

Α.Τ.Ε.Ι. ΚΡΗΤΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ  
ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ  
ΜΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΩΣΗ ΤΗΣ ΠΙΠΕΡΙΑΣ

ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: Δρ. ΓΚΟΥΜΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ  
ΕΠΙΜΕΛΕΙΑ: ΖΙΩΓΑΣ ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2004

**Α.Τ.Ε.Ι. ΚΡΗΤΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ**  
**ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ**

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

**ΜΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΩΣΗ ΤΗΣ ΠΙΠΕΡΙΑΣ**

Α. Ζιώγας

*Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης, ΤΘ 1939, 71004 Ηράκλειο Κρήτης*

Το βακτήριο *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* παθογόνο αίτιο της βακτηριακής κηλίδωσης της πιπεριάς (*Capsicum annuum*) απομονώθηκε από σπορόφυτα πιπεριάς στην Κρήτη το Μάιο του 2003. Η προσβολή εκδηλώνεται με μικρές υδαρείς κηλίδες στα φύλλα που σταδιακά εξελίσσονται σε νεκρωτικές και συνήθως περιβάλλονται από χλωρωτικό περιθώριο. Συχνά οι κηλίδες συνενώνονται, προκαλώντας τη νέκρωση και την πρόωρη πτώση των φύλλων. Παρόμοια συμπτώματα παρατηρήθηκαν και σε κοτυληδόφυλλα. Πρόκειται για ένα κατά Gram αρνητικό βάκιλο που σχηματίζει τις τυπικές κίτρινες και μουκώδεις αποικίες του γένους σε θρεπτικά υποστρώματα NAG και YDC, ενώ αναπτύσσεται στο εκλεκτικό υπόστρωμα Tween. Τα απομονωθέντα βακτήρια μεταβολίζουν οξειδωτικά τη γλυκόζη δεν ανάγουν τα νιτρικά, υδρολύουν τη ζελατίνη και την εσκουλίνη, είναι μη φθορίζοντα θετικά στην καταλάση αρνητικά στη οξειδάση, αμυλολυτικά αλλά μη πηκτινολυτικά, αναπτύσσονται στους 37°C, παράγουν οξέα από αραβινόζη, μαννόζη και γλυκόζη, είναι ανεκτικά σε 0,02% αλλά όχι σε 0,1% TTC. Όλα τα στελέχη έδωσαν την τυπική αντίδραση υπερευαισθησίας σε φύλλα καπνού (cv. *Xanthi*). Τα συμπτώματα της ασθένειας αναπαράχθηκαν σε φυτά ποικιλίας Early California Wonder και σε φυτά ποικιλίας Ace. Δεκατρείς καλλιεργούμενες ποικιλίες ή υβρίδια πιπεριάς με ή χωρίς τους γόνους ανθεκτικότητας *Bs1*, *Bs2* ή/και *Bs3* και τέσσερις τομάτες μολύνθηκαν από στελέχη του βακτηρίου. Με βάση τους φαινοτυπικούς χαρακτήρες τα στελέχη του βακτηρίου ταξινομήθηκαν ως μέλη της ομάδας B του είδους *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* σύμφωνα με τους Stall *et al.*, 1994. Το παθογόνο αναφέρεται για πρώτη φορά σε φυτά πιπεριάς στη Ελλάδα.

**A.T.E.I. OF CRETE**  
**FACULTY OF TECHNOLOGY OF AGRICULTURE**  
**DEPARTMENT OF GREENHOUSE CULTURES AND**  
**FLORICULTURE**

**SUMMARY**  
**A BACTERIAL DISEASE OF PEPPER PLANTS**

A.Ziogas

*Technological Educational Institution Crete, P.O. box 1939, 71004 Heraklion Crete*

The bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* pathogenic reason of bacterial spot on pepper plants (*Capsicum annum*) was isolated by seedlings of pepper in Crete, at May 2003. The offence is expressed with small watery spots on pepper leaves that progressively develop in dead spots and they are usually surrounded by chlorotic margin. Often the spots become one, causing the necrosis and the premature fall of leaves. Similar symptoms were also observed in cotyledon leaves. It is about Gram negative bacillus that shapes formal yellow and mucoid colonies of genus on nutrient media of NAG and YDC, while it is developed in semiselective media of Tween. Isolated bacteria metabolise oxidatively the glucose they do not reduce the nitrates, hydrolyze gelatine and escouline, are non fluoride, positive in catalase, negative in oxidase, amylolytic but not pectolytic, they develop at 37°C, they all produce acids from arabinose, mannose and glucose, they are tolerant at 0,02% but not at 0,1% TTC. All the executives gave the typical hypersensitive reaction on tobacco leaves (cv. *Xanthi*). The symptoms of the disease where developed on plants variety Early California Wonder and on plants variety Ace. Thirteen cultivated varieties or hybrids of pepper plants with or without the resistant genus of *Bs1*, *Bs2* or/and *Bs3* and four tomatoes were infected from strains of the bacteria. Based on the phenotypic characters the strains of the bacteria were categorized as members of group B of species *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* according to Stall *et al.*, 1994. The pathogenic it is reported for first time in plants of pepper in Greece.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

---

<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	σελ. 3
<b>ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	4
<b>1. ΤΟ ΓΕΝΟΣ <i>Xanthomonas</i></b> .....	4
<b>2. Η ΑΣΘΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗΣ ΚΗΛΙΔΩΣΗΣ</b> .....	5
2.1 Ιστορική αναδρομή και ονοματολογία.....	5
2.2 Γεωγραφική κατανομή.....	5
<b>3. ΤΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i></b> .....	8
3.1 Μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά.....	8
3.2 Μέθοδοι ανίχνευσης.....	9
<b>4. ΞΕΝΙΣΤΕΣ</b> .....	9
<b>5. ΦΥΛΕΣ</b> .....	10
5.1 Ιστορικό-Καθορισμός φυλών.....	10
5.2 Ταξινόμηση φυλών.....	11
5.3 Ανθεκτικοί γόννοι.....	13
<b>6. ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ –ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ</b> .....	16
<b>7. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ</b> .....	17
<b>8. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ</b> .....	19
<b>9. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ</b> .....	19
<b>ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	21
<b>1. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ</b> .....	21
1.1 Υλικά και μέθοδοι.....	21
1.2 Αποτελέσματα.....	20
<b>2. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΟ ΧΑΛΚΟ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΤΡΕΠΤΟΜΥΚΙΝΗ</b> .....	22
2.1 Υλικά και μέθοδοι.....	23
2.2 Αποτελέσματα.....	23
<b>3. ΔΟΚΙΜΕΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ</b> .....	25
3.1 Υλικά και μέθοδοι.....	25
3.1.1 Ικανότητα πρόκλησης αντίδρασης υπερευαισθησίας (HR) σε φύλλα φυτών πιπεριάς και τομάτας .....	25

3.1.2 Μόλυνση με τεχνητό τραυματισμό.....	26
3.1.3 Μόλυνση με έκχυση σε άωρους καρπούς τομάτας και πιπεριάς.....	27
3.2. Αποτελέσματα.....	27
3.2.1 Αποτελέσματα δοκιμών παθογένειας.....	28
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>29</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>30</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ – ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ.....</b>	<b>31</b>

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

---

Το Μάιο του 2003, σε σπορόφυτα πιπεριάς στην περιοχή του Ν. Ηρακλείου παρατηρήθηκαν συμπτώματα που έμοιαζαν με εκείνα των βακτηριακών προσβολών. Σε προκαταρκτικές απομονώσεις διαπιστώθηκε ότι η ασθένεια οφείλεται σε βακτηρία.

Για ευνόητους λόγους διάγνωσης αλλά και προστασίας της καλλιέργειας κρίθηκε αναγκαίο να πραγματοποιηθεί μια μελέτη που θα στόχευε στην απομόνωση, χαρακτηρισμό και ταυτοποίηση των βακτηρίων αυτών.

Έτσι άρχισε η εργασία αυτή, όπου αποτέλεσε και το αντικείμενο της πτυχιακής μου εργασίας, με σκοπό τη βιβλιογραφική επισκόπηση της πιθανολογούμενης ασθένειας, την ταυτοποίηση του παθογόνου καθώς και έλεγχο της παθογένειας των βακτηριακών στελεχών που απομονώθηκαν. Η εργασία αυτή αποτελείται από δυο μέρη:

Στο θεωρητικό μέρος γίνεται μια βιβλιογραφική περιγραφή των χαρακτηριστικών του βακτηρίου, το οποίο απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε από τα μολυσμένα σπορόφυτα πιπεριάς και προσδιορίστηκε ως βακτήριο του γένους *Xanthomonas* και συγκεκριμένα το *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.

Στο δεύτερο και πειραματικό μέρος αναφέρονται οι διαδικασίες απομόνωσης, προσδιορισμού και ταυτοποίησης του βακτηρίου.

Στο τέλος εμπεριέχεται παράρτημα φωτογραφιών με τα αρχικά συμπτώματα των σποροφύτων πιπεριάς που παρατηρήθηκαν καθώς και φωτογραφίες από τις δοκιμές παθογένειας.

### 1. ΤΟ ΓΕΝΟΣ *Xanthomonas*

Περισσότερα από 100 βακτήρια που ανήκουν στο γένος *Xanthomonas* έχουν αναγνωριστεί ως ξεχωριστά παθογόνα σε φυτά. Όμως, επειδή λίγα είδη μπορούν εύκολα να διακριθούν από το τυπικό είδος του γένους *Xanthomonas campestris* ή και μεταξύ τους με τη χρήση βιοχημικών δοκιμών μόνο 5 είδη του γένους *Xanthomonas* τα: *albilineans*, *ampelina*, *axonopodis*, *campestris* και *fragariae* αναφέρονται στο Approved List of Bacteria Names (1980). Όλα τα άλλα είδη στο γένος *Xanthomonas* χαρακτηρίζονται ως παθοποικιλίες (pathovar) του *Xanthomonas campestris*. Ο όρος “pathovar” προτάθηκε το 1978 ως ένα μέσο διατήρησης των ονομάτων εκείνων των φυτοπαθογόνων βακτηριών για τα οποία δεν υπήρχαν τα απαραίτητα φαινοτυπικά δεδομένα για τη διαφοροποίηση τους από τα υπόλοιπα είδη. Τα περισσότερα ονόματα των Ξανθομονάδων διατηρήθηκαν ως παθοποικιλίες στο είδος *Xanthomonas campestris*.

