



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ
& ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη επιδημιολογίας και παθογένειας του ωμόκητα *Phytophthora boehmeriae*



Χασάν Σ. Σιράκ

Επιβλέπων καθηγητής:
Επαμεινώνδας Παπλωματάς, Καθηγητής ΓΠΑ

Αθήνα, 2024

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη επιδημιολογίας και παθογένειας του ωομύκητα *Phytophthora boehmeriae*

“Evaluation of epidemiology and pathogenicity
of the oomycete *Phytophthora boehmeriae*”

Χασάν Σ. Σιράκ

Εξεταστική Επιτροπή:

Επαμεινώνδας Παπλωματάς, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Δημήτριος Τσιτσιγιάννης, Καθηγητής ΓΠΑ

Αλίκη Τζίμα, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

Μελέτη επιδημιολογίας και παθογένειας του ωμούκητα *Phytophthora boehmeriae*

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

Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία παρουσιάζει μια ολοκληρωμένη μελέτη για την επιδημιολογία και την παθογένεια του ωμούκητα *Phytophthora boehmeriae*, ενός παθογόνου παράγοντα που ευθύνεται για σοβαρές ασθένειες σε διάφορες οικονομικά σημαντικές καλλιέργειες. Η έρευνα επικεντρώνεται στην κατανόηση των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ του *P. boehmeriae* και των φυτών ξενιστών του, δίνοντας έμφαση στην πιπεριά (*Capsicum annuum*). Η μελέτη ξεκινά με τη διερεύνηση της βιολογίας, του κύκλου ζωής και των μορφολογικών χαρακτηριστικών του *P. boehmeriae*. Ακολουθεί ανάλυση της ταξινόμησής του στο γένος *Phytophthora* και στην ευρύτερη ομάδα ωμουκήτων. Τα στάδια του κύκλου ζωής του παθογόνου, συμπεριλαμβανομένων των αναπαραγωγικών του στρατηγικών και των περιβαλλοντικών μηχανισμών επιβίωσης, εξετάζονται διεξοδικά για να παρέχουν μια θεμελιώδη κατανόηση της συμπεριφοράς του σε γεωργικές καλλιέργειες.

Η μεθοδολογία της έρευνας περιελάμβανε απομόνωση και καλλιέργεια διαφόρων στελεχών *P. boehmeriae* από μολυσμένους φυτικούς ιστούς, ακολουθούμενη από την παρασκευή και εφαρμογή εμβολίου υπό ελεγχόμενες συνθήκες. Μοριακές τεχνικές όπως η PCR και η ηλεκτροφόρηση χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση της γενετικής ποικιλομορφίας του παθογόνου και για τον εντοπισμό βασικών παραγόντων λοιμογόνου δράσης που συμβάλλουν στην παθογένειά του. Αυτά τα πειράματα σχεδιάστηκαν για να αναπαράγουν τις συνθήκες υπό τις οποίες τυπικά συμβαίνουν οι μολύνσεις από *P. boehmeriae* στο χωράφι, επιτρέποντας έτσι μια λεπτομερή εξέταση των μηχανισμών μόλυνσης του παθογόνου και την αλληλεπίδρασή του με διαφορετικές περιβαλλοντικές μεταβλητές, όπως υγρασία, θερμοκρασία και σύνθεση εδάφους.

Τα ευρήματα αυτής της μελέτης συμβάλλουν σε μια βαθύτερη κατανόηση της επιδημιολογίας του *P. boehmeriae*, αποκαλύπτοντας κρίσιμες γνώσεις για το πώς αυτό το παθογόνο εξαπλώνεται και εγκαθίσταται σε νέες περιοχές. Επιπλέον, η έρευνα υπογραμμίζει πιθανούς γενετικούς δείκτες που θα μπορούσαν να στοχευθούν σε μελλοντικές προσπάθειες για την αναπαραγωγή φυτικών ποικιλιών ανθεκτικών στις

ασθενειες. Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από αυτή την μελέτη αναμένεται να συμβάλουν στην ανάπτυξη αποτελεσματικότερων στρατηγικών διαχείρισης ασθενειών, μειώνοντας τελικά τις γεωργικές απώλειες που σχετίζονται με τις λοιμώξεις από το *Phytophthora*. Αυτή η μελέτη υπογραμμίζει τη σημασία της συνεχούς έρευνας στην παθολογία των φυτών για τη διασφάλιση της υγείας των καλλιεργειών και τη διασφάλιση της επισιτιστικής ασφάλειας έναντι των εξελισσόμενων φυτικών ασθενειών.

Επιστημονική περιοχή: Φυτοπαθολογία

Λέξεις κλειδιά: *Phytophthora boehmeriae*, παθογένεια ωομυκήτων, ασθένεια πιπεριάς (*Capsicum annuum*)

Evaluation of epidemiology and pathogenicity of the oomycete *Phytophthora boehmeriae*

MSc: Integrated Plant Protection & Environmental Management System”

Department of Crop Science

Phytopathology Lab

Abstract

This thesis presents a comprehensive study on the epidemiology and pathogenicity of the oomycete *Phytophthora boehmeriae*, a pathogen responsible for serious diseases in various economically important crops. The research focuses on understanding the complex interactions between *P. boehmeriae* and its host plants, emphasizing pepper (*Capsicum annuum*). The study begins by exploring the biology, life cycle, and morphological characteristics of *P. boehmeriae*. This is followed by an analysis of its classification within the *Phytophthora* genus and the broader oomycete group. The pathogen's lifecycle stages, including its reproductive strategies and environmental survival mechanisms, are thoroughly examined to provide a foundational understanding of its behavior in agricultural settings.

The research methodology involved isolating and cultivating various strains of *P. boehmeriae* from infected plant tissues, followed by the preparation and application of inoculum under controlled conditions. Molecular techniques such as PCR and electrophoresis were employed to analyze the genetic diversity of the pathogen and to identify key virulence factors that contribute to its pathogenicity. These experiments were designed to replicate the conditions under which *P. boehmeriae* infections typically occur in the field, thereby allowing for a detailed examination of the pathogen's infection mechanisms and its interaction with different environmental variables, such as humidity, temperature, and soil composition.

The findings of this study contribute to a deeper understanding of *P. boehmeriae*'s epidemiology, revealing critical insights into how this pathogen spreads and establishes itself in new regions. Additionally, the research highlights potential genetic markers that could be targeted in future efforts to breed disease-resistant plant varieties. The conclusions drawn from this work are expected to inform the development of more effective disease management strategies, ultimately reducing the agricultural losses associated with *Phytophthora* infections. This study underscores the importance of

continued research in plant pathology to safeguard crop health and ensure food security in the face of evolving plant diseases.

Scientific Area: Phytopathology

Keywords: Phytophthora boehmeriae, oomycete pathogenicity, pepper (*Capsicum annuum*) disease

Π Ε Ρ Ι Ε Χ Ο Μ Ε Ν Α

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
1.1 Η καλλιέργεια του φυτού της πιπεριάς-Ιστορικά στοιχεία.....	9
1.2 Βασικά βιολογικά και αγρονομικά χαρακτηριστικά.....	12
1.3 Καλλιέργεια.....	17
1.4 Προετοιμασία εδάφους-Απαιτήσεις.....	18
1.5 Μεταφύτευση.....	18
1.6 Άρδευση.....	19
1.7 Διαχείριση ζιζανίων.....	21
1.8 Λίπανση.....	22
1.9 Συγκομιδή.....	23
1.10 Ασθένειες.....	24
1.11 Βιοχημική σύνθεση.....	25
1.11.1 Βιταμίνες και μέταλλα, μεταξύ άλλων συστατικών.....	25
1.11.2 Καψαϊκινοειδή.....	25
1.12 Θεραπευτικές χρήσεις και ιατρικές ιδιότητες.....	26
1.13 Η καλλιέργεια της πιπεριάς στην Ελλάδα.....	27
1.14 Εχθροί και Ασθένειες.....	28
1.14.1 Προσβολές από έντομα.....	28
1.15 Οι φυτοπαθογόνοι μύκητες.....	31
1.16 Ο ωμόμηκας <i>Phytophthora boehmeriae</i>	33
1.16.1 Ιστορικά στοιχεία.....	33
1.16.2 Μορφολογία.....	33
1.16.3 Το γένος <i>Phytophthora</i>	35
1.16.4 Ταξινόμηση.....	35
1.16.5 Βιολογικός κύκλος.....	36
1.16.5.1 Κύκλος ζωής.....	37
1.16.5.2 Σύστημα σύζευξης.....	37
1.16.6 Τα παθογόνα χαρακτηριστικά των <i>Phytophthora</i>	38
1.16.6.1 Ασθένειες του <i>P. boehmeriae</i>	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	42
2.1 Φυτικό υλικό.....	42
2.2 Απομονώσεις, καλλιέργειες και διατήρηση ωμοκήτων.....	42

2.3 Παρασκευή μολύσματος.....	42
2.3.1 Καλλιέργεια παθογόνου σε V8 Agar	43
2.3.2 Καλλιέργεια παθογόνου σε PDA Agar	44
2.3.3 Απομόνωση DNAσε <i>P. boehmeriae</i>	45
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	49
3.1 Τα πρώτα αποτελέσματα	49
3.2 Οι ενδείξεις από το Nano- drop	49
3.1 Ηλεκτροφόρηση σε πήγμα αγαρόζης για το προϊόν PCR.....	50
3.1.1 Αποτελέσματα από την αλληλούχηση.....	51
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	63
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	66

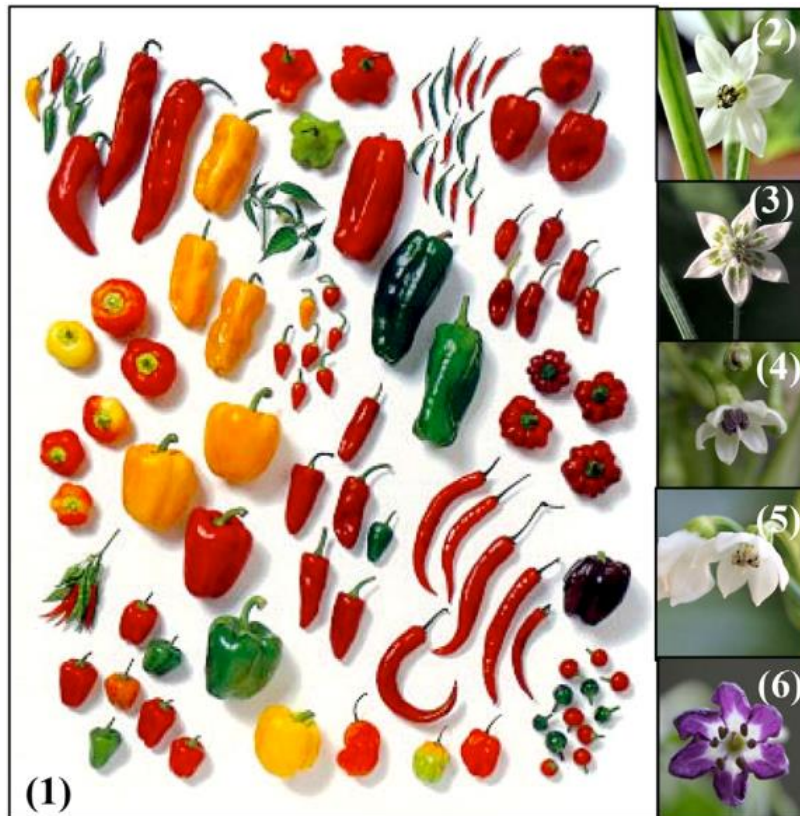
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η καλλιέργεια του φυτού της πιπεριάς-Ιστορικά στοιχεία

Η πιπεριά (*Capsicum* spp.) ανήκει στην οικογένεια *Solanaceae* και προέρχεται από τον Νέο Κόσμο. Η εξημέρωσή της στον Νέο Κόσμο συμπίπτει με την ανάπτυξη του ανθρώπινου πολιτισμού. Σύμφωνα με αρχαιολογικά ευρήματα, οι προϊστορικοί πολιτισμοί (1700 π.Χ. -100 π.Χ.) καλλιεργήσαν καλαμπόκι, πιπεριά, ντομάτα, φασόλια και κολοκύθια χρησιμοποιώντας σχετικά καλά ανεπτυγμένες τεχνολογίες. Από τα πέντε εξημερωμένα είδη πιπεριάς, το *Capsicum annuum* L. ήταν το πιο διαδεδομένο. Σε ορισμένες χώρες είναι βασικό τρόφιμο π.χ. στην Ινδία, το Μεξικό (Guerrero-Moreno and Laborde, 1980) και την Τουρκία, ένα από τα πιο σημαντικά λαχανικά και βιομηχανικά φυτά (π.χ. ΝΑ-Ευρώπη, χώρες της Μεσογείου).

Η πιπεριά ανήκει στο γένος *Capsicum* και αποτελεί ένα από τα παλαιότερα και πιο δημοφιλή λαχανικά, καρυκεία και μπαχαρικά στον κόσμο. Υπάρχουν περίπου 25 είδη σε αυτό το γένος και το κέντρο προέλευσης είναι η Κεντρική και Νότια Αμερική και το Μεξικό. Ωστόσο, έχει προταθεί όχι μόνο μια ενιαία περιοχή εξημέρωσης, αλλά ένα πολυπεριφερειακό μοντέλο από τη μετέπειτα συμμετοχή στην εξημέρωσή της, ή περιοχή διανομής, από τη Νοτιοδυτική Ασία και την Κίνα (Kraft et al., 2014). Αυτό το φυτό έχει χρησιμοποιηθεί από την αρχαιότητα ως φυτικό-φυσικό χρώμα καθώς και στην παραδοσιακή ιατρική. Είναι από τα πρώτα φυτά που εξημερώθηκαν στη Μεσοαμερικανική υπο-ήπειρο. Υπάρχουν στοιχεία για την κατανάλωσή του το 7.500 π.Χ. (Bosland, 1996).

Η πιπεριά, *Capsicum* sp., ανήκει στην οικογένεια *Solanaceae* μαζί με πατάτα (*Solanum tuberosum*), ντομάτα (*Solanum lycopersicum*), και τον καπνό (*Nicotiniana tabacum*). Το γένος *Capsicum* περιλαμβάνει περίπου 30 είδη, 5 από τα οποία είναι εξημερωμένα: *Capsicum annuum*, *Capsicum pubescens*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum frutescens* και *Capsicum chinense*. Το *Capsicum annuum* είναι το ευρύτερα καλλιεργούμενο είδος πιπεριάς και περιλαμβάνει καυτερές και γλυκές ποικιλίες. Οι πιπεριές είναι δημοφιλείς, όχι μόνο για την ξεχωριστή γεύση και το άρωμά τους, αλλά και για τα οφέλη για την υγεία που προσφέρουν κατά την κατανάλωση (Bargetta et al., 2020).



Εικόνα 1: Ποικιλομορφία των ειδών *Capsicum*. (1) Κάποια διαφορετικά είδη πιπεριάς τσίλι ταξινομημένα κατά σχήμα καρπού, μέγεθος και χρώμα και διαφορετικοί τύποι λουλουδιών για *C. annuum* (2), *C. baccatum* (3), *C. chinense* (4), *C. frutescens* (5) και *C. pubescens* (6) (Πηγή: http://fysiognwsia.blogspot.com/2011/11blog-post_29.html?m=1)

Το *Capsicum* είναι ένα οικονομικά σημαντικό γένος της οικογένειας Solanaceae και περιέχει τουλάχιστον 32 είδη εγγενή στην τροπική Αμερική. Πέντε είδη καλλιεργούνται ευρέως σε διαφορετικές περιοχές αυτής της ηπείρου: το *C. annuum* L. που καλλιεργείται στο Μεξικό και τη Βόρεια Κεντρική Αμερική. Το *C. chinense* φυτεύεται στις Δυτικές Ινδίες, στη Βόρεια Νότια Αμερική και την περιοχή του Αμαζονίου. Το *C. frutescens* L. καλλιεργείται κυρίως στην Καραϊβική και τη Νότια Αμερική. Το *C. baccatum* L. πολλαπλασιάζεται στο Περού και τη Βολιβία. και το *C. pubescens*, πιο ανεκτικό σε χαμηλές θερμοκρασίες, εντοπίζεται σε μεγάλα υψόμετρα στις Άνδεις. Το 2017, η παγκόσμια παραγωγή *Capsicum* έφτασε περίπου τα 36 εκατομμύρια και η Κίνα είχε την υψηλότερη παραγωγή παγκοσμίως (17.821.238 τόνοι), ακολουθούμενη από το Μεξικό (3.296.875 τόνους). Λόγω αυτής της μεταβλητότητας, οι άγριες και οι καλλιεργημένες πιπεριές μπορούν να διακρίνονται από μορφολογικές διαφορές (μέγεθος, χρώμα και μορφή καρπών).

Η ποικιλία των χρωμάτων στις πιπεριές σχετίζεται με την παρουσία χρωστικών, όπως η χλωροφύλλη (πράσινη), οι ανθοκυανίνες (βιολετί/μοβ), καθώς και η α- και β-καροτίνη, η ζεαξανθίνη, η λουτεΐνη και η β-κρυπτοξανθίνη (κίτρινο/πορτοκαλί). Αυτοί οι καρποί υφίστανται βαθείς μορφολογικούς, φυσιολογικούς και μεταβολικούς μετασχηματισμούς κατά την ωρίμανση, οι οποίοι επηρεάζονται από τον γονότυπο, την ωριμότητα και τις συνθήκες ανάπτυξης. Από την άλλη πλευρά, το *Capsicum* παρουσιάζει απίστευτη ποικιλομορφία και εξαιρετικές χημικές ενώσεις που συμβάλλουν στην υγεία, όπως καψαϊκινόειδη, συμπεριλαμβανομένης της καψαϊκίνης, καροτενοειδή (προβιταμίνη Α), φλαβονοειδή, βιταμίνες (C και E), μέταλλα και αιθέρια έλαια, με αντικαρκινικά, αντι-φλεγμονώδη, αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Gómez-García and Ochoa-Alejo, 2013).

Το 1800, οι πικάντικες ενώσεις από το *Capsicum* εξήχθησαν για πρώτη φορά και καθιερώθηκε η πικάντικη γεύση ή οσμή. Αργότερα, έγινε γνωστό ότι αυτά τα συστατικά παράγονται ως αμυντικός μηχανισμός έναντι φυτοφάγων και μυκήτων (Paproiu and Yosipovitch, 2010). Οι πέντε κύριες ενώσεις των περισσότερων ειδών *Capsicum* είναι η καψαϊκίνη (69%), ακολουθούμενη από τη διυδροκαψαϊκίνη (22%), τη νορδιυδροκαψαϊκίνη (7%), την ομοκαψαϊκίνη (1%) και την ομοδιυδροκαψαϊκίνη (1%) (σχετική αφθονία) (Perry et al., 2007). Στις περισσότερες ποικιλίες, η περιεκτικότητα σε καψαϊκίνη είναι πάντα το κυρίαρχο καψαϊκινόειδες, μόνο στο *C. baccatum*, μια καλλιέργεια που δεν καλλιεργείται τόσο ευρέως, η διυδροκαψαϊκίνη μπορεί να φτάσει έως και το 51% (Uarrota et al., 2000). Σήμερα, η έρευνα επικεντρώνεται στη βελτίωση της απομόνωσης, του καθαρισμού και των χρήσεων της καψαϊκίνης, αν και η επιστημονική φαρμακολογική αναγνώρισή της ξεκίνησε γύρω στα μέσα του 19ου αιώνα. Σε εκείνο το στάδιο, άρχισε να περιγράφεται ως μια ένωση με πολλαπλές ιδιότητες, όπως φυσικό πρόσθετο τροφίμων, καθώς και πολυάριθμα φαρμακευτικά οφέλη (Paproiu and Yosipovitch, 2010).

Σύμφωνα με αρχαιολογικά στοιχεία, το άγριο τσίλι χρησιμοποιούταν ως τροφή από περίπου το 8.000 π.Χ. (Aguilar-Meléndez et al., 2009). Ωστόσο, τα παλαιότερα στοιχεία για εξημερωμένα τσίλι βρέθηκαν στην κοιλάδα Tehuacán (Νότιο-κεντρικό Μεξικό), περίπου από το 5.000 έως το 6.000 π.Χ. (Pickersgill, 2007).

Ουσιαστικά, δύο κύριοι τύποι κατανάλωσης πιπεριού επικρατούν σε όλο τον κόσμο. Οι πιπεριές τύπου μπαχαρικών καταναλώνονται σε μικρές δόσεις για την πικάντικη

γεύση ή την κόκκινη χρωστική τους, λαμβάνοντας υπόψη ότι αυτά που καταναλώνονται σε ποσότητα ως τρόφιμο μπορούν να χαρακτηριστούν ως είδη λαχανικών.

1.2 Βασικά βιολογικά και αγρονομικά χαρακτηριστικά

Όπως αναφέρθηκε ανωτέρω, το *Capsicum annuum* L. είναι ένα εξημερωμένο είδος του φυτού του γένους *Capsicum* στην οικογένεια Solanaceae, εγγενές στη νότια Αμερική. Ο καρπός είναι μούρο και μπορεί να είναι πράσινος, κίτρινος ή κόκκινος όταν ωριμάσει. Υπάρχουν περισσότερα από 200 κοινά ονόματα που χρησιμοποιούνται για αυτό το είδος. Τα πιο κοινά περιλαμβάνουν πιπεριά τσίλι, πάπρικα (γλυκές ποικιλίες), πιπεριά, καγιέν, jalapeños, chiltepin (καυτερές ποικιλίες).

