



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ  
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΜΕΡΓΙΑΛΗΣ ΓΡΗΓΟΡΙΟΣ – ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ**

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ  
ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ «ΚΥΑΝΗ ΣΗΨΗ» ΣΕ ΑΧΛΑΔΙΑ ΚΑΙ  
ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΤΟΥΣ ΣΤΟΥΣ ΚΑΡΠΟΥΣ**



**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΣΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΤΟΥ Π.Μ.Σ.:**

**Σύγχρονα Συστήματα Αγροτικής Παραγωγής στο Μεσογειακό Χώρο με Έμφαση  
στην Αειφορική Παραγωγή και τη Χρησιμοποίηση Νέων Τεχνολογιών**

**ΒΟΛΟΣ, 2014**

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

Επιβλέπων:

Ε. Βέλλιος, Επ. Καθηγητής Π.Θ.

Μέλη:

Ν. Τσιρόπουλος, Καθηγητής Π.Θ.

Γ. Νάνος, Καθηγητής Π.Θ.

# ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

---

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας σε συνεργασία με το Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας, στη Σχολή Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Αρχικά, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Ε. Βέλλιο για την καθοδήγησή του και τις πολύτιμες συμβουλές του κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής, από το σχεδιασμό των πειραμάτων μέχρι την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον καθηγητή κ. Ν. Τσιρόπουλο καθώς και την υποψήφια διδάκτορα Α. Παπαδή – Ψύλλου για τη βοήθεια τους στο κομμάτι της ενόργανης ανάλυσης των μυκητοκτόνων.

Θερμές ευχαριστίες στον καθηγητή κ. Γ. Νάνο για τις απαραίτητες συμβουλές του, έτσι ώστε να ολοκληρωθεί η παρούσα διατριβή.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου για την υπομονή και την ηθική συμπαράσταση, σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

# ΠΕΡΙΛΗΨΗ

---

Η «Κυανή σήψη» είναι μία από τις σημαντικότερες μετασυλλεκτικές ασθένειες των μηλοειδών και προκαλείται πρωτίστως από το μύκητα *Penicillium expansum*. Ο μύκητας είναι κυρίως παράσιτο πλιγών, οι οποίες προκαλούνται συνήθως από μετασυλλεκτικούς χειρισμούς κατά τη συγκομιδή, συσκευασία και μεταφορά των καρπών. Στην παρούσα διατριβή έγινε μετασυλλεκτική εφαρμογή των μυκητοκτόνων Switch (μίγμα fludioxonil και cyprodinil), Signum (μίγμα boscalid και pyraclostrobin), Scala (pyrimethanil), Chorus (cyprodinil) και Luna (μίγμα fluopyram και tebuconazole) σε προσβεβλημένους καρπούς αχλαδιών ποικιλίας *Κρυστάλλι* με σκοπό την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητάς τους και εν συνεχεία παρακολούθηση των υπολειμμάτων τους στους καρπούς. Η εφαρμογή των μυκητοκτόνων έγινε αμέσως μετά την τεχνητή μόλυνση των καρπών με σπόρια του μύκητα *Penicillium expansum*. Τα μυκητοκτόνα Scala, Switch και Luna εφαρμόστηκαν στη μέγιστη δόση, ενώ τα μυκητοκτόνα Chorus και Signum εφαρμόστηκαν στη διπλάσια της μέγιστης δόσης. Η αξιολόγηση των μυκητοκτόνων έγινε μετά από δύο μήνες συντήρησης των αχλαδιών σε ψυγείο με θερμοκρασία συντήρησης στους 1-2,5 °C και σχετική υγρασία 85-95%. Η ένταση της ασθένειας στα αχλάδια περιορίστηκε αποτελεσματικότερα από τα μυκητοκτόνα Switch, Signum και Scala, το μυκητοκτόνο Chorus είχε αρκετά μικρότερη αποτελεσματικότητα, ενώ το μυκητοκτόνο LUNA είχε μηδενική αποτελεσματικότητα, με τα αντίστοιχα ποσοστά προσβεβλημένων καρπών να είναι 12.5%, 37.5%, 37.5%, 75% και 100%. Η συγκέντρωση των υπολειμμάτων των μυκητοκτόνων στους καρπούς παρέμεινε σταθερή για χρονικό διάστημα 40 ημερών από τη στιγμή της εφαρμογής τους. Στο τέλος της ψυχοσυντήρησης οι τιμές των υπολειμμάτων των ουσιών cyprodinil και pyraclostrobin, που περιέχονται στα σκευάσματα Chorus, Signum και Switch, ξεπέρασαν οριακά τα Ανώτατα Επιτρεπτά Όρια, τα οποία έχουν θεσπιστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση για το αχλάδι.

# ABSTRACT

---

Blue mold, mainly caused by the fungus *Penicillium expansum*, is a major postharvest disease of pome fruit during long-term storage. *Penicillium expansum* is primarily a wound parasite and in most cases the conidia enter through small wounds that occur during harvest as well as postharvest handling, (packaging and transportation of fruit). The present study was conducted in order to evaluate postharvest applications of fungicides Switch (mixture of fludioxonil and cyprodinil), Signum (mixture of boscalid and pyraclostrobin), Scala (pyrimethanil), Chorus (cyprodinil) and Luna (mixture of fluopyram and tebuconazole), against *Penicillium expansum* and monitor their residue levels in ‘Kristalli’ pears. Both artificial inoculation of the wounds with *P. expansum* and fungicide application, took place at the same day. Scala, Switch and Luna were applied at maximum dose, while Chorus and Signum were applied at two times more than their maximum dose. After two months of storage, at 1-2.5 °C and RH: 85-95%, postharvest applications of fungicides were evaluated. Switch, Signum and Scala were more effective in controlling decay at artificial wounds inoculated with *P. expansum*, while Chorus was significantly less effective and Luna was ineffective in controlling the decay and decay incidence was estimated at 12.5%, 37.5%, 37.5%, 75% and 100%, respectively. Residue analysis showed stability of fungicide concentration in pears during a period of cold conservation of 40 days. Residue level for cyprodinil and pyraclostrobin (Chorus, Signum and Switch), marginally exceeds the Maximum Residue Limits set by the European Union for pears.

## Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	i
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	ii
ABSTRACT .....	iii
Ευρετήριο Εικόνων .....	vii
Ευρετήριο Πινάκων.....	viii
Ευρετήριο Σχημάτων.....	x
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	1
1.1 Μετασυλλεκτικοί χειρισμοί σε καρπούς μηλοειδών .....	1
1.1.1 Συγκομιδή.....	1
1.1.2 Μεταφορά.....	2
1.1.3 Συντήρηση .....	3
1.1.3.1 Συντήρηση σε κοινά ψυγεία .....	3
1.1.3.2 Συντήρηση σε ψυγεία με Ελεγχόμενη Ατμόσφαιρα.....	5
1.2 Μύκητες που προκαλούν μετασυλλεκτικές σήψεις στα μηλοειδή .....	6
1.2.1 Μετασυλλεκτικές σήψεις από μύκητες του γένους <i>Penicillium</i> .....	7
1.2.2 Κυανή σήψη .....	10
1.2.2.1 Ταξινόμηση του είδους <i>Penicillium expansum</i> .....	13
1.2.2.2 Μορφολογικά Χαρακτηριστικά.....	14
1.2.2.3 Δευτερογενείς μεταβολίτες του μύκητα .....	15
1.2.2.3.1 Παρουσία πατουλίνης σε καρπούς μηλοειδών .....	15
1.3 Αντιμετώπιση μετασυλλεκτικών σήψεων στα μηλοειδή που προκαλούνται από μύκητες του γένους <i>Penicillium</i> .....	17

1.3.1 Προσυλλεκτικά μέτρα .....	17
1.3.2 Μετασυλλεκτικά μέτρα .....	19
1.3.2.1 Ανταγωνιστές δράσης αιθυλενίου .....	20
1.3.2.3 Αναστολείς σχηματισμού αιθυλενίου.....	20
1.3.2.2 Βιολογική καταπολέμηση.....	21
1.3.2.4 Απολυμαντικά και Βιοκτόνα προϊόντα .....	21
1.3.2.5 Τροποποιημένη Ατμόσφαιρα .....	22
1.3.3 Έρευνα στην πρόληψη των μετασυλλεκτικών σήψεων στα μηλοειδή.....	23
1.4 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ .....	24
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	25
2.1 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αχλαδιών .....	25
2.1.1 Διαστάσεις αχλαδιών.....	25
2.1.2 Σκληρότητα σάρκας αχλαδιών .....	25
2.2 Απομόνωση του μύκητα σε καθαρή καλλιέργεια.....	26
2.3 Παραγωγή μολύσματος για τεχνητή μόλυνση αχλαδιών .....	27
2.4 Τεχνητές μολύνσεις αχλαδιών με κονίδια του μύκητα <i>Penicillium expansum</i> .....	27
2.5 Εφαρμογή μυκητοκτόνων.....	28
2.5.1 Επιλογή δραστικών ουσιών .....	28
2.5.2 Εμβάπτιση αχλαδιών σε μυκητοκτόνα .....	32
2.6 Εκτίμηση της έντασης της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια .....	33
2.6.1 Συχνότητα της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια .....	34
2.6.1.1 Ποσοστό προσβολής στα αχλάδια .....	34
2.6.1.2 Ποσοστό κηλίδων στα αχλάδια .....	34
2.6.2 Σοβαρότητα της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια.....	35

2.6.2.1 Διάμετρος κηλίδας σήψης .....	35
2.7 Παρακολούθηση των υπολειμμάτων στους καρπούς.....	35
2.7.1 Προετοιμασία αναλυτικού δείγματος.....	38
2.7.2 Εκχύλιση.....	38
2.7.3 Φυγοκέντρωση .....	38
2.7.4 Συμπύκνωση .....	38
2.7.6 Χρωματογραφική ανάλυση .....	39
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	41
3.1 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αχλαδιών .....	41
3.1.1 Διαστάσεις αχλαδιών.....	41
3.1.2 Σκληρότητα σάρκας αχλαδιών .....	42
3.2 Εκτίμηση της έντασης της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια .....	42
3.2.1 Συχνότητα της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια .....	42
3.2.1.1 Ποσοστό προσβολής στα αχλάδια .....	42
3.2.1.2 Ποσοστό κηλίδων στα αχλάδια .....	46
3.2.2 Σοβαρότητα της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια.....	47
3.2.2.1 Διάμετρος κηλίδας σήψης .....	47
3.3 Χρωματογραφική ανάλυση .....	49
3.3.1 Ποιοτικός προσδιορισμός.....	49
3.3.2 Ποσοτικός προσδιορισμός.....	51
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	60



## Ευρετήριο Εικόνων

ΕΙΚ. 1 Α,Β. ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΣΗΨΕΙΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΣΕ ΑΧΛΑΔΙΑ ΣΥΝΤΗΡΟΥΜΕΝΑ ΣΕ ΚΟΙΝΑ ΨΥΓΕΙΑ. ....	4
ΕΙΚ. 2. ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΣΗΨΕΙΣ ΣΕ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΑ ΜΗΛΑ .....	6
ΕΙΚ. 3. ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΣΕ ΜΗΛΟ ΑΠΟ ΤΟ ΜΥΚΗΤΑ <i>BOTRYTIS CINEREA</i> .....	7
ΕΙΚ. 4. ΣΗΨΕΙΣ ΜΗΛΩΝ ΑΠΟ <i>PENICILLIUM SP.</i> .....	7
ΕΙΚ.5. «ΚΥΑΝΗ ΣΗΨΗ» ΣΕ ΜΗΛΟΕΙΔΗ .....	8
ΕΙΚ. 6. «ΚΥΑΝΗ ΣΗΨΗ» ΣΕ ΜΗΛΟ I.....	9
ΕΙΚ. 7. ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΑΠΟ <i>P. DIGITATUM</i> ΚΑΙ <i>P. ITALICUM</i> ΣΕ ΠΟΡΤΟΚΑΛΙ .....	9
ΕΙΚ. 8. «ΠΡΑΣΙΝΗ ΣΗΨΗ» ΣΕ ΕΣΠΕΡΙΑΘΕΙΔΗ.....	9
ΕΙΚ. 9. ΑΡΧΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ ΑΠΟ <i>PENICILLIUM EXPANSUM</i> ΣΕ ΑΧΛΑΔΙΑ .....	10
ΕΙΚ. 10 ΠΡΟΧΩΡΗΜΕΝΟ ΣΤΑΔΙΟ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ ΑΠΟ <i>PENICILLIUM EXPANSUM</i> ΣΕ ΑΧΛΑΔΙΑ.....	11
ΕΙΚ. 11. ΟΛΙΚΗ ΣΗΨΗ ΑΠΟ <i>PENICILLIUM EXPANSUM</i> ΣΕ Α) ΜΗΛΟ Β) ΑΧΛΑΔΙ .....	11
ΕΙΚ. 12. ΚΑΡΠΟΦΟΡΙΕΣ ΤΟΥ <i>PENICILLIUM EXPANSUM</i> ΣΕ ΠΡΟΣΒΕΒΛΗΜΕΝΟ ΑΧΛΑΔΙ .....	12
ΕΙΚ. 13. ΚΟΡΕΜΙΑ ΤΟΥ <i>P. EXPANSUM</i> ΣΕ ΠΡΟΣΒΕΒΛΗΜΕΝΑ ΑΧΛΑΔΙΑ, Α) ΛΕΥΚΟΥ ΚΑΙ Β) ΜΠΛΕ-ΠΡΑΣΙΝΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΣ .....	12
ΕΙΚ. 14. ΚΟΝΙΔΙΟΦΟΡΟΣ <i>PENICILLIUM EXPANSUM</i> .....	15
ΕΙΚ. 15. Α) ΜΟΝΟΣΠΟΡΕΣ ΑΠΟΙΚΙΕΣ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ <i>PENICILLIUM EXPANSUM</i> Β) ΔΕΙΓΜΑ ΡΕΧ 1s .....	26
ΕΙΚ. 16. ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΑΠΟ <i>PENICILLIUM EXPANSUM</i> ΣΤΟΥΣ ΜΑΡΤΥΡΕΣ: Α) $H_2O \rightarrow$ ΡΕΧ 1ss Β) $H_2O \rightarrow H_2O$ .....	42
ΕΙΚ. 17. ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΑΠΟ <i>PENICILLIUM EXPANSUM</i> ΣΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ: $H_2O \rightarrow$ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΟ.....	43
ΕΙΚ. 18. ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΑΠΟ <i>PENICILLIUM EXPANSUM</i> ΣΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ: ΡΕΧ 1ss $\rightarrow$ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΟ .....	44

## Ευρετήριο Πινάκων

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ, ΣΧΕΤΙΚΗ ΥΓΡΑΣΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΜΗΛΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΚΟΙΝΗ ΨΥΞΗ. ....	4
ΠΙΝΑΚΑΣ 2. ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΓΙΑ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΜΗΛΟΕΙΔΩΝ ΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑ. ....	5
ΠΙΝΑΚΑΣ 3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ <i>PENICILLIUM EXPANSUM</i> . ....	13
ΠΙΝΑΚΑΣ 4. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ ΚΑΙ ΠΡΟΣΥΛΛΕΚΤΙΚΟΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΙ ΤΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΩΝ ΣΗΨΕΩΝ ΤΩΝ ΜΗΛΟΕΙΔΩΝ. ....	17
ΠΙΝΑΚΑΣ 5. ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΑ ΓΙΑ ΠΡΟΣΥΛΛΕΚΤΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΜΗΛΙΑΣ ΚΑΙ ΑΧΛΑΔΙΑΣ, ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΜΥΚΗΤΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ <i>PENICILLIUM</i> ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΕΣ ΣΗΨΕΙΣ. ...	19
ΠΙΝΑΚΑΣ 6. ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΟΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΙ ΤΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΣΥΛΛΕΚΤΙΚΩΝ ΣΗΨΕΩΝ ΤΩΝ ΜΗΛΟΕΙΔΩΝ. ....	20
ΠΙΝΑΚΑΣ 7. ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΑ ΦΑΡΜΑΚΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ. ....	32
ΠΙΝΑΚΑΣ 8. ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ ΚΑΙ ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΡΠΩΝ ΑΝΑ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ. ....	33
ΠΙΝΑΚΑΣ 9. ΔΟΣΕΙΣ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΩΝ ΚΑΙ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΟ ΠΕΙΡΑΜΑ. ....	36
ΠΙΝΑΚΑΣ 10. ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΙΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΤΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ. ....	37
ΠΙΝΑΚΑΣ 11. ΒΑΘΜΙΩΔΗ ΕΚΛΟΥΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ. ....	40
ΠΙΝΑΚΑΣ 12. ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙ ΤΟΙΣ ΕΚΑΤΟ, ΤΩΝ ΠΡΟΣΒΕΒΑΗΜΕΝΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΚΑΙ ΚΗΛΙΔΩΝ ΕΠΙ ΤΟΥ ΣΥΝΟΛΟΥ ΤΩΝ ΠΛΗΓΩΝ ΤΩΝ ΚΑΡΠΩΝ, ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ. ....	46
ΠΙΝΑΚΑΣ 13. ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ΔΙΑΜΕΤΡΟΥ ΚΗΛΙΔΑΣ ΣΗΨΗΣ ΣΤΑ ΠΡΟΣΒΕΒΑΗΜΕΝΑ ΑΧΛΑΔΙΑ, ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ. ....	47
ΠΙΝΑΚΑΣ 14. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ (MG/KG) ΤΩΝ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ FLUOPYRAM ΚΑΙ TEBUCONAZOLE ΣΕ ΑΧΛΑΔΙΑ, ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΡΟΝΙΚΑ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΤΟΥΣ ΚΑΙ ΑΝΩΤΑΤΑ ΕΠΙΤΡΕΠΤΑ ΟΡΙΑ (MG/KG) ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΘΕΣΠΙΣΕΙ Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΈΝΩΣΗ ΓΙΑ ΤΙΣ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΕΣ ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΣΤΟ ΑΧΛΑΔΙ. ....	57
ΠΙΝΑΚΑΣ 15. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ (MG/KG) ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ PYRIMETHANIL ΣΕ ΑΧΛΑΔΙΑ, ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΡΟΝΙΚΑ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΤΟΥΣ ΚΑΙ ΑΝΩΤΑΤΑ ΕΠΙΤΡΕΠΤΑ ΟΡΙΑ (MG/KG) ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΘΕΣΠΙΣΕΙ Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΈΝΩΣΗ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ ΣΤΟ ΑΧΛΑΔΙ. ....	57
ΠΙΝΑΚΑΣ 16. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ (MG/KG) ΤΩΝ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ BOSCALID ΚΑΙ PYRACLOSTROBIN ΣΕ ΑΧΛΑΔΙΑ, ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΡΟΝΙΚΑ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΤΟΥΣ ΚΑΙ ΑΝΩΤΑΤΑ ΕΠΙΤΡΕΠΤΑ ΟΡΙΑ (MG/KG) ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΘΕΣΠΙΣΕΙ Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΈΝΩΣΗ ΓΙΑ ΤΙΣ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΕΣ ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΣΤΟ ΑΧΛΑΔΙ. ....	57
ΠΙΝΑΚΑΣ 17. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ (MG/KG) ΤΩΝ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ FLUDIOXONIL ΚΑΙ CYPRODINIL ΣΕ ΑΧΛΑΔΙΑ, ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΡΟΝΙΚΑ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΤΟΥΣ ΚΑΙ ΑΝΩΤΑΤΑ ΕΠΙΤΡΕΠΤΑ ΟΡΙΑ (MG/KG) ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΘΕΣΠΙΣΕΙ Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΈΝΩΣΗ ΓΙΑ ΤΙΣ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΕΣ ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΣΤΟ ΑΧΛΑΔΙ. ....	58

ΠΙΝΑΚΑΣ 18. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ (MG/KG) ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ CYPRODINIL ΣΕ ΑΧΛΑΔΙΑ, ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΡΟΝΙΚΑ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΤΟΥΣ ΚΑΙ ΑΝΩΤΑΤΑ ΕΠΙΤΡΕΠΤΑ ΟΡΙΑ (MG/KG) ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΘΕΣΠΙΣΕΙ Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΈΝΩΣΗ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ ΣΤΟ ΑΧΛΑΔΙ. .... 58

## Ευρετήριο Σχημάτων

ΣΧΗΜΑ 1. ΤΙΜΕΣ ΥΨΟΥΣ ΚΑΙ ΔΙΑΜΕΤΡΟΥ 10 ΤΥΧΑΙΑ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΑΧΛΑΔΙΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΩΣ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΤΙΚΟ ΔΕΙΓΜΑ ΤΩΝ ΣΥΝΟΛΙΚΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ. .....	41
ΣΧΗΜΑ 2. ΠΡΟΣΒΕΒΛΗΜΕΝΟΙ ΚΑΡΠΟΙ (%), ΚΗΛΙΔΕΣ ΣΗΨΕΩΣ ΑΝΑ ΚΑΡΠΟ (%) ΚΑΙ ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ΔΙΑΜΕΤΡΟΥ ΚΗΛΙΔΑΣ ΣΗΨΗΣ ΑΝΑ ΚΑΡΠΟ (%) ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ: ΤΕΧΝΗΤΗ ΜΟΛΥΝΣΗ ΜΕ ΡΕΧ 1SS → ΕΜΒΑΠΤΙΣΗ ΣΕ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΟ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΟ ΜΑΡΤΥΡΑ. ....	48
ΣΧΗΜΑ 3. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ: FLUDIOXONIL, CYPRODINIL.....	50
ΣΧΗΜΑ 4. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ: BOSCALID, PYRACLOSTROBIN .....	51
ΣΧΗΜΑ 5. ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ FLUDIOXONIL .....	52
ΣΧΗΜΑ 6. ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ CYPRODINIL .....	53
ΣΧΗΜΑ 7. ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ PYRIMETHANIL.....	54
ΣΧΗΜΑ 8. ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ BOSCALID.....	54
ΣΧΗΜΑ 9. ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ PYRACLOSTROBIN. ....	55
ΣΧΗΜΑ 10. ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ FLUOPYRAM. ....	55
ΣΧΗΜΑ 11. ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ TEBUCONAZOLE. ....	56
ΣΧΗΜΑ 12. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΤΩΝ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΚΑΡΠΟΥΣ ΣΤΙΣ 0, 3, 7, 21, 40 ΗΜΕΡΕΣ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΕ ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΨΥΞΗΣ.....	59

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

---

## 1.1 Μετασυλλεκτικοί χειρισμοί σε καρπούς μηλοειδών

Από τη στιγμή που ένας καρπός συλλέγεται από το δέντρο, επέρχεται και η φυσιολογική φθορά του. Ο ρόλος των χειρισμών στους καρπούς, από τη συγκομιδή τους και έπειτα, είναι καθοριστικός στη μετασυλλεκτική ζωή τους. Αρκεί να αναλογιστεί κανείς ότι από το συνολικό ποσοστό των φρούτων που παράγονται, περίπου το 49-80% φτάνει στο τραπέζι του καταναλωτή, καθώς η υπόλοιπη παραγωγή υπόκειται σε απώλειες λόγω κακών μετασυλλεκτικών χειρισμών, οι οποίοι οδηγούν σε μετασυλλεκτικές σήψεις των προϊόντων (Simson και Straus, 2010). Στην Ελλάδα συγκεκριμένα, το σύνολο της παραγωγής σε μήλα και αχλάδια για το έτος 2012 ήταν 328.600 τόνοι (FAOSTAT, 2012), οπότε εύκολα συμπεραίνει κάποιος ότι τα μεγέθη μετασυλλεκτικών απωλειών μπορεί να είναι αρκετά μεγάλα.

Συγκεκριμένα, η διατήρηση των νωπών καρπών μετά τη συλλογή τους, επηρεάζεται σε μέγιστο βαθμό από τους χειρισμούς στα εξής 3 στάδια: τη συγκομιδή, τη μεταφορά και τη συντήρηση (Simson και Straus, 2010; Valero και Serrano, 2010; Pitt και Hocking, 2009; Narayanasamy, 2006; Chakraverty *et al.*, 2003).

### 1.1.1 Συγκομιδή

Η ωριμότητα του καρπού, τη στιγμή που συγκομίζεται από το δέντρο, αποτελεί παράγοντα που επηρεάζει την ευπάθειά του σε μετασυλλεκτικές σήψεις. Γι' αυτόν το λόγο, η συλλογή των καρπών γίνεται με βάση συγκεκριμένα κριτήρια τα οποία καθορίζουν τη συλλεκτική ωριμότητα. Βασικό κριτήριο συγκομιδής αποτελεί η καρπική περίοδος, δηλαδή οι ημέρες που μεσολαβούν από την πλήρη άνθιση μέχρι την ωρίμανση των καρπών και είναι χαρακτηριστικό της κάθε ποικιλίας. Υπάρχουν ακόμα ορισμένα κριτήρια που αφορούν τα εξωτερικά χαρακτηριστικά του καρπού, όπως το μέγεθός του, η αλλαγή του βασικού χρώματός του, το επίχρωμα και η ευκολία απόσπασής του καρπού από το καρποφόρο όργανο, αλλά και τα εσωτερικά

χαρακτηριστικά, όπως το χρώμα της σάρκας, η σκληρότητα ή η Αντίσταση της Σάρκας στην Πίεση, τα Διαλυτά Στερεά Συστατικά, η οξύτητα και άλλα (Rees, Farrell και Orchard, 2012; Florkowski *et al.*, 2009; Nunes, 2008; Βασιλακάκης, 2006; Ποντίκης, 1985; Τσατσαρέλης, 1981). Όσον αφορά τους καρπούς των αχλαδιών, το καλύτερο κριτήριο συγκομιδής είναι ο συνδυασμός της καρπικής περιόδου με την Αντίσταση της Σάρκας στην Πίεση και τα Διαλυτά Στερεά Συστατικά (Βασιλακάκης, 2006).

