

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**Σχολή Γεωπονικών Επιστημών**

**Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής & Αγροτικού**

**Περιβάλλοντος**



**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Ευαισθησία απομονώσεων του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary που συλλέχθηκαν κατά τα έτη 2018-2019 από λάχανο και μαρούλι σε διάφορες ομάδες μυκητοκτόνων »**

**Αφεντούλη Ελένη**

**Εργαστήριο φυτοπαθολογίας**

**Ε. Βέλλιος**

**ΒΟΛΟΣ, 2020**

**Θέμα : «Ευαισθησία απομονώσεων του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary που συλλέχθηκαν κατά τα έτη 2018-2019 από λάχανο και μαρούλι σε διάφορες ομάδες μυκητοκτόνων »**

**Theme : “Fungicide sensitivity of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary isolates collected during 2018-2019 from cabbage and lettuce”**

**Μέλη τριμελούς εξεταστικής επιτροπής:**

Βέλλιος Ευάγγελος : Επίκουρος Καθηγητής (Φυτοπαθολογία- Σύγχρ. Μέθ. Διαγνωστικής), Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (Επιβλέπων)

Βαγγέλας Ιωάννης : Επίκουρος Καθηγητής (Φυτοπαθολογία), Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Λιολιοπούλου Φεβρωνία : Μέλος Ε.ΔΙ.Π , εργαστήριο φυτοπαθολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

«Βεβαιώνω ότι είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας, η οποία εκπονήθηκε σύμφωνα με τον Κανονισμό Εκπόνησης Πτυχιακής Εργασίας του ΤΓΦΠΑΠ»

## **Περιεχόμενα**

### **1. Εισαγωγή**

- 1.1. Ο φυτοπαθογόνος μύκητας *Sclerotinia sclerotiorum*
- 1.2. Ασθένειες που προκαλεί ο μύκητας *Sclerotinia sclerotiorum*
  - 1.2.1. Ταυτοποίηση του μύκητα
  - 1.2.2. Συμπτώματα
  - 1.2.3. Σημεία
  - 1.2.4. Βιολογικός κύκλος παθογόνου - συνθήκες ανάπτυξης
  - 1.2.5. Αντιμετώπιση της ασθένειας
- 1.3. Δραστικές ουσίες για την αντιμετώπιση των ασθενειών που προκαλεί ο μύκητας *S. sclerotiorum*

### **2. Υλικά και μέθοδοι**

- 2.1. Συλλογή και διατήρηση απομονώσεων του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum*
- 2.2. Δραστικές ουσίες-σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν
- 2.3. Δοκιμή αποτελεσματικότητας μυκητοκτόνων στην παρεμπόδιση αύξησης μυκηλίου του μύκητα *S.sclerotiorum*

### **3. Αποτελέσματα**

- 3.1 Απομονώσεις *Sclerotinia sclerotiorum*
- 3.2 Αποτελεσματικότητα μυκητοκτόνων στην παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου του μύκητα *S.sclerotiorum*

### **4. Συζήτηση**

### **5. Συμπεράσματα**

### **6. Βιβλιογραφία**

## **Περίληψη**

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία συλλέχθηκαν απομονώσεις του μύκητα *S.sclerotiorum* από κεφαλές λάχανων, από καρπό αγγουριάς και φυτά μαρουλιού με προσβολή στο λαιμό και μελετήθηκε η ευαισθησία τους στα propiconazole (Bumper 25 EC), fenhexamid (Teldor 50 WG), cyproconazole (ATEMI 10 WG), fludioxonil (Geoxe 50 WG) και iprodione (ROVRAL 50 WG). Έγιναν δοκιμές αποτελεσματικότητας *in vitro* των παραπάνω μυκητοκτόνων στη παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου στις συγκεντρώσεις 10ppm, 1ppm, 0,1ppm, 0,01ppm, 0,001ppm και μάρτυρες (0ppm) σε θρεπτικό υλικό PGA με τρεις επαναλήψεις της κάθε μιας, με σκοπό την εύρεση της ελάχιστης παρεμποδιστικής συγκέντρωσης (M.I.C.). Η μακροχρόνια και εκτεταμένη χρήση των μυκητοκτόνων και ιδίως των διασυστηματικών, αυξάνει τις πιθανότητες ανάπτυξης ανθεκτικότητας, λόγω επικράτησης των ανθεκτικών στελεχών και αποτελεί έναυσμα για την περαιτέρω έρευνα των γενετικών και βιοχημικών μηχανισμών ανθεκτικότητας. Άλλωστε, η ανάπτυξη ανθεκτικότητας οδηγεί σε σημαντική απώλεια αποτελεσματικότητας, πρόβλημα που συχνά αφορά τα διασυστηματικά μυκητοκτόνα λόγω της εξειδικευμένης δράσης τους σε υποκυτταρικό επίπεδο. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης πτυχιακής εργασίας έδειξαν ότι η δραστική ουσία fenhexamid ήταν η λιγότερο αποτελεσματική, καθώς ήθελε συγκέντρωση πάνω από 10ppm για πλήρη παρεμπόδιση της ανάπτυξης μυκηλίου, ενώ η δραστική ουσία fludioxonil ήταν η αποτελεσματικότερη καθώς παρουσίασε M.I.C. στη συγκέντρωση 0,1ppm.

Λέξεις κλειδιά : *S.sclerotiorum*, μυκητοκτόνα, ανθεκτικότητα, ευαισθησία, *in vitro*

## 1. Εισαγωγή

### 1.1. Ο φυτοπαθογόνος μύκητας *Sclerotinia sclerotiorum*

Ο παθογόνος μύκητας *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, αναφέρθηκε για πρώτη φορά για τις καταστροφικές του δράσεις το 1837 , ως *Peziza sclerotiorum* και μετέπειτα πήρε την σημερινή του ονομασία όταν η Prudy το 1979 διαπίστωσε ο Barry χρησιμοποίησε το όνομα αυτό το 1887 (Libert 1837; Bary 1887).

Πρόκειται για έναν νεκροτροφικό ασκομύκητα που για να παράγει ενέργεια και να ολοκληρώσει τον βιολογικό του κύκλο, τρέφεται με νεκρά φυτικά κύτταρα. Αυτό επιτυγχάνεται μέσα από την παραγωγή ενζύμων και τοξινών που καταστρέφουν τα κυτταρικά τοιχώματα (Amsellem *et al.* 2011).

Πίνακας 1. Ταξινόμηση του *S.sclerotiorum*.

Kingdom	Fungi
Phylum	Ascomycota
Class	Discomycetes
Order	Helotiales
Family	Sclerotiniaceae
Genus	Sclerotinia
Species	<i>S.sclerotiorum</i>

### 1.2. Ασθένειες που προκαλεί ο μύκητας *Sclerotinia sclerotiorum*

Ο *S.sclerotiorum* έχει ένα μεγάλο εύρος ξενιστών, πάνω από 400 καλλιεργούμενα και αυτοφυή λαχανικά, λουλούδια και βοτανικά είδη (Boland and Hall 1994; Kirk *et al.* 2001). Έχει αναφερθεί ότι προσβάλλει πληθώρα βοτανικών ειδών, 225 γένη φυτών, από 64 οικογένειες (Παναγόπουλος 1995). Οι ξενιστές του *S.sclerotiorum* ανήκουν στα σπερματόφυτα, τέσσερις μόνο από αυτούς ανήκουν στα γυμνόσπερμα και οι υπόλοιποι στα αγγειόσπερμα. Οι περισσότεροι ξενιστές ανήκουν στα δικοτυλήδονα φυτά των αγγειόσπερμα και συγκεκριμένα στις οικογένειες Apiaceae , Asteraceae, Brassicaceae, Fabaceae, Solanaceae ,Ranunculaceae (Boland and Hall 1994) , οι πιο σημαντικοί είναι : το λάχανο, το μαρούλι, η αγγουριά, η μελιτζάνα, η φασολιά, το καρότο, η κολοκυθιά (Merriman *et al.* 1979; Hudyncia

*et al.* 2000; Clarkson *et al.* 2007; Mahalingam *et al.* 2016). Στα μονοκοτυλήδωνα ανήκουν μόνο 5 οικογένειες ξενιστών. Το μεγάλο εύρος ξενιστών είναι που καθιστά τον μύκητα ως ένα οικονομικά σημαντικό παθογόνο, οι απώλειες της παραγωγής μπορεί να είναι περισσότερες από 50% (Young *et al.* 2001) και που δυσκολεύει τον έλεγχο του (Reis and Lopes 2007)

Ο μύκητας είναι υπεύθυνος για την ασθένεια σκληρωτινίαση κι άλλες σοβαρές ασθένειες όπως watery soft rot, cottony soft rot, lettuce drop, blossom blight, sclerotinia stem rot και το πιο γνωστό ως white mould (Παναγόπουλος 1995; Agrios 2004; Purdy 1979;). Χαρακτηριστικό του μύκητα είναι ότι μπορεί να προσβάλλει ένα ξενιστή σε οποιοδήποτε στάδιο ανάπτυξης, ακόμα και μετασυλλεκτικά (Agrios 2004; Hudyncia *et al.* 2000 ).

### **1.2.1. Ταυτοποίηση του μύκητα**

Η ταυτοποίηση του μύκητα γίνεται με τα δύο χαρακτηριστικά του: το πυκνό, λευκό και βαμβακώδες μυκήλιο και τα μεγάλα μαύρα σκληρώτια του (Kirk *et al.* 2001). Τα σκληρώτια όταν βλαστάνουν δίνουν μυκήλιο ή αποθήκια. Το πλούσιο μυκήλιο αποτελείται από υαλώδεις, διακλαδισμένες και με σέπτα υφές (Holsx-Jensen *et al.* 1997). Οι υφές αναπτύσσονται παράλληλα, ενώνονται με πλάγιους βραχίονες και έτσι σχηματίζουν τα σκληρώτια του μύκητα (Τζάμος 2007). Τα αποθήκια έχουν χοανοειδές σχήμα με στύπο, με διάμετρο 3-8mm και ύψος 15-25mm και απελευθερώνουν πολλά ασκοσπόρια διαστάσεων 9-13x4-6.5 (Παναγόπουλος 1995), τα οποία έχουν συνήθως ελλειψοειδές σχήμα και είναι υαλώδη (Kohn 1979).

### **1.2.2. Συμπτώματα**

Συνήθως τα συμπτώματα του μύκητα εμφανίζονται στο λαιμό του φυτού, κοντά στη γραμμή του εδάφους και στη βάση των φύλλων, αλλά αναπτύσσεται και στους καρπούς και τα στελέχη. Αρχικά παρατηρείται μάρανση του φυτού, τα φύλλα κιτρινίζουν, ξεραίνονται και δημιουργούνται υδατώδεις υπόλευκες κηλίδες- έλκη τόσο στο στέλεχος, στα φύλλα, αλλά και έντονη υγρή σήψη στους καρπούς του ξενιστή. Κάτω από συνθήκες υγρασίας τα σημεία αυτά καλύπτονται από πλούσιο μυκήλιο και μεγάλα μαύρα σκληρώτια (Παναγόπουλος 1995).

### 1.2.3. Σημεία

Το κυριότερο χαρακτηριστικό του μύκητα είναι τα σκληρώτια που δημιουργεί ως διαχειμάζουσες μορφές του (Willettts and Wong 1971) και μπορούν να επιβιώσουν στο έδαφος για πάνω από 8 χρόνια ανεξαρτήτως των καιρικών συνθηκών (Adams and Ayers 1979; Merriman *et al.* 1979; Clarkson *et al.* 2007) . Το μέγεθος τους εξαρτάται από τον ξενιστή και μπορεί να είναι μήκους 1-30mm (Sanogo and Puppala 2007). Πρόκειται για σκληρές κατασκευές μυκηλίου που δημιουργούνται από συμπυκνωμένες συνενώσεις μεγάλου αριθμού υφών (Τζάμος 2007), οφείλουν το μαύρο χρώμα τους στη υψηλή ποσότητα μελανίνης των εξωτερικών τους τοιχωμάτων, που τους προσδίδει προστασία- μόνωση και εξασφαλίζει την διατήρησή τους (Bell and Wheeler 1986; Henson *et al.* 1999; Agrios 2004). Στην αρχή το χρώμα τους είναι λευκό και είναι σχετικά μαλακά, ενώ αργότερα μαυρίζουν και σκληραίνουν (Agrios 2004). Υπό κατάλληλες συνθήκες μπορούν να βλαστήσουν και να δώσουν υφές ή αποθήκια (Τζάμος 2007).

### 1.2.4. Βιολογικός κύκλος παθογόνου - συνθήκες ανάπτυξης

Ο σημαντικότερος ρόλος στην επιδημιολογία του *S.sclerotiorum* ανήκει στα σκληρώτια λόγω της δυνατότητας τους να επιβιώνουν στις αντίξοες συνθήκες. Μπορούν να βλαστήσουν δημιουργώντας μυκήλιο ή απελευθερώνοντας ασκοσπόρια.. Τα σκληρώτια του μύκητα που διαχειμάζουν στο έδαφος βλαστάνουν και μολύνουν απευθείας τους ιστούς των ριζών, βλαστών και φύλλων που έρχονται σε επαφή με το έδαφος δημιουργώντας υφές (Abawi and Grogan 1979; Purdy 1979; Bardin and Huang 2001). Τα σκληρώτια μπορούν να παράγουν και αποθήκια, από τα οποία απελευθερώνονται τα ασκοσπόρια που μολύνουν τα υπέργεια μέρη των ξενιστών, δηλαδή τον βλαστό, τα άνθη, τους καρπούς και τα φύλλα (Abawi and Grogan 1979; Adams and Ayers 1979; Bardin and Huang 2001; Bolton *et al.* 2006). Τα ασκοσπόρια είναι υπεύθυνα για τις περισσότερες ασθένειες, ως πρωτογενείς μολύνσεις και μετέπειτα με η βλάστηση των σκληρωτίων αποτελεί την αρχή για τις δευτερεύοντες μολύνσεις (Smith 1900; Abawi and Grogan 1979; Clarkson *et al.* 2007).

Η εμφάνιση και ανάπτυξη του μύκητα *S.sclerotiorum* εξαρτώνται πολύ από τις περιβαλλοντολογικές συνθήκες (Sanogo and Puppala 2007), όπως είναι η optimum θερμοκρασία βλάστησης των σκληρωτίων , η θερμοκρασία, του εδάφους, η υγρασία, το pH και η διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων. Τα πιο σημαντικά είναι η θερμοκρασία ανάπτυξης του μυκηλίου, όπου μέγιστη ανάπτυξη παρατηρήθηκε στους



20°C και λιγότερη στους 25° C και 30°C (Prova *et al.* 2018) και το pH τιμών 4-9 (Rollins and Dickman 2001). Όσον αφορά την ανάπτυξη των σκληρωτίων επηρεάζεται και από τις πηγές άνθρακα και αζώτου (Shin *et al.* 2008).

Στην παραγωγή αποθηκίων και κατ' επέκταση στην ανάπτυξη του μύκητα απαραίτητες είναι συνθήκες σχετικά χαμηλής θερμοκρασίας και υψηλής υγρασίας (Morrall 1977; Williams and Western 1965).

### **1.2.5. Αντιμετώπιση της ασθένειας**

Η επιβίωση των σκληρωτίων του μύκητα στο έδαφος είναι ένας από τους παράγοντες που καθιστούν δύσκολη την αντιμετώπιση του (Adams and Ayers 1979). Ένας ακόμη παράγοντας είναι η διασπορά των μυκητοκτόνων μόνο σε κάποια κομμάτια του αγροτικού τεμαχίου και όχι καθολικά (Merriman *et al.* 1979). Από τα μολυσμένα μέρη των φυτών που συλλέγονται μπορεί να μεταφερθεί εύκολα η μόλυνση προς τα υγιή φυτά μετά την απομάκρυνση τους από τον αγρό, δηλαδή στη μεταφορά ή στην αποθήκευση τους, γεγονός που καθιστά το σωστό χειρισμό του μύκητα αναγκαίο. Η αντιμετώπιση μπορεί να περιλαμβάνει χημική καταπολέμηση, βιολογική αντιμετώπιση και καλλιεργητικά μέτρα.

### **1.3.1. Δραστικές ουσίες για την αντιμετώπιση των ασθενειών που προκαλεί ο μύκητας *S. Sclerotiorum***

Η αντιμετώπιση του *S.sclerotiorum* γίνεται κυρίως με τη χρήση επαναλαμβανόμενων ψεκασμών μυκητοκτόνων, ώστε να μην απελευθερωθούν ασκοσπόρια. Μερικές δραστικές ουσίες που συστήνονται για την αντιμετώπιση του μύκητα είναι οι benomyl, iprodione, procymidone, vinclozolin, dichloran, pyrisoxazole, carbendazim (Παναγόπουλος 1995). Οι δραστικές ουσίες fludioxonil, fenhexamid και iprodione έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετές φορές και με καλά αποτελέσματα στο παρελθόν σε πολλές έρευνες (Patterson 1985; Matheron and Porchas 2004)

Οι παραπάνω δραστικές ουσίες ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες μυκητοκτόνων. Συγκεκριμένα, βενζιμιδαζολικά που ανήκουν στους παρεμποδιστές της μιτωτικής διαίρεσης, είναι παράγωγα της βενζιμιδαζόλης και δρούν παρεμποδίζοντας τον σχηματισμό της ατράκτου μίτωσης. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι δραστικές ουσίες benomyl και carbendazim, διασυστηματικά μυκητοκτόνα που

χρησιμοποιούνται για ριζοπότισμα και ψεκασμούς στα υπέργεια τμήματα του φυτών (Ζιώγας Β.Ν. 2017).

