



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

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ  
& ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Αξιολόγηση βιολογικών παραγόντων για την αντιμετώπιση του μύκητα  
*Rhizoctonia bicornis* σε φυτά *Stevia rebaudiana*



**Γεώργιος Χρυσοβαλάντης Γ. Καραγκούνης**

Επιβλέπων καθηγητής:  
Επαμεινώνδας Παπλωματάς, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ 2023**

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

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Αξιολόγηση βιολογικών παραγόντων για την αντιμετώπιση του μύκητα  
*Rhizoctonia bicornis* σε φυτά *Stevia rebaudiana*

“Evaluation of biological control agents against the fungus  
*Rhizoctonia bicornis* on *Stevia rebaudiana* plants”

**Γεώργιος Χρυσοβαλάντης Γ. Καραγκούνης**

Εξεταστική Επιτροπή:

Παπλωματάς Επαμεινώνδας, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Τζάμος Σωτήριος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Αλίκη Τζίμα, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

## Αξιολόγηση βιολογικών παραγόντων για την αντιμετώπιση του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* σε φυτά *Stevia rebaudiana*

ΠΜΣ Ολοκληρωμένα Συστήματα Φυτοπροστασίας & Διαχείρισης του Περιβάλλοντος  
Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής  
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας

### Περίληψη

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη και η ταυτοποίηση μυκήτων που προκαλούν τήξεις σπορίων σε φυτά στέβιας και πιο συγκεκριμένα μυκήτων του γένους *Rhizoctonia*, αλλά και η αξιολόγηση εμπορικών σκευασμάτων που περιέχουν γένη του μύκητα *Trichoderma* σε φυτά στέβιας. Η στέβια αποτελεί μία από τις πιο ανερχόμενες καλλιέργειες των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών στην Ελλάδα, με τη σημαντικότερη παρουσία της στην περιοχή της Λαμίας, στο νομό Φθιώτιδας. Τα αγροτεμάχια της καλλιέργειας βρίσκονται διάσπαρτα σε πολλά χωριά του νομού κοντά στο Σπερχειό ποταμό. Τήξεις φυταρίων, μαράνσεις λαιμού και νεκρώσεις του ριζικού συστήματος που κατέληγαν σε ημιπληγία ή ολική νέκρωση των φυτών, παρατηρήθηκαν έπειτα από επιθεώρηση σε χωράφια κοντά στο χωριό Λυγαριά. Από τη δειγματοληψία αυτών των φυτών διαπιστώθηκε εκτεταμένο λευκό μυκήλιο στο ριζικό σύστημα των φυτών. Τα εδάφη της περιοχής αυτής χαρακτηρίζονται ως μέσης έως βαριάς σύστασης και παρουσιάζουν κακή αποστράγγιση των υδάτων. Από την παρατήρηση σε οπτικό μικροσκόπιο φάνηκαν χαρακτηριστικές κάθετες, κυλινδρικές υφές με σέπτα και στένωση όμοια με αυτές του μύκητα του γένους *Rhizoctonia*. Ο μύκητας καλλιεργήθηκε σε θρεπτικό μέσο Ko and Hora και στη συνέχεια ακολούθησε ο μοριακός χαρακτηρισμός του μέσω PCR με χρήση του γενικευμένου ζεύγους εκκινητών ITS4/ITS5. Τα αποτελέσματα της αλληλούχησης των απομονώσεων έδειξαν ομολογία της ITS περιοχής σε ποσοστό 99,84% με το είδος *Rhizoctonia bicornis* BN AG-G (GenBank Accession MG515370.1). Για την επιβεβαίωση της συμβολής του συγκεκριμένου μύκητα στην ανάπτυξη ασθένειας, πραγματοποιήθηκε πείραμα παθογένειας σε σπορόφυτα στέβιας και εν συνεχεία απομόνωση του μικροοργανισμού. Οι αρχές του Koch επιβεβαίωσαν ότι ο συγκεκριμένος μύκητας που απομονώθηκε ήταν ο *Rhizoctonia bicornis* και ήταν το παθογόνο που προκάλεσε την ασθένεια στα φυτά στέβιας. Στη συνέχεια, αξιολογήθηκαν τα εμπορικά σκευάσματα, Vintec και Trianum-P, που εμπεριέχουν στελέχη του μύκητα *Trichoderma atroviride* SC-1 και *Trichoderma harzianum* T-22, αντίστοιχα, ως προς την ικανότητα τους να προστατεύουν τα νεαρά σπορόφυτα ενάντια στο μύκητα *Rhizoctonia bicornis* και την επαγωγή αύξησης της ανάπτυξης των φυτών στέβιας. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι και τα δύο εμπορικά σκευάσματα είχαν πολύ καλά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση του παθογόνου μύκητα. Το σκεύασμα Vintec έδειξε την καλύτερη επαγωγή αύξησης στην ανάπτυξη των φυτών στέβιας τόσο στο υπέργειο νωπό βάρος του φυτού όσο και στο νωπό βάρος της ρίζας, ενώ φυτά με εφαρμογή από το σκεύασμα Trianum-P είχαν καλύτερη ανάπτυξη από τα φυτά μάρτυρες. Έως και σήμερα, αυτή είναι η πρώτη αναφορά του παθογόνου μύκητα *Rhizoctonia bicornis* που προκαλεί τήξεις σε φυτά στέβιας στην Ελλάδα και πιθανώς και στην Ευρώπη.

**Επιστημονική περιοχή:** Φυτοπαθολογία

**Λέξεις κλειδιά:** Στέβια, *Rhizoctonia bicornis* AG-G, *Trichoderma atroviride* SC-1, *Trichoderma harzianum* T-22, βιολογική αντιμετώπιση, επαγωγή ανάπτυξης

## **Evaluation of biological control agents against the fungus *Rhizoctonia bicornis* on *Stevia rebaundiana* plants**

*MSc Integrated Plant Protection & Environmental Management Systems*  
*Department of Crop Science*  
*Laboratory of Plant Pathology*

### **Abstract**

The aim of this study was to study and identify the causal agents of stevia damping off disease, and more specifically members of the genus *Rhizoctonia*, and to evaluate commercial formulations containing fungi of genus *Trichoderma* against this pathogen in stevia plants. Stevia is an emerging crop in Greece, included in the aromatic and medicinal plants. It is mostly cultivated in the area of Lamia, Fthiotida prefecture. The crop fields are scattered throughout the whole region, in many villages of the prefecture near the river Sperchios. Sudden wilts, stem lesions and root necrosis leading to half or whole plant's death were observed after inspection in fields near the village of Ligaria. Sampling of these plants revealed extensive white mycelium on the root system of the plants. Soil in this area is characterized as medium to heavy and is of poor water drainage. Microscopic observations revealed characteristic vertical textures with septa and constriction similar to those of the fungus of the genus *Rhizoctonia*. The fungus was isolated and cultured in Ko and Hora nutrient medium, and was molecularly characterized by PCR using the universal ITS4/ITS5 primer set. The sequencing of the isolates included in this study revealed a 99.84% identity with the fungus *Rhizoctonia bicornis* BN AG-G (GenBank Accession MG515370.1). Pathogenicity assays in young stevia plantlets, and isolation of the pathogen from symptomatic tissues were carried out to confirm pathogenicity of *Rhizoctonia bicornis*. Inoculated plants produced the typical disease symptoms, and the pathogen was recovered from diseased plants, fulfilling Koch's postulates. The commercial products, Vintec and Trianium-P, containing the strains *Trichoderma atroviride* SC-1 and *Trichoderma harzianum* T-22, were subsequently evaluated for disease suppression caused by *Rhizoctonia bicornis* and promotion of stevia plant growth increment. The results showed that both commercial products were able to control the pathogenic fungus. The commercial product Vintec was more effective in promoting the growth of stevia plants in both aboveground fresh weight of the plant and fresh weight of the root system, while plants treated with Trianium-P showed significant differences in growth compared to the mock treated plants. To our knowledge this is the first report of *Rhizoctonia bicornis* as the causal agent of damping off disease of stevia in Greece and probably in Europe.

**Scientific area:** Plant Pathology

**Key words:** Stevia, *Rhizoctonia bicornis* AG-G, *Trichoderma atroviride* SC-1, *Trichoderma harzianum* T-22, biological treatment, growth promotion

## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Παπλωματά Επαμεινώνδα, στον υποψήφιο διδάκτορα Τσούκα Χρήστο και στο Βασίλη Δημητρακά για τη βοήθεια, την υποστήριξη και την υπομονή που επέδειξαν κατά την εκπόνηση της παρούσας εργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επιπρόσθετα τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Τζάμο Σωτήριο και την επίκουρη καθηγήτρια κα. Τζίμα Αλίκη, όπου μαζί με τον επιβλέποντά μου κ. Παπλωματά Επαμεινώνδα, αποτελούν την τριμελή επιτροπή της διπλωματικής μου διατριβής.

Επίσης θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλα τα μέλη του εργαστηρίου της Φυτοπαθολογίας για την υποδοχή, την συνεργασία και την υποστήριξη τους. Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους συναδέλφους μου και συνεργάτες σε αυτή την διατριβή.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον πολύ καλό μου φίλο, συμφοιτητή από το προπτυχιακό μας στη γεωπονική σχολή του Α.Π.Θ. και συμφοιτητές στο παρών μεταπτυχιακό, Ορέστη Λιανό για την πολύτιμη βοήθειά του. Θα ήθελα να ευχαριστήσω και όλα τα μέλη του Αγροτικού Συνεταιρισμού "Στέβια Ελλάς" από τους παραγωγούς έως και τα μέλη του Δ.Σ.

Τέλος και πιο σημαντικό, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους γονείς μου και τον αδερφό μου διότι χωρίς την στήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια τίποτα δεν θα ήταν εφικτό.

---

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ABSTRACT

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1.1 Καλλιέργεια του φυτού στέβια .....	8
1.1.1 Συνθήκες και μορφολογία φυτού .....	11
1.1.2 Προετοιμασία του εδάφους .....	13
1.1.3 Σπορά.....	14
1.1.4 Μεταφύτευση .....	15
1.1.5 Συγκομιδή.....	15
1.1.6 Λίπανση .....	17
1.1.7 Άρδευση.....	18
1.1.8 Διαχείριση ζιζανίων.....	20
1.1.9 Φυτοπροστασία .....	21
1.1.10 Γλυκοζίτες στεβιόλης .....	22
1.1.11 Εμπορική χρήση .....	24
1.2 Παθογόνοι μικροοργανισμοί .....	25
1.2.1 Παθογόνοι μύκητες.....	26
1.2.2 Παθογόνα βακτήρια.....	40
1.2.3 Ιοί.....	42
1.3 Βιολογική αντιμετώπιση.....	44
1.3.1 Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR).....	45
1.3.2 Plant Growth Promoting Fungi (PGPF) .....	47
1.3.3 <i>Trichoderma harzianum</i> T-22 .....	49
1.3.4 <i>Trichoderma atroviride</i> strain SC1.....	51
1.4 Σκοπός της εργασίας.....	52
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	53
2.1 Απομόνωση και καλλιέργεια του μύκητα <i>Rhizoctonia bicornis</i> BN AG-G...53	
2.2 Απομόνωση DNA & κατακρήμνιση .....	55
2.3 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR).....	56

2.4 Ηλεκτροφόρηση .....	57
2.5 Προετοιμασία παθογόνου .....	57
2.6 Πείραμα παθογένειας .....	57
2.7 Προετοιμασία μυκήτων του γένους <i>Trichoderma</i> .....	58
2.8 <i>In vitro</i> αξιολόγηση των στελεχών του γένους <i>Trichoderma</i> έναντι του μύκητα <i>Rhizoctonia bicornis</i> .....	58
2.9 Βιολογική αντιμετώπιση <i>In planta</i> του μύκητα <i>Rhizoctonia bicornis</i> με στελέχη μυκήτων του γένους <i>Trichoderma</i> .....	58
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	60
3.1 Αποτελέσματα ταυτοποίησης του μύκητα <i>Rhizoctonia bicornis</i> .....	60
3.2 Αποτελέσματα δοκιμών παθογένειας .....	61
3.3 Αποτελεσματικότητα παθογόνου ικανότητας του μύκητα <i>Rhizoctonia</i> <i>bicornis</i> σε φυτά στέβιας .....	63
3.4 <i>In vitro</i> αξιολόγηση των μυκήτων του γένους <i>Trichoderma</i> έναντι του μύκητα <i>Rhizoctonia bicornis</i> .....	64
3.5 <i>In planta</i> επίδραση των μυκήτων του γένους <i>Trichoderma</i> στην αντιμετώπιση του μύκητα <i>Rhizoctonia bicornis</i> και στην ανάπτυξη των φυτών.....	69
3.6 <i>In planta</i> επίδραση των μυκήτων του γένους <i>Trichoderma</i> στις παραμέτρους αύξησης και ανάπτυξης των φυτών.....	71
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	76
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	80
Ξενόγλωσση βιβλιογραφία .....	80
Ελληνική βιβλιογραφία .....	91

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Καλλιέργεια του φυτού στέβια

Η στέβια είναι ένα φυσικό γλυκαντικό και υποκατάστατο της ζάχαρης που προέρχεται από τα φύλλα του φυτικού είδους *Stevia rebaudiana*, το οποίο ενδημεί στην Παραγουάη και τη Βραζιλία.

Οι δραστικές ενώσεις που περιέχονται στα φύλλα είναι οι γλυκοζίτες στεβιόλης (κυρίως στεβιοσίδη και ρεμπαουδιοσίδη), οι οποίες έχουν περίπου 50 έως 300 φορές τη γλυκύτητα της ζάχαρης, είναι θερμοσταθερές, σταθερές στο pH και δεν ζυμώνονται. Το ανθρώπινο σώμα δε μεταβολίζει τους γλυκοζίτες της στέβιας, οπότε περιέχει μηδενικές θερμίδες ως μη θρεπτικό γλυκαντικό. Η γεύση της στέβιας έχει πιο αργή έναρξη και μεγαλύτερη διάρκεια από εκείνη της ζάχαρης και σε υψηλές συγκεντρώσεις ορισμένα εκχυλίσματά της μπορεί να έχουν μια επίγευση που περιγράφεται ως γλυκόριζα ή πικρή. Η στέβια χρησιμοποιείται σε τρόφιμα και ποτά με μειωμένη περιεκτικότητα σε ζάχαρη και θερμίδες ως εναλλακτική λύση για παραλλαγές με ζάχαρη (Lemus-Mondaca et al., 2012).

Το νομικό καθεστώς της στέβιας ως πρόσθετο τροφίμων ή συμπλήρωμα διατροφής ποικίλλει από χώρα σε χώρα. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, ορισμένα εκχυλίσματα γλυκοζιτών της στέβιας υψηλής καθαρότητας έχουν αναγνωριστεί γενικά ως ασφαλή (GRAS) και μπορούν να διατίθενται νόμιμα στην αγορά και να προστίθενται σε προϊόντα διατροφής, αλλά τα φύλλα και τα ακατέργαστα εκχυλίσματα της στέβιας δεν έχουν έγκριση GRAS ή έγκριση της Υπηρεσίας Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) για χρήση σε τρόφιμα. η Ευρωπαϊκή Ένωση ενέκρινε πρόσθετα του φυτού *Stevia rebaudiana* το 2011, ενώ στην Ιαπωνία, η στέβια χρησιμοποιείται ευρέως ως γλυκαντικό εδώ και δεκαετίες (Ramesh et al., 2006).

Το φυτό *Stevia rebaudiana* χρησιμοποιείται για περισσότερα από 1.500 χρόνια από τους λαούς Guaraní της Νότιας Αμερικής, οι οποίοι το αποκαλούσαν ka'a he'ê ("γλυκό βότανο"). Τα φύλλα του χρησιμοποιούνται παραδοσιακά εδώ και εκατοντάδες χρόνια τόσο στην Παραγουάη όσο και στη Βραζιλία για να γλυκαίνουν τα τοπικά τσάγια και φάρμακα, καθώς και ως "γλυκό κέρασμα". Το γένος πήρε το όνομά του από τον Ισπανό βοτανολόγο και γιατρό Pedro Jaime Esteve (Petrus James Stevus, 1500-1556) καθηγητή βοτανικής στο Πανεπιστήμιο της Βαλένθια.



Το 1899, ο Ελβετός βοτανολόγος Moisés Santiago Bertoni, διεξάγοντας έρευνα στην ανατολική Παραγουάη, περιέγραψε για πρώτη φορά λεπτομερώς το φυτό και τη γλυκιά του γεύση. Μόνο περιορισμένη έρευνα διεξήχθη σχετικά με το θέμα μέχρι που, το 1931, δύο Γάλλοι χημικοί απομόνωσαν τους γλυκοζίτες που δίνουν στη στέβια τη γλυκιά της γεύση.

Κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1990, ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών (FDA) έλαβε δύο αιτήματα που ζητούσαν να χαρακτηριστεί η στέβια αναγνωρισμένη ως ασφαλής (GRAS), αλλά ο FDA διαφώνησε με τα συμπεράσματα. Η στέβια παρέμεινε απαγορευμένη για όλες τις χρήσεις μέχρι τον νόμο περί υγείας και εκπαίδευσης για τα συμπληρώματα διατροφής του 1994, μετά τον οποίο ο FDA αναθεώρησε τη στάση του και επέτρεψε τη χρήση της στέβιας ως συμπλήρωμα διατροφής, αν και όχι ως πρόσθετο τροφίμων. Το 1999, με αφορμή τις πρώτες μελέτες, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή απαγόρευσε τη χρήση της στέβιας σε τρόφιμα εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης εν αναμονή περαιτέρω έρευνας. Το 2006 και το 2016, τα ερευνητικά δεδομένα που συγκεντρώθηκαν στις αξιολογήσεις ασφάλειας που δημοσίευσε ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας δεν διαπίστωσαν δυσμενείς επιπτώσεις (Ruiz-Ruiz et al., 2017).

Τον Δεκέμβριο του 2008, ο FDA έδωσε έγκριση "χωρίς αντιρρήσεις" για το καθεστώς GRAS στην Truvia και την PureVia, τα οποία χρησιμοποιούν την ουσία ρεμπαουδιοσίδη Α που προέρχεται από το φυτό *Stevia rebaudiana*. Ωστόσο, ο FDA δήλωσε ότι τα προϊόντα αυτά δεν είναι στέβια, αλλά ένα εξαιρετικά καθαρισμένο προϊόν εκχυλίσματος *Stevia rebaudiana*. Το 2015, ο FDA εξακολουθούσε να θεωρεί τη στέβια ως "μη εγκεκριμένο πρόσθετο τροφίμων" και δήλωσε ότι "δεν έχει επιβεβαιωθεί ως GRAS στις Ηνωμένες Πολιτείες λόγω ανεπαρκών τοξικολογικών πληροφοριών". Τον Ιούνιο του 2016, η Υπηρεσία Τελωνείων και Προστασίας των Συνόρων των ΗΠΑ εξέδωσε εντολή κράτησης για προϊόντα στέβιας που κατασκευάστηκαν στην Κίνα με βάση πληροφορίες ότι τα προϊόντα κατασκευάστηκαν με τη χρήση εργασίας φυλακισμένων. Ορισμένα εκχυλίσματα γλυκοζιτών στέβιας υψηλής καθαρότητας έχουν αναγνωριστεί γενικά ως ασφαλή (GRAS) και μπορούν να κυκλοφορήσουν νόμιμα στην αγορά και να προστεθούν σε προϊόντα διατροφής (Gasmalla et al., 2014).

Η *Stevia rebaudiana*, κοινώς γνωστή ως στέβια, είναι ένα φυτικό είδος που κατάγεται από τη Νότια Αμερική. Ανήκει στην οικογένεια *Asteraceae* και καλλιεργείται κυρίως για τα γλυκά φύλλα της, τα οποία περιέχουν φυσικές γλυκαντικές ουσίες που ονομάζονται γλυκοζίτες στεβιόλης.

Ένα από τα πιο αξιοσημείωτα χαρακτηριστικά της στέβιας είναι η έντονη γλυκύτητά της. Αυτό το χαρακτηριστικό έχει καταστήσει τη στέβια μια δημοφιλή εναλλακτική λύση στα τεχνητά γλυκαντικά για άτομα που επιθυμούν να μειώσουν την πρόσληψη ζάχαρης ή να διαχειριστούν καταστάσεις όπως ο διαβήτης (Yadav et al., 2011).

Εκτός από τις γλυκαντικές της ιδιότητες, η στέβια έχει επίσης κερδίσει την προσοχή για τα πιθανά οφέλη της για την υγεία. Έρευνες αποκαλύπτουν ότι οι γλυκοζίτες στεβιόλης που προέρχονται από τη στέβια μπορεί να έχουν αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Πιστεύεται ότι έχουν θετικές επιδράσεις στα επίπεδα σακχάρου στο αίμα και μπορεί να βοηθήσουν στη διαχείριση καταστάσεων όπως η παχυσαρκία και η υπέρταση. Ωστόσο, εξακολουθούν να διεξάγονται περαιτέρω μελέτες για την πλήρη κατανόηση και επιβεβαίωση αυτών των πιθανών οφελών.

Η στέβια διατίθεται συνήθως σε διάφορες μορφές, όπως εκχυλίσματα σε σκόνη, υγρές σταγόνες και κόκκους, καθιστώντας την ευέλικτη για διάφορες μαγειρικές. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να γλυκάνει ροφήματα όπως το τσάι και ο καφές, αρτοσκευάσματα, επιδόρπια και ακόμη και αλμυρά πιάτα. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η στέβια μπορεί να έχει ελαφρώς διαφορετική γεύση σε σύγκριση με τη ζάχαρη και ορισμένοι άνθρωποι μπορεί να αισθανθούν μια ήπια επίγευση γνωστό ως *after taste*.

Λόγω της αυξανόμενης δημοτικότητάς της έχει επίσης συγκεντρώσει την προσοχή της βιομηχανίας τροφίμων και ποτών. Στην αγορά έχουν εμφανιστεί πολλά προϊόντα που φέρουν την ένδειξη "με γλυκαντικό στέβια" ή "με βάση τη στέβια", από ανθρακούχα ποτά έως μπάρες σνακ.

Η καλλιέργεια της στέβιας έχει επεκταθεί πέρα από τις φυσικές της περιοχές, με την εμπορική παραγωγή να λαμβάνει χώρα σε αρκετές χώρες παγκοσμίως. Τα φύλλα του φυτού συλλέγονται, αποξηνούνται και υποβάλλονται σε επεξεργασία για την εξαγωγή των γλυκών χημικών ενώσεων. Ορισμένες χώρες έχουν εγκρίνει τη χρήση

των γλυκοζιτών στεβιόλης ως πρόσθετα τροφίμων, ενώ άλλες τους θεωρούν ως συμπλήρωμα διατροφής.

Συμπερασματικά, οι γλυκοζίτες του φυτού στέβια αποτελούν ένα φυσικό γλυκαντικό. Η έντονη γλυκύτητά της, σε συνδυασμό με τις ελάχιστες θερμίδες, την έχει καταστήσει δημοφιλή εναλλακτική λύση στη ζάχαρη και τα τεχνητά γλυκαντικά. Ενώ έχει πιθανά οφέλη για την υγεία, οι ατομικές αντιδράσεις μπορεί να διαφέρουν (Raina et al., 2013).

### 1.1.1 Συνθήκες και μορφολογία φυτού

Η στέβια είναι ένα πολυετές ποώδες φυτό με ιδιαίτερη μορφολογία (Εικόνα 1). Συνήθως φτάνει σε ύψος τα 60-80 εκατοστά και ορισμένες ποικιλίες μπορεί να φτάσουν σε ύψος το ένα μέτρο. Το φυτό διαθέτει πολλαπλούς διακλαδισμένους μίσχους που συχνά είναι ξυλώδεις στη βάση. Τα στελέχη έχουν κυλινδρικό σχήμα και καλύπτονται από λεπτά, υπόλευκα τριχίδια (Pigatto et al., 2018).



Εικόνα 1. Φυτό στέβιας

Τα φύλλα του φυτού αποτελούν την κύρια πηγή των γλυκαντικών του συστατικών. Είναι τοποθετημένα αντίθετα στους μίσχους και έχουν συνήθως μήκος 3-

5 εκατοστά. Τα φύλλα είναι ωοειδή, μυτερά στην άκρη και έχουν οδοντωτές άκρες. Η επιφάνεια των φύλλων είναι λεία και έχουν ζοηρό πράσινο χρώμα. Όταν συνθλίβονται, τα φύλλα απελευθερώνουν ένα γλυκό άρωμα (Khalil et al., 2014).

Η στέβια παράγει μικρά, λευκά άνθη που διατάσσονται σε ταξιανθίες, συνήθως σε συστάδες. Τα άνθη είναι συνήθως σωληνοειδή με πέντε πέταλα και έχουν κάπως δυσδιάκριτη εμφάνιση. Γονιμοποιούνται από έντομα, κυρίως μέλισσες και άλλους επικονιαστές.

Προέρχεται από περιοχές με υποτροπικό έως τροπικό κλίμα, αλλά μπορεί επίσης να καλλιεργηθεί και σε εύκρατα κλίματα. Για να ευδοκιμήσει απαιτεί συγκεκριμένες συνθήκες καλλιέργειας. Ευδοκιμεί σε θερμό κλίμα με θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 20°C έως 30°C. Μπορεί να αντέξει θερμοκρασίες έως και 35°C, αλλά είναι ευαίσθητη στον παγετό. Η καλλιέργεια έχει ανάγκη από πλήρη ηλιοφάνεια. Απαιτούνται έξι ώρες άμεσου ηλιακού φωτός την ημέρα για βέλτιστη ανάπτυξη και γλυκύτητα των φύλλων (Gingade, 2012.).

Το φυτό προτιμά καλά στραγγιζόμενο, αργιλώδες έδαφος με ελαφρώς όξινο έως ουδέτερο pH 6,5 έως 7,5. Η καλή γονιμότητα του εδάφους και η περιεκτικότητα σε οργανική ουσία είναι ευεργετικά για την υγιή ανάπτυξη του φυτού (Debnath, 2008).

Τα φυτά στέβια χρειάζονται τακτικό πότισμα για να διατηρείται το έδαφος υγρό αλλά χωρίς να νεροκρατεί. Η επαρκής άρδευση είναι ζωτικής σημασίας κατά τη διάρκεια θερμών και ξηρών περιόδων όπου αποτελούν και τους μήνες της συγκομιδής. Αναπτύσσονται σε μέτρια επίπεδα ατμοσφαιρικής υγρασίας, κατά προτίμηση μεταξύ 40% και 60%. Η υψηλή υγρασία σε συνδυασμό με κακή ροή αέρα μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο μυκητολογικών ασθενειών (Pande & Gupta, 2013).

Η στέβια είναι πολυετές φυτό, αλλά καλλιεργείται ως ετήσιο σε ορισμένες περιοχές με ψυχρότερο κλίμα. Απαιτεί μια καλλιεργητική περίοδο τουλάχιστον 120-150 ημερών για να φτάσει στην πλήρη ωρίμανση και να έχει μια καλή απόδοση σε γλυκά φύλλα. Στην Ελλάδα η καλλιέργεια διαρκεί έως πέντε χρόνια και με πιο αποδοτικές χρονιές την δεύτερη και την τρίτη (Mony & Uddin, 2018.).

Η απόσταση μεταξύ των φυτών είναι απαραίτητη για την προώθηση της κυκλοφορίας του αέρα και την πρόληψη της εξάπλωσης των ασθενειών. Συνιστάται γενικά μια απόσταση περίπου 30-45 εκατοστών μεταξύ των φυτών.

Τα φυτά επωφελούνται από την τακτική λίπανση με οργανική ύλη ή ισορροπημένα λιπάσματα για να διασφαλιστεί η βέλτιστη ανάπτυξη και η ανάπτυξη των φύλλων (Castañeda-Saucedo et al., 2020).

### **1.1.2 Προετοιμασία του εδάφους**

Η καλλιέργεια της στέβιας περιλαμβάνει προσεκτική προετοιμασία του εδάφους για τη δημιουργία ευνοϊκού περιβάλλοντος ανάπτυξης για τα φυτά. Η διαδικασία αρχίζει στο θερμοκήπιο ή στο φυτώριο, όπου μεγαλώνουν τα νεαρά φυτά πριν μεταφυτευτούν στο χωράφι.

Επιλέγεται μια καλά στραγγιζόμενη τοποθεσία με άπλετο ηλιακό φως τόσο για το θερμοκήπιο όσο και για το χωράφι.

Η εδαφολογική ανάλυση απαιτείται για την αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε θρεπτικά συστατικά, το επίπεδο pH, την κατάσταση της οργανικής ουσίας του εδάφους και την αλατότητα.

Στο θερμοκήπιο απαιτείται η απομάκρυνση τυχόν υπολειμμάτων ή ζιζανίων από την περιοχή καλλιέργειας. Το έδαφος θα πρέπει να καλλιεργηθεί καλά σε βάθος περίπου 15-20 εκατοστών για να εξασφαλιστεί καλός αερισμός και αποστράγγιση. Η ενσωμάτωση οργανικής ουσίας, κομπόστ ή καλά χωνεμένης κοπριάς, μπορεί να συμβάλει σημαντικά στη γονιμότητα του εδάφους.

Απολύμανση του εδάφους στο θερμοκήπιο συνίσταται για την εξάλειψη παθογόνων μικροοργανισμών, σπόρων ζιζανίων και επιβλαβών οργανισμών. Αυτό συμβάλλει στη δημιουργία ενός καθαρού περιβάλλοντος για τα νεαρά φυτά, μειώνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών.

Πριν από τη μεταφύτευση των σπορόφυτων στο χωράφι, το έδαφος καθαρίζεται από ζιζάνια και υπολείμματα. Η άροση του εδάφους και ο σβωλοτρίφτης παρέχουν την ικανότητα ανάπτυξης και αύξησης του φυτού στον αγρό.

Μέσω των υπερυψωμένων αυλακιών στο χωράφι βελτιώνεται η αποστράγγιση και αποτρέπεται η υφαλμύρωση. Η μέθοδος αυτή παρέχει τον έλεγχο της υπερβολικής υγρασίας, ιδίως κατά τη διάρκεια ισχυρών βροχοπτώσεων, μειώνοντας τον κίνδυνο σήψης των ριζών ή άλλων προβλημάτων που σχετίζονται με το νερό.

Για την ελαχιστοποίηση των ασθενειών και εχθρών, εφαρμόζεται αμειψισπορά αποφεύγοντας διαδοχικές φυτεύσεις του φυτού στέβια στην ίδια περιοχή. Η τακτική παρακολούθηση της καλλιέργειας για τυχόν ενδείξεις παρασίτων, ασθενειών ή ελλείψεων θρεπτικών στοιχείων, είναι απαραίτητη. Γνωρίζοντας τα κοινά παθογόνα άλλων καλλιεργειών και της στέβιας επιλέγεται η καλλιέργεια εκείνη που δεν αποτελεί ξενιστή για αμειψισπορά (Mengesha Kassahun et al., 2011).

