθένειας και τιμές AUDPCP που κυμάνθηκαν από 23% μέχρι 42% (Πίνακας 9). Μια τρίτη ομάδα ποικιλιών, που περιελάμβανε τις Chanplot Real, Empeltre και Frantoio, ήταν ανθεκτικές στην αποφυλλωτική απομόνωση του μύκητα (Πίνακας 9). Οι ποικιλίες Empeltre και Frantoio επιβεβαιώθηκαν ότι είναι ανθεκτικές επειδή δεν εμφάνισαν νεκρά δενδρύλλια και είχαν πολύ χαμηλές τιμές για τον AUDPCP και τελική ασθένεια. Οι εν λόγω τρεις ποικιλίες θα είναι χρήσιμες για προγράμματα βελτίωσης ποικιλιών ελιάς στη Βερτισιλλίωση (Martos-Moreno *et al.* 2006).

**Πίνακας 9:** Τιμές παραμέτρων της ασθένειας ποικιλιών ελιάς μολυσμένων με μια αποφυλλωτική απομόνωση του *V. dahliae*<sup>z</sup>(Martos-Moreno *et al.* 2006).

Ποικιλία	Αναφορά <sup>y</sup>	Προέλευση	AUDPCP <sup>x</sup>	FMS <sup>w</sup>	PDP <sup>v</sup>
Callosina	CIFA (CM0 R40 F9 A13)	Spain	<b>75.9</b>	<b>4</b>	100
Fulla de Salce	CIFA (CMI-II R674 F15 A19)	Spain	75.1	3.4	71.4
<b>Megaritiki</b>	CIFA (CMV R108 F7 A17)	<b>Greece</b>	68.5	3.7	50
Nabali	CIFA (CMV R158 F8 A5)	Israel	<b>67.6</b>	<b>4</b>	100
Picual	CIFA (seto)	Spain	65.2	3.9	95.2
Negro del Caprio	CIFA (CMI-II R750 F9 A14)	Spain	63.6	3.8	75
Gordal de Hellin	CIFA (CMV R567 F10 A9,10)	Spain	62.3	3.9	75
Borriolenca	CIFA (CM0 R41 F9 A12)	Spain	61.8	3.6	75
Carrasqueno Lucena	CIFA (CM0 R287 F15 A14)	Spain	<b>61.3</b>	<b>4</b>	100
Chemlal de Kabilye	CIFA (CMV R118 F10 A13,14)	Argyle	61.0	3.8	75
<b>Manzanilla</b>	Agromillora	Spain	<b>60.0</b>	<b>4</b>	100
<b>Manzanilla Cacerena</b>	CIFA (CMIV R430 F5 A37)	Spain	<b>60.0</b>	<b>4</b>	100
Zarza	CIFA (CMV R38 F6 A15)	Spain	59.9	2.8	50
Morona	CIFA (CMV R270 F5 A7)	Spain	<b>59.2</b>	<b>4</b>	100
Pendolino	CIFA (CM0 R87 F2 A14)	Italy	59.2	3.5	87.5
Ascolana Tenera	CIFA (CMV R62 F7,9 A10)	Italy	58.4	3.5	62.5
Bouteillan	CIFA (CM0 R63 F4 A13)	France	57.8	3.9	87.5
<b>Ayvalik</b>	CIFA (CMV R97 F8,19 A20)	<b>Turkey</b>	56.0	<b>4</b>	100
Navadillo Blanco de Jaen	CIFA (CM0 R44 F10 A13)	Spain	55.2	3.8	75
Dulzal de Carmona	CIFA (CMIV R31 F8 A9)	Spain	<b>54.2</b>	<b>3.9</b>	87.5
<b>Dokkar</b>	CIFA (CMIV R539 F8 A29)	<b>Turkey</b>	52.7	3.4	71.4
Imperial de Jaen	CIFA (CM0 R30 F6 A9)	Spain	47.6	3.4	71.4
Arbequina	Agromillora	Spain	47.3	3.6	75
Azapa	CIFA (CMI-II R726 F28 A2)	Chile	46.8	3.1	62.5
<b>Kalogerida</b>	CIFA (CMI-II R691 F6 A9)	<b>Greece</b>	45.9	3.2	42.8
Arbosana	Agromillora	Spain	44.9	3.0	37.5
Cipresino	CIFA (CMV R90 F7 A1)	Italy	42.1	1.8	12.5
<b>Koroneiki</b>	Agromillora	<b>Greece</b>	38.2	1.4	25
Sevillenca	CIFA (CM0 R227 F14 A6)	Spain	32.7	2.9	37.5
Oblonga	CIFA (CMV R210 F8 A9,10)	USA	23.6	1.2	13.3
Changlot Real	CIFA (CM0 R15 F14 A11)	Spain	22.0	1.0	0
Empeltre	Agromillora	Spain	14.7	0.9	0
Frantoio	Agromillora	Italy	7.3	0.5	0

<sup>z</sup> Εννιά μηνών δενδρύλλια ελιάς μολύνθηκαν με μια αποφυλλωτική απομόνωση του *V. dahliae*. Η σοβαρότητα των συμπτωμάτων μετρήσαν εβδομαδιαίως από 2 μέχρι 12 μήνες μετά την μόλυνση.

<sup>y</sup> CIFA = Centro de Investigacion y Formacion Agraria Alameda del Obispo (Cordoba, Spain), CMV = World Olive Germplasm Bank, R = αριθμός καταλόγου, F = σειρά, A = δέντρο.

<sup>x</sup> AUDPCP = περιοχή από την καμπύλη προόδου της ασθένειας με αναφορά στη μέγιστη δυνητική τιμή που έφτασε κατά την περίοδο καταγραφής.

<sup>w</sup> FMS = τελική μέση σοβαρότητας των συμπτωμάτων 12 μήνες μετά τη μόλυνση.

<sup>v</sup> PDP = Ποσοστό νεκρωμένων δενδρυλλίων

Σε πειράματα που έγιναν στην Ισπανία εκτιμήθηκε η αντοχή 26 ποικιλιών ελιάς στον αποφυλλωτικό παθότυπο του *V. dahliae* εκτιμήθηκε σε πειράματα με τρύπημα του στελέχους ελιάς των δενδρυλλίων. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη προόδου της ασθένειας αναφορικά



με τη μέγιστη τιμή που έφτασε κατά την διάρκεια της περιόδου του πειράματος (AUDPCP), που υπολογίστηκε από τις τιμές της έντασης των συμπτωμάτων (0-4 κλίμακα βαθμολογική-rating scale), ήταν η κύρια παράμετρος για εκτίμησης της αντοχής, και το ποσοστό νεκρών φυτών (PDP), η τελική μέση ένταση των συμπτωμάτων (FMS), και η ανάρρωση από την ασθένεια χρησιμοποιήθηκαν ως πρόσθετες παράμετροι. Πέντε ποικιλίες κατατάχθηκαν ως λίαν ευπαθής (ES) επειδή εμφάνισαν τιμές AUDPCP, PDP, και FMS υψηλότερες από 70%, 50%, και 3.0 αντίστοιχα (**Πίνακας 10**). Έξι άλλες ποικιλίες εμφάνισαν τιμές AUDDCP κυμαινόμενες από 50% μέχρι 70% και FMS υψηλότερη από 3.0 και κατατάχθηκαν ως ευπαθή (S) [**Πίνακας 10**]. Μια ομάδα 11 ποικιλιών περιλαμβανόμενης της Κορωνέικης (Koroneiki) ήταν μέτρια ευπαθής (MS) [**Πίνακας 10**] με AUPPCP κυμαινόμενο από 31% μέχρι 50%. Τελικά, η Frantoio, Grosel de Albocafér, Kato Drys και Manzanilla Picua έδειξαν μέγιστες τιμές AUDPCP 22%, όχι νεκρά δενδρύλλια και ελαφρά ένταση συμπτωμάτων, και κατατάχθηκαν ως ανθεκτικά (R) (**Πίνακας 10, Lopez-Escudero et al. 2007**).