Στο παρελθόν ορισμένες ξυλώδεις μορφές αυτού του είδους ονομάζονταν *C. frutescens*, αλλά τα χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν για τη διάκριση αυτών των μορφών εμφανίζονται σε πολλούς πληθυσμούς του *C. annuum* και δεν υπάρχει σταθερά αναγνωρίσιμο είδος *C. frutescens*. Το *Capsicum annuum* μπορεί να είναι δύσκολο να διαχωριστεί από την καλλιεργούμενη πιπεριά *C. chinense* (η πιο καυτερή πιπεριά) και *C. frutescens* (πιπεριά tabasco) και τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά μπορεί να επικαλύπτονται. Αυτά τα τρία είδη μοιράζονται την ίδια προγονική δεξαμενή γονιδίων και μερικές φορές ονομάζονται «σύμπλεγμα annuum-chinense-frutescens». Η ορολογία του πιπεριού είναι πολύ μπερδεμένη με το πιπέρι, το τσίλι, το τσίλι, το τσίλι, το άζι, την πάπρικα και την πιπεριά που χρησιμοποιούνται εναλλακτικά για να περιγράψουν το φυτό. Υπάρχουν πολλές τοπικές ποικιλίες που καλλιεργούνται στη Δυτική Αφρική.

Οι ποικιλίες του *Capsicum annuum* ταξινομούνται με βάση το σχήμα των καρπών τους. Οι καρποί σχηματίζονται ως αποτέλεσμα της ανάπτυξης και της διαφοροποίησης του γυναικείου μετά τη γονιμοποίηση. Είναι επομένως προϊόν όψιμων μορφολογικών και δομικών τροποποιήσεων στα καρπόφυλλα. Το γένος *Capsicum* (γλυκό και καυτερό πιπέρι) παρουσιάζει ενδοειδική ποικιλομορφία στον τύπο, το χρώμα, το σχήμα, τη γεύση και το βιοχημικό περιεχόμενο. Το είδος περιλαμβάνει μια μεγάλη ποικιλία σχημάτων και μεγεθών πιπεριών, τόσο ήπιες όσο και καυτερές, που κυμαίνονται από απλές πιπεριές μέχρι πιπεριές τσίλι. Υπήρξε μεγάλη συζήτηση μεταξύ βοτανολόγων και ταξινομητών ως προς τον αριθμό και την ταξινόμηση των ειδών *Capsicum*. αλλά

είναι πλέον ευρέως αποδεκτό ότι το γένος *Capsicum* αποτελείται από 5 εξημερωμένα είδη και 26 άγρια είδη.

Τα είδη *Capsicum* είναι θάμνοι (ετήσιοι στην καλλιέργεια) που παράγουν άνθη με ως επί το πλείστον αστεροειδή έως περιστρεφόμενα στεφάνια που παρουσιάζουν κυρίως σφαιρικά μούρα διαφορετικών μεγεθών και χρωμάτων. Ένα άλλο αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό του *Capsicum* είναι η εμφάνιση δυσπλοειδίας, καθώς ο βασικός αριθμός χρωμοσωμάτων μπορεί να είναι είτε $x = 12$ είτε 13 (Moscone et al., 2007).

- **Ριζικό σύστημα**

Το ριζικό σύστημα της πιπεριάς είναι πασσαλώδες. Όπως θα αναφερθεί και σε επόμενη ενότητα, αφού πραγματοποιηθεί η μεταφύτευση, προκαλείται τραυματισμός της ρίζας με αποτέλεσμα να σχηματίζονται δευτερεύουσες πλάγιες ρίζες. Το ριζικό σύστημα της πιπεριάς δύναται να φτάσει σε βάθος μέχρι και 1 μέτρου.

- **Βλαστός**

Στα πρώτα στάδια ανάπτυξης ο βλαστός του φυτού είναι μονοστέλεχος. Έπειτα σχηματίζονται νέοι βλαστοί και ανάμεσα σε αυτούς δημιουργείται ο πρώτος ανθοφόρος οφθαλμός που αποτελεί τον βασικό οφθαλμό από τον οποίο θα σχηματιστεί και ο πρώτος καρπός. Ακολουθεί η ανάπτυξη δύο φύλλων όπου σχηματίζονται δύο νέοι βλαστοί στη βάση των οποίων αναπτύσσεται ένας νέος ανθοφόρος βλαστός.

- **Φύλλα**

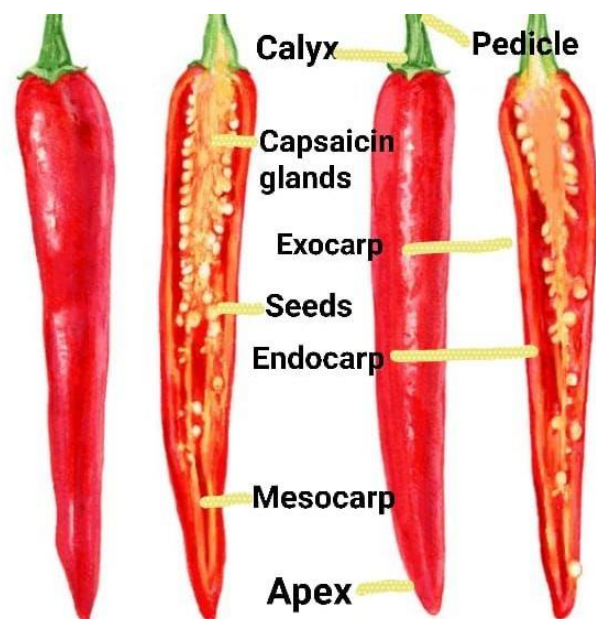
Τα φύλλα είναι απλά, ελλειπτικά, ακέραια, με οξεία απόληξη. Το χρώμα τους είναι πράσινο και ο μίσχος του φύλλου έχει μήκος 3-5 cm.

- **Άνθη**

Τα άνθη έχουν χαρακτηριστικό λευκό ή λευκοπράσινο χρώμα, σπανίως ιόχρωμα και φέρονται στη βάση κάθε διακλάδωσης, μονήρη ή κάποιες φορές ανά 2-3 με συστέπαλο πεντάλοβο κάλυκα και στεφάνη τροχοειδή, συνήθως πεντάλοβη. Οι στήμονες είναι 5, σπανίως 6 ή 7, με ανθήρες ιώδους απόχρωσης. Η ωοθήκη είναι δίχωρη, τρίχωρη ή τετράχωρη και φέρει στύλο μακρύτερο από τους στήμονες.

Η πιπεριά τσίλι (*Capsicum annuum* L.) είναι ένα από τα πιο σημαντικά οικονομικά γένη της οικογένειας Solanaceae. Τα πέντε πιο σημαντικά οικονομικά είδη τσίλι, από τα 25 αναγνωρισμένα είδη, είναι τα *C. annuum*, *C. frutescens* L., *C. baccatum* L., *C.*

pubescens Ruiz. & Pav., και *C. chinense* Jacq. Το γένος *Capsicum* περιέχει περίπου 50.000 ποικιλίες πιπεριάς και λόγω αυτής της βιοποικιλότητας η χημική σύνθεση παρουσιάζει μεγάλη μεταβλητότητα (Antonio et al., 2018). Οι εξημερωμένες μορφές είναι εξαιρετικά ποικίλες στα χρώματα των καρπών και των λουλουδιών και συνήθως διατηρούν τον καρπό στον μίσχο στο στάδιο της ωριμότητας. Οι άγριες μορφές έχουν μικρούς, κόκκινους, φυλλοβόλους καρπούς που μοιάζουν με μούρα, και αν δεν καταναλωθούν από τα πουλιά πέφτουν στο έδαφος. Το γένος *Capsicum* μπορεί να ταξινομηθεί ανάλογα με τη δομή των λουλουδιών και των καρπών του και παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία σχήματος, μεγέθους και χρώματος καρπού. Τα άγρια είδη έχουν μικρούς, κόκκινους, όρθιους καρπούς και σπόρους. Οι ώριμοι καρποί πιπεριάς που ανήκουν σε διαφορετικές ποικιλίες εμφανίζουν μια γκάμα χρωμάτων από λευκό έως βαθύ κόκκινο. Η ένταση του κόκκινου χρώματος και ο βαθμός της οξύτητας είναι οι κύριες ποιοτικές παράμετροι. Η ποσότητα της καψαϊκίνης στις καυτερές πιπεριές ποικίλλει επίσης σημαντικά μεταξύ των ποικιλιών και μετράται σε μονάδες θερμότητας Scoville (SHU) (Arimboor et al., 2015).



Εικόνα 2: Ανατομία πιπεριάς Τσίλι
(Πηγή: <https://pepperscale.com/pepper-anatomy/>)

Σύμφωνα με την Εικόνα 2 η ανατομία της πιπεριάς είναι η ακόλουθη:

Μίσχος (Pedicel): Ο ποδίσκος είναι ένα μακρύ κλαδί στο οποίο η άκρη είναι το άνθος.

Κάλυκας (Calyx): Ο κάλυκας ή η κορώνα είναι η δομική βάση του άνθους. Γενικά έχει πράσινο χρώμα και οι κορυφές του ονομάζονται σέπαλα.

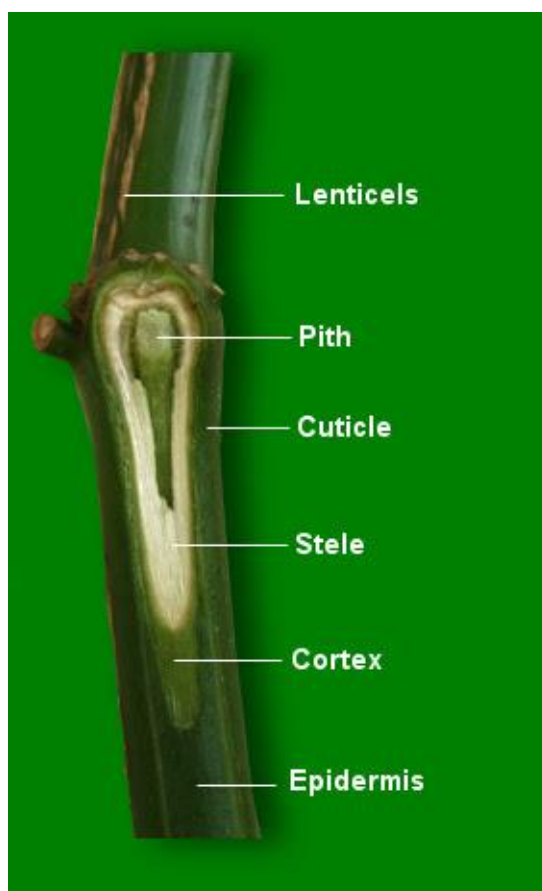
Σπόροι (Seeds): Περιέχουν πολύ μικρή ποσότητα νερού αλλά πλούσιο σε λεκιθίνη. Σε αντίθεση με τη δημοφιλή πεποίθηση, οι σπόροι δεν περιέχουν καψαΐκη.

Ενδοκάρπιο (Endocarp): Είναι το εσωτερικό του καρπού, δηλαδή αυτό που περικλείει τον πλακούντα και τους σπόρους.

Μεσοκάρπιο (Mesocarp): Ενδιάμεσο μεταξύ του Ενδοκάρπιου και του Εξωκάρπιου. Είναι η σάρκα του καρπού που συνήθως περιέχει το μεγαλύτερο μέρος της περιεκτικότητας σε νερό και παρέχει δομική υποστήριξη.

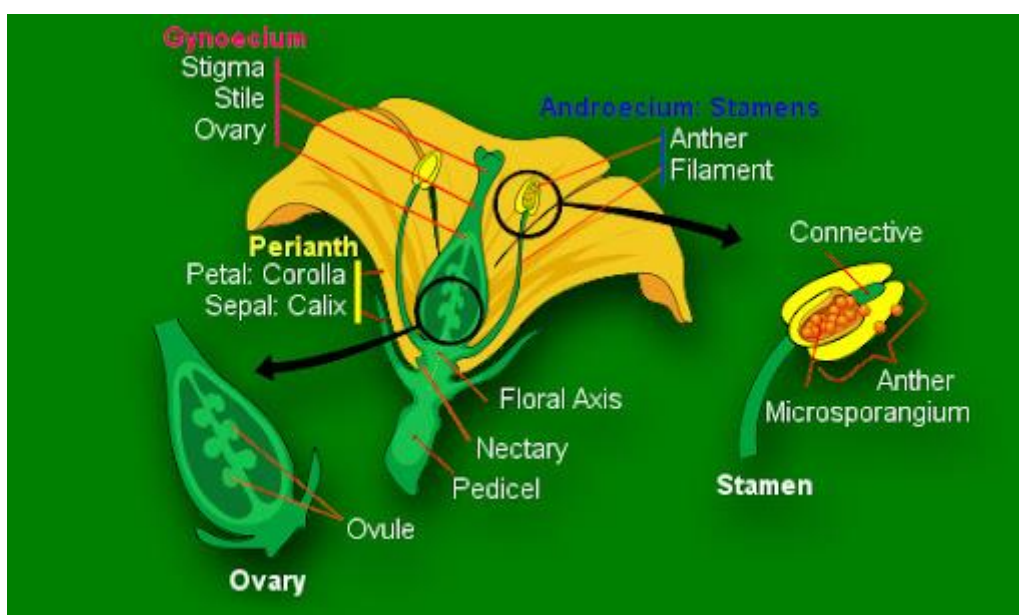
Εξωκάρπιο (Exocarp): Είναι το εξωτερικό προστατευτικό στρώμα ενός φρούτου που συνήθως ονομάζεται φλούδα.

Άκρη (Apex): Αποτελεί το τελικό τμήμα του καρπού, η άκρη. Ανάλογα με την ποικιλία μπορεί να είναι περισσότερο ή λιγότερο στρογγυλεμένο.



Εικόνα 3: Η δομή του καψιου
(Πηγή: <http://www.chileplanet.eu/>)

Το φυτό τσίλι ανήκει στην κατηγορία των Δικοτυλήδονων καθώς η δομή του στελέχους του είναι οργανωμένη σε ομόκεντρα στρώματα. Ξεκινώντας από έξω είναι: η επιδερμίδα, ο φλοιός, ο κεντρικός κύλινδρος και η εντεριώνη. Η επιδερμίδα είναι ένα λεπτό εμποτισμένο στρώμα κεριού. Η επιδερμίδα είναι ένα σύνολο ζωντανών κυττάρων που καλύπτουν ολόκληρο τον κορμό και τα κλαδιά. Η επιδερμίδα είναι υπεύθυνη για τη λειτουργία της εξωτερικής προστασίας, ελέγχοντας την απώλεια νερού από την εξάτμιση. Ο φλοιός, σε ένα πράσινο στέλεχος όπως στην περίπτωση αυτή, σχηματίζεται από παρεγχυματώδη κύτταρα. Στον κεντρικό κύλινδρο, είναι διατεταγμένα αγωγά αγγεία. Τα ξυλώδη αγγεία είναι προσανατολισμένα προς το εσωτερικό του στελέχους και χρησιμοποιούνται για τη μεταφορά ακατέργαστου χυμού (νερό και μέταλλα), ενώ αυτά του φυλλώματος προσανατολίζονται προς τα έξω και προορίζονται για τη μεταφορά του χυμού που προέρχεται από τα φύλλα (σάκχαρα και οργανικές ουσίες) σε άλλους ιστούς του φυτού (Εικόνα 3). Η εντεριώνη βρίσκεται μέσα στον κεντρικό κύλινδρο, όπου συνήθως εμφανίζεται με τη μορφή σπογγώδους ιστού και την παρουσία μεγάλων μεσοκυττάρων χώρων.



Εικόνα 4: Ανατομία του άνθους
(Πηγή: <http://www.chileplanet.eu/>)

Εκτός από ορισμένα άγρια είδη, το φυτό του τσίλι είναι αυτογονιμοποιούμενο φυτό (αυτογόνιμο). Η αυτογονιμοποίηση συμβαίνει όταν η γύρη πηγαίνει απευθείας από τον ανθήρα του λουλουδιού στο στίγμα του ίδιου λουλουδιού. Η μέση διάρκεια ζωής ενός λουλουδιού μετά το άνοιγμα είναι 2-3 ημέρες, στη συνέχεια προσκολλάται και γίνεται καρπός ή στεγνώνει και πέφτει (Εικόνα 4). Η πτώση των ανθέων είναι φυσιολογική,

ειδικά με τις υψηλές θερμοκρασίες του καλοκαιριού που μπορεί να επηρεάσουν την καρπόδεση. Μια βέλτιστη θερμοκρασία θα ήταν: 25° C την ημέρα και τη νύχτα 18° C. Ωστόσο, δεν είναι όλα τα φυτά ίδια, γενικά, το *C. annuum* αντέχει καλύτερα στη ζέστη.

Τα είδη *Capsicum* περιγράφονται με όρους γενετικής απόκλισης, λαμβάνοντας υπόψη μορφολογικά, αγρονομικά και μοριακά χαρακτηριστικά (Dias et al., 2012). Μπορούν να διακριθούν από τα φυτικά τους χαρακτηριστικά (Bharath, et al., 2014). Το *C. annuum* έχει μπλε ή λευκό χρώμα. Το *C. chinense* έχει λευκή κιτρινωπή στεφάνη, στένωση κάλυκα, περισσότερα από δύο άνθη ανά κόμβο και μπλε ανθήρα. Το *C. frutescens* παρουσιάζει κηρώδεις πρασινωπές κηλίδες στο λαιμό. Το *C. pubescens* παρουσιάζει χαρακτηριστικά μωβ άνθη με λευκές κηλίδες στο λαιμό και μωβ ανθήρα. Το *C. baccatum* εμφανίζει λευκή στεφάνη με πρασινοκίτρινες κηλίδες στο λαιμό και κίτρινο ανθήρα.

1.3 Καλλιέργεια

Το *Capsicum annuum* καλλιεργείται με υδροπονία σε γυάλινα θερμοκήπια. Παρέχει υψηλή απόδοση στους γεωργούς και η καυτερή πιπεριά, συμπεριλαμβανομένης της καψανθίνης και της καפורουβίνης, είναι η πιο ευρέως καταναλωμένη. Η καλλιέργεια καυτερής πιπεριάς μπορεί να πραγματοποιηθεί με διαφορετικούς τρόπους και μπορούν να καλλιεργηθούν διαφορετικά χρώματα πάπρικας. Η υδροπονική, μια μέθοδος καλλιέργειας χωρίς έδαφος, χρησιμοποιεί διαλύματα ορυκτών θρεπτικών συστατικών και αναπτύσσει φυτά σε ένα γυάλινο θερμοκήπιο, το οποίο επηρεάζεται λιγότερο από την κλιματική αλλαγή και τους περιορισμούς των φυσικών πόρων, αλλά είναι πιο δαπανηρή από τη συμβατική καλλιέργεια εδάφους (Sardare and Admane, 2013).

Παραδοσιακά, ο σπόρος πιπεριάς φυτεύεται απευθείας στο χωράφι. Η περίοδος καλλιέργειας (90 - 250 ημέρες), από τη βλάστηση έως τη συγκομιδή εξαρτάται από το κλίμα, την εποχή, τις μεθόδους καλλιέργειας, τις ποικιλίες και τις απαιτήσεις της αγοράς. Σε ένα ζεστό κλίμα αλλά σε ορισμένα μέρη του κόσμου (π.χ. στη λεκάνη των Καρπαθίων) μέχρι το 48ο βόρειο γεωγραφικό πλάτος στην εύκρατη ζώνη, η πιπεριά μπορεί να καλλιεργηθεί ως καλλιέργεια αγρού. Σε ψυχρότερο κλίμα καλλιεργείται μόνο σε θερμοκήπια ή κάτω από πλαστικό κάλυμμα. Οι εντατικές ποικιλίες πιπεριάς τύπου λαχανικού έχουν δυνητική απόδοση από 20 έως 50 τόνους ανά στρέμμα.

Οι συνήθεις μέθοδοι καλλιέργειας πιπεριάς αποτελούν: μαζική και ατομική, γενεαλογική ανάπτυξη και αναδρομική διασταύρωση, υβριδική ανάπτυξη για

παραγωγικότητα, ποιότητα και αντοχή. Επιπλέον, οι περισσότερες από τις προηγμένες πρακτικές έχουν υιοθετηθεί ή δοκιμαστεί από καλλιεργητές πιπεριάς και γενετιστές π.χ. μεταλλαξιγένεση, πολυπλοειδία, απλοειδία, ανευπλοειδία, ενδοειδική διασταύρωση, σύνθετη διασταύρωση, κλπ.

1.4 Προετοιμασία εδάφους-Απαιτήσεις

Αναφορικά με την προετοιμασία του αγρού, αρχικά, λαμβάνει χώρα ένα βαθύ όργωμα σε βάθος 30-40 cm κατά τη χειμερινή περίοδο. Αρκετά νωρίς κατά τη διάρκεια της άνοιξης, πραγματοποιείται κατεργασία του εδάφους. Επιπρόσθετα, πριν την έναρξη της μεταφύτευσης πραγματοποιείται κατεργασία με φρέζα προκειμένου να ενσωματωθεί η βασική λίπανση και το εντομοκτόνο στο έδαφος. Στις περιπτώσεις όπου το έδαφος είναι βαρύ έπεται η μεταφύτευση, ωστόσο σε περιπτώσεις όπου το έδαφος είναι ελαφρύ πραγματοποιείται μία επιπρόσθετη κατεργασία του εδάφους με καλλιεργητή.

Τα εδάφη που προτιμώνται για την καλλιέργεια της πιπεριάς είναι τα μέσης σύστασης εδάφη, ελαφριά, βαθιά, και αποστραγγιζόμενα. Τα εδάφη που είναι πλούσια σε οργανική ουσία συμβάλλουν σε μεγαλύτερες αποδόσεις. Η πιπεριά έχει τη δυνατότητα να καλλιεργείται σε ουδέτερα έως και σε ελαφρώς αλκαλικά εδάφη. Γενικά, η απευθείας σπορά της πιπεριάς δεν είναι η προτιμότερη μέθοδος καλλιέργειας καθώς το φύτρωμα του σπόρου είναι ιδιαίτερα απαιτητικό και εξαρτώμενο από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Στις περιπτώσεις όπου επικρατούν υψηλές θερμοκρασίες, η ανάπτυξη του σπορόφυτου δυσχεραίνεται.