Επίσης, πρέπει να αναφερθεί ότι οι μετασυλλεκτικοί χειρισμοί κατά το στάδιο της συγκομιδής είναι η αιτία για το μεγαλύτερο ποσοστό ζημιών στους καρπούς, λόγω των πληγών και των μωλωπισμών που προκαλούνται (Florkowski *et al.*, 2009; Simson και Straus, 2010; Narayanasami, 2006; Ποντίκης, 1985; Τσατσαρέλης, 1981).

Μετά τη συλλογή τους από τα δέντρα, οι συγκομισθέντες καρποί τοποθετούνται σε ξύλινα ή πλαστικά κιβώτια. Εν συνεχεία, μεταφέρονται σε διαλογητήρια, εργοστάσια επεξεργασίας, ή σε συσκευαστήρια όπου τοποθετούνται σε κατάλληλες συσκευασίες ανάλογα με την αγορά για την οποία προορίζονται για κατανάλωση (εγχώρια αγορά ή αγορές του εξωτερικού) (Ποντίκης, 1985).

### **1.1.2 Μεταφορά**

Σημαντικές απώλειες των μηλοειδών μπορεί να υπάρξουν τόσο κατά τη μεταφορά τους μέσα στον οπωρώνα όσο και κατά την φόρτωση – εκφόρτωση και μεταφορά τους σε σημεία εκτός του οπωρώνα (αποθήκες, συσκευαστήρια, φορτία σε πλοία για εξαγωγή, κ.ά.). Οι παράμετροι που πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά τη μεταφορά είναι η ελαχιστοποίηση των τραυματισμών των καρπών, η συντήρησή τους στις κατάλληλες θερμοκρασίες και ο διαχωρισμός μεταξύ κλιμακηρικών και μη κλιμακηρικών καρπών. Οι καρποί είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι στους μώλωπες, οπότε η μεταφορά τους με τα κιβώτια πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή, ώστε να προστατεύονται όσο το δυνατόν περισσότερο (π.χ. χρήση χαμηλής πλατφόρμας, ειδικού ελκυστήρα, χαμηλού έλκηθρου, κ.ά.) (Simson και Straus, 2010; Florkowski *et al.*, 2009; Βασιλακάκης, 2006; Hyde *et al.*, 2001).

### **1.1.3 Συντήρηση**

Τα αχλάδια, όπως και τα μήλα, κατατάσσονται στους κλιμακτηρικούς καρπούς, δηλαδή κατά διάρκεια της ωρίμανσης του καρπού παρατηρείται και έναρξη σχηματισμού αιθυλενίου, μίας φυτικής ορμόνης ωρίμανσης υπεύθυνης για το γηρασμό των ιστών, η οποία πρέπει να απομακρύνεται από τις αποθήκες ή τα ψυγεία με αερισμό ή άλλες μεθόδους. Επομένως, η συντήρηση των μηλοειδών στις κατάλληλες συνθήκες μπορεί να παρατείνει σημαντικά τη διατήρησή τους (Rees, Farrell και Orchard, 2012; Florowski et al., 2009; Nunes, 2008; Valero και Serrano, 2010).

Τα μηλοειδή συντηρούνται σε κοινά ψυγεία ή σε ψυγεία με ελεγχόμενη ατμόσφαιρα. Τα μήλα μπορούν να συντηρηθούν και σε κοινές αποθήκες σε ορεινές περιοχές, για μακρύ χρονικό διάστημα, αρκεί να υπάρχει καλός αερισμός και προστασία των καρπών από θερμοκρασίες κάτω του μηδενός (Florowski et al., 2009; Simson και Straus, 2010; Narayanasami, 2006; Βασιλακάκης, 2006).

#### **1.1.3.1 Συντήρηση σε κοινά ψυγεία**

Στα κοινά ψυγεία ρυθμίζεται η θερμοκρασία και η υγρασία. Σκοπός είναι να επιβραδυνθεί η αναπνευστική δραστηριότητα, η παραγωγή αιθυλενίου, η ωρίμανση των καρπών, ο γηρασμός των ιστών και η μικροβιακή δράση (Βασιλακάκης, 2006).

Στις εικόνες 1α και 1β διακρίνουμε διάφορες μετασυλλεκτικές σήψεις καθώς και φυσιολογικές ανωμαλίες σε αχλάδια, κατά τη συντήρησή τους σε κοινά ψυγεία.



Εικ. 1 α,β. Μετασυλλεκτικές σήψεις και φυσιολογικές ανωμαλίες σε αχλάδια συντηρούμενα σε κοινά ψυγεία.

Από το έτος 2010 έχει πάρει έγκριση εφαρμογής στην Ελλάδα το σκεύασμα SmartFresh, με δραστική ουσία το 1-MCP και εφαρμόζεται αμέσως μετά τη συγκομιδή των καρπών (Νάνος, 2013). Η δραστική αυτή ουσία είναι ανταγωνιστής της δράσης του αιθυλενίου και βοηθάει στο να διατηρούνται τα μήλα σκληρά για πολλούς μήνες σε κοινή ψύξη στους 0°C. Η ίδια εφαρμογή γίνεται και στα αχλάδια, με θερμοκρασία συντήρησης στους 0 με -1 °C (Rees, Farrell και Orchard, 2012).

Στον Πίνακα 1 αναφέρονται οι συνθήκες συντήρησης των μηλοειδών στα κοινά ψυγεία.

**Πίνακας 1.** Συνιστώμενη θερμοκρασία, σχετική υγρασία και διάρκεια συντήρησης μηλοειδών σε κοινή ψύξη.

Καρπός	Θερμοκρασία (°C)	Σχετ. Υγρασία (%)	Διάρκεια Αποθήκευσης
Αχλάδια	-1-0	90-95	2-7 μήνες
Μήλα	0	90-95	3-5 μήνες

(Νάνος, 2013).



### 1.1.3.2 Συντήρηση σε ψυγεία με Ελεγχόμενη Ατμόσφαιρα

Η ελεγχόμενη ατμόσφαιρα επιτυγχάνεται όταν η σύνθεση του αέρα και συγκεκριμένα τα ποσοστά του αζώτου, του οξυγόνου και του διοξειδίου του άνθρακα, σε έναν αποθηκευτικό χώρο, μεταβάλλονται. Σκοπός της μεταβολής αυτής είναι η μείωση της αερόβιας αναπνοής, ωρίμανσης και παραγωγής αιθυλενίου με αποτέλεσμα την επιμήκυνση του χρόνου ζωής των συντηρούμενων καρπών (Rees, Farrell και Orchard, 2012; Simson και Straus, 2010; Florkowski et al., 2009; Narayanasami, 2006).

Τα μήλα και τα αχλάδια αποτελούν τις μεγαλύτερες ποσότητες μεταξύ των προϊόντων που συντηρούνται σε ελεγχόμενη ατμόσφαιρα. Αυτού του είδους η συντήρηση αποτελεί κοινή πρακτική σε πολλές χώρες του κόσμου. Είναι χαρακτηριστικό ότι σχεδόν τα μισά αχλάδια νωπής κατανάλωσης διατηρούνται σε ψυγεία ελεγχόμενης ατμόσφαιρας στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Νάνος, 2013; Simson και Straus, 2010).

Στον Πίνακα 2 δίνονται οι συνθήκες συντήρησης ορισμένων ποικιλιών μηλοειδών σε ελεγχόμενη ατμόσφαιρα.

**Πίνακας 2.** Συνθήκες συντήρησης για διάφορες ποικιλίες μηλοειδών υπό ελεγχόμενη ατμόσφαιρα.

Καρπός	Θερμοκρασία (°C)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	Διάρκεια αποθήκευσης (μήνες)
<b>Αχλάδια</b>				
Κρυστάλλι	-1.5/0	2	1.2	3-5
Abate Fetel	-	1	1	5-6
D'Anjou	-	1-2.5	0-0.5	7-8
<b>Μήλα</b>				
Golden Delicious	0.5	1.6	2.3	7-11
Granny Smith	0.6	1.4	2	7-11
Red Delicious	0	1.6	1.8	6-11

(Kupferman, 1997; Kupferman και Richardson, 1997).

## 1.2 Μύκητες που προκαλούν μετασυλλεκτικές σήψεις στα μηλοειδή

Οι μετασυλλεκτικές σήψεις στους καρπούς των μηλοειδών προκύπτουν από μολύνσεις παθογόνων μικροοργανισμών, οι οποίες γίνονται συνήθως κατά τη συγκομιδή και τη μεταφορά των καρπών, όμως τα παθογόνα αδρανοποιούνται λόγω της πρωιμότητας των ιστών κι έτσι οι μολύνσεις είναι λανθάνουσες. Η εκδήλωση των συμπτωμάτων γίνεται κυρίως κατά τη συντήρηση των καρπών, όπου συντελείται η ωρίμανσή τους (Simson και Straus, 2010; Valero και Serrano, 2010; Παναγόπουλος, 2007; Narayanasamy, 2006; Βασιλακάκης, 2006).

Οι κυριότερες μετασυλλεκτικές προσβολές στα μηλοειδή προέρχονται από τα είδη *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, *Glomerella cingulata* με ατελή μορφή *Colletotrichum gloeosporioides*, *Gleosporium album* καθώς και από μύκητες των γενών *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. και *Stemphylium* sp. (Simson και Straus, 2010; Pitt και Hocking, 2009; Narayanasami, 2006; Παναγόπουλος, 2007; Βασιλακάκης, 2006).

Στις εικόνες 2-4 παρουσιάζονται μετασυλλεκτικές σήψεις από διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς των ανωτέρω ειδών, σε αποθηκευμένα μήλα και αχλάδια.



Εικ. 2. Μετασυλλεκτικές σήψεις σε αποθηκευμένα μήλα



Εικ. 3. Προσβολή σε μήλο από το μύκητα *Botrytis Cinerea*



Εικ. 4. Σήψεις μήλων από *Penicillium sp.*

### 1.2.1 Μετασυλλεκτικές σήψεις από μύκητες του γένους *Penicillium*

Το γένος *Penicillium* έχει γίνει ευρέως γνωστό κυρίως λόγω της πενικιλίνης, η οποία είναι ένας δευτερογενής μεταβολίτης που παράγεται από ορισμένα είδη του. Το Σεπτέμβριο του 1928, ο Alexander Fleming παρατηρώντας διάφορα τρυβλία Petri στα οποία διατηρούσε καλλιέργειες του βακτηρίου *Staphylococcus aureus*, ανακάλυψε τυχαία την ύπαρξη ενός μύκητα (*Penicillium notatum*), ο οποίος είχε βακτηριοκτόνο δράση στις συγκεκριμένες καλλιέργειες. Από αυτό το είδος προέκυψε το αντιβιοτικό πενικιλίνη (University of Oxford, 2010).

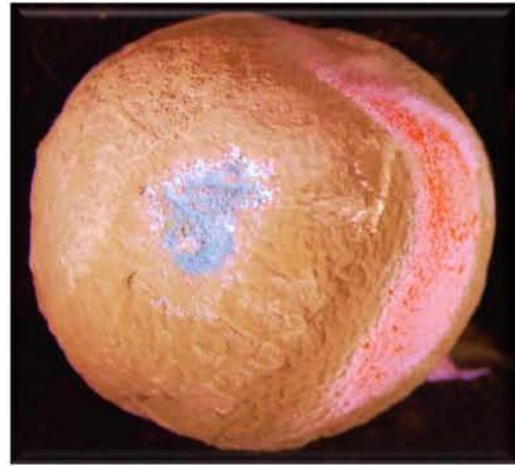
Εντούτοις, όσον αφορά τη φυτοπροστασία και τη μετασυλλεκτική μεταχείριση των νωπών καρπών, οι μύκητες του γένους *Penicillium*, γνωστοί και ως πενικίλλια, είναι εξαιρετικά σημαντικοί καθώς αποτελούν τα πιο κοινά παθογόνα μετασυλλεκτικών σήψεων των μηλοειδών και των εσπεριδοειδών και μπορούν να δημιουργήσουν προβλήματα ακόμη και σε πυρηνόκαρπα και λαχανικά. Συγκεκριμένα, ορισμένα είδη του γένους *Penicillium*, όπως για παράδειγμα οι *Penicillium expansum* (εικ. 5,6), *P. italicum* (εικ. 7) και *P. digitatum* (εικ. 7,8), είναι οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που προσβάλλουν ετησίως το μεγαλύτερο αριθμό φρούτων αλλά και λαχανικών, προκαλώντας σημαντικές ζημιές. Οι περισσότερες προσβολές όμως γίνονται στα εσπεριδοειδή, μηλοειδή και πυρηνόκαρπα (Vilanova *et al.*, 2012; Pitt και Hocking, 2009; Τζάμος, 2007; Βασιλικάκης, 2006; FAO, 1989).



Εικ.5. «Κυανή σήψη» σε μηλοειδή



Εικ. 6. «Κυανή σήψη» σε μήλο



Εικ. 7. Προσβολή από *P. digitatum* και *P. italicum* σε πορτοκάλι



Εικ. 8. «Πράσινη σήψη» σε εσπεριδοειδή

### 1.2.2 Κυανή σήψη

Η ασθένεια «Κυανή σήψη» (blue mold rot) προκαλείται στα μηλοειδή κυρίως από το μύκητα *Penicillium expansum*. Ωστόσο, υπάρχουν και άλλα είδη του ίδιου γένους που συσχετίζονται με τη συγκεκριμένη ασθένεια, όπως τα *Penicillium solitum*, *P. verrucosum* και *P. funiculosum* (Pitt και Hocking, 2009; Παναγόπουλος, 2007; Amiri και Bompreix, 2005; Frisvad και Samson, 2004; Sanderson και Spotts, 1995; Koffman και Penrose, 1987).

Οι μολύνσεις από το *P. expansum* γίνονται κυρίως κατά τη συγκομιδή, όπου προκαλούνται πληγές στα φρούτα αλλά μπορεί να συμβούν και από τους χειρισμούς κατά τη συσκευασία, μεταφορά ή την συντήρηση των καρπών. Ο μύκητας σπάνια προσβάλλει καρπούς πάνω στο δέντρο (Valero και Serrano, 2010; Sugar και Basile, 2008; Βασιλακάκης, 2006).

Η μετάδοση γίνεται με τα κονίδια του μύκητα, τα οποία μεταφέρονται με τον αέρα και εισέρχονται εντός των ιστών μέσω των πληγών· η είσοδος του παθογόνου μπορεί να επιτευχθεί και μέσω των φακιδίων καθώς και από τον ποδίσκο. Οι προσβεβλημένοι καρποί αρχικά εμφανίζουν μικρές υδατώδεις κηλίδες, καστανού χρώματος (εικ. 9). Στη συνέχεια οι κηλίδες μεγαλώνουν, τόσο σε διάμετρο, όσο και σε βάθος (εικ.10). Προκαλείται σήψη της σάρκας και η σήψη μπορεί να επεκταθεί στο 100% του συνολικού καρπού (εικ.11α,β).



Εικ. 9. Αρχικό στάδιο προσβολής από *Penicillium expansum* σε αχλάδια



Εικ. 10 Προχωρημένο στάδιο προσβολής από *Penicillium expansum* σε αχλάδια

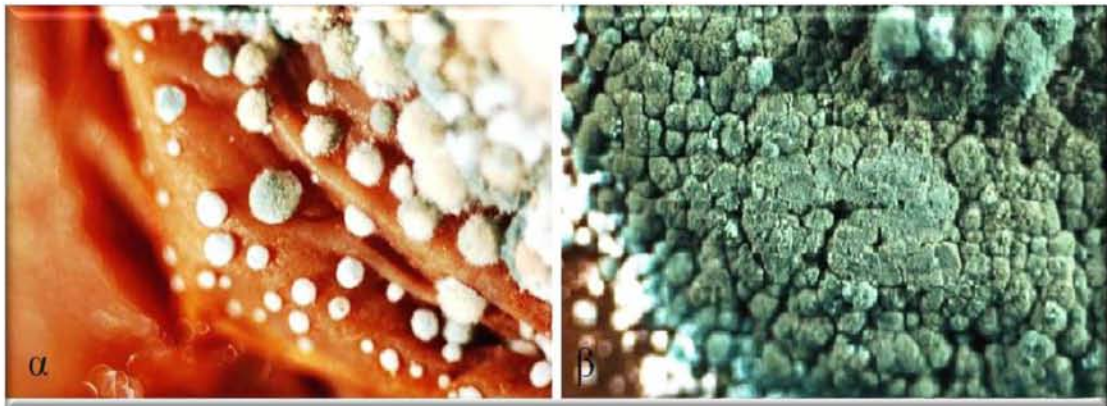


Εικ. 11. Ολική σήψη από *Penicillium expansum* σε α) μήλο β) αχλάδι

Στην επιφάνεια των κηλίδων, σε προχωρημένο στάδιο προσβολής, εμφανίζονται οι κονιδιοφόροι και τα κονίδια του μύκητα, με τη μορφή μικρών στρογγυλών πυκνών εξανθήσεων (κορέμια), οι οποίες αρχικά είναι λευκές ή ανοιχτού μπλε χρώματος και αργότερα αποκτούν κυανοπράσινο χρωματισμό (εικ.12, 13α,β) (Pitt και Hocking, 2009; Παναγόπουλος, 2007; Amiri *et al.*, 2005).



Εικ. 12. Καρποφορίες του *Penicillium expansum* σε προσβεβλημένο αχλάδι



Εικ. 13. Κορέμια του *P. expansum* σε προσβεβλημένα αχλάδια, α) λευκού και β) μπλε-πράσινου χρώματος

Η ένταση της προσβολής καθορίζεται κυρίως από τη συγκέντρωση του μολύσματος στους χώρους αποθήκευσης από τη συγκέντρωση του μολύσματος στους χώρους αποθήκευσης. Συγκεκριμένα, σε χώρους που χρησιμοποιούνται για μακροχρόνια αποθήκευση μηλοειδών, έχει διαπιστωθεί ότι ο αριθμός των κονιδίων ακολουθεί εκθετικό ρυθμό αύξησης (Amiri και Bompreix, 2005).



Το παθογόνο έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε ευρύ φάσμα θερμοκρασιών, με σταθερά αυξητικό ρυθμό ανάπτυξης σε θερμοκρασίες 2-25 °C, ενώ από 25 έως 30 °C ο ρυθμός μειώνεται. Έχει παρατηρηθεί ανάπτυξη του μυκηλίου ακόμη και μεταξύ 0 και -3 °C, αν και με πολύ αργό ρυθμό (Amirgi και Bompreix, 2005).

Αναφορικά με τη σχέση της σχετικής υγρασίας στους αποθηκευτικούς χώρους και της προσβολής των καρπών από το μύκητα, οι απόψεις διίστανται. Γενικά θεωρείται ότι η υψηλή σχετική υγρασία ευνοεί την ανάπτυξη του *Penicillium expansum* (Παναγόπουλος, 2007), ενώ μία πρόσφατη σχετικά μελέτη αμφισβητεί αυτή τη θεωρία. Συγκεκριμένα, η μελέτη υποστηρίζει ότι η υψηλή σχετική υγρασία δεν συνδέεται με τις μολύνσεις διότι η υγρασία στο εσωτερικό του καρπού είναι αρκετή για την ανάπτυξη του μύκητα.

### 1.2.2.1 Ταξινόμηση του είδους *Penicillium expansum*

Η πολύχρονη προσπάθεια ταξινόμησης του γένους *Penicillium* έχει ρίζες στο 1809, όπου για πρώτη φορά εμφανίστηκε το όνομα *Penicillium* σε επιστημονικό περιοδικό (Visagie, 2008). Από τότε έχουν περάσει πάνω από 200 χρόνια διαρκούς έρευνας στο συγκεκριμένο γένος, με αποτέλεσμα τις συνεχείς αλλαγές στην ταξινόμησή του.

Μέχρι πρόσφατα, το είδος *Penicillium expansum* ακολουθούσε την εξής ταξινόμηση, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3:

**Πίνακας 3.** Ταξινόμηση του είδους *Penicillium expansum*.

ΒΑΣΙΛΕΙΟ:	MYCOTA (ΜΥΚΗΤΕΣ ή ΕΥΜΥΚΗΤΕΣ)
Φύλο:	ASCOMYCOTA (ΑΣΚΟΜΥΚΗΤΕΣ)
ΚΛΑΣΗ:	ΜΗΚΥΛΙΑΚΟΙ ΑΣΚΟΜΥΚΗΤΕΣ
ΑΘΡΟΙΣΜΑ:	PLECTOMYCETES (ΠΛΕΚΤΟΜΥΚΗΤΕΣ)
Τάξη:	<i>Eurotiales</i>
Γένος:	<i>Penicillium</i>
Είδος:	<i>Penicillium expansum</i>

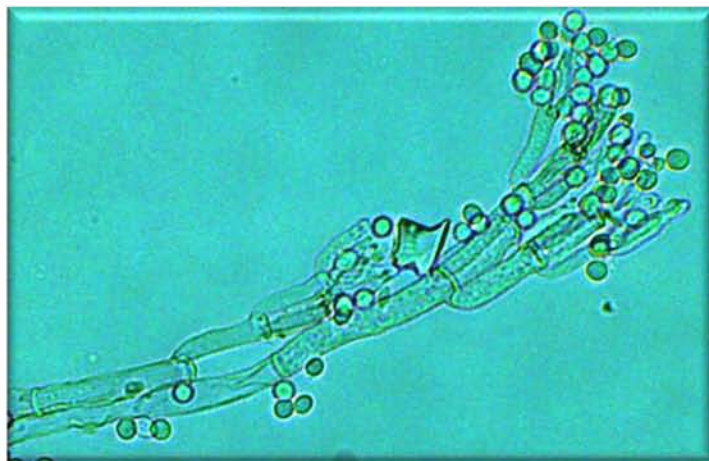
(Τζάμος, 2007).

Εντούτοις, σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη, το γένος *Penicillium* ανήκει στην οικογένεια *Aspergillaceae*, η οποία κατατάσσεται στην τάξη *Eurotiales* (κλάση *Eurotiomycetes*, φύλο *Ascomycota*). Το γένος *Penicillium* διαιρείται στα εξής τέσσερα υπογένη: *Aspergilloides*, *Furcatum*, *Penicillium* και *Biverticillium*, τα οποία περιλαμβάνουν περισσότερα από 225 είδη. Το υπογένος *Penicillium* έχει διαχωριστεί σε τέσσερις σειρές, με βάση κυρίως τις διαμέτρους των αποικιών και την υφή των κυτταρικών τοιχωμάτων των στελεχών. Το είδος *Penicillium expansum* ανήκει στη σειρά *Expansa* (Houbraken και Samson, 2011; Visagie, 2008).

### 1.2.2.2 Μορφολογικά Χαρακτηριστικά

Οι μύκητες του γένους *Penicillium*, σχηματίζουν χαρακτηριστικούς κονιδιοφόρους με διακλαδώσεις μορφής χρωστήρα. Τα άκρα των διακλαδώσεων καταλήγουν σε φιαλίδια εκ των οποίων σχηματίζονται μονοκύτταρα, σφαιρικά ή ωοειδή, υαλώδη κονίδια σε αλυσίδες τα οποία λειτουργούν ως ξηροσπόρια (Visagie *et al.*, 2009; Τζάμος, 2007).

Ο φυτοπαθολόγος μύκητας *Penicillium expansum* είναι από τα πρώτα είδη στα οποία έγινε περιγραφή μορφολογικών χαρακτηριστικών. Το συγκεκριμένο είδος σχηματίζει απλό, υαλώδες μυκήλιο. Το χρώμα του μυκηλίου είναι λευκό έως υαλώδες. Οι μυκηλιακές υφές χαρακτηρίζονται από παρουσία εγκάρσιων διαφραγμάτων (σέπτα) με κεντρικό άνοιγμα. Οι κονιδιοφόροι που σχηματίζονται από τις μυκηλιακές υφές μπορεί να είναι είτε μεμονωμένοι (εικ. 14) ή σε δεσμίδες ή σε ομάδες σε εμφανή κορέμια. Το στέλεχος έχει ομαλά τοιχώματα με κονιδιοφόρους τελικούς συνήθως με τρία σημεία διακλάδωσης και σπανιότερα με τέσσερα. Τα άκρα των διακλαδώσεων καταλήγουν σε φιαλίδια εκ των οποίων σχηματίζονται ελλειψοειδή, υαλώδη κονίδια με ομαλά τοιχώματα και μέγεθος 3,0-3,5 x 2,5-3,0 μm. Ο χρωματισμός των κονιδίων στις αποικίες που σχηματίζουν είναι ωχροπράσινος. Ανάμεσα στις διαφορετικές φυλές του είδους, ορισμένα από αυτά τα χαρακτηριστικά μπορεί να μην είναι σταθερά, καθώς δε σχηματίζονται πάντα συνήμματα, ενώ η επιφάνεια του στελέχους της κονιδιοφόρου μπορεί να είναι τραχεία (Houbraken *et al.*, 2014; Houbraken και Samson, 2011; Visagie, 2008; Τζάμος, 2007; Frisvad και Samson, 2004).