**Πίνακας 10:** Τιμές παραμέτρων της ασθένειας ποικιλιών ελιάς με μια αποφυλλωτική απομόνωση του *Verticillium dahliae*.

Ποικιλία	R	Προέλευση	AUDPCP	FMS	PDP	Ευπάθεια
Macho de jaen	R28	Spain	71.7	3.6	50.0	ES
Chalchali-1	R789	Syria	70.1	3.8	62.5	ES
Canivano Negro-1	R55	Spain	65.1	3.6	62.5	ES
<b>Athalassa</b>	R852	<b>Cyprus</b>	64.3	3.1	37.5	S
Mission Moojeski	R708	USA	58.2	3.6	75.0	ES
Alorena-1	R829	Spain	54.8	3.1	50.0	S
Figueretes	R822	Spain	53.8	3.3	37.5	S
Mission Nyeland	R716	USA	52.9	3.4	37.5	S
Cordobes Arroyo de la Luz	R514	Spain	50.2	3.5	75.0	ES
Picual	R9	Spain	49.2	3.0	44.0	S
Carrasqueno de Porcuna	R795	Spain	43.7	2.6	25.0	MS
<b>Flasou</b>	R851	<b>Cyprus</b>	41.5	3.1	25.0	S
Negrillo de Andujar	R793	Spain	38.6	2.4	37.5	MS
Verdial de Velez-Malaga-1	R51	Spain	38.1	2.3	12.5	MS
Maelia	R856	Israel	38.1	2.1	0.0	MS
<b>Kiti</b>	R850	<b>Cyprus</b>	36.7	2.0	12.5	MS
Pajarera	R771	Spain	34.3	1.6	0.0	MS
Jlot	R976	Syria	32.3	1.8	0.0	MS
<b>Koroneiki</b>	R218	<b>Greece</b>	29.8	1.5	12.5	<b>MS</b>
<b>Kato Drys</b>	R848	<b>Cyprus</b>	22.0	1.1	0.0	<b>R</b>
Corneja	R511	Spain	21.8	1.2	12.5	MS
De Sal	R420	Spain	21.4	1.3	12.5	MS
Manzanilla Picua	R377	Spain	17.0	1.1	0.0	<b>R</b>
Bodoquera	R631	Spain	16.2	1.7	0.0	MS
Grosal de Albocafér	R811	Spain	13.4	0.9	0.0	R
Frantoio	R80	Italy	10.2	0.5	0.0	<b>R</b>

### 2.7.3 Βιοχημικοί μηχανισμοί άμυνας της ελιάς στη Βερτισιλλίωση

Σε πειράματα αξιολόγησης της αντοχής στη Βερτισιλλίωση μεγάλο αριθμό ποικιλιών ελιάς που έγιναν σε Ελλάδα, Ιταλία και Ισπανία, η ποικιλία Κορωνέϊκη απέδειξε υψηλό επίπεδο αντοχής έναντι του αποφυλλωτικού και του μη-αποφυλλωτικού παθότυπου, εμφανίζοντας λιγότερα συμπτώματα της ασθένειας και αποικισμό των αγγείων του ξύλου από το παθογόνο συγκριτικά με άλλες ποικιλίες. Τα δεδομένα αυτά σημαίνουν την ύπαρξη μηχανισμών άμυνας (defense mechanisms) έναντι του *V. dahliae*.

Έχει διαπιστωθεί ότι φαινολικές ουσίες (phenolic compounds) συσσωρεύονται σε φυτικούς ιστούς και προκαλούνται από παθογόνους μύκητες. Οι φαινολικές ουσίες παίζουν ένα σπουδαίο ρόλο στην αντοχή των φυτών σε προσβολές παθογόνων επειδή ανήκουν στο αντιμικροβιακό αμυντικό οπλοστάσιο. Για παράδειγμα έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα του verbascoside σε κλάδους ελαιοδέντρων προσβεβλημένων από *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Σε μελέτη που έγινε τα τελευταία χρόνια διαπιστώθηκε η δράση της oleuropein (μιας o-diphenol ουσίας που βρίσκεται στο ελαιόδενδρο) εναντίου του *V. dahliae in vitro*. Στην εν λόγω μελέτη διαπιστώθηκε επίσης υψηλή συσσώρευση ολικών φαινολικών στους κορμούς ελαιοδέντρων της ποικιλίας Pieuval προσβεβλημένων από το *V. dahliae*.

Σε πρόσφατη εργασία που έγινε στη χώρα μας μετρήθηκαν τα επίπεδα των φαινολικών ουσιών της ευπαθούς στη Βερτισιλλίωση ποικιλίας ελιάς Αμφίσσης και της ανθεκτικής ποικιλίας Κορωνέϊκη που ήταν μολυσμένες με αποφυλλωτικό και μη-αποφυλλωτικό παθότυπο του *V. dahliae*, σε σχέση με τα επίπεδα του μυκητιακού DNA στα αγγεία του ξύλου τους με σκοπό τη διερεύνηση του μηχανισμού άμυνας των ελαιοδέντρων έναντι του *V. dahliae*. Ποσοτικοποιημένη PCR ανακάλυψε ότι η μείωση της σοβαρότητας των συμπτωμάτων που παρατηρούνταν σε ελαιόδεντρα Κορωνέϊκης ήταν συνδεδεμένη με σημαντική μείωση αμφοτέρων του παθότυπου στα αγγεία του ξύλου συγκριτικά με της Αμφίσσης. Σε δέντρα Κορωνέϊκης, τα επίπεδα των o-diphenols και verbascoside ήταν θετικά συσχετισμένα με τα επίπεδα DNA των αποφυλλωτικών και μη-αποφυλλωτικών παθοτύπων. Επιπροσθέτως, μια θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των επιπέδων του verbascoside και του επιπέδου του μυκητιακού DNA στα δέντρα Αμφίσσης, ενώ αρνητική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ του επιπέδου των μυκητιακών DNA και του επιπέδου των συνολικών ξαναγγών και του περιεχομένου της oleuropein και στις δύο ποικιλίες. Το επίπεδο της verbascoside ήταν σαφώς υψηλότερο σε ελαιόδεντρα Κορωνέϊκης συγκριτικά με Αμφίσσης, που δείχνει την εμπλοκή της στο μηχανισμό άμυνας του δέντρου εναντίον του *V. dahliae*.

#### 2.7.4 Εμβολιασμός ευπαθών ποικιλιών σε ανθεκτικά υποκείμενα

Ο *V. dahliae* αντιμετωπίζεται γενικά με συνδιασμό προληπτικών μέτρων (preentive measures), μεταξύ των οποίων είναι η χρήση ανθεκτικών υποκειμένων (resistant rootstocks). Μεταξύ των μεθόδων αντιμετώπισης της Βερτισιλλίωσης, σε άλλα καρποφόρα δέντρα, ο εμβολιασμός (grafting) σε ανθεκτικά υποκείμενα (rootstocks) έχει διαπιστωθεί ότι είναι λίαν αποτελεσματικός. Η τεχνική αυτή συνεπάγεται την ένωση δύο φυτών στο σχηματισμό ενός, με σκοπό την απόκτηση χρήσιμων χαρακτηριστικών στο φυτό που προέκυψε. Από γεωργική άποψη ο εμβολιασμός φρουτόδεντρων μπορεί να εφοδιάζει το φυτό που προκύπτει με αντοχή σε ορισμένες ασθένειες.

Ίσως επειδή ο εμβολιασμός δεν είναι μία εύκολη τεχνική η βιβλιογραφία που σχετίζεται με άλλες καλλιέργειες είναι άφθονη, στην περίπτωση του ελαιόδεντρου έχουν δημοσιευθεί λίγες σχετικές εργασίες. Όμως, στη νότια Ιταλία ο εμβολιασμός κορμών δενδρυλλίων ελιάς πάνω σε υποκείμενα προερχόμενα από σπέρματα ελιάς είναι ο πλέον διαδεδομένος τρόπος πολλαπλασιασμού του είδους αυτού. Η ανάλυση των σχέσεων υποκειμένου-εμβολίου (rootstock-scion relations) έχει λίγο μόνο μελετηθεί.

Ο Porrás-Soriano *et al.* (2003) εμβολίασε νεαρά δένδρα ελιάς ποικιλίας Cornicabra σε τέσσερις ποικιλίες (Arbequina, Frantoio, Lechin και Empeltre) που είναι ανεκτικές στη βερτισιλλίωση. Τα πειράματα έγιναν σε φυτά που πολλαπλασιάστηκαν σε υδρονέφωση από μαλακά μοσχεύματα ξύλου (softwood stem cuttings), ριζοβολημένα αμφότερα ανεμβολίαστα και ταυτόχρονα ριζοβολημένα και εμβολιασμένα. Αμφότερα τα ενός έτους ηλικίας δενδρύλλια μολύνθηκαν τεχνητά, με μόλυνση του ριζικού τους συστήματος (root dipping technique), χρησιμοποιώντας ένα αποφυλλωτικό (defoliating: D) παθότυπο του *V. dahliae*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα νεαρά δενδρύλλια της ποικιλίας Cornicabra είναι πολύ ευπαθή στον αποφυλλωτικό παθότυπο του μύκητα. Η ένταση της ασθένειας σε αυτά είχε μέση τιμή 4,2. Η αντοχή των υποκειμένων στην ασθένεια επιβεβαιώθηκε με μέση τιμή 1,2 στην Empeltre και 2,3 στην Arbequina. Διαπιστώθηκε για πρώτη φορά διεθνώς, ότι όταν η Cornicabra εμβολιάστηκε πάνω στη Frantoio, η σοβαρότητα των συμπτωμάτων μειώθηκε από 4,2 σε 1,8 που κατέδειξε ότι το υποκείμενο Frantoio προκάλεσε σοβαρή μείωση στην ευπάθεια της Cornicabra στο *V. dahliae* αλλάζοντάς την, σε ένα φυτό με υψηλότερη αντοχή στο μύκητα απ' ότι όταν ήταν ανεμβολίαστη, και από πολύ ευπαθής έγινε πολύ ανεκτική.

