

**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

**ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΗΣ
ΤΕΦΡΑΣ ΣΗΨΗΣ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ
(*Botrytis cinerea*) ΜΕ ΖΥΜΕΣ “IN VIVO”**



**ΣΠΟΥΔΑΣΤΗΣ: ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΔΑΦΕΡΜΟΣ
ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: Δρ. ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΜΑΛΛΑΘΡΑΚΗΣ**

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2003

Η πτυχιακή αυτή εργασία αφιερώνεται στους γονείς μου, που με στήριξαν τόσα χρόνια στις σπουδές και μου παρείχαν πάντα, όλα όσα μου χρειαζόνταν, ώστε να παρακολουθώ απρόσκοπτα τα μαθήματα μου.

Θέλω να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Κο Ν. Μαλαθράκη, για την ανάθεση της εργασίας, την καθοδήγηση και τις πολύτιμες συμβουλές κατά τη διάρκεια του πειράματος, καθώς και για τις γνώσεις που απέκτησα στο διάστημα της συνεργασίας μας. Επίσης θέλω να ευχαριστήσω την Κα Μ. Φανουράκη για τις πολύτιμες συμβουλές της, την Κα Α. Κασελάκη για τη συνολική της βοήθεια καθώς και τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου με τα οποία συνεργάστηκα.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT ΣΦΑΛΜΑ! ΔΕΝ ΕΧΕΙ ΟΡΙΣΤΕΙ ΣΕΛΙΔΟΔΕΙΚΤΗΣ.	
1 ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	7
1.1 Εισαγωγή	7
1.2 Μορφολογία	8
1.3 Συμπτωματολογία	10
1.3.1 Λαιμός	10
1.3.2 Άνθη	10
1.3.3 Καρποί.....	11
1.3.4 Φύλλα.....	12
1.3.5 Στέλεχος.....	12
1.4 Κύκλος της ασθένειας.....	13
1.5 Επιδημιολογία	14
1.6 Παθογένεση.....	15
1.6.1 Βλάστηση.....	15
1.6.2 Διείσδυση.....	17
1.6.3 Εγκατάσταση.....	19
1.7 Παραγωγή και διασπορά των κονιδίων	20
1.8 Επιβίωση του παθογόνου.....	21
1.9 Πρόβλεψη επιδημίας.....	22
1.10 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της Τεφράς Σήψης της τομάτας.....	24
1.10.1 Μικροκλιματικοί παράγοντες	24
1.10.1.1 Θερμοκρασία.....	25
1.10.1.2 Σχετική υγρασία και διάρκεια διύγρανσης των φύλλων.....	26
1.10.1.3 Φωτισμός.....	27
1.10.1.4 Έδαφος και Νερό	28
1.10.2 Καλλιεργητικοί παράγοντες.....	28
1.10.3 Θρεπτικοί παράγοντες.....	29
1.10.3.1 Ανόργανος Φώσφορος	29
1.10.3.2 Σίδηρος.....	29
1.10.3.3 Μεταλλικά άλατα.....	30
1.10.3.4 Άζωτο	30
1.10.3.5 Ασβέστιο	30
1.10.4 Ορμονικοί παράγοντες.....	31
1.10.4.1 Αυξίνες.....	31
1.10.4.2 Γιββεριλλικό οξύ (GA ₃).....	31
1.10.4.3 Αμπισισικό οξύ (ABA)	32
1.10.4.4 Αιθυλένιο	32
1.10.5 Άλλες ουσίες	32
1.11 Καταπολέμηση	33
1.11.1 Καλλιεργητικά μέτρα.....	33
1.11.2 Ισορροπη Θρέψη.....	35
1.11.3 Χημική καταπολέμηση	36
1.11.4 Βιολογική Καταπολέμηση	37
1.11.4.1 Μηχανισμοί δράσης των ανταγωνιστών του <i>B. cinerea</i>	39

1.11.4.1.1	Συναγωνισμός σε θρεπτικά στοιχεία και χώρο	39
1.11.4.1.2	Παραγωγή αντιβιοτικών.....	40
1.11.4.1.3	Παρασιτισμός.....	40
1.11.4.1.4	Επαγωγή ανθεκτικότητας στο φυτό ξενιστή.....	41
1.11.4.1.5	Πολλαπλοί τρόποι δράσης	41
1.11.4.2	Βιολογικοί παράγοντες που δρουν ενάντια στο <i>B. cinerea</i>	41
1.11.4.2.1	Μύκητες	41
1.11.4.2.2	Ζύμες	44
1.11.4.2.3	Βακτήρια	48
1.11.4.2.4	Ιοί	50
1.11.4.3	Εκχυλίσματα	51
1.11.4.3.1	Εκχυλίσματα από φυτικούς ιστούς	51
1.11.4.3.2	Εκχυλίσματα από “composts”	52
1.11.4.4	Αναγκαίες πληροφορίες για προγράμματα βιολογικής καταπολέμησης	53
1.11.5	Ολοκληρωμένη καταπολέμηση.....	53
2	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	56
2.1	Εισαγωγή	56
2.2	Υλικά και Μέθοδοι.....	56
2.2.1	Χρόνος και τρόπος εφαρμογής των επεμβάσεων	58
2.2.1.1	Ημερομηνίες εφαρμογών	58
2.2.1.2	Τρόπος εφαρμογής	58
2.2.2	Καλλιεργητικές Φροντίδες.....	59
2.2.2.1	Καλλιεργητικές Εργασίες:	59
2.2.2.2	Άρδευση	60
2.2.2.3	Λίπανση.....	60
2.2.2.4	Καταπολέμηση Εχθρών και Ασθενειών	60
2.2.2.4.1	Ασθένειες	60
2.2.2.4.2	Έχθροί	61
2.2.3	Καλλιέργεια Ζυμομυκήτων	62
2.2.4	Παρασκευή Ψεκαστικού Αιωρήματος	62
2.2.5	Εκτίμηση Προσβολής	63
2.2.6	Πείραμα τοξικότητας των μυκητοκτόνων Topas και Katanga στις ζύμες του πειράματος.....	63
2.2.7	Πείραμα Ανθεκτικότητας του <i>B. cinerea</i> στα μυκητοκτόνα Scala και Ronval.....	64
2.3	Αποτελέσματα.....	65
2.4	Συζήτηση.....	68
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	70
	ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΕΣ ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΙΣ INTERNET	75

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τεφρά σήψη ονομάζεται η ασθένεια που προκαλείται από τον φυτοπαθογόνο μύκητα *Botrytis cinerea* ο οποίος είναι προαιρετικό παράσιτο και αναπτύσσεται τόσο στους διάφορους ξενιστές του, όσο και σαπροφυτικά στα οργανικά υποστρώματα όπως τα φυτικά υπολείμματα.

Ο *B. cinerea* είναι ένα πολύ σημαντικό παθογόνο των φυτών. Έχει ένα πάρα πολύ μεγάλο εύρος ξενιστών και προσβάλλει πάνω από 250 είδη φυτών, συμπεριλαμβανόμενης και της τομάτας. Μπορεί να προσβάλλει όλα τα υπέργεια μέρη του φυτού όπως φύλλα, βλαστούς, άνθη, μπουμπούκια καθώς και καρπούς, βολβούς στους οποίους προκαλεί προ-μετασυλλεκτικές σήψεις.

Στην τομάτα τα συμπτώματα της ασθένειας γίνονται ορατά 7-8 ημέρες μετά την προσβολή η οποία ευνοείται από υψηλή υγρασία (Σ.Υ.>91%) και θερμοκρασίες 9-24°C. Στη χώρα μας παρατηρείται συνήθως από τέλη Νοέμβρη έως τις αρχές τις άνοιξης και θεωρείται ως μάστιγα των θερμοκηπίων. Την περίοδο αυτή επικρατούν στα μη θερμαινόμενα θερμοκήπια, ιδανικές συνθήκες για την εξάπλωση της.

Η καταπολέμηση της ασθένειας είναι αρκετά δύσκολη καθώς ο μύκητας αναπτύσσει εύκολα ανθεκτικότητα στα μυκητοκτόνα. Έτσι τα τελευταία χρόνια οι επιστήμονες έχουν στραφεί σε άλλες μεθόδους καταπολέμησης, όπως είναι η βιολογική και τα καλλιεργητικά μέτρα.

Στα πλαίσια λοιπόν της βιολογικής καταπολέμησης έχουν μελετηθεί, από πολλούς ερευνητές παγκοσμίως, διάφοροι μικροοργανισμοί. Οι έρευνες αυτές συνεχίζονται μέχρι σήμερα με ενθαρρυντικά σε αρκετές περιπτώσεις αποτελέσματα. Σήμερα κυκλοφορεί ευρύτατα στην παγκόσμια αγορά το σκεύασμα Trichodex, με δραστικό μικροοργανισμό το *T. harzianum* T39 για την καταπολέμηση της τεφράς σήψης στην τομάτα, στο αμπέλι κ.α.

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν να καθοριστεί η αποτελεσματικότητα της δράσης τεσσάρων ζυμών, στην καταπολέμηση της τεφράς σήψης της τομάτας. Στο πείραμα αυτό μια ζύμη έδωσε αποτελέσματα ανάλογα με το μυκητοκτόνο. Τα πειράματα αυτά πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Βιολογικής Καταπολέμησης Ασθενειών των Φυτών της Σ.Τ.Ε.Γ., του Τ.Ε.Ι. Κρήτης.

1 ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ολοένα αυξανόμενη καλλιέργεια της τομάτας (*Lycopersicon esculentum*), σε θερμοκήπια τα τελευταία είκοσι χρόνια στη χώρα μας, μετέτρεψε την τεφρά σήψη (Gray mould) σε μια από τις σοβαρότερες ασθένειες αυτής. Η ασθένεια προκαλείται από το μύκητα *Botrytis cinerea*, εμφανίζεται κυρίως κατά τη διάρκεια του χειμώνα και θεωρείται ως μάστιγα των θερμοκηπίων.

Το γένος *Botrytis* προκαλεί σοβαρές ασθένειες στα φυτά. Το σημαντικότερο του είδος είναι το *B. cinerea*, το οποίο έχει ένα πάρα πολύ μεγάλο εύρος ξενιστών αφού προσβάλλει πάνω από 250 είδη φυτών. Κάτω από ευνοϊκές κλιματικές και φυσιολογικές συνθήκες ο μύκητας είναι ικανός να προσβάλλει όλα τα είδη των δικότυλων φυτών, όπως κηπευτικά, καλλωπιστικά, οπωροφόρα δέντρα, αμπέλι, φυτά μεγάλης καλλιέργειας άλλα και τα μονοκότυλα εκτός από τα αγρωστώδη (Jarvis, 1977).

Ο *B. cinerea* έχει το μεγαλύτερο εύρος ξενιστών από όλους τους άλλους φυτοπαθογόνους μύκητες. Μπορεί να προσβάλλει όλα τα υπέργεια μέρη του φυτού όπως φύλλα, βλαστούς, άνθη, μπουμπούκια καθώς και καρπούς, βολβούς στους οποίους προκαλεί τόσο προσυλλεκτικές όσο και μετασυλλεκτικές σήψεις. Προσβάλλει ακόμη τους σπόρους και τα νεαρά φυτάρια κι είναι επικίνδυνος σε οποιοδήποτε στάδιο ανάπτυξης του φυτού. Στον Πίνακα 1 που ακολουθεί φαίνονται μερικά από τα φυτά και το αντίστοιχο φυτικό μέρος καθενός το οποίο μπορεί να προσβάλλει ο μύκητας.

Πίνακας 1. Φυτά και αντίστοιχα φυτικά μέρη καθενός τα οποία προσβάλλει ο *B. cinerea*.

Κηλίδωση ή μάρανση των φύλλων		Νέκρωση ή μάρανση του βλαστού	Κατάρρευση μπουμπουκιού ή μάρανση ανθέων	Σήψη καρπών ή βολβών
Αντίδι	Ορτανσία	Ανεμώννα	Βιολέτα	Αμπέλι
Βιολέτα	Πανσές	Γεράνι	Γεράνι	Βατόμouro
Γαριφαλιά	Παντζάρι	Καλέντουλα	Γλαδίολος	Κολοκυνθοειδή
Γεράνι	Πατάτα	Μυρτιά	Γλυκομπίζελο	Κρεμμύδι
Γογγύλι	Πεονία	Πεονία	Ζέρμπερα	Μελιτζάνα
Κολοκυνθοειδή	Πιπεριά	Ρείκι	Ηλιανθος	Μήλοειδη
Κρανιά	Ραδίκι	Σκυλάκι	Καπιφές	Μπανάνα
Κρεμμύδι	Σταυρανθή	Σπαράγγι	Κρανιά	Πιπεριά
Λάχανο	Τομάτα	Τομάτα	Ντάλια	Πυρηγόκαρπα
Μαρούλι	Τουλίπα	Τουλίπα	Πετούνια	Τομάτα
Μελιτζάνα		Τριανταφυλλιά	Τουλίπα	Τουλίπα
Μπιγκόνια		Φούξια	Τριανταφυλλιά	Φασόλι
Μυρτιά		Χρυσάνθεμο	Χρυσάνθεμο	Φράουλα

Ο μύκητας *B. cinerea* προκαλεί συμπτώματα όπως το κάψιμο των ανθέων, το σάπισμα των καρπών, η κατάρρευση και το σάπισμα των βλαστών, η κηλίδωση των φύλλων αλλά και το σάπισμα κονδύλων, σπαδικών, βολβών και ριζών (Agris 1996).

Αποτέλεσμα είναι τόσο η μείωση της παραγωγής, όσο και η υποβάθμιση της ποιότητας των προϊόντων από προσυλλεκτικές αλλά και μετασυλλεκτικές αλλοιώσεις.

1.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ

Ο μύκητας *Botrytis cinerea* Pers. ανήκει στην οικογένεια Moniliaceae, των Αδηλομυκήτων ή Ατελών μυκήτων. Όπως όλοι οι ατελείς έτσι και ο εν λόγω μύκητας έχει τέλεια μορφή η οποία είναι η *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetz. της οικογένειας Helotiaceae των Ασκομυκήτων. Η πλήρης ταξινόμηση του μύκητα φαίνεται στον Πίνακα 2 που ακολουθεί.

Πίνακας 2. Ταξινόμηση του *B. cinerea* στην τέλεια και ατελή του μορφή.

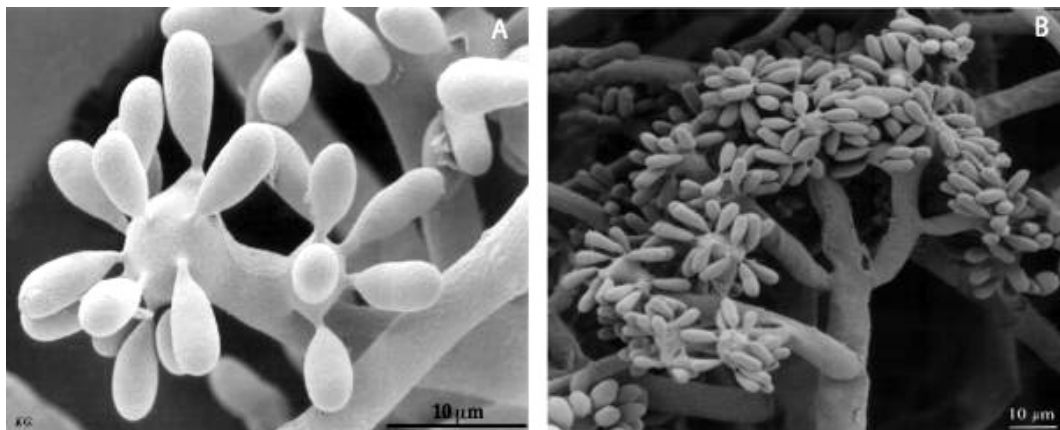
	Τέλεια μορφή	Ατελής μορφή
Βασίλειο	Μυκήτων	Μυκήτων
Άθροισμα	Ascomycota	Deuteromycota
Κλάση	Discomycetes	Hyphomycetes
Τάξη	Helotiales	Moniliales
Οικογένεια	Sclerotiniaceae	Moniliaceae
Γένος	<i>Botryotinia</i>	<i>Botrytis</i>
Είδος	<i>B. fuckeliana</i>	<i>B. cinerea</i>

Το μυκήλιο του μύκητα όταν είναι νεαρό είναι υαλόχροο ενώ το παλιό είναι γκρίζο και διογκωμένο κοντά στα septa. Οι κονιδιοφόροι έχουν χρώμα τεφρό, είναι επιμήκεις και διακλαδίζονται όπως ο βότρυς (Εικ. 1.Β). Στην άκρη των διακλαδώσεων σχηματίζονται τα κονίδια. Έτσι το γένος *Botrytis*, οφείλει το όνομα του στην ελληνική λέξη βότρυς, που υποδηλώνει ότι η καρποφορία του έχει τη διάταξη της ταξιανθίας του σταφυλιού.

Τα κονίδια έχουν σχήμα ωοειδές ή σφαιρικό, χρώμα τεφρό ή υαλώδες κι είναι μονοκύτταρα (Εικ. 1.Α) με διαστάσεις 9,7-11,1 x 7,3-8 μm (Stall 1997). Όταν οι κονιδιοφόροι ωριμάσουν απελευθερώνουν τα κονίδια με απλό τίναγμα, τα οποία ως ξηροσπόρια που είναι, μεταφέρονται σε μεγάλες αποστάσεις με τη βοήθεια του ανέμου ή με σταγόνες νερού.

Ο *B. cinerea* σχηματίζει πάνω ή μέσα στους ιστούς του ξενιστή, τα σκληρώτια, τα οποία είναι σκληρά, ανθεκτικά σώματα χρώματος καφέ ή μαύρου και σχήματος στρογγυλού ή ακανόνιστου. Το εσωτερικό τους είναι ανοιχτότερο

χρώματος και αποτελείται από πυκνή μάζα υφών του μύκητα. Το μέγεθος τους είναι μεγαλύτερο από 3mm στο μήκος, επί το πλείστον 5mm και μέγιστο τα 10mm. Συγκρινόμενα με τα σκληρώτια του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* είναι συνήθως μικρότερα και λεπτότερα.

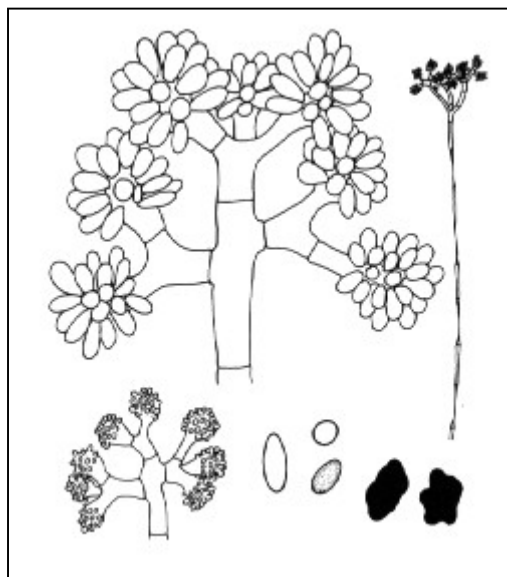


Εικόνα 1. Α. Κονίδια του μύκητα *Botrytis cinerea* πάνω σε κονιδιοφόρους.

Β. Κονιδιοφόρος ο οποίος φέρει κονίδια. Εικόνα από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Τα σκληρώτια κάτω από ευνοϊκές συνθήκες βλαστάνουν και δίνουν μυκήλιο ή κονιδιοφόρους. Πολύ σπάνια όμως κάτω από ειδικές συνθήκες μπορούν να δώσουν τα αποθήκια (Εικ. 2) που είναι εγγενής καρποφορίες του μύκητα. Τα αποθήκια έχουν χρώμα καστανό και σχήμα κυπέλλου με μίσχο. Πάνω σε αυτά υπάρχουν οι ασκοί, οι οποίοι είναι κυλινδρικοί έως ωσειδής, συχνά ανακατεμένοι με παραφύσεις. Τα ασκοσπόρια έχουν σχήμα ωσειδές και ελευθερώνονται βίαια από τους ασκούς.

Άλλο όργανο του μύκητα είναι τα απρεσσόρια τα οποία δημιουργούνται καμιά φορά από τα βλαστάνοντα κονίδια, στην επιφάνεια του φυτού ξενιστή, μετά από ερέθισμα κατά την επαφή των κονιδίων με αυτόν. Όταν η επιφάνεια του ξενιστή είναι μαλακή τότε δεν σχηματίζονται απρεσσόρια. Η μορφή τους ποικίλει από διογκωμένες έως πολυδιακλαδισμένες άκρες των βλαστικών υφών (Verhoeff, 1980). Αυτοί οι σχηματισμοί δημιουργούνται από επαναλαμβανόμενη διχοτομική διακλάδωση των άκρων των υφών.



Εικόνα 2. Πάνω και κάτω αριστερά φαίνεται κονιδιοφόρος του *B. cinerea*, κάτω δεξιά σκληρώτια και στη μέση κονίδια.

1.3 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

Ο μύκητας *B. cinerea*, όπως προαναφέρθηκε, προσβάλλει φυτά όλων των ηλικιών και σχεδόν όλα τα μέρη αυτών. Τα συμπτώματα γίνονται ορατά 7-8 ημέρες μετά την προσβολή η οποία ευνοείται από υψηλή υγρασία (Σ.Υ.>91%) και θερμοκρασίες 9-24°C.

Η προσβολή μπορεί να εκδηλωθεί από τα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυτών με τη μορφή τήξεως των σπορείων. Όμως συχνότερα εμφανίζεται σε ανεπτυγμένα φυτά, ιδίως δε αν αυτά έχουν εξασθενημένους ή ξηρούς ιστούς. Ιδιαίτερα ευαίσθητοι είναι οι καρποί, τους οποίους μπορεί να προσβάλει προσυλλεκτικά ή μετασυλλεκτικά, με αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής και την υποβάθμιση της ποιότητας. Οι μολύνσεις ξεκινούν συνήθως από τα άνθη και σταδιακά επεκτείνονται στους καρπούς, τα φύλλα και τα στελέχη.

1.3.1 Λαιμός

Οι πρώτες προσβολές εμφανίζονται συνήθως στο λαιμό των νεαρών φυταρίων του σπορείου. Οι προσβεβλημένοι ιστοί μαλακώνουν, φαίνονται σαν λιωμένοι και συρρικνώνονται. Σχηματίζεται έτσι ένα χαρακτηριστικό ξηρό έλκος στο λαιμό του φυταρίου, χρώματος μπέζ, που καλύπτεται από γκρίζο χνούδι. Εν συνεχεία οι ιστοί νεκρώνονται και καλύπτονται τελείως από την χαρακτηριστική πυκνή εξάνθηση του μύκητα.

Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα φυτά να μαραίνονται, να διπλώνουν, να πέφτουν στο έδαφος και τελικά να ξεραίνονται. Προσβολή σπανιότερα παρατηρείται και σε σημεία πάνω από το λαιμό του φυταρίου με τα ίδια συμπτώματα.

Αμέσως μετά τη μεταφύτευση, συμπτώματα παρόμοια με αυτά του σπορείου παρατηρούνται στα νεαρά φυτά. Τα προσβεβλημένα από την τεφρά σήψη φυτά εμφανίζουν μαλακό, αφυδατωμένο και συρρικνωμένο λαιμό χρώματος καστανού και τελικά νεκρώνονται.

1.3.2 Άνθη

Τα άνθη λόγω του ότι είναι ανοιχτά, προσβάλλονται πολύ εύκολα από την τεφρά σήψη. Πρώτα προσβάλλονται τα σέπαλα και πολύ σύντομα ολόκληρο το άνθος το οποίο αποκτά ένα χρυσοκάστανο χρώμα και νεκρώνεται (Εικ. 3). Τα νεκρά άνθη συχνά αποικίζονται από μύκητες του γένους *Penicillium spp.* Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε σύγχυση σχετικά με το πραγματικό παθογόνο αίτιο.

Η μόλυνση ενός άνθους σιγά σιγά επεκτείνεται και στα υπόλοιπα της ταξιανθίας αλλά και μέσω αυτής στον κεντρικό βλαστό του φυτού. Όμως και από μολυσμένα

ανθικά μέρη μπορεί να μολυνθούν καρποί και φύλλα ενώ η γύρη μπορεί να δράσει ως διεγερτικό της βλάστησης των κονιδίων αλλά ή να αυξήσει τη μολυσματικότητα του παθογόνου.

1.3.3 Καρποί

Η μόλυνση στους καρπούς συνήθως ξεκινά από τα νεκρά υπολείμματα του άνθους, τα σέπαλα και τα πέταλα, αλλά και από το σημείο πρόσφυσης του ποδίσκου στον καρπό. Πολύ συχνά βέβαια η προσβολή μπορεί να αρχίσει από το σημείο επαφής δύο καρπών ενώ σπανιότερα από πληγές της επιδερμίδας του καρπού.

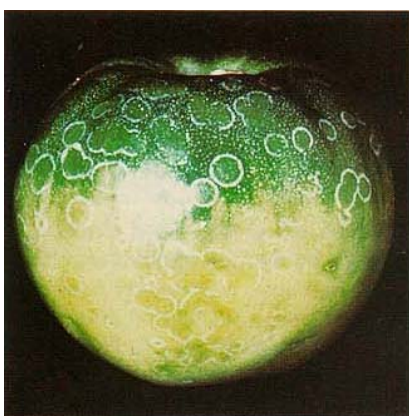
Ο *B. cinerea* προκαλεί στους καρπούς τυπικές σήψεις. Αρχικά εμφανίζονται κηλίδες ανοιχτού πράσινου χρώματος που εξελίσσονται σε καστανές (Εικ. 3). Οι ιστοί του γίνονται μαλακοί ενώ η επιδερμίδα συχνά σχίζεται. Η κηλίδα καλύπτεται από την πυκνή, τεφρού χρώματος εξάνθηση του μύκητα και αποτελεί σοβαρό μόλυσμα για την επέκταση της ασθένειας μέσα στο θερμοκήπιο. Σταδιακά η κηλίδα επεκτείνεται σε ολόκληρο τον καρπό ο οποίος μουμιοποιείται και μπορεί να πέσει στο έδαφος.



Εικόνα 3. Προσβολή από τεφρά σήψη σε άνθη και καρπούς τομάτας.

Τεφρού χρώματος εξάνθηση του μύκητα και αποτελεί σοβαρό μόλυσμα για την επέκταση της ασθένειας μέσα στο θερμοκήπιο. Σταδιακά η κηλίδα επεκτείνεται σε ολόκληρο τον καρπό ο οποίος μουμιοποιείται και μπορεί να πέσει στο έδαφος.

Ένα άλλο σύμπτωμα το οποίο εμφανίζεται στους καρπούς της τομάτας είναι οι κηλίδες φάντασμα (ghost spots). Πρόκειται για λευκοπράσινους δακτυλίους που εμφανίζονται στην επιφάνεια των πράσινων καρπών και έχουν διάμετρο 3-8mm ενώ μερικές φορές μπορεί να συνενωθούν και να γίνουν μεγαλύτεροι (Εικ. 4). Στο κέντρο του δακτυλίου υπάρχει συνήθως ένα νεκρωτικό στίγμα που θυμίζει νύγμα εντόμου. Το σύμπτωμα αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι μετά την βλάστηση του κονιδίου στην επιφάνεια του καρπού, την είσοδο του βλαστικού σωλήνα εντός του καρπού ακολουθεί θάνατος του μυκηλίου. Αυτό συμβαίνει όταν μετά από υγρές και ψυχρές συνθήκες ακολουθήσει ζεστός και ηλιόλουστος καιρός (Macnab *et al.*, 1986).



Εικόνα 4. Κηλίδες φάντασμα σε καρπό τομάτας.

εντός του καρπού ακολουθεί θάνατος του μυκηλίου. Αυτό συμβαίνει όταν μετά από υγρές και ψυχρές συνθήκες ακολουθήσει ζεστός και ηλιόλουστος καιρός (Macnab *et al.*, 1986).

Η μόλυνση γίνεται όταν ο καρπός έχει διάμετρο 1,5-3cm αλλά η πλήρης εμφάνιση της ασθένειας συμβαίνει στο τελευταίο στάδιο ανάπτυξης του πράσινου καρπού (Stall, 1997). Στους ώριμους κόκκινους καρπούς ο δακτύλιος αυτός παίρνει κίτρινη απόχρωση. Οι κηλίδες αυτές, μπορεί να είναι πολλές, αλλά ουδέποτε καταλήγουν σε σήψη και οι καρποί δεν αλλοιώνονται. Βέβαια υποβιβάζεται σαφώς η εμφάνιση κι η εμπορευσιμότητα τους μειώνοντας τελικά έμμεσα την παραγωγή.

1.3.4 Φύλλα



Εικόνα 5. Φύλλα τομάτας προσβλημένα από τεφρά σήψη.

Οι προσβολές της ασθένειας στα φύλλα, συχνά αρχίζουν από γηρασμένους ιστούς ή από σημεία τραυματισμένα τόσο από φυσικούς όσο και χημικούς παράγοντες. Αν προσβληθεί κάποιο φυλλίδιο η κηλίδα σταδιακά επεκτείνεται και στα υπόλοιπα φυλλίδια του σύνθετου φύλλου, στο μίσχο και από εκεί στο στέλεχος του φυτού.

Η προσβολή στα φύλλα εμφανίζεται αρχικά σαν κηλίδα η οποία έχει ανοιχτό πράσινο

χρώμα. Αργότερα οι κηλίδες αποκτούν πρασινοκίτρινο χρώμα, οι ιστοί μαλακώνουν, σαπίζουν και κρέμονται (Εικ. 5). Συχνά αναπτύσσεται η τεφρά εξάνθηση του μύκητα η οποία καλύπτει την κηλίδα.

