



ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«ΣΥΝΕΡΓΙΣΤΙΚΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΔΑΦΟΓΕΝΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ ΚΑΙ
ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΩΝ ΣΕ ΚΗΠΕΥΤΙΚΑ»

ΝΙΚΟΛΑΟΣ Ε. ΚΡΑΣΑΓΑΚΗΣ

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
"Εφαρμοσμένη Επιστήμη και Τεχνολογία στη Γεωπονία"

ΙΟΥΛΙΟΣ, 2020

<Η ΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ ΤΗΣ ΠΑΡΑΚΑΤΩ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΚΑΛΥΦΘΗΚΕ ΠΛΗΡΩΣ ΑΠΟ ΤΟ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ Ι.Ε.Λ.Υ.Α. – ΤΑΛΑΦ ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ ΥΠΟ ΤΗΝ ΚΑΘΟΔΗΓΗΣΗ ΤΟΥ ΔΡΑ
ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ Α. ΜΑΡΚΑΚΗ>

ΜΕΛΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: ΜΑΡΚΑΚΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΛ

ΙΔΙΟΤΗΤΑ: ΕΝΤΕΤΑΛΜΕΝΟΣ ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ

ΙΔΡΥΜΑ/ΦΟΡΕΑΣ: ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΕΛΙΑΣ, ΥΠΟΤΡΟΠΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΑΜΠΕΛΟΥ, ΕΛΛΗΝΙΚΟΣ
ΓΕΩΡΓΙΚΟΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ‘ΔΗΜΗΤΡΑ’

2. ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: ΓΚΟΥΜΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΙΔΙΟΤΗΤΑ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΙΔΡΥΜΑ/ΦΟΡΕΑΣ: ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

3. ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: ΤΡΑΝΤΑΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ

ΙΔΙΟΤΗΤΑ: ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΙΔΡΥΜΑ/ΦΟΡΕΑΣ: ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

**ΤΟ ΕΡΓΟ ΑΥΤΟ ΥΛΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΑΜΠΕΛΟΥ,
ΛΑΧΑΝΟΚΟΜΙΑΣ, ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ, ΚΑΙ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ ΤΟΥ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ ΕΛΙΑΣ, ΥΠΟΤΡΟΠΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΑΜΠΕΛΟΥ ΤΟΥ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ
ΓΕΩΡΓΙΚΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ (ΕΛΓΟ) ‘ΔΗΜΗΤΡΑ’ ΥΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΒΛΕΨΗ ΤΟΥ ΔΡΑ
ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΜΑΡΚΑΚΗ.**

<Νιώθω την ανάγκη να αφιερώσω την παρούσα διατριβή στους γονείς μου για την ηθική και οικονομική υποστήριξη καθ'όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών σπουδών μου>

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ολοκληρώνοντας την παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή θεωρώ απαραίτητο να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν κατά τη διάρκεια της εκπόνησής της. Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα της διατριβής μου Δρα Εμμανουήλ Α. Μαρκάκη, Εντεταλμένο Ερευνητή του Ελληνικού Γεωργικού Οργανισμού ‘ΔΗΜΗΤΡΑ’, που μου έδωσε τη δυνατότητα να εργαστώ στο Ινστιτούτο Ελιάς, Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου (Εργαστήριο Μυκητολογικής Φυτοπαθολογίας Ηρακλείου) και να εντρυφήσω σε θέματα απομονώσεων παθογόνων μυκήτων από δείγματα ασθενών φυτών, προσδιορισμών παθογόνων μυκήτων βάσει μικροσκοπικών παρατηρήσεων και φυσιολογικών μετρήσεων, τεχνητών μολύνσεων διαφόρων σποροφύτων με διάφορους μύκητες κ.λ.π. καθώς και για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση του στη συγγραφή της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής και στην ανασκόπηση της βιβλιογραφίας πάνω σε εδαφογενείς μύκητες σε διεθνές επίπεδο.

Επιπροσθέτως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρα Εμμανουήλ Α. Τζωρτζακάκη, Διευθυντή Ερευνών του εργαστηρίου Νηματωδολογίας του Ελληνικού Γεωργικού Οργανισμού ‘ΔΗΜΗΤΡΑ’ για τις συμβουλές, το ενδιαφέρον καθώς και για την πολύτιμη βοήθεια του σε θέματα νηματωδολογίας καθ’όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της μεταπτυχιακής μου διατριβής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρα Δημήτριο Γκούμα εισηγητή μου και καθηγητή Φυτοπαθολογίας του Ελληνικού Μεσογειακού Πανεπιστημίου (ΕΛ.ΜΕ.ΠΑ.) για τις συμβουλές και τις οδηγίες του καθώς και για την ανάγνωση και βαθμολόγηση της μεταπτυχιακής μου διατριβής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	VI	
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	VII	
ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ.....	IX	
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	X	
ABSTRACT	XI	
1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	12
1.1.1	Ο ΜΥΚΗΤΑΣ VERTICILLIUM DAHLIAE KLEB.	12
1.1.2	ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ	13
1.1.3	ΕΥΡΟΣ ΞΕΝΙΣΤΩΝ.....	14
1.1.4	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ.....	14
1.1.5	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ.....	15
1.1.6	ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	17
1.1.7	ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	18
1.2.1	Ο ΜΥΚΗΤΑΣ FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. RADICIS-CUCUMERINUM	19
1.2.2	ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ	21
1.2.3	ΕΥΡΟΣ ΞΕΝΙΣΤΩΝ.....	21
1.2.4	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ.....	21
1.2.5	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ.....	23
1.2.6	ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	24
1.2.7	ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	25
1.3.1	Ο ΜΥΚΗΤΑΣ MONOSPORASCUS CANNONBALLUS	26
1.3.2	ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ	27
1.3.3	ΕΥΡΟΣ ΞΕΝΙΣΤΩΝ.....	28
1.3.4	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ.....	29
1.3.5	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ.....	30
1.3.6	ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	31
1.3.7	ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	32
1.4.1	Ο ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΗΣ ΜΕΛΟΙΔΟΓΥΝΕ JAVANICA.....	33
1.4.2	ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ - ΕΥΡΟΣ ΞΕΝΙΣΤΩΝ	33
1.4.3	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ.....	34
1.4.4	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ.....	35
1.4.5	ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	37
1.5	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	39

2	ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ.....	40
2.1	ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ <i>V. DAHLIAE</i>	40
2.2	ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ <i>FORC</i>	40
2.3	ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ <i>M. CANNONBALLUS</i>	41
2.4	ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ <i>M. JANAVICA</i>	41
2.5	ΦΥΤΩΡΙΑΚΟ ΥΛΙΚΟ.....	41
2.6	ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ <i>PDA, APDA</i> ΚΑΙ <i>PDB</i>	42
2.7	ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ ΚΑΙ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ.....	42
2.8	ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΜΕ ΤΡΙΠΛΑ ΠΑΘΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΟΥ-ΜΥΚΗΤΑ-ΝΗΜΑΤΩΔΗ	43
2.9	ΤΕΧΝΗΤΕΣ ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ ΦΥΤΩΝ.....	45
2.10	ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ	48
2.11	ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΝΗΜΑΤΩΔΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ	50
2.12	ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΦΥΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ.....	50
2.13	ΕΠΑΝΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΜΥΚΗΤΩΝ.....	51
2.14	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	52
3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	53
3.1.1	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΣΤΟ ΠΑΘΟΣΥΣΤΗΜΑ ΜΕΛΙΤΖΑΝΑ – <i>VERTICILLIUM DAHLIAE</i> – <i>MELOIDOGYNE JAVANICA</i>	53
3.1.2	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΣΤΟ ΠΑΘΟΣΥΣΤΗΜΑ ΑΓΓΟΥΡΙΑ – <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> F.SP. <i>RADICIS- CUCUMERINUM</i> – <i>MELOIDOGYNE JAVANICA</i>	56
3.1.4	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΣΤΟ ΠΑΘΟΣΥΣΤΗΜΑ ΠΕΠΟΝΙΑ – <i>MONOSPORASCUS CANNONBALLUS</i> – <i>MELOIDOGYNE JAVANICA</i>	59
3.1.5	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΝΕΡΓΙΣΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΥΚΗΤΑ – ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΗ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΣΤΑ ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΠΑΘΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ	61
4	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	65
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	70
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	73

ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ

Πίνακας Συν/σεων:

Οι συντομεύσεις που χρησιμοποιούνται μέσα στο κείμενο και στις Εικόνες / Σχήματα.

Συντόμευση	Πλήρες όνομα
(A)PDA	<i>(Acidified) Potato Dextrose Agar</i> – (Οξινισμένο) Πατάτα – δεξτρόζη – άγαρ
d.p.i.	<i>Days post inoculation</i> – Ημέρες μετά τη μόλυνση
F.o.r.c.	<i>Fusarium oxysporum f.sp. radicum- cucumerinum</i>
M.c.	<i>Monosporascus cannonballus</i>
M.j.	<i>Meloidogyne javanica</i>
V.d.	<i>Verticillium dahliae</i>
β.ε.	Βαθμοί ελευθερίας
ΔΟΡ	Δείκτης όγκων ρίζας
Θ	Θνησιμότητα
ΣΑ	Σοβαρότητα της ασθένειας
ΣΕ	Συχνότητα Επαναπομόνωσης
Σχ. AUDPC	Σχετική AUDPC (<i>Relative area under disease progress curve</i>)
TEA	Τελική ένταση της ασθένειας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μελέτη, αξιολογήθηκαν οι συνεργιστικές αλληλεπιδράσεις του κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* με τους εδαφογενείς μύκητες *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* (F.o.r.c.) και *Monosporascus cannonballus* έναντι ευαίσθητων φυτών-ξενιστών. Οι έμμεσες και άμεσες επιδράσεις εξετετάστηκαν εφαρμόζοντας κάθε παθογόνο (νηματώδη ή μύκητα) μόνο του ή και τα δύο παθογόνα μαζί, σε ολόκληρο το ριζικό σύστημα των φυτών ή στο αντίθετο μισό του ριζικού συστήματος χρησιμοποιώντας την τεχνική διαχωρισμού των ριζών (split root system), σε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς. Οι αλληλεπιδράσεις φυτού-μύκητα-νηματώδη εκτιμήθηκαν μετρώντας διάφορες παραμέτρους ασθένειας και ανάπτυξης στα φυτά ξενιστές. Σημαντική αύξηση των συμπτωμάτων της βερτισιλλίωσης καταγράφηκε στα φυτά μελιτζάνας όταν το *V. dahliae* και το *M. javanica* εφαρμόστηκαν ταυτόχρονα στο ίδιο με τη χρήση του συστήματος διαχωρισμού των ριζών (χωρίς να έρχονται σε άμεση επαφή ο μύκητας με το νηματώδη) σε σύγκριση με τα φυτά στα οποία τα δύο παθογόνα εφαρμόστηκαν από κοινού σε αδιαίρετη ρίζα, ερχόμενα σε άμεση επαφή μεταξύ τους. Επίσης, τα συμπτώματα της σήψης του λαιμού και στελέχους της αγγουριάς και τα συμπτώματα από τον κομβονηματώδη στα φυτά αγγουριάς ήταν σημαντικά εντονότερα όταν το F.o.r.c. εφαρμόστηκε σε συνδυασμό με το *M. javanica* μέσω του συστήματος διαχωρισμού της ρίζας σε σύγκριση με τα φυτά που εμβολιάστηκαν μεμονομένα με το κάθε παθογόνο στο ήμισυ του ριζικού συστήματος. Αντίθετα, στις βιοδοκιμές για το παθοσύστημα πεπονιά - *M. cannonballus* - *M. javanica* δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλληλεπιδράσεις. Οι πιθανές σχέσεις σε κάθενα από τα προαναφερθέντα τριπλά παθοσυστήματα παρουσιάζονται και συζητούνται για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία.

ABSTRACT

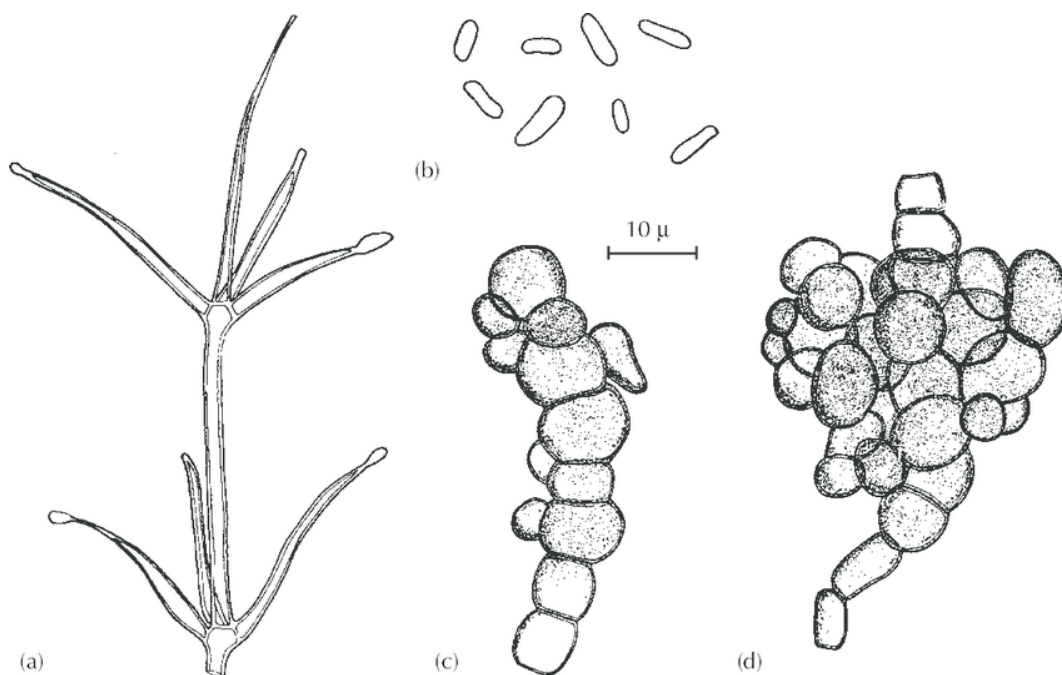
In the present study, synergistic interactions of the root-knot nematode *Meloidoyne javanica* (*M.j.*) with the soil-borne fungi *Verticillium dahliae* (*V.d.*), *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* (*F.o.r.c.*) and *Monosporascus cannonballus* (*M.c.*) against susceptible plant hosts were evaluated. Direct and indirect interactions were tested by applying each pathogen (nematode or fungus) alone or together on indivisible plant roots or on the opposite half of the root system by employing the split root technique, in all possible combinations. Plant-fungi-nematode interactions were estimated by measuring various disease and growth parameters on plant hosts. A significant increase of verticillium wilt symptoms was observed in eggplant when *V.d.* and *M.j.* were applied separately in split-root plants compared with symptoms in single root plants co-inoculated with the two pathogens. Moreover, root and stem rot and root knot symptoms in cucumber were more severe when *F.o.r.c.* was combined with *M.j.* via the split-root system than in plants inoculated with each pathogen alone in the one half of the root. On the contrary, no significant associations were observed in the case of melon-*M.c.*-*M.j.* interaction. The possible associations in each of the abovementioned triple pathosystems are presented and discussed for the first time in the literature.

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1.1 Ο μύκητας *Verticillium dahliae* Kleb.

Ο ασκομύκητας *Verticillium dahliae* Kleb. (συν. *V. albo-atrum* var. *medium* Wollenw, *V. ovatum* G.H. Berk. & A.B. Jacks, *V. trachiephilum* Curzi) ανήκει στην οικογένεια Plectosphaerellaceae, στην κλάση Sordariomycetes και προκαλεί τη βερτισιλλίωση (*Verticillium wilt*), μια τυπική αδρομύκωση η οποία απαντάται σε περισσότερα από 400 φυτικά είδη, όπως λαχανικά, ανθοκομικά, φυτά μεγάλης καλλιέργειας, ζιζάνια, καρποφόρα και δασικά δένδρα (Berlanger & Powelson; 2005; Carroll et al., 2017).

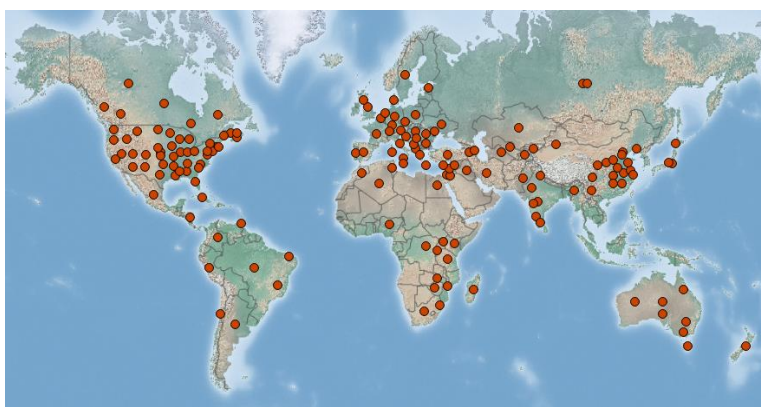
Ο *V. dahliae* σε καθαρή καλλιέργεια σχηματίζει λευκή αποικία, όπου στη συνέχεια γίνεται μαύρη λόγω του σχηματισμού μικροσκληρωτιών. Τα μικροσκληρώτια είναι μαύρα, αποτελούνται από κύτταρα που εκβλαστάνουν πλευρικά και το σχήμα του ποικίλλει από επίμηκες έως ωοειδές, διαστάσεων 15-50 (-100) μm (Εικόνα 1.d). Το *V. dahliae* σχηματίζει ελεύθερους άφθονους κονιδιοφόρους οι οποίοι είναι ανορθωμένοι, υαλώδεις και πολυκύτταροι, οι οποίοι διακλαδίζονται κατά σπόνδυλους σε 3-4 πλάγια κοντά μονοκύτταρα φιαλίδια (Εικόνα 1.4). Το μέγεθος των φιαλιδίων κυμαίνεται στα (16-35 x 1-2,5 μm). Σε σπάνιες περιπτώσεις τα φιαλίδια μπορεί να φέρουν διακλαδώσεις. Τα κονίδια κυρίως είναι υαλώδη και έχουν σχήμα ελλειψοειδές έως ακανόνιστο, υποκυλινδρικό. Γενικά δεν έχουν αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να φέρουν ένα εγκάρσιο διάφραγμα. Το είδος *V. dahliae* σχηματίζει κονίδια (σπόρια του μύκητα) μεγέθους (2,5-8x1,4-3,2 μm) (Hawksworth & Talboys, 1970). Στην κορυφή κάθε φιαλιδίου παράγονται διαδοχικά πολλά κονίδια τα οποία συγκρατούνται μεταξύ τους με μία κολλώδη ουσία και σχηματίζονται μικρές κεφαλές κονιδίων. Η απελευθέρωση των κονιδίων γίνεται με το νερό



Εικόνα 1.1. (a) Ανορθωμένοι κονιδιοφόροι, (b) φιαλιδοσπόρια, (c) άωρα και (d) ώριμα μικροσκληρώτια του μύκητα *Verticillium dahliae* (Ploetz & Freeman, 2009).

1.1.2 Γεωγραφική εξάπλωση

Η βερτισιλλίωση είναι ασθένεια με ευρεία γεωγραφική εξάπλωση όμως τα σοβαρά



Εικόνα 1.2. Γεωγραφική εξάπλωση του μύκητα *Verticillium dahliae* (<https://gd.eppo.int/taxon/VERTDA/distribution>)

προβλήματα τα προκαλεί κυρίως στις εύκρατες περιοχές και ιδιαίτερα στις αρδευόμενες καλλιέργειες (Berlanger και Powelson, 2005). Το παθογόνο έχει καταγραφεί σε πολλές χώρες του κόσμου και σε όλες τις ηπείρους (Εικόνα 1.2)

(EPPO, 2018). Στη χώρα μας έχει διαπιστωθεί ότι η βερτισιλλίωση προκαλείται αποκλειστικά από το είδος *V. dahliae* έπειτα από εκτεταμένη έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε πλήθος ξενιστών (Ligoxigakis and Vakalounakis, 1994).

1.1.3 Εύρος ξενιστών

Ο μύκητας *V. dahliae* θεωρείται εξαιρετικά πολυφάγος και υπολογίζεται ότι προσβάλλει περισσότερα από 400 είδη μονοετών και πολυετών δικοτυλήδων φυτών (Berlanger και Powelson, 2005) τα οποία ανήκουν σε 23 οικογένειες φυτών (Woolliams 1966). Στις οικονομικά σημαντικότερες οικογένειες είναι αυτές που περιλαμβάνουν τα καλλιεργούμενα είδη όπως η οικογένεια Solanaceae (τομάτα, μελιτζάνα, πιπεριά, πατάτα), Cucurbitaceae (πεπονιά και καρπουζιά), Malvaceae (μπάμια και βαμβάκι) και Compositae (αγκινάρα) κ.ά.. Επίσης, το παθογόνο προσβάλλει και δενδρώδη είδη με σημαντικότερα την ελιά, τη φυσικιά, τη βερικοκιά, τη ροδακινιά, τη δαμασκηλιά, την αμυγδαλιά, το αβοκάντο κ.α.. Από τα δασικά δένδρα προσβάλλονται η δρύς και κάποια είδη των γενών *Acer*, *Catalpa* και *Koerleuteria*. Επιπλέον, υπάρχουν αναφορές για το αμπέλι, το φασόλι, τα κουκιά, το μαρούλι, το σκόρδο, το αγγούρι, φυτά που ανήκουν στα γένη *Dahlia*, *Chrysanthemum*, *Geranium* και τέλος φυτά που ανήκουν στα γένη *Cercis*, *Hedera*, *Lonicera* κ.α. (Thanassouloropoulos and Kitsos, 1972; Ligoixigakis et al., 2002). Εκτός από τα καλλιεργούμενα είδη, το παθογόνο προσβάλλει μονοκοτυλήδονα (κυρίως σιτάρι και κριθάρι) και πολλά είδη ζιζανίων χωρίς όμως να προκαλεί συμπτώματα (Agiros 1988; Ligoixigakis et al., 2002).

1.1.4 Συμπτωματολογία

Η βερτισιλλίωση αποτελεί μια τυπική αδρομύκωση, επομένως είναι δύσκολη η διάγνωση της μέσω μακροσκοπικών συμπτωμάτων αφού αρκετά είδη του γένους *Fusarium* προκαλούν παρόμοια συμπτώματα (Eboigbe 2012). Τα συμπτώματα της βερτισιλλίωσης ποικίλλουν μερικώς ανάμεσα στον κύκλο ξενιστών της καθιστώντας την ασθένεια δύσκολο να αναγνωριστεί μέσω τυπικών παθογνωμικών συμπτωμάτων (Berlanger and Powelson, 2005). Συνήθως, τα συμπτώματα της ασθένειας εκδηλώνονται



Εικόνα 1.3. Σύμπτωμα φύλλου σημαίας σε φυτό μελιτζάνας προερχόμενο από το μύκητα *V. dahliae*.

κυρίως στα ανεπτυγμένα φυτά, συχνά μετά την καρπόδεση. Αρχικά, στα φύλλα της βάσης του φυτού παρατηρείται σταδιακή απώλεια του πράσινου χρώματος τα οποία στη συνέχεια γίνονται χλωρωτικά και εμφανίζουν χλωρωτικούς τομείς. Προοδευτικά τα φύλλα της βάσης καταρρέουν, ενώ τα συμπτώματα προχωρούν προς την κορυφή του φυτού. Ταυτόχρονα εκδηλώνεται μαρανση των φύλλων (φύλλο σημαία) (εικόνα 1.3), που στην αρχή είναι εμφανές στο φυτό κατά τη διάρκεια των θερμότερων και ηλιόλουστων ωρών της μέρας, κυρίως το μεσημέρι, ενώ αργότερα γίνεται μόνιμο όπου οδηγεί στην κατάρρευση και τελικά στο θάνατο του φυτού. Η βερτισιλλίωση εξελίσσεται συνήθως αργά, αλλά σε συνθήκες έντονης καταπόνησης (π.χ. μεγάλο φορτίο κ.λπ.), η ασθένεια εξελίσσεται ταχύτερα. Εσωτερικά του φυτού, οι αγγειώδεις δεσμίδες παρουσιάζουν κιτρινοκαστανό μεταχρωματισμό που εκτείνεται από τη ρίζα ως ψηλά στο στέλεχος και είναι εντονότερος στους κόμβους (Εικόνα 1.4). Ο μεταχρωματισμός είναι εμφανής στις ρίζες και σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να είναι ακόμη και σε αγγεία καρπών ορισμένων φυτών το οποίο είναι αποτέλεσμα της οξειδωσης των φαινολικών ενώσεων στα αγγεία του ξύλου και στα γειτονικά παρεγχυματικά τους κύτταρα (Huisman et al., 1989).

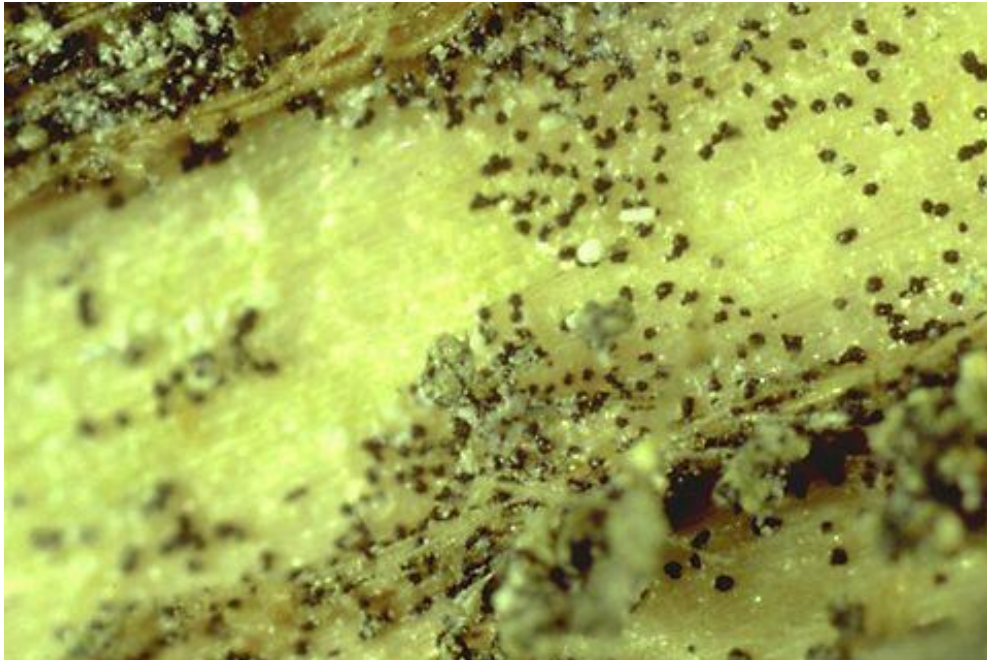


Εικόνα 1.4. Καστανόχρωμος μεταχρωματισμός σε αγγειώδεις δεσμίδες σε στέλεχος φυτού μελιτζάνας.

1.1.5 Βιολογικός κύκλος

Η ασθένεια που προκαλείται από τον μύκητα *V. dahliae* είναι μονοκυκλική, δηλαδή ολοκληρώνεται σε μια καλλιεργητική περίοδο και διακρίνεται σε τρεις βλαστικές φάσεις, την παρασιτική, τη σαπροφυτική και τη διαχειμάζουσα, ενώ μέχρι σήμερα δεν μας είναι γνωστή η σεξουαλική του αναπαραγωγή. Κατά την παρασιτική φάση, τα μικροσκληρώτια τα οποία βρίσκονται στο έδαφος διεγείρονται από εκκρίσεις των ριζών και βλαστάνουν. Τα μικροσκληρώτια αποτελούν το εδαφογενές και μολυσματικό

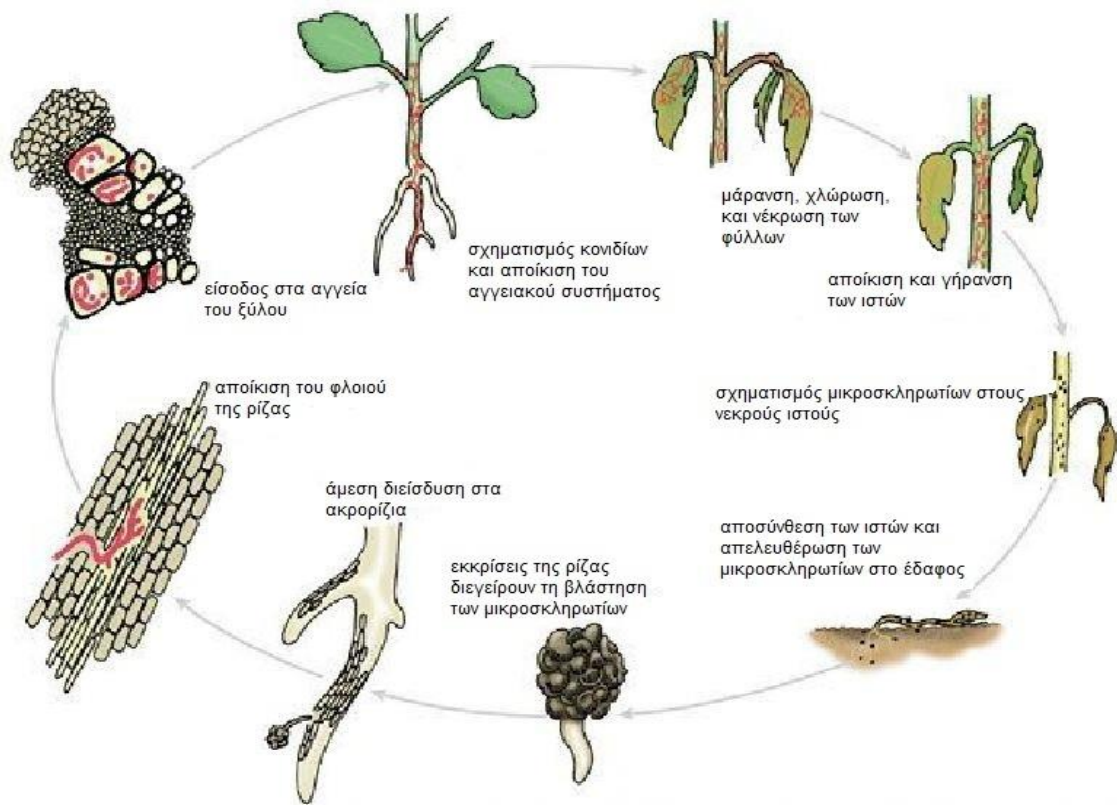
πολλαπλασιαστικό όργανο του μύκητα και με αυτή τη μορφή επιβιώνει στο έδαφος (Εικόνα 1.5).