1.5 Μεταφύτευση

Τα φυτάρια συχνά υποβάλλονται, μετά τη μεταφύτευση, σε περιόδους αφυδάτωσης, ιδιαίτερα σε συνθήκες υψηλής εξατμισοδιαπνοής. Είναι κοινή παρατήρηση ότι υπό τέτοιες συνθήκες οι μεταφυτεύσεις έχουν μειωμένους ρυθμούς ανάπτυξης (μεταφυτευτικό σοκ). Το χρονικό διάστημα μέχρι την επανέναρξη της ταχείας ανάπτυξης εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες αλλά είναι επίσης ένα κληρονομικό χαρακτηριστικό για κάθε καλλιέργεια. Φαίνεται ότι διαφορετικές καλλιέργειες έχουν διαφορετικές ικανότητες να ανακάμψουν από το σοκ μεταφύτευσης και αυτό εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ικανότητά τους να αντέχουν τη διαταραχή που υφίσταται η ρίζα.

Η πιπεριά είναι γνωστό ότι είναι ευαίσθητη στο σοκ της μεταφύτευσης (McKee, 1981). Η μεταφύτευση λαχανικών είναι μια τυπική διαδικασία στην Ευρώπη και

χρησιμοποιείται ευρέως και στη Βόρεια Αμερική. Παράγοντες, όπως η ηλικία της μεταφύτευσης, το κλάδεμα και η γονιμότητα, επηρεάζουν την απόδοση της πιπεριάς. Έχει επίσης αναφερθεί ότι τόσο η ανάπτυξη όσο και η απόδοση της πιπεριάς τσίλι, επηρεάζονται σημαντικά από τις διαφορετικές ηλικίες μεταφυτεύσεων και την ημερομηνία μεταφύτευσης. Ωστόσο, έχει αναφερθεί ότι, η επίδραση της ηλικίας μεταφύτευσης εξαρτάται από τον τύπο του λαχανικού που καλλιεργείται, το είδος του περιβάλλοντος που θα αναπτυχθούν τα φυτά και τις αναμενόμενες οικονομικές αποδόσεις (Akinrotimi and Aniekwe, 2018).

Η καλλιέργεια της πιπεριάς παρουσιάζει κοινά στοιχεία με την καλλιέργεια της τομάτας. Οι πρακτικές που ακολουθούνται για την καλλιέργεια της πιπεριάς είναι ανάλογες με αυτές για την καλλιέργεια της τομάτας. Ειδικότερα, όταν τα νεαρά φυτά έχουν 5-6 φύλλα και ύψος γύρω στα 15-20 εκ. τότε υπάρχει η δυνατότητα να γίνει και η μεταφύτευση στον αγρό. Για να γίνει αυτό, προηγείται καλό πότισμα του σπορείου τουλάχιστον μια ώρα πριν από την εκρίζωση των φυταρίων. Το αξιοσημείωτο είναι ότι πριν από τη μεταφύτευση τα νεαρά φυτά για κάποιο χρονικό διάστημα «σκληραγωγούνται» μέσω της μείωσης της συχνότητας των ποτισμάτων. Αυτή είναι μία πρακτική που συνηθίζεται να προϋπάρχει της μεταφύτευσης προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί και να ξεπεραστεί το μεταφυτευτικό σοκ. Αναφορικά με τη μεταφύτευση στον αγρό, οι πιπεριές μεταφυτεύονται κατά γραμμές, όπου οι αποστάσεις ανάμεσα στις γραμμές απέχουν 60-70 cm και επί των γραμμών είναι 30-50cm συναρτήσει της ποικιλίας.

Στο χρονικό διάστημα Απριλίου-Μαΐου λαμβάνει χώρα η φύτευση στο αγρόκτημα. Επιλέγεται η συγκεκριμένη χρονική περίοδος, καθώς ευνοείται λόγω των κατάλληλων για την καλλιέργεια καιρικών συνθηκών και των υψηλότερων θερμοκρασιών. Είναι σημαντικό να αναφερθεί η δυνατότητα που έχει ο βλαστός του φυτού κατά τη μεταφύτευση να υποκαθιστά τυχόν βλάβες που έχει υποστεί το ριζικό σύστημα μέσω της ανάπτυξης νέων πλάγιων ριζών συμβάλλοντας παράλληλα στη θρέψη του φυτού.

1.6 Άρδευση

Όπως οι περισσότερες καλλιέργειες, η πιπεριά χρειάζεται άφθονες ποσότητες νερού για βέλτιστη ανάπτυξη (Kramer, 1983) και παραγωγή καρπών καλής ποιότητας. Η ανάπτυξη των φυτών ελέγχεται από το ρυθμό κυτταρικής διαίρεσης και μεγέθυνσης και από την παροχή οργανικών και ανόργανων ενώσεων που απαιτούνται για τη

σύνθεση νέου πρωτοπλάσματος και κυτταρικών τοιχωμάτων (Salisbury and Ross, 1992), σε μεταβολικές διεργασίες που απαιτούν νερό ως διαλύτη. Με την πιπεριά, η ποσότητα του νερού που παρέχεται μέσω της άρδευσης θα πρέπει να μπορεί να καλύψει τις βασικές ανάγκες της καλλιέργειας μέσω της διατήρησης ικανοποιητικής υγρασίας του εδάφους καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου της καλλιέργειας.

Διαφορετικά εδάφη έχουν διαφορετικές ιδιότητες που επηρεάζουν την ικανότητά τους να διεισδύουν στο νερό, η αποθήκευση και η αποστράγγιση υπερβολικών ποσοτήτων για τη διατήρηση ενός αεριζόμενου περιβάλλοντος είναι απαραίτητη για την καλή ανάπτυξη των ριζών. Η επιμήκυνση και η μεγέθυνση της ρίζας στην πιπεριά είναι το κρίσιμο φαινόμενο που καθορίζει τις ανάγκες των καλλιεργειών σε νερό (Delfine et al., 2000). Οι κρίσιμοι χρόνοι της ανάγκης σε νερό για την καλλιέργεια είναι συνήθως αμέσως μετά τη μεταφύτευση και στα στάδια της ανθοφορίας και της καρποφορίας.

Η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη στα φύλλα επηρεάζεται επίσης σε μεγάλο βαθμό από την ποσότητα υγρασίας στο έδαφος που είναι διαθέσιμη για πρόσληψη και χρήση από τα φυτά (Wierenga, 1983). Το *Capsicum annum L.* είναι μια από τις πιο ευαίσθητες καλλιέργειες στην υδατική καταπόνηση λόγω της ευρείας επιφάνειας των φύλλων που διαπνέει και των ανυψωμένων στοματικών ανοιγμάτων ωστόσο σχετικά άφθονες ποσότητες νερού μπορεί να είναι ανεπιθύμητες όσον αφορά την απόδοση και την ποιότητα του καρπού.

Η άρδευση για τη συμπλήρωση των ανεπαρκών βροχοπτώσεων είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη και την απόδοση της πιπεριάς, η οποία είναι μια καλλιέργεια που απαιτεί σχετικά υψηλή υγρασία. Η απόδοση της πιπεριάς έχει αναφερθεί ότι αυξάνεται με την αύξηση των επιπέδων υγρασίας του εδάφους, ωστόσο η ποιότητα δεν ακολουθεί πάντα την ίδια τάση. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της πιπεριάς εξαρτώνται από ένα καθεστώς υγρασίας που μπορεί να μην είναι παρόμοιο με το επίπεδο που οδηγεί σε αυξημένες αποδόσεις της καλλιέργειας. Η πρόσθετη εφαρμογή νερού τείνει να είναι ακριβή.

Μετά τη φύτευση είναι απαραίτητο το συνεχές πότισμα σε μία σταθερή συχνότητα προκειμένου να διατηρηθεί η υγρασία στο έδαφος σε ένα ικανοποιητικό επίπεδο. Το πιο ιδανικό σύστημα άρδευσης θεωρείται το «στάγδην» όπου εφαρμόζεται σε όλο το μήκος των γραμμών. Γενικότερα, η «στάγδην» άρδευση παρουσιάζει ορισμένα πλεονεκτήματα έναντι των υπόλοιπων συστημάτων άρδευσης, όπως η ελεγχόμενη παροχή νερού για την καλύτερη κατανομή του στο έδαφος συνδράμοντας στην

αποφυγή ασφυκτικών συνθηκών για τις ρίζες. Για παράδειγμα, τα συστήματα «τεχνητής βροχής» ενδέχεται να συμβάλλουν στην ανάπτυξη ασθενειών εξαιτίας της διαβροχής των φύλλων της καλλιέργειας.

1.7 Διαχείριση ζιζανίων

Τα ζιζάνια δρουν απειλητικά έναντι των φυτών της πιπεριάς με απώτερο σκοπό τη δική τους επικράτηση στο μέρος που έχουν καλλιεργηθεί τα φυτά της πιπεριάς. Πέρα από τη κατάληψη του χώρου, μειώνουν σημαντικά τη δυνατότητα πρόσληψης νερού και θρεπτικών συστατικών από την κύρια καλλιέργεια. Βάσει του είδους και της πυκνότητάς τους, τα ζιζάνια δύνανται να οδηγήσουν σε σημαντική μείωση της αποδοτικότητας της καλλιέργειας και της υποβάθμισης της ποιότητας των παραγόμενων καρπών ως προς το μέγεθος και τη γεύση τους. Παράλληλα ευνοούν και την ανάπτυξη ασθενειών και προσβολών καθώς αποτελούν φορείς μυκήτων που μπορούν να μεταδοθούν στα φυτά της πιπεριάς. Το χρονικό διάστημα στο οποίο είναι αυξημένες οι πιθανότητες προσβολής της καλλιέργειας από ζιζάνια είναι κατά την ανθοφορία και την καρπόδεση.

Η ανάπτυξη και η απόδοση της κόκκινης πιπεριάς μειώνονται σημαντικά από τον ανταγωνισμό των ζιζανίων για θρεπτικά συστατικά, νερό και φως. Η μείωση της απόδοσης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των ειδών ζιζανίων, της πυκνότητας των ζιζανίων, του χρόνου εμφάνισης των ζιζανίων σε σχέση με την εμφάνιση της καλλιέργειας, της κατανομής των ζιζανίων, του τύπου εδάφους, της υγρασίας του εδάφους, του pH και του επιπέδου γονιμότητας του εδάφους (Tursun et al., 2007).

Η πιπεριά ανταγωνίζεται ελάχιστα τα ζιζάνια, ειδικά στο αρχικό στάδιο της ανάπτυξής της. Αυτό επιδεινώνεται περαιτέρω κατά την άρδευση όπου η επαρκής παροχή υγρασίας ενθαρρύνει την ταχεία ανάπτυξη των ζιζανίων και τη βαριά προσβολή, ειδικά κατά τα στάδια ανθοφορίας και καρποφορίας της καλλιέργειας (Adigun et al., 1987). Το παραδοσιακό βοτάνισμα της σκαπάνης είναι ακριβό, λόγω εντατικής εργασίας. Χαρακτηρίζεται ως επίπονη και χρονοβόρα και μπορεί να προκαλέσει μηχανική βλάβη στα τρυφερά αναπτυσσόμενα φυτά. Η βελτιωμένη τεχνολογία ελέγχου των ζιζανίων που περιλαμβάνει τη χρήση ζιζανιοκτόνων θεωρείται πολλά υποσχόμενη μέθοδος αντιμετώπισης των ζιζανίων (Sinha and Lagoke, 1983).

Με την ολοκλήρωση της μεταφύτευσης προκύπτουν κενές θέσεις και για τον συγκεκριμένο λόγο, προκειμένου να αποφευχθεί η ανάπτυξη των ζιζανίων, πρέπει να εφαρμόζονται σκαλίσματα μικρής έντασης ώστε να αερίζεται και κατάλληλα το έδαφος. Επιπρόσθετα, η χρήση μαύρου πλαστικού εδαφοκαλύμματος συμβάλλει θετικά στην αντιμετώπιση των ζιζανίων, πρακτική που εφαρμόζεται επιτυχημένα και στην καλλιέργεια βιομηχανικής πιπεριάς ανά περιοχές καλλιέργειας στην Ελλάδα. Έτσι, διατηρούνται κατάλληλα επίπεδα υγρασίας και θερμοκρασίας στο υπόστρωμα του εδάφους.

Στις θερμοκηπιακές καλλιέργειες συνιστάται η αποφυγή ζιζανιοκτόνων καθώς υπάρχει η δυνατότητα αναστολής της εμφάνισής τους με ηλιοαπολύμανση ή με τη χρήση του μαύρου πλαστικού εδαφοκαλύμματος.

Πολυετή ζιζάνια καθώς και πιο κοινά, όπως η αγριοντοματιά και η αγριομελιτζάνα δύνανται να προσβάλλουν την πιπεριά κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου. Για τον μετριασμό του συγκεκριμένου φαινομένου η επιλογή του πιο κατάλληλου αγροτεμαχίου όπου δεν εμφανίζονται συχνά τέτοια ζιζάνια κρίνεται απαραίτητη. Σε περιπτώσεις όμως όπου αυτό δεν είναι εφικτό, ενδείκνυται η εφαρμογή του προγράμματος της αμειψισποράς με εναλλαγές καλλιεργειών, όπως χειμερινά σιτηρά, οι οποίες συμβάλλουν σημαντικά στον περιορισμό της εμφάνισης και της ανάπτυξης των πιο κοινών ζιζανίων.

Στην περίπτωση όπου ούτε η παραπάνω πρακτική είναι εφικτή, υπάρχει η δυνατότητα να μην καλλιεργηθεί το συγκεκριμένο αγροτεμάχιο. Αυτό μπορεί να εφαρμοσθεί με μία συχνότητα 2-3 ετών, όπου το αγροτεμάχιο θα μένει ακαλλιεργητο από την άνοιξη έως και το φθινόπωρο με την παράλληλη χρήση ζιζανιοκτόνων για καθαρισμό του αγροτεμαχίου από τα ιδιαίτεως ανθεκτικά ζιζάνια. Με τη συγκεκριμένη μέθοδο το αγροτεμάχιο προετοιμάζεται κατάλληλα για την επόμενη καλλιεργητική περίοδο.

1.8 Λίπανση

Συνήθως πραγματοποιείται οργανική ή ανόργανη λίπανση. Η εφαρμογή της βασικής λίπανσης ξεκινάει περίπου 20 ημέρες πριν από τη μεταφύτευση. Η χρήση ενός λιπασματοδιανομέα ενδείκνυται ενώ ακολουθεί φρεζάρισμα προκειμένου το λίπασμα να ενσωματωθεί ικανοποιητικά στο έδαφος.

1.9 Συγκομιδή

Στην ιδανική περίπτωση, οι καλλιέργειες για παραγωγή σπόρων θα πρέπει να συγκομίζονται όταν η ποιότητα των σπόρων είναι η μέγιστη. Μια υπόθεση είναι ότι η ποιότητα των σπόρων είναι μεγαλύτερη στη φυσιολογική ωριμότητα, που ορίζεται από τους ως το στάδιο ανάπτυξης όταν οι σπόροι επιτυγχάνουν το μέγιστο ξηρό βάρος και ότι στη συνέχεια, η βιωσιμότητα και το σθένος μειώνονται επειδή ξεκινά η γήρανση των σπόρων.

Οι καρποί αφήνονται να ωριμάσουν πλήρως. Είναι σύνηθες να χρησιμοποιούνται μηχανήματα συγκομιδής, όπου το μηχάνημα θερίζει τα φυτά, τα μεταφέρει στο μηχανισμό διαχωρισμού και στη συνέχεια στο μηχανισμό διαλογής. Ωστόσο ο διαχωρισμός των καρπών από το φυτό δεν είναι ιδιαίτερα εύκολος. Πιο συγκεκριμένα, ο διαχωρισμός πραγματοποιείται με δόνηση και χτένισμα του φυτού. Βέβαια, παρόλο που ο συγκεκριμένος τρόπος συγκομιδής είναι ταχύς με χαμηλό κόστος, το φυτό καταστρέφεται με αποτέλεσμα την μειωμένη παραγωγή, οπότε δεν είναι και ευρέως διαδεδομένη. Για να αντιμετωπιστεί αυτό το μειονέκτημα άρχισαν να εμφανίζονται και μηχανήματα εκλεκτικής συγκομιδής.



Εικόνα 5: Διάφορα είδη πιπεριάς
(Πηγή: <http://www.chileplanet.eu/>)

Στην πιπεριά οι καρποί είναι κατάλληλοι για συγκομιδή στις περιπτώσεις όπου το χρώμα είναι σκούρο και γυαλιστερό στο μέγιστο μέγεθος (Εικόνα 5). Η συγκομιδή των καρπών πραγματοποιείται τμηματικά ανάλογα με το στάδιο ωριμότητας του καρπού το οποίο εξαρτάται και από την ποικιλία της πιπεριάς. Υπάρχει μία αυξημένη ζήτηση για γλυκές κόκκινες πιπεριές και ιδιαίτερα σε περιπτώσεις κονσερβοποίησης, όπου εκεί το έντονο κόκκινο χρώμα είναι επιθυμητό. Στην περίπτωση που οι καρποί συγκομίζονται πρώιμα, τότε το χρώμα δεν είναι τόσο έντονο. Υπάρχει η δυνατότητα να μείνει για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ο καρπός επάνω στο φυτό χωρίς να υποβαθμιστούν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του καρπού.

Η συγκομιδή του καρπού της πιπεριάς πραγματοποιείται συνήθως χειρωνακτικά μέρος του ποδίσκου να μένει στον καρπό γεγονός που βοηθά στη μεγαλύτερη διατήρηση του νωπού καρπού. Μία πρακτική που συνήθως εφαρμόζεται είναι το πότισμα λίγο πριν τη συγκομιδή η οποία συνδράμει στην αύξηση του βάρους των καρπών. Η συγκομιδή εξαρτάται ως ένα βαθμό από την θερμοκρασία. Ειδικότερα, σε χαμηλές θερμοκρασίες η συγκομιδή λαμβάνει χώρα κάθε 12 ημέρες, ενώ στην αντίθετη περίπτωση πραγματοποιείται δύο φορές την εβδομάδα.

1.10 Ασθένειες

Οι ασθένειες και τα παράσιτα περιορίζουν την παραγωγή και την απόδοση της πιπεριάς. Οι πιο κοινές ασθένειες προκαλούνται από ιούς: η πιπεριά φιλοξενεί περίπου 36 ιούς (Villalon, 1981). Οι πιο σημαντικοί ιοί είναι: PVY (ιός πατάτας Y), TMV (ιός μωσαϊκού καπνού), PMV (ιός στίγματος πιπεριάς), TRSV (ιός δακτυλιωτής κηλίδωσης του καπνού).

Σοβαρές καταστροφές σε πιπεριές των υγρών, υποτροπικών και μεσογειακών χωρών προκαλούνται από παθογόνους μύκητες και βακτήρια. Το *Phytophthora capsici*, που προκαλεί τη σήψη του λαιμού, εμφανίζεται στο Μεξικό, στις μεσογειακές χώρες, στη Γαλλία, στην Ιταλία, στη Γιουγκοσλαβία, στη Βουλγαρία και στην Ιαπωνία. Σημαντική βλάβη προκαλείται από , είδη *Verticillium* στη Σοβιετική Ένωση, τη Βουλγαρία, την Ισπανία και τη Ρουμανία. Κατά καιρούς, σημαντική βλάβη προκαλείται επίσης από τη βακτηριακή κηλίδωση στα φύλλα στις Ηνωμένες Πολιτείες. Οι νηματώδεις στις ρίζες (*Meloidogyne spp.*) προκαλούν απώλειες στο υποτροπικό και μεσογειακό κλίμα.

1.11 Βιοχημική σύνθεση

Οι πιπεριές έχουν πολλά θρεπτικά συστατικά, τα οποία επηρεάζονται από τον γονότυπο, το στάδιο ωριμότητας και τις περιβαλλοντικές συνθήκες, τις συνθήκες ανάπτυξης και μετά τη συγκομιδή (Sánchez-Segura et al., 2015). Περιέχουν σημαντικές ποσότητες βιταμινών, φαινολικών ενώσεων και καροτενοειδών. Ο χαρακτηρισμός των φυτοχημικών αλλαγών στις πιπεριές σε όλα τα στάδια ωρίμανσης και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης είναι απαραίτητος, καθώς μπορεί να επηρεάσουν τις αντιοξειδωτικές δραστηριότητες, το άρωμα, τη γεύση και τις προτιμήσεις των καταναλωτών.

1.11.1 Βιταμίνες και μέταλλα, μεταξύ άλλων συστατικών

Το τσίλι είναι μια καλή πηγή βιταμίνης C (ασκορβικό οξύ), E (α-τοκοφερόλη) και προβιταμίνης A. Ωστόσο, τα επίπεδα βιταμινών εξαρτώνται από τον γονότυπο (ποικιλία), το στάδιο ωριμότητας, τον χρόνο συγκομιδής, τον χειρισμό μετά τη συγκομιδή, την επεξεργασία και τις συνθήκες αποθήκευσης (Howard et al., 2000). Οι καρποί της πιπεριάς περιέχουν σημαντικά επίπεδα βιταμίνης C, μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη με αντιοξειδωτική ικανότητα, με διακυμάνσεις από 20 έως 247 mg/100g φρέσκου βάρους και μπορεί να αυξηθούν κατά την ωρίμανση των καρπών. Οι διαφορές στις γενετικές και περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης επηρεάζουν επίσης το περιεχόμενό τους. Μερικά υβρίδια πιπεριάς που καλλιεργήθηκαν σε συνθήκες θερμοκηπίου υπό υδατική καταπόνηση παρουσίασαν λιγότερη περιεκτικότητα σε βιταμίνη C (Mahendran and Bandara, 2000).

Τα πιο κοινά θρεπτικά στοιχεία που βρίσκονται στις πιπεριές είναι το κάλιο (K), ο φώσφορος (P), το μαγνήσιο (Mg), το ασβέστιο (Ca), το νάτριο (Na), ο σίδηρος (Fe), ο ψευδάργυρος (Zn), το μαγγάνιο (Mn), το βόριο (B), ο χαλκός (Cu) και το σελήνιο (Se). Η περιεκτικότητα σε μεταλλικά στοιχεία ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με την ποικιλία, το στάδιο ωριμότητας και τις περιβαλλοντικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης.