1.3.5 Στέλεχος

Το στέλεχος της τομάτας μπορεί να προσβληθεί λόγω επέκτασης της σήψης από μια ταξιανθία ή ένα φύλλο. Όμως αρκετά συχνά η προσβολή αρχίζει από πληγές του κλαδέματος και του δεσίματος στις οποίες είτε εισέρχονται οι υφές με διείσδυση είτε τα κονίδια του μύκητα στα αγγεία του ξύλου, όταν η αγγειακή πίεση είναι μικρότερη της ατμοσφαιρικής (Wilson 1966). Μάλιστα όσο μεγαλύτερο είναι το κομμάτι του μίσχου που μένει στο κλάδεμα και όσο πιο ανώμαλη είναι η τομή τόσο ευκολότερη είναι η προσβολή του από το μύκητα (Macnab *et al.*, 1986).



Εικόνα 6. Συμπτώματα τεφράς σήψης σε στέλεχος, φύλλα και άνθη τομάτας.

Στο σημείο της προσβολής του στελέχους δημιουργείται έλκος το οποίο έχει καστανό χρώμα και επεκτείνεται σταδιακά τόσο κατά μήκος όσο και γύρω από τον βλαστό, κυκλικά συνήθως (Εικ. 6). Το έλκος καλύπτεται γρήγορα από πυκνή γκρίζα εξάνθηση, περιβάλλει ολόκληρο το βλαστό και νεκρώνει το υπερκείμενο κομμάτι του φυτού. Έτσι ανάλογα με το ύψος στο οποίο θα εμφανιστεί η κηλίδα το φυτό μπορεί να ξεραθεί τελείως, το μισό ή μόνο η κορυφή του.

Σε κάθε περίπτωση βέβαια η ζημιά είναι πολύ σημαντική, επεκτείνεται και οδηγεί το φυτό στο θάνατο. Ιδίως στις εντατικές καλλιέργειες, λόγω της ταχείας επέκτασης της ασθένειας, μπορεί να νεκρωθεί μεγάλος αριθμός φυτών ή και να καταστραφεί τελείως η καλλιέργεια.

Οι κηλίδες στα φύλλα και στους βλαστούς συχνά έχουν ομόκεντρους κύκλους λόγω των απότομων διακυμάνσεων της υγρασίας. Αυτό το σύμπτωμα μοιάζει με την αλτερναρίωση (*Alternaria solani*) με τη διαφορά ότι οι κηλίδες της τεφράς σήψης βρίσκονται σε φύλλα κάθε ηλικίας και έχουν γκρίζο χρώμα ενώ αυτές της αλτερναρίωσης μόνο σε παλιά και έχουν καστανό χρώμα.

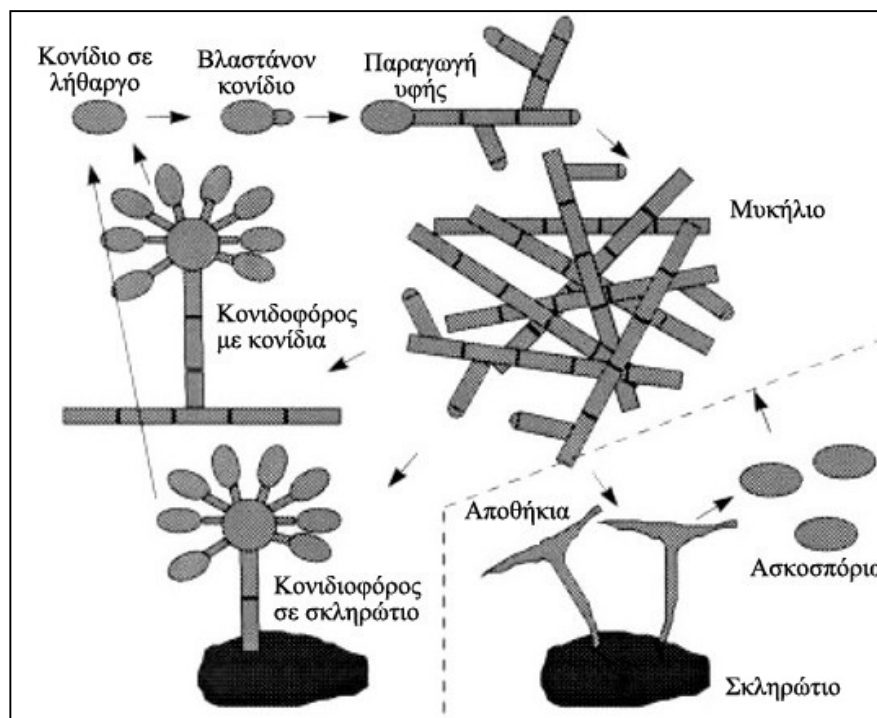
Πειραματική εργασία του Wilson (1966) έδειξε ότι οι βλαστοί νεαρών φυτών τομάτας είχαν υψηλή ανθεκτικότητα στις προσβολές του μύκητα ενώ με την αύξηση της ηλικίας γινόταν όλο και πιο ευαίσθητοι στην ασθένεια. Η ανθεκτικότητα αυτή οφείλεται στον περιορισμό της ανάπτυξης του μυκηλίου, λόγω μεγάλης κατανάλωσης θρεπτικών στοιχείων από τους ιστούς αφού η αύξηση τους είναι ταχεία. Η μετάβαση από την ανθεκτική στην ευαίσθητη φάση επιταχύνεται από πολλούς παράγοντες όπως η υψηλή εδαφική υγρασία και ο περιορισμός της ανάπτυξης των ριζών.

1.4 ΚΥΚΛΟΣ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ

Ο *B. cinerea* επιβιώνει κάτω από αντίξοες συνθήκες, πολύ υψηλές ή πολύ χαμηλές θερμοκρασίες με τη μορφή σκληρωτίων. Τα σκληρώτια του μύκητα μπορούν να παραμένουν ζωντανά για αρκετά χρόνια, τουλάχιστον δύο, στο έδαφος ή στα φυτικά υπολείμματα. Ο μύκητας μπορεί επίσης να διατηρείται για μεγάλα χρονικά διαστήματα με το μυκήλιο και τα κονίδια στους νεκρούς φυτικούς ιστούς.

Τα σκληρώτια όταν βρεθούν κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες κυρίως υγρασίας και θερμοκρασίας βλαστάνουν και παράγουν άφθονο γκρίζο μυκήλιο και μακριούς διακλαδιζόμενους κονιδιοφόρους. Οι κονιδιοφόροι φέρουν τα κονίδια τα οποία διασκορπίζονται εύκολα με τον άνεμο ή το νερό και

προσβάλλουν τα φυτά ξενιστές. Τα κονίδια βλαστάνουν, διατρυπών τους ιστούς κυρίως από πληγές ή μετά από ανάπτυξη για μικρό χρονικό διάστημα και παράγουν μυκήλιο στα προσβλημένα μέρη του φυτού.



Εικόνα 7. Βιολογικός κύκλος του μύκητα *Botrytis cinerea*.

Έτσι η αρχική μόλυνση των φυτών γίνεται από τις βλαστικές υφές των κονιδίων τα οποία διαχέισαν είτε σαπροφυτικά σε νεκρά φυτικά υπολείμματα είτε αναπτύχθηκαν πάνω σε σκληρώτια. Από τις προσβολές αυτές αναπτύσσεται νέο μυκήλιο το οποίο είτε θα δώσει νέους κονιδιοφόρους είτε σκληρώτια. Πάνω στα σκληρώτια σπάνια αναπτύσσονται αποθήκια.

Ο κύκλος της ασθένειας στη θερμοκρασία των 20°C διαρκεί 95 ώρες περίπου δηλαδή τέσσερις μέρες. Από αυτές η βλάστηση των κονιδίων είναι 5 ώρες, η διάρκεια της προσβολής 15 ώρες κι η ανάπτυξη του μυκηλίου και η παραγωγή των σπορίων του μύκητα 75 ώρες.

Τα σπόρια του μύκητα την πρώτη μέρα μετά την παραγωγή τους έχουν βλαστικότητα 100% η οποία σταδιακά μειώνεται για να φτάσει 35 μέρες μετά μόλις το 1% (www.grofert.com/sw_11115.asp).

1.5 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Ο *B. cinerea* είναι προαιρετικό παράσιτο, το οποίο αναπτύσσεται τόσο στους διάφορους ξενιστές του, όσο και σαπροφυτικά σε οργανικά υποστρώματα όπως τα φυτικά υπολείμματα. Μπορεί να παράγει 60.000 ή και περισσότερα κονίδια σε ένα κομματάκι φυτικού ιστού ίσο με το μικρό νύχι ενός ανθρώπινου χεριού.

Οι μολύνσεις ξεκινούν με τα κονίδια τα οποία παράγονται στα σημεία στα οποία διαχειμάσε ο μύκητας ή στις πρωτογενείς εστίες και μεταφέρονται εύκολα με τον άνεμο, τις σταγόνες της βροχής, το νερό του ποτίσματος και με άλλα μηχανικά μέσα. Ο μύκητας θεωρείται ως παράσιτο αδυναμίας καθώς εισέρχεται στα φυτά κυρίως από πληγές, όμως κάτω από ευνοϊκές συνθήκες μπορεί να προσβάλλει υγιείς φυτικούς ιστούς με απευθείας διάτρηση της επιδερμίδας.

1.6 ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ

Ο *B. cinerea* μπορεί να προσβάλλει ένα πολύ μεγάλο εύρος φυτών ξενιστών χωρίς φαινομενική εξειδίκευση. Οι υγιείς ιστοί μπορεί να προσβληθούν διαμέσου της επιδερμίδας λόγω της έκκρισης από το μύκητα εξωκυτταρικών ενζύμων τα οποία εμπλέκονται στην παθογένεση (Kusters-van Someren *et al.*, 1992). Ακόμη προσβάλλονται διαμέσου αλλοιωμένων ή νεκρών ιστών, στομάτων, πληγών και τριχιδίων που υπάρχουν στις φυτικές επιφάνειες.

Η προσβολή από το μύκητα περιλαμβάνει τρεις φάσεις, όπως ακριβώς και στους άλλους μύκητες, τη βλάστηση των κονιδίων, τη διείσδυση και την εγκατάσταση του μύκητα στους ιστούς του ξενιστή (Goodman *et al.*, 1986).

1.6.1 Βλάστηση

Τα κονίδια του μύκητα εναποτίθενται στα σημεία της προσβολής του φυτού και διατηρούνται εκεί για πάνω από 12 εβδομάδες πριν να βλαστήσουν (Jarvis, 1989). Για την γρήγορη βλάστηση τους χρειάζονται ένα λεπτό στρώμα νερού, ενώ οι βλαστικές υφές αναπτύσσονται ανεξάρτητα από την σχετική υγρασία του περιβάλλοντος (Care *et al.*, 1984).

Τα κονίδια προσκολλώνται στην επιφάνεια του φυτικού ιστού και προσλαμβάνουν υδατοδιαλυτές θρεπτικές ενώσεις που βρίσκονται πάνω σε αυτήν. Οι ενώσεις αυτές συνήθως προέρχονται από εκκρίσεις του φυτού ή εξωτερικές πηγές όπως οι χημικές επεμβάσεις, η γύρη, οι μελιτώδεις εκκρίσεις π.χ. εντόμων, οι αποσυντιθεμένοι ιστοί και το νεκρό φυτικό υλικό. Από αυτές τις ουσίες εξαρτάται κατά πολύ η προσβολή και η ικανότητα του μύκητα να προσβάλλει ακόμη και υγιείς ιστούς. Τέτοιες ουσίες είναι τα ελεύθερα άλατα, τα αμινοξέα, οι ρυθμιστές αύξησης και οι βιταμίνες που υπάρχουν στα φυτικά τμήματα.

Όταν τα κονίδια βρεθούν σε νερό, η βλάστηση τους στους 22°C ξεκινά μετά από 4 ώρες επώασης. Το 50% των κονιδίων βλαστάνει μετά από 7 ώρες και το

95% στις 11 ώρες. Αν τα κονίδια κατά τη διάρκεια της βλάστησης στεγνώσουν η διαδικασία σταματά (Yunis *et al.*, 1990).

Τα κονίδια απουσία ελεύθερου νερού για να βλαστήσουν χρειάζονται 30 ώρες επώασης σε σχετική υγρασία (Σ.Υ.) 100% ενώ σε Σ.Υ. μικρότερη του 95% η βλάστηση καθυστερεί τουλάχιστον 52 ώρες (Yunis *et al.*, 1990). Η προσβολή μειώνεται πάρα πολύ όταν η Σ.Υ. πέφτει στο 30% έστω και για πολύ σύντομο χρονικό διάστημα. (Alderman *et al.*, 1985).

Αναστολή της βλάστησης των κονιδίων μπορεί να συμβεί από διάφορες αιτίες. Αυτές είναι τοξικές ουσίες που απελευθερώνει το φυτό, αναστολή από την φυλλική επιφάνεια της μικροχλωρίδας, ανταγωνισμός με τη φυλλική επιφάνεια της χλωρίδας για θρεπτικά στοιχεία και τέλος η ηλικία των κονιδίων κι ο αριθμός τους ανά ml μολυσματικής σταγόνας.

Παρεμπόδιση της βλάστησης των κονιδίων του *B. cinerea* παρατηρείται συχνά, όπως και στα κονίδια άλλων μυκήτων, όταν είναι πολλά μαζί. Τα κονίδια του μύκητα τυπικά δεν θα βλαστήσουν σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες ή ίσες των 10^6 κονίδια ανά ml, αλλά η ακριβής συγκέντρωση στην οποία θα παρατηρηθεί αυτό εξαρτάται από τη θρεπτική κατάσταση και την ηλικία των κονιδίων. Έτσι σε αιώρημα *B. cinerea* με συγκέντρωση κονιδίων 10^6 /ml που επώαστηκαν για 17 ώρες και μετά φυγοκεντρήθηκαν, για να απομακρυνθούν όλα τα κονίδια, το 95% αυτών δεν είχαν βλαστήσει (Shaprock, 2000).

Τα κονίδια του *B. cinerea* όταν βλαστήσουν παράγουν μία ή περισσότερες βλαστικές υφές διαδοχικής και ποικίλης ανάπτυξης που οφείλεται σε διάφορους παράγοντες (Cole *et al.*, 1996). Έτσι βρέθηκε από τους ίδιους ερευνητές ότι ξηρά κονίδια του μύκητα σε φύλλα κουκιού παρήγαγαν κοντές υφές οι οποίες ήταν πολύ στενά προσκολλημένες στο υπόστρωμα και ικανές να διεισδύσουν κατευθείαν στους ιστούς του ξενιστή.

Όταν όμως τα κονίδια του μύκητα βλαστάνουν σε φύλλα τομάτας, οι βλαστικές του υφές ακολουθούν τους αντικλινείς, θολωτούς συνδέσμους των κυτταρικών τοιχωμάτων πριν τη δημιουργία των απρεσορίων (Verhoeff, 1980). Οι αναπτυσσόμενες βλαστικές υφές περιέχονται σε ένα στενό περίβλημα το οποίο τις καθιστά ικανές να προσκολληθούν σε φυσικά υποστρώματα (Kunoh *et al.*, 1991). Έχει αποδειχτεί ότι το στενό αυτό περίβλημα αποτελείται από ένα δίκτυο πρωτεϊνικών ινιδίων.

1.6.2 Διείσδυση

Μετά τη βλάστηση των κονιδίων ακολουθεί η διείσδυση η οποία είναι η φάση μεταξύ της επιφανειακής ανάπτυξης του μύκητα και του σχηματισμού ενδοκυτταρικής αλλοίωσης των ιστών του ξενιστή. Σε αυτήν την φάση αναπτύσσονται οι βλαστικές υφές του μύκητα οι οποίες μπορούν είτε να διεισδύσουν απευθείας στον φυτικό ιστό είτε σχηματίζοντας απρεσσόρια. Η παραγωγή των απρεσσορίων κι η είσοδος τους μέσω των στομάτων στους μεσοκυττάριους χώρους αναφέρθηκε από τον Elad (1988).

Οι πληγωμένοι ιστοί του φυτού κι η παρουσία νεκρών κυττάρων στα σημεία προσβολής διευκολύνουν αρκετά την είσοδο των υφών του μύκητα στους μεσοκυττάριους χώρους. Η διαδικασία της διείσδυσης διαρκεί 2-3 ώρες και μαζί με την βλάστηση που διαρκεί 7 ώρες είναι οι φάσεις που το παθογόνο είναι εκτεθειμένο στις περιβαλλοντικές επιδράσεις δηλαδή στο σύνολο για 9-10 ώρες.

Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της διείσδυσης, παρατηρούνται με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο οι ακόλουθες διαφοροποιήσεις : α) η επιδερμίδα αποσυντίθεται περισσότερο (Verhoeff, 1980), β) τα κυτταρικά τοιχώματα μαλακώνουν λόγω της αποσύνθεσης της πηκτίνης (Puchen-Planté & Mercier, 1983) και τέλος γ) λαμβάνει χώρα το αδυνάτισμα των επιδερμικών κυτταρικών τοιχωμάτων (Pie and De Leeuw, 1991). Τις πρώτες ώρες της διείσδυσης μπορεί να συμβαίνει συγχρόνως η πλασμólυση των κυττάρων κι η είσοδος των υφών.

Κατά τη διάρκεια της διείσδυσης του *B. cinerea* παράγονται διάφορα ένζυμα, όπως οι πηκτινάσες, τα οποία αποικοδομούν τους φυτικούς ιστούς παίζοντας σημαντικό ρόλο στην είσοδο του μύκητα στους μεσοκυττάριους χώρους. Τα ένζυμα αυτά ονομάζονται ένζυμα αλλοίωσης των κυτταρικών τοιχωμάτων (cell wall degrading enzymes, CWDE) και η παραγωγή τους αυξάνεται ιδιαίτερα στην φάση παραγωγής των κονιδίων (Have, 2000). Έχουν τέσσερις πιθανούς τρόπους δράσης:

- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα κι ως εκ τούτου διευκολύνουν την ενδοκυτταρική ανάπτυξη του μύκητα.
- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα εφοδιάζοντας το μύκητα με θρεπτικά στοιχεία.
- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα μειώνοντας την ισχύ του για αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο.
- Αλλοιώνουν το κυτταρικό τοίχωμα με αποτέλεσμα να παράγονται τοξίνες ή άλλες ουσίες που προκαλούν τον κυτταρικό θάνατο (Have, 2000).

Η έκκριση των ενζύμων της πηκτινάσης συμβαίνει νωρίτερα κατά τη διάρκεια της βλάστησης των κονιδίων αλλά και από τις νεαρές βλαστικές υφές και μαζί με τα ένζυμα της χητινάσης παίζουν ένα πολύ σημαντικό ρόλο στα πρώτα στάδια της διείσδυσης των φυτικών ιστών (Salinas, 1992). Τα ένζυμα που εκκρίνει ο *B. cinerea* και ο πιθανός ρόλος τους στην αλληλεπίδραση με τον ξενιστή, φαίνονται στον Πίνακα 3 που ακολουθεί.

Πίνακας 3. Ένζυμα τα οποία εκκρίνει ο *B. cinerea* και πιθανή αλληλεπίδραση τους με τον ξενιστή.

ΟΥΣΙΑ	ΈΝΖΥΜΑ	ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ
Χητίνη (Εφυμενίδα)	Χητινάση	Salinas, 1990,1992
Πηκτίνη (Κυτ. τοίχωμα)	Πολυγαλακτουρονάσες	Leone, 1990
	Πηκτινάσες	Heale, 1992
	Πηκτινικές μεθυλεστεράσες	Marcus and Schejter, 1983
Πρωτεΐνη (Κυτ. τοίχωμα)	Όξινη πρωτεϊνάση	Movahedi and Heale, 1990
Φαινόλες	Λακκάση	Marbach et al., 1984
β(1-3)γλουκάνες	β(1-3)γλουκανάση	Dubourdieu, 1978
Κυτταρίνη	Κυτταρινάσες	Verhoeff and Warren, 1972
Φωσφολιπίδια (Μεμβράνες)	Φωσφολιπάση,	Shepard and Pitt, 1976
	Φωσφολιπιδάση,Λιπάσες	Tseng et al., 1970
		Trofimenko et al., 1975

Οι πολυγαλακτορουνάσες (PGs) διαλύουν την πηκτίνη. Από αυτές το ένζυμο PG2 που αναγνωρίστηκε βρέθηκε ότι έχει διπλό ρόλο στην διείσδυση του μύκητα. Πρώτον στην προώθηση της διάτρησης των πρώτων κυτταρικών τοιχωμάτων και δεύτερον στο ξεκίνημα της αλυσιδωτής παραγωγής άλλων ενζύμων τα οποία παίρνουν μέρος στον καταβολισμό της πηκτίνης. Η παρουσία εξάλλου πολλαπλών ισομόρφων των PGs σχετίζεται με το προωθημένο στάδιο προσβολής, που το φυτικό υλικό έχει αποικοδομηθεί και αποσυντεθεί από το μύκητα (Leone, 1992).

Συνάμα έχει βρεθεί ότι η εφαρμογή μιας πρωτεΐνης, της ενδοπολυγαλακτουρονασικής ανασταλτικής πρωτεΐνης (PGIP), σε τομάτες είχε αποτέλεσμα την αύξηση της αντοχής τους στην τεφρά σήψη (Kan, 2003). Η πρωτεΐνη αυτή αναστέλλει τη δράση των PGs γι' αυτό και τα φυτά είχαν αυξημένη ανθεκτικότητα.

Ακόμη ο μύκητας παράγει διάφορες τοξίνες οι οποίες θεωρούνται πολύ σημαντικές για την παθογένεση αλλά ο ρόλος τους δεν έχει ακόμη ξεκαθαρίσει. Ο *B. cinerea* στα πρώτα στάδια της βλάστησης των κονιδίων παράγει κάποια τοξίνη η οποία τον καθιστά ικανό να νεκρώνει τα κύτταρα του ξενιστή. Άλλες ουσίες με πιθανή τοξική δράση είναι το οξαλικό οξύ και η θειουρία η οποία παράγεται από

τον μύκητα και προκαλεί χλώρωση και μάρανση σε φυτά τομάτας (Verhoeff, 1980). Μερικές από τις τοξίνες αυτές φαίνονται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4. Τοξίνες τις οποίες εκκρίνει ο μύκητας *B. cinerea*.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΕΚΚΡΙΝΟΜΕΝΕΣ ΟΥΣΙΕΣ	ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ
Πολυσακχαρίτες	Γλυκάνες	Dubourdieu, 1978
	Ραμνο-γαλακτο-μαννάνες	Aksenova, 1962
		Kamoen and Dubourdieu, 1990
Οργανικά Οξέα	Κιτρικό οξύ	Ladygyna, 1962
	Οξαλικό οξύ	Ladygyna, 1962
		Verhieff et al., 1988
Άλλες Ουσίες	Θειουρία	Oncarov, 1937
	Ουρία	Oncarov, 1937

Τέλος ο *B. cinerea*, όπως και πολλοί άλλοι φυτοπαθογόνοι μύκητες έχει αποδειχθεί ότι παράγει φυτορμόνες. Πειράματα των Tudzynski *et al.* (2000) με αρκετά στελέχη του μύκητα έδειξαν ότι παράγονται μεγάλες ποσότητες αιθυλενίου και μικρές ποσότητες αυξινών. Μερικές από τις απομονώσεις παρήγαγαν διάφορα επίπεδα αμψισικού οξέος (ABA), όπου πολύ λίγα από αυτά παρήχθησαν με τη μεσολάβηση του μονοπατιού του γιβεριλλικού οξέος.

1.6.3 Εγκατάσταση

Η είσοδος του μύκητα ακολουθείται από την εγκατάσταση του, δηλαδή τον χρόνο από την προσβολή έως την εμφάνιση των συμπτωμάτων, αλλά και την εξάπλωση της αλλοίωσης των φυτικών ιστών. Στο στάδιο αυτό το μυκήλιο που διαπέρασε την επιδερμίδα, αναπτύσσεται στα κύτταρα που νεκρώθηκαν από το μύκητα, λόγω της παραγωγής τοξινών και ενζύμων. Η διάχυση των τοξινών και των ενζύμων φέρνει αποτέλεσμα σε μια κλίμακα τοξικών εκκρίσεων.

Στην περιφέρεια της αλλοίωσης μπορεί να διακριθούν οι παρακάτω ζώνες: α) Η ζώνη 0 που βρίσκεται κοντά στο νεκρωτικό κέντρο των αλλοιώσεων με τις άκρες των υφών του μύκητα να εκκρίνουν τοξίνες και ένζυμα, β) η ζώνη I που είναι η ζώνη διάχυσης των τοξικών συγκεντρώσεων τοξινών και ενζύμων, γ) η ζώνη II στην οποία υπάρχουν υποθανατηφόρες συγκεντρώσεις από τις ουσίες και των δύο τύπων και τέλος δ) τη ζώνη III στην οποία υπάρχει ο υγιής ιστός.

Στη συνέχεια το παθογόνο αναπτύσσεται στον ιστό που απελευθερώνει θρεπτικά στοιχεία απαραίτητα για την αύξηση του. Υπάρχει ένα μοντέλο για την επέκταση των αλλοιώσεων το οποίο βασίζεται στη διάχυση. Η διάχυση των εκκρίσεων ίσως συμβαίνει στους ζωντανούς ενδοκυττάρους χώρους. Την ίδια

στιγμή οι εκκρίσεις ίσως εισέρχονται στα κυτταρικά τοιχώματα και το κυτόπλασμα.

Από τους νόμους της διάχυσης, προκύπτει ότι η απόσταση στην οποία τα κύτταρα νεκρώνονταν και η αλλοίωση επεκτεινόταν, βασικά εξαρτάται από το ενδοκυτταρικό υδατικό περιεχόμενο και σε μικρότερο βαθμό από την συγκέντρωση των τοξινών και των ενζύμων που παράγονται από τις άκρες των υφών. Το ενδοκυτταρικό υδατικό περιεχόμενο με τη σειρά του εξαρτάται από την Σ.Υ. ή το εξατμιζόμενο υδατικό έλλειμμα, το άνοιγμα των στοματίων και άλλα. Μια εναλλακτική υπόθεση για την επέκταση των κηλίδων βασίζεται στην αραίωση και έχει προταθεί από τον Harisson (1988).

Τα ελεύθερα στοιχεία έχει αποδειχτεί ότι έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του μύκητα (Jarvis, 1992). Μετά από μια περίοδο η οποία εξαρτάται από τον ξενιστή, τις επικρατούσες καιρικές συνθήκες, το στέλεχος του μύκητα και άλλους παράγοντες, εμφανίζονται οι πρώτες κηλίδες της τεφράς σήψης. Πολύ σπουδαίος παράγοντας είναι η εναλλαγή υγρών νυχτών και ξηρών ημερών, που μπορεί να προκαλέσει τυπικές ζώνες ανάπτυξης των κηλίδων.

1.7 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΔΙΑΣΠΟΡΑ ΤΩΝ ΚΟΝΙΔΙΩΝ

Τα κονίδια του *B. cinerea* είναι το πιο σημαντικό στοιχείο στη διαδικασία της προσβολής κι ως εκ τούτου είναι πολύ σημαντική η μελέτη της παραγωγής και της διασποράς τους.

Τα κονίδια του μύκητα παράγονται από τους κονιδιοφόρους πάνω στους προσβεβλημένους φυτικούς ιστούς του ξενιστή. Η παραγωγή τους μπορεί να λάβει χώρα σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών ακόμη και μέσα σε ψυγείο, με πολύ αργότερους βέβαια ρυθμούς. Κάτι παρόμοιο συμβαίνει και με την ποιότητα του φωτισμού που καθοριστικά την παραγωγή των κονιδίων. Όμως κονίδια παράγονται ακόμη και στο σκοτάδι. (Epton *et al.*, 1980; Jarvis, 1980). Τέλος η παρουσία λεπτού στρώματος νερού πάνω σε έναν καλυμμένο από μυκήλιο ιστό, παρεμποδίζει την παραγωγή κονιδίων.

Τα κονίδια του *B. cinerea* ως ξηροσπόρια που είναι μεταφέρονται και διασπείρονται σε μεγάλες αποστάσεις με τη βοήθεια του ανέμου. Σε μικρότερες αποστάσεις διασπείρονται με τα σταγονίδια του νερού. Η απελευθέρωση των κονιδίων λαμβάνει χώρα όταν μειωθεί απότομα η σχετική υγρασία του αέρα (Jarvis, 1980).

1.8 ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΟΥ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ

Η επιβίωση του *B. cinerea* επηρεάζεται πάρα πολύ από την θερμοκρασία και λιγότερο από άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η υγρασία.

Στην Κεντρική Ευρώπη που το κλίμα είναι ψυχρό και υγρό, ο μύκητας είναι ενεργός το καλοκαίρι σε αμπελώνες και θερμοκήπια και το χειμώνα σε θερμαινόμενα θερμοκήπια αφού περιοριστικός παράγοντας σε αυτές τις συνθήκες είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες κυρίως του χειμώνα.

Σε περιοχές με Μεσογειακό κλίμα, όπως η χώρα μας, όπου τα καλοκαίρια είναι θερμά και ξηρά ο μύκητας αναπτύσσεται το χειμώνα σε μη θερμαινόμενα θερμοκήπια και το φθινόπωρο σε αμπελώνες (Yunis *et al.*, 1989).

Σε αυτές τις συνθήκες ο μύκητας επιβιώνει σε φυτικά υπολείμματα και η σε προσβεβλημένους βλαστούς ξενιστών του. Η θέση αυτή αποτελεί την καλύτερη οικολογικά λόγω του ότι το παθογόνο επιβιώνει σε πάνω από 18% είδη βλαστών των οποίων οι εσωτερικοί ιστοί ίσως παρέχουν προστασία από τις δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες αλλά και από άλλους μικροοργανισμούς.

Παρ' όλα αυτά η επιβίωση του μύκητα είναι φτωχή έξω από τους προσβεβλημένους ιστούς ή σε καρπούς και άνθη καθώς σε αυτήν την περίπτωση τα κονίδια βρίσκονται στην επιφάνεια των νεκρών φυτικών υλικών εκτεθειμένα στις περιβαλλοντικές συνθήκες. Οι Coley & Smith (1980) βρήκαν ότι ακόμη και στις λιγότερο δυσμενείς συνθήκες τα κονίδια δεν επέζησαν πάνω από 53 ημέρες.

