



ΘΕΟΦΡΑΣΤΟΣ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ

Περίληψεις Εργασιών

7-10 Οκτωβρίου 2008

***Pantazis Royal* – Δαλαμανάρα Αργολίδας**

Περίληψεις Προφορικών Εργασιών

**ΕΙΣΗΓΗΣΗ ΠΡΟΕΔΡΟΥ
ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ**

**Διάγνωση των ασθενειών των φυτών:
Από την κλασική προσέγγιση στη μοριακή διάσταση**

Ε.Ι. Παπλωματάς

*Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα
E-mail: epaplom@aua.gr*

Η αλματώδης πρόοδος της μοριακής βιολογίας έδειξε ότι θα μπορούσε να προσφέρει προηγμένα δυναμικά εργαλεία στις βιολογικές επιστήμες. Στη φυτοπαθολογική έρευνα, εμφανίστηκαν δυνατότητες εφαρμογής ριζοσπαστικών τεχνολογιών για τη μοριακή διάγνωση και ποσοτικοποίηση των παθογόνων των φυτών, κυρίως εκείνων που λόγω της φύσης τους παρουσιάζουν ιδιαίτερες δυσκολίες, όπως τα εδαφογενή παθογόνα επειδή ζουν σε ένα πολύπλοκο περιβάλλον (έδαφος) ή παθογόνα που δεν καλλιεργούνται σε τεχνητά υποστρώματα (υποχρεωτικά παράσιτα). Η συνεχώς αυξανόμενη ανάγκη για ταχεία και με ακρίβεια ταυτοποίηση μικροοργανισμών σε διάφορους τομείς μελέτης των ασθενειών των φυτών (επιδημιολογία, διασπορά, δυναμική πληθυσμών) με απώτερο στόχο την ανάπτυξη στρατηγικών αποτελεσματικότερης αντιμετώπισης, οδήγησε στην άμεση και ευρεία εφαρμογή των μοριακών τεχνικών στη φυτοπαθολογική έρευνα. Έτσι, κλασικές προσεγγίσεις που είχαν τύχει μεγάλης αποδοχής για δεκαετίες (π.χ. εκλεκτικά υποστρώματα) για την ανίχνευση και ταυτοποίηση μικροοργανισμών, λόγω διαφόρων αδυναμιών όπως η διαφορετική αποτελεσματικότητα διαφορετικών μεθόδων, η επικράτηση στα υλικά καλλιέργειας σαπροφύτων έναντι παθογόνων λόγω μεγαλύτερης ανταγωνιστικότητας, η σύγχυση στη διάγνωση ειδών που μοιράζονταν κοινά μορφολογικά χαρακτηριστικά και τέλος η προκατάληψη του εκάστοτε ερευνητή σε κάποια μέθοδο εφαρμογής αποτελούν μερικά μόνο αναπόφευκτα κομμάτια του μωσαϊκού ανίχνευσης των φυτοπαθογόνων. Παράλληλα, η τάση για παγκοσμιοποίηση της γεωργίας δημιούργησε υψηλότερες απαιτήσεις στη μετακίνηση φυτικού υλικού μετά την ουσιαστικά κατάργηση των γεωγραφικών συνόρων. Οι φυτοϋγειονομικοί έλεγχοι και οι κανονισμοί για παθογόνα καραντίνας έγιναν αυστηρότεροι ενώ παράλληλα αυξήθηκαν οι απαιτήσεις για την παραγωγή και διακίνηση υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού. Η ταυτόχρονη ανάπτυξη της πληροφορικής σε συνδυασμό με τα επιτεύγματα της μοριακής βιολογίας έδωσε τη δυνατότητα ψηφιακής καταγραφής των βιολογικών παραμέτρων (βιοπληροφορική). Έτσι, η

14^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο

απόκτηση και καταγραφή σε βάσεις δεδομένων αλληλουχιών DNA παρείχε πληροφορίες που οδήγησαν στην ανακάλυψη νέων ή ακόμα και άγνωστων ειδών μικροοργανισμών. Όλα αυτά τα δεδομένα, σε συνδυασμό με τον κλασικό τρόπο μελέτης των παθογόνων στον αγρό, συνετέλεσαν ώστε να ανοίξουν νέες προοπτικές στο πεδίο μελέτης των φυτοπαθογόνων ή των μικροοργανισμών εν γένει. Εντούτοις, αν και όλα τα παραπάνω αποτελούν παράγοντες της εξίσωσης της διάγνωσης, ως εκθέτης παραμένει πάντοτε η γνώση και εμπειρία του φυτοπαθολόγου. Όλα τα ισχυρά αυτά μοριακά εργαλεία είναι άχρηστα αντικείμενα στα χέρια εκείνου που στερείται βασικές γνώσεις ασθενειών των φυτών και άμεση επαφή και εμπειρία με τη φυτοπαθολογική πραγματικότητα. Σήμερα, αν και διανύουμε την περίοδο της μοριακής επανάστασης, η κλασική φυτοπαθολογική γνώση αποτελεί το θεμέλιο για τη διάγνωση των αιτιών των ασθενειών των φυτών.

Πρώτη Συνεδρία

Νέες Ασθένειες - Αιτιολογία

Ανακοινώσεις

Μοριακός χαρακτηρισμός δυο νέων ιών της αμπέλου που ανήκουν σε ένα διακριτό φυλογενετικό κλάδο του γένους *Ampelovirus*.

Μαλιόγκα Β.Ι., Χ.Ι. Δόβας, Α. Λώτος, Κ. Ευθυμίου
και Ν.Ι. Κατής

27

Ο ιός της κίτρινης κηλίδωσης της Ίριδας (*Iris yellow spot virus*): παρουσία και χαρακτηρισμός ενός νέου παθογόνου για τις καλλιέργειες ειδών *Allium* στην Ελλάδα.

Χατζηβασιλείου Ε.Κ., Β. Γιαβαχτσιά, Ι. Συμεάκης,
Κ. Hoedjes και D. Peters

28

Ιοειδές του νανισμού του λυκίσκου (*Hop stunt viroid*, HSVD), ένα νέο παθογόνο μηλοειδών και πυρηνοκάρπων στην Ελλάδα.

Καπώνη Μ.Σ., M. Luigi, F. Faggioli, M. Barba,
Κ. Ισραηλίδης και Π.Η. Κυριακοπούλου

29

Βακτηριακή νέκρωση της ρόκας (*Eruca sativa*).

Γκούμας Δ.Ε., Α.-Μ. Κασελάκη, Χ.Ξ. Γκατζιλάκης
και Μ. Παγουλάτου

30

Το σύμπλοκο *Phytophthora drechsleri* και *Phytophthora cryptogea* σε σινεράρια.

Ελένα Κ., Ε.Ι. Παπλωματάς, Α. Τζίμα και Α. Γρηγορίου

31

Μοριακός χαρακτηρισμός δυο νέων ιών της αμπέλου που ανήκουν σε ένα διακριτό φυλογενετικό κλάδο του γένους *Ampelovirus*

B.I. Μαλιόγκα¹, X.I. Δόβας², Λ. Λώτος¹, Κ. Ευθυμίου¹ και Ν.Ι. Κατής¹

¹Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, 54124 Θεσσαλονίκη

²Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Κτηνιατρική Σχολή,
Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Λοιμωδών νοσημάτων, 54124 Θεσσαλονίκη

Δύο πιθανώς νέοι ιοί που σχετίζονται με την ασθένεια συστροφής των φύλλων της αμπέλου (GLRaV-Pr, GLRaV-De) απομονώθηκαν από ελληνικές ποικιλίες. Οι ιοί αυτοί μαζί με τους GLRaV-4,-5,-6 και -9 συνιστούν μια διακριτή φυλογενετική ομάδα μέσα στο γένος *Ampelovirus*. Στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκε η πλήρης αλληλουχία νουκλεοτιδίων του GLRaV-Pr καθώς και ένα μεγάλο τμήμα του γονιδιώματος του GLRaV-De με τη χρησιμοποίηση εκχυλίσματος ιικού dsRNA. Το γονιδίωμα του GLRaV-Pr έχει μήκος 13,696 nt, ένα από τα μικρότερα στην οικογένεια *Closteroviridae*, και περιλαμβάνει 7 ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης που δυνητικά κωδικοποιούν μια πολυπρωτεΐνη 253 kDa, μια 58.2 kDa RNA-εξαρτώμενη RNA πολυμεράση, μια 5.2 kDa υδρόφοβη πρωτεΐνη, ένα 58.5 kDa ομόλογο της πρωτεΐνης θερμικής καταπόνησης 70, μια πρωτεΐνη 60 kDa (p60), μια 30 kDa ΚΠ και ένα διπλότυπο της ΚΠ 23 kDa. Επίσης, προσδιορίστηκε μια περιοχή 4319 nt της γενωμικής αλληλουχίας του GLRaV-De η οποία αντιστοιχεί στο ομόλογο της HSP70, την p60, την ΚΠ και τμήμα του διπλότυπου της ΚΠ. Οι GLRaV-Pr και -De διαφέρουν πάνω από 10% σε επίπεδο αμινοξέων από τους γνωστούς συγγενικούς ιούς, γεγονός το οποίο στηρίζει την μελλοντική τους αποδοχή ως ξεχωριστά είδη. Συγκριτική ανάλυση αλληλουχιών των GLRaV-4, -5, -6, -9, -Pr και -De έδειξε μεγάλη ομοιομορφία στη γονιδιακή τους οργάνωση η οποία σε συνδυασμό με τις τοπολογίες που υπολογίστηκαν δείχνει ότι αυτά τα είδη ακολουθούν μια διακριτή εξελικτική πορεία και θα μπορούσαν να αποτελέσουν ένα ξεχωριστό γένος.

**Ο ιός της κίτρινης κηλίδωσης της Ίριδας (*Iris yellow spot virus*):
παρουσία και χαρακτηρισμός ενός νέου παθογόνου
για τις καλλιέργειες ειδών *Allium* στην Ελλάδα**

Ε.Κ. Χατζηβασιλείου¹, Β. Γιαβαχτσιά¹, Ι. Συμεάκης¹, Κ. Hoedjes²
και D. Peters²

¹Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Τμήμα Αγροτικής Ανάπτυξης,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας Πανταζίδου 193, 682 00 Ν. Ορεστιάδα
²Wageningen University, Laboratory of Virology,
Binnenhaven 11, 6709 PD Wageningen, The Netherlands

Ο ιός της κίτρινης κηλίδωσης της Ίριδας (*Iris yellow spot virus*, IYSV) (γένος *Tospovirus*, οικογένεια *Bunyaviridae*) αποτελεί ένα αναδυόμενο και σοβαρό παθογόνο ειδών του γένους *Allium*, παγκοσμίως. Ο ιός προκαλεί κυρίως χλωρωτικές κηλίδες και έντονες νεκρώσεις φύλλων σε καλλιέργειες κρεμμυδιού (*A. cepa* L.). Παρόμοια συμπτώματα απαντώνται και στη χώρα μας, όμως το παθογόνο αίτιο δεν έχει διερευνηθεί. Από το Φεβρουάριο έως και τον Ιούνιο του 2008, 530, 439 και 217 δείγματα κρεμμυδιού (*A. cepa* L.), πράσου (*A. porum* L.) και σκόρδου (*A. sativum* L.) αντίστοιχα, συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της χώρας. Οι αγροί παρουσίαζαν υψηλή προσβολή από το θρίπα *Thrips tabaci* Lindeman, κύριο φορέα του ιού. Τα δείγματα ελέγχθηκαν με τη δοκιμή DAS-ELISA χρησιμοποιώντας πολυκλωνικά αντισώματα έναντι στην Ν-πρωτεΐνη του IYSV και με μηχανικές μολύνσεις στο φυτοδείκτη *Nicotiana benthamiana* L. Ο IYSV ανιχνεύθηκε στους νομούς Βοιωτίας, Έβρου, Ηρακλείου, Θεσσαλονίκης, Καβάλας, Μαγνησίας, Πέλλας και Ροδόπης σε ποσοστά 9,4-61,7% στα κρεμμύδια, 0-23,7% στα πράσα και 0-14,8% στα σκόρδα. Μία δοκιμή RT-PCR, χρησιμοποιώντας εξειδικευμένους εκκινητές για το Ν-γονίδιο του IYSV, επιβεβαίωσε την παρουσία του ιού σε ένα δείγμα από πράσο. Προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του προϊόντος της δοκιμής, μεγέθους περίπου 800 bp και σύγκρισή του με δημοσιευμένες απομονώσεις, έδειξε 99% ομολογία με την Ολλανδική απομόνωση του ιού (GenBank Accession No AF001387). Ένας πληθυσμός πράσου του *T. tabaci* μετέφερε επιτυχώς τον ιό μεταξύ σποροφύτων κρεμμυδιού στο εργαστήριο. Αν και ο IYSV δεν είχε προηγουμένως αναφερθεί στη χώρα μας, φαίνεται ότι αποτελεί ένα ήδη διαδεδομένο παθογόνο.

**Ιοειδές του νανισμού του λυκίσκου (*Hop stunt viroid*, HSVd),
ένα νέο παθογόνο μηλοειδών και πυρηνοκάρπων στην Ελλάδα**

Μ.Σ. Καπώνη^{1,3}, M. Luigi², F. Faggioli², M. Barba², Κ. Ισραηλίδης³
και Π.Η. Κυριακοπούλου¹

¹Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα

²Plant Virology Laboratory, Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale,
Via C.G. Bertero 22, 00156 Rome, Italy

³Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.), Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας,
Σοφοκλή Βενιζέλου 1, 14123 Λυκόβρυση, Αθήνα

Κατά τα τελευταία 2 έτη πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε οπωρώνες μηλοειδών και πυρηνοκάρπων σε διάφορες περιοχές της Ελλάδος, με σκοπό τον προσδιορισμό πιθανής μόλυνσεως των οπωρώνων αυτών με ιοειδή της οικογένειας Pospiviroidae. Περίπου 500 δείγματα αγρού εξετάστηκαν μέχρι τώρα για το ιοειδές του νανισμού του λυκίσκου (*Hop stunt viroid*, HSVd), χρησιμοποιώντας τις μεθόδους του μοριακού υβριδισμού και της RT-PCR. Από αυτά θετικά βρέθηκαν συνολικά 167 (14 αμυγδαλιές, 102 βερικοκκίες, 10 δαμασκηνιές, 8 κερασιές, 1 κορομηλιά, 22 ροδακινιές, 6 αυτοφυείς αμυγδαλιές και 1 αγριοκορομηλιά [*Prunus spinosa*] από τα πυρηνόκαρπα και 1 μηλιά και 2 αγριομηλιές [*Malus sylvestris*] από τα μηλοειδή), από τους νομούς Αργολίδας, Αρκαδίας, Αχαΐας, Ηλείας, Ημαθίας, Κορινθίας και Πέλλας. Η αλληλούχηση 4 προϊόντων RT-PCR, προερχομένων από 2 μολυσμένα δένδρα κερασιάς και 2 αγριομηλιάς επιβεβαίωσε τη μόλυνση με HSVd. Το ιοειδές αυτό δεν έχει αναφερθεί διεθνώς να μολύνει στη φύση μηλιά, αγριομηλιά ή κορομηλιά, ενώ στην κερασιά αναφέρθηκε εφέτος στην Τουρκία με τη μέθοδο RT-PCR, χωρίς αλληλούχηση. Στην Ελλάδα έχει αναφερθεί προηγουμένως στη βερικοκκιά και μόνο με μοριακό υβριδισμό, καθώς και στα εσπεριδοειδή με μοριακό υβριδισμό και RT-PCR. Συνεχίζεται η εξέταση περισσότερων δειγμάτων, συμπεριλαμβανομένων άλλων ειδών και περιοχών της Χώρας, η κλωνοποίηση και η αλληλούχηση των HSVd-θετικών στην RT-PCR δειγμάτων, για την απόκτηση ελληνικών κλώνων του HSVd και πλήρων αλληλουχιών τους, με σκοπό τις φυλογενετικές αναλύσεις των ελληνικών απομονώσεων του ιοειδούς.

Βακτηριακή νέκρωση της ρόκας (*Eruca sativa*)

Δ.Ε. Γκούμας, Α.-Μ. Κασελάκη, Χ.Ξ. Γκατζιλάκης και Μ. Παγουλάτου

Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας,
Τ.Θ. 1939, 71004 Ηράκλειο, Κρήτης

Η ρόκα ή εύζωμον το ήμερον (*Eruca sativa*) της οικογένειας των σταυρανθών είναι ετήσιο, επίσπορο φυτό που καταναλώνεται ως φρέσκο λαχανικό σε σαλάτες. Την άνοιξη του 2007 σε δείγματα φύλλων ρόκας που προέρχονταν από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, παρατηρήθηκαν συμπτώματα παρασιτικής ασθένειας που διαφοροποιούνταν από γνωστές προσβολές παθογόνων στο φυτό. Σε προκαταρκτικές απομονώσεις διαπιστώθηκε ότι η ασθένεια προκαλείται από βακτήριο. Τα συμπτώματα περιορίζονται στην φυλλική επιφάνεια. Αρχικά παρατηρούνται μικρές υδαρείς γωνιώδεις κηλίδες μεγέθους 2-5 mm, με ή χωρίς χλωρωτικό περιθώριο, εμφανείς και από τις δύο πλευρές του φύλλου. Καθώς οι κηλίδες μεγαλώνουν παραμένουν γωνιώδεις αφού περιορίζονται από τις νευρώσεις των φύλλων, σταδιακά γίνονται νεκρωτικές, παίρνουν χρώμα γκρι, καφέ, καστανό και αποκτούν παυρώδη εμφάνιση. Ένα σημαντικό διαγνωστικό χαρακτηριστικό είναι ότι τα συμπτώματα της ασθένειας μοιάζουν με εκείνα του περονόσπορου χωρίς την παρουσία σποριαγγείων. Η συνένωση των κηλίδων προκαλεί τη μερική ή/και πλήρη καταστροφή του φύλλου. Από τους προσβεβλημένους ιστούς των φύλλων απομονώνονταν σταθερά σε θρεπτικό υπόστρωμα King's B ένα φθορίζον βακτήριο του γένους *Pseudomonas*. Οι απομονώσεις της ρόκας στις δοκιμές LOPAT εμφάνισαν τον φαινότυπο: [+ - - +] δηλαδή ήταν θετικές στη παραγωγή levan, και αρνητικές στην παραγωγή οξειδάσης και στην υδρόλυση της αργινίνης, δεν προκάλεσαν τη σήψη σε ροδέλες πατάτας, αλλά προκάλεσαν τυπική αντίδραση υπερευαισθησίας σε καπνό (*Nicotiana tabacum* L. cv. *Xanthi*). Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι το βακτήριο ανήκει στην ομάδα Ia των δοκιμών LOPAT που περιλαμβάνει τις παθοποικίλιες του *Pseudomonas syringae*. Με βάση τον προκαταρκτικό μορφολογικό, φυσιολογικό, βιοχημικό φαινότυπο και τις δοκιμές παθογένειας σε φυτά ρόκας και σε άλλους ξενιστές, οι απομονώσεις από τα φυτά της ρόκας πολύ πιθανά φαίνεται να ταξινομούνται ως μέλη του *Pseudomonas syringae* pv. *alisalensis* και να διαφοροποιούνται από το βακτήριο *P. syringae* pv. *maculicola* που επίσης προσβάλλει τα σταυρανθή. Τα αποτελέσματα πρέπει να επιβεβαιωθούν με τη μοριακή ταυτοποίηση των απομονώσεων. Το βακτήριο αναφέρεται για πρώτη φορά στην Ευρώπη.

**Το σύμπλοκο *Phytophthora drechsleri* και *Phytophthora cryptogea*
σε σινεράρια**

Κ. Ελένα¹, Ε.Ι. Παπλωματάς², Α. Τζίμα² και Α. Γρηγορίου²

¹Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά, Αττική

²Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Μια σοβαρή ασθένεια σε σινεράρια [*Senecio cruentus* (Masson ex L'Her.) DC.] παρατηρήθηκε για πρώτη φορά στην περιοχή του Μαραθώνα και της Κέρκυρας προξενώντας αξιοσημείωτες απώλειες φυτών. Τα συμπτώματα της ασθένειας πανομοιότυπα και στις δύο περιπτώσεις ήταν σήψη των ριζών και του κατώτερου τμήματος του στελέχους και μάρανση των υπέργειων τμημάτων του φυτού. Η μάρανση άρχιζε από τα κατώτερα φύλλα, τα οποία διατηρούσαν το πράσινο χρωματισμό τους και ακολουθούσε απότομος μαρasmus όλου του φυτού, το οποίο νεκρώνονταν ενώ ο κεντρικός βλαστός παρέμενε όρθιος. Το φυτό δεν επανέρχονταν στη φυσιολογική του κατάσταση με το πότισμα ενώ στις δοκιμές παθογένειας αναπαράχθηκαν τα συμπτώματα. Σε όλες τις περιπτώσεις από τους προσβεβλημένους ιστούς οι απομονώσεις που πάρθηκαν ανήκαν στο γένος *Phytophthora* με ωοειδή έως απιοειδή σποριαγγεία χωρίς θηλή, σταθερά στον κονιδιοφόρο, με αύξηση σποριαγγειοφόρου εσωτερικά (proliferating internally). Οι απομονώσεις από το Μαραθώνα αναπτύσσονταν κανονικά στους 35 °C ενώ για τις απομονώσεις της Κέρκυρας το μέγιστο της θερμοκρασίας ανάπτυξης ήταν 34 °C. Οι μορφολογικοί και φυσιολογικοί χαρακτήρες των απομονώσεων του Μαραθώνα είναι αυτοί που χαρακτηρίζουν το είδος *Phytophthora drechsleri* Tucker ενώ οι απομονώσεις της Κέρκυρας εφόσον δεν αναπτύσσονταν στους 35 °C, ξεχώρισαν από αυτές του Μαραθώνα και χαρακτηρίστηκαν ως *Phytophthora cryptogea* Pethybridge and Lafferty. Επιπλέον εξετάστηκε ο πολυμορφισμός της περιοχής ITS του ριβοσωμικού DNA για το μοριακό χαρακτηρισμό των απομονώσεων χρησιμοποιώντας τους ITS6 και ITS4 εκκινητές. Τα αποτελέσματα της αλληλούχησης έδειξαν ότι τα δύο είδη δεν διαχωρίζονται με σαφήνεια, όπως και στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται.

Δεύτερη Συνεδρία

Μυκητολογικές Ασθένειες Ι

Εισήγηση

Μυκοτοξίνες: Ένας σημαντικός παράγοντας στην παραγωγή ασφαλών και ποιοτικών τροφίμων.

Τσιτσιγιάννης Δ.Ι.

35

Ανακοινώσεις

Αξιολόγηση μοντέλων πρόγνωσης του περονόσπορου της πατάτας στην Κύπρο.

*Πήττας Α., Δ. Τσάλτας, Γ. Νεοφύτου, Π. Φελλάς
και Ν. Ιωάννου*

37

Ασθένειες των λεπτών ριζών τομάτας θερμοκηπίου στην Ελλάδα.

Λάσκαρης Δ.

38

Χαρακτηρισμός απομονώσεων του μύκητα *Rhizoctonia solani* από φυτά βαμβακιού, με συμβατικές και μοριακές μεθόδους.

*Μπαχάρης Χ., Α. Γκουζιώτης, Γ. Καραογλανίδης, Ο. Κουτίτα,
Π. Καλογεροπούλου και Κ. Τζαβέλλα-Κλωνάρη*

39

Μυκοτοξίνες: Ένας σημαντικός παράγοντας στην παραγωγή ασφαλών και ποιοτικών τροφίμων

Δ.Ι. Τσιτσιγιάννης

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα
Email: dimtsi@aua.gr

Οι μυκοτοξίνες είναι τοξικοί, δευτερογενείς μεταβολίτες, χαμηλού μοριακού βάρους που παράγονται από διάφορους μύκητες. Ο προσδιορισμός της σοβαρότητας της δράσης μιας μυκοτοξίνης βασίζεται στη συχνότητα εμφάνισής της ή/και στο είδος της ασθένειας που προκαλεί, ειδικά εάν είναι γνωστή η καρκινογόνος δράση της. Ανάμεσα στις μυκοτοξίνες που κατηγοριοποιούνται σε αυτήν την ομάδα είναι οι αφλατοξίνες (aflatoxins), που παράγονται κυρίως από τους μύκητες *Aspergillus flavus* και *A. parasiticus*, οι φουμονισίνες (fumonisins) που παράγονται από το *Fusarium verticillioides* και η δεοξυνιβαλενόλη (deoxynivalenol ή DON ή vomitoxin), που παράγεται από το *F. graminearum*. Άλλες μυκοτοξίνες είναι το κυκλοπιαζονικό οξύ (cyclopiazonic acid), η ζεαραλενόνη (zearalenone), η πατουλίνη (patulin), η ωχρατοξίνη (ochratoxin), η τριχοθηκίνη T-2, και ορισμένα αλακαλοειδή που παράγονται από το μύκητα *Claviceps purpurea* που προκαλεί την εργοτίαση των σιτηρών (ergot alkaloids). Οι αφλατοξίνες είναι αποδεδειγμένες καρκινογόνες ουσίες, ανοσοτοξίνες, και προκαλούν καθυστέρηση ανάπτυξης στα ζώα. Οι φουμονισίνες είναι επίσης καρκινογόνες ουσίες, ενώ οι τριχοθηκίνες αναφέρονται ως ανοσοτοξικές ενώσεις.

Στο παρελθόν, οι μυκοτοξίνες θεωρούνταν ότι παράγονται μόνο κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των τροφίμων από διάφορους μύκητες που αναπτύσσονταν στους σπόρους και οδηγούσαν στην παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών που αποδείχθηκαν να είναι τοξικοί όταν καταναλώνονται από τον άνθρωπο και τα ζώα. Περαιτέρω όμως έρευνες απέδειξαν ότι διάφορες μυκοτοξίνες παράγονται και κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των καλλιεργειών στον αγρό.

Πολλές χώρες σε όλο τον κόσμο έχουν θεσπίσει ένα επιτρεπτό όριο «ανοχής» της παρουσίας μυκοτοξινών στα τρόφιμα που θα χρησιμοποιηθούν για ανθρώπινη ή ζωική κατανάλωση. Ενώ οι αναπτυγμένες χώρες έχουν βέβαια τις σύγχρονες υποδομές για τον έλεγχο τροφίμων σύμφωνα με τα ποιοτικά πρότυπα, οι άνθρωποι στις αναπτυσσόμενες χώρες δεν προστατεύονται από τον ποιοτικό έλεγχο τροφίμων και την επιβολή των ασφαλών προτύπων μέσα στις χώρες τους. Στις λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες έχουν αναφερθεί ποσοστά μόλυνσης μυκοτοξινών που κυμαίνονται από 22% για φουμονισίνες έως 56%

σε αφλατοξίνες και πολλά άτομα εκτίθενται μακροχρόνια σε υψηλά επίπεδα μυκοτοξινών στην καθημερινή διατροφή τους. Καμία οικονομικά εφικτή διαδικασία επεξεργασίας δεν είναι διαθέσιμη σήμερα για να αφαιρέσει τις τοξίνες από τα τρόφιμα που είναι ήδη μολυσμένα.

Οι απώλειες τροφίμων που οφείλονται σε μυκοτοξίνες και οι δαπάνες της διαχείρισής τους αυξάνονται σε ανησυχητικό επίπεδο. Οι απώλειες μυκοτοξινών προκύπτουν από α) τη μειωμένη ζωική παραγωγή και οποιαδήποτε μορφή ανθρώπινης τοξικότητας που αποδίδεται στην παρουσία της τοξίνης στα ζωικά προϊόντα, β) την παρουσία της μυκοτοξίνης στα μολυσμένα τρόφιμα που μειώνει την εμπορική τους αξία και γ) τα έμμεσα αποτελέσματα στην γεωργική παραγωγή και στις γεωργικές κοινωνίες. Οι δαπάνες της διαχείρισης μυκοτοξινών περιλαμβάνουν τις δειγματοληψίες των εμπορευμάτων για παρουσία ή μη μυκοτοξινών και την έρευνα που διεξάγεται για την ασφαλή και ποιοτική παραγωγή τροφίμων και κτηνοτροφών χωρίς την παρουσία αυτών των μεταβολιτών.

Παρόλη την εκτεταμένη ιατρική βιβλιογραφία για τα τοξικά αποτελέσματα των μυκοτοξινών στους ανθρώπους και στα ζώα, παρόλη τη γνώση που έχουμε για τη χημεία και τους τρόπους δράσης των μυκοτοξινών και παρόλο το κόστος τους σε όλο τον κόσμο, αξιόπιστες λύσεις για τον περιορισμό των μυκοτοξινών είναι ακόμα ελάχιστες και πρακτικά ανεφάρμοστες. Ως φυτοπαθολόγοι θα πρέπει να σκεφτούμε λύσεις για ένα πρόβλημα το οποίο παραμένει άλυτο σχεδόν μετά από 40 έτη έρευνας. Οι οικονομικά αποτελεσματικές λύσεις είναι εκείνες που με τη βοήθεια της γεωργικής τεχνολογίας και γνώσης θα συμβάλλουν στον αποκλεισμό των μυκήτων από τον ξενιστή ή/και τη παρεμπόδιση παραγωγής μυκοτοξινών στους ξενιστές τους. Η έρευνα που διεξάγεται σήμερα αφορά κυρίως 1) στην ανάπτυξη οικονομικών και κατάλληλων πρωτοκόλλων δειγματοληψίας και ανίχνευσης των μυκοτοξινών σε χαμηλά επίπεδα, 2) στον προσδιορισμό και εφαρμογή τεχνολογιών για τη παραγωγή σιτηρών και άλλων σπόρων με χαμηλό επίπεδο υγρασίας κατά τη συγκομιδή καθώς και διατήρηση της χαμηλής υγρασίας κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, 3) στη χημική και βιολογική καταπολέμηση των υπεύθυνων μυκοτοξικογενών μυκήτων 4) στη γενετική βελτίωση των ευαίσθητων ξενιστών με σκοπό τη δημιουργία ποικιλιών που να είναι ανθεκτικές στη μόλυνση από τους μυκοτοξικογενείς μύκητες ή στην παραγωγή μυκοτοξίνης. Επιπλέον, η ανακάλυψη του πλήρους γονιδιώματος διαφόρων μυκοτοξικογενών μυκήτων, έχει οδηγήσει πολλούς ερευνητές σε παγκόσμιο επίπεδο να εργάζονται με γρήγορους ρυθμούς για να προσδιορίσουν τα βιοσυνθετικά και ρυθμιστικά γονίδια μυκοτοξινών με σκοπό να βρουν καινοτόμες και βιώσιμες λύσεις στη μείωση ή ακόμα εξάλειψη της παραγωγής των μυκοτοξινών.

Αξιολόγηση μοντέλων πρόγνωσης του περονόσπορου της πατάτας στην Κύπρο

Λ. Πήττας¹, Δ. Τσάλτας¹, Γ. Νεοφύτου², Π. Φελλάς² και Ν. Ιωάννου¹

¹Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου - Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών,
Βιοτεχνολογίας & Επιστήμης Τροφίμων

²Υπουργείο Γεωργίας Φυσικών Πόρων & Περιβάλλοντος, Τμήμα Γεωργίας

Ο περονόσπορος της πατάτας (*Phytophthora infestans*) αποτελεί το σοβαρότερο πρόβλημα φυτοπροστασίας που αντιμετωπίζει η πατατοκαλλιέργεια στην Κύπρο. Όταν οι κλιματολογικές συνθήκες είναι ευνοϊκές, η ασθένεια εξαπλώνεται ραγδαία και μπορεί να προκαλέσει την πλήρη καταστροφή της καλλιέργειας. Για το λόγο αυτό, η αντιμετώπιση της βασίζεται στην εφαρμογή προληπτικών ψεκασμών. Ο χρόνος έναρξης των ψεκασμών αποφασίζεται εμπειρικά, λαμβάνοντας υπόψη τη γενική κατάσταση του καιρού και το στάδιο της καλλιέργειας. Η προσέγγιση αυτή ενέχει σοβαρό κίνδυνο λανθασμένης πρόγνωσης, με αποτέλεσμα να γίνονται άσκοποι ή αναποτελεσματικοί ψεκασμοί. Κατά την καλλιεργητική περίοδο 2007-2008 έγινε μια προκαταρκτική μελέτη στην οποία αξιολογήθηκαν εννέα μοντέλα πρόγνωσης, σε σύγκριση με το εμπειρικό πρόγραμμα που ακολουθούν οι παραγωγοί. Σε πειραματική φυτεία εγκαταστάθηκε μετεωρολογικός σταθμός για παρακολούθηση της βροχόπτωσης, θερμοκρασίας, σχετικής υγρασίας και διαβροχής του φυλλώματος. Η επεξεργασία των κλιματολογικών δεδομένων έγινε μέσω του λογισμικού προγράμματος Castor 2.0. Η φυτεία χωρίστηκε σε δύο τεμάχια: στο ένα εφαρμόστηκε το εμπειρικό πρόγραμμα ψεκασμών ενώ το άλλο χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση των μοντέλων πρόγνωσης, χωρίς να εφαρμοστούν ψεκασμοί. Σ' όλη τη διάρκεια του πειράματος γίνονταν εβδομαδιαίες επισκοπήσεις, τόσο στο πειραματικό τεμάχιο όσο και σε γειτονικές εμπορικές φυτείες, χωρίς ωστόσο να εντοπιστούν συμπτώματα περονόσπορου. Παρόλα αυτά, με βάση το εμπειρικό πρόγραμμα έγιναν 6-7 ψεκασμοί. Όλα τα μοντέλα πρόγνωσης πρότειναν μικρότερο ή ίσο αριθμό ψεκασμών σε σύγκριση με το εμπειρικό σύστημα. Την απουσία περονόσπορου πρόβλεψε μόνο το μοντέλο Wallin. Οι προοπτικές αξιοποίησης των μοντέλων πρόγνωσης στην Κύπρο θα συζητηθούν.

Ασθένειες των λεπτών ριζών τομάτας θερμοκηπίου στην Ελλάδα

Δ. Λάσκαρης

Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας
Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά, Αττική

Συμπτώματα έλλειψης ζωηρότητας, καχεξίας, μάρανσης και μειωμένης παραγωγής, υποδηλώνοντα κακή λειτουργία της ρίζας, εμφανίζονται συχνά σε φυτά τομάτας θερμοκηπίου στη χώρα μας. Έγινε εκτεταμένη δειγματοληψία για να προσδιοριστεί η συχνότητα, ο βαθμός και η αιτιολογία απωλειών λεπτών και μετρίου μεγέθους ριζών στις κυριότερες περιοχές καλλιέργειας τομάτας. Επειδή τα νεκρά ριζίδια αποσυντίθενται και γρήγορα εξαφανίζονται στο φυσικό έδαφος συσκοτίζοντας έτσι την έκταση των απωλειών, χρησιμοποιήθηκε μια μέθοδος επίπλευσης - συλλογής σε λεπτά κόσκινα για να διαχωρίζονται οι ρίζες από το έδαφος. Περισσότερο ακριβείς εκτιμήσεις της καταστροφής και της ανακύκλωσης των λεπτών ριζών έδωσαν άμεσες παρατηρήσεις των ριζών στο έδαφος με τη χρήση μινι-ρίζοτρονίου και με παρεμφερείς μεθόδους. Οι απώλειες σε μερικές περιπτώσεις ήταν υψηλές ξεπερνώντας το 50% του συνόλου των λεπτών ριζών και συχνά συσχετιζόνταν με τα παθογόνα *Pyrenochaeta lycopersici*, *Colletotrichum coccodes* και *Pythium* spp., ιδίως όταν υπήρχε ιστορικό καλλιέργειας σολανωδών. Υπήρξαν επίσης μεμονωμένες περιπτώσεις μαζικής προσβολής των λεπτών ριζών από *Rhizoctonia solani* και *Phytophthora* sp. Δοκιμές αναπαραγωγής αυτών των συμπτωμάτων σε εδάφη φυσικά ή τεχνητά μολυσμένα με τα παραπάνω παθογόνα δεν απέδιδαν πάντα, πράγμα που υποδεικνύει την εμπλοκή και άλλων παραγόντων. Κακές εδαφικές καταστάσεις όπως κακή εδαφική δομή, χαμηλές θερμοκρασίες, κατάκλιση και αλατότητα συσχετιζόνταν με αυξημένη απώλεια ριζών και εποικισμό τους από μη-επιθετικούς μύκητες ή ήπια παθογόνα όπως τα *Fusarium* spp., *Olpidium* sp., *Acremonium* spp., *Microascus* sp., *Alternaria* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Geotrichum* sp. και *Phialophora* spp.

**Χαρακτηρισμός απομονώσεων του μύκητα *Rhizoctonia solani*
από φυτά βαμβακιού, με συμβατικές και μοριακές μεθόδους**

Χ. Μπαχάρης¹, Α. Γκουζιώτης¹, Γ. Καραογλανίδης¹, Ο. Κουτίτα²,
Π. Καλογεροπούλου¹ και Κ. Τζαβέλλα-Κλωνάρη¹

¹Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269, 54124 Θεσσαλονίκη

²Ελληνική Βιομηχανία Ζάχαρης, Τμήμα Βελτίωσης Φυτών, Σίνδος, Θεσσαλονίκη

Ο μύκητας *Rhizoctonia solani* προκαλεί προφυτρωτικές και μεταφυτρωτικές τήξεις όπως επίσης και σήψη της ρίζας και του υποκοτυλίου φυταρίων βαμβακιού. Ο σκοπός αυτής της έρευνας ήταν ο χαρακτηρισμός στελεχών του μύκητα *R. solani* που απομονώθηκαν από ασθενή φυτά βαμβακιού στην Ελλάδα. Για το σκοπό αυτό συλλέχθηκαν από τις κύριες βαμβakoπαγωγικές περιοχές της Ελλάδας 79 απομονώσεις του παθογόνου κατά τη διάρκεια της άνοιξης του 2007, από ασθενή φυτάρια βαμβακιού. Από τις 79 απομονώσεις που εξετάστηκαν, οι 13 ήταν διπύρηνες και οι 66 πολυπύρηνες. Οι πολυπύρηνες απομονώσεις χαρακτηρίστηκαν χρησιμοποιώντας συμβατικά κριτήρια όπως ο ρυθμός ανάπτυξης, η παραγωγή σκληρωτίων, η μολυσματικότητα σε διάφορους ξενιστές και οι αντιδράσεις αναστόμωσης με χαρακτηριστικούς αντιπροσώπους των ομάδων αναστόμωσης. Επιπλέον, σε 33 από τις 66 πολυπύρηνες απομονώσεις, έγινε μοριακός χαρακτηρισμός βασισμένος στην ανάλυση των μη μεταγραφόμενων περιοχών του ριβοσωμικού DNA (rDNA-ITS). Η μοριακή ανάλυση κατέταξε την πλειονότητα αυτών των απομονώσεων στην ομάδα αναστόμωσης AG-4 (18 απομονώσεις στην υποομάδα HG-I, 1 απομόνωση στην υποομάδα HG-II και 7 απομονώσεις στην υποομάδα HG-III) ενώ 5 απομονώσεις ανήκαν στην ομάδα AG-7, μια στην ομάδα AG-2-1 και μία στην ομάδα AG-3. Τα δεδομένα αυτά ήταν σύμφωνα με το διαχωρισμό των απομονώσεων που έγινε με τη βοήθεια των αντιδράσεων αναστόμωσης. Τέλος, η ανάλυση της αλληλουχίας του ITS, η οποία πολλαπλασιάστηκε με τη χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR), χρησιμοποιήθηκε για φυλογενετικές αναλύσεις.

Τρίτη Συνεδρία

Μυκητολογικές Ασθένειες II - Μυκητολογία

Ανακοινώσεις

Προσβολή δένδρων *Sequoiadendron giganteum* στην Ελλάδα από το μύκητα *Neofusicoccum parvum*.

Π. Τσόπελας, B. Slippers, M.J. Wingfield
και Z. Γκόνου-Ζάγκου

43

Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην ευπάθεια φυτών κυπαρισσιού στους μύκητες *Seiridium cardinale*, *Diplodia cupressi* και *Pestalotiopsis funerea*.

Αγγελόπουλος Α., E. Καψανάκη-Γκότση, E. Κορακάκη
και Π. Τσόπελας

44

Γενετική συγγένεια και μέτρηση βιολογικών χαρακτηριστικών ελληνικών απομονώσεων του *Colletotrichum lindemuthianum*.

Μπάρδας Γ.Α., O. Κουτίτα και K. Τζαβέλλα-Κλωνάρη

45

Υπόγειοι μύκητες και προοπτικές καλλιέργειάς τους στην Ελλάδα.

Διαμαντής Σ. και X. Περγέρου

46

Αλληλεπιδράσεις μεταξύ του *Erysiphe alphitoides* και άλλων μυκοπααρασιτικών μυκήτων που συνυπάρχουν σε φυσικό περιβάλλον.

Τοπαλίδου Ε.Θ. και M.W. Shaw

47

**Προσβολή δένδρων *Sequoiadendron giganteum* στην Ελλάδα
από το μύκητα *Neofusicoccum parvum***

Π. Τσόπελας¹, B. Slippers², M.J. Wingfield² και Z. Γκόνου-Ζάγκου³

¹ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.- Ινστιτούτο Μεσογειακών Δασικών Οικοσυστημάτων,
Τέρμα Αλκμάνος, 115 28 Αθήνα, e-mail: tsop@fria.gr

²Department of Genetics, Forestry and Agricultural Biotechnology Institute,
University of Pretoria, South Africa

³Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας,
Τομέας Οικολογίας & Ταξινόμικης, Πανεπιστημιούπολη 157 84 Αθήνα

Την άνοιξη του 2006, σε δύο περιοχές της Μεγαλόπολης Αρκαδίας, διαπιστώθηκαν συμπτώματα νέκρωσης των κλάδων σε δένδρα *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) Buchholz, ηλικίας 15-20 ετών και ύψους 4-5 m. Στον κορμό και τους κλάδους των δένδρων παρατηρήθηκαν έλκη και εκροή ρητίνης. Από το περιφερειακό τμήμα του έλκους απομονώθηκε σταθερά ένας μύκητας με τυπικά χαρακτηριστικά μυκηλίου της οικογένειας Botryosphaeriaceae. Ο ίδιος μύκητας απομονώθηκε από διαφορετικούς κλάδους ενός δένδρου *S. giganteum* από την περιοχή της Λαμίας (περίπου 400 km από τη Μεγαλόπολη). Οι απομονώσεις του μύκητα σε malt extract agar (MEA) ήταν αρχικά λευκές, αλλά το χρώμα τους σταδιακά γινόταν σκούρο-γκρι με πλούσιο εναέριο μυκήλιο και ακτινική αύξηση 35-40 mm σε διάστημα 3 ημερών και βέλτιστη θερμοκρασία 27° C. Πυκνίδια του μύκητα παρατηρήθηκαν στη βάση νεκρών βελονών στην περιοχή του έλκους και επίσης σχηματίστηκαν σε καλλιέργεια. Τα κονίδια είχαν σχήμα ατρακτοειδές έως ελλειψοειδές και ήταν υαλώδη, μονοκύτταρα, (15)18-20 μm X (6)7-9 μm. Αυτά τα στοιχεία σε συνδυασμό με τη φυλογενετική ανάλυση με βάση τις αλληλουχίες της περιοχής ITS του rDNA, μας οδήγησαν στην ταυτοποίηση του μύκητα *Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips (συν.: *Botryosphaeria parva* Pennycook & Samuels). Η παθογένεια του μύκητα δοκιμάστηκε με τον εμβολιασμό των κατώτερων κλάδων δένδρων *S. giganteum*. Σε χρονικό διάστημα 8 εβδομάδων (καλοκαίρι 2006) είχαν δημιουργηθεί χαρακτηριστικά έλκη, μήκους 4-12 cm, ενώ σε ορισμένους κλάδους είχε νεκρωθεί το ακραίο τμήμα κοντά στο έλκος. Ο μύκητας *N. parvum* απομονώθηκε σταθερά από την περιοχή των ελκών. Τα στοιχεία αυτά μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το αίτιο της νέκρωσης των κλάδων σε δένδρα *S. giganteum* είναι ο μύκητας *N. parvum*.

**Επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην ευπάθεια φυτών
κυπαρισσιού στους μύκητες *Seiridium cardinale*, *Diplodia cupressi*
και *Pestalotiopsis funerea***

Α. Αγγελόπουλος¹, Ε. Κασανάκη-Γκότση¹, Ε. Κορακάκη²
και Π. Τσόπελας²

¹Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας και Ταξινόμικης,
Πανεπιστημιούπολη, Τ.Κ 157 84 Αθήνα

²ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.- Ινστιτούτο Μεσογειακών Δασικών Οικοσυστημάτων,
Τέρμα Αλκμάνος, 115 28 Αθήνα

Οι μύκητες *Seiridium cardinale* (W.W. Wagener) B. Sutton & I.A.S. Gibson, *Diplodia cupressi* A.J.L. Phillips & A. Alves και *Pestalotiopsis funerea* (Desm.) Steyaert χρησιμοποιήθηκαν σε πείραμα εμβολιασμού φυτών *Cupressus sempervirens* L., με στόχο να διερευνηθεί η επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην επέκταση αυτών των παθογόνων στους ιστούς των φυτών και στην ανάπτυξη ελκών. Τριετή σποριόφυτα κυπαρισσιού σε γλάστρες 6 L τοποθετήθηκαν σε θερμοκήπιο με τυχαιοποιημένο σχεδιασμό. Δημιουργήθηκαν τρεις ομάδες φυτών, και κάθε ομάδα εμβολιάστηκε με ένα στέλεχος από κάθε μύκητα. Μετά τον εμβολιασμό τα μισά φυτά αναπτύχθηκαν σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης δεχόμενα ένα πότισμα την εβδομάδα με 150 ml νερού, ενώ τα υπόλοιπα δύο ποτίσματα με 250 ml νερού. Το υδατικό δυναμικό των φυτών (ψ) και στις δύο ομάδες μετρήθηκε σε τακτά διαστήματα με θάλαμο πίεσης (pressure chamber) και κυμάνθηκε από -3,17 MPa έως -6,5 MPa στα καταπονημένα φυτά, ενώ στα μη καταπονημένα φυτά ήταν από -1,3 έως -2,5 MPa. Η επωαστική περίοδος διήρκησε 5 μήνες περίπου. Οι συνθήκες υδατικής καταπόνησης ευνόησαν την ανάπτυξη του μύκητα *D. cupressi*: το μέσο μήκος των ελκών ($58,88 \pm 10,51$ mm) που δημιούργησε το παθογόνο στα υδατικώς καταπονημένα φυτά ήταν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερο από το μέσο μήκος των ελκών ($19,82 \pm 2,03$ mm) στα μη καταπονημένα φυτά. Αντίθετα, ο μύκητας *S. cardinale* δημιούργησε στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερα έλκη ($39,82 \pm 1,80$ mm) στα φυτά που αναπτύχθηκαν σε κανονικές συνθήκες υγρασίας, σε σχέση με τα καταπονημένα φυτά ($26,84 \pm 2,41$ mm). Τέλος, δεν υπήρξαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα μήκη των ελκών, που δημιούργησε ο μύκητας *P. funerea* στα καταπονημένα ($11,51 \pm 2,07$ mm) και στα μη καταπονημένα φυτά ($13,03 \pm 1,63$ mm). Και οι τρεις μύκητες απομονώθηκαν σταθερά από την περιοχή του κορμού που είχαν αναπτυχθεί τα έλκη.

**Γενετική συγγένεια και μέτρηση βιολογικών χαρακτηριστικών
ελληνικών απομονώσεων του *Colletotrichum lindemuthianum***

Γ.Α. Μπάρδας¹, Ο. Κουτίτα² and Κ. Τζαβέλλα-Κλωνάρη¹

¹Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269, 541 24 Θεσσαλονίκη

²Ελληνική Βιομηχανία Ζάχαρης, Τμήμα Βελτίωσης Φυτών,
57400 Σίνδος, Θεσσαλονίκη

Η συγκεκριμένη ερευνητική εργασία στοχεύει στο χαρακτηρισμό ελληνικών απομονώσεων του *Colletotrichum lindemuthianum* μελετώντας την επίδραση της θερμοκρασίας στα βιολογικά τους χαρακτηριστικά και τη γενετική τους συγγένεια, με την εφαρμογή δύο διαφορετικών τεχνικών ανάλυσης γονιδιώματος (RAM και ERIC – BOX PCR). Η επίδραση της θερμοκρασίας στα μετρήσιμα βιολογικά χαρακτηριστικά, των υπό δοκιμή απομονώσεων, είχε σαν αποτέλεσμα το διαχωρισμό τους κατά τρόπο που συμφωνούσε με την καταγωγή και το εύρος της παθογόνου ικανότητάς τους. Οι απομονώσεις που προέρχονταν από τις περιοχές Νευροκοπίου και Βροντούς φανέρωσαν μεγαλύτερη προσαρμοστικότητα στις χαμηλότερες από τις θερμοκρασίες έκθεσης (12° και 18°C), σε αντίθεση με αυτές τις Χρυσούπολης, οι οποίες εμφανίστηκαν καλύτερα προσαρμοσμένες στην υψηλότερη θερμοκρασία έκθεσης (24°C). Η γενετική συγγένεια των απομονώσεων προσδιορίσθηκε με την εφαρμογή RAM και ERIC – BOX PCR εκκινητών. Το αποτέλεσμα της εφαρμογής των δύο μοριακών τεχνικών ήταν η δημιουργία δένδρογραμμάτων, τα οποία, κατά παρόμοιο τρόπο ($r = 0.58$, $p = 0.05$), διαχώριζαν τις απομονώσεις σε δύο κύριες ομάδες, κάτι που συμφωνούσε και με προηγούμενα ευρήματα με βάση την RAPD και RFLP ανάλυση. Η πλειοψηφία των ελληνικών απομονώσεων ανήκε στην ίδια ομάδα γενετικής συγγένειας (29 από 35 απομονώσεις), υποδεικνύοντας μικρό βαθμό γενετικής παραλλακτικότητας. Η παρούσα ερευνητική προσπάθεια αποτελεί συνέχεια μιας προηγούμενης, προσθέτοντας περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την παραλλακτικότητα των απομονώσεων του *Colletotrichum lindemuthianum* στην Ελλάδα, προσφέροντας πληροφορίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη αποτελεσματικότερων μεθόδων αντιμετώπισης του συγκεκριμένου φυτοπαθογόνου μύκητα.

Υπόγειοι μύκητες και προοπτικές καλλιέργειάς τους στην Ελλάδα

Σ. Διαμαντής και Χ. Περλέρου

ΕΘΙΑΓΕ - Ινστιτούτο Λασικών Ερευνών, 570 06 Βασιλικά, Θεσσαλονίκη

Είκοσι τέσσερα είδη μυκορριζικών μυκήτων με υπόγειες καρποφορίες έχουν πρόσφατα καταγραφεί στη χώρα μας. Μεταξύ αυτών τα είδη *Tuber melanosporum*, *T. aestivum*, *T. uncinatum*, *T. brumale* και *T. borchii* είναι παγκόσμια γνωστά για την υψηλή γαστρονομική και εμπορική τους αξία. Η καταγραφή αλλά και συλλογή σημαντικών ποσοτήτων αυτοφυούς τρούφας ιδιαίτερα στη Β. Ελλάδα, η έναρξη παραγωγής από ιδρυθείσες φυτείες αλλά και ιστορικά στοιχεία που μαρτυρούν την ύπαρξη τρουφών στη χώρα μας από την αρχαιότητα, συγκλίνουν στο συμπέρασμα ότι η καλλιέργεια τρούφας είναι δυνατή στην Ελλάδα. Οι κύριες ιδιομορφίες της καλλιέργειας τρούφας που είναι η προτίμηση των επικλινών, ασβεστολιθικών, φτωχών εδαφών της ορεινής και ημιορεινής ζώνης και οι περιορισμένες καλλιεργητικές φροντίδες δίνουν τη δυνατότητα αξιοποίησης σημαντικών εκτάσεων εγκαταλειμμένων αγρών σε ορεινά και ημιορεινά χωριά ακόμη και από μη κατ' επάγγελμα αγρότες. Αν στα παραπάνω προστεθεί και ο βιολογικός χαρακτήρας της καλλιέργειας και η υψηλή στρεμματική απόδοση τότε η καλλιέργεια τρούφας αποτελεί μια δελεαστική πρόταση και λύση για τη χώρα μας.

