

ΠΟΛΥΜΝΙΑ Π. ΑΝΤΩΝΙΟΥ

**ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΗΛΙΟΑΠΟΔΥΜΑΝΣΕΩΣ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ  
ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ  
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΚΑΙ Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΤΗΝ  
ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

υποβληθείσα στο

Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

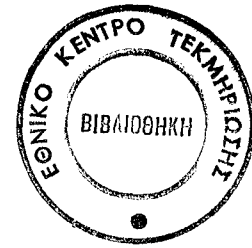
---

ΑΘΗΝΑ 1995

ND = 5349

9 ΙΑΛ. 1996

ΠΟΛΥΜΝΙΑ Π. ΑΝΤΩΝΙΟΥ



**ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΗΛΙΟΠΟΛΥΜΑΝΣΕΩΣ ΤΟΥ ΕΛΑΦΟΥΣ  
ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ  
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΚΑΙ Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΤΗΝ  
ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ ΤΟΥ ΕΛΑΦΟΥΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

υποβληθείσα στο

Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

---

ΑΘΗΝΑ 1995

*στη μνήμη του πατέρα μου*

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ.....	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
<b>Ι.ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>5</b>
<b>1. Εδαφογενή παθογόνα της τομάτας.....</b>	<b>7</b>
1.1. Μέθοδοι αντιμετώπισης εδαφογενών παθογόνων.....	8
1.1.1. Στοιχεία για τη χημική απολύμανση του εδάφους.....	8
1.1.2. Ηλιοαπολύμανση του εδάφους.....	10
1.1.3. Άλλες μέθοδοι αντιμετώπισης των εδαφογενών παθογόνων.....	12
<b>2. Ηλιοαπολύμανση του εδάφους (soil solarization, solar heating).....</b>	<b>13</b>
2.1. Η ηλιοαπολύμανση ως μέθοδος απολυμάνσεως του εδάφους.....	13
2.1.1. Πλαστικά φύλλα ως μέσο εφαρμογής της μεθόδου.....	15
2.2. Βασικές αρχές της ηλιοαπολυμάνσεως.....	16
2.3. Φάσμα δράσεως της μεθόδου.....	18
2.3.1. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως σε πολλαπλασιαστικές μονάδες των μυκήτων.....	19
2.3.1.1. Μυκητολογικές ασθένειες μη αντιμετωπιζόμενες με την ηλιοαπολύμανση.....	19
2.3.1.2. Μυκητολογικές ασθένειες μερικώς αντιμετωπιζόμενες με την ηλιοαπολύμανση.....	19
2.4. Μηχανισμοί δράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως στην αντιμετώπιση εδαφογενών φυτοπαθογόνων.....	20
2.4.1. Θερμική δράση.....	22
2.4.2. Βιοχημική δράση.....	25
2.4.3. Βιολογική δράση.....	25
2.4.3.1. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στην επιβίωση και ανάπτυξη φυσικών ανταγωνιστών.....	27
2.4.3.1.1. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στους θερμοαυθεκτικούς μύκητες.....	27
2.4.3.1.2. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως σε φυσικούς πληθυσμούς βακτηρίων.....	29
2.5. Πρακτική Εφαρμογή-Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα της ηλιοαπολυμάνσεως έναντι της χημικής απολυμάνσεως και της απολυμάνσεως του εδάφους με ατμό.....	31
2.6. Εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως στην Ελλάδα.....	32

<b>3. Περιγραφή ασθενειών.....</b>	<b>35</b>
3.1. Φελλώδης ή καστανή σπηριριζία της τομάτας (corky ή brown root rot) Παθογόνο αίτιο ο μύκητας: <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> .....	35
3.2. Βακτηριακό έλκος της τομάτας (bacterial canker of tomato) Παθογόνο αίτιο: το βακτήριο <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> .....	42
4. Αντικειμενικός σκοπός της παρούσης διδακτορικής διατριβής .....	57

## **II. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ..... 59**

<b>1. Θερμική ευαισθησία σκληρωτίων του μύκητα <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> στην ηλιοαπολύμανση του εδάφους και επίδραση της απλής και της επαναλαμβανόμενης ετησίως εφαρμογής της μεθόδου στην αντιμετώπιση της ασθένειας σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας.....</b>	<b>60</b>
1.1. Η ασθένεια στην Ελλάδα και η αποτελεσματικότητα της ηλιοαπολυμάνσεως στην αντιμετώπιση της φελλώδους σπηριριζίας της τομάτας ( <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> συν. <i>P. lycopersici</i> ) .....	60
1.2. Σκοπός της ερεΰνης.....	61
1.3. Υλικά και Μέθοδοι.....	61
1.3.1. Πειράματα εργαστηρίου.....	61
1.3.1.1. Θρεπτικά υποστρώματα .....	61
1.3.1.2. Έλεγχος βλαστικότητας των σκληρωτίων του μύκητα <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> .....	62
1.3.1.2.1. Έλεγχος ευπαθείας σκληρωτίων του μύκητα <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> υπό συνθήκες ηλιοαπολυμάνσεως.....	62
1.3.1.2.2. Έλεγχος της θερμικής ευπάθειας των σκληρωτίων υπό συνθήκες υδατόλουτρου.....	63
1.3.1.3. Απομονώσεις του παθογόνου από μολυσμένα τοματόφυτα του υβριδίου Jolly.....	65
1.3.1.4. Έλεγχος ευπαθείας και ποσοτικός προσδιορισμός του φυσικού πληθυσμού του μύκητα <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> από το έδαφος, μετά από την εφαρμογή της μεθόδου της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους.....	66
1.3.2. Πειράματα αγρού .....	66
1.3.2.1. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στη μείωση φυσικών πληθυσμών του μύκητα στο έδαφος και αντιμετώπιση της ασθένειας.....	69

1.3.2.2.	Εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως για τον έλεγχο της επιδράσεως της μεθόδου στην επιβίωση σκληρωτίων του μύκητα, τα οποία παρήχθησαν σε τεχνητό θρεπτικό υπόστρωμα .....	73
1.3.3.	Στατιστική ανάλυση δεδομένων.....	73
1.3.4.	Αποτελέσματα.....	74
1.3.4.1.	Θερμική ευαισθησία σκληρωτίων του μύκητα <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> .....	74
1.3.4.2.	Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στην επιβίωση σκληρωτίων του μύκητα <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> βυθισμένων στο έδαφος κατά τη διάρκεια εφαρμογής της μεθόδου.....	74
1.3.4.3.	Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στην ένταση της καστανής σηψιρριζίας της τομάτας και επίπτωσή της στην επιβίωση φυσικών μολυσμάτων του παθογόνου μετά από την εφαρμογή της μεθόδου .....	78
1.3.4.4.	Επίδραση της επαναλαμβανόμενης ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και της χημικής απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο στην ένταση της ασθeneίας που προκαλείται από το μύκητα <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> και στην επίπτωσή της στην παραγωγή καρπών τομάτας .....	82
1.4.	Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	87
<b>2.</b>	<b>Διερεύνηση των δυνατοτήτων αντιμετώπισης του βακτηριακού έλκους της τομάτας με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους.....</b>	<b>94</b>
2.1.	Σκοπός της ερεύνης.....	94
2.2.	Υλικά και Μέθοδοι.....	95
2.2.1.	Πειράματα αγρού .....	95
2.2.1.1.	Αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως στην αντιμετώπιση του βακτηριακού έλκους της τομάτας σε θερμοκήπια πλαστικής καλύψεως .....	95
2.2.1.1.1.	Πρώτη αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους (πειράματα 1990 - 1991).....	95
2.2.1.1.2.	Δεύτερη αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους (πειράματα 1991-1992).....	97
2.2.1.1.3.	Επίδραση του φαινομένου του περιθωρίου.....	98
2.2.1.1.4.	Τρίτη αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους (πειράματα 1992 - 1993) .....	98

2.2.1.2.	Διερεύνηση της ευαισθησίας μολυσμάτων του βακτηρίου <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> στην εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως.....	99
2.2.1.2.1.	Εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως στα πειραματικά τεμάχια των θερμοκηπίων.....	99
2.2.1.2.2.	Εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως σε πειραματικό αγρό του Γ.Π.Α. για την μελέτη της πληθυσμιακής μεταβολής του παθογόνου μικροοργανισμού.....	99
2.2.1.3.	Διερεύνηση της ευαισθησίας μολυσμάτων του βακτηρίου <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> στην εφαρμογή χημικής απολυμάνσεως του εδάφους με κανονικές και μειωμένες δόσεις βρωμιούχου μεθυλίου.....	100
2.2.1.3.1.	Εφαρμογή της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο.....	100
2.2.2.	Πειράματα εργαστηρίου.....	101
2.2.2.1.	Θρεπτικά υποστρώματα.....	101
2.2.2.2.	Απομόνωση του παθογόνου βακτηρίου από μολυσμένα τοματόφυτα του υβριδίου Jolly.....	104
2.2.2.3.	Αξιολόγηση της επιδράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως στην επιβίωση φυσικών πληθυσμών του βακτηρίου <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> ( <i>C. m. m.</i> ) σε εδάφη θερμοκηπίων.....	105
2.2.2.4.	Προέλευση και καλλιέργεια φυσικού στελέχους του βακτηρίου <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> ( <i>C. m. m.</i> - 22 ).....	105
2.2.2.5.	Προετοιμασία μολυσμάτων του βακτηρίου <i>C. m. m.</i> - 22 για τη μελέτη της επιδράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως στην επιβίωση του παθογόνου στο έδαφος.....	106
2.2.2.6.	Επεξεργασία μολυσμάτων του φυσικού τύπου <i>C. m. m.</i> - 22 μετά από την κάλυψή τους στο έδαφος.....	109
2.2.2.7.	Δημιουργία και επιλογή ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών του βακτηρίου <i>C. m. m.</i> - 22.....	109
2.2.2.8.	Προετοιμασία μολυσμάτων του βακτηρίου <i>C. m. m.</i> - 22 προς αναρρόφηση σε τεμάχια στελεχών τομάτας για τη μελέτη της επιδράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως στην επιβίωση του παθογόνου στο έδαφος.....	111

2.2.2.9.	Επεξεργασία ανθεκτικών σε αντιβιοτικά μεταλλαγμένων στελεχών του βακτηρίου <i>C. m. m.</i> -22 σε φιαλίδια ή αναρροφηθέντων σε τεμάχια στελεχών τομάτας μετά από την κάλυψή τους στο έδαφος .....	113
2.2.2.10.	Προετοιμασία μολυσμάτων του βακτηρίου <i>C. m. m.</i> - 22 σε τεμάχια στελεχών τοματοφύτων για τη μελέτη της επιδράσεως της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο στην επιβίωση του παθογόνου στο έδαφος .....	115
2.2.2.11.	Επεξεργασία μολυσμάτων ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών αναρροφηθέντων σε τεμάχια στελεχών τομάτας μετά από την εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο .....	115
2.2.3.	Στατιστική ανάλυση δεδομένων.....	115
2.3.	Αποτελέσματα .....	116
2.3.1.	Η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στην αύξηση των θερμοκρασιών του καλυμμένου εδάφους στα πειράματα θερμοκηπίων στο Ν. Πρεβέζης και στον πειραματικό αγρό του Γ.Π.Α.....	116
2.3.2.	Αντιμετώπιση του <i>C. m. m.</i> στον αγρό .....	116
2.3.2.1.	Αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους σε σύγκριση με την εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο, κατά την καλλιεργητική περίοδο 1990 - 1991 (Πρώτη αξιολόγηση).....	116
2.3.2.2.	Αξιολόγηση της απλής και επαναλαμβανομένης ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους σε σύγκριση με εφαρμογή απολυμάνσεως του εδάφους με ατμό, κατά την καλλιεργητική περίοδο 1991 - 1992 (Δεύτερη αξιολόγηση) .....	120
2.3.2.2.1.	Τελική επίδραση διαφόρων επεμβάσεων στο δείκτη ασθενείας.....	120
2.3.2.2.2.	Επίδραση της επαναλαμβανομένης ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και της απολυμάνσεως με ατμό στη διακύμανση του ποσοστού ασθενών φυτών.....	120
2.3.2.2.3.	Επίδραση του φαινομένου του περιθωρίου .....	126
2.3.2.3.	Αξιολόγηση της επαναλαμβανομένης ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους κατά την καλλιεργητική περίοδο 1992-1993 (Τρίτη αξιολόγηση).....	126
2.3.2.4.	Αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους την περίοδο 1990-1993 (Συγκεντρωτική αξιολόγηση).....	126



2.3.3.	Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στους πληθυσμούς του βακτηρίου <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> εντός φιαλιδίων ή αναρροφηθέντων σε τεμάχια στελεχών τοματοφύτων.....	132
2.3.3.1.	Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως επί του πληθυσμού του φυσικού τύπου του βακτηρίου <i>C. m. m.</i> - 22 εντός υάλινων φιαλιδίων.....	132
2.3.3.2.	Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως επί των πληθυσμών ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών του βακτηρίου <i>C. m. m.</i> - Amp <sup>+</sup> Rif <sup>+</sup> , <i>C. m. m.</i> - Rif <sup>+</sup> Amp <sup>+</sup> <i>C. m. m.</i> -Kan <sup>+</sup> εντός υάλινων φιαλιδίων.....	134
2.3.3.3.	Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως επί των πληθυσμών των ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών αναρροφηθέντων σε τεμάχια στελεχών τοματοφύτων.....	134
2.3.3.4.	Επίδραση της εφαρμογής της απολυμάνσεως του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο επί του πληθυσμού ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών του βακτηρίου <i>C. m. m.</i> - 22 αναρροφηθέντων σε τεμάχια στελεχών τομάτας .....	137
2.4.	Συζήτηση - Συμπεράσματα.....	137
<b>3.</b>	<b>Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στη διακύμανση φυσικών πληθυσμών της μικροχλωρίδας του εδάφους .....</b>	<b>144</b>
3.1.	Σκοπός της ερεύνης.....	144
3.2.	Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στη βακτηριακή μικροχλωρίδα του εδάφους.....	145
3.2.1.	Τρόπος δράσεως της βακτηριακής μικροχλωρίδας του εδάφους στο ρυθμό αναπτύξεως του φυτού και στην καταστολή της ασθeneίας.....	145
3.2.2.	Πειράματα αγρού .....	147
3.2.3.	Πειράματα εργαστηρίου.....	149
3.2.3.1.	Θρεπτικά υποστρώματα .....	149
3.2.3.2.	Απομόνωση βακτηρίων από τη ριζόσφαιρα τοματοφύτων .....	150
3.2.3.2.1.	Συλλογή δειγμάτων ριζόσφαιρας τοματοφύτων από θερμοκηπιακές καλλιέργειες.....	150
3.2.3.2.2.	Επεξεργασία δειγμάτων για την απομόνωση βακτηρίων ριζόσφαιρας φυτών τομάτας .....	153
3.2.3.2.3.	Ταυτοποίηση των βακτηριακών απομονώσεων της ριζόσφαιρας τοματοφύτων.....	153

3.2.3.3.	Έλεγχος της ανταγωνιστικής ικανότητας των βακτηρίων της ριζόσφαιρας εναντίον του βακτηρίου <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> και των μυκήτων <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> και <i>Verticillium dahliae</i> .....	154
3.3.	Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στους θερμοανθεκτικούς ανταγωνιστές μύκητες.....	155
3.3.1.	Πειράματα αγρού.....	156
3.3.2.	Πειράματα εργαστηρίου.....	156
3.3.2.1.	Θρεπτικά υποστρώματα.....	156
3.3.2.2.	Απομόνωση θερμοανθεκτικών μυκήτων από τη ριζόσφαιρα φυτών τομάτας.....	157
3.3.2.2.1.	Συλλογή δειγμάτων για την απομόνωση θερμοανθεκτικών μυκήτων ριζόσφαιρας φυτών τομάτας.....	157
3.3.2.2.2.	Επεξεργασία δειγμάτων για την απομόνωση θερμοανθεκτικών μυκήτων ριζόσφαιρας φυτών τομάτας.....	157
3.3.2.2.3.	Ταυτοποίηση των απομονώσεων θερμοανθεκτικών μυκήτων.....	158
3.4.	Στατιστική ανάλυση δεδομένων.....	158
3.5.	Αποτελέσματα.....	158
3.5.1.	Επίδραση των μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους στους φυσικούς πληθυσμούς βακτηρίων της ριζόσφαιρας τοματοφύτων.....	158
3.5.2.	Ανταγωνιστική ικανότητα απομονώσεων βακτηριακών πληθυσμών της ριζόσφαιρας εναντίον του βακτηρίου <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> και των μυκήτων <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> και <i>Verticillium dahliae</i> .....	162
3.5.3.	Επίδραση των μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους στους φυσικούς πληθυσμούς θερμοανθεκτικών μυκήτων της ριζόσφαιρας φυτών τομάτας.....	170
3.6.	Συζήτηση - Συμπεράσματα.....	181
<b>III.</b>	<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>187</b>
	SUMMARY.....	208
	ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΙΗΘΗΚΑΝ (INDEX).....	210

## ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε εξ' ολοκλήρου στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Γ.Π.Α.), μετά από προκύρηξη αντιστοίχου θέσεως και επιτυχούς διαγωνισμού μου για αυτή, στις υποτροφίες εσωτερικού, του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών (Ι.Κ.Υ.).

Κατ' αρχήν θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα Καθηγητή κ. Ε. Τζάμο, που μου παρέσχε τη δυνατότητα να εκπονήσω τη διατριβή αυτή, στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας και ο οποίος είχε την άμεση καθοδήγηση και επίβλεψη. Θα ήθελα επίσης να τον ευχαριστήσω για την αμέριστη βοήθειά του, σε κάθε τομέα και σε κάθε στάδιο της μελέτης, για την κατανόηση και τη συμπαράσταση που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησεως αυτής της μελέτης. Τέλος τον ευχαριστώ για την ουσιαστικότερη συμβολή του στην αριότερη απόδοση του τελικού κειμένου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά τον Διευθυντή του Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας, του Γ.Π.Α. και μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, Καθηγητή κ. Χ. Παναγόπουλο, για την αμέριστη βοήθειά του, τις πολύτιμες συμβουλές του, κατά τη διάρκεια του πειραματισμού και της συγγραφής, καθώς και για την καθοδήγηση και τη συμπαράστασή του, σε όλα τα στάδια εκπόνησεως αυτής της μελέτης.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών και μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, κ. Μ. Τύπα, για τις πολύτιμες συμβουλές του, τόσο σε πειραματικά θέματα, όπου η βοήθειά του ήταν καθοριστική, όσο και κατά τη συγγραφή του τελικού κειμένου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως τον Καθηγητή κ. Κ. Μπαλή, την Αν. Καθηγήτρια κα. Π. Κυριακοπούλου, τον Αν. Καθηγητή κ. Β. Ζιώγα και τον Επικ. Καθηγητή Α. Γρηγορίου, του Γ.Π.Α., μέλη της Επταμελούς Επιτροπής, για τις πολύτιμες συμβουλές και παρατηρήσεις τους για την αριότερη απόδοση και παρουσίαση του κειμένου της παρούσης διατριβής.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως, τους ερευνητές του Εργαστηρίου Βακτηριολογίας, του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, Δρ. Π. Ψαλλίδα και Δρ. Α. Αλιβιζάτο, για την πολύτιμη βοήθειά τους, τόσο στην προμήθεια βακτηριακών στελεχών, όσο και για τις πραγματικά πολύτιμες συμβουλές τους, επί πειραματικών θεμάτων, κατά τη διάρκεια εκπόνησεως της μελέτης αυτής. Επίσης ευχαριστώ πολύ τον Δρ. Ε. Παπλωματά, του Εργαστηρίου Μυκητολογίας, του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου για τη βοήθειά του στη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της μελέτης. Ακόμη ευχαριστώ τον συνάδελφο κ. Λ. Σκρότη για την παρασχεθείσα βοήθειά του

κατά την εκτέλεση μέρους των εργαστηριακών πειραμάτων αυτής της μελέτης.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά, όλους τους συναδέλφους του Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας του Γ.Π.Α., για τη θερμή και φιλική ατμόσφαιρα, την πολύτιμη βοήθεια, και την αμέριστη συμπαράσταση, που μου παρείχαν, καθ' όλη τη διάρκεια της εκπονήσεως της παρούσης διδακτορικής διατριβής.

Ευχαριστώ ακόμη, τους προπτυχιακούς φοιτητές του Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας του Γ.Π.Α., για τη βοήθειά τους, κατά τη διάρκεια της εργασίας .

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους παραγωγούς του Ν. Πρεβέξης κ Κ. Παπαθανασίου και Σ. Φατούρο, για την παραχώριση των θερμοκηπίων τους, κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων αγρού.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η καστανή σπηριριζία της τομάτας που προκαλείται από το μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* και το βακτηριακό έλκος της τομάτας που οφείλεται στο βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* είναι δύο σοβαρές ασθένειες της τομάτας στις θερμοκηπιακές καλλιέργειες της Δυτικής Ελλάδος και άλλων περιοχών της χώρας. Η αντιμετώπιση των ασθενειών αυτών στηρίζεται κυρίως στη χημική απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο χωρίς όμως να είναι επιτυχής, ιδιαίτερος στην περίπτωση του βακτηριακού έλκους.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή, το πειραματικό μέρος της οποίας πραγματοποιήθηκε σε θερμοκήπια τομάτας στην Πρέβεζα, σε πειραματικούς αγρούς του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών, ως και στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Πανεπιστημίου μας, απέβλεπε στην αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως μόνης ή σε σύγκριση με την απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο στην αντιμετώπιση των ως άνω παθογόνων εδάφους.

Η εργασία αποτελείται από τρία μέρη που αναφέρονται:

α) στην ευαισθησία σκληρωτίων ή μολυσμάτων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* στην ηλιοαπολύμανση του εδάφους και στην αποτελεσματικότητα της μεθόδου στην καταπολέμηση του παθογόνου σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας.

β) στην τριετή αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως στην αντιμετώπιση του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* με παράλληλη διερεύνηση της ευαισθησίας των μολυσμάτων του παθογόνου στην εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως και της απολυμάνσεως του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο και

γ) στην επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στη διακύμανση φυσικών πληθυσμών βακτηρίων ή μυκήτων της ριζόσφαιρας τοματοφύτων που μπορεί να είναι δυνητικοί ανταγωνιστές εδαφογενών παθογόνων μυκήτων ή του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

Η εργασία αυτή κατέδειξε για πρώτη φορά παγκοσμίως τη θερμική ευπάθεια των σκληρωτίων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* που ενσωματώθηκαν στο έδαφος προ της εφαρμογής της μεθόδου αλλά και την ευπάθεια των φυσικών μολυσμάτων του μύκητα στις θερμοκρασίες που αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια της ηλιοαπολυμάνσεως. Επαναβεβαίωσε την αποτελεσματικότητα της μεθόδου στην αντιμετώπιση της καστανής σπηριριζίας της τομάτας αποδεικνύοντας ότι η επαναλαμβανόμενη ετησίως εφαρμογή της μεθόδου δυνατόν να υπερέχει της χημικής απολυμάνσεως του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο.



**Εικόνα 1.** Καλλιέργεια τομάτας σε θερμοκήπια πλαστικής καλύψεως στην Πρέβεζα.

Η εργασία αυτή παρέχει επίσης την πρώτη απόδειξη διεθνώς ότι μια σοβαρή βακτηριολογική ασθένεια, όπως το βακτηριακόν έλκος της τομάτας μπορεί να αντιμετωπισθεί επιτυχώς με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους. Η σταθερότητα στην αποτελεσματικότητα της εφαρμογής της μεθόδου επί τρία συνεχόμενα έτη ως και σε πολλά θερμοκήπια-πειραματικά τεμάχια αποδεικνύει ότι οι επιτευχθείσες θερμοκρασίες κατά την κάλυψη του εδάφους είναι επαρκείς για να περιορίσουν σημαντικώς ή και να εξαλείψουν τα μολύσματα του βακτηρίου. Τούτο απεδείχθη και για μολύσματα που είχαν αναπτυχθεί σε φιαλίδια ή είχαν αναρροφηθεί σε τμήματα στελεχών τομάτας και τοποθετηθεί στο έδαφος κατά τη διάρκεια των διαφόρων επεμβάσεων. Αντιθέτως απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο στις συνιστώμενες δόσεις των 70 g/ m<sup>2</sup> δεν αντιμετώπισε την ασθένεια ενώ διάφοροι συνδυασμοί δόσεων βρωμιούχου μεθυλίου και πλαστικών φύλλων δεν επηρέασαν τους πληθυσμούς του παθογόνου βακτηρίου στο έδαφος.

Αναφορικώς με την επίδραση των διαφόρων μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους στη βακτηριακή και μυκητολογική μικροχλωρίδα διαπιστώθηκαν τα ακόλουθα: Η επαναλαμβανόμενη εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως επέδρασε θετικώς στην επιβίωση αλλά και αύξηση βακτηριακών πληθυσμών της ριζόσφαιρας τοματοφύτων που ανήκαν στα γένη *Bacillus* στις φθορίζουσες ψευδομονάδες και στην ομάδα *Streptomyces* σε αντιδιαστολή με την ποικίλουσα και εν πολλοίς αρνητική, επίδραση της εφαρμογής του βρωμιούχου μεθυλίου. Σχετικώς με την επίδραση των επεμβάσεων σε μύκητες των γενών *Talaromyces* και *Aspergillus* επιβεβαιώθηκαν παλαιότερα δεδομένα επιβιώσεως και αυξήσεως των πληθυσμών των ειδών *Talaromyces flavus* και *Aspergillus terreus* μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους ως και η αρνητική επίδραση στους πληθυσμούς του μύκητα *Aspergillus ochraceus*.

# **Ι. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## 1. Εδαφογενή παθογόνα της τομάτας

Οι εδαφογενείς φυτοπαθογόνοι μικροοργανισμοί (soilborne plant pathogens), μύκητες ή βακτήρια, προκαλούν ιδιαίτερα σοβαρές ασθένειες σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες. Οι ασθένειες αυτές θεωρούνται σοβαρές τόσο λόγω της οικονομικής επιπτώσεως που επιφέρουν στις καλλιέργειες, αλλά κυρίως λόγω της δυσχέρειας αντιμετώπισης των παθογόνων που τις προκαλούν. Η δυσχέρεια αυτή απορρέει τόσο από την έλλειψη συγκεκριμένων μέτρων, όσο και από τις περιορισμένες δυνατότητες των υπαρχόντων μέσων ή χημικών, καλλιεργητικών κ.ά. μέτρων, στην αντιμετώπισή τους. Επίσης, η συνεχής και εντατικοποιημένη καλλιέργεια των ιδίων φυτών έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιβλαβών βιολογικών, χημικών και φυσικών παραγόντων στο έδαφος. Μια τέτοιας μορφής μονοκαλλιέργεια είναι και η καλλιέργεια τομάτας, η οποία αποτελεί μία από τις σημαντικότερες καλλιέργειες κηπευτικών στην Ελλάδα καλύπτουσα, έκταση 20.327 στρεμμάτων σε καλλιέργειες υπό κάλυψη. Επισημαίνεται ότι η έκταση υπαίθριας καλλιέργειας τομάτας για επιτραπέζια χρήση φτάνει τα 120.000 στρ., ενώ για βιομηχανική χρήση τα 170.990 (Στοιχεία του Υπουργείου Γεωργίας, 1992).

Τα κυριότερα εδαφογενή παθογόνα που προκαλούν σοβαρά προβλήματα στις καλλιέργειες της τομάτας στη χώρα μας είναι οι μύκητες στους οποίους οφείλονται οι αδρομυκώσεις, όπως ο μύκητας *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* και οι μύκητες *Verticillium dahliae* ή *V. albo-atrum*. Επίσης, οι μύκητες που προκαλούν σηψιρριζίες όπως ο μύκητας *Pyrenochaeta lycopersici*, και οι φυκομύκητες των γενών *Phytophthora* sp. και *Pythium* sp.. Τέλος, περιλαμβάνονται οι μύκητες που προκαλούν σήψεις όπως είδη των γενών *Sclerotium*, *Sclerotinia* και τα φυτοπαθογόνα βακτήρια *Pseudomonas solanacearum* και *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, που προκαλούν αδροβακτηριώσεις γνωστές ως βακτηριακή μάρανση (southern bacterial wilt) και βακτηριακό έλκος (bacterial canker) της τομάτας αντιστοίχως.

Ιδιαίτερο πρόβλημα, για τις υπό κάλυψη καλλιέργειες τομάτας στην Ελλάδα, αποτελούν δύο ασθένειες που οφείλονται σε εδαφογενή παθογόνα. Πρόκειται για τις ασθένειες φελλώδης σηψιρριζία (corky root rot) και βακτηριακό έλκος της τομάτας, ασθένειες που πραγματεύεται η παρούσα διδακτορική διατριβή.

Κατωτέρω αναλύονται οι μέθοδοι και τα μέσα απολυμάνσεως του εδάφους με αναφορές αντιμετώπισης και των δύο σοβαρών ασθενειών της τομάτας.

Στην περίπτωση της φελλώδους σηψιρριζίας της τομάτας, της οποίας το παθογόνο αίτιο είναι ο μύκητας εδάφους *Pyrenochaeta lycopersici*, η αντιμετώπιση επιτυγχάνεται με απολύμανση τόσο με τη χρήση βρωμιούχου μεθυλίου όσο και με την εφαρμογή

απολυμάνσεως με ατμό, ενώ δεν αναφέρονται εμπορικής σημασίας ανθεκτικές στο μύκητα ποικιλίες τομάτας. Υπάρχουν επίσης δεδομένα αντιμετώπισης της ασθένειας με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως μόνης ή σε συνδυασμό με μειωμένες δόσεις βρωμιούχου μεθύλιου (Tjamos, 1984, Malathrakis *et al.*, 1989).

Στην περίπτωση του βακτηριακού έλκους της τομάτας, η αντιμετώπισή του είναι ιδιαίτερος δυσχερής. Οι συνιστώμενοι τρόποι αντιμετώπισής του πέραν της χρησιμοποίησης του υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού, αναφέρονται κυρίως σε σειρά καλλιεργητικών φροντίδων. Επισημαίνεται ότι η απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο στις συνιστώμενες δόσεις δεν αντιμετωπίζει την ασθένεια.

## 1.1. Μέθοδοι αντιμετώπισης εδαφογενών παθογόνων

### 1.1.1. Στοιχεία για τη χημική απολύμανση του εδάφους

Η χημική απολύμανση του εδάφους για την καταπολέμηση εδαφογενών παθογόνων, όταν είναι εφαρμόσιμη, αποτελεί συχνά τη μοναδική διέξοδο αντιμετώπισης μεγάλου αριθμού εδαφογενών παθογόνων των φυτών. Ως προφυλακτική εφαρμογή, σε υπαίθριες αλλά κυρίως σε υπό κάλυψη καλλιέργειες, επηρεάζει δραστικά την επιβίωση των παθογόνων εδάφους, ενώ η απολύμανση με υποθανάτιες δόσεις απολυμαντικών (sublethal fumigation) σε συνδυασμό με μη χημικές μεθόδους, όπως είναι η ηλιοαπολύμανση (soil solarization, Katan, 1981), η οποία αναλύεται εκτενέστατα σε επόμενο κεφάλαιο της παρούσας μελέτης, θεωρούνται ως ηπιότερες βιολογικά μέθοδοι.

Τα σπουδαιότερα από τα απολυμαντικά εδάφους που χρησιμοποιούνται διεθνώς είναι τα ακόλουθα:

1. Απολυμαντικά με ευρύ φάσμα δράσεως: μονοβρωμομεθάνιο (methyl bromide), τριχλωρονιτρομεθάνιο (chloropicrin), metham sodium, vapam (N-μεθυλοδιθειο καρβαμιδικό Na), bunema (N-υδροξυμεθύλιο-N-μεθυλοδιθειό), dazomet (3,5-διμέθυλο-τετραϋδρο-1,3,5(2H) θειοδιαζινο-θειόνη).

2. Νηματοκτόνα υποκαπνιστικά: D-D(1,3-διχλωροπροπένιο-1,2-διχλωροπροπάνιο), 1,3-D(1,3-διχλωροπροπένιο), EDB (διβρωμοαιθυλένιο).

3. Νηματοκτόνα μη υποκαπνιστικά: α) Οργανοφωσφορικά (Dichlofenthion, fenamiphos, ethoprophe), β) Καρβαμιδικά (aldicard, carbofuran, oxamyl ).

4. Μυκητοκτόνα όπως χαλκούχα, αρωματικοί υδρογονάνθρακες, διθειοκαρβαμιδικά κ.ά. μπορούν να εφαρμοστούν με τη μέθοδο του ριζοποτίσματος του εδάφους (soil drenching) για την αντιμετώπιση παθογόνων εδάφους. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται όταν η χημική απολύμανση με απολυμαντικά εδάφους δεν είναι εφαρμόσιμη ή δεν είναι οικονομικά εφικτή.

Κύριο χαρακτηριστικό των απολυμαντικών με ευρύ φάσμα δράσεως είναι η υψηλή

τοξικότητά τους, εναντίον όλων των εδαφογενών παθογόνων. Τα απολυμαντικά με ευρή φάσμα δράσεως είναι περισσότερο ενεργά και κατά συνέπεια δρουν με περισσότερους του ενός τρόπους. Συνήθως δρουν ως βιοκτόνα, σε αντίθεση με τα απολυμαντικά περιορισμένου φάσματος δράσεως που είναι βιοστατικά, ιδιότητες οι οποίες επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες, όπως επίδραση του εδάφους, υγρασία κ.ά..

Σε αυτή την ομάδα ανήκει και η χλωροπικρίνη (CP) η οποία είναι εξαιρετικά τοξική σε μύκητες, βακτήρια, νηματώδεις, έντομα, καλλιεργούμενα φυτά, αλλά και θερμοαίμα.

Το βρωμιούχο μεθύλιο είναι απολυμαντικό ευρέως φάσματος δράσεως και πολύ αποτελεσματικό, εξ αιτίας της υψηλής τοξικότητάς του σε μεγάλη ποικιλία παθογόνων καθώς και της διεισδυτικότητάς του. Από τις αρχές της δεκαετίας του 1950 εφαρμόζεται ως απολυμαντικό εδάφους ιδιαίτερα στα θερμοκήπια. Είναι αποτελεσματικό εναντίον των νηματωδών, των μυκήτων, των ζιζανίων, και της οροβάγχης, όχι όμως των βακτηρίων (Munpecke *et al.*, 1978). Τα περισσότερα από τα εδαφογενή παθογόνα, όπως οι μύκητες *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Sclerotinia* sp., *Sclerotium* sp., *Verticillium* sp., *Fusarium* spp., εκτός του *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* είναι ευαίσθητα στο βρωμιούχο μεθύλιο. Χρησιμοποιείται σε δόσεις που κυμαίνονται μεταξύ 50-100 g / m<sup>2</sup>, ανάλογα με τον τύπο του εδάφους, και τα παθογόνα που πρέπει να αντιμετωπισθούν. Εφαρμόζεται πάντα σε καλυμένο, με πλαστικά φύλλα, έδαφος που αποκαλύπτεται 48-96 ώρες μετά από την κάλυψη. Η διάρκεια της εφαρμογής εξαρτάται από τη θερμοκρασία του εδάφους. Λόγω της περατότητας των χρησιμοποιούμενων πλαστικών, μεγάλο ποσοστό διαφεύγει στην ατμόσφαιρα, με συνέπεια αφ' ενός μεν τη μόλυνσή της και αφ' ετέρου την απαίτηση υψηλών δόσεων απολυμαντικού για να εξασφαλισθεί το επιδιωκόμενο αποτέλεσμα.

Τα απολυμαντικά με δραστική ουσία το ισοκυανικό μεθύλιο (MIT) διακρίνονται σε αυτά που περιέχουν αυτούσια την ουσία, όπως το DI-Drapex και σε αυτά που απελευθερώνουν το MIT όταν βρεθούν στο έδαφος, όπως τα naram, dazomet και bunena. Το MIT είναι υγρό, πολύ τοξικό για τα ζιζάνια, τα έντομα, τους νηματώδεις και τους μύκητες. Ο χρόνος παραμονής του στο έδαφος είναι μακρός λόγω μικρής πτητικότητας.

Στην κατηγορία των υποκαπνιστικών νηματοκτόνων, κατατάσσονται τα απολυμαντικά που καταστρέφουν ορισμένα μόνο εδαφογενή παθογόνα.

Η αποτελεσματικότητα ενός απολυμαντικού στην αντιμετώπιση ενός παθογόνου εξαρτάται από την τοξικότητα του απολυμαντικού στο συγκεκριμένο παθογόνο και τη δόση, η οποία επιδρά σε αυτό και εκφράζεται με το γινόμενο CT της συγκεντρώσεως [C] επί το χρόνο [T]. Η δόση που θα επιδράσει σε ένα παθογόνο σε ορισμένο σημείο του εδάφους εξαρτάται από την κατανομή του απολυμαντικού στη στερεή, υγρή και αέριο φάση του εδάφους, τη ταχύτητα διαχύσεως μέσα από κάθε φάση και τη διάσπασή του, παράμετροι που εξαρτώνται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους και τις συνθήκες του περιβάλλοντος. Η τοξικότητα ενός απολυμαντικού είναι διαφορετική για τις διάφορες πολλαπλασιαστικές μονάδες ενός παθογόνου και τέλος διαφορετική ανάλογα με το βαθμό

ωριμότητας κάθε μίας από αυτές. Στην αποτελεσματικότητα των απολυμαντικών συμβάλλει και η προσρόφηση που λαμβάνει χώρα κυρίως στην οργανική ουσία, όπου και αδρανοποιείται. Αντιθέτως η προσρόφηση από την άργιλλο είναι μικρότερη. Η επίδραση της χημικής απολυμάνσεως στην ανάπτυξη των φυτών είναι θετική, αν και υπάρχουν πολλές περιπτώσεις όπου έχουν παρατηρηθεί και δυσμενείς επιπτώσεις, όπως αύξηση απωλειών από τις ασθένειες, φαινόμενα τοξικότητας και μειωμένη ανάπτυξη. Όπως ήδη έχει αναφερθεί ένα μέρος των απολυμαντικών που προστίθεται στο έδαφος διαφεύγει στον αέρα, αν είναι πτητικά, ή να άλλο προσροφάται στην οργανική ουσία και την άργιλλο, όπου και αδρανοποιείται και ένα τρίτο διασπάται. Η τελική κατάληξη της διασπάσεως είναι για το οργανικό μέρος η οξείδωση σε  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$  και για το ανόργανο η παραμονή στο έδαφος υπό τη μορφή διαφόρων ενώσεων. Υπολείμματα στοιχείων, από τα υποκαπνιστικά, όπως το βρώμιο (Br) είναι ιδιαιτέρως φυτοτοξικά για ορισμένα φυτά, που θα ακολουθήσουν την απολύμανση, όπως γαρύφαλλα (*Dianthus caryophyllus* L.), κρεμμύδια (*Allium cepa* L.), σκόρδα (*Allium sativum* L.), πατάτες (*Solanum tuberosum* L.) και γλυκοπατάτες (*Ipomea batatas*).

Ο αποτελεσματικότερος τρόπος για τον περιορισμό των υπολειμμάτων του βρωμίου (Br) είναι η έκπλυση του εδάφους μετά από την απολύμανση με 30-60 L νερού/  $\text{m}^2$  για ελαφρά και βαριά εδάφη αντίστοιχα. Πλην όμως, ακόμη και 50 L νερού/  $\text{m}^2$  δυνατόν να μειώσουν σημαντικά τα υπολείμματα του βρωμίου (Br) στους καρπούς των λαχανικών ιδιαίτερα σε εδάφη με καλή στράγγιση. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται στις περιπτώσεις που πρόκειται να καλλιεργηθούν λαχανικά με βρώσιμο μέρος τα φύλλα όπως τα μαρούλια ή φυτά ευαίσθητα στο βρώμιο (Br) όπως τα γαρύφαλλα (Μαλαθράκης, 1985).

## 1.1. 2. Ηλιοαπολύμανση του εδάφους

Η ηλιοαπολύμανση του εδάφους συνιστά μία πρόσφατη γεωργική φυτοπαθολογική τεχνική απολυμάνσεως του εδάφους. Εδώ περιγράφεται η μέθοδος μέσα στα πλαίσια των μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους και των εν γένει μέτρων και μέσων αντιμετώπισης παθογόνων εδάφους. Δεδομένου όμως ότι η ηλιοαπολύμανση αποτελεί κύριο τμήμα της μελέτης μας αναλύεται διεξοδικά στο Κεφάλαιο 2. Η μέθοδος στηρίζεται στην αξιοποίηση της ηλιακής ακτινοβολίας με τη χρησιμοποίηση διαφανών πλαστικών φύλλων πολυαιθυλενίου κατά τη θερμή περίοδο του έτους. Αναφέρεται στην κάλυψη οργωθέντος, ψιλοχωματισθέντος και επαρκώς αρδευθέντος εδάφους. Η τεχνική αφορά προφυτρωτικές κυρίως εφαρμογές για την αντιμετώπιση παθογόνων εδάφους. Στηρίζεται στην αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10-12 °C σε σύγκριση με το ακάλυπτο έδαφος-μάρτυρα, αύξηση η οποία είναι επαρκής για να εξοντώσει τα μολύσματα φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών που επιβιώνουν σε διάφορα βάθη εδάφους, όταν η διάρκειά της είναι τουλάχιστον 4 εβδομάδες, για τα περισσότερα από τα παθογόνα όπου έχει δοκιμαστεί. Από τη διαπίστωση ότι η εφαρμογή της μεθόδου συμβάλλει στη μακροχρόνια αποτελεσματικότητά της,

συμπεραίνεται ότι πέραν της άμεσης θερμικής επιδράσεως στα μολύσματα του παθογόνου, υπάρχουν και άλλοι τρόποι δράσεως μεταξύ των οποίων η βιολογική, η οποία σχετίζεται με την επιβίωση και την αύξηση θερμοανθεκτικών μικροοργανισμών μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως. Αυτή είναι αποτέλεσμα του μερικού βιολογικού κενού που δημιουργείται από την καταστροφή των περισσότερων μυκήτων και βακτηρίων της μικροχλωρίδας του εδάφους. Έχει κατά καιρούς διαπιστωθεί και αναφερθεί ότι οι θερμοανθεκτικοί μικροοργανισμοί δυνατόν να συμβάλλουν στην παρεμπόδιση αναπτύξεως ή στην εγκατάσταση στο έδαφος μικροοργανισμών που ενδεχομένως επιβιώνουν της ηλιοαπολυμάνσεως, είτε, συμβάλλουν στην καταστροφή εξασθενηθέντων πολλαπλασιαστικών μονάδων στα βαθύτερα στρώματα του εδάφους. Η βιοχημική επίσης πλευρά έχει αναφερθεί ως ένας άλλος τρόπος δράσεως διότι έχει διαπιστωθεί ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους συμβάλλει στην ταχύτερη αύξηση και ανάπτυξη των φυτών σε σύγκριση με εδάφη στα οποία δεν έχει εφαρμοσθεί. Η αύξηση αυτή είναι διττή, τόσο εξ αιτίας της αυξήσεως των ελευθέρων ιόντων και ριζών στο έδαφος όσο, και κυρίως από την αύξηση των βακτηρίων, που επιβιώνουν της ηλιοαπολυμάνσεως, καταλαμβάνουν τη ριζόσφαιρα (rhizosphere) των φυτών και εγκαθίστανται μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως. Παρά το γεγονός ότι η μέθοδος αυτή βρίσκεται υπό πειραματισμό, για τη διερεύνηση όλων των πτυχών της δράσεώς της, εντούτοις εφαρμόζεται στην πράξη σε πολλά μέρη της γης αλλά και στη χώρα μας, κυρίως για την αντιμετώπιση εδαφογενών παθογόνων σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες (Katan & DeVay, 1991.).

Ως εναλλακτική μέθοδος προσεγγίσεως για την αποφυγή της έντονης τοξικότητας από τη χημική απολύμανση, συνιστάται η μείωση των δόσεων των χημικών απολυμαντικών. Παρά ταύτα, η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται από το συνδυασμό τους με μη χημικές μεθόδους απολυμάνσεως. Ο συνδυασμός της υποθανατίων δόσεων απολυμαντικών με την ηλιοαπολύμανση του εδάφους θα μπορούσε να εστιαστεί στα ακόλουθα:

-Ηλιοαπολύμανση ακολουθούμενη από χημικό απολυμαντικό, για θερμοανθεκτικά παθογόνα.

-Χημική απολύμανση ακολουθούμενη αμέσως από ηλιοαπολύμανση.

-Ταυτόχρονη εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως, με μειωμένες δόσεις απολυμαντικών. (Tjamos *et al.*, 1992).

Η ηλιοαπολύμανση εφαρμόζεται σε εμπορική κλίμακα κατά τη τελευταία πενταετία σε περιοχές της χώρας μας όπου τα εδαφογενή παθογόνα αποτελούν σημαντικό φυτοπαθολογικό πρόβλημα, (Κρήτη, Δ. Πελοπόννησο, Πρέβεζα), (Tjamos, 1991, Katan & DeVay, 1991).

### **1.1.3. Άλλες μέθοδοι αντιμετώπισης των εδαφογενών παθογόνων**

Οι μέθοδοι απολυμάνσεως του εδάφους, χημικές και φυσικές, οι οποίες αναφέρθηκαν, αποτελούν τις πλέον ενδεδειγμένες και αποτελεσματικές μεθόδους για την αντιμετώπιση των εδαφογενών παθογόνων. Εκτός όμως από αυτές υπάρχουν και άλλες μέθοδοι για την αντιμετώπιση αυτών των παθογόνων, όπως η χρησιμοποίηση ανθεκτικών ποικιλιών, εφαρμογή μυκητοκτόνων υπό μορφή ριζοποτίσματος, διατήρηση των κανόνων υγιεινής κατά την εφαρμογή των καλλιεργητικών φροντίδων κ.ά., χωρίς όμως ικανοποιητικά αποτελέσματα.

## 2. Ηλιοαπολύμανση του εδάφους (soil solarization, solar heating)

Όταν ήταν ακόμη άγνωστη η φύση των παθογόνων και οι γνώσεις γύρω από τη χρήση της θερμότητας ελάχιστες, οι αρχαίοι Ινδοί εξέθεταν τα φυτόκα υπολείμματα στην ηλιακή ακτινοβολία. Ο Groshevoy (1939) χρησιμοποίησε πρώτος τον όρο "ηλιακή ενέργεια" για την απολύμανση του εδάφους. Διαπίστωσε ότι εκθέτοντας το έδαφος στην ηλιακή ακτινοβολία τούτο θερμαίνεται με αποτέλεσμα την καταπολέμηση του μύκητα *Thielaviopsis basicola*. Η σύγχρονη εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως σε σύγκριση με τη χρήση του όρου σε προγενέστερες δημοσιεύσεις ως ηλιακή θέρμανση, αφορά στην αντιμετώπιση εδαφογενών παθογόνων και ζιζανίων και παρουσιάστηκε για πρώτη φορά το 1976, από τον Katan και τους συνεργάτες του από το Πανεπιστήμιο του Rehovot στο Ισραήλ (Katan *et al.*, 1976).

Κατά την εφαρμογή της μεθόδου της ηλιοαπολυμάνσεως το έδαφος καλύπτεται με διαφανές φύλλο πλαστικού επί ένα τουλάχιστο μήνα κατά την περίοδο των υψηλών θερμοκρασιών (Εικόνα 2). Κατ' αυτό τον τρόπο, η ηλιακή θερμότητα εγκλωβίζεται με τη μορφή της υγρής θερμότητας, η οποία συμβάλλει ουσιαστικά στην καταπολέμηση εδαφογενών φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών. Η απολύμανση αυτή, που όπως θα εκθέσουμε αργότερα είναι μία μορφή παστεριώσεως, έχει την ικανότητα να αντιμετωπίσει ευρέος φάσματος παθογόνους μικροοργανισμούς, με διαφορετικό όμως κατά περίπτωση ποσοστό επιτυχίας.

Βασικός σκοπός της ηλιοαπολυμάνσεως είναι η άνοδος της θερμοκρασίας του εδάφους σε επίπεδα θερμοκρασίας 36-50°C, στο βάθος των 10-30 cm, όπου και απαντούν τα περισσότερα μόλυσματα των παθογόνων μικροοργανισμών του εδάφους.

Παρόλο που η βασική δράση της ηλιοαπολυμάνσεως είναι η θερμική, το εντυπωσιακό αποτέλεσμά της οφείλεται στις συνθήκες που δημιουργούνται στο έδαφος και οι οποίες ευνοούν αυξημένη βιολογική δραστηριότητα.

### 2.1. Η ηλιοαπολύμανση ως μέθοδος απολυμάνσεως του εδάφους

Κύριος σκοπός της απολυμάνσεως του εδάφους είναι η αντιμετώπιση εδαφογενών παθογόνων μικροοργανισμών συνήθως προ της εγκαταστάσεως της φυτείας. Παρά ταύτα, η καταστροφή επιβλαβών παραγόντων, οι οποίοι συσσωρεύονται στο έδαφος κατά τη διάρκεια της συνεχούς καλλιέργειας, είναι ένας ακόμη σκοπός ο οποίος θα μπορούσε να επιτευχθεί ταυτόχρονα. Όπως αναφέραμε στην εισαγωγή οι μέθοδοι απολυμάνσεως του



**Εικόνα 2.** Εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους σε σύγχρονα θερμοκήπια. Διαδοχική κάλυψη του εδάφους με διαφανή φύλλα πολυαιθυλενίου.



εδάφους δυνατόν να είναι: i. η φυσική μέθοδος, δια της τεχνητής θερμάνσεως του εδάφους με ατμό και ii. η χημική μέθοδος, με χημικά απολυμαντικά εδάφους όπως είναι το βρωμιούχο μεθύλιο, η χλωροπικρίνη, το Varam κ.ά.

Η ηλιοαπολύμανση αποτελεί εναλλακτική μέθοδο απολύμανσεως του εδάφους, η οποία βασίζεται στον εγκλωβισμό της ηλιακής θερμότητας με τη χρήση διαφανών ή εγχρώμων (πράσινα ή μαύρα) φύλλων πολυαιθυλενίου. Σκοπός της μεθόδου είναι η καταστροφή, η μείωση του αριθμού των μολυσμάτων ως και η εξασθένηση των διαχειμαζουσών μορφών- κατασκευών των φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών, που επιβιώνουν στο έδαφος ή στα φυτικά υπολείμματα που ενσωματώνονται σ' αυτό. Παράλληλα όμως, επιτυγχάνει και τον περιορισμό ανασταλτικών για την ανάπτυξη των φυτών παραγόντων, οι οποίοι συσσωρεύονται λόγω της συνεχούς μονοκαλλιέργειας, όπως τα ζιζάνια, τοξικά υπολείμματα κ.λ.π.. Επισημαίνεται ότι η επιτυχής εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως δεν απαιτεί πολύ υψηλές θερμοκρασίες όπως συμβαίνει με άλλες μεθόδους, ενώ η διαδικασία μεταφοράς της θερμότητας από την "πηγή" στο χώρο της θερμάνσεως είναι άμεση. Θα πρέπει επίσης να τονισθεί ότι οι ανεπιθύμητες επιδράσεις που παρατηρούνται με τη θέρμανση του εδάφους με τον ατμό, όπως η αύξηση της περιεκτικότητας του εδάφους σε μαγγάνιο ως και η ευχερής επαναμόλυνση του εδάφους λόγω δημιουργίας βιολογικού κενού, δεν έχουν μέχρι σήμερα αναφερθεί για την περίπτωση της ηλιοαπολυμάνσεως. Δεν πρέπει όμως να αποκλείεται η πιθανότητα διαταραχών στη βιολογική ισορροπία του οικοσυστήματος των φυτών με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως, διότι η μέθοδος μπορεί να καταλήξει σε ανάλογες επιδράσεις που ακόμη δεν έχουν διαπιστωθεί ή διερευνηθεί (Katan & DeVay, 1991).

### **2.1.1. Πλαστικά φύλλα ως μέσο εφαρμογής της μεθόδου**

Ως προς το είδος του πολυαιθυλενίου (PE) που χρησιμοποιείται για την εφαρμογή της μεθόδου, το διαφανές πολυαιθυλένιο είναι εκείνο που επικρατεί. Είναι γνωστόν ότι το πολυαιθυλένιο είναι ένα από τα κύρια πλαστικά, που χρησιμοποιούνται στη γεωργία και χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά εμπορικά το 1939 (Katan, 1981). Υπάρχουν επίσης και άλλα είδη πλαστικών όπως, το χλωριούχο πολυβινύλιο (PVC), τα πολυστειρένια, τα πολυπροπυλένια και το ακετυβινυλαιθυλένιο (EVA). Το χαμηλό κόστος, η εξαιρετική χημική του σταθερότητα, η έλλειψη οσμής και τοξικότητας, η χαμηλή υδατοπερατότητα και η υψηλή διαπερατότητα στην ακτινοβολία είναι ορισμένα από τα τεχνικά χαρακτηριστικά του, στα οποία οφείλει την εκτεταμένη διαδοσή του. Έχει επιπροσθέτως την ικανότητα να περιορίζει την αντανάκλαση της θερμότητας και την απώλεια του νερού από το έδαφος λόγω εξατμίσεως στην ατμόσφαιρα. Ως αποτέλεσμα του σχηματισμού υδρατμών στο εσωτερικό του πλαστικού είναι η μείωση της διαφυγής της υψηλού μήκους κύματος ακτινοβολίας προς τα έξω και κατ'αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται καλύτερη

θέρμανση του εδάφους (Katan, 1991). Η πλειονότητα των πλαστικών φύλλων προέρχεται από συνθετικά μακρομοριακά υλικά που βασίζονται σε πολυμερή με προσθήκη άλλων πρόσθετων χημικών ουσιών. Μία από τις πρόσθετες αυτές ενώσεις είναι και οι σταθεροποιητές εναντίον των υπεριωδών ακτίνων (UV stabilizers). Η προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία είναι πολύ δυσχερής αλλά και απαραίτητη για την επιτυχή εφαρμογή της μεθόδου στον αγρό. Κατά την τελευταία δεκαετία χρησιμοποιείται ένας νέος σταθεροποιητής κατά της υπεριώδους ακτινοβολίας γνωστός ως αμινικός παρεμποδιστής που ενσωματώνεται στο πολυαιθυλένιο σε ποσοστό 1-2%. Ένα από τα φυσικά χαρακτηριστικά των διαφανών υλικών είναι η υψηλή "μετάδοση" (transmittance) της ηλιακής και της γήινης, θερμικής ακτινοβολίας. Το πολυαιθυλένιο (PE) είναι διαπερατό σε μήκος κύματος μικρότερο των 380 nm, ενώ το γυαλί έχει τη μεγαλύτερη διαπερατότητα μεταξύ 380-780 nm του ορατού φάσματος. Τόσο το γυαλί όσο και το πλαστικό έχουν την ίδια διαπερατότητα στο θερμικό, μικρό μήκος κύματος της υπέρυθρης (IR) ακτινοβολίας μεταξύ 780-2500 nm. Το ιδεώδες πλαστικό υλικό θα πρέπει να είναι διαπερατό στην ηλιακή ακτινοβολία (280-2500 nm), αλλά πλήρως αδιαφανές στη γήινη, θερμική ακτινοβολία (5.000-35.000 nm) (Stevens *et al.*, 1991). Σύμφωνα με τα πειραματικά δεδομένα των Tjamos & Paplomatas (1988) η αύξηση της θερμοκρασίας του εδάφους κατά τη διάρκεια της καλύψεως στη χώρα μας είναι περίπου 10-12 °C υψηλότερη σε σύγκριση με τη θερμοκρασία του ακάλυπτου εδάφους-μάρτυρα. Ανάλογες είναι οι διαφοροποιήσεις στο ύψος της θερμοκρασίας που έχουν αναφερθεί και από άλλους ερευνητές (Katan & DeVay, 1991). Η παραλλαγή της καλύψεως του εδάφους σε κλειστό θερμοκήπιο, έχει εφαρμοστεί επιτυχώς στην Ιταλία (Garibaldi *et al.*, 1983), αλλά υιοθετείται και σε άλλες χώρες του κόσμου (Katan & DeVay, 1991), όπως και στη χώρα μας (Tjamos *et al.*, 1989).

## 2.2. Βασικές αρχές της ηλιοαπολύμανσης

Η ηλιοαπολύμανση είναι πλέον μία πρακτικά εφαρμοζόμενη μέθοδος στη Φυτοπαθολογία ως και σε άλλους τομείς της φυτοπροστασίας, όπως καταπολέμηση ζιζανίων και νηματωδών.

Οι φυσικές, χημικές, βιολογικές και τεχνολογικές αρχές της ηλιοαπολύμανσης μπορούν να συνοψισθούν ως εξής:

1. Με την ηλιοαπολύμανση το έδαφος θερμαίνεται κατά επαναλαμβανόμενους ημερησίου κύκλους. Οι ανώτερες τιμές θερμοκρασίας του εδάφους μειώνονται αυξανόμενου του βάθους. Γενικώς παρατηρούνται κατά τη διάρκεια των απογευματινών ωρών της ημέρας και διατηρούνται για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα απ' ό,τι οι υψηλές θερμοκρασίες στο ακάλυπτο έδαφος - μάρτυρα.

2. Η επιμελημένη προετοιμασία του εδάφους είναι απαραίτητη για την απόκτηση κατά το δυνατόν επίπεδης επιφάνειας προ της εφαρμογής του διαφανούς πολυαιθυλενίου

για την καλύτερη επαφή του με το έδαφος. Μετά από την απομάκρυνση του πλαστικού φύλλου, το έδαφος θα πρέπει να διαταραχθεί όσο το δυνατόν ολιγότερο, προς αποφυγή επαναμολύνσεων από γειτόνικές μη απολυμανθείσες περιοχές.

3. Πέραν του εμπειρικού καθορισμού της περιόδου καλύψεως κατά το θέρος, η καλύτερη περίοδος για την κάλυψη του εδάφους, όταν δεν επικρατούν ιδιαίτερα ευνοϊκές καιρικές συνθήκες, μπορεί να υπολογιστεί πειραματικά σε συνδυασμό με πειραματικά δεδομένα προηγούμενων ετών καθώς και πρότυπα προβλέψεως, συνδεδεμένα με ηλεκτρονικούς υπολογιστές, που διευκολύνουν αυτό το σκοπό (Yitzhak, 1991).

4. Η υπερεπάρκεια εδαφικής υγρασίας είναι απαραίτητη κατά τη διάρκεια της ηλιοαπολυμάνσεως για την αύξηση της θερμικής ευαισθησίας των φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών. Η εδαφική υγρασία βοηθά την επαγωγή της θερμότητας στο έδαφος και αυξάνει τη βιολογική δράση της κατά τη διάρκεια της ηλιοαπολυμάνσεως. Το έδαφος μπορεί να υγρανθεί με μία πλήρη άρδευση ( 30-40 L / m<sup>2</sup>) 1-2 ημέρες πριν από την κάλυψη.

5. Το έδαφος καλύπτεται με λεπτό φύλλο διαφανούς πολυαιθυλενίου ή άλλο πλαστικό υλικό, που είναι διαθέσιμα για πειραματικούς σκοπούς, όπως Walloplast™, Thermoplast™ και Saranex™ (Malathrakis & Loulakis, 1989), ως και τα πλέον πρόσφατα αδιαπέρατα φύλλα LMG, EVOH (Gamliel *et al.*, 1994). Η κάλυψη πρέπει να είναι ερμητική με τη διάνοιξη περιμετρικού αυλακιού μέσα στο οποίο τοποθετείται το πλαστικό φύλλο και σταθεροποιείται περιφερειακώς με την επίθεση χώματος. Η επίδραση της καλύψεως στη διατήρηση της εδαφικής υγρασίας επί μεγάλο χρονικό διάστημα και της αυξήσεως ή μειώσεως της εδαφικής θερμοκρασίας καθορίζεται από το ισοζύγιο ενεργείας του εδάφους (soil energy budget). Η εξίσωση του ισοζυγίου της ενεργείας περιλαμβάνει όρους που περιγράφουν ανταλλαγές ενεργείας στο έδαφος και μεταξύ εδάφους, καλύψεως και του περιβάλλοντος αέρα. Αδιαπέρατα πλαστικά φύλλα (impermeable plastic) μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν γι' αυτό το σκοπό, δίνοντας καλύτερα συνήθως αποτελέσματα αλλά και δυνατότητες συνδυασμού με άλλες μεθόδους απολυμάνσεως του εδάφους. Η κάλυψη γίνεται με τα χέρια ή με τη χρήση κατάλληλων μηχανών, όπως αυτών οι οποίες επιτυγχάνουν συνεχή κάλυψη, με πλευρική ενσωμάτωση του πλαστικού στο έδαφος και παράλληλη συγκόλληση των εφαπτομένων στα άκρα πλαστικών φύλλων. Πλέον συνήθης είναι η χρήση διαφανούς πολυαιθυλενίου πάχους 25-30 μm, που συνδυάζει το χαμηλό κόστος με καλύτερη περατότητα στην ηλιακή ακτινοβολία. Επειδή όμως είναι ευαίσθητο σε μηχανικές ζημιές, συνιστάται η χρήση παχύτερου φύλλου 50-100 μm ως και η ενσωμάτωση 1-2% σταθεροποιητού κατά των υπερυψωμένων ακτίνων. Η διάρκεια καλύψεως είναι 4-6 εβδομάδες για να επιτευχθεί ικανοποιητική απολύμανση και στα βαθύτερα ακόμη στρώματα του εδάφους. Η παράταση της διάρκειας ηλιοαπολυμάνσεως συμβάλλει στην αντιμετώπιση των ευαίσθητων παθογόνων σε μεγαλύτερα βάθη εδάφους, ή στην αντιμετώπιση παθογόνων, τα οποία είναι λιγότερο ευαίσθητα στην αναπτυσσόμενη

θερμότητα (Katan & DeVay, 1991).

6. Η μακροχρόνια δράση της μεθόδου στην αντιμετώπιση των παθογόνων και στην αύξηση της παραγωγής αποτελεί μία άλλη χαρακτηριστική ιδιότητα της ηλιοαπολυμάνσεως. Η αποτελεσματική καταπολέμηση πολλών φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών επεκτείνεται στη δεύτερη ή ακόμη και στην τρίτη καλλιεργητική περίοδο που θα ακολουθήσει την ηλιοαπολύμανση. Πέραν της αντιμετώπισης των ασθενειών μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως, παρατηρείται συχνά αυξημένος ρυθμός αναπτύξεως (increased growth response, IGR) των φυτών σε σύγκριση με τα μη ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη. Τούτο μπορεί να αποδοθεί στην απελευθέρωση ιόντων ή ριζών θρεπτικών συστατικών ως και προϊόντων αποσυνθέσεως της οργανικής ύλης στο έδαφος (Katan & DeVay, 1991).

7. Τέλος η ηλιοαπολύμανση προκαλεί χημικές, φυσικές και βιολογικές αλλαγές στο έδαφος οι οποίες επηρεάζουν θετικώς την ανάπτυξη του φυτού.

### 2.3. Φάσμα δράσεως της μεθόδου

Η κύρια χρήση της ηλιοαπολυμάνσεως αφορά στην καταπολέμηση εδαφογενών παθογόνων. Ο αριθμός των επιβλαβών αυτών μικροοργανισμών του εδάφους που καταπολεμούνται με την ηλιοαπολύμανση είναι ιδιαίτερα σημαντικός. Συγκεκριμένα αναφέρονται μύκητες που δεν αντιμετωπίζονται όπως ο μύκητας *Macrophomina phaseolina*, άλλοι που καταπολεμούνται δυσχερώς όπως ο *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* και τέλος πολλοί που καταπολεμούνται ευχερώς. Διάφορες ερευνητικές εργασίες έχουν σαφώς καταδείξει ότι η ηλιοαπολύμανση μπορεί ακόμη να χρησιμοποιηθεί και σε ήδη εγκατεστημένες φυτείες (δενδρώδεις και πολυετείς καλλιέργειες) ως μεταφυτευτική εφαρμογή ηλιοαπολυμάνσεως για την αντιμετώπιση των εδαφογενών παθογόνων. Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως σε ήδη εγκατεστημένες φυτείες φιστικιάς σοβαρά προσβεβλημένες από το μύκητα *Verticillium dahliae* στην Καλιφόρνια (Ashworth & Gaona, 1982). Επισημαίνεται ότι η εφαρμογή της μεθόδου υπό μορφή συνεχούς καλύψεως του εδάφους δεν προκάλεσε ανεπιθύμητες επιδράσεις στο ριζικό σύστημα των δένδρων. Θεωρείται ότι η υγρή θερμότητα που αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια ηλιοαπολυμάνσεως πιθανόν να συμβάλλει στη μείωση των πληθυσμών του μύκητα *V. dahliae* σε εδαφικά βάθη, όπου οι θερμοκρασίες δεν προσεγγίζουν ποτέ θανατηφόρα επίπεδα. Παρά ταύτα όμως υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα για να υποστηρίξουν αυτή την άποψη. Επιπροσθέτως, δεδομένα των Tjamos *et al.* (1991) έδειξαν ότι ατομική εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως σε εγκατεστημένους ελαιώνες συμβάλλει στον περιορισμό ή στην παρεμπόδιση εκδηλώσεως νέων συμπτωμάτων σε δένδρα προσβεβλημένα από τη βερτισιλλίωση επί μία τριετία. Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως σε ήδη εγκατεστημένες φυτείες ήταν αποτελεσματική στην

αντιμετώπιση του μύκητα *Rosellinia necatrix* σε μηλεώνες (Sztejnberg *et al.*, 1987).

### **2.3.1. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως σε πολλαπλασιαστικές μονάδες των μυκήτων**

#### **2.3.1.1. Μυκητολογικές ασθένειες μη αντιμετωπιζόμενες με την ηλιοαπολύμανση**

Η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως δεν αντιμετωπίζει θερμοανθεκτικά παθογόνα, όπως το μύκητα *Monosporascus eutypoides* (Reuveni *et al.*, 1983). Ομοίως η ηλιοαπολύμανση δεν ήταν αποτελεσματική στη μείωση του επιπέδου του μολύσματος του μύκητα *Macrophomina phaseolina* σε διάφορα βάθη εδάφους (McCain *et al.*, 1986, Michail & Alcorn, 1984, Hartz *et al.*, 1987). Μερική επίδραση έχει αναφερθεί για σκληρότητα, τεχνητά ενσωματωμένα στο έδαφος, προ της εφαρμογής της μεθόδου από τους Dwivedi & Dubey (1987). Οι συγγραφείς απέδειξαν την επιβίωση του παθογόνου με τη μη πλήρη καταστροφή του μολύσματος. Ομοίως, οι Stapleton & Garza-Lopez (1988), έδειξαν ότι η ηλιοαπολύμανση του εδάφους για 6 εβδομάδες μείωσε τους πληθυσμούς του μύκητα *M. phaseolina* σε ποσοστό 62-100%. Αν και η σηψιριζία του σουσαμιού (*Sesamum indicum* L.) δεν αντιμετωπίστηκε με την ηλιοαπολύμανση, η παραγωγή του σπόρου αυξήθηκε μετά από την εφαρμογή της μεθόδου έως 77%, σε σχέση με το ακάλυπτο έδαφος-μάρτυρα. Ο Lodha (1989) στην Ινδία, έχει επίσης αναφέρει δεδομένα για την εξάλειψη των σκληρωτίων του μύκητα *M. phaseolina* σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη, αποδεικνύοντας ότι τα θερμοανθεκτικά παθογόνα μπορεί να αντιμετωπισθούν αποτελεσματικώς σε περιοχές που παρατηρείται υψηλή ηλιακή ακτινοβολία.

#### **2.3.1.2. Μυκητολογικές ασθένειες μερικώς αντιμετωπιζόμενες με την ηλιοαπολύμανση**

Οι Horiuchi *et al.* (1983) απέδειξαν, ότι τα διαχειμάζοντα σπόρια του μύκητα *Plasmodiophora brassicae* σε υδατικό αιώρημα, έχασαν τη μολυσματικότητά τους όταν εθερμαίνοντο στους 45 °C για μία ημέρα. Οι Horiuchi & Hori (1983) έδειξαν ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως ήταν ανεπιτυχής στην αντιμετώπιση του παθογόνου στα σταυρανθή στην Ιαπωνία, πιθανόν λόγω της ιδιαίτερως ψυχρής περιόδου κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος.

Ο μύκητας *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* θεωρήθηκε ως ένα από τα παθογόνα, τα οποία δεν αντιμετωπίζονται. Διαπιστώθηκε όμως ότι στη χώρα μας ο μύκητας καταπολεμείται εύκολα με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως, σε ιδιαίτερα έντονα μολυσμένα εδάφη, όπου εγκαταστήθησαν ευαίσθητες ποικιλίες γαρυφαλλιάς (Elena & Tjamos, 1992).

Η ηλιοαπολύμανση μειώνει αποτελεσματικά τους πληθυσμούς των παθογόνων σε αρκετά μεγάλο βάθος (30-50 cm). Πράγματι, υπάρχουν πολλά παραδείγματα εφαρμογής

προφυτευτικής ηλιοαπολυμάνσεως που καταδεικνύουν μείωση των μολυσματικών μονάδων του παθογόνου στο έδαφος, όπως στην περίπτωση της βερτισιλιώσεως της τομάτας όπου η μείωση του ποσοστού ασθενών φυτών φτάνει μέχρι και 65% και στην πατάτα περισσότερο από 95% (Katan, 1981). Το ποσοστό ασθενών φυτών αραχίδας από την ασθένεια που προκαλείται από το μύκητα *Sclerotium rolfsii* 195 ημέρες μετά από την καλλιέργεια περιορίστηκε στο 10%. Αναφορικά με την επιβίωση των μικροσκληρωτίων του μύκητα *V. dahliae*, στο έδαφος πέντε ημέρες ηλιοαπολυμάνσεως επαρκούν για να καταστρέψουν 100% των μικροσκληρωτίων σε βάθος 5 cm. Μετά από κάλυψη οκτώ ημερών είχε επιτευχθεί πλήρης καταστροφή σε βάθος 25 cm (Katan, 1976).

Με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως αντιμετωπίζονται πέραν των παθογόνων, και προσβολές από νηματώδεις, ως και πολλά ζιζάνια. Τα φυτοπαθογόνα, οι νηματώδεις και τα ζιζάνια που αντιμετωπίζονται με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως παρατίθενται στον Πίνακα 1.

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα που υπάρχουν σχετικά με την επίδραση της μεθόδου σε φυτοπαθογόνα βακτήρια, περιορίζονται στο *Agrobacterium tumefaciens* (Stapleton, 1981, MSc. thesis) και στο *Streptomyces scabies* (Davis & Sorensen, 1986) και είναι περιορισμένα. Οι Chellami *et al.* (1994) πολύ πρόσφατα αναφέρουν αντιμετώπιση ενός άλλου φυτοπαθογόνου βακτηρίου του *Pseudomonas solanacearum* με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως.

## 2.4. Μηχανισμοί δράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως στην αντιμετώπιση εδαφογενών φυτοπαθογόνων.

Η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως επιφέρει διατάραξη στο εδαφικό οικοσύστημα, τόσο όσον αφορά τους φυτοπαθογόνους οργανισμούς, όσο και στη μικροχλωρίδα γενικότερα, και αυξάνει το ρυθμό αναπτύξεως των φυτών (increased growth response). Η επίδραση αυτή προέρχεται από τη θερμική, βιοχημική και βιολογική δράση της μεθόδου. Οι μεταβολές που υφίστανται στα εδάφη όπου έχει εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση αφορούν στη θερμοκρασία, στην υγρασία, στην οργανική και ανόργανη σύνθεση της στερεάς, υγρής και αέριας φάσης, καθώς και της φυσικής δομής τους. Το μέγεθος αυτών των μεταβολών εξαρτάται κυρίως από τη διάρκεια της εφαρμογής παρά το γεγονός ότι πολλές επιδράσεις είναι πιθανόν να εκδηλωθούν ακόμη και μετά από την απομάκρυνση του πολυαιθυλενίου από το έδαφος, καθώς και το είδος της καλλιέργειας που θα εγκατασταθεί μεταξύ των εφαρμογών. Οι μεταβολές αυτές μπορεί να επηρεάσουν τόσο τα παθογόνα, όσο και τους δυναμικούς ανταγωνιστές των παθογόνων οι οποίοι μπορούν να συμβάλλουν στη μείωση του ποσού του μολύσματος ή στον περιορισμό της επιπτώσεως μίας ασθένειας, ως και στην αύξηση του ρυθμού αναπτύξεως των φυτών (DeVay & Katan, 1991).

**Πίνακας 1.** Φάσμα δράσεως της ηλιοαπολύμανσης

## Α. Παθογόνα και ζιζάνια που αντιμετωπίζονται με την ηλιοαπολύμανση

**Μύκητες**

*Phytophthora cinnamoni*  
*Plasmidiophora brassicae*  
*Pythium ultimum*, *Pythium spp.*  
*Pyrenochaeta lycopersici*, *P. terrestris*  
*Didymella lycopersici*  
*Verticillium albo - atrum*  
*Verticillium dahliae*  
*Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*  
*Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*  
*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*  
*Fusarium ox.* f.sp. *conglutinas* race-5  
*Thielaviopsis basicola*  
*Sclerotium oryzae*  
*Sclerotium rolfsii*  
*Sclerotium cepivorum*  
*Rhizoctonia solani*  
*Sclerotinia minor*  
*Biporalis sorokiniana*

**Βακτήρια**

*Agrobacterium tumefaciens*  
*Streptomyces scabies*

**Νηματώδεις**

*Criconemella xenoplax*  
*Ditylenchus dipsaci*  
*Globodera rostochiensis*  
*Helicotylenchus digonicus*  
*Heterodera schachtii*  
*Meloidogyne hapla*  
*Meloidogyne javanica*  
*Meloidogyne incognita*  
*Paratrichodorus porosus*  
*Paratylenchus hamatus*  
*Paratylenchus penetrans*  
*Paratylenchus thorne*  
*Paratylenchus vulnus*  
*Tylenchulus semipenetrans*  
*Xiphinema spp.*

**Ζιζάνια**

*Poa annua*  
*Echinochloa crus - galli*  
*Oxalis pes - caprae*  
*Cynodon dactylon*  
*Solanum nigrum*  
*Orobanche spp.*  
*Malva parviflora*  
*Stellaria media*  
*Xanthium pensylvanicum*  
*Senecio vulgaris*  
*Portulaca oleraca*  
*Amsinckia douglasiana*  
*Solanum sarachoides*  
*Lamium amplexicaule*  
*Trianthemaportulacastrum*  
*Datura stramonium*  
*Sorgum halepense*  
*Chenopodium album*  
*Digitaria sanguinalis*  
*Montia perfoliata*  
*Ipomea spp.*  
*Chenopodium murale*  
*Amaranthus spp.*  
*Lactuca serriola*  
*Sida spinosa*  
*Calandrina ciliata*  
*Amaranthus retroflexus*  
*Anagallis sp.*  
*Anoda cristata*  
*Abutilon theophrasti*  
*Avena fatua*  
*Oxalis stricta*

## Β. Παθογόνα και ζιζάνια μερικώς ή μη αντιμετωπιζόμενα με την ηλιοαπολύμανση

**Μύκητες**

*Fusarium oxysporum* f. sp. *opini*  
*Macrophomina phaseolina*  
*Plasmidiophora brassicae*

**Νηματώδεις**

*Meloidogyne incognita* 37  
*Paratylenchus neoamblycephalus*

**Ζιζάνια**

*Malva niceansis*  
*Convolvulus arvensis*  
*Conyza canadensis*  
*Eragrostis sp.*  
*Cyperus rotundus*  
*Melilotus alba*  
*Cyperus esculentum*

Στοιχεία από τους Stapleton & DeVay, 1986.