Μία άλλη σημαντική κατηγορία μυκητοκτόνων είναι οι ενώσεις που προκαλούν βλάβες στη δομή των κυτταρικών μεμβρανών και περιλαμβάνει μέσα σε άλλα τους αρωματικούς υδρογονάνθρακες, τα δικαρβοξυμιδικά και τα φαινυλοπυρρολικά μυκητοκτόνα. Τα βενζιμιδαζολικά λόγω ανάπτυξης αντοχής και ανθεκτικότητας οδήγησαν στη δημιουργία νέων διασυστηματικών μυκητοκτόνων, τα δικαρβοξυμιδικά. Σε αυτά ανήκουν τα vinclozolin και procymidone, που έχουν ισχυρή ανασταλτική δράση ως προς την ανάπτυξη μυκηλίου, βλάστηση σπορίων και το iprodione που αναστέλλει τη βιοσύνθεση στερολών και του DNA. Η συχνή εφαρμογή τους αυξάνει τη ταχύτητα διάσπασής τους, με αποτέλεσμα τη μείωση της αποτελεσματικότητάς τους. Οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες ( AHF's ), στους οποίους ανήκει η δραστική ουσία dichloran παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση μετασυστηματικών ασθενειών φρούτων και λαχανικών. Η δραστική ουσία fludioxonil ανήκει στα φαινυλοπυρρολικά, μη διασυστηματικά μυκητοκτόνα, με ευρύ φάσμα δράσης, καλή υπολειμματική δράση και παρεμποδιστική δράση ως προς τη βλάστηση σπορίων και την ανάπτυξη μυκηλίου (Ζιώγας Β.Ν. 2017).

Ακόμη μία κατηγορία αποτελούν οι αναστολείς βιοσύνθεσης στερολών ( SBI's), σημαντικά διασυστηματικά μυκητοκτόνα-βοτρυδιοκτόνα με δράση κατά παθογόνων ασκομυκήτων. Περιλαμβάνουν τους αναστολείς της απομεθυλίωσης του άνθρακα 14 της λανοστερόλης (DMI's) , με τις τριαζόλες στις οποίες ανήκουν οι δραστικές ουσίες propiconazole, cyproconazole και pyrioxazole, και την ομάδα των υδροξυανιλιδίων, με τη δραστική ουσία fenhexamid (Ζιώγας Β.Ν. 2017).

### **1.3.2. Βιολογική αντιμετώπιση**

Πολλές έρευνες έχουν γίνει με αντικείμενο τη βιολογική αντιμετώπιση του *S.slerotiorum*, κυρίως με μύκητες, μυκοπαράσιτα και βακτήρια (Παναγόπουλος 1995). Τα σημαντικότερα από τα παραπάνω είναι τα *Coniothyrium minitans* (Huang 1976)(Huang 1980), το *Gliocladium virens* , *Trichoderma harzianum* (Whipps 1987), *Pythium oligandrum* , *Sporidesmium sclerotivorum* (Adams and Ayers 1979), *Trichothecium roseum*. Τα αποτελέσματα στις έρευνες ήταν θετικά ως προς την αντιμετώπιση του μύκητα και δίνουν το έναυσμα για περαιτέρω μελέτη.

### 1.3.3. Καλλιεργητικές μέθοδοι αντιμετώπισης

Η δυσκολία στην αντιμετώπιση του μύκητα έγκειται και στο ευρύ φάσμα ξενιστών του, που καθιστά μη χρήσιμη την αμειψισπορά (Reis and Lopes 2007). Η μείωση της άρδευσης, η αραιοφυτευμένη καλλιέργεια και η καλή αποστράγγιση βοηθούν στην μείωση της εδαφικής υγρασίας που βοηθά τον μύκητα να αναπτυχθεί. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ο μύκητας μεταφέρεται εύκολα από τα μολυσμένα στα υγιή φυτά, άρα συνιστάται απολύμανση του εδάφους μετά το τέλος της καλλιέργειας με χημικά σκευάσματα ή ηλιοαπολύμανση, ξερίζωμα και απομάκρυνση των προσβεβλημένων φυτικών υπολειμμάτων από το έδαφος και βαθύ όργωμα ώστε να απομακρυνθούν από την επιφάνεια του εδάφους τα σκληρώτια (Παναγόπουλος 1995). Το βαθύ όργωμα έχει καλές προοπτικές ως αντιμετώπιση καθώς είναι σχεδόν απίθανο να βγουν στην επιφάνεια τα σκληρώτια (Williams and Western 1965; Merriman *et al.* 1979). Η ηλιοαπολύμανση είναι επίσης, αρκετά αποτελεσματική για τα σκληρώτια που βρίσκονται στην επιφάνεια και έως 15 cm κάτω από το έδαφος, καθώς τα εμποδίζουν να βλαστήσουν και να δώσουν αποθήκια. Απαραίτητη είναι η καταστροφή των μολυσμένων φυτών, φυτικών τμημάτων και των σκληρωτίων ώστε να μην παραμείνουν στο έδαφος (Παναγόπουλος 1995).

## **2. Υλικά και μέθοδοι**

### **2.1. Συλλογή και διατήρηση απομονώσεων του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum***

Οι απομονώσεις προέρχονται από σκληρώτια του μύκητα που συλλέχθηκαν, αφέθηκαν να στεγνώσουν για 3 μέρες, απολυμάνθηκαν και αναπτύχθηκαν σε τρυβλία με θρεπτικό υλικό PGA (200g πατάτας, 15g γλυκόζη και 15g άγαρ σε 1000 ml νερό). Τα σκληρώτια των A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub> μαζεύτηκαν από κεφαλές λάχανων, η απομόνωση A<sub>6</sub> είναι από καρπό αγγουριάς, θερμοκηπίου και οι B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>7</sub>, B<sub>8</sub> είναι από φυτά μαρουλιού με προσβολή στο λαιμό. Οι απομονώσεις μεταφέρθηκαν από τα τρυβλία σε σωλήνες με PGA και τοποθετήθηκαν στον επωαστικό θάλαμο (στους 25°C). Ανανέωση κάθε απομόνωσης πραγματοποιούνταν κάθε 30-45 μέρες. Από τις αρχικές απομονώσεις δημιουργήθηκαν νέες καθαρές σε τρυβλία, από τα οποία γινόταν μεταφορές κάθε φορά 2-3 μέρες πριν τις δοκιμές με μυκητοκτόνα.

Το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη του μύκητα και τις δοκιμές των μυκητοκτόνων ήταν το PGA (Potato Glucose Agar) με αναλογία 200g πατάτας, 15g γλυκόζη και 15g άγαρ σε 1000 ml νερό. Μετά την παρασκευή του το υλικό αποστειρώθηκε στο αυτόκαυστο 121°C για 15 min υπό πίεση 1.2 atm.

Τα σκληρώτια για να χρησιμοποιηθούν πρώτα απολυμάνθηκαν υπό ασηπτικές συνθήκες με τη χρήση υδατικού διαλύματος υποχλωριώδους νατρίου συγκέντρωσης 3% σύμφωνα με το πρωτόκολλο (Mahalingam et al. 2016), με κάποιες αλλαγές. Αρχικά εμβαπτίστηκαν στο διάλυμα χλωρίνης για 1' και μετά από δύο διαδοχικές πλύσεις σε απιονισμένο αποστειρωμένο νερό (diH<sub>2</sub>O) για 1' στη κάθε μια (όχι τρεις πλύσεις όπως το δείχνει το πρωτόκολλο), αφέθηκαν για λίγο σε τρυβλίο με αποστειρωμένο διηθητικό χαρτί (απορρόφηση περίσσειας νερού) και τοποθετήθηκαν στο κέντρο τρυβλίου με PGA ή σωλήνα με PGA για να βλαστήσουν. Έπειτα τα τρυβλία τοποθετήθηκαν στον επωαστικό θάλαμο στους 25 °C όπου παρατηρήθηκε ότι μετά από 5-7 ημέρες το μυκήλιο αναπτύχθηκε πλήρως και κάλυψαν το τρυβλίο με μυκήλιο και νέα σκληρώτια περιφερειακά του νέου μυκηλίου.

### **2.2. Δραστικές ουσίες-σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν**

Οι δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν είναι η propiconazole (Bumper 25 EC), η fenhexamid (Teldor 50 WG), η cyproconazole (ATEMI 10 WG), η fludioxonil (Geoxe 50 WG) και η iprodione

(ROVRAL 50 WG). Στην αρχή παρασκευάστηκαν τα πυκνά διαλύματα (stock) των 1000mg/L, 100mg/L, 10mg/L, 1mg/L, 0,1mg/L δραστικής ουσίας (δ.ο.) για κάθε μυκητοκτόνο. Η ποσότητα του σκευάσματος υπολογίστηκε σύμφωνα με βάση την περιεκτικότητα σε δραστική ουσία: οι fenhexamid και iprodione περιέχουν 50% δ.ο., το cyproconazole 10% και η propiconazole 25%. Πρώτα ζυγίστηκε σε αναλυτικό ζυγό και διαλύθηκε με συμπλήρωση diH<sub>2</sub>O, δημιουργώντας το πυκνό διάλυμα των 10ppm. Από αυτό το πυκνό διάλυμα (stock), με την προσθήκη diH<sub>2</sub>O, δηλαδή διαδοχικές αραιώσεις, έγιναν και οι υπόλοιπες συγκεντρώσεις των μυκητοκτόνων.

Για κάθε μυκητοκτόνο υπολογίστηκαν τα mg δ.ο. ανά mL PGA, που συνήθως ήταν 60mL PGA ανά κωνική φιάλη για κάθε 3 τρυβλία (ή ακριβώς το διπλάσιο δηλ. 120 mL ανά κωνική για κάθε 6 τρυβλία). Αναλυτικότερα : 1) propiconazole : 120 mL σκεύασμα σε 9880μL diH<sub>2</sub>O, άρα 10 mL διάλυμα με 30 mg δ.ο. (stock), 2) fenhexamid : 3,4 mg σκεύασμα σε 0.56 mL diH<sub>2</sub>O, άρα 0.56 mL διάλυμα με 1.7 mg δ.ο., 3) cyproconazole : 36,2 mg σκεύασμα σε 1.2 mL diH<sub>2</sub>O, άρα 1.2 mL με 3.6 mg δ.ο. , 3) iprodione: 3,3 mg σκεύασμα σε 0,55 mL diH<sub>2</sub>O, άρα 0,55 mL διάλυμα με 1,65 mg δ.ο. και 4) fludioxonil: 120 mL σκεύασμα σε 9940 μL diH<sub>2</sub>O , άρα 10 mL διάλυμα με 30 mg δ.ο. .

Οι δοκιμές μυκητοκτόνων έγιναν για έξι συγκεντρώσεις κάθε μυκητοκτόνου : 10ppm, 1ppm, 0.1ppm, 0.01ppm, 0.001ppm και 0ppm (μάρτυρες), σε 3 επαναλήψεις. Ως μάρτυρας θεωρήθηκαν τα τρυβλία που περιείχαν υλικό PGA χωρίς κάποια δραστική.

### **2.3. Παρασκευή θρεπτικού υλικού και προσθήκη των μυκητοκτόνων**

Το θρεπτικό υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε για τη δοκιμή των μυκητοκτόνων ήταν PGA (Potato Glucose Agar- πατάτα γλυκόζη άγαρ) με αναλογίες : 200g πατάτας, 15g γλυκόζης, 15g άγαρ και 1000ml απιονισμένου νερού. Οι πατάτες καθαρίστηκαν, κόπηκαν σε μικρά κυβάκια και τοποθετήθηκαν σε κωνική φιάλη που περιείχε τη μισή ποσότητα απιονισμένου νερού (500mL) και αφέθηκαν να βράσουν μέχρι να μαλακώσουν τόσο ώστε να λιώνουν. Έπειτα περάστηκε από διπλό τουλπάνι και συμπληρώθηκε μέχρι τα 500mL, καθώς αρκετή ποσότητα νερού εξατμίστηκε. Ταυτόχρονα σε άλλη κωνική φιάλη με την υπόλοιπη ποσότητα απιονισμένου νερού (500mL), προστέθηκε το άγαρ και αφέθηκε να βράσει με συνεχές ανακάτεμα έως ότου διαλυθεί πλήρως. Στο πρώτο διάλυμα προσθέσαμε σταδιακά τη γλυκόζη και αναδεύσαμε για να διαλυθεί. Έπειτα το προσθέσαμε στη κωνική που περιείχε το διαλυμένο άγαρ και αναδεύσαμε καλά ώστε να ομογενοποιηθεί. Στη συνέχεια ογκομετρήθηκε ανά 60

mL (ή ανά 120 mL) και τοποθετήθηκε σε μικρότερες κωνικές των 250 mL. Οι κωνικές με το PGA αποστειρώθηκαν στο αυτόκαυστο (121°C για 15 min υπό πίεση 1.2 atm). Όταν οι κωνικές δεν χρησιμοποιούνταν κατευθείαν για δοκιμή μυκητοκτόνου, αποθηκεύονταν στο ψυγείο στους 2,5°C. Όταν ήταν προγραμματισμένη η δοκιμή οι κωνικές με το υλικό έπρεπε να ζεσταθούν ώστε να λιώσει ομοιόμορφα το υλικό.

Για τη δοκιμή μυκητοκτόνου προστέθηκε κάθε φορά η υπολογισμένη συγκέντρωση των μυκητοκτόνων στις κωνικές με το λιωμένο θρεπτικό υλικό, με συνεχή ανάδευση, και στη συνέχεια αυτό τοποθετήθηκε σε ίση περίπου ποσότητα (20mL) σε τρυβλία Petri με διάμετρο 9cm, όπου αφέθηκε να σταθεροποιηθεί. Η ποσότητα μυκητοκτόνου υπολογίστηκε όπως αναφέρθηκε στη παράγραφο 1.2. .

#### **2.4. Δοκιμή αποτελεσματικότητας μυκητοκτόνων στην παρεμπόδιση αύξησης μυκηλίου του μύκητα *S.sclerotiorum***

Κάθε συγκέντρωση ανακατεύτηκε με υλικό PGA , απλώθηκε σε τρυβλία Petri των 9cm και αφέθηκε να σταθεροποιηθεί σε θάλαμο στρωτής ροής αέρα.. Μόλις σταθεροποιήθηκε έγινε εμβολιασμός με μυκηλιακούς δίσκους 2mm που αποκόπηκαν από τη περιφέρεια καλλιιεργειών 2-4 ημερών με χρήση φελοτρυπητήρα. Η αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου στην παρεμπόδιση της μυκηλιακής ανάπτυξης υπολογίστηκε με μέτρηση της διαμέτρου του μυκηλίου στις 6 συγκεντρώσεις, στις 42-45 ώρες επώασης στους 25°C. Ορισμένες φορές οι μετρήσεις έγιναν μετά από 52-54 ώρες, με αποτέλεσμα να υπάρχει μικρή ανάπτυξη γύρω από τον μυκηλιακό δίσκο. Στις περιπτώσεις που ήταν εφικτός ο προσδιορισμός της M.I.C. (minimum inhibitory concentration) από τις μετρήσεις, τότε οι δοκιμές στις υπόλοιπες απομονώσεις έγιναν για τη M.I.C., μία συγκέντρωση κάτω της MIC, καθώς και για τον μάρτυρα κάθε φορά, σε τρεις επαναλήψεις . Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία με υλικό PGA, απουσία δραστικών ουσιών.

Για την μέτρηση της ανάπτυξης της αποικίας των απομονώσεων για κάθε συγκέντρωση δραστικής ουσίας και των μαρτύρων, μετρήθηκαν δύο κάθετοι διάμετροι με τη βοήθεια με μιλιμετρέ χαρτιού.

### 3. Αποτελέσματα

#### 3.1 Απομονώσεις *Sclerotinia sclerotiorum*

Συλλέχθηκαν 13 απομονώσεις του μύκητα στο χρονικό διάστημα 2018-2019, από τέσσερις διαφορετικές περιοχές, που παρουσιάζονται αναλυτικά στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 2. Περιοχές συλλογής δειγμάτων.

Απομονώσεις	Περιοχές συλλογής	Ημερομηνία
A <sub>1</sub> , A <sub>2</sub> , A <sub>3</sub> , A <sub>4</sub> , A <sub>5</sub>	Αϊδίνιο, Μαγνησίας	10-12-18
A <sub>6</sub>	Πυργετός, Λαρίσης	4-3-19
B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>5</sub> , B <sub>6</sub> , B <sub>7</sub> , B <sub>8</sub>	Αϊδίνιο, Μαγνησίας	4-11-19

#### 3.2 Αποτελεσματικότητα μυκητοκτόνων στην παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου του μύκητα *S.sclerotiorum*

Η παρεμπόδιση της ανάπτυξης του μυκηλίου του *S. sclerotiorum* εξαιτίας της προσθήκης των μυκητοκτόνων καταμετρήθηκε μέσα από τη μέτρηση της ακτίνας του μυκηλίου, σε τρυβλία petri στα οποία είχαν προστεθεί 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις των επιλεγμένων μυκητοκτόνων και μάρτυρες, σε τρεις επαναλήψεις.

Για τη δραστική ουσία propiconazole), έγινε δοκιμή για τις απομονώσεις A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>7</sub> και B<sub>8</sub> (Γράφημα 1,2). Πρώτα έγινε δοκιμή της A<sub>1</sub> και για τις 5 συγκεντρώσεις, 10ppm, 1ppm, 0,1ppm, 0,01ppm, 0,001ppm και μάρτυρες (0ppm). Παρατηρήθηκε πως στη συγκέντρωση 10ppm δεν είχε καθόλου ανάπτυξη, άρα για την A<sub>1</sub> η M.I.C. είναι 10ppm (Γράφημα 1). Για τις υπόλοιπες απομονώσεις επομένως, έγινε δοκιμή για τις συγκεντρώσεις 10ppm, 1ppm και τους μάρτυρες (0ppm). Οι απομονώσεις B<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub> δεν αναπτύχθηκαν ούτε στη συγκέντρωση 1 ppm, άρα η δική τους M.I.C. είναι 1ppm. Οι υπόλοιπες, A<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>7</sub> και B<sub>8</sub> δεν αναπτύχθηκαν στη συγκέντρωση 10 ppm, ενώ στη συγκέντρωση 1ppm παρουσίασαν λίγη ανάπτυξη.

