

ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ
ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ

ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ ΤΟΥ ΩΙΔΙΟΥ ΣΤΟ
ΑΓΓΟΥΡΙ ΜΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ
ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΣΙΤΩΝ
Acremonium sp & *Fusarium* sp



ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ: ΑΠΟΣΤΟΛΑΚΗ ΣΟΦΙΑ
ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: ΦΑΝΟΥΡΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2007

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Cucumis sativus

1.1.2 καταγωγή – Ιστορικό

1.1.3 Βοτανικά χαρακτηριστικά

1.1.4 Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις

1.1.5 Ασθένειες- Φυσιολογικές ανωμαλίες

1.1.6 Σημερινή γενετική κατάσταση

1.2 Ωίδιο

1.2.1 Συμπτώματα – Ζημιές

1.2.3 Συνθήκες αναπτύξεως

1.2.4 Βιολογικός κύκλος

1.3 Βιολογική καταπολέμηση

1.3.1 Μέτρα και μέσα της βιολογικής καταπολέμησης

1.3.2 Καλλιεργητικά και προληπτικά μέτρα

1.3.3 Μηχανικά και άλλα μέτρα

1.3.4 Βιοτεχνολογικές μέθοδοι

1.3.5 Χημικά μέσα καταπολέμησης

1.4 Ανθεκτικότητα

1.5 Χαρπίνη

1.5.1 Φυσικά χαρακτηριστικά

1.5.2 Ιδιότητες χαρπίνης

1.6 Βιολογικοί παράγοντες

1.6.1 Ο μύκητας *Acremonium alternatum*

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Εισαγωγή

2.2 Φυτικό υλικό και βιολογικοί παράγοντες

2.3 Προετοιμασία των σπόρων και μεταφορά των φυτών στο θερμοκήπιο

2.4 Προετοιμασία του θερμοκηπίου

2.5 Σχέδιο- πλάνο του θερμοκηπίου

2.6 Προετοιμασία των επεμβάσεων και η εφαρμογή της

2.6.1 Επεμβάσεις του πειράματος

2.6.2 Παρασκευή PDA

2.6.3 Καλλιέργειες βιολογικών παραγόντων

2.6.4 Προετοιμασία και εφαρμογή των επεμβάσεων του πειράματος

2.7 Καλλιεργητικές φροντίδες

2.7.1 Καλλιεργητικές εργασίες

2.7.2 Άρδευση και λίπανση

2.7.3 Καταπολέμηση εχθρών και ασθενειών

2.8 Λήψη παρατηρήσεων και στατιστική ανάλυση

2.9 Αποτελέσματα

2.9.1 Ανάλυση διασποράς

2.9.2 Συγκρίσεις μέσω όρων

2.9.3 Γραφήματα

2.10 Συμπεράσματα- Συζήτηση

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^Ο ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 CUCUMIS SATIVUS

Το φυτό της αγγουριάς ή αλλιώς *Cucumis sativus* της οικογένειας Cucurbitaceae , είναι φυτό πολυετές αλλά καλλιεργείται σαν ετήσιο και ανήκει στα φυτά θερμής εποχής . Από το αγγούρι τρώμε τον άγουρο καρπό του και έχει μεγάλη ζήτηση για την γεύση του και την διατητική αξία του αφού περιέχει πολύ λίγες θερμίδες . Η αγγουριά διαφέρει από τα άλλα κολοκυνθοειδή , γιατί είναι το μόνο είδος του γένους *Cucumis* με $2n = 2x = 14$ χρωμοσώματα .

1.1.2 Καταγωγή – Ιστορικό

Η αγγουριά πιστεύεται ότι είναι φυτό ενδογενές των Ινδιών . Η απόδειξη είναι μάλλον δύσκολη , γιατί η αγγουριά ποτέ δεν βρέθηκε στην άγρια μορφή της . Έχουν βρεθεί στην Ινδία , και άλλες γειτονικές χώρες , φυτά με μεγάλη ποικιλομορφία όσον αφορά τα χαρακτηριστικά βλάστησης , το μέγεθος του καρπού , το σχήμα και το εξωτερικό του χρώμα . Πέραν αυτών , έχει βρεθεί να αυτοφύεται στις παρυφές των Ιμαλαΐων ένα μικρό , πικρό αγγούρι , που φέρει αραιά και σκληρά αγκάθια , το *Cucumis hardwickii* , στενός συγγενής και πολύ πιθανόν να είναι ο πρόγονος της καλλιεργούμενης αγγουριάς . Ο De Candolle 1882 , πίστευε ότι το αγγούρι καλλιεργείτο στις Ινδίες 3000 π . χ . Πάντως , υπολείμματα του φυτού έχουν βρεθεί σε αιγυπτιακούς τάφους . Στην Ελλάδα , αναφέρεται ότι υπήρχε από αρχαιοτάτων χρόνων . Ο Θεόφραστος περιγράφει τρεις ποικιλίες . Η λαχανοκομική και πολλές φορές η θεραπευτική του ιδιότητα εκτιμήθηκε πολύ από τους αρχαίους , και σήμερα εκτός από την κατανάλωση του ως τροφή , χρησιμοποιείται και για την παρασκευή κρέμας προσώπου .

1.1.3 Βοτανικά χαρακτηριστικά

Είναι φυτό ποώδες , έρπον ή αναρριχώμενο , με κληματίδες που φέρουν έλικες για την στήριξη του . Τα φύλλα του είναι απλά με λοβούς γωνιώδους απολήξεως . Το φυτό είναι μόνικο και δικλινές , στο ίδιο φυτό δηλαδή υπάρχουν άνθη μόνο αρσενικά και άνθη μόνο θηλυκά , που βρίσκονται σε διαφορετικές θέσεις στις

μασχάλες των φύλλων . Τα θηλυκά άνθη διακρίνονται πάνω στον κάθε καρπό που είναι η αγονιμοποίητη ωοθήκη και έχουν χονδρό μίσχο , ενώ στα αρσενικά ο μίσχος είναι λεπτός και μακρύς . Επίσης , τα αρσενικά εμφανίζονται σε ομάδες των 3 – 4 , ενώ τα θηλυκά είναι μονήρη . Η γονιμοποίηση κανονικά γίνεται με έντομα , οι καλλιεργούμενες σε θερμοκήπιο ποικιλίες όμως που έχουν μόνο θηλυκά άνθη , παράγουν τους καρπούς τους παρθενοκαρπικά .

Ανθικός τύπος : *K₍₅₎ Σ₍₅₎ A₁₋₅ Γ₍₃₎

1.1.4 Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις

Το αγγούρι μπορεί να αναπτυχθεί σε πολλούς τύπους εδαφών για πρώτη φορά όμως παραγωγή τα φυτά προτιμά αμμοπηλώδες γόνιμο και καλά στραγγίσιμο έδαφος. Το ΡΗ πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 5,5 και 7,0 , παρουσιάζει επίσης ευαισθησία στην παρουσία υψηλής συγκέντρωσης αλάτων στο εδαφικό διάλυμα. Οι άριστες θερμοκρασίες ανάπτυξης κυμαίνονται μεταξύ 18 και 24⁰C. Η σχετική υγρασία πρέπει να κυμαίνεται ανάμεσα στο 70 με 80% προτιμάς το 70% για αποφυγή ασθενειών.

1.1.5 Ασθένειες-φυσιολογικές ανωμαλίες

Μερικές πιο της φυσιολογικές ανωμαλίες που παρατηρούνται είναι

- Τοπική διόγκωση του καρπού η οποία προκαλείτε από μερική και μη επιθημιτή γονιμοποίηση σε ποικιλίες που παρθενοκαρπούν
- Έντονη κύρτωση του καρπού η οποία οφείλεται δε προβλήματα θρέψεως του φυτού ή αντίξοες κλιματικές συνθήκες.
- Πίκριση του καρπού η οποία οφείλεται κυρίως σε γενετικούς παράγοντες αλλά και σε ακανόνιστα ποτίσματα όσο και στις χαμηλές θερμοκρασίες.
- Ο κυριότερες ασθένειες είναι

Κοινή ονομασία	Λατινική ονομασία
Αλτεναρίωση	<i>Altenaria alternatum</i>
Βερτισιλίωση	<i>Veiticillium albo-atrum</i>
Περονόσπορος	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>
Σηψηρριζία	<i>Pythium spp</i>
Τεφρά σήψη	<i>Botrytis cinerea</i>
Φουζαρίωση	<i>Fusarium oxysporum</i>
Ωίδιο	<i>Podosphaira xanthii</i>

1.1.6 Σημερινή γενετική κατάσταση

Πρόσφατα έχει εντατικοποιηθεί η προσπάθεια ενσωμάτωσης ανθεκτικών γόνων για τις σοβαρές ασθένειες που προσβάλλουν την αγγουριά , όπως ο περονόσπορος , το ωίδιο , το κλαδοσπόριο και οι ιώσεις . Οι γενετιστές σήμερα έχουν στρέψει την προσοχή τους σε δύο κατευθύνσεις , τη γενετική μεταχείριση του φύλλου , ώστε να βρεθούν τρόποι παραγωγής υβριδισμένου σπόρου με χαμηλό κόστος και επίσης την δημιουργία ποικιλιών με μικρά μεσογονάτια διαστήματα ώστε ολόκληρη η παραγωγή να συγκομίζεται μια φορά και με μηχανή .

1.2 ΩΙΔΙΟ

Τα ωίδια είναι πολύ διαδεδομένες ασθένειες σε όλες της περιοχές της χώρας και προκαλούν συχνά σημαντικές ζημιές στις διάφορες καλλιέργειες των κολοκυνθοειδών τόσο στο ύπαιθρο όσο και στα θερμοκήπια.

1.2.1 Συμπτώματα-Ζημιές

Προσβάλλουν όλα τα πράσινα μέρη του φυτού (φύλλα, βλαστούς, μίσχους). Στην επάνω και στη κάτω επιφάνεια των φύλλων, στους μίσχους και στους βλαστούς εμφανίζονται μικρές λευκές κηλίδες που καλύπτονται από πυκνή, αλευρώδη εξάνθηση. Σε ευνοϊκές συνθήκες η προσβολή μπορεί να καλύψει όλο το φύλλο και μεγάλη επιφάνεια του βλαστού, μερικές φορές επί της λευκής εξάνθησης εμφανίζονται μικρά μαύρα στίγματα που είναι η καρποφορία της τέλειας μορφής του μύκητα (κλειστοθήκια). Προοδευτικά τα φύλλα κιτρινίζουν, γίνονται καστανά και τελικά ξεραίνονται. Αν το φυτό χάσει πολλά φύλλα εξασθενεί.