Σήμερα, σχεδόν σε όλες τις νέες περιοχές ελαιοκαλλιέργειας της Ιταλίας οι ελαιώνες στη χρήση κλωνικού υλικού (clonal material) εμβολιασμένου σε υποκείμενα που αναπτύσσονται από σπόρο προερχόμενο από τοπικές ποικιλίες ελιάς. Επιπλέον, στη νότια Ιταλία, ειδικά στην Απουλία (Apulia), Ο εμβολιασμός είναι η πιο κοινή μέθοδος πολλαπλασιασμού της ελιάς. Η χρήση ανθεκτικών υποκειμένων θα μπορούσε να συνεισφέρει αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση του *V. dahliae*, ακόμα και αν το εμβόλιο είναι ευπαθές

στο μύκητα.

Σε πειραματική εργασία που έγινε στην Ιταλία, ελέχθησαν 57 εισαγωγικές (accessions) άγριων ειδών ελιάς που συλλέχθηκαν από τη **λεκάνη της Μεσογείου**, για την αντοχή τους στη Βερτισιλλίωση. Εφαρμόστηκε η μέθοδος εμβάπτισης των ριζικών συστημάτων σε αιώρημα σπορίων του μύκητα (root-dipping). Χρησιμοποιήθηκαν μια μη-αποφυλλωτική και μια αποφυλλωτική απομόνωση του *V. dahliae* προερχόμενες από ασθενή ελαιόδεντρα της νότιας Ιταλίας. Δενδρύλλια της λίαν ευπαθής ποικιλίας ελιάς Cima di Mola, που συχνά έχουν χρησιμοποιηθεί ως υποκείμενα στην Απουλία, συμπεριλήφθησαν στα πειράματα. Η αντοχή αξιολογήθηκε βάση των εξωτερικών συμπτωμάτων (external symptoms), του αγγειακού μετασχηματισμού και υπολογίζοντας τις περιοχές κάτω από τις καμπύλες προόδου της ασθένειας (areas under disease progress curves, AUDPC). Βάση των τιμών της AUDPC και της έντασης των εξωτερικών συμπτωμάτων, οι εν λόγω εισαγωγές ταξινομήθηκαν σε τέσσερις φαινοτυπικές ομάδες (phenotypic groups): i) πολύ ανθεκτικά, ii) μέτρια ανθεκτικά, iii) ευπαθή και iv) πολύ ευπαθή. Τρεις εισαγωγές παρουσίασαν υψηλή αντοχή και στους δύο παθότυπους του μύκητα. Στη συνέχεια επιλέγησαν 40 φυτά από εισαγωγές που είχαν εμφανίσει τα υψηλότερα επίπεδα αντοχής, και δημιουργήθηκαν κλώνοι από το καθένα από τα φυτά αυτά με *in vitro* μικροπολλαπλασιασμό, για περαιτέρω έλεγχο. Δέκα κλώνοι εμφάνισαν τα χαρακτηριστικά αντοχής των μητρικών φυτών ενώ άλλος κλώνος εμφάνισαν υψηλότερα επίπεδα σοβαρότητας της ασθένειας (disease severity) απ' ό,τι τα μητρικά φυτά. Τελικά, βρέθηκαν διάφορα **νέα υποκείμενα ελιάς** που είναι πολύ ανθεκτικά στη Βερτισιλλίωση και θα μπορούσε να συμπεριληφθούν σε προγράμματα βελτίωσης για αντοχή της ελιάς στο *V. dahliae*.

Στη χώρα μας τα τελευταία 12 χρόνια έχουν διεξαχθεί έρευνες ταχείας αξιολογήσεως της ανθεκτικότητας ποικιλιών ελιάς στη Βερτισιλλίωση έδειξαν διαφοροποίηση ως προς την ευπάθεια μεταξύ της ευπαθούς Αμφίσσης και της ανεκτικής ποικιλίας Καλαμών σε μόλυνση των στελεχών με ένεση αιωρήματος του μύκητα *V. dahliae* (100μl 10<sup>8</sup> κονίδια/ml) σε οπές διαμέτρου 3 mm, στα στελέχη των δενδρυλλίων. Εφαρμογή της μεθόδους σε εκβλαστήσεις υποκειμένων της ποικιλίας Αμφίσσης σε ελαιώνα στη Σκάρφεια Φθιώτιδος έδειξε ότι υπάρχουν υποκείμενα τα οποία είναι ανθεκτικά στην ασθένεια (4 σε σύνολο 65).

Επειδή αρκετά δένδρα της ποικιλίας Αμφίσσης έδειξαν συμπτώματα Βερτισιλλίωσης παρά το γεγονός ότι τα αντίστοιχα μολυνθέντα υποκείμενα παρέμειναν ασυμπτωτικά μας οδήγησε στην λεπτομερέστερη έρευνα μόλυνσης στελεχών δενδρυλλίων της ευπαθούς ποικιλίας Αμφίσσης και της ανεκτικής Καλαμών ηλικίας δύο ετών για την διερεύνηση του φαινομένου. Διαπιστώθηκε ότι ο μύκητας δεν μετακινείται μόνον ανοδικά αλλά και καθοδικά από σημείο μόλυνσης. Η διαφοροποίηση ως προς τη συμπτωματολογική εικόνα της ασθένειας μεταξύ των δύο ποικιλιών πιθανώς να μην οφείλεται μόνο στη δυσχέρεια

μετακίνησης του παθογόνου στα αγγεία του ξύλου της ποικιλίας Καλαμών αλλά στον εγκλωβισμό του παθογόνου στην ανεκτική ποικιλία. Πράγματι, διαπιστώθηκε ότι η συχνότητα απομόνωσης του μύκητα στην ανεκτική ποικιλία Καλαμών είναι μικρότερη συγκριτικά με την Αμφίσσης σε χρονικά διαστήματα από 10 έως 90 ημέρες μετά από τη μόλυνση. Η καθοδική επίσης μετακίνηση του παθογόνου μπορεί να αποδοθεί στην αρνητική πίεση που παρατηρείται στους λαιμάργους και εξηγεί την παρουσία του παθογόνου σε θέσεις μακράν του υποκειμένου σε παραγωγικά δέντρα της ποικιλίας Αμφίσσης.

Από ανάλογα πειράματα αξιολόγησης υποκειμένων ελιάς σε εγκατεστημένους ελειώνες Λιανολιάς Κέρκυρας στην Πρέβεζα διαπιστώθηκε ότι 1 από τα 15 μολυνθέντα υποκείμενα παρέμεινε ασυμπτωματικά παρ' ότι μολύνθηκε δύο φορές την τελευταία διετία και δεν απομονώθηκε το παθογόνο. Οι απομονώσεις όμως του παθογόνου από εκβλαστήσεις υποκειμένων με συμπτώματα της ασθένειας ήταν θετικές.

Μοσχεύματα των “ανθεκτικών” υποκειμένων έχουν ήδη ριζοβολήσει και πρόκειται να μολυνθούν αυτό το φθινόπωρο με μικροσκληρώτια του μύκητα *V. dahliae* στο έδαφος με σκοπό την πληρέστερη και ορθολογική αξιολόγηση της ανθεκτικότητας των στη Βερτισιλλίωση (Αντωνίου & Συνεργ. 2002).