Εικόνα 1.5. Μικροσκληρώτια του μύκητα *Verticillium dahliae* (Berlanger and Powelson, 2000).

Σχηματίζονται κατά το σαπροφυτικό στάδιο του παθογόνου, δηλαδή όταν οι προσβεβλημένοι από το παθογόνο φυτικοί ιστοί νεκρωθούν. Το παθογόνο με αυτή τη μορφή διατηρείται και επιβιώνει για 8-14 χρόνια, απουσία ξενιστών. Οι μολύνσεις των φυτών γίνονται κυρίως από τις ρίζες στη ζώνη επιμήκυνσης τους με απ' ευθείας είσοδο του παθογόνου μέσω των αναπτυσσόμενων υφών. Η είσοδος του παθογόνου διευκολύνεται ιδιαίτερα από πληγές που προκαλούνται στις ρίζες από νηματώδεις ή έντομα στις ρίζες. Οι εκκρίσεις εντοπίζονται κυρίως στη ζώνη επιμηκύνσεως και οι συγκεκριμένες θέσεις αποτελούν την κύρια πύλη εισόδου του μύκητα. Ο μύκητας έχει τη δυνατότητα να διαπερνά απ' ευθείας τα κύτταρα, τα οποία σχηματίζουν τα ριζικά τριχίδια, την καλύπτρα της ρίζας και τα επιδερμικά κύτταρα της περιοχής αυξήσεως της ρίζας (Huisman et al., 1989). Αφού εισέλθει στο φυτό από τις ρίζες, εγκαθίσταται και αποικίζει τα αγγεία του ξύλου κατά μήκος του βλαστού, με τη βοήθεια του ανιόντος ρεύματος. Καθώς στο φυτό αρχίζουν να εμφανίζονται συμπτώματα, ο μύκητας εισέρχεται στην σαπροφυτική του φάση, όπου σηματοδοτείται ο σχηματισμός μικροσκληρώτιων, κατασκευές οι οποίες

βοηθούν το μύκητα να επιβιώσει υπό την απουσία ξενιστή στο έδαφος ή σε φυτικά υπολείμματα, και αποτελεί τη διαχειμάζουσα φάση του παθόγου (Σχήμα 1.1) (Eboigbe 2012).



Σχήμα 1.1 Βιολογικός κύκλος του *Verticillium dahliae* (Berlanger and Powelson, 2005).

1.1.6 Επιδημιολογία

Ο μύκητας επιβιώνει στα φυτικά υπολείμματα και σε άλλα οργανικά υλικά στο έδαφος μέχρι βάθους 60-70 cm και σπανιότερα βαθύτερα από το ένα μέτρο, με τη μορφή μικροσκληρωτίων. Επίσης, μπορεί να διατηρηθεί στους πολυπληθείς ξενιστές του που λειτουργούν ως ρεζερβουάρ μόλυσματος. Η διασπορά των μολυσμάτων πραγματοποιείται συνήθως με τα υπολείμματα των καλλιεργειών, με το έδαφος που μεταφέρεται με γεωργικά εργαλεία και υποδήματα αλλά και με όργανα πολλαπλασιασμού των προσβλημένων φυτών (Βακαλουνάκης 2006). Η ασθένεια ευνοείται σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες (20-23°), ενώ περιορίζεται στις υψηλές παρότι τα μολυσμένα φυτά δεν ανακάμπτουν. Ημέρες με μικρή φωτοπερίοδο και χαμηλή ηλιοφάνεια αυξάνουν την ευπάθεια των φυτών στην

ασθένεια. Η ανάπτυξη του μύκητα είναι μικρότερη σε όξινα pH και σταματά τελείως σε pH με τιμή 4 (Hawksworth & Talboys, 1970; Ligoixigakis et al., 2002).

1.1.7 Αντιμετώπιση

Για την βερτισιλλίωση τα χημικά μέσα χαρακτηρίζονται ως αναποτελεσματικά, επομένως για την αντιμετώπιση της ακολουθείται ένα σύνολο μέτρων που σκοπό έχουν την πρόληψη (Παναγόπουλος 2007). Ειδικότερα, συστήνονται καλλιεργητικά μέτρα που περιλαμβάνουν την αποφυγή δημιουργίας πληγών με τα καλλιεργητικά εργαλεία στην περιοχή του λαιμού και των ριζών, την αποφυγή άρδευσης των δένδρων με αυλάκια καθώς τα μολύσματα μεταφέρονται με το νερό στα υγιή δένδρα ή στα ετήσια φυτά. Χρησιμοποίηση υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού σε αμόλυντο αγρό. Επίσης συστήνεται η αποφυγή χρήση κοπριάς που μπορεί να περιέχει υπολείμματα φυτών μολυσμένων με το μύκητα, η αποφυγή συγκαλλιέργειας των δένδρων με ετήσια φυτά, καθώς και αποφυγή της μονοκαλλιέργειας. Η καταπολέμηση ειδών ζιζανίων πολλά από τα οποία είναι ξενιστές και συμβάλλουν στην αύξηση και διάδοση του μολύσματος αλλά και η εκρίζωση των προσβεβλημένων φυτών, η απομάκρυνση και η καταστροφή τους με κάψιμο θεωρούνται σημαντικά μέτρα περιορισμού της ασθένειας. Παρόμοια διαδικασία (απομάκρυνση και καταστροφή) ακολουθείται και για τα υπολείμματα της καλλιέργειας που έχει εμφανίσει συμπτώματα βερτισιλλίωσης. Σε περιπτώσεις εκδήλωσης συμπτωμάτων στις δενδρώδεις καλλιέργειες, πραγματοποιείται αφαίρεση των προσβεβλημένων κλάδων σε απόσταση 20-30 cm κάτω από το σημείο μαρασμού και καταστροφή με φωτιά. Εφαρμογή ισορροπημένης λίπανσης, αποφυγή υπερβολικών αζωτούχων λιπάνσεων που ευνοούν την ασθένεια αλλά και βαθέως οργώματος-φρεζαρίσματος λόγω πρόκλησης πληγών στο ριζικό σύστημα (Βακαλουνάκης 2006) είναι μέτρα υψίστης σημασίας. Επίσης, η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών φαίνεται να αποτελεί τον πιο αποτελεσματικό τρόπο για τον έλεγχο της ασθένειας. Ακόμη, η χρήση τους αποτελεί μια οικονομική λύση, αφού δεν απαιτείται η εφαρμογή πρόσθετων χημικών σκευασμάτων (Ζιώγας & Γεωργόπουλος, 1992). Όμως, ενώ η δημιουργία τους ανθεκτικών ποικιλιών απαιτεί πολλή προσπάθεια και χρόνο, τα αποτελέσματα που προκύπτουν πολλές φορές είναι πρόσκαιρα. Η ηλιοαπολύμανση αποτελεί μια γεωργική φυτοπαθολογική τεχνική απολυμάνσεως του εδάφους. Είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος αντιμετώπισης του παθογόνου και η εφαρμογή της έχει δώσει

άριστα αποτελέσματα. Ανήκει στην προληπτική αντιμετώπιση παθογόνων εδάφους και εφαρμόζεται κυρίως σε ετήσιες καλλιέργειες, υπαίθριες ή θερμοκηπίου. Επίσης, αποτελεί προληπτική αλλά και θεραπευτική μέθοδο στις δενδρώδεις καλλιέργειες με ελπιδοφόρα αποτελέσματα για την καταπολέμηση του *V. dahliae*. Μία μέθοδος που εφαρμόζεται στα σπορεία αποτελεί η αποστείρωση του εδάφους η οποία πραγματοποιείται με τη διοχέτευση θερμού ατμού και αέρα θερμοκρασίας 70 °C. Η μέθοδος αυτή θανατώνει όλους τους μικροοργανισμούς ωφέλιμους και μη αδιακρίτως. Δημιουργεί τελειότερο “βιολογικό κενό” από την απολύμανση του εδάφους με τα ισχυρά απολυμαντικά και ο κίνδυνος από μια επαναμόλυνση είναι μεγαλύτερος. Επιπροσθέτως, με την εξόντωση των νιτροποιητικών βακτηρίων μειώνεται και η γονιμότητα των εδαφών.

Σε πειραματικές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν παλαιότερα δοκιμάστηκε η χημική καταπολέμηση της βερτισιλλίωσης με τη χρήση benomyl, carbendazim και thiophanate-methyl. Κατά τη χρήση των φαρμάκων αυτών χρησιμοποιήθηκαν μεγάλες ποσότητες δραστικής ουσίας (24 - 56 kg / στρ.) που επέφεραν υψηλό κόστος, ωστόσο είχαν αμφίβολο αποτέλεσμα (Βακαλουνάκης 2006).

1.2.1 Ο μύκητας *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*

Ο ασκομύκητας *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. f.sp. *radicis-cucumerinum* D.J. Vakalounakis, Nectriaceae, Sordariomycetes προκαλεί την σήψη των ριζών και του στελέχους της αγγουριάς και πεπονιάς (*Fusarium* root and stem rot) (Vakalounakis 1996; Βακαλουνάκης 2002; EPPO 2010). Η εμφάνιση των αποικιών του παθογόνου στα τεχνητά θρεπτικά υποστρώματα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία. Στους 23°C και σε οξιμισμένο PDA οι αποικίες φέρουν άφθονο εναέριο μυκήλιο, άφθονα πρασινοκυανά σκληρώτια και πολυάριθμα μικροκονίδια και μακροκονίδια σε σποριοδόχεια. Τα μικροκονίδια σχηματίζονται σε βραχείς κονιδιοφόρους και είναι μονοκύτταρα, ελλειψοειδή, ελαφρώς κεκαμμένα, κυλινδρικά ή σφαιρικά με διαστάσεις $8,3\pm 3,59$ (2,4-21,8) x $2,8\pm 0,52$ (2,4-4,4)μm. Τα μακροκονίδια είναι υαλώδη, ελαφρά έως πολύ κεκαμμένα με 1-4 διαφράγματα και έχουν διαστάσεις $30,1\pm 4,58$ (19,3-41,1) x $4,1\pm 0,69$ (2,4-4,8)μm. Επίσης, ο μύκητας σχηματίζει γλαυδοσπόρια, τα οποία είναι μονοκύτταρα, κυρίως σφαιρικά ή ελλειψοειδή, υαλώδη έως ελαφρώς καστανά, με λεία επιφάνεια, επάκρια ή ενδιάμεσα και οι διαστάσεις τους κυμαίνονται από $8,7\pm 1,91$ (4,8-14,5)μm

(Vakalounakis 1996, Βακαλουνάκης 2002) (Εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1. Μορφολογικά χαρακτηριστικά του μύκητα *Fusarium oxysporum* **A:** Μικροκονίδια ωειδούς και νεφροειδούς σχήματος **B:** Μακροκονίδια με λεπτά τοιχώματα δρεπανοειδούς σχήματος **C:** Μικροκονίδια που έχουν παραχθεί σε ψευδείς κεφαλές σε κοντά μονοφαλίδια και **D:** χλαμυδοσπόριο (Fourie et al., 2011).

Ο μύκητας *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* είναι διαφορετικό παθογόνο από τους μύκητες *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum* J.H. Owen (αδροφουζαρίωση της αγγουριάς) και *F. oxysporum* f.sp. *melonis* W.C. Snyder & H.N. Hans. (αδροφουζαρίωση της πεπονιάς) αλλά και από το μύκητα *F. solani* (Mart.) Sacc. f.sp. *cucurbitae* W.C. Snyder & H.N. Hans. (σήψη του λαιμού και των ρίζων των κολοκυνθοειδών). Συγκεκριμένα, ο μύκητας *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*, δεν είναι τυπικό παθογόνο αδρομύκωσης, όπως συμβαίνει με τις φυλές 1, 2 και 3 του μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*, αλλά κυρίως προκαλεί σήψεις στο λαιμό, τις ρίζες και το στέλεχος των οποίων η ανάπτυξη ευνοείται σε διαφορετικές θερμοκρασίες από την αδρομύκωση που προκαλεί ο μύκητας *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum*. Επίσης, ο μύκητας *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* προκαλεί διαφορετικά συμπτώματα στην πεπονιά από αυτά που προκαλεί ο *F. oxysporum* f. sp. *melonis* και ξεχωρίζει πολύ εύκολα από το μύκητα *F. solani* f.sp. *cucurbitae* στη μορφολογία των μικροκονιδιοφόρων

(Vakalounakis 1996; Βακαλουνάκης & Φραγκιαδάκης 1999; Βακαλουνάκης 2002).

1.2.2 Γεωγραφική εξάπλωση

Η σήψη των ριζών και του στελέχους (*Fusarium root and stem rot*) περιγράφηκε για πρώτη φορά παγκόσμια από τον Βακαλουνάκη (1996) στην Κρήτη ως μια πολύ σοβαρή ασθένεια των θερμοκηπιακών καλλιέργειών αγγουριάς (Vakalounakis 1996). Η ασθένεια διαπιστώθηκε για πρώτη φορά, κατά την καλλιεργητική περίοδο 1989-90, σε υπό κάλυψη καλλιέργεια αγγουριού κοντά στην περιοχή της Ιεράπετρας. Πολύ σύντομα το παθογόνο εξαπλώθηκε σε ολόκληρο το νησί, όπου σήμερα αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα φυτοπαθολογικά προβλήματα. Το 1994 η ασθένεια διαπιστώθηκε στην Πελοπόννησο και εξαπλώθηκε στο μεγαλύτερο μέρος της μέσα σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα. Στην υπόλοιπη Ελλάδα δεν έχουν γίνει σχετικές αναφορές για την ασθένεια (Vakalounakis 1996; Βακαλουνάκης & Φραγκιαδάκης 1998, 1999; Vakalounakis & Fragkiadakis 1999; Pavlou et al., 2002). Η ασθένεια καταγράφηκε το 1996 στον Καναδά (Cerkauskas & Brown 2001), το 1998 στη Γαλλία (Reverchon et al., 2000), το 1999 στην Ισπανία (Moreno et al., 2001), το 2000 στην Κίνα (Vakalounakis et al., 2004), το 2009 στην Τουρκία (Karaca & Kahveci, 2010) και το 2015 στην Ιταλία (Garibaldi et. al., 2016).

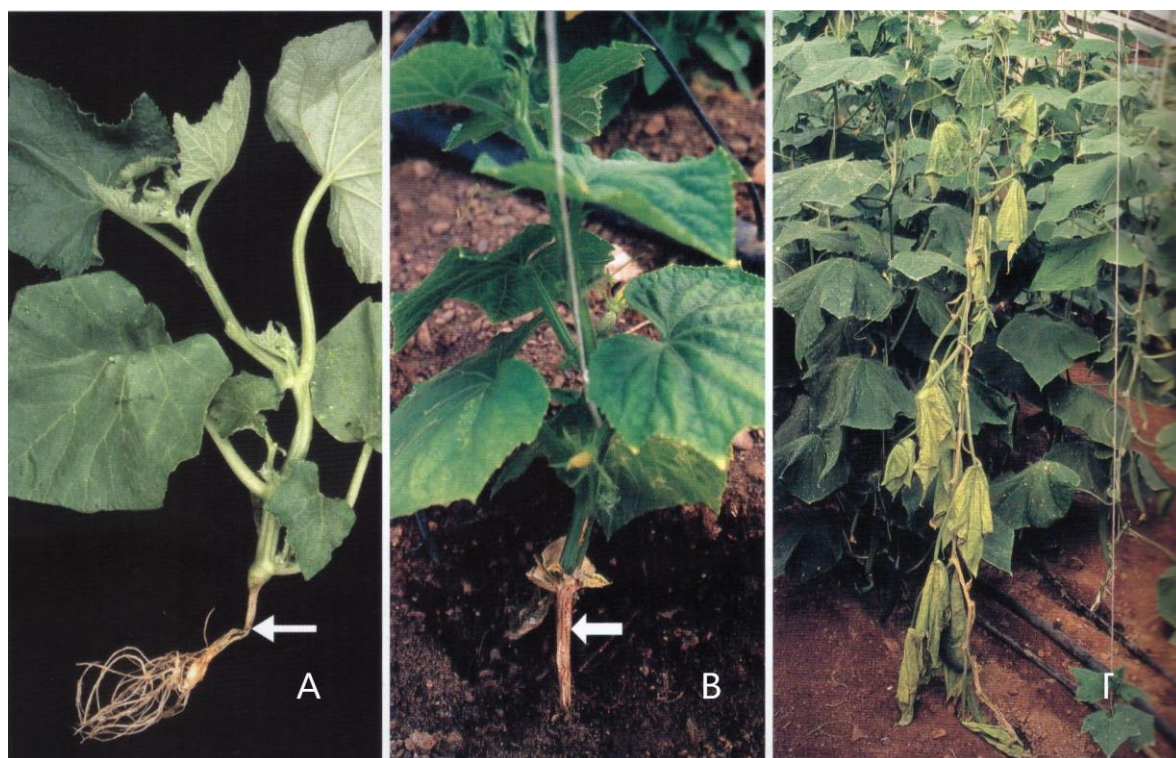
1.2.3 Εύρος ξενιστών

Ο μύκητας *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* έχει πολύ μικρό φάσμα ξενιστών καθώς έχει βρεθεί ότι προσβάλλει την αγγουριά (*Cucumis sativus* L.) (Vakalounakis 1996) και την πεπονιά (*C. melo* L.) (Vakalounakis et al., 2005). Σε συνθήκες τεχνητών μολύνσεων διαπιστώθηκε ότι το παθογόνο μπορεί να προσβάλλει και τα λίφια (*Luffa aegyptiaca* Mill.) (Vakalounakis 1996).

1.2.4 Συμπτωματολογία

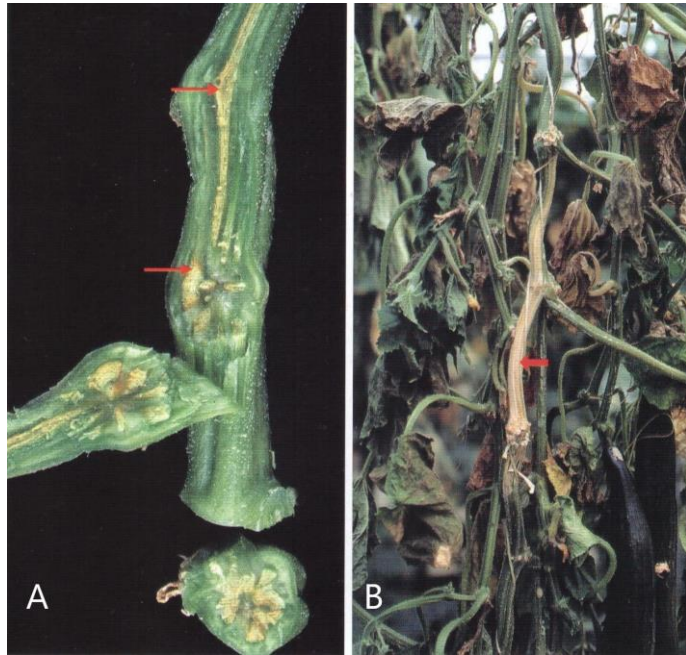
Τα πρώτα συμπτώματα της ασθένειας εμφανίζονται στις θερμοκηπιακές καλλιέργειες αγγουριάς σε νεαρά φυτά ηλικίας περίπου ενός μηνός. Στην αρχή, τα φυτά παρουσιάζουν στην περιοχή του λαιμού και προς τη μια πλευρά του στελέχους, σήψη με

αλλοίωση του χρώματος του ιστού, όπου από πράσινο γίνεται ανοικτό πράσινο και αργότερα καστανό. Η σήψη αυτή σε συνθήκες υψηλής υγρασίας καλύπτεται από λευκοπορτοκαλί εξάνθηση, η οποία αποτελείται από τις καρποφορίες του παθογόνου (Vakalounakis 1996; Βακαλουνάκης & Φραγκιαδάκης 1999; Βακαλουνάκης 2002). Καθώς η ασθένεια εξελίσσεται, ο λαιμός και το ριζικό σύστημα των φυτών παρουσιάζει πλήρη σήψη που οδηγεί σε κατάρρευση του φυτού. Τα φυτά στην αρχή παρουσιάζουν καθυστερημένη ανάπτυξη, αργότερα μάρανση και στο τέλος νέκρωση. Όμως, τις περισσότερες φορές, τα πρώτα συμπτώματα της ασθένειας εμφανίζονται κυρίως σε ανεπτυγμένα φυτά, που βρίσκονται στο στάδιο της παραγωγής, με μεσονεύριες χλωρώσεις και αργότερα νεκρώσεις στα κατώτερα φύλλα, κιτρίνισμα των φύλλων και μάρανση των φυτών (Vakalounakis 1996; Βακαλουνάκης & Φραγκιαδάκης 1999; Βακαλουνάκης 2002). Στην περιοχή του λαιμού του φυτού και συνήθως από τη μια πλευρά του στελέχους συχνά δημιουργείται ένα διαμήκες σχίσσιμο, από το οποίο εμφανίζεται η λευκοπορτοκαλί εξάνθηση (Εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1.: **A:** Σήψη του κατώτερου μέρους του στελέχους και της ρίζας νεαρού φυτού αγγουριάς λόγω της προσβολής από το μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*. **B:** Πορτοκαλόχρωμη εξάνθηση στο λαιμό λόγω των καρποφοριών του μύκητα. **Γ:** Μάρανση και κατάρρευση φυτού αγγουριάς προσβεβλημένου από το παθογόνο (Από Βακαλουνάκης 2006, Ασθένειες των κολοκυνθοειδών Διάγνωση & Αντιμετώπιση)

Παράλληλα, στα αγγεία του ξύλου παρατηρείται καστανός μεταχρωματισμός (Εικόνα 2.1) που μπορεί να φτάσει έως και 2 μέτρα από την επιφάνεια του εδάφους (Vakalounakis 1996; Βακαλουνάκης & Φραγκιαδάκης 1999; Βακαλουνάκης 2002). Σε εδάφη με υψηλό δυναμικό μολύσματος, η ασθένεια μπορεί να εκδηλωθεί απότομα με ξαφνική μαρανση των φυτών χωρίς όμως να έχει προηγηθεί κιτρίνισμα στα φύλλα. Στην πεπονιά τα συμπτώματα της ασθένειας είναι παρόμοια με αυτά που εμφανίζονται στην αγγουριά. Η ασθένεια που προκαλείται από το μύκητα *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* διακρίνεται εύκολα από την αδροφουζαρίωση της αγγουριάς και της πεπονιάς που προκαλείται αντίστοιχα από τους μύκητες *F. oxysporum* f.s.p. *cucumerinum* και *F. oxysporum* f.sp. *melonis*, αφού στην περίπτωση των αδρομυκώσεων δεν παρατηρείται διάμηκες σχίσσιμο και σήψη στο στέλεχος των φυτών (Βακαλουνάκης 2006).

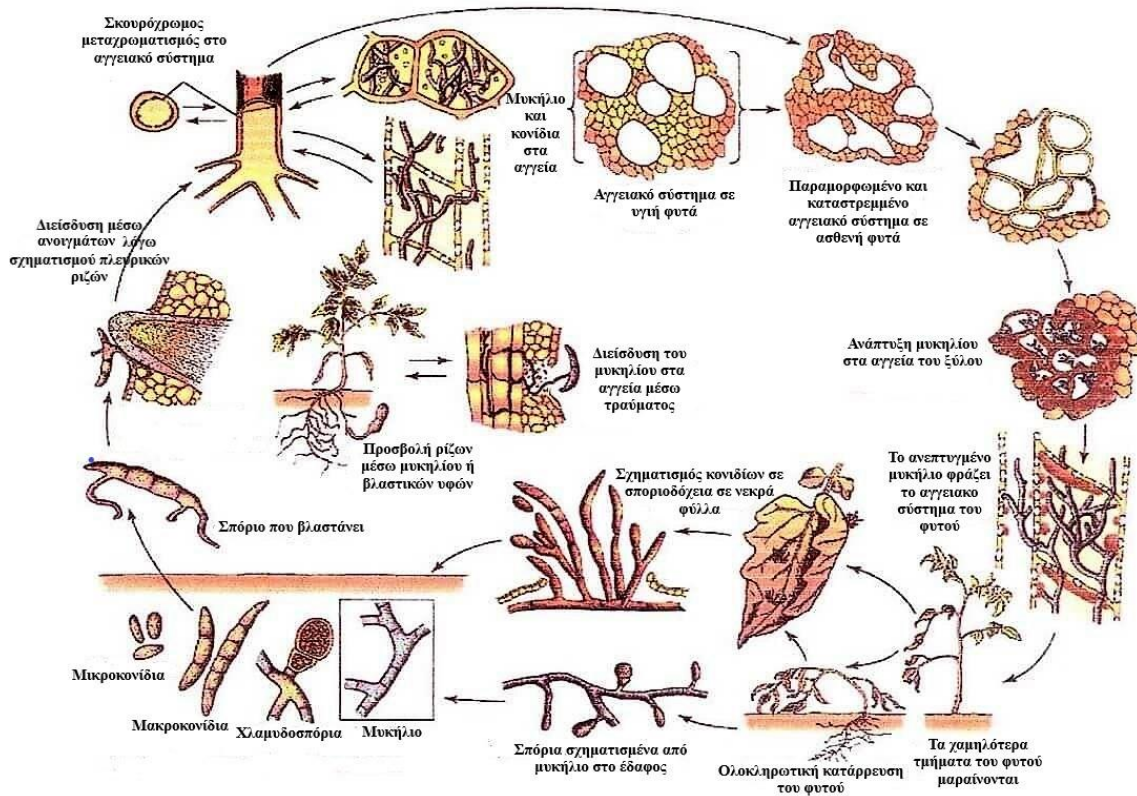


Εικόνα 2.1. A: Καστανός μεταχρωματισμός αγγείων του ξύλου σε κατά μήκος και κατά πλάτος τομές σε στέλεχος φυτού αγγουριάς με προσβολή από το μύκητα *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* **B:** Σήψη με λευκοπορτοκαλί εξάνθηση η οποία φέρει καρποφορίες του παθογόνου σε στέλεχος φυτού αγγουριάς (Από Βακαλουνάκης 2006, Ασθένειες των κολοκυνθοειδών, Διάγνωση & Αντιμετώπιση.)

1.2.5 Βιολογικός κύκλος

Ο μύκητας *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* διαχειμάζει στα φυτικά υπολείμματα και στο έδαφος μέσω του σχηματισμού χλαμυδοσπορίων από τη μια καλλιεργητική περίοδο στην άλλη (Vakalounakis & Chalkias 2004). Σπόρια του παθογόνου που παράγονται στις προσβλημένες περιοχές του λαιμού και του στελέχους των φυτών μεταφέρονται σε μικρές αποστάσεις με τον αέρα και τα έντομα, προκαλώντας μόλυνση του εδάφους ή προσβολή του υπέργειου μέρους (στελέχη) των φυτών μέσω

προϋπαρχουσών πληγών (σχήμα 2.1) (Βακαλουνάκης & Φραγκιαδάκης 1999; Βακαλουνάκης 2002).



Σχήμα 1.2. Βιολογικός κύκλος *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicle-lycopersici* (Agiros 2005).

1.2.6 Επιδημιολογία

Η ασθένεια ευνοείται σε ευρύ φάσμα θερμοκρασιών με άριστο στις χαμηλές θερμοκρασίες με τιμές περί τους 17°C. Αντίθετα, η ασθένεια ‘αδροφουζαρίωση της αγγουριάς και της πεπονιάς’ (παθογόνα *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* και *F. oxysporum* f.sp. *melonis*, αντίστοιχα), ευνοείται σε σχετικά υψηλές θερμοκρασίες με βέλτιστη γύρω στους 29 °C. Επομένως, το παθογόνο θεωρείται παράσιτο σχετικά χαμηλών θερμοκρασιών, όπου προσβάλλει συνήθως τις πρώιμες καλλιέργειες, όμως σε κάποιες περιπτώσεις το παθογόνο δημιουργεί σοβαρά προβλήματα και κατά τους θερινούς μήνες, όταν υπάρχει περίσσεια υγρασίας, όταν υπάρχει μεγάλη διαφορά στην θερμοκρασία μέρας και νύκτας ή όταν η παθογόνος ικανότητα των στελεχών του παθογόνου είναι μεγάλη (Vakalounakis 1996; Vakalounakis & Fragkiadakis 1999; Βακαλουνάκης 2002; Βακαλουνάκης & Φραγκιαδάκης 1999).