Ένας άλλος τρόπος επιβίωσης του παθογόνου το καλοκαίρι είναι η αλλαγή ξενιστή καθώς ο *B. cinerea* έχει απομονωθεί από διάφορες ευαίσθητες καλλιέργειες και ζιζάνια ενώ περιστασιακά εμφανίζεται και σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τριανταφυλλιάς ή άλλων γλαστρικών φυτών, κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. Στις περιπτώσεις αυτές υπάρχουν οριακές συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας στις οποίες το παθογόνο μπορεί να αναπτυχθεί.

Βέβαια και τα διάφορα στελέχη του μύκητα παρουσιάζουν διαφορετική ικανότητα επιβίωσης το καλοκαίρι. Αυτό διαπιστώθηκε σε έρευνα των Raposo *et al.* (2000). Οι εν λόγω ερευνητές διαπίστωσαν ότι το μυκήλιο στελεχών του *B. cinerea*, που ήταν ανθεκτικές στα δικαρβοξυμιδικά μυκητοκτόνα, ήταν πιο ανθεκτικό στην επιβίωση το καλοκαίρι, όταν εκτέθηκαν για 110 ημέρες σε συνθήκες εκτός θερμοκηπίου.

Η επιβίωση του παθογόνου με τη μορφή σκληρωτίων, για το Μεσογειακό κλίμα, είναι άνευ σημασίας αφού δεν μπορούν να επιβιώσουν σε ξηρές συνθήκες και υψηλές θερμοκρασίες. Εκτός αυτού τα σκληρώτια εμφανίζονται σπάνια σε

προσβεβλημένα από το μύκητα φυτά και δεν παράγονται ποτέ το καλοκαίρι (Yunis *et al.*, 1989).

1.9 ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΕΠΙΔΗΜΙΑΣ

Η εξέλιξη της ασθένειας συχνά αυξάνεται με ρυθμούς τελείως διαφορετικούς από τους αρχικούς παίρνει δηλαδή τη μορφή επιδημίας. Η φάση αυτή της απότομης αύξησης της ασθένειας μπορεί να διαρκέσει από λίγες μέρες έως μερικές εβδομάδες.

Η επέκταση της ασθένειας με τη μορφή επιδημίας είναι πάρα πολύ επικίνδυνη καθώς μπορεί μέσα σε λίγες μέρες ή εβδομάδες να καταστρέψει την καλλιέργεια. Έτσι έχουν γίνει προσπάθειες από διάφορους επιστήμονες ώστε να προβλέψουν με βάση κάποιο πρότυπο την φάση της απότομης αύξησης με σκοπό να εφαρμοστεί η κατάλληλη αντιμετώπιση, την κατάλληλη στιγμή και να αποφευχθεί η επιδημία με το μικρότερο δυνατό οικονομικό και οικολογικό κόστος.

Μετά από αρκετές προσπάθειες όπως του Jarvis (1980), των Vincelli και Lorbreer (1988b) και άλλων, το 1994 αναπτύχθηκε από τους Junis *et al.* ένα μοντέλο το οποίο βασίζεται στη συσχέτιση των περιβαλλοντικών παραγόντων με την προσβολή των καρπών και των βλαστών αγγουριού από την τεφρά σήψη σε μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο. Οι δύο σημαντικοί παράγοντες που σχετίζονταν με την εμφάνιση της επιδημίας ήταν η διάρκεια διύγρανσης των φύλλων και ωρών θερμοκρασίας μεταξύ 9-21°C κατά τις νυχτερινές ώρες. Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό η επιδημία αναμένεται όταν οι ημερήσιοι μέσοι όροι είναι 7 ώρες ανά ημέρα για την υγρή περίοδο και 9,5 ώρες για τη διάρκεια των άριστων θερμοκρασιών.

Πιο πρόσφατα το 1997 οι Shtienberg και Elad χρησιμοποίησαν σε πείραμα αγγουριού, για την πρόβλεψη της επιδημίας ένα εμπειρικό πρότυπο, που λάμβανε υπόψη του αρκετούς παράγοντες που μπορεί να επηρέαζαν την εξέλιξη της επιδημίας. Το πρότυπο αυτό φαίνεται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5. Εμπειρικό πρότυπο πρόβλεψης επιδημίας της τεφράς σήψης της αγγουριάς, που χρησιμοποιήθηκε από τους Shtienberg και Elad (1997).

Παράμετροι	Διακύμανση παραμέτρων	Προσδιορισμένη τιμή επικινδυνότητας
Ποσότητα βροχοπτώσεων (mm/ ημέρα)	0,0-0,4	0,0
	0,5-5,0	0,2
	5,1-10,0	0,4
	10,1-20,0	0,6
	20,1-30,0	1,0
	>30	1,2
Αριθμός ημερών βροχής (> 0,5 mm/ ημέρα)	0	0,0
	1	0,2
	2	0,4
	3	0,8
	4	1,1
Μέγιστη θερμοκρασία (° C)	<9	0,1
	10-21	0,3
	22-26	0,1
	>26	0,0
Ελάχιστη θερμοκρασία (° C)	<5	0,1
	6-9	0,2
	10-21	0,3
	>21	0,0
Αριθμός ημερών με 5/8 κάλυψη από σύννεφα (>6 ώρες κάθε ημέρα)	0	0,0
	1-2	0,2
	3-4	0,5
Αριθμός ημερών με ζεστό, ξηρό καιρό (<25% Σ.Υ. για πάνω από 4 ώρες)	0	1,0
	1-2	0,5
	3-4	0,0

Οι διάφορες τιμές δείχνουν τη σχετική σπουδαιότητα της κάθε παραμέτρου στην εμφάνιση της ασθένειας. Οι παράμετροι, οι δυναμικές διακυμάνσεις και οι αυστηρές τιμές βασίζονται σε διάφορα δημοσιευμένα αποτελέσματα. Το άθροισμα όλων των τιμών του Πίνακα 5 δείχνει τον κίνδυνο για την επέκταση της ασθένειας. Έτσι τα αποτελέσματα μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες. Αν το άθροισμα είναι μεγαλύτερο από 4,6 τότε αναμένεται ταχύτατη εξέλιξη της ασθένειας, αν είναι μεταξύ 2,5 και 4,5 τότε θα έχουμε μέτρια ανάπτυξη και τέλος αν είναι κάτω από 2,4 τότε η ανάπτυξη θα είναι αργή ή δεν θα υπάρχει καθόλου.

Τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην καταπολέμηση της τεφράς σήψης ως εξής: Όταν προβλέπεται αργή ή καθόλου ανάπτυξη δεν γίνεται ψεκασμός, όταν προβλέπεται μέτρια ανάπτυξη χρησιμοποιούνται βιολογικά μέσα όπως το Trichodex και τέλος όταν αναμένεται ταχεία η ανάπτυξη, ψεκάζουμε με κάποιο χημικό μυκητοκτόνο.

Πάντως όλα τα πρότυπα που χρησιμοποιήθηκαν ή χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα είναι εμπειρικά και κανένα δεν έχει αποδειχθεί πειραματικά ότι είναι απόλυτα αξιόπιστο. Γι' αυτό θα πρέπει να είμαστε πολύ επιφυλακτικοί αν έχουμε

σκοπό να χρησιμοποιήσουμε ένα τέτοιο πρότυπο για πρόβλεψη της επιδημίας της ασθένειας.

Η καλή γνώση της επιδημιολογίας της ασθένειας και η αναγνώριση των περιόδων που είναι επικίνδυνες για την ανάπτυξη της μπορεί να οδηγήσουν στη μείωση του αριθμού των εφαρμογών μυκητοκτόνων (Nikot and Baille, 1996). Βασικά στοιχεία στην πρόβλεψη της ασθένειας είναι η ύπαρξη νερού στην υγρή φάση δηλαδή βροχή ή δροσιά και η σχετική υγρασία.

Οι μελλοντικές πάντως έρευνες σε αυτό το θέμα θα πρέπει να προσανατολίζονται στην ενσωμάτωση της καταπολέμησης του *B. cinerea* σε ένα πιο ολοκληρωμένο σύστημα το οποίο θα είναι συμβατό με την καταπολέμηση των εντόμων, τα συστήματα παραγωγής προϊόντων και την αποδοτικότητα των καλλιεργειών (Jarvis, 1992) για μια πιο αειφορική μορφή γεωργίας.

1.10 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΗΣ ΤΕΦΡΑΣ ΣΗΨΗΣ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ

Η τομάτα, όπως και τα περισσότερα λαχανικά σήμερα, καλλιεργούνται σε θερμοκήπια στα οποία επικρατούν κάποιες ιδιαίτερες συνθήκες. Το κλίμα μέσα σε αυτά είναι γενικά θερμό και υγρό και η ταχύτητα του ανέμου μικρή. Οι συνθήκες αυτές είναι πολύ ευνοϊκές για την ανάπτυξη πολλών μυκητολογικών ασθενειών όπως η τεφρά σήψη (Jarvis, 1992, Elad et al., 1996). Η επίδραση του μικροκλίματος στην ανάπτυξη της ασθένειας μπορεί να μελετηθεί χωριστά για τον κάθε παράγοντα. Όμως συνήθως η ανάπτυξη της ασθένειας οφείλεται σε ένα συνδυασμό παραγόντων.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη δράση του *B. cinerea* μπορούν να χωριστούν σε τρεις ομάδες: α) στους μικροκλιματικούς, β) στους καλλιεργητικούς και γ) στους θρεπτικούς.

1.10.1 Μικροκλιματικοί παράγοντες

Οι μικροκλιματικοί παράγοντες είναι σίγουρα οι σημαντικότεροι που επηρεάζουν την τεφρά σήψη καθώς η ανάπτυξη της ασθένειας εξαρτάται άμεσα από αυτούς. Η ασθένεια χαρακτηρίζεται από δύο φάσεις σύμφωνα με το ρυθμό ανάπτυξης της και τις μικροκλιματικές συνθήκες που την επηρεάζουν. Στην πρώτη φάση της επιδημίας εμφανίστηκε μια μεγάλη αλληλεξάρτηση μεταξύ των προσβεβλημένων καρπών, της θερμοκρασίας του αέρα στους 11-25 °C, της σχετικής υγρασίας στο 97-100% και τη διάρκεια διύγρανσης των φύλλων. Στη δεύτερη φάση, η εξάπλωση της ασθένειας, είναι ταχύτερη σε θερμοκρασία 11-16

°C και Σ.Υ. > 85%, αλλά δεν υπάρχει συσχέτιση της ασθένειας και του χρόνου διύγρανσης των φύλλων (Junis *et al.* 1990).

1.10.1.1 Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία είναι ο παράγοντας που επηρεάζει καθοριστικά τόσο την ανάπτυξη του φυτού όσο και του παθογόνου μύκητα. Η άριστη θερμοκρασία για την βλαστική ανάπτυξη της τομάτας είναι μεταξύ 20-25 °C, για την παραγωγή καρπών 19-21 °C κατά τη διάρκεια της μέρας και 17-18 °C τη νύχτα και τέλος θερμοκρασία εδάφους 14 °C (Porlingis, 1988). Αυτές οι θερμοκρασίες δεν είναι σταθερές και εξαρτώνται από την εποχή και την γεωγραφική περιοχή.

Εξάλλου οι άριστες θερμοκρασίες για την ανάπτυξη της τεφράς σήψης ποικίλουν ανάλογα με τον ξενιστή. Η ιδανική θερμοκρασία για τη βλάστηση των κονιδίων είναι κατά τον Jarvis (1992) οι 20 °C όμως ο Kochenco (1972) είχε βρει ότι τα κονίδια βλαστάνουν πάνω από τους 20 °C κι οι άριστες θερμοκρασίες είναι 22-24 °C. Πάνω από τους 24 °C μειώνεται συνεχώς η βλάστηση των κονιδίων. Τα απρεσσόρια με τη σειρά τους σχηματίζονται κατά τον Jarvis (1992) στους 27-28 °C. Για την ανάπτυξη του μυκηλίου ο πρώτος αναφέρει ως άριστη θερμοκρασία τους 22 °C ενώ οι άλλοι, θερμοκρασίες 20-30 °C.

Γενικότερα άριστες θερμοκρασίες για την προσβολή σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες είναι μεταξύ 10-20 °C αλλά αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί και από 2 °C έως και πάνω από 25 °C (Elad *et al.*, 1996). Όμως η ανάπτυξη της ασθένειας αναστέλλεται σε θερμοκρασίες άνω των 32 °C (Stall, 1997). Σύμφωνα με τον Morgan (1984) η προσβολή της τομάτας στο θερμοκήπιο είναι εντονότερη στους 20 °C, όταν η σχετική υγρασία είναι 95%.

Η βέλτιστη θερμοκρασία για την προσβολή στελεχών τομάτας από το παθογόνο είναι γύρω στους 15 °C ενώ μπορεί να πραγματοποιηθεί μεταξύ 5-26 °C (O'Neil *et al.*, 1996a).

Όμως και η επιβίωση του μυκηλίου του *B. cinerea* εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία καθώς και από τη σχετική υγρασία και το στέλεχος του μύκητα. Σε Σ.Υ. >95% το μυκήλιο επιβιώνει πάνω από ένα χρόνο όμως αν αυτή πέσει κάτω από αυτό το όριο κι η θερμοκρασία είναι 20 °C, τότε αντέχει λιγότερο από ένα μήνα. Τα σκληρώτια με τη σειρά τους επιβιώνουν σε ένα εύρος θερμοκρασιών μεταξύ των -70 °C και των 25 °C (Coley & Smith, 1980). Όμως οι ιδανική θερμοκρασία για το σχηματισμό τους είναι 11-13 °C (Jarvis, 1992).

1.10.1.2 Σχετική υγρασία και διάρκεια διύγρανσης των φύλλων

Ένας εξίσου σημαντικός παράγοντας για την προσβολή και την ανάπτυξη της ασθένειας είναι η σχετική υγρασία (Σ.Υ.) του περιβάλλοντος και το νερό που βρίσκεται πάνω στους φυτικούς ιστούς. Παρ' όλα αυτά οι αναφορές που υπάρχουν για τη Σ.Υ. που απαιτείται για την προσβολή, είναι αντιφατικές (Marois *et al.*, 1988).

Η βλάστηση των κονιδίων του *B. cinerea* στην τομάτα γίνεται όταν η σχετική υγρασία είναι τουλάχιστον 94% ή υπάρχει ελεύθερο νερό στην φυλλική επιφάνεια για 8-12 ώρες. Όσο μεγαλύτερη είναι η Σ.Υ. ή η διάρκεια διύγρανσης των φύλλων τόσο πιθανότερη είναι κι η έναρξη της προσβολής και η επέκταση της ασθένειας. Πάντως είναι γνωστό ότι για τη βλάστηση των κονιδίων του μύκητα είναι απαραίτητο ένα λεπτό στρώμα νερού. Ο Sirgy (1957) βρήκε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό βλάστησης των κονιδίων του *B. cinerea* είναι όταν η Σ.Υ. είναι 100% και η θερμοκρασία στους 21 °C. Βέβαια οι Erton *et al.* (1980), ανέφεραν ότι οι υψηλές τιμές Σ.Υ. μειώνουν την παραγωγή κονιδίων του μύκητα.

Το 1970 οι Winspear *et al.*, απέδειξαν ότι οι κηλίδες φάντασμα που εμφανίζονται στους καρπούς της τομάτας μπορεί να μειωθούν αισθητά όταν η Σ.Υ. είναι μικρότερη του 90% και να εξαφανιστούν σε Σ.Υ.<75%.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω τα κονίδια όταν βρεθούν σε νερό, η βλάστηση τους στους 22°C ξεκινά μετά από 4 ώρες, το 50% των κονιδίων βλαστάνει μετά από 7 ώρες και το 95% στις 11 ώρες. Αν τα κονίδια κατά τη διάρκεια της βλάστησης στεγνώσουν η διαδικασία σταματά. Τα κονίδια απουσία ελεύθερου νερού για να βλαστήσουν χρειάζονται 30 ώρες επώασης σε Σ.Υ. 100% ενώ σε Σ.Υ. μικρότερη του 95% η βλάστηση καθυστερεί τουλάχιστον 52 ώρες (Yunis *et al.*, 1990).

Στα μη θερμαινόμενα θερμοκήπια της χώρας μας παρατηρείται πολύ συχνά κατά τη διάρκεια του χειμώνα υγροποίηση των υδρατμών όταν πέσει η θερμοκρασία. Έτσι δημιουργείται στην επιφάνεια των φυτών στρώμα νερού που ευνοεί τη βλάστηση των κονιδίων.

Ένας ακόμη λόγος που η υψηλή Σ.Υ. ευνοεί την προσβολή από την τεφρά σήψη είναι το ότι τα φυτά αναπτύσσονται ταχύτερα με αποτέλεσμα να είναι περισσότερο τρυφερά και πιο ευαίσθητα στην ασθένεια αλλά και σε άλλες ασθένειες οι οποίες δημιουργούν πληγές και την ευνοούν εμμέσως. Επίσης, αν η υψηλή Σ.Υ. συνδυάζεται με κακό εξαερισμό, μειώνεται η διαπνοή των φυτών με αποτέλεσμα τη μειωμένη μεταφορά θρεπτικών συστατικών από τις ρίζες στα

υπόλοιπα μέρη του φυτού, την εξασθένησης των ρύπων και την ευκολότερη προσβολή από το μύκητα *B. cinerea* που είναι παράσιτο αδυναμίας.

1.10.1.3 Φωτισμός

Η επίδραση του φωτισμού στην ανάπτυξη του μύκητα *B. cinerea* στο θερμοκήπιο, εξαρτάται από την ένταση του φωτισμού αλλά και την ποιότητα του και συναρτάται τόσο με το μύκητα και με τα ίδια τα φυτά.

Τα θερμοκήπια οποιοδήποτε υλικό κάλυψης και αν έχουν (τζάμι, πλαστικό, κ.α.) είναι, όταν είναι καθαρά, περατά στην φωτεινή ακτινοβολία κατά 80-90%. Όμως λόγω της σκόνης που επικάθεται στα υλικά κάλυψης, των υδρατμών στην οροφή των θερμοκηπίων, αλλά και του σκελετού στήριξης των θερμοκηπίων, ο φωτισμός μειώνεται και πέφτει κάτω από το 70% του εξωτερικού.

Έτσι λόγω της μεγάλης φυλλικής επιφάνειας των φυτών, ο ανταγωνισμός σε φωτισμό είναι πολύ μεγάλος και ιδιαίτερα στα φύλλα της βάσης. Αυτό είναι ιδιαίτερα αισθητό το χειμώνα που η ηλιοφάνεια είναι περιορισμένη και σε συνδυασμό με τις χαμηλές θερμοκρασίες συντελεί συχνά στη δημιουργία χλωρωτικών φυτών και στην κακή ανάπτυξη τους. Βέβαια στις χαμηλές θερμοκρασίες μέσα στο θερμοκήπιο το χειμώνα συντελεί καθοριστικά ο μειωμένος φωτισμός. Αποτέλεσμα όλων αυτών είναι η ευκολότερη προσβολή των φυτών από ασθένειες και άμεσα ή έμμεσα από την τεφρά σήψη.

Ο *B. cinerea* καθαυτός είναι γνωστό ότι επηρεάζεται από τον φωτισμό. Η παραγωγή κονιδίων περιορίζεται από το κυανό και το κόκκινο φως ενώ επάγεται από περιοχές του φάσματος ανάμεσα στις υπεριώδεις και τις υπέρυθρες. Σε παλαιότερη έρευνα βρέθηκε ότι τα έγχρωμα υλικά κάλυψης και ειδικότερα τα μπλε και τα ροζ βοηθούσαν στην ανάπτυξη της ασθένειας πιο πολύ από τα διάφανα ενώ άλλη έρευνα αναφέρει ότι ο φωτισμός σε μήκος κύματος 430-490 nm παρεμποδίζει τη σποριογένεση του μύκητα ενώ σε μήκος 300-420 nm προάγει (Jarvis, 1992).

Νεότερη έρευνα των Rayfield & Johnson (2000) έδειξε ότι η σπορογένεση του *B. cinerea* αυξάνεται τόσο στη UVA ακτινοβολία δηλαδή σε μήκος κύματος 320-400nm όσο και στη UVB δηλαδή 280-320nm. Μάλιστα η UVB βρέθηκε ότι προάγει την σποροπαραγωγή σε πολύ μικρότερο κυμαινόμενο βαθμό από ότι η UVA. Άλλη έρευνα των Shafia *et al.* (2001), έδειξε ότι η βλάστηση των κονιδίων, η επιμήκυνση των βλαστικών υφών και η επί της εκατό φυλλική επιφάνεια με κονιδιοφόρους του *B. cinerea*, γενικά αυξήθηκαν, καθώς μειώθηκε

η ένταση του φωτός και αυξήθηκε ο αριθμός των ημερών σε χαμηλή ένταση φωτός.

1.10.1.4 Έδαφος και Νερό

Η εντατική καλλιέργεια των θερμοκηπίων, χωρίς αγρανάπαυση, οδηγεί στην απορρόφηση από το έδαφος μεγάλων ποσοτήτων ιχνοστοιχείων, τα οποία δύσκολα αναπληρώνονται ή δεν αποδίδονται από το έδαφος στα φυτά, με αποτέλεσμα την εμφάνιση τροφопενιών στις καλλιέργειες. Συγχρόνως η αλατότητα του εδάφους, εξαιτίας μεγάλων ποσοτήτων λιπασμάτων, κακής ποιότητας αρδευτικού νερού και μη έκπλυσης του εδάφους, ανέρχεται σε πολύ επιβλαβή επίπεδα για τα φυτά.

Γενικά οποιοσδήποτε παράγοντας επιδρά αρνητικά στη θρέψη των φυτών, έχει ως αποτέλεσμα την κακή τους ανάπτυξη και τη δημιουργία χλωρωτικών ιστών τα οποία καθιστούν τα φυτά ευπαθή σε παράσιτα αδυναμίας όπως ο *B. cinerea*. Η τεφρά σήψη φαίνεται ιδιαίτερα σοβαρή σε φυτά τομάτας τα οποία καλλιεργούνται σε ελαφράς συστάσεως, αμμώδη, όξινα εδάφη με περίσσεια υγρασίας (Παναγόπουλος, 1995) πιθανότατα λόγω κακής θρέψης.

1.10.2 Καλλιεργητικοί παράγοντες

Η ανάπτυξη της τεφράς σήψης στο θερμοκήπιο κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου συχνά οφείλεται σε λάθος καλλιεργητικές τεχνικές του ίδιου του παραγωγού, είτε από αμέλεια είτε από την αποφυγή εκτέλεσης κάποιων εργασιών.

Καταρχήν η ενσωμάτωση στο έδαφος των υπολειμμάτων της προηγούμενης καλλιέργειας είναι ένα συχνό σφάλμα των γεωργών, ιδίως δε αν δεν ακολουθείτε από καλή απολύμανση. Ο *B. cinerea* ως σαπροφυτικός μύκητας που είναι διατηρείται στα υπολείμματα και όταν βρεθεί στις κατάλληλες συνθήκες προσβάλλει τη νέα καλλιέργεια. Όμως και η ύπαρξη ζιζανίων εντός και εκτός του θερμοκηπίου, μπορεί να αποτελέσει πηγή μόλυνσης για τη νέα καλλιέργεια.

Η έλλειψη συστήματος εξαερισμού και θέρμανσης, εκτός από τις άμεσες συνέπειες στα φυτά, είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία υδρατμών πάνω στο υλικό κάλυψης με αποτέλεσμα τα φυτά να είναι συνεχώς βρεγμένα. Όμως, στις σταγόνες των υδρατμών αναπτύσσονται και τοξίνες οφειλόμενες στη δράση μικροοργανισμών οι οποίες όταν πέσουν πάνω στα φυτά προκαλούν βλάβες στους ιστούς αυτών. Έτσι ευνοείται η δράση του μύκητα άμεσα ή έμμεσα.

Ταυτόχρονα ο τρόπος και ο χρόνος άρδευσης είναι σημαντικός καθώς μπορεί να αυξάνεται πολύ η Σ.Υ. του θερμοκηπίου ιδίως αν η άρδευση γίνεται αργά το

απόγευμα. Συγχρόνως άρδευση με κρύο νερό είναι σημαντικό λάθος καθώς τα φυτά παγώνουν και γίνονται πιο ευάλωτα στην τεφρά σήψη.

Πολύ συχνό επίσης λάθος είναι και οι πυκνές φυτεύσεις με ποικιλίες οι οποίες έχουν μεγάλη φυλλική επιφάνεια και εμποδίζουν τον καλό αερισμό και φωτισμό των φυτών ευνοώντας έτσι την ανάπτυξη της τεφράς σήψης.

Βέβαια πολλές φορές και το κλάδεμα γίνεται λάθος καθώς τα φύλλα αφαιρούνται πρόχειρα και μένει κομμάτι του μίσχου με μία ανώμαλη τομή. Όσο πιο μεγάλο είναι το κομμάτι του μίσχου που μένει πάνω στο στέλεχος κι όσο πιο ανώμαλη είναι η τομή τόσο πιο πιθανή είναι η προσβολή από την τεφρά σήψη (Macnab *et al.*, 1986).

1.10.3 Θρεπτικοί παράγοντες

Ο *B. cinerea* για να δράσει πάνω στους φυτικούς ιστούς χρειάζεται διάφορες ουσίες. Η προσβολή ιδίως υγιών πράσινων φύλων από τις βλαστικές υφές των κονιδίων του μύκητα, συνήθως εξαρτάται από την παρουσία εξωτερικά ανόργανων στοιχείων, πιθανόν λόγω σπανιότητας των στοιχείων αυτών στα φύλλα, αν συγκριθούν με επιφάνειες λουλουδιών και φρούτων που είναι πιο ευπαθή σε προσβολή.

1.10.3.1 Ανόργανος Φώσφορος

Ο ανόργανος φώσφορος (KH₂PO₄) και τα παράγωγα των νουκλεοτιδίων της πουρίνης διεγείρουν την προσβολή των φυτικών ιστών από τον *B. cinerea* (Kō *et al.*, 1981). Αυτό οφείλεται στην αύξηση της δράσης των πολυγακτουρονασών, που όπως προαναφέρθηκε ευνοούν τη δράση του μύκητα.

1.10.3.2 Σίδηρος

Ο σίδηρος παίζει ειδικό ρόλο στη δράση του *B. cinerea* ο οποίος συνδέεται με την αντίδραση Fenton που είναι η κύρια βιολογική πηγή των καταλυτικών ριζών υδροξυλίου: $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^{\cdot} + HO^{\cdot}$.

Ο μύκητας κατά τη διάρκεια της προσβολής των φυτικών ιστών παράγει υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) το οποίο είναι μια πολύ επικίνδυνη χημική ουσία. Όμως ένας οργανισμός που εκκρίνει μια τόσο επικίνδυνη χημική ουσία πρέπει να προστατεύει και τον εαυτό του. Έτσι εκκρίνει οξαλικό οξύ, το οποίο είναι απαραίτητο για τη διαλυτοποίηση του σιδήρου, που παίρνει μέρος στην αντίδραση και αποφεύγει την τοξική δράση του H₂O₂ εναντίον του. Φαίνεται λοιπόν ότι ο σίδηρος είναι πάρα πολύ απαραίτητος για τη δράση του μύκητα (Wood *et al.*, 2000).

1.10.3.3 Μεταλλικά άλατα

Άλλες ουσίες που έχει αποδειχτεί ότι η παρουσία τους στο φύλλωμα αυξάνει την ευαισθησία των φυτών στην προσβολή και τη σοβαρότητα της τεφράς σήψης, είναι τα μεταλλικά άλατα και ιδίως αυτά του ψευδαργύρου. Τέτοια στοιχεία περιέχονται σε μεγάλες ποσότητες στα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα τα οποία αν εφαρμόζονται συχνά αυξάνουν την προσβολή από την ασθένεια (Stall, 1997).

Όμως την ευαισθησία των φυτών στην τεφρά σήψη μπορούν να επηρεάσουν και θρεπτικά στοιχεία, τα οποία απορροφούν τα φυτά από το έδαφος όπως το άζωτο και το ασβέστιο.

1.10.3.4 Άζωτο

Η επίδραση του αζώτου στην ασθένεια, εξαρτάται από τα φυτικά είδη αλλά και από τις περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες αναπτύσσονται. Για παράδειγμα παλαιότερα βρέθηκε μείωση της ευαισθησίας στην τεφρά σήψη φυτών τομάτας όταν η καλλιέργεια τους γινόταν σε έδαφος με υψηλό επίπεδο αζώτου. Όμως οι Hobbs και Waters (1964) είχαν βρει τα αντίθετα αποτελέσματα για το χρυσάνθεμο.

Σε νεότερη έρευνα των Hoffland *et al.* (1999) τα φύλλα των φυτών τομάτας που αναπτύχθηκαν σε χαμηλή διαθεσιμότητα N και είχαν υψηλή σχέση άνθρακα προς άζωτο ($C/N=21$) στα φύλλα, είχαν και περίπου 2,5 φορές μεγαλύτερη ευαισθησία στις αρχικές προσβολές από την τεφρά σήψη. Συγκρινόμενα με τα φυτά τα οποία αναπτύχθηκαν σε υψηλή διαθεσιμότητα N, με χαμηλή σχέση C/N (11) στα φύλλα. Τα φύλλα με υψηλή αναλογία C/N περιείχαν περισσότερη ατοματίνη, η οποία δημιουργεί ανθεκτικότητα και παρ' όλα αυτά ήταν πιο ευαίσθητα στο μύκητα. Αυτό εξηγείται λόγω του ότι τα φύλλα αυτά περιείχαν επίσης περισσότερους υδατοδιαλυτούς υδρογονάνθρακες οι οποίοι πιθανόν ευνοούν τη δράση του *B. cinerea*.