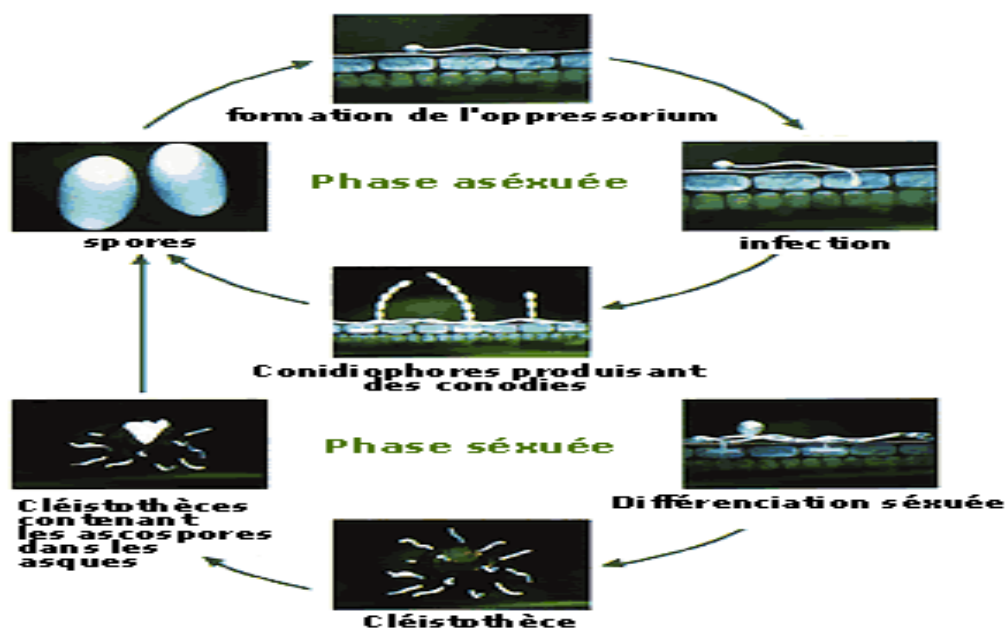
1.2.3 Συνθήκες αναπτύξεως

Οι μύκητες είναι υποχρεωτικά παράσιτα και ανήκουν στους Erysiphales των Ασκομυκήτων. Η λευκή αλευρώδης εξάνθηση που σχηματίζεται στην επιφάνεια των φυτικών μερών αποτελείται από το μυκήλιο του παρασίτου, τους βραχείς κονιδιοφόρους που παράγονται από το μυκήλιο και τα βαρελοειδή κονίδια που σχηματίζονται σε απλές αλυσίδες στο άκρο των κονιδιοφόρων. Τα κονίδια είναι υαλώδη, μονοκύτταρα και σχήματος ελλειψοειδούς ή βαρελοειδούς. Οι μύκητες διατηρούνται επί άλλων καλλιεργούμενων φυτών ή επί ζιζανίων από τα οποία

προέρχονται τα μολύσματα για τις αρχικές μολύνσεις. Τα κονίδια μεταφέρονται με τον άνεμο και όταν βρεθούν πάνω στη φυτική επιφάνεια βλαστάνουν ακόμα και με σχετική υγρασία 46% και προκαλούν μολύνσεις. Οι μολύνσεις πραγματοποιούνται σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 10-30° C (άριστη περιοχή θερμοκρασιών 25° – 26° C). Τα ωΐδια παρ'ολο που είναι συνήθη και προκαλούν σοβαρές ασθένειες στις ψυχρές ή ζεστές περιοχές , προκαλούν περισσότερο σοβαρές ζημιές στα θερμά και ξηρά κλίματα. Αυτό συμβαίνει γιατί τα σπόρια τους (κονίδια) ελευθερώνονται, βλαστάνουν και προκαλούν μόλυνση ακόμη και με χαμηλή σχετική υγρασία χωρίς να είναι απαραίτητη η παρουσία στρώματος νερού στη φυτική επιφάνεια.

1.2.4Βιολογικός κύκλος

Οι εγγενείς καρποφορίες των μυκήτων είναι κλειστοθήκια τα οποία δε σχηματίζονται συχνά και φαίνεται πως δεν παίζουν ρόλο στη διαίωσιση των μυκήτων. Οι μύκητες είναι εκτοπαρασιτικοί, αναπτύσσονται δηλαδή στην επιφάνεια του ξενιστή και παρασιτούν με ειδικούς μυζητήρες τα επιδερμικά κύτταρα του φυτού. Σχηματίζουν κονιδιοφόρους οι οποίοι φέρον τα κονίδια σε αλυσίδες, διαχειμάζουν σε καλλιεργούμενα ή αυτοφυή φυτά ξενιστές. Τα κονίδια μεταφέρονται με τον άνεμο (ξηροσπόρια) και προκαλούν μολύνσεις βλαστάνοντας στην φυτική επιφάνεια του ξενιστή.



Εικόνα 1: Βιολογικός κύκλος Ωιδίου

1.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ

Η Βιολογική καταπολέμηση εμπεριέχει την πρόληψη και τον έλεγχο εχθρών και ασθενειών και την καταπολέμηση των ζιζανίων με τη χρήση όλων των διαθέσιμων βιολογικών, χημικών, καλλιεργητικών και άλλων μεθόδων με σκοπό την επικερδή και αποτελεσματική παραγωγή, που δεν διαταράσσει την ισορροπία της φύσης και προστατεύει το περιβάλλον. Η Βιολογική Καταπολέμηση αποσκοπεί στην μείωση των δυσμενών επιδράσεων της χημικής μεθόδου καταπολέμησης και στην παραγωγή προϊόντων υψηλής ποιότητας, με τα λιγότερα δυνατόν τοξικά υπολείμματα και με την ελάχιστη δυνατή επιβάρυνση του περιβάλλοντος απ' αυτά. Το σύστημα της είναι ένα σύστημα οργάνωσης μιας γεωργικής εκμετάλλευσης που εμπεριέχει μεταξύ άλλων την Ορθή Γεωργική Πρακτική, την Ασφάλεια και Υγιεινή των εργαζομένων, και την Ασφάλεια Προϊόντων. Η χρησιμοποίηση των παρασιτοκτόνων ουσιών, γίνεται μόνο όταν οι άλλες εναλλακτικές μέθοδοι δεν είναι αποτελεσματικές και με την προϋπόθεση αυτές να έχουν εκλεκτική δράση και να διασφαλίζουν την προστασία των ωφέλιμων και την ασφάλεια του εφαρμοστή. Φυτοπροστατευτικά προϊόντα, όπως φερομόνες, άλλες ελκυστικές ουσίες και εντομοπαγίδες, χρησιμοποιούνται ευρέως σ' αυτό τον τρόπο καταπολέμησης. Η πρόληψη της εμφάνισης ενός εχθρού ή μιας ασθένειας, έχει μεγάλη σημασία στην εφαρμογή της ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας και στη μείωση της έντασης μιας προσβολής. Στη συνέχεια ο συχνός έλεγχος στην καλλιέργεια είναι αποφασιστικής σημασίας για την ορθολογική αντιμετώπιση των προβλημάτων φυτοπροστασίας. Ο σωστός σχεδιασμός προγράμματος φυτοπροστασίας αποτελεί βασικό στοιχείο της επιτυχίας.

1.3.1 Μέτρα και Μέσα της Βιολογικής Καταπολέμησης

Επιλογή κατάλληλων ειδών και ποικιλιών. Τα καλλιεργούμενα είδη και ποικιλίες πρέπει να είναι όσο το δυνατόν προσαρμοσμένα στις εδαφοκλιματικές συνθήκες και όσο το δυνατόν ανθεκτικά στους εχθρούς και της ασθένειας.

1.3.2 Καλλιεργητικά και Προληπτικά Μέτρα

1. Αμειψισπορά
2. Αγρανάπαυση
3. Αλλαγή του τρόπου ή του χρόνου φύτευσης ή συγκομιδής

4. Φύτευση φυτών-παγίδων
5. Διατήρηση πληθυσμών ωφέλιμων στον αγρό
6. Καλλιέργεια του εδάφους και ιδιαίτερα το όργωμα και το σκάψιμο
7. Καταστροφή και απομάκρυνση των υπολειμμάτων της προηγούμενης καλλιέργειας
8. Ορθή χρήση του νερού και λιπασμάτων
9. Αποφυγή της χρήσης μολυσμένου νερού στην άρδευση
10. Χρήση υγιών ή και ανθεκτικών φυτών
11. Αποφυγή αναπαραγωγής και διασποράς των ζιζανίων
12. Έγκαιρη εκτέλεση των καλλιεργητικών εργασιών

1.3.3 Μηχανικά και άλλα μέτρα

1. Συλλογή ή παγίδευση επιβλαβών εντόμων (με χρωμοπαγίδες κόλλας, φερομονικές παγίδες και άλλους τρόπους) και μηχανική σύνθλιψη αυτών
2. Προστασία των φυσικών εχθρών των παρασίτων μέσω της εξασφάλισης συνθηκών που να τους ευνοούν (φυτικοί φράκτες, τόποι φωλιάσματος κ.λ.π.)
3. Κάλυψη εδάφους με πλαστικό για την παρεμπόδιση της νύμφωσης εχθρών (θρίπες, λυριόμυζες)
4. Απολύμανση του εδάφους (ηλιοαπολύμανση, απολύμανση εδάφους με ζεστό νερό ή αέρα, κ.α. τρόπους) και φυτικού υλικού (απολύμανση σπόρων, κ.α. τρόπους)

1.3.4 Βιοτεχνολογικές μέθοδοι

Στην κατηγορία αυτή υπάγονται μέθοδοι και τεχνικές που εκμεταλλεύονται ορισμένα βιολογικά χαρακτηριστικά και ιδιαίτερα ορισμένα στοιχεία της συμπεριφοράς των εντόμων. Τέτοιες μέθοδοι είναι:

- A) Μαζική παγίδευση (όπως αυτή που εφαρμόζεται για την προστασία της ελαιοπαραγωγής από τον δάκο της ελιάς, και την προστασία των εσπεριδοειδών από την μύγα της Μεσογείου)
- B) Παρεμπόδιση της σύζευξης με τη χρήση εξατμιστήρων φερομόνης (με αυτό τον τρόπο εφαρμόζεται η καταπολέμηση ορισμένων λεπιδοπτέρων, όπως για το ρόδινο σκουλήκι του βαμβακιού, η ευδεμίδα του αμπελιού και σεζάμια)
- Γ) Προσέλκυση από φερομόνες και θανάτωση αρσενικών (όπως στην καταπολέμηση

της καρπόκαψας των μήλων)

Δ) Ενεργοποίηση μηχανισμών ανθεκτικότητας στο ίδιο το φυτό

1.3.5 Χημικά μέσα καταπολέμησης

Η εφαρμογή της χημικής καταπολέμησης γίνεται μόνο όταν και όπου κρίνεται πραγματικά αναγκαία και αναπόφευκτη κι εφόσον δεν υπάρχει εναλλακτικός τρόπος καταπολέμησης. Αυτό συμβαίνει όταν δεν έχει αντιμετωπιστεί ένα ή περισσότερα παράσιτα από την αρχή της εμφάνισής του και είναι δύσκολη η αντιμετώπισή σ' αυτό το σημείο με οποιοδήποτε άλλο τρόπο. Στόχος του προγράμματος της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης είναι να κρατηθούν οι ζημιές από τους εχθρούς και τις ασθένειες μιας καλλιέργειας σε οικονομικά ανεκτά επίπεδα. Έτσι γίνεται ορθολογική χρήση των φυτοπροστατευτικών ουσιών λαμβάνοντας υπόψη τις επικρατούσες κάθε φορά συνθήκες και τις σχέσεις ευαισθησίας φυτού- ξενιστή και παρασίτου.