Για τη δραστική ουσία fenhexamid, έγινε πρώτα δοκιμή για την απομόνωση A<sub>5</sub> και την A<sub>1</sub> για όλες τις συγκεντρώσεις, για εύρεση της M.I.C., με διαφορετικά αποτελέσματα (Γράφημα 3, 4). Για την A<sub>5</sub> παρατηρήθηκε μηδενική ανάπτυξη στη συγκέντρωση 10 ppm, ενώ στην A<sub>1</sub> υπήρχε λίγη ανάπτυξη στην

ίδια συγκέντρωση. Έπειτα έγινε δοκιμή για τις A2, A3, A4, A6, B1, B2, B3 , για τις συγκεντρώσεις 10 ppm, 1 ppm και τους μάρτυρες (0ppm) (Γράφημα 5). Στη συγκέντρωση 10ppm, οι A4, A5, A6, B1 δεν αναπτύχθηκαν καθόλου, ενώ οι υπόλοιπες είχαν λίγη ανάπτυξη, με την B2 να φτάνει και τα 2,6 cm. Όσον αφορά τη συγκέντρωση 1 ppm , η A4 δεν αναπτύχθηκε καθόλου, ενώ όλες οι υπόλοιπες αναπτύχθηκαν κανονικά, με διάμετρο ανάπτυξης τη μικρότερη στα 0,1cm για την B1 και μεγαλύτερη στα 4,7cm για την B2.

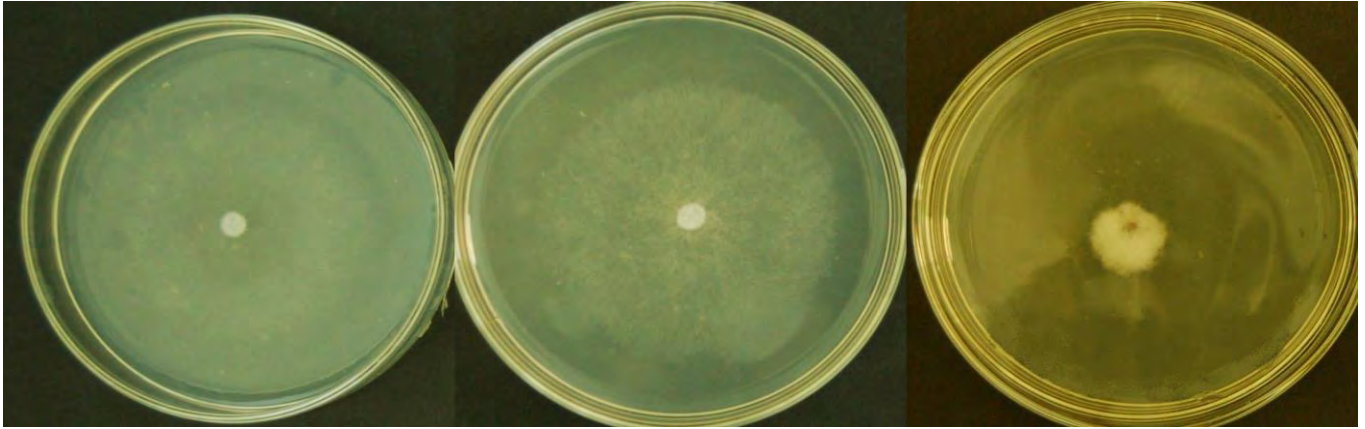
Για τη δραστική ουσία cyproconazole, έγινε δοκιμή πρώτα για την A5 στην οποία παρατηρήθηκε M.I.C. στη συγκέντρωση 1 ppm (Γράφημα 6). Στη συνέχεια έγινε δοκιμή για τις A1, A2, A3, A6 για τις συγκεντρώσεις 5 ppm, 0,5ppm και μάρτυρες (0ppm), όπου η A1 δεν αναπτύχθηκε καθόλου στη συγκέντρωση 5 ppm και οι άλλες αναπτύχθηκαν λίγο, ενώ στη συγκέντρωση 0,5 ppm αναπτύχθηκαν όλες (Γράφημα 7). Η επόμενη δοκιμή έγινε για τις A4, A5, B1, B2, B3 για τις συγκεντρώσεις 1ppm , 0,1ppm και μάρτυρες (0ppm), όπου στη συγκέντρωση 1ppm οι A4, A5, B3 δεν αναπτύχθηκαν καθόλου και οι B1, B2 αναπτύχθηκαν πολύ λίγο (Γράφημα 8).

Η επόμενη δραστική ουσία που δοκιμάστηκε ήταν η fludioxonil. Πρώτα έγινε δοκιμή για την A1, όπου βρέθηκε M.I.C. στη συγκέντρωση 0,1ppm (Γράφημα 9) και στη συνέχεια για τις A2, A3, A4, A5, A6 για 0,1ppm, 1ppm και μάρτυρες(0ppm) και για τις B1, B2, B3 στη συγκέντρωση 0,1ppm, 0,01ppm και μάρτυρες(0ppm) (Γράφημα 10). Όλες οι απομονώσεις στη συγκέντρωση 0,1ppm δεν παρουσίασαν ανάπτυξη, εκτός από την A6 και B1 που παρουσίασε 0,1cm ανάπτυξη.

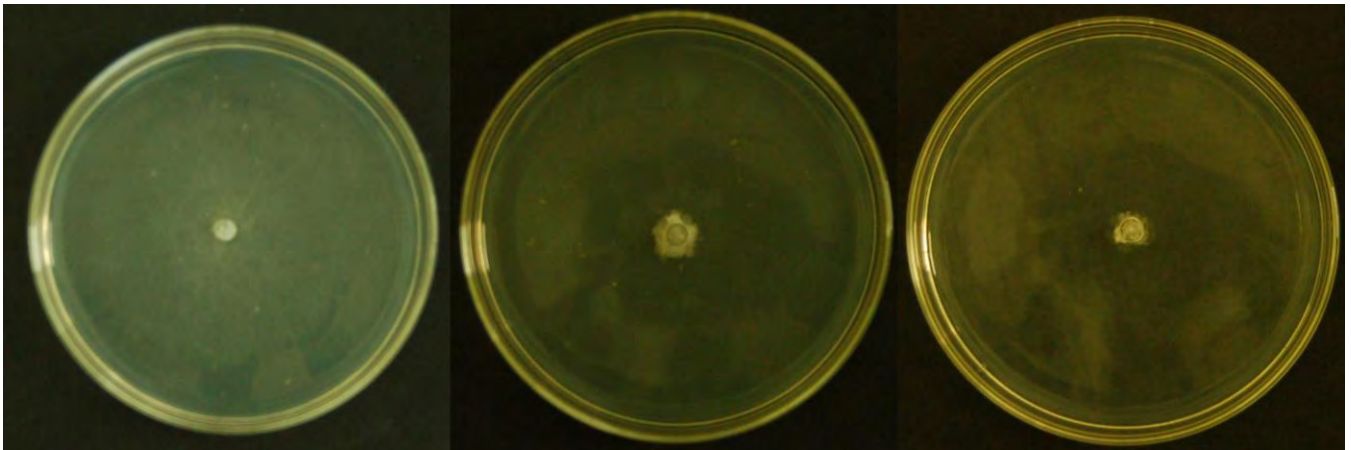
Τέλος, δοκιμάστηκε η δραστική ουσία iprodione. Αρχικά έγινε δοκιμή για την A3, όπου παρουσίασε M.I.C. στη συγκέντρωση 1ppm (Γράφημα 11). Στις υπόλοιπες απομονώσεις διαπιστώθηκε ότι η M.I.C. ήταν μεγαλύτερη από 1ppm καθώς οι A1, A2, A4, A5, A6, B2, B3 παρουσίασαν, αν και μικρή, ανάπτυξη στη συγκέντρωση 1ppm, ενώ για τη B1 ήταν 1ppm, όπως η A3 (Γράφημα 12).

Παρακάτω παρατίθενται κάποιες φωτογραφίες που δείχνουν τις διαφορές στην ανάπτυξη των απομονώσεων για τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις μυκητοκτόνων και τα γραφήματα των αποτελεσμάτων. Στα γραφήματα έχει προστεθεί και η τυπική απόκλιση για κάθε αποτέλεσμα κάθε απομόνωσης. Ακολουθεί στατιστική ανάλυση με two-way ANOVA.

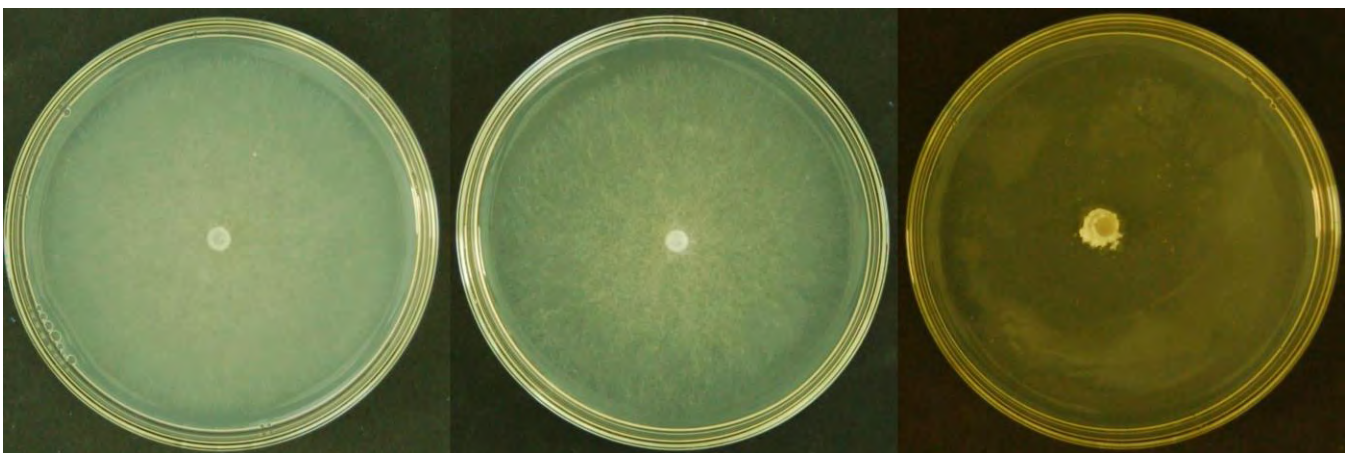




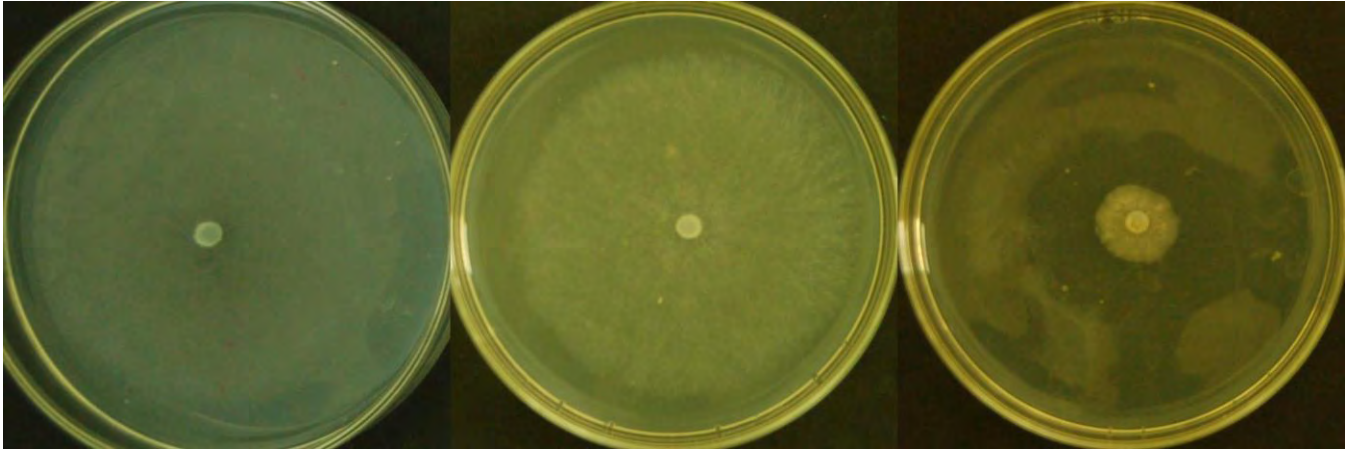
Εικόνα 3. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Α1, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας iprodione. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0,1ppm και δεξιά 1ppm..



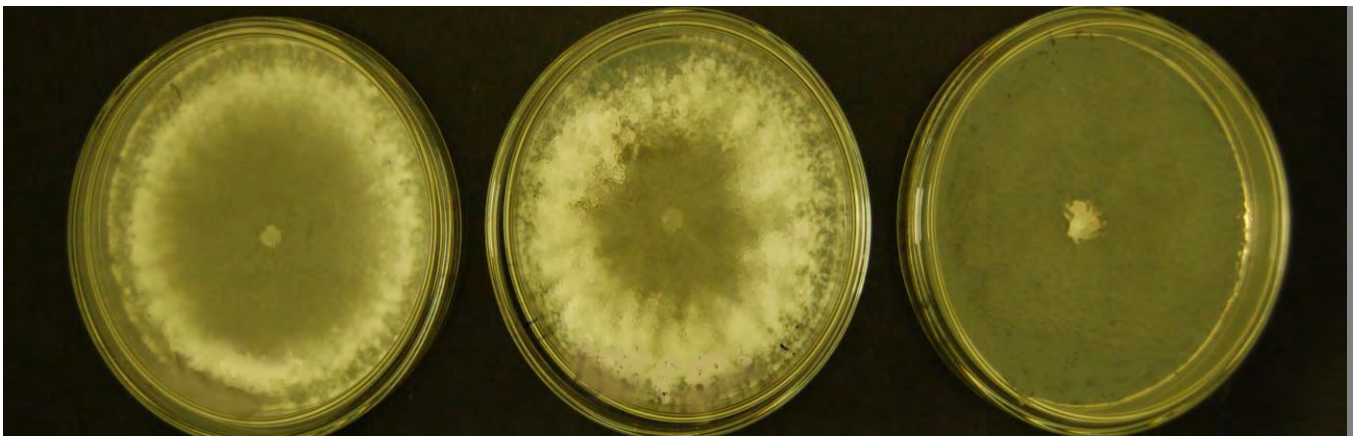
Εικόνα 4. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Α1, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας iprodione. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0,1ppm και δεξιά 1ppm.



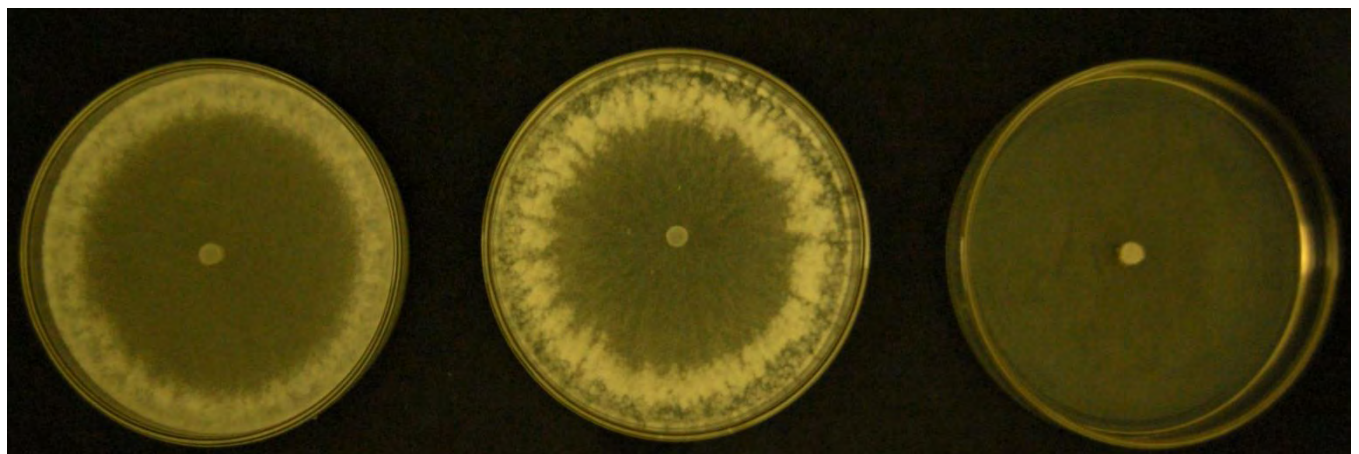
Εικόνα 5. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Α5, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας iprodione. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0,1ppm και δεξιά 1ppm.



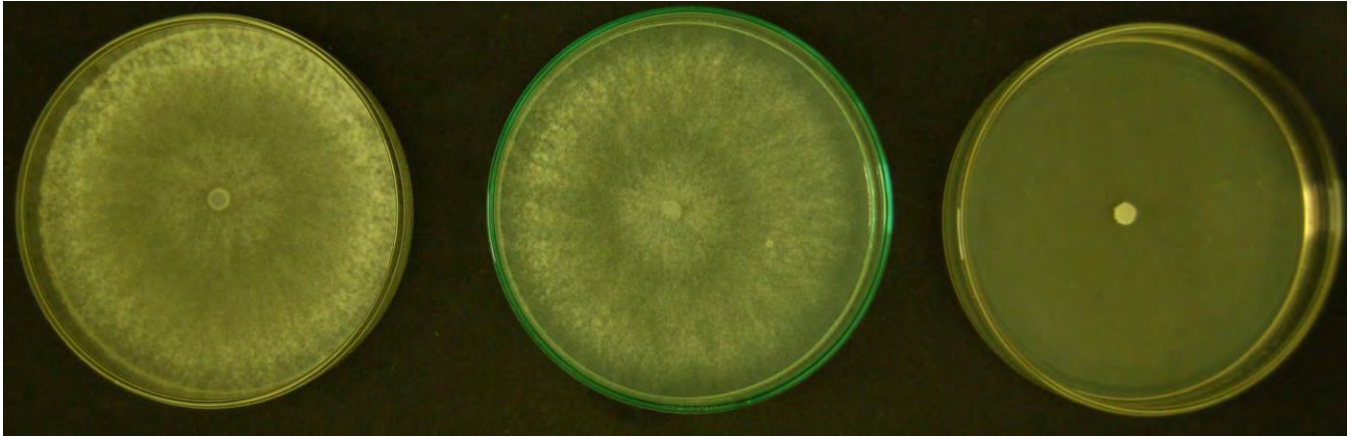
Εικόνα 6. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Α6, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας iprodione. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0,1ppm και δεξιά 1ppm.