### 2.4.1. Θερμική δράση

Στην περίπτωση της ηλιοαπολυμάνσεως έχουμε έκθεση των μολυσμάτων των μικροοργανισμών σε ήπιες σχετικά θερμοκρασίες, που κυμαίνονται μεταξύ 35-50°C. Η έκθεση των μικροοργανισμών σε θερμοκρασίες που ξεπερνούν το μέγιστο όριο αναπτύξεώς τους επιφέρει μείωση της ικανότητας επιβιώσεώς τους. Είναι γνωστό ότι ο θερμικός θάνατος (thermal death) κάθε οργανισμού εξαρτάται από το ύψος της θερμοκρασίας, τη διάρκεια εκθέσεως και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν.

Η διάρκεια εκθέσεως των μικροοργανισμών στη θερμότητα είναι καθοριστική για την επιβίωση και ανάπτυξή τους. Δεδομένα ερευνητικών εργασιών που αναφέρονται στην έκθεση των πολλαπλασιαστικών μονάδων των μικροοργανισμών σε διάφορες θερμοκρασίες διαφέρουν από αυτά που παρατηρούνται μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως και τούτο γιατί υπό ελεγχόμενες συνθήκες υπάρχει συνεχής έκθεση του μολύσματος σε προκαθορισμένη θερμοκρασία, σε αντίθεση με την ηλιοαπολύμανση όπου τα πολλαπλασιαστικά όργανα εκτίθενται σε διάφορες θερμοκρασίες που παραλλάσσουν αναλόγως του βάθους, του εδάφους και κυμαίνονται σημαντικά σε συνάρτηση με το χρόνο. Κατ' αυτό τον τρόπο περιπλέκεται η ανάλυση των αποτελεσμάτων (Katan, 1987). Στους 37 °C, αρχική θανατηφόρος θερμοκρασία για πολλούς μεσόφιλους (mesophilic) μύκητες, μπορεί να απαιτείται έκθεση από 2-4 εβδομάδες, ενώ στους 47 °C έκθεση για 1-6 ώρες θα επιφέρει το ίδιο αποτέλεσμα. Μερικοί μύκητες όπως ο *Macrophomina phaseolina*, ο *Sclerotium rolfsii*, και ο *Pythium aphanidermatum* είναι ολιγότερο ευαίσθητοι στις υψηλές θερμοκρασίες σε υγρά εδάφη. Αντιθέτως, μύκητες του γένους *Phytophthora*, όπως *P. cinnamomi* είναι πολύ ευαίσθητοι σε υψηλές θερμοκρασίες και νεκρώνονται σε 38°C για 30 min. Έτσι καταστρέφονται μέχρι βάθους 70 cm με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως διάρκειας έξι εβδομάδων. Ο μύκητας *V. dahliae* ανήκει στους φυτοπαθογόνους μύκητες που είναι ευαίσθητοι στη θερμότητα και στην υγρασία. Έχει αναφερθεί ότι ακόμη και τα μικροσκληρώτια του *V. dahliae* που επιζούν θερμοκρασιών κατωτέρων των ορίων των κρίσιμων θερμοκρασιών, υφίστανται ζωτικές αλλοιώσεις, ή αποδυναμώνονται εντελώς. Υπάρχουν όμως άλλες περιπτώσεις φυτοπαθογόνων όπου η επίδραση είναι αναστρέψιμη (Hurst, 1984).

Το μέγεθος της καταστροφής που προκαλείται στα πολλαπλασιαστικά όργανα των μυκήτων εξαρτάται από τις επικρατούσες συνθήκες περιβάλλοντος, το είδος της ασθένειας, το επίπεδο εδαφικής υγρασίας, την πυκνότητα και ηλικία του μολύσματος, ως και το θρεπτικό επίπεδο του παθογόνου την παρουσία τοξικών ουσιών.

Κατά αυτό τον τρόπο, το ποσοστό επιβιώσεως του πληθυσμού ενός παθογόνου που έχει υποστεί θερμική επίδραση δεν εκφράζει το πραγματικό εύρος της ζημιάς. Η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως αφορά στο δυναμικό του μολύσματος, που εκδηλώνεται ως



μειωμένος ρυθμός αναπτύξεως, περιορισμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού ως και ελατωμένη ζωτικότητα. Αυτό είναι επακόλουθο της μείωσης των παραγομένων ενζύμων αλλά και των ζημιών στην ημιπερατότητα των κυτταρικών μεμβρανών που οδηγούν στην απώλεια θρεπτικών στοιχείων. Τα ανώτατα όρια θερμοκρασίας για τα σπερματοφύτα είναι 45 °C, για τους μύκητες 60 °C και για τα βακτήρια 70 °C έως και ανώτερα από 100 °C. Τα όρια της ευαισθησίας στις υψηλές θερμοκρασίες ενυπάρχουν με μικρές διαφορές στα μακρομόρια που αυξάνουν τους ενδομοριακούς δεσμούς, επιφέροντας ελαφρές αλλαγές στους υδρογονικούς, ιονικούς και δισουλφιδικούς δεσμούς (Katan, 1981).

Οργανισμοί ευαίσθητοι σε υψηλές θερμοκρασίες εδάφους, οι οποίες παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της ηλιοαπολυμάνσεως φαίνεται ότι διαθέτουν μεγαλύτερη περίσσεια πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στα κυτταρικά τοιχώματα σε σύγκριση με τους θερμοφίλους οργανισμούς (thermophilic). Η σύσταση των λιπαρών οξέων στις κυτταρικές μεμβράνες επηρεάζει τη θερμοτροπική μεταβολή από τη στερεά στην πιο ρευστή φάση. Μεσόφιλοι οργανισμοί οι οποίοι δεν επιβιώνουν σε θερμοκρασίες που αναπτύσσονται κατά την ηλιοαπολύμανση, φαίνεται να έχουν χαμηλότερου σημείου τήξεως λιπαρά οξέα στις μεμβράνες τους και επομένως απαιτούν χαμηλότερες θερμοκρασίες για φάση της θερμοτροπικής μεταβάσεως για των λιπιδίων τους. Οι πρωτεΐνες επίσης των μεμβρανών δεν μεταβάλλουν σημαντικά τα θερμικά χαρακτηριστικά των λιπιδίων (DeVay & Katan, 1991). Όλα τα μακρομόρια των θερμοφίλων οργανισμών οι οποίοι μπορούν να επιβιώνουν σε θερμοκρασίες μέχρι 60 °C φαίνεται να είναι σταθερά σ' αυτές τις υψηλές θερμοκρασίες. Πρόσφατα δεδομένα καταδεικνύουν ότι η θερμική ευαισθησία των οργανισμών συνδέεται κατά μεγάλο ποσοστό με ένα υψηλό όριο ευμεταβλητότητας των μεμβρανών, πέραν του οποίου η κατάρρευση της δομής της μεμβράνης πιθανόν να σχετίζεται με την αστάθειά τους. Άλλα αίτια του θανάτου των οργανισμών κατά την έκθεσή τους σε υψηλές θερμοκρασίες περιλαμβάνουν και την αδρανοποίηση των ενζυμικών συστημάτων και δη εκείνων της αναπνευστικής λειτουργίας. Η ευπάθεια όλων των ζώντων κυττάρων στις υψηλές θερμοκρασίες καθορίζεται από το σχηματισμό πρωτεϊνών, σχηματιζομένων ακριβώς λόγω της εκθέσεως σε υψηλές θερμοκρασίες, στα προσβεβλημένα κύτταρα (DeVay & Katan, 1991). Η σύνθεση αυτών των πρωτεϊνών, το μοριακό βάρος των οποίων μπορεί να κυμαίνεται σε μεγάλο εύρος εξαρτάται από το είδος των οργανισμών στους οποίους παράγονται. Άλλοι παράγοντες εκτός της θερμικής δράσεως, όπως έκθεση των κυττάρων σε αιθανόλη, ή αρσενικώδες νάτριο, μπορεί επίσης να προκαλέσουν σύνθεση πρωτεϊνών θερμοπληξίας - θερμικής επιδράσεως (heat shock proteins). Μετά από προηγούμενη έκθεση των κυττάρων σε τέτοιους παράγοντες, είναι δυνατόν τα κύτταρα αυτά να καταστούν ανθεκτικά ακόμη και σε θανατηφόρες θερμοκρασίες. Η συμβολή αυτών των πρωτεϊνών, στην επιβίωση των μικροοργανισμών ή άλλων ζώντων κυττάρων κατά τη διάρκεια της ηλιοαπολυμάνσεως, δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί, όπως επίσης δεν έχει αποσαφηνισθεί εάν ο σχηματισμός αυτών των πρωτεϊνών μπορεί να συμβάλλει στην απόκτηση αντοχής των

κυττάρων στις υψηλές θερμοκρασίες με τη έκθεση των κυττάρων κατά τη διάρκεια της ηλιοαπολυμάνσεως. Η κανονική σύνθεση πρωτεϊνών ως αντίδραση στην έκθεσή τους σε υψηλές θερμοκρασίες διακόπτεται στα μιτοχόνδρια παρεμποδίζοντας πλήρως τη δράση ορισμένων αναπνευστικών ενζύμων. Σε άλλα τμήματα του κυττάρου παρεμποδίζονται τα ένζυμα που επηρεάζουν το ρυθμό αναπτύξεως του παθογόνου. Εξασθενημένα κύτταρα μέσα σ' ένα "εχθρικό εδαφικό περιβάλλον", εξ' αιτίας της θερμικής καταπονήσεως (thermal stress), είναι συνήθως πιο ευαίσθητα στα απολυμαντικά εδάφους και στους ανταγωνιστικούς μικροοργανισμούς. Υποφέρουν επίσης σε υψηλές θερμοκρασίες και είναι πιο ευαίσθητα σε μεταβαλλόμενο περιβάλλον υδρατμών που αναπτύσσεται σε υγραθέντα εδάφη κατά τη διάρκεια της ηλιοαπολυμάνσεως (Katan & DeVay, 1991).

Ιδιαίτερα σημαντικός παράγοντας για την επιτυχή εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως θεωρείται και ο παράγοντας υγρασία. Η πραγματική ευαισθησία των διαφόρων μικροοργανισμών αυξάνεται με την αύξηση του επιπέδου της υγρασίας. Η επίδραση της "υγρής" θερμότητας ερμηνεύεται από το γεγονός ότι η σταθερότητα των πρωτεϊνών εξαρτάται από το βαθμό υδρογονώσεως τους. Έτσι με την "υγρή" θερμότητα απαιτείται μικρότερο ποσοστό ενέργειας για την αναδίπλωση της πεπτιδικής αλύσου (Katan, 1981).

Αντιστρέψιμη υποθανάτιος θερμική βλάβη, σε κύτταρα που εκτίθενται σε υψηλές θερμοκρασίες μπορεί να εκφραστεί ως απώλεια της παθογόνου ικανότητας, ως διαταραχή στην ημιπερατότητα μεμβρανών και καταστροφή των νουκλεϊκών οξέων, συμπεριλαμβανομένου και του ριβοσωμικού RNA. Συνήθως τα καταπονημένα κύτταρα αδυνατούν να ανακτήσουν πλήρως τη δραστηριότητα των συστημάτων τους που επηρεάζονται από τη θερμότητα. Το θέμα αυτό έχει επίσης μελετηθεί σε αρκετά γένη βακτηρίων (Hurst, 1984).

Αναφορικά με τους μύκητες, οι υποθανάτιες θερμοκρασίες καθυστερούν τη βλάστηση των σπορίων ή των διαχειμαζουσών υφών και κατασκευών τους για παρατεταμένη χρονική περίοδο. Η επίπτωση στη βλάστηση εξαρτάται από το ύψος της θερμοκρασίας και τη διάρκεια της επεμβάσεως. Αυτή η υστέρηση αποδεικνύει ότι η βλάβη από τη θερμότητα είναι σταδιακά αθροιστική έως ένα επίπεδο πέραν του οποίου ο μύκητας δεν μπορεί να επιβιώσει. Συγκριτικά ο μύκητας *Pythium ultimum* μπορεί να επιβιώσει σε μεγαλύτερη διάρκεια εκθέσεως σε υψηλές θερμοκρασίες απ' ό,τι οι μύκητες *Rhizoctonia solani* ή *Verticillium dahliae*. Ο μύκητας *Thielaviopsis basicola* όμως, αντέχει περισσότερο από άλλους μικροοργανισμούς στην έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες πριν από τον τελικό θάνατο του κυττάρου του (Pullman *et al.*, 1981).

Οι διαχειμάζουσες πολυκύτταρες μορφές των παθογόνων μυκήτων εδάφους, φαίνεται να εμφανίζουν μεγαλύτερη ικανότητα αντοχής σε δυσμενείς συνθήκες του περιβάλλοντος, γεγονός που επιτρέπει την επιβίωση ενός ή ολίγων κυττάρων κατά την περίοδο αυτή της εκθέσεως. Η αντοχή αυτή των διαχειμαζουσών μορφών δεν αποτελεί κανόνα, όπως επί παραδείγματι ο μύκητας *V. dahliae* είναι πολύ πιο θερμοευαίσθητος σε σύγκριση με το

μύκητα *Macrophomina phaseolina*, παρά το γεγονός ότι και οι δύο σχηματίζουν πολυκύτταρες σκούρου, χρώματος διαχειμάζουσες μυκηλιακές κατασκευές (μικροσκληρώτια ή σκληρώτια αντιστοίχως).

### 2.4.2. Βιοχημική δράση

Οι μεταβολές που προκαλούνται στο εδαφικό περιβάλλον με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως επηρεάζουν όχι μόνο τη βιολογική του σύνθεση, αλλά και τη δομή, την υφή και τα διαλυτά μεταλλικά στοιχεία του εδάφους που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των φυτών και των μικροοργανισμών. Συγκεκριμένα αυτές οι μεταβολές επηρεάζουν την πυκνότητα του μολύσματος των παθογόνων στο έδαφος, την παθογόνο ικανότητα και την επιβίωσή τους, καθώς και την ανάπτυξη και την αντοχή των φυτών ξενιστών στις ασθένειες. Η χημική απολύμανση του εδάφους έχει συχνά ως αποτέλεσμα την αύξηση των ανιόντων στο εδαφικό διάλυμα. Στην περίπτωση της ηλιοαπολυμάνσεως αυξάνονται οι συγκεντρώσεις των νιτρικών, ενώ τα επίπεδα του φωσφόρου δεν μεταβάλλονται. Αυξάνονται επίσης οι συγκεντρώσεις των υδατοδιαλυτών κατιόντων  $Fe^{+++}$ ,  $Mn^{++}$  και  $Cu^{++}$ . Αισθητή είναι ακόμη η αύξηση των  $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Cl^-$  και  $NH_4^+$ . Ουσίες όπως το  $CO_2$  παρουσιάζουν αύξηση έως και 35 φορές κάτω από την επιφάνεια του εδάφους που καλύφθηκε με διαφανές πλαστικό σε σύγκριση με το ακάλυπτο έδαφος-μάρτυρα (Katan, 1981).

### 2.4.3. Βιολογική δράση

Οι βιοτικοί επίσης παράγοντες του εδάφους, επηρεάζονται σημαντικά από τις μεταβολές που παρατηρούνται στο εδαφικό περιβάλλον κατά τη διάρκεια και μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως. Ορισμένες μεταβολές στη μικροβιακή χλωρίδα, προκαλούμενες από την ηλιοαπολύμανση πιθανόν να συμβάλλουν στη βιολογική καταπολέμηση των φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών. Η βιολογική καταπολέμηση δια μέσου της ηλιοαπολυμάνσεως δυνατόν να υλοποιείται με την αύξηση της ευπαθείας του παθογόνου στην ανταγωνιστική μικροχλωρίδα του εδάφους ή με την αύξηση της δραστηριότητας των ανταγωνιστικών αυτών μικροοργανισμών που επιβιώνουν της ηλιοαπολυμάνσεως και είτε δρουν εις βάρος του παθογόνου, είτε επηρεάζουν το ρυθμό αναπτύξεως του φυτού, που τελικά οδηγεί στον περιορισμό της ασθeneίας, ή στη μειωμένη ικανότητα επιβιώσεως του παθογόνου, ή και των δύο συγχρόνως. Η επίδραση αυτή μπορεί να εκδηλωθεί δια μέσου της αντιβιώσεως, λύσεως, ανταγωνισμού και παρασιτισμού, σε οποιοδήποτε στάδιο αναπτύξεως του παθογόνου ή σταδίου της ασθeneίας, κατά ή μετά από την ηλιοαπολύμανση. Η βιολογική δράση μπορεί να προκαλέσει θετικές ή αρνητικές επιδράσεις σ' έναν από τους τρεις ζωτικούς παράγοντες που συνυπάρχουν στο έδαφος και συμβάλλουν στην ένταση της ασθeneίας δηλαδή, το παθογόνο, το φυτό ξενιστή και τη μικροχλωρίδα του εδάφους. Οι μηχανισμοί της βιολογικής δράσεως της

ηλιοαπολυμάνσεως, που εμφανίζονται ή διεγείρονται μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως, μπορούν να συνοψισθούν στ' ακόλουθα:

1. Βιολογική επίδραση στο μόλυσμα που υπάρχει ήδη στο έδαφος.
2. Καταστολή του μολύσματος που εισάγεται μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως τόσο από βαθύτερα στρώματα του εδάφους, όσον και από γειτονικούς αγρούς οι οποίοι δεν υπέστησαν την επέμβαση.
3. Επίδραση στον ξενιστή λόγω διεγέρσεως λανθανόντων μηχανισμών αντοχής. Οι μηχανισμοί αντοχής, οι οποίοι δύνανται να υπεισέρχονται στην καταπολέμηση φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση, περιλαμβάνουν τόσο τη θερμική επίδραση λόγω υψηλών θερμοκρασιών, οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν πλήρη αναστολή των κυτταρικών διεργασιών των θερμοευαίσθητων οργανισμών, όσο και μεταβολές στη σύσταση της μικροχλωρίδας του εδάφους. Οι εξασθενημένες πολλαπλασιαστικές μονάδες καθίστανται περισσότερο ευάλωτες στη δράση των υπάρχοντων ανταγωνιστών στο έδαφος με αποτέλεσμα να αυξάνονται οι φυσικές διεργασίες της βιολογικής καταπολεμήσεως.

Η έννοια της εξασθενησεως (weakening effect) των παθογόνων με υποθανάτιες επεμβάσεις και η μετέπειτα αποίκιση από τους ανταγωνιστές έχει αναφερθεί από τον Garrett (1956) σε σχέση με την αύξηση της βιολογικής καταπολεμήσεως του μύκητα *Armillaria mellea* από τον ανταγωνιστή μύκητα *Trichoderma* sp. Η συμβολή των πρωτεϊνών θερμοπληξίας (heat shock proteins) στην αύξηση της θερμικής αντοχής ή της θερμικής σταθερότητας στους μεσόφιλους οργανισμούς κατά την ηλιοαπολύμανση δεν φαίνεται να είναι ουσιαστική στην προστασία των οργανισμών αυτών από τη θερμότητα. Ο τύπος και η αναλογία της συνθέσεως αυτών των πρωτεϊνών είναι πιθανό να σχετίζεται με την εξασθένηση των πολλαπλασιαστικών μονάδων και κατά την ηλιοαπολύμανση (DeVay & Katan, 1991).

Ο δεύτερος βασικός μηχανισμός της αντιμετώπισεως του παθογόνου περιλαμβάνει εδαφογενή βακτήρια, ακτινομύκητες, και μύκητες των οποίων οι πληθυσμοί επιβιώνουν της ηλιοαπολυμάνσεως σε αντίθεση με πλείστους φυτοπαθογόνους μύκητες και αυξάνουν καταλαμβάνοντας με σχετική ευχέρεια το έδαφος όπου έχει εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση. Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι συχνά παράσιτα ή ανταγωνιστές παθογόνων μυκήτων. Ορισμένοι εξ αυτών είναι εγκατεστημένοι στη ριζόσφαιρα των φυτών και πιθανόν να συμβάλλουν στην αύξηση του ρυθμού αναπτύξεως των φυτών, ενώ ορισμένοι άλλοι είναι υπεύθυνοι για την πρόκληση της κατασταλτικότητας (suppressiveness) του εδάφους στα φυτοπαθογόνα και στην επαναποίκισή τους σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη. Αυτές όμως οι σχέσεις χρήζουν περαιτέρω ερεύνης.

Σημαντική είναι επίσης και η συμβολή των πτητικών ουσιών του εδάφους (soil volatiles) που ελευθερώνονται κατά την ηλιοαπολύμανση, όπως η αμμωνία (NH<sub>3</sub>) που έχει αποδειχθεί ότι έχει νηματωδοκτόνο δράση. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι πτητικές ουσίες

που προέρχονται από την αποσύνθεση ενώσεων που περιέχουν θείο και CO<sub>2</sub> δρούν τοξικά κατά των παθογόνων (Stapleton & Heald, 1991).

### **2.4.3.1. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στην επιβίωση και ανάπτυξη φυσικών ανταγωνιστών**

#### **2.4.3.1.1. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στους θερμοανθεκτικούς μύκητες**

Είναι γνωστό ότι η διατάραξη της βιολογικής ισορροπίας στην εδαφική μικροχλωρίδα είναι δραστική και ως εκ τούτου ανεπιθύμητη μετά από την απολύμανση του εδάφους με απολυμαντικά ή ατμό. Αντιθέτως, η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως ευνοεί την επιβίωση και ανάπτυξη ορισμένων θερμοανθεκτικών μικροοργανισμών (heat resistant), ικανών να δράσουν και ως ανταγωνιστές εναντίον εδαφογενών παθογόνων. Παρατεταμένες υψηλές θερμοκρασίες του εδάφους σε θανατηφόρα ή υποθανάτια επίπεδα, οι οποίες αναπτύχθηκαν από την ηλιοαπολύμανση, είναι πιθανόν να μην επηρεάζουν την επιβίωση και ακόμη να βοηθήσουν στην αύξηση ορισμένων μικροοργανισμών που είναι γνωστοί ως δυνητικοί ανταγωνιστές μυκήτων (potential antagonists). Μακροχρόνια δράση της ηλιοαπολυμάνσεως είναι δυνατόν να οδηγήσει στην αύξηση των πληθυσμών των ανταγωνιστών σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη. Μεταξύ των θερμοανθεκτικών ανταγωνιστών είναι οι μύκητες *Talaromyces flavus*, *T. helicus* και *Aspergillus terreus* που είναι ή θεωρούνται γενικά δυνητικοί ανταγωνιστές του φυτοπαθογόνου μύκητα *V. dahliae* σε ελαιώνες, ή φυτείες αγκινάρας, μελιτζάνας και τομάτας, όπου έχει εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση (Tjamos & Paplomatas, 1987, 1988· Tjamos et al., 1991). Μεταξύ των θερμοανθεκτικών ανταγωνιστών, που επιβιώνουν της ηλιοαπολυμάνσεως είναι και οι μύκητες *Talaromyces flavus*, *Aspergillus terreus*, *A. ochraceus* και *A. fumigatus* (Tjamos, 1995, υπό δημοσίευση).

Μελέτες επί του τρόπου δράσεως του μύκητα *Talaromyces flavus* (Fravel, 1988· Fravel et al., 1987· Kim et al. 1988) έχουν δείξει ότι το ένζυμο οξειδάση της γλυκόζης (glucose oxidase) που παράγεται από τον ανταγωνιστή αυτό δεν θανατώνει τα μικροσκληρώτια. Με την παρουσία όμως γλυκόζης στο θρεπτικό υπόστρωμα αναπτύξεως, παρατηρείται διάσπαση της γλυκόζης και παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου που είναι θανατηφόρο για τα μικροσκληρώτια του μύκητα *V. dahliae*. Δεν είναι δυνατόν να καθοριστεί αν μία ασταθής ένωση, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου, μπορεί να είναι σημαντική για τον ανταγωνισμό στις πραγματικές θέσεις προσβολής των ριζών, γιατί δεν υπάρχουν ενδείξεις για πιθανή πηγή γλυκόζης. Εντούτοις, τελευταία δεδομένα έδειξαν ότι γλυκόζη από εκκρίσεις ριζών μελιτζάνας διασπάται από το ένζυμο σε υπεροξείδιο του υδρογόνου το οποίο όπως αναφέραμε είναι τοξικό για τα μικροσκληρώτια του μύκητα (Fravel & Roberts, 1991). Ο ανταγωνιστής αυτός μπορεί ακόμη να παρασιτησει μικροσκληρώτια (Fahima & Henis, 1990) ή μυκήλια (Αντωνίου & Τζάμος αδημοσίευτα)

του μύκητα *V. dahliae*, απουσία γλυκόζης ή και μυκήλιο του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* σε θρεπτικά υλικά ανάπτυξης που περιέχουν γλυκόζη (McLaren *et al.*, 1986). Η υπερμικροσκοπική εμφάνιση (ultrastructure) των προσβεβλημένων σκληρωτίων του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* από το μύκητα *Talaromyces flavus* έδειξε ότι η υφή του ανταγωνιστού μύκητα διεισδύει απ' ευθείας στο φλοιό των κυτταρικών τοιχωμάτων των σκληρωτίων (McLaren *et al.*, 1989). Τομή των κυτταρικών τοχωμάτων στο σημείο της διεισδύσεως υποδηλώνει ότι τα κυτταρυνολυτικά ένζυμα είναι πιθανόν να σχετίζονται με τη διεργασία τη μόλυνσεως.

Οι Tjamos & Skretis (1990) παρατήρησαν σημαντικά υψηλότερους πληθυσμούς των μυκήτων *T. flavus* και *A. terreus* σε ηλιοαπολυμανθέν χώμα που χρησιμοποιείτο για την καλλιέργεια τομάτας και μελιτζάνας, παρά σε χώμα από αγρούς όπου δεν είχε γίνει καμμία επέμβαση. Οι Tjamos & Paplomatas (1988) ανέφεραν ικανοποιητική αντιμετώπιση της βερτισιλλιώσεως της αγκυνάρας με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως μόνη ή σε συνδυασμό με μειωμένες δόσεις βρωμιούχου μεθυλίου. Η διάρκεια της αποτελεσματικότητας μίας μόνον εφαρμογής για την αντιμετώπιση του παθογόνου σε πολυετή καλλιέργεια όπως είναι η αγκυνάρα διαπιστώθηκε ότι προσεγγίζει τα τρία χρόνια. Η παρατεταμένη επίδραση θα μπορούσε να σχετίζεται τουλάχιστον μερικώς με την επιβίωση και την αύξηση των πολλαπλασιαστικών μονάδων των μυκήτων *T. flavus* και *A. terreus*. Οι δυνητικοί θερμοανθεκτικοί ανταγωνιστές επιβιώνουν συνήθως της ηλιοαπολυμάνσεως και τούτο πιθανόν να παρεμποδίζει το μύκητα *V. dahliae* να επαναποικίσει το έδαφος από γειτονικούς αγρούς για μεγάλο χρονικό διάστημα. Επίσης, οι πληθυσμοί των ανταγωνιστών είναι σημαντικά χαμηλότεροι στη ριζόσφαιρα φυτών σε εδάφη όπου δεν έχει εφαρμοστεί επέμβαση.

Ατομικές εφαρμογές της ηλιοαπολυμάνσεως, έδειξαν ότι η εφαρμογή της μεθόδου σε ελαιόδενδρα, προσβεβλημένα από το μύκητα *V. dahliae*, σε ήδη εγκατεστημένους ελαιώνες, είχε ως αποτέλεσμα την εμφανή ανάκαμψη των ασθενών δένδρων με ήπια μόνο συμπτώματα και σε μικρό ποσοστό αυτών (Tjamos *et al.*, 1991). Η συμβολή θερμοανθεκτικών ανταγωνιστών του *V. dahliae* δεν πρέπει να αποκλεισθεί. Ο μύκητες *T. flavus* και *A. terreus* επιβίωσαν της ηλιοαπολυμάνσεως και αυξήθηκαν σε εδάφη όπου είχε γίνει εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως. Η μειωμένη πυκνότητα των πληθυσμών του μύκητα *V. dahliae* σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη αποδεικνύει ότι οι ανταγωνιστές μύκητες ενδεχομένως σχετίζονται με την καθυστέρηση της αναμενομένης αυξήσεως των πληθυσμών των μικροσκληρωτίων του παθογόνου και την επιμήκυνση της επιδράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως. Οι Martyn & Hartz (1986) έδειξαν ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως είχε ως αποτέλεσμα μία μεταβολή στον πληθυσμό του μύκητα *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* υπέρ των σαπροφυτικών ειδών του γένους *Fusarium oxysporum*, μετά από 30 ημέρες σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη. Αυτή η αύξηση των σαπροφυτικών ειδών του *Fusarium oxysporum* προκάλεσε φαινόμενα ανταγωνισμού εναντίον του

παθογόνου στα ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη. Τέλος έχει αναφερθεί ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως αυξάνει το ποσοστό των σκληρωτίων του μύκητα *Sclerotium minor* που αποικίζονται από βακτήρια και μύκητες και προφανώς επηρεάζει την επικράτηση των μυκήτων των γενών *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* και *Trichoderma* (Triolo et al., 1988).

Η μείωση της βιωσιμότητας των σκληρωτίων του μύκητα *Sclerotium oryzae* σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη σχετίζεται τόσο με τη θερμοκή επίδραση όσο και με τους βιολογικούς παράγοντες, αφού σκληρώτια του μύκητα από βάθος εδάφους 20-25 cm έδειξαν 66% αποίκιση από βακτήρια (Usmani & Ghaffar, 1982). Η ηλιοαπολύμανση του εδάφους μπορεί να επηρεάσει το δυναμικό του πληθυσμού του μύκητα *Macrophomina phaseolina* και γενικώς της μικροχλωρίδας του εδάφους του. Επίσης οι πληθυσμοί των *Aspergillus niger*, *A. terreus* και *Trichoderma viride* και διάφορα μυκήλια, τα οποία δεν παράγουν καρποφορίες, αυξήθηκαν 45 ημέρες μετά από την ηλιοαπολύμανση (Dwivedi & Dubey, 1987).

#### 2.4.3.1.2. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως σε φυσικούς πληθυσμούς βακτηρίων

Η ηλιοαπολύμανση του εδάφους αυξάνει τους συνολικούς αριθμούς των βακτηρίων όσο και των μυκήτων ανταγωνιστών στους μύκητες *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rizoctonia solani* (Kaewtuang et al., 1989). Οι αριθμοί όμως των βακτηρίων της ομάδας των *Streptomyces* που είναι ανταγωνιστικά στα παθογόνα, παρά ταύτα δεν διέφεραν μεταξύ ηλιοαπολυμανθέντων και μη εδαφών. Τα επίπεδα του πληθυσμού αυτής της ομάδας των βακτηρίων δεν επηρεάζονται σημαντικά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως. Πολλά μέλη της ομάδας είναι γνωστά ως ανταγωνιστές άλλων μικροοργανισμών και παράγουν αντιβιοτικά. Είναι πιθανόν ότι η ικανότητά τους να επιβιώνουν της ηλιοαπολυμάνσεως, σε σύγκριση με πολλούς άλλους μικροοργανισμούς του εδάφους, βελτιώνει τις πιθανότητες να αποικίσουν σημαντικές "φωλιές" (niches) στο έδαφος και τη ριζόσφαιρα, προστατεύοντας τις ρίζες από τα παθογόνα πιο αποτελεσματικά. Οι Stapleton & DeVay (1982, 1984) έδειξαν την ευνοϊκή επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στην επιβίωση των θερμοανθεκτικών γενών των βακτηρίων *Bacillus*, *Actinomycetes* και φθοριζουσών ψευδομονάδων (fluorescent pseudomonads). Έχει επίσης αναφερθεί μία αύξηση 20- φορές υψηλότερη των θετικών κατά Gram (Gram +) βακτηρίων. Το γένος *Bacillus* ήταν το επικρατέστερο γένος που επιβίωσε της ηλιοαπολυμάνσεως και είχε ικανότητα παραγωγής παρεμποδιστών (αντιβιοτικών), πιθανώς επιβλαβών σε πολλά εδαφογενή παθογόνα. Οι Gamliel & Katan (1991) διαπίστωσαν ότι η ηλιοαπολύμανση προάγει την επιβίωση και αύξηση των βακτηρίων *Pseudomonas fluorescens* και *P. putida*. Επίσης έδειξαν ότι οι εκκρίσεις ριζών τοματοφύτων μπορούν να βελτιώνουν την αποίκιση του εδάφους ή της ριζόσφαιρας από βακτήρια του γένους *Pseudomonas*, δια μέσου ανταγωνισμού, εφ' όσον οι εκκρίσεις αυτές προκαλούν μία μεταβολή στη μικροχλωρίδα της ριζόσφαιρας, υπέρ των ανταγωνιστικών βακτηρίων. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ορισμένες απομονώσεις των

φθοριζουσών ψευδομονάδων ήταν ανταγωνιστικές κατά του μύκηκα *Fusarium oxysporum* και άλλων εδαφογενών παθογόνων.

Μεταξύ των βακτηρίων των οποίων η επιβίωση επηρεάζεται από την ηλιοαπολύμανση είναι εκείνα που ανήκουν στα γένη *Pseudomonas* spp. και *Bacillus* spp. που θεωρούνται ότι υπεισέρχονται στη δράση των κατασταλτικών εδαφών. Φθορίζουσες ψευδομονάδες, αρνητικές στην αντίδραση της οξειδάσης, είναι πολύ ευαίσθητες στην ηλιοαπολύμανση και οι πληθυσμοί τους μειώνονται σε χαμηλά επίπεδα. Παρά ταύτα όμως, τα βακτήρια αυτά επαναποικούν γρήγορα τα ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη και οι πληθυσμοί τους φτάνουν σε υψηλούς σχετικά αριθμούς. Ορισμένες ψευδομονάδες είναι εγκαταστημένες στη ριζόσφαιρα των φυτών και έτσι μπορεί ως ένα βαθμό να προσφέρουν προστασία εναντίον των παθογόνων μυκήτων, αλλά και να προκαλούν αύξηση του ρυθμού της αναπτύξεως των φυτών ξενιστών ακόμη και για μακρά χρονική περίοδο και για περισσότερες της μίας καλλιέργειες (Katan, 1991, Chen *et al.*, 1991).

Τα βακτήρια του γένους *Bacillus* spp. παράγουν ενδοσπόρια και μπορούν να αντέχουν σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες. Αν και οι πληθυσμοί των θετικών κατά Gram (Gram +) βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων και βακτηρίων που ανήκουν στο γένος *Bacillus* spp. μειώνονται κατά τη διάρκεια της ηλιοαπολυμάνσεως, η μείωση τους είναι μικρότερη εκείνης των άλλων βακτηρίων (Stapleton & DeVay, 1984).

Οι πληθυσμοί του βακτηρίου *B. subtilis*, που εμφανίζεται να έχει τόσο θετική συμβολή στην ανάπτυξη των φυτών όσο και ανταγωνιστική δράση εναντίον φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών, παρουσίασαν αύξηση μετά από την εφαρμογή της μεθόδου (Chen *et al.*, 1991).

Μεταξύ των βακτηριακών σκευασμάτων που χρησιμοποιούνται ως παράγοντες βιολογικής καταπολεμήσεως, το Quantum 4000, που προέρχεται από ένα στέλεχος του βακτηρίου *B. subtilis*, είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό όταν εφαρμόζεται ως επιπαστικό σπόρων εναντίον παθογόνων των σπορείων, όπως οι μύκητες *Pythium ultimum* και *Rhizoctonia solani* καθώς και ως παράγοντας αύξησεως της παραγωγής. Όπως οι ψευδομονάδες, έτσι και οι βάκιλλοι είναι βακτήρια ικανά να αποικίσουν τη ριζόσφαιρα και τα οποία μέσω παραγωγής αντιβιοτικών ή και παρεμποδιστών γενικώς και μέσω ανταγωνιστικότητας σε βιοτικό περιβάλλον, θεωρείται ότι έχουν σημαντική συμβολή στην κατασταλτικότητα των ηλιοαπολυμανθέντων εδαφών. Έτσι κατά το μεγαλύτερο μέρος, η επαναποίκιση των ηλιοαπολυμανθέντων εδαφών γίνεται από σαπρόφυτα και όχι από παθογόνα φυτών, τα οποία σαπρόφυτα μπορεί να έχουν περισσότερο αυστηρές απαιτήσεις για την ανάπτυξή τους και να είναι ικανά να αναπτυχθούν σε εδαφικό περιβάλλον όπου επικρατούν ανταγωνιστικά σαπρόφυτα. Μείωση στους πληθυσμούς των *Pseudomonas* spp. και *Bacillus* spp. σε σύγκριση με αυτή της ομάδος των actinomycetes σε εδάφη όπου έχει εφαρμοστεί η ηλιοαπολύμανση, κυμαίνεται μεταξύ 78 και 87% περισσότερο από ότι στα μη ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη, ενώ οι πληθυσμοί της ομάδος Actinomycetes μειώθηκαν 45-



57% σε σχέση με τα μη ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη (Stapleton & DeVay, 1982,1984).

## 2.5 Πρακτική Εφαρμογή-Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα της ηλιοαπολυμάνσεως έναντι της χημικής απολυμάνσεως και της απολυμάνσεως του εδάφους με ατμό

Η ηλιοαπολύμανση του εδάφους πλεονεκτεί έναντι των άλλων μεθόδων στα ακόλουθα σημεία:

1. Έχει χαμηλότερο κόστος συγκριτικώς με τις άλλες μεθόδους.
2. Είναι μέθοδος φιλική προς το περιβάλλον και κατ' επέκταση στον άνθρωπο, γιατί δεν αφήνει τοξικά υπολείμματα στο έδαφος, το νερό ή στα φυτικά προϊόντα.
3. Εξασφαλίζει τη βιολογική ισορροπία, σε αντιδιαστολή με το βρωμιούχο μεθύλιο ή άλλα χημικά απολυμαντικά τα οποία δημιουργούν βιολογικό κενό. Έτσι, αποφεύγονται οι κίνδυνοι εκτεταμένης επαναμολύνσεως.
4. Εξασφαλίζει την επιβίωση θερμοφίλων και θερμοανθεκτικών ανταγωνιστών μικροοργανισμών με αποτέλεσμα τη μακροχρόνια ευεργετική επίδρασή της στις καλλιέργειες που εγκαθίστανται στα ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη.
5. Αποκλείει φυτοτοξικά φαινόμενα από απελευθέρωση ανοργάνων στοιχείων, όπως  $Mn^{++}$ , που συχνά αυξάνουν μετά από απολύμανση με ατμό.
6. Εφαρμόζεται εύκολα από τους καλλιεργητές, τόσο σε μικρές όσο και μεγάλες εκτάσεις.
7. Τέλος, η ηλιοαπολύμανση μπορεί να θεωρηθεί ως μία "ολοκληρωμένη μέθοδος" (intergrated method) αντιμετώπισεως παθογόνων καθ' ότι συνδυάζει φυσικοχημικούς και βιολογικούς μηχανισμούς .

Όσον αφορά στις δυνατότητες αξιοποιήσεώς της σε ήδη εγκατεστημένες φυτείες, η μέθοδος αποτελεί, μέχρις στιγμής, τη μόνη ελπίδα αντιμετώπισεως των αδρομυκώσεων στην ελιά, φιστικιά και σε άλλους πολυετείς ξενιστές του μύκητα *Verticillium dahliae* (Ashworth *et al.*, 1982· Tjamos *et al.*, 1991).

Η ηλιοαπολύμανση είναι ανεπαρκής έναντι άλλων μεθόδων για τους ακόλουθους λόγους:

1. Εφαρμόζεται μόνο σε περιοχές με μεγάλη ηλιοφάνεια και με θερμοκρασία αέρα τουλάχιστο μεταξύ 25-30 °C.
2. Εφαρμόζεται μόνον από τον Ιούνιο έως το Σεπτέμβριο για το βόρειο ημισφαίριο.
3. Απαιτεί έδαφος ελεύθερο από καλλιέργειες για μεγάλο χρονικό διάστημα (τουλάχιστον ένα μήνα) παρεμποδίζοντας τη γρήγορη εναλλαγή των καλλιεργειών.
4. Δεν είναι αποτελεσματική εναντίον όλων των παθογόνων εδάφους που έχει δοκιμαστεί, όπως οι φυτοπαθογόνοι μύκητες *Macrophomina phaseolina*, *Monosporascus*

*eutypoides*, και *Synchitrium lagenariae*.

5. Ενδεχόμενοι, μελλοντικοί κίνδυνοι μπορεί να περιλαμβάνουν εμφάνιση φυλών των παθογόνων ανθεκτικών στις υψηλές θερμοκρασίες, που θα μπορούσε να συμβεί υποθετικά μετά από παρατεταμένες ή αλληπάλληλες εφαρμογές. Μία ανάλογη όμως επίδραση δεν έχει προς το παρόν αναφερθεί.

## 2.6 Εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως στην Ελλάδα

Η ηλιοαπολύμανση άρχισε να εφαρμόζεται δοκιμαστικά στη χώρα μας το καλοκαίρι του 1977 στην Πρέβεζα, σε θερμοκήπια τομάτας για την αντιμετώπιση των αδρομυκώσεων που οφείλονται στους μύκητες *Verticillium dahliae* και *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Οι ελληνικές κλιματολογικές συνθήκες κατά τη θερινή περίοδο φαίνονται ιδιαίτερα ευνοϊκές για την εφαρμογή της μεθόδου. Η καλλιέργεια κηπευτικών σε πλαστικά θερμοκήπια είναι ένας σημαντικός γεωργικός τομέας στην Ελλάδα, αλλά με πολλά προβλήματα λόγω προσβολών από εδαφογενή παθογόνα. Η ηλιοαπολύμανση δημιούργησε νέα πεδία φυτοπαθολογικής ερεύνης και έδωσε νέες προσεγγίσεις στην επίλυση δύσκολων φυτοπαθολογικών προβλημάτων. Επιπροσθέτως, πειραματικές εφαρμογές της μεθόδου που αφορούσαν στην αποτελεσματικότητά της ως προς την αντιμετώπιση εδαφογενών ασθενειών πολυετών και δενδρωδών καλλιέργειών (κυρίως της βερτισιλλιώσεως σε ελαιόδενδρα) μετά την εγκατάστασή τους διεύρυναν τις δυνατότητες χρήσεως της ηλιοαπολυμάνσεως.

Πειράματα αγρού ή εμπορικές εφαρμογές έλαβαν χώρα σε 12 περιοχές της χώρας μας, μεταξύ των οποίων Κρήτη, Πελοπόννησο, Ήπειρο, Θεσσαλία κ. ά., για την αντιμετώπιση σοβαρών εδαφογενών παθογόνων. Οι τρόποι εφαρμογής της μεθόδου είναι τρεις: ολική κάλυψη, κάλυψη κατά λωρίδες, καθώς και ατομική γύρω από τα ελαιόδενδρα, με διαφανές πλαστικό φύλλο πολυαιθυλενίου πάχους 50-100 μm, με ή χωρίς σταθεροποιητή υπερϊωδών ακτίνων. Η διάρκεια εφαρμογής ήταν από 4-8 εβδομάδες αναλόγως της διαθεσιμότητας του ελαιώνα. Οι θερμοκρασίες εδάφους στα ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη ήταν 10-12 °C υψηλότερες αυτών που σημειώθηκαν σε ακάλυπτα εδάφη-μάρτυρες και έφτασαν, σε ορισμένες περιπτώσεις ακόμη και τους 57 °C, σε βάθος 10 cm (Τζάμος, 1985).

Αξιολόγηση της μεθόδου σε θερμοκήπια έδειξε ότι ο μύκητας *Pyrenochaeta lycopersici* αντιμετωπιζέτο επιτυχώς με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως μόνης ή σε συνδυασμό ακόμη και με μειωμένες δόσεις βρωμιούχου μεθυλίου (Τζάμος & Φαρίδης, 1980· Tjamos, 1984). Ανάλογα αποτελέσματα διαπιστώθηκαν και σε πειράματα, που έλαβαν χώρα στην Κρήτη (Malathrakis *et al.*, 1983· Malathrakis & Kambourakis - Tzagaroulakis, 1989).

Δεδομένα στην περιοχή της Πρεβέζης (Τζάμος, 1989, αδημοσίευτο) έδειξαν ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως σε θερμοκήπια που παρέμειναν κλειστά καθ' όλη τη

διάρκεια της εφαρμογής ήταν εξ' ίσου αποτελεσματική με την εφαρμογή βρωμιούχου μεθυλίου ( $70 \text{ g} / \text{m}^2$ ) για την αντιμετώπιση της φελλώδους σηψιρριζιάς της τομάτας. Παράλληλα μελετήθηκε η δυνατότητα αντιμετώπισης του μύκητα *V. dahliae* σε καλλιέργειες βαμβακιού στο νομό Φθιώτιδος, όπου παρατηρήθηκε 30-35% αύξηση των αποδόσεων σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη σε σύγκριση με τον ακάλυπτο-μάρτυρα (Τζάμος, 1983). Σε πειράματα στην περιοχή Ιρίων της Αργολίδος μία εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως μόνης ή σε συνδυασμό με μειωμένες δόσεις βρωμιούχου μεθυλίου ( $34 \text{ g} / \text{m}^2$ ) ήταν αποτελεσματική στην αντιμετώπιση της βερτισιλλιώσεως της αγκινάρας για τρεις καλλιεργητικές περιόδους. Απεδείχθη επίσης η μακροχρόνια δράση της ηλιοαπολυμάνσεως, διότι και οι δύο επεμβάσεις μείωσαν κατά πολύ τους πληθυσμούς των μικροσκληρωτίων του μύκητα *Verticillium dahliae*, σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα. Παρά ταύτα, απλή εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως διατήρησε τους πληθυσμούς του παθογόνου σε επίπεδα σχεδόν μη ανιχνεύσιμα κατά τη διάρκεια των τριών ετών του πειραματισμού, ενώ ο συνδυασμός εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως με τη χημική απολύμανση ήταν αποτελεσματική εναντίον του μύκητα για δύο μόνο καλλιεργητικές περιόδους (Tjamos, et al., 1987· Tjamos & Paplomatas, 1987· Tjamos & Paplomatas, 1988).

Παρατηρήσεις από πρόσφατη εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως για την αντιμετώπιση της βερτισιλλιώσεως της μελιτζάνας σε αγρούς της περιοχής Άρτας έδειξαν ότι η ένταση των συμπτωμάτων και η αντιμετώπιση των ζιζανίων είναι επιτυχής (Τζάμος, 1990, αδημοσίευτο).

Οι αδρομυκώσεις της πεπονιάς είναι πολύ συχνές και καταστρεπτικές ασθένειες οπουδήποτε καλλιεργείται πεπονιά στην Ελλάδα. Η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως στην περιοχή των Τρικάλων, κατά το καλοκαίρι του 1987, έδειξε ότι και τα δύο παθογόνα των αδρομυκώσεων (*Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*) αντιμετώπισθηκαν επιτυχώς (Tjamos & Makrynakis, 1990).

Η εφαρμογή της μεθόδου της ηλιοαπολυμάνσεως σε αμμώδη εδάφη (PH= 5,0) στην περιοχή της Καστοριάς, έδειξε την ύπαρξη συνεργισμού μεταξύ της ηλιοαπολυμάνσεως και ενός βιολογικού σκευάσματος με μία ανταγωνιστική φυλή του μύκητα *Trichoderma harzianum* στην αντιμετώπιση του μύκητα *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* σε καλλιέργειες φασολιών (Tjamos & Niklis, 1990).

Ακόμη στην Ελλάδα αξιολογήθηκε η εφαρμογή απλής ηλιοαπολυμάνσεως στον αγρό ή σε συνδυασμό με άλλους βιολογικούς ή χημικούς παράγοντες υπό τοπικές συνθήκες, για την αντιμετώπιση της φουζαριώσεως στη γαρυφαλλιά, που προκαλείται από το μύκητα *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* (Elena & Tjamos, 1992).

Σε ελαιώνες της περιοχής Σκάρφειας Φθιώτιδος έγιναν ατομικές εφαρμογές της ηλιοαπολυμάνσεως σε ήδη εγκατεστημένα ελαιόδενδρα με έντονα συμπτώματα βερτισιλλιώσεως, με πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Η εργασία αυτή απετέλεσε την απαρχή ερεύνης που συνεχίστηκε σε ελαιώνες στον Πτελεό Μαγνησίας, Αγχιάλου

Μαγνησίας και Λιβανατών Φθιώτιδος (Tjamos & Skretis, 1990· Tjamos *et al.*, 1991).

Ακόμη έχει αναφερθεί η συμβολή θερμοανθεκτικών ανταγωνιστών του μύκητα *V. dahliae* στη μακροχρόνια δράση της ηλιοαπολύμανσης. Οι μύκητες αυτοί, όπως οι *Talaromyces flavus* και *Aspergillus terreus* αυξάνονται και παραμένουν σε υψηλά επίπεδα σε θέσεις όπου έχει εφαρμοστεί ατομική, ανά δένδρο ηλιοαπολύμανση, σε σύγκριση με θέσεις όπου δεν έχει εφαρμοστεί η μέθοδος ( Tjamos & Paplomatas, 1987).

Η ερμηνεία του φαινομένου της μακροχρόνιας δράσεως της ηλιοαπολύμανσης επιχειρήθηκε σε πειράματα στα Ίρια Αργολίδος σε φυτείες αγκινάρας που προσβάλλονται από το μύκητα *V. dahliae*, απ' όπου αποδεικνύεται η μακροχρόνια δράση της μεθόδου (Tjamos & Paplomatas, 1987, 1988).

Η μακροχρόνια δράση της ηλιοαπολύμανσης στην αντιμετώπιση της βερτισιλλιώσεως της αγκινάρας, των ελαιοδένδρων και της τομάτας συνδέεται με την επιβίωση και την αύξηση θερμοανθεκτικών ανταγωνιστών μυκήτων του μύκητα *V. dahliae* ( Tjamos & Paplomatas, 1988· Tjamos *et al.*, 1991).

Για 20 περίπου χρόνια σε περισσότερες από 38 χώρες πραγματοποιείται εντατική ερευνητική εργασία για να ελεγχθεί κατά πόσον η εκμετάλλευση της ηλιακής ακτινοβολίας, για την αντιμετώπιση φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών, μπορεί να συμπληρώσει, να συνδυαστεί με ή να υποκαταστήσει τη χημική απολύμανση. Σε αυτές τις χώρες περιλαμβάνονται Ισραήλ, Η.Π.Α., Ελλάδα, Ιταλία, Μαρόκο, Πορτογαλία, Αίγυπτος, Ιορδανία, Κύπρος, Αγγλία, Αυστραλία, Ν. Αφρική, Ιαπωνία, Ιράκ, Ιορδανία, Πακιστάν (Katan & DeVay, 1991).

### 3. Περιγραφή ασθενειών

#### 3.1. Φελλώδης ή καστανή σηψιρριζία της τομάτας (corky ή brown root rot) Παθογόνο αίτιο ο μύκητας: *Pyrenochaeta lycopersici*

##### Γενικά

Η καστανή σηψιρριζία (corky ή brown root rot) είναι μία εδαφογενής ασθένεια της τομάτας, η οποία διαπιστώθηκε στην Ευρώπη, σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες, στις αρχές τις δεκαετίας του 1960. Αργότερα, παρατηρήθηκε σε θερμοκήπια στη Μασσαχουσέτη και σε υπαίθριες καλλιέργειες στην Καλιφόρνια και τη Φλώριδα των Ηνωμένων Πολιτειών (Pohronezny & Volin, 1991).

Η καστανή σηψιρριζία είναι μία ιδιαίτερα σοβαρή ασθένεια κυρίως στις υπό κάλυψη καλλιέργειες της τομάτας. Στην Ελλάδα διαπιστώθηκε για πρώτη φορά το 1976 στο Ν. Πρεβέζης και το 1979 στην Κρήτη και σήμερα αποτελεί πρόβλημα σε πολλές περιοχές (Τζάμος & Φαρίδης, 1980, Tjamos & Faridis, 1982, Malathrakis *et al.*, 1983, Tjamos, 1984). Η ασθένεια προκαλείται από το μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* (Shneider & Gerlach), ο οποίος προσβάλλει κυρίως τη τομάτα (*Lycopersicon esculentum*) και τη μελιτζάνα (*Solanum melogena*). Αναφέρεται όμως ότι προσβάλλονται και η πιπεριά (*Capsicum annum*), η πατάτα (*Solanum tuberosum*) και ο καπνός (*Nicotiana tabacum*). Απομονώσεις του μύκητα από φυτά πιπεριάς και καπνού δυνατόν να μολύνουν φυτά τομάτας, αλλά εμφανίζουν διακύμανση ως προς την παθογένειά τους. Ο μύκητας εμφανίζεται σχεδόν αποκλειστικώς σε καλλιέργειες υπό κάλυψη. Πρόσφατα όμως δεδομένα για την Ευρώπη αναφέρουν ότι διαπιστώθηκε και σε υπαίθριες καλλιέργειες στην Νότια Ιταλία (Ciccarese *et al.* 1994).

##### Το παθογόνο αίτιο

Ο μύκητας *Pyrenochaeta lycopersici* ανήκει στους ατελείς μύκητες (Deuteromycotina, Coelomycetes). Στη φύση εμφανίζεται υπό τη μορφή γκρίζου, μυκηλίου, το οποίο δεν παράγει καρποφορίες, παράγει δε και σληρώτια, τα οποία επιβιώνουν στο έδαφος για δύο τουλάχιστον χρόνια (Dixon, 1988). Ο μύκητας σε καθαρή καλλιέργεια στο εργαστήριο σχηματίζει απλά, τριχωτά, καστανά, πυκνίδια διαμέτρου 150-300 μm, εντός των οποίων παράγονται μονοκύτταρα, υαλώδη, ελλειψοειδή, πυκνιδιοσπόρια διαστάσεων 4,5-8x1,5-2

μμ. Σχηματική περιγραφή δίδεται στην *Εικόνα 3* (Punithalingam & Holliday, 1973).

Το εδαφογενές αυτό παθογόνο είναι βραδυτάτης αναπτύξεως. Πράγματι δεν αποικίζει γρήγορα το ριζικό σύστημα των φυτών, ή το έδαφος μετά από απολύμανση. Το εύρος της θερμοκρασίας αναπτύξεώς του κυμαίνεται μεταξύ 8-32 °C, αλλά η εξέλιξη της ασθένειας είναι βραδυτάτη. Απαιτούνται πολλές εβδομάδες από την αρχική μόλυνση των ριζών μέχρις ότου εμφανιστούν τα πρώτα συμπτώματα. Απώλειες της παραγωγής σε ποσοστά 8-20% έχουν συνδεθεί με μολύνσεις 10-15% από το παθογόνο οκτώ εβδομάδες μετά την εγκατάσταση της φυτείας (Dixon, 1988).

### Συμπτωματολογία

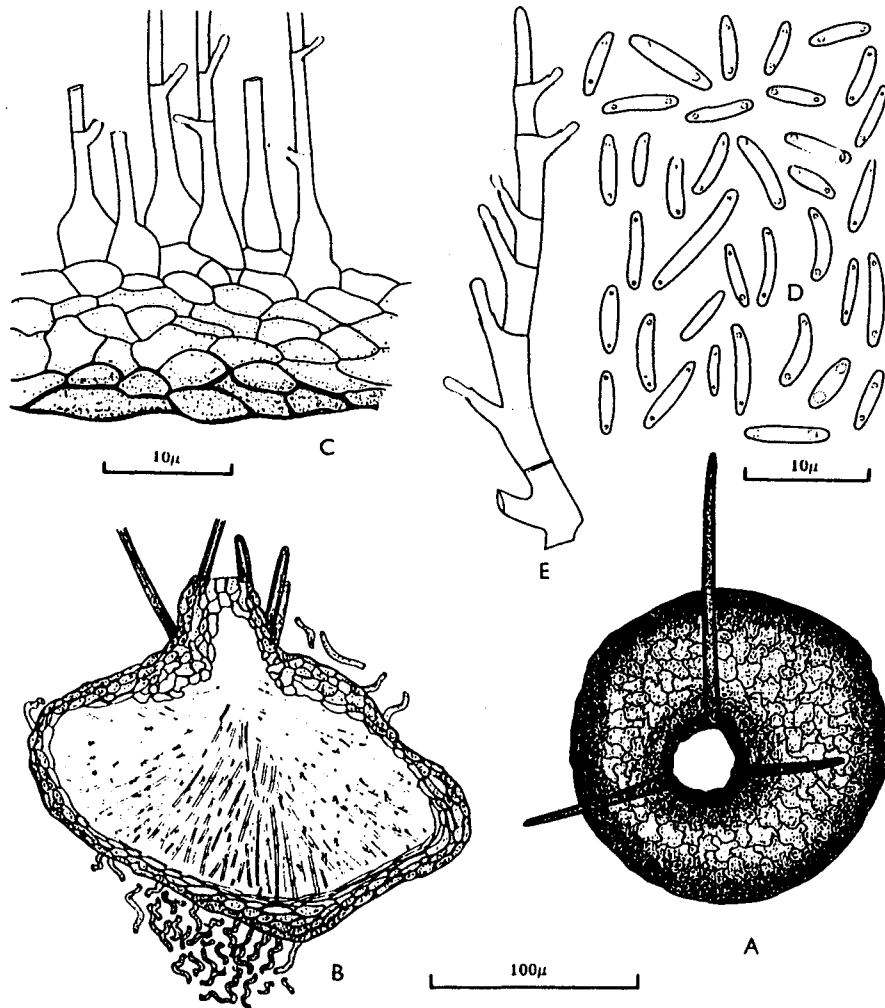
Τα πρώτα συμπτώματα της ασθένειας εμφανίζονται, στα θερμοκήπια, στις αρχές του χειμώνα και γίνονται εντονότερα τους επόμενους μήνες μέχρι τον Μάρτιο. Τα ασθενή φυτά εμφανίζουν χλώρωση του φυλλώματός τους και καθυστέρηση της αναπτύξεώς τους (*Εικόνα 4*). Τα φύλλα συστρέφονται προς τα κάτω και συχνά νεκρώνονται. Σε επόμενο στάδιο τα έντονα προσβεβλημένα φυτά αποξηραίνονται (*Εικόνα 5*). Συχνότερα τα ασθενή φυτά δεν ξηραίνονται αλλά παραμένουν καχεκτικά, νάνα και ελάχιστα παραγωγικά. Στις ρίζες των φυτών παρουσιάζεται καστανός μεταχρωματισμός και ξηρή σήψη. Ο μεταχρωματισμός αυτός των ιστών, πιθανόν να οφείλεται στα υψηλά επίπεδα των φαινολοξειδασών και υπεροξειδάσης που σχηματίζονται στους ιστούς των ριζών.

Επί του ενεργού ριζικού συστήματος εμφανίζονται κατά τη διάρκεια ενός μηνός από τη μεταφύτευσή τους μικρές καστανές κηλίδες, οι οποίες αργότερα αυξάνουν σε μέγεθος, συνεννοούνται με άλλες και προκαλούν τη σήψη του φλοιώδους παρεγχύματος των ριζών. Στις παλαιότερες και μεγαλύτερες ρίζες σχηματίζονται παρόμοιες κηλίδες, οι οποίες εξελισσόμενες προκαλούν τη διόγκωση και φελλοποίηση των προσβεβλημένων ιστών (*Εικόνα 6*). Η επιφάνεια των προσβεβλημένων ριζών σχίζεται κατά μήκος και ρυτιδούται. Πιθανώς να παρατηρηθεί και σήψη στη βάση του στελέχους. Οι προσβεβλημένες ρίζες δεν παρουσιάζουν μεταχρωματισμό των αγγείων. Μερικές φορές πάνω στις προσβεβλημένες ρίζες παρατηρούνται μικροσκοπικά μελανά σκληρώτια (*Εικόνα 7*). Τελικά οι προσβεβλημένες ρίζες σήπονται, το φυτό χάνει το μεγαλύτερο μέρος του ριζικού του συστήματος και γίνεται εξαιρετικά χλωρωτικό καχεκτικό και συχνά αποξηραίνεται την περίοδο των χαμηλών θερμοκρασιών.

### Αντιμετώπιση της ασθένειας

Η χημική αντιμετώπιση της ασθένειας μετά από την εγκατάσταση της φυτείας και την εκδήλωση των συμπτωμάτων δεν είναι εφικτή. Το αποτελεσματικότερο ως εκ τούτου μέτρο προληπτικής αντιμετώπισεως της φελλώδους σηψιρριζίας είναι η απολύμανση του εδάφους. Σε πειράματα που έγιναν στη χώρα μας (Tjamos & Faridis, 1980· Τζάμος & Φαρίδης, 1982) διαπιστώθηκε ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως σε μολυσμένα εδάφη

# PYRENOCHAETA LYCOPERSICI



Α. Εξωτερική επιφάνεια πυκνιδίου, Β. εγκάρσια τομή πυκνιδίου κατ' άξονα,  
 Γ. τμήμα τοιχώματος πυκνιδίου, με το εσωτερικό στρώμα, κονιδιοφόροι,  
 μητρικά κύτταρα κονιδιοφόρων και κονίδια, Δ. κονίδια, Ε. κονιδιοφόροι,  
 μητρικά κύτταρα κονιδιοφόρων και κονίδια.

Στοιχεία από τους Punithalingam & Holliday, 1973.

**Εικόνα 3.** Σχηματική περιγραφή του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*.



**Εικόνα 4.** Συμπτώματα προσβολής τοματοφύτων από το μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*. Μαράνσεις, κιτρινίσματα, χλωρώσεις, νεκρώσεις των φύλλων .





**Εικόνα 5.** Έντονα συμπτώματα επισχέσεως της αναπτύξεως τοματοφύτου λόγω προσβολής από το μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* (νανισμός). Μαράνσεις επάκριων και νεκρώσεις κατωτέρων φύλλων . Δεξιά υγιές φυτό.



**Εικόνα 6.** Έντονα συμπτώματα καστανής σηφιρριζίας λόγω προσβολής από το μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* (φελλοποίηση και καταστροφή δευτερογενών και κύριας ρίζας).



**Εικόνα 7.** Σχηματισμός σκληρωτίων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* σε ιστούς προσβεβλημένης ρίζας τομάτας (μικροσκοπικό παρασκεύασμα).

είναι πολύ αποτελεσματική εναντίον του μύκητα. Επιτυχής είναι επίσης και η εφαρμογή χημικής απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο ή χλωροπικρίνη (Dixon, 1988). Πολύ καλά αποτελέσματα επιτυγχάνονται επίσης και με συνδυασμό χημικής απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο (σε πολύ μειωμένες δόσεις 17-34g/ m<sup>2</sup>) και ηλιοαπολυμάνσεως (Μαλαθράκης, 1983· Tjamos, 1984).

Ένα άλλο μέτρο αντιμετώπισης της ασθένειας είναι η χρησιμοποίηση ανθεκτικών ποικιλιών. Αρχικά χρησιμοποιήθηκαν άγρια, ανθεκτικά είδη του γένους *Lycopersicon* spp. ως υποκείμενο και εκολούθησε εμβολιασμός της εμπορικής ποικιλίας. Αργότερα μεταφέρθηκαν γόννοι αντοχής από το γένος *Lycopersicon* spp. στην τομάτα για τη δημιουργία ανθεκτικών ποικιλιών. Το είδος *L. glandulosum* περιέχει έναν κυρίαρχο γόνο αντοχής, αλλά αυτός έχει χαμηλό δείκτη κυριαρχίας και όταν υπάρχει στο ετερόζυγο στάδιο, η έκφρασή του επηρεάζεται από το περιβάλλον. Μερικώς κυρίαρχοι γόννοι για αντοχή, βρέθηκαν στα *L. esculentum* var. *cerasiforme* και *L. chilense*. Οι γόννοι ΡΙς 260397, 262906 και 203231 διατηρούν την αντοχή εναντίον του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*, αλλά η κληρονομικότητα είναι πολύ χαμηλή 25-43% και ο ελάχιστος αριθμός των γόννων που περιλαμβάνονται είναι μεταξύ 4-8 (Shishkoff & Cambell, 1990).

Υπάρχουν επίσης ενδείξεις δυνητικής βιολογικής καταπολεμήσεως, από παρατηρήσεις όπου μη παθογόνα στελέχη εδαφογενών μυκήτων του είδους *Fusarium oxysporum* παρεμποδίζουν τη διείσδυση του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* στις ρίζες τοματοφύτων. Σε φυσικά εδάφη η ισορροπία των οργανισμών αυτών εξαρτάται από τη θερμοκρασία (Dixon, 1984). Επίσης αναφέρθηκε ότι ανταγωνιστές που ανήκουν σε βακτήρια του γένους *Streptomyces* μειώνουν την ένταση της ασθένειας σε ανθεκτικές ποικιλίες (Ciccarese *et al.*, 1994).

### **3.2. Βακτηριακό έλκος της τομάτας (bacterial canker of tomato)** **Παθογόνο αίτιο: το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis***

#### *Γενικά*

Το βακτηριακό έλκος της τομάτας, είναι μια ασθένεια που αποτελεί έναν από τους περιοριστικούς παράγοντες καλλιέργειας της τομάτας στα θερμοκήπια αλλά και σε υπαίθριες καλλιέργειες. Το αίτιο της ασθένειας είναι το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) (συν. *Corynebacterium michiganense*). Το παθογόνο περιγράφηκε για πρώτη φορά στον κόσμο το 1909 από τον E.F. Smith στο Μίσιγκαν των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής. Στην Ελλάδα αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1957 στην περιοχή του Ν. Πρεβέζης (Ζάχος & Γεωργόπουλος, 1957). Εκτοτε η παρουσία του διαπιστώθηκε σε καλλιέργειες τομάτας στην Βόρειο, Κεντρική, Νότιο και Κρήτη σε

διαφορετικές ποικιλίες και υβρίδια. Στην Ελλάδα η ασθένεια είναι περισσότερο διαδεδομένη σε σύγκριση με την επίσης σοβαρή βακτηρίωση της τομάτας που οφείλεται στο βακτήριο *Pseudomonas solanacearum* (Αλιβιζάτος, 1989).

#### Το παθογόνο αίτιο

Το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* έχει αναφερθεί σε άλλες χώρες ότι προσβάλλει στη φύση εκτός της τομάτας και άλλα είδη του γένους *Lycopersicon*, όπως τη γλυκιά πιπεριά (*Capsicum annuum*), τα είδη *Solanum mammosum*, *S. douglassii*, *S. nigrum* (αλλά όχι την πατάτα *Solanum tuberosum*) και τον καπνό *Nicotiana glutinosa* (Lelliott, 1988). Ακόμη ένας αριθμός σολανωδών ξενιστών είναι ευαίσθητοι σε τεχνητές μολύνσεις (Ark & Thomson, 1960· Thyg et al., 1975· Brandbury, 1986). Στην Ελλάδα έχει διαπιστωθεί μέχρι σήμερα μόνο στην τομάτα (Αλιβιζάτος, 1989).

Πρόκειται για ένα θετικό κατά Gram (Gram+) βακτήριο, μη σποριογόνο, που αναπτύσσεται αργά, παράγει πολυσακχαρίτες (Benhamon, 1991· Bulk et al., 1991) και δεν έχει μαστίγια. Παρατηρήσεις σε νεπτά παρασκευάσματα, που λαμβάνονται από φυτικούς ιστούς καθώς και από καθαρές καλλιέργειες του βακτηρίου, δείχνουν κύτταρα ραβδόμορφα, μονήρη ή κατά ζεύγη. Χαρακτηριστικά είναι τα σχήματα V και L ή N που σχηματίζουν ενωμένα βακτηριακά κύτταρα. Το μέγεθος των βακτηριακών κυττάρων διαφέρει ανάλογα με το υλικό αναπτύξεως, αλλά γενικά είναι 1,0-0,5 μm. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως 24-28 °C, ενώ το εύρος αναπτύξεώς του είναι 16-38 °C, και το σημείο θερμοκικού θανάτου του 53 °C. Σε θρεπτικό υλικό που περιέχει θρεπτικό ζωμό και άγαρ σχηματίζει αποικίες 1 mm σε διάστημα 3 ημερών, οι οποίες είναι λείες, κυκλικές, ελαφρά υπερυψωμένες, κιτρινωπές, αδιαφανείς, και στίλβουσες (Strider, 1969· Αλιβιζάτος, 1989).

#### Συμπτωματολογία

Το βακτηριακό έλκος της τομάτας προσβάλλει κυρίως τον αγγειώδη καθώς και τον παρεγχυματικό ιστό των φυτών και χαρακτηρίζεται από μια ευρύτητα συμπτωμάτων ανάλογα με τις διάφορες καλλιεργητικές τεχνικές (λίπανση, άρδευση, καλλιέργεια σε θερμοκήπιο ή σε αγρό), ηλικία των φυτών και την ευπάθεια της ποικιλίας στην ασθένεια (Tsiantos, 1987a). Η προσβολή των αγγειωδών δεσμίδων που είναι και η σοβαρότερη, οδηγεί σε μία προσωρινή αρχικά και αργότερα μόνιμη μάρανση με περιφερειακή ξήρανση των φυλλιδίων, που αποτελεί και το κύριο σύμπτωμα της ασθένειας (Εικόνα 8). Αυτά τα συμπτώματα εμφανίζονται συνήθως λίγο πριν από ή κατά την έναρξη της ωριμάνσεως των καρπών. Αρχικά εμφανίζονται μικρές υδατώδεις περιοχές περιφερειακά και μεσονεύρια που σύντομα αφυδατώνονται, αποξηραίνονται, αποκτούν ανοικτό καστανό χρώμα και επεκτείνονται δίνοντας την εικόνα περικαύματος των φυλλαρίων. Ακολούθως εμφανίζεται εντονότερος μαρασμός, ενίοτε απο τη μία πλευρά του βλαστού, που συνοδεύεται από

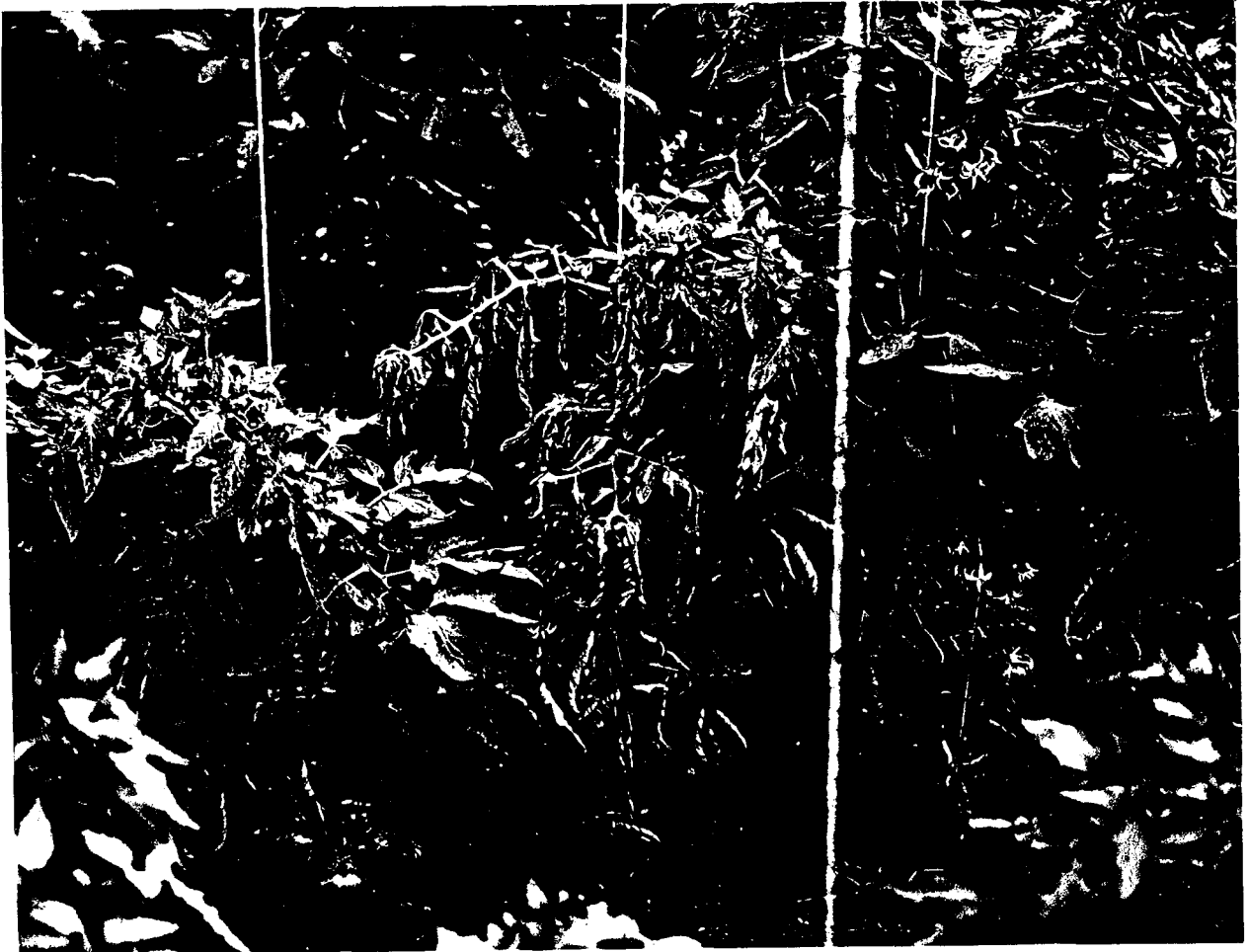


**Εικόνα 8.** Έντονα συμπτώματα μαράνσεως επάκριων φύλλων σε φυτό τομάτας προσβεβλημένο από το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

νέκρωση και επεκτείνεται στα ανώτερα φύλλα (Εικόνες 9α και 9β.). Ο καθολικός μαρασμός του φυτού εμφανίζεται σπάνια μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα. Οι καρποί πολύ προσβεβλημένων φυτών δεν αναπτύσσονται ή πέτουν, ενώ εσωτερικά παρουσιάζουν μεταχρωματισμό του αγγειώδους ιστού. Μπορεί επίσης να παρατηρηθεί νανισμός των φυτών και έκπτυξη νέων πλαγίων βλαστών από τη βάση του στελέχους. Σε φυτά με προχωρημένα συμπτώματα αποκολλάται εύκολα ο φλοιός του στελέχους, ο δε αποκαλυπτόμενος αγγειώδης ιστός είναι μαλακός, χρώματος υποκιτρίνου ή αχύρου και με ανώμαλη επιφάνεια. (Εικόνα 10). Ο μεταχρωματισμός του αγγειώδους ιστού σε τομή του στελέχους, της βάσεως των μίσχων ή των ποδίσκων, επεκτείνεται καθ' όλο το μήκος του βλαστού προς τα άνω, και προς τους πλαγίους βλαστούς, μίσχους φύλλων και ποδίσκους καρπών μέχρι και τους σπόρους (Εικόνα 11). Τα βακτήρια διαχέονται από τα αγγεία του ξύλου, προς τα πιο χυμώδη και τρυφερά μέρη όπως ο ηθμός, η εντεριώνη και ο φλοιός. Εκεί όπου δημιουργούν κοιλότητες και η εντεριώνη συχνά αποδιοργανώνεται τελείως, εξ' ου και η ονομασία "κούφωμα" της ασθένειας που χρησιμοποιείται στην Πρέβεζα από τους παραγωγούς (Εικόνα 12). Χαρακτηριστικό είναι επίσης και το σύμπτωμα του καστανού μεταχρωματισμού υπό μορφή "πετάλου αλόγου" που παρατηρείται, σε τομή, στο σημείο προσφύσεως του συνθέτου φύλλου με το στέλεχος (Εικόνα 13). Ο μεταχρωματισμός στο κάτω μέρος του στελέχους είναι αμυδρός ή απουσιάζει ολοσχερώς όταν πρόκειται για εναέριες προσβολές. Σε προχωρημένο στάδιο προσβολής παρουσιάζονται κοιλότητες του αγγειώδους ιστού, που επεκτείνονται στην εντεριώνη ή στο φλοιό μέχρι την εξωτερική επιφάνεια. Τούτο οδηγεί στο σχηματισμό σχισμών-ελκών στους βλαστούς, εξ' ου και το όνομα της ασθένειας, παρόλο που τα έλκη αυτά δεν παρατηρούνται συχνά (Εικόνα 14). Στις θερμοκηπιακές καλλιέργειες, όπου η ατμοσφαιρική υγρασία είναι πολύ υψηλή η μόλυνση του παρεγχυματικού ιστού είναι πιο συνήθης. Στα φύλλα αλλά και στα στελέχη, μίσχους, ποδίσκους και κάλυκες εμφανίζονται ελαφρά υπερυψωμένες, φλυκταινώδεις κηλίδες, που μπορεί να συνενώνονται. Οι κηλίδες αυτές αποκτούν χρώμα ανοικτό καστανό - αχύρου, έχουν ανώμαλη επιφάνεια και φελλώδη υφή. Στους πράσινους καρπούς παρατηρούνται επίσης υδατώδεις κηλίδες (διαμέτρου 3-6 μm) των οποίων το κέντρο νεκρώνεται, και μεταβάλεται σε καστανό. Συχνά είναι ελαφρά υπερυψωμένο και περιβάλλεται από λευκή άλως. Κατά την ωρίμανση του καρπού εξαφανίζεται η λευκή άλως και οι κηλίδες γίνονται νεκρωτικές σαν κρούστα και συνήθως συνενώνονται.