### **1.1.3 Σπορά**

Η σπορά είναι βασικό κομμάτι στην καλλιέργεια των φυτών, καθώς σηματοδοτεί την έναρξη του κύκλου ανάπτυξής τους. Οι σπόροι στέβιας έχουν διαφορετικές απαιτήσεις βλάστησης και ορισμένοι μπορεί να ωφεληθούν από την προ-βύθιση ή τη χάραξη για να βελτιώσουν τα ποσοστά βλάστησης. Ωστόσο, πολλοί σπόροι στέβιας δεν απαιτούν προεπεξεργασία και μπορούν να σπαρθούν απευθείας. Ο σπόρος της στέβιας είναι φωτοβλαστικός, και απαιτεί φως για την γρηγορότερη και καλύτερη εκβλάστησή του.

Ο χρόνος σποράς εξαρτάται από το κλίμα και την περιοχή της καλλιέργειας. Οι σπόροι σπέρνονται κατά τη διάρκεια της εαρινής περιόδου, όταν η θερμοκρασία του εδάφους φτάνει περίπου τους 20 έως 25 °C και οι συνθήκες υγρασίας διατηρούνται ακόμα σε υψηλά ποσοστά. Αυτό εξασφαλίζει ευνοϊκές συνθήκες για το φύτευμα και την επακόλουθη ανάπτυξη.

Υπερβολική συμπίεση του εδάφους πρέπει να αποφεύγεται, καθώς μπορεί να εμποδίσει το φύτευμα και την ανάπτυξη των ριζών.

Οι σπόροι στέβιας συνήθως βλαστάνουν μέσα σε 7 έως 14 ημέρες, αλλά αυτό μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες και την ποιότητα των σπόρων. Μόλις αναδυθούν τα σπορόφυτα, απαιτούν επαρκή ηλιακή ακτινοβολία, ιδανικά 6 έως 8 ώρες άμεσου ηλιακού φωτός την ημέρα. Κατά τον πρώτο μήνα τα σπορόφυτα βρίσκονται στο θερμοκήπιο και τους παρέχονται όσο το δυνατό καλύτερες συνθήκες για την ανάπτυξή τους. Ο καλός αερισμός και η διάχυση του φωτός αποτελούν παράγοντα σωστής ανάπτυξης των φυτών. Όταν τα φυτά φτάσουν στο ύψος των 15 εκατοστών κατά προσέγγιση, πραγματοποιείται μαζικό κλάδευμα των κορυφών για την ενδυνάμωση των φυτών και την καλύτερη ανάπτυξη της ρίζας. Με αυτόν τον τρόπο εξασφαλίζεται η βέλτιστη μεταφύτευση (Simlat et al., 2016).

Η μεταφύτευση των φυτών στον αγρό λαμβάνει χώρα κατά τα τέλη Μαΐου έως και τις αρχές Ιουνίου, όσο ακόμα ο καιρός είναι σχετικά δροσερός. Τα φυτά ξεριζώνονται από το θερμοκήπιο και διατηρούνται σε νερό ώστε να μην χάσουν την σπαργή τους μέχρι τη μόνιμη εγκατάστασή τους στον αγρό. Στον αγρό δημιουργούνται αυλάκια ή αναχώματα τα οποία ποτίζονται με νερό. Με αυτό τον τρόπο τα φυτά μεταφυτεύονται ευκολότερα σε ήδη ποτισμένο έδαφος. Η διαδικασία αυτή γίνεται τόσο μηχανικά όσο και με χειρωνακτική εργασία (Akintunde Abdullateef & Osman, 2011).

Εάν οι σπόροι σπάρθηκαν πυκνά, αραιώνονται τα ασθενέστερα φυτάρια για να διατηρηθεί η επιθυμητή απόσταση μεταξύ τους. Το αραιώμα εξασφαλίζει τη σωστή κυκλοφορία του αέρα και μειώνει τον ανταγωνισμό για πόρους (θρεπτικά στοιχεία, νερό) μεταξύ των φυτών (Luo et al., 2018).

#### **1.1.4 Μεταφύτευση**

Η διαδικασία αυτή ξεκινάει με την ορθή επιλογή του αγρού. Τα μεταφυτευμένα φυτά ενδέχεται να βιώσουν μια σύντομη περίοδο προσαρμογής καθώς προσαρμόζονται στο νέο περιβάλλον. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, απαιτείται στενή παρακολούθηση για την πρόοδο της καλλιέργειας και την προστασία από ακραίες καιρικές συνθήκες.

#### **1.1.5 Συγκομιδή**

Η συγκομιδή αποτελείται από δύο κοπές το χρόνο και καθορίζεται από το στάδιο της άνθισης λόγω της μέγιστης περιεκτικότητας των φυτών σε γλυκοζίτες στεβιόλης.

Ο καλύτερος χρόνος για τη συγκομιδή είναι όταν τα φυτά έχουν φτάσει στην πλήρη ωρίμανση, συνήθως περίπου 90 έως 120 ημέρες μετά τη μεταφύτευση ή όταν έχουν φτάσει σε ύψος 60 έως 90 εκατοστά και στο στάδιο ολικής άνθισης του αγρού περίπου στο δέκα τοις εκατό.

Τα φύλλα στέβιας μπορούν να συγκομιστούν με διαφορετικές μεθόδους ανάλογα με την προβλεπόμενη χρήση και την κλίμακα καλλιέργειας. Για καλλιέργεια μικρής κλίμακας ή όταν είναι επιθυμητή μια ολοκληρωμένη συγκομιδή, ολόκληρο το φυτό μπορεί να κοπεί από τη βάση του, ακριβώς πάνω από το επίπεδο του εδάφους. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει την αποτελεσματική επεξεργασία ολόκληρου του φυτού, συμπεριλαμβανομένων των στελεχών και των φύλλων.

Σε μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια ή όταν απαιτούνται μόνο τα φύλλα, μπορούν να συγκομιστούν επιλεκτικά μεμονωμένα φύλλα. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται αποφύλλωση.

Μετά τη συγκομιδή, τα φύλλα πρέπει να επεξεργάζονται κατευθείαν για να διατηρήσουν τη γλυκύτητά τους και να αποτρέψουν την αλλοίωση. Οι μέθοδοι επεξεργασίας μπορεί να περιλαμβάνουν ξήρανση, σύνθλιψη ή εκχύλιση, ανάλογα με την προβλεπόμενη χρήση των φύλλων στέβιας ή του εκχυλίσματος.

Τα συγκομισμένα φύλλα που προορίζονται για χρήση ως γλυκαντικό ή τσάι από βότανα, πρέπει να αποξηρανθούν. Τα φύλλα τοποθετούνται σε ένα ενιαίο στρώμα σε καλά αεριζόμενο χώρο μακριά από το άμεσο ηλιακό φως. Στεγνώνουν στον αέρα μέχρι να γίνουν εύθραυστα και να θρυμματίζονται εύκολα όταν συνθλίβονται. Αυτή η διαδικασία διαρκεί συνήθως περίπου μία εβδομάδα κατά την περίοδο του καλοκαιριού. Μπορεί να γίνει και με μηχανικά μέσα, σε ειδικούς φούρνους όπου επιταχύνεται η διαδικασία στις τρεις με τέσσερις μέρες.

Μόλις τα φύλλα στεγνώσουν, μπορούν να θρυμματιστούν ή να αλεστούν είτε σε λεπτή σκόνη είτε σε τρίμμα. Η σκόνη και το τρίμμα μπορούν στη συνέχεια να χρησιμοποιηθούν ως φυσικό γλυκαντικό ή να εγχυθούν σε ροφήματα και συνταγές.

Τα συγκομισμένα φύλλα μπορούν να υποβληθούν σε διαδικασία εκχύλισης για να εξαχθούν οι γλυκές ενώσεις, κυρίως οι γλυκοζίτες στεβιόλης. Αυτή η διαδικασία εκχύλισης περιλαμβάνει συνήθως την εμβάπτιση των φύλλων σε έναν οργανικό διαλύτη, το φιλτράρισμα του υγρού και την εξάτμιση του διαλύτη για να ληφθεί ένα συμπυκνωμένο εκχύλισμα ή ένα υγρό γλυκαντικό.

Τα αποξηραμένα φύλλα της στέβιας αποθηκεύονται σε χάρτινα κουτιά ή μεγάλες σακούλες σε δροσερό, σκοτεινό μέρος για να διατηρηθεί η ποιότητα και η γλυκύτητά τους. Η υγρασία, η θερμοκρασία και το άμεσο ηλιακό φως μπορούν να υποβαθμίσουν τη γεύση και την περιεκτικότητά τους σε γλυκοζίτες στεβιόλης τους.

Τα φυτά στέβιας έχουν τη δυνατότητα πολλαπλών συγκομιδών καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου. Μετά την αρχική συγκομιδή, τα φυτά θα αναγεννήσουν νέα φύλλα, επιτρέποντας επόμενες συγκομιδές. Στην Ελλάδα οι κοπές του φυτού είναι δύο, μία μέσα Ιουλίου και η δεύτερη αρχές Σεπτεμβρίου. Η πρώτη κοπή είναι πάντα πιο αποδοτική από τη δεύτερη.



### 1.1.6 Λίπανση

Η λίπανση παίζει καθοριστικό ρόλο στην επιτυχή καλλιέργεια της στέβιας. Τα φυτά έχουν συγκεκριμένες απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά και η παροχή της κατάλληλης λίπανσης μπορεί να ενισχύσει την ανάπτυξη, την απόδοση και τη συνολική ποιότητά τους.

Τα φυτά στέβιας απαιτούν μια ισορροπημένη παροχή μακροστοιχείων, μικροστοιχείων και ιχνοστοιχείων για βέλτιστη ανάπτυξη. Τα κύρια μακροστοιχεία που χρειάζεται η στέβια περιλαμβάνουν άζωτο (N), φώσφορο (P) και κάλιο (K). Το άζωτο προάγει τη βλαστική ανάπτυξη, ο φώσφορος βοηθά στην ανάπτυξη των ριζών και την ανθοφορία και το κάλιο συμβάλλει στη συνολική ευρωστία των φυτών και την αντοχή στις ασθένειες.

Για την παροχή αυτών των μακροστοιχείων συνιστάται συχνά η χορήγηση ενός συνδυασμού οργανικών και ανόργανων λιπασμάτων. Τα οργανικά λιπάσματα, όπως το κομπόστ, η καλά χωνεμένη κοπριά και η χλωρή κοπριά, μπορούν να βελτιώσουν τη δομή του εδάφους και την περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά. Ανόργανα λιπάσματα όπως το νιτρικό αμμώνιο, το τριπλό υπερφωσφορικό και το θειικό κάλιο μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να συμπληρώσουν τις ελλείψεις θρεπτικών στοιχείων. Είναι σημαντικό να χρησιμοποιούνται οι συνιστώμενες δόσεις και οι χρόνοι εφαρμογής που παρέχονται από δοκιμές εδάφους ή από ειδικούς σε θέματα γεωργίας για να αποφεύγεται η υπερβολική λίπανση, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε ρύπανση του περιβάλλοντος και σε προβλήματα τοξικότητας στα φυτά.

Εκτός από τα μακροστοιχεία, η καλλιέργεια στέβιας απαιτεί επαρκή προμήθεια μικροστοιχείων και ιχνοστοιχείων. Σε αυτά περιλαμβάνονται ο σίδηρος (Fe), το μαγγάνιο (Mn), ο ψευδάργυρος (Zn), ο χαλκός (Cu), το βόριο (B), το μολυβδαίνιο (Mo) και άλλα. Οι ελλείψεις μικροστοιχείων μπορεί να εκδηλωθούν με συμπτώματα όπως κιτρίνισμα των φύλλων ή νέκρωση των φύλλων. Οι αναλύσεις εδάφους και φύλλων μπορούν να βοηθήσουν στον εντοπισμό των ελλείψεων και να καθοδηγήσουν τις κατάλληλες εφαρμογές μικροστοιχείων μέσω ψεκασμών φυλλώματος ή εφαρμογές στο έδαφος.

Ο χρόνος και η συχνότητα της λίπανσης παίζουν επίσης καθοριστικό ρόλο στην καλλιέργεια της στέβιας. Η πρώτη εφαρμογή λιπασμάτων γίνεται πριν από τη φύτευση ή κατά τη μεταφύτευση για την παροχή ενός πλούσιου σε θρεπτικά συστατικά

περιβάλλοντος για τα νεαρά φυτά. Οι επόμενες εφαρμογές πραγματοποιούνται συνήθως κατά το στάδιο της βλαστικής ανάπτυξης και το στάδιο της ανθοφορίας για να καλυφθούν οι αυξανόμενες απαιτήσεις του φυτού σε θρεπτικά συστατικά. Η κατανομή των δόσεων των λιπασμάτων και η εφαρμογή τους σε πολλαπλές εφαρμογές καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου μπορεί να συμβάλει στη διασφάλιση μιας σταθερής και ισορροπημένης παροχής θρεπτικών στοιχείων.

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι πρέπει να αποφεύγεται η υπερβολική λίπανση, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της βιομάζας των φύλλων αλλά σε μείωση της περιεκτικότητας σε γλυκοζίτη στεβιόλης. Η εύρεση της σωστής ισορροπίας των θρεπτικών συστατικών είναι σημαντική για την επίτευξη υψηλής ποιότητας φύλλων στέβιας με βέλτιστη γλυκύτητα.

Συμπερασματικά, η σωστή λίπανση είναι απαραίτητη για την επιτυχή καλλιέργεια στέβιας. Παρέχοντας τα απαραίτητα μακροστοιχεία και ιχνοστοιχεία στις σωστές ποσότητες και στις κατάλληλες χρονικές στιγμές, οι καλλιεργητές μπορούν να προωθήσουν την υγιή ανάπτυξη, τις υψηλές αποδόσεις και την επιθυμητή γλυκύτητα των φυτών στέβιας. Η τακτική εξέταση του εδάφους και η παρακολούθηση της κατάστασης των θρεπτικών στοιχείων των φυτών μπορεί να βοηθήσει στη λεπτομερή ρύθμιση των πρακτικών λίπανσης και στη διασφάλιση της βιώσιμης και παραγωγικής καλλιέργειας στέβιας (Brandle et al., 1998).

### **1.1.7 Άρδευση**

Η άρδευση παίζει κρίσιμο ρόλο στην επιτυχή καλλιέργεια της στέβιας. Οι κατάλληλες πρακτικές άρδευσης είναι απαραίτητες για τη διασφάλιση της βέλτιστης ανάπτυξης των φυτών, της απόδοσης και της ποιότητας της καλλιέργειας.

Τα φυτά έχουν συγκεκριμένες απαιτήσεις σε νερό και η διατήρηση των κατάλληλων επιπέδων υγρασίας του εδάφους είναι ζωτικής σημασίας σε όλα τα στάδια ανάπτυξής τους. Γενικά, η στέβια ευδοκιμεί σε καλά στραγγιζόμενα έδαφη με σταθερά επίπεδα υγρασίας. Η υπερβολική άρδευση μπορεί να οδηγήσει σε συνθήκες υφαλμύρωσης, σήψη των ριζών και μειωμένη ανάπτυξη, ενώ η έλλειψη νερού μπορεί να οδηγήσει σε στρες των φυτών, μειωμένη παραγωγή φύλλων και μειωμένη γλυκύτητα των φύλλων.

Για να καθοριστεί το κατάλληλο πρόγραμμα άρδευσης, πρέπει να ληφθούν υπόψη διάφοροι παράγοντες, όπως το κλίμα, ο τύπος του εδάφους, το στάδιο

ανάπτυξης των φυτών και η ικανότητα συγκράτησης νερού του εδάφους. Σε περιοχές με θερμό και ξηρό κλίμα, είναι απαραίτητη η συχνή άρδευση για την αναπλήρωση της εδαφικής υγρασίας και την αποφυγή του στρες της ξηρασίας. Από την άλλη πλευρά, σε περιοχές με υψηλότερες βροχοπτώσεις ή πιο υγρές συνθήκες, η συχνότητα άρδευσης μπορεί να χρειαστεί να προσαρμοστεί για να αποφευχθεί η υφαλμύρωση.

Μία από τις βασικές αρχές της αποτελεσματικής άρδευσης στην καλλιέργεια στέβιας είναι η διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ της παροχής επαρκούς υγρασίας και της αποφυγής της υφαλμύρωσης. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την εφαρμογή μεθόδων άρδευσης, όπως η στάγδην άρδευση ή οι μικροαντλίες. Αυτές οι μέθοδοι παρέχουν νερό απευθείας στη ζώνη των ριζών, ελαχιστοποιώντας τις απώλειες νερού μέσω της εξάτμισης και εξασφαλίζοντας αποτελεσματική πρόσληψη νερού από τα φυτά. Επιπλέον, η χρήση εδαφοκάλυψης γύρω από τη βάση των φυτών στέβιας μπορεί να συμβάλει στη μείωση της εξάτμισης της εδαφικής υγρασίας και του ανταγωνισμού των ζιζανίων.

Ο χρόνος άρδευσης είναι επίσης σημαντικός στην καλλιέργεια στέβιας. Τα νεαρά φυτά στέβιας απαιτούν συχνότερη άρδευση για να υποστηριχθεί η εγκατάστασή τους και η πρώιμη ανάπτυξή τους. Καθώς τα φυτά ωριμάζουν, η συχνότητα της άρδευσης μπορεί να μειωθεί, αλλά είναι σημαντικό να παρακολουθούνται τακτικά τα επίπεδα υγρασίας του εδάφους και να προσαρμόζεται ανάλογα το πρόγραμμα άρδευσης. Η μάρανση των φύλλων είναι μια οπτική ένδειξη ότι τα φυτά στέβιας χρειάζονται άρδευση, αλλά είναι καλύτερο τα φυτά να μην φτάσουν σε αυτό το σημείο στρες πριν από την άρδευση.

Αξίζει να σημειωθεί ότι ενώ η στέβια απαιτεί σταθερή υγρασία εδάφους, είναι σημαντικό να αποφεύγεται η υπερβολική άρδευση κατά τις τελευταίες εβδομάδες πριν από τη συγκομιδή. Αυτή η πρακτική συμβάλλει στην ενίσχυση της γλυκύτητας και της ποιότητας των φύλλων στέβιας. Ο περιορισμός της διαθεσιμότητας νερού κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου ενθαρρύνει τη συσσώρευση γλυκοζιτών στεβιόλης, των ενώσεων που είναι υπεύθυνες για τη γλυκύτητα του φυτού.

Συμπερασματικά, η σωστή άρδευση είναι ζωτικής σημασίας για την επιτυχή καλλιέργεια στέβιας. Η διατήρηση των κατάλληλων επιπέδων υγρασίας του εδάφους μέσω αποτελεσματικών μεθόδων και χρονοδιαγραμμάτων άρδευσης προάγει την υγιή ανάπτυξη των φυτών, την υψηλή παραγωγή φύλλων και τη βέλτιστη γλυκύτητα των

φύλλων στέβιας. Είναι σημαντικό να λαμβάνονται υπόψη οι τοπικές κλιματολογικές συνθήκες, τα χαρακτηριστικά του εδάφους και το στάδιο ανάπτυξης των φυτών κατά το σχεδιασμό μιας στρατηγικής άρδευσης. Η τακτική παρακολούθηση της υγρασίας του εδάφους και η ανάλογη προσαρμογή των πρακτικών άρδευσης θα συμβάλει στη διασφάλιση μιας παραγωγικής και υψηλής ποιότητας καλλιέργειας στέβιας.

### 1.1.8 Διαχείριση ζιζανίων

Ο έλεγχος των ζιζανίων είναι μια ουσιαστική πτυχή της καλλιέργειας της στέβιας για να εξασφαλιστεί η βέλτιστη ανάπτυξη των φυτών, να μειωθεί ο ανταγωνισμός για τους πόρους και να μεγιστοποιηθεί η απόδοση.

Οι καλλιεργητικές πρακτικές μπορούν να βοηθήσουν στην πρόληψη της ανάπτυξης ζιζανίων και στην ελαχιστοποίηση του ανταγωνισμού των ζιζανίων.

- Αμειψισπορά στην καλλιέργεια της στέβιας με άλλες καλλιέργειες που δεν είναι ξενιστές για την διακοπή του κύκλου ζωής των ζιζανίων και μείωση της πίεσης των ζιζανίων.
- Εδαφοκάλυψη γύρω από τη βάση των φυτών. Η κάλυψη βοηθά στην καταστολή της ανάπτυξης ζιζανίων εμποδίζοντας το ηλιακό φως και μειώνοντας την εξάτμιση της εδαφικής υγρασίας.
- Η επαρκής απόσταση μεταξύ των φυτών επιτρέπει την καλύτερη κυκλοφορία του αέρα, μειώνοντας την εγκατάσταση και την ανάπτυξη ζιζανίων. Η εξασφάλιση της μεταφύτευσης ή σποράς των φυτών την κατάλληλη στιγμή βοηθά στην εγκατάσταση υγιών φυτών που μπορούν να ανταγωνιστούν καλύτερα τα ζιζάνια.

Οι μηχανικές μέθοδοι περιλαμβάνουν τη φυσική απομάκρυνση των ζιζανίων από τον αγρό.

- Βοτάνισμα με το χέρι ή χρήση εργαλείων χειρός για την απομάκρυνση των ζιζανίων με το χέρι. Η μέθοδος αυτή είναι αποτελεσματική για καλλιέργειες μικρής κλίμακας ή όταν πρόκειται για μεμονωμένες κηλίδες ζιζανίων.
- Σκαλίσματα ή καλλιέργεια με χρήση τσάπας ή μηχανικού καλλιεργητή για να διαταράξει την επιφάνεια του εδάφους και να ξεριζώσει τα ζιζάνια.
- Το τακτικό κούρεμα ή κόψιμο των ζιζανίων πριν αυτά παράγουν σπόρους μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη της εξάπλωσης των ζιζανίων.

### 1.1.9 Φυτοπροστασία

Η φυτοπροστασία περιλαμβάνει μια σειρά από στρατηγικές και τεχνικές που αποσκοπούν στη διαχείριση των παρασίτων, των ασθενειών και των ζιζανίων. Η εφαρμογή αποτελεσματικών μέτρων φυτοπροστασίας είναι μείζονος σημασίας για τη διασφάλιση της υγείας, της ευρωστίας και της παραγωγικότητας των φυτών στέβιας από το θερμοκήπιο έως τον αγρό (Ζιώγας, Β.Ν. και Μάρκογλου Α.Ν., 2017).

Η προστασία των φυτών βρίσκει διάφορες εφαρμογές από το θερμοκήπιο έως τον αγρό.

Στα αρχικά στάδια της καλλιέργειας στέβιας, πολλοί καλλιεργητές επιλέγουν να ξεκινήσουν τα φυτά τους σε περιβάλλον θερμοκηπίου. Αυτό το ελεγχόμενο περιβάλλον προσφέρει προστασία από εξωτερικά παράσιτα και αντίξοες καιρικές συνθήκες.

Η τοποθέτηση σίτας εντόμων ή διχτυού στα ανοίγματα του θερμοκηπίου βοηθά στην αποτροπή της εισόδου εχθρών όπως οι αφίδες, οι λευκές μύγες ή οι θρίπες, που μπορούν να βλάψουν τα φυτά στέβιας. Η διατήρηση ενός καθαρού και υγιεινού περιβάλλοντος θερμοκηπίου με την τακτική απομάκρυνση των φυτικών υπολειμμάτων, των ζιζανίων και των πεσμένων φύλλων μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης εχθρών και ασθενειών. Καταστέλλει επίσης τη μεταφορά παθογόνων μικροοργανισμών σε επόμενες φυτεύσεις. Η εφαρμογή αυστηρών πρωτοκόλλων υγιεινής, όπως η τακτική απολύμανση των εργαλείων, του εξοπλισμού και των επιφανειών του θερμοκηπίου, μπορεί να ελαχιστοποιήσει την εξάπλωση εχθρών και ασθενειών. Ακόμη η τακτική ανίχνευση εχθρών ή ενδείξεων ασθενειών και η άμεση αντιμετώπιση τυχόν προβλημάτων μπορεί να αποτρέψει την εγκατάστασή τους και να περιορίσει τις επιπτώσεις τους στα φυτά στέβιας.

Μόλις τα φυτά στέβιας μεταφυτευτούν από το θερμοκήπιο στο χωράφι, απαιτούνται πρόσθετα μέτρα φυτοπροστασίας.

Αρκετές μυκητολογικές, βακτηριολογικές και ιολογικές ασθένειες μπορούν να προσβάλουν τα φυτά στέβιας. Οι στρατηγικές διαχείρισης των ασθενειών περιλαμβάνουν τη φύτευση ανθεκτικών στις ασθένειες ποικιλιών, την αμειψισπορά, τη διασφάλιση κατάλληλων αποστάσεων μεταξύ των φυτών για επαρκή κυκλοφορία του αέρα, τη χρήση χημικών και βιολογικών προϊόντων και την απομάκρυνση των μολυσμένων φυτών για την πρόληψη της εξάπλωσης των ασθενειών.

Τα ζιζάνια ανταγωνίζονται τα φυτά της στέβιας για θρεπτικά συστατικά, νερό και ηλιακό φως. Η χειρωνακτική απομάκρυνση και η εφαρμογή προφυτρωτικών ή μεταφυτρωτικών ζιζανιοκτόνων μπορούν να βοηθήσουν στον έλεγχο της ανάπτυξης ζιζανίων.

Η σωστή θρέψη των φυτών στέβιας συμβάλλει στην προώθηση της υγιούς ανάπτυξης και ενισχύει τους φυσικούς αμυντικούς μηχανισμούς τους κατά των εχθρών και των ασθενειών. Η διενέργεια εδαφολογικών αναλύσεων και αναλύσεων φυλλώματος μπορεί να καθοδηγήσει τις κατάλληλες εφαρμογές λιπασμάτων για την αντιμετώπιση των ελλείψεων θρεπτικών στοιχείων.

Σωστές πρακτικές άρδευσης συμβάλλουν στην πρόληψη προβλημάτων που σχετίζονται με το νερό, όπως οι εδαφογενείς ασθένειες. Η υπερβολική άρδευση και οι συνθήκες υφαλμύρωσης θα πρέπει να αποφεύγονται για την ελαχιστοποίηση του στρες των φυτών (Παναγόπουλος, 2007).

#### **1.1.10 Γλυκοζίτες στεβιόλης**

Η βιοσύνθεση των γλυκοζιτών στεβιόλης περιλαμβάνει πολλαπλά ενζυμικά στάδια. Η αρχική μετατροπή της πρόδρομης ουσίας του διτερπενίου, της στεβιόλης, σε διφωσφορική στεβιόλη καταλύεται από το ένζυμο συνθάση του διφωσφορικού κοπαλίου (CPPS). Οι επακόλουθες αντιδράσεις γλυκοζυλίωσης, με τη μεσολάβηση διφωσφορικής ουριδίνης-εξαρτώμενων γλυκοζυλοτρανσφερασών (UGTs), έχουν ως αποτέλεσμα την προσθήκη τμημάτων γλυκόζης ή ραμνόζης στον κορμό της στεβιόλης. Οι συγκεκριμένες UGTs που εμπλέκονται στη διαδικασία γλυκοζυλίωσης καθορίζουν τη σύνθεση και το προφίλ γλυκύτητας των γλυκοζιτών στεβιόλης που προκύπτουν (Goyal et al., 2010).

Οι γλυκοζίτες στεβιόλης παρουσιάζουν μοναδικές φυσικοχημικές ιδιότητες που συμβάλλουν στην ευρεία χρήση τους ως γλυκαντικά. Είναι ιδιαίτερα σταθεροί σε ένα ευρύ φάσμα συνθηκών pH, γεγονός που τους καθιστά κατάλληλους για διάφορες εφαρμογές σε τρόφιμα και ποτά. Είναι επίσης θερμοσταθεροί, επιτρέποντας την ενσωμάτωσή τους σε αρτοσκευάσματα και άλλα θερμικά επεξεργασμένα προϊόντα χωρίς σημαντική απώλεια γλυκύτητας. Επιπλέον, δεν συμμετέχουν στις αντιδράσεις Maillard, αποφεύγοντας έτσι την πιθανή ανάπτυξη ανεπιθύμητων γεύσεων που συνδέονται με ορισμένα άλλα γλυκαντικά.

Η γλυκύτητα των γλυκοζιτών αποδίδεται κυρίως στα τμήματα γλυκόζης ή ραμνόζης που συνδέονται με τον κορμό της στεβιόλης. Διαφορετικές συνθέσεις γλυκοζιτών οδηγούν σε διαφορετικά προφίλ γλυκύτητας, με τη ρεμπαουδιοσίδη Α να είναι μία από τις πιο γλυκές και τη στεβιοσίδη να έχει ελαφρώς πικρή επίγευση. Η αντιληπτή γλυκύτητα των γλυκοζιτών στεβιόλης διαφέρει μεταξύ των ατόμων λόγω των διαφορών στην ευαισθησία των υποδοχέων γεύσης.

Οι γλυκοζίτες στεβιόλης έχουν βρει ευρεία χρήση ως φυσικά γλυκαντικά στις βιομηχανίες τροφίμων και ποτών. Χρησιμοποιούνται στη σύνθεση διαφόρων προϊόντων, συμπεριλαμβανομένων ανθρακούχων ποτών, γαλακτοκομικών προϊόντων, γλυκισμάτων και γλυκαντικών σε δισκία. Εκτός από τις γλυκαντικές τους ιδιότητες, οι γλυκοζίτες στεβιόλης μπορούν επίσης να ενισχύσουν τις γεύσεις, να καλύψουν τις παραφωνίες και να βελτιώσουν το αισθητηριακό προφίλ των προϊόντων με χαμηλές θερμίδες και μειωμένη ζάχαρη. Επιπλέον, η μη θερμιδική τους φύση τους καθιστά κατάλληλους για χρήση σε διαιτητικά προϊόντα που απευθύνονται σε άτομα με διαβήτη ή σε άτομα που επιδιώκουν να μειώσουν τη θερμιδική πρόσληψη (Putri et al., 2020).

Για τους γλυκοζίτες στεβιόλης έχουν διεξαχθεί εκτεταμένες αξιολογήσεις ασφάλειας, με τις ρυθμιστικές αρχές παγκοσμίως να επιβεβαιώνουν την ασφάλεια της κατανάλωσής τους. Έχουν καθοριστεί τιμές αποδεκτής ημερήσιας πρόσληψης (ADI), που διασφαλίζουν τη χρήση τους εντός ασφαλών ορίων. Ωστόσο, ορισμένα άτομα ενδέχεται να εμφανίσουν καθαρτική δράση σε υψηλά επίπεδα κατανάλωσης και βρίσκονται σε εξέλιξη περαιτέρω μελέτες για τη διερεύνηση πιθανών μακροπρόθεσμων επιδράσεων (Myint et al., 2020).

