

**Τ.Ε.Ι. ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**  
**ΚΑΙ**  
**ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

***ALTERNARIA SOLANI***  
**ΣΤΗΝ ΤΟΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΑΤΑΤΑ**  
●  
**ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ**  
**ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΩΝ**

**ΕΛΕΝΗ ΣΤΑΜΕΛΟΥ**

**ΑΘΗΝΑ 2000**

**Τ.Ε.Ι. ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**  
**ΚΑΙ**  
**ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ**



**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

***ALTERNARIA SOLANI***  
**ΣΤΗΝ ΤΟΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΑΤΑΤΑ**  
●  
**ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ**  
**ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΩΝ**

**ΕΛΕΝΗ ΣΤΑΜΕΛΟΥ**

**Αθήνα 2000**

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

*Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή του Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας κ. Ευάγγελο Βλαχόπουλο, που ανέλαβε την εποπτεία αυτής της μελέτης.*

*Επίσης θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στη Δρα Ειρήνη Βλουτόγλου, Ερευνήτρια Γ' του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για την καθοδήγηση και τις συμβουλές που μου έδωσε κατά τη διάρκεια τόσο της κατάστρωσης και εκτέλεσης των πειραμάτων όσο και της συγγραφής και παρουσίασης της πτυχιακής μου μελέτης.*

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....</b>	<b>1</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1. ΞΕΝΙΣΤΕΣ.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.1. Τομάτα.....</b>	<b>4</b>
1.1.1.1. Ιστορικό .....	4
1.1.1.2. Ταξινόμηση- Περιγραφή του φυτού .....	4
1.1.1.3. Κλίμα και έδαφος .....	5
1.1.1.4. Η καλλιέργεια της τομάτας στη χώρα μας .....	5
<b>1.1.2. Πατάτα.....</b>	<b>6</b>
1.1.2.1. Ιστορικό .....	6
1.1.2.2. Ταξινόμηση – Περιγραφή του φυτού .....	7
1.1.2.3. Κλίμα και έδαφος .....	7
1.1.2.4. Η καλλιέργεια της πατάτας στη χώρα μας .....	7
<b>1.2. ΠΑΘΟΓΟΝΟ .....</b>	<b>8</b>
1.2.1. Ταξινόμηση.....	8
1.2.2. Περιγραφή - Μορφολογία .....	8
1.2.3. Παραγωγή κονιδίων .....	9
1.2.4. Διασπορά κονιδίων .....	15
1.2.5. Βλάστηση κονιδίων - Μόλυνση .....	16
1.2.6. Διαχείμανση - Επιβίωση .....	19
1.2.7. Οι τοξίνες και ο ρόλος τους.....	21
1.2.8. Ξενιστές.....	22
<b>1.3. ΑΣΘΕΝΕΙΑ.....</b>	<b>22</b>
1.3.1. Γεωγραφική εξάπλωση .....	22
1.3.2. Συμπτώματα - Σημεία .....	22

1.3.3. Επιδημιολογία.....	29
1.3.4. Αντιμετώπιση.....	30
1.3.4.1. Καλλιεργητικά μέτρα.....	30
1.3.4.2. Βιολογικοί παράγοντες .....	33
1.3.4.3. Χημικά μέτρα .....	34
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΓΕΝΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....</b>	<b>38</b>
2.1. Ανάπτυξη φυτών .....	38
2.2. Θρεπτικά υλικά ανάπτυξης.....	40
2.3. Απομονώσεις του μύκητα <i>A. solani</i> - Διατήρηση απομονώσεων ..	41
2.4. Παραγωγή μονόσπορων απομονώσεων.....	42
2.5. Παραγωγή μολύσματος .....	44
2.6. Μόλυνση φυτών.....	46
2.7. Στατιστική ανάλυση .....	48
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΤΕΣ ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ ΤΟΜΑΤΑΣ</b>	
<b>ΚΑΙ ΠΑΤΑΤΑΣ .....</b>	<b>50</b>
3.1. Σκοπός .....	50
3.2. Υλικά και Μέθοδοι .....	50
3.3. Αποτελέσματα.....	51
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΩΝ</b>	
<b><i>IN VITRO</i> .....</b>	<b>61</b>
4.1. Σκοπός .....	61
4.2. Υλικά και Μέθοδοι .....	61
4.3. Αποτελέσματα.....	64

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΩΝ</b>	
<i>IN VIVO</i> .....	79
5.1. Σκοπός .....	79
5.2. Υλικά και Μέθοδοι .....	79
5.3. Αποτελέσματα.....	81
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>91</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>96</b>

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο πρώτος περονόσπορος της τομάτας και πατάτας, που οφείλεται στο μύκητα *Alternaria solani* Sorauer, έχει διαπιστωθεί σε πολλές χώρες του κόσμου (Jones *et al.*, 1993). Όταν η προσβολή των φυτών εμφανιστεί στο θερμοκήπιο ή στο φυτώριο με τη μορφή της σήψης στη βάση του στελέχους, τότε μπορεί να προκαλέσει απώλειες στα φυτά και σοβαρή μείωση της παραγωγής. Σύμφωνα με τον Basu (1971), οι απώλειες στην παραγωγή τομάτας στο Ισραήλ, λόγω της ασθένειας, έφτασαν σε ποσοστό 34%, ενώ οι Datar & Mayee (1982) ανέφεραν ότι το 1978 στην Ινδία οι απώλειες σε παραγωγή τομάτας ήταν 78%.

Στην Ελλάδα η ασθένεια παρατηρήθηκε για πρώτη φορά το 1936 από το Σαρεγιάννη. Από τότε μέχρι σήμερα εμφανίστηκε σε πολλές περιοχές της χώρας, όπου καλλιεργείται η τομάτα και η πατάτα (Ηλεία, Καλαμάτα, Πρέβεζα, Αιτωλικό, Λακωνία, Κω, κλπ) προκαλώντας σοβαρές ζημιές, ιδίως σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας (στοιχεία αρχείου του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου). Μάλιστα σε ορισμένες περιπτώσεις τα τελευταία χρόνια, οι παραγωγοί αναγκάστηκαν να εγκαταλείψουν την καλλιέργεια μια εβδομάδα μετά την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων της ασθένειας. Στην Κρήτη η ασθένεια εμφανίζει δύο φάσεις: α) τη σήψη του λαιμού των νεαρών φυταρίων τομάτας, που απαντάται πιο συχνά στις υπαίθριες καλλιέργειες των περιοχών Βιάννου και Ιεράπετρας, και β) την κηλίδωση των φύλλων, που είναι ενδημική στα θερμοκήπια τομάτας και έχει τη μεγαλύτερη οικονομική σημασία (Βακαλουνάκης, 1987).

Τα τελευταία όμως χρόνια έχει παρατηρηθεί μια αύξηση τόσο στη συχνότητα εμφάνισης όσο και στην ένταση της ασθένειας στις

θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας, ιδίως στην περιοχή της Ηλείας (Ε. Βλουτόγλου, προσωπική επικοινωνία). Αυτό πιθανόν να οφείλεται σε πολλούς λόγους, όπως: α) στην συνεχώς αυξανόμενη εισαγωγή και καλλιέργεια υβριδίων τομάτας. Τα υβρίδια αυτά, που στις περισσότερες των περιπτώσεων είναι ανθεκτικά ή ανεκτικά σε προσβολές άλλων παθογόνων (π.χ. *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum*, νηματώδεις, ιοί, κλπ), φαίνεται να είναι πολύ ευπαθή στις μολύνσεις του μύκητα *A. solani* (Vloutoglou, 1999). β) Στη χρήση εξιδεικευμένων μυκητοκτόνων για την αντιμετώπιση άλλων σοβαρών ασθενειών της τομάτας ή πατάτας. Τα μυκητοκτόνα αυτά συνήθως δεν έχουν καμιά αποτελεσματικότητα εναντίον του μύκητα *A. solani*, ενώ σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να σκοτώνουν μικροοργανισμούς (μύκητες ή βακτήρια) που είναι ανταγωνιστές του μύκητα *A. solani*. γ) Στην εισαγωγή με το πολλαπλασιαστικό υλικό (σπόροι) φυλών του παθογόνου ανθεκτικών στα χρησιμοποιούμενα μυκητοκτόνα ή στελεχών με ισχυρή παθογένεια. δ) Στην μεταβολή των κλιματολογικών συνθηκών που παρατηρείται τα τελευταία χρόνια στις Μεσογειακές χώρες και οι οποίες συνθήκες πιθανόν να είναι περισσότερο ευνοϊκές για την ανάπτυξη του παθογόνου (αύξηση θερμοκρασίας, κλπ).

Στη Διεθνή Βιβλιογραφία υπάρχουν αρκετές πληροφορίες που αφορούν τη βιολογία του παθογόνου, την επιδημιολογία της ασθένειας και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που ευνοούν την εμφάνιση και εξέλιξη του πρώιμου περονόσπορου στην τομάτα και πατάτα. Επιπλέον υπάρχουν διάφορες αναφορές για την αποτελεσματικότητα διαφόρων μυκητοκτόνων με σκοπό την αντιμετώπιση της ασθένειας. Εν τούτοις στη χώρα μας δεν έχει μελετηθεί ο πληθυσμός του μύκητα *A. solani* και ιδίως ότι αφορά την παρουσία ανθεκτικών στα μυκητοκτόνα στελεχών του μύκητα. Επιπλέον, δεν υπάρχουν στοιχεία όσον αφορά την παθογένεια των απομονώσεων του μύκητα στην πατάτα. Πρόσφατα κυκλοφόρησε



ένα νέο μυκητοκτόνο της ομάδας των στρομπιλουρινών, το azoxystrobin, το οποίο συνιστάται διεθνώς εκτός των άλλων και για την αντιμετώπιση μυκήτων του γένους *Alternaria*. Η αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου αυτού εναντίον των ελληνικών στελεχών του παθογόνου δεν έχει μελετηθεί μέχρι σήμερα.

Ως εκ τούτου, σκοποί της παρούσας εργασίας ήταν:

1. Η μελέτη της παθογένειας των ελληνικών στελεχών του μύκητα *A. solani* στην τομάτα και πατάτα σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού.
2. Η τυχόν διαφοροποίηση ως προς την παθογόνο δύναμη απομονώσεων του μύκητα που προέρχονται από διάφορους ξενιστές (τομάτα ή πατάτα).
3. Η *in vitro* μελέτη της αποτελεσματικότητας των χρησιμοποιούμενων στην πράξη μυκητοκτόνων (mancozeb, iprodione, prochloraz, chlorothalonil) καθώς και εκείνης του νέου μυκητοκτόνου azoxystrobin εναντίον των ελληνικών στελεχών του μύκητα. Πιο συγκεκριμένα η μελέτη της επίδρασης των μυκητοκτόνων αυτών στη γραμμική αύξηση του μυκηλίου του μύκητα *A. solani*.
4. Η μελέτη της προστατευτικής δράσης των παραπάνω μυκητοκτόνων όταν εφαρμόζονται σε φυτά τομάτας (*in vivo*) και σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

### 1.1. ΞΕΝΙΣΤΕΣ

#### 1.1.1. Τομάτα

##### 1.1.1.1. Ιστορικό

Η τομάτα (*Lycopersicon esculentum* Mill. ή *Solanum lycopersicum* L.) κατάγεται από τη Ν. Αμερική (Ανδεις). Τον 16ο αιώνα μεταφέρθηκε από το Περού στην Ιταλία και από εκεί στη Βόρεια Ευρώπη (Σπάρτσης & Καλτσίκης, 1991). Αρχικά καλλιεργήθηκε ως καλλωπιστικό φυτό και όχι ως λαχανικό, γιατί πίστευαν ότι οι καρποί της ήταν δηλητηριώδεις (Κομνάκου, 1998). Στην Ελλάδα είναι γνωστή από το 1818 αλλά εντατικά και σε μεγάλη έκταση καλλιεργήθηκε αμέσως μετά τον Α' Παγκόσμιο Πόλεμο. Σήμερα κατέχει πρωτεύουσα θέση μεταξύ των νωπών λαχανικών.

##### 1.1.1.2. Ταξινόμηση- Περιγραφή του φυτού

Η τομάτα ανήκει στην Οικογένεια των Σολανωδών (Solanaceae). Είναι φυτό αυτογονιμοποιούμενο που καλλιεργείται στην Ευρώπη ως ετήσιο και στις τροπικές χώρες ως πολυετές (Σπάρτσης & Καλτσίκης, 1991). Όταν αναπτύσσεται από σπόρο έχει πασσαλώδη ρίζα. Σχηματίζει πλούσιο ριζικό σύστημα στο οποίο οφείλεται η σχετική αντοχή του φυτού στην ξηρασία. Επειδή οι βλαστοί της βγάζουν ρίζες όταν έρθουν σε επαφή με το χώμα, η τομάτα μπορεί να πολλαπλασιαστεί και με μοσχεύματα. Τα φύλλα είναι σύνθετα και—όπως και ο βλαστός—έχουν

πολλά τριχίδια, που όταν σπάσουν εκλύουν τη χαρακτηριστική μυρωδιά της τομάτας (Κομνάκου, 1998). Τα άνθη φύονται πολλά μαζί και σχηματίζουν ταξιανθία, ενώ ο καρπός είναι ράγα.

#### **1.1.1.3. Κλίμα και έδαφος**

Η τομάτα είναι θερμοαπαιτητικό φυτό, ευδοκιμεί σε θερμοκρασίες 18-30°C, ενώ η ανάπτυξη του φυτού σταματά σε θερμοκρασία μικρότερη των 10°C (Jones *et al.*, 1991, Σπάρτσης & Καλτσίκης, 1991). Για να δώσει τον πρώτο καρπό, το φυτό χρειάζεται 3-4 μήνες από την εποχή σποράς. Ως προς την ατμοσφαιρική υγρασία, η τομάτα ευνοείται από σχετική υγρασία που κυμαίνεται από 50 έως 85%. Από πλευράς εδάφους, η τομάτα ευδοκιμεί σε όλα σχεδόν τα είδη εδαφών με προτίμηση στα ελαφρά, αμμώδη και καλά στραγγιζόμενα εδάφη. Η επιθυμητή αντίδραση του εδάφους για την ανάπτυξη του φυτού είναι ουδέτερη ή ελαφρώς όξινη (pH 5,5–7) (Δημητράκης, 1987).

#### **1.1.1.4. Η καλλιέργεια της τομάτας στη χώρα μας**

Με βάση στοιχεία του Υπουργείου Γεωργίας (Μάϊος 2000) η καλλιέργεια της τομάτας καταλαμβάνει τη δεύτερη θέση σε έκταση στη χώρα μας. Ένα μεγάλο μέρος της έκτασης καλλιεργείται με βιομηχανική τομάτα για την παραγωγή πολτού ή μεταποιημένων προϊόντων που προορίζονται κυρίως για εξαγωγές. Το μεγαλύτερο μέρος της νωπής καλλιέργειας (υπαίθρια ή υπό κάλυψη) προορίζεται για την εσωτερική αγορά. Είναι επομένως προφανές ότι η καλλιέργεια της τομάτας είναι μια από τις πιο προσοδοφόρες όχι μόνο για τον αγρότη αλλά και για την Εθνική Οικονομία της χώρας. Ο Πίνακας 1 αναφέρει την έκταση που καλλιεργείται με τομάτα στη χώρα μας καθώς και την ετήσια παραγωγή και βασίζεται σε στατιστικά στοιχεία της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας.

**Πίνακας 1.** Εκταση και παραγωγή της καλλιέργειας της τομάτας στην Ελλάδα κατά την περίοδο 1995-1999 (Πηγή: Εθνική Στατιστική Υπηρεσία, Μάιος 2000).

Ετος		Νωπή	Βιομηχανική	Σύνολο
1995	Εκταση*	192.000	230.000	422.000
	Παραγωγή**	738.000	1.327.000	2.065.000
1996	Εκταση	190.000	236.000	426.000
	Παραγωγή	697.000	1.365.000	2.062.000
1997	Εκταση	191.000	241.000	432.000
	Παραγωγή	743.684	1.269.595	2.013.279
1998	Εκταση	195.000	254.000	449.000
	Παραγωγή	741.688	1.343.422	2.085.110
1999	Εκταση	194.766	279.313	474.079
	Παραγωγή	761.502	1.336.944	2.098.446

\* Εκταση σε στρέμματα.

\*\* Παραγωγή σε τόνους.

## 1.1.2. Πατάτα

### 1.1.2.1. Ιστορικό

Η πατάτα (*Solanum tuberosum* L.) κατάγεται από τη Νότια Αμερική. Στη Δυτική Ευρώπη εισήχθη κατά τα μέσα του 16ου αιώνα και στην Ελλάδα το 1830. Καλλιεργείται για τους πλούσιους σε άμυλο κονδύλους της, που χρησιμοποιούνται όχι μόνο ως τροφή του ανθρώπου αλλά και ως κτηνοτροφή καθώς και στη βιομηχανία για την παραγωγή οινοπνεύματος, αμυλόκολλας κ.α. (Δημητράκης, 1987).

#### **1.1.2.2. Ταξινόμηση – Περιγραφή του φυτού**

Η πατάτα ανήκει και αυτή στην Οικογένεια Solanaceae. Είναι φυτό ετήσιο, ποώδες με βιολογικό κύκλο 3–4 μηνών, ανάλογα με την ποικιλία (Δημητράκης, 1987). Τα φύλλα είναι σύνθετα και τα άνθη σε ανθοταξίες, ενώ ο καρπός είναι ράγα με πράσινο, κιτρινοπράσινο χρώμα, όταν είναι άωρος και ερυθρό έως ιώδες χρώμα, όταν ωριμάσει. Είναι ερμαφρόδιτο φυτό αλλά συνήθως εμφανίζεται ως αυτόστειρο. Όλα τα πράσινα μέρη του είναι δηλητηριώδη λόγω της σολανίνης που περιέχουν. Από τη ρίζα παράγονται υπόγειοι βλαστοί, οι στόλωνες, καθένας από τους οποίους διογκώνεται στην άκρη σχηματίζοντας τους κονδύλους.

#### **1.1.2.3. Κλίμα και έδαφος**

Η πατάτα είναι φυτό των ψυχρών, εύκρατων περιοχών ή περιοχών με υψόμετρο περίπου 2000 μέτρων (Hooker, 1981). Το φυτό για την ανάπτυξή του απαιτεί ψυχρές νύκτες, ενώ η άριστη θερμοκρασία για το σχηματισμό και την ανάπτυξη των κονδύλων στις περισσότερες ποικιλίες είναι 15–20<sup>0</sup>C. Το έδαφος πρέπει να είναι ελαφρύ, πολύ γόνιμο, πλούσιο σε οργανική ουσία, με όξινη έως ουδέτερη αντίδραση (pH 4,8–7,5).

#### **1.1.2.4. Η καλλιέργεια της πατάτας στη χώρα μας**

Η καλλιέργεια της πατάτας στη χώρα μας καταλαμβάνει την πρώτη θέση μεταξύ των κηπευτικών, σύμφωνα με στοιχεία του Υπουργείου Γεωργίας (Μάϊος 2000). Με βάση στατιστικά στοιχεία της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας, η έκταση που καλλιεργείται με πατάτα στη χώρα μας καθώς και η ετήσια παραγωγή αναφέρονται στον Πίνακα 2.

**Πίνακας 2.** Εκταση και παραγωγή της καλλιέργειας της πατάτας στην Ελλάδα κατά την περίοδο 1995-1999 (Πηγή: *Εθνική Στατιστική Υπηρεσία, Μάιος 2000*).

Ετος		
1995	Εκταση*	523.000
	Παραγωγή**	1.050.000
1996	Εκταση	515.000
	Παραγωγή	1.031.000
1997	Εκταση	478.000
	Παραγωγή	883.428
1998	Εκταση	484.000
	Παραγωγή	876.086
1999	Εκταση	474.567
	Παραγωγή	866.716

\* Εκταση σε στρέμματα.

\*\* Παραγωγή σε τόνους.

## 1.2. ΠΑΘΟΓΟΝΟ

### 1.2.1. Ταξινόμηση

Ο μύκητας *Alternaria solani* Sorauer, ανήκει στην Οικογένεια Dematiaceae, στην Τάξη Hyphomycetales, στην Κλάση Hyphomycetes και στην Υποδιαίρεση Deuteromycotina.

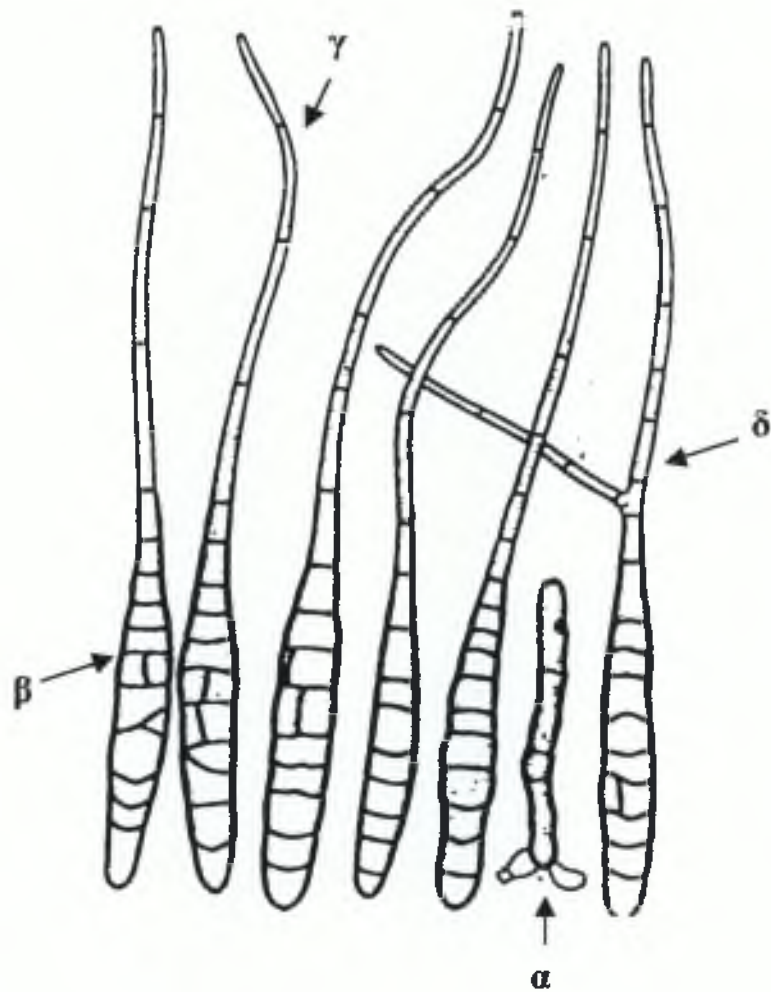
### 1.2.2. Περιγραφή - Μορφολογία

Ο μύκητας *A. solani* σχηματίζει πολυκύτταρο, καστανό μυκήλιο, γλαυδοσπόρια (διαμέτρου 8-15 μm), κονιδιοφόρους και κονίδια. Οι α π ο ι κ ί ε ς του μύκητα είναι επίπεδες, χρώματος γκρι προς το μαύρο

και χνοώδεις (Ellis & Gibson, 1975). Οι κ ο ν ι δ ι ο φ ό ρ ο ι εμφανίζονται μεμονωμένοι ή σε μικρές ομάδες, ευθείς ή κεκαμμένοι, με διαφράγματα (septa) (Εικ. 1). Το χρώμα τους είναι ανοιχτό καστανό ή ελαιώδες καστανό. Μπορούν να φτάσουν μέχρι 110 μ σε μήκος και 6–10 μ σε πάχος. Τα κ ο ν ί δ ι α είναι σκούρου καστανού χρώματος δικτυοσπόρια, σχηματίζονται συνήθως μεμονωμένα και είναι ευθεία ή ελαφρώς κεκαμμένα. Είναι διογκωμένα στο σημείο πρόσφυσης με τον κονιδιοφόρο και καταλήγουν στο ράμφος (beak), το οποίο έχει συχνά το ίδιο ή μεγαλύτερο μήκος από εκείνο του κυρίως σώματος του κονιδίου (Εικ. 2). Το χρώμα τους είναι ελαφρώς χρυσαφί ή ελαιώδες καστανό. Έχουν λεία επιφάνεια, συνολικό μήκος 150–300μ και πάχος στο φαρδύτερο σημείο τους 15–19μ. Επιπλέον, έχουν 9–11 εγκάρσια και καθόλου ή μερικά επιμήκη ή πλάγια septa. Το ράμφος είναι κεκαμμένο, ανοιχτόχρωμο ενώ σε μερικές περιπτώσεις διακλαδίζεται. Έχει πάχος 2,5 – 5μ και στενεύει προς την άκρη του.

### 1.2.3. Παραγωγή κονιδίων

Σύμφωνα με τον Leach (1967), τα διάφορα είδη μυκήτων μπορούν να χωριστούν, με βάση την παραγωγή σπορίων, σε δύο κατηγορίες: α) είδη που παράγουν σπόρια σε συνθήκες εναλλαγής φωτός και σκότους (diurnal sporulators), όπως οι μύκητες του γένους *Alternaria*, και β) είδη που παράγουν σπόρια σε σταθερή θερμοκρασία (constant-temperature sporulators), όπως οι μύκητες του γένους *Fusarium*. Τα είδη που παράγουν σπόρια σε συνθήκες εναλλαγής φωτός και σκότους προσαρμόζονται εύκολα στις συνθήκες του περιβάλλοντος και στις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και του φωτός. Επιπλέον, αυτά τα είδη παρουσιάζουν δύο φάσεις κατά τη διάρκεια της φωτοσπορογένεσης. Η πρώτη φάση ή αρχική, οδηγεί στο σχηματισμό κονιδιοφόρων, και η δεύτερη φάση ή τελική, οδηγεί στο σχηματισμό κονιδίων. Οι απαιτήσεις



**Εικόνα 1.** Κονίδια και κονιδιοφόροι του μύκητα *A. solani*. (α) κονιδιοφόρος, (β) κυρίως σώμα κονιδίου, (γ) ράμφος (beak) και (δ) διακλάδωση ράμφους.

(*CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No 475, Ellis & Gimbson, 1975*)





**Εικόνα 2.** Κονίδια του μύκητα *A. solani* στο μικροσκόπιο από φυσικά μολυσμένα φυτά τομάτας.

σε φως και σε θερμοκρασία των δύο αυτών φάσεων είναι διαφορετικές. Η αρχική φάση διεγείρεται από υπεριώδη ακτινοβολία (NUV, near-ultraviolet), ενώ η τελική φάση διεξάγεται καλύτερα στο σκοτάδι και συχνά παρεμποδίζεται από το φως (Leach, 1967).

Το φως και η υψηλή θερμοκρασία παίζουν παρεμποδιστικό ρόλο στην παραγωγή κονιδίων όλων των ειδών του γένους *Alternaria*, αλλά ο βαθμός της παρεμπόδισης διαφέρει (Aragaki, 1961). Οι Bashi & Rotem (1975β) αναφέρουν ότι στην παραγωγή κονιδίων του μύκητα *Alternaria solani* στην πατάτα, μειώθηκε η παρεμποδιστική δράση του φωτός με μία ταυτόχρονη πτώση της θερμοκρασίας επώασης από 25<sup>0</sup>C σε 15<sup>0</sup>C και της έντασης του φωτός από 120μE σε 155μE. Ο Douglas (1972) μετά από μελέτη *in vitro* αναφέρει ότι η άριστη θερμοκρασία για την παραγωγή των κονιδίων του μύκητα *A. solani* παρουσία φωτός είναι 25<sup>0</sup>C και σε συνθήκες εναλλαγής φωτός-σκότους 20<sup>0</sup>C. Οι Bashi & Rotem (1975γ) αναφέρουν ότι η ελάχιστη, άριστη και μέγιστη θερμοκρασία για την παραγωγή κονιδιοφόρων από το μύκητα *A. solani* είναι 5, 27,5 και 35<sup>0</sup>C, αντίστοιχα και είναι διαφορετική από εκείνη για την παραγωγή κονιδίων (10, 22,5 και 30<sup>0</sup>C, αντίστοιχα). Η παραγωγή κονιδίων από τους μύκητες του γένους *Alternaria* απαιτεί μεγάλη περίοδο υγρασίας, αλλά μπορεί να διεξαχθεί και με έναν αριθμό μικρών διακοπτόμενων περιόδων (Rotem, 1994). Η παρουσία μιας περιόδου υγρασίας στο σκοτάδι που διακόπτεται από μία περίοδο υγρασίας, παρουσία όμως φωτός, επιτρέπει την παραγωγή περισσότερων κονιδίων *in vitro* από εκείνα που θα παράγονταν κάτω από μια συνεχή περίοδο υγρασίας (Bashi & Rotem, 1976).

Όλα τα είδη του γένους *Alternaria* παράγουν *in vitro* περισσότερα κονίδια σε θρεπτικά υποστρώματα φτωχά σε ζάχαρη. Οι Waggoner & Horsfall (1969) αναφέρουν ότι, ενώ η γλυκόζη επιταχύνει τον *in vitro* σχηματισμό κονιδιοφόρων από το μύκητα *A. solani*, παρεμποδίζει την παραγωγή κονιδίων.

Τα είδη του γένους *Alternaria* συνήθως περιλαμβάνουν απομονώσεις που διαφέρουν ως προς τον αριθμό των παραγομένων κονιδίων και τις απαιτήσεις για *in vitro* παραγωγή κονιδίων (Rotem, 1994). Μερικές απομονώσεις διατηρούν την ικανότητά τους να παράγουν κονίδια για αρκετά χρόνια, ενώ άλλες σταματούν την παραγωγή κονιδίων μετά από μικρό χρονικό διάστημα καλλιέργειάς τους σε θρεπτικά υποστρώματα.

Πολλοί φυτοπαθολόγοι ασχολήθηκαν με τη μελέτη της *in vitro* παραγωγής κονιδίων από διάφορα είδη του γένους *Alternaria* και στη Βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές αναφορές για τη χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας (McCallan & Chan, 1944, Charlton, 1953), φθορίζοντος φωτός (Charlton, 1953, Lukens, 1960) ή ηλιακής ακτινοβολίας (Rands, 1917β, McCallan & Chan, 1944). Σε αρκετές περιπτώσεις, η παραγωγή κονιδίων *in vitro* επιτυγχάνεται με το πλήγωμα του μυκηλίου (Rands, 1917β, McCallan & Chan, 1944, Charlton, 1953, Ludwig *et al.*, 1962, Douglas, & Pavek, 1971, Shahin & Shepard, 1978), την αφυδάτωση του θρεπτικού υλικού (Rands, 1917β, McCallan & Chan, 1944, Charlton, 1953, Ludwig *et al.*, 1962) ή την προσθήκη χημικών ουσιών στο θρεπτικό υλικό ανάπτυξης (Charlton, 1953).