Εικ. 14. Κονιδιοφόρος *Penicillium expansum*

### 1.2.2.3 Δευτερογενείς μεταβολίτες του μύκητα

Η πατουλίνη, όπως και οι περισσότερες μυκοτοξίνες, ανήκει στην τάξη των πολυκετιδίων. Είναι προϊόν του μεταβολισμού διαφόρων ειδών μυκήτων που ανήκουν στα γένη *Aspergillus*, *Penicillium* και *Byssochlamys* (Puel et al., 2010).

Το είδος *Penicillium expansum* είναι υπεύθυνο για την παραγωγή πατουλίνης σε προσβεβλημένους καρπούς. Συγκεκριμένα, ταυτόχρονα με την ανάπτυξη του μύκητα κάτω από την επιδερμίδα του καρπού, φαίνεται πως αρχίζει και η παραγωγή της πατουλίνης, η οποία έχει σημαντική επίδραση στη μολυσματική ικανότητα και στην παθογένεια του μύκητα (Sanzani et al., 2012; Frank, 1977).

Επίσης, σε χημικές αναλύσεις, έχει αναφερθεί και η παρουσία μίας ακόμη μυκοτοξίνης, της κιτρινίνης, η οποία παράγεται από το μύκητα *Penicillium expansum*, αλλά σε πολύ μικρότερο ποσοστό από αυτό της πατουλίνης (Didwania και Joshi, 2013; Abramson et al., 2009; Frisvad και Samson, 2004).

#### 1.2.2.3.1 Παρουσία πατουλίνης σε καρπούς μηλοειδών

Η παρουσία της πατουλίνης έχει διαπιστωθεί σε διάφορα προσβεβλημένα φρούτα, είναι κυρίαρχη όμως σε καρπούς μήλων και αχλαδιών στους οποίους αναπτύσσεται ο μύκητας *Penicillium expansum* (Yang et al., 2014; Didwania και Joshi, 2013).

Η κατανάλωση καρπών, ακόμη και με πολύ μικρό ποσοστό σήψης, μπορεί να αποτελέσει κίνδυνο για τη δημόσια υγεία, διότι έχει βρεθεί ότι η συγκεκριμένη μυκοτοξίνη δεν παραμένει στο σημείο προσβολής, αλλά διαχέεται και στους παρακείμενους υγιείς ιστούς. Επίσης, κίνδυνος υπάρχει για την υγεία του καταναλωτή και σε περίπτωση που καταναλωθούν προϊόντα μεταποίησης των προσβεβλημένων καρπών και κυρίως χυμός μήλου. Ο λόγος είναι ότι στην παραγωγή χυμού χρησιμοποιούνται μήλα κατώτερης ποιότητας, στα οποία παρουσιάζονται μετασυλλεκτικές σήψεις σε μεγάλη συχνότητα (Yang *et al.*, 2014; Tyler και Burgess, 2013; Puel *et al.*, 2010; Moss, 2008; Moukas *et al.*, 2008; Laidou *et al.*, 2001).

Σε μελέτες αναφέρεται ότι η πατουλίνη αποδομείται σταδιακά κατά την διεργασία της αλκοολικής ζύμωσης για την παρασκευή αλκοολούχων ποτών και ξυδιού από χυμούς φρούτων, παρουσιάζει όμως σχετική σταθερότητα κατά την διαδικασία της παστερίωσης, κάνοντας επιτακτική την προσεκτική διαλογή των φρούτων πριν την επεξεργασία τους (Sanzani *et al.*, 2012; Moss και Long, 2002). Αξίζει να σημειωθεί ότι εκτός από το χυμό των μήλων, σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε πατουλίνη έχει βρεθεί και σε χυμό αχλαδιών (Azizi και Routhi, 2013).

Η πατουλίνη μπορεί να προκαλέσει στον άνθρωπο συμπτώματα οξείας τοξικότητας, όπως: αναστάτωση, οίδημα, έλκος, εμετό και σπασμούς. Πειράματα χρόνιας τοξικότητας σε τρωκτικά έχουν δείξει ότι η πατουλίνη έχει γονιδιοτοξική, νευροτοξική και ανοσοτοξική δράση. Ωστόσο, οι επιπτώσεις της χρόνιας τοξικότητας στον άνθρωπο δεν έχουν καθοριστεί ακόμα (Moukas *et al.*, 2008).

Λόγω της τοξικότητας των μυκοτοξινών, διεθνείς και εθνικοί οργανισμοί έχουν θεσπίσει ανώτατα επιτρεπτά όρια υπολειμμάτων (MRL's) διάφορων μυκοτοξινών σε συγκεκριμένες τροφές. Συγκεκριμένα, η Ευρωπαϊκή Ένωση, σύμφωνα με τον κανονισμό 1881/2006, θέτει τα 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , ως ανώτατα επιτρεπτά όρια συγκέντρωσης της πατουλίνης στο χυμό μήλου, τα 25  $\mu\text{g kg}^{-1}$  στα στερεά προϊόντα από μήλο και τα 10  $\mu\text{g kg}^{-1}$  για παιδικούς χυμούς και φρουτόκρεμες (EUR-Lex-Europa, 2010). Στις Η.Π.Α., τα MRL's έχουν οριστεί επίσης στα 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA), ενώ το ίδιο ισχύει για την Κίνα και την Ιαπωνία από τους αντίστοιχους φορείς (Tyler και Burgess, 2013).

Τέλος, όσον αφορά τη μυκοτοξίνη κιτρινίνη, πρέπει να αναφερθεί ότι δεν έχει θεσπιστεί ακόμα κανονισμός από κάποιο δημόσιο φορέα για τα ανώτατα επιτρεπτά όρια της στα τρόφιμα (Abramson *et al*, 2009).

### **1.3 Αντιμετώπιση μετασυλλεκτικών σήψεων στα μηλοειδή που προκαλούνται από μύκητες του γένους *Penicillium***

Η προστασία των μηλοειδών από τις μετασυλλεκτικές σήψεις βασίζεται αποκλειστικά στην πρόληψη. Για την αντιμετώπιση των σήψεων εφαρμόζονται μέτρα τόσο σε προσυλλεκτικό στάδιο όσο και μετά τη συλλογή των καρπών, κατά τη μεταφορά, συσκευασία και αποθήκευση τους.

#### **1.3.1 Προσυλλεκτικά μέτρα**

Τα προσυλλεκτικά μέτρα για την αντιμετώπιση των μετασυλλεκτικών σήψεων των μηλοειδών αφορούν συγκεκριμένες καλλιεργητικές πρακτικές στον οπωρώνα καθώς και προσυλλεκτικές εφαρμογές χημικών μυκητοκτόνων και ενός βιολογικού σκευάσματος στις καλλιέργειες.

Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται τα καλλιεργητικά μέτρα και οι προσυλλεκτικοί χειρισμοί που εφαρμόζονται στους καρπούς για την αντιμετώπιση των μετασυλλεκτικών σήψεων.

**Πίνακας 4.** Καλλιεργητικά μέτρα και προσυλλεκτικοί χειρισμοί των καρπών για την αντιμετώπιση των μετασυλλεκτικών σήψεων των μηλοειδών.

Καλή κατάσταση δενδροκομείων (κλάδεμα, λίπανση, κ.ά.).
Συγκομιδή με ξηρό καιρό και στο άριστο της ωρίμανσης των καρπών.
Αποφυγή τραυματισμών και δημιουργίας πληγών στους καρπούς κατά τη συγκομιδή των καρπών.

Πηγές: Nunes, 2008; Παναγόπουλος, 2007; Βασιλακάκης, 2006; Ποντίκης, 1985.

Η χημική καταπολέμηση με μυκητοκτόνα εφαρμόζεται στην Ελλάδα μόνο προσυλλεκτικά πλέον, ως προληπτικό μέτρο. Από τις αρχές της δεκαετίας του 1970 έως τα μέσα του 1990, η χρησιμοποίηση μυκητοκτόνων μετασυλλεκτικά για τον έλεγχο των σήψεων των μηλοειδών υπήρξε κοινή πρακτική τόσο στην Ελλάδα όσο και σε διεθνές επίπεδο. Όμως, η ανάπτυξη ανθεκτικότητας του *Penicillium expansum* στα βενζιμιδαζολικά μυκητοκτόνα και στη διφαινυλαμίνη, σε συνδυασμό με την αυξανόμενη ανησυχία όσον αφορά την υπολειμματικότητα στους καρπούς, οδήγησαν στην απαγόρευση της χρήσης πολλών εξ αυτών των γεωργικών φαρμάκων (Rosenberger, 2009). Σήμερα, οι πιο διαδεδομένες δραστικές ουσίες που εφαρμόζονται μετασυλλεκτικά για την αντιμετώπιση σήψεων στα μηλοειδή είναι οι thiabendazole, captan, fludioxonil, pyrimethanil (Η.Π.Α.) και thiabendazole (Κίνα), ενώ καμία από τις παραπάνω δεν έχει έγκριση σε χώρες της Ευρώπης. Πρόσφατα, στην Ιταλία, εγκρίθηκε η κυκλοφορία ενός νέου μυκητοκτόνου, με το εμπορικό όνομα Philabuster, για μετασυλλεκτική εφαρμογή σε μηλοειδή. Το σκεύασμα περιέχει μίγμα των δραστικών ουσιών imazalil και pyrimethanil.

Σύμφωνα με το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, η ισχύουσα νομοθεσία που αφορά τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα και καθορίζεται από τον νόμο 4036/2012, επί του παρόντος επιτρέπει την κυκλοφορία μόνο των γεωργικών φαρμάκων που δίνονται στον Πίνακα 5.

**Πίνακας 5.** Μυκητοκτόνα για προσυλλεκτική εφαρμογή σε καλλιέργειες μηλιάς και αχλαδιάς, εναντίον μυκήτων του γένους *Penicillium* που προκαλούν μετασυλλεκτικές σήψεις.

Εμπορική Ονομασία	Δραστικές Ουσίες	Χημική Ομάδα	Τρόπος Δράσης / Διασυστηματικό ή επαφής
Fruitfog-I 25 FD	Imazalil	Αναστολείς βιοσύνθεσης στερολών (SBI)	Βιοσύνθεση στερόλης στις μεμβράνες/ Διασυστηματικό
Geoxe 50 WG	Fludioxonil	Φαινυλοπυρρόλια	Μεταγωγή σήματος/ Επαφής
Switch 25/37.5 WG	Cyprodinil + Fludioxonil	AP + PPs (Ανιλίνο-πυριμιδίνες + Φαινυλοπυρρόλια)	Αναστολή βιοσύνθεσης αμινοξέων + Μεταγωγή σήματος / Μείγμα (Διασυστηματικού & Επαφής)

Πηγή: Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2014.

Τέλος, στη χώρα μας έχει άδεια κυκλοφορίας το βιολογικό σκεύασμα με την εμπορική ονομασία Boni Protect WGBio, για προσυλλεκτική εφαρμογή στα μηλοειδή. Το σκεύασμα περιέχει το μύκητα *Aureobasidium pulullans* (φυλές DSM14940, DSM14941), ο οποίος δρα ως υπερπαρασίτο εναντίον του μύκητα *Penicillium expansum*.

### 1.3.2 Μετασυλλεκτικά μέτρα

Τα μέτρα που λαμβάνονται μετά το στάδιο της συγκομιδής για την αντιμετώπιση των μετασυλλεκτικών σήψεων των μηλοειδών αφορούν συγκεκριμένους μετασυλλεκτικούς χειρισμούς στους καρπούς (Πίνακας 6), εφαρμογή ουσιών που αναστέλλουν τη δράση του αιθυλενίου, εφαρμογή μικροοργανισμών – ανταγωνιστών του μύκητα *Penicillium expansum*, απολυμαντικά και βιοκτόνα προϊόντα, και εφαρμογή τροποποιημένης ατμόσφαιρας.

**Πίνακας 6.** Μετασυλλεκτικοί χειρισμοί των καρπών για την αντιμετώπιση των μετασυλλεκτικών σήψεων των μηλοειδών.

Αποφυγή τραυματισμών και δημιουργίας πληγών στους καρπούς κατά τη διαλογή, συσκευασία, διακίνηση και αποθήκευση.
Πρόψυξη καρπών σε θάλαμο αμέσως μετά τη συγκομιδή και κατόπιν γρήγορη μεταφορά τους σε ψυγεία (σε ορισμένες ποικιλίες η καθυστερημένη μεταφορά μπορεί να αποτελέσει ευνοϊκό παράγοντα όσον αφορά το μαλάκωμα της σάρκας).
Λήψη αυστηρών μέτρων υγιεινής σε συσκευαστήρια και αποθήκες.

### **1.3.2.1 Ανταγωνιστές δράσης αιθυλενίου**

Το 1-MCP ή 1-μεθυλο-κυκλοπροπάνιο, είναι μία δραστική ουσία η οποία λειτουργεί ως αναστολέας της δράσης του αιθυλενίου. Στην ουσία λειτουργεί ως ανταγωνιστής του αιθυλενίου, δηλαδή αλληλεπιδρά με τους υποδοχείς του αιθυλενίου, σχηματίζοντας σύμπλοκο, μπλοκάροντας τη σύνδεση του με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η δράση του (Watkins, 2006). Το αποτέλεσμα είναι να καθυστερείται η ωρίμανση του καρπού και το μαλάκωμα της σάρκας, καθιστώντας τον καρπό πιο ανθεκτικό στις προσβολές από μετασυλλεκτικές σήψεις.

Η δραστική ουσία 1-MCP εφαρμόζεται στην Ελλάδα από το 2010. Η εφαρμογή γίνεται στους θαλάμους συντήρησης των μηλοειδών αμέσως μετά τη συγκομιδή και η ουσία κυκλοφορεί σε σκεύασμα με την εμπορική ονομασία SmartFresh (Νάνος, 2013; Watkins, 2006).

### **1.3.2.3 Αναστολείς σχηματισμού αιθυλενίου**

Η ουσία AVG ή Αμινο-εθοξυ-βινυλ-γλυκίνη, δρα ως αναστολέας του αιθυλενίου (Magazin *et al.*, 2012). Χρησιμοποιείται σε διάφορες χώρες του εξωτερικού ως ρυθμιστής ανάπτυξης σε μηλοειδή, σε σκεύασμα με την εμπορική ονομασία ReTain (Valent U.S.A. Corporation, 2012).



### 1.3.2.2 Βιολογική καταπολέμηση

Η βιολογική καταπολέμηση βασίζεται σε μικροοργανισμούς που δρουν ως ανταγωνιστές του μύκητα *Penicillium expansum*. Αναφέρεται ότι η δράση των ειδών *Aureobasidium pullulans*, *Pseudomonas syringae*, *Candida saitoana*, *Trichosporon pullulans*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Cryptococcus laurentii*, *Muscodor albus*, *Rhodotorula glutinis*, *Candida oleophila*, μειώνει τις προσβολές από *Penicillium expansum* στα μήλα (Pitt και Hocking, 2009; Sharma *et al.*, 2009; Ramin *et al.*, 2008; Sugar και Basile, 2008)

Σε διεθνές επίπεδο κυκλοφορούν τα σκευάσματα Aspire (*Candida oleophila*) και Bio-Save (*Pseudomonas syringae*) τα οποία χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με μυκητοκτόνα (Sharma *et al.*, 2009).

### 1.3.2.4 Απολυμαντικά και Βιοκτόνα προϊόντα

Κατά το στάδιο της αποθήκευσης των καρπών η συγκέντρωση του μολύσματος θα πρέπει να είναι όσο το δυνατόν μικρότερη, τόσο στους χώρους συντήρησης όσο και στον καρπό. Για το σκοπό αυτό εφαρμόζονται συγκεκριμένα απολυμαντικά και βιοκτόνα προϊόντα:

1. Ορθοφαινυλφαινολικό νάτριο (SOPP ή OPP): Απολυμαντική ουσία η οποία εφαρμόζεται σε νερό για πλύσιμο των καρπών, με σκοπό τη μείωση του μολύσματος στους καρπούς που προορίζονται για συντήρηση (Paul και Marouchoc, 1999).
2. Οζον, O<sub>3</sub>: Εφαρμογή σε νερό για πλύσιμο των καρπών των μηλοειδών αλλά και ως αέριο στην απολύμανση ψυκτικών θαλάμων και στη συντήρηση μηλοειδών και άλλων νωπών καρπών στα ψυγεία. Είναι αέριο, έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση εναντίον του είδους *Penicillium expansum* και των μυκήτων που προκαλούν μετασυλλεκτικές σήψεις. Αναστέλλει τη σποριοποίηση των μυκήτων και παρεμποδίζει τη μυκηλιακή ανάπτυξη στο είδος *Penicillium expansum*, διασπά το αιθυλένιο και δεν παρουσιάζει υπολειμματικότητα στους καρπούς, σημαντική ιδιότητα όσον αφορά τη συντήρηση των καρπών (Ames *et al.*, 2013; Μηνάς *et al.*, 2010; Smilanick, 2003).

3. Υψηλή θερμοκρασία: Εμβάπτιση καρπών σε θερμό νερό με σκοπό τη μείωση του μολύσματος στον καρπό που προορίζεται για συντήρηση. (Florkowski *et al.*, 2009).
4. Υποχλωρικό οξύ, HOCl: Απολυμαντική ουσία που εφαρμόζεται σε καρπούς με σκοπό τη μείωση του μολύσματος (Florkowski *et al.*, 2009).
5. Υποχλωριώδες νάτριο, NaClO: Είναι ένα από τα διαλύματα χλωρίνης που χρησιμοποιούνται στην απολύμανση των καρπών και εφαρμόζεται στο νερό (Rosenberger, 2009; Simson και Straus, 2010; Sugar, 2008). Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και το υποχλωριώδες ασβέστιο, Ca(ClO)<sub>2</sub>, σε μορφή σκόνης (Βασιλακάκης, 2006).
6. Διφαινυλαμίνη, DPA: Είναι αντιοξειδωτική χημική ένωση που ανήκει στην κατηγορία των αρωματικών αμινών. Εφαρμόζεται κυρίως σε καρπούς μήλων με ψεκασμό στα μηχανήματα διαλογής ή με εμβάπτιση σε λουτρό (Errampalli, 2006; Janisiewicz και Jeffers, 1997). Στην Ελλάδα χρησιμοποιήθηκε τελευταία φορά το 2012, κατά παρέκκλιση άδειας διάθεσης στην αγορά 120 ημερών, με την εμπορική ονομασία No Scald DPA 31,8 EC (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2012).

#### **1.3.2.5 Τροποποιημένη Ατμόσφαιρα**

Για την επίτευξη τροποποιημένης ατμόσφαιρας, χρησιμοποιείται αεροστεγής συσκευασία (διαπερατές μεμβράνες από πολυμερή) κατά τη συντήρησή των καρπών υπό ψύξη. Κατά το κλείσιμο της μεμβράνης της συσκευασίας, προστίθεται συγκεκριμένο μείγμα αερίων (άζωτο, διοξείδιο του άνθρακα). Εν συνεχεία, η αναπνοή των καρπών αυξάνει τη συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> και μειώνει τη συγκέντρωση του O<sub>2</sub> στη συσκευασία. Με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται μείωση της αναπνοής των καρπών, της μικροβιακής ανάπτυξης, της ενζυμικής αλλοίωσης και της ανάπτυξης των μυκηλίων των μυκήτων που τυχόν φέρουν τα προϊόντα (Simson και Straus, 2010; Valero και Serrano, 2010; Βασιλακάκης, 2006).

### 1.3.3 Έρευνα στην πρόληψη των μετασυλλεκτικών σήψεων στα μηλοειδή

Λόγω της μεγάλης σημασίας που έχει η προστασία των μηλοειδών από τις μετασυλλεκτικές σήψεις, η έρευνα στον τομέα αυτό συνεχίζεται με αμείωτη ένταση. Ενθαρρυντικά αποτελέσματα έχουν δώσει οι εξής ουσίες:

1. Εφαρμογή του φυτοδιεγέρτη χαρπίνη Ea: Είναι μία πρωτεΐνη που παράγεται από το βακτήριο *Erwinia amylovora* και διεγείρει το αμυντικό σύστημα. Προ και μετασυλλεκτικές επεμβάσεις αυξάνουν την αντοχή των μήλων στο παθογόνο *Penicillium expansum* (Παναγόπουλος, 2007; Μπούρμπος και Μπαρμποπούλου, 2005; de Capdeville *et al.*, 2002).
2. Νανοδοματίδια του οξειδίου του ψευδαργύρου, ZnO Nanoparticles (NPs): Βρέθηκε ότι τα συγκεκριμένα NPs έχουν σημαντική μυκητοκτόνο δράση εναντίον του μύκητα *Penicillium expansum* και θεωρείται ότι στο μέλλον θα μπορεί να αποτελέσει ένα αποτελεσματικό μυκητοκτόνο σκεύασμα (He *et al.*, 2009).
3. Μολυβδαινικό αμμώνιο, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>: Η εφαρμογή γίνεται με εμβάπτιση των καρπών. Επίσης βρέθηκε αποτελεσματικό εναντίον του είδους *Penicillium expansum* και άλλων μυκήτων μετασυλλεκτικών σήψεων και θεωρείται πως υπάρχει προοπτική συστηματικής χρησιμοποίησής του στο μέλλον (Cao *et al.*, 2010; Nunes *et al.*, 2001; ).
4. Υποξείδιο του αζώτου, N<sub>2</sub>O: Εφαρμογή σε αναλογία αερίων: 80% N<sub>2</sub>O και 20% O<sub>2</sub>. Βρέθηκε αποτελεσματικό εναντίον του παθογόνου *Penicillium expansum* όπως και άλλων μυκήτων που προκαλούν μετασυλλεκτικές σήψεις σε μηλοειδή (Qadir και Hashinaga, 2001).

## 1.4 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

---

Οι απώλειες από μετασυλλεκτικές σήψεις στα συντηρούμενα μηλοειδή που προκαλούνται κυρίως από τον παθογόνο μύκητα *Penicillium expansum*, αγγίζουν το 49-80% της συνολικής παραγωγής (Vilanova *et al.*, 2012; Simson και Straus, 2010; Pitt και Hocking, 2009). Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας του *Penicillium expansum* στα βενζιμιδαζολικά μυκητοκτόνα και στη διφαινυλαμίνη, σε συνδυασμό με την αυξανόμενη ανησυχία όσον αφορά την υπολειμματικότητα στους καρπούς, οδήγησαν στην απαγόρευση της μετασυλλεκτικής εφαρμογής μυκητοκτόνων στους καρπούς των μηλοειδών. Για το λόγο αυτό, έγινε αναζήτηση στη διεθνή βιβλιογραφία με σκοπό την εύρεση σύγχρονων δραστικών ουσιών με μυκητοστατική δράση ενάντια στο μύκητα *Penicillium expansum* και χαμηλή υπολειμματικότητα στους καρπούς (Xiao και Kim, 2011; Lima *et al.*, 2011; Xiao και Boal, 2009a; Xiao και Boal, 2009b; Sugar και Basile, 2008).

Στην παρούσα διατριβή έγινε μετασυλλεκτική εφαρμογή των μυκητοκτόνων Switch (μίγμα cyprodinil και fludioxonil), Signum (μίγμα boscalid και pyraclostrobin), Chorus (Cyprodinil), Scala (Pyrimethanil) και Luna (μίγμα Fluopyram και Tebuconazole), σε προσβεβλημένους καρπούς αχλαδιών από το μύκητα *Penicillium expansum*, με σκοπό να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητά τους ενάντια στο παθογόνο. Εν συνεχεία, ακολούθησε χρωματογραφική ανάλυση στα δείγματα των αχλαδιών, με σκοπό την παρακολούθηση των υπολειμμάτων των μυκητοκτόνων στους καρπούς.

Το πειραματικό μέρος της παρούσας διατριβής, όπως περιγράφηκε προηγουμένως, αποτελείται από τα εξής δύο στάδια:

- I. Εκτίμηση της έντασης της ασθένειας «Κυανή σήψη» στους καρπούς, για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των μυκητοκτόνων ενάντια στον μύκητα *Penicillium expansum*.
- II. Παρακολούθηση των υπολειμμάτων των μυκητοκτόνων στους καρπούς.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

---

### 2.1 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αχλαδιών

Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκαν 180 καρποί αχλαδιών ποικιλίας *Κρυστάλλι*, οι οποίοι αγοράστηκαν από τον Αγροτικό Συνεταιρισμό Ζαγοράς Πηλίου, με το εμπορικό σήμα «Ζαγορίν». Τα αχλάδια μεταφέρθηκαν σε κοινό ψυγείο με θερμοκρασία συντήρησης στους 1-2,5 °C και σχετική υγρασία: 85-95%. Τα κριτήρια επιλογής των αχλαδιών αφορούσαν το ομοιόμορφο μέγεθος και χρώμα, την απουσία φυσιολογικών ανωμαλιών καθώς και μυκητολογικών, εντομολογικών και άλλων προσβολών.

#### 2.1.1 Διαστάσεις αχλαδιών

Όπως προαναφέρθηκε, επιλέγησαν καρποί ομοιογενείς στο μέγεθος τους, με στόχο την ακριβέστερη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Στην αρχή του πειράματος, και μετά από ένα μήνα συντήρησης των καρπών σε θερμοκρασία 1-2,5 °C και Σ.Υ.: 85-95%, μετρήθηκε το ύψος και η διάμετρος 10 αχλαδιών με τη χρήση παχύμετρου, με σκοπό να υπολογισθεί ο μέσος όρος των συγκεκριμένων διαστάσεων. Το ύψος μετρήθηκε από τον κάλυκα μέχρι τον ποδίσκο και η διάμετρος μετρήθηκε στον ισημερινό του καρπού.