1.11.2 Καψαϊκίνοειδή

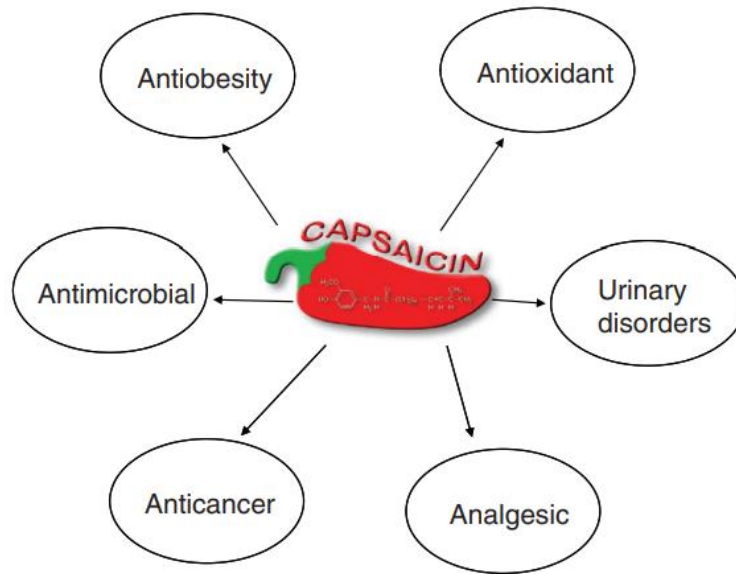
Τα καψαϊκίνοειδή είναι δευτερογενείς μεταβολίτες που ευθύνονται για την έντονη και καυτή γεύση των καρπών της πιπεριάς. Η καψαϊκίνη και η διυδροκαψαϊκίνη είναι τα δύο κύρια καψαϊκίνοειδή που βρίσκονται στο περικάρπιο, στον πλακούντα και στους ιστούς των σπόρων όλων των πιπεριών. Μπορεί να φτάσουν σε περιεχόμενο άνω του 90%, ενώ η νορδιυδροκαψαϊκίνη, η ομοδιυδροκαψαϊκίνη και η ομοκαψαϊκίνη

υπάρχουν σε χαμηλότερες ποσότητες από το 20% του συνόλου (Perucka and Oleszek, 2000). Η βιοσύνθεσή τους είναι ένα γενετικά ελεγχόμενο χαρακτηριστικό και το περιβάλλον παίζει επίσης σημαντικό ρόλο ανάλογα με τον γονότυπο (Aza-González et al., 2011). Η πικάντικη στοματική αίσθηση δίνεται στις περισσότερες πιπεριές τσίλι από την καψαϊκίνη. Ωστόσο, τα υπόλοιπα καψαϊκινιοειδή μπορεί να δώσουν επίσης ήπιες πικάντικες ή ελαφρώς πικάντικες γεύσεις (Uarrota et al., 2000).

1.12 Θεραπευτικές χρήσεις και ιατρικές ιδιότητες

Τα τρόφιμα και οι φυσικές ενώσεις έχουν γίνει μια εξαιρετική πηγή συστατικών για την παραγωγή φαρμάκων και προϊόντων, ενάντια σε μεγάλο αριθμό ασθενειών, που συμβάλλουν στην υγεία και την ευεξία. Οι πιπεριές έχουν παρουσιάσει θρεπτικές δυνατότητες ως αντιφλεγμονώδη, αναλγητικά, ρύθμιση της γλυκόζης του αίματος και αντιοξειδωτικοί παράγοντες. Αυτές οι λειτουργικές ιδιότητες αποδίδονται συχνά στα καροτενοειδή, τις βιταμίνες C και E, τα αλκαλοειδή, τα флаβονοειδή και την καψαϊκίνη.

Ο ευεργετικός ρόλος της καψαϊκίνης έχει αναφερθεί σε διαφορετικές παθολογικές καταστάσεις όπως περιγράφεται ακολούθως: οι προκλινικές και κλινικές μελέτες της τοπικής καψαϊκίνης περιλαμβάνουν αξιολόγηση χρόνιου πόνου για ρευματοειδή αρθρίτιδα, μεθερπητική νευραλγία, σύνδρομο αντανάκλαστικής, και νεύρωμα μετά τη μαστεκτομή (Baenas et al., 2019). Επιπλέον, έχει θετικά αποτελέσματα στην παχυσαρκία, τις καρδιαγγειακές και γαστρεντερικές διαταραχές, τον καρκίνο, τη νευρογενή κύστη και τις δερματολογικές παθήσεις (Fattori et al., 2016). Η καψαϊκίνη έχει δείξει πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα σε προκαταρκτικές μελέτες για τον καρκίνο του προστάτη και του πνεύμονα, καθώς και για διάφορους τύπους λευχαιμίας. Από την άλλη πλευρά, περιλαμβάνει χημειοπροληπτικές και χημειοθεραπευτικές ιδιότητες, καθώς και αντιογκογόνο δυναμικό (Bortolotti et al., 2002).



Εικόνα 6: Πιθανά οφέλη από τη χρήση της καψαϊκίνης στην ανθρώπινη υγεία
(Πηγή: <https://fapessaude.com.br/>)

1.13 Η καλλιέργεια της πιπεριάς στην Ελλάδα

Στην Ελλάδα καλλιεργούνται 10–15 ποικιλίες πιπεριάς. Στη Βόρεια Ελλάδα η ποικιλία «Φλωρίνης» καλλιεργείται στην περιοχή της Φλώρινας της Περιφέρειας Δυτικής Μακεδονίας, συμβάλλοντας σημαντικά στην οικονομική δραστηριότητα των ντόπιων γεωργών. Σε μια άλλη περιοχή της Περιφέρειας Κεντρικής Μακεδονίας, την Αριδαία, ντόπιοι γεωργοί καλλιεργούν την ποικιλία πιπεριάς «Karatzona», η οποία μοιράζεται πολλά κοινά χαρακτηριστικά καρπού με την ποικιλία «Florinis». Οι καρποί και των δύο ποικιλιών έχουν έντονο κόκκινο χρώμα κατά την ωρίμανση, γυαλιστερή και λεία επιφάνεια και γλυκιά γεύση, ενώ το μέγεθός τους κυμαίνεται γύρω στα 20 cm για το «Karatzona» και 12–14 cm για το «Florinis». Στην περιοχή της Δράμας καλλιεργείται ποικιλία πιπεριάς τύπου «Φλωρίνης», που χρησιμοποιείται κυρίως για προϊόντα κονσέρβας. Σε πολλές περιπτώσεις, φέρεται λανθασμένα με το όνομα «Florinis», καθώς μοιράζεται πολλά κοινά χαρακτηριστικά καρπών με αυτές τις πιπεριές, όπως το έντονο κόκκινο χρώμα, το σχήμα, και τη γλυκιά γεύση. Οι πιπεριές τύπου «Φλωρίνης» έχουν πιο παχιά φλούδα, ελαφρώς μεγαλύτερους καρπούς και προσφέρουν μεγαλύτερη απόδοση, επομένως οι αγρότες επιλέγουν να τις χρησιμοποιήσουν έναντι των αυθεντικών πιπεριών «Φλωρίνης» για να αποκομίσουν επιπλέον κέρδος.

1.14 Εχθροί και Ασθένειες

1.14.1 Προσβολές από έντομα

- Αλευρώδεις θερμοκηπίων

Οι αλευρώδεις είναι γνωστοί για τις ζημιές που προκαλούν άμεσα κι έμμεσα σε κηπευτικές καλλιέργειες, συμπεριλαμβανομένης και της πιπεριάς. Ειδικότερα, προκαλούν κιτρινίσμα των φύλλων με αποτέλεσμα το φυτό να ξεραίνεται.

- Αφίδες (*Aphis* sp)

Οι αφίδες εξασθενούν τα φυτά μέσω της μύζησης των χυμών τους και ως εκ τούτου τα φύλλα ξεραίνονται γεγονός που οδηγεί στην μειωμένη φωτοσυνθετική τους ικανότητα λόγω της μικρότερης επιφάνειας των φύλλων. Παράλληλα, οι αφίδες δύνανται να προκαλέσουν πιο εκτεταμένες ζημιές μέσω της μεταφοράς πλήθους ιώσεων.

- Μύκητες (Ωίδιο)

Η ασθένεια αυτή οφείλεται στα είδη *Leveillula taurica* (τέλεια μορφή) με *Oidiopsis taurica* (ατελής μορφή). Τα συμπτώματα που προκαλούνται από την συγκεκριμένη κατηγορία είναι βλάβες στις επιφάνειες των παλιότερων φύλλων με την μορφή κίτρινων κηλίδων, ενώ στην κάτω επιφάνεια σχηματίζονται λευκού χρωματισμού εξανθήματα.

- Φυτοφθόρα

Τα είδη φυτοφθόρας που προσβάλλουν συνήθως την πιπεριά είναι η *Phytophthora capsici*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora citrophthora* και *Phytophthora criptogea*¹. Προσβάλλουν όλα τα μέρη του φυτού προκαλώντας τήξεις, έλκη στο λαιμό, σήψεις στις ρίζες και τους καρπούς. Η προσβολή ξεκινάει με υδατώδεις κηλίδες που σχηματίζονται στην περιοχή του λαιμού του φυτού και στους καρπούς, που ακουμπούν στο έδαφος. Το παθογόνο παραμένει στο έδαφος για πολλά χρόνια. Ιδανικές συνθήκες για την εκδήλωση της προσβολής είναι υψηλή εδαφική υγρασία και θερμοκρασία 18-30° C. Σαν μέτρα αντιμετώπισης συνιστώνται τα ίδια περίπου με τον *Pythium* spp. Επιπλέον, αναφέρεται η αποφυγή σπορείων με συνεκτικό έδαφος και η εφαρμογή

¹ Gaia Επιχειρείν:

http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/index.php/%CE%91%CF%83%CE%B8%CE%AD%CE%BD%CE%B5%CE%B9%CE%B1_%CF%80%CE%B9%CF%80%CE%B5%CF%81%CE%B9%CE%AC%CF%82_%CE%A6%CF%85%CF%84%CE%BF%CF%86%CE%B8%CF%8C%CF%81%CE%B1

ποτισμάτων σε αραιά χρονικά διαστήματα. Τα υπολείμματα από προηγούμενη καλλιέργεια φυτών της ίδιας οικογένειας θα πρέπει να απομακρύνονται, για την αποφυγή πιθανής μετάδοσης της ασθένειας. Η μεταφύτευση πρέπει να γίνεται μόνο σε υγιή φυτά και αυτά θα πρέπει να φυτεύονται σε μεγαλύτερες αποστάσεις για καλύτερο αερισμό των φυτών. Σε περίπτωση παρουσίας της ασθένειας, τα φυτά θα πρέπει να απομακρύνονται με όσο το δυνατόν μεγαλύτερο τμήμα του ριζικού συστήματος. Τέλος, οι καρποί δεν θα πρέπει να έρχονται σε επαφή με το έδαφος γιατί αυξάνεται ο κίνδυνος προσβολής τους από την ασθένεια.

- **Περονόσπορος**

Ο Περονόσπορος της πιπεριάς οφείλεται στο μύκητα *Phytophthora infestans*. Προσβάλλει όλα τα εναέρια όργανα του φυτού σε όλα τα στάδια της ανάπτυξης του. Προσβάλλεται η βλάστηση και οι καρποί. Η προσβολή ξεκινά από τα κατώτερα φύλλα, όπου εμφανίζονται κιτρινωπές κηλίδες ακανόνιστου σχήματος («κλαδιές»). Αυτές οι περιοχές στη συνέχεια γίνονται καστανές και ξηραίνονται. Με υγρές συνθήκες στην κάτω επιφάνεια των φύλλων διακρίνεται το λευκό χνούδι (εξάνθιση) του μύκητα. Στους μίσχους και στους βλαστούς οι νεκρώσεις των ιστών παίρνουν επίμηκες σχήμα. Οι καρποί προσβάλλονται αρχικά στην περιοχή του ποδίσκου. Η προσβολή μπορεί να εξαπλωθεί στη συνέχεια σε ολόκληρο τον καρπό. Ο περονόσπορος της πιπεριάς προκαλείται από τον μύκητα *Phytophthora infestans*. Για την ανάπτυξή του απαιτεί υγρό και δροσερό καιρό (17-20°C). Με τέτοιες ευνοϊκές συνθήκες η ασθένεια μπορεί να εξαπλωθεί πολύ γρήγορα, καταστρέφοντας τα φυτά. Για την αντιμετώπιση του περονόσπορου της πιπεριάς απαιτείται πρόγραμμα προληπτικών επεμβάσεων, ιδιαίτερα στις περιοχές με συνθήκες ευνοϊκές για την ανάπτυξή του (π. χ. Δυτική Ελλάδα). Η προστασία της νεαρής βλάστησης είναι σημαντική ώστε να μην εγκατασταθεί η ασθένεια στο χωράφι. Επίσης ιδιαίτερη σημασία έχει ο καλός ψεκασμός και η προστασία της νεαρής αναπτυσσόμενης βλάστησης, όταν μάλιστα χρησιμοποιούνται σκευάσματα επαφής. Συστήνεται να ακολουθούνται οι οδηγίες των Γεωργικών Προειδοποιήσεων ως προς αναμενόμενη προσβολή, καιρικές συνθήκες και επίκαιρο επέμβασης. Στις κρίσιμες περιόδους για την εξάπλωση της ασθένειας (π.χ. σε συνθήκες με βροχερό καιρό και θερμοκρασίες 20-25 οC) συστήνεται να προτιμώνται μίγματα με διασυστηματικά προϊόντα (Gaia Επιχειρείν).



Εικόνα 7: Προσβολή ριζικού συστήματος πιπεριάς από *Pythium* (Πηγή: Gaia Επιχειρείν)



Εικόνα 8: Προσβολή καρπού πιπεριάς από Φυτοφθόρα (Πηγή: Gaia Επιχειρείν)



Εικόνα 9: Προσβολή πιπεριάς από Περονόσπορο (Πηγή: Gaia Επιχειρείν)

1.15 Οι φυτοπαθογόνοι μύκητες

Από τις παγκόσμιες απώλειες απόδοσης ποσοστό της τάξεως $\leq 12\%$ της συνολικής φυτικής παραγωγής έχουν αποδοθεί σε ασθένειες των φυτών. Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, η σοβαρότητα των ασθενειών που προκαλούνται από παθογόνους οομύκητες και μύκητες φυτών αυξάνεται σταθερά, όπως και η συχνότητα εμφάνισης νέων αναδυόμενων ασθενειών. Λόγω της σημασίας της ακριβούς διάγνωσης των φυτικών ασθενειών και των οργανισμών που προκαλούν ασθένειες, η διεθνής συνεργασία και η ανάπτυξη αρκετών βάσεων δεδομένων για τη βελτίωση της τεκμηρίωσης και της ονομασίας των φυτοπαθογόνων μυκήτων είναι επίσης σε άνοδο. Όλες αυτές οι προσπάθειες είναι κρίσιμες για την εφαρμογή στρατηγικών διαχείρισης ασθενειών.

Η προστασία των φυτών από ασθένειες και, πιο συγκεκριμένα, η έρευνα για τα παθογόνα των φυτών βασίζεται κυρίως στην ακριβή επικοινωνία σχετικά με τους μύκητες που προκαλούν ασθένειες. Η κατανόηση για τους μύκητες και τις σχέσεις τους με τα φυτά και μεταξύ τους έχει δει μια άνευ προηγουμένου εκθετική αύξηση τα τελευταία 10-15 χρόνια. Αυτό έχει τροφοδοτηθεί κυρίως από τις εξελίξεις στη μοριακή φυλογενετική και ο αντίκτυπος αυτής της νέας τεχνολογίας συνεχίζει να επιταχύνεται. Η συστηματική μυκήτων, ο τομέας που ασχολείται με την ταξινόμηση και τις σχέσεις, γίνεται ολοένα και πιο ζωντανός σε διάφορες περιοχές του κόσμου και δεν περιορίζεται πλέον σε μεγάλο βαθμό σε Ευρώπη και Βόρεια Αμερική, όπως συνέβαινε στη δεκαετία του 1980.

Μόλις πριν από 20 χρόνια, ήταν γνωστό μόνο το 6% των μυκήτων στη Γη. Ωστόσο, τα βασικότερα αίτια των ασθενειών που προκαλούνταν από τους μύκητες ήταν με την εφεύρεση του πρώτου μικροσκοπίου, που σημειώθηκε το 1675 από έναν Ολλανδό επιστήμονα. Τώρα, ως συνέπεια της εφαρμογής δεδομένων αλληλουχίας DNA για την αναγνώριση μυκήτων, προέκυψε ότι αυτό δεν ήταν υπερβολή και είναι στην πραγματικότητα μια συντηρητική εκτίμηση του τεράστιου προβλήματος που αντιμετωπίζει η γνώση για τον παγκόσμιο πλούτο των μυκητολογικών ειδών. Υπάρχουν τουλάχιστον 1,5 εκατομμύριο και πιθανώς 3 εκατομμύρια είδη, αν και ορισμένες εκτιμήσεις είναι ακόμη υψηλότερες. Είναι λοιπόν ατυχές το γεγονός ότι επί του παρόντος αναγνωρίζονται μόνο περίπου 100.000 είδη.

Οι μύκητες που εμφανίζονται σε φυτά και μέρη φυτών ήταν ιστορικά διαχωρισμένοι μορφολογικά. Μία από τις πρώτες σοβαρές ενδείξεις ότι οι μύκητες ήταν παράγοντες ασθένειας των φυτών ήταν η περίπτωση του *Phytophthora infestans*. Οι δεκαετίες του 1960 και του 1970 αποδείχθηκαν σημαντικές για τη συστηματική μυκήτων, καθώς άρχισαν να διερευνώνται νέοι τρόποι διάκρισης μεταξύ των ειδών. Επίσης, η κατανόηση των αναπαραγωγικών συστημάτων των μυκήτων εξελίχθηκε ουσιαστικά με δοκιμές σε καλλιέργειες στις οποίες μπορούσαν να οριστούν στελέχη σύζευξης και μπορούσαν να δοκιμαστούν παράγοντες που θεωρούνταν καθοριστικοί για τα βιολογικά είδη. Από την άλλη πλευρά, οι πρώτες προσπάθειες χρήσης δεδομένων DNA στην ταυτοποίηση μυκήτων στη δεκαετία του 1990 βασίστηκαν σε τεχνικές όπως το τυχαία ενισχυμένο πολυμορφικό DNA (RAPD) και οι πολυμορφισμοί μήκους θραυσμάτων περιορισμού (RFLPs). Ωστόσο, αυτές οι τεχνικές ήταν δύσκολο να τυποποιηθούν μεταξύ των εργαστηρίων, κάτι που θεωρήθηκε σημαντικό μειονέκτημα.

Βάσει των προαναφερθέντων είναι κατανοητό ότι οι φυτοπαθογόνοι μύκητες προκαλούν σημαντικές συνέπειες στον όγκο και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της φυτικής παραγωγής καθώς και στην αγροτική οικονομία. Στη σημερινή εποχή, έχουν αναπτυχθεί τεχνικές φυτοπροστασίας με μία σειρά από μεθόδους που συμβάλλουν στην αντιμετώπιση των φυτοπαθογόνων μυκήτων. Κάποιες από αυτές τις τεχνικές είναι η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών για παραγωγικούς σκοπούς καθώς και η χρήση αντιμυκητιακών χημικών.

1.16 Ο ωομύκητας *Phytophthora boehmeriae*

1.16.1 Ιστορικά στοιχεία

Οι ωομύκητες του γένους *Phytophthora* είναι σημαντικά φυτικά παθογόνα που προκαλούν σοβαρές απώλειες σε ένα ευρύ φάσμα καλλιεργειών, ειδικά όταν η υγρασία του εδάφους είναι υψηλή. Η αναγνώριση των ειδών είναι συχνά δύσκολη. Ένας αριθμός από ερευνητές παγκοσμίως έχουν ασχοληθεί με την ταξινόμηση του γένους. Στην Ελλάδα έχουν εντοπιστεί πολλά είδη *Phytophthora* από διάφορους ξενιστές (Paplomatas, 1998).

Το *P. boehmeriae*, που απομονώθηκε για πρώτη φορά από κηλίδα φύλλων της *Boehmeria nivea* (είδος τσουκνίδας) στην Ταϊβάν το 1927, ονομάστηκε από τον Sawada (Sawada, 1927) και στη συνέχεια βρέθηκε ότι προκαλεί καστανή σήψη εσπεριδοειδών, σήψη ρίζας *Pinus* spp., σήψη του φυτού κεριού Gerald ton (*Chamaelaucium uncinatum* Schauer.), και της κομμώσης σε μαύρη ακακία (*Acacia mearnsii*) (Allen and West, 1986). Το *P. boehmeriae* έχει αναφερθεί μόνο στην Αργεντινή, την Αυστραλία, τη Βραζιλία, την Κίνα, την Ελλάδα, την Ιαπωνία και την Παπούα της Νέα Γουινέα (Dos Santos et al., 2006). Ωστόσο, δεν υπάρχουν προηγούμενες δημοσιευμένες αναφορές *P. boehmeriae* που προκαλεί σοβαρές επιδημίες ασθενειών σε οποιαδήποτε καλλιέργεια.

Τον Αύγουστο του 1993 στους νομούς Λάρισας και Βόλου, τον Αύγουστο του 1995 στον νομό Τρικάλων και τον Σεπτέμβριο του 1995 στον νομό Φθιώτιδας, παρατηρήθηκε σοβαρή σήψη βαμβακιού (Paplomatas, 1998). Τον Αύγουστο και τον Σεπτέμβριο του 1996 και του 1997 στους νομούς Λάρισας και Φθιώτιδας παρατηρήθηκε η ίδια ασθένεια (Paplomatas, 1998). Μύκητες του γένους *Phytophthora* απομονώθηκαν από άρρωστα φυτά και εντοπίστηκε ένα είδος *Phytophthora* το οποίο ήταν νέο στην Ευρώπη, το *Phytophthora boehmeriae* Sawada, να προσβάλλει το βαμβάκι.

