

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ
ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

Μεταπτυχιακή Διατριβή

**Βιολογική αντιμετώπιση του μύκητα *Penicillium* sp.
σε καρπούς εσπεριδοειδών**



Θεοδόσιος Δ. Καλογιάννης

Επιβλέπων Καθηγητής:
Σωτήριος Τζάμος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Αθήνα
2020

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ**

Μεταπτυχιακή Διατριβή

**Βιολογική αντιμετώπιση του μύκητα *Penicillium sp.*
σε καρπούς εσπεριδοειδών**

“Biological treatment of the fungus *Penicillium sp.* in citrus fruits”

Θεοδόσιος Δ. Καλογιάννης

Εξεταστική Επιτροπή:

Σωτήριος Τζάμος, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)
Επαμεινώνδας Παπλωματάς, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ
Δημήτρης Τσιτσιγιάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Βιολογική αντιμετώπιση του μύκητα *Penicillium sp.* σε καρπούς εσπεριδοειδών

Τμήμα Φυτικής Παραγωγής
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας

Περίληψη

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της βιολογικής αντιμετώπισης του μύκητα *Penicillium sp.* σε καρπούς εσπεριδοειδών. Στο θεωρητικό μέρος της μελέτης δίνονται γενικές πληροφορίες για τα εσπεριδοειδή, τη βιολογική τους δομή και τα είδη τους, τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες καθώς και την οικονομική τους αξία. Στη συνέχεια, έμφαση δίνεται στα σημαντικότερα παθογόνα που προσβάλλουν τα εσπεριδοειδή και κυρίως στους μύκητες, τους τρόπους μετάδοσης τους, τα συμπτώματα και τις ασθένειες που προκαλούν στα εσπεριδοειδή. Παράλληλα, εξετάζονται οι μηχανισμοί άμυνας των φυτών καθώς και η βιολογική αλλά και η χημική αντιμετώπιση των παθογόνων μικροοργανισμών στα εσπεριδοειδή. Στο ερευνητικό μέρος της εργασίας διερευνήθηκε ο βαθμός παρεμπόδισης της αύξησης του μύκητα *Penicillium digitatum* σε διαφορετικά θρεπτικά υλικά και εσπεριδοειδή (πορτοκάλια βαλέντσια και λεμόνια βιολογικής καλλιέργειας), ενώ ο ανασταλτικός παράγοντας που χρησιμοποιήθηκε ήταν ο μικροοργανισμός *Raenibacillus alvei*, στέλεχος K165. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο *Raenibacillus alvei* έχει ισχυρή παρεμποδιστική δράση στην ανάπτυξη του εν λόγω μύκητα.

Επιστημονική περιοχή: Σήψη μετασυλλεκτικών προϊόντων

Λέξεις κλειδιά: βιολογική αντιμετώπιση, μύκητας, *Penicillium sp.*, εσπεριδοειδή, *Penicillium digitatum*, *Raenibacillus alvei*, K165.

Biological treatment of the fungus *Penicillium sp.* in citrus fruits

Department of Crop Production
Laboratory of Plant Pathology

Abstract

The aim of this thesis is the research of the biological treatment of citrus fruits from infection of *Penicillium sp.* The theoretical part of this thesis provides general information about citrus fruits, their biological structure and species, their medicinal properties and their economic value. In addition, emphasis is placed on the most important pathogens that affect citrus fruits and especially on fungi, their transmission, symptoms and diseases that cause citrus fruits. Also, the defence mechanisms of plants as well as the biological and chemical treatment of pathogenic microorganisms in citrus fruits are examined. In the research part of the work, the degree of growth suppression of *Penicillium digitatum* has been measured through cultures with different substrates, or fruits from different citrus species (orange var. Valencia and lemons from biological cultivation). Results have shown that K165, the inhibitor that was chosen, was effective in *P. digitatum* growth suppression.

Scientific Area: Rot of post-harvest products

Keywords: biological control fungus, fungus, *Penicillium sp.*, *Citrus*, *Penicillium digitatum*, *Paenibacillus alvei*, K165.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Τζάμο για τη συμπαράσταση και τη βοήθειά του κατά την εκπόνηση αυτής της εργασίας. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη του εργαστηρίου με τα οποία συνεργάστηκαν και με βοήθησαν καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας διατριβής. Τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου για την αμέριστη συμπαράστασή τους σε όλη τη διάρκεια των μέχρι τώρα σπουδών μου

Περιεχόμενα

Contents

Εισαγωγή	1
Κεφάλαιο 1 ^ο Τα Εσπεριδοειδή	4
1.1 Γενικά στοιχεία	4
1.2. Ιστορική αναδρομή – καταγωγή.....	5
1.3 Βιολογία και είδη των εσπεριδοειδών.....	7
1.4 Σημαντικά είδη για οικονομική εκμετάλλευση.....	10
1.5 Θρεπτική αξία καρπών εσπεριδοειδών.....	14
1.6. Φαρμακευτικές ιδιότητες.....	15
Κεφάλαιο 2 ^ο Τα Σημαντικότερα Παθογόνα στα Εσπεριδοειδή.....	18
2.1. Μύκητες.....	19
2.1.1. <i>Penicillium digitatum</i>	19
2.1.2. <i>Penicillium italicum</i>	21
2.1.3. <i>Alternaria sp.</i>	22
2.1.4. <i>Lasiodiplodia theobromae (Diplodia natalensis)</i>	25
2.1.5. <i>Geotrichum citri-aurantii</i>	26
2.1.6. <i>Trichoderma viride</i>	27
2.1.7. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	28
2.1.8. <i>Fusarium spp.</i>	29
2.1.9. Μυκοτοξίνες.....	29
2.3. Τρόπος μετάδοσης, συμπτώματα, ασθένεια και οικονομικός αντίκτυπος των παθογόνων οργανισμών στα εσπεριδοειδή	31
Κεφάλαιο 3: Αντιμετώπιση Παθογόνων Μικροοργανισμών.....	34
3.1. Μηχανισμοί άμυνας των φυτών.....	34
3.2. Τρόποι αντιμετώπισης.....	35
3.2.1. Παράγοντες και μηχανισμοί βιολογικής αντιμετώπισης.....	36
3.2.1.1. Βιολογικά σκευάσματα.....	37
3.2.2. Παράγοντες και μηχανισμοί χημικής αντιμετώπισης.....	39
ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	41
1. Υλικά-Μέθοδοι.....	41
1.1 Σκοπός.....	41
1.2 Ο παράγοντας K165.....	41
1.3 Πειραματική διαδικασία.....	42

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	46
2.1 1ο Πείραμα	46
2.2. 2ο πείραμα	50
2.3 3ο Πείραμα	54
2.4 4ο Πείραμα	59
Συζήτηση	64
Επίλογος	66
Βιβλιογραφία	69

Ευρετήριο Εικόνων

Εικόνα 1:	Σημαντικές περιοχές καλλιέργειας εσπεριδοειδών.....	17
Εικόνα 2:	Εξέλιξη της μυκητησιακής μόλυνσης <i>Penicillium digitatum</i> στα πορτοκάλια.....	26
Εικόνα 3:	Πορτοκάλι με μόλυνση από τον μύκητα <i>Penicillium italicum</i>	28
Εικόνα 4:	A. Συμπτώματα του <i>Alternaria</i> με καφέ κηλίδα B. Συμπτώματα της κηλίδας <i>Alternaria</i> σε φύλλα λεμονιού C. Η ασθένεια των φύλλων <i>Mancha</i> σε φύλλα μεξικανικού λάιμ D. Συμπτώματα της καφετής κηλίδας <i>Alternaria</i> σε καρπό E. Συμπτώματα μαύρης σήψης σε καρπό πορτοκαλιού.....	30
Εικόνα 5:	Μόλυνση <i>Lasiodiplodia theobromae</i> σε εσπεριδοειδές.	32
Εικόνα 6:	Λεμόνι μολυσμένο από το μύκητα <i>Trichoderma viride</i>	34
Εικόνα 7:	Πορτοκάλια μολυσμένα από μύκητα <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	35
Εικόνα 8:	Σχηματική απεικόνιση τρυβλίων πειράματος.....	51

Ευρετήριο Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε τρυβλία χωρίς χώρισμα, με θρεπτικό υλικό LB.....	54
Διάγραμμα 2: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε τρυβλία με χώρισμα, με θρεπτικό υλικό LB	54
Διάγραμμα 3: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε τρυβλία χωρίς χώρισμα, με θρεπτικό υλικό PDA.....	55
Διάγραμμα 4: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε τρυβλία με χώρισμα, με θρεπτικό υλικό PDA.....	55
Διάγραμμα 5: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε πορτοκάλια με εμβάπτιση, με θρεπτικό υλικό PD...	56
Διάγραμμα 6: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε πορτοκάλια με εμβάπτιση, με θρεπτικό υλικό LB...	57
Διάγραμμα 7: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε λεμόνια με εμβάπτιση, με θρεπτικό υλικό PD.....	57
Διάγραμμα 8: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε λεμόνια με εμβάπτιση, με θρεπτικό υλικό LB.....	58
Διάγραμμα 9: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε λεμόνια, με θρεπτικό υλικό PD.....	59
Διάγραμμα 10: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε λεμόνια, με θρεπτικό υλικό LB.....	59
Διάγραμμα 11: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε πορτοκάλια, με θρεπτικό υλικό PD.....	60
Διάγραμμα 12: Ανάπτυξη μύκητα <i>Penicillium</i> σε πορτοκάλια, με θρεπτικό υλικό LB.....	60
Διάγραμμα 13: Ανάπτυξη <i>Penicillium</i> παρουσία ένωσης 1 (αριστερά) σε σχέση με την καλλιέργεια μάρτυρα (δεξιά) σε τρυβλία με χώρισμα.....	61
Διάγραμμα 14: Ανάπτυξη <i>Penicillium</i> παρουσία ένωσης 3 (αριστερά) σε σχέση με την καλλιέργεια μάρτυρα (δεξιά) σε τρυβλία με χώρισμα.....	61

Εισαγωγή

Τα εσπεριδοειδή είναι από τα πιο ευρέως παραγόμενα φρούτα παγκοσμίως. Ο ακριβής τόπος προέλευσης των εσπεριδοειδών είναι ακόμη υπό συζήτηση, αλλά πιστεύεται ότι προήλθαν από τη Νοτιοανατολική Ασία και εξαπλώθηκαν στα άλλα μέρη του κόσμου. Αποτελούνται από διάφορα ευεργετικά θρεπτικά συστατικά όπως είναι τα ανόργανα συστατικά, η περιεκτικότητα σε ίνες, το ασκορβικό οξύ, το φυλλικό οξύ, το κάλιο κ.λπ. Η αντιμικροβιακή δράση των εσπεριδοειδών είναι αποτελεσματική έναντι διαφόρων λοιμώξεων όπως η εντερίτιδα, αρθρίτιδα, καρδιακές επιπλοκές (Mamun & Feroz, 2017).

Τα εσπεριδοειδή προσβάλλονται από έναν αριθμό παθογόνων, από το στάδιο της άνθισης έως το στάδιο της συγκομιδής, και στη συνέχεια από παθογόνα μετά τη συγκομιδή που επηρεάζουν την παραγωγή της καλλιέργειας και επιδεινώνουν σημαντικά την ποιότητα των φρούτων. Οι απώλειες από ασθένειες μετά τη συγκομιδή που προκαλούνται από διάφορα παθογόνα αντιπροσωπεύουν σχεδόν το 50% της συνολικής σπατάλης εσπεριδοειδών. Η μόλυνση συμβαίνει σε διαφορετικά στάδια στον αγρό και μετά τη συγκομιδή κατά τη διάρκεια της εμπορίας. Τα περισσότερα παθογόνα μετά τη συγκομιδή είναι αδύναμα (*Penicillium*, *Alternaria*, *Diplodia*, *Phomopsis*) και εισβάλλουν μέσω τραυμάτων και όταν η άμυνα του ξενιστή είναι ασθενής. Οι μικροοργανισμοί είναι αρκετά επιλεκτικοί στους ιστούς και το pH του ξενιστή τους. Τα εσπεριδοειδή έχουν pH χαμηλότερο από 4, έτσι οι περισσότεροι μύκητες προσβάλλουν αυτά τα φρούτα (Embaby et al., 2013).

Οι προσβολές από μύκητες προκαλούν σημαντικά προβλήματα στην παραγωγή εσπεριδοειδών. Ορισμένοι μύκητες μειώνουν την απόδοση των καλλιεργειών και το μέγεθος των καρπών, ενώ άλλοι προκαλούν μόνο εξωτερικές ατέλειες στους καρπούς. Οι μολύνσεις από μύκητες είναι συνήθως πιο σοβαρές σε περιοχές εσπεριδοειδών με υψηλές βροχοπτώσεις και θερμοκρασίες (Mamun & Feroz, 2017).

Η ασθένεια, που προκαλείται από τον παθογόνο *P. digitatum*, είναι η σοβαρότερη μετά τη συγκομιδή ασθένεια εσπεριδοειδών. Ο συγκεκριμένος παθογόνος παράγοντας προκαλεί περίπου το 90% των απωλειών της παραγωγής. Ως νεκροτροφικός μυκητισιακός παθογόνος, ο *P. digitatum* μολύνει εσπεριδοειδή μέσω μιας σειράς «πληγών» που προέρχονται από μηχανικές βλάβες και περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως κρύο, έγκαυμα, άνεμος, χαλάζι και έντομα (Moss 2008).

Η διαχείριση των περισσότερων ασθενειών από μύκητες μπορεί να είναι ιδιαίτερα δύσκολη. Σε ορισμένες περιπτώσεις, υπάρχουν ποικιλίες που είναι ανθεκτικές σε πολλούς παθογόνους μυκήτων. Τέτοιου είδους ασθένειες ελέγχονται κατά κύριο λόγο με την εφαρμογή συνθετικών μυκητοκτόνων όπως είναι η ιμαζαλίλη, το ορθοφαινυλοφαινικό νάτριο, η θειοβενδαζόλη, η πυριμεθανίλη, η αζοξυστροβίνη και η φλουδοξονίλη. (Kanetis et al., 2007).

Η αυξανόμενη ανησυχία για τους κινδύνους στην υγεία και στο περιβάλλον λόγω της χρήσης χημικών ουσιών απαιτούσε την ανάπτυξη εναλλακτικών στρατηγικών για τον έλεγχο των ασθενειών των εσπεριδοειδών από μύκητες. Τα φυτικά παράγωγα προϊόντα και οι ενώσεις που γενικά αναγνωρίζονται ως ασφαλείς έχει αποδειχθεί ότι είναι το πλέον κατάλληλο μέσο για την αντικατάσταση των συνθετικών μυκητοκτόνων, τα οποία είτε απαγορεύονται είτε συνιστώνται για περιορισμένη χρήση (Talibi et al., 2014).

Η βιολογική αντιμετώπιση γίνεται ολοένα και πιο σημαντική εναλλακτική λύση στην καταπολέμηση των ασθενειών των καρπών εσπεριδοειδών και συνεπώς υπάρχει επείγουσα ανάγκη για περαιτέρω έρευνα προκειμένου να αναπτυχθούν νέες και περισσότερο αποτελεσματικές στρατηγικές για την βιολογική αντιμετώπιση τους (Pimenta et al., 2008).

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της βιολογικής αντιμετώπισης του μύκητα *Penicillium digitatum* σε καρπούς εσπεριδοειδών. Πιο αναλυτικά, στο θεωρητικό μέρος της εργασίας και συγκεκριμένα στο πρώτο κεφάλαιο γίνεται

αναφορά γενικά στα εσπεριδοειδή, στη βιολογική δομή και τα είδη των εσπεριδοειδών, στις φαρμακευτικές τους ιδιότητες καθώς και στην οικονομική τους αξία και εκμετάλλευση. Στη συνέχεια, στο δεύτερο κεφάλαιο μελετώνται τα σημαντικότερα παθογόνα που προσβάλλουν τα εσπεριδοειδή με ιδιαίτερη έμφαση στους μύκητες, οι τρόποι μετάδοσης τους, τα συμπτώματα και τις ασθένειες που προκαλούν. Στο τελευταίο κεφάλαιο του θεωρητικού μέρους εξετάζονται οι μηχανισμοί άμυνας των φυτών καθώς και η βιολογική και η χημική αντιμετώπιση των παθογόνων μικροοργανισμών στα εσπεριδοειδή.

Στο ερευνητικό μέρος της εργασίας ερευνήθηκε ο βαθμός της παρεμπόδισης της ανάπτυξης του μύκητα *Penicillium digitatum*, από το βακτήριο *Paenibacillus alvei* στελέχος K165, το οποίο είναι γνωστό για την ενισχυτική δράση του στο αμυντικό σύστημα συγκεκριμένων φυτικών οργανισμών, όπως η μελιτζάνα, η πατάτα κλπ. Επίσης, επιλέχθηκαν συγκεκριμένες χημικές ενώσεις για να διερευνηθεί η δράση τους στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης του μύκητα. Τα εσπεριδοειδή που χρησιμοποιήθηκαν ήταν πορτοκάλια ποικιλίας Valencia και λεμόνια ποικιλίας Μαγληνή, βιολογικής καλλιέργειας, ενώ τα πειράματα διεξήχθησαν σε δύο διαφορετικά είδη θρεπτικών υλικών (PDA & LB). Οι μετρήσεις έγιναν μέσω απεικόνισης σε υπολογιστικό πρόγραμμα, ονομαζόμενο Image J, ενώ τα διαγράμματα δημιουργήθηκαν στο Excel.

Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική επίδραση του στελέχους K165 στην παρεμπόδιση της αύξησης του μύκητα *Penicillium digitatum*, τόσο στα πορτοκάλια όσο και στα λεμόνια. Η δράση του στελέχους K165 ήταν εμφανώς μεγαλύτερη σε θρεπτικό υλικό LB σε σχέση με το PD. Ακόμα και οι πτητικές ενώσεις έδρασαν προκαλώντας μείωση του πολλαπλασιαστικού ρυθμού του μύκητα στα υποστρώματα. Τέλος, σε σχέση με τις χημικές ενώσεις που επιλέχθηκαν (2, 3 βουτανοδιόλη και 2-πεντανόλη), φαίνεται ότι η 2, 3 βουτανοδιόλη έχει δράση στην αντιμετώπιση του μύκητα.

Κεφάλαιο 1^ο

Τα Εσπεριδοειδή

Τα εσπεριδοειδή είναι μια από τις μεγαλύτερες καλλιέργειες φρούτων στον κόσμο. Περίπου το 30% των εσπεριδοειδών μεταποιείται για να ληφθούν διάφορα προϊόντα, κυρίως χυμοί. Η βιομηχανία εσπεριδοειδών είναι η δεύτερη μεγαλύτερη βιομηχανία μεταποίησης φρούτων, με πρώτη τη βιομηχανία σταφυλιών, η οποία παράγει κυρίως κρασί (Zhao et al., 2015).

Αν και τα εσπεριδοειδή καταναλώνονται ήδη από την αρχαιότητα, η επεξεργασία τους, όπως είναι σήμερα γνωστή, δεν ήταν δυνατή μέχρις ότου η θερμική επεξεργασία (για την αδρανοποίηση των ενζύμων και των μικροοργανισμών) και οι διαδικασίες συγκέντρωσης ήταν εμπορικά διαθέσιμες. Έκτοτε, η βιομηχανία εσπεριδοειδών αναπτύχθηκε με ταχείς ρυθμούς και κατέκτησε εξέχουσα θέση στις βιομηχανίες τροφίμων (Zhao et al., 2015).

1.1 Γενικά στοιχεία

Τα εσπεριδοειδή, τα οποία ανήκουν στο γένος *Citrus* της οικογένειας *Rutaceae*, εντοπίζονται σε διάφορες μορφές και μεγέθη (από στρογγυλά έως επιμήκη), κοινώς γνωστά ως πορτοκάλια, μανταρίνια, λάιμ, λεμόνια, γκρέιπφρουτ και κίτρο (Zhao et al., 2015).

Τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά των εσπεριδοειδών (χρώμα, γλυκιά γεύση, πικρία και στυπτικότητα) αποτελούν καθοριστικές οργανοληπτικές και εμπορικές ιδιότητες. Τα διάφορα είδη εσπεριδοειδών καταναλώνονται κυρίως νωπά ή ως πρώτες ύλες για χυμούς ή σε κονσέρβες. Επιπλέον, τα εσπεριδοειδή μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν στις βιομηχανίες τροφίμων, ποτών, καλλυντικών και φαρμάκων ως πρόσθετα, μπαχαρικά, καλλυντικά συστατικά και χημικο-προστατευτικά φάρμακα, αντίστοιχα (Waseem & Azmat, 2019).

Τα εσπεριδοειδή αποτελούν ιδανικές πηγές διατροφής με άφθονη ποσότητα βιταμίνης C. Επιπλέον, τα εσπεριδοειδή είναι άφθονα και σε άλλα θρεπτικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένων των σακχάρων, του καλίου, του φυλλικού οξέος, του ασβεστίου, της θειαμίνης, της νιασίνης, της βιταμίνης B6, του φωσφόρου, της ριβοφλαβίνης και του παντοθενικού οξέος (Zhao et al., 2015).

Επιπρόσθετα, τα εσπεριδοειδή περιέχουν έναν αριθμό δευτερογενών μεταβολιτών, όπως φλαβονοειδή, αλκαλοειδή, κουμαρίνες, λιμονοειδή, καροτενοειδή, φαινολικά οξέα και αιθέρια έλαια. Αυτοί οι δραστικοί δευτερογενείς μεταβολίτες παρουσιάζουν διάφορες βιολογικές δραστηριότητες ζωτικής σημασίας για την ανθρώπινη υγεία, συμπεριλαμβανομένων αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών, αντικαρκινικών, καθώς και καρδιαγγειακών προστατευτικών, νευροπροστατευτικών κλπ. (Waseem & Azmat, 2019).

1.2. Ιστορική αναδρομή – καταγωγή

Η προέλευση των εσπεριδοειδών ταυτίζεται με μια ιστορία γεμάτη αντιπαραθέσεις και ενδιαφέροντες θρύλους. Μερικοί ερευνητές πιστεύουν ότι τα εσπεριδοειδή είναι εγγενή στις υποτροπικές και τροπικές περιοχές της Ασίας, που προέρχονται από ορισμένα μέρη της Νοτιοανατολικής Ασίας, συμπεριλαμβανομένης της Κίνας, της Ινδίας και του Αρχιπελάγους της Μαλαισίας. Σύμφωνα με παλαιά χειρόγραφα που βρέθηκαν μεταξύ των αρχαίων κινεζικών εγγράφων, η πρώτη αναφορά στα εσπεριδοειδή τεκμηριώθηκε κατά τη διάρκεια της βασιλείας του Τα Yu (περίπου το 2205 έως το 2197 π.Χ.), όταν τα εσπεριδοειδή, ιδιαίτερα τα μανταρίνια και η φράπα, θεωρούνταν πολύτιμα αφιερώματα και ήταν διαθέσιμα μόνο για την αυτοκρατορική αυλή. Το λεμόνι καλλιεργήθηκε αρχικά στην Ινδία και τα γλυκά πορτοκάλια και μανταρίνια είναι αυτόχθονες στην Κίνα. Ενώ ορισμένα εμπορικά είδη όπως πορτοκάλια, μανταρίνια και λεμόνια προέρχονταν αρχικά από τη Νοτιοανατολική Ασία, η πραγματική προέλευση των εσπεριδοειδών είναι η Αυστραλία, η Νέα Καληδονία (εκτός ανατολικής Αυστραλίας) και η Νέα Γουινέα. Η εξάπλωση των εσπεριδοειδών σε άλλα μέρη του κόσμου ήταν αργή, συμπεριλαμβανομένης της

βόρειας Αφρικής και της νότιας Ευρώπης. Η πρώτη εισαγωγή εσπεριδοειδών στην Αμερική πραγματοποιήθηκε από Ισπανούς και Πορτογάλους εξερευνητές και οι οπωρώνες εμφανίστηκαν για πρώτη φορά στη Φλόριντα και την Καλιφόρνια περίπου το 1655 και το 1769, αντίστοιχα. Η εμπορική παραγωγή, μεταποίηση και το παγκόσμιο εμπόριο εσπεριδοειδών έχει αυξηθεί σημαντικά από τότε, τοποθετώντας τα εσπεριδοειδή ως τα πιο σημαντικά φρούτα στον κόσμο (Liu, 2012).