### *Επιδημιολογία*

Το παθογόνο είναι ένα εδαφογενές βακτήριο το οποίο, έχει την ικανότητα να μεταδίδεται με το σπόρο. Μπορεί επίσης να μεταδοθεί και να επεκταθεί από φυτού σε φυτό και μετά από την εγκατάσταση της φυτείας στον αγρό ή στο θερμοκήπιο. Το παθογόνο μπορεί να επιβιώσει τουλάχιστον 8 μήνες στο σπόρο παρά το γεγονός ότι μεγάλο ποσοστό του μολύσματος του σπόρου καταστρέφεται προ της σποράς. Μολυσμένος



**Εικόνα 9 α.** Συμπτώματα καθολικής μαράνσεως και επισχέσεως της αναπτύξεως σε φυτό τομάτας προσβεβλημένο από το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.





**Εικόνα 9 β.** Συμπτώματα νεκρώσεως σε φυτό τομάτας προσβεβλημένο από το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.



**Εικόνα 10.** Έντονα συμπτώματα νεκρώσεως και σχηματισμός ελκών σε φυτό τομάτας προσβεβλημένο από το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.



**Εικόνα 11.** Χαρακτηριστικό σύμπτωμα βακτηριακού έλκους της τομάτας σε τμήμα στελέχους του υβριδίου Jolly.



**Εικόνα 12.** Χαρακτηριστικό σύμπτωμα αλλοιώσεως των αγγείων του ξύλου και του παρεγχύματος λόγω παρουσίας του παθογόνου.



**Εικόνα 13.** Μεταχρωματισμός των αγγείων του ξύλου υπό μορφή "πετάλου αλόγου" στη βάση του μίσχου των φύλλων προσβεβλημένου φυτού τομάτας από το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.



(α)



(β)

**Εικόνα 14 .** α) Σύμπτωμα πλευρικής μαράνσεως φυλλιδίων.

β) Καστανός μεταχρωματισμός αγγείων του ξύλου και νεκρώσεις φυλλιδίων και συνθέτων φύλλων σε στέλεχος φυτού τομάτας.

σπόρος σε ποσοστό 1% μπορεί να οδηγήσει σε 100% μολυσμένα φυτά στον αγρό. Το βακτήριο επιβιώνει επίσης στα μολυσμένα φυτικά υπολείμματα της καλλιέργειας που ενσωματώνονται στο έδαφος, στους πασσάλους υποστηρίξεως, στις κατασκευές του θερμοκηπίου και τα γεωργικά εργαλεία. Είναι ενδεχόμενο ότι το βακτήριο δεν επιβιώνει στο έδαφος αυτό καθ' εαυτό (Lelliott, 1988). Μεταφέρεται με τα μολυσμένα φυτάρια στον αγρό και μεταδίδεται με ορισμένες καλλιεργητικές φροντίδες, όπως το κλάδεμα των φυτών, την αποφύλλωση των κατωτέρων φύλλων και τη συγκομιδή. Ορισμένοι επίσης ψεκασμοί των φυτών εναντίον άλλων παθογόνων συμβάλλουν στην παθητική μεταφορά του βακτηρίου με τα σταγονίδια του ψεκαστικού υγρού από μολυσμένα σε υγιή φυτά. Υπό συνθήκες υψηλής σχετικής υγρασίας εννοείται η είσοδος του βακτηρίου από πληγές, στομάτια, υδατόδια, τριχίδια ως και η μετάδοσή του με τα ενδύματα των εργατών. Τα τριχίδια του φυλλώματος της τομάτας φαίνεται ότι αποτελούν ιδιαίτερα ευάλωτες θέσεις εισόδου για το παθογόνο (Tsiantos, 1987b). Η είσοδος και εν συνεχεία η μόλυνση του φύλλου λαμβάνει χώρα στην άνω επιφάνεια των νεαρότερων φύλλων, τα οποία είναι πιο ευπαθή από τα παλαιότερα που έχουν λιγότερα τριχίδια ανά μονάδα επιφανείας. Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι τα μακρυνά με λοβώδεις βάσεις τριχίδια προσβάλλονται με μεγαλύτερη συχνότητα από τα κοντά ή αδενώδη τριχίδια (Layne, 1967). Η εξάπλωση του βακτηρίου εννοείται επίσης από τη βροχή και την άρδευση με τεχνητή βροχή ιδίως όταν συνοδεύονται από ανέμους. Όταν η ασθένεια εκδηλώνεται με διασυστηματική μορφή, είναι πιθανόν η προσβολή να ξεκινά από μολυσμένο σπόρο ή φυτάρια που μολύνθηκαν στο σπορείο πριν από τη μεταφύτευση. Όπου η διασυστηματική προσβολή είναι λιγότερο συχνή, και παρατηρείται προσβολή παρεγχυματικών ιστών, είναι πολύ πιθανόν οι αρχικές εστίες μόλυνσεως να είναι τα φυτικά υπολείμματα μάλλον παρά οι σπόροι. Η ασθένεια μπορεί να αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες αέρος και εδάφους 16-36 °C, με άριστη όμως θερμοκρασία αναπτύξεως 24-28 °C.

#### *Αντιμετώπιση της ασθένειας*

Το βακτηριακό έλκος είναι σοβαρότατη ασθένεια της τομάτας. Οι ζημιές οφείλονται στις απώλειες φυτών, στη μείωση της παραγωγής και στις αυξημένες δαπάνες για την εφαρμογή μέτρων υγιεινής (απολυμάνσεις κ.ά.). Χωρίς την εφαρμογή σειράς καλλιεργητικών φροντίδων η ασθένεια προκαλεί συχνά απώλειες στην παραγωγή που ανέρχονται μέχρι και 70 % (Αλιβιζάτος, 1989). Η βακτηρίωση αυτή της τομάτας δεν αντιμετωπίζεται, ιδιαίτερα μετά από την εγκατάστασή της. Ο εντοπισμός των ασθενών φυτών στα πρώτα στάδια αναπτύξεως τους είναι δύσκολος, ενώ η χημική καταπολέμηση του βακτηρίου σε ήδη μολυσμένα φυτά είναι δυσχερέστατη έως και αδύνατη. Η δημιουργία ανθεκτικών ποικιλιών παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον. Πρόοδος στην ανάπτυξη ανθεκτικών στο βακτηριακό έλκος της τομάτας ποικιλιών έχει γίνει τόσο με την εφαρμογή παραδοσιακών μεθόδων αναπαραγωγής όσο και βιοτεχνολογικών προσεγγίσεων, αλλά

παραμένουν ακόμη πολλά σημεία να ερευνηθούν. Παρά ταύτα, είναι πιθανόν ότι εμπορικές ποικιλίες, με ικανοποιητική αντοχή στο βακτηριακό έλκος, θα είναι διαθέσιμες στο μέλλον (Gleason *et al.*, 1993). Επί του παρόντος μερική μόνο ανθεκτικότητα έχει αναφερθεί και έχουν αρχίσει ήδη προγράμματα δημιουργίας ανθεκτικών ποικιλιών στην Ολλανδία (Loffler *et al.* 1989). Ανθεκτικές στο βακτηριακό έλκος της τομάτας θεωρούνται οι ακόλουθες ποικιλίες: Bulgaria 12, Utah 737, Utah 20, H 2990, Heinz 2274, BOG AT69 (Παναγόπουλος, 1995).

Τα μέτρα που συνιστώνται σήμερα για την αντιμετώπιση της ασθένειας είναι τα ακόλουθα:

- Εκρίζωση των ασθενών φυτών με το ριζικό τους σύστημα και καταστροφή σε φωτιά.

- Διακοπή της αρδεύσεως με τεχνητή βροχή και ειδικότερα πλήρης διακοπή παροχής ύδατος στις θέσεις των ασθενών φυτών. Η εφαρμογή του συστήματος της στάγδην αρδεύσεως περιορίζει την εξάπλωση της ασθένειας, αλλά και στην περίπτωση αυτή συνιστάται η διακοπή της αρδεύσεως στις θέσεις των ασθενών φυτών.

- Αποφυγή δημιουργίας πληγών στο υπόγειο τμήμα των φυτών (από έντομα, εργαλεία, κ.ά.) καθώς και η αποφυγή επαφής των πληγωμένων μερών του υπεργείου τμήματος (μίσχων, ποδίσκων, βλαστών, κ.ά.) με το έδαφος ή τυχόν νερό ποτίσματος στα αυλάκια.

- Απολύμανση των εργαλείων κλαδέματος εν όσο γίνεται κλάδεμα των φυτών, με συνεχή εμβάπτιση σε καθαρό οινόπνευμα ή 5% διάλυμα φορμόλης εμπορίου σε νερό (v/v). Την ίδια ημέρα και αμέσως μετά το κλάδεμα πρέπει να γίνεται ψεκασμός των φυτών με ένα χαλκούχο σκεύασμα (βορδιγάλειο πολτό 1%, υδροξείδιο του χαλκού (Kocide κ. ά.) 0.5%(w/v), οξυχλωριούχο χαλκό 0.5%( w/v) κ.ά.).

- Ψεκασμός με χαλκούχα σκευάσματα μετά από τη διαπίστωση προσβολής των φυτών από το βακτήριο.

- Αφαίρεση των φυτικών υπολειμμάτων στο τέλος της καλλιέργειας (μαζί με το ριζικό σύστημα ) και καταστροφή με φωτιά.

- Εφαρμογή τριετούς αμειψισποράς με φυτά ανθεκτικά στο βακτήριο για υπαίθριες καλλιέργειες.

- Χρησιμοποίηση υγιούς σπόρου.

- Αποφυγή διόδου του νερού ποτίσματος από αγρούς ή θερμοκήπια με ασθενή φυτά.

- Αλλαγή του χώματος των σπορειών ή απολύμανσή του με φορμόλη ή ατμό.

#### *Η αδυναμία καταπολέμησης του παθογόνου με την εφαρμογή βρωμιούχου μεθυλίου*

Από πειραματικά δεδομένα, ορισμένα βακτήρια επιβίωσαν σε πολύ υψηλές δόσεις τοξικών ουσιών, ενώ άλλα θανατώθηκαν σε σχετικά χαμηλές δόσεις τέτοιων ουσιών. Επί



παραδείγματι οι Mai *et al.* (1951), χρησιμοποιώντας ξηρό μόλυσμα του βακτηρίου *Corynebacterium sepedonicum*, σε οδοντογλυφίδες και μετά από απολύμανσή του σε θάλαμο υψηλής πίεσεως, με 6 λίμπρες / 100 f<sup>2</sup> (88,2 g/ m<sup>2</sup>) βρωμιούχου μεθύλιου, δεν κατάφεραν να θανατώσουν το βακτήριο. Επίσης, οι MacLachan *et al.* (1953), απέτυχαν να καταστρέψουν το ίδιο βακτήριο με την εφαρμογή απολυμάνσεως με αμμωνία, χλωρίνη, χλωροπικρίνη, θειικό οξύ, βρωμιούχο μεθύλιο, ή διθειάνθρακα (50, 100, 150 mg/ L για 8 ή 16 ώρες) αν και το οξικό αιθυλένιο ήταν τοξικό. Οι Munnecke & Ferguson (1960), ακολούθησαν τη μέθοδο της βυθίσεως προσβεβλημένων φυτικών ιστών, με το βακτήριο *Corynebacterium michiganense*, (όπως ήταν γνωστό τότε στη βιβλιογραφία) σε πλαστικές σακκούλες, σε βάθος εδάφους 5 cm, και απολύμαναν με βρωμιούχο μεθύλιο. Στη συνέχεια έκαναν έλεγχο της βιωσιμότητας του βακτηρίου, με μόλυνση ευαίσθητων φυτών ξενιστών. Τα αποτελέσματά τους καταγράφησαν βάσει της εκδηλώσεως ή μη ασθeneίας στα μολυνθέντα φυτά. Για την περίπτωση απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο προσβεβλημένων φυτικών ιστών με το βακτήριο *C. michiganense*, 1-2 λίμπρες / 100 f<sup>2</sup> (14,7-27,8 g/ m<sup>2</sup>), δεν ήταν αποτελεσματικά για την αντιμετώπιση του βακτηρίου, ενώ πιθανή θανατηφόρος δόση μπορεί να θεωρηθεί 3 λίμπρες /100 f<sup>2</sup> (42 g/ m<sup>2</sup>). Συγκριτικά αναφέρεται ότι για τα βακτήρια *Agrobacterium tumefaciens* και *Xanthomonas pelargonii* οι θανατηφόρες δόσεις ήταν χαμηλότερες.

Για την αποτελεσματική αντιμετώπιση του βακτηρίου *C. michiganense* απαιτούνται μεγαλύτερες δόσεις βρωμιούχου μεθύλιου, από αυτές που απαιτούνται για τη θανάτωση των μυκήτων, δηλαδή δόση μεγαλύτερη από 480 g/ m<sup>2</sup> για την περίπτωση προσβεβλημένων φυτικών ιστών βυθισμένων στο έδαφος. Εφαρμογή του βρωμιούχου μεθύλιου σε δόσεις μεταξύ 50-80 g / m<sup>2</sup> δεν μείωσε τον αριθμό των προσβεβλημένων φυτών. Είναι γνωστό ότι το βρωμιούχο μεθύλιο στις συνιστώμενες δόσεις δεν είναι ικανό να μειώσει το μόλυσμα του βακτηρίου και στις περισσότερες περιπτώσεις αυξάνεται σημαντικά ο αριθμός των προσβεβλημένων φυτών. Αναφέρεται επίσης ότι η παρουσία οργανικής ουσίας στο έδαφος βοηθά στην επιβίωση του βακτηρίου (Slusaraski, 1983).

### Ηλιοαπολύμανση

Η ηλιοαπολύμανση, ως εναλλακτική μέθοδος απολυμάνσεως του εδάφους, αν και έχει εφαρμοστεί για την αντιμετώπιση μεγάλου αριθμού παθογόνων εδάφους κατά τα δεκαοκτώ και πλέον χρόνια της εφαρμογής της, δεν υπάρχουν δεδομένα για την αποτελεσματικότητάς της εναντίον ασθeneιών που προκαλούνται από φυτοπαθογόνα βακτήρια εδάφους.

Παρά το γεγονός ότι έχει διερευνηθεί και μελετηθεί σε βάθος η σημασία της θερμοότητας τόσο στην επιβίωση όσο και στην ανάπτυξη των βακτηρίων, καθώς και η σημασία των ισορροπιών που επικρατούν μεταξύ των βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων

του εδάφους, τα βιβλιογραφικά δεδομένα για την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως στην αντιμετώπιση βακτηριολογικών ασθενειών είναι πολύ περιορισμένα. Οι εργασίες που έχουν γίνει κατά τα τελευταία χρόνια αναφέρονται στην αντιμετώπιση, με την εφαρμογή της μεθόδου, μεμονομένων γενών βακτηρίων (*Agrobacterium* sp., *Streptomyces* sp. και *Pseudomonas solanacearum*), όπως έχει ήδη αναφερθεί σε εισαγωγικό κεφάλαιο. Για την αντιμετώπιση του βακτηριακού έλκους της τομάτας, με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως, δεν υπήρχαν μέχρι σήμερα πειραματικά δεδομένα τα οποία να αποδεικνύουν την αποτελεσματικότητα ή μη της μεθόδου.

## 4. Αντικειμενικός σκοπός της παρούσης διδακτορικής διατριβής

Δεδομένου ότι η μέθοδος της ηλιοαπολυμάνσεως εφαρμόζεται σήμερα στη γεωργική πράξη, με την παρούσα μελέτη επιδιώχθηκε:

1) ως πρώτο σκέλος να διαπιστωθεί η επίδραση της μεθόδου στην επιβίωση σκληρωτίων ή φυσικών μολυσμάτων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*, ως και η αποτελεσματικότητα της μεθόδου σε σύγκριση με εκείνη των απολυμάνσεων με βρωμιούχο μεθύλιο για την αντιμετώπιση της ασθένειας σε καλλιέργειες τομάτας σε θερμοκήπια. Επίσης, να διαπιστωθεί εάν η μέθοδος είναι εξ' ίσου αποτελεσματική με τη χημική απολύμανση του εδάφους κατά του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*, ο οποίος αποτελεί ιδιαίτερο πρόβλημα στην καλλιέργεια της τομάτας κατά τη χειμερινή περίοδο στις θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας σε περιοχές της Δ. Ελλάδος και της Κρήτης. Πέραν της υπάρξεως ή μη ανάλογης αποτελεσματικότητας εκφραζομένης ως δείκτη ασθένειας και ως ύψος αποδόσεων, επιδιώχθηκε να προσδιορισθεί η θερμική ευαισθησία των σκληρωτίων του παθογόνου, τόσο στο εργαστήριο όσο και σε πειράματα εφαρμογής ηλιοαπολυμάνσεως στον αγρό. Τέλος, στην εργασία ελέγχθηκε προκαταρκτικώς η ανταγωνιστική ικανότητα θερμοανθεκτικών μικροοργανισμών που επιβιώνουν της ηλιοαπολυμάνσεως, κατά του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*.

2) ως δεύτερο σκέλος να ερευνηθεί εάν η ηλιοαπολύμανση του εδάφους μπορεί να αποτελέσει μία εναλλακτική μέθοδο προσεγγίσεως στην αντιμετώπιση της αδροβακτηριώσεως της τομάτας, για την οποία δεν υπάρχουν διεθνώς δεδομένα αντιμετώπισεως της, με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως. Το σκέλος αυτό της μελέτης αποσκοπούσε στο να διερευνήσει τις δυνατότητες αντιμετώπισεως του βακτηριακού έλκους της τομάτας, με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως. Περαιτέρω, ο πειραματισμός απέβλεπε στην επίλυση της αντιμετώπισεως του βακτηριακού έλκους της τομάτας, σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως.

Αναλυτικότερα το δεύτερο σκέλος της διδακτορικής διατριβής είχε ως επιδιωκόμενους σκοπούς τους ακόλουθους:

α) Αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στην αντιμετώπιση του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* σε θερμοκήπια τομάτας με συγκεκριμένα ερωτήματα.

ι) Είναι η ηλιοαπολύμανση αποτελεσματική στην αντιμετώπιση μιας

αδροβακτηριώσεως η οποία έχει πολλούς τρόπους μόλυνσεως των φυτών;

ii) Είναι η εδαφική φάση του βακτηρίου ιδιαίτερα σημαντική από επιδημιολογικής απόψεως;

iii) Ποιά είναι η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στην επιβίωση και αύξηση θερμοανθεκτικών βακτηρίων που αναπτύσσονται στη ριζόσφαιρα φυτών τομάτας και ποιιά είναι η ανταγωνιστική δράση τους εναντίον του *C. m. subsp. michiganensis* ;

iv) Ποιά είναι η δυνατότητα της μεθόδου ώστε να εφαρμοστεί αποτελεσματικά και σε εμπορική κλίμακα;

β) Ποιά είναι η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως σε πληθυσμούς του *C. m. subsp. michiganensis* που ενσωματώνονται στο έδαφος;

i) Ποιά είναι η ευαισθησία του παθογόνου στις θερμοκρασίες που αναπτύσσονται κάτω από το καλυμμένο με πλαστικό έδαφος;

ii) Πώς διαφορίζεται η διακύμανση του πληθυσμού του βακτηρίου μεταξύ εδαφών όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση, η απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο και εδάφους-μάρτυρα;

3) ως τρίτο σκέλος να μελετηθεί η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στη διακύμανση φυσικών πληθυσμών θερμοανθεκτικών βακτηρίων και μυκήτων της ριζόσφαιρας; Το σκέλος αυτό της μελέτης αποσκοπούσε στον έλεγχο της ποσοτικής διαφοροποίησης πληθυσμού βακτηρίων που ανήκουν στα γένη *Pseudomonas*, *Bacillus* και της ομάδος *Streptomyces*, μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως και εγκαταστάσεως της καλλιέργειας της τομάτας. Η μελέτη αφορούσε στους πληθυσμούς που αναπτύσσονται στη ριζόσφαιρα και περιελάμβανε επίσης τη διακύμανση πληθυσμών θερμοανθεκτικών μυκήτων που ανήκουν στα γένη *Talaromyces* και *Aspergillus* των Eurotiales, που θεωρούνται ως δυνητικοί ανταγωνιστές παθογόνων μυκήτων εδάφους.

# **II. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

# 1. Θερμική ευαισθησία σκληρωτίων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* στην ηλιοαπολύμανση του εδάφους και επίδραση της απλής και της επαναλαμβανόμενης ετησίως εφαρμογής της μεθόδου στην αντιμετώπιση της ασθένειας σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας

## 1.1. Η ασθένεια στην Ελλάδα και η αποτελεσματικότητα της ηλιοαπολυμάνσεως στην αντιμετώπιση της φελλώδους σηψιρριζίας της τομάτας (*Pyrenochaeta lycopersici* συν. *P. lycopersici*)

Τα συμπτώματα της φελλώδους σηψιρριζίας σε φυτείες τομάτας παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά στην περιοχή του Ν. Πρεβέζης κατά τη διάρκεια της ανοίξεως του 1976 (Τζάμος & Φαρίδης, 1982· Tjamos & Faridis, 1980). Αν και απομονώθηκαν εύκολα εδαφογενή παθογόνα όπως οι μύκητες *Colletotrichum coccodes* και είδη του γένους *Fusarium*, απεδείχθη ότι κυρίως συνέβαλλε στη συμπτωματολογία της ασθένειας ο μύκητας *Pyrenochaeta lycopersici* (Κορνάρου & Τζάμος, 1982). Το παθογόνο αυτό είχε επίσης αναφερθεί και στην Κρήτη (Karpetanakis *et al.*, 1982, Malathrakis *et al.*, 1983).

Η εκδήλωση έντονων συμπτωμάτων της ασθένειας είναι ιδιαίτερα σοβαρή σε θερμοκήπια όπου δεν έχει εφαρμοστεί απολύμανση. Δεδομένου ότι οι ποικιλίες τομάτας, ανθεκτικές στην ασθένεια δεν έχουν εμπορική σημασία, η απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο αποτελεί την πλέον αποτελεσματική μέθοδο αντιμετώπισης της ασθένειας. Παράλληλα όμως έχει αποδειχθεί ότι η ηλιοαπολύμανση μπορεί να ελαχιστοποιήσει τα συμπτώματα της ασθένειας, αλλά η αποτελεσματικότητα της μεθόδου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την υφή και δομή του εδάφους (Tjamos & Faridis, 1980).

Έχει επίσης αναφερθεί ότι το παθογόνο μπορεί να αντιμετωπισθεί με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους θερμοκηπίων στο Ισραήλ (Katan, 1981). Στην Κρήτη έχει παρατηρηθεί ότι η εφαρμογή της μεθόδου είναι εξ' ίσου αποτελεσματική εναντίον του παθογόνου σε σύγκριση με την εφαρμογή χημικών απολυμαντικών όπως του Dazomet (70 g / m<sup>2</sup>), Di-Trapex (50 ml / m<sup>2</sup>) και βρωμιούχου μεθυλίου (70 g / m<sup>2</sup>), ενώ ο συνδυασμός της ηλιοαπολυμάνσεως με το Dazomet (30 g / m<sup>2</sup>) δεν αυξάνει την αποτελεσματικότητα της ηλιοαπολυμάνσεως (Malathrakis *et al.*, 1983). Ο συνδυασμός μειωμένων δόσεων βρωμιούχου μεθυλίου με ηλιοαπολύμανση είναι επίσης αποτελεσματικός στην

καταπολέμηση της ασθένειας (Tjamos, 1984).

## 1.2. Σκοπός της ερεύνης

Στην παρούσα εργασία μελετώνται:

- η επίδραση των επαναλαμβανόμενων ετησίως εφαρμογών της ηλιοαπολυμάνσεως στην αποτελεσματική αντιμετώπιση του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*, εκφρασμένη ως δείκτης ασθένειας και ως παραγωγή καρπών τομάτας,

- η επίδραση της μεθόδου στη νέκρωση μολυσμάτων ή σκληρωτίων του μύκητα τόσο σε υπάρχοντες φυσικούς πληθυσμούς στο έδαφος όσο και σε σκληρώτια που παρήχθησαν στο Εργαστήριο και τοποθετήθηκαν σε διάφορα βάθη εντός του εδάφους όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση επί ορισμένα χρονικά διαστήματα,

- η θερμοκή ευπάθεια των σκληρωτίων του μύκητα στην έκθεση, για διαφόρους χρόνους, στις μέγιστες θερμοκρασίες που παρατηρούνται κατά την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως.

## 1.3. Υλικά και Μέθοδοι

### 1.3.1. Πειράματα εργαστηρίου

#### 1.3.1.1. Θρεπτικά υποστρώματα

Η αναλογία των χημικών αντιδραστηρίων για όλα τα θρεπτικά υποστρώματα αντιστοιχεί ανά λίτρο απεσταγμένου νερού.

WA (Νερό απεσταγμένο και Άγαρ)

Άγαρ	20 g
Νερό απεσταγμένο	1 L

PDA ( Εκχύλισμα πατάτας, Δεξτρόζη, Άγαρ)

Εκχύλισμα πατάτας	200 g
Δεξτρόζη	20 g
Άγαρ	20 g

APDA (οξινομένο PDA) με την προσθήκη 30-40 μl γαλακτικού οξέος ανά 10 ml θρεπτικού υποστρώματος PDA, σε κάθε τρυβλίο.

( V8 ) Εκχύλισμα λαχανικών ( Miller, 1955)

V8 ( συσκευασία εμπορίου)	200 ml
---------------------------	--------

CaCO <sub>3</sub>	2,5 g
Άγαρ	15 g
Νερό απεσταγμένο	800 ml

*Τροποποιημένο V8*

V8( συσκευασία εμπορίου)	400 ml
CaCO <sub>3</sub>	5 g
Άγαρ	15 g
Νερό απεσταγμένο	600 ml

*CRM (Corky Root Medium)*

*Ημι-εκλεκτικό υλικό για την απομόνωση του μύκητα P. lycopersici*  
(Grove & Campbell, 1987)

## PDA

εμπλουτισμένο με τα ακόλουθα αντιδραστήρια τα οποία προστίθενται μετά από την αποστείρωση:

Χλωρονέμπ	100 µg / ml
Τριαντιμεφόν	100 µg / ml
Θειϊκή στρεπτομυκίνη	100 µg / ml
Τετρακυκλίνη	100 µg / ml
Χλωραμφαινικόλη	100 µg / ml
Ρόδινο της Βεγγάλης	50 µg / ml

Το θρεπτικό αυτό υπόστρωμα θα πρέπει να αποθηκεύεται σε σκοτάδι στους 2-10 °C μέχρι τη χρησιμοποίησή του.

Η αποστείρωση όλων των θρεπτικών υποστρωμάτων καλλιέργειας έγινε υπό συνθήκες θερμοκρασίας 121 °C και πίεσεως 1 atm σε αποστειρωτικό κλίβανο (αυτόκαυστο), επί 15 min., για τα υποστρώματα που περιέχουν σακχαρά, βιταμίνες, ενώ για αυτά που δεν περιέχουν αυτές τις ουσίες επί 20 min.

### **1.3.1.2. Έλεγχος βλαστικότητας των σκληρωτίων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici***

Μία ταυτοποιημένη απομόνωση του μύκητα *P. lycopersici*, από ασθενή τοματόφυτα χρησιμοποιήθηκε για όλα τα πειράματα ελέγχου βλαστικότητας των σκληρωτίων του μύκητα.

#### **1.3.1.2.1. Έλεγχος ευπαθείας σκληρωτίων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* υπό συνθήκες ηλιοαπολυμάνσεως**

Τα τρυβλία των καλλιεργειών του μύκητα που χρησιμοποιήθηκαν για αυτό το σκοπό



δεν είχαν πλούσιο μυκήλιο, αλλά διακρίνονται για το σχηματισμό πολυάριθμων σκληρωτίων. Χρησιμοποιήθηκαν συνολικώς 12 τρυβλία, το περιεχόμενο των οποίων ομογενοποιήθηκε με την προσθήκη μικρής ποσότητας απεσταγμένου, αποστειρωμένου νερού σε αναδευτήρα (OMNI MIXER ) για 5 min σε μέγιστη ταχύτητα ( $U=10$ ). Ακολούθησε παρακράτηση των σκληρωτίων σε πλέγμα (0,036 mm) και έκπλυση αυτών με άφθονο νερό βρύσης (υπό συνεχή ροή), μέχρι πλήρους διαυγασίας του αιωρήματος. Ακολούθως έγινε έκπλυση με απεσταγμένο νερό και τοποθέτηση σε ποτήριο ζέσεως υπό συνεχή ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα.

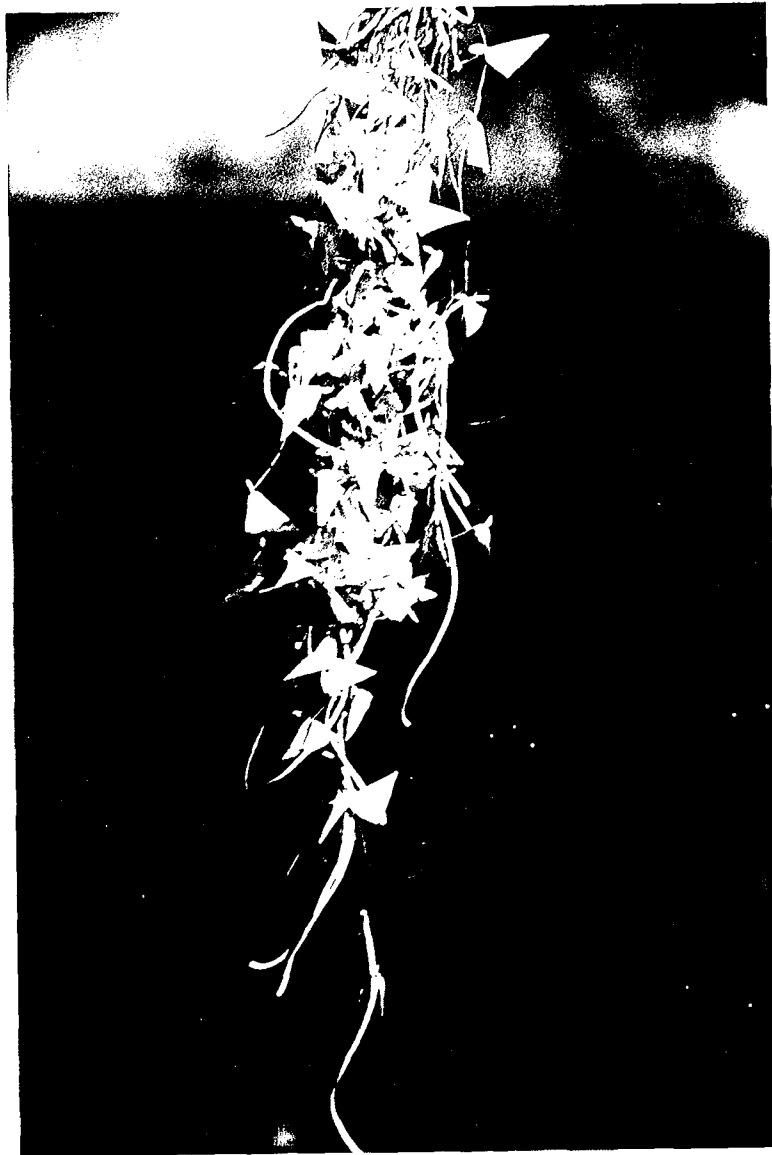
Τα συσσωματώματα των σκληρωτίων του μύκητα τοποθετήθηκαν σε ειδικές τριγωνικές θήκες, πλευράς 2 cm, από πλαστικό πλέγμα (διάμετρος οπών, 50  $\mu\text{m}$ ). Η ευχερέστερη προσθήκη των σκληρωτίων έγινε με τη χρησιμοποίηση μηχανικής πιπέτας (200  $\mu\text{l}$ ) στο άκρο της οποίας προσαρμόστηκε βελόνη από σύριγγα ινσουλίνης. Ακολούθησε αναρρόφηση 200  $\mu\text{l}$  αιωρήματος σκληρωτίων (περιείχε 150-350 σκληρώτια / ml) υπό συνεχή ανάδευση και έγχυση στο εσωτερικό της θήκης. Οι τριγωνικές θήκες συνδέθηκαν με πλαστικό νήμα σε αποστάσεις 5, 10 και 10 cm, που αντιστοιχούσαν σε 5, 15 και 25 cm βάθος εδάφους (Εικόνα 15).

Η επεξεργασία των δειγμάτων γινόταν μετά από την απομάκρυνση από το έδαφος ανά εβδομαδιαία χρονικά διαστήματα έως 30 ημέρες και έκπλυση των υπό συνεχή ροή νερού βρύσης. Ακολουθούσε τοποθέτηση των σκληρωτίων σε υάλινα φιαλίδια χωρητικότητας 5 ml που περιείχαν 2 ml απεσταγμένου-αποστειρωμένου νερού, και συνεχής ανάδευση. Το περιεχόμενο του αιωρήματος κατανεμόταν υπό συνεχή ανάδευση σε δύο τρυβλία (1 ml / τρυβλίο), με εκλεκτικό για το μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* θρεπτικό υλικό CRM. Μετά από την απομάκρυνση της περίσσειας της υγρασίας από τα τρυβλία ακολουθούσε επώαση σε σκοτεινό θάλαμο θερμοκρασίας  $22\pm 1$  °C. Την επομένη ημέρα γινόταν η καταμέτρηση των υπαρχόντων σκληρωτίων ανά τρυβλίο και καταγραφή εκείνων που είχαν βλαστήσει. Συνολικά έγιναν δύο μετρήσεις εντός διαστήματος 10 ημερών.

#### **1.3.1.2.2. Έλεγχος της θερμικής ευπάθειας των σκληρωτίων υπό συνθήκες υδατόλουτρου**

Για τον έλεγχο της βλαστικότητας των σκληρωτίων του μύκητα, σκληρώτια σχηματίστηκαν σε καλλιέργειές του που αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA και επωάστηκαν στους  $22\pm 1$  °C επί μία εβδομάδα.

Η παραλαβή των σκληρωτίων από το θρεπτικό υπόστρωμα, έγινε με τη χρήση μικροβιολογικής βελόνης τόσο για αυτά που ήταν στην επιφάνεια του θρεπτικού υποστρώματος, όσο και αυτά που ήταν προσκολλημένα στον πυθμένα του τρυβλίου. Η απομάκρυνση και συλλογή έγινε με τη βοήθεια στερεοσκοπίου και υπό ασηπτικές συνθήκες στο θάλαμο σταθερής - νηματικής ροής αέρα (Laminar air flow). Ακολούθησε ομογενοποίηση με την προσθήκη 150 ml νερού και τη βοήθεια ομογενοποιητού (OMNI MIXER) και 2 ml από το αιώρημα των σκληρωτίων τοποθετήθηκαν σε γυάλινα φιαλίδια



**Εικόνα 15.** Τριγωνικές θήκες με σκληρώτια του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* πριν από την ενσωμάτωσή τους στο έδαφος.

των 5 ml. Μετά από το ερμητικό κλείσιμο των φιαλιδίων ακολούθησε βύθιση σε υδατόλουτρο, έτσι ώστε να καλύπτεται η στάθμη του περιεχομένου νερού. Για κάθε θερμοκρασία και χρονική διάρκεια εκθέσεως σε αυτή, αντιστοιχούσαν δύο επαναλήψεις (2 υάλινα φιαλίδια).

Οι θερμοκρασίες στις οποίες εκτέθηκαν τα σκληρώτια ήταν 45, 47 και 50 °C για 9 ώρες, 2 ώρες και 28 λεπτά αντιστοίχως. Οι δειγματοληψίες ελάμβαναν χώρα ανά 30, 10 και 2 λεπτά αντιστοίχως.

Η επεξεργασία των δειγμάτων μετά από την έκθεσή τους στις αντίστοιχες θερμοκρασίες έγινε ως εξής: τα 2 ml του αιωρήματος μοιράστηκαν σε δύο τρυβλία (1 ml / τρυβλίο), που περιέχουν θρεπτικό υπόστρωμα PDA εμπλουτισμένο με στρεπτομυκίνη και πενικιλίνη, και αφήθηκαν να στεγνώσουν στο θάλαμο σταθερής-νηματικής ροής αέρα. Ακολούθησε επώαση των τρυβλίων υπό συνθήκες σκότους και ο έλεγχος της βλαστικότητας των σκληρωτίων γινόταν κάθε δύο ημέρες, με τη βοήθεια στερεοσκοπίου. Την πρώτη ημέρα της επώασης γινόταν καταμέτρηση των σκληρωτίων που είχαν μεταφερθεί σε κάθε τρυβλίο και την επομένη άρχισε η καταγραφή του ποσοστού των σκληρωτίων του μύκητα που είχαν βλαστήσει.

### **1.3.1.3. Απομονώσεις του παθογόνου από μολυσμένα τοματόφυτα του υβριδίου Jolly**

Από φυτά τομάτας, με έντονα συμπτώματα της φελλώδους σηψιρριζίας, τα οποία αναπτύσσοντο στα θερμοκήπια όπου έλαβαν χώρα τα πειράματα αγρού, έγιναν τυχαίες δειγματοληψίες (7 φυτά ανά θερμοκήπιο) και ακολούθησαν απομονώσεις του μύκητα *P. lycopersici* για την επιβεβαίωση της ταυτότητας του αιτίου της ασθένειας. Η απομόνωση και η ταυτοποίηση του παθογόνου από τους φυτικούς ιστούς έγινε ως ακολούθως (McGrath, 1983): τεμαχισμός σε μικρά τμήματα προσβεβλημένων ριζών, απόπλυση υπό συνεχή ροή νερού βρύσης επί μία ώρα και επιφανειακή απολύμανση αυτών σε 0,5 % υποχλωριώδους νατρίου (NaOCl) επί 2 - 3 λεπτά της ώρας. Εν συνεχεία, τα τμήματα των ριζών τοποθετούντο σε τρυβλία με οξυνοσμένο θρεπτικό υπόστρωμα APDA (όρα θρεπτικά υποστρώματα) τα οποία τοποθετούντο σε επωαστικό θάλαμο χωρίς φωτισμό, στους 21±1 °C επί 2 ημέρες, για το σχηματισμό αποικιών του παθογόνου μύκητα. Ακολούθως μικρά τεμάχια αυτών των αποικιών μεταφέροντο σε τρυβλία (5 τρυβλία ανά απομόνωση) που περιείχαν ένα πτωχό θρεπτικό υπόστρωμα WA και επωάζοντο στους 24±1 °C επί 3-4 ημέρες. Ακολουθούσε εκ νέου μεταφορά μικρών τεμαχίων, των σχηματισθέντων αποικιών σε WA, σε νέο θρεπτικό υπόστρωμα V-8A σε επωαστικό θάλαμο με φωτισμό (υπεριώδης ακτινοβολία με μήκος κύματος  $\lambda < 360$  nm, λαμπτήρες "BLB" των 40 W σε απόσταση περίπου 40 cm από τα τρυβλία) στους 21±1 °C επί 15-20 ημέρες για το σχηματισμό των πυκνιδίων του μύκητα. Όλες οι απομονώσεις που ταυτοποιήθηκαν ως *P. lycopersici* σχημάτιζαν χαρακτηριστικά σκουρόχρωμα, πυκνίδια (με σκληρές τρίχες, setae) ο αριθμός

των οποίων κυμαινόταν ανάλογα με την απομόνωση. Διενεργήθηκε τέλος και έλεγχος παθογενείας σε νεαρά τοματόφυτα (3 φυτά ανά απομόνωση).

#### **1.3.1.4. Έλεγχος ευπαθείας και ποσοτικός προσδιορισμός του φυσικού πληθυσμού του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* από το έδαφος, μετά από την εφαρμογή της μεθόδου της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους**

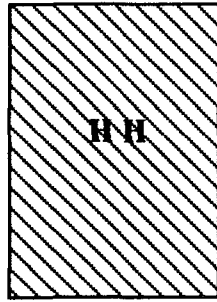
Στην δεύτερη ομάδα θερμοκηπίων του Ν. Πρεβέζης στη θέση Δ (Εικόνα 16) κατεβλήθη μία προσπάθεια απομονώσεως φυσικών πληθυσμών του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*, από δείγματα ριζόσφαιρας τοματοφύτων, με τη βοήθεια του ημιεκλεκτικού υλικού (CRM). Εξετάστηκαν 12 συνολικά δείγματα από κάθε θερμοκήπιο. Το κάθε δείγμα αποτελείτο από 5 g χώματος τα οποία τοποθετούντο σε υάλινο φιαλίδιο McCartney των 28ml που περιείχε 15 ml απεσταγμένο, αποστειρωμένο νερό και ακολουθούσε ανάδευση. Εν συνεχεία, 1 ml από το αιώρημα αυτό ετοποθετείτο σε κάθε τρυβλίο. Για κάθε δείγμα χρησιμοποιούνται 6 τρυβλία. Τα τρυβλία τοποθετούντο σε σκοτεινό επωαστικό θάλαμο θερμοκρασίας  $22 \pm 1$  °C, επί 10 ημέρες, και ακολουθούσε καταμέτρηση των αποικιών του μύκητα *P. lycopersici* οι οποίες είχαν χαρακτηριστικό φαιοπράσινο χρώμα (Εικόνα 17).

#### **1.3.2. Πειράματα αγρού**

Τα πειράματα αγρού έλαβαν χώρα στην περιοχή του Νομού Πρεβέζης, σε πλαστικά θερμοκήπια όπου καλλιεργείται τομάτα για επιτραπέζια χρήση, εκτός εποχής, από τον Νοέμβριο έως τον Ιούνιο. Στα θερμοκήπια αυτά υπήρχε φυσικό μόλυσμα του παθογόνου, από προηγούμενες καλλιεργητικές περιόδους τομάτας στην ίδια περιοχή επί πολλά χρόνια. Τα πλαστικά θερμοκήπια θερμαίνονται κατά περίπτωση με χρήση θερμοστρών πετρελαίου ή υγραερίου εγκατεστημένες στο θερμοκήπιο έτσι ώστε να εμποδίζουν την πτώση της θερμοκρασίας κάτω των 7 °C. Η αποτελεσματικότητα από επαναλαμβανόμενη ετησίως εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στην αντιμετώπιση της φελλώδους σφηριριζίας, σε σύγκριση με την απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο, ελέγχθηκε σε δύο πειραματικούς αγρούς κατά τα έτη 1989-1991 (Εικόνα16).

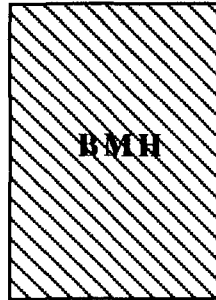
Οι πειραματικοί αγροί που αποτελούντο από 8 θερμοκήπια πλαστικής καλύψεως έκαστος βρισκόταν στις θέσεις Γ και Δ (Εικόνα 16). Κάθε πλαστικό θερμοκήπιο σχήματος τόξου είχε διαστάσεις 5 m πλάτος και μήκος 50 m περίπου. Η καλλιέργεια γινόταν σε σειρές φυτών, με 700 περίπου φυτά ανά θερμοκήπιο. Οι επεμβάσεις οι οποίες έγιναν ήταν ηλιοαπολύμανση του εδάφους και απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο (Εικόνα18.). Οι συνδυασμοί των επεμβάσεων που έγιναν ήταν εφαρμογή ηλιοαπολυμάνσεως μετά από απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο (BMH), απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο μετά από ηλιοαπολύμανση (HMB), ηλιοαπολύμανση που ακολούθησε μετά από ηλιοαπολύμανση (HH), και έδαφος χωρίς επέμβαση-μάρτυρας (M).

4 ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ

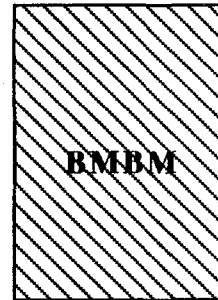


**ΘΕΣΗ Γ**

4 ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ

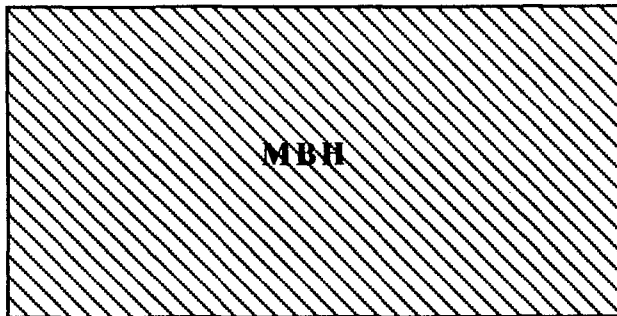


4 ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ

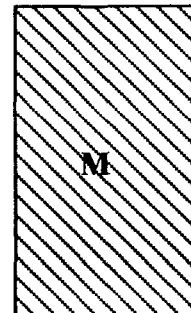


**ΘΕΣΗ Δ**

6 ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ

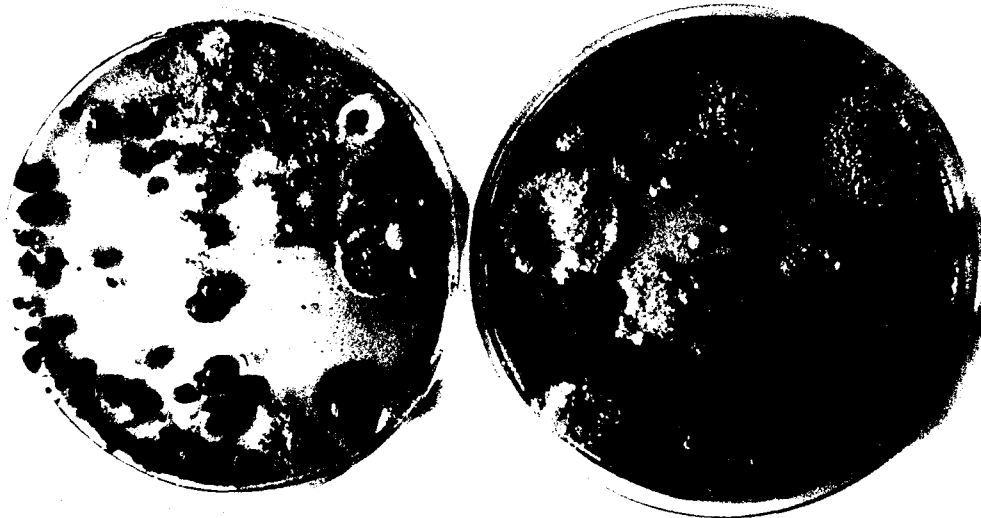


1 ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟ



Εικόνα 16. Πειραματικοί αγροί 1989 - 1991

GRAY STERILE COLONIES  
ON C. R. M. SELECTIVE MEDIUM



**Εικόνα 17.** Χαρακτηριστικές φαιού χρώματος, στείρες αποικίες του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* σε ημιεκλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα (CRM).

Για την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως και κάλυψη του εδάφους χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά φύλλα πολυαιθυλενίου, πάχους 50  $\mu\text{m}$  και πλάτους 6m, εμπλουτισμένα με 1% σταθεροποιητή εναντίον της δυσμενούς επιδράσεως της υπερϊώδους ακτινοβολίας στην αντοχή του πλαστικού κατά τη διάρκεια καλύψεως του εδάφους. Του ίδιου τύπου πλαστικό φύλλο πολυαιθυλενίου χρησιμοποιήθηκε και για την κάλυψη του εδάφους κατά την εφαρμογή της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο ( $70 \text{ g / m}^2$ ), με μικρά μεταλλικά δοχεία (98% βρωμιούχο μεθύλιο, 2% χλωροπικρίνη). Η απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο εφαρμόστηκε κατά τα μέσα Οκτωβρίου 1989, σε αμμοπηλώδη εδάφη ( $\text{pH} = 5$ ), σε 4 πλαστικά θερμοκήπια τομάτας, ενώ κατά το καλοκαίρι 1990, εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση (ΒΜΗ *Εικόνα 18*). Παρομοίως, σε άλλα 4 πλαστικά θερμοκήπια, εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους το 1989, ενώ το 1990 δεν έγινε καμία επέμβαση στο έδαφος των θερμοκηπίων (Μ) (*Εικόνες 19 και 20*). Σε όλα τα πλαστικά θερμοκήπια, όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση ή απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο, εγκαταστάθηκε το υβρίδιο Jolly (Peto Seed Co. CA. USA). Τα τοματόφυτα μεταφτεύτηκαν στις 23 Νοεμβρίου 1990 στο στάδιο των 4 φύλλων. Η ένταση των συμπτωμάτων στο ριζικό σύστημα ελέγχθηκε σε 60 φυτά ανά θερμοκήπιο και υπολογίστηκε το μέγεθος της καταστροφής του ριζικού συστήματος από το παθογόνο. Η μέτρηση των φελλοποιημένων περιοχών των ριζών έγινε με την χρησιμοποίηση μίας κλίμακας από το 0 έως το 3 (Tjamos, 1984, *Εικόνα 21*).

Κλίμακα:

όπου 0: χωρίς συμπτώματα, υγιείς ρίζες,

1: έως 30% των ριζών είναι προσβεβλημένες-με φελλοποιημένες ή ελαφρώς αποδιοργανωμένες περιοχές,

2: έως 60% του ριζικού συστήματος είναι προσβεβλημένο με πολλές κατεστραμμένες ρίζες

3: πάνω από 60% των ριζών είναι προσβεβλημένο, έντονες και εκτενείς καταστροφές στις ρίζες, με το ριζικό σύστημα νεκρό ή σχεδόν νεκρό.

### **1.3.2.1. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στη μείωση φυσικών πληθυσμών του μύκητα στο έδαφος και αντιμετώπιση της ασθένειας**

Η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους ( $\text{pH} = 5$ ) σε σύγκριση με έδαφος-μάρτυρα ελέγχθηκε σε σειρά θερμοκηπίων του Ν. Προβέξης, στη θέση Δ (*Εικόνα 16*). Ως προς την υδατική ικανότητα του εδάφους ( $-33 \text{ KPa}$ ) ήταν 25,5 % (v/v), το σημείο μονίμου μαράνσεως ( $-1500 \text{ KPa}$ ) ήταν 6,5 % και η θεωρητικώς διαθέσιμη ποσότητα νερού [διέφερε μεταξύ ( $-33$ ) - ( $-1500$ )  $\text{KPa}$ ] ήταν 19,0 % (v/v) (οι μετρήσεις της υδατοϊκανότητας του εδάφους έγιναν με τη συσκευή Richardt). Στους πειραματικούς αυτούς αγρούς καλλιεργείτο



**Εικόνα 18.** Εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους σε πλαστικά θερμοκήπια τύπου Πρεβέζης.

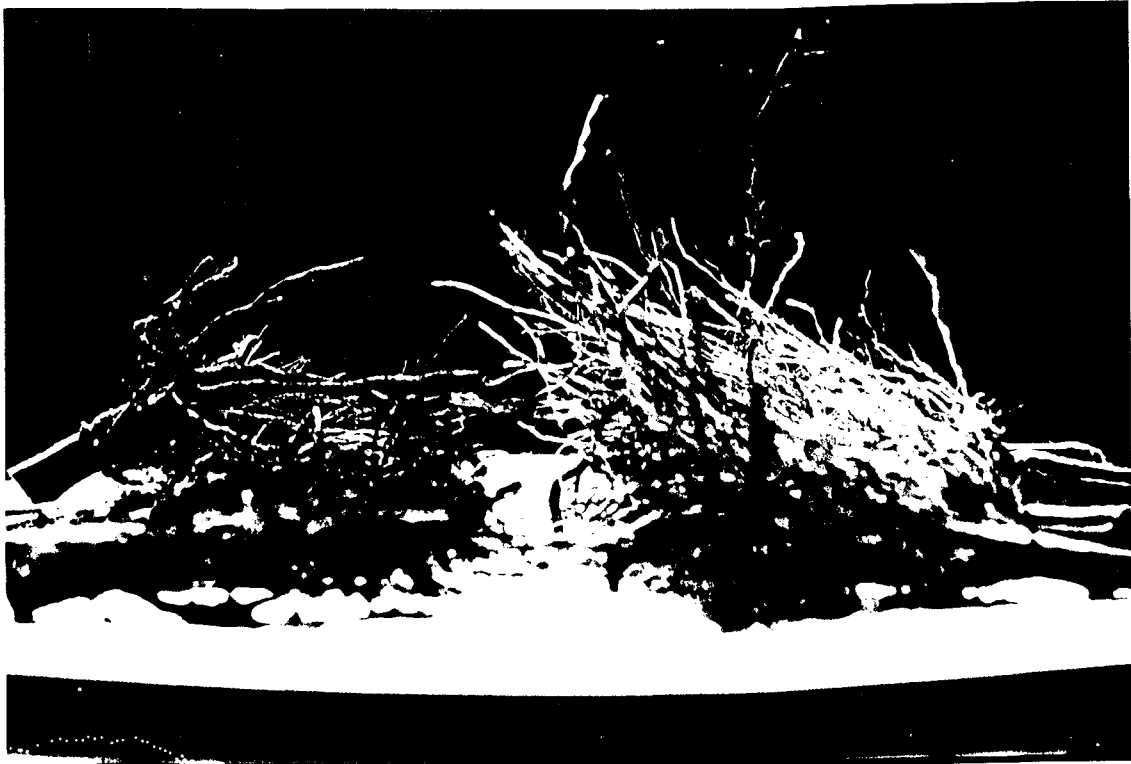




**Εικόνα 19.** Αποτελεσματική αντιμετώπιση της καστανής σηψιροζιάς της τομάτας με εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους. Εξαιρετική ανάπτυξη των φυτών και πλούσια καρπώδεση με εμφανή έλλειψη εναέριων συμπτωμάτων.

**Εικόνα 20.** Έντονα συμπτώματα επισχέσεως της αναπτύξεως σε φυτά τομάτας που αναπτύσσονται σε έδαφος-μάρτυρα. Καταφανής η επίπτωση στο ύψος των φυτών και στη μείωση της παραγωγής (σε σύγκριση με τα φυτά της Εικ. 19).





**Εικόνα 21.** Διαφοροποίηση ριζών τομάτας ως προς την ένταση των συμπτωμάτων της καστανής σηψιρριζίας. Δεξιά διακρίνεται υγιές ριζικό σύστημα φυτών που αναπτύσσονται σε έδαφος όπου έχει εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση του εδάφους. Αριστερά, προσβεβλημένο ριζικό σύστημα φυτών που αναπτύσσονται σε έδαφος-μάστιχα.

τομάτα επί πολλά έτη και εφαρμόζετο χημική απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο.

Η κάλυψη του εδάφους έγινε με πλαστικά, διαφανή φύλλα πολυαιθυλενίου επί δύο μήνες (Ιούλιος-Αυγούστος 1990) και η εγκατάσταση της φυτείας το Νοέμβριο του 1990. Χρησιμοποιήθηκε το υβρίδιο Jolly.

Η ένταση των συμπτωμάτων στο ριζικό σύστημα ελέγχθηκε σε 60 φυτά ανά θερμοκήπιο και υπολογίστηκε το μέγεθος της καταστροφής των ριζών από το παθογόνο. Η μέτρηση των φελλοποιημένων περιοχών των ριζών έγινε με τη χρησιμοποίηση της κλίμακας από 0 έως το 3. Επιπροσθέτως, έγινε καταγραφή του βάρους του ριζικού συστήματος των τοματοφύτων, τόσο στο θερμοκήπιο όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση, όσο και σε αυτό όπου δεν εφαρμόστηκε απολύμανση του εδάφους. Γινόταν επίσης καταγραφή της συγκομιζομένης παραγωγής και στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου και υπολογίστηκε αθροιστικώς η συνολική παραγωγή ενός εκάστου θερμοκηπίου.

### **1.3.2.2. Εφαρμογή της ηλιοαπολύμανσης για τον έλεγχο της επιδράσεως της μεθόδου στην επιβίωση σκληρωτίων του μύκητα, τα οποία παρήχθησαν σε τεχνητό θρεπτικό υπόστρωμα**

Η ηλιοαπολύμανση του εδάφους εφαρμόστηκε σε αμμοπηλώδες έδαφος (pH= 7) στον πειραματικό αγρό του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Το έδαφος οργώθηκε, φρεζαρίστηκε, ποτίστηκε μέχρι του επιπέδου κορεσμού του εδάφους (40 L / m<sup>2</sup>) και καλύφθηκε στις 9 Ιούλιου 1991. Η ικανότητα συγκρατήσεως του εδάφους του εδάφους σε υγρασία σε βάθος εδάφους 0-25 cm, με τη χρησιμοποίηση της συσκευής Richardt, είναι: υδατοϊκανότητα (- 33 KPa) ήταν 25,9 % (v/ v), το σημείο μονίμου μαράνσεως (- 1.500 KPa) ήταν 10,9 % (v/ v) και θεωρητικώς διαθέσιμη ποσότητα νερού 15,0 % (v/ v). Έξι πειραματικά τεμάχια χρησιμοποιήθηκαν σε αυτό το πείραμα του αγρού. Κάθε τεμάχιο καλύφθηκε με διαφανές πλαστικό φύλλο πολυαιθυλενίου, 90 μm πάχους, εμπλουτισμένο με 1% σταθεροποιητή κατά της υπερϊώδους ακτινοβολίας. Όλα τα πειραματικά τεμάχια καλύφθηκαν μαζί σε μια επιφάνεια διαστάσεων 4 x 4,30 m κάθε τεμαχίου με αντίστοιχα ακάλυπτα πειραματικά. Το έδαφος- μάρτυρας δέχθηκε ανάλογη επεξεργασία. Τρεις επαναλήψεις χρησιμοποιήθηκαν για κάθε βάθος εδάφους, χρόνο, και επέμβαση. Τα δείγματα απομακρύνονται από το έδαφος κάθε εβδομάδα επί ένα μήνα. Μέγιστες (15:00) και ελάχιστες (7:00) τιμές θερμοκρασιών εδάφους καταγράφονταν ημερησίως σε βάθη 5, 15, 25 cm χρησιμοποιώντας ένα ψηφιακό θερμομέτρο εδάφους (Thandar TH 302, Huntingdon, UK).

### **1.3.3. Στατιστική Ανάλυση Δεδομένων**

Η στατιστική ανάλυσεως των πειραματικών δεδομένων έγινε με τη μέθοδο της

αναλύσεως διασποράς ακολουθώντας τη δοκιμασία της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς (ΕΣΔ) του Fisher σε επίπεδο σημαντικότητας  $P \leq 0,05$ . Για την ανάλυση αυτή χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα στατιστικής αναλύσεως Stat View 512 +Σ (1986 by Abacus Concepts, Inc. interactive Statistics and Graphics package) για ηλεκτρονικό υπολογιστή Macintosh.

Οι μέσοι κατατάσσονται με τη διαφορά του τυπικού σφάλματος και οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

### **1.3.4. Αποτελέσματα**

#### **1.3.4.1. Θερμική ευαισθησία σκληρωτίων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici***

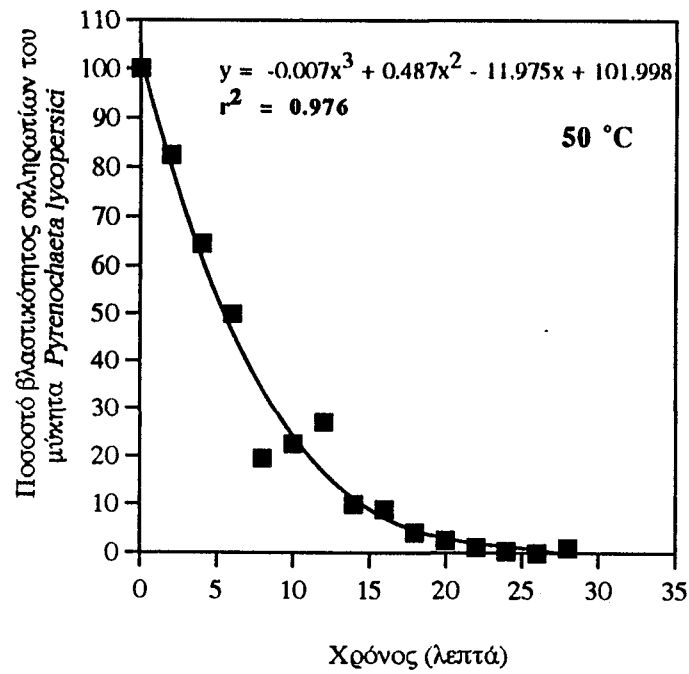
Έκθεση σκληρωτίων του μύκητα σε σταθερές θερμοκρασίας υδατόλουτρου ανάλογες με εκείνες που αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια της ηλιοπολυμάνσεως απέδειξε ότι η διαχειμάζουσα αυτή μορφή του μύκητα είναι ιδιαιτέρως ευαίσθητη στους 50 °C. Πράγματι τα δεδομένα της γραφικής παραστάσεως στο *Διάγραμμα 1* αποδεικνύουν ότι το ποσοστό βλαστήσεως των σκληρωτίων του μύκητα μειώνεται αισθητά 5-10 min μετά από την τοποθέτηση στο υδατόλουτρο ενώ σε 20-25 min ο μύκητας έχει ήδη νεκρωθεί.

Έκθεση σκληρωτίων του μύκητα σε σταθερή θερμοκρασία υδατόλουτρου 47 °C απέδειξε ότι είναι αναλόγη εκείνης στους 50 °C, αλλά με βραδύτερη επίδραση. Τα δεδομένα της γραφικής παραστάσεως στο *Διάγραμμα 2* αποδεικνύουν ότι το ποσοστό βλαστήσεως των σκληρωτίων του μύκητα μειώνεται σημαντικώς 60 min μετά από την τοποθέτησή τους στο υδατόλουτρο, ενώ σε 110-120 min ο μύκητας έχει ήδη νεκρωθεί.

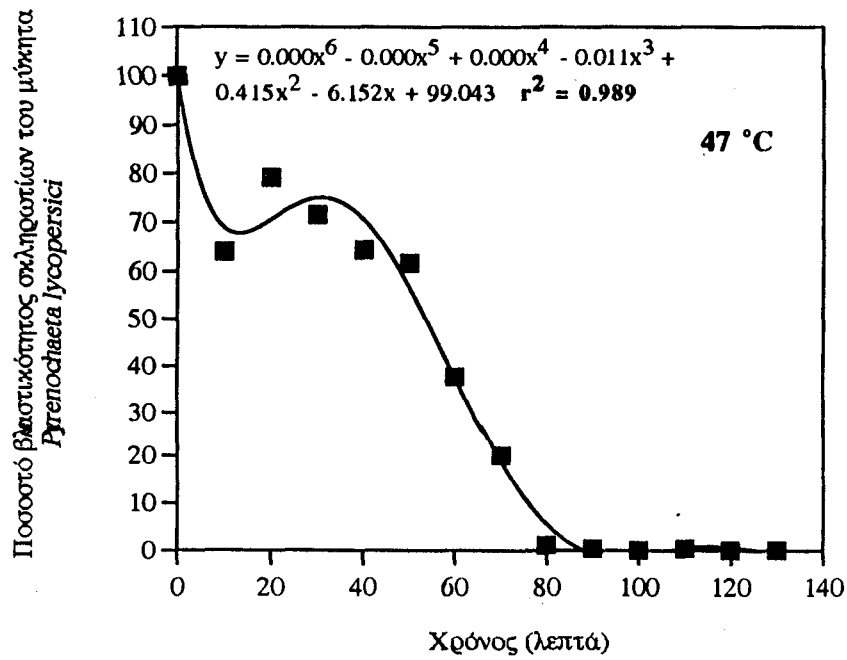
Έκθεση σκληρωτίων του μύκητα σε σταθερή θερμοκρασία υδατόλουτρου 45 °C απέδειξε ότι η ευαισθησία μειώνεται αισθητά σε σύγκριση με τους 47 °C ή και με τους 50 °C. Τα δεδομένα της γραφικής παραστάσεως στο *Διάγραμμα 3* αποδεικνύουν ότι το ποσοστό βλαστήσεως των σκληρωτίων του μύκητα μειώνεται αισθητά μεταξύ 7-8 h μετά από την τοποθέτησή τους στο υδατόλουτρο ενώ σε 9-10 h ο μύκητας έχει ήδη νεκρωθεί.

#### **1.3.4.2. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στην επιβίωση σκληρωτίων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* βυθισμένων στο έδαφος κατά τη διάρκεια εφαρμογής της μεθόδου**

Έλεγχος της βλαστικότητας των σκληρωτίων του μύκητα που ενσωματώθηκαν στο έδαφος προ της καλύψεως του εδάφους έδειξε ότι το παθογόνο είναι ιδιαιτέρως ευαίσθητο στις θερμοκρασίες που αναπτύσσονται κατά την ηλιοαπολύμανση. Προσδιορισμός του ποσοστού των βλαστησάντων σκληρωτίων ανά εβδομαδιαία χρονικά διαστήματα έδειξε ότι τοποθέτηση των σκληρωτίων σε βάθος 5 cm είχε ως αποτέλεσμα την πλήρη καταστροφή

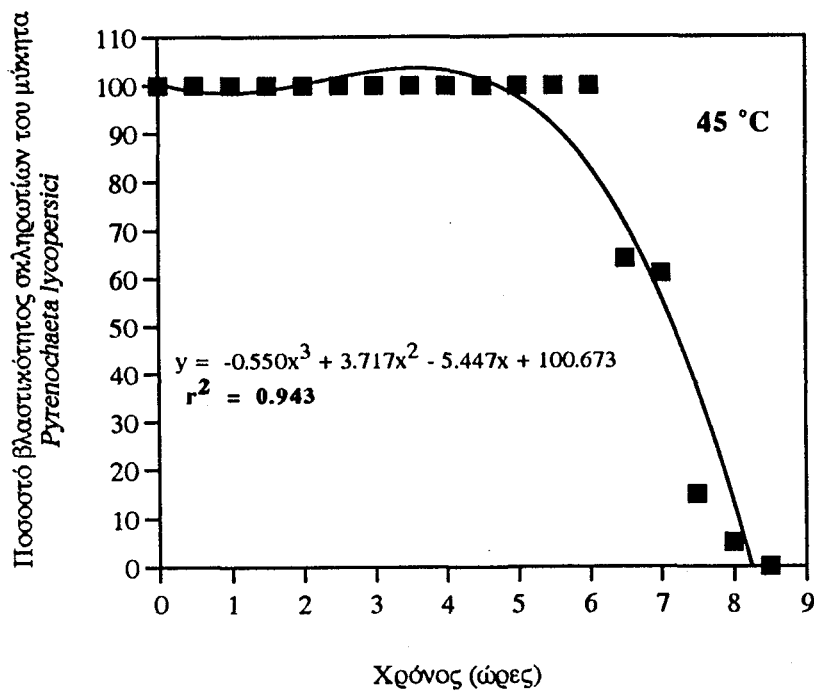


**Διάγραμμα 1.** Επίδραση της θερμοκρασίας των 50 °C επί της βλαστικότητας σκληρωτίων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*. Μέσοι όροι μετρήσεων 2 δειγμάτων (2 τρυβλία / δείγμα) ανά δειγματοληψία



**Διάγραμμα 2.** Επίδραση της θερμοκρασίας των 47 °C επί της βλαστικότητας σκληρωτίων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*.

Μέσοι όροι μετρήσεων 2 δειγμάτων (2 τρυβλία / δείγμα) ανά δειγματοληψία.



**Διάγραμμα 3.** Επίδραση της θερμοκρασίας των 45 °C επί της βλαστικότητας σκληρωτίων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*.

Μέσοι όροι μετρήσεων 2 δειγμάτων (2 τρυβλία / δείγμα) ανά δειγματοληψία.

των εντός μίας εβδομάδος. (Διάγραμμα 4) Αντιθέτως ενσωμάτωση των σκληρωτίων σε βάθος 15 cm περιορίζει τη βλαστικότητα στο 16%, ενώ σε βάθος 25 cm σε ποσοστό 40%.

Επισημαίνεται ότι η μείωση της βλαστικότητας των σκληρωτίων παρατηρείται και στα σκληρώτια που ενσωματώθηκαν σε ακάλυπτο έδαφος-μάρτυρα. Το ποσοστό όμως αυτό προσέγγισε μόνο το 50 % ένα μήνα μετά από την έναρξη της ηλιοαπολυμάνσεως. Η διαφοροποίηση μεταξύ ηλιοαπολυμάνσεως και μάρτυρος ήταν στατιστικώς σημαντική. Στατιστικώς σημαντική διαφορά ( $P= 0,05$ ) παρατηρήθηκε μεταξύ της ηλιοαπολυμάνσεως και του μάρτυρα και στα τρία διαφορετικά βάθη εδάφους (5, 15, 25 cm).

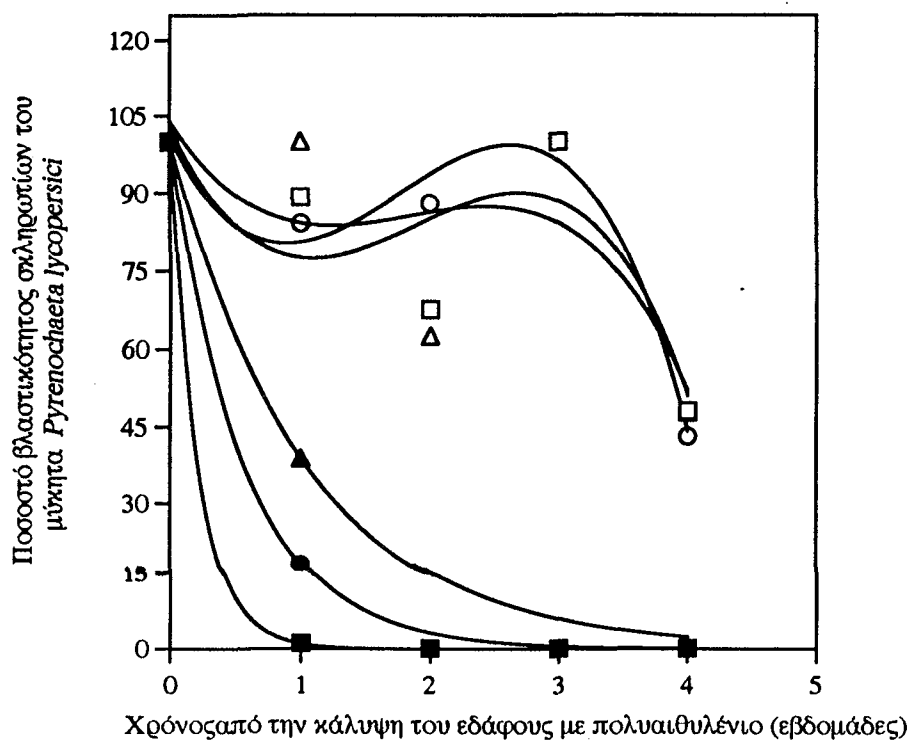
#### **1.3.4.3. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στην ένταση της καστανής σηψιρριζίας της τομάτας και επίπτωσή της στην επιβίωση φυσικών μολυσμάτων του παθογόνου μετά από την εφαρμογή της μεθόδου**

Ποσοτικός προσδιορισμός φυσικών μολυσμάτων του παθογόνου μετά από την εγκατάσταση της φυτείας (θέση Δ, 4 μήνες μετά από το τέλος της εφαρμογής της μεθόδου (Εικόνα 16), έδειξε ότι η κάλυψη του εδάφους συμβάλλει στη σχεδόν καθολική καταστροφή των μολυσμάτων του παθογόνου (Διάγραμμα 5). Ενώ στο ακάλυπτο έδαφος-μάρτυρα ο φυσικός πληθυσμός των μολυσμάτων του παθογόνου εκφρασμένος ως αποικίες ανά g εδάφους κυμάνθηκε μεταξύ 70-160 μονάδες του μύκητα που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους, ο πληθυσμός του αντίστοιχου εδάφους που υπέστη ηλιοαπολύμανση ήταν στατιστικώς σημαντικά ( $P=0,05$ ) περιορισμένος 10-15 μονάδες του μύκητα που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους. Κατά την ίδια χρονική περίοδο προσδιορίστηκαν τα ποσοστά τοματοφύτων με εμφανή εναέρια συμπτώματα της ασθένειας στα δύο θερμοκήπια που έγινε η δειγματοληψία χώματος (Μάρτιος 1991). Διαπιστώθηκε ότι το ποσοστό ασθενών φυτών στα θερμοκήπια, όπου το έδαφος έμεινε ακάλυπτο (έδαφος-μάρτυρας) προσέγγισε το 40 % του συνολικού αριθμού των φυτών. Αντιθέτως, δεν παρατηρήθηκαν συμπτώματα στα φυτά όπου καλλιεργήθηκαν στο έδαφος όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση.