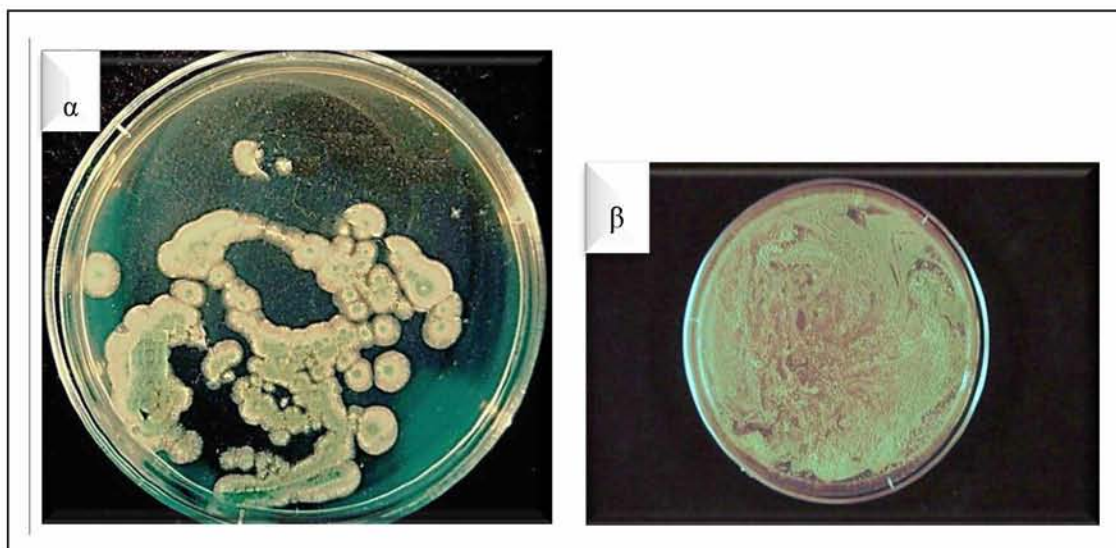
#### 2.1.2 Σκληρότητα σάρκας αχλαδιών

Η μέτρηση της σκληρότητας της σάρκας των αχλαδιών έγινε στο Εργαστήριο Δενδροκομίας. Χρησιμοποιήθηκε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα 10 αχλαδιών. Η μέτρηση έγινε στην αρχή του πειράματος, μετά από 2 μήνες συντήρησης σε θερμοκρασία 1-2,5 °C και Σ.Υ.: 85-95%. Η μέτρηση έγινε χρησιμοποιώντας ψηφιακό πενετρόμετρο καρπών, εφοδιασμένο με κύλινδρο διάτρησης διαμέτρου 9 mm.

## 2.2 Απομόνωση του μύκητα σε καθαρή καλλιέργεια

Για την απομόνωση και την καλλιέργεια του μύκητα χρησιμοποιήθηκε PDA (Potato Dextrose Agar), ως θρεπτικό υπόστρωμα, με βασικό συστατικό το ζωμό πατάτας.

Επιλέχθηκε καρπός αχλαδιού που παρουσίαζε συμπτώματα κυανής σήψης και είχε τη χαρακτηριστική εξάνθιση του παθογόνου στο κέντρο της κηλίδας σήψης. Η απομόνωση του παθογόνου έγινε με τη βοήθεια αποστειρωμένου βακτηριολογικού κρίκου, όπου μετά από επαφή του σε καρποφορίες του παθογόνου (που ήταν στο κέντρο της κηλίδας σήψης), ομάδα κονιδίων μεταφέρθηκε σε τρυβλίο Petri με θρεπτικό υπόστρωμα PDA, όπου έγινε διασπορά τους με τη διαδικασία του streaking. Στη συνέχεια, η διαδικασία επαναλήφθηκε ώστε να παραχθούν αποικίες από μεμονωμένα κονίδια (εικ. 15α). Οι αποικίες μεταφέρθηκαν εκ νέου σε νέα τρυβλία Petri με υλικό PDA και αυτές χαρακτηρίστηκαν ως μονόσπορες απομονώσεις, διότι προέρχονται από ένα σπόριο. Το δείγμα με τις μονόσπορες απομονώσεις στο τρυβλίο ονομάστηκε Rex 1ss (εικ. 15β).



Εικ. 15. α) Μονόσπορες αποικίες του μύκητα *Penicillium expansum* β) Δείγμα Rex 1s

## 2.3 Παραγωγή μολύσματος για τεχνητή μόλυνση αχλαδιών

Με τη χρήση μηχανικής πιπέτας προστέθηκαν 5 mL απιονισμένου – αποστειρωμένου νερού στην επιφάνεια του τρυβλίου Petri του δείγματος Rex 1ss. Χρησιμοποιώντας αποστειρωμένο βακτηριολογικό κρίκο, αποξέστηκε όλη η εναέρια αποικία του μύκητα. Το αιώρημα μεταφέρθηκε σε κωνική φιάλη όγκου 100 mL, με τη χρήση πιπέτας Pasteur. Η συγκέντρωση των κονιδίων του μύκητα στο αιώρημα της τεχνητής μόλυνσης μετρήθηκε σε αιματοκυτταρόμετρο Neubauer.

Με τη χρήση πιπέτας Pasteur, τοποθετήθηκε μία σταγόνα διαλύματος σε κάθε σταυρό του αιματοκυτταρόμετρου. Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των κονιδίων, μετρήθηκαν τα σπόρια σε κάθε σταυρό του αιματοκυτταρόμετρου και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε ο συγκεκριμένος μαθηματικός τύπος (Waller *et al.*, 1998):

$$\frac{\text{Σύνολο σπορίων πάνω σταυρού} + \text{Σύνολο σπορίων κάτω σταυρού}}{2} \times 10^4 L^{-1}.$$

Για να επιτευχθεί η επιθυμητή συγκέντρωση κονιδίων, το αιώρημα αραιώθηκε με προσθήκη απιονισμένου – αποστειρωμένου νερού. Η τελική συγκέντρωση ήταν:  $0.85 \times 10^7 L^{-1}$ , αριθμός που προσεγγίζει αρκετά τη συγκέντρωση κονιδίων ανάλογων πειραμάτων, η οποία είναι:  $1 \times 10^7 L^{-1}$  (Sugar και Basile, 2008). Ο τελικός όγκος του αιωρήματος που προέκυψε με την αραιώση ήταν 60 mL και μεταφέρθηκε σε ψεκαστήρα χειρός, χωρητικότητας 100 mL.

## 2.4 Τεχνητές μολύνσεις αχλαδιών με κονίδια του μύκητα *Penicillium expansum*

Για τις τεχνητές μολύνσεις, τα αχλάδια μεταφέρθηκαν εκτός ψυκτικού θαλάμου, όπου συντηρούνταν για 2 μήνες, όπως προαναφέρθηκε, με θερμοκρασία 1-2,5 °C και Σ.Υ.: 85-95%. Αφού πετάχθηκαν όσα αχλάδια εμφάνισαν φυσιολογικές ανωμαλίες και μετασυλλεκτικές σήψεις κατά τη συντήρηση, έμειναν 169.

Πριν τις τεχνητές μολύνσεις, οι καρποί πλύθηκαν με νερό βρύσης και στη συνέχεια ακολούθησε απολύμανση της επιφάνειάς τους σε διάλυμα υποχλωριώδους

νατρίου (ClNaO), συγκέντρωσης 0.05% ο/ο, για 2 λεπτά. Εν συνεχεία, οι καρποί ξεπλύθηκαν με νερό βρύσης και αφέθηκαν να στεγνώσουν.

Για τον τραυματισμό των καρπών χρησιμοποιήθηκε βίδα στήριξης, ώστε να προκληθούν 3 πληγές ανά καρπό, με διαστάσεις 2×3 mm. Μεταξύ των πληγών, η βίδα αποστειρώνονταν σε φλόγα εργαστηριακού λύχνου.

Η τεχνητή μόλυνση των καρπών έγινε με απευθείας ψεκασμό του αιωρήματος των κονιδίων σε κάθε πληγή μέχρι πλήρη διαβροχή, με ψεκαστήρα χειρός. Αρχικά, 4 καρποί ψεκάστηκαν με νερό και κρατήθηκαν ως αρνητικοί μάρτυρες (Πίνακας 8). Εν συνεχεία, 45 καρποί ψεκάστηκαν με αιώρημα κονιδίων *Penicillium expansum*, συγκέντρωσης  $0.85 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$ , από τους οποίους οι 5 κρατήθηκαν ως θετικοί μάρτυρες (Πίνακας 8). Τέλος, οι υπόλοιποι 40 καρποί αφέθηκαν να στεγνώσουν για 3 ώρες, ώστε να ακολουθήσει η εμβάπτισή τους σε επιλεγμένα μυκητοκτόνα.

## 2.5 Εφαρμογή μυκητοκτόνων

### 2.5.1 Επιλογή δραστικών ουσιών

Η επιλογή των δραστικών ουσιών του πειράματος έγινε βάση αναζήτησης της διεθνούς βιβλιογραφίας. Το κριτήριο επιλογής των δραστικών ήταν ο βαθμός της αποτελεσματικότητας της κάθε ουσίας στην αντιμετώπιση της κυανής σήψης, στους καρπούς των μηλοειδών.

Ενδιαφέρον ως προς τη μυκοτοξική τους δράση παρουσιάζουν οι δραστικές ουσίες fludioxonil και pyrimethanil, σύμφωνα με εργασία στην οποία χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεκριμένες δραστικές. Συγκεκριμένα, έγινε μετασυσλλεκτική εφαρμογή των μυκητοκτόνων Scholar 50W (fludioxonil), με δόση 0,6 g/L (0,3 g/L συγκέντρωση δραστικής ουσίας) και Penbotec 400SC (pyrimethanil) με δόση 2,5 mL/L (1 g/L συγκέντρωση δραστικής ουσίας), σε αχλάδια στα οποία είχε γίνει τεχνητή μόλυνση με κονίδια του μύκητα *Penicillium expansum*, μία εβδομάδα μετά τη συγκομιδή και παραμονή τους στη συντήρηση, στους 0 °C. Η εφαρμογή των μυκητοκτόνων έγινε στις 0, 1, 2, 7, 14 και 21 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έγινε μετά από δύο μήνες συντήρησης των αχλαδιών στους 0 °C (Sugar και Basile, 2008).



Η δραστική ουσία fludioxonil παρουσίασε ικανοποιητική μυκοτοξική δράση σε εργασία που πραγματοποιήθηκαν πειράματα *in vitro*, όπου μετρήθηκε η σποριοποίηση του μύκητα *Penicillium expansum* και η διάμετρος της αποικίας των κονιδίων του, αλλά και *in vivo*, με εφαρμογή της ουσίας σε μήλα ποικιλίας *Empire* και *Gala*. Η τεχνητή μόλυνση στα μήλα με τα κονίδια του μύκητα και η εφαρμογή της ουσίας έγινε την ίδια μέρα και τα μήλα παρέμειναν σε θερμοκρασία 20 °C, για 6 μέρες. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η δραστική ουσία fludioxonil παρουσιάζει αποτελεσματική δράση ενάντια στο μύκητα *Penicillium expansum* και κρίνεται ικανή για μετασυλλεκτική χρήση σε μήλα (Errampalli, 2004).

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει ακόμη μία εργασία που δείχνει την αποτελεσματικότητα της δραστικής ουσίας fludioxonil, όσον αφορά την αντιμετώπιση της ασθένειας «Κυανή σήψη». Αχλάδια ποικιλίας *Bosc* μεταφέρθηκαν σε ψυγεία για 1-2 εβδομάδες, στους 0-2 °C, αμέσως μετά τη συγκομιδή τους. Εν συνεχεία, έγινε τεχνητή μόλυνση των αχλαδιών με κονίδια του μύκητα *Penicillium expansum* και την ίδια ημέρα έγινε και η εφαρμογή της δραστικής ουσίας. Ένα μέρος των αχλαδιών μεταφέρθηκε σε ψυκτικό θάλαμο, στους 0 °C και τα υπόλοιπα αχλάδια συντηρήθηκαν σε ψυγεία με Ελεγχόμενη Ατμόσφαιρα, με μέση θερμοκρασία τους 2 °C. Η εφαρμογή της δραστικής ουσίας fludioxonil στη μέγιστη δόση (600 µg/mL) έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα για χρονικό διάστημα 100 ημερών συντήρησης των αχλαδιών σε ψυκτικό θάλαμο στους 0 °C, καθώς και για τα αχλάδια που συντηρήθηκαν σε ψυγεία με Ελεγχόμενη Ατμόσφαιρα, για χρονικό διάστημα 4,5 μηνών (Errampalli *et al.*, 2007).

Σε άλλη εργασία, έγινε αξιολόγηση της δράσης των ουσιών pyrimethanil και fludioxonil, ενάντια στο μύκητα *Penicillium expansum*, καθώς και παρακολούθηση των υπολειμμάτων τους στους καρπούς. Καταρχήν, έγινε μετασυλλεκτική εφαρμογή των παραπάνω δραστικών ουσιών σε μήλα ποικιλίας *Delicious* και ακολούθησε συντήρησή τους σε ψυγεία με ελεγχόμενη ατμόσφαιρα, στους 0 °C, για 5-7 μήνες. Εν συνεχεία, στον 5<sup>ο</sup> μήνα, έγινε τεχνητή μόλυνση μίας παρτίδας μήλων με σπόρια του παθογόνου και οι καρποί μεταφέρθηκαν στη συντήρηση για 8 εβδομάδες, στους 0 °C. Μετά τις 8 εβδομάδες, τα μήλα αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου, για μία εβδομάδα. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε και για τα υπόλοιπα μήλα, στον 7<sup>ο</sup> μήνα συντήρησής τους. Η αξιολόγηση της δράσης των ουσιών έγινε 4 ημέρες μετά την

τεχνητή μόλυνση των καρπών. Τα μήλα στα οποία εφαρμόστηκε η δραστική ουσία pyrimethanil παρουσίασαν συμπτώματα «Κυανής σήψης» σε ποσοστό 0-4%, ενώ το ποσοστό για την ουσία fludioxonil κυμάνθηκε μεταξύ 0-26%. Η συγκέντρωση των υπολειμμάτων των δραστικών ουσιών ήταν σταθερή κατά τη διάρκεια των 5 και 7 μηνών συντήρησης, αντίστοιχα και η έρευνα συμπεραίνει ότι η μυκοτοξική δράση των δύο ουσιών μπορεί να διαρκέσει τουλάχιστον 7 μήνες, σε κατάλληλες συνθήκες συντήρησης για μήλα (Xiao και Boal, 2009b).

Το μίγμα των δραστικών ουσιών boscalid και pyraclostrobin που περιέχεται στο μυκητοκτόνο Pristine, εφαρμόστηκε προσυλλεκτικά σε μήλα, σε εργασία όπου αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου μίγματος στην αντιμετώπιση της ασθένειας «Κυανή σήψη». Η εφαρμογή έγινε σε μηλιές ποικιλίας *Fuji* και *Red Delicious*, 1, 7 ή 14 ημέρες πριν τη συγκομιδή. Μετά τη συγκομιδή ακολούθησε τεχνητή μόλυνση των καρπών με κονίδια του μύκητα *Penicillium expansum* και η αξιολόγηση της έντασης της ασθένειας έγινε μετά από 8 ή 12 εβδομάδες συντήρησης των μήλων, στους 0 °C. Η αποτελεσματικότητα του μίγματος στα μήλα της ποικιλίας *Fuji*, ήταν ίδια, τόσο όταν εφαρμόστηκε στη μία όσο και στις επτά ημέρες πριν τη συγκομιδή (ποσοστό σήψης 6% και 22% αντίστοιχα). Η εφαρμογή του μίγματος σε μήλα της ποικιλίας *Red Delicious*, 7 και 14 ημέρες πριν τη συγκομιδή τους, επίσης παρουσίασε ίδια αποτελεσματικότητα (ποσοστό σήψης 30% και 59% αντίστοιχα). Τα αποτελέσματα της εργασίας δείχνουν ικανοποιητικά αποτελέσματα όταν το μίγμα εφαρμόζεται προσυλλεκτικά, μέσα σε χρονικό διάστημα 2 εβδομάδων πριν τη συγκομιδή. Ένα ακόμη στοιχείο της συγκεκριμένης έρευνας είναι ότι βρέθηκαν υπολείμματα του μυκητοκτόνου Pristine στα μήλα, ακόμη και 5 μήνες μετά την εφαρμογή του και αναφέρεται ότι το μυκητοκτόνο μπορεί να διεισδύσει στην επιδερμίδα ακόμα και στη σάρκα του καρπού, ως ένα βαθμό, όμως η προσκόλληση, διείσδυση και υπολειμματικότητα του μυκητοκτόνου εξαρτάται από τη θερμοκρασία καθώς και άλλες περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν από τη στιγμή της εφαρμογής του μέχρι τη συγκομιδή των καρπών (Xiao και Boal, 2009a).

Σε μία εργασία όπου μελετήθηκε η ευαισθησία ορισμένων απομονώσεων του παθογόνου *Penicillium expansum* σε διάφορες δραστικές, βρέθηκε ότι οι ουσίες fludioxonil και cyprodinil ήταν πιο αποτελεσματικές σε σχέση με τις υπόλοιπες, όσον αφορά τη δράση τους ενάντια στο παθογόνο ( $EC_{50}$  για fludioxonil: 0,08 µg/mL και  $EC_{50}$  για cyprodinil: 0,55 µg/mL (Karaoglanidis *et al.*, 2011).

Οι δραστικές ουσίες boscalid και cyprodinil εφαρμόστηκαν μετασυλλεκτικά σε μήλα ποικιλίας *Golden delicious*. Στην εργασία, μεταξύ άλλων, μελετήθηκε και η δράση των ουσιών ενάντια στο μύκητα *Penicillium expansum*, τόσο στη μέγιστη όσο και στην ελάχιστη δόση εφαρμογής τους. Προηγήθηκε η τεχνητή μόλυνση των καρπών με κονίδια του μύκητα *Penicillium expansum* και στη συνέχεια τα μήλα διατηρήθηκαν στους 21 °C, για 7 ημέρες. Η αξιολόγηση της έντασης της ασθένειας έγινε στις 4 και στις 7 ημέρες. Βρέθηκε ότι και οι δύο ουσίες ήταν αποτελεσματικές, μέχρι και την 4<sup>η</sup> ημέρα. Την 7<sup>η</sup> ημέρα, μόνο η ουσία cyprodinil παρουσίασε αποτελεσματικότητα, όταν εφαρμόστηκε στη μέγιστη δόση (Lima *et al.*, 2011).

Τέλος, σε άρθρο ανασκόπησης, αναφέρεται η αποτελεσματικότητα των δραστικών ουσιών boscalid, fludioxonil, pyraclostrobin και pyrimethanil στην αντιμετώπιση της ασθένειας «Κυανή σήψη», σε μήλα (Xiao και Kim, 2010).

Αξίζει να αναφερθεί ότι στα πλαίσια του πειράματος της παρούσας διατριβής δοκιμάστηκαν κι άλλες δραστικές ουσίες, σε ένα προπαρασκευαστικό πείραμα μικρότερης κλίμακας, οι οποίες είχαν μηδενική αποτελεσματικότητα.

Οι δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα, είναι οι εξής:

1. Cyprodinil.
2. Μίγμα Fluopyram και Tebuconazole, σε αναλογία 1/1.
3. Μίγμα Boscalid και Pyraclostrobin, σε αναλογία 4/1.
4. Μίγμα Cyprodinil και Fludioxonil, σε αναλογία 3/2.
5. Pyrimethanil.

Στον Πίνακα 7, παρουσιάζονται τα εμπορικά ονόματα των μυκητοκτόνων σκευασμάτων που περιέχουν τις δραστικές ουσίες, η χημική ομάδα στην οποία ανήκουν οι ουσίες και οι καλλιέργειες για τις οποίες έχουν εγκεκριμένη χρήση από το Υπουργείο Ανάπτυξης και Τροφίμων, για το έτος 2014.

**Πίνακας 7.** Μυκητοκτόνα φάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος.

<b>Εμπορική Ονομασία/ Εταιρεία</b>	<b>Δραστικές Ουσίες</b>	<b>Χημική Ομάδα</b>	<b>Καλλιέργειες / Προσυλλεκτική εφαρμογή</b>
<b>Signum</b> 26.7/6.7 WG BASF Ελλάς ABEE	Boscalid 26.7% β/β + Pyraclostrobin 6.7% β/β	(SDHIs – αναστολείς σουκινικής αφυδρογονάσης) Καρβοξαμίδικά + (QoIs – εξωτερικοί αναστολείς κίνησης) Μεθοξυκαρβαμίδικά	Ακρόδρυα, λαχανικά, πυρηνόκαρπα, ψυχανθή
<b>Chorus 50</b> WG Syngenta Ελλάς AEBE	Cyprodinil 50% β/β	AP, Ανυλινοπυριμιδίνες	Μηλοειδή, πυρηνόκαρπα
<b>Luna Experience</b> SC Bayer Ελλάς ABEE	Fluopyram 20% β/ο + Tebuconazole 20% β/ο	(SDHIs – αναστολείς σουκινικής αφυδρογονάσης) Πυριδινίλο-αιθυλο-βενζαμίδια + (DMIs – αναστολείς απομεθυλίωσης) Τριαζόλες	Αμπέλι, λαχανικά, μηλοειδή, πυρηνόκαρπα
<b>Switch</b> 25/37.5 WG Syngenta Ελλάς AEBE	Cyprodinil 37.5% β/β + Fludioxonil 25% β/β	AP + PPs, Ανυλινοπυριμιδίνες + Φαινυλοπυρρόλες	Αμπέλι, βιομ/κα & αρωματικά φυτά, καλλωπιστικά, λαχανικά, μηλοειδή, όσπρια, πυρηνόκαρπα, ψυχανθή
<b>Scala 40 SC</b> BASF Ελλάς ABEE	Pyrimethanil 40% β/ο	(Παρεμποδιστές ενζύμων παθογένειας) Ανυλινοπυριμιδίνες	Αμπέλι, λαχανικά, μηλοειδή

Πηγή: Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2014.

### 2.5.2 Εμβάπτιση αχλαδιών σε μυκητοκτόνα

Έγινε εμβάπτιση 120 υγιών αχλαδιών σε απιονισμένο – αποστειρωμένο νερό και εν συνεχεία στα αντίστοιχα μυκητοκτόνα, σε συγκεκριμένες δόσεις (Πίνακας 9). Από τα 120 αχλάδια, τα 20 κρατήθηκαν ως αρνητικοί μάρτυρες και τα υπόλοιπα 100 χρησιμοποιήθηκαν ως δείγματα στην χρωματογραφική ανάλυση, για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των μυκητοκτόνων. Εν συνεχεία, ακολούθησε η εμβάπτιση των 40 αχλαδιών της τεχνητής μόλυνσης, στα αντίστοιχα μυκητοκτόνα

(εφαρμογές) (Πίνακας 8). Τέλος, οι καρποί αφέθηκαν να στεγνώσουν και τελικά μεταφέρθηκαν σε ψυκτικό θάλαμο, όπου παρέμειναν για δύο μήνες, μέχρι να ακολουθήσει η εκτίμηση της έντασης της ασθένειας, σε θερμοκρασία 1-2,5 °C και Σ.Υ.: 85-95%.

Στον Πίνακα 8 δίνονται συνολικά οι μεταχειρίσεις που πραγματοποιήθηκαν στους καρπούς, στο πειραματικό μέρος της παρούσας διατριβής.

**Πίνακας 8.** Μεταχειρίσεις και αριθμός καρπών ανά μεταχείριση.

Μεταχείριση	Αριθμός καρπών
<i>H<sub>2</sub>O</i> → <i>H<sub>2</sub>O</i>	4
<i>H<sub>2</sub>O</i> → <i>Pex 1ss</i>	5
<i>H<sub>2</sub>O</i> → <i>Signum</i>	24
<i>H<sub>2</sub>O</i> → <i>Chorus</i>	24
<i>H<sub>2</sub>O</i> → <i>Switch</i>	24
<i>H<sub>2</sub>O</i> → <i>Scala</i>	24
<i>H<sub>2</sub>O</i> → <i>Luna</i>	24
<i>Pex 1ss</i> → <i>Signum</i>	8
<i>Pex 1ss</i> → <i>Chorus</i>	8
<i>Pex 1ss</i> → <i>Switch</i>	8
<i>Pex 1ss</i> → <i>Scala</i>	8
<i>Pex 1ss</i> → <i>Luna</i>	8

## 2.6 Εκτίμηση της έντασης της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια

Η αξιολόγηση των μυκητοκτόνων έγινε με βάση την εκτίμηση της έντασης της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια. Σε αυτό το σημείο, είναι απαραίτητο να δοθούν ορισμοί, όσον αφορά την ένταση της ασθένειας και τον τρόπο με τον οποίο εκτιμάται.

Η ένταση της ασθένειας ορίζεται ως το μέγεθος της σπουδαιότητας μιας ασθένειας που εκφράζεται είτε με τη συχνότητα είτε με τη σοβαρότητα της ασθένειας. Η συχνότητα της ασθένειας ορίζεται ως η αναλογία ασθενών φυτών σε δεδομένο πληθυσμό, ασχέτως της σοβαρότητας. Η σοβαρότητα της ασθένειας ορίζεται ως η έκταση του φυτικού ιστού που είναι προσβεβλημένος από την

ασθένεια, η οποία εκφράζεται ως ποσοστό της συνολικής εκτάσεως του φυτικού ιστού (Zάχος *et al.*, 1984).