**Αλληλεπιδράσεις μεταξύ του *Erysiphe alphitoides* και άλλων
μυκοπαρασιτικών μυκήτων που συνυπάρχουν σε φυσικό περιβάλλον**

Ε.Θ. Τοπαλίδου¹ και M.W. Shaw¹

¹ The University of Reading, School of Biological Sciences, Whiteknights,
Reading RG6 6AS, UK

Σε δένδρα βελανιδιάς (*Quercus robur*) διαφορετικού ύψους, η προσβολή από ωίδιο (*Erysiphe alphitoides*) ήταν συνήθης. Ωστόσο, η προσβολή ήταν συνηθέστερη σε δένδρα ύψους 3-9m. Ο μύκητας *E. alphitoides* συνδέονταν στενά με την παρουσία πολλών άλλων μυκοπαρασιτικών μυκήτων. Μελέτη 2,5 ετών σε δένδρα βελανιδιάς σε φυσικό περιβάλλον, έδειξε ότι στα προσβεβλημένα από ωίδιο φύλλα, ο παθογόνος μύκητας *E. alphitoides* συνυπήρχε με 5 διαφορετικά γένη μυκήτων, όπως *Acremonium*, *Ampelomyces-Phoma*, *Leptosphaerulina*, *Trichoderma-Cladosporium*, *Tilletiopsis*. Οι αποικίες του *E. alphitoides* συνυπήρχαν σε ποσοστό 90% με τον *Leptosphaerulina* sp., που δεν είναι συνήθης ανταγωνιστής των ωιδίων. Η συχνότερη διαπίστωση ορισμένων συνδυασμών ανταγωνιστών σε αντίθεση με άλλους δεν ήταν τυχαία. Έτσι η σχέση του *Leptosphaerulina* sp. με το *Acremonium* sp. φαίνεται πως ήταν συνεργιστική, επιπλέον δε η παρουσία του *Leptosphaerulina* sp. συσχετιζόταν ισχυρά και με τους άλλους ανταγωνιστές. Η εποχή δειγματοληψίας επηρέασε στατιστικά σημαντικά τους πληθυσμούς των ανταγωνιστών. Διαπιστώθηκαν μεγαλύτεροι πληθυσμοί *Trichoderma-Cladosporium* sp. το φθινόπωρο, ενώ του *Acremonium* sp. το καλοκαίρι. Οι διαφορές αυτές ενδεχομένως να οφείλονται στους διαφορετικούς βιολογικούς κύκλους των ανταγωνιστών ή στους συνδυασμούς, σχέσεις και αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους ή μεταξύ κάθε ανταγωνιστή και του ξενιστή του. Οι μηχανισμοί που οδηγούν σε τέτοιους συνδυασμούς καθώς και οι συνέπειές τους συζητώνται. Η ποικιλότητα και μεγάλη πυκνότητα των πληθυσμών των ανταγωνιστών του *E. alphitoides*, αποδεικνύουν το σημαντικό ρόλο των ανταγωνιστών στην τελική ένταση της ασθένειας και της ζημιάς που προκαλεί.

Τέταρτη Συνεδρία

Μη παρασιτικές ασθένειες

Ανακοινώσεις

Συσχετίσεις μεταξύ της συγκέντρωσης θρεπτικών στοιχείων σε φύλλα ελιάς.

Τρωγιάνος Γ.

51

Επίδραση της ποικιλίας και του υποστρώματος ανάπτυξης στην ένταση της περιφερειακής νέκρωσης των φύλλων (tip-burn) στο εαρινό μαρούλι.

Ασημακοπούλου Α., Α. Κώτσιρας και Κ. Νηφάκος

52

**Συσχετίσεις μεταξύ της συγκέντρωσης θρεπτικών στοιχείων
σε φύλλα ελιάς**

Γ. Τρωγιάνος

*Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας,
Εργαστήριο Μη Παρασιτικών Ασθενειών, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά*

Δειγματοληψία φύλλων από το μέσο της ετήσιας βλάστησης πραγματοποιήθηκε κάθε μήνα από Μάρτιο - Σεπτέμβριο σε διάφορους αγρούς ελιάς. Στα φύλλα, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός της συγκέντρωσης του N, S, P, K, Ca, Mg, NO₃⁻, Fe, Al, Mn, Zn, Cu, B, και Mo. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε στατιστικά σημαντικές ($P < 0.05$) συσχετίσεις μεταξύ των διαφόρων θρεπτικών στοιχείων (π.χ, N και K, K και B κ.α.).

**Επίδραση της ποικιλίας και του υποστρώματος ανάπτυξης
στην ένταση της περιφερειακής νέκρωσης των φύλλων (tip-burn)
στο εαρινό μαρούλι**

Α. Ασημακοπούλου, Α. Κώτσιρας και Κ. Νηφάκος

Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, 241 00 Αντικάλαμος, Καλαμάτα

Με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης της ποικιλίας και του υποστρώματος ανάπτυξης στην ένταση της φυσιολογικής πάθησης «περιφερειακή νέκρωση των φύλλων» (tip-burn), αναπτύχθηκαν σε υδροπονικές καλλιέργειες στο θερμοκήπιο φυτά μαρουλιού τύπου Ρωμάνο, εαρινών ποικιλιών Gramsi και Merlin, σε δύο στερεά υποστρώματα (περλίτη και πετροβάμβακα) και σε υδατοκαλλιέργεια (floating). Είκοσι μέρες από τη μεταφύτευση και αφού είχαν εμφανιστεί τα συμπτώματα της πάθησης, καταγράφηκε το νωπό και ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος και της ρίζας, ο συνολικός αριθμός φύλλων, ο αριθμός φύλλων με συμπτώματα και το μήκος βλαστού. Υπολογίστηκε η σχέση ρίζας προς υπέργειο τμήμα και η περιεκτικότητα του υπέργειου τμήματος σε νερό. Προσδιορίστηκε, επίσης, η συγκέντρωση του υπέργειου τμήματος των φυτών σε μακροστοιχεία και ιχνοστοιχεία. Από τα αποτελέσματα της κύριας επίδρασης του υποστρώματος στην αύξηση βρέθηκε ότι το νωπό και ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών στην υδατοκαλλιέργεια ήταν σημαντικά μεγαλύτερο σε σύγκριση με το βάρος των φυτών στον περλίτη και πετροβάμβακα. Όμως τα φυτά στην υδατοκαλλιέργεια παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερο αριθμό φύλλων με συμπτώματα και σημαντικά μικρότερη συγκέντρωση Ca (στοιχείο το οποίο εμπλέκεται στην εκδήλωση της πάθησης) και Mg. Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις K, P, Mn, Zn και B βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερες. Όσον αφορά στην κύρια επίδραση της ποικιλίας, η Merlin παρουσίασε μεγαλύτερο βάρος υπέργειου τμήματος από την Gramsi, αλλά μικρότερη σχέση ρίζας προς βλαστό, μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε νερό και μεγαλύτερο αριθμό φύλλων με συμπτώματα καθώς και μικρότερες συγκεντρώσεις K, Ca, Mg.

Πέμπτη Συνεδρία

Χημική καταπολέμηση I

Εισήγηση Κύριου Χορηγού (Syngenta Hellas)

Biological and physico-chemical properties of mandipropamid, a new fungicide for the control of Oomycete pathogens (Βιολογικές και φυσικοχημικές ιδιότητες του mandipropamid, ενός νέου μυκητοκτόνου για τον έλεγχο των Ωομυκήτων).

Knauf-Beiter G. και F. Huggenberger

55

Ανακοινώσεις

Fluopicolide: a new fungicide mode of action from Bayer Cropscience for more efficient Oomycete disease control in high value crops (Fluopicolide: ένα μυκητοκτόνο από τη Bayer Cropscience με νέο μηχανισμό δράσης για αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση ασθενειών από Ωομύκητες σε καλλιέργειες υψηλής προσόδου)

Latorse M.-P., S. Tafforeau, V. Toquin και T. Wegmann

56

Πλαίσιο και διαδικασίες ελέγχου των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στην αγορά.

Βλάχος Δ.

58

Διερεύνηση της φυτοπαθογόνου και μυκοτοξικογόνου ικανότητας στελεχών του *Aspergillus carbonarius* και *Penicillium expansum* ανθεκτικών στα φαινυλοπυρρολικά μυκητοκτόνα.

Μαρκόγλου Α.Ν., Κ. Βάττης, Κ. Δημητριάδης,
Ε.Γ. Δούκας και Β.Ν. Ζιώγας

59

Ικανότητα προσαρμογής ανθεκτικών στελεχών του μύκητα *Botrytis cinerea* σε ανιλινοπυριμιδινικά μυκητοκτόνα.

Μπάρδας Γ.Α., Χ.Κ. Μυρεσιώτης
και Γ.Σ. Καραογλανίδης

60

**Biological and physico-chemical properties of mandipropamid,
a new fungicide for the control of Oomycete pathogens**

**(Βιολογικές και φυσικοχημικές ιδιότητες του mandipropamid,
ενός νέου μυκητοκτόνου για τον έλεγχο των Ωομυκήτων)**

G. Knauf-Beiter¹ και F. Huggenberger²

¹Syngenta Crop Protection AG, CH-4332 Stein, Switzerland

Email: gertrude.knauf-beiter@syngenta.com

²Syngenta Crop Protection AG, CH-4002 Basel, Switzerland

Email: fritz.huggenberger@syngenta.com

Το mandipropamid είναι ένα νέο μυκητοκτόνο που αναπτύχθηκε από τη Syngenta και χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση των Ωομυκήτων. Η δράση του mandipropamid στον κύκλο ανάπτυξης των παθογόνων-στόχων ερευνήθηκε σε πολλές δοκιμές στο εργαστήριο, με μικροσκοπιο. Από αυτές τις δοκιμές παρατηρήθηκε ότι το mandipropamid έχει ιδιαίτερη επίδραση στην βλάστηση των σποριαγγείων, ενώ παρεμποδίζει την ανάπτυξη του μυκηλίου και μειώνει την δημιουργία νέων σπορείων των μυκήτων.

Η πρόσληψη και μεταφορά του mandipropamid ερευνήθηκε με χημική ανάλυση και βιοδοκιμές. Μετά από εφαρμογή του προϊόντος στο φύλλωμα, παρατηρήθηκε ότι μια σημαντική ποσότητα του εφαρμοζόμενου δρώντος συστατικού, δεσμεύεται άμεσα στην κηρώδη επιφάνεια του φύλλου. Η δέσμευση του mandipropamid στην κηρώδη επιφάνεια του φύλλου εξασφαλίζει εξαιρετική αντοχή στην έκπλυση από την βροχή, από τη στιγμή που θα στεγνώσει το ψεκαστικό διάλυμα πάνω στην επιφάνεια του φύλλου. Από την επιφανειακή εναπόθεση και την απορρόφηση του δραστικού στον κηρώδη ιστό, μικρές ποσότητες του δραστικού κινούνται σταδιακά μέσα στον ιστό του φυτού. Χάρη στην υψηλή εγγενή δραστηριότητά του, η ποσότητα του δραστικού που μεταφέρθηκε μέσα στον ιστό του φυτού είναι επαρκής για να διασφαλίσει υψηλή διελασματική κίνηση και έλεγχο της ασθένειας κατά την διάρκεια της περιόδου επώασης του παθογόνου. Αυτές οι βιολογικές και φυσικοχημικές ιδιότητες εξηγούν τον άριστο έλεγχο του παθογόνου σε συνθήκες αγρού, όταν το mandipropamid εφαρμόζεται σε προληπτικές εφαρμογές.

**Fluopicolide: a new fungicide mode of action
from Bayer Cropscience for more efficient Oomycete
disease control in high value crops**

**(Fluopicolide: ένα μυκητοκτόνο από τη Bayer Cropscience με νέο
μηχανισμό δράσης για αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση ασθενειών
από Ωομύκητες σε καλλιέργειες υψηλής προσόδου)**

M.-P. Latorse¹, S. Tafforeau², V. Toquin³ και T. Wegmann⁴

¹BCS Biology Department, ²BCS Agronomic Development, ³BCS Biochemistry
Department all Bayer Cropscience, La Dargoire, Research center,
14-20 rue Pierre Baizet, 69009 Lyon, France

⁴Bayer Cropscience, Project Management, Alfred-Nobel-Str. 50 Monheim, Germany

Το fluopicolide είναι ένα νέο μυκητοκτόνο από τη νέα χημική ομάδα acylpicolides, που ανακάλυψε και ανέπτυξε η έρευνα της Bayer CropScience. Το fluopicolide είναι πολύ δραστικό στους Ωομύκητες, που προκαλούν οικονομικά σημαντικές ασθένειες όπως τα γένη *Phytophthora* και *Plasmopara* σε διάφορες καλλιέργειες όπως πατάτες, αμπέλι, λαχανικά και καλλωπιστικά. *In vitro* και *in vivo* μελέτες που διενεργήθηκαν στο *Phytophthora infestans* έδειξαν ότι το fluopicolide είναι δραστικό σε διάφορα στάδια του κύκλου ζωής του παθογόνου τόσο στη βλάστηση όσο και στην απελευθέρωση των ζωοσπορίων. Η ισχυρή και ταχεία δράση στα ζωοσπόρια σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις του fluopicolide είναι ήδη ορατή στο μικροσκόπιο. Τα ζωοσπόρια χάνουν την κινητικότητά τους αμέσως μετά την επαφή με το fluopicolide και μέσα σε λιγότερο από πέντε λεπτά της ώρας τα ζωοσπόρια αυτά διογκώνονται και διαρρηγνύονται. Μελέτες που διενεργήθηκαν σε *P. infestans* και *Plasmopara viticola* έδειξαν ότι το fluopicolide επιδρά στην απελευθέρωση, στην κινητικότητα των ζωοσπορίων και στη βλάστηση των κύστεων, καθώς και στην ανάπτυξη του μυκηλίου και στη σποροποίηση.

Ο βιοχημικός τρόπος δράσης του fluopicolide είναι νέος και μοναδικός και έχειδειχθεί ότι δεν υπάρχει διασταυρωτή ανθεκτικότητα με άλλα περονοσποροκτόνα, αφού παραμένει δραστικό σε φυλές Ωομυκήτων που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε phenylamides, strobilurins και carboxylic acid amides (CAA). Το fluopicolide επάγει μια ταχεία ανακατανομή των πρωτεϊνών τύπου spectrin από την μεμβράνη στο κυτόπλασμα τόσο στις μυκηλιακές υφές όσο και στα ζωοσπόρια. Η επίδραση αυτή είναι εξαιρετικά ταχεία σε συνάρτηση με το αποτέλεσμα που επιφέρει στα ζωοσπόρια. Οι πρωτεΐνες του κυτοσκελετού όπως spectrin παρέχουν τη σταθερότητα στη δομή των κυττάρων

και ταυτόχρονα δημιουργούν ένα δίκτυο που υποστηρίζει την πλασματική μεμβράνη. Το fluopicolide ενεργεί ώστε να αποσταθεροποιεί το δίκτυο επιφέροντας την αποδιοργάνωση του κυττάρου και τελικά τον θάνατό του. Κανένα από τα γνωστά και καθιερωμένα περονοσποροκτόνα δεν έχει παρόμοια επίδραση στις πρωτεΐνες τύπου spectrin. Το fluopicolide μόνο του και σε συνδυασμούς επέδειξε συστηματικά υψηλά επίπεδα αποτελεσματικότητας στα παθογόνα υπό διαφορετικές κλιματικές συνθήκες. Η ταχύτατη δράση στα ζωοσπόρια συνδυαζόμενη με εξαιρετική υπολειμματική διάρκεια παρέχει ισχυρή προστατευτική δράση από την αρχή μέχρι το τέλος του μεσοδιαστήματος εφαρμογών. Αυτό έχει βρεθεί από τα πειράματα αγρού που διεξάγονται για χρόνια από το 1998. Το fluopicolide παρέχει άριστη δράση σε φύλλα και στελέχη καθώς και αντίστοιχη προστασία σε καρπούς και κονδύλους.

Τα μυκητοκτόνα με βάση το fluopicolide παρέχουν μια σειρά από σημαντικά οφέλη στον καλλιεργητή. Γίνονται προϊόντα της επιλογής των καλλιεργητών επιδεικνύοντας τα καλά χαρακτηριστικά τους για την Ολοκληρωμένη Φυτοπροστασία (Integrated Crop Protection -ICM) και ικανοποιώντας τις απαιτήσεις της αλυσίδας τροφίμων. Το fluopicolide αναπτύσσεται παγκόσμια σε συνδυασμούς στο πλαίσιο της πρόληψης ανάπτυξης ανθεκτικότητας. Τέτοια σκευάσματα είναι μίγματα του fluopicolide με το propanocarb-HCl για πατάτες και λαχανικά (με το εμπορικό όνομα Volare ®) και με το fosetyl-Al για το αμπέλι (με το εμπορικό όνομα Profiler ®). Ήδη από το 2006 τα σκευάσματα που περιέχουν fluopicolide έχουν εγκριθεί και χρησιμοποιούνται με επιτυχία σε διάφορες χώρες και αναμένεται να τοποθετηθούν τελικά σε περισσότερες από 60 χώρες στον κόσμο.

**Πλαίσιο και διαδικασίες ελέγχου
των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στην αγορά**

Δ. Βλάχος

*Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Γενική Διεύθυνση Φυτικής Παραγωγής,
Διεύθυνση Προστασίας Φυτικής Παραγωγής, Τμήμα Γεωργικών Φαρμάκων,
Συγγρού 150, 17671 Αθήνα*

Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα είναι δραστικές ουσίες και σκευάσματα που μεταξύ άλλων προορίζονται να προστατεύουν τα φυτά ή τα φυτικά προϊόντα από κάθε είδους επιβλαβείς οργανισμούς ή να προλαμβάνουν τη δράση τους. Η ασφάλεια του χρήστη των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, του καταναλωτή των φυτικών προϊόντων όπου εφαρμόζονται και του περιβάλλοντος επιτάσσει τη διενέργεια ελέγχων σε όλα τα στάδια από την παρασκευή των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, τη συσκευασία τους, την εμπορία και την εφαρμογή τους στις καλλιέργειες. Το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων και οι Διευθύνσεις Αγροτικής Ανάπτυξης των κατά τόπους Νομαρχιακών Αυτοδιοικήσεων της χώρας διεξάγουν συστηματικούς ελέγχους σε όλα τα στάδια και αυστηρές κυρώσεις επιβάλλονται στους παραβάτες. Τα αποτελέσματα των παραβάσεων κατά την πενταετία 2003-2007 καταδεικνύουν την εντατικοποίηση και την αποτελεσματικότητα των διενεργούμενων ελέγχων αλλά και την ασφάλεια της πλειονότητας των εγχωρίων προϊόντων. Παράλληλα καθορίζουν τον προγραμματισμό για τους επόμενους ελέγχους με στόχο την ποιότητα των παραγόμενων φυτικών προϊόντων.

**Διερεύνηση της φυτοπαθογόνου και μυκοτοξικογόνου ικανότητας
στελεχών του *Aspergillus carbonarius* και *Penicillium expansum*
ανθεκτικών στα φαινυλοπυρρολικά μυκητοκτόνα**

Α.Ν. Μαρκόγλου, Κ. Βάττης, Κ. Δημητριάδης, Ε.Γ. Δούκας
και Β.Ν. Ζιώγας

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Γεωργικής Φαρμακολογίας, Ιερά Οδός 75, Βοτανικός 118 55 Αθήνα

Στελέχη των μυκήτων *Aspergillus carbonarius* και *Penicillium expansum* με υψηλό επίπεδο ανθεκτικότητας (Rf: 100-130) στα φαινυλοπυρρολικά μυκητοκτόνα απομονώθηκαν σε υψηλή συχνότητα, μετά από μεταλλαξιγένεση με UV ακτινοβολία και επιλογή σε υλικό που περιείχε fludioxonil. Πειράματα διασταυρωτής ανθεκτικότητας με άλλα μυκητοκτόνα έδειξαν ότι οι μεταλλαγές για ανθεκτικότητα στο fludioxonil μειώνουν την ευαισθησία των μεταλλαγμένων στελεχών και σε μυκητοκτόνα της ομάδας των αρωματικών υδρογονανθράκων (tecnazene, tolclfos-methyl) και δικαρβοξιμιδικών (iprodione, vinclozolin), όχι όμως σε μυκητοκτόνα που δρουν σε άλλες βαθμίδες του κυτταρικού μεταβολισμού, όπως τα τριαζολικά, οι ανιλινοπυριμιδίνες, οι φαινυλοπυριδιναμίνες και το chlorothalonil. Αρνητική διασταυρωτή ανθεκτικότητα (Rf: 0.1-0.06) διαπιστώθηκε με τους παρεμποδιστές του συμπλόκου III (QoIs) της μιτοχονδριακής αναπνοής azoxystrobin και pyraclostrobin. Μελέτη της προσαρμοστικότητας των ανθεκτικών στο fludioxonil στελεχών έδειξε ότι οι μεταλλαγές για ανθεκτικότητα στα φαινυλοπυρρολικά μυκητοκτόνα κατά κανόνα αυξάνουν την ευαισθησία των στελεχών στην οσμωτική πίεση, ενώ επηρεάζουν ή δεν επηρεάζουν τη μυκηλιακή αύξηση, την ικανότητα παραγωγής και βλάστησης των κονιδίων και την παθογόνο ικανότητα. Αναλύσεις εκχυλισμάτων από καλλιέργειες των αγρίων και των ανθεκτικών στο fludioxonil στελεχών του *A. carbonarius* και του *P. expansum*, με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) και με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), έδειξε ότι οι μεταλλαγές για ανθεκτικότητα στο fludioxonil μειώνουν την ικανότητα παραγωγής μυκοτοξινών (ωχρατοξίνες και πατουλίνη, αντίστοιχα) στα περισσότερα μεταλλαγμένα στελέχη που μελετήθηκαν. Σε μερικά όμως στελέχη του *A. carbonarius*, καθώς και σε όλα τα στελέχη του *P. expansum* διαπιστώθηκε σημαντικά μεγαλύτερη παραγωγή ωχρατοξινών (OTA και OTB) και κιτρινίνης, αντίστοιχα. Παρουσία fludioxonil στο υλικό καλλιέργειας διαπιστώθηκε μεγαλύτερη παραγωγή μυκοτοξινών από όλα τα μεταλλαγμένα στελέχη που μελετήθηκαν. Ανάλογα αποτελέσματα διαπιστώθηκαν και σε εκχυλίσματα από σταφύλια και μήλα που είχαν τεχνητώς μολυνθεί με στελέχη των παραπάνω μυκήτων. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης φανερώνουν ότι η μη ορθή χρήση των δικαρβοξιμιδικών και φαινυλοπυρρολικών μυκητοκτόνων ενέχει αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης και επικράτησης ανθεκτικών στελεχών του *A. carbonarius* και *P. expansum* με αυξημένη ικανότητα παραγωγής μυκοτοξινών.

**Ικανότητα προσαρμογής ανθεκτικών στελεχών του μύκητα
Botrytis cinerea σε ανιλινοπυριμιδινικά μυκητοκτόνα**

Γ.Α. Μπάρδας, Χ.Κ. Μυρεσιώτης και Γ.Σ. Καραογλανίδης

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269, 54124 Θεσσαλονίκη

Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε η ικανότητα προσαρμογής ανθεκτικών απομονώσεων του μύκητα *Botrytis cinerea* σε ανιλινοπυριμιδινικά μυκητοκτόνα που συλλέχθηκαν από καλλιέργειες κηπευτικών στην Ελλάδα κατά το έτος 2005. Οι παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν η μυκηλιακή ανάπτυξη, η παραγωγή σπορίων *in vitro* και *in vivo*, η μολυσματική ικανότητα, η βλαστικότητα των σπορίων και η ανταγωνιστική ικανότητα των ανθεκτικών στελεχών έναντι των ευαίσθητων σε τέσσερα ζεύγη στελεχών. Οι μετρήσεις των διαφόρων στελεχών έδειξαν υψηλή παραλλακτικότητα και στις δύο ομάδες ευαισθησίας σε όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν, εκτός της μολυσματικής ικανότητας. Η ομάδα των ανθεκτικών στελεχών παρουσίασε σημαντικά μικρότερη ($P<0.05$) μυκηλιακή ανάπτυξη και μολυσματική ικανότητα από ότι τα ευαίσθητα στελέχη. Επιπλέον τα ανθεκτικά στελέχη εμφάνισαν υψηλότερη ($P<0.05$) παραγωγή σπορίων *in vivo*, όμως δεν υπήρχε διαφορά ($P>0.05$) μεταξύ των δύο ομάδων ευαισθησίας στην παραγωγή σπορίων *in vitro* και στην επί τοις εκατό βλάστηση των σπορίων. Εντούτοις, ο έλεγχος για το αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των τιμών της κάθε παραμέτρου και του επιπέδου ευαισθησίας στο cyprodinil της κάθε απομόνωσης δεν ήταν σημαντική ($P>0.05$) για όλες τις παραμέτρους, εκτός από την παραγωγή σπορίων *in vivo*. Η απουσία σημαντικής συσχέτισης μεταξύ των τιμών αυτών δείχνει ότι η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα ανιλινοπυριμιδινικά μυκητοκτόνα δεν επηρέασε την ικανότητα προσαρμογής των ανθεκτικών στελεχών. Ο ανταγωνισμός μεταξύ ανθεκτικών και ευαίσθητων στελεχών ήταν εξαρτώμενος από την απομόνωση, αφού σε δύο από τα ζεύγη των απομονώσεων το ποσοστό ανθεκτικότητας μειώθηκε σημαντικά μετά από πέντε καλλιεργητικές περιόδους σε τεχνητό θρεπτικό υπόστρωμα ή κύκλους ασθένειας *in vivo* ενώ στα άλλα δύο ζεύγη το ποσοστό ανθεκτικότητας αυξήθηκε σημαντικά μετά από πέντε κύκλους ασθένειας *in vivo* ή παρέμεινε σταθερό για ένα ζεύγος μετά από πέντε καλλιεργητικές περιόδους σε τεχνητό θρεπτικό υπόστρωμα.

Έκτη Συνεδρία

Χημική καταπολέμηση II

Ανακοινώσεις

- Ευαισθησία του *Septoria pyricola* στα μυκητοκτόνα και χημική καταπολέμηση της ασθένειας στη αχλαδιά ποικ. Κρυστάλλι.
Χατζηδημόπουλος Μ., Α.Ι. Βλασακούδης, Ε. Βέλλιος
και Α.Χ. Παππάς 63
- Μοριακή και βιοχημική διερεύνηση της ανθεκτικότητας του *Phytophthora infestans* στο zoxamide και άλλα ωμομυκητοκτόνα.
Κρητικός Χ., Δ. Νίκου, Α.Ν. Μαρκόγλου και Β.Ν. Ζιώγας 64
- Επίδραση των μεταλλαγών ανθεκτικότητας στα τριαζολικά μυκητοκτόνα στην παραγωγή φουμονισινών από το μύκητα *Fusarium moniliforme*.
Μαρκόγλου Α.Ν., Α.Γ. Βιτωράτος, Ε.Γ. Δούκας
και Β.Ν. Ζιώγας 65
- Proquinazid (Talendo® 20EC), ένα νέο μυκητοκτόνο για την καταπολέμηση του ωιδίου της αμπέλου.
Σταματάς Γ., J.L. Genet, Χ. Θεοχάρης και Δ. Πανώριος 66
- Ανάλυση επικινδυνότητας των διαφόρων παραβάσεων της νομοθεσίας των φυτοπροστατευτικών προϊόντων.
Βλάχος Δ. 67
- Η συμβολή της γεωργικής επαγγελματικής κατάρτισης στην ορθολογική χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στις καλλιέργειες καπνού.
Μπούντας Κ. και Ε. Σκέντρου 68

Ευαισθησία του *Septoria pyricola* στα μυκητοκτόνα και χημική καταπολέμηση της ασθένειας στη αχλαδιά ποικ. Κρυστάλλι

Μ. Χατζηδημόπουλος, Α.Ι. Βλασακούδης, Ε. Βέλλιος και Α.Χ. Παππάς

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, 384 46, Ν. Ιωνία, Βόλος

Με τη μέθοδο της σημειακής εναπόθεσης αιωρήματος σπορίων σε τρυβλία με PDA εμπλουτισμένο με διαφορετικές συγκεντρώσεις μυκητοκτόνων προσδιορίστηκε η ευαισθησία 36 μονόσπορων απομονώσεων του *S. pyricola*, που συλλέχθηκαν την περίοδο 2003-2007 από 10 οπωρώνες αχλαδιάς. Στα βενζιμιδαζολικά (carbendazim), 28 απομονώσεις βρέθηκαν υψηλής ανθεκτικότητας (MIC >100mg/L), 3 μετρίας (MIC 10mg/L) και 5 ευαίσθητες (MIC 0.1mg/L). Στους παρεμποδιστές απομεθυλίωσης των στερολών (bitertanol, flusilazole, myclobutanil) η Ελάχιστη Παρεμποδιστική Συγκέντρωση (MIC) παρουσίασε σχεδόν ομοιόμορφη κατανομή μεταξύ των ορίων 0.001 - 1.0 mg/L μυκητοκτόνου. Στις στρομπιλουρίνες (azoxystrobin, kresoxim-methyl, pyraclostrobin, trifloxystrobin) και στο boscalid (καρβοξιμιδικά) η MIC ήταν μεταξύ των ορίων 0.005 - 0.1 mg/L μυκητοκτόνου. Όμως 2 απομονώσεις παρουσίασαν παροδική ανθεκτικότητα (μέχρι και 1000 φορές λιγότερο ευαίσθητες) σε ορισμένες στρομπιλουρίνες. Η ανθεκτικότητα αυτή απωλέστηκε έπειτα από διαδοχική υποκαλλιέργεια του μύκητα σε θρεπτικά υποστρώματα χωρίς μυκητοκτόνο. Στο αγρό, σε πείραμα τεχνητών μολύνσεων με μείγμα (1:1) αιωρήματος σπορίων ευαίσθητης και ανθεκτικής στα βενζιμιδαζολικά απομόνωσης του παθογόνου, το flusilazole (της ομάδος των παρεμποδιστών απομεθυλίωσης των στερολών) και το azoxystrobin (των στρομπιλουρινών), εμπόδισαν την εγκατάσταση και την εν συνεχεία εξέλιξη της ασθένειας, όταν εφαρμόστηκαν στο στάδιο της ρόδινης κορυφής και στη συνιστώμενη από τον παρασκευαστή δοσολογία.

**Μοριακή και βιοχημική διερεύνηση της ανθεκτικότητας
του *Phytophthora infestans* στο zoxamide και άλλα ωομυκητοκτόνα**

Χ. Κρητικός, Δ. Νίκου, Α.Ν. Μαρκόγλου και Β.Ν. Ζιώγας

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Γεωργικής Φαρμακολογίας, Ιερά Οδός 75, Βοτανικός 118 55 Αθήνα

Στελέχη του ωομύκητα *Phytophthora infestans* με υψηλό επίπεδο ανθεκτικότητας στο βενζαμίδιο zoxamide απομονώθηκαν μετά από μεταλλαξιγένεση με UV ακτινοβολία και επιλογή σε υλικό που περιείχε zoxamide. Μελέτες διασταυρωτής ανθεκτικότητας έδειξαν ότι τα μεταλλαγμένα στελέχη είχαν μειωμένη ευαισθησία και σε άλλα ωομυκητοκτόνα από διαφορετικές χημικές ομάδες. Για τη διερεύνηση του μηχανισμού ανθεκτικότητας των μεταλλαγμένων στελεχών μελετήθηκαν τρεις πιθανοί μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας των φυτοπαθογόνων στα μυκητοκτόνα: (α) Ο μηχανισμός της αλλαγής της θέσης δράσης με απομόνωση και αλληλούχιση του γονιδίου της β-τουμπουλίνης από το άγριο και τα μεταλλαγμένα στελέχη. (β) Ο μηχανισμός της αυξημένης απέκκρισης με τη χρήση παρεμποδιστών των συστημάτων παραγωγής ενέργειας, με μέτρηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ωομυκητοκτόνου με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης σε συνδυασμό με φασματομετρία μαζών και με μοριακή ανάλυση ενός τμήματος γονιδίου των ABC μεταφορέων. (γ) Ο μηχανισμός της αποτοξικοποίησης με τη χρήση συνεργιστών. Από τις παραπάνω μελέτες η αλληλούχιση του γονιδίου της β-τουμπουλίνης, που αποτελεί τη θέση δράσης του zoxamide, έδειξε κοινές μεταλλαγές σε όλα τα ανθεκτικά στελέχη που μελετήθηκαν στη θέση 200 με αντικατάσταση της μεθειονίνης από φαινυλαλανίνη αλλά και εκατέρωθεν των θέσεων 200, 198 και 167, που είναι διαπιστωμένες θέσεις μεταλλαγών ανθεκτικότητας της β-τουμπουλίνης σε άλλα φυτοπαθογόνα στα βενζιμιδαζολικά μυκητοκτόνα. Η ανθεκτικότητα στο zoxamide φαίνεται ότι εξηγείται από αλλαγή στη δομή της θέσης δράσης ως αποτέλεσμα των μεταλλαγών στην περιοχή των παραπάνω αμινοξέων. Όμως ο μηχανισμός αυτός δεν εξηγεί την πολλαπλή ανθεκτικότητα στα άλλα ωομυκητοκτόνα. Η διερεύνηση των άλλων δύο μηχανισμών δεν έδωσε θετικά αποτελέσματα και απαιτείται περαιτέρω προσπάθεια. Η πιθανή υπερέκφραση του γονιδίου των ABC μεταφορέων ίσως εξηγήσει το φαινόμενο της πολλαπλής ανθεκτικότητας στον *P. infestans*.

**Επίδραση των μεταλλαγών ανθεκτικότητας
στα τριαζολικά μυκητοκτόνα στην παραγωγή φουμονισινών
από το μύκητα *Fusarium moniliforme***

A.N. Μαρκόγλου, A.Γ. Βιτωράτος, E.Γ. Δούκας και B.N. Ζιώγας

*Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Γεωργικής Φαρμακολογίας, Ιερά Οδός 75, Βοτανικός 118 55 Αθήνα*

Στελέχη του μύκητα *Fusarium moniliforme* (τ.μ. *Giberella fujikuroi*) ανθεκτικά στα τριαζολικά μυκητοκτόνα (Rf: 20-60) απομονώθηκαν σε υψηλή συχνότητα ($1,8 \times 10^{-5}$), μετά από μεταλλαξιγένεση με UV ακτινοβολία και επιλογή σε υλικό που περιείχε eroxiconazole. Πειράματα διασταυρωτής ανθεκτικότητας με άλλα μυκητοκτόνα έδειξαν ότι οι μεταλλαγές για ανθεκτικότητα στο eroxiconazole μειώνουν την ευαισθησία των μεταλλαγμένων στελεχών και σε άλλους παρεμποδιστές της απομεθυλίωσης του C-14 (DMIs), όπως στα τριαζολικά flusilazole, difenoconazole, propiconazole και flutriafol, και στο ιμιδαζολικό imazalil, όχι όμως σε μυκητοκτόνα που δρουν σε άλλες βαθμίδες του κυτταρικού μεταβολισμού. Μελέτη της προσαρμοστικότητας των ανθεκτικών στο eroxiconazole στελεχών του *F. moniliforme* έδειξε ότι οι μεταλλαγές για ανθεκτικότητα στα τριαζολικά μυκητοκτόνα κατά κανόνα δεν επηρεάζουν τη μυκηλιακή αύξηση, την ικανότητα παραγωγής και βλάστησης των κονιδίων και την παθογόνο ικανότητα στα περισσότερα μεταλλαγμένα στελέχη που μελετήθηκαν. *In vitro* μελέτη της επίδρασης των μεταλλαγών ανθεκτικότητας στα τριαζολικά μυκητοκτόνα στην παραγωγή φουμονισινών (FB₁, FB₂), με αναλύσεις εκχυλισμάτων από καλλιέργειες του αγρίου και των ανθεκτικών στελεχών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης σε συνδυασμό με φασματομετρία μαζών (LC-ESI/MS), έδειξε ότι η παραγωγή φουμονισινών στα μεταλλαγμένα στελέχη ήταν παρόμοια ή μεγαλύτερη (μέχρι και 6 φορές) του αγρίου στελέχους. Παρουσία eroxiconazole στο υλικό καλλιέργειας διαπιστώθηκε μεγαλύτερη παραγωγή φουμονισινών (2-4 φορές) από όλα τα μεταλλαγμένα στελέχη που μελετήθηκαν. Ανάλογα αποτελέσματα διαπιστώθηκαν και σε εκχυλίσματα από σπόρους καλαμποκιού που είχαν μολυνθεί με στελέχη του *F. moniliforme*. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης φανερώνουν ότι η μη ορθή χρήση των τριαζολικών μυκητοκτόνων ενέχει αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης και επικράτησης ανθεκτικών στελεχών του *F. moniliforme* με αυξημένη ικανότητα παραγωγής φουμονισινών στα γεωργικά προϊόντα.

**Proquinazid (Talendo[®] 20EC), ένα νέο μυκητοκτόνο
για την καταπολέμηση του ωϊδίου της αμπέλου**

Γ. Σταματάς, J.L. Genet, X. Θεοχάρης και Δ. Πανώριος

DuPont Hellas S.A., Σολωμού 12 και Β. Γεωργίου, 152 32, Χαλάνδρι

Το proquinazid (Talendo[®] 20EC) ανακαλύφθηκε από την DuPont το 1993 και ανήκει στην νέα χημική ομάδα των κουιναζολινών. Παρόλο που δεν είναι ακόμη γνωστός ο ακριβής τρόπος δράσης του, φαίνεται να επεμβαίνει στην διαδικασία αλληλοαναγνώρισης μεταξύ ξενιστή και παθογόνου που είναι απαραίτητη για την επιτυχή μόλυνση. Συγκεκριμένα το proquinazid (Talendo[®] 20EC) παρεμποδίζει τη βλάστηση σπορίων του μύκητα *Uncinula neactor*, ενώ ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις παρεμποδίζει το σχηματισμό των απρεσσορίων. Χάρη στον καινοτόμο τρόπο δράσης του, ελέγχει στελέχη ωϊδίου που είναι ανθεκτικά σε άλλα μυκητοκτόνα όπως οι τριαζόλες και οι στρομπιλουρίνες. Η διελασματική και τοπικά διασυστηματική κίνηση του proquinazid (Talendo[®] 20EC) εξασφαλίζει πλήρη κάλυψη και προστασία των φύλλων και των βότρων, ενώ η τοπική δράση των ατμών του εισχωρεί στα τσαμπιά και προστατεύει τους ψεκασμένους και αγέκαστους ιστούς, καθώς και την νέα βλάστηση. Τα αποτελέσματα πειραμάτων αγρού υποδεικνύουν ότι το proquinazid (Talendo[®] 20EC) έχει πολύ καλή αποτελεσματικότητα ενάντια στο ωϊδίο της αμπέλου ακόμα και κάτω από υψηλή πίεση μολύσματος. Στα φύλλα το proquinazid παρουσίασε αντίστοιχη αποτελεσματικότητα με αυτή των προϊόντων αναφοράς, ενώ όσον αφορά τους καρπούς, η αποτελεσματικότητα του ήταν αντίστοιχη ή και καλύτερη, με στατιστικά σημαντικές διαφορές, από τα προϊόντα αναφοράς.

**Ανάλυση επικινδυνότητας των διαφόρων παραβάσεων
της νομοθεσίας των φυτοπροστατευτικών προϊόντων**

Δ. Βλάχος

*Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Γενική Διεύθυνση Φυτικής Παραγωγής,
Διεύθυνση Προστασίας Φυτικής Παραγωγής, Τμήμα Γεωργικών Φαρμάκων
Συγγρού 150, 17671 Αθήνα*

Οι παρατηρηθείσες παραβάσεις στα φυτοπροστατευτικά προϊόντα κατά την πενταετία 2003-2007 και συγκεκριμένα οι παραβάσεις που αναφέρονται στο περιεχόμενο, στη συσκευασία, στην εμπορία και στη χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων καταδεικνύουν επικινδυνότητα η οποία στην πλειονότητα των περιπτώσεων δεν είναι σημαντική. Από την ανάλυση της επικινδυνότητας των παραβάσεων προκύπτουν συμπεράσματα ιδιαίτερα χρήσιμα για τον προγραμματισμό των διενεργούμενων ελέγχων με στόχο την ασφάλεια του χρήστη των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, του περιβάλλοντος και του τελικού καταναλωτή των φυτικών προϊόντων όπου εφαρμόζονται τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα. Για την ανάλυση επικινδυνότητας αξιολογήθηκαν οι παράγοντες κινδύνου όπως είδος και επίπτωση της παράβασης και η συχνότητα εμφάνισής τους.

**Η συμβολή της γεωργικής επαγγελματικής κατάρτισης
στην ορθολογική χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων
στις καλλιέργειες καπνού**

Κ. Μπούντας¹ και Ε. Σκέντρου²

¹Ο.Γ.Ε.Ε.Κ.Α “ΔΗΜΗΤΡΑ”, Προϊστάμενος Κέντρον “Δήμητρα” Κομοτηνής

²ΣΕΚΕ Ξάνθης, Υπεύθυνη Ποιοτικού Ελέγχου

Στην εργασία αυτή επιχειρείται η αποτίμηση του ρόλου της επαγγελματικής κατάρτισης των γεωργών με μετρήσιμα στοιχεία και παραμέτρους που αναδεικνύουν τη συμβολή της στην υιοθέτηση ορθών πρακτικών χρήσης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στις καλλιέργειές τους. Κατά το Α' εξάμηνο του 2007 υλοποιήθηκαν από το Κέντρο «Δήμητρα» Κομοτηνής 6 προγράμματα κατάρτισης διάρκειας 60 ωρών σε 5 Δημοτικά Διαμερίσματα (ΔΔΚ) της ορεινής περιοχής του Ν. Ροδόπης με θέμα «Ολοκληρωμένη Διαχείριση Παραγωγής Καπνού». Συμμετείχαν εθελοντικά 136 καπνοπαραγωγοί, στην πλειοψηφία άντρες ηλικίας ≥ 25 ετών. Έμφαση δόθηκε στις εκπαιδευτικές ενότητες που αφορούσαν την εφαρμογή προτύπων σε θέματα φυτοπροστασίας και την τήρηση των βασικών υποχρεώσεων των καπνοπαραγωγών ως προς τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα. Σε δειγματοληψίες ελέγχου που πραγματοποιήθηκαν την περίοδο Σεπτεμβρίου-Οκτωβρίου 2007 από τη ΣΕΚΕ Ξάνθης στο τελικό προϊόν που προερχόταν από το Ν. Ροδόπης, καταμετρήθηκαν τα υπολείμματα συγκεκριμένων φυτοπροστατευτικών ουσιών (chlorothalonil, cypermethrin, methamidophos) και συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα των αντίστοιχων δειγματοληψιών έτους 2006. Τα υπολείμματα δραστικών ουσιών στα δείγματα που συλλέχθηκαν από τα ΔΔΚ κυμάνθηκαν κάτω από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια. Επιπλέον, καταγράφηκε μείωση των συγκεντρώσεων των υπολειμματικών ουσιών από 80% έως 98%, σε σύγκριση με τα αποτελέσματα του έτους 2006. Στις αναλύσεις έτους 2007 παρατηρήθηκε σημαντική μείωση από 26% (cypermethrin) έως 85% (chlorothalonil) στα δείγματα των καταρτιζόμενων καπνοπαραγωγών σε σχέση με το μέσο όρο των αποτελεσμάτων που αφορούσαν συνολικά το Ν. Ροδόπης.

Έβδομη Συνεδρία

Αλληλεπίδραση ξενιστή - παθογόνου

Ανακοινώσεις

Υψηλού βαθμού προστασία του καπνού έναντι του *Cucumber mosaic virus* (CMV) μετά από εξωγενή εφαρμογή dsRNA προερχόμενου από το γονίδιο του καταστολέα της σιώπησης 2b.

Χολέβα Μ.Κ., Α.Π. Σκλαβούνος, Π.Η. Κυριακοπούλου
και Α.Ε. Βολουδάκης 71

Διερεύνηση της επαγωγής των μηχανισμών άμυνας των φυτών εναντίον του μύκητα *Verticillium dahliae*.

Τζάμος Σ.Ε., Π.Π. Αντωνίου και Ε.Ι. Παπλωματάς 72

Μεταβολές στην δυνατότητα αντίληψης του αιθυλενίου οδηγούν σε διαφοροποίηση της αντίδρασης φυτών *Arabidopsis* στην προσβολή από το μύκητα *Verticillium dahliae*.

Παντελίδης Ι.Σ., Σ.Ε. Τζάμος και Ε.Ι. Παπλωματάς 73

Ποσοτικός προσδιορισμός της αποφυλλωτικής και μη αποφυλλωτικής φυλής του μύκητα *Verticillium dahliae* σε ευπαθείς και ανεκτικές ποικιλίες ελιάς.

Μαρκάκης Ε.Α., Σ.Ε. Τζάμος, Π.Π. Αντωνίου,
Ε.Ι. Παπλωματάς και Ε.Κ. Τζάμος 74

Μοριακή και φυτοπαθολογική διερεύνηση γονιδίων παθογένειας στο μύκητα *Verticillium dahliae*.

Τζίμα Α., Ε.Ι. Παπλωματάς και S. Kang 75

Εφαρμογή προτεωμικών τεχνολογιών στην ανακάλυψη των μοριακών μηχανισμών του εγγενούς ανοσοποιητικού συστήματος των φυτών.

Τσιτσιγιάννης Δ.Ι., Α.Μ. Jones και J.D.G. Jones 76

Υψηλού βαθμού προστασία του καπνού έναντι του *Cucumber mosaic virus* (CMV) μετά από εξωγενή εφαρμογή dsRNA προερχόμενου από το γονίδιο του καταστολέα της σιώπησης 2b

**Μ.Κ. Χολέβα¹, Α.Π. Σκλαβούνος², Π.Η. Κυριακοπούλου³
και Α.Ε. Βολουδάκης⁴**

¹Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας,

Εργαστήριο Βακτηριολογίας, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά

²Οργανισμός Ελληνικών Γεωργικών Ασφαλίσεων (ΕΛ.Γ.Α.), Αυστραλίας 88, Πάτρα

³τ. Καθηγήτρια Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής

Παραγωγής, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 118 55

⁴Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,

Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 118 55

Η καταπολέμηση του ιού του μωσαϊκού της αγγουριάς (*Cucumber mosaic virus*, CMV) είναι σημαντική για τη χώρα μας λόγω των σοβαρών ζημιών που αυτός προκαλεί σε πολλές καλλιέργειες. Δεδομένου ότι οι φυσικές πηγές γενετικής ανθεκτικότητας έναντι του CMV είναι περιορισμένες, η έρευνα έχει επικεντρωθεί στην ανθεκτικότητα που προέρχεται από τον ίδιο τον ιό. Η δημιουργία διαγονιδιακών φυτών που εκφράζουν γονίδια του ιού και η εφαρμογή 'ήπιων στελεχών' CMV για την ανάπτυξη διασταυρωτής προστασίας, αν και έχουν δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα, δεν επιτρέπεται μέχρι στιγμής να χρησιμοποιηθούν στην πράξη στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Με βάση προηγούμενη μελέτη μας, όπου είχε διαπιστωθεί επαγωγή ανθεκτικότητας του καπνού έναντι του CMV με εξωγενή εφαρμογή dsRNA του γονιδίου της καψιδιακής πρωτεΐνης του ιού (dsRNA-CP), στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η ύπαρξη αντίστοιχης δράσης του dsRNA του γονιδίου του καταστολέα της σιώπησης 2b (dsRNA-2b). Η αποτελεσματικότητα του dsRNA-2b ελέγχθηκε με μηχανικές μολύνσεις καπνού, εφαρμόζοντας μίγμα του ισχυρώς παθογόνου στελέχους CMV-G και dsRNA-2b παραγόμενου *in vitro* ή *in vivo* σε βακτηριακά κύτταρα. Στο 35 έως 55% των φυτών που δέχτηκαν επέμβαση με *in vitro* παραχθέν dsRNA-2b και στο 75% εκείνων που δέχτηκαν επέμβαση με *in vivo* παραχθέν dsRNA-2b δεν παρατηρήθηκαν ορατά συμπτώματα προσβολής. Επίσης, ταυτόχρονη εξωγενής εφαρμογή *in vivo* dsRNA-2b και *in vivo* dsRNA-CP προστάτευσε το 85% των φυτών έναντι του ιού. Η μέθοδος είναι συμβατή με σύγχρονα μέσα μαζικού χειρισμού φυτών.

**Διερεύνηση της επαγωγής των μηχανισμών άμυνας των φυτών
εναντίον του μύκητα *V. dahliae***

Σ.Ε. Τζάμος, Π.Π. Αντωνίου και Ε.Ι. Παπλωματάς

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Η αντιμετώπιση του μύκητα *V. dahliae* με τη χρήση ριζοσφαιρικών βακτηρίων συνιστά μια δυναμική και περιβαλλοντικά φιλική προσέγγιση στην προσπάθεια καταπολέμησης ενός σημαντικού παθογόνου των φυτών. Το στέλεχος *Paenibacillus alvei* K165 είναι γνωστό από προηγούμενες εργασίες ότι δρα κατασταλτικά εναντίον του μύκητα επάγοντας τους μηχανισμούς άμυνας των φυτών. Προκειμένου να μελετήσουμε εκτενέστερα το φαινόμενο αυτό μετασχηματίσαμε με το γονίδιο *dsRed* ένα στέλεχος του μύκητα *V. dahliae* ώστε να παρακολουθήσουμε την αλληλεπίδραση του μεταλλαγμένου στελέχους με φυτά *Arabidopsis thaliana* άγριου τύπου, διαγονιδιακά *NahG* (μετατρέπεται το σαλικυλικό οξύ σε κατεχόλη), *sid2* (δεν κωδικοποιείται η ισοχορισματική συνθετάση) και *eds5/sid1* (δεν κωδικοποιείται μεμβρανική πρωτεΐνη που συμμετέχει στη σύνθεση σαλικυλικού οξέος από το χορισμικό οξύ) στα οποία είχε προηγηθεί εφαρμογή του στελέχους K165. Διαπιστώσαμε ότι το στέλεχος K165 περιορίζει την εξάπλωση του μύκητα στα φυτά του άγριου τύπου και τα διαγονιδιακά *NahG*, ενώ αποτύγχανε στα φυτά *sid2* και *eds5/sid1*. Επίσης μελετήσαμε την έκφραση των γονιδίων *PR1*, -2 και -5 στα προαναφερθέντα φυτά *A. thaliana* όπου διαπιστώθηκε ότι το στέλεχος K165 επάγει την έκφραση αυτών των γονιδίων στα φυτά του άγριου τύπου και τα διαγονιδιακά *NahG* ενώ αποτυγχάνει στα *eds5/sid1*. Συνεπώς, είναι δυνατόν η κατασταλτική δράση του *P. alvei* K165 εναντίον του μύκητα *V. dahliae* να αποδοθεί σε μεγάλο ποσοστό στην επαγωγή της έκφρασης των γονιδίων *PR1*, -2 και -5 μέσω ενός μηχανισμού εξαρτώμενου από τη σύνθεση σαλικυλικού οξέος από το χορισμικό οξύ.

**Μεταβολές στην δυνατότητα αντίληψης του αιθυλενίου οδηγούν
σε διαφοροποίηση της αντίδρασης φυτών *Arabidopsis*
στην προσβολή από το μύκητα *Verticillium dahliae***

Ι.Σ. Παντελίδης, Σ.Ε. Τζάμος και Ε.Ι. Παπλωματάς

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Προηγούμενα πειραματικά δεδομένα παθογένειας του μύκητα *Verticillium dahliae* σε μια σειρά μεταλλαγμένων φυτών *Arabidopsis*, έδειξαν ότι τα *etr1-1* (με αδυναμία αντίληψης του αιθυλενίου) παρουσίασαν το μικρότερο ποσοστό ασθένειας σε σχέση με τα υπόλοιπα μεταλλαγμένα φυτά και το μάρτυρα. Για την διερεύνηση του πιθανού ρόλου του αιθυλενίου στους μηχανισμούς άμυνας των φυτών, επιλέχθηκαν σειρές *Arabidopsis* μεταλλαγμένες στο μονοπάτι του αιθυλενίου (*ein2*, *ein3*, *ein4* και *ein5*) που μαζί με τα *etr1-1* χρησιμοποιήθηκαν σε πειράματα παθογένειας με τον μύκητα *V. dahliae*. Διαπιστώθηκε ότι τα *etr1-1* φυτά παρουσίασαν το μικρότερο ποσοστό ασθένειας. Με τη χρήση Real-time PCR (RT-PCR) διαπιστώθηκε ότι και η βιομάζα του παθογόνου στα *etr1-1* ήταν σημαντικά μικρότερη από εκείνη όλων των άλλων σειρών. Για να διερευνηθούν οι μηχανισμοί άμυνας που εμπλέκονται στο παραπάνω φαινόμενο, μελετήθηκε η έκφραση των γονιδίων *PR1*, *PR2*, *PR5*, *PDF1.2*, *WRKY 18*, *22*, *33*, *40*, *53* και *60*, *ERF1*, *ERF2*, *AtMYC2*, *rd22*, *VSP2*, *ABII*, *KIN1*, *SDR1*, *GSL5*, *GSTF8* και *UGT73B1* που έχουν συσχετιστεί με ανάλογες αντιδράσεις φυτών σε παθογόνα με RT-PCR. Διαπιστώθηκε η επαγωγή της έκφρασης των γονιδίων *GSTF8*, *SDR1* και *KIN1* σε μεγαλύτερο βαθμό στα *etr1-1* φυτά, γεγονός που καταδεικνύει το ρόλο τους στην άμυνα των φυτών κατά του μύκητα *V. dahliae*.