Ο όρος “pathovar” δεν έχει ταξινομική αξία στο Διεθνή Κώδικα Ονοματολογίας Βακτηρίων. Ο όρος χρησιμοποιήθηκε προσωρινά για να διατηρηθούν τα ονόματα μέχρι τη μελλοντική ταξινόμηση τους σε επίπεδο είδους. Από το 1980 πολλές αλλαγές έχουν προταθεί σχετικές με την ονοματολογία και την ταξινόμηση του *Xanthomonas*. Το Index of the Bacteria and Yeast Nomenclature Changes (1996), περιλαμβάνει τα ακόλουθα είδη στο γένος *Xanthomonas*: *albilineans*, *axonopodis*, *campestris*, *citri*, *fragariae*, *maltophilia*, *oryzae*, *phaseoli* και *populi*.

Αναφορικά μια επαναταξινόμηση που έγινε από τους Vauterin *et al.*, (1995) στο γένος *Xanthomonas*, αν και δεν είναι εξ’ ολοκλήρου αποδεκτή από την επιστημονική κοινότητα κατατάσσει τα ακόλουθα είδη:

*X. albilineans*, *X. axonopodis*, *X. arboricola* συμπεριλαμβάνοντας pvs. *juglandis*, *corylina* & *pruni*, *X. bromi*, *X. campestris* συμπεριλαμβάνοντας pvs. *campestris*, *aberrans*, *armoraciae*, *barbarae*, *incanae* & *raphani*, *X. cassavae* μόνο στελέχη τύπου “A”, *X. codiaei*, *X. curcubitae*, *X. fragariae*, *X. hederiae* συμπεριλαμβάνοντας pvs. *hederiae* & *pelargonii*, *X. hortorum*, *X. hyacinthi*, *X. melonis*, *X. oryzae* συμπεριλαμβάνοντας pvs. *oryzae* & *oryzicola*, *X. pisi*, *X. populi*, *X. sacchari*, *X. theicola*, *X. translucans* pvs. *arrenatheri*, *gramminis*, *phlei*,

*phleipratensis* & *poae*, *X. visicola* pv. *holcicola* & *vasculorum* τύπου “B”, *X. vesicatoria* τύπου “B”, *X. translucens* συμπεριλαμβάνοντας pv. *translucens*, *cerealis*, *hordei*, *secalis*, & *undulosa*.

Τέλος πρόκειται για βακτηρία αρνητικά κατά Gram, ραβδόμορφα, με ένα μαστίγιο στον ένα πόλο. Παράγουν ειδική κίτρινη χρωστική (ξανθομοναδίνη), και κατά κύριο λόγο προκαλούν συμπτώματα κηλιδώσεων, ελκών και σήψεων σε διάφορα φυτά. Μερικά εξ'αυτών προκαλούν και αδροβακτηριώσεις.

## **2. Η ΑΣΘΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗΣ ΚΗΛΙΔΩΣΗΣ**

### **2.1 Ιστορική αναδρομή και ονοματολογία**

Το βακτήριο *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* παθογόνο αίτιο για τη βακτηριακή κηλίδωση της τομάτας και της πιπεριάς, μελετάται για σχεδόν 70 χρόνια.

Η ασθένεια της βακτηριακής κηλίδωσης παρατηρήθηκε για πρώτη φορά το 1914, σε καρπούς τομάτας που πωλούνταν στην αγορά της Πραιτόρια, Ν. Αφρικής, όπου αυτοί φέραν τη χαρακτηριστική αλλοίωση, που το βακτήριο οφείλει την ονομασία του είδους του. Περιγράφηκε το 1920 ως καρκίνος της τομάτας από την Ethel Doidge. Περίπου τον ίδιο χρόνο οι Gardner & Kendrick έδιναν μια παρόμοια περιγραφή στις Η.Π.Α. παραπέμποντας σε βακτηριακή κηλίδωση. Στην περιεκτική της μελέτη η Doidge αιτιολογώντας τον καρκίνο της τομάτας, διέγνωσε ως παθογόνο αίτιο το *Bacterium vesicatorium*, ενώ στις Η.Π.Α. οι Gardner & Kendrick ονόμαζαν το μικροοργανισμό ως *Bacterium exitiosa*. Ενδιαφέρον παρουσιάζεται στο ότι η Doidge περιέγραφε το *Bacterium vesicatorium* ως ασθενώς αμυλολυτικό, ενώ οι Gardner & Kendrick το χαρακτήριζαν ως έντονα αμυλολυτικό. Την ίδια περίοδο ο Sherbakoff περιέγραψε την ασθένεια της βακτηριακής κηλίδωσης στην πιπεριά. Το 1922 ο Higgins καθόριζε ότι υπήρχε μια στενή σχέση μεταξύ του *B. vesicatorium* και του *B. exitiosa*, αλλά διέφεραν σε μερικές σημαντικές φυσιολογικές δοκιμές. Ωστόσο αδυνατούσε να ταξινομήσει το παθογόνο της πιπεριάς. Δύο χρόνια αργότερα οι Gardner & Kendrick χρησιμοποίησαν πολλές δοκιμές προσδιορισμού, για να κατατάξουν το *B. vesicatorium* και το *B. exitiosa* καθώς και το στέλεχος της πιπεριάς που είχε απομονωθεί από τη Φλόριντα, αλλά, και αυτοί απέτυχαν να συγκρίνουν την αμυλολυτική δραστηριότητα, καταλήγοντας πως και τα τρία βακτήρια είναι



πανομοιότυπα. Όμως λόγω του πρωτεύοντος ρόλου της ονοματολογίας του βακτηρίου πρότειναν να ονομαστεί ως *B. vesicatorium*. Σαν αποτέλεσμα, κατά προσέγγιση, για τέσσερις δεκαετίες, μόνο ένα βακτηριακό είδος συνδεόταν με τη βακτηριακή κηλίδωση στην πιπεριά και την τομάτα. Το παθογόνο της βακτηριακής κηλίδωσης ταυτοποιήθηκε ως *Bacterium vesicatorium* και μετονομάστηκε σε *Pseudomonas vesicatoria* το 1925, σε *Phytomonas vesicatoria* το 1930 και σε *Xanthomonas vesicatoria* το 1939. Τελικά χαρακτηρίστηκε ως *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.

Ωστόσο παραλλαγές του παθογόνου περιγράφηκαν ξεκάθαρα το 1941 από τους Burkholder & Li. Στη μελέτη τους, τα στελέχη της τομάτας προκαλούσαν υδρόλυση του αμύλου, ενώ αυτά της πιπεριάς όχι. Το 1964, η προσοχή επικεντρώθηκε στο κατά πόσο τα στελέχη της πιπεριάς και της τομάτας έπρεπε να έχουν σαφή ταξινομικό διαχωρισμό. Σε προσπάθεια διαχωρισμού, ο Dye σύγκρινε στελέχη πιπεριάς και τομάτας από παγκόσμια συλλογή και ανέφερε ότι τα στελέχη έχουν στενή σχέση, βασισμένος σε δοκιμές ευαισθησίας σε βακτηριοφάγους και βακτηριολογικές δοκιμές. Ο ίδιος συμπέρανε ότι αυτά πρέπει να συμπεριληφθούν και στο ίδιο είδος. Ωστόσο σημείωσε ότι στελέχη από πιπεριά γενικώς υδρολύουν ασθενικώς το άμυλο όπως και της τομάτας. Το 1957, ο Sutic ταυτοποίησε το παθογόνο μιας βακτηριακής ασθένειας του καρπού της τομάτας υπεύθυνη για το σύμπτωμα «bird's eye» το οποίο ταξινομήθηκε ως *Pseudomonas gardeni*, καθιερώνοντας μια ειδική ποικιλία, *X. gardeni* var. *capsici*, για τα στελέχη που προσβάλλουν την πιπεριά. Μολονότι αυτό το βακτήριο δεν ταίριαζε απόλυτα να καταταχθεί στο γένος *Xanthomonas*. Συγκρίνοντας όμως το *P. gardeni* με ομάδα Ξανθομονάδων καθόρισε ότι ήταν μια τυπική Ξανθομονάδα, βασισμένος σε μορφολογικές και βιοχημικές δοκιμές. Επιπλέον, καθόρισε ότι το *X. gardeni* ήταν συνώνυμο του *X. vesicatoria*. Από τότε και τα δύο βακτήρια θεωρείται ότι προκαλούν μια παρόμοια ασθένεια στην τομάτα και την πιπεριά και δεν μπορούν να διακριθούν στο εργαστήριο και στο θερμοκήπιο. Η τοποθέτηση του *P. gardeni* στο γένος *Xanthomonas* υποστηρίχθηκε επιπλέον από μελέτες υβριδισμού DNA: rRNA.

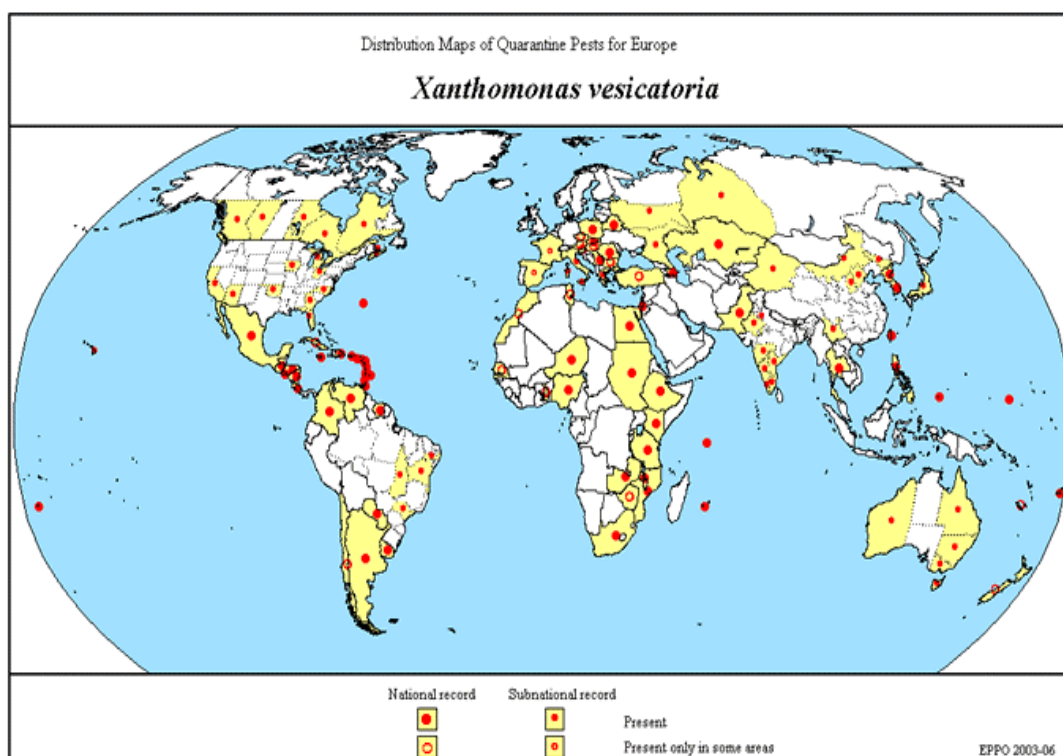
Στην δεκαετία του 1990, οι Stall *et al.*, (1994) και οι Vauterin *et al.*, (1990) ανεξάρτητα, περιέγραψαν ότι το *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* αποτελείται από δύο διαφορετικές γενετικές ομάδες. Πιο πρόσφατα, οι Vauterin *et al.*, (1995) επαναταξινόμησαν τις Ξανθομονάδες υποδιαιρώντας το *X. campestris* pv. *vesicatoria* σε δύο είδη: το *X. vesicatoria* και το *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*. Οι