Ως προς το δείκτη ασθένειας η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στο ριζικό σύστημα των φυτών κατά το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου έδειξε ότι τα φυτά στα πειραματικά τεμάχια ο μάρτυρας προσέγγισε την ανώτατη κλίμακα 3. Πράγματι τα δεδομένα της γραφικής παραστάσεως του Διαγράμματος 6 αποδεικνύουν ότι η ένταση των συμπτωμάτων της ασθένειας είναι η μέγιστη στα φυτά μάρτυρες. Αντιθέτως, στα τεμάχια όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση ο δείκτης ασθένειας είναι κατώτερος της μονάδος.

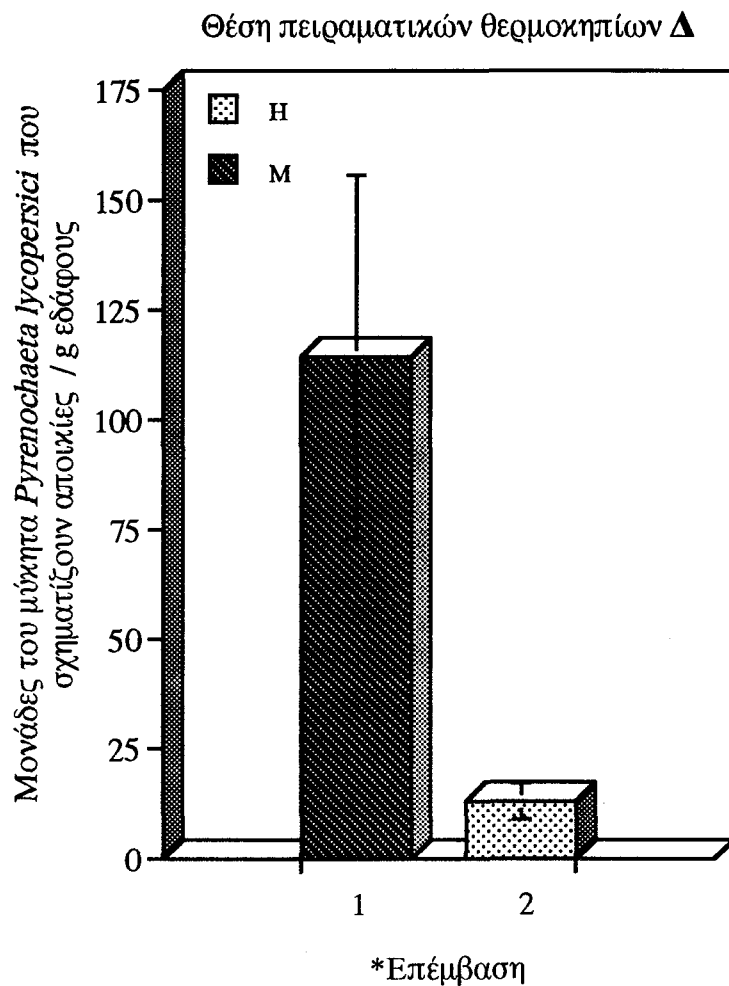
Η ανάλυση διασποράς επί των δεδομένων του ποσοστού ασθενών φυτών εκφρασμένου ως δείκτη ασθένειας έδειξε ότι η διαφορά μεταξύ του δείκτη ασθένειας σε φυτά που αναπτύχθηκαν σε έδαφος όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση είναι στατιστικώς σημαντική ( $P= 0,05$ ) σε σύγκριση με έδαφος-μάρτυρα.





■	H - 5cm	$y = 100.000 * 10^{-2.000x}$	$r^2 = 1.000$
▲	H - 15cm	$y = 100.000 * 10^{-0.410x}$	$r^2 = 1.000$
●	H - 25cm	$y = 100.000 * 10^{-0.754x}$	$r^2 = 1.000$
□	M - 5cm	$y = -6.147x^3 + 34.874x^2 - 54.137x + 102.906$	$r^2 = 0.713$
△	M - 15cm	$y = -4.356x^3 + 24.038x^2 - 39.526x + 103.969$	$r^2 = 0.564$
○	M - 25cm	$y = -7.393x^3 + 39.083x^2 - 52.268x + 100.936$	$r^2 = 0.972$

**Διάγραμμα 4.** Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους.

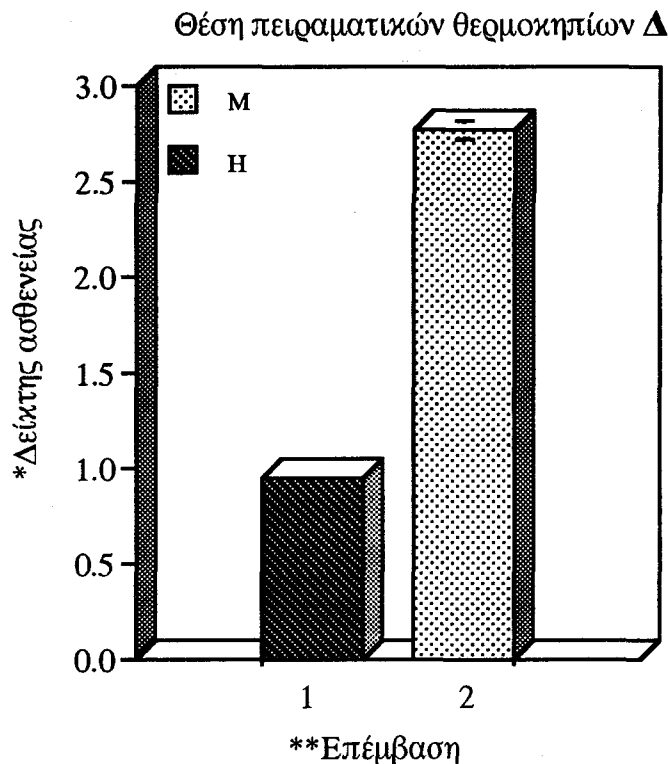


**Διάγραμμα 5.** Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στην επιβίωση φυσικών μολυσμάτων του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*.

\*Επέμβαση του εδάφους όπου, H= εφαρμογή ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και M=έδαφος που δεν έχει υποστεί καμία επέμβαση- Μάρτυρας.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.

Η δοκιμασία της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς βασίστηκε σε 24 δείγματα εδάφους.



**Διάγραμμα 6.** Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στην ένταση των συμπτωμάτων της ασθeneίας στο ριζικό σύστημα.

\* Δείκτης ασθeneίας εκπεφρασμένος με κλίμακα 0 - 3, όπου 0, χωρίς συμπτώματα, υγιείς ρίζες,

1, έως 30 % των ριζών είναι προσβεβλημένες, με φελλοποιημένες ή ελαφρώς αποδιοργανωμένες περιοχές,

2, έως 60 % του ριζικού συστήματος προσβεβλημένο με πολλές κατεστραμμένες ρίζες,

3, πάνω από το 60 % των ριζών προσβεβλημένο, έντονες και εκτενείς καταστροφές στις ρίζες, με το ριζικό σύστημα νεκρό ή σχεδόν νεκρό.

\*\*Επέμβαση του εδάφους όπου, Η= εφαρμογή ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και Μ=έδαφος που δεν έχει υποστεί καμία επέμβαση- Μάρτυρας.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.

Μέσος όρος 60 φυτών ανά θερμοκήπιο και επέμβαση.

Ως προς το έτερο σκέλος του δείκτη ασθενείας που αναφέρεται στην επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως επί του ναπού βάρους ριζών των φυτών κατά το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου άπεδείχθη ότι τα φυτά στα πειραματικά τεμάχια του μάρτυρα δεν διέφεραν σημαντικά εκείνων της ηλιοαπολυμάνσεως. Πράγματι τα δεδομένα της γραφικής παραστάσεως του Διαγράμματος 7 αποδεικνύουν ότι η στατιστική διαφοροποίηση δεν είναι σημαντική ( $P= 0,05$ ).

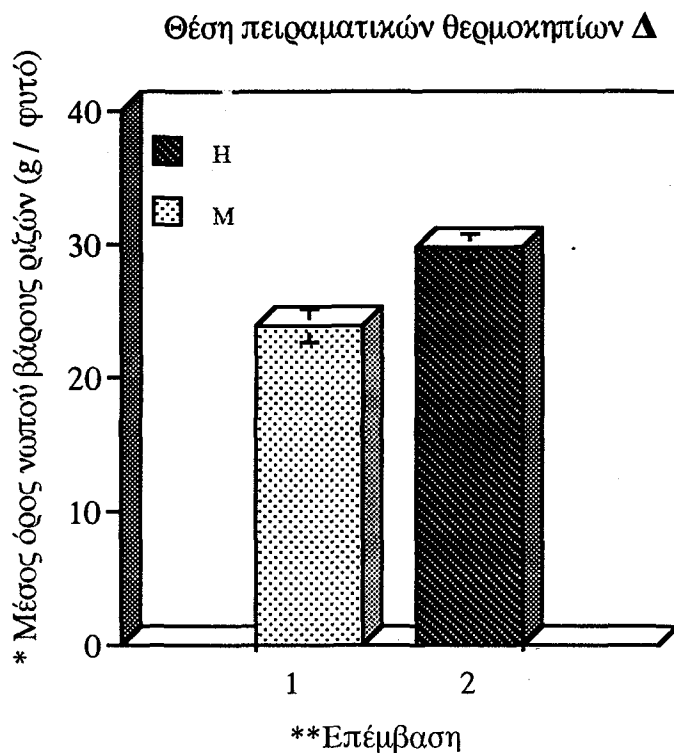
#### **1.3.4.4. Επίδραση της επαναλαμβανόμενης ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και της χημικής απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο στην ένταση της ασθενείας που προκαλείται από το μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* και στην επίπτωσή της στην παραγωγή καρπών τομάτας**

Τα δεδομένα από τον πειραματικό σε πλαστικά θερμοκήπια της θέσεως Γ (Εικόνα 16) αποδεικνύουν ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους υπερτερεί της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο στις συνιστώμενες δόσεις ( $70 \text{ g} / \text{m}^2$ ), κυρίως ως προς την αποτελεσματικότητα της συνεχούς εφαρμογής της μεθόδου για περισσότερες της μίας καλλιεργητικές περιόδους.

Τα δεδομένα του Διαγράμματος 8 αποδεικνύουν ότι η διαφοροποίηση μεταξύ των συμπτωμάτων των φυτών της τομάτας ως προς το δείκτη ασθενείας ήταν σημαντική ( $P= 0,05$ ) στην περίπτωση των φυτών τα οποία είχαν εγκατασταθεί σε έδαφος στο οποίο είχε εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση του εδάφους σε σύγκριση με εκείνα των οποίων το έδαφος είχε απολυμανθεί με βρωμιούχο μεθύλιο.

Στο Διάγραμμα 9 δίδεται η διαφοροποίηση του βάρους του ριζικού συστήματος τοματοφύτων τα οποία αναπτύσσονται σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε επαναλαμβανόμενη επί ετησίας βάσεως ηλιοαπολύμανση του εδάφους, σε σύγκριση με εδάφη όπου εφαρμόστηκε απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο. Η ανάλυση διασποράς επί του ναπού βάρους του ριζικού συστήματος των τοματοφύτων έδειξε ότι η διαφορά του βάρους των ριζών των φυτών που αναπτύχθηκαν σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους είναι στατιστικώς σημαντική ( $P= 0,05$ ) σε σύγκριση με εδάφη όπου εφαρμόστηκε απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο.

Στατιστικώς σημαντική ( $P= 0,05$ ) διαφοροποίηση εμφανίστηκε επίσης και στο ύψος της συνολικής παραγωγής των καρπών τομάτας υπέρ της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως, όπως τούτο καταδεικνύεται εκ του Διαγράμματος 10, όπου η τελική παραγωγή έφτασε τα  $5.640 \text{ kg} / \text{στρέμμα}$  στην περίπτωση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από εφαρμογή απολυμάνσεως του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο, ενώ στην περίπτωση της εφαρμογής απολυμάνσεως του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο μετά από εφαρμογή με βρωμιούχο μεθύλιο η τελική παραγωγή περιορίστηκε στα  $4.580 \text{ kg} / \text{στρέμμα}$ .

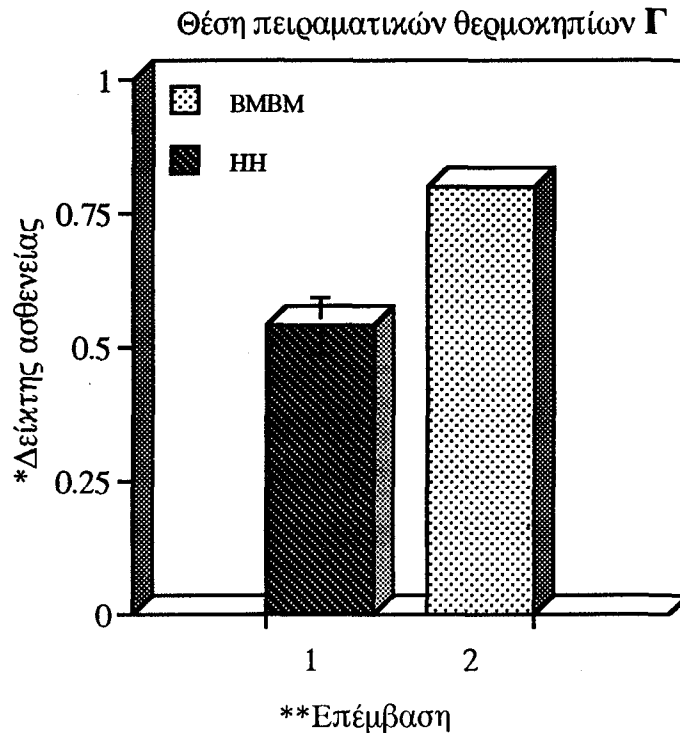


**Διάγραμμα 7.** Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στο νωπό βάρος του ριζικού συστήματος.

\* Νωπό βάρος ριζικού συστήματος. Μέσος όρος νωπού βάρους ριζικού συστήματος ανά φυτό 60 εκκριζωθέντων φυτών τομάτας, ανά θερμοκήπιο και επέμβαση. Συμπεριλαμβάνεται και μέρος του στελέχους (5 cm) από το επίπεδο του εδάφους.

\*\*Επέμβαση του εδάφους όπου, H= εφαρμογή ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και M=έδαφος που δεν έχει υποστεί καμία επέμβαση- Μάρτυρας.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.



**Διάγραμμα 8.** Επίδραση της επαναλαμβανομένης εφαρμογής της ηλιοαπολυμανσεως του εδάφους και της εφαρμογής απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο στην ένταση των συμπτωμάτων της ασθeneίας στο ριζικό σύστημα.

\* Δείκτης ασθeneίας εκπεφρασμένος με κλίμακα 0 - 3, όπου 0, χωρίς συμπτώματα, υγιείς ρίζες,

1, έως 30 % των ριζών είναι προσβεβλημένες, με φελλωποιημένες ή ελαφρώς αποδιοργανωμένες περιοχές,

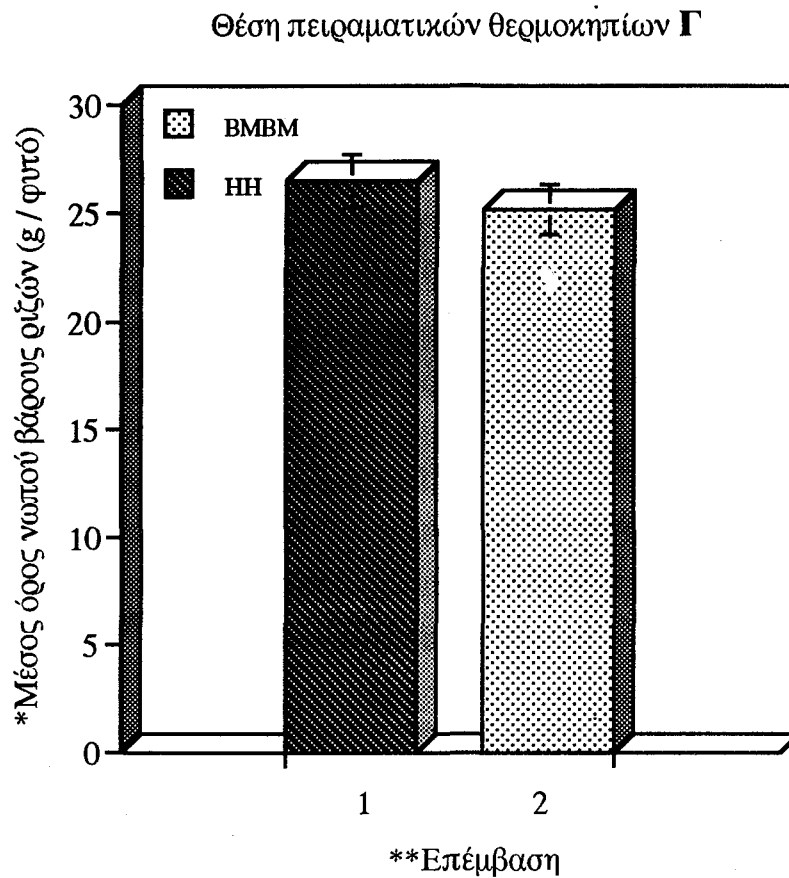
2, έως 60 % του ριζικού συστήματος προσβεβλημένο με πολλές κατεστραμένες ρίζες,

3, πάνω από το 60 % των ριζών προσβεβλημένο, έντονες και εκτενείς καταστροφές στις ρίζες, με το ριζικό σύστημα νεκρό ή σχεδόν νεκρό.

\*\* Επέμβαση όπου, BMBM= Εφαρμογή απολυμάνσεως με Βρωμιούχο Μεθύλιο μετά από Βρωμιούχο Μεθύλιο, HH= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από Ηλιοαπολύμανση.

Μέσος όρος 60 φυτών ανά θερμοκήπιο και επέμβαση.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.

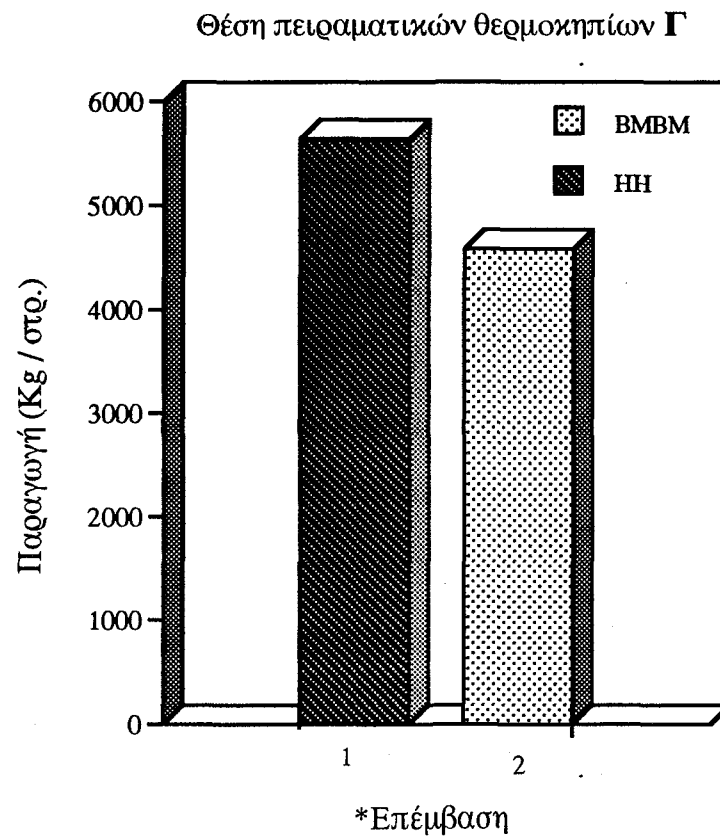


**Διάγραμμα 9.** Επίδραση της επαναλαμβανομένης εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και της εφαρμογής απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο στο νωπό βάρος του ριζικού συστήματος.

\*Νωπό βάρος ριζικού συστήματος. Μέσος όρος νωπού βάρους ριζικού συστήματος ανά φυτό 60 εκκριζωθέντων φυτών τομάτας, ανά θερμοκήπιο και επέμβαση. Συμπεριλαμβάνεται και μέρος του στελέχους (5 cm) από το επίπεδο του εδάφους.

\*\*Επέμβαση όπου, BMBM= Εφαρμογή απολυμάνσεως με Βρωμιούχο Μεθύλιο μετά από Βρωμιούχο Μεθύλιο, HH= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από Ηλιοαπολύμανση.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.



**Διάγραμμα 10.** Επίδραση της επαναλαμβανομένης εφαρμογής ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο επί της παραγωγής καρπών τομάτας.

\*Επέμβαση όπου, BMBM= Εφαρμογή απολυμάνσεως με Βρωμιούχο Μεθύλιο μετά από Βρωμιούχο Μεθύλιο, HH= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από Ηλιοαπολύμανση.



Στο *Διάγραμμα 11* δίδονται με ιστογράμματα οι μεμονωμένες συλλογές καρπών κατά θερμοκήπιο και επέμβαση, όπου φαίνεται ότι σχεδόν πάντοτε υπερτερεί ποσοτικώς η συγκομιδή από το θερμοκήπιο όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους.

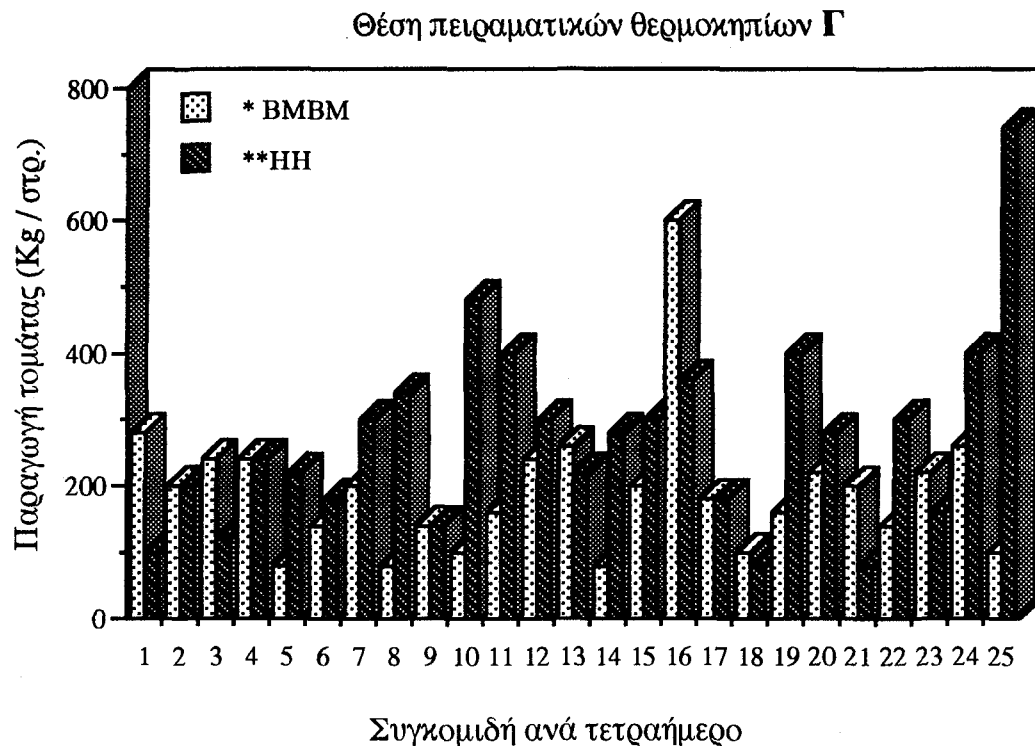
Τα δεδομένα του *Διαγράμματος 12* αποδεικνύουν ότι η διαφοροποίηση μεταξύ των συμπτωμάτων των φυτών της τομάτας ως προς το δείκτη ασθeneίας, ήταν σημαντική ( $P=0,05$ ) στην περίπτωση των φυτών τα οποία είχαν εγκατασταθεί σε έδαφος, στο οποίο είχε εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση του εδάφους επαναλαμβανομένη επί ετησίας βάσεως, σε σύγκριση με εκείνα των οποίων το έδαφος είχε απολυμανθεί τόσο με βρωμιούχο μεθύλιο.

Στο *Διάγραμμα 13* δίδεται η διαφοροποίηση του μέσου όρου νωπού βάρους ριζικού συστήματος (g / φυτό) τοματοφύτων τα οποία αναπτύσσονται σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους επαναλαμβανομένη επί ετησία βάσεως, σε σύγκριση με εδάφη όπου εφαρμόστηκε απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο. Η ανάλυση διασποράς έδειξε ότι οι μέσοι του νωπού βάρους του ριζικού συστήματος φυτών τομάτας διέφεραν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.

Η τελική παραγωγή καρπών τομάτας δίδεται από τα δεδομένα του *Διαγράμματος 14*. Η συνολική παραγωγή καρπών κατά το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου έφτασε τα 10.450 kg / στρέμμα σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους ενώ προσέγγισε τα 9.450 kg / στρέμμα σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε απολύμανση εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο.

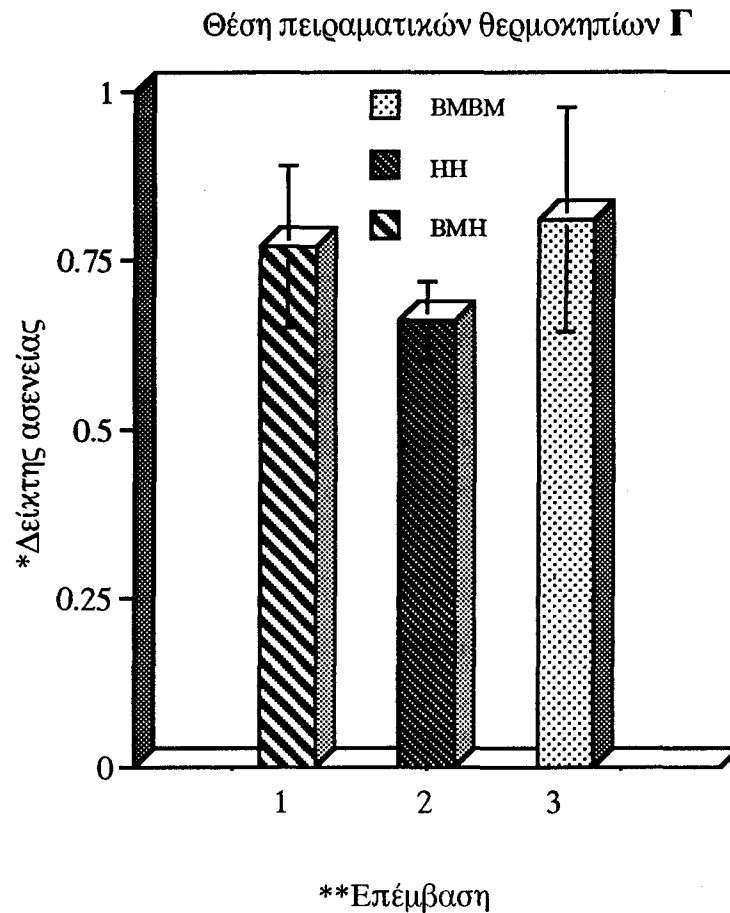
## 1.4. Συζήτηση-Συμπεράσματα

Τα δεδομένα επί της θερμικής ευαισθησίας των σκληρωτίων του μύκητα αποδεικνύουν ότι ο μύκητας *Pyrenochaeta lycopersici* είναι ιδιαίτερος ευπαθής στις θερμοκρασίες εδάφους που αναπτύσσονται ως μέγιστες στα επιφανειακά στρώματα (45-50 °C) κατά τη διάρκεια εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως. Δεδομένου ότι οι θερμοκρασίες αυτές κατά τη διάρκεια της ηλιοαπολυμάνσεως (4-6 εβδομάδες) διαρκούν τουλάχιστον 4-8 h ημερησίως και έχουν αθροιστική δράση (Katan, 1991), εξηγείται γιατί η ηλιοαπολύμανση του εδάφους, με την επαναλαμβανόμενη έκθεση των μολυσμάτων των παθογόνων στις υψηλές θερμοκρασίες επί σειρά ημερών, είναι τόσο αποτελεσματική εναντίον της κασταλής σπηριριζίας της τομάτας. Οι Pullman *et al.* (1981) έδειξαν επίσης ότι οι μύκητες *Verticillium dahliae*, *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani* και *Thielaviopsis basicola* είναι ευαίσθητοι σε θερμοκρασίες που αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους. Τα δεδομένα ευαισθησίας του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* συγκρινόμενα με τα αποτελέσματα της ταχυτάτης μείωσης της βλαστικότητα σκληρωτίων που ενσωματώθηκαν στο έδαφος κατά τη διάρκεια της ηλιοαπολυμάνσεως καταδεικνύουν ότι το εν λόγω παθογόνο είναι ευαίσθητο στην ηλιοαπολύμανση. Εφαρμογή



**Διάγραμμα 11.** Επίδραση της επαναλαμβανομένης εφαρμογής ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο επί της παραγωγής τοματοφύτων (kg / στρ.), ανά συγκομιδή.

\*,\*\*Επέμβαση όπου, BMBM= Εφαρμογή απολυμάνσεως με Βρωμιούχο Μεθύλιο μετά από Βρωμιούχο Μεθύλιο, HH= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από Ηλιοαπολύμανση.



**Διάγραμμα 12.** Επίδραση της επαναλαμβανομένης εφαρμογής ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο στην ένταση των συμπτωμάτων της ασθένειας στο ριζικό σύστημα.

\* Δείκτης ασθένειας εκπεφρασμένος με κλίμακα 0 - 3, όπου 0, χωρίς συμπτώματα, υγιείς ρίζες,

1, έως 30 % των ριζών είναι προσβεβλημένες, με φελλοποιημένες ή ελαφρώς αποδιοργανωμένες περιοχές,

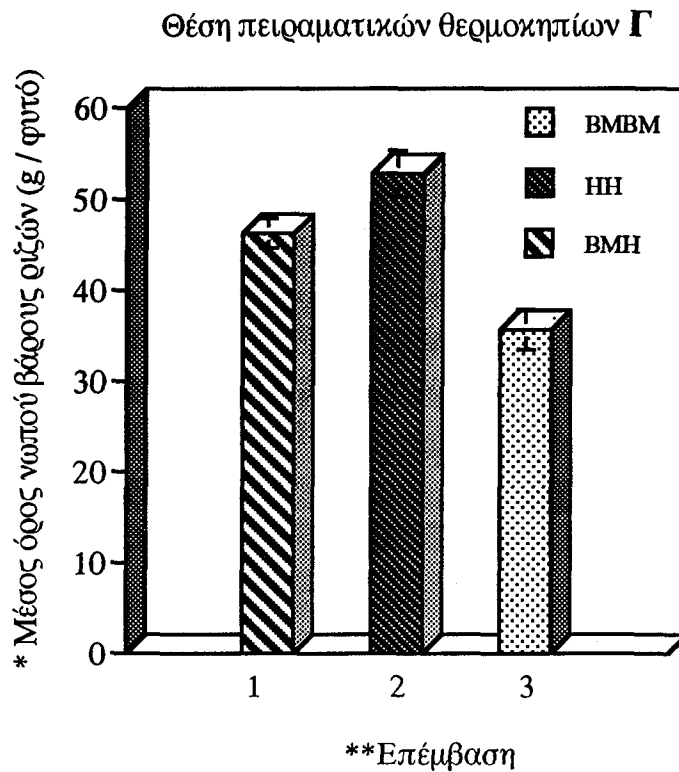
2, έως 60 % του ριζικού συστήματος προσβεβλημένο με πολλές κατεστραμμένες ρίζες,

3, πάνω από το 60 % των ριζών προσβεβλημένο, έντονες και εκτενείς καταστροφές στις ρίζες, με το ριζικό σύστημα νεκρό ή σχεδόν νεκρό.

\*\*Επέμβαση όπου, BMBM= Εφαρμογή απολυμάνσεως με Βρωμιούχο Μεθύλιο μετά από Βρωμιούχο Μεθύλιο, HH= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από Ηλιοαπολύμανση και BMH= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από εφαρμογή απολυμάνσεως με Βρωμιούχο Μεθύλιο.

Μέσος όρος 60 φυτών ανά θερμοκήπιο και επέμβαση.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.

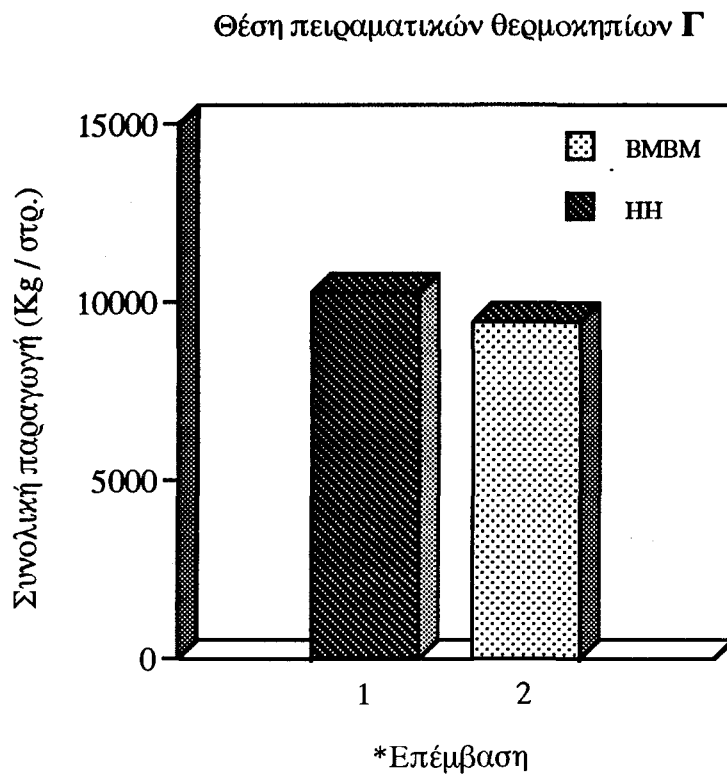


**Διάγραμμα 13.** Επίδραση της επαναλαμβανομένης εφαρμογής ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο στο νωπό βάρος του ριζικού συστήματος.

\* Νωπό βάρος ριζικού συστήματος. Μέσος όρος νωπού βάρους ριζικού συστήματος ανά φυτό 60 εκριζωθέντων φυτών τομάτας, ανά θερμοκήπιο και επέμβαση. Συμπεριλαμβάνεται και μέρος του στελέχους (5 cm) από το επίπεδο του εδάφους.

\*\*Επέμβαση όπου, BMBM= Εφαρμογή απολυμάνσεως με Βρωμιούχο Μεθύλιο μετά από Βρωμιούχο Μεθύλιο, HH= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από Ηλιοαπολύμανση και BMH= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από εφαρμογή απολυμάνσεως με Βρωμιούχο Μεθύλιο.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.



**Διάγραμμα 14.** Επίδραση της επαναλαμβανομένης εφαρμογής ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο επί της τελικής αποδόσεως καρπών τομάτας.

\*Επέμβαση όπου, BMBM= Εφαρμογή απολυμάνσεως με Βρωμιούχο Μεθύλιο μετά από Βρωμιούχο Μεθύλιο, HH= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από Ηλιοαπολύμανση και ΒΜΗ= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από εφαρμογή απολυμάνσεως με Βρωμιούχο Μεθύλιο.

της ηλιοαπολυμάνσεως έχει δείξει ότι μικροσκληρώτια του μύκητα *Verticillium dahliae* είναι επίσης ευαίσθητα στην ηλιοαπολύμανση. Η ευπάθεια αυτή εκδηλώνεται με μείωση της βλαστικότητός τους αναλόγως του βάθους τοποθέτησής και του χρόνου εκθέσεως στην επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως (Pullman *et al.*, 1981, Katan, 1989, Tjamos & Paplomatas, 1988, Tjamos *et al.*, 1991). Επισημαίνεται ότι η καταμέτρηση φυσικών μολυσμάτων του παθογόνου πραγματοποιείται για πρώτη φορά στη χώρα μας χρησιμοποιώντας ένα ημι-εκλεκτικό υλικό των Grove & Cambell (1987) για την καταμέτρηση φυσικών πληθυσμών του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*. Η καταμέτρηση φυσικών πληθυσμών από έδαφος όπου είχε εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση του εδάφους και εδάφους - μάρτυρα, σε θερμοκήπια τομάτας γίνεται επίσης για πρώτη φορά διεθνώς.

Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου στη μείωση των συμπτωμάτων της ασθένειας έχει επίσης κατά το παρελθόν αναφερθεί από τους Tjamos & Faridis (1980) και Τζάμο & Φαρίδη (1982), Katan *et al.* (1981) και από Μαλαθράκη (1983). Πράγματι, τα δεδομένα της εργασίας αυτής συμφωνούν με τα δεδομένα των Τζάμου & Φαρίδη (1982), για την ίδια περιοχή και ασθένεια, όπου τα ποσοστά των φυτών με εναέρια συμπτώματα της ασθένειας, σε θερμοκήπια-έδαφος μάρτυρας έφτασαν το 85 %, σε αντίθεση με τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση που παρέμειναν υγιή. Η διαπίστωση ότι ο πληθυσμός του παθογόνου σε επίπεδο 12 μονάδες του μύκητα / g εδάφους (έδαφος όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση) δεν προκαλεί εμφάνιση εναέριων συμπτωμάτων της ασθένειας, ενώ 120-150 μονάδες του μύκητα / g εδάφους (έδαφος-μάρτυρας) προκαλούν συμπτώματα έως και 40 %, σημαίνει ότι η ηλιοαπολύμανση περιορίζει σημαντικά τα μολύσματα στο έδαφος ούτως ώστε να μην υπάρχουν εναέρια συμπτώματα. Φυσικά οι πληθυσμοί αυτοί μπορεί να προκαλέσουν ήπια συμπτώματα προσβολής του ριζικού συστήματος όπως απεδείχθη με το δείκτη ασθένειας σε φυτά που αναπτύχθηκαν σε έδαφος όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση (Δείκτης ασθένειας= 1). Στην παρούσα εργασία επιβεβαιώνεται η αποτελεσματικότητα της ηλιοαπολυμάνσεως και αποδεικνύεται ότι η επαναλαμβανόμενη κατ' έτος εφαρμογή της μπορεί να είναι αποτελεσματικότερη της χημικής απολυμάνσεως στις συνθήκες για τη χώρα μας χρησιμοποιούμενες δόσεις βρωμιούχου μεθυλίου εφ' όσον συντρέχουν ευνοϊκές για την ηλιοαπολύμανση κλιματολογικές συνθήκες και εδαφικές παράμετροι. Η διαφοροποίηση αυτή μεταξύ των δύο επεμβάσεων εκφραζόμενη ως δείκτης ασθένειας, βάρος ριζικού συστήματος και ετήσια απόδοση ήταν σχεδόν πάντοτε στατιστικώς σημαντική υπέρ της ηλιοαπολυμάνσεως. Η διαφοροποίηση αυτή μεταξύ της επαναλαμβανόμενης ηλιοαπολυμάνσεως και της επαναλαμβανόμενης απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο δυνατόν να ερμηνευτεί με βάση τη βιολογική δράση της μεθόδου. Πράγματι έχει διαπιστωθεί ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως επηρεάζει θετικώς την επιβίωση και αύξηση θερμοανθεκτικών μικροοργανισμών που ενδεχομένως να είναι δυνητικοί ανταγωνιστές (Gamliel & Katan, 1991· Tjamos & Paplomatas, 1987· Chen *et al.*, 1991). Η

παρουσία αυτών των μικροοργανισμών στο έδαφος καθιστά δυσχερή την επιβίωση και αύξηση των μολυσμάτων του παθογόνου σε σημεία όπου έχει αποφύγει την επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως, δραστηριοποιείται στο έδαφος κατά τη διάρκεια ή μετά το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου, μετατρέποντάς το εμμέσως σε κατασταλτικό έδαφος (Greenberger *et al.*, 1987). Οι Tjamos & Paplomatas (1988), Tjamos *et al.*, (1991) έχουν αποδείξει τη μακροχρόνια δράση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως. Τα παρόντα δεδομένα παρέχουν τα πρώτα στοιχεία υπεροχής της συνεχούς επί ετησίας βάσεως εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως σε σύγκριση με την απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο. Τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τη συσχέτιση πληθυσμού σκληρωτίων του μύκητα στο έδαφος με την ένταση συμπτωμάτων ως και τη γενικότερη επίπτωση της ασθeneίας στο ποσοστό των ασθενών φυτών δεν είναι επαρκή για την εξαγωγή βάσιμων συμπερασμάτων ως προς το ελάχιστο απαιτούμενο ποσό μολύσματος ανά g εδάφους. Η έλλειψη εκδηλώσεως συμπτωμάτων στα εναέρια μέρη τοματοφύτων που αναπτύχθηκαν σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση βοηθά στην εξαγωγή ενός εμμέσου συμπεράσματος, ότι 10 σκληρώτια ανά g εδάφους δεν αποτελούν ουσιαστικό πρόβλημα για την εκδήλωση και εναερίων συμπτωμάτων της ασθeneίας. Τούτο σημαίνει ότι η οικολογικώς προτιμηταία μέθοδος της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μπορεί να είναι και αποτελεσματικότερη της χημικής όταν εφαρμόζεται σε επαναλαμβανόμενες ετησίως καλύψεις. Τούτο βεβαίως προϋποθέτει διαθεσιμότητα του εδάφους για την εφαρμογή της μεθόδου κατά τη διάρκεια του θέρους.

## 2. Διερεύνηση των δυνατοτήτων αντιμετώπισης του βακτηριακού έλκους της τομάτας με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους

Η μέχρι σήμερα αδυναμία αντιμετώπισης του βακτηριακού έλκους της τομάτας με τα υφιστάμενα καλλιεργητικά μέσα καθιστά επιτακτική την ανάγκη αξιολόγησης της ηλιοαπολυμάνσεως για το σκοπό αυτό κάτω από τις ελληνικές συνθήκες. Πράγματι, αν η εφαρμογή της μεθόδου αποδείχθη αποτελεσματική, τούτο θα αποτελέσει μία επιτυχή και οικολογικώς αποδεκτή προσέγγιση στην αντιμετώπιση της ασθένειας για πολλές περιοχές της χώρας όπου ενδημεί το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Φυσικά το γεγονός ότι η ηλιοαπολύμανση δεν αναφέρεται ως ιδιαίτερος αποτελεσματική εναντίον φυτοποαθογόνων βακτηρίων εδάφους είναι κατ' αρχήν αποθαρρυντικός παράγοντας (Katan & DeVay, 1991).

Η μελέτη πέραν της αξιολόγησης της μεθόδου στα θερμοκήπια, επικεντρώνεται και σε μελέτες σχετικές με την ευαισθησία μολυσμάτων του παθογόνου κάτω από συνθήκες ηλιοαπολυμάνσεως, σε σύγκριση με άλλες μεθόδους απολυμάνσεως εδάφους, για να διερευνηθεί η άμεση επίπτωση της μεθόδου στην επιβίωση του παθογόνου στο έδαφος. Εν τούτοις, ενδεχόμενη επιτυχής εφαρμογή της μεθόδου και για την αντιμετώπιση της αδροβακτηριώσεως θα αποδείκνυε ότι η ηλιοαπολύμανση συνιστά πληρέστερη μέθοδο αντιμετώπισης πολλών εδαφογενών φυτοπαθογόνων.

### 2.1. Σκοπός της έρευνας

Στην παρούσα εργασία μελετώνται:

- η αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως στην αντιμετώπιση του βακτηριακού έλκους της τομάτας,
- η επίδραση της μεθόδου στην επιβίωση και αύξηση θερμοανθεκτικών βακτηρίων που αναπτύσσονται στη ριζόσφαιρα τοματοφύτων και ενδεχομένως δρουν ανταγωνιστικώς εναντίον του βακτηρίου *C. m. michiganensis*,
- η δυνατότητα της μεθόδου ώστε να εφαρμοστεί αποτελεσματικά και σε εμπορική κλίμακα,
- η διαφοροποίηση της διακυμάνσεως του πληθυσμού του βακτηρίου μεταξύ εδάφους όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση, απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο και εδάφους μάρτυρα,
- η ευαισθησία του πληθυσμού του παθογόνου στις θερμοκρασίες που



αναπτύσσονται κάτω από το καλυμμένο με πλαστικό έδαφος.

## 2.2. Υλικά και Μέθοδοι

### 2.2.1. Πειράματα Αγρού

#### 2.2.1.1. Αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως στην αντιμετώπιση του βακτηριακού έλκους της τομάτας σε θερμοκήπια πλαστικής καλύψεως

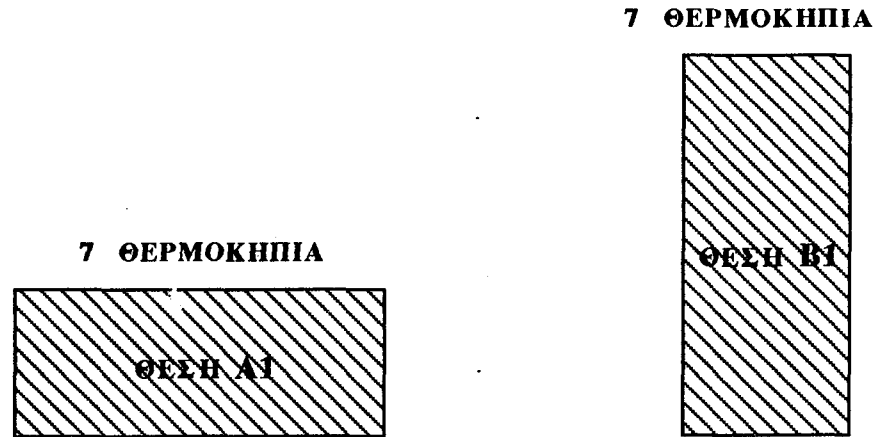
Τα πειράματα αγρού έλαβαν χώρα στην περιοχή του Ν. Πρεβέζης, σε πλαστικά θερμοκήπια όπου καλλιεργείται συνεχώς τομάτα για παραγωγή εκτός εποχής (Μάρτιο έως Ιούνιο).

Τα πλαστικά θερμοκήπια θερμαίνονται κατά περίπτωση με χρήση θερμοστρών πετρελαίου ή υγραερίου εγκατεστημένων στο μέσο του θερμοκηπίου, έτσι ώστε να εμποδίζουν την πτώση της θερμοκρασίας κάτω των 7 °C. Η αποτελεσματικότητα της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στην αντιμετώπιση του βακτηριακού έλκους, σε σύγκριση με την απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο ελέγχθηκε σε δύο πειραματικούς αγρούς κατά τη διάρκεια τριών καλλιεργητικών περιόδων (1990-1991, 1991-1992 και 1992-1993, *Εικόνα 22* ).

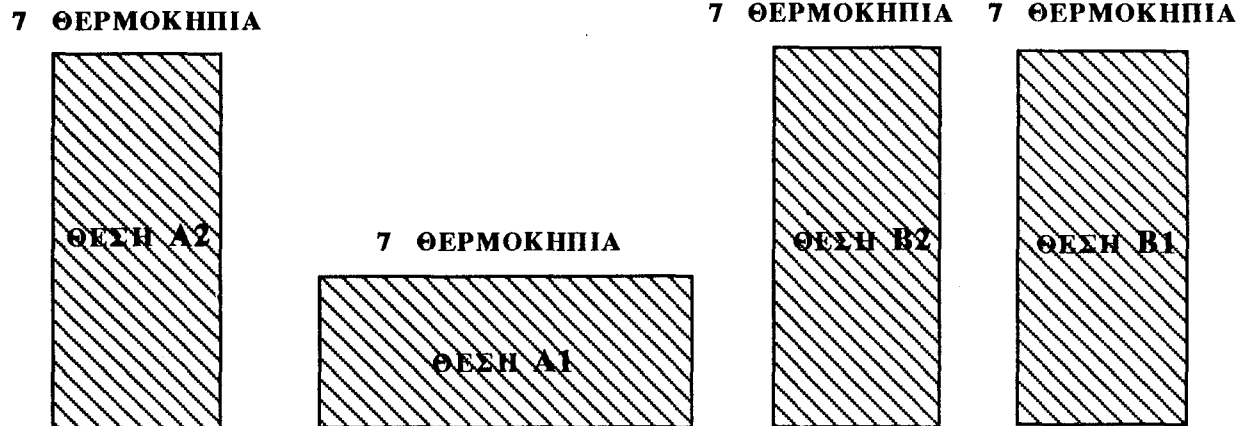
##### 2.2.1.1.1. Πρώτη αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους (πειράματα 1990 - 1991)

Η επιλογή των πειραματικών τεμαχίων-πλαστικών θερμοκηπίων-έγινε με βάση την ένταση των συμπτωμάτων του βακτηριακού έλκους της τομάτας κατά τη διάρκεια προηγούμενων καλλιεργητικών περιόδων. Πράγματι, 50% περίπου των φυτών έδειχναν έντονα συμπτώματα βακτηριακού έλκους στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου (επιτόπια επισκόπηση καλλιεργειών, 31 Μαΐου 1990). Κάθε πλαστικό θερμοκήπιο σχήματος τόξου είχε διαστάσεις μεταξύ 38-40 x 5m και ύψος 2m. Η καλλιέργεια γινόταν σε 6 σειρές φυτών, με 700-720 φυτά ανά θερμοκήπιο. Τα φυτικά υπολείμματα ενσωματώνονταν στο έδαφος κατά το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου (Ιούλιος). Απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο στη δόση των 70 g / m<sup>2</sup> εφαρμόστηκε κατά τα μέσα Οκτωβρίου 1990 σε αμμοπηλώδη εδάφη (pH≈ 5) σε 7 πλαστικά θερμοκήπια τομάτας (θέση Β1, *Εικόνα 22*). Η απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο έγινε με την ψυχρή μέθοδο εφαρμογής του απολυμαντικού, όπου χρησιμοποιήθηκαν μεταλλικά δοχεία, τα οποία περιείχαν 700 g βρωμιούχου μεθυλίου υπό πίεση. Παρομοίως, σε 7 παρακείμενα πλαστικά θερμοκήπια (θέση Α1, *Εικόνα 22*) που είχαν υποστεί απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο το 1989, και με τα ίδια χαρακτηριστικά δομής και υφής εδάφους και με ανάλογη ένταση προσβολής τοματοφύτων κατά την προηγούμενη καλλιεργητική περίοδο, εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση από τα μέσα Ιουλίου έως τα τέλη Αυγούστου 1990 σε καλά κατεργασμένο

**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΙ 1990-1991**



**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΙ 1991-1992**



**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΙ 1992-1993**



Εικόνα 22. Πειραματικοί αγροί 1990-1993.

και αρδευμένο έδαφος (πάνω από το σημείο κορεσμού με 30 L / m<sup>2</sup> νερού). Η κάλυψη έγινε με διαφανή φύλλα πολυαιθυλενίου πάχους 50 μm και πλάτους 6 m ενισχυμένα με 1 % σταθεροποιητή κατά των υπεριωδών ακτίνων. Ως προς την υδατική ικανότητα του εδάφους (-33 KPa) ήταν 25,5 % (v/ v), το σημείο μονίμου μαράνσεως (- 1500 KPa) ήταν 6,5 % και η θεωρητικώς διαθέσιμη ποσότητα νερού [ διέφερε μεταξύ (- 33)-(- 1500) KPa ] ήταν 19,0 % (v/ v) (οι μετρήσεις της υδατοϊκανότητας του εδάφους έγιναν με τη συσκευή Richardt). Η κάλυψη ήταν κατά το δυνατόν ερμητική, για να επιτευχθή το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα. Οι μέγιστες τιμές θερμοκρασιών εδάφους στο καλυμμένο και ακάλυπτο έδαφος στα πειραματικά τεμάχια καταγράφονταν ημερησίως κατά τη διάρκεια των πρώτων 15 ημερών του Αυγούστου χρησιμοποιώντας ψηφιακό θερμόμετρο εδάφους (Thandar TH 302).

Σε όλα τα πλαστικά θερμοκήπια, όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση ή απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο, χρησιμοποιήθηκε το υβρίδιο τομάτας Jolly (Peto Seed Co. CA. USA). Τα τοματόφυτα μεταφυτεύτηκαν στις 25 Νοεμβρίου 1990 στο στάδιο αναπτύξεως των έξι πραγματικών φύλλων. Αντιβιοτικά σκευάσματα σε εναλλαγή με Kocide-101 (Griffin , USA ή άλλα χαλκούχα μυκητοκτόνα εφαρμόστηκαν από τον παραγωγό, καθ' όλη τη διάρκεια του πειραματισμού, για την προστασία των φυτών από αναέρειες προσβολές του παθογόνου κυρίως μετά από κλάδευμα. Η ένταση της ασθένειας εκφράστηκε ως ποσοστό φυτών με εμφανή συμπτώματα της ασθένειας (μαράνσεις, χλωρώσεις, νεκρώσεις) σε κάθε πειραματικό τεμάχιο - πλαστικό θερμοκήπιο - και υπολογίστηκε στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου (6 Ιουνίου 1991).

#### **2.2.1.1.2. Δεύτερη αξιολόγηση της ηλιοαπολύμανσεως του εδάφους (πειράματα 1991-1992)**

Για περαιτέρω εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της ηλιοαπολύμανσεως, η τεχνική εφαρμόστηκε στα ίδια πλαστικά θερμοκήπια (θέσεις A1, B1, B2, *Εικόνα 22*) και κατά τη διάρκεια του θέρους του 1991.

Η διαδικασία της ηλιοαπολύμανσεως, τα χαρακτηριστικά του πλαστικού, η διάρκεια καλύψεως του εδάφους ως και οι καλλιεργητικές τεχνικές που ακολουθήθηκαν ήταν όμοιες με εκείνες της εφαρμογής της μεθόδου κατά το θέρους του 1990. Το υβρίδιο τομάτας Jolly, που χρησιμοποιήθηκε και στο πείραμα αυτό, μεταφυτεύτηκε στις 5 Δεκεμβρίου 1991. Η ένταση της ασθένειας βασίστηκε στο ποσοστό των φυτών που ανέπτυξαν εμφανή συμπτώματα. Η διακύμανση του ποσοστού των ασθενών φυτών παρατηρήθηκε από τα αρχικά στάδια εμφανίσεως της ασθένειας (28 Μαρτίου 1992) έως το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου (10 Ιουνίου 1992), και καταγράφηκε ανά δεκαπενθήμερα ή και μηνιαία χρονικά διαστήματα.

Λόγω της απροθυμίας των παραγωγών να εφαρμόσουν απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο κατά το 1991, η ανάπτυξη των συμπτωμάτων της ασθένειας σε πλαστικά θερμοκήπια όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση συγκρίθηκε με 6 παρακείμενα τεμάχια-

πλαστικά θερμοκήπια όπου εφαρμόστηκε απολύμανση του εδάφους με ατμό (θέση Α2, *Εικόνα 22*). Η απολύμανση του εδάφους με ατμό εφαρμόστηκε τον Οκτώβριο 1991 (θερμοκρασία εξόδου ατμού 70 °C για 1 1/2 ώρα). Επειδή η απολύμανση του εδάφους με ατμό εφαρμόστηκε από τους παραγωγούς, η μελέτη μας δεν προτίθεται να εκτιμήσει την αποτελεσματικότητα της απολυμάνσεως αυτής με ατμό, σε σχέση με την ηλιοαπολύμανση, αλλά χρησιμοποιεί τα στοιχεία που καταγράφηκαν ως δεδομένα μάρτυρα για συγκριτικούς και μόνο σκοπούς.

#### **2.2.1.1.3. Επίδραση του φαινομένου του περιθωρίου**

Αναφορικός με την επίδραση του φαινομένου του περιθωρίου, που αφορά στη μείωση κατά 50 % της αποτελεσματικότητας της ηλιοαπολυμάνσεως στο περιθώριο της καλυπτόμενης με πολυαιθυλένιο επιφάνειας του εδάφους και σε εύρος 50 cm αριστερά και 50 cm δεξιά της λωρίδος (*Gamliel et al., 1994*), ερευνήθηκε εάν λειτουργεί ανάλογο φαινόμενο και στην περίπτωση του βακτηριακού έλκους της τομάτας.

Η επίδραση του φαινομένου του περιθωρίου, στην εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως εξετάστηκε με την καταγραφή των ποσοστών των ασθενών φυτών ξεχωριστά για τις δύο εξωτερικές και ξεχωριστά για τις τέσσερις μεσαίες σειρές φυτεύσεως των επτά θερμοκηπίων κατά τους μήνες Απρίλιο, Μάιο και Ιούνιο του 1992.

#### **2.2.1.1.4. Τρίτη αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους (πειράματα 1992 - 1993)**

Η αποτελεσματικότητα της ηλιοαπολυμάνσεως ελέγχθηκε για τρίτη καλλιεργητική περίοδο με την εφαρμογή της μεθόδου σε πειράματα πλαστικών θερμοκηπίων το θέρος του 1992 (θέση Α1, *Εικόνα 22*). Η διαδικασία εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως, τα χαρακτηριστικά του πλαστικού, η χρονολογική διάρκεια της καλύψεως, ως και οι καλλιεργητικές φροντίδες, ήταν όμοιες με εκείνες του θέρους του 1990 και 1991. Φυτάρια τομάτας του υβριδίου Jolly (*Peto Seed Co, CA, USA*) στο στάδιο των έξι φύλλων μεταφυτεύτηκαν το τέλος του Νοεμβρίου 1992, σε ηλιοαπολυμανθέντα θερμοκήπια πλαστικής καλύψεως. Η επίπτωση της ασθένειας, εκπεφρασμένη ως ποσοστό φυτών με εμφανή συμπτώματα της ασθένειας σε κάθε θερμοκήπιο καταγράφηκε κατά τους μήνες Φεβρουάριο, Απρίλιο, Μάιο και Ιούνιο του 1993.

Η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της ηλιοαπολυμάνσεως σε γειτνιάζουσα περιοχή με αυτή των προηγούμενων ετών (θέσεις Β1, Β2, *Εικόνα 22*) έγινε με την εφαρμογή της μεθόδου σε 14 θερμοκήπια πλαστικής καλύψεως, το θέρος του 1992. Τα τοματόφυτα ποικιλίας Jolly μεταφυτεύθηκαν στις αρχές Δεκεμβρίου 1992.

## **2.2.1.2. Διερεύνηση της ευαισθησίας μολυσμάτων του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* στην εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως**

### **2.2.1.2.1. Εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως στα πειραματικά τεμάχια των θερμοκηπίων**

Η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως ακολούθησε την αυτή διαδικασία με αυτή που αναφέρεται στο κεφάλαιο 1.3.2. στην εφαρμογή της μεθόδου κατά το 1990.

### **2.2.1.2.2. Εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως σε πειραματικό αγρό του Γ.Π.Α. για την μελέτη της πληθυσμιακής μεταβολής του παθογόνου μικροοργανισμού**

Η ηλιοαπολύμανση του εδάφους εφαρμόστηκε το θέρος του 1991 και το θέρος του 1992 στον πειραματικό αγρό του Εργαστηρίου της Γεωργίας του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Εικόνα 23). Το έδαφος (αμμοπηλλώδες έδαφος, pH= 7) οργώθηκε, φρεζαρίστηκε, αρδεύτηκε μέχρι το επίπεδο κορεσμού του εδάφους (40 L / m<sup>2</sup>) και καλύφθηκε στις 9 Ιούλιου 1991 και 12 Ιουλίου το 1992. Η ικανότητα συγκρατήσεως του εδάφους του εδάφους σε υγρασία σε βάθος εδάφους 0-25 cm, με τη χρησιμοποίηση της συσκευής Richardt, είναι: υδατοϊκανότητα (- 33 KPa) ήταν 25,9 % (v/ v), το σημείο μονίμου μαράνσεως (- 1.500 KPa) ήταν 10,9 % (v/ v) και θεωρητικώς διαθέσιμη ποσότητα νερού 15,0 % (v/ v) (οι μετρήσεις της υδατοϊκανότητας του εδάφους έγιναν με τη συσκευή Richardt). Έξι πειραματικά τεμάχια χρησιμοποιήθηκαν σε αυτό το πείραμα του αγρού. Κάθε τεμάχιο καλύφθηκε με διαφανές πλαστικό φύλλο πολυαιθυλενίου (πάχους 70 μm) εμπλουτισμένο με 1% σταθεροποιητή κατά της υπερϊώδους ακτινοβολίας. Όλα τα πειραματικά τεμάχια καλύφθηκαν μαζί σε μια συνολική επιφάνεια διαστάσεων 4 x 30 m το 1991 και 4 x 21,5 m το 1992. Οι διαστάσεις κάθε πειραματικού τεμαχίου ήταν 4 x 4,30 m για το 1991 και 4 x 3,65 m το 1992 με 4 x 0,5 m ενδιάμεση καλυμμένη ζώνη μεταξύ των τεμαχίων. Το έδαφος-μάρτυρας δέχθηκε παρόμοια επεξεργασία (κάθε τεμάχιο είχε διαστάσεις 4 x 4,30 m το 1991 και 4 x 3,65 m το 1992). Χρησιμοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις για κάθε βάθος εδάφους, χρόνο, και επέμβαση. Τα δείγματα-μολύσματα των βακτηρίων, που είχαν αναπτυχθεί σε υάλινα φιαλίδια (σε θρεπτικό υπόστρωμα NAG, όρα προετοιμασία μολυσμάτων κεφ. 2.2.2.5.) και είχαν τοποθετηθεί σε βάθη 5, 15 και 25 cm, απομακρύνοντο από το έδαφος κάθε εβδομάδα επί ένα μήνα για να καταμετρηθεί η επιβίωση του παθογόνου. Στο πείραμα του 1992 έγινε ανάλογος πειραματικός σχεδιασμός με μία επανάληψη για κάθε ανθεκτικό σε αντιβιοτικό στέλεχος, βάθος εδάφους (5, 15 και 25 cm), χρόνο και επέμβαση. Μέγιστες (15:00) και ελάχιστες (7:00) τιμές θερμοκρασιών εδάφους καταγράφοντο ημερησίως σε βάθη εδάφους 5, 15, και 25 cm χρησιμοποιώντας ένα ψηφιακό θερμομέτρο εδάφους (Thandar TH 302).

### **2.2.1.3. Διερεύνηση της ευαισθησίας μολυσμάτων του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* στην εφαρμογή χημικής απολυμάνσεως του εδάφους με κανονικές και μειωμένες δόσεις βρωμιούχου μεθυλίου**

Η εργασία αφορούσε στη μελέτη της δυνατότητας καταστροφής πληθυσμών του παθογόνου, που προστέθηκε στο έδαφος κατά τη διάρκεια της απολυμάνσεως με κανονικές ή μειωμένες δόσεις βρωμιούχου μεθυλίου. Σκοπός της εφαρμογής ήταν να εξετασθε΄ και να επιβεβαιωθεί η έλλειψη βακτηριοκτόνου δράσεως του σκευάσματος στις συνιστώμενες δόσεις ( $70 \text{ g} / \text{m}^2$ ). Η εφαρμογή της απολυμάνσεως έγινε με τη χρησιμοποίηση συμβατικών φύλλων πολυαιθυλενίου ως και με ένα νέο τύπο αδιαπέρατου πλαστικού, για να μελετηθεί η δυνατότητα επιτεύξεως καλύτερων συνθηκών συγκεντρώσεως του απολυμαντικού ούτως ώστε να είναι δραστικότερο στη μείωση του πληθυσμού του παθογόνου.

Τα δύο είδη των πλαστικών που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το κοινό πολυαιθυλένιο (Πλαστικά Κρήτης) και το αδιαπέρατο πλαστικό LMG (Αγγλικής προελευσεως Y181 CO-EXTRUDED FILM 1,95 m πλάτους και 620 m μήκους). Το σύνθετο αυτό πλαστικό φύλλο, που αποτελείται από δύο φύλλα πολυαιθυλενίου και ενδιάμεσο αδιαπέρατο στρώμα πολυαμιδίου παρέχει τη δυνατότητα μειώσεως των χρησιμοποιούμενων δόσεων κατά την κάλυψη του εδάφους λόγω περιορισμού μέχρι εκμηδενίσεως των απωλειών του σκευάσματος από την επιφάνειά του κατά τη διάρκεια της απολυμάνσεως. Όμως δεν αποκλείει την απώλεια από την περιφέρεια της καλυπτομένης επιφανείας. Παρ' όλα αυτά επιτυγχάνεται μία υψηλή συγκέντρωση του απολυμαντικού για το χρονικό διάστημα που είναι αναγκαίο για να επέλθει ο θάνατος των μολυσμάτων παθογόνων εδάφους. Πράγματι, ενώ η διαπερατότητα του κοινού πολυαιθυλενίου προσεγγίζει τα  $250 \text{ g} / \text{m}^2 / \text{ώρα}$ , εκείνη του LMG είναι αμελητέα ( $0,5 \text{ g} / \text{m}^2 / \text{ώρα}$ ). Τα τεχνικά χαρακτηριστικά των πλαστικών δίδονται στον Πίνακα 2 (Gamliel *et al.*, 1994).

Τα πειράματά μας αφορούσαν εφαρμογές απολυμάνσεως του εδάφους με μειωμένες δόσεις βρωμιούχου μεθυλίου ( $20$  και  $35 \text{ g} / \text{m}^2$  αντί των  $70 \text{ g} / \text{m}^2$  που συνιστάται κάτω από κανονικές συνθήκες). Για την παρασκευή των μολυσμάτων χρησιμοποιήθηκε ανθεκτικό σε αντιβιοτικά στελέχος του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, σε στελέχη τομάτας μετά από αναρρόφηση αιωρήματος βακτηριακών κυττάρων (όρα κεφ. 2.2.2.8.).

#### **2.2.1.3.1. Εφαρμογή της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο**

Η εφαρμογή της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο έλαβε χώρα στον πειραματικό αγρό του Εργαστηρίου Αμπελουργίας του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών, τον Ιούνιο του 1994. Κάθε πειραματικό τεμάχιο ήταν  $10 \text{ m}^2$  ( $3,33 \times 3,33 \text{ m}$ ) με ενδιάμεσα διαστήματα  $50 \text{ cm}$  για την κατά το δυνατόν ερμητική κάλυψη του εδάφους.

Τα δείγματα -μολύσματα τοποθετήθηκαν σε δύο θέσεις στο πειραματικό τεμάχιο ανάλογα με την απόσταση από την έξοδο του ακροφυσσίου της παροχής του βρωμιούχου μεθυλίου, ήτοι ακριβώς στο σημείο εξόδου και 1 m μακριά από αυτό. Η αποτελεσματικότητα του συνδυασμού διαφόρων δόσεων του απολυμαντικού και πλαστικών καλύψεως εξετάστηκε στο βάθος 20 και 30 cm. Η παροχή του απολυμαντικού έγινε από φιάλη με δοσομετρητή για τον έλεγχο της δόσεως. Οι δόσεις του σκευάσματος (98% βρωμιούχο μεθύλιο και 2% χλωροπικρίνη) που χρησιμοποιήθηκαν και ήταν 70, 35 και 20 g / m<sup>2</sup> για το πολυαιθυλένιο (P70, P35 και P20) και 35 και 20 g / m<sup>2</sup> για το αδιαπέρατο πλαστικό LMG ( V35 και V20).

Ο κάθε συνδυασμός πλαστικού και συγκεντρώσεως απολυμαντικού είχε τέσσερις επαναλήψεις, όπως και το έδαφος-μάρτυρας το οποίο υπέστη όλες τις κατεργασίες (όργωμα, φρεζάρισμα, πότισμα) χωρίς να δεχθεί άλλη επέμβαση. Η αποκάλυψη του εδάφους έγινε 5 ημέρες μετά από την εφαρμογή του βρωμιούχου μεθυλίου (Εικόνα 24).

Παράλληλα με τα δείγματα τα οποία ενσωματώθηκαν στο έδαφος αντίστοιχος αριθμός αυτών διατηρήθηκε υπό συνθήκες θερμοκρασίας, φωτισμού και υγρασίας εργαστηρίου κατά τη θερινή περίοδο. Τα δείγματα αυτά υπέστησαν την ίδια επεξεργασία όπως ακριβώς και αυτά του πειραματικού αγρού και αναφέρονται στα δεδομένα ως μάρτυρας του μάρτυρα (MM).

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της επιβιώσεως των κυττάρων του βακτηρίου πραγματοποιήθηκε για τα δείγματα που τοποθετήθηκαν στη θέση εξόδου του βρωμιούχου μεθυλίου, μόνο στα πειραματικά τεμάχια που είχαν τοποθετηθεί σε βάθος 20 cm. Η επεξεργασία των δειγμάτων σε άλλες θέσεις και βάθη εδάφους δεν πραγματοποιήθηκε.

## 2.2.2. Πειράματα Εργαστηρίου

### 2.2.2.1. Θρεπτικά Υλικά

*NAG (Nutrient Agar Glycerol) (Θρεπτικός ζωμός, Άγαρ, Γλυκερόλη)*

ανά λίτρο απεσταγμένου ύδατος

Θρεπτικός ζωμός (Oxoid)	8 g
Γλυκερίνη	20 g
Άγαρ	20 g

Εμπλουτισμένα (*NAGRAC*) και (*NAGKC*) / ml με

Ριφαμπικίνη	50 μg / ml
Αμπικιλίνη	150 μg / ml
Καναμυκίνη	50μg / ml
Κυκλοεξαμίδη	1 μg / ml

**Πίνακας 2.** Χημική σύνθεση διαφόρου τύπου πλαστικών φύλλων καλύψεως του εδάφους και περατότητα αυτών σε ατμούς βρωμιούχου μεθυλίου.

Πλαστικό φύλλο	Σύνθεση	Διαπερατότητα στο βρωμιούχο μεθύλιο (g / m <sup>2</sup> / ώρα)
Πολυαιθυλένιο	Πολυαιθυλένιο (PE)	254,0
LMG	PE +Πολυαμίδια +PE	0,5
Plastopil	PE +EVOH * +PE	0,1

\* EVOH: Αιθυλενοβινυλική αλκοόλη

Στοιχεία από τους Gamliel *et al.*, 1994.





**Εικόνα 23.** Εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους σε πειραματικό αγρό του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών.



**Εικόνα 24.** Εφαρμογή απολυμάνσεως του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο σε πειραματικό αγρό του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

SCM ( Semi Selective Medium for *C. michiganense* subsp. *michiganense* )

(Ημι εκλεκτικό υλικό για τον προσδιορισμό πληθυσμού του βακτηρίου *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* στο έδαφος) ( Fatmi & Schaad, 1988)

Ανά λίτρο απεσταγμένου ύδατος

MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	250 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	500 mg
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g
Σακχαρόζη	10 g
Εκχύλισμα Ζύμης	100 mg
Βορικό οξύ	1,5g
Άγαρ	15 g

Κυκλοεξαμίδη	200 mg
Ναλιδιξικό οξύ	30 mg
Τελουρώδες νάτριο	10 mg
Νικοτινικό οξύ	100 mg

Τροποποίηση της μεθόδου ως προς την αναλογία του

Ναλιδιξικού οξέος σε	15 mg
----------------------	-------

Ρυθμιστικά διαλύματα

Φωσφορικό ( 0,05 M pH≈7,02) ( Lelliott & Stead, 1987)

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4,26 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2,72 g
Νερό απέσταγμένο	1 L

Η αποστείρωση όλων των θρεπτικών υποστρωμάτων καλλιέργειας έγινε υπό συνθήκες θερμοκρασίας 121 °C και πίεσεως 1 atm, σε αποστειρωτικό κλίβανο (αντόκαυστο), επί 15 min., για τα υποστρώματα που περιέχουν σάκχαρα, βιταμίνες, ενώ για αυτά που δεν περιέχουν τέτοιες ουσίες επί 20 min.

### 2.2.2.2. Απομόνωση του παθογόνου βακτηρίου από μολυσμένα τοματόφυτα του υβριδίου Jolly .

Από φυτά τομάτας με έντονα συμπτώματα βακτηριακού έλκους, τα οποία αναπτύσσονται στα θερμοκήπια όπου έλαβαν χώρα τα πειράματα θερμοκηπίων, έγιναν τυχαίες δειγματοληψίες και απομονώσεις του βακτηρίου *C. m. subsp. michiganensis* για την επιβεβαίωση της ταυτότητας του αιτίου της ασθένειας. Από κάθε πειραματικό θερμοκήπιο

συλλέγοντο 7 τοματόφυτα, με χαρακτηριστικά συμπτώματα της ασθένειας για την απομόνωση του παθογόνου αιτίου. Η απομόνωση από τους φυτικούς ιστούς έγινε ως ακολούθως: επιφανειακή απολύμανση των στελεχών με 70 % αιθυλική αλκοόλη, ασηπτική αποκάλυψη των αγγείων, παραλαβή μικρών τεμαχίων από ελαφρά μεταχρωματισμένα αγγεία και τοποθέτησή τους σε σταγόνα αποστειρωμένου ύδατος, σε αποστειρωμένο τρυβλίο επί 30 min, για να διαχυθούν τα βακτήρια. Εν συνεχεία, με το αιώρημα των βακτηρίων πραγματοποιήθηκαν απομονώσεις, με γραμμική διασπορά (streaking) σε τρυβλίο με θρεπτικό υπόστρωμα NAG και επώαση σε επωαστικό θάλαμο στους  $26\pm 1$  °C επί 3-4 ημέρες (7 τρυβλία ανά απομόνωση-φυτό από διάφορα σημεία αυτού). Ακολούθησε επιλογή των μεμονωμένων αποικιών, καθαρισμός και διατηρησή τους σε κεκλιμμένη επιφάνεια θρεπτικού υποστρώματος NAG στους 4 °C. Διενεργήθησαν οι απαραίτητοι έλεγχοι της χρώσεως κατά Gram, της αντιδράσεως της οξειδάσης καθώς και ο έλεγχος παθογενείας σε νεαρά τοματόφυτα, για την ταυτοποίηση του παθογόνου βακτηρίου.