Οι γλυκοζίτες στεβιόλης είναι φυσικές ενώσεις με έντονη γλυκύτητα, που τις καθιστούν ελκυστικές εναλλακτικές λύσεις για τα θερμιδικά γλυκαντικά. Η βιοσύνθεση, οι ιδιότητες και οι εφαρμογές τους έχουν μελετηθεί εκτενώς, οδηγώντας στη χρήση τους ως μη θερμιδικά γλυκαντικά σε διάφορες βιομηχανίες. Καθώς η έρευνα συνεχίζεται, αναμένονται περαιτέρω πρόοδοι στην κατανόηση και τη χρήση των γλυκοζιτών στεβιόλης, διευρύνοντας τις πιθανές εφαρμογές τους και συμβάλλοντας στην ανάπτυξη πιο υγιεινών και βιώσιμων γλυκαντικών λύσεων (Wölwer-Rieck, 2012).

### 1.1.11 Εμπορική χρήση

Η στέβια, ένα φυσικό γλυκαντικό που προέρχεται από το φυτό *Stevia rebaudiana*, έχει κερδίσει σημαντική προσοχή τα τελευταία χρόνια ως υγιεινή εναλλακτική λύση στην παραδοσιακή ζάχαρη. Η έντονη γλυκύτητα, η χαμηλή περιεκτικότητα σε θερμίδες και η φυσική της προέλευση την έχουν καταστήσει δημοφιλή επιλογή για όσους αναζητούν υποκατάστατο της ζάχαρης.

Η βιομηχανική παραγωγή της στέβιας περιλαμβάνει διάφορα βασικά στάδια. Αρχικά, τα φυτά στέβιας καλλιεργούνται σε φυτείες μεγάλης κλίμακας. Τα φυτά αυτά ευδοκιμούν σε θερμά και υγρά κλίματα, όπως περιοχές της Νότιας Αμερικής και της Ασίας. Μόλις τα φυτά ωριμάσουν, τα φύλλα συλλέγονται και υποβάλλονται σε μια σειρά από στάδια επεξεργασίας για την εξαγωγή των γλυκών ενώσεων.

Η πιο συνηθισμένη μέθοδος εκχύλισης περιλαμβάνει την εμβάπτιση των φύλλων σε νερό ή σε διαλύτη τροφίμων για την εξαγωγή των επιθυμητών συστατικών. Το υγρό που προκύπτει στη συνέχεια καθαρίζεται και φιλτράρεται για να απομακρυνθούν οι ακαθαρσίες και οι ανεπιθύμητες γεύσεις. Τέλος, το καθαρισμένο εκχύλισμα υποβάλλεται σε διαδικασία ξήρανσης, η οποία μπορεί να επιτευχθεί με διάφορες μεθόδους όπως η ξήρανση με ψεκασμό ή η κρυστάλλωση, με αποτέλεσμα την παραγωγή σκόνης ή υγρής στέβιας.

Εμπορικά, η στέβια βρίσκει εκτεταμένη χρήση ως γλυκαντικό σε ένα ευρύ φάσμα τροφίμων και ποτών. Συχνά συναντάται σε συμπληρώματα διατροφής, ποτά χαμηλής θερμιδικής αξίας ή χωρίς ζάχαρη, γλυκίσματα, αρτοσκευάσματα και ακόμη και σε αλμυρά προϊόντα. Η υψηλή δραστηριότητα γλυκύτητας της στέβιας, η οποία είναι αρκετές εκατοντάδες φορές μεγαλύτερη από τη ζάχαρη, επιτρέπει τη χρήση της σε μικρές ποσότητες, μειώνοντας έτσι την περιεκτικότητα σε θερμίδες χωρίς συμβιβασμούς στη γεύση (Ahmad et al., 2020).

Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα της στέβιας είναι η φυσική της προέλευση και η ελάχιστη επίδρασή της στα επίπεδα σακχάρου στο αίμα, καθιστώντας την κατάλληλη για άτομα με διαβήτη ή για όσους επιθυμούν να διαχειριστούν την πρόσληψη ζάχαρης. Επιπλέον, σε αντίθεση με τα τεχνητά γλυκαντικά, η στέβια προέρχεται από φυτική πηγή και δεν έχει τις ίδιες αντιπαραθέσεις γύρω από πιθανούς κινδύνους για την υγεία.



Η δημοτικότητα της στέβιας έχει οδηγήσει στην ευρεία υιοθέτησή της από τους κατασκευαστές τροφίμων και ποτών, οι οποίοι την ενσωματώνουν στις συνθέσεις των προϊόντων τους για να καλύψουν την αυξανόμενη ζήτηση για πιο υγιεινές εναλλακτικές λύσεις στη ζάχαρη. Πολυάριθμες μάρκες προσφέρουν πλέον επιλογές με ζάχαρη από στέβια, παρέχοντας στους καταναλωτές μια ευρύτερη επιλογή προϊόντων με μειωμένες θερμίδες και χαμηλή περιεκτικότητα σε ζάχαρη.

## 1.2 Παθογόνοι μικροοργανισμοί

Το φυτό στέβια (*Stevia rebaudiana*) είναι ευαίσθητο σε διάφορα φυτοπαθογόνα που μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά την ανάπτυξη και την απόδοσή του. Τα φυτοπαθογόνα είναι μικροοργανισμοί όπως μύκητες, βακτήρια, ιοί και νηματώδεις που προκαλούν ασθένειες στα φυτά. Η κατανόηση αυτών των παθογόνων και η διαχείρισή τους είναι σημαντική για τη διατήρηση της υγείας της καλλιέργειας στέβιας.

Αρκετά είδη μυκήτων μπορούν να προσβάλουν τα φυτά στέβια, προκαλώντας ασθένειες όπως η κηλίδωση των φύλλων, οι νεκρώσεις και η σήψη των ριζών. Παραδείγματα παθογόνων περιλαμβάνουν η *Alternaria* spp. στις ασθένειες φυλλώματος και η *Rhizoctonia solani* για τις ασθένειες εδάφους. Αυτοί οι μύκητες μπορούν να εξαπλωθούν μέσω αερομεταφερόμενων σπορίων ή μολύνσεων μέσω του εδάφους αντίστοιχα, οδηγώντας σε συμπτώματα όπως βλάβες στα φύλλα και αποσύνθεση των ριζών.

Τα βακτήρια μπορούν επίσης να επηρεάσουν τα φυτά στέβιας. Ένα από τα πιο συνηθισμένα βακτηριολογικά παθογόνα είναι το *Xanthomonas*, που προκαλεί φαιά σήψη. Αυτό το βακτήριο μπορεί να εισέλθει στο φυτό μέσω πληγών ή φυσικών ανοιγμάτων και να προκαλέσει μάρανση, μαύρισμα των στελεχών και των φύλλων και τελικά θάνατο του φυτού.

Οι ιοί μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την υγεία και την παραγωγικότητα των φυτών στέβιας. Ορισμένοι ιοί που είναι γνωστό ότι προσβάλλουν τη στέβια περιλαμβάνουν τον ιό του μωσαϊκού της στέβιας (StMV) και τον ιό του χλωρωτικού μωσαϊκού της στέβιας (StCMV). Αυτοί οι ιοί μεταδίδονται συνήθως από έντομα-φορείς, όπως οι αφίδες ή οι αλευρώδεις, και μπορεί να οδηγήσουν σε κηλίδωση, κιτρίνισμα, καχεκτική ανάπτυξη και μειωμένη ποιότητα φύλλων (Aegios, 2017).

### 1.2.1 Παθογόνοι μύκητες

Οι μύκητες αποτελούν τα πιο συχνά παθογόνα των φυτών. Στη καλλιέργεια της στέβιας έχουν αναφερθεί αρκετά είδη φυτοπαθογόνων μυκήτων τόσο του φυλλώματος όσο και εδαφογενή.

Όσον αφορά τους παθογόνους μύκητες του φυλλώματος, οι πιο συνήθεις περιλαμβάνουν είδη του γένους *Alternaria* και ο μύκητας *Septoria steviae*.

Η κηλίδωση των φύλλων, που προκαλείται από το παθογόνο μύκητα *Alternaria* spp., είναι μια κοινή ασθένεια που προσβάλλει τα φυτά στέβιας (Εικόνα 2). Αυτή η ασθένεια του φυλλώματος μπορεί να έχει σημαντικό αντίκτυπο στην υγεία και την παραγωγικότητα των καλλιεργειών στέβιας.

Οι κηλίδες στα φύλλα που προκαλούνται από *Alternaria* εμφανίζονται αρχικά ως μικρές, σκούρες καφέ έως μαύρες.. Αυτές οι κηλίδες έχουν συχνά ομόκεντρους δακτυλίους, οι οποίοι περιβάλλονται από κίτρινη άλω, χαρακτηριστικό του συγκεκριμένου μύκητα. Οι κηλίδες μπορεί να επεκταθούν σε μέγεθος με την πάροδο του χρόνου. Καθώς η ασθένεια εξελίσσεται, οι κηλίδες μπορεί να συνενωθούν, οδηγώντας σε μεγαλύτερες νεκρωτικές περιοχές στα φύλλα. Οι σοβαρές μολύνσεις μπορεί να προκαλέσουν αποφύλλωση, μειώνοντας τη φωτοσυνθετική ικανότητα του φυτού και ενδεχομένως επηρεάζοντας τη συνολική ανάπτυξη και απόδοση (Yan et al., 2018).



**Εικόνα 2.** Συμπτώματα του μύκητα *Alternaria* σε φυτό στέβιας

Η *Alternaria* spp. μπορεί να επιβιώσει σε υπολείμματα καλλιεργειών και στο έδαφος, αποτελώντας πηγή μόλυνσης για νέες φυτεύσεις. Ο μύκητας παράγει σπόρια που μπορούν να μεταφερθούν μέσω των ρευμάτων του αέρα, της βροχής ή με μηχανικά μέσα. Οι υγρές και θερμές καιρικές συνθήκες ευνοούν την ανάπτυξη και εξάπλωση της ασθένειας. Η υγρασία των φύλλων, από άρδευση ή βροχή, παρέχει ένα περιβάλλον κατάλληλο για τη βλάστηση των σπορίων και τη μόλυνση.

Η εφαρμογή ορθών καλλιεργητικών πρακτικών μπορεί να βοηθήσει στη διαχείριση της ασθένειας. Θα πρέπει να διατηρούνται κατάλληλες αποστάσεις μεταξύ των φυτών για τη βελτίωση της κυκλοφορίας του αέρα και τη μείωση της υγρασίας γύρω από τα φυτά. Θα πρέπει επίσης να αποφεύγεται η εναέρια άρδευση, καθώς τα υγρά φύλλα δημιουργούν ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξη της ασθένειας.

Η απομάκρυνση και η καταστροφή των μολυσμένων φυτικών υπολειμμάτων μπορεί να μειώσει την πηγή μόλυνσης. Αυτό περιλαμβάνει πεσμένα φύλλα, στελέχη και άλλα μέρη φυτών. Οι κατάλληλες πρακτικές υγιεινής συμβάλλουν στον περιορισμό της εξάπλωσης του παθογόνου από εποχή σε εποχή (Cunnington et al., 2007).

Σε σοβαρές περιπτώσεις, μπορεί να είναι απαραίτητη η εφαρμογή μυκητοκτόνων. Τα μυκητοκτόνα πρέπει να χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τις οδηγίες της ετικέτας του εκάστοτε φυτοπροστατευτικού προϊόντος και τους τοπικούς κανονισμούς. Είναι σημαντικό να εναλλάσσονται διαφορετικές κατηγορίες μυκητοκτόνων για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου ανάπτυξης ανθεκτικότητας (Agris, 2017).

Τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες για την ανάπτυξη ποικιλιών στέβιας με ανθεκτικότητα ή ανοχή στο μύκητα *Alternaria* spp.. Η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών μπορεί να είναι μια αποτελεσματική μακροπρόθεσμη στρατηγική για τη διαχείριση της ασθένειας. Η τακτική παρακολούθηση της καλλιέργειας στέβιας είναι ζωτικής σημασίας για την έγκαιρη αντίχρεση των συμπτωμάτων. Η έγκαιρη εφαρμογή των κατάλληλων πρακτικών διαχείρισης μπορεί να συμβάλει στον μετριασμό των επιπτώσεων της ασθένειας και στην ελαχιστοποίηση των απωλειών στην απόδοση (Tani, 1982).

Μια ακόμα σημαντική ασθένεια φυλλώματος που προκαλεί νεκρωτικές κηλίδες στα φύλλα είναι αυτή που προκαλείται από το μύκητα *Septoria steviae*. Αυτή η ασθένεια του φυλλώματος μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη ευρωστία και παραγωγικότητα των φυτών, εάν δεν αντιμετωπιστεί.

Η ασθένεια εμφανίζεται αρχικά ως μικρές (Εικόνα 3), κυκλικές έως γωνιώδεις κηλίδες στα φύλλα των φυτών στέβιας. Αυτές οι κηλίδες είναι συνήθως σκούρες ή ανοιχτόχρωμες με σκούρα καφέ έως μαύρα όρια. Καθώς η ασθένεια εξελίσσεται, οι κηλίδες μπορεί να διευρυνθούν και να αναπτύξουν ένα γκριζόλευκο κέντρο με ένα πιο σκούρο περιθώριο. Τα έντονα μολυσμένα φύλλα μπορεί να παρουσιάζουν πολυάριθμες αλλοιώσεις, οδηγώντας σε πρόωρη αποφύλλωση και μειωμένη φωτοσυνθετική ικανότητα (Hastoy et al., 2019).



**Εικόνα 3.** Συμπτώματα από το μύκητα *Septoria* σε φυτά στέβιας

Ο μύκητας *Septoria steviae* διαχειμάζει σε υπολείμματα καλλιεργειών ή στο έδαφος, αποτελώντας πηγή μόλυνσης για νέες φυτεύσεις. Ο μύκητας παράγει σπόρια τα οποία εξαπλώνονται με το πιτσίλισμα του νερού, τη βροχή, τον άνεμο ή τις ανθρώπινες δραστηριότητες. Οι θερμές και υγρές συνθήκες ευνοούν την ανάπτυξη και την εξάπλωση της ασθένειας. Η υγρασία των φύλλων, από τη βροχή ή την εναέρια άρδευση, παρέχει ένα περιβάλλον που ευνοεί τη βλάστηση των σπορίων και τη μόλυνση.

Η εφαρμογή ορθών καλλιεργητικών πρακτικών μπορεί να βοηθήσει στην αντιμετώπιση της κηλίδωσης των φύλλων από *Septoria*. Οι σωστές αποστάσεις μεταξύ των φυτών βελτιώνουν την κυκλοφορία του αέρα και μειώνουν την υγρασία γύρω από τα φυτά. Θα πρέπει να αποφεύγεται η εναέρια άρδευση, καθώς τα υγρά φύλλα δημιουργούν ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξη της ασθένειας. Το πότισμα στη βάση των φυτών ή η χρήση στάγδην άρδευσης είναι προτιμότερο (Reeleder, 1999).

Η απομάκρυνση και η καταστροφή των μολυσμένων φυτικών υπολειμμάτων, συμπεριλαμβανομένων των πεσμένων φύλλων, των στελεχών και άλλων φυτικών μερών, μπορεί να μειώσει το ποσό του μολύσματος στον αγρό. Οι σωστές πρακτικές υγιεινής συμβάλλουν στον περιορισμό της εξάπλωσης του παθογόνου από εποχή σε εποχή.

Σε σοβαρές περιπτώσεις, μπορεί να είναι απαραίτητη η εφαρμογή μυκητοκτόνων. Τα μυκητοκτόνα πρέπει να χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τις οδηγίες της ετικέτας και τους τοπικούς κανονισμούς. Είναι σημαντικό να εναλλάσσονται διαφορετικές κατηγορίες μυκητοκτόνων για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου ανάπτυξης ανθεκτικότητας.

Όπως και στην περίπτωση των ασθενειών που προκαλούνται από μύκητες του γένους *Alternaria*, και σε αυτή την περίπτωση γίνονται προσπάθειες ανάπτυξης ποικιλιών στέβιας με ανθεκτικότητα ή ανοχή στον παθογόνο μύκητα *Septoria steviae*. Η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών μπορεί να είναι μια αποτελεσματική μακροπρόθεσμη στρατηγική για τη διαχείριση της ασθένειας (Agrios, 2017).

Πέραν από τους παθογόνους μύκητες του φυλλώματος, σοβαρό πρόβλημα αποτελούν και οι παθογόνοι μύκητες του εδάφους. Έχουν αναφερθεί παγκοσμίως μολύνσεις των φυτών στέβιας από διάφορα είδη (Koehler & Shew, 2018a).



**Εικόνα 4.** Σκληρώτια του μύκητα *Athelia rolfsii* σε καλλιέργεια στέβιας στην περιοχή της Λαμίας

Ο μύκητας *Athelia rolfsii*, είναι ένα παθογόνο που μπορεί να προσβάλει τα φυτά στέβιας και να προκαλέσει σημαντική ζημιά στην καλλιέργεια (Εικόνα 4). Αυτός ο εδαφογενής μύκητας μπορεί να οδηγήσει σε σήψη των στελεχών, του λαιμού και της ρίζας, με αποτέλεσμα τη μάρανση, την κατάρρευση των φυτών και απώλειες στην απόδοση (Le Bihan et al., n.d.).

Τα συμπτώματα της μόλυνσης από το μύκητα *Athelia rolfsii* στα φυτά στέβιας ξεκινούν συνήθως με μάρανση και κιτρίνισμα των κάτω φύλλων. Καθώς η ασθένεια εξελίσσεται, μπορεί να εμφανιστεί ένα λευκό στρώμα μυκηλίου στη βάση του στελέχους, το οποίο συχνά συνοδεύεται από καφέ μεταχρωματισμό των ιστών του στελέχους. Τα προσβεβλημένα στελέχη μπορεί να γίνουν μαλακά και υδαρή, οδηγώντας σε κατάρρευση και θάνατο του φυτού. Σε σοβαρές περιπτώσεις, το μυκήλιο του μύκητα μπορεί επίσης να παρατηρηθεί στην επιφάνεια του εδάφους (Vélez-Olmedo et al., 2021).

Ο μύκητας επιβιώνει στο έδαφος ως μυκήλιο και σκληρώτια, τα οποία αποτελούν κατασκευές επιβίωσης. Οι κατασκευές αυτές μπορούν να παραμείνουν βιώσιμες για αρκετά χρόνια, ακόμη και ελλείψει φυτού ξενιστή. Ο μύκητας μολύνει το φυτό στέβιας μέσω πληγών ή φυσικών ανοιγμάτων, όπως ουλές φύλλων ή τραυματισμοί ριζών. Οι θερμές και υγρές συνθήκες εδάφους ευνοούν την ανάπτυξη και την εξάπλωση του παθογόνου (Erper et al., 2020).

Η εφαρμογή ορθών καλλιεργητικών πρακτικών είναι απαραίτητη για τη διαχείριση του *Athelia rolfsii*. Η σωστή αποστράγγιση του εδάφους και η αποφυγή της υπερβολικής άρδευσης μπορούν να συμβάλουν στη μείωση του κινδύνου μόλυνσης. Η επαρκής απόσταση μεταξύ των φυτών προάγει την κυκλοφορία του αέρα και μειώνει την υγρασία, η οποία μπορεί να εμποδίσει την ανάπτυξη και την εξάπλωση του παθογόνου.

Η εναλλαγή της στέβιας με καλλιέργειες που δεν είναι ξενιστές μπορεί να συμβάλει στη μείωση του πληθυσμού του μύκητα στο έδαφος. Αποφυγή της φύτευσης της στέβιας σε περιοχές όπου η ασθένεια ήταν διαδεδομένη σε προηγούμενες περιόδους, αποτελεί σημαντικό μέτρο για τη πρόληψη.

Η απομάκρυνση και η καταστροφή των μολυσμένων φυτικών υπολειμμάτων, συμπεριλαμβανομένων των μολυσμένων στελεχών και ριζών, μπορεί να συμβάλει στη μείωση του μολύσματος.

Γίνονται προσπάθειες ανάπτυξης ποικιλιών στέβιας με ανθεκτικότητα ή ανοχή στον μύκητα *Athelia rolfsii*. Η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών, μπορεί να αποτελέσει αποτελεσματική στρατηγική για τη διαχείριση της ασθένειας (Agrios, 2017).

Η παρακολούθηση της καλλιέργειας στέβιας συνίσταται με σκοπό την έγκαιρη ανίχνευση των συμπτωμάτων του *Athelia rolfsii*. Η έγκαιρη εφαρμογή των κατάλληλων πρακτικών διαχείρισης μπορεί να συμβάλει στην ελαχιστοποίηση των επιπτώσεων της ασθένειας και στην πρόληψη της περαιτέρω εξάπλωσης (Koehler & Shew, 2017).

Το *Fusarium oxysporum* αποτελεί παθογόνο μύκητας που μπορεί να προκαλέσει σημαντικές ζημιές στα φυτά στέβιας, προκαλώντας αδρομυκώσεις (Εικόνα 5). Αποτελεί καταστροφική ασθένεια που επηρεάζει το αγγειακό σύστημα του φυτού.

Η προσβολή των φυτών από το μύκητα ξεκινά με μάρανση και κιτρίνισμα των κάτω φύλλων, το οποίο μπορεί να εξαπλωθεί σταδιακά προς τα πάνω. Η μάρανση συνοδεύεται συχνά από μεταχρωματισμό των αγγείων του ξύλου, ο οποίος είναι ορατός ως καφέ ραβδώσεις στο στέλεχος. Καθώς η ασθένεια εξελίσσεται, ολόκληρο το φυτό μπορεί να γίνει καχεκτικό και τελικά να νεκρωθεί. Οι ρίζες μπορεί να παρουσιάσουν αποσύνθεση και μεταχρωματισμό.



**Εικόνα 5.** Συμπτώματα του μύκητα *Fusarium* σε φυτά στέβιας.

Ο μύκητας επιβιώνει στο έδαφος ως σπόρια ή ως μυκήλιο. Μπορεί να παραμείνει στο έδαφος για παρατεταμένες περιόδους, ακόμη και ελλείψει φυτού ξενιστή, υπό τη μορφή των γλαυδοσπορίων. Εισέρχεται στο φυτό στέβιας μέσω του ριζικού συστήματος, μολύνοντας και αποικίζοντας τα αγγεία του ξύλου. και εμποδίζοντας τη μεταφορά νερού και θρεπτικών συστατικών, γεγονός που οδηγεί σε μαρασμό και παρακμή του φυτού. Μπορεί να εξαπλωθεί μέσω μολυσμένου εδάφους, μολυσμένων φυτικών υπολειμμάτων ή μολυσμένων εργαλείων και εξοπλισμού (Díaz-Gutiérrez et al., 2019).

Η εφαρμογή καλών πρακτικών διαχείρισης του εδάφους είναι ζωτικής σημασίας για τη διαχείριση του παθογόνου μύκητα. Εφαρμογή αμειψισποράς αποφεύγοντας τη φύτευση στέβιας στην ίδια τοποθεσία ή σε περιοχές με ιστορικό μάρανσης από *Fusarium*. Εναλλαγή με καλλιέργειες που δεν είναι ξενιστές με σκοπό την διατάραξη του κύκλου της ασθένειας. Καλή αποστράγγιση του εδάφους και αποφυγή της υπερβολικής άρδευσης για μείωση του κινδύνου ανάπτυξης ασθενειών.

Η φύτευση ποικιλιών στέβιας με ανθεκτικότητα ή ανοχή στη μάρανση από *Fusarium* μπορεί να αποτελέσει αποτελεσματική στρατηγική για τη διαχείριση της ασθένειας.

Ορισμένοι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί, όπως ορισμένα στελέχη του μύκητα *Trichoderma* και στελέχη βακτηρίων του γένους *Bacillus* έχουν δείξει ότι μπορούν να καταστείλουν τους εδαφογενείς παθογόνους μύκητες (Agiros, 2017). Μπορούν να εφαρμοστούν ως εφαρμογές σε σπόρους και με ριζοπότισμα στα φυτά για να συμβάλουν στη μείωση της έντασης της ασθένειας (Buzón-Durán et al., 2020).

Ο μύκητας *Macrophomina phaseolina*, είναι ένα παθογόνο που προσβάλλει διάφορες καλλιέργειες, συμπεριλαμβανομένου του φυτού στέβια (Εικόνα 6).

Η σήψη που προκαλείται από την *Macrophomina phaseolina* εμφανίζεται συνήθως σε θερμές και ξηρές συνθήκες, γεγονός που την καθιστά ιδιαίτερα προβληματική σε ξηρές και ημίξηρες περιοχές. Ο μύκητας μπορεί να επιβιώσει στο έδαφος για μεγάλα χρονικά διαστήματα, ακόμη και όταν δεν υπάρχει φυτό ξενιστής. Εισέρχεται στο φυτό στέβια μέσω των ριζών και εξαπλώνεται συστηματικά, προκαλώντας βλάβες στους αγγειακούς ιστούς.





**Εικόνα 6.** Συμπτώματα από το μύκητα *Macrophomina* σε φυτά στέβιας

Ένα από τα χαρακτηριστικά συμπτώματα της μόλυνσης από το μύκητα είναι η ανάπτυξη σκουρόχρωμων έως μαύρων αλλοιώσεων στο στέλεχος και τις ρίζες. Οι αλλοιώσεις αυτές έχουν απανθρακωμένη εμφάνιση, που μοιάζει με κομμάτια ξυλάνθρακα, εξ ου και η ονομασία "σήψη από ξυλάνθρακα". Καθώς η ασθένεια εξελίσσεται, τα μολυσμένα φυτά μπορεί να παρουσιάσουν μαρασμό, καχεκτική ανάπτυξη και τελικά πρόωρο θάνατο.

Ο μύκητας διαταράσσει την πρόσληψη νερού και θρεπτικών συστατικών από το φυτό, οδηγώντας σε συμπτώματα μαρασμού. Παράγει επίσης τοξικές ενώσεις που συμβάλλουν περαιτέρω στην καταστροφή των φυτών. Επιπλέον, μπορεί να προκαλέσει μείωση της απόδοσης και της ποιότητας των φύλλων στέβιας, επηρεάζοντας την οικονομική βιωσιμότητα της καλλιέργειας στέβιας.

Η διατήρηση των κατάλληλων επιπέδων υγρασίας του εδάφους είναι ζωτικής σημασίας για τη διαχείριση της σήψης του άνθρακα. Η αποφυγή της υδατικής καταπόνησης και η εφαρμογή κατάλληλων τεχνικών άρδευσης μπορούν να βοηθήσουν στην πρόληψη της σοβαρής εξέλιξης της ασθένειας (Agrios, 2017). Η καλή αποστράγγιση είναι επίσης σημαντική, καθώς οι υπερβολικά υγρές συνθήκες μπορούν να ευνοήσουν την ανάπτυξη και την εξάπλωση του μύκητα (Koehler & Shew, 2018b).

Ο μύκητας *Sclerotinia sclerotiorum*, κοινώς γνωστή ως λευκή μούχλα ή σήψη από σκληρωτίνια, είναι ένα παθογόνο που μπορεί να προκαλέσει σοβαρές ζημιές σε

διάφορες καλλιέργειες, συμπεριλαμβανομένου του φυτού στέβια (Εικόνα 7). Αυτή η μυκητολογική ασθένεια αποτελεί σημαντική ανησυχία για τους καλλιεργητές στέβιας, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε απώλειες αποδόσεων και να επηρεάσει την ποιότητα των συγκομιζόμενων φύλλων.

Η λευκή μούχλα που προκαλείται από το μύκητα εμφανίζεται συνήθως σε δροσερές και υγρές συνθήκες, γεγονός που την καθιστά ιδιαίτερα προβληματική σε περιοχές με υψηλή υγρασία ή σε περιόδους παρατεταμένων βροχοπτώσεων. Ο μύκητας μολύνει το φυτό στέβιας μέσω των ανθεών, των στελεχών ή άλλων φυτικών μερών, εισερχόμενος συχνά μέσω πληγών. Παράγει σκληρές, μαύρες κατασκευές επιβίωσης που ονομάζονται σκληρώτια, τα οποία μπορούν να παραμείνουν σε λανθάνουσα κατάσταση στο έδαφος ή στα υπολείμματα της καλλιέργειας για αρκετά χρόνια (Le Bihan et al., 2022).



Εικόνα 7. (A) Συμπτώματα του μύκητα *Sclerotinia* σε φυτό στέβιας, (B) λευκή μούχλα και νεκρώσεις φύλλων, (C) ανάπτυξη λευκού μυκηλίου, (D) σκληρώτια του μύκητα

Ένα από τα χαρακτηριστικά σημεία της μόλυνσης από *Sclerotinia sclerotiorum* στη στέβια είναι η ανάπτυξη χνουδωτού λευκού μυκηλίου στην επιφάνεια του φυτού. Αυτό το μυκήλιο δίνει στην ασθένεια την κοινή της ονομασία, λευκή μούχλα. Καθώς η ασθένεια εξελίσσεται, το μυκήλιο μπορεί να γίνει καστανό ή ανοιχτό καφέ και στα

μολυσμένα μέρη του φυτού, συμπεριλαμβανομένων των στελεχών και των φύλλων, παρατηρούνται υδατώδεις κηλίδες και μπορούν να επεκταθούν γρήγορα. Οι προσβεβλημένοι ιστοί τελικά νεκρώνονται και γίνονται καφέ ή μαυρισμένοι.

Τα μολυσμένα φυτά εμφανίζουν συχνά μαρασμό, καχεκτική ανάπτυξη και μείωση της συνολικής ζωτικότητας. Η ασθένεια μπορεί επίσης να προκαλέσει πρόωρη αποφύλλωση, οδηγώντας σε μείωση της απόδοσης και της ποιότητας των φύλλων. Επιπλέον, η σήψη της σκληρωτίνιας μπορεί να επηρεάσει την αποθήκευση των φύλλων στέβιας μετά τη συγκομιδή, καθιστώντας τα πιο ευαίσθητα στη σήψη και ακατάλληλα για χρήση.

Η αντιμετώπιση της ασθένειας στα φυτά στέβιας απαιτεί μια ολοκληρωμένη προσέγγιση. Η αμειψισπορά με φυτά μη ξενιστές μπορεί να συμβάλει στη μείωση του πληθυσμού του παθογόνου στο έδαφος, καθώς ο μύκητας επιβιώνει στα υπολείμματα της καλλιέργειας και με τα σκληρώτιά του. Η επαρκής απόσταση μεταξύ των φυτών στέβιας προάγει την κυκλοφορία του αέρα, η οποία μπορεί να μειώσει την υγρασία και να δημιουργήσει ένα ακατάλληλο περιβάλλον για την ανάπτυξη της ασθένειας (Koehler & Shew, 2017).

Η έγκαιρη απομάκρυνση και καταστροφή των μολυσμένων φυτικών υπολειμμάτων, συμπεριλαμβανομένων των μολυσμένων φυτών στέβιας και των υπολειμμάτων καλλιέργειας, μπορεί να συμβάλει στην ελαχιστοποίηση του ποσού μολύσματος και στην πρόληψη της εξάπλωσης της ασθένειας. Το βαθύ όργωμα ή το παράχωμα των υπολειμμάτων της προηγούμενης καλλιέργειας μπορεί επίσης να βοηθήσει στη μείωση της επιβίωσης των σκληρωτίων στο έδαφος.