Σε άλλη έρευνα ο Sol (1967) είχε βρει ότι τα φυτά κουκιού όταν λιπάζθηκαν με αμμωνία ήταν πιο ευαίσθητα στην ασθένεια από άλλα τα οποία δέχτηκαν νιτρικό άζωτο. Σε διάφορα πειράματα που έχουν γίνει, έχει βρεθεί ότι το N δεν επηρεάζει την ευαισθησία στην τεφρά σήψη, φυτών μελιτζάνας και πιπεριάς ενώ τα νιτρικά λιπάσματα προκαλούν μείωση της αντοχής φυτών αγγουριάς.

1.10.3.5 Ασβέστιο

Ένα άλλο στοιχείο το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της τεφράς σήψης είναι το ασβέστιο. Το Ca βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών. Τα ιόντα του Ca παρεμποδίζουν πολλές

ασθένειες. Αυτό σχετίζεται με την ιδιότητα τους να ισχυροποιούν τα κυτταρικά τοιχώματα και να αναστέλλουν τη αλλοίωση τους από τα πηκτινολυτικά ένζυμα (Liptay *et al.*, 1987).

Επίσης, η παρουσία του συνδέεται με την καθυστέρηση της γήρανσης των φυτικών ιστών λόγω της μείωσης της αναπνοής και της παραγωγής αιθυλενίου, καθώς και διατήρηση της συνεκτικότητας των φρέσκων καρπών καθιστώντας τους ανθεκτικότερους στην επίδραση των ενζύμων του *B. cinerea* (Ferguson, 1984). Τέλος η προσθήκη Ca^{2+} στους φυτικούς ιστούς μειώνει τα όρια περατότητας της κυτταρικής μεμβράνης.

Έχει βρεθεί ότι η λίπανση με Ca μειώνει την τεφρά σήψη στην τριανταφυλλιά (Volpin *et al.*, 1991), την τομάτα (Stall, 1963), την πιπεριά και τη μελιτζάνα αλλά στο αγγούρι τα αποτελέσματα δεν ήταν ξεκάθαρα (Yunis *et al.* 1991). Η μετακίνηση του ασβεστίου στα ανώτερα μέρη του φυτού περιορίζεται από υψηλή υγρασία. Με αυτόν τον τρόπο μειώνεται γενικά το περιεχόμενο του στους φυτικούς ιστούς, με αποτέλεσμα την ευαισθησία αυτών στο *B. cinerea* και αυτό παρατηρείται σε φυτά τομάτας, μελιτζάνας και πιπεριάς. Ακόμη προσθήκη αλάτων ασβεστίου και ειδικά $CaCl_2$, έχει βρεθεί ότι προστατεύει καρπούς, από σήψεις προκαλούμενες από το μύκητα (<http://ipm.osu.edu/mini/96m-5.htm>).

1.10.4 Ορμονικοί παράγοντες

Εκτός όμως από τα θρεπτικά στοιχεία, σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της ασθένειας παίζουν διάφοροι ο παράγοντες ανάπτυξης των φυτών.

1.10.4.1 Αυξίνες

Ένας από αυτούς είναι οι αυξίνες οι οποίες στη μελιτζάνα και στην τομάτα βοηθούν στην καρπόδεση και την ανάπτυξη του καρπού. Μεταφέρονται από τα μεριστώματα, τα άνθη και τους νεαρούς καρπούς και συνδέονται με τη μεταφορά του ασβεστίου μέσα στα όργανα αυτά και στα κύτταρα τους. Οι αυξίνες φαίνεται να έχουν κάποιο ιδιαίτερο ρόλο στην αντίσταση των νεαρών καρπών στην ασθένεια (Yunis *et al.*, 1991).

1.10.4.2 Γιββεριλλικό οξύ (GA_3)

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας αύξησης είναι το γιββεριλλικό οξύ (GA_3). Η ανάπτυξη της τεφράς σήψης σε αποσπασμένα πέταλα και άθικτα μπουμπούκια με ή χωρίς εισαγωγή κονιδίων αναστελλόταν με την προσθήκη 1mM διαλύματος GA_3 . Η επίδραση του GA_3 παρατηρήθηκε σε διάφορες καλλιέργειες τριανταφυλλιάς ενώ προσθήκη μεγαλύτερης ποσότητας GA_3 στο

διάλυμα, δεν επιδρά ούτε στην ανάπτυξη του μυκηλίου ούτε στη βλάστηση των κονιδίων (Shaul *et al.*, 1992).

Παρόλα αυτά η αναστολή της ανάπτυξης του *B. cinerea* σε άνθη τριανταφυλλιάς που ψεκάστηκαν με GA₃ μπορεί να φέρει αποτέλεσμα μειώνοντας την ευαισθησία των ιστών στο παθογόνο οφειλόμενη στην αναστολή της γήρανσης των πετάλων από το GA₃. Εξάλλου το GA₃ μειώνει την ευαισθησία των πετάλων στο αιθυλένιο.

1.10.4.3 Αμπισισικό οξύ (ABA)

Σημαντική δράση στην ανάπτυξη του μύκητα έχει το αμπισισικό οξύ (ABA) του οποίου ο τρόπος δράσης παραμένει αδιευκρίνιστος. Σε πειράματα των Audenaert *et al.* (2000) χρησιμοποιήθηκαν αρνητικά στο ABA φυτά τα οποία εμφανίστηκαν πολύ πιο ανθεκτικά στην προσβολή από το *B. cinerea*, απ' ότι άγριοι βιότυποι τομάτας.

1.10.4.4 Αιθυλένιο

Σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του μύκητα έχει αποδειχτεί ότι διαδραματίζει το αιθυλένιο (Elad, 1988a). Αυτό έχει στηριχθεί στο γεγονός ότι οι αναστολές της παραγωγής ή της δράσης του αιθυλενίου μπορεί να μειώσουν την ένταση της ασθένειας (Elad, 1988a, Elad *et al.*, 1988). Κομμένα λουλούδια τριανταφυλλιάς λιπαινόμενα με θρεπτικά διαλύματα, τα οποία περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων Ca, παράγουν λιγότερο αιθυλένιο και είναι λιγότερο προσβλημένα από την τερρά σήψη απ' ότι αυτά με χαμηλότερα επίπεδα Ca²⁺ (Elad *et al.*, 1988).

1.10.5 Άλλες ουσίες

Ο *B. cinerea* ως γνωστόν είναι το παθογόνο των φυτών με το μεγαλύτερο εύρος ξενιστών και είναι ικανό να προσβάλει σχεδόν όλα τα φυτικά μέρη πολλών διαφορετικών ειδών. Τα διάφορα φυτικά όργανα όμως περιέχουν διαφορετικές χημικές ουσίες και διαθέτουν διαφορετικές ενώσεις για την άμυνα τους. Για να αναπτύσσεται λοιπόν σε διαφορετικά υποστρώματα ο μύκητας είναι γνωστό ότι είναι ικανός να ρυθμίζει τη σύνθεση διαφόρων τοξικών παραγόντων.

Για τη ρύθμιση της έκκρισης των τοξικών παραγόντων έχουν προταθεί διάφορες ουσίες όπως τα πηκτικά τεμάχια, το γαλλικό οξύ, η γλυκόζη και διάφορες πρωτεΐνες. Όμως στην έρευνα των Manteau *et al.* (2000) βρέθηκε ότι και το εξωτερικό pH είναι επίσης ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στην τοξική στρατηγική του μύκητα.

Έτσι ο *B. cinerea* όταν αναπτύχθηκε σε φτωχή ανόργανη ύλη με pH 3-7 με γλυκόζη ως βάση άνθρακα, είχε την καλύτερη ανάπτυξη σε pH μεταξύ 4 και 5. Αυτό συμβαίνει γιατί το pH είχε άμεση επίδραση στην έκκριση από το μύκητα τριών βασικών ομάδων ενζύμων που παράγει, τις πρωτεάσες, τις πολυγαλακτουρονάσες και τις λακκάσες.

Τα ένζυμα αυτά του *B. cinerea* είτε προήλθαν από στελέχη που απομονώθηκαν από φυτά τομάτας είτε από στελέχη που απομονώθηκαν από αμπέλι έδωσαν παρόμοια αποτελέσματα που είναι μέγιστα σε τιμές pH στα άκρα, δηλαδή pH=3 και pH=6, του άριστου pH=5. Το μέτριο pH λογικά πρέπει να υποβοηθά την έκκριση τοξικών ενζύμων που βοηθούν δεδομένο στέλεχος του μύκητα, να παράγει πιστή ανάπτυξη τοξικών παραγόντων για να αποικίσει, τους καρπούς οι οποίοι έχουν υψηλό pH, καθώς και τα φύλλα τα οποία έχουν χαμηλό pH, κάποιου από τα φυτά ξενιστές του (Manteau *et al.*, 2000).

1.11 ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ

Η καταπολέμηση της τεφράς σήψης στην τομάτα είναι δύσκολη, καθώς ο μύκητας έχει πολύ μεγάλο εύρος ξενιστών και αναπτύσσεται ακόμη και σαπροφυτικά στα φυτικά υπολείμματα. Σε κλίματα όμως όπως αυτό της χώρας μας είναι δυνατόν να καταπολεμηθεί αρκετά καλά, καθώς οι περιβαλλοντικές συνθήκες δεν είναι ιδιαίτερα ευνοϊκές. Αυτό βέβαια προϋποθέτει τον σωστό προγραμματισμό αλλά και τον συνδυασμό των διαφόρων μεθόδων αντιμετώπισης της ασθένειας, με ιδιαίτερη έμφαση στην πρόληψη ή την καταπολέμηση στα αρχικά στάδια. Τα μέτρα καταπολέμησης της τεφράς σήψης χωρίζονται στα καλλιεργητικά, την ισόρροπη θρέψη, τα χημικά και τα βιολογικά. Από αυτά τα δύο πρώτα είναι κυρίως προληπτικά, τα χημικά είναι είτε προληπτικά είτε καταπολέμησης ενώ τα βιολογικά τα οποία είναι ακόμη σε στάδιο μελέτης είναι κυρίως προληπτικά.

1.11.1 Καλλιεργητικά μέτρα

Τα καλλιεργητικά μέτρα είναι πολύ βασικά για την έναρξη και την εξάπλωση της τεφράς σήψης και η τήρηση τους μπορεί να περιορίσει αρκετά το πρόβλημα. Πολύ βασική είναι η τήρηση καλής υγιεινής του θερμοκηπίου. Όλα τα υπολείμματα των καλλιεργειών, παλαιότερων ή και της υπάρχουσας, πρέπει να απομακρύνονται αμέσως από το θερμοκήπιο και ιδίως τα προσβεβλημένα μέρη ή και ολόκληρα τα φυτά αν έχουν μολυνθεί σε μεγάλο βαθμό. Σημαντικό είναι

επίσης να γίνεται επιμελημένη αφαίρεση των ζιζανίων τόσο εντός όσο και εκτός θερμοκηπίου καθώς αποτελούν εστία μολύνσεων.

Πολύ σπουδαίος παράγοντας είναι η ρύθμιση των συνθηκών του περιβάλλοντος του θερμοκηπίου. Καλό θα ήταν να διαθέτει σύστημα εξαερισμού και θέρμανσης ώστε τα φυτά να αερίζονται ικανοποιητικά και να αναπτύσσονται σε κανονική θερμοκρασία. Έτσι ελέγχεται επαρκώς η σχετική υγρασία και μειώνεται η πιθανότητα ανάπτυξης της ασθένειας. Επίσης, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην άρδευση και τους ψεκασμούς τα οποία πρέπει να γίνονται πριν το μεσημέρι ώστε να μειώνεται η σχετική υγρασία μέχρι το απόγευμα ενώ το νερό δεν πρέπει να είναι παγωμένο γιατί τα φυτά θα είναι ευαίσθητα στην ασθένεια.

Συγχρόνως η χρήση υλικού κάλυψης του θερμοκηπίου, το οποίο παρεμποδίζει τη διέλευση υπεριώδους δυσκολεύει την ανάπτυξη των κονιδίων του μύκητα. Τέτοιο υλικό είναι το πολυαιθυλένιο, το οποίο όμως μπλοκάρει την UVA ακτινοβολία όχι όμως και την UVB. Βέβαια το υλικό κάλυψης πρέπει να διατηρείτε πάντα καθαρό.

Αρκετά σημαντική είναι επίσης η σωστή τακτική άρδευσης και λίπανσης ώστε τα φυτά να είναι εύρωστα με κανονική ανάπτυξη. Κάποιο ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει στην ανάπτυξη της ασθένειας και το έδαφος στο οποίο αναπτύσσονται τα φυτά. Έτσι η τεφρά σήψη φαίνεται ότι ευνοεί σε μέσης σύστασης, αμμώδη, όξινα εδάφη τα οποία δίδουν στους ιστούς του μίσχου των φύλλων, ένα λόγο ασβεστίου προς φώσφορο ίσο με 2 ή και μεγαλύτερο (Stall, 1997).

Σημαντικό επίσης είναι να χρησιμοποιείται υγιής και απολυμασμένος σπόρος και να τηρούνται όλοι οι όροι υγιεινής στο φυτώριο ώστε τα φυτά να μεταφέρονται υγιή στο θερμοκήπιο. Η φύτευση πρέπει να γίνεται αραιά ώστε να υπάρχει ο απαραίτητος χώρος για αερισμό των φυτών αλλά και να μην σκιάζονται μεταξύ τους. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί και με τη χρήση κατάλληλων ποικιλιών οι οποίες δεν αναπτύσσουν μεγάλη φυλλική επιφάνεια ή έχουν ανοιχτή ανάπτυξη, όπως π.χ. υβρίδια αραιόφυλλα – ορθόφυλλα

Ομοίως μπορεί να επιλεγτούν ποικιλίες οι οποίες να αποβάλουν γρήγορα τα πέταλα, να έχουν μικρά σέπαλα και σκληρό φλοιό στον καρπό ώστε να αποφεύγεται κατά το μέγιστο δυνατόν η προσβολή από την ασθένεια. Μέχρι σήμερα δεν έχει βρεθεί κάποια ποικιλία τομάτας η οποία να είναι ανθεκτική στην ασθένεια. Όμως σε πείραμα των Decognet *et al.* (2000) βρέθηκε ότι το άγριο είδος τομάτας *Lycopersicon hirsutum* έδειξε υψηλό επίπεδο ανθεκτικότητας στην τεφρά

σήψη. Έτσι πρέπει να μελετηθεί αν είναι δυνατό να περάσει η ανθεκτικότητα αυτή και στην εδώδιμη τομάτα.

Βασικό στοιχείο για την προστασία της καλλιέργειας είναι η αποφυγή παντός είδους πληγών στα φυτά γιατί μέσω αυτών ο *B. cinerea* μπορεί να προσβάλει τα φυτά. Σημαντικότερο είναι να γίνονται σωστά οι τομές του κλαδέματος. Αυτές πρέπει να γίνονται με μαχαίρι το οποίο εμβαπτίζεται συχνά σε οινόπνευμα και να γίνονται κοντά στο στέλεχος ώστε να μη μένει καθόλου κομμάτι μίσχου πάνω στο στέλεχος (Macnab & Sherf, 1986). Όμως και ο σπάγκος υποστύλωσης δεν πρέπει να δένεται πάνω στο φυτό, αλλά να είναι χαλαρός γιατί σε αντίθετη περίπτωση προκαλούνται πληγές στο στέλεχος των φυτών.

1.11.2 Ισορροπη Θρέψη

Όπως προαναφέρθηκε, ο *B. cinerea* επηρεάζεται στη δράση του από διάφορους θρεπτικούς παράγοντες. Πολλοί ερευνητές έχουν αποδείξει τη σπουδαιότητα διαφόρων στοιχείων στην ευαισθησία των φυτικών μερών στο μύκητα.

Η ύπαρξη στη φυλλική επιφάνεια των φυτών, διαφόρων ανόργανων στοιχείων επηρεάζει τη δράση του μύκητα. Έτσι πρέπει να αποφεύγονται εφαρμογές φωσφόρου, σιδήρου και μεταλλικών αλάτων και δη του ψευδαργύρου. Τα τελευταία περιέχονται σε μεγάλες ποσότητες στα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως, κυρίως ενάντια του περονόσπορου (Stall, 1997). Άρα είναι πολύ σημαντικό για την καταπολέμηση της τεφράς σήψης η ορθολογική χρησιμοποίηση τους.

Όμως και στοιχεία τα οποία βρίσκονται μέσα στο φυτό έχουν σημαντικό ρόλο. Το N όταν βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα στο έδαφος έχει διαπιστωθεί ότι μειώνει την ευαισθησία φυτών τομάτας στην τεφρά σήψη. Από την άλλη έχει αναφερθεί ότι το αυξημένο N, που ευνοεί την ανάπτυξη πλούσιου φυλλώματος ευνοεί και νεκροτροφικά παθογόνα όπως ο *B. cinerea* (Jarvis, 1992). Σε έρευνα όμως των Hoffland *et al.* (1999) διαπιστώθηκε ότι φυτά τομάτας με χαμηλή αναλογία C/N στα φύλλα είχαν αρκετά μεγαλύτερη ανθεκτικότητα από άλλα με υψηλή. Αυτό δείχνει ότι στην τομάτα τα υψηλά επίπεδα N μάλλον βοηθούν τα φυτά στην αντιμετώπιση του μύκητα.

Άλλο σημαντικό στοιχείο στην ευαισθησία των φυτών στην ασθένεια είναι το ασβέστιο. Έχει βρεθεί ότι η λίπανση με Ca μειώνει την τεφρά σήψη στην τριανταφυλλιά σε τομάτα, πιπεριά και μελιτζάνα.

Βέβαια σπουδαίο ρόλο φαίνεται να έχουν και διάφοροι ορμονικοί παράγοντες. Έτσι οι αυξίνες βοηθούν στην καρπόδεση και την αύξηση του καρπού χωρίς

προβλήματα από την ασθένεια, σε μελιτζάνα και τομάτα (Elad *et al.*, 1992). Άλλος παράγοντας είναι το γιββεριλλινικό οξύ το οποίο έχει βρεθεί ότι μειώνει την ευαισθησία των ανθέων τριανταφυλλιάς λόγω της μείωσης του εκλυόμενου αιθυλενίου και ως εκ τούτου της αναστολής γηρασμού των πετάλων.

1.11.3 Χημική καταπολέμηση

Η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος αντιμετώπισης της τεφράς σήψης όπως και των περισσότερων ασθενειών είναι η χημική καταπολέμηση. Όμως ο *B. cinerea* αναπτύσσει πολύ εύκολα ανθεκτικότητα στα μυκητοκτόνα που χρησιμοποιούνται εναντίον του με αποτέλεσμα την ανάγκη για συνεχή ανανέωση τους, πράγμα το οποίο οδηγεί σε αύξηση του κόστους της μεθόδου.

Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας του *B. cinerea* οφείλεται:

- Στην ικανότητα του παθογόνου να μεταλλάσσεται
- Στη φύση του παθογόνου όσον αφορά την ένταση της ασθένειας, το ρυθμό αναπαραγωγής του και την εύκολη μετακίνηση των σπορίων του
- Στην ένταση της χρήσης των μυκητοκτόνων, η οποία εξαρτάται από παράγοντες όπως η δόση εφαρμογής, ο αριθμός εφαρμογών ανά καλλιεργητική περίοδο καθώς και η περιογή προσβολής. Αυτός είναι και ο σημαντικότερος παράγοντας και μπορεί να ελεγχθεί μόνο από τον παραγωγό.

Έτσι υπάρχουν αρκετές περιπτώσεις μυκητοκτόνων τα οποία ενώ στην αρχή ήταν πολύ αποτελεσματικά ενάντια στην τεφρά σήψη, προοδευτικά έχασαν την αποτελεσματικότητά τους λόγω επιλογής ανθεκτικών στελεχών του μύκητα.

Τα συνιστώμενα μυκητοκτόνα για την καταπολέμηση της τεφράς σήψης στην τομάτα χωρίζονται στις εξής δύο κατηγορίες:

A. Οργανικά μυκητοκτόνα όπως τα διθειοκαρβαμιδικά, τα δικαρβοξιμιδικά, τα φθαλιμίδια και οι φαινολικές ενώσεις.

B. Οργανικά μυκητοκτόνα με εξειδικευμένο τρόπο δράσης όπως τα βενζιμιδαζολικά, τα οργανοφωσφορικά και από τους παρεμποδιστές βιοσύνθεσης της εργοστερόλης τα πυριμιδινικά και τα τριαζολικά.

Τα μυκητοκτόνα που χρησιμοποιήθηκαν και χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση του *B. cinerea* φαίνονται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6. Μυκητοκτόνα τα οποία καταπολεμούν την τεφρά σήψη σε διάφορες καλλιέργειες.

ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΑ			
Διθειοκαρβαμιδικά	Δικαρβοξιμιδικά	Φθαλιμίδια	Φαινολικές ενώσεις
Thiram	Iprodione Vinclozonil Procymidone Chlozolinat	Captan Folpet Dichlofluanid	Chlorothalonil
ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΑ ΜΕ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΔΡΑΣΗ			
Βενζιμιδαζολικά	Οργανοφωσφορικά	Πυριμιδινικά	Τριαζολικά
Benomyl Carbendazim Thiophanate-methyl Thiabendazole	Fosetyl-AI	Pyrimethanil Fenethanil	Tebuconazole Fenbuconazole Fenetazole

Τα μυκητοκτόνα της πρώτης κατηγορίας πλην των δικαρβοξιμιδικών έχουν μικρότερη αποτελεσματικότητα σε σχέση με εκείνα της δεύτερης. Όμως στα μυκητοκτόνα της πρώτης κατηγορίας αναπτύσσεται πιο δύσκολα ανθεκτικότητα αλλά είναι πιο επικίνδυνα από άποψη τοξικότητας.

Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο μίγματα μυκητοκτόνων και κυρίως των δικαρβοξιμιδικών, τα οποία είναι πιο αποτελεσματικά λόγω δυσκολίας του μύκητα να αναπτύξει ανθεκτικότητα.

Για την καλύτερη δυνατή καταπολέμηση της τεφράς σήψης συνιστάται να γίνονται προληπτικοί ψεκασμοί, σε περιόδους με ευνοϊκές για την ανάπτυξη του μύκητα συνθήκες κι οι οποίοι να επαναλαμβάνονται ανά διάστημα επτά έως δεκαπέντε ημερών ανάλογα με τις εκάστοτε συνθήκες.

1.11.4 Βιολογική Καταπολέμηση

Βιολογική καταπολέμηση είναι η καταπολέμηση των παθογόνων των φυτών, που πραγματοποιείται μεταξύ ενός ή περισσότερων οργανισμών συμπεριλαμβανομένου και του ξενιστή (Cook & Baker, 1983). Η πρώτη εφαρμογή της έγινε πριν από εξήντα χρόνια τουλάχιστον. Αφορμή στάθηκε η παρατήρηση ότι σε θερμοκήπιο της Αγγλίας το έντομο *Encarsia formosa* καταπολεμούσε τον Αλευρώδη των θερμοκηπίων *Trialeurodes vaporariorum* (Lenteren, 1999).

Βέβαια η μεγάλη ανάγκη για τρόφιμα εκείνα τα χρόνια και ιδίως μετά το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο οδήγησε στην τεράστια χρήση χημικών ιδίως μέσα στα θερμοκήπια. Όμως ένα τόσο ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη ασθενειών, όπως είναι αυτό του θερμοκηπίου απαιτούσε πολύ συχνούς ψεκασμούς πράγμα το οποίο οδήγησε σε γρήγορη ανάπτυξη ανθεκτικότητας από τα φυτοπαθογόνα, στα διάφορα φυτοφάρμακα (Lenteren, 1999).

Έτσι λόγω κυρίως αυτού αλλά και τις συνολικής μόλυνσης του περιβάλλοντος σιγά σιγά άρχισαν οι άνθρωποι να στρέφονται σε μεθόδους καταπολέμησης πιο ήπιες και φιλικές. Οι πρώτες προσπάθειες προς αυτήν την κατεύθυνση άρχισαν το 1960. Όμως η ουσιαστική επέκταση της μεθόδου λαμβάνει χώρα τα τελευταία είκοσι χρόνια με την άνοδο του βιοτικού επιπέδου ιδίως των λαών τη Ευρώπης.

Τα περισσότερα παθογόνα εξαρτώνται για ένα μεγάλο μέρος ή και ολόκληρο το βιολογικό τους κύκλο σε μεγάλο βαθμό από τον ξενιστή τους. Έτσι οι στρατηγικές που προσανατολίζονται στην καταπολέμηση πρέπει να θεωρούν τον ξενιστή ως ένα αναπόσπαστο κομμάτι τους (Cook, 1993). Οι στρατηγικές που οι ερευνητές πρέπει να ακολουθούν όταν εισάγουν ένα μικροοργανισμό για τη βιολογική καταπολέμηση κάποιας ασθένειας είναι:

- α) Μείωση ή ρύθμιση του πληθυσμού του παθογόνου κάτω από ένα οικονομικό κατώφλι ώστε να υφίσταται οικονομικό συμφέρον της παραγωγής,
- β) Ύπαρξη προσβολής του ξενιστή από το παθογόνο και
- γ) Οριοθέτηση της ανάπτυξης της ασθένειας μετά την προσβολή (Cook, 1993).

Όμως παρά το ότι οι έρευνες και οι αναφορές που περιγράφουν βιολογικούς παράγοντες αντιμετώπισης ασθενειών των φυτών συνεχώς αυξάνουν, πολύ σπάνια κάποιος από αυτούς στέφεται με επιτυχία (Elad *et al.*, 1996). Η μελλοντική ανάπτυξη της γεωργίας με μειωμένες εισροές αγροχημικών θα αναβαθμίσει ακόμη περισσότερο το ρόλο της βιολογικής καταπολέμησης στην αγροτική παραγωγή (Fokkema, 1996). Αυτό γιατί η γεωργία θα πρέπει να είναι εμπορική αλλά και πιο φιλική προς το περιβάλλον (Dubos, 1992) και έτσι οι φυτοπαθολόγοι γενικά θα έχουν να αντιμετωπίσουν αρκετά προβλήματα. Γι' αυτό η βιολογική καταπολέμηση πρέπει να αναπτυχθεί ακόμη περισσότερο και να βελτιωθεί ώστε να μπορεί να αποτελέσει ένα σοβαρό εργαλείο στην αντιμετώπιση των ασθενειών.

Οι σημαντικότεροι λόγοι για την περιορισμένη χρήση βιολογικών παραγόντων μέχρι σήμερα είναι:

1. Διαθεσιμότητα φτηνών και αποτελεσματικών μυκητοκτόνων, που έχουν άμεση δράση και εύκολη εφαρμογή
2. Οι συνθήκες στη φυλλική επιφάνεια δεν ευνοούν την επιβίωση και τη δράση των νεοεισαγόμενων μικροοργανισμών

3. Κάποια βιολογικά συστήματα είναι λιγότερο αποτελεσματικά από ότι τα δραστικά χημικά, η αποτελεσματικότητά τους δεν είναι σταθερή και καταπολεμούν ένα περιορισμένο φάσμα ασθενειών
4. Η προετοιμασία των βιολογικών παραγόντων, καθώς κι η εφαρμογή τους είναι πιο δύσκολη από τα χημικά. Εξάλλου η αποτελεσματικότητά πολλών βιολογικών παραγόντων δεν αναμένεται να είναι η ίδια με αυτή ενός πολύ καλού μυκητοκτόνου.

Τα κύρια μειονεκτήματα των βιολογικών παραγόντων είναι:

- Η ανικανότητά τους να αποτρέψουν την εισβολή στο φυτικό ιστό και
- Η μη ενεργή δράση τους σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας.

Τα κύρια πλεονεκτήματα των βιολογικών παραγόντων είναι:

- ✓ Δε δημιουργούν ανθεκτικότητα στα φυτοπαθογόνα
- ✓ Δε μολύνουν το περιβάλλον
- ✓ Δεν επιβαρύνουν την ανάπτυξη του φυτού αφού δεν είναι φυτοτοξικά.

1.11.4.1 Μηχανισμοί δράσης των ανταγωνιστών του *B. cinerea*

Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη βιολογική καταπολέμηση του *B. cinerea* είναι πολλοί και διάφοροι (Elad, 1996). Οι βιολογικοί παράγοντες μπορούν να παρέμβουν σε διάφορες φάσεις του κύκλου ανάπτυξης του παθογόνου και παρεμποδίζουν τη μόλυνση με έναν από τους παρακάτω τρόπους:

- Συναγωνισμός για θρεπτικά στοιχεία και χώρο
- Παραγωγή αντιβιοτικών
- Υπερπαρασιτισμός
- Επαγωγή ανθεκτικότητας στο φυτό ξενιστή
- Πολλαπλοί τρόποι δράσης

1.11.4.1.1 Συναγωνισμός σε θρεπτικά στοιχεία και χώρο

Για την προσβολή της φυλλικής επιφάνειας από κάποιο παθογόνο είναι απαραίτητη η ύπαρξη πάνω της θρεπτικών στοιχείων (Harper *et al.*, 1981). Τα στοιχεία αυτά έχει αποδειχτεί ότι προωθούν τη βλάστηση των σπορίων, την ανάπτυξη του μυκηλίου ή τη δημιουργία απρεσσορίων στα φύλλα ή προωθούν την ανάπτυξη κηλίδων από νεκροτροφικά παθογόνα όπως ο *B. cinerea* (Blakeman *et al.*, 1982).

Τα βακτήρια και ορισμένες ζύμες έχει βρεθεί ότι απορροφούν στοιχεία από το υδατικό διάλυμα της σταγόνας, πιο γρήγορα και σε μεγαλύτερη ποσότητα από ότι οι βλαστικές υφές των παθογόνων μυκήτων. Έτσι αν ο μύκητας βρεθεί σε τέτοιες

συνθήκες δε βλαστάνει ή βλαστάνει πολύ φτωχά με αποτέλεσμα την αποτυχία της προσβολής (Blakeman, 1985).