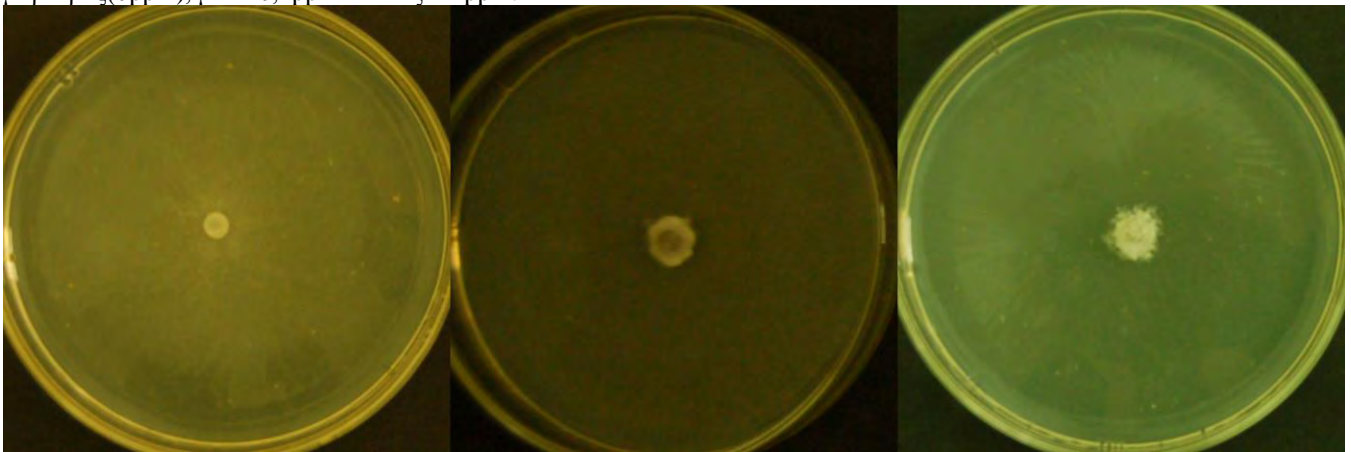
Εικόνα 7. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Β3, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας iprodione. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0,1ppm και δεξιά 1ppm.



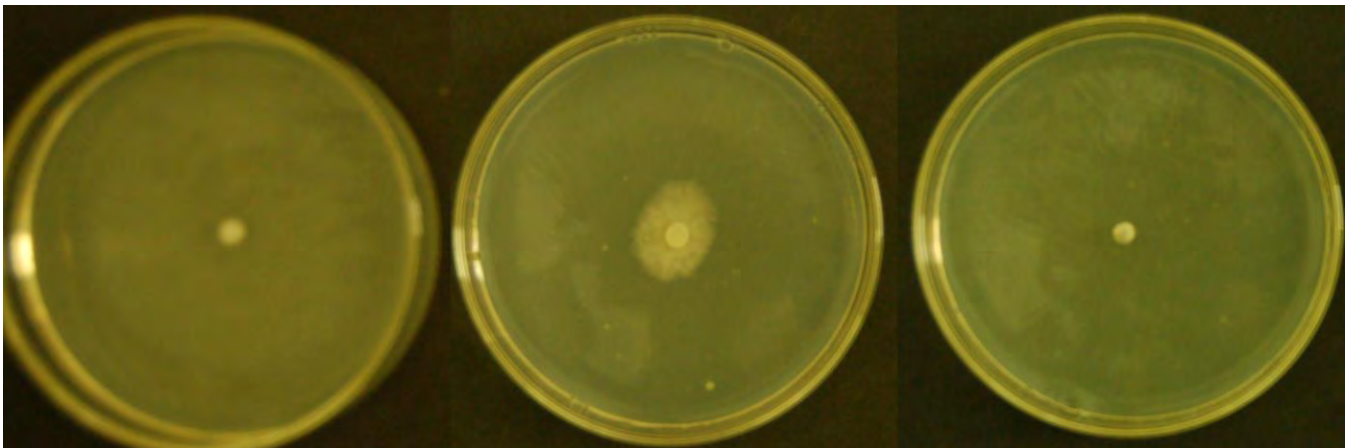
Εικόνα 8. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Β2, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας iprodione. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0,1ppm και δεξιά 1ppm.



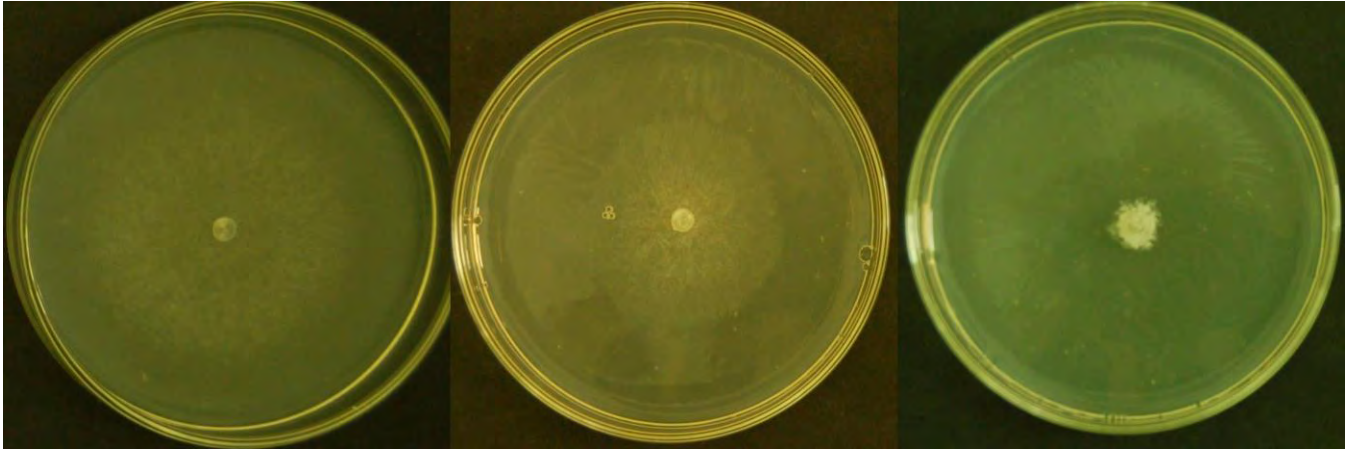
Εικόνα 9. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση B1, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας iprodione. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0,1ppm και δεξιά 1ppm.



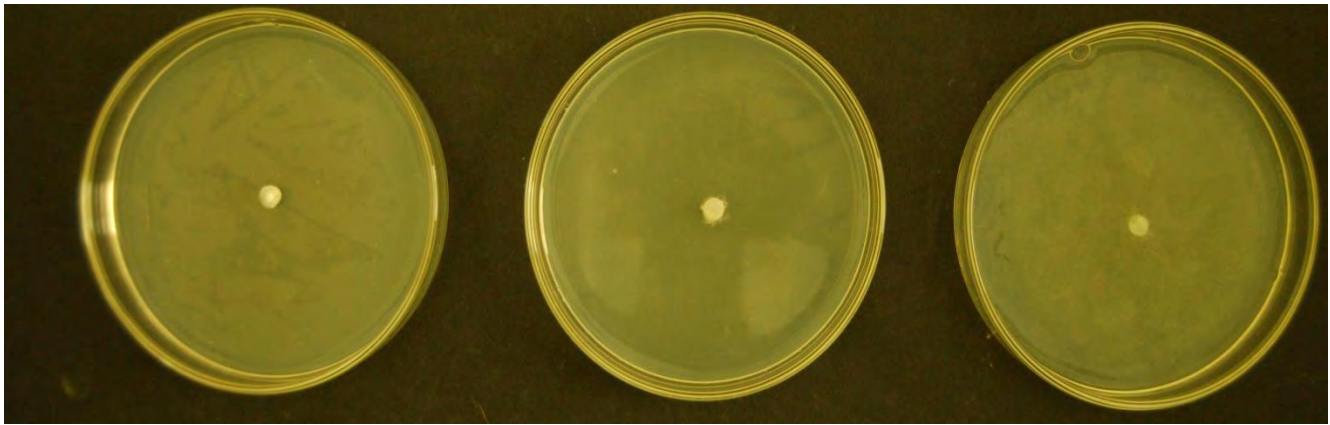
Εικόνα 10. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση A2, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας fenhexamid. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 1ppm και δεξιά 10ppm..



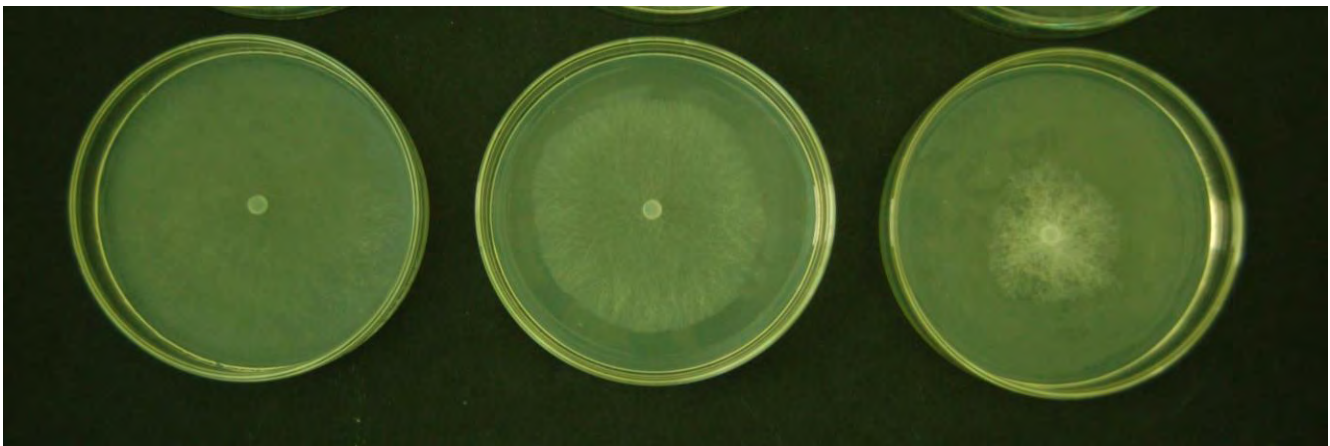
Εικόνα 11. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση A6, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας fenhexamid. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 1ppm και δεξιά 10ppm..



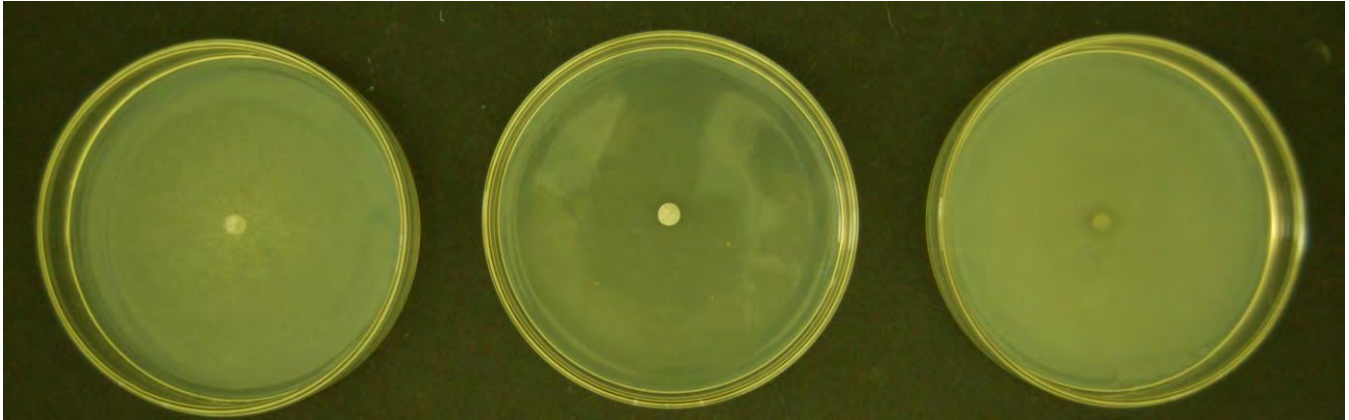
Εικόνα 12.. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση A3, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας fenhexamid. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 1ppm και δεξιά 10ppm..



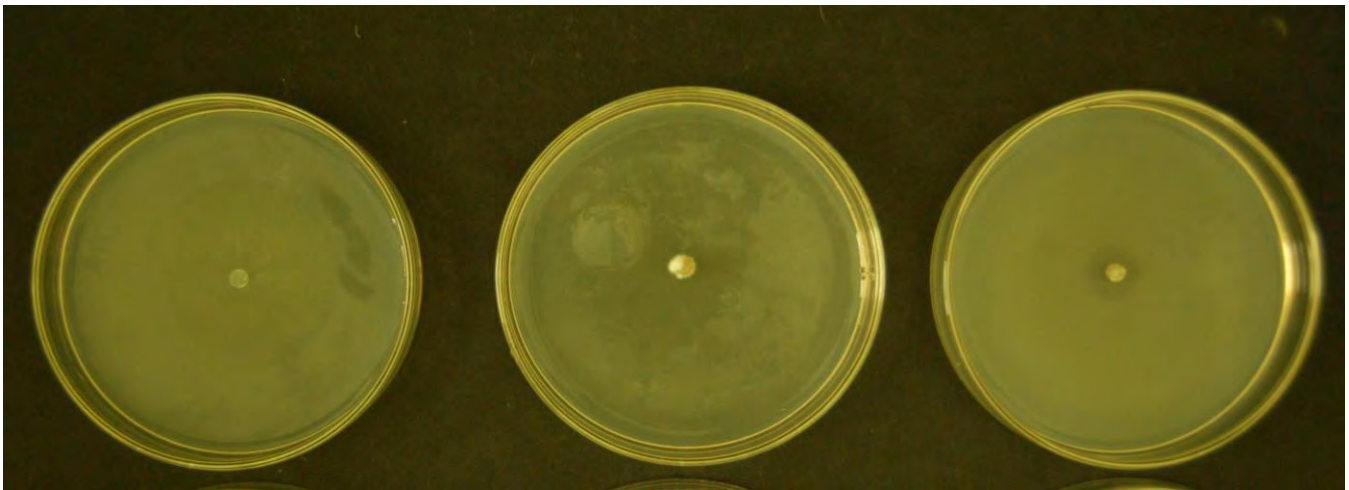
Εικόνα 13. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση B1, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας fenhexamid. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 1ppm και δεξιά 10ppm..



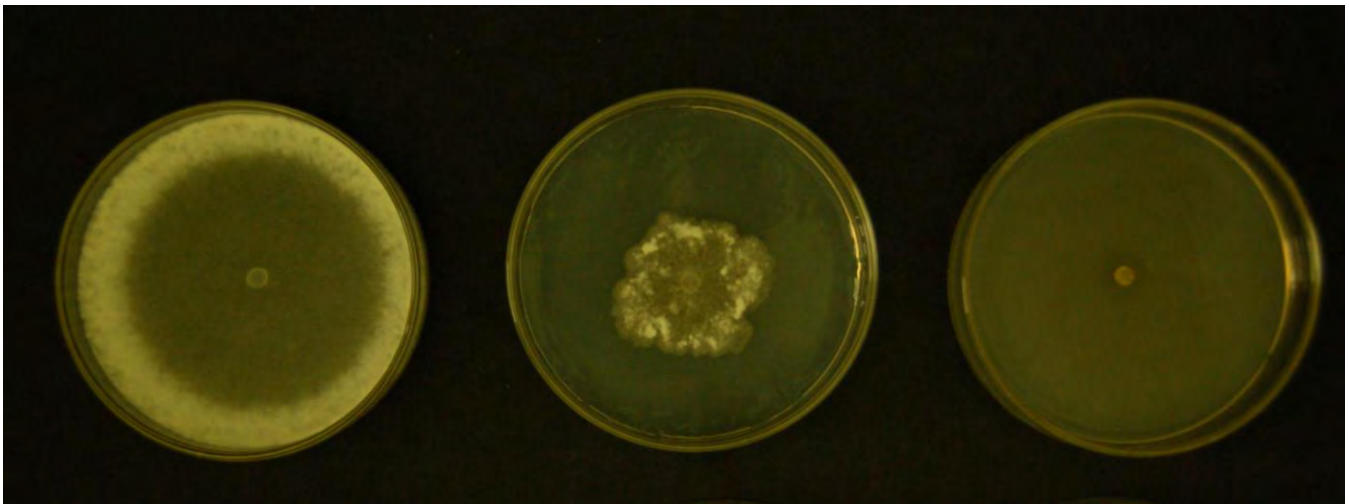
Εικόνα 14. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση B2, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας fenhexamid. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 1ppm και δεξιά 10ppm..