Μετά την πάροδο των δύο μηνών, οι καρποί μεταφέρθηκαν εκτός ψυκτικού θαλάμου για να εκτιμηθεί η ένταση της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια και έτσι να γίνει η αξιολόγηση της δράσης του κάθε μυκητοκτόνου. Για την εκτίμηση της έντασης της ασθένειας, υπολογίστηκαν οι εξής τρεις παράμετροι α) Το ποσοστό προσβολής στα αχλάδια β) το ποσοστό κηλίδων στα αχλάδια και γ) η διάμετρος της κηλίδας σήψης.

Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS (SPSS Inc. Released 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc). Για τον έλεγχο όλων των δυνατών συγκρίσεων των μέσων όρων σε κάθε επέμβαση, χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο Fisher (L.S.D.), σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05 ή 5%.

## **2.6.1 Συχνότητα της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια**

### **2.6.1.1 Ποσοστό προσβολής στα αχλάδια**

Υπολογίστηκε ο αριθμός των προσβεβλημένων καρπών σε κάθε μεταχείριση και η προσβολή στα αχλάδια εκφράστηκε ως ποσοστό των προσβεβλημένων καρπών επί του συνόλου των καρπών της κάθε μεταχείρισης.

### **2.6.1.2 Ποσοστό κηλίδων στα αχλάδια**

Μετρήθηκαν οι πληγές με σήψη (κηλίδες) σε κάθε προσβεβλημένο καρπό, όπου εμφανίστηκαν και η προσβολή στις πληγές εκφράστηκε ως ποσοστό κηλίδων επί του συνόλου των πληγών των καρπών της κάθε μεταχείρισης.

## 2.6.2 Σοβαρότητα της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια

### 2.6.2.1 Διάμετρος κηλίδας σήψης

Μετρήθηκαν η διαστάσεις των κηλίδων που είχαν αναπτυχθεί γύρω από κάθε πληγή. Συγκεκριμένα, με τη χρήση παχύμετρου, μετρήθηκε η μεγαλύτερη και η μικρότερη διάμετρος της κηλίδας, και η τιμή που υπολογίστηκε, εκφράστηκε σε mm, ως μέσος όρος των δύο μετρήσεων.

## 2.7 Παρακολούθηση των υπολειμμάτων στους καρπούς

Η παρακολούθηση της τύχης των μυκητοκτόνων πραγματοποιήθηκε με έλεγχο των υπολειμμάτων τους στα συντηρούμενα αχλάδια. Ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων των μυκητοκτόνων έγινε με την τεχνική της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) μετά από εκχύλιση με μίγμα διαλυτών.

Τα δείγματα που ελήφθησαν από τα συντηρούμενα αχλάδια, προέρχονταν από την εξής μεταχείριση:

- Εμβάπτιση σε H<sub>2</sub>O → Εμβάπτιση σε μυκητοκτόνο

Στον Πίνακα 9 δίνονται τα αναλυτικά στοιχεία όλων των εφαρμογών της παραπάνω μεταχείρισης, οι δραστικές ουσίες που περιέχονται στα μυκητοκτόνα, οι δόσεις που εφαρμόστηκαν καθώς και η συγκέντρωση των δραστικών ουσιών ανά εφαρμογή.

**Πίνακας 9.** Δόσεις μυκητοκτόνων και συγκεντρώσεις των δραστικών ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα.

Εμπορική Ονομασία	Δραστικές Ουσίες	Δόση μυκητοκτόνου σκευάσματος	Συγκέντρωση δραστικής ουσίας
Signum 26.7/6.7 WG	Boscalid + Pyraclostrobin	3 g/L	0.8 g/L + 0.2 g/L
Chorus 50 WG	Cyprodinil	1 g/L	0.5 g/L
Luna Experience SC	Fluopyram + Tebuconazole	0.75 mL/L	0.15 g/L + 0.15 g/L
Switch 25/37.5 WG	Cyprodinil + Fludioxonil	1.25 g/L	0.46 g/L + 0.31 g/L
Scala 40 SC	Pyrimethanil	2 mL/L	0.8 g/L

Η συντήρηση των αχλαδιών, όπως προαναφέρθηκε, έγινε σε ψυκτικό θάλαμο, σε θερμοκρασία 1-2,5 °C και Σ.Υ.: 85-95%. Κατά τη συντήρησή τους δεν υπήρξε καμία άλλη μετασυλλεκτική επεξεργασία.

Οι δειγματοληψίες, στα συντηρούμενα αχλάδια, γίνονταν σε τακτά χρονικά διαστήματα και ξεκίνησαν από τη στιγμή που μεταφέρθηκαν οι καρποί στον ψυκτικό θάλαμο (0 ημέρες). Συγκεκριμένα, οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν στις εξής ημέρες:

ΗΜΕΡΑ				
0η	3η	7η	21η	40η

Σε κάθε δειγματοληψία, τα δείγματα οδηγούνταν στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας. Εν συνεχεία, για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των μυκητοκτόνων, εφαρμόστηκαν οι διαχωριστικές αναλυτικές τεχνικές της εκχύλισης των δειγμάτων και της χρωματογραφίας. Πιο συγκεκριμένα, τα στάδια που ακολουθήθηκαν είναι:



1. Προετοιμασία αναλυτικού δείγματος
2. Εκχύλιση
3. Φυγοκέντρωση
4. Συμπύκνωση
5. Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα, αναφέρονται συντομογραφικά ως εξής:

- Μεθανόλη,  $\text{CH}_3\text{OH} \rightarrow \text{MeOH}$
- Ακετονιτρίλιο,  $\text{CH}_3\text{CN} \rightarrow \text{ACN}$
- Εξάνιο,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3 \rightarrow \text{Hx}$
- Οξικός αιθυλεστέρας,  $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3 \rightarrow \text{EtAc}$

Τέλος, τα αντιδραστήρια και οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια των αναλυτικών τεχνικών, αναφέρονται αναλυτικά στον Πίνακα 10.

**Πίνακας 10.** Διαλύτες και αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στις αναλυτικές τεχνικές της εκχύλισης και της χρωματογραφίας.

Διαλύτης	Εταιρεία
<b>MeOH</b> (methanol for HPLC) ≥99.9% καθαρότητα	SIGMA – ALDRICH, USA
<b>Νερό</b> (water for HPLC)	SIGMA – ALDRICH, USA
<b>ACN</b> (acetonitrile for HPLC, far UV)	SIGMA – ALDRICH, USA
<b>Hx</b> (hexane, Pesticide residue grade) 95% n-hexane	Fisher Chemical, UK
<b>EtAc</b> (ethyl acetate Pestiscan)	LAB – SCAN, Poland

### 2.7.1 Προετοιμασία αναλυτικού δείγματος

Από τη στιγμή που μεταφέρθηκε το αρχικό δείγμα στο εργαστήριο, αφού απομακρύνθηκαν οι ποδίσκοι των καρπών, το δείγμα τεμαχίστηκε και πολτοποιήθηκε σε εργαστηριακό κόπτη – ομογενοποιητή. Από το πολτοποιημένο δείγμα, ζυγίστηκαν 5 g σε γυάλινο σωλήνα φυγοκέντρωσης και οδηγήθηκαν προς εκχύλιση, ενώ η υπόλοιπη ποσότητα (50-70 g) μεταφέρθηκε σε αποστειρωμένο σακουλάκι, στο οποίο αναγράφονταν τα στοιχεία του δείγματος και αποθηκεύτηκε σε καταψύκτη, στους -21 °C, ως αντιδείγμα.

### 2.7.2 Εκχύλιση

Η εκχύλιση έγινε με μίγμα διαλυτών. Συγκεκριμένα, στο αναλυτικό δείγμα των 5 g, προστέθηκαν 10 mL μίγματος: EtAc / Hx, σε αναλογία 1/1 και ακολούθησε ομογενοποίηση σε ομογενοποιητή Ultra Turex (6.000 rpm) για 1 λεπτό.

### 2.7.3 Φυγοκέντρωση

Το προϊόν της εκχύλισης μεταφέρθηκε σε φυγόκεντρο (4.000 rpm), όπου έγινε φυγοκέντρωση του δείγματος για 10 λεπτά, με σκοπό να διαχωριστεί η στερεή φάση που περιέχει το φυτικό ιστό, από την υγρή φάση στην οποία περιέχονται οι δραστικές ουσίες και οι διαλύτες.

### 2.7.4 Συμπύκνωση

Από το υπερκείμενο υγρό του φυγοκεντρωθέντος δείγματος, ελήφθη ποσότητα εκχυλίσματος 4 mL και μεταφέρθηκε σε σφαιρική φιάλη. Εν συνεχεία, έγινε συμπύκνωση του εκχυλίσματος, μέχρι ξηρού σε περιστροφικό εξατμιστήρα (Rotary evaporator) υπό κενό, στους 40°C. Η επαναδιάλυση του υπολείμματος έγινε με προσθήκη 1mL διαλύματος MeOH/H<sub>2</sub>O σε αναλογία 7/3. Ακολούθησε φιλτράρισμα του επανασυσταθέντος εκχυλίσματος με Nylon φίλτρα σύριγγας 17mm,

0,45 µm (Titan 2 HPLC syringe filter green) και προέκυψε το τελικό ενέσιμο διάλυμα.

### 2.7.6 Χρωματογραφική ανάλυση

Για την ανάλυση και τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των δραστικών ουσιών boscalid, cyprodinil, pyrimethanil, fluopyram, pyraclostrobin, fludioxonil και tebuconazole, χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας τύπου Hewlett – Packard 1100 Series που αποτελείται από:

- ✓ Σύστημα έγχυσης με βρόγχο χωρητικότητας 20 µL.
- ✓ Χρωματογραφική στήλη (Nova Pak, Waters) με πληρωτικό υλικό C-18 μήκους 15 cm και διαμέτρου 3,9 mm.
- ✓ Ανιχνευτή απορρόφησης UV με καταγραφή ορισμένη στα:
  - 245 nm για fludioxonil και cyprodinil
  - 270 nm για boscalid, pyraclostrobin και pyrimethanil
  - 220 nm για fluopyram και tebuconazole
- ✓ Η καταγραφή και επεξεργασία του χρωματογραφικού σήματος έγινε με H/Y, με το πρόγραμμα HP-Chem της εταιρείας Hewlett – Packard.

Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βαθμωτή έκλυση (gradient elution) με δύο εκλουστικά μίγματα διαλυτών, ως εξής:

<b>Μίγμα</b>	<b>Αναλογία</b>
<b>MeOH/H<sub>2</sub>O</b>	<b>45 : 55</b>
<b>MeOH/ACN</b>	<b>50 : 50</b>

Η ροή της κινητής φάσης ήταν 1 mL/min. Η θερμοκρασία της στήλης διατηρήθηκε σταθερή στους 40°C. Ο συνολικός χρόνος της χρωματογραφικής ανάλυσης ήταν 22 λεπτά, στις ακόλουθες συνθήκες (Πίνακας 11):

**Πίνακας 11.** Βαθμιδωτή έκλυση χρωματογραφικής ανάλυσης.

Χρόνος (min)	MeOH/H <sub>2</sub> O	MeOH/ACN
0	100	0
3	100	0
4	80	20
7	80	20
10	60	40
18	60	40
20	100	0
22	100	0

### **Πρότυπα διαλύματα (stock solutions)**

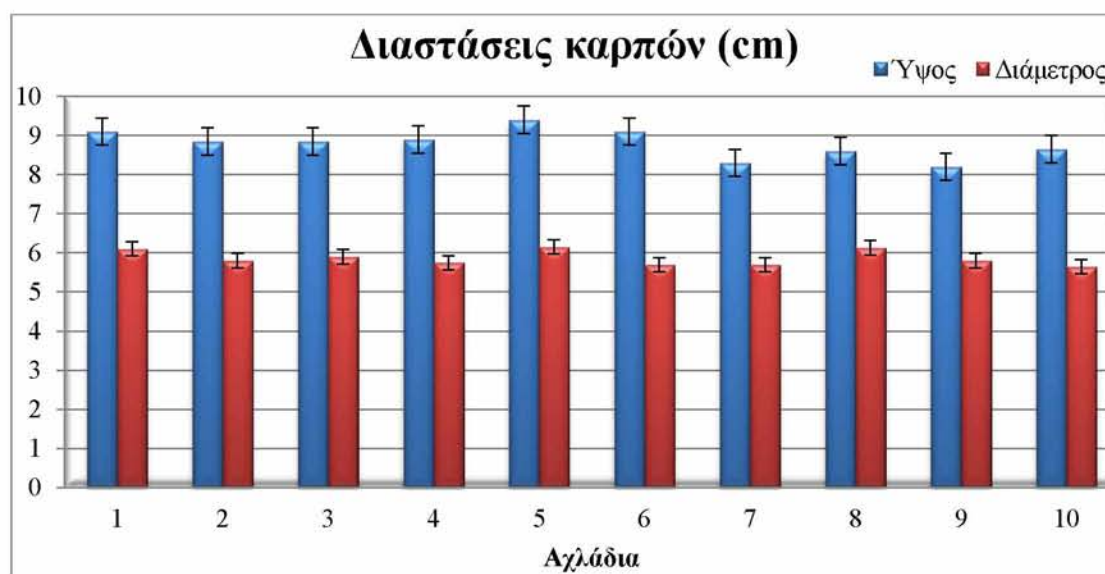
- Τα πρότυπα διαλύματα των δραστικών ουσιών boscalid, cyprodinil, pyrimethanil, fluopyram, pyraclostrobin, fludioxonil και tebuconazole, συγκέντρωσης 1000 mg/L το κάθε ένα, παρασκευάστηκαν σε μεθανόλη.
- Από τα πυκνά πρότυπα διαλύματα, παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα των παραπάνω ουσιών με συγκέντρωση 100 µg/mL. Επίσης παρασκευάστηκαν και 3 μικτά πρότυπα διαλύματα συγκέντρωσης 100 µg/mL, σε μεθανόλη.
- Από τα 3 μικτά πυκνά διαλύματα των 100 µg/mL παρασκευάστηκαν με διαδοχικές αραιώσεις διαλύματα συγκεντρώσεων 10 µg/mL, 4 µg/mL, 3 µg/mL, 2 µg/mL και από το μικτό διάλυμα των 10 µg/mL παρασκευάστηκαν διαλύματα συγκέντρωσης 0,25 µg/mL, 0,5 µg/mL και 1 µg/mL. Τα διαλύματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για τη βαθμονόμηση του χρωματογραφικού σήματος και για τον έλεγχο γραμμικότητάς του.

## 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 3.1 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αχλαδιών

#### 3.1.1 Διαστάσεις αχλαδιών

Η τυπική απόκλιση (Standard deviation) για τις διαφορετικές τιμές του ύψους των αχλαδιών είναι ίση με 0,35, ενώ για τις τιμές της διαμέτρου ισούται με 0,18. Αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών των διαστάσεων, δηλαδή οι καρποί που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα παρουσιάζουν ομοιογένεια ως προς τα ύψη αλλά και ως προς τις διαμέτρους τους. Στο Σχήμα 1 δίνεται η γραφική απεικόνιση των ανωτέρω αποτελεσμάτων.



**Σχήμα 1.** Τιμές ύψους και διαμέτρου 10 τυχαία επιλεγμένων αχλαδιών που χρησιμοποιήθηκαν ως αντιπροσωπευτικό δείγμα των συνολικών καρπών του πειράματος. Η τυπική απόκλιση των τιμών του ύψους είναι 0,35 και των τιμών της διαμέτρου είναι 0,18.

Το γεγονός ότι τα αχλάδια έχουν παρόμοιες διαστάσεις σημαίνει ότι η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του πειράματος έγινε με μεγαλύτερη ακρίβεια.

### 3.1.2 Σκληρότητα σάρκας αχλαδιών

Ο μέσος όρος δείκτη σκληρότητας σάρκας των καρπών που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα, μετά από 1 μήνα συντήρησης σε θερμοκρασία 1-2,5 °C και Σ.Υ.: 85-95%, ήταν ίσος με 40,59 N. Πρέπει να αναφερθεί ότι ο κανονικός βαθμός εμπορικής ωρίμανσης ενός αχλαδιού κυμαίνεται μεταξύ 61-72 N (Sugar και Basile, 2008).

### 3.2 Εκτίμηση της έντασης της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια

Η εκτίμηση της έντασης της ασθένειας στους καρπούς έγινε 2 μήνες μετά την εμφάνισή τους στα μυκητοκτόνα.

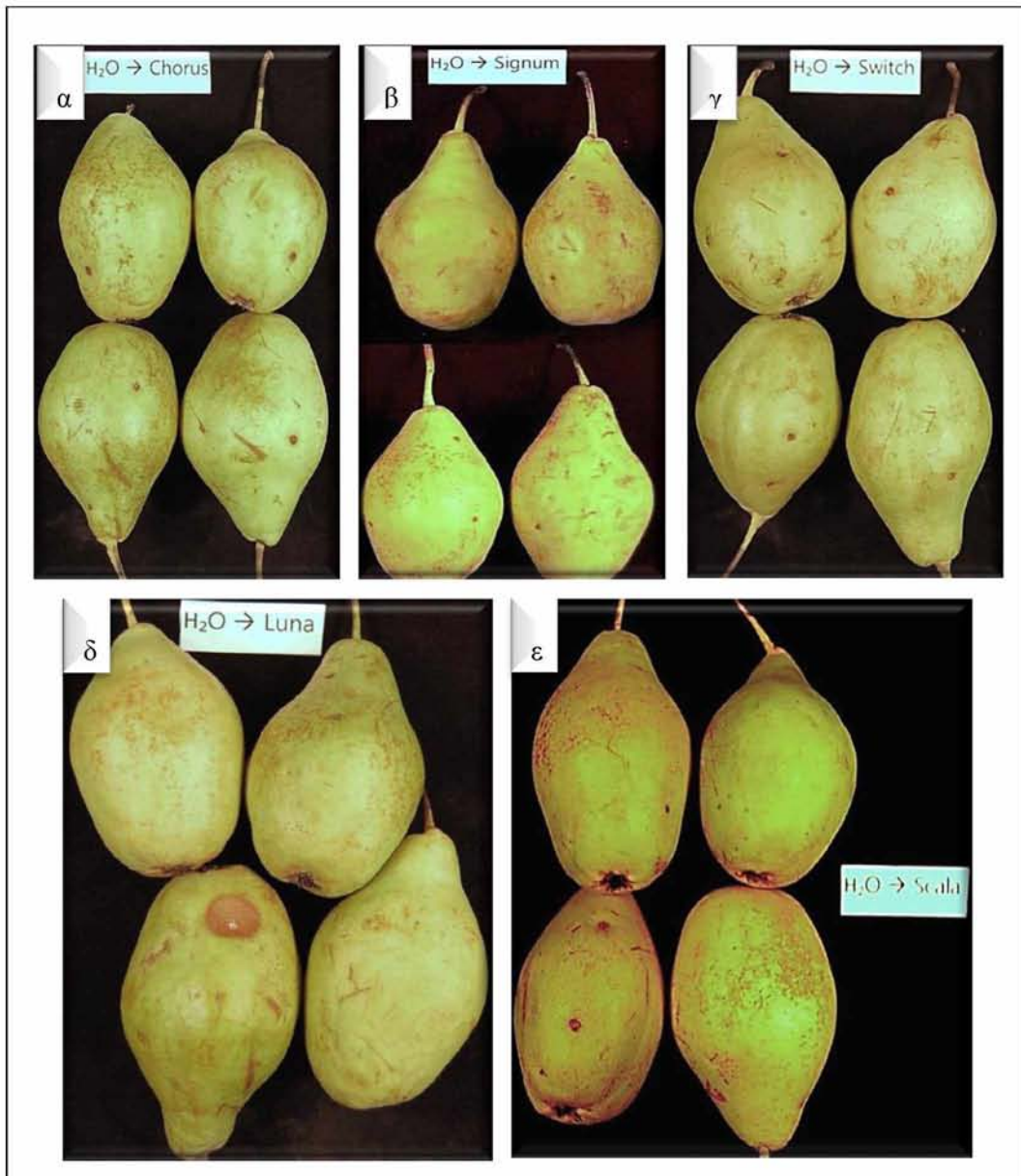
#### 3.2.1 Συχνότητα της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια

##### 3.2.1.1 Ποσοστό προσβολής στα αχλάδια

Στις εικόνες 16-18, φαίνεται το μέγεθος της προσβολής του μύκητα *Penicillium expansum* στους καρπούς των αχλαδιών, για κάθε μεταχείριση.



Εικ. 16. Προσβολή από *Penicillium expansum* στους μάρτυρες: α) H<sub>2</sub>O → Pex 1ss β) H<sub>2</sub>O → H<sub>2</sub>O



Εικ. 17. Προσβολή από *Penicillium expansum* στους μάρτυρες: α) H<sub>2</sub>O → CHORUS β) H<sub>2</sub>O → SIGNUM  
 γ) H<sub>2</sub>O → SWITCH δ) H<sub>2</sub>O → LUNA ε) H<sub>2</sub>O → SCALA



Εικ. 18. Προσβολή από *Penicillium expansum* στις εφαρμογές: α) Pex 1ss → LUNA β) Pex 1ss → CHORUS  
 γ) Pex 1ss → SIGNUM δ) Pex 1ss → SCALA ε) Pex 1ss → SWITCH





Εικ. 18 (συνέχεια). Προσβολή από *Penicillium expansum* στις εφαρμογές:

α) Pex 1ss → LUNA β) Pex 1ss → CHORUS γ) Pex 1ss → SIGNUM

δ) Pex 1ss → SCALA ε) Pex 1ss → SWITCH

Στον Πίνακα 12 δίνονται τα ποσοστά των προσβεβλημένων καρπών που παρουσίασαν σήψη από το μύκητα *Penicillium expansum*, επί του συνόλου των καρπών της κάθε μεταχείρισης του πειράματος.

### 3.2.1.2 Ποσοστό κηλίδων στα αχλάδια

Στον Πίνακα 12 δίνονται τα ποσοστά των κηλίδων που παρουσίασαν σήψη από το μύκητα *Penicillium expansum*, επί του συνόλου των πληγών των καρπών της κάθε μεταχείρισης του πειράματος.

**Πίνακας 12.** Ποσοστό επί τοις εκατό, των προσβεβλημένων καρπών και κηλίδων επί του συνόλου των πληγών των καρπών, για κάθε μεταχείριση του πειράματος. Οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, εντός της κάθε στήλης, δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher (L.S.D.) ( $P > 0,05$ ).

Μεταχείριση	Προσβεβλημένοι καρποί (%)	Ποσοστό κηλίδων ανά καρπό (%)
H2O --> H2O	0 a	0 a
H2O --> Pex	100 b	100 b
H2O --> SIGNUM	0 a	0 a
H2O --> CHORUS	0 a	0 a
H2O --> SWITCH	0 a	0 a
H2O --> LUNA	25 ac	8,3 a
H2O --> SCALA	0 a	0 a
Pex --> LUNA	100 b	100 b
Pex --> CHORUS	75 d	29,1 c
Pex --> SIGNUM	37,5 c	12,5 a
Pex --> SCALA	37,5 c	12,5 a
Pex --> SWITCH	12,5 a	4,1 a

### 3.2.2 Σοβαρότητα της ασθένειας «Κυανή σήψη» στα αχλάδια

#### 3.2.2.1 Διάμετρος κηλίδας σήψης

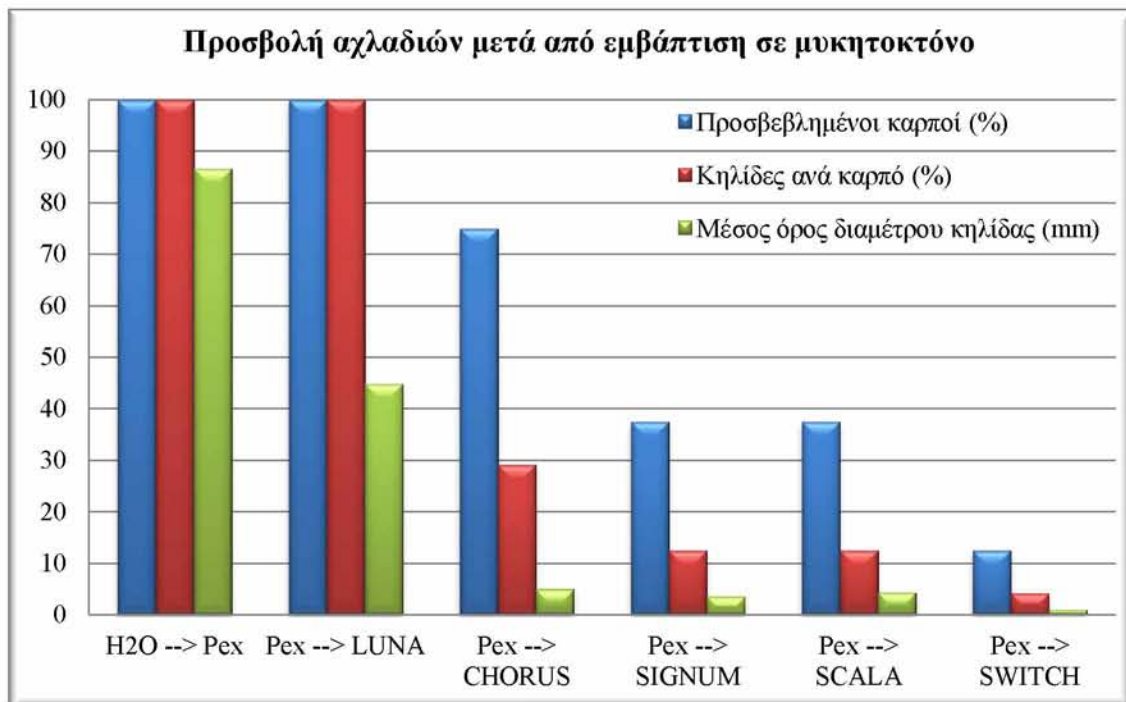
Στον Πίνακα 13 δίνονται οι μέσοι όροι των διαμέτρων των κηλίδων σήψεως, για κάθε μεταχείριση.