Η πρώτη καταγραφή των εσπεριδοειδών, *Citrus medica L.*, στην ευρωπαϊκή ιστορία έγινε από τον Θεόφραστο, το 350 π.Χ., μετά την εισαγωγή του καρπού από τον Μέγα Αλέξανδρο. Μάλιστα, στην πρώιμη ευρωπαϊκή ιστορία, οι συγγραφείς έγραψαν για τα περσικά εσπεριδοειδή, ότι είχαν ένα θαυμάσιο άρωμα και ότι θεωρούνταν φάρμακο για δηλητηριάσεις, γλυκαντικό της αναπνοής και απωθητικό για τους σκώρους (Scora, 1975).

Το γλυκό πορτοκάλι, *Citrus sinensis*, εμφανίστηκε αργά, περί το 1400. Η εισαγωγή της γλυκιάς πορτοκαλιάς στην Ευρώπη άλλαξε τη δυναμική της σημασίας των εσπεριδοειδών στον κόσμο. Στο ταξίδι του, ο Πορτογάλος εξερευνητής, Vasco de Gamma, κατέγραψε ότι το 1498 υπήρχαν πλήθος πορτοκαλιών στην Ινδία και όλα τα φρούτα είχαν γλυκιά γεύση. Η νέα ποικιλία γλυκού πορτοκαλιού, προκάλεσε μια δραματική αύξηση της καλλιέργειας εσπεριδοειδών (Liu et al., 2012).

Το πορτοκαλί μανταρίνι, *Citrus reticulata*, περιγράφηκε στην κινεζική ιστορία στα τέλη του 11ου αιώνα, αλλά ήταν άγνωστο στην Ευρώπη, μέχρι να μεταφερθεί από την επαρχία των Μανδαρινών στην Κίνα προς στην Αγγλία το 1805, όπου εξαπλώθηκε γρήγορα σε όλη την Ευρώπη (Scora, 1975).

Η φράπα, *Citrus grandis*, καταναλωνόταν στην Παλαιστίνη στις αρχές της δεκαετίας του 1200 και φυτεύτηκε και καλλιεργήθηκε από τους Άραβες. Η φράπα πιστεύεται ότι έχει ασιατική προέλευση και φυτεύτηκε ως σπόρος στον Νέο Κόσμο, ενώ το γκρέιπφρουτ, το *Citrus paradisi*, πιστεύεται ότι έχει προκύψει ως μετάλλαξη από το δέντρο του πόμελο (Scora, 1975).

Ο Χριστόφορος Κολόμβος εισήγαγε εσπεριδοειδή στο νησί της Αϊτής το 1493. Πιστεύεται ότι έφερε σπόρους εσπεριδοειδών που φυτεύτηκαν και καλλιεργήθηκαν από τα φρούτα πορτοκαλιού, γλυκού πορτοκαλιού, λεμονιού, κίτρου και πόμελου. Τα αρχεία δείχνουν ότι αυτά τα εσπεριδοειδή ήταν καλά εδραιωμένα στις αμερικανικές αποικίες γύρω στο 1565 (Liu et al., 2012).

Η βιομηχανία εσπεριδοειδών άρχισε να αναπτύσσεται ταχύτατα το 1821 όταν οι Ισπανοί εγκατέλειψαν τα εδάφη τους και πολλές πορτοκαλιές τους στις Ηνωμένες Πολιτείες. Οι άγριες πορτοκαλιές ήταν γεμάτες με βελτιωμένες ποικιλίες και οι κάτοικοι που ταξίδευαν στη Φλόριδα συνειδητοποίησαν τον γευστικό χυμό πορτοκαλιού (Scora, 1975).

Η ολοκλήρωση του Διηπειρωτικού Σιδηροδρόμου ενίσχυσε περαιτέρω την βιομηχανία εσπεριδοειδών, καθώς τα εσπεριδοειδή θα μπορούσαν να αποσταλούν ταχέως στις ανατολικές αγορές. Οι μεταγενέστερες βελτιώσεις της ψύξης συνέβαλαν στην αύξηση της καλλιέργειας εσπεριδοειδών και της φύτευσης, κυρίως πορτοκαλιών, λεμονιών και κίτρου σε όλο τον κόσμο το 1889 (Liu et al., 2012).

1.3 Βιολογία και είδη των εσπεριδοειδών

Τα εσπεριδοειδή είναι είδη υποτροπικών και τροπικών κλιματικών συνθηκών, το μέγεθος των οποίων κυμαίνεται από θάμνους έως δέντρα. Τα περισσότερα είδη έχουν ακανθώδη κλαδιά. Τα φύλλα τοποθετούνται εναλλάξ πάνω στα κλαδιά και το φύλλωμα είναι σκούρο πράσινο, λαμπερό, αρωματικό και αειθαλή. Οι ρίζες των εσπεριδοειδών δεν αναπτύσσουν τρίχες ριζών και ως εκ τούτου τα δέντρα εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την ορυκτή διατροφή τους σε αμοιβαία συνύπαρξη με τους μύκητες εδάφους (Πρωτοπαπαδάκης, 2016).

Τα εσπεριδοειδή έχουν μικρά λευκά ή πορφυρά άνθη, τα οποία είναι έντονα αρωματισμένα και παράγουν νέκταρ. Τόσο το άρωμα όσο και το νέκταρ είναι

προσαρμογές για την προσέλκυση εντόμων. Ορισμένα είδη του γένους *Citrus* υβριδοποιούνται εύκολα μεταξύ τους. Αυτό το βιολογικό χαρακτηριστικό μπορεί να διευκολύνει τους καλλιεργητές φυτών να αναπτύξουν κερδοφόρες αγροτικές ποικιλίες χρησιμοποιώντας ελεγχόμενα πειράματα υβριδισμού για να ενσωματώσουν επιθυμητά χαρακτηριστικά από ένα είδος σε άλλο (Inglese & Sortino, 2019).

Ωστόσο, η εμφάνιση υβριδικών φυτών εσπεριδοειδών καθιστά δύσκολη τη διαδικασία ταξινόμησης των αυθεντικών ειδών. Ως αποτέλεσμα, υπάρχει κάποια διαμάχη σχετικά με την εγκυρότητα ορισμένων ειδών εσπεριδοειδών (Inglese & Sortino, 2019).

Ο καρπός των εσπεριδοειδών ταξινομείται σωστά ως ένα hesperidium, το οποίο είναι ένα είδος ρώγας, ή σαρκώδης, πολύσπορος καρπός. Οι καρποί των εσπεριδοειδών έχουν ένα σχετικά δερματικό εξωτερικό κέλυφος, με μια πιο σπογγώδη κρούστα στο εσωτερικό. Ο φλοιός των εσπεριδοειδών είναι πολύ πλούσιος σε αδένες που περιέχουν αρωματικά έλαια, τα οποία μπορούν να ανιχνευθούν με τη μυρωδιά τους όταν αποφλοιωθούν αυτά τα φρούτα. Το εσωτερικό του καρπού χωρίζεται σε διακεκριμένα τμήματα που περιέχουν τους σπόρους που περιβάλλεται από έναν ζουμερό πολτό (Πρωτοπαπαδάκης, 2016).

Φρούτα βρώσιμα όπως αυτά των εσπεριδοειδών είναι μια προσαρμογή για να επιτευχθεί η διασπορά των σπόρων τους. Τα εσπεριδοειδή αναζητούνται από πολλά είδη ζώων, που τρώνε τον πολτό και τους σπόρους. Ωστόσο, οι σπόροι εσπεριδοειδών γενικά επιβιώνουν μέσω του εντέρου του ζώου και εκκρίνονται με τα κόπρανα, και με τη μετακίνηση του ζώου, οι σπόροι διασκορπίζονται μακριά από το γονικό δέντρο, έτοιμοι να βλαστήσουν (Πρωτοπαπαδάκης, 2016).

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οποιαδήποτε βοτανική ταξινόμηση των εσπεριδοειδών αντιμετωπίζει πολλές δυσκολίες. Όλα τα είδη εσπεριδοειδών υβριδοποιούνται εύκολα, με τα νέα υβρίδια να αναπτύσσονται συνεχώς για να αποκτήσουν τις επιθυμητές ιδιότητες όπως η έλλειψη σπόρων, ή η δροσερή γεύση. Τα νέα υβρίδια δημιουργούνται με διασταυρωμένη γονιμοποίηση και οι διαφορές μεταξύ ενός είδους,

μιας νέας βοτανικής παραλλαγής, μιας διαφορετικής καλλιεργημένης (κηπευτικής) ποικιλίας και μιας δευτερεύουσας τροποποίησης μπορεί πράγματι να είναι μικρές. Στην περίπτωση των παλαιότερων ποικιλιών και υβριδίων, πιο σύγχρονες μέθοδοι μοριακής έρευνας απαιτούνται μερικές φορές για να διακρίνουν διαφορετικούς τύπους εσπεριδοειδών μεταξύ τους (Πρωτοπαπαδάκης, 2016).

Ορισμένα χαρακτηριστικά των κυριότερων καλλιεργούμενων ειδών εσπεριδοειδών είναι τα παρακάτω (Inglese & Sortino, 2019):

- Γλυκό πορτοκαλί (*C. Sinensis*) και πικρό πορτοκάλι (*C. aurantium*), που διακρίνονται εύκολα από διαφορετικά μορφολογικά και αισθητηριακά χαρακτηριστικά, έχουν παράλληλες ρίζες και τα δύο προέρχονται από τη διασταύρωση των πομέλο, μονοεμβρυονικών ειδών και μανταρινιού. Το πικρό πορτοκαλί (*C. aurantium L.*) προήλθε από τα νότια των Ιμαλαίων, τα βορειοανατολικά της Ινδίας και το Νεπάλ, ενώ το γλυκό πορτοκαλί (*C. sinensis L.*) από τα βορειοανατολικά της Ινδίας, τη νοτιοανατολική Κίνα και την Ινδοκίνα.
- Μανταρίνια και ποικιλίες μανταρινιού. Το μανταρίνι είναι ένα από τα τρία αρχικά είδη, πρόγονος των καλλιεργημένων εσπεριδοειδών, που προέρχεται από τη νοτιοανατολική Κίνα. Η ετερογενής ομάδα μανταρινιών μπορεί να ομαδοποιηθεί σε ένα είδος: *C. reticulata Blanco*. Η κλεμεντίνη είναι ένα υβρίδιο μεταξύ μανταρινιού και γλυκού πορτοκαλιού.
- Γκρέιπφρουτ και φράπα. Το γκρέιπφρουτ (*C. paradisi Macf.*) είναι το μόνο αυτόχθονο είδος του Νέου Κόσμου. Πρόκειται για ένα υβρίδιο που προέρχεται από τη φυσική διασταύρωση του πομέλο και του γλυκού πορτοκαλιού Καραϊβικής Θάλασσας, πιθανώς στα νησιά των Μπαρμπάντος. Το πομέλο (*C. Grandis*) ή *C. maxima* (Burtt) είναι ένα εσπεριδοειδές που προέρχεται από τη νοτιοανατολική Κίνα, την Ινδοκίνα (Λάος, Καμπότζη και Βιετνάμ) και τη Μαλαισία, και εξακολουθεί να είναι πολύ δημοφιλές στην

Κίνα και σε διάφορες άλλες ασιατικές χώρες. Ο καρπός του είναι ο μεγαλύτερος μεταξύ των εσπεριδοειδών.

- Λεμόνια και μοσχολέμονο. Από μοριακές μελέτες φαίνεται ότι το λεμόνι προέρχεται από τη βόρεια Ινδία και πιθανώς στα νοτιοανατολικά της Κίνας και της βόρειας Βιρμανίας. Ο γλυκός λάιμ (*C. limettioides* Tan.) προέρχεται από το αρχιπέλαγος της Νοτιοανατολικής Ασίας και τα υβρίδια μεταξύ λεμονιού και κίτρου είναι πολυάριθμα και διαδεδομένα. Το κίτρο, *C. medica* L. είναι το τρίτο, αρχαιότερο, πρωτότυπο είδος που γεννήθηκε στα βορειοανατολικά της Ινδίας και της Βιρμανίας (Μυανμάρ). Ίσως κανένα άλλο φρούτο, όπως το κίτρο, δεν είχε τόσο μεγάλη επιρροή από θρησκευτικές τελετές στη διάδοσή του. Το κίτρο έλαβε μέρος στην προέλευση πολλών ειδών εσπεριδοειδών. Πράγματι, το περγαμόντο (*C. bergamia* Risso and Poit.) και το λεμόνι Volkamer (*C. volkameriana* Ten και Pasq.) είναι και τα δύο υβρίδια πικρού πορτοκαλιού και κίτρου. Το «ζαρωμένο» λεμόνι (*C. jambhiri* Lush.) και το λάιμ του Rangpur (*C. limonia* Osbeck) είναι και τα δύο υβρίδια κίτρου και μανταρινιού. Το κίτρο διακρίνεται εμπορικά από γλυκό και ξινό, μεγάλου ή μικρού μεγέθους καρπών. Ανάμεσα στα γλυκά λάιμ (*C. limettioides* Tan.), το κίτρο της Παλαιστίνης είναι το πιο διαδεδομένο, καθώς προέρχεται από τη διασταύρωση μεταξύ κίτρου και γλυκού πορτοκαλιού. Μεταξύ των μεγάλων κίτρων, το *C. latifolia* Tan., το κίτρο της Ταϊτής και το κίτρο Bearss είναι τα πιο διαδεδομένα είδη, όπως και το κίτρο Μεξικού.

1.4 Σημαντικά είδη για οικονομική εκμετάλλευση

Τα εσπεριδοειδή είναι από τις δέκα πιο σημαντικές καλλιέργειες όσον αφορά τη συνολική απόδοση φρούτων παγκοσμίως και κατατάσσονται πρώτη στο διεθνές εμπόριο φρούτων από άποψη αξίας. Ο όρος «εσπεριδοειδή» υποδηλώνει ένα σύμπλεγμα ειδών και υβριδίων των γενών *Citrus*, *Eremocitrus*, *Fortunella*, *Microcitrus* και *Poncirus*, *Aurantioideae* (οικογένεια *Rutaceae*). Υποτίθεται ότι όλα τα είδη εσπεριδοειδών που καλλιεργούνται σήμερα προέρχονται από τρία προγονικά

«αληθινά» είδη, *Citrus Medica* (λεμόνι), *Citrus reticulata* (μανταρίνι) και *Citrus maxima* (φράπα) (Πρωτοπαπαδάκης, 2016).

Καλλιεργούνται σε πολλές χώρες σε όλο τον κόσμο, παρόλο που η παραγωγή παρουσιάζει γεωγραφική συγκέντρωση σε ορισμένες περιοχές, κυρίως στο βόρειο ημισφαίριο, αντιπροσωπεύοντας περίπου το 70% της συνολικής παραγωγής εσπεριδοειδών. Οι κυριότερες χώρες παραγωγής εσπεριδοειδών είναι η Βραζιλία, η Κίνα, οι Ηνωμένες Πολιτείες, αλλά και ολόκληρη η περιοχή της Μεσογείου. Οι χώρες αυτές αντιπροσωπεύουν περισσότερο από τα δύο τρίτα της παγκόσμιας παραγωγής εσπεριδοειδών (Πρωτοπαπαδάκης, 2016).

Τα εσπεριδοειδή διατίθενται στο εμπόριο σε όλο τον κόσμο ως ωφέλιμα υγιή φρούτα που περιέχουν βιταμίνη C και πολλές άλλες βιταμίνες και μέταλλα. Λόγω των διατροφικών και οργανοληπτικών ιδιοτήτων τους, τα εσπεριδοειδή συμβάλλουν στη διατροφική ισορροπία τόσο για τους Βόρειους όσο και για τους Νότιους πληθυσμούς. Υπάρχουν δύο σαφώς διαφοροποιημένες αγορές στον τομέα των εσπεριδοειδών: η αγορά νωπών εσπεριδοειδών, με την υπεροχή των πορτοκαλιών, και η μεταποιημένη αγορά εσπεριδοειδών, κυρίως ο χυμός πορτοκαλιού (Inglese & Sortino, 2019).

Τις τελευταίες δεκαετίες, σημαντική ανακάλυψη ήταν η αύξηση του εμπορίου μικρών εσπεριδοειδών (μανταρίνια, κλημεντίνες και σατσούμα) σε βάρος των φρέσκων πορτοκαλιών. Αυτό οφείλεται στην εξέλιξη των προτιμήσεων των καταναλωτών περισσότερο προσανατολισμένων σε φρούτα μικρού μεγέθους, που ξεφλουδίζονται εύκολα και δεν περιέχουν πολλούς ή ακόμη καθόλου σπόρους (Schimmenti et al., 2013).

Η κατανάλωση χυμών εσπεριδοειδών αυξήθηκε επίσης, χάρη στην ευκολία και την υγιεινή των προϊόντων, τη βελτίωση της ποιότητας, την ανταγωνιστικότητα των τιμών, τη διαφημιστική δραστηριότητα και την τεχνολογική πρόοδο στη μεταποίηση, την αποθήκευση και τη συσκευασία. Μεταξύ των κυριότερων ποικιλιών

εσπεριδοειδών, μόνο το γκρέιπφρουτ έχει επίπεδο επεξεργασμένης χρήσης συγκρίσιμο με τα πορτοκάλια (Inglese & Sortino, 2019).



Εικόνα 1: Σημαντικές περιοχές καλλιέργειας εσπεριδοειδών.

Πηγή: https://en.wikipedia.org/wiki/Citrus_production

Η Μεσόγειος αποτελεί σημαντική ζώνη διαφοροποίησης για τα τρία σημαντικότερα οικονομικά είδη εσπεριδοειδών (πορτοκάλια, μανταρίνια, λεμόνια). Οι περισσότεροι από τους φυσικούς γονοτύπους εξακολουθούν να καλλιεργούνται ευρέως, αλλά οι παραγωγές τους είναι κυρίως προσανατολισμένες στην τοπική αγορά. Η ισχυρή αντικατάσταση αυτών των γονότυπων με διεθνείς ποικιλίες, ιδιαίτερα αυτές που απαιτούνται από την αγορά, αποτελεί κίνδυνο για την πιθανή εξαφάνισή τους (Schimmenti et al., 2013).

Η βελτίωσή τους μέσω προγραμμάτων κλωνοποίησης και υγιεινής επιλογής μπορεί σίγουρα να αυξήσει την καλλιέργειά τους και να χαρακτηρίσει τα προϊόντα τους για έναν καλύτερο οικονομικό ανταγωνισμό στην αγορά. Η αγορά συμβάλλει πράγματι στην αλλαγή των καταναλωτικών προτύπων, ιδίως με τη μορφή αυξανόμενης εστίασης στην ποιότητα και την προστιθέμενη αξία του προϊόντος. Οι ευρωπαϊκές

χώρες δίνουν ιδιαίτερη προσοχή στα πρότυπα ποιότητας και την ανιχνευσιμότητα των προϊόντων που έχουν ιθαγενή προέλευση όπως το ιταλικό κόκκινο πορτοκάλι στη Σικελία, το μανταρίνι Nadorcot / Afourer στο Μαρόκο, η κλημεντίνη στην Κορσική και πολλά άλλα (Schimmenti et al., 2013).

Όλες μαζί, οι μεσογειακές χώρες είναι οι σημαντικότερες περιοχές εξαγωγής στον κόσμο. Το μεγαλύτερο μέρος της μεσογειακής παραγωγής εσπεριδοειδών χρησιμοποιείται για εσωτερική κατανάλωση ως φρέσκα φρούτα και για εξαγωγή. Με βάση το είδος, η λεκάνη της Μεσογείου αντιπροσωπεύει το 75% της παγκόσμιας εξαγωγής φρούτων που ξεφλουδίζονται εύκολα (μανταρίνι και είδη μανταρινιού) (Schimmenti et al., 2013).

Τα σημαντικότερα οικονομικά προϊόντα των καλλιεργούμενων εσπεριδοειδών είναι, φυσικά, οι καρποί τους. Στη γεωργία, τα φρούτα πορτοκαλιών και γκρέιπφρουτ συνήθως συλλέγονται όταν είναι ώριμα ή σχεδόν ώριμα, ενώ αυτά των λεμονιών και των κίτρων συνήθως συλλέγονται ενώ είναι ακόμα άγουρα ή πράσινα (Scuderi & Zarba, 2011).

Οι καρποί του γλυκού πορτοκαλιού μπορούν να καταναλωθούν αμέσως μετά το ξεφλούδισμα ή μπορεί να μετατραπούν σε χυμό. Μπορεί επίσης να συγκεντρωθεί με την εξάτμιση περίπου τριών τετάρτων της περιεκτικότητάς του σε νερό και στη συνέχεια να καταψυχθεί για μεταφορά σε μακρινές αγορές. Αυτός είναι ένας οικονομικότερος τρόπος μετακίνησης του χυμού πορτοκαλιού, διότι η αφαίρεση μεγάλου μέρους του νερού σημαίνει ότι πρέπει να μεταφερθεί πολύ μικρότερο βάρος. Επιπλέον, τα συμπυκνώματα χυμού μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή αρτυμάτων για διάφορα είδη ποτών (Scuderi & Zarba, 2011).

Η μεγάλη οικονομική αξία των πορτοκαλιών είναι στους καρπούς τους, αλλά πολλά αρωματικά έλαια μπορούν επίσης να εξαχθούν από τα λουλούδια τους, ή, συνηθέστερα, το φλοιό τους ως υποπροϊόν της βιομηχανίας πορτοκαλιού-χυμού. Αυτά τα αποστάγματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή των λεγόμενων λαδιών Neroli και Πορτογαλίας. Αυτά τα αρώματα χρησιμοποιήθηκαν

αρχικά για την παρασκευή αρωμάτων και για το άρωμα του rotrougri και εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται για αυτούς τους σκοπούς. Επιπλέον, πολλά οικιακά προϊόντα, όπως τα υγρά απορρυπαντικά, τα σαμπουάν και τα σαπούνια, είναι ευχάριστα αρωματισμένα χρησιμοποιώντας τα αρωματικά έλαια που εξάγονται από εσπεριδοειδή (Scuderi & Zarba, 2011).