Vauterin *et al.*, (1995) ταξινόμησαν τα έντονα αμυλολυτικά στελέχη ως *X. vesicatoria* και τα μη αμυλολυτικά στελέχη ως *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*. (Jones *et al.*, 1998)

Σήμερα, είναι αποδεκτό ότι τα βακτηρία, που προκαλούν τη βακτηριακή κηλίδωση της τομάτας και της πιπεριάς, ανήκουν σε τέσσερις διαφορετικές ομάδες: το *X. campestris* (*axonopodis* proposed) pv. *vesicatoria* (ομάδα A), το *X. vesicatoria* (ομάδα B), το *X. gardeni* (ομάδα D), και ομάδα C στελέχη τα οποία αντιπροσωπεύουν μερικά υποείδη από την ομάδα A. Στελέχη της ομάδας A και B είναι τα πλέον μολυσματικά και προκαλούν τις περισσότερες καταστροφές. Η μεγαλύτερη πλειοψηφία των στελεχών που μολύνουν την πιπεριά ανήκουν στην ομάδα A και πιθανόν μερικά στην ομάδα B και D. Κανένα στέλεχος πιπεριάς δεν έχει βρεθεί στη ομάδα C, ενώ, στελέχη και από τις τέσσερις ομάδες έχουν απομονωθεί από τομάτα. (Ritchie, 2000)

## 2.2 Γεωγραφική κατανομή

Η ασθένεια της βακτηριακής κηλίδωσης (bacterial spot) έχει εμφανιστεί στις περισσότερες χώρες όπου καλλιεργείται τομάτα και πιπεριά, όπως φαίνεται και στο παρακάτω χάρτη σύμφωνα με την European plant protection organization (EPPO).



Στην Ελλάδα διαπιστώθηκε το 1976 σε καρπούς τομάτας στη περιοχή της Θεσσαλονίκης, χωρίς όμως να μελετηθεί ή και να απομονωθεί το παθογόνο. (Παναγόπουλος, 2000)

### **3. ΤΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria***

#### **3.1 Μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά**

Είναι αερόβιο, αρνητικό κατά Gram, κινούμενο με ένα μόνο πολικό μαστίγιο, διαστάσεων 0,6x1,0-1,5μm και εμφανίζεται μονό ή σε ζεύγος. Σε θρεπτικό υπόστρωμα Yeast Dextrose Chalk Agar και Nutrient Dextrose Agar, οι αποικίες είναι μεγάλες, λείες και θολές, γλοιώδεις-ρευστές και κίτρινες με ομαλά όρια. Αντίθετα από το *P. syringae* pv. *tomato*, δεν φθορίζει σε υλικό King's B. Επίσης είναι ευαίσθητο στο triphenyl tetrazolium chloride (TTC) και είναι οξειδωτικό. Σε διάστημα 24 ωρών, το βακτήριο μπορεί να πολλαπλασιασθεί ταχύτατα και να παράγει εκατομμύρια κύτταρα. (EPPO)

#### **3.2 Μέθοδοι ανίχνευσης**

Το *X. vesicatoria* προκαλεί χαρακτηριστικές κηλίδες στις κοτυληδόνες νεαρών σποροφύτων τομάτας και πιπεριάς όταν αναπτύσσονται σε υψηλή υγρασία. Ένα ημικλεκτικό υπόστρωμα απομόνωσης έχει προταθεί από τον Mc Guire *et al.*, (1986). Οι Sharon *et al.*, (1982) και Bashan & Assouline, (1983) περιέγραψαν μια μέθοδο καλλιέργειας εμπλουτισμού, για την ανίχνευση του βακτηρίου στο σπόρο ή σε φύλλα χωρίς συμπτώματα. Οι Cruz & Fernandez (1979) δοκίμασαν πρώτοι τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού για ανίχνευση σε σπόρο. Στις χώρες του EPPO έχει αναπτυχθεί μια μεθοδολογία προκαταρκτικής εξέτασης του σπόρου με ανοσοφθορισμό (IF), και η οποία πρέπει να συνοδεύεται από την απομόνωση, ορολογικές δοκιμές (slide agglutination, IF ή dot-ELISA, Lazarovits *et al.*, 1987) και όταν κρίνεται αναγκαίο από επιβεβαιωτικές δοκιμές παθογένειας στα φύλλα. (EPPO)

## 4. ΞΕΝΙΣΤΕΣ

Σύμφωνα με το Guide to Plant Pathogenic Bacteria, Brandbury, (1986) το βακτήριο εκτός από την πιπεριά και την τομάτα, προσβάλλει μεγάλο αριθμό φυτικών ειδών. Μεταξύ αυτών και πολλά καλλιεργούμενα, είτε ως φυσικούς ξενιστές, είτε, με τεχνητή μόλυνση και στα οποία εστιάζεται κυρίως το ενδιαφέρον μας.

**Φυσική μόλυνση:** *Capsicum spp.*, *C. annuum*, *C. frutescens* (chilli peppers), *Datura ferox*, *D. innoxia*, *Lycopersicon esculentum* (tomato), *L. peruvianum*, *Nikandra physalodes*, *Physalis minima*, *P. peruviana*, *P. virginiana*, *Solanum tuberosum*.

**Τεχνητή μόλυνση:** *Datura stramonium var. tatula*, *Hyoscyamus aureus*, *H. niger*, *Lycium chinense*, *L. halimifolium*, *Lycopersicon pimpinellifolium*, *Nicotiana rustica*, *Solanum dulcamara* & *S. rostratum*. Επίσης μολύνονται και τα φυτά *Solanum melongena*, *S. nigrum*, *S. sysimbriifolium*, *S. villosum*.

## 5. ΦΥΛΕΣ

### 5.1 Ιστορικό-Καθορισμός φυλών

Φυλές πιπεριάς αναφέρθηκαν για πρώτη φορά στις Ηνωμένες Πολιτείες το 1969 και στη Βραζιλία το 1972 και ταυτοποιήθηκαν ως φυλές πιπεριάς 1 και 2. Στις αρχές 1980, οι Cook & Stall χαρακτηρίζοντας τις φυλές της πιπεριάς σε παγκόσμια συλλογή καθόρισαν ότι η φυλή 1 είναι ευρέως διαδεδομένη, δεδομένου ότι η φυλή 2 βρέθηκε να περιορίζεται στη Φλόριντα και την Γουανδαλούπη. Η φυλή 1 της πιπεριάς συνεχίζει να είναι η επικρατέστερη σε συγκεκριμένες τοποθεσίες. Η φυλή 0 της πιπεριάς αρχικά ανιχνεύθηκε στη βόρεια Καρολίνα και από τότε έχει ταυτοποιηθεί σε Μεξικό, Βραζιλία, Οκλαχόμα και Μπαρμπάντος. Η φυλή 3 είναι η επικρατέστερη στο Οχάιο και έχει επίσης βρεθεί και σε άλλες περιοχές συμπεριλαμβανομένων και της Φλόριντας και της Καραϊβικής. Η φυλή 4 ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά από τους Hibberd *et al.*, (1989) στην Αυστραλία και από τότε έχει παρατηρηθεί στις νοτιοανατολικές Ηνωμένες Πολιτείες, στα νησιά Μπαρμπάντος και στη Φλόριντα. Τελευταία οι φυλές της πιπεριάς 5 και 6 έχουν ταυτοποιηθεί στις

Ηνωμένες πολιτείες. Η φυλές 7 και 8 είναι οι πιο πρόσφατες και έχουν παρουσιασθεί μόνο στο Οχάιο ως αποτέλεσμα μίας καινούριας ταυτοποίησης ενός νέου γόνου ανθεκτικότητας στην πιπεριά.

Οι φυλές της τομάτας T1 και T2 ταυτοποιήθηκαν για πρώτη φορά το 1990. Και οι δύο φυλές είχαν ταυτοποιηθεί στη βόρεια και νότια Αμερική, Ευρώπη και Αυστραλία. Μια περιορισμένη συλλογή από απομονώσεις της Ευρώπης και της Αφρικής έδειξαν ότι ανήκουν μόνο στη φυλή T1. Σε συλλογή από απομονώσεις από τα έξι νησιά της Καραϊβικής μόνο στελέχη από την φυλή T1 ταυτοποιήθηκαν, λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι στελέχη της φυλής T1 και T2 ανιχνεύθηκαν στη κεντρική Αμερική. Στη Φλόριντα η μόνη φυλή τομάτας που υπάρχει για πολλά χρόνια είναι η T1, δεδομένου ότι η T2 έχει απομονωθεί σε πολλές άλλες Πολιτείες των Η.Π.Α. Τελικά η T3 ανιχνεύθηκε στη Φλόριντα και από τότε έχει ανιχνευθεί και στο Μεξικό, την Ταϊλάνδη και το Οχάιο. (Jones *et al.*, 1998)

## 5.2 Ταξινόμηση φυλών

Η αρχική ένδειξη για παραλλακτικότητα μεταξύ των Ξανθομονάδων που προσβάλλουν την τομάτα και την πιπεριά άρχισε από το 1921, όταν στελέχη που απομονώθηκαν από τους Gardner & Kendrick υδρόλυαν έντονα άμυλο, ενώ στελέχη που συλλέχθηκαν από τη Doidge παρουσίαζαν μια ασθενεί αμυλολυτική δραστηριότητα. Όμως το 1923 οι Gardner & Kendrick συγκρίνανε στελέχη τομάτας από τις Ηνωμένες Πολιτείες και από τη Νότια Αφρική καθώς και στελέχη πιπεριάς από τη Φλόριντα και βρήκαν πολύ μικρές διαφοροποιήσεις. Ενδιαφέρον είναι ότι αυτοί δεν δοκίμασαν τα στελέχη για την ικανότητα τους να υδρολύουν άμυλο, αν και κάποιος θα περίμενε ότι τέτοιες συγκρίσεις θα είχαν γίνει βασισμένες στην προηγούμενη βιβλιογραφία.