1.16.2 Μορφολογία

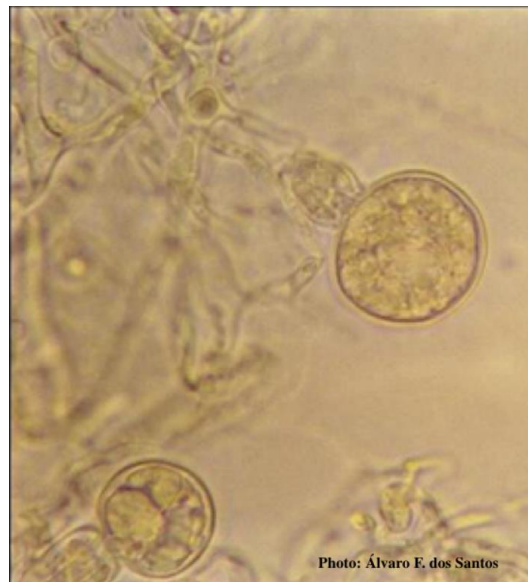
Τα σποράγγια του *P. boehmeriae* είναι ωοειδή έως σφαιρικά, με θηλή, με διαστάσεις $35 \mu\text{m} \times 30 \mu\text{m}$, με λόγο μήκους: πλάτους 1,16:1, μέσο βάθος θηλών $4,83 \mu\text{m}$ και πόρο εξόδου $4,69 \mu\text{m}$. Το *P. boehmeriae* είναι ομόθαλο, σχηματίζοντας πλευρωτικά ωοσπόρια με λεία τοιχώματα και αμφίγυνα ανθηρίδια. Οι καλλιέργειες παράγουν

ωοσπόρια άφθονα. Τα γλαμυδοσπόρια είναι τερματικά ή ενδιάμεσα (Santos et al., 2006).

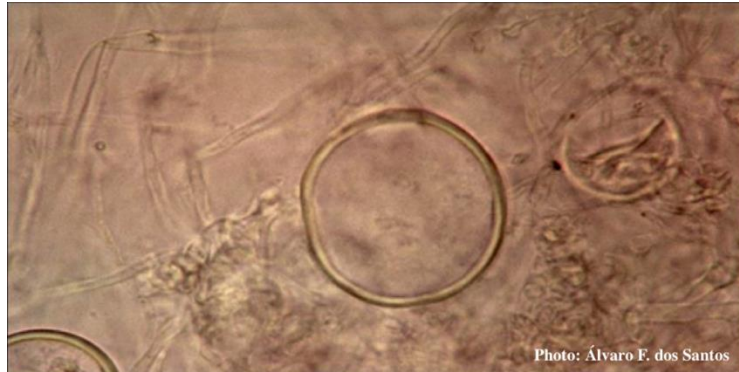
Το *Phytophthora boehmeriae* διακρίνεται από τα άλλα είδη που προκαλούν κόμμωση (*P. nicotianae* και *P. frigida*) ιδιαίτερα επειδή είναι ομόθαλα και παράγουν σποραγγεία με βραχείς μίσχους (<5 μm) και δεν παρουσιάζει ανάπτυξη στους 32°C (Santos et al., 2006). Το είδος *P. meadii* δεν απαντάται στη Βραζιλία και διαφέρει από το *P. boehmeriae* ως προς την παραγωγή σποραγγείων σε μεσαίου μήκους μίσχους (18 μm) και είναι ετερόθαλο (Gallegly and Hong, 2008).



Εικόνα 10: Σποράγγια που δείχνουν ωοειδή έως σφαιρικό σχήμα και παρουσία θηλής (Πηγή: Santos et al., 2006)



Εικόνα 11: Ωογονία και ωοσπόρια με αμφίγυνα ανθηρίδια (Santos et al., 2006)



Εικόνα 12: Σφαιρικό γλαμυδοσπόριο (Santos et al., 2006)

Σε καλλιέργειες καρότου-άγαρ, το *P. boehmeriae* έχει πεταλοειδή εμφάνιση με μέγιστη μυκηλιακή ανάπτυξη στους 24°C και χωρίς ανάπτυξη στους 32°C (Santos et al., 2006).

1.16.3 Το γένος *Phytophthora*

Το *Phytophthora* de Bary (1887) είναι ένα κοσμοπολίτικο γένος παθογόνων φυτών που περιέχει περίπου 60 περιγραφόμενα είδη (Erwin and Ribeiro, 1996). Τα είδη *Phytophthora* επιτίθενται σε ένα ευρύ φάσμα φυτών και είναι υπεύθυνα για μερικές από τις πιο καταστροφικές φυτικές ασθένειες στον κόσμο - παραδείγματα περιλαμβάνουν τον ευρωπαϊκό λιμό πατάτας του 19^{ου} αιώνα που προκλήθηκε από το *P. infestans* (Bourke, 1964). Οι ασθένειες *Phytophthora* έχουν μελετηθεί καλά στις εύκρατες περιοχές του κόσμου. Ωστόσο, οι ασθένειες *Phytophthora* είναι πολύ συχνές σε όλες τις υγρές τροπικές περιοχές του κόσμου και προκαλούν σημαντικές απώλειες σε πολλές καλλιέργειες τροπικών φρούτων με τη μορφή σήψης ρίζας, σήψης λαιμού, καρκινώματος στελέχους, και σήψης καρπών. Για παράδειγμα, το *P. palmivora* από μόνο του προκαλεί μυριάδες σοβαρές ασθένειες σε πολλές διαφορετικές καλλιέργειες, όπως: μαύρος λοβός, σήψη φρούτων, σήψη ριζών, σήψη οφθαλμών, ο καρκίνος του κορμού και η σήψη των καρπών στο durian.

1.16.4 Ταξινόμηση

Το *Phytophthora* είναι μέλος των Peronosporales εντός της τάξεως των Oomycetes στο Βασίλειο Chromista (Hawksworth et al., 1995; van de Peer et al., 1996) (Πίνακας 1). Οι ωομύκητες περιλαμβάνουν τέσσερις τάξεις, δύο από τις οποίες, οι Saprolegniales και οι Peronosporales, περιέχουν σημαντικά φυτικά παθογόνα. Οι άλλες δύο περιέχουν μικρές ομάδες κυρίως υδρόβιων μικροοργανισμών. Μέσα στα Peronosporales, η οικογένεια Pythiaceae περιέχει μια σειρά από γένη, τα πιο γνωστά από τα οποία είναι

το *Phytophthora* και η αδελφή του ομάδα, το *Pythium*, ένα γένος περίπου 120 ειδών (van der Plaats-Niterink, 1981).

Το γένος *Phytophthora* έχει ευρέως αναγνωριστεί ως ταξινομικά «δύσκολο» (Brasier 1983), καθώς πολλοί από τους χαρακτήρες που χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση των ειδών, επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από το περιβάλλον, παρουσιάζουν επικάλυψη μεταξύ των ειδών και έχουν άγνωστη γενετική βάση. Ωστόσο, δεδομένου ότι μια σημαντική ανασκόπηση του γένους πραγματοποιήθηκε από τον Waterhouse (1963), οι μορφολογικοί χαρακτήρες παρέμειναν η βάση για την αναγνώριση και ταξινόμηση των ειδών. Το γένος χωρίστηκε σε έξι μεγάλες ομάδες, οι οποίες προορίζονταν αποκλειστικά ως βοήθημα για την αναγνώριση των ειδών και δεν προορίζονταν να συνεπάγονται μια φυσική ταξινόμηση (Waterhouse 1963).

Πίνακας 1: Ταξινόμηση των Ωομυκήτων (Hawksworth et al., 1995)

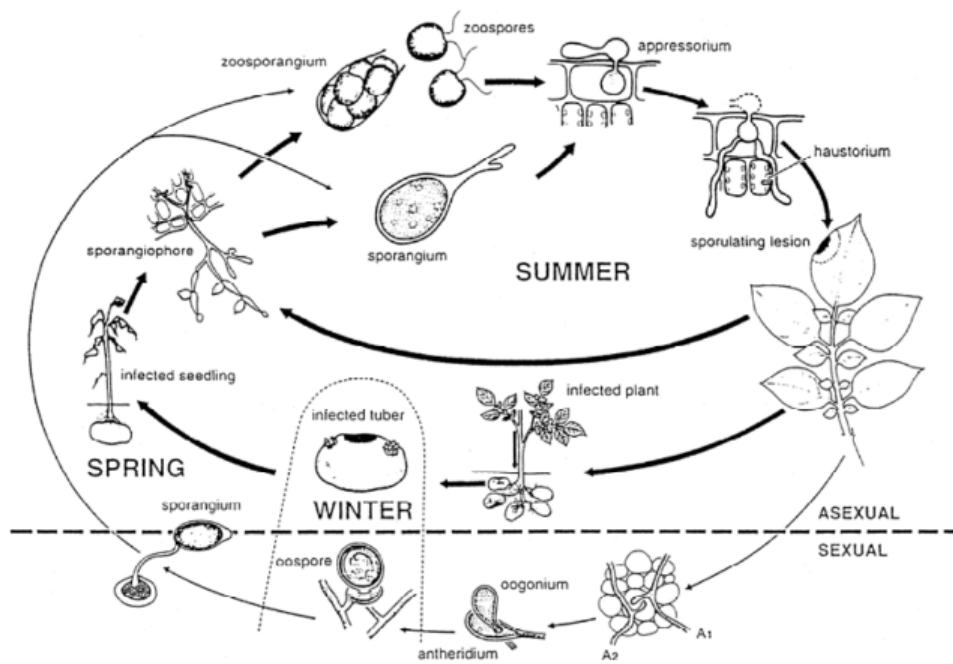
Βασίλειο	Τάξη	Order	Οικογένεια	Γένος
Chromista	Oomycetes	Lagenidiales		
		Leptomitales		
		Saprolegniales	Saprolegniaceae	<i>Achlya</i> <i>Saprolegnia</i>
		Peronosporales	Pythiaceae	<i>Pythium</i> <i>Phytophthora</i>
			Peronosporaceae	<i>Bremia</i> <i>Peronospora</i>
			Albuginaceae	<i>Albugo</i>

1.16.5 Βιολογικός κύκλος

Οι ωομύκητες μοιράζονται πολλά κοινά χαρακτηριστικά οικολογίας και ιστορίας ζωής με τους αληθινούς μύκητες. Ωστόσο, διακρίνονται σαφώς από τους βασιδιομύκητες και τους ασκομύκητες από τους γενετικούς και τους αναπαραγωγικούς μηχανισμούς τους (Erwin and Ribeiro, 1996). Η τοποθέτησή τους στο Βασίλειο Chromista υποστηρίζεται από μεγάλο αριθμό χαρακτηριστικών, συμπεριλαμβανομένης της διαφοροποίησης στις μεταβολικές οδούς (Elliott, 1983), η παρουσία β-γλυκανών αντί της χιτίνης στα κυτταρικά τοιχώματα (Bartnicki-Garcia and Wang, 1983), η παραγωγή κινητικών ετερόκοντων ζωοσπορίων (Desjardins et al., 1969) και η επικράτηση του διπλοειδούς σταδίου στον κύκλο ζωής (Erwin and Ribeiro, 1996).

1.16.5.1 Κύκλος ζωής

Ο κύκλος ζωής του *Phytophthora* μπορεί να περιλαμβάνει έως και τρεις ασεξουαλικές μορφές σπορίων επιπλέον της σεξουαλικής μορφής σπορίων (Εικόνα 13). Το διπλοειδές μυκήλιο παράγει ασεξουαλικά σποριάγγεια, τα οποία μπορεί να βλαστήσουν απευθείας ή να διαφοροποιηθούν για να παράγουν 8-32 ζωοσπόρια, καθένα από τα οποία διέρχεται από έναν κύκλο διασποράς και εγκύστωσης πριν από τη βλάστηση. Ορισμένα είδη, όπως το *P. cinnamomi*, παράγουν επίσης άφυλα χλαμυδοσπόρια από το μυκήλιο. Η σεξουαλική αναπαραγωγή έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ωοσπορίων. Όλοι οι τύποι σπορίων είναι δυνητικά μολυσματικοί, και τα χλαμυδοσπόρια και τα ωοσπόρια λειτουργούν επίσης ως δομές διαχείμασης ή διάπαυσης. Όλα τα είδη *Phytophthora* έχουν στάδιο διάπαυσης στο έδαφος. Μερικά, όπως το *P. sojae*, διασπείρονται κυρίως στο έδαφος, μέσω της απελευθέρωσης ζωοσπορίων από μολυσμένο φυτικό υλικό. Άλλα, όπως το *P. palmivora*, διασπείρονται εναέρια, κυρίως ως σποριάγγεια.



Εικόνα 13: Κύκλος ζωής του *Phytophthora infestans*

1.16.5.2 Σύστημα σύζευξης

Όλα τα απομονωμένα στελέχη του *Phytophthora* είναι δυνητικά αμφιφυλόφιλα, δηλαδή, είναι σε θέση να παράγουν ανδρικές και θηλυκές σεξουαλικές δομές ή γαμετάγγεια. Ωστόσο, μόνο τα μισά περίπου είδη του *Phytophthora* είναι ομόθαλα και

ικανά να παράγουν ωοσπόρια γρήγορα και άφθονα σε μεμονωμένη καλλιέργεια. Τα υπόλοιπα είδη είναι ετερόθαλα και παράγουν γαμετάγγεια μόνο ως απόκριση σε χημική διέγερση από απομόνωση του αντίθετου συζευκτικού τύπου. Το σύστημα ετεροθαλλισμού που περιλαμβάνει συζευκτικούς τύπους A1 και A2 είναι καθολικό σε όλο το γένος. Απομονώσεις αντίθετων συζευκτικών τύπων από διαφορετικά είδη είναι συχνά σε θέση να διεγείρουν αμοιβαία τον σχηματισμό γαμετάγγειων. Το σύστημα σύζευξης ενός είδους *Phytophthora* καθορίζει την ικανότητά του να αναπτύσσεται: ο ομοθαλλισμός επιτρέπει τη συχνή αυτοαναπαραγωγή, ενώ ο ετεροθαλλισμός ενθαρρύνει την επιδημία. Ωστόσο, τόσο τα ομόθαλα όσο και τα ετερόθαλα είδη έχουν μια σειρά από επιλογές αναπαραγωγής.

1.16.6 Τα παθογόνα χαρακτηριστικά των *Phytophthora*

Σχεδόν όλα τα είδη του γένους *Phytophthora* είναι παθογόνα φυτών. Οι ακόλουθοι παράγοντες οφείλονται στην «επιτυχή» δράση τους :

- ❖ Η ικανότητα παραγωγής διαφορετικών τύπων σπορίων, όπως σποράγγια και ζωοσπόρια για βραχυπρόθεσμη επιβίωση και εξάπλωση, και γλαμυδοσπόρια και ωοσπόρια για πιο μακροπρόθεσμη επιβίωση.
- ❖ Ταχεία σποριοποίηση σε ιστό ξενιστή όπως τα φύλλα συνήθως εντός 3-5 ημερών μετά τη μόλυνση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ταχεία συσσώρευση μολύσματος με πολυκυκλικό τρόπο, οδηγώντας σε επιδημίες υπό ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες.
- ❖ Ικανότητα των ζωοσπορίων του *Phytophthora* να έλκονται από τις άκρες των ριζών μέσω ενός χημικού ερεθίσματος (θετική χημειοταξία) σε συνδυασμό με την κινητικότητα των ζωοσπορίων να κολυμπούν πραγματικά προς τις άκρες των ριζών που αναπτύσσονται ενεργά, να εγκυστώνονται και να μολύνουν νεαρούς, ευαίσθητους ιστούς ρίζας.
- ❖ Ικανότητα επιβίωσης εντός ή εκτός του ιστού του ξενιστή ως ωοσπόρια ή γλαμυδοσπόρια για μεγάλες χρονικές περιόδους. Τα ωοσπόρια είναι επίσης γνωστό ότι επιβιώνουν από τη διέλευση του πεπτικού συστήματος των ζώων (για παράδειγμα, τα σαλιγκάρια).
- ❖ Παραγωγή σποραγγείων, τα οποία μπορεί να είναι αερομεταφερόμενα και μπορεί να διανύουν λογικές αποστάσεις με ρεύματα ανέμου και να μολύνουν γειτονικά χωράφια. Αυτά τα σποριάγγια μπορούν να μολύνουν απευθείας τον ιστό του ξενιστή. Αυτά τα ίδια σποριαγγειοσπόρια έχουν επίσης την ικανότητα

να διαφοροποιούνται σε 4-32 ζωοσπόρια σε υγρές και δροσερές συνθήκες και να προκαλούν πολλαπλές προσβολές από το ένα σποριάγγειο. Ωστόσο, τα ζωοσπόρια μπορούν να ταξιδέψουν μόνο μικρές αποστάσεις καθώς είναι ευαίσθητα στην ξηρασία.

- ❖ Τα παθογόνα *Phytophthora* ανήκουν στο Βασίλειο Chromista και ως τέτοια έχουν διαφορετικές βιοχημικές οδούς προς τους αληθινούς μύκητες. Επομένως, πολλά μυκητοκτόνα δεν είναι πολύ αποτελεσματικά έναντι των παθογόνων *Phytophthora*.
- ❖ Τα παθογόνα *Phytophthora* ευδοκιμούν σε υγρές συνθήκες, γεγονός που καθιστά δύσκολο τον έλεγχό τους, καθώς τα προστατευτικά μυκητοκτόνα είναι δύσκολο να εφαρμοστούν και είναι λιγότερο αποτελεσματικά σε τέτοιες συνθήκες.

Τα παθογόνα *Phytophthora* μπορούν να προκαλέσουν πολλές διαφορετικές ασθένειες και συμπτώματα ασθενειών σε ένα ευρύ φάσμα φυτικών ειδών.

1.16.6.1 Ασθένειες του *P. boehmeriae*

Η κομμίωση έχει εμφανιστεί σε φυτείες μαύρων κολοκυθιών στη Βραζιλία για περισσότερα από 40 χρόνια (Santos and Luz, 2007). Η αιτιολογία επιλύθηκε με τους αιτιολογικούς παράγοντες να ταυτοποιούνται ως *Phytophthora nicotianae* (Santos et al., 2005), *P. boehmeriae* (Santos et al., 2006) και *P. frigida* (Alves et al., 2016). Στη Νότιο Αφρική, αυτή η ασθένεια έχει αναφερθεί σε μαύρα κολοκυθάκια από τον που σχετίζεται με το *P. nicotianae* και από τους Roux και Wingfield (1997) που σχετίζονται με *P. boehmeriae* και *P. meadii*. Η κομμίωση από το *P. boehmeriae* έχει περιορισμένη γεωγραφική κατανομή σε περιοχές παραγωγής μαύρων κολοκυθιών της πολιτείας Rio Grande do Sul, στη νότια Βραζιλία (Santos and Luz, 2007) και στη Νότια Αφρική.

Η κομμίωση που προκαλείται από το *P. boehmeriae* εμφανίζεται σε εστίες με βροχερό κλίμα που συνδέονται με ισχυρούς και συνεχείς ανέμους (Santos and Luz, 2007). Μαύρες φυτείες βραζιλιάνικων δέντρων με κομμίωση που προκαλείται από το *P. boehmeriae* μπορεί να διακριθεί από αυτά που προκαλούνται από το *P. frigida* και το *P. nicotianae* (Santos 2001; Santos and Luz, 2007; Alves et al., 2016). Η κομμίωση που σχετίζεται με το *P. frigida* και το *P. nicotianae* έχει προσβολές στη βάση του κορμού και δεν υπερβαίνει τα 1,5 m σε ύψος.

Πίνακας 2: *Phytophthora boehmeriae* κύριοι ξενιστές, συμπτώματα και τοποθεσίες.

Λατινικό όνομα	Κοινό όνομα	Συμπτώματα	Βιότοπος	Περιοχή
<i>Acacia mearnsii</i>	black wattle	κομμίωση	φυτείες	Νότια Αφρική, Βραζιλία
<i>Boehmeria nivea</i>	Chinese grass; white ramie	Leaf blight	γεωργία	Ταϊβάν, Ιαπωνία, Κίνα, Αυστραλία, Ελλάδα, Νότια Αφρική
<i>Broussonetia papyrifera</i>	paper mulberry	Leaf blight		Κίνα
<i>Cedrus deodara</i>	deodar cedar			Κίνα
<i>Citrus</i> spp.	citrus	καφέ σήψη (φρούτο)	γεωργία	Αργεντινή, Αυστραλία, Κίνα
<i>Eucalyptus pilularis</i>	blackbutt	σήψη ριζών		Αυστραλία
<i>Gossypium hirsutum</i>	cotton	Leaf blight, σήψη ριζών	γεωργία	Κίνα, Ελλάδα
<i>Pinus patula</i>	Mexican yellow pine	σήψη ριζών	φυτείες	Αυστραλία

(Πηγή: Forest Phytophthoras 6(1). *P. boehmeriae*, 2017)

❖ Σήψη ριζών

Γενικά, τα σπορόφυτα πολλών φυτών είναι πολύ ευαίσθητα στη σήψη των ριζών και στην προσβολή που προκαλείται από το *Phytophthora*. Τα πρώιμα συμπτώματα είναι η μάρανση και το κιτρίνισμα νεαρών φυταρίων. Τα γενικά συμπτώματα της σήψης των ριζών είναι ότι τα φυτά παρουσιάζουν έλλειψη νερού, και συχνά καθυστερούν στην ανάπτυξή τους. Ο προσβεβλημένος ριζικός ιστός είναι μαλακός, εμποτισμένος με νερό και σε σκούρο καφέ χρωματισμό.