Οι καλλιεργητικές πρακτικές, όπως η αποφυγή υπερβολικής πυκνότητας φυτών, η διατήρηση της βέλτιστης θρέψης των φυτών και η εφαρμογή κατάλληλων τεχνικών άρδευσης, μπορούν να συμβάλουν στην προαγωγή της υγείας των φυτών και στη μείωση της ευαισθησίας των φυτών στέβιας στη σήψη από τη σκληρωτίνια.

Η τακτική παρακολούθηση και η έγκαιρη ανίχνευση των συμπτωμάτων του λευκού μυκηλίου είναι απαραίτητες για την αποτελεσματική διαχείριση της ασθένειας. Αυτό επιτρέπει την έγκαιρη παρέμβαση και την εφαρμογή των κατάλληλων μέτρων ελέγχου.

Η *Sclerotinia sclerotiorum*, αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για την καλλιέργεια της στέβιας. Η κατανόηση των συμπτωμάτων, η εφαρμογή προληπτικών μέτρων και η υιοθέτηση μιας ολοκληρωμένης προσέγγισης για τη διαχείριση των ασθενειών είναι ζωτικής σημασίας για την ελαχιστοποίηση των επιπτώσεων αυτού του παθογόνου μύκητα στα φυτά στέβιας και τη διασφάλιση μιας επιτυχημένης συγκομιδής (Agiros, 2017).

Το *Verticillium dahliae* είναι ένας παθογόνος μύκητας που προκαλεί αδρομυκώσεις σε πολλά και διαφορετικά φυτικά είδη, συμπεριλαμβανομένου του φυτού στέβια. Αυτός ο εδαφογενής μύκητας μπορεί να αποτελέσει σοβαρή απειλή για την καλλιέργεια της στέβιας, οδηγώντας σε μειωμένη ανάπτυξη των φυτών, απώλειες απόδοσης, ακόμη και νέκρωση των φυτών.

Η μάρανση που προκαλείται από το *Verticillium dahliae* εμφανίζεται συνήθως σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, αν και μπορεί να εκδηλωθεί και σε θερμότερες περιοχές. Ο μύκητας επιβιώνει στο έδαφος ως μικροσκληρώτια. Όταν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές, τα μικροσκληρώτια βλαστάνουν και μέσω των υφών μολύνουν τις ρίζες του φυτού. Από τις ρίζες, ο μύκητας εξαπλώνεται διασυστηματικά, αποικίζει τα αγγεία του ξύλου και αποτρέπει την πρόσληψη νερού και θρεπτικών συστατικών από το φυτό.

Ένα από τα κύρια συμπτώματα που προκαλεί το παθογόνο *Verticillium dahliae* στα φυτά στέβιας είναι και η μάρανση του φυλλώματος, ιδιαίτερα σε ζεστό καιρό ή σε περιόδους υδατικής καταπόνησης. Η μάρανση μπορεί αρχικά να εμφανιστεί στη μία πλευρά του φυτού ή να επηρεάσει μεμονωμένα κάποιο τμήμα, ενώ τελικά μπορεί να επεκταθεί σε ολόκληρο το φυτό. Καθώς η ασθένεια εξελίσσεται, τα φύλλα μπορεί να παρουσιάζουν κιτρίνισμα, καφετί χρώμα ή νεκρωτικές περιοχές μεταξύ των φλεβών. Με την πάροδο του χρόνου, τα προσβεβλημένα μέρη του φυτού εμφανίζονται καχεκτικά και παρουσιάζουν μειωμένη ζωνρότητα.

Κατά την προσβολή από το μύκητα μπορεί να είναι δύσκολο να τη διακρίνει κανείς από άλλες αιτίες μάρανσης ή παρακμής σε φυτά στέβιας. Για να επιβεβαιωθεί η παρουσία του *Verticillium dahliae* είναι απαραίτητη η εργαστηριακή ανάλυση.

Η αντιμετώπιση του *Verticillium dahliae* στα φυτά στέβια απαιτεί μια ολοκληρωμένη προσέγγιση. Δεδομένου ότι ο μύκητας μπορεί να παραμείνει στο έδαφος για αρκετά χρόνια, η αποφυγή της συνεχούς καλλιέργειας στέβιας στην ίδια περιοχή μπορεί να βοηθήσει να σπάσει ο κύκλος της ασθένειας.

Η ηλιαπολύμανση του εδάφους, μια τεχνική που περιλαμβάνει την κάλυψη του εδάφους με ένα διαφανές πλαστικό φύλλο για την αύξηση της θερμοκρασίας και τη θανάτωση των εδαφογενών παθογόνων, μπορεί να είναι αποτελεσματική στη μείωση των πληθυσμών του παθογόνου μύκητα. Η πρακτική αυτή εφαρμόζεται συνήθως κατά τους θερμούς καλοκαιρινούς μήνες.

Είναι σημαντικό να χρησιμοποιούνται πιστοποιημένα σπορόφυτα ή πολλαπλασιαστικό υλικό απαλλαγμένο από το παθογόνο κατά την εγκατάσταση καλλιεργειών στέβιας για την ελαχιστοποίηση της εισαγωγής του *Verticillium dahliae*. Επιπλέον, οι κατάλληλες πρακτικές υγιεινής, όπως η απομάκρυνση και η καταστροφή των μολυσμένων φυτικών υπολειμμάτων, μπορούν να συμβάλουν στη μείωση της πηγής εμβολιασμού (Inderbitzin et al., 2011).

Παρόλο που δεν υπάρχουν διαθέσιμες χημικές θεραπείες για την αντιμετώπιση του *Verticillium dahliae*, η διαχείριση των επιπτώσεων της ασθένειας μπορεί να επιτευχθεί μέσω καλλιεργητικών πρακτικών. Αυτές περιλαμβάνουν τη βέλτιστη θρέψη των φυτών, τη διατήρηση της κατάλληλης άρδευσης για την αποφυγή της υδατικής καταπόνησης και την αποφυγή μηχανικών τραυματισμών στις ρίζες, καθώς οι πληγές μπορούν να αποτελέσουν σημεία εισόδου για τον μύκητα (Basbagci & Dolar, 2020).

Η τακτική παρακολούθηση και η έγκαιρη ανίχνευση των συμπτωμάτων του είναι απαραίτητες για την αποτελεσματική διαχείριση της ασθένειας. Η έγκαιρη απομάκρυνση και καταστροφή των μολυσμένων φυτών μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη της περαιτέρω εξάπλωσης του παθογόνου στα υγιή φυτά (Agrios, 2017).

Ένας από τους πιο σοβαρούς μύκητες εδάφους είναι είδη του γένους *Rhizoctonia* spp. (Εικόνα 8). Είναι ένας παθογόνος μύκητας που μπορεί να προκαλέσει σημαντικές ζημιές στα φυτά στέβιας. Η ασθένεια είναι κοινώς γνωστή ως τήξη φυταρίων και προσβάλλει κυρίως το ριζικό σύστημα, αλλά μπορεί επίσης να επηρεάσει το λαιμό και τα βασικά τμήματα του φυτού (Duarte et al., 2018). Οι μολύνσεις από *Rhizoctonia* spp. μπορεί να οδηγήσουν σε καχεκτική ανάπτυξη, μειωμένη ζωηρότητα, ακόμη και θάνατο του φυτού (Maha Helmy, 2015).

Τα συμπτώματα από *Rhizoctonia* spp στα φυτά στέβια μπορεί να ποικίλλουν ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης και τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Nerey et al., 2010). Στα νεαρά φυτάρια μπορεί να εμφανιστούν τήξεις, που οδηγεί σε μαρασμό, κιτρίνισμα και θάνατο των φυταρίων (Yang et al., 2014). Σε εγκατεστημένα φυτά, ο

μύκητας μπορεί να προκαλέσει σήψη της βάσης του στελέχους, με αποτέλεσμα να παρατηρείται σκουρόχρωμος καστανός μεταχρωματισμός ή νεκρώσεις. Τα μολυσμένα φυτά μπορεί να παρουσιάσουν σήψη των ριζών, η οποία χαρακτηρίζεται από μεταχρωματισμένες και αποσυντιθέμενες ρίζες (Okubara et al., 2014).



Εικόνα 8. Συμπτώματα από το μύκητα *Rhizoctonia solani* AG-4 σε φυτά στέβιας

Υπάρχουν ελάχιστες αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία σχετικά με το μύκητα, οι οποίες αφορούσαν κυρίως στην πρώτη ακαταηραφή του παθογόνου *Rhizoctonia solani* AG-4 στις ΗΠΑ (Kessler & Koehler, 2020). Τα φυτά εμφάνιζαν συμπτωματολογία κατά κηλίδες στον αγρό, με τήξεις των φυταρίων και μερικές και ολικές νεκρώσεις. Ακόμα μολύνσεις των φυτών στέβιας από το συγκεκριμένο στέλεχος του μύκητα έχουν αναφερθεί και στην Αίγυπτο (Misawa & Toda, 2013).

Η *Rhizoctonia* ευνοείται από θερμές και υγρές συνθήκες, ιδιαίτερα σε κακοστραγγιζόμενα ή υπερβολικά ποτισμένα εδάφη (Yang et al., 2015). Ο μύκητας επιβιώνει στο έδαφος ως σκληρώτια ή με μυκήλιο, τα οποία μπορούν να παραμείνουν για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Μπορεί να μολύνει τα φυτά στέβιας μέσω πληγών ή φυσικών ανοιγμάτων, όπως οι άκρες των ριζών, και να εγκατασταθεί στους ιστούς των ριζών (Aiello et al., 2012).

Για την αντιμετώπιση της ασθένειας στα φυτά στέβιας, μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες στρατηγικές.

Η εφαρμογή ορθών καλλιεργητικών πρακτικών είναι απαραίτητη για τη μείωση του κινδύνου μόλυνσης από τον παθογόνο μύκητα. Αυτό περιλαμβάνει την προώθηση καλά στραγγιζόμενων εδαφικών συνθηκών, την αποφυγή υπερβολικού ποτίσματος και τη διασφάλιση της κατάλληλης γονιμότητας του εδάφους. Η παροχή επαρκών

αποστάσεων μεταξύ των φυτών και η καλή ροή του αέρα μπορούν επίσης να συμβάλουν στην ελαχιστοποίηση των ευνοϊκών συνθηκών για την ανάπτυξη και την εξάπλωση του μύκητα καθώς μειώνεται η περίσσεια υγρασίας στο έδαφος (Peña et al., 2013).

Οι πρακτικές υγιεινής είναι σημαντικές για την πρόληψη της εισαγωγής και της εξάπλωσης της *Rhizoctonia*. Η απομάκρυνση και η καταστροφή των μολυσμένων φυτικών υπολειμμάτων, καθώς και η σωστή απολύμανση των μέσων στον αγρό ή στο θερμοκήπιο, μπορούν να συμβάλουν στη μείωση της πηγής μολύσματος.

Η επίπαση των σπόρων στέβιας με μυκητοκτόνα ή βιολογικούς παράγοντες πριν από τη σπορά μπορεί να βοηθήσει στην προστασία των σπορόφυτων από το παθογόνο. Είναι σημαντικό να τηρούνται οι συνιστώμενες δόσεις και οι χρόνοι εφαρμογής που καθορίζονται για τη στέβια και το συγκεκριμένο μυκητοκτόνο ή προϊόν που περιέχει τον βιολογικό παράγοντα όπως για παράδειγμα μύκητες του γένους *Trichoderma* και βακτήρια του γένους *Bacillus* που αποδεδειγμένα πλέον μπορούν και προστατεύουν από την αρχική μόλυνση τα φυτά μέσω των ενίσχυσης των μηχανισμών άμυνας και επίσης επάγουν την ανάπτυξη των φυτών σε όλες τις παραμέτρους. Η διαχείριση αυτή αποτελεί πρακτική της βιολογικής φυτοπροστασίας και εφαρμόζεται κατά κόρον πλέον σε φυτά τα οποία βλαστάνουν και αναπτύσσονται σε θερμοκήπιο και στη συνέχεια μεταφυτεύονται στον αγρό, όπως τα φυτά της στέβιας (Manici & Bonora, 2007).

Η τακτική παρακολούθηση των φυτών στέβιας για τα συμπτώματα της *Rhizoctonia* spp. αποτελεί σημαντικό γνώμονα για την πρόληψη της ασθένειας. Η έγκαιρη απομάκρυνση και καταστροφή των μολυσμένων φυτών μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη της περαιτέρω εξάπλωσης του παθογόνου στα υγιή φυτά. Το σημαντικότερο εργαλείο για την πρόληψη της ασθένειας είναι η σωστή παροχή της ποσότητας του νερού (Scholz, 1997). Η εξάπλωση του μύκητα στον αγρό εμφανίζεται κατά κηλίδες. Ο σωστός τρόπος ποτίσματος, με στάγδην άρδευση, που δεν δημιουργεί περίσσεια νερού στον αγρό και η ορθολογική χρήση του θα καθυστερήσει την εξάπλωση και την μόλυνση του μύκητα στον αγρό (Agiros, 2017). Η αμειψισπορά είναι το επόμενο σημαντικότερο μέτρο για την μείωση του μολύσματος στο έδαφος. Φυτά μη ξενιστές του συγκεκριμένου στελέχους και αμειψισπορά ψυχανθών για την αύξηση της γονιμότητας του εδάφους (Chourannejad et al., 2017).

Η ασθένεια που προκαλείται από το μύκητα *Rhizoctonia* spp. μπορεί να αποτελέσει σημαντική απειλή για τα φυτά στέβια, προκαλώντας σήψη των ριζών και αποξήρανση (Kim et al., 1996). Η εφαρμογή προληπτικών μέτρων, όπως οι κατάλληλες καλλιεργητικές πρακτικές, η εξυγίανση, οι επεξεργασίες σπόρων, οι εφαρμογές θεραπευτικών χημικών σκευασμάτων και η βιολογική καταπολέμηση, μπορούν να συμβάλουν στην ελαχιστοποίηση των επιπτώσεων αυτού του μυκητολογικού παθογόνου στα φυτά στέβιας και να εξασφαλίσουν υγιή ανάπτυξη και βέλτιστη απόδοση (Copes et al., 2011).

### 1.2.2 Παθογόνα βακτήρια

Τα παθογόνα βακτήρια μπορούν να αποτελέσουν σημαντική απειλή για την υγεία και την παραγωγικότητα των φυτών στέβιας. Διάφορες βακτηριολογικές ασθένειες μπορούν να προσβάλουν τη στέβια, οδηγώντας σε διάφορα συμπτώματα και πιθανές απώλειες απόδοσης.

Το *Pseudomonas cichorii* είναι ένα παθογόνο βακτήριο που μπορεί να προκαλέσει κηλίδωση των φύλλων στα φυτά στέβιας και έχει αναφερθεί για πρώτη φορά στη Φλόριντα της Αμερικής. Η ασθένεια εκδηλώνεται συνήθως ως υδαρείς κηλίδες στα φύλλα, οι οποίες αργότερα γίνονται καφέ ή μαύρες. Σε σοβαρές περιπτώσεις, οι κηλίδες μπορεί να συνενωθούν, οδηγώντας σε αποφύλλωση και μειωμένη ζωηρότητα των φυτών. Τα βακτήρια μπορούν επίσης να προκαλέσουν καρκίνους στα στελέχη και να επηρεάσουν την ποιότητα των φύλλων στέβιας (Paula Wilkie & Dye, 1974).

Το βακτήριο *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* είναι υπεύθυνο για την πρόκληση μαύρης σήψης σε διάφορες καλλιέργειες, συμπεριλαμβανομένης της στέβιας. Η ασθένεια χαρακτηρίζεται από σκουρόχρωμο μεταχρωματισμό και σήψη των φυτικών ιστών, επηρεάζοντας κυρίως τα στελέχη. Τα μολυσμένα στελέχη μπορεί να παρουσιάζουν βυθισμένες κηλίδες με μαύρο μεταχρωματισμό, οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν σε μαρασμό και τελικά σε θάνατο του φυτού (Vicente et al., 2001).

Διάφορα στελέχη του παθογόνου βακτηρίου *Erwinia* spp., όπως το *Erwinia chrysanthemi* μπορούν να προκαλέσουν βακτηριακή μαλακή σήψη στα φυτά στέβιας. Η ασθένεια αυτή χαρακτηρίζεται από μαλακή, υδαρή αποσύνθεση των φυτικών ιστών, η οποία συχνά συνοδεύεται από άσχημη οσμή. Τα μολυσμένα φύλλα, τα στελέχη ή οι



ρίζες μπορεί να γίνουν πολτώδη και να αποσυντεθούν, με αποτέλεσμα τη μάρανση και την παρακμή του φυτού (Dickey, 1978).

Η αντιμετώπιση των παθογόνων βακτηρίων στα φυτά στέβιας περιλαμβάνει την εφαρμογή διαφόρων στρατηγικών.

Οι κατάλληλες πρακτικές υγιεινής είναι ζωτικής σημασίας για τη μείωση της εξάπλωσης και της επιβίωσης των παθογόνων βακτηρίων. Αυτό περιλαμβάνει την απομάκρυνση και καταστροφή των μολυσμένων φυτικών υπολειμμάτων και την άσκηση καλής υγιεινής στον αγρό, το θερμοκήπιο ή το φυτώριο. Τα εργαλεία και ο εξοπλισμός θα πρέπει να καθαρίζονται και να απολυμαίνονται για την πρόληψη της μετάδοσης παθογόνων (Marques et al., 2016).

Η χρήση πολλαπλασιαστικού υλικού απαλλαγμένου από ασθένειες, όπως πιστοποιημένοι σπόροι ή μοσχεύματα, μπορεί να συμβάλει στην ελαχιστοποίηση της εισαγωγής παθογόνων βακτηρίων στο σύστημα παραγωγής.

Η εναλλαγή της στέβιας με καλλιέργειες που δεν είναι ξενιστές μπορεί να συμβάλει στη διακοπή του κύκλου της ασθένειας και στη μείωση της συσσώρευσης πληθυσμών βακτηρίων στο έδαφος. Αυτή η πρακτική είναι ιδιαίτερα επωφελής εάν τα παθογόνα επιμένουν στον αγρό.

Οι ασθένειες που προκαλούνται από παθογόνα βακτήρια μπορούν να εξαπλωθούν μέσω του νερού, επομένως είναι σημαντικό να αποφεύγεται η υπερβολική υγρασία και να μειώνονται οι περίοδοι υγρασίας των φύλλων. Οι πρακτικές άρδευσης πρέπει να βελτιστοποιούνται ώστε να ελαχιστοποιούνται οι ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξη και τη διάδοση βακτηρίων (Sedghi & Gholi-Tolue, 2013).

Τα βακτηριοκτόνα με βάση τον χαλκό μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ορισμένες περιπτώσεις για την πρόληψη βακτηριολογικών ασθενειών. Τα προϊόντα αυτά θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τις οδηγίες της ετικέτας και τους κατάλληλους χρόνους για τη μεγιστοποίηση της αποτελεσματικότητας και την ελαχιστοποίηση της πιθανής φυτοτοξικότητας. Συνιστώνται για πρόληψη των παθογόνων μικροοργανισμών, βακτηρίων και μυκήτων, ιδιαίτερα μετά από έντονες βροχοπτώσεις ή συγκομιδές της καλλιέργειας (Kazemi-Pour et al., 2004).

Η φύτευση ποικιλιών στέβιας που έχουν επιδείξει ανθεκτικότητα ή ανοχή σε συγκεκριμένα παθογόνα βακτήρια μπορεί να παρέχει ένα πρόσθετο επίπεδο προστασίας από ασθένειες.

Η τακτική παρακολούθηση των φυτών στέβιας για συμπτώματα βακτηριολογικών ασθενειών είναι σημαντικό μέτρο για την έγκαιρη ανίχνευση και την άμεση παρέμβαση (Agris, 2017).

### **1.2.3 Ιοί**

Οι ιοί μπορούν να αποτελέσουν σημαντική απειλή για την υγεία και την παραγωγικότητα των φυτών στέβιας. Διάφορα ιολογικά παθογόνα μπορούν να μολύνουν τη στέβια, οδηγώντας σε ποικίλα συμπτώματα και πιθανές απώλειες παραγωγής.

Ο ιός του μωσαϊκού της στέβιας (StMV): Είναι μία από τις πιο διαδεδομένες και οικονομικά σημαντικές ιολογικές ασθένειες στην καλλιέργεια της στέβιας. Προκαλεί συμπτώματα μωσαϊκού στα φύλλα, με ακανόνιστα ανοιχτόχρωμα και σκούρο πράσινα μοτίβα. Τα φύλλα μπορεί επίσης να παρουσιάσουν χλωρωτικές κηλίδες, παραμόρφωση και καχεξία. Σοβαρές μολύνσεις μπορεί να οδηγήσουν σε μειωμένη ευρωστία των φυτών, μείωση της παραγωγής, ακόμη και θάνατο των φυτών (Dodds, 1998).

Ο ιός της χλωρωτικής παραμόρφωσης των νεύρων της στέβιας είναι ένας άλλος ιός που προσβάλλει τα φυτά στέβιας. Προκαλεί χλωρωτικές ή κίτρινες ζώνες, μαζί με παραμόρφωση των νεύρων και καρούλιασμα των φύλλων. Τα μολυσμένα φύλλα μπορεί να γίνουν εύθραυστα και να παρουσιάσουν μειωμένο μέγεθος και συνολική ανάπτυξη. Ο ιός SCVDV μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την ποιότητα και την απόδοση των φύλλων στέβιας (Larman et al., 2017).

Ο ιός του μωσαϊκού του αγγουριού (CMV) είναι ένας ευρέως διαδεδομένος ιός των φυτών που μπορεί να μολύνει διάφορες καλλιέργειες, συμπεριλαμβανομένης της στέβιας. Τα μολυσμένα φυτά στέβιας μπορεί να παρουσιάσουν συμπτώματα μωσαϊκού στα φύλλα, μαζί με κιτρίνισμα, παραμόρφωση και καχεξία. Ο CMV μπορεί επίσης να προκαλέσει νεκρωτικές κηλίδες ή δακτυλίους στα φύλλα και να επηρεάσει τη συνολική ανάπτυξη και παραγωγικότητα του φυτού (Palukaitis et al., 1992).

Η έναρξη με πολλαπλασιαστικό υλικό απαλλαγμένο από ιούς, όπως πιστοποιημένοι σπόροι ή μοσχεύματα δίχως ιούς, είναι ζωτικής σημασίας για την ελαχιστοποίηση της εισαγωγής ιογενών παθογόνων.

Οι ιοί συχνά μεταδίδονται από έντομα-φορείς, όπως οι αφίδες ή οι αλευρώδεις. Η εφαρμογή μέτρων ελέγχου για τη διαχείριση των πληθυσμών των φορέων μπορεί να συμβάλει στη μείωση της εξάπλωσης των ιολογικών ασθενειών. Αυτό μπορεί να περιλαμβάνει τη χρήση εντομοκτόνων, φυτά παγίδες ή καλλιεργητικών πρακτικών που αποθαρρύνουν την παρουσία φορέων.

Οι σωστές πρακτικές υγιεινής είναι ζωτικής σημασίας για την πρόληψη της εξάπλωσης των ιών. Η απομάκρυνση και η καταστροφή των μολυσμένων φυτών, καθώς και ο έλεγχος των ζιζανίων που μπορεί να λειτουργούν ως εναλλακτικοί ξενιστές, μπορούν να συμβάλουν στη μείωση του φορτίου των παθογόνων ιών.

Εάν είναι διαθέσιμες, η φύτευση ποικιλιών στέβιας που έχουν επιδείξει ανθεκτικότητα ή ανοχή σε συγκεκριμένες ιολογικές ασθένειες μπορεί να προσφέρει ένα πρόσθετο επίπεδο προστασίας. Οι ανθεκτικές ποικιλίες είναι λιγότερο ευαίσθητες στη μόλυνση και ενδέχεται να παρουσιάζουν ηπιότερα συμπτώματα.

Η τακτική παρακολούθηση των φυτών στέβια για συμπτώματα ιολογικών ασθενειών είναι ζωτικής σημασίας για την έγκαιρη ανίχνευση. Η άμεση καταπολέμηση των εντόμων φορέων μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη της περαιτέρω εξάπλωσης του ιού εντός της καλλιέργειας.

Η εφαρμογή μιας προσέγγισης IPM που συνδυάζει πολλαπλές στρατηγικές, συμπεριλαμβανομένων των καλλιεργητικών πρακτικών, του βιολογικού ελέγχου και των στοχευμένων εφαρμογών φυτοφαρμάκων σε φυτά παγίδες και έντομα φορείς, μπορεί να βοηθήσει στη διαχείριση τόσο των ιικών φορέων όσο και των ίδιων των ιολογικών ασθενειών.

Εάν υπάρχουν υποψίες για ιώσεις ασθένειες σε φυτά στέβιας, συνιστάται η άμεση επικοινωνία του παραγωγού με κάποιο φυτοπαθολογικό ινστιτούτο με σκοπό την πρόληψη της ασθένειας και την άμεση καταπολέμηση των φορέων.

Συμπερασματικά, οι ιολογικές ασθένειες μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την υγεία και την παραγωγικότητα των φυτών στέβιας. Η εφαρμογή προληπτικών μέτρων, όπως η χρήση πολλαπλασιαστικού υλικού απαλλαγμένου από ιούς, ο έλεγχος

των φορέων, οι πρακτικές υγιεινής και οι ανθεκτικές ποικιλίες, μαζί με την τακτική παρακολούθηση και την ολοκληρωμένη διαχείριση των παρασίτων, μπορούν να συμβάλουν στην ελαχιστοποίηση της εμφάνισης και της εξάπλωσης των ιολογικών ασθενειών. Η έγκαιρη ανίχνευση και παρέμβαση είναι το κλειδί για τη διατήρηση υγιών φυτών στέβιας και τη διασφάλιση της βέλτιστης απόδοσης (Agiros, 2017).

### **1.3 Βιολογική αντιμετώπιση**

Η βιολογική αντιμετώπιση, είναι μια φιλική προς το περιβάλλον προσέγγιση για τη διαχείριση των παρασίτων και των ασθενειών στα φυτά. Περιλαμβάνει τη χρήση ωφέλιμων οργανισμών, όπως έντομα, βακτήρια, μύκητες και ιούς, για την καταστολή ή την εξάλειψη επιβλαβών οργανισμών και παθογόνων (Tabassum et al., 2017).

Ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα της βιολογικής αντιμετώπισης είναι η βιωσιμότητά της. Σε αντίθεση με τα χημικά φυτοφάρμακα, τα οποία μπορεί να έχουν αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία, οι βιολογικοί παράγοντες καταπολέμησης εμφανίζονται στη φύση και ενέχουν ελάχιστους κινδύνους. Αυτοί οι ωφέλιμοι οργανισμοί μπορούν να συμβάλουν στη διατήρηση ενός ισορροπημένου οικοσυστήματος και να μειώσουν την εξάρτηση από συνθετικές χημικές ουσίες (Bhattacharyya & Jha, 2012).

Στο πεδίο της βιολογικής αντιμετώπισης, υπάρχουν διάφορες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται. Μια μέθοδος περιλαμβάνει την εισαγωγή φυσικών εχθρών, όπως αρπακτικά έντομα ή παρασιτικές σφήκες, για τον έλεγχο των εχθρών. Αυτοί οι φυσικοί εχθροί τρέφονται με τα έντομα, μειώνοντας τους πληθυσμούς τους και αποτρέποντας τις ζημιές στα φυτά. Οι πασχαλίτσες, τα ακάρεα και οι νηματώδεις είναι παραδείγματα συνήθως χρησιμοποιούμενων αρπακτικών στο πλαίσιο της βιολογικής αντιμετώπισης (Fuentes-Ramirez & Caballero-Mellado, 2005).

Μια άλλη προσέγγιση είναι η χρήση ωφέλιμων μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων βακτηρίων, μυκήτων και ιών. Αυτοί οι μικροοργανισμοί μπορούν να στοχεύσουν συγκεκριμένους εχθρούς ή ασθένειες, δρώντας ως βιοεντομοκτόνα (Antoun & Prévost, 2005). Για παράδειγμα, βακτήρια του γένους *Bacillus* και *Pseudomonas*, ωφέλιμοι μύκητες του γένους *Trichoderma*, μπορούν μέσω της εφαρμογής τους να αντιμετωπίσουν παθογόνους μικροοργανισμούς στα φυτά, μέσω της επαγωγής της άμυνας των φυτών.

Οι βιολογικές εφαρμογές μπορούν επίσης να περιλαμβάνουν την χρήση ωφέλιμων μυκήτων, μυκκόριζες, οι οποίοι ενισχύουν την ανάπτυξη των φυτών και συμβάλλουν στην προστασία από ασθένειες που μεταδίδονται από το έδαφος (Chinnasamy, 2005). Αυτοί οι μύκητες δημιουργούν συμβιωτικές σχέσεις με τις ρίζες των φυτών, προωθώντας την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών, βελτιώνοντας τη δομή του εδάφους και αντιμετωπίζοντας επιβλαβή παθογόνα.

Για να εφαρμοστεί αποτελεσματικά η βιολογική αντιμετώπιση, πρέπει να δοθεί προσοχή στην επιλογή και το χρονοδιάγραμμα των παραγόντων καταπολέμησης. Παράγοντες όπως το εχθρός ή η ασθένεια-στόχος, οι περιβαλλοντικές συνθήκες και η συγκεκριμένη καλλιέργεια παίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της επιτυχίας της εφαρμογής. Για τη βελτιστοποίηση της υγείας των φυτών και την ελαχιστοποίηση των ζημιών χρησιμοποιούνται συχνά στρατηγικές ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας (ΟΠΜ), οι οποίες συνδυάζουν πολλαπλές προσεγγίσεις, συμπεριλαμβανομένης της βιολογικής αντιμετώπισης (Siddiqui, 2005).

Τα τελευταία χρόνια, η βιολογική αντιμετώπιση έχει κερδίσει αυξανόμενη αναγνώριση και υιοθέτηση στη γεωργία. Προσφέρει μια βιώσιμη εναλλακτική λύση στη συμβατική χρήση φυτοφαρμάκων, υποστηρίζοντας τις πρακτικές βιολογικής γεωργίας και μειώνοντας τις επιπτώσεις στα οικοσυστήματα. Ωστόσο, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η βιολογική αντιμετώπιση δεν αποτελεί μια λύση που ταιριάζει σε όλους και η αποτελεσματικότητά της μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τις συγκεκριμένες συνθήκες και τις προκλήσεις που αντιμετωπίζει η καλλιέργεια των φυτών (Τζάμος Ε.Κ., 2007).

Συνολικά, η βιολογική αντιμετώπιση παρέχει ένα πολύτιμο εργαλείο για τους καλλιεργητές φυτών για τη διαχείριση των εχθρών και των ασθενειών με έναν πιο φιλικό προς το περιβάλλον και βιώσιμο τρόπο. Αξιοποιώντας όλους τους μικροοργανισμούς, τα έντομα και τα εκχυλίσματα διάφορων φυτών, η βιολογική αντιμετώπιση εξελίσσεται και καταλαμβάνει όλο και περισσότερο χώρο στην φυτοπροστασία, χαρίζοντας ένας ποιοτικότερο προϊόν και ένα βιώσιμο περιβάλλον.