Το 1965 οι Lovrekovich & Klement παρατήρησαν ότι στελέχη τομάτας μπορούσαν να διαχωριστούν σε δυο ομάδες βασισμένες στην ικανότητα να υδρολύουν άμυλο. Το 1994 ο Stall *et al.*, συνδύασε την ικανότητα υδρόλυσης αμύλου και πηκτινόλυσης με τα στελέχη της ομάδας B (T2), αλλά όχι με τα στελέχη της ομάδας A (T1). Επίσης, στελέχη A και B διαφοροποιήθηκαν σε σχέση με την

αντίδραση τους με μονοκλωνικά αντισώματα (MAb) και την παραγωγή εξειδικευμένων πρωτεϊνών (a & b).

Μολονότι η αμυλολυτική δραστηριότητα ήταν χρήσιμη για διαφοροποίηση μεταξύ των δύο κύριων ομάδων, νέα στελέχη που χαρακτηρίζονταν, δεν ταυτιζόταν με αυτά της ομάδας A και B. Στο Μεξικό στελέχη τα οποία χαρακτηρίστηκαν ως τυπικά της ομάδας A, βασισμένα σε αντίδραση με μοντέλο μονοκλωνικών αντισωμάτων, και στην έκφραση της 32-kDa πρωτεΐνης, ωστόσο τα στελέχη ήταν ισχυρά αμυλολυτικά. Όμοια στελέχη απομονώθηκαν και από τα νησιά Μπαρμπάντος και από το Οχάιο. Μερικά άλλα διαφορετικά στελέχη από αυτά της ομάδας A και B ανιχνεύθηκαν στη Φλόριντα στις αρχές του 1990. Αυτά τα στελέχη ήταν ισχυρά αμυλολυτικά και εκφράζανε την τυπική πρωτεΐνη των στελεχών της ομάδας B, αλλά, δεν αντιδρούσαν με κανένα από τα μονοκλωνικά αντισώματα που διαφοροποιούσαν τα στελέχη των ομάδων A και B. Ένα καινούριο μονοκλωνικό αντίσωμα (MAb 30) σχεδιάστηκε το οποίο αντιδρούσε μόνο με τα καινούρια στελέχη. Επιπλέον, αυτά τα στελέχη έδιναν αντίδραση υπεραισθησίας στην H7981 και σε δύο σειρές *L. pimpinellifolium*, ενώ στελέχη της ομάδας A και B έδιναν μολυσματική αντίδραση, (compatible). Αυτά τα στελέχη χαρακτηρίστηκαν σαν φυλή 3 (T3) της τομάτας και ως αποτέλεσμα των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών κατατάχθηκαν σαν ομάδα C. Στελέχη της ομάδας C απομονώθηκαν από φυτά τομάτας στο Μεξικό και από σπόρο που παράχθηκε στην Ταϊλάνδη.

Ευκρινώς, τέσσερις διαφορετικές ομάδες *Xanthomonas* υπάρχουν ως παθογόνα τομάτας. Επιπλέον, αυτές οι τέσσερις ομάδες αντιπροσωπεύουν τουλάχιστον τρία διαφορετικά είδη, δηλαδή το *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (ομάδα A), το *Xanthomonas vesicatoria* (ομάδα B) όπως περιγράφηκε από τους Vauterin *et al.*, (1993&1995), και *Xanthomonas gardeni* (ομάδα D) το οποίο έχει αμφίβολη ταξινόμική θέση. Βασισμένοι σε μελέτες των Palleroni *et al.*, (1993) και Hildebrand *et al.*, (1990) το είδος *Xanthomonas gardeni* αποτελεί μια γενετική ομάδα με παθοποικιλίες του *Xanthomonas. campestris* pv. *carotae*, *pelargonii*, και *taraxaci*.

Τα στελέχη του *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* έχουν διαχωριστεί σε τέσσερις διαφορετικές ομάδες όπως προαναφέρθηκε, βασισμένα σε ένα αριθμό κριτηρίων: ομολογία DNA, αμυλολυτική και πηκτινολυτική ικανότητα, τη σύνθεση των λιπαρών οξέων, και ορολογική συμπεριφορά.

Οι απομονώσεις του *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* της τομάτας και της πιπεριάς δεν διακρίνονται μεταξύ τους με βάση τις συνήθεις διαγνωστικές μεθόδους. Έχουν περιγραφεί διάφορες φυλές του παθογόνου μερικές από τις οποίες προσβάλλουν ορισμένα φυτά ξενιστές (π.χ. την τομάτα ή την πιπεριά) ενώ άλλες είναι εξίσου παθογόνες στην τομάτα και στην πιπεριά. Οι τρεις ομάδες στο *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* είναι: η ομάδα της τομάτας (XcvT) που περιλαμβάνει στελέχη παθογόνα μόνο στη τομάτα. Η ομάδα της πιπεριάς (XcvP) που περιλαμβάνει στελέχη παθογόνα μόνο στη πιπεριά και η ομάδα (XcvTP) που περιλαμβάνει στελέχη παθογόνα και στα δυο.

Η φυσιολογική διαφορά των φυλών παρουσιάζεται σε κάθε ομάδα. Τρεις φυλές (1, 2 & 3) με την XcvT (χαρακτηρίζοντας αυτές ως T1, T2 & T3 αντίστοιχα) και 10 φυλές (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 & 9) της XcvP (χαρακτηρίζοντας αυτές ως P0, P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8 & P9 αντίστοιχα) επίσης στην ομάδα XcvTP παρουσιάζονται και 30 διαφορετικοί συνδυασμοί των φυλών όπως φαίνεται και στο Πίνακα 1. (Kousik & Ritchie, 1999)

**Πίνακας 1:** Φυλές του παθογόνου *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.

<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>			
Ομάδες	XcvT	XcvP	XcvTP
Φυλές	T1, T2 & T3	P0, P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8 & P9	P0T1, P0T2, P0T3, P1T1, P1T2, P1T3, P2T1, P2T2, P2T3, P3T1, P3T2, P3T3, P4T1, P4T2, P4T3, P5T1, P5T2, P5T3, P6T1, P6T2, P6T3, P7T1, P7T2, P7T3, P8T1, P8T2, P8T3, P9T1, P9T2, P9T3

### 5.3 Ανθεκτικοί γόννοι

Φυτά πιπεριάς και τομάτας είναι και τα δύο ευαίσθητα σε συγκεκριμένα στελέχη του *X. campestris* pv. *vesicatoria*. Ειδικοί γονότυποι πιπεριάς και τομάτας υπήρξαν πολύ σημαντικοί στο χαρακτηρισμό των φυλών των παθογόνων Ξανθομονάδων σε αυτά τα φυτά.

Γόννοι για ανθεκτικότητα στο *Xanthomonas* έχουν βρεθεί σε είδη του κάθε γένους, αλλά οι γόννοι δεν μπορούν να μεταφερθούν από το ένα γένος στο άλλο με φυσικό υβριδισμό.

Τέσσερις ανεξάρτητοι κυρίαρχοι γόννοι τις πιπεριάς για ανθεκτικότητα σε στελέχη του βακτηρίου *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* στη πιπεριά έχουν χαρακτηριστεί. Οι ανθεκτικοί γόννοι Bs1, Bs2, Bs3 και Bs4 βρέθηκαν πρώτα στην PI 163192 (*C. annuum*), PI 260435 (*C. chacoense*), PI 271322 (*C. annuum*), και στη PI 235047 (*C. pubescens*) αντίστοιχα. Καθένας γόννος δίνει αντίδραση υπερευαισθησίας στα συγκεκριμένα στελέχη του *Xanthomonas*. Κανένας από τους γόννους δεν δίνει ανθεκτικότητα σε όλα τα στελέχη βακτηρίου που προσβάλλει την πιπεριά. Ανεξάρτητοι μη παθογόνοι γόννοι ανrBs1, ανrBs2, ανrBs3 και ανrBs4, σε στελέχη του *Xanthomonas vesicatoria* που αντιδρούν με καθένα ανθεκτικό γόνο, έχουν κλωνοποιηθεί και χαρακτηριστεί. Υψηλό ποσοστό μεταλλαγής έχει περιγραφή για ανrBs1 και ανrBs2, με αποτέλεσμα την ανατροπή της ανθεκτικότητας των γόννων Bs1 και Bs2 αντίστοιχα. (Jones *et al.*, 1998)

Πιο αναλυτικά παρουσιάζονται στον Πίνακα 2 όπου φαίνονται οι ισογονιδιακές σειρές φυτών πιπεριάς και τομάτας με τους αντίστοιχους γόννους ανθεκτικότητας στις αντίστοιχες φυλές του παθογόνου.

**Πίνακας 2:** Προσδιορισμός φυλών του παθογόνου με βάση δείκτες διαφοροποίησης.

	ΠΙΠΕΡΙΑ					ΤΟΜΑΤΑ		
	ECW	ECW 10R	ECW 20R	ECW 30R	PI235047	WALTER	H7998	H7981
<b>ΓΟΝΟΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ</b>	-	Bs1	Bs2	Bs3	Bs4	-	-	-
<b>ΦΥΛΕΣ</b>	P0,P1,P2, P3,P4,P5 P6,P7, P8,P9	P0,P2,P5	P0,P1,P2, P3,P7,P8	P0,P1,P4, P7,P9	P0,P1,P3, P4,P6	T1,T2,T3	T1	T3
<b>ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ</b>	C	HR	HR	HR	HR	C	HR	HR

C: Ανάπτυξη ασθένειας. HR: Αντοχή (αντίδραση υπερευαισθησίας)



Ακόμη στον Πίνακα 3 φαίνονται οι αντιδράσεις που προκαλούν σε ισογονιδιακές σειρές φυτών πιπεριάς και τομάτας, με τους αντίστοιχους γόνους ανθεκτικότητας τους, οι φυλές του παθογόνου.