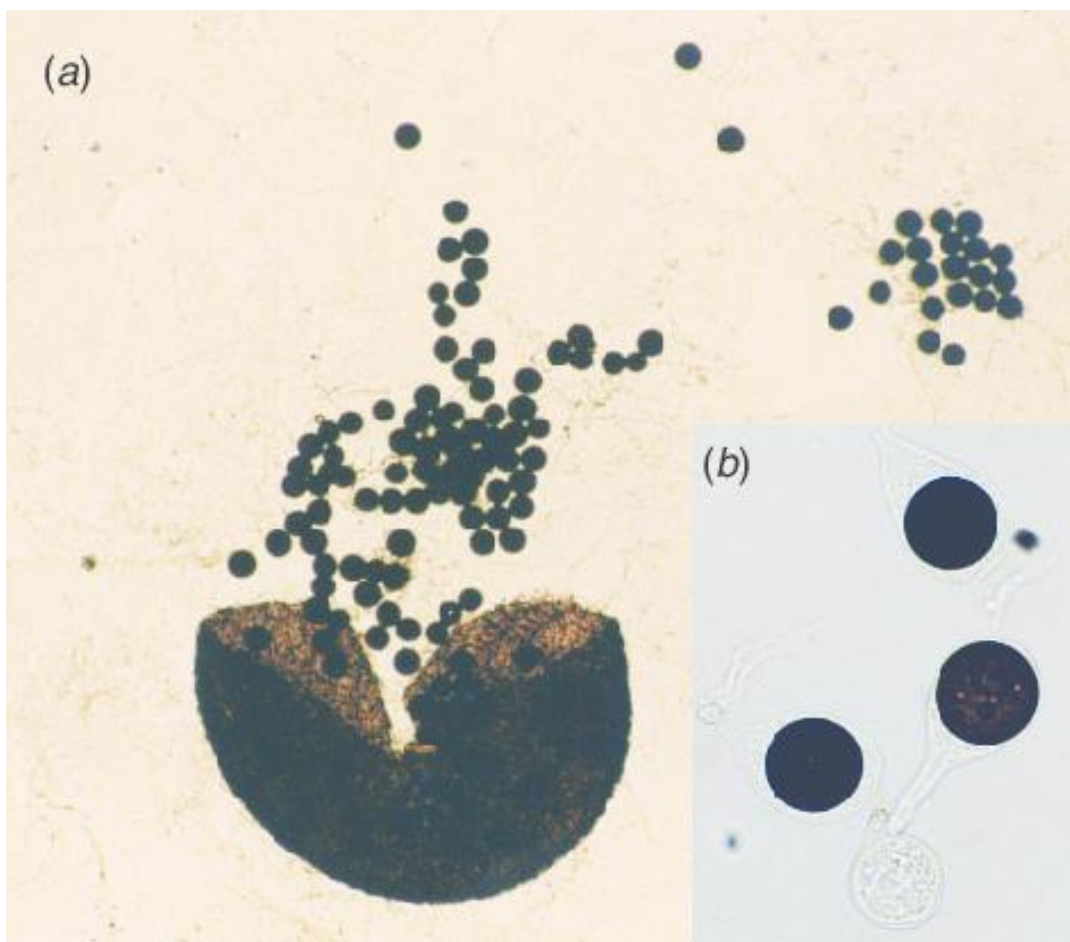
1.2.7 Αντιμετώπιση

Για την αντιμετώπιση της συγκεκριμένης ασθένειας συστήνεται η καταστροφή υπολειμμάτων της προηγούμενης καλλιέργειας με την χρήση φωτιάς να αποτελεί τον πιο αξιόλογο τρόπο καταστροφής (Βακαλουνάκης 2006). Επίσης, η εναλλαγή καλλιεργειών κολοκυνθοειδών με άλλες οικογένειες φυτών (αμειψισπορά) για μερικά χρόνια αποτελεί σημαντικό μέτρο το οποίο όμως μειώνει την ένταση της ασθένειας σε μικρό βαθμό λόγω της ικανότητας του παθογόνου να σχηματίζει χλαμυδοσπόρια στο έδαφος τα οποία το βοηθούν να επιβιώνει για πολλά χρόνια. Σε όποιες περιοχές είναι εφικτό, συστήνεται να γίνεται η φύτευση αγγουριάς και πεπονιάς σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τέλος Αυγούστου με αρχές Σεπτεμβρίου ή νωρίς την άνοιξη κατά το Μάρτιο με Απρίλιο. Με αυτόν το τρόπο, μειώνεται η ένταση των συμπτωμάτων λόγω του ότι η περίοδος καλλιέργειας των φυτών δεν ταυτίζεται με τις περιόδους των ευνοικών κλιματολογικών συνθηκών για την ανάπτυξη της ασθένειας (διαφυγή από την ασθένεια). Υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι η είσοδος του παθογόνου έγινε στην Ελλάδα με εισαχθείσες κομπόστες με προέλευση την Ολλανδία το 1989. Συνεπώς, η χρησιμοποίηση υγιούς σπόρου απαλλαγμένου από φυτοπαράσιτα καθώς και η απολύμανση των οργανικών υποστρωμάτων πριν από κάθε χρήση για λόγους ασφαλείας αποτελούν σημαντικά μέτρα αντιμετώπισης. Ακόμη, χρησιμοποιείται ευρέως και αποτελεί ένα από τους αποτελεσματικότερους τρόπους αντιμετώπισης της ασθένειας στην πράξη ο εμβολιασμός σε ανθεκτικά υποκείμενα κολοκυνθοειδών. Τα υποκείμενα που χρησιμοποιούνται με επιτυχία είναι το *Cucurbita ficifolia*, το *C. moschata* και το υβρίδιο *C. maxima* x *C. moschata*. Η ενσωμάτωση στο έδαφος υπολειμμάτων μαρουλιών πριν την εγκατάσταση της κύριας καλλιέργειας, έχειδειχθεί ότι μπορεί να μειώσει σημαντικά τη συχνότητα και τη σοβαρότητα της ασθένειας. Σημαντικό θεωρείται κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας να γίνεται απομάκρυνση των ύποπτων φυτών για την αποφυγή της εξάπλωσης του παθογόνου. Η μέθοδος της ηλιοαπολύμανσης έχει επίσης αποδειχθεί αποτελεσματική για την αντιμετώπιση της ασθένειας στην πράξη. Η χημική αντιμετώπιση κυρίως μέσω απολύμανσης του εσωτερικού χώρου των θερμοκηπίων με ψεκάσμο, πριν από την φύτευση και κατά τη διάρκεια περιόδων με υψηλές θερμοκρασίες (καλοκαίρι) με διάλυμα φορμόλης, η απολύμανση του εδάφους των θερμοκηπίων με ευρέως φάσματος απολυμαντικά και η εφαρμογή ριζοποτισμάτων με μυκητοκτόνα αποφέρει σημαντικά οφέλη, αλλά έχουν υψηλό κόστος. Τέλος, συστήνεται η καταπολέμηση των σκιαριδών

(*Lycoriella* spp., *Bradysia* spp.) τα οποία είναι δίπτερα που με τις προνύμφες τους προσβάλλουν το ριζικό σύστημα των φυτών και μπορούν μέσω του ακμαίου τους να μεταφέρουν την ασθένεια σε υγιή φυτά (Βακαλουνάκης 2006).

1.3.1 Ο μύκητας *Monosporascus cannonballus*

Ο ασκομύκητας *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker {συν. *M. Eutypoides* (Petraik) von Arx} Sordariomycetes, Sordariales είναι θερμοφίλος και προκαλεί την σήψη των ριζών και την παρακμή των κολοκυνθοειδών (*Monosporascus* root rot, *Monosporascus* root rot and vine decline, *Monosporascus* wilt, sudden wilt, vine decline, melon collapse, black pepper root rot) (Βακαλουνάκης 2006; Martyn 2002; EPPO 2001; Balbino 2015). Ο μύκητας παράγει περιθήκια πάνω στις προσβλημένες ρίζες των φυτών πριν το τέλος της καλλιέργειας τα οποία είναι σχεδόν σφαιρικά, με ανοικτό έως σκούρο καστανό χρωματισμό και περιέχουν 200 ή και περισσότερους ασκούς (Βακαλουνάκης 2006, Agrios 2005). Οι ασκοί είναι ροπαλοειδείς έως απιοειδείς, με στύπο και παχιά τοιχώματα, μήκους 56-90 x 30-35 μm, συμπεριλαμβανομένου του στύπου. Κάθε ασκός περιέχει συνήθως ένα ασκοσπόριο, όμως έχει βρεθεί και ασκός με δύο ασκοσπόρια (Pollack & Uecker, 1974). Τα ασκοσπόρια είναι μονοκύτταρα, μαύρα, με παχιά τοιχώματα (10-15 μm πάχος), πολυπύρηννα (συνήθως μέχρι 8 πυρήνες), διαμέτρου 30-50 μm, είναι σφαιρικά και μοιάζουν με βλήμματα κανονιού κατά την έξοδο τους από τους ασκούς (Εικόνα 3.1). Σπάνια παρατηρείται βλάστηση ασκοσπορίων. Η ατελής μορφή του μύκητα δεν έχει βρεθεί (Pollack & Uecker, 1974).

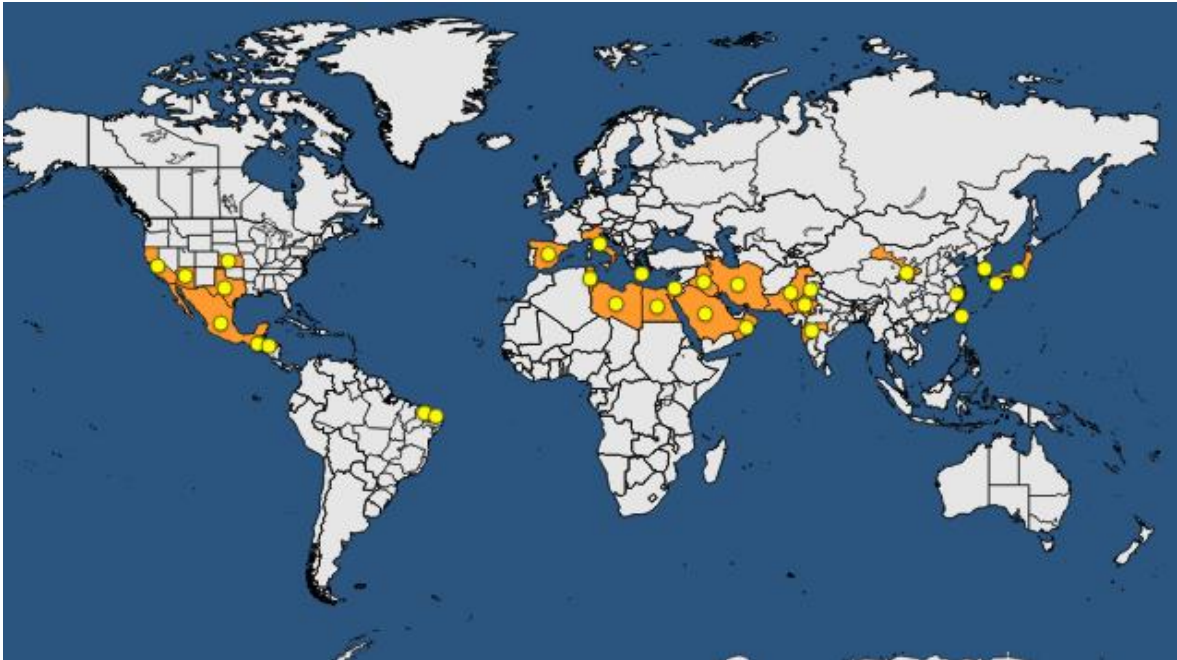


Εικόνα 3.1. Περιθήκιο, ασκοί και ασκοσπόρια του μύκητα *Monosporascus cannonballus*. Περιθήκιο του *M. cannonballus* από το οποίο εξέρχονται (a) ασκοί και (b) ασκοσπόρια (Sarpeleh 2008).

1.3.2 Γεωγραφική εξάπλωση

Η ασθένεια ευνοείται σε περιοχές με ξηρό κλίμα και υψηλές θερινές θερμοκρασίες, καθώς και σε εδάφη αλκαλικά με υψηλή αλατότητα (Svecova 2010). Η ασθένεια βρέθηκε και περιγράφηκε για πρώτη φορά στην Αριζόνα των Η.Π.Α. το 1974 (Pollack & Uecker, 1974). Έκτοτε, η ασθένεια άρχισε σταδιακά να εμφανίζεται σε όλες τις ηπείρους, πλην της Ωκεανίας. Συγκεκριμένα, στην Αμερική: Γουατεμάλα (1997), Η.Π.Α. (1974), Μεξικό (1996), Ονδούρα (1997), Βραζιλία (2004). Ασία: Ινδία (1978), Ιαπωνία (1979), Ταϊβάν (1995), Πακιστάν (1991), Σαουδική Αραβία (2011), Κίνα (1985), Ιράκ (2007), Ιράν (2008), Ομάν (2011). Αφρική: Λιβύη (1978), Τυνησία (1994), Αίγυπτος (2013). Ευρώπη: Ισπανία (1990), Ιταλία (1999), Ελλάδα (2017) (Martyn 2002; Balbino 2015; Markakis et al., 2018) (Εικόνα 3.2). Στη χώρα μας η ασθένεια διαπιστώθηκε για πρώτη φορά στην Κρήτη, σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια πεπονιάς στη περιοχή της Μεσσαράς τον Ιούνιο του 2017

(Markakis et al., 2018).



Εικόνα 3.2 Γεωγραφική εξάπλωση του μύκητα *Monosporascus cannonballus* σε παγκόσμια κλίμακα (<https://gd.eppo.int/taxon/MSPSCB/distribution>).

1.3.3 Εύρος ξενιστών

Οι κύριοι και οικονομικά σημαντικότεροι ξενιστές του μύκητα *Monosporascus cannonballus* ανήκουν στην οικογένεια των κολοκυνθοειδών με σημαντικότερα είδη που πλήττονται από την ασθένεια να αποτελούν η πεπονιά (*Cucumis melo* L) και η καρπουζιά (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai). Οι μολύνσεις παρατηρούνται τόσο σε θερμοκηπιακές όσο και σε υπαίθριες καλλιέργειες. Σε συνθήκες τεχνητής μόλυνσης έχει βρεθεί ότι μπορεί να μολυνθεί η αγγουριά (*C. sativus* L), η νεροκολοκυθιά (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl), τα λίφια (*Luffa aegyptiaca* Mill.) και κάποιες κολοκυθιές (*Curcubita* spp.), όμως σε φυσικές συνθήκες δεν έχει παρατηρηθεί ποτέ μόλυνση στους συγκεκριμένους ξενιστές (Martyn 2002). Πειράματα σε φυτά πέρα της οικογένειας των κολοκυνθοειδών, έδειξαν πως ενώ ο μύκητας μπορεί να αποικίζει το ριζικό σύστημα φυτών όπως το τριφύλλι (*Trifolium pratense* L.), η μηδική (*Medicago sativa* L.) (Sivanesan 1991), το αχυρανθές (*Achyranthes aspera* L.), το σουσάμι (*Sesamum indicum* L.), το σιτάρι (*Triticum aestivum* L.), το σόργο (*Sorghum bicolor*), το βαμβάκι (*Gossipium*

arborescens), το ζαχαροκάλαμο (*Saccharum officinarum*), το καλαμπόκι (*Zea mays*), η φασολιά (*Phaseolus vulgaris*) και η τομάτα (*Solanum lycopersicum*), εντούτοις δεν προκαλεί προβλήματα στις συγκεκριμένες καλλιέργειες (Mertely et al., 1993). Μεταγενέστερη έρευνα των Stranghellini et al. (2010), έδειξε πως μόνο στη ριζόσφαιρα της οικογένειας των κολοκυνθοειδών τα ασκοσπόρια μπορούν να βλαστήσουν και να προσβάλλουν το ριζικό τους σύστημα (Stranghellini et al., 2010).

1.3.4 Συμπτωματολογία

Ο μύκητας *Monosporascus cannonballus* προσβάλλει το ριζικό σύστημα των φυτών και κυρίως τις δευτερογενείς και τριτογενείς ρίζες, αλλά σε συνθήκες έντονης προσβολής παρατηρούνται συμπτώματα και στην κεντρική ρίζα. Η μόλυνση των ριζών



Εικόνα 3.3 Κατάρρευση φυτών πεπονιάς λόγω προσβολής από το μύκητα *Monosporascus cannonballus* (Martyn 2002).

μπορεί να συμβεί στην αρχή της καλλιεργητικής περιόδου, ενώ στο υπέργειο μέρος του φυτού δεν παρατηρούνται συμπτώματα, παρά μόνο προς το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου.

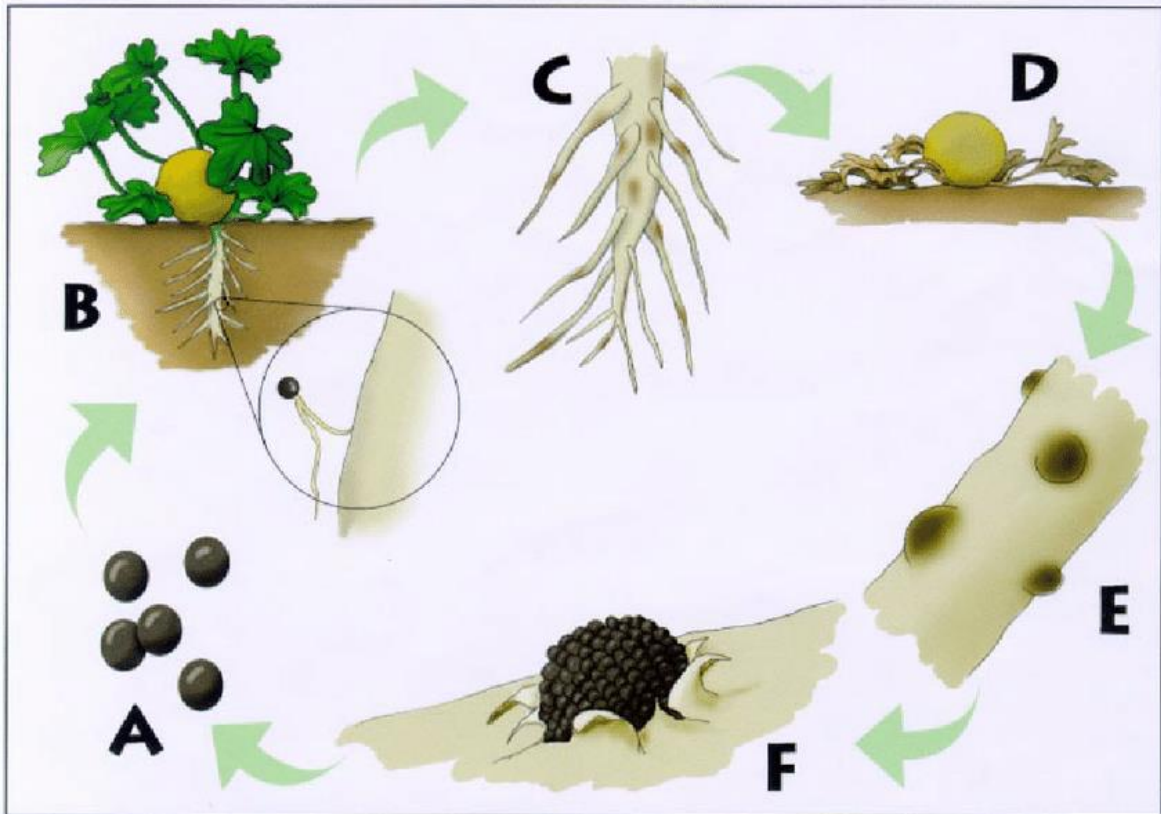
Στις δευτερογενείς ρίζες δημιουργούνται πληγές και νεκρώσεις που οδηγούν

στην καθολική καταστροφή τους. Τα συμπτώματα γίνονται εντονότερα προς το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου με την ολοκληρωτική κατάρρευση των φυτών (Εικόνα 3.3). Ο μύκητας εγκαθίσταται στις ρίζες του φυτού, δημιουργεί αποκίες και τις νεκρώνει καθ'όλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου. Οι συνέπειες της μόλυνσης και νέκρωσης των ριζών, αντικατροπίζονται στο υπέργειο μέρος του φυτού εκδηλώνοντας καθυστερημένη ανάπτυξη και νανισμό. Επίσης, τα φύλλα της βάσης κιτρινίζουν και ξεραίνονται. Η χλώρωση και η νέκρωση προοδευτικά προχωρούν προς την κορυφή του φυτού έχοντας ως αποτέλεσμα την κατάρρευση του φυτού στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου, λίγο πριν τη συγκομιδή. Η σοβαρότητα της νόσου αυξάνεται από καταπονήσεις που δέχονται τα

φυτά, λόγω αυξημένου φορτίου παραγωγής και από βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες του εδάφους (π.χ. διάφοροι μικροοργανισμοί, pH, θερμοκρασία και εδαφική υγρασία) (Martyn 2002). Οι καρποί των προσβεβλημένων φυτών παρουσιάζουν ποσοτική και ποιοτική υποβάθμιση, αφού έχουν μικρότερο μέγεθος και η περιεκτικότητά τους σε σάκχαρα είναι μειωμένη. Επίσης, λόγω της φυλλόπτωσης, οι καρποί δε προστατεύονται από την ηλιακή ακτινοβολία με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν εγκαύματα και σκασίματα (Βακαλουνάκης 2006).

1.3.5 Βιολογικός κύκλος

Η πρωτογενής μόλυνση των ριζών μπορεί να συμβεί είτε με μυκήλιο που έχει επιβιώσει στο έδαφος ή σε φυτικά υπολείμματα προηγούμενης καλλιέργειας, είτε με την βλάστηση των ασκοσπορίων (Σχήμα 1.3.B). Αρχικά, ο μύκητας προσβάλλει τις δευτερογενείς και τριτογενείς υγιείς ρίζες του φυτού, αποικίζει το φλοιό και το ξυλώδες αγγειακό σύστημα των ριζών και νεκρώνει τα ριζικά τριχίδια. Η μόλυνση προχωράει στις υπόλοιπες ρίζες καθώς αυτές αναπτύσσονται και εφάπτονται με υγιείς ρίζες ή μέσω δευτερογενών μολύνσεων. Οι λεπτές ρίζες νεκρώνονται ενώ στις μεγαλύτερες προκαλούνται αλλοιώσεις (Σχήμα 1.3.C). Καθώς ο μύκητας αποικίζει το ριζικό σύστημα, δρα και διασυστηματικά, αφού προσβάλλει το αγγειακό σύστημα προκαλώντας τυλώσεις, όμως το παθογόνο δεν θεωρείται τυπική αδρομύκωση όπως αυτή προκαλούν είδη των γενών *Fusarium* και *Verticillium* (Martyn 2002). Η προσβολή από το μύκητα ευνοείται όταν η θερμοκρασία του εδάφους κυμαίνεται μεταξύ 25-35 °C. Τα περιθήκια σχηματίζονται συνήθως προς το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου (Σχήμα 1.3.E), όμως μπορούν να σχηματιστούν καθ'όλη τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου του παθογόνου. Τα περιθήκια όταν ωριμάσουν, σπάζουν και από το εσωτερικό τους απελευθερώνονται εκατοντάδες ασκοσπόρια (Σχήμα 1.3.F). Μετρήσεις σε ώριμα φυτά πεπονιάς έδειξαν ότι στο ριζικό τους σύστημα μπορούν να παραχθούν περισσότερα από 400.000 ασκοσπόρια ανά φυτό (Martyn 2002).



Σχήμα 1.3. Βιολογικός κύκλος του *Monosporascus cannonballus* σε φυτό πεπονιάς. **A:** Ασκοσπόρια του *M. cannonballus* **B:** Βλάστηση ασκοσπορίου και προσβολή στο ριζικό σύστημα φυτού πεπονιάς **C:** Αλλοιώσεις στη ρίζα λόγω της προσβολής από το μύκητα **D:** Μάρανση-κατάρευση φυτού **E:** Σχηματισμός περιθηκίων στις προσβλημένες ρίζες **F:** Απελευθέρωση ασκοσπορίων από το περιθήκιο (Cohen et al., 2000).

Δεν είναι γνωστό έως σήμερα εάν το παθογόνο μπορεί να μολύνει εναέρια τμήματα και δεν έχει παρατηρηθεί ποτέ η εγγενής μορφή του μύκητα. Ο *M. cannonballus* επιβιώνει στο έδαφος με τη μορφή ασκοσπορίων, τα οποία θεωρούνται και η κύρια πηγή των μολύνσεων καθώς μπορούν να επιβιώσουν στο έδαφος ή σε φυτικά υπολείμματα μέχρι την επόμενη καλλιεργητική περίοδο. Απουσία ξενιστή τα ασκοσπόρια μπορούν να μείνουν στο έδαφος σε διαχειμάζουσα μορφή. Επίσης, μόλυνση μπορεί να πραγματοποιηθεί και με το μυκήλιο, όμως δεν είναι γνωστό το διάστημα που μπορεί να επιβιώσει δια μέσου αυτού το παθογόνο στο έδαφος (Martyn 2002).

1.3.6 Επιδημιολογία

Ο μύκητας πιθανόν μεταφέρεται με το έδαφος ή μολυσμένα φυτικά υπολείμματα. Τα ασκοσπόρια μπορεί να διασπείρονται με το νερό του ποτισμάτος ή της βροχής. Εναέρια μεταφορά σπορίων είναι αδύνατη λόγω του μεγάλου μεγέθους τους και της έλλειψης

κονιδιακής μορφής του παθογόνου, ενώ η διασπορά με το μυκήλιο θεωρείται μικρής σημασίας λόγω την βραχύχρονης επιβίωσης του. Η ασθένεια είναι μονοκυκλική αφού κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου δεν έχει παρατηρηθεί δευτερογενής μόλυνση από το μύκητα (Βακαλουνάκης 2006).

1.3.7 Αντιμετώπιση

Η αντιμετώπιση της ασθένειας έχει αποδειχθεί ότι είναι δύσκολο να επιτευχθεί, ιδιαίτερα μετά την απόσυρση του βρωμιούχου μεθυλίου, το οποίο αποτελούσε το πιο αποτελεσματικό μέσο για πλήθος εδαφογενών ασθενειών (Cohen et al., 2000). Προς το παρόν, δεν έχει βρεθεί μέθοδος αντιμετώπισης που να είναι οικονομικά προσιτή και να παρέχει μακροχρόνια προστασία. Σε εργαστηριακό επίπεδο, διαεξάγονται έρευνες με διαφορετικές στρατηγικές (Martyn 2002). Σήμερα δίνεται έμφαση στην ολοκληρωμένη διαχείριση της ασθένειας για την αντιμετώπιση της μέσα από καλλιεργητικές τεχνικές. Συγκεκριμένα, η μέθοδος του εμβολιασμού των φυτών σε είδη των γενών *Cucurbita* και *Lagenaria* άνθισε μετά την κατάργηση του βρωμιούχου μεθυλίου και μπορεί να δώσει λύσεις για μεγάλος εύρος εδαφογενών μυκήτων, αφού σαν υποκειμένα έχουν μικρή ευπάθεια στην ασθένεια και πλούσιο ριζικό σύστημα (Cohen et al., 2000). Επίσης, η εναλλαγή καλλιεργειών, όπου τα κολοκυνθοειδή ακολουθούνται από άλλα φυτικά είδη και επανέρχονται στο ίδιο χωράφι μετά από παρέλευση πολλών ετών έχει επιφέρει θετικά αποτελέσματα καθώς με το τρόπο αυτό μειώνεται σημαντικά το μολυσματικό δυναμικό του μύκητα (Βακαλουνάκης 2006). Εφαρμογή καλλιεργητικών πρακτικών που βοηθούν στην καλύτερη ανάπτυξη των φυτών, όπως η άρδευση με σταγόνες, εδαφοκάλυψη με πλαστικό και καλή αποστράγγιση του εδάφους (Βακαλουνάκης 2006) αποτελούν σημαντικές καλλιεργητικές τεχνικές διαχείρισης της ασθένειας. Ο μύκητας *Monosporascus cannonballus* λόγω της θερμοφιλης φύσης του δεν μπορεί να αντιμετωπιστεί με την κλασική ηλιοαπολύμανση. Όμως, ανακαλύφθηκε μια νέα βελτιωμένη μέθοδος ηλιοαπολύμανσης για καλλιέργεια θερμοκηπιακής πεπονιάς, η οποία προϋποθέτει την ανάπτυξη των φυτών σε ειδικές βάσεις από πολυπροπυλένιο (20 εκ. πλάτος, 15 εκ. ύψος), οι οποίες γεμίζονται από ηφαιστειακό υπόστρωμα. Αυτή η τεχνική είχε μεγάλο ποσοστό επιτυχίας ως προς τη θανάτωση των ασκοσπορίων (Cohen et al., 2000). Ακόμη, η βιολογική αντιμετώπιση αποτελεί υποσχόμενο τρόπο διαχείρισης της ασθένειας.

Πειράματα σε καλλιέργειες πεπονιάς έδειξαν ότι ο εμβολιασμός των φυτών με την ενδοφυτική μυκόρριζα *Rhizophagus irregularis* περιορίζει σημαντικά την ασθένεια σε μολυσμένα εδάφη. Σε τεχνητές μολύνσεις φυτών πεπονιάς, η μυκόρριζα παρέχει πλήρη προστασία από το μύκητα *M. cannonballus* ενώ αυξάνεται σημαντικά το μέσο βάρος παραγωγής σε σύγκριση με το μάρτυρα. Όμως, σε υπαίθριες καλλιέργειες η χρήση της μυκόρριζας δείχνει να είναι μέχρι στιγμής αναποτελεσματική (Aleandri et al., 2015). Επιπροσθέτως, η χρήση υπομολυσματικών απομονώσεων του *M. cannonballus* διερευνήθηκε σαν πιθανός τρόπος αντιμετώπισης, όπου με τη χρήση μονόκλωνου ή δίκλωνου RNA, ο μύκητας εκφυλίζεται και χάνεται η μολυσματικότητα του. Η μέθοδος αυτή έχει δοκιμαστεί πειραματικά και δείχνει να έχει σημαντικά αποτελέσματα αλλά μόνο σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες. Επίσης, η εφαρμογή ιασμωνικού μεθυλίου σε σπόρους, το οποίο επάγει τους αμυντικούς μηχανισμούς των φυτών, έδειξε ότι μειώνει την ένταση της ασθένειας σε πειραματικό επίπεδο (Martyn 2002). Τέλος, η χημική αντιμετώπιση βασίζεται στη χρήση απολυμαντικών εδάφους. Την πιο συνηθισμένη και αποτελεσματική μέθοδο χημικής αντιμετώπισης αποτελεί η εφαρμογή χλωροπικρίνης, 1,3-διχλωροπροπένιο και metam sodium με υποκαπνισμό σε συνδυασμό με ηλιοαπολύμανση. Επίσης, η εφαρμογή φλουαζιναμίνης μέσω στάγδην άρδευσης δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα σε ανοιξιάτικες φυτεύσεις (Martyn 2002).