Ο μύκητας *A. solani*, όπως και άλλοι μύκητες, που για την παραγωγή σπορίων *in vitro* χρειάζονται φως, μπορούν να παράγουν σπόρια *in vivo* απουσία φωτός (Rotem *et al.*, 1978). Για τη διόγκωση των κονιδιοφόρων και την παραγωγή κονιδίων από το μύκητα *A. solani* απαιτείται η παρουσία οξυγόνου, ενώ η ύπαρξη διοξειδίου του άνθρακα την παρεμποδίζει (Lukens & Horsfall, 1973). Στο θερμοκήπιο η χρήση UVA-vinyl πλαστικού κάλυψης εμπόδισε την παραγωγή σπορίων των μυκήτων *A. porri*, *A. dauci*, *A. solani* και *A. brassicae* (Sasaki *et al.*, 1985). Σε πείραμα που έκανε ο Βακαλουνάκης (1991) όπου χρησιμοποιήθηκε το UVA-vinyl ως υλικό κάλυψης του θερμοκηπίου

διαπιστώθηκε ότι η ένταση του πρώιμου περονόσπορου ήταν μικρότερη από αυτή που παρατηρήθηκε σε θερμοκήπιο με άλλο υλικό κάλυψης.

Η *in vivo* παραγωγή κονιδίων επηρεάζεται όμως εκτός των άλλων και από τη θερμοκρασία (Rotem, 1994) και έχουν δοκιμαστεί διάφορες θερμοκρασίες με σκοπό το σχηματισμό κονιδίων *in vivo*. Ωστόσο τα στοιχεία μας δείχνουν ότι για διάφορα είδη του γένους *Alternaria* η ελάχιστη θερμοκρασία παραγωγής κονιδίων είναι μεταξύ 5<sup>0</sup>C και 15<sup>0</sup>C, ενώ η μέγιστη ποικίλει μεταξύ 24<sup>0</sup>C και 40<sup>0</sup>C. Η άριστη θερμοκρασία όμως παραγωγής κονιδίων *in vivo* κυμαίνεται από 10<sup>0</sup>C έως 30<sup>0</sup>C.

Σε μερικά είδη του γένους *Alternaria* η *in vivo* παραγωγή κονιδίων ενισχύεται με τη βροχή και μπορεί να αρχίσει όταν η σχετική υγρασία βρίσκεται κάτω από το σημείο κορεσμού δηλαδή όταν είναι 75-85% (Strandberg, 1977). Αυτό έχει διαπιστωθεί για τους μύκητες *A. porri* στο κρεμμύδι (Fahim, 1966), *A. brassicae* και *A. brassicicola* στο λάχανο (Maude *et al.*, 1986). Σύμφωνα με αδημοσίευτα στοιχεία του Rotem, η παραγωγή κονιδίων *in vivo* είναι μεγαλύτερη όταν τα φύλλα του φυτού είναι καλυμμένα με μικρά σταγονίδια νερού παρά όταν στα φύλλα υπάρχουν μεγάλες σταγόνες, γεγονός που δηλώνει την ανάγκη του μύκητα για αερισμό.

Σύμφωνα με τους Pelletier & Fry (1990), η ηλικία του φυτού και η θέση του φύλλου δεν επηρεάζουν σημαντικά την παραγωγή κονιδίων *in vivo*. Ενώ έχει αναφερθεί ότι οι μύκητες *A. alternata* στο γεράνι (Munnecke, 1956), *A. porri* στο κρεμμύδι (Everts & Lacy, 1990) και *A. solani* στην τομάτα και πατάτα (Bashi & Rotem, 1975a) παράγουν μεγαλύτερο αριθμό σπορίων στα νεκρά φύλλα παρά στα φύλλα που είναι φωτοσυνθετικά ενεργά (πράσινα φύλλα).

#### 1.2.4. Διασπορά κονιδίων

Ο άνεμος είναι το κύριο μέσο για τη διασπορά του μολύσματος του μύκητα *A. solani*, αν και η διασπορά με σταγόνες νερού είναι σε αρκετές περιπτώσεις εξίσου σημαντική (Rotem, 1994). Κονίδια μυκήτων του γένους *Alternaria* έχουν παγιδευτεί στα ανώτερα στρώματα της ατμόσφαιρας (Stakman *et al.*, 1923), πάνω από ωκεανούς (Rittenberg, 1939), σε αρκτικές περιοχές (Pady & Karica, 1953) και σε ερήμους (Barkai-Golan & Glazer, 1962). Υπάρχουν λίγες και συγκεχυμένες πληροφορίες για το πόσο μακριά από τα σημεία παραγωγής τους μπορούν να φτάσουν τα κονίδια των μυκήτων τους γένους *Alternaria*. Ο Strandberg (1992) αναφέρει ότι τα κονίδια του μύκητα *A. brassicicola* μεταφέρθηκαν με τον άνεμο έως 1800 m μακριά από την πηγή σχηματισμού τους. Οι Bashan & Hernandez-Saavedra (1992) αναφέρουν επίσης ότι τα κονίδια του μύκητα *A. alternata* παγιδεύτηκαν έως και 20 m μακριά από την πηγή μολύσματος και ότι το 50% του αριθμού των διασπειρομένων κονιδίων βρέθηκε σε αποστάσεις 0-6 m από την πηγή του μολύσματος.

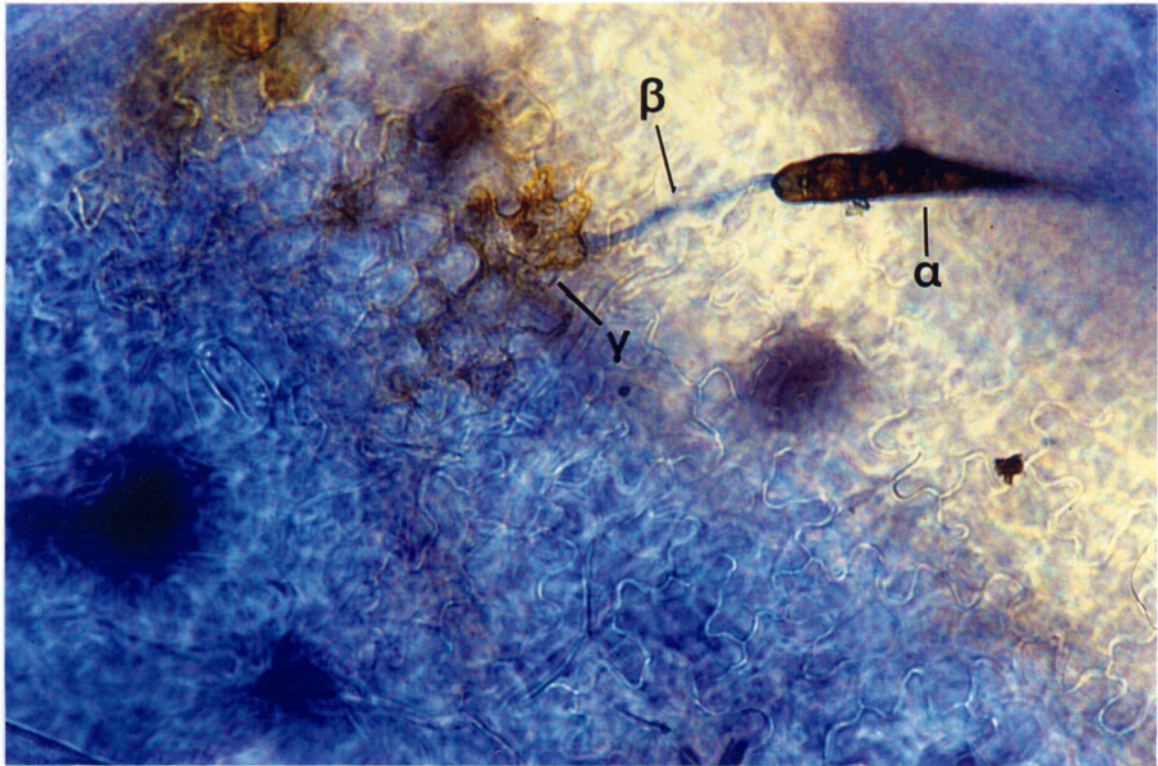
Η διασπορά των κονιδίων του μύκητα *A. solani*, όπως και άλλων μυκήτων του γένους *Alternaria*, ακολουθεί ημερήσια και εποχιακή περιοδικότητα. Σύμφωνα με τον Gregory (1973), η διασπορά των κονιδίων του γένους *Alternaria* ακολουθεί το “πρότυπο του μεσημεριού” και συνδέεται με τις θερμότερες και ξηρότερες ώρες της ημέρας και τη μέγιστη ταχύτητα του ανέμου. Ο Strandberg (1977) αναφέρει ότι κάτω από κανονικές συνθήκες, ο μεγαλύτερος αριθμός κονιδίων του μύκητα *A. solani* διασπείρεται γύρω στο μεσημέρι. Σε πείραμα που έγινε στο Negev (Ισραήλ) παρατηρήθηκε ότι η μεγαλύτερη διασπορά των κονιδίων του μύκητα *A. solani* έλαβε χώρα την πιο ζεστή και ξηρή ώρα της ημέρας (Rotem, 1994). Πιο συγκεκριμένα, το 60% των κονιδίων του μύκητα *A. solani* και το 70% των κονιδίων του *A. alternata* που διασπάρθηκαν στη

διάρκεια μιας ημέρας παγιδεύτηκαν μεταξύ 10:00 π.μ και 2:00 μ.μ (Rotem, 1994). Το μέγιστο της διασποράς αυτής παρατηρήθηκε 4,5 ώρες μετά την ανατολή του ήλιου. Αντίθετα, οι Datar & Mayee (1982) αναφέρουν ότι ο μέγιστος αριθμός των διασπειρομένων κονιδίων του μύκητα *A. solani* παρατηρήθηκαν μεταξύ 9:00-12:00 μ.μ. Ο Meredith (1966) υποστηρίζει ότι η ταχύτητα του ανέμου είναι ο κύριος παράγοντας που καθορίζει το ποσοστό της διασποράς των κονιδίων. Για τα περισσότερα είδη του γένους *Alternaria*, ο άνεμος σε συνδυασμό με τη χαμηλή υγρασία βοηθά την απελευθέρωση των κονιδίων από τις φυλλικές επιφάνειες (Aylor, 1990).

Διάφοροι ερευνητές αναφέρουν ότι το μέγιστο της εποχιακής διασποράς των κονιδίων των μυκήτων του γένους *Alternaria* εμφανίζεται στα μέσα (Harrison *et al.*, 1965, Madden *et al.*, 1978) ή στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου (Rotem, 1964, Datar & Mayee, 1982, Cohen & Rotem, 1987). Αντίθετα άλλοι αναφέρουν ότι το μέγιστο της διασποράς των κονιδίων των μυκήτων του γένους *Alternaria* εξαρτάται από τις καιρικές συνθήκες και την εποχή και ως εκ τούτου μπορεί να παρατηρηθεί σε διάφορα στάδια της καλλιεργητικής περιόδου (Pscheidt & Stevenson, 1986). Τέλος οι Datar & Mayee (1982) αναφέρουν ότι από τη στιγμή που θα εμφανιστεί η ασθένεια, η διασπορά του παθογόνου συνεχίζεται καθόλη τη διάρκεια ανάπτυξης των φυτών.

#### **1.2.5. Βλάστηση κονιδίων - Μόλυνση**

Τα κονίδια του μύκητα *A. solani*, όπως και των περισσότερων ειδών του γένους *Alternaria*, βλαστάνουν σχηματίζοντας βλαστικούς σωλήνες (Rotem, 1994) (Εικ. 3). Σύμφωνα με τον Rotem (1994), οι παράγοντες που επηρεάζουν τη βλάστηση των κονιδίων είναι η θερμοκρασία, η σχετική υγρασία, η ένταση και η διάρκεια διύγρανσης των φυτικών επιφανειών. Οι Stevenson & Pennyacker (1988)



**Εικόνα 3.** Βλάστηση κονιδίου του μύκητα *A. solani* σε φύλλα τομάτας (τεχνητές μολύνσεις). (α) Σώμα κονιδίου, (β) βλαστικός σωλήνας, (γ) νέκρωση κυττάρων από τοξίνη που παράγει το κονίδιο κατά τη βλάστησή του.

αναφέρουν ότι τα κονίδια του μύκητα *A. solani* βλάστησαν μόνο παρουσία σταγόνων νερού στις φυλλικές επιφάνειες και όταν η σχετική υγρασία ήταν 92%. Επιπλέον τα κονίδια του ίδιου μύκητα βλάστησαν πιο γρήγορα στο σκοτάδι όταν η θερμοκρασία ήταν κοντά στους 25<sup>0</sup>C και η σχετική υγρασία ήταν 96%. Φως μεταξύ 300-500 nm ήταν υπεύθυνο για τον περιορισμό της βλάστησης των κονιδίων του μύκητα *A. solani*. Οι Waggoner & Parlange (1975) αναφέρουν ότι η μέγιστη, άριστη και ελάχιστη θερμοκρασία για τη βλάστηση των κονιδίων του μύκητα *A. solani* είναι <40<sup>0</sup>C, 28<sup>0</sup>C και 4<sup>0</sup>C, αντίστοιχα, ενώ σύμφωνα με αδημοσίευτα στοιχεία του Rotem, οι παραπάνω θερμοκρασίες είναι >35<sup>0</sup>C, 27<sup>0</sup>C και <5<sup>0</sup>C. Σε πείραμα των Gurka & Nikhanj (1972) η βλάστηση του μύκητα *A. solani* ήταν καλύτερη στους 22,5<sup>0</sup>C. Οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν επίσης ότι σε pH=6 το φως είχε θετική επίδραση στη βλάστηση των κονιδίων, ενώ σε pH=7 η βλάστηση των κονιδίων ήταν η ίδια στο φως και στο σκοτάδι. Σε πολλές περιπτώσεις, ο ξενιστής επηρεάζει τη βλάστηση των κονιδίων (Kumar *et al.*, 1974). Για παράδειγμα τα κονίδια του μύκητα *A. triticina* ενώ απέτυχαν να βλαστήσουν στην ανεκτική ποικιλία σιταριού Calli, βλάστησαν στα φύλλα μιας ευαίσθητης ποικιλίας. Οι Cotty & Misaghi (1984) αναφέρουν επίσης ότι κάτω από ευνοϊκές συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτός, τα κονίδια του μύκητα *A. solani* βλαστάνουν μέσα σε 1-3 h από τη μόλυνση.

Η είσοδος του μύκητα *A. solani* στο ξενιστή μπορεί να πραγματοποιηθεί άμεσα, με απ' ευθείας διάτρηση των επιδερμικών κυττάρων ή έμμεσα, μέσω των στοματίων. Σύμφωνα με τον Rotem (1994), τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας του φύλλου που επηρεάζουν τη μόλυνσή του από μύκητες του γένους *Alternaria* είναι η πυκνότητα των στοματίων, το πάχος της επιδερμίδας και η διαβρεξιμότητα της φυλλικής επιφάνειας. Επίσης η μόλυνση μπορεί να διευκολυνθεί από



πληγές που δημιουργούνται στις επιφάνειες των φυτικών οργάνων των ξενιστών. Η μόλυνση διευκολύνεται επίσης από την παρουσία σταγόνων νερού στις φυτικές επιφάνειες όταν η σχετική υγρασία βρίσκεται κοντά στο σημείο κορεσμού (RH 100%) (Schein, 1964). Τα πρώτα συμπτώματα της ασθένειας (κηλίδες) εμφανίζονται περίπου 24 h μετά τη μόλυνση, ενώ στο χωράφι η περίοδος επώασης είναι μεγαλύτερη (Rowell, 1953).

#### 1.2.6. Διαχείμανση - Επιβίωση

Τα περισσότερα είδη του γένους *Alternaria* διαχειμάζουν στα υπολείμματα των καλλιεργειών και στους σπόρους με τη μορφή κονιδίων, μυκηλίου, χλαμυδοσπορίων ή σκληρωτίων (Rotem, 1994). Ο Sussman (1968) αναφέρει ότι η επιβίωση στη φύση των ειδών του γένους *Alternaria* επιτυγχάνεται με τη βοήθεια χλαμυδοσπορίων και σκληρωτίων. Σχηματισμός χλαμυδοσπορίων έχει αναφερθεί για τα είδη *A. raphani* (Atkinson, 1953) και *A. solani* (Basu, 1971). Η διαχείμανση των ειδών του γένους *Alternaria* με τη μορφή μυκηλίου είναι πιο αποτελεσματική από ότι εκείνη των σπορίων (Rotem, 1994). Το μυκήλιο του μύκητα *A. solani* επιβίωσε *in vitro* στο σκοτάδι για 24h σε θερμοκρασία 88°C και σχετική υγρασία 14-38%, ενώ τα σπόριά του επιβίωσαν για το ίδιο χρονικό διάστημα σε χαμηλότερη θερμοκρασία (58°C) και για τις ίδιες συνθήκες σχετικής υγρασίας (Rotem, 1968). Σε φυσικές συνθήκες όμως, η υπεριάδης ακτινοβολία μειώνει τη διάρκεια διαχείμανσης των διαφόρων ειδών του γένους *Alternaria*. Σε μια ζεστή, ξηρή περιοχή του Ισραήλ ο μύκητας *A. solani* επιβίωσε για 8 μήνες σε υπολείμματα φυτών τομάτας και πατάτας που είχαν αφεθεί ή ενσωματωθεί στα χωράφια (Strandberg, 1992).

Σύμφωνα με αποτελέσματα πειραμάτων, η διάρκεια της επιβίωσης των ειδών του γένους *Alternaria* κυμαίνεται από 18 ημέρες για τα κονίδια του μύκητα *A. porri* (Nolla, 1927) έως 12 χρόνια για το εδαφογενές

μυκήλιο του μύκητα *A. brassicicola* (Maude & Humpherson-Jones, 1980). Το μυκήλιο του μύκητα *A. solani* μπορεί να επιβιώσει σε *in vitro* καλλιέργεια για 67 ημέρες, σε θερμοκρασία 53<sup>0</sup>C και σχετική υγρασία 14,5% (Rotem, 1968).

Τα μολυσμένα φυτικά υπολείμματα είναι το σπουδαιότερο μέσο διαχείμανσης για μεγάλο χρονικό διάστημα των ειδών *A. alternata* στον καπνό (Ramm & Lucas, 1963), *A. brassicae* και *A. brassicicola* στα Brassicas (Humpherson-Jones & Maude, 1982, Humpherson-Jones, 1989), *A. dauci* και *A. radicina* στα καρότα (Kuprashvili, 1973, Soteros, 1979), *A. macrospora* στο βαμβάκι (Rotem, 1990), *A. porri* στο κρεμμύδι (Pandotra, 1965) και *A. solani* στην τομάτα και πατάτα (Rotem, 1968).

Ο σπόρος είναι το δεύτερο σε σπουδαιότητα μέσο στο οποίο διαχειμάζει ο μύκητας *A. solani*. Οι σπόροι μεταφέρουν το μόλυσμα μεταξύ των καλλιεργητικών περιόδων και σε μεγάλες αποστάσεις και ως εκ τούτου είναι η σημαντικότερη πηγή πρωτογενών μολυσμάτων για τα φυτά της τομάτας και πατάτας (Rotem, 1994).

Ο Rotem (1994) αναφέρει επίσης ότι σε ελάχιστες μόνο περιπτώσεις έχει μελετηθεί η επίδραση διαφόρων παραγόντων στη διαχείμανση των ειδών του γένους *Alternaria*. Τέτοιοι παράγοντες είναι η θερμοκρασία, η υγρασία, η ακτινοβολία και οι βιοτικοί παράγοντες. Η ακτινοβολία βέβαια δεν επιδρά τόσο όσο οι άλλοι παράγοντες γιατί το παθογόνο συνήθως προστατεύεται από το έδαφος, τα περιβλήματα των σπόρων ή τα φυτικά υπολείμματα. Οι εδαφικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη διάρκεια διαχείμανσης των ειδών του γένους *Alternaria* είναι η θερμοκρασία, η υγρασία και το βάθος του εδάφους. Στο Ισραήλ η επιβίωση των μυκήτων *A. solani* στην πατάτα και τομάτα και *A. macrospora* στο βαμβάκι ήταν μεγαλύτερη όταν τα υπολείμματα βρίσκονταν στην επιφάνεια του εδάφους παρά όταν ήταν θαμμένα στο έδαφος (Rotem, 1968, Rotem, 1990). Μία μελέτη για τη διαχείμανση του

μύκητα *A. macrospora* στο βαμβάκι έδειξε ότι ο μύκητας μπορεί να επιβιώσει καλύτερα σε μολυσμένα φυτικά υπολείμματα που βρίσκονται :  
α) σε εδάφη με καλή λίπανση παρά σε φτωχά από άποψη θρεπτικών στοιχείων εδάφη β) σε στεγνά παρά σε υγρά εδάφη, γ) σε ελαφριά εδάφη, δ) σε χαμηλές παρά σε υψηλές θερμοκρασίες εδάφους, και ε) σε ακαλλιέργητα εδάφη

### 1.2.7. Οι τοξίνες και ο ρόλος τους

Έρευνες που έγιναν για την ασθένεια του πρώιμου περονόσπορου της τομάτας και πατάτας αναφέρουν τη σύνθεση φυτοτοξινών από τον παθογόνο μύκητα *A. solani* (Maiero *et al.*, 1991). Οι φυτοτοξίνες αυτές συνδέονται στις περισσότερες των περιπτώσεων με την παθογένεια. Εάν γίνει εισαγωγή αυτών των τοξινών στα φυτά τότε εμφανίζονται συμπτώματα παρόμοια με εκείνα που προκαλεί ο μύκητας *A. solani* (Rotem, 1994). Οι δύο κυριότερες φυτοτοξίνες που έχουν βρεθεί στο διήθημα της καλλιέργειας του μύκητα *A. solani* είναι το αλτερναρικό οξύ και η ζιννιόλη (Maiero *et al.*, 1991). Το αλτερναρικό οξύ προκαλεί συμπτώματα χαρακτηριστικά του πρώιμου περονόσπορου στις τομάτες, δηλαδή κηλίδες στα φύλλα, χλώρωση και νέκρωση φύλλων και φυτών. Η ζιννιόλη προκαλεί τήξη στο βλαστό και νέκρωση των φύλλων της ζίννιας, του καρότου και του χρυσάνθεμου, ενώ για την τομάτα δεν υπάρχουν στοιχεία. Η ζιννιόλη δεν είναι εξειδικευμένη τοξίνη ως προς τον ξενιστή, ενώ το αλτερναρικό οξύ απαντάται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις ανάλογα με το ξενιστή. Σύμφωνα με τους Langsdorf *et al.* (1990), οι δύο παραπάνω τοξίνες θεωρούνται δευτερεύοντες παράγοντες όσον αφορά την εξέλιξη του πρώιμου περονόσπορου.

### 1.2.8. Ξενιστές

Εκτός από την τομάτα (*Lycopersicon esculentum* Mill) και πατάτα (*Solanum tuberosum* L.) υπάρχουν και άλλα είδη φυτών της Οικογένειας Solanaceae που είναι ξενιστές του μύκητα *A. solani*. Αυτά είναι : η μελιτζάνα (*Solanum melangena* L.), η πιπεριά (*Capsicum annum* L.), ο καπνός (*Nicotiana tabacum* L.) καθώς και τα είδη *Atropa belladonna*, *Nicotiana affinis*, *Lycopersicum glandulosum*, *L. hirsutum*, *Hyoscyamus albus*, *H. niger*, *Cyphomandra betacea*, *Solanum andigenum*, *S. aviculare*, *S. niger* και *S. demissum* (Rotem, 1994). Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι ο μύκητας *A. solani* μπορεί να μολύνει και φυτά που ανήκουν στις Οικογένειες Compositae και Moraceae.

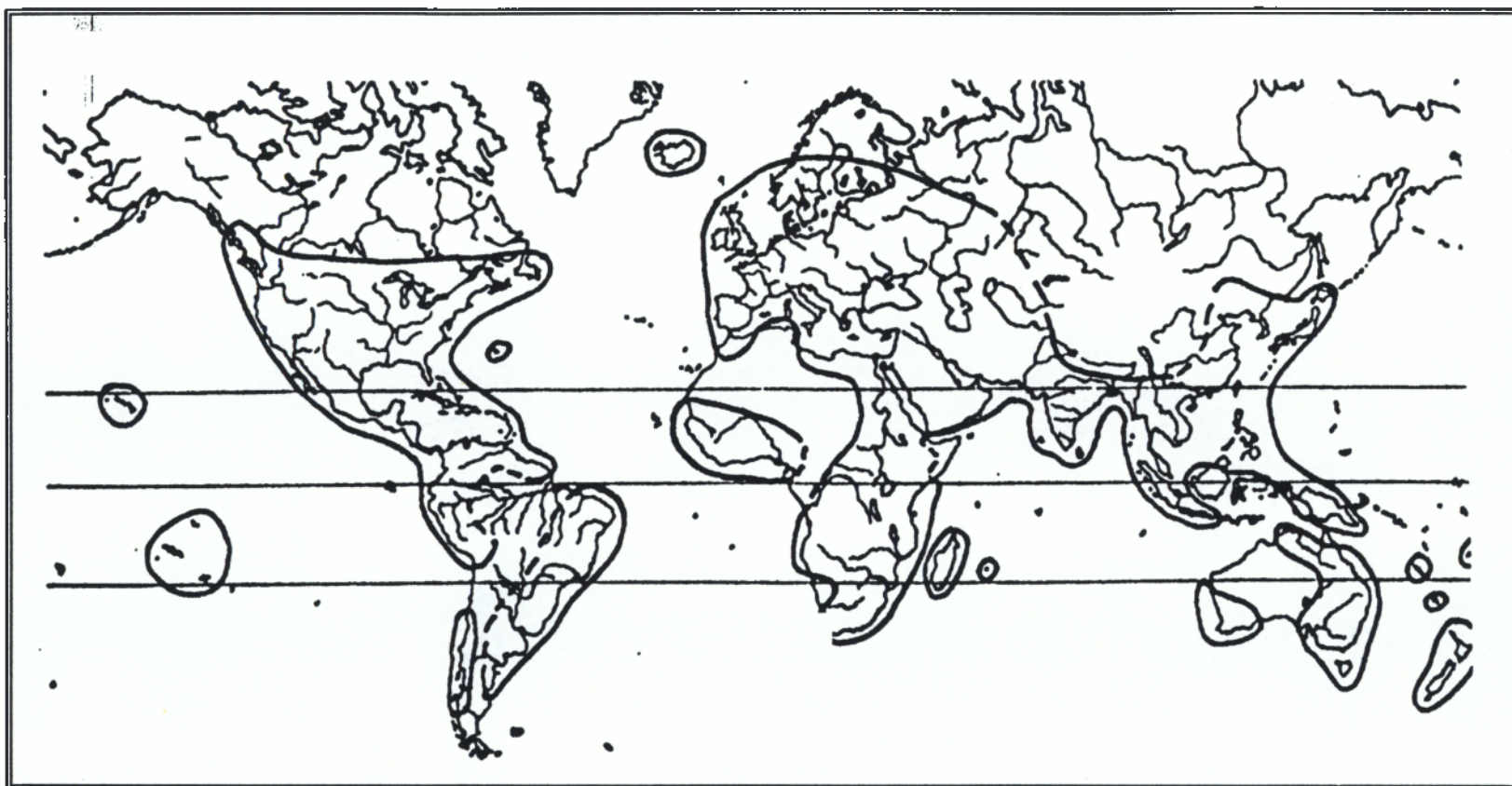
## 1.3. ΑΣΘΕΝΕΙΑ

### 1.3.1. Γεωγραφική εξάπλωση

Η ασθένεια έχει διαπιστωθεί σε πολλές χώρες του κόσμου (Εικ. 4) αλλά προκαλεί σοβαρές ζημιές στην Αγγλία, Αυστραλία, Ινδία και ΗΠΑ, ιδίως σε περιοχές των ΝΑ και Κεντρικών Πολιτειών (Jones *et al.*, 1993). Αξίζει να σημειωθεί ότι η ασθένεια έχει εμφανιστεί σε χώρες που χαρακτηρίζονται από διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες, γεγονός που δηλώνει τη μεγάλη προσαρμοστικότητα του παθογόνου σε ποικίλους περιβαλλοντικούς παράγοντες.

### 1.3.2. Συμπτώματα - Σημεία

Η ασθένεια που προκαλεί ο μύκητας *A. solani* στην τομάτα και πατάτα είναι γνωστή και ως πρώιμος περονόσπορος (αγγλ. early blight, target spot, *Alternaria blight*), γιατί συχνά τα συμπτώματά της συγχέονται



**Εικόνα 4.** Γεωγραφική εξάπλωση του μύκητα *A. solani*, Sorauner.  
(*CMI Description Maps of Plant Diseases, Map No 89, Edition 5, 1983*).

με εκείνα του περονόσπορου (παθογόνο αίτιο: *Phytophthora infestans*). Όλα τα υπέργεια μέρη του φυτού μπορεί να προσβληθούν από το μύκητα *A. solani* και τα φυτά είναι ευπαθή σε όλα τα στάδια ανάπτυξής τους (Παναγόπουλος, 1995).

Στα σ π ο ρ ε ί α παρατηρούνται προφυτρωτικές και μεταφυτρωτικές τήξεις που μπορεί να προκαλέσουν μέχρι και 10% απώλειες σε φυτά (Μπούρμπος & Σκουντριδάκης, 1987). Στα ν ε α ρ ά φ υ τ ά ρ ι α εμφανίζονται σκοτεινές περιοχές στη βάση του στελέχους κοντά στην επιφάνεια του εδάφους (Εικ. 5). Τα συμπτώματα αυτά εξελίσσονται σε μεγάλα έλκη που μπορεί να περιβάλλουν το στέλεχος και να προκαλέσουν την νέκρωση του φυτού.

Στα ανεπτυγμένα φ υ τ ά σχηματίζονται αρχικά στα παλαιότερα φύλλα που βρίσκονται κοντά στη βάση του φυτού, κυκλικές ή γωνιώδεις, καστανές ή μελανές κηλίδες, με συγκεντρικούς κύκλους (κηλίδες με μορφή “στόχου” ή target spot) διαμέτρου 3-10 mm (Εικ. 6). Στα παλαιότερα φύλλα οι κηλίδες συχνά περιβάλλονται από χλωρωτική άλω. Οι προσβεβλημένοι ιστοί γίνονται τελικά μελανοί και νεκρώνονται.