1.5 Θρεπτική αξία καρπών εσπεριδοειδών

Τα εσπεριδοειδή έχουν εκτιμηθεί από καιρό ως μέρος μιας θρεπτικής και εύγευστης διατροφής. Είναι γνωστό ότι τα εσπεριδοειδή είναι πλούσια πηγή βιταμινών, ανόργανων στοιχείων και διαιτητικών ινών (μη αμυλούχων πολυσακχαριτών) που είναι απαραίτητα για την φυσιολογική ανάπτυξη και τη συνολική διατροφική ευεξία. Ωστόσο, αρχίζει να εκτιμάται ότι αυτές και άλλες βιολογικά δραστικές, μη θρεπτικές ενώσεις που απαντώνται σε εσπεριδοειδή και άλλα φυτά (φυτοχημικά) μπορούν επίσης να βοηθήσουν στη μείωση του κινδύνου πολλών χρόνιων ασθενειών (Dipak & Ranajit, 2004).

Όπου ενδείκνυται, οι κατευθυντήριες γραμμές και οι συστάσεις σχετικά με τη διατροφή που ενθαρρύνουν την κατανάλωση εσπεριδοειδών και των προϊόντων τους μπορούν να οδηγήσουν σε ευρύτατα διατροφικά οφέλη σε ολόκληρο τον πληθυσμό (Turner & Burri, 2013).

Τα εσπεριδοειδή είναι επίσης γνωστά ως πλούσια πηγή βιταμίνης C και B, ενώ η αυξημένη κατανάλωση εσπεριδοειδών και χυμών είναι ένα καλό μέσο αύξησης της πρόσληψης καλίου. Επίσης, περιέχουν έναν εντυπωσιακό κατάλογο άλλων βασικών θρεπτικών συστατικών, συμπεριλαμβανομένων τόσο των γλυκαιμικών όσο και των μη γλυκαιμικών υδατανθράκων (σάκχαρα και φυτικές ίνες) φολικού οξέος, ασβεστίου, θειαμίνης, νιασίνης, βιταμίνης B6, φωσφόρου, μαγνησίου, χαλκού, ριβοφλαβίνης, παντοθενικού οξέος και ποικιλίας φυτοχημικών. Επιπλέον, τα εσπεριδοειδή δεν περιέχουν λίπος ή νάτριο και, ως φυτική τροφή, δεν έχουν χοληστερόλη. Η μέση ενεργειακή αξία των φρέσκων εσπεριδοειδών είναι επίσης

χαμηλή, η οποία μπορεί να είναι πολύ σημαντική για τους καταναλωτές που ενδιαφέρονται για την αύξηση του σωματικού τους βάρους. (Turner & Burri, 2013).

Το κύριο θρεπτικό συστατικό που παράγει ενέργεια στα εσπεριδοειδή είναι ο υδατάνθρακας. Τα εσπεριδοειδή περιέχουν τους απλούς υδατάνθρακες (σάκχαρα) φρουκτόζη, γλυκόζη και σακχαρόζη, καθώς και κιτρικό οξύ το οποίο μπορεί επίσης να παράσχει μικρή ποσότητα ενέργειας. Τα εσπεριδοειδή περιέχουν επίσης μη αμυλούχα πολυσακχαρίδια, κοινώς γνωστά ως διαιτητικές ίνες, που είναι ένας πολύπλοκος υδατάνθρακας με σημαντικά οφέλη για την υγεία. Ο κυρίαρχος τύπος ινών στα εσπεριδοειδή είναι η πηκτίνη, που αποτελεί το 65 έως 70 τοις εκατό των συνολικών ινών (Dipak & Ranajit, 2004).

Στο ανθρώπινο σώμα, τα μη αμυλούχα πολυσακχαρίδια περιέχουν υδατοδιαλυτά θρεπτικά συστατικά σε μια μήτρα γέλης που καθυστερεί τη γαστρική κένωση και επιβραδύνει την πέψη και την απορρόφηση. Αυτό τείνει να προάγει τον κορεσμό και μπορεί να μειώσει τον ρυθμό πρόσληψης γλυκόζης μετά την κατανάλωση γλυκαιμικού (διαθέσιμου) υδατάνθρακα, βοηθώντας έτσι στην πρόληψη της αύξησης των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα. Επίσης, τα μη αμυλούχα πολυσακχαρίδια μπορεί επίσης να παρεμβαίνουν στην επαναπορρόφηση των χολικών οξέων που μπορεί να βοηθήσει στη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης στο πλάσμα (Turner & Burri, 2013).

1.6. Φαρμακευτικές ιδιότητες

Οι αντιοξειδωτικές δραστηριότητες των καροτενοειδών υποστηρίζεται ότι σχετίζονται με χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης εκφύλισης της ωχράς κηλίδας που σχετίζεται με την ηλικία, γεγονός που αποτελεί την κύρια αιτία τύφλωσης στον άνθρωπο μετά την ηλικία των 65 ετών. Ο ρόλος των καροτενοειδών εσπεριδοειδών στην πρόληψη των ασθενειών και στη διαχείριση της ανθρώπινης υγείας δεν μπορεί να υπογραμμιστεί. Το καροτένιο διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο ως πηγή βιταμίνης Α. Ο πιο ενεργός ρόλος είναι η προστασία από σοβαρές διαταραχές όπως ο καρκίνος, οι καρδιακές παθήσεις, ενώ οι δίαιτες που είναι πλούσιες σε καροτενοειδή που

περιέχουν φρούτα συνδέονται με έντονα μειωμένους κινδύνους για μια ποικιλία εκφυλιστικών ασθενειών (Idoko, 2019).

Οι δυνατότητες του πολτού των εσπεριδοειδών και του αλδεύου (το λευκό του πορτοκαλιού) μελετώνται εκτεταμένα για να είναι πλούσιες σε γλυκαρίτες και για την πρόληψη του καρκίνου του μαστού και για τη μείωση του κινδύνου και των συμπτωμάτων του προεμμηνορροϊκού συνδρόμου (Idoko, 2019).

Όσα άτομα καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες εσπεριδοειδών πλούσιων σε βιταμίνη C, προστατεύουν τον οργανισμό τους έναντι της φλεγμονώδους πολυαρθρίτιδας, μιας μορφής ρευματοειδούς αρθρίτιδας που περιλαμβάνει δύο ή περισσότερες αρθρώσεις. Αντίθετα, τα άτομα που καταναλώνουν χαμηλές ποσότητες τροφών πλούσιων σε βιταμίνη C έχουν περισσότερες πιθανότητες να αναπτύξουν αρθρίτιδα από εκείνους που καταναλώνουν υψηλότερες ποσότητες (Idoko, 2019).

Τα λεμονοειδή από διάφορα είδη και κατηγορίες εσπεριδοειδών, συμπεριλαμβανομένων λεμονιών και κίτρου, έχουν αναφερθεί ότι έχουν αντικαρκινική ικανότητα έναντι καρκίνων του στόματος, του δέρματος, του πνεύμονα, του μαστού και του στομάχου. Τα *citrus aurantifolia* έχουν αναφερθεί ότι έχουν ανασταλτικές και κατασταλτικές επιδράσεις στον καρκίνο του παγκρέατος και τα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου αντίστοιχα (Idoko, 2019).

Οι ιδιότητες των φλαβονοειδών εσπεριδοειδών στην πρόληψη της εξέλιξης της υπεργλυκαιμίας, εν μέρει με τη σύνδεση με το άμυλο, την αύξηση της ηπατικής γλυκόλυσης και τη συγκέντρωση του γλυκογόνου και τη μείωση της ηπατικής γλυκονεογένεσης (Shen et al., 2012).

Η χρήση του είδους *C. aurantium L.*, ευρέως γνωστό ως πικρό πορτοκάλι, και κυρίως των φλουδών, των άνθεων και των φύλλων του, είναι δημοφιλής στη θεραπεία των διαταραχών του κεντρικού νευρικού συστήματος, όπως αϋπνία και άγχος, ενώ

ανακουφίζει από τις κράμπες στο στομάχι, τη δυσκοιλιότητα και τον πυρετό, αλλά και καταπολεμά την οξύτητα του στομάχου (Crispim et al., 2012).

Η παραδοσιακή χρήση του *C. Sinensis*, γνωστό ως γλυκό πορτοκάλι, ως ηρεμιστικό μπορεί να αποδοθεί στην ουσία «hesperidin», η οποία είναι υπεύθυνη για καταστολή. Η εσπεριδίνη εκτελεί την ηρεμιστική της δράση μέσω της αλληλεπίδρασης και της διέγερσης των υποδοχέων αδενosίνης. Η επίδρασή της είναι αντίθετη με εκείνη που παρατηρείται μετά την κατανάλωση καφέ και τσαγιού, οι οποίες ανταγωνίζονται τους υποδοχείς της αδενosίνης και έτσι διατηρούν την κατάσταση της εγρήγορης (Guzmán-Gutiérrez & Navarrete, 2009).

Υπάρχουν ενδείξεις ότι το περγαμόντο (*C. Bergamia*) περιέχει αντιβακτηριακά και αντιμυκητιακά ενεργά συστατικά, επιπλέον των αντιφλεγμονωδών, νευροψυχοφαρμακολογικών, νευροπροστατευτικών και αναλγητικών αποτελεσμάτων, καθώς και των καρδιαγγειακών ιδιοτήτων του. Ο χυμός περγαμόντο, ο οποίος λαμβάνεται από τον ενδοκάρπιο μετά την εκχύλιση του αιθέριου ελαίου, βρέθηκε να εμφανίζει υπογλυκαιμικές και υπολιπιδαιμικές δράσεις, καθώς και αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές ιδιότητες (Navarra et al., 2015).

Η χρήση του λεμονιού (*C. Limon*) βοηθά στην εξουδετέρωση της οξύτητας του γαστρικού περιβάλλοντος, με την τόνωση της παραγωγής ανθρακικού καλίου, υποδεικνύοντας τα προστατευτικά του αποτελέσματα στον γαστρικό βλεννογόνο. Βρέθηκε επίσης ότι έχει αναλγητικές, αντι-αναιμικές, αντι-σκληρυτικές, αντιπυρετικές, αντισηπτικές, μαλακτικές και ενυδατικές ιδιότητες. Το όφελος της λεμονοκυτταρίνης είναι η αντιδιαρροϊκή, διουρητική, προστατευτική του εντερικού βλεννογόνου, τοπική αιμοστατική, αγγειακή δράση της (Zhao et al., 2015).

Κεφάλαιο 2^ο

Τα Σημαντικότερα Παθογόνα στα Εσπεριδοειδή

Καλλιεργούμενα σε περισσότερες από 100 χώρες, τα εσπεριδοειδή αποτελούνται από πολλά είδη, όπως πορτοκάλια, μανταρίνια, γκρέιπφρουτ, λεμόνια και λάιμ (Bazioli et al., 2019).

Ο βασικός περιοριστικός παράγοντας της επιτυχούς εμπορίας εσπεριδοειδών είναι η σημαντική υποβάθμιση της ποιότητας των καρπών που οφείλονται σε φυτοπαθογόνους παράγοντες κατά την αποθήκευση και τη διαμετακόμιση σε απομακρυσμένες αγορές. Τα *Citrus spp.* είναι επιρρεπή στην προσβολή περισσότερων από 100 ασθενειών που προκαλούνται από μύκητες, βακτήρια και ιούς (Bazioli et al., 2019).

Τα εσπεριδοειδή προσβάλλονται από έναν αριθμό παθογόνων μικροοργανισμών από το στάδιο της άνθησης έως τη συγκομιδή και στη συνέχεια από παθογόνους παράγοντες μετά τη συγκομιδή που επηρεάζουν την παραγωγή της καλλιέργειας και επιδεινώνουν σημαντικά την ποιότητα των καρπών. Τα εσπεριδοειδή απαιτούν περίπου 5 - 9 μήνες για την ωριμότητά τους στα δέντρα και κατά τη διάρκεια αυτής της μακράς περιόδου ωριμότητας, οι καρποί παραμένουν εκτεθειμένοι στην επίθεση των παθογόνων πριν από τη συγκομιδή. Τα παθογόνα πριν τη συγκομιδή όπως *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum*, *Botryodiplodia theobromae*, *Alternaria citri*, *Phomopsis citri*, κλπ. μολύνουν τους καρπούς από την ανάπτυξη τους μέχρι τη συγκομιδή και προκαλούν σημαντική ζημιά στην παραγωγή και την ποιότητά τους (Naqvi, 2004).

Οι ασθένειες που προκαλούνται από τους μύκητες *Penicillium digitatum*, *P. italicum* και *Geotrichum citri-aurantii*, είναι τα κύρια μετασπαστικά παθογόνα (Bazioli et al., 2019).

2.1. Μύκητες

Πάνω από 20 διαφορετικά είδη ασθενειών από μύκητες έχουν αναφερθεί στα εσπεριδοειδή και τα οποία αποτελούν την κύρια αιτία της φθοράς των καρπών, με αποτέλεσμα τεράστιες οικονομικές απώλειες. Επιπλέον, η ανάπτυξη μυκήτων στα φρούτα μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή μυκοτοξινών, συμπεριλαμβανομένων των πιθανών καρκινογόνων παραγόντων όπως η κιτρίνινη και η πατουλίνη (Bazioli et al., 2019). Αξίζει να σημειωθεί πως οι μύκητες *Penicillium digitatum* και *P. Italicum* ευθύνονται για το 80% της συνολικής απώλειας των εσπεριδοειδών μετά τη συγκομιδή (Embaby et al., 2013).

2.1.1. *Penicillium digitatum*

Ο μύκητας *Penicillium digitatum* είναι το σημαντικότερο μετασυλλεκτικό παθογόνο των εσπεριδοειδών σε όλο τον κόσμο. Ο *Penicillium digitatum*, η αιτία της πράσινης μούχλας εσπεριδοειδών, περιγράφηκε και ταξινομήθηκε από τον Saccardo το 1881. Το είδος ταξινομείται στην κατηγορία Μύκητες, διαίρεση *Ascomycota*, υποδιαίρεση *Pezizomycotina*, κατηγορία *Eurotiomycetes*, υποκατηγορία *Eurotiomycetidae*, τάξη *Eurotiales*, οικογένεια *Trichocomaceae* και γένος *Penicillium*. (Ballester et al., 2019).



Εικόνα 2: Εξέλιξη της μόλυνσης του μύκητα *Penicillium digitatum* σε πορτοκάλια.

Πηγή: <https://www.mdpi.com/2076-2607/7/7/198>

Υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που μεσολαβούν και επηρεάζουν την αλληλεπίδραση μεταξύ του μύκητα *P. digitatum* και του καρπού, περιλαμβανομένης της παραγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου, της έκκρισης οργανικών οξέων και κατά συνέπεια του ελέγχου του pH και άλλων στρατηγικών. Η επιτυγχανόμενη πρόσφατα αλληλούχιση του γονιδιώματος του μύκητα *P. digitatum* άνοιξε νέες δυνατότητες για την εξερεύνηση των παραγόντων που σχετίζονται με την αλληλεπίδραση ξενιστή-παθογόνου. Μέσω τέτοιων τεχνικών και στοχευμένων μεταλλάξεων που προκαλούνται από το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*, έχουν αναφερθεί σημαντικά γονίδια που εμπλέκονται στη διαδικασία μόλυνσης στα εσπεριδοειδή, βοηθώντας να διασαφηνιστούν οι μοριακοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην παθογένεια του μύκητα *P. digitatum*. (Costa et al., 2019a).

Η μόλυνση πραγματοποιείται αποκλειστικά μέσω πληγών που προκαλούνται από προσβολή από έντομα και τραυματισμούς που προκαλούνται κατά τη διάρκεια της συλλογής, της μεταφοράς και της συσκευασίας. Η συχνότητα εμφάνισης της ασθένειας μπορεί να μειωθεί με προσεκτικό χειρισμό (για να ελαχιστοποιηθούν οι τραυματισμοί) και συσκευασία (για να ελαχιστοποιηθεί το φορτίο σπορίων στον αέρα και στα φρούτα), με τον έλεγχο των εντόμων (μύγα φρούτων και σκώρος), με χλωρίωση και εφαρμογή μυκητοκτόνων στη συσκευασία (Costa et al., 2019a).

Ο μύκητας μπορεί να βλαστήσει σε τεχνητά μέσα στους 5 ° C και, σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να παράγει αποικίες διαμέτρου έως 3 mm. Δεν υπάρχει ανάπτυξη στους 37 ° C. Η οσμή μπορεί να είναι έντονη, καθώς έχουν εντοπιστεί πτητικοί μεταβολίτες όπως λιμονένιο, βαλενσένιο, αιθυλένιο, αιθυλική αλκοόλη, οξικός αιθυλεστέρας ή οξικός μεθυλεστέρας (Palou, 2014).

2.1.2. *Penicillium italicum*

Ο μύκητας *P.italicum* (μπλε μούχλα) εμφανίζεται στο εξωτερικό των καρπών των εσπεριδοειδών. Τα πρώτα συμπτώματα είναι μια μαλακή περιοχή στην επιδερμίδα του καρπού, ακολουθούμενη από την ανάπτυξη μιας κυκλικής αποικίας με λευκή εξάνθιση που στη συνέχεια θα αποκτήσει κυανό χρώμα (Pimenta et al., 2008).

Ο *P.italicum* προκαλεί χαρακτηριστική σήψη του φρούτου και σε προχωρημένα στάδια, η επιφάνεια καλύπτεται από γαλαζωπό - πράσινο μυκήλιο. Τέλος, ο καρπός γίνεται μαλακός και συχνά μια γλοιώδης άμορφη μάζα. Η σήψη διαφέρει από εκείνη που προκαλείται από το μύκητα *P. digitatum*, που δημιουργεί μυκήλιο με πράσινο χρώμα. Οι δύο μύκητες βρίσκονται συχνά μαζί στους ίδιους καρπούς (Veljonić et al., 2017).



Εικόνα 3: Πορτοκάλι με μόλυνση από τον μύκητα *Penicillium italicum*.

Πηγή: <https://imgur.com/gallery/5TcOC/comment/1265478973>

Τα έντομα που εισχωρούν στα φρούτα, όπως η μύγα των φρούτων της Μεσογείου, μπορεί να προκαλέσουν τραυματισμούς, ενώ τα φρούτα εξακολουθούν να βρίσκονται ακόμη στο δέντρο, επιτρέποντας τη μόλυνση από τον *P. italicum* πριν από τη συγκομιδή, η οποία μπορεί να μην εντοπιστεί τη στιγμή της διαλογής. Η μόλυνση συμβαίνει επίσης μέσω πληγών που υφίστανται κατά τη συγκομιδή και τη μεταφορά, ενώ ο καρπός είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος σε περιόδους υγρού καιρού (Veljonić et al., 2017).

2.1.3. *Alternaria sp.*

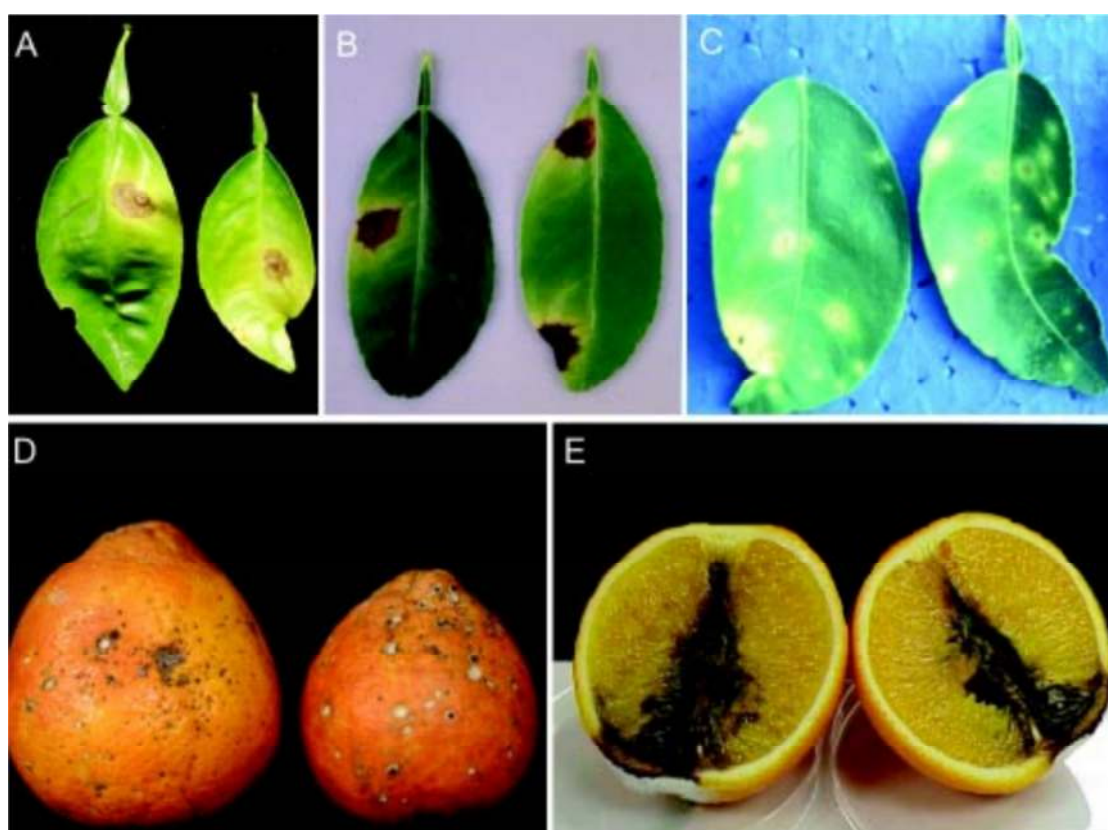
Το γένος *Alternaria* διαδίδεται ευρέως στο περιβάλλον (ατμόσφαιρα, έδαφος, σπόροι και γεωργικά προϊόντα). Περιλαμβάνει πολυάριθμα σαπροφυτικά, ενδοφυτικά και παθογόνα είδη, προκαλώντας υποβάθμιση πριν και μετά τη συγκομιδή των δημητριακών, των φρούτων και των λαχανικών (Peever et al., 2004).

Η ασθένεια που προκαλείται από το μύκητα *Alternaria* είναι μια εξαιρετικά καταστροφική ασθένεια των μανταρινιών και των υβριδίων μανταρινιών παγκόσμιας σημασίας. Η ασθένεια επικρατεί στις περιοχές παραγωγής εσπεριδοειδών με μεσογειακό κλίμα, που χαρακτηρίζεται από δροσερούς, υγρούς χειμώνες και ζεστά, ξηρά καλοκαίρια. Ο μύκητας *Alternaria spp.* επιτίθεται σε νεαρά φύλλα, κλαδιά και καρπούς, προκαλώντας κακώσεις έως κηλίδες μαύρου χρώματος που περιβάλλονται από ένα κίτρινο φωτοστέφανο (Πρωτοπαπαδάκης, 2016).

Το γένος *Alternaria spp.* μπορεί επίσης να προκαλέσει μαύρη σήψη εσπεριδοειδών, η οποία εμφανίζεται κυρίως με σάπιο πυρήνα, καθώς και με στίγματα στα φύλλα των λεμονιών και με φολίδες στα φύλλα σε μεξικάνικο κίτρο. Ωστόσο, αυτές οι δύο τελευταίες ασθένειες θεωρούνται χαμηλής οικονομικής σημασίας επειδή περιορίζονται σε μονάδες παραγωγής φυτών και σπόρων ή εμφανίζονται σε περιορισμένες περιοχές. Τόσο η μαύρη σήψη όσο και η καφετί κηλίδα προκαλούνται από διάφορα είδη *Alternaria* (Peever et al., 2004).