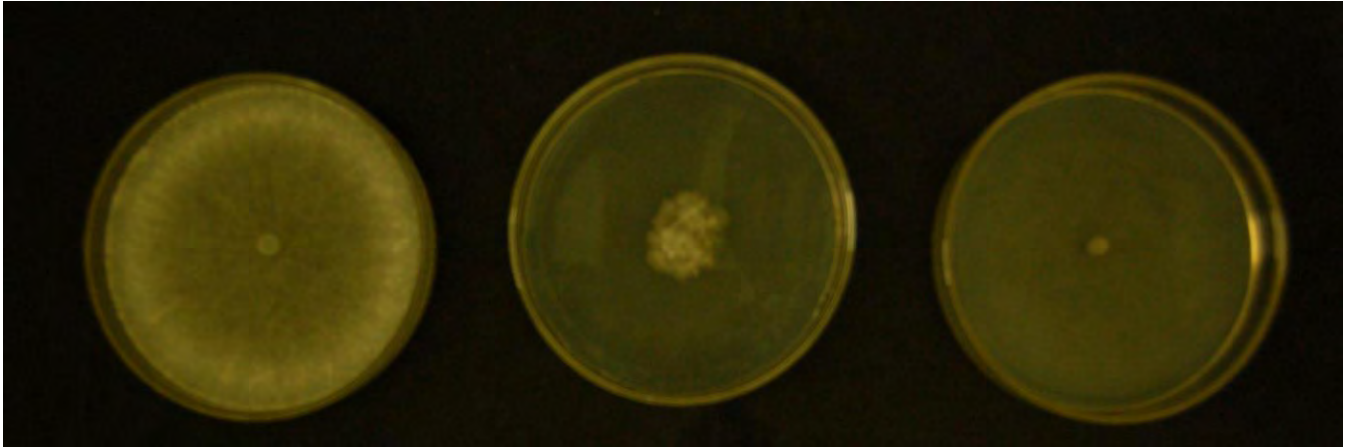
Εικόνα 15. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Β1, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας propiconazole. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 1ppm και δεξιά 10ppm.



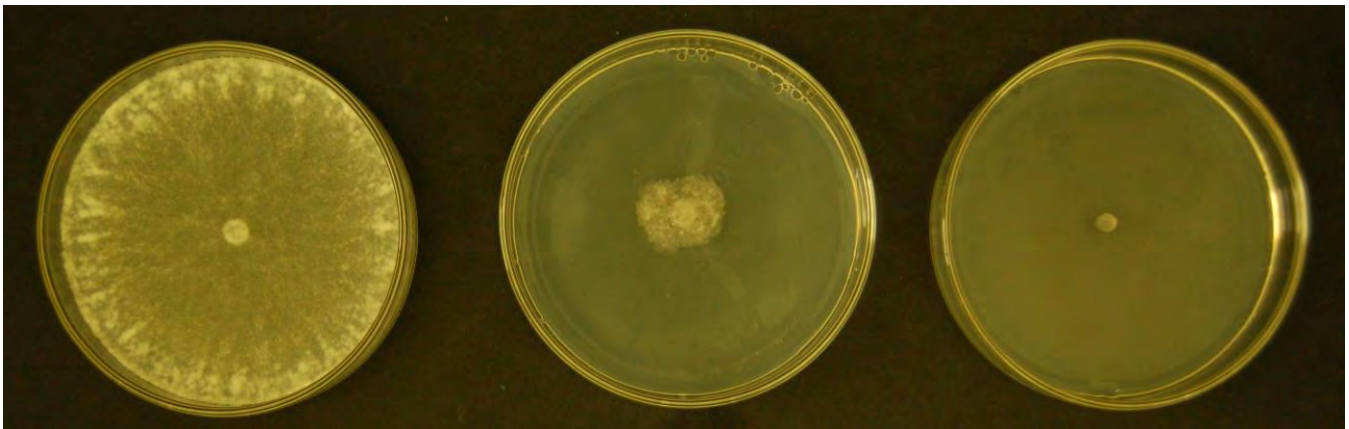
Εικόνα 16. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Β3, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας propiconazole. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 1ppm και δεξιά 10ppm



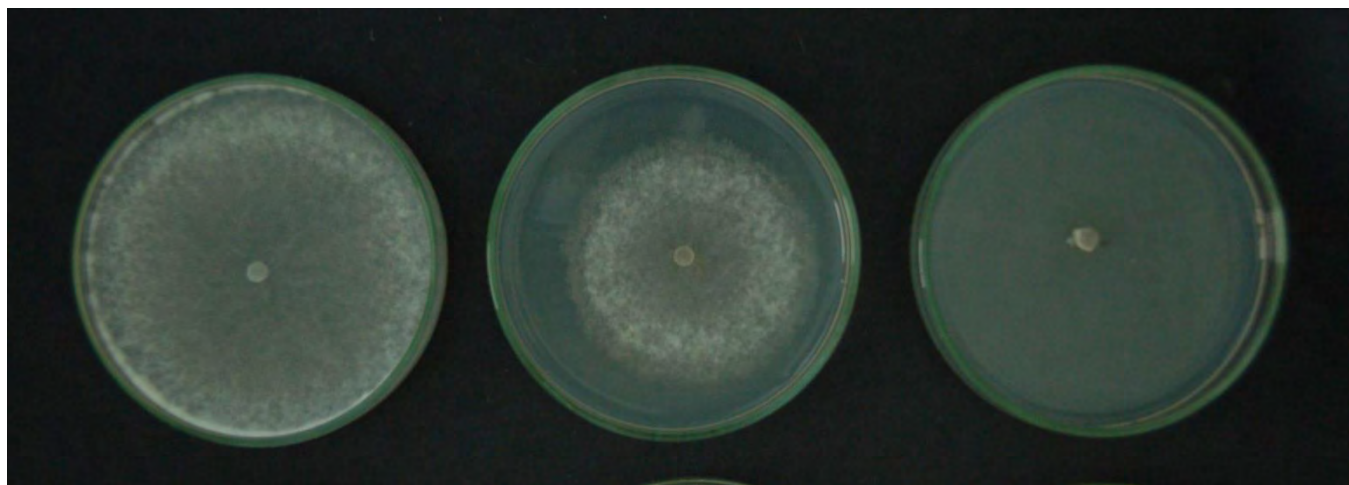
Εικόνα 17. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Β6, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας propiconazole. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 1ppm και δεξιά 10ppm



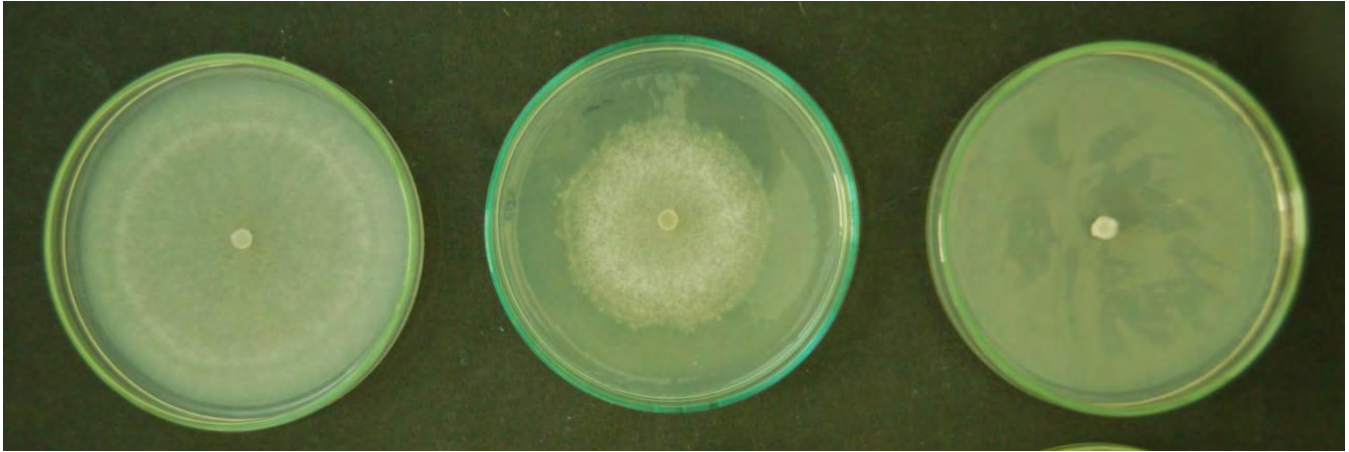
Εικόνα 18. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Β7, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας propiconazole. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 1ppm και δεξιά 10ppm



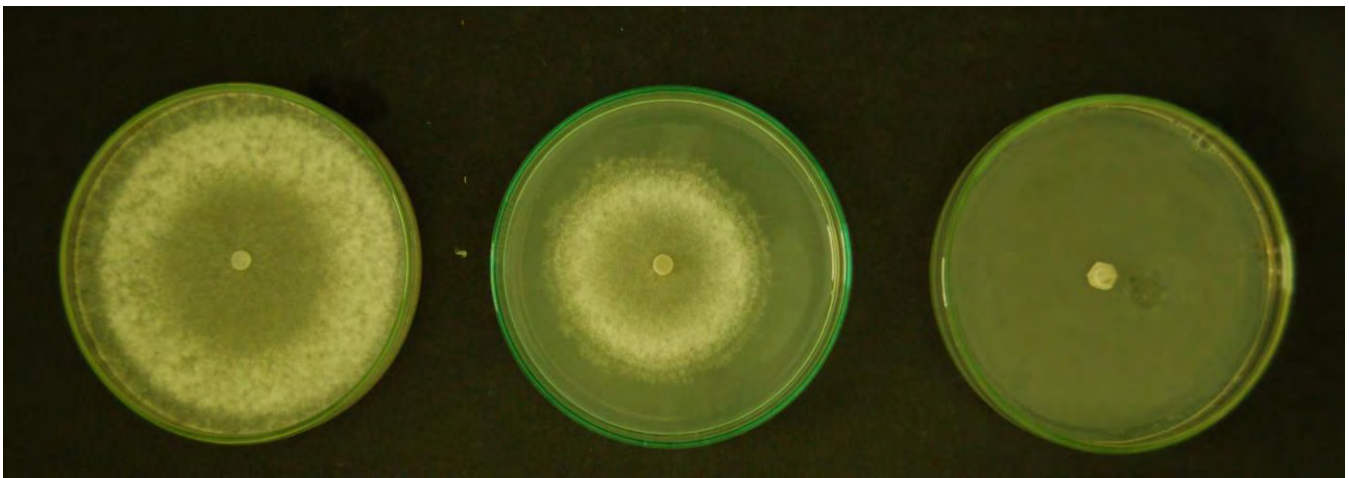
Εικόνα 19. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Β5, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας propiconazole. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 1ppm και δεξιά 10ppm



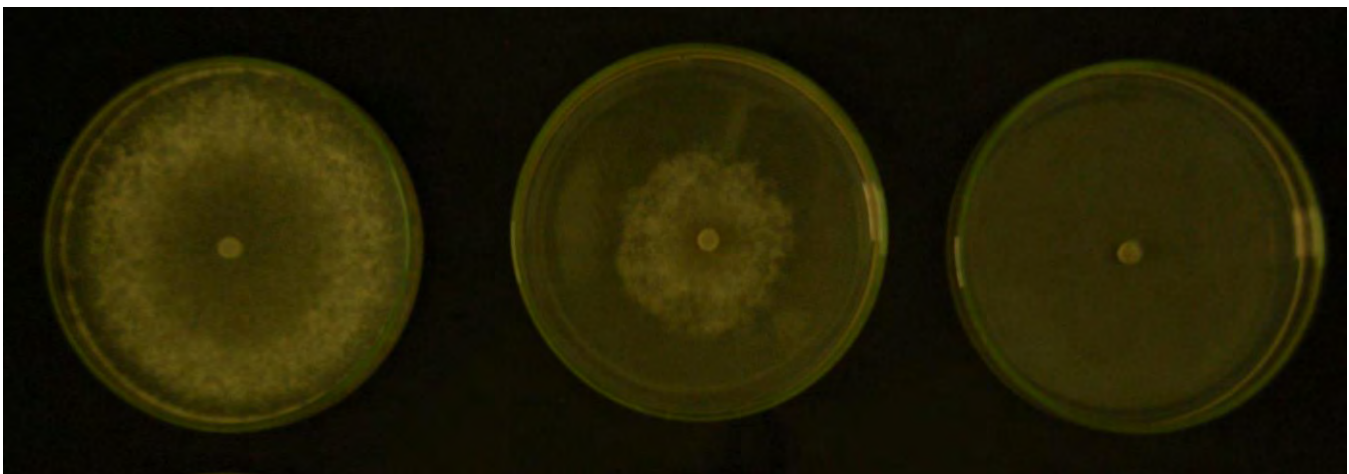
Εικόνα 20. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση Β2, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας cyproconazole. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0.1ppm και δεξιά 1ppm



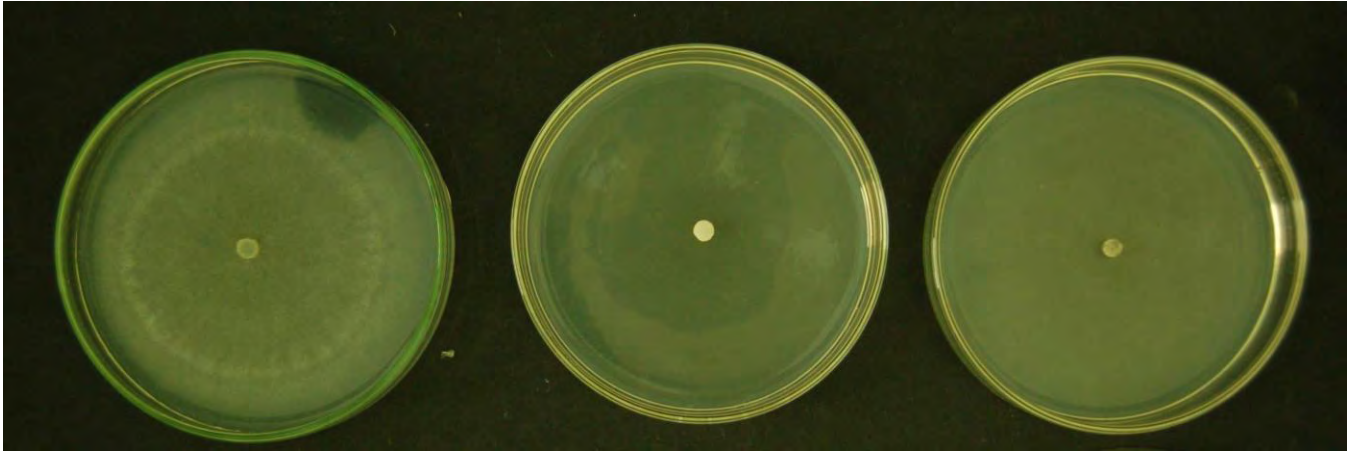
Εικόνα 21. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση A4, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας cyproconazole. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0.1ppm και δεξιά 1ppm



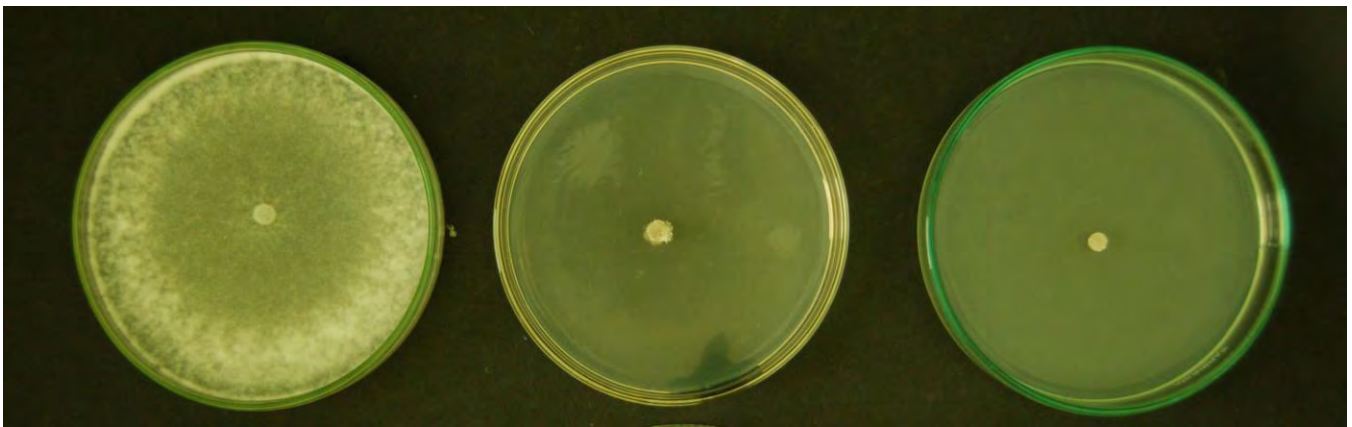
Εικόνα 22. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση B1, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας cyproconazole. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0.1ppm και δεξιά 1ppm



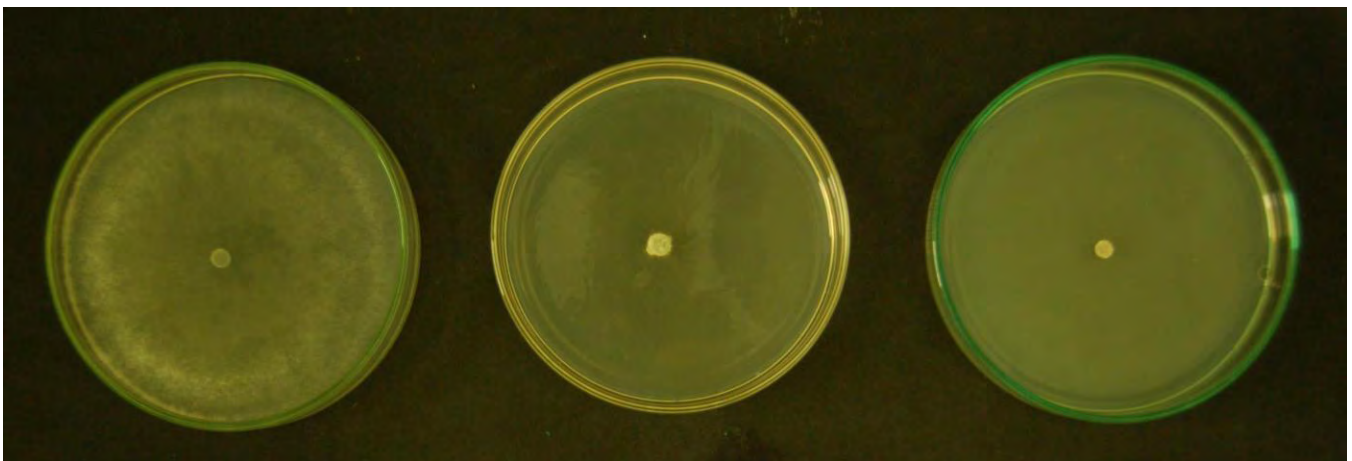
Εικόνα 23. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση B3, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας cyproconazole. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0.1ppm και δεξιά 1ppm