Σε νεότερα πειράματα ταχείας αξιολόγησης της αντοχής διαφόρων υποκειμένων ελιάς στη Βερτισιλλίωση με ένεση αιωρήματος κονιδίων του *V. dahliae*, συγκέντρωσης  $100\mu\text{l } 10^8$   $\text{konid;ijn/ml}$ , σε οπές διαμέτρων 3 mm και βάθους 5 mm στα στελέχη δενδρυλλίων σε ελαιώνες των περιοχών Αμβρακείας, Αγγελούπολης, Νικόπολης διαπιστώθηκαν τα εξής: ορισμένα υποκείμενα παρέμειναν ασυμπτωματικά παρ' ότι μολύνθηκαν δύο φορές κατά τη διετία 2000-2002 και δεν απομονώθηκαν το παθογόνο. Μοσχεύματα των μητρικών αυτών φυτών, αφού ριζοβόλησαν, μολύνθηκαν με μικροσκληρώτια του μύκητα *V. dahliae* στο έδαφος (20 μικροσκληρώτια/γραμμάριο χώματος). Μετά την παρέλευση ενός έτους από την εφαρμογή του μολύσματος και παρότι τα δενδρύλλια δεν παρουσίασαν συμπτώματα, η εκτέλεση απομονώσεων και PCR απέδειξαν την παρουσία του μύκητα στον ένα τύπο υποκειμένου, ενώ στους άλλους δύο τύπους το παθογόνο δεν ανιχνεύθηκε. Ένας μεγάλος αριθμός μοσχευμάτων από τους δύο αυτούς τύπους έχουν ήδη ριζοβολήσει και πρόκειται να μολυνθούν αυτό το φθινόπωρο με μικροσκληρώτια του μύκητα στο έδαφος με σκοπό την πληρέστερη και πιο ορθολογική αξιολόγηση της αντοχής τους στη Βερτισιλλίωση. Επίσης, πραγματοποιήθηκε μόλυνση με μικροσκληρώτια του μύκητα *V. dahliae* στο έδαφος, σε διάφορες πυκνότητες μολύσματος (3, 10 και 20 μικροσκληρώτια/γραμμάριο χώματος) σε δέντρα των ποικιλιών Αμφίσσης, Καλαμών, Γαϊδουρελιάς και Κορωνέϊκης με σκοπό την αξιολόγηση των ποικιλιών αυτών ως προς την αντοχή τους στην ασθένεια. Η συμπτωματολογική εικόνα και η εκτέλεση απομονώσεων έδειξαν σημαντικό βαθμό αντοχής και των τριών ποικιλιών σε σχέση με την ευπαθή ποικιλία Αμφίσσης, με την Κορωνέϊκη να

υπερτερεί ελαφρώς (Μαρκάκης και συνεργ. 2004).

### 2.7.5 Ηλιοαπολύμανση

Επειδή δεν υπάρχουν άλλα μέτρα που θα μπορούσαν να εμποδίσουν αποτελεσματικά την ανάπτυξη των συμπτωμάτων της ασθένειας σε εγκατεστημένους ελαιώνες, έγιναν πειράματα ηλιοαπολύμανσης εδάφους σε μεμονωμένα δένδρα, την περίοδο 1980-83 (Tjamos, 1983). Το έδαφος γύρω από κάθε ασθενές δένδρο καλύφθηκε με διαφανή φύλλα πολυαιθυλενίου, διαστάσεων 6x6 μέτρων και η μείωση στην έκφραση των συμπτωμάτων κατέδειξε την **ανάρρωση των δένδρων** στα οποία έγινε η επέμβαση συγκριτικά με τους μάρτυρες. Σημειώτεον ότι δε σημειώθηκε οπτικά ζημία στις ρίζες των δένδρων, λόγω των υψηλών θερμοκρασιών του εδάφους, κατά τη διάρκεια της επέμβασης (Tjamos 1983). Θα πρέπει να υπογραμμισθεί ότι στην Καλιφόρνια ο μύκητας *V. dahliae* αντιμετωπίστηκε σε εγκατεστημένους φιστικεώνες (*Pistacia vera* L.) με συνεχή ηλιοαπολύμανση του εδάφους, χωρίς επίσης να ζημιωθεί το ριζικό σύστημα των δένδρων από τις υψηλές θερμοκρασίες του εδάφους. Παρ' όλα όμως αυτά, η ηλιοαπολύμανση είναι δύσκολο να εφαρμοσθεί σε μεγάλες εντάσεις.

Σε πειράματα ηλιοαπολύμανσης διαπιστώθηκε ότι ελαιόδεντρα ηλικίας από 10 μέχρι 15 ετών, προσβεβλημένα από το *V. dahliae*, μπορούσε να αναρρώσουν μετά από ατομική ηλιοαπολύμανση του εδάφους. Η αναλογία ανάρρωσης των δένδρων σε ηλιοαπολυμασμένο έδαφος υπερέβαινε σημαντικά τη φυσική ανάρρωση (natural recovery) των δένδρων στα οποία δεν έγινε επέμβαση και αποδόθηκε στην μη επαναμόλυνση του ριζικού τους συστήματος από το μύκητα. Τα μικροσκληρώτια του μύκητα σχεδόν εξαλείφθηκαν από το έδαφος γύρω από τα δένδρα στα οποία έγινε η επέμβαση ενώ οι πολλαπλασιαστικές μονάδες (propagules) του μύκητα *Talaromyces flarus*, που είναι ανταγωνιστής του *V. dahliae*, όχι μόνον επιβίωσαν της ηλιοαπολύμανσης αλλά αυξήθηκαν σε αριθμό στο έδαφος στο οποίο έγινε η επέμβαση συγκριτικά με τους μάρτυρες. Επειδή οι διαφορές στην εξάλειψη των συμπτωμάτων ή η ανάρρωση των ελαιοδένδρων διήρκησε για τουλάχιστον τρία χρόνια, η ατομική ηλιοαπολύμανση εδάφους των ασθενών δένδρων, όταν συνδυάστηκε με χημική καταπολέμηση των ζιζανίων, μπορούσε να έχει πρακτική αξία στην αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης των ελαιοδένδρων.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι και η **ηλιοαπολύμανση του εδάφους**, ως εναλλακτική μέθοδος του βρωμιούχου μεθυλίου, είναι αποτελεσματική και μειώνει μελλοντικές προσβολές της ελιάς από το μύκητα, είναι δύσκολο να εφαρμοσθεί σε μεγάλες εκτάσεις. Γι' αυτό απαιτείται η ανάπτυξη **άλλων μεθόδων αντιμετώπισης της ασθένειας**, που θα την προλαμβάνουν ή τουλάχιστον θα μειώνουν τα προβλήματα των μερικές σοβαρά μολυσμένων ελαιοδένδρων, ειδικά μετά την εγκατάσταση ενός νέου ελαιώνα.

### 2.7.6 Βιολογική καταπολέμηση

Οι βιολογικοί εχθροί αποτελούν σήμερα μια από τις μελλοντικές ελπίδες για την αποτελεσματική αντιμετώπιση της Βερτισιλίωσης.

#### Οι σπουδαιότεροι βιολογικοί εχθροί του γένους *Verticillium* είναι:

- α) Ανταγωνιστές μύκητες που επηρεάζουν την επιβίωση των μικροσκληρωτίων που έχουν ήδη εξασθενήσει από την ηλιοαπολύμανση ή τη χημική απολύμανση του εδάφους.
- β) Ανταγωνιστές μύκητες ή βακτήρια που εμποδίζουν την προσβολή των φυτών από τα μικροσκληρώτια τα οποία βλαστάνουν στο έδαφος.

Οι ανταγωνιστές ειδών του γένους *Verticillium* που προστίθενται στο έδαφος, έχουν δοκιμασθεί ως βιολογικοί παράγοντες, με ποικίλλουσα επιτυχία (Marois et al. 1982, Fravel et al. 1986, Fravel et al. 1989). Όμως, η αποτελεσματικότητα των παραγόντων αυτών δεν είναι ικανοποιητική στην αντιμετώπιση της Βερτισιλίωσης της πατάτας (Spink & Rowe 1989).

Τα ανταγωνιστικά βακτήρια επιβιώνουν της ηλιοαπολύμανσης και συνεισφέρουν στο βιολογικό τρόπο δράσης της ηλιοαπολύμανσης του εδάφους. Ο Berg *et al.* (1994) έχει καταδείξει ότι φυσικά ριζοσφαιρικά βακτήρια είναι αποτελεσματικά ως παράγοντες βιολογικής καταπολέμησης κατά του *V. dahliae*. Ο Zhengjun *et al.* (1996) κατέγραψε ριζοσφαιρικά και ενδοφυτικά βακτήρια ικανά να καταπολεμούν τη Βερτισιλίωση του βαμβακιού. Επίσης, οι Berg & Lottmann (2000) διαπίστωσαν ότι η Βερτισιλίωση της ελαιοκράμβης μπορεί να καταπολεμηθεί από ένα βακτηριακό στέλεχος του είδους *Stenotrophomonas maltophilia*.