Πιο αναλυτικά, το παθογόνο μανταρινιού *A. alternata* μολύνει πολλά μανταρινία και υβρίδια και επηρεάζει τα φύλλα, τα κλαδιά και τους καρπούς. Στα νεαρά φύλλα, η ασθένεια παράγει λεπτά καφέ έως μαύρα στίγματα. Τα συμπτώματα μπορεί να εμφανιστούν μόλις 24 ώρες μετά τη μόλυνση (Garganese et al., 2016).

Η χλώρωση και η νέκρωση μπορεί να εκτείνεται κατά μήκος των αγγείων των φύλλων καθώς η τοξίνη μετατοπίζεται ακρομετρικά. Στα ώριμα φύλλα, η ασθένεια εμφανίζεται ως νεκρωτικές κηλίδες με χλωρωτική άλω (Εικόνα 4, A). Οι νεαροί βλαστοί μολύνονται επίσης και παράγουν συμπτώματα διαμέτρου 1 έως 10 mm. Τα μολυσμένα κλαδιά νεκρώνονται ειδικά αν τα φύλλα έχουν πέσει. Στους καρπούς, οι καφέ ή μαύρες κηλίδες μπορεί να κυμαίνονται από μικρές κηλίδες έως μεγάλες αλλοιώσεις (Εικόνα 4, D) (Peever et al., 2004).



Εικόνα 4: Α. Συμπτώματα του μύκητα *Alternaria* με καφέ κηλίδα. Β. Συμπτώματα του μύκητα *Alternaria* σε φύλλα λεμονιού. D. Συμπτώματα του μύκητα *Alternaria* σε καρπό. Ε, Συμπτώματα μαύρης σήψης σε καρπό πορτοκαλιού.

Πηγή: https://www.researchgate.net/publication/279768555_Alternaria_diseases_of_citrus_-_Novel_pathosystems

Η ασθένεια με τις κηλίδες στα φύλλα από το μύκητα *Alternaria* είναι μόνο εμπορικά επιβλαβής σε φυτώρια και σε μονάδες παραγωγής σπόρων, καθώς επηρεάζει μόνο το ακατέργαστο λεμόνι και το κίτρο Rangpur. Τα συμπτώματα στα φύλλα είναι παρόμοια με εκείνα που παράγονται σε μανταρίνια (Εικόνα 4B). Η τοξίνη που παράγεται από αυτό το παθογόνο είναι ξεχωριστή από τον παθογόνο τύπο του μανταρινιού και ονομάζεται ACR-τοξίνη ή ACRL-τοξίνη. Τα συμπτώματα δεν εμφανίζονται σε φύλλα άγριου λεμονιού για περίπου 3 ημέρες μετά τον εμβολιασμό σε σύγκριση με τις 24 ώρες που απαιτούνται για την καφετί κηλίδα. Τα συμπτώματα στους καρπούς είναι μικρά καστανά στίγματα και είναι αρκετά μειωμένα σε σχέση με τον παθογόνο τύπο του μανταρινιού (Garganese et al., 2016).

Η μαύρη σήψη επηρεάζει το κεντρικό μέρος του καρπού και μπορεί να επηρεάσει όλα τα είδη εσπεριδοειδών. Τα εξωτερικά συμπτώματα δεν είναι συχνά εμφανή και, αν υπάρχουν, εμφανίζονται ως ένα μικρό καφέ ή μαύρο στίγμα στο άκρο του καρπού (Εικόνα 4E). Τα επηρεασμένα φρούτα είναι πιο έντονα χρωματισμένα από τα κανονικά φρούτα λόγω του αιθυλενίου που παράγεται ως αντίδραση στη μόλυνση (Peever et al., 2004).

Φαίνεται ότι τα περισσότερα απομονωθέντα στελέχη του μύκητα *Alternaria* με μικρό στρώμα είναι ικανά να προκαλέσουν μαύρη σήψη. Καθένα από αυτά περιλαμβάνουν σαπροφυτικά απομονωμένα στελέχη που αποικίζουν νεκρούς ή γηρασμένους ιστούς, επιφύδες από υγιή φύλλα, καθώς και τους παθογόνους τύπους του μανταρινιού και του ακατέργαστου λεμονιού. Για την διεύθυνση του μύκητα απαιτείται πληγή ή φυσική ρωγμή (Peever et al., 2004).

2.1.4. *Lasiodiplodia theobromae* (*Diplodia natalensis*)

Η σήψη που προκαλείται από τα στελέχη του μύκητα *Lasiodiplodia theobromae* (συνώνυμα: *Botryodiplodia theobromae* και *Diplodia natalensis*) είναι μια οικονομικά επιβλαβής μετά την συγκομιδή φθορά που εμφανίζεται σε όλους τους τύπους εσπεριδοειδών που καλλιεργούνται σε θερμές, υγρές τροπικές και υποτροπικές περιοχές του κόσμου. Η μόλυνση των φρούτων συχνά οδηγεί σε μαλακή καστανή σήψη λίγο πριν ή μετά τη συγκομιδή, ενώ η μόλυνση των δένδρων προκαλεί διάσπαση των κυτταρικών τοιχωμάτων και έτσι αποδυναμώνει την αντοχή του ξύλου (Zhao et al., 2015).



Εικόνα 5: Μόλυνση *Lasiodiplodia theobromae* σε εσπεριδοειδές.

Πηγή: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124115521000107>

Στα εσπεριδοειδή, η μόλυνση των καρπών μπορεί να προκαλέσει στειρότητα στο στέλεχος (SER), μια ασθένεια μετά τη συγκομιδή. Η εμφάνιση του SER ενισχύεται σε μεγάλο βαθμό από την έκθεση στο αιθυλένιο, το οποίο χρησιμοποιείται συνήθως για να ενισχύσει την ανάπτυξη του χρώματος του καρπού. Το αιθυλένιο είναι μια φυτική ορμόνη που προάγει την αποικοδόμηση της χλωροφύλλης, την ωρίμανση, τη

γήρανση και την αποκοπή των καρπών. Τα συμπτώματα της SER στα εσπεριδοειδή περιλαμβάνουν τη μαλάκωση της επιφάνειας, ακολουθούμενη από έναν καφέ μεταχρωματισμό των προσβεβλημένων περιοχών (Zhao et al., 2015).

Χαρακτηριστικά, η αποσύνθεση αναπτύσσεται στο άκρο του στελέχους πριν εμπλέξει ολόκληρο τον καρπό, καθώς ο μύκητας εξελίσσεται ταχέως μέσα από τον σπογγώδη κεντρικό άξονα του. Στα εσπεριδοειδή, ο μύκητας μολύνει τον καλιούχο και τον φυτικό δίσκο κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης. Η μόλυνση τότε κανονικά παραμένει αδρανής, ενώ ο καρπός βρίσκεται ακόμη στο δέντρο και ο μύκητας δεν εισβάλλει συνήθως στους καρπούς μέχρι την συγκομιδή (Zhao et al., 2015).

2.1.5. *Geotrichum citri-aurantii*

Η ξινή σήψη είναι μια σημαντική ασθένεια μετά την συγκομιδή των εσπεριδοειδών που προκαλείται από το παθογόνο *Galactomyces citri-aurantii* Butler (*Geotrichum citri-aurantii* (Ferraris) Butler). Η ασθένεια έχει αναφερθεί από τις περισσότερες περιοχές του κόσμου όπου καλλιεργούνται εσπεριδοειδή και μολύνουν όλες τις ποικιλίες εσπεριδοειδών, συμπεριλαμβανομένων των μανταρινιών (*Citrus reticulata* Blanco), των πορτοκαλιών (*C. sinensis* (L.) Osbeck), του γκρέιπφρουτ (*C. paradisi* Macfadyen) λεμόνια (*C. limon* (L.) NL Burm.). Το παθογόνο εισέρχεται μέσω τραυμάτων με τη σκόνη και το νερό που εκτοξεύεται από το έδαφος πάνω στους καρπούς που κρέμονται χαμηλά (Hernández-Montiel et al., 2010).

Συγκεκριμένα, οι τραυματισμοί που υφίστανται στο λευκό τμήμα της φλούδας των καρπών είναι αρκετοί για να λάβει χώρα μόλυνση. Οι τραυματισμοί αυτοί συχνά προέρχονται από την επίθεση των εντόμων, κυρίως από σκώρους και τις μύγες φρούτων που τρυπούν τους καρπούς. Όλες οι ποικιλίες εσπεριδοειδών είναι ευαίσθητες, αλλά ιδιαίτερα ευαίσθητα είναι τα υβρίδια μανταρινιού. Ο μύκητας μπορεί επίσης να εξαπλωθεί με μύγες ξιδιού (*Drosophila* spp.) από μολυσμένα ή τραυματισμένα φρούτα. Ο μύκητας *Geotrichum citri-aurantii* αναπτύσσεται ταχύτερα σε θερμοκρασίες άνω των 27 ° C και στους πολύ ώριμους καρπούς (Wu et al., 2017).

2.1.6. *Trichoderma viride*

Τα είδη του γένους *Trichoderma* (*Teleomorph Hypocrea*) βρίσκονται σε πολλά οικοσυστήματα, αλλά ο πιο κοινός και φυσικός οικότοπος αυτών των μυκήτων είναι το χώμα και επιτίθεται στους καρπούς όλων των ποικιλιών εσπεριδοειδών (Bicici et al., 1992).



Εικόνα 6: Λεμόνι μολυσμένο από το μύκητα *Trichoderma viride*. Πηγή: <https://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=26152>

Η αρχική μόλυνση εξαρτάται από τους τραυματισμούς των καρπών, αλλά ο μύκητας εισβάλλει σε χαρτοκιβώτια και ξύλινα κουτιά αποθήκευσης από όπου μπορεί να αναπτυχθεί ξανά και να μολύνει φρούτα υγιή. Ο μύκητας *Trichoderma* είναι ένας αποικοδομητής κυτταρίνης και αναπτύσσεται έντονα σε υλικά, όπως το χαρτί και το ξύλο (Bicici et al., 1992).

Αξίζει να σημειωθεί πως τα είδη του μύκητα *Trichoderma* έχουν ανταγωνιστική δράση έναντι παθογόνων φυτών και έχουν μελετηθεί εκτενώς ως προς τους παράγοντες βιολογικού ελέγχου έναντι παθογόνων (Albert et al., 2011).

2.1.7. *Colletotrichum gloeosporioides*

Ο μύκητας είναι ένας κύριος εισβολέας τραυματισμένων ή εξασθενημένων ιστών φυτών εσπεριδοειδών σε οπωρώνες και μπορεί να καταστήσει τα μολυσμένα φρούτα μη εμπορεύσιμα. Συγκεκριμένα, ο *Colletotrichum* είναι ένα από τα σημαντικότερα γένη φυτικών παθογόνων μυκήτων, υπεύθυνο για πολλές ασθένειες σε πολλές καλλιέργειες σε όλο τον κόσμο. Μάλιστα, ο *Colletotrichum spp.* συμπεριλήφθηκε πρόσφατα στον κατάλογο των δέκα σημαντικότερων φυτικών παθογόνων μυκήτων στον κόσμο (Guarnaccia et al., 2017).



Εικόνα 7: Πορτοκάλια μολυσμένα από το μύκητα *Colletotrichum gloeosporioides*. Πηγή: <https://www.appsnet.org/publications/potm/pdf/Feb11.pdf>

Ο μύκητας αποικίζει σε ξερά κλαδιά και νεκρούς ιστούς και σχηματίζει μια αφθονία ακέρβουλων και κονιδίων, από όπου διασπείρονται από τον άνεμο, τη βροχή και τα έντομα στα φρέσκα φρούτα. Ο μύκητας διεισδύει στον καρπό και στη συνέχεια παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση μέχρις ότου οι συνθήκες είναι ευνοϊκές για περαιτέρω ανάπτυξη, όπως η υπερβολική ωριμότητα ή ο τραυματισμός του καρπού. Όλα τα είδη εσπεριδοειδών είναι ευαίσθητα, αλλά κυρίως είδη μανταρινιών. Τα συμπτώματα της νόσου είναι σπάνια εμφανή στο φλοιό των καρπών κατά τη διάρκεια της περιόδου πριν από τη συγκομιδή, αλλά και μετά τη συγκομιδή μπορεί να

εμφανιστούν ως σκούρες καφέ ακανόνιστες αλλοιώσεις βυθισμένες στους ιστούς του δέρματος του καρπού (Sharma & Kulshrestha, 2015).

2.1.8. *Fusarium spp.*

Η ξηρή σήψη των ριζών, μια ασθένεια που προκαλείται από το μύκητα του εδάφους *Fusarium solani*, έχει μακρά ιστορία στην παραγωγή εσπεριδοειδών. Ο μύκητας *Fusarium solani* είναι παθογόνο στα εσπεριδοειδή και μπορεί να μόνον να προσβάλλει όταν ένα δέντρο είναι σε ευαίσθητη κατάσταση (Sandoval et al., 2018).

Όλες οι ηλικίες των δένδρων είναι ευαίσθητες στην ασθένεια. Τα συμπτώματα μπορεί να περιλαμβάνουν ένα κόκκινο προς γκριζωπό χρώμα των ριζών. Η μόλυνση οδηγεί σε σκουρόχρωμη φθορά στο φλοιό μεγάλων ριζών και του κορμού. Ωστόσο, ο αποχρωματισμός μπορεί μερικές φορές να περιορίζεται σε ένα τμήμα και όχι σε ολόκληρη την επιφάνεια. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τα δέντρα να καθίστανται αδύναμα και να χάνουν την ικανότητα να παράγουν ποιοτικούς καρπούς. Τα φύλλα γίνονται κίτρινα, έπειτα καφέ και μαραίνονται ή πέφτουν γρήγορα. Η εξέλιξη της νόσου επηρεάζεται από τις καιρικές συνθήκες και είναι ταχύτερη κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (Yaseen & D'Onghia, 2010).

2.1.9. Μυκοτοξίνες

Οι μυκοτοξίνες είναι δευτερογενείς μεταβολίτες μυκήτων με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται φυσικά στα τρόφιμα. Αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη ομάδα διαφορετικών ουσιών που παράγονται από διαφορετικά είδη μυκήτων.

Ωστόσο, η ανάπτυξη των μυκήτων δεν συνδέεται απαραίτητα με το σχηματισμό μυκοτοξινών, καθώς οι μυκοτοξίνες ενδέχεται να υφίστανται σε τρόφιμα όταν δεν υπάρχουν πλέον μύκητες. Επιπλέον, ένας μύκητας μπορεί να παράγει διαφορετικές μυκοτοξίνες αλλά και μια μυκοτοξίνη μπορεί να παραχθεί από διαφορετικούς διαφορετικούς μύκητες (Fernandez – Cruz et al., 2010).

Ένα χαρακτηριστικό που μοιράζονται τα περισσότερα φρούτα είναι η υψηλή οξύτητα. Το pH των φρούτων κυμαίνεται από 5,0 έως 2,5 και αυτό το επίπεδο pH θεωρείται ο πιο σημαντικός παράγοντας στον προσδιορισμό των τύπων μικροοργανισμών που μπορούν να προκαλέσουν βλάβη σε αυτή την κατηγορία τροφίμων. Λόγω της οξύτητας, ως εκ τούτου, οι μύκητες είναι οι κύριοι μικροοργανισμοί φθοράς για τα φρούτα. Τα φρούτα γίνονται όλο και πιο ευαίσθητα στην εισβολή των μυκήτων κατά την ωρίμανση, καθώς αυξάνεται το pH του ιστού, μαλακώνουν οι στρώσεις του δέρματος, αυξάνονται οι διαλυτοί υδατάνθρακες και αποδυναμώνουν την άμυνα των καρπών (Fernandez – Cruz et al., 2010).

Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η ανάπτυξη των μυκήτων δεν συνδέεται απαραίτητα με το σχηματισμό μυκοτοξινών. Μέσα σε ένα είδος, το δυναμικό ενός μύκητα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το στέλεχος του. Εκτός από το είδος και το στέλεχος του μύκητα, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό μυκοτοξινών. Η παρουσία μυκήτων δεν παρέχει καμία εγγύηση για μολύνσεις από μυκοτοξίνες και λόγω της σταθερότητας των μυκοτοξινών μπορεί να υπάρχει σε τρόφιμα όταν δεν υπάρχουν πλέον μύκητες (Granados-Chinchilla et al., 2018).

Παρόλο που υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός διαφορετικών μυκοτοξινών, μόνο μερικοί από αυτούς εντοπίζονται τακτικά σε τρόφιμα. Οι μυκοτοξίνες που απαντώνται συχνότερα στα τρόφιμα είναι οι ατοξίνες, η ωχρατοξίνη A, η πατουλίνη και οι μυκοτοξίνες που παράγονται από τα είδη *Fusarium* (Del Rio et al., 2015).

Οι αφλατοξίνες είναι βιολογικοί δραστικοί δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται κυρίως από *Aspergillus flavus* και *Aspergillus parasiticus*. Η αφλατοξίνη B1 και οι δομικά συγγενείς ενώσεις προκαλούν σοβαρή ανησυχία όσον αφορά τη δημόσια υγεία, κυρίως λόγω του δυναμικού τους ως ισχυρών ηπατοτοξινών και καρκινογόνων ουσιών στον άνθρωπο και της αποδεδειγμένης τοξικότητάς τους σε ζώα, πτηνά και ψάρια (Del Rio et al., 2015).

Μια άλλη μυκοτοξίνη με σχέση με την ανθρώπινη υγεία είναι η πατουλίνη. Η πατουλίνη έχει ένα ευρύ φάσμα τοξικότητας, συμπεριλαμβανομένης της καρκινογένεσης και της τερατογένεσης στα ζώα. Τα συμπτώματα τοξικότητας της πατουλίνης σε ζώα είναι οίδημα πνευμόνων και εγκεφάλου, το ήπαρ, τη σπλήνα και τη νεφρική βλάβη, και την τοξικότητα στο ανοσοποιητικό σύστημα. Για τους ανθρώπους έχουν αναφερθεί ναυτία, γαστρεντερικές διαταραχές και έμετος. Η πατουλίνη παράγεται από περίπου 60 είδη που ανήκουν σε 30 γένη μυκήτων. Ο σημαντικότερος παραγωγός πατουλίνης είναι ο μύκητας *Penicillium expansum* (Del Rio et al., 2015).

2.3. Τρόπος μετάδοσης, συμπτώματα, ασθένεια και οικονομικός αντίκτυπος των παθογόνων οργανισμών στα εσπεριδοειδή

Τα φρούτα διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή παρέχοντας τους απαραίτητους παράγοντες ανάπτυξης, όπως οι βιταμίνες και τα βασικά μέταλλα, στην καθημερινή διατροφή του ανθρώπου, ενώ μπορούν να βοηθήσουν στη διατήρηση μιας καλής και φυσιολογικής υγείας. Διανέμονται ευρέως στη φύση και μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην υγεία μέσω της πρόληψης των καρδιακών παθήσεων και του καρκίνου. Τα εσπεριδοειδή είναι η οικονομικά σημαντικότερη καλλιέργεια οπωροφόρων δέντρων στον κόσμο με ετήσια παραγωγή περίπου 125 εκατομμυρίων τόνων καρπών που έχουν συγκομιστεί από περισσότερα από 9 εκατομμύρια εκτάρια καλλιεργούμενης γης (Abbate et al., 2019).

Ένας από τους περιοριστικούς παράγοντες που επηρεάζουν την οικονομική αξία των καρπών είναι η σχετικά μικρή διάρκεια ζωής που οφείλεται στην επίθεση από παθογόνους. Τα εσπεριδοειδή είναι επιρρεπή στην προσβολή περισσότερων από 100 ασθενειών και διαταραχών που προκαλούνται από μύκητες, ιούς και βακτήρια (Naqvi, 2004).

Τα εσπεριδοειδή προσβάλλονται από έναν αριθμό παθογόνων οργανισμών από το στάδιο άνθησης έως τη συγκομιδή και στη συνέχεια από παθογόνους παράγοντες μετά τη συγκομιδή που επηρεάζουν την παραγωγή της καλλιέργειας και επιδεινώνουν

σημαντικά την ποιότητα των καρπών. Τα παθογόνα πριν τη συγκομιδή όπως *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum*, *Botryodiplodia theobromae*, *Alternaria citri*, *Phomopsis citri* κλπ. επιτίθενται στα φρούτα και προκαλούν σημαντική ζημιά στην παραγωγή και την ποιότητά τους (Naqvi, 2004).

Πάνω από 20 διαφορετικά είδη ασθενειών μετά την συγκομιδή έχουν αναφερθεί στα εσπεριδοειδή και αποτελούν την κύρια αιτία της φθοράς των καρπών, με αποτέλεσμα τεράστιες οικονομικές απώλειες. Εκτιμάται ότι περίπου το 20-25% των συγκομισθέντων καρπών καταστρέφεται από παθογόνους παράγοντες κατά τη διάρκεια του χειρισμού μετά τη συγκομιδή ακόμη και στις ανεπτυγμένες χώρες (Muhammad et al., 2018).

Συγκεκριμένα, ο ακατάλληλος χειρισμός, συσκευασία, αποθήκευση και μεταφορά μπορεί να οδηγήσει σε αποσύνθεση και ανάπτυξη μικροοργανισμών που ενεργοποιούνται λόγω της μεταβαλλόμενης φυσιολογικής κατάστασης των φρούτων. Τα φρούτα, λόγω του χαμηλού pH τους, της υψηλότερης περιεκτικότητάς τους σε υγρασία και της θρεπτικής τους σύνθεσης, είναι πολύ επιρρεπή σε προσβολή από παθογόνους μύκητες (Muhammad et al., 2018).

Μεγάλες ποσότητες φρούτων χάνονται λόγω αλλοίωσης που προκαλείται από παθογόνους μικροοργανισμούς, ιδιαίτερα μύκητες. Αυτοί οι παθογόνοι μύκητες περιορίζουν την οικονομική αξία αυτών των φρούτων καθώς και τη διάρκεια ζωής τους. Με τα χρόνια υπάρχει μια αυξανόμενη ανάγκη να εντοπιστούν και να απομονωθούν οι μύκητες που σχετίζονται με την αλλοίωση των καρπών των εσπεριδοειδών. Έτσι, η αλλοίωση αναφέρεται σε οποιαδήποτε αλλαγή στην κατάσταση της τροφής, στην οποία τα φρούτα γίνονται λιγότερο ευχάριστα ή ακόμα και τοξικά. Αυτές οι αλλαγές μπορούν να συνοδεύονται από αλλοιώσεις γεύσης, οσμής, εμφάνισης ή υφής (Muhammad et al., 2018).

Οι μύκητες προκαλούν σημαντικά προβλήματα στην παραγωγή εσπεριδοειδών. Σε αντίθεση με ορισμένους συστηματικά παθογόνους, αυτοί οι μύκητες δεν προκαλούν την παρακμή ή το θάνατο των δέντρων. Ωστόσο, μερικοί μειώνουν την απόδοση και

το μέγεθος των καρπών , άλλοι μύκητες προκαλούν μόνο εξωτερικές ατέλειες στα φρούτα και πρέπει να ελέγχονται μόνο με φρούτα που προορίζονται για τη νέα αγορά. Οι ασθένειες από μύκητες είναι συνήθως πιο σοβαρές σε περιοχές εσπεριδοειδών με υψηλές βροχοπτώσεις και θερμοκρασίες. Παρόλα αυτά, ορισμένοι μύκητες είναι σε θέση να μολύνουν τα εσπεριδοειδή χρησιμοποιώντας μόνο την υγρασία και έτσι μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα ακόμη και σε ημι-άνυδρες, χειμερινές και βροχοπτώσεις, περιοχές παραγωγής εσπεριδοειδών (Timer et al., 2004).