Εικόνα 24. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση A4, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας fludioxonil. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0.1ppm και δεξιά 1ppm

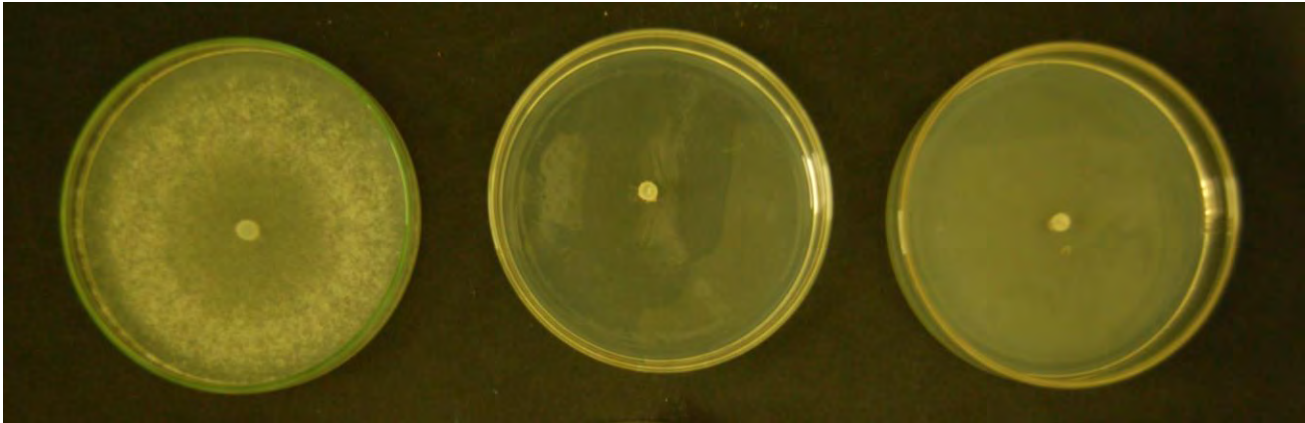


Εικόνα 25. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση B1 λόγω δράσης της δραστικής ουσίας fludioxonil. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0.1ppm και δεξιά 1ppm

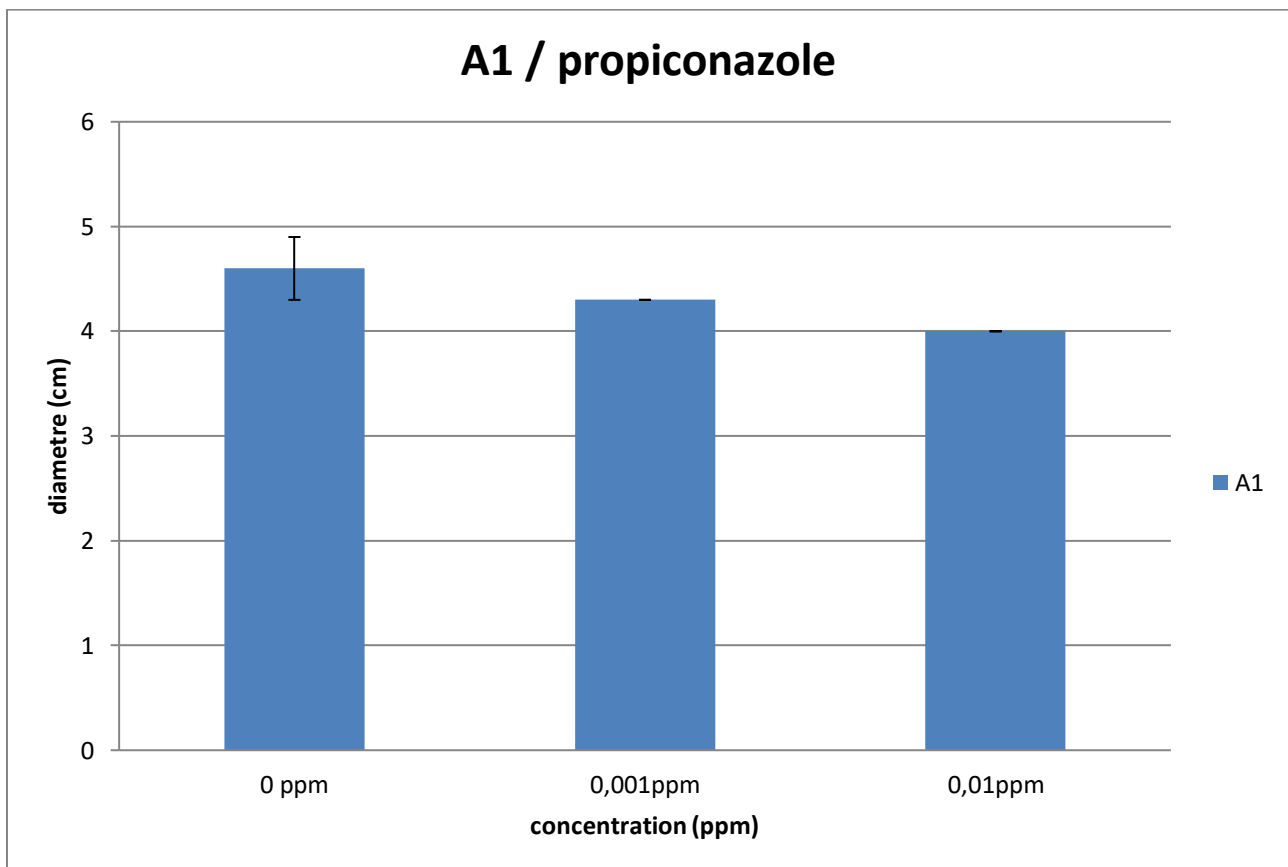


Εικόνα 26. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση B2, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας fludioxonil. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0.1ppm και δεξιά 1ppm

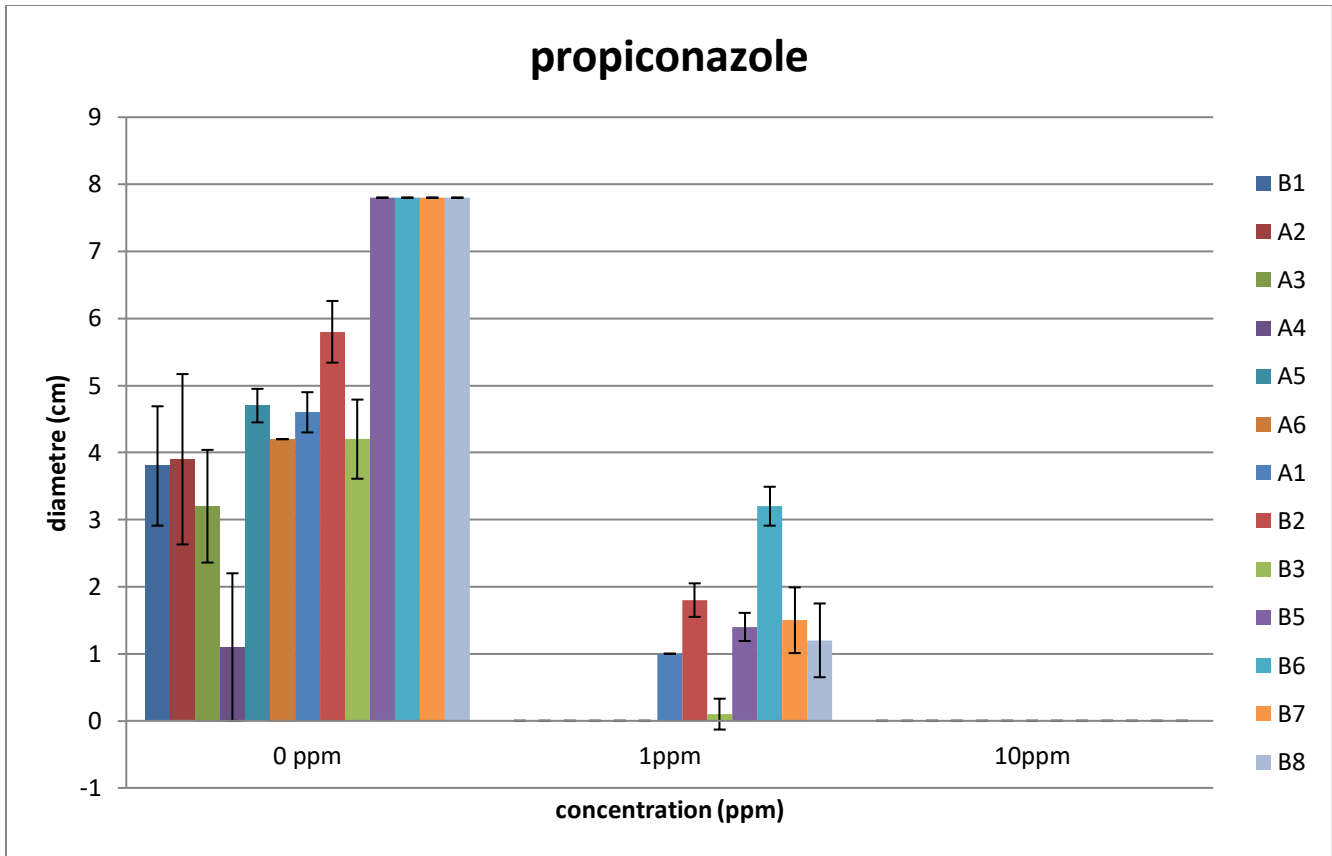




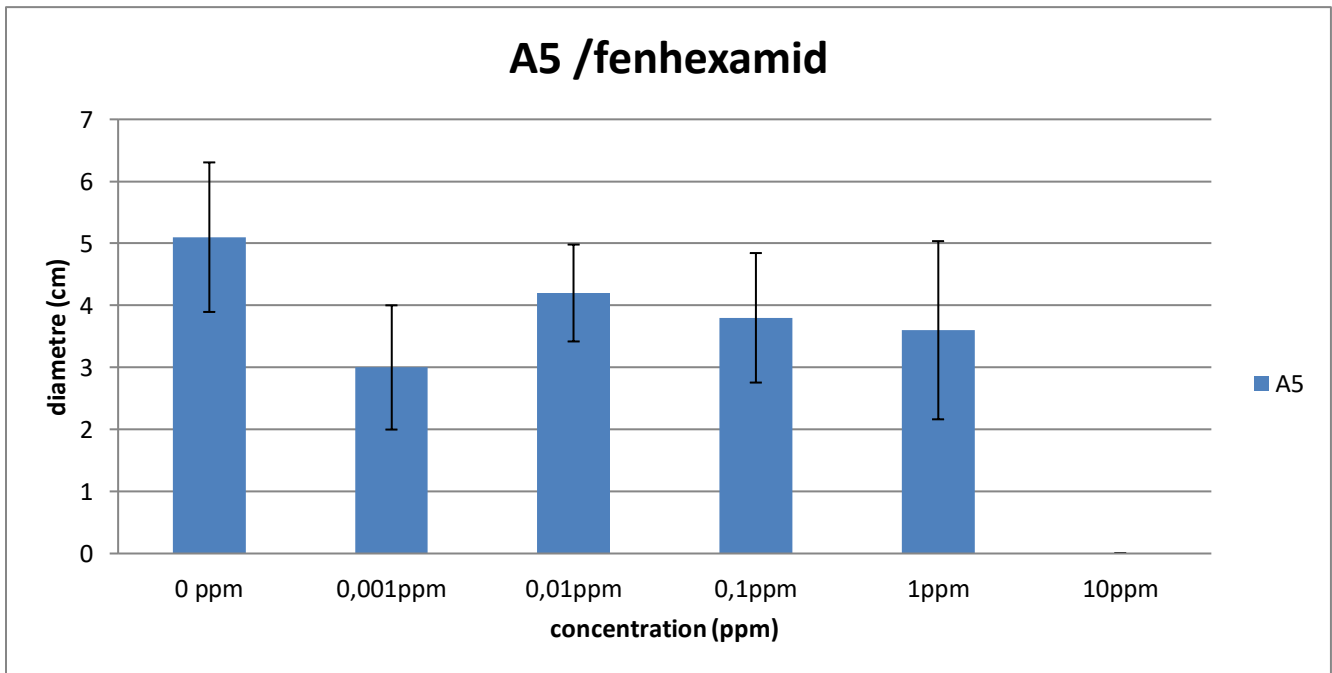
Εικόνα 27. Παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου της απομόνωση B3, λόγω δράσης της δραστικής ουσίας fludioxonil. Αριστερά μάρτυρας(0ppm), μέσο 0.1ppm και δεξιά 1ppm



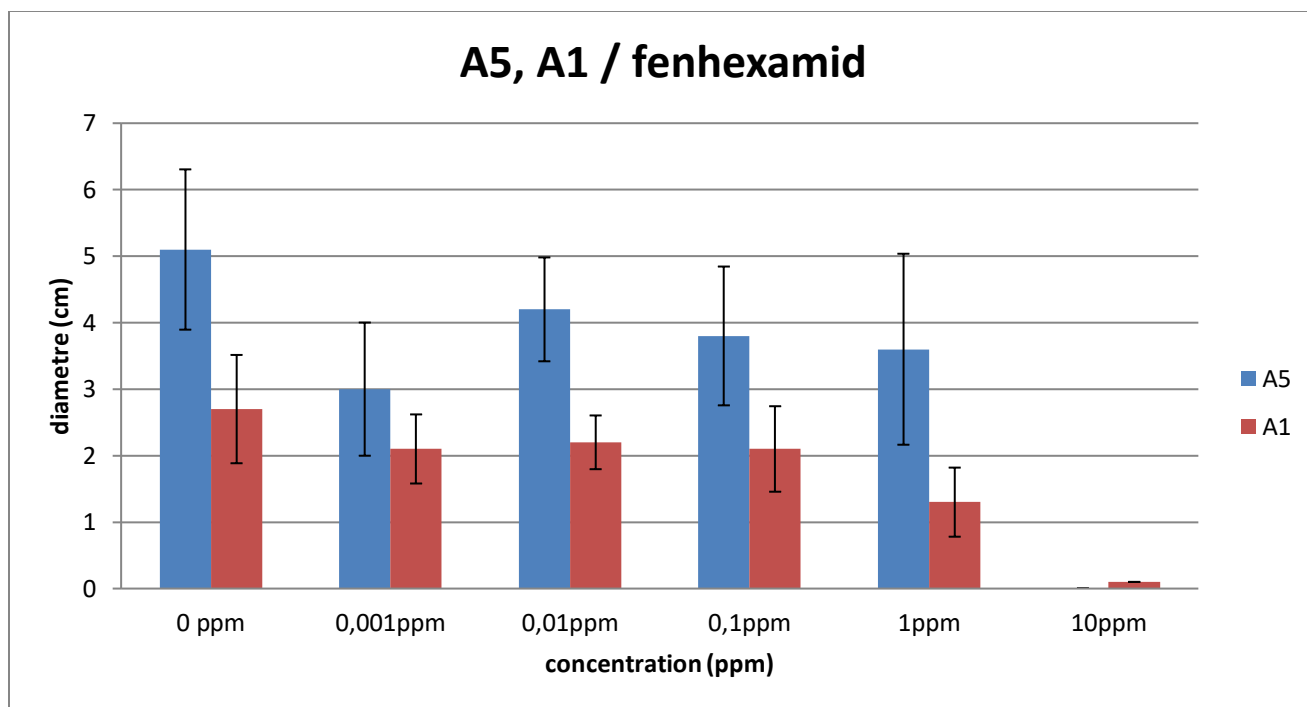
Γράφημα 1. Δοκιμή A1 για propiconazole, σε στήλες.



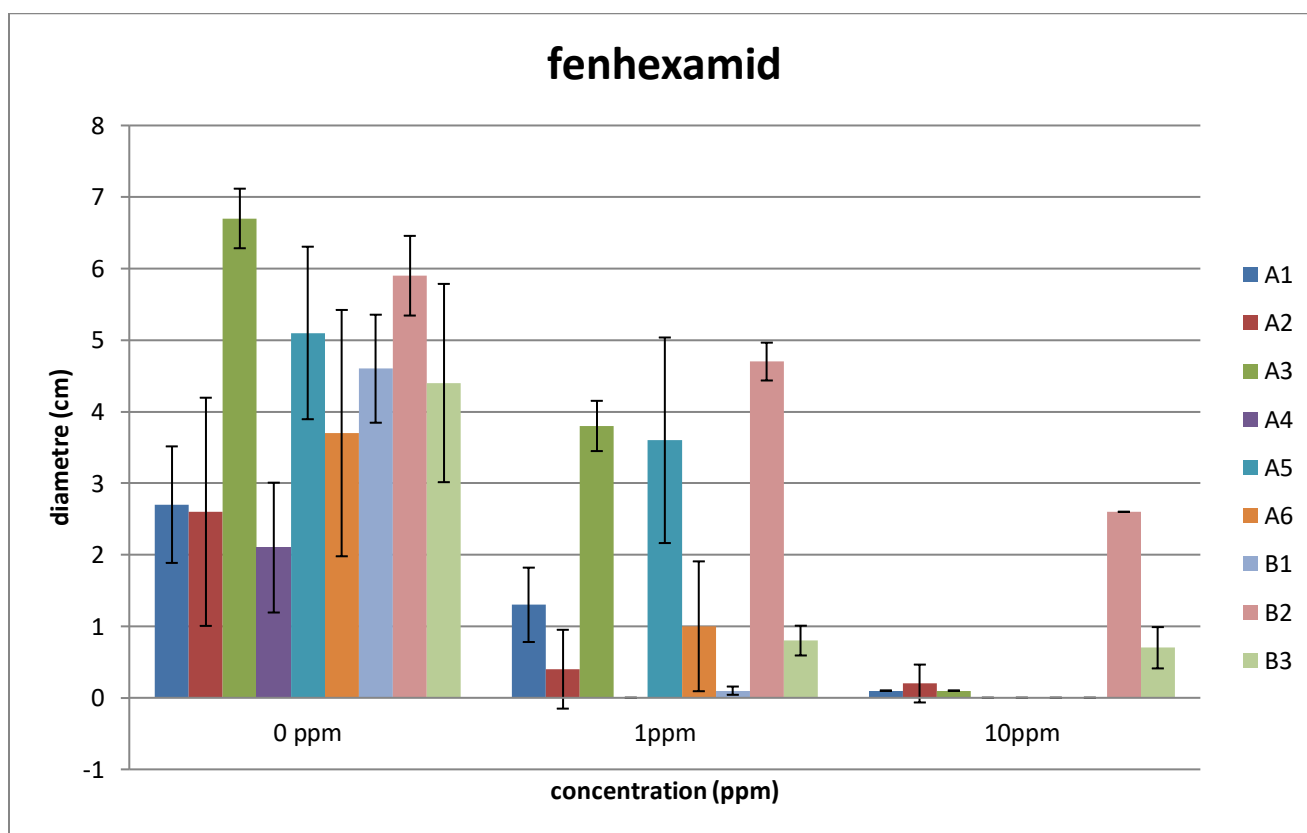
Γράφημα 2. Δοκιμή propiconazole για τις A1,A2,A3,A4,A5,A6,B1,B2,B3,B4,B5,B6,B7 και B8, παρουσίαση σε στήλες.