1.4 ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η ύπαρξη γονιδίων στα φυτά που ελεγχουν την αντοχή τους έναντι των παθογόνων δείχθηκε αμέσως μετά την ανακάλυψη των μελετών του Mendel πάνω στην κληρονομικότητα. Ο Biffen το 1905 έδειξε ότι μια γονιδιακή θέση ήταν υπεύθυνη για την αντοχή μερικών ποικιλιών σιταριού στην κίτρινη σκωρίαση που προκαλείτε από τον μύκητα *Puccinia striiformis*. Έκτοτε, έχουν προσδιοριστεί πολλές εκατοτάδες γονιδίων τα οποία ρυθμίζουν την ανθεκτικότητα πολυάριθμων φυτικών ειδών σε ένα ευρύ φάσμα παθογόνων. Από γενετική άποψη μια συγκεκριμένη αντοχή μπορεί να περιγραφεί αν αποσαφηνιστεί ο τρόπος κληρονομιάς της. Από την άποψη αυτή έχουμε τρεις τύπους ανθεκτικότητας:

- ❖ Ολιγονιδιακή
- ❖ Πολυγονιδιακή
- ❖ Κυτταροπλασματική

Μεγαλογονίδια ανθεκτικότητας είναι χρωμοσωμικά κυρίως γονίδια τα οποία προσδίδουν στο φυτό υψηλού βαθμού ανθεκτικότητα, σε σχετικά μικρό αριθμό φυλών του παθογόνου. Η ανθεκτικότητα αυτή είναι συνδεδεμένη συνήθως με την αντίδραση της υπερευπάθειας. Αντίστοιχα ολιγονιδιακή ανθεκτικότητα ή ανθεκτικότητα μειζόνων γονιδίων ονομάζεται η ανθεκτικότητα η οποία ελέγχεται από ένα ή από λίγα Μεγαλογονίδια. Η ολιγονιδιακή ανθεκτικότητα προσφέρει μερικά πολύ σοβαρά πλεονεκτήματα:

- ❖ Προσφέρει μεγάλο βαθμό αντοχής
- ❖ Διατηρείται κατά κανόνα, σταθερή κάτω από το ευρύ φάσμα συνθηκών του περιβάλλοντος.
- ❖ Αναγνωρίζεται εύκολα.

Όμως ένα σοβαρό μειονέκτημα της ολιγονιδιακής αντοχής είναι η έλλειψη αποτελεσματικότητας της σε νέες φυλές του παθογόνου που μπορεί να μεταφερθούν από άλλες περιοχές, να επικρατήσουν λόγω πίεσης επιλογής σε ανθεκτικό φυτικό γενετικό υλικό από προϋπάρχοντες σε μικρή συχνότητα γενότυπους στον πληθυσμό του παθογόνου ή να δημιουργηθούν με μεταλλαγές του παθογόνου ή μέσω άλλων μηχανισμών. Ένα βασικό χαρακτηριστικό της ολιγονιδιακής ανθεκτικότητας είναι ότι λόγω του μεγάλου βαθμού προστασίας που παρέχει έναντι ορισμένων φυλών η κατανομή των ευπαθών και των ανθεκτικών φυτών σε ένα πληθυσμό είναι ασυνεχής. Δηλαδή εάν τα φυτά εκφράσουν ολιγονιδιακή αντοχή έναντι της συγκεκριμένης φυλής που μολύνει δεν παρουσιάζουν συμπτώματα της ασθένειας, ενώ, σε αντίθεση περίπτωση παρουσιάζουν έντονα συμπτώματα. Επομένως τα φυτά Επομένως τα φυτά μπορούν να διαχωριστούν ποιοτικά σε ανθεκτικά ή ευπαθή με συνέπεια η ολιγονοδιακή ανθεκτικότητα να ονομάζεται και ποιοτική ανθεκτικότητα. Άλλο ένα χαρακτηριστικό της ολιγονιδιακής αντοχής είναι ότι αυτή κατά κανόνα εκφράζεται όχι μόνο στα ώριμα αλλά και στα νεαρά φυτά.

Μικρογονίδια ανθεκτικότητας είναι χρωμοσωμικά γονίδια τα οποία προσφέρουν στο φυτό μικρού βαθμού αντοχή σε σχετικά μεγάλο αριθμό φυλών του παθογόνου. Αντίστοιχα πολυγονιδιακή ανθεκτικότητα ονομάζεται η αντοχή η οποία ελέγχεται από πολλά μικρογονίδια. Ο βαθμός αντοχής μια ποικιλίας με πολυγονιδιακή

ανθεκτικότητα υφίσταται μεγάλες διακυμάνσεις, εξαρτώμενος από εδαφικούς, μετεωρολογικούς και βιοτικούς παράγοντες. Λόγω της επιδράσεως των παραγόντων αυτών παρατηρείται στον πληθυσμό των φυτών συνεχής διαβάθμιση μεταξύ ευπάθειας και ανθεκτικότητας με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατός ο ποιοτικός διαχωρισμός των φυτών σε ευπαθή και ανθεκτικά. Για το λόγο αυτό η πολυγονιδιακή ανθεκτικότητα ονομάζεται και ποσοτική ανθεκτικότητα. Η πολυγονιδιακή ανθεκτικότητα ονομάζεται επίσης και ανθεκτικότητα αναπτυγμένου ή ώριμου φυτού γιατί συνήθως δεν εκφράζεται στα νεαρά φυτά.

Κυταροπλασματική ανθεκτικότητα ονομάζεται η ανθεκτικότητα η οποία δεν ελέγχεται από χρωμοσωμικά γονίδια αλλά από γονίδια τα οποία βρίσκονται σε κυταροπλασματικά οργανίδια τα οποία ονομάζονται πλασμογονίδια. Η ανθεκτικότητα αυτή μεταβιβάζεται στους απόγονους μόνο εάν το ανθεκτικό φυτό χρησιμοποιηθεί κατά την διασταύρωση έως δεκτης. Η κυταροπλασματική ανθεκτικότητα εάν και σπάνια, όταν είναι διαθέσιμη έχει πρακτική σημασία επειδή η ενσωμάτωση της σε μια εμπορική ποικιλία είναι σχετικά εύκολη μέσω ενός ανθεκτικού θηλυκού γονέα.

Από της προαναφερθης περιγραφης της αντοχής προκύπτει ότι υπάρχει αντιστοιχία στην διάκριση των διαφόρων τύπων ανθεκτικότητας. Έτσι η κατακόρυφη ανθεκτικότητα αντιστοιχεί στην εξειδικευμένη σε φυλές, την ολιγονιδιακής και την ποιοτική ανθεκτικότητα, ενώ η οριζόντια ανθεκτικότητα αντιστοιχεί στη μη εξειδικευμένη σε φυλές, την πολυγονιδιακή και την ποσοτική ανθεκτικότητα. Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται συνοπτικά οι διαφορές μεταξύ κατακόρυφης και οριζόντιας ανθεκτικότητας.

Πίνακας 1: Συνοπτική παρουσίαση διαφορών μεταξύ κατακόρυφης και οριζόντιας ανθεκτικότητας

ΤΥΠΟΣ ΑΝΤΟΧΗΣ	
Κατακόρυφη	Οριζόντια
Ελεγχεται από ένα ή λίγα γονίδια, με αναγνωρισμένη την επίδραση καθενός στον φαινότυπο.	Ελεγχεται από πολλά γονίδια, με μη αναγνωρισμένη την επίδραση του καθενός στο φαινότυπο.
Αποτελεσματική έναντι ορισμένων φυλών του παθογόνου.	Αποτελεσματική έναντι όλων των φυλών του παθογόνου.
Δεν επηρεάζεται ή επηρεάζεται λίγο από το περιβάλλον	Επηρεάζεται από το περιβάλλον.
Έντονα Αποτελεσματική	Μέτριας ή μικρής αποτελεσματικότητας.
Ασταθείς. Συνήθως ξεπερνιέται εύκολα από το παθογόνο.	Σταθερή για μεγάλο χρονικό διάστημα.
Τα μολυσμένα φυτά κατατάσσονται ως ανθεκτικά ή ευπαθή.(Ασυνεχής παραλλακτικότητα)	Στο πληθυσμό υπάρχουν φυτά σε όλες της διαβασιμείς μεταξύ αντοχής και ευπάθειας. (Συνεχής παραλλακτικότητα)

1.5 ΧΑΡΠΙΝΗ

Ο προσδιορισμός και η απομόνωση της χαρπίνης προήλθαν από τη βασική έρευνα προσπαθώντας να καταλάβουν πως τα παθογόνα βακτήρια αλληλεπιδρούν με τα φυτά ξενιστές. Η χαρπίνη ανήκει σε μια κατηγορία πρωτεϊνών που παράγονται στη φύση από ορισμένα βακτήρια. Η πρώτη χαρπίνη απομονώθηκε από το *erwinia amylopora*, η εργασία δημοσιεύτηκε το 1992 σε άρθρο σε επιστημονικό περιοδικό. Το άρθρο τιτλοφορήθηκε “ Harpin Elicitor”. Αυτή η έρευνα πραγματοποιήθηκε από το Δρ Zhonguin Wei καθώς και από το Δρ Steven Beer από το πανεπιστήμιο του Cornell. Ανακάλυψαν ότι όταν γίνει έκχυση καθαρής χαρπίνης σε ένα φυτό, αυτό κάνει το φυτό πιο ανθεκτικό και πιο συγκεκριμένα κάνοντας έκχυση χαρπίνης σε μερικά φύλλα του φυτού αποδείχθηκε ότι το φυτό είχε ανθεκτικότητα και στα φύλλα τα οποία δεν είχε γίνει έκχυση χαρπίνης. Αυτό το πείραμα έδειξε ότι η χαρπίνη μπορεί να ενεργοποιήσει το αμυντικό σύστημα του φυτού (SAR system acquired resistance). Η μεγάλη καινοτομία στην ανακάλυψη της χαρπίνης είναι ότι μπορεί να ενεργοποιεί

τον αμυντικό μηχανισμό εφαρμόζοντας και τοπικά και όχι σε ολόκληρο το φυτό την χαρπίνη, επομένως η ποσότητα που χρειάζεται για την εφαρμογή είναι πολύ μικρή.