Παρόμοιες κηλίδες με τη χαρακτηριστική ζωνωτή εμφάνιση, που συνήθως παραμένουν μικρές, παρατηρούνται και στα σ τ ε λ έ χ η, τους μ ί σ χ ο υ ς των φύλλων και τους κ α ρ π ο ύ ς (Εικ. 7). Κηλίδες μπορεί επίσης να εμφανιστούν και στα άνθη. Οι κηλίδες στα παραπάνω όργανα και ιδιαίτερα στους καρπούς, είναι συχνά ελαφρά βυθισμένες. Στους καρπούς η προσβολή αρχίζει συνήθως γύρω από τον κάλυκα ή από κάποιο μικρό τραύμα ή σχισμή ενώ με την πάροδο του χρόνου αυξάνεται σε μέγεθος και έχει δερματώδη υφή (Εικ. 8). Πάνω στις κηλίδες σχηματίζεται μελανή εξάνθηση που είναι οι κονιδιοφόροι και τα κονίδια του μύκητα. Αποτέλεσμα της προσβολής των φύλλων είναι η πρόωρη φυλλόπτωση και εκείνης των καρπών, η πρόωρη καρπόπτωση, η μείωση του μεγέθους των καρπών και η υποβάθμιση της ποιότητάς τους.



**Εικόνα 5.** Συμπτώματα προσβολής νεαρών φυταρίων τομάτας από το μύκητα *A. solani* (φυσικές μολύνσεις).



**Εικόνα 6.** Συμπτώματα προσβολής φύλλων τομάτας (α) και πατάτας (β) από το μύκητα *A. solani* (φυσικές μολύνσεις).





**Εικόνα 7.** Συμπτώματα σε στελέχη και μίσχους φύλλων φυτών τομάτας 7 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνσή τους με αιώρημα κονιδίων του μύκητα *A. solani*.



**Εικόνα 8.** Συμπτώματα προσβολής καρπών τομάτας από το μύκητα *A. solani*: (α) προσβολή ποδίσκου και σεφάλων (τεχνητές μολύνσεις), (β) προσβολή ώριμων καρπών (φυσικές μολύνσεις).

### 1.3.3. Επιδημιολογία

Το πρωτογενές μόλυσμα του μύκητα *A. solani* μπορεί να προέρχεται από το μολυσμένο σπόρο, τα υπολείμματα της προηγούμενης καλλιέργειας, από αυτοφυή φυτά ξενιστές του παθογόνου ή φυτά εθελοντές. Στις παραπάνω πηγές πρωτογενών μολυσμάτων ο μύκητας επιβιώνει με τη μορφή μυκηλίου, κονιδίων ή χλαμυδοσπορίων (Rotem, 1968, Rotem, 1994). Ο Παναγόπουλος (1995) αναφέρει ότι η άριστη θερμοκρασία για την αύξηση του μυκηλίου του παθογόνου είναι 28°C. Η μέγιστη, άριστη και ελάχιστη θερμοκρασία για τη βλάστηση των κονιδίων είναι <math>40^{\circ}\text{C}</math>, <math>28^{\circ}\text{C}</math> και <math>4^{\circ}\text{C}</math>, αντίστοιχα, ενώ είναι απαραίτητη η ύπαρξη σταγόνων νερού στις φυτικές επιφάνειες ή η παρουσία υψηλής σχετικής υγρασίας (Waggoner & Parlange, 1975). Κάτω από τις συνθήκες αυτές τα κονίδια του μύκητα βλαστάνουν 1-3 h μετά την επαφή τους με τις φυτικές επιφάνειες (Cotty & Misaghi, 1984). Ο Berger (1937) αναφέρει ότι οι ασυνήθιστα υψηλές θερμοκρασίες που επικράτησαν κατά τη διάρκεια του χειμώνα ευνόησαν την εμφάνιση της ασθένειας. Μετά τη βλάστηση των κονιδίων στις φυτικές επιφάνειες το παθογόνο εισέρχεται στο ξενιστή είτε με απ'ευθείας διάτρηση της επιδερμίδας από τους βλαστικούς σωλήνες είτε μέσω των στοματίων (Rands, 1917a). Τα πρώτα συμπτώματα της ασθένειας εμφανίζονται στα σπορεία με τη μορφή προφυτρωτικών και μεταφυτρωτικών τήξεων (Παναγόπουλος, 1995). Στα νεαρά φυτάρια εμφανίζονται σκοτεινές περιοχές στη βάση του στελέχους με αποτέλεσμα τη νέκρωση των φυτών. Όσα φυτά επιβιώσουν εμφανίζουν συμπτώματα της ασθένειας (κηλίδες) στις κοτυληδόνες. Στη συνέχεια ο μύκητας παράγει στις προσβεβλημένες φυτικές επιφάνειες τους κονιδιοφόρους και στη συνέχεια τα κονίδια (Leach, 1967). Ακολούθως γίνεται η διασπορά των κονιδίων του μύκητα κυρίως με τη βοήθεια του ανέμου (Rotem, 1994). Τα κονίδια αυτά αποτελούν τα δευτερογενή μόλυσμα του παθογόνου. Όλα τα είδη του γένους

*Alternaria* παράγουν σπόρια και μολύνουν καλύτερα σε σχετικά υψηλές θερμοκρασίες, ενώ οι απαιτήσεις των διαφόρων σταδίων του βιολογικού τους κύκλου (βλάστηση κονιδίων, μόλυνση, παραγωγή σπορίων) διαφέρουν ανάλογα με το είδος του μύκητα (Rotem, 1994).

Οι φυτοπαθολόγοι που ασχολούνται με την εξέλιξη των ασθενειών που οφείλονται σε μύκητες του γένους *Alternaria* στο χωράφι θεωρούν ότι οι μύκητες αυτοί προσβάλλουν κυρίως τα ώριμα φυτά (Rotem, 1994). Αντίθετα οι φυτοπαθολόγοι που ασχολούνται με τους σπόρους αναφέρουν ότι οι μύκητες αυτοί προκαλούν ασθένειες κυρίως στα σπορόφυτα και τα νεαρά φυτάρια. Η βιβλιογραφία είναι γεμάτη με αναφορές που υποστηρίζουν και τις δύο απόψεις.

#### **1.3.4. Αντιμετώπιση**

Για την αντιμετώπιση της ασθένειας συνιστώνται κυρίως προληπτικά μέτρα, με σκοπό την ενίσχυση της ζωτικότητας των φυτών και την προστασία των φυτών από προσβολές από άλλα παράσιτα ή παθογόνα, που διευκολύνουν την είσοδο του μύκητα *A. solani* στο ξενιστή.

##### **1.3.4.1. Καλλιεργητικά μέτρα**

Επειδή τα είδη του γένους *Alternaria* έχουν την ικανότητα να επιβιώνουν στο έδαφος για μεγάλα χρονικά διαστήματα με διάφορες μορφές (μυκήλιο, γλαμυδοσπόρια, κ.α.) ακόμη και απουσία ξενιστή, γι' αυτό η αμειψισπορά είναι το σπουδαιότερο μέτρο για την αντιμετώπιση των ασθενειών που αυτά τα παθογόνα προκαλούν. Στην περίπτωση του μύκητα *A. solani* ο Pokruchin (1978) αναφέρει ότι η αμειψισπορά μείωσε την ένταση της ασθένειας από 11,8 σε 8,8% σε σχέση με τη μονοκαλλιέργεια. Οι Herr & Lipps (1982), Jeffrey *et al.*, (1984) και Ramm & Lucas (1963) αναφέρουν επίσης ότι η κύρια πηγή

πρωτογενών μολυσμάτων είναι τα υπολείμματα της προηγούμενης καλλιέργειας γιατί εκεί διαχειμάζουν τα είδη του γένους *Alternaria*. Η απομάκρυνση και το κάψιμο των μολυσμένων φυτικών υπολειμμάτων και των ζιζανίων ξενιστών του παθογόνου είναι επίσης ένα σημαντικό μέτρο γιατί μειώνει το μόλυσμα που είναι διαθέσιμο για την επόμενη καλλιεργητική περίοδο (Agris, 1988).

Παρουσία κονιδίων μυκήτων του γένους *Alternaria* έχει διαπιστωθεί σε πολλές καλλιέργειες και σε διάφορες περιοχές του κόσμου γιατί οι μύκητες αυτοί μπορούν εύκολα να μεταφερθούν με το σπόρο και να διασπαρούν σε μεγάλες αποστάσεις (Strandberg, 1992). Στη Φινλανδία εφαρμόζονται διάφορες μέθοδοι για την εξασφάλιση υγιούς σπόρου κινέζικου λαχάνου, με σκοπό τη μείωση των πηγών των πρωτογενών μολυσμάτων του πρώιμου περονόσπορου στην καλλιέργεια αυτή (Valkonen & Koronen, 1990). Πιο συγκεκριμένα εφαρμόζεται επικάλυψη του σπόρου με thiram ή iprodione ή απολύμανση του σπόρου με υγρή θερμότητα (Maude, 1973).

Στη Διεθνή Βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η λίπανση βοηθάει στο να παραμείνει η ασθένεια σε κάποια χαμηλά επίπεδα. Σύμφωνα με τον (Rotem, 1994), φυτά τομάτας με καλή λίπανση και φυτά με φτωχή λίπανση εμφάνισαν διαφορετικό βαθμό ευαισθησίας στον πρώιμο περονόσπορο. Στις ΗΠΑ σε καλλιέργεια πατάτας (ποικιλία Kennebec) υψηλό ποσοστό αζώτου (N) και χαμηλό φωσφόρου (P) περιόρισαν την εμφάνιση της ασθένειας. Ο παραπάνω συνδυασμός N και P είχε ως αποτέλεσμα την επιμήκυνση της περιόδου της μεριστωματικής δραστηριότητας, δηλαδή της ανάπτυξης του φυτού. Ως γνωστόν ο μύκητας *A. solani* μολύνει κυρίως ώριμα, ανεπτυγμένα φυτά και επομένως τα νεαρά φυτά που βρίσκονται σε μεριστωματική δραστηριότητα εμφανίζονται ανθεκτικά στην ασθένεια (Barclay *et al.*, 1973). Οι Soltanpour & Harrison (1974) αναφέρουν ότι ο ψεκασμός

καλλιέργειας πατάτας με *maneb* σε συνδυασμό με τη λίπανση μείωσαν τη μόλυνση των φύλλων από το μύκητα *A. solani*. Επιπλέον, η αντίδραση των φυτών στα μυκητοκτόνα ήταν καλύτερη όταν τα φυτά είχαν λάβει συγκεκριμένες ποσότητες N και P. Δυστυχώς όμως αύξηση της ποσότητας του χορηγούμενου στα φυτά N δεν μπορεί να εφαρμοστεί στην πράξη γιατί θα έχει αρνητικές επιπτώσεις στις συγκεντρώσεις N στα υπόγεια νερά και στο έδαφος (Blachinski *et al.*, 1996).

Έχει διαπιστωθεί ότι σε θερμοκήπια, χρησιμοποιώντας τον κατάλληλο τύπο πλαστικού ως υλικό κάλυψης, είναι δυνατόν να περιοριστεί η εμφάνιση και η εξάπλωση του πρώιμου περονόσπορου. Σύμφωνα με τον Vakalounakis (1991), στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου η ένταση της ασθένειας σε φυτά τομάτας που καλλιεργούνταν σε θερμοκήπιο με υλικό κάλυψης UVA-vinyl ήταν κατά 50% μικρότερη από εκείνη σε θερμοκήπιο με υλικό κάλυψης CA-vinyl. Οι Sasaki *et al.* (1985) αναφέρουν ότι ο μύκητας *A. solani* όπως και άλλοι παθογόνοι μύκητες, για να παράγουν σπόρια απαιτούν υπεριώδη (UV) ακτινοβολία. Χρησιμοποιώντας το UVA-vinyl film ως υλικό κάλυψης στα θερμοκήπια ανακλάται η UV ακτινοβολία και δεν εισέρχεται στο χώρο του θερμοκηπίου. Με αυτήν τη μέθοδο εμποδίζεται η εμφάνιση του πρώιμου περονόσπορου καθώς και άλλων ασθενειών των θερμοκηπίων (π.χ. *Botrytis cinerea*).

Επειδή ο μύκητας *A. solani* επιβιώνει στο έδαφος ακόμα και απουσία ξενιστή, ένα άλλο μέτρο που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση της ασθένειας και τη μείωση των πρωτογενών μολυσμάτων είναι η απολύμανση του εδάφους και των υλικών που χρησιμοποιούνται στην καλλιέργεια.

Η χρησιμοποίηση ανεκτικών ποικιλιών μπορεί επίσης να περιορίσει την ένταση της ασθένειας. Οι Douglas & Pavek (1972) και οι Banerjee *et al.*, (1998) διαπίστωσαν διάφορα επίπεδα ανθεκτικότητας

μεταξύ των ποικιλιών πατάτας και τομάτας που εξέτασαν. Αν και καμμία ποικιλία τομάτας δεν είναι ανθεκτική στη μόλυνση από το μύκητα *A. solani* (Rotem, 1994), έχουν παρατηρηθεί, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, διάφορα επίπεδα ανθεκτικότητας μεταξύ ποικιλιών ανά τον κόσμο (Gardner, 1990). Σε πείραμα της Vloutoglou (1999) δοκιμάστηκαν 6 ποικιλίες και 12 F<sub>1</sub> υβρίδια τομάτας που καλλιεργούνται στη χώρα μας ως προς την ανεκτικότητά τους σε μολύνσεις του μύκητα *A. solani*. Διαπιστώθηκε ότι η ένταση της ασθένειας κυμάνθηκε μεταξύ 57-89% και η φυλλόπτωση μεταξύ 40-80% ανάλογα με την ποικιλία ή υβρίδιο που δοκιμάστηκε. Επιπλέον διαπιστώθηκε μια αυξημένη ανεκτικότητα των ποικιλιών σε σχέση με τα υβρίδια τομάτας στις μολύνσεις του παθογόνου. Η ποικιλία Rio Fuego και το υβρίδιο Golden Boy ήταν τα πιο ανεκτικά στο μύκητα. Σε πείραμα των Pelletier & Fry (1990) δοκιμάστηκαν 3 ποικιλίες πατάτας από τις οποίες η Norchip ήταν πιο ευπαθής στην ασθένεια από τις άλλες δύο (Kennebec και Rosa).

#### 1.3.4.2. Βιολογικοί παράγοντες

Σύμφωνα με τους Casida & Lukezic (1992), ένα στέλεχος ενός βακτηρίου του γένους *Pseudomonas* (strain 679-2), που μπορεί να απομονωθεί από το έδαφος, εμφάνισε υψηλή ανταγωνιστικότητα εναντίον του μύκητα *A. solani*. Πιο συγκεκριμένα εφαρμογή των κυττάρων του βακτηρίου σε φυτά τομάτας είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της ασθένειας του πρώιμου περονόσπορου.

Βακτήρια του γένους *Bacillus*, που είναι από τους σπουδαιότερους μικροοργανισμούς για την παρασκευή αντιβιοτικών, χρησιμοποιούνται επίσης για την αντιμετώπιση πολλών παθογόνων των φυτών (Tejeda *et al.*, 1998). Σε διάφορα πειράματα που έγιναν με είδη του γένους *Bacillus*, που απομονώθηκαν από μηλιές στην Κίνα, εναντίον του μύκητα *A. solani* διαπιστώθηκε ότι η μείωση της ασθένειας μετά την εφαρμογή των

βακτηρίων ήταν 60-70% (Fu *et al.*, 1997). Σε ένα άλλο πείραμα που έγινε επίσης στην Κίνα από τις 175 απομονώσεις βακτηρίων που δοκιμάστηκαν 3 απομονώσεις του γένους *Bacillus* ήταν ανταγωνιστικές του μύκητα *A. solani* (*B. megaterium* MBS4, *B. brevis* OBS11 και *B. subtilis var. globigii* CBS10).

Σε πειράματα που έγιναν στη Μ. Βρετανία εξετάστηκαν δύο απομονώσεις του *Aureobasidium pullulans* ως προς την ανταγωνιστικότητά τους εναντίον του μύκητα *A. solani* (Brame & Flood, 1983, Flood & Rees, 1986). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η μία από τις δύο απομονώσεις ήταν περισσότερο ανταγωνιστική *in vitro* αλλά σε φύλλα τομάτας (*in vivo*) και οι δύο απομονώσεις είχαν τα ίδια αποτελέσματα. Επιπλέον, οι παραπάνω ερευνητές αναφέρουν ότι πιο αποτελεσματική ήταν η δράση του μύκητα *A. pullulans* όταν τοποθετείτο στα φυτά 2 ημέρες πριν τη μόλυνσή τους με το μύκητα *A. solani*.

#### 1.3.4.3. Χημικά μέτρα

Ο σπόρος θεωρείται το κύριο μέσο για τη διάδοση του μολύσματος του μύκητα *A. solani* (Rotem, 1994). Ως εκ τούτου είναι αναγκαία η επικάλυψη ή η εμφάνιση των σπόρων σε διάφορα μυκητοκτόνα, όπως τα benomyl, iprodione, thiram. Οι Maude *et al.*, (1969) αναφέρουν ότι η εμφάνιση των σπόρων κουνουπιδιού σε thiram για 24 h σε θερμοκρασία 30°C μείωσε αποτελεσματικά τις μολύνσεις των νεαρών φυταρίων από το μύκητα *A. brassicicola*.

Ο Rotem (1994) αναφέρει ότι οι ψεκασμοί στο χωράφι ή στο θερμοκήπιο με μυκητοκτόνα εναντίον του πρώιμου περονόσπορου πρέπει να αρχίζουν πριν εμφανιστεί η ασθένεια μιας και οποιαδήποτε καθυστέρηση μπορεί να οδηγήσει στην απώλεια της παραγωγής.

Για να βρεθεί ένα κατάλληλο πρόγραμμα χημικής καταπολέμησης πρώιμου περονόσπορου στις τομάτες που καλλιεργούνται σε πλαστικά



θερμοκήπια στην Κρήτη εγκαταστάθηκαν δύο πειράματα (Μαλαθράκης *et al.*, 1987). Στο πρώτο πείραμα που οι ψεκασμοί άρχισαν μετά το δέσιμο των πρώτων ταξιανθιών, τα μυκητοκτόνα maneb, propineb και vinclozolin ήταν τα πιο αποτελεσματικά σε σχέση με τα chlorothalonil και mancozeb. Ο έτοιμος βορδιγάλειος πολτός, ο οξυχλωριούχος χαλκός, το zinc omadine και το folpet ήταν τα λιγότερο αποτελεσματικά, ενώ τα metalaxyl και fosetyl-Al δεν είχαν κανένα αποτέλεσμα. Κανένα μυκητοκτόνο όμως δεν αύξησε τη συνολική παραγωγή. Στο δεύτερο πείραμα έγιναν ψεκασμοί με μυκητοκτόνα ανά 7ήμερο και ανά 150ήμερο. Στους ψεκασμούς ανά 7ήμερο όλα τα μυκητοκτόνα ήταν εξίσου αποτελεσματικά, ενώ στους ψεκασμούς ανά 150ήμερο το folpet υπολειπόταν των άλλων.

Σε ένα πείραμα του Βακαλουνάκη (1987) για τη μελέτη της επίδρασης των μυκητοκτόνων στη βλάστηση των σπορίων του μύκητα *A. solani in vitro*, το dichlofluanid ήταν το πιο αποτελεσματικό μυκητοκτόνο, ακολουθούμενο από τα etem, chlorothalonil, captan, folpet, mancozeb, maneb, thiram, zineb και propineb, ενώ τα iprodione, vinclozolin και procymidone δεν ήταν αποτελεσματικά. Στη δοκιμή παρεμπόδισης της αύξησης του μυκηλίου *in vitro* τα iprodione και procymidone ήταν τα πιο αποτελεσματικά μυκητοκτόνα. Σε πειράματα που έγιναν με φυτά σε γλάστρες σε συνθήκες θερμοκηπίου τα etem, mancozeb, chlorothalonil, dichlofluanid, maneb και folpet ήταν τα πιο αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση της ασθένειας (Βακαλουνάκης, 1987). Σε τρία διαφορετικά πειράματα που έγιναν στην Ινδία τη μεγαλύτερη μείωση στην ένταση της ασθένειας προκάλεσε το μυκητοκτόνο mancozeb (Maheshwari *et al.*, 1991, Maheshwari & Mehta, 1993, Devanatham & Ramanujam, 1995). Η Διεθνής Βιβλιογραφία αναφέρει ότι έχουν γίνει διάφορα πειράματα για τη μελέτη της αποτελεσματικότητας των μυκητοκτόνων στην αντιμετώπιση του μύκητα

*A. solani* που αποδεικνύουν ότι τα πιο αποτελεσματικά μυκητοκτόνα είναι τα chlorothalonil, myclobutanil, benzyladenine, metalaxyl, mancozeb, maneb και zineb. Σύμφωνα με τον Παναγόπουλο (1995) πρέπει να γίνονται προληπτικοί ψεκασμοί, ανά 7-10 ημέρες, με chlorothalonil, διθειοκαρβαμιδικά ή dichlofluanid. Επίσης συνιστώνται τα iprodione και vinclozolin, ενώ τα βενζιμιδαζολικά δεν φαίνεται να είναι αποτελεσματικά εναντίον του πρώιμου περονόσπορου.

Τα συστήματα πρόγνωσης των ασθενειών είναι απλά μοντέλα που δείχνουν πότε θα εμφανιστεί ή θα θέσει σε κίνδυνο την καλλιέργεια μια ασθένεια και επίσης πότε είναι απαραίτητη και αποτελεσματική η χρήση μυκητοκτόνων (Rotem, 1994). Είναι συστήματα ανάλυσης που μιμούνται μια επιδημία, αναλύουν τις σχέσεις μεταξύ του παθογόνου, των περιβαλλοντικών συνθηκών, του ξενιστή και της προβλεπόμενης εξέλιξης της ασθένειας για διάφορα επίπεδα της κάθε μιας από τις παραπάνω παραμέτρους. Το πρώτο μαθηματικό μοντέλο που δημιουργήθηκε για το μύκητα *A. solani* στην τομάτα και πατάτα ήταν το EPIDEM στη δεκαετία του '60 (Waggoner & Horsfall, 1969). Το EPIDEM παρέχει πληροφορίες για τη βιολογία του παθογόνου και αποδεικνύει ότι η συστηματική παρακολούθηση μπορεί να αποδειχτεί χρήσιμη στο να ελεγχθούν οι ασθένειες. Το EPIDEM λαμβάνει υπόψη μερικά από τα βιολογικά χαρακτηριστικά του μύκητα *A. solani* και την ανταπόκρισή του στις μεταβολές του καιρού με ένα συστηματικό τρόπο. Αργότερα ένα άλλο μοντέλο, το FAST (Forecasting *Alternaria solani* on Tomatoes), το οποίο βασιζόταν σε πληροφορίες από το EPIDEM, αναπτύχθηκε για πρακτική εφαρμογή στο χωράφι. Σκοπό είχε να εξακριβώσει περιόδους όπου οι συνθήκες του περιβάλλοντος ήταν ευνοϊκές για την ανάπτυξη του πρώιμου περονόσπορου στην τομάτα και να παρέχει ένα πρόγραμμα για αποτελεσματικούς ψεκασμούς με μυκητοκτόνα (Madden *et al.*, 1978). Το σύστημα προειδοποίησης ενσωματώνει δύο εμπειρικά μοντέλα που

βασίζονται στις ακόλουθες ημερήσιες περιβαλλοντικές παραμέτρους: μέγιστη και ελάχιστη θερμοκρασία, ώρες διύγρανσης των φύλλων, μέγιστη και ελάχιστη θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της υγρής περιόδου, ώρες που η σχετική υγρασία είναι μεγαλύτερη από 90%, διάρκεια και ύψος βροχόπτωσης. Στο Winsconsin ένα τροποποιημένο σύστημα προειδοποίησης FAST ενσωματώθηκε στο PDM (Potato Disease Management) το οποίο είναι πρόγραμμα για υπολογιστή που δίνει πληροφορίες και προειδοποιεί τους καλλιεργητές πατάτας για την εξέλιξη της ασθένειας ενώ ταυτόχρονα προγραμματίζει τις εφαρμογές με μυκητοκτόνα με σκοπό την αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση της ασθένειας (Stevenson, *et al.*, 1986).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΓΕΝΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1. Ανάπτυξη φυτών

Τα φυτά τομάτας που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ανήκαν στην ποικιλία Ace 55VF. Αρχικά οι σπόροι τοποθετούνταν σε υγρούς θαλάμους για προβλάστηση. Οι υγροί θάλαμοι αποτελούντο από γυάλινα τριβλία διαμέτρου 9 cm, στη βάση των οποίων είχαν τοποθετηθεί τρία διηθητικά φίλτρα Whatman No 1 εμποτισμένα με απεσταγμένο νερό. Ακολούθως τα τριβλία σφραγίζονταν με Parafilm και επωάζονταν σε θερμοκρασία 25<sup>0</sup>C για 48 h. Στη συνέχεια οι προβλαστημένοι σπόροι μεταφυτεύονταν σε γλαστράκια διαστάσεων 9x12 cm (διάμετρος x ύψος) που περιείχαν μίγμα εδάφους Potgrond P (KLASMANN Deilmann GmbH, Germany) για την ανάπτυξη των φυτών. Τα γλαστράκια τοποθετούνταν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας (21±2<sup>0</sup>C), σχετικής υγρασίας (60–70%) και φωτισμού (12h φως/12h σκοτάδι, ένταση φωτός 160 μEinsteins.m<sup>2</sup>.sec<sup>-1</sup>) (Εικ. 9). Η έξοδος των νεαρών φυταρίων από την επιφάνεια του εδάφους παρατηρείτο 3 περίπου ημέρες μετά τη φύτευση των προβλαστημένων σπόρων. Η σύνθεση του εδαφικού υποστρώματος ανά λίτρο ήταν:

*N*..... 160 – 260 mg

*P*<sub>2</sub>*O*<sub>5</sub>..... 180 – 280 mg

*K*<sub>2</sub>*O*..... 200 – 300 mg

*MgO*..... 80 – 150 mg

*pH* = 5,5 – 6



**Εικόνα 9.** Ανάπτυξη φυτών τομάτας σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), σχετικής υγρασίας (60-70%) και φωτισμού (12 h φωτοπερίοδος,  $160 \mu\text{Einstein}\cdot\text{m}^2\cdot\text{sec}^{-1}$ ).

Τα φυτά πατάτας που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ανήκαν στην ποικιλία Sprunta. Οι σπόροι φυτεύτηκαν σε γλάστρες διαστάσεων 21x17 cm (διάμετρος x ύψος) οι οποίες περιείχαν μίγμα εδάφους Potgrond P. Η ανάπτυξη των φυτών έγινε σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), σχετικής υγρασίας (60–70%) και φωτισμού (12h φως/12h σκοτάδι, ένταση φωτός  $160 \mu\text{Einsteins.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ ). Η έξοδος των νεαρών φυταρίων από την επιφάνεια του εδάφους παρατηρήθηκε 7 περίπου ημέρες μετά τη φύτευση των σπόρων πατάτας.

## 2.2. Θρεπτικά υλικά ανάπτυξης

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω θρεπτικά υλικά για την ανάπτυξη του μύκητα ή την παραγωγή μολύσματος (κονιδίων):

### 1. V – 8 άγαρ

V – 8 χυμός (χυμός 8 λαχανικών).....	165 ml
CaCO <sub>3</sub> .....	1 gr
Άγαρ (Biokar Diagnostics).....	20 gr
Απεσταγμένο νερό.....	810 ml

Πριν από την αποστείρωση του υλικού, το pH του παραπάνω διαλύματος ρυθμιζόταν σε 6,5–7 με προσθήκη 0,1M KOH (12,5 ml KOH/lit υλικού).

### 2. S – Medium (Shahin & Shepard, 1979)

Sucrose.....	20 gr
CaCO <sub>3</sub> .....	30 gr
Άγαρ (Biokar Diagnostics).....	20 gr
Απεσταγμένο νερό.....	1 lt
pH =	7,4

### 3. PDA (Potato Dextrose Agar)

PDA (Biokar Diagnostics)..... 39 gr

Απεσταγμένο νερό..... 1 lt

Όλα τα παραπάνω θρεπτικά υλικά αποστειρώνονταν για 30 λεπτά σε ειδικό κλίβανο αποστείρωσης (1,05 Kg/cm<sup>2</sup>) και σε θερμοκρασία 120°C. Στη συνέχεια τα υλικά τοποθετούντο, κάτω από ασηπτικές συνθήκες, σε πλαστικά τριβλία Petri (20 ml / τριβλίο).

#### 2.3. Απομονώσεις του μύκητα *A. solani* – Διατήρηση απομονώσεων

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω μονόσπορες απομονώσεις του μύκητα *A. solani*: Al 24, Al 25, Al 29, Al 61, Al 62, που προέρχονταν από φυτά τομάτας και οι απομονώσεις Al 78α, Al 78β, Al 83, Al 85, Al 86, Al 87 και Al 88, που προέρχονταν από φυτά πατάτας. Οι απομονώσεις αυτές διατηρούνται στη συλλογή του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου και προέρχονταν από φυσικά μολυσμένα φυτά τομάτας και πατάτας που εστάλησαν στο Ινστιτούτο κατά την περίοδο 1997–1999. Επειδή οι μύκητες του γένους *Alternaria* συχνά χάνουν την παθογόνο ικανότητά τους ή τη δυνατότητα σχηματισμού κονιδίων μετά από συνεχείς μεταφορές σε θρεπτικά υλικά, όλες οι απομονώσεις που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα διατηρήθηκαν σε μπουκαλάκια McCartney και σε θερμοκρασία 4°C σύμφωνα με την παρακάτω μέθοδο: Αρχικά στα μπουκαλάκια τοποθετήθηκε μίγμα αργιλώδους εδάφους, κομπόστας και άμμου σε αναλογία 1:2:1 μέχρι τα 2/3 του ύψους των μπουκαλιών. Στη συνέχεια σε κάθε μπουκαλάκι προστέθηκαν περίπου 4ml απεσταγμένου νερού και ακολούθησε διπλή αποστείρωση σε διάστημα 48 h η μια από την άλλη. Αμέσως μετά την αποστείρωση σε κάθε μπουκαλάκι τοποθετήθηκαν, κάτω από ασηπτικές συνθήκες, δύο

μυκηλιακοί δίσκοι που είχαν προηγουμένως κοπεί με τη βοήθεια φελλοτρυπητή από την περιφέρεια μιας αποικίας της κάθε απομόνωσης (η αποικία ήταν περίπου 4 ημερών). Για την αναβίωση των απομονώσεων του μύκητα ακολουθείτο η εξής διαδικασία: μια μικρή ποσότητα μολυσμένου μίγματος εδάφους απλωνόταν, κάτω από ασηπτικές συνθήκες, στην επιφάνεια των τριβλίων που περιείχαν θρεπτικό υλικό V – 8 άγαρ. Αφού τα τριβλία σφραγίζονταν με Parafilm τοποθετούνταν για επώαση σε θαλάμους με θερμοκρασία 21<sup>0</sup>C και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας (NUV – light) με σκότος (12h NUV-light/12h σκότος) μέχρι ικανοποιητικής ανάπτυξης της αποικίας του μύκητα (περίπου 3 – 4 ημέρες).