Η αρχή της εξάπλωσης της ασθένειας στα φρούτα υποστηρίζει ότι ένα μολυσμένο φρούτο μπορεί να αποτελέσει την πηγή μόλυνσης σε εσπεριδοειδή κατά την αποθήκευση και τη μεταφορά. Οι μύκητες του εδάφους και τα βακτήρια που προκαλούν απώλειες τυπικά μολύνουν τα φυτά κατά τη διάρκεια ή λίγο πριν τη συγκομιδή. Μπορεί όμως να εμφανιστεί μόλυνση κατά τη διάρκεια του χειρισμού ή της αποθήκευσης μετά τη συγκομιδή (Costa et al., 2019b).

Ο κυριότερος παράγοντας που επηρεάζει την ποιότητα των εσπεριδοειδών είναι οι μετασυλλεκτικές ασθένειες. Οι μύκητες, όπως τα είδη του γένους *Penicillium*, μπορούν να εισέλθουν στον ευαίσθητο ιστό και να προκαλέσουν απώλεια κατά τη συσκευασία. Οι μύκητες *Penicillium digitatum* και *Penicillium italicum* προκαλούν ασθένειες που είναι καθολικές μετά τη συγκομιδή των εσπεριδοειδών. Η εκτεταμένη παραγωγή σπορίων από αυτά τα παθογόνα εξασφαλίζει την παρουσία της οποιασδήποτε μορφής, όπου συμπεριλαμβάνονται τα χωράφια, ο χώρος συσκευασίας, ο εξοπλισμός, ο καθαρισμός του χώρου, οι αποθηκευτικοί χώροι, τα εμπορευματοκιβώτια μεταφοράς και η αγορά (Oviasogie et al., 2015).

Η διαχείριση πολλών από αυτές τις ασθένειες μπορεί να είναι δύσκολη. Σε ορισμένες περιπτώσεις, υπάρχουν ποικιλίες που είναι ανθεκτικές σε πολλά παθογόνα μυκήτων. Ωστόσο, η επιλογή των ποικιλιών βασίζεται κυρίως στη ζήτηση και την τιμή των καταναλωτών. Έτσι, είναι απαραίτητο να ελέγχεται η ασθένεια σε ευαίσθητες ποικιλίες (Timer et al., 2004).

Κεφάλαιο 3^ο

Αντιμετώπιση Παθογόνων Μικροοργανισμών

3.1. Μηχανισμοί άμυνας των φυτών

Τα φυτά εκτελούν φυσιολογικές διεργασίες απαραίτητες για την επιβίωσή τους, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής διαίρεσης και επιμήκυνσης, διαφοροποίησης και ανάπτυξης, απορρόφησης και μετακίνησης νερού και θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος, σύνθεσης, αποικοδόμησης και αποθήκευσης οργανικών ενώσεων και αναπαραγωγής. Όταν μία από αυτές τις λειτουργίες διακόπτεται, είτε από φυτοπαθγόνα είτε από ορισμένες περιβαλλοντικές συνθήκες, παράγεται μια ασθένεια (Sandoval-Chávez et al., 2015).

Όπως και στα φυτά, η παρουσία παθογόνων στα φρούτα προκαλεί σημαντικές απώλειες μετά τη συγκομιδή. Ωστόσο, έχουν διαφορετικούς προστατευτικούς φραγμούς, οι οποίοι μπορεί να είναι εγγενείς ή να αναπτύσσονται όταν ανιχνεύουν την παρουσία παθογόνου (Sandoval-Chávez et al., 2015).

Γενικά, τα φυτά είναι ανθεκτικά στους περισσότερους μικροοργανισμούς και υπάρχουν λίγα φυτικά παθγόνα που έχουν την ικανότητα να προκαλέσουν ασθένεια. Σε αντίδραση της μόλυνσης από παθογόνους, τα φυτά έχουν ένα δυναμικό ανοσοποιητικό σύστημα που αποτελείται από αρκετούς μηχανισμούς για την υπεράσπιση από παθογόνους φυτών. Έχουν περιγραφεί δύο τύποι απόκρισης έναντι μολύνσεων από παθόγονα: η αντίσταση ξενιστή και η άμυνα υποδοχής του. Αυτοί οι δύο τύποι διακρίνονται από το κατά πόσον ο παθογόνος οργανισμός μπορεί ή δεν μπορεί να προσαρμοστεί σε ένα συγκεκριμένο είδος φυτού. Αμφότερες οι αποκρίσεις περιλαμβάνουν, ως αρχικό βήμα, την αντίληψη των σχετιζόμενων με παθόγονο μοριακών προτύπων με υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων κυτταρικής επιφάνειας (Upinder et al., 2015).

Η άμυνα αντίστασης είναι η απόκριση άμυνας που εμφανίζεται από ένα ολόκληρο είδος φυτού σε όλες τις γενετικές παραλλαγές ενός παθογόνου. Αποτελεί κατά κύριο

λόγο ένα πολυγονιδιακό χαρακτηριστικό και παρέχει μεγαλύτερη και ανθεκτικότερη αντίσταση έναντι της παθογόνου μόλυνσης από την άμυνα φιλοξενίας υπό συνθήκες εδάφους. Η άμυνα μπορεί να περιλαμβάνει τα προσχηματισμένα φυσικά και χημικά εμπόδια που παρεμποδίζουν την είσοδο των παθογόνων. Εντούτοις, αν η αναγνώριση περιλαμβάνει έναν τελεστή παθογόνου που ενεργοποιεί μια υπερευαίσθητη ανταπόκριση κυτταρικού θανάτου, η άμυνα αντίστασης επικαλύπτεται με μια ανοσία που προκαλείται από τον τελεστή(Lee et al., 2016).

Η αντοχή του ξενιστή και η αντίσταση στο ξενιστή διαφοροποιούνται συνήθως με βάση την προσαρμογή των παθογόνων σε ένα συγκεκριμένο είδος (ξενιστής) και την έλλειψη προσαρμογής σε άλλα είδη. Τα παθογόνα αναγνωρίζουν συγκεκριμένα φυτά με τη μορφή επιφανειακής τοπολογίας ή σύνθεσης φυτικών κηρών. Οι παθογόνοι οργανισμοί υπερνικούν επιτυχώς τη διείσδυση ή την αντίσταση πριν από την εισβολή παράγουν υφές και / ή υπολείμματα μόλυνσης για την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών από τα φυτικά κύτταρα. Σε αυτό το σημείο, οι παθογόνοι οργανισμοί αντιμετωπίζουν αντίσταση μετά την επώαση από τα φυτά.Ωστόσο, με βάση τα ερευνητικά στοιχεία, οι μηχανισμοί της άμυνας των φυτών κατά των παθογόνων μυκήτων έχουν κάποιες ομοιότητες και αλληλεπικαλύψεις με τη συμμετοχή κοινών γονιδίων και στους δύο τύπους άμυνα αλλά είναι ακόμη διακριτές ως αναγνώριση και έναρξη της αμυντικής αντίδρασης (Upinder et al., 2015).

3.2. Τρόποι αντιμετώπισης

Η αντιμετώπιση των παθογόνων των εσπεριδοειδών συνήθως περιλαμβάνει τη χρήση χημικών εντομοκτόνων. Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων έχουν βρεθεί σε διάφορα μέρη του περιβάλλοντος, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων, και θεωρούνται μία από τις κύριες αιτίες της απώλειας βιοποικιλότητας. Παράλληλα, η συνεχής χρήση φυτοφαρμάκων έχει οδηγήσει σε ανθεκτικούς πληθυσμούς επιβλαβών οργανισμών, οδηγώντας σε αποτυχίες ελέγχου παρασίτων με σοβαρές οικονομικές συνέπειες (Heydari & Pessarakli, 2010).

Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων εντοπίζονται κυρίως στο φλοιό των εσπεριδοειδών. Κατά συνέπεια, συγκεντρώνονται στα έλαια που εξάγονται από τη φλούδα. Δεδομένου ότι τα αιθέρια έλαια από εσπεριδοειδή χρησιμοποιούνται στις βιομηχανίες τροφίμων, φαρμακευτικών και καλλυντικών, η μόλυνση με παρασιτοκτόνα είναι ανεπιθύμητη. Ως εκ τούτου, οι εναλλακτικές μέθοδοι καταπολέμησης των παρασίτων που είναι ικανές να προστατεύουν αποτελεσματικά την καλλιέργεια και ταυτόχρονα μειώνουν την παρουσία φυτοφαρμάκων σε αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών έχουν μεγάλη σημασία (Talibi et al., 2014).

3.2.1. Παράγοντες και μηχανισμοί βιολογικής αντιμετώπισης

Οι φυτοπαθογόνοι μύκητες είναι μια πολύ διαφορετική ομάδα ετερότροφων οργανισμών διατροφής, οι οποίοι απαιτούν έναν αριθμό παραγόντων που τους επιτρέπουν να προκαλέσουν μόλυνση, όπως η ύπαρξη δομών διείσδυσης και η παραγωγή υδρολυτικών ενζύμων που υποβαθμίζουν το κυτταρικό τοίχωμα φρούτων, μεταξύ άλλων. Η κύρια μέθοδος ελέγχου αυτών των μυκήτων μετά τη συγκομιδή ήταν η χρήση μυκητοκτόνων, τα οποία έχουν περιοριστεί λόγω της τοξικότητάς τους, έτσι αναζητούνται εναλλακτικές μέθοδοι όπως η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών (Sandoval-Chávez et al., 2015).

Η βιολογική αντιμετώπιση των ασθενειών των φυτών θεωρήθηκε ως μια βιώσιμη εναλλακτική μέθοδος για τη διαχείριση των ασθενειών των φυτών. Η βιολογική αντιμετώπιση είναι η αναστολή ανάπτυξης, μόλυνσης ή αναπαραγωγής ενός οργανισμού που χρησιμοποιεί έναν άλλο οργανισμό. Η βιολογική αντιμετώπιση είναι ασφαλής από περιβαλλοντική άποψη και σε ορισμένες περιπτώσεις είναι η μόνη διαθέσιμη επιλογή για την προστασία των φυτών από τους παθογόνους παράγοντες και μπορεί να χρησιμοποιεί φυσικούς εχθρούς επιβλαβών παθογόνων για την εξάλειψη ή τον έλεγχο του πληθυσμού τους. Αυτό μπορεί να συνεπάγεται την εισαγωγή εξωτικών ειδών ή μπορεί να είναι θέμα αξιοποίησης οποιασδήποτε μορφής βιολογικού ελέγχου που υπάρχει φυσικά στο οικοσύστημα. Η επαγωγή της ανθεκτικότητας των φυτών χρησιμοποιώντας μη παθογόνους ή μη συμβατούς

μικροοργανισμούς είναι επίσης μια μορφή βιολογικού ελέγχου (Heydari & Pessaraki, 2010).

Συγκεκριμένα, η βιολογική αντιμετώπιση των παθογόνων στα φυτά περιλαμβάνει τη χρήση οργανισμών για τη μείωση ή την πρόληψη μόλυνσης από παθογόνο παράγοντα. Αυτοί οι οργανισμοί ονομάζονται ανταγωνιστές, μπορεί να εμφανιστούν φυσικά εντός του περιβάλλοντος του ξενιστή ή μπορούν να εφαρμοστούν σκόπιμα σε εκείνα τα τμήματα του δυνητικού φυτού ξενιστή όπου μπορούν να δράσουν άμεσα ή έμμεσα ενάντια στο παθογόνο. Οι πρακτικές που ευνοούν έναν φυσικό ανταγωνιστή και εκμεταλλεύονται την ευεργετική δράση του είναι συχνά αποτελεσματικές στη μείωση των ασθενειών. Άλλοι ανταγωνιστές παράγουν ουσίες που αναστέλλουν ή σκοτώνουν πιθανά παθογόνα που εμφανίζονται σε στενή εγγύτητα (Gardener & Fravel, 2002).

3.2.1.1. Βιολογικά σκευάσματα

Με τις τάσεις των καταναλωτών για φυσικές εναλλακτικές λύσεις σε χημικά μυκητοκτόνα και αλλαγές στη νομοθεσία, η χρήση φυσικών προϊόντων όπως τα φυτικά εκχυλίσματα μπορεί να αποτελέσει λύση τόσο για τη βιομηχανία όσο και για τους καταναλωτές. Πρόσφατα, δόθηκε προσοχή στην εκμετάλλευση ανώτερων φυτικών προϊόντων ως νέων βοτανικών μυκητοκτόνων στη διαχείριση των εσπεριδοειδών. Περισσότερα από 1340 είδη φυτών είναι γνωστό ότι είναι πιθανές πηγές αντιμικροβιακών ενώσεων και περίπου 10.000 δευτερεύοντες μεταβολίτες των φυτών έχουν καθοριστεί χημικά για το ρόλο τους ως αντιμικροβιακών παραγόντων. Τα εκχυλίσματα φυτών έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι βιοαποικοδομήσιμα και όχι φυτοτοξικά (Tripathi et al., 2004).

Ορισμένοι φυσικοί μικροβιακοί ανταγωνιστές σε επιφάνειες φρούτων μπορούν να καταστέλλουν την ανάπτυξη μιας νόσου. Η χρήση ανταγωνιστικών μικροοργανισμών για τον έλεγχο των ασθενειών μετά την συγκομιδή των εσπεριδοειδών βασίζεται σε δύο προσεγγίσεις: τη χρήση φυσικών επιφυτικών ανταγωνιστών που υπάρχουν ήδη στις επιφάνειες φρούτων και την τεχνητή εισαγωγή επιλεκτικών μικροβιακών

ανταγωνιστών που ελέγχουν ασθένειες μετά τη συγκομιδή. Η σημασία των φυσικώς εμφανιζόμενων μικροβιακών ανταγωνιστών αποκαλύπτεται όταν τα πλυμένα φρούτα αναπτύσσουν περισσότερη σήψη από ό, τι τα άπλυτα. Αυτό υποδηλώνει ότι η μόνιμη επιφυτική μικροχλωρίδα στα εσπεριδοειδή είναι ικανή να ελέγχει τις ασθένειες εσπεριδοειδών (Kohl et al., 2019).

Αρκετοί ανταγωνιστικοί μικροοργανισμοί, που βρέθηκαν να είναι αποτελεσματικοί στον έλεγχο των ασθενειών των εσπεριδοειδών στη φάση μετά τη συγκομιδή, απομονώθηκαν από την επιφάνεια των εσπεριδοειδών. Επί του παρόντος, αναπτύχθηκαν διαθέσιμοι μικροβιακοί ανταγωνιστές για τον έλεγχο της αποσύνθεσης που προέρχονται κυρίως από την ενεργή μόλυνση των πληγών από φρούτα και όχι από τις λοιμώξεις που βρίσκονται σε λανθάνουσα κατάσταση (Kohl et al., 2019).

Η θεραπεία των εσπεριδοειδών με ανταγωνιστικές ζύμες είναι μία από τις καλύτερες εναλλακτικές για τον έλεγχο των ασθενειών μετά τη συγκομιδή. Αυτή η σημασία αποδίδεται σε αρκετά θετικά χαρακτηριστικά που κάνουν ζυμομύκητες αποτελεσματικούς μικροβιακούς παράγοντες για τον έλεγχο των ασθενειών. Πρώτον, οι ζύμες μπορούν να αποικίσουν την επιφάνεια του φρούτου για μεγάλο χρονικό διάστημα ακόμα και σε ξηρές συνθήκες. Δεύτερον, οι ζύμες παράγουν εξωκυτταρικούς πολυσακχαρίτες, οι οποίοι ενισχύουν την βιωσιμότητά τους και περιορίζουν την ανάπτυξη παραγόντων παθογόνου. Τρίτον, οι ζυμομύκητες μπορούν να χρησιμοποιούν τα θρεπτικά συστατικά ταχέως και να πολλαπλασιάζονται με υψηλό ρυθμό (Ferraz et al., 2019).

Τα βακτήρια παρουσιάζουν ενδιαφέρον ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου λόγω της ικανότητάς τους να αναπτύσσονται στη ριζόσφαιρα και της ικανότητάς τους να αποικίζουν τους εσωτερικούς ιστούς των φυτών και έτσι να παρέχουν μια εσωτερική άμυνα κατά των παθογόνων. Τα ανταγωνιστικά βακτήρια είναι γνωστά για την παραγωγή ουσιών με αντιβιοτικές ιδιότητες (Mota et al., 2017).

3.2.2. Παράγοντες και μηχανισμοί χημικής αντιμετώπισης

Υπάρχουν διαθέσιμες διάφορες χημικές ουσίες που έχουν σχεδιαστεί για τον έλεγχο των ασθενειών των φυτών εμποδίζοντας την ανάπτυξη ή με τη θανάτωση των παθογόνων που προκαλούν ασθένειες. Τα χημικά μπορούν να εφαρμοστούν σε σπόρους, φύλλωμα, λουλούδια, φρούτα ή χώμα. Τα προϊόντα αυτά έχουν τη δυνατότητα να προλαμβάνουν ή να μειώνουν τις ασθένειες χρησιμοποιώντας διάφορες πρακτικές ελέγχου της νόσου. Τα προστατευτικά σκευάσματα τοποθετούν ένα χημικό φράγμα μεταξύ του φυτού και του παθογόνου, ενώ οι θεραπευτικές χημικές ουσίες εφαρμόζονται για την καταπολέμηση μιας ασθένειας σε εξέλιξη (Hirooka & Ishii, 2013).

Οι σπόροι, οι βολβοί και οι κόνδυλοι συχνά υποβάλλονται σε επεξεργασία με χημικές ουσίες για την εξάλειψη παθογόνων βακτηρίων και μυκήτων και για την προστασία των σπόρων από οργανισμούς στο έδαφος, κυρίως μύκητες, που προκαλούν σήψη. Οι σπόροι συχνά καλύπτονται με διασυστηματικά μυκητοκτόνα, τα οποία απορροφώνται και παρέχουν προστασία στο εκάστοτε φυτό (Waard et al., 2003).

Τα προστατευτικά φυτοφάρμακα που εφαρμόζονται στο φύλλωμα και τα φρούτα των καλλιεργειών και των καλλωπιστικών φυτών περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα οργανικών χημικών ουσιών που έχουν σχεδιαστεί για την πρόληψη της μόλυνσης. Τα προστατευτικά σκευάσματα δεν απορροφώνται ή μεταφέρονται μέσω του φυτού, αλλά προστατεύουν έτσι μόνο εκείνα τα μέρη του φυτού που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία πριν από την εισβολή από τον παθογόνο οργανισμό. Μια δεύτερη εφαρμογή είναι συχνά απαραίτητη επειδή η χημική ουσία μπορεί να απομακρυνθεί από τον άνεμο, τη βροχή ή την άρδευση ή μπορεί να διασπαστεί από το ηλιακό φως (Hirooka & Ishii, 2013).

Επί του παρόντος, τα συνθετικά μυκητοκτόνα είναι το κύριο μέσο για τον έλεγχο των μετασυλλεκτικών ασθενειών των εσπεριδοειδών, ιδιαίτερα η ιμαζαλίλη, η θειαβενδαζόλη, το φαινυλοφαινικό νάτριο, η φλουδοξονίλη κ.α.ή διαφορετικά μίγματα αυτών των ενώσεων (Hirooka & Ishii, 2013).

Ωστόσο, αυτά τα μυκητοκτόνα δεν είναι αποτελεσματικά έναντι όλων των σημαντικών παθογόνων παραγόντων. Πράγματι, η ξινή σήψη είναι δύσκολο να ελεγχθεί με αυτά (Talibi et al., 2014).

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Υλικά-Μέθοδοι

1.1 Σκοπός

Στην παρούσα έρευνα σκοπός ήταν η μέτρηση της ανάπτυξης του μύκητα *Penicillium digitatum* σε φυτικό υλικό εσπεριδοειδών, και συγκεκριμένα σε δύο ειδών δέντρα. Το ένα είναι τα πορτοκάλια ποικιλίας Βαλένσια, ενώ το άλλο είναι λεμόνια προερχόμενα από βιολογική καλλιέργεια. Μαζί με τον μύκητα αυτόν στα τρυβλία τοποθετήθηκαν ενεργοποιημένα K165 προκειμένου να μετρηθεί η επίδραση που είχαν στην ανάπτυξη του *P. digitatum*.

Σκοπός της διεξαγωγής της συγκεκριμένης σειράς πειραμάτων ήταν η εξέταση του βαθμού στον οποίο το K165 παρεμποδίζει την εξάπλωση του *Penicillium digitatum* σε δύο διαφορετικά θρεπτικά υλικά: PDA και LB.

Επιπρόσθετα, διερευνάται η ανάπτυξη του συγκεκριμένου μύκητα παρουσία πτητικών ενώσεων του K165, αλλά και άλλων πτητικών ενώσεων, χωρίς την παρουσία μικροοργανισμών. Οι οργανικές ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν εδώ είναι οι: 2,3 βουτανοδιόλη και 2-πεντανόλη.

1.2 Ο παράγοντας K165

Ο παράγοντας K 165 αποτελεί στέλεχος του βακτηρίου *Paenibacillus alvei*. Το K165 αποτελεί παράγοντα που συνεισφέρει στην ανάπτυξη των φυτικών οργανισμών, και ανήκει στα λεγόμενα plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR). Τα στελέχη που ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία αποτελούν βακτήρια που συμβιώνουν με φυτά και έχουν την ικανότητα να ενεργοποιήσουν τους αμυντικούς μηχανισμούς των φυτικών οργανισμών ενάντια στους παθογόνους μικροοργανισμούς. Η ενεργοποίηση αυτή έχει ως αποτέλεσμα η συχνότητα προσβολής από παθογόνα να μειώνεται, ενώ σε ενδεχόμενη προσβολή το φυτό δεν εκδηλώνει συμπτώματα με την ίδια ένταση. Ο όρος που χρησιμοποιείται για τη διαδικασία αυτή είναι επαγόμενη διασυστηματική ανοχή (induced systemic resistance).

Υπάρχει πληθώρα μελετών που δείχνουν τη θετική επίδραση του K165 σε φυτικές καλλιέργειες. Για παράδειγμα, οι Liu et al. (1995) κατέδειξαν την ενεργοποίηση της επαγόμενης διασυστηματικής αντοχής σε ριζικό σύστημα μελιτζάνας ενάντια στον παθογόνο παράγοντα *Verticillium dahliae*. Πολλές έρευνες έχουν δείξει την αποτελεσματικότητα του στελέχους K165, όπου επιτυγχάνεται η μείωση της έντασης των συμπτωμάτων από παθογόνα σε μελιτζάνες, πατάτες, ελαιόδεντρα κλπ (Markakis et al., 2016). Σε έρευνα των Antonopoulos et al. (2008) φάνηκε ότι το K165 είχε επίδραση στη σπορογένεση του *V. dahliae microsclerotia* και στη μείωση των συμπτωμάτων της ασθένειας που προκαλεί σε φυτικούς οργανισμούς. Η προστατευτική δράση του στελέχους αυτού έχει φανεί και σε θερμοκηπιακές εγκαταστάσεις αλλά και στο πεδίο (Deketelaere et al. 2017).