Ο Mercado-Blanco *et al.* (2004) διαπίστωσε ότι στελέχη του γένους *Pseudomonas*, που αναπτύσσονται στις ρίζες της **ελιάς**, μπορούν να ανταγωνιστούν τον μύκητα *V. dahliae* και να καταστείλουν αποτελεσματικά την Βερτισιλίωση της **ελιάς**, που προκαλείται από τον αποφυλλωτικό παθότυπο του βαμβακιού. Επίσης, έχει αναφερθεί ότι στελέχη του γένους *Pseudomonas* είναι ωφέλιμα στα φυτά λόγω της ικανότητάς τους να προάγουν την ανάπτυξη των φυτών και/ή να δρουν ως παράγοντες βιολογικής καταπολέμησης και μερικά από αυτά τα στελέχη μπορούν να εγκατασταθούν ενδοφυτικά.

Συνοπτικά, θα πρέπει να σημειωθεί ότι για την αντιμετώπιση του *V. dahliae* οι κυριότεροι ανταγωνιστές είναι ο εδαφογενής ασκομύκητας *Talaromyces flavus* (ατελής μορφή *Penicillium dangeardii*) και διάφορα βακτήρια της ριζόσφαιρας και ενδοριζόσφαιρας που ανήκουν στα γένη *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Glucobacterium*, *Bacillus* και *Streptomyces*.

Ο *Talaromyces flavus* (Klocker) Stolk & Sampson (ατελής μορφή *Penicillium*

*dangeardii* Pitt, συνώνυμο *P. vermiculatum* Dang.) είναι ένας ασκομύκητας ευρύτατα διαδεδομένος στις εύκρατες περιοχές του κόσμου. Ο εδαφογενής μύκητας *T. flavus* είναι ανταγωνιστής του *V. dahliae* και αποτελεί ένα υποσχόμενο παράγοντα βιολογικής αντιμετώπισής του. Ο *T. flavus* καταστέλλει τη Βερτισιλλίωση της τομάτας, πατάτας και μελιτζάνας.

Οι μηχανισμοί βιολογικής αντιμετώπισης του *V. dahliae* από τον *T. flavus* περιλαμβάνουν: ανταγωνισμό, παρασιτισμο και αντιβίωση. Βρέθηκε ότι ο πληθυσμός του *T. flavus* αυξήθηκε 8,9 φορές εντός 16 μηνών από την εισαγωγή του σε καλλιεργούμενο αγρό του Αϊντάχο, που ήταν μολυσμένος από το *V. dahliae*. Ο *T. flavus* μπορεί να εμποδίζει την προσβολή του *V. dahliae*, σκοτώνοντας τα μικροσκληρώτια του στο έδαφος. Έχει αναφερθεί ότι απομονώσεις του *T. flavus* παράγουν τέσσερα αντιβιοτικά. Έχει αναφερθεί επίσης ότι ο *T. flavus* παράγει ένα μεταβολίτη που επιβραδύνει *in vitro* τη γραμμική ανάπτυξη και σκοτώνει τα μικροσκληρώτια του *V. dahliae*. Ο *T. flavus* είναι ένας δυναμικός ανταγωνιστής του *V. dahliae*, επειδή είναι ικανός να αποικίζει τη ριζόσφαιρα διαφόρων ξενιστών του παθογόνου και να παρεμποδίζει τη βλάστηση των μικροσκληρωτίων ή να προκαλεί τη νέκρωσή τους.

Η εγκατάσταση του *T. flavus* στη ζώνη επιμήκυνσης των ριζών συντελεί στη βιολογική αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης, επειδή παρεμποδίζει την είσοδο και εγκατάσταση του παθογόνου στα άκρα της ρίζας.

**Ο *T. flavus* επιβίωσε μετά την ηλιοαπολύμανση του εδάφους σε καλλιέργειες αγκινάρας και ελιάς, οι οποίες είχαν προσβληθεί από το *V. dahliae*.** Ο *T. flavus* όχι μόνο επιβίωσε αλλά και αυξήθηκε αριθμητικά στα εδαφοτεμάχια που έγινε η ηλιοαπολύμανση. Ο *T. flavus* θα μπορούσε να καταστέλλει τη βερτισιλλίωση, εάν συνδυαζόταν με ηλιοαπολύμανση ή μειωμένη δόση χημικού απολυμαντικού.

Η εταιρεία “**Prophyta**” δημιούργησε και κυκλοφόρησε ένα σκεύασμα που περιέχει ασκοσπόρια του *T. flavus* και χρησιμοποιείται στην αντιμετώπιση του *V. dahliae*. Η **Zeise (1997)** προσπάθησε να τυποποιήσει σε σκεύασμα τρία στελέχη του *T. flavus*, χρησιμοποιώντας ασκοσπόριά τους, σύμφωνα με την τεχνική του Kersten (1997).

Έχει αναφερθεί ότι διάφοροι ανταγωνιστές μύκητες: *Trichoderma lignorum*, *Aspergillus fumigatus* και *Gliocladium roseum*, που απομονώθηκαν από τη ριζόσφαιρα σφένδαμου, μείωσαν τη συχνότητα της Βερτισιλλίωσης **στο σφένδαμο** και τη μελιτζάνα σε πειράματα που έγιναν στο ύπαιθρο και υπό κάλυψη (Catani & Peterson 1967). Έχει διαπιστωθεί επίσης ότι ο μύκητας *Paecilomyces lilanicus* μείωσε τον αριθμό των μικροσκληρωτίων του *V. dahliae* που υπάρχουν στο έδαφος.

Διάφορα **βακτήρια της ριζόσφαιρας και της ενδοριζόσφαιρας**, που έχουν ιδιαίτερη ικανότητα να εγκαθίστανται στα άκρα της ρίζας ή ενδοφυτικά, βρέθηκαν *in vitro* ότι δρουν εναντίον του *V. dahliae* και έχουν την ικανότητα να καταπολεμούν την Βερτισιλλίωση. Για



παράδειγμα, είδη των γενών: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Glucobacterium*, *Bacillus* και *Streptomyces*, καθώς επίσης είδη που δεσμεύουν ατμοσφαιρικό άζωτο, των γενών: *Azotobacter* και *Azotomonas* βρέθηκε *in vitro* ότι είναι ανταγωνιστές του *V. dahliae*. Οι *Actinobacillus ligniersii*, *Comamonas acidovorans*, *Enterobacter intermedius*, *Paenibacillus macerans*, *Serratia grimesii*, *Sphingobacterium heparinum*, *Stenotrophomonas maltophilia* και *Yersinia frederiksenii* είναι ανταγωνιστές του *V. dahliae* και θα πρέπει να αξιολογηθούν ως βιολογικοί παράγοντες αντιμετώπισης του. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα είδη του γένους *Bacillus* ήταν τα επικρατούντα θετικά κατά Gram βακτήρια, που διαπιστώθηκε ότι επιβιώνουν της ηλιοαπολύμανσης του εδάφους.

Σε πειράματα ολοκληρωμένης διαχείρισης της Βερτισιλλίωσης της ελιάς που έγιναν στη χώρα μας τα τελευταία χρόνια στην περιοχή Καλυβών Πολυγύρου Χαλκιδικής, Αξιολογήθηκε η μέθοδος της ηλιοαπολύμανσης με χρήση του πλαστικού φύλλου: PA 1455 Orgasum, καθώς επίσης και η δράση διαφόρων εμπορικών σκευασμάτων ωφελίμων μικροοργανισμών, καθώς επίσης του σκευάσματος Messenger που είναι φυσικός διεγερσης της άμυνας των φυτών. Τα ριζοποτίσματα των πιο πάνω σκευασμάτων έγιναν σε 2 εποχές (αρχές φθινοπώρου και άνοιξης) σε δέντρα όπου είχε προηγηθεί ηλιοαπολύμανση και σε δέντρα όπου δεν προηγήθηκαν ηλιοαπολύμανση. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μπορεί να περιοριστούν σημαντικά τα συμπτώματα προσβολής από τον μύκητα ιδιαίτερα όταν έχει προηγηθεί ηλιοαπολύμανση (Ζαρτακούλης & συνερ. 2010).

### **2.7.7 Χημική αντιμετώπιση – εφαρμογή μυκητοκτόνων**

Η εφαρμογή διάφορων μυκητοκτόνων που δημιουργήθηκαν για την αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης δεν κατάφερε τελικά να δώσει τα επιθυμητά αποτελέσματα, επειδή παρουσίασαν σοβαρά μειονεκτήματα που τα καθιστούσαν αναποτελεσματικά (Cirulli 1981, Loper-Escudero *et al.* 2004, Petrikos-Panajotaron 1980, Thanassouloupoulos *et al.* 1980).