**Ποσοτικός προσδιορισμός της αποφυλλωτικής και
μη αποφυλλωτικής φυλής του μύκητα *Verticillium dahliae*
σε ευπαθείς και ανεκτικές ποικιλίες ελιάς**

Ε.Α. Μαρκάκης, Σ.Ε. Τζάμος, Π.Π. Αντωνίου, Ε.Ι. Παπλωματάς
και Ε.Κ. Τζάμος

*Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα*

Η βερτισιλλίωση εντάσσεται στις σημαντικότερες ασθένειες της ελιάς, για τις χώρες της Μεσογείου. Δυσανάλογα όμως μικρός σε σχέση με τη σημασία της ασθένειας είναι ο αριθμός των ερευνητικών δεδομένων που αφορούν τον αποικισμό και εξάπλωση του μύκητα στο ριζικό σύστημα και τα αγγεία του ξύλου των ευπαθών και ανεκτικών ποικιλιών ελιάς. Στην παρούσα μελέτη, προσδιορίστηκε η βιομάζα μίας αποφυλλωτικής και μίας μη αποφυλλωτικής απομόνωσης του μύκητα *Verticillium dahliae* σε ευπαθείς (Αμφίσσης) και ανεκτικές (Καλαμών και Κορωνέικη) ποικιλίες ελιάς με την χρήση της RT-PCR. Συγχρόνως εφαρμόστηκε και η κλασσική μέθοδος των απομονώσεων προκειμένου να διασταυρωθούν τα αποτελέσματα, καθώς και για να διασφαλιστεί η βιωσιμότητα του παθογόνου στα αγγεία του ξύλου, ενώ η παρατήρηση των συμπτωμάτων απέδειξε το συσχετισμό της ποσότητας του μύκητα στα αγγεία και της ευπάθειας της ποικιλίας. Παρατηρήθηκε ότι η ποσότητα και των δύο φυλών του παθογόνου στην ποικιλία Αμφίσσης ήταν μεγαλύτερη απ' ότι στις ανεκτικές ποικιλίες Καλαμών και Κορωνέικη και ότι στην ευπαθή ποικιλία Αμφίσσης η βιομάζα της αποφυλλωτικής φυλής ήταν υψηλότερη απ' ότι της μη αποφυλλωτικής. Τέλος διαπιστώθηκε ότι η ποσότητα του παθογόνου στους ιστούς των ριζών ήταν μικρότερη απ' ότι στα στελέχη και τους κλαδίσκους, ενώ η βιομάζα του έφθινε από τα αγγεία όλων των ποικιλιών με την πάροδο του χρόνου.

**Μοριακή και φυτοπαθολογική διερεύνηση γονιδίων παθογένειας
στο μύκητα *Verticillium dahliae***

Α. Τζίμα¹, Ε.Ι. Παπλωματάς¹ και S. Kang²

¹ Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

² The Pennsylvania State University, Department of Plant Pathology,
University Park, PA 16802, U.S.A.

Μελέτες σε διάφορους φυτοπαθογόνους μύκητες έχουν δείξει ότι τα γονίδια της β υπομονάδας της πρωτεΐνης G (*Gb*) και της πρωτεϊνικής κινάσης A (*PKA*) εμπλέκονται στη μετάδοση σήματος, ενώ το γονίδιο της πρωτεϊνικής κινάσης μη καταβολισμού της σακχαρόζης (*SNF*) σχετίζεται την ενεργοποίηση ενζύμων υπεύθυνων για την αποδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος του ξενιστή. Προκειμένου να διερευνηθεί ο ρόλος τους στον μύκητα *Verticillium dahliae*, τα παραπάνω γονίδια, ενισχύθηκαν με PCR και απενεργοποιήθηκαν μέσω γονιδιακής αντικατάστασης σε απομόνωση *V. dahliae* από τομάτα (φυλή 1). Σε δοκιμές παθογένειας που πραγματοποιήθηκαν, τα μεταλλαγμένα ΔPKA στελέχη προκάλεσαν τυπικά συμπτώματα σε φυτά τομάτας και μελιτζάνας, ωστόσο στατιστικά μειωμένο ποσοστό ασθένειας σε σχέση με το άγριο στέλεχος. Φυτά μελιτζάνας που μολύνθηκαν με τα στελέχη ΔSF και ΔGb άρχισαν να εμφανίζουν συμπτώματα στα φύλλα περίπου ένα μήνα μετά τη μόλυνση και όταν τα αντίστοιχα φυτά που μολύνθηκαν με το άγριο στέλεχος είχαν υψηλό ποσοστό ασθένειας. Επιπλέον, τα φυτά που μολύνθηκαν με τα μεταλλαγμένα αυτά στελέχη εμφάνισαν ήπια συμπτώματα χλώρωσης και ουδέποτε νέκρωσης του φύλλου. Όσον αφορά στα φυσιολογικά χαρακτηριστικά, τα ΔPKA και ΔGb στελέχη παρουσίασαν μικρή διαφορά ως προς την μυκηλιακή αύξηση σε σχέση με το άγριο στέλεχος, ενώ αυξημένη βλαστικότητα κονιδίων παρατηρήθηκε μόνο στα ΔGb στελέχη. Τα παραπάνω αποτελέσματα συμβάλλουν σημαντικά στην κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που σχετίζονται με την παθογένεια του μύκητα *Verticillium dahliae*.

**Εφαρμογή πρωτεωμικών τεχνολογιών στην ανακάλυψη των
μοριακών μηχανισμών του εγγενούς ανοσοποιητικού
συστήματος των φυτών**

Δ.Ι. Τσιτσιγιάννης^{1,2}, A.M. Jones² και J.D.G. Jones²

¹Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

²The Sainsbury Laboratory, John Innes Centre, Norwich NR4 7UH, United Kingdom

Σκοπός της μελέτης είναι η βιοχημική διερεύνηση των πρωτεϊνών-στόχων και πρωτεϊνικών συμπλόκων που υπεισέρχονται στους μηχανισμούς άμυνας των φυτών μετά από την αναγνώριση των πρωτεϊνών αμολυσματικότητας (Avirulence proteins) των παθογόνων από τους φυτικούς υποδοχείς-πρωτεΐνες ανθεκτικότητας (Resistance proteins). Προηγούμενες μελέτες οδήγησαν στον εντοπισμό 2 E3 λιγασών, της F-box πρωτεΐνης ACF1 και της U-box πρωτεΐνης CMPG1, που απαιτούνται για την ενεργοποίηση του αμυντικού μηχανισμού του φυτού από διάφορους τελεστές (effectors) ή διεγέρτες (elicitors) παθογόνων (Avr9, Avr4, AvrPto, Inf1, P50 ελικάση του Tobacco Mosaic Virus). Οι E3 λιγάσες εμπλέκονται στην αποικοδόμηση των πρωτεϊνών των ευκαρυωτικών κυττάρων μέσω των μηχανισμών του 26S πρωτεοσώματος, το οποίο αποτελεί το βασικό πολυενζυμικό σύμπλοκο που ευθύνεται για την απομάκρυνση πρωτεϊνών του κυττάρου. Ο ρόλος των E3 λιγασών σε αυτό το σύμπλοκο είναι η αναγνώριση και καταστροφή των πρωτεϊνών-στόχων που δρουν είτε ως ενεργοποιητές είτε ως καταστολείς μονοπατιών μεταγωγής σημάτων στα κύτταρα. Συνεπώς η ανακάλυψη αυτών των πρωτεϊνών-στόχων της ACF1 και της CMPG1 μπορεί να οδηγήσει στην περαιτέρω διαλεύκανση βασικών μονοπατιών που ακολουθούνται μετά την αναγνώριση μικροβιακών μορίων που εκκρίνονται από τα παθογόνα φυτών. Ύστατος σκοπός είναι η ανακάλυψη νέων μορίων που θα μπορούσαν να συμβάλλουν σε νέες και αποτελεσματικές μεθόδους αντιμετώπισης των ασθeneιών των φυτών. Θα γίνει παρουσίαση σύγχρονων βιοχημικών και πρωτεωμικών τεχνολογιών (epitope tagging, affinity purification, co-immunoprecipitation, LTQ-Mass Spectrometry και HMS-IPC: High-throughput mass spectrometric identification of protein complexes) που εφαρμόστηκαν με σκοπό την ανίχνευση των πρωτεϊνών που άμεσα αλληλεπιδρούν με τις προαναφερθέντες E3 λιγάσες.

Όγδοη Συνεδρία

Ιολογικές ασθένειες Ι

Εισήγηση

Emerging virus diseases of vegetable and ornamental crops in Mediterranean countries

(Αναδυόμενες ιολογικές ασθένειες λαχανικών και καλλωπιστικών φυτών στις Μεσογειακές χώρες)

Βόβλας Χ.

79

Ανακοινώσεις

Σύγκριση μεθόδων διάγνωσης ιοειδών εσπεριδοειδών *in vitro*.

Καπαρή-Ησαΐα Θ., Α. Κυριακού, Α. Παπαγιάννης, Δ. Τσάλτας, Σ. Σαμουήλ, Ε. Κουτσιουμάρη και Α. Βολουδάκης

81

Μετάδοση του ιού του μωσαϊκού του περίνο (*Pepino mosaic virus*, PepMV) με το σπόρο τομάτας

Βαρβέρη Χ., S.L. Nielsen, D.R. Blystad, I. Hanssen, D. Hristova, A.M. Nazaré Pereira, H. Pospieszny, M. Ravnika, L. Tomasolli, R. Mumford και R. van der Vlugt

82

Επιδημιολογία και χαρακτηρισμός των ιών του γένους *Begomovirus* και των βιοτύπων του αλευρώδη *Bemisia tabaci* σε Ελλάδα και Κύπρο.

Παπαγιάννης Α.Χ., J.K. Brown, A.M. Idris, Α. Παρασκευόπουλος και Ν.Ι. Κατής

83

Μοριακές μελέτες σε ιούς του γένους *Crinivirus*.

Kataya A., Κ. Καλαντίδης και Ι. Λιβιεράτος

84

Αναδυόμενες ιολογικές ασθένειες λαχανικών και καλλωπιστικών φυτών στις Μεσογειακές χώρες

X. Βόβλας

*Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata,
Università degli Studi, Via Amendola, 165/A, 70126 Bari, Italy*

Αυτή η σύντομη ανασκόπηση εξετάζει μερικές από τις νέες «αναδυόμενες» και οικονομικά σημαντικές ιολογικές ασθένειες λαχανικών και καλλωπιστικών φυτών στις Μεσογειακές χώρες. Ιοί, όπως ο *Tomato yellow leaf curl sardinia virus* (TYLCSV) και *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), του γένους *Begomovirus*, αναφέρθηκαν να προκαλούν σοβαρές μολύνσεις και σημαντικές απώλειες στη τομάτα και άλλα λαχανικά κυρίως σε καλλιέργειες θερμοκηπίου (Απουλία, Σαρδηνία και Σικελία 2001-2003). Παρόμοιες μολύνσεις παρατηρήθηκαν τα τελευταία έτη στην Ισπανία και την Ελλάδα (2001-2006), με σοβαρές και ιδιαίτερα καταστρεπτικές μολύνσεις σε διάφορες περιοχές και των δύο χωρών. Οι ιοί TYLCSV και TYLCV, μεταδίδονται στη φύση με τον αλευρώδη *Bemisia tabaci* (βιότοπος Α και Β) κατά έμμονο τρόπο. Δύο επιπλέον ιοί, ο *Tomato chlorosis virus* (ToCV) και *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV), του γένους *Crinivirus* είχαν σοβαρές επιπτώσεις σε καλλιέργειες τομάτας στην Ιταλία, ειδικά στις νότιες περιοχές. Ιδιαίτερα απειλητικές επιδημίες πραγματοποιήθηκαν στην Πορτογαλία, Ελλάδα και Ισπανία από το 2001, προκαλώντας απώλειες υψηλότερες από 30% στη συγκομιδή των καρπών. Επίσης, μολύνσεις σε μαρούλι και escarole (είδος αντιδιού) με τον *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV), παρατηρήθηκαν πρόσφατα στη νότια Ιταλία. Ο ToCV μεταδίδεται στη φύση με τους αλευρώδεις *Bemisia tabaci*, *Trialeurodes abutilonea* και *T. vaporariorum*, και ο TICV με *T. vaporariorum* με ημι-έμμονο τρόπο και στις 2 περιπτώσεις. Μολύνσεις κολοκυνθοειδών από δύο επιπλέον Criniviruses, τον *Cucumber yellow stunting disorder virus* (CYSDV) και *Beet pseudo-yellow virus* (BPYV) αναφέρθηκαν από διαφορετικές ελληνικές επαρχίες. Και οι δύο ιοί μεταδίδονται από το *T. vaporariorum* και το *B. tabaci* με ημι-έμμονο τρόπο. Οι Tospoviruses (TSWV και INSV) είναι ενδημικά παθογόνα σε πολλές χώρες ενός μεγάλου αριθμού λαχανικών, καλλωπιστικών και άλλων αυτοφυών φυτών, και μεταδίδονται στη φύση με θρίπες (*Frankliniella occidentalis* και *Thrips tabaci*). Και οι δύο tospoviruses, μαζί με τους TYLCSV και TYLCV, εμφανίζονται συχνά σε επιδημική μορφή και αντιπροσωπεύουν τα πιο καταστρεπτικά παθογόνα της τομάτας, πιπεριάς, μελιτζάνας, μαρουλιού, ραδικιού και καλλωπιστικών όπως *Ζέρμπερα*, *Lisianthus* sp., *Anemone* sp., *Ranunculus* sp. σε υπαίθριες ή υπό πλαστική κάλυψη καλλιέργειες.

14^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο

Τα τελευταία δύο χρόνια κάποιοι ιοί βρέθηκαν να μολύνουν νέους ξενιστές (κάποια αυτοφυή φυτά) σε διάφορες χώρες. Ένα *flexiviridae* απομονώθηκε και μελετήθηκε από το *Phlomis fruticosa* στην Ελλάδα. Ο *Olive latent virus* (OLV-2) απομονώθηκε από ρετινολαδιά (*Ricinus communis*) στην Ελλάδα και τη νότια Ιταλία. Ένας rhabdovirus (EBDV) που προκαλούσε κιτρινίσματα νεύρων στο φυτό *Hibiscus rosa-sinensis* μελετήθηκε στη νότια Ιταλία. Επίσης, ένας tombusvirus που είχε την ικανότητα να μολύνει διάφορες ποικιλίες του καλλωπιστικού φυτού *Limonium* sp. μελετήθηκε πρόσφατα.

Σύγκριση μεθόδων διάγνωσης ιοειδών εσπεριδοειδών *in vitro*

Θ. Καπαρή-Ησαΐα¹, Α. Κυριακού¹, Λ. Παπαγιάννης¹, Δ. Τσάλτας¹,
Σ. Σαμουήλ¹, Ε. Κουτσιουμάρη² και Α. Βολουδάκης²

¹Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών, Τ.Κ. 22016, 1516, Λευκωσία, Κύπρος

²Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού,
Ιερά Οδός 75, Αθήνα 11855

Η διάγνωση του εξωκόρη και συναφών ιοειδών γίνεται με βιολογικό τρόπο με χρήση του φυτοδείκτη της κιτριάς, Etrog citron (*Citrus medica*), Arizona 861-1S στο θερμοκήπιο. Η μέθοδος αυτή είναι χρονοβόρα, αφού απαιτείται περίοδος 3-12 μηνών για διάγνωση της ασθένειας. Στην παρούσα μελέτη αναπτύχθηκε μια νέα μέθοδος για επιτάχυνση της ανίχνευσης των ιοειδών στα εσπεριδοειδή. Η μέθοδος αυτή αποτελεί συνδυασμό της βιολογικής διαγνωστικής μεθόδου χρήσης του φυτοδείκτη της κιτριάς και της μεθόδου του μικροεμβολιασμού σε σωλήνα. Δοκιμάστηκαν 3 μέθοδοι για ανίχνευση των ιοειδών *in vitro*. Η πρώτη μέθοδος αφορούσε την μόλυνση σποροφύτων κιτριάς που αναπτύχθηκαν *in vitro* με μικροεμβολιασμό φλοιού. Σπορόφυτα Etrog citron που αναπτύχθηκαν *in vitro*, μολύνθηκαν με το ιοειδές του εξωκόρη και συναφή ιοειδή, με μικροεμβολιασμό φλοιού. Σε διάστημα 7-12 ημερών και θερμοκρασία 22°C τα εμβολιασθέντα σπορόφυτα κιτριάς παρουσίασαν συμπτώματα που περιλάμβαναν επιναστεία, καρούλιασμα των φύλλων, νέκρωση του μίσχου, μικροφυλλία και νανισμό. Η δεύτερη μέθοδος αφορούσε μικροεμβολιασμό μικρομοσχευμάτων κιτριάς και φύτευση τους *in vitro*. Τα μικρομοσχεύματα παρουσίασαν συμπτώματα σε διάστημα 20-30 ημερών. Η τρίτη μέθοδος περιλάμβανε έγχυση εκχυλίσματος σε μοσχεύματα κιτριάς και φύτευση τους *in vitro*. Τα μικρομοσχεύματα παρουσίασαν συμπτώματα σε διάστημα 40 ημερών. Η ύπαρξη ιοειδών στα σπορόφυτα επιβεβαιώθηκε αργότερα με την μέθοδο της αντίστροφης μεταγραφής και αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (RT-PCR). Οι νέες *in vitro* μέθοδοι μπορούν να αντικαταστήσουν την κλασσική μέθοδο του θερμοκηπίου σε συνδυασμό με την μοριακή μέθοδο RT-PCR. Από τις τρεις νέες μεθόδους πιο εύχρηστη είναι η μέθοδος του μικροεμβολιασμού μοσχευμάτων κιτριάς και φύτευση τους *in vitro*.

**Μετάδοση του ιού του μωσαϊκού του pepino
(*Pepino mosaic virus*, PepMV) με το σπόρο τομάτας**

X. Βαρβέρη¹, S.L. Nielsen², D.R. Blystad³, I. Hanssen⁴, D. Hristova⁵,
A.M. Nazaré Pereira⁶, H. Pospieszny⁷, M. Ravnika⁸, L. Tomasolli⁹,
R. Mumford¹⁰ και R. van der Vlugt¹¹

¹Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Εργαστήριο Ιολογίας, Στ Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά

²University of Aarhus, Faculty of Agricultural Sciences, Forsøgsvej 1, DK-4200, Slagelse, Denmark

³Bioforsk, Norwegian Inst. For Agricultural and Environmental Research, Aas, Norway

⁴Scientia Terrae Research Institute Fortsesteenweg 30a, 2860 Sint-Katelijne-Waver, Belgium

⁵Plant Protection Institute, 2230 Kostinbrod, Bulgaria

⁶Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), 5000-801 Vila Real, Portugal

⁷Institute for Plant Protection (IOR) W. Wegorka 20, 60-318, Poznan, Poland

⁸National Institute of Biology, Vecna pot 111, SI-1001 Ljubljana, Slovenia

⁹Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale, Via Carlo Giuseppe Bertero 22, 00156 Roma, Italy, ¹⁰Central Science Laboratory, Sand Hutton, York, YO41 1LZ, United Kingdom

¹¹Plant Research International, P.O. Box 16, NL-6700 AA Wageningen, The Netherlands

Ο ιός του μωσαϊκού του pepino (*Pepino mosaic virus*, PepMV, γένος *Potexvirus*), που συγκαταλέγεται στο κατάλογο «επιφυλακής» του EPPO και αποτελεί παθογόνο καραντίνας στη χώρα μας, είναι ένας από τους σοβαρότερους νέους επικίνδυνους ιούς για την καλλιέργεια της τομάτας. Στα πλαίσια ευρωπαϊκού προγράμματος (PEPEIRA, STREP FP6) με στόχο την εκτίμηση της επικινδυνότητας του PepMV, έγινε μελέτη της δυνατότητας μετάδοσής του με το σπόρο, καθώς τα υπάρχοντα μέχρι στιγμής δεδομένα ήταν αμφιλεγόμενα και ελλιπή. Πάνω από 100.000 σπόροι συλλέχθηκαν από ασθενή φυτά τομάτας που είχαν μολυνθεί τεχνητά με μίγμα των δυο συνήθων απομονώσεων του ιού στις εγκαταστάσεις του Βέλγου εταίρου και αφού προηγήθηκε κατεργασία τους σύμφωνα με τις διεθνείς πρακτικές των εμπορικών οίκων, μοιράστηκαν μεταξύ των 10 εργαστηρίων που συμμετείχαν στη μελέτη. Έγινε ανάπτυξη των σπορόφυτων ανά 10δες, διότι ο ιός μεταδίδεται μηχανικά με την επαφή των φυτών, και 5 εβδομάδες μετά το φύτεμά τους ακολούθησε εξέταση κάθε δεκάδας σποροφύτων σαν σύνθετο δείγμα με τη μέθοδο ELISA. Σε σύνολο 8.778 συνθέτων δειγμάτων, 23 (0,026%) έδωσαν θετικά αποτελέσματα, επιβεβαιώνοντας το ότι ο ιός μπορεί πράγματι να μεταδοθεί με το σπόρο, αν και σε μικρό ποσοστό. Παρατηρήθηκε διαφορά στα αποτελέσματα των εξετάσεων ανάλογα με την εποχή συγκομιδής των σπόρων και το διάστημα που μεσολάβησε από τη μόλυνση του μητρικού φυτού με τον ιό. Σπόροι που συλλέχθηκαν 8 εβδομάδες μετά τη μόλυνση έδωσαν ποσοστό μετάδοσης με το σπόρο ύψους 0,005%, ενώ σπόροι που συλλέχθηκαν 15 εβδομάδες μετά τη μόλυνση έδωσαν ποσοστό 0,057%. Το καταληκτικό συμπέρασμα της δυνατότητας μετάδοσης του PepMV με το σπόρο τομάτας σε μικρό ποσοστό θα συμπεριληφθεί στο τελικό κείμενο της Ανάλυσης Επικινδυνότητας (PRA) που αποτελεί παραδοτέο του προγράμματος PEPEIRA.

Επιδημιολογία και χαρακτηρισμός των ιών του γένους *Begomovirus* και των βιότυπων του αλευρώδη *Bemisia tabaci* σε Ελλάδα και Κύπρο

Λ.Χ. Παπαγιάννης¹, J.K. Brown², A.M. Idris², Α. Παρασκευόπουλος³
και Ν.Ι. Κατής⁴

¹Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών Κύπρου, Τ.Θ. 22016, Λευκωσία 1516, Κύπρος

²Department of Plant Sciences, University of Arizona, Tucson, AZ 85721, USA

³Νομαρχιακή αυτοδιοίκηση Μεσσηνίας, Τμήμα Φυτοπροστασίας, 24500 Κυπαρισσία

⁴Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή, Εργαστήριο
Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269, 54 124 Θεσσαλονίκη

Στα πλαίσια ενός διακρατικού προγράμματος συνεργασίας μεταξύ Ελλάδας και Κύπρου, μελετήθηκε κατά τα έτη 2006-2008 η επιδημιολογία και χαρακτηρίστηκαν μοριακά οι ιοί που σχετίζονται με την ασθένεια του κίτρινου καρουλιάσματος των φύλλων της τομάτας (TYLCD) και οι βιότυποι του αλευρώδη-φορέα *Bemisia tabaci* Gen. (Hemiptera: Aleyrodidae) στις δύο χώρες. Για τη διερεύνηση της γεωγραφικής διάδοσης των ιών που σχετίζονται με την ασθένεια και των βιότυπων του φορέα, πραγματοποιήθηκαν εκτεταμένες δειγματοληψίες φυτών και αλευρωδών. Συνολικά συλλέχθηκαν 5000 δείγματα από καλλιέργειες τομάτας, φασολιάς, πιπεριάς καθώς και αυτοφυών ειδών καθώς και 1000 άτομα του *B. tabaci*, από 9 νομούς της Ελλάδας και 5 επαρχίες της Κύπρου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο TYLCV είναι ευρέως διαδεδομένος σε καλλιέργειες τομάτας στην ηπειρωτική Ελλάδα, Κρήτη, Ρόδο και Κύπρο, καθώς και σε αρκετά αυτοφυή είδη. Ο TYLCSV εντοπίστηκε σε περιορισμένη έκταση σε φυτά τομάτας στην Κρήτη και στην Πελοπόννησο. Ο TYLCV εντοπίστηκε για πρώτη φορά σε καλλιέργειες φασολιάς στην Πελοπόννησο και την Κύπρο. Η μοριακή ταυτοποίηση των ατόμων του *B. tabaci* που συλλέχθηκαν έδειξε ότι στην Ελλάδα εντοπίζεται αποκλειστικά ο βιότυπος Q, με εξαίρεση τη Ρόδο στην οποία ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά ο βιότυπος B. Τα αποτελέσματα των Κυπριακών πληθυσμών έδειξαν ότι στη μεγαλόνησο εντοπίζονται τόσο ο B όσο και ο Q βιότυπος, με τον πρώτο να εμφανίζεται σε μεγαλύτερη συχνότητα.

Μοριακές μελέτες σε ιούς του γένους *Crinivirus*

A. Kataya¹, K. Καλαντίδης² και I. Λιβιεράτος¹

¹Μεσογειακό Αγρονομικό Ινστιτούτο Χανίων, Αλσύλιο Αγροκήπιο, Χανιά

²Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας & Βιοτεχνολογίας, Ηράκλειο Κρήτης

Καθορίστηκε η αλληλουχία των νουκλεοτιδίων των δυο γενωματικών τμημάτων μιας Ελληνικής απομόνωσης (Gr-535) του ιού της χλώρωσης της τομάτας (*Tomato chlorosis virus*, ToCV). Φυλογενετική ανάλυση έδειξε ότι η ToCV απομόνωση GR-535 τοποθετείται πλησιέστερα στην Αμερικάνικη όσο αφορά την ομολογία γονιδίων και πρωτεϊνών, ενώ πλησιέστερα με την Ισπανική όσο αφορά τα 5'- και 3'-τελικά άκρα του γονιδιώματος. Πρόβλεψη πιθανών δευτεροταγών δομών στο 3' τελικό άκρο του ToCV RNA 1, έδειξε την παρουσία τεσσάρων δομών τύπου φουρκέτας και μιας δομής τύπου pseudo-knot καθ' αναλογία με άλλους ιούς του ίδιου γένους. Δεδομένης της απουσίας διαθέσιμου εξειδικευμένου αντιορού, διαγνωστικές δοκιμές υβριδισμού (dot-blot) με τη χρήση μη ραδιενεργών υποστρωμάτων όπως και της αντίστροφης μεταγραφάσης αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (RT-PCR) έδειξαν ότι ο ιός μπορεί εύκολα να ανιχνευθεί σε 20ng ολικού RNA όπως επίσης και σε φυτικό εκχύλισμα. Διαγονιδιακά με το γονίδιο GFP φυτά καπνού (*Nicotiana benthamiana*) μολύνθηκαν με την βοήθεια βακτηρίου *A. tumefaciens* ώστε να εκφράσουν τοπικά την GFP πρωτεΐνη μόνη της ή σε συνδυασμό με την ToCV p22, την p22 του ιού του κίτρινου παραμορφωτικού νανισμού των κολοκυνθοειδών (CYSDV p22) ή την CYSDV p25. Τα πειράματα αυτά κατέδειξαν ότι οι πρωτεΐνες ToCV p22 και CYSDV p25 αποτελούν καταστολείς του φαινομένου της σίγησης του RNA.

Ένατη Συνεδρία

Ιολογικές ασθένειες II

Ανακοινώσεις

Μελέτη της σταθερότητας της ανθεκτικότητας διαγονιδιακών φυτών καπνού έναντι του ιού του κροταλίσματος του καπνού.

Βασιλάκος Ν., Μ. Παπαχριστοπούλου
και Α. Παπακωνσταντίνου

87

Η παρουσία του ιοειδούς του λανθάνοντος μωσαϊκού της ροδακινιάς (*Peach latent mosaic viroid, PLMVd*) στην Ελλάδα.

Μπουμπουράκας Η.Ν., F. Faggioli, S. Fucuta, M. Barba
και Π.Η. Κυριακοπούλου

88

Ανίχνευση του ιοειδούς του λανθάνοντος μωσαϊκού της ροδακινιάς, (*Peach latent mosaic viroid, PLMVd*), με την υψηλής ευαισθησίας και ταχύτητας διαγνωστική μέθοδο της αντίστροφης μεταγραφής ισοθερμικής ενίσχυσης με τη μεσολάβηση θηλιάς, (Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification, RT-LAMP).

Μπουμπουράκας Η.Ν., S. Fucuta και Π.Η. Κυριακοπούλου

89

Επισκόπηση πυρηνοκάρπων για ιολογικές ασθένειες στην Κύπρο.

Γαβριήλ Ι., Α. Κυριακού, Θ. Καπαρή-Ησαΐα, Α. Παπαγιάννης,
Σ. Σαμουήλ και Δ. Τσάλτας

90

Μελέτη της σταθερότητας της ανθεκτικότητας διαγονιδιακών φυτών καπνού έναντι του ιού του κροταλίσματος του καπνού

Ν. Βασιλάκος, Μ. Παπαχριστοπούλου και Α. Παπακωνσταντίνου

*Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας,
Εργαστήριο Ιολογίας, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά*

Διαγονιδιακά φυτά καπνού που έφεραν τμήμα της αντιγραφής του ιού του κροταλίσματος του καπνού (*Tobacco rattle virus*, TRV) παρασκευάστηκαν και επέδειξαν ανθεκτικότητα στις δύο πιο απομακρυσμένες γενετικά απομονώσεις του ιού που είναι γνωστές μέχρι σήμερα, τόσο μετά από μηχανική μόλυνση όσο και σε δοκιμές μετάδοσης με νηματώδεις. Τα χαρακτηριστικά της ανθεκτικότητας ήταν σε συμφωνία με λειτουργία της μέσω του μηχανισμού της RNA σίγησης. Στην παρούσα εργασία περιγράφεται η μελέτη της επίδρασης παραγόντων που είναι γνωστό ότι μπορούν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα αυτού του τύπου της ανθεκτικότητας διαγονιδιακών φυτών έναντι των ιών. Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν η επίδραση του σταδίου ανάπτυξης, των χαμηλών θερμοκρασιών και της μόλυνσης με ετερόλογο ιό στο επίπεδο έκφρασης του διαγονιδίου και στην ανθεκτικότητα. Κανένας από τους παράγοντες που εξετάστηκαν δεν επηρέασε την ανθεκτικότητα των διαγονιδιακών φυτών σε διασυστηματικό επίπεδο. Η πιθανότητα μειωμένης αποτελεσματικότητας διαγονιδιακών φυτών ανθεκτικών σε ιώσεις σε πραγματικές συνθήκες αγρού συζητείται.

**Η παρουσία του ιοειδούς του λανθάνοντος μωσαϊκού της ροδακινιάς
(*Peach latent mosaic viroid*, PLMVd) στην Ελλάδα**

Η.Ν. Μπουμπουράκας¹, F. Faggioli², S. Fucuta³, M. Barba²
και Π.Η. Κυριακοπούλου¹

¹Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, 11855 Αθήνα,

²CRA – Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale,
Via C.G. Bertero, 22 – 00156 Rome, Italy

³Biotechnology Group, Aichi Agricultural Research Center, 1-1 Sagamine,
Yazako, Nagakute, 480-1193 Aichi, Japan

Το ιοιδές του λανθάνοντος μωσαϊκού της ροδακινιάς (*Peach latent mosaic viroid*, PLMVd) αποτελεί το αίτιο μιας οικονομικά σημαντικής ασθένειας της ροδακινιάς υπεύθυνης για την μείωση της ποιότητας των καρπών και της ζωτικότητας των δένδρων. Στην Ελλάδα, αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 2001 σε καλλιεργούμενη και άγρια απιδιά, ενώ το 2004 σε βερικοκιά. Καμία όμως πληροφορία δεν είχαμε ως σήμερα για την παρουσία του στον βασικό ξενιστή, τη ροδακινιά και το πολλαπλασιαστικό της υλικό. Στην εργασία αυτή εξετάστηκε η παρουσία του PLMVd σε δείγματα ροδακινιάς και άλλων πυρηνοκάρπων, σε δείγματα μηλοειδών καθώς και σε πολλαπλασιαστικό υλικό (φυτωριακό) ροδακινιάς. Η συλλογή των δειγμάτων έγινε από τις περιοχές: Αριδαία Πέλλας, Άνω Λεχώνια Μαγνησίας, Κλένια και Άγιο Βασίλειο Αργολίδας, Νάουσα Ημαθίας (Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων). Η παρουσία του ιοειδούς τακτοποιήθηκε με την εφαρμογή των μεθόδων RT-PCR, υβριδισμός ίχνους κηλίδας (slot-blot hybridization) και αλληλούχισης. Επίσης, για πρώτη φορά διεθνώς, εφαρμόστηκε στη διάγνωση του PLMVd η μέθοδος της αντίστροφης μεταγραφής ισόθερμης ενίσχυσης με τη μεσολάβηση θηλιάς (Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification, RT-LAMP). Ο PLMVd ανιχνεύθηκε στο 90% (48/53) των δειγμάτων ροδακινιάς, στο 46% (11/24) των δειγμάτων δαμασκηνιάς, στο 25% (4/15) των δειγμάτων βερικοκιάς, και 13% (2/15) των δειγμάτων κερασιάς. Μολυσμένα βρέθηκαν επίσης 2 δείγματα απιδιάς, ένα άγριας απιδιάς και τρία κυδωνιάς. Όσον αφορά το πολλαπλασιαστικό υλικό, ποσοστό άνω του 50% βρέθηκε μολυσμένο.

Ανίχνευση του ιοειδούς του λανθάνοντος μωσαϊκού της ροδακινιάς, (*Peach latent mosaic viroid*, PLMVd), με την υψηλής ευαισθησίας και ταχύτητας διαγνωστική μέθοδο της αντίστροφης μεταγραφής ισοθερμικής ενίσχυσης με τη μεσολάβηση θηλιάς, (Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification, RT-LAMP)

Η.Ν. Μπουμπουράκας¹, S. Fucuta² και Π.Η. Κυριακοπούλου¹

¹Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, 118 55 Αθήνα

²Biotechnology Group, Aichi Agricultural Research Center, 1-1 Sagamine, Yazako, Nagakute, 480-1193 Aichi, Japan

Η μέθοδος της αντίστροφης μεταγραφής ισοθερμικής ενίσχυσης με τη μεσολάβηση θηλιάς (Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification RT-LAMP), αναπτύχθηκε για την ανίχνευση του ιοειδούς του λανθάνοντος μωσαϊκού της ροδακινιάς, (*Peach latent mosaic viroid*, PLMVd). Η LAMP είναι μια νέα και αρκετά απλή μέθοδος ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων, πραγματοποιούμενη σε ισοθερμικές συνθήκες (60-65°C). Χαρακτηρίζεται από υψηλή εξειδίκευση, αποτελεσματικότητα, ταχύτητα και χαμηλό κόστος. Χρησιμοποιούνται τέσσερις διαφορετικοί εκκινητές: F3 (εμπρόσθιος εξωτερικός), B3 (οπίσθιος εξωτερικός), FIP (εμπρόσθιος εσωτερικός), BIP (οπίσθιος εσωτερικός), οι οποίοι έχουν σχεδιαστεί ώστε να αναγνωρίζουν έξι διαφορετικές περιοχές της αλληλουχίας στόχος. Αρχικά, σχεδιάστηκαν τέσσερις ομάδες εκκινητών (OLD, OLD1, NEW, FUCUTA). Με βάση προκαταρκτικά πειράματα επιλέχθηκε η ομάδα OLD1 για περαιτέρω αξιολόγηση. Πραγματοποιήθηκε η απλή και η επιταχυνόμενη εκδοχή της μεθόδου με την χρήση εκφυλισμένων και μη, εκκινητών θηλιάς (F-Loop και B-Loop). Οι εκφυλισμένοι εκκινητές επιλέχθηκαν ως οι καταλληλότεροι. Στη συνέχεια και αφού προσδιορίστηκε η βέλτιστη συγκέντρωσή τους (0,8μM) η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε διαφορετικές θερμοκρασίες (60-67.5° C) χρησιμοποιώντας τρεις συγκεντρώσεις Betaine (1x, 1/2x, 1/4x). Οι βέλτιστες συνθήκες ήταν: 62.5°C and 1/2 x Betaine. Στις παραπάνω συνθήκες και με εκμαγείο ολικό RNA (tRNA) το ιοειδές ανιχνεύθηκε σε 32 λεπτά. Για την ανίχνευση των θετικών δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το Real Time Turbimeter (LA200, Teramecs) που μετρά τη θολότητα του διαλύματος λόγω της παραγωγής πυροφωσφορικού μαγνησίου. Επιπλέον, διαπιστώθηκε πως η μέθοδος ήταν περισσότερο ευαίσθητη από την RT-PCR. Με την RT-LAMP το ιοειδές ανιχνεύθηκε σε ελληνικά δείγματα ροδακινιάς, δαμασκηλιάς, βερικοκιάς, απιδιάς, άγριας απιδιάς και κυδωνιάς.

Επισκόπηση Πυρηνοκάρπων για Ιολογικές Ασθένειες στην Κύπρο

Ι. Γαβριήλ, Α. Κυριακού, Θ. Καπαρή-Ησαΐα, Λ. Παπαγιάννης,
Σ. Σαμουήλ και Δ. Τσάλτας

Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών, Τ.Θ. 22016, 1516 Λευκωσία

Στα πλαίσια του Προγράμματος «Ιώσεις, Εξυγίανση και Μοριακή Ταυτοποίηση Πυρηνοκάρπων στην Κύπρο», το οποίο χρηματοδοτείται από το Ίδρυμα Προώθησης Έρευνας Κύπρου, διενεργήθηκε επισκόπηση για τις ιώσεις που επηρεάζουν τις καλλιέργειες ροδακινιάς, νεκταρινιάς, δαμασκηνιάς και χρυσομηλιάς (βερικοκκιάς) στην Κύπρο. Για τον σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν εκτεταμένες δειγματοληψίες κατά την άνοιξη και το καλοκαίρι του 2007 και 2008 στις κυριότερες περιοχές φύτευσης των πυρηνοκάρπων της νήσου. Κατά την επισκόπηση συνελέγησαν συνολικά 2667 δείγματα από όλα τα είδη και ποικιλίες εκάστης φυτείας. Η δειγματοληψία κάλυψε ποσοστό 20-30% των δένδρων κάθε φυτείας, ενώ έκαστο δείγμα αποτελείτο από νεαρούς κυρίως βλαστούς με φύλλα από τις τέσσερις πλευρές του δένδρου. Ο έλεγχος των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με την ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA και την χρήση πολυκλωνικών αντισωμάτων για την ανίχνευση των ιών της ευλογιάς της δαμασκηνιάς (*Plum pox virus*, PPV), της νεκρωτικής δακτυλιωτής κηλίδωσης των πυρηνοκάρπων (*Prunus necrotic ringspot virus*, PNRSV), του νανισμού των πυρηνοκάρπων (*Prune dwarf virus*, PDV), της χλωρωτικής κηλίδωσης των φύλλων της μηλιάς (*Apple chlorotic leafspot virus*, ACLSV) και του μωσαϊκού της μηλιάς (*Apple mosaic virus*, ArMV). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο ιός του νανισμού των πυρηνοκάρπων (PDV) είναι ευρέως διαδεδομένος με ποσοστό 36.7% και ακολουθεί με ποσοστό 10.5% ο ιός της νεκρωτικής δακτυλιωτής κηλίδωσης των πυρηνοκάρπων (PNRSV). Ο ιός της ευλογιάς της δαμασκηνιάς (PPV) είναι διαδεδομένος σε ποσοστό 9.6%, ενώ ο ιός της χλωρωτικής κηλίδωσης των φύλλων της μηλιάς (ACLSV) είναι διαδεδομένος σε ποσοστό 3.3%. Σε μικρότερο ποσοστό, 0.9%, εντοπίστηκε ο ιός του μωσαϊκού της μηλιάς (ArMV).

Δέκατη Συνεδρία

Τριστέτσα: Η μεγάλη απειλή για τα εσπεριδοειδή

Εισήγηση

Current status of *Citrus Tristeza Virus* (CTV) in Italy
(Ο ιός της τριστέτσας στην Ιταλία και στη Μεσόγειο)

D'Onghia A.-M.

93

Ανακοινώσεις

Ανίχνευση της τριστέτσας των εσπεριδοειδών σε φυτά calamondin
σε θερμοκήπιο στην Ανατολική Αττική και λήψη μέτρων εκρίζωσης.

Καλογεροπούλου Ε.Ν., Π. Κουτρέτσης, Α.Η. Κουερίνη
και Ε.Κ. Τζώρτζη

95

Η τριστέτσα στην Ελλάδα. Το “παιχνίδι” τελικά χάνεται;

Δήμου Δ.

96

Current status of *Citrus Tristeza Virus* (CTV) in Italy

(Παρούσα κατάσταση του Ιού της Τριστέτσας των Εσπεριδοειδών (CTV) στην Ιταλία)

A.-M. D'Onghia

*Coordinator of the IPM Sector
CIHEAM/Mediterranean Agronomic Institute of Bari, Italy*

Μετά το Υπουργικό Διάταγμα για τον κατά νόμο απαιτούμενο έλεγχο του ιού της τριστέτσας των εσπεριδοειδών (CTV) στην Ιταλία, οι πρώτες προσβολές εμφανίστηκαν το 2002 στις νότιες περιοχές της Ιταλίας και συγκεκριμένα στην Σικελία και Apulia. Ο ιός βρέθηκε (i) στις περιοχές της Σικελίας, Siracusa και Κατάνια (Catania) σε μανταρινιές "Fortune" και σε πορτοκαλιές "Navelina" και "Tarocco" και (ii) στην περιοχή της Apulia, Taranto, σε πορτοκαλιές "Navelina" και μανταρινιές κλημεντίνης. Αργότερα, ο ιός CTV εντοπίστηκε στις επαρχίες της Σικελίας, Παλέρμο και Messina. Το 2006, η τριστέτσα αναφέρθηκε επίσης στην περιοχή Καλάβρια (Calabria) μετά από εξέταση 100 ύποπτων δέντρων μανταρινιών "Satsuma" και "Fortune". Όλα τα μολυσμένα δέντρα ήταν εμβολιασμένα σε υποκείμενα νεραντζιάς. Δέντρα με ήπια ή έντονα συμπτώματα καχεξίας και ξήρανσης όπως και δέντρα χωρίς συμπτώματα αλλά προσβεβλημένα, εντοπίστηκαν σε όλες τις περιοχές όπου εντοπίστηκε ο ιός. Με τη μόνη εξαίρεση της πορτοκαλιάς "Tarocco", που είναι μια τοπική Σικελική ποικιλία, τα περισσότερα από τα μολυσμένα δέντρα προήλθαν πιθανώς από μολυσμένο πολλαπλασιαστικό υλικό που οι παραγωγοί προμηθεύτηκαν από επαρχιακά φυτώρια. Στη Σικελία περίπου 30.000 δέντρα εξετάστηκαν αρχικά με τη μέθοδο της ELISA και 50% από αυτά ήταν μολυσμένα με τον ιό της τριστέτσας. Μετά από αυτά τα αποτελέσματα, η προσπάθεια επικεντρώθηκε μόνο στις πιθανά μη μολυσμένες περιοχές, επειδή το πρόγραμμα εξολόθρευσης του ιού δεν μπόρεσε να είναι βιώσιμο. Αντίθετα στην Apulia, περίπου 80.000 δέντρα εξετάστηκαν με τη μέθοδο DTBIA και παρουσίασαν διαφορετικά ποσοστά μόλυνσεων του ιού CTV σε οπωρώνες με νεαρά και μεγάλης ηλικίας δέντρα μανταρινιάς και πορτοκαλιάς. Επίσης, στην Apulia, λίγα μολυσμένα δέντρα ανιχνεύθηκαν στα φυτώρια που βρίσκονταν κοντά στις εστίες μόλυνσης εσπεριδοειδών με τον ιό CTV. Στην περιοχή Apulia, ο ιός εξολοθρεύτηκε από όλους τους μολυσμένους οπωρώνες και φυτώρια με τη μείωση του ποσοστού μόλυνσης. Βάσει ορολογικών και μοριακών δοκιμών όλες οι απομονώσεις του CTV και στις 3 περιοχές θεωρήθηκαν ήπιες. Τα περισσότερα από τα δείγματα που εξετάστηκαν

14^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο

παρουσίασαν ευδιάκριτα συμπτώματα τριστεύσσας στο βιολογικό δείκτη Mexican lime.

Μετά από τα πρώτα αυτά αποτελέσματα, το Υπουργείο Γεωργίας της Ιταλίας απαίτησε από μια ομάδα εμπειρογνομόνων την αναθεώρηση του Υπουργικού Διατάγματος για τον κατά νόμο απαιτούμενο έλεγχο του ιού της τριστεύσσας στην Ιταλία. Το αναθεωρημένο διάταγμα δεν έχει εκδοθεί ακόμα. Στο μεταξύ, κάθε περιοχή αποφάσισε να υιοθετήσει διαφορετικά μέτρα ελέγχου, αλλά μόνο η περιοχή Apulia επέβαλε το υπάρχον Διάταγμα με την έκδοση ενός τοπικού Διατάγματος. Το τοπικό αυτό Διάταγμα εισήγαγε τη χρήση του ιεραρχικού σχεδίου δειγματοληψίας των Hughes και Gottwald (2000), τη δοκιμή DTBIA αντί της μεθόδου ELISA και τη χρήση εντομοστεγών θερμοκηπίων στα φυτώρια εσπεριδοειδών που βρίσκονται κοντά στις εστίες μόλυνσης με τον ιό CTV.

Ανίχνευση της τριστετάσας των εσπεριδοειδών σε φυτά calamondin σε θερμοκήπιο στην Ανατολική Αττική και λήψη μέτρων εκρίζωσης

Ε.Ν. Καλογεροπούλου¹, Π. Κουτρέτσης², Α.Η. Κουερίνη¹
και Ε.Κ. Τζώρτζη¹

¹Δ/νση Γεωργίας, Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Αν. Αττικής,
17^ο χλμ. Α.Μαραθώνος, 15351 Παλλήνη

²Σταθμός Ελέγχου Αγροφύτων Πολλαπλασιαστικού Υλικού Ασπρόπυργου,
19300 Ασπρόπυργος

Στα πλαίσια των απαιτούμενων φυτοϋγειονομικών ελέγχων για τη διακίνηση γλαστρικών φυτών calamondin (*Citrus madurensis* συν. *Citrus mitis* εμβολιασμένα σε *Citrus volcameriana*) στην Ε.Ε. από μεγάλη θερμοκηπιακή μονάδα στο Κορωπί Αττικής, το έτος 2007, ελέγχθηκαν για τον ιό της Τριστετάσας των εσπεριδοειδών (CTV) 368 δείγματα μητρικών υποκειμένων *Citrus volcameriana* με τη μέθοδο ELISA, στα οποία δεν ανιχνεύτηκε ο ιός και 540 γλαστρικά φυτά calamondin εμβολιασμένα σε *Citrus volcameriana*, σε 11 από τα οποία ανιχνεύτηκε ο ιός με την μέθοδο immunoprinting, το οποίο επιβεβαιώθηκε και με τη μέθοδο ELISA. Το 2008, σε επανέλεγχο των μητρικών *C. volcameriana* που είχαν βρεθεί αρνητικά στον ιό το προηγούμενο έτος, βρέθηκαν 4 θετικά το 2008 και επομένως, πέραν της μετάδοσης του ιού με εμβολιασμό, διαπιστώνεται και η μετάδοση του ιού με αφίδες. Για τον περιορισμό και την εξάλειψη του εν λόγω ιού, καταστράφηκαν με καύση όλα τα φυτά *Citrus sp.* της μονάδας, συνολικά 81.560 φυτά, δεδομένου ότι όλες οι παρτίδες των φυτών βρίσκονταν σε άμεση σχέση και σε ελεύθερη επικοινωνία μεταξύ τους. Μετά από επισκόπηση σε ζώνη ακτίνας 1.5km από την αρχική εστία, δεν ανιχνεύτηκε ο ιός σε φυτά εσπεριδοειδών, και όσα εξ αυτών βρέθηκαν να διακινούνται χωρίς φυτοϋγειονομικό διαβατήριο, δεσμεύτηκαν για τη λήψη μέτρων και εφαρμόστηκε η διαδικασία διοικητικών και ποινικών κυρώσεων, τόσο για τον διακινητή και άτοχο, όσο και για τον παραγωγό αυτών.