Ο άλλος τρόπος δράσης είναι ο συναγωνισμός για χώρο, γνωστός και ως αποικισμός. Σε αυτήν την περίπτωση ανταγωνιστής αποικίζει τις επιφάνειες του φυτού πριν την άφιξη του παθογόνου. Έτσι ο υπάρχον αποικισμός του ανταγωνιστή μειώνει τη δυνατότητα του παθογόνου να αποικίσει στο ίδιο μέρος.

1.11.4.1.2 Παραγωγή αντιβιοτικών

Ο όρος αντιβίωση χρησιμοποιείται με την ευρεία έννοια, όπου μεταβολικά προϊόντα ή προϊόν από ένα μικροοργανισμό αναστέλλουν την ανάπτυξη ή καταστρέφουν κάποιον άλλον (Baker, 1987). Τα αντιβιοτικά έχουν δηλαδή μυκοστατική ή βακτηριοστατική δράση. Τέτοιες ουσίες είναι ορισμένα οργανικά οξέα, υπεροξειδία και αλκοόλες που παράγονται δευτερογενώς από το μεταβολισμό ορισμένων μικροοργανισμών.

Πολλά είδη μικροοργανισμών έχει αποδειχτεί ότι παράγουν αντιβιοτικά *in vitro*. Τέτοια είναι διάφορα είδη μυκήτων, βακτήρια και ζύμες. Τα αντιβιοτικά βέβαια μπορεί να δημιουργήσουν και προβλήματα στα φυτά αφού ορισμένα εμφανίζουν φυτοτοξική δράση καθώς και τοξική δράση στην ωφέλιμη μικροχλωρίδα.

1.11.4.1.3 Παρασιτισμός

Παρασιτισμός συμβαίνει όταν ένας παράγοντας βιολογικής καταπολέμησης αντλεί την τροφή του από το ζωντανό φυτικό παθογόνο. Το παράσιτο συνήθως αναπτύσσεται μέσα ή πάνω στα κύτταρα του ξενιστή του, δηλαδή του φυτοπαθογόνου (Lawrence, 2000).

Ο πιο σημαντικός τύπος παρασιτισμού είναι ο μυκοπαρασιτισμός δηλαδή ο παρασιτισμός ενός μύκητα από έναν άλλο. Τα μυκοπαράσιτα χωρίζονται σε δύο τύπους: τα βιοτροφικά και τα νεκροτροφικά. Βιοτροφικό μυκοπαράσιτο μπορεί να χαρακτηριστεί ένας μύκητας που βρίσκεται σε στενή συσχέτιση με κάποιον άλλο από τον οποίον παίρνει κάποια ή όλα τα θρεπτικά του στοιχεία. Αντίθετα τα νεκροτροφικά μυκοπαράσιτα σκοτώνουν τα κύτταρα των ξενιστών συχνά πριν τη διείσδυση.

Τα μυκοπαράσιτα προσβάλλουν τα όργανα του ξενιστή τους, τα οποία είναι συνήθως οι υφές ή τα σπόρια. Έτσι στις υφές μπορεί να παρατηρηθούν ανωμαλίες κατά την ανάπτυξη τους και τη δημιουργία διακλαδώσεων, λίγο πριν την επαφή, που προκαλούνται από τη δράση, από σχετικά μικρές αποστάσεις μυκοστατικών ή μυκοτοξικών ουσιών.

1.11.4.1.4 Επαγωγή ανθεκτικότητας στο φυτό ξενιστή

Η επαγωγή ανθεκτικότητας έχει αναγνωριστεί ως ένα σημαντικό κομμάτι της βιολογικής καταπολέμησης. Η επαγωγή της συστηματικής ανθεκτικότητας στο παθογόνο μπορεί να λάβει χώρα στα φυτά πριν τη μόλυνση τους, με διάφορους μικροοργανισμούς ή με χημικές ουσίες, που επάγουν την ανθεκτικότητα των φυτών.

1.11.4.1.5 Πολλαπλοί τρόποι δράσης

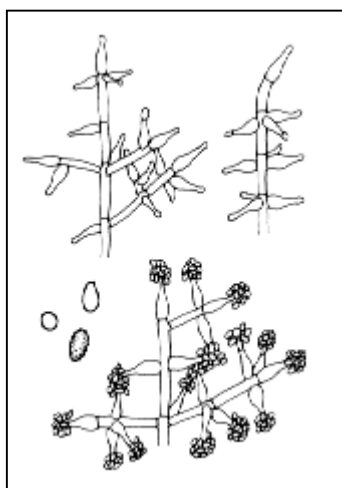
Όταν ένας βιολογικός παράγοντας δρα με περισσότερους από ένα τρόπους σε διαφορετικά υπέργεια φυτικά μέρη, τότε λέμε ότι έχει πολλαπλό τρόπο δράσης (Yu & Sutton, 1997).

1.11.4.2 Βιολογικοί παράγοντες που δρουν ενάντια στο *B. cinerea*

1.11.4.2.1 Μύκητες

1.11.4.2.1.1 *Trichoderma spp.*

Περιέχει πολλά είδη που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην καταπολέμηση φυτοπαθογόνων μυκήτων. Η τέλεια μορφή ανήκει στους Ασκομύκητες στην τάξη Hyrocreales και διατηρούνται στο έδαφος. Η ατελής μορφή σχηματίζει υαλώδεις υφές με septa, κονιδιοφόρους, φιαλίδια και κονίδια (Εικ. 8). Ορισμένα είδη όπως το *T. viride* παράγουν επίσης και χλαμυδοσπόρια. Οι κονιδιοφόροι είναι υαλώδεις, διακλαδιζόμενοι και φέρουν υαλώδη φιαλόμορφα φιαλίδια. Τα κονίδια είναι μονοκύτταρα και στρογγυλά ή ελλειψοειδή με διάμετρο 3μm περίπου (Bissett, 1991c).



Εικόνα 8. Σχεδιάγραμμα καρποφοριών του μυκήτα *Trichoderma spp.*

Έχουν ταχύτατο ρυθμό ανάπτυξης, πλούσια σπορογένεση και ανταγωνίζονται καλά άλλους μικροοργανισμούς του εδάφους. Η άριστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη τους είναι οι 20-28°C με ελάχιστη τους 0°C και μέγιστη τους 30 °C. Έχουν δείξει ανθεκτικότητα στα χημικά μυκητοκτόνα και παράγουν διάφορα αντιβιοτικά όπως η γλοιιοτοξίνη κι η βιριντίνη (Lambooy *et al.*, 2001).

Έχουν γίνει πολλές έρευνες για την αντιμετώπιση της τεφράς σήψης από τα είδη του γένους *Trichoderma* και δύο από αυτά, το *T. harzianum* και το *T. viride* (Peng *et al.*, 1990), βρέθηκαν ότι προστατεύουν αποτελεσματικά διάφορες κηπευτικές και ανθοκομικές καλλιέργειες.

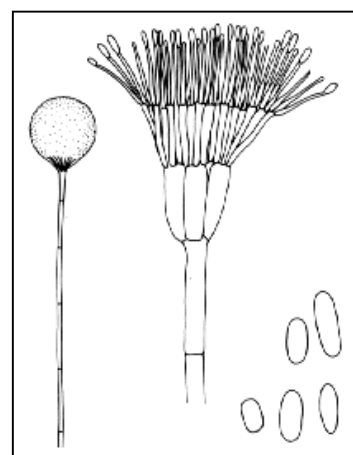
Σήμερα κυκλοφορεί ευρύτατα στην παγκόσμια αγορά το σκεύασμα Trichodex, υπό τη μορφή βρέξιμης σκόνης, με δραστικό μικροοργανισμό το *T. harzianum*. Το σκεύασμα αυτό συνιστάται για την καταπολέμηση της τεφράς σήψης στην τομάτα και άλλα κηπευτικά, στο αμπέλι κ.α. (O' Neil *et al.*, 1996b, a)

Ο τρόπος δράσης των ειδών του *Trichoderma* ενάντια στο *B. cinerea* δεν είναι μέχρι σήμερα καλά γνωστός (Elad, 1996). Το *Trichoderma* παράγει τόσο μη πτητικά (Denis *et al.*, 1971) όσο και πτητικά αντιβιοτικά (Roulston & Lane, 1988) τα οποία αναστέλλουν τη βλάστηση των κονιδίων και την επιμήκυνση των υφών του μύκητα. Όμως έχει αναφερθεί ότι δράει και ως υπερπαράσιτο των σκληρωτίων του *B. cinerea* σε διάφορα κηπευτικά (Coley *et al.*, 1980, Dubos, 1992).

Έτσι η καταπολέμηση του μύκητα με το *Trichoderma spp* πιστεύεται ότι είναι αποτέλεσμα της συλλογικής δράσης τους ή της αλλαγής των μικροπεριβαλλοντικών συνθηκών που εμποδίζουν την ανάπτυξη του πρώτου (O' Neil *et al.*, 1996a). Αυτό βασίζεται στο ότι υπάρχει διαφοροποίηση στις συνθήκες οι οποίες ευνοούν τη βλάστηση των σπορίων του *B. cinerea* και την ανταγωνιστική δράση του *T. harzianum* T39, αφού αυτό δεν χρειάζεται παρουσία ελεύθερου νερού, θέλει 80-97% σχετική υγρασία και θερμοκρασία 20-26°C. Έτσι ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες άλλοτε η αποτελεσματικότητα του ανταγωνιστή είναι ικανοποιητική και άλλοτε όχι (Shtienberg & Elad, 1997).

1.11.4.2.1.2 *Gliocladium spp.*

Οι μύκητες του γένους *Gliocladium* έχουν τέλεια μορφή που ανήκει στους Ασκομύκητες στην τάξη Hyocreales. Είναι νηματοειδής μύκητες οι οποίοι βρίσκονται πολύ συχνά στο έδαφος ή σε αποσυντεθειμένα φυτικά μέρη. Παράγουν υαλώδεις υφές με septa και όρθιους κονιδιοφόρους που διακλαδίζονται στα άκρα τους. Οι ακραίες διακλαδώσεις καταλήγουν σε φιαλόμορφα φιαλίδια και αυτά δίνουν ωσειδή έως κυλινδρικά μονοκύτταρα κονίδια (Εικ. 9).



Εικόνα 9. Σχεδιάγραμμα των καρποφοριών του μύκητα *Gliocladium spp.*

- *Gliocladium roseum*

Ο μύκητας αυτός αναστέλλει τη βλάστηση των κονιδίων και την ανάπτυξη των βλαστικών υφών του *B. cinerea*. Οι βλαστικές υφές αναπτύσσονται πάνω, τυλίγουν γύρω-γύρω, διατρυπούν και αναπτύσσονται μέσα στις υφές του

φυτοπαθογόνου. Τα παρασιτισμένα κονίδια και οι βλαστικές υφές του *B. cinerea* έχουν δείγματα κυττοπλασμικής αποσύνθεσης (Li *et al.*, 2002).

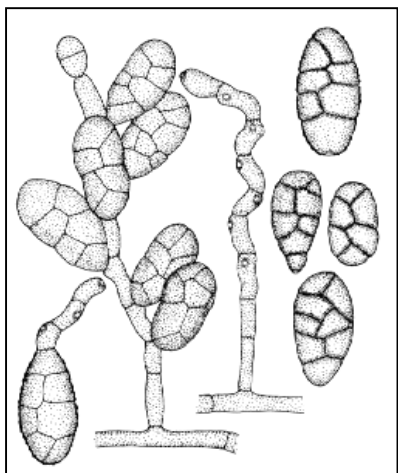
Στους στήμονες ο ανταγωνιστής αυτός μειώνει την ευαισθησία αποικισμού από το μύκητα, όμως δεν αναστέλλει τη βλάστηση, ανάπτυξη και δημιουργία των απρεσορίων του. Έτσι έχει πολλαπλό τρόπο δράσης καθώς τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία στα φυτικά όργανα παίζουν σημαντικό ρόλο στον ανταγωνισμό (Yu & Sutton, 1997). Οι ιδανικές θερμοκρασίες για τη βλάστηση και την μυκηλιακή ανάπτυξη του ανταγωνιστή είναι μεταξύ 27-39°C και σε αυτές τα κονίδια του βλαστάνουν σε 10 ώρες.

- *Gliocladium virens*

Ο μύκητας *Gliocladium virens* αναστέλλει τη βλάστηση των κονιδίων του *B. cinerea* και την επιμήκυνση των υφών αφού παράγει το αντιβιοτικό γλοιτοζίνη (Schirmbock *et al.*, 1994).

1.11.4.2.1.3 *Ulocladium atrum*

Η τέλεια μορφή ανήκει στους Ασκομύκητες στην τάξη Pleosporales. Αναπτύσσει καστανόχρωμες υφές με septa και καστανόχρωμους απλούς ή διακλαδισμένους επίπεδους κονιδιοφόρους που είναι λυγισμένοι κάθετα στο σημείο παραγωγής των κονιδίων. Τα κονίδια έχουν χρώμα καστανό έως μαύρο, σχήμα ωοειδές έως στρογγυλό, μέγεθος 13-30 x 6-19 μm, είναι επίπεδα ή ανώμαλα και έχουν δικτυωτά χωρίσματα (Εικ. 10) (Ellis, 1976).



Εικόνα 10. Κονιδιοφόρος και κονίδια του μύκητα *Ulocladium atrum*.

Είναι σαπροφυτικός και έχει την ικανότητα να παρεμποδίζει την παραγωγή κονιδίων του *B. cinerea*. Αυτό συμβαίνει διότι ανταγωνίζεται το σαπροφυτικά αναπτυσσόμενο μυκήλιο του παθογόνου (Köhl *et al.*, 1995). Σε πρόσφατα πειράματα στη φράουλα έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Αριστες θερμοκρασίες για τη βλάστηση και τη μυκηλιακή ανάπτυξη είναι μεταξύ 27-30°C και σε αυτές η βλάστηση γινόταν σε 2,6 ώρες (Böff *et al.*, 2003). Σε πείραμα των Fruit *et al.* (2000) σε φυτά τομάτας

το *U. atrum* μείωσε την προσβολή από την τεφρά σήψη, σε πληγές κλαδέματος και αποικίες του μύκητα στους βλαστούς. Αυτό επετεύχθη σε 15 διαφορετικούς συνδυασμούς υγρασίας και θερμοκρασίας. Μάλιστα ακόμη και σε θερμοκρασία 20-25°C, που είναι η ευνοϊκότερη για την επέκταση των κηλίδων του μύκητα

στους βλαστούς, ο ανταγωνιστής έδωσε καλά αποτελέσματα. Όταν το *U. atrum* εφαρμόστηκε σε συγκέντρωση ίση με τον *B. cinerea* επετεύχθη υψηλή προστασία ενώ σε 10 φορές υψηλότερη, η προστασία ήταν ολική.

Έτσι το *U. atrum* είναι ένας πολλά υποσχόμενος βιολογικός παράγοντας για την προστασία των πηλών κλαδέματος και του βλαστού της τομάτας στα θερμοκήπια από την τεφρά σήψη (Fruit *et al.*, 2000).

1.11.4.2.1.4 *Coniothyrium minitans*

Ο *C. minitans* ανήκει στους Αδηλομύκητες στην τάξη Melancoliales. Είναι ευρύτατα γνωστός ως μυκοπαρασιτικός μύκητας των σκληρωτίων, που παράγονται από μύκητες όπως ο *B. cinerea* και ο *Sclerotinia spp.*. Παράλληλα μειώνει το ρυθμό αποικισμού ιστών, των υπέργειων φυτικών μερών, φυτών τομάτας (Gerlagh *et al.*, 1996).

1.11.4.2.1.5 Άλλοι μύκητες

Άλλοι μύκητες που δρουν κατά του *B. cinerea* είναι οι *Penicillium sp.*, *Athirinium montagnei*, *Alternaria alternata*, *Ghaetonium globosum* (Elad *et al.*, 1994b) και ο *Gliocladium catenulatum* (Köhl *et al.*, 1995a,b).

1.11.4.2.2 Ζύμες

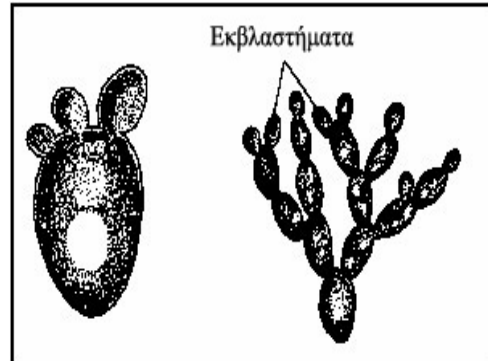
Ο όρος ζύμες αντιστοιχεί περισσότερο σε ένα τρόπο ανάπτυξης κάποιων μυκήτων παρά σε κάποια φυλογενετική ταξινόμηση (Fowell, 1969a). Οι ζύμες είναι μονοκύτταροι μύκητες οι οποίοι παράγουν θυγατρικά κύτταρα είτε με εκβλάστηση είτε με αναπαραγωγή κυττάρου. Η διαφορά τους από τους περισσότερους μύκητες είναι ότι αυτοί αναπτύσσονται με επιμήκεις υφές. Οι ζύμες που πολλαπλασιάζονται με εκβλάστηση είναι πραγματικοί μύκητες και ανήκουν στους Ασκομύκητες στην τάξη Saccharomycetales (http://www.yeastgenome.org/VL-what_are_yeast.html). Βέβαια αρκετές ζύμες ανήκουν στους Βασιδιομύκητες αλλά και στους Αδηλομύκητες.

Οι ζύμες βρίσκονται σε ένα μεγάλο εύρος θέσεων στη φύση. Είναι πολύ συνηθισμένες σε φύλλα και άνθη φυτών, στο έδαφος και στο αλατούχο νερό. Αναπτύσσονται σε υγρό περιβάλλον, εκεί που υπάρχουν άφθονα διαλυτά άλατα όπως σάκχαρα και αμινοξέα. Για το λόγο αυτό είναι πολύ συχνή η παρουσία τους στην επιφάνεια φύλλων και φρούτων, στις ρίζες καθώς και σε διάφορα είδη φαγητού (<http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/yeast.htm>).

Ζύμες χρησιμοποιούνται στην αρτοποιεία, τη ζαχαροπλαστική, την οινοποιεία, τη ζυθοποιεία και γενικότερα την ποτοποιεία αλλά και αλλού. Η πιο ευρέως γνωστή ζύμη είναι η λεγόμενη μαγιά του ψωμιού *Saccharomyces cerevisiae*

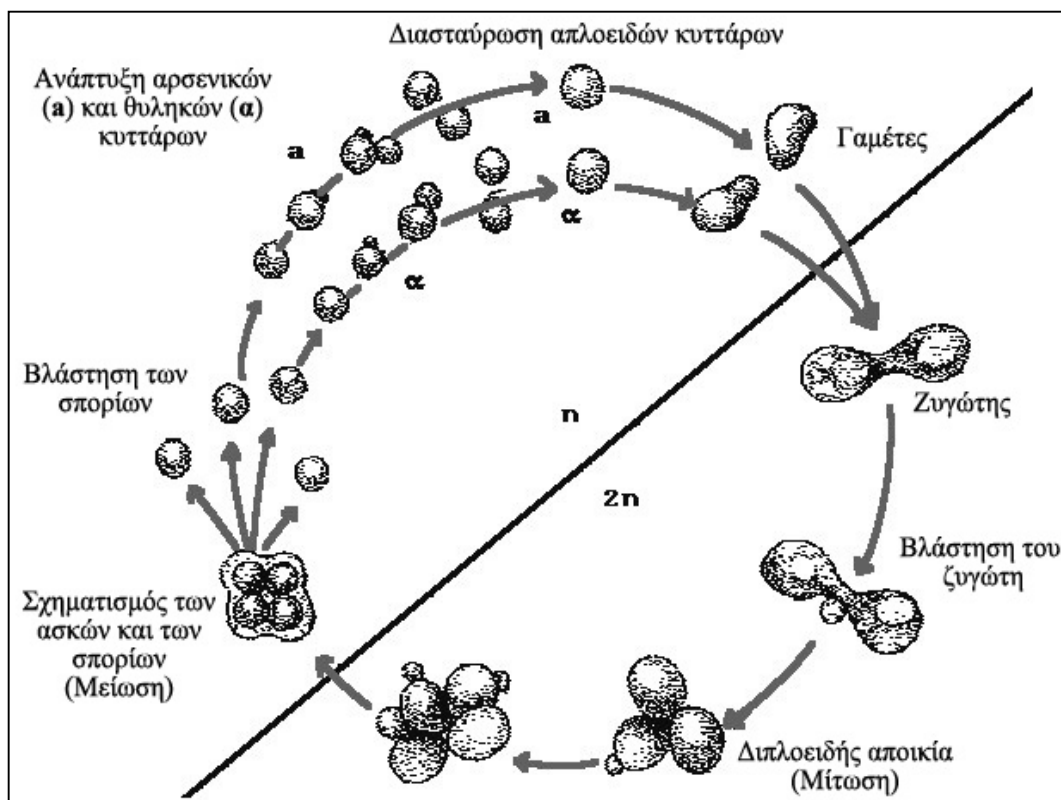
(Fowell, 1969a). Όμως μερικές από αυτές είναι επικίνδυνες για την ανθρώπινη υγεία επειδή προκαλούν κάποιες ασθένειες. Τέτοιες ζύμες είναι η *Cryptococcus neoformans* και η *Candida albicans*.

Ο πολλαπλασιασμός των ζυμών γίνεται ως επί το πλείστον με εκβλαστήματα του μητρικού κυττάρου. Ο κύκλος ξεκινάει από ένα μη εκβλαστημένο κύτταρο. Το κύτταρο βλαστάνει, το εκβλάστημα μεγαλώνει και όταν τελικά αποκτήσει μέγεθος σχεδόν ίσο με του μητρικού αποχωρίζονται, ώστε να αποτελέσουν δύο νέα κύτταρα (Εικ. 11) (<http://www.ces.uga.edu/pubcd/b817-w.html#Sugar-Loving%20Yeasts>).



Εικόνα 11. Βλάστηση ζυμών

Αυτός ο τρόπος πολλαπλασιασμού των ζυμών είναι τέλειος και αποτελείται τόσο από την απλοειδή όσο και από τη διπλοειδή φάση. Ο κύκλος ζωής των ζυμών περιέχει μια μείωση και μία μίτωση και φαίνεται στην Εικόνα 12. (<http://www.phys.ksu.edu/gene/a1.html>).



Εικόνα 12. Βιολογικός κύκλος των ζυμών.

Οι ζυμομύκητες όπως προαναφέρθηκε συναντώνται πολύ συχνά πάνω στα φυτά όπου αναπτύσσονται λόγω των άφθονων θρεπτικών στοιχείων που υπάρχουν.

Έτσι σε πειράματα που έγιναν βρέθηκαν διάφορες ζύμες οι οποίες ανταγωνίζονταν διάφορα φυτοπαθογόνα. Ο ανταγωνισμός όπως αποδείχτηκε οφειλόταν στο συναγωνισμό για θρεπτικά στοιχεία κι όχι στην αντιβίωση ή κάτι άλλο (Chalutz *et al.*, 1988).

Παρακάτω αναφέρονται μερικές ζύμες για τις οποίες έχει αναφερθεί δράση ενάντια στην τεφρά σήψη διάφορων καλλιεργειών.

1.11.4.2.2.1 *Pichia spp.*

Ανήκουν στους Ασκομύκητες στην τάξη Saccharomycetales. Σχηματίζουν ασκούς οι οποίοι περιέχουν 1-4 ασκοσπόρια με σχήμα σφαιρικό ή σε μορφή καπέλου. Η *P. anomala* είναι πολύ καλός ανταγωνιστής του *B.cinerea* σε θρεπτικά στοιχεία και χώρο σε αποθηκευμένα μήλα (Jijakli *et al.*, 1998). Η *P. guillemontii* είναι αποτελεσματική εναντίον της τεφράς σήψης καρπών φράουλας (Guetsky *et al.*, 2002).

1.11.4.2.2.2 *Sporobolomyces roseus*

Ανήκει στους Βασιδιομύκητες στην τάξη Sporidiales. Στη φύση βρίσκεται κυρίως στον αέρα και στα φύλλα των δέντρων. Είναι αναμορφική ζύμη δηλαδή παράγει σπόρια αγενώς. Παράγει κύτταρα όμοια με αυτά των ζυμών, ψευδοϋφές, πραγματικές υφές και βαλλιστοκονίδια. Τα βαλλιστοκονίδια είναι βλαστοκονίδια τα οποία δεν είναι πιασμένα στο βασιδιοκάρπιο αλλά το στήριγμα τους ακουμπάει μόνο λίγο πάνω του. Η ζύμη αυτή είναι πολύ αποτελεσματική κατά της τεφράς σήψης των μήλων λόγω της ικανότητας της να ανταγωνίζεται το παθογόνο σε θρεπτικά στοιχεία (Janisiewicz *et al.*, 1994).

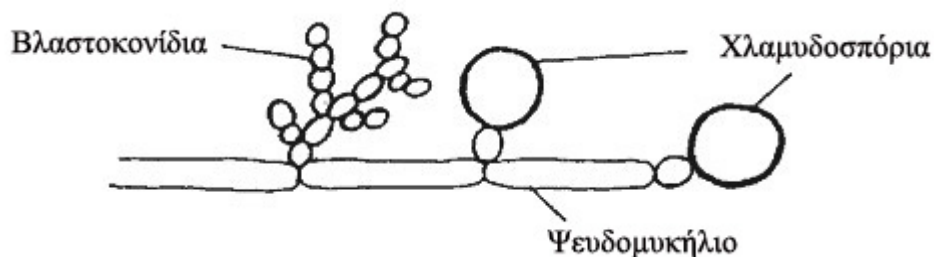
1.11.4.2.2.3 *Cryptococcus spp.*

Τα είδη αυτά ανήκουν στους Βασιδιομύκητες στην τάξη Sporidiales. Παράγουν στρογγυλά βλαστάνοντα κύτταρα. Ανήκουν και αυτά στις αναμορφικές ζύμες. Δεν έχουν πραγματικές υφές ενώ οι ψευδοϋφές συνήθως απουσιάζουν ή είναι υποτυπώδεις. Το είδος *C. humicola* είναι ανταγωνιστής του *B.cinerea* στα μήλα μειώνοντας την ευαισθησία αλλά και τη σήψη αυτών (Filonow *et al.*, 1996). Το είδος *C. albidus* μειώνει την συχνότητα αλλά και τον αποικισμό καρπών φράουλας από το παθογόνο (Helbig, 2003).

1.11.4.2.2.4 *Candida saitoana*

Η ζύμη *C. saitoana* ανήκει στους Ασκομύκητες στην τάξη Saccharomycetales. Παράγει ένα σύμπλεγμα από στρογγυλά βλαστοκονίδια κατά μήκος των υφών και στα σημεία που υπάρχουν septa (Εικ.13). Έχει τόσο ψευδοϋφές όσο και

πραγματικές υφές. Είναι ανταγωνιστής του *B.cinerea* στα μήλα (El-Ghaouth *et al.*, 1998).

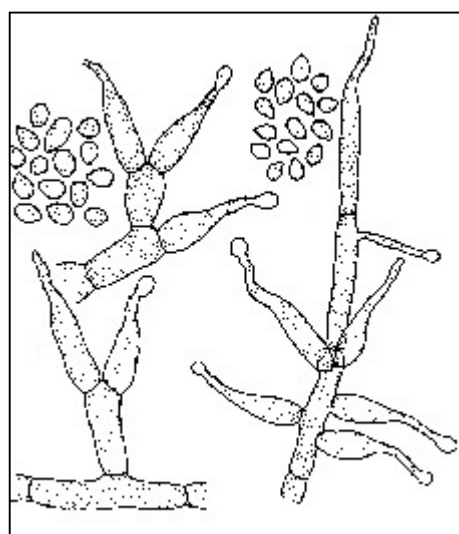


Εικόνα 13. Ψευδομυκήλιο ζύμης με χλαμυδοσπόρια και σύμπλεγμα από βλαστοκονίδια.

1.11.4.2.2.5 *Exophiala jeanselmei*

Η *E. jeanselmei* ανήκει στους Ασκομύκητες την τάξη Chaetothyriales.

Πρόκειται για μία μαύρη ζύμη. Όταν προέρχεται από φρέσκια καλλιέργεια παράγει κύτταρα σε μακριές αλυσίδες. Αργότερα παράγονται υφές οι οποίες παράγουν στα septa τους τις ανελίδες. Αυτές είναι κονιδιογόνα κύτταρα τα οποία έχουν σωληνοειδές σχήμα ρουκέτας με μία μικρή επιμηκυσμένη άκρη, απ' την οποία παράγονται τα κονίδια που είναι μονοκύτταρα ελλειψοειδή μεγέθους 1-3 x 3-6 μm. (Εικ. 14) Η ζύμη αυτή έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα στην καταπολέμηση της τεφράς σήψης της τριανταφυλλιάς.



Εικόνα 14. Υφές, ανελίδες και κονίδια της ζύμης *E. jeanselmei*.

1.11.4.2.2.6 *Saccharomyces cerevisiae*

Ο *S. cerevisiae*, όπως προαναφέρθηκε, είναι ένας πολύ διαδεδομένος και χρήσιμος μύκητας. Ανήκει στους Ασκομύκητες στην τάξη Saccharomycetales. Έχει βλαστοκονίδια τα οποία είναι μονοκύτταρα σφαιρικά ή ελλειψοειδή και επιμηκυσμένα. Έχει ψευδοϋφές οι οποίες όταν εμφανίζονται είναι υποτυπώδεις ενώ δεν έχει καθόλου πραγματικές υφές. Οι ασκοί περιέχουν 1-4 κυλινδρικά ασκοσπόρια.

