



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

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη επίδρασης της ρόκας στην αντιμετώπιση
του μύκητα *Verticillium dahliae* σε φυτά *Solanum melongena*



Βασίλειος Α. Αλεξόπουλος

Επιβλέπων καθηγητής:
Σωτήριος Τζάμος, Καθηγητής ΓΠΑ

**Αθήνα
2024**

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη επίδρασης της ρόκας στην αντιμετώπιση
του μύκητα *Verticillium dahliae* σε φυτά *Solanum melongena*

Study of the effect of arugula on coping
of the fungus *Verticillium dahliae* on *Solanum melongena* plants

Βασίλειος Α. Αλεξόπουλος

Εξεταστική επιτροπή

Σωτήρης Τζάμος, Καθηγητής, ΓΠΑ (επιβλέπων)

Κωσταντίνος Αλιφέρης, Επίκουρος Καθηγητής, ΓΠΑ

Αλίκη Τζίμα, Επίκουρη Καθηγήτρια, ΓΠΑ

Μελέτη επίδρασης της ρόκας στην αντιμετώπιση του μύκητα *Verticillium dahliae* σε φυτά *Solanum melongena*

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο μύκητας *Verticillium dahliae* είναι ένα από τα σημαντικότερα παθογόνα των καλλιεργούμενων ετήσιων φυτών σε παγκόσμια κλίμακα. Το φυτό *Eruca sativa* L. (κοιν. ρόκα) είναι πλούσιο σε αντιοξειδωτικές ενώσεις που ενδεχομένως προστατεύουν τα φυτά εναντίον παθογόνων μικροοργανισμών. Στη παρούσα μελέτη, αξιολογήθηκε η φυτοπροστατευτική ικανότητα εκχυλισμάτων ρόκας σε φυτά μελιτζάνας εναντίον του μύκητα *V. dahliae*. Διαπιστώθηκε ότι η εφαρμογή εκχυλισμάτων ρόκας στο υπόστρωμα ανάπτυξης φυτών μελιτζάνας μείωσε σημαντικά την ένταση της ασθένειας σε σχέση με το μάρτυρα. Στην περίπτωση όπου το υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών είχε αποστειρωθεί η εφαρμογή του εκχυλίσματος ρόκας δεν είχε φυτοπροστατευτική δράση, συνεπώς είναι πιθανό ότι η δράση του εκχυλίσματος ρόκας συνδέεται με το μικροβίωμα του εδάφους. Η απομόνωση και προσδιορισμός μικροοργανισμών από τη ριζόσφαιρα φυτών που είχαν αναπτυχθεί σε εδαφικό υπόστρωμα με εφαρμογή εκχυλίσματος ρόκας, αποκάλυψε την αύξηση της συγκέντρωσης βακτηρίων του γένους *Burkholderia* που παρεμπόδισαν την ανάπτυξη του μύκητα *V. dahliae* σε *in vitro* πειράματα. Επίσης, η μεταγραφομική ανάλυση γονιδίων άμυνας έδειξε ότι η εφαρμογή εκχυλίσματος ρόκας σε μη-αποστειρωμένο εδαφικό υπόστρωμα οδηγεί σε υπερ-έκφραση του γονιδίου *PR1-PR4* κατά τη μόλυνση των φυτών με το μύκητα *V. Dahlia*.

Επιστημονική περιοχή: Φυτοπροστατευτική δράση

Λέξεις κλειδιά: μύκητας *Verticillium dahliae*, *Solanum melongena*, βακτήρια *Burkholderia*, μελιτζάνα

Study of the effect of arugula in the treatment of the fungus *Verticillium dahliae* in *Solanum melongena* plants

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

ABSTRACT

The fungus *Verticillium dahliae* is one of the most important pathogens of cultivated annual plants on a global scale. The plant *Eruca sativa* L. (common arugula) is rich in antioxidant compounds that possibly protect plants against pathogenic microorganisms. In the present study, we evaluated the phytoprotective capacity of arugula extracts on eggplant plants against the fungus *V. dahliae*. It was found that the application of arugula extracts to the growth medium of eggplant plants significantly reduced the intensity of the disease compared to the control. In the case where the plant growth medium was sterilized, the application of the arugula extract had no phytoprotective effect, therefore it is possible that the effect of the arugula extract is related to the soil microbiome. Isolation and determination of microorganisms from the rhizosphere of plants grown in a soil substrate with the application of arugula extract, revealed an increase in the concentration of bacteria of the genus *Burkholderia* that inhibited the growth of the fungus *V. dahliae* in in vitro experiments. Also, transcriptomic analysis of defense genes showed that application of arugula extract to non-sterilized soil substrate leads to over-expression of the PR1 gene during plant infection with the fungus *V. dahlia*.

Scientific area: Phytoprotective activity

Key words: *Verticillium dahliae*, *Solanum melongena*, bacteria *Burkholderia*, eggplant

Ευχαριστίες

Η εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής μελέτης πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό την επίβλεψη του κ. Σωτήριου Τζάμου. Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Σ. Τζάμο για τη συνέπεια, υπομονή και οργάνωση καθ' όλη την διάρκεια της συνεργασία μας τόσο πειραματικό σχεδιασμό όσο και στην υλοποίηση και συγγραφή της παρούσας μελέτης. Επιπλέον, ευχαριστώ και τα υπόλοιπα μέλη της επιτροπής, Επίκουρο Καθηγητή Κωσταντίνο Αλιφέρη και Επίκουρη Καθηγήτρια Αλίκη Τζίμα που δέχτηκαν να συμμετέχουν στην εξεταστική επιτροπή. Επίσης, ευχαριστώ όλα τα μέλη του Εργαστηρίου, προπτυχιακούς φοιτητές, μεταπτυχιακούς φοιτητές, υποψήφιους διδάκτορες και καθηγητές για το ευνοϊκό κλίμα συνεργασίας που δημιούργησαν και την οικειότητα που με έκαναν να νιώσω μέσα στο εργαστήριο. Φυσικά, δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω τους φίλους μου για την συνεχή ενθάρρυνση και υποστήριξη που μου πρόσφεραν όλο αυτό το χρονικό διάστημα. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένεια μου, για την αδιάκοπη στήριξη που μου παρέχουν. Τους αφιερώνω την παρούσα εργασία και τους ευχαριστήσω που είναι πάντα δίπλα μου και με ενθαρρύνουν να προσπαθώ για το καλύτερο.

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.

Περιεχόμενα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1.1.ΚΗΠΕΥΤΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ.....	8
1.2. ΜΕΛΙΤΖΑΝΑ	8
1.3. ΒΟΤΑΝΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	9
1.4. ΚΑΤΑΓΩΓΗ-ΙΣΤΟΡΙΑ.....	12
1.5. ΒΟΤΑΝΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΒΟΤΑΝΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ	18
1.6. ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΣΕ ΚΛΙΜΑ ΚΑΙ ΕΔΑΦΟΣ.....	23
1.7. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΠΕΡΙΠΟΙΗΣΕΙΣ	24
1.8. ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ.....	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΤΟ ΓΕΝΟΣ VERTICILLIUM	27
2.1. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ V. DAHLIAE.....	28
2.2. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ <i>Verticillium dahliae</i>	29
2.3. ΦΑΣΜΑ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ V. <i>Dahliae</i>	30
2.4. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ	30
2.5. ΑΠΩΛΕΙΕΣ ΑΠΟ ΤΗ ΒΕΡΤΙΣΙΛΛΙΩΣΗ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΦΥΤΩΝ.....	32
2.6. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ.....	33
2.7. ΕΝΤΑΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ	35
2.8. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗΣ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ	35
2.9. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΥΚΗΤΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΞΕΛΙΞΗ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ	36
2.10. ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ	42
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΤΟ ΦΥΤΟ ΡΟΚΑ	46
3.1.ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ ΦΥΤΩΝ	47
3.2. ΦΥΤΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΡΟΚΑΣ ΩΣ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΔΡΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ.....	48
3.3. ΓΛΥΚΟΣΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ.....	48
3.4. ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΡΟΚΑΣ.....	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	51
4.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	51
4.2. ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ	52
4.3. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΟΥ ΜΟΛΥΣΜΑΤΟΣ (ΚΟΝΙΔΙΑ/ML)	53
4.4. ΜΟΛΥΝΣΗ ΦΥΤΩΝ ΜΕ ΤΟΝ ΜΥΚΗΤΑ V. <i>Dahliae</i>	54
4.5. ΠΕΙΡΑΜΑ 1 ^ο ΠΕΙΡΑΜΑ 1 ^ο ΜΕΡΟΣ.....	54
4.6. 1 ^η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	54
4.8. 2 ^η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	56

5.1. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ RNA ΑΠΟ ΦΥΤΑ	58
5.2. DNA EXTRACTION ΑΠΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ.....	59
5.3. ΣΥΝΘΕΣΗ cDNA	60
5.4. ΕΚΦΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ.....	61
5.5. ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (POLYMERASE CHAIN REACTION, PCR).....	61
5.6. ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ	63
5.7. ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ	64
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΩΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	65
6.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ / <i>V.d</i>	65
6.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ / <i>V.d</i> +ΡΟΚΑ.....	66
6.3. ΜΕΣΟ ΝΩΠΟ ΒΑΡΟΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ.....	67
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΔΕΥΤΕΡΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ.ΕΛΕΓΧΟΣ ΜΕΣΑ ΣΤΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ	68
7.1. ΜΕΣΟ ΝΩΠΟ ΒΑΡΟΣ ΦΥΤΩΝ.....	75
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ PR1 ΣΕ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ ΓΟΝΟΤΥΠΟΥΣ.	77
8.1. ΣΧΕΤΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ PR-1	77
8.2. ΣΧΕΤΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ PR-4	78
ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ <i>Burkholderia</i>	81
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	83
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	85

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΚΗΠΕΥΤΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Οι κηπευτικές καλλιέργειες στη χώρα μας συμμετέχουν στο γεωργικό εισόδημα κατά 18%, καλύπτουν τις ανάγκες της εγχώριας κατανάλωσης και συμμετέχουν στις εξαγωγές σε σημαντικό βαθμό. Στο α' τρίμηνο του 2020 οι εξαγωγές των κηπευτικών αυξήθηκαν κατά 31,3% σύμφωνα με στοιχεία που δημοσίευσε η ΕΛΣΤΑΤ. Το συνολικό ποσό των εξαγωγών σε νωπά φρούτα και λαχανικά ανέρχεται σε 326,6 εκατομμυρίων ευρώ, ενώ κατά 17,5% μεγεθύνθηκαν οι εξαγωγές σε όγκο, φτάνοντας τους 440,56 χιλιάδες τόνους. (INCOFRUIT-HELLAS 2020). Άρα τα κηπευτικά αποτελούν βασικό στοιχείο ανάπτυξης για την Ελληνική οικονομία. Συνέπεια της οικονομικής ανάπτυξης είναι εντατικοποίηση αυτών των καλλιεργειών επομένως κρίνεται απαραίτητη η χρησιμοποίηση νέων βιώσιμων μεθόδων καλλιέργειας για αποτροπή μυκήτων ιών και βακτηρίων. Οι γεωργοί λοιπόν είναι οι διαχειριστές της υπαίθρου διαμορφώνουν τα τοπία και με την εργασίας τους, παρέχουν δημόσια αγαθά που μας ωφελούν όλους. Γι' αυτό κρίνεται απαραίτητο να αναζητηθούν εναλλακτικοί τρόποι φυτοπροστασίας. Η σύγχρονη αντίληψη απαιτεί την επίτευξη μιας ολιστικής προσέγγισης για την αντιμετώπιση των ασθενειών των κηπευτικών.

1.2. ΜΕΛΙΤΖΑΝΑ

Η μελιτζάνα είναι φυτό τροπικής προέλευσης και καλλιεργείται σε ανοικτές καλλιέργειες στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές καθώς και στις θερμές εποχές εύκρατων περιοχών του πλανήτη Ολύμπιο (2015). Ανήκει στην οικογένεια *Solanaceae* του γένους *Solanum*. Σε αυτήν ανήκουν η πατάτα (*Solanum tuberosum*), η τομάτα (*Lycopersicon sps.*) και η πιπεριά (*Capsicum sps.*) (Daunay et. al. 2001). Ως κύριο είδος έχουμε την *Solanum melongena* η οποία θεωρείται λαχανικό αλλά στην πραγματικότητα είναι φρούτο, καθώς το φυτό έχει άνθη και περιέχει σπόρους. Το βασικό χαρακτηριστικό της μελιτζάνας είναι το περίεργο σχήμα της και το βαθύ σκούρο μώβ χρώμα της. Το είδος της μελιτζάνας που συναντάται πιο συχνά στις ελληνικές αγορές είναι η μακρόστενη μορφή (*Solanum serpentinum*). Η μελιτζάνα και τα συγγενικά της είδη *S. macrocarpon* και *S. aethiopicum* ανήκουν στο υπογένος *Leptostemonum*, τα οποία αναφέρονται και ως «αγκαθωτά σολανώδη» (Levin κ.ά. 2006). Η διατροφική της αξία είναι υψίστης σημασίας γιατί περιέχει βιταμίνες, μέταλλα και ιχνοστοιχεία, αλλά και φυτικές ίνες. Η μελιτζάνα είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά και

φυτοχημικές ενώσεις. Οι αντιοξειδωτικές ουσίες ανήκουν σε 3 ομάδες. Στις φαινολικές ενώσεις, τα αλκαλοειδή και τα καροτενοειδή. Στην Ελλάδα η μελιτζάνα καλλιεργείται με δύο μεθόδους:

α) ως υπαίθριες καλλιέργειες

β) ως προστατευόμενες καλλιέργειες (εκτός εποχής) σε υψηλά θερμοκήπια.

1.3. ΒΟΤΑΝΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Παγκοσμίως καλλιεργείται σε μεγάλες εκτάσεις στην Ινδία, στην Κίνα, στις Φιλιππίνες, στην Ιαπωνία και σε χώρες της περιοχής της Μεσογείου. Υπάρχουν τρεις βοτανικές ποικιλίες του γένους *Melongena* (Şekara et al. (2007), Ολύμπιος (2015)):

1. *Solanum melongena* var. *serpentinum* ή snake eggplants: Περιλαμβάνει τις ποικιλίες που σχηματίζουν κυλινδρικούς επιμήκεις έως ραβδόμορφους καρπούς, διαστάσεων 2x30-40 εκ

2. *Solanum melongena* var. *esculentum*: Περιλαμβάνονται οι ποικιλίες που παράγουν σφαιρικούς ή ωοειδείς καρπούς. Είναι ο πλέον συνηθισμένος τύπος καλλιεργούμενης μελιτζάνας με τους μεγάλους καρπούς .

3. *Solanum melongena* var. *depressum*: Τα φυτά σχηματίζουν μικρού μεγέθους καρπούς, απιοειδούς σχήματος με κυρίως ιώδη χρωματισμό την λεγόμενη Ινδική μελιτζάνα η οποία είναι βιολετί και μωβ και μοιάζει με σταφύλια, πολύ μεγαλύτερου μεγέθους.

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΚΑΙ ΥΒΡΙΔΙΑ ΜΕΛΙΤΖΑΝΑΣ

Αλφαβητική ταξινόμηση των ποικιλιών και των υβριδίων μελιτζάνας:

ADRIA F1 (clause): μεσοπρώιμο υβρίδιο μελιτζάνας, μήκους 22εκ. και πλάτους 10εκ., μαύρου χρώματος, με πράσινο κάλυκα, για θερμοκηπιακή καλλιέργεια.

ANGELA F1 RZ: πρώιμο, παραγωγικό, υβρίδιο μελιτζάνας χωρίς αγκάθι, τσακώνικη για χειμωνιάτικες και πρώιμες φυτεύσεις.

ARAGON: υβρίδιο μελιτζάνας μήκος 19εκ ύψους 110-130εκ με καρπό οβάλ, μαύρο, με φυλλική κάλυψη για θερμοκηπιακή και υπαίθρια καλλιέργεια.

ARROW F1: υβρίδιο μελιτζάνας με ανεκτικότητα στο βερτισίλλιο, φυτό ανοιχτό, για πρώιμη παραγωγή με μεγάλη απόδοση θερμοκηπίου και υπαίθρου και καρπό μαύρο λαμπερό μακρύ.

BALYROI F1 (clause): πρώιμο υβρίδιο μελιτζάνας με καρπό μήκους 23εκ. και πλάτους 6εκ., σκούρου μοβ-μαύρου χρώματος, με πράσινο κάλυκα.

BALYROI FH: πρώιμο υβρίδιο μελιτζάνας ανθεκτικό στις ιώσεις, για καλλιέργεια υπό κάλυψη ή υπαίθρια με καρπό κυλινδρικό μοβ μαύρο γυαλιστερό.

BLACK BEUTY: μεσοπρώιμη παραγωγική ποικιλία, φτάνει έως 80εκ.. Ο καρπός είναι χρώματος μαύρου στιλπνού, με πράσινο κάλυκα.

BONICA F1: πολύ πρώιμο υβρίδιο μελιτζάνας με καρπό ωοειδή, γυαλιστερό μοβ -μαύρο, για καλλιέργεια υπό κάλυψη ή και υπαίθρια.

BONICA F1: (clause) πρώιμο υβρίδιο μελιτζάνας, τύπου φλάσκα μήκους 17εκ. και πλάτος 10εκ., μοβ-μαύρου χρώματος, με πράσινο κάλυκα.

CAVA: παραγωγικό υβρίδιο μελιτζάνας με καρπό οβάλ χωρίς αγκάθι.

CHAMPION: παραγωγικό υβρίδιο για θερμοκηπιακή καλλιέργεια με καρπό επιμήκη, μαύρου χρώματος, χωρίς αγκάθια,. Ανεκτικό σε TMV 0

CINTIA F1: υβρίδιο μελιτζάνας καρπός μήκους 20εκ. και πλάτους 8-10εκ με παραγωγή υψηλή και συνεχόμενη στις χαμηλές θερμοκρασίες με καρπό μοβ, χωρίς αγκάθια.

DELIKA F1: παραγωγικό υβρίδιο μελιτζάνας, σχήματος οβάλ, μαύρο κατάλληλο για υπαίθριες καλλιέργειες.

ECAVI RZ: παραγωγικό υβρίδιο μελιτζάνας για πρώιμη ή χειμωνιάτικη φύτευση, σε τούνελ Ο καρπός είναι χωρίς αγκάθι, τύπου οβάλ.

FASELIS F1: παραγωγικό υβρίδιο μελιτζάνας κανονικής ανάπτυξης σε χαμηλές θερμοκρασίες με καρπό μακρύ, 23εκ., με μοβ χρώμα ,

GIZA: παραγωγικό υβρίδιο μελιτζάνας τύπου δάκρυ, για υπαίθρια και θερμοκηπιακή καλλιέργεια με καρπό δακρυόσχημο, γυαλιστερό μαύρο. Ανεκτικό σε TMV 0.

IDEAL F1: υβρίδιο μακριάς μελιτζάνας. Φυτό ψηλό ανοιχτό και διευκολύνεται η συγκομιδή με καρπό κυλινδρικό μακρύ 22-25εκ. Ανεκτική στο *Verticillium*.

IRENE F1: παραγωγικό υβρίδιο μελιτζάνας με καρπό οβάλ, με στρογγυλά άκρα, πράσινο κάλυκα και περικάρπιο σκούρο βιολετί. Ανεκτικότητα στο *Verticillium*.

KARATAY F1: παραγωγικό πρώιμο υβρίδιο μακριάς μελιτζάνας, κατάλληλο και για θερμοκηπιακή καλλιέργεια με καρπό ποιοτικό μαύρο. Αντοχή σε χαμηλές θερμοκρασίες.

ΛΑΓΚΑΔΑ: παραγωγική υπαίθρια μεσοπρώιμη ποικιλία από τη Μακεδονία, , υψίκορμο (ύψος 85-90εκ.), συνεχούς καρποφορίας. Ανθεκτική τις ασθένειες του εδάφους.

LETON F1: υβρίδιο μελιτζάνας τύπου Λαγκαδά. Φυτό κανονικής ανάπτυξης με αντοχή στο κρύο, καλή συμπεριφορά στο βερτισίλιο.

LINDA F: υβρίδιο μακριάς μελιτζάνας, με μικρό φύλλωμα καρπό βιολετί-μαύρο κυλινδρικό. Ανεκτικότητα στο *Verticillium*.

LONG PYRPLE: ποικιλία μακριάς μαύρης μελιτζάνας, με λίγους σπόρους.

MARFA F1: μεσοπρώιμο υβρίδιο μελιτζάνας, για υπαίθρια και θερμοκηπιακή καλλιέργεια. Δυνατό φυτό, με υψηλή παραγωγή.

MEGAL F1: υβρίδιο μελιτζάνας, για υπαίθρια καλοκαιρινή καλλιέργεια. Φυτό με μεγάλη παραγωγή. Καρπός μαύρος, μακρύς.

MILED A F1: πρώιμο υβρίδιο μελιτζάνας με καλή καρπώδεση σε χαμηλές θερμοκρασίες, με παρθενοκαρπική τάση, καρπό κυλινδρικό, μήκους 23εκ., σκούρου χρώματος, με πράσινο κάλυκα και λευκή σάρκα.

MIRABELLE F1: μελιτζάνα πρώιμη, μακριά, μαύρη.

MORELLA: υβρίδιο μεσοπρώιμο, τύπου Λαγκαδά. κυλινδρικού σχήματος, 20-22εκ., γυαλιστερό μαύρο χρώμα, με λευκή σάρκα.

NADIA F: πρώιμο υβρίδιο μελιτζάνας ανθεκτικό στο κρύο. Καρπός ενδιάμεσου τύπου, εξαιρετικής ποιότητας.

NILO RZ: υβρίδιο μελιτζάνας, κατάλληλο για φυτεύσεις στη Β. Ελλάδα τύπου Λαγκαδά. Η πιο παραγωγική αυτού του τύπου.

RAMSIS: παραγωγικό χωρίς χνούδι υβρίδιο μελιτζάνας κατάλληλο για θερμοκηπιακή καλλιέργεια, οβάλ, γυαλιστερό, μαύρου χρώματος, χωρίς αγκάθια. Ανθεκτικό σε ΤΜΥ Ο.

RIMA F1: πρώιμο παραγωγικό υβρίδιο μελιτζάνας, χωρίς αγκάθια, με καρπώδεση και το χειμώνα μήκους 20εκ., πλάτους 10εκ., βάρους 250γρ, μαύρου χρώματος, πράσινο κάλυκα.

RONDONA F1: παραγωγικό, πρώιμο υβρίδιο με καλή καρπώδεση σε χαμηλές θερμοκρασίες λόγω παρθενοκαρπικής τάσης. Καρποί μαύροι σφιχτοί, στρογγυλοί οβάλ βάρους ±370γρ.

SAMBA: υβρίδιο μελιτζάνας εύρωστο με καλή κάλυψη καρπού από το φύλλωμα με καρπό οβάλ, επιμήκη, με μαύρο χρώμα και πράσινο κάλυκα, άσπρη σφιχτή σάρκα βάρους 400γρ.

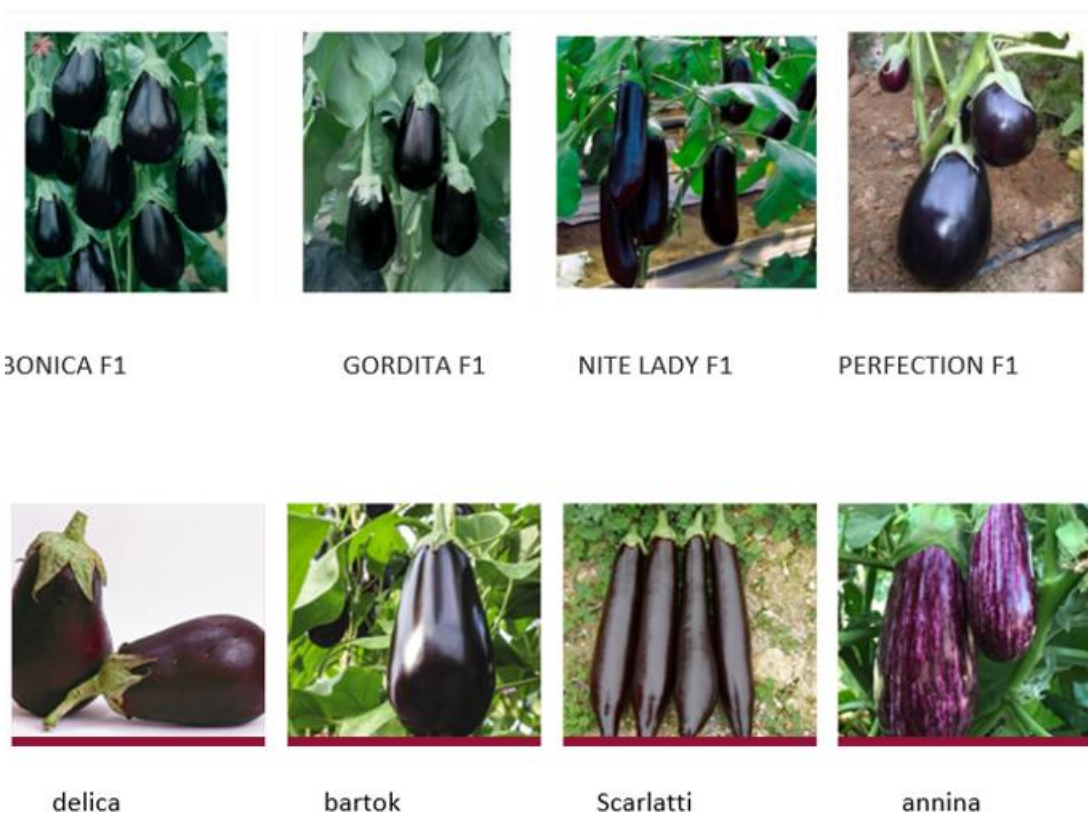
ΤΣΑΚΩΝΙΚΗ: από την Πελοπόννησο για ανοιχτή και πρώιμη καλλιέργεια, συνεχούς ανάπτυξης μήκους 10-25εκ., βάρους 120-150γρ. μοβ με άσπρες ραβδώσεις. Ανθεκτική στις ασθένειες.

TUDELA: υβρίδιο μελιτζάνας 75-80 ημερών, ύψους 100-130εκ. τύπου φλάσκα, μήκους 19εκ. Αντοχή σε χαμηλές θερμοκρασίες.

VERNAL F1: υβρίδιο μελιτζάνας, για ανοιξιότικη θερμοκηπιακή καλλιέργεια και υπαίθρια, πολύ παραγωγή και καρπό ενδιάμεσου τύπου.

VISTA F1: παραγωγικό πρώιμο υβρίδιο μελιτζάνας, τύπου φλάσκα. Φυτό ζωνρό, ύψους 130-150εκ., ορθόκλαδο.

VOLTA RZ: υβρίδιο μελιτζάνας, κατάλληλο για πρώιμη και χειμωνιάτικη φύτευση. Ο καρπός είναι χωρίς αγκάθια, τύπου οβάλ, με καλό χρώμα.



Εικόνα 1: Υβρίδια μελιτζάνας

1.4. ΚΑΤΑΓΩΓΗ - ΙΣΤΟΡΙΑ

Ο Vavilov (1928) θεώρησε την περιοχή της Ν.Α. Ασίας ως κέντρο καταγωγής επειδή εκεί καταγράφεται μεγάλος αριθμός άγριων και ημιάγριων τύπων μελιτζάνας. Προσδιόρισε μάλιστα ως κέντρο καταγωγής την Ινδία και ως δευτερεύον την Κίνα (Vavilov 1928, τους Chen & Li 1996). Το όνομά της προέρχεται από την ιταλική "melanzana". Οι πρόγονοί της ήταν σε αρκετά μικρότερο μέγεθος από το σημερινό. Ήταν τα ιθαγενή φυτά της Βόρειας Ινδίας (Μπούρμα), τη 2η χιλιετία π.χ. (Sekara, Cebula et al. 2007, Ολύμπιος 2015) και της Βόρεια Ταϊλάνδη ως της Νότιας Κίνας. Η εξημέρωση της μελιτζάνας, άλλαξε το σχήμα, το μέγεθος τη ποικιλομορφία και τη γεύση των καρπών, (A. Frary, et al. 2007). Σε σανσκριτικά κείμενα των Ινδουιστών αναφέρονται από το 300 π.χ. με διάφορα ονόματα όπως, για παράδειγμα, «shakasreshta», που σημαίνει «εξαιρετικό λαχανικό», ως τροφή αλλά και ως φάρμακο. Στην Ινδία τη θεωρούσαν βασίλισσα των λαχανικών και στην Κίνα εντοπίζεται σε μια πραγματεία για τα φυτά που γράφτηκε την περίοδο της δυναστείας Τζιν (265-316 μ.Χ.) και κατατάσσεται ανάμεσα στις «ασφαλείς» για τον αυτοκράτορα τροφές. Για τους αρχαίους Έλληνες και τους Ρωμαίους ήταν άγνωστη. Κατάφερε να φτάσει στην Περσία και ο φιλόσοφος και αλχημιστής

Αλ Ραζί (865-925) αναφέρει οδηγίες για τη χρήση της. Από εκεί, μαζί με τους Άραβες, έφτασε μέχρι την Αφρική. Τον 7ο και 8ο αιώνα, μαζί με τους μουσουλμάνους, έφτασε στη λεκάνη της Μεσογείου. Ο Ανδαλουσιανός Αβερρόη τον 11ο αιώνα αναφέρει ότι ήταν πλέον ευρέως γνωστή στη Νότια Ισπανία και από εκεί, αιώνες αργότερα, περνά στη γαλλική κουζίνα.