Η τριστέσσα στην Ελλάδα. Το “παιχνίδι” τελικά χάνεται;

Δ. Δήμου

Δ/ση Αγροτικής Ανάπτυξης Αργολίδας, Τμήμα Φυτοπροστασίας, 21100 Ναύπλιο

Σύμφωνα με τη πρόσφατη Φυτοϋγειονομική νομοθεσία, Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 690/2008 της Επιτροπής της 4^{ης} Ιουλίου 2008, ο οποίος ισχύει από τις 23/7/2008, η Ελλάδα μαζί με τη Μάλτα, τη Γαλλία (Κορσική) και την Πορτογαλία (εκτός της νήσου Μαδέρα), αναγνωρίζονται “ως προστατευόμενες ζώνες που είναι εκτεθειμένες σε ιδιαίτερους φυτοϋγειονομικούς κινδύνους στην Κοινότητα”. Αναφορικά με τη χώρα μας, τα δεδομένα τα τελευταία χρόνια έχουν αλλάξει δραματικά, αφού τελικά δεν είμαστε το μεγάλο ερωτηματικό μια και ο ιός της τριστέσσας των εσπεριδοειδών (CTV) ύστερα από εκτεταμένους ελέγχους έχει εντοπισθεί σε διάφορες περιοχές της χώρας που έχουν εσπεριδοειδή. Αναλυτικά, οι πρώτοι έλεγχοι ξεκίνησαν από το 1994 δειγματοληπτικά ύστερα από την υπ. αριθ, 93231/26-3-1999 απόφαση του Υ.Γ, ενώ τον Ιούνιο του 2000, εντοπίστηκε το πρώτο θετικό δείγμα στα Κατσικάνια του Άργους, σε δενδρύλλιο πορτοκαλιάς της ποικιλίας Lane late το οποίο ανήκε σε μια παρτίδα 50 περίπου δενδρυλλίων κατηγορίας Standard (C.A.C) που “μπήκαν” παράνομα στη χώρα από την Ισπανία το 1994, από εκπρόσωπο εταιρείας εισαγωγής υλικών συσκευαστηρίων ισπανικών συμφερόντων. Από την παρτίδα αυτή επέζησαν 18 δενδρύλλια, φυτεύτηκαν σε διάφορες περιοχές του Αργολικού κάμπου και από αυτά τα 7 βρέθηκαν να είναι θετικά στον ιό. Την Άνοιξη του 2001 σε εισαγωγή από την Ισπανία 1038 πιστοποιημένων δενδρυλλίων ενός νέου κλώνου κλημεντίνης (Clemenpons) 7 δενδρύλλια βρέθηκαν να είναι μολυσμένα από τον ιό της τριστέσσας. Μέχρι τώρα στην Αργολίδα σε σύνολο 49597 ελεγχθέντων δειγμάτων (οι έλεγχοι γίνονται την Άνοιξη και το Φθινόπωρο) έχουν εντοπισθεί 101 θετικά δείγματα που προέκυψαν είτε με εμβολιασμό είτε με μετάδοση με αφίδες και έχουν εκριζωθεί 824 δένδρα θετικά ή ύποπτα. Από αυτά σε τρεις περιπτώσεις πρόκειται για ολόκληρα κτήματα 150, 160 και 454 δένδρων αντίστοιχα. Στην Κρήτη και συγκεκριμένα στο νομό Χανίων με τον ίδιο τρόπο όπως και στην Αργολίδα το 1994, μεταφέρθηκαν 20 περίπου δενδρύλλια της ίδιας ποικιλίας Lane late, από τον ίδιο εκπρόσωπο, από τα οποία επέζησαν τα δύο, τα οποία όμως βρέθηκαν μολυσμένα με τον ιό. Από τα δενδρύλλια αυτά έγιναν επανειλημμένες εμβολιοληψίες με αποτέλεσμα να διαδοθεί ο ιός σε πολλές περιοχές του νομού, ενώ εντοπίστηκε θετικό δείγμα και στην περιοχή Σίσσες του νομού Ηρακλείου. Όμως παρόλες τις εκτεταμένες αρχικές εκριζώσεις (πάνω από 4000 δένδρα), σύμφωνα με πρόσφατους ελέγχους (Άνοιξη 2008) η καταστρεπτική ίωση εντοπίζεται και σε άλλες περιοχές εκτός των αρχικών στο νομό Χανίων σε

σημείο μάλιστα που η κατάσταση να φαίνεται ότι είναι ανεξέλεγκτη. Στην περιοχή της Άρτας το 2005, σε δειγματοληπτικούς ελέγχους από τον καθηγητή του Πανεπιστημίου του Μπάρι της Ιταλίας Δρ Χ. Βόβλα βρέθηκαν θετικά δείγματα σε δένδρα πορτοκαλιάς ποικιλίας W. Nave. Στη συνέχεια ο ιός εντοπίστηκε και άλλες περιοχές της χώρας και συγκεκριμένα στη Σκάλα Λακωνίας το 2007, σε κτήμα με το νέο κλώνο της μανταρινιάς κλημεντίνης (Clemenprons) που εισήγαγε παραγωγός της περιοχής από την Ισπανία το 2002. Στους ελέγχους που έγιναν προέκυψαν 200 δενδρύλλια από τα 930 συνολικά, να είναι θετικά στον ιό. Το κτήμα εκριζώθηκε, όμως σύμφωνα με μαρτυρίες παραγωγών της περιοχής έχουν παρθεί εμβόλια από τα δένδρα αυτά και μάλιστα σε έλεγχο που έγινε σε δένδρο που δέχθηκε δύο τέτοια εμβόλια βρέθηκε αυτό να είναι μολυσμένο από τον ιό. Στην Ανατολική Αττική την Ανοιξη του 2007, σε θερμοκήπια παραγωγής του διακοσμητικού εσπεριδοειδούς Calamodin, βρέθηκαν να είναι μολυσμένα χιλιάδες δενδρύλλια σε μεγάλη έκταση και ένας πολύ μεγάλος αριθμός αυτών, εκριζώθηκαν και καταστράφηκαν με καύση. Στη Χαλκιδική σε παρόμοια θερμοκήπια παραγωγής του παραπάνω διακοσμητικού εσπεριδοειδούς (Calamodin) βρέθηκε θετικό δείγμα, ενώ οι έλεγχοι βρίσκονται σε εξέλιξη και η παραγωγή έχει δεσμευθεί. Σύμφωνα λοιπόν με την κατάσταση που παρουσιάζεται αναφορικά με τον εντοπισμό της τριστεύσσας σε διάφορες περιοχές που καλλιεργούν εσπεριδοειδή, εύλογο είναι το ερώτημα για πόσο καιρό ακόμη θα βρίσκεται η χώρα στο καθεστώς της προστατευόμενης ζώνης και δεν είναι εύκολο να προβλεφθεί πως θα εξελιχθεί η κατάσταση εάν ο πιο δραστήσιος φορέας, η καστανή αφίδα των εσπεριδοειδών (*Toxoptera citricida* (Kircadly)) “ξεχυθεί” στη Μεσογειακή λεκάνη από τις περιοχές τις Βόρειας Πορτογαλίας και Βόρειας Ισπανίας που βρίσκεται σήμερα.

Ενδέκατη Συνεδρία

Βιολογική και Ολοκληρωμένη Καταπολέμηση

Ανακοινώσεις

Σύγχρονες εφαρμογές της ηλιοαπολύμανσης του εδάφους για την αντιμετώπιση εδαφογενών παθογόνων σε υπαίθριες και θερμοκηπιακές καλλιέργειες.

Τζάμος Ε.Κ., Π.Π. Αντωνίου και Σ.Ε. Τζάμος 101

Προβλήματα και προοπτικές στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των ασθενειών της ελιάς.

Αντωνίου Π.Π., Σ.Ε. Τζάμος, Ε.Α. Μαρκάκης, Ε.Ι. Παπλωματάς, Δ.Ι. Τσιτσιγιάννης και Ε.Κ. Τζάμος 103

Μελέτη της αλληλεπίδρασης των βιολογικών παραγόντων *Clonostachys rosea* IK 726 και *Pseudomonas chlororaphis* PCL 1391 στην αντιμετώπιση της σήψης του λαιμού και των ριζών της τομάτας που προκαλείται από το μύκητα *Fusarium oxysporum f.sp radicis-lycopersici*.

Τζελέπης Γ. και Α.Α. Λαγοπόδη 104

Βιολογική αντιμετώπιση του μύκητα *Aspergillus carbonarius* σε οиноπαραγωγικούς αμπελώνες με τη χρήση της επιφυτικής ζύμης *Aureobasidium pullulans* Y1.

Δημακοπούλου Μ., Σ.Ε. Τζάμος, Π.Π. Αντωνίου 105

Αντιμυκητική δράση αιθανολικών εκχυλισμάτων του φυτού *Glycyrrhiza glabra* L. έναντι της προσβολής της τομάτας από τον μύκητα *Phytophthora infestans*.

Κωνσταντινίδου-Δολτσίνη Σ. και Α. Μαρκέλλου 106

14^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο

Εφαρμογή βιοενεργών ουσιών της ελιάς και των σταφυλιών στον έλεγχο σημαντικών παθογόνων με μη χημικό τρόπο.

Μαυράκης Τ., Ν. Σκανδάλης, Χ. Ουσταμανωλάκης, Α. Σκαλτσούνης,
Ν. Πανόπουλος, Δ. Γκούμας και Φ. Βερβερίδης 107

Χαρακτηρισμός αντιμικροβιακών ενώσεων που παράγονται από το βακτήριο *Pseudomonas fluorescens* X.

Σάλαρη Ν., Γ. Κρεμμύδας, Π.Α. Ταραντίλης, Α.Ν. Μαρκόγλου
και Δ.Γ. Γεωργακόπουλος 108

Μελέτη επί της νηματοκτόνου δράσης του αιθέριου ελαίου του σκόρδου και δύο συστατικών του.

Καρανασάση Ε., Α. Κυμπάρης και Μ. Πολυσίου 109

G21-3 (*Gliocladium* spp) και F12-9 (*Trichoderma* spp), δυο νέα ισχυρά παθογόνα των σκληρωτίων του φυτοπαθογόνου Ασκομύκητα *Sclerotinia sclerotiorum*.

Τσαπικούνης Φ.Α. 110

**Σύγχρονες εφαρμογές της ηλιοαπολύμανσης του εδάφους
για την αντιμετώπιση εδαφογενών παθογόνων σε υπαίθριες
και θερμοκηπιακές καλλιέργειες**

Ε.Κ. Τζάμος, Π.Π. Αντωνίου και Σ.Ε. Τζάμος

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Τα υποκείμενα καρπουζιάς παρέχουν αντοχή σε φυλές του μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* όχι όμως και κατά του μύκητα *Verticillium dahliae*, όπως διαπιστώνεται σε υπαίθριες καλλιέργειες καρπουζιάς σε περιοχές όπου ενδημεί το παθογόνο. Μηχανική εφαρμογή της ηλιοαπολύμανσης του εδάφους στην Ηλεία για την αντιμετώπιση της βερτισιλλώσης της καρπουζιάς απέδειξε την αποτελεσματικότητα και την οικονομικότητα της μεθόδου σε υπαίθριες καλλιέργειες. Τον Ιούλιο του 2007 εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση κατά λωρίδες με μηχανική κάλυψη σε έκταση 30 στρεμμάτων (Ρουπάκι Αμαλιάδας). Καθαρή κάλυψη του εδάφους σε λωρίδα 2 μέτρων και μήκους 100 περίπου μέτρων με πλαστικό διαστάσεων πλάτους 2,80 μέτρων ενώ παρέμεινε ακάλυπτη λωρίδα 1,50 μέτρου. Η μηχανική εφαρμογή σε στεγνό έδαφος βοηθά στην ευχερή τοποθέτηση του διαφανούς πλαστικού και στην τοποθέτηση διπλής σειράς αρδευτικών σωλήνων για άρδευση μετά την κάλυψη. Διάρκεια κάλυψης 2 μήνες. Ακολούθησε καλλιέργεια υβριδίων καρπουζιάς Celebration και Samantha σε υποκείμενο Πέλοπας (Μάρτιος 2008) σε χαμηλή κάλυψη. Δειγματοληψίες εδάφους έδειξαν ότι μεγάλοι πληθυσμοί μυκήτων του είδους *Fusarium oxysporum* σχεδόν εξολοθρεύθηκαν με ηλιοαπολύμανση. Προσβολές από το μύκητα *V. dahliae* διαπιστώθηκαν σε εργαστηριακές απομονώσεις του παθογόνου από δειγματοληψίες φυτών κατά τη διάρκεια της συγκομιδής σε ποσοστό 50-60% σε θέσεις χωρίς ηλιοαπολύμανση όπου είχαν εγκατασταθεί εμβολιασμένα φυτά ενώ τα φυτά στις θέσεις της ηλιοαπολύμανσης παρέμειναν υγιή. Συμπτώματα και παρουσία παθογόνων δεν παρατηρήθηκαν σε φυτά ηλιοαπολυμανθέντων λωρίδων. Η απουσία προσβολών από το μύκητα *F. oxysporum* f.sp. *niveum* σε φυτά όλων των θέσεων-μάρτυρες ερμηνεύεται ως αποτελεσματική αντιμετώπιση του παθογόνου με το ανθεκτικό υποκείμενο. Η επίδραση της ηλιοαπολύμανσης στο μέσο βάρος των καρπουζιών στον αγρό σε θέσεις-μάρτυρες και σε αντίστοιχης έκτασης λωρίδες που εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση (8-10 kg σε φυτά μάρτυρες και 14-16Kg σε φυτά σε θέσεις ηλιοαπολύμανσης) αποδεικνύει ότι η μέθοδος αυτή αντιμετωπίζοντας τη βερτισιλλώση συμβάλλει στη στατιστικά σημαντική αύξηση του μέσου βάρους των καρπών σε ποσοστό 40-50% σε σύγκριση με τα μη ηλιοαπολυμανθέντα

εδάφη. Η σημαντική αύξηση της παραγωγής δικαιολογεί την εφαρμογή της ηλιοαπολύμανσης σε εδάφη τα οποία είναι μολυσμένα από το μύκητα *V. dahliae* και υπερκαλύπτει το κόστος εφαρμογής της (Κόστος 75 Ευρω/στρέμμα). Παραδείγματα επιτυχούς μηχανικής ή απλής εφαρμογής της ηλιοαπολύμανσης σε υπαίθριες και θερμοκηπιακές καλλιέργειες μαρουλιού, αγκινάρας, τομάτας και αγγουριάς πραγματοποιήθηκαν κατά το παρελθόν αλλά και πρόσφατα σε διάφορες περιοχές της χώρας για την αντιμετώπιση εδαφογενών μυκήτων σε θερμοκήπια και σε υπαίθριες φυτείες. Στην περιοχή των Ιρίων της Αργολίδας η εφαρμογή της ηλιοαπολύμανσης έχει αποτελέσει λύση στην αντιμετώπιση του μύκητα *Verticillium dahliae* σε υπαίθριες καλλιέργειες αγκινάρας και μαρουλιού κατά του μύκητα *Sclerotinia minor*. Οι συνεχείς εφαρμογές στη συγκεκριμένη περιοχή αφορούν την 25ετία 1983-2008. Αναφέρεται επίσης μηχανική ή συνεχόμενη εφαρμογή της ηλιοαπολύμανσης σε μεγάλες θερμοκηπιακές καλλιέργειες μαρουλιού στα Λεχαινά Ηλείας και σε υπαίθριες καλλιέργειες στη Λάπα Αχαΐας για την αντιμετώπιση του μύκητα *Sclerotinia minor* και άλλων εδαφογενών μυκήτων. Στην Πρέβεζα εφαρμόζεται επί 30 έτη για αντιμετώπιση εδαφογενών παθογόνων στην καλλιέργεια της τομάτας και αγγουριάς όπως *Pyrenochaeta lycopersici* *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum* και *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Η εφαρμογή της ηλιοαπολύμανσης αποτελεί σε πολλές περιπτώσεις εναλλακτική λύση ιδιαίτερα μετά την απομάκρυνση του βρωμιούχου μεθυλίου στη χώρα μας.

Προβλήματα και προοπτικές στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των ασθενειών της ελιάς

Π.Π. Αντωνίου, Σ.Ε. Τζάμος, Ε.Α. Μαρκάκης, Ε.Ι. Παπλωματάς,
Δ.Ι. Τσιτσιγιάννης και Ε.Κ. Τζάμος

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Η βερτισιλλίωση συνιστά το μεγαλύτερο φυτοπαθολογικό πρόβλημα της ελαιοκαλλιέργειας σε αρδευόμενους κυρίως ελαιώνες που επιτείνεται με την παρουσία της αποφυλλωτικής φυλής του μύκητα *Verticillium dahliae* στις ΗΠΑ και στη λεκάνη της Μεσογείου. Αναφορικά με την αναζήτηση ανθεκτικών υποκειμένων υπάρχουν ενθαρρυντικά δεδομένα από την Ιταλία και από τη χώρα μας. Καλλιεργητικά μέτρα και αλλά και εφαρμογή της ηλιοαπολύμανσης έχουν κατά καιρούς προταθεί για την αντιμετώπιση της ασθένειας σε υφιστάμενους ελαιώνες. Τα διαθέσιμα μυκητοκτόνα αδυνατούν να προσφέρουν λύση ανεξάρτητα από βιβλιογραφικές αναφορές όπου αναφέρουν βελτίωση με την εφαρμογή του phosetyl-Al στο φύλλωμα. Η αντιμετώπιση του κυκλοκονίου πέραν των χαλκούχων μπορεί να βασισθεί και στη χρήση των στρομπιλουρινών, που είναι συγκριτικά περισσότερο θεραπευτικές αλλά λιγότερο προστατευτικές. Σχετικά με το μύκητα *Pseudocercospora cladosporioides* που προσβάλλει φύλλα και καρπούς προκαταρκτικά πειράματα στην Ιταλία δείχνουν ότι τέσσερις επεμβάσεις είναι απαραίτητες για την αντιμετώπιση της ασθένειας (Φεβρουάριο-Απρίλιο, τέλος Αυγούστου και αργά το Σεπτέμβριο) για την ποικιλία Leccino για να περιορίσουν της έξαρσή της. Οι βασιδιομύκητες *Clitocybe olearia* και *Armillaria mellea* θεωρούντο ως οι κύριοι παράγοντες σπηριριζιών και σήψεως του ξύλου. Όμως ο βασιδιομύκητας *Phomitiporia mediterranea* εξαπλώνεται στους ελαιώνες των ποικιλιών Κορωνέικη με συμπτώματα ανάλογα με την ίσκα της αμπέλου. Η φυματίωση της ελιάς αποτελεί πρόβλημα όπου γίνεται συλλογή με ραβδισμό. Ως προς τα φυτοπλάσματα πολλοί ερευνητές έχουν διαπιστώσει την παρουσία φυτοπλάσμάτων στην ελιά με συμπτώματα ικτέρου, βραχυγονάτωσης, μικροφυλλίας, οφθαλμόπτωσης και βλαστομανίας. Αλλά ενώ ένα ή περισσότερα φυτοπλάσματα είναι παρόντα δεν υπάρχει άμεση συσχέτιση της παρουσίας τους με τη συμπτωματολογία. Πρόσφατα δεδομένα συνηγορούν για την παρουσία 15 τουλάχιστον ιών στην ελιά ενώ άλλοι ιοί που είτε δε μεταδίδονται μηχανικά ή απαντούν σε χαμηλές συγκεντρώσεις στους φυτικούς ιστούς μπορεί επίσης να είναι παρόντες. Αυτό στηρίζεται στην ευρύτατη παρουσία των διπλής έλικας RNAs (dsRNAs) σε δένδρα αρνητικά σε βιοδοκιμές. Δοκιμές μοριακού υβριδισμού σε dsRNA-θετικά δείγματα που συλλέχθηκαν στην Ιταλία αποκάλυψαν την παρουσία τριών neoviruses (*Arabis mosaic virus* (ArMV), *Cherry leaf roll virus* (CLRV) and *Strawberry latent ring spot virus* (SLRSV), *Olive leaf yellowing associated virus* (OLYaV) και *Olive latent virus-1* (OLV-1). Συμπτώματα ιολογικών προσβολών έχουν αναφερθεί επίσης και στη χώρα μας. Προβλήματα σχετικά με την ολοκληρωμένη αντιμετώπιση ως και τη διάδοση παθογόνων με το εξαγόμενο στις χώρες του νοτίου ημισφαιρίου φυτωριακό υλικό, όπου επεκτείνεται η καλλιέργεια της ελιάς, θα συζητηθούν.

**Μελέτη της αλληλεπίδρασης των βιολογικών παραγόντων
Clonostachys rosea IK 726 και *Pseudomonas chlororaphis* PCL 1391
στην αντιμετώπιση της σήψης του λαιμού
και των ριζών της τομάτας που προκαλείται από το μύκητα
Fusarium oxysporum f.sp *radicis* – *lycopersici***

Γ. Τζελέπης και Α.Λ. Λαγοπόδη

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269., 54124 Θεσσαλονίκη

Σκοπός της εργασίας ήταν να μελετηθεί η αλληλεπίδραση μεταξύ του μύκητα *Clonostachys rosea* IK 726 και του βακτηρίου *Pseudomonas chlororaphis* PCL 1391 στην αντιμετώπιση του φυτοπαθογόνου μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis* – *lycopersici* που προκαλεί σήψη λαιμού και ριζών της τομάτας. Αποτελέσματα πειραμάτων *in vitro*, με διπλές καλλιέργειες που πραγματοποιήθηκαν μεταξύ των *P. chlororaphis* PCL 1391 και *F.o.r.l.* αλλά και μεταξύ των *P. chlororaphis* PCL 1391 και *C. rosea* IK 726 έδειξαν σχηματισμό ζώνης αναστολής στο σημείο συνάντησης των μυκήτων με το βακτήριο. Απομόνωση του αντιβιοτικού phenazine-1-carboxamide που παράγει το βακτήριο με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, ακολουθούμενη από βιοδοκιμή έδειξε ότι ο συγκεκριμένος μεταβολίτης αναστέλλει την ανάπτυξη και των δύο μυκήτων. Παρόλα αυτά σε πειράματα *in planta* σε σύστημα gnotobiotic, παρατηρήθηκε συνεργιστική δράση των δύο βιολογικών παραγόντων εναντίον του φυτοπαθογόνου μύκητα αφού η συνδυασμένη εφαρμογή αυτών μείωσε σημαντικά το δείκτη ασθένειας των φυτών τομάτας συγκρινόμενα με τα φυτά του θετικού μάρτυρα αλλά και των φυτών όπου οι βιολογικοί παράγοντες εφαρμόστηκαν ξεχωριστά. Όσον αφορά τα αποτελέσματα *in planta* πειραμάτων σε τύρφη, η ταυτόχρονη εφαρμογή των δύο βιολογικών παραγόντων μείωσε σημαντικά το δείκτη ασθένειας των φυτών, σε σύγκριση με τα φυτά του θετικού μάρτυρα αλλά όχι και των φυτών όπου οι βιολογικοί παράγοντες εφαρμόστηκαν ξεχωριστά. Περαιτέρω μικροσκοπικές παρατηρήσεις θα αποκαλύψουν περισσότερα στοιχεία για την αλληλεπίδραση των τριών μικροοργανισμών στη ριζόσφαιρα της τομάτας.

**Βιολογική αντιμετώπιση του μύκητα *Aspergillus carbonarius*
σε οиноπαραγωγικούς αμπελώνες με τη χρήση της επιφυτικής ζύμης
Aureobasidium pullulans Y1**

Μ. Δημακοπούλου, Σ.Ε. Τζάμος και Π.Π. Αντωνίου

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Ο μύκητας *Aspergillus carbonarius* αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους κινδύνους των οиноπαραγωγικών αμπελώνων στη χώρα μας διότι είναι ο κυρίως υπεύθυνος παθογόνος μικροοργανισμός για την όξινη σήψη των σταφυλιών. Η σήψη αυτή είναι εμφανής κυρίως τη περίοδο της συγκομιδής και οδηγεί σε απώλεια παραγωγής αλλά και στη μόλυνση του προϊόντος (σταφύλια, σταφίδα, κρασί) με τη μυκοτοξίνη Ωχρατοξίνη Α (OTA) η οποία θεωρείται νεφροτοξική, καρκινογόνος και αναστολέας του ανοσοποιητικού συστήματος. Λόγω της επικινδυνότητας της OTA η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θέσει ως ανώτατο όριο στη σταφίδα 5 μgkg^{-1} και στο κρασί 2 μgkg^{-1} . Στη παρούσα εργασία σκοπός μας ήταν η βιολογική αντιμετώπιση του μύκητα *A. carbonarius* με επιφυτικές ζύμες. Απομονώθηκαν μορφολογικά διαφορετικές μεταξύ τους ζύμες από φύλλα και κλιματίδες αμπελού, οι οποίες αξιολογήθηκαν για την *in vitro* δράση τους εναντίον του μύκητα *A. carbonarius*. Η πλέον αποτελεσματική ζύμη, *Aureobasidium pullulans* Y1, αξιολογήθηκε σε αμπελώνες ποικιλιών Grenache Rouge στη Ρόδο και Αγιωργίτικο στη Νεμέα σε σύγκριση με μυκητοκτόνο που έχει ως δραστικές ουσίες το fludioxonil και cyprodinil. Διαπιστώθηκε ότι η ζύμη *A. pullulans* Y1 έχει την ικανότητα να μειώνει σημαντικά το ποσοστό της όξινης σήψης και της παρουσίας του *A. carbonarius* στις ράγες όπως και της OTA στο γλεύκος σε σχέση με το μάρτυρα, με αποτελεσματικότητα παρόμοια εκείνης με το μυκητοκτόνο.

**Αντιμυκητική δράση αιθανολικών εκχυλισμάτων του φυτού
Glycyrrhiza glabra L. έναντι της προσβολής της τομάτας από τον
μύκητα *Phytophthora infestans***

Σ. Κωνσταντινίδου-Δολτσίνη¹ και Α. Μαρκέλλου²

¹Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας, Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών Πατρών,
Αμερικής και Ν.Ε.Ο., 260 04 Πάτρα., E-mail: skon.prip@nagref.gr

²Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά, Αθήνα

Αιθανολικό εκχύλισμα ιστών από 25 διαφορετικά είδη φυτών ελέγχθηκε έναντι της προσβολής φύλλων τομάτας σε τριβλία από τον μύκητα *Phytophthora infestans*. Από τα πειράματα διαπιστώθηκαν ισχυρές αντιπερονοσπορικές ιδιότητες (μείωση της προσβολής 100%) του εκχυλίσματος φύλλων του φυτού *Glycyrrhiza glabra* στη συγκέντρωση 2,5% (w/v), ενώ δεν διαπιστώθηκε αποτελεσματικότητα των εκχυλισμάτων του ριζώματός του. Οι συγκεντρώσεις EC₅₀ και EC₉₉ των αιθανολικών εκχυλισμάτων φύλλων του *G. glabra* ήταν 0,325% και 0,995% (w/v), αντίστοιχα. Σε πρόσθετα πειράματα μελετήθηκε η επίδραση της διάρκειας και του τρόπου εκχύλισης στην αντιμυκητική δράση των εκχυλισμάτων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι εκχύλιση διάρκειας 5 ωρών σε συσκευή soxhlet ήταν η πλέον αποτελεσματική (μείωση προσβολής 100%). Μεταξύ διαφορετικών μέσων εκχύλισης η αιθανόλη έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα. Επιπρόσθετα πειράματα έδειξαν ότι τα αιθανολικά εκχυλίσματα *G. glabra* δεν είχαν θεραπευτικές ιδιότητες· η μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα διαπιστώθηκε όταν εφαρμόζονταν την ίδια ημέρα με την τεχνητή μόλυνση με *P. infestans* (μείωση προσβολής 100%). Πειράματα σε φυτά τομάτας σε γλάστρες, επιβεβαίωσαν τις αντιπερονοσπορικές ιδιότητες των αιθανολικών εκχυλισμάτων φύλλων του *G. glabra* (1% w/v). Για χρονικό διάστημα 20 ημερών μετά από την τεχνητή μόλυνση των φυτών με *P. infestans*, η μείωση της προσβολής ήταν στο ίδιο επίπεδο με το μυκητοκτόνο Fosetyl-Al. Συνολικά τρεις εφαρμογές του εκχυλίσματος, κάθε 14 και 20 ημέρες, διατήρησαν την ένταση της προσβολής για χρονικό διάστημα 42 ημερών στο ίδιο επίπεδο με το μυκητοκτόνο.

**Εφαρμογή βιοενεργών ουσιών της ελιάς και των σταφυλιών
στον έλεγχο σημαντικών παθογόνων με μη χημικό τρόπο**

Τ. Μαυράκης¹, Ν. Σκανδάλης^{2,3}, Χ. Ουσταμανωλάκης²,
Λ. Σκαλτσούνης⁴, Ν. Πανόπουλος^{2,3}, Δ. Γκούμας¹ και Φ. Βερβερίδης^{1*}

¹Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Φυτών, Ηράκλειο-Κρήτη

²Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Βούτες Ηρακλείου-Κρήτη

³Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας & Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Τεχνολογίας Έρευνας,
Βούτες Ηρακλείου –Κρήτη

⁴Εθνικό Καποδιστριακό Παν/μιο Αθηνών, Τμήμα Φαρμακευτικό,
Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων

*E-mail correspondence: ververidis@teicrete.gr

Η ελευρωπαΐνη, ένας σεκοϊριδοειδής γλυκοζίτης (secoiridoid glucoside) χαρακτηριστικός των Ολεασών (Oleaceae), αποτελεί το κύριο πολυφαινολικό συστατικό της ελιάς (*Olea europaea*) και είναι μια φυσική αντιοξειδωτική ουσία με αντιμικροβιακές ιδιότητες. Τα στέμφυλα, παραπροϊόν της οινοποίησης αντιπροσωπεύουν τουλάχιστον το 20% του συνολικού βάρους των σταφυλιών. Είναι πλούσια σε πολυφαινολικά συστατικά, κυρίως στίλβενια, φλαβονειδή και φαινολικά παράγωγα τα οποία έχουν επίσης ευεργετικά αποτελέσματα στην ανθρώπινη υγεία και στη φυτοπροστασία έναντι σημαντικών παθογόνων. Εξετάσθηκε η αντιμικροβιακή δράση: 1) της ελευρωπαΐνης (απομονώθηκε από φύλλα ελιάς), 2) ενός εκχυλίσματος κατσίγαρου πλούσιου σε πολυφαινολικές ουσίες όπως υδροξυτυροσόλη και 3) ενός εκχυλίσματος στέμφυλων επίσης πλούσιου σε πολυφαινόλες, όπως ρεσβερατρόλη. Ειδικότερα όλα τα υπό εξέταση εκχυλίσματα έδειξαν ότι περιορίζουν την ανάπτυξη σημαντικών παθογόνων, βακτηρίων και μυκήτων, συμπεριλαμβανομένων και των *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Xcv), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* και *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum higginsianum*, *Alternaria alternata* αντίστοιχα. Προσδιορίστηκε η ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής των βακτηρίων και μυκήτων. Επιπλέον τα φυσικά αυτά εκχυλίσματα έδειξαν ότι αναστέλλουν ή περιορίζουν την βλαστικότητα των σπορίων των μυκήτων σε στερεό μέσο όπως και σε ιστούς φυτών. Ανάλογα αποτελέσματα είχαν τόσο στην επιφυτική όσο και στην ενδοπαρασιτική ανάπτυξη των μυκηλιακών υφών σε διαφορές αλληλεπιδράσεις παθογόνου – ξενιστή όπως στη μόλυνση φύλλων καπνού με το παθογόνο *Phytophthora parasitica* (syn. *nicotianae*) var. *nicotianae*. Τέλος οι ψεκάσμοι με ελευρωπαΐνη μείωσαν αισθητά την ανάπτυξη της βακτηριακής κηλίδωσης σε φυτά πιπεριάς.

Ευχαριστίες: Η εργασία αυτή χρηματοδοτείται από το ερευνητικό πρόγραμμα με τίτλο «ΦΥΤΟΪΓΕΙΑ» και κωδ ΚΡ-19, που υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος (ΠΕΠ-Κρήτης 2006) και Συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης (ΕΤΠΑ) και την Περιφέρεια-Κρήτης με Τελικό Δικαιούχο την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΓΓΕΤ).

**Χαρακτηρισμός αντιμικροβιακών ενώσεων που παράγονται
από το βακτήριο *Pseudomonas fluorescens* X**

Ν. Σάλαρη¹, Α.Ν. Μαρκόγλου² και Δ.Γ. Γεωργακόπουλος¹

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

¹Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας

²Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Γεωργικής Φαρμακολογίας

Το βακτήριο *Pseudomonas fluorescens* X είναι ένας ικανός παράγοντας βιολογικής καταπολέμησης φυτοπαθογόνων μυκήτων οι οποίοι προκαλούν προφυτρωτικές και μεταφυτρωτικές τήξεις σπορείων. Προκειμένου να διερευνηθεί ο μηχανισμός της βιολογικής του δράσης δημιουργήθηκαν μεταλλαγμένα στελέχη του βακτηρίου με τη χρήση του μεταθετού στοιχείου Tn5. Τα στελέχη αυτά δεν παρεμπόδιζαν την ανάπτυξη του μύκητα τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Εκχυλίσματα από την καλλιέργεια του άγριου τύπου και των μεταλλαγμάτων δοκιμάστηκαν ως προς την αντιμικροβιακή τους δράση. Μείωση της γραμμικής ανάπτυξης του μύκητα *Pythium ultimum* παρατηρήθηκε μόνο στην περίπτωση του άγριου τύπου, γεγονός που αποκαλύπτει την παρουσία αντιμικροβιακών ενώσεων οι οποίες εμπλέκονται με την καταστολή του παθογόνου ωομύκητα. Για την απομόνωση των μεταβολιτών αυτών αναπτύχθηκε ημιπαρασκευαστική μέθοδος Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC) και ακολούθησε μελέτη της βιοδραστικής τους ικανότητας *in vitro*. Ορισμένοι από τους ύποπτους μεταβολίτες εμφάνισαν παρεμπόδιση της γραμμικής ανάπτυξης του μύκητα κατά τη βιοδοκιμή. Μια πρώτη προσπάθεια ταυτοποίησης των αναλυτών αυτών έγινε με υγρή χρωματογραφία φασματομετρία μαζών με την τεχνική APCI-MSD, όπου φαίνεται πιθανό οι αντιμικροβιακές ενώσεις να ανήκουν στην κατηγορία των αντιβιοτικών, λόγω του μικρού τους μοριακού βάρους. Η μελέτη της χημικής δομής γίνεται παράλληλα και με την τεχνική FT-IR.

**Μελέτη επί της νηματοκτόνου δράσης του αιθέριου ελαίου
του σκόρδου και δύο συστατικών του**

Ε. Καραναστάση¹, Α. Κυμπάρης² και Μ. Πολυσίου³

¹Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Εντομολογίας & Γ. Ζωολογίας,
Εργαστήριο Νηματωδολογίας, Στ. Δέλτα 8, 14561, Κηφισιά
email: E.Karanastasi@bpi.gr

²Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Τμήμα Αγροτικής Ανάπτυξης,
Αθ.Πανταζίδου 193, 62800, Ορεστιάδα, email:kimparis@agro.duth.gr

³Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Γενικό Τμήμα, Εργαστήριο Χημείας,
Ιερά Οδός 75, 11855, Αθήνα, email:mpopol@aau.gr

Αιθέριο έλαιο σκόρδου, διάλλυλο σουλφίδιο (98%) και διάλλυλο δισουλφίδιο (70%) μελετήθηκαν ως προς τη νηματοκτόνο δράση τους, αρχικά ενάντια σε φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις *Xiphinema* sp., *Helicotylenchus* sp., *Tylenchorhynchus* sp., *Tylenchus* sp., *Heterodera* sp. και μη φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις και στη συνέχεια ενάντια σε τρία γνωστά επιζήμια παράσιτα σημαντικών καλλιεργειών: *X. index*, *X. italiae* και *Tylenchulus semipenetrans*. Το αιθέριο έλαιο σκόρδου απομονώθηκε με υδροαπόσταξη βολβών ενώ η εκατοστιαία σύσταση καθορίστηκε με χρήση αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών οδηγώντας στην ταυτοποίηση των κυρίαρχων σουλφιδίων μεθυλο αλλυλο τρισουλφίδιο (19.8%) διαλλυλο τρισουλφίδιο (16.3%), 2-βινυλο-[4H]-1, 3-διθειίνη (13.9%), 3-βινυλο-[4H]-1,2-διθειίνη (11.1%), διμεθυλο τρισουλφίδιο (10.1%), διαλλυλο δισουλφίδιο (7.2%) και μεθυλο αλλυλο δισουλφίδιο (4.7%). Οι νηματώδεις απομονώθηκαν από εδαφικά δείγματα με μια παραλλαγή της μεθόδου Baermann. Η εκτίμηση της δραστηρότητας στην πρώτη ομάδα πειραμάτων έγινε με καταμέτρηση των ζώντων ατόμων μετά την πάροδο τεσσάρων ωρών, ενώ στη δεύτερη ομάδα σε χρονικά διαστήματα 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 και 24 ωρών. Σε όλες τις περιπτώσεις το αιθέριο έλαιο εμφάνισε πολύ υψηλή δραστηρότητα, ακόμη και σε συγκέντρωση 0,1μl/ml, ο βαθμός της οποίας φαίνεται να επηρεάζεται από το είδος αλλά και το μέγεθος του νηματώδη. Το διάλλυλο δισουλφίδιο ήταν επίσης δραστικό, αλλά φαίνεται να απαιτείται υψηλότερη συγκέντρωση ή μεγαλύτερη διάρκεια δράσης. Ωστόσο και για τις δύο ουσίες υπάρχουν υπόνοιες ότι δεν έχουν νηματοκτόνο αλλά μάλλον νηματοστατική δράση.

**G21-3 (*Gliocladium* spp) και F12-9 (*Trichoderma* spp),
δυο νέα ισχυρά παθογόνα των σκληρωτίων του φυτοπαθογόνου
Ασκομούκητα *Sclerotinia sclerotiorum***

Φ.Α. Τσαπικούνης

Τμήμα Βιολογικής Γεωργίας, ΤΕΙ Ιονίων Νήσων, Αργοστόλι

Με την μέθοδο της παγίδευσης απομονώθηκαν 199 υποψήφια μυκοπαράσιτα από εδάφη οικολογικών καλλιεργειών της Νοτιοδυτικής Ελλάδας. Μετά από προκαταρκτική αξιολόγηση (Διπλό Σύστημα και water agar) επιλέχθηκαν τα 18 καλύτερα τα οποία υποβλήθηκαν σε περαιτέρω αξιολόγηση. Τα μυκοπαράσιτα εφαρμόστηκαν με την μορφή υφών και εναιωρήματος σπορίων και δοκιμάστηκαν σε water agar, αποστειρωμένο και μη αποστειρωμένο χώμα. Τέλος δοκιμάστηκαν σε πραγματικές συνθήκες σε πειράματα με γλάστρες στο θερμοκήπιο. Ακολούθως επιλέχθηκαν τρία από αυτά (μεταξύ των οποίων G21-3 και F12-9) και μελετήθηκε στο οπτικό μικροσκόπιο η αλληλουχία των γεγονότων κατά τον παρασιτισμό ενώ παρατηρήθηκε στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης η πορεία βλάστησης και εισόδου των μυκοπαράσιτων στην επιφάνεια του ξενιστή. Τα 18 μυκοπαράσιτα έδωσαν καλά αποτελέσματα στον έλεγχο των σκληρωτίων του *Sclerotinia sclerotiorum* ενώ το G21-3 (*Gliocladium* spp), αποδεικνύεται ένα εξαιρετικό μυκοπαράσιτο αλλά και ικανός ανταγωνιστής ακολουθούμενο από το F12-9 (*Trichoderma* spp). Σε όλα τα πειράματα το G21-3 κατάστρεφε πλήρως τα σκληρώτια μέσα σε 15 ημέρες ή και λιγότερο. Η μελέτη στο οπτικό και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξε ότι η εξέλιξη του παρασιτισμού των σκληρωτίων συγκεντρώνει αρκετά κοινά σημεία υποδεικνύοντας μια κοινή διαδρομή και ενδεχομένως κοινούς μηχανισμούς. Ο ιδανικός χρόνος για την απομόνωση επιθετικών μυκοπαράσιτων των σκληρωτίων του *Sclerotinia sclerotiorum* από πάστα χώματος είναι 15 ημέρες.

Περιλήψεις Εικονογραφημένων Εργασιών

ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

- Διάκριση μεταξύ των φυλών 1 και 2 του φυτοπαθογόνου μύκητα *Verticillium dahliae* εφαρμόζοντας ¹H NMR fingerprinting.
Αλιφέρης Κ.Α., Δ.Φ. Αντωνόπουλος, Α. Παναγιωτοπούλου
και Ε.Ι. Παπλωματάς 123
- Συσχέτιση αποτυπωμάτων φθοριζόντων πολυμορφισμών μήκους
ενισχυμένων τμημάτων DNA (fAFLPs) με ομάδες βλαστικής
συμβατότητας (VCG) σε απομονώσεις του μύκητα *Verticillium dahliae*.
Αμπντέλ-Χαλίμ Μ., Ε.Κ. Λιγοξυγκάκης, Α.Γ. Ντούλης
και Δ.Ι. Βακαλουνάκης 124
- Εκτίμηση της παθογόνου ικανότητας των φυλών 1 και 2 του μύκητα
Verticillium dahliae με τη χρήση του EGFP βιοδείκτη.
Αντωνόπουλος Δ.Φ., Ε.Ι. Παπλωματάς και Ε.Κ. Τζάμος 125
- Χαρακτηρισμός απομονώσεων του μύκητα *Rhizoctonia solani*
από σπορόφυτα καπνού, με συμβατικές και μοριακές μεθόδους.
Γκουζιώτης Α., Χ. Μπαχάρης, Γ. Καραογλανίδης, Ο. Κουτίτα,
Π. Καλογεροπούλου και Κ. Τζαβέλλα-Κλωνάρη 126
- Βιοαποδόμηση μίγματος των ζιζανιοκτόνων linuron και
metribuzin από τον μύκητα *Trametes versicolor*.
Γκούμα Σ.Ε., Δ.Ε. Γκούμας, Ν.Ι. Πριμηκύριος
και Ν. Magan 127
- Παθογόνα που προκαλούν προσυλλεκτικές σήψεις σε καρπούς
ροδακινιάς στην περιοχή της Ημαθίας.
Θωμίδης Θ., Ο. Μιχαηλίδου και Κ. Τσιπουρίδης 128
- Χειρισμός ελέγχου των λανθανουσών μολύνσεων σε καρπούς
ροδακινιάς που οφείλονται σε μύκητες του γένους *Monilinia*.
Θωμίδης Θ., Ο. Μιχαηλίδου, Κ. Τσιπουρίδης
και Ζ. Μιχαηλίδης 129
- Παρακολούθηση και εκτίμηση της υγείας του φυλλώματος
φυτών χλοοτάπητα μέσω έγχρωμης και εγγύς-υπέρυθρης
ψηφιακής απεικόνισης.

- Λάσκαρης Δ., Β. Κόλιας και Ν.Δ. Λάσκαρης 130
- Μελέτη της επίδρασης των βαρέων μετάλλων Zn, Pb, Cd, σε συνδυασμό με την αζωτούχα λίπανση στην εδαφική μικροχλωρίδα και στους εδαφογενείς φυτοπαθογόνους μύκητες εδάφους.
Παπαδοπούλου Μ., Β. Καββαδίας, Χ. Πασχαλίδης,
Ε. Βαβουλίδου και Α. Κορίκη 131
- Πρώτη καταγραφή της ασθένειας του έλκους της καστανιάς στη Λέσβο και την Κρήτη.
Περλέρου Χ. και Σ. Διαμαντής 132
- Μοριακοί πολυμορφισμοί μεταξύ πληθυσμών *Pseudoperonospora cubensis* από την Ελλάδα και τη Τσεχία και η σημασία τους από φυτοπαθολογική και φυλογενετική άποψη.
Σαρρής Π.Φ., Μ. Abdelhalim, Μ. Kitner, Ν. Σκανδάλης,
Ν.Ι. Πανόπουλος, Α.Γ. Ντούλης και Α. Lebeda 133
- Αξιολόγηση ποικιλιών ελιάς ως προς την αντοχή τους στους παθογόνους μικροοργανισμούς *Spilocaea oleagina*, *Mycocentrospora cladosporioides* και *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*.
Τζάμος, Σ.Ε., Α. Τζακώστα, Π.Π. Αντωνίου
και Ε.Ι. Παπλωματάς 134
- Προσβολές από το μύκητα *Omphalotus olearius* σε ελαιώνες του Νομού Μεσσηνίας.
Τσόπελας Π., Α. Παρασκευόπουλος, Ε.Ι. Παπλωματάς
και Κ. Ελένα 135

ΒΑΚΤΗΡΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

- Pseudomonas viridiflava*: Παθογόνο αίτιο μιας βακτηρίωσης του συγκόνιου (*Syngonium podophyllum*).
Γκούμας Δ.Ε., Α.-Μ. Κασελάκη, Χ.Ξ. Γκατζιλάκης
και Α. Χαλακατεβάκη 136
- Αξιολόγηση ποικιλιών, επιλογών και διασταυρώσεων καρυδιάς ως προς την ανθεκτικότητα τους στη βακτηρίωση της καρυδιάς (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*).

14^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο

- Τσιάντος Ι., Ι. Βαγγέλας, Χ. Ρούμπος, Α. Χατζάκη,
Ι. Ακρίβος και Φ. Γραβάνης 137
- Διερεύνηση της φαινοτυπικής και γενετικής παραλλακτικότητας
ελληνικών απομονώσεων των πηκτινολυτικών βακτηρίων
Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* και *Dickeya* spp.
Χολέβα Μ.Κ., Β. Δημητρουλοπούλου και Ν. Πλατυπόδη 138
- Πρώτη ανακοίνωση προσβολής φυτών και καρπών καρπουζιάς
από το φυτοπαθογόνο βακτήριο *Acidovorax avenae*
subsp. *citrulli* στην Ελλάδα.
Χολέβα Μ.Κ., Χ.Α. Καραφλα, Π.Ε. Γλυνός και Α.Σ. Αλιβιζάτος 139

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΞΕΝΙΣΤΗ- ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ

- Ανακάλυψη νέων γενετικών ρυθμιστών της αντίδρασης
υπερευαισθησίας των φυτών με βάση τον προγραμματισμένο
κυτταρικό θάνατο - απόπτωση των θηλαστικών.
Κουντούρη Σ.Α., T. Ludersdorfer, J.D.G. Jones
και Δ.Ι. Τσιτσιγιάννης 140
- Ανακάλυψη των πρωτεϊνικού συμπλόκου της F-box πρωτεΐνης
ACF1 και διερεύνηση του ρόλου του στην ανθεκτικότητα
των φυτών στις ασθένειες.
Παναγιωτοπούλου Μ.Χ., T. Ludersdorfer, H.A. van den Burg,
J.D.G. Jones και Δ.Ι. Τσιτσιγιάννης 141
- Μεταβολές της λειτουργίας των υποδοχέων Never ripe και LeETR4
του αιθυλενίου επηρεάζουν την ευπάθεια της τομάτας
στην προσβολή από τον μύκητα *Verticillium dahliae*.
Παντελίδης Ι.Σ., Σ.Ε. Τζάμος και Ε.Ι. Παπλωματάς 142
- Πρωτεΐνες «τελεστές» των φυτοπαθογόνων ως λειτουργικοί δείκτες
στην γονιδιωματική ανάλυση και εργαλείο στην βελτίωση
της ανθεκτικότητας των φυτών σε ασθένειες.
Σαρρής Π.Φ. και Πανόπουλος Ν.Ι. 143
- Φυλογενετική ανάλυση των γονιδίων των συνθετασών της χιτίνης
στους Ωομύκητες.

14^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο

Σκανδάλης Ν., Ζ. Σπανού, Ι. Badreddine, Β. Dumas,
Ν. Πανόπουλος και Α. Bottin 144

Λειτουργική ανάλυση πρωτεϊνών-τελεστών τύπου III
του *Bradyrhizobium japonicum*.
Φωτιάδης Χ. και Α. Ταμπακάκη 145

ΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Κλωνοποίηση και χαρακτηρισμός ήπιας απομόνωσης του ιού
της ευλογιάς της δαμασκηνιάς.
Βασιλάκος Ν., Ι. Μαλανδράκη, Α. Παπακωνσταντίνου
και Χ. Βαρβέρη 146

Εξυγίανση εκλεκτών ποικιλιών εσπεριδοειδών στην Ελλάδα
- Πρώτα πειραματικά δεδομένα.
Βολουδάκης Α.Ε., Θ. Καπαρή-Ησαΐα, Ε.Μ. Κουτσιουμάρη,
Π.Η. Κυριακοπούλου, Θ. Αγοραστού, Χ. Μαγριπής, Α. Κυριακού,
Α. Παπαγιάννης και Σ. Σαμουήλ 147

Συχνότητα εμφάνισης των ιών της νεκρωτικής δακτυλιωτής κηλίδωσης
και του νανισμού των πυρηνοκάρπων στις αμυγδαλιές της Κύπρου.
Γαβριήλ Ι., Θ. Καπαρή-Ησαΐα, Α. Παπαγιάννης,
Σ. Σαμουήλ και Α. Κυριακού 148

Διερεύνηση της αποτελεσματικότητας του acibenzolar-S-methyl
κατά του ιού του μωσαϊκού της αγγουριάς σε φυτά τομάτας.
Καλογήρου Μ., Ν. Βασιλάκος, Α. Μαρκέλλου και Χ. Βαρβέρη 149

Εξυγίανση πυρηνοκάρπων στην Κύπρο.
Καπαρή-Ησαΐα Θ., Α. Κυριακού, Σ. Σαμουήλ,
Α. Παπαγιάννης και Ι. Γαβριήλ 150

Ανίχνευση των ιοειδών του νανισμού του λυκίσκου, του εξανθηματικού
έλκους της απιδιάς και της εσχάρωσης του φλοιού του μήλου
σε μολυσμένα μηλοειδή και πυρηνόκαρπα με μοριακό
υβριδισμό στην Ελλάδα.
Καπώνη Μ.Σ. και Π.Η. Κυριακοπούλου 151

Μοριακή ανίχνευση και μελέτη της παραλλακτικότητας του ιού της χλωρωτικής κηλίδωσης της μηλιάς (ACLSV) σε αυτοφυή, καλλωπιστικά και καλλιεργούμενα φυτά της οικογένειας Rosaceae.

Κατσιάνη Α.Θ., Β.Ι. Μαλιόγκα, Κ.Ε. Ευθυμίου,
C. Vovlas και Ν.Ι. Κατής 152

Εφαρμογή της μεθόδου "γονιδιακής σίγησης" για την δημιουργία φυτών *Nicotiana benthamiana* ανθεκτικών στην μόλυνση με PPV (*Plum Pox Virus*): Μελέτη της ανθεκτικότητας στις T1 και T2 γενεές.

Κότσης Δ., Ρ. Χολέβα, Κ. Καλαντίδης, Σ. Τζωρτζακάκη,
Μ. Τάμπλερ και Μ. Τσαγρή 153

Μοριακή παραλλακτικότητας απομονώσεων του ιού της βοθρίωσης του ξύλου της μηλιάς (*Apple stem pitting virus*, ASPV) από καλλωπιστικά, άγρια και καλλιεργούμενα είδη ξενιστών.

Μαθιουδάκης Μ.Μ., Τ. Candresse, Β.Ι. Μαλιόγκα,
Μ. Barone, Α. Ragozzino και Ν.Ι. Κατής 154

Εξυγίανση δυο ποικιλιών της αμπέλου από έναν νέο ιό του γένους *Ampelovirus* (GLRaV-Pr) και τον σχετιζόμενο με τη βοθρίωση του κορμού του *Rupestris* ιό 1 (RSPaV-1).

Μαλιόγκα Β.Ι., Φ.Γ. Σκιαδά, Κ. Γρηγοριάδου,
Ε.Π. Ελευθερίου και Ν.Ι. Κατής 155

Πρώτη αναφορά του ιού της πράσινης ποικιλοχλώρωσης με μωσαϊκό της αγγουριάς (*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV) σε καλλιέργειες καρπουζιάς στην Κύπρο.

Παπαγιάννης Α.Χ., Κ. Πουλλής, Δ. Τσάλτας και Ν.Ι. Κατής 156

Ανίχνευση του ιού του κίτρινου παραμορφωτικού νανισμού των κολοκυνθοειδών (*Cucurbit yellow stunting disorder virus*, CYSDV) με την αντίστροφη μεταγραφή και την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (RT-TaqMan® PCR).

Παπαγιάννης Α.Χ., S. Hunter, και J.K. Brown 157

Μοριακός χαρακτηρισμός απομονώσεων του ιού της Ευλογιάς των δαμασκηνιάς (*Plum pox virus*, PPV) στην Κύπρο.

Παπαγιάννης Α.Χ., Θ. Καπαρή-Ησαΐα, Α. Κυριακού,

- Τ. Ιακωβίδης, Σ. Σαμουήλ και Ι. Γαβριήλ* 158
- Ιολογικός έλεγχος αμπελώνων Νέας Αγχιάλου Μαγνησίας για την παραγωγή υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού.
Ρούμπος Ι.Χ., Ι. Αδαμόπουλος, Α. Χατζάκη και Π. Παπαπέτρου 159
- Εξυγίανση της ποικιλίας Αγιωργίτικο (*Vitis vinifera* L.) από τους ιούς GLRaV-1 και RSPaV-1.
Σκιαδά Φ.Γ., Κ. Γρηγοριάδου, Β.Ι. Μαλιόγκα, Ν.Ι. Κατής και Ε.Π. Ελευθερίου 160
- Χαρακτηρισμός ενός νέου *potyvirus* από τη βερβένα.
Τζανετάκης Ι.Ε. και R.R. Martin 161
- Χαρακτηρισμός ενός μολυσματικού κλώνου του *Dulcamara mottle virus* και χιμαιρικών κλώνων με τον *Turnip yellow mosaic virus*.
Τζανετάκης Ι.Ε., R.R. Martin και T.W. Dreher 162
- Αυτοφυή φυτά της Βόρειας Ελλάδας ως ξενιστές των ιών Υ της πατάτας (*Potato virus Y*) και καρουλιάσματος των φύλλων της πατάτας (*Potato leafroll virus*).
Χατζηβασιλείου Ε.Κ., Τ. Ουβέννι, Ι. Παπαστεργίου και Β. Γιαβαχτσιά 163
- Επίδραση αιθέριων ελαίων φυτών της οικογένειας Lamiaceae στη μετάδοση του ιού Υ της πατάτας (*Potato virus Y*) από το είδος *Myzus persicae*.
Χατζηβασιλείου Ε.Κ., Α.Χ. Κυμπάρης, Σ. Γκαβαλέκα, Ξ. Γεωργίου και Μ. Πολυσίου 164

ΜΗ ΠΑΡΑΣΙΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

- Η έλλειψη Fe μειώνει την ικανότητα αναγωγής του Fe^{III} στις ρίζες και τα φύλλα των υποκειμένων αμπέλου ανεξάρτητα της αντοχής αυτών στη χλώρωση σιδήρου.
Συμινής Χ.Ι. και Μ.Ν. Σταυρακάκης 165

Μέθοδος διάγνωσης της θρεπτικής σε άζωτο κατάστασης του μαρουλιού στον αγρό.

Τρωγιάνος Γ.

166

ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Ταυτοποίηση των κυστογόνων νηματωδών της πατάτας στην Κύπρο με τη μέθοδο RT-PCR.

Χριστοφόρου Μ., Α. Παπαγιάννης, Δ. Τσάλτας, Γ. Νεοφύτου, και Ν. Ιωάννου

167

ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Αξιολόγηση του μυκητοκτόνου VOLARE από τη Bayer Cropscience στην καταπολέμηση Ωμογκήτων σε καλλιέργειες πατάτας, τομάτας και αγγουριάς στην Ελλάδα.