### **1.3.1 Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)**

Τα ριζοβακτήρια που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών, Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) είναι μια ομάδα ωφέλιμων βακτηρίων που

αποικίζουν το ριζικό σύστημα των φυτών και προάγουν την ανάπτυξη και τη συνολική υγεία τους. Αυτά τα ριζοβακτήρια δημιουργούν συμβιωτική σχέση με τα φυτά, παρέχοντας διάφορα οφέλη που ενισχύουν τη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, την ανθεκτικότητα στις ασθένειες και την ανοχή στο στρες και την επαγωγή της διασυστηματικής άμυνας των φυτών.

Ένας από τους βασικούς μηχανισμούς με τους οποίους τα PGPR ωφελούν τα φυτά είναι μέσω της δέσμευσης και της διαλυτοποίησης θρεπτικών στοιχείων. Ορισμένα στελέχη ριζοβακτηρίων έχουν την ικανότητα να μετατρέπουν το ατμοσφαιρικό άζωτο σε μορφή που μπορούν να χρησιμοποιήσουν τα φυτά, συμπληρώνοντας έτσι τις απαιτήσεις του φυτού σε άζωτο. Επιπλέον, μπορούν να διαλυτοποιήσουν τον φώσφορο και άλλα μέταλλα, καθιστώντας τα πιο προσιτά στις ρίζες των φυτών. Αυτή η ικανότητα ενίσχυσης των θρεπτικών συστατικών των βακτηρίων συμβάλλει στη βελτίωση της αύξησης και της ανάπτυξης των φυτών (Prakash & Arora, 2020).

Τα PGPR έχουν επίσης την ικανότητα να παράγουν ουσίες που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών, όπως φυτορμόνες, ένζυμα και σιδηροφόρα. Οι φυτορμόνες, συμπεριλαμβανομένων των αυξινών, των κυτοκινινών και των γιββερελλινών, ρυθμίζουν διάφορες πτυχές της ανάπτυξης των φυτών, όπως η ανάπτυξη των ριζών, η επιμήκυνση των βλαστών και η ανθοφορία. Με την παραγωγή αυτών των ορμονών, τα PGPRs μπορούν να διεγείρουν την ανάπτυξη των ριζών και να ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα της πρόσληψης θρεπτικών ουσιών (Forouzi et al., 2020).

Επιπλέον, τα ένζυμα που παράγονται από τα PGPR μπορούν να διασπάσουν την οργανική ύλη στο έδαφος, απελευθερώνοντας απαραίτητα θρεπτικά συστατικά που διαφορετικά δεν θα ήταν διαθέσιμα στα φυτά. Η δραστηριότητα αυτή βελτιώνει τη γονιμότητα του εδάφους και την ανακύκλωση των θρεπτικών στοιχείων, ωφελώντας τελικά την υγεία και την παραγωγικότητα των φυτών.

Εκτός από τα οφέλη που σχετίζονται με τα θρεπτικά συστατικά, τα PGPR διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην άμυνα των φυτών κατά των παθογόνων μικροοργανισμών. Μπορούν να παράγουν αντιμικροβιακές ενώσεις και να ενεργοποιούν το ενδογενές ανοσοποιητικό σύστημα του φυτού, συμβάλλοντας στην καταστολή της ανάπτυξης επιβλαβών παθογόνων μικροοργανισμών στη ριζόσφαιρα. Ορισμένα PGPR προκαλούν επίσης την επαγωγή της διασυστηματικής άμυνας στα

φυτά, προετοιμάζοντάς τα να αμυνθούν ενάντια σε ένα ευρύ φάσμα παθογόνων και μειώνοντας την ανάγκη για χημικά φυτοφάρμακα (XU et al., 2018).

Τα PGPRs μπορούν επίσης να ενισχύσουν την ανοχή των φυτών σε αβιοτικές καταπονήσεις, όπως η ξηρασία, η αλατότητα και οι ακραίες θερμοκρασίες. Αυτό το επιτυγχάνουν βελτιώνοντας την αποτελεσματικότητα της πρόσληψης νερού και θρεπτικών συστατικών από το φυτό, καθώς και με την παραγωγή ενώσεων που ανταποκρίνονται στο στρες και προστατεύουν τα φυτικά κύτταρα από βλάβες.

Για την αποτελεσματική αξιοποίηση των PGPR, οι ερευνητές διερευνούν διάφορες μεθόδους για την εφαρμογή τους. Η επεξεργασία σπόρων, ο εμβολιασμός στο έδαφος και ο ψεκασμός φύλλων είναι κοινές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την εισαγωγή PGPR στο περιβάλλον των φυτών. Η επιλογή των κατάλληλων στελεχών PGPR και η συμβατότητά τους με συγκεκριμένες καλλιέργειες και περιβαλλοντικές συνθήκες είναι ουσιώδεις παράγοντες για την επιτυχή εφαρμογή (Prakash et al., 2022).

Η χρήση τους ως βιώσιμη γεωργική πρακτική κερδίζει αναγνώριση και αποδοχή παγκοσμίως. Αξιοποιώντας τις ευεργετικές επιδράσεις αυτών των βακτηρίων, οι γεωργοί μπορούν να μειώσουν την εξάρτησή τους από τα χημικά λιπάσματα και τα φυτοφάρμακα, βελτιώνοντας παράλληλα την παραγωγικότητα και την ποιότητα των καλλιεργειών. Επιπλέον, η εφαρμογή των PGPR μπορεί να συμβάλει στη διατήρηση της υγείας του εδάφους, της βιοποικιλότητας και της συνολικής βιωσιμότητας των γεωργικών συστημάτων.

Τα ριζοβακτήρια που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών προσφέρουν μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για την ενίσχυση της ανάπτυξης των φυτών, της θρέψης, της ανθεκτικότητας στις ασθένειες και της ανοχής στο στρες. Οι πολύπλευροι μηχανισμοί δράσης τους τα καθιστούν πολύτιμους συμμάχους στη βιώσιμη γεωργία, υποστηρίζοντας φιλικές προς το περιβάλλον πρακτικές και μειώνοντας τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις των συμβατικών μεθόδων καλλιέργειας. Η συνεχής έρευνα και εφαρμογή των PGPR ενέχει μεγάλες δυνατότητες για την προώθηση της υγείας των φυτών και τη βελτιστοποίηση της γεωργικής παραγωγικότητας με πιο βιώσιμο και περιβαλλοντικά συνειδητό τρόπο.

### **1.3.2 Plant Growth Promoting Fungi (PGPF)**

Ορισμένα στελέχη μυκήτων μπορούν και προάγουν την ανάπτυξη των φυτών και είναι μια ομάδα ωφέλιμων μυκήτων που δημιουργούν συμβιωτικές ενώσεις με τα

φυτά και συμβάλλουν στην ανάπτυξη και τη συνολική υγεία τους. Αυτοί οι μύκητες αποικίζουν τη ριζόσφαιρα των φυτών, σχηματίζοντας αμοιβαίες σχέσεις που προσφέρουν διάφορα οφέλη στα φυτά-συμβιώτες και είναι γνωστοί ως Plant Growth Promoting Fungi (PGPF).

Ένας από τους κύριους τρόπους με τους οποίους οι PGPF ενισχύουν την ανάπτυξη των φυτών είναι μέσω των χημικών ενώσεων που παράγουν κατά τη συμβίωσή τους με το ριζικό σύστημα των φυτών. Οι μυκόρριζες σχηματίζουν αμοιβαίες σχέσεις με τις ρίζες των περισσότερων φυτών, διευκολύνοντας την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και ενισχύοντας τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών. Επεκτείνουν τις υφές τους στο έδαφος, αυξάνοντας την επιφάνεια για την απορρόφηση θρεπτικών στοιχείων και μεταφέροντας θρεπτικά στοιχεία, ιδίως φώσφορο, στις ρίζες των φυτών. Αυτό προάγει τη βελτιωμένη ανάπτυξη και μεγέθυνση των φυτών, ιδίως σε εδάφη με ανεπάρκεια θρεπτικών στοιχείων (Alotaibi et al., 2022).

Επιπλέον, οι PGPF μπορούν να ενισχύσουν την ανθεκτικότητα των φυτών σε ασθένειες και παθογόνα. Ορισμένοι μύκητες παράγουν αντιμικροβιακές ενώσεις που αναστέλλουν την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών στη ριζόσφαιρα. Με τον τρόπο αυτό, προστατεύουν τις ρίζες των φυτών από τη μόλυνση και μειώνουν τη συχνότητα εμφάνισης ασθενειών (LIU et al., 2021). Επιπλέον, οι PGPF μπορούν να επάγουν τη διασυστηματική άμυνα στα φυτά, ενεργοποιώντας τους αμυντικούς μηχανισμούς του φυτού και προετοιμάζοντάς τα να καταπολεμήσουν ένα ευρύ φάσμα παθογόνων μικροοργανισμών. Αυτή η ιδιότητά τους, βρίσκει πολύ καλή εφαρμογή σε διάφορα παθογόνα του εδάφους.

Εκτός από την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και την ανάπτυξη της αντοχής στις ασθένειες, οι PGPF συμβάλλουν στην υγεία των φυτών μέσω της παραγωγής ενώσεων και ορμονών που προάγουν την ανάπτυξη. Αυτές οι ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των αυξινών, των κυτοκινινών και των γιββερελλινών, μπορούν να διεγείρουν την ανάπτυξη των φυτών, την ανάπτυξη των ριζών και την ανθοφορία. Με την παραγωγή αυτών των ουσιών που προάγουν την ανάπτυξη, οι PGPF ενισχύουν τη συνολική ευρωστία και παραγωγικότητα των φυτών .

Οι ωφέλιμοι αυτοί μύκητες, παίζουν επίσης κρίσιμο ρόλο στην ενίσχυση της δομής και της γονιμότητας του εδάφους. Οι υφές των μυκήτων σχηματίζουν ένα δίκτυο που βελτιώνει τη συσσωμάτωση του εδάφους, δημιουργώντας πόρους που επιτρέπουν



τον καλύτερο αερισμό, τη διείσδυση του νερού και των ριζών. Αυτή η βελτιωμένη δομή του εδάφους βελτιώνει τη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών και νερού στα φυτά, προωθώντας την υγιή ανάπτυξη των ριζών και τη συνολική ανάπτυξη των φυτών (Mamta et al., 2010).

Για την αποτελεσματική αξιοποίηση των πλεονεκτημάτων των PGPF, οι ερευνητές και οι αγρότες χρησιμοποιούν διάφορες μεθόδους για την εφαρμογή τους. Ο εμβολιασμός των ριζών των φυτών με τους μύκητες ή η εφαρμογή σπορίων μυκήτων στο έδαφος είναι κοινές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την αποτελεσματική συμβίωση με τα φυτά ξενιστές. Η επιλογή των κατάλληλων ειδών και στελεχών μυκήτων, σε συνδυασμό με την εξέταση των περιβαλλοντικών συνθηκών και των ειδικών απαιτήσεων της καλλιέργειας, είναι κρίσιμοι παράγοντες για την επιτυχή εφαρμογή.

Η χρήση των PGPF προσφέρει μια βιώσιμη και φιλική προς το περιβάλλον προσέγγιση στην καλλιέργεια φυτών. Αξιοποιώντας τις συμβιωτικές σχέσεις μεταξύ μυκήτων και φυτών, οι αγρότες μπορούν να μειώσουν την εξάρτηση από χημικά συντιθέμενα σκευάσματα, βελτιώνοντας παράλληλα την παραγωγικότητα και την ποιότητα των καλλιεργειών. Επιπλέον, η παρουσία των PGPF συμβάλλει στη διατήρηση της υγείας του εδάφους, της βιοποικιλότητας και της συνολικής βιωσιμότητας των γεωργικών συστημάτων (Kasiamdari et al., 2002).

### **1.3.3 *Trichoderma harzianum* T-22**

Ο μύκητας *Trichoderma harzianum* T-22 είναι ένας ωφέλιμος μύκητας που ανήκει στο γένος *Trichoderma*, γνωστός για τις ιδιότητες του που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών και για τη χρήση του ως βιολογικός παράγοντας εναντίον διαφόρων παθογόνων. Έχει κερδίσει σημαντική προσοχή στη γεωργία για την ικανότητά του να ενισχύει την ανάπτυξη των φυτών, να καταστέλλει τα φυτοπαθογόνα και να βελτιώνει τη συνολική παραγωγικότητα των καλλιεργειών.

Ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά του *Trichoderma harzianum* T-22 είναι η ανταγωνιστική του δράση έναντι ενός ευρέος φάσματος φυτοπαθογόνων. Παράγει αντιμυκητιακούς μεταβολίτες και ένζυμα που αναστέλλουν την ανάπτυξη διαφόρων παθογόνων μυκήτων, συμπεριλαμβανομένων των ειδών *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. και *Pythium* spp. Αποικίζοντας τη ριζόσφαιρα των φυτών, το T-22 δημιουργεί ένα προστατευτικό φράγμα και ανταγωνίζεται τα επιβλαβή παθογόνα για θρεπτικά

συστατικά και χώρο, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών (Hamza Chammen, 2022).

Εκτός από τις ικανότητες βιολογικής αντιμετώπισης, το *T. harzianum* T-22 προάγει την ανάπτυξη των φυτών μέσω διαφόρων μηχανισμών. Παράγει ουσίες που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών, όπως το ινδολικό οξύ (IAA) και γιββερελλίνες, οι οποίες διεγείρουν την ανάπτυξη των ριζών, ενισχύουν την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και βελτιώνουν τη συνολική ευρωστία των φυτών (Oskiera et al., 2017). Το T-22 βοηθά επίσης στη διαλυτοποίηση των θρεπτικών στοιχείων, ιδίως του φωσφόρου, καθιστώντας τα πιο προσιτά στα φυτά και βελτιώνοντας την αποτελεσματικότητα της χρήσης των θρεπτικών στοιχείων.

Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι το ο μύκητας αυτός επάγει τη διασυστηματική άμυνα στα φυτά. Ενεργοποιεί τους αμυντικούς μηχανισμούς του φυτού, οδηγώντας σε αυξημένη αντοχή απέναντι σε ένα ευρύ φάσμα παθογόνων. Η επαγωγή της διασυστηματικής άμυνας των φυτών, τα βοηθά να αντιμετωπίσουν αποτελεσματικότερα τα παθογόνα του εδάφους αλλά παρέχει επίσης μια μακροχρόνια επίδραση, επιτρέποντάς τους να αντέξουν σε επικείμενες ασθένειες (Chammem et al., 2021) .

Η εφαρμογή του *T. harzianum* T-22 μπορεί να γίνει μέσω διαφόρων μεθόδων, όπως το ριζοπότισμα , η διαβροχή εδάφους μέσω της μέθοδος ποτίσματος στάγδην και με ψεκασμούς φυλλώματος (Longa & Pertot, 2009). Η επιλογή της μεθόδου εφαρμογής εξαρτάται από την καλλιέργεια-στόχο, το συγκεκριμένο παθογόνο ή την ασθένεια και το στάδιο ανάπτυξης των φυτών.

Το T-22 χρησιμοποιείται συνήθως σε προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης επιβλαβών οργανισμών (IPM), καθώς προσφέρει μια βιώσιμη και φιλική προς το περιβάλλον προσέγγιση για τον έλεγχο των ασθενειών. Μειώνοντας την εξάρτηση από χημικά μυκητοκτόνα, συμβάλλει στη διατήρηση των ωφέλιμων μικροοργανισμών, της υγείας του εδάφους και της συνολικής ισορροπίας των αγροοικοσυστημάτων .

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η αποτελεσματικότητα του *Trichoderma harzianum* T-22 μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των περιβαλλοντικών συνθηκών, των ειδών καλλιέργειας και των ειδικών πιέσεων μόλυνσης των παθογόνων (Daryaei et al., 2016). Ως εκ τούτου,

συνιστάται η διαβούλευση με τις τοπικές γεωργικές συμβουλευτικές υπηρεσίες ή τους εμπειρογνώμονες για τον προσδιορισμό των καταλληλότερων στρατηγικών εφαρμογής και τη βελτιστοποίηση των οφελών του σε συγκεκριμένα γεωργικά συστήματα.

Το *T. harzianum* T-22 είναι ένας πολύτιμος βιολογικός παράγοντας και προαγωγός της ανάπτυξης των φυτών. Οι ανταγωνιστικές ιδιότητές του κατά των φυτοπαθογόνων, η ικανότητά του να διεγείρει την ανάπτυξη των φυτών και η επαγωγή συστηματικής ανθεκτικότητας το καθιστούν ευεργετικό εργαλείο στις πρακτικές βιώσιμης γεωργίας. Αξιοποιώντας το δυναμικό του T-22, οι αγρότες μπορούν να μειώσουν τη χρήση χημικών φυτοφαρμάκων, να ενισχύσουν την υγεία των φυτών και να προωθήσουν την περιβαλλοντικά συνειδητή παραγωγή καλλιεργειών (EFSA, 2015).

#### **1.3.4 *Trichoderma atroviride* strain SC1**

Το στέλεχος SC1 του *Trichoderma atroviride* είναι ένας ωφέλιμος μύκητας που ανήκει στο γένος *Trichoderma*. Εκτιμάται ιδιαίτερα για τις δυνατότητές του ως βιολογικός παράγοντας και την ικανότητά του να προάγει την ανάπτυξη των φυτών και να ενισχύει την υγεία των φυτών.

Ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά του στελέχους SC1 είναι η δραστηριότητα βιοελέγχου των παθογόνων των φυτών. Έχει βρεθεί ότι έχει ανταγωνιστικές ιδιότητες έναντι ενός ευρέος φάσματος μυκητολογικών παθογόνων, συμπεριλαμβανομένων ειδών από τα γένη *Botrytis* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. και *Pythium* spp. Το SC1 το επιτυγχάνει μέσω διαφόρων μηχανισμών, όπως η παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών και ενζύμων που αναστέλλουν την ανάπτυξη παθογόνων μυκήτων (Mastouri et al., 2010). Αποικίζοντας το ριζικό σύστημα των φυτών, το SC1 σχηματίζει έναν προστατευτικό φραγμό, ανταγωνίζεται και καταστέλλει τα παθογόνα, αυξάνοντας έτσι την αντοχή των φυτών στις μολύνσεις.

Εκτός από τις ικανότητες βιοελέγχου του, το στέλεχος SC1, παρουσιάζει επίσης χαρακτηριστικά που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών. Παράγει ουσίες που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών, συμπεριλαμβανομένου του ινδολικού οξέος (IAA), των γιββερελλινών και ενζύμων που διεγείρουν την ανάπτυξη των ριζών, ενισχύουν την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και βελτιώνουν τη συνολική ευρωστία των φυτών. Το SC1 μπορεί να διαλυτοποιήσει θρεπτικά συστατικά, ιδίως φώσφορο, καθιστώντας τα πιο διαθέσιμα στα φυτά και βελτιώνοντας την

αποτελεσματικότητα της αξιοποίησης των θρεπτικών συστατικών τους (Shoresh & Harman, 2008).

Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι το *Trichoderma atroviride* SC1 επάγει την διασυστηματική άμυνα στα φυτά. Ενεργοποιώντας τους αμυντικούς μηχανισμούς του φυτού, ενισχύει την ικανότητα του φυτού να αντιστέκεται σε ένα ευρύ φάσμα παθογόνων.

Η εφαρμογή του στελέχους SC1 μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορες μεθόδους, συμπεριλαμβανομένων του ριζοποτίσματος, της εφαρμογής στο έδαφος και της διαβροχής του φυλλώματος (Mastouri et al., 2012). Σε κάθε περίπτωση θα πρέπει να γίνονται επαναληπτικές εφαρμογές από τους παραγωγούς τόσο σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες όσο και στον αγρό αφού είναι ζωντανός οργανισμός και ο πληθυσμός του φθίνει με τον καιρό. Στην περίπτωση δε όπου τα φυτά μεταφυτεύονται στον αγρό, θα πρέπει να γίνεται τακτική εφαρμογή των βιοπαραγόντων αυτών αφού ο ανταγωνισμός στους στο πεδίο είναι μεγάλος (Vinale et al., 2009). Η επιλογή της μεθόδου εφαρμογής εξαρτάται από την καλλιέργεια-στόχο, το συγκεκριμένο παθογόνο ή την ασθένεια που στοχεύεται και το στάδιο ανάπτυξης των φυτών.

Ο μύκητας *Trichoderma atroviride* SC1 χρησιμοποιείται συνήθως σε προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης επιβλαβών οργανισμών (IPM), καθώς προσφέρει μια βιώσιμη και φιλική προς το περιβάλλον προσέγγιση για τον έλεγχο των ασθενειών. Μειώνοντας την εξάρτηση από χημικά μυκητοκτόνα, συμβάλλει στη διατήρηση των ωφέλιμων μικροοργανισμών, της υγείας του εδάφους και της συνολικής ισορροπίας των αγροοικοσυστημάτων (Akladios & Abbas, 2014).

Η αποτελεσματικότητα του στελέχους SC1 μπορεί να διαφέρει ανάλογα με διάφορους παράγοντες, όπως οι περιβαλλοντικές συνθήκες, τα είδη των φυτών που καλλιεργούνται στην εκάστοτε περιοχή, η μορφολογία και το είδος των παθογόνων προς αντιμετώπιση κ.α..

#### **1.4 Σκοπός της εργασίας**

Ο σκοπός αυτής της μελέτης είναι η διερεύνηση του ρόλου και η ταυτοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών στην καλλιέργεια της στέβιας στην Ελλάδα. Ύστερα από τη δειγματοληψία ασθενών φυτών στέβιας, απομονώθηκε ο μύκητας του γένους *Rhizoctonia* ο οποίος φάνηκε ότι προκαλούσε σημαντικές ζημιές στην καλλιέργεια στο χωριό της λυγαριάς. Η παθογόνος του ικανότητα μελετήθηκε σε πειράματα

θερμοκηπίου και αξιολογήθηκε. Έως και σήμερα η καλλιέργεια της στέβιας δεν έχει εγκεκριμένες χημικές ουσίες για την καταπολέμηση των παθογόνων μικροοργανισμών. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση βιολογικών εμπορικών σκευασμάτων που εμπεριέχουν στελέχη μυκήτων του γένους *Trichoderma* με σκοπό την βιολογική τους αντιμετώπιση έναντι του παθογόνου μύκητα *In plant* και *In vitro*. Πέραν όμως της βιολογικής τους αντιμετώπισης, οι βιολογικοί παράγοντες αξιολογήθηκαν και για την ικανότητα τους να προάγουν την ανάπτυξη των φυτών.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.1 Απομόνωση και καλλιέργεια του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* BN AG-G**

Κατά τη διάρκεια επισκοπήσεων που πραγματοποιήθηκαν σε αγρούς της στέβιας, παρατηρήθηκαν ολικά ή μερικώς νεκρά φυτά κατά κηλίδες. Πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία διάφορων φυτών, συμπτωματικών και μη, για περαιτέρω εξέτασή τους στο εργαστήριο Φυτοπαθολογίας στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Η δειγματοληψία έγινε από διάφορους αγρούς (Εικόνα 9A) και από αυτούς που φαινοτυπικά ήταν υγιείς (Εικόνα 9B). Τα συμπτωματικά φυτά παρουσίαζαν μαράνσεις, μερικές ή και ολικές νεκρώσεις του φυτού. Σημειώνεται πως τα φυτά τα οποία φάνηκαν να παρουσιάζουν αυτά τα προβλήματα ήταν σε αγρούς που βρισκόντουσαν στο χωριό της Λυγαριάς, στο οποίο τα εδάφη είναι αρκετά βαριά με κακή αποστράγγιση πράγμα που ευνοεί τα παθογόνα του εδάφους. Στα υπόλοιπα χωριά όπου τα εδάφη είναι πιο ελαφριά και σε κάποια πετρώδη, όπως αυτά στο χωριό Κωσταλέξι, δεν παρατηρείται περίσσεια νερού. Στα φυτά με τα συμπτώματα, παρατηρήθηκε σήψη της ρίζας και μεταχρωματισμός του λαιμού ο οποίος συνοδευόταν από έντονο λευκό μυκήλιο που εκτεινόταν σε όλη τη ριζόσφαιρα. Τμήματα του λαιμού και της ρίζας συλλέχθηκαν με στόχο την παρατήρησή τους σε οπτικό μικροσκόπιο. Στα δείγματα όπου δεν παρουσίαζαν κάποιο σύμπτωμα δεν παρατηρήθηκε κάποιο χαρακτηριστικό γνώρισμα παθογόνου μύκητα. Στα συμπτωματικά φυτά, παρατηρήθηκε κυλινδρικό μυκήλιο με χαρακτηριστικό γνώρισμα κάθετης υφής και στένωσης. Το γνώρισμα αυτό εμφανίζεται σε υφές μύκητα του γένους *Rhizoctonia*. Σημειώνεται ότι τα δείγματα των μη υγιών φυτών, παρατηρήθηκαν χαρακτηριστικές

υφές με αυτές του μύκητα *Rhizoctonia*. Τα δείγματα αυτά προερχόντουσαν από το χωριό της Λυγαριάς.

Για την απομόνωση του μύκητα, τμήματα ρίζας τοποθετήθηκαν σε τριβλίο με νερό με σκοπό την ανάπτυξη των υφών του μύκητα. Στη συνέχεια καθαρίστηκαν σύμφωνα με το εξής πρωτόκολλο:



**Εικόνα 9.**(A) Αριστερά μολυσμένα φυτά στέβιας από το μύκητα *Rhizoctonia bicornis*. Συμπτωματολογία σε μεγάλη κηλίδα. Χαρακτηριστικά βαριά εδάφη στο χωριό της Λυγαριάς που κρατούν περίσσεια υγρασίας. (B) Δεξιά υγιή φυτά στέβιας στο χωριό Κωσταλέξι. Χαρακτηριστικό τα ελαφριά εδάφη που δεν νεροκρατούν.

- Δεκαπέντε λεπτά σε τρεχούμενο νερό βρύσης ώστε να καθαριστούν τα περίσσεια προσκολλημένα σωματίδια εδάφους και ξένη ύλη και στέγνωμα σε απορροφητικό χαρτί.
- Επιφανειακή απολύμανση με 70% αιθανόλη, εκ νέου πλύσιμο κάτω από τρεχούμενο νερό για δεκαπέντε λεπτά και στέγνωμα.
- Τα τμήματα της ρίζας και του λαιμού τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα Water Agar (WA) και σε εξιδεικευμένο υπόστρωμα για μύκητες του γένους *Rhizoctonia*, Ko and Hora. Για την παρασκευή ενός λίτρου Ko and Hora αναμείχθηκε 0,01g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Ferrous Sulfate), 0,2g  $\text{NaNO}_2$  (Sodium Nitrate), 0,5g  $\text{KCl}$  (Potassium Chloride), 0,5g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (Potassium Phosphate- Dibasic) έως την πλήρη ομογενοποίηση του

μίγματος, στη συνέχεια προστέθηκαν 12 g άγαρ, καλή ανάδευση και αποστείρωσή στους 120°C για 20 λεπτά.

- Στη συνέχεια, στο θάλαμο νηματικής ροής, προστίθεται 0,4g γαλακτικό οξύ και 2,5 ml 95% αιθανόλη. Ακολούθως (περίπου στους 50°C) προστίθενται 0,005 g chloramphenicol, 0,05 g streptomycin και 0,313 g fosetyl-al. Ύστερα από την καλλιέργεια του μύκητα σε Ko and Hora και την απομόνωσή του και τον καθαρισμό του από δευτερογενείς μικροοργανισμούς, μεταφέρθηκε σε θρεπτικό μέσο πατάτας Potato Dextrose Agar (PDA).

Ο μύκητας *Rhizoctonia* διατηρήθηκε σε δύο μορφές. Αρχικά, σε διάλυμα γλυκερόλης σε σωλήνες Eppendorf και διατήρησή του στους -80 °C. Για την παρασκευή 1 ml διαλύματος γλυκερόλης, αναμείχθηκαν 200 μl γλυκερόλης και 800 μl δις απεσταγμένο νερό. Επιθυμητή ποσότητα προσδιορίζεται, τοποθετείτε στον κλίβανο και στη συνέχεια μοιράζεται 1 ml σε κάθε Eppendorf κάτω από το θάλαμο της νηματικής ροής. Μυκήλιο του μύκητα παραλαμβάνεται με μία αποστειρωμένη οδοντογλυφίδα. Ο μύκητας διατηρείται στο διάλυμα της γλυκερόλης 10%, vortex και στη συνέχεια αποθηκεύεται σε αριθμημένο κουτί σε συνθήκες βαθιάς κατάψυξης (-80 °C).

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε stock μορφή του μύκητα σε αποστειρωμένο έδαφος. Φυτόχωμα του εμπορίου που χρησιμοποιείτε στο θερμοκήπιο του πανεπιστημίου, συλλέχθηκε και αποθηκεύτηκε σε φυαλίδια McCartney με πάμα. Μετά την αποστείρωσή του στον κλίβανο, εισήρθε στον ξηραντήρα για μία μέρα. Τμήμα της καλλιέργειας της *Rhizoctonia* σε PDA τοποθετήθηκε στο φυαλίδιο μαζί με υγρασία από αποστειρωμένο νερό που προστέθηκε με πιπέτα. Αναδεύτηκε καλά και διατηρήθηκε στο ψυγείο στους 4°C.

## 2.2 Απομόνωση DNA & κατακρήμνιση

Για την ταυτοποίηση του παθογόνου μύκητα, πραγματοποιήθηκε απομόνωση του DNA με βάση το πρωτόκολλο απομόνωσης DNA με κιτρικό οξύ. Για τη συλλογή του μυκηλίου, ο μύκητας *Rhizoctonia* καλλιεργήθηκε σε υγρό θρεπτικό μέσο πατάτας, Potato Dextrose Broth (PDB). Εφτά μέρες μετά, μυκήλιο που είχε αναπτυχθεί στην επιφάνεια της υγρής καλλιέργειας, συλλέχθηκε με τη βοήθεια αποστειρωμένης οδοντογλυφίδας και τοποθετήθηκε σε απορροφητικό χαρτί με σκοπό την απομάκρυνση της υγρασίας. Στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε Eppendorf τα οποία σφραγίστηκαν με

parafilm, στα οποία έγιναν μερικές οπές. Τα δείγματα μεταφέρθηκαν στους  $-50^{\circ}\text{C}$  υπό κενό αέρος, με σκοπό τη λυοφιλίωση του μυκηλίου και αφέθηκαν για δύο εικοσιτετράωρα. Αφού τα μυκήλια ομογενοποιήθηκαν στα Eppendorf, ακολούθησε το πρωτόκολλο απομόνωσης του DNA. Προσθέτονται, 300  $\mu\text{l}$  από cell lysis solution και ομογενοποιούνται για πέντε λεπτά (vortex, tap, invert tubes), 100 $\mu\text{l}$  protein-DNA precipitation solution (διατηρούνται στον πάγο) και ομογενοποιούνται (vortex, tap), διατηρούνται στους  $4^{\circ}\text{C}$  (στον πάγο) για 10 λεπτά. Τα δείγματα φυγοκεντρώνονται σε ψυχόμενη φυγόκεντρο στις 14.000 rpm για 20 λεπτά και το υπερκείμενο μέρος μεταφέρεται σε ένα νέο tube. Προθέτονται 300 $\mu\text{l}$  ισοπροπανόλης και ομογενοποιούνται (invert tubes), τα δείγματα φυγοκεντρώνονται σε ψυχόμενη φυγόκεντρο στις 14.000 rpm για 10 λεπτά και το υπερκείμενο μέρος απομακρύνεται. Πλύση του ιζήματος που σχηματίζεται στο κάτω μέρος από τα tubes με 300  $\mu\text{l}$  αιθανόλης 70%, φυγόκεντρος στις 14.000 rpm για ένα λεπτό και με μία πιπέτα αφαιρείται όλο το υπερκείμενο μέρος. Η πλύση αυτή επαναλαμβάνεται άλλη μία φορά. Τα tubes αφήνονται ανοιχτά για 5 λεπτά με σκοπό την εξάτμιση της υπολειπόμενης αιθανόλης. Τέλος προθέτονται 25 $\mu\text{l}$  TE RNase 200mg/ml σε κάθε tube και τα τελικά δείγματα μετρούνται στο nanodrop.