<https://www.tovima.gr/2013/07/23/afieromata/i-istoria-tis-elitzanas/>

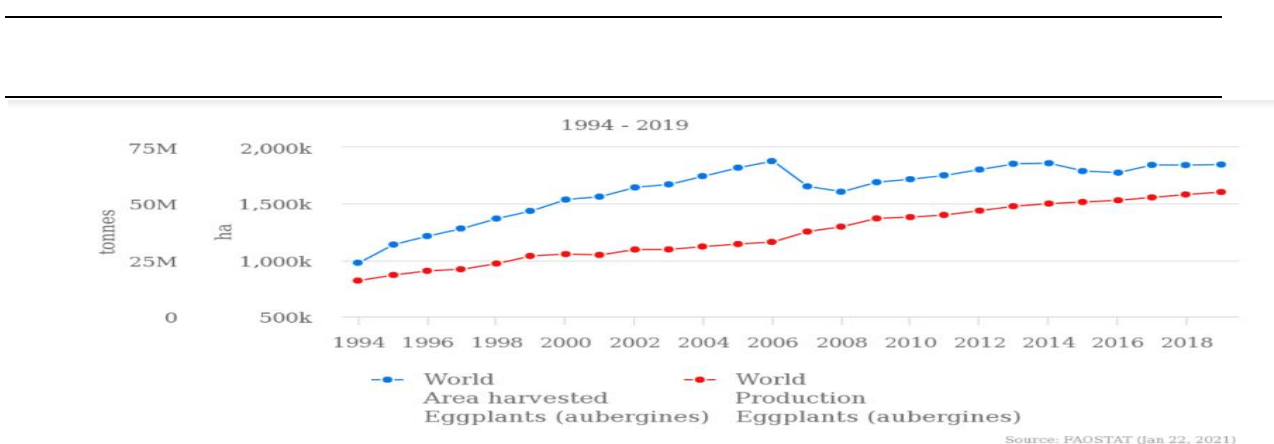
Στην Ευρώπη του μεσαίωνα πίστευαν ότι η στυφή γεύση προκαλούσε μελαγχολία και επιθετικότητα, και ούτε ο Λουδοβίκος ΙΔ΄ κατόρθωσε να αλλάξει αυτήν την άποψη, όταν σέρβιρε μελιτζάνες στο βασιλικό δείπνο. Η φήμη της αποκαταστάθηκε όταν οι βοτανολόγοι της Αναγέννησης έδωσαν ιδιαίτερη βαρύτητα στις αφροδισιακές ιδιότητές της και έτσι τον 16ο αιώνα, εκτός από mala insana (τρελό μήλο), αναφερόταν και ως μήλο της αγάπης (roma amoris). Στην Ελλάδα εισήχθη τον 16° αιώνα και μέχρι τώρα έχουν δημιουργηθεί αρκετές ποικιλίες χωρίς πικρή γεύση (Ολύμπιος 2015). Σήμερα η μελιτζάνα καλλιεργείται σε όλον τον κόσμο, σε έκταση περίπου 1.847.000 στρέμματα και δίνοντας παραγωγή περίπου 55.000.000 τόνους. (FAOSTAT January 2021). Θα τη συναντήσουμε στα τροπικά κλίματα ως πολυετές φυτό, και στις εύκρατες περιοχές, ως ετήσιο. Στην Ευρώπη, η μελιτζάνα καλλιεργείται κυρίως στη Ιταλία, Ισπανία και Ελλάδα, καθώς αποτελεί βασικό συστατικό της Μεσογειακής διατροφής. Η έρευνα του οργανισμού FAO το 2019, συμπεραίνει ότι η χώρα με την μεγαλύτερη παραγωγή μελιτζάνας παγκοσμίως είναι η Κίνα, δεύτερη η Ινδία και τρίτη η Αίγυπτος.

Πίνακας 1: Παραγωγή και καλλιεργήσιμη έκταση μελιτζάνας σε παγκόσμια κλίμακα και στις κυριότερες χώρες παραγωγής της στον κόσμο κατά το έτος 2019.

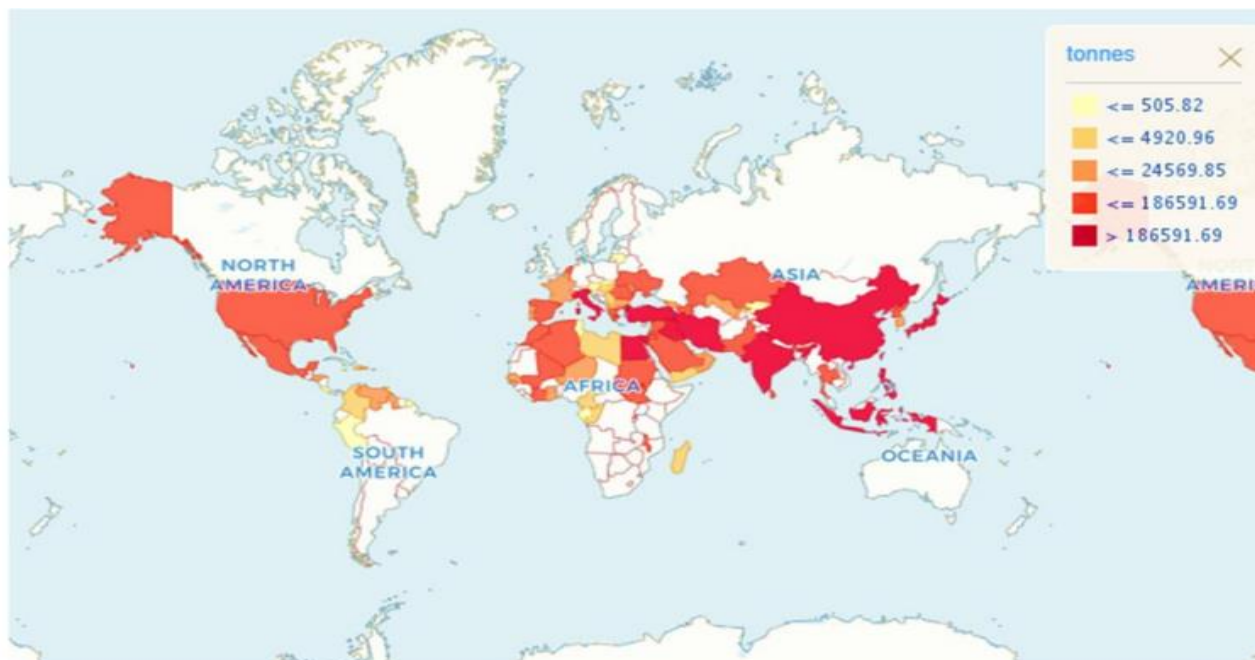
Χώρες	Παραγωγή(τόνοι)	Καλλιεργήσιμη έκταση (εκτάρια)	Απόδοση(kg/εκτάριο)
Παγκόσμια	55.197.878	1.847.787	29.872
Κίνα	35.590.700	782.998	45.454
Ινδία	12.680.000	727.000	17.441
Αίγυπτος	1.180.240	43.818	26.935
Τουρκία	822.659	23.337	35.251

Πίνακας 2: Στην Ευρώπη, πρώτη στην παραγωγή μελιτζάνας βρίσκεται η Ιταλία και ακολουθούν η Ισπανία, η Ρουμανία, η Ολλανδία και η Ελλάδα

Χώρες	Παραγωγή (τόνοι)	Καλλιεργήσιμη έκταση (εκτάρια)	Απόδοση(kg/εκτάριο)
Ευρώπη	811.150	20.640	39.299
Ιταλία	300.620	9.550	31.478
Ισπανία	245.150	3.470	70.648
Ρουμανία	79.660	4.810	16.561
Ολλανδία	64.000	130	492.307
Ελλάδα	54.910	1.350	40.674



Εικόνα 2: Απεικόνιση της παραγωγής και της καλλιεργήσιμης έκτασης μελιτζάνας παγκοσμίως από το έτος 1994 έως το 2019 (Πηγή FAOSTAT Data, Ιανουάριος 2021)



Εικόνα 3: Ποσοτική απεικόνιση της παραγωγής μελιτζάνας παγκοσμίως (πηγή faostat data, Ιανουάριος 2021).

Πίνακας 3: Καλλιέργεια της μελιτζάνας σε νομούς της Ελλάδας (πηγή: <https://www.statistics.gr/el/statistics/-/publication/SPG06/->).

	ΥΠΑΙΘΡΟΥ ΣΤΡΕΜΜΑΤΑ	ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΕ ΤΟΝΟΥΣ 28.537	ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟΥ ΣΤΡΕΜΜΑΤΑ	ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΕ ΤΟΝΟΥΣ 26.985
Σύνολο Ελλάδας	13.064		3.722	
Περιφέρεια Ανατολικής Μακεδονίας και Θράκης	1.274	3.105	67	328
Ροδόπης	257	377	8	33
Δράμας	81	237	14	97
Έβρου	262	693	9	35
Θάσου	19	48	—	—
Καβάλας	130	447	21	109
Ξάνθης	525	1.303	15	55
Περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας	1.352	3.533	466	1.618
Θεσσαλονίκης	340	836	83	233
Ημαθίας	194	459	186	569
Κιλκίς	72	112	2	3

		166	515	125	610
Πέλλας					
Πιερίας		286	945	25	86
Σερρών		134	351	24	75
Χαλκιδικής		160	314	21	42
Περιφέρεια Δυτικής Μακεδονίας	Δυτικής	134	279	15	34
Κοζάνης		42	110	7	18
Γρεβενών		25	19	3	4
Καστοριάς		46	124	3	9
Φλώρινας		21	26	2	3
Περιφέρεια Ηπείρου		290	405	146	795
Ιωαννίνων		61	55	12	12
Άρτας		94	61	17	16
Θεσπρωτίας		98	191	17	43
Πρέβεζας		37	98	100	723
Περιφέρεια Θεσσαλίας		1.559	3.030	95	411
Λάρισας		153	481	38	215
Καρδίτσας		604	728	26	55
Μαγνησίας		127	314	10	67
Σποράδων		7	7	—	—
Τρικάλων		668	1.500	21	74
Περιφέρεια Στερεάς Ελλάδας	Στερεάς	985	1.970	36	71
Φθιώτιδας		253	386	19	31
Βοιωτίας		126	292	1	9
Εύβοιας		565	1.237	13	29
Ευρυτανίας		1	1	—	—
Φωκίδας		40	54	3	2
Περιφέρεια Ιονίων Νήσων		161	350	13	33
Κέρκυρας		30	74	9	26
Ζακύνθου		35	63	4	7
Ιθάκης		2	1	—	—
Κεφαλληνίας		94	212	—	—
Λευκάδας		—	—	—	—
Περιφέρεια Δυτικής Ελλάδας	Δυτικής	1.803	3.811	358	1.463
Αχαΐας		288	479	38	54
Αιτωλ/νανίας		768	764	20	128
Ηλείας		747	2.568	300	1.282
Περιφέρεια Πελοποννήσου		2.373	6.373	577	4.108

Αρκαδίας	292	1.055	40	201
Αργολίδας	903	1.840	82	309
Κορινθίας	170	211	7	37
Λακωνίας	412	937	187	1.278
Μεσσηνίας	596	2.331	261	2.283
Περιφέρεια Αττικής	572	1.530	65	241
Κεντρικού Τομέα Αθηνών	—	—	—	—
Βορείου Τομέα Αθηνών	2	8	—	—
Δυτικού Τομέα Αθηνών	—	—	—	—
Νοτίου Τομέα Αθηνών	—	—	—	—
Ανατολικής Αττικής	274	854	60	221
Δυτικής Αττικής	145	518	3	13
Πειραιώς	—	—	—	—
Νήσων	151	150	2	7
Περιφέρεια Βορείου Αιγαίου	609	715	46	103
Λέσβου	298	323	24	49
Ικαρίας	50	100	—	—
Λήμνου	16	28	2	7
Σάμου.	38	19	3	5
Χίου	207	245	17	42
Περιφέρεια Νοτίου Αιγαίου	785	1.582	52	206
Σύρου	30	43	8	16
Άνδρου	81	102	1	2
Θήρας	131	82	—	—
Καλύμνου	27	48	1	1
Καρπάθου	9	40	—	—
Κύθνου	42	50	—	—
Κω	190	480	15	25
Μήλου	28	39	—	—
Μυκόνου.	22	26	—	—
Νάξου	46	101	—	—
Πάρου	39	137	—	—
Ρόδου	98	384	27	162
Τήνου	42	50	—	—
Περιφέρεια Κρήτης	1.167	1.853	1.786	17.576
Ηρακλείου	487	1.148	612	3.281
Λασιθίου	95	150	1.056	13.633
Ρεθύμνης	134	93	69	232
Χανίων	451	461	49	429

1.5. ΒΟΤΑΝΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΒΟΤΑΝΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ

Η μελιτζάνα έχει ισχυρό ριζικό σύστημα άρα προσαρμόζεται σε ποικίλα εδάφη. Στη χώρα μας η αθροισόμενη καλλιεργούμενη έκταση είναι περίπου 13.000 στρέμματα και η παραγωγή σε τόνους 28.000 (<https://www.statistics.gr/el/statistics/-/publication/SPG06/->)

Πίνακας 4: Συστηματική ταξινόμηση του *Solanum Melongena*

ΒΑΣΙΛΕΙΟ	ΦΥΤΑ (<i>Plantae</i>)
ΣΥΝΟΜΟΤΑΞΙΑ	ΑΓΓΕΙΟΣΠΕΡΜΑ (<i>Magnoliophyta</i>)
ΟΜΟΤΑΞΙΑ	ΜΟΝΟΚΟΤΥΛΗΔΟΝΑ (<i>Liliopsida</i>)
ΤΑΞΗ	ΣΤΡΥΧΝΩΔΗ (<i>Solanales</i>)
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	ΣΤΡΥΧΝΟΕΙΔΗ (<i>Solanaceae</i>)
ΓΕΝΟΣ	ΣΤΡΥΧΝΟΝ (<i>Solanum</i>)
ΕΙΔΟΣ	(<i>S. melongena</i>)

ΦΥΤΟ

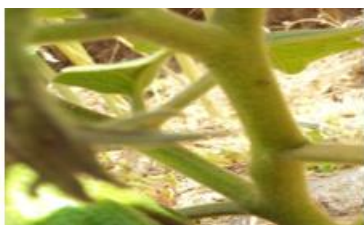


Εικόνα 4: Φυτό μελιτζάνας

Η μελιτζάνα καλλιεργείται σαν ετήσιο φυτό στις εύκρατες ζώνες και σαν πολυετές στις τροπικές. Τα φυτά έχουν ορθοτενή ανάπτυξη και φτάνουν σε ύψος τα 60-120 εκ. Σε αρκετά σημεία έχει ομοιότητες με την πιπεριά, με μια διαφορά ότι πιο τα φύλλα είναι μεγάλα και πιο σαρκώδη. Είναι ορθόκλαδο με απεριόριστη ανάπτυξη και έχει βλαστανούσα κορυφή, σε αντίθεση με

την πιπεριά που οι βλαστοί διακλαδίζονται. Από τη βάση κάθε φύλλου φύεται πλευρικός βλαστός. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας <http://archive.eclass.uth.gr> > eclass > document

ΒΛΑΣΤΟΣ



Εικόνα 5: Βλαστός μελιτζάνας

Οι βλαστοί είναι τρυφεροί και ποώδεις, στην συνέχεια γίνονται ξυλώδεις αλλά παραμένουν εύθραυστοι. Κατόπιν σχηματίζεται ένα κεντρικό κυλινδρικό στέλεχος το οποίο διακλαδίζεται

και παράγει πλευρικούς βλαστούς. Το φυτό απαιτεί στήριξη λόγω του βάρους των καρπών που αναπτύσσει κατά την διάρκεια της καλλιέργειας. Τόσο το κεντρικό στέλεχος όσο και οι πλάγιοι βλαστοί της μελιτζάνας ξυλοποιούνται μέσα στην ίδια βλαστική περίοδο που σχηματίζονται. Η μελιτζάνα (*Solanum melongena*) σχηματίζει πλάγιους βλαστούς σε όλες σχεδόν τις μασχάλες των φύλλων της, με συνέπεια υπό φυσιολογικές συνθήκες να παίρνει μορφή θάμνου

(πηγή:<http://archive.eclass.uth.gr/eclass/modules/document/file.php/MHXD185/%CE%94%CE%99%CE%91%CE%9B%CE%95%CE%9E%CE%95%CE%99%CE%A3/%CE%9C%CE%95%CE%9B%CE%99%CE%A4%CE%96%CE%91%CE%9D%CE%91.pdf>).

ΦΥΛΛΑ



Εικόνα 6: Φύλλα μελιτζάνας

Σχηματίζουν φύλλα μεγάλου μεγέθους, ωοειδή έως καρδιοειδή με δερματώδη υφή. Τα φύλλα εναλλάσσονται πάνω στους βλαστούς. Είναι μεγάλα, ελλειψοειδή, ακέραια, φέρουν στην επιφάνεια τρίχες και χνούδι, ενώ αρκετές φορές πάνω στις νευρώσεις σχηματίζονται αγκάθια το χρώμα τους είναι γκριζοπράσινο.

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας <http://archive.eclass.uth.gr> > eclass > document

ΡΙΖΑ



Εικόνα 7: Ρίζα μελιτζάνας

Το ριζικό σύστημα της μελιτζάνας αν και αναπτύσσεται κυρίως επιφανειακά είναι αρκετά πλούσιο και πυκνό με αποτέλεσμα να εκμεταλλεύεται αρκετά αποτελεσματικά τον όγκο του εδάφους που διαρριζώνει. Η ρίζα της είναι πασσαλώδης και φτάνει σε βάθος 60-120 εκ. Σχηματίζει μια κεντρική ρίζα, η οποία ωστόσο αντικαθίσταται με πολλές πλευρικές σε περίπτωση καταστροφής της κατά την μεταφύτευση. (Dunlop, 2006) [Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας http://archive.eclass.uth.gr › eclass › document .](http://archive.eclass.uth.gr › eclass › document .)

ΑΝΘΗ



Εικόνα 8: Άνθη μελιτζάνας

Είναι τέλεια μονήρη ή φέρονται σε ομάδες 2-3 πάνω στους βλαστούς. Στις πρώιμες ποικιλίες τα άνθη κάνουν την εμφάνισή τους με τον σχηματισμό του 6ου πραγματικού φύλλου, ενώ στις πολύ όψιμες μετά το 14ο πραγματικό φύλλο. Η στεφάνη είναι συμπέταλος, είναι περικοκλάδα και φέρει συνήθως πέντε λοβούς, ιώδης με 5 ή περισσότερα πέταλα. Ο κάλυκας είναι σαρκώδης, τριχωτός, με αγκάθια, αναπτύσσεται μαζί με τον καρπό και έχει 5 ή περισσότερα πέταλα. Όμως είναι κυρίως πεντάλοβος και αναπτύσσεται μαζί με τον καρπό. Ο ποδίσκος είναι αρκετά ανεπτυγμένος, σαρκώδης, ξυλώδης και γυρίζει προς τα κάτω κατά την άνθιση. Οι στήμονες είναι ενωμένοι στη βάση τους με τα πέταλα, χωρίς να είναι στη συνέχεια ενωμένοι και σχηματίζουν κώνο γύρω από τον ύπερο. Ο στύλος είναι συνήθως πιο μακρύς από τους στήμονες, αλλά μπορεί να είναι και μικρότερος. Η μορφολογία του άνθους επηρεάζεται από την εφαρμογή ρυθμιστών ανάπτυξης. Στη μελιτζάνα είναι συχνό το φαινόμενο της ετεροστυλίας. Στα άνθη με βιολετί χρωματισμό, ξεχωρίζει πολύ καλά το αρσενικό αναπαραγωγικό τμήμα. Ο σχηματισμός των πέντε ανθέρων χρώματος κίτρινου ζωηρού πραγματοποιείται από το ίδιο το άνθος (αυτεπικονίαση). Ωστόσο ορισμένα άνθη παραμένουν στείρα και δε σχηματίζουν καρπούς. [Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας http://archive.eclass.uth.gr › eclass › document](http://archive.eclass.uth.gr › eclass › document)

ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΑΝΘΕΩΝ ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΟ ΜΗΚΟΣ ΤΟΥ ΣΤΥΛΟΥ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΟΝ ΚΩΝΟ ΤΩΝ ΑΝΘΗΡΩΝ



Εικόνα 9: Διάκριση ανθέων

1. Μακρόστυλα άνθη όπου ο στύλος είναι αρκετά μακρύς (1,0- 1,3 εκ.) και το στίγμα προεξέχει από τον κώνο των ανθήρων.
2. Μεσαία-μακρόστυλα άνθη όπου ο στύλος είναι μακρύς (0,8-1,0 εκ.) αλλά ίσος σε μήκος με τον κώνο των ανθήρων.
3. Ψευδοκοντόστυλα άνθη όπου ο στύλος έχει μήκος 0,5-0,7 εκ. και είναι μικρότερος από το κώνο των ανθήρων και κατά συνέπεια το στίγμα είναι χαμηλότερα από τους ανθήρες.
4. Πραγματικά κοντόστυλα άνθη όπου ο στύλος έχει μήκος 0,1-0,3 εκ., είναι δηλαδή πολύ μικρός ενώ και η ωσθήκη του άνθους είναι συνήθως μικρή

Τα άνθη αυτογονιμοποιούνται και σε πολύ μικρό ποσοστό σταυρογονιμοποιούνται από έντομα. Το γεγονός ότι τα άνθη στρίβουν προς τα κάτω διευκολύνει την αυτογονιμοποίηση. Οι ανθήρες ωριμάζουν ταυτόχρονα με το στίγμα όταν ανοίγει το άνθος, το οποίο και παραμένει ανοικτό για 2-3 ημέρες. Μετά την γονιμοποίηση η στεφάνη και οι στήμονες μαραίνονται. Οι καρποί μπορούν να αναπτυχθούν και παρθενοκαρπικά. Η μελιτζάνα είναι φυτό ουδέτερο ως προς το φωτοπεριοδισμό, επομένως δεν συναντά δυσκολίες στην παραγωγή ανθέων κατά τους χειμερινούς μήνες που μας ενδιαφέρουν περισσότερο. Τα άνθη αυτογονιμοποιούνται, ωστόσο σε ορισμένες συνθήκες σχηματίζονται καρποί χωρίς γονιμοποίηση (παρθενοκαρπία). (Εικόνα 9). (Doijode, 2001)

ΣΠΟΡΟΣ

Ο σπόρος είναι πεπιεσμένος, δισκοειδής, με λεία επιφάνεια και υποκίτρινο ή καφέ χρώμα. Αναπτύσσεται μέσα στη σάρκα του πλακούντα. Μέσα σε 1 γρ. υπάρχουν 225-250 σπόροι. Ο σπόρος υπό κανονικές συνθήκες διατηρεί την βλαστική του ικανότητα για 4-5 χρόνια Είναι

πεπλατυσμένοι με σχήμα στρογγυλό έως ωοειδές και φέρουν μικρή απόφυση. Έχουν χρώμα κιτρινόλευκο έως λευκό, διάμετρο περίπου 2-4 mm και πάχος μεταξύ 0,5-1 mm. Το βάρος χιλίων σπόρων μελιτζάνας κυμαίνεται μεταξύ 3, 2-3, 4 g

[Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας](http://archive.eclass.uth.gr)<http://archive.eclass.uth.gr> > eclass > document

ΓΕΥΣΗ

Η μελιτζάνα έχει πικρή γεύση που οφείλεται σε δύο είδη στεροειδών σαπωνίνων. Το ένα ανήκει στα γλυκοαλκαλοειδή ενώ το άλλο στις μελογκοσίνες. Δομικά αποτελείται από μια μη νιτρογενή ετεροκυκλική ένωση που πεσοδένεται σε στεροειδή πυρήνα. Αυτές οι ουσίες ανήκουν στις ομάδες χημικών ενώσεων με αντιμικροβιακή και αντικαρκινική ιδιότητα ενώ, ταυτόχρονα μειώνουν την χοληστερίνη στο αίμα. Η χαρακτηριστική πικρή γεύση εξαρτάται απ την συγκέντρωση των γλυκοαλκαλοειδών εφόσον υπάρχουν σε συγκεντρώσεις 20 mg/100 g νωπού βάρους. Επιπλέον παράγοντες που επηρεάζουν την έντονη γεύση είναι η ποικιλία, ο τρόπος που καλλιεργείται και η μέθοδος συγκομιδής. (Ολύμπιου, 2001)

ΚΑΡΠΟΣ

Ο καρπός έχει σχήμα σφαιροειδές, απιοειδές, ωοειδές, επίμηκες ή κυλινδρικό και είναι ράγα. Η σάρκα του καρπού είναι λευκή έως φαιόλευκη με σπογγώδη υφή. Εξωτερικά η επιδερμίδα του καρπού είναι λεία με χρώμα βαθύ ιώδες κατά κανόνα. Αποτελείται κατά κύριο μέρος, από νερό 92,5%, υδατάνθρακες 5,6%, πρωτεΐνες 1,2% και λίπη 0,2%. Επίσης είναι μια πολύ καλή πηγή βιταμινών A, B1, B2, C καθώς και Ca. [Βοτανικά χαρακτηριστικά μελιτζάνας - GAIApedia](#) Η τεχνική της καλλιέργειας των κηπευτικών στα θερμοκήπια, του Χρήστου Ολύμπιου, Καθηγητή Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα 2001



Εικόνα 10: Στάδια ανάπτυξης μελιτζάνας

1.6. ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΣΕ ΚΛΙΜΑ ΚΑΙ ΕΔΑΦΟΣ

A) ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΣΕ ΚΛΙΜΑ

Η μελιτζάνα είναι φυτό θέρμης εποχής για αυτό το λόγο καλλιεργείται με επιτυχία σε τροπικές, υποτροπικές και θερμές περιοχές και σε εύκρατα κλίματα κατά εποχές. Οι υψηλές θερμοκρασίες συντελούν στην ανάπτυξη και την παραγωγή της. Αντέχει και σε υψηλότερες θερμοκρασίες, και είναι ευπαθής σε χαμηλές θερμοκρασίες, σε σύγκριση με τα υπόλοιπα της ίδιας οικογένειας. Για να είναι ικανοποιητική βλάστηση των σπόρων η θερμοκρασία θα πρέπει να είναι 20-30°C με άριστη τους 25°C. Στους 30°C σε 5 ημέρες, 25°C σε 8 ημέρες και 20°C 13 ημέρες φυτρώνουν οι σπόροι. Σε πιο υψηλές θερμοκρασίες δημιουργούνται προβλήματα. Μετά την βλάστηση η θερμοκρασία μπορεί να κατέβει σε χαμηλότερα επίπεδα. Η θερμοκρασία ημέρας θα πρέπει να είναι 20-25°C και νύχτας 6-20°. Η μελιτζάνα είναι το πιο απαιτητικό φυτό σε θερμοκρασία από όλα τα σολανώδη. Σε διαφορετικές θερμοκρασίες δημιουργούνται προβλήματα που έχουν σχέση με την ανάπτυξη του φυτού και την άνθηση και την βιωσιμότητα της γύρης. Επίσης σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες (>35°C) και σε χαμηλή ατμοσφαιρική υγρασία, αυξάνουν τη διαπνοή και δημιουργείται μάρανση στο φυτό. Στις ιώδεις ποικιλίες, οι ανθοκυανίνες επηρεάζονται αρνητικά, όταν επικρατούν υψηλές θερμοκρασίες και χαμηλή υγρασία. Η έκθεση των καρπών στην ακτινοβολία, προκαλεί ηλιόκαυμα στους καρπούς. Στις ποικιλίες με μακριούς καρπούς, είναι πιο ανθεκτικές στις υψηλές θερμοκρασίες, σε σύγκριση με ποικιλίες που σχηματίζουν μικρούς καρπούς σφαιρικούς ή ελλειψοειδείς. [UOP eClasshttps://eclass.uop.gr > document > file.php](https://eclass.uop.gr/document/file.php)

Ως άριστη υγρασία θεωρείται το επίπεδο των 70- 75% Σ.Υ. Επειδή η μελιτζάνα είναι αρκετά ευπαθής στον βοτρυτή, δεν θα πρέπει η υγρασία να ξεπερνά αυτά τα επίπεδα, οπότε ο καλός αερισμός είναι αναγκαίος σε συνδυασμό με την διατήρηση των φυτών στεγνών. Η υγρασία επίσης επηρεάζει την απώλεια νερού ενώ η ατμοσφαιρική σύνθεση δηλ. η αναλογία O₂, CO₂ και C₂H₄ επηρεάζει την αναπνοή και το χρόνο αποθήκευσής της. Οι βιολογικοί παράγοντες δηλ. η αναπνοή και η διαπνοή επιδρούν στην αλλοίωση του λαχανικού. Το ποσοστό αλλοίωσης της μελιτζάνας είναι ανάλογο με το ποσοστό αναπνοής της δηλ. τη σύσταση του αέρα. Στην διαπνοή η απώλεια υγρασίας σχετίζεται από το μέγεθος της επιφάνειας που εκτίθεται στο περιβαλλοντικές συνθήκες και προκαλεί ποσοτικές και ποιοτικές αλλοιώσεις στην εμφάνιση, και απώλεια στην θρεπτική της αξία. [UOP eClasshttps://eclass.uop.gr > document > file.php](https://eclass.uop.gr/document/file.php)

Β) ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΣΕ ΕΔΑΦΟΣ

Το ιδανικό έδαφος για την καλλιέργεια της μελιτζάνας, είναι το αμμοπηλώδες πρέπει να είναι πλούσιο σε οργανική ουσία ,απαλλαγμένο από άλατα ,καλά αποστραγγιζόμενο, ενώ το pH του, πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 6 και 8. Πριν από τη φύτευσή των φυτώριων το έδαφος χρειάζεται να καθαριστεί και να λιπανθεί με οργανικά αλλά και με άζωτο. Συστήνεται και η κάλυψή του με μαύρο φιλμ ώστε να βοηθηθεί η αύξηση της θερμοκρασίας την οποία τόσο ανάγκη έχει η καλλιέργεια της . Για πρώιμη παραγωγή, θα πρέπει να προτιμώνται τα ελαφρά αμμώδη εδάφη. Εάν το έδαφος ή το νερό έχει άλατα, η ανάπτυξη του φυτού περιορίζεται , τα φύλλα έχουν πιο σκούρο χρώμα και οι καρποί γίνονται πιο μικροί. Επιπλέον , η βλάστηση είναι περιορισμένη και σε συνεκτικά εδάφη. Επειδή τα φυτά παραμένουν για μεγάλο χρονικό διάστημα στο σπορείο τελευταίες εβδομάδες είναι αναγκαία η προσθήκη θρεπτικών στοιχείων στο νερό του ποτίσματος και κυρίως N. Χορηγούμε: 120 g KNO₃ ,110 g NH₄NO₃ σε 1 λίτρο νερού και κάνουμε αραίωση 1:250 ή 1:200. Η προσθήκη μαγνησίου στο έδαφος κατά τη βασική λίπανση είναι απαραίτητη ή να δίδεται MgSO₄, μέσω του συστήματος άρδευσης Η μελιτζάνα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη και στην έλλειψη των ιχνοστοιχείων όπως Ψευδάργυρος, Σίδηρος, Βόριο και Μολυβδαίνιο. Η καλλιέργεια της μελιτζάνας στο έδαφος, θα πρέπει να ενταχθεί σε ένα πρόγραμμα αμειψισποράς 3-4 χρονών, για την αντιμετώπιση των παθογόνων εδάφους (Ολύμπιος 2015).