1.5.1 Φυσικά χαρακτηριστικά

- Έχει 403 αμινοξέα στο μήκος και 4kd στη μοριακή μάζα
- Είναι πλούσια σε γλυκίνη
- Είναι υδατοδιαλυτή
- Καμία ενζυματική δραστηριότητα
- Η ακολουθία του αμινοξέος είναι AAC31644

1.5.2 Ιδιότητες χαρπίνης

- Ενεργοποιεί την ανθεκτικότητα στις ασθένειες
- Επιταχύνει την ανάπτυξη και αυτό περιλαμβάνει συγκεκριμένα αποτελέσματα στην ανάπτυξη της βιομάζας τις ρίζας, των βλαστών όπως και την ωρίμανση φρούτων
- Έχει επιπτώσεις στις βασικές φυσιολογικές διαδικασίες που είναι σημαντικές για την ανάπτυξη συμπεριλαμβανομένου την φωτοσυνθετική δραστηριότητα και τη θρεπτική λήψη.

Η χρήση της χαρπίνης έχει τη δυνατότητα να μειώσει ουσιαστικά τη χρήση των τοξικότερων φυτοφαρμάκων, ειδικά μυκητοκτόνα και ορισμένα εδαφολογικά καπνογόνα όπως το βρωμιούχο μεθύλιο.



Εικόνα 2: Εμπορικό σκεύασμα χαρπίνης

1.6 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Σήμερα δίνεται αρκετή προσοχή σε ευρεία κλίμακα, στα βιολογικά και ολοκληρωμένα συστήματα καταπολέμησης της ασθένειας λαμβάνοντας υπ'οψηφ αναφορές σχετικά με πιθανούς ανταγωνιστές. Η βιολογική καταπολέμηση των ωιδίων βασίζεται στην εφαρμογή υπερπαρασιτικών μυκήτων. Η αποτελεσματικότητα των βιολογικών παραγόντων και η επιβίωση τους εξαρτάται τόσο από τους βιοτικούς όσο και από τους αβιοτικούς παράγοντες. Ως τώρα τα αποτελέσματα στην πράξη είναι μάλλον μέτρια παρόλα αυτά υπάρχουν βιολογικοί παράγοντες κατάλληλοι για ολοκληρωμένη διαχείριση σε συνδυασμό με άλλα μέτρα καταπολέμησης με σκοπό να επιτευχθεί αποδεκτό επίπεδο καταπολέμησης από τους παραγωγούς.(Elad,Malathrakis and Dik,1996)

1.6.1 Ο μύκητας *Acremonium alternatum*

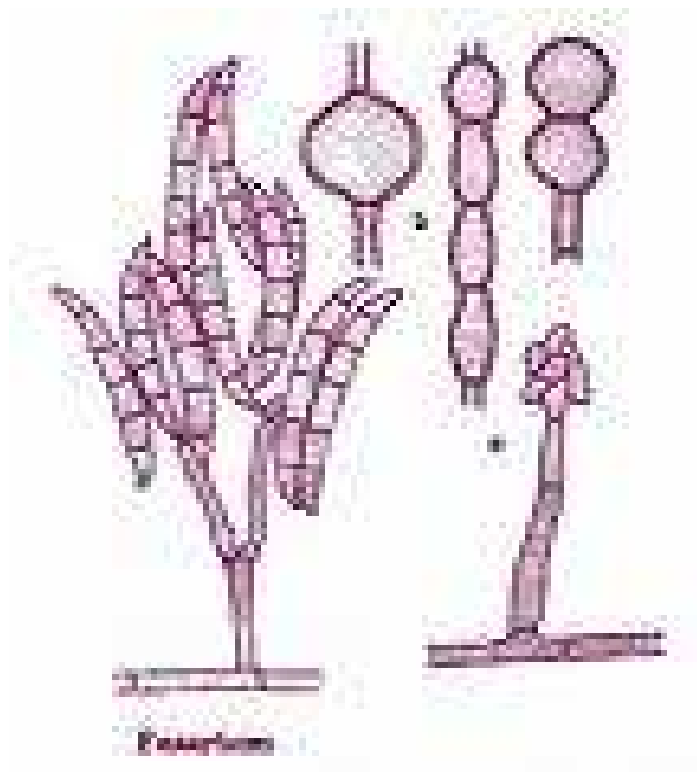
Σε δείγματα που συλλέχθηκαν το καλοκαίρι του 1983 από την Κρήτη ένα λευκό μυκήκιο αναπτύχθηκε επάνω στο ωίδιο, μετά από 3 με 4^{ης} ημέρες επώασης σε υγρό θάλαμο. Όταν τα κονίδια του μυκηλίου καλλιεργήθηκαν σε PDA μια αποικία μυκήτων αναπτύχθηκε. Η ταυτοποίηση της επιβεβαιώθηκε από το W.GAMS,Centraalbureau Voor Schimmel cultuurew, Baarn, The Netherlands ο μύκητας ήταν ο *Acremonium alternatum*. Ο μύκητας έχει απομονωθεί από το θαλλό του μύκητα *Podoshaira xanthii* αλλά ο τρόπος δράσης του δεν έχει εξακριβωθεί ακόμα. Τα σπόρεια του είναι υάλοχροα και εμφανίζονται σε αλυσίδες. Το μυκήλιο είναι υαλόχροον και πολυκύτταρο. Η κατάλληλη θερμοκρασία για την βλάστηση των σπορειών αλλά και την ανάπτυξη του μυκηλίου είναι 37⁰ C περίπου ενώ η θερμοκρασία για να γίνει ο παρασιτισμός πρέπει να κυμαίνεται πάνω από 15⁰ C με σχετική υγρασία γύρω στο 70% με 90%.



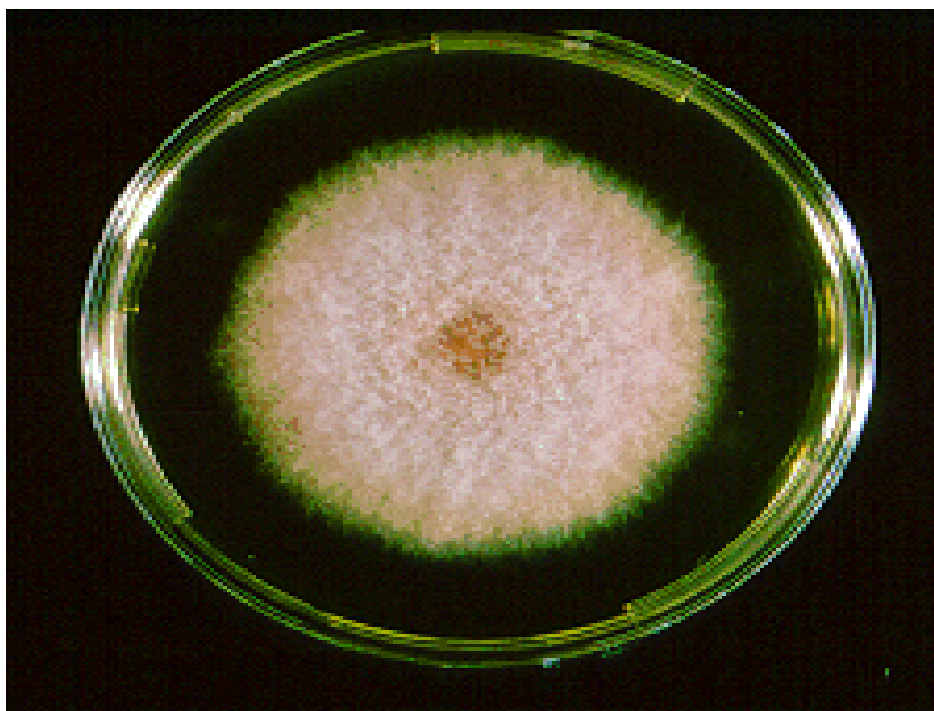
Εικόνα 3 : Acremonium sp.

Ο μύκητας Fusarium sp.

Ο μύκητας *Fusarium sp.* ανήκει στην οικογένεια Tuberculariace της τάξης Moniales των ατελών μυκήτων. Οι αποικίες του είναι ταχείες αναπτυσσόμενες. Σχηματίζει δύο κονίδια. Τα μακροκονίδια τα οποία είναι υαλώχρουν ως επί το πλείστον επίμηκες, έχουν 3 έως 7 septate και σχηματίζονται μετά από 4 έως και 7 ημέρες. Τα μικροκονίδια έχουν συνήθως μόνο ένα septate είναι και εκείνα υαλώχρουν, το σώμα τους είναι ίσιο αν και ορισμένες φορές φέρει μια κύρτωση. Η ταυτοποίηση των ειδών *Fusarium* είναι συχνά δύσκολη διότι παρουσιάζει μεγάλη μορφολογική και φυσιολογική παραλλακτικότητα, υπάρχουν διακυμάνσεις π.χ. ως προς το χρώμα, το σχήμα και το μέγεθος των κονιδίων. Τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά για την ταυτοποίηση των ειδών είναι η μικροσκοπική μορφολογία, όπως η παρουσία ή η απουσία μικροκονιδίων, το σχήμα και ο τρόπος διαμόρφωσης των μικροκονιδίων κ.α. Στο πειραματικό μέρος χρησιμοποιούμε είδος μη παθογόνου *Fusarium* για την αντιμετώπιση της ασθένειας του ωιδίου.



Εικόνα 4 : *Fusarium* sp.



Εικόνα 5 : Αποικία μύκητα *Fusarium* sp.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Εισαγωγή.

Η πειραματική αυτή εργασία πραγματοποιήθηκε σε πλαστικό θερμοκήπιο του Εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών έκτασης 400 m² στο αγρόκτημα του Α.Τ.Ε.Ι. ΚΡΗΤΗΣ στο Ηράκλειο. Ξεκίνησε τον Σεπτέμβριο του 2005 και ολοκληρώθηκε τέλη Δεκεμβρίου του 2005. Δοκιμάστηκαν ποικιλίες αγγουριάς και ψεκασμοί φυλλώματος για την αποτελεσματικότητα τους ενάντια στην ασθένεια του ωιδίου. Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν δυο ποικιλίες αγγουριάς οι οποίες τοποθετήθηκαν σε διπλές σειρές εναλλάξ. Κάθε διπλή σειρά αποτελούνταν από ένα υβρίδιο. Η διάταξη αυτή στο θερμοκήπιο σχημάτισε 32 πειραματικά τεμάχια (plots) για κάθε υβρίδιο χωριστά. Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε ήταν το σχέδιο των υποδιαιρούμενων τεμαχίων με οκτώ επεμβάσεις (treatments) και τέσσερις επαναλήψεις (block).

2.2 Φυτικό υλικό και βιολογικοί παράγοντες.

Για την υλοποίηση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν σπόροι από ποικιλίες του Εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών. Στις ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν δόθηκε αριθμός θερμοκηπίου για λόγους τήρησης γενεολογίας. Οι αριθμοί θερμοκηπίου ήταν 3059 για την ευπαθή και 3060 για την ανθεκτική ποικιλία. Αυτό έγινε για να μπορούμε να ανατρέξουμε στην προέλευση του σπόρου σε περίπτωση που χρειαστεί. Από τα βιβλία που τηρούνται στο Εργαστήριο βρίσκουμε ότι η καθαρή σειρά 792 (3059) παρουσιάζει ευπάθεια στην ασθένεια του ωιδίου σε αντίθεση με τη καθαρή σειρά 796 (3060) η οποία παρουσιάζει ανθεκτικότητα στο ωίδιο.