Για τις μετρήσεις της ποιότητας και της συγκέντρωσης του DNA χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο nanodrop 2000.

### **2.3 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR)**

Για την ενίσχυση του DNA ακολούθησε η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης, PCR. Για την προετοιμασία του master mix αναμείχθηκαν buffer (x10), dNTPs 10 $\mu\text{M}$ , ITS 4, ITS 5 (Πίνακας 1), Taq Polymerase,  $\text{H}_2\text{O}$  και 1  $\mu\text{l}$  DNA δείγματος που εκχυλίστηκε σε τελικό όγκο 25 $\mu\text{l}$ . Οι συνθήκες της αλυσιδωτής αντίδρασης ήταν: Στάδιο 1 $^{\circ}$ : αρχική αποδιάταξη της αλυσίδας στους  $95^{\circ}\text{C}$  για 03:00 λεπτά, Στάδιο 2 $^{\circ}$ : αποδιάταξη στους  $95^{\circ}\text{C}$  για 00:45 λεπτά, υβριδισμός των εκκινητών στους  $55^{\circ}\text{C}$  για 00:45 λεπτά, επιμήκυνση της αλυσίδας στους  $72^{\circ}\text{C}$  για 01:00 λεπτά για 35 κύκλους, Στάδιο 3 $^{\circ}$ :  $72^{\circ}\text{C}$  για 7 λεπτά, Στάδιο 4 $^{\circ}$ :  $8^{\circ}\text{C}$  έως  $\infty$ . Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε όγκο V 40 $\mu\text{l}$ .



**Πίνακας 1.** Αλληλουχία βάσεων γενικευμένων εκκινητών ITS 4 και ITS 5

Εκκινητές	Αλληλουχία βάσεων
ITS 4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC
ITS 5	GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G

## 2.4 Ηλεκτροφόρηση

Για την απεικόνιση των αποτελεσμάτων του DNA από την αντίδραση PCR, ακολούθησε η ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 1% για 1,15 ώρες στα 100V. Για την παρασκευή των δειγμάτων αναμείχθηκαν, 2 μl χρωστικής (Loading dye) , 2 μl DNA και 5 μl H<sub>2</sub>O. Ο ladder που χρησιμοποιήθηκε είναι ο 1 kb (Thermo Fisher Scientific, USA).

Ύστερα από τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης σε πήγμα αγαρόζης 1%, τα προϊόντα PCR αραιώθηκαν και στάλθηκαν για αλληλούχιση.

## 2.5 Προετοιμασία παθογόνου

Ο μύκητας *Rhizoctonia bicornis*, καλλιεργήθηκε σε θρεπτικό μέσο PDA και διατηρήθηκε σε επωαστικό θάλαμο για μία εβδομάδα στους 27°C. Στη συνέχεια για την παρασκευή του μολύσματος, αναμείχθηκαν με 600 ml νερού βρύσης, με τρία τριβλία του μύκητα σε θρεπτικό μέσο PDA. Ύστερα από την ομογενοποίηση σε πολύ-μίξερ, το μίγμα αναμείχθηκε σταδιακά σε 8 L φυτόχωματος μέχρι το έδαφος να φτάσει στο σημείο της υδατοϊκανότητάς του (ρώγου). Το φυτόχωμα ανακατεύθηκε πολύ καλά για αρκετή ώρα με το χέρι ώστε το μίγμα του μολύσματος να μπορέσει να είναι όσο το δυνατόν πιο καλά κατανεμημένο.

## 2.6 Πείραμα παθογένειας

Για την ταυτοποίηση της παθογόνου ικανότητας του μύκητα ακολούθησαν πειράματα παθογένειας σε φυτά στέβιας. Σπόροι του φυτού φυτεύτηκαν στο θερμοκήπιο, σε συνθήκες 25 °C και 75-80% υγρασία, σε λεκάνη με φυτόχωμα ακανόνιστα, και ποτίστηκαν από το πιάτο που εμπεριείχε την λεκάνη. Οι σπόροι της στέβιας είναι φωτοβλαστικοί και έτσι δεν καλύφθηκαν με έδαφος. Μετά από πέντε μέρες οι πρώτοι σπόροι ξεκίνησαν να βλαστάνουν κανονικά και μετά από περίπου δύο εβδομάδες βλάστησαν τα περισσότερα φυτά. Στο στάδιο του 3<sup>ου</sup> πραγματικού φύλλου τα φυτά μεταφυτεύθηκαν. Δεκαπέντε φυτά στέβιας μεταφυτεύθηκαν σε φυτόχωμα στο

οποίο δεν είχε γίνει καμία επέμβαση, και δέκα φυτά μεταφυτεύθηκαν σε μολυσμένο έδαφος του με το μύκητα *Rhizoctonia bicornis* BN AG-G.

## **2.7 Προετοιμασία μυκήτων του γένους *Trichoderma***

Τα στελέχη τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την βιολογική αντιμετώπιση αλλά και την προωθητική ανάπτυξη των φυτών ήταν τα εμπορικά σκευάσματα, Vintec 15WG 50gr, που περιείχε στελέχη του μύκητα *Trichoderma atroviride* strain SC1: 15% (β/β) (που αντιστοιχούν σε  $1 \times 10^{13}$  cfu/kg), Βοηθητικές ουσίες: 85% (β/β) και Trianum-P 250gr, που περιέχει στελέχη του μύκητα *Trichoderma harzianum* T-22 σε συγκέντρωση  $1 \times 10^9$  cfu/gr. Τα στελέχη απομονώθηκαν σε θρεπτικό μέσο PDA (Potato Dextrose Agar) και επώαστηκαν σε θάλαμο στους 25°C και φωτοπερίοδο 16/8h μέρα/νύχτα με σκοπό την σποριοποίηση τους. Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα *in vitro*.

## **2.8 *In vitro* αξιολόγηση των στελεχών του γένους *Trichoderma* έναντι του μύκητα *Rhizoctonia bicornis***

Η *in vitro* αξιολόγηση των στελεχών του μύκητα *Trichoderma* έγινε με βάση τη ζώνη παρεμπόδισης που σχηματίστηκε σε σχέση με το παθογόνο μύκητα *Rhizoctonia bicornis*. Χρησιμοποιήθηκαν από πέντε τριβλία με θρεπτικό μέσο PDA για τις εξής δοκιμές: μάρτυρας (control) που περιείχε μόνο το μύκητα *Rhizoctonia bicornis*, *Trichoderma atroviride* strain SC1 και *Rhizoctonia bicornis* και *Trichoderma harzianum* T-22 και *Rhizoctonia bicornis*. Στα τριβλία με το μάρτυρα, το plug του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* τοποθετήθηκε στο κέντρο του τριβλίου. Στις δοκιμές διπλής καλλιέργειας τα δύο τμήματα υλικού τοποθετήθηκαν μεταξύ τους απέναντι στο τριβλίο, 1 cm από την άκρη του τρυβλίου.

## **2.9 Βιολογική αντιμετώπιση *In planta* του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* με στελέχη μυκήτων του γένους *Trichoderma***

Για τη βιολογική αντιμετώπιση *In planta* του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* χρησιμοποιήθηκαν ωφέλιμοι μύκητες του γένους *Trichoderma* όπως στις *In vitro* δοκιμές. Το πείραμα χωρίστηκε σε έξι εφαρμογές από δεκαπέντε φυτά ανά εφαρμογή (Εικόνα 20). Τα φυτά στα οποία δεν έγινε καμία εφαρμογή (control), φυτά στα οποία χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα Vintec που περιέχει στελέχη του μύκητα *Trichoderma atroviride* SC1, φυτά στα οποία χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα Trianum-P που περιέχει στελέχη του μύκητα *Trichoderma harzianum* T-22, φυτά τα

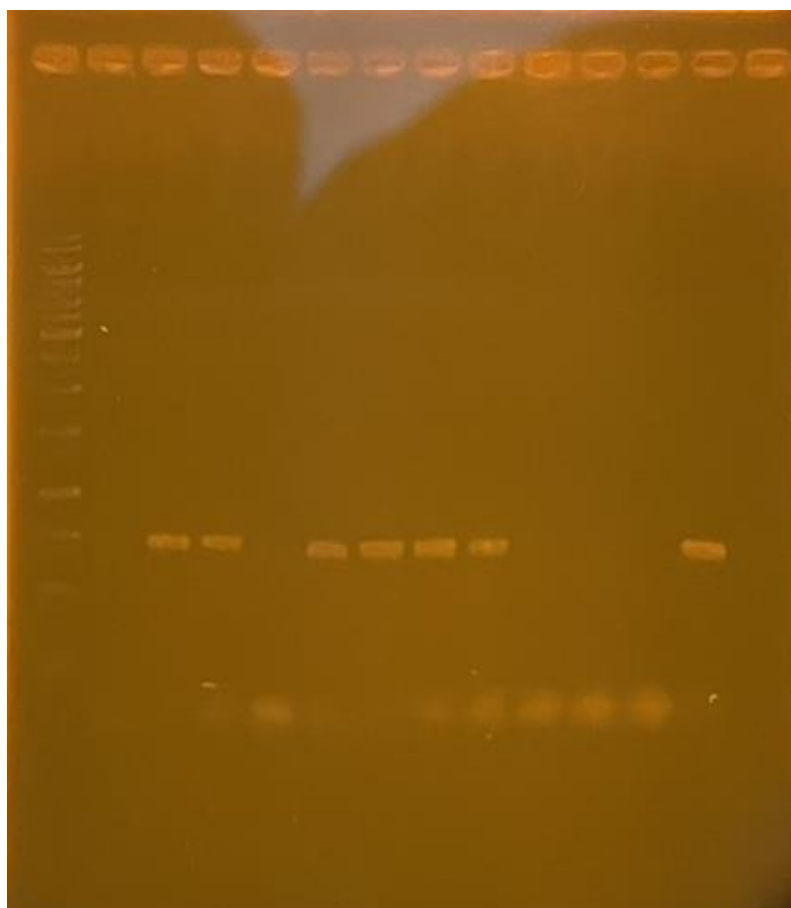
οποία μεταφυτεύθηκαν σε μολυσμένο έδαφος με το μύκητα *Rhizoctonia bicornis* και έγινε εφαρμογή του βιολογικού σκευάσματος Vintec, φυτά τα οποία μεταφυτεύθηκαν σε μολυσμένο έδαφος με το μύκητα *Rhizoctonia bicornis* και έγινε εφαρμογή του βιολογικού σκευάσματος Trianum-P και τέλος φυτά τα οποία μεταφυτεύθηκαν μόνο σε μολυσμένο έδαφος με το μύκητα *Rhizoctonia bicornis*. Αρχικά, σπόρος του φυτού στέβιας φυτεύτηκε στα πεταχτά σε τρεις διαφορετικές λεκάνες με φυτόχωμα. Στην πρώτη λεκάνη με τα φυτάρια δεν έγινε καμία εφαρμογή καθώς στη συνέχεια τα φυτά αυτά θα μεταφυτευόντουσαν σε μάρτυρα και σε μολυσμένο έδαφος με τον μύκητα *Rhizoctonia bicornis*. Στις υπόλοιπες δύο λεκάνες με τα αρτίβλαστα έγινε ριζοπότισμα στη μία με το βιολογικό σκεύασμα Vintec και στην δεύτερη λεκάνη έγινε εφαρμογή του βιολογικού σκευάσματος Trianum-P. Οι εφαρμογές των βιολογικών σκευασμάτων έγιναν, η πρώτη στο στάδιο του πρώτου πραγματικού φύλλου, η επόμενη μία εβδομάδα αργότερα και η τελική στο στάδιο του τρίτου πραγματικού φύλλου, πριν τη μεταφύτευση.

Για τις ανάγκες της βιολογικής αντιμετώπισης χρησιμοποιήθηκαν από το εμπορικό σκεύασμα Vintec 1gr το οποίο διαλύθηκε σε 500ml νερό βρύσης, ενώ από το εμπορικό σκεύασμα Trianum-P χρησιμοποιήθηκαν 0,5gr τα οποία διαλύθηκαν σε 500ml νερό βρύσης βάση της ετικέτας του κάθε σκευάσματος. Τα σκευάσματα εφαρμόστηκαν με ριζοπότισμα για κάθε εφαρμογή και τα φυτά ποτιζόντουσαν κανονικά στο θερμοκήπιο με την ίδια συχνότητα ανά 1-2 μέρες.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 3.1 Αποτελέσματα ταυτοποίησης του μύκητα *Rhizoctonia bicornis*

Τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης έδειξαν πως το DNA ήταν λιγότερες από 700 βάσεις (Εικόνα 10). Πράγμα που επιβεβαιώνεται από τη βιβλιογραφία καθώς οι βάσεις του μύκητα *Rhizoctonia* είναι από 620-680.



**Εικόνα 10:** Απεικόνιση ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης 1% με ladder 1kb.

Τα αποτελέσματα της αλληλούχισης έδειξαν ό,τι το DNA επρόκειτο για τον μύκητα *Rhizoctonia bicornis* BN AG-G με ποσοστό 99,84% και αριθμό MG515370.1 στην τράπεζα γενετικού υλικού.

### 3.2 Αποτελέσματα δοκιμών παθογένειας

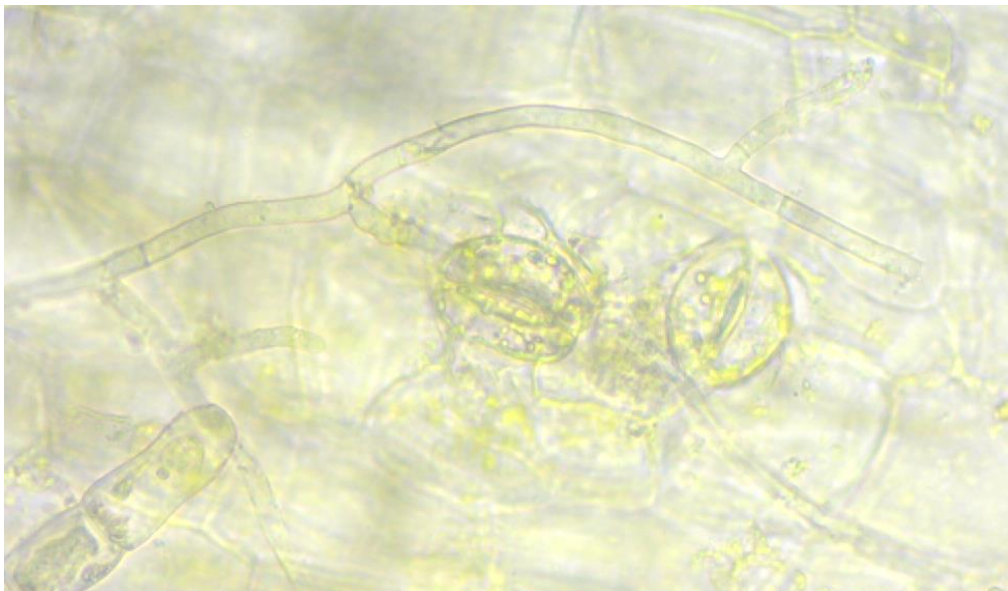
Κατά την πρώτη εβδομάδα, τα φυτά με το μολυσμένο έδαφος δεν εμφάνισαν κανένα σύμπτωμα. Ύστερα από μερικές μέρες (Εικόνα 11), ορισμένα φυτά παρουσίασαν τήξεις και απότομες μαράνσεις σε σχέση με τα αμόλυντα φυτά τα οποία δεν παρουσίαζαν κανένα σύμπτωμα (control). Υγιή και μολυσμένα φυτά μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο με σκοπό την μικροσκοπική τους παρατήρηση. Αφού τα φυτά καθαρίστηκαν από το έδαφος που είχαν στις ρίζες τους, παρατηρήθηκε ότι (Εικόνα 12), τα υγιή φυτά είχαν κανονική ανάπτυξη στη ρίζα, τα μολυσμένα φυτά καχεκτικό ριζικό σύστημα έως και καθόλου και εμφάνιζαν καστανούς μεταχρωματισμούς. Παρασκευάσματα από το τμήμα της ρίζας και του λαιμού έδειξαν ότι (Εικόνα 13), τα υγιή φυτά δεν είχαν κάποια επιμόλυνση ενώ στα μολυσμένα φυτά, υπήρχαν χαρακτηριστικές υφές του μύκητα *Rhizoctonia*.



**Εικόνα 11.** Πείραμα παθογένειας. Αριστερά υγιές φυτό στέβιας (control) και δεξιά μολυσμένο φυτό με χαρακτηριστικό το σύμπτωμα της τήξης από το μύκητα *Rhizoctonia bicornis*.



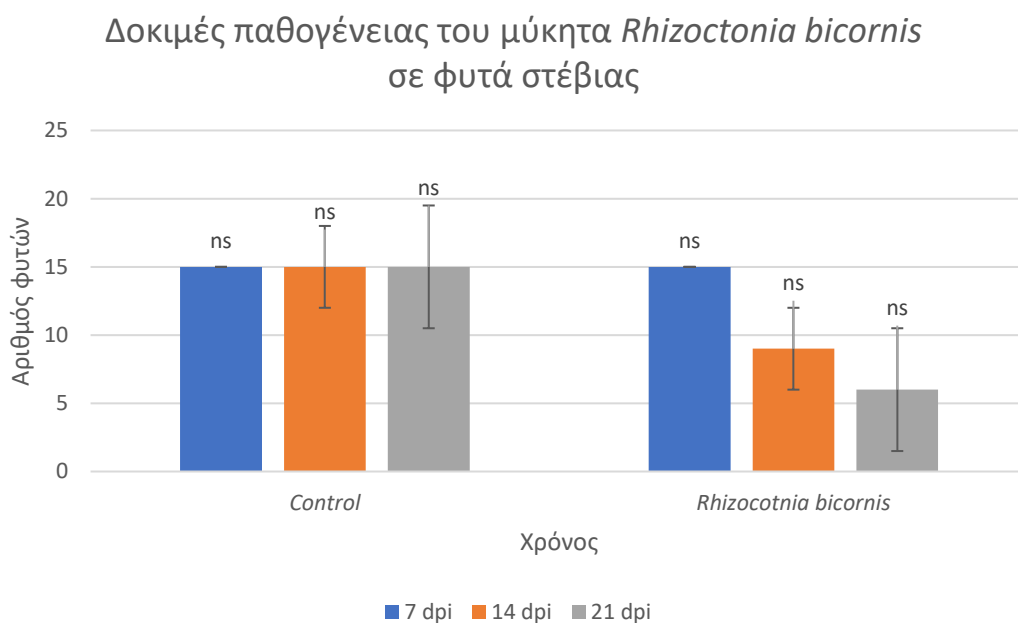
**Εικόνα 12.** Φυτά από πείραμα παθογένειας. Αριστερά υγιές φυτό στέβιας (control) με κανονική ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, δεξιά φυτό στέβιας μολυσμένο από το μύκητα *Rhizoctonia bicornis* και με εμφανώς κατεστραμμένο το ριζικό σύστημα.



**Εικόνα 13.** Υφές του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* ύστερα από παρασκευάσμα από μολυσμένα φυτά του πειράματος παθογένειας και την παρατήρηση σε μικροσκόπιο.

### 3.3 Αποτελεσματικότητα παθογόνου ικανότητας του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* σε φυτά στέβιας

Στο πείραμα αυτό αξιολογήθηκε ως αρχικός στόχος η παθογόνος ικανότητα του μύκητα. Σύμφωνα με το Γράφημα 1, σε πείραμα παθογένειας 15 φυτών στέβιας, καταμετρήθηκαν το σύνολο των φυτών που επιβίωσαν στις 7, 14 και 21 μέρες ύστερα από την μόλυνση με το μύκητα σε σχέση με τα υγιή φυτά μάρτυρες. Φαίνεται ότι ο μύκητας προκαλεί απότομες τήξεις και νεκρώσεις των φυτών στέβιας μέχρι τις πρώτες 14 ημέρες (Εικόνα 14).



**Γράφημα 1.** Απεικόνιση της παθογόνου ικανότητας του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* AG-G σε φυτά στέβιας.



**Εικόνα 14.** Απεικόνιση ένταση της ασθένειας του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* AG-G. Αριστερά υγιές φυτό μάρτυρας (control) και δεξιά φυτό με συμπτώματα τήξης ύστερα από την μόλυνση.

### **3.4 *In vitro* αξιολόγηση των μυκήτων του γένους *Trichoderma* έναντι του μύκητα *Rhizoctonia bicornis***

Για την αξιολόγηση της βιολογικής αντιμετώπισης των ωφέλιμων μυκήτων του γένους *Trichoderma* πραγματοποιήθηκαν *In vitro* δοκιμές έναντι του παθογόνου μύκητα *Rhizoctonia bicornis*. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1) αναγράφονται οι μετρήσεις της ζώνης παρεμπόδισης που σχηματίστηκε στις *in vitro* διπλές καλλιέργειες των μυκήτων *Trichoderma atroviride* strain SC1 και *Trichoderma harzianum* T-22 έναντι του μύκητα *Rhizoctonia bicornis*.

Στον Πίνακα 2, αποτυπώνονται οι αποστάσεις ανάπτυξης των μυκηλίου του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* έναντι των ωφέλιμων μυκήτων *Trichoderma atroviride* SC1 και *Trichoderma harzianum* T-22 και καθορίζονται οι ζώνες παρεμπόδισης *in vitro*.

Σύμφωνα με τον Πίνακα 2 φαίνεται ότι, στην πρώτη *in vitro* διπλή καλλιέργεια η ανάπτυξη του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* είναι πολύ περιορισμένη από τον μύκητα



*Trichoderma atroviride* strain SC1 και στην δεύτερη *in vitro* διπλή καλλιέργεια είναι επίσης περιορισμένη από τον μύκητα *Trichoderma harzianum* T-22 σε σύγκριση πάντα και με το μάρτυρα.

Ο μύκητας *Trichoderma harzianum* T-22 φαίνεται πως έχει οριακά καλύτερα αποτελέσματα *In vitro* στην ανάπτυξη του μύκητα *Rhizoctonia bicornis*, αφού ο παθογόνος μύκητας έχει σχηματίσει μικρότερες τιμές ανάπτυξης έως το σημείο της ζώνης παρεμπόδισης.

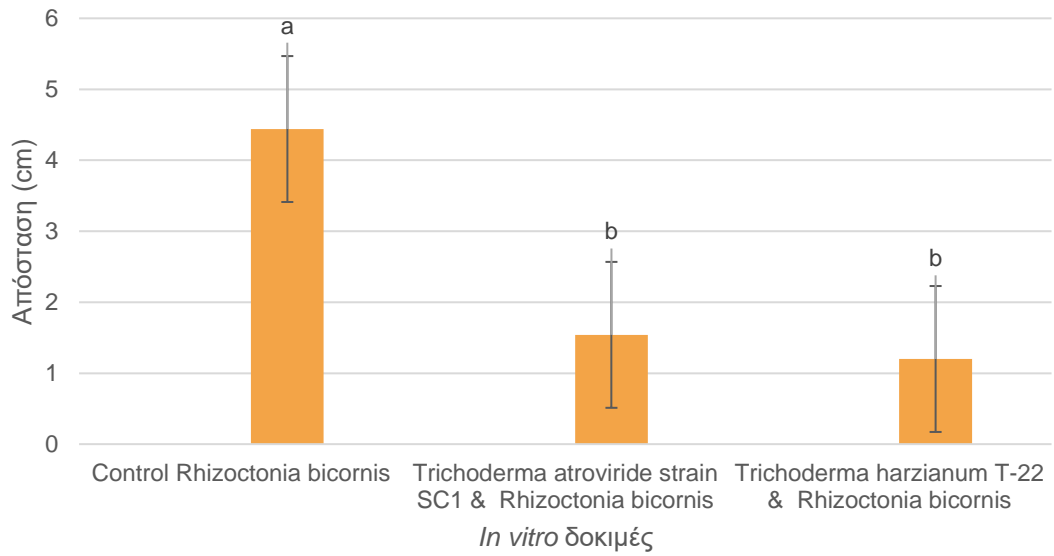
**Πίνακας 2.** Πίνακας αξιολόγηση της *in vitro* παρεμπόδισης μυκήτων του γένους *Trichoderma* έναντι του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* (cm)

<b>Control <i>Rhizoctonia bicornis</i> (cm)</b>	<b><i>Trichoderma atroviride</i> strain SC1 &amp; <i>Rhizoctonia bicornis</i> (cm)</b>	<b><i>Trichoderma harzianum</i> T-22 &amp; <i>Rhizoctonia</i> <i>bicornis</i> (cm)</b>
4,4	1,4	1,3
4,4	1,3	1,2
4,4	1,6	1,5
4,5	1,7	1
4,5	1,7	1
<b>M.O: 4,44, T.Σ.: 0,024</b>	<b>M.O.: 1,54, T.Σ.: 0,081</b>	<b>M.O.: 1,2, T.Σ.: 0,093</b>

M.O.: Μέσος Όρος, T.Σ.: Τυπικό Σφάλμα

Στο παρακάτω γράφημα, Γράφημα 2, αποτυπώνονται ο μέσος όρος των αποστάσεων (cm) από τη ζώνης παρεμπόδισης που σχηματίστηκε μεταξύ των *In vitro* δοκιμών του μύκητα *Trichoderma atroviride* SC1 έναντι του παθογόνου μύκητα *Rhizoctonia bicornis* και του μύκητα *Trichoderma harzianum* T-22 έναντι του παθογόνου μύκητα *Rhizoctonia bicornis*.

## Μ.Ο. Απόστασης ζώνης παρεμπόδισης στις *In vitro* δοκιμές



**Γράφημα 2.** Μέσος όρος αποστάσεων (cm) από τη ζώνη παρεμπόδισης μεταξύ των βιοπαραγόντων του γένους *Trichoderma* και του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* στις *In vitro* δοκιμές



**Εικόνα 15.** Καλλιέργεια του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* σε θρεπτικό μέσο PDA. Αριστερά, η επάνω μεριά του τρυβλίου και δεξιά, η πίσω μεριά του τρυβλίου

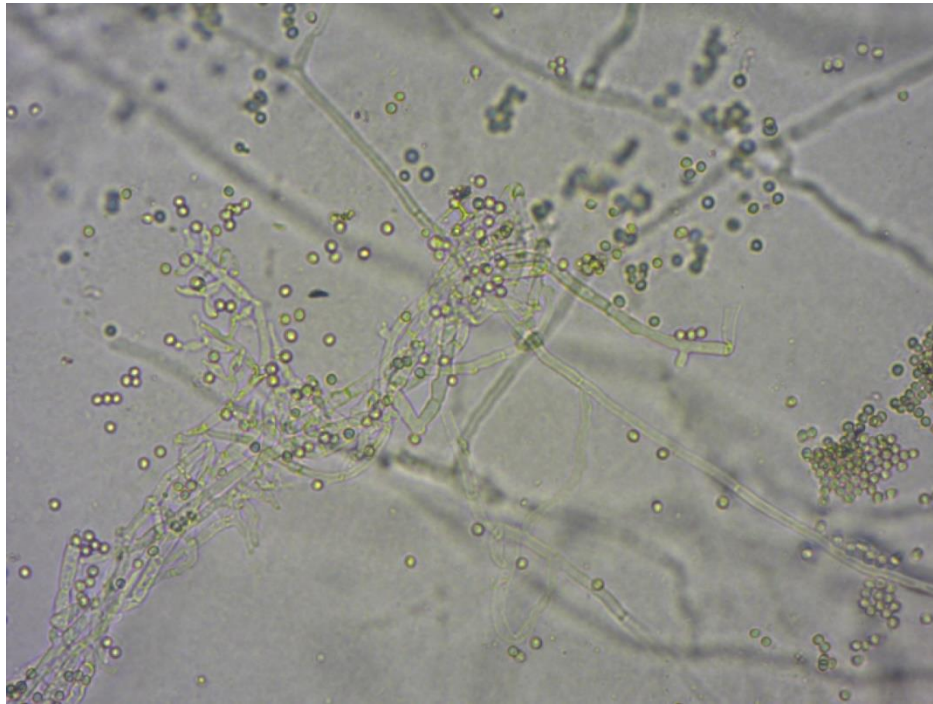
Στην παραπάνω φωτογραφία φαίνεται η κανονική ανάπτυξη του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* BN AG-G σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA (Εικόνα 15).



**Εικόνα 16.** *In vitro* dual culture σε θρεπτικό μέσο PDA. Απεικόνιση του μύκητα *Trichoderma atroviride* strain SC1 (κάτω μέρος) όπου περιορίζει σημαντικά την ανάπτυξη του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* (επάνω μέρος). Στα αριστερά η επάνω μεριά του τρυβλίου και δεξιά η κάτω μεριά.

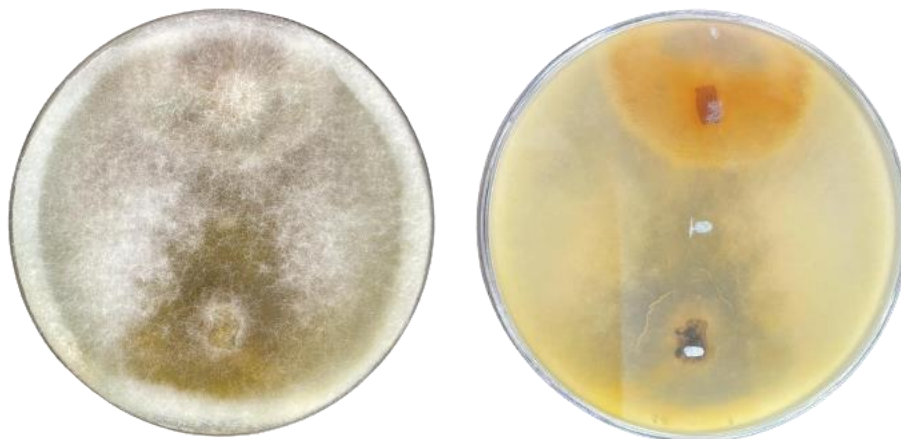
Στην *in vitro* δοκιμή του μύκητα *Trichoderma atroviride* strain SC1 ενάντια του μύκητα *Rhizoctonia bicornis*, παρατηρείται η χαρακτηριστική ζώνη παρεμπόδισης (Εικόνα 16). Φαίνεται και από τις πέντε δοκιμές ότι ο μύκητας *Trichoderma atroviride* strain SC1 παρεμποδίζει σημαντικά την ανάπτυξη του μύκητα *Rhizoctonia bicornis*. Ύστερα από την προετοιμασία παρασκευάσματος από το σημείο που σχηματίστηκε η ζώνη παρεμπόδισης, παρατηρήθηκαν υφές και τα σπόρια του μύκητα *Trichoderma*

*atroviride* strain SC1 να περιπλέκονται στις υφές του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* (Εικόνα 17).