Η ζύμη αυτή έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση του *B. cinerea* σε ακτινίδια σε πειραματική εργασία των Cheah και Hunt (1994) (http://www.hortnet.co.nz/publications/nzppps/proceedings/94/94_362.htm). Σε αυτήν την εργασία δοκιμάστηκαν πάνω από 120 ζύμες από τις οποίες ξεχώρισαν έξι. Πρόκειται για τις *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces fragilis*,

Hansenula capsulata, *Kluyveromyces fragilis*, *Saccharomyces cerevisiae* και *Kluyveromyces fragilis*.

(http://www.hortnet.co.nz/publications/nzpps/proceedings/94/94_362.htm).

1.11.4.2.3 Βακτήρια

1.11.4.2.3.1 *Bacillus* sp.

Τα βακτήρια του γένους *Bacillus* sp έχουν δύο χαρακτηριστικά γνωρίσματα τα οποία τα κάνουν ισχυρούς παράγοντες βιολογικής καταπολέμησης ασθενειών των φυτών. Καταρχήν παράγουν μια σειρά από αντιβιοτικά τα οποία σε πολλές περιπτώσεις είναι τοξικά για φυτοπαθογόνους μύκητες (Walker *et al.*, 1998) και δεύτερον παράγουν σπόρια τα οποία είναι ανθεκτικές μορφές με μεγάλη διάρκεια παραμονής στα φυτικά μέρη. Η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους είναι 30°C ενώ είναι θετικά κατά Gram.

- *Bacillus subtilis*

Οι φυλές του *B. subtilis* παράγουν διάφορους μεταβολίτες όπως τα αντιβιοτικά πεπτιδία καθώς και τα παράγωγα φυτοορμονών (ειδικά αυξίνες) τα οποία έχουν δράση στην φυτική ανάπτυξη και ενισχύουν την υγεία των φυτών (Boshow, 1995). Τα αντιβιοτικά αυτά είναι τα bacitracin, mycobacillin, subtilin, bacilycin, fengumicin, neocidins και άλλα (Loeffler *et al.*, 1990). Το βακτήριο αυτό έχει δοκιμαστεί κι έχει δώσει θετικά αποτελέσματα για την καταπολέμηση της τεφράς σήψης της τομάτας (Markellou, 1999).

- *Bacillus brevis* Nagano Wild-Type (WT)

Ο βάκιλλος αυτός έχει δύο τρόπους δράσης ενάντια στο *B. cinerea*. Καταρχήν παράγει βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες οι οποίες μειώνουν τις περιόδους φυλλικής δүүγρανσης που είναι απαραίτητες για την προσβολή και παράγει και το τοξικό για το μύκητα αντιβιοτικό, gramicidin S, ένα κυκλικό δεκαπεπτιδίο, που αναστέλλει τη βλάστηση των κονιδίων (Mc Hugh & Seddon, 2000).

Το αντιβιοτικό αυτό είτε καθαρό είτε μεταφερόμενο από κονίδια αναστέλλει το παθογόνο σε πάνω από ένα στάδια του βιολογικού του κύκλου (Edwards, 1993, Walker *et al.*, 1998). Σύμφωνα με τον Edwards (1993) το βακτήριο αυτό βρέθηκε εξίσου αποτελεσματικό με το μυκητοκτόνο iprodione στην καταπολέμηση της τεφράς σήψης του κινέζικου λάχανου, σε τούνελ πολυαιθυλενίου στη Σκοτία.

Από την άλλη σε πειράματα που έγιναν σε θερμοκήπια, βρέθηκε ότι σε φυτά τομάτας ψεκασμένα με *B. brevis* τα φύλλα στεγνώνουν κατά 80% γρηγορότερα σε σχέση με το μάρτυρα. Η ιδιότητα αυτή του εν λόγω βακτηρίου μπορεί να

χρησιμοποιηθεί ως μέσο βιολογικής καταπολέμησης, ειδικά για το *B. cinerea* τα κονίδια του οποίου χρειάζονται λεπτό φιλμ νερού για να βλαστήσουν.

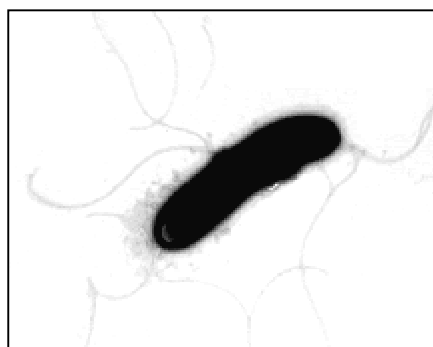
- *Bacillus brevis* E1

Ο βάκιλλος αυτός παράγει όπως και ο προηγούμενος επιφανειοδραστικές ουσίες, δεν παράγει όμως το αντιβιοτικό gramicidin S. Βέβαια η αποτελεσματικότητα τους εναντίον της τεφράς σήψης είναι ανάλογη.

Σε πειράματα που έγιναν από τη Markellou (1999) σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας παρατηρήθηκε ότι τα δύο στελέχη του *B. brevis* βοηθούν στην καταπολέμησης της τεφράς σήψης. Ο *B. brevis* γενικά είναι ένας πολύ ισχυρός παράγοντας καταπολέμησης του *B. cinerea* σε ένα πολύ μεγάλο εύρος θερμοκηπιακών καλλιεργειών. Σήμερα μελετάται για να κατανοηθεί καλύτερα ο τρόπος δράσης του βακίλλου και ο ρόλος των επιφανειοδραστικών ουσιών και του gramicidin S σε διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες.

1.11.4.2.3.2 *Pseudomonas* sp.

Υπάρχουν αρκετά είδη του γένους *Pseudomonas* (Εικ. 15) τα οποία ανταγωνίζονται τον *B. cinerea* σε διάφορες καλλιέργειες. Τα είδη αυτά είναι πολύ αποτελεσματικοί ανταγωνιστές σε παθογόνα φυλλώματος όπως ο εν λόγω μύκητας. Αυτό καταρχήν διότι συναγωνίζονται έντονα τους φυτοπαθογόνους μύκητες στην πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και έχουν τη δυνατότητα να προσροφούν στοιχεία ακόμη και από την επιφάνεια των σπορείων του μύκητα προκαλώντας του σημαντικές απώλειες (Froser, 1971). Από την άλλη παράγουν αντιβιοτικά τα οποία είναι αρκετά αποτελεσματικά ενάντια σε κάποια παθογόνα.



Εικόνα 15. Βακτήριο του γένους *Pseudomonas* sp.

Ένα πολύ σημαντικό είδος είναι το *P. fluorescens* το οποίο δρα με αντιβιοτικά έναντι της μετασυλλεκτικής τεφράς σήψης του άσπρου λαχάνου (Leifert *et al.*, 1993). Συγχρόνως έχει βρεθεί ότι μια απομόνωση του *P. cerasia* παράγει ένα πολύ ισχυρό αντιβιοτικό, το pyrolnitrin.

Επίσης σημαντικά μυκοπαράσιτα είναι διάφορα στελέχη του *P. syringae* και ο *P. gladioli* τα οποία είναι αποτελεσματικά κατά της τεφράς σήψης των μήλων και των αχλαδιών. Σε έρευνα των De Mayer και Höfte (1997) βρέθηκε ότι το *P. aeruginosa* 7NSK2 επάγει την ανθεκτικότητα φυτών φασολιού στην τεφρά σήψη.

Αυτή η επαγωγή σχετιζόταν με το σίδηρο και την παραγωγή σαλικικού οξέος (SA).

Σήμερα κυκλοφορούν στο εμπόριο τα σκευάσματα Biosave 100 και 110 τα οποία προέρχονται από δύο στελέχη του *P. syringae*, τα ESC-100 και ESC-110 αντίστοιχα και χρησιμοποιούνται στην καταπολέμηση της τεφράς σήψης.

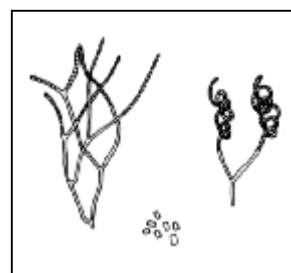
1.11.4.2.3.3 *Coryneform bacterium*

Τα βακτήρια της ομάδας αυτής είναι θετικά κατά Gram και η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους είναι 30°C. Έχουν τη δυνατότητα να πολλαπλασιάζονται ταχύτατα και να ανταγωνίζονται άλλους μικροοργανισμούς σε διατροφικό επίπεδο. Έτσι αν ο *B. cinerea* δεν προλάβει να αποικίσει τους φυτικούς ιστούς πριν από τα βακτήρια, δημιουργείται πολύ έντονος συναγωνισμός και μπορεί να περιοριστεί σε ποσοστά ανάλογα με εκείνα του μυκητοκτόνου iprodione σε πέταλα από τριαντάφυλλα.

1.11.4.2.3.4 *Streptomyces spp.*

Ανήκουν στην κλάση Actinomycetes των βακτηρίων. Είναι θετικά κατά Gram αναπτύσσονται άριστα στους 30°C και είναι σαπροφυτικά. Τα νημάτια και τα σπόρια τους είναι πολύ μικρά, με διάμετρο συνήθως 1μm ή και μικρότερη. Τα σπόρια σχηματίζονται με διαχωρισμό των υφών και δημιουργούνται σε ίσιες, κυματιστές ή ελικοειδείς αλυσίδες (Εικ. 16). Συνήθως βρίσκονται στο έδαφος, στα φυτικά υπολείμματα και στην κοπριά.

Τα είδη αυτά καταπολεμούν πολλούς φυτοπαθογόνους μύκητες λόγω του ότι παράγουν διάφορα αντιβιοτικά όπως η στρεπτομυκίνη. Η φυλή K61 του είδους *S. griseoviridis* που απομονώθηκε από τύρφη στην Φιλανδία (Kortema *et al.*, 1997, Tahvonon, 1982) έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση του *B. cinerea* (Lambooy *et al.*, 2001).



Εικόνα 16. Βακτήριο του γένους *Streptomyces spp.*

1.11.4.2.4 Ιοί

Οι Howitt *et al.* (2000) ανακάλυψαν ένα νέο μυκητοϊό ο οποίος προσβάλλει το μύκητα *B. cinerea*. Πρόκειται για τον *Botrytis virus flexuosus* (BVF) που περιέχει ssRNA και γονιδίωμα με 6827 νουκλεοτίδια. Αυτή είναι μια πολύ σημαντική εξέλιξη στην προσπάθεια για βιολογική καταπολέμηση της τεφράς σήψης και θα πρέπει να γίνουν και άλλες έρευνες προς αυτήν την κατεύθυνση.

1.11.4.3 Εκχυλίσματα

Στην προσπάθεια του ανθρώπου για βιολογική καταπολέμηση των φυτοπαρασίτων, σημαντικό ρόλο έχουν τα εκχυλίσματα. Αυτά είτε είναι εκχυλίσματα φυτών τα οποία περιέχουν ουσίες με μυκοστατικές ιδιότητες, είτε προέρχονται από compost στα οποία υπάρχει μεγάλος βαθμός βιολογικής δραστηριότητας.

1.11.4.3.1 Εκχυλίσματα από φυτικούς ιστούς

Τα φυτά για να αντιμετωπίσουν τους εχθρούς και τις ασθένειες τους, για αυτοάμυνα δηλαδή, παράγουν μια ποικιλία ουσιών με τοξικές ιδιότητες για τα φυτοπαρασίτα. Οι ουσίες αυτές έχουν μυκοστατική δράση και αποτελούν σημαντικό κομμάτι της αλληλεπίδρασης φυτού-παθογόνου.

Επιπρόσθετα σε περιόδους stress που τα φυτά παρουσιάζουν σημαντικές αλλαγές στο μεταβολισμό τους, παράγουν και συσσωρεύουν φυτοαλεξίνες ακριβώς για να αμυνθούν ενάντια στα παθογόνα. Έτσι σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη μόλυνση αρχίζει η σύνθεση κι η συσσώρευση φυτοαλεξινών κύρια στην περιοχή της μόλυνσης. Οι φυτοαλεξίνες από χημική άποψη είναι διαφορετικής σύστασης στις διάφορες ταξινομικές κατηγορίες φυτών, παρουσιάζουν δηλαδή ένα βαθμό εξειδίκευσης στη δράση τους. Γενικά όμως είναι ουσίες με μικρό μοριακό βάρος που δρουν ενάντια στην ανάπτυξη παθογόνων μέσα στο φυτό.

Το 1959 οι Ark & Thompson έδειξαν ότι εκχυλίσματα από σκόρδο περιέχουν ουσίες με μυκητοκτόνες ιδιότητες. Τρεις από τις ουσίες αυτές, η βενζαλδεϋδη, το αιθυλοβενζόλιο και το methyl salicate, βρέθηκε ότι παρεμποδίζουν εντελώς την ανάπτυξη του *B. cinerea* στα ροδάκινα.

Ένα άλλο εκχύλισμα είναι αυτό του φυτού *Reynoutria sachalinensis* που είναι γνωστό ότι αυξάνει την αντοχή των φυτών στα παθογόνα. Το εκχύλισμα αυτό είναι αποτελεσματικό ενάντια σε ασθένειες των κηπευτικών όπως τα ωΐδια και η τεφρά σήψη. Σήμερα δεν έχει ξεκαθαρίσει από ποιες ακριβώς μυκητοκτόνες ουσίες αποτελείται, όμως θεωρείται πιθανόν να είναι το physior, το emodin και οι γλυκοζίτες (Schmitt *et al.*, 1998).

Η δράση του εκχυλίσματος αυτού σε φυτά αγγουριάς ενάντια στο μύκητα *Sphaerotheca fuliginea*, οφείλεται στην ενίσχυση της άμυνας του φυτού απέναντι στο παθογόνο κι όχι σε μυκητοκτόνες ιδιότητες. Το συμπέρασμα αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι σε πείραμα των Daayf *et al.* (1997), μετά από προστατευτικό ψεκασμό με Milsana (σκεύασμα με βάση το εκχύλισμα του *R. sachalinensis*) τα

φύλλα των αγγουριών παρουσίασαν αυξημένες ποσότητες φαινολικών ενώσεων, που θεωρούνται ότι έχουν μυκητοκτόνο δράση, ενώ ακόμη μεγαλύτερες ήταν οι ποσότητες σε εποχή που τα φυτά ξενιστές προσβάλλονται από το παθογόνο.

Τα εκχυλίσματα των φυτών που χρησιμοποιούνται ως μυκητοκτόνα, δεν πρέπει να θεωρούνται εντελώς αθώα λόγω της φυσικής προέλευσης τους. Η χρήση τους ενδέχεται να έχει βλαβερές συνέπειες για την ανθρώπινη υγεία καθώς και αυτήν των ζώων.

Σύμφωνα με τους Wilson & Wisniewski (Ames, 1987), τα φυσικά μυκητοκτόνα έχουν καρκινογενετικές ιδιότητες ανάλογες με τα συνθετικά. Συχνά μάλιστα ορισμένες ουσίες από τα φυτικά εκχυλίσματα μπορεί να επιβαρύνουν πολύ περισσότερο τον ανθρώπινο οργανισμό. Βέβαια αυτό δεν πρέπει να εμποδίζει την παραπέρα μελέτη και έρευνα για την ανακάλυψη νέων ουσιών οι οποίες μπορούν να συνεισφέρουν στην καταπολέμηση διαφόρων ασθενειών.

1.11.4.3.2 Εκχυλίσματα από “composts”

Όπως προαναφέρθηκε οι μη παθογόνοι για τα φυτά οργανισμοί μπορούν να περιορίζουν τη δράση και τον πληθυσμό των παθογόνων. Σε ένα όμως οργανικό υλικό που χουμοποιείται, όπως είναι ένα compost αναπτύσσεται μια έντονα ενεργός μη παθογόνος μικροχλωρίδα, που είναι αρκετά ανταγωνιστική απέναντι στους παθογόνους μύκητες και βακτήρια. Η αποτελεσματικότητα αυτή των κομποστών εναντίον κάποιων ασθενειών των φυτών οφείλεται στην ανάπτυξη επαγόμενης ανθεκτικότητας σε συνδυασμό με την παρεμπόδιση του παθογόνου. Έτσι είναι δυνατόν τα εκχυλίσματα αυτά να χρησιμοποιηθούν ως ψεκαστικά υγρά για την καταπολέμηση των παθογόνων όπως ο *B. cinerea*.

Συγκεκριμένα για το *B. cinerea*, ο Weltzien (1991) επεσήμανε τη δυνατότητα να κατασταλεί με μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται σε “compost”. Συγχρόνως ο ίδιος ερευνητής αναφέρει ότι η χρήση “compost” από περιττώματα ζώων, έδωσε εκχύλισμα το οποίο είχε θετικότερα αποτελέσματα στην αντιμετώπιση της τεφράς σήψης, ανάλογα με αυτά των γνωστών μυκητοκτόνων dichlofluanid και procymidon.

Για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των εκχυλισμάτων αυτών ενάντια στην τεφρά σήψη προστέθηκαν ορισμένα θρεπτικά στοιχεία, όπως πρωτεΐνες για την ενδυνάμωση με αυτόν τον τρόπο των μη παθογόνων μικροοργανισμών του εκχυλίσματος (Tränkner, 1992). Σε άλλη έρευνα των Ketteter *et al.* (1991) αναφέρεται ότι η αποτελεσματικότητα της καταπολέμησης του μύκητα με

εκχυλίσματα από “composts” όχι μόνο εξαρτάται από την προσθήκη θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα αλλά και βελτιώνεται μέσω αυτής.

Εν κατακλείδι τα εκχυλίσματα από κομπόστες αποτελούν πηγές εύκολης, φτηνής και απλής εξεύρεσης βιολογικών παραγόντων, αφού δεν χρειάζονται ιδιαίτερη τεχνολογία. Έτσι η μέθοδος αυτή παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον και καλές προοπτικές για το μέλλον. Όμως από την άλλη η μη σταθερή σύσταση αυτών των υλικών και η σταθερή διαδικασία της ζύμωσης (κομποστοποίηση) δημιουργούν λογικές αμφιβολίες για το κατά πόσο θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την καταπολέμηση διαφόρων παθογόνων.

1.11.4 Αναγκαίες πληροφορίες για προγράμματα βιολογικής καταπολέμησης

Η βιολογική καταπολέμηση των ασθενειών των φυτών στηρίζεται στις δυνατότητες των διάφορων βιολογικών παραγόντων, που χρησιμοποιούνται, να ανταγωνίζονται το παθογόνο αίτιο. Η αποτελεσματική βιολογική καταπολέμηση περιλαμβάνει επίσης την ικανότητα του ανταγωνιστικού παράγοντα να επιβιώνει και να διατηρείται στη θέση που εφαρμόζεται. Αυτή η ιδιότητα των ανταγωνιστών αν και είναι πολύ σπουδαία και βασική για τη βιολογική καταπολέμηση, ελάχιστες είναι οι μελέτες που έχουν γίνει για την επιβίωση τους στις φυτικές επιφάνειες αλλά και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που τους ευνοούν (Windels *et al.*, 1985, Elad, 1992).

Ασφαλώς ένας βιολογικός παράγοντας παραμένει ενεργός και αποτελεσματικός μόνο όταν προσαρμοστεί στο μικροκλίμα του φυτού. Έτσι ο εισαγόμενος βιολογικός παράγοντας πρέπει να ανταγωνιστεί άλλους μικροοργανισμούς και να αναπτύξει έναν ενεργό πληθυσμό στην φυλλόσφαιρα.

Συμπερασματικά είναι πολύ σημαντικό όχι μόνο να είναι γνωστός ο τρόπος δράσης ενός παράγοντα αλλά και οι συνθήκες της φυλλόσφαιρας και του περιβάλλοντος στις οποίες μπορεί να είναι ανταγωνιστικός ως προς το παθογόνο. Για αυτό ακριβώς οι έρευνες δεν πρέπει να περιορίζονται στη μελέτη της επίδρασης του ανταγωνιστή στο παθογόνο. Με αυτόν τον τρόπο η βιολογική καταπολέμηση ίσως μπορέσει πλέον να αποτελέσει ένα ικανοποιητικό όπλο μόνη της, χωρίς την ανάγκη συνδυασμού με χημικά. Βέβαια αυτό προϋποθέτει αρκετά χρόνια έρευνας, με δαπάνη τεραστίων ποσών και χωρίς να είναι σίγουρα τα αποτελέσματα.

1.11.5 Ολοκληρωμένη καταπολέμηση

Η ολοκληρωμένη καταπολέμηση της τεφράς σήψης εμπεριέχει την σωστή και αρμονική χρησιμοποίηση όλων των διαθέσιμων τεχνικών και μεθόδων, με τον

καλύτερο δυνατό τρόπο περιορίζοντας στο μεγαλύτερο δυνατό βαθμό την ασθένεια αλλά και ελαχιστοποιώντας τις δυσμενείς επιπτώσεις στην οικολογική ισορροπία.

Βέβαια αυτό που οδήγησε ουσιαστικά στην ολοκληρωμένη καταπολέμηση είναι η μέτρια αποτελεσματικότητα της βιολογικής μέχρι σήμερα τουλάχιστον. Έτσι φαίνεται αναπόφευκτη η συνδυασμένη χρήση της με τις άλλες μεθόδους. Σήμερα ο συνδυασμός βιολογικής και χημικής καταπολέμησης βασίζεται στη χρήση προγραμμάτων πρόγνωσης τα οποία χρησιμοποιούν μοντέλα τα οποία προβλέπουν την εμφάνιση του παθογόνου. Βέβαια ο τελικός στόχος είναι η ανάπτυξη ενός ολοκληρωμένου προγράμματος καταπολέμησης, το οποίο θα βασίζεται κυρίως στη βιολογική καταπολέμηση ενώ η χημική θα είναι μόνο βοηθητική.

Σύμφωνα με τους Shtienberg και Elad (1996), η ολοκληρωμένη καταπολέμηση της τεφράς σήψης σε καλλιέργειες κηπευτικών, σε μη θερμαινόμενα θερμοκήπια, έδειξε ανάλογη αποτελεσματικότητα με τη χημική. Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιήθηκε μυκητοκτόνο καθώς και το βιολογικό σκεύασμα Trichodex (*T. harzianum*). Οι εφαρμογές γίνονται ανάλογα με τις αναμενόμενες προσβολές από την τεφρά σήψη ενώ στην περίπτωση που αναμένεται προσβολή δε γίνεται κανένας ψεκασμός. Όταν αναμένεται έντονη προσβολή γίνεται ψεκασμός με μυκητοκτόνο ενώ στις άλλες περιπτώσεις με Trichodex.

Σε άλλη εργασία των Malathraki & Klironomou (1992), δοκιμάστηκε η αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου iprodione σε συνδυασμό με τους ανταγωνιστικούς μύκητες *T. hartzianum*, *Penicilium sp.* και *Acremonium alternatum* για την καταπολέμηση του *B. cinerea*. Από το πείραμα αυτό βρέθηκε ότι οι ανταγωνιστές που χρησιμοποιήθηκαν και τα μυκητοκτόνα (iprodione και dichlofluanid) δεν έδωσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση της τεφράς σήψης. Αντίθετα ο συνδυασμός των μη παθογόνων μυκήτων με το iprodione έδωσε καλύτερα αποτελέσματα, όταν χρησιμοποιήθηκε σε μεσοδιάστημα τριών εβδομάδων, ενώ έδωσε ανάλογα αποτελέσματα με τη χρήση του iprodione σε μεσοδιάστημα των 15 ημερών.

Η ολοκληρωμένη καταπολέμηση των ασθενειών ουσιαστικά δεν αποτελεί καινοτομία, αλλά ένα συνδυασμό με ορθολογικό τρόπο όλων των μεθόδων που είναι διαθέσιμες, προκειμένου να προστατευτούν οι καλλιέργειες από παθογόνους μικροοργανισμούς. Το σημαντικότερο στοιχείο της μεθόδου αυτής είναι η δυνατότητα καταπολέμησης των παθογόνων με πολύ λιγότερες ποσότητες

μυκητοκτόνων μειώνοντας τα υπολείμματα στα προϊόντα αλλά και τις πιθανότητες δημιουργίας ανθεκτικών στελεχών.

2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ολοένα αυξανόμενο βιοτικό επίπεδο παγκοσμίως κι ιδίως των λαών της Ευρώπης, καθώς και το οριακό σημείο στο οποίο έχει φτάσει η μόλυνση της ατμόσφαιρας οδήγησε τα τελευταία χρόνια στην ανάγκη ανάπτυξης φιλικότερων μεθόδων για το περιβάλλον και τον άνθρωπο. Συγχρόνως η ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών των παθογόνων σε αρκετά μυκητοκτόνα, έφερε στο προσκήνιο την αναζήτηση εναλλακτικών λύσεων.

Έτσι υπήρξε εύφορο έδαφος για την ανάπτυξη της βιολογικής καταπολέμησης των ασθενειών, αρχικά κυρίως σαν συστατικό στοιχείο της ολοκληρωμένης καταπολέμησης. Σήμερα γίνονται ολοένα και περισσότερες έρευνες ώστε να μπορέσει κάποια στιγμή να είναι ανεξάρτητη. Σκοπός της δουλειάς που περιγράφεται εδώ ήταν να συμβάλει στην προσπάθεια αυτή, προσθέτοντας έστω και ένα μικρό λιθαράκι στην καταπολέμηση μιας συγκεκριμένης ασθένειας, της τεφράς σήψης της τομάτας.

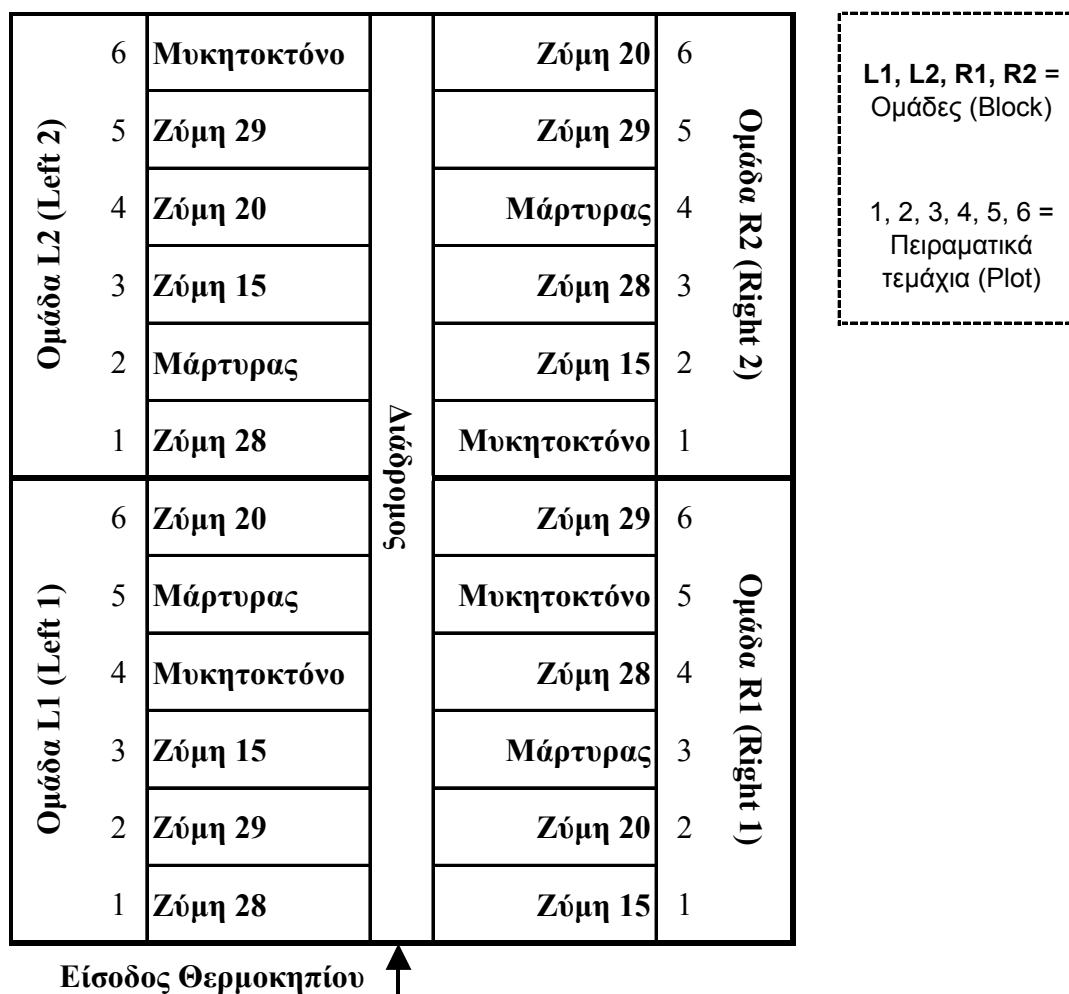
Η δουλειά αυτή περιλαμβάνει τη μελέτη της αποτελεσματικότητας της καταπολέμησης της τεφράς σήψης στο θερμοκήπιο, με τη χρησιμοποίηση τεσσάρων ζυμομυκήτων που είχαν προεπιλεγεί στη διάρκεια άλλης πτυχιακής εργασίας.

Οι ζυμομύκητες αυτοί επιλέχθηκαν σαν οι καλύτεροι προηγούμενης έρευνας in vitro, που είχε γίνει στο εργαστήριο Βιολογικής Καταπολέμησης Ασθενειών των Φυτών της Σ.Τ.Ε.Γ., του Α.Τ.Ε.Ι. Κρήτης, με επιστημονικό υπεύθυνο τον Δρ. Ν.Ε. Μαλαθράκη. Αυτές οι ζύμες είχαν απομονωθεί από φύλλα διαφόρων φυτών θερμοκηπίων, στην περιοχή του αγροκτήματος του Α.Τ.Ε.Ι. αλλά και από άλλες περιοχές και αριθμήθηκαν τυχαία από το 1 έως το 39. Οι καλύτερες ζύμες που θα καταλήξουν μετά από μία σειρά πειραμάτων θα δοθούν για ταυτοποίηση σε ειδικά εργαστήρια.