**Πίνακας 3:** Αντιδράσεις ισογονιδιακών σειρών φυτών πιπεριάς και τομάτας σε αντίστοιχες φυλές τους.

	ΠΙΠΕΡΙΑ					ΤΟΜΑΤΑ		
	ECW	ECW10R	ECW20R	ECW30R	PI235047	WALTER	H7998	H7981
Γόνοι	-	Bs1	Bs2	Bs3	Bs4	-	-	-
Φυλές	-	P0,P2,P5	P0,P1,P2, P3,P7,P8	P0,P1,P4, P7,P9	P0,P1,P3, P4,P6	-	T1	T3
T1	HR	HR	HR	HR	HR	C	HR	C
T2	HR	HR	HR	HR	HR	C	C	C
T3	HR	HR	HR	HR	HR	C	C	HR
P0	C	HR	HR	HR	HR	HR	HR	HR
P1	C	C	HR	HR	HR	HR	HR	HR
P2	C	HR	HR	C	C	HR	HR	HR
P3	C	C	HR	C	HR	HR	HR	HR
P4	C	C	C	HR	HR	HR	HR	HR
P5	C	HR	C	C	C	HR	HR	HR
P6	C	C	C	C	HR	HR	HR	HR
P7	C	C	HR	HR	C	HR	HR	HR
P8	C	C	HR	C	C	HR	HR	HR
P9	C	C	C	HR	C	HR	HR	HR
P0T1	C	HR	HR	HR	HR	C	HR	C
P0T2	C	HR	HR	HR	HR	C	C	C
P0T3	C	HR	HR	HR	HR	C	C	HR
P1T1	C	C	HR	HR	HR	C	HR	C
P1T2	C	C	HR	HR	HR	C	C	C
P1T3	C	C	HR	HR	HR	C	C	HR
P2T1	C	HR	HR	C	C	C	HR	C
P2T2	C	HR	HR	C	C	C	C	C
P2T3	C	HR	HR	C	C	C	C	HR
P3T1	C	C	HR	C	HR	C	HR	C
P3T2	C	C	HR	C	HR	C	C	C
P3T3	C	C	HR	C	HR	C	C	HR
P4T1	C	C	C	HR	HR	C	HR	C
P4T2	C	C	C	HR	HR	C	C	C
P4T3	C	C	C	HR	HR	C	C	HR
P5T1	C	HR	C	C	C	C	HR	C
P5T2	C	HR	C	C	C	C	C	C
P5T3	C	HR	C	C	C	C	C	HR
P6T1	C	C	C	C	HR	C	HR	C
P6T2	C	C	C	C	HR	C	C	C
P6T3	C	C	C	C	HR	C	C	HR
P7T1	C	C	HR	HR	C	C	HR	C
P7T2	C	C	HR	HR	C	C	C	C
P7T3	C	C	HR	HR	C	C	C	HR
P8T1	C	C	HR	C	C	C	HR	C
P8T2	C	C	HR	C	C	C	C	C
P8T3	C	C	HR	C	C	C	C	HR
P9T1	C	C	C	HR	C	C	HR	C
P9T2	C	C	C	HR	C	C	C	C
P9T3	C	C	C	HR	C	C	C	HR

## 6. ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ – ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

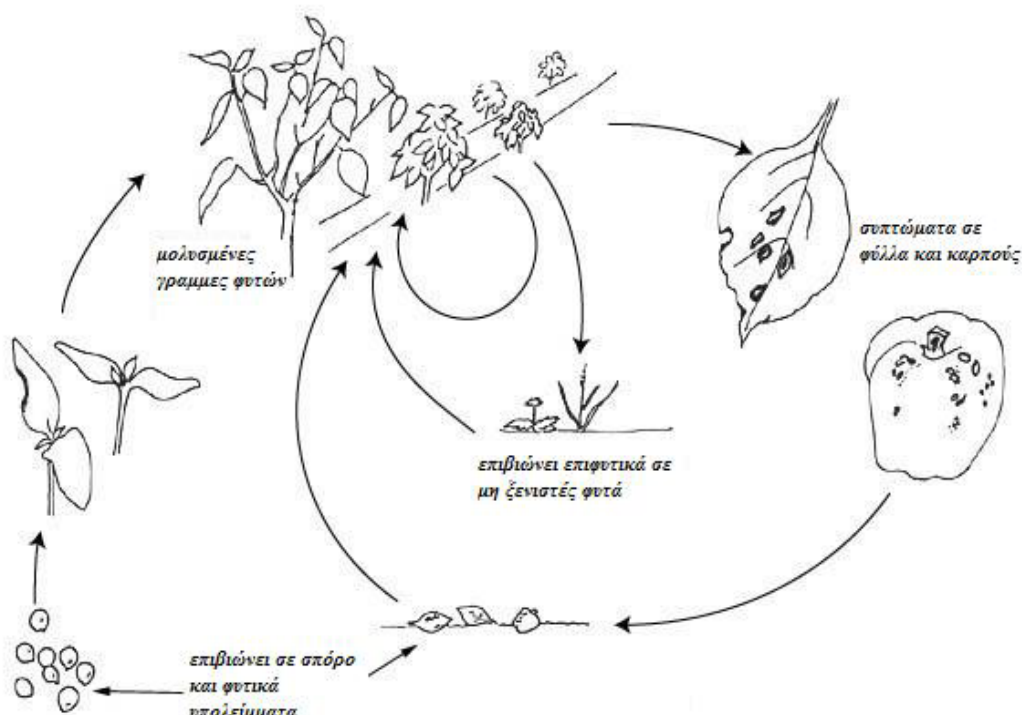
Η ανάπτυξη των συμπτωμάτων της ασθένειας ευνοείται από έντονες βροχοπτώσεις, υψηλή υγρασία και άριστες θερμοκρασίες ανάπτυξης να κυμαίνονται περίπου στους 25-30 °C αλλά όχι μεγαλύτερες από 35°C.

Το *X. vesicatoria* επιβιώνει από την μια καλλιεργητική περίοδο στην άλλη κυρίως στο σπόρο, αλλά επίσης και σε μολυσμένα υπολείμματα (π.χ. βλαστούς, ρίζες κ.α.). Η επιβίωσή του στο έδαφος είναι περιορισμένη, συνδέεται σχεδόν πάντα, με τα μολυσμένα φυτικά υπολείμματα, καθώς και με τα διάφορα ζιζάνια δυνητικούς ξενιστές του παθογόνου.

Εκτιμάται ότι φυτά τομάτας και πιθανότατα και φυτά πιπεριάς αποτελούν ενδεχομένως σημαντικές θέσεις επιφυτικής επιβίωσης.

Το παθογόνο αναφέρεται ότι αναπτύσσει σχέσεις με τις ρίζες των σιτηρών καθώς και ότι σπόροι σολανωδών μπορούν να αποτελέσουν εναλλασσόμενους ξενιστές.

Στις πιο ψυχρές περιοχές η ανάπτυξη του βακτηρίου αναστέλλεται και το βακτήριο επιβιώνει πολύ δύσκολα ή καθόλου.



Σε καλλιέργειες στα θερμοκήπια ο μολυσμένος σπόρος και τα μολυσμένα σπορόφυτα είναι ο μόνος σημαντικός παράγοντας εισόδου του βακτηρίου. Το βακτήριο μπορεί να επιβιώσει στο σπόρο τομάτας ή πιπεριάς τουλάχιστον για 10 χρόνια, εξωτερικά ή εσωτερικά αυτού. Στον εξωτερικά μολυσμένο σπόρο, οι κοτυληδόνες μολύνονται απευθείας από το σπόρο και οι κηλίδες εμφανίζονται αμέσως μετά από την έξοδο από το έδαφος. Τα βακτήρια μεταφέρονται σε γειτονικά φυτά με πιτσίλισμα κατά το πότισμα. Η ασθένεια αποτελεί ιδιαίτερη απειλή και σε σπορεία. Η παραγωγή σποροφύτων προϋποθέτει σωστή διαχείριση των διεργασιών, διότι τα φυτά αρδεύονται συχνά, μεγαλώνουν μαζί, και η υγρασία είναι πάντα υψηλή. Η διασπορά των μολυσμάτων και η διενέργεια των μολύνσεων γίνεται με τη βροχή, ιδιαίτερα όταν συνοδεύεται από άνεμο, ή με την τεχνητή βροχή.

Ζωντανά βακτήρια έχουν βρεθεί σε αερολύματα σε εμπορικούς αγρούς, αποδεικνύοντας την πιθανότητα της εναέριας διασποράς.

Τα φύλλα μολύνονται διάμεσου των στομάτων, και οι καρποί διάμεσου μικρών πληγών πχ. τραύματα, τρυπήματα εντόμων κ.λ.π.. Μόνο οι νεαροί καρποί είναι ευαίσθητοι. Το βακτήριο μπορεί να πολλαπλασιαστεί επιφυτικά σε νεαρά φυτά με απουσία συμπτωμάτων. (Ritchie, 2000)

## 7. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

Τα συμπτώματα της βακτηριακής κηλιδώσεως στην πιπεριά και στην τομάτα ποικίλουν αρκετά, όμως οι πιο συχνές και διαδεδομένες εκδηλώσεις της ασθένειας είναι οι ακόλουθες:

Τα φύλλα προσβάλλονται σε οποιοδήποτε στάδιο ανάπτυξης του φυτού, όμως η ανθεκτικότητα αυξάνει με την ηλικία. Σε αυτά η ασθένεια εκδηλώνεται κατ' αρχάς με τη μορφή κυκλικών λιπαρών κηλίδων, που αρχικά είναι ορατές μόνο στην κάτω επιφάνεια. Με την πάροδο του χρόνου Οι κηλίδες αυξάνουν και εξελίσσονται σε νεκρωτικές και βυθισμένες, χρώματος υποκαστανού, σχήματος υποστρογγύλου ήγωνιώδους, διαμέτρου 2-3mm με περιφέρεια που περιβάλλεται συχνά από κιτρίνη άλω και το κέντρο των οποίων νεκρώνεται και συχνά σχίζεται.