**Πίνακας 13.** Μέσος όρος διαμέτρου κηλίδας σήψης στα προσβεβλημένα αχλάδια, για κάθε μεταχείριση του πειράματος. Οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, εντός της κάθε στήλης, δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Fisher (L.S.D.) ( $P > 0,05$ ).

Μεταχείριση	Μέσος όρος Διαμέτρου (mm)
H2O --> H2O	0,0 a
H2O --> Pex	86,0 b
H2O --> SIGNUM	0,0 a
H2O --> CHORUS	0,0 a
H2O --> SWITCH	0,0 a
H2O --> LUNA	1,8 ac
H2O --> SCALA	0,0 a
Pex --> LUNA	44,0 d
Pex --> CHORUS	4,9 c
Pex --> SIGNUM	3,5 ac
Pex --> SCALA	4,3 ac
Pex --> SWITCH	1,0 a

Στη συνέχεια, δίνονται συγκεντρωτικά όλα τα ανωτέρω αποτελέσματα σε ένα γράφημα, όπου μπορούν να διεξαχθούν συμπεράσματα για την αξιολόγηση και σύγκριση μεταξύ των δραστικών ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα. Αναλυτικά, στο Σχήμα 2 δίνεται το ποσοστό των προσβεβλημένων καρπών και πλιγών, καθώς και ο μέσος όρος διαμέτρου των κηλίδων σήψεως των πλιγών, συγκεκριμένα για τη μεταχείριση:

- Τεχνητή μόλυνση με Pex 1ss → Εμβάπτιση σε μυκητοκτόνο



**Σχήμα 2.** Προσβεβλημένοι καρποί (%), κηλίδες σήψεως ανά καρπό (%) και μέσος όρος διαμέτρου κηλίδας σήψης ανά καρπό (%) για την εφαρμογή του πειράματος: Τεχνητή μόλυνση με Pex 1ss → Εμφύπτιση σε μυκητοκτόνο και σύγκριση με το μάρτυρα H<sub>2</sub>O → Pex 1ss.

Το κριτήριο που πρέπει να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της δράσης του κάθε μυκητοκτόνου, είναι το μέγεθος της προσβολής του παθογόνου στα αχλάδια. Όσο μεγαλύτερο είναι το μέγεθος της προσβολής στους καρπούς της συγκεκριμένης μεταχείρισης, τόσο μικρότερη είναι η αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου της συγκεκριμένης εφαρμογής.

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα, δίνεται η λίστα των δραστικών ουσιών, ξεκινώντας από τις ουσίες με τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και ακολουθώντας φθίνουσα κατάταξη:

- 1 • Fludioxonil (0.31 g L<sup>-1</sup>) + Cyprodinil (0.46 g L<sup>-1</sup>), ως SWITCH
- 2 • Boscalid (0.8 g L<sup>-1</sup>) + Pyraclostrobin (0.2 g L<sup>-1</sup>), ως SIGNUM
- 3 • Pyrimethanil (0.8 g L<sup>-1</sup>), ως SCALA
- 4 • Cyprodinil (0.5 g L<sup>-1</sup>), ως CHORUS
- 5 • Fluopyram (0.15 g L<sup>-1</sup>) + Tebuconazole (0.15 g L<sup>-1</sup>), ως LUNA

### 3.3 Χρωματογραφική ανάλυση

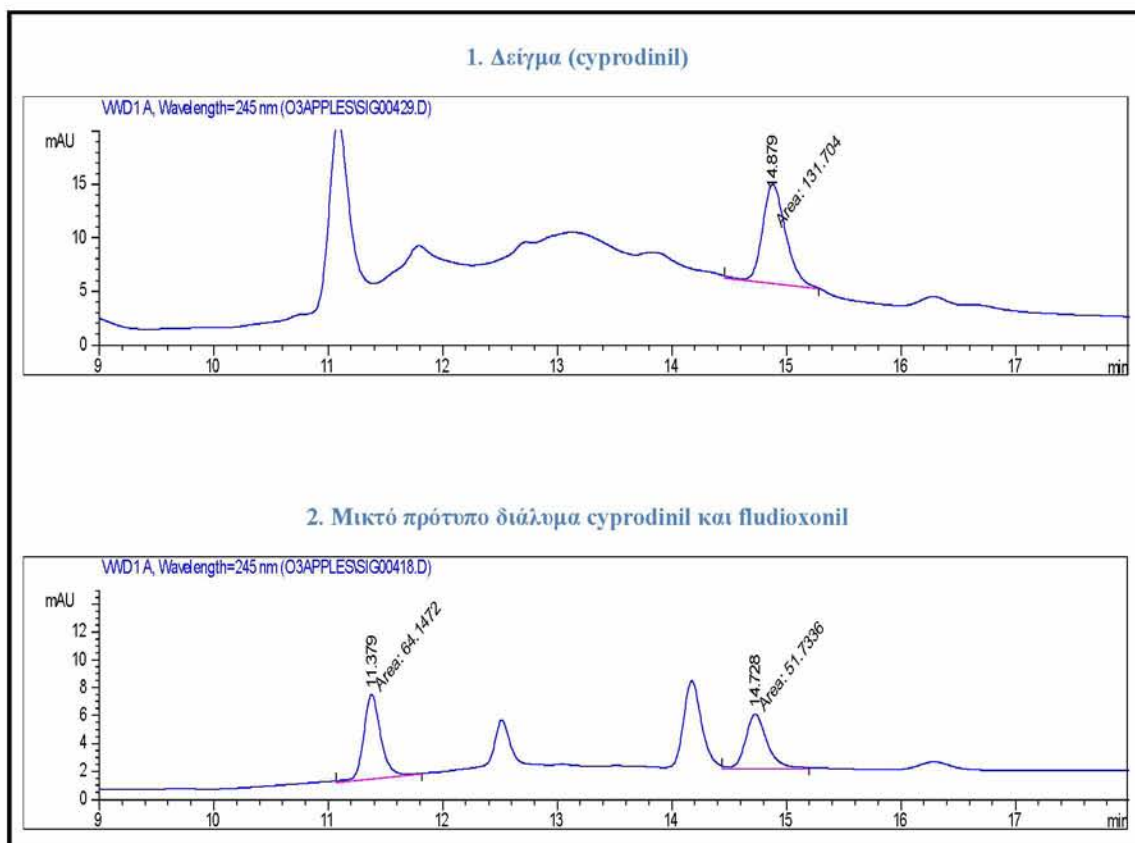
#### 3.3.1 Ποιοτικός προσδιορισμός

Η ταυτοποίηση των κορυφών των δραστικών ουσιών στα χρωματογραφήματα, έγινε με βάση το χρόνο κατακράτησής τους, όπως προέκυψε από τις εκχύσεις προτύπων διαλυμάτων.

Οι χρόνοι κατακράτησης των cyprodinil και fludioxonil είναι 11,4 min και 14,7 min αντίστοιχα, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.

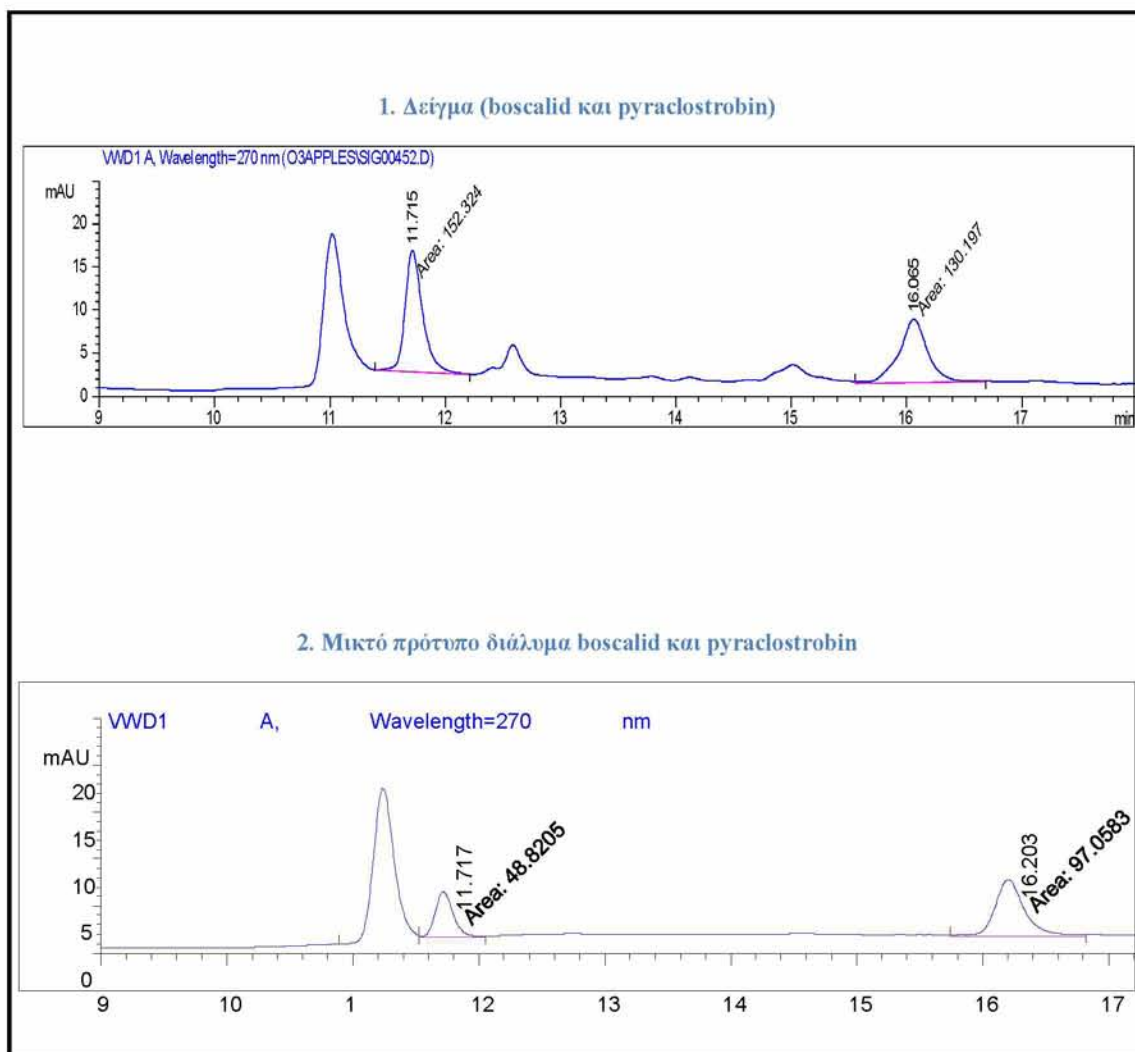
Οι χρόνοι κατακράτησης των boscalid και pyraclostrobin είναι 11,7 min και 16,1 min αντίστοιχα, όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.

Οι χρόνοι κατακράτησης των fluopyram, tebuconazole και pyrimethanil είναι 12,7 min, 15,6 min και 11,2 min, αντίστοιχα.



**Σχήμα 3.** Χρωματογραφήματα:

1. Εκχυλίσματος δείγματος αχλαδιών, 3 ημέρες μετά την εμφάνισή τους στο μυκητοκτόνο CHORUS
2. Μικτού πρότυπου διαλύματος fludioxonil και cyprodinil, συγκέντρωσης 1 µg/mL. Διακρίνονται οι κορυφές των fludioxonil (11,4) και cyprodinil (14,73).



**Σχήμα 4.** Χρωματογραφήματα:

1. Εκχυλίσματος δείγματος αχλαδιών, 3 ημέρες μετά την εμφάνισή τους στο μυκητοκτόνο SIGNUM
2. Μικτού πρότυπου διαλύματος boscalid και pyraclostrobin, συγκέντρωσης 1 µg/mL. Διακρίνονται οι κορυφές των boscalid (11,72) και pyraclostrobin (16,20).

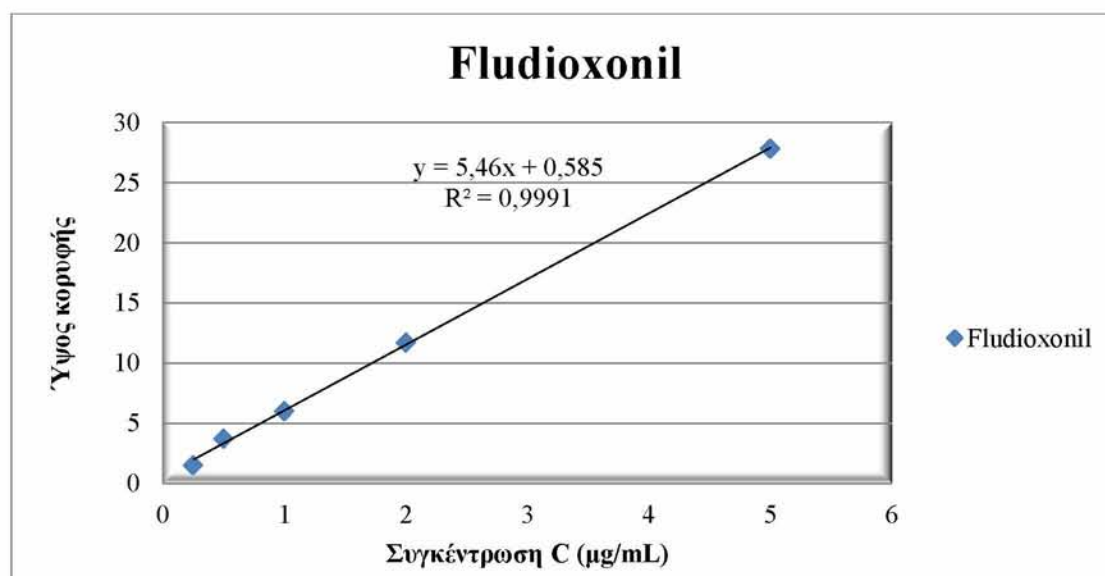
### 3.3.2 Ποσοτικός προσδιορισμός

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των μυκητοκτόνων στα δείγματα αχλαδιών έγινε με τη χρήση καμπύλης αναφοράς. Η καμπύλη αναφοράς για κάθε δραστική παρήχθη με τη χρήση μικτών προτύπων διαλυμάτων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Στα Σχήματα 5-11 δίνονται οι καμπύλες αναφοράς όλων των δραστικών ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα. Κάθε καμπύλη αναφοράς περιγράφεται από την εξίσωση  $Y = ax + b$ , όπου:

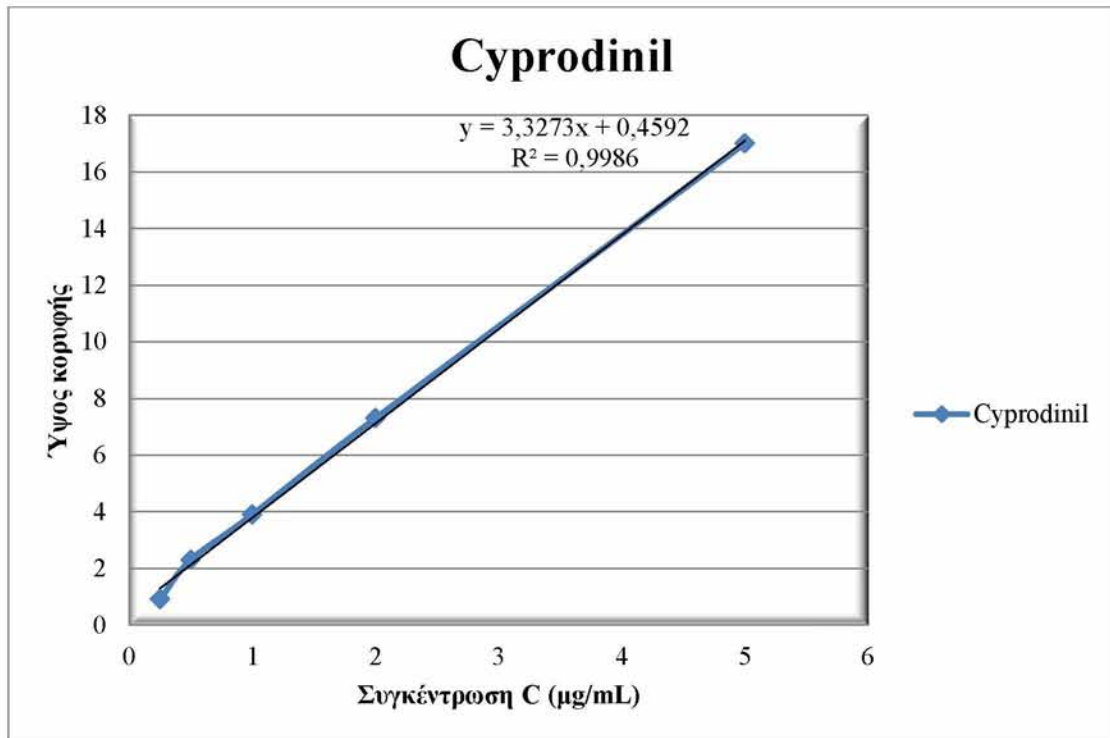
- Y: το ύψος της κορυφής της ουσίας στο χρωματογράφημα.
- x: η συγκέντρωση της ουσίας στα πρότυπα διαλύματα.
- a, b: σταθερές.

Στα Σχήματα 5-11 δίνονται επίσης οι εξισώσεις των ευθειών και οι αντίστοιχοι συντελεστές συσχέτισης. Οι τιμές των συντελεστών συσχέτισης είναι μεγαλύτερες του 0,99, που σημαίνει ότι επιβεβαιώνεται η γραμμικότητα του σήματος του ανιχνευτή.

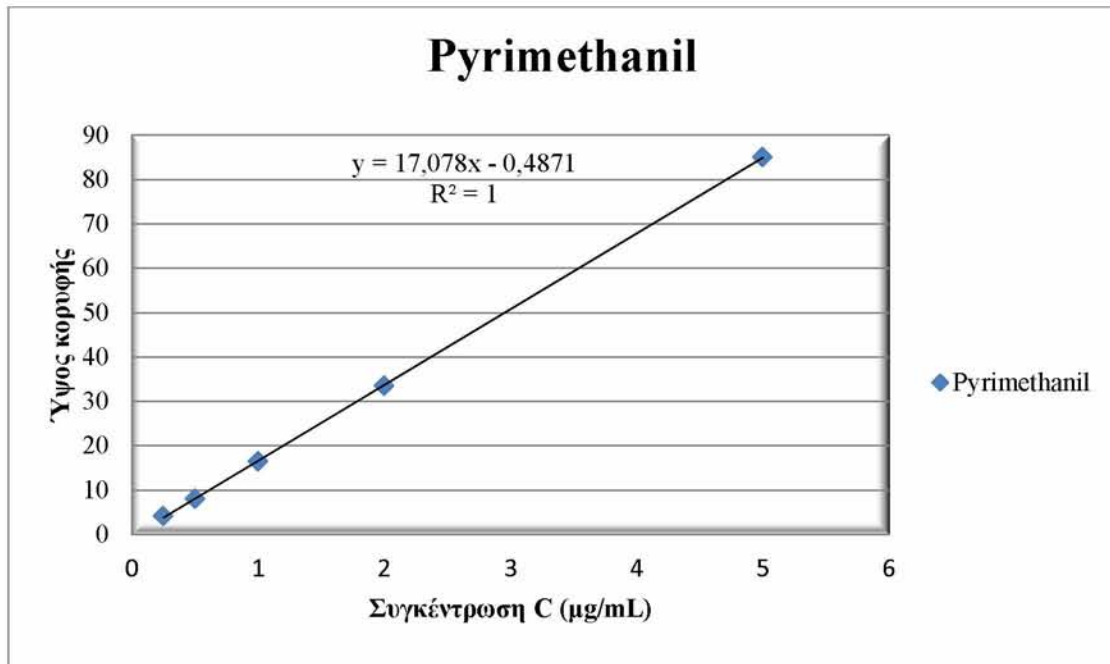


**Σχήμα 5.** Καμπύλη αναφοράς για τη δραστική ουσία Fludioxonil

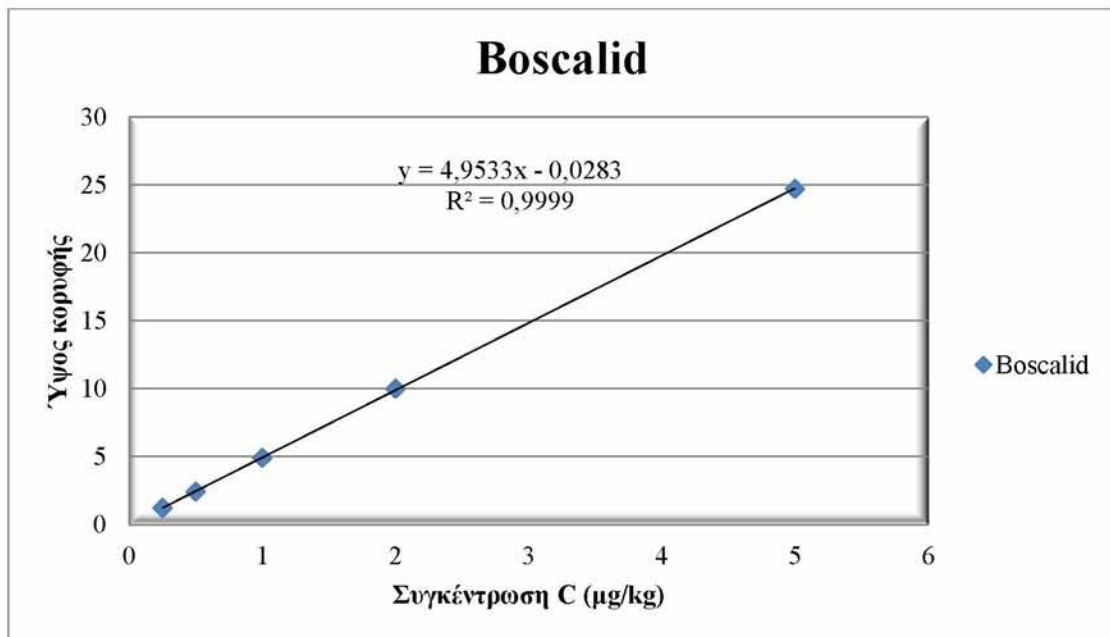




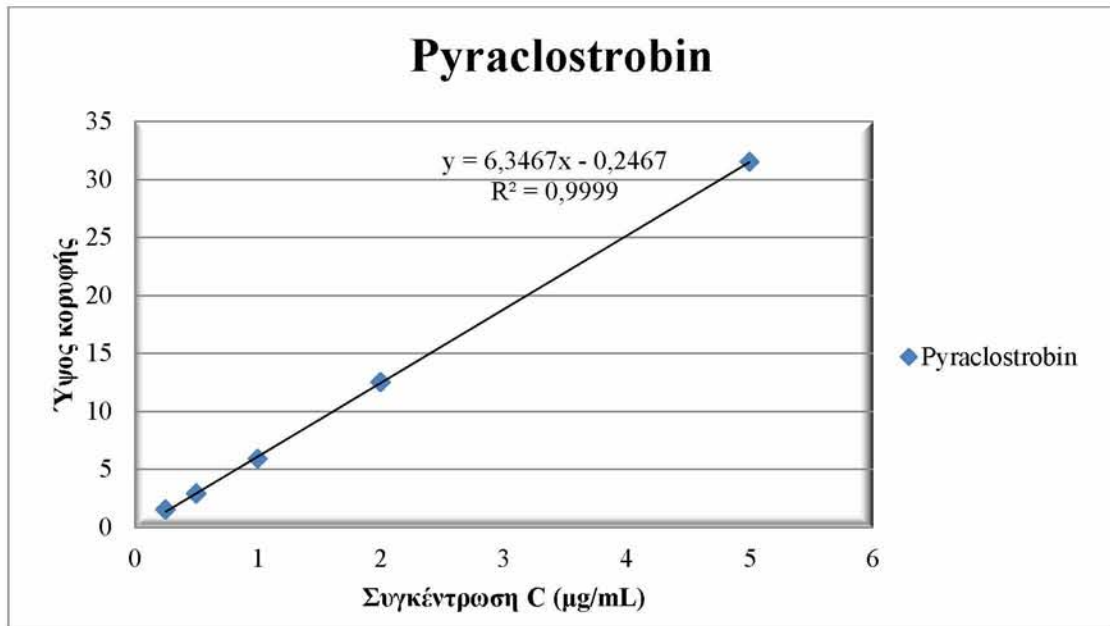
**Σχήμα 6.** Καμπύλη αναφοράς για τη δραστική ουσία Cyprodinil