1.7. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΠΕΡΙΠΟΙΗΣΕΙΣ

Η μελιτζάνα έχει επιπόλαιο ριζικό σύστημα, και συνήθως στις υπαίθριες καλλιέργειες στηρίζεται με πασσάλους ή πλέγματα ενώ στο θερμοκήπιο, δένεται στο σύρμα στήριξης, όπως η τομάτα. Στις καλλιεργητικές περιποιήσεις περιλαμβάνονται η καταπολέμηση των ζιζανίων (σκαλίσματα, βοτανίσματα, εφαρμογή ζιζανιοκτόνων, εφαρμογή εδαφοκάλυψης με μαύρο πλαστικό), το παράχωμα και η άρδευση. Η ενδεικτική λίπανση της μελιτζάνας είναι η κοπριά με 3-4 τόνους /στρέμμα. Επίσης το τριπλό υπερφοσφωρικό με 80 κιλά/στρέμμα και το θειικό κάλιο με 60 κιλά /στρέμμα. Στην επιφανειακή λίπανση εφαρμόζεται μίγμα νιτρικού καλίου και νιτρικής αμμωνίας σε αναλογίες N:K₂O που κυμαίνονται από 1:2 μέχρι 2:1 με άριστη την αναλογία 1:1. Η προσθήκη νιτρικού ή θειικού μαγνησίου είναι απαραίτητη γιατί η μελιτζάνα είναι ένα απαιτητικό φυτό σε μαγνήσιο (Mg). Επιπλέον απαραίτητο είναι το

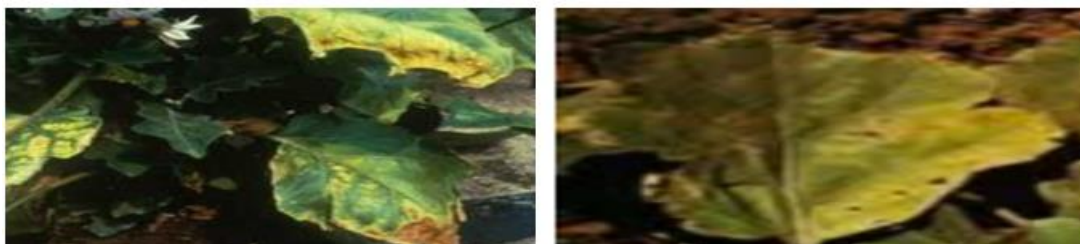
κλάδεμα, η αντιμετώπιση εχθρών και ασθενειών, η αφαίρεση φύλλων και η αραίωση καρπών
[UOP eClass https://eclass.uop.gr/document/file.php](https://eclass.uop.gr/document/file.php)

1.8. ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Τα σοβαρότερα προβλήματα δημιουργούνται από τις παρακάτω ασθένειες:

- Βερτσιλλίωση- *Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*,
- Φουζαρίωση- *Fusarium oxysporum*, *f. sp. lycopersici*
- Ριζοκτόνια- *Rhizoctonia solani*
- Ανθράκωση- *Colletotrichum coccodes*
- Σκληρωτηνίαση- *Sclerotinia sclerotiorum*
- Αλτερναρίωση- *Alternaria solani*, *A. alternata*
- Βοτρυτής- *Botrytis cinerea*
- Φυτόφθορα- *Phytophthora parasitica*
- Ωίδιο- *Erysiphe polyphaga*
- Ανθράκωση- *Colletotrichum melongenae* και *C. coccodes*
- Κερκόσπορα- *Cercospora melongenae*
- Φόμοψις- *Phomopsis vegans*



Εικόνα 11: Φυτά μελιτζάνας προσβεβλημένα από το μύκητα

ΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Οι κυριότερες ιολογικές ασθένειες που προσβάλλουν την μελιτζάνα είναι:



Εικόνα 12: Ιολογικές ασθένειες μελιτζάνας

- το μωσαϊκό της τομάτας-TMV
- το μωσαϊκό του αγγουριού- CMV
- ίωση της μελιτζάνας MBV

Σύνηθες πρόβλημα αποτελούν τα εγκαύματα των φύλλων από κακή χρήση φυτοφαρμάκων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΤΟ ΓΕΝΟΣ *VERTICILLIUM*

Πίνακας 4: Συστηματική ταξινόμηση του μύκητα *Verticillium dahliae*.

Βασίλειο	Μύκητες
Διαίρεση	<i>Ascomycota(AnamorphicHypocreales)</i>
Τάξη	<i>Incertae sedis</i>
Οικογένεια	<i>Plectosphaerellaceae</i>
Γένος	<i>Verticillium</i> (Nees 1816)
Είδος	<i>Verticillium dahliae</i> (Κλεμπ 1913)

Οι μύκητες που ανήκουν σε αυτό το γένος *Verticillium* είναι εδαφογενείς και σε αυτά ανήκουν τα έξι πιο φυτοπαθογόνα είδη. Αυτοί επηρεάζουν πάνω από 400 ξενιστές (Pegg and Brady 2002, Barbara and Clewes 2003)και είναι:

- *V. dahliae* (Klebahn 1913)
- *V. albo-atrum* (Reinke & Berthold 1879).
- *V. nigrescens* (Pethybridge. 1919).
- *V. nobile* (Pethybridge 1919).
- *V. tricornutum* (Isaac 1953).
- *V. longisporum*.(Stark 1961)

Οι αδρομυκώσεις που προκαλούνται από τους μύκητες του γένους *Verticillium* ονομάζονται βερτισιλιώσεις και εμφανίζονται σε πολυετείς αλλά και ετήσιες καλλιέργειες (Παναγόπουλος, 1997). Μεγαλύτερη φυτοπαθολογική σημασία παρουσιάζουν τα είδη *V.dahliae* και *V. albo-atrum* (Deuteromycotina, Hyphomycetes), τα οποία είναι υπεύθυνα για την ασθένεια της βερτισιλίωσης. Δεν υπάρχουν μυκητοκτόνα με θεραπευτική δράση για την αντιμετώπιση των βερτισιλιώσεων. Η οικονομική επίπτωση αυτών των παθογόνων μυκήτων είναι μεγάλη. Οι μύκητες *Verticillium dahliae* και *V. albo-atrum* είναι τα πιο σημαντικά φυτοπαθογόνα, τα οποία μπορούν να προσβάλουν μια μεγάλη ποικιλία δικοτυλήδων φυτών-ξενιστών (Agrios, 1997)

2.1. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ V. DAIHLIAE

Μακροσκοπικά χαρακτηριστικά



Εικόνα 13: Μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του μύκητα

Πίνακας 5: Μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του μύκητα

1) Αρχικά λευκές, βαμβακώδεις αποικίες με μέτριο τάχος ανάπτυξης.
2) Στη συνέχεια υπόλευκες, σκουρόχρωμες έως μαύρες λόγω σχηματισμού διατηρητικών δομών. Hawks worth & Talboys, 1970; Inderbitzin et al., 2011a)

Μικροσκοπικά χαρακτηριστικά



Εικόνα 14: Μικροσκοπικά χαρακτηριστικά

- 1) Υαλώδεις μυκήλιο του μύκητα V.
- 2) Ελευθέρους, ανορθωμένους, υαλώδεις, πολυκύτταρους, μικρούς κονιδιοφόρους (80-160 μm μήκος) που έχουν χαρακτηριστική διακλάδωση κατά 2-3 σπονδύλους που εμφανίζεται σε σπειράματα σε διάφορα επίπεδα.

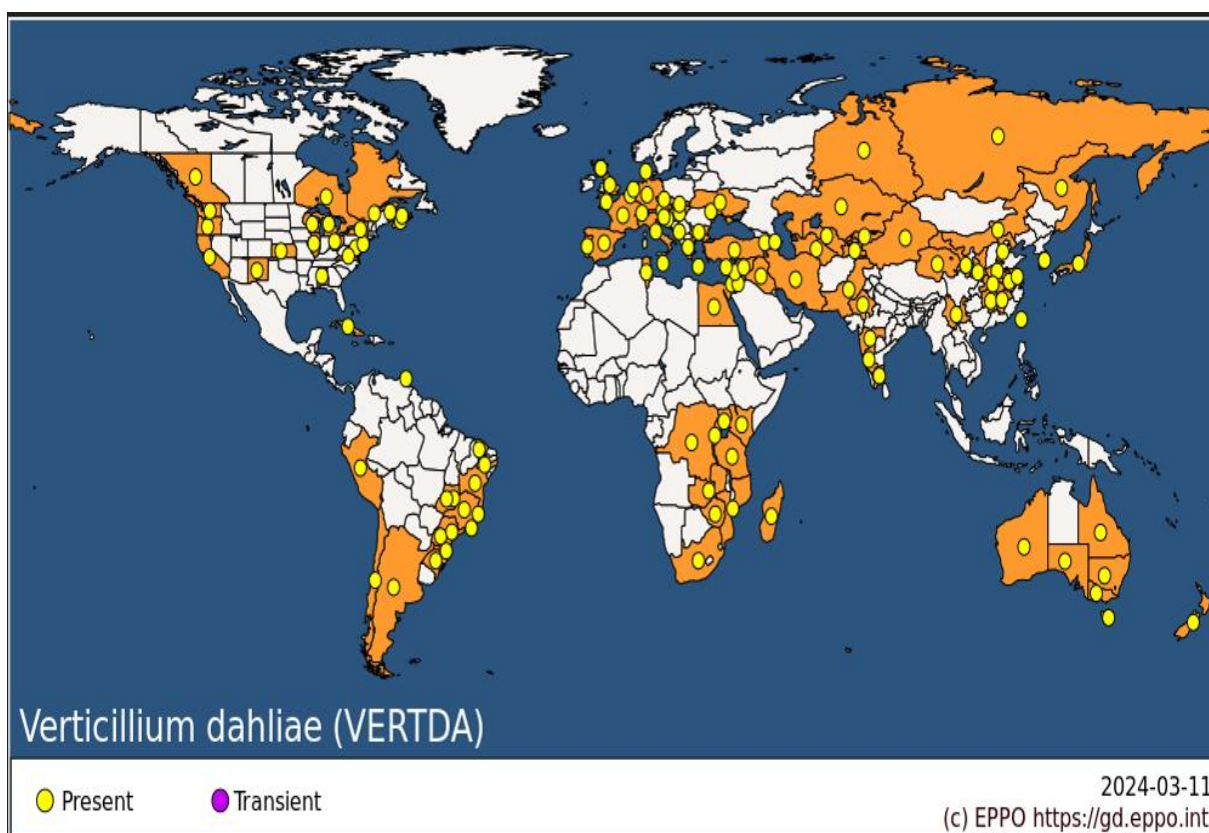
Κάθε σπόνδυλος φέρει 2-4 ατρακτοειδείς κλάδους· κάθε κλάδος καταλήγει σε φιαλίδιο με πολυάριθμα φιαλιδιοσπόρια.

- 3) Από κάθε κονιδιοφόρο εκφύονται συνήθως 3-4 φιαλίδια τα οποία σχηματίζουν στις κορυφές διαδοχικά πολλά φιαλοκονίδια τα οποία συγκρατούνται μεταξύ τους με μία κολλώδη ουσία. Τα κονίδια είναι ωοειδή ή ελλειψοειδή και συνήθως μονοκύτταρα, διαστάσεων $2,5-8 \mu\text{m} \times 1,4-3,2 \mu\text{m}$. Η ελευθέρωση των κονιδίων γίνεται με το νερό.
- 4) Τα διακλαδισμένα κονίδια είναι συνήθως μονοκύτταρα υαλώδη, με σχήμα ωοειδές, επίμηκες νεφροειδές ή ελλειψοειδές, διαστάσεων $(2,5-10,5 \times 1,4-4) \mu\text{m}$ (Hawksworth & Talboys, 1970). Τα μικροσκληρώτια σχηματίζονται από την εκβλάστηση του διαχειμάζοντος μυκηλίου. Έχουν παχιά κυτταρικά τοιχώματα, σκοτεινό καφέ-μαύρο

χρώμα. Το σκοτεινό χρώμα οφείλεται στη μελανίνη, η οποία βοηθάει στην μακροχρόνια επιβίωση των μικροσκληρωτίων στο έδαφος, (Lazarovits 1994)

2.2. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Verticillium dahliae*

Ο μύκητας *V. dahliae* έχει γεωγραφική εξάπλωση σε όλες τις εύκρατες περιοχές του κόσμου. Ο *V. dahliae* έχει επεκταθεί σε 53 χώρες. Θα τον συναντήσουμε στις θερμότερες περιοχές της ΗΠΑ, Καναδά, Ευρώπης και Ασίας. Επίσης προσβάλλει τα φυτά τόσο σε ψυχρές όσο και σε θερμές περιοχές και όταν η μέση θερμοκρασία υπερβαίνει τους 24° C για μεγάλο χρονικό διάστημα και είναι η καλλιεργητική περίοδος. Ο μύκητας *V. dahliae* μπορεί να είναι ακόμα καταστροφικότερος σε θερμότερα κλίματα, και σε αρδευόμενες καλλιέργειες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα έχει αναφερθεί στο Ισραήλ όπου σε ερημικές περιοχές που αρδεύονται και σε συνθήκες υψηλής εξατμισοδιαπνοής ο μύκητας αποτελεί τον πιο περιοριστικό παράγοντα στην παραγωγή των φυτών. Επειδή ο μύκητας *V. dahliae* ευνοείται από υψηλές μέσες θερμοκρασίες για αυτό το λόγο κυριαρχεί στις θερμές περιοχές της νότιας Ευρώπης και της Μεσογείου και μεταξύ αυτών και στην Κρήτη.



Εικόνα 15: Εξάπλωση του μύκητα *V. Dahliae*
(<https://gd.eppo.int/taxon/VERTDA/distribution>)

2.3. ΦΑΣΜΑ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *V. Dahliae*

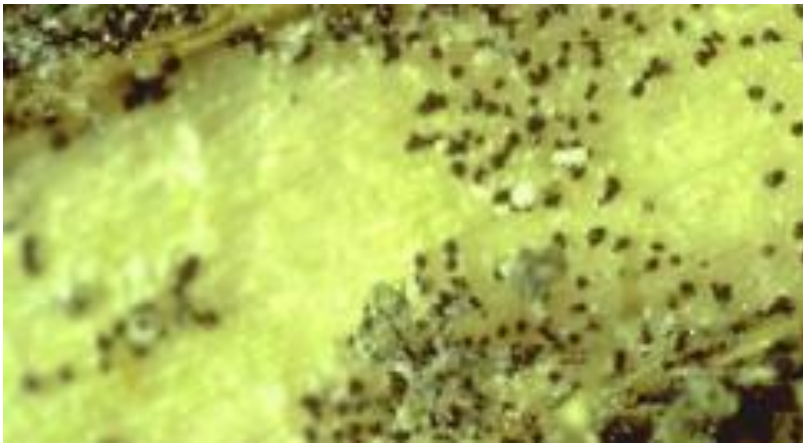
Προσβάλλει περισσότερα από 400 είδη φυτών τα οποία ανήκουν σε 60 διαφορετικές οικογένειες σε όλον τον κόσμο και προκαλούν σημαντικές ετήσιες απώλειες στη φυτική παραγωγή παγκοσμίως. Τα είδη του *Verticillium* είναι εδαφογενείς μύκητες και τα κονίδια του *V. dahliae* δεν έχουν την ικανότητα να επιβιώσουν εκτός του ξενιστή παρά μόνο για μερικές μέρες και αυτό γιατί ο μύκητας όταν έχει αυτήν τη μορφή δεν μπορεί να ανταγωνισθεί άλλους μικροοργανισμούς του εδάφους (Isaac, 1953). Όμως ο μύκητας διατηρείται στις ρίζες ζιζανίων αλλά και σε ασυμπτωματικά φυτά και χωρίς να υπάρχουν ξενιστές και με τη μορφή των ανθεκτικών μικροσκληρωτίων στο έδαφος για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 14 ετών (Wilhelm, 1955). Στη ριζόσφαιρα προκαλούνται αλλαγές και οι ρίζες εκκρίνουν ουσίες που βοηθούν τη βλάστηση των μικροσκληρωτίων και επιτρέπουν στον μύκητα να δημιουργήσει αποικίες στην αρχή στο ριζικό σύστημα και μετά στα αγγεία. Ο κύκλος ζωής του *V. dahliae* παρουσιάζεται στην Εικόνα 1.19. (Agrios, 2005)

2.4. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

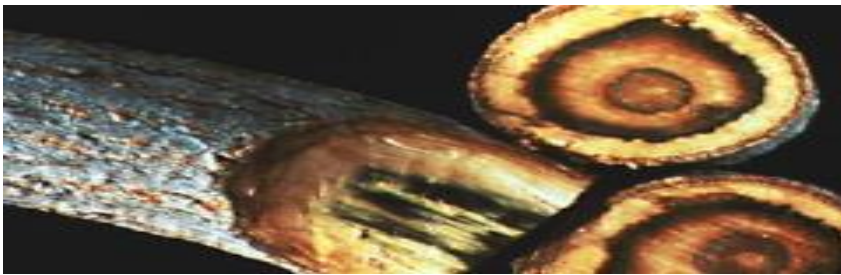
Το γένος *Verticillium* είναι υπεύθυνο για ασθένειες που προσβάλλουν λαχανικά, μεγάλες καλλιέργειες, δενδρώδεις καλλιέργειες, καλλωπιστικά και αυτοφυή φυτά, κυρίως στις εύκρατες και τις υποτροπικές περιοχές. Η ασθένεια που προέρχεται από το *Verticillium* στα φυτά είναι στην κατηγορία των αδρομυκώσεων. Φυτοπαθολογική και μοριακή διερεύνηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στην άμυνα των φυτών κατά των παθογόνων των αδρομυκώσεων", διδακτορική διατριβή του Ιάκωβου Παντελίδη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 2009



Εικόνα 16: Αποφύλλωση κλάδου και κλαδίσκων ενός τμήματος δένδρου ελιάς (ποικιλίας "Arbequina") από το μύκητα.



Εικόνα 17: Πληθώρα μικροσκληρωτίων σε τομή βλαστού πατάτας

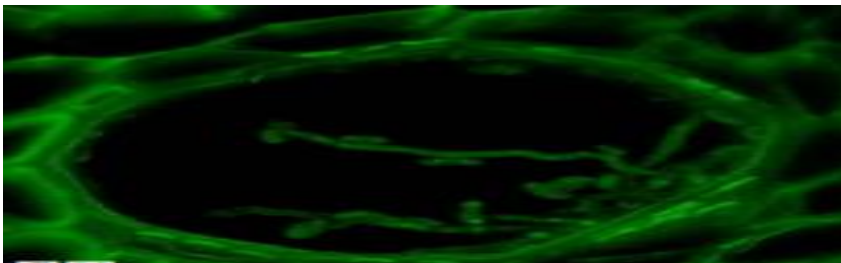


Εικόνα 18: Καστανός μεταχρωματισμός των αγγείων του.

Συμπτώματα *Verticillium dahliae* στα κηπευτικά:

- Μαρασμός των φύλλων.
- Κιτρινοκάστανες μεσονεύριες κηλίδες στα κατώτερα φύλλα ως και νεκρωτικές.
- Αποφύλλωση και μονόπλευρη ξήρανση των φυτών (ημιπληγία).
- Ελαφρώς καστανός έως μαύρος μεταχρωματισμός των αγγείων του ξύλου.
- Ο μαρασμός των φύλλων μπορεί να προχωρά προς τα πάνω στο φυτό και τελικά να παραμένουν λίγα μόνο υγιή φύλλα στις κορυφές των βλαστών (Λιγοξυγκάκης).

Διαδικασία εκδήλωσης συμπτωμάτων αδρομύκωσης από το μύκητα *V. Dahliae*



Εικόνα 17: Εκδήλωση συμπτωμάτων αδρομύκωσης

Ο μύκητας *V. dahliae* όταν είναι σε μορφή υφών και κονιδίων δεν επιβιώνει εκτός του ξενιστή για περισσότερο από μερικές εβδομάδες (Isaac, 1953). Όμως μπορεί να διατηρηθεί είτε στις ρίζες ζιζανίων και ασυμπτωματικών φυτών, είτε απουσία ξενιστών με τη μορφή των ανθεκτικών μικροσκληρωτίων (διατηρητικών δομών) στο έδαφος για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 14 ετών, M.Sc (Wilhelm, 1955 Schnathorst, 1981). Όταν συμβαίνουν μεταβολές στη ριζόσφαιρα που προκαλούνται από εκκρίσεις των ριζών τότε διεγείρεται η βλάστηση των μικροσκληρωτίων και το γεγονός αυτό επιτρέπει στο μύκητα να δημιουργήσει αποικίες στο ριζικό σύστημα καθώς και στα αγγεία του ξύλου. Στη μελιτζάνα τα πρώτα συμπτώματα της ,εμφανίζονται συνήθως 6-8 εβδομάδες μετά τη φύτευση (Λιγοξυγκάκης, 1998). Η ευπάθεια των φυτών στους μύκητες που προσβάλλουν τις ρίζες μειώνεται όσο αυξάνεται η ηλικία (Θανασουλόπουλος 1978). Όσο νωρίτερα εμφανισθούν τα συμπτώματα της ασθένειας σε σχέση με την ηλικία ενός λαχανοκομικού είδους τόσο αυξάνεται η σοβαρότητά της Βερτισιλλίωσης, και κατά συνέπεια οι ζημιές.

Η εξέλιξη της συμπτωματολογικής κατάστασης, εξαρτάται από : αν η ποικιλία μελιτζάνας είναι σε πρώιμη ή όψιμη, τις κλιματολογικές συνθήκες, την πυκνότητα του μολύσματος, από την ύπαρξη ή απουσία εξειδικευμένου στελέχους (specific strain) ή φυσιολογικής φυλής (race) του μύκητα, το είδος, την ποικιλία ή το υβρίδιο του καλλιεργούμενου φυτού και τις καλλιεργητικές τεχνικές .

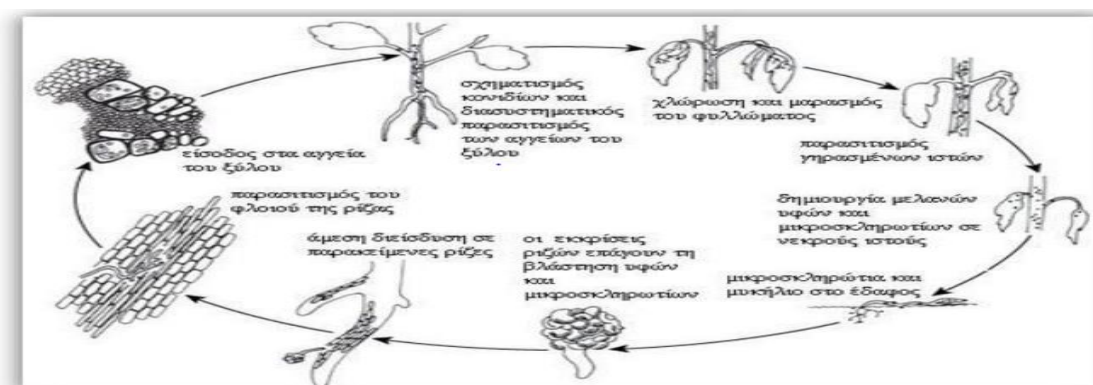
2.5. ΑΠΩΛΕΙΕΣ ΑΠΟ ΤΗ ΒΕΡΤΙΣΙΛΛΙΩΣΗ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΦΥΤΩΝ

Το *Verticillium dahliae* είναι ένα εδαφικό παθογόνο που μολύνει πάνω από 200 ξενιστές και προκαλεί απώλειες δισεκατομμυρίων δολαρίων ετησίως .Η σοβαρότητα της προσβολής, εξαρτάται από το χρόνο εμφάνισης των πρώτων συμπτωμάτων της προσβολής και από την καλλιεργητική περίοδο (Λιγοξυγκάκης 1998). Στις ΗΠΑ έχουμε απώλειες της παραγωγής από 33% μέχρι 69% σε ευπαθείς γονοτύπους τομάτας και μέχρι 50% σε πατάτες. Στο Ισραήλ, σε περιοχές με αμμώδη εδάφη, έχουν αναφερθεί απώλειες παραγωγής τομάτας μέχρι 50% και πατάτας μέχρι 50% ή και περισσότερο. Στις ΗΠΑ έχουν αναφερθεί απώλειες της παραγωγής μελιτζάνας από 60% μέχρι 100%, στο Ισραήλ μέχρι 100% σε μία περιοχή με αμμώδη εδάφη, στην Τουρκία από 37% μέχρι 60% και στην Ιταλία από 54% μέχρι 85% (Λιγοξυγκάκης 1998).

2.6. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

Ο μύκητας *V. dahliae* μεταφέρεται (Fradin and Thomma 2006) στα φυτά από τις ρίζες. Πρόκειται για ασθένεια μονοκυκλική και χωρίζεται σε: παρασιτική, μη παρασιτική, σαπροφυτική φάση.

Ο κύκλος ζωής του *V. dahliae* αποτελείται από ένα παρασιτικό μέρος, στο οποίο ο μύκητας ζει στον ξενιστή του, και ένα μη παρασιτικό μέρος, στο οποίο είναι αδρανής και η σαπροφυτική φάση είναι στη σταδιακή νέκρωση.



Εικόνα 19: Ο κύκλος ασθένειας μύκητα *Verticillium dahliae* (προσαρμογή από Rowe, 1985)

Όταν ο μύκητας βρίσκεται στη μη παρασιτική φάση στο έδαφος, επιβιώνει ως μικροσκληρώτιο, ζει στο ανώτερο στρώμα του εδάφους και χωρίς ξενιστές και για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα (Klosterman, Atallah et al. 2009) και έτσι μπορεί να εξαπλωθεί με τη βροχή ή το νερό της άρδευσης, τις ανθρώπινες και ζωικές δραστηριότητες, τα γεωργικά

εργαλεία και τις μηχανές (Pegg and Brady, 2002). Στη συνέχεια αυτά μπορούν να αναπτυχθούν μονήρη ή σε μικρές ομάδες μέσα σε τεμάχια του φυτικού ιστού (Παναγόπουλος 1995). Σε αυτή τη φάση, η βλάστηση των μικροσκληρωτίων που υπάρχουν στο έδαφος, εξαρτάται από τον άνθρακα και από το άζωτο που απελευθερώνονται από τις ρίζες (Olsson and Nordbring-Hertz 1985, Mol and Van Riessen 1995). Η διαδικασία μόλυνσης του *V. dahliae* σε ξυλώδη φυτά όπως οι ελιές είναι ίδια όπως και στα ποώδη φυτά. Τα μικροσκληρώτια του μύκητα βλαστάνουν από τις εκκρίσεις των ριζών που βρίσκονται κοντά στις αναπτυσσόμενες ρίζες και επιβιώνουν στο έδαφος κατά τη διάρκεια της μη παρασιτικής φάσης του κύκλου ζωής του μύκητα *V. dahliae*. Αποτελούν την κύρια μορφή διασποράς και είναι τα πρωτεύοντα μολυσματικά πολλαπλασιαστικά μέσα. Όμως για να μολυνθεί η ρίζα του ξενιστή, από το μύκητα *V. dahliae*, οι βλαστάνουσες υφές δεν πρέπει να είναι σε απόσταση μεγαλύτερη από τα 300 μm (Fradin and Thomma, 2006) και το μικροσκληρώτιο, πρέπει να αντιδράσει γρήγορα στις εκκρίσεις της ρίζας που υπάρχει πλησίον του, για να μπορέσει να την προσβάλλει (Schnathorst 1981). Τα αδρανή βιολογικά στάδια του μύκητα *V. dahliae* θα παραμείνουν στο έδαφος έως ότου οι κατάλληλες συνθήκες ευνοήσουν τον σχηματισμό νέων μολύνσεων και θα ξεκινήσουν μια νέα παρασιτική φάση (Pegg και Brady, 2002). Η παρασιτική φάση του αρχίζει αμέσως με την έναρξη της μόλυνσης. Η είσοδος του μύκητα στο φυτό γίνεται παθητικά, από πληγές ή ανοίγματα που έχουν δημιουργηθεί στην επιφάνεια της ρίζας. Κατόπιν οι υφές αναπτύσσονται ενδοκυτταρικά μέσα στη ρίζα και φθάνουν στα αγγεία του ξύλου και εισέρχονται μέσα σε αυτά. Μετά τη συσσώρευση των υφών του μύκητα *V. dahliae* αρχίζουν οι χημικές μεταβολές. Αυτές προέρχονται από τις αμυντικές αποκρίσεις του ξενιστή καθώς και από τα συσσωματώματα από την υποβάθμιση των τοιχωμάτων των αγγείων του ξύλου. Οι υφές του μύκητα μπορούν και διαπερνούν τα επιδερμικά κύτταρα (Schnathorst, 1981) από τις πλευρικές ρίζες και από το ακρορριζίο. Με την είσοδο στο φυτό, ο μύκητας αποικίζει αρχικά την εσωτερική περιοχή του φλοιού, ενώ στη συνέχεια οι υφές προχωρούν στους μεσοκυττάριους χώρους αλλά και ενδοκυτταρικά στο φλοιό μέχρι να φθάσουν σε όλα τα αγγεία του ξύλου. Από αυτήν την ενζυματική δραστηριότητα δημιουργείται απόφραξη αγγείων. Έτσι παρεμποδίζεται η ροή του νερού και αρχίζει η υδατική καταπόνηση. Ο μύκητας *V. dahliae* αναπαράγεται σε νεκρούς ιστούς μολυσμένων φυτών όταν είναι στα στάδια της παρασιτικής φάσης του κύκλου ζωής του. Τα μικροσκληρώτια έχουν την ικανότητα ενσωμάτωσης με τα διάφορα φυτικά υπολείμματα που βρίσκονται στο χώμα, και είναι μια διαδικασία που αρχίζει όταν παρουσιαστούν οι

εκκρίσεις στη ρίζα είτε από ευαίσθητα και μη ευαίσθητα φυτά. Οι μολυσματικές υφές που διεισδύουν στις ρίζες, παράγουν μυκήλιο και σπόρια και στο τέλος εξαπλώνονται στο εναέριο μέρος του φυτού με τη βοήθεια των σπορίων (Pegg and Brady, 2002). Η αποσύνθεση των φυτικών υπολειμμάτων και των μολυσμένων φύλλων, βοηθά στην απελευθέρωση των μικροσκληρωτίων στο έδαφος, τερματίζοντας με αυτόν τον τρόπο την παρασιτική φάση του *V. dahliae* και συμβάλλοντας στην περεταίρω μόλυνση του.