Κατά τη μακροσκοπική εξέταση, οι κηλίδες αυτές δε διαφοροποιούνται εύκολα από εκείνες που προκαλούνται από αλλά παθογόνα, όπως της *Septoria*

*lycopersici*, της *Alternaria solani* ή από το βακτήριο *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

Οι κηλίδες στα *φυλλίδια* μπορεί να είναι πολυάριθμες, ώστε να συνενώνονται μεταξύ τους και να σχηματίζουν κυρίως στην κορυφή και την παρυφή του ελάσματος εκτεταμένα ξερά τμήματα. Σπάνια με υγρές συνθήκες παρατηρείται έξοδος από τις κηλίδες βλενώδους βακτηριακού εκκρίματος.

Οι *ποδίσκοι* και τα *σέπαλα* του κάλυκα εμφανίζουν επίσης καστανόμαυρες κηλιδώσεις, όμοιες με εκείνες των φύλλων.

Στο *στέλεχος*, εκτός των συνηθισμένων κηλίδων, είναι δυνατό να εμφανιστεί και μια μορφή κηλίδων, με έντονο πράσινο χρώμα και ακανόνιστο σχήμα. Αυτές με την πάροδο του χρόνου, γίνονται βυθισμένες (χωρίς η αλλοίωση να προχωρήσει κάτω τους ιστούς του φλοιού) και μοιάζουν με φελλοποιημένες θέσεις, χρώματος σκοτεινού και με επιφάνεια με μικρές σχισμές και με κατεύθυνση τον άξονα του οργάνων.

Οι *καρποί*, συνήθως προσβάλλονται από τη καρπόδεση μέχρι την αλλαγή του χρωματισμού και εμφανίζουν τα πιο χαρακτηριστικά συμπτώματα της βακτηριακής κηλιδώσης. Σε πράσινους καρπούς εμφανίζονται αρχικά κηλίδες υδατώδεις, εμφανώς υπερυψωμένες ή επίπεδες, συχνά περιβαλλόμενες υπό άλω, χρώματος σκοτεινού πράσινου. Σταδιακά οι κηλίδες αυξάνονται, αποκτούν χρώμα καστανό, φελλοποιούνται και σχίζονται, είναι και με ελκώδη εμφάνιση και διάμετρο 3-4mm.

Σε προσβολές, πολύ νεαρών καρπών, παρατηρείται παραμόρφωση και μη κανονική ανάπτυξη.

Πολύ συχνά προσβάλλονται τα φυτάρια στα σπορεία όπου η ασθένεια εξαπλώνεται ταχύτατα, καθώς και στα μεγαλύτερης ηλικίας φυτά η κηλιδώση είναι περισσότερο συχνή στα παλαιότερα φύλλα και πολλές φορές προκαλεί έντονη αποφύλλωση.

## 8. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ

1) Χρησιμοποίηση υγιούς σπόρου. Σε περίπτωση χρησιμοποίησης ύποπτου σπόρου συνιστάται απολύμανση με θερμό νερό (εμβάπτιση σπόρου σε νερό θερμοκρασίας 50°C επί 25 λεπτά). Οι Chamber και Merriman (1975) συνιστούν 55°C επί 30 λεπτά.

Επίσης μπορεί να εφαρμοστεί και η ακολούθως χημικό-θερμική απολύμανση του σπόρου με εμβάπτιση του σε διάλυμα που περιέχει (ανά λίτρο νερού): οξικό χαλκό 2,0g οξικό οξύ, 1,0ml από ένα μίκτο διάλυμα 23,2% πενταχλωρονιτροβενζολίου και 5,8% 5-ethoxy-3(trichloromethyl)-1,2,4-thiadiazol, 4,5ml και triton x-100, 0,2ml επί 1 ώρα στους 45°C (Kritzman, 1993). Μετά την απολύμανση απλώνεται ο σπόρος να στεγνώσει.

2) Εφόσον ο αριθμός των προσβλημένων φυτών δεν είναι μεγάλος, συνιστάται η εκρίζωση αυτών και καταστροφή τους με φωτιά.

3) Καταστροφή όλων των υπολειμμάτων της καλλιέργειας.

4) Λήψη μέτρων μείωσης της υπερβολικής υγρασίας, ιδίως στα θερμοκήπια.

5) Ψεκάσμος των φυτών σε διαστήματα μιας εβδομάδας με βορδιγάλιο πολτό σε αναλογία 1% ή οξυχλωριούχο χαλκό 0,5% ή υδροξείδιο του χαλκού 0,5%. Σε μερικές περιοχές των Η.Π.Α. διαπιστώθηκαν στελέχη του ίδιου παθογόνου ανθεκτικά στο χαλκό (Cooksey, 1987 1990).

Μια άλλη τέλος στρατηγική αντιμετώπισης είναι η βιολογική καταπολέμηση με ανταγωνιστικό επιφυτικό μη παθογόνο βακτήριο, το οποίο είναι και ανθεκτικό στο χαλκό και έχει δώσει ενθαρρυντικά πειραματικά αποτελέσματα (Cooksey, 1988).

## 9. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ

Η πρώτιστη στρατηγική διαχείρισης της ασθένειας είναι η χρήση πιστοποιημένου υγιούς σπόρου και απαλλαγμένων από ασθένειες φυταρίων.

Πάντως ανθεκτικές ποικιλίες είναι διαθέσιμες, όμως υπάρχουν στελέχη του παθογόνου που έχουν την ικανότητα να ξεπερνούν όλους του γόνους ανθεκτικότητας του φυτού. Συνήθως, τρεις ανεξάρτητα διαχωρισμένοι γόνιοι με βάση την ανθεκτικότητα στη βακτηριακή κηλίδωση σε εμπορικές ποικιλίες πιπεριάς. Στελέχη του παθογόνου τα οποία αντιδρούν διαφορετικά με γόνους ανθεκτικότητας φυτών πιπεριάς έχουν σχεδιαστεί σαν φυλές. Με την αναφορά και του τέταρτου ανθεκτικού

γόνου το 1998, προφανώς υπάρχουν 11 φυλές οι οποίες μολύνουν την πιπεριά. Ανθεκτικότητα δεν έχει βρεθεί τόσο εύκολα και να χρησιμοποιηθεί και στην τομάτα. Υπάρχουν τρεις τελικώς φυλές που μολύνουν τα φυτά τομάτας.

Η εξάλειψη του βακτηρίου από το σπόρο είναι πολύ σημαντική αλλά και πολύ δύσκολη (επέμβαση με υπογλωριώδες νάτριο η ασβέστιο). Χημικές ή θερμές μέθοδοι μπορεί να σκοτώνουν το παθογόνο μέσα στο σπόρο, αλλά, μπορούν επίσης να προκαλέσουν μείωση της βλαστικότητας του σπόρου.

Ο πιθανός μελλοντικός βιολογικός έλεγχος της ασθένειας είναι με χρήση νίγους (βακτηριοφάγων) όπου είναι ειδικευμένα εξολοθρευτές των βακτηριακών παθογόνων. (Ritchie, 2000)

### 1. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ

#### 1.1 Υλικά και μέθοδοι

Σπορόφυτα πιπεριάς με συμπτώματα βακτηριακής προσβολής που εντοπίστηκαν στην περιοχή του Ηρακλείου μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο βακτηριολογίας, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. Ηρακλείου, με σκοπό την απομόνωση και ταυτοποίηση του παθογόνου αίτιου.

Απομονώσεις έγιναν από τα σπορόφυτα πιπεριάς που εμφάνιζαν σαν βασικό σύμπτωμα νεκρωτικές κηλίδες στα φύλλα.

Τμήματα προσβλημένου ιστού, από τα όρια των κηλίδων, τεμαχίστηκαν σε 2-3ml απεσταγμένου και αποστειρωμένου νερού. Είκοσι μl από το αιώρημα που δημιουργήθηκε απλώθηκε σε τριβλία, που περιείχαν θρεπτικό υπόστρωμα Nutrient Agar (NAG){Nutrient Agar10g + Glucose 1,25g στα 500ml}, με τη μέθοδο της διασποράς. Τα τριβλία επώαστηκαν στους 28°C για 48 ώρες. Οι επικρατέστερες αποικίες που παρατηρήθηκαν κατά τις απομονώσεις υπό-καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα NAG μέχρι να δημιουργηθεί καθαρή καλλιέργεια. Οι απομονώσεις που επιλέχθηκαν, κωδικοποιήθηκαν και διατηρήθηκαν σε καλλιέργεια σωλήνα σε θρεπτικό υπόστρωμα NAG, στους 4°C σε όλη τη διάρκεια της εργασίας.

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε, για την ταυτοποίηση των στελεχών, είναι σύμφωνα με αυτή που περιγράφεται στο Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, (Schaad *et al.*, 2001).

Οι μορφολογικές, βιοχημικές και φυσιολογικές δοκιμές που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται αναλυτικά στον Πίνακα 4.

Συγκριτικά κατά τη διάρκεια της εργασίας χρησιμοποιήθηκαν δύο ταυτοποιημένα στελέχη του *Xanthomonas cynarae* (4188 & 4199) από τη Γαλλία, πέντε στελέχη του *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (5067, 5069, 2935, 5040, 5043) από λάχανο και δύο στελέχη του *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* (5007, 5046) από καρυδιά.

#### 1.2 Αποτελέσματα

Από τον Πίνακα 4 προκύπτει ότι οι επτά απομονώσεις από την πιπεριά παρουσιάζουν τους γενικούς χαρακτήρες του γένους *Xanthomonas* ενώ το φαινοτυπικό τους προφίλ είναι παρόμοιο με εκείνο του *Xanthomonas vesicatoria* (Schaad *et al.*, 2001).

Όλες οι απομονώσεις ήταν αρνητικές κατά Gram, μη φθορίζουσες, σε σχήμα βακίλου και κινούμενες. Σχημάτισαν κίτρινες μουκώδης και υπερυψωμένες αποικίες σε θρεπτικό υπόστρωμα YDC. Χρησιμοποιούν τη γλυκόζη οξειδωτικά, αναπτύσσονται στους 37°C, υδρολύουν τη ζελατίνη και την εσκουλίνη. Παράγουν οξέα από D-Arabinose, Glucose και Mannose, δεν ανάγουν τα νιτρικά, είναι αρνητικά στην παραγωγή οξειδάσης και θετικά στην παραγωγή καταλάσης. Τέλος οι απομονώσεις χαρακτηρίστηκαν ως αμυλολυτικές και μη πηκτινολυτικές και ευαίσθητες σε συγκέντρωση 0,02% TTC.