Βελούκας Θ., Α. Ντόμπρη, Μ. Παλαιοχωρινός και Α. Αχείμαστου

168

Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας νέων μυκητοκτόνων κατά του ωϊδίου (*Leveillula taurica*) σε καλλιέργεια πιπεριάς.

Βλασακούδης Α.Ι., Α.Χ. Παππάς και Α.Μ. Χα

169

Επίδραση του βορίου στην μετασυλλεκτική αντοχή των καρπών ροδακινιάς σε παθογόνα που προκαλούν σήψεις.

Γκιορτζή Σ., Ν. Αθανασοπούλου, Ο. Βοσνακίδου, Θ. Θωμίδης και Ν. Καραγιαννίδης

170

Επίδραση του χαλκού στη μόλυνση των ξηρών σύκων από αφλατοξίνες.

Δημόπουλος Β., Ε. Μανωλοπούλου, Α. Μονάς και Ε. Σουλιώτης

171

Εξελίξεις στην Ε.Ε. σχετικά με τον καθορισμό ανωτάτων ορίων υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων με βάση τον κανονισμό (ΕΚ) 396/2005.

Καστανιάς Μ.

172

Πολυετή ολοκληρωμένα εθνικά σχέδια ελέγχου στον τομέα

των υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

Καστανιάς Μ. 173

Χημική αντιμετώπιση ασθενειών που προκαλούν κηλίδωση των φύλλων και έλεγχος υπολειμμάτων μυκητοκτόνων σε θερμοκηπιακή εντός φυτοδοχείων καλλιέργεια σέλινου.

Μπαλωτή Φ.Α., Β.Κ. Μάμαλη και Α.Χ. Παππάς 174

Έλεγχος αποτελεσματικότητας των μυκητοκτόνων pyraclostrobin και boscalid στην αντιμετώπιση ανθεκτικών στα βενζιμιδαζολικά και ανιλινοπυριμιδινικά μυκητοκτόνα στελεχών του *Botrytis cinerea*.

Μυρεσιώτης Χ.Κ., Γ.Α. Μπάρδας και Γ.Σ. Καραογλανίδης 175

Ενυαισθησία απομονώσεων του μύκητα *Botrytis cinerea* από καλλιέργειες λαχανικών στα μυκητοκτόνα pyraclostrobin και boscalid.

Μυρεσιώτης Χ.Κ., Γ.Α. Μπάρδας και Γ.Σ. Καραογλανίδης 176

Επίδραση μυκητοκτόνων στην ανάπτυξη του μύκητα *Clonostachys rosea* IK726.

Τζελέπης Γ. και Α.Α. Λαγοπόδη 177

Μια νέα προσέγγιση στην πρόγνωση και χαρτογράφηση του περονόσπορου της πατάτας στην Κύπρο.

Τσάλτας Δ., Α. Πήττας, Γ. Νεοφύτου, Π. Φελλάς, Δ. Χατζημιτσής, Α. Λαγός και Ν. Ιωάννου 178

Πρωτοβουλία για την ασφαλή χρήση των φυτοπροστατευτικών Προϊόντων - Εκπαίδευση αγροτών και επικοινωνία.

Υδραίου Φ., Κ. Βησσαρίτη, Μ. Ηλιοπούλου και Η. Felber 179

Πρωτοβουλία για την ασφαλή χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων - Πειραματικό μέρος

Υδραίου Φ., Κ. Βησσαρίτη, Η. Felber, Κ. Μαχαίρα, Α. Τσακίρακης και Π. Αναστασιάδου 180

Αποτελεσματικότητα εναλλακτικών μεταχειρίσεων στην αντιμετώπιση του *Botrytis cinerea* σε καρπούς πιπεριάς cv. Φλωρίνης.

- Semida W.M., E.K. Κουλακιώτη, Α. Κουκουνάρας
και Ε. Σφακιωτάκης* 181

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

- Μελέτη της επίδρασης του ανταγωνιστή *Raenibacillus alvei* στην ανάπτυξη του μύκητα *Verticillium dahliae* στα ακρορρίζια φυτών μελιτζάνας με τη χρήση της EGFP τεχνολογίας.
Αντωνόπουλος Δ.Φ., Ε.Ι. Παπλωματάς και Ε.Κ. Τζάμος 182
- Καταπολέμηση των παθογόνων του καπνού *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* και *Pythium* sp. στο θερμοκήπιο με Saponins, *Trichoderma viridea* και *Streptomyces griseoviridis*.
Γεωργίου Ξ. και Α. Μήλα 183
- Γενετικός προσδιορισμός της ανταγωνιστικής δράσης του βακτηρίου *Pseudomonas fluorescens* X κατά φυτοπαθογόνων μυκήτων και ωομυκήτων.
Κρεμμύδας Γ., Ν. Δελημπαλαδάκης και Δ.Γ. Γεωργακόπουλος 184
- Επίδραση εδώδιμων επικαλύψεων στην ανάπτυξη των *Botrytis cinerea* και *Alternaria alternata* σε καρπούς πιπεριάς.
*Κρουλ Α., Ε.Κ. Κουλακιώτη, Κ. Μπιλιαδέρης
και Ε. Σφακιωτάκης* 185
- Διερεύνηση της δυνατότητας χρήσης δυο φυσικής προέλευσης μυκητοκτόνων εναντίον της τεφράς σήψης και του ωιδίου σε κηπευτικά.
*Μαρκέλλου Α., Α. Καλαμαράκη, Ε. Βλουτόγλου, Β. Μαυροειδή,
Ε. Τουφεξή, Φ. Καραμαούνα, Δ. Λάσκαρης και Γ. Τρωγιάνος* 186
- Βιολογική αντιμετώπιση τριών φυλών του *Colletotrichum lindemuthianum* με ριζοβακτήρια *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 και *Pseudomonas fluorescens* WCS365.
*Μπάρδας Γ.Α., Α.Α. Λαγοπόδη, Κ. Καδογλίδου
και Κ. Τζαβέλλα-Κλωνάρη* 187
- Επίδραση δυο βιο-διεγερτών Milsana® και Chitoplant® στην ανάπτυξη του ωιδίου και σε παραμέτρους ανάπτυξης φυτών τομάτας και ποιότητας των καρπών.

14^ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο

- Μπουχάγιερ Π., Α. Καλαμαράκη, Γ. Τρωγιάνος, Φ. Καραμαούνα,
Ε. Σκώττη, Β. Μαυροειδή και Α. Μαρκέλλου 188
- Βιολογική αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης της ελιάς με τη χρήση
του στελέχους *Raenibacillus alvei* K-165.
Σασσάλου Α.Π., Ε.Α. Μαρκάκης, Σ.Ε. Τζάμος, Π.Π. Αντωνίου,
Ε.Ι. Παπλωματάς και Ε.Κ. Τζάμος 189
- Μελέτη της αλληλεπίδρασης του μύκητα *Verticillium dahliae*
με το μη παθογόνο στέλεχος *Fusarium oxysporum* F2.
Στριγγλής Ι., Ι. Παντελίδης, Σ. Τζάμος, Ι. Χατζηπαυλίδης
και Ε.Ι. Παπλωματάς 190
- Μέσα και μέθοδοι απολύμανσης ως εναλλακτικά
του βρωμιούχου μεθυλίου
Τζάμος Ε.Κ. και Π.Π. Αντωνίου 191
- Χρήση αιθερίων ελαίων και αρωματικών φυτών
στην αντιμετώπιση εδαφογενών μυκήτων.
Τζίρος Γ.Θ., Μ. Ciric-Camenovic, Π.Σ. Χατζοπούλου
και Α.Α. Λαγοπόδη 192
- Παραγωγή φυτικών βιοενεργών ουσιών από το σακχαρομύκητα
μέσω μεταβολικής μηχανικής για τον έλεγχο
σημαντικών φυτοπαθογόνων.
Τραντάς Ε., Ν. Πανόπουλος και Φ. Βερβερίδης 193

ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Διάκριση μεταξύ των φυλών 1 και 2 του φυτοπαθογόνου μύκητα *Verticillium dahliae* εφαρμόζοντας ¹H NMR fingerprinting

Κ.Α. Αλιφέρης^{1,4}, Δ.Φ. Αντωνόπουλος², Α. Παναγιωτοπούλου³
και Ε.Ι. Παπλωματάς²

¹Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

²Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

³ΕΚΕΦΕ "Δημόκριτος", Ινστιτούτο Βιολογίας, Αγία Παρασκευή Αττικής, 15310 Αθήνα

⁴McGill University, Department of Plant Science, 2111 Lakeshore Rd., Sainte-Anne-de-Bellevue, QC H9X 3V9, Canada

Ο φυτοπαθογόνος μύκητας *Verticillium dahliae* Kleb. προκαλεί αδρομυκώσεις και σημαντικές απώλειες στην παραγωγή πολλών καλλιεργειών. Μέχρι σήμερα, δύο φυλές του μύκητα έχουν προσδιορισθεί διαφέροντας ως προς την παθογόνο ικανότητά τους. Η φυλή 2 είναι μολυσματική σε όλες τις ποικιλίες τομάτας, ενώ σε αρκετές από αυτές έχει αναφερθεί γόνος ανθεκτικότητας για τη φυλή 1 του μύκητα. Η διάκριση μεταξύ των φυλών βασίζεται σε δοκιμές παθογένειας και μοριακές τεχνικές. Συμπληρωματικά, για τη γρήγορη και αξιόπιστη διάκριση μεταξύ τους αναπτύχθηκε η νέα αναλυτική μέθοδος των metabonomics χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)-fingerprinting, μέθοδος που έχει εφαρμοστεί με επιτυχία για τη μελέτη του μεταβολισμού σε διάφορα βιολογικά συστήματα. Η ταυτότητα των απομονώσεων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία πιστοποιήθηκε αρχικά μέσω δοκιμών παθογένειας. Κατά την ανάλυση κυρίων συστατικών (principal components analysis-PCA) και partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) σε φάσματα ¹H NMR εκχυλισμάτων από μυκήλια, ο εντοπισμός μεταβολικών διαφορών μεταξύ των φυλών 1 και 2 του μύκητα ήταν εφικτός και αυτές οι μεταβολικές διαφορές δύναται να χρησιμοποιηθούν για τη γρήγορη και αξιόπιστη ταξινόμησή τους.

**Συσχέτιση αποτυπωμάτων φθοριζόντων πολυμορφισμών μήκους
ενισχυμένων τμημάτων DNA (fAFLPs) με ομάδες βλαστικής
συμβατότητας (VCG) σε απομονώσεις του μύκητα *Verticillium dahliae***

M. Αμπντέλ-Χαλίμ¹, Ε.Κ. Λιγοξυγκάκης², Α.Γ. Ντούλης¹
και Δ.Ι. Βακαλουνάκης²

¹Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας, Ινστιτούτο Αμπέλου, Λαχανοκομίας και Ανθοκομίας
Ηρακλείου, Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας Φυτών, 71003 Ηράκλειο

²Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας, Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών Ηρακλείου,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογικής Μυκητολογίας, 71003 Ηράκλειο

Ο μύκητας *Verticillium dahliae* είναι μεγάλης οικονομικής σημασίας εξαιτίας της αδρομύκωσης που προκαλεί σε ευρύ φάσμα ξενιστών. Ο μύκητας με βάση την παθογένεια έχει εμφανίσει παγκοσμίως διαφόρους παθότυπους (π.χ. της τομάτας, της μελιτζάνας, της πιπεριάς, των σταυρανθών), στην τομάτα δύο φυσιολογικές φυλές (1 και 2), στο βαμβάκι δύο ομάδες απομονώσεων (αποφυλλωτική και μη αποφυλλωτική), ενώ με βάση τη βλαστική συμβατότητα ταξινομείται σε τέσσερις ομάδες (ομάδες βλαστικής συμβατότητας, VCG: 1, 2, 3, 4). Εντός και μεταξύ των VCGs υπάρχει ένας βαθμός γενετικής διαφοροποίησης που έχει φυτοπαθολογική σημασία και αξίζει να διερευνηθεί με τη χρησιμοποίηση γενετικών εργαλείων, τα οποία διακρίνονται για την υψηλότερη αναλυτική τους ικανότητα και χρηστικότητα συγκριτικά με τα VCGs. Ένα από τα εν λόγω εργαλεία είναι οι μοριακοί δείκτες AFLPs που, εξαιτίας της ικανότητάς τους να παράγουν μεγάλο αριθμό πολυμορφισμών, έχουν χρησιμοποιηθεί σε γενετικές, πληθυσμιακές και εξελικτικές μελέτες διάφορων ειδών μυκήτων. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν AFLP για την ανάλυση της γενετικής διαφοροποίησης 101 απομονώσεων του μύκητα *V. dahliae* που ανήκουν σε διάφορες VCGs (2A, 2B, 2A, 4B, 4AB), παθότυπους (τομάτας και μελιτζάνας), φυλές (1 και 2 στην τομάτα), γεωγραφικές προελεύσεις και ξενιστές. Με βάση τα δεδομένα AFLP δημιουργήθηκε φαινόγραμμα που δίδει τέσσερις κύριες ομάδες, οι οποίες είναι σε μερική συμφωνία με τις υποομάδες των VCGs. Η ανάλυση της μοριακής παραλλακτικότητας (AMOVA) κατέδειξε ότι απομονώσεις του *V. dahliae* που ανήκουν σε μία υποομάδα είναι μοριακά όμοιες, σε τέτοια έκταση που η ομαδοποίηση των απομονώσεων συσχετίζεται με την υποομάδα VCG στην οποία ανήκουν, ανεξάρτητα από τη γεωγραφική προέλευση και τον ξενιστή τους. Επιπλέον διαπιστώθηκε μοριακή διαφοροποίηση μεταξύ των VCGs. Τα πλέον διαφοροποιούμενα VCGs είναι τα VCG 4B και VCG 4AB. Οι απομονώσεις του μύκητα που προέρχονταν από τομάτα ταξινομήθηκαν σε ξεχωριστές ομάδες που διακρίνονται από τις απομονώσεις οι οποίες προέρχονταν από άλλους ξενιστές. Αντιθέτως, δε διαπιστώθηκε μοριακή διαφοροποίηση είτε μεταξύ των παθότυπων τομάτας και μελιτζάνας είτε μεταξύ των φυλών 1 και 2 του μύκητα.

Εκτίμηση της παθογόνου ικανότητας των φυλών 1 και 2 του μύκητα *Verticillium dahliae* με τη χρήση του EGFP βιοδείκτη

Δ.Φ. Αντωνόπουλος, Ε.Ι. Παπλωματάς και Ε.Κ. Τζάμος

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Η παθογόνος ικανότητα των φυλών 1 και 2 του εδαφογενούς μύκητα *Verticillium dahliae*, μετασχηματισμένου με το γόνο της ενισχυμένης πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (Vd_{EGFP}), διερευνήθηκε σε ρίζες τομάτας των ποικιλιών Ace 55VF (ανθεκτική στη φυλή 1, ευπαθής στη φυλή 2) και Planet 96FI (ευπαθής και στις 2 φυλές). Τα φυτά τομάτας είχαν μολυνθεί στο θερμοκήπιο με αιώρημα κονιδίων του Vd_{EGFP} και ανά τακτά χρονικά διαστήματα λαμβάνονταν δείγματα ριζικού συστήματος για την εκτίμηση του σχετικού φθορισμού της εκχυλιώμενης EGFP σε ψηφιακό φθοριζόμετρο. Η ασθένεια ξεκίνησε την 3^η ημέρα μετά τη μόλυνση· μέγιστο σχετικού φθορισμού παρατηρήθηκε την 5^η (Planet 96FI) ή 7^η (Ace 55VF) ημέρα μετά τη μόλυνση, ενώ στη συνέχεια ο σχετικός φθορισμός στα δείγματα ριζών των ασυμπτωματικών έως και 14^η ημέρα μετά τη μόλυνση φυτών σταδιακά μειώνονταν. Ωστόσο, ο σχετικός φθορισμός στην ανθεκτική ποικιλία Ace 55VF στη φυλή 1 παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα. Επίσης, ανάλογα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στο σχετικό πείραμα παθογένειας. Με τη χρήση της καινοτόμου τεχνικής EGFP, η βιομάζα του παθογόνου αδρομυκώσεων εκτιμήθηκε εύκολα και γρήγορα εντός των φυτικών ιστών.

Χαρακτηρισμός απομονώσεων του μύκητα *Rhizoctonia solani* από σπορόφυτα καπνού, με συμβατικές και μοριακές μεθόδους

Α. Γκουζιώτης¹, Χ. Μπαχάρης¹, Γ. Καραογλανίδης¹, Ο. Κουτίτα²,
Π. Καλογεροπούλου¹ και Κ. Τζαβέλλα-Κλωνάρη¹

¹Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269, 54124 Θεσσαλονίκη

²Τμήμα Βελτίωσης Φυτών, Ελληνική Βιομηχανία Ζάχαρης,
57400 Σίνδος, Θεσσαλονίκη

Ο μύκητας *Rhizoctonia solani* είναι ένα εδαφογενές παθογόνο που προκαλεί οικονομικά σημαντικές ασθένειες σε πολλά καλλιεργούμενα φυτικά είδη. Μεταξύ αυτών, ιδιαίτερα σημαντικές είναι και οι προσβολές που εκδηλώνονται με τη μορφή προ- και μεταφυτρωτικών τήξεων στον καπνό. Ο σκοπός αυτής της έρευνας ήταν ο χαρακτηρισμός απομονώσεων του μύκητα *R. solani* από νεαρά φυτά καπνού στην Ελλάδα. Για το σκοπό αυτό, κατά τη διάρκεια της άνοιξης του 2007, συλλέχθηκαν 89 απομονώσεις του παθογόνου από σπορεία καπνοπαραγωγικών περιοχών της Βόρειας Ελλάδας. Οι απομονώσεις χαρακτηρίστηκαν με τη χρήση συμβατικών κριτηρίων όπως ο αριθμός πυρήνων, ο ρυθμός μυκηλιακής ανάπτυξης, η παραγωγή σκληρωτίων, η μολυσματικότητα σε διάφορους ξενιστές και οι αντιδράσεις αναστόμωσης με χαρακτηριστικούς αντιπροσώπους των ομάδων αναστόμωσης. Από τις 89 απομονώσεις που εξετάστηκαν οι 87 ήταν πολυπύρηνες και οι 2 διπύρηνες. Σε 39 από τις 87 πολυπύρηνες απομονώσεις έγινε μοριακός χαρακτηρισμός βασισμένος στην ανάλυση των μη μεταγραφόμενων περιοχών του ριβοσωμικού DNA (ITS1 και ITS4). Τα δεδομένα των μοριακών αναλύσεων έδειξαν ότι η πλειονότητα των απομονώσεων αυτών ανήκε στην ομάδα αναστόμωσης AG-2-1 (27 απομονώσεις), 11 απομονώσεις ανήκαν στην ομάδα AG-4 (6 απομονώσεις στην υποομάδα HG-I και 5 απομονώσεις στην υποομάδα HG-III), ενώ μία απομόνωση ανήκε στην ομάδα AG-5. Η ανάλυση της αλληλουχίας του ITS, η οποία πολλαπλασιάστηκε με τη χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR), χρησιμοποιήθηκε για φυλογενετικές αναλύσεις. Αυτή είναι η πρώτη μελέτη διερεύνησης της ποικιλομορφίας απομονώσεων του μύκητα *R. solani* από τον καπνό στην Ελλάδα.

**Βιοαποδόμηση μίγματος των ζιζανιοκτόνων linuron και metribuzin
από τον μύκητα *Trametes versicolor***

Σ.Ε. Γκούμα¹, Δ.Ε. Γκούμας¹, Ν.Ι. Πριμηκύριος¹ και Ν. Magan²

¹Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας,
Τ.Θ. 1939 71004 Ηράκλειο, Κρήτης

²Applied Mycology Group, Cranfield Biotechnology Centre, Cranfield University,
Cranfield, Bedfordshire, MK43 0AL, U.K.

Ο βασιδιομύκητας *Trametes versicolor* που προκαλεί τις λευκές σήψεις, αποδομώντας τη λιγνίνη, έχει χρησιμοποιηθεί σε έρευνες που αφορούν την αποδόμηση διαφόρων οργανικών ρυπαντών με δομή παρόμοια της λιγνίνης, λόγω των εξωκυτταρικών ενζύμων που εκκρίνει και τα οποία εμπλέκονται στο μηχανισμό αποδόμησης. Στη μελέτη αυτή εξετάστηκε η ικανότητα του μύκητα *Trametes versicolor* για αποδόμηση μίγματος των ζιζανιοκτόνων linuron και metribuzin σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Ως θρεπτικό υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε υδατικό εκχύλισμα εδάφους και δημιουργήθηκε υδατικό stress (-2.8 MPa) με την προσθήκη γλυκερόλης ή χλωριούχου καλίου. Η ικανότητα του μύκητα για διάσπαση αξιολογήθηκε με το προσδιορισμό της ποσότητας των ζιζανιοκτόνων που παρέμειναν στο θρεπτικό υπόστρωμα, ανά εβδομάδα και για συνολικό διάστημα έξι εβδομάδων, με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας (HPLC). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο μύκητας *Trametes versicolor* αποδόμησε πλήρως το ζιζανιοκτόνο linuron σε διάστημα πέντε εβδομάδων ανεξάρτητα από την επέμβαση. Αντίθετα, ο μύκητας αποδόμησε το ζιζανιοκτόνο metribuzin, σε ποσοστό 50% μόνο στην επέμβαση με την προσθήκη γλυκερόλης στο εκχύλισμα εδάφους.

**Παθογόνα που προκαλούν προσυλλεκτικές σήψεις
σε καρπούς ροδακινιάς στην Περιοχή της Ημαθίας**

Θ. Θωμίδης¹, Ο. Μιχαηλίδου¹ και Κ. Τσιπουρίδης²

¹Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης,
57400 Σίνδος Θεσσαλονίκης

²Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων Νάουσας (ΕΘΙΑΓΕ),
Σ. Σ. Νάουσας 38, 59200 Ημαθία

Οι προσυλλεκτικές σήψεις των καρπών (preharvest fruit rots) αποτελούν σημαντικό πρόβλημα της καλλιέργειας της ροδακινιάς στη χώρα μας, αλλά και παγκοσμίως. Στην παρούσα εργασία έγινε έλεγχος των παθογόνων που προκαλούν προσυλλεκτικές σήψεις στα ροδάκινα στην περιοχή της Ημαθίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, οι σήψεις των ροδακινιών στην περιοχή της Ημαθίας προκλήθηκαν σε ποσοστό περίπου 70% το 2005 και 78% το 2006 από μύκητες του γένους *Monilinia*. Μύκητες του γένους *Fusicoccum* προκάλεσαν σήψεις στους καρπούς ροδακινιάς σε ποσοστό περίπου 30% στην περιοχή Μέσης Βέροιας - Άμμου Βέροιας - Μελίκης Ημαθίας. Αντίθετα, τα παθογόνα αυτά ήταν υπεύθυνα για σήψεις σε καρπούς σε ποσοστό μικρότερο του 3% στις υπόλοιπες περιοχές που ελέγχθηκαν. Σήψεις των καρπών σε ποσοστό 5% προκλήθηκαν από μύκητες του γένους *Phomopsis* σε όλες τις περιοχές της Ημαθίας. Άλλα παθογόνα που βρέθηκαν να προκαλούν σήψεις στα ροδάκινα, αλλά σε ποσοστό μικρότερο του 5% ήταν το *Alternaria alternata*, το *Aspergillus niger*, το *Aspergillus flavus*, το *Botrytis cinerea*, το *Sclerotinia sclerotiorum*, μύκητες του γένους *Fusarium*, το *Colletotrichum gloeosporioides*, το *Rhizopus stolonifer* και το *Gilbertella persicaria*. Έως σήμερα, για την αντιμετώπιση των προσυλλεκτικών σήψεων των ροδακινιών εφαρμόζονταν ψεκασμοί σχεδόν αποκλειστικά για την καταπολέμηση μυκήτων του γένους *Monilinia* spp. Στο πρόγραμμα αυτό θα πρέπει να συμπεριληφθεί και ο έλεγχος του *Phomopsis*. Επιπλέον, για την περιοχή της Μέσης Βέροιας - Άμμου Βέροιας - Μελίκης Ημαθίας, θα πρέπει να εφαρμόζεται πρόγραμμα ψεκασμών για την καταπολέμηση μυκήτων του γένους *Fusicoccum*.

**Χειρισμός ελέγχου των λανθανουσών μολύνσεων σε καρπούς
ροδακινιάς που οφείλονται σε μύκητες του γένους *Monilinia***

Θ. Θωμίδης¹, Ο. Μιχαηλίδου¹, Κ. Τσιπουρίδης² και Ζ. Μιχαηλίδης¹

¹ Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης,
57400 Σίνδος Θεσσαλονίκης

² Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων Νάουσας (ΕΘΙΑΓΕ),
Σ. Σ. Νάουσας 38, 59200 Ημαθία

Η πιθανότητα ύπαρξης λανθανουσών μολύνσεων (latent infections) των καρπών από μύκητες του γένους *Monilinia*, οι οποίες φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της ασθένειας, έχει αναφερθεί από πολλούς ερευνητές. Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η εφαρμογή ψεκασμών για τη μείωση του ποσοστού των λανθανουσών μολύνσεων στα ροδάκινα. Ψεκασμοί εφαρμόστηκαν σε νεκταρινιές ποικιλίας Fantasia, Venus και Tasty Free στις 16 Μαΐου και στις 2 Ιουνίου σε διαφορετικά δένδρα. Το μυκητοκτόνο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το thiophanate methyl. Η καταγραφή των λανθανουσών μολύνσεων έγινε στις 15 Ιουλίου χρησιμοποιώντας την “ONFIT” μέθοδο. Η συλλογή των αποτελεσμάτων έγινε με την καταγραφή του ποσοστού των καρπών που παρουσίασαν μολύνσεις από μύκητες του γένους *Monilinia*. Δένδρα στα οποία δεν εφαρμόστηκε κανένας ψεκασμός χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρας. Επιπλέον, έγινε καταγραφή του ποσοστού των καρπών που παρουσίασαν συμπτώματα προσυλλεκτικής σήψης, κατά την περίοδο της συγκομιδής των καρπών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, το ποσοστό των λανθανουσών μολύνσεων ήταν στατιστικώς σημαντικά μικρότερο στα δένδρα τα οποία ψεκάστηκαν σε σύγκριση με τον μάρτυρα και για τις 3 ποικιλίες. Δένδρα τα οποία ψεκάστηκαν στις 2 Ιουνίου είχαν στατιστικώς σημαντικά μικρότερο ποσοστό λανθανουσών μολύνσεων σε σύγκριση με αυτά που ψεκάστηκαν στις 15 Μαΐου. Επίσης, δένδρα τα οποία ψεκάστηκαν παρουσίασαν σημαντικά μικρότερο ποσοστό προσυλλεκτικών σήψεων σε σύγκριση με τον απέκαστο μάρτυρα, με τον ψεκασμό στις 2 Ιουνίου να είναι ο περισσότερος αποτελεσματικός. Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής έδειξαν ότι ένας ψεκασμός των δένδρων νεκταρινιάς στις αρχές Ιουνίου μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στον έλεγχο των προσυλλεκτικών σήψεων των ροδάκινων που οφείλονται σε μύκητες του γένους *Monilinia*.

Παρακολούθηση και εκτίμηση της υγείας του φυλλώματος φυτών χλοοτάπητα μέσω έγχρωμης και εγγύς-υπέρυθρης ψηφιακής απεικόνισης

Δ. Λάσκαρης¹, Β. Κόλιας² και Ν.Δ. Λάσκαρης³

¹Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας

²Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Σχολή Ηλεκτρολόγων Μηχανικών
& Μηχανικών Υπολογιστών

³Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Σχολή Μηχανικών Πληροφοριακών και
Επικοινωνιακών Συστημάτων

Ερευνήθηκε η δυνατότητα χρησιμοποίησης έγχρωμης και υπέρυθρης επίγειας ψηφιακής απεικόνισης για τον πρώιμο εντοπισμό συμπτωμάτων ασθένειας και την εκτίμηση της υγείας του φυλλώματος φυτών χλοοτάπητα. Εφαρμόστηκαν διάφοροι παράγοντες καταπόνησης σε πειραματικά τεμάχια χλοοτάπητα από *Festuca arundinacea* των 3μ² και εκτιμήθηκε ο βαθμός καταπόνησης με αυθαίρετη οπτική κλίμακα και με στοιχεία από ανάλυση ψηφιακής εικόνας. Το χρωματικό μοντέλο Απόχρωση, Κορεσμός, Φωτεινότητα (HSI: Hue, Saturation, Intensity) χρησιμοποιήθηκε επιτυχώς στην ανάπτυξη ενός απλού μοντέλου εκτίμησης της υγείας και ποιότητας του χλοοτάπητα με βάση τις διαφοροποιήσεις του χρώματος του φυλλώματος. Η αντανάκλαση της εγγύς-υπέρυθρης ακτινοβολίας και η χρήση πολωτικού φίλτρου δεν προσέφεραν πρόσθετα στοιχεία. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης της εικόνας είχαν υψηλό βαθμό συσχέτισης με αυτά της οπτικής εκτίμησης και έδωσαν σταθερότερες και ακριβέστερες εκτιμήσεις της ημερήσιας αύξησης της καταπόνησης που προκλήθηκε σε πειραματικά τεμάχια από δίψα, σκίαση, αυξημένη UV-B ακτινοβολία, έλλειψη αζώτου, και τοξικότητα ζιζανιοκτόνου. Μεγάλη ακρίβεια, επαναληψιμότητα και ταχύτητα των εκτιμήσεων επιτυγχάνονταν όταν η φωτογράφιση και η ανάλυση της εικόνας γίνονταν σύμφωνα με συγκεκριμένη τυπική διαδικασία. Η λήψη της φωτογραφίας γινόταν αφού προηγουμένως η μηχανή είχε ρυθμιστεί σύμφωνα με την ένταση και θερμοκρασία χρώματος του υπάρχοντα φυσικού φωτισμού. Μια γκρίζα ή έγχρωμη παλέτα γνωστής αντανάκλασιμότητας τοποθετούνταν πάνω στο χλοοτάπητα και χρησίμευε ως κριτήριο φωτεινότητας και χρωματικής ισορροπίας της εικόνας κατά την ανάλυση. Η μέθοδος είναι πρακτική, ακριβής και ταχεία και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την έγκαιρη επισημάνση ασθενειών και ανωμαλιών του χλοοτάπητα.

Μελέτη της επίδρασης των βαρέων μετάλλων Zn, Pb, Cd, σε συνδυασμό με την αζωτούχα λίπανση στην εδαφική μικροχλωρίδα και στους εδαφογενείς φυτοπαθογόνους μύκητες εδάφους

Μ. Παπαδοπούλου¹, Β. Καβαδιάς², Χ. Πασχαλίδης¹, Ε. Βαβουλίδου²
και Α. Κορίκη¹

¹Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Καλαμάτας (ΤΕΙ – Κ),
Αντικάλαμος, 24100 Καλαμάτα

²ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Ινστιτούτο Εδαφολογίας Αθηνών,
Σ. Βενιζέλου 1, 14123 Λυκόβρυση Αττικής

Η ρύπανση του περιβάλλοντος προκαλεί αλλαγές στις φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους και επιδρά αρνητικά στις μικροβιακές διεργασίες, διαφοροποιώντας την υπάρχουσα μικροβιακή κοινότητα. Με την μεταβολή των εδαφικών μικροβιακών δραστηριοτήτων διαφοροποιείται τόσο η ανταγωνιστική δραστηριότητα της μικροχλωρίδας του εδάφους όσο και οι ιδιότητες των παθογόνων μυκήτων εδάφους. Σκοπός της εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης των διαφόρων συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων σε συνδυασμό με την εφαρμοζόμενη αζωτούχα λίπανση στην ποικιλομορφία, και δραστηριότητα της εδαφικής μικροχλωρίδας σε πειραματικό ανάπτυξης μαρουλιού σε δοχεία. Ως βασική μονάδα μέτρησης της δραστηριότητας του ενεργού μικροβιακού εδαφικού πληθυσμού επιλέχθηκε η μέθοδος μέτρησης της μικροβιακής βιομάζας, της εδαφικής αναπνοής (R_{Basal}) πριν, και μετά την προσθήκη του ενεργητικού υλικού (R-SIR). Η ποσοτική και ποιοτική εκτίμηση των διάφορων ομάδων μικροοργανισμών, καθώς και των εδαφογενών φυτοπαθογόνων μυκήτων στα εδαφικά δείγματα πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο των βιώσιμων μονάδων, καθώς και με την χρήση του Πλέον Πιθανού Αριθμού (MPN). Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά οχτώ διαφορετικά θρεπτικά υποστρώματα. Διαπιστώθηκε η μεταβολή της επίδρασης των βαρέων μετάλλων Pb, Cd, Zn, όταν αυτά προστέθηκαν σε επεμβάσεις με διαφορετικά επίπεδα αζώτου. Βρέθηκε σημαντική μεταβολή του αριθμού και της ποικιλομορφίας των διαφόρων ομάδων μικροοργανισμών ανάλογα με την συγκέντρωση και το είδος του μετάλλου στο έδαφος .

Πρώτη καταγραφή της ασθένειας του έλκους της καστανιάς στη Λέσβο και την Κρήτη

Χ. Περλέρου και Σ. Διαμαντής

ΕΘΙΑΓΕ - Ινστιτούτο Δασικών Ερευνών, 570 06 Βασιλικά Θεσ/νίκης

Η ασθένεια του έλκους της καστανιάς που προκαλείται από το μύκητα *Cryphonectria parasitica* εντοπίστηκε πρώτη φορά στην Ελλάδα το 1963 στο Πήλιο από το φυτοπαθολόγο Δ. Μπίρη. Μέχρι το 2002 είχε καταγραφεί σε όλες τις περιοχές της ηπειρωτικής Ελλάδας όπου απαντάται η καστανιά είτε ως οπωροφόρο είτε ως δασικό είδος. Αντιθέτως καμία εστία δεν είχε εντοπιστεί στα νησιά Κρήτη και Λέσβο πιθανόν λόγω της χρήσης του αυτόχθονου πολλαπλασιαστικού υλικού. Έτσι και οι δύο περιοχές ορίστηκαν ως Προστατευόμενη Ζώνη (Π.Ζ.) με το Π.Δ. 365/2002. Το 2006 εντοπίσαμε συμπτώματα της ασθένειας στο Ν. Χανίων και στον καστανεώνα της Αγιάσου Λέσβου. Στην περιοχή της Αγιάσου η ασθένεια φαίνεται να έχει εξαπλωθεί με τη μορφή μεμονωμένων κηλίδων σχεδόν σε όλη την έκταση, ενώ στο Ν. Χανίων εντοπίστηκε σε μία μόνον εστία. Και από τις δύο περιοχές συλλέχθηκαν δείγματα και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο για τη μελέτη ύπαρξης υπομολυσματικών στελεχών και την ταυτοποίηση των τύπων βλαστικής συμβατότητας του μύκητα. Προσδιορίστηκαν δύο τύποι βλαστικής συμβατότητας με τους ευρωπαϊκούς κωδικούς EU-1 και EU-12 με την πλειονότητα των δειγμάτων να ανήκει στον τύπο EU-1. Συγκριτικά, ο τύπος EU-12 είναι ο πιο διαδεδομένος τύπος στην ηπειρωτική Ελλάδα ενώ ο EU-1 εντοπίζεται μέχρι στιγμής μόνο στην Εύβοια και την Πιερία. Δεν εντοπίστηκε κανένα υπομολυσματικό στέλεχος του μύκητα με τον ιό *Cryphonectria hypovirus* (CHV1). Ήδη έχουν ενταχθεί και οι δύο Νομοί στο πρόγραμμα εφαρμογής βιολογικής καταπολέμησης της ασθένειας του έλκους της καστανιάς στα πλαίσια του Δ' ΚΠΣ.

Μοριακοί πολυμορφισμοί μεταξύ πληθυσμών *Pseudoperonospora cubensis* από την Ελλάδα και την Τσεχία και η σημασία τους από φυτοπαθολογική και φυλογενετική άποψη

Π.Φ. Σαρρής^{1,2}, Μ. Abdelhalim^{1,4}, Μ. Kitner³, Ν. Σκανδάλης^{1,2},
Ν.Ι. Πανόπουλος^{1,2}, Α.Γ. Ντούλης⁴ και Α. Lebeda³

¹Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Μοριακής Φυτοπαθολογίας και Βιοτεχνολογίας Φυτών, 71004 Ηράκλειο, email: sarrispanos@science.agrool.gr

²Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ιδρύματος Τεχνολογίας και Έρευνας (ΙΤΕ), Ελλάς, PO Box 1527, 71110 Ηράκλειο

³Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc-Holice, Czech Republic, email: ales.lebeda@upol.cz

⁴Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘΙΑΓΕ), Ινστιτούτο Αμπέλων, Λαχανοκομίας και Ανθοκομίας Ηρακλείου, Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας Φυτών και Γενωμικών Πόρων, P.O. Box 2229, 71003 Ηράκλειο, email: andreas.doulis@nagref-her.gr

Διερευνήθηκε ο μοριακός γενετικός πολυμορφισμός απομονώσεων του είδους *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. and Curt.) Rostov. (Chromista, Peronosporales) διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης με σκοπό τη μελέτη των πιθανών φυλογενετικών τους σχέσεων. Τριάντα απομονώσεις του μύκητα προερχόμενες από την Ελλάδα (Κρήτη 15), την Τσεχία (13), την Ολλανδία και τη Γαλλία (ένα δείγμα από κάθε χώρα), αναλύθηκαν με δύο διαφορετικές μοριακές τεχνικές (μοριακοί δείκτες AFLP και ανάλυση αλληλουχιών ITS του *rDNA*). Όλες οι απομονώσεις λήφθηκαν από φυτά αγγουριάς (*Cucumis sativus* L.) που παρουσίαζαν τα χαρακτηριστικά συμπτώματα της ασθένειας του περονόσπορου (*downy mildew*). Η ανάλυση των αλληλουχιών ITS του *rDNA* αποτελεί ένα καλά μελετημένο ταξινομικό εργαλείο για το γένος *Pseudoperonospora*. Εντούτοις, οι μοριακοί δείκτες AFLP δεν έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι σήμερα για γενετικές και πληθυσμιακές αναλύσεις εντός του είδους *Pseudoperonospora cubensis*. Οι δείκτες AFLP ανέδειξαν ικανοποιητικό επίπεδο πολυμορφισμού με αποτέλεσμα την ομαδοποίηση των απομονώσεων του μύκητα σε δύο διακριτές ομάδες, εκ των οποίων η μία περιλαμβάνει τις τσέχικες (κεντρική Ευρώπη) και δυτικοευρωπαϊκές (Ολλανδία, Γαλλία) απομονώσεις, ενώ η άλλη μόνο τις απομονώσεις ελληνικής προέλευσης. Μέσα σε κάθε ομάδα παρατηρείται κάποια μερικότερη διαφοροποίηση η οποία μπορεί να αποδοθεί στη γεωγραφική προέλευση ή/και τα χαρακτηριστικά παθογένειας. Οι αλληλουχίες της περιοχής ITS-1 δεν παρουσίασαν αξιοποιήσιμο πολυμορφισμό. Αντιθέτως, οι αλληλουχίες της περιοχής ITS-2 επέτρεψαν την ομαδοποίηση όλων των ελληνικών και τσέχικων απομονώσεων [μαζί με μερικές απομονώσεις από την Αυστρία (κατατεθειμένες αλληλουχίες στο NCBI)] διαμορφώνοντας μια μεγάλη ομάδα που συμπεριλάμβανε και το είδος *P. humuli*. Συζητείται η χρησιμότητα των κλασσικών φυτοπαθολογικών και των μοριακών προσεγγίσεων στην έρευνα της γενετικής σύνθεσης και της δυναμικής των πληθυσμών του μύκητα *P. cubensis*.

Αξιολόγηση ποικιλιών ελιάς ως προς την ανοχή τους στους παθογόνους μικροοργανισμούς *Spilocaea oleagina*, *Mycocentrospora cladosporioides* και *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*

Σ.Ε. Τζάμος, Α. Τζακώστα, Π.Π. Αντωνίου και Ε.Ι. Παπλωματάς

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Η καλλιέργεια της ελιάς αντιμετωπίζει προσβολές από διάφορα παθογόνα, μεταξύ των οποίων μεγάλη σπουδαιότητα έχουν το κυκλοκόνιο, η κερκόσπορα και η φυματίωση που προκαλούνται από τους μύκητες *Spilocaea oleagina* και *Mycocentrospora cladosporioides* και το βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, αντίστοιχα. Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση των πλέον διαδεδομένων στη χώρα μας ποικιλιών ελιάς ως προς την ανοχή τους στα υπό εξέταση παθογόνα με τεχνητές μολύνσεις με αντιπροσωπευτικά (με βάση τη μοριακή ποικιλομορφία τους) στελέχη. Για το σκοπό αυτό δενδρύλλια ελιάς των ποικιλιών Καλαμών, Αμφίσσης, Κορωνέικη, Αδραμυτινή και Μανάκι ψεκάστηκαν με αιώρημα των μυκήτων υπό εξέταση ή οι κλαδίσκοι τους τραυματίστηκαν ελαφρά ώστε να εφαρμοσθεί βακτηριακό αιώρημα του *P. savastanoi* pv. *savastanoi*. Ένα μήνα μετά την εφαρμογή του μολύσματος πραγματοποιήθηκε καταμέτρηση του ποσοστού ασθένειας. Στην περίπτωση των μυκήτων τα συμπτώματα είναι τεφροκαστανές κηλίδες στα φύλλα και φυλλόπτωση ενώ στους κλαδίσκους όπου εφαρμόστηκε το βακτήριο καταμετρήθηκε ο σχηματισμός φυματίων. Διαπιστώθηκε ότι η ποικιλία Καλαμών ήταν η πλέον ανθεκτική μεταξύ των ποικιλιών ως προς τους δύο μύκητες σε αντίθεση με την Αμφίσση όπου παρατηρήθηκε έντονη αποφύλλωση. Η ποικιλία Αμφίσσης ήταν επίσης η πλέον ευαίσθητη ως προς το βακτήριο *P. savastanoi* pv. *savastanoi*, ενώ η ποικιλία Κορωνέικη ήταν η πλέον ανεκτική στα συγκεκριμένα στελέχη του βακτηρίου υπό τις συγκεκριμένες συνθήκες μόλυνσεως και ανάπτυξης της ασθένειας.

**Προσβολές από το μύκητα *Omphalotus olearius* σε ελαιώνες
του Νομού Μεσσηνίας**

Π. Τσόπελας¹, Α. Παρασκευόπουλος², Ε.Ι. Παπλωματάς³ και Κ. Ελένα⁴

¹ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.-Ινστιτούτο Μεσογειακών Δασικών Οικοσυστημάτων,
Τέρμα Αλκμάνος, 115 28 Αθήνα

²Δ/νση Γεωργίας & Κτηνοτροφίας Τριφυλίας Ν. Μεσσηνίας, 245 00 Κυπαρισσία

³Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

⁴Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά, Αττική

Σε δύο περιοχές του Νομού Μεσσηνίας παρατηρήθηκαν συμπτώματα σηψιρριζίας σε ζώντα δένδρα ελιάς τα οποία είχαν πρόσφατα εκριζωθεί από τον άνεμο καθώς και σε δένδρα που είχαν εκριζωθεί σε ελαιώνες για αλλαγή καλλιέργειας. Δεν υπήρχαν εμφανή συμπτώματα στην κόμη των δένδρων, παρόλο που σε ένα τμήμα του ριζικού συστήματος υπήρχε εκτεταμένη σήψη, η οποία σε κάποιες περιπτώσεις επεκτεινόταν στο υπέργειο τμήμα στη βάση του κορμού. Το ξύλο των ριζών παρουσίαζε συμπτώματα λευκής σήψης, ήταν σπογγώδες και εύθρυπτο χρώματος καστανόλευκου. Από το σηπόμενο ξύλο των ριζών απομονώθηκε ο μύκητας *Omphalotus olearius* (DC.: Fries) Singer. Το μυκήλιο του *O. olearius*, σε malt extract agar εμφάνιζε κιτρινωπό χρώμα και ήταν ετεροκαρυωτικό, όπως διαπιστώθηκε από την παρουσία κρίκων. Η ταυτότητα των απομονώσεων του *O. olearius* επιβεβαιώθηκε σε συζεύξεις με μονόσπορες ομοιοκαρυωτικές απομονώσεις από καρποσώματα του μύκητα. Ο *O. olearius* είχε αναφερθεί στην Ελλάδα ως το αίτιο της ασθένειας Gelatina των ριζών της ελιάς από τον Κουγέα τη δεκαετία του 1960, ωστόσο, στη διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν εκτενείς αναφορές του μύκητα ως παθογόνου. Το Φεβρουάριο του 2004 πραγματοποιήθηκαν μολύνσεις στον κορμό 5-ετών δενδρυλλίων ελιάς, ποικιλίας Κορωνέικη, με μία ετεροκαρυωτική απομόνωση του *O. olearius*. Τρία χρόνια μετά τη μόλυνση τα φυτά δεν παρουσίαζαν κανένα σύμπτωμα στην κόμη, αλλά ο μύκητας είχε επεκταθεί κατά μήκος του κορμού δημιουργώντας μεταχρωματισμό του ξύλου σε μήκος 7-25 cm, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις είχαν δημιουργηθεί μικρά έλκη μήκους 3-4 cm. Ο μύκητας επαναπομονώθηκε σταθερά από το μεταχρωματισμένο ξύλο. Ο *O. olearius* δεν φαίνεται να έχει την ικανότητα να προκαλέσει τη νέκρωση των δένδρων ελιάς, ωστόσο, η σηψιρριζία που προκαλεί έχει άμεση επίδραση στη φυσιολογία των φυτών και στην παραγωγικότητα των ελαιώνων, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να προκληθεί εκρίζωση των προσβεβλημένων δένδρων από τον άνεμο.

ΒΑΚΤΗΡΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

***Pseudomonas viridiflava*: Παθογόνο αίτιο μιας βακτηρίωσης του συγκόνιου (*Syngonium podophyllum*)**

Δ.Ε. Γκούμας, Α.-Μ. Κασελάκη, Χ.Ξ. Γκατζιλιάκης
και Α. Χαλακατεβάκη

Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας,
Τ.Θ. 1939 71004 Ηράκλειο Κρήτης

Το συγκόνιο (*Syngonium podophyllum*) είναι καλλωπιστικό φυτό εσωτερικού και εξωτερικού χώρου. Την άνοιξη του 2007, σε φυτά συγκόνιου που αναπτύσσονταν σε γλάστρες σε θερμοκήπιο του Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Κρήτης στο Ηράκλειο, παρατηρήθηκε έντονη κηλίδωση των φύλλων που σταδιακά προκαλούσε την καταστροφή του φυλλώματος. Η εκδήλωση της ασθένειας αρχίζει με την εμφάνιση υδαρών κηλίδων που συνήθως οριοθετούνται από τις δευτερεύουσες νευρώσεις του ελάσματος του φύλλου. Σταδιακά οι κηλίδες νεκρώνονται, αποκτούν χρώμα τεφρό μέχρι έντονα καστανό – μαύρο. Συχνά η έναρξη της προσβολής αρχίζει από την περιφέρεια του φύλλου και σταδιακά επεκτείνεται προς το εσωτερικό του ελάσματος του φύλλου. Σε συνθήκες υψηλής υγρασίας παρατηρείται γρήγορη καταστροφή του φυλλώματος. Τα προσβεβλημένα φυτά σπάνια καταστρέφονται, όμως η αισθητική τους υποβάθμιση είναι σημαντική. Με βάση το μορφολογικό, βιοχημικό και φυσιολογικό φαινότυπο αλλά και την παθογένεια των βακτηριακών στελεχών που απομονώθηκαν από τους προσβεβλημένους ιστούς, ως το παθογόνο αίτιο της ασθένειας του συγκόνιου ταυτοποιήθηκε το βακτήριο *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder) Dowson.

**Αξιολόγηση ποικιλιών, επιλογών και διασταυρώσεων καρυδιάς
ως προς την ανθεκτικότητα τους στη βακτηρίωση της καρυδιάς
(*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*)**

Ι. Τσιάντος¹, Ι. Βαγγέλας², Χ. Ρούμπος³, Α. Χατζάκη¹, Ι. Ακρίβος⁴
και Φ. Γραβάνης²

¹ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών Βόλου, 38 001, Βόλος

²Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Λάρισας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής,
41 110 Λάρισα

³Κέντρο Έρευνας, Τεχνολογίας και Ανάπτυξης Θεσσαλίας (Κ.Ε.ΤΕ.Α.Θ.), Ινστιτούτο
Τεχνολογίας και Διαχείρισης Αγροοικοσυστημάτων (Ι.ΤΕ.Δ.Α.), 38 500 Βόλος

⁴ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Σταθμός Γεωργικής Έρευνας Βαρδατών, Βαρδάτες

Σε εργαστηριακά πειράματα που πραγματοποιήθηκαν τα έτη 2007 και 2008 αξιολογήθηκαν 33 ποικιλίες (16 πλαγιοκαρπες και 17 ακρόκαρπες), 12 επιλογές και 13 διασταυρώσεις καρυδιάς (*Juglans regia* L.) ως προς την ανθεκτικότητα τους στη βακτηρίωση της καρυδιάς (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*). Καρποί οι οποίοι συλλέχθηκαν το δεύτερο δεκαήμερο του Ιουνίου μολύνθηκαν στο εργαστήριο με μίγμα 4 απομονώσεων του βακτηρίου *X. arboricola* pv. *juglandis* με συγκέντρωση $1-2 \times 10^7$ cfu/ml. Οι τεχνητές μολύνσεις με το βακτήριο έγιναν σε καρύδια με διάμετρο 2-4 εκ. με σύριγγα. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν καρύδια με μεταχείριση με αποστειρωμένο νερό. Όλες οι μεταχειρίσεις επωάστηκαν σε θαλάμους με συνθήκες υψηλής υγρασίας και θερμοκρασία 25 °C για 2 εβδομάδες. Στο τέλος της επώασης αξιολογήθηκε η ένταση των συμπτωμάτων του βακτηρίου στους καρπούς σε κλίμακα από 0 έως 5 (0: υγιείς, 5: έντονα μολυσμένοι καρποί αντίστοιχα). Σε όλες τις περιπτώσεις οι μολυσμένοι καρποί εμφάνισαν χαρακτηριστικά συμπτώματα προσβολής από το βακτήριο σε σχέση με τους μάρτυρες ενώ ήταν δυνατή η απομόνωση του βακτηρίου από τα μολυσμένα καρύδια σε εκλεκτικό υπόστρωμα (Brilliant cresyl blue-starch medium). Τα αποτελέσματα των πειραμάτων έδειξαν ότι οι καρποί των πλαγιοκαρπων ποικιλιών Amigo και Ηλιόνα καθώς και της επιλογής EK-1 εμφάνισαν μικρή ευπάθεια στις τεχνητές μολύνσεις με το βακτήριο *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*.

**Διερεύνηση της φαινοτυπικής και γενετικής παραλλακτικότητας
ελληνικών απομονώσεων των πηκτινολυτικών βακτηρίων
Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* και *Dickeya* spp.**

Μ.Κ. Χολέβα, Β. Δημητρουλοπούλου και Ν. Πλατυπόδης

Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας,
Εργαστήριο Βακτηριολογίας, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά

Οι υγρές βακτηριακές σήψεις της πατάτας αποτελούν σοβαρό πρόβλημα στη χώρα μας αλλά και διεθνώς. Βάσει εργαστηριακών εξετάσεων που εκτελούνται σε μεγάλο σχετικά αριθμό δειγμάτων ασθενών φυτών και κονδύλων πατάτας στο Εργαστήριο Βακτηριολογίας του Μπενακειού Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, έχει διαπιστωθεί ότι οι σήψεις αυτές οφείλονται κυρίως στα φυτοπαθογόνα βακτήρια *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc) (συν. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) και *Dickeya* spp. (συν. *Erwinia chrysanthemi*) και σπανιότερα στο είδος *Pectobacterium atrosepticum* (συν. *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*). Προκειμένου να διερευνηθεί η φαινοτυπική και γενετική παραλλακτικότητα των ελληνικών πληθυσμών Pcc και *Dickeya*, χρησιμοποιήθηκαν 25 απομονώσεις από το κάθε βακτηριακό είδος, προερχόμενες τόσο από φυτά πατάτας όσο και από άλλους ξενιστές διαφόρων γεωγραφικών περιοχών της Ελλάδας. Μελετήθηκαν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των βακτηριακών αποικιών σε τρία θρεπτικά υποστρώματα, καθώς και η ενζυμική δράση, το μεταβολικό προφίλ και φυσιολογικοί χαρακτήρες των απομονώσεων. Δοκιμές παθογένειας των υπό μελέτη στελεχών σε φυτά και κονδύλους πατάτας είναι υπό εξέλιξη. Ο μοριακός χαρακτηρισμός των απομονώσεων πραγματοποιείται με διερεύνηση, μέσω PCR, της παρουσίας *pel* και *hrp* γονιδίων. Παράλληλα εφαρμόζονται οι μέθοδοι ITS-PCR σε συνδυασμό με RFLP, BOX-PCR, REP-PCR και ERIC-PCR για τον καθορισμό του γενετικού αποτυπώματος των απομονώσεων. Η έρευνα συμβάλλει στη βελτιστοποίηση των μεθόδων διάγνωσης, των μέτρων αντιμετώπισης και στρατηγικών αύξησης της ανθεκτικότητας των φυτών στα ως άνω βακτήρια.