Κατά την διάρκεια του πειράματος, στην φάση των ψεκασμών χρησιμοποιήθηκαν οι δυο βιολογικοί παράγοντες, ο βιολογικός παράγοντας 1 (Bπ1) ο οποίος αντιστοιχεί στο μύκητα *Fusarium sp.* και ο βιολογικός παράγοντας 2 (Bπ2) ο οποίος αντιστοιχεί στον μύκητα *Acremonium alternatum*. Οι βιολογικοί παράγοντες υπήρχαν στη συλλογή του εργαστηρίου Βιολογικής Καταπολέμησης Ασθενειών και είχαν απομονωθεί από το θαλλό του μύκητα *Podospheara xanthii*. Τέλος δοκιμάστηκε η

αποτελεσματικότητα της χαρπίνης ως σκεύασμα πρωτεΐνης με το εμπορικό όνομα Messenger της εταιρείας Eden .

2.3 Προετοιμασία των σπόρων και μεταφορά των φυτών στο θερμοκήπιο.

Η προεργασία για την προβλάστηση περιείχε τα ακόλουθα βήματα. Ως πρώτο βήμα πραγματοποιήθηκε η διαλογή των σπόρων του φυτού της αγγουριάς, ακολούθησε η τοποθέτηση διηθητικού χαρτιού σε δοχεία Petri, η προσθήκη μικρής ποσότητας νερού στα δοχεία και τέλος η τοποθέτηση των σπόρων (20 σπόροι ανά δοχείο Petri) στα δοχεία. Τα δισκία εν συνεχεία τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ρυθμιζόμενης θερμοκρασίας στους 30 °C για 24 ώρες. Μετά την προβλάστηση έγινε η σπορά των σπόρων σε δισκία τοποθετώντας ένα προβλαστημένο σπόρο ανά θέση σποράς. Τα σπορεία τοποθετήθηκαν στο θερμοκήπιο πάνω σε θερμαινόμενο πάγκο σε θερμοκρασία 30 °C ως την εμφάνιση των φυταρίων. Υπήρχε καθημερινός έλεγχος των σπορειών και πότισμά τους όποτε αυτό κρινόταν απαραίτητο. Την ένατη ημέρα πραγματοποιήθηκε αραίωμα των σποροφύτων για τον καλύτερο φωτισμό και αερισμό τους. Με το πέρας των 14 ημερών τα φυτά μεταφυτεύθηκαν στην μόνιμή τους θέση εφόσον η ανάπτυξή τους ήταν στο κατάλληλο στάδιο. Τα φυτά τοποθετήθηκαν στο θερμοκήπιο όπως φαίνεται στο σχέδιο – πλάνο του θερμοκηπίου παρακάτω. Οι δυο ποικιλίες φυτεύθηκαν στις διπλές γραμμές εναλλάξ.

2.4 Προετοιμασία του θερμοκηπίου.

Για την προετοιμασία του θερμοκηπίου ακολούθησαν οι παρακάτω εργασίες

- Αφαίρεση ζιζανίων που υπήρχαν στον εσωτερικό χώρο του θερμοκηπίου, ράντισμα των ζιζανίων που υπήρχαν σε μη προσιτά μέρη με το χημικό παρασκεύασμα Raundup σε δοσολογία 150 ml στα 2 lt διαλύματος.
- Επισκευή ορισμένων σημείων του αρδευτικού δικτύου και αντικατάσταση μη επισκευάσιμων εξαρτημάτων . Επανατοποθέτηση του αρδευτικού δικτύου.
- Τοποθέτηση καρτελών για τη σήμανση και το διαχωρισμό των επεμβάσεων (treatments) ανά διπλή γραμμή.

- Τοποθέτηση κόκκινης κορδέλας στα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν για το διαχωρισμό των επεμβάσεων (φυτά κουρτίνες) του πειράματος στο ύψος του ματιού με σκοπό τη διευκόλυνση των φοιτητών κατά την διεξαγωγή των ψεκασμών.
- Στρώσιμο του εδάφους και άνοιγμα αυλακιών μέσα στα οποία τοποθετήθηκαν τα φυτά στην τελική τους θέση.

2.5 Σχέδιο – πλάνο του θερμοκηπίου .

Το σχέδιο – πλάνο του θερμοκηπίου αποτελείται από δέκα διπλές γραμμές οι οποίες είναι διατεταγμένες σε παράλληλη θέση έχοντας στην άκρη τους διάδρομο πλάτους 1, 5 m για καλλιεργητικές φροντίδες. Μεταξύ των διπλών γραμμών υπάρχουν διάδρομοι πλάτους 1 m οι οποίοι χρησιμεύουν για τον ίδιο σκοπό. Οι αποστάσεις μεταξύ των γραμμών της διπλής γραμμής είναι 0,5 m. Το ίδιο και μεταξύ των φυτών επί της γραμμής. Σε κάθε διπλή γραμμή τα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν είναι πενήντα σε αριθμό δηλαδή εικοσι πέντε σε κάθε μονή γραμμή και τα τοποθετήθηκαν το ένα απέναντι στο άλλο ως προς τη διπλή γραμμή σαν σύνολο. Η πρώτη και η τελευταία διπλή σειρά χρησιμοποιήθηκαν ως περιβάλλοντα χώρος (περιθώρια) δηλαδή δεν πήραν μέρος κατά τις επεμβάσεις και τις μετρήσεις του πειράματος. Αυτό έγινε για να έχουμε καλύτερα αποτελέσματα και μεγαλύτερη αξιοπιστία όσο αφορά τα αποτελέσματα του πειράματος. Στις υπόλοιπες διπλές γραμμές, όπως φαίνεται και στο πλάνο του θερμοκηπίου, τοποθετήθηκαν οι επεμβάσεις τυχαία έπειτα από τη διαδικασία της κλήρωσης για κάθε επέμβαση. Κάθε δυο διπλές γραμμές αποτελούν μια επανάληψη του πειράματος. Η κάθε επέμβαση περιλάμβανε τέσσερα φυτά ενώ δυο φυτά μεταξύ των επεμβάσεων (ένα σε κάθε μονή γραμμή) δεν ψεκάζονταν. Τα δυο αυτά φυτά συμβολίζονται ως φυτά κουρτίνες (Κ), και αποτελούν τον περιβάλλοντα χώρο (περιθώρια) ο οποίος χωρίζει δυο διαφορετικές επεμβάσεις στην ίδια γραμμή.

Το πειραματικό σχέδιο του θερμοκηπίου φαίνεται παρακάτω στην Εικόνα.

Όπου

- Βπ1= Βιολογικός παράγοντας 1,
- Βπ2 = Βιολογικός παράγοντας 2
- Βπ1+Χ = Βιολογικός παράγοντας 1 και χαρπίνη
- Βπ2+Χ = Βιολογικός παράγοντας 2 και χαρπίνη
- Μ = Μάρτυρας

 Κ = Κουρτίνες φυτά

2.6 Προετοιμασία των επεμβάσεων και η εφαρμογή τους.

2.6.1 Επεμβάσεις του πειράματος.

Οι οκτώ επεμβάσεις που δοκιμάστηκαν με ψεκασμούς φυλλώματος στο πείραμα είναι οι εξής:

1. Μ (μάρτυρας)
2. Μ + νερό (μάρτυρας + νερό)
3. Βπ₁ (βιολογικός παράγοντας 1, fusarium sp.) σε συγκέντρωση 10⁶ σπορίων / ml
4. Βπ₂ (βιολογικός παράγοντας 2, acremonium alternatum) σε συγκέντρωση 10⁶ σπορίων / ml
5. Βπ₁ + Χ (βιολογικός παράγοντας 1 + χαρπίνη 1, fusarium sp. + messenger)
6. Βπ₂ + Χ (βιολογικός παράγοντας 2 + χαρπίνη 1, acremonium alternatum + messenger)

Η παραπάνω αρίθμηση των επεμβάσεων χρησιμοποιήθηκε στην πραγματοποίηση της στατιστικής ανάλυσης. Οι παραπάνω επεμβάσεις εφαρμόστηκαν σε φυτά ευπαθούς (No 3060) και ανθεκτικής ποικιλίας (No 3059).

2.6.2 Παρασκευή PDA (Potato Dextrose Agar).

Οι μύκητες που χρησιμοποιήθηκαν ως βιολογικοί παράγοντες καλλιεργήθηκαν στο στερεό θρεπτικό μέσο PDA. Το PDA παρασκευαζόταν σε φιάλη των 2l. Αρχικά βράζουμε για 1 h 200 g πατάτας μέσα σε 1 lt νερό. Ακολουθεί αφαίρεση της πατάτας και προσθήκη 20g άγαρ και 20g δεξτρόζης. Στη συνέχεια αποστειρώσουμε το υλικό 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 kanamycin (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. Η καλλιέργεια των μυκήτων στα τριβλία γινόταν επτά μέρες πριν την επέμβαση από τριβλία stock που είχαν φτιαχτεί στην αρχή του πειράματος. Η ανάπτυξη των μυκήτων γινόταν σε θαλάμους ανάπτυξης στους 21 °C με 12h φωτισμό.

2.6.3 Καλλιέργειες βιολογικών παραγόντων.

Για την καλλιέργεια των βιολογικών παραγόντων χρησιμοποιήθηκαν αποστειρωμένα πλαστικά τριβλία Petri διαμέτρου 8,4 εκατοστά, τα οποία περιείχαν το θρεπτικό υλικό PDA (Potato Dextrose Agar). Με την βοήθεια ενός βακτηριακού κρίκου (λούμπας) , παίρναμε ποσότητα σποριών του μύκητα και την απλώναμε σε γραμμές στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού καλύπτοντας ολόκληρο το δοχείο Petri. Ως βασικές καλλιέργειες μυκήτων χρησιμοποιήθηκαν καλλιέργειες που είχαν παρασκευασθεί στην αρχή του πειράματος από πηγή του εργαστηρίου Βιολογικής Καταπολέμησης Ασθενειών. Οι καινούργιες καλλιέργειες τοποθετούνταν για ανάπτυξη σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών στους 25 °C και 12 h φωτοπερίοδος. Έπειτα από επτά ημέρες ακριβώς, οι καινούργιες καλλιέργειες ήταν έτοιμες για χρήση του πειράματος. Τα τριβλία με τις ανεπτυγμένες καλλιέργειες 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 10^6 σποριών ανά ml.

2.6.4 Προετοιμασία και εφαρμογή των επεμβάσεων του πειράματος.

Πρίν τη διεξαγωγή κάθε ψεκασμού υπολογίζοταν ο απαραίτητος όγκος διαλύματος για τις επεμβάσεις με ψεκασμό φυτών των περιθωρίων με νερό. Ο όγκος που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε ψεκασμό για κάθε επέμβαση κυμαινόταν από 2 – 7 lt ψεκαστικού διαλύματος. Σε κάθε lt ψεκαστικού διαλύματος προσθέταμε 5 ml επιφανειοδραστικής ουσίας (προσκολλητικό) Tween 20 της Merck για όλες τις επεμβάσεις. Οι επεμβάσεις συνδιασμού βιολογικών παραγόντων και χαρπίνης γινόταν με προσθήκη 2,5 g χαρπίνης ανά lt διαλύματος βιολογικού παράγοντα σε αιώρημα 10^6 του αντίστοιχου βιολογικού παράγοντα.