1.4.1 Ο κομβονηματώδης *Meloidogyne javanica*

Ο κομβονηματώδης *Meloidogyne javanica* (Treub 1885) (sugarcane eelworm) ανήκει στην οικογένεια Heteroderidae, υποοικογένεια Meloidogynidae και στην τάξη Tylenchida (Chitwood 1949; CABI 2018). Ο *M. javanica* θεωρείται ο πιο σημαντικός φυτοπαρασιτικός νηματώδης μετά τον *M. incognita*, αφού γεωγραφικά είναι ευρέως διαδεδομένος και προκαλεί σοβαρά οικονομικά προβλήματα (Sasser & Carter, 1985). Οι κομβονηματώδεις, *Meloidogyne* spp., είναι μη μεταναστευτικοί, ενδοπαρασιτικοί νηματώδεις (Abad et al., 2009).

1.4.2 Γεωγραφική εξάπλωση - Εύρος ξενιστών

Τα είδη *Meloidogyne* αποτελούν παράσιτα σημαντικών καλλιεργειών κηπευτικών,

φρούτων και καλλωπιστικών φυτών που βρίσκονται σε τροπικά, υποτροπικά και εύκρατα κλίματα σε όλες τις ηπείρους του κόσμου (Εικόνα 4.1) (CABI 2018). Συγκεκριμένα, ο *M. javanica* κυριαρχεί στην κεντρική και δυτική Αφρική (Saka & Siddiqi, 1979) και θεωρείται ότι επικρατεί έναντι των άλλων ειδών στις ξηρικές περιοχές (βροχοπτώσεις μικρότερες από 500 mm ανά έτος) (Sasser & Carter, 1985).



Εικόνα 4.1. Γεωγραφική εξάπλωση του κομβοηματώδη *Meloidogyne javanica* σε παγκόσμια κλίμακα (<https://www.cabi.org/isc/datasheet/33246>).

Η πλειοψηφία των φυτών που καλλιεργούνται για την παραγωγή τροφίμων είναι ευαίσθητα στη μόλυνση από αυτό το παράσιτο (Sasser & Carter, 1985). Το εύρος των ξενιστών των κομβοηματωδών φτάνει στα 5500 φυτικά είδη, συμπεριλαμβανομένων πολλών μονοκοτυλήδων, δικοτυλήδων, φυλλωδών και ξυλωδών φυτικών ειδών (Sikora & Fernandez, 2005).

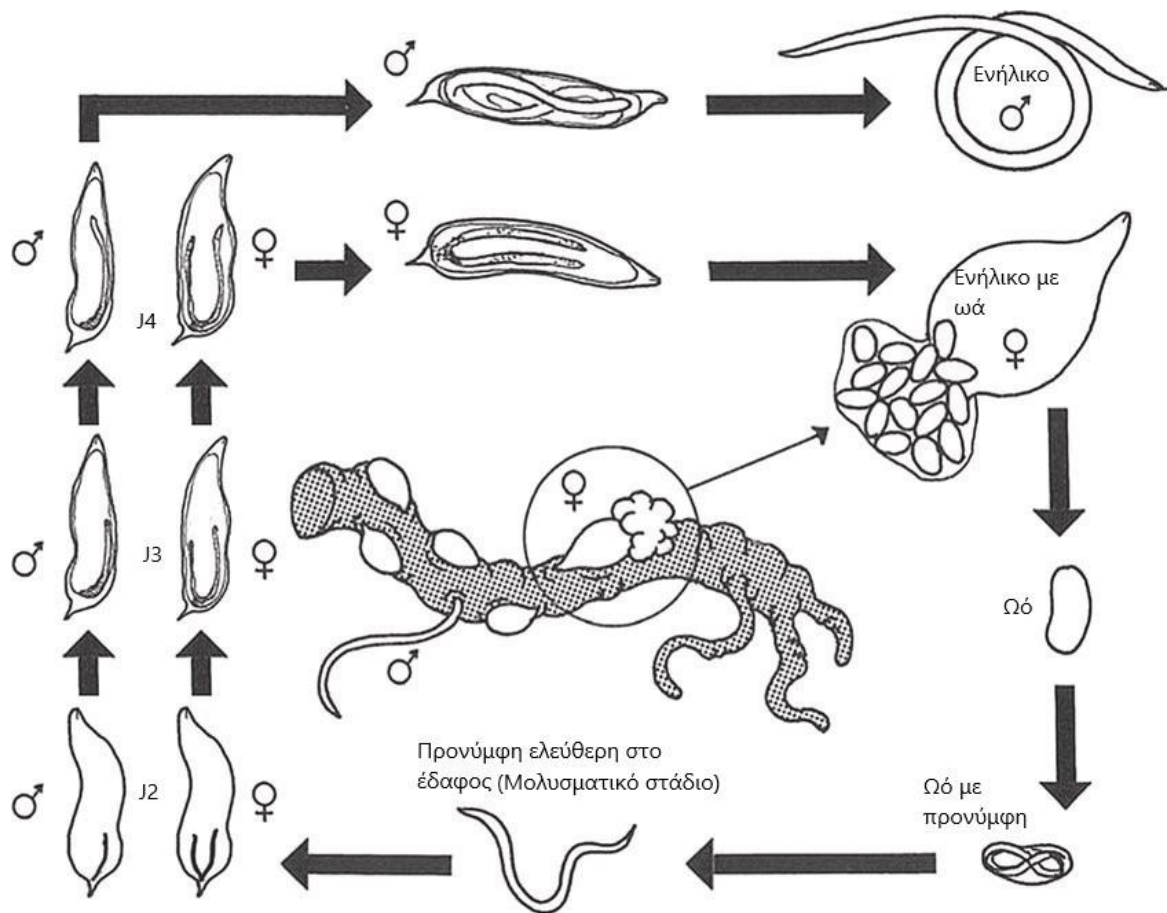
1.4.3 Συμπτωματολογία

Οι κομβοηματώδεις προσβάλλουν το ριζικό σύστημα των φυτών ενώ τα συμπτώματα της προσβολής μπορούν να γίνουν ορατά και στα υπόλοιπα όργανα του. Οι κόμβοι (εξογκώματα) που σχηματίζονται στη ρίζα των φυτών που έχουν προσβληθεί από κομβοηματώδεις είναι το πιο χαρακτηριστικό σύμπτωμα, και συνήθως ο ωόσακος

βρίσκεται στην επιφάνεια του κόμβου ή στο εσωτερικό του. Χαμηλή πυκνότητα μολύσματος προκαλεί το σχηματισμό μεμονωμένων κόμβων οι οποίοι περιέχουν ένα έως και λίγα θηλυκά άτομα και συνήθως έναν ωόσακο εξωτερικά. Το μέγεθος και ο αριθμός των κόμβων εξαρτάται από το επίπεδο του μολύσματος, το είδος των νηματωδών καθώς και από το βαθμό της ευαισθησίας του φυτού-ξενιστή (Κύρου 2004). Στο υπέργειο τμήμα των φυτών δεν εμφανίζουν καμία τυπική μορφή που να προδίδει την παρουσία τους. Τα συμπτώματα που μπορούν να αποδοθούν στον παρασιτισμό των ριζών από τους κομβονηματώδεις είναι η χλώρωση των φύλλων και η μειωμένη ανάπτυξη του φυτού, εξαιτίας των σχηματιζόμενων κόμβων οι οποίοι δεν επιτρέπουν την καλή πρόσληψη και κυκλοφορία του νερού και των θρεπτικών συστατικών. Έτσι, κάτω από συνθήκες ξηρασίας, παρατηρείται μάρανση και σε σοβαρές προσβολές αναπόφευκτος θάνατος του φυτού (Carneiro et al., 1996).

1.4.4 Βιολογικός κύκλος

Οι κομβονηματώδεις *Meloidogyne* spp., είναι μη μεταναστευτικοί, ενδοπαρασιτικοί νηματώδεις και υφίστανται μια πρώτη έκδυση μέσα στα ωά για να μετατραπούν από προνύμφες πρώτου σταδίου (J1) σε προνύμφες δευτέρου σταδίου (J2) πριν την εκκόλαψη. Οι νεοεκκολαφθείσες J2 περνούν ένα μικρό χρονικό διάστημα της ζωής τους μετακινούμενες ελεύθερα στο έδαφος στην περιοχή της ριζόσφαιρας (Eisenback & Triantafyllou, 1991). Η προνύμφη δευτέρου σταδίου διεισδύει στη ρίζα του φυτού ξενιστή, στο ύψος των εκπτυσσόμενων ριζών και στην περιοχή των επιμηκυνόμενων κυττάρων, χρησιμοποιώντας το στιλέτο και απελευθερώνοντας εκκρίσεις οι οποίες περιέχουν ένζυμα που αποικοδομούν το κυτταρικό τοίχωμα (Abad et al., 2003). Μόνο μετά από αυτή τη μεταναστευτική φάση, η οποία οδηγεί την J2 στην περιοχή του αγγειακού ιστού, οι νηματώδεις καθίστανται μη μεταναστευτικοί και αρχίζουν να τρέφονται. Μόλις αρχίσουν να τρέφονται, προκαλούν γύρω από τη κεφαλή τους τον σχηματισμό γιγαντιαίων κυττάρων, τα οποία αποτελούν και τη μόνιμη θέση διατροφής τους. Στη συνέχεια, υφίστανται μορφολογικές αλλαγές, μετατρέπονται σε σακοειδείς και χωρίς πλέον να τρέφονται, μετά από τρεις εκδύσεις μετατρέπονται σε ενήλικα άτομα (Eisenback & Triantafyllou, 1991). Οι προνύμφες τρίτου και τέταρτου σταδίου δεν έχουν στιλέτο και δεν τρέφονται (Σχήμα 1.4) (Moens et al., 2009).



Σχήμα 1.4. Βιολογικός κύκλος κομβοηματώδη *Meloidogyne*. J2: προνύμφη δευτέρου σταδίου. J3: προνύμφη τρίτου σταδίου. J4: προνύμφη τέταρτου σταδίου (Moens et al., 2009).

Οι περισσότεροι κομβοηματώδεις αναπαράγονται με παρθενογένεση. Τα αρσενικά μεταναστεύουν εκτός του φυτού, δεν τρέφονται και πεθαίνουν. Μετά την ανάπτυξη του θηλυκού, το οποίο έχει σχήμα μήλου, τα αυγά απελευθερώνονται στην επιφάνεια της ρίζας σε μια ζελατινώδη ουσία από γλυκοπρωτεϊνικό περίβλημα, την οποία παράγουν με τους αδένες του ορθού και ονομάζεται ωόσακος (Eisenback and Hunt, 2009). Ο ωόσακος προστατεύει τα ωά από αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες, κυρίως την ξηρασία, και από επιβλαβείς μικροοργανισμούς του εδάφους. Έχει αποδειχθεί ότι το περίβλημα του ωόσακου έχει αντιμικροβιακή δράση (Orion & Kritzman, 1991). Ο ωόσακος συνήθως βρίσκεται στη επιφάνεια των διογκωμένων ριζών, παρόλα αυτά μπορεί να βρίσκεται και εντός του ριζικού ιστού. Αρχικά ο ωόσακος είναι μαλακός, κολλώδης και διάφανος αλλά με το πέρασμα του χρόνου γίνεται πιο σκληρός και σκούρος κίτρινος (Moens et al., 2009). Ο αριθμός των αυγών που εναποθέτει το θηλυκό ποικίλλει σε μεγάλο

βαθμό και εξαρτάται από το φυτό ξενιστή, τις συνθήκες του περιβάλλοντος και τη φυσική κατάσταση του νηματώδη. Σε ένα κατάλληλο ξενιστή μπορεί να παραχθούν αρκετές εκατοντάδες έως και 2800 ωά (Κύρου 2004). Η εμβρυογένεση μέσα στο ωό ακολουθείται από την πρώτη έκδυση, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό της J2.

1.4.5 Αντιμετώπιση

Για την αντιμετώπιση της ασθένειας που προκαλείται από τους κομβονηματώδεις του είδους *Meloidogyne* συστήνονται καλλιεργητικά μέτρα όπως η αμειψισπορά, η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών και η αγρανάπαυση. Το σύστημα αυτό βοηθά στη μείωση των πληθυσμών των κομβονηματωδών οι οποίοι παραμένουν εκτεθειμένοι στο έδαφος χωρίς ξενιστή, δηλαδή χωρίς τροφή και, έτσι, λόγω της επίδρασης των δυσμενών συνθηκών του περιβάλλοντος πεθαίνουν (Wesemael & Moens 2008, Wesemael et al., 2011). Η μέθοδος απολύμανσης του εδάφους με ατμό καθώς και η ηλιοαπολύμανση αποτελούν ελπιδοφόρες προσεγγίσεις. Η χρήση φυτών παγίδων αφορά στην εγκατάσταση φυτών στον αγρό τα οποία είναι καλοί ξενιστές του νηματώδη, και η διατήρησή τους διαρκεί για όσο διάστημα απαιτείται για την είσοδό του στο ριζικό τους σύστημα. Λίγο πριν την εγκατάσταση της επόμενης καλλιέργειας, πραγματοποιείται εκρίζωση και καταστροφή των φυτών με σκοπό την καταστροφή των νηματωδών και τη μείωση του αρχικού μολύσματος στο έδαφος. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται κυριώς για λαχανοκομικά φυτά με μικρό βιολογικό κύκλο (Ornat et al., 2001). Επίσης, οι βιολογικές μέθοδοι αντιμετώπισης μπορούν να διακριθούν στην καταπολέμηση με μύκητες και βακτήρια, στη βιοαπολύμανση και στη χρήση ουσιών φυτικής προέλευσης. Ακόμη, η χρήση νηματωδοπαθογόνων μυκήτων και βακτηρίων έχει γίνει αντικείμενο έρευνας τα τελευταία χρόνια για την αντιμετώπιση αρκετών ειδών νηματωδών (Viaene et al., 2006). Ανταγωνιστικοί μύκητες όπως *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma harzianum* και *Pochonia chlamydosporia*, αποτελούν επιτυχή παραδείγματα βιολογικής διαχείρισης του *M. javanica*. Η εφαρμογή του μύκητα *P. lilacinus* πριν την φύτευση τομάτας, περιορίζει σε μεγάλο βαθμό τους πληθυσμούς του γένους *Meloidogyne* (Kiewnick and Sikora, 2006). Γενικά, οι ανταγωνιστικοί μύκητες προσβάλλουν τους νηματώδεις, όταν αυτοί βρίσκονται στο στάδιο του ενήλικου, της προνύμφης και του αυγού. Ο μύκητας *P. chlamydosporia*, ο οποίος παρασιτεί τα ωά, δεν προκάλεσε μείωση του *M. javanica* σε καλλιέργειες λαχανικών στην Κρήτη (Tzortzakakis & Petsas, 2003). Ο

μύκητας *Trichoderma harzianum* Bl αποτελεί παράγοντα παρεμπόδισης της εκκόλαψης των αυγών για τον *M. javanica* (Sahebani & Hadavi, 2008). Η χρήση μυκορριζών (AMF) προστατεύει τις ρίζες από προσβολή φυτοπαρασιτικών νηματωδών με τα είδη *Glomus* να είναι τα πιο ευρέως μελετημένα για τον έλεγχο των νηματωδών (Hol & Cook, 2005). Η εγκατάσταση των μυκορριζών σε ελαιόδενδρα μείωσε σημαντικά την ανάπτυξη κόμβων στις ρίζες καθώς επίσης και την αναπαραγωγή του *M. javanica* (Wesemael et al., 2011). Τα ανταγωνιστικά βακτήρια που έχουν χρησιμοποιηθεί σαν βιολογικά μέσα αντιμετώπισης περιλαμβάνουν τα είδη *Pausteria penetrans* και *Pseudomonas fluorescens*. Το *P. penetrans* μειώνει την αναπαραγωγική ικανότητα των κομβονηματωδών, ενώ σε αντίστοιχα πειράματα αποδείχθηκε ότι ο παρασιτισμός σε ενήλικα θηλυκά φτάνει έως και το 75% (Tzortzakakis et al., 1999). Επίσης, το βακτήριο *P. fluorescens* ελέγχει αποτελεσματικά τους κομβονηματώδεις σε καλλιέργειες λαχανικών (Stalin et al., 2007).

Η βιοαπολύμανση βασίζεται στη απελευθέρωση τοξικών πτητικών ουσιών, κατά τη διαδικασία αποσύνθεσης οργανικών υλικών, φυτικών υπολειμμάτων και ιστών που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο ασθενειών, νηματωδών και ζιζανίων (Kirkegaard & Sarwar, 1998). Η συγκεκριμένη μέθοδος μειώνει το κόστος αντιμετώπισης των νηματωδών στο 50% αυξάνοντας παράλληλα τη γονιμότητα του εδάφους (Ploeg, 2008; Buena et al., 2006). Επιπλέον, οι φυτικής προέλευσης ουσίες οι οποίες αποτελούν προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών έχουν επιτυχώς δοκιμαστεί ως μέτρο αντιμετώπισης των νηματωδών (Chitwood 2002; Isman 2000; Akhtar & Mahmood 1994). Οι ουσίες αυτές είναι φιλικές για τον άνθρωπο και το περιβάλλον σε αντίθεση με τα συμβατικά νηματωδοκτόνα (Isman 2000; Ntalli et al., 2009) με την ένωση αζαδιραχτίνη η οποία προέρχεται από το είδος *Azadirachta indica* να είναι εκείνη που έχει μελετηθεί περισσότερο μέχρι σήμερα (Morgan 2009; Isman 2006). Ένας μεγάλος αριθμός αιθέριων ελαίων που εκχυλίστηκαν από φυτά διαφορετικών βοτανικών οικογενειών έχει εξεταστεί *in vitro* για τη νηματωδοκτόνο δράση τους, κυρίως εναντίον των *Meloidogyne* spp.. Μεταξύ των φυτών που παράγουν αιθέρια έλαια, ορισμένες οικογένειες όπως οι Lamiaceae, Asteraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Lauraceae και Poaceae έχουν μελετηθεί ευρέως. Ειδικότερα, έχουν μελετηθεί τα αρωματικά φυτά των γενών *Artemisia*, *Cymbogon*, *Lavandula*, *Mentha*, *Oreganum*, *Ocimum*, *Rosmarinus*, *Thymus* και τα αρωματικά δένδρα των γενών *Citrus*, *Eucalyptus*, *Eugenia* και *Melaleuca* (Andres et al., 2012).

Η χημική αντιμετώπιση αποτελεί μέχρι και σήμερα τη βασικότερη μέθοδο

αντιμετώπισης των κομβοηματοδών στις καλλιέργειες (Giannakou & Anastasiadis, 2005). Τα νηματοδοκτόνα, ανάλογα με τον τρόπο με τον οποίο μετακινούνται μέσα στο έδαφος, ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες: στα καπνιστικά και στα μη καπνιστικά. Τα καπνιστικά νηματοδοκτόνα είναι υγρά τα οποία εξατμίζονται και περνούν στην αέρια φάση κατά την είσοδο στο έδαφος. Από χημικής απόψεως, τα καπνιστικά νηματοδοκτόνα τα οποία χρησιμοποιούνται σήμερα σε συστήματα εντατικής γεωργικής παραγωγής περιλαμβάνουν ενώσεις που περιέχουν αλογονωμένους υδρογονάνθρακες είτε ενώσεις που εκκενώνουν διθειάνθρακα ή ισοθειοκυανικό μεθύλιο. Τα καπνιστικά είναι πολύ πτητικές ουσίες και εφαρμόζονται στο έδαφος πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας για λόγους φυτοτοξικότητας. Τα μη-καπνιστικά νηματοδοκτόνα δεν καταστέλλουν τους πληθυσμούς των νηματωδών τόσο αποτελεσματικά όσο τα καπνιστικά, επειδή δεν έχουν τόσο ευρύ φάσμα δράσης (Luc et al., 2005) και βιοαποδομούνται εύκολα στο έδαφος όταν εφαρμόζονται επαναλαμβανόμενα (Ornat & Sorribas, 2008). Τα καπνιστικά νηματοδοκτόνα είναι αποτελεσματικά εναντίον όλων των σταδίων του βιολογικού κύκλου των νηματωδών, σε αντίθεση με τα μη καπνιστικά τα οποία δε σκοτώνουν απευθείας τους νηματώδεις (Wright, 1981).

1.5 Σκοπός της πτυχιακής διατριβής

Με τον όρο ‘Συνεργισμός’ στη βιολογία εννοείται το φαινόμενο κατά το οποίο δύο ή περισσότεροι μικροοργανισμοί δρουν απο κοινού και επιτυγχάνουν αποτέλεσμα, το οποίο δεν θα μπορούσαν να επιφέρουν, αν δρούσε ο καθένας μόνος του (Μπαμπινιώτης). Εν προκειμένω, η γνώση της συνεργιστικής επίδρασης εδαφογενών μυκήτων και νηματωδών στα καλλιεργούμενα φυτά καθώς και οι μηχανισμοί με τους οποίους τα φυτά αμύνονται έναντι των συνδυασμένων ετερόλογων φυτοπαρασίτων είναι πολύτιμη για τη διαχείριση των ασθενειών των φυτών δια μέσου της εκτίμησης του κινδύνου ασθένειας στις καλλιέργειες.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής είναι η αξιολόγηση της συνεργιστικής αλληλεπίδρασης του νηματώδους *Meloidogyne javanica* με τους εδαφογενείς μύκητες *V. dahliae*, *F. o. f.sp. radicis-cucumerinum* και *M. cannonballus* σε φυτά μελιτζάνας, αγγουριάς και πεπονιά, αντίστοιχα. Στα πλαίσια της διατριβής έγινε προσπάθεια να προσδιοριστεί η φύση της συνέργειας των ετερόλογων παρασίτων στο εκάστοτε παθοσύστημα εκτιμώντας διάφορες παραμέτρους ασθένειας και φυτικής

ανάπτυξης. Χρησιμοποιώντας φυτά με αδιαίρετο αλλά και διηρημένο ριζικό σύστημα έγινε προσπάθεια να αποτυπωθούν οι άμεσες και έμμεσες αλληλεπιδράσεις των επιμέρους παρασίτων στα ευπαθή φυτικά είδη-ξενιστές που προαναφέρθηκαν χωρίς τα διαφορετικά παράσιτα να έρχονται απαιρητήτως σε επαφή μεταξύ τους.

2 ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Προέλευση και διατήρηση της απομόνωσης *V. dahliae*

Για την πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκε μια απομόνωση του μύκητα *V. dahliae* (κωδικός 999-1) προερχόμενη από ασθενή μελιτζάνα η οποία συλλέχθηκε από την περιοχή του Οροπεδίου Λασιθίου και ανήκει στη φυλή 1 (Ligoixigakis & Markakis, 2012). Η εν λόγω απομόνωση είχε συλλεχθεί κατά την περίοδο 2000 από τον Δρα Ελευθέριο Λιγοξυγκάκη και διατηρήθηκε ως καθαρή καλλιέργεια σε δοκιμαστικούς σωλήνες σε θερμοκρασία 4 °C. Για την μακρά διατήρηση της, η απομόνωση φυλάσσονταν σε ειδικούς θαλάμους θερμοκρασίας -80 °C ως αιώρημα κονιδίων σε κρυοφιαλίδια όγκου 2 ml, με διάλυμα γλυκερόλης 25%. Η εν λόγω απομόνωση ανήκει στη συλλογή του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Ινστιτούτου Ελιάς, Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου του Τμήματος Αμπέλου, Λαχανοκομίας, Ανθοκομίας και Φυτοπροστασίας στο Ηράκλειο και χρησιμοποιήθηκε για την μόλυνση του φυτικού υλικού στο παθοσύστημα μελιτζάνα - *Verticillium dahliae* - *M. javanica*.

2.2 Προέλευση και διατήρηση της απομόνωσης *Forc*

Η απομόνωση *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* (κωδικός AFu 68A) που, χρησιμοποιήθηκε για την πραγματοποίηση των βιοδοκιμών στο παθοσύστημα αγγουρι – *F. o.* f.sp. *radicis-cucumerinum* – *M. javanica* βρέθηκε από τον Δρα Δημήτριο Βακαλουνάκη την καλοκαιρινή περίοδο του 2005, στη περιοχή Γρα Λυγιά στο νομό Λασιθίου της Κρήτης (Vakalounakis et al., 2005). διατηρήθηκε ως καθαρή καλλιέργεια σε δοκιμαστικούς σωλήνες σε θερμοκρασία 4 °C. Για την μακρά διατήρηση της η απομόνωση φυλάσσονταν σε ειδικούς θαλάμους θερμοκρασίας -80 °C ως αιώρημα κονιδίων σε κρυοφιαλίδια όγκου 2 ml, με διάλυμα γλυκερόλης 25%. Η εν λόγω απομόνωση ανήκει στη

συλλογή του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Ινστιτούτου Ελιάς, Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου του Τμήματος Αμπέλου, Λαχανοκομίας, Ανθοκομίας και Φυτοπροστασίας στο Ηράκλειο.

2.3 Προέλευση και διατήρηση της απομόνωσης *M. cannonballus*

Για την πραγματοποίηση βιοδοκιμών στο παθοσύστημα πεπονιά – *M. cannonballus* – *M. javanica*, χρησιμοποιήθηκε μια απομόνωση του παραπάνω μύκητα η οποία βρέθηκε τον Ιούνιο του 2017, σε υβρίδια πεπονιάς Global F1 στην περιοχή της Μεσσαράς, στο νομό Ηρακλείου Κρήτης (κωδικός PEP1) (Markakis et al., 2018). Η εν λόγω απομόνωση διατηρείται σε αποστειρωμένο χώμα σε θερμοκρασία 4 °C και ανήκει στη συλλογή του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Ινστιτούτου Ελιάς, Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου του Τμήματος Αμπέλου, Λαχανοκομίας, Ανθοκομίας και Φυτοπροστασίας στο Ηράκλειο.

2.4 Προέλευση και διατήρηση του πληθυσμού *M. javanica*

Για την μόλυνση των ριζών των φυτικών ειδών και στα τρία παθοσυστήματα που διερευνήθηκαν χρησιμοποιήθηκε πληθυσμός του κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* ο οποίος είχε συλλεχθεί από θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας και ο οποίος διατηρείται για πολλά έτη σε φυτά τομάτας σε γλάστρες στο εργαστήριο Νηματοδολογίας του Ινστιτούτου Ελιάς, Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου του Τμήματος Αμπέλου, Λαχανοκομίας, Ανθοκομίας και Φυτοπροστασίας στο Ηράκλειο. (Tzortzakakis et al., 1999).

2.5 Φυτωριακό υλικό

Για την πραγματοποίηση των βιοδοκιμών χρησιμοποιήθηκαν φυτάρια μελιτζάνας (*Solanum melongena*) ποικιλίας ‘Black beauty’, αγγουριάς (*Cucumis sativus*) ποικιλίας ‘Κνωσσός’ και το υβρίδιο πεπονιάς (*Cucumis melo*) ‘Global F1’ στο στάδιο του δεύτερου πραγματικού φύλλου. Οι συγκεκριμένοι γονότυποι φυτών επιλέχθηκαν λόγω του ότι αποτελούν ιδιαίτερα ευπαθείς ξενιστές για το *V. dahliae* (Markakis et al., 2014), το *F.o.r.c.* (Vakalounakis et al., 2005) και το *Monosporascus cannonballus* (Markakis et al., 2018), αντίστοιχα. Επίσης, όλα τα παραπάνω φυτικά είδη αποτελούν ξενιστές για τον κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* (Agrios 2005).