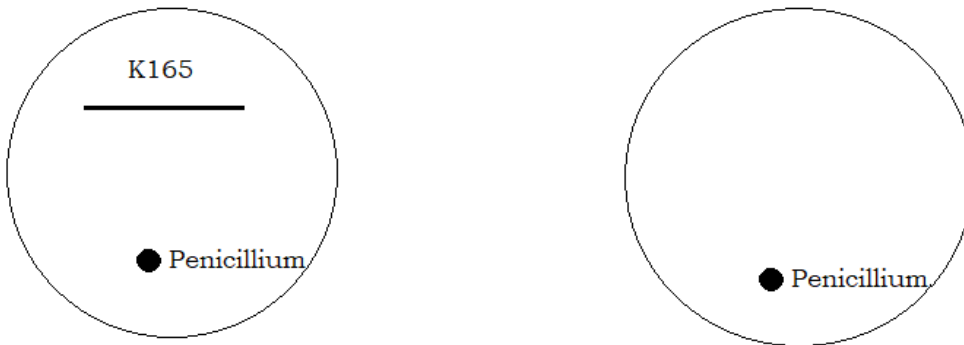
1.3 Πειραματική διαδικασία

Σε τρυβλία που περιέχονται ένα από τα εξής θρεπτικά υλικά PDA (στερεή καλλιέργεια), NAG (στερεή καλλιέργεια) και NG (υγρή καλλιέργεια) τοποθετείται το στέλεχος K 165, το οποίο φυλαγόταν σε θερμοκρασία -80°C και αφήνεται να ενεργοποιηθεί στα τρυβλία για 1-2 ημέρες στους 28°C . Στη συνέχεια τοποθετούμε μια γραμμή K165 στο τρυβλίο που θα διεξαχθεί το πείραμα, όπου αφήνεται να αναπτυχθεί για 3 ημέρες μέχρι την τοποθέτηση του *Penicillium*.

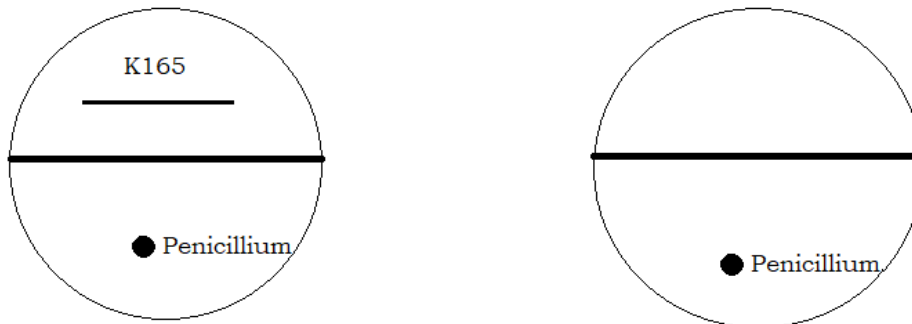
Τα τρυβλία ήταν είτε με χώρισμα είτε χωρίς χώρισμα ανάμεσα στους K165 και *Penicillium* και το υλικό ήταν είτε PDA είτε 1B.

Μια απεικόνιση των τρυβλίων φαίνεται στην εικόνα 8

Τρυβλίο χωρίς χώρισμα



Τρυβλίο με χώρισμα



Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση τρυβλίων πειράματος. Αριστερά τοποθετήθηκε σε κάθε τρυβλίο μία γραμμή K 165 και στην κάτω πλευρά τοποθετείται δείγμα *Penicillium digitatum*. Στα δεξιά είναι οι μάρτυρες που χρησιμοποιούνται για σύγκριση της ανάπτυξης.

Διεξήχθησαν 4 διαφορετικές σειρές πειραμάτων. Στο πρώτο πείραμα η ανάπτυξη μετρήθηκε σε θρεπτικό υλικό PDA (potato dextrose agar) και σε άλλο τρυβλίο σε LB, όπου μετρήθηκε η ανάπτυξη του *P. digitatum* με ή χωρίς την παρουσία K165.

Στη δεύτερη σειρά πειραμάτων το K165 ενεργοποιήθηκε σε τρυβλίο PDA και μετά από 2 ημέρες μεταφέρθηκε σε φιάλες με θρεπτικό υλικό LB ή PD με όγκο 500ml και στο επωαστικό στους 28°C. Μετά από 1-2 ημέρες γίνεται εμβάπτιση στα πορτοκάλια ή λεμόνια όπου προστίθεται αγκραλ 10 μg για να γίνει επικόλληση. Έπειτα πάλι από 1-2 ημέρες τοποθετείται το *Penicillium* στα πορτοκάλια/λεμόνια (20μl) το οποίο δημιουργείται από δείγμα από τρυβλίο αναμεμιγμένο με λίγο νερό.

Στο τρίτο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν πτητικές ενώσεις για τη μέτρηση της παρεμπόδισης της ανάπτυξης. Η ενεργοποίηση του K165 γίνεται όπως το προηγούμενο πείραμα και μετά από δύο μέρες αυτό μεταφέρεται στις φιάλες με το κάθε θρεπτικό υλικό που έχει προετοιμαστεί (PD ή LB) και το διάλυμα τοποθετείται στο επωαστικό στους 28°C για 1-2 ημέρες.

Στη συνέχεια, η φιάλη με την κάθε υγρή καλλιέργεια με το K165 πάνω σε δίσκο όπου στον οποίο έχει πορτοκάλια και αυτά κλείνονται με μια σακούλα αεροστεγώς. Έπειτα το πέρας δύο ημερών, γίνεται εισαγωγή στο πορτοκάλι ο μύκητας, ανοίγοντας μια τρύπα σε αυτό και έπειτα με μια πιπέττα εγχέονται 10 μg. Στη συνέχεια, κλείνεται και πάλι αεροστεγώς. Τα αποτελέσματα ελέγχθηκαν μετά το πέρας 6 ημερών.

Στην τέταρτη σειρά πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν χημικές ενώσεις. Σε τρυβλία με PDA και χώρισμα γίνεται μεταφορά του *P. digitatum* και την ίδια στιγμή γίνεται και μεταφορά από κάθε χημική ένωση (ένωση 1 και ένωση 3) στο κάθε τρυβλίο στο απέναντι χώρισμα. Τα αποτελέσματα ελέγχονται μετά από 6 ημέρες.

Οι πτητικές ενώσεις, όπως οι αλκοόλες βραχέας αλύσου και η 2,3 βουτανοδιόλη παράγονται από συγκεκριμένα στελέχη βακτηρίων της ομάδας *Rhizobacteria* και προκαλούν την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος των φυτών. Οι επιδράσεις από τις πτητικές αυτές ενώσεις στην ανάπτυξη των φυτών και των μυκήτων έχει αναλυθεί εκτεταμένα. Πολλές από αυτές τις ενώσεις μπορούν να επηρεάσουν την επικοινωνία μεταξύ οργανισμών, όπως ανάμεσα σε βακτήρια και φυτά (Yi et al., 2016).

Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν οι ενώσεις 2,3 βουτανοδιόλη (ένωση 1) και η 2-πεντανόλη (ένωση 3). Η 2,3 βουτανοδιόλη, αποτελεί ένα χημικό το οποίο φαίνεται να έχει ευρύ πεδίο πιθανών εφαρμογών. Προς το παρόν, η παραγωγή της ουσίας γίνεται με ολοένα και αυξανόμενους ρυθμούς και συγκεκριμένα με ετήσιο ρυθμό αύξησης στο 4%, λόγω της μεγάλης ζήτησης που σημειώνεται για τα παράγωγά της. Ο τρόπος

με τον οποίο παράγεται σε εμπορική κλίμακα γίνεται μέσω χημικών διεργασιών (Sabra et al, 2011).

Η 2,3 βουτανοδιόλη αποτελεί πτητική ένωση που παράγεται από συγκεκριμένα στελέχη συμβιωτικών βακτηρίων στις ρίζες φυτικών οργανισμών και δημιουργεί τρία διαφορετικά στερεοϊσομερή, δύο εναντιομερή και ένα ενδιάμεσο. Η ικανότητα της ουσίας αυτής να επάγει την άμυνα των φυτικών οργανισμών ενάντια παθογόνων μυκήτων και βακτηρίων είναι αρκετά γνωστή από προγενέστερες έρευνες. Μάλιστα, φαίνεται ότι το ίδιο ισχύει και για παθογόνους ιούς (Kong et al., 2018).

Όσον αφορά στη 2-πεντανόλη (ένωση 3) αυτή επίσης φαίνεται να μειώνει τη σοβαρότητα μιας ασθένειας σε φυτικούς οργανισμούς. Σε έρευνα των Song et al. (2015) συγκρίθηκε η αποτελεσματικότητα διαφόρων ενώσεων στη μείωση της σοβαρότητας μιας ασθένειας στο φυτό *Arabidopsis ssp.* Αυτό που βρέθηκε είναι ότι η ένωση αυτή είναι ικανή να μειώσει την ένταση των συμπτωμάτων της ασθένειας, καθώς επίσης και στην ανάπτυξη του πληθυσμού του παθογόνου βακτηρίου.

Σε κάθε πείραμα, η απεικόνιση των αποτελεσμάτων έγινε μέσω του προγράμματος image ζ.

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.1 1ο Πείραμα

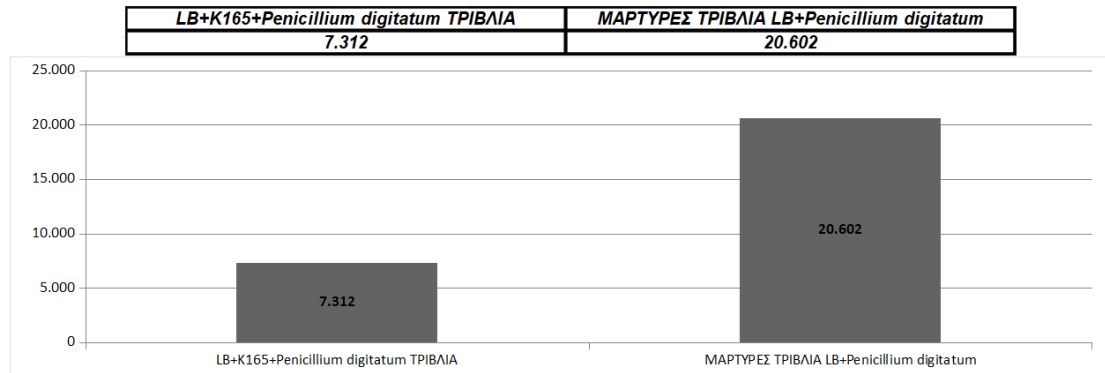
Τα αποτελέσματα από το πρώτο πείραμα απεικονίζονται στα παρακάτω διαγράμματα.



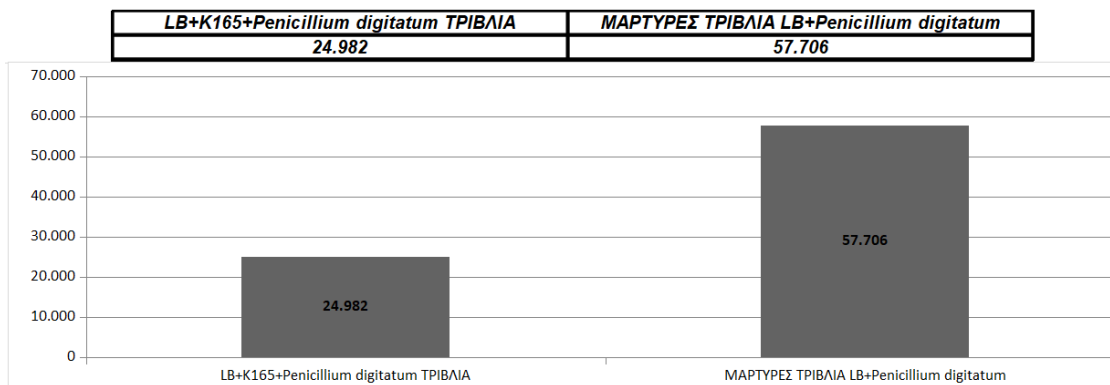
Εικόνα: Τρυβλία μάρτυρες και θρεπτικό υλικό LB



Εικόνα: Τρυβλία LB+K165 με χώρισμα και χωρίς χώρισμα



Διάγραμμα 1: Ανάπτυξη μύκητα *Penicillium* σε τρυβλία χωρίς χώρισμα, με θρεπτικό υλικό LB . Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα τρυβλία μάρτυρες.



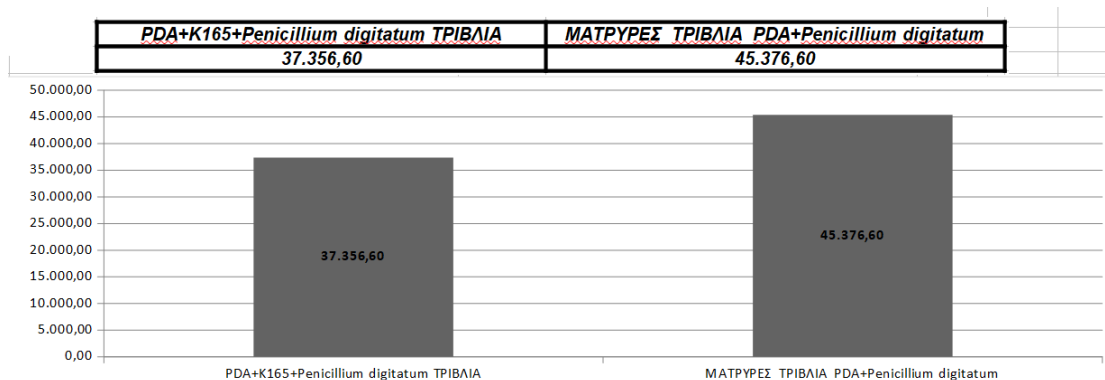
Διάγραμμα 2: Ανάπτυξη μύκητα *Penicillium* σε τρυβλία με χώρισμα, με θρεπτικό υλικό LB . Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα τρυβλία μάρτυρες.



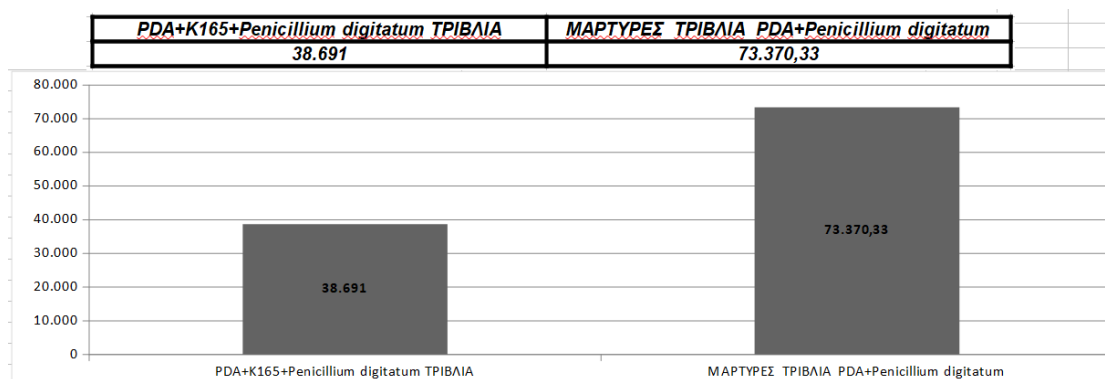
Εικόνα: Τρυβλία μάρτυρες σε PDA με ή χωρίς χώρισμα



Εικόνα: Τρυβλία PDA+K165 με χώρισμα και χωρίς χώρισμα



Διάγραμμα 3: Ανάπτυξη μύκητα *Penicillium* σε τρυβλία χωρίς χώρισμα, με θρεπτικό υλικό PDA. Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα τρυβλία μάρτυρες.



Διάγραμμα 4: Ανάπτυξη μύκητα *Penicillium* σε τρυβλία με χώρισμα, με θρεπτικό υλικό PDA. Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα τρυβλία μάρτυρες.

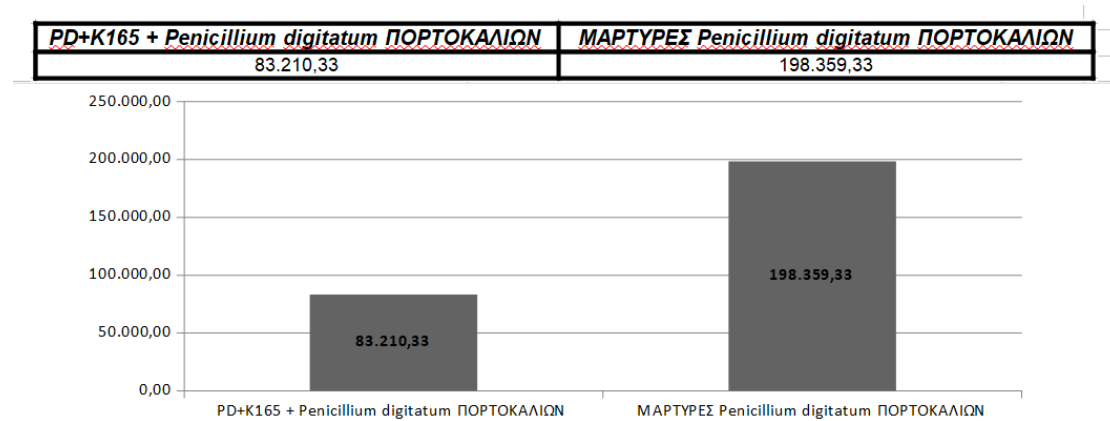
Όπως παρατηρείται από τα παραπάνω διαγράμματα, στο θρεπτικό υλικό LB, η παρουσία K165 στο τρυβλίο χωρίς χώρισμα παρεμποδίζει σε μεγάλο βαθμό την ανάπτυξη του μύκητα *Penicillium*. Η μείωση στην περίπτωση αυτή είναι 65,51% σε σχέση με το τρυβλίο μάρτυρα. Στην περίπτωση που το τρυβλίο έχει χώρισμα, υπάρχει παρεμπόδιση της ανάπτυξης, αν και σε μικρότερο βαθμό (56,71%).

Όσον αφορά στην περίπτωση που χρησιμοποιήθηκε θρεπτικό υλικό PDA, η διαφορά χωρίς χώρισμα είναι ελάχιστη (17,67%) σε σχέση με το τρυβλίο μάρτυρα. Με τη

χρήση χωρίσματος, η διαφορά είναι αρκετά μεγαλύτερη (47,27%), ενώ παρατηρείται ότι η αύξηση του μάρτυρα στις δύο περιπτώσεις έχει σημαντική διαφορά στο υλικό PDA(73.370,33 έναντι 45.376,60).

2.2. 2ο πείραμα

Στο πείραμα αυτό έγινε η εμφύσηση σε πορτοκάλια (Διάγραμμα 5 & 6) και σε λεμόνια (Διάγραμμα 7 & 8)



Διάγραμμα 5: Ανάπτυξη μύκητα *Penicillium* σε πορτοκάλια με εμφύσηση, με θρεπτικό υλικό PD. Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα πορτοκάλια μάρτυρες.



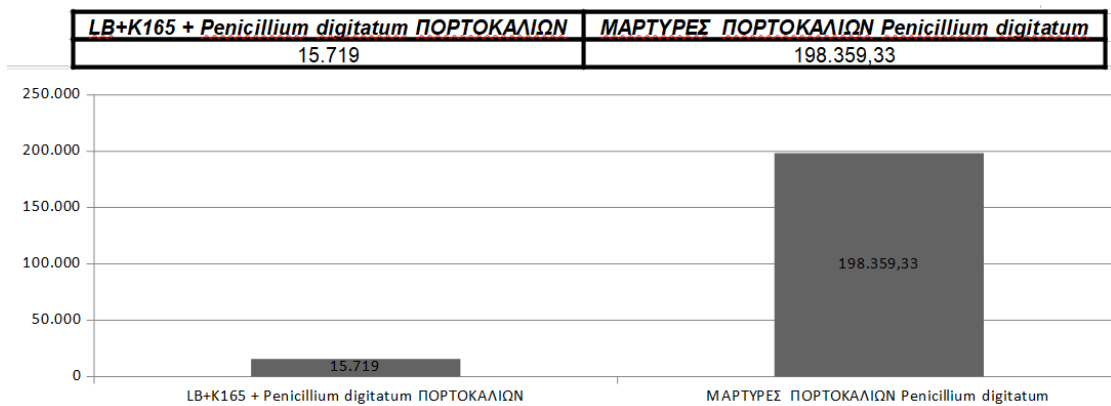
Εικόνα: Μάρτυρες πορτοκαλιών *P. digitatum*



Εικόνα : Ανάπτυξη σε πορτοκάλια με LB



Εικόνα : Ανάπτυξη σε πορτοκάλια με PD

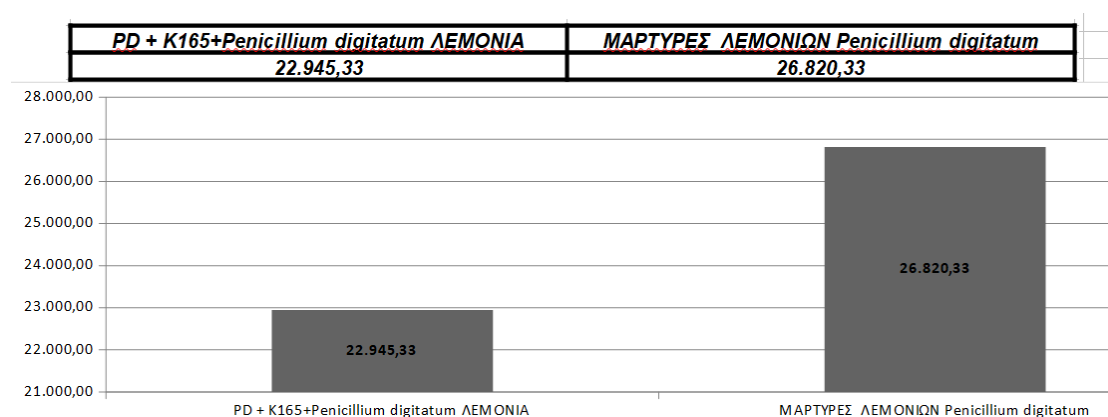


Διάγραμμα 6: Ανάπτυξη μύκητα *Penicillium* σε πορτοκάλια με εμφύσηση, με θρεπτικό υλικό LB. Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα πορτοκάλια μάρτυρες.