Με βάση τους μορφολογικούς, βιοχημικούς και φυσιολογικούς χαρακτήρες οι επτά απομονώσεις από την πιπεριά ταξινομούνται ως στελέχη του *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.

**Πίνακας 4:** Ταυτοποίηση βακτηριακών απομονώσεων από πιπεριά.

Δοκιμές	Στελέχη πιπεριάς	<i>Xanthomonas</i>			
		<i>campestris</i> pv.			<i>cynarae</i>
		<i>vesicatoria</i>	<i>campestris</i>	<i>juglandis</i>	
Αριθμός στελεχών	7	#	5	2	2
Μουκώδης ανάπτυξη σε YDC	+	+	+	+	+
Ανάπτυξη σε 35°C	+	+	+	+	-
Ανάπτυξη σε SX <sup>1</sup>	+	+	+	+	+
Υδρόλυση αμύλου	+	+	+	+	-
Υδρόλυση εσκουλίνης	+	+	+	+	NT
Ανάπτυξη σε θρεπτικό υπόστρωμα Tween <sup>2</sup>	+	+	+	+	+
Αντίδραση σε γάλα	+	+	+	+	+
Παραγωγή οξέως από L (+) Arabinose	+	+	-	+	-
Χρησιμοποίηση:					
Glycerol	+	Θ	-	+	-
Melibiose	-	Θ	-	+	-
Cis-Aconinate	+	Θ	-	+	+
Φθορισμός	-	-	-	-	-
Levan	+	+	+	-	+
Οξειδάση	-	-	-	-	-
Αναεροβίωση	-	-	-	-	-
Ανάπτυξη σε NA 0,1% TTC	-	-	-	-	-
Ανάπτυξη σε NA 0,02% TTC	-	Θ	+	+	-
Ανάπτυξη σε CVP <sup>3</sup>	-A	Θ	+A	-A	-A
Υπεραισθησία σε φυτά καπνού	+	+	+	+	+

NT: not tested, Θ: δεν παρουσιάζεται σε βιβλιογραφικές πηγές.



<sup>1</sup> : Στο θρεπτικό υπόστρωμα SX τα στελέχη του X.c.v. (5071, 5072, 5073, 5074, 5075, 5076, 5077) αναπτύχθηκαν κανονικά με μουκώδη ανάπτυξη και χρώμα καλλιέργειας κίτρινο. Τα στελέχη του X.c.c. (5067, 2935, 5069, 5043, 5040) όλα εμφάνισαν μουκώδη ανάπτυξη υπόλευκου χρώματος και τα στελέχη X.c.j. (5007, 5046) και *X. cynarae* (4188, 4199) παρουσίασαν υποκίτρινο χρωματισμό.

<sup>2</sup> : Η ανάπτυξη των στελεχών του X.c.v. σε υπόστρωμα Tween χαρακτηρίζεται ως πιο αργή θετική.

<sup>3</sup> : + : δημιουργία κρατήρα , - : μη δημιουργία κρατήρα & A: ανάπτυξη καλλιέργειας

## 2. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΟ ΧΑΛΚΟ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΤΡΕΠΤΟΜΥΚΙΝΗ

### 2.1 Υλικά και μέθοδοι

Η ευαισθησία των βακτηρίων στο χαλκό και στη στρεπτομυκίνη περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Ritchie και Dittapongpitch, (1991). Σταγόνες των 5μl βακτηριακού αιωρήματος από κάθε στέλεχος τοποθετήθηκαν σε τριβλία Petri που περιείχαν υπόστρωμα SPA (20g sucrose, 5g peptone, 0,5g dibasic potassium phosphate, 0,25g magnesium sulfate, και 15g agar, σε 1 L απιονισμένου νερού) στο οποίο είχαν ενσωματωθεί διάφορες ποσότητες θειικού χαλκού ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) και στρεπτομυκίνης έτσι ώστε να σχηματισθούν οι τελικές συγκεντρώσεις (50, 100, 150, 200 μg/ml ) όπως παρουσιάζονται και στο Πίνακα 4.

Σαν μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε απεσταγμένο νερό.

Στη συνέχεια τα τριβλία επώσθησαν στους 27 °C για 48h και έγιναν παρατηρήσεις ως προς την παρουσία ή απουσία ανάπτυξης του βακτηρίου, έτσι ώστε να προσδιοριστεί η ανθεκτικότητα των στελεχών στις διάφορες συγκεντρώσεις χαλκού και στρεπτομυκίνης. (Sahin *et al.*, 1995)

## 2.2 Αποτελέσματα

**Πίνακας 5:** Ευαισθησία του γένους *Xanthomonas* στο χαλκό ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) και στη στρεπτομυκίνη.

SPA	<i>CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O</i> (μg/ml)					<i>Streptomycin</i> (μg/ml)				
	0	50	100	150	200	0	50	100	150	200
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>juglandis</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Xanthomonas cynarae</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-

Κανένα από τα στελέχη *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. & *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, δεν αναπτύχθηκε στις συγκεντρώσεις χαλκού και στρεπτομυκίνης που δοκιμάστηκαν σε αντίθεση με τους μάρτυρες.

Τα στελέχη *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* και *Xanthomonas cynarae* ήταν τα μόνα που αναπτύχθηκαν σε συγκέντρωση των 50μg/ml.

Συμπερασματικά τα στελέχη μας και συγκεκριμένα αυτά του *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* δεν παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στο χαλκό και στη στρεπτομυκίνη στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις.

Με δεδομένο ότι ένα στέλεχος θεωρείται ευαίσθητο σε συγκεντρώσεις θειικού χαλκού μικρότερες ίσες των 200 μg/ml ή σε συγκεντρώσεις στρεπτομυκίνης μικρότερες ίσες 100 μg/ml. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι κανένα από τα χρησιμοποιηθέντα στελέχη εμφανίζει ανθεκτικότητα στο χαλκό και στη στρεπτομυκίνη.

### **3. ΔΟΚΙΜΕΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ**

#### **3.1 Υλικά και μέθοδοι**

Σε προκαταρκτικές μελέτες όλες οι απομονώσεις της πιπεριάς ελέγχθησαν ως προς την ικανότητα τους να προκαλούν αντίδραση υπεραισθησίας σε φύλλα καπνού εν. *Xanthi*. (Μαλαθράκης & Γκούμας, 1987).

Στη συνέχεια η παθογένεια των απομονωθέντων στελεχών εξετάστηκε περαιτέρω με μολύνσεις σε νεαρά φυτά πιπεριάς και τομάτας διαφόρων υβριδίων ή/και ποικιλιών. Μολύνσεις πραγματοποιήθηκαν και σε μικρούς άωρους καρπούς τομάτας και πιπεριάς.

Επιλέχθηκαν υγιή φυτά, σε στάδιο 3-4 πραγματικών φύλλων, χωρίς την παρουσία κανενός συμπτώματος. Οι μολύνσεις έγιναν σύμφωνα με την προτεινόμενη μεθοδολογία από τους Elliot & Sands (1987). Τα βακτηριακά αιωρήματα για τις μολύνσεις δημιουργήθηκαν σε αποστειρωμένο και απεσταγμένο νερό από καλλιέργειες 48 ωρών, σε θρεπτικό υπόστρωμα NAG. Χρησιμοποιήθηκαν αιωρήματα σε συγκεντρώσεις που κυμαινόταν από  $10^7$  μέχρι  $10^8$  cfu/ml. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε αποστειρωμένο και απεσταγμένο νερό.

#### **3.1.1 Ικανότητα πρόκλησης αντίδρασης υπεραιευσθησίας (HR) σε φύλλα φυτών πιπεριάς και τομάτας**

Όλες οι απομονώσεις εξετάστηκαν ως προς την ικανότητα πρόκλησης αντίδρασης υπεραιευσθησίας, σε φύλλα φυτών πιπεριάς και τομάτας σε καλλιεργούμενες ποικιλίες και υβρίδια του εμπορίου.

Με τη βοήθεια σύριγγας, εκχύθηκε ποσότητα περίπου 1 ml, βακτηριακού αιωρήματος συγκέντρωσης περίπου  $10^8$  cfu/ml σε διάφορα σημεία των φύλλων. Μετά την έκχυση, τα φυτά τοποθετήθηκαν για 2-3 μέρες, σε θάλαμο ανάπτυξης φυτών με ελεγχόμενες συνθήκες υγρασίας (>95%), θερμοκρασίας 27°C και σε φωτοπερίοδο 16 h. Στη συνέχεια παρέμειναν στον ίδιο θάλαμο με σχετική υγρασία περίπου στο 60%. Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, πρόκλησης αντίδρασης

υπεραιευσθησίας έγινε μετά από διάστημα 24-48 ωρών, η δέ εξέλιξη των μολύνσεων αξιολογήθηκε για 1 εβδομάδα.

Με παρόμοιο τρόπο, έγιναν και οι μολύνσεις σε φύλλα φυτών τομάτας και πιπεριάς με τα στελέχη (5067, 5069, 2935, 5040, 5043) του *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* από λάχανο και με το στέλεχος (5007, 5046) του *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* από καρυδιά.

Η διαδικασία επαναλήφθηκε τουλάχιστον τρεις φορές και τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Πίνακα 6.



### 3.1.2 Μόλυνση με τεχνητό τραυματισμό

Περαιτέρω η παθογένεια των απομονώσεων ελέγχθηκε σε φυτά πιπεριάς τομάτας ως προς την ικανότητα μόλυνσης με τεχνητό τραυματισμό των φύλλων. Με την βοήθεια ειδικής βούρτσας τα φύλλα τραυματίστηκαν ελαφριά και στη συνέχεια ψεκάστηκαν με βακτηριακό αιώρημα συγκέντρωσης περίπου  $10^7$  cfu/ml. Μετά το ψεκασμό, τα φυτά τοποθετήθηκαν για 2-3 μέρες σε θάλαμο ανάπτυξης φυτών με ελεγχόμενες συνθήκες υγρασίας (>95%), θερμοκρασίας 27°C και σε φωτοπερίοδο 16 h. Στη συνέχεια παρέμειναν στον ίδιο θάλαμο με μείωση της σχετικής υγρασίας περίπου στο 60%. Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έγινε για διάστημα 2-4 εβδομάδων.

Η διαδικασία επαναλήφθηκε τουλάχιστον δυο φορές και τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Πίνακα 6.