2.6 Παρασκευή θρεπτικών υποστρωμάτων PDA, APDA και PDB

Για την παραγωγή ενός λίτρου πατάτας-δεξτρόζης-άγαρ (Potato-Dextrose-Agar, PDA), σε κωνική φιάλη όγκου 2 λίτρων προστέθηκαν 500 ml απεσταγμένου νερού και στη συνέχεια στην ίδια κωνική προστέθηκαν 200 γρ. πατάτας κομμένης σε μικρούς κύβους. Η κωνική τοποθετήθηκε μέσα σε χύτρα η οποία περιείχε νερό σε θερμοκρασία βρασμού για 45 λεπτά και ακολουθούσε περιοδική ανάδευση. Στη συνέχεια, το περιεχόμενο της κωνικής διηθήθηκε με τούλι και το εκχύλισμα της πατάτας (ζωμός) μεταφέρθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο 1000ml ο οποίος συμπληρώθηκε με απεσταγμένο νερό μέχρι όγκου 1 λίτρου. Ο ζωμός στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε κωνική 2 λίτρων ο οποίος περιείχε 20 γρ. δεξτρόζης και 20 γρ. άγαρ και ακολούθησε καλή ανάδευση. Η κωνική καλύφθηκε με βαμβάκι και αλουμινόχαρτο και τοποθετήθηκε σε χύτρα αποστείρωσης στους 121 °C και πίεση 1.2 atm για 30 λεπτά. Μετά το τέλος της αποστείρωσης, η κωνική φιάλη μεταφέρθηκε σε θάλαμο αναστρεφόμενης νηματικής ροής (laminar flow cabinet), αναδεύτηκε καλά και κάτω από ασηπτικές συνθήκες το περιεχόμενο επιστρώθηκε σε τριβλία Petri. Για την παρασκευή οξινισμένου PDA (Acidified PDA, APDA), σε 1 λίτρο αποστειρωμένου PDA το οποίο είχε μόλις αποστειρωθεί (ευρισκόταν σε υγρή φάση) προστέθηκαν 120 σταγόνες γαλακτικού οξέος (C₃H₆O₃) συγκέντρωσης 10%, ακολούθησε καλή ανάδευση και υπό ασηπτικές συνθήκες το περιεχόμενο επιστρώθηκε σε τριβλία. Το γαλακτικό οξύ χρησιμοποιήθηκε για τη μείωση του pH στο θρεπτικό υλικό PDA με σκοπό την παρεμπόδιση ανάπτυξης βακτηρίων κατά τις επαναπομονώσεις των μυκητολογικών παθογόνων από τα τεχνητά μολυσμένα φυτά. Για την παρασκευή του υγρού θρεπτικού υλικού PDB (Potato-Dextrose-Broth) ακολούθηθηκε η παραπάνω ακριβώς διαδικασία αλλά χωρίς την προσθήκη άγαρ και γαλακτικού οξέος.

2.7 Προετοιμασία φυτοπαθογόνων μυκήτων και νηματωδών

Για την παρασκευή του μολύσματος για τις τεχνητές μολύνσεις στα παθοσυστήματα μελιτζάνα - *V. dahliae* – *Meloidogyne javanica* και αγγούρι – *F.o.r.c* – *M. javanica* χρησιμοποιήθηκε το υγρό θρεπτικό υλικό PDB. Κωνικές φιάλες όγκου 500 ml που περιείχαν 200 ml PDB εμβολιάζονταν με 3-5 τεμάχια από την περιφέρεια νεαρής καλλιέργειας του εκάστοτε παθογόνου (*V. dahliae* και *F.o.r.c.*) αναπτυγμένου σε PDA. Στη συνέχεια οι φιάλες μεταφέρονταν σε ειδικό θάλαμο επώασης με περιστρεφόμενη βάση

(orbital shaker incubator) (160 rpm) σε συνθήκες σκότους και θερμοκρασία 25 °C για 4 και 7 μέρες αντίστοιχα, με σκοπό την παρασκευή κονιδίων. Έπειτα, ακολούθησε διήθηση των καλλιιεργειών με εργαστηριακό τούλι και το διήθημα φυγοκεντρήθηκε για 10 λεπτά στις 3000 rpm με σκοπό την καθίζηση των κονιδίων. Το υπερκείμενο υγρό απομακρύνθηκε και ακολούθησε επαναιωρηματοποίηση του ιζήματος κονιδίων με νερό βρύσης. Η καταμέτρηση των κονιδίων έγινε με τη χρήση αιματοκυτταρομέτρου υπό μεγέθυνση μικροσκοπίου και πραγματοποιήθηκαν οι κατάλληλες αραιώσεις ώστε να προκύψουν οι επιθυμητές συγκεντρώσεις. Η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε για την τεχνητή μόλυνση των φυταρίων μελιτζάνας από το μύκητα *V. dahliae* ήταν 3.5×10^6 κονίδια ml^{-1} ενώ για το μύκητα *F.o.r.c.* χρησιμοποιήθηκε συγκέντρωση 1×10^7 κονίδια ml^{-1} .

Για την παρασκευή του μολύσματος *M. cannonballus* στο παθοσύστημα πεπονιά – *M. cannonballus* – *M. javanica* το παθογόνο αναπτύχθηκε σε τριβλία διαμέτρου 85mm τα οποία περιείχαν υλικό PDA για 10 ημέρες σε θερμοκρασία 27 °C και σε συνθήκες σκότους.

Ο πληθυσμός του *M. javanica* παραλήφθηκε υπό τη μορφή μολυσμένων ριζών από φυτά τομάτας (*Solanum lycopersicum* L.). Τα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη του πληθυσμού των κομβονηματοδών, είχαν τοποθετηθεί σε δωμάτιο ανάπτυξης φυτών με τη θερμοκρασία να κυμαίνεται μεταξύ 25-28 °C και 16 ώρες φωτοπερίοδο, σε πλαστικές γλάστρες. Τα φυτά είχαν μολυνθεί με αυγά του νηματώδη *M.javanica* και μετά από 50 ημέρες, και αφού είχε ολοκληρωθεί ο βιολογικός κύκλος του νηματώδη στις συνθήκες ανάπτυξης έγινε η παραλαβή των ωών. Οι ρίζες των φυτών ξεπλύθηκαν για να απομακρυνθούν τα υπολείμματα του εδάφους και τεμαχίστηκαν σε τμήματα μήκους 2 εκατοστών. Έπειτα, οι ρίζες τοποθετήθηκαν σε διάλυμα 1% NaOCl και το αιώρημα ανακινήθηκε για περίπου πέντε λεπτά. Στη συνέχεια, κάτω από τρεχούμενο νερό και μέσα από κόσκινα διατομής 250 και 38 μm έγινε η πλύση των ριζών (Hussey & Barker, 1973) και η παραλαβή των ωών των νηματωδών. Για τις μολύνσεις των φυτών με τον κομβονηματοώδη χρησιμοποιήθηκαν αιωρήματα με 400 ωά ανά ml^{-1} και σε κάθε φυτό εφαρμόστηκε 1 ml αιωρήματος.

2.8 Βιοδοκιμές με τριπλά παθοσυστήματα φυτού-μύκητα-νηματώδη

Για την αξιολόγηση των συνεργιστικών επιδράσεων μεταξύ μυκήτων και κομβονηματοδών έναντι των φυτών τα οποία αποτελούν ευπαθείς ξενιστές των παθογόνων

και για την περαιτέρω διερεύνηση αυτών των τριπλών αλληλεπιδράσεων (μελιτζάνα - *V. dahliae* - *M. javanica*, αγγουριά - *F.o.r.c.* - *M. javanica* και πεπονιά - *M. cannonballus* - *M. javanica*), πραγματοποιήθηκαν πειράματα με επεμβάσεις σε φυτά με αδιαίρετο (single-pot treatments) αλλά και διηρημένο ριζικό σύστημα (paired-pot treatments), ταυτόχρονα. Σε γλάστρες μικρού μεγέθους μεμονωμένες καθώς και σε γλάστρες σε ζεύγη.

Στην περίπτωση των επεμβάσεων σε φυτά με αδιαίρετο ριζικό σύστημα, κάθε ένα από τα φυτά μελιτζάνας, αγγουριάς και πεπονιάς μεταφυτεύθηκε εισάγωντας ολόκληρο το ριζικό τους σύστημα σε ένα γλαστράκι που περιείχε εδαφικό οργανικό υπόστρωμα (Εικόνα 5B). Δύο μέρες μετά τη μεταφύτευση, κάθε παθογόνο εφαρμόστηκε ξεχωριστά στο κάθε φυτό (επεμβάσεις: μύκητας, νηματώδης) ή τα διαφορετικά παθογόνα εφαρμόστηκαν ταυτόχρονα στο αδιαίρετο ριζικό σύστημα του εκάστοτε φυτού στην ίδια γλάστρα (επέμβαση: μήκητας+νηματώδης).

Στην περίπτωση των επεμβάσεων σε φυτά με διηρημένο ριζικό σύστημα, κάθε ένα από τα προαναφερθέντα φυτά μεταφυτεύθηκε αφού πρώτα χωρίστηκε το ριζικό του σύστημα ισομερώς και το καθένα τμήμα του ριζικού συστήματος τοποθετήθηκε σε ξεχωριστά γλαστράκια τα οποία ήταν προσαρμοσμένα ανά ζεύγη και περιείχαν το εδαφικό οργανικό υπόστρωμα (split-root system, Εικόνα 5C,D) (Bowman & Bloom 1966). Παρομοίως, δύο μέρες μετά τη μεταφύτευση, κάθε παθογόνο εφαρμόστηκε μόνο του στη μισή ρίζα του εκάστοτε φυτού ενώ στο άλλο μισό της ρίζας έγινε εφαρμογή με νερό (επεμβάσεις: μύκητας/-, νηματώδης/-) ή και τα δύο παθογόνα εφαρμόστηκαν ταυτόχρονα εγχύνοντας το κάθε παθογόνο στο διαχωρισμένο ήμισυ του ριζικού συστήματος κάθε φυτού (επέμβαση: μύκητας/νηματώδης), έτσι ώστε τα δύο παθογόνα να μπορούν να επιδρούν στο ίδιο φυτό χωρίς να έρχονται σε άμεση επαφή μεταξύ τους. Τα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες και τα οποία ριζοποτίστηκαν μόνο με νερό, μεταφυτεύθηκαν είτε εισάγωντας ολόκληρο το ριζικό τους σύστημα σε μια γλάστρα (επέμβαση: μάρτυρας-) είτε εισάγοντας το κάθε μισό του ριζικού τους συστήματος σε διαφορετική γλάστρα όπως περιγράφηκε παραπάνω (επέμβαση: μάρτυρας-/μάρτυρας-).

Τα φυτά μελιτζάνας και αγγουριάς διατηρήθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας εύρους 23 ± 3 °C και 19 ± 1 °C, αντίστοιχα, με φωτοπερίοδο 12 ώρες σκοτάδι και 12 ώρες φως, ενώ τα φυτά πεπονιάς αναπτύχθηκαν και διατηρήθηκαν σε συνθήκες θερμοκηπίου με εύρος θερμοκρασιών 25-33 °C και φωτοπερίοδο 16 ωρών. Για κάθε παθοσύστημα, εφαρμόστηκαν οι ακόλουθες οκτώ

επεμβάσεις: 1) μάρτυρας-, 2) μάρτυρας-/μάρτυρας-, 3) μύκητας, 4) νηματώδης, 5) μύκητας+νηματώδης, 6) μύκητας/-, 7) νηματώδης/- και 8) μύκητας/νηματώδης. Κάθε επέμβαση αποτελούνταν από επτά φυτά και τα πειράματα επαναλήφθηκαν τρεις φορές (21 φυτά ανά επέμβαση συνολικά).

2.9 Τεχνητές μολύνσεις φυτών

Φυτάρια μελιτζάνας και αγγουριάς μεταφυτεύθηκαν στο στάδιο του δεύτερου πραγματικού φύλλου, σε γλαστράκια όγκου 200 ml με οργανικό εδαφικό υπόστρωμα HuminSubstrat (Klasmann-Deilmann GmbH, Γερμανία). Δύο μέρες μετά τη μεταφύτευση, πραγματοποιήθηκε η μόλυνση στις μελιτζάνες με το *V. dahliae* και/ή με το *M. javanica*. Ειδικότερα το *V. dahliae* εφαρμόστηκε με ριζοπότισμα 20 ml κονιδιακού αιωρήματος συγκέντρωσης $3,5 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ ανά γλαστράκι (Εικόνα 5H), ενώ το *M. javanica* εφαρμόστηκε με έγχυση 1 ml αιωρήματος ωών συγκέντρωσης 400 ml^{-1} ανά γλαστράκι (Εικόνα 5J). Ομοίως, η μόλυνση στις αγγουριές πραγματοποιήθηκε με τον ίδιο τρόπο με το μύκητα *F.o.r.c.* να εφαρμόζεται δύο ημέρες μετά τη μεταφύτευση, σε ποσότητα 20 ml κονιδιακού αιωρήματος συγκέντρωσης $1,0 \times 10^7 \text{ ml}^{-1}$ και/ή 1 ml αιωρήματος ωών του *M. javanica* με συγκέντρωση 400 ml^{-1} ανά γλαστράκι.



Εικόνα 5. Διαδικασία μεταφύτευσης και μόλυνσης φυτών μελιτζάνας στο παθοσύστημα μελιτζάνας-*V. dahliae*-*M. javanica*. **A:** Επιλογή υγιών φυτών ανεπτυγμένων σε βερμικουλίτη, **B:** Μεταφύτευση φυτών με αδιαίρετη ρίζα σε υπόστρωμα HuminSubstrat. **C & D:** Διαχωρισμός των ριζών και μεταφύτευση φυτών

μελιτζάνας πριν τον εμβολιασμόν παθογόνων (split-root system). **E & F:** Άνοιγμα οπών στο εδαφικό υπόστρωμα για τη διάχυση του μολύσματος στο υπόστρωμα. **G:** Ογκομέτρηση κονιδιακού αιωρήματος. **H:** Μόλυνση με το μύκητα *V. dahliae*. **I:** Ογκομέτρηση αιωρήματος ωών του *M. javanica*. **J:** Μόλυνση με τον *M. javanica*. **K:** Φυτά αμέσως μετά από την μόλυνση σε ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες. **L:** Φυτά έπειτα από 23 ημέρες μόλυνσης

Λόγω της μεγαλύτερης διάρκειας του πειράματος του παθοσυστήματος πεπονιά – *M. cannonballus* – *M. javanica*, κρίθηκε απαραίτητο τα φυτά να μεταφυτευθούν σε μεγαλύτερες γλάστρες χωρητικότητας 1000 ml που περιείχαν οργανικό εδαφικό υπόστρωμα HuminSubstrat. Λίγο πριν από τη μεταφύτευση, στο μέσο του οργανικού εδαφικού υποστρώματος της κάθε γλάστρας τοποθετήθηκε ένα δισκίο PDA (85 mm διαμέτρου) το οποίο είχε αποικιστεί πλήρως και καλυφθεί από ενεργά αναπτυσσόμενο μυκήλιο του μύκητα *M. cannonballus* (ηλικίας 10 ημερών) (Εικόνα 6A-C). Η μόλυνση με τον κομβονηματώδη *M. javanica* πραγματοποιήθηκε αμέσως μετά τη μεταφύτευση, όπως περιγράφεται στα προηγούμενα παθοσυστήματα, με την ίδια ποσότητα και συγκέντρωση μολύσματος. Στις αδιαίρετες ρίζες, καθώς και στις διηρημένες ρίζες των φυτών που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες, δεν έγινε εφαρμογή κανενός παθογόνου αλλά τα συγκεκριμένα γλαστράκια ριζοποτήθηκαν με 20 ml νερό. Τα φυτά πεπονιάς παρουσίασαν γρήγορη ανάπτυξη λόγω της αυξημένης θερμοκρασίας και του διαθέσιμου εδαφικού υποστρώματος (Εικόνα 7).



Εικόνα 6. Διαδικασία μεταφύτευσης και μόλυνσης φυτών πεπονιάς στο παθοσύστημα πεπονιάς-*M. cannonballus*-*M. javanica*. **A:** Τριβλίο με πλήρη κάλυψη από ενεργά αναπτυσσόμενο μυκήλιο του *M. cannonballus*. **B & C:** Μόλυνση του εδαφικού υποστρώματος με τον μύκητα. **D:** Άνοιγμα οπών για την εισχώρηση των ριζών στο χώμα. **E:** Μεταφύτευση υγιών φυτών. **F:** Μεταφύτευση φυτών διαχωρίζοντας τις ρίζες τους σε δύο ίσα μέρη. **G:** Εμβολιάσμος με το *M. javanica*. **H:** Φυτό του οποίου έχει ολοκληρωθεί η μεταφύτευση σε σύστημα διηρημένης ρίζας. **I:** Φυτά αμέσως μετά από την μόλυνση σε ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες



Εικόνα 7. Φυτά πεπονιάς 21 ημέρες μετά τη μεταφύτευση κατά τη διεξαγωγή του πειράματος αξιολόγησης των συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων στο παθοσύστημα πεπονιάς-*M. cannonballus*-*M. javanica*.

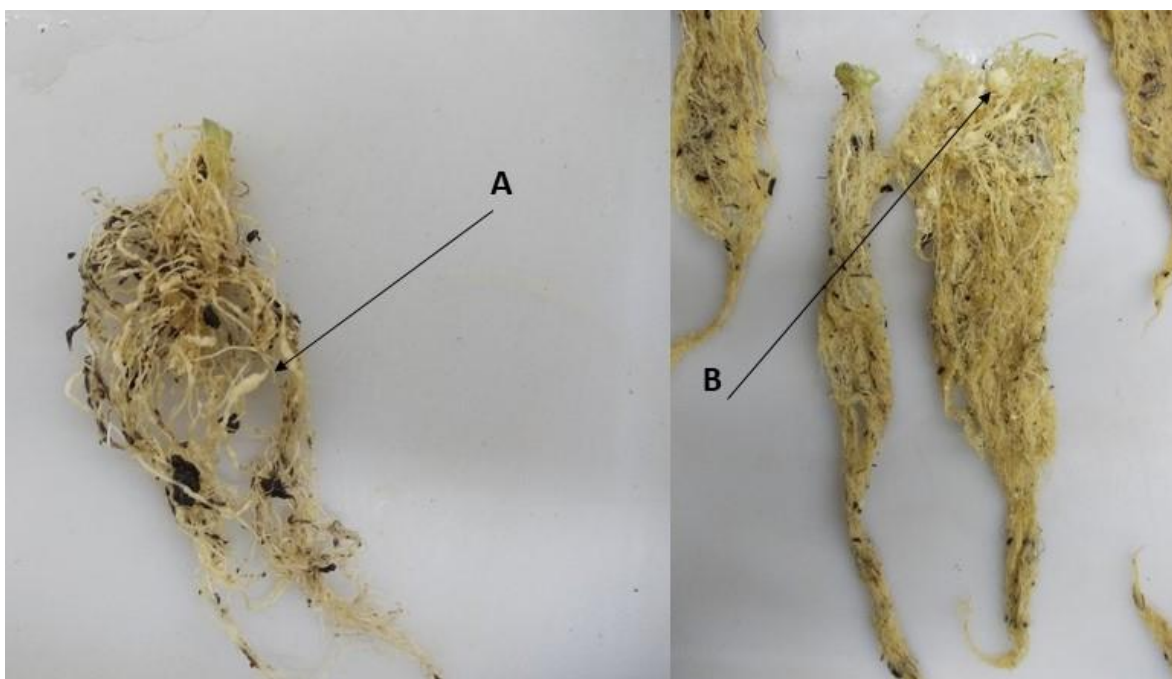
2.10 Καταγραφή συμπτωμάτων των μυκητολογικών ασθενειών

Τα συμπτώματα από το μύκητα *V. dahliae* στη μελιτζάνα καταγράφονταν κάθε εβδομάδα, από τις 16 έως 30 ημέρες μετά την μόλυνση (dpi) με το παθογόνο, ενώ τα συμπτώματα από το *F.o.r.c.* στην αγγουριά καταγράφονταν ανά 3-4 ημέρες, από τις 20 έως 35 ημέρες (dpi) μετά την τεχνητή μόλυνση των φυτών με το παθογόνο. Τα συμπτώματα του μύκητα *Monosporascus cannonballus* καταγράφηκαν στο τέλος της περιόδου βιοδοκιμών παθογένειας, στις 62 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση. Η αξιολόγηση των βιοδοκιμών έγινε με εκτίμηση της έντασης της ασθένειας, της σοβαρότητα της ασθένειας, της θνησιμότητας και της σχετικής AUDPC. Η μέτρηση των συμπτωμάτων για τη μελιτζάνα και για την αγγουριά από το *V. dahliae* και το *F.o.r.c.* αντίστοιχα, έγινε σύμφωνα με τους Markakis et al. (2016). Στην περίπτωση της βερτισιλλίωσης της μελιτζάνας, η ένταση της ασθένειας σε κάθε φυτό μελιτζάνας υπολογίστηκε ως ποσοστό των ασθενών φύλλων ανά φυτό (συνολικός αριθμός των φύλλων με συμπτώματα /

συνολικό αριθμό φύλλων ανά φυτό $\times 100\%$). Για τα συμπτώματα της σήψη των ριζών και του στελέχους στην αγγουριά, η ένταση της ασθένειας βασίστηκε σε οπτικές παρατηρήσεις χρησιμοποιώντας αυθαίρετη κλίμακα 0-5, όπου **0**= υγιές φυτό, **1**= ανοιχτοπράσινο-πορτοκαλί μεταχρωματισμός στο λαιμό και πλευρικά του υποκοτυλίου, **2**= σήψη και καστανός μεταχρωματισμός στο υποκοτύλιο, με πιθανή εμφάνιση μυκητιακής εξάνθησης χρώματος λευκό-πορτοκαλί στον προσβεβλημένο ιστό, **3**= προχωρημένη σήψη και έλκος στο στη βάση του λαιμού και του στελέχους με το ποσοστό ασθενών φύλλων να ανέρχεται έως και 25%, **4**= προχωρημένα συμπτώματα στο στέλεχος με το ποσοστό ασθενών φύλλων να ανέρχεται έως και 50%, **5**= νεκρό ή σχεδόν νεκρό φυτό. Το ποσοστό των ασθενών φύλλων υπολογίστηκε και αποτυπώθηκε γραφικά σε σχέση με το χρόνο προκειμένου να προσδιοριστεί η καμπύλη εξέλιξης της ασθένειας. Ακολούθως υπολογίστηκε το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη εξέλιξης της ασθένειας (Area Under Disease Progress Curve, AUDPC) σύμφωνα με τη μέθοδο της τραπεζοειδούς ολοκλήρωσης (Campbell & Madden, 1990). Η ασθένεια τέλος, εκφράστηκε ως ποσοστό επί του μεγαλύτερου δυνατού εμβαδού που θα ορίζονταν αν επιτυγχάνονταν η υψηλότερη δυνατή ασθένεια από την έναρξη και καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, και αναφέρεται ως «Σχετική AUDPC» (RAUDPC). Για τα συμπτώματα της σήψης των ριζών και την παρακμή των κολοκυνθοειδών, ο δείκτης ασθένειας εκτιμήθηκε έπειτα από την εκρίζωση των φυτών πεπονιάς, βασιζόμενοι σε τρεις κύριους παράγοντες καθένας από τους οποίους βαθμολογήθηκε με χρήση 3-βάθμιας κλίμακα (0-2), οι οποίοι ήταν: πυκνότητα ρίζας (0= πυκνή, 1= μέτρια πυκνή, 2= αραιή), χρώμα ρίζας, 0= λευκό, 1= ελαφρώς καστανές, 2= καστανές) και μήκος ρίζας (0= παχιά ρίζα, 1= μέτρια παχιά ρίζα, 2= λεπτή ρίζα). Στη συνέχεια, η ένταση της ασθένειας προέκυψε από το άθροισμα των βαθμολογιών των επιμέρους παραγόντων. Η σοβαρότητα της ασθένειας εκτιμήθηκε ως το ποσοστό των μολυσμένων φυτών. Για τη σήψη των ριζών και του στελέχους της αγγουριάς και τη σήψη των ριζών και την παρακμή της πεπονιάς ως μολυσμένα θεωρήθηκαν τα φυτά εκείνα που είχαν δείκτη ασθένειας > 1.0 και 2.0 , αντίστοιχα, προκειμένου να γίνει διάκριση μεταξύ των συμπτωμάτων που είχαν προκληθεί λόγω της ασθένειας από άλλα συμπτώματα, που παρατηρούνται περιστασιακά λόγω γήρανσης. Σε όλα τα παθοσυστήματα, η θνησιμότητα των φυτών υπολογίστηκε ως το ποσοστό των νεκρών φυτών.

2.11 Αξιολόγηση της νηματοδολογικής προσβολής

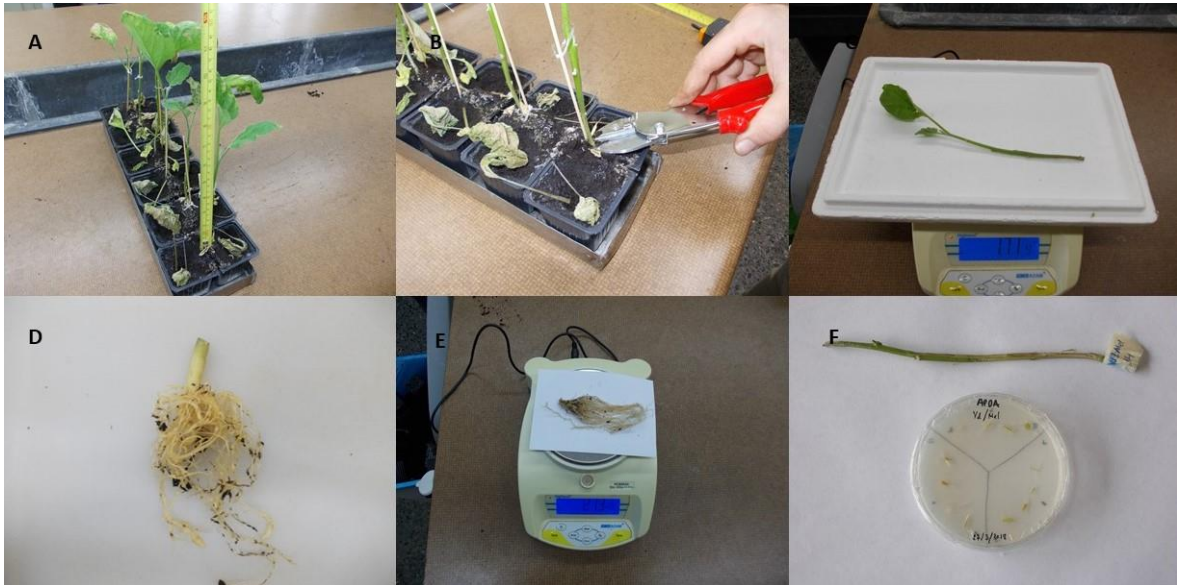
Τα συμπτώματα που προκάλεσε ο κομβονηματώδης *Meloidogyne javanica* σε όλα τα προαναφερθέντα παθοσυστήματα καταγράφηκαν κατά το πέρας του εκάστοτε πειράματος (στις 30, 35 και 62 ημέρες μετά τη μόλυνση των φυτών αγγουριάς, μελιτζάνας και πεπονιάς, αντίστοιχα.). Τα φυτά ξεριζώθηκαν με ολόκληρη τη ριζόσφαιρα και το χώμα απομακρύνθηκε προσεκτικά κάτω από τρεχούμενο νερό βρύσης. Η εκτίμηση για το δείκτη όγκων των ριζών έγινε σύμφωνα με το δείκτη όγκων κλίμακας από 1-10 (Bridge & Page 1980) (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Συμπτώματα όγκων από κομβονηματώδεις *Meloidogyne javanica* σε τεχνητά μολυσμένα φυτά. **A:** Όγκοι σε φυτό μελιτζάνας. **B:** όγκοι σε φυτό πεπονιάς

2.12 Καταγραφή φυτικής ανάπτυξης

Οι παράμετροι ανάπτυξης των τεχνητά μολυσμένων φυτών αξιολογήθηκαν στις 30, 35 και 62 ημέρες για τη μελιτζάνα, την αγγουριά και την πεπονιά αντίστοιχα. Για την αντικειμενική εκτίμηση της επίδρασης όλων των επεμβάσεων, τα φυτά κόπηκαν στο επίπεδο της επιφάνειας του εδάφους και μετρήθηκε το ύψος, το νωπό βάρος και ο συνολικός αριθμός των φύλλων (Εικόνα 9).

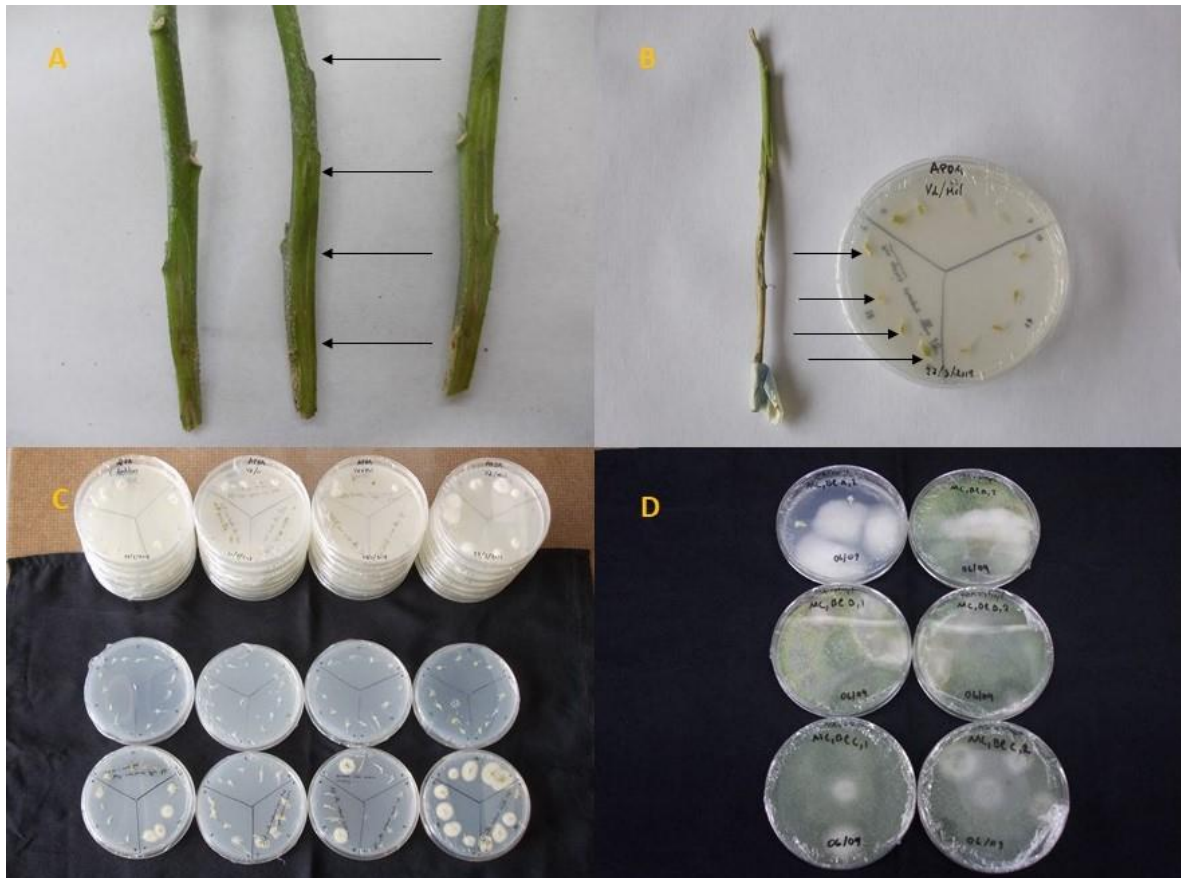


Εικόνα 9. Διαδικασία καταγραφής παραμέτρων φυτικής ανάπτυξης σε φυτά μελιτζάνας. **A:** Μέτρηση ύψους από την επιφάνεια του εδάφους, **B:** Αποκοπή φυτού από το ύψος του εδάφους, **C:** Ζύγισμα νωπού βάρους φυτού. **D:** Ξεπλυμένη ρίζα φυτού για παρατήρηση όγκων, **E:** Ζύγισμα ρίζας φυτού για προσδιορισμό του νωπού της βάρους, **F:** Απομόνωση του μύκητα *V. dahliae* από στέλεχος τεχνητά μολυσμένου φυτού.