Η εφαρμογή των επεμβάσεων έγινε με την βοήθεια ψεκαστήρα προπίεσης. Το διάλυμα τοποθετούνταν σε δοχεία των 2 lt και στην συνέχεια μέσω ψεκαστήρας προπίεσης γινόταν η εφαρμογή πάνω στην καλλιέργεια.

Οι εφαρμογές άρχισαν στις 13 -10 - 2005 και σταμάτησαν στις 30 – 11 - 2005 λόγω της μεγιστοποίησης της προσβολής σε ποσοστό επί της φιλικής επιφάνειας. Οι επεμβάσεις λάμβαναν μέρος κάθε 7 ημέρες.

2.7 Καλλιεργητικές φροντίδες.

2.7.1 Καλλιεργητικές εργασίες.

- Δέσιμο και υποστύλωση των φυτών αγγουριάς με σπάγγους σε ύψος 2 m, ο οποίος δενόταν σε σύρμα της οροφής του θερμοκηπίου.
- Αφαίρεση πλάγιων με το χέρι όποτε θεωρείτο αναγκαίο ως προς την ανάπτυξη της καλλιέργειας ή κορυφολόγημα για να υπάρχει φυλλική επιφάνεια.
- Τύλιγμα των φυτών κάθε φορά που χρειαζόταν χωρίς οι κορυφές να κρέμονται και να έχουν φόβο να σπάσουν οι βλαστοί λόγω βάρους με περιέλιξη του σπάγου γύρω από το βλαστό του φυτού.
- Αφαίρεση ζιζανίων. Βοτάνισμα με το χέρι.
- Συγκομιδή των καρπών.

2.7.2 Άρδευση και λίπανση.

Τακτική άρδευση σύμφωνα με τις ανάγκες των φυτών σύμφωνα ανάπτυξης και καιρικών συνθηκών. Χρησιμοποιήθηκε υδρολιπαντήρας και το αρδευτικό δίκτυο του θερμοκηπίου. Η λίπανση των φυτών γινόταν κάθε επτά ημέρες με το λίπασμα 19 – 19 – 19 σε ποσότητα 3 κιλά ανά κυβικό μέτρο νερού.

2.7.3 Καταπολέμηση εχθρών και ασθενειών.

Κατά την εκτέλεση του πειράματος αντιμετωπίσαμε πρόβλημα σηψηριζίας από μύκητες του γένους *Pythium*. Οι απώλειες σε ολόκληρο το θερμοκήπιο ήταν περίπου σύνολο 120 – 140 φυτά . Οι συγκεκριμένες απώλειες αντικαταστάθηκαν με σποριόφυτα τα οποία ήταν έτοιμα για φύτευση και τα οποία υπήρχαν στο εργαστήριο της γενετικής βελτίωσης φυτών, και με απευθείας φύτευση σπόρων φυτού αγγουριάς απευθείας στο έδαφος. Μετά από εύλογο χρονικό διάστημα και πριν την έναρξη εφαρμογής των επεμβάσεων ο περιβάλλον χώρος είχε διαμορφωθεί Προς το τέλος της πειραματικής διαδικασίας υπήρξε εμφάνιση αφιδών στις κορυφές των φυτών. Η αντιμετώπιση τους έγινε με απομάκρυνση των κορυφών αυτών και

ψεκασμό των υπολλειμάτων με το εντομοκτόνο Confidor σε δοσολογία 50 κ . εκ .σε 200 lt νερού.

2.8 Λήψη παρατηρήσεων και στατιστική ανάλυση.

Έγινε λήψη δυο διαφορετικών παρατηρήσεων μία στην πάνω και μία στην κάτω επιφάνεια του φύλλου. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το στατιστικό πακέτο SPSS 11.0. Όσο αφορά την επάνω επιφάνεια των φύλλων παρουσιάστηκε μόλυνση από τον μύκητα *Leveillula taurica* ενώ στη κάτω επιφάνεια του φύλλου είχαμε μόλυνση από τον μύκητα *Podospheera xanthii*. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται αφορούν τις παρατηρήσεις προσβολής από τον μύκητα *Podospheera xanthii* λόγω του ότι η προσβολή από τον μύκητα *Leveillula taurica* δεν προχώρησε. Και στις δυο περιπτώσεις παίρναμε επί τοις εκατό ποσοστό προσβολής ανά φύλλο. Η λήψη των παρατηρήσεων γινόταν κάθε 7 ημέρες και ξεκίνησε μια εβδομάδα μετά τον πρώτο ψεκασμό του πειράματος.

Για την πραγματοποίηση των παρατηρήσεων αριθμήσαμε όλα τα φυτά του πειράματος από το ένα έως το τέσσερα σε κάθε τετράδα η οποία έπερνε μέρος στο πείραμα . Αυτό έγινε για να μπορούμε να ξεχωρίσουμε το κάθε φυτό σε κάθε plot και σε κάθε block χωριστά έτσι ώστε να μην υπάρχουν λάθη καταχώρηση των παρατηρήσεων .

Μετά την ολοκλήρωση του πειράματος έγινε εισαγωγή των δεδομένων σε H/Y και η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων του. Στη συνέχεια υπολογίστηκε η Επιφάνεια κάτω από την Καμπύλη Ανάπτυξης της Ασθένειας (Area Under the Disease Progress Curve = AUDPC).

- Οι τιμές AUDPC χρησιμοποιήθηκαν στην Ανάλυση Διασποράς (ANOVA).
- Η σύγκριση των διαφυλλικών ψεκασμών με τα διάφορα σκευάσματα έγινε με τη χρήση του τεστ ‘Tuckey’s Honest Significant Difference’ ($P \leq 0,05$).

2.9 Αποτελέσματα.

2.9.1 Ανάλυση διασποράς (ANOVA).

Στο πρόγραμμα SPSS και με την χρήση της μεθόδου Anova αναλύσαμε τρεις χαρακτήρες (Source). Την ποικιλία, την επέμβαση φυλλώματος και την αλληλεπίδραση των δυο προαναφερθέντων . Από την τιμή της παραμέτρου F , φαίνεται ότι τόσο η ποικιλία όσο και οι επεμβάσεις φυλλώματος και η αλληλεπίδραση τους ήταν σημαντικά. Αυτό γιατί και στις τρεις περιπτώσεις η τιμή $F < 0,05 \%$. Πιθανότατα η σημαντικότητα των ποικιλιών μας επέτρεψε να κάνουμε χωριστή ανάλυση για κάθε ποικιλία. Έτσι και οι συγκρίσεις των μέσων όρων γίνονται για κάθε ποικιλία χωριστά.

Πίνακας 1. Παρουσίαση αποτελεσμάτων της στατιστικής ανάλυσης με τον πίνακα Anova δείχνοντας την σημαντικότητα του F prob.

Source	A. T.	B. E.	M. T.	F	F prob.
Ποικιλίες	22869050,3	1	22869050,3	1369,4	0,000
Ψεκασμοί	5654585,6	7	807797,9	48,4	0,000
Ποικιλίες * Ψεκασμοί	1997824,5	7	285403,5	17,1	0,000
Πειραματικό σφάλμα	801629,6	48	16700,6		
Σύνολο	31323089,9	63			

2.9.2 Συγκρίσεις μέσων όρων.

Πίνακας 2. Παρουσίαση των Μ. Ο. της προσβολής για κάθε ποικιλία και σε κάθε επέμβαση του πειράματος χωριστά.

Mean								
Ποικιλίες	Contro l	Cont water	Acr	Fus	Harp 1	Harp 2	Acr + Harp	Fus+Har p
A	360,58	413,40	90,25	81,85	74,46	91,03	91,09	110,19
B	2321,6 6	1964,74	901,1 2	1104,6 7	1063,2 3	1289,5 7	1126,91	1105,27
	1341,1 2	1189,07	495,6 8	593,26	568,85	690,30	609,00	607,73

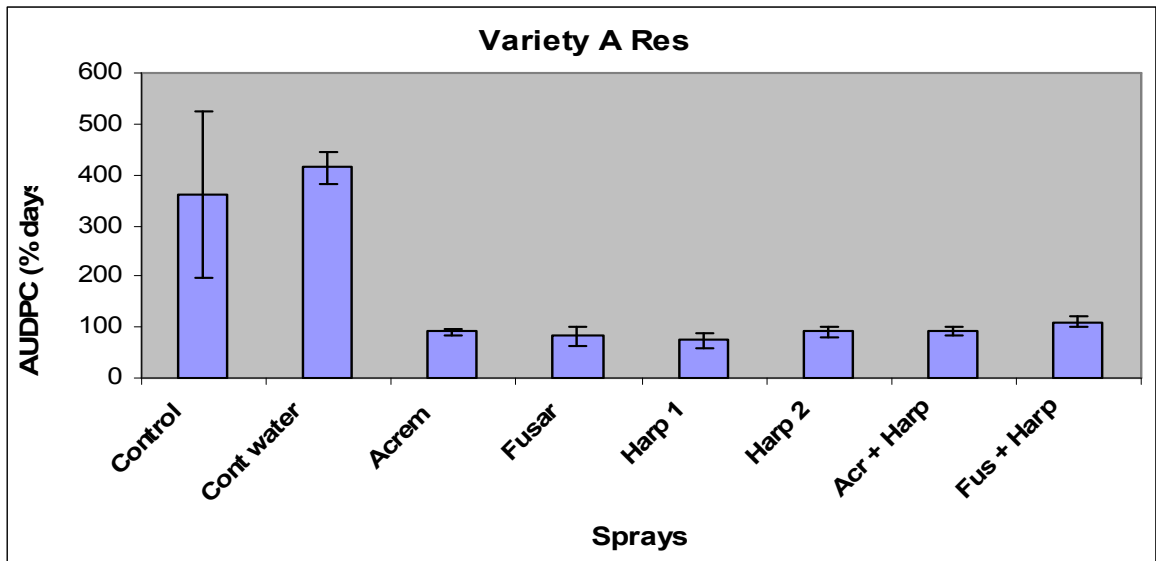
Για τη σύγκριση των μέσων όρων των επεμβάσεων (ψεκασμών φυλλώματος) χρησιμοποιήσαμε την μέθοδο Tukey. Με την μέθοδο αυτή συγκρίναμε τους Μ. Ο. των επεμβάσεων στις ποικιλίες Α και Β χωριστά.

Πίνακας 3. Σύγκριση των Μ. Ο. της προσβολής των υποσυνόλων κάθε ποικιλίας με έμφαση στις επεμβάσεις μάρτυρας και μάρτυρας + νερό.