### 3.1.3 Μόλυνση με έκχυση σε άωρους καρπούς τομάτας και πιπεριάς

Δέκα μικρόλιτρα βακτηριακού αιωρήματος συγκέντρωσης  $10^7$  cfu/ml τοποθετήθηκαν στην επιφάνεια των καρπών σε θέση όπου είχε προηγηθεί τρύπημα με τη βοήθεια σύριγγας.

Στην συνέχεια, οι καρποί τοποθετήθηκαν για 2-3 μέρες μέσα σε θάλαμο ανάπτυξης με ελεγχόμενες συνθήκες υγρασίας (>95%), θερμοκρασίας 27°C και σε φωτοπερίοδο 16 h. Στη συνέχεια παρέμειναν στον ίδιο θάλαμο με σχετική υγρασία περίπου στο 60%. Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έγινε για διάστημα 2 εβδομάδων.

### 3.2 Αποτελέσματα

**Πίνακας 6:** Αποτελέσματα δοκιμών παθογένειας των βακτηριακών στελεχών *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, σε φυτά εμπορικών ποικιλιών πιπεριάς και τομάτας.

Ποικιλίες / Υβρίδια	Αντοχή	Τεχνητή μόλυνση			
		Ως αντίδραση υπερευαισθησίας		Ψεκασμός	
		Ημέρες		Ημέρες	
		1-2	7*	15**	
Πιπεριά	Κέρατο	-	-	+	+
	ECW	-	-	+	+
	Guardian	Bs1	-	+	+
	Estrella	-	-	+	+
	Encore	Bs1,Bs2,Bs3	-	+	+
	Astrion	-	-	+	+
	Tamar	-	-	+	+
	Far	-	-	+	+
	425	-	-	+	+
	490	-	-	+	+
	1860	-	-	+	+
	1972	-	-	+	+
1154	-	-	+	+	
Τομάτα	ACE	-	-	+	+
	M10	-	-	+	+
	Bayaise	-	-	+	+
	Electra	-	-	+	+

-: Δεν παρατηρήθηκε HR +: \*Εξέλιξη σε μόλυνση \*\*:μόλυνση ανάπτυξη νεκρωτικών κηλίδων

#### 3.2.1 Δόκιμες παθογένειας

Από τα αποτελέσματα των δοκιμών παθογένειας προκύπτει ότι οι απομονώσεις της πιπεριάς όπως και τα στελέχη των *Xanthomonas* spp. που

χρησιμοποιήθηκαν συγκριτικά έδωσαν την χαρακτηριστική αντίδραση υπερευαισθησίας σε φύλλα καπνού (*cv. Xanthi*) σε διάστημα 48 ωρών.

Από τον Πίνακα 3, προκύπτει ότι υβρίδια ή ποικιλίες πιπεριάς και τέσσερις ποικιλίες τομάτας μολύνθηκαν και εκδήλωσαν τα τυπικά συμπτώματα της ασθένειας (κηλίδες με χλωρωτικό περιθώριο) σε διάστημα 15 ημερών (εικόνες ).

Τα τυπικά συμπτώματα του παθογόνου αναπαρήχθησαν σε άωρους καρπούς τομάτας και πιπεριάς.

Στις ίδιες ποικιλίες προηγήθηκε αντίδραση υπερευαισθησίας σε διάστημα 48 ωρών αντίθετα παρατηρήθηκε ανάπτυξη μόλυνσης στα αντίστοιχα φύλλα, δηλαδή σταδιακά εκδηλώθηκαν: απώλεια ή διατήρηση των ενυδατωμένων ιστών, χωρίς νέκρωση τις πρώτες 72 ώρες, έναρξη νέκρωσης ιστών των αντιστοιχών θέσεων μετά από τουλάχιστον 96 ώρες και ανάπτυξη χαρακτηριστικού νεκρωτικού περιθωρίου. Αργότερα παρατηρήθηκε πτώση μόνο των μολυνθέντων φύλλων.

Τέλος τα άλλα είδη του γένους *Xanthomonas* όπου χρησιμοποιήθηκαν συγκριτικά δεν προκάλεσαν μολύνσεις.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

---

Το βακτήριο που απομονώθηκε από τα μολυσμένα σπορόφυτα πιπεριάς στην Κρήτη (περιοχή Ηρακλείου), αποδείχτηκε ότι ανήκει στο γένος *Xanthomonas* και συγκεκριμένα πρόκειται για το βακτήριο *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.

Το βακτήριο προσδιορίζεται για πρώτη φορά στην Ελλάδα σε φυτά πιπεριάς. Υπάρχει μια αναφορά για παρουσία του βακτηρίου σε φυτά τομάτας, όμως δεν έχει επιβεβαιωθεί. (Παναγόπουλος, 2000)

Παρά το γεγονός ότι το βακτήριο απομονώνεται για πρώτη φορά, από στοιχεία του Εργαστηρίου Βακτηριολογίας του Ινστιτούτου Προστασίας Φυτών Ηρακλείου (Ι.Π.Φ.Η.) προκύπτει ότι το παθογόνο πιθανότατα προκάλεσε περιορισμένα προβλήματα στην περιοχή της Ψαράς Φοράδας του Ν. Ηρακλείου κατά την καλλιεργητική περίοδο 1989/1990. (Γκούμας, Προσωπική Επικοινωνία)

Τα στελέχη του βακτηρίου που απομονώθηκαν μόλυναν τόσο φυτά πιπεριάς όσο και φυτά τομάτας, και ως εκ τούτου, ανήκουν στις φυλές τύπου XcvTP και πιθανά στη φυλή 6 της πιπεριάς. Επίσης δέκα τρεις ποικιλίες ή υβρίδια πιπεριάς και τέσσερα τομάτας, που δοκιμάστηκαν παθογενετικά, βρέθηκαν ευπαθή στα στελέχη του βακτηρίου.

Τέλος από τη μελέτη προκύπτει ότι το παθογόνο μεταφέρθηκε με το πολλαπλασιαστικό υλικό (σπορόφυτα) η διασπορά του οποίου προς το παρόν παραμένει άγνωστη.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

---

1. Brandbury, J. F., 1986. Guide to Plant Pathogenic Bacteria. International Mycological Institute. Ferry Lane, Kew, Surrey, England. 244-245.
2. Bouzar, H., Jones, B., Minsavage, G. V., Stall, R. E., and Scott, J. W. 1994. Proteins unique to phenotypically distinct groups of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* revealed by silver staining. *Phytopathology* 84:39-44.
3. Buonauro, R., Stravato, V. M., and Scortichini, M. 1994. Characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from *Capsicum annuum* L. in Italy. *Plant Disease*. 78:296-299.
4. Kousik, C. S., and Ritchie D. F., 1999. Development of Bacterial Spot on Near-Isogenic of Bell Pepper Carrying Gene Pyramids Composed of Defeated Major Resistance Genes. *Phytopathology* 89:1066-1072
5. Jones, J. B., and Stall, R. E., H. Bouzar. 1998. Diversity Among Xanthomonads Pathogenic on Pepper and Tomato. *Annual Review of Phytopathology* 36:41-58.
6. O'Garro, L.W., Gore, J. P. and Ferguson, E. 1999. Races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* overcoming the gene Bs2 for bacterial spot resistance in pepper, prevalent on *Capsicum chinense* in Barbados and Grenada and weakly pathogenic on bell pepper and tomato in the field. *Plant Pathology* 48:588-594.
7. Ritchie, D.F. 2000. Bacterial spot of pepper and tomato. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-1027-01  
<http://www.apsnet.org/education/lessonsPlantPath/BacterialSpot/>
8. Sahin, F., and Miller, S. A. 1995. Characterization of Ohio strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Disease*. 80:773-778.
9. Sahin, F., and Miller, S. A. 1998. Resistance in *Capsicum pubescens* to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Pepper Pace 6. *Plant Disease*. 82:7,794-799.
10. Παναγόπουλος, Χ.Γ.2000. Ασθένειες Κηπευτικών Καλλιεργειών. εκδ.Β'. ΑΘ. ΣΤΑΜΟΥΛΗΣ, Αθήνα. σελ.129-130.



# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

## ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ



**EIKONA 1.**

Αρχικά συμπτώματα σε  
σπορόφυτα πιπεριάς

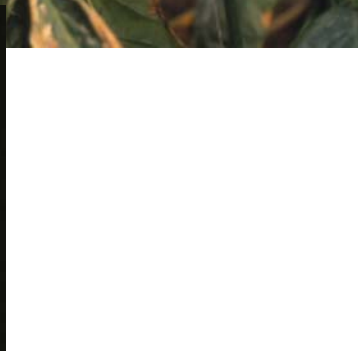
**EIKONA 2.**

Καλλιέργεια σε θρεπτικό υπόστρωμα NAG των βακτηριακών στελεχών του γένους  
*Xanthomonas* που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη



**EIKONA 3.**

Χαρακτηριστικά  
συμπτώματα της  
ασθένειας σε  
καλλιέργειας πιπεριάς σε  
θερμοκήπιο



**ΕΙΚΟΝΑ 4 & 5.**  
Χαρακτηριστικά  
συμπτώματα της  
ασθένειας



**ΕΙΚΟΝΑ 6 & 7.**  
Χαρακτηριστικά  
συμπτώματα της  
ασθένειας. Περιοχή  
Ψαρή Φοράδα



**ΕΙΚΟΝΑ 8 & 9.**  
Συμπτώματα σε καρπούς τομάτας





**EIKONA 10 & 11.**  
Τεχνητή μόλυνση φυτών πιπεριάς.  
Νεκρωτικές κηλίδες με χλωρωτικό περιθώριο



**EIKONA 12, 13 & 14.**  
Τεχνητή μόλυνση πιπεριάς:  
Αποτυχία εκδήλωσης HR σε 24-48 h.  
Εκδήλωση μόλυνσης μετά από 7  
ημέρες



**ΕΙΚΟΝΑ 15 & 16.**

Τεχνητή μόλυνση  
και εκδήλωση  
συμπτωμάτων σε  
άωρους και ώριμους  
καρπούς τομάτας



**ΕΙΚΟΝΑ 17 & 18.**

Τεχνητή μόλυνση φυτών πιπεριάς στο θερμοκήπιο με έντονα τα  
χαρακτηριστικά συμπτώματα της ασθένειας





**EIKONA 19, 20 & 21.**

**Χαρακτηριστικά συμπτώματα της ασθένειας  
μετά από τεχνητή μόλυνση φυτών τομάτας**