Για τα λεμόνια τα αποτελέσματα είναι τα ακόλουθα:



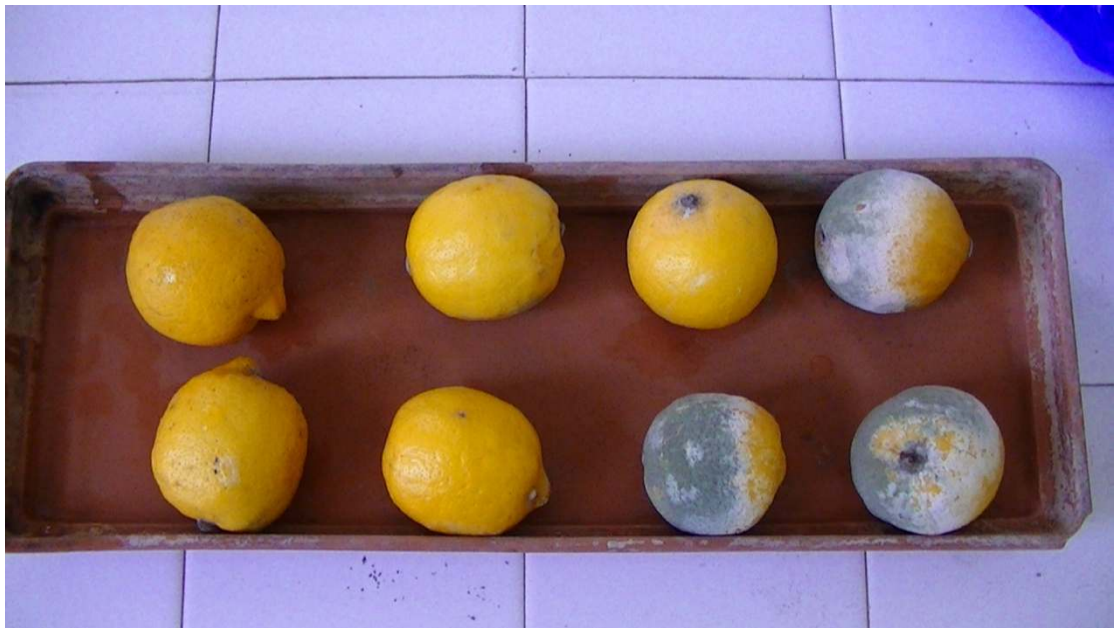
Εικόνα: Ανάπτυξη *P. digitatum* σε λεμόνια (μάρτυρες)



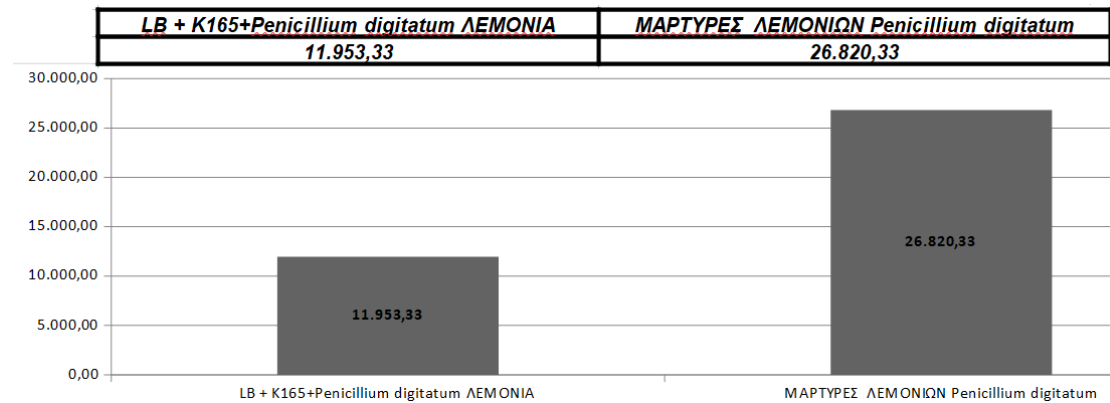
Διάγραμμα 7: Ανάπτυξη μύκητα *Penicillium* σε λεμόνια με εμφύσηση, με θρεπτικό υλικό PD. Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα λεμόνια μάρτυρες.



Εικόνα : Ανάπτυξη σε λεμόνια με PD



Εικόνα : Ανάπτυξη σε λεμόνια με LB



Διάγραμμα 8: Ανάπτυξη μύκητα Penicillium σε λεμόνια με εμφάπτιση, με θρεπτικό υλικό LB. Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα λεμόνια μάρτυρες.

Όπως μπορεί να παρατηρηθεί σε αυτή τη σειρά πειραμάτων, σε υλικό PD στα πορτοκάλια, η παρουσία του K165 παρεμποδίζει σημαντικά την ανάπτυξη του Penicillium (μείωση 58,1%), ενώ σε θρεπτικό υλικό LB η μείωση ήταν τεράστια (92,1%).

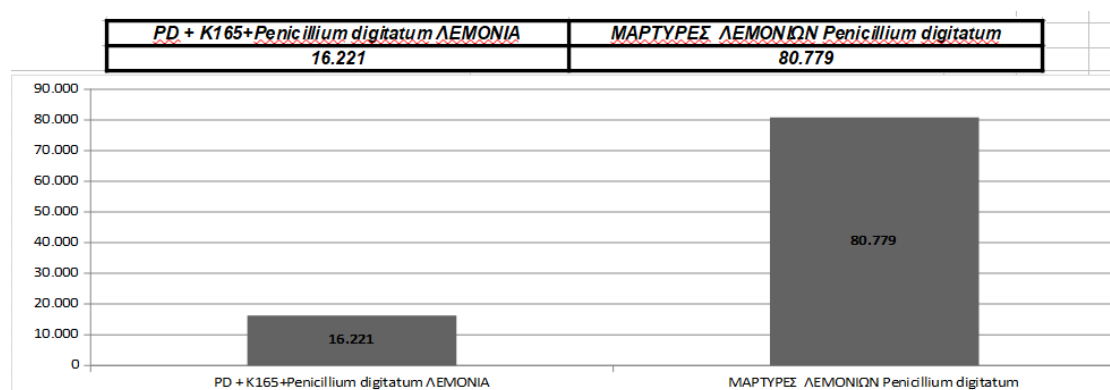
Στα λεμόνια σε θρεπτικό PD, η παρεμπόδιση ήταν μικρή (14,45%), αλλά στο LB ήταν μεγαλύτερη (55,44%).

2.3 3ο Πείραμα

Στο παρόν πείραμα γίνεται έκθεση σε πτητικές ουσίες K165 σε λεμόνια (Διάγραμμα 9 & 10) και σε πορτοκάλια (Διάγραμμα 11 & 12)



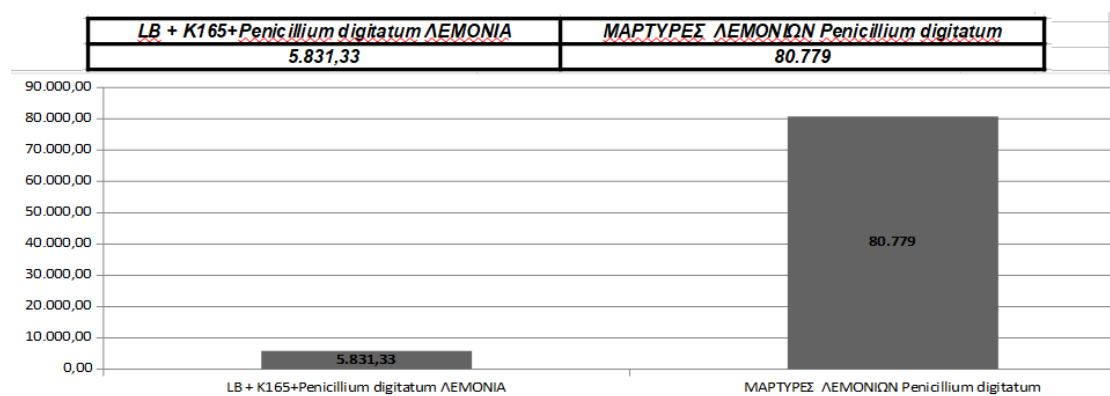
Εικόνα: Μάρτυρες 3ου πειράματος



Διάγραμμα 9: Ανάπτυξη μύκητα *Penicillium* σε λεμόνια, με θρεπτικό υλικό PD. Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία πτητικών ουσιών K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα λεμόνια μάρτυρες.



Εικόνα : Ανάπτυξη σε λεμόνια με PD



Διάγραμμα 10: Ανάπτυξη μύκητα *Penicillium* σε λεμόνια, με θρεπτικό υλικό LB. Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία πτητικών ουσιών K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα λεμόνια μάρτυρες.



Εικόνα : Ανάπτυξη σε λεμόνια με LB



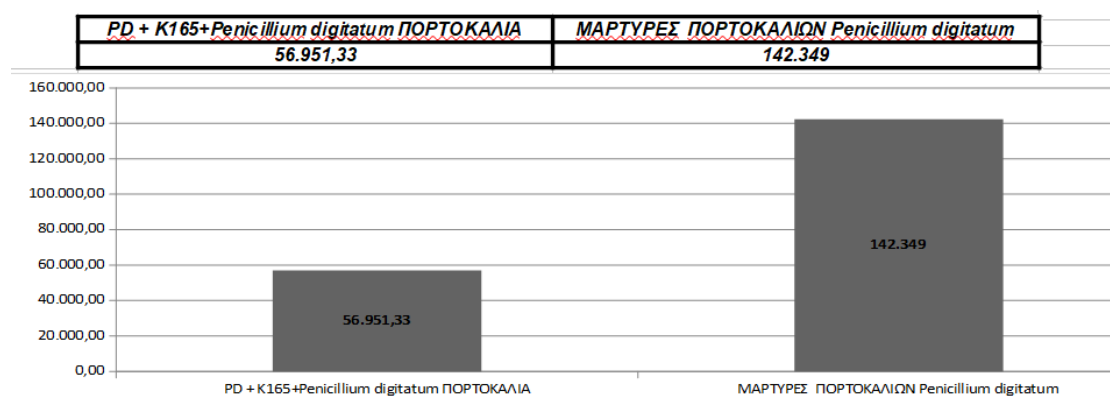
Εικόνα: Ανάπτυξη σε πορτοκάλια μάρτυρες



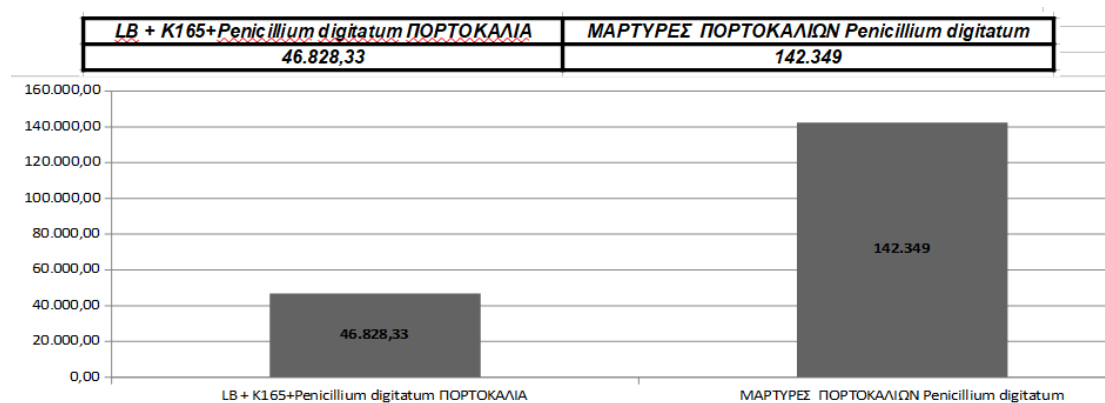
Εικόνα : Ανάπτυξη σε πορτοκάλια με PD



Εικόνα : Ανάπτυξη σε πορτοκάλια με LB



Διάγραμμα 11: Ανάπτυξη μύκητα *Penicillium* σε πορτοκάλια, με θρεπτικό υλικό PD. Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία πτητικών ουσιών K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα λεμόνια μάρτυρες.



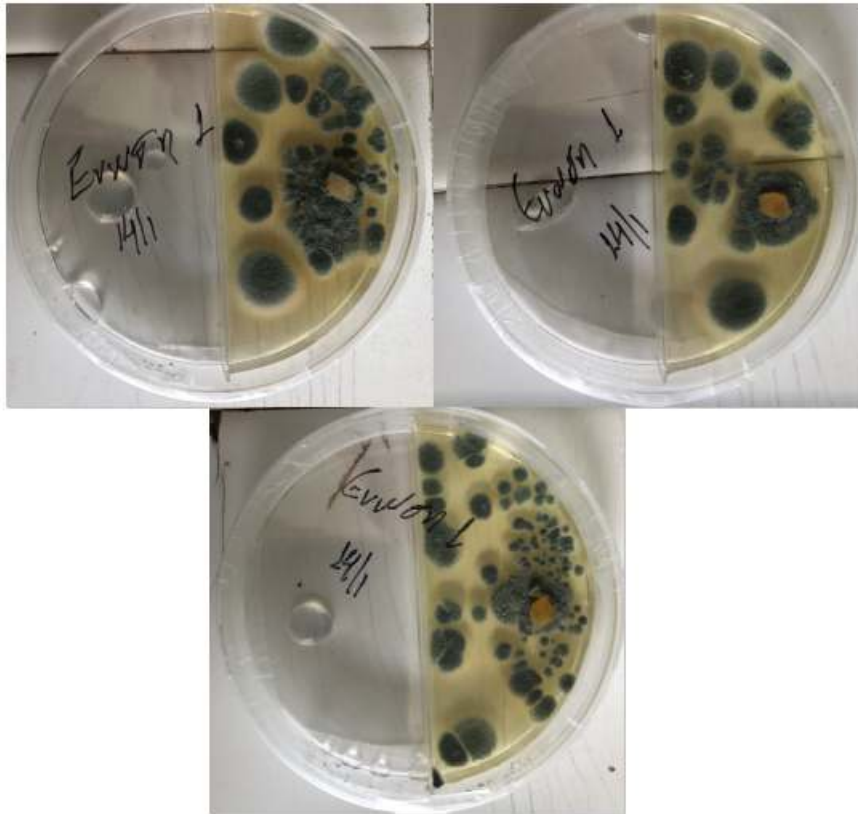
Διάγραμμα 12: Ανάπτυξη μύκητα *Penicillium* σε πορτοκάλια, με θρεπτικό υλικό LB. Αριστερά φαίνεται η ανάπτυξη παρουσία πτητικών ουσιών K165 και δεξιά είναι η ανάπτυξη στα λεμόνια μάρτυρες.

Στο διάγραμμα 9 φαίνεται ότι η παρεμπόδιση από τα πτητικά αέρια φτάνει το 80% σε θρεπτικό υλικό PD, όμως στο LB (Διάγραμμα 10) η παρεμπόδιση είναι ακόμη μεγαλύτερη (92,8%). Στα πορτοκάλια, η μείωση της ανάπτυξης φαίνεται να φτάνει το 60%, (Διάγραμμα 11) ενώ στο LB στο 67,1% (Διάγραμμα 12).

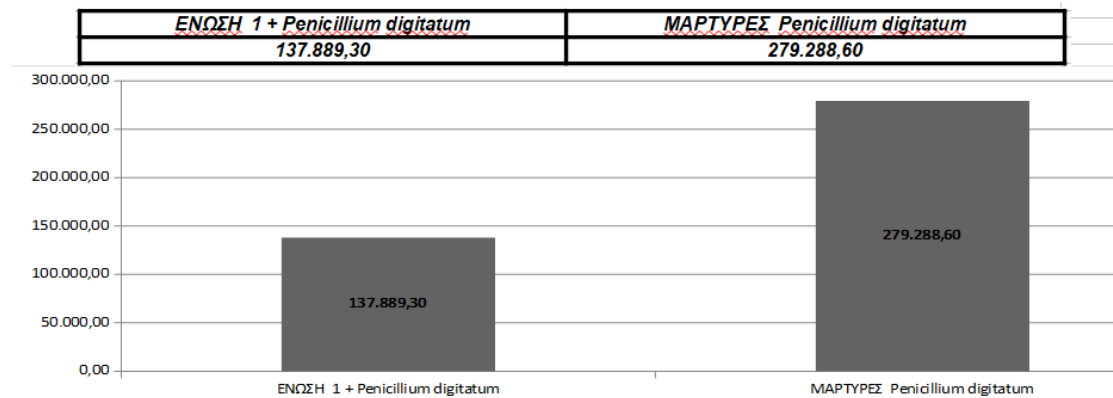
2.4 4ο Πείραμα



Εικόνα: Μάρτυρες 4ου πειράματος



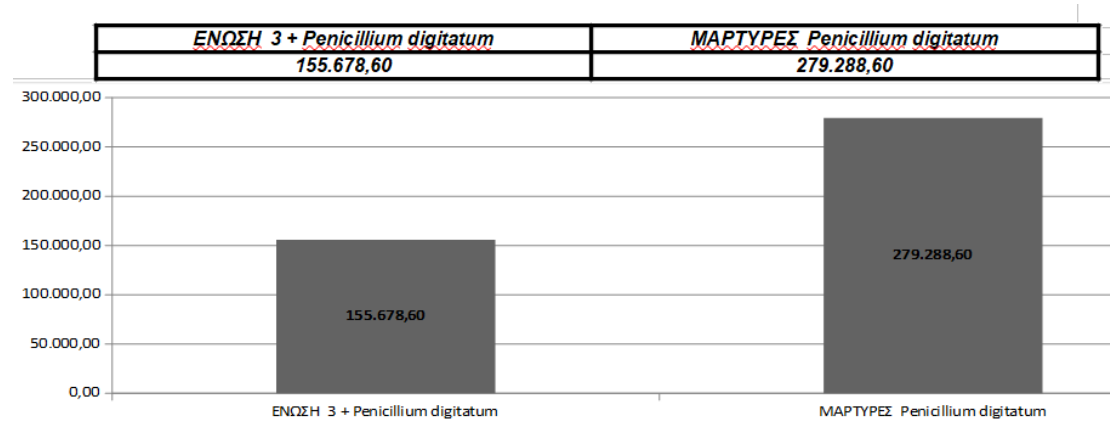
Εικόνα: Ανάπτυξη με ένωση 1



Διάγραμμα 13: Ανάπτυξη *Penicillium* παρουσία ένωσης 1 (αριστερά) σε σχέση με την καλλιέργεια μάρτυρα (δεξιά) σε τρυβλία με χώρισμα.



Εικόνα: Ανάπτυξη με ένωση 3



Διάγραμμα 14: Ανάπτυξη *Penicillium* παρουσία ένωσης 3 (αριστερά) σε σχέση με την καλλιέργεια μάρτυρα (δεξιά) σε τρυβλία με χώρισμα.

Όπως μπορεί να παρατηρηθεί από τα παραπάνω, η ένωση 1 παρεμποδίζει την ανάπτυξη του μύκητα σε ποσοστό 50,63%, ενώ στην ένωση 3 σε ποσοστό 44,26%.

Συζήτηση

Τα πειράματα που διεξήχθησαν στα πλαίσια της παρούσας έρευνας δείχνουν ότι η αντιμετώπιση του μύκητα *Penicillium digitatum* μπορεί να γίνει μέσω του βακτηρίου K165. Όπως παρατηρείται από την πρώτη σειρά πειραμάτων, το στέλεχος K165 μπορεί να παρεμποδίσει την ανάπτυξη του *Penicillium* είτε αναπτύσσονται χωρίς χώρισμα είτε με χώρισμα, και μάλιστα και στις δύο περιπτώσεις σημειώνεται πολύ μεγάλη διαφορά. Αυτό, όμως όπως φαίνεται και από τα ποσοστά, ισχύει κυρίως όταν το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιείται στην καλλιέργεια είναι το LB, ενώ δε σημειώνεται τόσο μεγάλη διαφορά όταν αναπτύσσονται σε υλικό PDA. Αυτή η διαφορά έχει ένα ενδιαφέρον, καθώς παρατηρείται και στα επόμενα διαγράμματα. Ίσως, το K165 να μην αναπτύσσεται τόσο εύκολα στο PDA σε σχέση με το LB και άρα αυτό να σημαίνει ότι δε θα μπορούσε να αναστείλει το ίδιο αποτελεσματικά την ανάπτυξη του μύκητα.

Επιπρόσθετα, στο διάγραμμα 1 και 2 φαίνεται ότι η διαφορά με χώρισμα και χωρίς χώρισμα είναι πολύ μικρή (65% έναντι 57%), όπως επίσης και ότι σε PDA, η διαφορά είναι μεγαλύτερη όταν υπάρχει χώρισμα. Αυτό συνδυάζεται και με το πείραμα 3 όπου φαίνεται η ανάπτυξη των μυκήτων σε πτητικές ουσίες του K165. Ενώ οι δύο μικροοργανισμοί δεν έρχονται σε άμεση επαφή, ο K165 είναι σε θέση να παρεμποδίσει τον πολλαπλασιασμό του έστω και μέσω πτητικών ουσιών. Είτε σε λεμόνια είτε σε πορτοκάλια, η διαφορά μεταξύ δείγματος με K165 και μάρτυρα είναι εμφανής, αν και στα λεμόνια είναι πολύ μεγάλη (80% και 92,8%), γεγονός που δείχνει ότι η δράση του K165 στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης οφείλεται σε ουσίες που εκκρίνει και μπορούν να διανύσουν μια σχετική απόσταση, προσβάλλοντας το μύκητα και καταστέλλοντας τον πολλαπλασιαστικό ρυθμό του.

Το ότι ο *Penicillium* αναπτύσσεται πολύ ευκολότερα σε πορτοκάλια αντί για λεμόνια είναι μάλλον αναμενόμενο και σχετίζεται με τα οργανικά οξέα που περιέχει το κάθε φρούτο σε διαφορετικό βαθμό, καθώς το λεμόνι περιέχει μεγαλύτερη συγκέντρωση οργανικού οξέος (κιτρικό οξύ) και συνεπώς μπορεί να παίζει ανασταλτικό ρόλο στην

ανάπτυξη του μύκητα. Όπως αναφέρεται ήδη και στο θεωρητικό μέρος, ο μύκητας *P. digitatum* έχει περιορισμένο εύρος ξενιστών και η προσβολή εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως και η περιεκτικότητα σε οργανικά οξέα. Αυτό φαίνεται και στο πείραμα 2, όπου ο μύκητας αναπτύσσεται κατευθείαν στο ίδιο το φρούτο, όπου φαίνεται η διαφορά μεταξύ της ανάπτυξης σε πορτοκάλια και λεμόνια, ακόμα και χωρίς την παρουσία του K165, δηλαδή συγκρίνοντας μόνο τον αριθμό των μυκήτων στα φρούτα-μάρτυρες, είτε όταν χρησιμοποιείται θρεπτικό υλικό LB είτε PDA.

Τέλος, στο 4ο πείραμα, φαίνεται η ανάπτυξη του μύκητα, παρουσία της μίας ή της άλλης χημικής ένωσης. Και στις δύο περιπτώσεις, ο πολλαπλασιαστικός ρυθμός του μύκητα μειώνεται, αν και στην περίπτωση της ένωσης 1 ο ρυθμός αυτός είναι μεγαλύτερος. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι οι ενώσεις αυτές, όπως ήταν αναμενόμενο από τα παραπάνω λεγόμενα στην ανάλογη ενότητα, οι πτητικές ενώσεις αυτές παρεμποδίζουν την ανάπτυξη του μύκητα. Αν και στο πείραμα εδώ δεν έχουν τοποθετηθεί σε φυτικό οργανισμό για να διερευνηθεί η δράση τους στο αμυντικό τους σύστημα, εντούτοις είναι φανερό ότι μπορούν να παρεμποδίσουν την ανάπτυξη του παθογόνου αυτού μικροοργανισμού.