Όταν πια το φυτό βρίσκεται σε γήρανση και σταδιακή νέκρωση του, τότε το παθογόνο βρίσκεται στη σαπροφυτική του φάση και σχηματίζει πάνω στους γερασμένους και νεκρούς ιστούς την ανθεκτική του μορφή τα μικροσκληρώτια. Στα μολυσμένα φυτά παρουσιάζονται μεγάλες ποσότητες μικροσκληρωτίων που απελευθερώνονται στο έδαφος όταν γίνεται η αποσύνθεση των φυτικών υλικών (Fradin and Thomma 2006) και μπορούν να επιβιώσουν για 10-15 χρόνια.

2.7. ΕΝΤΑΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ

Η ένταση και η ανάπτυξη των συμπτωμάτων της ασθένειας εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως η επιβίωση του μολύσματος, η αρχική ποσότητα του οποίου έχει αναλογική επίδραση στην ένταση της ασθένειας, η πυκνότητα του μολύσματος, η φυλή του παθογόνου, η ποικιλία του ξενιστή, το έδαφος, η θερμοκρασία εδάφους και αέρα, οι βροχοπτώσεις, οι αρδεύσεις, τα ζιζάνια, οι καλλιεργητικές επεμβάσεις ακόμα και η όποια συγκαλλιέργεια τυχόν εφαρμόζεται (Παναγόπουλος, 2007).

2.8. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗΣ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ

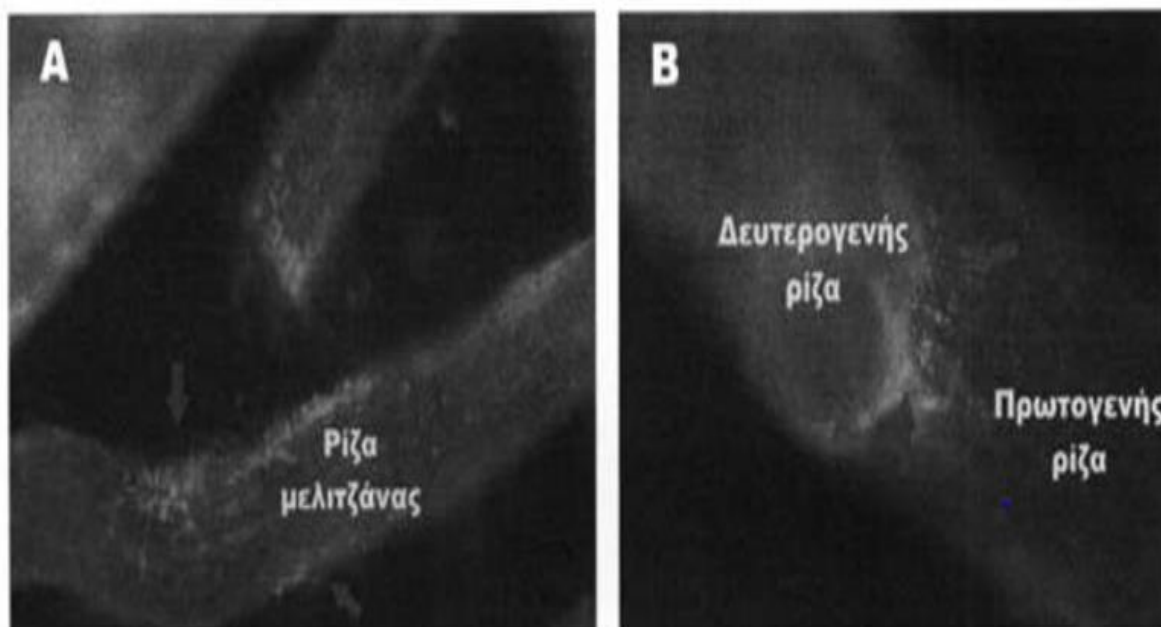
ΕΝΖΥΜΑ

Τα ένζυμα που παράγονται από τα γένη *Verticillium* μολύνουν τα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών (Bidochka, Burke et al. 1999). Τα πιο ενδιαφέροντα ένζυμα είναι τα πηκτινολυτικά γιατί επιδρούν στην παθογένεια των μυκήτων του γένους *Verticillium* (Fradin and Thomma 2006). Τα πηκτινολυτικά ένζυμα δρουν ως καταλύτες σε αντιδράσεις, που συμβάλλουν στον αποχωρισμό των φυτικών κυττάρων και στην κατάρρευση των κυτταρικών τοιχωμάτων. Μερικά από τα ένζυμα που έχουν χαρακτηριστεί ως πηκτινολυτικά είναι η πηκτινεστεράση, η πολυγαλακτουρονάση και η πηκτινολυάση. Αυτά διασπούν την πηκτίνη. Επίσης οι ξενιστές που είναι πλούσιοι σε πηκτίνη και συμβάλλουν στην αγγειακή απόφραξη συνεργάζονται με

τους μύκητες του γένους *Verticillium*. Οι τελευταίοι εκμεταλλεύονται την συνεργατική δράση και αποικοδομούν το κυτταρικό τοίχωμα (Durrands and Cooper 1988). Για να αναπτυχθεί ο μύκητας εντός του φυτού ξενιστή, πρέπει να παραβιάσει τις μεμβράνες που περιέχουν πηκτίνη, μεταξύ των γειτονικών αγγείων και μεταξύ των ακραίων τμημάτων του ξύλου (Pegg and Cronshaw 1976, Bishop and Cooper 1983).

Επίσης υπάρχουν και αυτά τα που συναντιούνται σε μεταγενέστερα στάδια προελάσεως του παθογόνου και δρουν σε προχωρημένα στάδια ανάπτυξης της ασθένειας

- Λιγνάση: διασπά τη λιγνίνη σε περιπτώσεις σήψης ξύλου
- Αμυλάση: διασπά το άμυλο με σημαντική συμβολή στις μαλακές σήψεις των φυτικών προϊόντων κατά την αποθήκευσή τους
- Φωσφολιπάση: διασπά τα φωσφολιπίδια καταλύοντας αντιδράσεις, που αφορούν την καταστροφή των μεμβρανών
- Πρωτεάσες: συμβάλλουν τη διάσπαση πρωτεϊνών
- β-Γλυκοσιδάσες: διασπούν τα γλυκοσίδια, τα οποία δρουν ως φυτικοί ανταγωνιστές



Εικόνα 20: Μικροσκοπικές παρατηρήσεις ριζών 3 ημέρες μετά την μόλυνση

2.9. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ

Η εξέλιξη της ασθένειας επηρεάζεται σημαντικά από την επιβίωση και την πυκνότητα του μολύσματος, από το έδαφος, τη θερμοκρασία του εδάφους και του αέρα, από την υγρασία,

στη γεωργική παραγωγή. Η ανάπτυξη της ασθένειας σε διαφορετική ποικιλία ξενιστών του μύκητα και η διαφορετική θερμοκρασία επιδρούν με διάφορους τρόπους. Ο Ludbrook, αναφέρει ότι το *V. dahliae* προκαλεί αδρομύκωση στη μελιτζάνα με θερμοκρασίες εδάφους 12-30°C, αλλά όχι στους 32°C όταν θερμοκρασία αέρα είναι 19-23°C, ούτε στους 28°C όταν θερμοκρασία αέρα ήταν 28-31°C. Συνεπώς, απαιτείται η συνεκτίμηση της επίδραση της θερμοκρασίας αέρος αλλά κυρίως και του εδάφους. Επειδή ο *V. dahliae*, ευνοείται στις θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 21- 27°C (25-28°C για ορισμένες φυλές) για αυτό και επικρατεί στη Νότιο Ευρώπη και τη Μεσόγειο. Σε πειράματα θερμοκηπίου με θερμοκρασίες εδάφους και αέρος που υπερβαίνουν τους 28-30°C, ανάπτυξη της ασθένειας που οφείλεται στον *V. dahliae* μειώνεται αισθητά.

ii. Υγρασία εδάφους

Οι ποσότητες των μικροσκληρωτίων μειώνονται αισθητά σε κατακλυσμένο έδαφος και θερμοκρασίες από 5-40°C. Αν η υγρασία διατηρηθεί περισσότερο των έξι μηνών στα 50-75%, η επιβίωση του μύκητα μειώνεται. Τα μικροσκληρώτια δεν επιβιώνουν πάνω από 6 εβδομάδες σε κατακλυσμένο έδαφος, λόγω των αναερόβιων συνθηκών που δημιουργούνται, καθώς και σε έδαφος με υγρασία 15% και κορεσμό από αέριο αμμωνία για 3 εβδομάδες (Brinkerhoff 1973). Επίσης ανέφερε ότι παράχθηκαν άφθονα μικροσκληρώτια του μύκητα *V. dahliae* σε πεσμένα φύλλα βαμβακιού που προέρχονταν από μολυσμένα φυτά. Με υγρασία που προσέγγιζε τον κορεσμό, τα μικροσκληρώτια σχηματίσθηκαν στα μολυσμένα φύλλα εντός 2-5 ημερών σε 18-30° C. Τα μικροσκληρώτια αναπτύχθηκαν επίσης σε θερμοκρασία 5° C, όταν η περίοδος επώασης ήταν 30 ημέρες, ενώ δεν αναπτύχθηκαν σε 32° C. Άφθονα μικροσκληρώτια αναπτύχθηκαν τόσο σε απολυμασμένο όσο και μη απολυμασμένο με ατμό έδαφος, σε επίπεδα κοντά στην υδατοϊκανότητα του εδάφους. Άλλοι ερευνητές θεωρούν ότι η αδρομύκωση ευνοείται από ξηρασία και άλλοι ότι είναι πιο σοβαρή σε υγρά εδάφη. Όταν όμως αυξάνεται η συχνότητα άρδευσης, αυξάνεται και το ποσοστό προσβολής και η θερμοκρασία εδάφους είναι σημαντικά χαμηλότερη στα συχνά αρδευόμενα εδάφη. Βέβαια, συχνές αρδεύσεις προκαλούν καλύτερη ανάπτυξη του φυτού και οι αποδόσεις τους να είναι καλύτερες. [Ιδρυματικό Αποθετήριο Πανεπιστημίου Θεσσαλίας https://ir.lib.uth.gr/bitstream/handle/](https://ir.lib.uth.gr/bitstream/handle/)

Πειράματα στη μελιτζάνα έδειξαν ότι ασθένεια είναι πιο σοβαρή σε υγρασία 45-95% .Η ξηρασία έχει αναφερθεί ότι ευνοεί την αδρομύκωση της φράουλας και έχει μορφή επιδημίας

στη μέντα. Εργασίες των Young et al., Young Curtis, Dalvi, Tippet 1997 "Effect of gossypol on hepatic and serum gamma glutamyltransferase activity in rats" Veterinary research communications, 21(5): 317-323,19 ref έδειξαν ότι σε καλλιεργητικές περιόδους υψηλής βροχόπτωσης και χαμηλών θερμοκρασιών, ευνοείται επιδημία από την αδρομύκωση του βαμβακιού. Τελικά η σχέση της υγρασίας με την ασθένεια είναι περίπλοκη και επηρεάζεται και από άλλους παράγοντες όπως από τις απαιτήσεις σε νερό του ξενιστή από τις κινήσεις του αέρα, από την ένταση του φωτός, τον αερισμό της ρίζας και άλλους περιβαλλοντικούς καθώς και αβιοτικούς παράγοντες. Ιδρυματικό Αποθετήριο Πανεπιστημίου Θεσσαλίας <https://ir.lib.uth.gr › xmlui › bitstream › handle>

iii. Φως

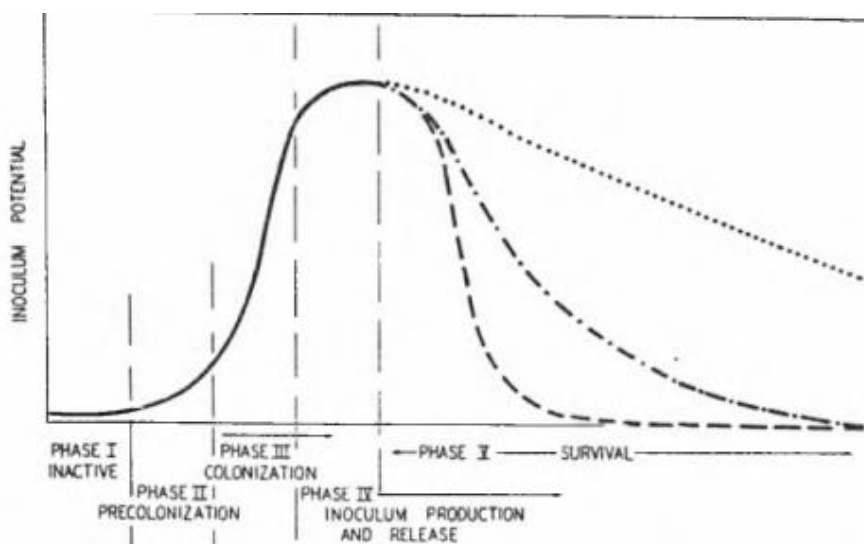
Το πράσινο φως έχει αποδειχθεί ότι παρεμποδίζει την αύξηση του μυκηλίου. Το μπλε επίσης παρεμποδίζει το σχηματισμό των μικροσκληρωτίων, αλλά προωθεί την παραγωγή κονιδίων, όπως επίσης και το λευκό φως. Η σποριογέννεση του μύκητα μειώθηκε δραστικά όταν οι απομονώσεις του μύκητα εκτέθηκαν σε 12h φως / 12h σκοτάδι. Ο συνεχής φωτισμός επέδρασε θετικά στην ανάπτυξη μικροσκληρωτίων του μύκητα *V. dahliae*. Το συνεχές σκοτάδι, συντέλεσε στην παραγωγή άφθονου μυκηλίου σε 24° C και σχεδόν καθόλου σε 15° C. Το κόκκινο φως όπως και το σκοτάδι ευνοούν την παραγωγή μικροσκληρωτίων. Η ασθένεια αποκτά σοβαρότητα κατ' άλλους σε χαμηλό φωτισμό των φυτών και κατ' άλλους ερευνητές με την εναλλαγή 12 ωρών, φθορίζοντος και άμεσου φωτισμού με 12 ώρες σκοταδιού (Brinkerhoff 1973). Γενικά η μείωση της έντασης του φωτός μπορεί να συντελεί σε κακή ανάπτυξη των φυτών και να αυξάνει την ευπάθειά τους στις προσβολές διαφόρων μυκήτων. Σε υψηλή ένταση φωτισμού έχουμε οριστική καταστολή του σχηματισμού μικροσκληρωτίων και μελανίνης. Στη βερτισιλλίωση της τομάτας, παρατηρήθηκε επίσης, ότι και η αύξηση του φωτός, αυξάνει την ένταση της ασθένειας (Θανασουλόπουλος 1978). Το υπεριώδες φως για περιόδους 3-10 ημερών, αύξησε τη σποριογέννεση, αλλά εμπόδισε την παραγωγή μικροσκληρωτίων. Το φως του φθορισμού διέγειρε την παραγωγή κονιδίων αλλά παρεμπόδισε τη σύνθεση μελανίνης του μύκητα. Το λευκό φως φθορισμού παρεμπόδισε την παραγωγή μικροσκληρωτίων και μελανίνης των περισσότερων απομονώσεων του μύκητα σε PDA.

iv. Πυκνότητα μολύσματος

Η Βερτισιλλίωση είναι μονοκυκλική ασθένεια γι αυτό η πυκνότητα του μολύσματος καθορίζει κατά τη διάρκεια της σποράς ή της φύτευσης την ανάπτυξη της ασθένειας και επιδρά αρνητικά στην παραγωγή πολλών φυτών. Το όριο μικροσκληρωτίων που χρειάζεται να

υπάρχει στο έδαφος για να προκληθεί ασθένεια, εξαρτάται: α) από το είδος του φυτού, β) την ποικιλία του, γ) τις τοπικές εδαφοκλιματικές συνθήκες κ.ά. Η αναλογία της πυκνότητας του μολύσματος στο έδαφος, και των μολυσμένων φυτών εξαρτάται από το είδος και την ποικιλία των φυτών. Η συσχέτιση της πυκνότητας του μολύσματος και της έντασης της Βερτισιλλίσωσης στην τομάτα τα 0,5 ms/g εδάφους προκάλεσαν 50% συχνότητα προσβολής των φυτών, ενώ τα 6 ms/g εδάφους μπορούσαν να προκαλέσουν 100% συχνότητα μόλυνσης προς το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου. Η μεγαλύτερη απώλεια της παραγωγής των φυτών κάτω από αυτές τις συνθήκες ήταν περίπου 40%. Ο μικρότερος αριθμός κονιδίων του *V. dahliae* για 100% προσβολή τομάτας είναι 50.000 κονίδια/gr εδάφους, ενώ ο ελάχιστος αριθμός μικροσκληρωτίων είναι 100. Το δυναμικό μολύσματος των κονιδίων εξαφανίστηκε έπειτα από 3 εβδομάδες, ενώ το δυναμικό μολύσματος των μικροσκληρωτίων συνέχισε να υπάρχει μετά από 7 εβδομάδες. Το χαμηλό όριο μολύσματος για δημιουργία οικονομικής ζημιάς σε καλλιέργεια πατάτας στο Κολοράντο των Η.Π.Α. κυμαίνεται μεταξύ 17,5-23 ms/gr εδάφους. Έπειτα από έρευνες διαπιστώθηκε ότι όταν η πυκνότητα μολύσματος μειώθηκε σε 0,3 ms/gr εδάφους μετά από εφαρμογή ηλιοαπολύμανσης, η παραγωγή αυξήθηκε σε ποσοστό μεγαλύτερο από 46%.

Επίσης ο Mitchell(1979) διαπίστωσε ότι η πυκνότητα του μολύσματος των παθογόνων στο έδαφος μεταβάλλεται χρόνο με το χρόνο. Η εξέλιξη του μολύσματος γίνεται σε πέντε φάσεις. Στην πρώτη φάση έχουμε τη φάση της αδράνειας, κατόπιν τη φάση του προ αποικισμού, μετά τη φάση του αποικισμού του ξενιστή και ακολουθεί η φάση της παραγωγής του μολύσματος πάνω στον ξενιστή και η ελευθέρωσή του στο έδαφος καθώς και η επιβίωση του. Η πορεία αυτή ακολουθείται περιοδικά σε ετήσια βάση.



Εικόνα 21: Διάγραμμα δυναμικού μολύσματος

Διάγραμμα του δυναμικού μολύσματος, όπου φαίνονται οι πέντε φάσεις. Οι τρεις καμπύλες αντιστοιχούν σε τρία διαφορετικά μοντέλα μείωσης του δυναμικού μολύσματος (Mitchell, 1979).

$$X = X_0 \cdot e^{-r \cdot t}$$

Σε ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες το παθογόνο αναπτύσσεται, ανάλογα με το αρχικό μόλυσμα, αυτό θα τείνει να είναι αυξανόμενο με την πάροδο του χρόνου και μπορεί να φτάσει σε τιμές επικίνδυνες σε βάρος της παραγωγής των φυτών. Η ταυτόχρονη παρουσία ενός ευαίσθητου ξενιστή και οι ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες πολλαπλασιάζουν αυτή τη εξέλιξη. Τα δεδομένα αυτά θεωρούν σταθερές τις εποχιακές ή τοπικές συνθήκες. Η πολλαπλασιαστική δράση του μολύσματος του μύκητα διαφέρει μεταξύ των φυτικών ειδών όπως στην πατάτα, τη μέντα, το βαμβάκι κ.ά. Διαπιστώθηκε ότι όταν η πυκνότητα μολύσματος είναι 0,05 ms / gr εδάφους, συντελούσε σε απώλεια 1% του αριθμού των δέντρων σε δύο χρόνια μετά τη φύτευσή τους. Όταν η πυκνότητα του μολύσματος ήταν 0,1-0,2 ms / gr εδάφους, οι απώλειες του αριθμού των δέντρων ήταν 3-5%. Αν η πυκνότητα του μολύσματος ήταν 1-2 ms και 7-9 ms/gr εδάφους, οι απώλειες φθάνουν σε 10-14% και 30-40% αντίστοιχα. Τα δεδομένα αυτά δεν επηρεάζονταν από εποχιακούς ή τοπικούς παράγοντες. (Λιγοξυγκάκης, 1998)

ν. Εδαφικοί και βιοτικοί παράγοντες (νηματώδεις, έντομα κτλ)

Έπειτα από μελέτες διαπιστώθηκε ότι η ασθένεια γίνεται σοβαρή σε πηλώδη, αμμοπηλώδη, αργιλώδη εδάφη, και σε εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα σε οργανική ουσία. Στο βαμβάκι η ασθένεια προκαλεί μεγαλύτερη ζημιά σε αργιλώδη και σε αμμώδη εδάφη και σε αμμώδη εδάφη προκαλείται ζημιά στην τομάτα και ζέρμπερα. Παλαιότερα πιστεύονταν ότι αδρομύκωση περιοριζονταν στα αλκαλικά εδάφη, νεώτερες όμως εργασίες έδειξαν ότι η ασθένεια γίνεται σοβαρή και σε αργιλώδη εδάφη που έχουν pH ουδέτερο προς όξινο. Ο Williams(1965) (Williams and Wilkings Co., Baltimore U.S.A.,(1965). Laemmle F., 2001)βρήκε ότι το *V. dahliae* αναπτύσσεται καλύτερα μεταξύ pH 4-8 .Το pH επιδρά ακόμη στη δράση των παρασίτων του παθογόνου μύκητα, διότι σε όξινο περιβάλλον διευκολύνεται η λύση των κυττάρων των μικροσκληρωτίων από αυτά. Διάφορα έντομα εδάφους μπορεί να παίζουν ρόλο στην προσβολή των καλλιεργούμενων φυτών (Λιγοξυγκάκης 1998). Έτσι οι νηματώδεις δημιουργούν πληγές στις ρίζες των φυτών και αυξάνουν τη συχνότητα προσβολής τους από

τη βερτισιλλίωση. Ο νηματώδης *Pratylenchus penetrans* τραυματίζει τις ρίζες της τομάτας, μελιτζάνας, πιπεριάς, πατάτας και φράουλας και οι τραυματισμένες ρίζες τους συχνά προσβάλλονται από τον μύκητα *V. dahliae*.

2.10. ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ

Η ικανότητα των μικροσκληρωτίων να επιβιώνουν στο έδαφος για αρκετά χρόνια καθιστούν τη διαχείριση του μύκητα *V. dahliae* ιδιαίτερα δύσκολη. Η αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης δεν μπορεί να γίνει με διασυστηματικά μυκητοκτόνα (Θανασουλόπουλος, 1992, Παναγόπουλος, 1995).

Οι κυριότεροι τρόποι αντιμετώπισης της ασθένειας είναι:

- καλλιέργεια ανθεκτικών ποικιλιών,
- απολύμανση εδάφους με ατμό ή χημικά απολυμαντικά ή ηλιοαπολύμανση
- χημική αντιμετώπιση (χρήση φυτοφαρμάκων επικουρικά - συμπληρωτικά),
- αμειψισπορά,
- εφαρμογή κατάλληλων καλλιεργητικών φροντίδων (λίπανση, άρδευση, ζιζανιοκτόνα, κ.ά.),
- καταστροφή των προσβλημένων ριζών και στελεχών των διαφόρων φυτών μετά τη συγκομιδή (Δημητριάδης, 1970) χρησιμοποίηση διαφόρων φυτοπροστατευτικών μικροοργανισμών, όπως οι *Talaromyces flavus*, και *Trichoderma* sp. (Αντωνίου, 1995). εναλλαγή καλλιεργειών,
- φύτευση υγιών σπόρων
- χρήση διαθέσιμων ανθεκτικών ποικιλιών
- προ-φυτευτικές πρακτικές καταπολέμησης, όπως ο υποκαπνισμός του εδάφους

Στη χώρα μας, η αντιμετώπιση της Βερτισιλλίωσης επιτυγχάνεται με :

- απολύμανση του εδάφους
- χημικά απολυμαντικά ευρέως φάσματος
- συνδυασμό ηλιοαπολύμανσης και μειωμένης δόσης απολυμαντικού

ι) Επιλογή ανθεκτικών υλικών

Οι ανθεκτικές ποικιλίες είναι χρήσιμες για την αντιμετώπιση της βερτισιλλίωσης σε πολλές καλλιέργειες παγκοσμίως. Οι ποικιλίες τομάτας με γονίδιο αντοχής *Ve* (Diwan, Fluhr et al.

1999) χρησιμοποιούνται ευρέως για την καταπολέμηση της βερτισιλλίωσης που προκαλείται από τη φυλή 1, αν και έχουν εμφανιστεί στελέχη του παθογόνου που μπορούν να ξεπεράσουν αυτήν την ανθεκτικότητα (στελέχη Race 2) στη Βόρεια Αμερική (Dobinson, Tenuta et al. 1996), στην Αυστραλία (O'Brien and Hutton 1981), στην Ιαπωνία (Nagao, Shiraishi et al. 1997) και σε αρκετές ευρωπαϊκές χώρες (Ligoxigakis and Vakalounakis 1992). Η εφαρμογή τεχνικών γενετικής μηχανικής μπορεί να αυξήσει την ενεργοποίηση μηχανισμών φυσικής άμυνας (Li, Zingen-Sell et al. 1996). Ο εμβολιασμός των ευαίσθητων ποικιλιών σε ανθεκτικά υποκείμενα τομάτας έχει χρησιμοποιηθεί, για τη διαχείριση της βερτισιλλίωσης στην τομάτα (Granges and Léger 1996, Lazarovits and Subbarao 2010) και στη μελιτζάνα (Ginoux and Dauple 1982)

ii. Συστήματα καλλιέργειας

Η αμειψισπορά με την εναλλαγή με ρύζι έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στην αντιμετώπιση της ασθένειας και στην εξάλειψη του μύκητα *V. dahliae* από το έδαφος, ως αποτέλεσμα των πλημμυρών (Pullman and De Vay 1981, Hashimoto 1989), και στη μείωση της ασθένειας σε επόμενες καλλιέργειες μελιτζάνας (Hashimoto 1989), τομάτας (Uchida, Asari et al. 1981) και βαμβακιού. Η ασθένεια στο βαμβάκι μπορεί, επίσης, να μειωθεί με εναλλαγή με σόργο και σωστή διαχείριση της άρδευσης (Wheeler, Bordovsky et al. 2012).

iii. Φυτικό υλικό απαλλαγμένο από παθογόνα

Ο μύκητας *V. dahliae* μέσω του σπόρου μεταδίδεται σε πολλές καλλιέργειες, (Pegg and Brady 2002, Atallah, Maruthachalam et al. 2010). Η εμβάπτιση σε οξύ των σπόρων βαμβακιού απομάκρυνε αποτελεσματικά τον μύκητα *V. dahliae* (Shen 1985). Η μετάδοση του μύκητα *V. dahliae* μπορεί να γίνει με φυτικό υλικό φύτευσης και είναι σημαντική, τόσο ως μέσο εισαγωγής εξαιρετικά επιθετικών στελεχών όσο και ως πηγή εμβολιασμού για άμεση μόλυνση των καλλιεργειών (Omer, Johnson et al. 2000). Η επεξεργασία των κονδύλων με ζεστό νερό μπορεί να έχει τη δυνατότητα να εξαλείψει τον μύκητα *V. dahliae* στα αποθέματα ορισμένων καλλωπιστικών καλλιεργειών υψηλής αξίας (Gilad and Borochoy 1993).

iv. Διαχείριση γονιμότητας και άρδευσης

Το άζωτο και το φώσφορο μπορεί να ελαχιστοποιήσει τη βλάβη από τους μύκητες του γένους *Verticillium* (Davis, Stark et al. 1994). Η τροποποίηση του οργανικού εδάφους, τόσο φυτικής όσο και ζωικής προέλευσης, έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στη μείωση της νόσου σε

ορισμένες συνθήκες καλλιέργειας (Lazarovits, Tenuta et al. 2000). Αυτό συμβαίνει γιατί επηρεάζεται η επιβίωση των μικροσκληρωτίων του μύκητα *V. dahliae* στο έδαφος και γιατί αυξάνεται η μικροχλωρίδα του εδάφους σε μόνο ορισμένα εδάφη, τοποθεσίες ή συστήματα καλλιέργειας (Lazarovits, Tenuta et al. 2000)

v. Προ-φυτευτικές στρατηγικές αντιμετώπισης

Όσον αφορά την παραγωγή πατάτας το Metham-Sodium ως προφυτευτικό υποκαπνιστικό εδάφους περιορίζει τα είδη του γένους *Verticillium*, και τα νηματώδη (Powelson and Rowe 1993, Saeed, Rouse et al. 1997). Παρόλα αυτά η αποτελεσματικότητά του εναντίον του μύκητα *V. dahliae* είναι χαμηλή (Duniway 2002). Τα χημικά βιοκτόνα πριν από την φύτευση απολυμαίνουν το έδαφος και αντιμετωπίζουν την ασθένεια σε καλλιέργειες υψηλής αξίας. Σε ζεστά και ξηρά κλίματα, χρησιμοποιούνται πλαστικά σε υγρά εδάφη, επιτρέποντάς τους να θερμαίνονται με την ηλιακή ενέργεια. Η ηλιοαπολύμανση είναι μια τεχνική διαχείρισης που μειώνει τη βιωσιμότητα των μικροσκληρωτίων στο έδαφος, όμως είναι αποτελεσματική μόνο σε περιοχές που επικρατούν οι κατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες (Fradin and Thomma 2006). Στην Ελλάδα σε καλλιέργεια αγκινάρας και τομάτας και σε καλλιέργειες σε θερμοκήπια η ηλιοαπολύμανση έχει δώσει πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην μείωση του αρχικού μολύσματος της ασθένειας (Tjamos and Paplomatas 1988). Επίσης ο συνδυασμός της ηλιοαπολύμανσης με μειωμένες δόσεις απολυμαντικού εδάφους (Frank, Ben-Yephet et al. 1986, Tjamos and Paplomatas 1987) έχουν δείξει πολύ καλά αποτελέσματα. Ο συνδυασμός ανταγωνιστικών μικροοργανισμών (*Talaromyces flavus*) και ηλιοαπολύμανσης ευνοεί τα καλά αποτελέσματα της ηλιοαπολύμανσης. (Tjamos 1989).

vi. Βιολογική αντιμετώπιση

Η ανάπτυξη βιολογικών παραγόντων, μυκήτων και βακτηρίων, σύμφωνα με τους Klosterman et. al. (2009), μπορεί να είναι χρήσιμη έναντι του μύκητα *V. dahliae*. Οι βιολογικοί παράγοντες, για να έχουν επιτυχή εφαρμογή στον αγρό, πρέπει να πληρούν τις παρακάτω προϋποθέσεις:

(α) να μειώνουν τα συμπτώματα της Βερτισιλλίωσης στην καλλιέργεια

(β) να μειώνουν τον πληθυσμό των μικροσκληρωτίων στο έδαφος

(γ) να βελτιώνουν την απόδοση των προσβεβλημένων φυτών, σε τέτοια επίπεδα, τα οποία να είναι συγκρίσιμα με υγιή φυτά ή με φυτά που βρίσκονται σε εδάφη όπου πραγματοποιήθηκε υποκαπνισμός.