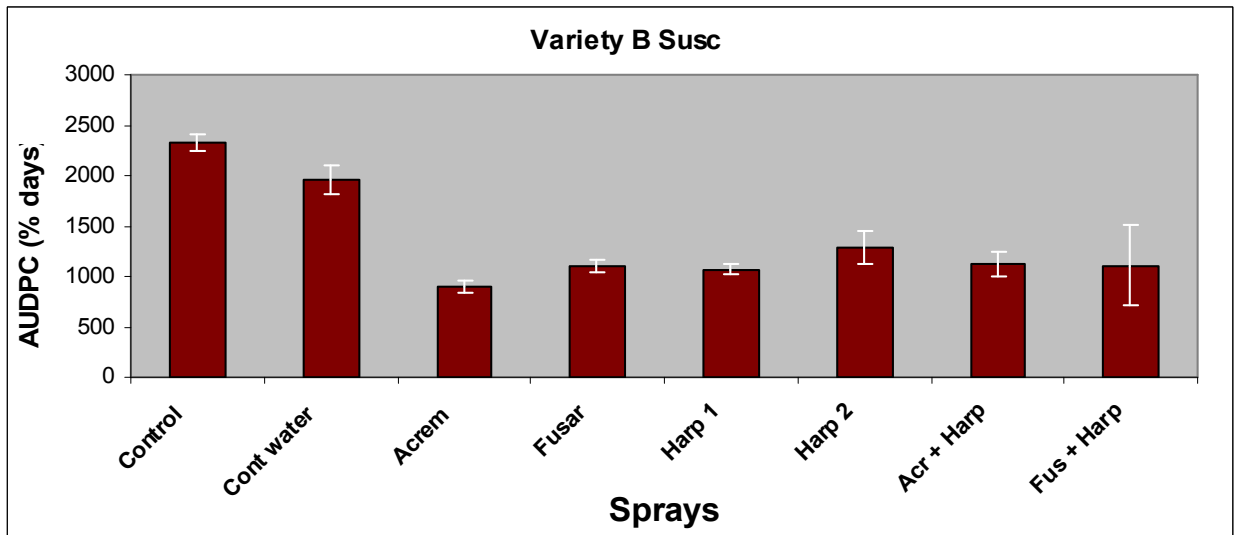
Σύγκριση Μ.Ο. με τη μέθοδο Tukey					
Ποικιλία=Α			Ποικιλία=Β		
Υποσύνολο			Υποσύνολο		
Επέμβαση	1	2	Επέμβαση	1	2
Χαρπ 1	74,5		Acrem	901,1	
Fusar	81,8		Χαρπ 1	1063,2	
Acrem	90,3		Fusar	1104,7	
Χαρπ 2	91,0		Fus+Χαρπ	1105,3	
Acg+Χαρπ	91,1		Acg+Χαρπ	1126,9	
Fus+Χαρπ	110,2		Χαρπ 2	1289,6	
Μάρτυρας		360,6	Μαρτ. νερό		1964,7
Μαρτ. νερό		413,4	Μάρτυρας		2321,7

Συγκρίνοντας τα δεδομένα από των παραπάνω πίνακα, διακρίνουμε ότι ο Μ. Ο. προσβολής σε κάθε επέμβαση είναι πάνω από 10 φορές μεγαλύτερος στην ποικιλία Β (susceptible) σε αντίθεση με την ποικιλία Α (resistant). Και στις δυο ποικιλίες η προσβολή είναι μεγαλύτερη στις επεμβάσεις του μάρτυρα + νερό και του μάρτυρα.

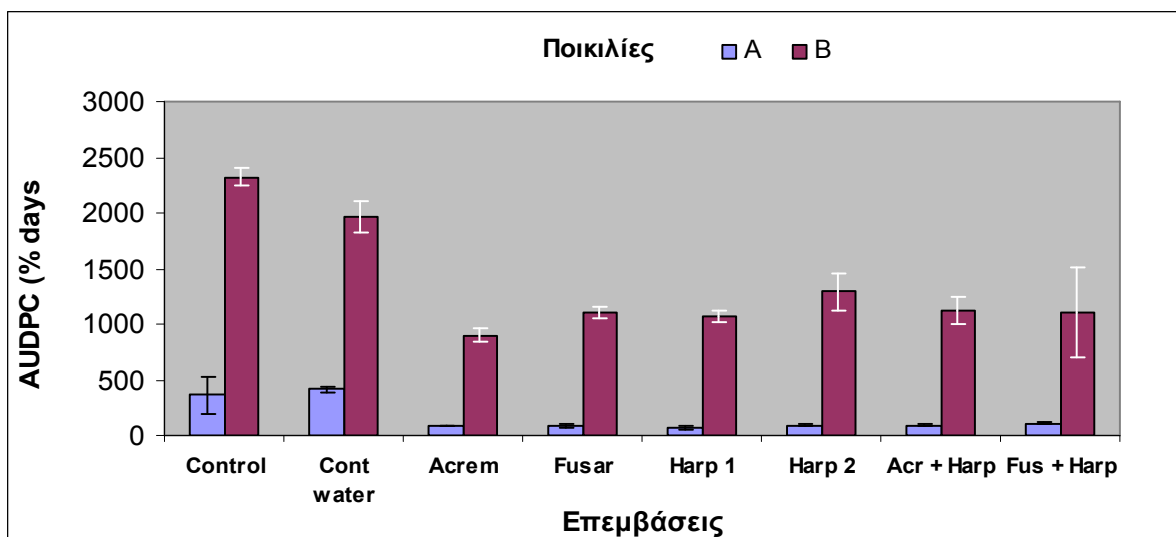
2.9.3 Γραφήματα.



Ραβδόγραμμα 1. Ποσοστά προσβολής για την ανθεκτική ποικιλία με την βοήθεια ραβδογράμματος.



Ραβδόγραμμα 2. Ποσοστά προσβολής για την ευπαθή ποικιλία με την βοήθεια ραβδογράμματος.



Ραβδόγραμμα 3. Σύγκριση των αποτελεσμάτων προσβολής των δυο ποικιλιών για κάθε επέμβαση χωριστά με την βοήθεια ραβδογράμματος.

Σε σύγκριση των δυο ποικιλιών παρατηρείται ότι ο Μ. Ο. προσβολής στην Β ποικιλία (ευπαθή) είναι πολύ μεγαλύτερος σε σχέση με τον Μ. Ο. προσβολής της ποικιλίας Α σε κάθε επέμβαση χωριστά.

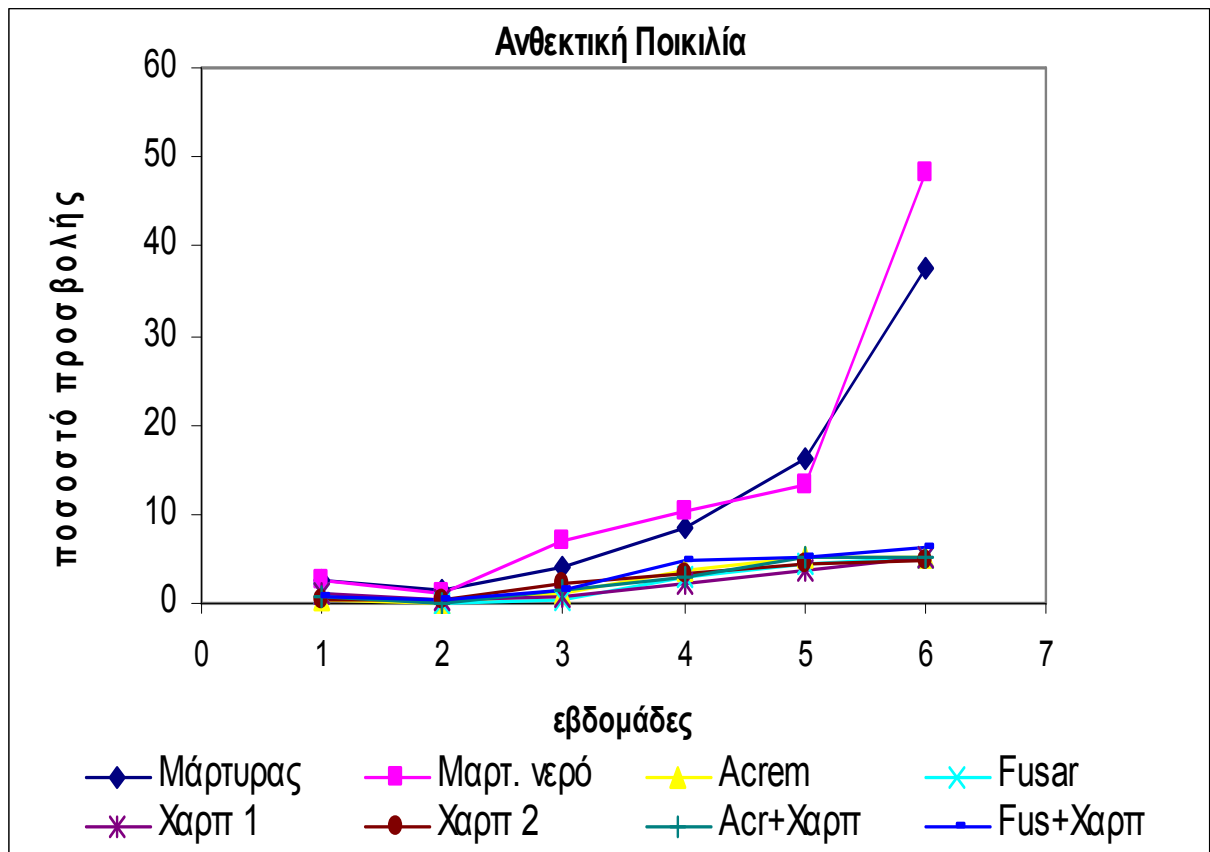
2.9.4 Μέσοι όροι των παρατηρήσεων.

Πιο καθαρά, μπορούμε να αναλύσουμε τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνοντας το μέσο όρο της προσβολής σε κάθε παρατήρηση χωριστά. Αυτό φαίνεται με τον παρακάτω Πίνακα. Έτσι, βλέπουμε και την εξέλιξη της ασθένειας με τον χρόνο.