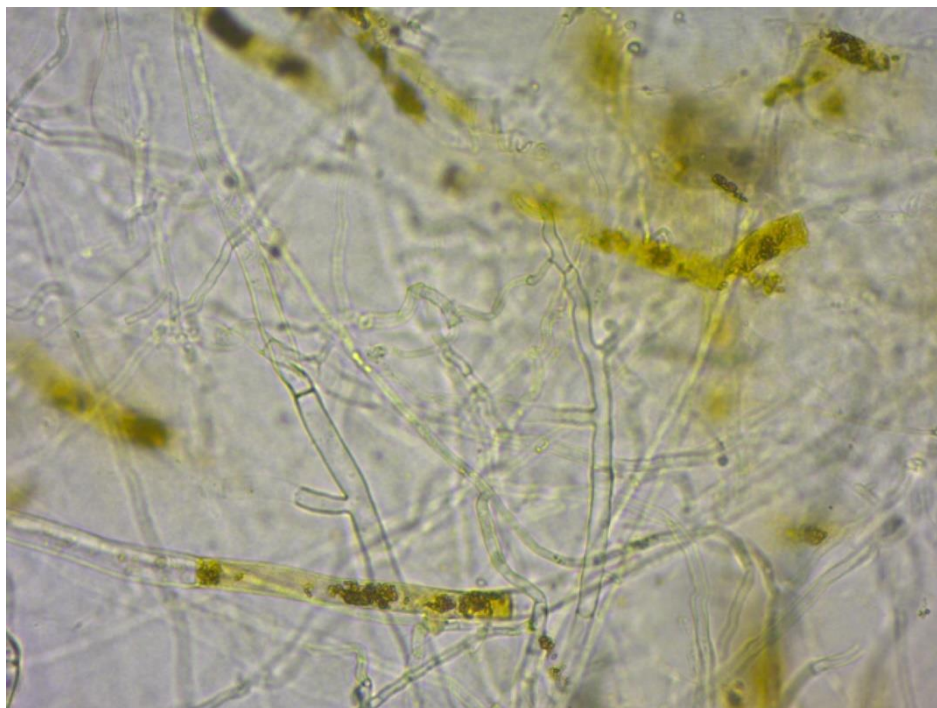
**Εικόνα 17.** Σπόρια και υφές του μύκητα *Trichoderma atroviride* SC1 όπου περιπλέκονται στις υφές του μύκητα *Rhizoctonia bicornis*. Παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο από το σημείο της ζώνης παρεμπόδισης.

Τέλος, παρατηρήθηκε ζώνη παρεμπόδισης και στην *in vitro* δοκιμή του μύκητα *Trichoderma harzianum* T-22 ενάντια του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* και στις πέντε επαναλήψεις (Εικόνα 18).



**Εικόνα 18.** *In vitro* dual culture σε θρεπτικό μέσο PDA. Απεικόνιση του μύκητα *Trichoderma harzianum* T-22 (κάτω μέρος) όπου περιορίζει σημαντικά την ανάπτυξη του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* (επάνω μέρος). Στα αριστερά η επάνω μεριά του τρυβλίου και δεξιά η κάτω.

Ύστερα από την παρατήρηση παρασκευάσματος από το σημείο σχηματισμού της ζώνης παρεμπόδισης, φάνηκαν επίσης υφές του μύκητα *Trichoderma harzianum* T-22 να περιπλέκονται στις υφές του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* (Εικόνα 19).



**Εικόνα 19.** Υφές του μύκητα *Trichoderma harzianum* T-22 όπου περιπλέκονται στις υφές του μύκητα *Rhizoctonia bicornis*. Παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο από το σημείο της ζώνης παρεμπόδισης.

### **3.5 *In planta* επίδραση των μυκήτων του γένους *Trichoderma* στην αντιμετώπιση του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* και στην ανάπτυξη των φυτών**

Ο φυτοπαθογόνος μύκητας ο οποίος απομονώθηκε και χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα παθογένειας φάνηκε πως ήταν αρκετά επιθετικός σε συνθήκες θερμοκηπίου με τις τήξεις που προκαλεί να εμφανίζονται μετά από περίπου δύο εβδομάδες ύστερα από την μεταφύτευση των φυτών σε μολυσμένο έδαφος (Εικόνα 20). Στο παρακάτω Γράφημα, απεικονίζεται ο συνολικός αριθμός φυτών στέβιας ύστερα από 7, 14 και 21 μέρες από την μόλυνση των φυτών με τον παθογόνο μύκητα αλλά και από την μόλυνση

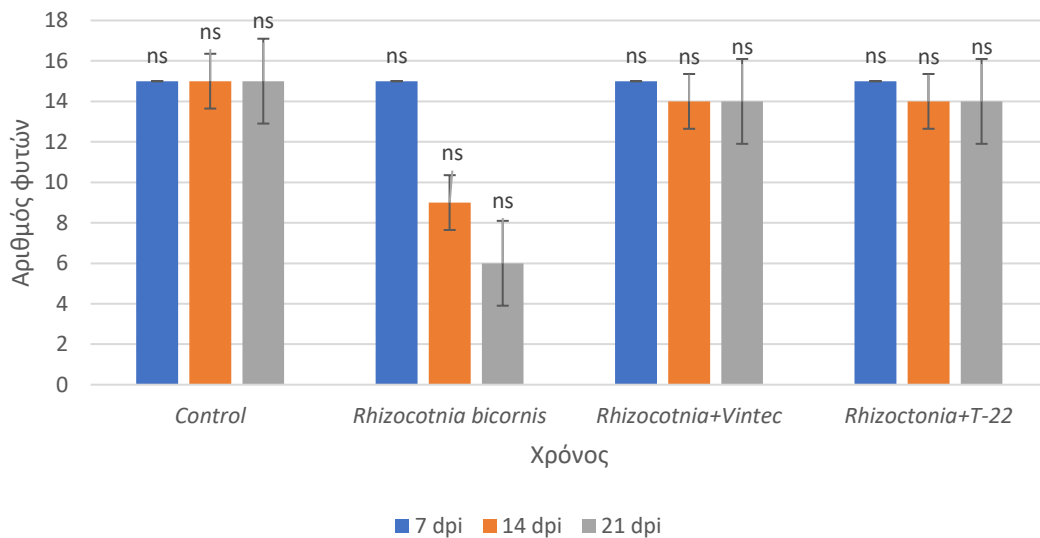
φυτών ύστερα από την εφαρμογή τους με τα εμπορικά σκευάσματα Vintec και Trianum-P.



**Εικόνα 20.** Από τα αριστερά προς τα δεξιά οι εφαρμογές: Control, T-22, Vintec, T-22+*Rhizoctonia bicornis*, Vintec+*Rhizoctonia bicornis*, *Rhizoctonia bicornis*. Η κάθε εφαρμογή συγκροτείται από 15 φυτά στέβια.

Σύμφωνα με το Γράφημα 3 φαίνεται πως στα φυτά που εφαρμόστηκαν τα εμπορικά σκευάσματα Vintec και Trianum-P υπήρξε μόνο ένα φυτό με συμπτώματα τήξης από τον παθογόνο μύκητα και για τις δύο εφαρμογές (Εικόνα 21). Πιθανότατα οι μύκητες του γένους *Trichoderma* που αποίκησαν το ριζικό σύστημα λειτούργησαν παρεμποδιστικά έναντι του παθογόνου μύκητα.

**Δοκιμές παθογένειας του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* σε φυτά στέβιας**



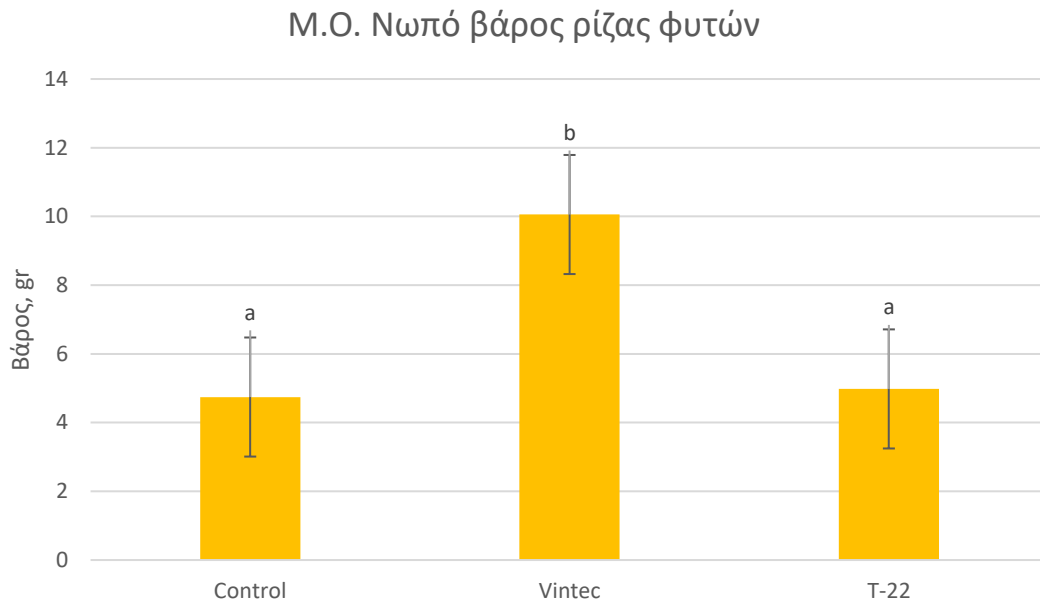
**Γράφημα 3.** Έλεγχος της παθογόνου ικανότητας του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* από μύκητες του γένους *Trichoderma*



**Εικόνα 21.** Εφαρμογή με μύκητες του γένους *Trichoderma* για την αντιμετώπιση του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* AG-G. Αριστερά φυτά ύστερα από την εφαρμογή με τον μύκητα *Trichoderma atroviride* SC1, στο κέντρο φυτά ύστερα από την εφαρμογή με τον μύκητα *Trichoderma harzianum* T-22 και δεξιά μολυσμένα φυτά με τον παθογόνο μύκητα *Rhizoctonia bicornis* AG-G.

### **3.6 *In planta* επίδραση των μυκήτων του γένους *Trichoderma* στις παραμέτρους αύξησης και ανάπτυξης των φυτών**

Κατά την ανάλυση των αποτελεσμάτων του πειράματος στα φυτά στέβιας, καταγράφηκε αύξηση του νωπού βάρους του υπέργειου τμήματος των φυτών καθώς και του νωπού βάρους της ρίζας στις εφαρμογές με το σύνολο των σκευασμάτων Vintec και Trianum-P. Παράλληλα για το σκεύασμα Vintec φάνηκε πως υπήρχε αύξηση του μήκους της ρίζας σε σχέση με το μάρτυρα, ενώ για το σκεύασμα Trianum-P φάνηκε πως το μήκος της ρίζας ήταν μικρότερο από το Vintec.



**Γράφημα 4.** Νωπό βάρος (gr) της ρίζας σε φυτά στέβια του μάρτυρα (control) και των φυτών που δέχθηκαν επέμβαση των δύο σκευασμάτων βιοπαραγόντων.

Στο Γράφημα 4, φαίνεται ότι για το σκεύασμα Vintec ο μέσος όρος του βάρους των φυτών ήταν σχεδόν το διπλάσιο τόσο σε σχέση με το μάρτυρα αλλά και με το σκεύασμα Trianum-P. Αυτό εξηγεί ότι ο μύκητας *Trichoderma atroviride* strain SC1 μπορεί και αποικίζει με καλύτερο τρόπο την ρίζα και την τροφοδοτεί με τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά προκειμένου να αναπτυχθεί. Αυτό επιβεβαιώνεται και από την

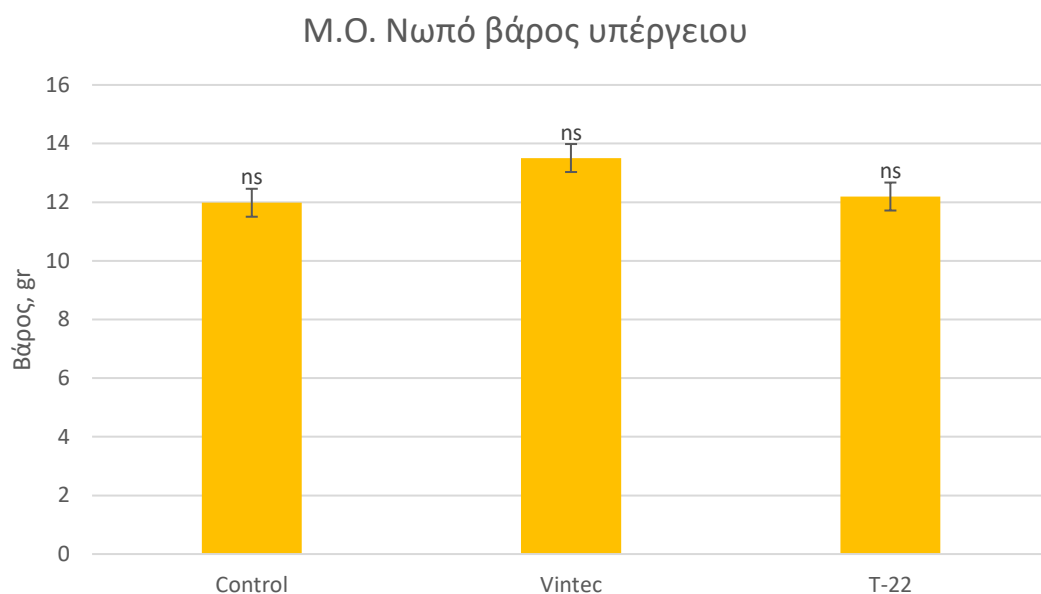


**Εικόνα 22.** Αριστερά ριζικό σύστημα από τα φυτά μάρτυρες (Control), κεντρικά το ριζικό σύστημα ύστερα από την εφαρμογή με το σκεύασμα Trianum-P και δεξιά το ριζικό σύστημα φυτών ύστερα από την εφαρμογή με το σκεύασμα Vintec.



Εικόνα 22, όπου απεικονίζεται στα αριστερά το ριζικό σύστημα χωρίς καμία εφαρμογή (control), κεντρικά το ριζικό σύστημα ύστερα από την εφαρμογή με το σκεύασμα Trianum-P και στα δεξιά το ριζικό σύστημα που έχει αναπτυχθεί ύστερα από την εφαρμογή του σκευάσματος Vintec.

Πέραν από το νωπό βάρος του ριζικού συστήματος αξιολογήθηκε και το νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών αφού υπήρχαν διαφορές στην ανάπτυξη των φυτών. Στο Γράφημα 5, αποτυπώνεται πως μετά από εφαρμογή με το σκεύασμα Vintec το νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών σε σχέση με τον μάρτυρα ήταν μεγαλύτερο, όπως και με το σκεύασμα Trianum-P. Τα φυτά με εφαρμογή του σκευάσματος Trianum-P είχαν αυξημένο νωπό βάρος σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες αλλά χωρίς στατιστική διαφορά μεταξύ τους



**Γράφημα 5.** Νωπό βάρος (gr) υπέργειου τμήματος σε φυτά στέβια του μάρτυρα (control) και των φυτών που δέχθηκαν επέμβαση των δύο σκευασμάτων βιοπαράγοντων.

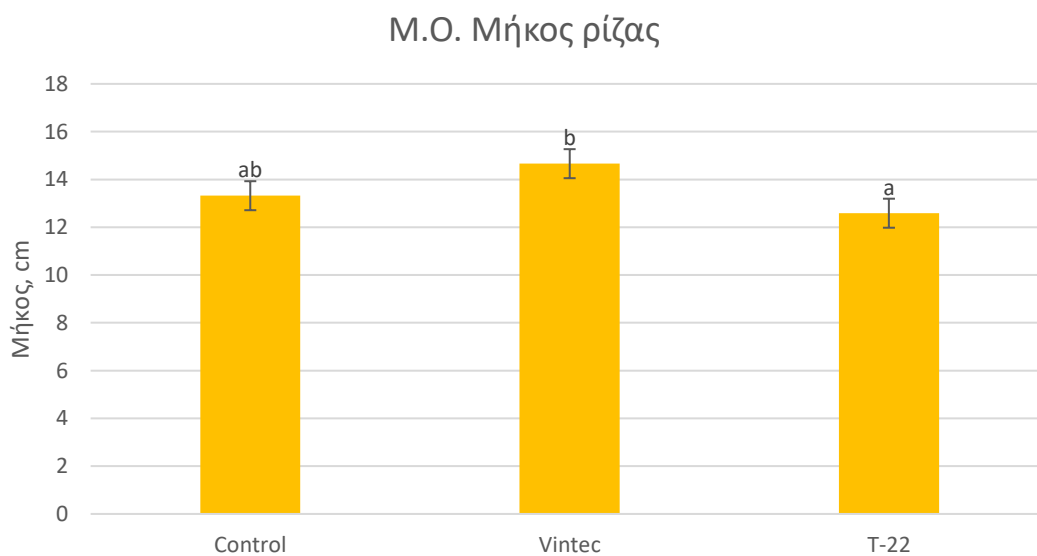
Το παραπάνω αποτέλεσμα απεικονίζεται και στην Εικόνα 22, όπου απεικονίζεται στα αριστερά το υπέργειο τμήμα φυτού στέβιας ύστερα από την εφαρμογή με το σκεύασμα Vintec, στο κέντρο φυτά ύστερα από την εφαρμογή με το σκεύασμα Trianum-P και δεξιά τα φυτά μάρτυρες. Η μεγάλη διαφορά στο αυξημένο βάρος του υπέργειου τμήματος στα φυτά με εφαρμογή Vintec αποδίδεται στον παχύτερο βλαστό και μεγαλύτερα φύλλα που σχημάτισαν τα φυτά σε σχέση με το

Trianum-P και το control. Αντιθέτως, τα φυτά με το Trianum-P είχαν μικρές διαφορές από τα φυτά μάρτυρες με κυριότερη ότι τα φυτά της εφαρμογής αυτής σχημάτιζαν παραπάνω φύλλα και μεγαλύτερου μεγέθους από τα φυτά μάρτυρες ενώ το πάχος του βλαστού ήταν παραπλήσιο.



**Εικόνα 22.** Υπέργειο τμήμα από φυτά στέβια με τρεις διαφορετικές εφαρμογές. Αριστερά φυτά μάρτυρες (control), στο κέντρο φυτά ύστερα από την εφαρμογή με το σκεύασμα Vintec και δεξιά τα φυτά με εφαρμογή του σκευάσματος Trianum-P.

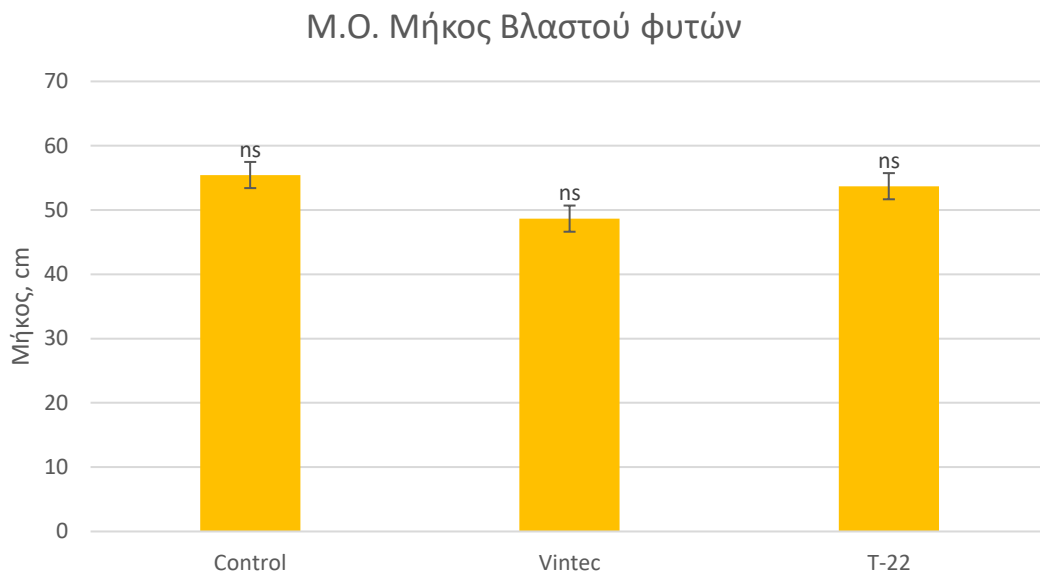
Στο Γράφημα 6, αποτυπώνεται το μήκος της ρίζας. Το σκεύασμα Vintec φάνηκε πως επηρεάζει σημαντικά το μέσο όρο της αύξησης του μήκους της ρίζας των φυτών



**Γράφημα 6.** Μήκος (cm) της ρίζας σε φυτά στέβια του μάρτυρα (control) και των φυτών που δέχθηκαν επέμβαση των δύο σκευασμάτων βιοπαραγόντων.

σε σχέση τόσο με το Trianum-P όσο και με τα φυτά μάρτυρες. Για το σκεύασμα Trianum-P δεν παρατηρήθηκε αύξηση του μήκους της ρίζας σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες, πράγμα που υποδηλώνει ότι πιθανώς να μην παίζει σημαντικό ρόλο.

Στο πείραμα αυτό αξιολογήθηκε επίσης η επίδραση των μυκήτων του γένους *Trichoderma* στο μήκος των βλαστών. Σύμφωνα με το Γράφημα 7, φάνηκε πως και τα δύο σκευάσματα δεν προάγουν το μήκος των βλαστών των φυτών σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες. Παρόλο που τα φυτά μάρτυρες υπερτερούν στο ύψος σε σχέση με τα φυτά των εφαρμογών, έχουν μικρότερο συνολικό βάρος του υπέργειου. Έτσι λοιπόν το μήκος του βλαστού είναι λιγότερο σημαντικό σε σχέση με το συνολικό υπέργειο βάρος τους.



**Γράφημα 7.** Μήκος (cm) του βλαστού σε φυτά στέβια του μάρτυρα (control) και των φυτών που δέχθηκαν επέμβαση των δύο σκευασμάτων βιοπαραγόντων.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εφαρμογή της εντατικής γεωργίας επιφέρει πολλές επιπτώσεις τόσο στο περιβάλλον όσο και στα ανώτερα θηλαστικά συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Για τον λόγο αυτό είναι πολύ σημαντική η έρευνα για την εφαρμογή εναλλακτικών τεχνικών καλλιέργειας, με μεγάλη βάση να δίνεται στην καταπολέμηση των παθογόνων με βιολογικές μεθόδους.

Οι μύκητες που προκαλούν αύξηση της ανάπτυξης των φυτών (plant growth promoting fungi) (PGPF), μπορούν να ενισχύσουν την αύξηση και την ανάπτυξη των καλλιεργούμενων φυτών σε ορισμένες συνθήκες, να χρησιμοποιούνται σε μορφή βιολογικών σκευασμάτων για την αντιμετώπιση εδαφογενών παθογόνων, ενώ και η χρήση τους εμφανίζει συνεχώς ανοδική τάση.

Οι κύριοι στόχοι της παρούσας ερευνητικής εργασίας ήταν η απομόνωση και ταυτοποίηση του εδαφογενούς, φυτοπαθογόνου μύκητα *Rhizoctonia bicornis* AG-G και μέθοδοι βιολογικής αντιμετώπισης εναλλακτικής της χημικής μέσω των εμπορικών σκευασμάτων Vintec που εμπεριέχει στελέχη του μύκητα *Trichoderma atroviride* SC1 και του Trianum-P που εμπεριέχει στελέχη του μύκητα *Trichoderma harzianum* T-22. Επιπλέον μετρήθηκε και αξιολογήθηκε η επίδραση της εφαρμογής των βιολογικών αυτών σκευασμάτων στις παραμέτρους αύξησης και ανάπτυξης των φυτών της στέβιας και συγκεκριμένα το νωπό βάρος και το μήκος της ρίζας, το νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος και το μήκος του βλαστού των φυτών.

Ο παθογόνος μύκητας *Rhizoctonia bicornis* έχει αναφερθεί βιβλιογραφικά από ερευνητές στην Ουγκάντα, σύμφωνα με τους (Oberwinkler et al., 2013). Μελέτη των (Kessler & Koehler, 2020) έδειξε ότι, σε καλλιέργεια στέβιας στο Ντέλαγουερ και στο Μέριλαντ, της Αμερικής, απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά ο μύκητας *Rhizoctonia solani* AG-4 και δημοσιεύτηκε ως πρώτη αναφορά του παθογόνου για την καλλιέργεια της στέβιας. Το συγκεκριμένο στέλεχος φάνηκε πως δημιουργούσε σοβαρά προβλήματα στις καλλιέργειες, καθώς προκαλούσε τήξεις των φυταρίων και νεκρώσεις ολόκληρων των φυτών κατά κηλίδες στον αγρό. Παρομοίως, ο μύκητας *Rhizoctonia bicornis* AG-G που απομονώθηκε από τους ελληνικούς αγρούς στέβιας, φάνηκε πως επιφέρει την ίδια ακριβώς συμπτωματολογία. Τήξεις και ολικές νεκρώσεις των φυτών κατά κηλίδες στον αγρό και λευκό μυκήλιο στο ριζικό σύστημα αποτέλεσαν το έναυσμα για την μελέτη του μύκητα ως παθογόνο. Ακόμη έχει αναφερθεί από

Αιγύπτιους ερευνητές, η ύπαρξη και ταυτοποίηση του μύκητα *Rhizoctonia solani* AG-4 ως παθογόνος σε καλλιέργεια στέβια. Απ' όσο είναι γνωστό έως σήμερα είναι η πρώτη αναφορά του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* AG-G ως παθογόνος σε μία καλλιέργεια στέβιας παγκοσμίως. Το στέλεχος του μύκητα της παρούσας εργασίας, *Rhizoctonia bicornis*, έχει αναφερθεί ακόμα από τους (Sivashankar M & Krishnan R, n.d.) ως φυτοπαθογόνο για την διαχείριση της ανάπτυξης των φυτών *Cyperus difformis* και από τους (Roeland Enzlin, 2021.) ως παθογόνος μύκητας.

Ο μύκητας *Trichoderma atroviride* SC1 που απομονώθηκε από το εμπορικό σκεύασμα Vintec έδειξε πολύ καλά αποτελέσματα έναντι του παθογόνου μύκητα *Rhizoctonia bicornis* AG-G που απομονώθηκε από τις καλλιέργειες της στέβιας στην Στερεά Ελλάδα. Η άποψη αυτή ενισχύεται από τους (Díaz-Gutiérrez et al., 2021) όπου σε μελέτη των ερευνητών, αποδείχθηκε ότι ο μύκητας *Trichoderma asperellum* έδειξε ότι περιορίζει σημαντικά την ανάπτυξη, *in vitro* και *in planta*, τόσο του παθογόνου μύκητα *Fusarium oxysporum* όσο και του παθογόνου μύκητα *Macrophomina phaseolina* σε φυτά στέβιας. Ακόμη το στέλεχος αυτό του μύκητα έδειξε ότι αύξησε το μήκος αλλά και το νωπό βάρος του ριζικού συστήματος των φυτών. Επιπλέον, οι (Villamarín-Gallegos et al., 2020) γνωστοποίησαν ότι ο μύκητας *Trichoderma asperellum* επάγει τόσο την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών της στέβιας αλλά επίσης συνεισφέρει σημαντικά στη βιοσύνθεση των γλυκοζιτών στεβιόλης και στην αύξηση της περιεκτικότητάς τους στα φύλλα των φυτών στέβια. Όσον αφορά το μύκητα *Trichoderma atroviride* SC1, έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές έρευνες τόσο για την ικανότητα του ως παράγοντας βιοελέγχου όσο και για την επαγωγή του στις παραμέτρους αύξησης και ανάπτυξης των φυτών. Οι (Berbegal et al., 2020), χρησιμοποίησαν τον ωφέλιμο μύκητα *Trichoderma atroviride* SC1 έναντι των ασθενειών του κορμού της αμπέλου όπου φάνηκε πως καταστέλλει σημαντικά της εξάπλωση και ανάπτυξη των παθογόνων μυκήτων *Eutypa lata*, *Botryosphaeria* spp. , *Phaeoconiella* spp. , *Phaeoacremonium* spp.. Σε έρευνα των (Savazzini et al., 2008), προσδιορίζεται η ύπαρξη και η συγκέντρωση του μύκητα *Trichoderma atroviride* SC1 στο έδαφος και η δράση του ως παράγοντας βιοελέγχου. Όπως και στην παρούσα εργασία όπου φάνηκε πως λειτούργησε ως μέσο βιολογικής αντιμετώπισης έναντι του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* AG-G ύστερα από ριζοπότισμά του στο έδαφος. Ακόμη οι (Pellegrini et al., 2014), χρησιμοποίησαν φλοιό δέντρου εμποτισμένο με τον μύκητα *Trichoderma atroviride* SC1 σε οπωρώνες για τον περιορισμό του μύκητα *Armillaria*

spp.. Τέλος, μία ακόμα μελέτη που ενισχύει το μύκητα *Trichoderma atroviride* SC1 ως παράγοντα βιοελέγχου είναι από τους (Pertot et al., 2016) όπου έδειξαν πως ο ωφέλιμος αυτός μύκητας καταστέλλει σημαντικά την ανάπτυξη του παθόγονου μύκητα *Phaeomoniella chlamydospora* και *Phaeoacremonium aleophilum* κατά τον εμβολιασμό των πρεμνών της αμπέλου.