Επίλογος

Τα εσπεριδοειδή είναι μια από τις σημαντικότερες καλλιέργειες φρούτων που είναι γνωστές στον άνθρωπο από την αρχαιότητα και είναι μια πλούσια πηγή βιταμίνης C με υψηλό αντιοξειδωτικό δυναμικό. Όπως και με άλλα φρούτα, τα εσπεριδοειδή προσβάλλονται από πολλούς παθογόνους παράγοντες πριν και / ή μετά τη συγκομιδή που επηρεάζουν την ποιότητα των καρπών. Μεγάλες ποσότητες φρούτων χάνονται λόγω αλλοίωσης που προκαλείται από παθογόνους μικροοργανισμούς, ιδιαίτερα μύκητες. Αυτοί οι παθογόνοι μύκητες περιορίζουν την οικονομική αξία αυτών των φρούτων καθώς και τη διάρκεια ζωής τους. Η μόλυνση των καρπών από τους μύκητες συχνά οφείλεται σε κακές πρακτικές χειρισμού στην αλυσίδα εφοδιασμού τροφίμων, στις συνθήκες αποθήκευσης, στη διανομή, στην εμπορία, στις πρακτικές και στη μεταφορά. Με τα χρόνια υπάρχει μια αυξανόμενη ανάγκη να εντοπιστούν και να απομονωθούν οι μύκητες που σχετίζονται με την αλλοίωση των καρπών.

Η εμφάνιση μυκηλιακής αλλοίωσης των φρούτων αναγνωρίζεται ως πηγή πιθανού κινδύνου για την υγεία του ανθρώπου και των ζώων. Αυτό οφείλεται στην παραγωγή μυκοτοξινών (φυσική τοξική χημική ουσία που συχνά έχει αρωματική δομή), ενώσεις που είναι ικανές να περιλαμβάνουν μυκοτοξικές διαταραχές στον άνθρωπο μετά από την κατάποση και την εισπνοή (Muhammad et al., 2018). Ως εκ τούτου, η ανάγκη απομόνωσης και ταυτοποίησης αυτών των μικροοργανισμών υπεύθυνων για αλλοίωση.

Ο μύκητας *Penicillium digitatum* είναι ένας μύκητας που βρίσκεται στο έδαφος των περιοχών παραγωγής εσπεριδοειδών και αποτελεί σημαντική πηγή αποσύνθεσης μετά τη συγκομιδή ενώ είναι υπεύθυνος για την εκτεταμένη ασθένεια μετά τη συγκομιδή στα εσπεριδοειδή που είναι γνωστή ως πράσινη σήψη ή πράσινη μούχλα. Προς το παρόν, για να ελαχιστοποιηθούν οι απώλειες που προκαλούνται από παθογόνα εσπεριδοειδών, οι συνθετικές χημικές ουσίες εφαρμόζονται είτε πριν είτε μετά τη συγκομιδή. Ωστόσο, η εφαρμογή συνθετικών χημικών ουσιών για τον έλεγχο των ασθενειών μετά τη συγκομιδή συχνά οδηγεί σε χημικά κατάλοιπα στα τρόφιμα που

μπορεί να επηρεάσουν την ανθρώπινη υγεία. Έτσι, η ανάπτυξη και η χρήση εναλλακτικών επιλογών ελέγχου μετά τη συγκομιδή με βιολογικούς παράγοντες είναι εξαιρετικά σημαντικές. Επιπλέον, τα φυσικά φυτικά εκχυλίσματα μπορεί να παρέχουν μια περιβαλλοντικά ασφαλέστερη, φθηνότερη και περισσότερο αποδεκτή προσέγγιση ελέγχου των νόσων των εσπεριδοειδών. Επιπλέον, ορισμένα στελέχη μυκήτων έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στα κοινά χρησιμοποιούμενα μυκητοκτόνα. Καθώς η αντιμυκητιασική αντίσταση γίνεται μια σημαντική ανησυχία, η αναζήτηση νέων βιοδραστικών ενώσεων έχει σημαντικό ρόλο να παρακάμψει την εκτεταμένη χρήση μυκητοκτόνων.

Αυτή η έρευνα μπορεί να συνεισφέρει στην εύρεση αποτελεσματικών αλλά και ασφαλών λύσεων στην αντιμετώπιση διαφόρων ειδών ασθeneιών των εσπεριδοειδών. Ο μύκητας *P. digitatum* αποτελεί την πιο συχνή ασθένεια των εσπεριδοειδών και ειδικά των πορτοκαλιών, έχοντας ως αποτέλεσμα τεράστιες οικονομικές απώλειες τόσο για τους παραγωγούς όσο και για τις επιχειρήσεις, και προσφεύγοντας στη λύση των συμβατικών μυκητοκτόνων, το πρόβλημα διαιωνίζεται καθώς η φύση και κατ' επέκταση οι μικροοργανισμοί, δεχόμενοι την ανάλογη εξελικτική πίεση, ωθούνται στην ανάπτυξη χαρακτηριστικών που θα τους επιτρέψουν την επιβίωση. Καθώς, λοιπόν, τα ήδη χρησιμοποιούμενα μυκητοκτόνα δεν προσφέρουν μια δραστική και καθ' όλα αποτελεσματική λύση, η επιστήμη στρέφεται σε λύσεις που από τη μία θα είναι αποτελεσματικές, από την άλλη δε θα επιβαρύνουν το περιβάλλον με αγροχημικά, ούτε θα δίνεται το έναυσμα για την ανάπτυξη ολοένα και ανθεκτικότερων στελεχών που μπορεί από ένα σημείο και ύστερα να είναι μη αντιμετωπίσιμα.

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας μπορούν να αξιοποιηθούν ποικιλοτρόπως. Κατά πρώτον, είναι εμφανής η επίδραση του παράγοντα K165 στον έλεγχο του πολλαπλασιαστικού ρυθμού του *P. digitatum*. Όπως έχει ήδη ειπωθεί, το K165 είναι παράγοντας που οδηγεί στην αναστολή της ανάπτυξης άλλων παθογόνων σε άλλα φυτικά είδη, και με βάση τα δεδομένα που προκύπτουν από τα πειράματα εδώ, το βακτήριο παράγει συγκεκριμένες ενώσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο της διασποράς του μύκητα σε καλλιέργειες. Αν και φαίνεται ότι το θρεπτικό

υλικό παίζει ρόλο σε αυτό, θα μπορούσαν να δοκιμαστούν και άλλοι συνδυασμοί θρεπτικών υλικών και να επαναληφθούν τα πειράματα για να επιτευχθεί το βέλτιστο αποτέλεσμα.

Επίσης, θα μπορούσε η εφαρμογή του K165 να γίνει και στο πεδίο, δηλαδή στα ίδια τα δέντρα και να γίνει η αποτίμηση της αποτελεσματικότητας τόσο του παράγοντα, όσο και ο προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων που δημιουργούν το αποτέλεσμα αυτό. Σε κάθε περίπτωση, τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά για τη συνέχιση των ερευνών πάνω στο αντικείμενο.

Τέλος, όσον αφορά τη χρήση των ουσιών 1 και 3 (2,3 βουτανοδιόλη και 2-πεντανόλη αντίστοιχα), αυτές οι ενώσεις παρεμποδίζουν την ανάπτυξη του *Penicillium* στο τρυβλίο. Αυτό φαίνεται αρκετά ελπιδοφόρο, καθώς η επιτακτική ανάγκη για αντικατάσταση χημικών ρυπογόνων παρασιτοκτόνων ωθεί στην εύρεση εναλλακτικών λύσεων που θα μπορούσαν κάλλιστα να αναζητηθούν σε τέτοιου είδους ουσίες που εξέρχονται από συμβιωτικά βακτήρια και, από τη μία ενισχύουν την άμυνα των φυτικών οργανισμών, από την άλλη επίσης φαίνεται ότι η κατασταλτική τους δράση στην ανάπτυξη του μύκητα δεν περιορίζεται μόνο σε αυτό, αλλά οι ίδιες οι ενώσεις έχουν αρνητική επίδραση σε αυτόν.

Συμπερασματικά, η έρευνα πάνω στις εναλλακτικές λύσεις για την αντιμετώπιση του παθογόνου μύκητα φαίνεται πολλά υποσχόμενη. Από τη μία, η χρήση του K-165 και οι πτητικές ενώσεις που εκκρίνει, από την άλλη πτητικές ενώσεις που προέρχονται από διάφορα βακτήρια, μπορεί να αποτελέσουν λύση στην αντικατάσταση βλαβερών παρασιτοκτόνων και να ωθήσουν τη γεωργία προς μια βιώσιμη οδό, που μακροπρόθεσμα δε θα επιφέρει σοβαρές αρνητικές επιπτώσεις στα οικοσυστήματα και εν τέλει, στην ποιότητα ζωής και υγεία του ανθρώπου.

Βιβλιογραφία

- Abbate, L., Mercati, F. & Bosco, F. (2019). An Overview on Citrus Mal Secco Disease: Approaches and Strategies to Select Tolerant Genotypes in *C. limon*. *Crop Breed Genet Genom.*, 1, 1-9.
- Albert, S., Chauhan, D., Pandya, B. et al. (2011). Screening of *Trichoderma* Spp. As Potential Fungal Partner in Co-Culturing with White Rot Fungi for Efficient Bio-Pulping. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry*, 6 (3), 95-101.
- Antonopoulos, D.F., Tjamos, S.E., Antoniou, P.P., Rafeletos, P. Tjamos, E.C. (2008). Effect of *Paenibacillus alvei*, strain K165, on the germination of *Verticillium dahliae* microsclerotia in planta. *Biological Control: Theory and Application in Pest Management*, 46(2), 166-170
- Ballester, A.R., Perez, M., Fuente, B. & Candelas, L. (2019). Functional and Pharmacological Analyses of the Role of *Penicillium digitatum* Proteases on Virulence. *Microorganisms*, 7(7), 10-16.
- Bazioli, J., Belinato, J., Costa, J. et al. (2019). Biological Control of Citrus Postharvest Phytopathogens. *Toxins*, 11, 460-488.
- Bicici, M., Dede, Y. & Cinar, A. (1992). *Trichoderma* Species Against Gummosis Disease in Lemon Trees. *Biological Control of Plant Diseases*, 1, 193-196.
- Chen, J., Shen, Y., Chen, C. & Wan, C. (2019). Inhibition of Key Citrus Postharvest Fungal Strains by Plant Extracts In Vitro and In Vivo: A Review. *Plants (Basel)*, 8(2), 26-30.
- Costa, J., Bazioli, J., Pontes, G. & Fill, T. (2019a). *Penicillium digitatum* infection mechanisms in citrus: What do we know so far? *Fungal Biology*, 123(8), 584-593.
- Costa, J., Wassano, C., Angolini, F. et al. (2019b) Antifungal potential of secondary metabolites involved in the interaction between citrus pathogens. *Scientific Reports*, 9(18647), 1-11.
- Crispim, A.A, Nogueira, C.R. & Figueira, C.M.B. (2012). Comparison between the surveys Ethnobotanical about use of medicinal plants in the municipalities of Passa Vinte/MG and in neighborhood Arthur Cataldi, Barra of Pirai/RJ. *Rev episteme transversalis*, 3(1), 1-16.

Deketelaere, S., Tyvaert, L., Franca, S.C., Hofte, M. (2017). Desirable Traits of a Good Biocontrol Agent against Verticillium wilt. *Front Microbiol.*, 8, 1186

Del-Rio, J., Diaz, L., Ortuno, A. et al. (2015). Metabolism of flavonoids and mycotoxins in citrus fruits infected by *Alternaria Alternate*. *Acta Hort.* 1065, 1549-1553.

Dipak K.P. & Ranajit K.S. (2004). Nutrients, Vitamins and Minerals Content in Common Citrus Fruits in the Northern Region of Bangladesh. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7, 238-242.

Embaby, E. M., M. Hazaa, L. F. Hagag, T. I. El-Sayed & F. S. Abd El-Azem, (2013). II: Decay of Some Citrus Fruit Quality Caused by Fungi and their Control: II- Control *Alternaria* rot or core rots decay by using some alternative fungicides. *Journal of Applied Sciences Research* 9(11), 5671-5678.

FAO (2018). *Value of agricultural production date*. Διαθέσιμο στο: <http://faostat3.fao.org/home/E> (τελευταία πρόσβαση 23 Νοεμβρίου 2019).

Ferraz, P., Cassio, F. & Lucas, C. (2019). Potential of Yeasts as Biocontrol Agents of the Phytopathogen Causing Cacao Witches' Broom Disease: Is Microbial Warfare a Solution? *Front. Microbiol.*, 1, 1-9.

Fernandez-Cruz, M., Mansilla, M. & Tadeo, J. (2010). Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence and health implications. *Journal of Advanced Research*, 1(2), 113-122.

Gardener, B.B. & Fravel, D.R. (2002). *Biological Control of Plant Pathogens: Research, Commercialization, and Application in the USA*. Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2002-0510-01-RV.

Garganese, F., Schena, L., Siciliano, I. et al. (2016). Characterization of Citrus-Associated *Alternaria* Species in Mediterranean Areas. *Plos One*, 1, 1-6.

Granados-Chinchilla, F., Solano, M. & Viquez, D. (2018). Mycotoxin Contamination of Beverages Obtained from Tropical Crops. *Beverages*, 4(83), 1-37.

Guarnaccia, V., Groenewald, J., Polizzi, G. & Crous, P. (2017). High species diversity in *Colletotrichum* associated with citrus diseases in Europe. *Persoonia*, 39, 32–50.

Guzmán-Gutiérrez SL. & Navarrete A. (2009). Pharmacological exploration of the sedative mechanism of hesperidin identified as the active principle of *Citrus sinensis* flowers. *Planta Med.*, 75(4), 295–301.

Gründemann C, Papagiannopoulos M, Lamy E, et al. (2011). Immunomodulatory properties of a lemon-quince preparation (Gencydo®) as an indicator of anti-allergic potency. *Phytomedicine*, 18(8-9), 760-768.

Hernandez-Montiel, L., Pena, R. & Barragan, H. (2010). First Report of Sour Rot Caused by *Geotrichum citri-aurantii* on Key Lime (*Citrus aurantifolia*) in Colima State, Mexico. *APS Publications*, 94(4), 1-11.

Heydari, A. & Pessarakli, M. (2010). A Review on Biological Control of Fungal Plant Pathogens Using Microbial Antagonists. *Journal of Biological Sciences*, 10(4), 273-290.

Hirooka, T. & Ishii, H. (2013). Chemical control of plant diseases. *Journal of General Plant Pathology*, 79(6), 1-11.

Idoko, A. (2019). Exploitative Beneficial Effects of Citrus Fruits. In M.Sajid (edit.), *Citrus: Health Benefits and Production Technology* (p. 32-59). USA: IntechOpen.

Inglese, P. & Sortino, G. (2019). Citrus History, Taxonomy, Breeding, and Fruit Quality Citrus History, Taxonomy, Breeding, and Fruit Quality Summary and Keywords. *Citrus History, Taxonomy, Breeding, and Fruit Quality*, 1, 1-22.

Kong, H.G., Shin, T.S., Kim, T.H., Ryu, C.M. (2018). Stereoisomers of the Bacterial Volatile Compound 2,3-Butanediol Differently Elicit Systemic Defense Responses of Pepper against Multiple Viruses in the Field. *Front Plant Sci.*, 9(90), 1-13

Liu, Y., Heying, E. & Tanumihardjo, S.A. (2012). History, Global Distribution, and Nutritional Importance of Citrus Fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11(6), 100-105.

Mamun, S. & Feroz, F. (2017). Complete microbiological analysis of citrus fruits and the effect of heat on microbial load & antimicrobial activity. *Stamford Journal of Microbiology*, 7(1), 28-32.

Mota, M., Gornes, B., Junior, T. et al. (2017). Bacterial selection for biological control of plant disease: criterion determination and validation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(1), 62-70.

Kanetis L., Förster H., Adaskaveg J.E. (2007): Comparative efficacy of the new postharvest fungicides azoxystrobin, fludioxonil, and pyrimethanil for managing citrus green mold. *Plant Disease*, 91, 1502–1511.

Kohl, J., Kolnaar, R. & Ravensberg, W. (2019). Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. *Front Plant Sci.*, 10, 845-852.

999

Lee, S., Whitaker, V. & Hutton, S.F. (2016). Mini Review: Potential Applications of Non-host Resistance for Crop Improvement. *Front Plant Sci.*, 7, 997-1002.

Liu, L., Kloepper, J.W., Tuzun, S., (1995). Induction of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85, 695–698

- Maldonado, M.C., Corona, J., Gordillo, M.A. & Navarro A.R. (2009). Isolation and partial characterization of antifungal metabolites produced by *Bacillus* sp. IBA 33. *Current Microbiology*, 59, 646–650.
- Markakis, E.A., Tjamos, S., Antoniou, P.P., Paplomatas, E.J (2016). Biological control of *Verticillium* wilt of olive by *Paenibacillus alvei*, strain K165. *BioControl*, 61, 293-303
- Muhammad, A.S., Mohammed, I.U., Ameh, M. et al. (2018). Isolation and identification of fungi associated with the spoilage of sweet orange (*Citrus sinensis* L) and banana (*Musa sapientum* L) in Sokoto Metropolis. *J Appl Biotechnol Bioeng.*, 5(3), 176-186.
- Moss, M.O. (2008). Fungi quality and safety issues in fresh fruits and vegetables. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 1239–1243.
- Muhammad, A.S., Mohammed, I., Ameh, M. et al. (2018). Isolation and identification of fungi associated with the spoilage of sweet orange (*Citrus sinensis* L) and banana (*Musa sapientum* L) in Sokoto Metropolis. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 5(3), 176-186.
- Naqvi, S.A. (2004). Diagnosis and Management of Pre and Post-harvest Diseases of Citrus fruit. *Diseases of Fruits and Vegetables*, 1, 339-359.
- Navarra, M., Mannucci, C., Delbo, M. & Calapai, G. (2015). Citrus bergamia essential oil: from basic research to clinical application. *Front Pharmacol.*, 6, 36-41.
- Oviasogie, F.E., Ogochere, A., Beshiru, A. et al. (2015). Assessment of fungal pathogens associated with orange spoilage. *African Journal of Microbiology Research*, 9(29), 1758-1763.

Palou, L. (2014). Chapter 2 - *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* (Green Mold, Blue Mold). *Postharvest Decay, 1*, 1-44.

Peever, T.L., Su, L. & Carpenter-Boggs, L. (2004). Molecular Systematics of Citrus-Associated *Alternaria* Species. *Mycologia*, *96*(1), 119-134.

Pimenta, R.S., Silva, F.L., Silva, J.F.M. et al. (2008). Biological control of *Penicillium italicum*, *P. digitatum* and *P. expansum* by the predacious yeast *Saccharomycopsis schoenii* on oranges. *Brazilian Journal of Microbiology*, *39*, 85–90.

Πρωτοπαπαδάκης, Ε. (2016). *Τα εσπεριδοειδή: καλλιέργεια- λίπανση – φυτοπροστασία*. Αθήνα: εκδ. Ψύχαλος.

Sabra, W., Quitmann, H., Zeng, A.P., Dai, J.Y., Xiu, Z.L. (2011) 3.09-Microbial Production of 2,3-Butanediol, In: Moo-Young, M. (2011) *Comprehensive Biotechnology*, Elsevier, 3, 87-97

Sandoval-Chávez, R. A., Martínez-Peniche, R. Á., HernándezIturriaga, M., Teixidó-Espasa, N., Usall-Rodié, J., Viñas-Almenar, I., & Torres-Sanchis, R. (2015). Mechanisms of resistance in postharvest fruit-pathogen interaction, Mexico. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *21*(3), 185-198.

Sandoval, M., Guarnaccia, V., Pollizzi, G. & Crous, P. (2018). Symptomatic Citrus trees reveal a new pathogenic lineage in *Fusarium* and two new *Neocosmospora* species. *Persoonia*, *40*, 1–25.

Scora, R.W. (1975). On the History and Origin of Citrus. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, *102*(6), 369-375.

Sharma, M. & Kulshrestha, S. (2015). Colletotrichum gloeosporioides: An Anthracnose Causing Pathogen of Fruits and Vegetables. *Biosciences Biotechnology Research, 12*(2), 1-15.

Schimmenti, E., Borsellino, V. & Galati, A. (2013). Growth of citrus production among the Euro-Mediterranean countries: political implications and empirical findings. *Spanish Journal of Agricultural Research, 11*(3), 561-577.

Shen W, Xu Y, Lu YH. (2012). Inhibitory effects of citrus flavonoids on starch digestion and antihyperglycemic effects in HepG2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60*, 9609-9619.

Scuderi, A. & Zarba, A.S. (2011). Economic analysis citrus fruits destined to markets. *Italian Journal of Food Science 23*, 34-37.

Talibi, I., Boubaker, H., Boudyach, E.H. & Ait Ben Aoumar, A. (2014). Alternative methods for the control of postharvest citrus diseases. *Journal of Applied Microbiology, 117*, 1–17.

Timmer, L., Peres, N., Mondal, S. & Bhatia, A. (2007). Fungal Diseases of Fruit and Foliage of Citrus Trees. *Diseases of Fruits and Vegetables, 1*, 191-277.

Turner, T. & Burri, B.J. (2013). Potential Nutritional Benefits of Current Citrus Consumption. *Agriculture, 3*, 170-187.

Upinder, S., Lee, S. & Mysore, K.S. (2015). Host Versus Nonhost Resistance: Distinct Wars with Similar Arsenals. *APS Publications, 105*(5), 1-11.

Veljović, S.P., Boonsiri, K., Maina, M.K. et al. (2017). Infection capacity of the pathogens *Penicillium italicum* and *P. expansum* in orange during storage. *Food & Feed Research, 44*(1), 31-38.

- Waang, Z., Jiang, M., Chen, K. et al. (2018). Biocontrol of *Penicillium digitatum* on Postharvest Citrus Fruits by *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Food Quality*, 1, 1-10.
- Waard, M., Georgopoulos, S.M, Hollomon, D. & Ishii, H. (2003). Chemical Control of Plant Diseases: Problems and Prospects. *Annual Review of Phytopathology*, 31(1), 403-421.
- Waseem, A. & Azmat, R. (2019). Citrus: An Ancient Fruits of Promise for Health Benefits. In M.Sajid (edit.), *Citrus: Health Benefits and Production Technology* (p. 19-31). USA: IntechOpen.
- Wu, Y., Duan, X., Jing, G. et al. (2017). Cinnamaldehyde inhibits the mycelial growth of *Geotrichum citri-aurantii* and induces defense responses against sour rot in citrus fruit. *Postharvest Biology & Technology*, 129, 23-28.
- Yaseen, T. & D'Onghia, A.M. (2010). *Fusarium* spp. Associated to Citrus Dry Root Rot: an Emerging Issue for Mediterranean Citriculture. *Acta Horticulturae*, 1, 1-11.
- Yi, H.S., Ahn, Y.R., Song, G.C., Ghim, S.Y., Lee, S., Lee, G., Ryu, C.M. (2016) Impact of a Bacterial Volatile 2,3-Butanediol on *Bacillus subtilis* Rhizosphere Robustness. *Front. Microbiol*, 7 (993), 1-11
- Zhao, S., Lv, X., Ning, Z. et al. (2015a). Citrus fruits as a treasure trove of active natural metabolites that potentially provide benefits for human health. *Chem Cent J*, 9, 68—82.
- Zhao, S., Bai, J., McCollum, G. & Baldwin, E. (2015b). High Incidence of Preharvest Colonization of Huanglongbing-Symptomatic Citrus sinensis Fruit by *Lasiodiplodia theobromae* (*Diplodia natalensis*) and Exacerbation of Postharvest Fruit Decay by That Fungus. *Appl Environ Microbiol.*, 81(1), 364–372.