#### **2.4. Παραγωγή μονόσπορων απομονώσεων**

Για την δημιουργία μονόσπορων απομονώσεων του μύκητα *A. solani* χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω μέθοδος : από τα μπουκαλάκια McCartney, στα οποία διατηρούνταν οι απομονώσεις του μύκητα, μεταφέρθηκε κάτω από ασηπτικές συνθήκες ποσότητα μολυσμένου χώματος στην επιφάνεια των τριβλίων που περιείχαν θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ. Τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και τοποθετήθηκαν για περίπου 3 ημέρες σε θερμοκρασία 21<sup>0</sup>C και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light /12h σκότος) για 48h. Στη συνέχεια με τη βοήθεια φελλοτρυπητή κόπηκαν από την περιφέρεια του μύκητα μυκηλιακοί δίσκοι διαμέτρου 5mm οι οποίοι τοποθετήθηκαν ανεστραμμένοι (το μυκήλιο σε επαφή με το θρεπτικό υλικό) και αντιδιαμετρικά σε τριβλία με θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ (2 δίσκοι / τριβλίο). Τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και επώαστηκαν για περίπου 5 ημέρες και μέχρι την πλήρη ανάπτυξη της αποικίας του μύκητα σε θερμοκρασία 21<sup>0</sup>C και συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light /12h σκότος). Ακολούθως σε



κάθε τριβλίο τοποθετήθηκαν 5ml απεσταγμένου, αποστειρωμένου νερού στο οποίο είχαν προστεθεί 5μl του διαβρεκτικού παράγοντα Tween 80 (0,01% polyethylene sorbitan monolaurate). Στη συνέχεια κάτω από ασηπτικές συνθήκες και με τη βοήθεια αποστειρωμένου μαχαιριδίου ξύστηκε απαλά η επιφάνεια των τριβλίων με σκοπό την απελευθέρωση των κονιδίων του μύκητα. Το αιώρημα κονιδίων που προέκυψε διηθήθηκε μέσω τουλουπανιού και συγκεντρώθηκε σε κωνικές φιάλες (1 φιάλη/απομόνωση). Υπολογίστηκε με τη βοήθεια αιματοκυττομέτρου η συγκέντρωση των κονιδίων στο αιώρημα της κάθε απομόνωσης και έγιναν αραιώσεις με αποστειρωμένο, απεσταγμένο νερό μέχρι της τελικής συγκέντρωσης των  $1 \times 10^3$  κονιδίων/ml. Στη συνέχεια 0,1 ml από το αιώρημα της κάθε απομόνωσης τοποθετήθηκε με τη βοήθεια μικρομετρικής πιπέττας και κάτω από ασηπτικές συνθήκες σε τριβλία Petri με θρεπτικό υλικό PDA. Ακολούθως το αιώρημα των κονιδίων απλώθηκε στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού με τη βοήθεια γυάλινης κεκαμμένης ράβδου (plating). Τα τριβλία εξετάστηκαν στο στερεοσκόπιο (x40) για να εντοπιστούν μεμονωμένα κονίδια του μύκητα και με τη βοήθεια αποστειρωμένης βακτηριολογικής βελόνας έγινε μεταφορά των κονιδίων αυτών σε πλαστικά τριβλία Petri με θρεπτικό υλικό PDA. Τα τριβλία επώαστηκαν σε θερμοκρασία 21<sup>0</sup>C και συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light/12h σκότος), μέχρι την ανάπτυξη του μύκητα. Οι μεμονωμένες αποικίες που προέκυψαν αποτέλεσαν τις μονόσπορες απομονώσεις του μύκητα. Οι μονόσπορες αυτές απομονώσεις μεταφέρθηκαν σε μπουκαλάκια McCartney σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται παραπάνω και διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία 4<sup>0</sup>C για μελλοντική χρήση.

## 2.5. Παραγωγή μολύσματος

Προκαταρκτικά πειράματα έδειξαν ότι ενώ οι απομονώσεις του μύκητα *A. solani* που προέρχονταν από φυτά τομάτας (A1 24, A1 25, A1 29, A1 61 και A1 62) παρήγαγαν κονίδια σε θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ μετά από έκθεσή τους σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας (NUV-light) με σκότος (12h NUV-light/12h σκότος) και σε θερμοκρασία 21<sup>0</sup>C, οι απομονώσεις του μύκητα που προέρχονταν από φυτά πατάτας (A1 78α, A1 78β, A1 83, A1 85, A1 86, A1 87 και A1 88) δεν σχημάτιζαν κονίδια όταν επωάζονταν στις παραπάνω συνθήκες. Ως εκ τούτου για την παραγωγή μολύσματος από τις παραπάνω απομονώσεις ακολούθηθηκαν δύο μέθοδοι.

### α) Παραγωγή μολύσματος από τις απομονώσεις του μύκητα *A. solani* από τομάτα.

Οι απομονώσεις του μύκητα *A. solani* από τομάτα (A1 24, A1 25, A1 29, A1 61 και A1 62) αναπτύχθηκαν αρχικά σε τριβλία Petri που περιείχαν θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ (20ml/τριβλίο), σε θάλαμο υπεριώδους ακτινοβολίας (12h NUV-light / 12h σκότος) και σε θερμοκρασία 21<sup>0</sup>C για 4 περίπου ημέρες. Στη συνέχεια κόπηκαν, με τη βοήθεια φελλοτρυπητή, από την περιφέρεια των αποικιών μυκηλιακοί δίσκοι διαμέτρου 5 mm οι οποίοι τοποθετήθηκαν ανεστραμμένοι (το μυκήλιο σε επαφή με το θρεπτικό υλικό), κάτω από ασηπτικές συνθήκες, σε τριβλία Petri με θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ. Σε κάθε τριβλίο τοποθετήθηκαν αντιδιαμετρικά δύο μυκηλιακοί δίσκοι από κάθε απομόνωση. Τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και τοποθετήθηκαν για επώαση σε θάλαμο εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light/12h σκότος) και θερμοκρασίας 21<sup>0</sup>C, για 9 περίπου ημέρες με σκοπό το σχηματισμό κονιδίων.

Για την απελευθέρωση και παραλαβή των σχηματιζομένων κονιδίων σε κάθε τριβλίο τοποθετήθηκαν 5 ml αποστειρωμένου,

απεσταγμένου νερού μαζί με 5 μl του διαβρεκτικού παράγοντα Tween 80 (0,01%). Στη συνέχεια με τη βοήθεια αποστειρωμένου μαχαιριδίου και κάτω από ασηπτικές συνθήκες ξύστηκε απαλά η επιφάνεια της αποικίας του μύκητα ώστε να ελευθερωθούν όσο το δυνατόν περισσότερα κονίδια. Το αιώρημα των κονιδίων της κάθε απομόνωσης συγκεντρώθηκε σε κωνική φιάλη και διηθήθηκε μέσω τουλουπανιού με σκοπό την απομάκρυνση τυχόν μυκηλιακών υφών. Στη συνέχεια μετρήθηκε με τη βοήθεια αιματοκυττομέτρου η συγκέντρωση των κονιδίων, ενώ η τελική επιθυμητή συγκέντρωση των κονιδίων της κάθε απομόνωσης επιτεύχθηκε με διαδοχικές αραιώσεις με απεσταγμένο, αποστειρωμένο νερό. Η τελική συγκέντρωση των κονιδίων του μύκητα που χρησιμοποιήθηκε για τη μόλυνση των φυτών αναφέρεται στα Υλικά και Μέθοδοι των επιμέρους πειραμάτων και εξαρτάτο από το πείραμα

β) Παραγωγή μολύσματος από τις απομονώσεις του μύκητα *A. solani* από πατάτα

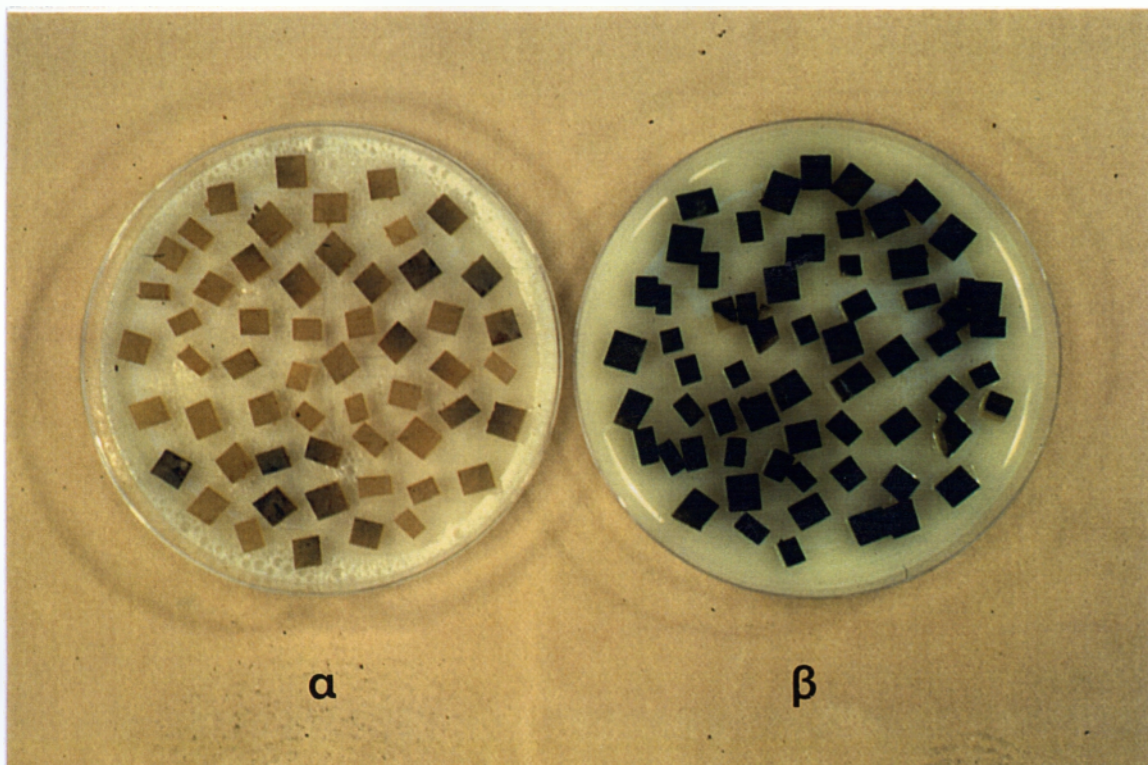
Όσον αφορά τις απομονώσεις του μύκητα *A. solani* από πατάτα ΑΙ 78α, ΑΙ 78β, ΑΙ 83, ΑΙ 85, ΑΙ 86, ΑΙ 87 και ΑΙ 88 ακολουθήθηκε η παρακάτω μέθοδος : οι απομονώσεις αναπτύχθηκαν αρχικά σε τριβλία Petri που περιείχαν θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ (20ml/τριβλίο), σε θάλαμο υπεριώδους ακτινοβολίας (12h NUV-light/12h σκότος) και θερμοκρασίας 21<sup>0</sup>C για 4 περίπου ημέρες. Ακολούθως οι αποικίες του μύκητα κόπηκαν με τη βοήθεια αποστειρωμένου μαχαιριδίου σε τετράγωνα κομμάτια διαστάσεων περίπου 0,9 cm<sup>2</sup> (0,3 cm x 0,3 cm) και τοποθετήθηκαν (καλύπτοντας σχεδόν όλη την επιφάνεια του υλικού), σε τριβλία με υλικό S-medium (βλέπε παράγραφο 2.2.) (Shahin & Shepard, 1979). Στη συνέχεια σε κάθε τριβλίο προστέθηκαν περίπου 5ml αποστειρωμένου, απεσταγμένου νερού. Τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και τοποθετήθηκαν για 3 περίπου ημέρες σε θάλαμο εναλλαγής υπεριώδους

ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light /12h σκότος) και θερμοκρασίας 21<sup>0</sup>C με σκοπό την παραγωγή κονιδίων (Εικ. 10).

Για την απελευθέρωση και παραλαβή των κονιδίων ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία: τα μυκηλιακά τετράγωνα στα οποία είχαν σχηματιστεί τα κονίδια του μύκητα συγκεντρώθηκαν σε κωνικές φιάλες 500 ml (1 φιάλη/απομόνωση). Ακολούθως στις φιάλες προστέθηκε απεσταγμένο, αποστειρωμένο νερό (περίπου 150 ml/φιάλη) που περιείχε το διαβρεκτικό παράγοντα Tween 80 (0,01%) και οι φιάλες αναδεύτηκαν έτσι ώστε να ελευθερωθούν τα κονίδια. Στη συνέχεια το αιώρημα κονιδίων της κάθε απομόνωσης διηθήθηκε μέσω τουλουπανιού ώστε να συγκρατηθούν τα κομμάτια του υλικού και τυχόν μυκηλιακές υφές. Η συγκέντρωση των κονιδίων στο αιώρημα της κάθε απομόνωσης μετρήθηκε με τη βοήθεια αιματοκυττομέτρου και έγιναν, με προσθήκη απεσταγμένου, αποστειρωμένου νερού, οι διαδοχικές αραιώσεις μέχρι την τελική επιθυμητή (ανάλογα με το πείραμα) συγκέντρωση της κάθε απομόνωσης.

## 2.6. Μόλυνση φυτών

Η τεχνητή μόλυνση των φυτών τομάτας και πατάτας με το αιώρημα κονιδίων του μύκητα *A. solani* γινόταν με τη βοήθεια ψεκαστήρων χωρητικότητας 250 ml. Η παραγωγή του μολύσματος γινόταν σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.5) (εκτός αν αναφέρεται άλλη μέθοδος στα επιμέρους πειράματα). Τα φυτά ψεκάζονταν μέχρι την πλήρη διαβροχή τους τόσο στην πάνω όσο και στην κάτω επιφάνεια των φύλλων. Αμέσως μετά τη μόλυνση τα φυτά καλύπτονταν για 48h με πλαστικές διαφανείς σακούλες που είχαν ψεκαστεί εσωτερικά με απεσταγμένο νερό για να δημιουργηθούν συνθήκες υγρασίας ευνοϊκές για τη μόλυνση (RH=100%) και τοποθετούνταν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών



**Εικόνα 10.** Μέθοδος για παραγωγή μολύσματος *in vitro* από τις απομονώσεις του μύκητα *A. solani* από πατάτα. (α) Τεμάχια αποικιών σε θρεπτικό υλικό S-medium, (β) τεμάχια αποικιών σε θρεπτικό υλικό S-medium μετά από 3 ημέρες έκθεσής τους σε υπεριώδη ακτινοβολία (12h NUV-light/12h σκότος). Το μαύρισμα των τεμαχίων οφείλεται στην παρουσία κονιδιοφόρων και κονιδίων του μύκητα.

θερμοκρασίας ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), φωτισμού (12h φωτοπερίοδος, ένταση φωτός  $160 \mu\text{Einsteins.m}^2.\text{sec}^{-1}$ ) και σχετικής υγρασίας (60-70%) (Εικ. 11). Στη συνέχεια οι σακούλες αφαιρούνταν από τα φυτά, τα οποία παρέμεναν στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών μέχρι την εμφάνιση των συμπτωμάτων και την εκτίμηση της προσβολής.

## **2.7. Στατιστική ανάλυση**

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων επεξεργάστηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα για ηλεκτρονικούς υπολογιστές Statgrafics 5.2 Plus εφαρμόζοντας ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) και διαχωρισμό των μέσων με τη δοκιμή κατά Duncan.



**Εικόνα 11.** Επώαση φυτών τομάτας σε συνθήκες υψηλής σχετικής υγρασίας (RH 100%) αμέσως μετά την τεχνητή μόλυνσή τους με αιώρημα κονιδίων του μύκητα *A. solani*.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΤΕΣ ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ ΤΟΜΑΤΑΣ ΚΑΙ ΠΑΤΑΤΑΣ

### 3.1. Σκοπός

Σκοπός του πειράματος ήταν ο έλεγχος σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού της παθογένειας των μονόσπορων απομονώσεων του μύκητα *A. solani* ΑΙ 24, ΑΙ 25, ΑΙ 29, ΑΙ 61 και ΑΙ 62 από τομάτα και ΑΙ 78α, ΑΙ 78β, ΑΙ 83, ΑΙ 85, ΑΙ 86, ΑΙ 87 και ΑΙ 88 από πατάτα σε φυτά τομάτας και πατάτας.

### 3.2. Υλικά και Μέθοδοι

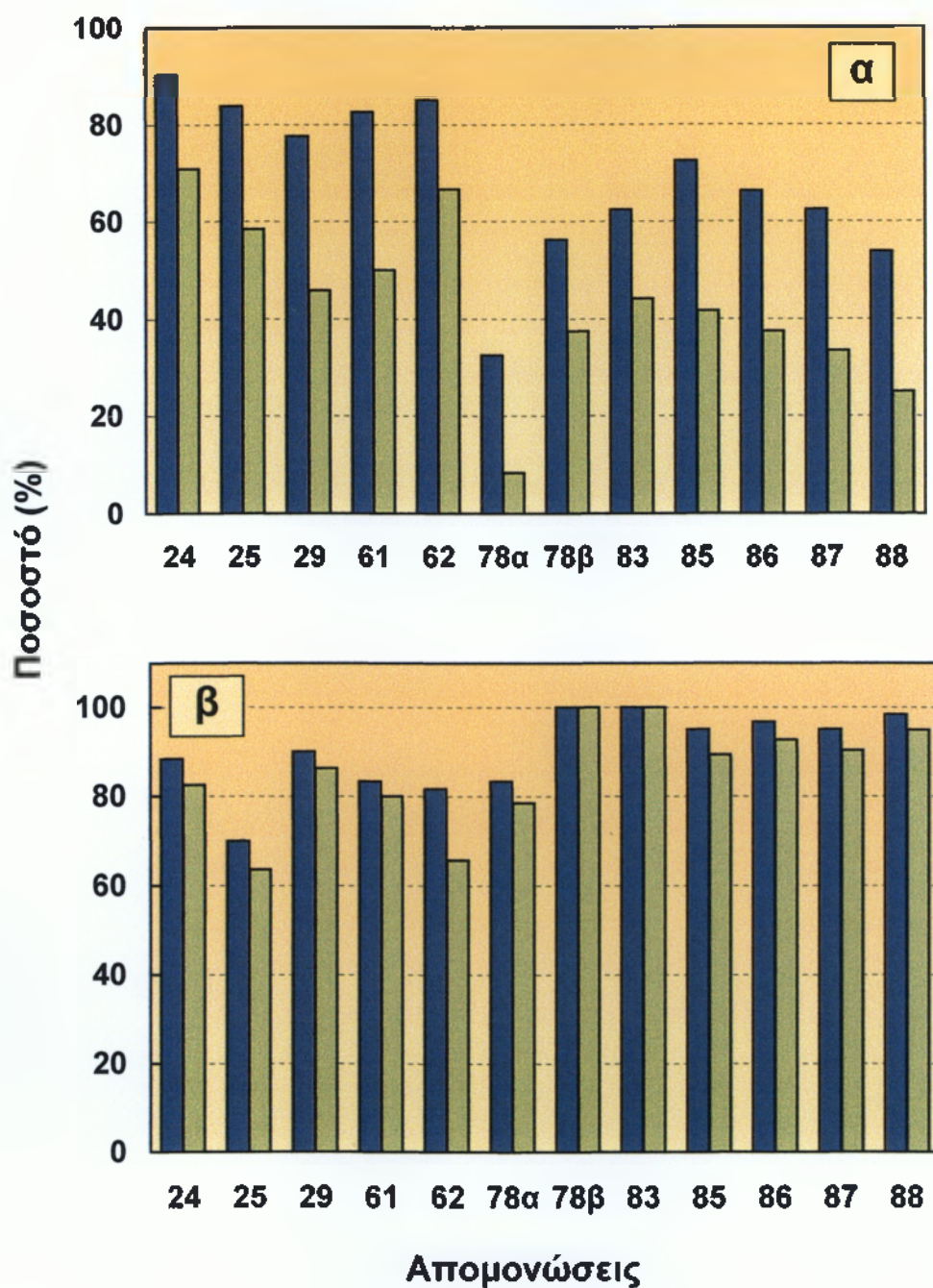
Φυτά τομάτας (ποικιλία Ace 55VF) και πατάτας (ποικιλία Sprunta) αναπτύχθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας ( $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), σχετικής υγρασίας (60–70%), και φωτισμού (12h φως/12h σκοτάδι, ένταση φωτός  $160 \mu \text{ Einsteins.m}^2.\text{sec}^{-1}$ ) σύμφωνα με τη μέθοδο που αναφέρεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.1.). Η τεχνητή μόλυνση έγινε όταν τα φυτά τομάτας είχαν φτάσει στο στάδιο του βου πραγματικού φύλλου και τα φυτά πατάτας είχαν κατά μέσο όρο 10 πραγματικά φύλλα. Για τη μόλυνση των φυτών χρησιμοποιήθηκαν οι απομονώσεις: ΑΙ 24, ΑΙ 25, ΑΙ 29, ΑΙ 61 και ΑΙ 62, που προέρχονταν από τομάτα και οι απομονώσεις ΑΙ 78α, ΑΙ 78β, ΑΙ 83, ΑΙ 85, ΑΙ 86, ΑΙ 87 και ΑΙ 88, που προέρχονταν από πατάτα. Η παραγωγή του μολύσματος έγινε σύμφωνα με τις μεθόδους που αναφέρονται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.5.), ενώ η συγκέντρωση των κονιδίων στο αιώρημα της κάθε απομόνωσης ήταν  $1 \times 10^4$  κονίδια/ml. Για κάθε απομόνωση χρησιμοποιήθηκαν 4 φυτά τομάτας (επαναλήψεις) και 3 φυτά πατάτας (επαναλήψεις). Αμέσως μετά τη μόλυνση, που έγινε σύμφωνα με



τη μέθοδο που αναφέρεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.6.), τα φυτά καλύφθηκαν για 48 h με πλαστικές διαφανείς σακούλες που είχαν ψεκάσει εσωτερικά με απεσταγμένο νερό (RH=100%). Τα φυτά ακολούθως τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), σχετικής υγρασίας (60–70%) και φωτισμού (12h φως/12h σκοτάδι, ένταση φωτός  $160 \mu\text{Einsteins.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ ). Μετά το τέλος του παραπάνω χρόνου επώασης, τα φυτά ξεσκεπάστηκαν και παρέμειναν στο θάλαμο μέχρι τη λήψη των αποτελεσμάτων που έγινε 7 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνσή τους. Εκτιμήθηκαν α) το ποσοστό των φυτών με συμπτώματα (συχνότητα ασθένειας), β) το ποσοστό της φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα (ένταση ασθένειας), γ) το ποσοστό της φυλλόπτωσης σε σχέση με τον αρχικό αριθμό φύλλων που μολύνθηκαν, και δ) το ποσοστό των φυτών με συμπτώματα στα στελέχη και τους μίσχους των φύλλων (συχνότητα ασθένειας στα στελέχη και τους μίσχους).

### 3.3. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), υγρασίας (60–70%) και φωτισμού (12h φωτοπερίοδος) τόσο τα φυτά της τομάτας όσο και της πατάτας ήταν ευπαθή στις μολύνσεις του μύκητα *A. solani* (Εικ. 12). Τα πρώτα συμπτώματα της ασθένειας εμφανίστηκαν 24h μετά τη μόλυνση σε όλα τα φυτά και ανεξάρτητα από το είδος του ξενιστή (τομάτα ή πατάτα) (συχνότητα ασθένειας 100%, τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται σε γραφική παράσταση) (Εικ. 13). Επιπλέον μια σοβαρή συνέπεια της μόλυνσης των φυτών της τομάτας και της πατάτας από το μύκητα *A. solani* ήταν η πρόωρη φυλλόπτωση (Εικ. 14 & 15). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος, τόσο η ένταση της ασθένειας (ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα) όσο και το ποσοστό φυλλόπτωσης



**Εικόνα 12.** Ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα (■) και ποσοστό φυλλόπτωσης (▨) σε φυτά τομάτας (α, ποικ. Ace 55VF) και πατάτας (β, ποικ. Sprunta), που είχαν μολυνθεί τεχνητά με αιώρημα κονιδίων συγκέντρωσης  $1 \times 10^4$  κονίδια/ml 12 απομονώσεων του μύκητα *A. solani*, μετά από 7 ημέρες επώασης των φυτών σε θερμοκρασία  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ , σχετική υγρασία (60-70%) και 12h φωτοπερίοδο. Φυλλική επιφάνεια με συμπτώματα: (α) SED (36 d.f.) = 6,47, (β) SED (24 d.f.) = 10,5. Φυλλόπτωση: (α) SED (36 d.f.) = 10,9, (β) SED (24 d.f.) = 12,4.



**Εικόνα 13.** Συμπτώματα προσβολής φύλλων τομάτας (α) και πατάτας (β) από το μύκητα *A. solani*, 48 h μετά τη μόλυνση των φυτών με αιώρημα κονιδίων συγκέντρωσης  $1 \times 10^4$  κονίδια/ml και επώασής τους σε θερμοκρασία  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ , σχετική υγρασία 100% και 12h φωτοπερίοδο.



**Εικόνα 14.** Φυλλόπτωση σε φυτά τομάτας 7 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνσή τους με αιώρημα κονιδίων συγκέντρωσης  $1 \times 10^4$  κονίδια/ml του μύκητα *A. solani* και επώασής τους σε θερμοκρασία  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ , σχετική υγρασία 60-70% και 12 h φωτοπερίοδο.



**Εικόνα 15.** Φυλλόπτωση σε φυτά πατάτας (β) 7 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνσή τους με αιώρημα κονιδίων συγκέντρωσης  $1 \times 10^4$  κονίδια/ml του μύκητα *A. solani* και επώασής τους σε θερμοκρασία  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ , σχετική υγρασία 60-70% και 12h φωτοπερίοδο.(α) Φυτά μάρτυρες.

εξαρτιόνταν από την προέλευση της απομόνωσης (τομάτα ή πατάτα) και την ευπάθεια του ξενιστή (Εικ. 12). Ανεξάρτητα από την απομόνωση που χρησιμοποιήθηκε, μεγαλύτερα ποσοστά φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα (ένταση ασθένειας) εμφάνισαν τα φυτά της πατάτας (70–98%) σε σχέση με τα φυτά της τομάτας (33–90%) (Εικ. 12). Επιπλέον οι απομονώσεις που προέρχονταν από τομάτα ήταν περισσότερο παθογόνες στα φυτά της τομάτας (ένταση ασθένειας 78–90%) από ότι στα φυτά της πατάτας (ένταση ασθένειας 33–73%), ενώ οι απομονώσεις από πατάτα ήταν περισσότερο παθογόνες στα φυτά πατάτας (ένταση ασθένειας 95–100%) από ότι στα φυτά τομάτας (33–73%) (Εικ. 12). Επιπλέον, οι κηλίδες που προκάλεσαν στα φυτά της πατάτας οι απομονώσεις από τομάτα ήταν μικρότερου μεγέθους σε σχέση με εκείνες που προκάλεσαν οι ίδιες απομονώσεις στα φυτά της τομάτας και αντιστρόφως (Εικ. 16 & 17).

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν επίσης ότι το ποσοστό φυλλόπτωσης, ανεξάρτητα από την απομόνωση που δοκιμάστηκε, ήταν μεγαλύτερο στα φυτά της πατάτας (64–100%) από ότι στα φυτά της τομάτας (8–71%) (Εικ. 12). Όλες οι απομονώσεις, ανεξάρτητα από την προέλευσή τους (τομάτα ή πατάτα) προκάλεσαν μεγαλύτερο ποσοστό φυλλόπτωσης στα φυτά της πατάτας (64–86% και 79–100%, αντίστοιχα) από ότι στα φυτά της τομάτας (46–71% και 8–38%, αντίστοιχα) (Εικ. 12).

Επιπλέον τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι α) ανεξάρτητα από την προέλευση των απομονώσεων και το είδος του φυτού που μολύνθηκε (τομάτα ή πατάτα), το ποσοστό φυλλόπτωσης ήταν ανάλογο με το ποσοστό της φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα, και β) υπήρχε γραμμική συσχέτιση μεταξύ αυτών των δύο μεταβλητών ( $R^2 = 0,92$  και  $0,90$  για τα φυτά της πατάτας και τομάτας αντίστοιχα) (Εικ. 18).

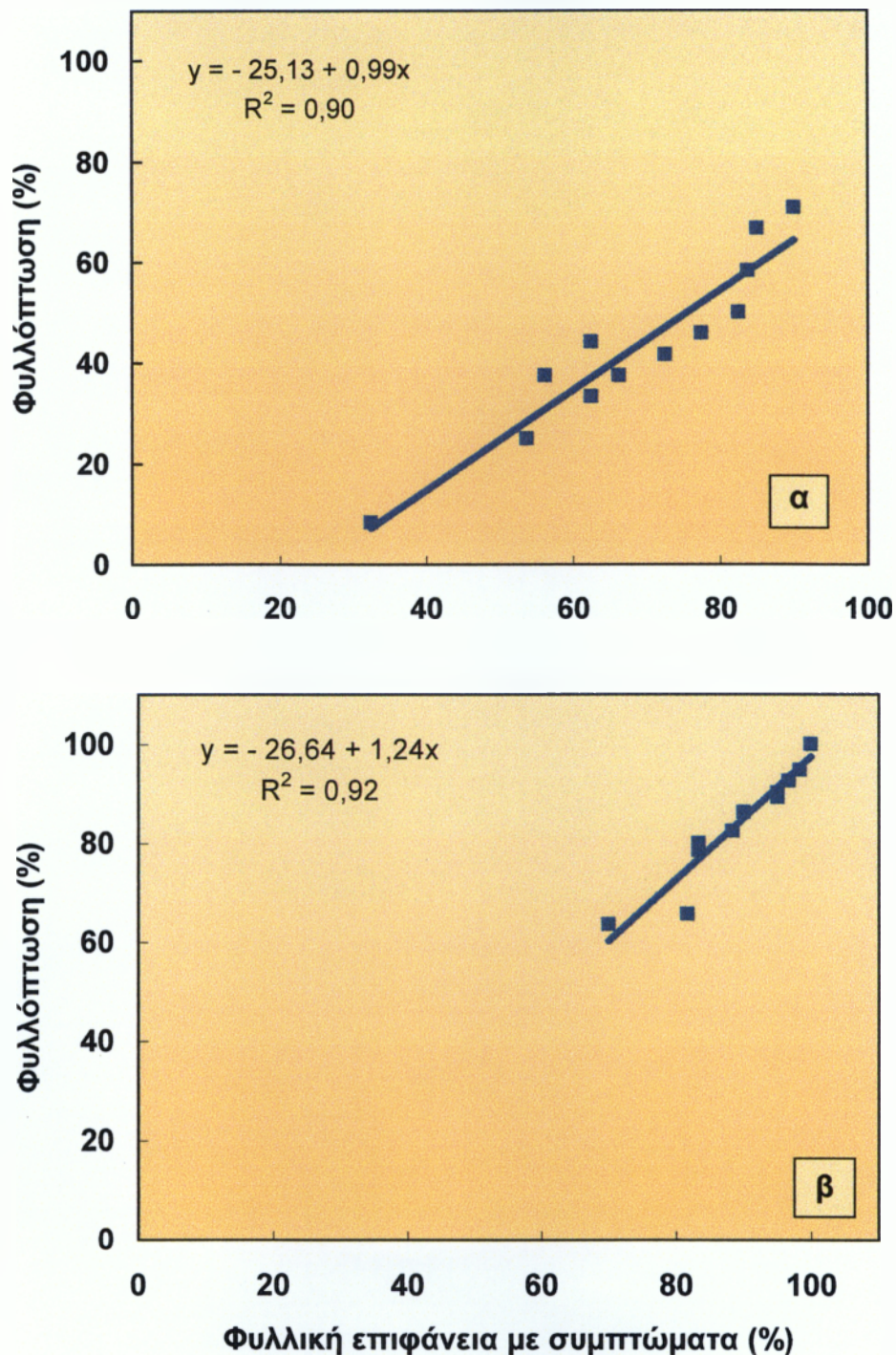


**Εικόνα 16.** Φυτά τομάτας τεχνητά μολυσμένα με το μύκητα *A. solani*, μετά από 7 ημέρες επώασής τους σε θερμοκρασία  $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ , σχετική υγρασία 60-70% και 12 h φωτοπερίοδο. (α) Φυτό που μολύνθηκε με απομόνωση (AI 24) που προήλθε από φυτό τομάτας, και (β) φυτό που μολύνθηκε με απομόνωση (AI 88) που προήλθε από φυτό πατάτας.