Αντίστοιχα, ο μύκητας *Trichoderma harzianum* T-22, ο οποίος εμπεριέχεται από το εμπορικό σκεύασμα Trianum-P, έδειξε επίσης πως έχει καλή αποτελεσματικότητα έναντι του παθογόνου μύκητα *Rhizoctonia bicornis* AG-G στα φυτά στέβιας. Σε αντίστοιχες μελέτες των (Altomare et al., 1999), ο μύκητας *Trichoderma harzianum* T-22 βοήθησε στην διαλυτοποίηση των φωσφορικών μικροθρεπτικών συστατικών με αποτέλεσμα την καλύτερη θρέψη των φυτών και την καλή ανάπτυξή τους. Όπως και στην εργασία αυτή φάνηκε πως ο ωφέλιμος μύκητας αυτός βοήθησε στην ανάπτυξη των φυτών στέβιας σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες. Ενισχύοντας τις μελέτες για την ευεργετική δράση του μύκητα *Trichoderma harzianum* T-22, οι (Gupta et al., 2021) επέδειξαν πως ο εμβολιασμός του κριθαριού με τον ωφέλιμο μύκητα τροποποιεί τα λιπίδια και τους μεταβολίτες με αποτέλεσμα την αντοχή των φυτών σε περιβάλλον με αυξημένη συγκέντρωση αλάτων. Ο μύκητας *Trichoderma harzianum* T-22 είναι όμως γνωστός ως βιοπαράγοντας ελέγχου. Οι (Vitti et al., 2015) ανέφεραν πως ο μύκητας αυτός επιδρούσε στην καταστολή της μόλυνσης των φυτών τομάτας από τον ιό του μωσαϊκού της αγγουριάς CMV ενεργοποιώντας τα βιοχημικά μονοπάτια της επαγωγής της επίκτητης άμυνας των φυτών. Ακόμη οι ίδιοι ερευνητές μετά από ένα χρόνο (Vitti et al., 2016), ενίσχυσαν το γεγονός της ικανότητας του μύκητα ως βιοπαράγοντα ελέγχου αφού πραγματοποιώντας τα ίδια πειράματα με τα φυτά τομάτας και τον ιό του μωσαϊκού της αγγουριάς ανέφεραν ότι η μόλυνση του ιού καταστέλλεται από το μύκητα αφού επάγει την διασυστηματική άμυνα των φυτών.

Τέλος, με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν από το παραπάνω πείραμα, παρατηρήθηκε ότι, το στέλεχος αυτό που απομονώθηκε για πρώτη φορά σε καλλιέργεια στέβιας, φάνηκε πως είναι αρκετά επιθετικό και προκαλεί σημαντικές ζημιές στην απόδοση κατά τη συγκομιδή. Ακόμη στο μέλλον θα μπορεί να μελετηθεί περαιτέρω και να δώσει πληροφορίες σχετικά με τους υπόλοιπους ξενιστές που έχει ο παθογόνος αυτός μύκητας ώστε να μπορέσουν οι παραγωγοί να εφαρμόζουν ορθή αμειψισπορά για τη μείωση του μολύσματος στο έδαφος.

Η εφαρμογή των ωφέλιμων μυκήτων σε φυτά στέβιας φάνηκαν αρχικά πως είχαν πολύ καλά αποτελέσματα όσον αφορά την βιολογική καταπολέμηση του μύκητα *Rhizoctonia bicornis* AG-G και για τους δύο. Έτσι με λίγες εφαρμογές στο θερμοκήπιο, τα φυτά θα μπορούν να μεταφτευθούν στον αγρό πιο ανθεκτικά σε εδαφογενή παθογόνα και με ορισμένες επαναλήψεις των ωφέλιμων αυτών μυκήτων θα μπορεί να κρατηθεί ο πληθυσμός του σε σταθερό ποσοστό. Αυτό βέβαια απαιτεί παραπάνω έρευνα και αξιολόγηση από τους ερευνητές και συγκρίσεις με νέα στελέχη ωφέλιμων μικροοργανισμών.

Σχετικά με την αξιολόγηση στις παραμέτρους αύξησης και ανάπτυξης του φυτού στέβια από τους μύκητες του γένους *Trichoderma*, φάνηκε ότι μόνο ο μύκητας *Trichoderma atroviride* SC1 είχε ουσιαστικά αποτελέσματα με σημαντικότερο αυτό της αύξησης του νωπού βάρους της ρίζας αλλά και του μήκους της. Στην ανάπτυξη του υπέργειου τμήματος τα αποτελέσματα ήταν παραπλήσια με αυτά από τα φυτά μάρτυρες όσον αφορά στο μήκος του βλαστού αλλά το νωπό βάρος του υπέργειου ήταν οριακά καλύτερο σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες. Παράλληλα ο μύκητας *Trichoderma harzianum* T-22 έδειξε μικρή αύξηση στο νωπό βάρος και το μήκος της ρίζας σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες. Ίσως τα αποτελέσματα αυτά, σχετικά με τις παραμέτρους αύξησης και ανάπτυξης των φυτών να ήταν διαφορετικά αν εφαρμοζόταν παραπάνω εμβολιασμοί με τους ωφέλιμους μύκητες είτε αν λαμβάνονταν οι μετρήσεις των φυτών μετά από ένα μήνα από της μεταφύτευσής τους στον αγρό.

Θα πρέπει λοιπόν, να πραγματοποιηθεί περαιτέρω μελέτη όσον αφορά την ποσότητα και την ποιότητα των παραγόμενων γλυκοζιτών στεβιόλης ύστερα από την εφαρμογή των βιοπαραγόντων. Εκτός από την αξιολόγηση της αύξησης και ανάπτυξης των φυτών της στέβιας, οι γλυκοζίτες στεβιόλης είναι πολλοί σημαντικοί αφού αποτελούν το κύριο εμπορικό προϊόν του φυτού της στέβιας ύστερα από την διαδικασία εκχύλισης των φύλλων της. Έτσι λοιπόν η περιεκτικότητα σε γλυκοζίτες στεβιόλης θα πρέπει να μετρηθεί ύστερα από την εφαρμογή βιοπαραγόντων αλλά και η ποιότητα των γλυκοζιτών καθώς ο γλυκοζίτης ρεμπαουδιοσίδη Α αποτελεί τον πιο καλό ποιοτικά εμπορεύσιμο γλυκοζίτη στεβιόλης και τον πιο ακριβό.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Ahmad, J., Khan, I., Blundell, R., Azzopardi, J., & Mahomoodally, M. F. (2020). *Stevia rebaudiana* Bertoni.: an updated review of its health benefits, industrial applications and safety. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 100, pp. 177–189). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.030>
- Aiello, D., Vitale, A., Hyakumachi, M., & Polizzi, G. (2012). Molecular characterization and pathogenicity of binucleate *Rhizoctonia* AG-F associated to the watermelon vine decline in Italy. *European Journal of Plant Pathology*, *134*(1), 161–165. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-9973-9>
- Akintunde Abdullateef, R., & Osman, M. Bin. (2011). Effects of Visible Light Wavelengths on Seed Germinability in *Stevia Rebaudiana* Bertoni. *International Journal of Biology*, *3*(4). <https://doi.org/10.5539/ijb.v3n4p83>
- Akladios, S. A., & Abbas, S. M. (2014). APPLICATION OF *TRICHODERMA HARZIANUM* T22 AS A BIOFERTILIZER POTENTIAL IN MAIZE GROWTH. *Journal of Plant Nutrition*, *37*(1), 30–49. <https://doi.org/10.1080/01904167.2013.829100>
- Alotaibi, M. O., Alotibi, M. M., Eissa, M. A., & Ghoneim, A. M. (2022). Compost and plant growth-promoting bacteria enhanced steviol glycoside synthesis in stevia (*Stevia rebaudiana* Bert) plants by improving soil quality and regulating nitrogen uptake. *South African Journal of Botany*, *151*, 306–314. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.10.010>
- Altomare, C., Norvell, W. A., Bjo"rkmanbjo"rkman, T., & Harman, G. E. (1999). Solubilization of Phosphates and Micronutrients by the Plant-Growth-Promoting and Biocontrol Fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. In *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* (Vol. 65, Issue 7). <http://aem.asm.org/>
- Antoun, H., & Prévost, D. (2005). *ECOLOGY OF PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA*.
- Basbagci, G., & Dolar, F. S. (2020). First report of binucleate *Rhizoctonia* AG-K causing root rot on chickpea. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 640–652. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1789822>



- Berbegal, M., Ramón-Albalat, A., León, M., & Armengol, J. (2020). Evaluation of long-term protection from nursery to vineyard provided by *Trichoderma atroviride* SC1 against fungal grapevine trunk pathogens. *Pest Management Science*, 76(3), 967–977. <https://doi.org/10.1002/ps.5605>
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. In *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (Vol. 28, Issue 4, pp. 1327–1350). <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Brandle, J. E., Starratt, A. N., & Gijzen, M. (1998). *Stevia rebaudiana: Its agricultural, biological, and chemical properties*.
- Buzón-Durán, L., Martín-Gil, J., Ramos-Sánchez, M. D. C., Pérez-Lebeña, E., Marcos-Robles, J. L., Fombellida-Villafruela, Á., & Martín-Ramos, P. (2020). Antifungal activity against *Fusarium culmorum* of stevioside, silybum marianum seed extracts, and their conjugate complexes. *Antibiotics*, 9(8), 1–14. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9080440>
- Castañeda-Saucedo, M. C., Tapia-Campos, E., Ramírez-Anaya, J. D. P., & Beltrán, J. (2020). Growth and development of stevia cuttings during propagation with hormones in different months of the year. *Plants*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/plants9030294>
- Chammem, H., Nesler, A., & Pertot, I. (2021). Wood pellets as carriers of conidia of *Trichoderma atroviride* SC1 for soil application. *Fungal Biology*, 125(12), 989–998. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.08.003>
- Chinnasamy, G. (2005). *A PROTEOMICS PERSPECTIVE ON BIOCONTROL AND PLANT DEFENSE MECHANISM*.
- Choupannejad, R., Sharifnabi, B., Fadaei Tehrani, A. A., & Gholami, J. (2017). *Rhizoctonia solani* AG4 associated with foliar blight symptoms on barley in Iran. *Australasian Plant Disease Notes*, 12(1). <https://doi.org/10.1007/s13314-016-0227-0>
- Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Trichoderma atroviride* strain SC1. (2015). *EFSA Journal*, 13(4). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4092>
- Copes, W. E., Rodriguez-Carres, M., Toda, T., Rinehart, T. A., & Cubeta, M. A. (2011). Seasonal prevalence of species of binucleate *Rhizoctonia* fungi in growing medium,

- leaf litter, and stems of container-grown azalea. *Plant Disease*, 95(6), 705–711. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-10-0796>
- Cunnington, J. H., Minchinton, E. J., Auer, D. P. F., & Martin, H. L. (2007). First record of *Alternaria petroselini sensu lato* causing leaf blight on parsley in Australia. In *Plant Pathology* (Vol. 56, Issue 4, p. 723). <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01582.x>
- Daryaei, A., Jones, E. E., Ghazalibiglar, H., Glare, T. R., & Falloon, R. E. (2016). Effects of temperature, light and incubation period on production, germination and bioactivity of *Trichoderma atroviride*. *Journal of Applied Microbiology*, 120(4), 999–1009. <https://doi.org/10.1111/jam.13076>
- Debnath, M. (2008). Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant *Stevia rebaudiana*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(2), 45–051. <http://www.academicjournals.org/JMPR>
- Díaz-Gutiérrez, C., Arroyave, C., Llugany, M., Poschenrieder, C., Martos, S., & Peláez, C. (2021). *Trichoderma asperellum* as a preventive and curative agent to control Fusarium wilt in *Stevia rebaudiana*. *Biological Control*, 155. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104537>
- Díaz-Gutiérrez, C., Poschenrieder, C., Arroyave, C., Martos, S., & Peláez, C. (2019). First report of *Fusarium oxysporum* causing vascular wilt of *Stevia rebaudiana* in Colombia. *Plant Disease*, 103(7), 1779. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0141-PDN>
- Dickey, R. S. (1978). *Erwinia chrysanthemi: A Comparative Study of Phenotypic Properties of Strains from Several Hosts and Other Erwinia Species*.
- Dodds, J. A. (1998). SATELLITE TOBACCO MOSAIC VIRUS. In *Annu. Rev. Phytopathol* (Vol. 36). [www.annualreviews.org](http://www.annualreviews.org)
- Duarte, V., Salcedo, S. S., & Barreto, R. W. (2018). *Rhizoctonia solani* AG4 causes lentil damping-off in Brazil. *Australasian Plant Disease Notes*, 13(1). <https://doi.org/10.1007/s13314-018-0328-z>
- Erper, I., Ozer, G., Yildirim, E., Ozgen, T., & Turkkan, M. (2020). First report of southern blight caused by *Athelia rolfsii* on candyleaf in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 102(1), 245–246. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00380-w>

- Forouzi, A., Ghasemnezhad, A., & Nasrabad, R. G. (2020). Phytochemical response of Stevia plant to growth promoting microorganisms under salinity stress. *South African Journal of Botany*, 134, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.04.001>
- Fuentes-Ramirez, L. E., & Caballero-Mellado, J. (2005). *BACTERIAL BIOFERTILIZERS*.
- Gasmalla, M. A. A., Yang, R., & Hua, X. (2014). *Stevia rebaudiana* Bertoni: An alternative Sugar Replacer and Its Application in Food Industry. In *Food Engineering Reviews* (Vol. 6, Issue 4, pp. 150–162). Springer Science and Business Media, LLC. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9080-0>
- Gingade, S. (2012). *Vegetative propagation of stevia [Stevia rebaudiana (Bertoni) Hemsl.] through stem cuttings Conservation and Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants View project Production Technology of Ornamental Plants View project*. <https://www.researchgate.net/publication/287005086>
- Goyal, S. K., Samsher, & Goyal, R. K. (2010). Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: A review. In *International Journal of Food Sciences and Nutrition* (Vol. 61, Issue 1, pp. 1–10). <https://doi.org/10.3109/09637480903193049>
- Gupta, S., Smith, P. M. C., Boughton, B. A., Rupasinghe, T. W. T., Natera, S. H. A., & Roessner, U. (2021). Inoculation of barley with *Trichoderma harzianum* T-22 modifies lipids and metabolites to improve salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 72(20), 7229–7246. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab335>
- Hastoy, C., Le Bihan, Z., Gaudin, J., Cosson, P., Rolin, D., & Schurdi-Levraud, V. (2019). First report of *Septoria* sp. infecting *Stevia rebaudiana* in France and screening of *Stevia rebaudiana* genotypes for host resistance. *Plant Disease*, 103(7), 1544–1550. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-18-1747-RE>
- Inderbitzin, P., Bostock, R. M., Davis, R. M., Usami, T., Platt, H. W., & Subbarao, K. V. (2011). Phylogenetics and taxonomy of the fungal vascular wilt pathogen *Verticillium*, with the descriptions of five new species. *PLoS ONE*, 6(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028341>
- Kasiamdari, R. S., Smith, S. E., Smith, F. A., & Scott, E. S. (2002). Influence of the mycorrhizal fungus, *Glomus coronatum*, and soil phosphorus on infection and disease

caused by binucleate *Rhizoctonia* and *Rhizoctonia solani* on mung bean (*Vigna radiata*). In *Plant and Soil* (Vol. 238).

Kazemi-Pour, N., Condemine, G., & Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. (2004). The secretome of the plant pathogenic bacterium *Erwinia chrysanthemi*. *Proteomics*, 4(10), 3177–3186. <https://doi.org/10.1002/pmic.200300814>

Kessler, A. C., & Koehler, A. M. (2020). *First report of Rhizoctonia solani AG 4 causing root and stem rot of stevia in Delaware and Maryland*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180>

Khalil, S. A., Zamir, R., & Ahmad, N. (2014). Selection of suitable propagation method for consistent plantlets production in *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(6), 566–573. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.02.005>

Kim, S.-O., Chung, H.-S., & Lee, Y.-H. (1996). Double-stranded RNAs in Korean isolates of *Rhizoctonia solani* AG4. In *FEMS Microbiology Letters* (Vol. 141).

Koehler, A. M., & Shew, H. D. (2017). Enhanced overwintering survival of stevia by QoI fungicides used for management of *Sclerotium rolfsii*. *Plant Disease*, 101(8), 1417–1421. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-17-0277-RE>

Koehler, A. M., & Shew, H. D. (2018a). Field efficacy and baseline sensitivity of *Septoria steviae* to fungicides used for managing *Septoria* leaf spot of stevia. *Crop Protection*, 109, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.03.006>

Koehler, A. M., & Shew, H. D. (2018b). First report of Charcoal rot of stevia caused by *Macrophomina phaseolina* in North Carolina. In *Plant Disease* (Vol. 102, Issue 1, p. 241). American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-17-0693-PDN>

Larman, B. C., Dethoff, E. A., & Weeks, K. M. (2017). Packaged and Free Satellite Tobacco Mosaic Virus (STMV) RNA Genomes Adopt Distinct Conformational States. *Biochemistry*, 56(16), 2175–2183. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.6b01166>

Le Bihan, Z., Gaudin, J., Robledo-Garcia, F., Cosson, P., Hastoy, C., Rolin, D., & Schurdi-Levraud, V. (2022). *First Report of Sclerotium stem rot caused by Sclerotium rolfsii on Stevia rebaudiana in southwestern France*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0696-PDN>

- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., & Kong, A. H. (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. In *Food Chemistry* (Vol. 132, Issue 3, pp. 1121–1132). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.140>
- Lignocellulosic materials coated with Trichoderma atroviride SC1 increase its persistency in the soil and impact soil microbiota.* (n.d.).
- LIU, H. jun, DUAN, W. dong, LIU, C., MENG, L. xue, LI, H. xu, LI, R., & SHEN, Q. rong. (2021). Spore production in the solid-state fermentation of stevia residue by *Trichoderma guizhouense* and its effects on corn growth. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(5), 1147–1156. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63478-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63478-5)
- Longa, C. M. O., & Pertot, I. (2009). An intact soil-core microcosm method to evaluate the survival and vertical dispersal of *Trichoderma atroviride* SC1. *Letters in Applied Microbiology*, 49(5), 609–614. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02715.x>
- Luo, Y., Liang, J., Zeng, G., Chen, M., Mo, D., Li, G., & Zhang, D. (2018). Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects. In *Waste Management* (Vol. 71, pp. 109–114). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.023>
- Maha Helmy, M. (2015). Phenotypic Diversity and Molecular Identification of the Most Prevalent Anastomosis Group of *Rhizoctonia solani* Isolated from Diseased Faba Bean Plants. *American Journal of Life Sciences*, 3(1), 47. <https://doi.org/10.11648/j.ajls.20150301.19>
- Mamta, Rahi, P., Pathania, V., Gulati, A., Singh, B., Bhanwra, R. K., & Tewari, R. (2010). Stimulatory effect of phosphate-solubilizing bacteria on plant growth, stevioside and rebaudioside-A contents of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Applied Soil Ecology*, 46(2), 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.08.008>
- Manici, L. M., & Bonora, P. (2007). Molecular genetic variability of Italian binucleate *Rhizoctonia* spp. isolates from strawberry. *European Journal of Plant Pathology*, 118(1), 31–42. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9100-5>
- Marques, E., Borges, R. C. F., & Uesugi, C. H. (2016). Identificação e patogenicidade de *Pseudomonas cichorii* associada ao crestamento bacteriano da gérbera no Distrito

- Federal. *Horticultura Brasileira*, 34(2), 244–248. <https://doi.org/10.1590/S0102-053620160000200015>
- Mastouri, F., Björkman, T., & Harman, G. E. (2010). Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathology*, 100(11), 1213–1221. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-10-0091>
- Mastouri, F., Björkman, T., & Harman, G. E. (2012). *Trichoderma harzianum* Enhances Antioxidant Defense of Tomato Seedlings and Resistance to Water Deficit. *Molecular Plant-Microbe Interactions MPMI*, 25(9), 1264–1271. <https://doi.org/10.1094/MPMI>
- Mengesha Kassahun, B., Solomon, •, & Mekonnen, A. (2011). *The African Journal of Plant Science and Biotechnology Effect of Cutting Position and Rooting Hormone on Propagation Ability of Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni)*.
- Misawa, T., & Toda, T. (2013). First report of black scurf on carrot caused by binucleate *Rhizoctonia* AG-U. *Journal of General Plant Pathology*, 79(1), 86–88. <https://doi.org/10.1007/s10327-012-0422-6>
- Mony, R., & Uddin, J. (2018). *INFLUENCE OF CUTTING POSITION AND ROOTING HORMONES ON ROOTING OF STEVIA (Stevia rebaudiana) STEM CUTTING In vitro organogenesis of protorocorm like body (PLB) in orchids View project Soil management for Gardening View project*. <https://www.researchgate.net/publication/330259351>
- Myint, K. zar, Wu, K., Xia, Y., Fan, Y., Shen, J., Zhang, P., & Gu, J. (2020). Polyphenols from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) leaves and their functional properties. In *Journal of Food Science* (Vol. 85, Issue 2, pp. 240–248). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15017>
- Nerey, Y., Van Beneden, S., França, S. C., Jimenez, A., Cupull, R., Herrera, L., & Höfte, M. (2010). Influence of soil type and indigenous pathogenic fungi on bean hypocotyl rot caused by *Rhizoctonia solani* AG4 HGI in Cuba. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(5), 797–803. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.01.015>
- Oberwinkler, F., Riess, K., Bauer, R., Kirschner, R., & Garnica, S. (2013). Taxonomic re-evaluation of the *Ceratobasidium-Rhizoctonia* complex and *Rhizoctonia butinii*, a new

- species attacking spruce. *Mycological Progress*, 12(4), 763–776.  
<https://doi.org/10.1007/s11557-013-0936-0>
- Okubara, P. A., Dickman, M. B., & Blechl, A. E. (2014). Molecular and genetic aspects of controlling the soilborne necrotrophic pathogens *Rhizoctonia* and *Pythium*. In *Plant Science* (Vol. 228, pp. 61–70). Elsevier Ireland Ltd.  
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.02.001>
- Oskiera, M., Szczech, M., Stębowska, A., Smolińska, U., & Bartoszewski, G. (2017). Monitoring of *Trichoderma* species in agricultural soil in response to application of biopreparations. *Biological Control*, 113, 65–72.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.07.005>
- Palukaitis, P., Roossinck, M. J., Dietzgen, R. G., & Francki, R. I. B. (1992). CUCUMBER MOSAIC VIRUS. In *ADVANCES IN VIRUS RESEARCH* (Vol. 41).
- Pande, S. S., & Gupta, P. (2013). Plant tissue culture of *Stevia rebaudiana* (Bertoni): A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 5(1), 26–33.  
<https://doi.org/10.5897/JPP13>
- Paula Wilkie, J., & Dye, D. W. (1974). *Pseudomonas cichorii* causing tomato and celery diseases in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 17(2), 123–130. <https://doi.org/10.1080/00288233.1974.10420990>
- Pellegrini, A., Prodorutti, D., & Pertot, I. (2014). Use of bark mulch pre-inoculated with *Trichoderma atroviride* to control Armillaria root rot. *Crop Protection*, 64, 104–109.  
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.06.007>
- Peña, P. A., Steadman, J. R., Eskridge, K. M., & Urrea, C. A. (2013). Identification of sources of resistance to damping-off and early root/hypocotyl damage from *Rhizoctonia solani* in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Crop Protection*, 54, 92–99.  
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.04.014>
- Pertot, I., Prodorutti, D., Colombini, A., & Pasini, L. (2016). *Trichoderma atroviride* SC1 prevents *Phaeoconiella chlamydospora* and *Phaeoacremonium aleophilum* infection of grapevine plants during the grafting process in nurseries. *BioControl*, 61(3), 257–267. <https://doi.org/10.1007/s10526-016-9723-6>

- Pigatto, G. B., Gomes, E. N., Tomasi, J. de C., Ferriani, A. P., & Deschamps, C. (2018). Effects of indolebutyric acid, stem cutting positions and substrates on the vegetative propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 12(1), 202–211. <https://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i1.6631>
- Prakash, J., & Arora, N. K. (2020). Development of *Bacillus safensis*-based liquid bioformulation to augment growth, stevioside content, and nutrient uptake in *Stevia rebaudiana*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(1). <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2783-x>
- Prakash, J., Egamberdieva, D., & Arora, N. K. (2022). A Novel *Bacillus safensis*-Based Formulation along with Mycorrhiza Inoculation for Controlling *Alternaria alternata* and Simultaneously Improving Growth, Nutrient Uptake, and Steviol Glycosides in *Stevia rebaudiana* under Field Conditions. *Plants*, 11(14). <https://doi.org/10.3390/plants11141857>
- Roeland Enzlin, (2021)*Proj\_Phragmo\_Rhizoctonia\_sl\_v2-0*.
- Putri, D., Nurmuadifah, E., Amalia, L., Mulyaningsih, S., & Mulyani, L. (2020, December 29). *The Effect of Various Rootone F Concentrations on Stem Root Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni M.)*. <https://doi.org/10.4108/eai.11-7-2019.2303567>
- Raina, R., Kanta Bhandari, S., Chand, R., & Sharma, Y. (2013). *Journal of Medicinal Plants Research Strategies to improve poor seed germination in Stevia rebaudiana, a low calorie sweetener*. 7(24), 1793–1799. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.226>
- Ramesh, K., Singh, V., & Megeji, N. W. (2006). Cultivation of *Stevia* [*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni]: A Comprehensive Review. In *Advances in Agronomy* (Vol. 89, pp. 137–177). [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(05\)89003-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(05)89003-0)
- Reeleder, R. [. (1999). *Southern Crop Protection and Food Research Centre\ Agriculture and Agri!Food Canada\ Delhi Ontario\ Canada Septoria Leaf Spot of Stevia rebaudiana in Canada and Methods for Screening for Resistance*.
- Ruiz-Ruiz, J. C., Moguel-Ordoñez, Y. B., & Segura-Campos, M. R. (2017). Biological activity of *Stevia rebaudiana* Bertoni and their relationship to health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(12), 2680–2690. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1072083>



- Savazzini, F., Longa, C. M. O., Pertot, I., & Gessler, C. (2008). Real-time PCR for detection and quantification of the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* strain SC1 in soil. *Journal of Microbiological Methods*, 73(2), 185–194. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2008.02.004>
- Scholz, S. 1968-. (1997). *Das Ac-Element aus Zea mays L. in Gerste (Hordeum vulgare L.) Nachweis der Transposition und Ansätze zur Transposon-Mutagenese.*
- Sedghi, M., & Gholi-Toluie, S. (2013). Influence of salicylic acid on the antimicrobial potential of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni, Asteraceae) leaf extracts against soybean seed-borne pathogens. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(6), 1035–1038. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i6.25>
- Shoresh, M., & Harman, G. E. (2008). The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: A proteomic approach. *Plant Physiology*, 147(4), 2147–2163. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123810>
- Siddiqui, Z. A. (2005). *PGPR: PROSPECTIVE BIOCONTROL AGENTS OF PLANT PATHOGENS.*
- Simlat, M., Ślęzak, P., Moś, M., Warchoń, M., Skrzypek, E., & Ptak, A. (2016). The effect of light quality on seed germination, seedling growth and selected biochemical properties of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Scientia Horticulturae*, 211, 295–304. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.09.009>
- Sivashankar M, & Krishnan R. (n.d.). *Management of Cyperus difformis by using fungal pathogens as Mycoherbicide.*
- Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M. S., Shahid, N., & Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. In *Applied Soil Ecology* (Vol. 121, pp. 102–117). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.030>
- Tani, T. (1982). *Chikako ISHIBA\**, *Tatsuo.*
- Vélez-Olmedo, J. B., Vélez-Zambrano, S., Bonfim, B. S. A., Cuenca Cuenca, E., García, S., Guzmán Cedeño, A., & Pinho, D. B. (2021). First report of *Athelia rolfsii* (Curzi) causing stem and root rot on stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) in Ecuador. In *Journal*

of *Plant Pathology* (Vol. 103, Issue 2, p. 743). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s42161-021-00819-z>

Vicente, J. G., Conway, J., Roberts, S. J., & Taylor, J. D. (2001). *Identification and Origin of Xanthomonas campestris pv. campestris Races and Related Pathovars*.

Villamarín-Gallegos, D., Oviedo-Pereira, D. G., Evangelista-Lozano, S., Sepúlveda-Jiménez, G., Molina-Torres, J., & Rodríguez-Monroy, M. (2020). *Trichoderma asperellum*, an inoculant for the production of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana* Bertoni plants micropropagated in a temporary immersion bioreactor. *Revista Mexicana de Ingeniera Quimica*, 19(3), 1153–1161. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio947>

Vinale, F., Ghisalberti, E. L., Sivasithamparam, K., Marra, R., Ritieni, A., Ferracane, R., Woo, S., & Lorito, M. (2009). Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 48(6), 705–711. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02599.x>

Vitti, A., La Monaca, E., Sofo, A., Scopa, A., Cuypers, A., & Nuzzaci, M. (2015). Beneficial effects of *Trichoderma harzianum* T-22 in tomato seedlings infected by Cucumber mosaic virus (CMV). *BioControl*, 60(1), 135–147. <https://doi.org/10.1007/s10526-014-9626-3>

Vitti, A., Pellegrini, E., Nali, C., Lovelli, S., Sofo, A., Valerio, M., Scopa, A., & Nuzzaci, M. (2016). *Trichoderma harzianum* T-22 induces systemic resistance in tomato infected by cucumber mosaic virus. *Frontiers in Plant Science*, 7(OCTOBER2016). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01520>

Wölwer-Rieck, U. (2012). The leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: A review. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 60, Issue 4, pp. 886–895). <https://doi.org/10.1021/jf2044907>

XU, J., FENG, Y., WANG, Y., & LIN, X. (2018). Effect of *Rhizobacterium Rhodopseudomonas palustris* Inoculation on *Stevia rebaudiana* Plant Growth and Soil Microbial Community. *Pedosphere*, 28(5), 793–803. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(18\)60043-8](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60043-8)

- Yadav, A. K., Singh, S., Dhyani, D., & Ahuja, P. S. (2011). A review on the improvement of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]. In *Canadian Journal of Plant Science* (Vol. 91, Issue 1, pp. 1–27). <https://doi.org/10.4141/CJPS10086>
- Yan, M. F., Liu, B., Wang, Y. X., Zhu, J., Yang, P. S., Xiao, X., & Jiang, J. X. (2018). First report of *Alternaria steviae* causing black leaf spot of Stevia in China. In *Plant Disease* (Vol. 102, Issue 12, p. 2650). American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0446-PDN>
- Yang, Y. G., Zhao, C., Guo, Z. J., & Wu, X. H. (2015). Characterization of a new anastomosis group (AG-W) of binucleate *Rhizoctonia*, causal agent for potato stem canker. *Plant Disease*, 99(12), 1757–1763. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-15-0036-RE>
- Yang, Y., Zhao, C., Guo, Z., & Wu, X. (2014). Anastomosis groups and pathogenicity of binucleate *Rhizoctonia* isolates associated with stem canker of potato in China. *European Journal of Plant Pathology*, 139(3), 535–544. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0409-6>

### **Ελληνική βιβλιογραφία**

- AGRIOS (2017). Αθήνα: Εκδόσεις Utopia ΕΠΕ. Σελ 423-428, 534-547, 607-616,
- Παναγόπουλος Γ.Χ. (2007). Ασθένειες καρποφόρων Δένδρων & Αμπέλου, Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα, σελ. 206.
- Τζάμος Ε.Κ. (2007). Φυτοπαθολογία, Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα.
- Ζιώγας Β.Ν. και Μάρκογλου Α.Ν. (2017). Γεωργική Φαρμακολογία: Βιοχημεία, Φυσιολογία, Μηχανισμοί Δράσης και Χρήσεις των Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων (3<sup>η</sup> έκδοση). Εκδόσεις: Ιδιωτική Έκδοση, Αθήνα