❖ «Ερεθισμός» των φύλλων (Leaf blight)

Ένας αριθμός ειδών *Phytophthora* προκαλεί ερεθισμό των φύλλων (Leaf blight). Αυτά περιλαμβάνουν: *P. infestans* σε πατάτα και ντομάτα, *P. palmivora* σε μεγάλο αριθμό τροπικών ειδών φρούτων, συμπεριλαμβανομένου του macadamia, και *P. colocasiae*. Αυτές οι φυσαλίδες στα φύλλα εμφανίζονται αρχικά ως μικρές κηλίδες αλλά μέσα σε 3-5 ημέρες επεκτείνονται και δημιουργούν μεγάλες προσβολές.

Αρχικά, ο μολυσμένος ιστός εμποτίζεται με νερό αλλά γίνεται νεκρωτικός (καφέ ή μαύρος) σε λίγες μέρες. Τα σπόρια εμφανίζονται ως λευκή βελουδίνη ανάπτυξη στην άκρη των προσβεβλημένων ιστών, κυρίως στην κάτω πλευρά του φύλλου. Συχνά παράγονται μεγάλες ποσότητες σποριαγγειοσπορίων, καθώς 1-4 σποριαγγειοφόροι εκτείνονται από τα στομάτια στο κάτω μέρος του φύλλου και παράγουν μεγάλους αριθμούς σποριαγγειοσπορίων που μπορούν είτε να μεταφερθούν με τον αέρα υπό

σχετικά ξηρές συνθήκες είτε να διαφοροποιηθούν σε πολυάριθμα ζωοσπόρια υπό υγρές συνθήκες. Αυτά τα ζωοσπόρια μπορούν να σχηματίσουν νέες προσβολές στο ίδιο φύλλο ή φυτό και δύνανται να εξαπλωθούν σε γειτονικά φυτά μέσω της επαφής φύλλου με φύλλο.

❖ Σήψη καρπών

Η σήψη των καρπών που προκαλείται από το *Phytophthora* εμφανίζεται ως εμποτισμένες με νερό κηλίδες με ανοιχτό καφέ περίπου 3-5 ημέρες μετά τη μόλυνση, ανάλογα με τον ξενιστή. Οι προσβολές επεκτείνονται γρήγορα και μπορούν να προκαλέσουν πλήρη σήψη σε έναν ολόκληρο καρπό. Υπό συνθήκες υψηλής υγρασίας, μπορεί να σχηματιστεί λευκό/γκρι μυκήλιο. Συχνά ο καρπός δεν πέφτει και μπορεί να μουμιοποιηθεί στο δέντρο. Η μόλυνση μπορεί επίσης να είναι εσωτερική, όπως στην περίπτωση του *P. palmivora* στην παπάγια, όπου η ανάπτυξη μυκηλίων μπορεί να παρατηρηθεί στους σπόρους μετά την κοπή του μολυσμένου καρπού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Φυτικό υλικό

Έγινε η προετοιμασία για την σπορά σπόρων πιπεριάς μακριάς καυτερής (pepper long hot chili) στο θερμοκήπιο του Εργαστηρίου φυτοπαθολογίας ΓΠΑ. Ειδικότερα, σε δίσκο σποράς με μίγμα φυτοχόματος και περλίτη, σε αναλογία 70% - 30% αντίστοιχα. Μετά από 15 ημέρες και αφού τα φυτάρια αναπτύχθηκαν (4-6 φύλλα), έγινε η μεταφύτευση σε πλαστικά γλαστράκια του εμπορίου.

- **Υπόστρωμα V8 agar Με αντιβιοτικά 500 ml**

Ampicillin 1250μl

Rifamycin 500 μl

Pimaricin 1000 μl

2.2 Απομονώσεις, καλλιέργειες και διατήρηση ωομυκήτων

Για την απομόνωση του ωομύκητα, τα φύλλα του φυτού της πιπεριάς τοποθετήθηκαν σε τριβλίο με νερό με σκοπό την ανάπτυξη των υφών του ωομύκητα. Πραγματοποιήθηκε απολύμανση στα δείγματα με τη χρήση αιθανόλης επιφανειακά. Επιπρόσθετα, έλαβε χώρα η καλλιέργεια με έξι διαφορετικά δείγματα του ωομύκητα *P. boehmeriae* το οποίο πάρθηκε από τη συλλογή του Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας του ΓΠΑ.(απομόνωση από κάψες βαμβακιού)

Ακολούθως, έγινε η αποστείρωση των θρεπτικών υποστρωμάτων σε αυτόκαυστο κλίβανο, στους 120 °C και σε πίεση 1,5 atm για 20 λεπτά.

2.3 Παρασκευή μολύσματος

- **Η καλλιέργεια του παθογόνου πραγματοποιήθηκε σε Υπόστρωμα V8 άγαρ με αντιβιοτικά 500 ml**

Ampicillin 1250 μl

Rifamycin 500 μl

Pimaricin 1000 μl

Πιο συγκεκριμένα, ενεργοποιήσαμε από το απόθεμα που είχαμε προετοιμάσει από τα δείγματα CS1 και CS2. Στη συνέχεια, σε V8 άγαρ προσθέσαμε τα ανωτέρω: ampicillin (1250 µl), rifamycin (500 µl), rimaricin (1000 µl).

Με την ίδια διαδικασία ετοιμάσαμε τρυβλία και καλλιεργήσαμε 2 νέα δείγματα τα οποία μας εστάλησαν από το Μπενάκειο φυτοπαθολογικό ινστιτούτο:

- BRIC 1909 *P. boehmeriae*
- BPIC 1934 *P. capsici*

Όπως αναφέραμε στα υλικά και τις μεθόδους αφού έγινε η προετοιμασία του μολύσματος για αυτά τα δύο δείγματα, παρουσιάστηκε ο σχημ. Πολυάριθμων

2.3.1 Καλλιέργεια παθογόνου σε V8 Agar

Προκειμένου να γίνει η καλλιέργεια έξι δειγμάτων του υπό εξέταση ωμούκητα εφαρμόστηκε το εξής πρωτόκολλο: 10% διαυγές V8 AGAR. Ειδικότερα:

- 1) Αναμείχθηκαν 1,5 g CaCO₃ με 150 ml χυμού V8.
- 2) Πραγματοποιήθηκε ανακίνηση προκειμένου να διαλυθεί καλά το CaCO₃.
- 3) Ο χυμός V8 καθαρίστηκε με φυγοκέντρισης 2 σωλήνων σε επιτραπέζια φυγόκεντρο σε πλήρη ταχύτητα για χρονικό διάστημα 5 λεπτών.
- 4) Πραγματοποιήθηκε μίξη 100 ml του διαυγασμένου υπερκειμένου με 900 ml νερού.
- 5) Προστέθηκαν 0,05 g β-σιτοστερόλης, 15 g άγαρ και έγινε σύντομη ανάδευση.
- 6) Στη συνέχεια ακολούθησε αυτόκαυστο στα 15 psi για 20 λεπτά.

Μετά το πέρας της ανωτέρω διαδικασίας τοποθετήθηκαν έξι τρυβλία PERTI με V8 Agar, με αποτέλεσμα να σχηματιστούν τα παρακάτω δείγματα:

- I. CS1
- II. CS2
- III. CS3
- IV. CS4
- V. CF1

VI. CF2

Με την ακόλουθη μέθοδο πραγματοποιήθηκε καθαρισμός για το προϊόν PCR. Ειδικότερα:

- Προστέθηκε μισός όγκος ammonium acetate 7,5M
- Ακολούθησε για 15min φυγοκεντρηση (13000rpm/4°C)
- Αναδεύτηκε το υπερκείμενο ενώ προστέθηκαν 2,5 όγκοι ΕΤΟΗ 100%
- Έγινε φυγοκέντριση διάρκειας 30 min
- Αποσύρθηκε το υπερκείμενο
- Προσθέσαμε 700μl ΕΤΟΗ 70% χωρίς να αναδεύσουμε.
- Έγινε φυγοκέντριση για 5 min με απόσυρση του υπερκείμενου
- 30 μl EB FOR SEQUENCING

Στη συνέχεια προχωρήσαμε σε μέτρηση με το NANO DROP της ποσότητας DNA στο καθαρό προϊόν προκειμένου να σταλούν για αλληλούχιση.

2.3.2 Καλλιέργεια παθογόνου σε PDA Agar

Στη συνέχεια έλαβε χώρα η διαδικασία για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού: άγαρ-δεξτρόζη-πατάτας (PDA). Ειδικότερα:

- 1) Για την προετοιμασία του εκχυλίσματος πατάτας, πραγματοποιήθηκε βρασμός 200 g πατάτας που είχαν κοπεί σε φέτες και ήταν αποφλοιωμένες, σε 1 λίτρο απεσταγμένου νερού για χρονικό διάστημα μισής ώρας.
- 2) Πραγματοποιήθηκε διήθηση μέσα από τυρόπανο, με σκοπό την απομάκρυνση της πατάτας, ώστε να ληφθεί το εκχύλισμα.
- 3) Ανάδευση με 20g δεξτρόζη και 20g άγαρ. Συμπληρώνουμε με νερό μέχρι τελικού όγκου 1 λίτρου. Ακολούθησε βρασμός για να διαλυθούν.
- 4) Αποστείρωση στο αυτόκαυστο για 15 λεπτά στους 121°C.
- 5) Έγινε διανομή δόσεων 20-25 ml σε αποστειρωμένα τρυβλία Petri 15 × 100 mm.
- 6) Έγινε διανομή 20-25 ml σε αποστειρωμένα τρυβλία Petri 15 × 100 mm.

Αφού πέρασε το χρονικό διάστημα της μίας εβδομάδας προχωρήσαμε σε μικροσκοπική παρατήρηση των δειγμάτων.

Υγρή καλλιέργεια για παραγωγή μυκήλιου

- Έγινε ξανά η ετοιμασία του V8 χωρίς agar.
- Χρησιμοποιήθηκαν έξι κωνικές φιάλες όγκου 200 ml.
- Τοποθετήθηκαν από τρία κομματάκια σχήματος κύβου από στερεή καλλιέργεια των απομονώσεων σε κάθε κωνική φιάλη για κάθε δείγμα.
- Στη συνέχεια έγινε επώαση προκειμένου να παραχθεί το μυκήλιο.

Ακολούθως εφαρμόστηκε λυοφιλίωση (freeze-drying). Με τη συγκεκριμένη τεχνική έγινε απομάκρυνση του νερού από τα δείγματα μέσω εξάχνωσης. Ουσιαστικά, πραγματοποιήθηκε μία ξήρανση μέσω καταψύξεως. Η συγκεκριμένη διαδικασία πραγματοποιήθηκε σε συσκευή λυοφιλιωποίησης, που αποτελείται από ένα συμπυκνωτή που παγιδεύει το νερό που απομακρύνεται από τα δείγματα, ένα σύστημα ψύξης (που φτάνει τη θερμοκρασία των -50°C), και ένα σύστημα κενού για να μειώσει την πίεση προκειμένου να διευκολυνθεί η διαδικασία εξάχνωσης. Η λυοφιλίωση συμβάλλει σημαντικά στην μείωση της περιεκτικότητας υγρασία, της τάξεως του 1-4% προλαμβάνοντας την ανάπτυξη μικροοργανισμών καθώς και τη δράση ενζύμων που ενδέχεται να προκαλέσουν χημικές αντιδράσεις που δύνανται να καταστρέψουν τα δείγματα (Fousia et al., 2016).

Τα δείγματα CS1, CS2, CS3, CF1, CF2 παρέμειναν στον Freeze-dryer για 24 ώρες προκειμένου να «στεγνώσουν» χάνοντας την υγρασία τους με την μετάβαση του νερού από την στερεά φάση (πάγος) στην αέρια (υδρατμός) χωρίς τη μεσολάβηση της υγρής φάσης. Η παραπάνω μεταχείριση που είχε ως αποτέλεσμα την απουσία του νερού από τα μυκήλια των παθογόνων διευκόλυνε την διαδικασία της απομόνωσης DNA από αυτά όσο και την ποιότητα του.

2.3.3 Απομόνωση DNA σε *P. boehmereae*

- **Απομόνωση DNA από μυκήλια των παθογόνων**

Το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε στηρίζεται στο πατενταρισμένο πρωτόκολλο με τίτλο «LOW PH RNA ISOLATION REAGENTS, METHOD, AND KIT» (Ellen M.

Heath, Minnetonka, Minn, 1999 και όπως αυτό τροποποιήθηκε από το Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας Γ.Π.Α. αριθμ. πατέντας 5,973,137).

Το συγκεκριμένο πρωτόκολλο έχει σχεδιαστεί κατά τρόπο που είναι προσαρμοσμένο σε φυτικό υλικό. Παρόλα αυτά λειτουργεί αποτελεσματικά στην απομόνωση νουκλεϊκών οξέων (DNA και RNA) από μυκήλια. Ειδικότερα:

1. 50mg λειοτριβιομένης σκόνης από μυκήλιο μεταφέρθηκε σε σωληνάριο 1,5 ml.
2. Στη συνέχεια προστέθηκαν περίπου 300 μl διαλύματος κυτταρικής λύσης και έγινε ταχεία ομογενοποίηση με αναστροφή του σωληναρίου. Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία δωματίου (RT) για πέντε λεπτά σε vortex4. Προστέθηκαν 100 μl διαλύματος καθίζησης πρωτεΐνης-DNA (προψυγμένο σε πάγο) και ομογενοποιήθηκαν. Έπειτα, έγινε επώαση στους 4°C (σε πάγο) για διάρκεια 10 λεπτών.
3. Προστέθηκαν 100 μl διαλύματος καθίζησης πρωτεΐνης (προψυγμένο σε πάγο) και ομογενοποιήθηκαν. Έπειτα, έγινε επώαση στους 4°C (σε πάγο) για διάρκεια 10 λεπτών.
4. Πραγματοποιήθηκε φυγοκέντριση στις 14.000 rpm για 20 λεπτά (4°C). Ύστερα μεταφέρθηκε το υπερκείμενο (περίπου 300 μl) σε νέο σωληνάριο. Στις περιπτώσεις όπου υπήρχαν υπολείμματα στο υπερκείμενο, κάναμε μία ακόμη φυγοκέντριση (14000 rpm, 5 λεπτά) και μεταφέραμε το υπερκείμενο σε νέο σωλήνα.
5. Προσθέσαμε ίσο όγκο με το υπερκείμενο (περίπου 300 μl) ισοπροπανόλης και ομογενοποιήσαμε. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε φυγοκέντριση στις 14000 rpm (4°C) για 10 λεπτά και απορρίφθηκε το υπερκείμενο.
6. Στη συνέχεια πλύθηκε το ίζημα με 300 μl αιθανόλης 70%. Ακολούθησε φυγοκέντριση στα 16.000 g για 1 λεπτό και αφαιρέθηκε όλο το υπερκείμενο με πιπέτα, με τη χρήση μικρής πιπέτας για τη λήψη μικρότερων σταγόνων.
7. Στέγνωμα του ιζήματος σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά.
8. Έγινε επαναιώριση του ιζήματος σε 25 μl TE RNase 200 μg/ml.
9. Τέλος, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση του DNA με τη χρήση Nanodrop.

- **Διάλυμα κυτταρικής λύσης (10 ml)**

2% SDS.....2 ml (10% SDS pH=7,2)

68 mM κιτρικό νάτριο.....1,36 ml (0,5 M κιτρικό νάτριοαπόθεμα)

132 mM κιτρικό οξύ.....1,32 ml (1M κιτρικό οξύ)

1 mM EDTA.....20 µl (0,5 MEDTA)

• **Διάλυμα καθίζησης πρωτεΐνης (10 ml):**

4 M NaCl.....8 ml (5 M NaCl)

16mM κιτρικό νάτριο.....320 µl (0,5 M κιτρικό νάτριο)

32 mM κιτρικό οξύ.....320 µl (1 M κιτρικό οξύ)

• **Μητρικά διαλύματα:**

1M Κιτρικό οξύ (100 ml).....21,04 g (MW= 210,14 g/mol)

0,5 M Κιτρικό νάτριο (100 ml).....14,706 g (MW= 294,10 g/mol)

5 M NaCl (100 ml)29,22 g (MW= 58,44 g/mol)

Τα μητρικά διαλύματα καθώς και τα διαλύματα κυτταρικής λύσης και κατακρήμνισης πρωτεϊνών αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου.

Πίνακας 3: Αντιδράσεις PCR που πραγματοποιήθηκαν για την ενίσχυση της ITS περιοχής (όγκοι για 6 αντιδράσεις των 50µl)

Master mix	Όγκος (µl)	Τελική συγκέντρωση
PCR Buffer (10X)	30	1X
Dntps (2Mm)	30	0.2mM each
ITS4 (10µM)	12	0.4mM
ITS5 (10µM)	12	0.4mM
POLYMERACE (5U/µl)	1,2	0.5U
NEPO	202,8	
DNA (100ng/µl)	2	4ng/µl

Πίνακας 4: Συνθήκες αντίδρασης θερμοκυκλοποιητή

Temp (C°)	Duration	cycles
95	3min	1
95	30sec	35
55	30sec	
72	1min	
72	10min	1

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Τα πρώτα αποτελέσματα

Χρησιμοποιήθηκαν δύο τρυβλία (Εικόνα 14) για κάθε δείγμα, αφού τα επώασαμε για επτά ημέρες στους 25°C σε σκοτάδι για λιγότερο από μία εβδομάδα, καθώς αναπτύσσονται γρήγορα.



Εικόνα 14: BRIC 1909 *P. boehmeriae* (αριστερά) και BPIC 1934 *P. capsici* (δεξιά)

Πραγματοποιήθηκε στερεή καλλιέργεια με V8 σε τρυβλία Perti, όπου χρησιμοποιήθηκαν δύο δείγματα για κάθε παθογόνο (BRIC 1909 *P. boehmeriae* και BPIC 1934 *P. capsici*) (Εικόνα 14)

Αφού ολοκληρώθηκε η επώαση η οποία διήρκεσε για 72 ώρες σε συνθήκες που αναφέρονται στη βιβλιογραφία παρατηρήσαμε τον σχηματισμό πολυάριθμων σποριαγγείων και ζωοσπορίων (Εικόνα 15).



Εικόνα 15: Απεικόνιση σποριαγγείων μεγέθυνσης 40x σε οπτικό μικροσκόπιο

3.2 Οι ενδείξεις από το Nano-drop

Τα σποριαγγεία ελήφθησαν με προσθήκη νερού στις στερεές καλλιέργειες 7 ημέρων (CA). Αφού έχουμε εφαρμόσει όλο το πρωτόκολλο προχωρήσαμε στο PCR για να εξετάσουμε εάν ήταν επιτυχής η διαδικασία. Βάσει των αποτελεσμάτων του πίνακα 5, προκύπτει ότι η διαδικασία είχε θετική έκβαση.

Πίνακας 5: Συγκέντρωση του DNA των δειγμάτων από τις μετρήσεις στο Nano-drop

CS1	1753,9 ng/μl
CS2	2249,5 ng/μl
CF1	1157,2 ng/μl
CF2	2439,8 ng/μl

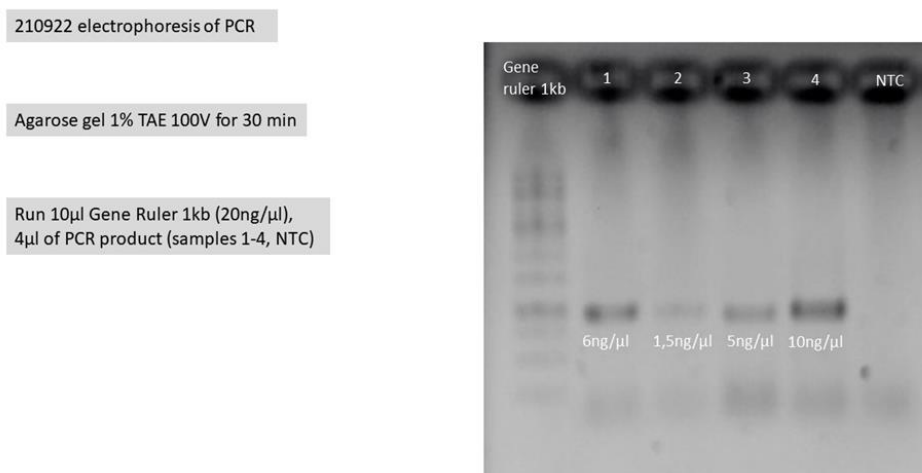
Στη συνέχεια τα DNA των παραπάνω δειγμάτων αραιώθηκαν σε συγκεντρώσεις των 100ng/μl.

3.3 Ηλεκτροφόρηση σε πήγμα αγαρόζης για το προϊόν PCR

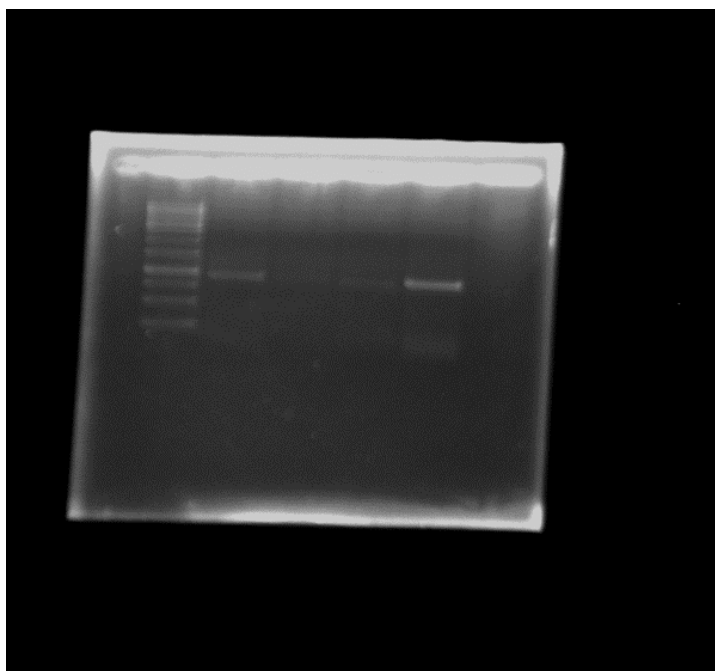
Πήγμα αγαρόζης 1%

TAE 80v για 45 λεπτά

Ο διαχωρισμός των προϊόντων της PCR έγινε με ηλεκτροφόρηση σε πήγμα αγαρόζης 1% σε TAE. Η ηλεκτροφόρηση έγινε σε ρυθμιστικό διάλυμα TAE σε τάση 100 Volt για 30 λεπτά. Για τα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν 4 μl προϊόντος PCR. Για τον προσδιορισμό του μεγέθους των ζωνών DNA αλλά και την ποσοτικοποίηση της συγκέντρωσης των προϊόντων της PCR χρησιμοποιήθηκαν 10μl μοριακές σταθερές του 1 kb (20ng/μl).