**Εικόνα 17.** Συμπτώματα σε φύλλα τομάτας 48 h μετά τη τεχνητή μόλυνσή τους με αιώρημα κονιδίων του μύκητα *A. solani* συγκέντρωσης  $1 \times 10^4$  κονίδια/ml. (α) Φύλλα μολυνθέντα με απομόνωση που προήλθε από τομάτα (ΑΙ 24), και (β) φύλλα μολυνθέντα με απομόνωση που προήλθε από πατάτα (ΑΙ 88)





**Εικόνα 18.** Σχέση φυλλόπτωσης και έντασης ασθένειας (ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα) σε φυτά τομάτας (α, ποικ. Ace 55VF) και πατάτας (β, ποικ. Sprunta), που είχαν μολυνθεί τεχνητά με αιώρημα κονιδίων συγκέντρωσης  $1 \times 10^4$  κονίδια/ml, 12 απομονώσεων του μύκητα *A. solani*, μετά από 7 ημέρες επώασης των φυτών σε θερμοκρασία  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ , σχετική υγρασία 60-70% και 12h φωτοπερίοδο.

Όσον αφορά το ποσοστό των φυτών τομάτας ή πατάτας που εμφάνιζαν συμπτώματα στα στελέχη και τους μίσχους των φύλλων 7 ημέρες μετά τη μόλυνση αυτό ήταν 100%, ανεξάρτητα από την απομόνωση που δοκιμάστηκε (τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται σε γραφική παράσταση).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΩΝ *IN VITRO*

### 4.1. Σκοπός

Σκοπός του πειράματος ήταν ο έλεγχος *in vitro* του βαθμού ευαισθησίας των μονόσπορων απομονώσεων του μύκητα *A. solani* AI 24, AI 25, AI 29, AI 61 και AI 62 από τομάτα και AI 78α, AI 78β, AI 83, AI 85, AI 86, AI 87 και AI 88 από πατάτα στα μυκητοκτόνα mancozeb, iprodione, prochloraz, chlorothalonil και azoxystrobin

### 4.2. Υλικά και Μέθοδοι

Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν οι μονόσπορες απομονώσεις του μύκητα *A. solani* AI 24, AI 25, AI 29, AI 61 και AI 62, που προέρχονταν από τομάτα και AI 78α, AI 78β, AI 83, AI 85, AI 86, AI 87 και AI 88, που προέρχονταν από πατάτα. Οι απομονώσεις αυτές διατηρούντο στη συλλογή του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου σε μπουκαλάκια McCartney, σε θερμοκρασία 4°C, σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.3.). Για τις ανάγκες του πειράματος έγινε μεταφορά των απομονώσεων από τη συλλογή σε τριβλία Petri με θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ, σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.3.) και τα τριβλία τοποθετήθηκαν για επώαση σε θερμοκρασία 21°C και συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας (NUV-light) με σκότος (12h NUV-light/12h σκότος). Μετά από 3 ημέρες επώασης των τριβλίων στις παραπάνω συνθήκες κόπηκαν με τη βοήθεια φελλοτρυπητή από την περιφέρεια των αποικιών μυκηλιακοί δίσκοι διαμέτρου 5 mm οι οποίοι

τοποθετήθηκαν ανεστραμμένοι (με το μυκήλιο σε επαφή με το υλικό) και αντιδιαμετρικά σε τριβλία Petri με θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ (2 δίσκοι/τριβλίο). Για κάθε απομόνωση χρησιμοποιήθηκαν τρία τριβλία (επαναλήψεις). Ακολούθως τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο επώασης σε θερμοκρασία 21<sup>0</sup>C και συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας με σκότος (12h NUV-light/12h σκότος). Μετά από 9 ημέρες επώασης των τριβλίων στις παραπάνω συνθήκες, κόπηκαν με τη βοήθεια φελλοτρυπητή από την περιφέρεια των αποικιών μυκηλιακοί δίσκοι διαμέτρου 5 mm και τοποθετήθηκαν ανεστραμμένοι σε τριβλία Petri με θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ. Στα τριβλία είχαν προηγουμένως προστεθεί τα μυκητοκτόνα mancozeb, iprodione, prochloraz, chlorothalonil και azoxystrobin στις συγκεντρώσεις που αναφέρονται στον Πίνακα 3. Για κάθε απομόνωση χρησιμοποιήθηκαν 3 τριβλία (επαναλήψεις). Τα τριβλία-μάρτυρες περιείχαν μόνο θρεπτικό υλικό V-8 άγαρ. Ακολούθως όλα τα τριβλία σφραγίστηκαν με Parafilm και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο επώασης, σε θερμοκρασία 21<sup>0</sup>C και στο σκοτάδι. Έπειτα από 3 ημέρες έγινε η μέτρηση της γραμμικής αύξησης του μυκηλίου. Μετρήθηκε αρχικά η διάμετρος σε cm των αποικιών της κάθε απομόνωσης του μύκητα, και ακολούθως αφαιρέθηκαν από τη διάμετρο τα 0,5 mm, που ήταν η διάμετρος του μυκηλιακού δίσκου (μόλυσμα). Στη συνέχεια υπολογίστηκε το ποσοστό παρεμπόδισης του μυκηλίου σύμφωνα με τον τύπο :

$$y = 100 - 100 (x / c)$$

όπου:  $y$  = ποσοστό παρεμπόδισης (%),

$x$  = γραμμική αύξηση του μυκηλίου στο μυκητοκτόνο σε cm,

$c$  = γραμμική αύξηση του μυκηλίου στο μάρτυρα σε cm.

**Πίνακας 3.** Συγκεντρώσεις μυκητοκτόνων που δοκιμάστηκαν για τη μελέτη της αποτελεσματικότητάς τους *in vitro* εναντίον του μύκητα *A. solani*.

Δραστική ουσία*	Χημική Ομάδα	Εμπορική ονομασία**	Εταιρεία	Συγκεντρώσεις μυκητοκτόνου (ppm)
mancozeb (Π)	Διθειοκαρβαμιδικά	Trimanoc 75WG	ΑΛΦΑ ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΕΦΟΔΙΑ ΑΕΕ	5
				10
				20
				40
				80
				5
				10
				20
				40
				80
				0,1
				0,2
iprodione (Π)	Δικαρβοξυμιδικά	Rovral 50WP	Rhône-Poulenc	0,4
				0,8
				1
				0,001
				0,01
prochloraz (Δ)	Ιμιδαζολικά	Octave 50WP	Ευθυμιάδης ΑΒΕΕ	0,02
				0,04
				0,08
				0,1
				1
chlorothalonil (Π)	Φαινυλικές ενώσεις	Daconil 75WP	Zeneca Hellas AE	10
				100
				1000
				0,1
				1
azoxystrobin (Π)	Στρομπιλουρίνες	Quadris 25SC		10
				100
				1000
				0,1
				1

\* Π = προστατευτικό, Δ = διασυστηματικό μυκητοκτόνο.

\*\* WG=βρέξιμοι κόκκοι (wetable granules), SC=εναιώρημα (suspension concentrate), WP=βρέξιμη σκόνη (wetable powder).

Για την εύρεση των τιμών ED<sub>50</sub> (συγκέντρωση μυκητοκτόνου σε ppm που παρεμποδίζει κατά 50% τη γραμμική αύξηση του μυκηλίου) χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα για ηλεκτρονικούς υπολογιστές Excel

2000. Με τη βοήθεια του παραπάνω προγράμματος βρέθηκε η γραμμική σχέση μεταξύ του δεκαδικού λογάριθμου (log) των συγκεντρώσεων του κάθε μυκητοκτόνου (άξονας x) και των αντίστοιχων ποσοστών παρεμπόδισης της αύξησης του μυκηλίου, τα οποία ποσοστά είχαν προηγουμένως μετατραπεί σε probits (άξονας y). Η γραμμική αυτή σχέση για κάθε μυκητοκτόνο και απομόνωση του μύκητα περιγράφηκε από μία εξίσωση της μορφής :

$$y = \alpha + \beta \log x$$

όπου:  $\alpha$  = το σημείο που η ευθεία τέμνει τον άξονα y,

$\beta$  = η κλίση της ευθείας,

x = η συγκέντρωση του μυκητοκτόνου σε ppm, και

y = το ποσοστό παρεμπόδισης της γραμμικής αύξησης του μυκηλίου σε τιμές probits.

Με βάση τη γραμμική αυτή εξίσωση και τοποθετώντας όπου y τον αριθμό 5 (50% παρεμπόδιση) υπολογίζουμε την τιμή του x, δηλαδή το δεκαδικό λογάριθμο της συγκέντρωσης του μυκητοκτόνου. Στη συνέχεια και αφού απολογαριθμίσουμε τις τιμές αυτές βρίσκουμε τη συγκέντρωση του μυκητοκτόνου που παρεμποδίζει κατά 50% τη γραμμική αύξηση του μυκηλίου του μύκητα *A. solani*, δηλαδή την τιμή ED<sub>50</sub>.

### 4.3. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι η *in vitro* αποτελεσματικότητα των μυκητοκτόνων εξαρτάται από την απομόνωση του μύκητα (Πίνακας 4). Διαπιστώθηκε επίσης από τα αποτελέσματα ότι οι απομονώσεις του μύκητα *A. solani* που προέρχονταν από φυτά τομάτας εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές ED<sub>50</sub> σε μερικά μυκητοκτόνα από ότι οι απομονώσεις που προέρχονταν από φυτά πατάτας (Πίνακας 4). Πιο

συγκεκριμένα οι ED<sub>50</sub> τιμές του μυκητοκτόνου mancozeb (ανεξάρτητα από το σκεύασμα που δοκιμάστηκε) για τις απομονώσεις του μύκητα που προέρχονταν από τομάτα (Al 24, Al 25, Al 29, Al 62) κυμαίνονταν από 57,5 έως 312,5 ppm, ενώ εκείνες για τις απομονώσεις από φυτά πατάτας (Al 78α, Al 78β, Al 83, Al 85, Al 86, Al 87, Al 88) κυμαίνονταν από 24,4 έως 37,6 ppm (Πίνακας 4, Εικ. 19-22). Παρόμοιο φαινόμενο διαπιστώθηκε και στο μυκητοκτόνο azoxystrobin, όπου οι τιμές ED<sub>50</sub> για τις απομονώσεις του μύκητα από φυτά τομάτας κυμαίνονταν από 70,6 έως 1189 ppm, ενώ για τις απομονώσεις από φυτά πατάτας από 0,72 έως 16,22 ppm (Πίνακας 4, Εικ. 29-30). Μικρότερες τιμές ED<sub>50</sub> εμφάνισαν οι απομονώσεις του μύκητα από φυτά πατάτας σε σχέση με εκείνες από φυτά τομάτας και στο μυκητοκτόνο prochloraz (Πίνακας 4, Εικ. 25-26). Πιο συγκεκριμένα οι τιμές ED<sub>50</sub> για τις απομονώσεις Al 78α, Al 78β, Al 83, Al 85, Al 86, Al 87 και Al 88 κυμαίνονταν από 0,02 έως 0,03 ppm ενώ εκείνες των απομονώσεων Al 24, Al 25, Al 29 και Al 62 από τομάτα κυμαίνονταν από 0,1 έως 0,16 ppm. Όσον αφορά τις τιμές ED<sub>50</sub> των μυκητοκτόνων iprodione και chlorothalonil, δεν διαπιστώθηκαν διαφορές μεταξύ των απομονώσεων του μύκητα από φυτά τομάτας και πατάτας (Πίνακας 4, Εικ. 23-24 & 27-28). Οι τιμές ED<sub>50</sub> του μυκητοκτόνου iprodione κυμαίνονταν από 0,44 έως 1,1 ppm (ανάλογα με την απομόνωση) και του μυκητοκτόνου chlorothalonil από 8,68 έως 40,15 ppm (Πίνακας 4, Εικ. 23-24 & 27-28).

**Πίνακας 4.** Τιμές ED<sub>50</sub> των μυκητοκτόνων που δοκιμάστηκαν για την *in vitro* αποτελεσματικότητά τους εναντίον 12 μονόσπορων απομονώσεων του μύκητα *A. solani*.

Απομόνωση*	ED <sub>50</sub> (ppm) <sup>‡</sup>					
	M <sub>1</sub> **	M <sub>2</sub>	P	I	CH	A
AL 24	57,5***	89,48	0,1	0,63	36,16	211,88
AL 25	312,5	170,77	0,11	1,10	34,33	149,36
AL 29	71,43	66,02	0,15	0,65	40,15	1189
AL 62	63,31	82,77	0,16	0,54	23,62	70,6
AL 78α	28,78	39,75	0,03	0,44	35,79	12,02
AL 78β	26,65	27,57	0,03	0,47	16,11	3,77
AL 83	27,53	24,66	0,02	0,46	8,68	2,47
AL 85	24,39	26,89	0,03	0,52	26,32	3,46
AL 86	27,89	32,59	0,02	0,59	37,91	6,42
AL 87	29,95	37,57	0,03	0,66	32,21	16,22
AL 88	25,05	26,89	0,02	0,48	14,82	0,72

\* AL 24, AL 25, AL 29, AL 62: απομονώσεις από φυτά τομάτας, AL78α, AL78β, AL 83, AL 85, AL 86, AL 87, AL 88: απομονώσεις από φυτά πατάτας.

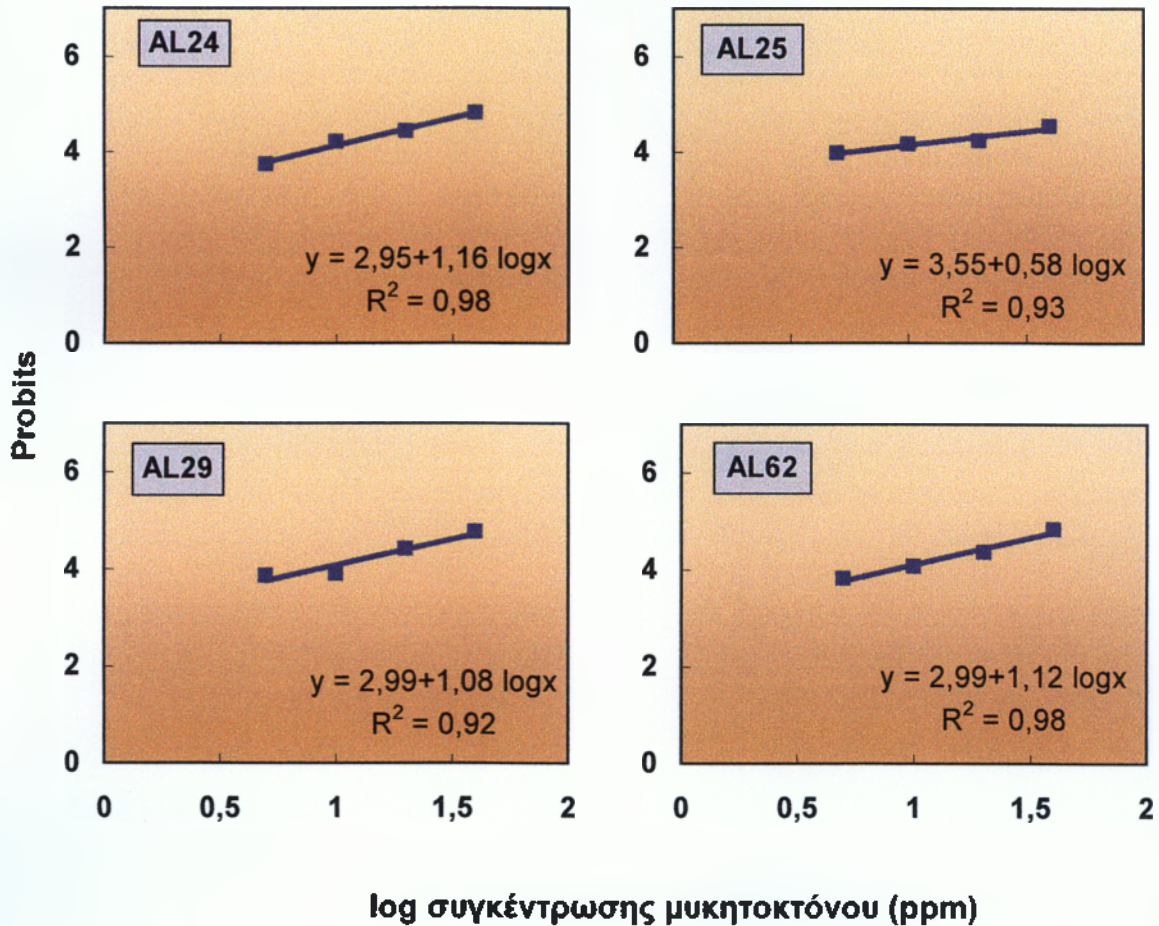
\*\* M<sub>1</sub>: mancozeb (Trímanoc), M<sub>2</sub>: mancozeb (Pennfliud), P: prochloraz (Octave), I: iprodione (Rovral), CH: chlorothalonil (Daconil), A: azoxystrobin (Quadris).

\*\*\* Μέσος όρος τριών επαναλήψεων.

‡ Συγκέντρωση του μυκητοκτόνου που παρεμποδίζει κατά 50% τη γραμμική αύξηση του μυκηλίου σε σχέση με το μάρτυρα. Η λήψη των αποτελεσμάτων έγινε μετά από 3 ημέρες επώασης των τριβλίων σε θερμοκρασία 21±2°C στο σκοτάδι.

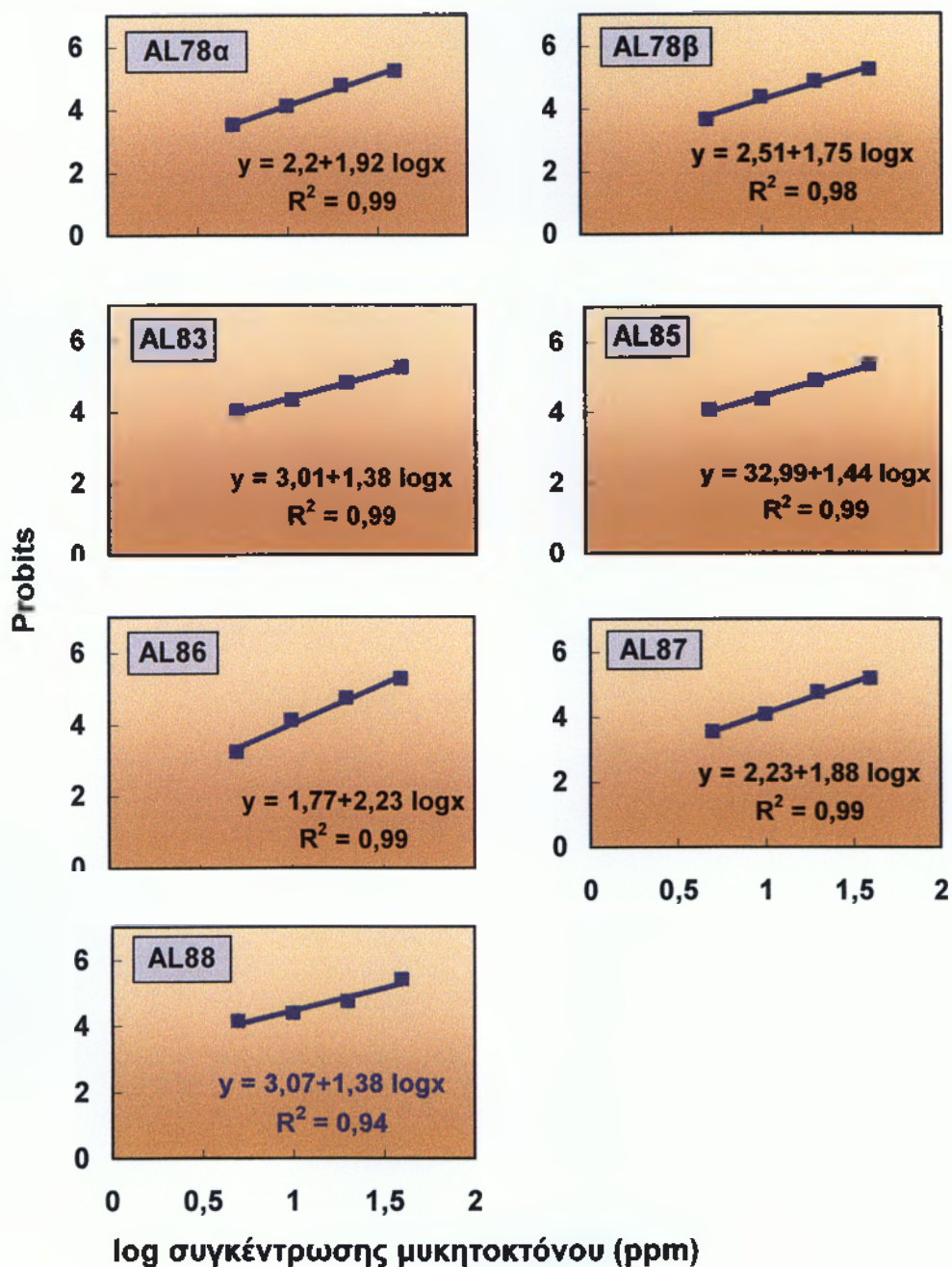


### MANCOZEB (Trimanoc)



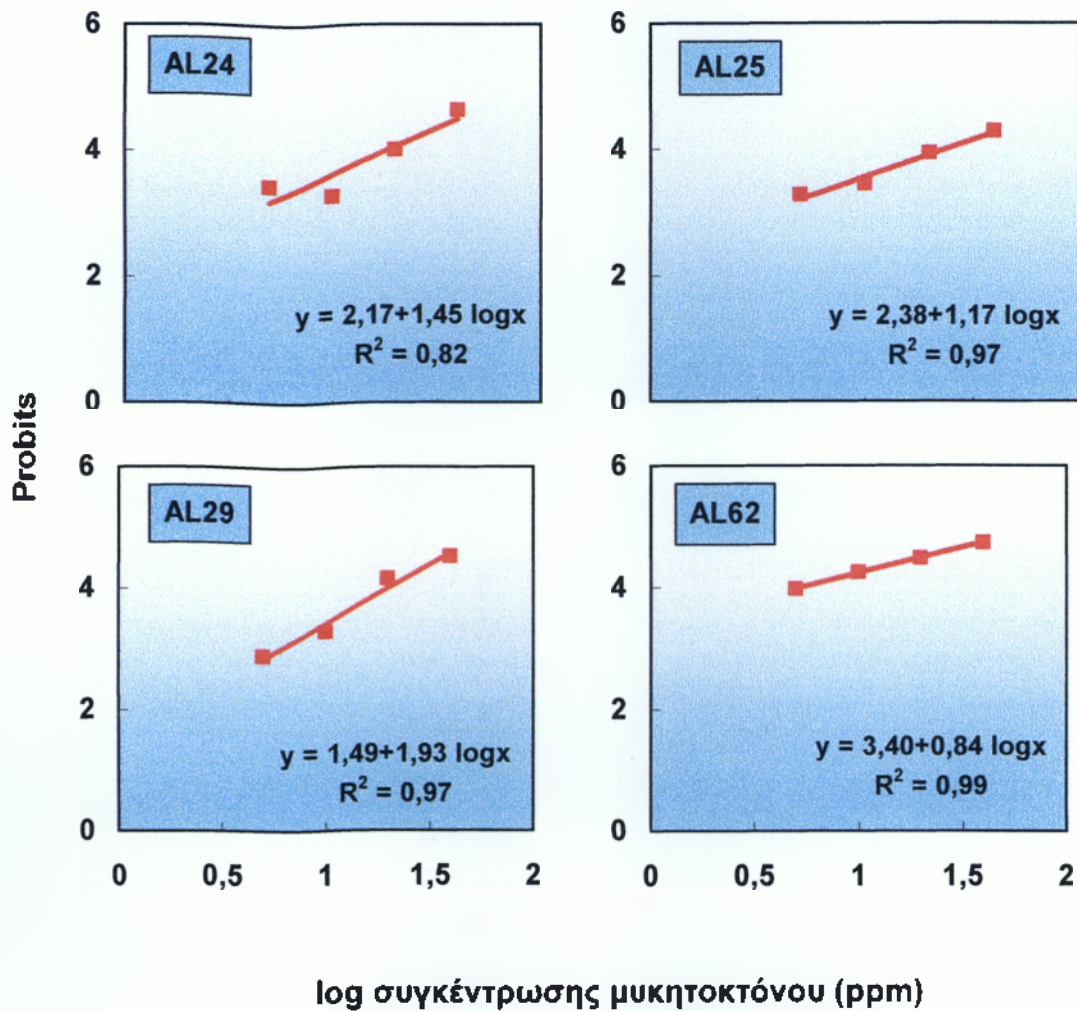
Εικόνα 19. *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου mancozeb (Trimanoc 75WG) εναντίον 4 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από τομάτα (Al 24, Al 25, Al 29, Al 62).

## MANCOZEB (Trimanoc)



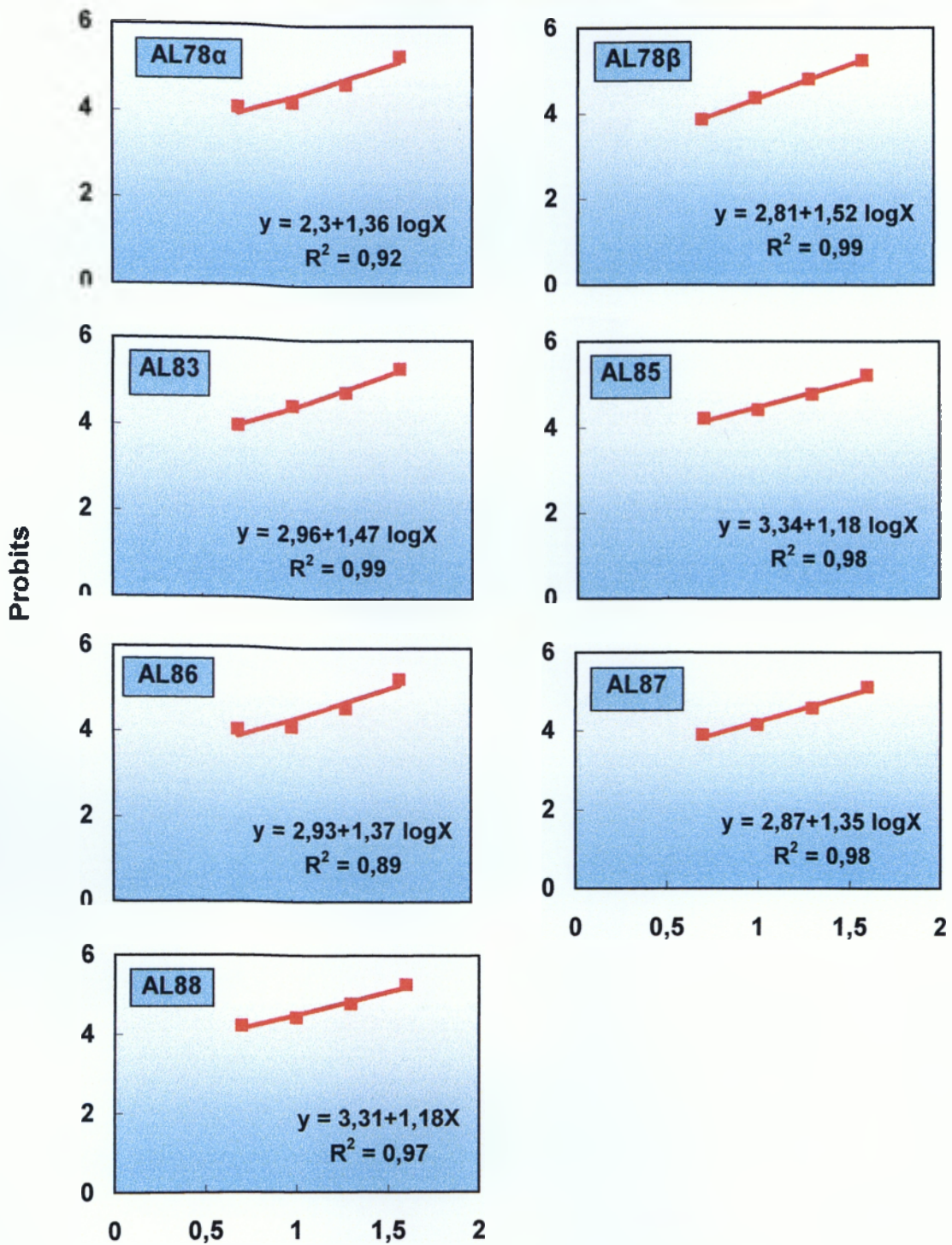
**Εικόνα 20.** *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου mancozeb (Trimanoc 75WG) εναντίον 7 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από πατάτα (Al 78α, Al 78β, Al 83, Al 85, Al 86, Al 87, Al 88).

## MANCOZEB (Pennfluid)



**Εικόνα 21.** *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου mancozeb (Pennfluid 42SC) εναντίον 4 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από τομάτα (Al 24, Al 25, Al 29, Al 62).