### **2.2.2.3. Αξιολόγηση της επιδράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως στην επιβίωση φυσικών πληθυσμών του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (C. m. m.) σε εδάφη θερμοκηπίων.**

Προκαταρκτικές δοκιμές προσδιορισμού του φυσικού πληθυσμού του βακτηρίου *C. m. m.* στο έδαφος, μετά από εφαρμογή ηλιοαπολυμάνσεως ή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο κατά το 1991, απέδειξαν ότι η διαφοροποίηση του παθογόνου από άλλα βακτήρια ήταν δυσχερής με τη χρησιμοποίηση του ημι-εκλεκτικού υλικού (SCM). Τούτο ήταν αποτέλεσμα της αδυναμίας διακρίσεως των αποικιών του παθογόνου από αυτές άλλων γενών βακτηρίων που έδιναν μαύρο ή φαιό χρώμα στο ως άνω ημι-εκλεκτικό υπόστρωμα. Η διαδικασία επίσης αυτή ήταν αρκετά χρονοβόρος. Για τους ανωτέρω λόγους αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθούν πληθυσμοί του παθογόνου οι οποίοι προήλθαν από καλλιέργειά του σε τεχνητά θρεπτικά υποστρώματα.

### **2.2.2.4. Προέλευση και καλλιέργεια φυσικού στελέχους του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (C. m. m. - 22 )**

Η μελέτη της επιβιώσεως και της διακυμάνσεως των πληθυσμών του *C. m. m.* -22 υπό συνθήκες ηλιοαπολυμάνσεως έλαβε χώραν το θέρος του 1991, χρησιμοποιώντας μια εντόνως παθογόνο απομόνωση του βακτηρίου χαρακτηριζόμενη ως φυσικό στέλεχος (wild type) *C. m. m.* - 22, ευγενώς παραχωρηθείσα από το Δρ. Αλιβιζάτο του Εργαστηρίου Βακτηριολογίας του Μπεννακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου.

Ο έλεγχος της παθογόνου ικανότητας του έγινε στο θερμοκήπιο του Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας του Γ.Π.Α., σε φυτά τομάτας ποικιλίας Early Pack, που αναπτύχθηκαν σε γλάστρες διαστάσεων 9 x 9 x 9 cm, μέσα σε αποστειρωμένο φυτόχωμα. Η μόλυνση των

φυτάρων τομάτας έγινε κατά το στάδιο των 4-5 πραγματικών φύλλων. Τα φυτά (10 γλάστρες από 2 φυτά εκάστη) μολύνθηκαν στο στέλεχος, με τη μέθοδο της εναποθέσεως σταγόνας βακτηριακού αιωρήματος 30 μl συγκεντρώσεως  $10^8$  μονάδων του βακτηρίου που σχηματίζουν αποικίες (cfu) / ml και ακολούθως της διατρήσεως του σημείου στο οποίο είχε τοποθετηθεί η σταγόνα με αποστειρωμένη ανατομική βελόνη. Ακολούθησε κάλυψη του σημείου μόλυνσεως με πλαστική ταινία πολυαιθυλενίου για την προστασία του από απώλεια υγρασίας. Τα μολυσμένα φυτά διατηρήθηκαν υπό συνθήκες κορεσμένης ατμοσφαιρικής υγρασίας επί 48 h για τη διευκόλυνση της μόλυνσεως. Τα φυτάρια παρέμειναν σε θερμοκήπιο υπό συνθήκες ελεγχόμενου φωτισμού και θερμοκρασίας και ημερήσια φωτοπερίοδο 14 h. Οι συνθήκες τεχνητού φωτισμού επετυγχάνοντο με λαμπτήρες Mercury Philips HPL - N των 400 W και LS R18 Reflector, στους 18-25 °C. Η ίδια διαδικασία εφαρμόστηκε σε φυτά μάρτυρες (5 γλάστρες από 2 φυτά εκάστη) με απεσταγμένο-αποστειρωμένο νερό. Όλα τα νεαρά φυτάρια τομάτας που μολύνθηκαν με το βακτήριο *C. m. m.* - 22 εμφάνισαν χαρακτηριστικά συμπτώματα της ασθένειας (Εικόνα 25). Το παθογόνο απομονώθηκε από τα ασθενή φυτάρια, δεν απομονώθηκε όμως από τα φυτά μάρτυρες τα οποία παρέμειναν υγιή (αντί αιωρήματος βακτηρίων χρησιμοποιήθηκε νερό απεσταγμένο-αποστειρωμένο και ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία).

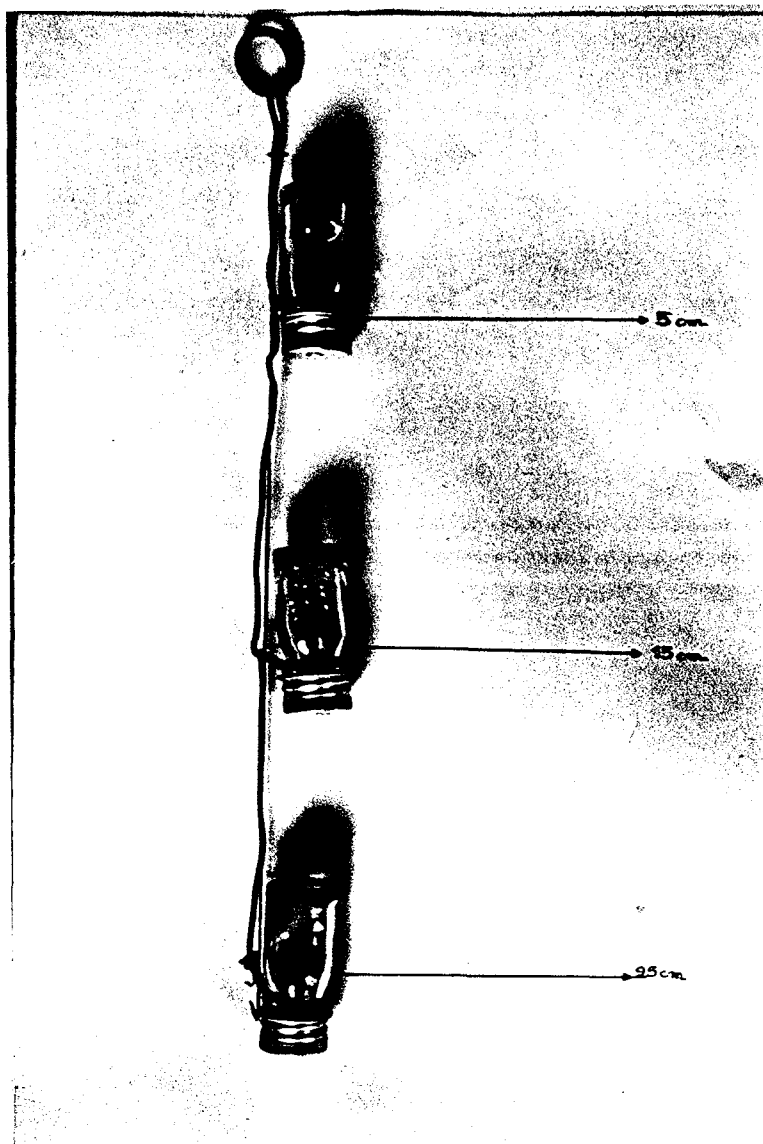
#### **2.2.2.5. Προετοιμασία μολυσμάτων του βακτηρίου *C. m. m.* - 22 για τη μελέτη της επιδράσεως της ηλιαπολυμάνσεως στην επιβίωση του παθογόνου στο έδαφος**

Η καλλιέργεια του βακτηρίου έλαβε χώραν εντός υαλίνων φιαλιδίων (bijoux) χωρητικότητας 5 ml, επί κεκλιμμένης επιφανείας θρεπτικού υποστρώματος NAG (Oxoid, Unipath LPD., Hamshire, UK), στους  $26 \pm 1$  °C επί 48 h, πριν από την ενσωμάτωσή τους στο έδαφος. Στο κέντρο του πώματος του φιαλιδίου ανοίχθηκε μία οπή, διαμέτρου 3 mm, και αντί του ελαστικού δίσκου που υπήρχε κάτω από το πώμα τοποθετήθηκε δίσκος από πεπιεσμένο χαρτί με ίνες υάλου (glass paper), ούτως ώστε να διατηρείται μέχρις ενός σημείου σχετική στεριότητα της καλλιέργειας, ενώ παράλληλα να διευκολύνεται ο αερισμός της καλλιέργειας και να επιβληθεί η διείσδυση υδρατμών και πτητικών αερίων τα οποία παράγονται κατά τη διάρκεια της ηλιαπολυμάνσεως. Εν συνεχεία, τρία φιαλίδια προσδέθηκαν μεταξύ τους (Εικόνα 26.) σε αποστάσεις 5, 10 και 10 cm που αντιστοιχούσαν σε 5, 15 και 25 cm βάθος εδάφους και τοποθετήθηκαν στο έδαφος πριν από την κάλυψη του εδάφους, με το πλαστικό φύλλο πολυαιθυλενίου, όπως και στο έδαφος-μάρτυρα. Παράλληλα με τα μολύσματα τα οποία ενσωματώθηκαν στο έδαφος, αντίστοιχος αριθμός δειγμάτων διατηρήθηκε σε επωαστικό θάλαμο, χωρίς φωτισμό στους  $26 \pm 1$  °C και ακολούθησε ανάλογη εβδομαδιαία επεξεργασία. Τρεις επαναλήψεις μολυσμάτων χρησιμοποιήθηκαν ανά βάθος και ημερομηνία.

Οι απομονώσεις όλων των βακτηρίων που χρησιμοποιήθηκαν διετηρούντο σε



**Εικόνα 25.** Έλεγχος της παθογόνου ικανότητας του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* με τεχνητές μολύνσεις φυταρίων τομάτας. Έντονη εκδήλωση συμπτωμάτων μαράνσεως φυλλιδίων, αριστερά. Υγιές φυτάριο δεξιά.



**Εικόνα 26.** Καλλιέργειες του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* επί θρεπτικού υποστρώματος εντός ναλίνων φιαλιδίων (χωριτικότητα 5 ml), προσδεδεμένων σε αποστάσεις 5, 10 και 10 cm αντιστοιχούσες σε βάθη εδάφους 5, 15, και 25 cm, προ της τοποθετήσεώς τους στο έδαφος.

κεκλιμένης επιφανείας θρεπτικό υπόστρωμα NAG σε θερμοκρασία 4 °C. Η μόλυνση των στερεών θρεπτικών υποστρωμάτων έγινε με βακτηριολογικό κρίκο.

#### **2.2.2.6. Επεξεργασία μολυσμάτων του φυσικού τύπου *C. m. m.* - 22 μετά από την κάλυψή τους στο έδαφος**

Ο ποσοτικός προσδιορισμός του πληθυσμού του φυσικού στελέχους του παθογόνου (πείραμα 1991) στα δείγματα που είχαν ενσωματωθεί στο έδαφος πραγματοποιήθηκε ανά εβδομαδιαία χρονικά διαστήματα σε ημι-εκλεκτικό υλικό SCM-Agar όπως περιγράφεται από τους Fatmi & Schaad (1988). Το θρεπτικό αυτό υλικό τροποποιήθηκε μειώνοντας τη δόση του ναλιδιξικού οξέος (nalidixic acid) στο ήμισυ. Ο εντοπισμός του βακτηρίου στο συγκεκριμένο θρεπτικό υπόστρωμα στηρίζεται στο σχηματισμό χαρακτηριστικών μαύρου-φαιού χρώματος αποικιών του βακτηρίου *C. m. m.* - 22. (Εικόνα 27) Η απομάκρυνση των φιαλιδίων (bijoux) από το έδαφος ελάμβανε χώρα ανά εβδομαδιαία χρονικά διαστήματα και ακολουθούσε η επεξεργασία των ως εξής: προσθήκη 1 ml απεσταγμένου, αποστειρωμένου νερού σε κάθε φιαλίδιο και ανακίνηση σε αναδευτήρα (Vortex mixer) επί 2 min. Αραιώσεις δεκαδικής δυνάμεως προετοιμάζοντο και ακολουθούσε διασπορά 0,1 ml αιωρήματος της κατάλληλης αραιώσεως σε τρυβλία με τροποποιημένο θρεπτικό υπόστρωμα SCM-Agar και τέλος επώαση στους 26±1 °C. Η καταμέτρηση των αποικιών γινόταν 7 ημέρες μετά από τη διασπορά στα τρυβλία. Οι βακτηριακές απομονώσεις ήταν σχεδόν πάντα απαλλαγμένες από άλλες βακτηριακές μολύνσεις και συνήθως χωρίς μολύνσεις από μύκητες. Οι απομονώσεις αυτές ελέγχθηκαν και πάλι για την παθογένειά τους με τη διαδικασία που αναφέρθηκε και για την περίπτωση του βακτηρίου *C. m. m.* - 22 πριν από την ενσωμάτωση στο έδαφος και απεδείχθησαν παθογόνες.

#### **2.2.2.7. Δημιουργία και επιλογή ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών του βακτηρίου *C. m. m.* - 22**

Η δυσχέρεια του ποσοτικού προσδιορισμού του φυσικού πληθυσμού του βακτηρίου *C. m. m.* - 22 καθώς και η προσπάθεια ταχύτερης και πλέον τεκμηριωμένης ταυτοποίησης του βακτηρίου οδήγησε στη δημιουργία γενετικώς σεσημασμένων σταθερών μεταλλαγών του φυσικού τύπου του βακτηρίου *C. m. m.* - 22. Για το σκοπό αυτό ελέγχθηκε η ανθεκτικότητα του στελέχους *C. m. m.* - 22 σε μία σειρά από αντιβιοτικά, ώστε τελικώς να απομονωθούν ανθεκτικά, αυτόματα μεταλλαγμένα στελέχη από τον πληθυσμό (Weller & Saettler, 1978).

Τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η ριφαμπικίνη, γνωστός αναστολέας της σύνθεσης του RNA, η αμπικιλίνη που παρεμποδίζει τη σύνθεση γειτονικών μονάδων πεπτιδογλυκάνης, παρεμποδίζοντας το ένζυμο τρανσπεπτιδάση και η καναμυκίνη, αναστολέας της πρωτεϊνοσύνθεσης (Franklin & Snow, 1975).

Τα αντιβιοτικά διατηρήθηκαν σε διαλύματα απεσταγμένου-αποστειρωμένου ύδατος εκτός της ριφαμπικίνης (διατήρηση σε διάλυμα 95% αιθυλικής αλκοόλης) και επιπλέον



**Εικόνα 27.** Χαρακτηριστικές μελανού χρώματος αποικίες του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* σε ημικλεκτικό υλικό SCM.



προστατεύοντο από την έκθεση στο φως. Όλα τα διαλύματα φυλάσσοντο σε θερμοκρασία 4 °C για χρονικό διάστημα έως ενός μηνός. Οι συγκεντρώσεις αναφοράς (stock solutions) των διαλυμάτων των αντιβιοτικών ήταν :

Αμπικιλίνη	1mg / ml
Ριφαμπικίνη	4 mg / ml
Καναμυκίνη	4 mg / ml

Οι συγκεντρώσεις αντιβιοτικών οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν για τη σήμανση του βακτηρίου ήταν οι ακόλουθες:

Αμπικιλίνη (μg / ml): 5, 10, 20, 50, 100, 200

Ριφαμπικίνη (μg / ml): 2, 5, 10, 20, 50

Καναμυκίνη (μg / ml): 2, 5, 10, 20, 50, 100

Η επιλογή των ανθεκτικών στελεχών έγινε από τις υψηλότερες συγκεντρώσεις των αντιβιοτικών και από τις μεγαλύτερες αραιώσεις του βακτηριακού αιωρήματος (Διάγραμμα 15).

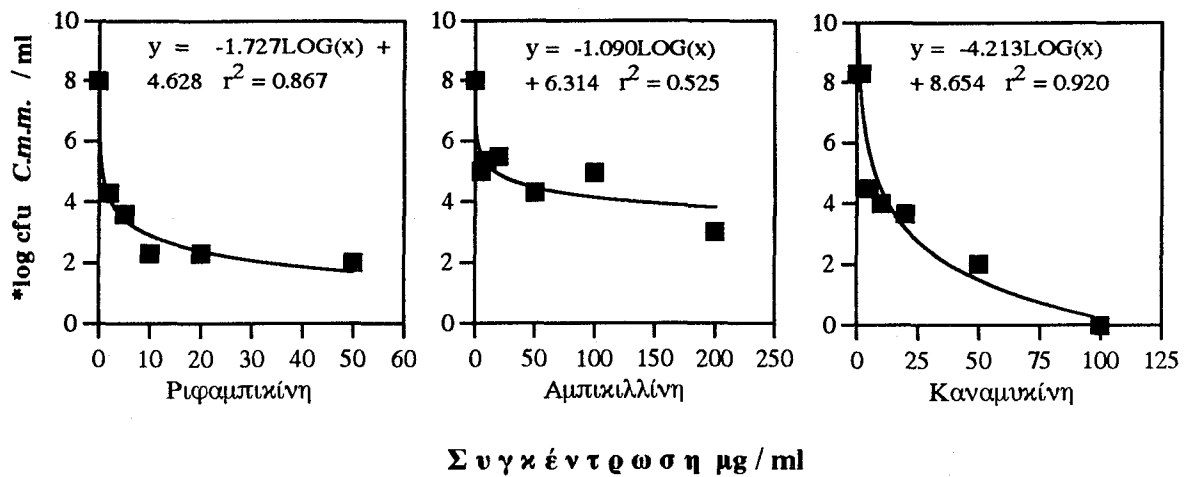
Οι τελικές συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τα διάφορα στελέχη ήταν: ριφαμπικίνη (Rif) 100 μg / ml, αμπικιλίνη (Amp) 150 μg / ml και καναμυκίνη (Kan) 50 μg / ml.

Τα ανθεκτικά σε αντιβιοτικά μεταλλαγμένα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

- α) *C. m. m.*- 22- Rif100Amp150,
- β) *C. m. m.* - 22- Amp150 Rif100,
- γ) *C. m. m.* - 22 - Kan 50.

#### **2.2.2.8. Προετοιμασία μολυσμάτων του βακτηρίου *C. m. m.* - 22 προς αναρρόφηση σε τεμάχια στελεχών τομάτας για τη μελέτη της επιδράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως στην επιβίωση του παθογόνου στο έδαφος**

Η μόλυνση των τεμαχίων στελεχών τοματοφύτων (μήκους 4-6 cm και διαμέτρου 1-1,5 cm) πραγματοποιήθηκε με τη χρησιμοποίηση αιωρήματος του παθογόνου βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* μετά από την αναρρόφηση του εντός του στελέχους με τη χρησιμοποίηση αντλίας κενού. Τα στελέχη του φυσικού τύπου *C. m. m.* - 22, ανθεκτικά στα αντιβιοτικά αμπικιλίνη, ριφαμπικίνη αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα (NAG) στους 26±1 °C επί 4-5 ημέρες. Η μόλυνση των τεμαχίων των στελεχών πραγματοποιήθηκε με αιώρημα του βακτηρίου σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα ( 0.05 M) συγκεντρώσεως 10<sup>8</sup> κυττάρων ανά ml. Ακολούθως έλαβε χώρα κάλυψη των άκρων των στελεχών με αποστειρωμένη βαζελίνη για την προστασία από την απώλεια υγρασίας και δημιουργία ευνοϊκών συνθηκών πολλαπλασιασμού του μολύσματος. Τα στελέχη της τομάτας, που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως, μετά από την αναρρόφηση του βακτηριακού αιωρήματος και την τοποθέτησή τους σε θήκες από



**Διάγραμμα 15.** Διαγραμματική απεικόνιση της επιδράσεως της συγκεντρώσεως των αντιβιοτικών ριφαμπικίνης, αμπικιλίνης και καναμυκίνης στη δημιουργία αντιστοίχων ( $\text{Rif}^+$ ,  $\text{Amp}^+$ ,  $\text{Kan}^+$ ) ανθεκτικών στελεχών του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

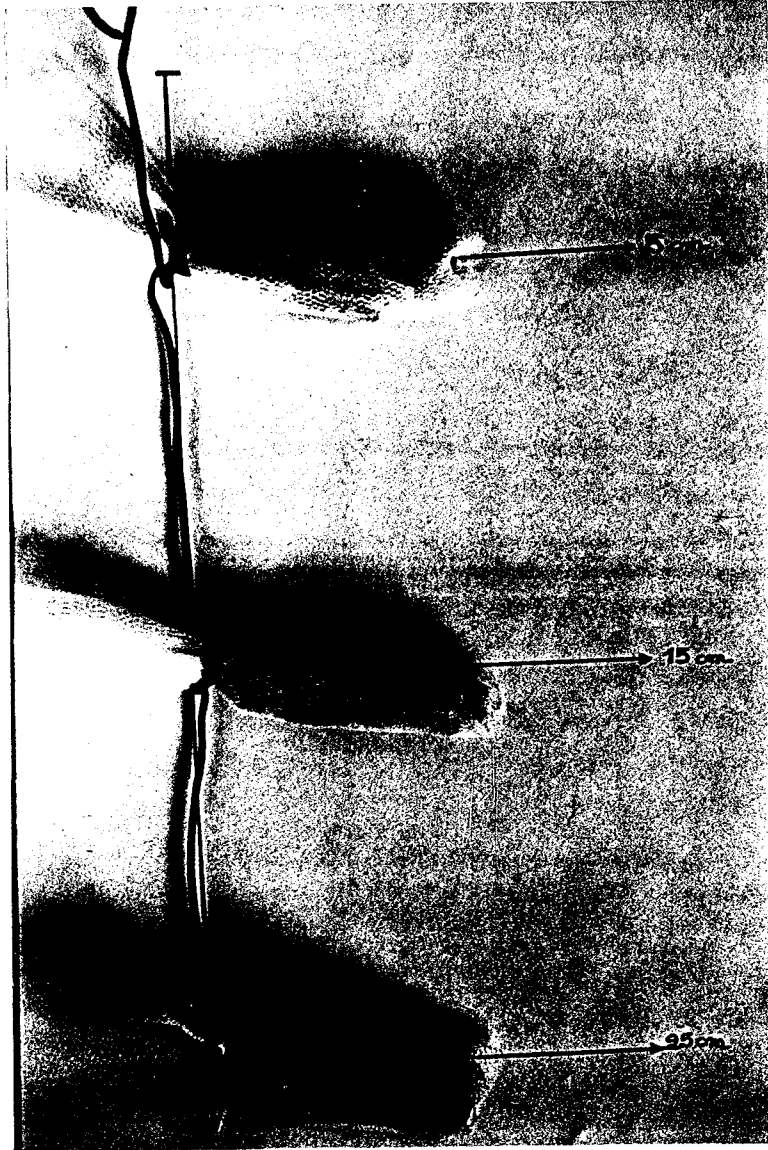
\*Λογάριθμος μονάδων του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* που σχηματίζουν αποικίες / ml.

πλαστικό πλέγμα (0,5 mm), συνδέθηκαν με πλαστικό καλώδιο σε αποστάσεις 5, 10 και 10 cm που αντιστοιχούσαν σε βάθη ενσωματώσεως στο έδαφος 5, 15 και 25 cm αντιστοίχως (Εικόνα 28). Τα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο είχαν τοποθετηθεί στο έδαφος σε αποστάσεις 10 cm, που αντιστοιχούσαν σε βάθη εδάφους 20 και 30 cm. Η ενσωμάτωσή τους στο έδαφος προ της εφαρμογής της ηλιοπολυμάνσεως ή της απολυμάνσεως με το βρωμιούχο μεθύλιο έγινε 10, ημέρες, μετά από την αναρρόφηση του βακτηρίου.

### **2.2.2.9. Επεξεργασία ανθεκτικών σε αντιβιοτικά μεταλλαγμένων στελεχών του βακτηρίου *C. m. m.* -22 σε φιαλίδια ή αναρροφηθέντων σε τεμάχια στελεχών τομάτας μετά από την κάλυψή τους στο έδαφος**

Η απομόνωση των ανθεκτικών σε ριφαμπικίνη- αμπικιλίνη- και ριφαμπικίνη- αμπικιλίνη- και καναμυκίνη στελεχών του φυσικού τύπου του βακτηρίου (πείραμα 1992) έγινε ανά εβδομαδιαία χρονικά διαστήματα σε θρεπτικό υπόστρωμα NAGRA και NAGK εμπλουτισμένο με κυκλοεξιμίδη σε αναλογία 100 mg / ml (Serva, Fein biochemica GmbH & Co.) (NAGRAC και NAGKC αντιστοίχως). Φιαλίδια και δεσμίδες αγγείων του ξύλου τμημάτων στελεχών τοματοφύτων, απομακρύνθηκαν από ταπειραματικά τεμάχια που είχαν υποστεί ηλιοαπολύμανση ή από τεμάχια-μάρτυρες ανά εβδομαδιαία χρονικά διαστήματα. Η επεξεργασία των καλλιιεργειών του βακτηρίου στα φιαλίδια έγινε με προσθήκη 1 ml απεσταγμένου-αποστειρωμένου νερού και ακολούθησε ανάδευση του αιωρήματος σε αναδευτήρα Vortex επί 2 min. Οι δεσμίδες των αγγείων του ξύλου της τομάτας, βάρους 0,5 g ομογενοποιήθηκαν σε 5 ml αποστειρωμένο και απεσταγμένο νερό, χρησιμοποιώντας αποστειρωμένο ιγδίο. Προετοιμάστηκαν διαδοχικές αραιώσεις δεκαδικών δυνάμεων και 20 μl αιωρήματος από τις κατάλληλες αραιώσεις τοποθετήθηκαν υπό μορφή σταγόνων στα τρυβλία με θρεπτικό υλικό NAGRAC. Η συγκεκριμένη μέθοδος που ακολουθήθηκε αφορά διαδοχικές αραιώσεις και τοποθέτηση υπό μορφή σταγόνων συνήθως 20 μl, και εν συνεχεία καταμέτρηση των ζωντανών κυττάρων του βακτηρίου, (viable count technique - drop method, Miles & Misra, 1938) που επώστηκαν στους  $26 \pm 1$  °C. Η καταμέτρηση των αποικιών έγινε 5-7 ημέρες μετά από τη διασπορά τους στο τρυβλίο. Οι βακτηριακές απομονώσεις ήταν σχεδόν πάντα απαλλαγμένες από άλλες βακτηριακές μολύνσεις και συνήθως χωρίς επιμολύνσεις από μύκητες .

Οι απομονώσεις αυτές των ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών του βακτηρίου *C. m. m.* - 22 ελέγχθηκαν για την παθογένειά τους σε νεαρά τοματοφύτα, με τη μέθοδο η οποία αναφέρθηκε εκτενώς για την περίπτωση του φυσικού τύπου του βακτηρίου *C. m. m.* - 22 (κεφ. 2.2.2.4.). Έλεγχος της παθογενείας των ανθεκτικών αυτών στελεχών έγινε τόσο προ της ενσωματώσεώς τους στο έδαφος όσο και μετά από την επεξεργασία των δειγμάτων, ο



**Εικόνα 28.** Τεμάχια στελεχών τοματοφύτων μολυσμένα με αναρρόφηση αιωρήματος του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* εντός θηκών από πλαστικό πλέγμα, προσδεδεμένων σε αποστάσεις 5, 10 και 10 cm αντιστοιχούσες σε βάθη εδάφους 5, 15, και 25 cm, προ της τοποθέτησής στο έδαφος.

οποίος και υπήρξε θετικός.

### **2.2.2.10. Προετοιμασία μολυσμάτων του βακτηρίου *C. m. m.* - 22 σε τεμάχια στελεχών τοματοφύτων για τη μελέτη της επιδράσεως της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθυλίο στην επιβίωση του παθογόνου στο έδαφος**

Για τη μόλυνση των στελεχών τομάτας χρησιμοποιήθηκε αιώρημα του παθογόνου βακτηρίου *C. m. m.* - 22 μετά από αναρρόφησή του εντός των στελεχών υπό κενό.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η ίδια με αυτή που αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο (2.2.2.8.), με τη διαφορά ότι σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιήθηκε ένα μόνο ανθεκτικό σε αντιβιοτικά στέλεχος αμπικιλίνη και ριφαμπικίνη, (αμπικιλίνη 200 μg / ml και ριφαμπικίνη 50 μg / ml), ενώ στην περίπτωση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως είχαν χρησιμοποιηθεί τρία.

### **2.2.2.11. Επεξεργασία μολυσμάτων ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών αναρροφηθέντων σε τεμάχια στελεχών τομάτας μετά από την εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο**

Τα δείγματα τεμαχίων στελεχών τοματοφύτων, μετά από την απομάκρυνση των ακραίων τμημάτων τους, ζυγίστηκαν και λειοτριβήθηκαν σε ιγδίο το οποίο περιείχε 10 ml απέσταγμένου-αποστειρωμένου νερού και ακολούθως έγιναν διαδοχικές αραιώσεις δεκαδικής δυνάμεως και διασπορά σε τρυβλία (για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν 7 τρυβλία). Εν συνεχεία τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο, στους  $26 \pm 1$  °C επί 5-7 ημέρες και έγινε καταγραφή του πληθυσμού του παθογόνου.

### **2.2.3. Στατιστική ανάλυση δεδομένων**

Η στατιστική ανάλυση των πειραματικών δεδομένων, επί του ποσοστού ασθενών φυτών, έγινε με το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσεως StatView 512+Σ (1986 by Abacus Concepts, Inc.) για ηλεκτρονικό υπολογιστή Macintosh, χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς (FPLSD). Οι μέσοι κατατάσσονται με τη διαφορά του τυπικού σφάλματος και οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Οι μετρήσεις της επιβιώσεως των πληθυσμών των βακτηρίων για κάθε επέμβαση, βάθος εδάφους και χρόνο δειγματοληψίας αναλύθηκαν με την ανάλυση διασποράς μετά από μετατροπή της  $\sqrt{y+0,5}$  (λόγω υπάρξεως πολύ μικρών αριθμών,  $<10$ ) και λογαριθμική μετατροπή (λόγω παρουσίας μηδενικών τιμών στα δεδομένα). Η δοκιμασία του F ( $P=0,05$ ) χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της σημαντικότητας των προτύπων της παλινδρομώσεως και των ανεξάρτητων μεταβλητών. Οι συντελεστές προσδιορισμού ( $r^2$ ) των μεταβλητών υπολογίστηκαν για να καθορίσουν την παρέκλιση της επιβιώσεως του βακτηρίου με τις

ανεξάρτητες μεταβλητές επέμβαση, χρόνο και βάθος εδάφους.

## 2.3. Αποτελέσματα

### 2.3.1. Η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στην αύξηση των θερμοκρασιών του καλυμμένου εδάφους στα πειράματα θερμοκηπίων στο Ν. Πρεβέζης και στον πειραματικό αγρό του Γ.Π.Α.

Οι μέσες ανώτατες τιμές θερμοκρασιών που καταγράφηκαν σε καλυμμένα με πολυαιθυλένιο εδάφη κατά τη διάρκεια της ηλιοαπολυμάνσεως, σε πλαστικά θερμοκήπια στην Πρέβεζα κυμάνθηκαν στις δύο πρώτες εβδομάδες του Αυγούστου 1992 μεταξύ 50-53 °C στα επιφανειακά στρώματα των 5 cm του εδάφους και τους 41-43 °C στα βαθύτερα στρώματα του εδάφους (15-20 cm).

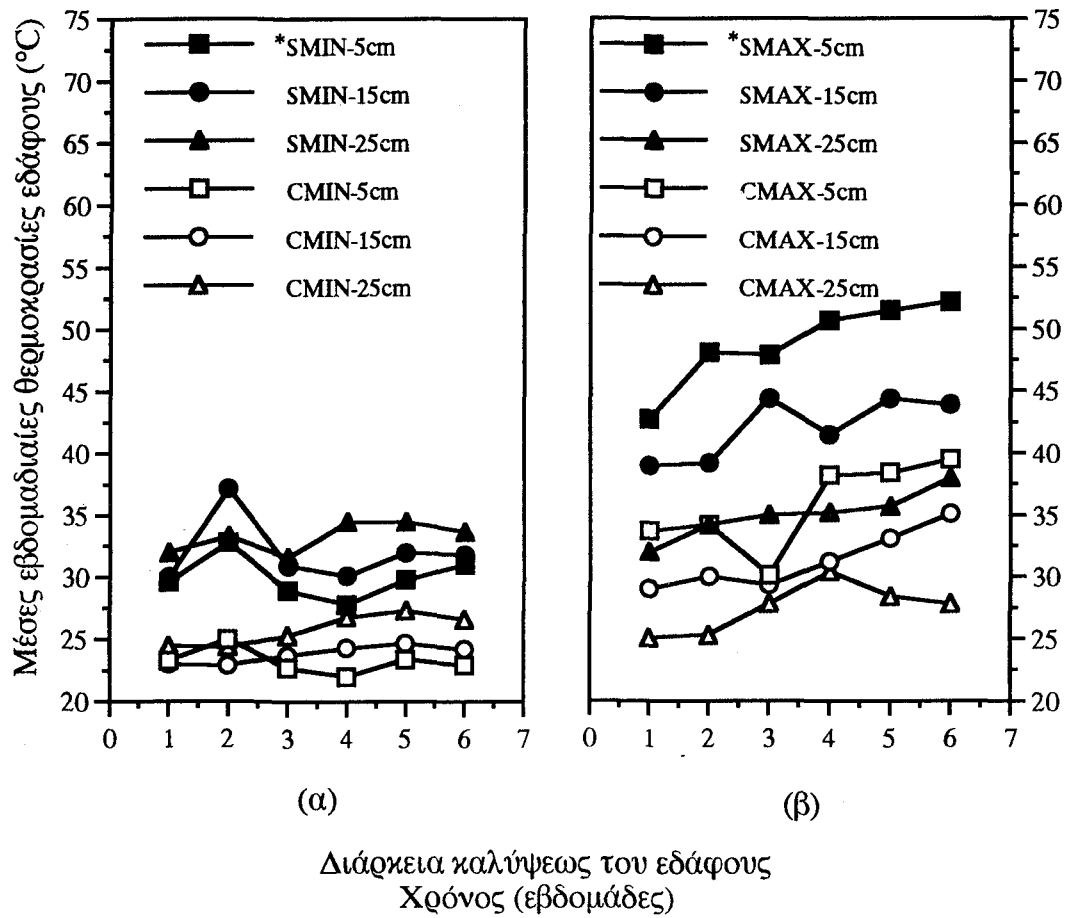
Τα δεδομένα του Διαγράμματος 16 καταδεικνύουν ότι οι μέσες μέγιστες θερμοκρασίες που καταγράφησαν στο καλυμμένο έδαφος του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών είναι 10 - 14 °C μεγαλύτερες, σε σύγκριση με τον ακάλυπτο μάρτυρα, στα ανώτερα στρώματα του εδάφους. Οι μέσες μέγιστες θερμοκρασίες κυμαίνονταν από 47 - 52 °C στα 5 cm, 40 - 45 °C στα 15 cm και 32 - 38 °C στα 25 cm. Αντιθέτως, οι μέσες μέγιστες θερμοκρασίες που αναπτύσσονται στο ακάλυπτο έδαφος-μάρτυρα ήταν 34-38 °C στα 5 cm, 28-35 °C στα 15 cm και 25-30 °C στα 25 cm.

### 2.3.2. Αντιμετώπιση του *C. m. m.* στον αγρό

#### 2.3.2.1. Αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους σε σύγκριση με την εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο, κατά την καλλιεργητική περίοδο 1990 - 1991 (Πρώτη αξιολόγηση)

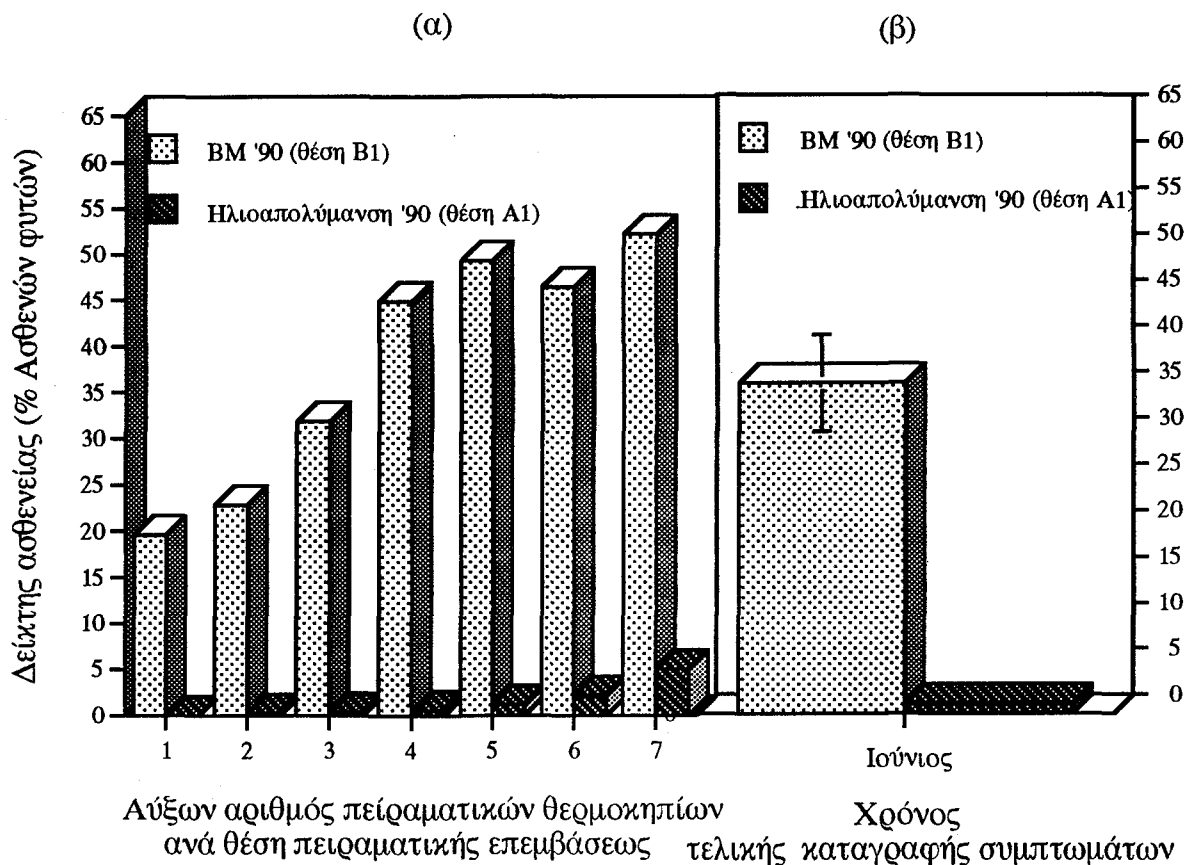
Η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στην ένταση της ασθeneίας, εκπεφρασμένη ως τελικό ποσοστό ασθενών φυτών τομάτας στην ομάδα των επτά πλαστικών θερμοκηπίων της θέσεως Α1 (Εικόνα 22) στα οποία εφαρμόστηκε η μέθοδος το 1990, σε σύγκριση με εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο σε επτά θερμοκήπια στη θέση Β1, (Εικόνα 22) δίδεται διαγραμματικά στο Διάγραμμα 17.

Από τη σύγκριση των ιστογραμμάτων στο Διάγραμμα 17α διαπιστώνεται ότι η διακύμανση των τελικών ποσοστών ασθενών φυτών στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου περιορίστηκε σε επίπεδα μεταξύ 0-5 % στα θερμοκήπια όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους (Εικόνα 29). Αντιθέτως, στα θερμοκήπια όπου εφαρμόστηκε απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο, το ποσοστό ασθενών φυτών έφτασε και το 50 %, με



**Διάγραμμα 16.** Μέση εβδομαδιαία διακύμανση ελαχίστων (α) και μεγίστων (β) θερμοκρασιών του εδάφους σε καλυμμένο με πολυαιθυλένιο και σε ακάλυπτο έδαφος, σε βάθη 5, 15, 25 cm στα πειραματικά τεμάχια του πειραματικού αγρού του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Ιούλιος - Αύγουστος 1991)

\*όπου Smin, Smax: Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους ελάχιστες, μέγιστες θερμοκρασίες εδάφους, σε βάθη 5, 15, 25 cm αντιστοίχως, Cmin, Cmax: Ακάλυπτο έδαφος - Μάρτυρας, ελάχιστες, μέγιστες θερμοκρασίες εδάφους, σε βάθη 5, 15, 25 cm αντιστοίχως.



**Διάγραμμα 17.** Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους σε σύγκριση με την εφαρμογή βρωμιούχου μεθυλίου (εφαρμογή 1990) στο δείκτη ασθενείας (% ασθενών φυτών) στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου (Ιούνιος 1991).

**17α)** Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως (7 θερμοκήπια, θέσεως A1) σε σύγκριση με την εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο (7 θερμοκήπια, θέσεως B1) επί του δείκτη ασθενείας εκπεφρασμένου ως ποσοστού ασθενών φυτών (700 φυτά ανά θερμοκήπιο).

**17β)** Έκφραση της επιδράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους σε σύγκριση με την εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο ως μέσος όρος ασθενών φυτών 7 θερμοκηπίων (700 φυτά ανά θερμοκήπιο) κατά θέση πειραματικής επεμβάσεως.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.





**Εικόνα 29.** Εμφάνιση καλλιέργειας τομάτας σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση. Εμφανής η έλλειψη συμπτωμάτων της ασθeneίας (Ιούνιος 1991).

διακύμανση 20-50 % (Εικόνα 30). Η σημαντική ( $P= 0,05$ ) στατιστικώς διαφορά μεταξύ των επεμβάσεων είναι εμφανής στο Διάγραμμα 17β όπου το ποσοστό των ασθενών φυτών έφτασε περίπου 35 % όταν εφαρμόστηκε απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο, ενώ όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους το ποσοστό αυτό δεν υπερέβη το 2 %.

### **2.3.2.2. Αξιολόγηση της απλής και επαναλαμβανομένης ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους σε σύγκριση με εφαρμογή απολυμάνσεως του εδάφους με ατμό, κατά την καλλιεργητική περίοδο 1991 - 1992 (Δεύτερη αξιολόγηση)**

#### **2.3.2.2.1. Τελική επίδραση διαφόρων επεμβάσεων στο δείκτη ασθeneίας**

Η απλή ηλιοαπολύμανση που εφαρμόστηκε το θέρος του 1991 σε επτά πλαστικά θερμοκήπια της θέσεως Β1, όπου είχε εφαρμοστεί απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο κατά το 1990, μείωσε δραστικά την επίπτωση της ασθeneίας καθ' όλη την καλλιεργητική περίοδο του 1992, σε σύγκριση με τα ποσοστά ασθενών φυτών όταν είχε εφαρμοστεί βρωμιούχο μεθύλιο (2-10 %) στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου. Η επαναλαμβανομένη ηλιοαπολύμανση που εφαρμόστηκε το θέρος του 1991 ως και το θέρος του 1992 στη θέση Α1 (Εικόνα 22) περιόρισε τα ποσοστά ασθενών φυτών σε αμελητέα για την επίπτωση στην παραγωγή επίπεδα (1-8 %) στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου (Εικόνα 31). Επιπροσθέτως διαπιστώνεται ότι η απλή ή επαναλαμβανομένη εντός δύο καλλιεργητικών περιόδων είναι ικανές να περιορίσουν την επίπτωση της ασθeneίας σε πολύ χαμηλά επίπεδα σε σύγκριση με τα θερμοκήπια της θέσεως Α2 (Διάγραμμα 18α.) όπου εφαρμόστηκε απολύμανση με ατμό (22-68 %, Εικόνα 32). Η σημαντική στατιστικώς ( $P= 0,05$ ) διαφορά μετά την από εφαρμογή απλής ή επαναλαμβανομένης ηλιοαπολυμάνσεως και απολυμάνσεως με ατμό καταδεικνύεται στα ιστογράμματα του Διαγράμματος 18β.

#### **2.3.2.2.2. Επίδραση της επαναλαμβανομένης ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και της απολυμάνσεως με ατμό στη διακύμανση του ποσοστού ασθενών φυτών.**

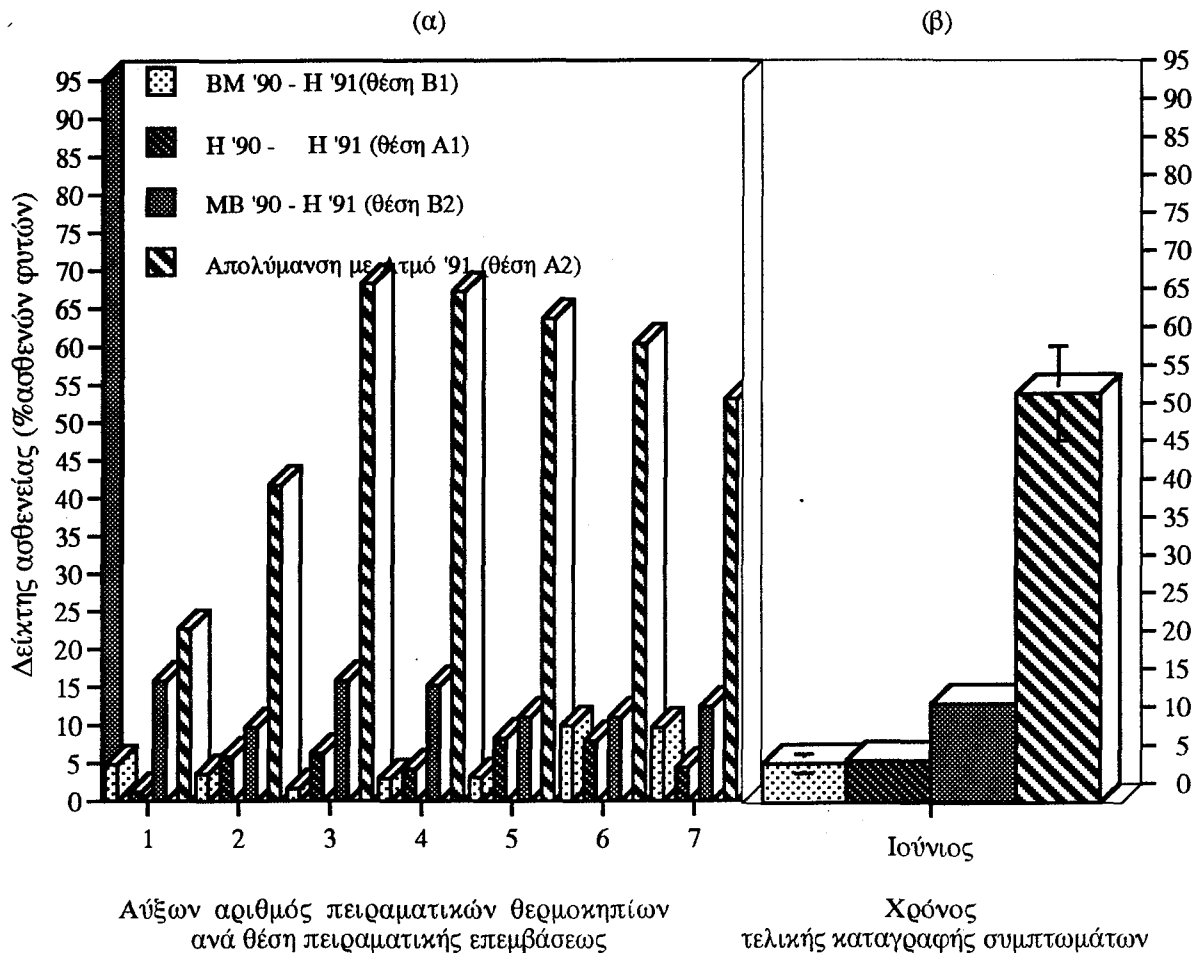
Τα δεδομένα της γραφικής παραστάσεως στο Διάγραμμα 19 που αναφέρονται στη διακύμανση των ποσοστών ασθενών φυτών σε 14 θερμοκήπια, 7 της θέσεως Α1 όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση και 7 της θέσεως Α2 όπου εφαρμόστηκε απολύμανση με ατμό, καταδεικνύουν ότι τα πρώτα συμπτώματα της ασθeneίας είναι εμφανή σε μικρό ποσοστό (2,5 %) φυτών το τέλος Μαρτίου (τέσσερεις εβδομάδες μετά από την εγκατάσταση της φυτείας) μόνο στη θέση Α2. Μετά από την πάροδο ενός περίπου μηνός όταν τα ποσοστά των ασθενών φυτών έχουν προσεγγίσει το 13,06 % εμφανίζονται τα πρώτα ήπια συμπτώματα σε φυτά θερμοκηπίων της θέσεως Α1 όπου είχε εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση και σε ποσοστό μόλις 1 %. Η διαφορά στη διακύμανση μεταξύ των δύο επεμβάσεων



**Εικόνα 30.** Εμφάνιση καλλιέργειας τομάτας σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο. Έντονα συμπτώματα της ασθeneίας (Ιούνιος 1991).



**Εικόνα 31.** Εμφάνιση καλλιέργειας τομάτας σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση. Εμφανής η έλλειψη συμπτωμάτων της ασθένειας (Ιούνιος 1992).



**Διάγραμμα 18.** Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους (εφαρμογή 1991) στο ποσοστό ασθενών φυτών στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου (Ιούνιος 1992) σε σύγκριση με απολύμανση του εδάφους με ατμό.

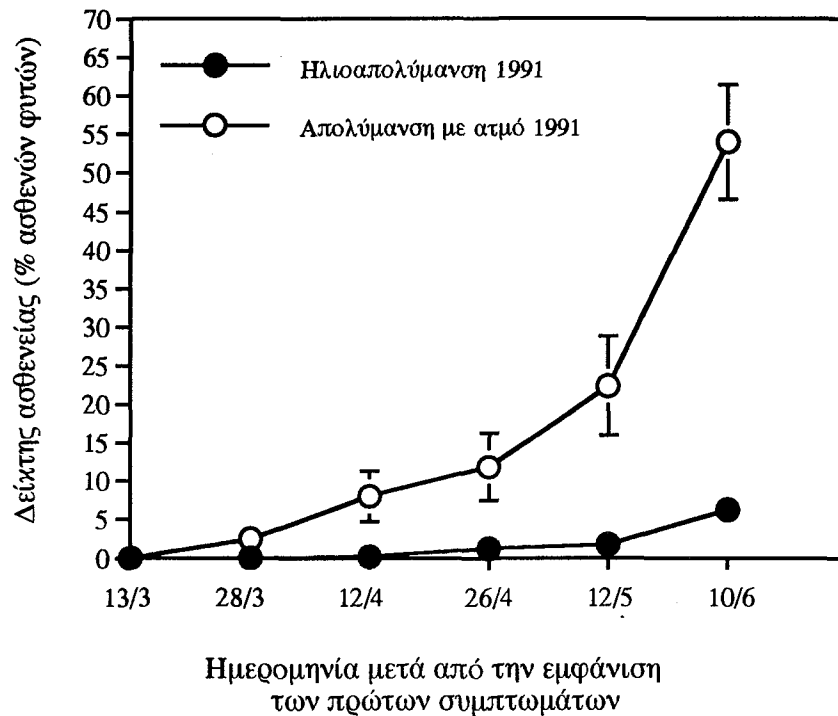
**18α)** Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους επί του δείκτη ασθeneίας (ποσοστό ασθενών φυτών) ανά θερμοκήπιο (700 φυτά ανά θερμοκήπιο), θέση και προηγηθείσα επέμβαση. Μετά από Ηλιοαπολύμανση (7 θερμοκήπια, θέσεως A1), μετά από απολύμανση με Βρωμιούχο Μεθύλιο (7 θερμοκήπια, θέσεως B1 και 7 θερμοκήπια, θέσεως B2), σε σύγκριση με απολύμανση του εδάφους με Ατμό (7 θερμοκήπια, θέσεως A2).

**18β)** Έκφραση της επιδράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως σε σύγκριση με την απολύμανση με ατμό ως μέσος όρος τοματοφύτων 7 θερμοκηπίων (700 φυτά ανά θερμοκήπιο) κατά θέση πειραματικής επεμβάσεως.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.



**Εικόνα 32.** Εμφάνιση καλλιέργειας τομάτας σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε απολύμανση του εδάφους με ατμό. Έντονα συμπτώματα της ασθένειας (Ιούνιος 1992).



**Διάγραμμα 19.** Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους (7 θερμοκήπια θέσεως Α1) σε σύγκριση με εφαρμογή απολυμάνσεως με ατμό (7 θερμοκήπια της θέσεως Α2) στη διακύμανση του δείκτη ασθενείας εκπεφρασμένου ως ποσοστού ασθενών φυτών από την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων έως το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου (Ιούνιος 1992).

Μέσος όρος 7 θερμοκηπίων ανά επέμβαση και 700 φυτών ανά θερμοκήπιο. Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.

(ηλιοαπολύμανση 5 %, απολύμανση με ατμό 54 %) στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου, ήταν στατιστικώς σημαντική ( $P= 0,05$ ).

### **2.3.2.2.3. Επίδραση του φαινομένου του περιθωρίου**

Τα δεδομένα του *Διαγράμματος 20* καταδεικνύουν ότι η αποτελεσματική κάλυψη του εδάφους δεν είναι πάντα εφικτή, λόγω του μεταλλικού σκελετού του θερμοκηπίου στις κατασκευές αυτές. Έτσι η ηλιοαπολύμανση που εφαρμόστηκε στα επτά θερμοκήπια της θέσεως B2 δεν ήταν ικανή να αποτρέψει την ανάπτυξη συμπτωμάτων σε τοματόφυτα που αναπτύσσονται κυρίως στις πλευρές του περιθωρίου των θερμοκηπίων (*Εικόνα 33*). Πράγματι, η διακύμανση του ποσοστού ασθενών φυτών το τρίμηνο Απριλίου-Μαΐου 1990 είναι στατιστικώς σημαντική ( $P= 0,05$ ) εκεί όπου τα φυτά αναπτύσσονται στις γραμμές φυτεύσεως του περιθωρίου ( $\Delta.A.: 2,0 \cdot 2,2 \cdot 7,5$ ) σε σύγκριση με τις ενδιάμεσες γραμμές των φυτών ( $\Delta.A.: 0,25 \cdot 0,5 \cdot 1,0$ ).

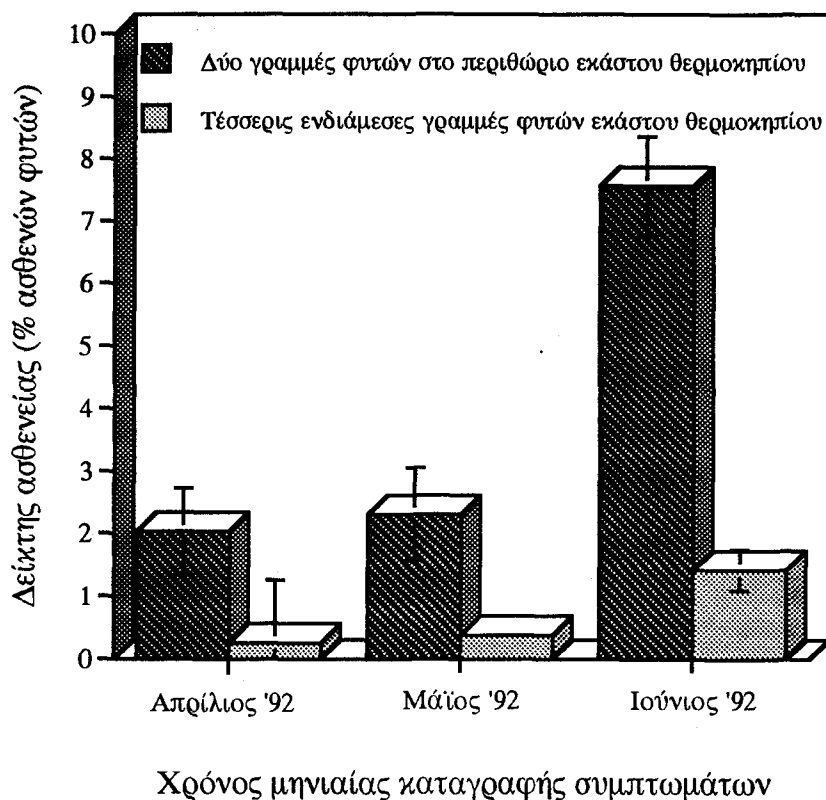
### **2.3.2.3. Αξιολόγηση της επαναλαμβανομένης ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους κατά την καλλιεργητική περίοδο 1992-1993 (Τρίτη αξιολόγηση)**

Εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως για δύο συνεχείς καλλιεργητικές περιόδους (θέσεις B1 και B2) ή για τρεις επαναλαμβανόμενες περιόδους (θέση A1) κατέδειξε ότι η μέθοδος περιορίζει σημαντικά την ένταση της ασθeneίας. Πράγματι τα δεδομένα του *Διαγράμματος 21* αποδεικνύουν ότι η διακύμανση του δείκτη ασθeneίας τόσο στα 14 θερμοκήπια της θέσεως B, όσο και στα 7 θερμοκήπια της θέσεως A1 κυμαίνεται σε αμελητέα επίπεδα κατά το τρίμηνο Απρίλιο-Ιούνιο του 1993 (*Εικόνα 34*). Τα ποσοστά ασθενών φυτών ανέρχονται στο 0,1 · 1,0 και 35 % για τη θέση A1, 0 · 2,26 και 4,5 % για τη θέση B1 και 0 · 2, και 4,3 % για τη θέση B2. Στατιστική ανάλυση των δεδομένων αποδεικνύει ότι δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική ( $P = 0,05$ ) διαφορά μεταξύ των ομοειδών αυτών επεμβάσεων.

### **2.3.2.4. Αξιολόγηση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους την περίοδο 1990-1993 (Συγκεντρωτική αξιολόγηση)**

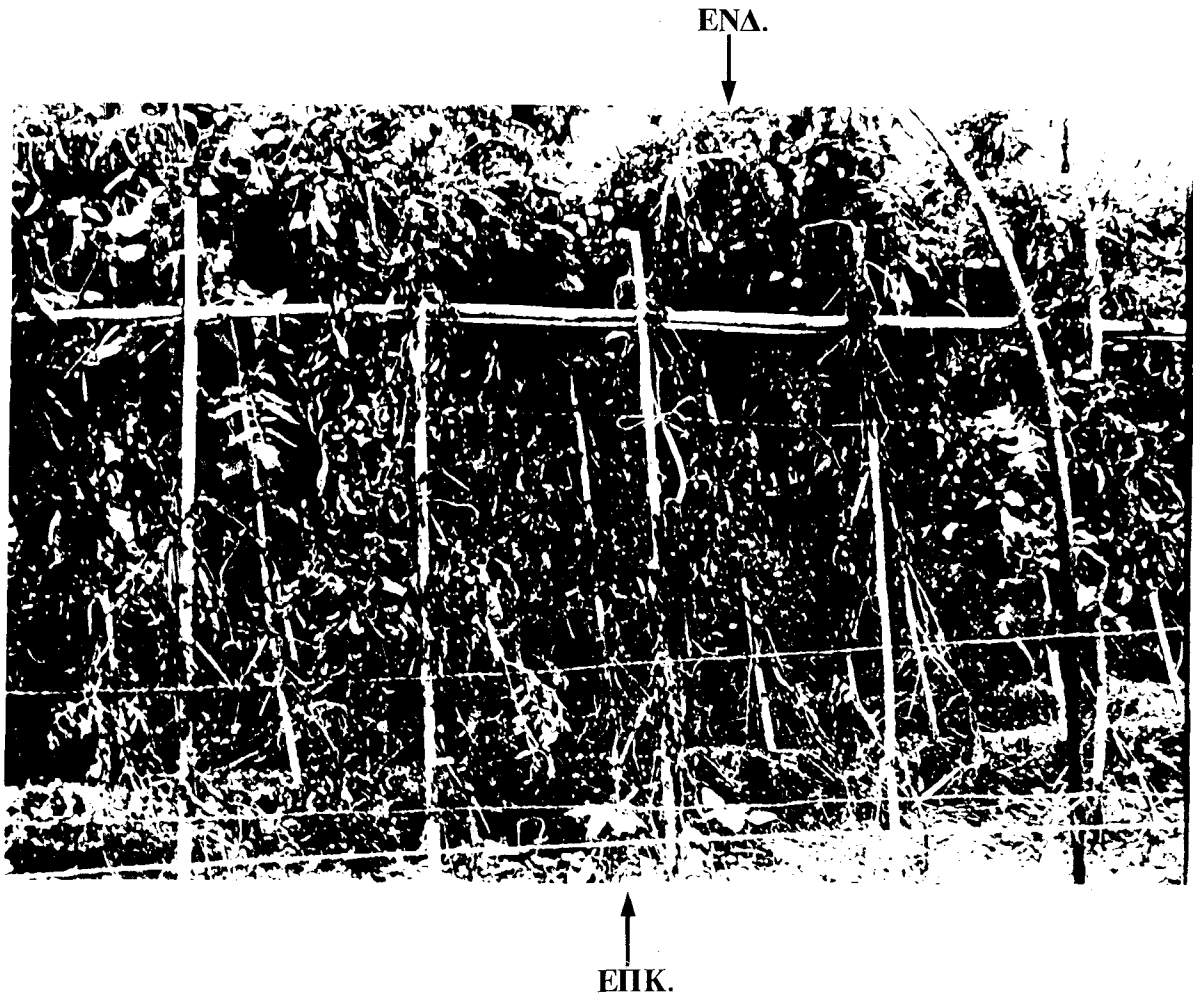
Συγκεντρωτική αξιολόγηση των δεδομένων της περιόδου 1990-1993 που αναλύθηκαν προηγουμένως δίδεται ως συνοπτική εξέλιξη του δείκτη ασθeneίας (% ασθενών φυτών) στο *Διάγραμμα 22* για τρεις θέσεις πειραματισμού και 7 θερμοκήπια ανά θέση. Η σύγκριση αυτή αποδεικνύει την καταφανή υπεροχή της ηλιοαπολυμάνσεως στην αντιμετώπιση του βακτηριακού έλκους της τομάτας σε αντίθεση με την εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο.



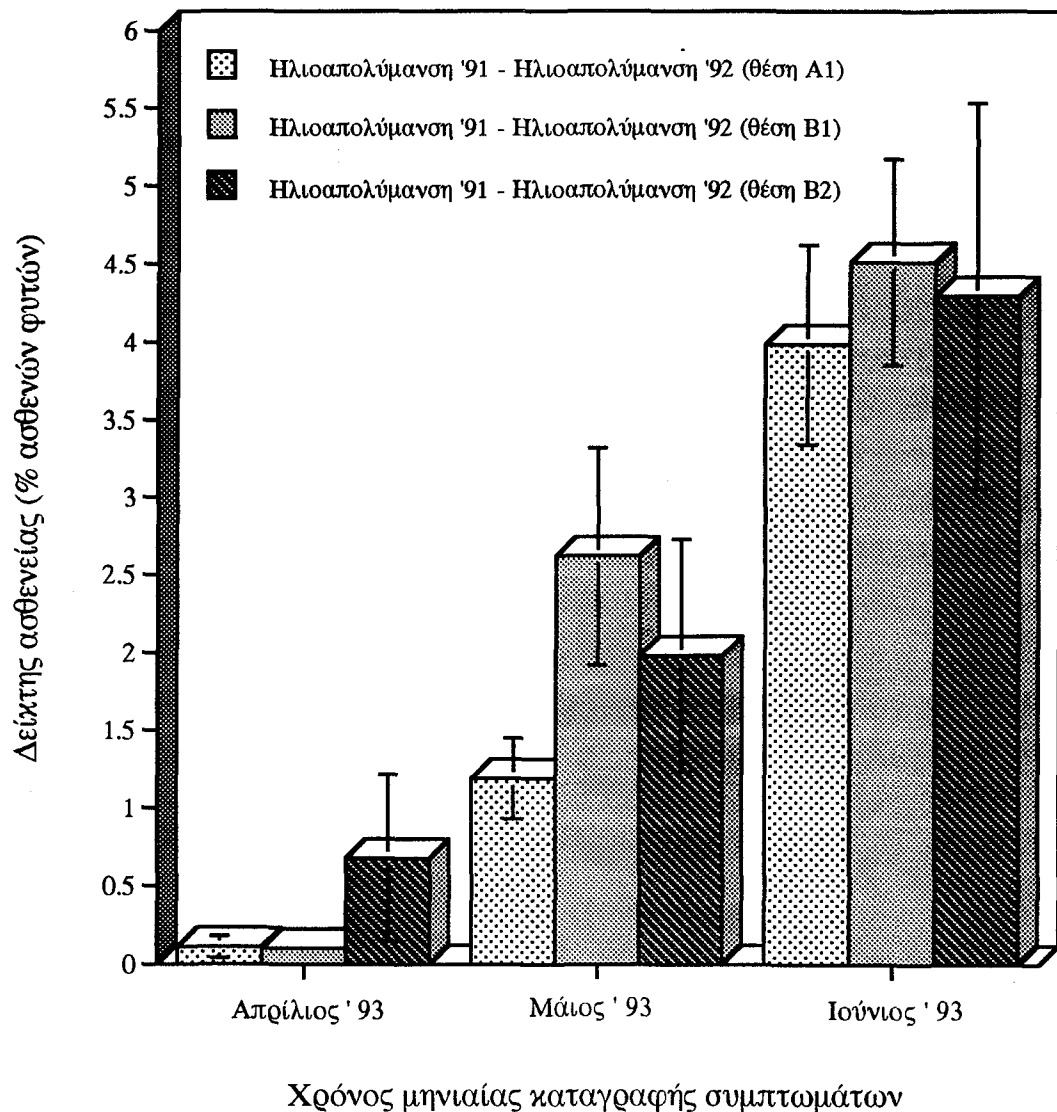


**Διάγραμμα 20.** Επίδραση του φαινομένου του περιθωρίου στη διακύμανση του δείκτη ασθeneίας εκπεφρασμένος ως ποσοστό ασθενών φυτών που καταγράφεται στις δύο γραμμές φυτεύσεως των περιθωρίων του θερμοκηπίου σε σύγκριση με το ποσοστό ασθενών φυτών στις τέσσερις ενδιάμεσες γραμμές φυτεύσεως. Μέσος όρος 7 θερμοκηπίων της θέσεως Β2 όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους και 700 φυτών ανά θερμοκήπιο.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.



**Εικόνα 33.** Επίδραση του "φαινομένου του περιθωρίου" σε φυτά τομάτας με συμπτώματα της ασθένειας στις επάκρεις γραμμές φυτεύσεως (ΕΠΚ.), σε αντίθεση με υγιή φυτά στις ενδιάμεσες γραμμές (ΕΝΔ.).

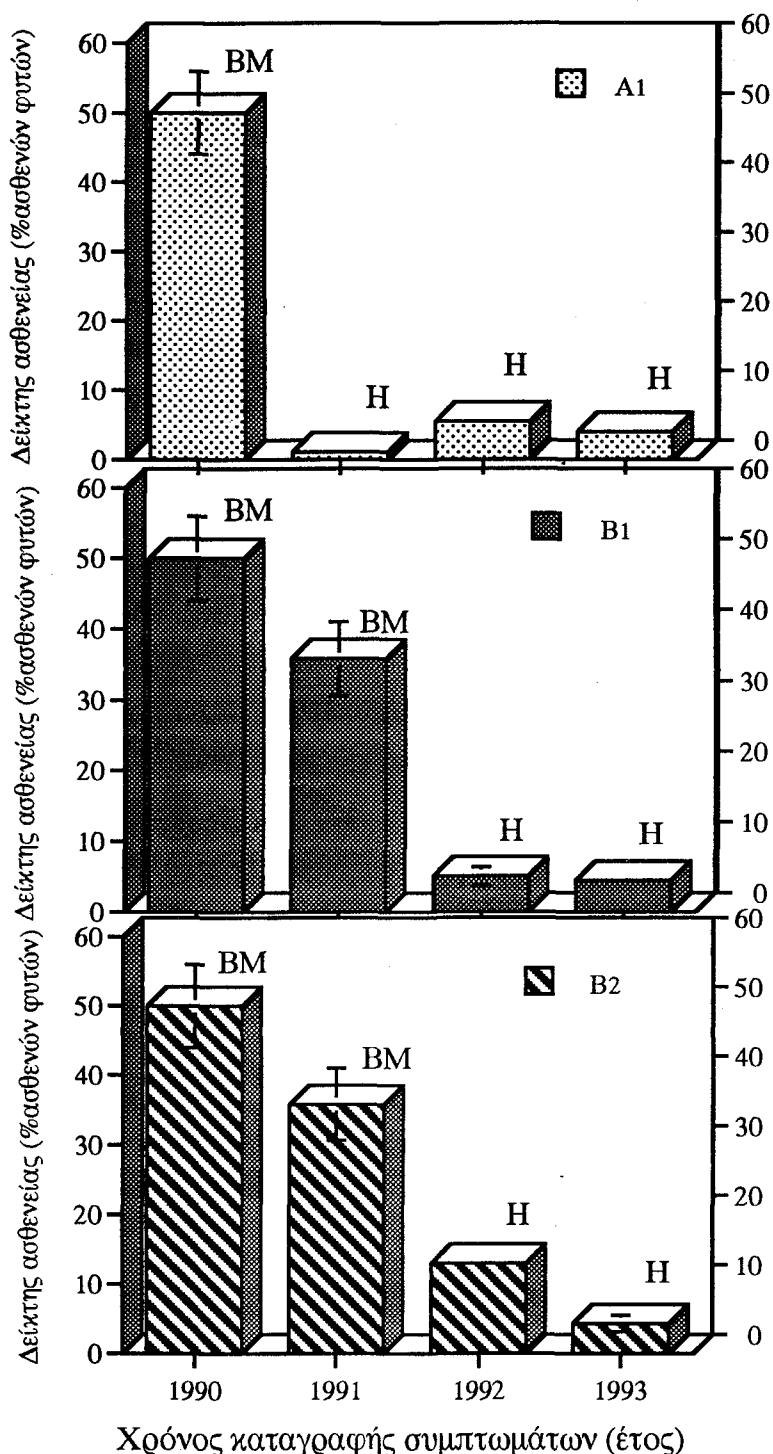


**Διάγραμμα 21.** Επίδραση της επαναλαμβανομένης εφαρμογής της ηλιοαπολύμανσης του εδάφους επί δύο ή τρεις συνεχόμενες καλλιεργητικές περιόδους στη διακύμανση του δείκτη ασθeneίας εκπεφρασμένου ως ποσοστού ασθενών φυτών τους μήνες Απρίλιο, Μάιο και Ιούνιο του 1993. Μέσοι όροι 7 θερμοκηπίων ανά θέση όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους και 700 φυτών ανά θερμοκήπιο.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.



**Εικόνα 34.** Εμφάνιση καλλιέργειας τομάτας σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση. Εμφανής η έλλειψη συμπτωμάτων της ασθένειας (Ιούνιος 1993).



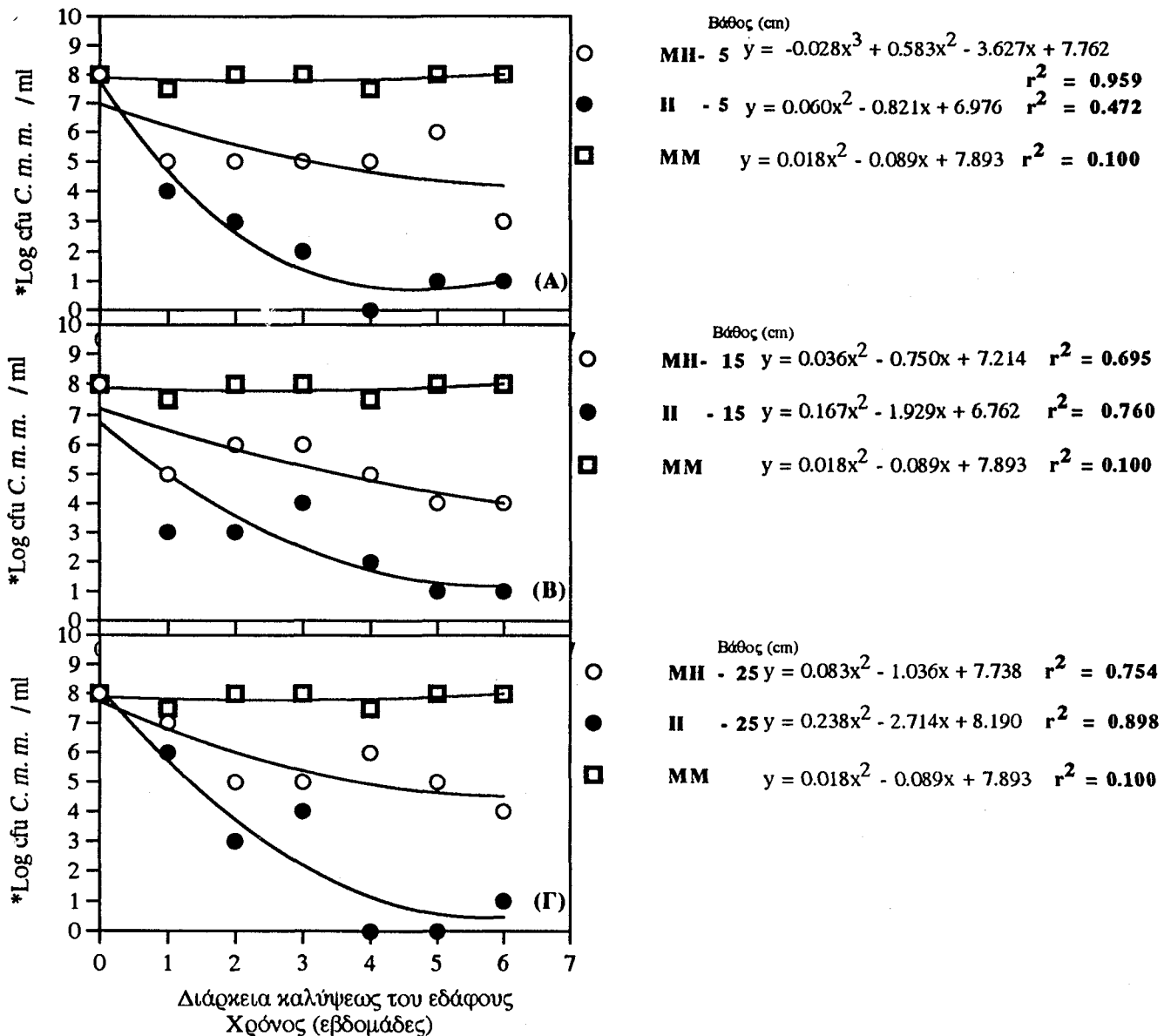
**Διάγραμμα 22.** Επίδραση της επαναλαμβανόμενης εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους, επί δύο ή τρεις καλλιεργητικές περιόδους στο τελικό ποσοστό ασθενών φυτών σε 21 θερμοκήπια στις θέσεις A και B (7 θέσεως B1, 7 θέσεως B2 και 7 θέσεως A1). Μέσοι όροι 7 θερμοκηπίων ανά θέση και 700 φυτών ανά θερμοκήπιο. Απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο το 1990 σε όλα τα θερμοκήπια των ως άνω θέσεων κατάληξε σε ποσοστά ασθενών φυτών από το βακτηριακό έλκος που προσέγγιζαν το 50 % κατά το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου του 1990.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.