### **2.7.8 Χημική απολύμανση του εδάφους (Chemical disinfection of the soil)**

Η απολύμανση του εδάφους με διάφορα απολυμαντικά ευρέως φάσματος αντιμετωπίζει αποτελεσματικά τη Βερτισιλλίωση (Wilhelm & Ferguson 1953, Wilhelm 1955, 1966, Young 1956, Tolmsolff & Young 1957, Pratt, 1959, Powelson *et al.* 1964, Skotland 1964, Kunkel & Weller 1965, Miller *et al.* 1967, Brown & Wyllie 1970, Easton 1970. Μερικά ευρέως διαδεδομένα απολυμαντικά εδάφους είναι το metham sodium, dicloropropene, ισοθειοκυανικό μεθύλιο κ.ά. Παρόλα όμως αυτά, η αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης με τα εν λόγω απολυμαντικά δεν είναι ικανοποιητικά, επειδή το μόλυσμα του μύκητα επιβιώνει συνήθως στα κατώτερα στρώματα του εδάφους, όπου δεν έχει επιδράσει το απολυμαντικό (Sherf & MacNab 1986).

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνοψίζοντας τα μέτρα αντιμετώπισης της Βερτισιλλίωσης της ελιάς είναι:

- ❖ Μη εγκατάσταση ελαιώνων ευπαθείς ποικιλίες σε μολυσμένα εδάφη ή εδάφη που έχουν καλλιεργηθεί επί πολλά χρόνια με ευπαθή λαχανικά ή βαμβάκι.
- ❖ Φύτευση υγιών δενδρυλλίων.
- ❖ Μη συγκαλλιέργεια ευπαθών ποικιλιών ελιάς με ευπαθή λαχανικά.
- ❖ Εμβολιασμός των ευπαθών ποικιλιών ελιάς σε ανθεκτικά υποκείμενα.
- ❖ Εφαρμογή των ενδεικνυόμενων κατά περίπτωση καλλιεργητικών μέτρων, (π.χ. ισορροπη λίπανση, κανονική άρδευση (όχι με αυλάκια), έγκαιρη ζιζανιοκτονία και κλάδεμα εξυγίανσης.
- ❖ Ατομική ηλιοαπολύμανση των ασθενών δένδρων.
- ❖ Αποφυγή τραυματισμού του ριζικού συστήματος των δένδρων.
- ❖ Έγκαιρη καταπολέμηση των νηματωδών και εντόμων εδάφους.
- ❖ Χρησιμοποίηση φυτικών εκχυλισμάτων (φυτικών αρωματικών φυτών κ.λ.π.)

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ashworth *et.al.* 1979a, Ashworth *et.al.* 1979b, L.J.Jr and Huisman. O.C 1972. Influence of desiccation on viability of microsclerotia of *Verticillium albo-atrum*. (Abstr.) Phytopathology 62: 744.
- Babayan, D.N., and Shakhnubaryan, S.T. 1969. [Presence of infection by fungal wilt in the seeds of tomato pepper and eggplant under condition of Ararat plain in Armenian SSR]. Ushen Zap. Overet Univ. 1:136-147. (In Rev. Plant Pathol. 49:2032, 1970).
- Barbara D.J. and Clewes E. 2003. Plant pathogenic *Verticillium* species: How many of them are there?. Mol. Plant Pathol 4:297-305.
- Bell A.A. 1992. Verticillium wilt. Pages 87-126 in: Cotton Diseases R.J. Hillocks, ed. C.A.B. International, Wallingford, UK.
- Bell A.A., Stipanovic R.D. and Puhalla J.E. 1976. Pentaketide metabolites of *Verticillium dahliae*: Identification of (+)-scytalone as a natural precursor to melanin. Tetrahedron 32:1353- 1356.
- Bell A.A and Wheeler M.H. 1986. Biosynthesis and functions of fungal melanins. Ann. Rev. Phytopathology 24:411-451.
- Ben-Yephet, Y.E. Siti, and Z.R. Frank. 1980. Control of *Verticillium dahliae* by metham-sodium in loessial soil and effect on potato tuber yields. Plant Dis.67:1223-1225.
- Bhat R.G. and Subbarao K.V. 1999. Host range specificity in *Verticillium dahliae*. Phytopathology 89:1218-1225.
- Bhat R.G., Smith R.F., Koike S.T., Wu B.M., Subbarao K.V. 2003. Characterization of *Verticillium dahliae* isolates and wilt epidemics of pepper. Plant Dis. 87:789-797.
- Blanco-Lopez M.A., Jimenez-Diaz R.M. and Caballero J.M. 1984. Symptomatology incidence and distribution of Verticillium wilt of olive-trees in Andalusia. Phytopath. Medit. 23:1-8.
- Blanco-Lopez M.A., J. Bejarano-Alcazar, J.M. Melero-Vara, and Jimenez-Diaz. R.M. 1989a. Current status of Verticillium wilt of cotton in Southern Spain. Pathogen variation AND population in soil. In: Vascular Wilt Diseases of Plants. E.C. Tjamos and C.H. Beckman, eds. NATO ASI Series, Vol. H28: 122-132. Springer-Verlag, pp. 590.
- Blanco-Lopez *et. al.* 1985a, M.A., R.M. Jimenez-Diaz, J.M.Melero-Vara, and J. Bejarano-Alcazar. 1989b. Integrated control of Verticillium wilt of cotton by soil solarization and tolerant cultivars. Pages 63-67 in: Biological Control of Plant Diseases. E.C. Tjamos, G.C

Papavizas, and R.J. Cook, eds, Plenum Press, New York.

Blanco-Lopez M.A., D. Rodriguez-Jurado and Jimenez-Diaz R.M. 1990. Incidence and seasonal variation of verticillium wilt in olive orchards. Page 5 in: Proc. 5th Internl. Verticillium Symposium. St Petersburg (RU).

**Blodgett E.C. 1964. Verticillium wilt of stone fruits in Washington. Washington Agr. Exp. Stat. Ins.Agr. Sci. Washington State Univ. Stat. Circular 425, pp. 9.**

Busch L.V., Smith E.A. and Njoh-Elango F. 1978. The effect of weeds on the value of rotation as a practical control for Verticillium wilt of potato. Can. Plant Dis. Surv. 58:61-64 (In Rev. Plant Pathol. 58:2383, 1979).

Calstrom, R.C. 1969. Survival of *Verticillium dahliae* in soil. Diss. Abstr., 30: 1980.

Chen W.D. 1994. Vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae* from ornamental woody plants. Phytopathology 84:214-219.

Cherrab M., Serrhini M.N. and Charest P.M. 2000. Characterization of Moroccan isolates of *Verticillium dahliae* Kleb. using RAPD markers. J. Phytopathology 148:243-249.

Christen, A.A. 1982a. A selective medium of isolating *Verticillium albo-atrum* from soil. Phytopathology 72: 47-49.

Cirulli, M. 1974. Infezioni locali da *Verticillium dahliae* Kleb. su foglie di pomodoro. Phytopath. Medit. 13:23-26.(In Italian, English summary).

Collins A., Okoli C.A.N., Morton A., Parry D., Edwards S.G. and Barbara D.J. 2003. Isolates of *Verticillium dahliae* pathogenic to crucifers are of at least three distinct molecular types. Phytopathology 93:364-376.

Correll, J.C. 1991. The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. Phytopathology 81: 1061-1064.

Dayyaf F., Nicole M. and Geiger J.P. 1995. Differentiation of *Verticillium dahliae* populations on the basis of vegetative compatibility and pathogenicity on cotton. Eur. F. Plant Pathol 101:69-79.

Dervis S., Erten L., Soyly S., Tok F.M. and Kurt S. 2007. Vegetative compatibility groups in *Verticillium dahliae* isolates from olive in western Turkey. Eur. F. Plant Pathol. 119:437-447.

Douhan L.I. and Johnson D.A. 2001. Vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium dahliae* from spearmint and peppermint. Plant Dis. 85:297-302.

Easton G.D., Nagle M.E. and Bailey D.L. 1969. *Verticillium albo-atrum* carried by certified seed potatoes into Washington and control by chemicals. Am. Potato J. 49:397-402.