Οι μύκητες και τα βακτήρια μπορούν να εφαρμοστούν στους σπόρους και στις ρίζες του υλικού φύτευσης ως παράγοντες βιολογικής αντιμετώπισης.

Οι μύκητες που έχουν κάποια αποτελεσματικότητα είναι ο *Heteroconium chaetospira* (Narisawaa, Ohkib et al. 2000), ο *Verticillium nigrescens* (Schnathorst 1981) και ο *Talaromyces flavus* (Tjamos and Fravel 1995, Madi, Katan et al. 1997, Nagtzaam, Bollen et al. 1998). Ο μύκητας *T. flavus* παρασιτεί τα μικροσκληρώτια του μύκητα *V. dahliae*, κάτι το οποίο δεν συμβαίνει από τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς εξαιτίας του μικρού μεγέθους των μικροσκληρωτίων (Fahima, Madi et al. 1992). Τα ριζοβακτήρια βοηθούν στην ανάπτυξη των φυτών όπως το γένος *Pseudomonas* (Sharma and Nowak 1998), και άλλα γένη που λαμβάνονται από την ριζόσφαιρα (Berg, Knaape et al. 1994). Για την αντιμετώπιση του μύκητα *V. dahliae* και την ανάπτυξη των ριζών, τόσο στο θερμοκήπιο όσο και στον αγρό χρησιμοποιείται το βακτηριακό στέλεχος *Paenobacillus alvei* (K165) το οποίο λειτουργεί ως βιολογικός παράγοντας. Αυτό το στέλεχος (Pantelides, et al. 2009) έχει ως συνέπεια την ενεργοποίηση της επαγόμενης διασυστηματικής αντοχής (ISR) και την έκφραση των γονιδίων παθογένεσης PR-1, PR-2 και PR-5 μέσω του σαλικυλικού οξέος (SA) σε φυτά αραβίδοψης (Tjamos, et al. 2005). Επίσης το στέλεχος *Fusarium oxysporum* F2 είχε ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση του μύκητα *V. dahliae* (Malandraki, et al. 2008), γιατί δρα ανταγωνιστικά για τη θέση και τα θρεπτικά στοιχεία στην επιφάνεια του ριζικού συστήματος των ευπαθών ξενιστών

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΤΟ ΦΥΤΟ ΡΟΚΑ

Η ρόκα καλλιεργείται σε όλη τη Μεσόγειο, την κεντρική Ευρώπη, το Αφγανιστάν, τη βόρεια Ινδία, την βόρεια Αμερική, τη νότια Αφρική και την Αυστραλία (Pratap and Gupta 2009). Ανήκει στα ποώδες φυτά , έχει χαμηλή βλάστηση ύψους 40 εκατοστών. Το ριζικό του σύστημα είναι λεπτό ενώ τα φύλλα της έχουν σκούρο χρώμα. Τα σπέρματά της είναι χρώματος καφέ ή καφέ-κίτρινου έως πράσινου (De Leonardis et al., 1997). Ανθίζει από τον Μάρτιο έως τον Ιούνιο. Ευδοκίμει σε εδάφη με pH 6-7. Ο πολλαπλασιασμός του γίνεται με σπόρο και από το οποίο λαμβάνεται ένα καυστικό έλαιο το οποίο χρησιμοποιείται στη φαρμακοβιομηχανία. Για να χρησιμοποιηθεί ως θεραπευτικό η συγκομιδή του πρέπει να γίνει στο στάδιο της ανθοφορία

Ρόκα (<i>Eruca sativa</i> Mill.)	
Βασίλειο:	Φυτά (Plantae)
Συνομοταξία:	Αγγειόσπερμα (Magnoliophyta)
Ομοταξία:	Δικοτυλήδονα (Magnoliopsida)
Υποκλάση:	Rosidae
Τάξη:	Κραμβώδη (Brassicales)
Οικογένεια:	Κραμβοειδή (Brassicaceae) παλαιότερα Σταυρανθή(Cruciferae)
Γένος:	Έρουκα (Eruca)
Είδος:	E. sativa Mill.



Εικόνα 22: Ρόκα (*Eruca sativa*)

Η ρόκα (*Eruca sativa*) είναι ένα μονοετές εδώδιμο φυτό που ανήκει στην οικογένεια Brassicaceae (γνωστή και ως *Cruciferae* = σταυρανθή). Σε αυτή την οικογένεια κατατάσσονται φυτά του γένους *Brassica* (ελαιοκράμβη, μπρόκολο, κουνουπίδι, λάχανο), Η ρόκα έχει σύντομο βιολογικό κύκλο των 6-9 εβδομάδων. Χαρακτηρίζεται από μικρό γονιδίωμα, της τάξης των 560 Mb, που κατανέμεται σε 22 χρωμοσώματα. Το ύψος του φυτού φτάνει στα 80-100 εκατοστά, το άνθος του είναι χρώμα άσπρο και έχει σταυρωτό σχήμα, τυπικό για την οικογένεια *Brassicaceae*. Αυτό που το καθιστά ιδανικό φυτό για πειράματα είναι το μικρό μέγεθος του φυτού και η μεγάλη παραγωγή σπόρων. Η ρόκα εμφανίζει ένα πλήθος χημειοπροστατευτικών ιδιοτήτων και είναι πηγή βιταμίνης C, καροτενοειδών και πολυφαινόλων, οι οποίες παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο ως αντιοξειδωτικά (Heimler et al., 2007, Martinez-Sanchez et al., 2008). Στα φύλλα της ρόκας υπάρχει ένας τύπος γλυκοσινολικού οξέος που εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση (Kim et al., 2004). Η αντιβακτηριακή δράση της ρόκας αποδίδεται στο περιεχόμενό της σε ενώσεις με αντιμικροβιακή δράση, όπως το ερουκικό οξύ (Alam et al., 2007). Επιπλέον, μια πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι μια ομάδα ισοθειοκυανικών οξέων βρίσκονται στα σπέρματα της ρόκας (Yesuda et al., 2009). Οι ενώσεις που ευθύνονται για την πικρή γεύση και τη χαρακτηριστική οσμή της αποτελούν προϊόντα αποικοδόμησης δευτερογενών μεταβολιτών που παράγονται στα φυτά αυτά. Οι μεταβολίτες αυτοί ονομάζονται γλυκοσινολικά οξέα και η παρουσία τους στη συγκεκριμένη οικογένεια φυτών αποτελεί ένα σημαντικό γνώρισμά τους (Drewnowski et al., 2000).

3.1.ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ ΦΥΤΩΝ

Όλα τα φυτά όπως και η ρόκα διαθέτουν, πρωτογενείς μεταβολίτες, καθώς και έναν μεγάλο αριθμό μεταβολικών προϊόντων που παράγονται σε κατά τόπους ιστούς και σε συγκεκριμένα στάδια ανάπτυξης. Τα μόρια αυτά είναι δευτερογενείς μεταβολίτες, γιατί δημιουργούνται από ενδιάμεσες ενώσεις του πρωτογενούς μεταβολισμού και συντίθενται μέσω βιοχημικών οδών. Η παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών στα φυτά συσχετίζεται με τις αλληλεπιδράσεις τους με το περιβάλλον και μπορεί να είναι συνέπεια της εξελικτικής προσαρμογής των φυτών στις αλλαγές του περιβάλλοντος. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες παίζουν ρόλο στην άμυνα τους ενάντια σε πολλά διαφορετικά παθογόνα και παράσιτα, εκ των οποίων το καθένα έχει διαφορετική ευαισθησία σε κάθε χημική ουσία. Τα δευτερογενή αυτά προϊόντα τα συναντάμε μόνο σε ένα φυτικό είδος ή σε μία συγγενική ομάδα φυτικών

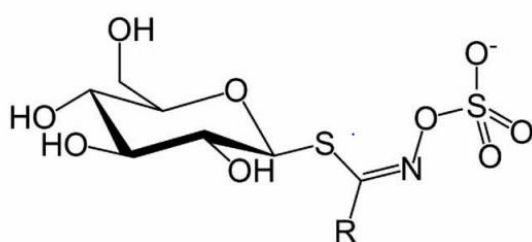
ειδών. Αντίθετα οι πρωτογενείς μεταβολίτες όπως υδατάνθρακες, αμινοξέα, λίπη, νουκλεοτίδια βρίσκονται σε όλο το φυτικό βασίλειο. Το πιο σημαντικό όμως γεγονός είναι ότι οι δευτερογενείς μεταβολίτες έχουν χρησιμοποιηθεί από τον άνθρωπο για μια ποικιλία εφαρμογών και έχουν έντονη συμμετοχή των ουσιών αυτών στην Χημική Άμυνα έναντι των εχθρών του φυτού.

<https://opencourses.auth.gr/modules/document/file.php/OCRS510/%CE%A0%CE%B1%CF%81%CE%BF%CF%85%CF%83%CE%B9%CE%AC%CF%83%CE%B5%CE%B9%CF%82/%CE%95%CE%BD%CF%8C%CF%84%CE%B7%CF%84%CE%B1%201.pdf>

3.2. ΦΥΤΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΡΟΚΑΣ ΩΣ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΔΡΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ.

Τα στοιχεία που παράγονται από τα φυτά επηρεάζουν το βιολογικό κύκλο των οργανισμών (Whittaker et al., 1971). Αυτό οφείλεται στη δράση των δευτερογενών μεταβολιτών. Τα φυτά λόγω της πίεσης που δέχονται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες όπως τις ακραίες θερμοκρασίες, το φως, CO₂, H₂O αλλά και τους βιοτικούς παράγοντες (μύκητες, βακτήρια, ιοί, μικροοργανισμοί, ακάρεα, νηματώδεις, έντομα εδάφους) αντιδρούν και παράγουν ουσίες. Οι ουσίες αυτές είναι τοξικές και λειτουργούν θετικά ως προς την δράση τους ενάντια στους οργανισμούς αυτούς (Καραμπουρνιώτης, 2003).

3.3. ΓΛΥΚΟΣΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ



Εικόνα 23: Γλυκοσινολικά οξέα

Τα γλυκοσινολικά οξέα είναι οι δευτερογενείς μεταβολίτες και ο ρόλος τους είναι κυρίως φυτοπροστατευτικός, κατά του αβιοτικού στρες και των φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών (Τσέκος, 2004). Τα γλυκοσινολικά οξέα είναι μια ανομοιόμορφη ομάδα θειούχων και αζωτούχων δευτερογενών μεταβολιτών. Τα γλυκοσινολικά οξέα αποτελούνται από:

- (Z)-(ή cis)- N-υδροξυιμινοθειικούς εστέρες,
- μία πλευρική αλυσίδα (R)
- ένα τμήμα β-ϋ-γλυκοκυρανόζης συνδεδεμένο με το μόριο μέσω ενός ατόμου θείου, στο οποίο και οφείλεται το χαμηλό pKa που χαρακτηρίζει τα γλυκοσινολικά οξέα.

Οι δευτερογενείς μεταβολίτες εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία όσο αφορά της χημική τους σύνθεση, και διαχωρίζονται σύμφωνα με αυτή, σε τρεις κύριες διακριτές ομάδες:

Πίνακας 6: Οι τρεις κύριες διακριτές ομάδες των δευτερογενών μεταβολίτων : Η ρόκα εμφανίζει τις υψηλότερες συγκεντρώσεις γλυκοσινολικών οξέων τόσο στο φύλλωμα όσο και στο ριζικό της σύστημα.

Τις φαινολικές ενώσεις που είναι η φαινόλη, η κατεχόλη, η υδροκινόνη	Σχηματίζονται από το μηλονικό ή του σικιμικό οξύ	Είναι αρωματικές ουσίες που αποτελούνται από έναν αρωματικό δακτύλιο στο μόριό τους με έξι άτομα άνθρακα (C6).. Στη συνέχεια αυτά παράγουν δευτερογενείς μεταβολίτες όπως τα φλαβονοειδή, τα αλκαλοειδή και τις κουμαρίνες (Wink 2010)
Τα τερπένια	Σχηματίζονται από το Ακέτυλο συνένζυμο Α ή από ενδιάμεσες ενώσεις της γλυκολυτικής οδού	Είναι λιπίδια που προέρχονται από τα φυτικά εκχυλίσματα. Τα κύρια τερπένια είναι τα μονοτερπένια (C10) και τα σесκιτερπένια (C15).
Ενώσεις άζωτου	Σχηματίζονται από αμινοξέα	Αλειφατικά αμινοξέα, από μεθειονίνη, αλανίνη, βαλίνη, λευκίνη και ισολευκίνη. Αρωματικά αμινοξέα από τυροσίνη και φαινυλαλανίνη (Wittstock and Halkier, 2002) Ινδολικά αμινοξέα από την τρυπτοφάνη.

3.4. ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΡΟΚΑΣ

Η ρόκα λόγω των γλυκοσινολικών ενώσεων που παράγει έχει εντομοαπωθητική και εντομοκτόνο δράση κατά των εντόμων που επικάθονται σε αυτά όπως το *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) και το *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) (Shaaya et al., 2003). Τα ακατέργαστα προϊόντα του *E. sativa* δρουν εναντίον των *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* και *Bacillus subtilis*. Τα χημικά στοιχεία που υπάρχουν στους σπόρους έχουν αντιμικροβιακή δράση εναντίον πολλών παθογόνων μικροοργανισμών όπως μύκητες βακτήρια, νηματώδεις (Ettebong and Nwafor, 2009). Η χρήση σπόρων χωρίς το λίπος της *Eruca sativa* μειώνουν την προσβολή του *M. incognita* σε ρίζες καλλιέργειας αγγουριών και αυξάνουν την παραγωγή κατά 9% (Lazzeri et al., 2009). Η νωπή ρόκα σε καλλιέργεια τομάτας εμπόδισε την ανάπτυξη νηματωδών και αύξησε την απόδοσή της καλλιέργειας (Aissani et al, 2015). Πειράματα στο εργαστήριο ανέδειξαν τη νηματωδοκτόνο δράση των γλυκοσινολικών σε προνύμφες (J2) *M. incognita* (Lazzeri et al., 2004). Επιπλέον μειώθηκε κατά 80% η παραγωγή των ωοσάκων και των αυγών *M. halpa*, σε φυτά ρόκας γεγονός που δείχνει ότι η ρόκα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φυτό παγίδα για τη διαχείριση των νηματωδών (Melakeberhan et al. 2006).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο μύκητας *Verticillium dahliae*, θεωρείται ένας από τους πιο φυτοπαθογόνους μύκητες που προκαλούν αδρομυκώσεις. Παρασιτεί μεγάλο αριθμό ξενιστών και έχει την ικανότητα να επιβιώνει για χρόνια στο έδαφος, ακόμη και αν δεν υπάρχει κάποιος ξενιστής. Η παγκόσμια εξάπλωση του μύκητα *V.dahliae*, και η απουσία αποτελεσματικών χημικών ενώσεων για εξάλειψή του παροτρύνουν την παγκόσμια επιστημονική κοινότητα στην αναζήτηση νέων μεθόδων αντιμετώπισης. Τα καλλιεργητικά μέτρα που εφαρμόζονται για την αντιμετώπιση του είναι η αμειψισπορά, η ηλιοαπολύμανση και η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών. Η αναζήτηση για βιολογική αντιμετώπιση του φυτοπαθογόνου εστιάζεται στην εξεύρεση ισχυρών ανταγωνιστών για τον μύκητα αλλά και στους διεγέρτες της φυτικής άμυνας. Οι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να καταστείλουν ανταγωνιστικά το παθογόνο είτε να συμμετέχουν στη θρέψη του φυτού από την περιοχή της ριζόσφαιρας. Στους διεγέρτες της φυτικής άμυνας, κατατάσσονται μόρια μικροβιακής, φυτικής προελεύσεως, όπως και οργανικές ή ανόργανες ενώσεις. Η παρούσα διπλωματική εργασία εστιάστηκε στην αντιμετώπιση του μύκητα *V. dahliae*, μέσα από δοκιμές παθογένειας σε φυτά μελιτζάνας. Έγιναν συγκεκριμένες πειραματικές εφαρμογές και εξετάστηκε η άμεση και η έμμεση επίδραση της ρόκας στην εξάλειψη του μύκητα *V. dahliae*, ενώ μελετήθηκε και το βιοχημικό-μοριακό υπόβαθρο της αλληλεπίδρασης, μέσω του προσδιορισμού των επιπέδων έκφρασης των γονιδίων PR1 και PR4

4.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν σπόροι μελιτζάνας (*Solanum melongena*), ποικιλίας black beauty. Χαρακτηριστικά της ποικιλίας: είναι μεσοπρώιμη ποικιλία για υπαίθρια καλλιέργεια με καρπούς σε μεγάλο μέγεθος (12x15 cm) και οβάλ-στρογγυλό σχήμα. Το βάθος της σποράς φτάνει το 1εκ. και έχει μέση απόδοση 3500-5500 κιλά ανά στρέμμα.

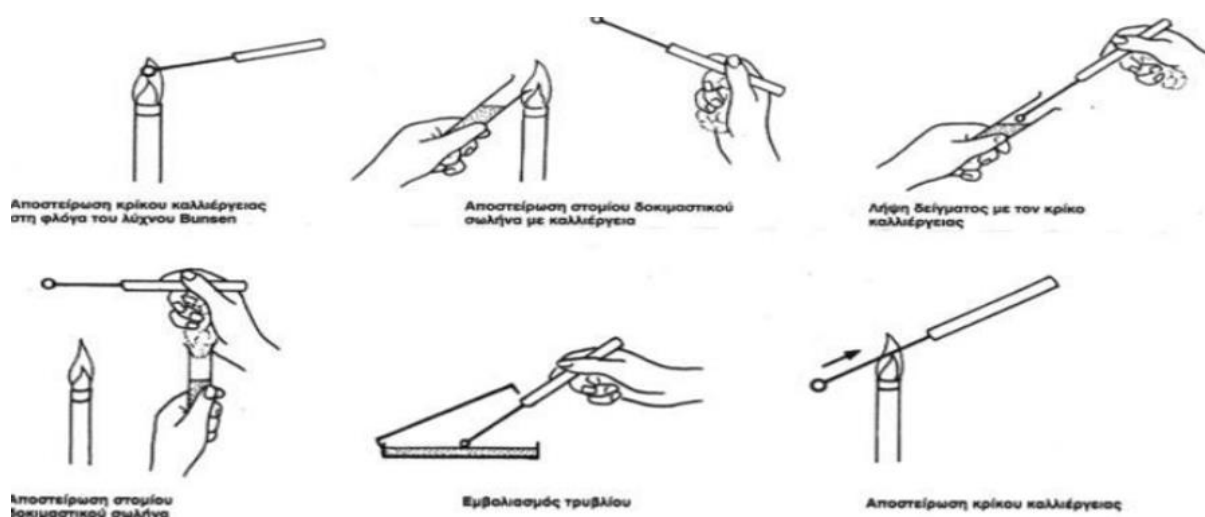
Διαδικασία αποστείρωσης χώματος : Αρχικά, πραγματοποιείται συλλογή της απαιτούμενης ποσότητας χώματος σε θερμοανθεκτικές σακούλες. Έπειτα, ακολουθεί καλό σφράγισμά τους και τοποθέτησή τους στον κλίβανο στους 120ο C, πίεσης 1 atm για 20 λεπτά. Αφού περάσουν τα 20 λεπτά, γίνεται εξαγωγή τους από τον κλίβανο και αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου, για τουλάχιστον μία ημέρα, έτσι ώστε να εξατμιστεί η υγρασία. Την επόμενη ημέρα, τοποθετούνται ξανά στον κλίβανο για 20 λεπτά και μετά αφήνονται ξανά σε συνθήκες

δωματίου, για μία ημέρα τουλάχιστον. Μετά από αυτή την διαδικασία το χώμα χρησιμοποιείται για σπορά.

Μικροβιολογικό υλικό :Στα πειράματα παθογένειας και παρεμπόδισης χρησιμοποιήθηκε ο μύκητας *Verticillium dahliae*

4.2. ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

- 1- Σε τρυβλία με θρεπτικό υπόστρωμα PDA, πραγματοποιείται υπό ασηπτικές συνθήκες η μεταφορά ενός ή δύο κεραμικών χαντρών που περιείχαν το μύκητα *V. dahliae* και φυλάσσονταν στους -80 °C.
- 2- Τα τρυβλία επώαστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου 20-25 °C.
- 3- Όταν η επιφάνεια του τρυβλίου καλύφθηκε σε μεγάλο βαθμό από το βερτισίλλιο, τότε μικρά κομμάτια του μυκηλίου μεταφέρονται υπό ασηπτικές συνθήκες στις κωνικές φιάλες που περιείχαν το θρεπτικό υγρό SSN.
- 4- Οι κωνικές φιάλες τοποθετήθηκαν σε ανακινούμενο επωαστικό θάλαμο (orbital shaker), θερμοκρασίας 25 °C και με ταχύτητα ανάδευσης 100 στροφές/λεπτό.
- 5- Μετά από 2 ημέρες, οι κωνικές φιάλες με τον μύκητα *V. dahliae* σχημάτισαν αιώρημα κονιδίων μαζί με μυκήλιο.



Εικόνα 24: Τεχνική καλλιέργειας μικροοργανισμών

4.3. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΟΥ ΜΟΛΥΣΜΑΤΟΣ (ΚΟΝΙΔΙΑ/ML)

1- Το αιώρημα των κονιδίων μεταφέρθηκε μετά από φιλτράρισμα σε ποτήρι ζέσεως, το οποίο είχε τοποθετηθεί επί μαγνητικού αναδευτήρα για ομοιόμορφη κατανομή των κονιδίων στο αιώρημα.

2- Από το αιώρημα έγινε παραλαβή 1 ml και μετά μεταφέρθηκε σε σωλήνα Falcon που περιείχε 9 ml νερό για να γίνει η πρώτη δεκαδική αραιώση. Ακολούθησε ανάδευση, και στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε η δεύτερη δεκαδική αραιώση του αιωρήματος σε νέο σωλήνα Falcon.

3- Τοποθέτηση μιας σταγόνας 25 μl από την δεύτερη δεκαδική αραιώση σε ειδική αντικειμενοφόρο πλάκα μέτρησης των κονιδίων (κυτταρόμετρο). Η μέτρηση των κονιδίων στα τετραγωνάκια του κυτταρόμετρου έγινε με μικροσκόπιο Carl Zeiss.

4- Ο υπολογισμός των κονιδίων/ml του μύκητα *V. dahliae*, πραγματοποιήθηκε

χρησιμοποιώντας τον εξής τύπο : $\frac{\text{Αριθμός κονιδίων σε } x \text{ τετράγωνα}}{\text{Αριθμός τετραγώνων}(x)} * 4 * 10^6$.

5- Η τιμή που βρέθηκε από τον παραπάνω τύπο πολλαπλασιάζεται επί με το 10^2 , για να υπολογιστούν τα κονίδια / ml στο αιώρημα πριν τις δύο δεκαδικές αραιώσεις. Με αυτόν τον τρόπο βρίσκεται η αρχική συγκέντρωση των κονιδίων (C1) μέσα από την εξίσωση της αραιώσης $C1V1=C2V2$

6- Ο τελικός όγκος θα χρησιμοποιηθεί για την μόλυνση των φυτών.

7- Ο όγκος του νερού που πρέπει να προστεθεί θα πρέπει να είναι σε τέτοια ποσότητα ώστε να μη μεταβάλλεται ο συνολικός όγκος του διαλύματος .

Τα πόσα που θα χρησιμοποιηθούν λόγω της πυκνότητας του αιωρήματος 15 ml (V1), ώστε ο τελικός αριθμός κονιδίων/ml να είναι 10^5 αντί 10^7

Πίνακας 7: Όγκος διαλύματος του μολύσματος

$C_1V_1=C_2V_2$	V_1 : ο όγκος του διαλύματος $\Delta 1$ (πριν την αραίωση)
	V_2 : ο όγκος του διαλύματος $\Delta 2$ (μετά την αραίωση) $V_2 > V_1$
	C_1 : η συγκέντρωση του διαλύματος $\Delta 1$ (πριν την αραίωση)
	C_2 : η συγκέντρωση του διαλύματος $\Delta 2$ (μετά την αραίωση) με $c_2 < c_1$

Ο όγκος της δόσεις ανά φυτό ήταν 15ml λόγω της πυκνότητας που ήταν 10^5 αντί 10^7 . Η μέτρηση έγινε με διπλή αραίωση του μολύσματος και μέτρηση της συχνότητας ωών του μύκητα με τη χρήση αιματοκυτταρόμετρου σε μικροσκόπιο.

4.4. ΜΟΛΥΝΣΗ ΦΥΤΩΝ ΜΕ ΤΟΝ ΜΥΚΗΤΑ *V. Dahliae*

Η μόλυνση πραγματοποιήθηκε όταν τα φυτάρια μελιτζάνας είχαν αναπτύξη 2-4 πραγματικά φύλλα. Με σύριγγα, χορηγήθηκε εξωγενώς σε κάθε φυτόξεχωριστά, 10 ml από το αραιωμένο υγρό μόλυσμα του μύκητα *V. dahliae*.

4.5. ΠΕΙΡΑΜΑ 1^ο ΠΕΙΡΑΜΑ 1^ο ΜΕΡΟΣ

Σκοπός του πρώτου πειράματος

Ο σκοπός του πρώτου πειράματος ήταν να εξεταστεί σε φυτά μελιτζάνας η διερεύνηση της δράσης εκχυλισμάτων από σπόρους ρόκας, στο πλαίσιο της ανεύρεσης ουσιών κατά του μύκητα *V. dahliae* καθώς και το βιοχημικό-μοριακό υπόβαθρο της αλληλεπίδρασης τους. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε η μελιτζάνα χωρίς μύκητα με σκοπό να μελετηθεί η δράση του σε διαφορετικά βιολογικά στάδια. Το πείραμα διεξήχθη σε θερμοκήπιο με μη αποστειρωμένο χώμα.

4.6. 1^η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

30/5/2021 Έγινε σπορά μελιτζάνας

16/6/2021 Παρασκευάστηκε διάλυμα Sucrose Sodium Nitrate (SSN) 0,5L

Για την παρασκευή 0,5L θρεπτικού διαλύματος SSN απαιτούνται :

Πίνακας 8: Θρεπτικό διάλυμα SSN

Sacharose (ζάχαρη) (S44)	7,5 gr
NaNO ₃ (S11)	1gr
KH ₂ PO ₄ (P3)	0,5gr
MgSO ₄ - 7H ₂ O(M1)	0,25gr
KCL (P5)	0,25gr

Τα συγκεκριμένα υλικά τοποθετήθηκαν σε 0,5 L αποστειρωμένο νερό μέσα σε κωνική φιάλη. 16/6 2021 Παρασκευάζεται θρεπτικό διάλυμα PDA: Για την παρασκευή θρεπτικού PDA απαιτούνται:

Πίνακας 9: Θρεπτικό διάλυμα PDA

Υλικά	Ποσότητα
1. Έτοιμη σκόνη πατάτας	19,5 g
2. Δεξτρόζη	1,95 g
3. Άγαρ	1,95 g
4.Νερό	500 ml

Σε μία κωνική φιάλη που περιέχει 500 ml απιονισμένο νερό, προστίθενται η σκόνη πατάτας διαμέτρου και ζεματίζονται σε μπέν μαρί για 45 λεπτά. Παράλληλα, 1,95 g άγαρ προστίθενται σε κωνική φιάλη με 500 ml απιονισμένο νερό και βράζουν σε μπεν μαρί μέχρι να λιώσει καλά το άγαρ. Το εκχύλισμα της πατάτας φιλτράρεται σε τουλπάνι και προστίθεται το λιωμένο άγαρ και 1,95 g γλυκόζης. Το διάλυμα ογκομετρείται και προστίθεται απιονισμένο νερό μέχρι τον τελικό όγκο του 1 L. Έπειτα πραγματοποιείται ομογενοποίηση του διαλύματος με την χρήση μαγνητικού αναδευτήρα και αποστειρώνεται σε κλίβανο στους 120 C, πίεσης 1 atm για 20 λεπτά.

Τα δυο αυτά διαλύματα τα σφραγίσαμε στο στόμιο της φιάλης με βαμβάκι και αλουμινόχαρτο και στην συνέχεια αποστειρώθηκαν σε κλίβανο. Το διάλυμα SSN τοποθετήθηκε σε σκιερό μέρος ενώ το PDA μοιράστηκε σε 30 τρυβλία όπου και αφέθηκε μέχρι να σταθεροποιηθεί. Στη συνέχεια τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε ψυγείο. Στο PDA καλλιεργήσαμε *V.dahliae*

28/6/2021 Κατόπιν έγινε η μεταφύτευση τους σε μεγάλες γλάστρες

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΥΔΑΤΙΚΟΥ ΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΡΟΚΑΣ

Το εκχύλισμα της ρόκας έγινε με την διαδικασία του αλέσματος της .Η αναλογία ήταν 100 gr ρόκας και 200ml αποστειρωμένο νερό . Ο όγκος της δόσης ανά φυτό ήταν 10 ml.

30/6/2021 Μετά έγινε η εφαρμογή της ρόκας στα φυτά

2/7/2021 Έγινε η μόλυνση των φυτών με βερτισίλλιο

4.8. 2^η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σκοπός του δεύτερου πειράματος

Ο σκοπός του δεύτερου πειράματος ήταν η απομόνωση και καλλιέργεια μικροοργανισμών από δείγματα χώματος της ριζόσφαιρας των φυτών του πρώτου πειράματος.

Πειραματική διαδικασία: Το δεύτερο πείραμα πραγματοποιήθηκε σε δύο φάσεις και παράλληλα με την διεξαγωγή του πρώτου πειράματος. Πιο συγκεκριμένα, το δεύτερο πείραμα αποτελείται από δύο δειγματοληψίες χώματος από τα φυτά του πρώτου πειράματος. Η πρώτη δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε στο μέσον του πρώτου πειράματος, ενώ η δεύτερη στο τέλος του πρώτου πειράματος. Όπως και στο πρώτο μέρος του πειράματος κάναμε μέτρηση βάρους των φυτών έτσι και στο δεύτερο μέρος κάναμε μέτρηση βάρους του στελέχους. Η μέτρηση έγινε σε τριάδες και σε δυάδες. Στο δεύτερο μέρος υπήρχαν φυτά με το αποστειρωμένο χώμα και στις τέσσερις εφαρμογές (Mock, ρόκα, Vd, Vd+ρόκα) αλλά και με το μη αποστειρωμένο χώμα.