2.13 Επαναπομόνωση μυκήτων

Για να επιβεβαιωθεί η παρουσία των εφαρμοζόμενων μυκήτων καθώς και για να εκτιμηθεί η βιομάζα των παθογόνων στους φυτικούς ιστούς, πραγματοποιήθηκαν επαναπομονώσεις σε APDA. Συγκεκριμένα, τα φύλλα από τα φυτά μελιτζάνας και αγγουριάς αφαιρέθηκαν από τα στελέχη που κόπηκαν από το ύψος της επιφάνειας του εδάφους και τα στελέχη απολυμάνθηκαν επιφανειακά με επιφανειακή απολύμανση με αιθυλική αλκοόλη 95% και γρήγορο πέρασμα μέσα από φλόγα για δύο φορές. Για κάθε φυτό, 4 τεμαχίδια από τα αγγεία του ξύλου τα οποία αποκόπηκαν από διαφορετικές θέσεις κατά μήκος του στελέχους υπό ασηπτικές συνθήκες (Εικόνα 10B), τοποθετήθηκαν σε οξιτισμένο υπόστρωμα APDA έπειτα από την απομάκρυνση του φλοιού. Στη συνέχεια, τα τριβλία με το APDA μεταφέρθηκαν σε θάλαμο επώασης σε συνθήκες σκότους και θερμοκρασίας 24 °C για διάστημα 14 ημερών. Για τις βιοδοκιμές με τα φυτά πεπονιάς, τα φυτά ξεριζώθηκαν και το χώμα απομακρύνθηκε από τις ρίζες προσεκτικά κάτω από τρεχούμενο νερό βρύσης. Έπειτα, οι ρίζες κόπηκαν σε τμήματα μήκους 8-15 mm και πλύθηκαν σχολαστικά για 60 λεπτά κάτω από συνεχόμενα τρεχούμενο νερό. Στη συνέχεια, αποστειρώθηκαν επιφανειακά με εμβάπτιση τους σε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 1.5% για 1 λεπτό, ξεπλύθηκαν τρεις φορές σε αποστειρωμένο-απεσταγμένο νερό και

παρέμειναν στο θάλαμο νηματικής ροής για να στεγνώσουν. Αφού έγινε πλήρης απομάκρυνση της υγρασίας, τα τμήματα ρίζας τοποθετήθηκαν σε υλικό PDA εμπλουτισμένο με 0.5g lit^{-1} θειικής στρεπτομυκίνης. Οι μύκητες που αναπτύχθηκαν από το εσωτερικό των φυτικών ιστών, εξετάστηκαν με τη χρήση μικροσκοπίου και ταυτοποιήθηκαν με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους (Pegg & Brady 2002; Pollack & Uecker 1974; Vakalounakis 1996).



Εικόνα 10. Διαδικασία επαναπομόνωσης μυκήτων από τους ιστούς των τεχνητά μολυσμένων φυτών. **A:** Διαφορετικές θέσεις κατά μήκος στελέχους μελιτζάνας από όπου πάρθηκαν προσβεβλημένα τεμαχίδια αγγείων ξύλου για απομόνωση του *Verticillium dahliae*. **B:** Μολυσμένος φυτικός ιστός τοποθετημένος σε υπόστρωμα APDA σε τριβλίο Petri. **C:** Αναπτυγμένες απομονώσεις του μύκητα *V. dahliae*. **D:** Αναπτυγμένες απομονώσεις του μύκητα *Monosporascus cannonballus* από το ριζικό σύστημα μολυσμένης πεπονιάς.

2.14 Στατιστική ανάλυση

Για το κάθε παθοσύστημα εφαρμόστηκε η μέθοδος ανάλυσης της διασποράς (Analysis of Variance, ANOVA) προκειμένου να προσδιοριστούν οι επιδράσεις των επαναλήψεων εντός των πειραμάτων (1, 2 και 3), των επεμβάσεων (οι οποίες

συμβολίζονται ως μάρτυρας-, μάρτυρας-/μάρτυρας-, μύκητας, νηματώδης, μύκητας+νηματώδης, μύκητας/-, νηματώδης/- και μύκητας/νηματώδης) καθώς και η αλληλεπίδρασή τους στη σοβαρότητα της ασθένειας (ΣΑ), στην τελική ένταση ασθένειας (TEA), στη θνησιμότητα (Θ), στη σχετική AUDPC (Σχ. AUDPC), στη συχνότητα επαναπομόνωσης (ΣΕ), στο δείκτη όγκων ρίζας (ΔΟΡ), στο ύψος, στο νωπό βάρος και στο συνολικό αριθμό φύλλων των φυτών. Πρίν από την ANOVA έγινε μετασχηματισμός των πειραματικών δεδομένων σύμφωνα με τη μετατροπή του τόξου ημιτόνου (arcsin) προκειμένου τα δεδομένα να ακολουθούν την κανονική κατανομή. Όπου το κριτήριο του F (σε $P \leq 0.05$) επέδειξε την ύπαρξη σημαντικών διαφορών για τις επεμβάσεις, ακολούθησε διαχωρισμός των μέσων όρων σύμφωνα με τη στατιστική δοκιμασία του *Tukey*. Επιπροσθέτως υπολογίστηκαν τα τυπικά σφάλματα των μέσων όρων.

3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1.1 Συμπτώματα στο παθοσύστημα μελιτζάνα – *Verticillium dahliae* – *Meloidogyne javanica*

Τα αποτελέσματα της ANOVA για το παθοσύστημα μελιτζάνας-*V. dahliae*-*M. javanica* απεικονίζονται στον πίνακα 1. Τα πρώτα συμπτώματα βερτισιλλίωσης στα φυτά μελιτζάνας ξεκίνησαν στις δώδεκα ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνσή τους με το κονιδιακό αιώρημα του μύκητα *V. dahliae*. Ωστόσο, η πρώτη συστηματική αξιολόγηση της ασθένειας πραγματοποιήθηκε τέσσερις μέρες αργότερα (στις 16 ημέρες) και επαναλήφθηκε στις 23 και 30 ημέρες. Η ένταση της ασθένειας εξελίχθηκε σταδιακά με την πάροδο του χρόνου, φτάνοντας τελικά στο 55.01, 51.84, 57.02 και 77.53% για τα φυτά τα οποία είχαν μολυνθεί με το μύκητα στις επεμβάσεις: *V. dahliae* (μόλυνση φυτών με αδιαίρετη ρίζα με τον *V. dahliae*) *V. dahliae*+*M. javanica* (μόλυνση σε φυτά με αδιαίρετη ρίζα με το *V. dahliae* και το *M. javanica* ταυτόχρονα στο ίδιο γλαστράκι), *V. dahliae*/ (φυτά με διηρημένο ριζικό σύστημα στα οποία πραγματοποιήθηκε μόλυνση στο μισό μέρος της ρίζας με *V. dahliae* και το υπόλοιπο μισό ριζοποτήθηκε με νερό) και *V. dahliae*/*M. javanica* (φυτά με διηρημένο ριζικό σύστημα όπου στη μισή ρίζα εφαρμόστηκε ο *V. dahliae* και στην άλλη μισή ο *M. javanica*), αντίστοιχα (Εικόνα 11, Γράφημα 1, Πίνακας 2).

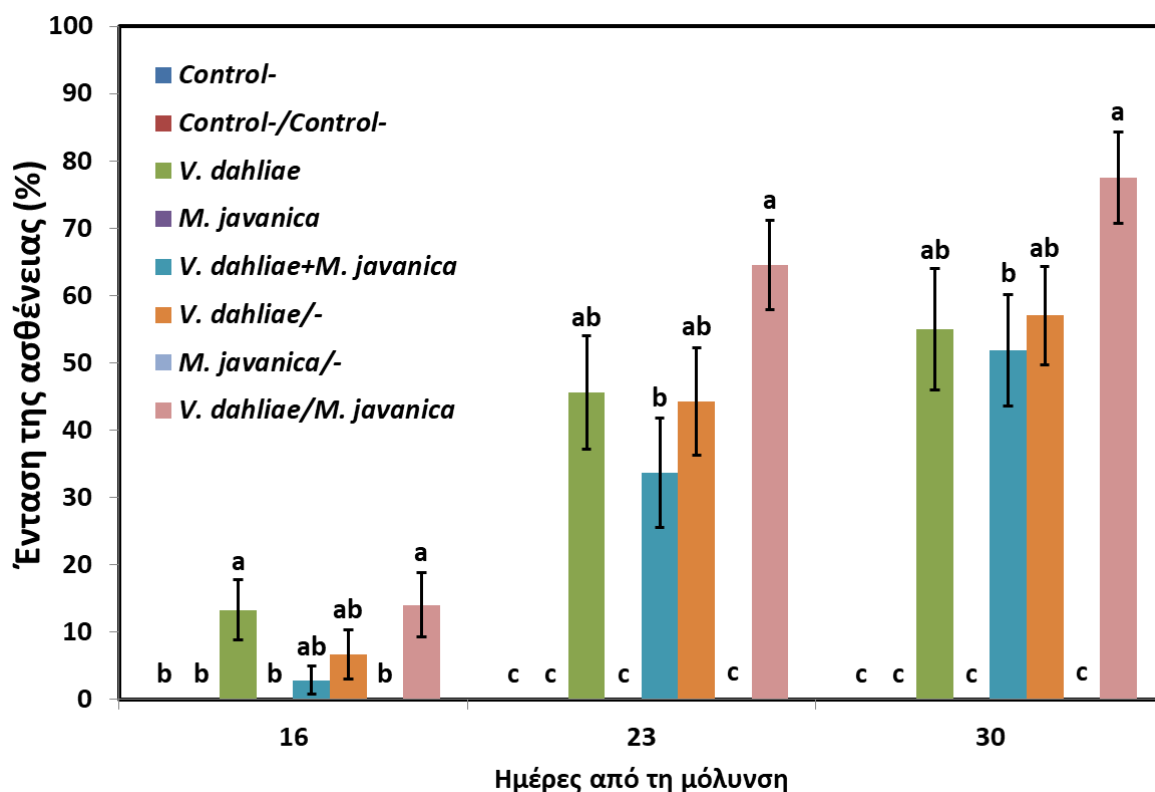
Οι τιμές της τελικής έντασης ασθένειας και της σχετικής AUDPC στην επέμβαση *V. dahliae*/*M. javanica* ήταν σημαντικά υψηλότερες σε σχέση με τα φυτά της επέμβασης *V. dahliae*+*M. javanica*. Επιπλέον, η συχνότητα επαναπομόνωσης του μύκητα στην επέμβαση *V. dahliae*/*M. javanica* ήταν σημαντικά υψηλότερη από τις επεμβάσεις *V. dahliae*, *V. dahliae*+*M. javanica*, και *V. dahliae*/-, υποδηλώνοντας ότι τα φυτά στα οποία έγινε μόλυνση με το *M. javanica*, υπήρξε αυξημένος αποικισμός του μύκητα στο αγγειακό σύστημα του φυτού από το *V. dahliae* όταν έγινε η μόλυνση με το σύστημα διηρημένης ρίζας. Όμως, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων *V. dahliae*+*M. javanica* και *V. dahliae* καθώς και μεταξύ των *V. dahliae*/- και *V. dahliae*/*M. javanica* όσο αναφορά τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων. Αντιθέτως, ο δείκτης όγκων των ριζών στην επέμβαση *V. dahliae*/*M. javanica* ήταν σημαντικά χαμηλότερος σε σχέση με την επέμβαση *M. javanica*, *M. javanica*/- και *V. dahliae*+*M. javanica*. Στις επεμβάσεις που δεν υπήρξε εφαρμογή κάποιου παθογόνου δεν εμφανίστηκαν συμπτώματα στα φυτά, ενώ στα φυτά που έγινε μόλυνση αποκλειστικά με το *M. javanica* δεν παρουσιάστηκε κάποιο σύμπτωμα στα φύλλα.

Πίνακας 1. Ανάλυση διακύμανσης της διασποράς (ANOVA) για τη σοβαρότητα της ασθένειας (ΣΑ), την τελική ένταση της ασθένειας (TEA), τη θνησιμότητα (Θ), σχετική AUDPC (Σχ. AUDPC), τη συχνότητα επαναπομόνωσης του παθογόνου (ΣΕ) και το δείκτης όγκων ρίζας (ΔΟΡ) για φυτά μελιτζάνας στο παθοσύστημα μελιτζάνα-*V. dahliae*-*M. javanica*

Παράγοντες	β.ε. ^b	Τιμές F ^a					
		ΣΑ	TEA	Θ	Σχ. AUDPC	ΣΕ	ΔΟΡ
Επανάληψη	2	1.38	0.20	0.12	0.51	0.64	0.18
Επέμβαση	7	46.73***	34.99***	9.28***	22.31***	60.78***	170.01***
Επανάληψη × Επέμβαση	14	1.35	1.03	1.16	1.29	0.67	0.91

^a Το σύμβολο '***' υποδηλώνει σημαντικότητα για $P \leq 0.001$, σύμφωνα με το *F* test

^b Βαθμοί ελευθερίας εντός των ομάδων

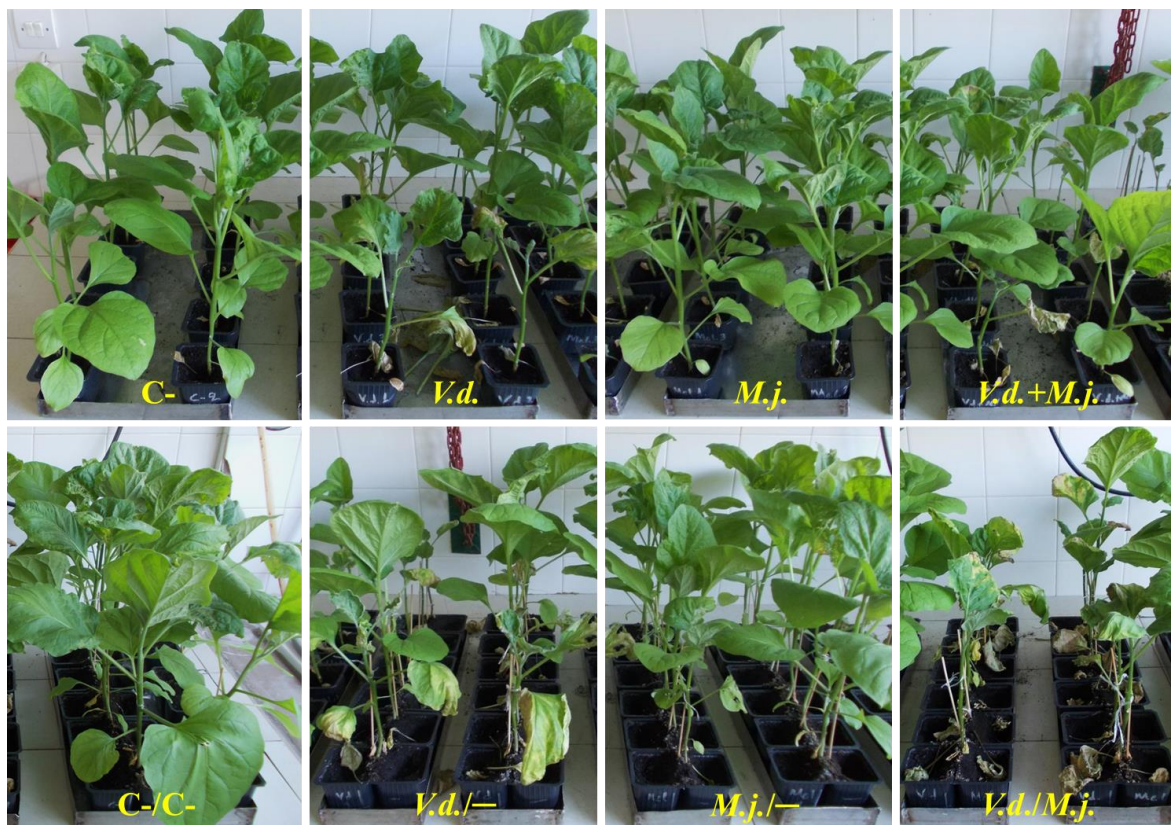


Γράφημα 1. Έντασης της ασθένειας της βερτισιλλίωσης σε φυτά μελιτζάνας, τα οποία είχαν μολυνθεί τεχνητά με διάφορους συνδυασμούς του μύκητα *Verticillium dahliae* (20 ml αιωρήματος με 3.5×10^6 κονίδια ml^{-1} ανά φυτό) και του κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* (400 ωά ml^{-1} ανά φυτό) στις 16, 23 και 30 μέρες μετά τη μόλυνση. Για κάθε χρονικό σημείο όπου έγινε η αξιολόγηση, οι στήλες που δε συνδέονται με τα ίδια γράμματα διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά σύμφωνα με το τη στατιστική δοκιμασίας *Tukey HSD* (για $P \leq 0.05$). Οι διακλαδισμένες γραμμές επάνω στις στήλες υποδηλώνουν το τυπικό σφάλμα.

Πίνακας 2. Τιμές (\pm τυπικά σφάλματα) των παραμέτρων της ασθένειας για τα φυτά μελιτζάνας στο παθοσύστημα μελιτζάνα-*V. dahliae*-*M. javanica*

Επέμβαση	Παράμετροι ασθένειας ^a					
	ΣΑ (%)	TEA (% ή κλίμακα 0-5)	Θ (%)	Σχ. AUDPC (%)	ΣΕ	ΔΟΡ (κλίμακα 0-10)
Control-	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 c	0.00 \pm 0.00 c	0.00 \pm 0.00 c
Control-/Control-	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 c	0.00 \pm 0.00 c	0.00 \pm 0.00 c
<i>V. dahliae</i>	66.7 \pm 12.6 a	55.0 \pm 9.1 ab	47.6 \pm 9.9 abc	22.2 \pm 4.2 ab	0.62 \pm 0.08 b	0.00 \pm 0.00 c
<i>M. javanica</i>	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 c	0.00 \pm 0.00 c	4.14 \pm 0.16 a
<i>V. dahliae</i> + <i>M. javanica</i>	71.4 \pm 8.7 a	51.8 \pm 8.2 b	71.4 \pm 8.7 a	15.0 \pm 3.1 b	0.57 \pm 0.07 b	3.90 \pm 0.12 a
<i>V. dahliae</i> /-	81.0 \pm 6.7 a	57.0 \pm 7.3 ab	19.1 \pm 9.9 bc	19.8 \pm 3.5ab	0.61 \pm 0.06 b	0.00 \pm 0.00 c
<i>M. javanica</i> /-	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 c	0.00 \pm 0.00 c	3.98 \pm 0.11 a
<i>V. dahliae</i> / <i>M. javanica</i>	90.5 \pm 6.2 a	77.5 \pm 6.8 a	66.7 \pm 10.3 ab	27.7 \pm 3.5 a	0.86 \pm 0.04 a	2.98 \pm 0.38 b

^a Οι παράμετροι της ασθένειας αξιολογήθηκαν περιοδικά με βάση τα οπτικά εξωτερικά συμπτώματα κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 30 ημερών μετά τη μόλυνση του φυτού με κονιδιακό αιώρημα του μύκητα *Verticillium dahliae* (20 ml 3.5×10^6 κονίδια ml^{-1} ανά φυτό) και / ή αιώρημα ωών του κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* (400 ωά ml^{-1} ανά φυτό) για τις βιοδοκιμές με μελιτζάνα. Κάθε τιμή αντιπροσωπεύει το μέσο όρο 21 φυτών. Εντός του πειράματος, οι τιμές στις στήλες οι οποίες ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, δεν διαφέρουν σημαντικά σύμφωνα με το τεστ *Tukey HSD* με $P \leq 0,05$.



Εικόνα 11. Συμπτώματα ασθένειας σε φυτά μελιτζάνας τα οποία έχουν μολυνθεί τεχνητά με το μύκητα *Verticillium dahliae* και/ή με τον κομβομηματώδη *Meloidogyne javanica* σε διάφορους συνδυασμούς.

3.1.2 Συμπτώματα στο παθοσύστημα αγγουριά – *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* – *Meloidogyne javanica*

Τα αποτελέσματα της ANOVA για το παθοσύστημα αγγουριά-*F.o.r.c.*-*M. javanica* απεικονίζονται στον πίνακα 3. Τα πρώτα συμπτώματα του μύκητα *F.o.r.c.* εμφανίστηκαν 20 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση ενώ η συστηματική καταγραφή τους πραγματοποιήθηκε για άλλες 15 ημέρες. Η ένταση της ασθένειας εξελίχθηκε απότομα στις επεμβάσεις *F.o.r.c.* και *F.o.r.c./M. javanica*, ακολουθούμενες από τις επεμβάσεις *F.o.r.c.+M. javanica*, ενώ τα φυτά στις επεμβάσεις *F.o.r.c./-* εμφάνισαν πιο ήπια συμπτώματα και παρουσίασαν βραδύτερη εξέλιξη της ασθένειας (Εικόνα 12, Γράφημα 2, Πίνακας 4). Στις επεμβάσεις όπου εφαρμόστηκε ο μύκητας *F.o.r.c.* (είτε μόνος του είτε σε συνδυασμό με το *M. javanica* σε φυτά με αδιαίρετη αλλά και σε εκείνα με τη διηρημένη ρίζα), οι τελικές τιμές της έντασης της ασθένειας κυμαίνονταν από 1.38 έως 3.48 ενώ οι σχετικές τιμές της AUDPC κυμαίνονταν από 6.08 έως 11.17%. Στην επέμβαση *F.o.r.c.* τα

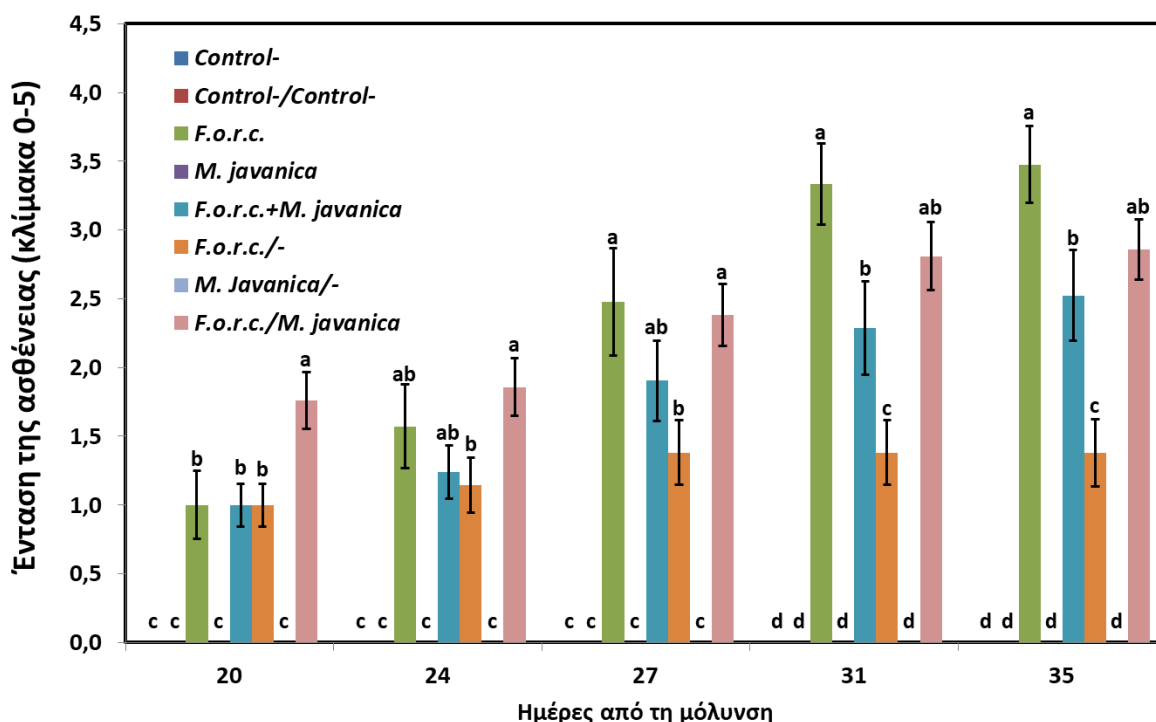
συμπτώματα της ασθένειας ήταν εντονότερα σε σχέση με τα φυτά της επέμβασης *F.o.r.c.+M. javanica*, ενώ στην επέμβαση *F.o.r.c./-* τα φυτά εμφάνισαν χαμηλότερη ένταση ασθένειας και συχνότητα επαναπομόνωσης του μύκητα σε σύγκριση με τα φυτά της επέμβασης *F.o.r.c./M. javanica*. Επίσης, οι τιμές δείκτη όγκου στη ρίζα στην επέμβαση *F.o.r.c.+M. javanica* ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε σχέση με την επέμβαση *M. javanica*. Είναι ενδιαφέρον ότι ο δείκτης όγκων ρίζας στα φυτά της επέμβασης *F.o.r.c./M. javanica* ήταν σημαντικά αυξημένος στο τμήμα της ρίζας που έγινε τεχνητή μόλυνση με το νηματώδη σε σύγκριση με το δείκτη όγκων ρίζας στις επεμβάσεις *M. javanica/-* και *F.o.r.c.+M. javanica*.

Πίνακας 3. Ανάλυση διακύμανσης της διασποράς (ANOVA) για τη σοβαρότητα της ασθένειας (ΣΑ), την τελική ένταση της ασθένειας (TEA), τη θνησιμότητα (Θ), τη σχετική AUDPC (Σχ. AUDPC), τη συχνότητα επαναπομόνωσης του παθογόνου (ΣΕ) και το δείκτης όγκων ρίζας (ΔΟΡ) για φυτά αγγουριάς στο παθοσύστημα αγγουριά -*F.o. f.sp. radialis-cucumerinum* -*M. javanica*

Παράγοντες	β.ε. ^b	Τιμές <i>F</i> ^a					
		ΣΑ	TEA	Θ	RAUDPC	ΣΕ	ΔΟΡ
Επανάληψη	2	0.06	0.12	0.42	0.24	0.17	0.44
Επέμβαση	7	28.59***	58.15***	12.53***	35.61***	29.61***	163.12***
Επανάληψη × Επέμβαση	14	0.42	0.83	1.90	1.58	1.21	1.65

^a Το σύμβολο '***' υποδηλώνει σημαντικότητα για $P \leq 0.001$, σύμφωνα με το *F* test

^b Βαθμοί ελευθερίας εντός των ομάδων

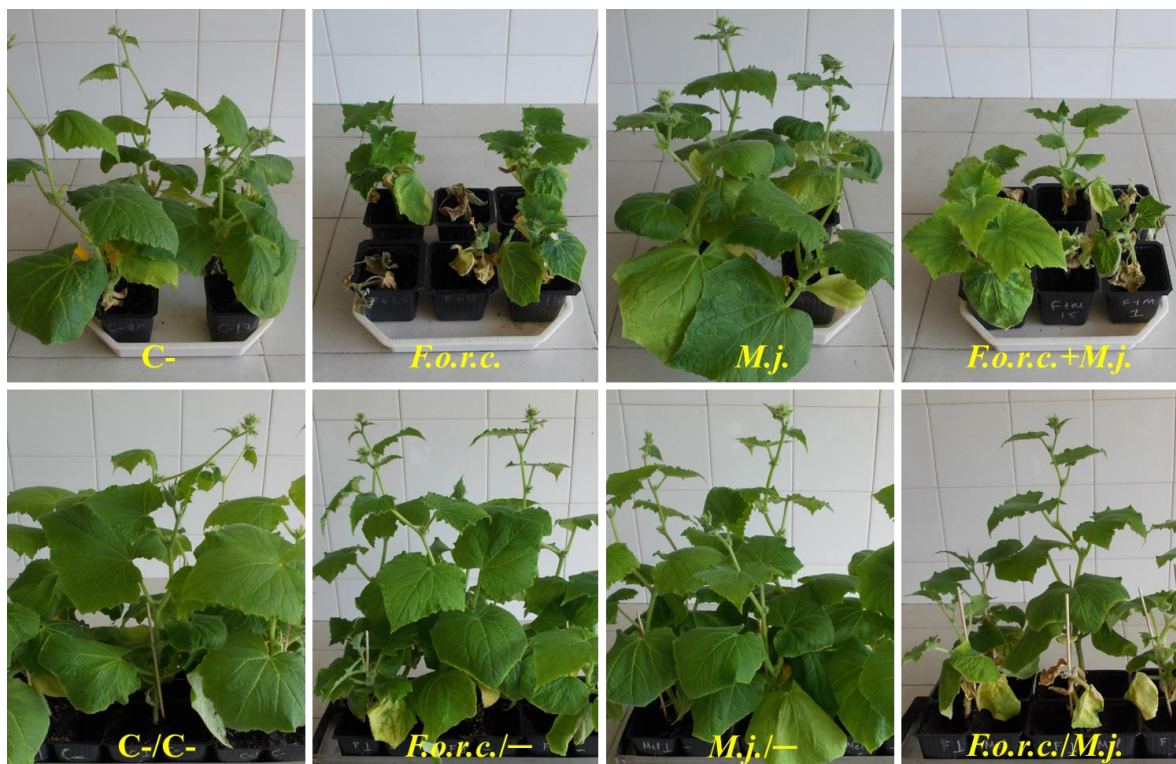


Γράφημα 2. Δείκτης έντασης της ασθένειας της σήψης λαιμού και ριζών σε φυτά αγγουριάς, τα οποία είχαν μολυνθεί τεχνητά με συνδυασμούς του μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis-cucumerinum* (20 ml 1 x 10⁷ κονίδια ml⁻¹ ανά φυτό) και του κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* (400 ωά ml⁻¹ ανά φυτό), στις 20, 24, 27, 31 και 35 μέρες μετά τη μόλυνση. Για κάθε χρονικό σημείο όπου έγινε η αξιολόγηση, οι στήλες που δε συνδέονται με τα ίδια γράμματα διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά σύμφωνα με το τη στατιστική δοκιμασίας Tukey HSD (για P ≤ 0.05). Οι διακλαδισμένες γραμμές επάνω στις στήλες υποδηλώνουν το τυπικό σφάλμα.