**Πρώτη ανακοίνωση προσβολής φυτών και καρπών καρπουζιάς
από το φυτοπαθογόνο βακτήριο *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*
στην Ελλάδα**

Μ.Κ. Χολέβα, Χ.Δ. Καραφλα, Π.Ε. Γλυνός και Α.Σ. Αλιβιζάτος

Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας,
Εργαστήριο Βακτηριολογίας, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά

Σε δείγματα καρπών καρπουζιάς υβριδίου F₁ Obla, που εστάλησαν στο Εργαστήριο τον Ιούλιο του 2005 από την περιοχή Χρυσούπολης Καβάλας και σε δείγματα καρπών καρπουζιάς επίσης υβριδίου F₁ Obla που εστάλησαν στο Εργαστήριο τον Σεπτέμβριο του 2006 από την περιοχή Βαγίων Θηβών, διαπιστώθηκαν συμπτώματα πολύ μικρών, ακανόνιστων, ελαιωδών κηλίδων και καστανών ρωγμών στην επιφάνεια των καρπών. Το ποσοστό προσβολής των καρπών ήταν υψηλό στην πρώτη περιοχή και στο 30% στη δεύτερη περιοχή, σύμφωνα με τα πληροφοριακά δελτία των δειγμάτων. Τομή των καρπών έδειξε καστανό μεταχρωματισμό του φλοιού, διαβρεγμένη περιοχή κάτωθι των κηλίδων και πλήρη κατάρρευση υπό μορφή υδατώδους σήψης της σάρκας των καρπών. Από τους ασθενείς ιστούς των κηλίδων και ρωγμών αποκτήθηκαν καθαρές καλλιέργειες ενός βακτηρίου που σύμφωνα με καλλιεργητικές, φυσιολογικές, βιοχημικές δοκιμές και δοκιμές παθογένειας ταυτοποιήθηκαν ως απομονώσεις του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac). Σε σχετικές δοκιμές παθογένειας διαπιστώθηκε ευπάθεια στο βακτήριο αυτό φυταρίων καρπουζιάς, πεπονιάς, αγγουριάς και κολοκυθιάς. Ακολούθως το Μάιο του 2008, σε δείγμα εμβολιασμένων φυτών καρπουζιάς υβριδίου F₁ Byblos που εστάλη στο Εργαστήριο προερχόμενο από φυτώριο στην περιοχή Βάρδας Ηλείας, διαπιστώθηκαν συμπτώματα καστανών, σχεδόν γωνιωδών νεκρωτικών κηλίδων και μεγαλύτερων νεκρωτικών περιοχών στα φύλλα των νεαρών φυτών. Η προσβολή ήταν σοβαρή και αφορούσε το 50% των φυτών του φυτωρίου, σύμφωνα με το πληροφοριακό δελτίο του δείγματος. Μικροσκοπική εξέταση ασθενών ιστών έδειξε την έξοδο μεγάλου αριθμού βακτηρίων. Από τους ασθενείς ιστούς των κηλίδων αποκτήθηκαν καθαρές καλλιέργειες ενός βακτηρίου που ταυτοποιήθηκαν ως Aac, σύμφωνα με καλλιεργητικές, φυσιολογικές, βιοχημικές, ανοσολογικές και μοριακές δοκιμές καθώς και δοκιμές παθογένειας σε καρπούς και φυτά διάφορων κολοκυνθοειδών. Αυτή είναι η πρώτη ανακοίνωση διαπίστωσης προσβολής καρπών και φυτών καρπουζιάς στην Ελλάδα από το βακτήριο Aac.

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΞΕΝΙΣΤΗ- ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ

Ανακάλυψη νέων γενετικών ρυθμιστών της αντίδρασης υπερευαισθησίας των φυτών με βάση τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο - απόπτωση των θηλαστικών

Σ.Δ. Κουντούρη¹, T. Ludersdorfer², J.D.G. Jones²
και Δ.Ι. Τσιτσιγιάννη^{1,2}

¹Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

²The Sainsbury Laboratory, John Innes Centre, Norwich NR4 7UH, United Kingdom

Σκοπός της εργασίας είναι ο προσδιορισμός νέων γενετικών ρυθμιστών της αντίδρασης υπερευαισθησίας – ΑΥ (Hypersensitive Response) των φυτών που αποτελεί μια μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου και έχει κοινά γνωρίσματα με την απόπτωση που συμβαίνει στα θηλαστικά. Η ΑΥ χαρακτηρίζεται από ταχύτατο θάνατο των κυττάρων του φυτού-ξενιστή και εκδηλώνεται κατά την είσοδο διαφόρων παθογόνων στους φυτικούς ιστούς. Έρευνες των τελευταίων χρόνων έχουν αποδείξει την ύπαρξη κοινών βιοχημικών μονοπατιών του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου ή απόπτωσης μεταξύ φυτικών, ζωικών και μικροβιακών κυττάρων. Η προσέγγισή μας ήταν η λεπτομερής γενετική και βιοπληροφορική ανάλυση του γενόματος του Σταυρανθούς *Arabidopsis thaliana* για την εύρεση ορθόλογων γονιδίων των θηλαστικών που είναι γνωστό ότι υπεισέρχονται στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Μια σειρά νέων γονιδίων που πιθανόν εμπλέκονται στο κυτταρικό θάνατο και στην ευαισθησία της *Arabidopsis thaliana* στα παθογόνα εντοπίστηκαν. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε ο ρόλος των ορθόλογων γονιδίων της πρωτεΐνης των θηλαστικών AIF (Apoptosis Inducing Factor) που παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην απόπτωση. Η AIF των θηλαστικών είναι μια 57 kDa φλαβοπρωτεΐνη, η οποία διαθέτει συντηρημένες περιοχές και ομοιότητες με οξειδοοξειδωτικές των βακτηρίων, μυκήτων και φυτών. Η Αραβίδωση διαθέτει στο γένωμα της 5 ορθόλογα γονίδια της AIF, τα οποία ονομάστηκαν At-AIF-1, At-AIF-2, At-AIF-3, At-AIF-4 και At-AIF-5. Έγινε γονοτυπικός χαρακτηρισμός των μεταλλαγμένων με ένθεση του T-DNA σειρών της Αραβίδωσης όπου τα γονίδια At-AIF-2, At-AIF-3, και At-AIF-5 έχουν αδρανοποιηθεί και ελέγχθηκε η ικανότητα ανταπόκρισής τους στην αντίδραση υπερευαισθησίας και στην ευαισθησία τους σε μια σειρά παθογόνων όπως *Hyaloperonospora arabidopsis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 και *Verticillium dahliae* f.sp. *raphani*. Θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα ευαισθησίας/ανθεκτικότητας των σειρών αυτών στα διάφορα παθογόνα.

**Ανακάλυψη των πρωτεϊνικού συμπλόκου της F-box πρωτεΐνης
ACF1 και διερεύνηση του ρόλου του
στην ανθεκτικότητα των φυτών στις ασθένειες**

M.X. Παναγιωτοπούλου¹, T. Ludersdorfer², H.A. van den Burg^{2,3},
J.D.G. Jones² και Δ.Ι. Τσιτσιγιάννης^{1,2}

¹Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

²The Sainsbury Laboratory, John Innes Centre, Norwich NR4 7UH, United Kingdom

³Plant Pathology, Swammerdam Institute for Life Sciences, Universiteit van Amsterdam,
1089 SM Amsterdam, The Netherlands

Η F-box πρωτεΐνη ACF1 εκφράζεται στα φυτικά κύτταρα μέσα στα 30 πρώτα λεπτά από την αναγνώριση του συμπλόκου της πρωτεΐνης αμολυσματικότητας Avr9 του μύκητα *Cladosporium fulvum* και του υποδοχέα (πρωτεΐνη ανθεκτικότητας) Cf9 της τομάτας. Η ACF1 συμβάλλει στην ενεργοποίηση της αντίδρασης υπερευαισθησίας και στην ευαισθησία έναντι των παθογόνων Tobacco Mosaic Virus (TMV) στον καπνό, *Cladosporium fulvum* και *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* στην τομάτα και *Pseudomonas syringae* pv. *tabacci* στον καπνό. Απενεργοποίηση μέσω του μηχανισμού σίγησης της F-box πρωτεΐνης στον καπνό οδηγεί σε ελάττωση της αντίδρασης υπερευαισθησίας και σημαντική αύξηση της ευαισθησίας του ξενιστού στον TMV όπως αποδείχτηκε συμπτωματολογικά αλλά και με τα αυξημένα επίπεδα της καψιδιακής πρωτεΐνης του ιού στα φυτικά κύτταρα. Ο χαρακτηρισμός των ομόλογων γονιδίων του ACF1 στην Αραβίδοψη, AtSKIP2 and AtFbl16, οδήγησε στο συμπέρασμα ότι και αυτές οι πρωτεΐνες εμπλέκονται στην ενεργοποίηση της αντίδρασης υπερευαισθησίας από μη συμβατές φυλές του ωομύκητα *Hyaloperonospora arabidopsis*. Ο επόμενος σκοπός ήταν να βρεθούν οι πρωτεΐνες-στόχοι που αποικοδομούνται από την ACF1 ή άλλες πιθανές πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν και σχηματίζουν το σύμπλοκο του ACF1 κατά την αναγνώριση παθογόνου-ξενιστή. Με τη βοήθεια του συστήματος των 2-υβριδίων (yeast-2-hybrid) ανακαλύφθηκαν 4 πιθανές πρωτεΐνες-στόχοι: μία Ser/Thr πρωτεϊνική κινάση, ένας Myb μεταγραφικός παράγοντας, ένας bHLH μεταγραφικός παράγοντας και μια πρωτεΐνη με LIM λειτουργική περιοχή (domain). Οι μεταλλάξεις των γονιδίων αυτών (με ένθεση του T-DNA) χαρακτηρίστηκαν στην Αραβίδοψη και οι μεταλλαγμένοι γονότυποι εξετάστηκαν ως προς την ευαισθησία/ανθεκτικότητά τους στα παθογόνα *Hyaloperonospora arabidopsis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 και *Verticillium dahliae* f.sp *raphani* και την ικανότητα επαγωγής της αντίδρασης υπερευαισθησίας. Θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα ευαισθησίας /ανθεκτικότητας των σειρών αυτών στα διάφορα παθογόνα.

**Μεταβολές της λειτουργίας των υποδοχέων *Never ripe* και *LeETR4*
του αιθυλενίου επηρεάζουν την ευπάθεια της τομάτας
στην προσβολή από τον μύκητα *Verticillium dahliae***

Ι.Σ. Παντελίδης, Σ.Ε. Τζάμος και Ε.Ι. Παπλωματάς

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Προηγούμενες πειραματικές εργασίες με φυτά *Arabidopsis* που δεν αντιλαμβάνονται το αιθυλένιο (*etr*), παρουσίασαν μειωμένα συμπτώματα της ασθένειας που προκαλεί ο μύκητας *Verticillium dahliae*. Για την διαπίστωση του ρόλου του γονιδίου *LeETR4*, που κωδικοποιεί υποδοχέα του αιθυλενίου στην τομάτα, δοκιμάστηκε η τεχνολογία της ιϊκά επαγόμενης γονιδιακής σίγησης (VIGS) με τη χρήση του ιού του κροταλίσματος του καπνού (*TRV*) ως φορέα. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε φυτά τομάτας, ποικιλίας Ailsa Craig. Έγινε εμποτισμός υπό κενό του υπέργειου τμήματος των φυτών με μίγμα βακτηριακών κυττάρων *Agrobacterium tumefaciens*, στα οποία είχε κλωνοποιηθεί το γονιδίωμα του *TRV* (RNA1, RNA2 που έφερε τμήμα του γονιδίου *LeETR4*). Η αποτελεσματικότητα της τεχνικής επιβεβαιώθηκε με την καταστολή της έκφρασης του γονιδίου *LePDS* (υπεύθυνο για την βιοσύνθεση καροτενοειδών) που προκάλεσε “λεύκανση” των φύλλων της τομάτας (μίγμα *A. tumefaciens* με RNA1 και RNA2 που έφερε τμήμα του *LePDS*). Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν φυτά που είχαν εμποτιστεί με μίγμα *A. tumefaciens* με το RNA1 και RNA2 του *TRV*. Ακολούθησε απομόνωση RNA από φύλλα τομάτας και δημιουργία cDNA, για τον έλεγχο του επιπέδου έκφρασής του γονιδίου *LeETR4*. Στη συνέχεια, στα ίδια φυτά (*TRV:LeETR4*) καθώς και σε μεταλλαγμένα φυτά *Never ripe* (*Nr* - με απενεργοποιημένους τους υποδοχείς του αιθυλενίου), πραγματοποιήθηκε μόλυνση με ριζοπότισμα κονιδίων *V. dahliae* (10^7 σπόρια/ml), καταγραφή συμπτωμάτων της ασθένειας για 30 ημέρες και δειγματοληψία ιστών τομάτας για απομόνωση DNA και ποσοτικοποίηση του μύκητα με αντιδράσεις Real-time PCR (RT-PCR). Τόσο στα φυτά *Nr* όσο και στα *TRV:LeETR4*, παρατηρήθηκε ότι το ποσοστό ασθένειας ήταν σημαντικά μικρότερο από εκείνο στα φυτά του μάρτυρα. Με τη χρήση της RT-PCR, διαπιστώθηκε ότι η ποσότητα του παθογόνου στα *Nr* και *TRV:LeETR4* φυτά ήταν σημαντικά μικρότερη από ότι στα φυτά του μάρτυρα. Τα πειραματικά δεδομένα καταδεικνύουν τη σημασία του αιθυλενίου στην αλληλεπίδραση των φυτών τομάτας με το μύκητα *V. dahliae*.

Πρωτεΐνες «τελεστές» των φυτοπαθογόνων ως λειτουργικοί δείκτες στην γονιδιωματική ανάλυση και εργαλείο στην βελτίωση της ανθεκτικότητας των φυτών σε ασθένειες

Π.Φ. Σαρρής^{1,2} και Ν.Ι. Πανόπουλος^{1,2}

¹ Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας,
Εργαστήριο Μοριακής Φυτοπαθολογίας και Βιοτεχνολογίας Φυτών,
71004 Ηράκλειο, email: sarrispanos@science.agrool.gr

² Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ιδρύματος Τεχνολογίας και Έρευνας (ΙΤΕ), Ελλάδα, PO Box 1527, 71110 Ηράκλειο

Οι πρωτεΐνες «τελεστές» (effectors) που παράγονται από τα φυτοπαθογόνα (βακτήρια, ιούς και μύκητες), αναγνωρίζονται έπειτα από την έμμεση ή άμεση αλληλεπίδραση τους, με πρωτεΐνες ανθεκτικότητας (R) των φυτών και προκαλούν αποκρίσεις σχετιζόμενες με την άμυνα όπως η αντίδραση υπερευαισθησίας (HR). Η ανικανότητα αναγνώρισης των effectors από τα φυτά ξενιστές έχει ως αποτέλεσμα την επαγωγή ασθενιών. Στην παρούσα μελέτη ερευνούμε τις πιθανές χρήσεις των effectors στη λειτουργική γονιδιωματική ανάλυση. Ως νέο εργαλείο στη συμβατική γενετική βελτίωση για ανθεκτικότητα στις ασθένειες και ως εργαλείο στη φυλογενετική ανάλυση σε είδη αγρονομικού και αγρό-οικολογικού ενδιαφέροντος. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα από την μελέτη πατρικών και θυγατρικών ατόμων από διασταυρώσεις μεταξύ επιλεγμένων ποικιλιών καπνών, με effectors προερχόμενα από βακτήρια και ιούς θα συζητηθούν.

**Φυλογενετική ανάλυση των γονιδίων των συνθετασών
της χιτίνης στους Ωομύκητες**

N. Σκανδάλης^{1,3*}, Z. Σπανού^{1,2}, I. Badreddine², B. Dumas²,
N. Πανόπουλος^{1,3} και A. Bottin²

¹Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, GR-71004, Ηράκλειο Κρήτης
*nskand@imbb.forth.gr

²UMR 5546 CNRS-Université Paul-Sabatier, Pôle de Biotechnologie Végétale,
24 Chemin de Borde-Rouge, BP 42617, Auzeville, F-31326 Castanet-Tolosan, France

³Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ηράκλειο Κρήτης

Οι Ωομύκητες, μια κλάση διπλοειδών ευκαρυωτικών οργανισμών που περιλαμβάνει τα πιο σημαντικά φυτοπαθογόνα, ταξινομούνται για πολλά χρόνια στο Βασίλειο των μυκήτων λόγω ομοιοτήτων σε μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά και στον τρόπο μόλυνσης των ξενιστών τους. Η θεμελιώδης διαφορά μεταξύ ωομυκήτων και «αληθινών» μυκήτων έγκειται στην παρουσία κυτταρίνης και απουσία χιτίνης από το κυτταρικό τους τοίχωμα. Παρόλα αυτά, σε κάποια είδη των τάξεων *Leptomitales* και *Saprolegniales* ανιχνεύτηκε χιτίνη. Σε αυτή την μελέτη παρουσιάζουμε τον εντοπισμό και την κλωνοποίηση δύο cDNAs που κωδικοποιούν πρωτεΐνες ομόλογες με συνθετάσες της χιτίνης (CHS) από τον ωομύκητα *Aphanomyces euteiches*, παθογόνο αίτιο σηψιρριζιών σε πολλά ψυχανθή, από βιβλιοθήκη εκφραζόμενων mRNAs (ESTs) με χρήση μεθόδων βιοπληροφορικής και ανάλυσης κατά Southern. Πλήρους κωδικού μήκους κλώνοι απομονώθηκαν με την χρήση RACE-PCR με cDNA εκμαγείο, έπειτα από επαγωγή με νικκομυκίνη Z κατά τη μόλυνση. Επιπλέον, μια πιθανή CHS αλληλουχία ταυτοποιήθηκε στην *Phytophthora parasitica* (syn. *nicotianae*) var. *nicotianae*, παθογόνο αίτιο σηψιρριζιών σε πολλά φυτικά είδη. Με ενίσχυση μέσω RT-PCR και εκφυλισμένους εκκινητές της κεντρικής και πιο συντηρημένης περιοχής της CHS σε ένα cDNA εκμαγείο και RACE PCR στη συνέχεια, απομονώσαμε το CHS cDNA που παρουσιάζει υψηλή ομολογία με το CHS1 του μύκητα *P. infestans*. Οι παραπάνω CHS αλληλουχίες συγκρίθηκαν σε μια βάση δεδομένων που δημιουργήσαμε και που περιλαμβάνει όλες τις μέχρι τώρα γνωστές CHS αλληλουχίες μυκήτων και ωομυκήτων. Φυλογενετική ανάλυση βασισμένη σε αυτές τις αλληλουχίες υπέδειξε πως η διαφοροποίηση των ωομυκήτων σε δύο μεγάλες διαιρέσεις ως προς τις συνθετάσες της χιτίνης πραγματοποιήθηκε προγενέστερα της γενεαλογικής εξέλιξης των ωομυκήτων, καθώς και ότι οι ωομύκητες ταξινομούνται κοντινότερα -ως προς τα CHS γονίδια- στην κατηγορία 1 των μυκήτων, παρά σε οποιοδήποτε άλλο ευκαρυωτικό οργανισμό.

**Λειτουργική ανάλυση πρωτεϊνών-τελεστών τύπου III
του *Bradyrhizobium japonicum***

Χ. Φωτιάδης και Α. Ταμπακάκη

Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα, email: tampakaki@aaua.gr

Τα εκκριτικά συστήματα τύπου III (T3SSs) των βακτηρίων μεταφέρουν πρωτεΐνες-τελεστές (τελεστές τύπου III) στα ευκαρυωτικά κύτταρα οι οποίες διαταράσσουν το μεταβολισμό του ξενιστή π.χ. καταστέλλουν αποκρίσεις άμυνας του ξενιστή. Οι πρωτεΐνες-τελεστές τύπου III είναι παράγοντες παθογένειας που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση ασθενειών σε ανθρώπους, ζώα και φυτά. Από την άλλη πλευρά, οι ευκαρυωτικοί ξενιστές έχουν αναπτύξει στρατηγικές για να αναγνωρίζουν τις πρωτεΐνες αυτές προκειμένου να αντιλαμβάνονται την παρουσία των βακτηρίων. Τα τελευταία χρόνια, γονιδιωματικές μελέτες έχουν αποκαλύψει την παρουσία T3SSs σε ριζόβια, σε μερικά ενδοσυμβιωτικά και σε μη παθογόνα επιφυτικά βακτήρια.

Στόχος της παρούσας μελέτης είναι η λειτουργική ανάλυση υποψηφίων πρωτεϊνών-τελεστών τύπου III του *Bradyrhizobium japonicum* USDA110. Αρχικά, απομονώθηκαν δύο γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες με μικρή ομοιότητα με την πρωτεΐνη AnrPphB του παθογόνου της φασολιάς *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola. Οι υπό μελέτη πρωτεΐνες-τελεστές μελετήθηκαν ως προς την ικανότητα τους να μεταφέρονται μέσω ενός ετερόλογου εκκριτικού συστήματος τύπου III, καθώς και να επάγουν την αντίδραση υπερευαισθησίας σε φυτά. Μελέτες μεταλλαξιγένεσης των υπό μελέτη γονιδίων συνέβαλαν στον προσδιορισμό των περιοχών των πρωτεϊνών που είναι απαραίτητες για τη μεταφορά τους μέσω του εκκριτικού συστήματος III σε φυτά καθώς και την ικανότητα τους να επάγουν την αντίδραση υπερευαισθησίας.

ΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Κλωνοποίηση και χαρακτηρισμός ήπιας απομόνωσης του ιού της ευλογιάς της δαμασκηνιάς

Ν. Βασιλάκος, Ι. Μαλανδράκη, Α. Παπακωνσταντίνου και Χ. Βαρβέρη

Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας, Εργαστήριο Ιολογίας
Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά

Μια ήπια, μη αφιδομεταδιδόμενη απομόνωση του ιού της ευλογιάς της δαμασκηνιάς (*Plum pox virus*, PPV) προήλθε από την απομόνωση PPV-D-GR με επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών σε μολυσμένα με αυτήν φυτά *Nicotiana benthamiana*. Η ήπια απομόνωση (PPV-B2) πολλαπλασιάζεται σε μικρότερο βαθμό συγκριτικά με τη μητρική απομόνωση PPV-D-GR στους πειραματικούς ξενιστές *N. benthamiana* και *N. clevelandii* και δεν προκαλεί συμπτώματα στον τελευταίο. Ένας κλώνος του πλήρους γονιδιώματος των 9786 νουκλεοτιδίων της PPV-B2 αποκτήθηκε με αντίστροφη μεταγραφή ακολουθούμενη από αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης, εξειδικευμένων για μεγάλου μήκους εκμαγεία (RT-Long Template PCR). Ακολούθησε αλληλούχηση και σύγκριση της ακολουθίας νουκλεοτιδίων μεταξύ της ήπιας απομόνωσης PPV-B2 και της μητρικής που αποκάλυψε την ύπαρξη 14 αντικαταστάσεων αμινοξέων. Από αυτές δύο εντοπίστηκαν στη πρωτεΐνη P1, δύο στη HC-Pro, δύο στη P3, μία στη CI, δύο στη 6K2, τέσσερις στη NIa και μία στην πρωτεΐνη NIb. Ο πιθανός ρόλος των αντικαταστάσεων που βρέθηκαν μεταξύ των PPV-B2 και PPV-D-GR στη διαφορετική συμπτωματολογία, ικανότητα μετάδοσης με αφίδες και συμβατότητα με τον ξενιστή διερευνάται.

**Εξυγίανση εκλεκτών ποικιλιών εσπεριδοειδών στην Ελλάδα
Πρώτα πειραματικά δεδομένα**

Α.Ε. Βολουδάκης¹, Θ. Καπαρή-Ησαΐα², Ε.Μ. Κουτσιουμάρη¹,
Π.Η. Κυριακοπούλου³, Θ. Αγοραστου⁴, Χ. Μαγριπής⁴, Α. Κυριακού²,
Α. Παπαγιάννης² και Σ. Σαμουήλ²

¹ Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού, 11855 Αθήνα

² Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών, Τ.Κ. 22016, 1516, Λευκωσία, Κύπρος

³ τ. Καθηγήτρια, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής
Παραγωγής, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, 11855 Αθήνα

⁴ Δενδροκομικός Σταθμός Πόρου, 18020, Πόρος Τροιζηνίας

Η καλλιέργεια των εσπεριδοειδών στη Χώρα μας, αν και μία από τις βασικές, αντιμετωπίζει σημαντικά ιολογικά προβλήματα τα οποία οφείλονται στη μεγάλη καθυστέρηση εφαρμογής προγράμματος πιστοποίησης του πολλαπλασιαστικού υλικού των εσπεριδοειδών, απηλλαγμένων από εμβολιομεταδιδόμενα παθογόνα (κυρίως ιούς και ιοειδή) και στη λήψη εμβολίων από μητρικά δένδρα αμφιβόλου υγείας. Για το λόγο αυτό, αναπτύχθηκε πρόσφατα ένα πρόγραμμα εξυγίανσεως εκλεκτών ποικιλιών εσπεριδοειδών που καλλιεργούνται στην Ελλάδα, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο του μικροεμβολιασμού *in vitro*. Το πρωτογενές υλικό προέρχεται από το Δενδροκομικό Σταθμό Πόρου και τα φυτώρια Ιωάννη Σταματάκου (Σκάλα Λακωνίας), από δένδρα βοτρυοκάρπου (Shambar, Star Ruby), λεμονιάς (Αδαμοπούλου, Βακάλου, Ζαμπετάκη, Interdonato, Nouvel Athos, Verna), μανταρινιάς (Κλημεντίνη Πόρου, Χιώτικο, Clasuelina, Encore, Marisol, Page, Tardivo di Ciaculli, Κλημεντίνη SRA-63, Nova) και πορτοκαλιάς (Valencia Πόρου, όψιμο ομφαλοφόρο Άργους, Moro, Navelate, Lane late, Salustiana, Valencia Olinda, Navelina, Newhall, Washington navel). Ως υποκείμενα στο μικροεμβολιασμό χρησιμοποιήθηκαν τα τρίπτερα Carrizo citrange, Troyer citrange και CRC 1452 Citrumelo. Μέχρι τώρα, στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών έχουν πραγματοποιηθεί 150 μικροεμβολιασμοί (19 ποικιλίες) από τους οποίους 22 έχουν αναπτύξει βλαστό *in vitro*, ενώ στην Κύπρο η παράλληλη πειραματική διαδικασία έχει προχωρήσει στο στάδιο της αναπτύξεως νεαρών φυταρίων στο θερμοκήπιο (4 φυτά). Ο βιολογικός έλεγχος, απαραίτητο συμπλήρωμα του εργαστηριακού (ELISA, RT-PCR), πιστεύεται ότι θα επιταχυνθεί με την εφαρμογή της νέας *in vitro* διαγνωστικής τεχνικής αντί της χρονοβόρου κλασικής, ώστε να γίνει δυνατή η γρηγορότερη διαπίστωση της απαλλαγής των αξιολογων επιλεγεισών ποικιλιών εσπεριδοειδών από τις αρχικές τους μολύνσεις.

**Συχνότητα εμφάνισης των ιών της νεκρωτικής δακτυλιωτής
κηλίδωσης και του νανισμού των πυρηνοκάρπων
στις αμυγδαλιές της Κύπρου**

I. Γαβριήλ, Θ. Καπαρή-Ησαΐα, Λ. Παπαγιάννης, Σ. Σαμουήλ
και Α. Κυριακού

Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών, Τ.Θ. 22016, 1516 Λευκωσία, Κύπρος

Οι αμυγδαλιές καλλιεργούνται στις ημιορεινές κυρίως, αλλά και σε παράλιες και πεδινές περιοχές της Κύπρου και καλύπτουν έκταση 4979 εκταρίων. Στα πλαίσια του Προγράμματος «Ιώσεις, Εξυγίανση και Μοριακή Ταυτοποίηση Πυρηνοκάρπων στην Κύπρο», το οποίο χρηματοδοτείται από το Ίδρυμα Προώθησης Έρευνας Κύπρου, διενεργήθηκε επισκόπηση για τις ιώσεις που επηρεάζουν τις καλλιέργειες αμυγδαλιάς στη νήσο. Για τον σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες κατά την Άνοιξη και το Καλοκαίρι του 2008 στις κυριότερες περιοχές καλλιέργειας της αμυγδαλιάς. Συνελέγησαν συνολικά 624 δείγματα και ο έλεγχος των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με την ανοσοενζυμική δοκιμή ELISA και τη χρήση πολυκλωνικών αντισωμάτων για την ανίχνευση των ιών της νεκρωτικής δακτυλιωτής κηλίδωσης των πυρηνοκάρπων (*Prunus necrotic ring spot virus*, PNRSV), του νανισμού των πυρηνοκάρπων (*Prune dwarf virus*, PDV), καθώς και του ιού της ευλογιάς της δαμασκηνιάς (*Plum pox virus*, PPV). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι δύο πρώτες ιώσεις, οι οποίες μεταδίδονται με σπόρο, μηχανικά και με γύρη, είναι ευρέως διαδεδομένες στην Κύπρο. Συγκεκριμένα, ο ιός της νεκρωτικής δακτυλιωτής κηλίδωσης των πυρηνοκάρπων (PNRSV) είναι διαδεδομένος σε ποσοστό 54.32 %, ενώ ο ιός του νανισμού των πυρηνοκάρπων (PDV) σε ποσοστό 26.76 %. Όλα τα δείγματα ήταν αρνητικά στην ίωση της ευλογιάς της δαμασκηνιάς (PPV).

Διερεύνηση της αποτελεσματικότητας του acibenzolar-S-methyl κατά του ιού του μωσαϊκού της αγγουριάς σε φυτά τομάτας

Μ. Καλογήρου, Ν. Βασιλάκος, Α. Μαρκέλλου και Χ. Βαρβέρη

Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά

Ο ιός του μωσαϊκού της αγγουριάς (*Cucumber mosaic virus*, CMV) αποτελεί έναν από τους καταστροφικότερους αφιδομεταδιδόμενους ιούς της τομάτας για την αντιμετώπιση του οποίου μόνο προληπτικά και αμφίβολης αποτελεσματικότητας μέτρα μπορούν να εφαρμοστούν. Έχει αναφερθεί ότι επαγωγείς διασυστηματικής ανθεκτικότητας (SAR) των φυτών όπως το acibenzolar-S-methyl (ASM) επηρεάζουν το μεταβολισμό των φυτών αυξάνοντας την ανθεκτικότητά τους και έναντι των ιών. Στην παρούσα εργασία σε πειράματα θερμοκηπίου διερευνήθηκε η δράση του ASM σε φυτά τομάτας έναντι του CMV μετά από μετάδοσή του μηχανικά ή με αφίδες. Η εφαρμογή του ASM (σκεύασμα BION WG 50, 50 mg L⁻¹) έγινε με ψεκασμό είτε άπαξ είτε με εβδομαδιαίες επαναλήψεις. Μια περίπου εβδομάδα μετά την πρώτη εφαρμογή ακολούθησαν οι μεταδόσεις του ιού και τρεις ημέρες αργότερα άρχισε ο συστηματικός έλεγχος των φυτών με ELISA σε τακτά διαστήματα για την ανίχνευσή του. Τρία πειράματα εκτελέστηκαν με μηχανική μετάδοση του CMV και βρέθηκε ότι μια εβδομάδα μετά τη μετάδοση το ποσοστό ασθενών φυτών στην επέμβαση του BION ήταν χαμηλότερο κατά 50-70% από τον μάρτυρα. Όταν εφαρμόστηκε εβδομαδιαίος ψεκασμός με BION η διαφορά μεταξύ επέμβασης και μάρτυρα 22 μέρες μετά τη μηχανική μόλυνση ήταν 85%. Πραγματοποιήθηκαν επίσης δύο πειράματα αφιδομετάδοσης του CMV και στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των επεμβάσεων διαπιστώθηκε σε αυτό που γινόταν εβδομαδιαία εφαρμογή του BION με διαφορά επέμβασης-μάρτυρα 30%, 10 μέρες μετά την αφιδομετάδοση. Τα παραπάνω αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι το BION επάγει διασυστηματική ανθεκτικότητα σε φυτά τομάτας με αποτέλεσμα αυτά να αντιστέκονται σημαντικά έναντι του CMV ακόμη και σε συνθήκες αφιδομετάδοσης του ιού όπως συμβαίνει στη φύση.

Εξυγίανση Πυρηνοκάρπων στην Κύπρο

Θ. Καπαρή-Ησαΐα, Α. Κυριακού, Σ. Σαμουήλ, Λ. Παπαγιάννης
και Ι. Γαβριήλ

Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών, Τ.Κ. 22016, 1516 Λευκωσία, Κύπρος

Το Πρόγραμμα «Ιώσεις, Εξυγίανση και Μοριακή Ταυτοποίηση Πυρηνοκάρπων στην Κύπρο», που χρηματοδοτείται από το Ίδρυμα Προώθησης Έρευνας Κύπρου, έχει σαν κύριο στόχο τη δημιουργία Προβασικής Φυτείας, όπου θα διαφυλάσσεται το υγιές πολλαπλασιαστικό υλικό Πυρηνοκάρπων της Κύπρου. Πολλαπλασιαστικό υλικό προερχόμενο από το μητρικό υλικό πυρηνοκάρπων της νήσου που είναι σήμερα εγκατεστημένο σε τρεις υπαίθριες Μητρικές Φυτείες του Τμήματος Γεωργίας έχει συλλεγεί και εμβολιαστεί σε υγιή σπορόφυτα σε δικτυοκήπιο του Ινστιτούτου Γεωργικών Ερευνών. Περίπου 50 δενδρύλλια έχουν εμβολιαστεί από το πιο πάνω υλικό και περιλαμβάνουν ποικιλίες ροδακινιάς (Royal gold, Spring crest, Red June, Arm King, Suellen crepel, Fail lane, Florida King, Flavour top, Royal April, H. Harley, Bullard's, Φαντασία, Ανεξαρτησία), κερασιάς (Griotte DV Nord, Utah Gial, B. Lapine, B. Reversion), δαμασκηνιάς (Santa Rosa, Stanley, President, Red Beauty, Black Amber, Tende) και βερικοκιάς (Palen, Dixie red, Brecaucia Licia, Μπεμπέκο, Monique). Ιολογικός έλεγχος των πιο πάνω δένδρων έδειξε ότι έξη ποικιλίες ροδακινιάς (Spring crest, Arm King, Fail lane, Florida King, H. Harley), τρεις ποικιλίες κερασιάς (Griotte DV Nord, Utah Gial, B. Reverchon), μία ποικιλία δαμασκηνιάς (Tende), και μία βερικοκιάς (Πάλεν) είναι προσβεβλημένα με ιολογικές ασθένειες. Για εξυγίανση των προσβεβλημένων μητρικών δενδρυλλίων πυρηνοκάρπων άρχισε η μεριστωματική καλλιέργεια τους *in vitro*. Επιπλέον, άρχισε η μεριστωματική καλλιέργεια των ποικιλιών Ρέτσου (αμυγδαλιά) και μιας ποικιλίας παραδοσιακής κυπριακής δαμασκηνιάς, της «φορμόζας».

**Ανίχνευση των ιοειδών του νανισμού του λυκίσκου,
του εξανθηματικού έλκους της απιδιάς και της εσχαρώσεως του
φλοιού του μήλου σε μολυσμένα μηλοειδή και πυρηνόκαρπα
με μοριακό υβριδισμό στην Ελλάδα**

Μ.Σ. Καπώνη^{1,2} και Π.Η. Κυριακοπούλου¹

¹Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα

²Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.), Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας,
Σοφοκλή Βενιζέλου 1, 14123 Λυκόβρυσσ, Αθήνα

Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του μοριακού υβριδισμού για την ανίχνευση των ιοειδών του νανισμού του λυκίσκου (*Hop stunt viroid*, HSVd), του εξανθηματικού έλκους της απιδιάς (*Pear blister canker viroid*, PBCVd) και της εσχαρώσεως του φλοιού του μήλου (*Apple scar skin viroid*, ASSVd) σε μολυσμένα μηλοειδή και πυρηνόκαρπα από διάφορες περιοχές της Χώρας. Ο υβριδισμός διενεργήθηκε σε στυπώματα φυτικών ιστών (imprint hybridization), όπως εγκάρσιες τομές βλαστών, ποδίσκων καρπών, σπερμάτων και τεμαχίων φλοιού καρπών, καθώς και σε στυπώματα κηλίδας (dot blot hybridization) ολικών νουκλεοξέων, φυτικού χυμού και προϊόντων RT-PCR επί θετικά φορτισμένης νάυλον μεμβράνης. Για την εφαρμογή της μεθόδου εφαρμόστηκε ένα τροποποιημένο πρωτόκολλο για υβριδισμό στυπωμάτων φυτών-δεικτών ιοειδών των εσπεριδοειδών (Palacio-Bielsa *et al.*, 1999), χρησιμοποιώντας ανιχνευτές DNA ή RNA των αντιστοιχών ιοειδών σεσημασμένων με διγκοξυγενίνη (DIG-labelled probes), οι οποίοι αποκτήθηκαν από προϊόντα RT-PCR αντίστοιχων ελληνικών ιοειδών. Σε έλεγχο 765 δειγμάτων μηλοειδών και πυρηνοκάρπων, θετικά ήσαν στο PBCVd 76/175 (43%), στο ASSVd 58/251 (23%) και στο HSVd 167/334 (50%). Η μέθοδος αυτή ήταν ακριβής και ευαίσθητη, με καλά αποτελέσματα στους εντός του θερμοκηπίου δείκτες και στα δείγματα αγρού, τα τελευταία με πιθανή μικρότερη συγκέντρωση των ιοειδών-στόχων. Επίσης, η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί στον φυτοϋγειονομικό έλεγχο μεγάλου αριθμού δειγμάτων στην πιστοποίηση φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού.

Μοριακή ανίχνευση και μελέτη της παραλλακτικότητας του ιού της χλωρωτικής κηλίδωσης της μηλιάς (ACLSV) σε αυτοφυή, καλλωπιστικά και καλλιεργούμενα φυτά της οικογένειας *Rosaceae*

Α.Θ. Κατσιάνη¹, Β.Ι. Μαλιόγκα¹, Κ.Ε. Ευθυμίου¹, C. Vovlas²
και Ν.Ι. Κατής¹

¹Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας,

Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, 54 124, Θεσσαλονίκη

²Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata,
Universita degli Studi, 70126 Bari, Italy

Ο ιός της χλωρωτικής κηλίδωσης της μηλιάς (*Apple chlorotic leaf spot virus*, ACLSV) ανήκει στο γένος *Trichovirus* της οικογένειας *Flexiviridae* και προσβάλλει είδη της οικογένειας *Rosaceae*. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν 232 δείγματα καλλωπιστικών, καλλιεργούμενων και αυτοφυών φυτών από διάφορες περιοχές της Ελλάδος για την παρουσία του ιού. Τα δείγματα ελέγχθηκαν με ένθετη RT-PCR χρησιμοποιώντας εκκινητές που εδράζουν στο γονίδιο της καψιδιακής πρωτεΐνης (ΚΠ) του ιού και ενισχύουν ένα προϊόν μήκους 380 ζβ. Ο ACLSV ανιχνεύτηκε σε 77 δείγματα. Ο ιός εντοπίστηκε σε υψηλή συχνότητα στην αμυγδαλιά (88,9%) και ακολουθούσαν η ροδακινιά (63,6%), καλλωπιστική δαμασκηνιά (57,14%), μηλιά (50,0%), *Prunus spinosa* (τσαπουρνιά) (50,0%), καλλωπιστική κυδωνιά (42,10%, δαμασκηνιά (36,0%), κερασιά (32,4%), αχλαδιά (28,6%), αγριοκερασιά (27,3%), *Pyrus amygdaliformis* (γκορτσιά, 21,4%), *Crataegus monogyna* (25,0%), κορομηλιά (11,1%) και τριανταφυλλιά (6,2%) ενώ δεν ανιχνεύτηκε σε δείγματα *Sorbus* sp. Για τη μελέτη της μοριακής παραλλακτικότητας του ACLSV προσδιορίστηκε η νουκλεοτιδική αλληλουχία διαφόρων απομονώσεων χρησιμοποιώντας εκκινητές που ενισχύουν τμήμα του γονιδίου της ΚΠ και την 3' αμετάφραστη περιοχή. Συγκριτική ανάλυση των αλληλουχιών που προσδιορίστηκαν στη μελέτη αυτή με άλλες ήδη δημοσιευμένες έδειξε υψηλά ποσοστά παραλλακτικότητας, που εντοπίζονται κυρίως στην 3' αμετάφραστη περιοχή, και αγγίζουν το 76% σε επίπεδο νουκλεοτιδίων.

Εφαρμογή της μεθόδου "γονιδιακής σίγησης" για την δημιουργία φυτών *Nicotiana benthamiana* ανθεκτικών στην μόλυνση με PPV (plum pox virus): Μελέτη της ανθεκτικότητας στις T1 και T2 γενεές

Δ. Κότσης^{1,2}, Ρ. Χολέβα¹, Κ. Καλαντίδης^{1,2}, Σ. Τζωρτζακάκη²,
Μ. Τάμπλερ και Μ. Τσαγρή^{1,2}

¹Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Τ.Θ. 2208, Βασιλικά Βουτών 71003 Ηράκλειο

²Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, Τ.Θ. 1385, 71110 Ηράκλειο Κρήτης
tsagris@imbb.forth.gr, rodanthi_holeva@yahoo.co.uk

Ο ιός της ευλογίας της δαμασκηνιάς είναι ένας αφιδομεταδιδόμενος ιός, που δημιουργεί σοβαρά προβλήματα στην παραγωγή (ποιότητα και ποσότητα) των πυρηνοκάρπων. Εφαρμόσαμε την στρατηγική της γονιδιακής σίγησης στο μονοετές φυτό μοντέλο *Nicotiana benthamiana*, δημιουργήσαμε διαγονιδιακά φυτά και αξιολογούμε την ανθεκτικότητα των φυτών στην μηχανική μόλυνση με PPV στην T1 και T2 γενιά. Διαγενετικά φυτά κατασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας 2 διαφορετικές πλασμιδιακές κατασκευές, όπως είχε αναφερθεί παλαιότερα σε φυτοπαθολογικό συνέδριο. Η μία περιέχει cDNA που επιτρέπει την παραγωγή μιας "ασυμμετρικής" φουρκέτας του μεταγραφόμενου RNA, από αλληλουχίες του γονιδίου της RNA εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης (Nib). Η κατασκευή αυτή επιτρέπει την μεταγραφή ενδομοριακού διπλόκλωνου RNA από την περιοχή της RNA πολυμεράσης. Η άλλη κατασκευή περιέχει αλληλουχίες του ίδιου γονιδίου σε κατεύθυνση θετικής πολικότητας (sense orientation). Φυτά της T1 και T2 γενιάς, που αποκτήθηκαν μετά από γενετικό μετασχηματισμό με *Agrobacterium tumefaciens* και με τις 2 κατασκευές μολύνθηκαν με 2 στελέχη του ιού, και μελετήθηκε η ανθεκτικότητα τους με παρατήρηση των συμπτωμάτων και με ELISA assays. Θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα της ανθεκτικότητας των σειρών αυτών.

Μοριακή παραλλακτικότητα απομονώσεων του ιού της βοθρίωσης του ξύλου της μηλιάς (*Apple stem pitting virus*, ASPV) από καλλωπιστικά, άγρια και καλλιεργούμενα είδη ξενιστών

M.M. Μαθιουδάκης^{1,2}, T. Candresse³, B.I. Μαλιόγκα², M. Barone⁴,
A. Ragozzino⁴ και N.I. Κατής²

¹Διεύθυνση Αγροτικής Ανάπτυξης Ρεθύμνου, Ρέθυμνο, Κρήτη

²Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269, 54 124 Θεσσαλονίκη

³UMR GDPP, INRA and Université Bordeaux 2, IBVM, Campus INRA,
BP81, F-33883 Villenave d'Ornon Cedex, France

⁴Facoltà di Agraria, Università di Napoli "Federico II", 80055 Portici (NA), Italy

Ο ASPV είναι ιός των γιγαρτόκαρων με παγκόσμια εξάπλωση. Προκαλεί σημαντικές ασθένειες όπως παραμόρφωση των καρπών της κυδωνιάς, επιναστία του Spy 227, λιθίαση της αχλαδιάς και κιτρίνισμα των νεύρων της αχλαδιάς. Κατά τη διάρκεια επισκόπησης στην Ελλάδα, ο ASPV ανιχνεύτηκε στους ξενιστές *Cydonia japonica* (καλλωπιστική Ιαπωνική κυδωνιά), *Pyrus caleriana* (καλλωπιστική αχλαδιά) και *Pyrus amygdaliformis*. Για τη μελέτη της παραλλακτικότητας και φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ απομονώσεων του ASPV από διάφορους ξενιστές, ενισχύθηκαν με PCR τμήματα του γονιδίου της RdRp 12 απομονώσεων του ιού από την Ελλάδα και την Ιταλία. Συγκριτική ανάλυση των αλληλουχιών που αποκτήθηκαν έδειξε υψηλά επίπεδα παραλλακτικότητας με μέσο όρο νουκλεοτιδικής απόκλισης μεταξύ των απομονώσεων 21,3% (μέγιστη παραλλακτικότητα 28,0%). Η φυλογενετική ανάλυση που έγινε με τις αλληλουχίες αμινοξέων επιβεβαίωσε τη στενή συγγένεια της ομάδας απομονώσεων του λανθάνοντα ιού της βερικοκιάς (ALV) με αυτή του ASPV. Με τη χρησιμοποίηση των αλληλουχιών αυτών δεν κατέστη δυνατή η διακριτή ομαδοποίηση των απομονώσεων του ASPV ως προς τη γεωγραφική προέλευση ή τον ξενιστή. Αυτή η πρώτη αναφορά τμήματος του γονιδιώματος απομονώσεων του ASPV από καλλωπιστικά και άγρια είδη ξενιστών αναδεικνύει, σε αντιστοιχία με άλλα μέλη της οικογένειας *Flexiviridae*, ένα υψηλό επίπεδο παραλλακτικότητας του ASPV. Περαιτέρω αλληλούχηση μεγαλύτερων τμημάτων του γονιδιώματος θα επιτρέψει την καλύτερη κατανόηση των παραγόντων που επηρεάζουν τη δομή των πληθυσμών του ASPV.

Εξυγίανση δυο ποικιλιών της αμπέλου από έναν νέο ιό του γένους *Ampelovirus* (GLRaV-Pr) και τον σχετιζόμενο με τη βοθρίωση του κορμού του *Rupestris* ιό 1 (RSPaV-1)

Β.Ι. Μαλιόγκα¹, Φ.Γ. Σκιαδά², Κ. Γρηγοριάδου³, Ε.Π. Ελευθερίου²
και Ν.Ι. Κατής¹

¹ Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας,

Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, 54124 Θεσσαλονίκη

² Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής,
54124 Θεσσαλονίκη

³ Βίτρο Ελλάς Α.Ε. Νησέλι Νομού Ημαθίας, 59300 Αλεξάνδρεια

Ένας νέος ιός (GLRaV-Pr) που σχετίζεται με την ασθένεια συστρόφης των φύλλων της αμπέλου και κατατάσσεται σε μια διακριτή φυλογενετική ομάδα του γένους *Ampelovirus* (οικ. *Closteroviridae*) απομονώθηκε και χαρακτηρίστηκε από ελληνικές ποικιλίες. Στη μελέτη αυτή έγινε προσπάθεια εξυγίανσης δύο οινοποιήσιμων ποικιλιών, της Μαντηλαριάς και του Πρεβεζάνικου, στις οποίες ανιχνεύθηκε ο GLRaV-Pr μαζί με τον RSPaV-1 (οικ. *Flexiviridae*). Η διάγνωση των ιών στα έκφυτα πραγματοποιήθηκε με δοκιμές ένθετης RT-PCR. Η εξυγίανση έγινε με συνδυασμένη εφαρμογή *in vitro* θερμοθεραπείας και καλλιέργειας μεριστωμάτων (<0.2 mm) ή βλαστικών κορυφών (0,5 mm). Στα μεριστώματα το ποσοστό επιβίωσής τους ήταν ιδιαίτερα μικρό (2,5% για το Μαντηλάρι, 0% για το Πρεβεζάνικο), ενώ τα λιγοστά υγιή φυτάρια που προέκυψαν ήταν απαλλαγμένα μόνο από τον GLRaV-Pr. Για το Μαντηλάρι, από το 74,54% των φυτών που επιβίωσαν της θερμοθεραπείας, το 95,12% και το 46,34% των βλαστικών κορυφών ήταν απαλλαγμένα από τους GLRaV-Pr και RSPaV-1, αντίστοιχα. Συνολικά, το 43,90% των νέων φυτών εξυγιάνθηκε και από τους δύο ιούς. Για το Πρεβεζάνικο, από το 82,86% των φυταρίων που επιβίωσαν, το 86,20% ήταν απαλλαγμένο από τον GLRaV-Pr, το 93,10% από τον RSPaV-1 και το 51,70% και από τους δύο ιούς. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την ευκολότερη εξυγίανση των φυτών της αμπέλου από ιούς της οικογένειας *Closteroviridae* σε σχέση με εκείνη του RSPaV-1. Τέλος, φαίνεται ότι η απαλλαγή από τους GLRaV-Pr και RSPaV-1 είναι εφικτή ακόμη και με χρήση μεγαλύτερων τμημάτων φυτικού ιστού όταν συνδυάζεται με *in vitro* θερμοθεραπεία.

Πρώτη αναφορά του ιού της πράσινης ποικιλοχλώρωσης με μωσαϊκό της αγγουριάς (*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV) σε καλλιέργειες καρπουζιάς στην Κύπρο

Λ.Χ. Παπαγιάννης¹, Κ. Πουλλής², Δ. Τσάλτας³ και Ν.Ι. Κατής⁴

¹ Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών Κύπρου, Τ.Θ. 22016, Λευκωσία 1516, Κύπρος

² Τμήμα Γεωργίας, Λευκωσία, Κύπρος

³ Τμήμα Αγροτικής Παραγωγής και Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου

⁴ Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269, 54 124 Θεσσαλονίκη

Η καλλιέργεια της καρπουζιάς αποτελεί μια ιδιαίτερα σημαντική γεωργική ενασχόληση για τις παράκτιες περιοχές της Κύπρου. Το 2006 παρατηρήθηκαν σε καλλιέργειες εμβολιασμένων φυτών καρπουζιάς καστανοί μεταχρωματισμοί (νεκρώσεις) στους ποδίσκους των καρπών καθώς και εσωτερική αποσύνθεση των καρπών. Η συμπτωματολογία των ασθενών φυτών ήταν παρόμοια με αυτή που προκαλεί ο ιός της πράσινης ποικιλοχλώρωσης με μωσαϊκό της αγγουριάς (*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV). Για τη διερεύνηση της αιτιολογίας της ασθένειας συλλέχθηκαν 620 δείγματα από φυτά καρπουζιάς με τυπικά συμπτώματα της ασθένειας από διάφορες επαρχίες της ελεύθερης Κύπρου, ενώ για τη μελέτη του φυσικού εύρους ξενιστών συλλέχθηκαν 1500 αυτοφυή φυτά από προσβεβλημένες καλλιέργειες καρπουζιάς. Επίσης, έγινε έλεγχος 850 σπόρων εμπορικών υποκειμένων κολοκυθιάς, ενώ έγιναν μηχανικές μολύνσεις με φυτικό εκχύλισμα ασθενών φυτών σε φυτάρια καρπουζιάς καθώς και διαφόρων φυτοδεικτών. Για την ανίχνευση του CGMMV χρησιμοποιήθηκε η ανοσοενζυμική δοκιμή DAS-ELISA καθώς και η αντίστροφη μεταγραφή και αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (RT-PCR). Ο CGMMV ανιχνεύτηκε στο σύνολο των φυτών καρπουζιάς με τυπικά συμπτώματα της ασθένειας σε αγρούς της επαρχίας Αμμοχώστου (νοτιοανατολική Κύπρος), καθώς και σε σπόρο υποκειμένων. Επίσης ανιχνεύτηκε σε αυτοφυή φυτά των οικογενειών *Amaranthaceae*, *Cucurbitaceae*, *Malvaceae*, *Chenopodiaceae*, *Solanaceae*, *Boraginaceae*, *Portulacaceae* και *Polygonaceae* τα οποία φύονταν μέσα στις καλλιέργειες. Αυτή είναι η πρώτη αναφορά της ασθένειας στην Κύπρο.