- Συλλέχτηκε χώμα από 5 φυτά αποστειρωμένο V.d+ρόκα
- Συλλέχτηκε χώμα από 5 φυτά μη αποστειρωμένο V.d+ρόκα
- Αποστειρώσαμε νερό και PDA
- Στρώσαμε το PDA στα τρυβλία
- Βάλαμε το χώμα στο αποστειρωμένο νερό
- Το απλώσαμε στα τρυβλία αφού το αραιώσαμε
- Αφήσαμε τους μικροοργανισμούς να αναπτυχθούν
- Πήραμε τα σημεία που μολύνθηκαν και τα απλώσαμε σε νέα τρυβλία.

4-6/10/2021 Έγινε η πρώτη αποστείρωση χώματος

8/10/2021 Έγινε η σπορά μελιτζάνας (192 φυτά)

Στο απλό χώμα φυτεύτηκαν.

24 φυτά <i>V.d</i>
24 φυτά <i>V.d</i> +Ρόκα
24 φυτά Ρόκα
24 φυτά Mock

Στο αποστειρωμένο χώμα φυτεύτηκαν

24 φυτά <i>V.d</i>
24 φυτά <i>V.d</i> +Ρόκα
24 φυτά Ρόκα
24 φυτά Mock

Στην 5^η dpi -7^η dpi μετά την μόλυνση κόψαμε 5 δείγματα τη φορά από κάθε εφαρμογή (8 εφαρμογές) και τα μεταφέραμε στο εργαστήριο όπου με τη χρήση υγρού αζώτου προχωρήσαμε σε άμεση ψύξη και τα τοποθετήσαμε στην κατάψυξη στους -80° C για να τα διατηρήσουμε. Τα δείγματα που καταψύξαμε ήταν μόνο τα στελέχη του φυτού χωρίς τη ρίζα και τα φύλλα. Το ίδιο κάναμε και την 7^η μέρα με τα ίδια στοιχεία.

Μ.Ο. αποστειρωμένου χώματος που χρησιμοποιήθηκε:

Πίνακας 10: Μ.Ο. αποστειρωμένου χώματος

Mock	17,75 gr
Ρόκα	16,22 gr
<i>V.d</i>	14,28 gr
<i>V.d</i> +ρόκα	15,21 gr

Μ.Ο. μη αποστειρωμένου χώματος που χρησιμοποιήθηκε :

Πίνακας 11: Μ.Ο μη αποστειρωμένου χώματος

Mock	15 gr
Ρόκα8:	13,34 gr
<i>V.d</i>	13,39 gr
<i>V.d</i> + ρόκα	16,92 gr

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ PR1, LOX ΚΑΙ ERF1

Για το πείραμα αυτό συλλέχθηκαν φύλλα από φυτά που μολύνθηκαν με το μύκητα. Κάθε δείγμα αποτελούνταν από 5 φυτά από αποστειρωμένο χώμα *V.d* και ρόκα και από 5 φυτά μη αποστειρωμένο *V.d* και ρόκα

5.1. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ RNA ΑΠΟ ΦΥΤΑ

Για την απομόνωση φυτικού RNA χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο Macherey – Nagel, χρησιμοποιώντας NucleoZol. Αυτό το πρωτόκολλο χρησιμοποιείται για την εξαγωγή ολικού RNA. Αρχικά, σε σωληνάρια Eppendorf των 1,5 ml, ομογενοποιούνται 50mg δείγματος, από κάθε φυτικό ιστό χωριστά με 500 μ L NucleoZol. Ακολουθεί η προσθήκη 200 μ L νερού και εν συνεχεία η μηχανική ανάδευση με συσκευή vortex για 15 δευτερόλεπτα και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου σε 5 λεπτά. Μετά το πέρας των 5 λεπτών, ακολουθεί φυγοκέντρηση για 15 λεπτά στα 12000 g, με αποτέλεσμα το διαχωρισμό σε ένα υπερκείμενο υδάτινο διαυγές στρώμα, και το ίζημα που βρίσκεται στο κατώτερο στρώμα και περιέχει DNA και πρωτεΐνες. Έπειτα, 500 μ L από το υπερκείμενο υδάτινο στρώμα μεταφέρονται σε καινούριο Eppendorf, και προσθέτονται 500 μ L ισοπροπανόλης 100%, για την κατακρήμνηση του RNA. Το καινούριο διάλυμα επώαζεται σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά και ακολουθεί φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στα 12000 g, με αποτέλεσμα την κατακρήμνηση του RNA. Αμέσως μετά, απομακρύνεται το υπερκείμενο υγρό, και διατηρείται μόνο το ίζημα που περιέχει το RNA. Προστίθεται 500 μ L αιθανόλης 75%, και το διάλυμα φυγοκεντρείται για 3 λεπτά στα 8000 g.

Μετά τη φυγοκέντρηση, ακολουθεί πάλι η απομάκρυνση του υπερκείμενου υγρού και προστίθενται 500 μ L αιθανόλης 75%. Στο τελευταίο στάδιο, πραγματοποιείται φυγοκέντρηση για 3 λεπτά στα 8000 g και απομάκρυνση του υπερκείμενου υγρού και το ίζημα διαλύεται σε 80 μ L DEPC H₂O. Η διατήρηση γίνεται στους -80°C. Αμέσως μετά την απομόνωση του RNA, ακολουθεί ο ποσοτικός προσδιορισμός του, με τη μέτρηση της οπτικής πυκνότητας (OD) με τη χρήση φασματοφωτομετρου NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies Inc., Wilmington USA). Επίσης, μετρήθηκαν οι λόγοι 260/280 και 260/230, οι οποίοι δείχνουν αν το δείγμα έχει επιμολύνσεις από DNA και πρωτεΐνες.

5.2. DNA EXTRACTION ΑΠΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ

Προετοιμασία του βιολογικού παράγοντα *Burkholderia* spp. Για την προετοιμασία του, χρησιμοποιήθηκαν οι κωνικές φιάλες με το NG. Η μεταφορά του, στο NG έγινε σε Laminar όπου από το τρυβλίο με τον βιολογικό παράγοντα αφαιρέθηκαν κομμάτια και προστέθηκαν στις κωνικές φιάλες που περιείχε το θρεπτικό υλικό NG και στη συνέχεια σφραγίστηκαν καλά με μπαμπάκι και αλουμινόχαρτο.

Παρασκευή NG

Πίνακας 12: Παρασκευή NG

Nutrient Broth	8gr	0,48 gr
Glycerol	20gr	1,2gr
H ₂ O	1Lt	60ml

Σε 10ml NG ή LB εμβολιάζουμε το βακτήριο και το αφήνουμε να αναπτυχθεί για 24h

- Μεταφέρουμε 1 ml της υγρής καλλιέργειας σε tube και το βράζουμε για 10'
- Φυγοκεντρούμε για 2' στα 13.000 rpm
- Από το υπερκείμενο μεταφέρουμε σε tubes spl
- Για κάθε δείγμα γίνονται αραιώσεις:

1- 1:20 (1+19 H₂O)+RNA

2- 1:100 (1+99 H₂O)+RNA

- Ή μετράμε συγκέντρωση στο nanodrop και αραιώνουμε στα 50ng/ml
- Χρησιμοποιούμε το αραιωμένο DNA για PCR.

ΜΕΤΡΗΣΗ ΝΟΥΚΛΕΪΚΩΝ ΟΞΕΩΝ

Η συγκέντρωση του RNA υπολογίστηκε σε Nanodrop ND-1000 Spectrophotometer (Saveen Wermer, Malmf, Swede)

5.3. ΣΥΝΘΕΣΗ cDNA

Πίνακας 13: Σύνθεση cDNA

Αντιδραστήρια	Όγκος
Ρυθμιστικό διάλυμα DNase 1	1 μl
Dnase1(nvitrogen)	1 μl
EDTA(nvitrogen)	1 μl
Ολικό RNA	1000ng
H ₂ O	Εως τα 10μl

Η αντίδραση της αντίστροφης μεταγραφάσης εφαρμόστηκε για τον καθορισμό του επιπέδου μεταγραφής των υπό μελέτη γονιδίων PR1 LOX ERFI τα οποία πιθανά επάγονται από την προσθήκη ζεόλινου στο υπόστρωμα της μεταφύτευσης του μαρουλιού και του γονιδίου ATP1 το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως γονίδιο αναφοράς για να αποτραπεί η οποιαδήποτε επιμόλυνση του δείγματος πραγματοποιήθηκε χειρισμός του RNA με το ένζυμο δεοξυριβοζονουκλεάση (DNase invitrogen) και επώαση στους 37o C για 15 λεπτά. Έπειτα προστέθηκε 1ml EDTA και επωάστηκαν τα δείγματα στους 60° για 10 λεπτά έως να τερματιστεί η δράση του ενζύμου.

Για την αντίδραση αντίστροφης μεταγραφής χρησιμοποιήθηκε το ένζυμο της Superscript II(nvitrogen). Η σύνθεση cDNA πραγματοποιήθηκε σε δυο στάδια . Στο πρώτο στάδιο έγινε αποδιάταξη ποσότητας 1mg ολικού RNA (ποσότητα που αντιστοιχούσε 10 ml δείγματος) .Στο πρώτο στάδιο έγινε αποδιάταξη ποσότητας 1mg ολικού RNA (ποσότητα που αντιστοιχούσε σε 10ml δείγματος) με 1ml εκκινητή oligo-dT και προσθήκη 1,5ml 42 νερού (HPLC grade) σε τελικό όγκο 12,5ml στους 65oC για 5 λεπτά και ακολούθως η αντίδραση τοποθετήθηκε σε πάγο. Κατά το δεύτερο στάδιο προστέθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

Πίνακας 14: Αντιδραστήρια

Αντιδραστήρια	Όγκος
Ρυθμιστικό διάλυμα	1μl
Αναστολέας RNase (Fermentas)	1μl
DNTPs (10mM)	1μl
Αντίστροφη μεταγραφή Superscript II H	1000ng
Τελικός όγκος αντίδρασης	Έως τα 10μl

Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε τελικό όγκο 20μl και επωάστηκε για 50 λεπτά στους 42oC και στη συνέχεια στους 75 oC για 15 λεπτά.

5.4. ΕΚΦΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Η RT-PC έγινε σε θερμοκυκλοποιητή της Stratagene Mx 300PTM. Για τις αντιδράσεις ενίσχυσης χρησιμοποιήθηκε ένα master mix KAPA SUBR Fast Universal qPCR Kit (KAPAbiosystems, Woburn, MA, USA).

Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν από το λογισμικό Mx Pro QPCR. Τα ζεύγη εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη της έκφρασης των γονιδίων PR1, LOX και ERF1 απεικονίζονται στο παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 15: Έκφραση γονιδίων

Έκφραση των γονιδίων PR1, LOX ΚΑΙ ERF1

Γονίδιο Στόχος	Ζεύγος εκκινητών	Αναφορές
PR1 (Lsa018589.1)	5'-ATGGGAACAGTCGTGGCTAGTTT-3' 5'-TGTTACAGCATCTACCGGTCA-3'	De Creme et. al. ,2013
LOX (Lsa036946.1)	5'-GCAACTAAGCGTGCTT CACCCAAT-3' 5-TGCCTCAAGAAGACCTCCACCATT-3	De Creme et. al. ,2013
ERF1 (Lsa016859.1)	5'-TCGCCGGTGATGTCCAGTTATCAA-3' 5'-TGTTCCCTC TCTGCTGGTTCACA-3'	De Creme et. al. ,2013
ATP1	5' CTGTACAAGAAGGAGAACGAGCAGC-3 5'-ACGAGCACATACATACAGTGGCTT-3'	Argyris et al., 2008

5.5. ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (POLYMERASE CHAIN REACTION, PCR)

Η ταυτοποίηση των μικροοργανισμών πραγματοποιήθηκε με την μοριακή μέθοδο Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR).

Αντιδραστήρια RT-PCR που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα εξής :

Πίνακας 16: Αντιδραστήρια

Αντιδραστήρια	Όγκος	Τελική συγκέντρωση
KARA SYBR Fast Universal QPCR Master Mix	5 μ l	
ROX-LOW	0.2 μ l	2,5 M μ
Εκκινητές F	0.5 μ l	2,5 μ M
Εκκινητές R	0,5 μ l	
cDNA (template)	1 μ l	50 ng/ml
H ₂ O	2,8 μ l	
Τελικός όγκος	10 μ l	

Τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου ATP1, που είναι γονίδιο αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν σαν σταθερά για την ποσοτικοποίηση της έκφρασης των άλλων γονιδίων. Τέλος, στο παρακάτω πίνακα, απεικονίζεται το πρόγραμμα θερμοκρασιών που χρησιμοποιήθηκαν κατά τις αντιδράσεις Real-time PCR:

Πρόγραμμα θερμοκρασιών RT-PCR κατά τις αντιδράσεις Real time PCR

Πίνακας 17: Πρόγραμμα θερμοκρασιών

Στάδιο	Θερμοκρασία	Χρόνος	Αποτέλεσμα
Holding Stage	95 °C	2 min	Ενεργοποίηση της HotStarTaq DNA Πολυμεράσης
Cycling stage (40 cycles)	95 °C	5 sec	Αποδιάταξη DNA
Cycling stage (40 cycles)	60 °C	30 sec	Υβριδισμός εκκινητών/επιμήκυνση αλυσίδας
Melt Curve Stage	95 °C 60 °C 95 °C	15 sec 1 min 15 sec	Δημιουργία καμπύλης διαχωρισμού των προϊόντων της RT-PCR

Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων υπολογίστηκε η τιμή του μέσου όρου του κύκλου αναφορά (Ct) για το υπό εξέταση γονίδιο με βάση τρία ανεξάρτητα βιολογικά δείγματα.

Κατά το δεύτερο στάδιο προστέθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

Πίνακας 18: Πρόσθεση αντιδραστηρίων

Αντιδραστήρια	Όγκος
Ρυθμιστικό διάλυμα DNase 1	1 μl
Dnase1(nvitrogen)	1 μl
EDTA(nvitrogen)	1 μl
Ολικό RNA	1000ng
H ₂ O	Εως τα 10μl

Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε τελικό όγκο 20 μl και επωάστηκε για 50 λεπτά στους 42° C και στη συνέχεια στους 75° C για 15 λεπτά

5.6. ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Τα βακτήρια ευρέθησαν στο χώμα των φυτών τα οποία αποθηκεύτηκαν στους -80° C .Για την διαδικασία της ενεργοποίησής τους στο laminar το οποίο ανοίχτηκε και αποστειρώθηκε με καύση το στόμιο του που περιείχε το NG και επίσης αποστειρώθηκε το φαλκόν με τον ίδιο τρόπο . Κατόπιν τοποθετήθηκαν 5ml NG σε κάθε φαλκόν ,έξι στο σύνολο. Έγινε η μεταφορά 6 βακτηρίων R1 ως και R6 και η τοποθέτησή μέσα σε NG καίγοντας κάθε φορά τη λαβίδα, αφού γέμισε το φαλκόν αποστειρώθηκε ξανά με καύση το στόμιο και μετά έγινε η τοποθέτηση των βακτηρίων σε επωαστικό θάλαμο για δύο μέρες .Στη συνέχεια έγινε μεταφορά του από το φαλκόν σε κωνική φιάλη, που περιείχε 750 ml NG και 250 ml Glycerol. Έπειτα χτυπήθηκαν στο Vortex μέχρι το σχηματισμό ενός σώματος . Κατόπιν αυτό το υλικό τοποθετήθηκε στο λευκό κουτί στους -80° C.. Κατόπιν έγινε μεταφορά 7 βακτηρίων σε τρυβλία PDA ώστε να αναπτυχθούν.

Οι μικροοργανισμοί που αναπτύχθηκαν

R7	Μη αποστειρωμένο χώμα
R6	Αποστειρωμένο χώμα
R5	Αποστειρωμένο χώμα
R4	Αποστειρωμένο χώμα
R3	Αποστειρωμένο χώμα

R2	Αποστειρωμένο χώμα
R1	Αποστειρωμένο

5.7. ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ

Στο 1^ο και 2^ο πείραμα παθογένειας, δηλαδή, μετά την μόλυνση, πραγματοποιήθηκαν καθημερινές παρατηρήσεις για την εμφάνιση συμπτωμάτων. Το 1^ο πείραμα διεξήχθη σε μη αποστειρωμένο χώμα. Ενώ το 2^ο και σε αποστειρωμένο χώμα . Από την ημέρα που εμφανίστηκαν τα πρώτα συμπτώματα, πραγματοποιήθηκε καταγραφή τους, ανά δύο ή τρεις μέρες, έως την ημέρα όπου το ποσοστό ασθένειας, έστω και μίας επέμβασης, ανέρχονταν στο 80-100%. Η καταγραφή των συμπτωμάτων πραγματοποιήθηκε με μέτρηση του ποσοστού των ασθενών φύλλων προς το συνολικό αριθμό φύλλων για κάθε φυτό μελιτζάνας. Η καταγραφή των συμπτωμάτων της ασθένειας για το πρώτο πείραμα, διήρκησε από την 7η έως την 21 η ημέρα από την μόλυνση με τον μύκητα *V. dahliae*. Το ίδιο ισχύει και για το δεύτερο πείραμα .Οι μετρήσεις των συμπτωμάτων της ασθένειας διενεργήθηκαν από την 7^η έως την 25^η ημέρα της μόλυνσης. Κατά την καταγραφή των συμπτωμάτων της ασθένειας, σημειωνόταν για κάθε φυτό ξεχωριστά, ο αριθμός των ασθενών φύλλων προς στο σύνολο των πραγματικών φύλλων. Στη συνέχεια, και αφού πρώτα είχαν ολοκληρωθεί οι μετρήσεις των συμπτωμάτων , κόπηκε με ψαλίδι το υπέργειο τμήμα του κάθε φυτού και ζυγίστηκε σε ζυγό ακριβείας, ούτως ώστε να υπολογιστεί η μέση νωπή μάζα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΩΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ.

Για να διερευνηθεί η ικανότητα επιρροής ρόκας στην μολυσματικότητα του μύκητα *V. dahliae*, πραγματοποιήθηκε αναλυτική καταγραφή των συμπτωμάτων της ασθένειας στα φυτά της μελιτζάνας, από την 7ημέρα έως την 21η ημέρα μετά τη μόλυνση με τον μύκητα *V. dahliae*.

Στο πάνω μέρος στην πρώτη γραμμή αναφέρεται η ημέρα και η έκχυση σε νοί στα φυτά (dpi). Η πρώτη στήλη από το 1-14 αφορά δείγματα –φυτά .

Το νούμερο 0 αφορά ένδειξη όχι μόλυνση .

Το ποσοστό σε κάθε κελί αφορά ένδειξη πόσα φύλλα έχουν μολυνθεί στο σύνολο.

6.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ /*V.d*

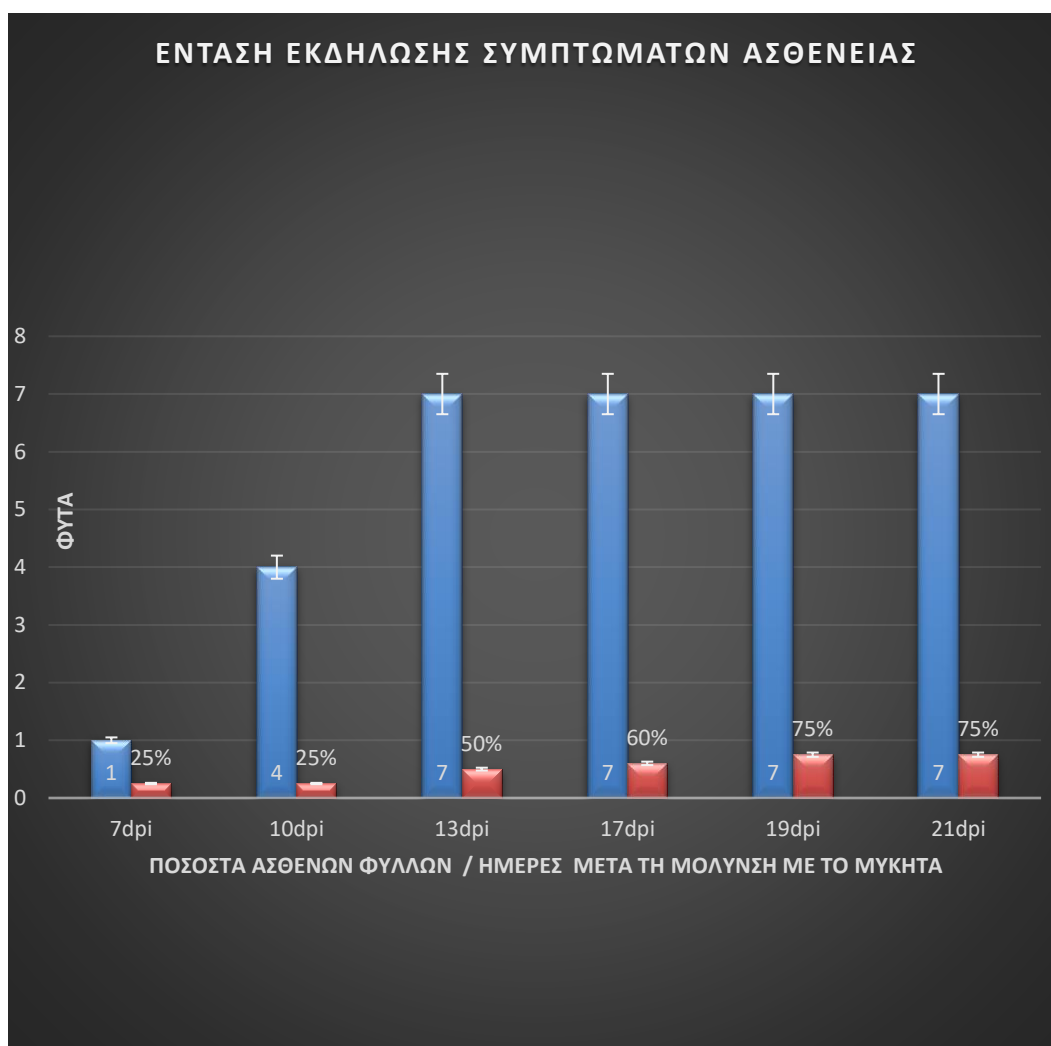


Εικόνα 25: Αποτελέσματα μετά τη μόλυνση από το μύκητα

Παρατηρούμε ότι η μόλυνση από το μύκητα στην 7dpi στις περισσότερες εφαρμογές ήταν περιορισμένη. Το χώμα είναι μη αποστειρωμένο. Έχουν μολυνθεί πέντε φυτά στο 20-25% των φύλων τους. Στην συνέχεια όμως το φαινόμενο αυτό ανατρέπεται. Την 10dpi έχουν μολυνθεί οκτώ φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 25%. Την 13dpi έχουν μολυνθεί δώδεκα φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 35%. Την 17dpi έχουν μολυνθεί δεκατρία φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 40%. Την 19 dpi έχουν μολυνθεί και τα δεκατέσσερα φυτά με ποσοστό

ασθενών φύλλων ως και 75%. Την 21dpi έχουν μολυνθεί όλα τα φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 80 % .

6.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ /*V.d* +ΡΟΚΑ



Εικόνα 26: Αποτελέσματα μετά την εφαρμογή του μύκητα *V.d* +ρόκα

Παρατηρούμε ότι με την εφαρμογή του μύκητα *V.d* +ρόκα την 7dpi μολύνθηκε ένα φυτό με 25% ασθενών φύλλων.

Την 10 dpi μολύνθηκαν τρία φυτά με ως και 25% ασθενών φύλλων.

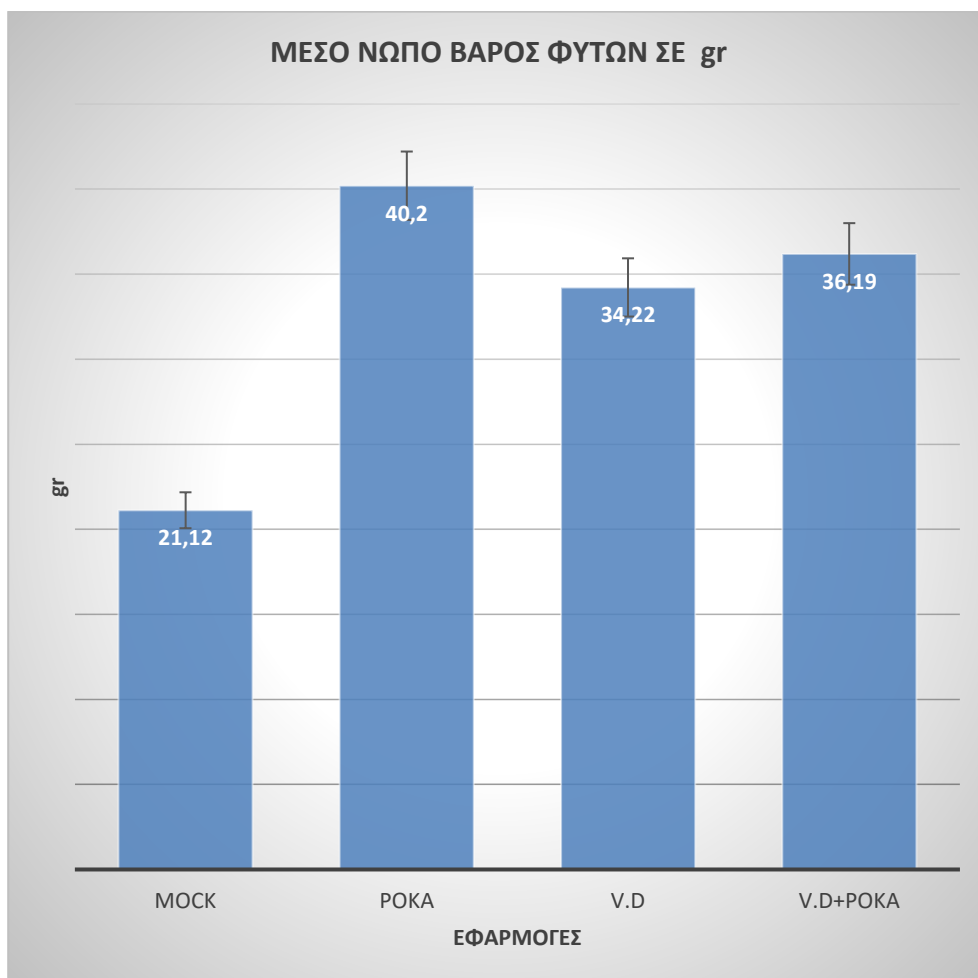
Την 13dpi μολύνθηκαν έξι φυτά με ως και 50% ασθενών φύλλων.

Την 17dpi μολύνθηκαν επτά φυτά με ως και 60% ασθενών φύλλων.

Την 19dpi μολύνθηκαν επτά φυτά με ως και 75% ασθενών φύλλων.

Την 21dpi μολύνθηκαν επτά φυτά με ως και 75% ασθενών φύλλων.

6.3. ΜΕΣΟ ΝΩΠΟ ΒΑΡΟΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ



Εικόνα 27: Μέσο νωπό βάρος φυτών

Συγκριτική απεικόνιση του μέσου νωπού βάρους των φυτών. Οι εφαρμογές που διαφέρουν μεταξύ τους στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5% ($\alpha=0,05$). Οι κατακόρυφες γραμμές απεικονίζουν το τυπικό σφάλμα. Παρατηρούμε ότι τα φυτά που έχουν εμποτιστεί με ρόκα έχουν υψηλότερο μέσο νωπό βάρος. Βάση του Μ.Ο. βάρους των φυτών ανά μεταχείριση διαπιστώνουμε ότι τα φυτά που έχουν ποτιστεί με ρόκα έχουν μεγαλύτερο βάρος και όγκο. Επομένως καταλαβαίνουμε ότι έχουν μεγαλύτερη ανάπτυξη.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΔΕΥΤΕΡΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ. ΕΛΕΓΧΟΣ ΜΕΣΑ ΣΤΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑ

7^η ημέρα μετά τη μόλυνση από *V.d* με αποστειρωμένο χώμα .

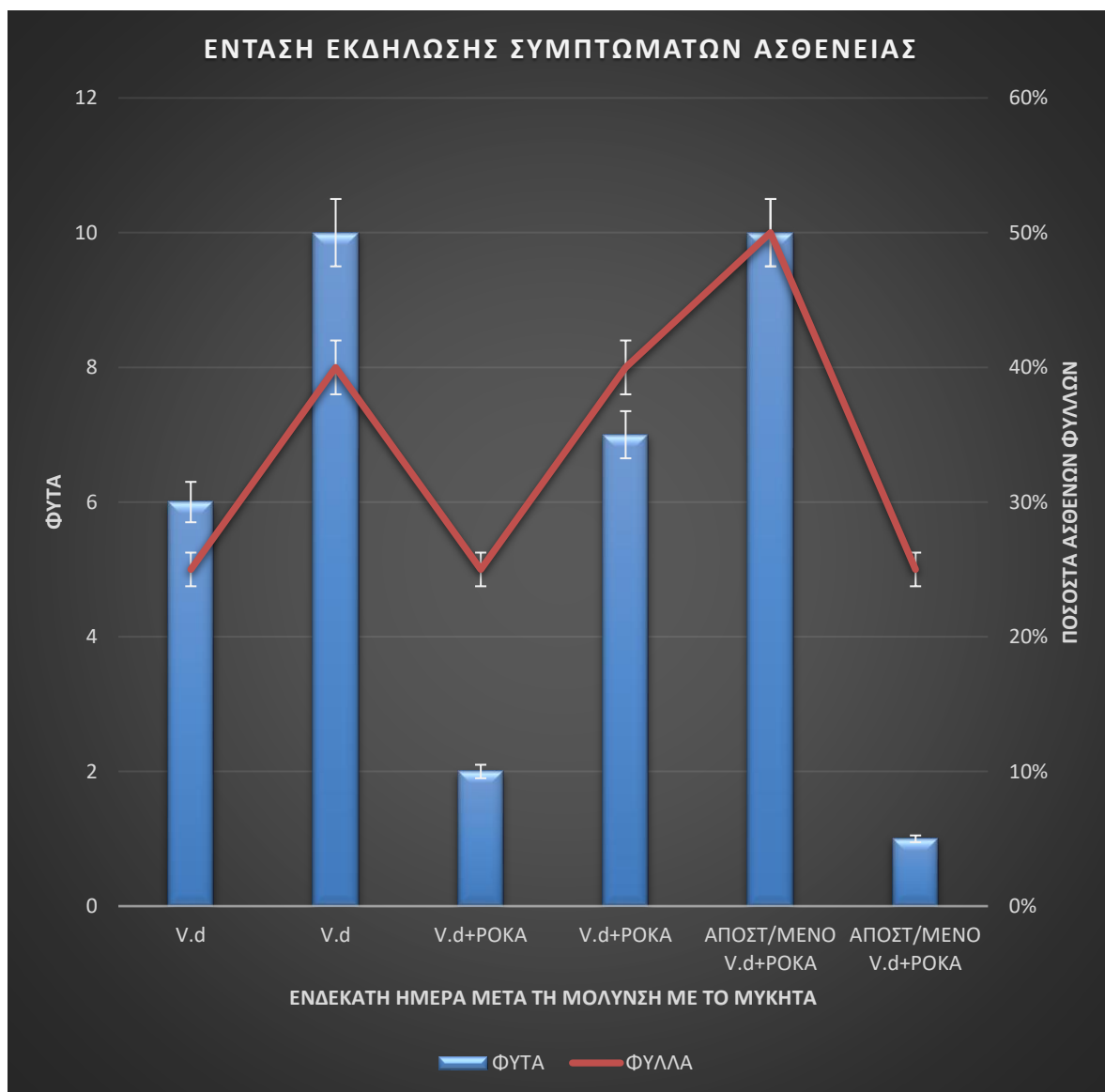


Εικόνα 28: 7^η ημέρα μετά την εφαρμογή του μύκητα μέσα στο θερμοκήπιο σε αποστειρωμένο χώμα

Παρατηρούμε ότι κατά την 7^η ημέρα μετά τη μόλυνση από *V.dahliae* μέσα στο θερμοκήπιο με αποστειρωμένο χώμα στις 25/11/2021 τα φυτά που μολύνθηκαν ήταν ως και δέκα τέσσερα και τα ποσοστά των ασθενών φύλλων ήταν ως και 60%.