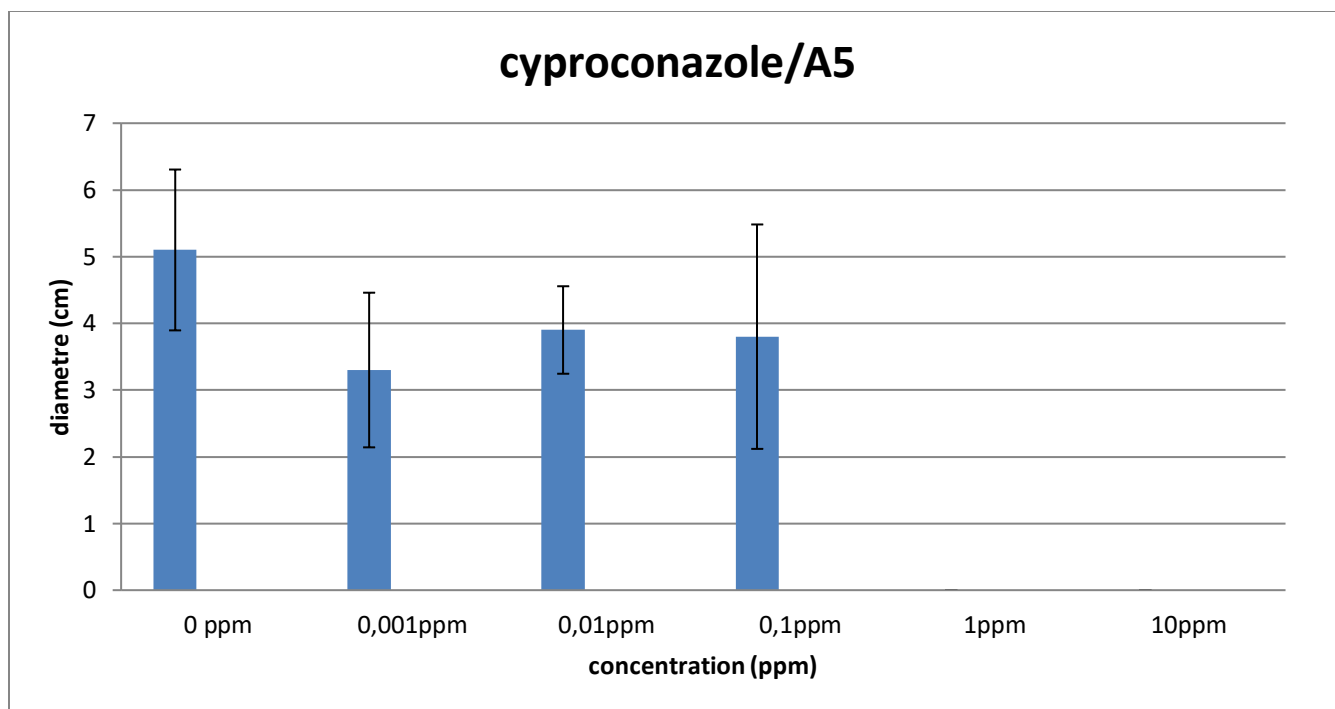
Γράφημα 3. Δοκιμή fenhexamid για την A5 , παρουσίαση σε στήλες.



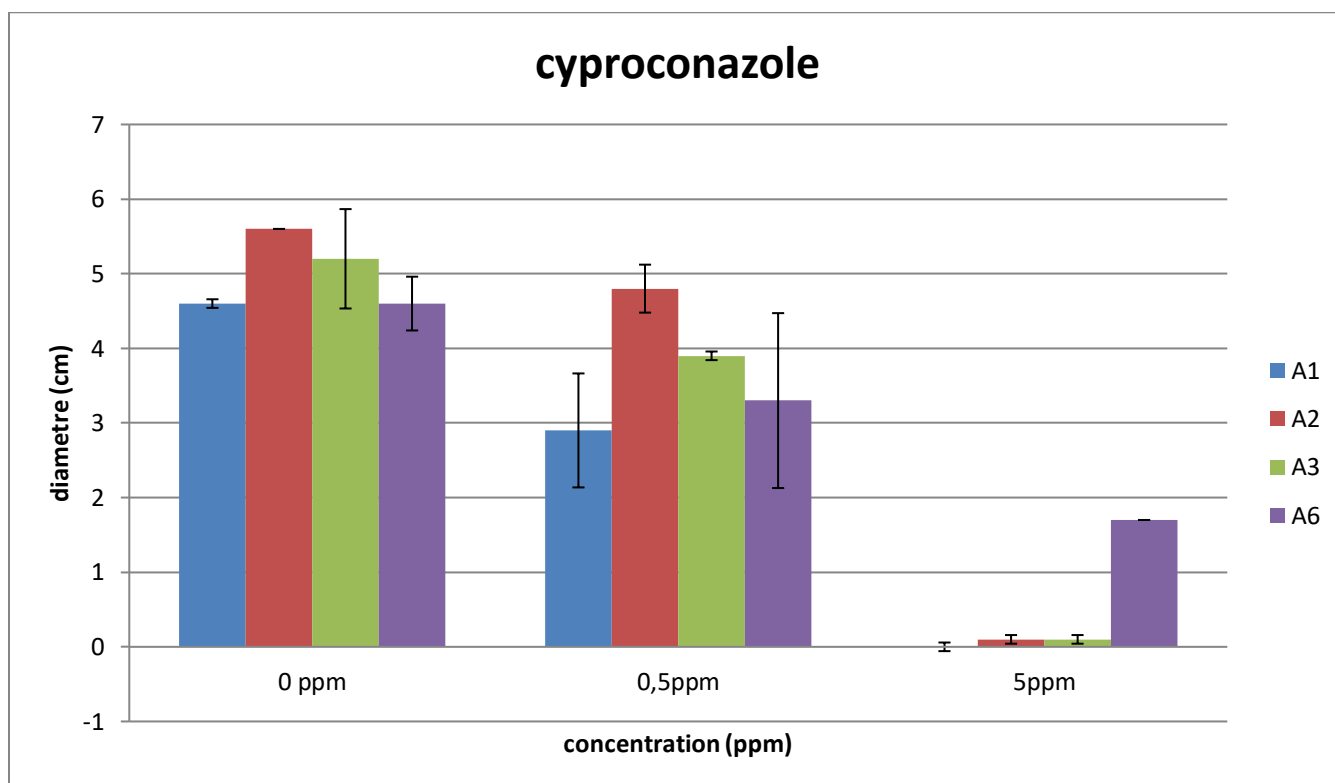
Γράφημα 4. Δοκιμή fenhexamid για τις A5και A1 , παρουσίαση σε στήλες.



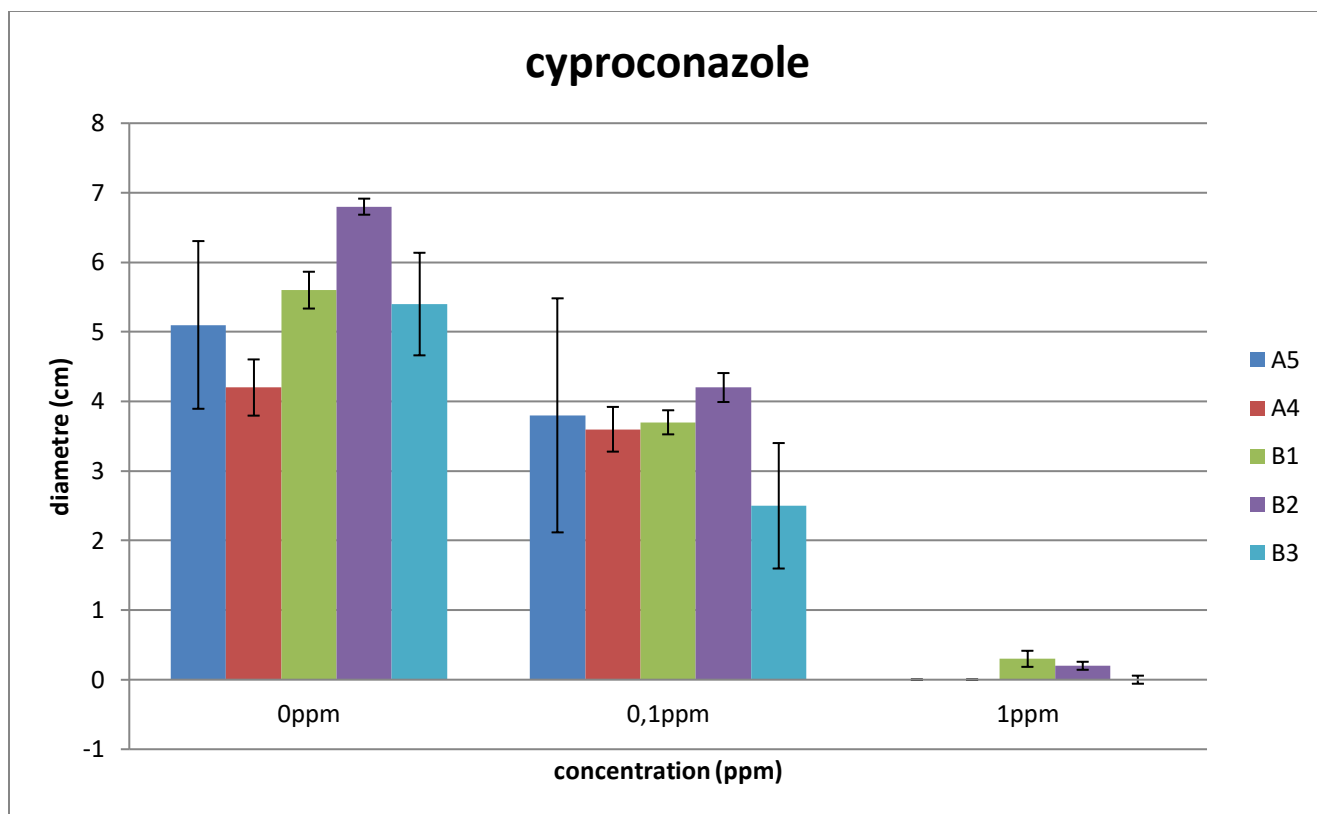
Γράφημα 5. Δοκιμή fenhexamid για τις A1, A2, A3, A4, A5, A6, B1, B2 και B3 , παρουσίαση σε στήλες.



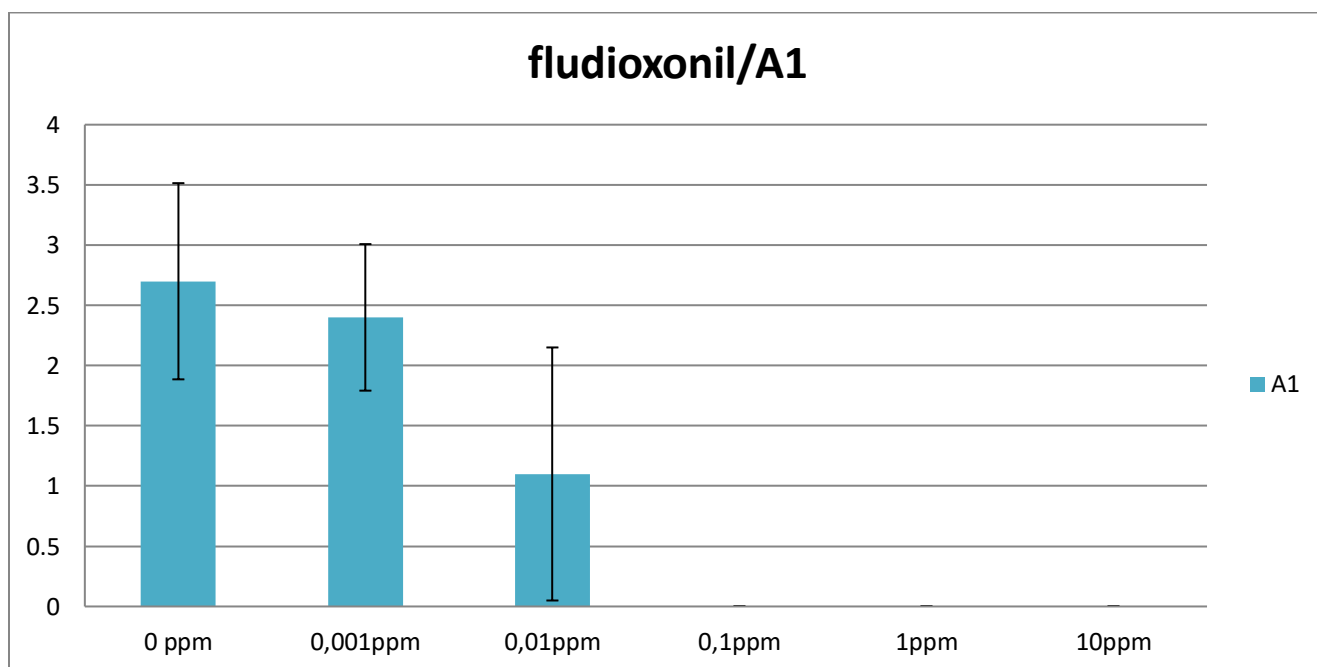
Γράφημα 6. Δοκιμή cyproconazole για την A5, παρουσίαση σε στήλες.



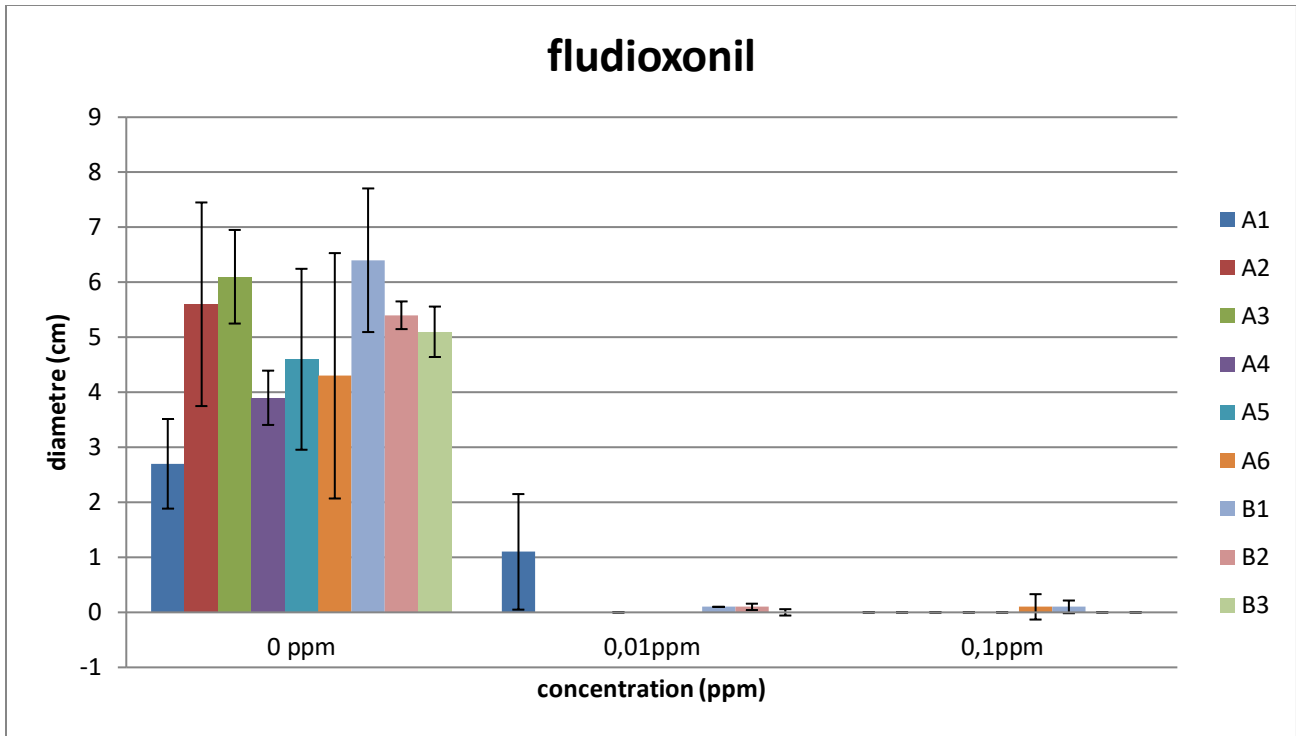
Γράφημα 7. Δοκιμή cyproconazole για τις A1, A2, A3 και A6, παρουσίαση σε στήλες.