Ανίχνευση του ιού του κίτρινου παραμορφωτικού νανισμού των κολοκυνθοειδών (*Cucurbit yellow stunting disorder virus*, CYSDV) με την αντίστροφη μεταγραφική και την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (RT-TaqMan® PCR)

Α.Χ. Παπαγιάννης¹, S. Hunter², και J.K. Brown²

¹Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών Κύπρου, Τ.Θ. 22016, Λευκωσία 1516, Κύπρος

²Department of Plant Sciences, University of Arizona, Tucson, AZ 85721, USA

Κατά την τελευταία δεκαετία, η ιολογική ασθένεια του κίτρινου παραμορφωτικού νανισμού των κολοκυνθοειδών (*Cucurbit yellow stunting disorder virus*, CYSDV) έχει διαδοθεί σε πολλές περιοχές της υφελίου προκαλώντας σημαντικές οικονομικές απώλειες στις καλλιέργειες αγγουριάς, πεπονιάς και κολοκυθιάς. Τα προσβεβλημένα φυτά εμφανίζουν συμπτώματα ίκτερου και μεσονεύριας χλώρωσης στα φύλλα, νανισμού ενώ έχουν μειωμένη παραγωγή. Ο ιός μεταδίδεται με τον αλευρώδη *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) κατά ημί-έμμονο τρόπο. Η ραγδαία γεωγραφική εξάπλωση της ασθένειας σε περιοχές της Αμερικής και της Μεσογειακής λεκάνης επιβάλλει τον καταρτισμό μιας ολοκληρωμένης προσέγγισης για την αντιμετώπιση του ιού, η οποία στηρίζεται τόσο στον αποτελεσματικό ιολογικό έλεγχο του πολλαπλασιαστικού υλικού όσο και στη μελέτη της επιδημιολογίας του ιού, της αλληλεπίδρασης ιού και φορέα και τη διαλεύκανση του φυσικού εύρους των ξενιστών του ιού. Για το σκοπό αυτό σχεδιάστηκε και αξιολογήθηκε μια νέα μέθοδος ανίχνευσης του ιού που στηρίζεται στα συστήματα αντίστροφης μεταγραφής (RT) και αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (TaqMan® PCR). Η μέθοδος είναι 1000 φορές πιο ευαίσθητη από τις συμβατικές τεχνικές RT-PCR και παρέχει τη δυνατότητα για ανίχνευση του ιού απευθείας από εκχύλισμα φυτικού χυμού, χωρίς να απαιτείται εξαγωγή νουκλεϊνικών οξέων. Η μέθοδος εφαρμόστηκε με επιτυχία για την ταυτοποίηση απομονώσεων του ιού από τις Η.Π.Α (Αριζόνα, Καλιφόρνια, Μεξικό) και τη μεσογειακή λεκάνη (Ελλάδα, Κύπρος, Τουρκία, Ισπανία).

**Μοριακός χαρακτηρισμός απομονώσεων του ιού της Ευλογιάς των
δαμασκηνιάς (*Plum pox virus*, PPV) στην Κύπρο**

Λ.Χ. Παπαγιάννης, Θ. Καπαρή-Ησαΐα, Α. Κυριακού, Τ. Ιακωβίδης,
Σ. Σαμουήλ και Ι. Γαβριήλ

Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών Κύπρου, Τ.Θ. 22016, Λευκωσία 1516, Κύπρος

Ο ιός της ευλογιάς της δαμασκηνιάς (*Plum pox virus*, PPV), παθογόνο αίτιο της ασθένειας της σιάρκας, αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα ιολογικά προβλήματα στις καλλιέργειες πυρηνοκάρπων διεθνώς. Στα πλαίσια του προγράμματος «Ιώσεις, Εξυγίανση και Μοριακή Ταυτοποίηση Πυρηνοκάρπων στην Κύπρο», που χρηματοδοτείται από το Ίδρυμα Προώθησης Έρευνας Κύπρου, έχει ξεκινήσει η μελέτη της συχνότητας εμφάνισης της ασθένειας της σιάρκας και ο χαρακτηρισμός απομονώσεων του ιού στην Κύπρο με τη χρήση μοριακών τεχνικών. Για το σκοπό αυτό έχουν συλλεγεί και ελεγχθεί εργαστηριακά 115 δείγματα από ροδακινιές (*Prunus persica*), βερικοκιές (*Prunus armeniaca*) και δαμασκηνιές (*Prunus domestica*) από διάφορες περιοχές της Κύπρου. Ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε με την αντίστροφη μεταγραφική και αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (RT-PCR) και τη χρήση εξειδικευμένων εκκινητών έναντι των στελεχών M, D και EA του ιού PPV, ενώ παράλληλα εφαρμόστηκε και η RT-PCR πραγματικού χρόνου (Real Time PCR) με την ανάλυση της καμπύλης τήξης του ενισχυμένου προϊόντος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στην Κύπρο είναι ευρέως διαδεδομένο το στέλεχος M του ιού (PPV-M) το οποίο εντοπίστηκε σε 98 δείγματα, ενώ για πρώτη φορά εντοπίστηκε και το στέλεχος D σε 17 δείγματα από καλλιέργειες ροδακινιάς.

**Ιολογικός έλεγχος αμπελώνων Νέας Αγχιάλου Μαγνησίας
για την παραγωγή υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού**

Ι.Χ. Ρούμπος, Ι. Αδαμόπουλος, Α. Χατζάκη και Π. Παπαπέτρου

*Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘΙΑΓΕ), Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών Βόλου,
380 01 Βόλος*

Η Ελλάδα είναι ίσως η μοναδική αμπελουργική χώρα της Ευρώπης και της Μεσογείου Λεκάνης που δεν παράγει ακόμη πιστοποιημένο πολλαπλασιαστικό υλικό γηγενών ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L.). Το πρόβλημα της έλλειψης πιστοποιημένου πολλαπλασιαστικού υλικού ελληνικών ποικιλιών αμπέλου έχει οξυνθεί τα τελευταία χρόνια (ιολογικές και μυκητολογικές ασθένειες). Για την παραγωγή αξιόπιστου από υγειονομικής άποψης πολλαπλασιαστικού υλικού των τοπικών ποικιλιών αμπέλου της Νέας Αγχιάλου Μαγνησίας πραγματοποιήθηκε επί 3 συνεχή έτη (2006-2008) ιολογικός έλεγχος με σκοπό την επισημάνση πρέμνων απαλλαγμένων από πέντε ιούς, ήτοι του ιού του ρυπιδωτού φύλλου της αμπέλου (GFLV), των ιών 1 και 3 που σχετίζονται με το καρούλιασμα των φύλλων της αμπέλου (GLRaV-1 και GLRaV-3), του ιού Α της αμπέλου (GVA) και του ιού της κηλίδωσης της αμπέλου (GFkV). Η επισημάνση των προς εξέταση πρέμνων γινόταν το Σεπτέμβριο κατά την περίοδο της πλήρης ωρίμανσης των σταφυλών σε παραγωγικούς αμπελώνες ηλικίας άνω των 15 ετών. Συνολικά ελέγχθησαν 997 πρέμνα από τις ποικιλίες Ροδίτης, Σαββατιανό και Μοσχάτο Αλεξανδρείας από 21 διαφορετικούς αμπελώνες και βρέθηκαν μόνο 132 πρέμνα απαλλαγμένα από τους ιούς που προαναφέρθηκαν (προσβολή 86,8%). Ο πλέον διαδεδομένος ήταν ο ιός 3 που σχετίζεται με το καρούλιασμα των φύλλων της αμπέλου (490 πρέμνα, 49,1%), ενώ βρέθηκαν 171 (17,1%) πρέμνα προσβλημένα από τον ιό της κηλίδωσης της αμπέλου, 56 (5,6%) πρέμνα από τον ιό 1 που σχετίζεται με το καρούλιασμα των φύλλων της αμπέλου, 37 (3,7%) από τον ιό του ρυπιδωτού φύλλου της αμπέλου και 7 (0,7%) από τον ιό Α της αμπέλου. Τα 132 πρέμνα που βρέθηκαν απαλλαγμένα από τους πέντε ιούς επισημάνθηκαν και θα χρησιμοποιηθούν για τη λήψη εμβολιοφόρων κληματίδων και την παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού της κατηγορίας «Κοινό» (standard). Γενότυποι από τις ποικιλίες που βρέθηκαν απαλλαγμένοι από τους πέντε ιούς, καλλιεργήθηκαν σε ασηπτικά υποστρώματα και διατηρούνται στη Γενετική Τράπεζα Ελληνικών Ποικιλιών Αμπέλου σε Ιστοκαλλιέργεια

**Εξυγίανση της ποικιλίας Αγιωργίτικο (*Vitis vinifera* L.)
από τους ιούς GLRaV-1 και RSPaV-1**

Φ.Γ. Σκιαδά¹, Κ. Γρηγοριάδου², Β.Ι. Μαλιόγκα³, Ν.Ι. Κατής³,
και Ε.Π. Ελευθερίου¹

¹Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής,
54124 Θεσσαλονίκη

²Βίτρο Ελλάς Α.Ε. Νησέλι Νομού Ημαθίας, 59300 Αλεξάνδρεια

³Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, 54124 Θεσσαλονίκη

Το Αγιωργίτικο αποτελεί μία από τις σημαντικότερες ελληνικές οινοποιήσιμες ποικιλίες αμπέλου. Ιολογικός έλεγχος πεδίου που διεξήχθη με ELISA και RT-PCR έδειξε ότι η ποικιλία είναι προσβεβλημένη από το σχετιζόμενο με τη συστροφή των φύλλων της αμπέλου ιό 1 (GLRaV-1) και το σχετιζόμενο με τη βοθρίωση του κορμού του *Rupestris* ιό 1 (RSPaV-1). Η παρουσία αυτών μειώνει την απόδοση της ποικιλίας και η εξάλειψή τους θα συμβάλλει στην αντιμετώπισή τους. Στην παρούσα μελέτη επιχειρήθηκε η παραγωγή πιστοποιημένου πολλαπλασιαστικού υλικού της ποικιλίας Αγιωργίτικο με *in vitro* καλλιέργεια μεριστωμάτων και βλαστικών κορυφών, σε συνδυασμό με θερμοθεραπεία. Η ανίχνευση των ιών έγινε με δοκιμές ένθετης RT-PCR. Ο συνδυασμός της μεριστωματικής καλλιέργειας με τη θερμοθεραπεία είχε ως αποτέλεσμα την απαλλαγή της ποικιλίας και από τους δύο ιούς σε ποσοστό 62%. Το ποσοστό εξυγίανσης για τον GLRaV-1 ήταν υψηλότερο (91,2%) από ό,τι για τον RSPaV-1 (67,6%). Εξυγιασμένα φυτά προέκυψαν και από την καλλιέργεια των βλαστικών κορυφών φυταρίων μετά από θερμοθεραπεία, αλλά το ποσοστό των φυτών που ήταν απαλλαγμένα από τους ιούς ήταν χαμηλότερο (73,8% για τον GLRaV-1 και 50,8% για τον RSPaV-1). Αντίθετα, όσον αφορά την επιβίωση, οι βλαστικές κορυφές υπερτερούν (80,3%) σε σύγκριση με τα μεριστώματα (55,7%). Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την ευκολότερη εξάλειψη των clostero-ιών στο αμπέλι σε σύγκριση με τον RSPaV-1 ενώ η καλλιέργεια κορυφών μετά από θερμοθεραπεία είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική στην ταχεία και μαζική παραγωγή φυτών αμπέλου απαλλαγμένων από τους δύο ιούς.

Χαρακτηρισμός ενός νέου potyvirus από τη βερβένα

I.E. Τζανετάκης¹ και R.R. Martin²

¹Department of Plant Pathology, Univeristy of Arkansas, Fayetteville, AR 72701 USA

²Department of Botany and Plant Pathology and Center for Genome Research and Bioinformatics, Oregon State University, Corvallis, OR, 97331 USA, and Horticultural Crops Research Laboratory, USDA-ARS, Corvallis, OR, 97330 USA
Email: itzaneta@uark.edu

Η βερβένα είναι ένα αγενώς πολλαπλασιαζόμενο καλλωπιστικό φυτό, ευπαθές σε πολλούς ιούς. Ένα φυτό ‘Taylortown Red’ από το Μίσιγκαν εμφάνισε συμπτώματα διαστιγματισμού σε νεαρά φύλλα που μετατρέπονταν σε νεκρωτικές κηλίδες κατά την ωρίμανσή τους, δημιουργώντας υπόνοιες ιικής μόλυνσης. Μετά από αρνητικές διαγνωστικές δοκιμές για αρκετούς γνωστούς ιούς της βερβένα έγινε αντιληπτό ότι το φυτό ‘Taylortown Red’ ήταν μολυσμένο με έναν ή περισσότερους νέους ιούς. Παρακολούθηση μερικώς καθαρισμένων ικών παρασκευασμάτων από την βερβένα στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξε την παρουσία επιμήκους και σφαιρικών σωματιδίων, παρέχοντας τις πρώτες ενδείξεις για πολλαπλή ιική μόλυνση. Ανάλυση διπλής έλικας RNA αποκάλυψε την παρουσία πολλαπλών ζωνών που κυμαίνονται από περίπου μία έως εννέα κιλοβάσεις. Μετά από την κλωνοποίηση και αλληλούχηση της διπλής έλικας RNA έγινε αντιληπτό ότι τρεις ιοί είναι παρόντες στη βερβένα ‘Taylortown Red’: Ένας como-, ένας carla- και ένας potyvirus. Σε αυτή την ανακοίνωση παρουσιάζουμε την πλήρη αλληλουχία νουκλεοτιδίων του νέου potyvirus, που ονομάσαμε Verbena virus Y, μερικό πειραματικό φάσμα των ξενιστών του, πειράματα μετάδοσης με αφίδες και ανάπτυξη μεθόδων για την ανίχνευση του ιού.

Χαρακτηρισμός ενός μολυσματικού κλώνου του *Dulcamara mottle virus* και χιμαιρικών κλώνων με τον *Turnip yellow mosaic virus*

I.E. Τζανετάκης¹ και R.R. Martin² και T.W. Dreher³

¹Department of Plant Pathology, Univeristy of Arkansas, Fayetteville, AR 72701 USA

²Department of Botany and Plant Pathology and Center for Genome Research and Bioinformatics, Oregon State University, Corvallis, OR, 97331 USA, and Horticultural Crops Research Laboratory, USDA-ARS, Corvallis, OR, 97330 USA

³Department of Microbiology and Center for Genome Research and Bioinformatics, Oregon State University, Corvallis, OR, 97331 USA
Email: itzaneta@uark.edu

Ο *Dulcamara mottle virus* (DuMV) είναι μέλος του γένους *Tymovirus*, οικογένεια *Tymoviridae*, και ανακαλύφθηκε περισσότερα από 40 χρόνια πριν σε φυτά *Solanum dulcamara* από τη Μεγάλη Βρετανία. Παρόλο που ο DuMV έχει θεωρηθεί μέλος του γένους *Tymovirus*, προσπάθειες για την αλληλουχία του γονιδιώματος έδειξαν ότι ο ιός έχει ουρά από αδενοσίνες στο 3' τέλος του γονιδιώματος, αντί της τυπικής tRNA δομής άλλων ιών του γένους *Tymovirus*. Αλληλουχήσαμε τον ιό και καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι ο DuMV διαθέτει εσωτερική σειρά αδενοσινών και τον αποδέκτη της tRNA δομής αν και στερείται τα χαρακτηριστικά που επιτρέπουν τη φόρτιση με αμινοξύ. Αναπτύξαμε μολυσματικό κλώνο του του DuMV και αποδείξαμε πως ο ιός πολλαπλασιάζεται με επιτυχία παρά το ασυνήθιστο 3' τέλος. Στη συνέχεια δημιουργήσαμε χίμαιρες μεταξύ του DuMV και του *Turnip yellow mosaic virus* (TYMV) ανταλλάσσοντας την 3' μη μεταφραζόμενη περιοχή (UTR) του γονιδιώματος του DuMV με εκείνη του TYMV και αντιστρόφως. Μία από τις χίμαιρες ήταν σε θέση να πολλαπλασιαστεί αποτελεσματικά στα αρχικώς μολυσμένα φύλλα, αλλά είχε περιορισμένη κυκλοφορία σε άλλες περιοχές του φυτού. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι πολυμεράσες ιών του γένους *Tymovirus* μπορούν να αναγνωρίζουν την ετερόλογη 3'UTR του DuMV και έδειξαν ότι ο γενετικός ανασυνδυασμός είναι εν δυνάμει μηχανισμός για τη δημιουργία νέων ιών στο γένος *Tymovirus*.

Αυτοφυή φυτά της Βόρειας Ελλάδας ως ξενιστές των ιών Y της πατάτας (*Potato virus Y*) και καρουλιάσματος των φύλλων της πατάτας (*Potato leafroll virus*)

Ε.Κ. Χατζηβασιλείου, Τ. Ουβέννι, Ι. Παπαστεργίου και Β. Γιαβαχτσιά

*Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Τμήμα Αγροτικής Ανάπτυξης,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Πανταζίδου 193, 682 00 Ν. Ορεστιάδα*

Καταγράφηκε η παρουσία του ιού Y της πατάτας (*Potato virus Y*, PVY) (γένος *Potyvirus*, οικογένεια *Potyviridae*) και του ιού του καρουλιάσματος των φύλλων της πατάτας (*Potato leafroll virus*, PLRV) (γένος *Polerovirus*, οικογένεια *Luteoviridae*) σε αυτοφυή είδη στη Β. Ελλάδα. Από περιοχές του Κιλκίς και της Ξάνθης, στις οποίες ενδημούν οι υπό μελέτη ιοί, συλλέχθηκαν 905 τυχαία δείγματα αυτοφυών φυτών που αντιπροσωπεύουν 59 είδη, 30 οικογενειών. Τα δείγματα ελέγχθηκαν με δοκιμές ELISA χρησιμοποιώντας μονοκλωνικά και πολυκλωνικά αντισώματα για την ανίχνευση των ιών PVY και PLRV, αντίστοιχα. Ο ιός PVY ανιχνεύθηκε σε 29 είδη, 20 οικογενειών, ενώ ο PLRV σε 19 είδη, 12 οικογενειών. Μεταξύ αυτών, 14 και 17 είδη αποτελούν πιθανούς νέους ξενιστές του PVY και του PLRV, αντίστοιχα. Η οικογένεια *Asteraceae* (*Compositae*) περιλάμβανε τα περισσότερα ευπαθή είδη, τόσο για τον PVY (8 είδη), όσο και για τον PLRV (6 είδη). Ιδιαίτερα υψηλή ήταν η συχνότητα ανίχνευσης του PVY στα είδη *Conium maculatum* και *Erodium ciconium* και του PLRV στα είδη *Convolvulus arvensis* και *Rumex crispus*. Μικτές μολύνσεις των δύο ιών καταγράφηκαν σε δέκα φυτικά είδη και ιδιαίτερα σε φυτά *Stellaria media*. Σε δοκιμές στο εργαστήριο, άπτερα άτομα *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) μετέφεραν ιδιαίτερα αποτελεσματικά τον PVY, τόσο σε φυτά καπνού (*Nicotiana tabacum* L.) ποικιλίας Μπασμά, όσο και σε φυτά *Solanum nigrum* (75%), όταν προσέλαβαν τον ιό από το είδος *S. nigrum*.

**Επίδραση αιθέριων ελαίων φυτών της οικογένειας Lamiaceae
στη μετάδοση του ιού Y της πατάτας (*Potato virus Y*)
από το είδος *Myzus persicae***

Ε.Κ. Χατζηβασιλείου¹, Α.Χ. Κυμπάρης², Σ. Γκαβαλέκα¹,
Ξ. Γεωργίου¹ και Μ. Πολυσίου³

¹ Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Τμήμα Αγροτικής Ανάπτυξης,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Πανταζίδου 193, 682 00 Ν. Ορεστιάδα

² Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Τμήμα Αγροτικής Ανάπτυξης,
Εργαστήριο Οργανικής Χημείας & Βιοχημείας, Πανταζίδου 193, 682 00 Ν. Ορεστιάδα

³ Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Γενικό Τμήμα, Εργαστήριο Χημείας,
Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Διερευνήθηκε η επίδραση αιθέριων ελαίων βασιλικού (*Ocimum basilicum*), μέντας (*Mentha piperita*) και φλισκουνιού (*Mentha pulegium*) (οικογένεια Lamiaceae) στη μετάδοση του ιού Y της πατάτας (*Potato virus Y*, PVY) (γένος *Potyvirus*, οικογένεια Potyviridae) από το είδος *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), σε συνθήκες εργαστηρίου. Τα έλαια παραλήφθηκαν με υδροαπόσταξη και μελετήθηκε η επίδρασή τους στην πρόσληψη και τη μετάδοση του ιού, σε τρεις συγκεντρώσεις (0,01%, 0,1% και 0,5%). Χρησιμοποιήθηκαν φυτά καπνού (*Nicotiana tabacum* L.) ποικ. Μπασμάς και μία νεκρωτική απομόνωση του PVY. Άπτερα άτομα *M. persicae*, προσέλαβαν τον ιό από ασθενή φυτά για 3 λεπτά, έπειτα από νηστεία 3 ωρών. Στις δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν, η μετάδοση του PVY στα φυτά του μάρτυρα κυμάνθηκε από 60% έως 72,5%. Όταν τα έλαια εφαρμόστηκαν στα φυτά πρόσληψης του ιού, η μετάδοση ήταν 45-77,5% για το βασιλικό, 52,5-57,5% για τη μέντα και 62,5-75% για το φλισκούνι. Έπειτα από εφαρμογή των ελαίων στα φυτά μετάδοσης, τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 32,5-37,5% για το βασιλικό, 47,5-60,5% για τη μέντα και 47,5-56,4% για το φλισκούνι. Σημαντικότερη μείωση στη μετάδοση του PVY επέφερε η εφαρμογή του ελαίου του βασιλικού και ιδιαίτερα στη συγκέντρωση 0,5%, ενώ το έλαιο του φλισκουνιού δεν την επηρέασε, σε καμία από τις συγκεντρώσεις στις οποίες εφαρμόστηκε. Η χρωματογραφική ανάλυση των ελαίων έδειξε ότι ο βασιλικός ήταν πλούσιος σε λιναλόλη (45.8%) και μεθυλοκαβικόλη (16.5%), η μέντα σε μινθόνη (39.0%) και μινθόλη (25.9%) και το φλισκούνι σε πουλεγόνη (66.4%) και ισομινθόνη (16.8%). Ενδιαφέρον παρουσιάζει η περαιτέρω μελέτη της επίδρασης των κύριων συστατικών των ελαίων αυτών στη μετάδοση του ιού PVY.

ΜΗ ΠΑΡΑΣΙΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Η έλλειψη Fe μειώνει την ικανότητα αναγωγής του Fe^{III} στις ρίζες και τα φύλλα των υποκειμένων αμπέλου ανεξάρτητα της αντοχής αυτών στη χλώρωση σιδήρου

Χ.Ι. Συμινής και Μ.Ν. Σταυρακάκης

Εργαστήριο Αμπελογιαίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Ιερά Οδός 75, 11855, Αθήνα

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η ικανότητα αναγωγής του Fe^{III} στις ρίζες και τα φύλλα των υποκειμένων αμπέλου *Riparia Gloire* (*V. riparia*) και 140 Ruggeri (*V. berlandieri* x *V. rupestris*), ευαίσθητου και ανθεκτικού στη χλώρωση Fe, αντίστοιχα. Τα φυτά αναπτύχθηκαν σε *in vitro* καλλιέργεια και τα πειράματα για τον προσδιορισμό της αναγωγικής ικανότητας των ριζών έγιναν σε μικρουδροπονικό σύστημα. Η αναγωγική ικανότητα των παρεγχυματικών κυττάρων του φύλλου μετρήθηκε με τη χρησιμοποίηση πρωτοπλάστων οι οποίοι απομονώθηκαν από τα φύλλα φυτών σε *in vitro* καλλιέργεια. Η αναγωγική ικανότητα των ριζών στα φυτά τα οποία αναπτύχθηκαν σε έλλειψη Fe ήταν σημαντικά μειωμένη και στα ίδια επίπεδα στα δύο υποκείμενα αμπέλου σε σχέση με αυτή των φυτών που αναπτύχθηκαν σε επάρκεια Fe. Φυτά τα οποία αναπτύχθηκαν σε έλλειψη Fe αύξησαν σημαντικά την αναγωγική ικανότητα των ριζών αμέσως μετά την τροφοδότηση τους με Fe. Οι πρωτοπλάστες μεσοφύλλου των φυτών τα οποία αναπτύχθηκαν απουσία Fe είχαν μειωμένη αναγωγική ικανότητα και στα δύο υποκείμενα αμπέλου σε σχέση με τους πρωτοπλάστες των φυτών τα οποία αναπτύχθηκαν παρουσία Fe. Η αναγωγική ικανότητα των πρωτοπλάστων μεσοφύλλου από τα φυτά που αναπτύχθηκαν σε επάρκεια Fe ήταν μεγαλύτερη στο υποκείμενο 140 Ruggeri σε σχέση με το *Riparia Gloire*. Τα αποτελέσματα της εργασίας έδειξαν ότι η παρουσία του Fe και όχι η έλλειψη αυτού, όπως σε άλλα φυτικά είδη, αυξάνει την αναγωγική ικανότητα στις ρίζες και στα κύτταρα μεσοφύλλου στα υποκείμενα αμπέλου, ανεξάρτητα της αντοχής αυτών στη χλώρωση Fe.

**Μέθοδος διάγνωσης της θρεπτικής σε άζωτο κατάστασης
του μαρουλιού στον αγρό**

Γ. Τρωγιάνος

*Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας
Εργαστήριο Μη Παρασιτικών Ασθενειών, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά*

Μία εύχρηστη μέθοδο διάγνωσης της θρεπτικής σε άζωτο κατάστασης του μαρουλιού (με ταινίες Merck quant) βαθμονομήθηκε σε τρία πειράματα αζωτούχας λίπανσης. Η μέγιστη απόδοση του μαρουλιού παρατηρήθηκε όταν η μέση συγκέντρωση του νιτρικού αζώτου στο έδαφος ήταν >25 ppm. Προσδιορίστηκε η καμπύλη που περιγράφει τη μεταβολή της άριστης συγκέντρωση του νιτρικού αζώτου στο χυμό από μίσχους με την αύξηση του νωπού βάρους του υπέργειου τμήματος του μαρουλιού. Η συγκέντρωση του νιτρικού αζώτου στο χυμό δεν συσχετίζεται με την αντίστοιχη συγκέντρωσή τους στο έδαφος. Βάσει αυτών των αποτελεσμάτων μία εύχρηστη μέθοδο διάγνωσης της θρεπτικής σε άζωτο κατάστασης στον αγρό προτείνεται.

ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Ταυτοποίηση των κυστογόνων νηματώδων της πατάτας στην Κύπρο με τη μέθοδο RT-PCR

Μ. Χριστοφόρου¹, Α. Παπαγιάννης², Δ. Τσάλας¹, Γ. Νεοφύτου³
και Ν. Ιωάννου¹

¹Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου – Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας
και Επιστήμης Τροφίμων

²Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών

³Υπουργείο Γεωργίας, Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος - Τμήμα Γεωργίας

Οι κυστογόνοι νηματώδεις της πατάτας (ΚΝΠ) του γένους *Globodera* προκαλούν σημαντικές ζημιές στην πατατοκαλλιέργεια της Κύπρου. Η παρούσα μελέτη αποτελεί μέρος ενός ευρύτερου προγράμματος που αποσκοπεί στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των ΚΝΠ με την αξιοποίηση ποικιλιών με ανθεκτικότητα σε συγκεκριμένα είδη/βιότυπους. Σε πρώτο στάδιο έγινε ταυτοποίηση των ειδών ΚΝΠ που επικρατούν στην περιοχή των Κοκκινοχωριών που είναι η κατεξοχήν πατατοπαραγωγός περιοχή του νησιού. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Real-Time PCR), η οποία δίνει πιο γρήγορα και αξιόπιστα αποτελέσματα σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μορφομετρικές μεθόδους. Τα δείγματα εδάφους λήφθηκαν από μολυσμένα αγροτεμάχια που είχαν εντοπιστεί προηγουμένως και περιείχαν περισσότερες από 20 κύστες/100g εδάφους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στην Κύπρο επιβεβαίωσαν ότι στην Κύπρο υπάρχουν δύο είδη ΚΝΠ του γένους *Globodera*, *G. pallida* και *G. rostochiensis*, με το πρώτο να έχει μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης. Οι συντεταγμένες των αγροτεμαχίων προσδιορίστηκαν με τη βοήθεια δορυφορικής συσκευής προσδιορισμού στίγματος (GPS) και χρησιμοποιήθηκαν για τη χαρτογράφηση της προσβολής με τα δύο είδη. Η χρήση ηλεκτρονικών συστημάτων γεωγραφικών πληροφοριών (GIS) θα βοηθήσει στην καλύτερη κατανόηση της διασποράς των ΚΝΠ και στην ορθολογικότερη αντιμετώπιση του προβλήματος με την αξιοποίηση ανθεκτικών ποικιλιών.

ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Αξιολόγηση του μυκητοκτόνου VOLARE από τη Bayer Cropscience στην καταπολέμηση Ωομυκήτων σε καλλιέργειες πατάτας, τομάτας και αγγουριάς στην Ελλάδα

Θ. Βελούκας, Λ. Ντόμπρη, Μ. Παλαιοχωρινός και Α. Αχείμαστου

Bayer CropScience Hellas, Σωρού 18-20, 15125 Μαρούσι, Αθήνα

Το Volare 687,5 SC (62,5 g /L Fluopicolide + 625 g/L Propamocarb hydrochloride) είναι ένα μυκητοκτόνο εξειδικευμένο εναντίον των ωομυκήτων. Εξαιτίας του Fluopicolide που περιέχει, αντιπροσωπεύει μια καινούργια χημική ομάδα αυτή των acyl picolides. Οι λεπτομέρειες για το μηχανισμό δράσης του Fluopicolide είναι ακόμη σε αξιολόγηση αλλά έχει αποδεχτεί πως η δράση του σχετίζεται με τις ειδικές πρωτεΐνες τις Σπεκτρίνες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη δομή – σκελετό του κυτοπλάσματος. Το Volare 687,5 SC, παρέχει υψηλή αποτελεσματικότητα δράσης εναντίον σημαντικών οικονομικά φυτοπαθογόνων ωομυκήτων που είναι υπεύθυνοι για σοβαρές ασθένειες σε καλλιέργειες όπως το αμπέλι, πατάτα, τομάτα, αγγούρι και άλλα κηπευτικά. Από το 2002 μέχρι το 2007 πραγματοποιήθηκαν σε διάφορες περιοχές στην Ελλάδα τα παρακάτω πειράματα : 6 πειράματα αγρού εναντίον του μύκητα *Phytophthora infestans* σε πατάτα, 5 πειράματα αγρού εναντίον του μύκητα *Phytophthora infestans* σε τομάτα και 3 πειράματα θερμοκηπίου εναντίον του μύκητα *Pseudoperonospora cubensis* σε αγγούρι. Χρησιμοποιήθηκε μια μορφή τυποποίησης: EXP 11120A SC (62,5 g /L Fluopicolide + 625 g/L Propamocarb hydrochloride) στην οποία η δραστική ουσία Fluopicolide είναι σε μίγμα με τη δραστική ουσία Propamocarb hydrochloride. Το Volare 687,5 SC εφαρμόστηκε με φυλλοψεκασμό, σε προστατευτικό πρόγραμμα ψεκασμών και με μεσοδιάστημα μεταξύ τους 7-10 ημέρες. Σε όλα τα πειράματα αγρού ακολουθήθηκαν οι αντίστοιχες οδηγίες ΕΡΡΟ, που αφορούν την εγκατάσταση, την εφαρμογή των επεμβάσεων και την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στην Ελλάδα με το μυκητοκτόνο Volare 687,5 SC, με δόσεις εφαρμογής 1,4 L/HA και 1,6 L/HA σε πρόγραμμα ψεκασμών με μεσοδιάστημα 7-8 ημέρες, παρέχεται υψηλή προστασία εναντίον του μύκητα *Phytophthora infestans*. Η δόση εφαρμογής 1,6 L/HA, ενδείκνυται για ευνοϊκές για την ασθένεια συνθήκες. Σχετικά με τα πειράματα εναντίον του μύκητα *Pseudoperonospora cubensis*, παρουσιάστηκε υψηλή πίεση προσβολής και η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε πως το Volare 687,5 SC, στις δόσεις 1,4-1,6 L/HA, με μεσοδιάστημα μεταξύ των ψεκασμών 7-10 ημέρες, παρέχει υψηλή αποτελεσματικότητα καταπολέμησης του μύκητα *Pseudoperonospora cubensis*.

**Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας νέων μυκητοκτόνων
κατά του ωϊδίου (*Leveillula taurica*) σε καλλιέργεια πιπεριάς**

Α.Ι. Βλασακούδης, Α.Χ. Παππάς και Α.Μ. Χα

*Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής
και Αγροτικού Περιβάλλοντος, 384 46 Ν. Ιωνία, Βόλος*

Την περίοδο του θέρους/φθινοπώρου 2006, σε πειραματικό τεχνητών μολύνσεων, στο αγρόκτημα του Βελεστίνου, μελετήθηκε η ανάπτυξη της ασθένειας και αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα 6 μυκητοκτόνων σε καλλιέργεια 3 ποικιλιών πιπεριάς (τύπου Κέρατου, Γεμιστής και Φλωρίνης). Τα φυτά ήταν διατεταγμένα σε σχέδιο τυχαιοποιημένων ομάδων σε 3 επαναλήψεις, με κύρια τεμάχια τις επεμβάσεις μυκητοκτόνων και υποτεμάχια τις ποικιλίες. Πραγματοποιήθηκαν συνολικά 7 τεχνητές μολύνσεις δια ψεκασμού των φυτών με αιώρημα σπορίων του παθογόνου (συγκέντρωσης 20.000-70.000 σπόρια/κ.ε.) σε διαστήματα 3-6 ημερών με αρχή την 9^η Αυγούστου. Έγιναν δύο συνολικά επεμβάσεις με έξι σκευάσματα μυκητοκτόνων σε διάστημα 30 ημερών με αρχή την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων της ασθένειας (25 μέρες από την πρώτη μόλυνση) και στη συνιστώμενη από τον παρασκευαστή δοσολογία. Η αποτελεσματικότητα των επεμβάσεων αξιολογήθηκε με μέτρηση του ποσού της ασθένειας (συχνότητα, ένταση προσβολής) και της παραγωγής (βάρος, αριθμός εμπορεύσιμων καρπών) σε κάθε περίπτωση. Όλες οι επεμβάσεις μυκητοκτόνων μείωσαν τη συχνότητα και την ένταση της ασθένειας με σημαντική διαφορά από το μάρτυρα και στις 3 ποικιλίες πιπεριάς. Τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσαν κατά φθίνουσα σειρά το quinoxifen, azoxystrobin, boscalid+pyraclostrobin, penconazole, spiroxamine και flusilazole. Οι επεμβάσεις με penconazole και boscalid+pyraclostrobin αύξησαν σημαντικά την παραγωγή σε σχέση με το μάρτυρα. Μια τάση μείωσης τόσο του βάρους όσο και του αριθμού εμπορεύσιμων καρπών παρατηρήθηκε στις επεμβάσεις με quinoxifen και flusilazole.

**Επίδραση του βορίου στην μετασυλλεκτική αντοχή
των καρπών ροδακινιάς σε παθογόνα που προκαλούν σήψεις**

Σ. Γκιορτζή, Ν. Αθανασοπούλου, Ο. Βοσνακίδου, Θ. Θωμίδης
και Ν. Καραγιαννίδης

*Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης,
57400 Σίνδος Θεσσαλονίκης*

Η εφαρμογή του συστήματος της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης επιβάλλει τη μείωση των χημικών υπολειμμάτων στους καρπούς, με αποτέλεσμα εναλλακτικές μέθοδοι καταπολέμησης των προσυλλεκτικών σήψεων των καρπών να κρίνονται αναγκαίες. Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η μελέτη της επίδρασης σκευασμάτων βορίου στον έλεγχο των σήψεων των καρπών που οφείλονται σε μύκητες του γένους *Monilinia* και *Rhizopus*. Ωριμα ροδάκινα απολυμάνθηκαν επιφανειακά, αμέσως μετά την συγκομιδή τους, σε διάλυμα οικιακής χλωρίνης (10 %) για 15 λεπτά. Οι καρποί που επρόκειτο να μολυνθούν με κονίδια του μύκητα *Monilinia* sp. εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα Power-B ή Βόρακα, ενώ οι καρποί που επρόκειτο να μολυνθούν με σποριαγγειοσπόρια του μύκητα *Rhizopus* sp. εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα CLAWBOR. Η συλλογή δεδομένων έγινε με καταγραφή του ποσοστού της επιφάνειας του κάθε καρπού που παρουσίασε συμπτώματα σήψης με τη χρήση κλίμακας, 0 = υγιής καρπός και 100 = ολόκληρη η επιφάνεια του καρπού με συμπτώματα σήψης. Αμολύνονται καρποί και καρποί στους οποίους δεν εφαρμόστηκε κανένα από τα σκευάσματα του βορίου χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα σκευάσματα βορίου που δοκιμάστηκαν αύξησαν την αντοχή των καρπών σε σήψεις που οφείλονταν σε μύκητες του γένους *Monilinia* και *Rhizopus*. Επίσης αυξήθηκε και η συγκέντρωση βορίου στους ιστούς των καρπών. Πιθανόν, με σωστή χρήση σκευασμάτων βορίου μπορεί να επιτευχθεί αύξηση της αντοχής των ροδακινιών στις σήψεις. Όμως, κρίνεται ότι δεν μπορεί να επιτευχθεί πλήρης έλεγχος της ασθένειας, χωρίς την εφαρμογή και άλλων μεθόδων, όπως η λήψη μέτρων υγιεινής και η εφαρμογή μυκητοκτόνων σκευασμάτων μικρής υπολειμματικής διάρκειας.

**Επίδραση του χαλκού στη μόλυνση των ξηρών σύκων
από αφλατοξίνες**

Β. Δημόπουλος, Ε. Μανωλοπούλου, Α. Μονάς και Ε. Σουλιώτης

T.E.I. Καλαμάτας, Αντικάλαμος, 241 00 Καλαμάτα

Σύκα της ποικιλίας «τσαπελόσυκα», μολύνθηκαν πάνω στα δέντρα με ένα στέλεχος του μύκητα *Aspergillus flavus*. Η μόλυνση πραγματοποιήθηκε με ψεκασμό αιωρήματος σπορίων του μύκητα σε δύο διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των σύκων, αυτά των "πράσινα με ανοιχτό μάτι" και "κίτρινα". Σε ορισμένες επεμβάσεις, πριν τη μόλυνση, εφαρμόστηκε ένα εμπορικό σκεύασμα οξυχλωριούχου χαλκού. Τα ξηρά σύκα συγκομίζονταν ανά εβδομάδα σε τρία διαφορετικά "χέρια", και ο προσδιορισμός της αφλατοξίνης B1 έγινε με τη μέθοδο ELISA. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στην περίπτωση της μόλυνσης των σύκων στο στάδιο "πράσινο με ανοιχτό μάτι", η περιεκτικότητα σε αφλατοξίνη αυξήθηκε περίπου πέντε φορές από το πρώτο στο τρίτο "χέρι" συγκομιδής. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί με την αποδοχή ότι η αφλατοξίνη παράγεται κυρίως στα ώριμα σύκα και επηρεάζεται από το χρόνο επώασης του μύκητα. Στην περίπτωση της μόλυνσης στο στάδιο "κίτρινα σύκα", η ποσότητα της παραγόμενης αφλατοξίνης ήταν γενικά μικρότερη (με εξαίρεση το πρώτο "χέρι") και παρέμενε σχεδόν σταθερή και στα τρία "χέρια" γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στις υψηλές θερμοκρασίες (>40°C) που επικράτησαν κατά την περίοδο της μόλυνσης, και οι οποίες πιθανά επηρέασαν την παθογόνο δύναμη του μύκητα. Η παρουσία των ιόντων χαλκού, επηρέασε την ποσότητα της παραγόμενης αφλατοξίνης, η οποία σ' όλες τις περιπτώσεις ήταν αυξημένη. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να αποδοθεί στην επίδραση της αντιβακτηριακής δράσης του χαλκού στην ανταγωνιστική επιφυτική μικροχλωρίδα, με αποτέλεσμα την αυξημένη μόλυνση των σύκων από το μύκητα.

**Εξελίζεις στην Ε.Ε. σχετικά με τον καθορισμό Ανωτάτων Ορίων
Υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων
με βάση τον Κανονισμό (ΕΚ) 396/2005**

Μ. Καστανιάς

*Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Γενική Διεύθυνση Φυτικής Παραγωγής,
Διεύθυνση Προστασίας Φυτικής Παραγωγής, Τμήμα Γεωργικών Φαρμάκων,
Συγγρού 150, 17671 Αθήνα*

Οι οδηγίες 76/895/ΕΟΚ, 86/362/ΕΟΚ, 86/363/ΕΟΚ και 90/642/ΕΟΚ που αφορούν τον καθορισμό Ανωτάτων Ορίων Υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων (MRLs) σε οπωροκηπευτικά, σιτηρά, τρόφιμα ζωικής προέλευσης και προϊόντα φυτικής προέλευσης, αντίστοιχα, έχουν τροποποιηθεί ουσιαστικά κατ' επανάληψη. Για λόγους σαφήνειας και απλότητας, οι εν λόγω οδηγίες καταργούνται και αντικαθίστανται από ενιαία νομοθετική πράξη. Η νομοθετική αυτή πράξη αυτή είναι ο Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 396/2005 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 23^{ης} Φεβρουαρίου 2005, για τα MRLs μέσα ή πάνω στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές φυτικής ή ζωικής προέλευσης και για την τροποποίηση της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ του Συμβουλίου (Ε.Ε. L70/16.03.2005). Ως κανονισμός, ο 396/2005 δεν απαιτεί μεταφορά στο εθνικό δίκαιο των Κρατών-Μελών και οι ακριβείς απαιτήσεις του εφαρμόζονται ταυτόχρονα και ενιαία σε όλη την Κοινότητα. Με τον τρόπο αυτό, ο καθορισμός MRLs σε κοινοτικό επίπεδο, λαμβάνοντας πάντα υπόψη την Ορθή Γεωργική Πρακτική, διασφαλίζει την ελεύθερη διακίνηση των εμπορευμάτων, ίσους όρους ανταγωνισμού μεταξύ των Κρατών-Μελών και υψηλό επίπεδο προστασίας του καταναλωτή. Ο Κανονισμός αποτελείται από δέκα κεφάλαια και μία σειρά παραρτημάτων και αναμένεται να τεθεί σε πλήρη εφαρμογή το Σεπτέμβριο 2008. Με βάση τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 396/2005, για τη χορήγηση έγκρισης για τη χρήση ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος, εξετάζεται αν συνεπεία της χρήσης αυτής, πρέπει να καθοριστεί νέο MRL, αν ένα υφιστάμενο MRL των Παραρτημάτων II και III του Κανονισμού χρειάζεται να τροποποιηθεί ή αν η δραστική ουσία πρέπει να περιληφθεί στο Παράρτημα IV του Κανονισμού.

**Πολυετή Ολοκληρωμένα Εθνικά Σχέδια Ελέγχου
στον τομέα των υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων**

Μ. Καστανιάς

*Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Γενική Διεύθυνση Φυτικής Παραγωγής,
Διεύθυνση Προστασίας Φυτικής Παραγωγής, Τμήμα Γεωργικών Φαρμάκων,
Συγγρού 150, 17671 Αθήνα*

Σύμφωνα με τα άρθρα 41-44 του Κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 882/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 29^{ης} Απριλίου 2004, για τη διενέργεια επισήμων ελέγχων της συμμόρφωσης προς τη νομοθεσία περί ζωοτροφών και τροφίμων και προς τους κανόνες για την υγεία και την καλή διαβίωση των ζώων (Ε.Ε. L191/28.05.2004), όσον αφορά τη διασφάλιση της τήρησης των απαιτήσεων της νομοθεσίας περί τροφίμων και ζωοτροφών τα Κράτη-Μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης οργανώνουν το σύστημα επισήμων ελέγχων τους με βάση ολοκληρωμένα πολυετή εθνικά σχέδια, τα οποία καλύπτουν όλα τα στάδια παραγωγής, μεταποίησης και διανομής. Τα σχέδια ελέγχου λαμβάνουν υπόψη κατευθυντήριες γραμμές που καθορίζονται από την Επιτροπή, οι οποίες συνίστανται σε μία συνεκτική, συνολική και ολοκληρωμένη προσέγγιση των επισήμων ελέγχων, βάσει ανάλυσης του βαθμού επικινδυνότητας (risk analysis) και εντοπισμού των σταδίων που παρέχουν αξιόπιστες και αντιπροσωπευτικές πληροφορίες. Οι κατευθυντήριες γραμμές κατάρτισης των σχεδίων περιγράφονται αναλυτικά στην Απόφαση 2007/363/ΕΚ της Επιτροπής. Μέρος των ολοκληρωμένων πολυετών εθνικών σχεδίων ελέγχου αποτελεί ο επίσημος έλεγχος υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται οι βασικές αρχές, οι προτεραιότητες και τα σημεία κλειδιά στη σχεδίαση, συντονισμό και εφαρμογή του.

**Χημική αντιμετώπιση ασθενειών που προκαλούν κηλίδωση των
φύλλων και έλεγχος υπολειμμάτων μυκητοκτόνων
σε θερμοκηπιακή εντός φυτοδοχείων καλλιέργεια σέλινου**

Φ.Α. Μπαλωτή, Β.Κ. Μάμαλη και Α.Χ. Παππάς

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής
και Αγροτικού Περιβάλλοντος, 384 46 Ν. Ιωνία, Βόλος

Την άνοιξη του 2006 σε θερμοκήπιο καλλιέργειας σέλινου σε φυτοδοχεία, διερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα 4 σκευασμάτων μυκητοκτόνων κατά της κηλίδωσης των φύλλων που προκαλείται από τα παθογόνα *Cercospora apii* και *Septoria apiicola*. Τα φυτά ήταν διατεταγμένα σε τυχαιοποιημένες ομάδες 3 επαναλήψεων των 5 φυτοδοχείων για κάθε επέμβαση. Έγιναν συνολικά τρεις ψεκασμοί μυκητοκτόνων σε διαστήματα 15 ημερών και στη συνιστώμενη από τον παρασκευαστή δοσολογία. Μετά από τις δύο πρώτες επεμβάσεις γινόταν τεχνητή μόλυνση των φυτών με αιώρημα σπορίων συγκέντρωσης 10.000 - 50.000 σπόρια /κ.ε. για κάθε παθογόνο. Μετά τη μόλυνση τα φυτά καλύπτονταν για 36 ώρες κάτω από υγρό φύλλο πολυαιθυλενίου και στη συνέχεια διατηρούνταν σε συνθήκες θερμοκηπίου. Η αξιολόγηση της έντασης της προσβολής έγινε σε τρεις περιπτώσεις ανά εβδομαδιαία διαστήματα, με αρχή την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων της ασθένειας στο μάρτυρα, βάσει κλίμακας 1-5. Όλες οι επεμβάσεις μυκητοκτόνων περιόρισαν με σημαντική διαφορά από τον μάρτυρα την ένταση της προσβολής και στις δύο περιπτώσεις παθογόνων. Τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσαν κατά φθίνουσα σειρά το chlorothalonil, azoxystrobin, flusilazole και το μίγμα boscalid+pyraclostrobin. Σε δείγματα φύλλων 15 μέρες μετά από κάθε επέμβαση γινόταν προσδιορισμός υπολειμμάτων chlorothalonil και azoxystrobin με τη χρησιμοποίηση αέριου χρωματογράφου και ανιχνευτή τύπου ECD. Τα υπολείμματα του chlorothalonil ανέρχονταν σε 11.75, 37.86 και 76.08 mg/Kg, ενώ του azoxystrobin ήταν 6.90, 15.10 και 11.50 mg/Kg, μετά τον 1^ο, 2^ο και 3^ο ψεκασμό, αντίστοιχα.

Έλεγχος αποτελεσματικότητας των μυκητοκτόνων pyraclostrobin και boscalid στην αντιμετώπιση ανθεκτικών στα βενζιμιδαζολικά και ανιλινοπυριμιδινικά μυκητοκτόνα στελεχών του *Botrytis cinerea*

Χ.Κ. Μυρεσιώτης, Γ.Α. Μπάρδας και Γ.Σ. Καραογλανίδης

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269, 54124 Θεσσαλονίκη

Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε μυκητοκτόνα αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους περιοριστικούς παράγοντες της χημικής καταπολέμησης της τεφράς σήψης των λαχανικών, που προκαλείται από το μύκητα *Botrytis cinerea*. Η εισαγωγή στη γεωργική πράξη νέων δραστικών ουσιών οι οποίες ελέγχουν αποτελεσματικά τα ανθεκτικά σε άλλες ομάδες μυκητοκτόνων, στελέχη του μύκητα αποτελεί προϋπόθεση για την αποτελεσματική αντιμετώπιση της ασθένειας αλλά και τη διαχείριση της ανθεκτικότητας στα χρησιμοποιούμενα μυκητοκτόνα. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας διερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα καταπολέμησης ανθεκτικών και ευαίσθητων στελεχών του παθογόνου σε βενζιμιδαζολικά και ανιλινοπυριμιδινικά μυκητοκτόνα που επιτυγχάνεται από 2 νέα μυκητοκτόνα, το boscalid και το pyraclostrobin. Η αποτελεσματικότητα των 2 μυκητοκτόνων ελέγχθηκε με τη χρησιμοποίηση 6 απομονώσεων του μύκητα, 2 ανθεκτικών στα βενζιμιδαζολικά μυκητοκτόνα (BENR), 2 ανθεκτικών στα ανιλινοπυριμιδινικά μυκητοκτόνα (ANIR) και 2 απομονώσεων άγριας ευαισθησίας (WTBC). Τόσο το pyraclostrobin όσο και το boscalid, εφαρμοζόμενα στη δόση των 25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ παρείχαν ικανοποιητική αποτελεσματικότητα καταπολέμησης (69-94%) έναντι και των 6 απομονώσεων του μύκητα, ενώ εφαρμοζόμενα στις δόσεις των 50 και 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$, η αποτελεσματικότητα καταπολέμησης ήταν ακόμη υψηλότερη (90-99 %). Η αποτελεσματικότητα ήταν ανεξάρτητη της ευαισθησίας των στελεχών στα μυκητοκτόνα carbendazim και cyprodinil. Αντίθετα, το carbendazim εφαρμοζόμενο στη δόση των 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ απέτυχε να ελέγξει αποτελεσματικά τα ανθεκτικά στα βενζιμιδαζολικά μυκητοκτόνα στελέχη του παθογόνου (αποτελεσματικότητα καταπολέμησης 25-27 %), ενώ αντίστοιχα, το cyprodinil εφαρμοζόμενο στις δόσεις των 50 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ή των 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ απέτυχε να ελέγξει αποτελεσματικά τα ανθεκτικά στα ανιλινοπυριμιδινικά μυκητοκτόνα στελέχη του παθογόνου (αποτελεσματικότητα καταπολέμησης 25-60 %). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι τα μυκητοκτόνα boscalid και pyraclostrobin μπορούν να παίξουν ένα σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση της τεφράς σήψης στα λαχανικά, ενώ επιπλέον μπορούν να συμβάλλουν στη διαχείριση της ανθεκτικότητας που έχει αναπτυχθεί σε άλλες ομάδες χρησιμοποιούμενων μυκητοκτόνων.