2.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η πειραματική αυτή εργασία πραγματοποιήθηκε σε πλαστικό θερμοκήπιο τύπου Ιεράπετρας, στο αγρόκτημα του Α.Τ.Ε.Ι. Ηρακλείου. Ξεκίνησε τον Οκτώβριο του 2002 και ολοκληρώθηκε τέλη Απριλίου του 2003. Σε αυτό εγκαταστάθηκε καλλιέργεια τομάτας επιφάνειας 300 τετραγωνικών μέτρων αποτελούμενη από 24 μονές γραμμές από κάθε πλευρά. Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε ήταν οι

«πλήρως τυχαιοποιημένες ομάδες» με 6 επεμβάσεις και 4 επαναλήψεις (block). Σε κάθε πειραματικό τεμάχιο (plot) φυτεύτηκαν 12 φυτά τομάτας του υβριδίου Manthos GC 785 F1, του οποίου οι σπόροι ήταν επικαλυμμένοι με Thiram. Τα φυτά ήταν διατεταγμένα σε διπλές σειρές, με αποστάσεις ένα μέτρο μεταξύ των σειρών και 50 εκατοστά τα φυτά πάνω στην ίδια σειρά. Το πειραματικό σχέδιο του θερμοκηπίου φαίνεται παρακάτω στην Εικόνα 17.



Εικόνα 17. Πειραματικό σχέδιο του θερμοκηπιακού πειράματος.

Οι επεμβάσεις που δοκιμάστηκαν ήταν:

- Μυκητοκτόνο (Scala ή Rovral)
- Ζύμη 15
- Ζύμη 20
- Ζύμη 28
- Ζύμη 29
- Μάρτυρας (Νερό)

Τα δύο μυκητοκτόνα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το Scala 40 SC με δραστική ουσία pyrimethanil 40% β/ο και βοηθητικές ουσίες 61,8% β/β. Το άλλο ήταν το Rovral 50 SC με δραστική ουσία iprodione 50% β/ο και βοηθητικές ουσίες 45,18% β/β. το μεν πρώτο χρησιμοποιήθηκε σε συγκέντρωση 2 ml/l ενώ το δεύτερο σε συγκέντρωση 1ml/l. Από την άλλη οι τέσσερις ζύμες εφαρμόζονταν σε συγκέντρωση 10^7 κονίδια (σπόρια) ανά ml ψεκαστικού υγρού.

2.2.1 Χρόνος και τρόπος εφαρμογής των επεμβάσεων

Πίνακας 7. Ημερομηνίες εφαρμογής ψεκασμών στο θερμοκήπιο.

Ημερομηνία	Μυκητοκτόνο	Ζύμη 15	Ζύμη 20	Ζύμη 28	Ζύμη 29	Μάρτυρας
13/1/2003	Scala	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	Νερό
22/1/2003	–	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	Νερό
28/1/2003	Rovral	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	Νερό
4/2/2003	–	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	Νερό
11/2/2003	Scala	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	Νερό
18/2/2003	–	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	Νερό
25/2/2003	Rovral	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	Νερό
4/3/2003	–	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	Νερό
11/3/2003	Scala	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	Νερό
18/3/2003	–	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	Νερό
26/3/2003	Rovral	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	Νερό

2.2.1.1 Ημερομηνίες εφαρμογών

Οι εφαρμογές άρχισαν στις 13-1 και σταμάτησαν στις 26-3 λόγω της σταθεροποίησης της προσβολής. Οι επεμβάσεις με τις ζύμες και το μάρτυρα γινόντουσαν ανά 7 ημέρες, ενώ ψεκασμός με τα μυκητοκτόνα, γινόταν κάθε 15 ημέρες. Οι ημερομηνίες των ψεκασμών καθώς και το τι ακριβώς εφαρμόστηκε φαίνεται στον Πίνακα 7 που ακολουθεί.

2.2.1.2 Τρόπος εφαρμογής

Οι επεμβάσεις γίνονταν με τη μορφή αιωρήματος σπορίων για τις ζύμες και εφαρμόζονταν με ψεκαστήρα προπιέσεως. Ο ψεκασμός άρχιζε κάθε φορά από το μάρτυρα, ακολουθούσαν με τυχαία σειρά οι ζύμες και στο τέλος εφαρμόζονταν το μυκητοκτόνο. Ο ψεκαστήρας των βιολογικών παραγόντων πλενόταν κάθε φορά καλά όταν τελείωνε η κάθε επέμβαση.

Η επέμβαση του μάρτυρα γινόταν με νερό βρύσης στο οποίο γινόταν προσθήκη επιφανειοδραστικής ουσίας (προσκολλητικό) Tween 20 της Merck, όπως και σε όλες

τις άλλες επεμβάσεις, για την καλύτερη δράση των ψεκαστικών διαλυμάτων. Πάντα πριν τον ψεκασμό τα πειραματικά τεμάχια χωρίζονταν με πλαστικές κουρτίνες ώστε να αποφευχθεί η διασπορά τόσο των βιολογικών παραγόντων αλλά και κυρίως του μυκητοκτόνου στα πειραματικά τεμάχια των άλλων επεμβάσεων.

Οι ψεκασμοί γινόταν πάντα τις πρωινές ώρες ώστε λόγω της μικρής διάρκειας της μέρας το χειμώνα, να προλαβαίνουν τα φυτά να στεγνώσουν πριν βραδιάσει. Ο ψεκασμός ήταν σχολαστικός μέχρι απορροής από την επιφάνεια των φύλλων και καταναλωνόταν περίπου 5 λίτρα για το σύνολο των τεσσάρων επαναλήψεων κάθε επέμβασης, δηλαδή για 48 φυτά.

2.2.2 Καλλιεργητικές Φροντίδες

2.2.2.1 Καλλιεργητικές Εργασίες:

- Εγκατάσταση φυτών. Η εγκατάσταση της καλλιέργειας έγινε στις 3-10-2002 με το φύτεμα στο θερμοκήπιο σποροφύτων που βρισκόταν στα 5 φύλλα.
- Δέσιμο φυτών. Η στήριξη των φυτών γινόταν με πλαστικό σπάγκο μήκους περίπου 2 μέτρων ο οποίος δενόταν στα σύρματα τις οροφής του θερμοκηπίου. Στα αρχικά στάδια, δηλαδή τις 3-4 πρώτες εβδομάδες, τα φυτά απλά τυλίγονταν στο σπάγκο αλλά στη συνέχεια και μέχρι το τέλος της καλλιέργειας δένονταν πάνω του με κορδέλα αμπελουργικού ψαλιδιού με συραπτικό.
- Αφαίρεση πλαγίων βλαστών. Γινόταν με το χέρι για τους μικρούς βλαστούς και με κλαδευτικό ψαλίδι για τους μεγαλύτερους.
- Αφαίρεση ζιζανίων. Γινόταν βοτάνισμα με το χέρι.

Οι τρεις παραπάνω εργασίες γινόντουσαν σε εβδομαδιαία βάση.

- Σκάλισμα του χώματος. Γινόταν ανάμεσα στα φυτά και στους διαδρόμους για να διατηρείται όσο το δυνατόν σε καλύτερη κατάσταση το χώμα και να μη γίνεται συμπαγές.
- Αφαίρεση φύλλων. Η αφαίρεση φύλλων γινόταν είτε λόγω της προσβολής τους από κάποια ασθένεια όπως το ωίδιο και ο περονόσπορος είτε λόγω της ξήρανσης τους ώστε να έχουμε καλύτερο αερισμό των φυτών.

Οι δύο προηγούμενες εργασίες γίνονταν περιστασιακά όποτε κρινόταν αναγκαίο.

- Συγκομιδή καρπών. Γινόταν από τις αρχές Φλεβάρη τόσο για υγιείς καρπούς, όσο και για προσβεβλημένους από άλλες ασθένειες εκτός της τεφράς σήψης, ώστε να αποφευχθούν πιθανές επιδημίες.

- Ορμόνιασμα ανθέων. Έγινε δύο φορές στη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου στις 27-12-2002 και στις 29-1-2003 με 0,17 ml/l του καρποδετικού παράγοντα Ατονίκ Α.Σ. της DuPont.

2.2.2.2 Άρδευση

Στο θερμοκήπιο εφαρμόστηκε στάγδην άρδευση με ένα σταλακτήρα ανά φυτό. Μέχρι τα μέσα Νοεμβρίου τα φυτά αρδεύονταν καθημερινά με διάρκεια άρδευσης 20 λεπτά λόγω της αρκετά υψηλής θερμοκρασίας που επικρατούσε. Έκτοτε και ως τα μέσα Γενάρη γινόταν ένα πότισμα ανά δύο ημέρες διάρκειας 15 λεπτών. Τέλος Γενάρη μέχρι μέσα Μάρτη γινόταν ανά τρεις ημέρες με διάρκεια 15 λεπτά και από τότε μέχρι και το τέλος του πειράματος αυξήθηκαν σταδιακά σε ανά δύο ημέρες και τελικά κάθε μέρα με σταθερή τη διάρκεια των 15 λεπτών.

2.2.2.3 Λίπανση

Για τη λίπανση των φυτών χρησιμοποιήθηκε υδρολιπαντήρας και το δίκτυο άρδευσης του θερμοκηπίου. Η λίπανση των φυτών άρχισε 20 μέρες μετά το μεταφύτευμα λόγω κυρίως της προσθήκης φυτοχώματος στο λάκκο φύτευσης. Οι λιπάνσεις γινόταν μία φορά τη βδομάδα και μάλιστα την ίδια μέρα, οπότε τουλάχιστον ήταν εφικτό. Οι λιπάνσεις που έγιναν με τον υδρολιπαντήρα φαίνονται παρακάτω:

- Agrostar (20-20-20) + ιχνοστοιχεία σε ποσότητα 0,5 kg/100 λίτρα νερό στις εξής ημερομηνίες: 22-10, 4-11, 12-11 και σε ποσότητα 1kg/100l στις: 18-11, 25-11, 2-12, 10-12, 17-12, 27-12, 7-1, 14-1, 11-3, 17-3, 24-3 και 31-3.
- Sangral Soluble Fertilizer (12-4-24+6MgO+T/E) σε ποσότητα 1kg/100l νερό στις εξής ημερομηνίες: 22-1, 4-2, 11-2, 17-2, 28-2, 7-3, 14-3, 21-3 και 28-3.
- Χηλικός σίδηρος (Sequestren138 Fe NK SG) σε ποσότητα 100gr/100l στις εξής ημερομηνίες: 10-1, 22-1, 4-2, 17-2 και 3-3.

Επιπλέον στις 12-2 σε 50 φυτά με τα πιο έντονα συμπτώματα έλλειψης σιδήρου αφαιρέσαμε τα φυλλίδια ενός από τα κατώτερα φύλλα τους και τοποθετήσαμε δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε EDPHA Fe/ 1l.

2.2.2.4 Καταπολέμηση Εχθρών και Ασθενειών

2.2.2.4.1 Ασθένειες

Κατά τη διάρκεια του πειράματος και ιδίως στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυτών υπήρξαν προβλήματα από το ωίδιο (*Leveillula taurica*) τα οποία κράτησαν σχεδόν μέχρι τέλος Γενάρη, καθώς τα φυτά είχαν αρκετή προσβολή. Μικρότερης έντασης προβλήματα δημιουργήθηκαν από τον περονόσπορο (*Phytophthora infestans*) κυρίως σε ορισμένα σημεία του θερμοκηπίου. Οι επεμβάσεις που έγιναν για τις δύο ασθένειες φαίνονται στον Πίνακα 8.

Πίνακας 8. Επεμβάσεις που έγιναν κατά τη διάρκεια του πειράματος για την αντιμετώπιση των ασθενειών που εμφανίστηκαν.

Ασθένεια	Ημερομηνία επέμβασης	Σκεύασμα	Δόση	Ποσότητα Ψεκαστικού Υγρού
Ωίδιο	8/11/2002	Topas	0,15ml/l	15l
	27/11/2002	Θειάφι	2,5gr/l	15l
	2/12/2002	Topas	0,2 ml/l	100l
	11/12/2002	Topas	0,12 ml/l	100l
	14/1/2003	Topas	0,2 ml/l	100l
Περονόσπορος	2/12/2002	Mancozyl	2,5 gr/l	100l
	11/12/2002	Katanga	1,5 gr/l	100l

2.2.2.4.2 Έχθροι

Στα πρώτα στάδια της ανάπτυξης και πριν τη μεταφύτευση, υπήρξε προσβολή από το δίπτερο έντομο φυλλορύκτη (*Liriomyza spp.*) της οικογένειας Agromyzidae, χωρίς όμως να προκαλέσει σοβαρές ζημιές. Επίσης στο ίδιο περίπου στάδιο υπήρχε εμφάνιση, ευτυχώς σε μεμονωμένα φυτά, προσβολής από το άκαρι *Aculops lycopersici* της οικογένειας Eriophyidae. Οι ψεκασμοί που έγιναν για την καταπολέμηση των εχθρών φαίνονται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 9. Επεμβάσεις που έγιναν κατά τη διάρκεια του πειράματος για την αντιμετώπιση των εχθρών που εμφανίστηκαν.

Εχθρός	Ημερομηνία επέμβασης	Σκεύασμα	Δόση	Ποσότητα Ψεκαστικού Υγρού
Λιριόμυζα	31/10/2002	Vertimec	0,8ml/l	15l
	2/12/2002	Vertimec	0,8ml/l	100l
	14/1/2003	Vertimec	1ml/l	100l
Άκαρι	31/10/2002	Vertimec	0,8ml/l	15l
	27/11/2002	Θειάφι	2,5gr/l	15l
	2/12/2002	Vertimec	0,8ml/l	100l
	27/2/2003	Neopon	0,8ml/l	100l
	14/1/2003	Vertimec	1ml/l	100l

Στον Πίνακα 10 που ακολουθεί φαίνονται τα φυτοφάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα, με τις δραστικές τους ουσίες που περιέχει το καθένα, τη μορφή τους και την εταιρία παραγωγής του καθενός.

Πίνακας 10. Φυτοφάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα και εταιρία παραγωγής του καθενός.

Σκεύασμα	Δραστική ουσία	Βοηθητικές ουσίες	Μορφή	Εταιρία
Scala	Pyrimethanil 40% β/ο	61,8% β/β	SC	Agrevo
Rovral	Iprodione 50% β/ο	45,18% β/β	SC	Aventis
Topas	Penconazole 10% β/ο	87,6 % β/β	EC	Syngenta
Θειάφι	Θείο 80% β/β	19,6% β/β	WP	Bayer
Mancoxyl	Metalaxyl 7,5% β/β & Mancozeb 56% β/β	26,2% β/β	WP	Άλφα
Katanga	Fosetyl-Al 80% β/β	15,79% β/β	WP	Άλφα
Neopon	Bromopropylate 50% β/ο	53,55% β/β	EC	Novertis
Vertimec	Abamectin 1,8% β/ο	97,32% β/β	EC	Syngenta

2.2.3 Καλλιέργεια Ζυμομυκήτων

Για την καλλιέργεια των τεσσάρων ζυμομυκήτων 15, 20, 28, 29 που χρησιμοποιήθηκαν στη βιολογική καταπολέμηση της τεφράς σήψης της τομάτας, χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά τριβλία Petri διαμέτρου 8,4 εκατοστά, τα οποία περιείχαν το θρεπτικό υλικό PDA (Potato dextrose agar). Το PDA παρασκευαζόταν σε φιάλη των 2l, με την προσθήκη σε εκχύλισμα 200g πατάτας το οποίο είχε όγκο 1l, 20g άγαρ και 20g δεξτρόζης. Ακολουθούσε η αποστείρωση του υλικού στους 121°C και για περίπου 20 λεπτά.

Μετά την εξαγωγή του από τον κλίβανο και αφού είχε κρυώσει λίγο το υλικό, προσθέταμε γαλακτικό οξύ για τη ρύθμιση του pH γύρω στο 5-5,5 και αντιβιοτικό kanamicin (1ml/l) για την αποφυγή ανάπτυξης βακτηρίων. Αυτή η διαδικασία γινόταν κάτω από ασηπτικές συνθήκες στο θάλαμο νηματικής ροής (Laminar flow), στον οποίο γινόταν και το άπλωμα του υλικού στα τριβλία. Μετά την πήξη του υποστρώματος τα τριβλία τοποθετούνταν σε σακουλάκια και διατηρούνταν στο ψυγείο στους 5°C περίπου.

Ο εμβολιασμός των ζυμών στα τριβλία γινόταν τρεις μέρες πριν την επέμβαση από τριβλία stock που είχαν φτιαχτεί από της αρχικές καλλιέργειες. Η ανάπτυξη των ζυμών γινόταν σε θαλάμους ανάπτυξης στους 21 °C με 12h φωτισμό.

2.2.4 Παρασκευή Ψεκάστικου Αιωρήματος

Τα τριβλία με τις ανεπτυγμένες ζύμες ξεπλένονταν με νερό βρύσης με τη βοήθεια πινέλου και μετριόταν η συγκέντρωσή τους στο μικροσκόπιο με τη χρήση του αιματοκυττόμετρου. Ανάλογα με την αρχική συγκέντρωση που μετριόταν γινόταν ή

όχι αραιώσεις ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή συγκέντρωση 10^7 κυττάρων ανά ml, στα 5 λίτρα του ψεκαστικού υγρού.

2.2.5 Εκτίμηση Προσβολής

Η εκτίμηση της προσβολής των φυτών από την τεφρά σήψη γινόταν ανά 7 ημέρες για όλες τις επεμβάσεις με την καταμέτρηση του αριθμού των κηλίδων ανά φυτό. Οι κηλίδες πάνω σε κάθε φυτό σημειώνονταν χωριστά για τα φύλλα, τα στελέχη, τα άνθη και τους καρπούς.

Για την πραγματοποίηση των μετρήσεων αριθμήθηκαν τα φυτά κάθε διπλής σειράς, από το 1 έως το 12. Η αρίθμηση ξεκινούσε πρώτα από την πιο κοντινή στην έξοδο σειρά και από το δίπλα στο διάδρομο φυτό. Έτσι τα φυτά αυτής της γραμμής έπαιρναν αριθμούς από 1-6 ενώ αυτά της άλλης από 7-12, όπου το 7 ήταν το φυτό δίπλα στο πλευρό του θερμοκηπίου. Έτσι στη δεύτερη σειρά η αρίθμηση πήγαινε ανάποδα δηλαδή από την πλευρά προς το διάδρομο.

Με αυτόν τον τρόπο κάθε φυτό είχε συγκεκριμένο όνομα σαν συντεταγμένη, ανάλογα με την επανάληψη (Block), την επέμβαση και τη θέση που κατείχε στο πειραματικό τεμάχιο.

2.2.6 Πείραμα τοξικότητας των μυκητοκτόνων Toras και Katanga στις ζύμες του πειράματος.

Το πείραμα αυτό πραγματοποιήθηκε για να διαπιστωθεί η τοξικότητα των μυκητοκτόνων Toras και Katanga, που χρησιμοποιήθηκαν για την καταπολέμηση του ωιδίου και του περονοσπόρου αντίστοιχα, στους ζυμομύκητες του θερμοκηπιακού πειράματος.

Χρησιμοποιήθηκαν για το σκοπό αυτό μικρά τριβλία Petri διαμέτρου 5,2cm, τα οποία περιείχαν θρεπτικό υπόστρωμα PDA στο οποίο είχαν προστεθεί ενώ ήταν ακόμη ρευστό τα μυκητοκτόνα. Χρησιμοποιήθηκε PDA γιατί χρειαζόταν ένα θρεπτικό στο οποίο να αναπτυχθούν οι ζύμες. Κάθε μυκητοκτόνο χρησιμοποιήθηκε δοκιμαστικά σε μία μόνο συγκέντρωση αυτή των 100ppm penconazole για το Toras και 100ppm fosetyl-Al για το Katanga.

Φτιάχτηκαν λοιπόν τρία μπουκαλάκια των 100ml με 45ml PDA και 5 ml μυκητοκτόνο ή 5 ml νερό για το μάρτυρα. Το κάθε μπουκαλάκι απλώθηκε σε 12 τριβλία δηλαδή για 4 ζύμες και τρεις επαναλήψεις η καθεμιά.

Αφού τα τριβλία στέγνωσαν απλώθηκαν στην επιφάνεια τους 0,5ml αιωρήματος της κάθε ζύμης, στο τριβλίο. Η συγκέντρωση κάθε ζύμης στο αιώρημα δεν

προσδιορίστηκε ακριβώς κατά τη διάλυση τους καθώς δεν ήταν απαραίτητο. Τα τριβλία τοποθετήθηκαν στη συνέχεια σε επωαστικό θάλαμο για τρεις μέρες, στους 21°C και φωτοπερίοδο 12ώρες. Μετά το πέρας των τριών ημερών πάρθηκαν οι ζύμες με ξέπλυμα και μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις τους με αιματοκυττόμετρο. Τα αποτελέσματα που βρέθηκαν φαίνονται στον Πίνακα 11.

Επέμβαση (100ppm)	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΖΥΜΩΝ x 10 ⁸			
	ΖΥΜΗ 15	ΖΥΜΗ 20	ΖΥΜΗ 28	ΖΥΜΗ 29
PDA (Μάρτυρας)	12,00	20,00	60,00	100,00
PDA + Topas	0,29	0,35	0,30	0,33
PDA + Katanga	1,30	3,00	4,40	6,00

2.2.7 Πείραμα Ανθεκτικότητας του *B. cinerea* στα μυκητοκτόνα Scala και Rovral

Το πείραμα αυτό έγινε για να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητα των μυκητοκτόνων, που χρησιμοποιήθηκαν στο θερμοκηπιακό πείραμα, εναντίον του *B. cinerea*. Για το λόγο αυτό απομονώθηκε από το θερμοκήπιο στέλεχος του μύκητα από προσβλημένα φυτά. Αναπτύχθηκε σε τριβλία με θρεπτικό υπόστρωμα PDA, στο θάλαμο ανάπτυξης με 21°C θερμοκρασία και 12 ώρες φωτοπερίοδο για πέντε ημέρες.

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε μικρά τριβλία Petri διαμέτρου 5,2 cm τα οποία περιείχαν θρεπτικό υπόστρωμα WA (Water agar) στο οποίο είχαν προστεθεί, όταν ήταν ακόμη ρευστό, διάφορες συγκεντρώσεις των μυκητοκτόνων. Χρησιμοποιήθηκε υπόστρωμα WA γιατί έπρεπε να βλαστήσουν απλώς τα σπόρια του μύκητα αλλά συγχρόνως και να μην αναπτυχθούν βακτήρια.

Οι συγκεντρώσεις των μυκητοκτόνων που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα ήταν για μεν το rydimethanil (Scala) οι 0, 0,005, 0,02, 0,08, 0,32, 1,28 ppm και για δε το iprodione (Rovral) οι 0, 0,5, 1, 2, 4, 8 ppm. Οι συγκεντρώσεις αυτές επιλέχθηκαν στηριζόμενοι σε παλαιότερο πείραμα των Petsikos *et al.* (2000). Σε αυτό βρέθηκε ότι η ποσότητα του μυκητοκτόνου για το θάνατο του 50% των σπορίων του μύκητα *B. cinerea* ήταν 0,03-0,19 µg/ml για το rydimethanil και 1,78 µg/ml για το iprodione. Έτσι επιλέχθηκαν συγκεντρώσεις τόσο χαμηλότερες όσο και υψηλότερες από αυτές που είχαν βρεθεί στο εν λόγω πείραμα.

Για την πραγματοποίηση του πειράματος τοποθετήθηκαν 45ml WA σε 11 κωνικές φιάλες των 100ml με. Στην κάθε φιάλη προσθέτονταν 5ml μυκητοκτόνου, των διαφόρων συγκεντρώσεων, εκτός από τον μάρτυρα στον οποίο μπήκαν 5ml νερό. Αρχικά παρασκευάστηκαν τα πυκνά διαλύματα των δύο μυκητοκτόνων και από αυτά με διαδοχικές αραιώσεις τα επόμενα. Συνολικά έγιναν 5 αιωρήματα διαφορετικών συγκεντρώσεων για κάθε μυκητοκτόνο και από καθένα πάρθηκαν 5ml και τοποθετήθηκαν σε 5 κωνικές φιάλες με το WA.

Το WA με το μυκητοκτόνο απλώθηκαν σε τρία τριβλία το καθένα (3 επαναλήψεις) και αφού στέγνωσαν καλά απλώθηκε σε καθένα 0,5ml αιωρήματος σπορίων του *B. cinerea* συγκέντρωσης 10^3 σπόρια ανά ml. Αμέσως μετά τα τριβλία τοποθετήθηκαν στο θάλαμο ανάπτυξης για 6 ώρες περίπου στους 21°C . Μετά το πέρας των έξι ωρών τα τριβλία βγήκαν από το θάλαμο, ανοίχθηκαν ένα ένα και τους προστέθηκε φουξίνη για τον θάνατο και το σταμάτημα της αύξησης των βλαστικών υφών των κονιδίων. Ακολούθησε το μέτρημα των βλαστημένων σπορείων του μύκητα ανά 100 σπόρια βάζοντας τα τριβλία στο μικροσκόπιο. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12. Ποσοστό βλάστησης των σπορείων του βοτρυτή % .

Επέμβαση	ΠΟΣΟΣΤΟ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΤΟΥ ΒΟΤΥΤΗ %				
	Συγκέντρωση Μυκητοκτόνου (ppm)	Τριβλία			Μέσος Όρος
		1	2	3	
Water Agar (Μάρτυρας)	0×10^{-1}	78	76	93	82,3
	0×10^{-1}	81	79	93	84,3
Water Agar + Scala	5×10^{-3}	15	33	25	24,3
	2×10^{-2}	23	23	15	20,3
	8×10^{-2}	16	12	15	14,3
	32×10^{-2}	23	30	23	25,3
	128×10^{-2}	13	15	10	12,7
Water Agar + Rovral	$0,5 \times 10^{-1}$	7	10	9	8,7
	10×10^{-1}	3	6	5	4,7
	20×10^{-1}	2	1	2	1,7
	40×10^{-1}	0	0	0	0,0
	80×10^{-1}	0	0	0	0,0

2.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διασποράς (ANOVA) με επίπεδο σημαντικότητας 95% ($p \leq 0.05$). Προϋπόθεση της παραπάνω ανάλυσης είναι η

παραλλακτικότητα του σφάλματος της εξαρτημένης μεταβλητής (% προσβολής) να είναι ίση σε όλους τους παράγοντες (Levene's test).

Πίνακας 13. Αποτελέσματα του στατιστικού τεστ Levene της παραλλακτικότητας του σφάλματος για τους διάφορους παράγοντες ανά εβδομάδα.

	F	df1	df2	Ε.Σ.
Εβδομάδα 1	2,35	21	84	0,003
Εβδομάδα 2	2,74	21	84	0,001
Εβδομάδα 3	3,18	21	84	0,000
Εβδομάδα 4	2,24	21	84	0,005
Εβδομάδα 5	2,28	21	84	0,004
Εβδομάδα 6	1,93	21	84	0,018
Εβδομάδα 7	1,84	21	84	0,027
Εβδομάδα 8	1,60	21	84	0,070
Εβδομάδα 9	1,50	21	84	0,100
Εβδομάδα 10	1,34	21	84	0,175
Εβδομάδα 11	1,48	21	84	0,108
Εβδομάδα 12	0,99	21	84	0,489

Από τον παραπάνω Πίνακα 13 είναι φανερό ότι δεν τηρείται η υπόθεση της ισότητας της παραλλακτικότητας του σφάλματος των διαφόρων παραγόντων της ANOVA στις εβδομάδες 1-6 και λιγότερο για την εβδομάδα 7. Επομένως η ανάλυση και η σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων πραγματοποιήθηκε για τις εβδομάδες 7-12.

Πίνακας 14. Αποτελέσματα του στατιστικού τεστ Levene της παραλλακτικότητας του σφάλματος για τους διάφορους παράγοντες ανά εβδομάδα για τις εβδομάδες 7-12.

	F	df1	df2	Ε.Σ.
Εβδομάδα 7	1,46	23	167	0,090
Εβδομάδα 8	0,90	23	167	0,597
Εβδομάδα 9	1,02	23	167	0,446
Εβδομάδα 10	1,08	23	167	0,376
Εβδομάδα 11	1,59	23	167	0,051
Εβδομάδα 12	1,40	23	167	0,119

Σύμφωνα με τον Πίνακα 14 η υπόθεση για ίση διασπορά του σφάλματος, των διαφόρων παραγόντων, τηρείται για όλες τις εβδομάδες από την 7 έως τη 12.

Τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διασποράς επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (repeated measures ANOVA) για τις εβδομάδες 7-12 με τους παρακάτω παράγοντες: επέμβαση, ομάδα και εβδομάδα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 15.

Πίνακας 15. Ανάλυση διασποράς των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (repeated measures ANOVA), της συνολικής προσβολής (κηλίδες / φυτό) από την τεφρά σήψη της τομάτας (*B. cinerea*).

Πηγή Παραλλακτικότητας	Άθροισμα τετραγώνων	B.E.	Μέσο τετράγωνο	F	E.Σ.
Εβδομάδα	285,36	1,92	148,99	142,52	0,000
Εβδομάδα * Επέμβαση	31,26	9,58	3,26	3,12	0,001
Εβδομάδα * Ομάδα	13,59	5,75	2,36	2,26	0,040
Εβδομάδα * Επέμβαση * Ομάδα	29,91	28,73	1,04	1,00	0,475
Σφάλμα	334,38	319,86	1,05		
Επέμβαση	212,85	5,00	42,57	2,32	0,046
Ομάδα	430,28	3,00	143,43	7,81	0,000
Επέμβαση * Ομάδα	409,30	15,00	27,29	1,49	0,115
Σφάλμα	3067,21	167,00	18,37		

Σύμφωνα με τον πίνακα της ANOVA (Πίνακας 14) τόσο ο παράγοντας επέμβαση όσο και οι παράγοντες ομάδα και εβδομάδα ήταν σημαντικοί. Επειδή όμως ο τριπλός συνδυασμός τους δεν ήταν σημαντικός η σύγκριση των επεμβάσεων έγινε συνολικά για όλες τις εβδομάδες (7-12) από όλες τις ομάδες.