Ενώ με αποστειρωμένο χώμα με *V.dahliae* και ρόκα τα φυτά που μολύνθηκαν ήταν ως 5 και τα ποσοστά ασθενών φύλλων έφτασαν στο 25%. Συμπέρασμα : η εφαρμογή της ρόκας μέσα στο θερμοκήπιο σε αποστειρωμένο και μη αποστειρωμένο χώμα είχε υψηλότερη απόδοση σε σχέση με την ελεύθερη σπορά της μελιτζάνας.

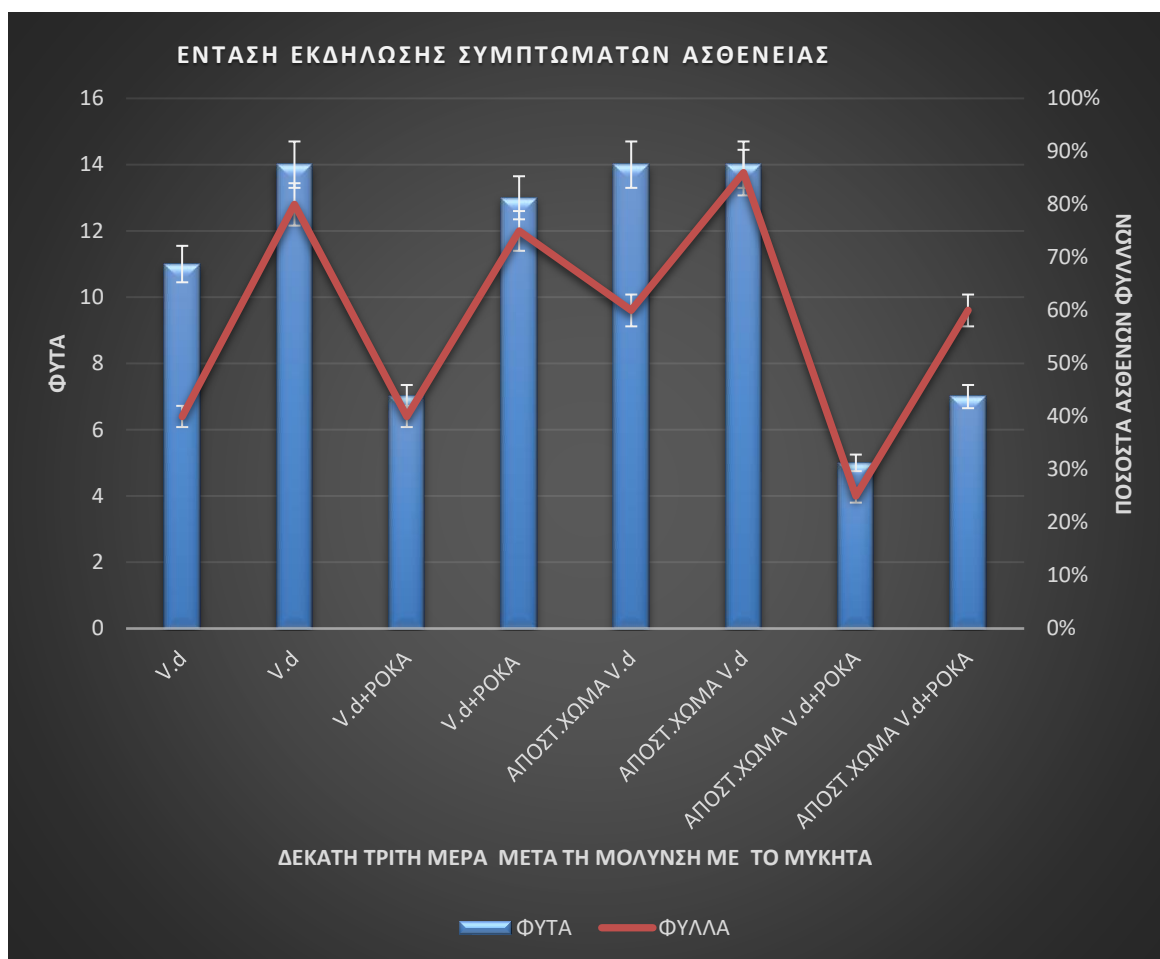
11^η ημέρα μετά τη μόλυνση από *V.d* σε αποστειρωμένο χώμα



Εικόνα 29: 11^η ημέρα μετά την εφαρμογή του μύκητα σε αποστειρωμένο χώμα μέσα στο θερμοκήπιο

Την 11η *dpi* μολύνθηκαν δέκα φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 40%. Με *V.d* και ρόκα μολύνθηκαν επτά φυτά με ποσοστό ως 40% ασθενών φύλλων. Με αποστειρωμένο χώμα και *V.d* μολύνθηκαν 10 φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 50%. Με αποστειρωμένο χώμα και *V.d* και ρόκα μολύνθηκε ένα φυτό με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 25%.

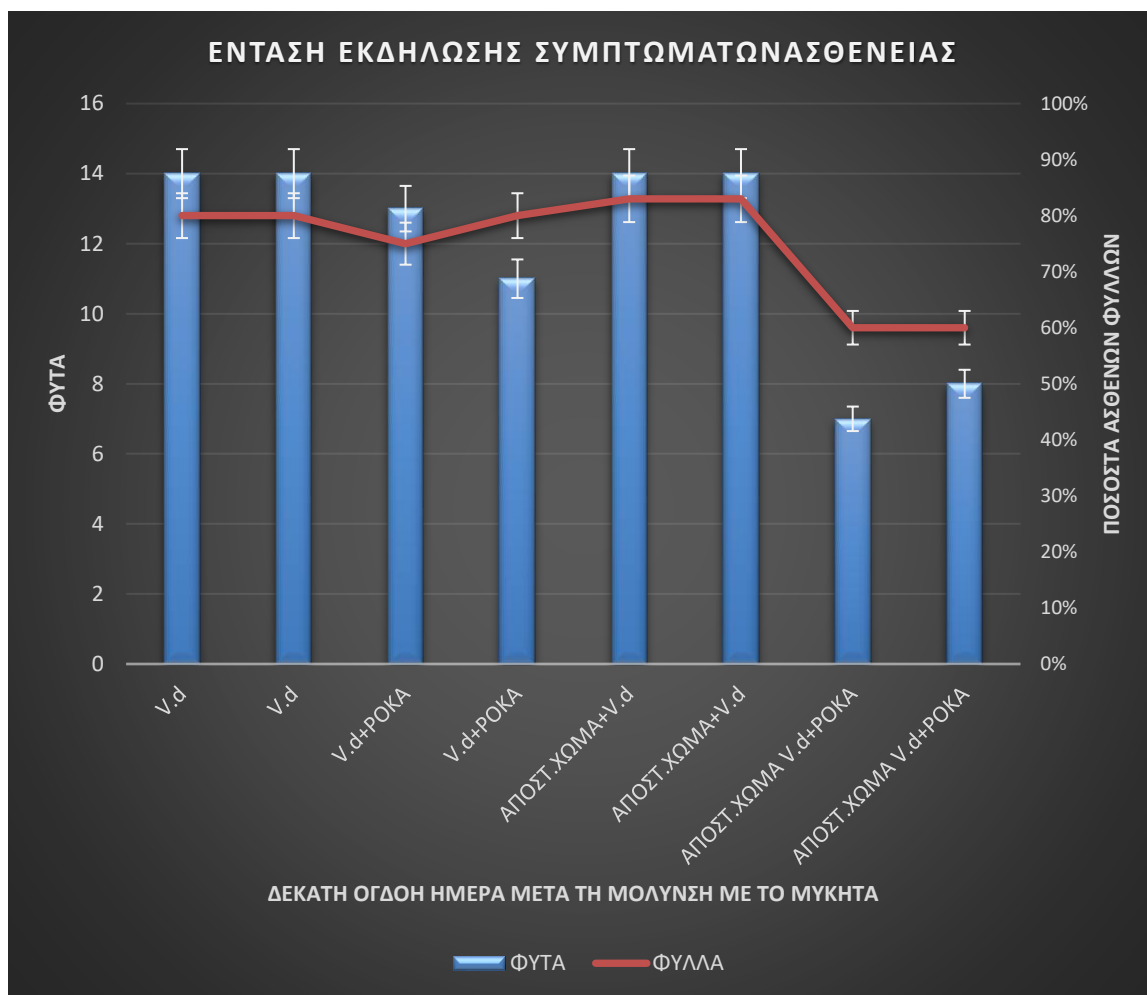
13^η ημέρα μετά τη μόλυνση από *V.d* με αποστειρωμένο χώμα



Εικόνα 30: 13^η ημέρα μετά την εφαρμογή του μύκητα σε αποστειρωμένο χώμα μέσα στο θερμοκήπιο

Παρατηρούμε τη 13^η dpi μολύνθηκαν και τα 14 φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 80%. Με ρόκα + *V.dahliae* μολύνθηκαν 13 φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 75%. Με αποστειρωμένο χώμα+ *V.dahliae* μολύνθηκαν όλα τα φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 86%. Με αποστειρωμένο χώμα + *V.dahliae* +ρόκα μολύνθηκαν 7 φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 60% Συμπέρασμα :η εφαρμογή της ρόκας μέσα στο θερμοκήπιο σε αποστειρωμένο και μη αποστειρωμένο χώμα είχε υψηλότερη απόδοση σε σχέση με την ελεύθερη σπορά της μελιτζάνας.

18^η ημέρα μετά τη μόλυνση από *V.d* με αποστειρωμένο χώμα



Εικόνα 31: 18^η ημέρα μετά την εφαρμογή του μύκητα σε αποστειρωμένο χώμα μέσα στο θερμοκήπιο

Παρατηρούμε τη 18^η dpi και τα δεκατέσσερα φυτά μολύνθηκαν από το μύκητα με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 80%. Με μύκητα και ρόκα μολύνθηκαν δεκατρία φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 80%. Με αποστειρωμένο χώμα και μύκητα μολύνθηκαν και τα δεκατέσσερα φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 83%. Με αποστειρωμένο χώμα ,μύκητα και ρόκα μολύνθηκαν οκτώ φυτά με ποσοστό ασθενών φύλλων ως και 60%.

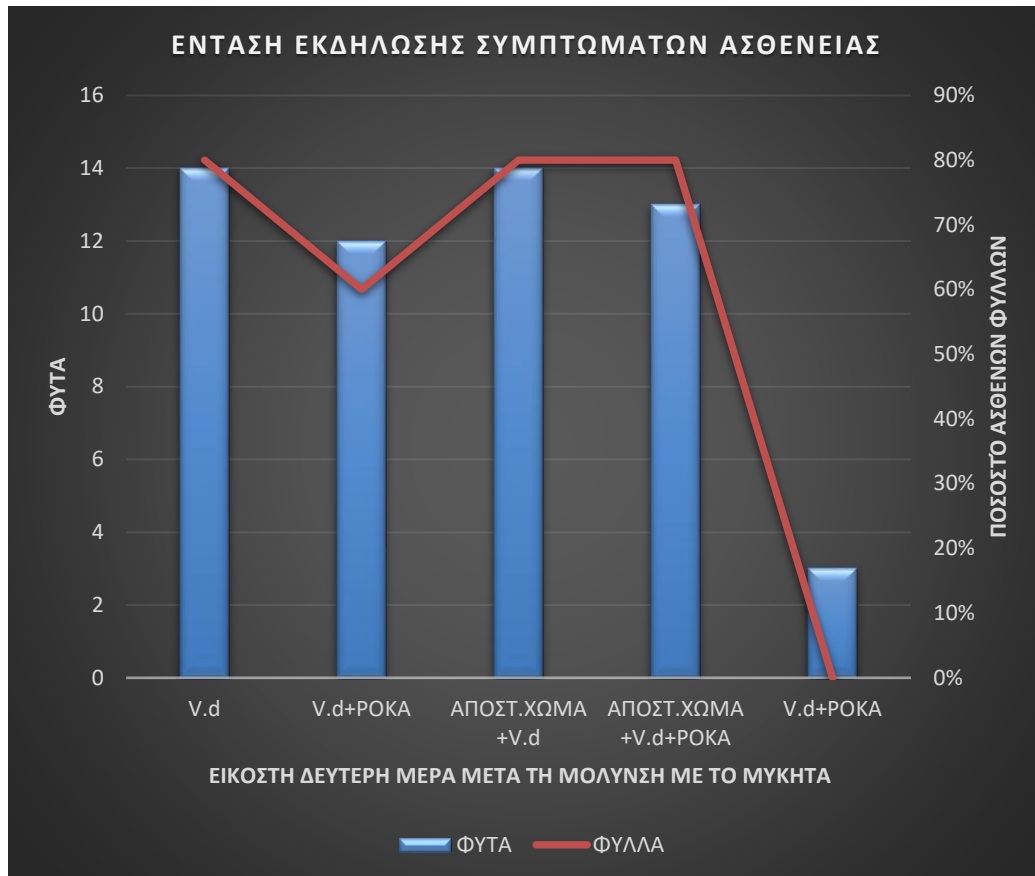
20^η ημέρα μετά τη μόλυνση από *V.d* με αποστειρωμένο χώμα



Εικόνα 32: 20^η ημέρα μετά την εφαρμογή του μύκητα σε αποστειρωμένο χώμα μέσα στο θερμοκήπιο

Παρατηρούμε ότι την 20^η όρι τα φυτά που έχουν μολυνθεί με το μύκητα στις περισσότερες περιπτώσεις με ποσοστό ασθενών φύλλων 80-83%. Στην 20^η ημέρα όλο και περισσότερο αυξάνεται το ποσοστό των προσβεβλημένων φύλλων από το μύκητα σε μη αποστειρωμένο έδαφος ακόμα και με τον εμποτισμό της ρόκας, φτάνοντας σε ποσοστό 80%. Το ίδιο περίπου ισχύει και στο αποστειρωμένο έδαφος χωρίς τον εμποτισμό της ρόκας. Ενώ με την ρόκα+ *V.dahliae* σε αποστειρωμένο έδαφος εμφανίζεται μια έντονη δυσμενής μεταβολή σε σχέση με ότι ισχύει στις προηγούμενες μέρες.

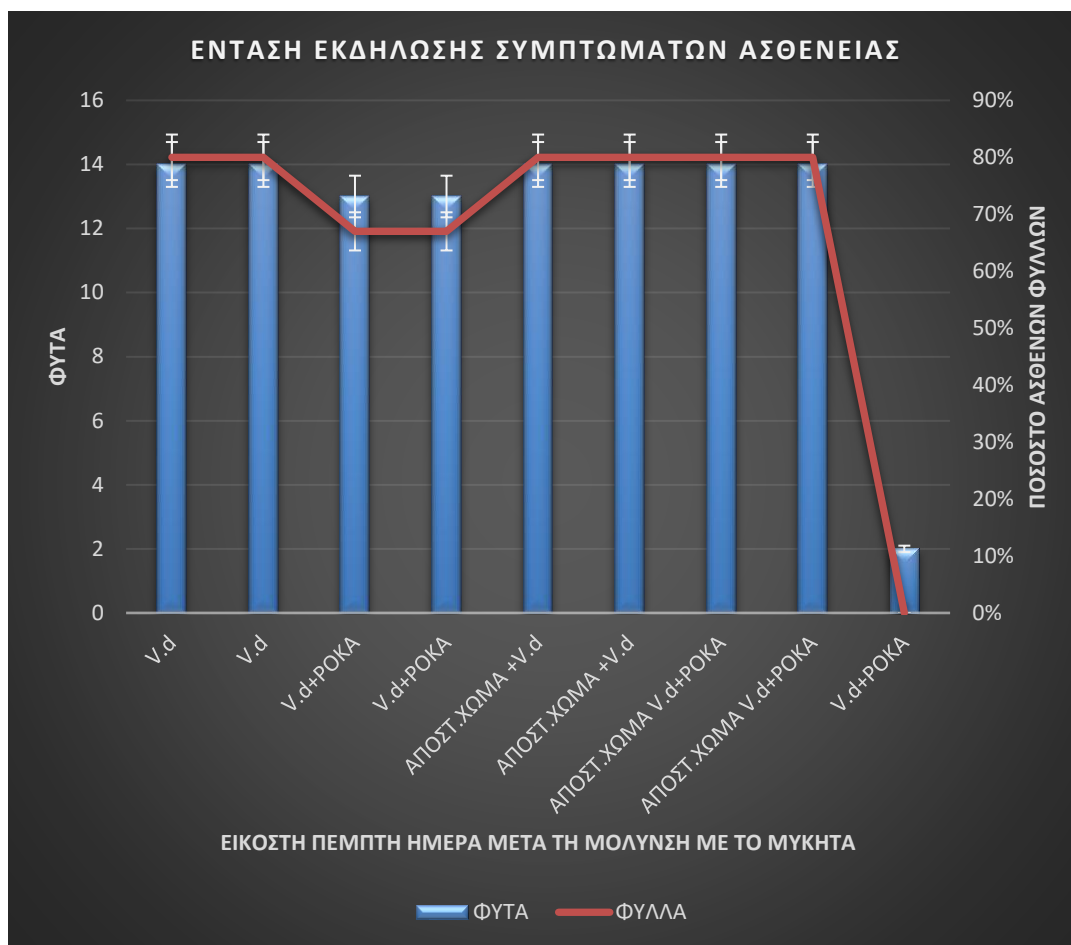
22^η ημέρα μετά τη μόλυνση από *V.d* με αποστειρωμένο χώμα



Εικόνα 33: 20^η ημέρα μετά την εφαρμογή του μύκητα σε αποστειρωμένο χώμα μέσα στο θερμοκήπιο

Παρατηρούμε ότι 2 φυτά δεν μολύνθηκαν από το μύκητα. Ισχύει ότι και στο προηγούμενο έλεγχο. Είναι δυσμενής οι επιπτώσεις του μύκητα σε κάθε περίπτωση. Όλο και περισσότερα είναι τα προσβεβλημένα φύλλα από το μύκητα σε μη αποστειρωμένο έδαφος και με τη χρήση της ρόκας. Τα ίδια αποτελέσματα έχουμε και στο αποστειρωμένο έδαφος χωρίς τη ρόκα. Επιπλέον με την ρόκα+ *V.dahliae* σε αποστειρωμένο έδαφος εμφανίζεται μια πολύ έντονη δυσμενής μεταβολή σε σχέση με ότι ισχύει στις προηγούμενες μέρες.

25^η ημέρα μετά τη μόλυνση από V.d με αποστειρωμένο χώμα



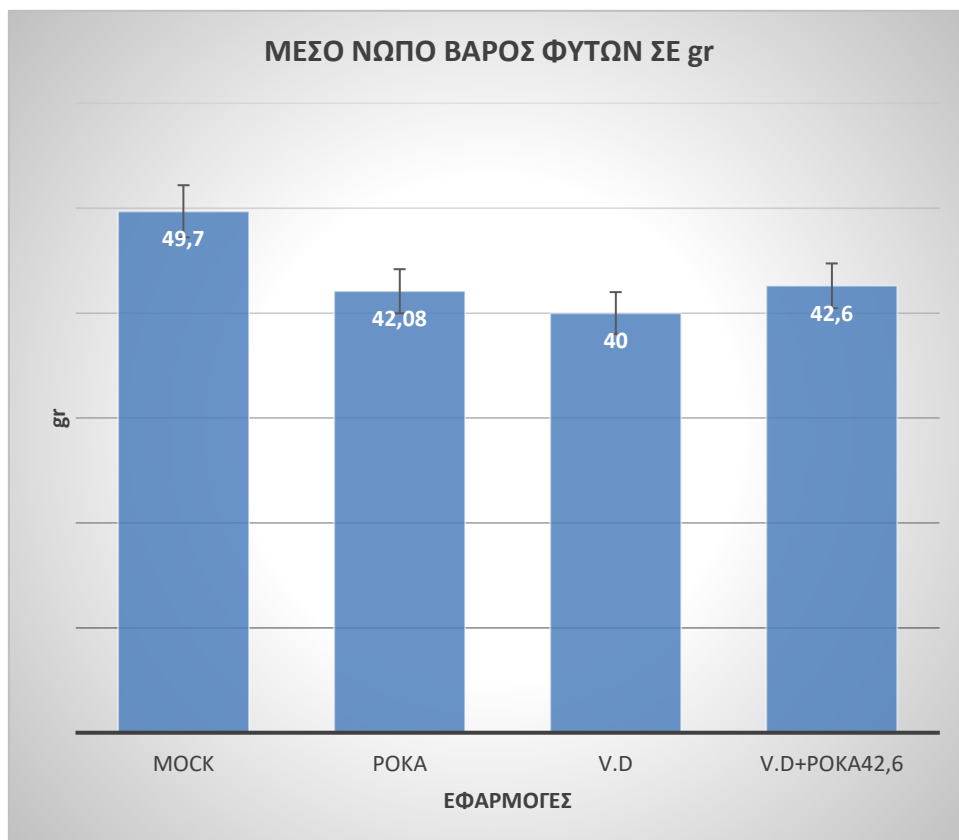
Εικόνα 34: 25^η ημέρα μετά την εφαρμογή του μύκητα σε αποστειρωμένο χώμα μέσα στο θερμοκήπιο

Παρατηρούμε ότι από όλες τις περιπτώσεις μόνο 2 φυτά δεν μολύνθηκαν .Στην 25^η dpi όλο και περισσότερο αυξάνεται το ποσοστό των προσβεβλημένων φύλλων από το μύκητα σε αποστειρωμένο και μη αποστειρωμένο έδαφος ακόμα και με τον εμποτισμό της ρόκας, φτάνοντας σε ποσοστό 80%.

Με την εφαρμογή ρόκας και *V.dahliae* σε αποστειρωμένο έδαφος εμφανίζεται μια ιδιαίτερα δυσμενής μεταβολή σε σχέση με ότι ισχύει στις προηγούμενες περιπτώσεις .

7.1. ΜΕΣΟ ΝΩΠΟ ΒΑΡΟΣ ΦΥΤΩΝ

ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΜΕΝΟ ΧΩΜΑ

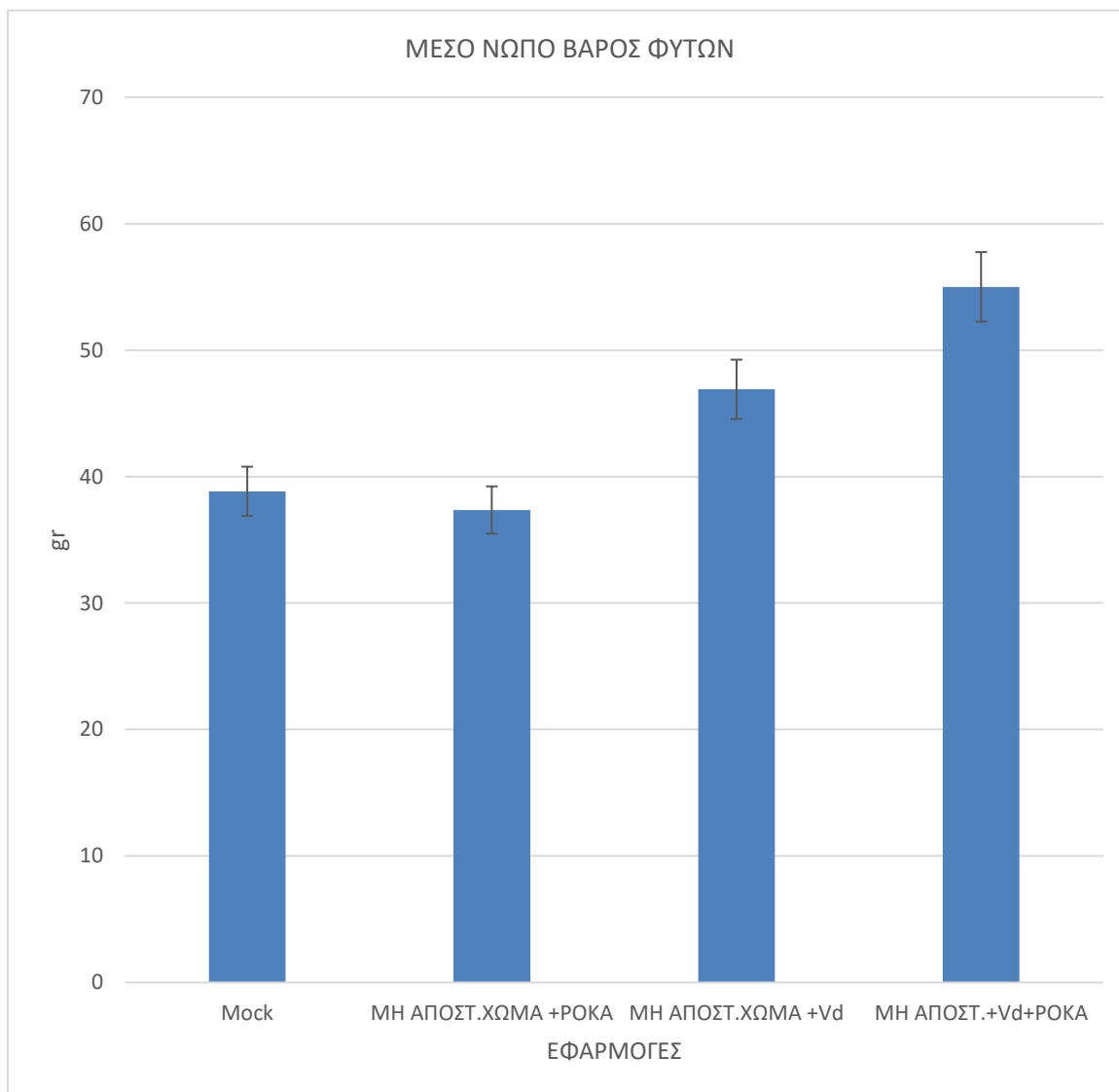


Εικόνα 35: Μέσο νωπό βάρος φυτών σε αποστειρωμένο χώμα

Συγκριτική απεικόνιση του μέσου νωπού βάρους των φυτών. Οι εφαρμογές που διαφέρουν μεταξύ τους στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5% ($\alpha=0,05$). Οι κατακόρυφες γραμμές απεικονίζουν το τυπικό σφάλμα.

Παρατηρούμε ότι το υψηλότερο μέσο νωπό βάρος παρουσιάζει ο μολυσμένος μάρτυρας στο αποστειρωμένο χώμα. Παράλληλα, υψηλότερο μέσο νωπό βάρος παρουσιάζει η εφαρμογή αποστειρωμένο χώμα *V.dahliae* + ρόκα σε αποστειρωμένο χώμα.