**Ευαισθησία απομονώσεων του μύκητα *Botrytis cinerea*
από καλλιέργειες λαχανικών στα μυκητοκτόνα
pyraclostrobin και boscalid**

Χ.Κ. Μυρεσιώτης, Γ.Α. Μπάρδας και Γ.Σ. Καραογλανίδης

*Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269, 54124 Θεσσαλονίκη*

Πενήντα πέντε απομονώσεις του μύκητα *Botrytis cinerea* που συλλέχθηκαν από θερμοκηπιακές καλλιέργειες λαχανικών της Κρήτης χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της ευαισθησίας του παθογόνου σε 2 σχετικά νέα μυκητοκτόνα, το boscalid το οποίο παρεμποδίζει την κυτταρική αναπνοή στη θέση του συμπλόκου II της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων και το pyraclostrobin το οποίο αναστέλλει τη μεταφορά ηλεκτρονίων μεταξύ των κυτοχρωμάτων *b* και *c₁*. Η μέτρηση της ευαισθησίας των απομονώσεων στο boscalid έγινε με βάση την αναστολή τόσο της βλάστησης των σπορίων του μύκητα όσο και της μυκηλιακής του ανάπτυξης ενώ η μέτρηση της ευαισθησίας στο pyraclostrobin έγινε με βάση την αναστολή της βλάστησης των σπορίων. Τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών έδειξαν ότι και για τα 2 μυκητοκτόνα που μελετήθηκαν η κατανομή ευαισθησίας ήταν κανονική. Σε ότι αφορά στο pyraclostrobin η μέση τιμή EC_{50} ήταν $0.033 \mu\text{g ml}^{-1}$, ενώ για το boscalid η μέση τιμή ήταν $2.09 \mu\text{g ml}^{-1}$ για τις μετρήσεις που βασίσθηκαν στην αναστολή της μυκηλιακής ανάπτυξης και $2.14 \mu\text{g ml}^{-1}$ για τις μετρήσεις που βασίσθηκαν στην αναστολή της βλάστησης των σπορίων. Δεν διαπιστώθηκε σχέση διασταυρωτής-ευαισθησίας μεταξύ των 2 μυκητοκτόνων ($r = 0.09$). Επιπλέον δεν διαπιστώθηκε σχέση διασταυρωτής ανθεκτικότητας μεταξύ των δύο μυκητοκτόνων με άλλα βοτρυδιοκτόνα όπως το cyprodinil, pyrimethanil, fenhexamid, fludioxonil και iprodione.

**Επίδραση μυκητοκτόνων στην ανάπτυξη
του μύκητα *Clonostachys rosea* IK726**

Γ. Τζελέπης και Α.Λ. Λαγοπόδη

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269., 54124 Θεσσαλονίκη

Ο μύκητας *Clonostachys rosea* IK726 είναι αποτελεσματικός εναντίον σοβαρών εδαφογενών φυτοπαθογόνων μυκήτων όπως οι *Fusarium oxysporum* f.sp. *culmorum*, *Bipolaris sorokiniana* κ.α. αλλά και φυτοπαθογόνων μυκήτων φυλλώματος όπως οι *Botrytis cinerea*, *Alternaria dauci* κ.α. Σκοπός της εργασίας ήταν να μελετηθεί *in vitro* η επίδραση στην ανάπτυξη του ορισμένων μυκητοκτόνων και να υπολογισθεί η EC_{50} . Χρησιμοποιήθηκαν 13 μυκητοκτόνα από τα οποία τα Fosetyl – Al, Pyraclostrobin, Captan, υδροξείδιο του χαλκού, Propineb, Thiophanate-methyl, Mancozeb, Carbendazim και Boscalid εφαρμόζονται στο φύλλωμα με ψεκασμούς, και τα Thiram, Hymexazole, Previcur και Iprodione που εφαρμόζονται και στο έδαφος με ριζοπότισμα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα πιο δραστικά μυκητοκτόνα ήταν τα Carbendazim και Pyraclostrobin με $EC_{50} = 2 \mu\text{g ml}^{-1}$ και $5 \mu\text{g ml}^{-1}$ αντίστοιχα. Ακολούθησαν τα Thiram και υδροξείδιο του χαλκού με $EC_{50} = 27 \mu\text{g ml}^{-1}$ και $29,7 \mu\text{g ml}^{-1}$ αντίστοιχα και τα Iprodione, Thiophanate-methyl, Captan, Mancozeb, Hymexazole και Propineb με $EC_{50} = 217,5 \mu\text{g ml}^{-1}$, $240 \mu\text{g ml}^{-1}$, $250 \mu\text{g ml}^{-1}$, $320 \mu\text{g ml}^{-1}$, $360 \mu\text{g ml}^{-1}$ και $1300 \mu\text{g ml}^{-1}$ αντίστοιχα. Τα Boscalid και Previcur δεν άσκησαν καμιά επίδραση στη μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα μέχρι και την δόση των $500 \mu\text{g ml}^{-1}$ και $432 \mu\text{g ml}^{-1}$ αντίστοιχα. Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι είναι δυνατή η παράλληλη χρήση μυκητοκτόνων όπως των Hymexazole, Propineb, Iprodione, Mancozeb κ.α. και του *C. rosea* IK726 στην αντιμετώπιση φυτοπαθογόνων μυκήτων σε συστήματα ολοκληρωμένης καταπολέμησης.

**Μια νέα προσέγγιση στην πρόγνωση και χαρτογράφηση
του περονόσπορου της πατάτας στην Κύπρο**

Δ. Τσάλας¹, Λ. Πήττας¹, Γ. Νεοφύτου², Π. Φελλάς², Δ. Χατζημιτσής³,
Α. Λαγός⁴ και Ν. Ιωάννου¹

¹Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου – Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας &
Επιστήμης Τροφίμων

²Υπουργείο Γεωργίας Φυσικών Πόρων & Περιβάλλοντος – Τμήμα Γεωργίας

³Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου – Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών και Μηχανικών
Γεωπληροφορικής

⁴Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου – Τμήμα Πολυμέσων & Γραφικών Τεχνών

Η πατατοκαλλιέργεια είναι ένας από τους κυριότερους τομείς της αγροτικής οικονομίας στην Κύπρο. Ο περονόσπορος της πατάτας (*Phytophthora infestans*) αποτελεί τη σοβαρότερη μυκητολογική ασθένεια της καλλιέργειας προκαλώντας σημαντικές απώλειες. Η αντιμετώπιση γίνεται με την εφαρμογή προληπτικών ψεκασμών, βάσει προγράμματος που καταρτίζεται εμπειρικά λαμβάνοντας υπόψη τη γενική κατάσταση του καιρού και το στάδιο της καλλιέργειας. Η μέθοδος αυτή δεν είναι πάντοτε αποτελεσματική ενώ πολλές φορές οδηγεί σε υπερβολική εφαρμογή μυκητοκτόνων, με αρνητικές συνέπειες στο περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία. Στα πλαίσια ενός τριετούς ερευνητικού προγράμματος, κατά την καλλιεργητική περίοδο 2007-2008 εγκαταστάθηκε δίκτυο αγρομετεωρολογικών σταθμών στην περιοχή των Κοκκινόχωριών. Με τους σταθμούς αυτούς επιτυγχάνεται ασύρματη μετάδοση των μετεωρολογικών δεδομένων τα οποία αναλύονται με τη χρήση μοντέλων πρόγνωσης. Τα μοντέλα υπολογίζουν τον κίνδυνο εμφάνισης περονόσπορου και προτείνουν συγκεκριμένο πρόγραμμα ψεκασμών. Στόχος είναι να εξευρεθεί το κατάλληλο μοντέλο πρόγνωσης για τον αποτελεσματικό έλεγχο της ασθένειας και τον περιορισμό της χρήσης μυκητοκτόνων. Όλα τα δεδομένα (μετεωρολογικά, πρόγνωση και εμφάνιση της ασθένειας) θα ενσωματωθούν σε γεωγραφικό σύστημα πληροφοριών (GIS) στηριζόμενο σε ελεύθερα προσβάσιμη διαδικτυακή πλατφόρμα. Η πλατφόρμα αυτή αναμένεται να βοηθήσει στη διάχυση των πληροφοριών δίνοντας ταυτόχρονα νέες δυνατότητες στους ερευνητές για εξέλιξη των μοντέλων πρόγνωσης ώστε να προσαρμόζονται στην τοπογραφία και τις άλλες συνθήκες της περιοχής.

Πρωτοβουλία για την ασφαλή χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων - Εκπαίδευση Αγροτών και Επικοινωνία

Φ.Υδραίου¹, Κ. Βησσαρίτη¹, Μ. Ηλιοπούλου¹ και Η. Felber²

¹Ελληνικός Σύνδεσμος Φυτοπροστασίας(Ε.ΣΥ.Φ.) Πατησίων 53 Τ.Κ 104 33 Αθήνα

²Υπεύθυνος του Ευρωπαϊκού προγράμματος

Ο Ελληνικός Σύνδεσμος Φυτοπροστασίας (Ε.ΣΥ.Φ.) στο πλαίσιο του πιλοτικού προγράμματος “Πρωτοβουλία για την ασφαλή χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων” που ξεκίνησε στην Ιεράπετρα το 2005 ετοίμασε πλούσιο εκπαιδευτικό υλικό (φυλλάδιο και DVD) το οποίο χρησιμοποιείται για την εκπαίδευση των αγροτών μέσω του επίσημου οργανισμού ΟΓΕΕΚΑ-Δήμητρα, στοχεύοντας στην ενημέρωση και ευαισθητοποίηση σε θέματα περιβαλλοντικής προστασίας αλλά και χρήσης μέσων ατομικής προστασίας. Επιπλέον για την επίδειξη της ορθής εφαρμογής των φυτοπροστατευτικών προϊόντων και της σωστής επιλογής, χρήσης και αποθήκευσης των μέσων ατομικής προστασίας, ο Ε.ΣΥ.Φ. επιμελήθηκε την δημιουργία 3 πρότυπων θερμοκηπιακών μονάδων εκπαίδευσης στην Κρήτη (Μεσσαρά, Ιεράπετρα, Χανιά) όπου πραγματοποιούνται πρακτικές εκπαιδεύσεις. Το πρόγραμμα επεκτείνεται και στην υπόλοιπη Ελλάδα, αρχίζοντας από θερμοκηπιακές καλλιέργειες στην Κεντρική και Δυτική Ελλάδα, σε ελιές στη Βοιωτία και σε αμπέλια στην Κόρινθο. Στο κομμάτι της επικοινωνίας, δημιουργήθηκαν ραδιοφωνικά-τηλεοπτικά μηνύματα, αφίσες και ενημερωτικά δελτία. Για την άμεση ενημέρωση του κοινού δημιουργήθηκε και ειδική ιστοσελίδα www.safeuse.gr. Επίσης το πρόγραμμα παρουσιάστηκε σε εφημερίδες, συνέδρια, εκθέσεις, ημερίδες, ομάδες αγροτών αλλά και σε επίσημους φορείς όπως το ΥΠΑΑΤ, Εκπαιδευτικά Ιδρύματα και Πανεπιστήμια.

**Πρωτοβουλία για την ασφαλή χρήση των φυτοπροστατευτικών
προϊόντων - Πειραματικό μέρος**

Φ. Υδραίου¹, Κ. Βησσαρίτη¹, Η. Felber², Κ. Μαχαίρα³, Α. Τσακίρακης³
και Π. Αναστασιάδου³

¹Ελληνικός Σύνδεσμος Φυτοπροστασίας(Ε.ΣΥ.Φ.) Πατησίων 53 Τ.Κ 104 33 Αθήνα

²Συντονιστής του Προγράμματος "Πρωτοβουλία για την ασφαλή χρήση των
φυτοπροστατευτικών προϊόντων" στην Ν. Ευρώπη

³Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο,
Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων,
Στ. Δέλτα 8, Τ.Κ. 145 61 Κηφισιά

Το πρόγραμμα "Πρωτοβουλία για την ασφαλή χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων" διεξάγεται από τον Ελληνικό Σύνδεσμο Φυτοπροστασίας (Ε.ΣΥ.Φ.) σε συνεργασία με το Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου (Μ.Φ.Ι.) ενώ χρηματοδοτείται από τον Ευρωπαϊκό Σύνδεσμο Φυτοπροστασίας (Ε.Σ.Ρ.Α.). Ο Ε.ΣΥ.Φ. πραγματοποίησε πειράματα άνεσης χρησιμοποιώντας 4 τύπους βαμβακερής φόρμας. Δύο τύποι εξ' αυτών χρησιμοποιήθηκαν σε πειράματα αγρού για τον προσδιορισμό της έκθεσης ψεκαστών κατά την εφαρμογή φυτοπροστατευτικών προϊόντων και κατόπιν εξετάστηκαν ως προς την περατότητά τους από το Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μ.Φ.Ι. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η φόρμα Resist Spills® είχε την χαμηλότερη περατότητα. Ως εκ τούτου, η φόρμα Resist Spills® στάλθηκε στην Γερμανία και αφού πέρασε με επιτυχία όλα τα τεστ, πιστοποιήθηκε σύμφωνα με το Γερμανικό πρότυπο DIN 32781. Η εν λόγω φόρμα ονομάστηκε ΑΠΙΣ και ήδη πωλείται σε γεωπονικά καταστήματα. Παράλληλα, στην Κρήτη πραγματοποιήθηκαν αντίστοιχες δοκιμές με σύγχρονο εξοπλισμό εφαρμογής (Fumicar) από το Γεωργικό Ινστιτούτο της Γάνδης, τα αποτελέσματα των οποίων έδειξαν μείωση της έκθεσης του χρήστη σε σύγκριση με το κλασσικό πιστόλι ψεκασμού. Το Fumicar, χρησιμοποιείται από παραγωγούς σε περιοχές της Κρήτης. Η παραλλαγή αυτού του ψεκαστικού μέσου, το Novi-F, χρησιμοποιήθηκε σε ανάλογα πειράματα αγρού στην Κρήτη. Οι αναλύσεις των δειγμάτων που συλλέχθηκαν, πραγματοποιήθηκαν από το Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μ.Φ.Ι.

**Αποτελεσματικότητα εναλλακτικών μεταχειρίσεων στην
αντιμετώπιση του *Botrytis cinerea* σε καρπούς πιπεριάς cv. Φλωρίνης**

W.M. Semida¹, E.K. Κουλακιώτη², Α. Κουκουνάρας³
και Ε. Σφακιωτάκης³

1

¹Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Fayoum University, Fayoum, Egypt
E-mail: wsemida@yahoo.com

²Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης,
Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 141, 574 00 Σίνδος, Θεσσαλονίκη
E-mail: lena.kulakioti@gmail.com

³Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή, Εργαστήριο
Δενδροκομίας, Τ. Κ. 540 06, Θεσσαλονίκη,
E- mail: sfakiota@agro.auth.gr

Σκοπός της έρευνας ήταν η μελέτη της αποτελεσματικότητας θερμικών μεταχειρίσεων με ατμό και υποκαπνισμού με οξικό οξύ (AA) στην αντιμετώπιση της σήψης σε εμβολιασμένους με τον μύκητα *Botrytis cinerea* καρπούς πιπεριάς cv. Φλωρίνης. Όλες οι εφαρμοζόμενες μετά τον εμβολιασμό μεταχειρίσεις ανέστειλαν τελείως την προσβολή σε σχέση με τους μάρτυρες. Οι περισσότεροι υποσχόμενες μεταχειρίσεις ήταν εκείνες των 48°C για 15 λεπτά και η ίδια μεταχείριση σε συνδυασμό με υποκαπνισμό με 4 mg/L AA. Αυτές μείωσαν τα επίπεδα της προσβολής κατά 100% τη 12^η ημέρα, σε σύγκριση με τους μάρτυρες, χωρίς να επηρεάσουν την ποιότητα των καρπών. Ζημία των καρπών κατά τη θερμική μεταχείριση παρατηρήθηκε στους 50°C για 15 λεπτά, ως μία ελαφριά κοίλανση της φλούδας πάνω στην επιφάνεια του καρπού. Συμπεραίνεται ότι η θερμική μεταχείριση με ατμό και ο υποκαπνισμός με οξικό οξύ σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις συνιστούν μία αποτελεσματική φυσική μεταχείριση για την αντιμετώπιση του *B. cinerea* σε αποθηκευμένες πιπεριές Φλωρίνης με δυνατότητα εφαρμογής σε εμπορική κλίμακα.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ

Μελέτη της επίδρασης του ανταγωνιστή *Paenibacillus alvei* στην ανάπτυξη του μύκητα *Verticillium dahliae* στα ακρορρίζια φυτών μελιτζάνας με τη χρήση της EGFP τεχνολογίας

Δ.Φ. Αντωνόπουλος, Ε.Ι. Παπλωματάς και Ε.Κ. Τζάμος

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Η μελέτη δυνητικών βιολογικών παραγόντων που επιδρούν στην ανάπτυξη της ασθένειας που οφείλεται στο μύκητα *Verticillium dahliae* ίσως να αποτελεί τον εναλλακτικό τρόπο αντιμετώπισής της. Κατά τη διερεύνηση της *in vivo* αλληλεπίδρασης του αυξητικού ριζοβακτηρίου *Paenibacillus alvei*, στέλεχος K165, με το μετασχηματισμένο με το γόνο *egfp* (enhanced green fluorescent protein, EGFP) εδαφογενή μύκητα *Verticillium dahliae* (*Vd_{EGFP}*) διαπιστώθηκε μέσω παρατηρήσεων στο μικροσκόπιο φθορισμού και εκτίμησης του αντίστοιχου σχετικού φθορισμού μέσω ψηφιακού φθοριζόμετρου, ότι το K165 περιορίζει σημαντικά το ρυθμό αποίκισης και εξάπλωσης του *Vd_{EGFP}* στα ακρορρίζια μελιτζάνας, ποικιλία Black Beauty. Επίσης, η δριμύτητα της βερτισιλλίωσης περιορίστηκε κατά 50% περίπου στα φυτά μελιτζάνας που είχε εφαρμοστεί στο ριζικό τους σύστημα και το K165, σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρας. Στην παρούσα εργασία αξιολογήθηκε η επίδραση του ριζοβακτηρίου K165 στην εξάπλωση της βιομάζας του *Vd_{EGFP}* στα ακρορρίζια ξενιστών, τον πιο δεκτικό ιστό του φυτού για την είσοδο του παθογόνου, βάσει του EGFP βιοδείκτη. Μετασχηματισμός του κάθε ανταγωνιστή, επίσης, με το γόνο *gfp* δύναται να συμβάλλει στη λεπτομερέστερη μελέτη των μηχανισμών βιολογικής αντιμετώπισης εδαφογενών παθογόνων.

**Καταπολέμηση των παθογόνων του καπνού *Rhizoctonia solani*,
Sclerotinia sclerotiorum και *Pythium* sp. στο θερμοκήπιο με Saponins,
Trichoderma viridea και *Streptomyces griseoviridis***

Ξ. Γεωργίου και Α. Μήλα

North Carolina State University
Campus Box 7405, Raleigh, NC, 27695

Στις Η.Π.Α., οι πιο κοινές ασθένειες του καπνού (*Nicotiana tabacum* Solanaceae) στο θερμοκήπιο οφείλονται στα παθογόνα *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp. και *Sclerotinia sclerotiorum*. Για αυτές τις ασθένειες δεν είναι γνωστό να υπάρχουν ανθεκτικές ποικιλίες καπνού, τύπου Virginia. Η χημική καταπολέμηση συνιστάται μόνο για τον *Pythium* sp., ενώ για τις υπόλοιπες ασθένειες επίσημα εγκεκριμένα φυτοφάρμακα δεν υπάρχουν και ούτε αναμένονται σύντομα στις Η.Π.Α. Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης των δυνητικά ανταγωνιστικών μυκήτων *Trichoderma viridea*, στέλεχος KRL-AG2, *Streptomyces griseoviridis*, στέλεχος K61, και η σύγκρισή τους με το αγροχημικό παρασκεύασμα iprodione (Rovtal) κατά των μυκήτων *Sclerotinia sclerotiorum* και *Rhizoctonia solani* AG-4, καθώς επίσης του αγροχημικού Terramaster 4EC και των χημικών ουσιών των σαπωνινών (saponins) κατά του παθογόνου *Pythium* sp. Στην παρούσα μελέτη, μόνο η ασθένεια που οφείλεται στον *S. sclerotiorum* περιορίστηκε σημαντικά από τους ανταγωνιστικούς μύκητες *T. viridea* και *S. griseoviridis*. Απομάκρυνση των φυτικών υπολειμμάτων και αποφυγή δημιουργίας νεκρωτικών κηλίδων στα φυτά καπνού σε συνδυασμό με τα προαναφερθέντα βιολογικά σκευάσματα δύναται να περιορίσουν αυτό το πρόβλημα στα σπορεία καπνού. Αναφορικά για τον *R. solani*, μόνο ο περιορισμός του αρχικού μολύσματος στους δίσκους πολυστερίνης αποτελεί λύση για την αντιμετώπιση της ασθένειας. Τέλος, οι saponins και το Terramaster 4EC κατά του *Pythium* sp. συμβάλλουν στον περιορισμό της ανάπτυξής του. Χρήση saponins για την καταπολέμηση του *Pythium* sp. γίνεται σε συστήματα υδροκαλλιέργειας λαχανοκομικών στην Καλιφόρνια. Ωστόσο, βάση των αποτελεσμάτων της παρούσης μελέτης μόνο το Terramaster 4EC συμβάλλει στην ανάπτυξη καλύτερου ριζικού συστήματος των φυτών καπνού στο σπορείο.

**Γενετικός προσδιορισμός της ανταγωνιστικής δράσης
του βακτηρίου *Pseudomonas fluorescens* X
κατά φυτοπαθογόνων μυκήτων και ωομυκήτων**

Γ. Κρεμμύδας, Ν. Δελημπαλαδάκης και Δ.Γ. Γεωργακόπουλος

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας,
Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Το βακτήριο *Pseudomonas fluorescens* X είναι ικανός βιολογικός ανταγωνιστής έναντι φυτοπαθογόνων μυκήτων και ωομυκήτων που προκαλούν τήξεις φυταρίων στο σακχαρότευτλο και το αγγούρι. Μετά από μεταλλαξογένεση με το μεταθετό στοιχείο Tn5 απομονώθηκαν εννέα μεταλλαγμένα στελέχη τα οποία είχαν χάσει την ικανότητα να καταστέλλουν την ασθένεια τήξεων σε φυτάρια αγγουριού. Από τα μεταλλαγμένα στελέχη, βρέθηκαν έξι διαφορετικά γονίδια με την τεχνική της πλασμιδιακής απελευθέρωσης, τα οποία είναι υπεύθυνα για την ανταγωνιστική δράση του βακτηρίου. Τρία από αυτά (*pqqE*, *pqqD*, *pqqF*) κωδικοποιούν πρωτεΐνες οι οποίες εμπλέκονται στη βιοσύνθεση της πυρρολοκινολινκινόνης (PQQ), ένα κωδικοποιεί την αφυδρογονάση της γλυκόζης, ακόμα ένα έχει μεγάλες ομοιότητες με γονίδιο της κουπίνης και τέλος βρέθηκε ένα γονίδιο που κωδικοποιεί πρωτεΐνη άγνωστης λειτουργίας. Από τα απομονωθέντα γονίδια, μόνο τα *pqqE* και *pqqD* φαίνεται να βρίσκονται κοντά στο γονιδίωμα του βακτηρίου. Τα γονίδια *pqqE*, *pqqD*, *pqqF* και *gcd* φαίνεται να παίζουν ένα διαφορετικό ρόλο στο βακτήριο από αυτόν του καταβολισμού της γλυκόζης, μιας και τα στελέχη που φέρουν τη μετάλλαξη έχουν την ικανότητα ανάπτυξης σε υπόστρωμα με μοναδική πηγή άνθρακα τη γλυκόζη. Η επαναφορά του φαινότυπου άγριου τύπου σε όλα τα μεταλλαγμένα στελέχη επιτεύχθηκε χρησιμοποιώντας τον φορέα έκφρασης pBBR1MCS5 ευρέως φάσματος ξενιστών, στον οποίο κλωνοποιήθηκαν όλα τα γονίδια από τα εννέα μεταλλαγμένα στελέχη. Οι πληροφορίες που προκύπτουν θέτουν τη βάση για την κατανόηση του μηχανισμού δράσης του υπό εξέταση βακτηρίου.

**Επίδραση εδώδιμων επικαλύψεων στην ανάπτυξη
των *Botrytis cinerea* και *Alternaria alternata* σε καρπούς πιπεριάς**

Λ. Κρουλ¹, Ε.Κ. Κουλακιώτη², Κ. Μπυλιαδέρης³ και Ε. Σφακιωτάκης¹

¹Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή,
Εργαστήριο Δενδροκομίας, Τ.Κ. 540 06 Θεσσαλονίκη,
E- mails: ljiljakrulj@yahoo.gr, sfakiota@agro.auth.gr

²Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Σχολή Τεχνολογίας
Γεωπονίας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας,
Τ.Θ. 141, 574 00 Σίνδος, Θεσσαλονίκη, E-mail: lena.kulakiotu@gmail.com

³Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή,
Εργαστήριο Χημείας και Βιοχημείας Τροφίμων, Τ.Κ. 540 06 Θεσσαλονίκη
E-mail: biliader@agro.auth.gr

Η εφαρμογή κηρωτικών ουσιών φυτικής ή ζωικής προέλευσης στα νωπά οπωροκηπευτικά αποτελεί μια νέα προσέγγιση στη μετασυλλεκτική τους μεταχείριση η οποία στοχεύει – μεταξύ άλλων – στην προστασία από μολύνσεις από παθογόνους οργανισμούς που προκαλούν μετασυλλεκτικές σήψεις. Στην παρούσα εργασία δοκιμάστηκαν οι υδροκολοειδείς επικαλύψεις χιτοσάνη και πουλουλάνη, οι γνωστές κηρώδεις ουσίες κερί μελισσών και πρόπολη όπως και το εμπορικό σκεύασμα Pro-long. Η έρευνα εστιάστηκε στην επίδραση των εδώδιμων επικαλύψεων στη μείωση της σήψης, εμβολιασμένων με τους μύκητες *Botrytis cinerea* και *Alternaria alternata* τραυματισμένων ή μη, καρπών πιπεριάς. Η έρευνα έδειξε ότι η εφαρμογή των εδώδιμων επικαλύψεων ήταν αποτελεσματική στην περίπτωση των καρπών που δεν φέρανε τραύματα. Η εφαρμογή του κεριού μελισσών, της χιτοσάνης και της πρόπολης μείωσε το ποσοστό προσβολής από τον *B. cinerea* κατά 87, 75 και 52%, αντίστοιχα, σε σύγκριση με τον μάρτυρα και τη διάμετρο σήψης κατά 88, 80 και 54%, αντίστοιχα. Το ποσοστό προσβολής από τον *A. alternata* στους καρπούς με επικάλυψη πρόπολης και χιτοσάνης μειώθηκε κατά 86 και 79%, αντίστοιχα, σε σύγκριση με τον μάρτυρα, ενώ η διάμετρος σήψης μειώθηκε κατά 95 και 76%, αντίστοιχα.

**Διερεύνηση της δυνατότητας χρήσης δυο φυσικής προέλευσης
μυκητοκτόνων εναντίον της τέφρας σήψης
και του ωιδίου σε κηπευτικά**

Α. Μαρκέλλου¹, Α. Καλαμαράκη¹, Ε. Βλουτόγλου², Β. Μαυροειδή³,
Ε. Τουφεξή^{1,4}, Φ. Καραμαούνα¹, Δ. Λάσκαρης² και Γ. Τρωγιάνος²

¹Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων &
Φυτ/κης, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά

²Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας,
Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά

³ΑΕΙΦΟΡΟΣ Α.Ε., Καρόρη 1, 105 51, Αθήνα

⁴Nafferton Ecological Farming Group (NEFG),
University of Newcastle, Newcastle upon Tyne, UK

Η Ευρωπαϊκή Ένωση υποστηρίζει σήμερα τη χρήση προϊόντων φυτικής προέλευσης ως εναλλακτικά μυκητοκτόνα. Στην παρούσα εργασία, ελέγχθηκε η δράση: α) ενός μίγματος αιθέριων ελαίων ευγενόλης, θυμόλης και γερανιόλης σε μορφή μικροκάψουλας (ETG-4 πειράματα) και β) ενός μίγματος ελαίου από κανόλα και θυμάρι (CT-2 πειράματα), εναντίον της τέφρας σήψης (*Botrytis cinerea*) και του ωιδίου (*Podosphaera xanthii* συν. *Sphaerotheca fuliginea*), σε φυτά τομάτας και κολοκυθιάς θερμοκηπίου αντίστοιχα. Προληπτικές εφαρμογές του ETG σε φυτά τομάτας έδειξαν συνολική αποτελεσματικότητα 30% υπό συνθήκες υψηλής πίεσης προσβολής από τέφρα σήψη (74% προσβεβλημένη φυλλική επιφάνεια στον μάρτυρα, 102 ημέρες μετά τη μεταφύτευση). Όμως όταν το ETG εφαρμόστηκε θεραπευτικά (13.9% προσβεβλημένη φυλλική επιφάνεια), η ένταση της ασθένειας σε φύλλα και καρπούς δεν διαφοροποιήθηκε στατιστικά σημαντικά ($P = 0.05$) σε σχέση με το μάρτυρα. Το μίγμα δεν επηρέασε την παραγωγή του 1^{ου} και 2^{ου} σταυρού της τομάτας καθώς και τη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών (μέθοδοι: TEAC και FRAP) σε καρπούς που συγκομίσθηκαν από φυτά χωρίς τη παρουσία παθογόνου. Από βιοδοκιμές *in vitro* βρέθηκε ότι η συγκέντρωση ETG που παρεμπόδιζε κατά 95% την ανάπτυξη του μυκηλίου του *B. cinerea* ήταν 0,14 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Το μίγμα δεν εμφάνισε αποτελεσματικότητα στο ωίδιο της κολοκυθιάς (φυτά σε γλάστρες) υπό συνθήκες υψηλής πίεσης προσβολής (60% προσβεβλημένη φυλλική επιφάνειας στους μάρτυρες). Το 2^ο φυτικό εκχύλισμα CT προκάλεσε μείωση της έντασης της ασθένειας σε φυτά κολοκυθιάς, περίπου κατά 60% όταν εφαρμόστηκε: α) πριν από την εμφάνιση του ωιδίου και β) μετά την εμφάνιση των πρώτων ορατών συμπτωμάτων (1,5% προσβεβλημένη φυλλική επιφάνεια). Στα δύο αυτά πειράματα η ένταση της προσβολής (% προσβεβλημένη φυλλική επιφάνεια) από ωίδιο στα φυτά μάρτυρες ήταν >50%, 60 ημέρες μετά τη μεταφύτευση.

Βιολογική αντιμετώπιση τριών φυλών του *Colletotrichum lindemuthianum* με ριζοβακτήρια *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 και *Pseudomonas fluorescens* WCS365

Γ.Α. Μπάρδας¹, Α.Α. Λαγοπόδη¹, Κ. Καδογλίδου²,
και Κ. Τζαβέλλα-Κλωνάρη¹

¹Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269, 541 24 Θεσσαλονίκη

²Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας,
Εργαστήριο Γεωργικής Χημείας, Τ.Θ. 251, 541 24 Θεσσαλονίκη

Ο φυτοπαθογόνος μύκητας *Colletotrichum lindemuthianum* αποτελεί το αίτιο της ανθράκωσης, μιας από τις καταστροφικότερες ασθένειες της καλλιέργειας του φασολιού σε παγκόσμιο επίπεδο. Τα βακτηριακά στελέχη *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 και *P. fluorescens* WCS365, δοκιμάστηκαν *in planta* εναντίον τριών φυλών του *C. lindemuthianum* (φυλή 2, 6 και 22). Το βακτήριο *Pseudomonas chlororaphis* PCL 1391 προώθησε την ανάπτυξη των μετρήσιμων βιολογικών χαρακτηριστικών των φυτών τόσο παρουσία όσο και απουσία των φυλών του φυτοπαθογόνου παράγοντα. Τα αποτελέσματα ήταν περισσότερο θεαματικά στην περίπτωση της συνδυασμένης εφαρμογής των δύο βακτηριακών στελεχών. Η εφαρμογή του PCL 1391 είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση της δριμύτητας της προκαλούμενης ασθένειας, ενώ δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές με τη συνδυασμένη εφαρμογή με το WCS365. Τα PCL1391 και WCS365 φανέρωσαν υψηλότερη ικανότητα αποίκησης του ριζικού συστήματος του φασολιού. Παράλληλα, όμως, η συνδυασμένη εφαρμογή τους είχε σαν αποτέλεσμα μειωμένο αριθμό βακτηριακών κυττάρων στα ακραία μεριστώματα των ριζών καθώς και μείωση του αριθμού των κυττάρων του WCS365. Τα *in vitro* πειράματα φανέρωσαν ότι η εφαρμογή του PCL1391, μεμονωμένη και σε συνδυασμό με το WCS365, μείωσε την ανάπτυξη των αποικιών, τη σποροποίηση και την βλαστικότητα των κονιδίων των τριών φυλών του φυτοπαθογόνου. Αντιθέτως, το WCS365 δεν φάνηκε να επηρεάζει κανένα από τα παραπάνω χαρακτηριστικά. Συμπεραίνεται ότι η παραγόμενη από το PCL1391 ουσία phenazine-1-carboxamide αποτελεί τον κρίσιμο παράγοντα, στον οποίο οφείλεται η *in vitro* αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου στελέχους. Η συγκεκριμένη τοποθέτηση επιβεβαιώθηκε από την απουσία μυκηλιακής ανάπτυξης, παρουσία της συγκεκριμένης ουσίας, σε πλάκες χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας, οι οποίες ήταν εμβολιασμένες με κονίδια των τριών φυλών του φυτοπαθογόνου παράγοντα.

**Επίδραση δυο βιο-διεγερτών Milsana[®] και Chitoplant[®]
στην ανάπτυξη του ωιδίου και σε παραμέτρους ανάπτυξης
φυτών τομάτας και ποιότητας των καρπών**

Π. Μπουχάγιερ¹, Α. Καλαμαράκη², Γ. Τρωγιάνος³, Φ. Καραμαούνα²,
Ε. Σκόττη⁴, Β. Μαυροειδή¹ και Α. Μαρκέλλου²

¹Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Ιονίων Νήσων, Τμήμα Βιολογικής Γεωργίας,
Τέρμα Λεωφόρου Βεργωτή, Αργοστόλι, 281 00 Κεφαλονιά

²Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων &
Φυτ/κης, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά

³Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας,
Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά

⁴Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Ιονίων Νήσων,
Τμήμα Οικολογίας και Περιβάλλοντος, Πλατεία Κάλβου 2, 291 00 Ζάκυνθος

Στα πλαίσια του Ερευνητικού Προγράμματος “Truefood” της Ε.Ε. ελέγχθηκε η αποτελεσματικότητα δύο βιο-διεγερτών φυλλώματος (παράγοντες επαγωγής ανθεκτικότητας) του Milsana[®] (σκεύασμα εκχυλίσματος του φυτού *R. sachalinensis*) και του Chitoplant[®] (σκεύασμα με δραστική ουσία chitosan) στην: α) ανάπτυξη του ωιδίου σε καλλιέργεια τομάτας θερμοκηπίου (ποικ. Belladonna), β) ανάπτυξη των φυτών (ύψος, αριθμός ανοικτών και συνολικών ανθέων ανά ταξιανθία, περιεκτικότητα σε άζωτο και επίπεδο χλωροφύλλης των φύλλων), γ) απόδοση (βάρος καρπών) και δ) ποιότητα συγκομισθέντων καρπών. Για το σκοπό αυτό, πραγματοποιήθηκαν κατά το έτος 2007 (Μάρτιος – Ιούλιος) δύο πειράματα θερμοκηπίου, παράλληλα σε δύο διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας. Τα Milsana[®] και Chitoplant[®] δοκιμάστηκαν σε τρεις δόσεις (2, 3, 4 ml L⁻¹ και 0,4, 0,5, 0,6 g L⁻¹, αντίστοιχα). Το Sulfur 80 WP (σκεύασμα αναφοράς επιτρεπόμενο για χρήση στην οργανική γεωργία), το νερό και οι βιο-διεγέρτες εφαρμόστηκαν στα φυτά με ψεκασμούς φυλλώματος ανά 7 ημέρες. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων έδειξαν ότι το ύψος των φυτών, η παραγωγή των ανθέων, τα επίπεδα χλωροφύλλης, η συγκέντρωση N σε ξηρή μάζα φύλλων και η απόδοση, δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των επεμβάσεων παρουσία ή απουσία της ασθένειας. Η μικρή διαφορά που παρατηρήθηκε στον ρυθμό παραγωγής ανθέων ανά φυτό στις επεμβάσεις με τους βιο-διεγέρτες δεν είχε καμία επίδραση στη συνολική απόδοση (μετρήσεις σε ένα από τα πειράματα). Σχεδόν σε όλα τα πειραματικά τεμάχια που δέχθηκαν επεμβάσεις με τους βιο-διεγέρτες παρατηρήθηκε καθυστέρηση ανάπτυξης της ασθένειας σε σχέση με το μάρτυρα. Επιπλέον και οι δύο βιο-διεγέρτες ήταν εξίσου αποτελεσματικοί με το θειάφι ως προς την καθυστέρηση ανάπτυξης της ασθένειας. Η ανάλυση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των συγκομισθέντων καρπών βρίσκεται σε εξέλιξη.

**Βιολογική αντιμετώπιση της Βερτισιλλώσεως της ελιάς
με τη χρήση του στελέχους *Paenibacillus alvei* K-165**

Α.Π. Σασσάλου, Ε.Α. Μαρκάκης, Σ.Ε. Τζάμος, Π.Π. Αντωνίου,
Ε.Ι. Παπλωματάς και Ε.Κ. Τζάμος

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά οδός 75, 11855 Αθήνα

Στην παρούσα εργασία, αξιολογήθηκε η ικανότητα του ανταγωνιστικού βακτηρίου *Paenibacillus alvei* K-165 να προστατεύει ευπαθείς και ανεκτικές ποικιλίες ελιάς από το παθογόνο μύκητα *Verticillium dahliae*. Σε τεχνητά μολυσμένο αγρό, όπου είχε προηγηθεί καλλιέργεια ευπαθών ξενιστών οι οποίοι είχαν εκδηλώσει έντονα συμπτώματα της ασθένειας, εγκαταστάθηκε ελαιώνας αποτελούμενος από δενδρύλλια της ευπαθούς ποικιλίας Αμφίσσης και της ανεκτικής ποικιλίας Καλαμών. Δύο μήνες μετά την εγκατάσταση των δενδρυλλίων πραγματοποιήθηκε ριζοπότισμα του στελέχους K-165, που επαναλήφθηκε τέσσερις φορές σε διάστημα 6 μηνών. Δεκαέξι μήνες μετά την εγκατάσταση του πειραματικού ελαιώνα στα δένδρα της ποικιλίας Αμφίσσης όπου δεν είχε εφαρμοστεί το βακτήριο K-165, το ποσοστό ασθένειας ήταν 20 % ενώ στα αντίστοιχα δένδρα όπου είχε πραγματοποιηθεί εφαρμογή του K-165 η ένταση της ασθένειας ήταν 10 %. Τα συμπτώματα στα δένδρα της ποικιλίας Καλαμών δεν έδειξαν να μειώνονται σημαντικά από την επέμβαση του ανταγωνιστικού βακτηρίου, ωστόσο η ένταση της ασθένειας ήταν γενικά μικρότερη σε σχέση με την ευπαθή ποικιλία. Το ποσοστό των θετικών απομονώσεων καθώς και οι συγκεντρώσεις του παθογόνου που προσδιορίστηκαν με τη χρήση RT-PCR έδειξαν ότι η εφαρμογή του στελέχους K165 προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της βιομάζας του μύκητα στα αγγεία της ευπαθούς ποικιλίας Αμφίσσης ενώ η μείωση που παρατηρήθηκε στην ανθεκτική ποικιλία Καλαμών δεν ήταν σημαντική.

**Μελέτη της αλληλεπίδρασης του μύκητα *Verticillium dahliae*
με το μη παθογόνο στέλεχος *Fusarium oxysporum* F2**

Ι. Στριγγλής¹, Ι. Παντελίδης¹, Σ.Ε. Τζάμος¹, Ι. Χατζηπαυλίδης²
και Ε.Ι. Παπλωματάς¹

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

¹Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας

²Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας

Ο μύκητας *Verticillium dahliae* αποτελεί σημαντικό αίτιο ασθένειας των φυτών, σε παγκόσμιο επίπεδο. Η έλλειψη χημικών μέσων καταπολέμησης του καθιστά σημαντική τη προοπτική της βιολογικής του αντιμετώπισης. Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε ο μηχανισμός δράσης ενός μη παθογόνου στελέχους του μύκητα *Fusarium oxysporum* εναντίον του *V.dahliae*, σε φυτά μελιτζάνας. Το μη παθογόνο στέλεχος *Fusarium oxysporum* F2 απομονώθηκε από ζυμωμένο οργανικό φυτόχωμα και η κατασταλτική του δράση εναντίον του *V.dahliae* έχει αξιολογηθεί και αποδειχθεί σε προηγούμενη εργασία. Αρχικά παρατηρήσαμε ότι η κατασταλτική δράση του στελέχους F2 εξαρτάται από την αριθμητική του αναλογία σε σχέση με το μύκητα *V.dahliae*. Διαπιστώθηκε ότι εφαρμογή τετραπλάσιας ποσότητας του στελέχους F2 σε σχέση με τη ποσότητα του μολύσματος του μύκητα έχει ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση του ποσοστού ασθένειας σε σχέση με το μάρτυρα. Επίσης, διαπιστώθηκε η αδυναμία του στελέχους F2 να επάγει τη διασυστηματική αντοχή φυτών μελιτζάνας εναντίον του *V.dahliae*. Για την παρατήρηση της αλληλεπίδρασης του στελέχους F2 με το μύκητα *V.dahliae* στο ριζικό σύστημα πραγματοποιήθηκε μετασχηματισμός των στελεχών, ώστε το μεν *V.dahliae* να φθορίζει κόκκινο (*dsRed*) και το δε στέλεχος F2 να φθορίζει πράσινο (*egfp*). Η μελέτη της αλληλεπίδρασης των δύο μικροοργανισμών με μικροσκοπία φθορισμού έδειξε ότι τα μειωμένα συμπτώματα βερτισιλλίωσης στα φυτά όπου έχει πραγματοποιηθεί εφαρμογή του στελέχους F2 είναι πιθανόν να οφείλονται σε ανταγωνισμό θέσεως μεταξύ των δύο μυκήτων στην επιφάνεια της ρίζας.

Μέσα και μέθοδοι απολύμανσης ως εναλλακτικά του βρωμιούχου μεθυλίου

Ε.Κ. Τζάμος και Π.Π. Αντωνίου

*Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα*

Το βρωμιούχο μεθύλιο θεωρείται ως ένας σημαντικός παράγοντας μείωσης του όζοντος στην ατμόσφαιρα. Οι κανονισμοί EC2037/00 και EC3093/94, απαιτούν μείωση της χρήσεως βρωμιούχου μεθυλίου και σχεδιάζουν τη σταδιακή κατάργησή του στην ΕΕ μέχρι το 31/12/08. Στις χώρες της ΕΕ, οι μη χημικές και χημικές εναλλακτικές μέθοδοι του βρωμιούχου μεθυλίου (BM) είναι διαθέσιμες και έχουν υιοθετηθεί για διάφορες χρήσεις στις απολυμάνσεις εδάφους και στις μετασυλλεκτικές εφαρμογές. Εντούτοις, φαίνεται ότι πολλοί παράγοντες περιορίζουν την ευρύτερη διάδοση και εφαρμογή των. Για ορισμένες χρήσεις η επέκταση της εφαρμογής αυτών των εναλλακτικών λύσεων είναι δυσχερής. Σκοπός του προγράμματος είναι να οργανώσει και να εφαρμόσει ένα πλαίσιο συντονισμού που βελτιώνει την προώθηση των βιώσιμων εναλλακτικών μεθόδων. Στην ομάδα εργασίας συμμετέχουν 11 συνεργάτες από 7 χώρες: Γαλλία, Ιταλία, Ισπανία και Ελλάδα που χρησιμοποιούσαν αυξημένες ποσότητες του MB, Βελγίου και Ολλανδίας όπου η χρήση του MB μειώνεται συνεχώς καθώς και η Ρουμανία, που αντιπροσωπεύουν όλους τους διαφορετικούς τύπους φορέων για την κρίσιμη μάζα που απαιτείται. Οι στόχοι είναι: 1) Προσδιορισμός των προβλημάτων που εμποδίζουν την υιοθέτηση των εναλλακτικών μεθόδων του βρωμιούχου μεθυλίου, συλλογή στοιχείων όσον αφορά στο έργο ανάπτυξης και στην τρέχουσα έρευνα για τις χρησιμοποιούμενες επιτυχώς εναλλακτικές μεθόδους και μέσα. 2) Αξιολόγηση της εφαρμογής πετυχημένων εναλλακτικών λύσεων και επιλογή των ορθών πρακτικών στις αποτελεσματικές εναλλακτικές λύσεις. 3) Καθορισμός των εργαλείων διάδοσης. 4) Διασφάλιση μιας δυναμικής και αποδοτικής διαχείρισης του προγράμματος. 5) Διάδοση μέσω του Διαδικτύου. Οι κατάλληλες εναλλακτικές λύσεις που απαριθμούνται από την ερευνητική ομάδα εργασίας είναι:

Α. Εφαρμογές στο έδαφος: 1. Υποκαπνισμός : α. Υπάρχουσες χημικές ουσίες: Clthoropicrine, Dazomet, Dichloropropene, Metam sodium και potassium μόνες ή σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους. β. Νέες χημικές ουσίες: Διμεθυλικό δισουλφίδιο, ethadinytrile, methyl iodide. 2 Βιολογικές εναλλακτικές λύσεις. 3. Ολοκληρωμένη διαχείριση παρασίτων. 4. Ηλιοαπολύμανση. 5. Ατμός. 6. Υδροπονικές καλλιέργειες. 7. Βιοαπολύμανση. 8. Εμβολιασμένα υποκείμενα και ανθεκτικές ποικιλίες

Β. Μετασυλλεκτικές εφαρμογές: 1. Υπάρχουσες χημικές ουσίες: Εντομοκτόνα φωσφίνης και επαφής. 2. Νέα χημική ουσία: sulfuryl fluoride. 3. Θερμότητα.

Χρήση αιθερίων ελαίων και αρωματικών φυτών στην αντιμετώπιση εδαφογενών μυκήτων

Γ.Θ. Τζίρος¹, Μ. Ciric-Camenovic¹, Π.Σ. Χατζοπούλου²
και Α.Λ. Λαγοπόδη¹

¹Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γεωπονική Σχολή,
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Τ.Θ. 269, 541 24 Θεσσαλονίκη

²ΕΘΙΑΓΕ – ΚΓΕΒΕ – Τμήμα Αρωματικών Φαρμακευτικών Φυτών
Τ.Θ. 60458, 57001 Θέρμη

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα οκτώ αιθερίων ελαίων από αρωματικά φυτά της ελληνικής χλωρίδας που αναπτύχθηκαν στο ΕΘΙΑΓΕ της Θέρμης, Θεσσαλονίκης, εναντίον των μυκήτων *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* και *Verticillium dahliae* *in vitro*. Τα αιθέρια έλαια προήλθαν από απόσταξη δυόσμου (*Mentha spicata*), κορίανδρου (*Coriander sativus*), δενδρολίβανου (*Rosmarinus officinalis*), μάραθου (*Foeniculum vulgare*), δίκταμου (*Origanum dictamnus*), ύσσωπου (*Hyssopus officinalis*), φασκόμηλου (*Salvia triloba*) και φλησκουνιού (*Mentha pulegium*). Παρατηρήθηκε πως όλα τα αιθέρια έλαια έδειξαν μυκητοστατική δράση και στη συνέχεια υπολογίσθηκε η συγκέντρωση που προκαλεί κατά 50% αναστολή στην μυκηλιακή ανάπτυξη. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε πως το πιο αποτελεσματικό για την αντιμετώπιση και των δύο φυτοπαθογόνων ήταν εκείνο του δίκταμου που ανέστειλε πλήρως την μυκηλιακή ανάπτυξη σε συγκεντρώσεις 260 και 34 ppm στο *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* και στο *Verticillium dahliae* αντίστοιχα, ενώ για τα υπόλοιπα απαιτήθηκαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Κατόπιν μελετήθηκε *in planta*, η επίδραση αποξηραμένων φυτικών μερών δυόσμου, φασκόμηλου, κορίανδρου και μάραθου στην ασθένεια που προκαλεί στην τομάτα ο μύκητας *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, ύστερα από ενσωμάτωσή τους στο εδαφικό μίγμα. Τη μεγαλύτερη μείωση στην ένταση της ασθένειας επέφερε το φασκόμηλο, ακολούθησαν ο κορίανδρος και ο δυόσμος, ενώ ο μάραθος δεν επηρέασε την ένταση της ασθένειας.

Παραγωγή φυτικών βιοενεργών ουσιών από το σακχαρομύκητα μέσω μεταβολικής μηχανικής για τον έλεγχο σημαντικών φυτοπαθογόνων

Ε. Τραντάς^{1,2}, Ν. Πανόπουλος^{2,3} και Φ. Βερβερίδης^{1*}

¹Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΤΕΙ) - Κρήτης, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας Φυτών, Ηράκλειο-Κρήτης

²Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Βούτες Ηρακλείου -Κρήτης

³Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας & Βιοτεχνολογίας (IMBB), Ίδρυμα Τεχνολογίας Έρευνας (Ι.Τ.Ε.), Βούτες Ηρακλείου -Κρήτης

*Επικοινωνία : ververid@steg.teicrete.gr

Ουσίες προερχόμενες από τον μεταβολισμό των φαινυλπροπανοειδών και κατατάσσονται στις υποομάδες των στυλβενοειδών, των φλαβονολών καθώς και ισοφλαβονοειδών, έχει διαπιστωθεί ότι κατέχουν πολλές ευεργετικές δράσεις. Μπορούν να δράσουν ως αντιμικροβιακοί παράγοντες (φυτοαλεξίνες), ως εντομοαπωθητικές ουσίες (προστασία από εχθρούς), ως φωτοϋποδοχείς, ως προσελκυστικά (φυτικές χρωστικές), ως προστατευτικά από την ακτινοβολία UV, ως μόρια-σημαντές (signal molecules) στις σχέσεις ριζοβίων-ψυχανθών, ως ρυθμιστές της μεταφοράς αυξινών ενώ φαίνεται ότι εμπλέκονται στις και διαδικασίες βλάστησης της γύρης. Όλες οι παραπάνω δράσεις αναλύονται διεξοδικά σε πρόσφατα αναφορές της ομάδας μας [1, 2]. Ως εκπρόσωποι των παραπάνω κατηγοριών, μόρια όπως η ρεσβερατρόλη, ένα στυλβενοειδές, η γενιστεΐνη, ένα ισοφλαβονοειδές και η καμφερόλη, μια φλαβονόλη, έχειδειχθεί ότι κατέχουν μερικές από τις προαναφερθείσες εξαιρετικές ιδιότητες. Πιο συγκεκριμένα, πέρα από τις επωφελείς δράσεις τους στην ανθρώπινη υγεία, δρουν σαν φυτοαλεξίνες και άρα ως αντιμικροβιακοί παράγοντες που επάγονται έπειτα από την προσβολή του φυτού από το παθογόνο. Για την εκμετάλλευση της αντιμικροβιακής δράσης τους, κατασκευάστηκαν τρία γενετικά τροποποιημένα στελέχη σακχαρομύκητα και χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη υγρών καλλιιεργειών, οι οποίες ελέγχθηκαν για τα επίπεδα παραγωγής των εν λόγω ουσιών. Στη συνέχεια ελέγχθηκαν τα επίπεδα αναστολής της ανάπτυξης ορισμένων σημαντικών φυτοπαθογόνων οργανισμών παρουσία των βιοενεργών αυτών σκευασμάτων, προερχόμενων από την καλλιέργεια του σακχαρομύκητα.

Ευχαριστίες: Η εργασία αυτή χρηματοδοτείται από το ερευνητικό πρόγραμμα ΠΕΝΕΛ 03 με κωδικό ΕΔ 776, που αφορά συγχρηματοδότηση του Υπουργείου Ανάπτυξης και του Ευρωπαϊκού Κοινοτικού Ταμείου με τελικό αποδέκτη τη Γενική Γραμματεία Έρευνας & Τεχνολογίας (ΓΓΕΤ).

[1] Ververidis, F., Trantas, E. et al. (2007). "Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health." *Biotechnology Journal* 2(10): 1214-1234

[2] Ververidis, F., Trantas, E. et al. (2007). "Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part II: Reconstruction of multienzyme pathways in plants and microbes." *Biotechnology Journal* 2(10): 1235-1249