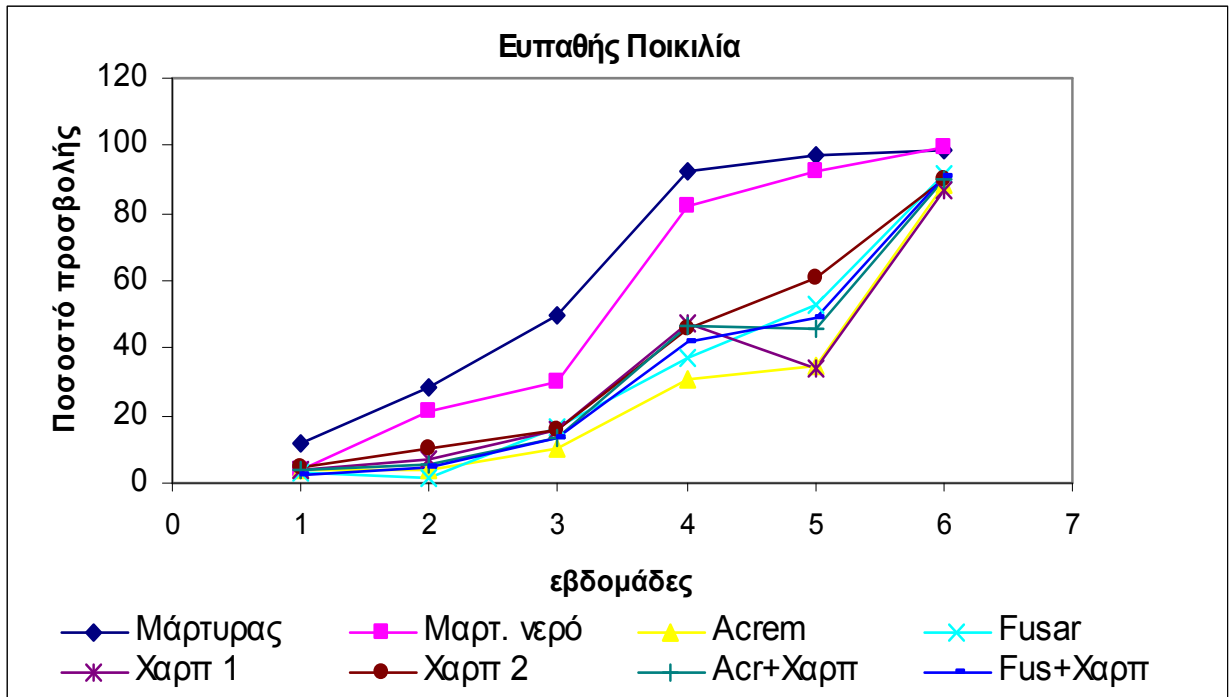
Ποικιλία	Μάρτυρας	Μαρτ. νερό	Acrem	Fusar	Χαρπ 1	Χαρπ 2	Acr+Χαρπ	Fus+Χαρπ	
Ευπαθής.	Rec1	2,40	2,60	0,23	0,96	0,93	0,42	0,88	0,86
	Rec2	1,37	1,25	0,17	0,16	0,22	0,20	0,18	0,28
	Rec3	4,00	6,94	1,20	0,38	0,73	2,04	1,29	1,38
	Rec4	8,48	10,42	3,74	3,09	2,22	3,42	2,92	4,79
	Rec5	16,08	13,19	4,97	4,41	3,84	4,41	5,04	5,10
	Rec6	37,37	48,21	5,10	5,00	5,02	4,87	5,03	6,34
Ανθεκτική	Rec1	11,83	3,63	3,67	3,11	3,62	4,68	3,67	2,20
	Rec2	28,18	21,31	4,27	1,54	6,77	10,55	5,75	4,88
	Rec3	49,58	30,31	10,19	16,92	15,77	15,88	13,11	13,63
	Rec4	92,74	82,31	30,93	36,90	47,28	46,10	46,69	42,06
	Rec5	97,29	92,61	34,88	52,99	34,23	61,14	45,98	49,13
	Rec6	99,05	99,47	88,04	91,37	86,91	89,77	90,00	91,07

Πίνακας 4. Ποσοστό προσβολής από τον μύκητα *Podosphaera xanthii* στις διάφορες επεμβάσεις του πειράματος ανά παρατήρηση.

Οι διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων σε σχέση με το ποσοστό προσβολής σε κάθε ποικιλία χωριστά, φαίνονται στα παρακάτω ιστογράμματα.



Ιστόγραμμα 1. Εξέλιξη του ποσοστού προσβολής για κάθε επέμβαση χωριστά στην ανθεκτική ποικιλία.



Ιστόγραμμα 2. Εξέλιξη του ποσοστού προσβολής για κάθε επέμβαση χωριστά στην ευπαθή ποικιλία.

2.10 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Μετά την ανάλυση των αποτελεσμάτων τα συμπεράσματα που προκύπτουν είναι τα ακόλουθα. Όσο αφορά τη σύγκριση των δυο ποικιλιών, της ποικιλίας που παρουσιάζει ανθεκτικότητα και της ποικιλίας που παρουσιάζει ευπάθεια σύμφωνα με τον πίνακα 3 των αποτελεσμάτων η διαφορά είναι αισθητή. Η ποικιλία η οποία παρουσιάζει ευπάθεια στην ασθένεια του ωιδίου έχει σαφώς αυξημένα κατά πολύ τα ποσοστά μόλυνσης σε όλες της επεμβάσεις. Το μικρότερο ποσοστό παρουσιάζεται στην επέμβαση με το μύκητα *Acremonium alternatum* ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό το βλέπουμε στην επέμβαση με συνδυασμό χαρπίνης και του βιολογικού παράγοντα *Acremonium alternatum*. Ο μάρτυρας νερό παρουσίασε σαφώς καλύτερα αποτελέσματα σε σύγκριση με το μάρτυρα χωρίς νερό. Η ανθεκτική ποικιλία μας δίνει καλύτερη απόδοση στην επέμβαση με *Fusarium sp.* έχοντας το μικρότερο ποσοστό προσβολής ενώ ο συνδυασμός των επεμβάσεων δεν αποδείχθηκε ιδιαίτερος αποτελεσματικός. Το υψηλότερο ποσοστό συγκρίνοντας τους μάρτυρες παρατηρείται στο μάρτυρα με νερό σε αντίθεση με τον δεύτερο μάρτυρα. Τα συγκριτικά αποτελέσματα των δυο ποικιλιών διαφέρουν τόσο στο σύνολο όσο και στις επεμβάσεις. Ενώ η ευπαθής ποικιλία παρουσιάζει την επέμβαση με το *Acremonium alternatum* ως την καλύτερη επιλογή επέμβασης για την αντιμετώπιση της ασθένειας έχοντας το μικρότερο ποσοστό μόλυνσης η ανθεκτική ποικιλία σύμφωνα με τα αποτελέσματα παρουσιάζει ως καλύτερη επιλογή την επέμβαση με *Fusarium sp.*. Το ίδιο ισχύει και για τους μάρτυρες, όπου σύμφωνα με τον πίνακα ο μάρτυρας νερό στην περίπτωση του ανθεκτικού φυτού φέρει μεγαλύτερο ποσοστό μόλυνσης σε σχέση με το ευπαθές φυτό.

Ο ρυθμός αύξησης της ασθένειας σε σχέση με το χρόνο διαφέρει επίσης. Στην ανθεκτική ποικιλία όσο αφορά της επεμβάσεις παρατηρούμε μια μικρή διαφορά αύξησης τις 3 πρώτες, εβδομάδες η οποία όμως διαφοροποιείται την 4^η εβδομάδα όπου η αύξηση της ασθένειας είναι προοδευτική. Σε αντίθεση οι μάρτυρες βλέπουμε ότι τις 4 πρώτες εβδομάδες παρουσιάζουν μια κανονική αύξηση της ασθένειας ,

σαφώς μεγαλύτερη σε σχέση με τις επεμβάσεις των 2 τελευταίων εβδομάδων, η αύξηση είναι ραγδαία σχεδόν κατακόρυφη. Στη ευπαθή ποικιλία δεν ισχύει το ίδιο. Οι επεμβάσεις μας δείχνουν την αναλογική αύξηση του ποσοστού μόλυνσης με το χρόνο. Μετά το πέρας της 5^{ης} εβδομάδας αυξάνει ο ρυθμός προσβολής καταφέροντας να ισοροπησει με τις άλλες επεμβάσεις. Οι μάρτυρες σε αυτή την ποικιλία έχουν μια απότομη αύξηση την 3^η και 4^η εβδομάδα συνεχίζοντας όμως σε σχεδόν σταθερά επίπεδα έως το πέρας των μετρήσεων.

Τέλος συγκρίνοντας το μέσο όρο της προσβολής στο σύνολο της σύμφωνα με τον πίνακα 2 τα αποτελέσματα που λαμβάνουμε μας καταδεικνύουν ως αποτελεσματικότερη την επέμβαση με *Acremonium alternatum* εφόσον έχει το μικρότερο ποσοστό προσβολής. Ακολουθεί η επέμβαση με *Fusarium sp.* με το αμέσως μικρότερο ποσοστό, εν συνεχεία βλέπουμε με μικρή διαφορά ανάμεσα στους συνδυασμούς των επεμβάσεων χαρπίνη + *Acremonium alternatum* και χαρπίνη+ *Fusarium sp.*

Εν κατακλείδι μπορούμε να πούμε ότι τα αποτελέσματα του πειράματος ήταν ιδιαίτερος ενθαρρυντικά. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο ποσοστό προσβολής μεταξύ των καθαρών σειρών, ενώ από τις επεμβάσεις τη μεγαλύτερη μείωση της ασθένειας την έδωσε ο υπερπαρασιτικός μύκητας *Acremonium alternatum* και ακολουθεί επέμβαση με χαρπίνη όπου ήτα και αυτή ιδιαίτερος αποτελεσματική. Τα δεδομένα μας ενθαρρύνουν για την χρησιμοποίηση εναλλακτικών μορφών αντιμετώπισης των ασθενειών στο μέλλον και αν καταστεί δυνατό τη σταδιακή κατάργηση των συμβατικών και ζημιογόνων για το περιβάλλον μεθόδων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Γεωργόπουλος Σ.Γ. 1984. Βασικές γνώσεις Φυτοπαθολογίας .

Παναγόπουλος Χ.Γ. 1995. Ασθένειες κηπευτικών καλλιεργειών. Εκδόσεις Α.Σταμούλης

Φανουράκης Ν. 2003. Σημειώσεις. Εργαστήρια βελτίωσης Φυτών, ΤΕΙ Ηρακλείου, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα ΘΕΚΑ.

Φανουράκης Ν. 2002. Γενετική Βελτίωση Φυτών Βασικές Αρχές. Εκδόσεις ΙΩΝ

Compendium of cucurbit diseases, edited by Thomas A. Zitter., Donald L. Hopkins., Claude E. Thomas. APS Press

Control of powdery mildews without chemicals: prophylactic and biological alternatives for horticultural crops. In the powdery mildews. A comprehensive treatise, edited by R.R. Belanger, Bushnell, W.R., Dick, A.J.&Carver, T.L.W.ST.Paul. APS Press

Elad. Y., Malathrakis, N. E., and Dick, A.J.,1996. Biological Control of Botrytis-ucied diseases and powdery mildews in greenhouse crops.

Malathrakis, N.E.1985. The fungus *Acremonium alternatum*, a hyperparasite of cucurbits powdery mildew pathogen *sperotheca fulginea*. Journal of plant diseases and protection.

Malathrakis, N.E. 1985. The fungus *Acremonium alternatum*, a hyperparasite of cucurbits powdery mildew pathogen *sperotheca fulginea*. Journal of plant

Ιστοσελίδες

www.epa.gov

www.edenbio.com

www.doctorfungus.org

www.apsnet.org

www.elsevier.com

www.cimp.ncsu.edu

www.inhs.uiuc.edu