ΜΗ ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΜΕΝΟ ΧΩΜΑ



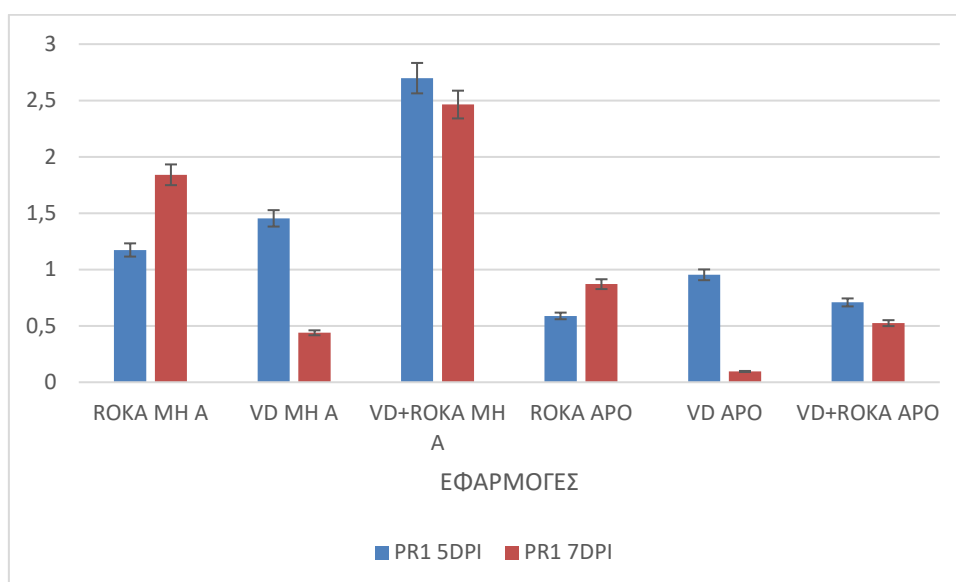
Γράφημα 12: Μέσο νωπό βάρος φυτών σε μη αποστειρωμένο χώμα

Συγκριτική απεικόνιση του μέσου νωπού βάρους των φυτών. Οι εφαρμογές που διαφέρουν μεταξύ τους στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5% ($\alpha=0,05$). Οι κατακόρυφες γραμμές απεικονίζουν το τυπικό σφάλμα. Παρατηρούμε ότι το υψηλότερο μέσο νωπό βάρος παρουσιάζει το μη αποστειρωμένο χώμα+ *V.dahliae* +ρόκα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ PR1 ΣΕ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ ΓΟΝΟΤΥΠΟΥΣ

Για να διαπιστωθεί αν η ανθεκτικότητα που παρατηρήθηκε στα φυτά ή η προστασία που φερόταν να προσφέρεται από το βιολογικό παράγοντα οφειλόταν σε επαγωγή της άμυνας των φυτών πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των επιπέδων έκφρασης των γονιδίων PR1 και PR4 . Πραγματοποιήθηκε συλλογή ιστού του υπέργειου μέρους φυτών, σε όλους τους προς εξέταση γονότυπους σε φυτά που είχε εφαρμοστεί είτε μόνο το παθογόνο, είτε σε συνδυασμό με το βιολογικό παράγοντα. Τα δείγματα για το πρώτο πείραμα συλλέχθηκαν 5^η και 7^η ημέρα μετά τη μόλυνση το ίδιο ισχύει και στο δεύτερο πείραμα. Η έκφραση των γονιδίων PR1- PR4

8.1. ΣΧΕΤΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ PR-1

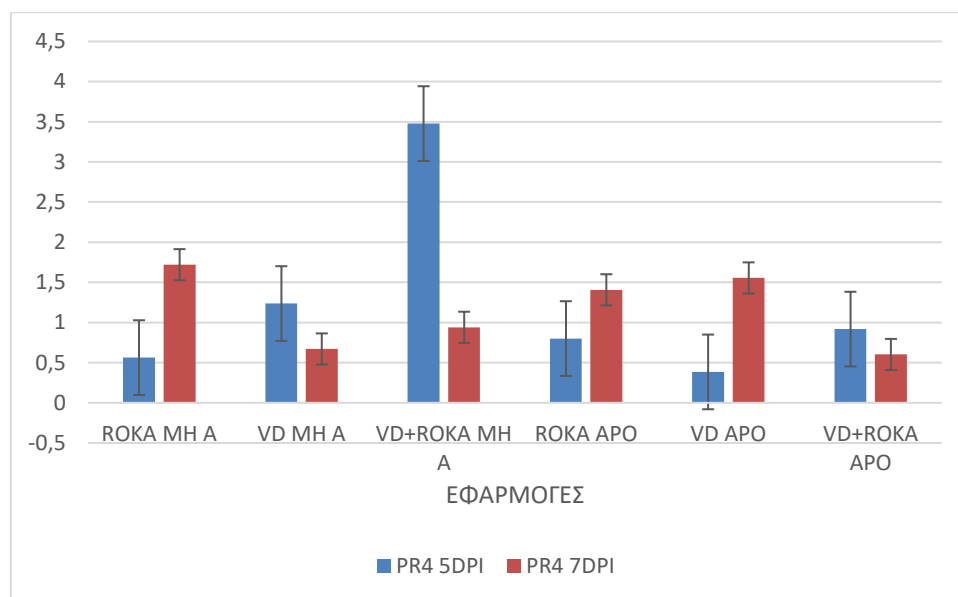


Εικόνα 36: Σχετική έκφραση Γονιδίου PR-1

Στον πίνακα απεικονίζεται η σχετική έκφραση του γονιδίου Pr1 στα φύλλα των φυτών της μεταχείρισης “whole root”, έπειτα από δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν την 5 η και 7η ημέρα της μόλυνσης με τον μύκητα *V. dahliae*. Παρατηρούμε ότι κατά την 5^η ημέρα της μόλυνσης, έχουμε υπερέκφραση του γονιδίου και τα υψηλότερα επίπεδα στην έκφραση του γονιδίου Pr-1 να παρουσιάζονται στην εφαρμογή του μύκητα μαζί με ρόκα σε μη αποστειρωμένο έδαφος ενώ τα χαμηλότερα στην εφαρμογή της ρόκας σε αποστειρωμένο

έδαφος. Επίσης, στην 7^η ημέρα μετά τη μόλυνση με τον μύκητα *V.dahliae* τα επίπεδα της έκφρασης του γονιδίου Pr-1 ήταν υψηλότερα, ενώ είχε γίνει εφαρμογή ρόκας σε μη αποστειρωμένο έδαφος. Τα χαμηλότερα είναι όταν έγινε εφαρμογή μύκητα σε αποστειρωμένο έδαφος. Γενικώς σε αποστειρωμένο έδαφος η έκφραση του γονιδίου είναι χαμηλότερη είτε εφαρμοσθεί ο μύκητας είτε η ρόκα ή και τα δυο μαζί.

8.2. ΣΧΕΤΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ PR-4



Εικόνα 37: Σχετική έκφραση γονιδίου PR-4

Στον πίνακα απεικονίζεται η σχετική έκφραση του γονιδίου Pr-4 στα φύλλα των φυτών της μεταχείρισης “whole root”, έπειτα από δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν την 5 η και 7η ημέρα της μόλυνσης με τον μύκητα *V. dahliae*. Παρατηρούμε ότι κατά την 5 η ημέρα της μόλυνσης, τα υψηλότερα επίπεδα στην έκφραση του γονιδίου Pr-4 να παρουσιάζονται στην εφαρμογή του μύκητα μαζί με ρόκα σε μη αποστειρωμένο έδαφος ενώ τα χαμηλότερα στην εφαρμογή του μύκητα σε αποστειρωμένο έδαφος. Επίσης, στην 7^η ημέρα μετά τη μόλυνση με τον μύκητα *V.dahliae* τα επίπεδα της έκφρασης του γονιδίου Pr-4 ήταν υψηλότερα είναι όταν έχει γίνει εφαρμογή ρόκας σε μη αποστειρωμένο έδαφος ενώ τα χαμηλότερα είναι όταν έγινε εφαρμογή μύκητα και ρόκας σε αποστειρωμένο έδαφος. Γενικώς σε αποστειρωμένο έδαφος η έκφραση του γονιδίου είναι χαμηλότερη είτε εφαρμοσθεί ο μύκητας είτε η ρόκα ή και τα δυο μαζί.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, μελετήθηκε η επίδραση της ρόκας στην παθογένεια του μύκητα *V. dahliae* σε φυτάρια μελιτζάνας, ποικιλία 'Black Beauty'. Συγκεκριμένα, διενεργήθηκαν δοκιμές παθογένειας με δύο πειραματικές μεταχειρίσεις σε αποστειρωμένο και μη αποστειρωμένο έδαφος. Ο εδαφογενής μύκητας *Verticillium dahliae*, θεωρείται ένας από τους σπουδαιότερους φυτοπαθογόνους μύκητες που προκαλούν αδρομυκώσεις. Ο περιορισμός της εξάπλωσης του μύκητα είναι εξαιρετικά δύσκολος. Τα σημαντικότερα προβλήματα για τον έλεγχο του *V.dahliae*, όπως αυτά έχουν ταξινομηθεί από τον Tjamos (1989) είναι:

1. Προβλήματα που έχουν σχέση με τη φύση του παθογόνου:

- α. Παγκόσμια διάδοση
- β. Παρασιτισμός στα αγγείων του ξύλου και δυσκολότερη και μη προσβάσιμη αντιμετώπιση του μύκητα.
- γ. Απουσία εξειδικευμένων ξενιστών
- δ. Ετήσια και πολυετή φυτά αποτελούν ξενιστές
- ε. Ανθεκτικές διαχειμάζουσες μορφών (μικροσκληρώτια)

2. Προβλήματα σχετιζόμενα με την επιδημιολογία του μύκητα:

- α. Ευαίσθητα ζιζάνια
- β. Συμμετοχή νηματωδών και εντόμων
- γ. Διασπορά του παθογόνου

3. Δυσκολίες ελέγχου:

- α. Καλλιεργητικές πρακτικές
- β. Έλλειψη αποτελεσματικών μυκητοκτόνων
- γ. Υψηλό κόστος των εφαρμοζόμενων απολυμαντικών εδάφους

Έχει αποδειχτεί ότι η ασθένεια περιορίζεται με την ηλιοαπολύμανση. Ο υποκαπνισμός του εδάφους με βρωμιούχο μεθύλιο, ήταν μία από τις πιο αποτελεσματικές μεθόδους καταπολέμησης του μύκητα *V. dahliae* (Easton 1970, Powelson and Carter 1973). Όμως το 2005 με την συνθήκη του Μόντρεαλ απαγορεύτηκε εξαιτίας των δυσμενών επιπτώσεων του.

Η μη εύρεση αποτελεσματικών χημικών μέσων για την αντιμετώπιση της ασθένειας, οδηγεί στην ανάπτυξη νέων μεθόδων καταπολέμησης. Οι νέες μέθοδοι αξιοποιούν νέους χημικούς διεγέρτες της άμυνας των φυτών. Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η φυτοπροστατευτική δράση μικροβιολογικών θρεπτικών υποστρωμάτων στην αντιμετώπιση του μύκητα *Verticillium dahliae* σε φυτά *Solanum melongena*, ποικιλίας “Black Beauty”. Συγκεκριμένα, σε αποστειρωμένο και μη αποστειρωμένο χώμα και σε συνθήκες θερμοκηπίου. Πραγματοποιήθηκαν πειράματα παθογένειας, με θρεπτικά υποστρώματα PB και NG, τόσο σε αποστειρωμένο, όσο και σε μη αποστειρωμένο χώμα και διερευνήθηκε η δράση στην παθογένεια του μύκητα *Verticillium dahliae*. Επίσης παρατηρήθηκε ότι στο μη αποστειρωμένο χώμα υπήρχε προστασία που οφειλόταν στον βιολογικό παράγοντα ***Burkholderia***.

Από τα αποτελέσματα των δοκιμών παθογένειας των εφαρμογών του πρώτου πειράματος σε μη αποστειρωμένο έδαφος, προκύπτει ότι όσο απομακρυνόμαστε χρονικά αυξάνεται η μολυσματικότητα του μύκητα *V. dahliae*. Όμως η εφαρμογή του μύκητα *V. dahliae* μαζί με ρόκα σε μη αποστειρωμένο έδαφος είχε διαφορετικά αποτελέσματα. Διαπιστώθηκε ότι η παρουσία ρόκας στο έδαφος, μείωσε σημαντικά τόσο τα συμπτώματα, και την συχνότητα εμφάνισης της ασθένειας στα φυτά της μελιτζάνας. Επίσης ο Μ.Ο. βάρους των φυτών ανά μεταχείριση στα φυτά που έχουν ποτιστεί με ρόκα έχουν μεγαλύτερο βάρος και όγκο.

Στο δεύτερο μέρος του πειράματος παρατηρούμε ότι η εφαρμογή της ρόκας μέσα στο θερμοκήπιο σε αποστειρωμένο και μη αποστειρωμένο χώμα είχε υψηλότερη απόδοση σε σχέση με την ελεύθερη σπορά της μελιτζάνας. Στη συνέχεια όμως όσο περνάνε οι μέρες διακρίνουμε μια δυσμενή εξέλιξη στα συμπτώματα της ασθένειας και ισχύει το ίδιο περίπου και στο αποστειρωμένο έδαφος χωρίς τον εμποτισμό της ρόκας. Ενώ με την ρόκα+ *V. dahliae* σε αποστειρωμένο έδαφος εμφανίζεται μια έντονη δυσμενής μεταβολή σε σχέση με ότι ίσχυε πριν. Επίσης το δεύτερο μέρος του πειράματος παρατηρούμε ότι το υψηλότερο μέσο νωπό βάρος παρουσιάζει ο μολυσμένος μάρτυρας στο αποστειρωμένο χώμα. Παράλληλα, υψηλότερο μέσο νωπό βάρος παρουσιάζει και η εφαρμογή *V. dahliae* + ρόκα σε αποστειρωμένο χώμα. Ενώ το υψηλότερο μέσο νωπό βάρος παρουσιάζει το μη αποστειρωμένο χώμα με *V. dahliae* και ρόκα.

Επιπλέον καθώς περνούν οι μέρες της μόλυνσης παρατηρούμε υψηλότερα επίπεδα στην έκφραση του γονιδίου Pr-1 στην εφαρμογή του μύκητα μαζί με ρόκα σε μη αποστειρωμένο έδαφος ενώ τα χαμηλότερα στην εφαρμογή της ρόκας σε αποστειρωμένο έδαφος. Τα χαμηλότερα είναι όταν έγινε εφαρμογή μύκητα σε αποστειρωμένο έδαφος. Σε αποστειρωμένο έδαφος η έκφραση του γονιδίου είναι χαμηλότερη είτε εφαρμοσθεί ο μύκητας είτε η ρόκα ή και τα δυο μαζί. Επίσης όσον αφορά τη σχετική έκφραση του γονιδίου Pr-4 στα φύλλα των φυτών της μεταχείρισης “whole root”, με τον μύκητα *V. dahliae* στην αρχή της μόλυνσης, παρατηρούμε ότι έχουμε τα υψηλότερα επίπεδα στην έκφραση του γονιδίου Pr-4 να παρουσιάζονται στην εφαρμογή του μύκητα μαζί με ρόκα σε μη αποστειρωμένο έδαφος ενώ τα χαμηλότερα στην εφαρμογή του μύκητα σε αποστειρωμένο έδαφος. Επίσης καθώς περνάνε οι ημέρες μετά τη μόλυνση με τον μύκητα *V. dahliae* τα επίπεδα της έκφρασης του γονιδίου Pr-4 ήταν υψηλότερα σε εφαρμογή ρόκας σε μη αποστειρωμένο έδαφος ενώ τα χαμηλότερα είναι όταν έγινε εφαρμογή μύκητα και ρόκας σε αποστειρωμένο έδαφος. Γενικώς σε αποστειρωμένο έδαφος η έκφραση του γονιδίου είναι χαμηλότερη είτε εφαρμοσθεί ο μύκητας είτε η ρόκα ή και τα δυο μαζί.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ *Burkholderia*

Το είδος *Burkholderia* είναι ένα πολυλειτουργικό γένος αρνητικών κατά Gram βακτηρίων που κατοικεί σε διάφορα περιβάλλοντα, συμπεριλαμβανομένου του εδάφους, των φυτών, των ζώων και των ανθρώπων (Elshafie et al. 2017; Jenner et al. 2019). Ανήκει στη κατηγορία των αυξητικών ριζοσφαιρικών βακτηρίων τα οποία βρίσκονται στα ακρορίζια των φυτών αλλά και ενδοφυτικά αυτών. Παρόλο που ορισμένα είδη μπορούν να προκαλέσουν ασθένειες σε ζώα και φυτά (Elshafie et al. 2017, Lee et al. 2016), υπάρχουν αρκετά είδη *Burkholderia spp.* που παράγουν βιοδραστικές ενώσεις ικανές να καταστείλουν τις ασθένειες των φυτών, ιδιαίτερα παράγουν αντιβιοτικά, ή σιδηροφόρα βιοκτόνα πτητικά οργανικά συστατικά, φαινολικά και φθαλικά παράγωγα, αροματικά σύμπλοκα και ένζυμα, όπως χιτινάσες, κυτταρινάσες και πρωτεάσες (Kunakom και Eustáquio 2019). Τα βακτήρια αυτού του γένους έχουν βιοτεχνολογική εφαρμογή συμπεριλαμβανομένης της προαγωγής της ανάπτυξης των φυτών (Kong et al. 2020; Morya et al. 2020). Τα αποτελέσματα ερευνών παρέχουν πληροφορίες για αυτά τα χαρακτηριστικά και συμβάλλουν στην αντιμικροβιακή μοριακή βάση και στη δυνατότητα βιοελέγχου αυτού του στελέχους. Τα αυξητικά ριζοσφαιρικά βακτήρια έχουν την

ικανότητα να προάγουν την ανάπτυξη των φυτών και αυτό συμβαίνει εξαιτίας της ικανότητας που έχουν να μεταβάλλουν ολόκληρη την μικροβιακή κοινότητα στη ριζόσφαιρα μέσω της παραγωγής διαφόρων ουσιών (Kloepper & Schroth, 1981). Επίσης μπορούν να συμβάλουν και με άλλους τρόπους είτε άμεσα είτε έμμεσα. Άμεσα διευκολύνοντας την απόκτηση διαφόρων στοιχείων όπως άζωτο, φώσφορο και βασικά μέταλλα ή με τη ρύθμιση των επιπέδων των ορμονών των φυτών. Και, έμμεσα στη ανάπτυξη των φυτών με τη μείωση των ανασταλτικών επιδράσεων των διαφόρων παθογόνων (Glick, 2012). Τα βακτήρια *Burkholderia* spp. για πολλά χρόνια περιλαμβανόταν στο γένος *Pseudomonas* λόγω ευρέων και ασαφών φαινοτυπικών χαρακτηριστικών. Ωστόσο, οι αναλύσεις υβριδισμού rRNA-DNA στις αρχές της δεκαετίας του 1970 έδειξαν σημαντική γενετική ποικιλομορφία μεταξύ των μελών αυτού του γένους που χωρίστηκε σε πέντε ομάδες ομολογίας rRNA. Μεταγενέστερες γονοτυπικές αναλύσεις επιβεβαίωσαν ότι αυτές οι πέντε ομάδες σχετίζονται μόνο σε απόσταση μεταξύ τους. Το 1992, τα επτά είδη που ανήκουν στην ομάδα ομολογίας του rRNA II (*Pseudomonas solanacearum*, *P. pickettii*, *P. cepacia*, *P. gladioli*, *P. mallei*, *P. pseudomallei* και *P. caryophylli*) μεταφέρθηκαν στο νέο γένος *Burkholderia*. Τα μέλη του γένους *Burkholderia* έχουν ευρεία κατανομή που εμφανίζεται συνήθως στο έδαφος, το νερό, σε συμβίωση με φυτά και μύκητες και σε συνδυασμό με ζώα και ανθρώπους. Τα *Burkholderia* είναι κινητές και αρνητικές κατά gram (G-ve) ράβδοι που μπορεί να είναι ευθείες ή ελαφρώς κυρτές. Είναι αερόβιοι, θετικοί στην καταλάση, θετικοί στην ουρεάση, σχηματιστές μη σπορίων και μη ζυμωτικοί με λακτόζη. <https://www.mdpi.com/2218-1989/11/5/321>

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Τα βασικότερα συμπεράσματα που προκύπτουν από την παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη είναι τα παρακάτω:

1. Η ρόκα σε μισές περιπτώσεις μειώνει το ποσοστό των ασθενών φύλλων και τον αριθμό των προσβεβλημένων φυτών από το μύκητα όσον αφορά το μη αποστειρωμένο χώμα.
2. Στην περίπτωση του αποστειρωμένου χώματος τα αποτελέσματα είναι τελείως διαφορετικά εφόσον κατά την πάροδο των ημερών μετά την μόλυνση τα ποσοστά των ασθενών φύλλων αυξήθηκαν σε σημαντικό βαθμό όπως και ο συνολικός αριθμός των προσβεβλημένων φυτών.
3. Ωστόσο, οι αμυντικές αποκρίσεις της ρόκα στα φυτά σε μη αποστειρωμένο έδαφος, λειτούργησαν για την προστασία των φυτών από το μύκητα.
4. Το αντίθετο συνέβη στο αποστειρωμένο έδαφος όπου η ρόκα λειτούργησε ως τροφή για τον μύκητα *V. dahliae* και ευνόησε την ανάπτυξη του.
5. Επιπλέον η θετική επίδραση της ρόκας σε μη αποστειρωμένο έδαφος μπορεί να οφείλεται στη παραγωγή ανταγωνιστικών βακτηρίων στο έδαφος .
6. Σε αποστειρωμένο έδαφος η επίδραση της ρόκας ήταν ανύπαρκτη και αυτό οφείλεται στην απουσία των ανταγωνιστικών βακτηρίων .
7. Θα πρέπει να εξεταστεί ο ακριβής συνδυασμός αυτών των ανταγωνιστικών βακτηρίων και γλυκολικών οξέων και να αναπτυχθεί ο βαθμός της φυτοπροστασίας.
8. Θα πρέπει να αναζητηθεί η ποσότητα του γλυκολικού οξέος και των ανταγωνιστικών βακτηρίων που πρέπει να εφαρμοστεί ,σε ποιο σημείο πρέπει να εφαρμοστεί στο φυτό και σε ποια χρονική στιγμή
9. Να δίνεται η ικανότητα να αποικίζουν και να πολλαπλασιάζονται τα ωφέλιμα βακτήρια την εγκατάσταση του παθογόνου.
10. Τα υψηλότερα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου Pr-1 στην εφαρμογή του μύκητα μαζί με ρόκα σε μη αποστειρωμένο έδαφος το πιο πιθανό να οφείλεται στα βακτήρια *Burkholderia* spp.
11. Ενώ τα χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου στην εφαρμογή της ρόκας σε αποστειρωμένο έδαφος τον πιο πιθανό να οφείλεται στην απουσία των βακτηρίων *Burkholderia* spp.

12. Τα υψηλότερα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου Pr-4 επίσης παρουσιάζονται στην εφαρμογή του μύκητα μαζί με ρόκα σε μη αποστειρωμένο έδαφος ενώ τα χαμηλότερα στην εφαρμογή του μύκητα σε αποστειρωμένο έδαφος
13. Προφανώς το βακτήριο *Burkholderia* έχει ουσιαστικό δυναμικό βιοαποκατάστασης επειδή φιλοξενεί μεγάλη ποικιλία καταβολικών ενζύμων που μπορούν να αποικοδομήσουν ανθεκτικούς μύκητες σε ποικίλες περιβαλλοντικές συνθήκες.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Αντωνίου Π, 1995. Διδακτορική διατριβή. ΓΠΑ

Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology. Elsevier, CA, Academy

Bell AA, Presley JT (1969) Temperature effects upon resistance and phytoalexin synthesis in cotton inoculated

Birem F, Alcántara E, Blanco-López MA, López-Escudero FJ (2009) Physiological differences expressed by susceptible and resistant olive cultivars inoculated with *Verticillium dahliae*. 10th International Verticillium Symposium, Book of Abstracts, Corfu Island, Hellas, p 71

Bidochka, M.J., Burke, S., Ng, L., 1999. Extracellular hydrolytic enzymes in the fungal genus *Verticillium* : adaptations for pathogenesis. Can. J. Microbiol. 45, 856–864

Brinkerhoff, LA. ,1973. Verticillium wilt of cotton -Effects of environment on the pathogen and the disease. Proc. Work. Conf. College Sta. Texas :78—88.

Durrands, P.K., Cooper, R.M., 1988. Selection and characterization of pectinase-deficient mutants of the vascular wilt pathogen *Verticillium albo-atrum*. Physiol. Mol. Plant Pathol. 32, 343–362.

Δημητριάδης, Σ.Δ. 1970. Μαθήματα Φυτοπαθολογίας. Τόμος Β' Ειδική Φυτοπαθολογία (Νοσολογία). Αθήνα, σελ. 395

Fradin, E.F., and Thomma, B.P.H.J. (2006). Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V.dahliae* and *V.albo-atrum*. Molecular Plant Pathology 7, 71-86.

Frary, A., Doganlar, S., Daunay, M.C., 2007. Eggplant, in: Kole, C. (Ed.), Genome mapping & molecular breeding in plants. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 231–257.

Θανασουλόπουλος, Κ. 1992. Μυκητολογικές ασθένειες δένδρων και αμπέλου. Μαθήματα Ειδικής Φυτοπαθολογίας. Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη, σελ. 247

Θανασουλόπουλος Κ, 1978. Έρευνες και παρατηρήσεις στην βερτισιλλίωση της τομάτας. Διατριβή επί υφηγεσία. ΑΓΣΑ.

Klosterman, Steven J., Zahi K. Atallah, Gary E. Vallad, and Krishna V. Subbarao. 2009. "Diversity, Pathogenicity, and Management of *Verticillium* Species." Annual Review

Klimes A, Amyotte SG, Grant S, Kang S, Dobinson KF (2008) Microsclerotia development in *Verticillium dahliae*: regulation and differential expression of the hydrophobin gene VDH1. Fungal Genet Biol 45:1525–1532

Λιγοξυγκάκης, 1998. Μελέτη των βερτισιλλίωσεων των φυτών στη νήσο Κρήτη. Διδακτορική Διατριβή. ΑΠΘ

Levin, R.A., N.R. Myers, and L. Bohs. 2006. Phylogenetic relationships among the 'spiny solanums' (*Solanum* subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae) *American Journal of Botany* 93:157–169

Ligoxigakis, E. K., and Vakalounakis, D. J. (1994). The incidence and distribution of races of *Verticillium dahliae*. *Plant Pathology* 43:755-758

Mitchell, J.E., 1979. The dynamics of the inoculum potential of populations of soil-borne plant pathogens in the soil ecosystem. *Soil-borne Plant Pathogens*. Academic Press: 3-20

Olsson, S., and Nordbring-Hertz, B. (1985). Microsclerotial germination of *Verticillium dahliae* as affected by rape rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.* 31:293-299

Παπαϊωάννου Ιωάννης Βιολόγος. Γενετική και μοριακή μελέτη της ετεροκαρύωσης στον φυτοπαθογόνο μύκητα *verticillium*

Παναγόπουλος Χ, 1995 Μελέτη των βερτισιλλιώσεων των φυτών στη νήσο Κρήτη. Διδακτορική Διατριβή. ΑΠΘ.

Παναγόπουλος 1995, Λιγοξυγκάκης 1998. Ασθένειες κηπευτικών καλλιεργειών. Αθήνα

Pegg G. F., Brady B. L., 2002, *Verticillium Wilts*, Wallingford, UK: CABI Publishing

Παντελίδη Ιάκωβου .Φυτοπαθολογική και μοριακή διερεύνηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στην άμυνα των φυτών κατά των παθογόνων των αδρομυκώσεων", διδακτορική διατριβή Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 2009

Schnathorst, W. C. (1981). Life cycle and epidemiology of *Verticillium*. Pages 81-111 in: *Fungal Wilt Diseases of Plants*. M.E. Mace, A.A.Bell, and C.H. Beckman, eds. Academic Press, New York. 640pp

Σάββας Δημήτρης. Σημειώσεις Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Wilhelm, S. (1955). Longevity of the *Verticillium* wilt fungus in the laboratory and field. *Phytopathology*, 45, 180-181.

Repository - Library & Information Centre - University of Thess

<https://docplayer.gr/36185651-T-e-i-kritis-sholi-tehnologias-geoponias-tmima-fytikis-paragogis.htm>

<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.1079/cabicompndium.56275>

<https://www.hellenicaworld.com/Science/Biology/gr/ChimikiPoikilotita.html>

<https://www.didaktorika.gr/eadd/handle/10442/21770>

<https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungascope/pdlessons/Pages/VerticilliumWilt.aspx>

[https://www.researchgate.net/figure/Verticillium-wilts, Verticillium spp. \(Incertae sedis: Plectosphaerellaceae\) - 5338031 \(invasive.org\)](https://www.researchgate.net/figure/Verticillium-wilts, Verticillium spp. (Incertae sedis: Plectosphaerellaceae) - 5338031 (invasive.org))

www.researchgate.net/figure/a-Verticilliateconidiophore-b-phialospores-and-c-immature-and-d-mature_fig27_285941788

Oregon State University Plant Clinic

<https://www.aau.gr/ekk/wp-content/uploads/2017/01/3-%CE%9A%CE%91%CE%9B%CE%9B%CE%99%CE%95%CE%A1%CE%93%CE%95%CE%99%CE%91-%CE%9C%CE%95%CE%9B%CE%99%CE%A4%CE%96%CE%91%CE%9D%CE%91%CE%A3-%CE%A3%CE%A4%CE%9F-%CE%98%CE%95%CE%A1%CE%9C%CE%9F%CE%9A%CE%97%CE%A0%CE%99%CE%9F.pdf>

https://www.fitotech.gr/index.php?route=product/category&path=189_190

<https://www.spirou.gr/>

<https://www.statistics.gr/el/statistics/-/publication/SPG06/->

http://sites.science.oregonstate.edu/bpp/Plant_Clinic/images/eggplant_verticillium.htm

<https://gd.eppo.int/taxon/VERTDA/distribution>

<https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/VerticilliumWilt.aspx>

<https://www.hellenicaworld.com/Science/Biology/gr/ChimikiPoikilotita.html>

<https://www.didaktorika.gr/eadd/handle/10442/21770>

<https://www.didaktorika.gr/eadd/handle/10442/21770>

https://link-springer-com.translate.goog/chapter/10.1007/978-3-540-34536-7_9?error=cookies_not_supported&code=264cf187-7e8c-405e-ad50-6dd776824f75&x_tr_sl=en&x_tr_tl=el&x36_tr_hl=el&x_tr_pto=sc

<https://www.aau.gr/ekk/wp-content/uploads/2017/01/3-%CE%9A%CE%91%CE%9B%CE%9B%CE%99%CE%95%CE%A1%CE%93%CE%95%CE%99%CE%91%CE%9C%CE%95%CE%9B%CE%99%CE%A4%CE%96%CE%91%CE%9D%CE%91%CE%A3-%CE%A3%CE%A4%CE%9F-%CE%98%CE%95%CE%A1%CE%9C%CE%9F%CE%9A%CE%97%CE%A0%CE%99%CE%9F.pdf>

<https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/VerticilliumWilt.aspx>

<https://ir.lib.uth.gr/xmlui/bitstream/handle/11615/1237/P0001237.pdf?sequence=1>

<https://docplayer.gr/36185651-T-e-i-kritis-sholi-tehnologias-geoponias-tmima-fytikis-paragogis.htm>

<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.1079/cabicompendium.56275>

<https://www.statistics.gr/el/statistics/-/publication/SPG06/->

<https://www.hellenicaworld.com/Science/Biology/gr/ChimikiPoikilotita.html>

<https://www.didaktorika.gr/eadd/handle/10442/21770>

[https://www.researchgate.net/figureVerticillium wilts, Verticillium spp. \(Incertae sedis: Plectosphaerellaceae\) - 5338031 \(invasive.org\)](https://www.researchgate.net/figureVerticillium wilts, Verticillium spp. (Incertae sedis: Plectosphaerellaceae) - 5338031 (invasive.org))

www.researchgate.net/figure/a-Verticilliateconidiophore-b-phialospores-and-c-immature-and-d-mature fig27 285941788

[Oregon State University Plant Clinic](#)

<https://www.statistics.gr/el/statistics/-/publication/SPG06/->

http://sites.science.oregonstate.edu/bpp/Plant_Clinic/images/eggplant_verticillium.htm

[https://www.researchgate.net/figureVerticillium wilts, Verticillium spp. \(Incertae sedis: Plectosphaerellaceae\) - 5338031 \(invasive.org\)](https://www.researchgate.net/figureVerticillium wilts, Verticillium spp. (Incertae sedis: Plectosphaerellaceae) - 5338031 (invasive.org))

www.researchgate.net/figure/a-Verticilliateconidiophore-b-phialospores-and-c-immature-and-d-mature fig27 285941788

[Oregon State University Plant Clinic](#)