- Emechebe A.M., Leaky C.L.A. and Banage W.B. 1975. Verticillium wilt of cocoa in Uganda: incidence and progress of infection in relation to time. East African Agriculture Forestry Journal 41:184-186.
- Emmatty, D.A, and Green Jr. R.J 1969. Fungistasis and the behavior of the microsclerotia of *Verticillium albo-atrum* in soil. Phytopathology 57: 810-811.
- Erwin D.C. 1981. Chemical control. Pages 563-594 in: Fungal Wilt Diseases of Plants. Mace M.E., Bell A.A., and Beckman C.H., eds. Academic Press. New York.
- Evans G. and Greeson A.C. 1973. Observation on the origin and the nature of *Verticillium dahliae* colonizing plant roots. Aust. J. boil. Sci. , 26: 151 - 161.
- Garber, R.H. 1973. Fungus penetration and development. In: Verticillium wilt of cotton. Pages 69-77 in: Proc.Work Conf., Aug.30-Sept.1, National Cotton Pathol. Research Lab., College Stn., Texas.
- Garber R.H. and Houston B.R. 1967. Penetration and development of *Verticillium albo-atrum* in the cotton plant. Phytopathology 56:1121-1126.
- Gerik, J.S. and Huisman. O.C. 1988. Study of field-grown cotton roots infected with *Verticillium dahliae* using an immunoenzymatic staining technique. Phytopathology 72:631-634.
- Goethal, M. 1971. *Varticillium dahliae* Kleb. An agent tracheomycosis of safflower in Morocco. Awamia 39:39-54. (In: Rev. Plant. Pathol 53:4082, 1974).
- Green, R.J. 1951. Studies on the host range of the *Verticillium* that causes wilt of *Mentha piperita* L. Science 113:207-208.
- Garett S.D. 1950. Ecology of the root-inhabiting fungi. Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc. 25:220-254.
- Gordon T.R., Duniway J.M., Paulus A.O., Vilchez M. and Westerlund F. 1997. The effect of chemical fumigants and cover crops on soilborne pathogens of strawberries in California. Page 82 in: Abstr. 7th Internl. Verticillium Symposium, Oct. 6-10, Athens, Hellas.
- Green R.J. Jr. 1980. Soil factors affecting survival of microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 70:353-355.
- Hall R. 1969. *Verticillium albo-atrum* and *V. dahliae* distinguished by acrylamide gel electrophoresis of proteins. Can. J. Bot. 47:2110-2111.
- Harris D.C. and Yang J.R. 1998. The relationships between the amount of *Verticillium dahliae* in soil and the incidence of strawberry wilt as a basis for disease risk prediction. Plant

Pathol. 45:106-114.

Harrison I. A.C. 1970. Host reactions involved in the recovery of apricot trees from *Verticillium* wilt. Austr. J. Biol. Sci. 23:1027-1032.

Huisman O.C. and Ashworth L.J., Jr. 1974a. Quantitative assessment of *Verticillium albo-atrum* in field soils procedural and substrate improvements. Phytopathology 64:1159-1163.

Huisman O.C. and Ashworth L.J. Jr. 1976a. Rotation is ineffective as *Verticillium* control. Calif. Agric. 30:14-15.

Isaac I. 1946. *Verticillium* wilt of sainfoin. Ann. Appl. Biol. 33:28-34.

Isaac I. 1949. A comparative study of pathogenic isolates of *Verticillium*: *V. nubilum* Pethybr. and *V. tricorpus* sp. nov. Trans. Br. Mycol. Soc. 32:137-157.

Isaac I. 1953a. A further comparative study of pathogenic isolates of *Verticillium*: *V. nubilum* Pethybr. and *V. tricorpus* sp. nov. Trans. Br. Mycol Soc. 36:180-195.

Jimenez-Diaz R.M., Mercado-Blanco J., Olivares-Garcia C., Collado-Romero M., Bejarano-Alcazar J. 2006. Genetic and virulence diversity in *Verticillium dahliae* populations infecting artichoke in eastern-central Spain. Phytopathology 96:288-298.

Karapapa V.K., Bainbridge B.W. and Heale J.B., 1997. Morphological and molecular characterization of *Verticillium longisporum* comb. Nov., pathogenic to oilseed rape. Mycological Research 101:1281-1294.

Klosterman S.J., Atallah Z.K., Vallad G.E. and Subbarao K.V. 2009. Diversity, Pathogenicity and Management of *Verticillium* species. Annu. Rev. Phytopathol. 47:39-62.

Koike M., Fujita M., Nagao H. and Oshima S. 1996. Random amplified polymorphic DNA analysis of Japanese isolates of *Verticillium dahliae* and *V. albo-atrum*. Plant Dis. 80:1224-1227.

Lopez-Escudero F.J. and Bianco-Lopez M.A. 1997. Control of *Verticillium* wilt by soil solarization in established olive orchards in Andalusia (Southern Spain), Page 84 in : Abstr. 7<sup>th</sup> Internl *Verticillium* Symposium, Oct. 6-10, Athens, Hellas.

Lopez-Escudero F.J. and Bianco-Lopez M.A. 2005. Recovery of young olive trees from *Verticillium dahliae*. Pathol. 113:367-375.

Μαλαθράκης Ν. 1983. Απολύμανση του εδάφους. Ηράκλειο Κρήτης, σελ. 31.

Malandraki I., Tjamos S.E., Pantelides I.S. and Paplomatas E.J. 2007. Thermal Inactivation of compost suppressiveness implicates possible biological factors in disease management. Biological Control 44:180-187.

- Markakis A.E., Tjamos S.E., Chatzipavlidis L, Antoniou P.P. and Paplomatas E.J. 2008. Evaluation of compost amendments against vascular wilt pathogens. *European Journal of Plant Pathology* 156:622-627.
- Markakis E.A., Tjamos S.E., Antoniou P.P., Paplomatas E.J. and Tjamos E.C. 2009. Symptom development, pathogen isolation and Real-Time QPCR quantification as factors for evaluating the resistance of olive cultivars to *Verticillium* pathotypes. *Eur. J. Plant Pathol.* 124:603-611.
- Martinson C. A. and Englander L. 1967. Use of growth rates at high temperatures to confirm identifications of *Verticillium albo-atrum* and *Verticillium dahliae*(Abstr.) *Phytopathology* 57:821.
- Nelson, P.E., and S. Wilhelm. 1953. Thermal death range of *Verticillium albo-atrum*. (Abstr.) *Phytopathology* 43:598.
- Okoli C.A.N., Carder J.H. and Barbara D.J.. 1993. Molecular variation and sub-specific groupings within *Verticillium dahliae*. *Mycol. Res.* 97:233-239.
- Okoli C.A.N., Carder J.H. and Barbara D.J.. 1994. Restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) and the relationships of some host-adopted isolates of *Verticillium dahliae*. *Plant Pathol.* 43:33-40.
- Pantelides I.S., Tjamos S.E. and Paplomatas E.J. 2009. Ethylene perception via ETR1 is required in *Arabidopsis* infection by *Verticillium dahliae*. *Mol. Plant Pathology* 11:191-202.
- Paplomatas E.J., Tjamos S.E., Malandrakis A.A., Kafka A. and Zouvelou V.S. 2005. Evaluation of composts amendments for suppressiveness against *Verticillium* wilt of eggplants and study of mode of action using a novel *Arabidopsis* pathosystem. *Eur. Plant Pathol.* 112:183-189.
- Parnis E.M. and Sackston W.E. 1979. Invasion of lupin seed by *Verticillium albo-atrum*. *Can. J. Bot.* 57:597-601.
- Pegg G.F. and Brady B.L. 2002. *Verticillium* wilts. New York: CABI Publishing. 432 pp.
- Perez-Artes E., Garcia-Pedrajas M., Bejarano-Alcazar J. and Jimenez-Diaz R. 2000. Differentiation of cotton-defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* by RAPD and specific PCR analyses. *Eur. J. Plant Pathol* 106:507-517.
- Petsikos-Panayotarou, N. 1980. Comportement d'un fungicide systemique après injection dans le tronc de l' Olivier afin de intter contre la Verticilliose. *Annls Inst. Phytopathol. Banaki (N.S.)* 12:227-235.
- Presley J.T., Cams H.R., Taylor E.E. and Schnathorst W.C. 1966. Movement of conidia of *Verticillium albo-atrum* in cotton plants. *Phytopathology* 56:375.