Εικόνα 16: Ηλεκτροφόρηση πηκτής αγαρόζης με προϊόντα PCR των δειγμάτων



Εικόνα 17: Πηκτή αγαρόζη καθαρισμένου προϊόντος λS PCR με εκκινητές ITS 4, ITS 5

Πίνακας 6: Συγκεντρώσεις προϊόντων PCR μετά τον καθαρισμό με αμμωνία

CS1	14,7 ng/ μl
CS2	47,6 ng/ μl
CF1	6,6 ng/ μl
CF2	27,1 ng/ μl

Στείλαμε τα δείγματα μας για αλληλούχιση μαζί με τους εκκινητές που δουλέψαμε ITS4 και ITS5.

3.1.1 Αποτελέσματα από την αλληλούχιση

Πίνακας 7: Αποτελέσματα αλληλούχισης για 4 δείγματα

Δείγματα	Παθογόνα	Ποσοστό συμβατότητας στο NCBI Blast
CS1	<i>P.boehmeriae</i>	98%
CS2	<i>P.boehmeriae</i>	99%
CF1	<i>Pythium dissotocum</i>	99%
CF2	<i>Pythium Vexans</i>	98%

*Τα ποσοστά είναι αντίστοιχα αυτών που ελήφθησαν από

Ακολουθεί η αποτύπωση της αλληλουχίας του DNA, όπως αυτή δόθηκε από το εργαστήριο, για τα δείγματα CS1 και CS2, όπου διαπιστώνεται και η μοναδικότητα του *P.boehmeriae*.

CS1: *P. boehmeriae*

GCCCTATGTTTCATGCCCCCCTTATTGATATGSCTTGATGSACTTTTACTCCA
GGCAAAGCGCACACTAAATTTTC

CCAAAATATTTTCGTCCACTCGGCAGCCGCATTTCGTCCGAAAACAAACT
TCGCCACTCTACTTCGCCACACAAAACGA

GCGTTCAAAGGCCAAGCCACGCACAGCTACGGTACACCGACTCCGCAAAC
GCCAAAGCCTGGAAAAGAACCCAATAAGCA

GATTGTTTCGGCCGAAACCAACTACCGCGAATCGAACCCCTCTCCAAAAC
GCCTCAGCACGAAATCAGTCGCCGACATG

CCGTGATGGCAGCCTCCACAACATACATTCTGCACAGCTTTTCGAGCAAAG
AGAAGAACAGTATCTACATTTCAAAGGAC

TCGCCGCCGCAGTCCGAAGACCGCTACAGCAAGACACTTCACGTCTGGCA
TTCCCATCCACCGACTACACGGAAGGAAGG

AAGCCAAGGTTGATGTACGGACACTGATACAGGCATACTCCCAGGCATAAC
CCGGAAGTGCAATATGCGTTCAAATTTTC

GATGACTCACTGAATCCTGCAATTTCGCATTACGTATCGCAGTTCGCAGCGTT
CTTCATCGATGTGCGAGCCTAGACATCC

ACTGCTGAAAGTTGCTATCTAGTTAAAAGCAGAGACTTTCGTCCCCACAGT
ATAATCAGTATTTAGGTAATGGGTTTAAA

AAGAAAACCTCGCAACTCAGACCTTGCAGCCCAAATCACTCGTTTTGATAGG
TCTCAACCCACCAGCAGCCCGAAAGCCGC

CGACGAGGAGTCCCCAACTAAAAGGTTGAACGGTTCACGTGGAAAGTTTT
TTAGGTGTGGTAATGATCCTTCCGCAGGTT

CACCTACGGAAACCTTGTTACGCTTTT

CS2: *P. boehmeriae*

TCTCATYCTCCGCTTTTGAGATGCTTGTGACGACTTTTACTCCAACCTCCCC
TTATTGAGATGCCTTGAAATTT

TTCCAATCGGCAGCCGCATTCGTCCGAAACAAACACTTCGCCACTCTACTT
CGCCACACAAACGAGCGTTCAAAGGC

CAAGCCACGCACAGCTACGGTACACCGACTCCGCAAACGCCAAAGCCTGG
AAAAGAACCCAATAAGCAGATTGTTTCGGCC

GAAACCAACACTACCGCGAATCGAACCCCTCTCCAAAACCCCTCAGCACGA
AATCAGTCGCCGACATGCCGTGATGGCAG

CCTCCACAACATACATTCTGCACAGCTTTTCGAGCAAAGAGAAGAACAGTA
TCTACATTTCAAAGGACTCGCCGCCGCAG

TCCGAAGACCGCTACAGCAAGACACTTCCGTCTGGCATTCCCATCCACCGA
CTACACGGAAGGAAGGAAGCCAAGGTTG

ATGTACGGACACTGATACAGGCATACTCCCAGGCATAACCCGGAAGGCAAT
ATGCGTTCAAATTTTCGATGACTCACTG

AATCCTGCAATTCGCATTACGTATCGCAGTTCGCAGCGTTCTTCATCGATGT
GCGAGCCTAGACATCCACTGCTGAAAGT

TGCTATCTAGTTAAAAGCAGAGACTTTCGTCCCCACAGTATAATCAGTATTT
AGGTAATGGGTTTAAAAAGAAAACCTCGC

AACTCAGACTTGCAGCCCAAATCACTCGTTTTGATAGGTCTCAACCCACCA
GCAGCCCGAAAGCCGCCGACGAGGAGTC

CCCAACTAAAAGGTTGAACGGGTTACGTGGGAAGTTTTTTAGGTGGTAAT
GATCCTTCCGCAGGGTCACCTACGGAA

AACCTTGTTACGACTTTTTACTCCAA

Αναφορικά με το τί παρατηρήθηκε στα τρυβλία ισχύουν τα παρακάτω:

- Τρυβλία με V8 AGAR

Σε όλα τα δείγματα (CS1, CS2, CS3, CS4, CF1) παρατηρήθηκε ο σχηματισμός σποριαγγείων και ωοσπορίων εκτός από το δείγμα CF2. Στο συγκεκριμένο δείγμα δεν παρουσιάστηκε κάτι αξιοσημείωτο σε σύγκριση με τα υπόλοιπα.

- Τρυβλία με PDA

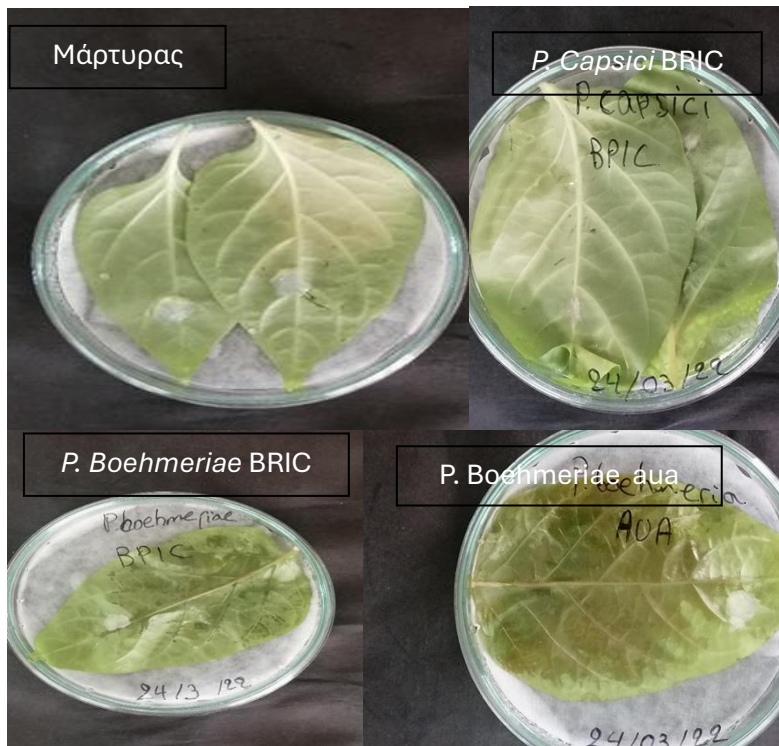
Δεν παρατηρήθηκε καμία δραστηριότητα, όπως και δεν παρατηρήθηκε σχηματισμός σποριαγγείων ή ωοσπορίων.

Τα πλήρως αναπτυγμένα φύλλα από τις πιπεριές αποκοπήκαν από το φυτό, αποστειρωθήκαν με πλύσιμο σε αιθανόλη. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε υγρό διηθητικό χαρτί σε τρυβλία Perti 90 mm (ένα φύλλο ανά τρυβλίο και δυο φύλλα ανά τρυβλίο).

Κάθε φύλλο εμβολιάστηκε στη συνέχεια με σταγόνα 10μl αιωρήματος σποριαγγείων με συγκέντρωση 2×10^4 σποριαγγεία/ml (η πυκνότητα ρυθμίστηκε με τη χρήση του αιματοκυτταρόμετρου στο εργαστήριο) στην κοιλιακή πλευρά της κύριας φλέβας. Μαζί με τα δείγματα ετοιμάσαμε και τον μάρτυρα, όπου ακολουθήσαμε όλα τα προαναφερθέντα βήματα αλλά αντί για μόλυνση με παθογόνο έγινε εφαρμογή απεσταγμένου-αποστειρωμένου νερού.

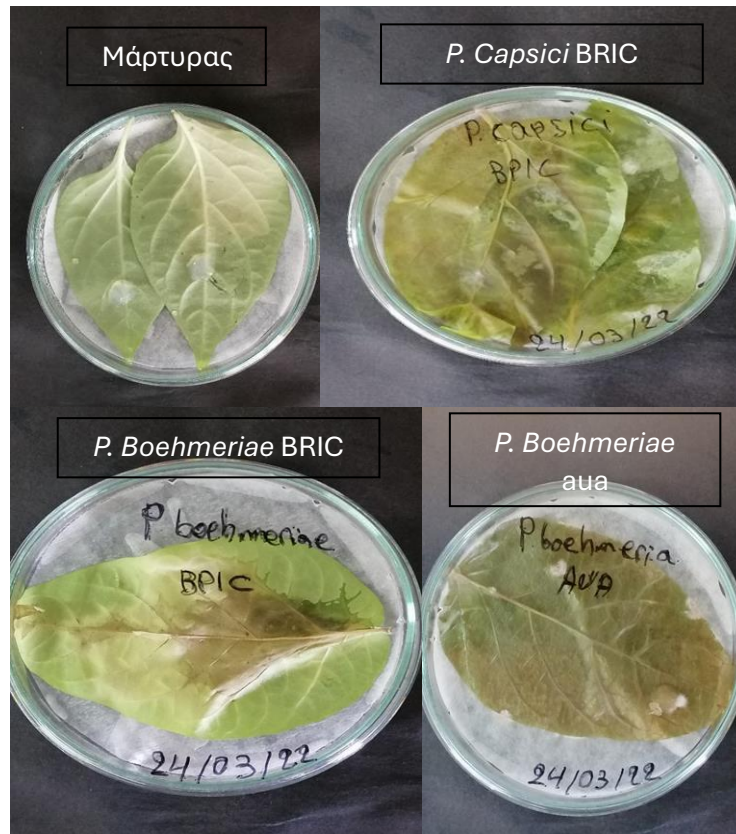
Τα φύλλα επώσθησαν στους 25 °C με 16 ώρες φωτός/ημέρα, και μετά από 7 ημέρες επώασης παρατηρήσαμε της πρώτες προσβολές.

✓ Η πρώτη παρατήρηση μετά από 7 ημέρες ένα φύλλο ανα τρυβλίο



στην πρώτη παρατήρηση μας μετά από 7 ημέρες παρατηρήσαμε ότι τα δύο δείγματα τα οποία είχαν το παθογόνο *P.Boehmeriae*, είχαν δημιουργήσει ορατές βλάβες στα δείγματα μας ενώ η *P.Capsiki* δεν είχε κάτι αξιοσημείωτο.

✓ Μετά από 10 ημέρες επώασης δύο φύλλο ανα τρυβλίο



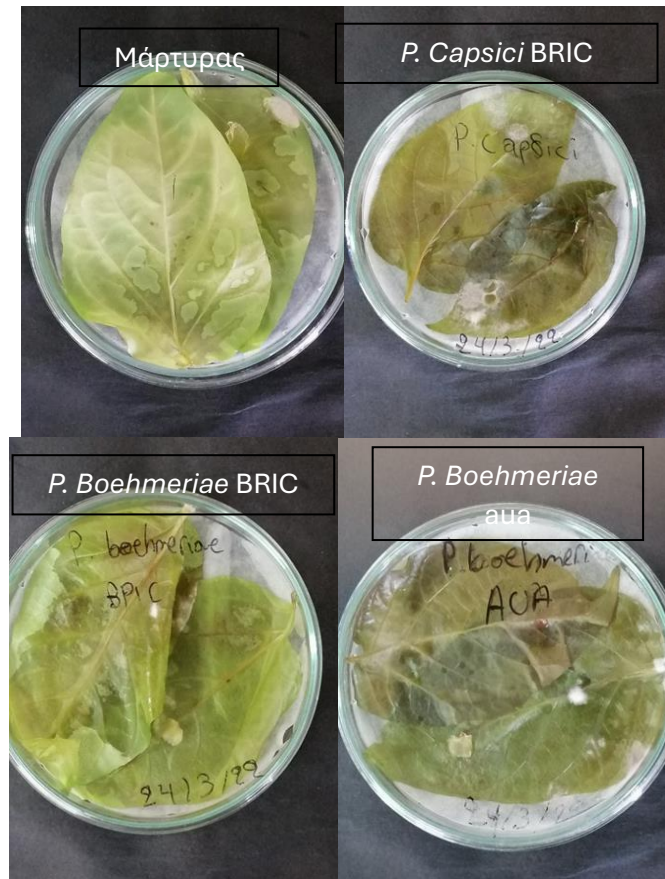
Εδώ παρατηρούμε ότι είναι ορατές οι βλάβες που είχε προκαλέσει και στα 3 δείγματα μας πλην του μάρτυρα στο οποίο ακολουθήσαμε το ίδιο ακριβώς πρωτόκολλο και αντί να εμβολιαστεί με το παθογόνο εμβολιάστηκε με αποστειρωμένο νερό. Παρατηρούμε, επίσης, μια διαφορά στο τρόπο με τον οποίο έχει προκληθεί η βλάβη από τον ωμόκητα στο δείγμα *P.Boehmeriae* bric σε σχέση με τα άλλα δυο, όπου έχει περιοριστεί η προσβολή ανάμεσα στις νευρώσεις του φύλλου, ενώ στα άλλα δυο δείγματα παρατηρείται μία ομοιότητα.

✓ Μετά από 5 ημέρες με δύο φύλλα ανα τρυβλίο



Στις πρώτες 5 ημέρες του πειράματος παρατηρήθηκε μια γενική χλώρωση και αλλαγή χρώματος των δειγμάτων πέραν του μάρτυρα. Είναι προφανής η έναρξη της προσβολής.

✓ Μετά από 14 ημέρες με δύο φύλλα ανα τρυβλίο

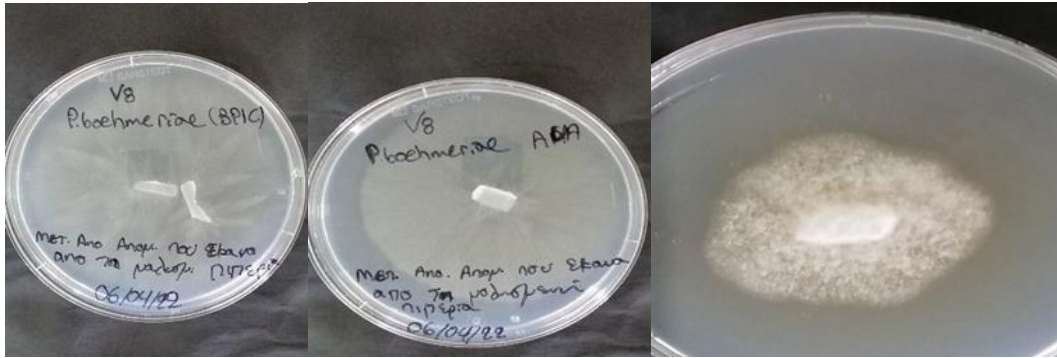


Μετά από δυο εβδομάδες παρατηρούμε την διαφορά των δειγμάτων, που είχαν στο εμβόλιο το παθογόνο παράγοντα, σε σχέση με τον μάρτυρα, παρατηρούμε μια ελαχίστη διαφοροποίηση στην *P. Capsici* ως προς την ένταση της βλάβης.

Ο παθογόνος παράγοντας έδειξε μειωμένη επιθετικότητα ως προς την ικανότητα να μολύνει τα φύλλα πιπεριάς στο πείραμα. Αυτό ενδεχομένως οφείλεται στο γεγονός ότι το συγκεκριμένο παθογόνο ήταν πολλά χρόνια σε αδράνεια σε απόθεμα που υπήρχε από το παθογόνο στο εργαστήριο. Για αυτό το λόγο αποφασίστηκαν τα ακόλουθα:

- ✓ Πραγματοποιήθηκε απομόνωση εκ νέου από τα μολυσμένα φύλλα για να δημιουργηθούν νέα στελέχη πιο επιθετικά.
- ✓ Προετοιμάσαμε ένα υπόστρωμα με V8 άγαρ και αντιβιοτικό παράγοντα όπως και παραπάνω.

Ετοιμάσαμε από 3 τρυβλία Pertii για κάθε παθογόνο παράγοντα και στη συνέχεια τα επωάσαμε για 7 ημέρες στο θάλαμο επώασης.



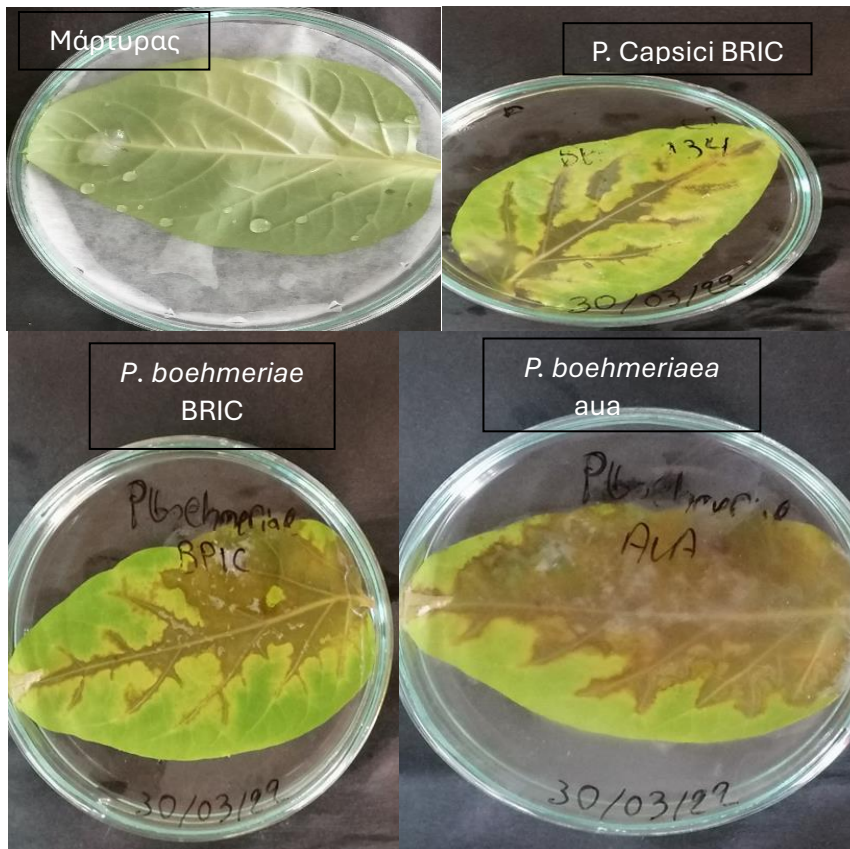
Για τη λήψη των σποριαγγείων τα τρυβλία κατακλύστηκαν με νερό καλλιέργειας 7 ημέρων (CA). Τα φυτά πιπεριάς καλλιεργήθηκαν για έξι εβδομάδες υπό συνθήκες θερμοκηπίου.

Τα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα αποκοπήκαν από το φυτό, απολυμάνθηκαν με πλύσιμο με αιθανόλη. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν σε υγρό διηθητικό χαρτί σε τρυβλία petri 90 mm (ένα φύλλο ανά τρυβλίο και δυο φύλλα ανά τρυβλίο).

Κάθε φύλλο εμβολιάστηκε στη συνέχεια με σταγόνα 10μl σποριαγγειακού εναιωρήματος ρυθμισμένο σε συγκέντρωση 2×10^{-4} σποριαγγεία/ml. Μαζί με τα δείγματα ετοιμάσαμε και τον μάρτυρα στον οποίο ακολουθήσαμε όλα τα βήματα με τον ίδιο τρόπο ακριβώς πλην των μολύνσεων.

Τα φύλλα επώασθηκαν στους 25°C για 16 ώρες φωτός/ημέρα, μετά από 7 ημέρες επώσεις παρατηρήσαμε της πρώτες βλάβες.