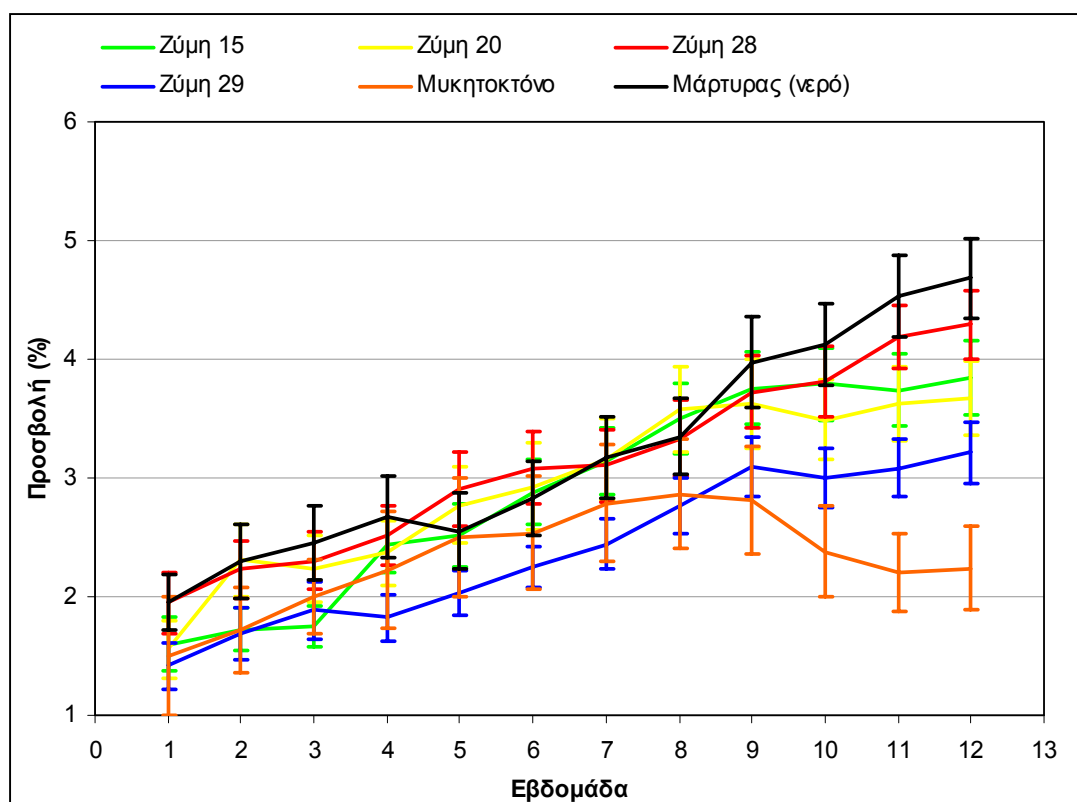
Τα αποτελέσματα της σύγκρισης των επεμβάσεων φαίνονται στον Πίνακα 16.

Πίνακας 16. Σύγκριση των μέσων όρων της προσβολής (κηλίδες ανά φυτό), των διαφόρων παραγόντων, από την τεφρά σήψη της τομάτας (*B. cinerea*) κατά Duncan για τις εβδομάδες 7-12.

Επέμβαση	A	B	Γ
Μυκητοκτόνο	3,02		
Ζύμη 29	3,23	3,23	
Ζύμη 15		4,00	4,00
Ζύμη 28		4,05	4,05
Ζύμη 20		4,12	4,12
Μάρτυρας (νερό)			4,31
E.Σ.	0,66	0,08	0,55

Από τον Πίνακα 16 φαίνεται ότι η ζύμη 29 ήταν ο μόνος βιολογικός παράγοντας με αποτελεσματικότητα εξίσου καλή με το μυκητοκτόνο και διαφορά στατιστικά

σημαντική από το μάρτυρα. Οι υπόλοιπες ζύμες δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά από το μάρτυρα. Στην Εικόνα 18 φαίνεται η εξέλιξη της προσβολής των φυτών τομάτας του θερμοκηπίου από την τεφρά σήψη.



Εικόνα 18. Εξέλιξη της προσβολής από τεφρά σήψη σε φυτά τομάτας (θερμοκήπιο) με τις γραμμές σφάλματος (standard errors) για τις διάφορες επεμβάσεις.

2.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η στατιστική ανάλυση που έγινε για τις εβδομάδες 7-12 δεν έδειξε και τόσο καλά αποτελέσματα των ζυμών έναντι της τεφράς σήψης. Σύμφωνα με το κριτήριο Duncan Πίνακας 15 (Duncan) το μικρότερο αριθμό κηλίδων ανά φυτό έχει το μυκητοκτόνο με 3,02, ακολουθούν οι ζύμες 29 με 3,23, η 15 με 4,00, η 28 με 4,05, η 20 με 4,12 και τέλος ο μάρτυρας (νερό) με 4,31.

Οι επεμβάσεις μπορούν σύμφωνα με την αποτελεσματικότητά τους, να χωριστούν σε τρεις ομάδες. Στην πρώτη ομάδα μπαίνει το μυκητοκτόνο και η ζύμη 29 τα οποία όπως φαίνεται και από την Εικόνα 18 από την ένατη ιδίως εβδομάδα, διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σε σύγκριση με το μάρτυρα. Όμως η ζύμη 29 ανήκει και στη δεύτερη ομάδα μαζί με τις υπόλοιπες ζύμες από τις οποίες δε διαφέρει σημαντικά. Τέλος στην τρίτη ομάδα μπαίνουν οι ζύμες 15, 28 και 20 μαζί με το μάρτυρα.

Η ίδια ομαδοποίηση φαίνεται και στην Εικόνα 18 στην οποία παρουσιάζεται η εξέλιξη της προσβολής των φυτών τομάτας από την τεφρά σήψη. Σε αυτήν φαίνεται επίσης ότι μέχρι την έβδομη βδομάδα οι διάφορες επεμβάσεις έχουν πολύ μικρές διαφορές ενώ από εκεί και πέρα αρχίζουν να ξεχωρίζουν το μυκητοκτόνο και η ζύμη 29.

Έτσι διαπιστώνεται ότι από τους βιολογικούς παράγοντες μόνο η ζύμη 29 έδωσε μέτρια αποτελέσματα. Αυτό είχε γίνει αντιληπτό και κατά τη διάρκεια των παρατηρήσεων αφού η εν λόγω ζύμη έδειχνε μεγαλύτερη ομοιομορφία ανάμεσα στα πειραματικά τεμάχια αλλά και μικρότερη συνολικά προσβολή. Αρκετά σημαντικό είναι και το γεγονός ότι η ζύμη αυτή είχε τα μικρότερα και περισσότερα σπόρια από τις άλλες και χρησιμοποιούταν πολύ μικρότερη βιομάζα αυτής για την παρασκευή της χρησιμοποιούμενης συγκέντρωσης 10^7 σπόρια ανά ml.

Πρέπει να σημειωθεί ότι η προσβολή των φυτών από νηματώδεις έκανε τα φυτά σε πολλά σημεία του θερμοκηπίου καχεκτικά αφού το υβρίδιο ήταν απλά ανεκτικό. Εξάλλου η έλλειψη σιδήρου, από την οποία επίσης υπέφεραν ορισμένα φυτά προήγαγε την εξάπλωση της ασθένειας. Τα παραπάνω σε συνδυασμό με την πιθανά καθυστερημένη έναρξη των επεμβάσεων επηρέασαν σε κάποιο βαθμό την εξέλιξη του πειράματος και την αποτελεσματικότητα των ζυμών οι οποίες ως βιολογικοί παράγοντες έπρεπε να εφαρμοστούν προληπτικά δηλαδή νωρίτερα από την επικίνδυνη για προσβολή περίοδο.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agrios G.N., 1988.** Plant Pathology. 3rd edition. Academic Press Inc., San Diego, California. Pp. 803
- Alderman, S. C. & Lacy, M.L., 1985.** Influence of interruptions of dew periods on number of lesions produced on onion by *Botrytis squamosa*. In *Phytopathology* **75**, 808-810.
- Audenaert, K., Kersschot, B. & Höfte, M. 2000.** Abscisic acid determines basal susceptibility of tomato to *botrytis cinerea* through suppression of salicylic acid-dependent defense mechanisms. In *12th International Botrytis Symposium*. Reims, France, (Abstracts).
- Baker K. F., 1987.** Evolving concepts of biological control of plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathology* **25**, 67-85.
- Bissett, J. 1991c.** A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional notes on section *Longibrachiatum*. *Can. J. Bot.* **69**, 2418-2420.
- Blakeman, J. P. 1985.** Ecological succession of leaf surface microorganisms in relation to biological control. In *Biological control on the phylloplane*, (Eds. C. E. Windels & S. E. Lindow), pp.6-30. APS, St. Paul.
- Blakeman, J., P. & Fokkema, N., J., 1982.** Potential for the biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annu. Rev. Phytopathology* **20**, 167-192.
- Böff, P., Geriaf, M., Horsten, P., Lombaers-van der Plas C.H. & Köhl J., 2003.** Sporulation suppression of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* on strawberries. In *Dlo-research institute for plant protection, Wageningen, The Netherlands*.
- Care ,D. D. & Coyier, D.L., 1984.** Influence of atmospheric humidity and free water on germ tube growth of *botrytis cinerea*. In *Phytopathology* **74**, 1136.
- Chalutz, E., Droby, S. & Wilson, C.L., 1988.** Mechanism of action of postharvest biocontrol agents. *Proc. 5th Int Cong. of Plant Path.*: 422.
- Cheah, L.H. & Hunt, A.W., 1994.** Screening of industrial yeasts for biocontrol of botrytis storage rot in kiwifruit. In *Proc. 47th N.Z. Plant Protection Conf.* 362-363.
- Cole, L., Dewey, F. M. & Hawes, C. R. 1996.** Infection mechanism of Botrytis species: pre-penetration and pre-infection process of dry and wet conidia. *Myc. Research* **100** (3): 277-286.
- Coley-Smith J. R. 1980.** Sclerotia and other structures in survival. In *The biology of Botrytis*, (Eds. J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff & W. R. Jarvis), pp. 85-114. Academic Press, London.
- Cook, J. R. & Baker, K. F. 1983.** The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS: St. Paul.
- Cook, J. R. 1993.** Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathology* **31**, 53-80.
- De Meyer, G. & Höfte M, 1997.** Salicylic Acid Produced by the Rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 Induces Resistance to Leaf Infection by *Botrytis cinerea* on Bean. In *Phytopathology* **87**, 588-593.
- Decognet, V., Trottin-Caudal, Y., Fournier, C., Leyre, J. & Nicot, P., 2000.** Biocontrol of grey mould of greenhouse tomatoes. In *12th International Botrytis Symposium*. Reims, France, (Abstracts).
- Dubos, B. 1992.** Biological control of *Botrytis*: state-of-the-art. In *Recent advances in Botrytis research* (Eds. K. Verhoeff, N. E. Malathrakakis & B. Williamson), pp. 169-178; 10th International *Botrytis* Symposium, Heraklion, Crete, Greece. Pudoc, Wageningen, Netherlands.

- Durán-Patrón, R., Aleu, J., Colmenares, A., Rebordinos, L., Hernández-Galán, R. & Collado I., 2000.** Role of exudated toxins from *botytis cinerea* in the pathogenicity. Structure-activity relationships. In *12th International Botrytis Symposium*. Reims, France, (Abstracts).
- Edwards, S. D. 1993.** Biological control of *Botrytis cinerea* by *Bacillus brevis* on protected Chinese cabbage. Ph.D. Thesis, University of Aberdeen.
- Elad, Y. & Volpin, H., 1991.** Heat treatment for the control of rose and carnation grey mould (*Botrytis cinerea*). In *Plant Pathol.* **40**, 278-286.
- Elad, Y., 1988** Involvement of ethylene in the pathogenicity of *Botrytis cinerea* Pers. on rose and carnation flowers and the possibility of control. In *Ann. appl. Biol.* **113**, 589-598.
- Elad, Y., 1988.** Latent infection of *Botrytis cinerea* in rose flowers and combined chemical physiological control of the disease. In *Crop Prot.* **7**, 361-366.
- Elad, Y., 1994.** Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. In *Crop Prot.* **13**, 35-38.
- Elad, Y., 1996.** Effect of filtration of solar light on the production of conidia by field isolates of *Botrytis cinerea* and on several diseases of greenhouse crops. In *Crop Prot.* **16**, 635-642.
- Elad, Y., 1996.** Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. Eur. J. In *Plant Pathol.* **102**, 719-732. (Review)
- Elad, Y., 1997.** Responses of plants to infection by *Botrytis cinerea* and novel means involved in reducing their susceptibility to infection. In *Biol. Rev.* **72**, 381-422.
- Elad, Y., Gullino, M.L., Shtienberg, D. & Aloï, C., 1995.** Managing *Botrytis cinerea* on tomatoes in greenhouses in the Mediterranean. In *Crop Protection* **14**, 105-106.
- Elad, Y., Kohl, J. & Fokkema, N. J., 1994.** Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. In *Phytopathology* **84**, 1193-1200.
- Elad, Y., Yunis, H. & Katan, T., 1992.** Multiple resistance to benzimidazoles, dicarboximides and diethofencarb in field isolates of *Botrytis cinerea* in Israel. In *Plant Pathol.* **41**, 41-46.
- El-Ghaouth, A., Wilson, C. L., and Wisniewski, M. 1998.** Ultrastructural and cytochemical aspects of the biological control of *Botrytis cinerea* by *Candida saitoana* in apple fruit. In *Phytopathology* **88**:282-291.
- Ellis, M.B. 1971.** *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycol. Inst., Kew
- Ellis, M.B. 1976.** *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycol. Inst., Kew
- Epton H. A. S. & Richmond, D. V. 1980.** Formation, structure and germination of conidia. In *The biology of Botrytis*, (eds. J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff & W. R. Jarvis) Academic Press, London., pp. 41-84.
- Ferguson, I.B., 1984.** Calcium in plant senescence and fruit ripening. In *Plant, Cell and Environment* **7**, 477-489.
- Filonow, A. B., Vishniac, H. S., Anderson, J. A. & Janisiewicz, W. J. 1996.** Biological control of *Botrytis cinerea* in apple by yeasts from various habitats and their putative mechanisms of antagonism. *Biological Control* **7**, 212-220.
- Fokkema, N. J. 1996.** Biological control of fungal plant diseases. *Entomophaga* **41**, 333-342.
- Fowell, R. 1969.** Life Cycles in Yeasts. In *A.H. Rose & J.S. Harrison (Eds.), The Yeasts*. pp. 461-471. London: Academic Press Inc. Ltd.
- Fowell, R. 1969.** Sporulation and Hybridization of Yeasts. In *A.H. Rose & J.S. Harrison (Eds.), The Yeasts*. pp. 303-383. London: Academic Press Inc. Ltd.
- Fruit, L. & Nicot, P. 2000.** Effects of temperature and relative humidity on control of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* on tomato stem wounds. In *12th International Botrytis Symposium*. Reims, France, (Abstracts).

- Gerlagh, M., Whipps, J. M., Budge, S. P. & GoossenvandeGeijn, H. M. 1996.** Efficiency of isolates of *Coniothyrium minitans* as mycoparasites of *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum* and *Botrytis cinerea* on tomato stem pieces. *Europ. J. Pl. Pathology* **102**, 787-793.
- Goodman, R. N., Kiraly, Z. & Wood, K. R. 1986.** *The biochemistry and Physiology of Plant Disease*. Columbia: MO. University of Missouri Press, pp.100.
- Guetsky, R., Elad, Y., Shtienberg, D., & Dinoor, A., 2002.** Improved biological control of *Botrytis cinerea* in strawberry by adding nutritional supplements to a mixture of *Pichia guilermoidii* and *Bacillus mycoides*. In *Biocontrol Science and Technology*: in press.
- Harisson, J.G., 1988.** The biology of *Botrytis spp.* on *Vicia* beans and chocolate spot disease—a review. In *Plant Pathology* **37**, 168-201.
- Harper, A. M. & Strange, R. N. 1981.** Characterization of nutrients required by *Botrytis cinerea* to infect broad bean leaves. *Phys. Pl. Pathology* **19**, 153-167.
- Have, A. 2000.** *The Botrytis cinerea endopolygalacturonase gene family*. [S.l.:s.n.]. Thesis Wageningen University. 1-120.
- Hobbs, E.L. & Waters, W.E., 1964.** Influence of nitrogen and potassium on susceptibility of *Chrysanthemum morifolium* to *Botrytis cinerea*. In *Phytopathology* **54**, 674-676.
- Hoffland, E., van Beusichem, M. & Jeger, M. 1999.** Nitrogen availability and susceptibility of tomato leaves to *Botrytis cinerea*. *Plant and Soil* **210**, 263-272.
- Howitt, R. L. J., Beever R. E., Pearson M. N. & Forster R. L. S., 2000.** Genome characterization of *Botrytis virus F*, a flexuous rod-shaped mycovirus resembling plant 'potex-like' viruses In *Journal of General Virology* **82**, 67-78.
- Janisiewicz, W. J., Peterson, D. L. & Bors, R. 1994.** Control of storage decay of apples with *Sporobolomyces roseus*. *Pl. Disease* **78**, 466-470.
- Jarvis, W. R. 1980.** Taxonomy. In *The biology of Botrytis*, (Eds. J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff & W. R. Jarvis), pp. 1-17. Academic Press, London.
- Jarvis, W. R. 1989.** Managing diseases in greenhouse crops. *Plant Disease* **73**, 190-194.
- Jarvis, W.R. (ed). 1977.** *Botryotinia and Botrytis Species: Taxonomy, Physiology and Pathogenicity*. Agriculture Canada, Hignell Printing Limited, pp. 195.
- Jarvis, W.R. 1992.** *Managing diseases in greenhouse crops*. The American Phytopathological Society (APS) Press, pp 288.
- Jijakli, M. H. & Lepoivre, P. 1998.** Characterization of an exo-beta-1,3-glucanase produced by *Pichia anomala* strain K, antagonist of *Botrytis cinerea* on apples. *Phytopathology* **88**, 335-343.
- Köhl, J., Vanderplas, C. H., Molhoek, W. M. L. & Fokkema, N. J. 1995.** Effect of interrupted leaf wetness periods on suppression of sporulation of *Botrytis-allii* and *Botrytis cinerea* by antagonists on dead onion leaves. *Europ. J. Pl. Pathology* **101**, 627-637.
- Kunoh, H., Nicholson, R. L. & Kobayashi, I. 1991.** Extracellular materials of fungal structures: their significance at pre-penetration stages of infection. In *Electron Microscopy of plant pathogens*, (Eds. K. Medgen & D. E. Lesemann), pp. 223-234. Springer-Verlag, Berlin.
- Kusters-van Someren, M. A., Manders, B. G. J. & Visser, J. 1992.** Pectin degradation by *Botrytis cinerea*: a molecular genetic approach. In *Recent Advances In Botrytis Research*, (Eds. K., Verhoeff, N. E. Malathrakakis & B. Williamson), pp. 30-36. *10th International Botrytis Symposium, Heraklion, Crete, Greece*, Pudoc, Wageningen, Netherlands.
- Lamboy, J., Dillard, H. & Lamboy, W. 2001.** Microbial and Synthetic Products for Management of *Botrytis* Grey Mold in Tomato. *New York State Integrated Pest Management Program, Online Publications*.

- Lawrence, E., 2000.** Henderson's dictionary of biological terms 12ed, Prentice hall.
- Leifert, C., Sigeo, D. C., Stanley, R., Knight, C. & Epton, H. A. S. 1993.** Biocontrol of *Botrytis cinerea* and *Alternaria brassicicola* on Dutch white cabbage by bacterial antagonists at cold-store temperatures. *Pl. Pathology* **42**, 270-279.
- Lenteren, J., 1999.** Integrated Control in Greenhouses. In *Proceedings of the IOBC/WPRS working group. Bulletin IOBC/WPRS 22 (1) 1999*, 294.
- Leone, G. 1992.** Significance of polygalacturonase production by *Botrytis cinerea* in pathogenesis. In *Recent advances in Botrytis research* (Eds. K. Verhoeff, N. E. Malathrakis & B. Williamson), pp. 63-68; 10th International *Botrytis* Symposium, Heraklion, Crete, Greece. Pudoc, Wageningen, Netherlands.
- Li G.Q., Huang, H.C., Kokko, E.G., & Acharya, S.N. 2002.** Mycoparasitism of *Gliocladium roseum* on *Botrytis cinerea*. *Bot. Bull. Acad. Sin.* **43**, 211-218.
- Liptay, A. 1987.** Field survival and establishment of tomato transplants of various age and size. *Act. Horticult.* **220**, 203-209.
- Macnab, A. & Sherf, A. 1986.** *Vegetable diseases and their control* (2nd Edition). pp. 645-646. Wiley & sons, New York.
- Malathrakis, N. E. & Klironomou, E. J., 1992.** Control of Grey mould of tomatoes in greenhouses with fungicides and antagonists, In *Proceedings of the 10th International Botrytis Symposium, Heraklion Crete, Greece*, 282-286.
- Manteau, S., Abouna, S., Lambert B. & Legendre, L. 2000.** Influence of external pH on the secretion of proteases, polygalacturonases and laccases by *Botrytis cinerea*. In *12th International Botrytis Symposium*. Reims, France, (Abstracts).
- Marois, J. J., Redmond, J. C. & Macdonald, J. D. 1988.** Quantification of the impact of environment on the susceptibility of *Rosa hybrida* flowers to *Botrytis cinerea*. *J. Amer. Soc. For Horticult. Sc.* **113**, 842-845.
- McHugh, R. & Seddon, B., 2000.** Comparison of biocontrol of *Botrytis cinerea* in tomato and lettuce crops using *Bacillus brevis*. In *12th International Botrytis Symposium*. Reims, France, (Abstracts).
- O'Neil, T. M., Niv, A., Elad, Y. & Shtienberg, D. 1996.** Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato stem wounds with *Trichoderma harzianum*. In *Europ. J. Pl. Pathology* **102**, 635-643.
- O'Neil, T.M., Elad, Y., Shtienberg, D., & Cohen, A., 1996.** Control of grapevine grey mould with *Trichoderma harzianum* T39. In *Biocontrol Science and Technology* **6**, 139-146.
- Παναγόπουλος, X. 1995.** *Ασθένειες κηπευτικών καλλιέργειών*. pp. 76-89. Σταμούλης, Αθήνα, Πειραιάς.
- Raposo, R., Gómez, V. & Melgarejo, P. 2000.** Oversummering of *Botrytis cinerea* and fitness of isolates with multiple fungicide resistance in southeastern Spanish greenhouses. In *12th International Botrytis Symposium*. Reims, France, (Abstracts).
- Rayfield, E. & Johnson, C., 2000.** Ultraviolet radiation and sporulation of *Botrytis cinerea*. In *12th International Botrytis Symposium*. Reims, France, (Abstracts).
- Salinas, J. 1992.** Function of cytolitic enzymes in the infection process of gerbera flowers by *Botrytis cinerea*. Ph.D. Thesis, University of Utrecht, The Netherlands, pp.105.
- Schirmbock, M. Lorito, M. Hayers, C. K., Arisan-Atac, I, Scala, F. Harman, G. E. & Kubicek, C., 1994.** Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanism involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Appl. Environ. Microb.* **60**, 4364-4370.

- Shafia, A., Sutton, J., Yu, H. & Fletcher, R., 2001.** Influence of preinoculation light intensity on development and interactions of *Botrytis cinerea* and *Clonostachys rosea* in tomato leaves. In *Canadian Journal of Plant Pathology Index*, volume **23**, 346-357.
- Sharrock, K., Henzell, R. & Parry, F., 2000.** Self-inhibition of germination of *Botrytis cinerea* conidia. In *12th International Botrytis Symposium*. Reims, France, (Abstracts).
- Shaul, O., Elad, Y., Kirshner, B., Volpin, H., & Zieslin, N. 1992.** Control of *Botrytis cinerea* in cut rose flowers by gibberellic acid, ethylene inhibitors and calcium. In *Recent advances in Botrytis research* (Eds. K. Verhoeff, N. E. Malathrakakis & B. Williamson), pp. 257-261; 10th International *Botrytis* Symposium, Heraklion, Crete, Greece. Pudoc, Wageningen, Netherlands.
- Shtienberg, D., & Elad, Y., 1997.** Incorporation of weather forecasting to integrated, chemical-biological management of *Botrytis cinerea*. In *Phytopathology* **87**, 332-340.
- Shtienberg, D., Elad, Y., Niv, A., Nitzani, Y., and Kirshner, B., 1988.** Significance of leaf infection by *Botrytis cinerea* in stem rotting of tomatoes grown in non - heated greenhouses. In *European Journal of Plant Pathology* **104**, 753-763.
- Sirry, A. E. R. 1957.** The effect of relative humidity on the germination of *Botrytis* spores and on the severity of *Botrytis cinerea* Pers. on lettuce. *Ann. Agric. Sci.* **2**, 247-250.
- Stall, R. E., Jones, J.B. & Zitter, T.A. 1997.** Compendium of tomato diseases. pp. 16-17. APS Press, St. Paul.
- Τσαπικούνης, Φ. 1996.** Βιολογική και ολοκληρωμένη καταπολέμηση στο θερμοκήπιο. pp. 191-198. Σταμούλης, Αθήνα.
- Tudzynski, P., Sharon, A., Siewers, V. & Tudzynski, B. 2000.** Phytohormon production in *Botrytis cinerea*. In *12th International Botrytis Symposium*. Reims, France, (Abstracts).
- Verhoeff, K., Rijkenberg, & F. H. J. De Leeuw, G. T. N., 1980.** Light and electron microscopy studies on the infection of tomato fruits by *Botrytis cinerea*. *Can. J. of Botany* **58**, 1394-1404.
- Vincelli, P. C. & Lorbeer, J. W. 1988b.** Relationship of precipitation probability to infection potential of *Botrytis squamosa* on onion. *Phytopathology* **78**, 1078-1082.
- Walker, R., Powell, A. A. & Seddon, B. 1998.** *Bacillus* isolates from the spermosphere of peas and dwarf French beans with antifungal activity against *Botrytis cinerea* and *Pythium* species. *J. Appl. Microbiol.* **84**, 791-801.
- Weltzien, H. C. 1991.** Biocontrol of foliar fungal diseases with compost extracts. In *Microbial ecology of leaves*, (Eds. J. H. Andrews & S. S. Hirano), pp.430-450. Springer-Verlag, New York, Berlin.
- Wilson, A.R. 1966.** Infection of tomato stems by *Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr. Acta Hort. (ISHS) **4**,135-135.
- Winspear, K. W., Postlethwaite, J. D. & Cotton, R. F. 1970.** The restriction of *Cladisporium fulvum* and *Botrytis cinerea*, attacking glasshouse tomatoes, by automatic humidity control. *Ann. Appl. Biol.* **65**, 75-83.
- Wood, P. & De Luca, N. 2000.** Iron in the *botrytis*-plant interaction. In *12th International Botrytis Symposium*. Reims, France, (Abstracts).
- Yu, H. & Sutton, J. C. 1997.** Morphological development and interactions of *Gliocladium roseum* and *Botrytis cinerea* in raspberry. *Can. J. Pl. Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie* **19**, 237-246.
- Yunis, H. & Elad, Y., 1989.** Survival of *Botrytis cinerea* in plant debris during summer in Israel. In *Phytoparasitica* **17**, 13-21.
- Yunis, H., Shtienberg, D., Elad, Y. & Mahrer, Y., 1994.** Qualitative approach for modeling outbreaks of grey mould epidemics in non-heated cucumber greenhouses. In *Crop protection* **13**, 99-104.

ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΕΣ ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΙΣ INTERNET

- http://www.grofert.com/sw_11115.asp (Grodan, 2003)
- http://plantclinic.cornell.edu/FactSheets/botrytis/botrytis_blight.htm (Carrol *et al.*, 1991)
- http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/factsheets/Tomato_Botrytis.htm (Zitter, 1986)
- www.nysaes.cornell.edu/ent/bcconf/talks/harman.html (Harman, 2003)
- <http://ipm.osu.edu/mini/96m-5.htm> (Ellis *et al.*, 1996).
- http://www.genoscope.cns.fr/externe/English/Projets/Projet_W/W.html
- <http://www.cas.psu.edu/docs/CASDEPT/PLANT/ext/botrytis.html> (Moorman, 2002)
- <http://ejournal.sinica.edu.tw/bbas/content/2002/3/bot433-06.html> (Li *et al.*, 2002)
- <http://www.u-bourgogne.fr/IUVV/bot.html> (XIIth International Botrytis Symposium)
- http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/Malloch/Moulds/Index_of_descriptions.html
- http://www.actahort.org/books/4/4_26.htm (Wilson, 1966)
- <http://www.nysipm.cornell.edu/publications/greymold.html> (Lambooy, 2001).
- <http://www.larural.es/servagin/fitosanitario/enfermedades/botrytis/botrytis.htm>
- <http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/oligand.htm>
- <http://www.socgenmicrobiol.org.uk/JGVDirect/17168/17168ft.htm> (Howitt *et al.*, 2000)
- <http://www.nysipm.cornell.edu/publications/greymold.html> (Agrios, 1996)
- <http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/yeast.htm>
- http://www.yeastgenome.org/VL-what_are_yeast.html
- <http://www.phys.ksu.edu/gene/a1.html>
- <http://www.agralin.nl/wda/abstracts/ab2791.html>
- http://www.actahort.org/books/4/4_26.htm (Wilson, 1966)
- <http://ejournal.sinica.edu.tw/bbas/content/2002/3/bot433-06.html> (Li *et al.*, 2002)