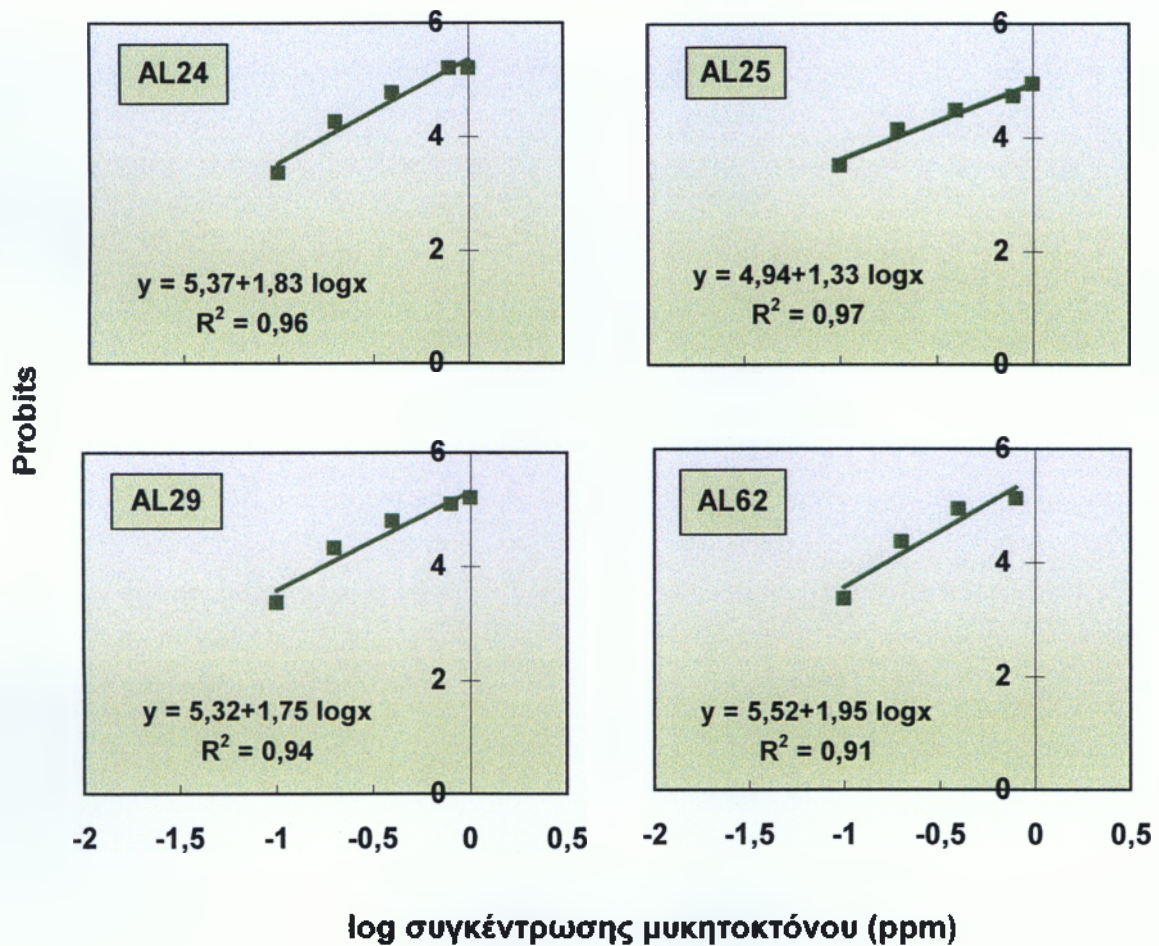
**MANCOZEB (Pennfluid)**



**log συγκέντρωσης μυκητοκτόνου (ppm)**

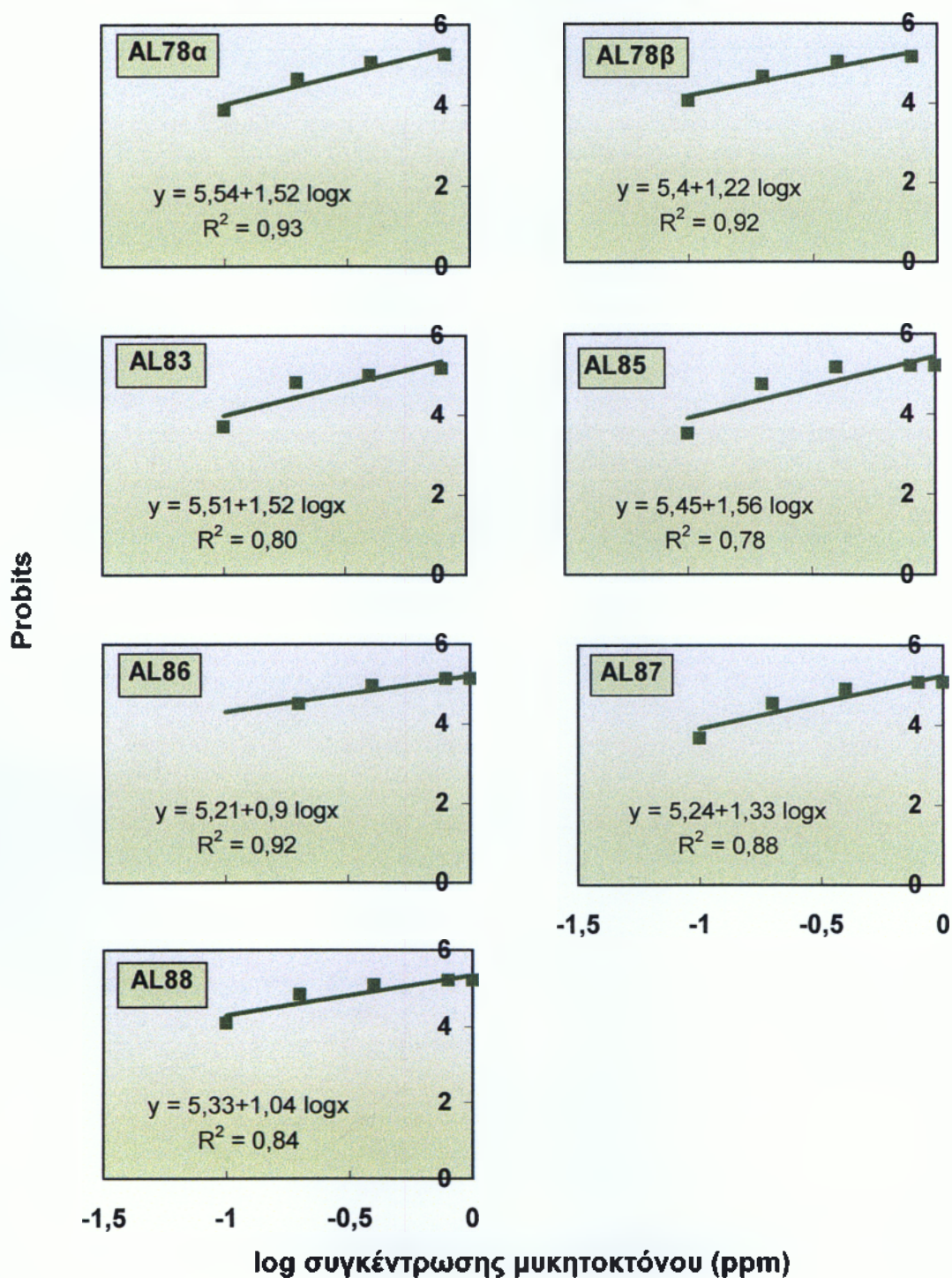
**Εικόνα 22.** *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου mancozeb (Pennfluid 42SC) εναντίον 7 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από πατάτα (Al 78α, Al 78β, Al 83, Al 85, Al 86, Al 87, Al 88).

## IPRODIONE (Rovral)



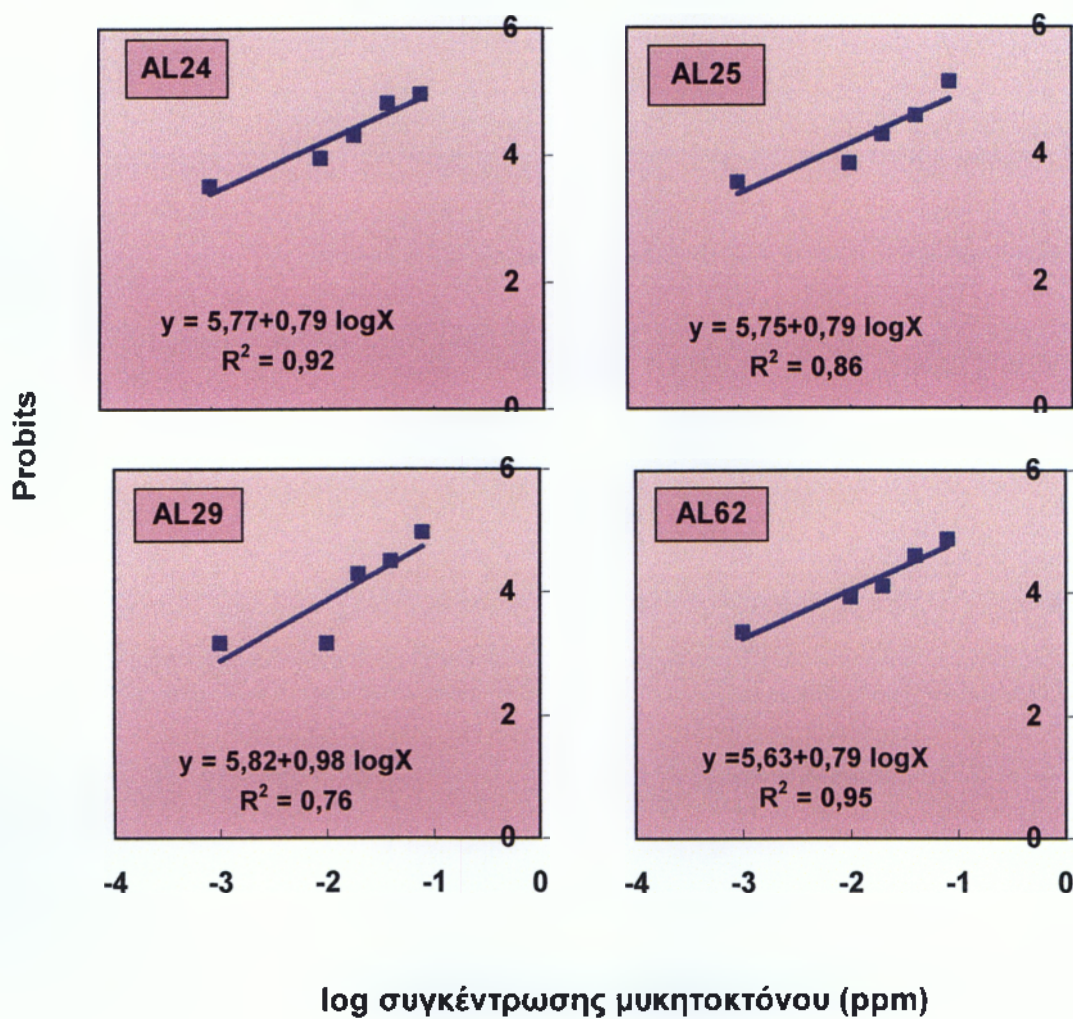
**Εικόνα 23.** *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου iprodione (Rovral 50WP) εναντίον 4 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από τομάτα (Al 24, Al 25, Al 29, Al 62).

## IPRODIONE (Rovral)



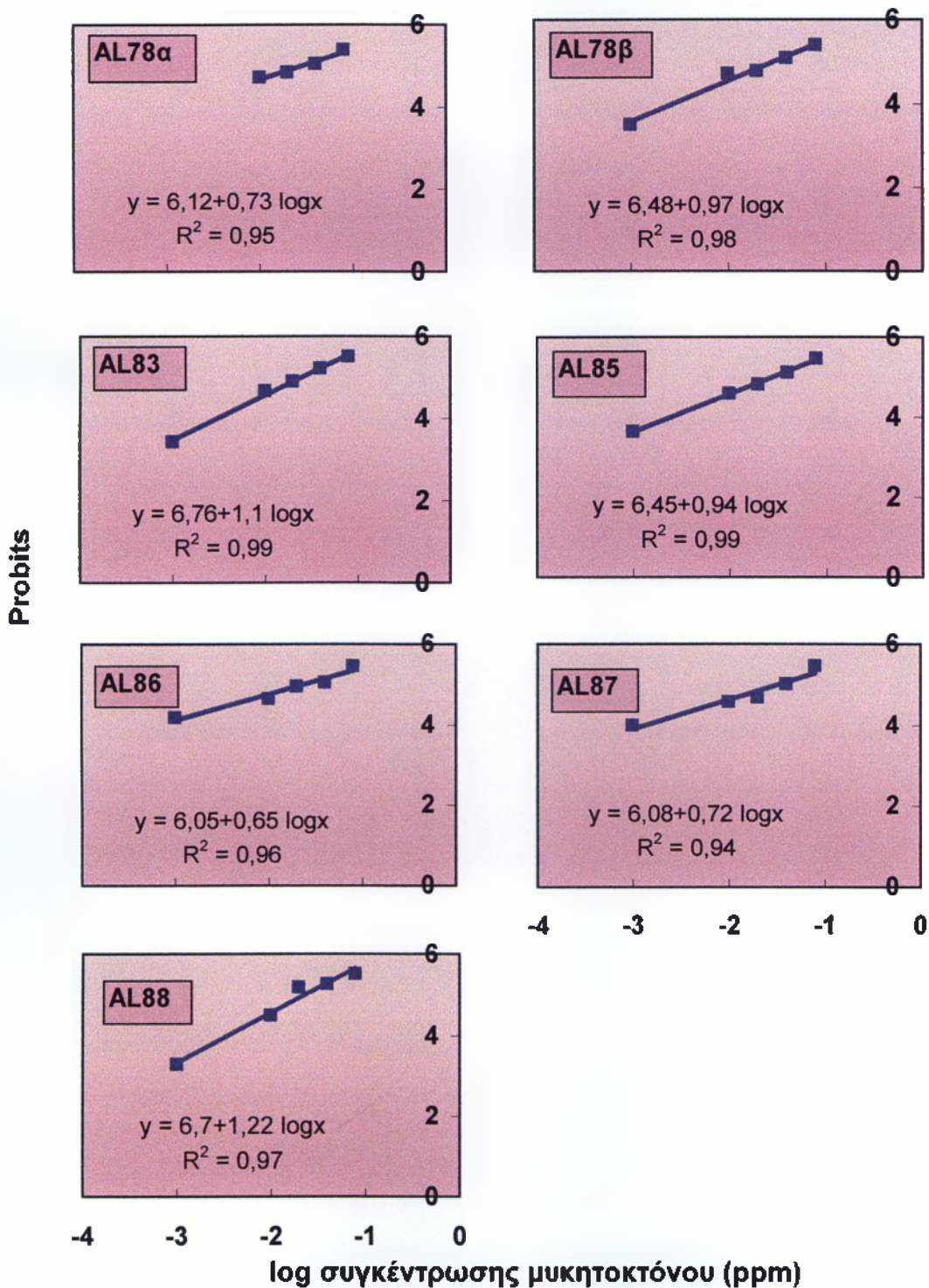
**Εικόνα 24.** *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου iprodione (Rovral 50WP) εναντίον 7 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από πατάτα (Al 78α, Al 78β, Al 83, Al 85, Al 86, Al 87, Al 88).

### PROCHLORAZ (Octave)



**Εικόνα 25.** *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου prochloraz (Octave 50WP) εναντίον 4 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από τομάτα (Al 24, Al 25, Al 29, Al 62).

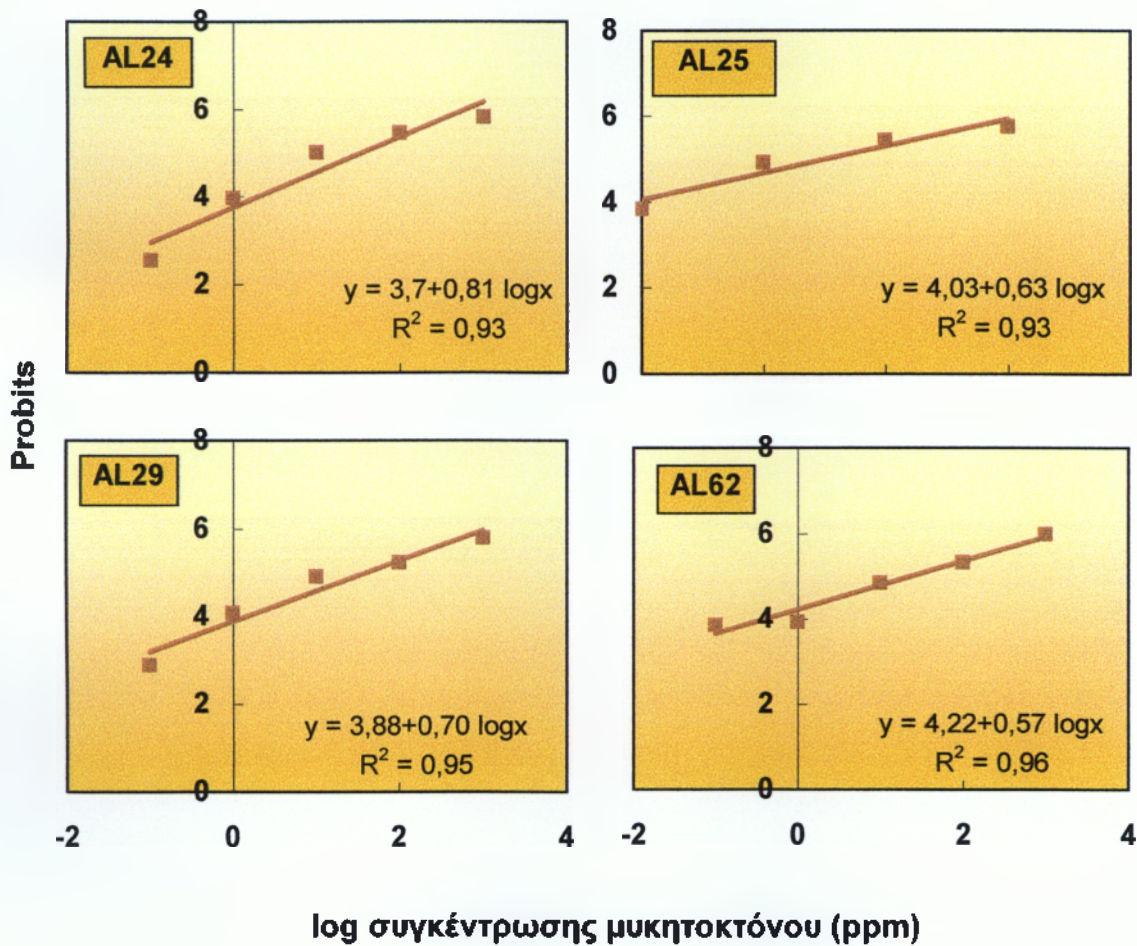
## PROCHLORAZ (Octave)



**Εικόνα 26.** *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου prochloraz (Octave 50WP) εναντίον 7 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από πατάτα (Al 78α, Al 78β, Al 83, Al 85, Al 86, Al 87, Al 88).

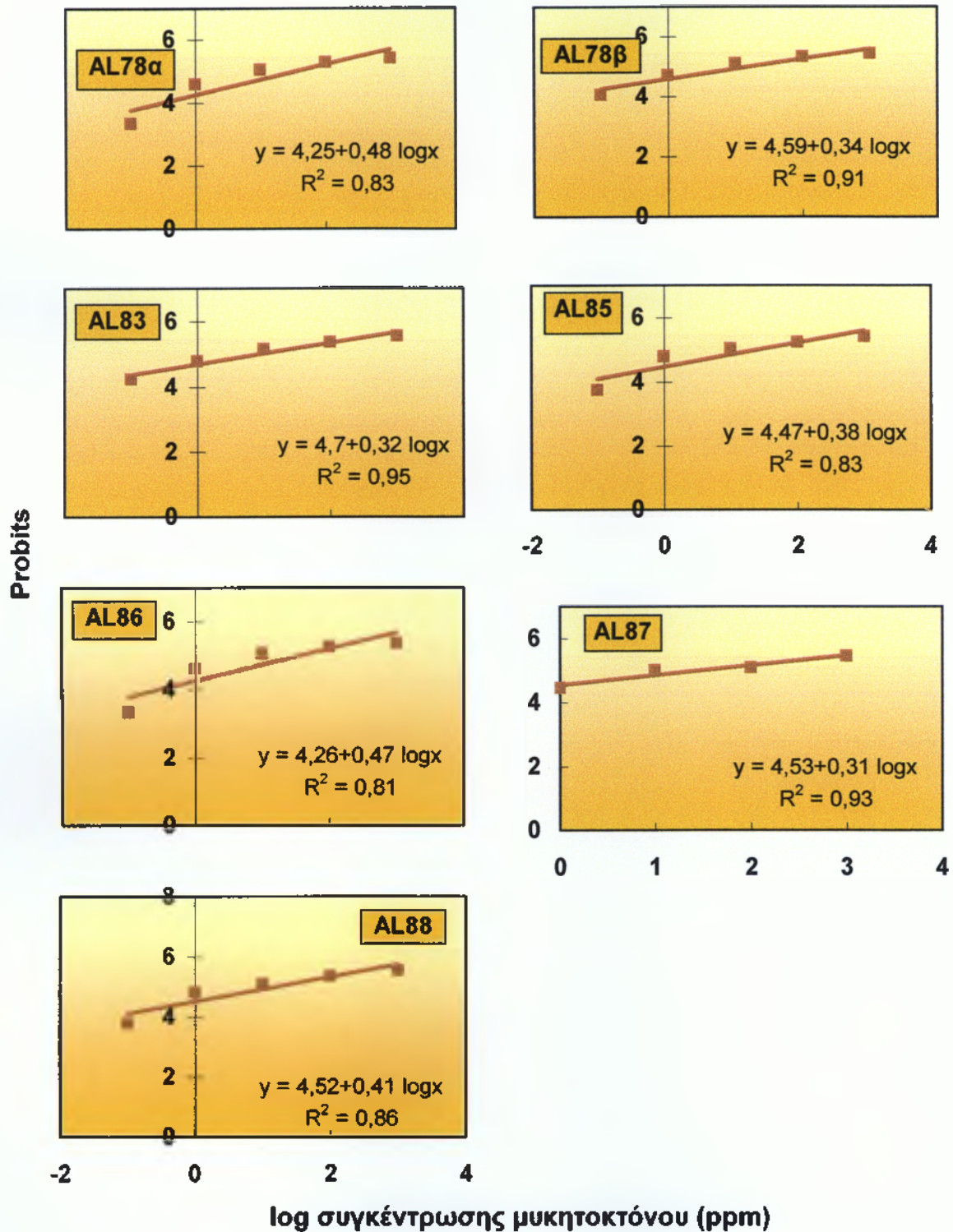


## CHLOROTHALONIL (Daconil)



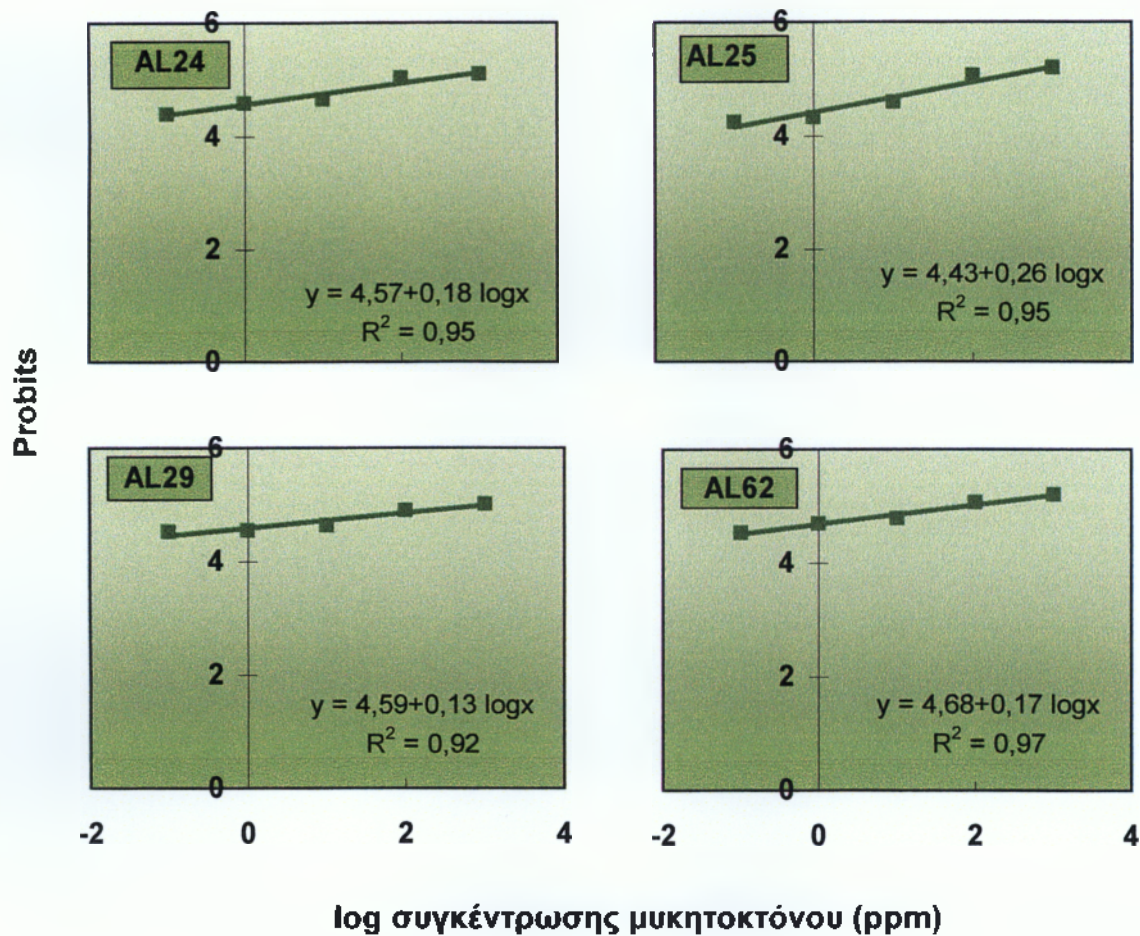
**Εικόνα 27.** *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου chlorothalonil (Daconil 75WP) εναντίον 4 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από τομάτα (Al 24, Al 25, Al 29, Al 62).

## CHLOROTHALONIL (Daconil)



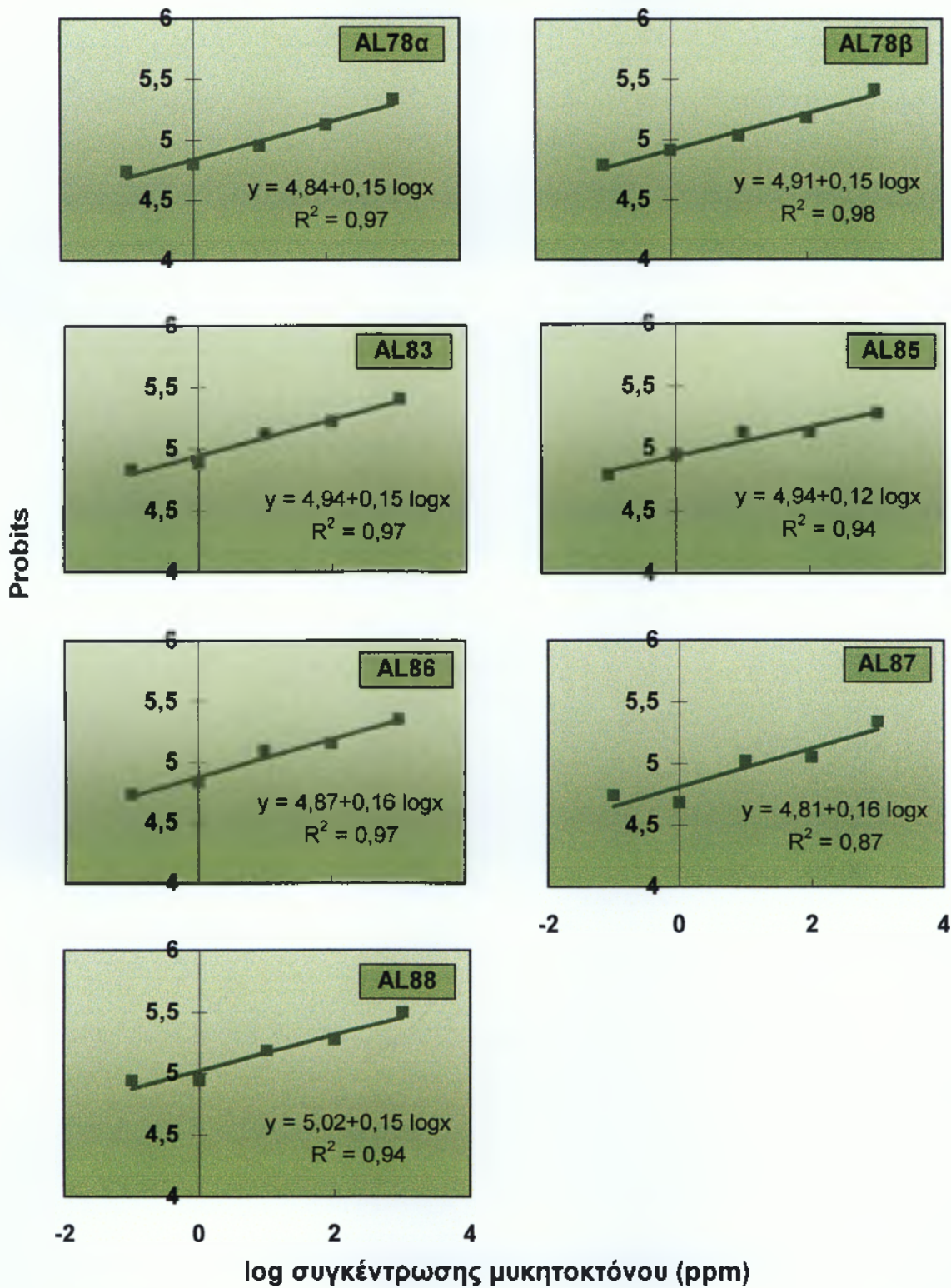
**Εικόνα 28.** *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου chlorothalonil (Daconil 75WP) εναντίον 7 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από πατάτα (Al 78α, Al 78β, Al 83, Al 85, Al 86, Al 87, Al 88).

## AZOXYSTROBIN (Quadris)



**Εικόνα 29.** *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου azoxystrobin (Quadris 25SC) εναντίον 4 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από τομάτα (Al 24, Al 25, Al 29, Al 62).

### AZOXYSTROBIN (Quadris)



**Εικόνα 30.** *In vitro* αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου azoxystrobin (Quadris 25SC) εναντίον 7 απομονώσεων του μύκητα *A. solani* από πατάτα (Al 78α, Al 78β, Al 83, Al 85, Al 86, Al 87, Al 88).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΩΝ *IN VIVO*

### 5.1. Σκοπός

Σκοπός του πειράματος ήταν η αξιολόγηση των ευρέως χρησιμοποιούμενων στην πράξη μυκητοκτόνων mancozeb, iprodione, prochloraz, chlorothalonil και του νέου μυκητοκτόνου της ομάδας των στρομπιλουρινών azoxystrobin ως προς την αποτελεσματικότητά τους όταν εφαρμόζονται προστατευτικά εναντίον του μύκητα *A. solani*, σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού.