### 2.3.3. Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στους πληθυσμούς του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* εντός φιαλιδίων ή αναρροφηθέντων σε τεμάχια στελεχών τοματοφύτων.

#### 2.3.3.1. Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως επί του πληθυσμού του φυσικού τύπου του βακτηρίου *C. m. m.* - 22 εντός υάλινων φιαλιδίων.

Ο πληθυσμός του βακτηρίου *C. m. m.* σε υάλινα φιαλίδια με θρεπτικό υπόστρωμα (NAG), τα οποία διατηρήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο παρέμεινε σε επίπεδα υψηλά, της τάξεως  $10^8$  μονάδων του βακτηρίου *C. m. m.* που σχηματίζουν αποικίες / ml, κατά τη διάρκεια του πειραματισμού. Πτώση 2-4 εκθετικών δεκαδικών δυνάμεων παρατηρήθηκε προς το τέλος της διάρκειας καλύψεως στο ακάλυπτο έδαφος-μάρτυρα (Διάγραμμα 23). Στα πειραματικά τεμάχια όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση παρατηρήθηκε δραστική πτώση, έως και εξάλειψη του πληθυσμού του παθογόνου, σε σύγκριση με τα τεμάχια όπου δεν εφαρμόστηκε η μέθοδος (ακάλυπτο έδαφος- μάρτυρας) 4-6 εβδομάδες μετά την κάλυψη του εδάφους με πολυαιθυλένιο. Η ανάλυση της παλινδρομήσεως των δεδομένων της επιβιώσεως των μονάδων του βακτηρίου που σχηματίζουν αποικίες στην επέμβαση, το χρόνο και το βάθος εδάφους ήταν σημαντικές ( $P= 0,001$ ). Οι σχέσεις της επιβιώσεως των πληθυσμών του βακτηρίου με τις μεταβλητές αυτές εξηγούνται με τα πρότυπα των εξισώσεων: για τα τρία βάθη εδάφους (5, 15 και 25 cm), στο έδαφος - μάρτυρα (MH - 5:  $Y= -0,028 x^3 + 0,583x^2 - 3,627x + 7,762$ ,  $r^2 = 0,95$ , MH - 15:  $Y= 0,036x^2 - 0,750x + 7.214$ ,  $r^2= 0,69$  και MH - 25:  $Y= 0,083x^2 - 1,036x + 7,738$ ,  $r^2= 0,75$ ), για το ηλιοαπολυμανθέν έδαφος (H - 5:  $Y= 0,060x^2 - 0,821x + 6,976$ ,  $r^2=0,47$ , H - 15:  $Y= 0,167x^2 - 1,929x + 6,762$ ,  $r^2=0,76$  και H - 25:  $Y= 0,238x^2 - 2,714x + 8,190$ ,  $r^2= 0,90$ ) καθώς και για τα φιαλίδια τα οποία διατηρήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο (MM:  $Y= 0,081x^2 - 0,089x + 7,893$ ,  $r^2= 0,10$ ). Η ανάλυση διασποράς που έγινε για μετρήσεις αποικιών έδειξε ότι η επέμβαση, ο χρόνος και το βάθος εδάφους είναι ουσιαστικοί παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας  $P= 0,001$ . Επιπροσθέτως, υπήρξε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της επεμβάσεως και του χρόνου ( $P= 0,001$ ) καθώς και της επεμβάσεως και του βάθους εδάφους ( $P= 0,001$ ).



**Διάγραμμα 23.** Η επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στους πληθυσμούς φυσικού στελέχους του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (C. m. m. - 22). Η ανάπτυξη του παθογόνου έγινε σε θρεπτικό υπόστρωμα NAG μέσα σε ειδικώς πωματισμένα (ώστε να επιτρέπουν την κυκλοφορία του αέρος) υάλινα φιαλίδια. Τα φιαλίδια αυτά τοποθετήθηκαν στο έδαφος σε βάθη 5 (Α), 15 (Β) και 25 (Γ) cm μετά από επώαση των καλλιιεργειών επί 48 hr. Στις γραφικές παραστάσεις παρουσιάζονται μέσες τιμές τριών επαναλήψεων φιαλιδίων ανά βάθος εδάφους και χρόνο που ενσωματώθηκαν σε Μη Ηλιοαπολυμανθέντα (MH), σε ακάλυπτο έδαφος -Μάρτυρα), σε Ηλιοαπολυμανθέντα (H) εδάφη, ή σε φιαλίδια (MM) τα οποία διατηρήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο στους  $25 \pm 1$  °C και ακολουθήθηκε ανάλογη επεξεργασία.

\* Λογάριθμος μονάδων που σχηματίζουν αποικίες (cfu) του βακτηρίου C. m. m. / ml αιωρήματος.

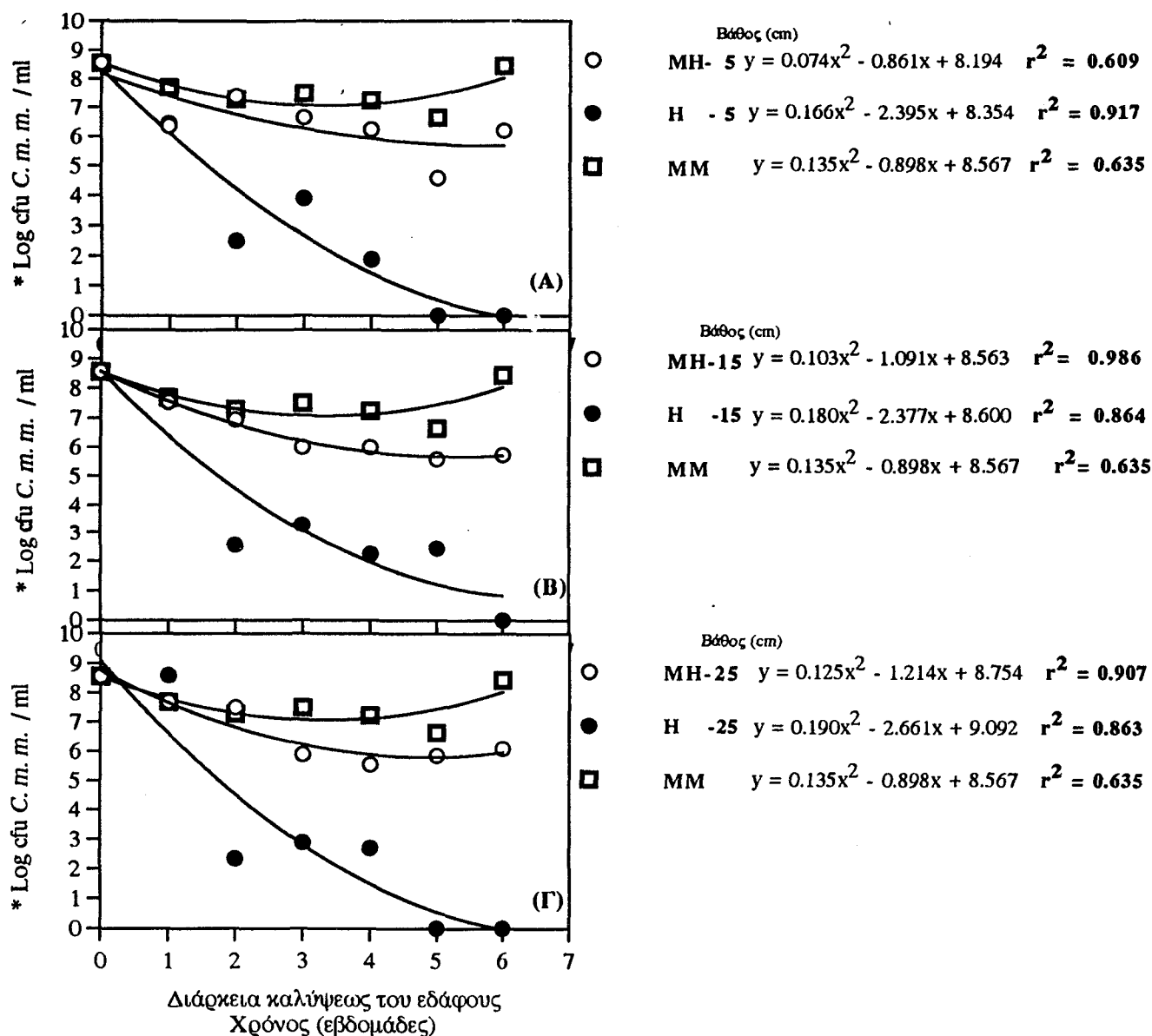
### **2.3.3.2. Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως επί των πληθυσμών ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών του βακτηρίου *C. m. m.* - Amp<sup>+</sup>Rif<sup>+</sup>, *C. m. m.* - Rif<sup>+</sup>Amp<sup>+</sup> *C. m. m.* -Kan<sup>+</sup> εντός υαλίνων φιαλιδίων**

Ο πληθυσμός του παθογόνου στις θέσεις όπου δεν εφαρμόστηκε η μέθοδος παρέμεινε σχεδόν σταθερός με μείωση 1-2 λογαριθμικών μονάδων προς το τέλος της καλύψεως. Η βιωσιμότητα όμως του παθογόνου μειώθηκε δραστηκώς 5 εβδομάδες μετά από την κάλυψη του εδάφους (Διάγραμμα 24). Ανάλυση της παλινδρομήσεως των δεδομένων της επιβιώσεως των μονάδων του βακτηρίου που σχηματίζουν αποικίες στην επέμβαση, το χρόνο και το βάθος εδάφους ήταν σημαντικές ( $P=0,001$ ). Οι σχέσεις της επιβιώσεως των πληθυσμών του βακτηρίου με τις μεταβλητές αυτές εξηγούνται με τα πρότυπα των εξισώσεων: για τα τρία βάθη εδάφους (5, 15 και 25 cm), στο έδαφος-μάρτυρα (MH - 5:  $Y=0,074x^2 - 0,861x + 8,194$ ,  $r^2 = 0,61$  MH - 15:  $Y=0,103x^2 - 1,091x + 8,563$ ,  $r^2=0,98$  και MH - 25:  $Y=0,125x^2 - 1,214x + 8,754$ ,  $r^2=0,91$ ), για το ηλιοαπολυμανθέν έδαφος (H - 5:  $Y=0,166x^2 - 2,395x + 8,354$ ,  $r^2=0,92$ , H - 15:  $Y=0,180x^2 - 2,377x + 8,600$ ,  $r^2=0,86$  και H - 25:  $Y=0,190x^2 - 2,661x + 9,092$ ,  $r^2=0,86$ ) καθώς και για τα φιαλίδια τα οποία διατηρήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο (MM:  $Y=0,135x^2 - 0,898x + 8,567$ ,  $r^2=0,63$ ). Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων από τις καταμετρήσεις των αποικιών έδειξε ότι η επέμβαση, ο χρόνος και το βάθος εδάφους ήταν ουσιαστικοί παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας  $P=0,001$ . Επιπροσθέτως, υπήρξε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της επεμβάσεως και του χρόνου ( $P=0,001$ ) και της επεμβάσεως και του βάθους εδάφους ( $P=0,001$ ).

### **2.3.3.3. Επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως επί των πληθυσμών των ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών αναρροφηθέντων σε τεμάχια στελεχών τοματοφύτων**

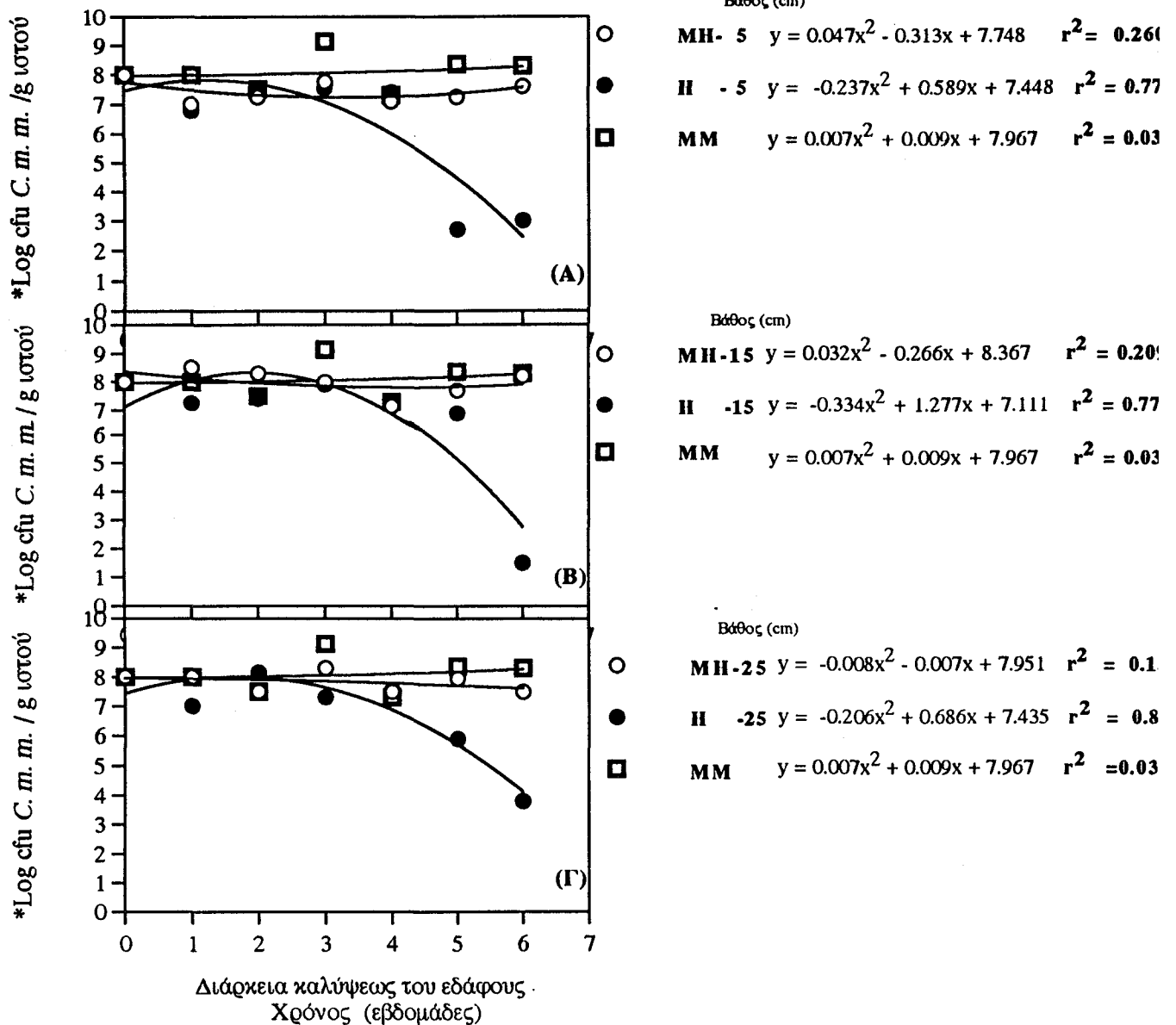
Ο πληθυσμός του παθογόνου στις θέσεις όπου δεν εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση μειώθηκε ελάχιστα (λιγότερο από μία λογαριθμική μονάδα.). Αντιθέτως η πυκνότητα του πληθυσμού του παθογόνου στις θέσεις όπου είχε εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση, υπέστη σημαντική μείωση 5 - 6 εβδομάδες μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως (Διάγραμμα 25). Ανάλυση της παλινδρομήσεως των δεδομένων της επιβιώσεως των μονάδων του βακτηρίου που σχηματίζουν αποικίες στην επέμβαση, το χρόνο και το βάθος εδάφους ήταν σημαντικές ( $P=0,001$ ). Οι σχέσεις της επιβιώσεως των πληθυσμών του βακτηρίου με τις μεταβλητές αυτές εξηγούνται με τα πρότυπα των εξισώσεων: για τα τρία βάθη εδάφους (5, 15 και 25 cm), στο έδαφος - μάρτυρα (MH - 5:  $Y=0,047x^2 - 0,313x + 7,748$ ,  $r^2 = 0,26$ , MH - 15:  $Y=0,032x^2 - 0,2666x + 8,367$ ,  $r^2=0,21$  και MH - 25:  $Y=$





**Διάγραμμα 24.** Η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στους πληθυσμούς ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελέχη, του φυσικού τύπου του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Τα βακτήρια αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα NAG σε υάλινα φιαλίδια και τοποθετήθηκαν στο έδαφος σε βάθη 5 (Α), 15 (Β) και 25 (Γ) cm πριν από την κάλυψη του εδάφους με πολυαιθυλένιο (θέρμος 1992). Στις γραφικές παραστάσεις παρουσιάζονται οι μέσες τιμές από τρεις επαναλήψεις (ένα φιαλίδιο ανά ανθεκτικό στέλεχος, ανά βάθος εδάφους και χρόνο, *C. m. m.* - Amp<sup>+</sup>Rif<sup>+</sup>, *C. m. m.* - Rif<sup>+</sup>Amp<sup>+</sup> και *C. m. m.* - Kan<sup>+</sup>) σε Μη Ηλιοαπολυμανθέν (ΜΗ ακάλυπτο έδαφος - μάρτυρα), ή Ηλιοαπολυμανθέν έδαφος (Η), ή σε φιαλίδια τα οποία διατηρήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο (ΜΜ) στους 25±1 °C και έγινε ανάλογη επεξεργασία.

\* Λογάριθμος μονάδων που σχηματίζουν αποικίες (cfu) του βακτηρίου *C. m. m.* / ml αιωρήματος.



**Διάγραμμα 25.** Η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στους πληθυσμούς ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Αγγειώδεις δεσμίδες αποσπίαστηκαν από τεμάχια στελεχών τοματοφύτων, διαμέτρου 1 cm, αμέσως μετά από την αναρρόφηση του βακτηριακού αιωρήματος και ενσωματώθηκαν στο έδαφος σε βάθη 5 (Α), 15 (Β) και 25 (Γ) cm πριν από την κάλυψη με το πολυαιθυλένιο. Στις γραφικές παραστάσεις παρουσιάζονται μέσες τιμές από τρεις επαναλήψεις αγγειωδών δεσμίδων τεμαχίων στελεχών τομάτας (μία αγγειώδης δεσμίδα και ανά ανθεκτικό σε αντιβιοτικό στέλεχος του βακτηρίου, *C. m. m.* - Amp<sup>+</sup>Rif<sup>+</sup>, *C. m. m.* - Rif<sup>+</sup>Amp<sup>+</sup>, *C. m. m.* - Kan<sup>+</sup>, ανά βάθος εδάφους και χρόνο) που ενσωματώθηκαν σε μη ηλιοαπολυμανθέντα (MH), ή σε ηλιοαπολυμανθέντα (H) εδάφη, ή που διατηρήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο (M) στους 25±1 °C και ακολούθηθηκε ανάλογη επεξεργασία.

\* Λογάριθμος μονάδων που σχηματίζουν αποικίες (cfu) του βακτηρίου *C. m. m.* / ml αιωρήματος.

$0,008x^2 - 0,007x + 7,951$ ,  $r^2=0,16$ ), για το ηλιοαπολυμανθέν έδαφος (H - 5:  $Y = -0,237x^2 - 0,589x + 7,448$ ,  $r^2=0,77$ , H - 15:  $Y = -0,334x^2 + 1,277x + 7,111$ ,  $r^2 = 0,77$  και H - 25:  $Y = -0,206x^2 + 0,686x + 7,435$ ,  $r^2 = 0,86$ ) καθώς και για τα φιαλίδια τα οποία διατηρήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο (MM:  $Y = 0,007x^2 - 0,009x + 7,967$   $r^2 = 0,03$ ). Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έδειξε ότι η επέμβαση, ο χρόνος και το βάθος εδάφους ήταν ουσιαστικοί παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας  $P = 0,001$ . Επιπροσθέτως, υπήρξε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της επεμβάσεως και του χρόνου ( $P = 0,001$ ), και της επεμβάσεως και του βάθους εδάφους, ( $P = 0,001$ ).

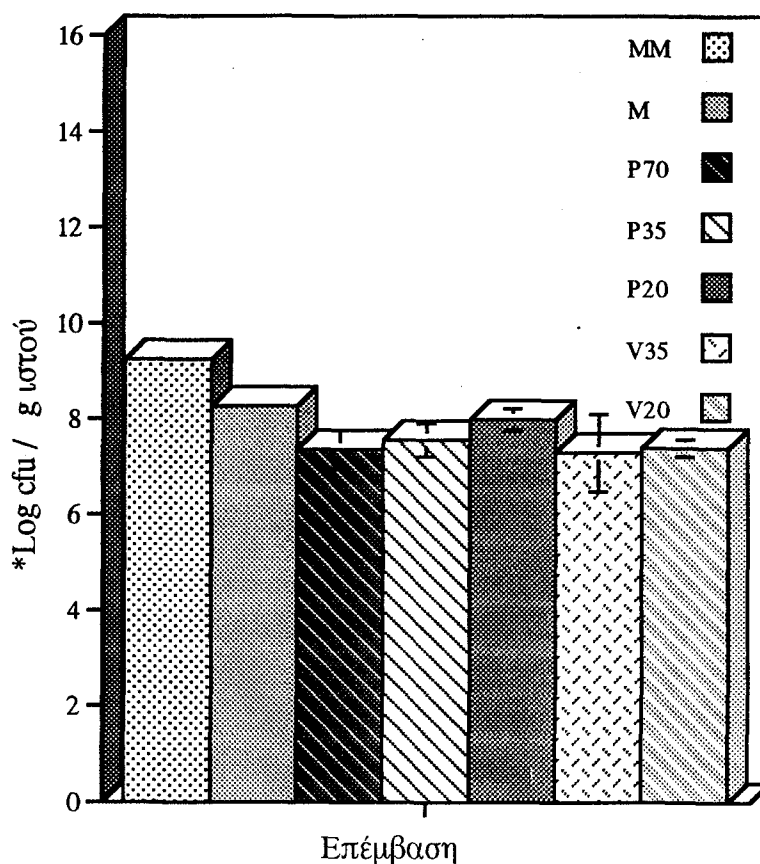
Από τη στατιστική επεξεργασία που παρουσιάζεται στους πίνακες αποδεικνύεται ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους συμβάλλει στη στατιστικώς σημαντική ( $P \leq 0,05$ ) μείωση του μολύσματος έως καταστροφής του σε σύγκριση με το ακάλυπτο έδαφος-μάρτυρα. Η επίδραση εκδηλώνεται ως στατιστικώς σημαντική επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στην επιβίωση του παθογόνου αναλόγως του βάθους και της διάρκειας καλύψεως του εδάφους.

#### **2.3.3.4. Επίδραση της εφαρμογής της απολυμάνσεως του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο επί του πληθυσμού ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών του βακτηρίου *C. m. m.* - 22 αναρροφηθέντων σε τεμάχια στελεχών τομάτας**

Ως προς την ευαισθησία του βακτηρίου *C. m. m.* τα δεδομένα του Διαγράμματος 26 καταδεικνύουν την αδυναμία όλων των επεμβάσεων, συνδυασμού απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο με κοινό πολυαιθυλένιο και αδιαπέρατο πλαστικό, στη μείωση του πληθυσμού του παθογόνου και κατ' επέκταση στην αντιμετώπιση του βακτηρίου. Πράγματι ανεπαίστετες πτώσεις της συγκέντρωσεως του παθογόνου κατά μία λογαριθμική μονάδα θεωρούνται εντελώς επουσιώδεις για την αντιμετώπιση της ασθένειας. Στατιστική ανάλυση των δεδομένων της επιβιώσεως του πληθυσμού του παθογόνου βακτηρίου, που τοποθετήθηκε στο έδαφος, με τη μέθοδο της αναλύσεως της διασποράς δεν έδειξε σημαντική διαφορά ( $P = 0,05$ ) μεταξύ των επεμβάσεων. Ο πληθυσμός κυμάνθηκε μεταξύ  $10^{10}$ - $10^8$  μονάδων του βακτηρίου που σχηματίζουν αποικίες / g ιστού σε βάθος εδάφους 20 cm και αποδεικνύει την αποτυχία της συνιστωμένης δοσολογίας ή άλλων συνδυασμών της συγκεκριμένης χημικής απολυμάνσεως του εδάφους στην αντιμετώπιση του βακτηρίου.

## **2.4. Συζήτηση - Συμπεράσματα**

Η παρούσα εργασία αποτελεί την πρώτη απόδειξη ότι μία σοβαρή βακτηριολογική ασθένεια μπορεί να περιοριστεί σημαντικώς, και κατ' επέκταση να αντιμετωπισθεί



**Διάγραμμα 26.** Επίδραση της απολυμάνσεως του εδάφους με την εφαρμογή βρωμιούχου μεθυλίου, κανονικών και μειωμένων δόσεων, στους πληθυσμούς ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών του φυσικού τύπου του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Τεμάχια στελεχών τοματοφύτων, διαμέτρου 1 cm, μετά την αναρρόφηση του βακτηριακού αιωρήματος, ενσωματώθηκαν στο έδαφος σε βάθος 20 cm πριν από την κάλυψη του εδάφους με τα πλαστικά καλύψεως (θέρος 1994). Στη γραφική παράσταση παρουσιάζονται μέσες τιμές από τέσσερις επαναλήψεις [ένα τεμάχιο στελέχους τοματοφύτου ανά ανθεκτικό στέλεχος (*C. m. m.* - Amp Rif), ανά βάθος] σε μη απολυμανθέν με Βρωμιούχο Μεθύλιο έδαφος - μάρτυρα (M), απολυμανθέν έδαφος με διάφορες δόσεις βρωμιούχου μεθυλίου και πολυαιθυλένιο (P70, P35, P20), απολυμανθέν με διάφορες δόσεις απολυμαντικού και κάλυψη με αδιαπέρατο πλαστικό LMG (V35, V20), που διατηρήθηκαν σε συνθήκες δωματίου (MM) και έγινε ανάλογη επεξεργασία.

Οι στήλες στα ιστογράμματα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,05$ ) μεταξύ τους.

\*Λογάριθμος μονάδων του βακτηρίου *C. m. m.* που σχηματίζουν αποικίες (cfu) / g φυτικού ιστού.

αποτελεσματικώς, με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους. Οι μέχρι τούδε πειραματικές έρευνες αφορούν κυρίως στην αποτελεσματικότητα της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως εναντίον των εδαφογενών παθογόνων μυκήτων (Katan & DeVay, 1991). Εντούτοις, έχει αναφερθεί ότι και ορισμένα γένη εδαφογενών βακτηρίων είναι ευαίσθητα στην ηλιοαπολύμανση. Πράγματι, φυσικοί πληθυσμοί βακτηρίων του γένους *Agrobacterium* spp., φθοριζουσών ψευδομονάδων, πηκτινολιτικών ψευδομονάδων και ορισμένων θετικών κατά Gram βακτηρίων μειώθηκαν σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε η μέθοδος και σε ποσοστά 69 - 98 % αμέσως μετά από την επέμβαση (Stapleton & DeVay, 1982; Stapleton & DeVay, 1986). Το βακτήριο *Agrobacterium radiobacter* pv. *tumefaciens*, το οποίο προκαλεί τον καρκίνο πολλών οπωροφόρων δένδρων, δεν ανιχνεύτηκε σε εδάφος όπου εγκαταστάθηκαν δενδρύλλια καρυδιάς ή ροδακινιάς μετά την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως. Επίσης το βακτήριο *Streptomyces scabies*, το οποίο προκαλεί την εσχάρωση των γεωμήλων, παρουσίασε μείωση φυσικών πληθυσμών μετά από την εφαρμογή της μεθόδου (Davis & Sorensen, 1986). Υπό το φως των δεδομένων της μελέτης αυτής το παθογόνο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* προστίθεται στον κατάλογο των παθογόνων βακτηρίων των οποίων ο πληθυσμός περιορίζεται σημαντικώς με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως. Από τα πειραματικά δεδομένα της παρούσης εργασίας σε πλαστικά θερμοκήπια, αποδεικνύεται ότι το ύψος των τιμών των θερμοκρασιών του εδάφους, οι οποίες καταγράφησαν κατά τους μήνες Ιούλιο και Αύγουστο του 1992, είναι συγκρίσιμες με αυτές που αναφέρονται για τις περιοχές του Ν. Πρεβέζης, βορειοδυτική Ελλάδα, (Tjamos & Faridis, 1980), της νοτιοανατολικής Ελλάδος (Tjamos & Paplomatas, 1988) και της ανατολικής Ελλάδος (Tjamos *et al.*, 1991). Η σταθερότητα της αποτελεσματικότητας της ηλιοαπολυμάνσεως αποδεικνύει ότι οι επιτευχθείσες θερμοκρασίες είναι επαρκείς για να περιορίσουν σημαντικώς ή ακόμη και να εξαλείψουν τους πληθυσμούς του βακτηρίου στο έδαφος. Οι Gleason *et al.*, (1991) έχουν αναφέρει ότι οι επιφυτικοί πληθυσμοί του παθογόνου επί των φυλλαρίων ή των καρπών μπορούν να επιβιώσουν επί δύο μήνες στα φυτικά υπολείμματα στην επιφάνεια του εδάφους και περισσότερο από επτά μήνες στα ενσωματωμένα φυτικά υπολείμματα στο έδαφος. Με τον τρόπο αυτό οι προσβολές σε φυτά από μόλυσμα το οποίο επιβιώνει στο έδαφος είναι πολύ σοβαρές διότι δύνανται να προκαλέσουν εκτεταμένα και έντονα συμπτώματα και να επιφέρουν μεγάλες απώλειες στην παραγωγή. Η παρούσα εργασία αποδεικνύει τη σημασία του εδαφογενούς μολύσματος του παθογόνου στην ανάπτυξη διασυστηματικών συμπτωμάτων και επιβεβαιώνει προηγούμενη εργασία των Gleason *et al.* (1991) καταδεικνύοντας ότι επιδημίες του βακτηριακού έλκους της τομάτας πιθανώς να προέρχονται από διαχειμάζον μόλυσμα σε προσβεβλημένα υπολείμματα τοματοφύτων. Αντιθέτως με την εφαρμογή ηλιοαπολυμάνσεως, απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο στις συνιστώμενες δόσεις των 70 g / m<sup>2</sup> δεν περιορίσε την ασθένεια. Ομοίως, οι Munnecke & Ferguson (1960) ανέφεραν ότι το βακτήριο μπορεί να απομονωθεί από έδαφος

το οποίο έχει υποστεί απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο με δόση  $82 \text{ g / m}^2$ , αλλά δεν ανιχνεύεται όταν διπλασιασθεί η δόση του απολυμαντικού. Εν τούτοις, ο Strider (1967) ανέφερε ότι κατά προσέγγιση  $46 \text{ g / m}^2$  του απολυμαντικού ήταν ικανά να θανατώσουν το παθογόνο, σε επαρκώς προετοιμασμένο αμμοπηλάδες έδαφος. Προτείνουν όμως ότι η απαιτούμενη δόση θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ  $128-164 \text{ g / m}^2$ , όταν το έδαφος δεν είναι πλήρως προετοιμασμένο, μία πολύ συνήθης πρακτική στους γεωργικούς αγρούς. Άλλωστε το βρωμιούχο μεθύλιο εφαρμόζεται στην Ελλάδα, σε εμπορική κλίμακα στη συνιστώμενη δόση των  $70 \text{ g / m}^2$  και είναι τουλάχιστον οικονομικώς ασύμφορη οποιαδήποτε αύξηση της δόσεως για να εξασφαλισθεί η αντιμετώπιση της ασθένειας.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολύμανσης περιορίζει σημαντικά ή σχεδόν εξαλείφει τους πληθυσμούς του βακτηρίου σε σύγκριση με εδάφη όπου δεν εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση. Το γεγονός ότι η μέθοδος ελαττώνει την επίπτωση της ασθένειας σε τρεις συνεχόμενες καλλιεργητικές περιόδους και σε πολλά θερμοκήπια καταδεικνύει ότι τα δεδομένα της παρούσης εργασίας αναφορικώς με την επίπτωση της εφαρμογής της ηλιοαπολύμανσης επί των πληθυσμών του *C. m. m.* είναι αδιάψευστα για την αποτελεσματικότητα της μεθόδου.

Η ανάλυση των δεδομένων από την καταμέτρηση των αποικιών, που προέρχονται από μολύσματα τα οποία αναπτύχθηκαν σε μερικώς ή πλήρως κλεισμένα υάλινα φιαλίδια που ενσωματώθηκαν στο έδαφος, υποδηλώνει ότι η πλέον δυσμενής επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολύμανσης επί του εδαφογενούς μολύσματος του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* εξασκείται μέσω της αύξησεως των θερμοκρασιών του εδάφους. Αρχικώς διαπιστώθηκε ότι οι βακτηριακές καλλιέργειες δεν ήταν αρχικώς ευαίσθητες στις θερμοκρασίες που αναπτύσσονται στο έδαφος ( $35-53 \text{ }^\circ\text{C}$ ), οι πληθυσμοί όμως του βακτηρίου άρχισαν να μειώνονται αισθητώς εντός δύο εβδομάδων από την κάλυψη του εδάφους. Τούτο δυνατόν να σημαίνει ότι υπάρχει μία χρονική περίοδος ευαισθητοποίησης και εξασθενήσεως του παθογόνου πριν παρατηρηθεί σαφής μείωση του πληθυσμού του (Katan, 1992). Αντιθέτως, το βακτήριο δεν επηρεάστηκε από τις θερμοκρασίες που καταγράφησαν σε εδάφη των πειραματικών τεμαχίων -μαρτύρων όπου η υψηλότερη θερμοκρασία ήταν  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  στα  $5 \text{ cm}$  βάθος εδάφους. Αναφορικώς με τη διαδικασία ενσωματώσεως βακτηριακών καλλιεργειών οι οποίες αναπτύσσονται σε μερικώς κλειστά ή πλήρως σφραγισμένα υάλινα φιαλίδια τούτο ασφαλώς δεν αποτελεί φυσική μέθοδο αναπτύξεως του βακτηρίου. Επιλέχθηκε όμως μόνο για λόγους ευχερούς και ελεγχόμενης μελέτης της επιδράσεως των επεμβάσεων στους πληθυσμούς του. Η δραστική όμως μείωση μέχρις εξαλείψεως των βακτηριακών πληθυσμών στα εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση καταδεικνύει τη θερμική ευαισθησία του βακτηρίου *C. m. m.* στις θερμοκρασίες που αναπτύσσονται κατά την κάλυψη του εδάφους με πλαστικό φύλλο πολυαιθυλενίου. Επειδή η στατιστική ανάλυση των πειραματικών δεδομένων έδειξε ότι τα μολύσματα του παθογόνου είναι ευαίσθητα με τη μείωση του βάθους και την αύξηση

της διάρκειας καλύψεως του εδάφους, συμπεραίνεται ότι η θερμική δράση της μεθόδου της ηλιοαπολυμάνσεως έχει πρωτεύουσα συμβολή στην αντιμετώπιση του παθογόνου. Τούτο φυσικά δεν περιορίζει τη σημασία της συμβολής και των άλλων τρόπων δράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως στον περιορισμό της επιπτώσεως της ασθένειας. Δεδομένα του Basu, (1970) αποδεικνύουν ότι η επιβίωση του βακτηρίου *C. m. m.* στο έδαφος εξαρτάται περισσότερο από τη θερμοκρασία παρά από την υγρασία του εδάφους. Ανάλογες μελέτες θερμικής ευαισθησίας καλλιιεργειών των μυκήτων *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum* και *Thielaviopsis basicola*, σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA, που τοποθετήθηκαν σε πλαστικές σακκούλες σε επωαστικούς θαλάμους σταθερών θερμοκρασιών, έδειξαν ότι τα παθογόνα αυτά είναι ευαίσθητα σε θερμοκρασίες παρόμοιες με αυτές που αναπτύσσονται σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε η ηλιοαπολύμανση του εδάφους (Pullman *et al.*, 1981).

Οι μελέτες επί των ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών του παθογόνου βακτηρίου που αναρροφήθηκαν σε αγγειώδεις δεσμίδες στελεχών τοματοφύτων έδειξαν ότι το βακτήριο είναι ικανό να ανθέξει στη δυσμενή επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως επί τέσσερις περίπου εβδομάδες. Εν συνεχεία το βακτήριο εξασθενεί και τελικώς φθίνει έξι εβδομάδες μετά από την κάλυψη του εδάφους. Η διαφοροποίηση μεταξύ καλλιιεργειών του παθογόνου και βακτηρίων που αναρροφήθηκαν σε τεμάχια στελεχών τοματοφύτων ως προς τη θερμική ευαισθησία τους ενδεχομένως να οφείλεται στο γεγονός ότι το παθογόνο προστατεύεται περισσότερο εντός των αγγειωδών δεσμίδων σε αντιδιαστολή με τις καλλιιεργειες σε υάλινα φιαλίδια. Είναι γνωστό ότι τα βακτήρια προστατεύονται και επιβιώνουν στο έδαφος από την μία καλλιιεργητική περίοδο στην επομένη σε φυτικά υπολείμματα και σε άλλες προστατευμένες θέσεις στο έδαφος (Leben, 1988· Weller, 1988). Εκτός της προστασίας που παρέχουν οι φυτικοί ιστοί και τα προϊόντα αποδομήσεως που προσφέρουν στα βακτήρια, σημαντικό παράγοντας για την επιβίωσή τους είναι η παραγωγή εξωκυτταρικών πολυσακχαριτών. Έχει αναφερθεί ότι οι πολυσακχαρίτες που παράγονται από τα *corynebacteria* αποτελούνται από πεπτιδογλυκάνες (Ries & Strobel, 1972). Τα βακτήρια σε ποικίλες οικολογικές "φωλιές", όπως και στη ριζόσφαιρα, περιβάλλονται από εξωκυτταρικούς πολυσακχαρίτες (Costerton, 1984· Costerton & Irvin, 1981· Foster *et al.*, 1983) οι οποίοι συνδέουν τα κύτταρα μεταξύ τους και κατά αυτό τον τρόπο δημιουργούνται μικροαποικίες (Costerton & Irvin, 1981). Οι εξωκυτταρικοί πολυσακχαρίτες προστατεύουν τα κύτταρα εναντίον αντιβακτηριακών παραγόντων και συμβάλλουν στην παραμονή και επίβιωσή τους στην οικολογική "φωλιά", συγκεντρώνοντας θρεπτικά στοιχεία και ιόντα (Costerton, 1984· Costerton & Irvin, 1981· Sutherland, 1972). Εφαρμογή απολυμάνσεως του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο σε δόσεις και σε διαφόρους συνδυασμούς πλαστικών κατέδειξε ότι οι συνιστώμενες δόσεις των 70 g / m<sup>2</sup> ουδόλως επηρεάζουν τον πληθυσμό του βακτηρίου που αναρροφήθηκε σε τμήματα στελεχών τοματοφύτων που ενσωματώθηκαν στο έδαφος προ της εφαρμογής της μεθόδου.

Τούτο κατέδειξε ότι το βρωμιούχο μεθύλιο στις συνιστώμενες δόσεις αδυνατεί να αντιμετωπίσει την ασθένεια. Προσφάτως οι Chellemi *et al.* (1994) διαπίστωσαν ότι επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους επί της επιβιώσεως πληθυσμών του βακτηρίου *Pseudomonas solanacearum* ( $10^2$ - $10^0$  μονάδες του βακτηρίου που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους) υπερείχε σημαντικώς της εφαρμογής χημικής απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο ( $10^4$  μονάδες του βακτηρίου που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους) και σε δόσεις  $45 \text{ g / m}^2$ . Ακόμη και αύξηση της δόσεως του βρωμιούχου μεθυλίου στα  $89 \text{ g / m}^2$  δεν επέφερε σημαντική μείωση του πληθυσμού του βακτηρίου ( $10^2$ - $10^0$  μονάδες του βακτηρίου που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους) πέραν των επιτευχθέντων με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως επιπέδων του πληθυσμού. Τούτο συμφωνεί με τα δεδομένα της παρούσης εργασίας όπου απολύμανση του εδάφους με  $70 \text{ g / m}^2$  βρωμιούχου μεθυλίου δεν προκαλεί μείωση ( $10^7$  μονάδες του βακτηρίου που σχηματίζουν αποικίες / g ιστού) του πληθυσμού του παθογόνου και δεν αντιμετωπίζει την ασθένεια. Η χρησιμοποίηση ενός μόνο στελέχους του παθογόνου δεν είναι αντιπροσωπευτική για το παθογόνο. Έτσι, σε μία μελλοντική έρευνα θα πρέπει να γίνει σύγκριση του σημείου θερμικού θανάτου πολλών φυσικών στελεχών *in vitro* σε φιαλίδια και σε μολυσμένα τεμάχια στελεχών σε υδατόλουτρο ή στο έδαφος κατά τη διάρκεια της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως. Οι Trevors & Finnen (1990) έδειξαν ότι η επιβίωση του βακτηρίου σε προσβεβλημένα φυλλάρια τοματοφύτων μπορεί να υπερβεί τις 36 εβδομάδες στους  $-20^\circ\text{C}$  σε αποστειρωμένο ή μη έδαφος. Εντούτοις, το βακτήριο δεν είναι ικανό να επιβιώσει περισσότερο από 3 εβδομάδες σε θερμοκρασίες από  $5$ - $35^\circ\text{C}$ . Αντιφατικές αναφορές επί της θερμικής ευαισθησίας του βακτηρίου *C. m. m.* θα μπορούσαν να αποδοθούν στη μεθοδολογία η οποία ακολουθήθηκε από την κάθε ερευνητική ομάδα.

Αναλύοντας τα δεδομένα αυτής της μελέτης θα μπορούσε να αναφερθεί ότι πέραν της άμεσου θερμικής επιδράσεως της ηλιοαπολυμάνσεως στη μείωση της ικανότητας επιβιώσεως του παθογόνου, είναι ενδεχόμενο να υπάρχει συμβολή θερμοανθεκτικών βακτηρίων της ριζόσφαιρας που μπορεί να ενισχύουν την αποτελεσματικότητα αντιμετώπισεως του βακτηρίου *C. m. m.* Τα δεδομένα σχετικά με τη διακύμανση του βακτηριακού πληθυσμού στη ριζόσφαιρα και την *in vitro* ανταγωνιστική τους δράση εναντίον του βακτηρίου *C. m. m.* αναλύονται εκτενέστερα στο κεφάλαιο 3.

Δεν αποκλείεται επίσης να υπάρχει βιοχημική επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους που αποδίδεται στην παραγωγή πτητικών ουσιών κατά την αποσύνθεση της οργανικής ύλης στο καλυμμένο έδαφος (DeVay & Katan, 1991· Gamliel & Katan, 1991).

Παρά το γεγονός ότι τα πειραματικά δεδομένα έδειξαν ότι η διάρκεια της αποτελεσματικότητας της μεθόδου εναντίον του βακτηρίου *C. m. m.* διατηρείται καθ' όλη την καλλιεργητική περίοδο, δεν υπάρχουν πειραματικά προς το παρόν δεδομένα μακροχρόνιας επιδράσεως εναντίον του παθογόνου, σε αντίθεση με το γεγονός το οποίο έχει ήδη περιγραφεί για την καταπολέμηση εδαφογενών φυτοπαθογόνων μυκήτων (Tjamos,



1991· Tjamos & Paplomatas, 1988· Tjamos *et al.* 1991· Tjamos *et al.*, 1989· Freeman & Katan, 1988).

Παρατηρήσεις σε πλαστικά θερμοκήπια κατέδειξαν ότι παράγοντες οι οποίοι σχετίζονται με τις φυσικές ιδιότητες των φύλλων πολυαιθυλενίου (ανθεκτικότητας, μηχανική αντοχή ή σταθερότητα στην υπεριώδη ακτινοβολία) συμβάλλουν στην επιτυχή εμπορική εφαρμογή της τεχνικής. Η έλλειψη σταθεροποιητού κατά της υπεριώδους ακτινοβολίας έχει ως αποτέλεσμα την πρόωρη αποδιοργάνωση των πλαστικών φύλλων. Έτσι, οι παραγωγοί συμβουλεύονται, από τους ειδικούς επί της φυτοπροστασίας, να χρησιμοποιούν φύλλα με σταθεροποιητή και να διατηρούν τα πλαστικά φύλλα για τουλάχιστο 6 εβδομάδες με σκοπό να αντιμετωπίσουν επιτυχώς το βακτηριακό έλκος της τομάτας. Η ηλιοαπολύμανση του εδάφους όπου εφαρμόζεται, αποτελεί μία δυναμική εναλλακτική προσέγγιση στην αντιμετώπιση του *C. m. m.*. Η ταχεία επέκταση της εμπορικής εφαρμογής της ηλιοαπολύμανσεως σε μολυσμένες περιοχές της Ελλάδος επιβεβαιώνει τη χρησιμότητα της ηλιοαπολύμανσεως στην αντιμετώπιση και του βακτηριακού έλκους της τομάτας.

### 3. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους στη διακύμανση φυσικών πληθυσμών της μικροχλωρίδας του εδάφους

Η εφαρμογή απολυμάνσεως του εδάφους με χημικά απολυμαντικά και με ατμό προκαλεί συνήθως ανεπιθύμητη μεταβολή της υφισταμένης ισορροπίας στην εδαφική μικροχλωρίδα του εδάφους (Chen *et al.*, 1991). Αντιθέτως, η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους ευνοεί την επιβίωση και ανάπτυξη πολλών θερμοανθεκτικών μικροοργανισμών ικανών να δράσουν ως ανταγωνιστές εναντίον εδαφογενών παθογόνων (Tjamos *et al.* 1991· Katan, 1991). Παρατεταμένες υψηλές θερμοκρασίες του εδάφους σε θανατηφόρα ή υποθανάτια επίπεδα, οι οποίες αναπτύχθηκαν κατά την ηλιοαπολύμανση, είναι πιθανόν να μην επηρεάσουν αρνητικώς την επιβίωση αλλά να βοηθήσουν στην αύξηση ορισμένων μικροοργανισμών που είναι γνωστοί δυνητικοί ανταγωνιστές μυκήτων (potential antagonists). Μακροχρόνια δράση της ηλιοαπολυμάνσεως είναι δυνατόν να οφείλεται στην επιβίωση και αύξηση των πληθυσμών των θερμοανθεκτικών ανταγωνιστών σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη (Tjamos & Paplomatas, 1987, 1988· Katan, 1986· Freeman & Katan, 1988). Μεταξύ των θερμοανθεκτικών ανταγωνιστών φυτοπαθογόνων μυκήτων και βακτηρίων, που επιβιώνουν της ηλιοαπολυμάνσεως είναι μύκητες των γενών *Aspergillus* και *Talaromyces* (Tjamos, 1995, υπό δημοσίευση) καθώς και βακτήρια που ανήκουν στα γένη *Pseudomonas*, *Bacillus* και της ομάδος *Streptomyces* (Stapleton & DeVay, 1982· Gamliel & Katan, 1991).

#### 3.1. Σκοπός της ερεύνης

Σκοπός της ερεύνης ήταν να διερευνηθεί

- η ποσοτική διαφοροποίηση φυσικών πληθυσμών βακτηρίων που ανήκουν στα γένη *Pseudomonas*, *Bacillus* και της ομάδος *Streptomyces* και μυκήτων των γενών *Aspergillus* και *Talaromyces* που ανήκουν στους μικροοργανισμούς που καταλαμβάνουν τη ριζόσφαιρα φυτών τομάτας μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως σε σύγκριση με εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο.

- η δημιουργία συλλογής των απομονώσεων βακτηρίων της ριζόσφαιρας φυτών τομάτας και ακολούθως ο έλεγχος εξασκήσεως ανταγωνιστικής δράσεως εναντίον του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* και των μυκήτων *Pyrenochaeta lycopersici* και *Verticillium dahliae* σημαντικών εδαφογενών παθογόνων της τομάτας.

### 3.2. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στη βακτηριακή μικροχλωρίδα του εδάφους

Οι Gamliel & Katan (1991), διαπίστωσαν ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μειώνει τους πληθυσμούς βακτηρίων (0-93%) και μυκήτων (41-97%), μέχρι και 60-90 cm βάθος εδάφους. Αντιθέτως, η ομάδα των ακτινομυκήτων επηρεάζεται συγκριτικώς λιγότερο. Θερμοανθεκτικοί μύκητες και βακτήρια μειώνονται επίσης αμέσως μετά από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως (Stapleton & DeVay, 1982), ενώ σε άλλες μελέτες αναφέρεται αύξηση των πληθυσμών των βακτηρίων (Kaewruang *et al.*, 1989· Ramirez-Vilapudua & Munnecke, 1988). Οι πληθυσμοί των φθοριζουσών ψευδομονάδων αυξήθηκαν πάνω από 130 φορές στη ριζόσφαιρα φυτών σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη, παρά το γεγονός ότι τα βακτήρια αυτά είναι ευαίσθητα στις θερμοκρασίες που αναπτύσσονται κατά τα πρώιμα στάδια βλαστήσεως του σπόρου, φθάνοντας τα υψηλότερα επίπεδα κατά την ανάδυση των φυταρίων από το έδαφος.

Διαπιστώνεται ότι η αποίκιση του ριζικού συστήματος τοματοφύτων από φθοριζουσες ψευδομονάδες, μετά από τη μεταφύτευση των σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη, ήταν μεγαλύτερη σε σύγκριση με μη ηλιοαπολυμανθέντα. Ανάλογες ήταν και οι διαφοροποιήσεις στους πληθυσμούς των **ενδορριζικών** αναπτυσσομένων βακτηρίων. Έντονη ήταν ακόμη και η αποίκιση των ριζών από την ομάδα των ακτινομυκήτων (actinomycetes). Επισημαίνουν επίσης ότι από τους διαφόρους πληθυσμούς των βακτηρίων της ριζόσφαιρας και των **ενδορριζικών** βακτηρίων, μόνον οι φθοριζουσες ψευδομονάδες παρουσιάζουν σημαντική αύξηση του ρυθμού αναπτύξεως των φυτών (Gamliel & Katan, 1991). Το γένος αυτό των βακτηρίων έχει μελετηθεί εκτεταμένως μέσα στο πλαίσιο των ριζοβακτηρίων που προάγουν το ρυθμό αναπτύξεως των φυτών. Διατείνονται τέλος ότι η επίδραση των φθοριζουσών ψευδομονάδων δυνατόν να εκδηλώνεται ως καταστολή εναντίον παθογόνων μικροοργανισμών, λόγω της ταχυτάτης αποικίσεως του ριζικού συστήματος αλλά και της παραγωγής αντιβιοτικών (Gamliel & Katan, 1991).

#### 3.2.1. Τρόπος δράσεως της βακτηριακής μικροχλωρίδας του εδάφους στο ρυθμό αναπτύξεως του φυτού και στην καταστολή της ασθένειας

Μεταξύ των βακτηρίων τα οποία επηρεάζονται από την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους είναι αυτά που ανήκουν στα γένη *Pseudomonas*, *Bacillus* και της ομάδος *Streptomyces* (Stapleton & DeVay, 1984· Gamliel & Katan, 1991), τα οποία συμβάλλουν στην κατασταλτικότητα των εδαφών (Cook & Baker, 1983· Greenberger *et al.*, 1987) επαναποικίζοντας τα ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη και προσεγγίζοντας υψηλούς

πληθυσμούς ανά g εδάφους (Stapleton & DeVay, 1984· Gamliel & Katan, 1991).

Τα βακτήρια του γένους *Bacillus* spp. είναι σποριογόνα και παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες (Hurst, 1984). Η συμπεριφορά των βακτηρίων αυτών ως ανταγωνιστών εναντίον φυτοπαθόνων μικροοργανισμών στη ριζόσφαιρα, είναι ανάλογη με αυτή των φθοριζουσών ψευδομονάδων, τόσο δια της παραγωγής αντιβιοτικών όσο και δια του ανταγωνισμού τους στο βιοτικό περιβάλλον. Τούτο τους καθιστά κύριο παράγοντα κατασταλτικότητας σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη (DeVay & Katan, 1991). Επιπροσθέτως, έχει ακόμη αναφερθεί ότι βακτήρια του γένους *Bacillus* spp. βελτιώνουν το ρυθμό αναπτύξεως των φυτών (Broadbent *et al.*, 1977· Gamliel & Katan, 1991).

Τα επίπεδα των πληθυσμών των ακτινομυκήτων στη ριζόσφαιρα αν και δεν επηρεάζονται πολύ από την ηλιοαπολύμανση (Stapleton & DeVay, 1982· Gamliel & Katan, 1991) είναι πολύ υψηλά ακόμη σε σύγκριση με τα επίπεδα των πληθυσμών των φθοριζουσών ψευδομονάδων σε εδάφη τα οποία δεν έχουν υποστεί ηλιοαπολύμανση (Miller *et al.*, 1990· Miller *et al.*, 1990· Miller *et al.*, 1989). Πολλά μέλη της ομάδος *Streptomyces* παράγουν μεγάλη ποικιλία αντιβιοτικών και είναι γνωστά ως ανταγωνιστές φυτοπαθόνων μικροοργανισμών (DeVay & Katan, 1991), ενώ δεν παρουσιάζουν σημαντική επίδραση στο ρυθμό αναπτύξεως του φυτού (Gamliel & Katan, 1991).

Η γνώση των μικροοργανισμών, οι οποίοι συμβάλλουν στην επίσχεση εδαφογενών παθογόνων, και ιδιαιτέρως των βακτηρίων του γένους *Pseudomonas* spp. αυξήθηκε ραγδαία με τη διερεύνηση των μηχανισμών καταστολής της ασθένειας με τη βοήθεια των μεθόδων της μοριακής βιολογίας. Η παρουσία των σιδηροφόρων και των αντιβιοτικών καθώς και η διέγερση μηχανισμών αντοχής σε ασθένειες με την εφαρμογή φθοριζουσών ψευδομονάδων αναγνωρίστηκαν πρόσφατα ως μηχανισμοί οι οποίοι συνδέονται με τη φυσική καταστολή/επίσχεση των ασθενειών. Με τη γνώση της υπάρξεως αυτής της ποικιλίας μηχανισμών, η σημασία του συνεργισμού πολλών κατασταλτικών για τις ασθένειες μικροοργανισμών (disease suppressing microorganisms), για τη σταθερότητα φυσικώς κατασταλτικών εδαφών και για την πρακτική εφαρμογή της βιολογικής καταπολεμήσεως με τη χρήση μικροοργανισμών έγινε πλέον εφικτή (Lemanceau & Alabouvette, 1991·1993· Schippers, 1992·1993). Εντούτοις, για την εφαρμογή τέτοιων βιολογικών μεθόδων καταπολεμήσεως των ασθενειών στη γεωργική πράξη απαιτείται βαθειά γνώση της οικολογίας και της μοριακής βιολογίας των αλληλεπιδράσεων μεταξύ φυτού, παθογόνου και ανταγωνιστών μικροοργανισμών. Τέτοιο παράδειγμα αποτελεί η αντιμετώπιση της αδρομυκώσεως του ραπανιού που οφείλεται στο μύκητα *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*, σε εμπορικό θερμοκήπιο, με την εφαρμογή ενός στελέχους WCS 374 του βακτηρίου *Pseudomonas fluorescens* επί του σπόρου του ραπανιού (Leeman *et al.*, 1991).

Οι φθοριζουσες ψευδομονάδες μελετώνται περισσότερο από δύο δεκαετίες ως

παράγοντες οι οποίοι δύνανται να προάγουν την ανάπτυξη των φυτών (plant growth promoting) και / ή παράγοντες βιολογικής καταπολεμήσεως. Θεωρείται ότι προσαρμόζονται στις συνθήκες της ριζόσφαιρας (Vancura, 1980) και παράγουν μεγάλη ποικιλία δευτερευόντων μεταβολιτών συμπεριλαμβανομένων και αντιβιοτικών (Fravel, 1988· Gutterson, 1990· Leisinger & Margaff, 1979· Lynch, 1990). Οι ψευδομονάδες που αποικίζουν τη ρίζα είναι ωφέλιμες για την ανάπτυξη του φυτού και λέγονται ριζοβακτήρια που προάγουν το ρυθμό αναπτύξεως των φυτών (plant growth - promoting rhizobacteria, Kloepper & Schroth, 1978).

Η επίδραση των βακτηρίων αυτών στο ρυθμό αναπτύξεως των φυτών είναι είτε άμεση, με τη διέγερση του ρυθμού αναπτύξεως απουσία φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών (Gaskins *et al.*, 1985· Kloepper *et al.*, 1988), είτε με την επίσχεση παθογόνων ή επιβλαβών μικροοργανισμών (Kloepper & Schroth, 1981· Schippers *et al.*, 1987). Οι άμεσες επιδράσεις των ψευδομονάδων στο ρυθμό αναπτύξεως των φυτών έχει αποδειχθεί ότι οφείλονται στην αύξηση της διαθεσιμότητας του νερού, των μεταλλικών στοιχείων και ιόντων ή στη μικροβιακή παραγωγή ρυθμιστικών ουσιών αυξήσεως των φυτών (Ayers, 1984· Gaskins *et al.*, 1985· Lifshitz *et al.*, 1987· Lynch, 1976· 1982· 1990). Αναφορικά με τους μηχανισμούς που υπεισέρχονται στη βιολογική αντιμετώπιση των ασθενειών και την παρεμπόδιση παθογόνων μικροοργανισμών αυτοί είναι: ανταγωνισμός για το θρεπτικό υπόστρωμα (Elad & Baker, 1985· Elad & Chet, 1987· Forest, 1986· Weller, 1988) ή μεσολάβηση-σιδηροφόρων στον ανταγωνισμό για το σίδηρο (Bakker *et al.*, 1987, 1993· Buyer & Leong, 1986· Leong, 1986· Loper & Buyer, 1991· Schippers *et al.*, 1987), αντιβίωση (Fravel, 1988·Gutterson, 1990· Keel *et al.*, 1992, Tomashow & Weller, 1991) και διέγερση λανθανόντων μηχανισμών αντοχής στις ασθένειες (Dean & Kuc, 1985· Kuc, 1983· Süle, 1988· Wei *et al.*, 1991· Schippers, 1992· Tuzun & Kloepper, 1994). Είναι προφανές ότι η καταστολή εδαφογενών παθογόνων από ένα στέλεχος φθοριζουσών ψευδομονάδων του γένους *Pseudomonas* sp. μπορεί να οφείλεται σε πολλαπλούς μηχανισμούς. Επίσης έχει αναφερθεί ότι οι απομονώσεις φθοριζουσών ψευδομονάδων από ριζόσφαιρα φυτών τα οποία αναπτύχθησαν σε ηλιοαπολυμανθέντα εδάφη είναι πιο αποτελεσματικές στη βελτίωση του ρυθμού αναπτύξεως των φυτών, σε σύγκριση με αυτές που απομονώθηκαν από εδάφη όπου δεν είχε εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση του εδάφους (Gamliel & Katan, 1991).

### 3.2.2. Πειράματα αγρού

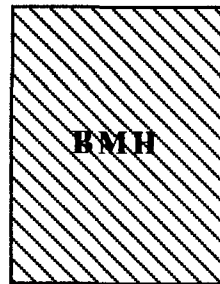
Η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στη μικροχλωρίδα του εδάφους μελετήθηκε σε πειραματικούς αγρούς της περιοχής του Ν. Πρεβέζης, κατά την καλλιεργητική περίοδο 1990 - 1991 που αναφέρονται ως θερμοκήπια της θέσεως Α3 και θερμοκήπια της θέσεως Γ (Εικόνα 35).

4 ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ

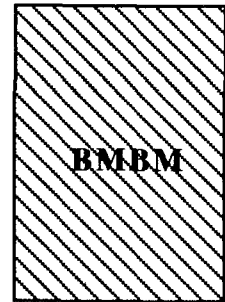


**ΘΕΣΗ Γ**

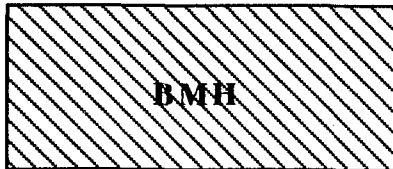
4 ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ



4 ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ

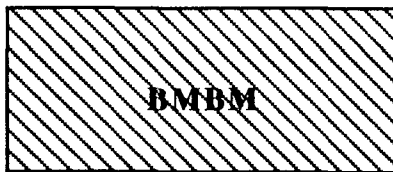


2 ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ

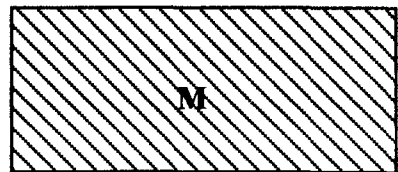


**ΘΕΣΗ Α3**

2 ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ



4 ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ



Εικόνα 35: Πειραματικοί αγροί 1989 - 1991

### 3.2.3. Πειράματα Εργαστηρίου

#### 3.2.3.1. Θρεπτικά υποστρώματα

*King's B* (Υλικό του King, King *et al.*, 1954)

Πεπτόνη (Protease Peptone No 3, Difco)	20 g
Γλυκερόλη	10 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,5 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1,5 g
Άγαρ	20 g
Νερό απεσταγμένο	1 L
pH: 7,2	

*B 523* Βασικό υλικό για την απομόνωση βακτηρίων του γένους *Bacillus* sp. (Kado & Heskett, 1970)

Σακχαρόζη	10 g
Υδρολυόμενη καζεΐνη	8 g
Εκχύλισμα ζύμης	4 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,3 g
Άγαρ	15 g
Νερό απεσταγμένο	1 L
pH: 6,9	

Εκλεκτικό υλικό για την απομόνωση βακτηρίων της ομάδος *Streptomyces* sp.

*TCN* (Tyrocin - Casein - Nitrate, Menzies & Dade, 1959)

Υδρολυόμενη καζεΐνη	25 g
NaNO <sub>3</sub>	10 g
L-Τυροσίνη	1 g
Άγαρ	15 g
Νερό βρύσης	1 L

pH: 6,8

Στις περιπτώσεις που γίνεται απομόνωση από το έδαφος ή φυτικό ιστό προστίθεται

Κυκλοεξαμίδη	250 mg / L
--------------	------------

Υλικό για την παραγωγή σπορίων βακτηρίων του γένους <i>Streptomyces</i> sp. <i>PYGA</i>	
Πεπτόνη βακτηριολογική	15 g
Εκχύλισμα ζύμης	3 g
Γλυκερόλη	20 g
Άγαρ (Oxoid)	15 g
Νερό απεσταγμένο	1 L

Η αποστείρωση των θρεπτικών υποστρωμάτων καλλιέργειας έγινε υπό συνθήκες θερμοκρασίας 121 °C και πίεσεως 1 atm, σε αποστειρωτικό κλίβανο (αυτόκαυστο), επί 15 min., για τα υποστρώματα που περιέχουν σάκχαρα, βιταμίνες, ενώ για αυτά που δεν περιέχουν αυτές τις ουσίες επί 20 min.

### 3.2.3.2. Απομόνωση βακτηρίων από τη ριζόσφαιρα τοματοφύτων

Η απομόνωση βακτηρίων από τη ριζόσφαιρα τοματοφύτων πραγματοποιήθηκε, ανά μηνιαία χρονικά διαστήματα, τρεις μήνες μετά από την εγκατάσταση της φυτείας σε τρυβλία με θρεπτικό υπόστρωμα King' s B (King *et al.*, 1954) των φθοριζουσών ψευδομονάδων, σε θρεπτικό υπόστρωμα 523 (Kado & Heskett, 1970) των βακτηρίων του γένους *Bacillus* sp. και σε θρεπτικό υπόστρωμα TCN, (Menzies & Dade, 1959) των βακτηρίων της ομάδος *Streptomyces*. Σε όλα τα θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν έγινε εμπλουτισμός με κυκλοεξαμίδη, 250 mg/ L προς αποφυγή μόλυνσεων από μύκητες.

#### 3.2.3.2.1. Συλλογή δειγμάτων ριζόσφαιρας τοματοφύτων από θερμοκηπιακές καλλιέργειες

Τα τοματοφύτα που καλλιεργούνται στους πειραματικούς αγρούς από όπου απομονώθηκαν τα βακτήρια ήταν το υβρίδιο Jolly. Η δειγματοληψία λάμβανε χώρα ως εξής: με τη βοήθεια δύο μικρών σκαπτικών εργαλείων απομακρύνετο το επιφανειακό χώμα γύρω από το λαιμό των φυτών (περίπου 5 cm). Εν συνεχεία, απομακρύνετο τμήμα τομής του εδάφους με τη μορφή κώνου (διαστάσεων: 15-20 cm ύψους και 8-10 cm πλάτους) όπως διακρίνεται και στην *Εικόνα 36*, το οποίο περιείχε ικανό αριθμό ριζικού συστήματος διατροφής (*Εικόνα 37*) και τοποθετείτο σε ατομικά σακουλάκια συλλογής. Ο συνολικός αριθμός των θερμοκηπίων που εξετάστηκαν ήταν 12 στη θέση Γ και 12 στη θέση Α3 (*Εικόνα 35*). Τα θερμοκήπια της θέσεως Α3 είχαν υποστεί τις εξής επεμβάσεις: ηλιοαπολύμανση του εδάφους μετά από απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο (BMH), απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο μετά από απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο (BMBM) και έδαφος-μάρτυρας, το οποίο δεν υπέστη επέμβαση (M). Η θέση Γ αποτελείτο από θερμοκήπια όπου είχε εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση του εδάφους μετά από εφαρμογή ηλιοαπολύμανσεως (HH), ηλιοαπολύμανση του εδάφους μετά από απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο (BMH) και απολύμανση του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο μετά



από απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο (BMBM). Από κάθε επέμβαση συλλέγοντο 12 δείγματα, τρία δείγματα ανά σειρά, για τις τέσσερις γραμμές φυτεύσεως του θερμοκηπίου.



**Εικόνα 36.** Δειγματοληψία χώματος και ριζών φυτών τομάτας με ειδικό σκαπτικό.



**Εικόνα 37.** Δείγματα χώματος και ριζών φυτών τομάτας προ της απομακρύνσεως της ριζόσφαιρας

### 3.2.3.2.2. Επεξεργασία δειγμάτων για την απομόνωση βακτηρίων ριζόσφαιρας φυτών τομάτας

Η απομόνωση φυσικών πληθυσμών βακτηρίων της ριζόσφαιρας τοματοφύτων, από τα δείγματα χώματος-ριζόσφαιρας έγινε ως εξής: από το σύνολο του εκάστοτε δείγματος, με τυχαία επιλογή, ζυγίζόταν 1 g ριζικού συστήματος διατροφής, με το προσκολλημένο χώμα (ριζόσφαιρα). Εν συνεχεία, τοποθετείτο σε υάλινο φιαλίδιο το οποίο περιείχε 10 ml απεσταγμένου-αποστειρωμένου νερού και αναδεύετο ισχυρά σε περιστροφικό αναδευτήρα (Vortex) επί 15 min. Το αιώρημα αυτό αραιωνόταν με σειρά διαδοχικών αραιώσεων δεκάτης δυνάμεως και 0,1 ml από κάθε αραιώση διασπείρετο σε τρυβλία με το κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα για κάθε γένος των βακτηρίων, [King' s B, King *et al.* (1954) για τα τις φθορίζουσες ψευδομονάδες, σε θρεπτικό υπόστρωμα 523 για τα βακτήρια του γένους *Bacillus* sp., Kado & Heskett (1970) και σε θρεπτικό υπόστρωμα TCN για τα βακτήρια της ομάδος *Streptomyces* (Menzies & Dade, 1959)]. Τέλος τα τρυβλία τοποθετούντο σε επωαστικό θάλαμο στους 26±1 °C, επί δύο ημέρες, για τα γένη των βακτηρίων *Pseudomonas* και *Bacillus*, ενώ για τα βακτήρια της ομάδος *Streptomyces* χρειάστηκε επώαση 5 ημερών, μετά από τη διασπορά τους στα τρυβλία. Ακολούθησε καταμέτρηση των αποικιών των βακτηρίων. Για κάθε δείγμα και γένος βακτηρίων χρησιμοποιούνται δώδεκα τρυβλία. Οι βακτηριακές απομονώσεις ήταν σχεδόν πάντα απαλλαγμένες από μολύνσεις από μύκητες.

### 3.2.3.2.3. Ταυτοποίηση των βακτηριακών απομονώσεων της ριζόσφαιρας τοματοφύτων

Η ταυτοποίηση των απομονώσεων των βακτηρίων της ριζόσφαιρας έγινε με την επιλογή των αποικιών από τα τρυβλία με τα θρεπτικά υποστρώματα. Για το γένος *Pseudomonas* sp. επιλέχθηκαν αποικίες οι οποίες παρήγαγαν τη φθορίζουσα χρωστική φλουορεσίνη και με την έκθεσή τους σε υπεριώδη ακτινοβολία μεγάλου μήκους κύματος ( $\lambda = 365$  nm) φθόριζαν στο θρεπτικό υπόστρωμα King's B. Ακολουθούσε χρώση Gram στην οποία οι απομονώσεις ήταν αρνητικές, αντίδραση της οξειδάσης, όπου ήταν θετικές και τέλος παρουσίαζαν κίνηση λόγω παρουσίας των μαστιγίων.

Από το θρεπτικό υπόστρωμα B 523 απομονώθηκαν βακτήρια, μετά την επιλογή αντιπροσωπευτικών αποικιών οι οποίες ακολούθως υπέστησαν χρώση Gram στην οποία ήταν θετικά. Είχαν επίσης ραβδόμορφο σχήμα, παρήγαγαν ενδοσπόρια και ως εκ τούτου ανήκαν στο γένος *Bacillus* sp. (Lelliott & Stead, 1987).

Η ταυτοποίηση των βακτηρίων που απομονώθηκαν από το θρεπτικό υπόστρωμα TCN και ανήκαν στην ομάδα *Streptomyces*, έγινε με τη βοήθεια της χρώσεως Gram στην οποία ήταν θετικά, την παρουσία μυκηλιακής αναπτύξεως της αποικίας τους και το σχηματισμό σπορίων στις διακλαδώσεις της αναπτύξεώς τους όταν αναπτύσσοντο στο κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα PYGA (Waksman, 1961, 1967).

### 3.2.3.3. Έλεγχος της ανταγωνιστικής ικανότητας των βακτηρίων της ριζόσφαιρας εναντίον του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* και των μυκήτων *Pyrenochaeta lycopersici* και *Verticillium dahliae*.

Τριάντα απομονώσεις φθοριζουσών ψευδομονάδων, τριάντα απομονώσεις βακτηρίων του γένους *Bacillus* και σαράντα απομονώσεις από βακτήρια της ομάδος *Streptomyces* απομονώθηκαν από τη ριζόσφαιρα τοματοφύτων, τα οποία αναπτύχθηκαν σε εδάφη όπου είχε εφαρμοστεί η ηλιοαπολύμανση. Οι απομονώσεις αυτές χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο της ανταγωνιστικής τους ικανότητας εναντίον εδαφογενών παθογόνων, όπως το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, και των μυκήτων *Pyrenochaeta lycopersici* και *Verticillium dahliae*.

Για την *in vitro* μελέτη της ανταγωνιστικής ικανότητας των βακτηριακών πληθυσμών της ριζόσφαιρας τοματοφύτων εναντίον του φυσικού στελέχους του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* χρησιμοποιήθηκε μία πολύ παθογόνος απομόνωση αυτού *C. m. m.* - 22 και η μέθοδος γνωστή ως μέθοδος του "διηθητικού χαρτού" (Garrett *et al.*, 1966). Το βακτηριακό αιώρημα παρασκευάστηκε με την προσθήκη 10 ml αποστειρωμένου -απεσταγμένου νερού σε καλλιέργεια του βακτηρίου αναπτύξεως 48 hr σε δοκιμαστικούς σωλήνες με κεκλιμένη επιφάνεια θρεπτικού υποστρώματος NAG. Οι απομονώσεις των τριών γενών βακτηρίων της ριζόσφαιρας που ελέγχθηκαν, τοποθετήθηκαν με μικροβιολογικό κρίκο, ανά τρεις σε κάθε τρυβλίο με διάφορα θρεπτικά υποστρώματα PDA, King's B και PYGA για τα γένη *Pseudomonas sp.* και *Bacillus sp.* και τα βακτήρια της ομάδος *Streptomyces* αντιστοίχως. Ακολούθησε επώαση στους  $26 \pm 1$  °C για δύο έως τρεις ημέρες όσον αφορά τα δύο πρώτα γένη και πέντε ημέρες για την τρίτη ομάδα. Οι μακροαποικίες που αναπτύχθηκαν θανατώθηκαν δια της εκθέσεως τους σε ατμούς χλωροφορμίου επί 30 min και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο συνεχούς και σταθερής ροής αέρα για την εξάτμιση των υπολειμμάτων του χλωροφορμίου επί 30 min. Εν συνεχεία, τοποθετήθηκε διηθητικό χαρτί επί της επιφάνειας του θρεπτικού υποστρώματος, το οποίο είχε εμποτιστεί σε υδατικό αιώρημα του παθογόνου βακτηρίου (όπως αυτό έχει περιγραφεί προηγουμένως), το οποίο απομακρύνθηκε μετά από 15 min για την επίτευξη μολύνσεως του υποστρώματος και ακολούθησε απομάκρυνση της περίσσειας υγρασίας των τρυβλίων. Η παρατήρηση και μέτρηση του σχηματισμού ζώνης παρεμποδίσεως έγινε μετά από επώαση στους  $26 \pm 1$  °C επί 3-4 ημέρες. Ανάλογη διαδικασία ακολούθηθηκε και στην περίπτωση των παθογόνων μυκήτων, όπου 1 ml αιωρήματος κονιδίων του μύκητα *V. dahliae* (παθογόνου απομονώσεως από φυτά τομάτας), που αναπτύχθηκε σε υγρό θρεπτικό υπόστρωμα SSN, στους  $22 \pm 1$  °C, επί 3-4 ημέρες, ή ομογενοποιημένο αιώρημα καλλιέργειας του μύκητα *P. lycopersici* (παθογόνου απομονώσεως από φυτά τομάτας) σε PDA, στους

22±1 °C, επί 3-4 ημέρες, διεσπάρησαν επί της επιφανείας του θρεπτικού υποστρώματος. Η παρατήρηση και μέτρηση του σχηματισμού ζώνης παρεμποδίσεως έγινε μετά από επώαση των τρυβλίων στους 22±1 °C επί 3-4 ημέρες.