✓ Μετά από 7 ημέρες ένα φύλλο ανα τρυβλίο



Εδώ επιβεβαιώνονται πλήρως οι υποθέσεις για μειούμενη επιθετικότητα που είχε το παθογόνο. Είναι φανερό ότι με την απομόνωση από τα μολυσμένα δείγματα φύλλων πιπεριάς με *P.Boehmeriaea* και *P.Capsici* έχει δημιουργηθεί ένα πιο επιθετικό στέλεχος.

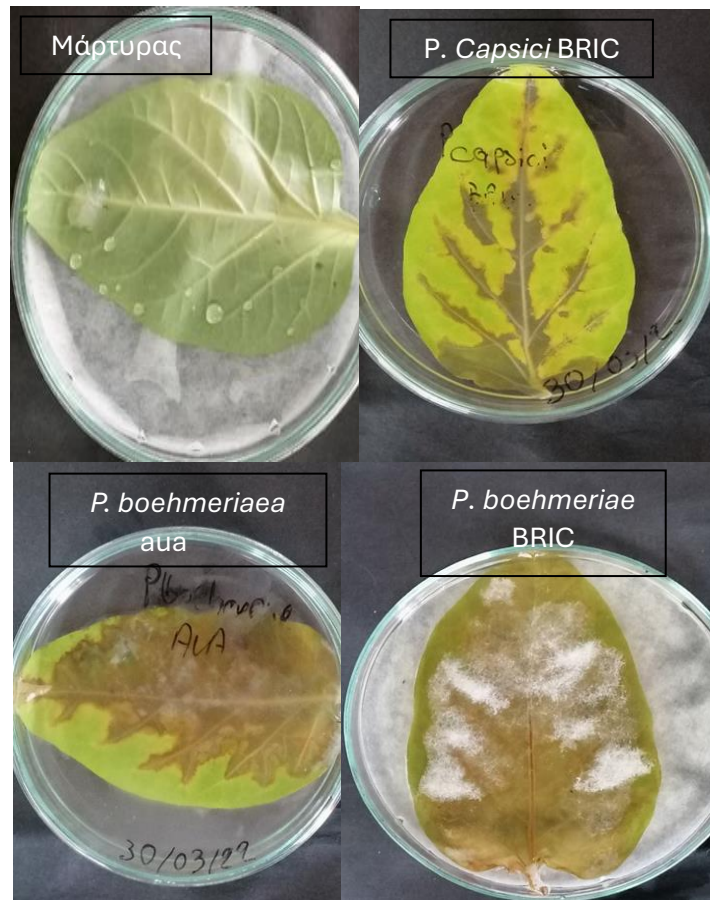
Εδώ μπορούμε επίσης να παρατηρήσουμε και να συγκρίνουμε την διαφορά στον τρόπο και την ταχύτητα με την οποία επροσβλήθη ο παθογόνος παράγοντας.

P. Capsici: Στις πρώτες 7 ημέρες το παθογόνο έχει προσβάλει το μεγαλύτερο μέρος των πλάγιων και της κύριας νεύρωσης του φύλλου.

P. Bric: Εδώ το μόλυσμα δεν έχει περιοριστεί μόνο στις νευρώσεις αλλά και το έλασμα σε ποσοστό 30-35% της συνολικής του επιφάνειας.

P.aua: Στο δείγμα αυτό το *P. Boehmeriae* έχει προσβάλει το φύλλο σε ποσοστό 80-85% μας επιβεβαιώνει την ταχύτητα και το μέγεθος των βλαβών που μπορεί να προκαλέσει υπό τις ιδανικές συνθήκες.

✓ Μετά από 14 ημέρες ένα φύλλο ανα τρυβλίο

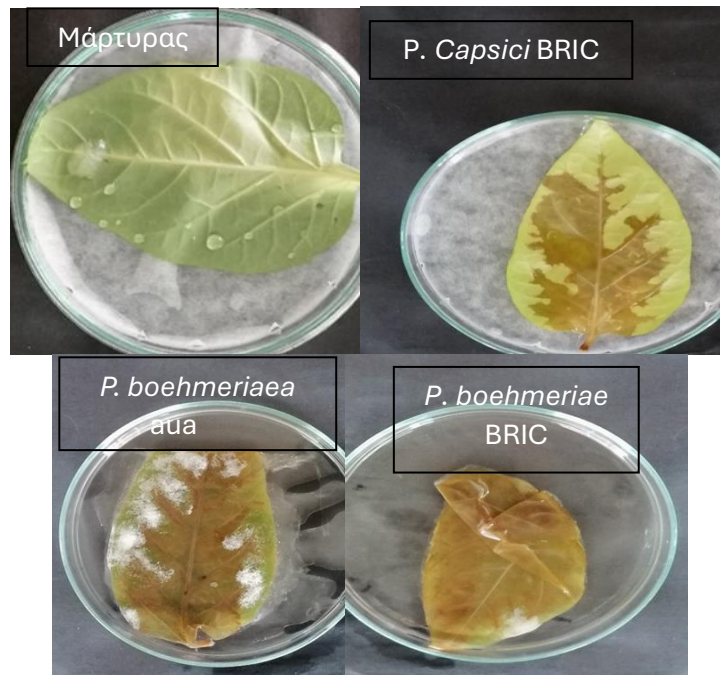


P. Capsici: Παρατηρούμε ότι το μόλυσμα έχει κινηθεί ελαφρώς προς το έλασμα σε σχέση με την πρώτη παρατήρηση που ήταν περιορισμένο.

P. Bric: Το παθογόνο έχει καταβάλει το 100% του ελάσματος με την δημιουργία υφών στο 40% της επιφάνειας.

P. auα: Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν έχει πολύ μεγάλη διαφοροποίηση σε σχέση με την πρώτη παρατήρηση, αλλά είναι φανερές οι μυκηλιακές υφές και σε αυτό το δείγμα σε ποσοστό 10-15% του ελάσματος.

✓ Μετά από 21 ημέρες ανα φύλλο ανα τρυβλίο



P. Capsici: Δεν έχουμε παρατηρήσει ίχνος δημιουργίας υφών στην επιφάνεια του φύλλου.

P. Bric: Είναι το τελικό στάδιο πλέον του φύλλου που έχει καταστραφεί στο 100%.

P. aua: Εδώ μετρά 21 μέρες το παθογόνο όπου συνεχίζει την προσβολή και έχει καλύψει το 90-95 % της επιφάνειας του φύλλου με ικανοποιητικό ποσοστό μυκηλιακών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο: ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Προσβολή από τον ωομύκητα *Phytophthora beetohmeriae* για πρώτη φορά στην Ελλάδα αλλά και την Ευρώπη παρατηρήθηκε σε κάψες φυτών βαμβακιού τον Αύγουστο του 1993 στο νομό Λάρισας (Paplomatas et. al., 1993). Η σήψη περιορίστηκε στο κάτω μισό έως τα δύο τρίτα του ύψους των φυτών βαμβακιού. Οι προσβεβλημένες κάψες παρουσίαζαν έντονη σήψη, με τα αποξηραμένα καρπόφυλλα να είναι σκούρα-καφέ έως μαύρα. Λευκές περιοχές μυκηλίου που έφεραν πολυάριθμα σποριαγγεία υπήρχαν στην επιφάνεια των σάπιων καψών. Ωοσπόρια παρατηρήθηκαν στις ίνες του βαμβακιού και στην εσωτερική επιφάνεια των καρπόφυλλων στις μολυσμένες κάψες. Η ασθένεια εντοπίστηκε σε μια έκταση περίπου 200 στρεμμάτων σε ένα χωράφι που καλλιεργήθηκε με βαμβάκι την προηγούμενη καλλιεργητική περίοδο, με τα υπολείμματα βαμβακιού να έχουν παραχωθεί με όργωμα. Κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου του 1993, η καλλιέργεια αρδεύτηκε 2 έως 3 ημέρες πριν από μια έντονη βροχόπτωση. Η έναρξη της νόσου εμφανίστηκε στις χαμηλότερες κάψες των φυτών μετά από αυτές τις συνθήκες, υποδηλώνοντας ότι το μόλυσμα μεταδόθηκε με τα σταγονίδια της βροχής από το έδαφος. Ο μύκητας απομονώθηκε από όλα τις προσβεβλημένες κάψες και ταυτοποιήθηκε ως *Phytophthora boehmeriae* με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των σποριαγγείων, ωογονίων και ανθηριδίων του καθώς και τη μέγιστη θερμοκρασία ανάπτυξής του. Τεχνητά μολυσμένες κάψες ανέπτυξαν συμπτώματα παρόμοια με αυτά που παρατηρήθηκαν στο πεδίο και ο μύκητας απομονώθηκε εκ νέου από τις μολυσμένες κάψες.

Παρόμοιες προσβολές αναφέρθηκαν τον Αύγουστο του 1995 στα Τρίκαλα και τον Σεπτέμβριο στη Φθιώτιδα και ξανά τον Αύγουστο και τον Σεπτέμβριο του 1996 και 1997 σε Λάρισα και Φθιώτιδα (Elena and Paplomatas, 1998). Σε όλες τις περιπτώσεις, αναφέρθηκε η ενεργοποίηση του μολύσματος στο έδαφος επειδή προηγήθηκε άρδευση και ακολούθησε έντονη βροχόπτωση που συνέβαλε στη διάδοση του μολύσματος.

Τον Σεπτέμβριο του 2020, προσκομίστηκε στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Γεωπονικό Πανεπιστημίου Αθηνών δείγμα από προσβεβλημένες κάψες βαμβακιού από αγρό της Χαλκιδικής. Ο παραγωγός ανέφερε ότι ενώ υπήρχαν αγροί βαμβακιού στην ευρύτερη περιοχή, μόνο στον αγρό του παρατηρήθηκε το πρόβλημα. Διαπιστώθηκε ότι ο συγκεκριμένος παραγωγός για να αντιμετωπίσει το πρόβλημα έλλειψης ύδατος στον αγρό του προέβη και άρδευση και δύο ημέρες μετά ακολούθησε έντονη βροχόπτωση.

Από τις προσβεβλημένες κάψες του δείγματος απομονώθηκε ωομύκητας ο οποίος με μορφολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά ταυτοποιήθηκε ως *Phytophthora boehmeriae*.

Το παθογόνο απομονώθηκε για πρώτη φορά παγκοσμίως να προσβάλλει το φυτό *Boehmeria nivea* (είδος τσουκνίδας) στην Ταϊβάν το 1927. Είναι γνωστό να προκαλεί κομμίωση σε διάφορα είδη κολοκιθιού στη Βραζιλία και στην Αφρική. Προκειμένου να διερευνηθεί η παθογένεια του *P. boehmeriae* στην παρούσα μελέτη και για να ξεπεραστεί το πρόβλημα διαθέσιμων καψών βαμβακιού, επιλέχθηκε ως κατάλληλος ξενιστής η πιπεριά. Το παθογόνο έχει αναφερθεί να δημιουργεί σοβαρές προσβολές σε φυτά πιπεριάς και οι δοκιμές παθογένειας υπήρξαν επιτυχείς και έδωσαν τη δυνατότητα ελέγχου της παθογένειας του ωομύκητα ανεξάρτητα της εποχής του έτους.

Η επιδημιολογία του συγκεκριμένου παθογόνου μπορεί να προσδιορίσει τη δυνατότητα λήψης μέτρων για την αντιμετώπισή του. Από τα μέχρι σήμερα δεδομένα, φαίνεται ότι το μόλυσμα ενδημεί στους αγρούς βάμβακος στη χώρα μας. Εντούτοις, προκειμένου να δημιουργήσει προβλήματα προσβολών το παθογόνο είναι απαραίτητη η ενεργοποίηση του μολύσματος, ένα χαρακτηριστικό που αναφέρεται στους ωομύκητες. Η ενεργοποίηση γίνεται με τη διαβροχή του εδάφους. Ο πιο κοινός τρόπος για να συμβεί αυτό είναι η άρδευση του αγρού. Το επόμενο επιδημιολογικό στάδιο είναι η διάδοση του παθογόνου (ενεργοποιημένο μόλυσμα) στα φυτά. Αυτό γίνεται συνήθως με επακολουθούσα έντονη βροχόπτωση που «πιτσιλάει» τεμαχίδια εδάφους που φέρουν το μόλυσμα με τα σταγονίδια της βροχής. Αυτό εξηγεί και την προσβολή των κατώτερων τμημάτων (κατώτερες κάψες) του φυτού. Επίσης, αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι το συγκεκριμένο παθογόνο προσβάλλει μόνο τις κάψες και όχι τα φύλλα ή άλλους ιστούς του φυτού. Τέτοιους είδους επιδημιολογικές ιδιαιτερότητες έχουν αναφερθεί και σε άλλα είδη φυτόφθορας όπως στην περίπτωση της *P. hibernalis* που μπορεί με σταγονίδια βροχής μολυσμένο έδαφος να προσβάλλει τα φύλλα εσπεριδοειδών μέχρι ύψους και 2 μέτρων από την επιφάνεια του εδάφους.

Στην προκειμένη περίπτωση της προσβολής στις κάψες βαμβακιού από τον *P. boehmeriae* προτείνεται στους παραγωγούς η παρακάτω στρατηγική αντιμετώπισης του παθογόνου. Εάν είναι αναγκασμένοι να αρδεύσουν το αγρό βαμβακιού και μετά 2-3 ημέρες ακολουθήσει βροχόπτωση, τότε θα πρέπει να εφαρμόσουν έναν ψεκασμό με ένα χαλκούχο μυκητοκτόνο. Θα πρέπει να δοθεί προσοχή ώστε να γίνει καλή έκλυση

στις κάψες των φυτών που βρίσκονται στα κατώτερα τμήματα των φυτών. Η κρίσιμη περίοδος είναι προς το τέλος του καλοκαιριού (Αύγουστος-Σεπτέμβριος) και οι παραγωγοί θα πρέπει να βρίσκονται σε εγρήγορση γιατί τα δεδομένα συνηγορούν ότι το παθογόνο ενδημεί στα ελληνικά εδάφη των αγρών που καλλιεργείται βαμβάκι.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adigun, J.A. (2001). Influence of intra-row spacing and chemical weed control on the growth and yield of chilli pepper (*Capsicum frutescens* L.) in the Nigerian Northern Guinea Savannah. *Nigerian Journal of Horticultural Science* 5:67-73.
- Aguilar-Meléndez, A., Morrell, P. L., Roose, M. L., and Kim, S. C. (2009). Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae) from Mexico. *Am. J. Bot.* 96, 1190–1202.
- Akinrotimi CA, Aniekwe NL (2018) Effect of transplanting age on the growth and yield of Green Pepper (*Capsicum annuum* L.) in Abakaliki Southeastern Agro-Ecological zone of Nigeria. 106–110.
- Antonio, A. S., Wiedemann, L. S. M., & Veiga Junior, V. F. (2018). The genus: *Capsicum*: A phytochemical review of bioactive secondary metabolites. *RSC Advances*, 8, 25767–25784.
- Arimboor, R., Natarajan, R. B., Menon, K. R., Chandrasekhar, L. P., & Moorkoth, V. (2015). Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: Analysis and stability—A review. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 1258–1271.
- Aza-González, C., Nuñez-Paleniús, H., & Ochoa-Alejo, N. (2011). Molecular biology of capsaicinoid biosynthesis in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant Cell Reports*, 30(5), 695–706.
- Baenas, N., Belović, M., Ilic, N., Moreno, D.A. & García-Viguera, C. (2019) Industrial use of pepper (*Capsicum annuum* L.) derived products: technological benefits and biological advantages. *Food Chemistry*, 274, 872–885.
- Bagetta, D.; Maruca, A.; Lupia, A.; Mesiti, F.; Catalano, R.; Romeo, I.; Moraca, F.; Ambrosio, F.A.; Costa, G.; Artese, A.; et al. Mediterranean products as promising source of multi-target agents in the treatment of metabolic syndrome. *Eur. J. Med. Chem.* 2020, 186, 111903.
- Bharath, S. M., Cilas, C., & Umaharan, P. (2014). Plant and fruit trait variations among four *Capsicum* species in a Caribbean germplasm collection. *Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation*, 12(1), 48–57.
- Bortolotti M, Coccia G, Grossi G, Miglioli M (2002) The treatment of functional dyspepsia with red pepper. *Aliment Pharmacol Ther* 16:1075–1082
- Bosland, P. W. (1996). Capsicums: Innovative uses of an ancient crop. *Progress in new crops*. J. Janick (479–487). Arlington, VA: ASHS Press.
- Chowdappa P., S. Madhura, B. J. Nirmal Kumar, S. P. Mohan Kumar, and K. R. Hema (2014) Phytophthora boehmeriae Revealed as the Dominant Pathogen Responsible for Severe Foliar Blight of *Capsicum annuum* in South India. *Plant Disease* 98:1, 90-98.
- Delfine, S., R. Tognetti, F. Loreto and A. Alvino 2002: Physiological and growth to water stress in field-grown bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 77, 697–704.

- Dias, G. B., Gomes, V. M., Moraes, T. M. S., Zottich, U. P., Rabelo, G. R., Carvalho, A. O., Da Cunha, M. (2012). Characterization of *Capsicum* species using anatomical and molecular data. *Genetics and Molecular Research*, 12(4), 6488–6501.
- Dos Santos AF, Luz EDMN, De Souza JT, 2006. Blackwell Publishing Ltd First report of *Phytophthora boehmeriae* on black wattle in Brazil. *Plant Pathology* (2006) 55, 813.
- Elena K. and Paplomatas E. 1998. *Phytophthora boehmeriae* Boll Rot: A New Threat to Cotton Cultivation in the Mediterranean Region. *Phytoparasitica* 26(1):20-26.
- Elena, K. and Paplomatas, E.J. 1998. *Phytophthora boehmeriae*: a new threat to cotton cultivation in the Mediterranean region. *Phytoparasitica*, 26: 20-26.
- Gómez-García, M., del, R., & Ochoa-Alejo, N. (2013). Biochemistry and molecular biology of carotenoid biosynthesis in chili peppers (*Capsicum* spp.). *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), 19025–19053.
- Guerrero-Moreno, A., and Laborde, J. A. (1980). “Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico,” in *Proceedings of the IVth Eucarpia Meeting of the Capsicum working group*, Wageningen.
- Howard, L. R., Talcott, S. T., Brenes, C. H., & Villalon, B. (2000). Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1713–1720.
- Kraft, K.H.; Brown, C.H.; Nabhan, G.P.; Luedeling, E.; Ruiz, J.d.J.L.; D'Eeckenbrugge, G.C.; Hijmans, R.J.; Gepts, P. Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2014, 111, 6165–6170.
- Kramer, P.J. 1983. Water deficit and plant growth. In: P.J. Kramer (ed), *Water Relations of Plants*. Academic Press, NY, USA, 343-389.
- Mahendran, S., & Bandara, D. C. (2000). Effects of soil moisture stress at different growth stages on vitamin C, capsaicin and β -carotene contents of chili (*Capsicum annuum* L.) fruits and their impact on yield. *Tropical Agricultural Research*, 12, 95–106.
- McKee, J.M.T. 1981. Physiological aspects of transplanting vegetables and other crops. II. Methods used to improve transplant establishment. *Hort. Abstr.* 51:355-368
- Moscone EA Scadalferro MA Gabriele M, et al., 2007. The evolution of chili peppers (*Capsicum* – *Solanaceae*): a cytogenetic perspective. *Acta Horticulturae*745: 137–169.
- Paplomatas E., Elena K. and Lascaris D. 1995. First Report of *Phytophthora boehmeriae* Causing Boll Rot of Cotton. *Plant Dis.* 79:860.
- Papoiu, A. D. P., & Yosipovitch, G. (2010). Topical capsaicin. The fire of a ‘hot’ medicine is reignited. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 11(8), 1359–1371.
- Perry, L., Dickau, R., Zarrillo, S., Holst, I., Pearsall, D. M., Piperno, D. R., ... Zeidler, J. A. (2007). Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science*, 315(5814), 986–988.

- Perucka, I., & Oleszek, W. (2000). Extraction and determination of capsaicinoids in fruit of hot pepper *Capsicum annuum* L. by spectrophotometry and high-performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 71(2), 287–291.
- Pickersgill, B. (1969). The archaeological record of chili peppers (*Capsicum* spp.) and the sequence of plant domestication in Peru. *American Antiquity*, 34(1), 54–61.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross, 1992. Environmental physiology. In: Plant Physiology. 4th ed. Wadsworth Pub. Company, Belmont, CA, USA, 549-600.
- Sánchez-Segura, L., Téllez-Medina, D. I., Evangelista-Lozano, S., García-Armenta, E., Alamilla-Beltrán, L., Hernández-Sánchez, H., Gutiérrez-López, G. F. (2015). Morpho-structural description of epidermal tissues related to pungency of *Capsicum* species. *Journal of Food Engineering*, 152, 95–104.
- Sardare, M.D.; Adame, S.V. A review on plant without soil-hydroponics. *Int. J. Res. Eng. Technol.* 2013, 2, 299–304.
- Sinha, T. D. and Lagoke S.T O. (1983). Pre transplant herbicide for weed control in irrigated onion in northern Nigeria. *Crop Prot.*, 2: 455-462.
- Tursun, N., Bukun, B., Karacan, S. C., Ngouajio, M., & Mennan, H. (2007). Critical period for weed control in leek (*Allium porrum* L.). *HortScience*, 42, 106–109.
- Uarrota, V. G., Maraschin, M., de Bairros, A. de F., & Pedreschi, R. (2000). Factors affecting the capsaicinoid profile of hot peppers and biological activity of their non-pungent analogs (capsinoids) present in sweet peppers. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, 1–17.
- Villalón, B., 1981. Breeding peppers to resist virus diseases. *Plant Dis.* 65: 557–562.
- Wierenga, P.J. and J.M.H. Hendrickx, 1985. Yield and Quality of Trickle-Irrigated Chile Peppers. *Agricultural Water Management.* 9: 339-356.
- Wolcan, S., and Lori, G. 2001. Basal rot of Gerald ton wax plant caused by *Phytophthora boehmeriae*. *Plant Dis* 85:98