Πίνακας 4. Τιμές (±τυπικά σφάλματα) των παραμέτρων της ασθένειας για τα φυτά αγγουριάς στο παθοσύστημα αγγουριά -*F.o.* f.sp. *radicis-cucumerinum* -*M. javanica*

Επέμβαση	Παράμετροι ασθένειας ^a					
	ΣΑ (%)	TEA (% ή κλίμακα 0-5)	Θ (%)	Σχ. AUDPC (%)	ΣΕ	ΔΟΡ (κλίμακα 0-10)
Control-	0.0±0.0c	0.0±0.0 d	0.0±0.0 b	0.0±0.0 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 d
Control-/Control-	0.0±0.0 c	0.0±0.0 d	0.0±0.0 b	0.0±0.0 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 d
<i>F.o.r.c.</i>	95.2±4.8 a	3.5±0.3 a	42.9±9.5 a	8.3±1.4 ab	0.65±0.10 a	0.00±0.00 d
<i>M. javanica</i>	0.0±0.0 c	0.0±0.0 d	0.0±0.0 b	0.0±0.0 c	0.00±0.00 b	3.48±0.18 ab
<i>F.o.r.c.</i> + <i>M. javanica</i>	71.4±8.7 ab	2.5±0.3 b	28.6±8.7 a	7.3±1.0 b	0.74±0.09 a	2.76±0.26 c
<i>F.o.r.c.</i> /-	47.6±16.0 b	1.4±0.2 c	0.0±0.0 b	6.1±0.9 b	0.26±0.08 b	0.00±0.00 d
<i>M. javanica</i> /-	0.0±0.0 c	0.0±0.0 d	0.0±0.0 b	0.0±0.0 c	0.00±0.00 b	3.45±0.12 b
<i>F.o.r.c.</i> / <i>M. javanica</i>	90.5±6.2 a	2.9±0.2 ab	28.6±8.7 a	11.2±1.1 a	0.64±0.08 a	4.12±0.25 a

^a Οι παράμετροι της ασθένειας αξιολογήθηκαν περιοδικά με βάση τα οπτικά εξωτερικά συμπτώματα κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 35 ημερών μετά τη μόλυνση των φυτών με κονιδιακό αιώρημα του μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* (20 ml 1 x 10⁷ κονίδια ml⁻¹ ανά φυτό και / ή αιώρημα ωών του κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* (400 ωά ml⁻¹ ανά φυτό). Κάθε τιμή αντιπροσωπεύει το μέσο όρο 21 φυτών. Εντός του πειράματος, οι τιμές στις στήλες οι οποίες ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά σύμφωνα με το Tukey HSD με P ≤ 0.05.



Εικόνα 12. Συμπτώματα ασθένειας σε φυτά αγγουριάς τα οποία έχουν υποστεί τεχνητή μόλυνση με το μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* και/ή με τον κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* σε διάφορους συνδυασμούς.

3.1.4 Συμπτώματα στο παθοσύστημα πεπονιά – *Monosporascus cannonballus* – *Meloidogyne javanica*

Τα αποτελέσματα της ANOVA για το παθοσύστημα πεπονιά - *M. cannonballus* - *M. javanica* απεικονίζονται στον πίνακα 5. Σε αντίθεση με τα δύο προηγούμενα παθοσυστήματα, δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές στην ένταση της ασθένειας στα φυτά των διαφορετικών επεμβάσεων εντός της περιόδου των 62 ημέρων κατά την οποία διήρκησε το πείραμα για το συγκεκριμένο παθοσύστημα. Οι μόνες στατιστικές διαφορές που εντοπίστηκαν αφορούσαν στα τεχνητά μολυσμένα φυτά σε σχέση με τα φυτά του αμόλυντου μάρτυρα (control-) (Εικόνα 13, Πίνακας 11). Όμως, ο δείκτης όγκου ρίζας στα φυτά με το διηρημένο ριζικό σύστημα τα οποία είχαν μολυνθεί με τον *M. javanica*, ήταν σημαντικά αυξημένος σε σύγκριση με τα φυτά με αδιαίρετη ρίζα τα οποία είχαν μολυνθεί με το νηματώδη (Πίνακας 6).

Πίνακας 5. Ανάλυση διακύμανσης της διασποράς (ANOVA) για τη σοβαρότητα της ασθένειας (ΣΑ), την τελική ένταση της ασθένειας (TEA), τη θνησιμότητα (Θ), τη σχετική AUDPC (Σχ. AUDPC), τη συχνότητα επαναπομόνωσης του παθογόνου (ΣΕ) και το δείκτης όγκων ρίζας (ΔΟΡ) για τα φυτά πεπονιάς στο παθοσύστημα πεπονιά-*M. cannonballus*-*M. javanica*

Παράγοντες	β.ε. ^b	Τιμές <i>F</i> ^a					
		ΣΑ	TEA	Θ	RAUDPC	ΣΕ	ΔΟΡ
Επανάληψη	2	1.25	0.844	-	-	0.24	0.55
Επέμβαση	7	11.38***	14.40***	-	-	9.45***	174.26** *
Επανάληψη × Επέμβαση	14	1.33	1.693	-	-	0.46	0.96

^a Το σύμβολο '***' υποδηλώνει σημαντικότητα για $P \leq 0.001$, σύμφωνα με το *F* test

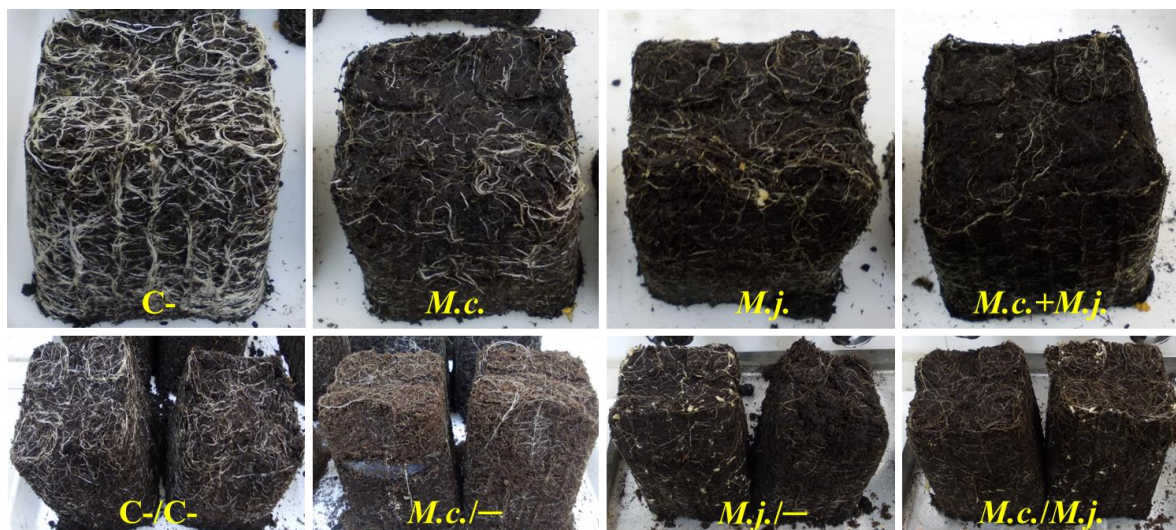
^b Βαθμοί ελευθερίας εντός των ομάδων

Πίνακας 6. Τιμές (±τυπικά σφάλματα) των παραμέτρων της ασθένειας για τα φυτά πεπονιάς στο παθοσύστημα πεπονιά-*M. cannonballus*-*M. javanica*

Επέμβαση	Παράμετροι ασθένειας ^a					
	ΣΑ (%)	TEA (% ή κλίμακα 0-5)	Θ (%)	Σχ. AUDPC (%)	ΣΕ	ΔΟΡ (κλίμακα 0-10)
Control-	0.0±0.0 b	0.9±0.3 d	0.0±0.0 a	ΔΑ ^b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c
Control-/Control-	0.0±0.0 b	1.4±0.2 cd	0.0±0.0 a	ΔΑ	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c
<i>M.cannonballus</i>	66.7±14.6 a	2.9±0.4 ab	0.0±0.0 a	ΔΑ	0.22±0.04 a	0.00±0.00 c
<i>M. javanica</i>	71.4±11.3 a	3.5±0.4 ab	0.0±0.0 a	ΔΑ	0.00±0.00 b	3.21±0.32 b
<i>M.cannonballus</i> + <i>M. javanica</i>	81.0±6.7 a	3.9±0.3 a	0.0±0.0 a	ΔΑ	0.14±0.04 ab	2.76±0.26 b
<i>M.cannonballus</i> /-	52.4±14.3 a	2.9±0.4 ab	0.0±0.0 a	ΔΑ	0.14±0.06 a	0.00±0.00 c
<i>M. javanica</i> /-	52.4±16.0 a	2.4±0.3 bc	0.0±0.0 a	ΔΑ	0.00±0.00 b	6.98±0.42 a
<i>M.cannonballus</i> / <i>M. javanica</i>	90.5±6.1 a	4.0±0.2 a	0.0±0.0 a	ΔΑ	0.14±0.03 ab	7.10±0.29 a

^a Οι παράμετροι της ασθένειας αξιολογήθηκαν περιοδικά με βάση τα συμπτώματα στις ρίζες φυτών πεπονιάς κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 62 ημερών μετά τη μεταφύτευση των φυτών στο μολυσμένο οργανικό υπόστρωμα, το οποίο μολύνθηκε με *Monosporascus cannonballus* (ενσωματώνοντας δίσκιο 90mm διαμέτρου από καλλιέργεια ηλικίας 10 ημερών του μύκητα ανά γλαστράκι και / ή αιώρημα ωών του κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* (400 ωά ml⁻¹ ανά γλαστράκι). Κάθε τιμή αντιπροσωπεύει το μέσο όρο 21 φυτών πεπονιάς. Εντός του πειράματος, οι τιμές στις στήλες οι οποίες δε συνδέονται με το ίδιο γράμμα, διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά σύμφωνα με το *Tukey* HSD με $P \leq 0.05$.

^b ΔΑ = δεν αξιολογήθηκε η συγκεκριμένη παράμετρος. Οι τιμές για τη σχετική AUDPC δεν υπολογίστηκαν καθώς οι παράμετροι της ασθένειας αξιολογήθηκαν μόνο μία φορά κατά το πέρας των βιοδκιμών (στις 62 ημέρες).



Εικόνα 12. Συμπτώματα της ασθένειας σε ρίζες φυτών πεπονιάς τα οποία έχουν υποστεί τεχνητή μόλυνση με το μύκητα *Monosporascus cannonballus* και/ή με τον κομβοηματώδη *Meloidogyne javanica* σε διάφορους συνδυασμούς.

3.1.5 Επίδραση της συνεργιστικής δράσης μύκητα – κομβοηματώδη στην ανάπτυξη των φυτών στα επιμέρους παθοσυστήματα

Τα αποτελέσματα της ANOVA για τις παραμέτρους φυτικής ανάπτυξης που εξετάστηκαν στα παθοσυστήματα μελιτζάνα - *V. dahliae* - *M. javanica*, αγγουριά - *F.o.r.c.* - *M. javanica* και πεπονιά - *M. cannonballus* - *M. javanica*, απεικονίζονται στους πίνακες 7, 8 και 9, αντίστοιχα.

Πίνακας 7. Ανάλυση διακύμανσης της διασποράς (ANOVA) για το ύψος, το νωπό βάρος και το συνολικό αριθμό φύλλων φυτών μελιτζάνας στο παθοσυστήμα μελιτζάνα-*V. dahliae*-*M. javanica*

Παράγοντες	Τιμές F^a			
	β.ε. ^b	Ύψος φυτών	Νωπό βάρος φυτών	Αριθμός φύλλων ανά φυτό
Επανάληψη	2	0.18	0.04	0.20
Επέμβαση	7	14.38**	16.04***	13.71***
Επανάληψη × Επέμβαση	14	0.92	0.77	0.53

^a Το σύμβολο '***' υποδηλώνει σημαντικότητα για $P \leq 0.001$, σύμφωνα με το *F* test

^b Βαθμοί ελευθερίας εντός των ομάδων

Πίνακας 8. Ανάλυση διακύμανσης της διασποράς (ANOVA) για το ύψος, το νωπό βάρος και το συνολικό αριθμό φύλλων φυτών αγγουριάς στο παθοσύστημα αγγουριά- *F.o. f.sp. radialis-cucumerinum-M. javanica*

Παράγοντες	β.ε. ^b	Τιμές F ^a		
		Ύψος φυτών	Νωπό βάρος φυτών	Αριθμός φύλλων ανά φυτό
Επανάληψη	2	0.97	2.12	0.49
Επέμβαση	7	34.60**	30.534***	19.62***
Επανάληψη × Επέμβαση	14	0.57	0.52	1.30

^a Το σύμβολο ‘***’ υποδηλώνει σημαντικότητα για $P \leq 0.001$, σύμφωνα με το *F* test

^b Βαθμοί ελευθερίας εντός των ομάδων

Πίνακας 9. Ανάλυση διακύμανσης της διασποράς (ANOVA) για το ύψος, το νωπό βάρος και το συνολικό αριθμό φύλλων φυτών πεπονιάς στο παθοσύστημα πεπονιά- *M. cannonballus-M. javanica*

Παράγοντες	β.ε. ^b	Τιμές F ^a		
		Ύψος φυτών	Νωπό βάρος φυτών	Αριθμός φύλλων ανά φυτό
Επανάληψη	2	0.82	1.41	0.59
Επέμβαση	7	1.67	13.42***	22.90***
Επανάληψη × Επέμβαση	14	0.79	1.20	2.05

^a Το σύμβολο ‘***’ υποδηλώνει σημαντικότητα για $P \leq 0.001$, σύμφωνα με το *F* test

^b Βαθμοί ελευθερίας εντός των ομάδων

Οι τιμές των παραμέτρων φυτικής ανάπτυξης για τα φυτά μελιτζάνας, αγγουριάς και πεπονιάς, τα οποία μολύνθηκαν τεχνητά με τους μύκητες *V. dahliae*, *F.o.r.c.* και *M. cannonballus* αντίστοιχα, με ή χωρίς τον κομβονηματώδη *M. javanica* σε διάφορους συνδυασμούς (είτε σε φυτά με αδιαίρετη ρίζα ή σε φυτά με διηρημένο ριζικό σύστημα) συμπεριλαμβανομένων των επεμβάσεων με τους μάρτυρες, αποδίδονται στους πίνακες 10, 11 και 12, αντίστοιχα. Σε γενικές γραμμές, τα φυτά με διηρημένη ρίζα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες (Control-/Control-) παρουσίασαν υψηλότερες τιμές νωπού βάρους καθώς και αυξημένο αριθμό φύλλων σε σχέση με τις αντίστοιχες επεμβάσεις φυτών τα οποία αναπτύχθηκαν σε μονά γλαστράκια (Control-), πιθανώς λόγω της μεγαλύτερης ποσότητας διαθέσιμου εδάφους που είχαν για να αναπτυχθούν. Επομένως, η επίδραση των διαφόρων επεμβάσεων στην ανάπτυξη των φυτών παρουσιάζεται πρωτίστως συγκρίνοντας ξεχωριστά τις επεμβάσεις για τα φυτά με διηρημένο ριζικό σύστημα από τα φυτά με το αδιαίρετο ριζικό σύστημα.

Η μόλυνση με το μύκητα *V. dahliae* στη μελιτζάνα είτε όταν εφαρμόστηκε μεμονομένα είτε όταν η εφαρμογή έγινε σε συνδυασμό με το νηματώδη (στα φυτά με διηρημένο ριζικό σύστημα αλλά και σε εκείνα με το αδιαίρετο ριζικό σύστημα) προκάλεσε

σημαντική μείωση των παραμέτρων φυτικής ανάπτυξης σε σύγκριση με τους αντίστοιχους μάρτυρες. Αντίθετα, η μόλυνση μόνο με τον *M. javanica* δεν επηρέασε τα φυτά σημαντικά ως προς την ανάπτυξή τους. Επίσης, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων *V. dahliae*+*M. javanica* και *V. dahliae*, καθώς και μεταξύ των επεμβάσεων *V. dahliae*/*M. javanica* και *V. dahliae*/-, όσον αναφορά την ανάπτυξη των φυτών (Πίνακας 10).

Πίνακας 10. Τιμές (\pm τυπικά σφάλματα) των παραμέτρων φυτικής ανάπτυξης για τα φυτά μελιτζάνας στο παθοσύστημα μελιτζάνα-*V. dahliae*-*M. javanica*

Επέμβαση	Παράμετροι φυτικής ανάπτυξης ^a		
	Ύψος φυτών (cm)	Νωπό βάρος (gr)	Αριθμός φύλλων ανά φυτό
Control-	32.1 \pm 0.7 a	13.1 \pm 0.6 bc	7.1 \pm 0.1 bcd
Control-/Control-	34.7 \pm 0.8 a	19.5 \pm 0.8 a	8.0 \pm 0.1 a
<i>V. dahliae</i>	24.6 \pm 1.5 c	7.6 \pm 1.4 d	6.4 \pm 0.2 e
<i>M. javanica</i>	31.0 \pm 0.5 ab	14.1 \pm 0.5 b	7.6 \pm 0.1 ab
<i>V. dahliae</i> + <i>M. javanica</i>	25.2 \pm 1.1 c	8.0 \pm 0.9 d	6.9 \pm 0.2 cde
<i>V. dahliae</i> /-	26.5 \pm 1.6 bc	9.0 \pm 1.6 cd	6.2 \pm 0.2 e
<i>M. javanica</i> /-	34.4 \pm 0.9 a	17.2 \pm 1.2 ab	7.5 \pm 0.2 abc
<i>V. dahliae</i> / <i>M. javanica</i>	24.8 \pm 1.5 c	7.6 \pm 1.7 d	6.5 \pm 0.2 de

^a Οι παράμετροι της φυτικής ανάπτυξης της μελιτζάνας αξιολογήθηκαν 30 ημέρες μετά την μόλυνση με το μύκητα *Verticillium dahliae* και τον κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* σε διάφορους συνδυασμούς. Εντός του πειράματος, οι τιμές στις στήλες οι οποίες συνδέονται με το ίδιο γράμμα, δεν διαφέρουν σημαντικά σύμφωνα με τη στατιστική δοκιμασία Tukey HSD με $P \leq 0.05$.

Ομοίως, οι επεμβάσεις *M. javanica* και *M. javanica*/- δεν μείωσαν σημαντικά την ανάπτυξη των φυτών σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες (control- και control-/control-). Ωστόσο, στις επεμβάσεις σε φυτά με αδιαίρετη ρίζα οι επεμβάσεις *F.o.r.c.* και *F.o.r.c.*+*M. javanica* προκάλεσαν σημαντική μείωση του ύψους των φυτών, ενώ η επέμβαση *F.o.r.c.* μείωσε σημαντικά τον αριθμό των φύλλων σε σύγκριση με το μάρτυρα. Αντιθέτως, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των φυτών των επεμβάσεων *F.o.r.c.* και *F.o.r.c.*+*M. javanica*. Αναφορικά με τις επεμβάσεις σε φυτά με διηρημένη ρίζα, τα φυτά της επέμβασης *F.o.r.c.*/*M. javanica* είχαν σημαντικά χαμηλότερο ύψος και νωπό βάρος σε σχέση με τα φυτά του μάρτυρα (control-/control-), ενώ οι επεμβάσεις *F.o.r.c.*/- και *M. javanica*/- δεν επέδρασαν σημαντικά στη φυτική ανάπτυξη. Επιπροσθέτως, τα φυτά της επέμβασης *F.o.r.c.*/*M. javanica* επέδειξαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές στο ύψος και στο νωπό βάρος σε σύγκριση με τα φυτά των επεμβάσεων *F.o.r.c.*/- και *M. javanica*/- (Πίνακας 11).

Πίνακας 11. Τιμές (\pm τυπικά σφάλματα) των παραμέτρων φυτικής ανάπτυξης για τα φυτά αγγουριάς στο παθοσύστημα αγγουριά- *F.o. f.sp. radialis-cucumerinum-M. javanica*

Επέμβαση	Παράμετροι φυτικής ανάπτυξης ^a		
	Ύψος φυτών (cm)	Νωπό βάρος (gr)	Αριθμός φύλλων ανά φυτό
Control-	23.7 \pm 1.1b	12.3 \pm 0.8 c	7.2 \pm 0.2 bc
Control-/Control-	36.0 \pm 1.5 a	24.1 \pm 0.1 a	9.9 \pm 0.3 a
<i>F.o.r.c</i>	13.0 \pm 1.5 d	7.3 \pm 1.1 c	5.6 \pm 0.6 d
<i>M. javanica</i>	21.1 \pm 0.8 bc	11.7 \pm 0.7 c	6.6 \pm 0.2 cd
<i>F.o.r.c +M. javanica</i>	15.1 \pm 1.2 cd	9.3 \pm 1.1 c	7.1 \pm 0.4 cd
<i>F.o.r.c /-</i>	31.7 \pm 1.7 a	23.5 \pm 1.5 ab	9.6 \pm 0.3 a
<i>M. javanica/-</i>	34.3 \pm 1.6 a	25.3 \pm 1.5 a	9.1 \pm 0.3 a
<i>F.o.r.c./M. javanica</i>	25.0 \pm 1.8 b	18.0 \pm 2.0 b	8.7 \pm 0.5 ab

^a Οι παράμετροι της φυτικής ανάπτυξης της αγγουριάς αξιολογήθηκαν 30 ημέρες μετά την μόλυνση με το μύκητα *F.o. f.sp. radialis-cucumerinum* και τον κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* σε διάφορους συνδυασμούς. Εντός του πειράματος, οι τιμές στις στήλες οι οποίες συνδέονται με το ίδιο γράμμα, δεν διαφέρουν σημαντικά σύμφωνα με τη στατιστική δοκιμασία Tukey HSD με $P \leq 0.05$.

Τέλος, στην περίπτωση των βιοδοκιμών στην πεπονιά δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών επεμβάσεων στα φυτά των οποίων το ριζικό σύστημα ήταν αδιαίρετο. Ωστόσο, στις επεμβάσεις με τα φυτά που είχαν διηρημένο ριζικό σύστημα και συγκεκριμένα τα φυτά των επεμβάσεων *M. cannonballus/-*, *M. javanica/-* και *M. cannonballus/M. javanica* εμφάνισαν σημαντικά χαμηλότερο νωπό βάρος και αριθμό φύλλων σε σχέση με τα αντίστοιχα φυτά των επεμβάσεων του μάρτυρα (Control-/Control-) (Πίνακας 12).

Πίνακας 12. Τιμές (\pm τυπικά σφάλματα) των παραμέτρων φυτικής ανάπτυξης σε φυτά πεπονιάς στο παθοσύστημα πεπονιά- *M. cannonballus-M. javanica*

Επέμβαση	Παράμετροι φυτικής ανάπτυξης ^a		
	Ύψος φυτών (cm)	Νωπό βάρος (gr)	Αριθμός φύλλων ανά φυτό
Control-	306.9 \pm 7.7 a	168.6 \pm 4.1 c	34.0 \pm 1.1 d
Control-/Control-	360.9 \pm 14.2 a	261.0 \pm 10.0 a	61.9 \pm 2.3 a
<i>M.cannonballus</i>	318.7 \pm 13.7 a	169.3 \pm 6.2 c	35.1 \pm 1.6 d
<i>M. javanica</i>	328.1 \pm 12.0 a	171.1 \pm 5.5 c	34.5 \pm 1.9 d
<i>M.cannonballus+M. javanica</i>	332.6 \pm 18.8 a	172.0 \pm 4.8 c	36.6 \pm 1.7 cd
<i>M.cannonballus/-</i>	326.5 \pm 13.3 a	205.5 \pm 10.7 bc	48.8 \pm 2.7 b
<i>M. javanica/-</i>	354.0 \pm 13.4 a	206.3 \pm 10.6 bc	45.8 \pm 2.3 bc
<i>M.cannonballus/M. javanica</i>	348.0 \pm 17.3 a	221.3 \pm 15.4 b	46.3 \pm 2.8 b

^a Οι παράμετροι της φυτικής ανάπτυξης της πεπονιάς αξιολογήθηκαν 62 ημέρες μετά την μόλυνση με το μύκητα *M. cannonballus* και τον κομβονηματώδη *Meloidogyne javanica* σε διάφορους συνδυασμούς. Εντός του πειράματος, οι τιμές στις στήλες οι οποίες συνδέονται με το ίδιο γράμμα, δεν διαφέρουν σημαντικά σύμφωνα με τη στατιστική δοκιμασία Tukey HSD με $P \leq 0.05$.

4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι συνεργιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτοπαρασιτικών νηματωδών και εδαφογενών μυκήτων ενάντια στα φυτά-ξενιστές αποτελούν μεγάλης οικονομικής και επιστημονικής σημασίας. Η ήδη δύσκολη διαχείριση των ασθενειών κάθε ομάδας από τα προαναφερθέντα παθογόνα μπορεί να γίνει ακόμη δυσκολότερη όταν τα παθογόνα αυτά εμπλέκονται σε περίπλοκες αλληλεπιδράσεις επιφέροντας συχνά απρόβλεπτες επιπτώσεις στις καλλιέργειες. Εκτός αυτού, το αποτέλεσμα τέτοιων αλληλεπιδράσεων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες όπως ο γονότυπος του ξενιστή, το είδος του νηματώδη, ο πλυθησμός των εδαφογενών μυκήτων και οι περιβαλλοντικές συνθήκες (Back et al., 2002). Η θεωρία ότι οι πληγές που προκαλούνται στη ρίζα των φυτών από τη δράση του νηματώδη διευκολύνουν την είσοδο φυτοπαθογόνων μικροβίων, οδηγώντας τελικά σε αυξημένη ένταση συμπτωμάτων, φαίνεται ως η πιο προφανής εξήγηση πίσω από αυτές τις αλληλεπιδράσεις. Ωστόσο, αυτή η απλουστευμένη υπόθεση φαίνεται πλέον να εξελίσσεται, καθώς έχουν αποκαλυφθεί διαφορετικοί και πιο περίπλοκοι μηχανισμοί που διέπουν αυτές τις συσχετίσεις μεταξύ των διαφορετικών παθοσυστημάτων (Back et al., 2002). Ως εκ τούτου, κάθε σχέση φυτού-μύκητα-νηματώδη πρέπει να μελετάται ξεχωριστά, προκειμένου να εκτιμηθούν οι πιθανές δυσμενείς επιπτώσεις στις καλλιέργειες του ενδιαφέροντος μας και να εκτιμηθεί ο κίνδυνος ασθένειας, επιτρέποντας την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών διαχείρισης. Στη παρούσα εργασία διερευνήθηκαν οι άμεσες και έμμεσες συνεργιστικές αλληλεπιδράσεις του *M. javanica* με τους μύκητες *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* και *Monosporascus cannonballus* σε φυτά μελιτζάνας, αγγουριάς και πεπονιάς, αντίστοιχα.