### 3.3. Επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως στους θερμοανθεκτικούς ανταγωνιστές μύκητες

Μεταξύ των θερμοανθεκτικών ανταγωνιστών κατατάσσονται οι μύκητες *Talaromyces flavus*, *T. helicus* και *Aspergillus terreus* οι οποίοι είναι ή θεωρούνται ως δυνητικοί ανταγωνιστές του φυτοπαθογόνου μύκητα *Verticillium dahliae*, σε ελαιώνες ή φυτείες αγκινάρας, μελιντζάνας και τομάτας όπου έχει εφαρμοστεί η ηλιοαπολύμανση (Tjamos & Paplomatas, 1987· 1988). Ειδικώς μεταξύ των δυνητικών ανταγωνιστών που επιβιώνουν της ηλιοαπολυμάνσεως είναι και οι μύκητες *Talaromyces flavus*, *Aspergillus terreus*, *A. ochraceus* και *A. fumigatus* (Tjamos 1995, υπό δημοσίευση). Οι Tjamos & Paplomatas (1988) ανέφεραν ικανοποιητική αντιμετώπιση της βερτισιλλιώσεως της αγκινάρας με εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως μόνης ή σε συνδυασμό με μειωμένες δόσεις βρωμιούχου μεθυλίου. Η διάρκεια της αποτελεσματικότητας μίας μόνο εφαρμογής για την αντιμετώπιση του παθογόνου σε πολυετή καλλιέργεια όπως η αγκινάρα διαπιστώθηκε ότι φτάνει τα τρία χρόνια. Η παρατεταμένη επίδραση θα μπορούσε να σχετίζεται τουλάχιστον μερικώς με την επιβίωση και αύξηση των πολλαπλασιαστικών μονάδων των μυκήτων *Talaromyces flavus* και *Aspergillus terreus*.

Οι δυνητικοί αυτοί ανταγωνιστές είναι δυνατόν να δράουν με διαφόρους τρόπους, όπως ως ανταγωνιστές λόγω παραγωγής τοξικών ουσιών, όπως είναι ο μύκητας *T. flavus* ο οποίος εκκρίνει το εξωκυτταρικό ένζυμο οξειδάση της γλυκόζης που διασπά τη γλυκόζη σε H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και θανατώνει τα μικροσκληρώτια του μύκητα *V. dahliae* (Kim *et al.*, 1988). Ο ίδιος ανταγωνιστής μύκητας μπορεί να δρα και ως παράσιτο του παθογόνου μύκητα (Fahima & Henis, 1990).

Πρόσφατα δεδομένα έδειξαν την ύπαρξη και απομόνωση του μύκητα *Fusarium acuminatum* subsp. *acuminatum*, ο οποίος παράγει πολλούς μεταβολίτες όπως μυκοτοξίνες και αντιβιοτικά, από σκληρώτια των μυκήτων των γενών *Aspergillus* sp. και *Claviceps purpurea* (Altomare *et al.*, 1994).

Επίσης, από πρόσφατα πειραματικά δεδομένα ο μύκητας *Coniothyrium minitans* αποτελεί ένα βιολογικό παράγοντα ο οποίος δύναται να χρησιμοποιηθεί ως βιολογικό μέσο αντιμετώπισεως ασθενειών που προκαλούνται από μύκητες όπως οι *Sclerotinia sclerotiorum* και *S. minor*, τόσο στα σκληρώτια αυτών, όσο και επί των υφών τους *in vitro* (El-Maggar, 1994), όπως και στην επίπτωση της ασθένειας (εφαρμογή του βιολογικού παράγοντα στο έδαφος, Budge & Whipps, 1994). Επιπροσθέτως έχει αναφερθεί εφαρμογή του μύκητα *Coniothyrium minitans* ως αιώρημα κονιδίων σε προσβεβλημένες από το

μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* φυτείες (Gerlagh et al., 1994). Ο μύκητας *Coniothirium minitans* εφαρμοζόμενος στο έδαφος έχει επίσης αναφερθεί ως βιολογικός παράγων εναντίον του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* και σε φυτείες ηλιάνθου και σόγιας (Sesan & Csér, 1994) καθώς και στην ελαιοκράμβη (Lüth & Eiben, 1994).

Άλλοι μυκοπαράσιτοι μύκητες οι οποίοι θα μπορούσαν να αναφερθούν είναι αυτοί του γένους *Verticillium biguttatum* εναντίον του μύκητα *Rhizoctonia solani* (Reuben, 1994, Van der Boogert & Luttikholt, 1994), και *Sporodesmium sclerotiorum* εναντίον του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* (Whipps, 1994).

### 3.3.1. Πειράματα Αγρού

Όρα Κεφ. 3.2.2.

### 3.3.2. Πειράματα Εργαστηρίου

#### 3.3.2.1. Θρεπτικά υποστρώματα

Ημι-εκλεκτικό υλικό για απομόνωση του μύκητα *Talaromyces flavus* και άλλους μύκητες των Eurotiales

(Marois et al., 1984)

PDA

με την προσθήκη των εξής αντιδραστηρίων σε ένα λίτρο PDA

Χλωροτετρακυκλίνη	50mg
Χλωραμφαινικόλη	50 mg
Πιμαρισίνη	4 mg
Μυκοστατίνη	27,5 mg
Στρεπτομυκίνη	100 mg
Bovine (Ox gall powder)	500 mg
Γαλακτικό οξύ	1 ml
Ακετόνη	7,5 ml
Botran*	3,2 mg

\* Τροποποίηση του υλικού με την προσθήκη Botran (Tjamos & Paplomatas, 1988)

SSN (Sucrose Sodium Nitrate)

Θρεπτικό υπόστρωμα για γρήγη καλλιέργεια μυκήτων (Sinha & Wood, 1968)

Σακχαρόζη	15 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,5 g
NaNO <sub>3</sub>	2 g
KCl	0,5 g

Διάλυμα αναφοράς ιχνοστοιχείων / 100 ml

απεσταγμένου νερού	1 ml
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	2,49 g
CuSO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O	4 g
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	4,4 g
MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	4,1 g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	5,1 g

Η αποστείρωση όλων των θρεπτικών υποστρωμάτων καλλιέργειας έγινε υπό συνθήκες θερμοκρασίας 121 °C και πίεσεως 1 atm, σε υγρό αποστειρωτικό κλίβανο, (αυτόκαυστο) επί 15 min., για τα υποστρώματα που περιέχουν σάκχαρα, βιταμίνες ενώ για αυτά που δεν περιέχουν αυτές τις ουσίες επί 20 min.

### **3.3.2.2. Απομόνωση θερμοανθεκτικών μυκήτων από τη ριζόσφαιρα φυτών τομάτας**

Η απομόνωση θερμοανθεκτικών μυκήτων από τη ριζόσφαιρα τοματοφύτων πραγματοποιήθηκε, ανά μηνιαία χρονικά διαστήματα, τρεις μήνες μετά από την εγκατάσταση της φυτείας σε τρυβλία με ημι-εκλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα για μύκητες της τάξεως Eurotiales. Πραγματοποιήθηκαν συνολικώς τέσσερις μηνιαίες δειγματοληψίες.

#### **3.3.2.2.1. Συλλογή δειγμάτων για την απομόνωση θερμοανθεκτικών μυκήτων ριζόσφαιρας φυτών τομάτας**

όπως και στο κ. 3.2.3.2.1..

#### **3.3.2.2.2. Επεξεργασία δειγμάτων για την απομόνωση θερμοανθεκτικών μυκήτων ριζόσφαιρας φυτών τομάτας**

Η απομόνωση φυσικών πληθυσμών θερμοανθεκτικών μυκήτων από τα δείγματα ριζόσφαιρας έγινε ως εξής: 1 g ριζόσφαιρας απομακρύνθηκε από το σύνολο του δείγματος, όπως αναφέρεται ανωτέρω (κ. 3.2.3.2.2.), τοποθετήθηκε σε υάλινη κωνική φιάλη (Erlenmeyer) η οποία περιείχε 100 ml απεσταγμένο-αποστειρωμένο νερό και αναδεύτηκε ισχυρά σε περιστροφικό αναδευτήρα (Vortex) επί 15 min. Εν συνεχεία, 1 ml του αιωρήματος αυτού, υπό συνεχή ανάδευση, διεσπάρη σε τρυβλία με ημι-εκλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα για την απομόνωση μυκήτων της τάξεως των Eurotiales. Για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν πέντε τρυβλία. Τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο στους 29±1 °C, επί 6-7 ημέρες μετά από τη διασπορά και ακολούθησε η καταμέτρηση των αποικιών των μυκήτων των γενών *Talaromyces* και *Aspergillus* καθώς και το σύνολο των φυσικών πληθυσμών μυκήτων της ριζόσφαιρας.

### 3.3.2.2.3. Ταυτοποίηση των απομονώσεων θερμοανθεκτικών μυκήτων

Η ταυτοποίηση των απομονώσεων των θερμοανθεκτικών μυκήτων της ριζόσφαιρας έλαβε χώρα στο Εργαστήριό μας επί τη βάσει συγκεκριμένων ταξινομικών στοιχείων που αναφέρονται στο "The Genus *Talaromyces*" (Stolk & Samson, 1972), για τα είδη του γένους *Talaromyces* και στο "The Genus *Aspergillus*" (Raper & Finnel, 1965), για τα είδη του γένους *Aspergillus*. Επιβεβαίωση της ταξινομικής αναγνώρισεως έγινε επίσης σε εξειδικευμένο Εργαστήριο ταυτοποίησης μικροοργανισμών [Mycothèque de l' Université Catholique de Louvain (MUCL) Laboratoire de Mycologie Systematique et appliquée, Louvain-la-Neuve, Belgique]. Η ταυτοποίηση των απομονώσεων αυτών απέδειξε ότι οι μύκητες, τις αποικίες των οποίων είχαμε καταμετρήσει, ανήκαν στα είδη *Talaromyces flavus*, *Aspergillus terreus* και *Aspergillus ochraceus*, καταχωρηθέντες στη συλλογή του εν λόγω Πανεπιστημίου με αύξοντες αριθμούς MUCL-30573, MUCL-30572 και MUCL-30571, αντιστοίχως.

## 3.4. Στατιστική Ανάλυση Δεδομένων

Τα πειραματικά δεδομένα αναλύθηκαν με πρόγραμμα στατιστικής αναλύσεως StatView 512+Σ (1986, By Abacus Concepts, Inc.) για ηλεκτρονικό υπολογιστή Macintosh, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της αναλύσεως της διασποράς (ANOVA). Οι συγκρίσεις έγιναν με τη δοκιμασία της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς (Fishers' LSD,  $P=0,05$ ).

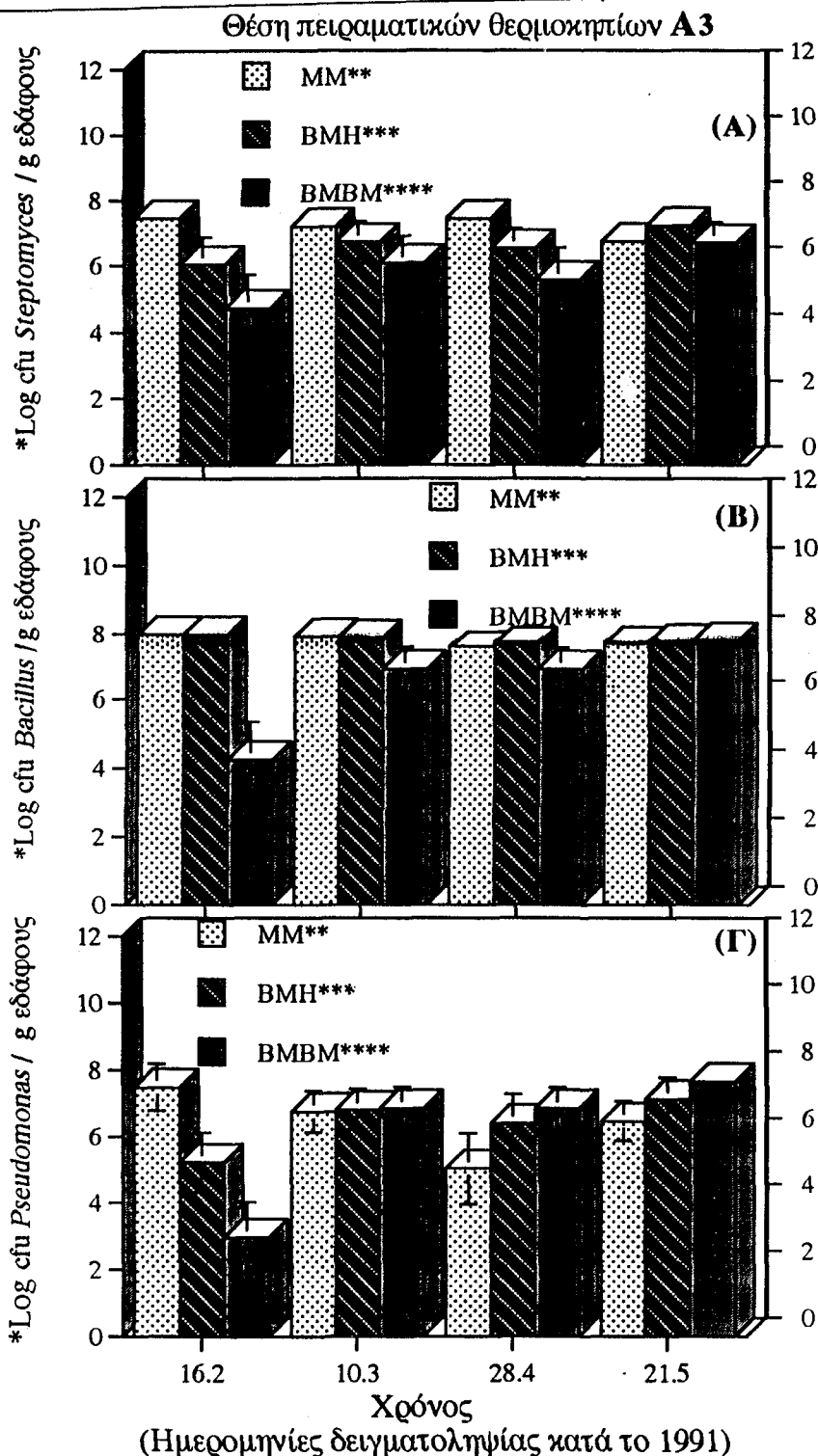
## 3.5. Αποτελέσματα

### 3.5.1. Επίδραση των μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους στους φυσικούς πληθυσμούς βακτηρίων της ριζόσφαιρας τοματοφύτων

Θέση Α3

Ανάλυση πειραματικών δεδομένων που παρατίθενται στα ιστογράμματα του Διαγράμματος 27 καταδεικνύουν ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους ή της απολυμάνσεως του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο σε θερμοκήπια της θέσεως Α3, επηρεάζουν αρχικώς τους φυσικούς πληθυσμούς των βακτηρίων που ανήκουν στα γένη *Pseudomonas*, *Bacillus* και της ομάδος *Streptomyces*. Επισημαίνεται ότι οι φυσικοί πληθυσμοί 3 μήνες μετά από την εγκατάσταση της φυτείας επιβιώνουν σε υψηλούς πληθυσμούς, μετά από εφαρμογή αμφοτέρων των μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους. Διαπιστώνεται όμως ότι η αύξηση των πληθυσμών (μονάδες των βακτηρίων που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους) και η προσέγγιση αυτών στα επίπεδα του μάρτυρα (MM) είναι ταχύτερη εκεί όπου έχει εφαρμοστεί ηλιοαπολύμανση (BMH) ( $10^5$  για το γένος *Pseudomonas*,  $10^8$  για το γένος *Bacillus* και  $10^8$  για την ομάδα *Streptomyces*) σε σύγκριση





**Διάγραμμα 27.** Επίδραση μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους στην επιβίωση και διακύμανση φυσικών πληθυσμών βακτηρίων της ομάδας *Streptomyces* (Α) και των γενών *Pseudomonas* (Β) και *Bacillus* (Γ), στη ριζόσφαιρα φυτών τομάτας 3-6 μήνες μετά από την εγκατάσταση των φυτών στα πειραματικά θερμοκήπια της θέσεως Α3 (Νοέμβριος 1990). Μέσοι όροι 12 δειγμάτων χώματος ριζόσφαιρας ανά επέμβαση. Οι στήλες σε κάθε ιστόγραμμα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,001$ ) μεταξύ τους.

\* Λογάριθμος μονάδων των βακτηρίων της ριζόσφαιρας ανήκουν στην ομάδα *Streptomyces* (Α) και στα γένη *Bacillus* (Β) και *Pseudomonas* (Γ) που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους.  
 \*\*ΗΗ= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από Ηλιοαπολύμανση, \*\*\*ΒΜΗ= εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως μετά από εφαρμογή Βρωμιούχου Μεθυλίου και \*\*\*\*ΒΜΒΜ= εφαρμογή Βρωμιούχου Μεθυλίου μετά από Βρωμιούχο Μεθύλιο.

με την εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο (BMBM), ( $10^3$  για το γένος *Pseudomonas*,  $10^4$  για το γένος *Bacillus* και  $10^5$  για την ομάδα *Streptomyces*). Η διαφορά στα επίπεδα των πληθυσμών στις επεμβάσεις για την πρώτη παρατήρηση δεν είναι στατιστικώς σημαντική ( $P= 0,05$ ) για όλα τα γένη των βακτηρίων αντιστοίχως. Η διακύμανση των πληθυσμών των βακτηρίων στις επόμενες δειγματοληψίες δεν ήταν στατιστικώς σημαντική ( $P= 0,05$ ) για όλα τα γένη και προσεγγίζει τα επίπεδα πληθυσμών του μάρτυρα.

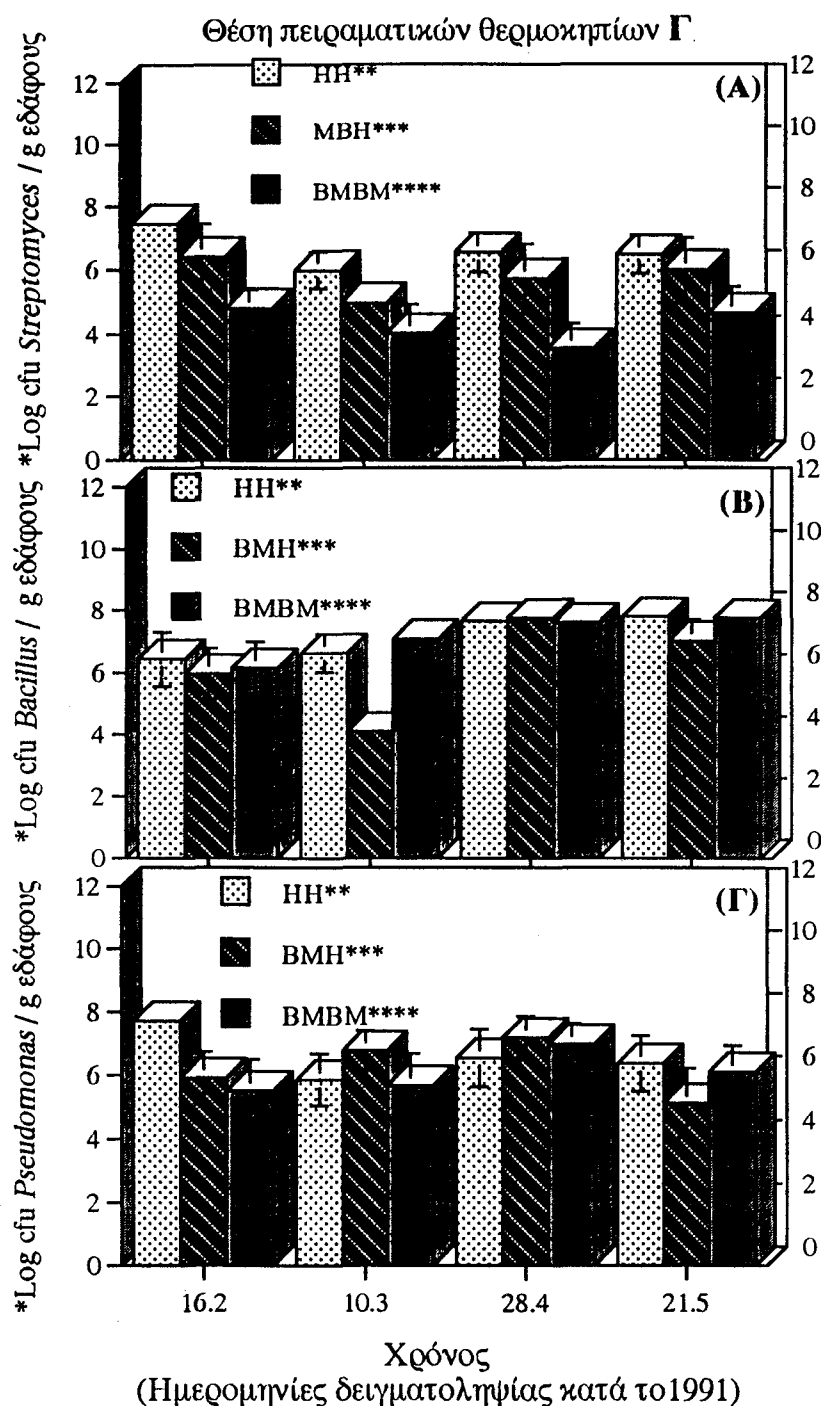
### Θέση Γ

Ανάλυση των πειραματικών δεδομένων που δίδονται στα ιστογράμματα του Διαγράμματος 28, καταδεικνύει ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως μετά από ηλιοαπολύμανση (ΗΗ) υπερτερεί της ηλιοαπολυμάνσεως μετά από την εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο (BMH), ως και της εφαρμογής απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο μετά από βρωμιούχο μεθύλιο (BMBM), σε θερμοκήπια της θέσεως Γ. Οι άλλες δύο επεμβάσεις υστερούν αριθμητικώς επηρεάζοντας τους πληθυσμούς των βακτηρίων (μονάδες των βακτηρίων που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους) στα ακόλουθα επίπεδα: εφαρμογή ηλιοαπολυμάνσεως μετά από εφαρμογή βρωμιούχου μεθυλίου, BMH:  $10^6$  για το γένος *Pseudomonas*,  $10^7$  για το γένος *Bacillus* και  $10^6$  για την ομάδα *Streptomyces*, σε σύγκριση με  $10^6$  για το γένος *Pseudomonas*,  $10^7$  για το γένος *Bacillus* και  $10^4$  για την ομάδα *Streptomyces*, σε φυτά που αναπτύχθηκαν σε εδάφη που εφαρμόστηκε βρωμιούχο μεθύλιο μετά από εφαρμογή βρωμιούχου μεθυλίου (BMBM). Τα επίπεδα των πληθυσμών των βακτηρίων σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση μετά από εφαρμογή ηλιοαπολυμάνσεως (ΗΗ) ήταν  $10^7$  για το γένος *Pseudomonas*,  $10^7$  για το γένος *Bacillus* και  $10^7$  για την ομάδα *Streptomyces*.

Στατιστική ανάλυση των δεδομένων καταδεικνύει ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική ( $P=0,001$ ) διαφορά μεταξύ επαναλαμβανομένης εφαρμογής ηλιοαπολυμάνσεως και ηλιοαπολυμάνσεως μετά από εφαρμογή βρωμιούχου μεθυλίου ή εφαρμογής βρωμιούχου μεθυλίου μετά από βρωμιούχο μεθύλιο, για τους πληθυσμούς των βακτηρίων της ομάδος *Streptomyces* και για όλες τις ημερομηνίες δειγματοληψιών ( $P= 0,0001$ ).

Η σημαντική ( $P= 0,001$ ) διαφοροποίηση αυτή υφίσταται επίσης και στην πρώτη δειγματοληψία για τα βακτήρια του γένους *Pseudomonas*. Αντιθέτως, ουδεμία στατιστικώς σημαντική ( $P= 0,001$ ) διαφοροποίηση παρατηρήθηκε στην περίπτωση των βακτηρίων που ανήκουν στο γένος *Bacillus*.

Στον Πίνακα 3 δίδονται συγκριτικές διακυμάνσεις των βακτηριακών πληθυσμών, της ριζόσφαιρας τοματοφύτων, αναλόγως του γένους του βακτηρίου και της επεμβάσεως στο έδαφος.



**Διάγραμμα 28.** Επίδραση μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους στην επιβίωση και διακύμανση φυσικών πληθυσμών βακτηρίων της ομάδας *Streptomyces* (Α) και των γενών *Pseudomonas* (Β) και *Bacillus* (Γ) στη ριζόσφαιρα φυτών τομάτας 3-6 μήνες μετά από την εγκατάσταση των φυτών στα πειραματικά θερμοκήπια της θέσεως Γ (Νοέμβριος 1990).

Μέσοι όροι 12 δειγμάτων χώματος ριζόσφαιρας ανά επέμβαση.

Οι στήλες σε κάθε ιστόγραμμα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,001$ ) μεταξύ τους

\* Λογάριθμος μονάδων των βακτηρίων της ριζόσφαιρας που ανήκουν στην ομάδα *Streptomyces* (Α) και στα γένη *Bacillus* (Β) και *Pseudomonas* (Γ) που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους.

\*\*HH= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από Ηλιοαπολύμανση, \*\*\*BMH= εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως μετά από εφαρμογή Βρωμιούχου Μεθυλίου και \*\*\*\*BMBM= εφαρμογή Βρωμιούχου Μεθυλίου μετά από Βρωμιούχο Μεθύλιο.

### 3.5.2. Ανταγωνιστική ικανότητα απομονώσεων βακτηριακών πληθυσμών της ριζόσφαιρας εναντίον του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* και των μυκήτων *Pyrenochaeta lycopersici* και *Verticillium dahliae*.

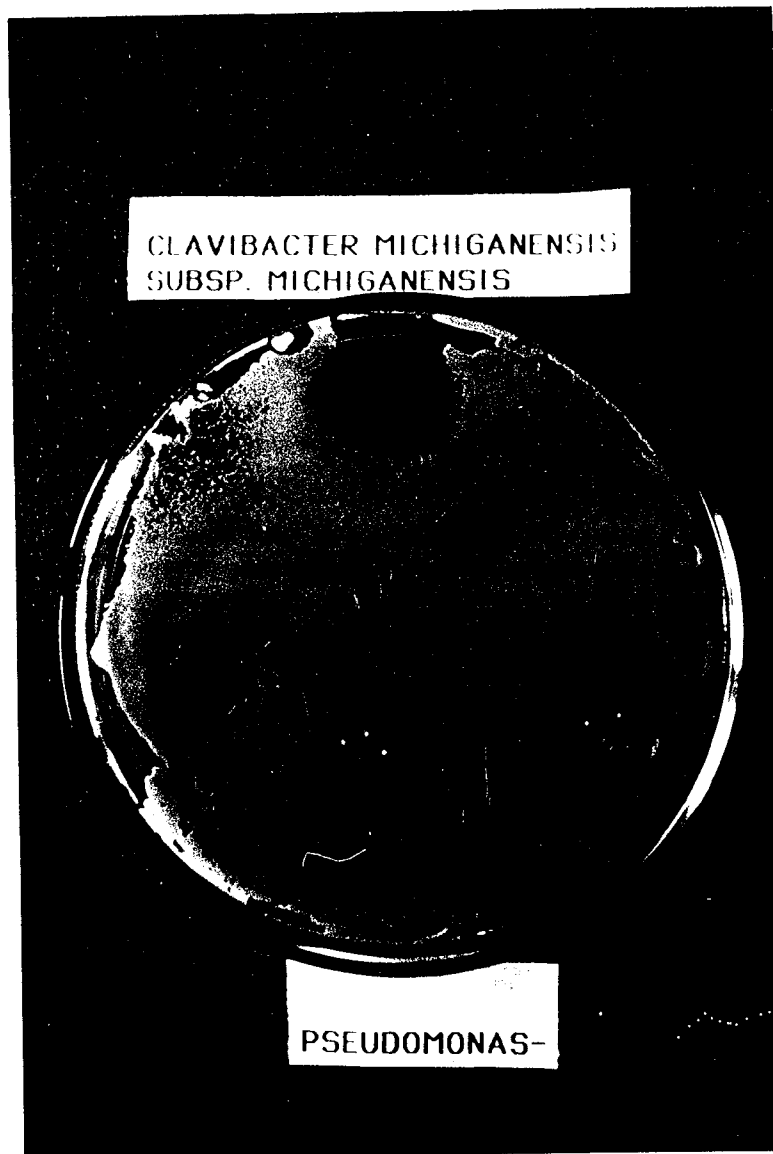
Ο έλεγχος της ανταγωνιστικής ικανότητας μέρους της συλλογής φθοριζουσών ψευδομονάδων έδειξε ότι στο θρεπτικό υλικό King's B όλες σχεδόν οι απομονώσεις ήταν ανταγωνιστικές εναντίον του βακτηρίου *C. m. m.* Αντιθέτως καμία από τις απομονώσεις των φθοριζουσών ψευδομονάδων δεν έδειξε ανταγωνιστική παρεμπόδιση εναντίον του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* στο θρεπτικό υλικό PDA και PYGA. Από τις απομονώσεις αυτές μόνον οι 10 ΒΜΗ, 24 ΗΗ και 25 ΗΗ έδειξαν ανταγωνιστική παρεμπόδιση εναντίον του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA, ενώ στο King's B ήταν αρνητικές. Ουδεμία φθορίζουσα ψευδομονάδα έδειξε ανταγωνιστική παρεμπόδιση κατά του μύκητα *Verticillium dahliae* και στα τρία θρεπτικά υποστρώματα (Εικόνες 38, 39).

Στον Πίνακα 4 δίδεται αναλυτικώς η *in vitro* ανταγωνιστική ικανότητα συλλογής απομονώσεων βακτηρίων που ανήκουν στο γένος *Pseudomonas* sp. εναντίον του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *C. m. m.* και των μυκήτων *P. lycopersici* και *V. dahliae*, σε διάφορα θρεπτικά υποστρώματα.

Ο έλεγχος της ανταγωνιστικής ικανότητας της συλλογής των βακτηρίων του γένους *Bacillus* sp. έδειξε ότι οι απομονώσεις 5 ΒΜΗ και 6 ΒΜΗ ήταν θετικές σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA, μόνο κατά του βακτηρίου *C. m. m.*, ενώ οι απομονώσεις 18 ΗΗ, 19 ΗΗ και 42 Μ μόνο σε θρεπτικό υπόστρωμα King's B και αποκλειστικώς κατά του βακτηρίου *C. m. m.* Τέλος η απομόνωση 14 ΗΗ ήταν η μόνη ανταγωνιστική και κατά των μυκήτων *Pyrenochaeta lycopersici* και *Verticillium dahliae* και μόνο για το θρεπτικό υπόστρωμα PDA (Εικόνες 40, 41, 42).

Στον Πίνακα 5 δίδεται αναλυτικώς η *in vitro* ανταγωνιστική ικανότητα συλλογής απομονώσεων βακτηρίων που ανήκουν στο γένος *Bacillus* sp. εναντίον του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *C. m. m.* και των μυκήτων *P. lycopersici* και *V. dahliae*, σε διάφορα θρεπτικά υποστρώματα.

Ο έλεγχος της ανταγωνιστικής ικανότητας της συλλογής των βακτηρίων της ομάδος *Streptomyces* έδειξε ότι και οι 40 απομονώσεις οι οποίες δοκιμάστηκαν ήσαν ανταγωνιστικές κατά του βακτηρίου *C. m. m.* μόνο στο θρεπτικό υπόστρωμα PDA. Δύο από αυτές τις απομονώσεις, οι 34 ΒΜΗ και 38 ΗΗ, ήσαν ανταγωνιστικές κατά του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA, ενώ οι 38 ΗΗ, 39 ΗΗ και 52 Μ



**Εικόνα 38.** Σχηματισμός ζωνών παρεμποδίσεως από καλλιέργειες απομονώσεων βακτηρίων του γένους *Pseudomonas* sp. εναντίον του παθογόνου βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* σε θρεπτικό υπόστρωμα King's B.

PYRENOCHAETA LYCOPERSICI



PSEUDOMONAS

**Εικόνα 39.** Σχηματισμός ζωνών παρεμποδίσεως από καλλιέργειες απομονώσεων βακτηρίων του γένους *Pseudomonas* sp. εναντίον του παθογόνου μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

**Πίνακας 3.** : Συγκριτικός πίνακας διακυμάνσεως φυσικών πληθυσμών των βακτηρίων της ριζόσφαιρας τοματοφύτων αναλόγως των μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους, σε δύο θέσεις πειραματικών θερμοκηπίων.

Γένη βακτηρίων ριζόσφαιρας τοματοφύτων	Επέμβαση*			Επέμβαση*		
	Θέση Α3			Θέση Γ		
	ΜΜ	ΒΜΗ	ΒΜΒΜ	ΗΗ	ΒΜΗ	ΒΜΒΜ
<i>Streptomyces</i> sp.	10 <sup>7</sup> - 10 <sup>8</sup>	10 <sup>5</sup> - 10 <sup>6</sup>	10 <sup>4</sup> - 10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup> - 10 <sup>8</sup>	10 <sup>5</sup> - 10 <sup>6</sup>	10 <sup>4</sup> - 10 <sup>5</sup>
<i>Bacillus</i> sp.	10 <sup>7</sup> - 10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>4</sup> - 10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup> - 10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup> - 10 <sup>8</sup>	10 <sup>4</sup> - 10 <sup>8</sup>
<i>Pseudomonas</i> sp.	10 <sup>6</sup> - 10 <sup>8</sup>	10 <sup>5</sup> - 10 <sup>7</sup>	10 <sup>3</sup> - 10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup> - 10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup> - 10 <sup>7</sup>	10 <sup>5</sup> - 10 <sup>7</sup>

\* Επέμβαση του εδάφους, όπου ΜΜ= Έδαφος - Μάρτυρας, ΒΜΗ= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από εφαρμογή απολυμάνσεως του εδάφους με Βρωμιούχο μεθύλιο, ΒΜΒΜ= Εφαρμογή απολυμάνσεως του εδάφους με ΒρωμιούχοΜεθύλιο μετά από εφαρμογή Βρωμιούχου Μεθυλίου και ΗΗ= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως.

**Πίνακας 4:** Συνοπτικός πίνακας απομονώσεων της βακτηριακής μικροχλωρίδας της ριζόσφαιρας τοματοφύτων που ανήκει στα γένη των φθοριζουσών ψευδομονάδων, *Bacillus* και *Streptomyces* που έδειξαν *in vitro* θετική ανταγωνιστική παρεμπόδιση εναντίον του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* και των μυκήτων *Verticillium dahliae* και *Pyrenochaeta lycopersici*, που αναπτύσσονται σε διάφορα θρεπτικά υποστρώματα.

Συνολικός αριθμός απομονώσεων που ελέγχθηκαν	Βακτηριακή μικροχλωρίδα	Απομονώσεις που έδειξαν θετική ανταγωνιστική ικανότητα εναντίον των παθογόνων		
		<i>C. m. michiganensis</i>	<i>V. dahliae</i>	<i>P. lycopersici</i>
30	<i>Pseudomonas</i> sp.	27 (90%)	0	3(10%)
30	<i>Bacillus</i> sp.	5 (16,7%)	1 (3,33%)	1 (3,33%)
40	<i>Streptomyces</i> sp.	40 (100%)	2 (5%)	3 (7,5%)



**Εικόνα 40.** Σχηματισμός ζωνών παρεμποδίσεως από καλλιέργειες απομονώσεων βακτηρίων του γένους *Bacillus* sp. εναντίον του παθογόνου βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

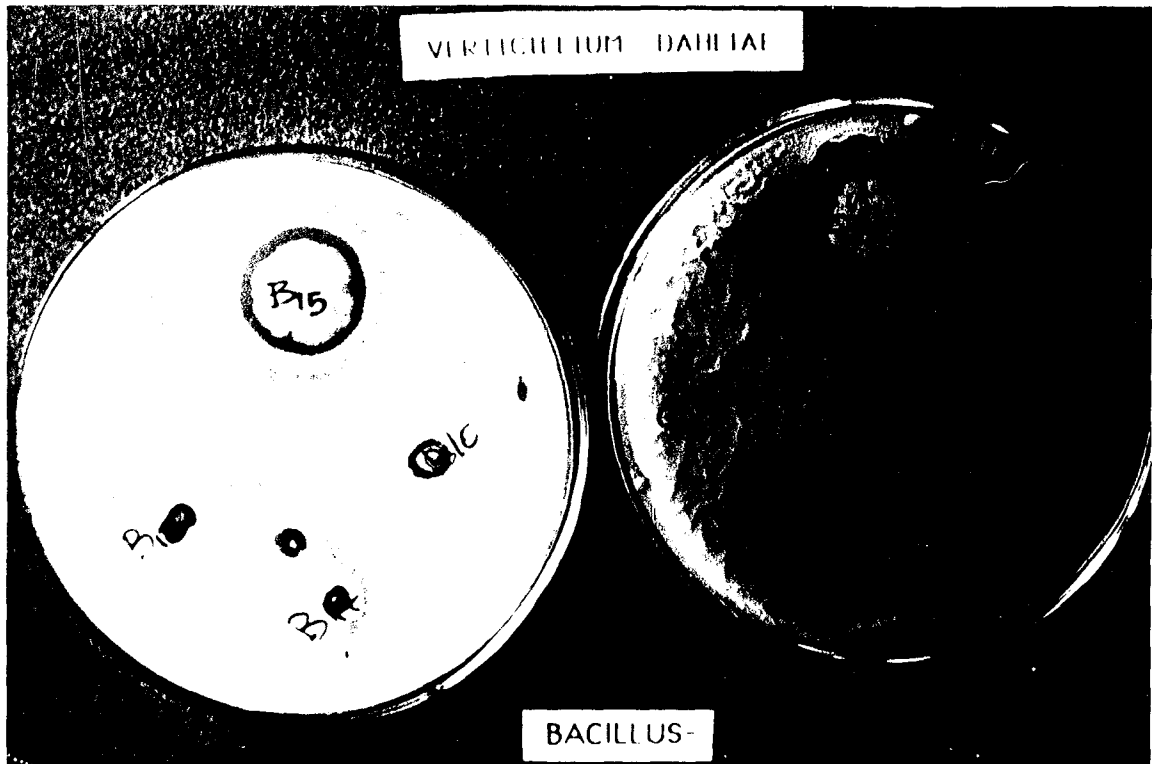


PYRENOCHAETA LYCOPERSICI



BACILLUS

**Εικόνα 41.** Σχηματισμός ζωνών παρεμποδίσεως από καλλιέργειες απομονώσεων βακτηρίων του γένους *Bacillus* sp. εναντίον του παθογόνου μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* σε υπόστρωμα King's B.



**Εικόνα 42.** Σχηματισμός ζωνών παρεμποδίσεως από καλλιέργειες απομονώσεων βακτηρίων του γένους *Bacillus* sp. εναντίον του παθογόνουμύκητα *Verticillium dahliae* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA (αριστερά) και PYGA (δεξιά).

**Πίνακας 5:** *In vitro* ανταγωνιστική ικανότητα βακτηρίων του γένους *Pseudomonas* ριζόσφαιρα τοματοφύτων κατά του παθογόνου βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* των παθογόνων μυκήτων *Pyrenochaeta lycopersici* και *Verticillium dahliae* σε διάφορα θρεπτικά υποστρώματα.

Μικροχλωρίδα του εδάφους  <i>Pseudomonas</i> sp. / Προέλευση*	Ανταγωνιστική ικανότητα**								
	Παθογόνος μικροοργανισμός								
	<i>C.m. subsp. michiganensis</i>			<i>Pyrenochaeta lycopersici</i>			<i>Verticillium dahliae</i>		
	PDA (α)	King's B (β)	PYGA (γ)	PDA (α)	King's B (β)	PYGA (γ)	PDA (α)	King's B (β)	PYGA (γ)
1/ ΒΜΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
2/ ΒΜΗ	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3/ ΒΜΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4/ ΒΜΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
5/ ΒΜΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
6/ ΒΜΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
7/ ΒΜΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
8/ ΒΜΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
9/ ΒΜΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
10/ ΒΜΗ	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18/ ΗΗ	-	+	-	+	-	-	-	-	-
19/ ΗΗ	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20/ ΗΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
21/ ΗΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
22/ ΗΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
23/ ΗΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
24/ ΗΗ	-	+	-	+	-	-	-	-	-
25/ ΗΗ	-	+	-	+	-	-	-	-	-
26/ ΗΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
27/ ΗΗ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
81/ Μ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
82/ Μ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
83/ Μ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
84/ Μ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
85/ Μ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
86/ Μ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
87/ Μ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
88/ Μ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
89/ Μ	-	+	-	-	-	-	-	-	-
90/ Μ	-	+	-	-	-	-	-	-	-

\* Προέλευση απομονώσεων βακτηρίων της ριζόσφαιρας τοματοφύτων που αναπτύσσοντο σε εδάφη ο οποία εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους μετά από απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο (ΒΜΙ) ηλιοαπολύμανση του εδάφους μετά από ηλιοαπολύμανση (ΗΗ), και σε εδάφη όπου δεν εφαρμόστηκε μέθοδος απολύμανσης εδάφη - μάρτυρες (Μ)

\*\*Έλεγχος ανταγωνιστικής ικανότητας, όπου (+) = παρουσία ζώνης παρεμποδίσσεως, (-) = απουσία ζώνης παρεμποδίσσεως αναπτύξεως του παθογόνου

(α), (β), (γ) Θρεπτικά υποστρώματα αναπτύξεως των μικροοργανισμών για τον έλεγχο της ανταγωνιστικής ικανότητας PDA, King's B και PYGA.

ήσαν ανταγωνιστικές κατά του μύκητα *Verticillium dahliae*, σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA (Εικόνες 43, 44, 45).

Στον Πίνακα 6 δίδεται αναλυτικώς η *in vitro* ανταγωνιστική ικανότητα συλλογής απομονώσεων βακτηρίων που ανήκουν στην ομάδα *Streptomyces* εναντίον του φυτοπαθογόνου βακτηρίου *C. m. m.* και των μυκήτων *P. lycopersici* και *V. dahliae*, σε διάφορα θρεπτικά υποστρώματα.

Αριθμητικά δεδομένα του Πίνακα 7 δεικνύουν ότι 27 από τις 30 απομονώσεις των φθοριζουσών ψευδομονάδων, 5 από τις 30 απομονώσεις του γένους *Bacillus* και 40 από τις 40 απομονώσεις της ομάδος *Streptomyces* εξάσκησαν ανταγωνιστική δράση εναντίον του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

### 3.5.3. Επίδραση των μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους στους φυσικούς πληθυσμούς θερμοανθεκτικών μυκήτων της ριζόσφαιρας φυτών τομάτας

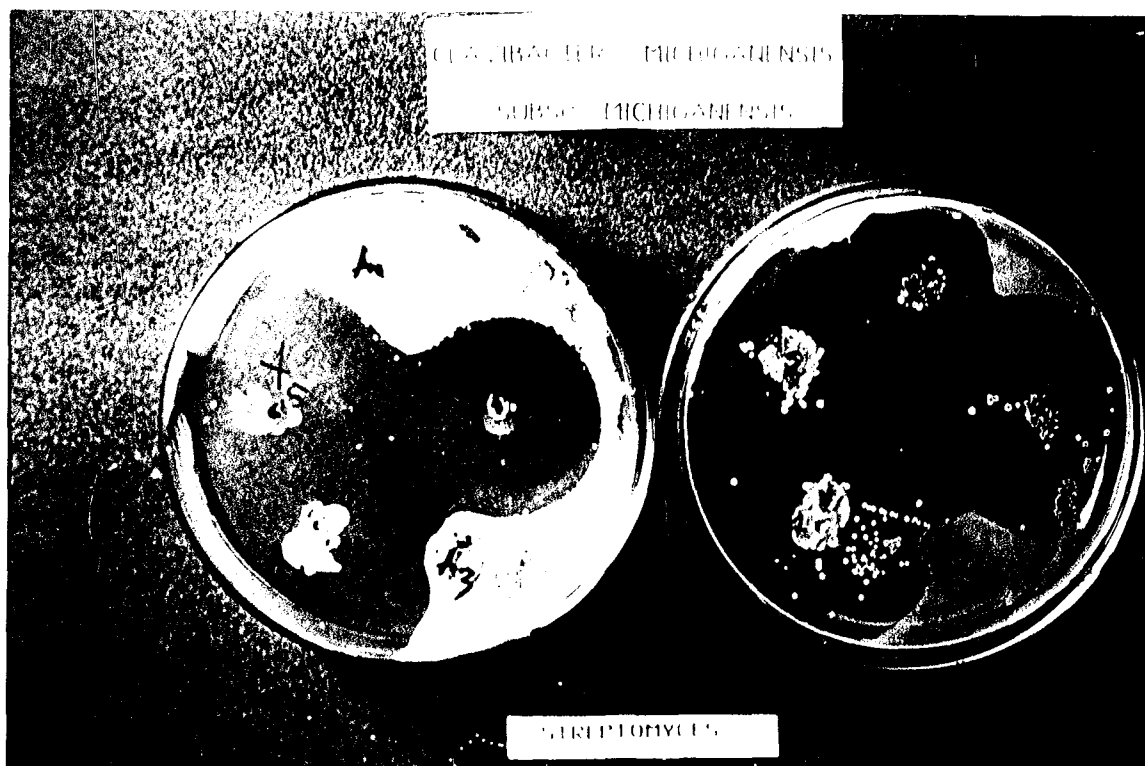
#### Θέση Α3

Τα ιστογράμματα του Διαγράμματος 29 (Α) αποδεικνύουν ότι και οι δύο μέθοδοι απολυμάνσεως του εδάφους δρουν αρνητικά μειώνοντας τους φυσικούς πληθυσμούς του θερμοανθεκτικού μύκητα *Aspergillus ochraceus* καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Στατιστικώς σημαντική διαφορά ( $P=0,001$ ) υφίσταται μεταξύ εφαρμογής ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους και απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο για τις τέσσερις ημερομηνίες δειγματοληψίας στις μονάδες του μύκητα που σχηματίζουν αποικίες (cfu) (ΒΜΗ: 0, 0,  $10^1$ ,  $10^1$ , ΒΜΒΜ: 0, 0, 0, 0 και Μ:  $10^4$ ,  $10^4$ ,  $10^3$ ,  $10^2$ ).

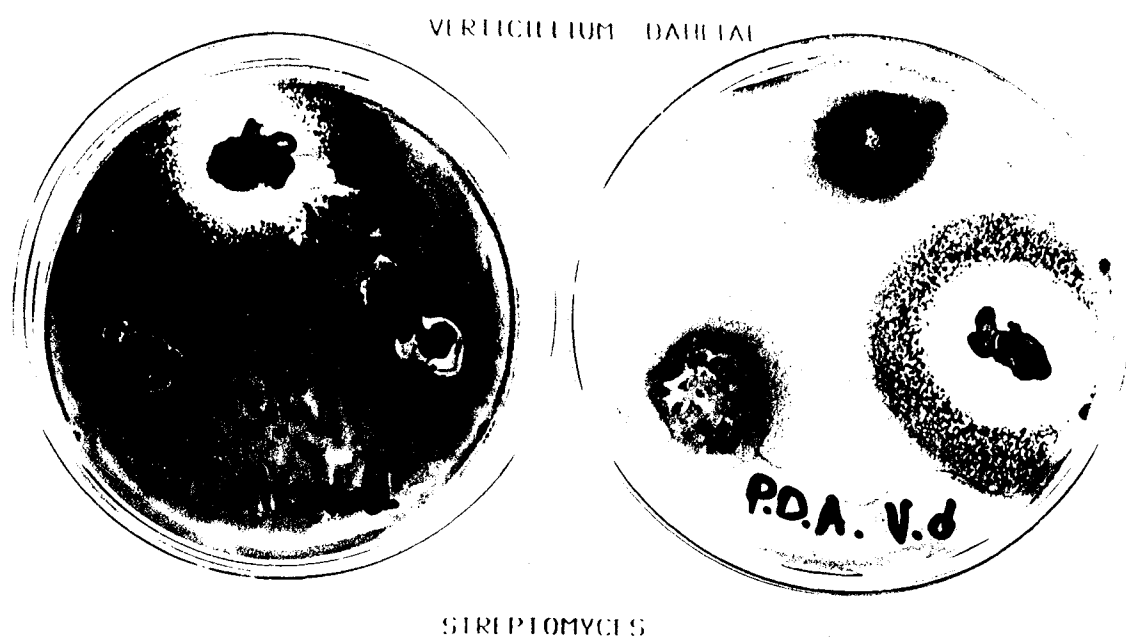
Τα ιστογράμματα του Διαγράμματος 29 (Β) αποδεικνύουν ότι εφαρμογή αμφοτέρων των μεθόδων επηρεάζει σημαντικώς ( $P=0,001$ ) τους φυσικούς πληθυσμούς του μύκητα *Aspergillus terreus* σε σύγκριση με το έδαφος - μάρτυρα στις μονάδες του μύκητα που σχηματίζουν αποικίες (cfu) (ΒΜΗ:  $10^2$ ,  $10^2$ ,  $10^2$ ,  $10^2$ , ΒΜΒΜ:  $10^1$ , 0,  $10^1$ ,  $10^1$  και Μ:  $10^4$ ,  $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$ ).

Αποδεικνύεται όμως ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως συντελεί στην ταχύτερη αύξηση των φυσικών πληθυσμών σε όλες τις ημερομηνίες δειγματοληψιών ( $P=0,0001$ ).

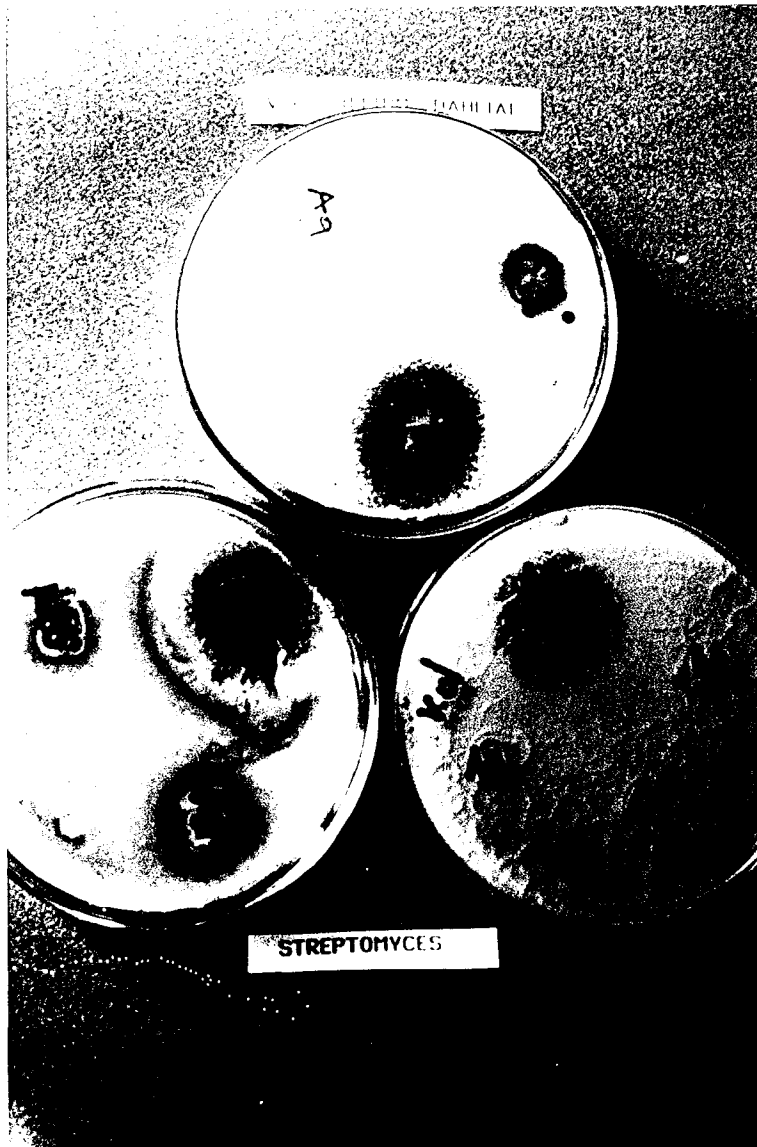
Τα ιστογράμματα του Διαγράμματος 29 (Γ) καταδεικνύουν ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως επηρεάζει θετικά την επιβίωση του θερμοανθεκτικού μύκητα *Talaromyces flavus* και αυξάνει τους πληθυσμούς του σε στατιστικώς σημαντικά ( $P=0,001$ ) επίπεδα τόσο σε σύγκριση με το μάρτυρα όσο και σε σύγκριση με την απολύμανση με το βρωμιούχο μεθύλιο κατά τη διάρκεια των τριών δειγματοληψιών του εδάφους στις μονάδες του μύκητα που σχηματίζουν αποικίες (cfu) (ΒΜΗ: 0,  $10^3$ ,  $10^2$ ,  $10^1$ , ΒΜΒΜ:  $10^1$ , 0, 0, 0 και Μ:  $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^2$ ,  $10^1$ ).



**Εικόνα 43.** Σχηματισμός ζωνών παρεμποδίσεως από καλλιέργειες ναπομονώσεων βακτηρίων της ομάδος *Streptomyces* εναντίον του παθογόνου βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA (αριστερά) και PYGA (δεξιά).



**Εικόνα 44.** Σχηματισμός ζωνών παρεμποδίσεως από καλλιέργειες απομονώσεων βακτηρίων της ομάδος *Streptomyces* εναντίον του παθογόνου μύκητα *Verticillium dahliae* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.



**Εικόνα 45.** Σχηματισμός ζωνών παρεμποδίσεως από καλλιέργειες απομονώσεων βακτηρίων της ομάδος *Streptomyces* εναντίον του παθογόνου μύκητα *Verticillium dahliae* σε θρεπτικά υποστρώματα PDA, PYGA και King's B.

**Πίνακας 6.:** *In vitro* ανταγωνιστική ικανότητα συλλογής βακτηρίων του γένους *Bacillus* sp. ριζόσφαιρας τοματοφύτων κατά του παθογόνου βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* και των παθογόνων μυκήτων *Pyrenochaeta lycopersici* και *Verticillium dahliae* σε διάφορα θρεπτικά υποστρώματα.

Μικροχλωρίδα του εδάφους  <i>Bacillus</i> sp. / Προέλευση*	Ανταγωνιστική ικανότης**								
	Παθογόνος μικροοργανισμός								
	<i>C.m. subsp.michiganensis</i>			<i>Pyrenochaeta lycopersici</i>			<i>Verticillium dahliae</i>		
	PDA (α)	King's B (β)	PYGA (γ)	PDA (α)	King's B (β)	PYGA (γ)	PDA (α)	King's B (β)	PYGA (γ)
1/ BMH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2/ BMH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3/ BMH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4/ BMH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
6/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
7/ BMH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8/ BMH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9/ BMH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10/ BMH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14/ HH	-	-	-	+	-	-	+	-	-
15/ HH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16/ HH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17/ HH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18/ HH	-	+	-	-	-	-	-	-	-
19/ HH	-	+	-	-	-	-	-	-	-
20/ HH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21/ HH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22/ HH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23/ HH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40/ M	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41/ M	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42/ M	-	+	-	-	-	-	-	-	-
43/ M	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44/ M	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45/ M	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46/ M	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47α/ M	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47β/ M	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48/ M	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\* Προέλευση απομονώσεων βακτηρίων της ριζόσφαιρας τοματοφύτων που αναπτύσσοντο σε εδάφη στα οποία εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους μετά από απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο (BMH), ηλιοαπολύμανση του εδάφους μετά από ηλιοαπολύμανση (HH), και σε εδάφη όπου δεν εφαρμόστηκε μέθοδος απολυμάνσεως εδάφη - μάρτυρες (M)

\*\* Έλεγχος ανταγωνιστικής ικανότητας, όπου (+) = παρουσία ζώνης παρεμποδίσεως, (-) = απουσία ζώνης παρεμποδίσεως αναπτύξεως του παθογόνου  
(α), (β), (γ) Θρεπτικά υποστρώματα αναπτύξεως των μικροοργανισμών για τον έλεγχο της ανταγωνιστικής ικανότητος PDA, King's B και PYGA.



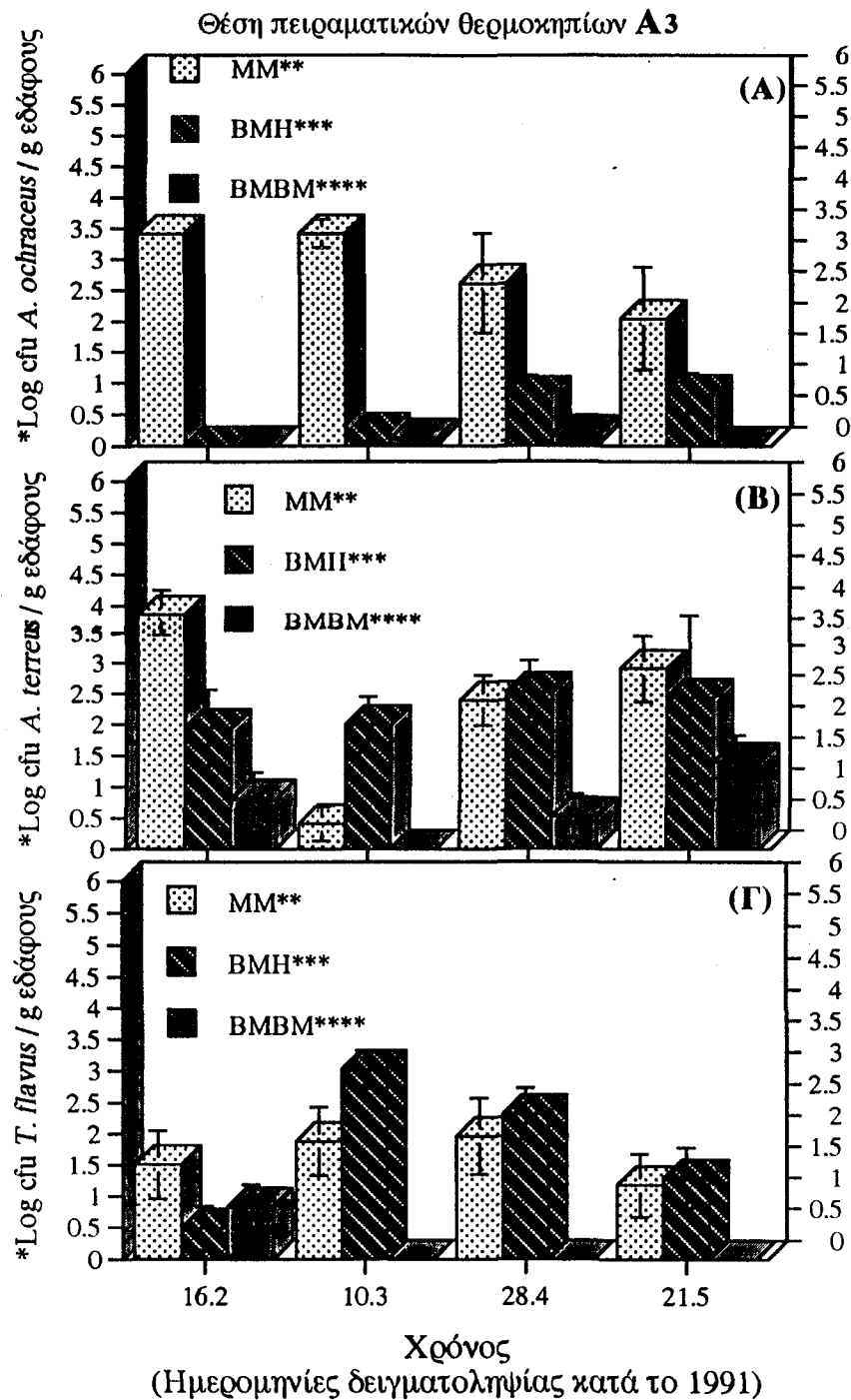
**Πίνακας 7.:** *In vitro* ανταγωνιστική ικανότητα συλλογής βακτηρίων της ομάδος *Streptomyces* ριζόσφαιρας τοματοφύτων κατά του παθογόνου βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* και των παθογόνων μυκήτων *Pyrenochaeta lycopersici* και *Verticillium dahliae* σε διάφορα θρεπτικά υποστρώματα.

Μικροχλωρίδα του εδάφους <i>Streptomyces</i> sp. / Προέλευση*	Ανταγωνιστική ικανότης**								
	Παθογόνος μικροοργανισμός								
	<i>C.m. subsp.michiganensis</i>			<i>Pyrenochaeta lycopersici</i>			<i>Verticillium dahliae</i>		
	PDA (α)	King's B (β)	PYGA (γ)	PDA (α)	King's B (β)	PYGA (γ)	PDA (α)	King's B (β)	PYGA (γ)
1/ BM	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2/ BM	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3/ BM	+	-	-	-	-	-	-	-	-
4/ BM	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5/ BM	+	-	-	-	-	-	-	-	-
11/ BM	+	-	-	-	-	-	-	-	-
12/ BM	+	-	-	-	-	-	-	-	-
13/ BM	+	-	-	-	-	-	-	-	-
14/ BM	+	-	-	-	-	-	-	-	-
15/ BM	+	-	-	-	-	-	-	-	-
17/ BM	+	-	-	-	-	-	-	-	-
18/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
19/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
20/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
21/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
22/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
23/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
24/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
25/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
26/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
27/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
31/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
33/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
34/ BMH	+	-	-	+	-	-	-	-	-
29/ BMH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
37/ HH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
38/ HH	+	-	-	+	-	-	+	-	-
39/ HH	+	-	-	-	-	-	+	-	-
40/ HH	+	-	-	-	-	-	-	-	-
42/ M	+	-	-	-	-	-	-	-	-
43/ M	+	-	-	-	-	-	-	-	-
44/ M	+	-	-	-	-	-	-	-	-
45/ M	+	-	-	-	-	-	-	-	-
46/ M	+	-	-	-	-	-	-	-	-
47/ M	+	-	-	-	-	-	-	-	-
48/ M	+	-	-	-	-	-	-	-	-
49/ M	+	-	-	-	-	-	-	-	-
50/ M	+	-	-	-	-	-	-	-	-
51/ M	+	-	-	-	-	-	-	-	-
52/ M	+	-	-	-	-	-	+	-	-

\* Προέλευση απομονώσεων βακτηρίων της ριζόσφαιρας τοματοφύτων που αναπτύσσοντο σε εδάφη στα οποία εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους μετά από απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο (BMH), ηλιοαπολύμανση του εδάφους μετά από ηλιοαπολύμανση (HH), και σε εδάφη όπου δεν εφαρμόστηκε μέθοδος απολύμανσης εδάφους - μάρτυρες (M)

\*\*Έλεγχος ανταγωνιστικής ικανότητας, όπου (+) = παρουσία ζώνης παρεμποδίσεως, (-) = απουσία ζώνης παρεμποδίσεως αναπτύξεως του παθογόνου

(α), (β), (γ) Θρεπτικά υποστρώματα αναπτύξεως των μικροοργανισμών για τον έλεγχο της ανταγωνιστικής ικανότητας PDA, King's B και PYGA.



**Διάγραμμα 29.** Επίδραση των μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους στην επιβίωση και διακύμανση φυσικών πληθυσμών δυνητικών ανταγωνιστών μυκήτων στη ριζόσφαιρα φυτών τομάτας 3-6 μήνες μετά από την εγκατάσταση των φυτειών στα πειραματικά θερμοκήπια της θέσεως Α3 (Νοέμβριος 1990).

Μέσοι όροι 12 δειγμάτων χώματος ριζόσφαιρας ανά επέμβαση.

Οι στήλες σε κάθε ιστόγραμμα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,001$ ) μεταξύ τους.

\* Λογάριθμος μονάδων των μυκήτων *Aspergillus ochraceus* (Α), *Aspergillus terreus* (Β) και *Talaromyces flavus* (Γ) που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους

\*\*ΗΗ= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από Ηλιοαπολύμανση, \*\*\*ΒΜΗ= εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως μετά από εφαρμογή Βρωμιούχου Μεθυλίου και \*\*\*\*ΒΜΒΜ= εφαρμογή Βρωμιούχου Μεθυλίου μετά από Βρωμιούχο Μεθύλιο.

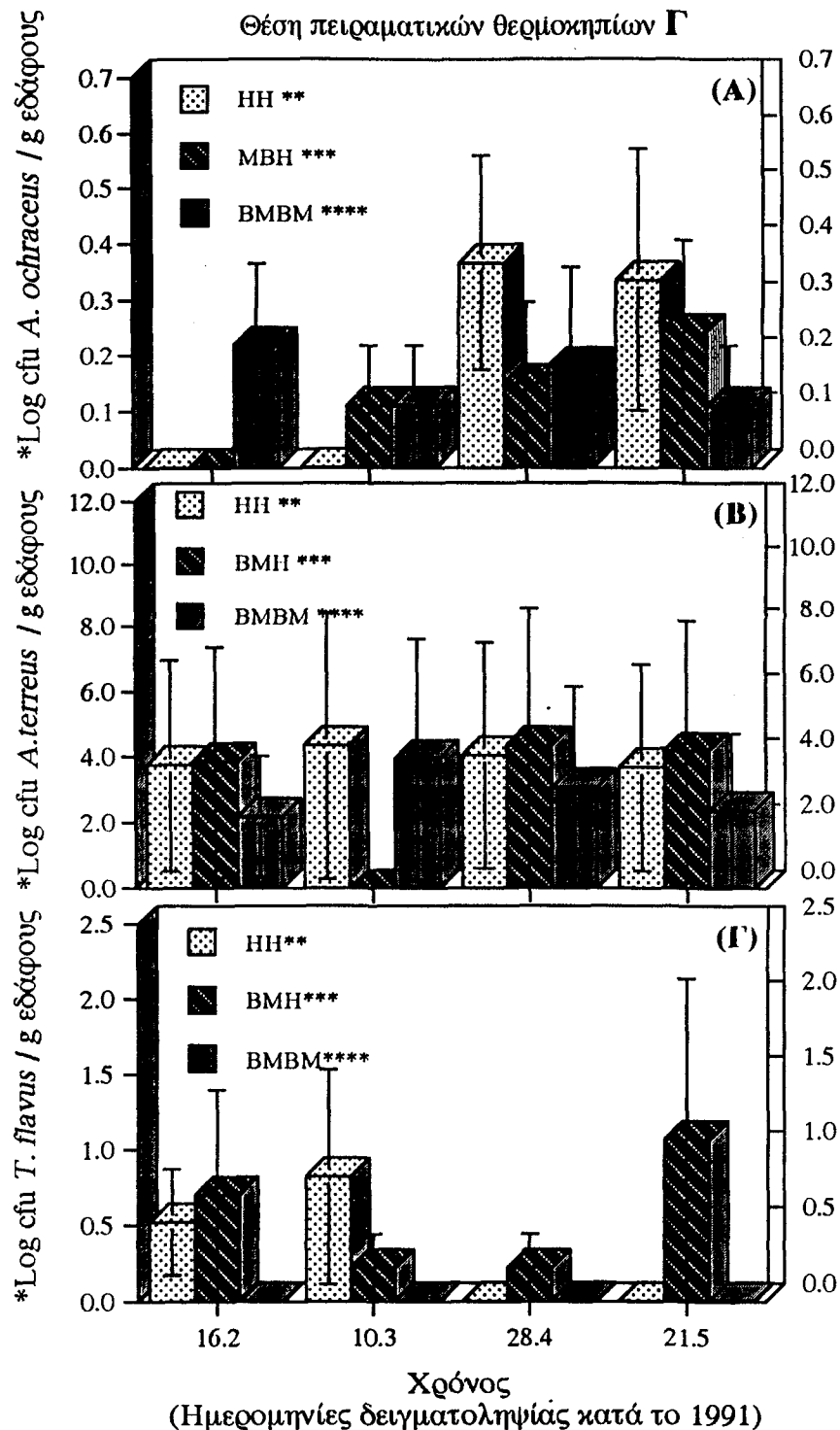
### Θέση Γ

Τα ιστογράμματα 'του Διαγράμματος 30 (Α) αποδεικνύουν ότι η εφαρμογή επαναλαμβανόμενης ηλιοαπολυμάνσεως επηρεάζει στις αρχικές δειγματοληψίες τους πληθυσμούς του μύκητα *Aspergillus ochraceus*. Αντιθέτως η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως μετά από εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο ως και απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο επηρεάζουν αρχικώς σε περιορισμένο επίπεδο. Στις δύο όμως τελευταίες δειγματοληψίες η επίδραση και των τριών επεμβάσεων δεν είναι στατιστικώς σημαντική ( $P= 0,05$ ). Οι πληθυσμοί κυμαίνονται γύρω στις 10 μονάδες του μύκητα που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους.

Τα ιστογράμματα του Διαγράμματος 30 (Β) καταδεικνύουν ότι οι δύο μέθοδοι απολυμάνσεως του εδάφους δεν διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά ( $P= 0,001$ ). Επισημαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις επεμβάσεις τα επίπεδα του μύκητα προσεγγίζουν πληθυσμούς της τάξεως  $10^4$  μονάδων που σχηματίζουν αποικίες του μύκητα *Aspergillus terreus* / g εδάφους.

Τα ιστογράμματα του Διαγράμματος 30 (Γ) καταδεικνύουν ότι στα θερμοκήπια της θέσεως Γ οι πληθυσμοί του μύκητα *Talaromyces flavus* κυμάνθησαν σε πολύ χαμηλά επίπεδα σε σύγκριση με τα θερμοκήπια της θέσεως Α3. Παρά τα πολύ χαμηλά αριθμητικά δεδομένα η αρνητική επίδραση της εφαρμογής απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο είναι καταφανής σε όλες τις ημερομηνίες δειγματοληψιών. Στην Εικόνα 46. αποδεικνύεται για πρώτη φορά η ανταγωνιστική ικανότητα του μύκητα *Talaromyces flavus* εναντίον του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* σε δοκιμές.

Στον Πίνακα 8 δίδονται συγκριτικές διακυμάνσεις φυσικών πληθυσμών θερμοανθεκτικών μυκήτων της ριζόσφαιρας τοματοφύτων, αναλόγως του γένους του μύκητα και της επεμβάσεως στο έδαφος



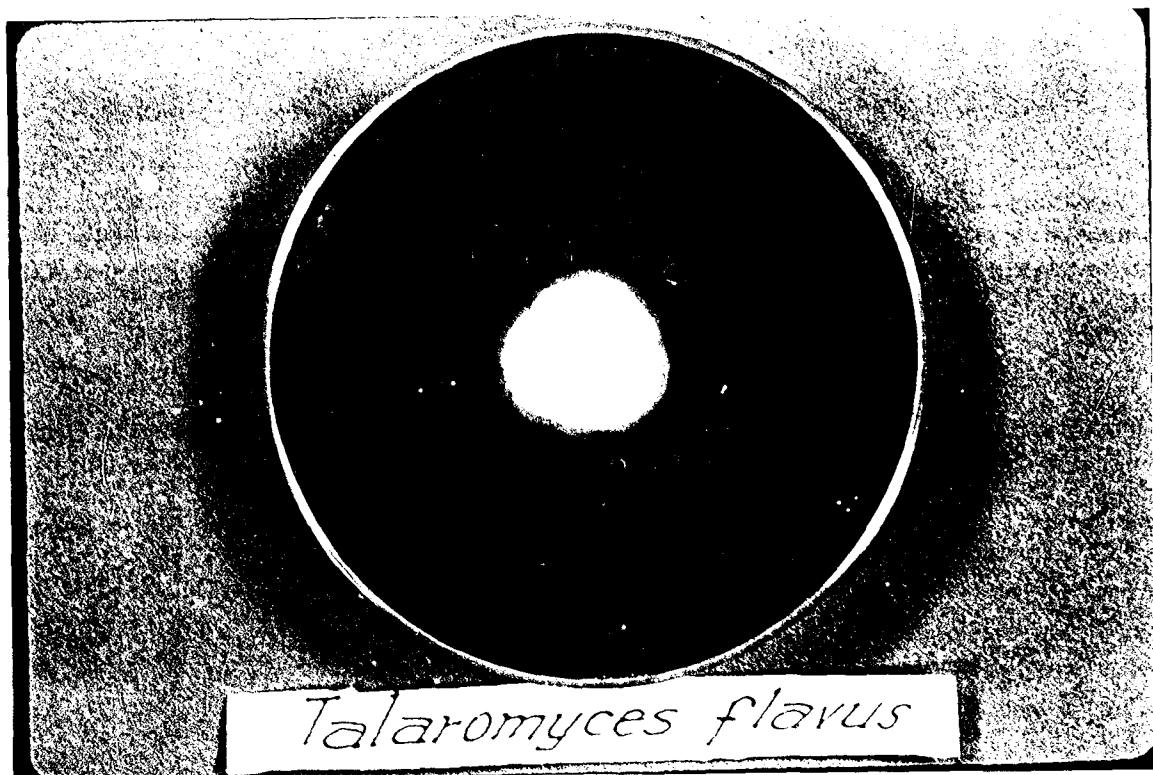
**Διάγραμμα 30.** Επίδραση των μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους στην επιβίωση και διακύμανση φυσικών πληθυσμών δυνητικών ανταγωνιστών μυκήτων στη ριζόσφαιρα φυτών τομάτας 3-6 μήνες μετά από την εγκατάσταση των φυτειών στα πειραματικά θερμοκήπια της θέσεως Γ (Νοέμβριος 1990).

Μέσοι όροι 12 δειγμάτων χώματος ριζόσφαιρας ανά επέμβαση.

Οι στήλες σε κάθε ιστόγραμμα δείχνουν το τυπικό σφάλμα. Οι μέσοι που διαφέρουν περισσότερο από το περιθώριο του σφάλματος διαφέρουν σημαντικά ( $P=0,001$ ) μεταξύ τους.