### 5.2. Υλικά και Μέθοδοι

Φυτά τομάτας ποικιλίας Ace 55VF αναπτύχθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών, σύμφωνα με τη μέθοδο που αναφέρεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.1.). Όταν τα φυτά βρίσκονταν στο στάδιο του 5ου με 6ου πραγματικού φύλλου, μολύνθηκαν τεχνητά με το μύκητα *A. solani*. Για τη μόλυνση χρησιμοποιήθηκαν οι απομονώσεις AI 24, AI 25, AI 29, AI 61 και AI 62 που προέρχονταν από φυτά τομάτας. Η παραγωγή του μολύσματος έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.5.α). Η συγκέντρωση των κονιδίων που χρησιμοποιήθηκε από κάθε απομόνωση ήταν  $5 \times 10^4$  κονίδια/ml. Στη συνέχεια για το τελικό μόλυσμα αναμίχθηκαν ίσοι όγκοι (500 ml) αιωρήματος κονιδίων από την κάθε απομόνωση. Η μόλυνση έγινε με ψεκάσμο των φυτών με το μίγμα του αιωρήματος των κονιδίων των παραπάνω απομονώσεων του μύκητα μέχρι πλήρους διαβροχής του φυλλώματος, σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στα Γενικά Υλικά και Μέθοδοι (παράγραφος 2.6). Για κάθε μυκητοκτόνο

και χρόνο επέμβασης χρησιμοποιήθηκαν 5 φυτά (επαναλήψεις). Υπήρχαν δύο ειδών φυτά-μάρτυρες: α) φυτά που μολύνθηκαν τεχνητά με το μύκητα αλλά δεν ψεκάστηκαν με μυκητοκτόνα (θετικοί μάρτυρες), και β) φυτά που δεν μολύνθηκαν τεχνητά αλλά ψεκάστηκαν μόνο με απεσταγμένο νερό (αρνητικοί μάρτυρες). Αμέσως μετά τη μόλυνση όλα τα φυτά καλύφθηκαν για 48h με πλαστικές διαφανείς σακούλες ψεκασμένες εσωτερικά με απεσταγμένο νερό (RH=100%) και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), φωτισμού (12h φωτοπερίοδος, ένταση φωτός  $160 \mu\text{Einstein}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ ) και σχετικής υγρασίας (60-70%).

Μετά την πάροδο του παραπάνω χρονικού διαστήματος, τα φυτά ξεσκεπάστηκαν και παρέμειναν στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών μέχρι την εκτίμηση των αποτελεσμάτων που έγινε 7 και 15 ημέρες μετά τη μόλυνση των φυτών.

Οι ψεκασμοί των φυτών με τα μυκητοκτόνα έγιναν προστατευτικά 7, 5, 3 και 1 ημέρα πριν τη μόλυνση. Τα μυκητοκτόνα που δοκιμάστηκαν και οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν όπως παρακάτω :

1. mancozeb (0,14% δ.ο., Trimanoc 75 WG)
2. mancozeb (0,15% δ.ο., Pennfluid 42 SC)
3. iprodione (0,075% δ.ο., Rovral 50 WP)
4. prochloraz (0,025% δ.ο., Octave 50 WP)
5. chlorothalonil (0,15% δ.ο., Daconil 75 WP)
6. azoxystrobin (0,025% δ.ο., Quadris 25 SC)

Για κάθε μυκητοκτόνο και χρόνο επέμβασης εκτιμήθηκε α) το ποσοστό των φυτών που εμφάνιζαν συμπτώματα (συχνότητα ασθένειας), β) το ποσοστό της φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα (ένταση ασθένειας), γ) το ποσοστό φυλλόπτωσης σε σχέση με τον αρχικό αριθμό φύλλων που μολύνθηκαν, και δ) το ποσοστό των φυτών με συμπτώματα

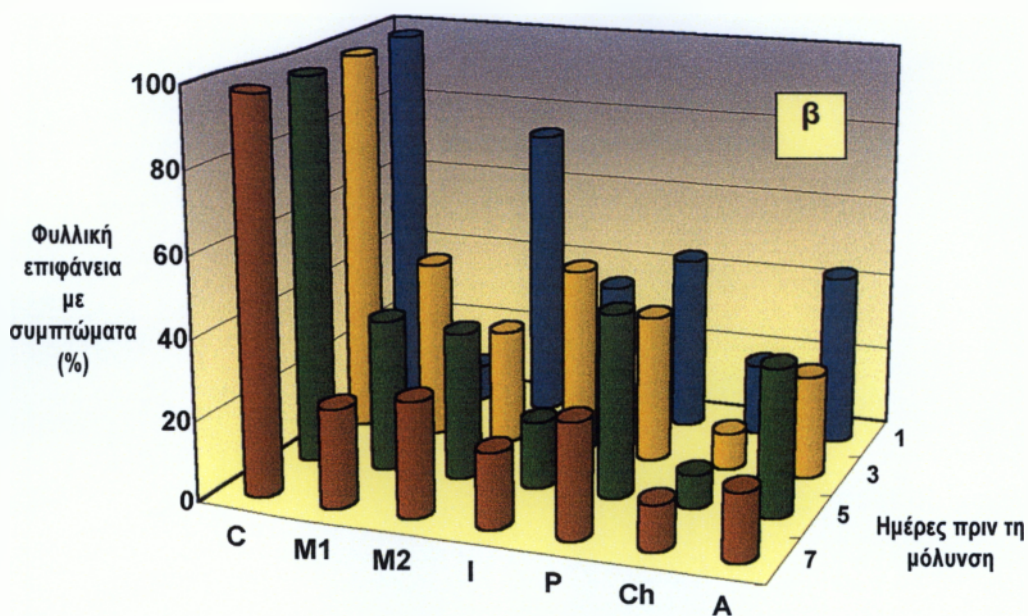
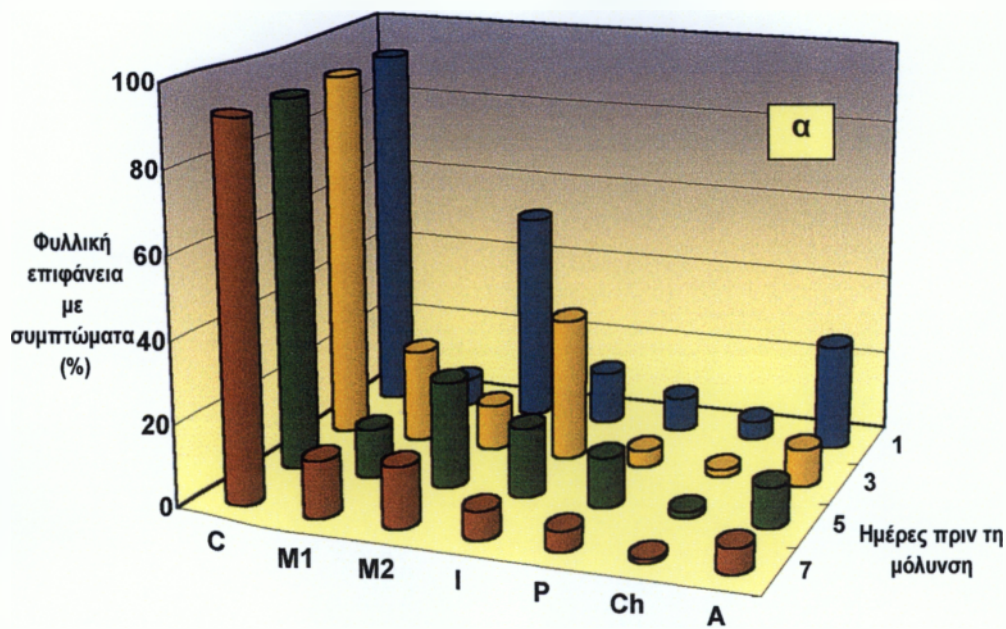
στα στελέχη και τους μίσχους των φύλλων (συχνότητα ασθένειας στα στελέχη και τους μίσχους).

### 5.3. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι η προστατευτική δράση των υπό δοκιμή μυκητοκτόνων εναντίον του μύκητα *A. solani* εξαρτάτο από το μυκητοκτόνο και από το χρόνο εφαρμογής του (ημέρες πριν τη μόλυνση των φυτών με το παθογόνο). Πιο συγκεκριμένα και ανεξάρτητα από το χρόνο λήψης των αποτελεσμάτων, περισσότερο αποτελεσματικά ήταν τα μυκητοκτόνα όταν εφαρμόστηκαν 7 ημέρες πριν τη μόλυνση (Εικ. 31).

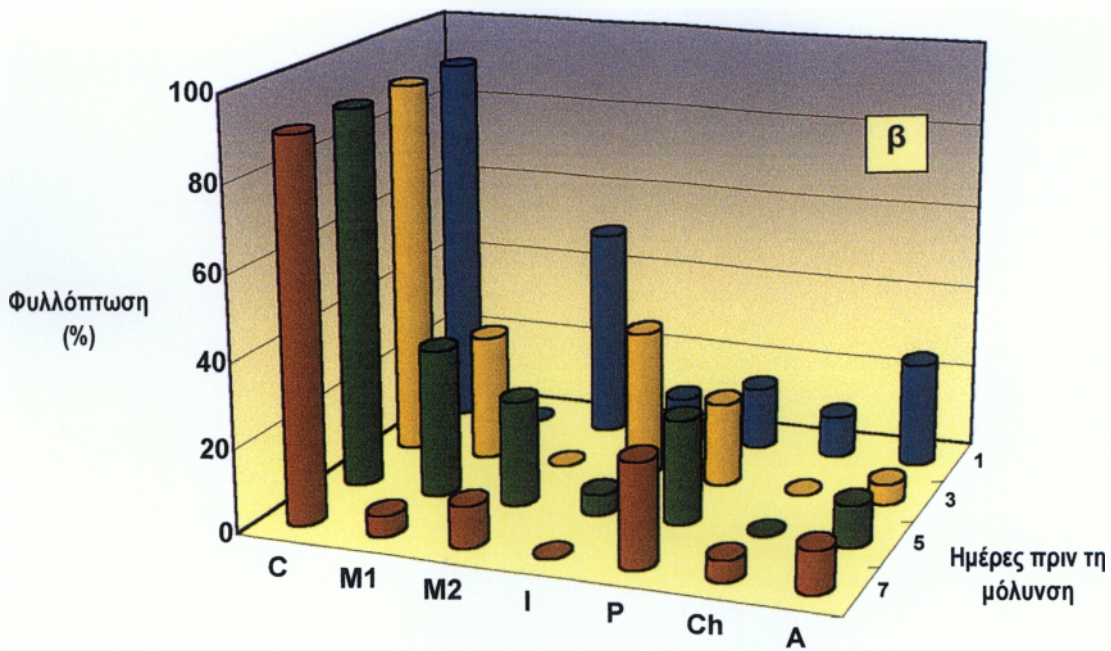
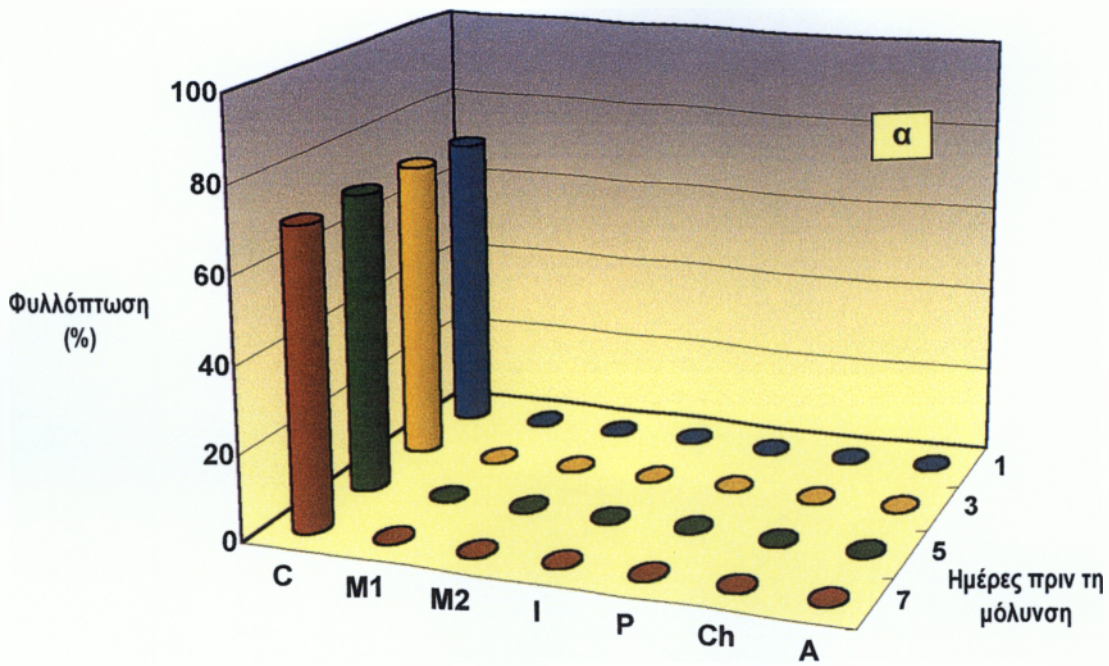
Επτά ημέρες μετά τη μόλυνση, μεγαλύτερη προστατευτική δράση όταν εφαρμόστηκε 7 ημέρες πριν τη μόλυνση, εμφάνισε το μυκητοκτόνο chlorothalonil (ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα 1%) και μικρότερη το mancozeb και ιδιαίτερα το σκεύασμα Pennfluid (ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα 15%) (Εικ. 31). Η προστατευτική δράση των prochloraz, azoxystrobin και iprodione, όταν εφαρμόστηκαν 7 ημέρες πριν τη μόλυνση, ήταν μικρότερη αλλά δε διέφερε σημαντικά ( $P > 0.05$ ) από εκείνη του chlorothalonil (ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα 6 και 7% αντίστοιχα) (Εικ. 31). Το ποσοστό της φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα στα ανέκαστα φυτά (μάρτυρες) ήταν 92%. Όσον αφορά τη φυλλόπτωση 7 ημέρες μετά τη μόλυνση, δε διαπιστώθηκε πτώση προσβεβλημένων φύλλων στα φυτά που ψεκάστηκαν με τα μυκητοκτόνα, ενώ το ποσοστό φυλλόπτωσης στα ανέκαστα φυτά (μάρτυρες) ήταν 70% (Εικ. 32).

Όταν τα μυκητοκτόνα εφαρμόστηκαν 5 ημέρες πριν τη μόλυνση, πιο αποτελεσματικό ήταν πάλι το chlorothalonil (ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα 2%) ενώ το λιγότερο αποτελεσματικό ήταν το mancozeb (σκεύασμα Pennfluid) (ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με



**Εικόνα 31.** Προστατευτική δράση των μυκητοκτόνων mancozeb (M<sub>1</sub>, Trimanoc & M<sub>2</sub>, Pennfluid), iprodione (I), prochloraz (P), chlorothalonil (Ch) και azoxystrobin (A) στο ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα φυτών τομάτας (ποικ. Ace 55VF), 7 (α) και 15 (β) ημέρες μετά τη μόλυνσή τους με το μύκητα *A. solani*. Τα φυτά επωάστηκαν αμέσως μετά τη μόλυνση σε θερμοκρασία 21±2°C, σχετική υγρασία 60-70% και 12h φωτοπερίοδο. (C): αφέκαστα φυτά (μάρτυρες). Ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα: (α) SED (126 d.f.)=9,55, και (β) SED (126 d.f.)=14,01.





**Εικόνα 32.** Προστατευτική δράση των μυκητοκτόνων mancozeb (M<sub>1</sub>, Trimanoc & M<sub>2</sub>, Pennfluid), iprodione (I), prochloraz (P), chlorothalonil (Ch) και azoxystrobin (A) στο ποσοστό φυλλόπτωσης φυτών τομάτας (ποικ. Ace 55VF), 7 (α) και 15 (β) ημέρες μετά τη μόλυνσή τους με το μύκητα *A. solani*. Τα φυτά επώαστηκαν αμέσως μετά τη μόλυνση σε θερμοκρασία 21±2<sup>0</sup>C, σχετική υγρασία 60-70% και 12h φωτοπερίοδο. (C): αφέκαστα φυτά (μάρτυρες). Ποσοστό φυλλόπτωσης: (α) SED (126 d.f.)=6,38, και (β) SED (126 d.f.)=12,2.

συμπτώματα 26%) (Εικ. 31). Μεγαλύτερη προστατευτική δράση εμφάνισε επίσης το μυκητοκτόνο chlorothalonil όταν εφαρμόστηκε 3 ημέρες ή 1 ημέρα πριν τη μόλυνση (ποσοστά φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα 2 και 4%, αντίστοιχα) (Εικ. 31).

Όσον αφορά το νέο μυκητοκτόνο azoxystrobin, τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι η προστατευτική του δράση αν και μεγαλύτερη δε διέφερε σημαντικά στατιστικά ( $P>0.05$ ) από εκείνη των υπολοίπων μυκητοκτόνων που δοκιμάστηκαν (Εικ. 31 & 32).

Επιπλέον, τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι μεγαλύτερη προστατευτική δράση είχε το azoxystrobin όταν εφαρμόστηκε 7, 5 ή 3 ημέρες πριν τη μόλυνση (ποσοστά φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα 6, 10, και 9%, αντίστοιχα) από ότι όταν εφαρμόστηκε 1 ημέρα πριν τη μόλυνση (ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα 26%) (Εικ. 31).

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν επίσης ότι ακόμη και 15 ημέρες μετά τη μόλυνση μεγαλύτερη προστατευτική δράση, ανεξάρτητα από το χρόνο εφαρμογής του, παρουσίασε πάλι το μυκητοκτόνο chlorothalonil (το ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα κυμαινόταν από 8 έως 18% ανάλογα με το χρόνο εφαρμογής του) (Εικ. 31).

Αν και η αποτελεσματικότητα των μυκητοκτόνων iprodione, prochloraz, azoxystrobin και των δύο σκευασμάτων του mancozeb ήταν μικρότερη από εκείνη του chlorothalonil, εντούτοις δε διέφερε στατιστικά σημαντικά ( $P>0.05$ ) από αυτήν (Εικ. 31 & 32).

Τέλος, το νέο μυκητοκτόνο azoxystrobin ήταν περισσότερο αποτελεσματικό όταν εφαρμόστηκε 7, 5 ή 3 ημέρες πριν τη μόλυνση (το ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα κυμαινόταν από 17 έως 37%) από ότι όταν εφαρμόστηκε 1 ημέρα πριν τη μόλυνση (ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα 43%). Το ποσοστό της φυλλικής

επιφάνειας με συμπτώματα στα αφέκαστα φυτά (μάρτυρες) ήταν 15 ημέρες μετά τη μόλυνση 98% (Εικ. 31).

Όσον αφορά τη φυλλόπτωση 15 ημέρες μετά τη μόλυνση των φυτών τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι το μικρότερο ποσοστό φυλλόπτωσης, ανεξάρτητα από το χρόνο εφαρμογής του μυκητοκτόνου, εμφάνισαν τα φυτά που ψεκάστηκαν με το μυκητοκτόνο chlorothalonil (0-18%, ανάλογα με το χρόνο εφαρμογής του μυκητοκτόνου) (Εικ. 32).

Στις συνθήκες του πειράματος διαπιστώθηκε ότι οι κηλίδες της ασθένειας που εμφανίστηκαν στα φυτά της τομάτας που είχαν ψεκαστεί με τα μυκητοκτόνα prochloraz και azoxystrobin ήταν πολύ μικρότερες σε μέγεθος από εκείνες των φυτών που είχαν ψεκαστεί με τα υπόλοιπα μυκητοκτόνα ή εκείνες των αφέκαστων φυτών (μάρτυρες) (Εικ. 33). Επιπλέον διαπιστώθηκαν φαινόμενα φυτοτοξικότητας στα στελέχη των φυτών που είχαν ψεκαστεί με το σκεύασμα Pennfluid του μυκητοκτόνου mancozeb (Εικ. 34).

Το ποσοστό φυλλόπτωσης στα που ψεκάστηκαν με τα υπόλοιπα μυκητοκτόνα εξαρτάτο κυρίως από το χρόνο εφαρμογής του μυκητοκτόνου. Πιο συγκεκριμένα τα μεγαλύτερα ποσοστά φυλλόπτωσης εμφάνισαν τα φυτά που ψεκάστηκαν με α) το μυκητοκτόνο mancozeb (σκεύασμα Trímanos) 5 ημέρες πριν από την τεχνητή μόλυνση (ποσοστό φυλλόπτωσης 35%), β) το μυκητοκτόνο iprodione, 3 ημέρες πριν τη μόλυνση (ποσοστό φυλλόπτωσης 35%) και γ) το μυκητοκτόνο mancozeb (σκεύασμα Pennfluid), 1 ημέρα πριν τη μόλυνση (ποσοστό φυλλόπτωσης 50%) (Εικ. 32). Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι 15 ημέρες μετά τη μόλυνση το ποσοστό φυλλόπτωσης στα αφέκαστα φυτά ήταν 90% (Εικ. 32). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος η παρατηρουμένη πρόωρη φυλλόπτωση οφειλόταν στη μόλυνση των φυτών από το μύκητα *A. solani* και μάλιστα υπήρχε γραμμική συσχέτιση ( $R^2 \geq 0,92$ ) μεταξύ του



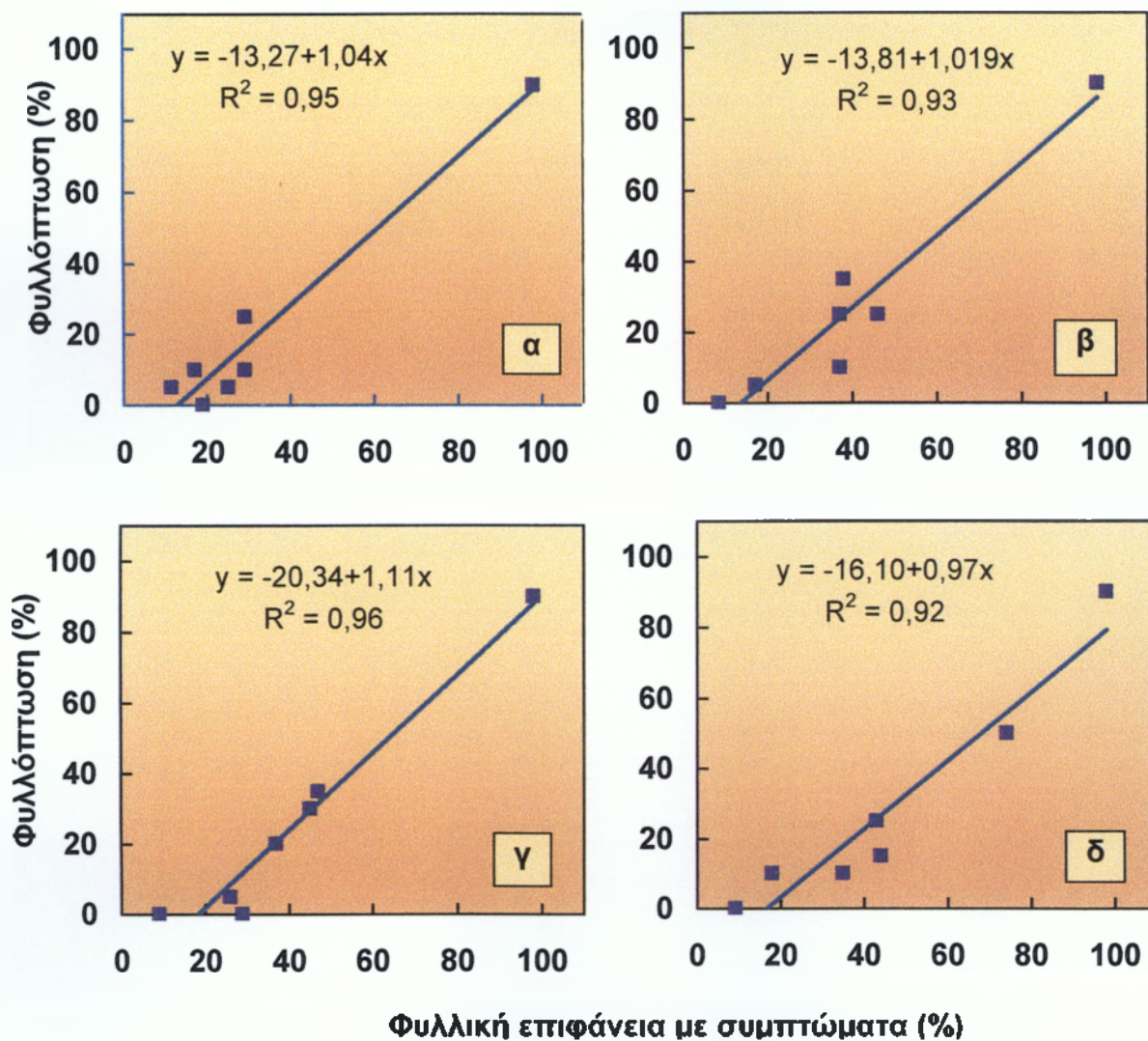
**Εικόνα 33.** Συμπτώματα προσβολής φύλλων τομάτας από το μύκητα *A. solani*, 7 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση των φυτών. (α) Φύλλα ψεκασμένα με azoxystrobin 7 ημέρες πριν τη μόλυνση (προστατευτικά), και (β) φύλλα ψεκασμένα με mancozeb (Trimanos), 7 ημέρες πριν τη μόλυνση των φυτών.



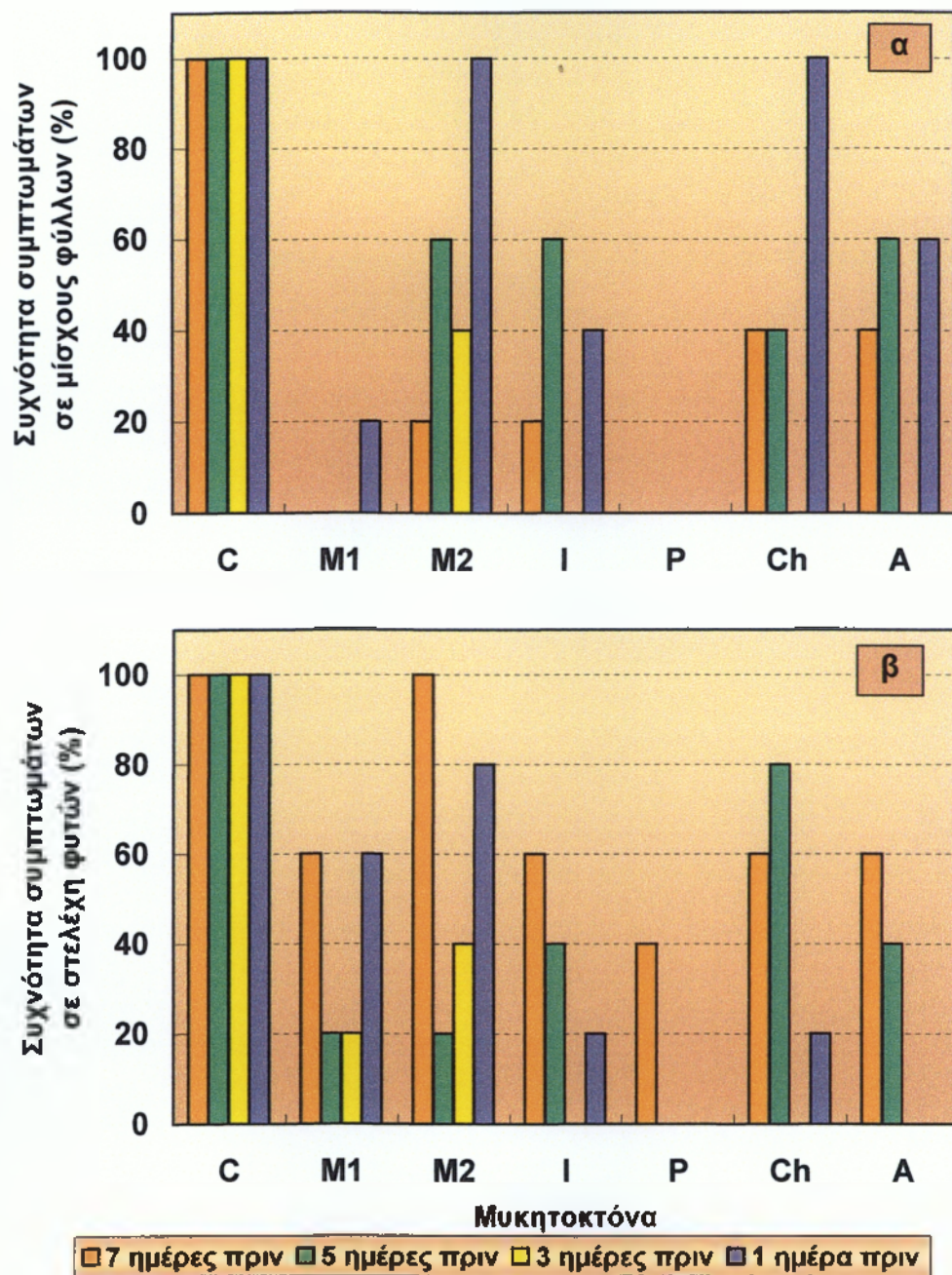
**Εικόνα 34.** Εγκαύματα σε μίσχους φύλλων φυτών τομάτας που προκλήθηκαν από το σκεύασμα Pennfluid 42SC του μυκητοκτόνου mancozeb. Τα φυτά είχαν ψεκαστεί με το μυκητοκτόνο 7 ημέρες πριν τη μόλυνσή τους με το μύκητα *A. solani*.

ποσοστού της φυλλόπτωσης και της έντασης της ασθένειας (ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα) (Εικ. 35).

Όσον αφορά τη συχνότητα της εμφάνισης συμπτωμάτων στους μίσχους των φύλλων και στα στελέχη των φυτών, τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι τα μυκητοκτόνα mancozeb (σκεύασμα Trimanos) και prochloraz περιορίσαν την εμφάνιση συμπτωμάτων τόσο στους μίσχους των φύλλων όσο και στα στελέχη των φυτών, ανεξάρτητα από το χρόνο εφαρμογής τους (Εικ. 36). Αντίθετα, η αποτελεσματικότητα των υπολοίπων μυκητοκτόνων στο να περιορίσουν την εμφάνιση συμπτωμάτων στους μίσχους και τα στελέχη των φυτών εξαρτάτο κυρίως από το χρόνο εφαρμογής τους (Εικ. 36). Τέλος το ποσοστό των αφέκαστων φυτών που εμφάνιζαν συμπτώματα της ασθένειας στους μίσχους και στα στελέχη των φυτών ήταν 100%, 15 ημέρες μετά τη μόλυνση (Εικ. 36).