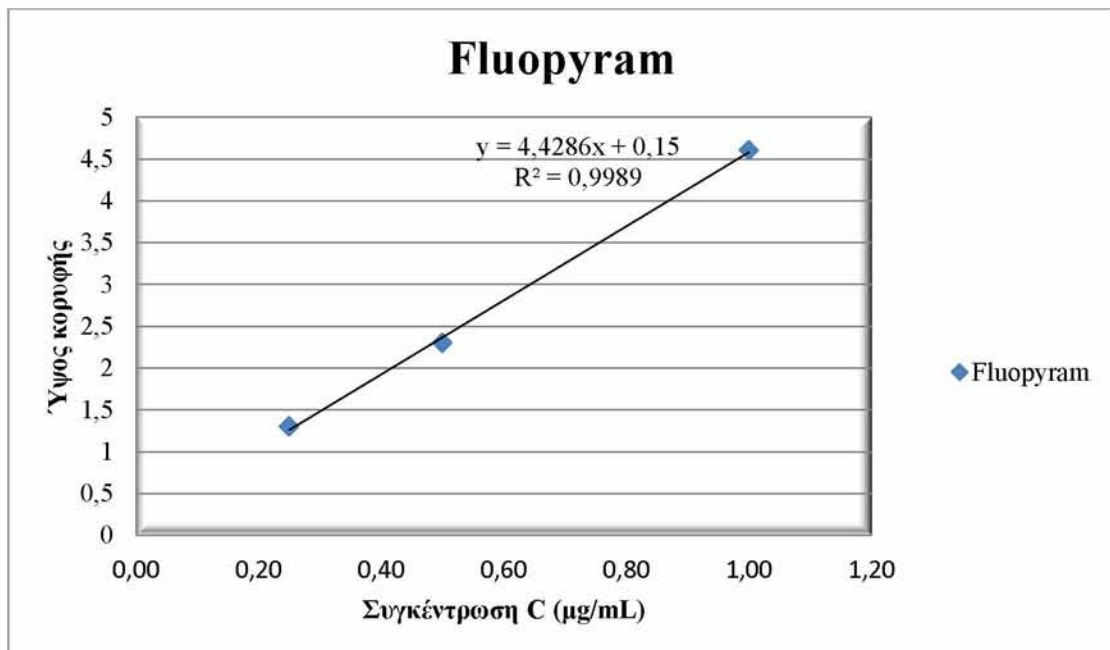
Σχήμα 7. Καμπύλη αναφοράς για τη δραστική ουσία Pyrimethanil



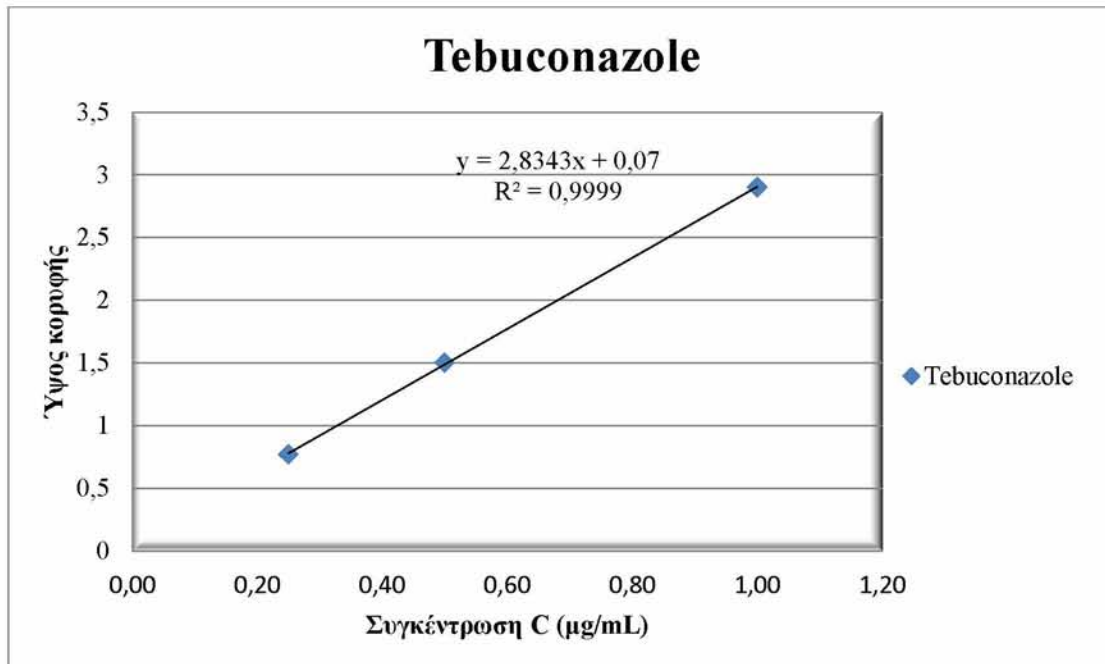
Σχήμα 8. Καμπύλη αναφοράς για τη δραστική ουσία Boscalid.



**Σχήμα 9.** Καμπύλη αναφοράς για τη δραστική ουσία Pyraclostrobin.



**Σχήμα 10.** Καμπύλη αναφοράς για τη δραστική ουσία Fluopyram.



**Σχήμα 11.** Καμπύλη αναφοράς για τη δραστική ουσία Tebuconazole.

Η συγκέντρωση των δραστικών ουσιών σε κάθε δείγμα υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τις αντίστοιχες καμπύλες αναφοράς για κάθε δραστική ουσία και τις αντίστοιχες κορυφές των δραστικών ουσιών στα χρωματογραφήματα. Τελικά, η συγκέντρωση της κάθε δραστικής εκφράστηκε σε µg δραστικής ουσίας ανά g νωπού ιστού (µg/g ή mg/kg ή ppm).

Στους Πίνακες 14-18 δίνονται οι συγκεντρώσεις της κάθε δραστικής ουσίας για κάθε ημέρα που πραγματοποιήθηκε χρωματογραφική ανάλυση στα συντηρούμενα αχλάδια, καθώς και τα αντίστοιχα ανώτατα επιτρεπτά όρια των συγκεντρώσεων στο αχλάδι.

**Πίνακας 14.** Υπολείμματα (mg/kg) των δραστικών ουσιών fluopyram και tebuconazole σε αχλάδια, σε διάφορα χρονικά διαστήματα κατά τη συντήρησή τους και ανώτατα επιτρεπτά όρια (mg/kg) που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση για τις συγκεκριμένες δραστικές ουσίες στο αχλάδι.

LUNA	Fluopyram (mg/kg)	Fluopyram, MRLs (mg/kg)	Tebuconazole (mg/kg)	Tebuconazole, MRLs (mg/kg)
40 ημέρες	0,28	0.5	0,35	1
21 ημέρες	0,26		0,35	
7 ημέρες	0,26		0,26	
3 ημέρες	0,25		0,30	
0 ημέρες	0,26		0,34	

**Πίνακας 15.** Υπολείμματα (mg/kg) της δραστικής ουσίας pyrimethanil σε αχλάδια, σε διάφορα χρονικά διαστήματα κατά τη συντήρησή τους και ανώτατα επιτρεπτά όρια (mg/kg) που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση για τη συγκεκριμένη δραστική ουσία στο αχλάδι.

SCALA	Pyrimethanil (mg/kg)	Pyrimethanil, MRLs (mg/kg)
40 ημέρες	1,49	5
21 ημέρες	1,44	
7 ημέρες	1,34	
3 ημέρες	1,52	
0 ημέρες	1,20	

**Πίνακας 16.** Υπολείμματα (mg/kg) των δραστικών ουσιών boscalid και pyraclostrobin σε αχλάδια, σε διάφορα χρονικά διαστήματα κατά τη συντήρησή τους και ανώτατα επιτρεπτά όρια (mg/kg) που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση για τις συγκεκριμένες δραστικές ουσίες στο αχλάδι.

SIGNUM	Boscalid (mg/kg)	Boscalid, MRLs (mg/kg)	Pyraclostrobin (mg/kg)	Pyraclostrobin, MRLs (mg/kg)
40 ημέρες	1,45	2	0,57	0.5
21 ημέρες	1,17		0,46	
7 ημέρες	1,55		0,56	
3 ημέρες	1,55		0,59	
0 ημέρες	1,89		0,61	

**Πίνακας 17.** Υπολείμματα (mg/kg) των δραστικών ουσιών fludioxonil και cyprodinil σε αχλάδια, σε διάφορα χρονικά διαστήματα κατά τη συντήρησή τους και ανώτατα επιτρεπτά όρια (mg/kg) που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση για τις συγκεκριμένες δραστικές ουσίες στο αχλάδι.

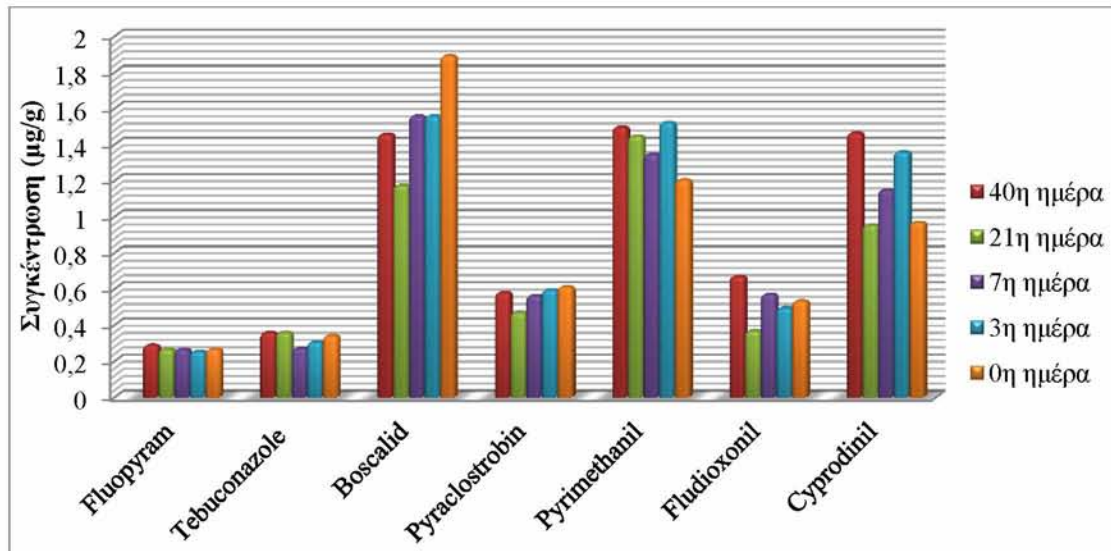
<b>SWITCH</b>	<b>Fludioxonil (mg/kg)</b>	<b>Fludioxonil, MRLs (mg/kg)</b>	<b>Cyprodinil (mg/kg)</b>	<b>Cyprodinil, MRLs (mg/kg)</b>
40 ημέρες	0,57	5	1,06	1
21 ημέρες	0,37		0,56	
7 ημέρες	0,57		0,86	
3 ημέρες	0,50		1,04	
0 ημέρες	0,53		1,09	

**Πίνακας 18.** Υπολείμματα (mg/kg) της δραστικής ουσίας cyprodinil σε αχλάδια, σε διάφορα χρονικά διαστήματα κατά τη συντήρησή τους και ανώτατα επιτρεπτά όρια (mg/kg) που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση για τη συγκεκριμένη δραστική ουσία στο αχλάδι.

<b>CHORUS</b>	<b>Cyprodinil (mg/kg)</b>	<b>Cyprodinil, MRLs (mg/kg)</b>
40 ημέρες	1,46	1
21 ημέρες	0,95	
7 ημέρες	1,15	
3 ημέρες	1,36	
0 ημέρες	0,97	

Σύμφωνα με τους Πίνακες 16-18, τα υπολείμματα της δραστικής ουσίας cyprodinil, που περιέχεται στα μυκητοκτόνα Chorus και Switch, καθώς και της δραστικής ουσίας pyraclostrobin, που περιέχεται στο μυκητοκτόνο Signum, ξεπερνάνε οριακά τα ανώτατα επιτρεπτά όρια που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση για τις συγκεκριμένες δραστικές στο αχλάδι.

Στο Σχήμα 12 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα ανωτέρω αποτελέσματα, όπου μπορούν να διεξαχθούν συμπεράσματα όσον αφορά την πορεία των δραστικών ουσιών σε χρονικό διάστημα 40 ημερών.



**Σχήμα 12.** Υπολείμματα των δραστικών ουσιών στους καρπούς στις 0, 3, 7, 21, 40 ημέρες συντήρησής τους σε κανονικές συνθήκες ψύξης. Ως μηδενική ημέρα ορίζεται το χρονικό διάστημα κατά το οποίο έγινε η εφαρμογή των δραστικών ουσιών στα αχλάδια.

Σύμφωνα με το Σχήμα 12, συμπεραίνεται ότι οι δραστικές ουσίες boscalid, cyprodinil, pyrimethanil, fluopyram, pyraclostrobin, fludioxonil και tebuconazole, είναι σταθερές, καθώς η συγκέντρωσή τους στα αχλάδια παραμένει στα ίδια επίπεδα, τόσο στην 0<sup>η</sup> ημέρα όσο και στην 40<sup>η</sup> ημέρα.

## 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

---

Οι απώλειες από μετασυλλεκτικές σήψεις στα αποθηκευμένα μηλοειδή που προκαλούνται κυρίως από τον παθογόνο μύκητα *Penicillium expansum*, αγγίζουν το 49-80% της συνολικής παραγωγής (Vilanova *et al.*, 2012; Simson και Straus, 2010; Pitt και Hocking, 2009). Το φαινόμενο αυτό εντείνεται από το γεγονός της απαγόρευσης μετασυλλεκτικών εφαρμογών με χημικά μυκητοκτόνα, κυρίως λόγω των υπολειμμάτων τους στα υγρά απόβλητα των μετασυλλεκτικών μεταχειρίσεων, των υπολειμμάτων στους καρπούς, αλλά και της ανάπτυξης ανθεκτικότητας των παθογόνων στα βενζιμιδαζολικά μυκητοκτόνα. Εντούτοις, η μη επιτρεπόμενη υπό τις παρούσες συνθήκες χρήση χημικών μυκητοκτόνων μετασυλλεκτικά δεν σημαίνει απαραίτητα και έλλειψη ενδιαφέροντος για σύγχρονες δραστικές ουσίες με μυκητοκτόνο δράση από τους άμεσα ενδιαφερόμενους φορείς (συνεταιρισμοί, αποθηκευτικά κέντρα, εξαγωγείς, κ.λ.π.).

Στην παρούσα εργασία, έγινε αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας επιλεγμένων μυκητοκτόνων ενάντια στο μύκητα *Penicillium expansum*. Τα μυκητοκτόνα σκευάσματα που εφαρμόστηκαν στο πείραμα ήταν το Switch (μίγμα cyprodinil και fludioxonil), το Chorus (cyprodinil), το Scala (pyrimethanil), το Luna (μίγμα fluopyram και tebuconazole) και το Signum (μίγμα boscalid και pyraclostrobin).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το μυκητοκτόνο Switch είχε τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα ενάντια στο παθογόνο, ενώ ακολούθησαν σε αποτελεσματικότητα τα μυκητοκτόνα Signum και Scala. Αρκετά χαμηλότερη αποτελεσματικότητα παρουσίασε το Chorus, ενώ το μυκητοκτόνο Luna είχε μηδενική αποτελεσματικότητα. Συγκεκριμένα, το ποσοστό των προσβεβλημένων αχλαδιών στα οποία είχε γίνει εφαρμογή των μυκητοκτόνων Switch, Signum, Scala, Chorus και Luna είναι 12,5%, 37,5%, 37,5%, 75% και 100%, αντίστοιχα. Για τις ίδιες εφαρμογές, το ποσοστό των προσβεβλημένων πηγών ανά καρπό είναι 4,1%, 12,5%, 12,5%, 29,1% και 100%. Τέλος, ο μέσος όρος της διαμέτρου κηλίδας στους προσβεβλημένους καρπούς για κάθε μία από τις εφαρμογές με τα προαναφερθέντα μυκητοκτόνα είναι 1mm, 3,5mm, 4,3mm, 4,9mm και 44mm, αντίστοιχα.



Ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων των μυκητοκτόνων στους καρπούς έδειξε ότι η συγκέντρωση τους στους καρπούς ξεπέρασε οριακά τα ανώτατα επιτρεπτά όρια (MRLs) των δραστικών ουσιών για τα αχλάδια για τις ουσίες pyraclostrobin (SIGNUM) και cyprodinil (CHORUS), οι οποίες εφαρμόστηκαν στον πειραματικό σχεδιασμό στη διπλάσια της μέγιστης δόσης. Η συγκέντρωση των υπολειμμάτων για τις ουσίες pyraclostrobin και cyprodinil ήταν 0,56 και 1,18 mg/kg, ενώ τα MRLs για το αχλάδι έχουν οριστεί στα 0,5 και 1 mg/kg, αντίστοιχα για την κάθε ουσία. Επίσης, η συγκέντρωση των υπολειμμάτων της δραστικής ουσίας cyprodinil, όταν εφαρμόστηκε με το σκεύασμα SWITCH στη μέγιστη δόση, ήταν 0,92 mg/kg πλησιάζοντας αρκετά την τιμή MRLs της συγκεκριμένης δραστικής για το αχλάδι, η οποία έχει οριστεί στα 1 mg/kg.

Επίσης, σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι δραστικές ουσίες boscalid, cyprodinil, pyrimethanil, fluopyram, pyraclostrobin, fludioxonil και tebuconazole, εμφανίζονται να είναι σταθερές σε όλη τη διάρκεια της ψυχοσυντήρησης, καθώς η συγκέντρωσή τους στα αχλάδια βρέθηκε να μην μεταβάλλεται σημαντικά έως και την 40<sup>η</sup> ημέρα ψυχοσυντήρησής τους. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την οριακή υπέρβαση των υπολειμμάτων των δραστικών ουσιών pyraclostrobin και cyprodinil ως προς τα ανώτατα επιτρεπτά όρια των συγκεκριμένων δραστικών στα αχλάδια, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι με τις αναφερόμενες συνθήκες εφαρμογής, οι παρούσες δραστικές είναι ακατάλληλες για μετασυλλεκτική εφαρμογή σε καρπούς μηλοειδών. Εξαιρέση αποτελεί η δραστική ουσία pyrimethanil, που περιέχεται στο μυκητοκτόνο Scala, της οποίας τα υπολείμματα βρέθηκαν αρκετά χαμηλότερα από την τιμή των ανώτατων επιτρεπτών ορίων.

Τα ανωτέρω αποτελέσματα φαίνεται ότι συνάδουν με αποτελέσματα ορισμένων εργασιών στις οποίες έχουν χρησιμοποιηθεί οι ίδιες ουσίες, όμως παρουσιάζουν και διαφορές σε σχέση με αποτελέσματα άλλων εργασιών. Συγκεκριμένα, οι δραστικές ουσίες fludioxonil και pyrimethanil αξιολογήθηκαν ως προς τη μυκοτοξική τους δράση ενάντια στο παθογόνο *Penicillium expansum* σε ανάλογη εργασία (Sugar και Basile, 2008). Συγκεκριμένα, έγινε μετασυλλεκτική εφαρμογή των μυκητοκτόνων Scholar 50W (fludioxonil), με δόση 0,6 g/L (0,3 g/L συγκέντρωση δραστικής ουσίας), και Penbotec 400SC (pyrimethanil), με δόση 2,5 mL/L (1 g/L συγκέντρωση δραστικής ουσίας), σε αχλάδια στα οποία είχε γίνει τεχνητή μόλυνση με κονίδια του μύκητα *Penicillium expansum* μία εβδομάδα μετά τη συγκομιδή και παραμονή τους στη συντήρηση, στους 0 °C. Η εφαρμογή των

μυκητοκτόνων έγινε στις 0, 1, 2, 7, 14 και 21 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έγινε μετά από δύο μήνες συντήρησης των αχλαδιών στους 0 °C. Όταν η εφαρμογή των μυκητοκτόνων έγινε την ίδια ημέρα με την τεχνητή μόλυνση το ποσοστό των προσβεβλημένων πληγών ανά καρπό για τις δραστικές fludioxonil και pyrimethanil, ήταν 0% και τις 3 χρονιές του πειράματος (Sugar και Basile, 2008). Στην παρούσα εργασία, εφαρμόστηκαν οι δραστικές ουσίες pyrimethanil, με δόση 2 mL/L (0,8 g/L συγκέντρωση δραστικής ουσίας), και η δραστική fludioxonil, με δόση 1,25 g/L (0,31 g/L συγκέντρωση δραστικής ουσίας), η οποία εφαρμόστηκε ως μίγμα με την ουσία cyprodinil. Το ποσοστό των προσβεβλημένων πληγών ανά καρπό για τη δραστική pyrimethanil είναι 12,5%, ενώ για το μίγμα fludioxonil με cyprodinil είναι 4,1%. Στην ίδια εργασία (Sugar και Basile, 2008), για δύο χρονιές, εφαρμόστηκε η δραστική ουσία fludioxonil αμέσως μετά τη συγκομιδή των μήλων χωρίς να ακολουθήσει τεχνητή μόλυνση αυτών. Ο μέσος όρος διαμέτρου κηλίδων των μήλων για τις δύο χρονιές ήταν 1,1 και 0,7mm , αντίστοιχα. Επίσης, για δύο ακόμη χρονιές, αμέσως μετά τη συγκομιδή των μήλων ακολούθησε τεχνητή μόλυνση των καρπών και εν συνεχεία εφαρμόστηκε η δραστική ουσία fludioxonil. Ο μέσος όρος διαμέτρου κηλίδων για τις δύο χρονιές ήταν 5,2 και 4,7mm, αντίστοιχα. Στην παρούσα εργασία, ο μέσος όρος διαμέτρου κηλίδων για το μίγμα cyprodinil και fludioxonil είναι 1mm.

Η δραστική ουσία fludioxonil παρουσίασε ικανοποιητική μυκοτοξική δράση σε εργασία που πραγματοποιήθηκαν πειράματα *in vitro*, όπου μετρήθηκε η σποριοποίηση του μύκητα *Penicillium expansum* και η διάμετρος της αποικίας των κονιδίων του, αλλά και *in vivo* με εφαρμογή της ουσίας σε μήλα ποικιλίας *Empire* και *Gala*. Η τεχνητή μόλυνση στα μήλα με τα κονίδια του μύκητα και η εφαρμογή της ουσίας έγινε την ίδια μέρα και τα μήλα παρέμειναν σε θερμοκρασία 20 °C, για 6 μέρες. Όταν η δραστική ουσία fludioxonil εφαρμόστηκε σε συγκέντρωση 0,1 g/L, το ποσοστό προσβεβλημένων μήλων και στις δύο ποικιλίες μετά από 6 ημέρες ήταν 0% (Errampalli, 2004). Στην παρούσα εργασία, το ποσοστό προσβεβλημένων αχλαδιών, 2 μήνες μετά την εφαρμογή του μίγματος cyprodinil και fludioxonil (0,31 g/L συγκέντρωση δραστικής ουσίας), είναι 12,5%.

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει ακόμη μία εργασία που αναφέρει την αποτελεσματικότητα της δραστικής ουσίας fludioxonil όσον αφορά την αντιμετώπιση της ασθένειας «Κυανή σήψη» (Errampalli *et al.*, 2007). Αχλάδια ποικιλίας *Bosc*

μεταφέρθηκαν σε ψυγεία για 1-2 εβδομάδες, στους 0-2 °C, αμέσως μετά τη συγκομιδή τους. Εν συνεχεία, έγινε τεχνητή μόλυνση των αχλαδιών με κονίδια του μύκητα *Penicillium expansum* και την ίδια ημέρα έγινε και η εφαρμογή της δραστικής ουσίας. Ένα μέρος των αχλαδιών μεταφέρθηκε σε ψυκτικό θάλαμο, στους 0 °C, και τα υπόλοιπα αχλάδια συντηρήθηκαν σε ψυκτικό θάλαμο με ελεγχόμενη ατμόσφαιρα, με μέση θερμοκρασία τους 2 °C. Η εφαρμογή της δραστικής ουσίας fludioxonil στη μέγιστη δόση (0,6 g/L) έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα για χρονικό διάστημα 100 ημερών συντήρησης των αχλαδιών σε ψυκτικό θάλαμο στους 0 °C, καθώς και για τα αχλάδια που συντηρήθηκαν στην ελεγχόμενη ατμόσφαιρα για χρονικό διάστημα 4,5 μηνών. Συγκεκριμένα, στα αχλάδια που εφαρμόστηκε η ουσία fludioxonil στη μέγιστη δόση (0,6 g/L) και συντηρήθηκαν σε ψυγεία με Ελεγχόμενη Ατμόσφαιρα, στους 2 °C, το ποσοστό των προσβεβλημένων καρπών ήταν 3%, έως και 103 ημέρες μετά την εφαρμογή. Στην παρούσα εργασία, το ποσοστό των προσβεβλημένων αχλαδιών 2 μήνες μετά την εφαρμογή του μίγματος cyprodinil και fludioxonil (0,31 g/L συγκέντρωση δραστικής ουσίας), είναι 12,5%.