- Provvidenti R. and Schroeder W.T. 1959. Foliage infection of tomato and eggplant by *Verticillium*. Plant Dis. Rep. 43:821-826.
- Puhalla J.E. 1973. Differences in sensitivity of *Verticillium* species to ultraviolet irradiation. Phytopathology 63:1488-1492.
- Qin Q.-M., Vallad G.E., Wu B.M. and Subbarao K.V. 2006. Phylogenetic analyses of phytopathogenic isolates of *Verticillium* spp. Phytopathology 96:582-592.
- Riley M.K. and Bosland P.W. 1997. Host specificity of United States tomato and chile isolates of *Verticillium dahliae*. Capsicum & Eggplant Newsletter 16:98-100.
- Rodriguez-Jurado D., Bianco-Lopez M.A., Rapoport H.F. and Jimenez-Diaz R.M. 1993. Present status of *Verticillium* wilt of olive in Andalucia. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 23:513- 516.
- Rovira A.D. 1965. Plant root exudates. Bot. Rev. 35:35-37.
- Rowe R.C. and Powelson M.L. 2002. Potato early dying: management challenges in a changing production environment. Plant Dis. 86:1184-1193.
- Rudolph B.A. and Harrison G.J. 1944. The unimportance of cotton seed in the dissemination of *Verticillium* wilt in California. Phytopathology 34:849-860
- Sackston W.E. 1983. Epidemiology and control of seed-borne *Verticillium* spp. causing vascular wilt. Seed Sci. b&Technol. 11:731-747
- Schnathorst W.C. 1973. Nomenclature and physiology of *Verticillium* species, with emphasis on the *V. albo-atrum* versus *V. dahliae* controversy. Pages 1-19 in: *Verticillium* Wilt of Cotton. Proc. Work Conf., Aug. 30-Sept. 1, 1971, National Cotton Pathol. Research Lab. College Stn, Texas.
- Schuster, M.L. and Nuland. D.S.1960. Seed transmission of safflower *Verticillium* wilt fungus. Plant Dis. Rep. 44:901-903.
- Sewell G.W.F. and Wilson J.F. 1966. *Verticillium* wilt of the hop: the survival of *V. albo-atrum* Ann. appl. Biol. 58:241-249.
- Sheppard, J.W. and Needham. S.N.1980. *Verticillium* wilt of alfalfa in Canada: Occurrence of seed-borne inoculum. Can. J. Plant Pathol. 4 :109-114.
- Smith H.C. 1965. The morphology of *Verticillium albo-atrum*, *V. dahliae* and *V. tricorpus*. N.S. J. Agric. Res. 8:450-478.
- Smith V.L. and Rowe. R.C. 1984 . Characteristics and distribution of propagules of *Verticillium dahliae* in Ohio potato field soils and assessment of two assay methods .



Phytopathology 74:553-556.

Steventon L., Fahleson J., Hu Q., and Pixelius C. 2002. Identification of the causal agent of *Verticillium* wilt of winter oilseed rape in Sweden as *Verticillium longisporum*. Mycological Research 106:570-578.

Strausbaugh C.A. 1993. Assessment of vegetative compatibility and virulence of *Verticillium dahliae* isolates from Idaho potatoes and tester strains. Phytopathology 83:1253-1258.

Subbarao K.V., Hubbard J.C., Greathead A.S., Spencer G.A. 1997. *Verticillium* wilt: In Compendium of Lettuce Diseases, ed. Davis R.M., Subbarao K.V., Raid R.N., Kurtz E.A., pp. 26-27. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society.

Talboys, P.W. 1962. Systemic movement of some vascular pathogens (Abstr). Trans. British Mycology Society 45:280-281.

Talboys P.W. 1970a. Variations in the virulence of *Verticillium dahliae* from strawberry. Ann. Appl. Biol. 66:43-49.

Tjamos, E.C., Karapapas V., and Bardas. D. 1989. Low cost application of soil solarization in covered plastic houses for the control of *Verticillium* wilt of tomatoes in Greece. Acta Hort. 255:139-149

Τζάμος, Ε.Κ., Μπίρης Δ.Α., και Θανασουλόπουλος Κ.Κ. 1985. Αξιολόγηση ανθεκτικότητας υποκειμένων ελιάς στο μύκητα *Verticillium dahliae*. Σελίδες 24-25 στα Πρακτικά 4<sup>ου</sup> Πανελληνίου Φυτοπαθολογικού Συνεδρίου, 16-18 Οκτ., Βόλος.

Τζάμος Ε.Κ., 2004. Φυτοπαθολογία. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, σελ. 240-241.

Tolmsoff W.J. 1973. Life cycles of *Verticillium species*. Pages 20-38 in: *Verticillium Wilt of Cotton*. Proc. Work Conf., Aug. 30-Sept. 1, 1971, National Cotton Pathol. Research Lab., College Stn., Texas.

Tolmsoff W.J. and Young R.A. 1959. The influence of crop residues and fertilizer on the development and severity of *Verticillium* wilt of potatoes. (Abstr.) Phytopathology 49:114.

Tsrer L., Hazanovsky M., Mordechi-Lebiush S. and Sivan S. 2001. Aggressiveness of *Verticillium dahliae* isolates from different vegetative compatibility groups to potato and tomato. Plant Pathol. 50:477-482.

Usami T., Abiko M., Shishido M. and Amemiya Y. 2002. Specific detection of tomato pathotype of *Verticillium dahliae* by PCR assays. J. Gen. Plant Pathol. 68:134-140.

Vallad G.E., Bhat R.G., Koike S.T., Ryder E.J. and Subbarao K.V. 2005. Weedborne reservoirs and seed transmission of *Verticillium dahliae* in lettuce. Plant Dis. 89:317-324.

- Vallad G.E., Qin Q.M., Grube R., Hayes R.J. and Subbarao K.V., 2006. Characterization of race-specific interactions among isolates of *Verticillium dahliae* pathogenic on lettuce. *Phytopathol.* 96:1380-1387.
- Van der Meer, J.H.H. 1925 *Verticillium* wilt of herbaceous and woody plants. *Meded. Landb. Hoogeschool, Wageningen* 28:1-82. [Αναφερόμενος από Isaac (1946) και Selman & Buckley (1959a), βλέπε παραπάνω].
- Walker J.C. 1957. *Plant Pathology*. McGraw-Hill, ed. New York, pp. 707.
- Wheeler M.H. 1982. Melanin biosynthesis in *Verticillium dahliae*: Dehydration and reduction reactions in cell-free homogenates. *Experimental Mycology* 6:171-179.
- Wilhelm S. 1951a. Effect of various soil amendments on the inoculum potential of the *Verticillium* wilt fungus. *Phytopathology* 41:684-690.
- Wilhelm S. 1955. Longevity of the *Verticillium* wilt fungus in the laboratory and field. *Phytopathology* 45:180-181.
- Wilhelm S. 1956. A sand culture technique for the isolation of fungi associated with roots. *Phytopathology* 46: 293-295.
- Wilhelm S. 1981. Sources and genetics of host resistance in field and fruit crops. Pages 300-369 in: *Fungal Wilt Diseases of Plants*. M.E. Mace, A.A. Bell and C.H. Beckman, eds. Academic Press, New York.
- Xiao C.L., Schulbach K.F., Koike S.T. and Subbarao K.V. 1996. Effects of broccolli residue and temperature on *Verticillium dahliae* in soil. (Abstr.) *Phytopathology* 86:S27.
- Xiao C.L., Subbarao K.V., Schulbach K.F. and Koike S.T. 1998. Effects of crop rotation and irrigation on *Verticillium dahliae* microsclerotia in soil in wilt in cauliflower. *Phytopathology* 88:1108-1115.
- Χιτζανίδου Α. 1994. Προβλήματα από μυκητολογικές ασθένειες στα οπωροφόρα και την άμπελο. Σελίδες 19-27 στην: Εισήγηση στο 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο, 11-13 Οκτ. 1989, Θεσσαλονίκη.
- Zachos D.G. 1963. La verticilliose de Folivier en Grece. *Annls. Inst. Phytopath. Benaki (N.S.)*. 5:105-107.
- Zachos D.G. and Panagopoulos C.G. 1963. Une hadromycose de la vigne due au *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berth. *Annls Inst. Phytopath. Benaki (N.S.)* 5:303-304.
- Zare R., Gams W., Starink-Willemsse M., and Summerbell R.C. 2007. *Gibellulopsis*, a suitable genus for *Verticillium nigrescens*, and *Musciellium*, a new genus for *V. theobromae*. *Nova*

Hedwigia 85:463-489.

Zhengjun X., Benkang G., and Aiming W. 1996. Studies on biocontrol of Verticillium wilt of cotton by endophytic and rhizosphere bacteria. In: Wenhua T., Cook RJ. and Rovira A. (eds) Advances in Biological Control of Plant Diseases (pp 125-127) China Agricultural University Press, Beijing, China.

Zimmer, D.E. 1962. Verticillium wilt of safflower in the United States. A potential problem. Plant Dis. Rep. 46:665-666.