**Εικόνα 35.** Σχέση φυλλόπτωσης και έντασης ασθένειας (ποσοστό φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα) σε φυτά τομάτας (ποικ. Ace 55VF), που είχαν μολυνθεί τεχνητά με αιώρημα κονιδίων του μύκητα *A. solani*, συγκέντρωσης  $5 \times 10^4$  κονίδια/ml και ψεκάστη προστατευτικά με διάφορα μυκητοκτόνα. Αμέσως μετά τη μόλυνση τα φυτά επώαστηκαν σε θερμοκρασία  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ , σχετική υγρασία 60-70% και 12h φωτοπερίοδο. Η εφαρμογή των μυκητοκτόνων έγινε (α) 7 ημέρες, (β) 5 ημέρες, (γ) 3 ημέρες, και (δ) 1 ημέρα πριν τη μόλυνση των φυτών.



**Εικόνα 36.** Συχνότητα εμφάνιση συμπτωμάτων σε μίσχους φύλλων (α) και στελέχη (β) φυτών τομάτας (ποικ. Ace 55VF), που είχαν μολυνθεί τεχνητά με αιώρημα κονιδίων του μύκητα *A. solani* συγκέντρωσης  $5 \times 10^4$  κονίδια/ml και ψεκάσται 7, 5, 3 και 1 ημέρα πριν τη μόλυνση (προστατευτικά) με τα μυκητοκτόνα mancozeb (M<sub>1</sub>, Trimanoc & M<sub>2</sub>, Pennfluid), iprodione (I), prochloraz (P), chlorothalonil (Ch) και azoxystrobin (A). (C): ανέκαστα φυτά (μάρτυρες).



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν για πρώτη φορά διεθνώς ότι η παθογένεια των απομονώσεων του μύκητα *A. solani* διαφέρει ανάλογα με το ξενιστή από τον οποίον προέρχονται.

Πιο συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα των πειραμάτων έδειξαν ότι οι απομονώσεις του μύκητα που προέρχονταν από φυτά τομάτας εμφάνισαν μεγαλύτερη παθογόνο δύναμη όταν μόλυναν φυτά τομάτας από ότι όταν μόλυναν φυτά πατάτας. Ισχυρότερη παθογόνο δύναμη εμφάνισαν οι απομονώσεις από πατάτα σε φυτά πατάτας από ότι σε φυτά τομάτας. Στη Διεθνή Βιβλιογραφία δεν υπάρχουν ανάλογες αναφορές. Ομως βάση των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας, οι απομονώσεις του μύκητα *A. solani* διέφεραν ανάλογα με το ξενιστή από το οποίον προέρχονταν και ως προς την ικανότητά τους να παράγουν κονίδια *in vitro*. Ενώ οι απομονώσεις του μύκητα από τομάτα σχημάτιζαν κονίδια στην καλλιέργεια σε V-8 άγαρ μετά από περίπου 5 ημέρες επώασής τους σε θερμοκρασία  $21\pm 2^{\circ}\text{C}$  και σε συνθήκες εναλλαγής υπεριώδους ακτινοβολίας και σκότους (12h NUV-light/12h σκότος), οι απομονώσεις από πατάτα δεν σχημάτιζαν κονίδια κάτω από τις παραπάνω συνθήκες. Για το λόγο αυτό και με σκοπό την παραγωγή μολύσματος απαραίτητου για τις τεχνητές μολύνσεις των φυτών, χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή κονιδίων από τις απομονώσεις του μύκητα από πατάτα η μέθοδος των Shahin & Shepard (1979).

Ανεξάρτητα από το ξενιστή από τον οποίον προήλθαν (τομάτα ή πατάτα), όλες οι απομονώσεις του μύκητα *A. solani* ήταν παθογόνες στα φυτά της τομάτας και πατάτας προκαλώντας κηλιδώσεις στα φύλλα, τα

στελέχη και τους μίσχους των φύλλων. Στις σταθερές περιβαλλοντικές συνθήκες των πειραμάτων (θερμοκρασία  $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ , σχετική υγρασία 100% για 48 h και 12 h φωτοπερίοδο), τα πρώτα συμπτώματα της ασθένειας εμφανίστηκαν 24 h μετά τη μόλυνση των φυτών. Παρόμοιο χρόνο επώασης του μύκητα *A. solani* αναφέρουν και άλλοι ερευνητές (Rowell, 1953, Rotem, 1994). Αν επιπλέον ληφθεί υπόψη ότι ο μύκητας σχηματίζει τους κονιδιοφόρους του στις προσβεβλημένες φυτικές επιφάνειες κατά τη διάρκεια της πρώτης υγρής νύκτας και τα κονιδιά του κατά τη διάρκεια της δεύτερης υγρής νύκτας (Rotem, 1994), τότε είναι προφανές ότι, κάτω από ευνοϊκές κλιματολογικές συνθήκες, λίγες κηλίδες στην αρχή της καλλιεργητικής περιόδου μπορεί να προκαλέσουν την εμφάνιση μεγάλου αριθμού νέων μολύνσεων στα φυτικά όργανα και ως εκ τούτου να έχουμε εμφάνιση επιδημίας. Αυτή πιθανόν ήταν η περίπτωση σε θερμοκήπια της Ηλείας το 1997, όταν ολόκληρες καλλιέργειες καταστράφηκαν από την ασθένεια σε διάστημα μιας εβδομάδας από την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν επίσης ότι μια σοβαρή συνέπεια της προσβολής των φυτών τομάτας και πατάτας από το παθογόνο ήταν η πρόωρη φυλλόπτωση των φυτών. Ανάλογο φαινόμενο έχει διαπιστωθεί και σε άλλα συστήματα *Alternaria*-ξενιστή, όπως στην περίπτωση προσβολής των φυτών βαμβακιού από το μύκητα *A. macrospora* (Rotem, 1994). Επιπλέον, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρχε γραμμική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού φυλλόπτωσης και της έντασης της ασθένειας.

Όταν μελετήθηκε η *in vitro* αποτελεσματικότητα των μυκητοκτόνων mancozeb, iprodione, prochloraz, chlorothalonil καθώς και εκείνη του νέου μυκητοκτόνου azoxystrobin εναντίον 12 απομονώσεων του μύκητα *A. solani*, που προέρχονταν από διάφορους ξενιστές (τομάτα και πατάτα), διαπιστώθηκε για πρώτη φορά στην

Ελλάδα και Διεθνώς ότι σε μερικά μυκητοκτόνα (mancozeb, azoxystrobin, prochloraz) οι τιμές ED<sub>50</sub> των απομονώσεων που προέρχονταν από τομάτα ήταν μεγαλύτερες από εκείνες των απομονώσεων που προέρχονταν από πατάτα. Το γεγονός αυτό πιθανόν να οφείλεται στο ότι η καλλιέργεια της τομάτας δέχεται στην πράξη πολλούς ψεκασμούς με μυκητοκτόνα για την αντιμετώπιση άλλων ασθενειών με αποτέλεσμα να εμφανιστούν στελέχη του μύκητα *A. solani* με μειωμένη ευαισθησία σε μερικά από αυτά τα μυκητοκτόνα. Επιπλέον, είναι γνωστό ότι η καλλιέργεια της πατάτας στη χώρα μας ψεκάζεται μόνο για την αντιμετώπιση του περονόσπορου (*Phytophthora infestans*). Τα μυκητοκτόνα αυτά δεν έχουν συνήθως καμιά δράση εναντίον του μύκητα *A. solani*, με αποτέλεσμα να μην έχουν εμφανιστεί ακόμη στην καλλιέργεια της πατάτας στελέχη του μύκητα με μειωμένη ευαισθησία σε μυκητοκτόνα. Στη Διεθνή Βιβλιογραφία δεν έχει αναφερθεί μέχρι σήμερα εμφάνιση ανθεκτικών σε μυκητοκτόνα στελεχών του μύκητα *A. solani*. Αντίθετα, υπάρχουν αναφορές για εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών άλλων ειδών του γένους *Alternaria* (*A. brassicicola*, *A. alternata*) μετά από συνεχή χρήση μυκητοκτόνων (π.χ. του iprodione) (McPhee, 1980, Huang & Levy, 1995).

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων της παρούσας εργασίας έδειξαν επίσης ότι η προστατευτική δράση των μυκητοκτόνων mancozeb, iprodione, prochloraz, chlorothalonil καθώς και εκείνη του νέου μυκητοκτόνου azoxystrobin είναι μεγαλύτερη όταν η εφαρμογή τους στα φυτά γίνεται 7 από ότι 5, 3 ή 1 ημέρες πριν τη μόλυνση. Ανεξάρτητα από το χρόνο εφαρμογής τους η μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα εμφάνισε το μυκητοκτόνο chlorothalonil, ακολουθούμενο από τα prochloraz, azoxystrobin και iprodione. Σύμφωνα με τον Βακαλουνάκη (1987), το chlorothalonil παρεμπόδισε σε ικανοποιητικό βαθμό τη βλάστηση των κωνιδίων του μύκητα *A. solani* σε πειράματα που έγιναν *in vitro*.

Αντίθετα, το πιο αποτελεσματικό στην *in vitro* παρεμπόδιση της γραμμικής αύξησης του μυκηλίου του παθογόνου ήταν το iprodione (Βακαλουνάκης, 1987).

Στην παρούσα εργασία επίσης διαπιστώθηκε ότι οι κηλίδες της ασθένειας στα φυτά που ψεκάστηκαν με τα μυκητοκτόνα prochloraz και azoxystrobin ήταν μικρότερου μεγέθους από εκείνες των φυτών που ψεκάστηκαν με τα υπόλοιπα μυκητοκτόνα. Η παρατήρηση αυτή οδηγεί στην υπόθεση ότι τα παραπάνω δύο μυκητοκτόνα περιορίζουν την ένταση των συμπτωμάτων της ασθένειας στα φυτά και επομένως επιμηκύνουν την περίοδο που απαιτείται για την εμφάνιση μιας επιδημίας στην καλλιέργεια. Εκτός από την ένταση, τα μυκητοκτόνα αυτά περιορίσαν και την πρόωρη φυλλόπτωση των φυτών. Δυστυχώς δεν υπάρχουν άλλες αναφορές στη Διεθνή Βιβλιογραφία καθόσον τα μυκητοκτόνα αυτά δοκιμάστηκαν για πρώτη φορά εναντίον του μύκητα *A. solani*. Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι κανένα από τα δύο αυτά μυκητοκτόνα δεν έχει έγκριση για την καλλιέργεια της τομάτας στη χώρα μας.

Τέλος θα πρέπει να αναφερθεί ότι το ένα από τα δύο σκευάσματα του μυκητοκτόνου mancozeb, που δοκιμάστηκαν στην παρούσα εργασία και πιο συγκεκριμένα το σκεύασμα Pennfluid με τη μορφή εναιωρήματος, προκάλεσε φαινόμενα φυτοτοξικότητας στα στελέχη των φυτών της τομάτας. Ως εκ τούτου, θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στην περίπτωση που το σκεύασμα αυτό χρησιμοποιηθεί στην πράξη.

Η παρούσα εργασία έλαβε χώρα σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας, σχετικής υγρασίας και φωτισμού. Στην πράξη όμως (συνθήκες αγρού ή θερμοκηπίου) οι παραπάνω περιβαλλοντικοί παράγοντες μεταβάλλονται κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου και από περιοχή σε περιοχή. Ως εκ τούτου, τα πειράματα της παρούσας εργασίας και ιδιαίτερα εκείνα της μελέτης της προστατευτικής

δράσης των μυκητοκτόνων θα πρέπει να επαναληφθούν σε φυσικές συνθήκες.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

**Agrios, G.N. 1988.** *Plant Pathology*. Third Edition. Academic Press, Inc. New York, 803 p.

**Aragaki, M. 1961.** Radiation and temperature interaction on the sporulation of *Alternaria tomato*. *Phytopathology* **51**: 803- 805.

**Atkinson, R.G. 1953.** Survival and pathogenicity of *Alternaria raphani* after five years in dried soil cultures. *Canadian Journal of Botany* **31**:542-547.

**Aylor, D.E. 1990.** The role of intermittent wind in the dispersal of fungal pathogens. *Annual Review of Phytopathology* **28**:73-92.

**Banerjee, M.K., Chhabra, M.L., Saini, P.S., and Gandhi, S.K. 1998.** Responses of tomato cultivars to *Alternaria* blight. *Tests of Agrochemicals and Cultivars No 19, Supplement. Annals of Applied Biology*, 132.

**Βακαλουνάκης, Δ.Ι. 1987.** Αξιολόγηση διαφόρων μυκητοκτόνων εναντίον της αλτερναρίωσης της τομάτας. *Γεωργική Έρευνα* **11**:195-204.

**Barkai-Golan, R., and Glazer, I. 1962.** Air-borne fungi in Eilat and Tel-Hashomer. *Israel Journal of Allergy* **33**: 342-348.

**Barclay, G.M., Murphy, H.J., Manzer, F.E., Hutchinson, F.E. 1973.** Effects of differential rates of nitrogen and phosphorus on early blight in potatoes. *American Potato Journal* **50**: 42-48.

**Bashan, Y., & Hernandez-Saavedra, N.Y. 1972.** Alternaria blight of cotton: Epidemiology and Transmission. In: Alternaria: Biology, Plant Diseases and Metabolites (eds. J. Chelkowski & A. Visconti), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 233-266.

**Bashi, E. and Rotem, J. 1975 $\alpha$ .** Host and biotic factors affecting sporulation of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* on tomatoes and of *Alternaria porri* f. sp. *solani* on potatoes. *Phytoparasitica* **3**: 27- 38

**Bashi, E. and Rotem, J. 1975 $\beta$ .** Effect of light on sporulation of *Alternaria porri* f. sp. *solani* and *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* in vivo. *Phytoparasitica* **3**: 63- 67.

**Bashi, E. and Rotem, J. 1975 $\gamma$ .** Sporulation of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* in tomatoes and of *Alternaria porri* f. sp. *solani* in potatoes under alternating wet-dry regimes. *Phytopathology* **65**: 532-535.

**Bashi, E. and Rotem, J. 1976.** Induction of sporulation of *Alternaria porri* f. sp. *solani* in vivo. *Physiological Plant Pathology* **8**: 83-90.

**Basu, P.K. 1971.** Existence of chlamydospores of *Alternaria porri* f. sp. *solani* as overwintering propagules in soil. *Phytopathology* **61**:1347-1350.

**Berger, G. 1937.** Une maladie de la tomate:La necrose du collet due a l'*Alternaria solani* Sorauer dans la region de Casablanca et de Fedala (Maroc). *Ann. Epiphyt. N.S.* **3**:225-230.

**Blachinsky, D., Shtienberg, D., Dinoor, A., Kafkasi, U., Sujkowski, L.S., Zitter, T.A. & Fry, W.E. 1996.** Influence of foliar application of nitrogen and potassium on *Alternaria* diseases in potato, tomato and cotton. *Phytoparasitica* **24**:281-292.

**Brame, C. and Flood, F. 1983.** Antagonism of *Aureobasidium pullulans* towards *Alternaria solani*. *Transactions of the British Mycological Society* **81**: 621-624.

**Casida, L.E. and Jr. Lukezic, F.L. 1992.** Control of leaf spot diseases of alfalfa and tomato with applications of the bacterial predator *Pseudomonas strain 679-2*. *Plant Disease* **76**: 1217-1220.

**Charlton, K.M. 1953.** The sporulation of *Alternaria solani* in culture. *Transactions of the British Mycological Society* **36**:349-355.

**Cohen, Y. and Rotem, J. 1987.** Sporulation of foliar pathogens . In: Fungal infection of plants. G.F. Pegg and P.G. Ayres (eds). Cambridge University Press, Cambridge. UK. pp. 314-333.

**Cotty, P.J., and Misaghi, I.J. 1984.** Zinniol production by *Alternaria* species. *Phytopathology* **74**:785-788

**Datar, V.V. and Mayee, C.D. 1982.** Conidial dispersal of *Alternaria solani* in tomato. *Indian Phytopathology* **35**:68-70.



**Devanatham, M. and Ramanujam, K. 1995.** Evaluation of fungicides for the management of early blight of tomato caused by *A solani*. *Madras Agricultural Journal* **82**: 228-229.

**Δημητράκης, Κ.Γ. 1987.** Πρακτική Λαχανοκομία. Έκδοση Β'. Εκδόσεις Ανθοκηπουρική, σελ. 106-118.

**Douglas, D.R. 1972.** The effect of light and temperature on the sporulation of different isolates of *Alternaria solani*. *Canadian Journal of Botany* **50**: 629- 634.

**Douglas, D.R. and Pavek, J.J. 1971.** An efficient method of inducing sporulation of *Alternaria solani* in pure culture. *Phytopathology* **61**:239.

**Douglas, D.R. and Pavek, J.J. 1972.** Screening potatoes for field resistance to early blight. *American Potato Journal*. **49**: 1-6.

**Ellis, M.B. and Gibson, I.A.S. 1975.** *Alternaria solani*. *CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 475*, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

**Everts, K.L. and Lacy, M.L. 1990α.** The influence of dew duration, relative humidity, and leaf senescence on conidial formation and infection of onion by *Alternaria porri*. *Phytopathology* **80**: 1203- 1207.

**Fahim, M.M. 1966.** The effect of light and other factors on the sporulation of *Alternaria porri*. *Transactions of the British Mycological Society* **49**: 79-80.

**Flood, F. and Rees, J. 1986.** Host produced toxins associated with antagonism by *Aureobasidium pullulans* against *Alternaria solani* on wounded tomato leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **28**:1, 79-88.

**Fu, X.C., Yan, Z.N., Xu, W.M., Mei, R.H. and Chen, C. 1997.** Study of the biological control of *Alternaria solani* f. sp. *mali* and *Botryosphaeria berengeriana* of apple trees. *China Fruits* No **3**: 7-10.

**Gardner, R.G. 1990.** Green house disease screen facilitates breeding resistance to tomato early blight. *HortScience* **25**:222-223.

**Gregory, P.H. 1973.** The Microbiology of the Atmosphere. 2<sup>nd</sup> ed. Leonard Hill, New York, 377 p.

**Gupka, D.P. and Nikhanj, N.S. 1972.** Host relations in *Alternaria* blight of potato: germination of spore. *Journal of the Bihar Botanical Society*. **1**: 22-26.

**Harrison, M.D., Livingston, C.H., and Oshima, N. 1965.** Epidemiology of potato early blight in Colorado. I. Initial infection, disease development, and influence of environmental factors. *American Potato Journal* **42**:279-291.

**Herr, L.J., and Lipps, P.E. 1982.** *Alternaria helianthi* on sunflower in Ohio. *Plant Disease* **66**: 509-512.

**Huang, R. and Levy, Y. 1995.** Characterization of iprodione-resistant isolates of *Alternaria brassicicola*. *Plant Disease* **79**: 828-833.

**Humpherson-Jones, F.M. 1989.** Survival of *Alternaria brassicae* and *A. brassicicola* on crop debris of oilseed rape and cabbage. *Annals of Applied Biology* **115**: 45-50.

**Humpherson-Jones, F.M., and Maude, R.B. 1982.** Studies on the epidemiology of *Alternaria brassicicola* in *Brassica oleraceae* seed production crops. *Annals of Applied Biology* **100**:61-71.

**Jeffrey, K.K., Lipps, P.E., and Herr, L.J. 1984.** Effects of isolate virulence, plant age, and crop residues on seedling blight of sunflower caused by *Alternaria helianthi*. *Phytopathology* **74**:1107-1110.

**Jones, J.B., Stall, R.E. and Zitter, T.A. 1993.** Compendium of tomato diseases. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 73 p.

**Κομνάκου, Ι. 1998.** Η καλλιέργεια της τομάτας στο θερμοκήπιο. σελ. 9-13.

**Kumar, V.R., Kumar, A., and Arya, H.C. 1974.** Nature of disease resistance and susceptibility in leaf blight of wheat caused by *Alternaria triticina* *in vivo* and *in vitro*. *Indian Phytopathology* **27**:455-458.

**Kuprashvili, T.D. 1973.** Overwintering of *Alternaria radicina* M.D. & E. and the sources of infection of carrot by black spot. *Review of Plant Pathology* **54**: 3545.

**Langsdorf, G., Furuichi, N. , Doke, N. and Nishimura, S. 1990.** Investigations on *Alternaria solani* infections: Detection of alternaric acid and a susceptibility – inducing factor in the spore germination fluid of *Alternaria solani*. *Journal of Phytopathology* **128**: 271-282.

**Leach, P.E. 1967.** Interaction of near-ultraviolet light and temperature on sporulation of the fungi *Alternaria*, *Cercospora*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, and *Stemphylium*. *Canadian Journal of Botany* **45**: 1999- 2016.

**Ludwig, R.A., Richardson, L.A. and Unwin, C.H. 1962.** A method for inducing sporulation of *Alternaria solani* in culture. *Canadian Plant Disease Survey* **42**:149-150.

**Lukens, R.J. 1960.** Conidial production from filter paper cultures of *Helminthosporium vagans* and *Alternaria solani*. *Phytopathology* **50**: 867-868.

**Lukens, R.J. , and Horsfall, J.G. 1973.** Processes of sporulation in *Alternaria solani* and their response to metabolic inhibitors. *Phytopathology* **63**: 176- 182.

**McCallan, S.E.A., and Chan, S.Y. 1944.** Inducing sporulation of *Alternaria solani* in culture. *Contrib. Boyce Thomson Inst.* **13**: 323-335.

**McPhee, W.J. 1980.** Some characteristics of *Alternaria alternata* strains resistant to iprodione. *Plant Disease* **64**: 847-849.

**Madden, L., Pennypacker, S.P., and MacNab, A.A. 1978.** FAST, a Forecast System for *Alternaria solani* on Tomato. Disease Control and Pest Management. *Phytopathology* **68**:1354-1358.

**Maheshwari, S.K., Gupta, P.C. and Gandhi, S.K. 1991.** Evaluation of different fungitoxicants against early blight of tomato. *Agricultural Science Digest Karnal* **11**: 201-202.

**Maheshwari, S.K. and Mehta, P.K. 1993.** Intergrated control of early and late blight diseases of potato through chemicals. *Bhartiya Krishi Anusandhan Patrik*.**8**: 43-46.

**Maiero, M., Bean, G. and Ng, T.J. 1991.** Toxin production by *Alternaria solani* and its related phytotoxicity to tomato breeding lines. *Phytopathology* **81**: 1030-1033.

**Μαλαθράκης, Ν.Ε., Καπετανάκης, Γ.Ε. και Λιναρδάκης, Δ.Κ. 1987.** Χημική καταπολέμηση της αλτερναρίωσης της τομάτας σε θερμοκήπια στην Κρήτη. Επιπτώσεις στην παραγωγή. *Γεωργική Έρευνα* **11**:205-216

**Maude, R.B., Vizer, A.S., and Shuring, C.G. 1969.** The control of fungal seed-borne diseases by means of a thiram seed soak. *Annals of Applied Biology* **64**: 245-257.

**Maude, R.B. 1973.** Seed Ecology: Seed-borne diseases and their control, (ed. W. Heydecker), The Pennsylvania State University, University Park. pp. 325-335.

**Maude, R.B., and Humperson-Jones, F.M. 1980.** Studies on the seed-borne phases of dark leaf spot (*Alternaria brassicicola*) and gray leaf spot (*Alternaria brassicae*) of brassicas. *Annals of Applied Biology* **95**:311-319.

**Maude, R.B., Bambridge, J.M., Spencer, A., Suett, D.L., Drew, R.L.K., Humpherson-Jones, F.M., O'Brien, M.J., Crute, I.R., and Gordon, P.L. 1986.** Fungal diseases of brassicas-Biology, resistance and control. In: *Annu. Rep. Natl. Veg. Res. Stn.*, Wellesbourne, England. pp. 56-60.

**Meredith, D.S. 1966.** Spore dispersal in *Alternaria porri* (Ellis) Neerg. on onions in Nebraska. *Annals of Applied Biology* **57**: 67-73.

**Μπούρμπος, Β. και Σκουντριδάκης, Μ. 1987.** Εχθροί και ασθένειες της τομάτας θερμοκηπίου. Μέρος Ι. Εκδοτική Αγροτεχνική, Αθήνα, σελ. 24-28.

**Munnecke, D.E. 1956.** *Alternaria* leaf spot of geranium. *Plant Disease Reporter* **40**: 452- 454.

**Nolla, J.A.B. 1927.** A new *Alternaria* disease of onions (*Allium cepa* L.). *Phytopathology* **17**:115-132.

**Pady, S.M., and Kapica, L. 1953.** Air-borne fungi in the Arctic and other parts of Canada. *Canadian Journal of Botany* **31**:309-323.

**Παναγόπουλος, Χ.Γ. 1995.** Ασθένειες κηπευτικών καλλιεργειών. Εκδόσεις Α. Σταμούλης. Αθήνα., 476 σελίδες.

**Pandotra, V.R. 1965.** Purple blotch disease of onion in Punjab. II. Studies on the life-history, viability and infectivity of the causal organism, *Alternaria porri*. *Proc. Indian Acad. Sci. Sect. 61*: 326-330.

**Pelletier, J.R. and Fry, W.E. 1990.** Characterization of resistance to early blight in three potato cultivars: Incubation period, lesion expansion rate, and spore production. *Phytopathology 79*:511-517.

**Pokruchin, G.A. 1978.** Effect of agrochemical methods on infection of potato by fungal diseases. *Tr. NII, S. Kh. Sev. Zaural 'ya. No 28*, 52-61.

**Pscheidt, J.W., and Stevenson, W.P. 1986.** Early blight of potato and tomato: A literature review. *Rep. Univ. Wis., Madison, Coll. Agric.*

**Ramm, C. von, and Lucas, G.B. 1963.** Epiphytology of tobacco brown spot caused by *Alternaria longipes*. *Phytopathology 53*: 450-455.

**Rands, R.D. 1917 $\alpha$ .** Early blight of potato and related plants. *Research Bulletin of the Wisconsin Agricultural Experimental Station No 42*:1-48.

**Rands, R.D. 1917 $\beta$ .** The production of spores by *Alternaria solani* in pure culture. *Phytopathology 7*: 316-317.

**Rittenberg, S.C. 1939.** Investigations on the microbiology of marine air. *Journal of Marine Research 2*:208-217.

**Rotem, J. 1964.** The effect of weather on dispersal of *Alternaria* spores in a semi-arid region of Israel. *Phytopathology 54*:628-632.

**Rotem, J. 1968.** Thermoxerophytic properties of *Alternaria porri* f. sp. solani. *Phytopathology* **58**:1284-1287.

**Rotem, J., Cohen, Y. and Bashi, E. 1978.** Host and environmental influences on sporulation *in vivo*. *Annual Review of Phytopathology* **16**: 83-101.

**Rotem, J. 1990.** Over-wintering of *Alternaria macrospora* in cotton debris. *Phytoparasitica* **18**:143-152.

**Rotem, J. 1994.** The genus *Alternaria*. Biology, Epidemiology and Pathogenicity. APS Press. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 313 p.

**Rowell, J.B. 1953.** Leaf blight of tomato and potato plants. Factors affecting the degree of injury incited by *Alternaria dauci* f sp. solani. Univ. R.I. Agric. Exp. Stn. Bull. 320.

**Sasaki, T., Honda, Y. Umekawa, M., and Nemoto, M. 1985.** Control of certain diseases of greenhouse vegetables with ultraviolet-absorbing vinyl film. *Plant Disease* **69**: 530-533.

**Schein, R.D. 1964.** Comments on the moisture requirements of fungal germination. *Phytopathology* **54**:1427.

**Shahin, E.A. and Shepard, J.F. 1978.** An efficient technique of inducing profuse sporulation of *Alternaria* species. *Phytopathology* **69**: 618-620.



**Soltanpour, P.N. and Harrison, M.D. 1974.** Interrelations between nitrogen and phosphorus fertilizations and early blight control of potatoes. *American Potato Journal* **51**: 1-7.

**Soteros, J.J. 1979.** Pathogenicity and control of *Alternaria radicina* and *A. dauci* in carrots. *New Zealand Journal of Agricultural Research* **24**: 599-605.

**Σπάρτσης, Ν.Ι. και Καλτσίκης, Π.Ι. 1991.** Ανθοκηπευτικές καλλιέργειες, Κηπευτικές καλλιέργειες. Τόμος Α. Ίδρυμα Ευγενίδου, σελ. 51-54.

**Stakman, E.C., Henry, A.W., Curran, G.C. and Christopher, W.N. 1923.** Spores in the upper air. *Journal of Agricultural Research* **24**: 599-605.

**Stevenson, R.E. and Pennypacker, S.P. 1988.** Effect of radiation, temperature and moisture on conidial germination of *Alternaria solani*. *Phytopathology* **78**: 926-930.

**Stevenson, W.R., Pscheidt, J.W., Thielman, D.G., and Shields, E.J. 1986.** PDM (Potato Disease Management):A Computer Tool for Potato Disease Management. Version 1.1. University of Wisconsin, Madison.

**Strandberg, J.O. 1977.** Spore production and dispersal of *Alternaria dauci* *Phytopathology* **67**: 1262- 1266.

**Strandberg, J.O. 1992.** *Alternaria* species that attack vegetable crops: Biology and options for disease management. In: Alternaria: Biology,

Plant Diseases and Metabolites (eds. J. Chelkowski & A. Visconti), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 175-208.

**Sussman, A.S. 1968.** Longevity and survivability of fungi. In: The Fungi: An Advanced Treatise. Vol 3. C.C. Ainsworth and A.S. Sussman (eds). Academic Press, London. p. 447-486.

**Tejeda, G., Lopez, M., Castellanos, J.J., Rodriguez, J., Simanca, M.E., Croche, G., Morales, N., Fey, L. and Fraga, S. 1998.** Bench-scale bioreactor production of *Bacillus subtilis* for the control of phytopathogenic fungi and bacteria. *Revista ICIDCA Sobre los Derivados de la Cana de Azucar*. **32**: 1-6.

**Vakalounakis, D.J. 1991.** Control of early blight of greenhouse tomato, caused by *Alternaria solani*, by inhibiting sporulation with ultraviolet-absorbing vinyl film. *Plant Disease* **75**: 795-797.

**Valkonen, J.P.T. and Koponen, H. 1990.** The seed-borne fungi in chinese cabbage (*Brassica pekinensis*), their pathogenicity and control. *Plant Pathology* **39**: 510-516.

**Vloutoglou, I. 1999.** Evaluation of tomato cultivars and hybrids for resistance to *Alternaria solani* infection. *Tests of Agrochemicals and Cultivars No 20, Supplement. Annals of Applied Biology* **134**:48-49.

**Waggoner, P.E., and Parlange, J.Y. 1975.** Slowing of spore germination with changes between moderately warm and cool temperatures. *Phytopathology* **65**:551-553.

**Waggoner, P.E. and Horsfall, J.G. 1969.** EPIDEM: A simulator of plant disease written for a computer. *Conn. Agric. Exp. Stn. Bull.* p. 698.