Σε άλλη εργασία, έγινε αξιολόγηση της δράσης των ουσιών pyrimethanil και fludioxonil σε μήλα, ενάντια στο μύκητα *Penicillium expansum*, καθώς και παρακολούθηση των υπολειμμάτων τους στους καρπούς (Xiao και Boal, 2009b). Καταρχήν, έγινε μετασυλλεκτική εφαρμογή των παραπάνω δραστικών ουσιών σε μήλα ποικιλίας *Delicious* και ακολούθησε συντήρησή τους σε ψυγεία με ελεγχόμενη ατμόσφαιρα, στους 0 °C, για 5-7 μήνες. Τα μυκητοκτόνα που περιείχαν τις δραστικές ουσίες fludioxonil και pyrimethanil εφαρμόστηκαν στις δόσεις 0,6 g/L και 1,25 ml/L, αντίστοιχα. Εν συνεχεία, στον 5<sup>ο</sup> μήνα, έγινε τεχνητή μόλυνση μίας παρτίδας μήλων με σπόρια του παθογόνου και οι καρποί μεταφέρθηκαν στη συντήρηση για 8 εβδομάδες, στους 0 °C. Μετά τις 8 εβδομάδες τα μήλα αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου, για μία εβδομάδα. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε και για τα υπόλοιπα μήλα, στον 7<sup>ο</sup> μήνα συντήρησής τους. Η αξιολόγηση της δράσης των ουσιών έγινε 4 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση των καρπών. Τα μήλα στα οποία εφαρμόστηκε η δραστική ουσία pyrimethanil παρουσίασαν συμπτώματα «Κυανής σήψης» σε ποσοστό 0-4%, ενώ το ποσοστό για την ουσία fludioxonil κυμάνθηκε μεταξύ 0-26%. Η συγκέντρωση των υπολειμμάτων των δραστικών ουσιών fludioxonil και pyrimethanil ήταν σταθερή κατά τη διάρκεια των 5 και 7 μηνών συντήρησης και κυμάνθηκε στα 1,4 και 2,5 mg/kg, αντίστοιχα. Συνολικά η έρευνα

συμπεραίνει ότι η μυκοτοξική δράση των δύο ουσιών μπορεί να διαρκέσει τουλάχιστον 7 μήνες σε κατάλληλες συνθήκες συντήρησης για μήλα. Στην παρούσα εργασία, η συγκέντρωση των υπολειμμάτων των ουσιών fludioxonil και pyrimethanil στο αχλάδι επίσης παρέμεινε αμετάβλητη κατά τη διάρκεια 2 μηνών συντήρησης στους 1-2,5 °C και με σχετική υγρασία 85-95% και κυμάνθηκε στα 0,518 και 1,40 mg/kg, αντίστοιχα.

Το μίγμα των δραστικών ουσιών boscalid και pyraclostrobin, που περιέχεται στο μυκητοκτόνο Pristine, εφαρμόστηκε προσυλλεκτικά σε μήλα με δόση 0,36 g/L, σε εργασία όπου αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου μίγματος στην αντιμετώπιση της ασθένειας «Κυανή σήψη» (Xiao και Boal, 2009a). Η εφαρμογή έγινε σε μηλιές ποικιλίας *Fuji* και *Red Delicious*, 1, 7 ή 14 ημέρες πριν τη συγκομιδή. Μετά τη συγκομιδή ακολούθησε τεχνητή μόλυνση των καρπών με κονίδια του μύκητα *Penicillium expansum* και η αξιολόγηση της έντασης της ασθένειας έγινε μετά από 8 ή 12 εβδομάδες συντήρησης των μήλων, στους 0 °C. Η αποτελεσματικότητα του μίγματος στα μήλα της ποικιλίας *Fuji* ήταν ίδια, τόσο όταν εφαρμόστηκε στη μία όσο και στις επτά ημέρες πριν τη συγκομιδή (ποσοστό προσβεβλημένων καρπών 6% και 22% αντίστοιχα). Η εφαρμογή του μίγματος σε μήλα της ποικιλίας *Red Delicious*, 7 και 14 ημέρες πριν τη συγκομιδή τους, παρουσίασε επίσης ίδια αποτελεσματικότητα (ποσοστό προσβεβλημένων καρπών 30% και 59% αντίστοιχα). Τα αποτελέσματα της εργασίας δείχνουν ικανοποιητική δράση του μίγματος ενάντια στο παθογόνο, όταν εφαρμόζεται προσυλλεκτικά, μέσα σε χρονικό διάστημα 2 εβδομάδων πριν τη συγκομιδή. Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιήθηκε το σκεύασμα Signum (boscalid και pyraclostrobin) σε δόση 3 g/L και το ποσοστό προσβεβλημένων αχλαδιών, μετά από 2 μήνες συντήρησης στους 1-2,5 °C και σχετική υγρασία 85-95%, υπολογίστηκε στα 37,5%.

Σε εργασία όπου μελετήθηκε η ευαισθησία απομονώσεων του παθογόνου *Penicillium expansum* σε διάφορες δραστικές, βρέθηκε ότι οι ουσίες fludioxonil και cyprodinil ήταν πιο αποτελεσματικές σε σχέση με τις υπόλοιπες, όσον αφορά τη δράση τους ενάντια στο παθογόνο (EC<sub>50</sub> για fludioxonil: 0,08 µg/mL και EC<sub>50</sub> για cyprodinil: 0,55 µg/mL) (Karaoglanidis *et al.*, 2011). Συμπεραίνεται ότι η ουσία fludioxonil έχει τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και ακολουθεί η ουσία cyprodinil. Στην παρούσα εργασία, το μίγμα των δραστικών ουσιών fludioxonil και cyprodinil παρουσίασε τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα ενάντια στο παθογόνο,

ενώ η δραστική ουσία cyprodinil ήταν τέταρτη σε σειρά αποτελεσματικότητας. Συγκεκριμένα, η δραστική ουσία cyprodinil εφαρμόστηκε ως Chorus, σε δόση 1 g/L (0,5 g/L συγκέντρωση δραστικής ουσίας), και το μίγμα των δραστικών fludioxonil και cyprodinil, ως Switch, εφαρμόστηκε σε δόση σκευάσματος 1,25 g/L (0,31 και 0,46 g/L οι συγκεντρώσεις των δραστικών ουσιών, αντίστοιχα). Το ποσοστό προσβεβλημένων καρπών για το μίγμα fludioxonil και cyprodinil είναι 12,5%, ενώ για τη δραστική ουσία cyprodinil το ποσοστό είναι 75%.

Σε άλλη εργασία, μελετήθηκε η δράση των ουσιών boscalid και cyprodinil ενάντια στο μύκητα *Penicillium expansum*, τόσο στη μέγιστη όσο και στην ελάχιστη δόση εφαρμογής (Lima *et al.*, 2011). Η συγκέντρωση της δραστικής ουσίας cyprodinil στη μέγιστη και στην ελάχιστη δόση, ήταν 0,15 και 0,037 g/L, αντιστοίχως. Αναλόγως, η συγκέντρωση της δραστικής ουσίας boscalid στη μέγιστη δόση ήταν 0,375 g/L και στην ελάχιστη, 0,093 g/L. Καταρχήν, μελετήθηκε η ευαισθησία απομονώσεων του παθογόνου *Penicillium expansum* στις συγκεκριμένες δραστικές και βρέθηκε ότι οι ανωτέρω ουσίες είναι αποτελεσματικές, όσον αφορά τη δράση τους ενάντια σε όλες τις απομονώσεις του παθογόνου ( $EC_{50} < 18,8 \mu\text{g/mL}$ , για την ουσία cyprodinil και  $EC_{50} < 46,9 \mu\text{g/mL}$  για την ουσία boscalid). Στο επόμενο κομμάτι της εργασίας, μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα των δραστικών ενάντια στην ασθένεια «Κυανή σήψη», με μετασυλλεκτική εφαρμογή τους σε μήλα ποικιλίας *Golden delicious*. Προηγήθηκε η τεχνητή μόλυνση των καρπών με κονίδια του μύκητα *Penicillium expansum* και ακολούθησε συντήρηση των μήλων στους 21 °C, για 7 ημέρες. Η αξιολόγηση της έντασης της ασθένειας έγινε στις 4 και στις 7 ημέρες. Βρέθηκε ότι και οι δύο ουσίες ήταν αποτελεσματικές, μέχρι και την 4<sup>η</sup> ημέρα. Συγκεκριμένα, το ποσοστό προσβεβλημένων πληγών στους καρπούς για τη μέγιστη και ελάχιστη δόση εφαρμογής της ουσίας boscalid ήταν 28% και 33%, αντίστοιχα. Για την ουσία cyprodinil, το ποσοστό προσβεβλημένων κηλίδων ήταν 0%, σε οποιαδήποτε δόση εφαρμογής της. Την 7<sup>η</sup> ημέρα, μόνο η ουσία cyprodinil παρουσίασε αποτελεσματικότητα, στη μέγιστη δόση, με μηδενικό ποσοστό προσβεβλημένων πληγών στους καρπούς. Τα υπολείμματα στους καρπούς για τη δραστική ουσία boscalid, μετά από 7 ημέρες, ήταν 0,521 και 1,103 mg/kg, στη χαμηλή και μέγιστη δόση, αντίστοιχα. Τα υπολείμματα για την ουσία cyprodinil ήταν 0,28 mg/kg στη χαμηλή δόση και 0,49 mg/kg στη μέγιστη δόση. Στην παρούσα εργασία, η δραστική ουσία boscalid εφαρμόστηκε ως μίγμα με την ουσία pyraclostrobin, με συγκέντρωση 0,8 g/L, ενώ η ουσία cyprodinil εφαρμόστηκε

ξεχωριστά, με συγκέντρωση 0,5 g/L. Το ποσοστό προσβεβλημένων πλιγών ανά καρπό για το μίγμα boscalid και pyraclostrobin είναι 12,5%, ενώ για την ουσία cyprodinil είναι 29,1%. Τα υπολείμματα στους καρπούς για τη δραστική ουσία boscalid, μετά από μετά από 2 μήνες συντήρησης στους 1-2,5 °C και σχετική υγρασία 85-95%, υπολογίστηκαν στα 1,52 mg/kg και για την ουσία cyprodinil, στο ίδιο χρονικό διάστημα, τα υπολείμματα είναι 1,18 mg/kg.

Σε άρθρο ανασκόπησης αναφέρεται η αποτελεσματικότητα των δραστικών ουσιών boscalid, fludioxonil, pyraclostrobin και pyrimethanil στην αντιμετώπιση της ασθένειας «Κυανή σήψη», σε μήλα (Xiao και Kim, 2010).

Για μελλοντική έρευνα, προτείνεται να μελετηθούν οι δραστικές ουσίες pyribencarb και xemium, που ενδέχεται να παρουσιάσουν ενδιαφέρον όσον αφορά τη μυκητοκτόνο δράση τους ενάντια στο μύκητα *Penicillium expansum* (Takagaki *et al.*, 2011; Basf, 2010).

Τέλος, προτείνεται να γίνει εφαρμογή των μυκητοκτόνων σε διαφορετικούς χρόνους καθώς και ταυτόχρονη εφαρμογή των βιολογικών παραγόντων: *Aureobasidium pullulans*, *Pseudomonas syringae*, *Candida saitoana*, *Trichosporon pullulans*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Cryptococcus laurentii*, *Muscodor albus*, *Rhodotorula glutinis*, *Candida oleophila* (Lima *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2009; Sugar και Basile, 2008; Janisiewicz και Jeffers, 1997).

# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

---

- Abramson, D., Lombaert, G., Clear, R., M., Sholberg, P., Trelka, R., and Rosin, E. (2009). Production of Patulin and Citrinin by *Penicillium expansum* from British Columbia (Canada) apples. *Mycotoxin Research* 25, 85-88.
- Ames, Z.R., Feliziani, E., and Smilanick, J.L. (2013). Germination of fungal conidia after exposure to low concentration ozone atmospheres. *Postharvest Biology and Technology* 83, 22-26.
- Amiri, A. and Bompeix, G. (2005). Diversity and population dynamics of *Penicillium* spp. on apples in pre- and postharvest environments: consequences for decay development. *Plant Pathology* 54, 74-81.
- Amiri, A., Cholodowski, D., and Bompeix, G. (2005). Adhesion and germination of waterborne and airborne conidia of *Penicillium expansum* to apple and inert surfaces. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 67, 40-48.
- Azizi, I.G. and Rouhi, S. (2013). Determination of patulin in fruit juices and compote of apple and pear. *Toxin Reviews* 32, 39-42.
- Benson, T. (2010). *Elliptical cone volume*. Glen Research Center. [Online]. Διαθέσιμο στο [www.nasa.com](http://www.nasa.com)
- Cao, S., Yuan, Y., Hu, Z., and Zheng, Y. (2010). Combination of *Pichia membranifaciens* and ammonium molybdate for controlling blue mould caused by *Penicillium expansum* in peach fruit. *International Journal of Food Microbiology* 141(3), 173-176.
- Chakraverty, A., Mujumbar, A.S., Raghavan, G.S.V., and Ramaswamy, H.S. (2003). *Handbook of Postharvest Technology: Cereals, Fruits, Vegetables, Tea and Spices*. Marcel Dekker Inc., New York, USA.
- de Capdeville, G., Wilson, C.L., Beer, S.V., and Aist, J.R. (2002). Alternative disease control agents induce resistance to blue mold in harvested 'red delicious' apple fruit. *Phytopathology* 92(8), 900-908.

- Didwania, N. and Joshi, M. (2013). Mycotoxins: A critical review on occurrence and significance. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5(3), 1005-1010.
- Errampalli, D. (2004). Effect of fludioxonil on germination and growth of *Penicillium expansum* and decay in apple cvs. Empire and Gala. *Crop Protection* 23, 811-817.
- Errampalli, D. (2006). Postharvest control of blue mold of apples with reduced-risk fungicides together with anti-scald agent diphenylamine under cold and controlled atmosphere storage conditions. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 4(1), 43-47.
- Errampalli, D. and Brubacher, N.R. (2006). Biological and integrated control of postharvest blue mold (*Penicillium expansum*) of apples by *Pseudomonas syringae* and cyprodinil. *Biological Control* 36(1), 49-56.
- Errampalli, D., Brubacher, N.R., and DeEll, J.R. (2006). Sensitivity of *Penicillium expansum* to diphenylamine and thiabendazole and postharvest control of blue mold with fludioxonil in 'McIntosh' apples. *Postharvest Biology and Technology* 39(1), 101-107.
- Errampalli, D., Wainman, L.I., and Chu, C.L. (2007). Evaluation of fludioxonil for the control of postharvest gray mould and blue mould in pears in cold and controlled atmosphere storages. *International Journal of Pest Management* 53(2), 101-109.
- EUR-Lex-Europa. (2010). *Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs*. [Online]. Διαθέσιμο στο <http://eur-lex.europa.eu/homepage.html>
- FAO. (1989). *Prevention of Post-Harvest Food Losses: Fruit, Vegetables and Root Crops. A Training Manual*. Rome: UNFAO
- FAO. (2012). FAOSTAT, Statistics Division of the FAO. [Online]. Διαθέσιμο στο <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>



- Florkowski, W.J., Prussia, S.E., Shewfelt, R.L., and Brueckner, B. (2009). *Postharvest Handling: a Systems Approach*. Academic Press.
- Frank, H.K. (1977). Occurrence of patulin in fruit and vegetables. *Annales de la nutrition et de l'alimentation* 31(4-6), 459-465.
- Frisvad, J. and Samson, R.A. (2004). Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in Mycology* 49, 1-174.
- He, L., Liu, Y., Mustapha, A., and Lin M. (2011). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological Research* 166, 207-215.
- Houbraken, J., de Vries, R.P., and Samson, R.A. (2014). Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Advances in Applied Microbiology* 86, 199-249.
- Houbraken, J. and Samson R.A. (2011). Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families. *Studies in Mycology* 70, 1-51.
- Hyde, G.M., Baritelle, A.L., and Varith, J. (2001). Conditioning to reduce impact bruising in fruits and vegetables. *Washington Tree Fruit Postharvest Conference, March 13th & 14th, 2001*. Wenatchee, WA.
- Janisiewicz, W.J. and Jeffers, F.N. (1997). Efficacy of commercial formulation of two biofungicides for control of blue mold and gray mold of apples in cold storage. *Crop Protection* 1997, 629-633
- Karaoglanidis, G.S., Markoglou, A.N., Bardas, G.A., Doukas, E.G., Konstantinou, S., and Kalampokis, J.F. (2011). Sensitivity of *Penicillium expansum* field isolates to tebuconazole, iprodione, fludioxonil and cyprodinil and characterization of fitness parameters and patulin production. *International Journal of Food Microbiology* 145 (1), 195-204.
- Koffman, W. and Penrose, L.J. (1987). Fungicides for the control of blue mould (*Penicillium spp.*) in pome fruits. *Scientia Horticulturae* 31(3-4), 225-232.

- Kuprferman, E. (1997). Controlled atmosphere storage of apples. CA '97 Proceedings, Vol. 2, pp 1-30. Postharvest Horticulture Series No. 16, University of California , Davis.
- Lahlali, R., Friel, D., Najib Serrhini, M., and Haissam Jijakli, M. (2006). Effect of incubation temperature and relative humidity on lesion diameter of *Botrytis cinerea* Pers. and *Penicillium expansum* Link. on apple fruits. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 71(3B), 1159-1166.
- Laidou, I.A., Thanassoulopoulos, C.C., and Liakopoulou Kyriakides, M. (2001). Diffusion of Patulin in the Flesh of Pears Inoculated with Four Post-harvest Pathogens. *Journal of Phytopathology* 149, 457-461.
- Lima, G., Castoria, R., De Curtis, F., Raiola, A., Ritieni, A., and De Cicco, V. (2011). Integrated control of blue mould using new fungicides and biocontrol yeasts lowers levels of fungicide residues and patulin contamination in apples. *Postharvest Biology and Technology* 60(2), 164-172.
- Magazin, N., Keserovic, Z., Millic, B., and Doric, M. (2012). Aminoethoxyvinylglycine (AVG) affects cv. Royal Gala apple fruit quality at harvest and after storage – Short communication. *Horticultural Science (Prague)* 39(4), 195-198.
- Morales, H., Marin, S., Rovira, A., Ramos, A.J., and Sanchis, V. (2007). Patulin accumulation in apples by *Penicillium expansum* during postharvest stages. *Letters in Applied Microbiology* 44, 30-35.
- Moss, M.O. (2008). Fungi, quality and safety issues in fresh fruits and vegetables. *Journal of Applied Microbiology* 104(5), 1239-1243.
- Moss, M.O. and Long, M.T. (2002). Fate of patulin in the presence of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Additives & Contaminants* 19(4), 387-399.
- Moukas, A., Panagiotopoulou, V., and Markaki, P. (2008). Determination of patulin in fruit juices using HPLC-DAD and GC-MSD techniques. *Food Chemistry* 109, 860-867.

- Narayanasamy, P. (2006). *Postharvest Pathogens and Disease Management*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Nunes, M.C.N. (2008). *Color Atlas of Postharvest Quality of Fruits and Vegetables*. John Wiley & Sons, inc.
- Nunes, C., Usall, U., Teixidó, N., Ochoa de Eribe, X., and Viñas I. (2001). Control of post-harvest decay of apples by pre-harvest and post-harvest application of ammonium molybdate. *Pest Management Science* 57, 1093-1099.
- Paul, G.A. and Marouchoc, S.R. (1999). Post-harvest crop protection uses of o-phenylphenol and sodium o-phenylphenate. *Pestology* 23(2), 142-150.
- Pitt J.I. and Hocking A.D. (2009). *Fungi and Food Spoilage*. Springer, Springer Science+Business Media, New York, U.S.A.
- Puel, O., Galtier, P., and Oswald, I.P. (2010). Biosynthesis and Toxicological Effects of Patulin. *Toxins* 2, 613-631.
- Qadir, A. and Hashinaga, F. (2001). Inhibition of postharvest decay of fruits by nitrous oxide. *Postharvest Biology and Technology* 22, 279-283.
- Ramin, A.A., Prange, R.K., Braun, P.G., and Delong, J.M. (2008). Biocontrol of Postharvest Fungal apple decay at 20°C with *muscodor albus* volatiles. *Acta Horticulturae* 767, 329-336
- Rees, D., Farrell, G., and Orchard, J. (2012). *Crop Post-Harvest: Science and Technology, Perishables*. Wiley-Blackwell.
- Richardson, D.G., and Kupferman, E. (1997). Controlled atmosphere storage of pears. CA '97 Proceedings, Vol. 2, pp 31-35. Postharvest Horticulture Series No. 16, University of California , Davis.
- Rosenberger, D.A. (2009). *Fungicides, Biocides, and Sanitizers for Managing Postharvest Pathogens in Apples*. New York State Agriculture Experiment Station, Cornell University.
- Sanderson, P. G. and Spotts, R. A. (1995). Postharvest decay of winter pear and apple fruit caused by species of *Penicillium*. *Phytopathology* 85, 103-110.

- Sanzani, S.M., Reverberi, M., Punelli, M., Ippolito, A., and Fanelli, C. (2012). Study on the role of patulin on pathogenicity and virulence of *Penicillium expansum*. *International journal of Food Microbiology* 153, 323-331.
- Sharma, R.R., Singh, D., and Singh, R. (2009). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biological Control* 50, 205-221.
- Simson, S. and Straus, M.C. (2010). *Post-Harvest Technology of Horticultural Crops*. Oxford Book Company, Delhi.
- Smilanick, J.L. (2003). Use of ozone in storage and package facilities. *Washington Washington Tree Fruit Postharvest Conference, March 13th & 14th, 2001*. Wenatchee, WA.
- Sugar, D. and Basile, S.R. (2008). Timing and sequence of postharvest fungicide and biocontrol agent applications for control of pear decay. *Postharvest Biology and Technology* 49, 107-112.
- Tyler, B. and Burgess J.A. (2013). *Selective Analysis of Patulin in Apple Juice Using the ACQUITY UPLC H-Class System with the ACQUITY QDa Detector*. Waters Corporation, Milford, MA, USA.
- University of Oxford. (2010). *The story of penicillin*. [Online]. Διαθέσιμο στο [http://www.ox.ac.uk/media/science\\_blog/100716.html](http://www.ox.ac.uk/media/science_blog/100716.html)
- Valent U.S.A. Corporation. (2013). *Supplemental label, ReTain, Plant Growth Regulator*. Valent Biosciences Corporation, U.S.A.
- Valero, D. and Serrano, M. (2010). *Postharvest Biology and Technology for Preserving Food Quality*. CRC Press, Taylor & Francis Group, U.S.A.
- Vilanova, L., Viñas, I., Torres, R., Usall, J., Jauset, A.M., and Teixidó, N. (2012). Infection capacities in the orange-pathogen relationship: Compatible (*Penicillium digitatum*) and incompatible (*Penicillium expansum*) interactions. *Food Microbiology* 29, 56-66.
- Visagie, C. M. (2008). *Biodiversity in the Penicillium from Coastal Fynbos soil*. MSc Thesis. Stellenbosch University, South Africa.

- Visagie, C.M., Roets, F., and Jacobs, K. (2009). A new species of *Penicillium*, *P. ramulosum* sp. nov., from the natural environment. *Mycologia* 101(6), 888-895.
- Waller, J.M., Ritchie, B.J., and Holderness, M. (1998). *Plant Clinic Handbook*. CAB International, United Kingdom.
- Watkins, C.B. (2006). The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnology Advances* 24, 389-409.
- Xiao, C.L. and Boal, R.J. (2009). Preharvest application of a Boscalid and Pyraclostrobin Mixture to Control Postharvest Gray Mold and Blue Mold in Apples. *Plant Disease* 93, 185-189.
- Xiao, C.L. and Boal, R.J. (2009). Residual Activity of Fludioxonil and Pyrimethanil Against *Penicillium expansum* on Apple Fruit. *Plant Disease* 93, 1003-1008.
- Xiao, C.L. and Kim, Y.K. (2010). Control of postharvest diseases in apples with reduced-risk fungicides. *Stewart Postharvest Review* 6(1), 1-6.
- Yang, J., Li, J., Jiang, Y., Duan, X., Qu, H., Yang, B., Chen, F., and Sivakumar, D. (2014). Natural occurrence, analysis, and prevention of mycotoxins in fruits and their processed products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54(1), 64-83.
- Γεωργόπουλος, Σ.Γ. και Ζιώγας, Β.Ν. (1992). *Αρχές και Μέθοδοι Καταπολέμησης των Ασθενειών των Φυτών*. Βασίλειος Ζιώγας, Αθήνα.
- Ζάχος, Δ.Γ., Παναγόπουλος, Χ.Γ., Θανασουλόπουλος, Κ.Κ., Μπίρης, Δ.Α., και Κυριακοπούλου, Π.Η. (1984). *Λεξικό Φυτοπαθολογικών Όρων*. Ελληνική Φυτοπαθολογική Εταιρεία, Αθήνα.
- Μηνάς, Ι., Βασιλακάκης, Μ., και Καραογλανίδης, Γ. (2010). *Γεωργία – Κτηνοτροφία* 5, 61-69.
- Μπούρμπος, Ε. και Μπαρμποπούλου, Ε. (2005). Χρησιμοποίηση του φυτοδιεγέρτη χαρπίνη Εα για την αντιμετώπιση των ασθενειών των φυτών. *Ινστιτούτο Ελιάς & Υποτροφικών Φυτών Χαλίων*.

- Νάνος, Γ. (2013). *ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑ Ι: Σημειώσεις για ειδικά θέματα*. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Εργαστήριο Δενδροκομίας.
- Παναγόπουλος, Χ.Γ. (2007). *Ασθένειες Καρποφόρων Δένδρων & Αμπέλου*. Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε., Αθήνα.
- Παπαδοπούλου – Μουρκίδου, Ε. (2008). *Γεωργικά Φάρμακα: Χημεία, Φαρμακολογία (Φαρμακοκινητική / Μεταβολισμός / Τρόπος δράσης), Τοξικολογία, Οικοτοξικολογία και Συμπεριφορά και Τύχη στο Περιβάλλον*. Εκδόσεις Μέθεξις, Θεσσαλονίκη.
- Ποντίκης, Α.Κ. (1985). *Μηλοειδή*. Εκδόσεις Καραμπερόπουλος, Αθήνα.
- Τζάμος, Ε.Κ. (2007). *Φυτοπαθολογία*. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα.
- Τσατσαρέλης, Α.Κ. (1981). *Εκμηχάνιση της συγκομιδής των καρπών των οπωροφόρων δένδρων*. Γιαχούδη – Γιαπουλή, Θεσσαλονίκη.
- Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων. (2014). Βάση Δεδομένων Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων. [Online]. Διαθέσιμο στο <http://www.minagric.gr/syspest/>