\* Λογάριθμος μονάδων των μυκήτων *Aspergillus ochraceus* (A), *Aspergillus terreus* (B) και *Talaromyces flavus* (C) που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους

\*\*HH= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από Ηλιοαπολύμανση, \*\*\*BMH= εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως μετά από εφαρμογή Βρωμιούχου Μεθυλίου και \*\*\*\*BMBM= εφαρμογή Βρωμιούχου Μεθυλίου μετά από Βρωμιούχο Μεθύλιο



**Εικόνα 46.** Σχηματισμός ζώνης παρεμποδίσσεως από καλλιέργεια απομονώσεως του μύκητα *Talaromyces flavus* εναντίον του παθογόνου μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

**Πίνακας 8:** Συγκριτικός πίνακας διακυμάνσεως φυσικών πληθυσμών δυνητικών ανταγωνιστών μυκήτων ριζόσφαιρας τοματοφύτων αναλόγως των μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους, σε δύο θέσεις πειραματικών θερμοκηπίων.

Θερμοανθεκτικοί μύκητες ριζόσφαιρας τοματοφύτων	Επέμβαση*			Επέμβαση*		
	Θέση Α3			Θέση Γ		
	ΜΜ	ΒΜΗ	ΒΜΒΜ	ΗΗ	ΒΜΗ	ΒΜΒΜ
<i>Aspergillus ochraceus</i>	10 <sup>2</sup> - 10 <sup>4</sup>	0 - 10	0	0 - 10 <sup>1</sup>	0 - 10 <sup>1</sup>	0
<i>Aspergillus terreus</i>	10 <sup>2</sup> - 10 <sup>4</sup>	10 <sup>1</sup> - 10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>1</sup> - 10 <sup>2</sup>
<i>Talaromyces flavus</i>	10 <sup>1</sup> - 10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup> - 10 <sup>3</sup>	0	10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup>	0

\* Επέμβαση του εδάφους, όπου ΜΜ= Έδαφος - Μάρτυρας, ΒΜΗ= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από εφαρμογή απολυμάνσεως του εδάφους με Βρωμιούχο μεθύλιο, ΒΜΒΜ= Εφαρμογή απολυμάνσεως του εδάφους με ΒρωμιούχοΜεθύλιο μετά από εφαρμογή Βρωμιούχου Μεθυλίου και ΗΗ= Εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους μετά από εφαρμογή Ηλιοαπολυμάνσεως.

### 3.6. Συζήτηση - Συμπεράσματα

Ανάλυση της επίδρασης των επεμβάσεων σε επιλεγμένη βακτηριακή μικροχλωρίδα του εδάφους κατέδειξε ότι στα συγκεκριμένα πειραματικά θερμοκήπια της θέσεως Α3 και σε έδαφος - μάρτυρα η πληθυσμιακή διακύμανση ήταν αμελητέα καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου και προσέγγιζε συγκεντρώσεις κυμαινόμενες από  $10^6$  -  $10^8$  μονάδες του βακτηρίου που σχηματίζουν αποικίες (cfu) / g εδάφους. Σχετικά με την επίδραση των απολυμαντικών απεδείχθη ότι υπάρχει αρχικά αρνητική επίδραση στους πληθυσμούς που φαίνεται να είναι εντονότερη με την εφαρμογή του βρωμιούχου μεθύλιου σε σχέση με την εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους. Σε μεταγενέστερα όμως στάδια δειγματοληψίας τα επίπεδα των φυσικών πληθυσμών των βακτηρίων της ριζόσφαιρας προσέγγιζαν αυτά του εδάφους - μάρτυρα. Ανάλογες είναι και οι παρατηρήσεις των Gamliel & Katan, 1991· Stapleton , 1982· 1984· Davis & Sorensen, 1986).

Ανάλογη ανάλυση των αριθμητικών δεδομένων στα πειράματα των θερμοκηπίων της θέσεως Γ έδειξε ότι η επαναλαμβανομένη εφαρμογή απολυμάνσεως του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο επέδρασε αρνητικά στα επίπεδα των φυσικών πληθυσμών των βακτηρίων της ριζόσφαιρας σε σύγκριση με την επαναλαμβανομένη εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως η οποία προσέγγιζε στα επίπεδα του μάρτυρα των θερμοκηπίων της θέσεως Α3. Η επίδραση αυτή ήταν ιδιαίτερος εμφανής κυρίως στις αρχικές δειγματοληψίες με υστέρηση 2 έως 3 λογαριθμικών μονάδων. Επισημαίνεται όμως ότι με εξαίρεση τα βακτήρια της ομάδος *Streptomyces* όπου παρέμεινε στα επίπεδα  $10^5$  μονάδων του βακτηρίου που σχηματίζουν αποικίες (cfu) / g εδάφους, ενώ στην επαναλαμβανομένη ηλιοαπολύμανση του εδάφους έφθασε στα επίπεδα των  $10^8$  cfu / g εδάφους. Οι πληθυσμοί των φθοριζουσών *Pseudomonas* και του γένους *Bacillus* προσέγγιζαν τα επίπεδα της επαναλαμβανομένης εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως. Η εφαρμογή ηλιοαπολυμάνσεως μετά από την εφαρμογή απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο έδειξε ελαφρά υστέρηση σε σύγκριση με την επαναλαμβανομένη ηλιοαπολύμανση αλλά τελικώς τα επίπεδα των πληθυσμών αυτής της εφαρμογής προσέγγιζαν τα επίπεδα της επαναλαμβανομένης εφαρμογής ηλιοαπολυμάνσεως. Οι Gamliel & Katan (1991) έχουν διαπιστώσει κατά κανόνα αυξημένα επίπεδα φθοριζουσών ψευδομονάδων εκεί που εφαρμόσαν ηλιοαπολύμανση του εδάφους σε σύγκριση με εδάφη-μάρτυρες. Δεν παρατήρησαν όμως πληθυσμιακές διαφορές στα βακτήρια της τάξεως actinomycetes. Αντιθέτως, η παρούσα εργασία κατέδειξε ότι οι φυσικοί πληθυσμοί των φθοριζουσών *Pseudomonas* της ριζόσφαιρας παρατηρούνται να είναι μειωμένοι συγκριτικά με το μάρτυρα, στο τέλος όμως της καλλιεργητικής περιόδου προσεγγίζουν αυτές του εδάφους μάρτυρα. Ενδεχομένως διαφορές στη σύσταση του

εδάφους, pH και κυρίως λιπάνσεις και προσθήκες οργανικής ουσίας που στην περιοχή του Ν. Πρεβέζης είναι συνήθης καλλιεργητική πρακτική να συμβάλλουν στις παρατηρηθείσες διαφορές μεταξύ Ελλάδος και Ισραήλ. Οι Stapleton & DeVay (1982·1984), διαπίστωσαν επίσης επίδραση της εφαρμογής της ηλιοαπολυμάνσεως στους φυσικούς βακτηριακούς πληθυσμούς των γενών *Bacillus*, *Streptomyces* και φθοριζουσών ψευδομονάδων με αύξηση αυτών σε σύγκριση με το έδαφος-μάρτυρα. Επίσης, έχει αναφερθεί μία μεγαλύτερη αύξηση των θετικών κατά Gram (Gram +).

Είναι βεβαίως αδύνατον να υποστηριχθεί ότι η σύνθεση της βακτηριακής μικροχλωρίδας, ο πληθυσμιακός προσδιορισμός της οποίας επιχειρήθηκε, είναι ίδια σε όλες τις επεμβάσεις. Παρατηρήσεις κατά τη διάρκεια εκτέλεσης της διδακτορικής διατριβής απέδειξαν την ικανότητα ηλιοαπολυμανθέντος εδάφους να προκαλεί επιτάχυνση της αναπτύξεως των φυτών. Το φαινόμενο της αυξήσεως του ρυθμού αναπτύξεως των φυτών (increased growth effect) παρατηρήθηκε ακόμη και σε περιπτώσεις που δεν υπάρχουν φυτοπαθογόνοι μικροοργανισμοί στα πειραματικά τεμάχια. Είναι γνωστό ότι πολλά στελέχη βακτηρίων της ριζόσφαιρας επηρεάζουν την ανάπτυξη των φυτών με την παραγωγή φυτοορμονών όπως το ινδολο-3-ακετυλοξικό οξύ (Loper & Schroth, 1986· Oman *et al.*, 1993). Έχει επίσης αναφερθεί αύξηση των επιπέδων των διαλυτών μεταλλικών στοιχείων παράγοντα ο οποίος ενδεχομένως να συμβάλλει στην αύξηση του ρυθμού αναπτύξεως των φυτών (Stapleton & DeVay, 1982). Το φαινόμενο αποδίδεται κυρίως σε αυξημένους πληθυσμούς βακτηρίων φθοριζουσών ψευδομονάδων στη ριζόσφαιρα των φυτών που αναπτύσσονται σε εδάφη όπου εφαρμόστηκε ηλιοαπολύμανση του εδάφους.

Οι Tjamos & Paplomatas (1987, 1988) και Tjamos *et al.*, 1991 απέδειξαν ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους συμβάλλει στην επιβίωση και αύξηση πληθυσμών των ανταγωνιστού μύκητα *Talaromyces flavus* σε εδάφη όπου καλλιεργήθηκαν αγκυνάρες ή προϋπήρξε ελαιώνας με δένδρα προσβεβλημένα από το μύκητα *Verticillium dahliae*. Είχε επίσης αναφερθεί ότι η εφαρμογή της ηλιοαπολυμάνσεως αυξάνει τους πληθυσμούς μυκήτων του γένους *Talaromyces* (*T. flavus* και *T. helicus*) σε εδάφη όπου ακολούθησε καλλιέργεια μελιτζάνας. Τα δεδομένα της παρούσας μελέτης από θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας σε δύο θέσεις στο Ν. Πρεβέζης σχεδόν ταυτίζονται με τις παρατηρήσεις των ως άνω ερευνητών.

Σχετικά με το μύκητα *Aspergillus terreus* τα δεδομένα της διατριβής συμφωνούν με τους Tjamos & Paplomatas (1988) και Tjamos *et al.* (1991), όπου η επίδραση της ηλιοαπολυμάνσεως έδρασε θετικά στην επιβίωση των δυνητικών ανταγωνιστών. Η εφαρμογή όμως της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο είχε αρνητική επίδραση περιορίζοντας την επιβίωση και αύξηση του ως άνω θερμοανθεκτικού μύκητα.

Τα δεδομένα επί του μύκητα *Aspergillus ochraceus* αποτελούν μία πρώτη πειραματική προσέγγιση και δεν υπάρχει δυνατότητα συγκρίσεώς τους με αντίστοιχες έρευνες.

Συγκριτική ανάλυση των αριθμητικών δεδομένων σχετικά με την επίδραση των



διαφόρων μεθόδων απολυμάνσεως του εδάφους σε επιλεγμένους πληθυσμούς μυκήτων που είναι δυνητικοί ή γνωστοί ανταγωνιστές φυτοπαθογόνων εδάφους απεκάλυψε ότι οι φυσικοί πληθυσμοί του μύκητα *Aspergillus ochraceus* είναι ιδιαίτερος υψηλοί ( $\approx 10^4$  μονάδων του μύκητα που σχηματίζουν αποικίες / g εδάφους) σε εδάφη - μάρτυρες που δεν έχουν υποστεί επέμβαση. Όλες οι μέθοδοι απολυμάνσεως και στις δύο θέσεις θερμοκηπίων έδειξαν ότι επιδρούν αρνητικά καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου στην επιβίωση και αύξηση του μύκητα. Η επιβίωση πάντως μετά από εφαρμογές ηλιοαπολυμάνσεως ήταν εμφανέστερη σε σύγκριση με απολύμανση με βρωμιούχο μεθύλιο που εκμηδένισε τους φυσικούς πληθυσμούς του μύκητα *A. ochraceus*.

Αντιθέτως με το μύκητα *A. ochraceus* οι εφαρμοσθείσες επεμβάσεις ηλιοαπολυμάνσεως του εδάφους δεν επηρέασαν αρνητικώς την επιβίωση και αύξηση φυσικών πληθυσμών του δυνητικού ανταγωνιστού μύκητα *Aspergillus terreus*, διότι σε εδάφη-μάρτυρες οι πληθυσμοί του κυμαίνονταν από  $10^2$ - $10^4$  μονάδες του μύκητα που σχηματίζουν αποικίες, ενώ μετά από την εφαρμογή ηλιοαπολυμάνσεως επιβίωσαν και προσέγγιζαν αντίστοιχους υψηλούς πληθυσμούς ( $10^4$ ). Η εφαρμογή όμως απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο περιόρισε κατά κανόνα κατά 2 περίπου λογαριθμικές μονάδες τους πληθυσμούς του μύκητα *Aspergillus terreus*.

Αναφορικός με τον τρόπο δράσεως των μυκήτων *A. terreus* και *A. ochraceus* οι υπάρχουσες αναφορές καταδεικνύουν την δυνατότητα παραγωγής ενζύμων (υπεροξειδάση, χιτινάση, κυτταρινάση) και μεταβολιτών όπως η πατουλίνη, ουσίες οι οποίες δυνατόν να δράσουν ανασταλτικώς στην ανάπτυξη εδαφογενών παθογόνων μυκήτων (Fravel, 1988· Raper & Fennel, 1965).

Τέλος η επίδραση των επεμβάσεων στη διακύμανση των φυσικών πληθυσμών του ανταγωνιστού μύκητα *Talaromyces flavus* κατέδειξε όχι μόνο την επιβίωση αλλά και το σημαντικότερο, την αύξηση των πληθυσμών του ανταγωνιστού στη θέση A3 των θερμοκηπίων ( $\approx 10^3$  μονάδες του μύκητα που σχηματίζουν αποικίες). Κατέδειξε επίσης την παρουσία του στα θερμοκήπια της θέσεως Γ ( $10^1$ ). Τουναντίον η εφαρμογή της απολυμάνσεως με βρωμιούχο μεθύλιο έδρασε αρνητικώς στην επιβίωση του ανταγωνιστού και στις δύο θέσεις των θερμοκηπίων.

Η συμπεριφορά του ποσοστού των βακτηρίων που προκαλούν ζώνη παρεμποδίσεως κυμαίνεται για το συνδυασμό παθογόνο βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* και απομονώσεις φθοριζουσών ψευδομονάδων στο 90 % (27 / 30) σε θρεπτικό υπόστρωμα King's B. Τούτο σημαίνει ότι πιθανός τρόπος δράσεως είναι η παραγωγή σιδηροφόρων. Αυτό συμπεραίνεται και από την αδυναμία των φθοριζουσών ψευδομονάδων να εξασκήσουν ανταγωνιστική ικανότητα κατά του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA και PYGA. Αντιθέτως, η συμπεριφορά του ποσοστού των απομονώσεων βακτηρίων του γένους *Bacillus* sp. που προκαλούν ζώνη παρεμποδίσεως κατά του βακτηρίου *C. m. m.* ήταν 16.7 % (5 / 30) σε

θρεπτικό υπόστρωμα PDA, ενώ δεν παρουσίασαν ανάλογη συμπεριφορά στα δύο άλλα θρεπτικά υποστρώματα King's B και PYGA. Η θετική συμπεριφορά του ποσοστού των απομονώσεων της ομάδος *Streptomyces*, που προκαλούν ζώνη παρεμποδίσεως, κατά του βακτηρίου *C. m. m.* ήταν καθολική (100 %) σε θρεπτικό υπόστρωμα αναπτύξεως PDA ενώ δεν παρουσίασαν ανάλογη συμπεριφορά στα θρεπτικά υποστρώματα King's B και PYGA.

Σχετικά με πολλά είδη βακτηρίων που ανήκουν στο γένος των φθοριζουσών ψευδομονάδων είναι γνωστό ότι παράγουν σιδηροφόρους αλλά και αντιβιοτικά. Η παραγωγή σιδηροφόρων παρατηρείται σε συνθήκες ελλείψεως σιδήρου. Έτσι η παραγωγή των σιδηροφόρων μπορεί να κατασταλεί με την ανάπτυξη του βακτηρίου σε θρεπτικό υπόστρωμα πλούσιο σε σίδηρο όπως τα PDA και PYGA. Αντιθέτως, τα αντιβιοτικά είναι προϊόντα δευτερεύοντος μεταβολισμού. Έχει διαπιστωθεί ότι πολλές φθοριζουσες ψευδομονάδες οι οποίες θεωρούνται ως ανταγωνιστές σημαντικών εδαφογενών παθογόνων όπως του μύκητα *Gaeumannomyces graminis* παράγουν αντιβιοτικά όπως φαιναζίνες και πυρρόλες (Thomashow & Weller, 1988). Έχει επίσης αναφερθεί η περίπτωση στελέχους Pf-5, του βακτηρίου *Pseudomonas fluorescens*, το οποίο παρεμποδίζει την ανάπτυξη τόσο *in vitro* του βακτηρίου *Erwinia carotovora*, όσο και της ασθένειας σε μολυσμένα τεμάχια κονδύλων πατάτας ("μαλακή σήψη" που προκαλείται από το βακτήριο αυτό). Η παρεμπόδιση σε αυτή την περίπτωση είναι πιθανόν ότι οφείλεται στην παραγωγή αντιβιοτικών και όχι στην παραγωγή σιδηροφόρων εφόσον παρατηρείται σε θρεπτικό υπόστρωμα πλούσιο σε σίδηρο.

Στη φύση είναι ενδεχόμενο η παράλληλη δράση αντιβιοτικών, και σιδηροφόρων στην κατασταλτικότητα του εδάφους και στον ανταγωνισμό εναντίον των φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών. Αυτό όμως είναι πολύ δύσκολο να αποδειχθεί σε πειράματα αγρού και επομένως τα περισσότερα πειράματα έχουν επικυρωθεί σε πειράματα εργαστηρίου που παρουσιάζουν παρεμπόδιση φυτοπαθογόνων σε τρυβλίο, όπου οι συνθήκες του πειραματισμού ελέγχονται ευχερέστερα (Davison, 1988· Xu & Gross, 1986).

Αναφορικός με τους φυτοπαθογόνους μύκητες, η συμπεριφορά του ποσοστού των βακτηρίων που προκαλούν ζώνη παρεμποδίσεως κυμαίνεται για το συνδυασμό παθογόνο μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* και απομονώσεις φθοριζουσών ψευδομονάδων στο 10 % (3 / 30) σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA. Οι απομονώσεις αυτές δεν παρουσίασαν ανάλογη συμπεριφορά σε θρεπτικό υπόστρωμα King's B και PYGA. Αντιθέτως η συμπεριφορά του ποσοστού των βακτηρίων που προκαλούν ζώνη παρεμποδίσεως κυμαίνεται για το συνδυασμό παθογόνο μύκητα *Verticillium dahliae* και απομονώσεις φθοριζουσών ψευδομονάδων σε 0 % (0 / 30) σε όλα τα θρεπτικά υποστρώματα.

Σχετικά με την ανταγωνιστική δράση των ψευδομονάδων εναντίον παθογόνων μυκήτων, οι Howell & Stipanovic (1979, 1980) έδειξαν ότι το στέλεχος Pf-5 του βακτηρίου *Pseudomonas fluorescens* παράγει δύο διαφορετικά αντιβιοτικά την πυρρολνιτρίνη (pyrrolnitrin) η οποία δρα εναντίον των παθογόνων *Verticillium dahliae*, *Alternaria* sp.,

*Rizoctonia solani* και *Thielaviopsis basicola* και η πυουλουτεορίνη (pyolyteorin) η οποία δρα εναντίον του μύκητα *Pythium ultimum*.

Η συμπεριφορά του ποσοστού των βακτηρίων που προκαλούν ζώνη παρεμποδίσεως κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα για τους συνδυασμούς παθογόνων μυκήτων *Pyrenochaeta lycopersici* και *Verticillium dahliae* και απομονώσεις του γένους *Bacillus* sp. στο 3,3 % (1 / 30) σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA, ενώ δεν παρουσίασαν ανάλογη συμπεριφορά στα θρεπτικά υποστρώματα King's B και PYGA. Έχει αναφερθεί ότι το είδος *B. subtilis* παράγει αντιβιοτικά, γνωστά ως κυκλικά πεπτίδια, όπως mycosubtilin, fungistatin, subsporin, bacilysin και fengynycin. Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι ένα στέλεχος του βακτηρίου *B. subtilis* είναι ικανό να παρεμποδίσει την ανάπτυξη του μύκητα *Verticillium dahliae in vitro* (Schreiber *et al.*, 1988). Επίσης, διαπιστώθηκε ότι η παραγωγή αντιβιοτικών από το βακτήριο δυνατόν να συμβάλλει στην ανταγωνιστική ικανότητά του εναντίον του μύκητα *Verticillium dahliae* (Loffler *et al.*, 1990). Η ανταγωνιστική ικανότητα εναντίον του μύκητα ενισχύεται από την παραγωγή γλυκανασών και σιδηροφόρων. Οι μεταβολές στην υπερμικροσκοπική δομή του μύκητα *Verticillium dahliae* κατά τον ανταγωνισμό *in vitro* που έχουν παρατηρηθεί συνίσταται σε ανώμαλο διακλάδωση και ανάπτυξη των υφών με διογκώσεις- εξωγκώσεις και διαρρήξεις. Τα δεδομένα της αποτελεσματικότητας της απομονώσεως του βακτηρίου σε πειράματα στο θερμοκήπιο και στον αγρό δεν ήταν εξ' ίσου ικανοποιητικά (Berg *et al.*, 1994).

Η συμπεριφορά του ποσοστού των βακτηρίων που προκαλούν ζώνη παρεμποδίσεως κυμαίνεται σε ανάλογα επίπεδα και για τους δύο συνδυασμούς παθογόνος μύκητας *Pyrenochaeta lycopersici* και *Verticillium dahliae* με απομονώσεις της ομάδος *Streptomyces* στο 7,5 % (3 / 40) και 5 % (2 / 40) σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA, ενώ δεν παρουσίασαν ανάλογη συμπεριφορά στα θρεπτικά υποστρώματα King's B και PYGA. Η συμπεριφορά των απομονώσεων αυτών που ανήκουν στην ομάδα *Streptomyces* να παρουσιάζουν παρεμπόδιση στην ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών πιθανόν να οφείλεται στην χαρακτηριστική ικανότητα της πλειονότητας των μικροοργανισμών αυτών να παράγουν μεγάλο αριθμό αντιβιοτικών (Waksman, 1967).

Πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα έδειξαν ανταγωνιστική δράση βακτηρίων *Streptomyces* spp. εναντίον του μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici*. Τα *in vitro* πειράματα έδειξαν παρεμπόδιση της αναπτύξεως του μύκητα σε απομονώσεις βακτηρίων της ομάδος *Streptomyces*, ενώ στα *in vivo* πειραμάτων μείωσε το ποσοστό της εντάσεως της ασθeneίας σε ανθεκτική ποικιλία τομάτας σε ποσοστό 50% (Ciccarresse *et al.*, 1994).

Όπως αναφέρθηκε στο εισαγωγικό κεφάλαιο έχουν ήδη απομονωθεί και μελετηθεί διάφοροι ανταγωνιστές μύκητες εναντίον του μύκητα *Verticillium dahliae*. Έχει επίσης αναφερθεί η δυνατότητα του μύκητα *Talaromyces flavus* να παρεμποδίζει *in vitro* το μύκητα, αλλά και να αντιμετωπίζει τη βερτισιλλώση της μελιντζάνας (Marois *et al.*, 1982) σε πειράματα αγρού. *In vitro* παρεμπόδιση της αναπτύξεως του μύκητα *Verticillium dahliae*

παρατηρήθηκε και από τους μύκητα *Aspergillus terreus* (Tjamos & Paplomatas, 1987). Αντιθέτως, δεν υπάρχουν δεδομένα χρησιμοποίησής τους σε πείραμα αγρού. Πειραματικά δεδομένα έχουν επίσης αποδείξει την *in vitro* παρεμποδιστική δράση του μύκητα *Talaromyces flavus* επί της αναπτύξεως του παθογόνου μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* (Tjamos, αδημοσίευτο).

Οι πιθανότητες μερικής υποκαταστάσεως της χημικής ακταπολεμήσεως των ασθενειών του ριζικού συστήματος, με τη χρήση βιολογικών μεθόδων, παραμένει ένας συναρπαστικός και προκλητικός στόχος. Προς επίτευξη αυτού του στόχου είναι απαραίτητο να υπάρξει συνδυασμός βασικής ερεύννης που θα περιλαμβάνει *in vitro* πειραματισμό επί των μηχανισμών δράσεως των ανταγωνιστών και τη γενετική τους βελτίωση με οικολογικές μελέτες αξιολογήσεως της ανταγωνιστικότητάς τους κάτω από συνθήκες αγρού.

# III. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΑΛΙΒΙΖΑΤΟΣ, Α.Σ., 1989. Βακτηριακό έλκος: μια σοβαρή βακτηρίωση της τομάτας. *Γεωργία και Επιστήμη*, **2**: 16-18.

ALTOMARE, C., LOGRIECO, A. & BOTTALICO, A., 1995. *Fusarium acuminatum* subsp. *acuminatum*, a potential antagonist of sclerotia-forming aspergilli. *Proceedings of the 3d IOBC/ EFPP Workshop, Biological control of sclerotia-forming pathogens*. Warwickshire, UK. (In press)

ARK, P.A. & THOMSON, J.P., 1960. Additional hosts for tomato canker organism, *Corynebacterium michiganense*. *Plant Disease Reporter*, **44**: 98-99.

ASHWORTH, JR.L.J. & GAONA, S.A., 1982. Evaluation of clear polyethylene mulch for controlling Verticillium wilt in established pistachio nut groves. *Phytopathology*, **72**: 243-246.

AYERS, P.G., 1984. Effects of infection on root growth and function: consequences for plant nutrient and water relations. In: Wood, R. K. S., and Jellis, G. J., eds., *Plant diseases, infection, damage and loss*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 105-118.

BAKKER, P.A.H.M., RAAIJMAKERS, J. M. & SCHIPPERS, B., 1993. Role of iron in the suppression of bacterial plant pathogens by fluorescent pseudomonads. In: Barton, L.L., and Hemming, B.C., eds., *Iron chelation in plants and soil microorganisms*. Academic Press Inc., San Diego , 269-278.

BAKKER, P.A.H.M., BAKKER, A.W., MARUGG, J. D., WEISBEEK, P.J. & SCHIPPERS, B., 1988. Bioassay for studying the role of siderophores in potato growth stimulation by *Pseudomonas* spp. in short rotation of potato. *Soil Biology and Biochemistry*, **19**: 451-457.

BASU, P.K., 1970. Temperature, an important factor determining survival of *Corynebacterium michiganense* in soil. *Phytopathology*, **60**: 825-827.

BENHAMOU, N., 1991. Cell-Surface Interactions Between Tomato and *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* - Localization of some polysaccharides and hydroxyproline-rich glycoproteins in infected host leaf tissues. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **38**: 15-38.

BERG, G., KNAPE, C., BALLIN, G. & SEIDEL, D., 1994. Biological control of *Verticillium dahliae* Kleb. by natural occurring rhizosphere bacteria. *Archiv für Phytopathologie und*

*Pflanzenschutz*, **29**: 249-262.

BRADBURY, J.F., 1986. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. In: *Guide to plant pathogenic bacteria*, CAB International, Slough, UK, 48p.

BROADBENT, P., BAKER, K.F., FRANKS, N. & HOLLD, J., 1977. Effect of *Bacillus* spp. on increased growth of seedlings in steamed and in nontreated soil. *Phytopathology*, **67**: 1034-1037.

BUDGE, S. P. & WHIPPS, J. M., 1995. Use of *Coniothyrium minutans* in intergrated control of *Sclerotinia sclerotiorum* in glassehouse lettuce. In: *Proceedings of the 3d IOBC/ EFPP Workshop, Biological control of sclerotia-forming pathogens*. Warwickshire, UK. (In press)

BULK, R.W., VAN DEN ZEVENHUIZEN, L.P.T.M., CORDEWENER, J.H.G., DONS, J.J.M, 1991. Characterization of the extracellular polysaccharide produced by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Phytopathology*, **81**: 619-623.

BUYER, J.S. & LEONG, J., 1986. Iron transport-mediated antagonism between plant growth-promoting and plant-deleterious *Pseudomonas* strains. *Journal of Biology and Chemistry*, **26**: 791-794.

CHANG, R.J., RIES, S.M., PATAKY, J.K., 1991. Dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by practices used to produce tomato transplants. *Phytopathology*, **81**: 1276-1281.

CHANG, R.J., RIES, S.M., PATAKY, J.K., 1992. Effects of temperature, plant age, inoculum concentration, and cultivar on the incubation period and severity of bacterial canker of tomato. *Plant Disease*, **76**: 1150-1155.

CHANG, R.J., RIES, S.M., PATAKY, J.K., 1992. Reductions in yield of processing tomatoes and incidence of bacterial canker. *Plant Disease*, **76**: 805-809.

CHELLEMI, D.O. & OLSON, S.M., 1994. Effect of soil solarization and fumigation on survival of soilborne pathogens of tomato in Northern Florida. *Plant Disease*, **78**: 1167-1172.

CHEN, Y., GAMLIEL, A., STAPLETON, J. J., AVIAD, T., 1991. Chemical, physical and microbial changes related to plant growth in disinfested soils. In: Katan J., DeVay JE, eds. *Soil Solarization*. CRC Press, Boca Raton, FL, 104-129.

CICCARESE, F., AMENDUNI, M., SCHIAVONE, D., & CIRULLI, M., 1994. Antagonistic activity of *Streptomyces* spp. against *Pyrenochaeta lycopersici* in tomato. *Proceedings of the 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*. Turkey, küsadası, 201-202.

COOK, R.J. & BAKER, K.F., 1983. *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

COSTERTON, J.W., 1984. Direct ultrastructural examination of adherent bacterial populations in natural and pathogenic ecosystems. In: Klug M.J., Reddy C.A., eds. *Current Perspectives in Microbial Ecology*. Washington, DC.: Am. Soc. Microbiol., 115-123.

COSTERTON, J.W., & IRVIN, R.T., 1981. The bacterial glycocalyx in nature and disease. *Annual Review of Microbiology*, **35**: 299-324.

DAVIS, M.J., 1986. Taxonomy of plant-pathogenic coryneform bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, **24**: 115-140.

DAVIS, J.R. & SORENSEN, L.H., 1986. Influence of soil solarization at moderate temperatures on potato genotypes with differing resistance to *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, **76** 1021-1026.

DAVISON, J., 1988. Plant beneficial bacteria. *Bio/ Technology*, **6**: 282-286.

DEAN, R.A. & KUC, J., 1985. Induced systemic protection in plants. *Trends of Biotechnology*, **3**: 125-129.

DEVAY, J. E. & KATAN, J., 1991. Mechanisms of pathogen control in solarized soils. In: Katan J., DeVay JE, eds. *Soil Solarization*. CRC Press, Boca Raton, FL, 205-214.

DHANVANTARI, B.N., 1989. Effect of seed extraction methods and seed treatments on control of tomato bacterial canker. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **11**: 400-408.

DIXON, G. R., 1988. *Pyrenochaeta lycopersici*, Schneider & Gerlach. In: Smith, I. M., Dunez, J., Lelliott, R. A., Phillips, D. H. and Archer, S. A., eds., *European Hand Book of plant Diseases*. Blackwell Scientific Publications, 376p.

DIXON, G. R., 1984. *Vegetable crop diseases*. MacMillan Publishers LTD London, 353-355 , 359 - 360p.



DWIVEDI, R. S. & DUBEY, R. C., 1987. Effect of soil solarization on population dynamics of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid and general soil mycoflora. *International Journal of Tropical Plants*, **5**: 67 - 73.

EL-NAGGAR, M., 1995. Aspects of parasitism of sclerotia-forming fungi by *Coniothyrium minitans*. In: *Proceedings of the 3d IOBC/ EFPP Workshop, Biological control of sclerotia-forming pathogens*. Warwickshire, UK. (In press)

ELAD, Y. & BAKER, R., 1985. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp.. *Phytopathology*, **75**: 1053-1059.

ELAD, Y. & CHET, I., 1987. Possible role of competition for nutrients in biocontrol of *Pythium* damping-off by bacteria. *Phytopathology*, **77**: 190-195.

ELENA, K. & TJAMOS, E. C., 1992. Control of *Fusarium* wilt of carnation by soil solarization singly or in combination with fungal or bacterial biocontrol agents. In: Tjamos E. C., Papavizas G. C. and Cook R. J. eds., *Biological Control of Plant Diseases. Progress and Challenges for the Future*. NATO ASI Series A, Life Sciences, Vol. 230, Plenum Press 75-79.

ZAXΟΣ, Δ. Γ. & ΓΕΩΡΓΟΠΟΥΛΟΣ, Σ. Γ., 1957. Το βακτηριακό έλκος της τομάτας στην Ελλάδα. *Χρονικά Μπεννακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου*, **1**: 98-102.

FAHIMA, T. & HENIS, Y., 1990. Interaction between pathogen, host and biocontrol agent: Multiplication of *Trichoderma hamatum* and *Talaromyces flavus* on roots of diseased and healthy hosts. In: Hornby, D. ed., *Biological control of soilborne Plant Pathogens*. London, CABI 165-180.

FARLEY, J.D. 1971. Recovery of *Corynebacterium michiganense* from overwintered tomato stems by the excised-petiole inoculation method. *Plant Disease Reporter*, **55**: 654-656.

FATMI, M., 1990. An agar plating assay for the detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from tomato seeds. In: *Proceedings of the 8th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*. Morocco 1990, Actes Editions, Rabat, 37-38.

FATMI, M., SCHAAD, N.M. & BOLKAN, H.A., 1991. Seed treatments for eradicating *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from naturally infected tomato seeds. *Plant*

*Disease*, **75**: 383-385.

FATMI, M., SCHAAD, N.W., 1988. Semiselective agar medium for isolation of *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* from tomato seed. *Phytopathology*, **78**: 121-126.

FOSTER, R. C., ROVIRA, A.D. & COCK, T.W., 1983. Ultrastructure of root-soil interface. St. Paul: American Phytopathological Society, 155p.

FRANKLING, T.J. & SNOW, G.A., 1975. *Biochemistry of antimicrobial action*. Chapman & Hall, London.

FRAVEL, D.R., 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Annual Review of Phytopathology*, **26**: 75-91.

FRAVEL, D.R. & ROBERS, D.P., 1991. *In situ* evidence for the role of glucose oxidase in the biocontrol of Verticillium wilt by *Talaromyces flavus*. *Biocontrol Science and Technology*, **1**: 91-99.

FRAVEL, D.R., KIM, K.K. & PAPAVIDAS, G.C., 1987. Viability of microsclerotia of *Verticillium dahliae* reduced by a metabolite produce by *Talaromyces flavus*. *Phytopathology*, **77**: 616-619.

FREEMAN, S. & KATAN, J., 1988. Long -term effect of soil solarization for the control of *Rosellinia necatrix* in apple. *Crop Protection*, **9**: 312-316.

GAMLIEL, A. & KATAN, J., 1991. Involvement of fluorescent pseudomonads and other microorganisms in increased growth response of plants in solarized soils. *Phytopathology*, **81**: 494-502.

GAMLIEL, A., GRINSTEIN, A., KLEIN, L., PERETZ, I., NACHMIAS, A. & KATAN, J., 1994. Improved technologies for reducing methyl bromide emission. *Proceedings of the 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*. Turkey, Kuisadasi, 365-366.

GARIBALDI, A. & TAMIETTI, G., 1983. Attempts to use soil solarization in closed glasshouses in northern Italy for controlling corky root of tomato. *Acta Horticulturae*, **152**: 237-242.

GARRET, S. D., 1956. *Biology of Root - Infecting Fungi*. Cambridge University Press, 230.

GARRET, C.M.E., PANAGOPOULOS, C.G. & GROSSE, J.E., 1966. Comparison of plant pathogenic Pseudomonads from fruit trees. *Journal of Applied Bacteriology*, **29**: 342-356.

GASKINS, M. H., ALBRECHT, S. L. & HUBBELL, D. H., 1985. Rhizosphere bacteria and their use to increase plant productivity: a review. *Agriculture Ecosystems and Environment*, **12**: 99-116.

GERLAGH, M., GOOSSEN-VAN DE GEIJN, H. M. & VERDAM, B., 1995. Biological control of white mould (*Sclerotinia sclerotiorum*) in various crops by application of *Coniothyrium minitans*. In: *Proceedings of the 3d IOBC/EFPP Workshop, Biological control of sclerotia-forming pathogens*. Warwickshire, UK. (In press)

GITAITIS, R. D., 1991. Bacterial Canker. In: Jones, J.B., Jones, J., Stall, R.E., Zitter, T.A., eds., *Compendium of Tomato Diseases*. APS Press, St. Paul, MN, USA, 25 - 26.

GITAITIS, R.D., BEAVER, R.W., 1987. A method for the rapid identification of *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense*. *Phytopathology*, **77**: 1694-1695 (abstr.).

GITAITIS, R.D., BEAVER, R.W., VOLOUDAKIS, A.E., 1991. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in symptomless tomato transplants. *Plant Disease*, **75**: 834-838.

GLEASON, M.L, GITAITIS, R.D. & RICKER, M.D., 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in eastern north America. *Plant Disease*, **77**: 1069-1076.

GLEASON, M. L., BRAUN, E. J, CARLTON, W. M., PETERSON, R. H., 1991. Survival and dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomatoes. *Phytopathology*, **81**: 1519-1523.

GREENBERGER, A.A., YOGEV, A. & KATAN, J., 1987. Induce suppressiveness in solarized soils. *Phytopathology*, **77**: 1663-1667.

GROSHEVOY, S.E., 1939. Disinfection of seed - bed soil in cold frames by solar energy. *Review of Applied Mycology*, **18**: 635-639.

GROVE, G.G. & CAMPBELL, R.N., 1987. Host range and survival in soil of *Pyrenochaeta*

*lycopersici*. *Plant Disease*, **71**: 806-809.

GUTTERSON, N., 1990. Microbial fungicides: recent approaches to elucidating mechanisms. *Critical Reviews of Biotechnology*, **10**: 69-91.

HARTZ, T.K., CARTER, W.W., & BRUTON, B.D., 1987. Failure of fumigation and solarization to control *Macrophomona phaseolina* and subsequent muskmelon vine decline. *Crop protection*, **6**: 261-264.

HIBBERD, A.M., HEATON, J.B., FINLAY, G.P., DULLAHIDE, S.R., 1992. A greenhouse method for selecting tomato seedlings resistant to bacterial canker. *Plant Disease*, **76**: 1004-1007.

HOWELL, C.R. & STIPANOVIC, R.D., 1979. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology*, **69**: 480-482.

HOWELL, C.R. & STIPANOVIC, R.D., 1980. Suppression of *Pythium ultimum*-induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology*, **70**: 712-715.

HORIUCHI, S. & HORI, M., 1983. Control of clubroot disease of crucifers with reference to the soil solarization technique. *JARQ, Japan Agricultural Research Quarterly*, **17**: 1-5.

HORIUCHI, S., HORI, M., TAKASHI, S. & SHIMIZU, K., 1983. Factors responsible for the development of clubroot - suppressing effect in soil solarization. *Bulletin of the Chugoku National Agricultural Experiment Station*, **20**: 25-48.

HURST, A.E., 1984. Reversible heat damage. In: Hurst, A. and Nasim, A. eds., *Repairable Lesions in Microorganisms*, Academic Press, New York.

KADO, C.I. & HESKETT, M.G., 1970. Selective media for *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, **60**: 969-976.

KAEWRUANG, W., SIVASITHAMPARAM, K. & HARDY, G. E., 1989. Use of soil solarization to control root rot in gerberas (*Gerbera jamesonii*). *Biology and Fertility of Soils*, **8**: 38 - 47.

- KAPETANAKIS, G.E., MALATHRAKIS, N.E. & LINARDAKIS, D.C., 1982. Control of corky root rot disease of tomato. In: *Proceedings of the 2d Conference of Protected Vegetables and Flowers*. Greece, Heraklion, 50.
- KATAN, J., 1987. Soil Solarization. In: Chet, I. ed., *Innovative Approaches to Plant Disease Control*. John Wiley & Sons, New York, 77-105.
- KATAN, J., 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. *Annual Review of Phytopathology*, **19**: 211-236.
- KATAN, J. & DEVAY, J.E., 1991. Soil Solarization: historical perspectives, principles and uses. In: Katan J., DeVay J.E., eds. *Soil Solarization*. CRC Press, Boca Raton, FL, 23-38.
- KATAN, J., GINZBURG, C. & FREEMAN, S., 1992. The weakening effect as a trigger for biological control and criteria for its evaluation. In: Tjamos E.C., Papavizas G.C. and Cook R.J. eds., *Biological Control of Plant Diseases. Progress and Challenges for the Future*. NATO ASI Series A, Life Sciences, Plenum Press **230** : 55-61.
- KATAN, J., DEVAY, J. E. & GREENBERGER, A., 1989. The biological control induced by soil solarization. In: Tjamos, E. C. and Beckman, C. H., eds., *Vascular wilt diseases of plants*. NATO ASI Series A. Springer-Verlag Press, **28**: 493-499.
- KATAN, J., GREENBERGER, A., ALON, H. & GRINSTEIN, A., 1976. Solar heating by polyethylene mulching for control of diseases caused by soil - borne pathogens. *Phytopathology*, **66**: 683-688.
- KEEL, C, SCHNIDER, U., MAURHOFER, VOISARD, C., LAVILLE, J., BURGER, U., WIRTHNER, D., HAAS, D. & DÉFAGO, G., 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHAO: Importance of the bacterial secondary metabolite 2, 4-diacetylphloroglucinol. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **5**: 4-13.
- KIM, K.K., FRAVEL, D.R. & PAPAVIDAS, G.C., 1988. Identification of a metabolite produced by *Talaromyces flavus* as glucose oxidase and its role in the biocontrol of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, **78**: 488-492.
- KING, E.O., WARD, M.K., & RANEY, D.E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorecin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **44**: 301-307.

KLOEPPER, J.W. & SCHROTH, M.N., 1981. Relationship of *in vitro* antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopathology*, **71**: 1020-1024.

KLOEPPER, J. W. & SCHROTH, M. N., 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. *Proceedings of the 4th International Conference of Plant Pathogenic Bacteria*. France, **2**: 879-882.

KLOEPPER, J.W., LIFSHITZ, R. & SCHROTH, M.N., 1988. *Pseudomonas* inoculants to benefit plant production. ISI Atlas of Science: *Animal and Plant Sciences*, **1**: 60-64.

ΚΟΡΝΑΡΟΥ, Ε. & ΤΖΑΜΟΣ, Ε.Κ., 1982. Μία σοβαρή σηψιρριζία στην τομάτα προκαλούμενη από το μύκητα *Pyrenochaeta lycopersici* στην Ελλάδα. Στο: *Περιλήψεις από το 2ο Συνέδριο Λαχανικών και Καλλοπιστικών Φυτών*. Ηράκλειο, Ελλάδα, 48 σελ.

KUC, J., 1983. Induced systematic resistance in plants to diseases caused by fungi and bacteria. In: Bailey, J.A. and Deverall eds., *The dynamics of host defense*. Academic Press, Sydney, 191-221.

LATTORRE, B.A. & NOME, H.F., 1970. Survival of the casual organism of tomato bacterial canker (*Corynebacterium michiganense*) in the soil. *Agricultura Technica*, **30**: 192 - 195.

LAYNE, R.E.C., 1967. Foliar trichomes and their importance as infection sites for *Corynebacterium michiganense* on tomato. *Phytopathology*, **57**: 981 - 985.

LEBEN, C., 1981. How plant-pathogenic bacteria survive. *Plant Disease*, **65**: 635-637.

LEEMAN, M., RAAIJMAKERS, J.M., VAN PELT, P.A.H.M. & SCHIPPERS, B., 1991. Control of fusarium wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens* WCS374, in greenhouse trials. In: Keel, C., Koller, B. and Défago, G. eds, *Plant growth -promoting rhizobacteria: progress and prospects*. Int. Org. Biol. Intergrated Control Nixious Anim. Plants / West Palaeartic Reg. Sec. Bull., **8**: 34-38.

LEISINGER, T. & MARGRAFF, R., 1979. Secondary metabolites of the fluorescent pseudomonads. *Microbiology Review*, **43**: 422-442.

LELLIOTT, R.A., 1988. *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*. In: Smith, I. M., Dunez, J., Lelliott, R. A., Phillips, D. H. and Archer, S. A., eds., *European Hand Book of plant*

*Diseases*. Blackwell Scientific Publications, 182-184.

LELLIOTT, R.A. & STEAD, D.E., 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. In: Preece, T. F., ed., *Methods in plant pathology*. Series 2, Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.

LEMANCEAU, P. & ALABOUVETTE, C., 1993. Suppression of fusarium wilts by fluorescent pseudomonads: mechanisms and applications. *Biocontrol Science and Technology*, **3**: 219-234.

LEMANCEAU, P. & ALABOUVETTE, C., 1991. Biological control of fusarium diseases by fluorescent pseudomonas and non pathogenic *Fusarium*. *Crop Protection*, **10**: 279-286.

LEONG, J., 1986. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, **24**: 187-209.

LIFSHITZ, R., KLOEPPER, J.W. & KOZLOWSKI, M., 1987. Growth promotion of canola (rapeseed) seedling by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. *Canadian Journal of Microbiology*, **33**: 343-345.

LODHA, S., 1989. Soil solarization for the control of *Macrophomina phaseolina* in arid soils. *Indian Phytopathology*, **42**: 171-172.

LOFFLER, H.J., VAN DEN BULK, R.W. & LINDHOUT, W.H., 1989. Breeding for resistance against *Clavibacter michiganensis* in tomato. In: *Proceedings of the 7th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*. Budapest, 11-16.

LOPER, J.E. & BUYER, J.S., 1991. Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Molecular Plant- Microbe Interactions*, **4**: 5-13.

LOPER, J.E. & SCHROTH, M.N., 1986. Influence of bacterial sources of indol-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Phytopathology*, **76**: 386-389.

LYNCH, J.M., 1990. Microbial metabolites. *The rhizosphere*. John Wiley and Sons, Chichester, 177-206 .

LYNCH, J.M., 1982. Interactions between bacteria and plants in the root environment. *Society of Applied Bacteriology Symptomatology Series*, **10**: 1-23.

LYNCH, J.M., 1976. Products of soil microorganisms in relation to plant growth. *CRC Critical Reviews of Microbiology*, **5**: 67-107.

LÜTH, P. & EIBEN, U., 1995. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* in oilseed rape and sunflower with the fungal antagonist *Coniothyrium minitans*. In: *Proceedings of the 3d IOBC/EFPP Workshop, Biological control of sclerotia-forming pathogens*. Warwickshire, UK. (In press)

MACLACHLAN, D.S., 1953. Fumigation of used bags with toxic gases for the control of bacterial ring rot of potato. *Canadian Journal of Agricultural Science*, **33**: 132-140.

MAI, W.F., BERT LEAR & BOOTHROYD, C.W., 1951. Ineffectiveness of methyl bromide for killing the casual organisms of ring rot and seed piece decay of potatoes. *Plant Disease Reporter*, **35**: 356-357.

ΜΑΛΑΘΡΑΚΗΣ, Ν.Ε., 1989. Χημική απολύμανση του εδάφους. *Δελτίο Ελληνικής Φυτοπαθολογικής Εταιρείας*, **2**, **3**: 103-138.

MALATHRAKIS, N.E. & KAMBOURAKIS - TZAGAROULAKIS, E., 1989. Control of tomato corky root rot by soil solarization in combination with soil fumigation. *Acta Horticulturae*, **255**: 205-211.

MALATHRAKIS, N.E. & LOULAKIS M.D., 1989. Effectiveness of type of polyethylene sheet on soil solarization. *Acta Horticulturae*, **255**: 235.

MALATHRAKIS, N.E., KAPETANAKIS, G.E. & LINARDAKIS, D.C., 1983. Brown root rot of tomato and its control in Crete. *Annals of Applied Biology*, **102**: 251-256.

MAROIS, J.J., JOHNSON, S.A., DUNN, M.T. & PAPAVIDAS, G.C., 1982. Biological control of *Verticillium* wilt of eggplant in the field. *Plant Disease*, **66**: 1166-1168.

MAROIS, J.J., FRAVEL, D.R. & PAPAVIDAS, G.C., 1984. Ability of *Talaromyces flavus* to occupy the rhizosphere and its interaction with *Verticillium dahliae*. *Soil Biology and Biochemistry*, **16**: 387-390.

MARTYN, R. D. & HARTZ, T. K., 1986. Use of Soil Solarization to control Fusarium wilt of watermelon. *Plant Disease*, **70**: 762 - 766.



- MCCAIN, A.H., BEGA, R.V., & JENKINSON, J.C., 1986. Effect of fall sowing and solar heating of soil on two conifer seedling diseases. *Tree Planters' Notes*, **37**: 17 - 20.
- MCGRATH, D.M. & CAMPBELL, R.N., 1983. Improved methods for inducing sporulation of *Pyrenochaeta lycopersici*. *Plant Disease*, **67**: 1245-1248.
- MCLAREN, D.L., HUANG, H.C. & RIMMER, S.R., 1986. Hyperparasitism of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Talaromyces flavus*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **8**: 43-48.
- MCLAREN, D.L., HUANG, H.C., RIMMER, S.R. & KOKKO, E.C., 1989. Ultrastructural studies on infection of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Talaromyces flavus*. *Canadian Journal of Botany*, **67**: 2199-2205.
- MENZIES, J.D. & DADE, CAROLINE E., 1959. A selective indicator medium for isolating *Streptomyces scabies* from potato tubers or soil. *Phytopathology*, **49**: 323-456.
- MICHAIL, J.D. & ALCORN, S.M., 1984. Effects of soil solarization on *Macrophomina phaseolina* and *Sclerotium rolfsii*. *Plant Disease*, **68**: 156 - 159.
- MILES, A.A. & MISRA, S.S., 1938. The estimation of the bactericidal power of the blood. *Journal of Hygiene, Cambridge*, **38**: 732-749.
- MILLER, H.J., HENKEN, G. & VAN VEEN, J.A., 1989. Variation and composition of bacterial populations in the rhizosphere of maize, wheat and grass cultivars. *Canadian Journal of Microbiology*, **35**: 656-660.
- MILLER, H.J., LILJEROTH, E., HENKEN, G. & VAN VEEN, J.A., 1990. Fluctuations in the fluorescent pseudomonads and actinomycetes populations of rhizosphere and rhizoplane during the growth of spring wheat. *Canadian Journal of Microbiology*, **36**: 254-258.
- MILLER, H.J., LILJEROTH, E., WILLEMSSEN-DE KLEIN, M.J.E.I.M., VAN VEEN, J.A., 1990. The dynamics of actinomycetes and fluorescent pseudomonads in wheat rhizoplane and rhizosphere. *Symbiosis*, **9**: 389-391.
- MILLER, P. M., 1955. V-8 juice agar as a general purpose medium for fungi and bacteria. *Phytopathology*, **45**: 461-482.

MORRIS, R.A.C., WHIPPS, J.M. & COLEY-SMITH, J.R., 1995. Biocontrol of different *Rhizoctonia solani* anastomosis groups with the mycoparasite *Verticillium biguttatum*. In: *Proceedings of the 3d IOBC/ EFPP Workshop, Biological control of sclerotia-forming pathogens*. Warwickshire, UK. (In press)

MUNNECKE, D.E. & FERGUSON, J., 1960. Effect of soil fungicides upon soil - borne plant pathogenic bacteria and soil nitrogen. *Plant Disease Reporter*, **44**: 552-555.

MUNNECKE, D.E., BRICKER, J.L. & KOLBEZEN, M.J., 1978. Comparative toxicity of gaseous methyl bromide to ten soil - borne phytopathogenic fungi. *Phytopathology*, **68**: 1210-1216.

OMAY, S.H., SCHMIDT, W.A. & MARTIN, P., 1993. Indolacetic acid production by the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* Cd under in vitro conditions. *Canadian Journal of Microbiology*, **39**: 187-192.

ΠΑΝΑΓΟΠΟΥΛΟΣ, Χ.Γ., 1995. *Ασθένειες Κηπευτικών Καλλιεργειών*. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα.

PULLMAN, G.S., DEVAY, J.E. & GARBER, R.H., 1981. Soil Solarization effects on Verticillium wilt of cotton and soil - borne populations of *Verticillium dahliae*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* and *Thielaviopsis basicola*. *Phytopathology*, **71**: 954 -959.

PUNITHALINGAM, E. & HOLLIDAY, P., 1973. *Pyrenochaeta lycoperici*. *CMI Descriptions of pathogenic fungi and bacteria*. Kew, 40, No, 398.

RAMIREZ-VIALPUDUA, J. & MUNNECKE, D.E., 1988. Effect of solar heating and soil amendments of cruciferous residues on *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* and other organisms. *Phytopathology*, **78**: 289-295.

RAPER, K.B. & FENNEL, D.I., 1965. *The Genus Aspergillus*. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.

REUVENI, R., KRIKUM, J., & SHANI, U., 1983. The role of *Monosporascus eutypoides* in a collapse of melon plants in an arid area of Israel. *Phytopathology*, **73**: 1223-1226.

RICKER, M.D., RIEDEL, R.M., 1993. Effect of secondary spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on yield of northern processing tomatoes. *Plant Disease*, **77**: 364-366.

RIES, S.M. & STROBEL, G.A., 1972. A phytotoxic glycopeptide from cultures of *Corynebacterium insidiosum*. *Plant Physiology*, **49**: 676-684.

SCHIPPERS, B., 1993. Exploitation of microbial mechanisms to promote plant health and plant growth. *Phytoparasitica*, **21**: 275-279.

SCHIPPERS, B., 1992. Prospects for management of natural suppressiveness to control soilborne pathogens. In: Tjamos, E. C., Papavizas, G. C. and Cook, R. J., eds., *Biological Control of Plant Diseases, Progress and Challenges for the Future*. NATO, ASI Series, A, Plenum Press, 21-34.

SCHIPPERS, B., BAKKER, A.W. & BAKKER, P.A.H.M., 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect on cropping practices. *Annual Review of Phytopathology*, **25**: 339-358.

SCHREIBER, L.R., GREGORY, G.F., KRAUSE, C.R. & ICHIDA, J.M., 1988. Production, partial purification and antimicrobial activity of novel antibiotic produced by *Bacillus subtilis* isolated from *Ulmus americana*. *Canadian Journal of Botany*, **66**: 2338-2346.

SESAN, T. E. & CSÉP, N., 1995. Investigations on *Coniothyrium minutans* to control diseases of industrial crops caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. In: *Proceedings of the 3d IOBC/EFPP Workshop, Biological control of sclerotia-forming pathogens*. Warwickshire, UK. (In press)

SHISHKOFF, N. & CAMPBELL, R.N., 1990. Survival of *Pyrenochaeta lycopersici* and the influence of temperature and cultivar resistance on the development of corky root rot of tomato. *Plant Disease*, **74**: 889-894.

SZTEJNBERG, A., FREEMAN, S., CHET, I., & KATAN, J., 1987. Control of *Rosellinia necatrix* in soil and in apple orchard by solarization and *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease*, **71**: 365-373.

SINHA, A.K. & WOOD, R.K.S., 1968. Studies on the nature of resistance in tomato plants to *Verticillium albo-atrum*. *Annals of Applied Biology*, **62**: 319-327.

SLUSARSKI, C. & SKIERKOWSKI, J., 1983. Effectiveness of methylisothiocyanate fumigants and some problems encountered with their use in greenhouse tomato growing in Poland. *Acta Horticulturae*, **152**: 27-34.

STAPLETON, J.J., 1981. *Population dynamics of soil - borne bacteria and fungi as influenced by soil solarization with emphasis on Agrobacterium spp.*. University of California, Davis, M. S. Thesis.

STAPLETON, J.J. & DEVAY, J.E., 1982. Effect of soil solarization on populations of selected soilborne microorganisms and growth of deciduous fruit trees seedlings. *Phytopathology*, **72**: 323-326.

STAPLETON, J.J. & DEVAY, J.E., 1984. Thermal components of soil solarization as related to changes in soil and root microflora and increased plant growth response. *Phytopathology*, **74**: 255-259.

STAPLETON, J.J. & DEVAY, J.E., 1986. Soil solarization: a non-chemical approach for management of plant pathogens and pests. *Crop Protection*, **5**: 190-198.

STAPLETON, J.J. & GARZA - LOPEZ, J.G., 1988. Mulching of soils with transparent (solarization) and black polyethylene films to increase growth of annual and perennial crops in southwestern Mexico. *Tropical Agriculture*, **65**: 29-33.

STAPLETON, J.J. & HEALD, C.M., 1991. Management of phytoparasitic nematodes by soil solarization. In: Katan J., DeVay J.E., eds. *Soil Solarization*. CRC Press, Boca Raton, FL, 51-61.

STEVENS CLAUZELL, KHAN, V.A., BROWN, J. E., HOCHMUTH, G.J., SPLITTSTOESSER, W.E. & GRANBERRY, D.M., 1991. Plastic chemistry and technology as related to plasticulture and solar heating of soil. In: Katan J., DeVay J. E. eds. *Soil Solarization*. CRC Press, Boca Raton, FL, 141-158.

STOLK, A.C. & SAMSON, R.A., 1972. *The genus Talaromyces: Studies on Talaromyces and related Genera II*. Studies in Mycology No 2 Institute of the Royal Netherlands Academy of Sciences and Letters.

STRIDER, D.L., 1967. Survival studies with the tomato bacterial canker organism. *Phytopathology*, **57**: 1067-1071.

STRIDER, D.L., 1969. *Bacterial canker of tomato caused by Corynebacterium michiganense. A literature review and bibliography*. North Carolina Agricultural Experiment Station.

Williamson, J.C., Acting Director of Research.

SUTHERLAND, I.W., 1972. Bacterial exopolysaccharides. In Rose A.H., Tempest D.W. eds. *Advances in Microbial Physiology*. London: Academic, 294p.

SÚLE, S., 1988. Induced resistance in tomato against *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense* by prior inoculation with *Pseudomonas syringae* pathovars. *Journal of Phytopathology*, **122**: 343-350.

TZAMOS, E.K., 1989. Η ηλιοαπολύμανση ως εναλλακτική μέθοδος απολυμάνσεως του εδάφους. *Δελτίο Ελληνικής Φυτοπαθολογικής Εταιρείας*, **2, 3**: 138-157.

TZAMOS, E.K. & ΦΑΡΙΔΗΣ, Α., 1982. Αντιμετώπιση ασθενειών εδάφους στα λαχανικά και στο βαμβάκι με την αξιοποίηση της ηλιακής ενέργειας. *Γεωργική Έρευνα*, **6**: 393-401.

THOMASHOW L.S. & WELLER, D.M., 1988. Role of phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Journal of Bacteriology*, **178**: 3499-3508.

THOMASHOW L.S. & WELLER, D.M., 1991. Role of antibiotics and siderophores in biological control of take-all disease of wheat. In: Keister, D.L. and Cregan eds., *The rhizosphere and plant growth*. Kluwer Academic Publishers, 245-253.

THOMPSON, E., LEARY, J.V., CHUN, W.W.C., 1989. Specific detection of *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* by a homologous DNA probe. *Phytopathology*, **79**: 311-314.

THYR, B.D, SAMMEL, M.J. & BROWN P.G., 1975. New solanaceous host records for *Corynebacterium michiganense*. *Plant Disease Reporter*, **59**: 595-598.

TJAMOS, E.C., 1983. Prospects for controlling *Verticillium wilt* of orchards by soil solarization. In: *Proceedings of the 1st Hellenique Congress of Plant Diseases and Pests*. Athens, 17p.

TJAMOS, E.C., 1984. Control of *Pyrenochaeta lycopersici* by combined soil solarization and low dose of methyl bromide in Greece. *Acta Horticulturae*, **152**: 253-258.

TJAMOS, E.C., 1991. Soil solarization in Greece. In: Katan, J., DeVay, J. E., eds. *Soil*

*Solarization*, CRC Press, Boca Raton, FL, 205-214.

TJAMOS, E.C., 1992. Selective elimination of soilborne plant pathogens and enhancement of antagonists by steaming, sublethal fumigation and soil solarization. In: Tjamos E.C., Papavizas G.C. and Cook R.J. eds., *Biological Control of Plant Diseases. Progress and Challenges for the Future*. NATO ASI Series A, Life Sciences, Plenum Press, **230**: 1-15 .

TJAMOS, E.C., 1995. Chemical treatment and soil solarization for management of soil - borne diseases. In: *Management of soil - borne diseases*. (Υπό δημοσίευση).

TJAMOS, E.C. & FARIDIS, A., 1980. Control of soil - borne pathogens by solar heating in plastic houses in Greece. In: *Proceedings of the 5th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*. Patras, 82-84.

TJAMOS, E.C. & PAPLOMATAS, E.J., 1987. Effect of soil solarization on the survival of fungal antagonists of *Verticillium dahliae*. *EMPOB Eur. Mediterr. Plant Prot. Organ. Bull.*, **17**: 645-653.

TJAMOS, E.C. & PAPLOMATAS, E.J., 1988. Long - term effect of soil solarization in controlling *Verticillium* wilt of globe artichokes in Greece. *Plant Pathology*, **37**: 507-515.

TJAMOS, E.C. & MAKRYNAKIS, N., 1990. Control of fungal wilt diseases of melon by application of soil solarizatin. *Proceedings of the 8th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*. Marocco, 423-425.

TJAMOS, E.C. & NIKLIS, N., 1990. Synergism between soil solarization and *Trichoderma harzianum* preparations in controlling *Fusarium* wilt of beans. In: *Proceedings of the 8th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*. Marocco, 145-146.

TJAMOS, E.C. & SKRETIS, L.C., 1990. Establishment of applied or increase of natural *Verticillium dahliae* antagonists in solarized or untreated soils. *Proceedings of the 5th International Verticillium Symposium*. Lenigrad, USSR.

TJAMOS, E.C., PAPLOMATAS, E.J. & BIRIS, D.A., 1987. Recovery of *Verticillium* - wilted olive trees after individual application of soil solarization. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **9**: 86-87.

TJAMOS, E.C., PAPLOMATAS, E.J. & FOUNDAS, D., 1987. Control of *Verticillium* wilt of

artichokes by solar heating or combination of solar heating with reduce dose of methyl bromide. In: Proceedings of the Meet. E. C. Experts Group on Intergrated and control in protected crops. Cavalloro, R. Ed., Balkema, A. A., 239-242.

TJAMOS, E.C., PAPLOMATAS, E.J. & BIRIS, D.C, 1988. Long-lasting symptom remission in Verticillium wilted olive trees after soil solarization. In: *Proceedings of the 3d International Congress of Plant Pathology*. Kyoto, Japan 213p.

TJAMOS, E.C., KARAPAPPAS, V. & BARDAS, D., 1989. Low cost application of soil solarization in covered plastic houses for the control of Verticillium wilt of tomatoes in Greece. *Acta Horticulturae*, **255**: 139-149.

TJAMOS, E.C., BIRIS, D.A. & PAPLOMATAS, E.J., 1991. Recovery of olive trees from Verticillium wilt after individual application of soil solarization in established olive orchards. *Plant Disease*, **75**: 557 - 562.

TREVORS, J.T., & FINNEN, R.L., 1990. Introduction and recovery of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from agricultural soil. *Plant and Soil*, **126**: 141-143.

TRIOLO, E., VANNACCI, G. & MATERAZZI, A., 1988. Solar heating of soil in vegetable production. Part 2. studies on possible mechanisms of the effect. *Colture Protette*, **17**: 59-62.

ΤΣΙΑΝΤΟΣ, Ι., 1987. Επίδραση τύπου χώματος και λίπανσης στο βακτηριακό έλκος της τομάτας (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*). Περιλήψεις από το 4ο Πανελλήνιο Φυτοπαθολογικό Συνέδριο. Αθήνα, 58σελ.

TSIANTOS, J., 1987a. Epiphytic survival of *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense* on tomato leaves. *Microbiology Letters*, **34**: 59-66.

TSIANTOS, J., 1987b. Transmission of bacterium *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense* by seeds. *Journal of Phytopathology*, **119**: 142-146.

TUZUN, S. & KLOEPPER, J.W., 1994. Induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. In: Ryder, M.H. Stephens, P.M. and Bowen, G.D., eds., *Improving plant productivity with rhizosphere bacteria*. CSIRO Division of soils, Glen Osmond, 104-109.

YITZHAK, M., 1991. Physical principles of solar heating of soils by plastic mulching in the field and in glass houses and simulation models. In: Katan J., DeVay JE, eds. *Soil Solarization*.

CRC Press, Boca Raton, FL, 75-86.

USMANI, S.M.H. & GHAFAR, A., 1982. Polyethylene mulching of soil to reduce viability of sclerotia of *Sclerotium oryzae*. *Soil Biology and Biochemistry*, **14**: 203-206.

VAN DEN BOOGERT, P.H. J. F. & LUTTIKHOLT, A.J.G., 1995. Biological control of black scurf of potato using the mycoparasitic fungus *Verticillium biguttatum*. In: *Proceedings of the 3d IOBC/ EFPP Workshop, Biological control of sclerotia-forming pathogens*. Warwickshire, UK. (In press)

VAN DEN BULK, R.W., LÖFFLER, H.J.M., & DONS, J.J.M., 1989. Effect of phytotoxic compounds produced by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on resistant and susceptible tomato plants. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, **95**: 107-117.

VANCURA, V., 1980. Fluorescent pseudomonads in the rhizosphere of plants and their relation to root exudates. *Folia Microbiologia*, **25**: 168-173.

VAN DEN BULK, R.W., JANSEN, J., LINDHOUT, W.H., & LOFFLER, H.J.M., 1991. Screening of tomato somaclones for resistance to bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*). *Plant Breeding-Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, **107**:190-196.

WAKSMAN, S.A., 1961. *The Actinomycetes, Vol. II, Classification, identification and descriptions of genera and species*. Williams and Wilkins, Baltimore.

WAKSMAN, S.A., 1967. *The Actinomycetes: A summary of Current Knowledge*. Ronald Press, New York.

WEI, G., KLOPPER, J.W. & TUZUN, S., 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by selected strains of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, **81**: 1508-1512.

WELLER, D. M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, **26**: 379-407.

WELLER, D. M. & SAETTLER, A.W., 1977. Rifampin-resistant *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* and *Xanthomonas phaseoli*: Tools for field study of bean blight bacteria. *Phytopathology*, **68**: 778-781.



WHIPPS, J.M., 1995. Future approaches for the biocontrol of *Sclerotinia* spp. In: *Proceedings of the 3d IOBC/ EFPP Workshop, Biological control of sclerotia-forming pathogens*. Warwickshire, UK. (In press)

ΧΟΛΕΒΑΣ, Κ.Δ., ΓΑΒΑΛΑΣ, Ν.Α., ΧΙΤΖΑΝΙΔΟΥ Α., ΚΟΥΓΕΑ Η., ΤΖΑΜΟΣ, Ε.Κ., ΠΑΠΠΑΣ, Α.Χ., ΕΛΕΝΑ, Κ., ΘΕΟΧΑΡΗ, Ι., ΚΟΡΝΑΡΟΥ, Ε., ΠΑΝΑΓΟΠΟΥΛΟΣ Χ.Γ., ΨΑΛΛΙΔΑΣ, Π.Γ., ΑΛΙΒΙΖΑΤΟΣ, Α.Σ., ΚΥΡΙΑΚΟΠΟΥΛΟΥ, Π.Η, & ΜΠΕΜ, Φ., 1990. Ασθένειες καλλιεργούμενων φυτών που παρατηρήθηκαν στην Ελλάδα κατά την περίοδο 1970 έως 1980. *Χρονικά Μπεννακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου*, **16**: 1-82.

XU, G.W. & GROSS, D.C., 1986. Selection of fluorescent pseudomonads antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of tomato seed piece decay. *Phytopathology*, **76**: 414-422.

## SUMMARY

Corky root rot of tomato caused by *Pyrenochaeta lycopersici* and bacterial canker of tomato caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* are two serious diseases of greenhouse tomatoes in Western Greece and other region of the country. Disease control of these pathogens is mainly based on chemical disinfection of the soil with methyl bromide without any success in the case of the bacterial canker of tomato.

The purpose of the present study, the experimental part of which took place in plastic houses in Preveza region, in experimental fields of the Agricultural University of Athens and in the Laboratory of Plant Pathology of the same University, was to evaluate the effectiveness of soil solarization alone or in comparison with methyl bromide fumigation in controlling soilborne pathogens.

This study was focused on three parts referring to:

a) the sensitivity of sclerotia or fungal inocula of *Pyrenochaeta lycopersici* to soil solarization and the effectiveness of the method in controlling the pathogen in plastic tomato cultivations.

b) the three-year evaluation of soil solarization in controlling of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* with parallel investigation of the sensitivity of the inocula of the pathogen to the application of soil solarization and methyl bromide fumigation, and

c) the effect of soil solarization on the fluctuation of natural populations of rhizosphere bacteria or fungi from soil of tomato plants which could be potential antagonists of soilborne pathogenic fungi or *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

This study demonstrated, for the first time internationally, the thermal sensitivity of sclerotia of the fungus *Pyrenochaeta lycopersici* incorporated into the soil before the application of the method and the sensitivity of its natural inocula at temperatures developed during soil solarization. Furthermore, it reconfirmed the effectiveness of the method in controlling corky root rot of tomato demonstrating that consecutive application of the method

could be more efficient compared with methyl bromide soil fumigation.

This study provides evidence for the first time in literature world wide that a serious bacterial disease, like bacterial canker of tomato, could be successfully controlled by the application of soil solarization. The steady effectiveness of the method upon three continuously applications (three different cropping seasons) and in many experimental plots demonstrated that the temperatures developed during soil tarping are sufficient to reduce significantly or eliminate bacterial inocula. This have been proved directly for inocula which have been grown into glass vials or infiltrated into tomato stem segments and incorporated into the soil during various treatments. On the contrary, methyl bromide soil fumigation at the recommended rates of 70 g / m<sup>2</sup> did not control the disease and various combinations of methyl bromide doses and plastic sheets did not affect the populations of the pathogen in soil.

As for the influence of various methods of soil fumigation to the bacterial and fungal microflora, the following were found out: The annually repeated application of soil solarization affected positively the survival and the increase of tomato rhizosphere bacterial population belonging to the genera *Bacillus*, fluorescent Pseudomonads and to the *Streptomyces* group in contrast to the variable and frequently negative influence of methyl bromide application. Referring to the influence of the treatments to the fungi of the genera *Talaromyces* and *Aspergillus*, previous data on survival and increase of the populations of the species *Talaromyces flavus* and *Aspergillus terreus* after the application of soil solarization was confirmed as well as the negative influence of the technique on the survival of natural populations of *Aspergillus ochraceus*.

**ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΙΗΘΗΚΑΝ (INDEX)**

- Άγαρ, **61**  
 Άγαρ (Oxoid, Unipath, Hampshire, U.K.), **150**  
 Ακετόνη, **156**  
 Αμπικιλλίνη- Ampicillin, cryst. research grade, (Serva 13397), **101, 113, 115**  
 Botran, **156**  
 Βορικό οξύ- Boric acid, cryst. GR, (Merk Darmstadt- 165), **104**  
 Bovine (Ox gall powder), **156**  
 CaCO<sub>3</sub>-Powder, analytical reagent, (Mallinckrodt Chemical Works), **62**  
 CuSO<sub>4</sub> . 5 H<sub>2</sub>O, **157**  
 Γλυκερόλη- Γλυκερίνη- Glycerol analytical grade (Serva Feinbiochemica Heidelberg- 23175), **101, 149**  
 Δεξτρόζη- Dextrose, analytical reagent, granular (Mallinckrodt Chemical Works), **61**  
 Εκχύλισμα ζύμης- Yeast extract, **104, 149**  
 ZnSO<sub>4</sub> . 7H<sub>2</sub>O, **157**  
 Θειϊκή στρεπτομικίνη- Streptomycin sulfate, research grade, 756 U/ mg (Serva-35500), **62, 65, 156**  
 Θρεπτικός ζωμός- Nutrient Broth, (Oxoid, Unipath, Hampshire, U.K.), **101**  
 FeSO<sub>4</sub> . 7H<sub>2</sub>O, **157**  
 Καναμυκίνη- Kanamycin sulfate, research grade (Serva-26898 ), **101, 113**  
 Κυκλοεξαμίδη- Cycloheximide- Actidione, cryst. pure (Serva Feinbiochemica Heidelberg- 10700), **101, 104, 113,**  
 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>- analyse GR (Merk Darmstadt- 5104), **104**  
 KCl, **156**  
 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>- analyse GR (Merk Darmstadt- 4873), **104**  
 L-Τυροσίνη, **149**  
 MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O- crystals (Merk Darmstadt- 5959), **104**  
 MnSO<sub>4</sub> . 4H<sub>2</sub>O, **157**  
 Μυκοστατίνη, **156**  
 Na<sub>2</sub> MoO<sub>4</sub> . 2H<sub>2</sub>O, **157**  
 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>- lab. 98 % (Merk Darmstasd- 6586), **104**  
 NAG, **101**  
 NAGKC, **101**  
 NAGRAC, **101**  
 NaNO<sub>3</sub>, **149**  
 Νικοτινικό οξύ- Nicotinic acid, free acid, anhydrous (Sigma Chmical Company - 4126), **104**  
 Ναλιδιξικό οξύ- Nalidixic acid, free acid, anhydrous, (Sigma Chemical Company - 8878), **104**  
 Πεπτόνη, **91, 149**  
 Πεπτόνη βακτηριολογική, **150**  
 Πιμαρισίνη- Pimaricin, for biochemistry (Merk Darmstadt-7360), **156**  
 Ριφαμπικίνη- Rifampicin, research grade, ((Serva Feinbiochemica Heidelberg -34514), **113, 115**  
 Ρόδινο της Βεγγάλης-Rose Bengal sodium salt, 90 % (Sigma Gmbh & Co-R3877), **62**  
 Σακχαρόζη- Saccarose, research grade (Serva Feinbiochemica Heidelberg-35580), **104, 149**  
 Τελουράδες νάτριο- Potasium Telluride, for Microbiology, (Maerk Darmstadt- ), **104**  
 Τετρακυκλίνη- Tetracycline HCl, research grade, (Serva Feinbiochemica Heidelberg - 35866), **62**  
 Τριαντιμεφόν - Triadimephon, 93,6 %, (Bayer- 6447), **62**  
 V8, **62**  
 Χλωρονέμπ- Chloroneb, analytical standard 99 % (DuPont), **62**  
 Χλωροτετρακυκλίνη, **156**  
 Χλωραμφαινικόλη- Chloramphenicol, Pharm., Control B, (Serva Feinbiochemica Heidelberg- 16785), **62**  
 Υδρολυόμενη καζεΐνη, **149**

**«γραμμικόν»**

χαρτικά - ειδη σχεδιάσεως  
φωτοτυπίες - βιβλιοδεσίες - πλαστικοποιήσεις  
φωτοαντίγραφα ΕΓΧΡΩΜΑ διπλής όψεως  
φωτοτυπίες σχεδίου με κλίμακα %

1ο κατάστημα: Τζωρτζ 34 & Στουρνάρη τηλ. 3602376  
2ο κατάστημα: Ηρώων Πολυτεχνείου 72 τηλ. 7786771