Στο παρελθόν, κυριαρχούσε η άποψη πως ο τραυματισμός των ριζών που προερχόταν από τη προσβολή νηματωδών ήταν υπεύθυνος για την αυξημένη ευαισθησία των φυτών στην προσβολή από εδαφογενείς μυκητολογικές ασθένειες (Taylor 1990). Πράγματι, αυτό θα μπορούσε να υποτεθεί στην περίπτωση των βιοδικομών στο παθοσύστημα πεπονιά - *M. cannonballus* - *M. javanica*, όπου η συνδυαστική μόλυνση και με τα δύο παθογόνα προκάλεσε μια μη-στατιστικά σημαντική αύξηση της σοβαρότητας και της έντασης της ασθένειας κατά 21.4 και 34.5% αντίστοιχα, σε σύγκριση με τα φυτά πεπονιάς που εμβολιάστηκαν μόνο με το μύκητα στο πείραμα με φυτά χωρίς διηρημένο ριζικό σύστημα. Ωστόσο, στο παθοσύστημα μελιτζάνα - *V. dahliae* - *M. javanica*, η

ταυτόχρονη μόλυνση των φυτών με τα δύο παθογόνα χωρίς αυτά να έρθουν σε επαφή μεταξύ (split-root system) τους οδήγησε σε εντονότερα συμπτώματα βερτισιλλίωσης και σε αυξημένο αποικισμό του μύκητα στον αγγειακό ιστό απ'ότι εάν τα δύο παθογόνα εφαρμοζόνταν ταυτόχρονα στο ίδιο φυτό έτσι ώστε να βρίσκονται σε άμεση επαφή μεταξύ τους. Επιπλέον, στις βιοδοκιμές που διενεργήθηκαν στο παθοσύστημα αγγουριάς – *F.o.r.c.* – *M. javanica*, τα φυτά με αδιαίρετη ρίζα που εμβολιάστηκαν μόνο με το μύκητα έδειξαν σημαντικά εντονότερη συμπτωματολογία σε σχέση με τα φυτά που εμβολιάστηκαν ταυτόχρονα με το μύκητα και το νηματώδη. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η μολυσματικότητα των μυκήτων *V. dahliae* και *F.o.r.c.* σε μελιτζάνα και αγγουριά, αντίστοιχα, εν μέρη παρεμποδίζεται αντί να ευνοείται από τους τραυματισμούς που προέρχονται από το νηματώδη, πιθανώς λόγω τροποποιήσεων που πραγματοποιούνται εντός της ριζόσφαιρας ή και λόγω αλλαγών της φυσιολογίας στο φυτό-ξενιστή (Back et al., 2002). Σε σχετικές έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί στο παρελθόν με άλλα παθογόνα έχει διαπιστωθεί ότι τα σημεία της ρίζας στα οποία επενεργεί ο νηματώδης δεν θεωρούνται πρωταρχικής σημασία πύλες εισόδου για επακόλουθη είσοδο εδαφογενών μυκήτων (Back et al. 2002; Perry 1963; Taylor 1990).

Σε ότι αφορά τη μόλυνση με τον κομβονηματώδη *M. javanica*, διαπιστώθηκε ότι η μόλυνση των ριζών μελιτζάνας σε φυτά με αδιαίρετη ρίζα δεν επηρεάστηκε σημαντικά από παρουσία του *V. dahliae*, υποδεικνύοντας ότι δεν υπάρχει σημαντική συσχέτιση των δύο παθογόνων προς όφελος του νηματώδους βάσει του δείκτη όγκου ριζών. Παρομοίως, με βάση τα συμπτώματα που προκάλεσε ο *M. cannonballus* στην πεπονιά και τα συμπτώματα που προκάλεσε ο κομβονηματώδης δεν αποδεικνύεται να υπάρχει σημαντική συσχέτιση των δύο παθογόνων (*M. cannonballus* και *M. javanica*) υπέρ του ενός ή του άλλου, όταν τα δύο αυτά παθογόνα εφαρμόστηκαν ταυτόχρονα σε φυτά με αδιαίρετη ρίζα. Αντιθέτως, όταν ο κομβονηματώδης *M. javanica* συνδυάστηκε με το μύκητα *F.o.r.c.* σε φυτά με αδιαίρετη ρίζα, οι αγγουριές εμφάνισαν λιγότερα συμπτώματα του κομβονηματώδη σε σύγκριση με τα φυτά που μολύνθηκαν αποκλειστικά με το κομβονηματώδη. Όπως παρατηρήθηκε, η δραστηριότητα των κομβονηματωδών μείωσε σημαντικά την ένταση των συμπτωμάτων από το *F.o.r.c.* και αντιστρόφως, η δραστηριότητα του μύκητα *F.o.r.c.* μείωσε σημαντικά τα συμπτώματα που προκαλεί ο κομβονηματώδης στα φυτά αγγουριάς. Από όσο γνωρίζουμε μέχρι σήμερα, τέτοιες αρνητικές αλληλεπιδράσεις δεν έχουν αναφερθεί ποτέ στην έως τώρα διαθέσιμη βιβλιογραφία για την αλληλεπίδραση *F.o.r.c.*-*M.*

javanica. Στην περίπτωση της αλληλεπίδρασης του νηματώδη *Globodera palida* με το μύκητα *Rhizoctonia solani* σε φυτά πατάτας υπάρχουν ενδείξεις ότι η ανάπτυξη του νηματώδη παρεμποδίζεται σε φυτά που είναι ταυτόχρονα μολυσμένα με το μύκητα (Back et al., 2006). Οστόσο, σε αρκετές εργασίες έχει δείχθει ότι η διείσδυση των νηματωδών αυξάνεται όταν τα φυτά έχουν προηγουμένως μολυνθεί με μυκητολογικά παθογόνα ή ότι τα σημεία πάνω στα οποία διατρέφονται ενδοπαρασιτικοί νηματώδεις αποτελούν θέσεις προτίμησης για φυτοπαθογόνους μύκητες (Back et al., 2002).

Επίσης, οι βιοδοκιμές με τη χρήση του συστήματος διαχωρισμού των ριζών έδειξαν σημαντικές έμμεσες αλληλεπιδράσεις μεταξύ του *M. javanica* και των εδαφογενών μυκήτων εις βάρος των φυτών-ξενιστών. Συγκεκριμένα, ο δείκτης όγκων στις ρίζες φυτών μελιτζάνας με διηρημένο ριζικό σύστημα, τα οποία είχαν μολυνθεί και με τα δύο παθογόνα (*M. javanica* και *V. dahliae*) ήταν συγκριτικά χαμηλότερος από ότι στα φυτά μελιτζάνας με διηρημένο ριζικό σύστημα όπου το μισό μέρος της ρίζας είχε μολυνθεί με το *M. javanica* ενώ το υπόλοιπο μισό ριζοποτίστηκε με νερό. Ακόμη μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι όλες οι παράμετροι της ασθένειας που εξετάστηκαν παρουσίασαν σημαντική αύξηση στα φυτά αγγουριάς με διηρημένο ριζικό σύστημα, τα οποία είχαν μολυνθεί και με τα δύο παθογόνα (*F.o.r.c.* και *M. javanica*) σε σύγκριση με τα φυτά αγγουριάς με αδιαίρετη ρίζα στα οποία είχε γίνει μόλυνση με το κάθε παθογόνο ξεχωριστά. Οι παραπάνω συσχετίσεις θα μπορούσαν πιθανώς να αποδοθούν στην εμφάνιση διασυστηματικών ενώσεων που προκαλούνται λόγω της προσβολής από τον κομβονηματώδη, οι οποίες μπορούν να μετακινηθούν εντός του φυτού προσδίδοντας σε αυτό διασυστηματική αντοχή (Wajid Khan 1993). Στην περίπτωση των βιοδοκιμών στο παθοσύστημα πεπονιά – *M. cannonballus* – *M. javanica* δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές έμμεσες αλληλεπιδράσεις.

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω, είναι προφανές ότι απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση για την αποσαφήνιση των απόκρυφων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κοινωνιών φυτών – μυκήτων – νηματωδών. Μελλοντικά, θα πρέπει να βασιστούμε σε μια πιο στοχευμένη έρευνα προκειμένου να κατανοήσουμε τους μοριακούς μηχανισμούς που λαμβάνουν χώρα κατά τη διενέργεια των αλληλεπιδράσεων των τριπλών παθοσυστημάτων που προαναφέρθηκαν. Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν διαφορετικούς τύπους σχέσης μεταξύ των διαφορετικών παθοσυστημάτων, ενώ η ανάγκη να κατανοήσουμε ξεχωριστά τα διαφορετικά σύμπλοκα ασθένειας προκειμένου να

μπορέσουμε να επιλέξουμε την κατάλληλη στρατηγική και να εφαρμόσουμε τα κατάλληλα μέτρα αντιμετώπισης έχει επισημανθεί στο παρελθόν (Back et al., 2002). Επομένως, είναι αναγκαίο το κάθε παθοσύστημα φυτό – μύκητας - νηματώδης να μελετάται ξεχωριστά, λαμβάνοντας υπόψη τις διάφορες παραμέτρους που μπορούν να επηρεάζουν τις πολύπλοκες αυτές αλληλεπιδράσεις. Επιπλέον, η κατάλληλη στρατηγική αντιμετώπισης θα πρέπει να σχεδιάζεται σε επίπεδο μεμονομένων αγρών, λαμβάνοντας υπόψιν τα συγκεκριμένα μυκητολογικά και νηματωδολογικά προβλήματα που υφίστανται στις επιμέρους εκματαλλεύσεις.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

2 Journal of Phytopathology

Decision Letter (JPHY-20-129.R2)

From: schaffrath@bio3.rwth-aachen.de
To: markakis@nagref-her.gr, nikoss87@hotmail.com, etzortza@nagref.gr, tsaniklidis@nagref-her.gr, christinalagogianni@hotmail.gr, markmanos1979@gmail.com, iro.pardavella@gmail.com, dgoumas@hmu.gr
CC:
Subject: Journal of Phytopathology - Decision on Manuscript ID JPHY-20-129.R2
Body: 02-Nov-2020

Dear Dr. Emmanouil Markakis:

It is a pleasure to provisionally accept your manuscript entitled "Investigation of interactions between *Meloidogyne javanica* and three soil-borne fungi against susceptible plant hosts" in its current form for publication in the Journal of Phytopathology. Both reviewers recommended publication, however reviewer 2 pointed to several editorial issues which you have to address to ensure publication. Please revise your manuscript accordingly before submitting the final version.

As part of the Journal's continued commitment to its authors, the Editorial Office and Publisher wish to keep you informed about what will happen next and, as the attached paper/footer contains important information regarding journal publication and services for authors, you may wish to save it for future reference.

You will receive an email from the production team once your paper is on Early View. This will provide links to complete colour work agreement and copyright forms.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Journal of Phytopathology, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Dr. Ulrich Schaffrath
Editor, Journal of Phytopathology
schaffrath@bio3.rwth-aachen.de

P.S. We believe your images might be appropriate for use on the cover of the journal. This is an optional, premium service that aims to increase exposure and showcase your research through a different medium. The cost of this service is \$1160 for a front cover, which will be charged to you if your Cover Image is selected to be featured. If you would like to submit images from your paper, or an alternative original image related to the work, please email your suggestions to covers@wiley.com for consideration. Please see our Cover Image FAQ <https://authorservices.wiley.com/author-resources/Journal-Authors/Promotion/journal-cover-image.html> for details on Cover Image preparation and submission. Waivers and discounts are available, following the Wiley Open Access guidelines based on authors' location: <https://authorservices.wiley.com/open-science/open-access/for-authors/waivers-and-discounts.html>.

P.P.S. You can help your research get the attention it deserves! Check out Wiley's Promotion Guide for best-practice recommendations for promoting your work at www.wileyauthors.com/maximize.

Date Sent: 02-Nov-2020

File 1: [- JPHY-20-129.R2 Proof hi-Rev2-1.11.2020.pdf](#)

Files attached

[JPHY-20-129.R2 Proof hi-Rev2-1.11.2020.pdf](#)



Journal of Phytopathology

Investigation of interactions between *Meloidogyne javanica* and three soil-borne fungi against susceptible plant hosts

Journal:	<i>Journal of Phytopathology</i>
Manuscript ID	JPHY-20-129.R2
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	22-Sep-2020
Complete List of Authors:	Markakis, Emmanouil; Department of Viticulture, Vegetable Crops, Floriculture and Plant Health Krasagakis, Nikolaos Tzortzakakis, Emmanuel Tsaniklidis, Georgios Lagogianni, Christina; Agricultural University of Athens, Department of Crop Science Ligoxigakis, Eleftherios Pardavella, Iro Goumas, Dimitrios
Keywords:	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis-cucumerinum</i> , root-knot nematodes, <i>Monosporascus cannonballus</i> , <i>Verticillium dahliae</i> , plant host, synergism

SCHOLARONE™
Manuscripts

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1 **Heading**

2 Short title (running head): Interactions of soil-borne fungi with *Meloidogyne javanica*

3

4 Main institution: *Institute of Olive Tree, Subtropical Crops and Viticulture,*
5 *N.A.G.R.E.F., Hellenic Agricultural Organization – DEMETER, 71307, Heraklion,*
6 *Crete, Greece*

7

8 **Title: Investigation of interactions between *Meloidogyne javanica* and three soil-**
9 **borne fungi against susceptible plant hosts**

10

11 Authors: Emmanouil A. Markakis¹, Nikolaos Krasagakis^{1,5}, Emmanuel A.
12 Tzortzakakis², Georgios Tsaniklidis³, Christina S. Lagogianni⁴, Eleftherios K.
13 Ligoxigakis¹, Iro V. Pardavella² and Dimitrios E. Goumas⁵

14

15 ¹Laboratory of Mycology, ²Laboratory of Nematology and ³Laboratory of Vegetable
16 Crops, Department of Viticulture, Vegetable Crops, Floriculture and Plant Protection,
17 Institute of Olive Tree, Subtropical Crops and Viticulture, N.A.G.R.E.F., Hellenic
18 Agricultural Organization - DEMETER, 32^A Kastorias street, Mesa Katsabas 71307,
19 Heraklion, Crete, Greece

20 ⁴Laboratory of Plant Pathology, Agricultural University of Athens, Votanikos 11855,
21 Athens, Greece

22 ⁵Laboratory of Plant Pathology, Department of Agriculture, School of Agricultural
23 Sciences, Hellenic Mediterranean University, Stavromenos 71004, Heraklion, Crete,
24 Greece

25

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

- Abad, P., Castagnone-Sereno, P., Rosso, M. N., Engler, J. D. A., & Favery, B. (2009). Invasion, feeding and development. Root-knot nematodes, 163-181.
- Agrios, G. N. (2005). Plant diseases caused by fungi. *Plant Pathology*, 4.
- Aleandri, M. P., Martignoni, D., Reda, R., & Chilosi, G. (2015). Effects of preconditioning through mycorrhizal inoculation on the control of melon root rot and vine decline caused by *Monosporascus cannonballus*. *Journal of Phytopathology*, 163(11-12), 898-907.
- Andrés, M. F., González-Coloma, A., Sanz, J., Burillo, J., & Sainz, P. (2012). Nematicidal activity of essential oils: a review. *Phytochemistry Reviews*, 11(4), 371-390.
- Back, M. A., Haydock, P. P. J., & Jenkinson, P. (2002). Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens. *Plant Pathology*, 51(6), 683-697.
- Back, M. A., Haydock, P. P. J., & Jenkinson, P. (2006). Interactions between the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* and diseases caused by *Rhizoctonia solani* AG3 in potatoes under field conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 114, 215-223.
- Balbino, D. A. D. (2015). Reação de diferentes culturas a *Monosporascus cannonballus*.
- Berlanger, I., & Powelson, M. L. (2005). *Verticillium wilt*. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094. PHI-I-PHI-I-2000-0801-01.
- Bowman, P., & Bloom, J. R. (1966, January). Breaking resistance of tomato varieties to fusarium wilt by *Meloidogyne incognita*. In *Phytopathology* (Vol. 56, No. 8, p. 871). 3340 Pilot Knob Road, St Paul, mn 55121: Amer Phytopathological soc.
- Bridge, J., & Page, S. L. J. (1980). Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart. *International Journal of Pest Management*, 26(3), 296-298.
- Buena, A., García-Álvarez, A., Díez-Rojo, M. Á., & Bello, A. (2006). Use of crop

- residues for the control of *Meloidogyne incognita* under laboratory conditions. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 62(10), 919-926.
- Campbell, C. L., & Madden, L.V. (1990). Introduction to Plant Disease Epidemiology. Wiley, New York.
- Carneiro, R.M.D.G., Carneiro, R.G., Abrantes, I.M.O., Santos, M.S.N.A., Almeida, M.R.A. 1996. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. *Journal of Nematology*. 28, 177-189.
- Carroll, C. L., Carter, C. A., Goodhue, R. E., Lawell, C. Y. C. L., & Subbarao, K. V. (2017). A review of control options and externalities for verticillium wilts. *Phytopathology*, 108(2), 160-171.
- Carroll, C. L., Carter, C. A., Goodhue, R. E., Lawell, C.-Y. C. L., & Subbarao, K. V. (2018). A Review of Control Options and Externalities for Verticillium Wilts. *Phytopathology*, 108(2), 160–171.
- Cerkauskas, R. F., Brown, J., & Ferguson, G. (2001). First report of Fusarium stem and root rot of greenhouse cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radiciscucumerinum* in Ontario. *Plant disease*, 85(9), 1028-1028.
- Chitwood, D. J. (2002). Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual review of phytopathology*, 40(1), 221-249.
- Cohen, R., Pivonia, S., Burger, Y., Edelstein, M., Gamliel, A., & Katan, J. (2000). Toward integrated management of Monosporascus wilt of melons in Israel. *Plant Disease*, 84(5), 496-505.
- Collange, B., Navarrete, M., Peyre, G., Mateille, T., Tchamitchian, M. 2011. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: The challenge of an agronomic system analysis. *Crop Protection*. 30, 1251-1262.
- Eboigbe, Lugard (2012, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ), The study of pathogenicity genes in ascomycete fungus *Verticillium dahliae*. Σελ. 15
- Eisenback, J.D. and Hunt, D.J. Chapter 2. ROOT-KNOT NEMATODES. ©CAB International 2009. Edited By: Roland N. Perry, Maurice Moens and James L.

Starr.

- Eisenback, J.D., Triantaphyllou, H.H. 1991. Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: Manual of Agricultural Nematology, W. R. Nickle. (Ed). Marcel Dekker. New York.
- Fourie, G., Steenkamp, E. T., Ploetz, R. C., Gordon, T. R., & Viljoen, A. (2011). Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* formae specialis *cubense* within the *Fusarium oxysporum* complex. *Infection, Genetics and Evolution*, 11(3), 533-542.
- Garibaldi, A., Gilardi, G., Ortu, G., & Gullino, M. L. (2016). First Report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* Causing Wilt on Cucumber (*Cucumis sativus*) in Italy. *Plant Disease*, 100(8), 1791.
- Giannakou, I. O., & Anastasiadis, I. (2005). Evaluation of chemical strategies as alternatives to methyl bromide for the control of root-knot nematodes in greenhouse cultivated crops. *Crop Protection*, 24(6), 499-506.
- Hawksworth, D. L., & Talboys, P. W. (1970). *Verticillium albo-atrum*. *CMI Descriptions of pathogenic fungi and bacteria*.
- Hawksworth, D.L. and Talboys, P.W. 1970 *Verticillium dahliae*. Production of pathogenic fungi and bacteria No 256. Common wealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- Hol, G.W.H. & Cook, R. 2005. An overview of arbuscular mycorrhizal fungi-nematode interactions. *Basic and Applied Ecology*. 6, 489-503.
- <https://www.cabi.org/isc/datasheet/33246> *Meloidogyne javanica* Distribution map
- Huisman, O.C. and Gerik, J.S. 1989. Dynamics of colonization of plant roots by *Verticillium dahliae* and other fungi. Pages 1-17 in: Tjamos, E.C. and Beckman, C.H. (eds.). Vascular Wilt Diseases of Plants. Basic studies and control. Springer, Berlin (NATO-ASI Series, Vol. H28) 590 pp.
- Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection*, 19(8-10), 603-608.
- Isman, M. B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.*, 51, 45-66.
- Karaca, G., & Kahveci, E. (2010). First report of *Fusarium oxysporum* f. sp.

- radicis-cucumerinum* on cucumbers in Turkey. *Plant Pathology*, 59(6), 1173-1174.
- Khan, M. W. (1993). Mechanisms of interactions between nematodes and other plant pathogens. In *Nematode interactions* (pp. 55-78). Springer, Dordrecht.
- Kiewnick, S. & Sikora, R.A. 2006. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. *Biological Control*. 38, 179-187.
- Ligoxigakis, E. K., & Markakis, E. A. (2012). Incidence and pathogenicity of races and isolates of *Verticillium dahliae* in Crete, southern Greece. *Phytoparasitica*, 40(5), 493-506.
- Ligoxigakis, E. K., & Vakalounakis, D. J. (1994). The incidence and distribution of races of *Verticillium dahliae* in Crete. *Plant Pathology*, 43(4), 755-758.
- Ligoxigakis, E.K., Vakalounakis D.J. and Thanassouloupoulos C.C. 2002b. Weed hosts of *Verticillium dahliae* in Crete: Susceptibility, symptomatology and significance. *Phytoparasitica* 30(5): 511-518.
- Ligoxigakis, E.K., Vakalounakis D.J. and Thanassouloupoulos C.C. 2002a. Host range of *Verticillium dahliae* in cultivated species in Crete. *Phytoparasitica* 30(2): 141-146.
- Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J. (2005) Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, 2nd ed. CAB International, Wallingford, UK.
- Markakis EA, Trantas EA, Lagogianni CS, Mpalantinaki E, Pagoulatou M, Ververidis F, Goumas dE (2018) First report of root rot and vine decline of melon caused by *Monosporascus cannonballus* in Greece. *Plant Disease* 102(5), p 1036.
- Markakis, E. A., Fountoulakis, M. S., Daskalakis, G. C., Kokkinis, M., & Ligoxigakis, E. K. (2016). The suppressive effect of compost amendments on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* in cucumber and *Verticillium dahliae* in eggplant. *Crop Protection*, 79, 70-79.
- Martyn, R.D. 2002. *Monosporascus* root rot and vine decline of melons. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2002-0612-01. Updated 2009.
- Mertely, J. C., Martyn, R. D., Miller, M. E., & Bruton, B. D. (1993). An expanded host range for the muskmelon pathogen *Monosporascus cannonballus*. *Plant disease*

(USA).

- Moens, M., Perry, N.P., Starr, L.J. Chapter 2. ROOT-KNOT NEMATODES. ©CAB International 2009. Edited By: Roland N. Perry, Maurice Moens and James L. Starr.
- Moens, M., Perry, R. N., & Starr, J. L. (2009). *Meloidogyne* species—a diverse group of novel and important plant parasites. *Root-knot nematodes*, 1, 483.
- Moreno, A., Alferez, A., Aviles, M., Dianez, F., Blanco, R., Santos, M., & Tello, J. C. (2001). First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* on cucumber in Spain. *Plant disease*, 85(11), 1206-1206.
- Morgan, E. D. (2009). Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(12), 4096-4105.
- Ntalli, N. G., Menkissoglu-Spiroudi, U., Giannakou, I. O., & Prophetou-Athanasiadou, D. A. (2009). Efficacy evaluation of a neem (*Azadirachta indica* A. Juss) formulation against root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*. *Crop Protection*, 28(6), 489-494.
- Orion, D. and Kritzman, G. 1991. Antimicrobial activity of *Meloidogyne javanica* gelatinous matrix. *Nematologica*. 14, 481-483
- Ornat, C., & Sorribas, F. J. (2008). Integrated management of root-knot nematodes in mediterranean horticultural crops. In *Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes* (pp. 295-319). Springer, Dordrecht.
- Pavlou, G. C., Vakalounakis, D. J., & Ligoxigakis, E. K. (2002). Control of root and stem rot of cucumber, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, by grafting onto resistant rootstocks. *Plant Disease*, 86(4), 379-382.
- Pegg, G. F., & Brady, B. L. (2002). *Verticillium wilts*. CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire.
- Perry, D. A. (1963). Interaction of root knot and Fusarium wilt of Cotton. *Empire Cotton Growing Review*, 40(1).
- Ploeg, A. (2008). Biofumigation to manage plant-parasitic nematodes. In *Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes* (pp. 239-

- 248). Springer, Dordrecht..
- Ploetz, R. C., & Freeman, S. (2009). Foliar, floral and soilborne diseases. *The mango: botany, production and uses*, 232-302.
- Pollack, F. G., & Uecker, F. A. (1974). *Monosporascus cannonballus* an unusual ascomycete in cantaloupe roots. *Mycologia*, 66(2), 346-349.
- Reverchon, S., Monnet, Y., Beliard, É., & Alabouvette, C. (2000). An update on cucumber fusarium. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* (FORC) isolated for the 1st time in France. *Phytoma*, (530), 36-38.
- Sahebani, N., & Hadavi, N. (2008). Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(8), 2016-2020.
- Saka, V. W., & Siddiqi, M. A. (1979). Plant-parasitic nematodes associated with plants in Malawi. *Plant Disease Reporter*, 63(11), 945-948.
- Sarpeleh, A. (2008). The role of *Monosporascus cannonballus* in melon collapse in Iran. *Australasian Plant Disease Notes*, 3(1), 162-164.
- Sarwar, M., Kirkegaard, J. A., Wong, P. T. W., & Desmarchelier, J. (1998). Biofumigation potential of brassicas. *Plant and Soil*, 201(1), 103-112.
- Sasser, J. N., & Carter, C. C. (1985). An advance treatise on *Meloidogyne*. Vol. I. *Biology and Control*. Raleigh: North Carolina State University Graphics. USA.
- Sikora, R.A. and E. Fernandez, 2005. Nematode Parasites of Vegetables. In: Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, Luc, M., R.A. Sikora and J. Bridge (Eds.). CAB International, New York, 319-392.
- Sivanesan, A., (1991). IMI Descriptions of Fungi and Bacteria (No. 104), Sheet 1035. CAB International, Wallingford, UK. English language
- Stalin, C.; Ramakrishnan, S.; Jonathan, E. I. 2007. Management of root knot nematode *Meloidogyne incognita* in bhumyamalaki (*Phyllanthus amarus*) and makoy (*Solanum nigrum*). *Biomed*. 2, 119-122.
- Stanghellini, M. E., Alcantara, T. P., & Ferrin, D. M. (2010). Germination of *Monosporascus cannonballus* ascospores in the rhizosphere: a host-specific response. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 32(3), 402-405.
- Švecová, E. (2010). Control of phytopathogenic fungi in horticultural crops by natural

plant extracts.

- Taylor, C. E. (1990). Nematode interactions with other pathogens. *Annals of Applied Biology*, 116(3), 405-416.
- Thanassouloupoulos, C.C. and Kitsos, G.T. 1972. Verticillium wilt in Greece. *Plant Disease Reporter* 56: 264-267.
- Tzortzakakis, E. A., Verdejo-Lucas, S., Ornat, C., Sorribas, F. J., Goumas, D.E. 1999. Effect of a previous resistant cultivar and *Pasteuria penetrans* on population densities of *Meloidogyne javanica* in greenhouse grown tomatoes in Crete, Greece. *Crop Protection*. 18, 159-162.
- Tzortzakakis, E.A. and Petsas, S.E. 2003. Investigation of alternatives to methyl bromide for management of *Meloidogyne javanica* on greenhouse grown tomato. *Pest Manag. Sci.* 59, 1311-1320.
- Vakalounakis D.J. 1996. Root and stem rot of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* f. sp. nov. *Plant Disease*, 80(3), 313.
- Vakalounakis, D. J., & Chalkias, J. (2004). Survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* in soil. *Crop protection*, 23(9), 871-873.
- Vakalounakis, D. J., & Fragkiadakis, G. A. (1999). Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility, and RAPD fingerprinting. *Phytopathology*, 89(2), 161-168.
- Vakalounakis, D. J., Doulis, A. G., & Klironomou, E. (2005). Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* attacking melon under natural conditions in Greece. *Plant pathology*, 54(3), 339-346.
- Vakalounakis, D. J., Wang, Z., Fragkiadakis, G. A., Skaracis, G. N., & Li, D. B. (2004). Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates obtained from cucumber in China by pathogenicity, VCG, and RAPD. *Plant Disease*, 88(6), 645-649.
- Viaene, N.M. and Abawi, G.S. 1998. Management of *Meloidogyne hapla* on lettuce in organic soil with sudangrass as a cover crop. *Plant Disease*. 82, 945-952.
- Wesemael, W.M.L. and Moens, M. 2008b. Quality damage on carrots (*Daucus carota* L.) caused by the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi*. *Nematology*. 10, 261-270.
- Wesemael, W.M.L., Viaene, N., Moens, M. 2011. Root-knot nematodes (*Meloidogyne*

- spp.) in Europe. *Nematology*. 13, 3-16.
- Williams, H. (1996). Root and stem rot of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* f. sp. nov. *Plant Disease*, 80(3), 313.
- Woolliams, G. E. (1966). Host range and symptomatology of *Verticillium dahliae* in economic, weed, and native plants in interior British Columbia. *Canadian Journal of Plant Science*, 46(6), 661-669.
- Wright, D.J. 1981. Nematicides: mode of action and new approaches to chemical control, 421-449. In: Plant parasitic nematodes, Vol. 3 ed. Zuckerman B. M. & Rohde, R. A. Academic Press, New York. 508.

Ελληνική Βιβλιογραφία

- ΒΑΚΑΛΟΥΝΑΚΗΣ Δ.Ι. 2002. *Η σήψη των ριζών και του στελέχους της αγγουριάς*. Φυτοπαθολογικό Φύλλο X. Αθήνα: Ελληνική Φυτοπαθολογική Εταιρία, 4 σελ.
- Βακαλουνάκης Δ.Ι., 2006. Ασθένειες των κολοκυνθοειδών. Διάγνωση & Αντιμετώπιση. Δ.Ι. Βακαλουνάκης, Ηράκλειο Κρήτης.
- Βακαλουνάκης Δ.Ι., Φραγκιαδάκης Γ. 1998. Φουζαρίωση της αγγουριάς. (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*). Νέα δεδομένα και τρόποι αντιμετώπισης. *ΓΕΩΡΓΙΑ-Κτηνοτροφία* 8: 26-33.
- Βακαλουνάκης Δ.Ι., Φραγκιαδάκης Γ. 1999. Σήψη των ριζών και του στελέχους της θερμοκηπιακής αγγουριάς. Μια παγκοσμίως νέα ασθένεια που απειλεί σοβαρά τις καλλιέργειες της χώρας μας. Τρόποι αντιμετώπισης. *ΓΕΩΡΓΙΑ-Κτηνοτροφία* 7: 36-48.
- Κύρου, Χ.Ν. 2004. Φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις. Εκδόσεις Αγροτύπος. Αθήνα.