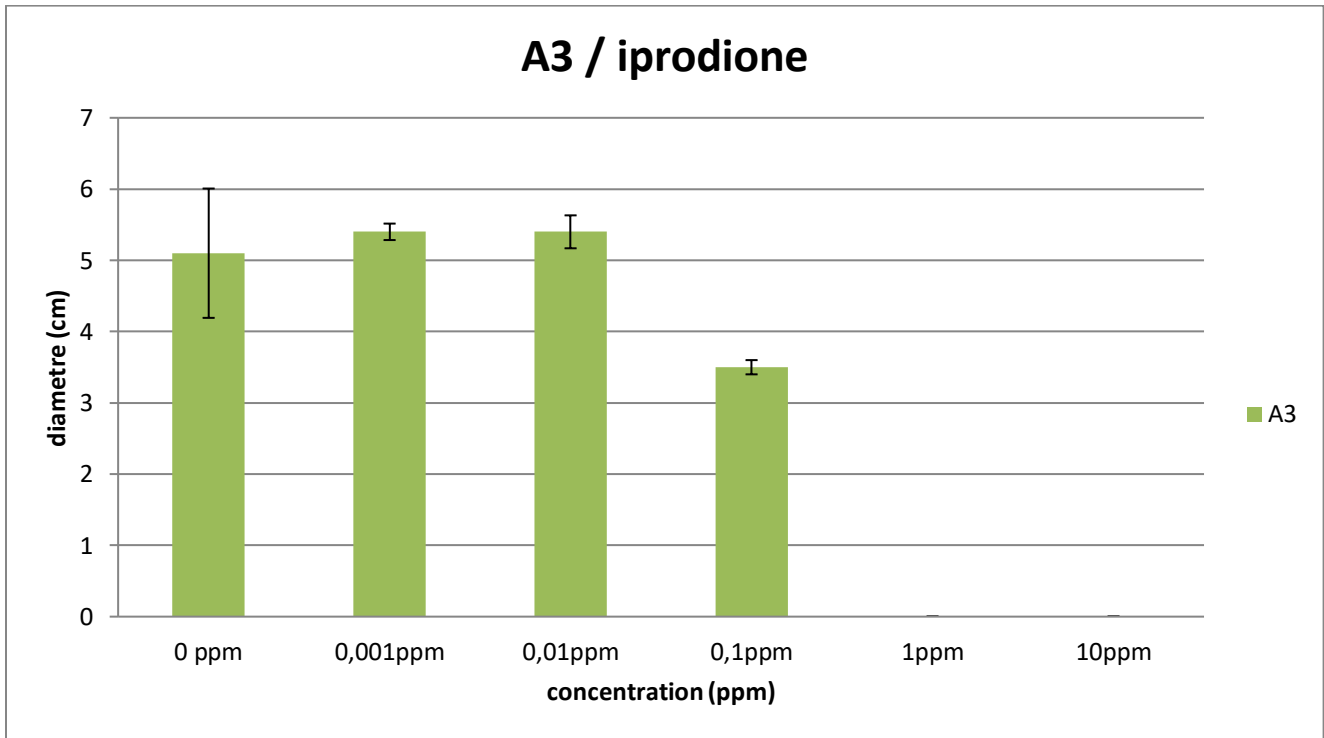
Γράφημα 8. Δοκιμή cyproconazole για τις A4, A5, B1, B2 και B3, παρουσίαση σε στήλες.



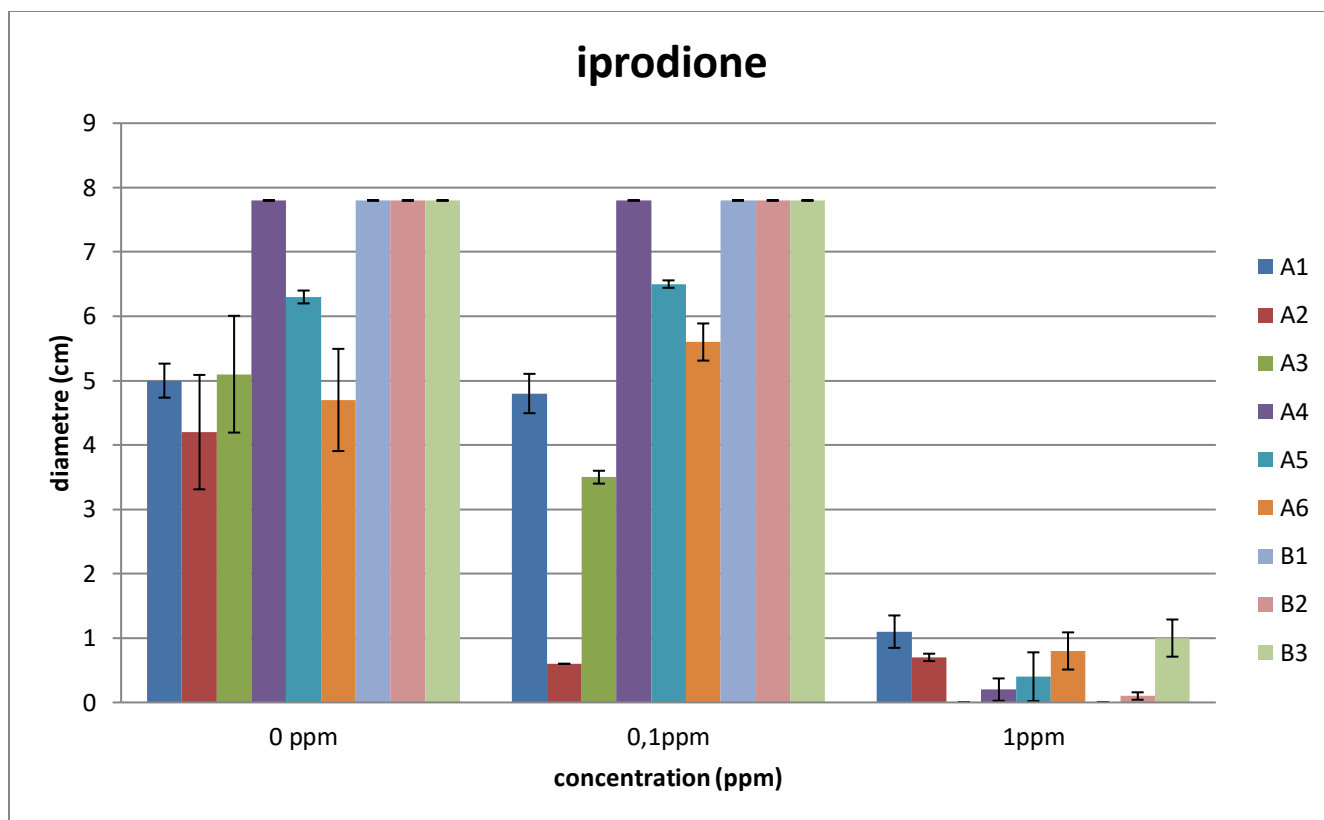
Γράφημα 9. Δοκιμή fludioxonil για την A1, παρουσίαση σε στήλες.



Γράφημα 10. Δοκιμή fludioxonil για τις A1, A2, A3, A4, A5, A6, B1, B2 και B3, παρουσίαση σε στήλες.



Γράφημα 11 Δοκιμή iprodione για την A3, παρουσίαση σε στήλες.



Γράφημα 12. Δοκιμή iprodione για τις A1, A2, A3, A4, A5, A6, B1, B2 και B3, παρουσίαση σε στήλες.

Από τη στατιστική ανάλυση της παραλλακτικότητας (two-way ANOVA με αλληλεπίδραση) και τη μέθοδο του ελάχιστου σημαντικού εύρους (κριτήριο Duncan) για πιθανότητα 5%, παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των απομονώσεων. Αναλυτικότερα:

propiconazole

ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-value</i>	<i>F-critic</i>
Sample	595,308889	2	297,6544444	1994,59164	1,07E-67	3,1138
Columns	106,096752	12	8,841396011	59,2464681	4,19E-34	1,8785
Interaction	92,2422222	24	3,843425926	25,754916	8,85E-28	1,6577
Within	11,64	78	0,149230769			
Total	805,287863	116				

fenhexamid

ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-value</i>	<i>F-critic</i>
Sample	198,4466667	2	99,22333333	175,405718	2,3923E-24	3,16825
Columns	109,7133333	8	13,71416667	24,24372545	2,6812E-15	2,11522
Interaction	44,63555556	16	2,789722222	4,931634657	4,6047E-06	1,83463
Within	30,54666667	54	0,565679012			
Total	383,3422222	80				

cyproconazole (B1, B2, B3, A4, A5)

ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-value</i>	<i>F-critic</i>
Sample	220,108	2	110,054	271,3660274	6,1312E-20	3,31583
Columns	7,592444444	4	1,898111111	4,680273973	0,00469084	2,68963
Interaction	8,120888889	8	1,015111111	2,503013699	0,03260419	2,26616
Within	12,16666667	30	0,405555556			
Total	247,988	44				

cyproconazole ( A1, A2, A3, A6)

ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-value</i>	<i>F-critic</i>
Sample	129,8772	2	64,93861	294,0616	1,32E-17	3,402826
Columns	4,658611	3	1,55287	7,031866	0,001483	3,008787
Interaction	9,300556	6	1,550093	7,019287	0,000211	2,508189
Within	5,3	24	0,220833			
Total	149,1364	35				



fludioxonil (0,1 ppm και 0 ppm)

ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-value</i>	<i>F-critic</i>
Sample	497,4668519	1	497,4668519	1090,670321	1,6164E-28	4,11316522
Columns	41,62703704	8	5,20337963	11,40814048	7,0239E-08	2,20851807
Interaction	42,05814815	8	5,257268519	11,52628908	6,1977E-08	2,20851807
Within	16,42	36	0,456111111			
Total	597,572037	53				

iprodone

ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-value</i>	<i>F-critic</i>
Sample	561,3291358	2	280,6645679	2592,22691	2,2706E-54	3,168245967
Columns	116,4735802	8	14,55919753	134,469213	7,7825E-33	2,115223279
Interaction	94,66641975	16	5,916651235	54,6463797	1,5915E-27	1,834629446
Within	5,846666667	54	0,108271605			
Total	778,3158025	80				

### 3. Συζήτηση

Στο πειραματικό μέρος αυτής της διατριβής, έγινε προσπάθεια εντοπισμού ανθεκτικότητας και ευαισθησίας απομονώσεων του μύκητα *S.sclerotiorum* σε θρεπτικό υλικό PGA σε *in vitro* συνθήκες. Χρησιμοποιήθηκαν 4 διαφορετικά διασυστηματικά μυκητοκτόνα, με τις δραστικές ουσίες iprodione, propiconazole, cyproconazole και fenhexamid και το μη διασυστηματικό fludioxonil. Αρχικά για όλα τα μυκητοκτόνα έγινε δοκιμή για μία απομόνωση κάθε φορά για τις συγκεντρώσεις 10ppm , 1ppm, 0,1ppm, 0,01ppm, 0,001ppm και μάρτυρες, με σκοπό την εύρεση της M.I.C. του καθενός και στη συνέχεια δοκιμάστηκαν οι υπόλοιπες απομονώσεις.

Παρόλο που τα διασυστηματικά μυκητοκτόνα προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα με τη εξειδικευμένη δράση τους στο υποκυτταρικό επίπεδο, η παρατεταμένη χρήση τους οδηγεί στην ύπαρξη ανθεκτικών στελεχών, ως επακόλουθο γενετικών μεταλλάξεων. Η ανθεκτικότητα αυτή έχει παρατηρηθεί συχνά και στα D.M.Is.

Για τα propiconazole και cyproconazole που ανήκουν στις τριαζόλες (D.M.Is) βρέθηκε M.I.C. στις τιμές 1-10ppm. Αναλυτικότερα, για το cyproconazole για τις απομονώσεις A4, A5 και B3 η M.I.C. ήταν 1 ppm, για την A5 ήταν 5 ppm και για τις A2, A3, A6, B1, B2 ήταν μεγαλύτερη των 5ppm. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι οι απομονώσεις A4, A5 και B3 είναι πιο ευαίσθητες στο cyproconazole απ' ότι οι υπόλοιπες. Όσον αφορά την propiconazole για τις A2, A3, A4, A5, A6 και B1 η M.I.C. βρέθηκε στα 1 ppm, ενώ για τις B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8 και A1 στα 10ppm. Αυτή η διαφοροποίηση μεταξύ των απομονώσεων, είναι λόγω του διαφορετικού βαθμού ευαισθησίας τους στο κάθε ένα από τα δύο μυκητοκτόνα και στην κατηγορία των D.M.Is παρατηρείται λόγω μεταλλάξεων. Οι propiconazole και cyproconazole έχουν χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά και σε προηγούμενες έρευνες (Dalili *et al.* 2015). Πιο συγκεκριμένα, είχε παρουσιαστεί πλήρης αναστολή μυκηλιακής ανάπτυξης στα 0,01ppm (Dalili *et al.* 2015), συγκέντρωσης αρκετά λιγότερης από αυτής της παρούσας διατριβής, γεγονός που υποδεικνύει ίσως την ανάπτυξη ανθεκτικότητας τα τελευταία χρόνια προς τις δύο αυτές δραστικές ουσίες.

Το fenhexamid των υδροξυανιλιδίων, παρουσίασε διαφορετικά αποτελέσματα. Για τις A5, A6 και B1 η M.I.C. ήταν στα 10ppm , για τις A1, A2, A3, B2, B3 ήταν πάνω από 10ppm και η A4 παρουσίασε M.I.C. στα 1ppm. Αυτό σημαίνει ότι A4 ήταν η πιο ευαίσθητη απομόνωση καθώς παρουσίασε για μικρότερη συγκέντρωση μυκητοκτόνου, μηδενική ανάπτυξη και οι A1, A2, A3, B2, B3 ήταν

περισσότερο ανθεκτικές καθώς παρουσίασαν ανάπτυξη και στα 10ppm. Η συγκεκριμένη δραστική ουσία έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν σε έρευνα με επιτυχία, για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις της. Πιο συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα της έρευνας είχαν δείξει αποτελεσματικότητα στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης του μυκηλίου κατά 0-12% για τη συγκέντρωση των 10ppm και 40-47% για 100ppm, ενώ πλήρης παρεμπόδισης (98-100%) στα 1000ppm (Matheron and Porchas 2004). Συμπερασματικά, η σύγκριση με τα αποτελέσματα παλαιότερων ερευνών, δείχνει την αύξηση της ευαισθησίας των απομονώσεων στη συγκεκριμένη δραστική ουσία. Λιγότερο αποτελεσματική σε σύγκριση με την εργαστηριακή της χρήση διαπιστώθηκε ότι είναι και στα πειράματα στον αγρό καθώς μείωσε τα μολυσμένα φυτά μόνο κατά 13,9% (Matheron and Porchas 2004).

Η δραστική ουσία fludioxonil της ομάδας των φαινυλοπυρρολικών, μη διασυστηματικών μυκητοκτόνων ήταν εξαιρετικά αποτελεσματική για την παρεμπόδιση της ανάπτυξης του μυκηλίου των απομονώσεων του μύκητα, καθώς χρειάστηκε για τις απομονώσεις A1, A2, A3, A5, B2, B3 συγκέντρωση 0,1ppm για τη πλήρη παρεμπόδισή του, εκτός από την A6 και B1 που παρουσίασε 0,1cm ανάπτυξη σε μία από τις τρεις επαναλήψεις. Για τις απομονώσεις A4 και B3 βρέθηκε M.I.C. στη συγκέντρωση των 0,01ppm. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν μεγάλη ευαισθησία των απομονώσεων αυτών στο fludioxonil, χωρίς καμία εξαίρεση, με περισσότερο ευαίσθητες τις απομονώσεις A4 και B3. Το μυκητοκτόνο αυτό, ήταν αποτελεσματικό και σε καλλιέργειες σόγιας με πειράματα στον αγρό, αναστέλλοντας σχεδόν πλήρως την ανάπτυξη σκληρωτίων (Mueller, Hartman and Pedersen, 1999). Σε δοκιμές σε άγαρ είχε παρατηρηθεί αναστολή της ανάπτυξης μυκηλίου κατά 0-12% στη συγκέντρωση 10ppm της δραστικής ουσίας fludioxonil, με παρατήρηση παρεμπόδισης της τάξεως των 95-99% για τη συγκέντρωση 100ppm και πλήρης παρεμπόδισης (98-100%) για τη συγκέντρωση 1000ppm (Matheron and Porchas, 2004). Αντίστοιχα και σε πειράματα στον αγρό παρατηρήθηκε μείωση των μολυσμένων φυτών κατά 43,8-52,2% παρουσία της δραστικής ουσίας fludioxonil (Matheron and Porchas, 2004). Συμπερασματικά, στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε υψηλή αύξηση της ευαισθησίας των απομονώσεων, με αισθητή μείωση της συγκέντρωσης δραστικής που χρειάζεται για την πλήρη αναστολή ανάπτυξης του μυκηλίου του μύκητα.

Τέλος, η δραστική ουσία iprodione, των δικαρβοξαμιδικών μυκητοκτόνων έχει χρησιμοποιηθεί παραπάνω από τα περισσότερα σε έρευνες, καθώς συνιστάται περισσότερο για την αντιμετώπιση του μύκητα (Cayley and Hide 1980; Matheron and Porchas 2004; Dalili *et al.* 2015). Στα αποτελέσματα αυτής της εργασίας οι απομονώσεις A3, B1 παρουσίασαν M.I.C. σε συγκέντρωση 1ppm του iprodione,

ενώ οι A1, A2, A4, A5, A6, B2, B3 παρουσίασαν ανάπτυξη μυκηλίου της τάξεως των 0,2-1,1cm. Ενδιαφέρον παρουσίασε η απομόνωση A2 , η οποία και για τις δύο συγκεντρώσεις 1ppm και 0,1ppm της δραστικής ουσίας iprodione είχε μειωμένη ανάπτυξη μυκηλίου, αρκετά μικρότερη απ ότι οι υπόλοιπες απομονώσεις. Σε έρευνα του 2015, η δραστική ουσία iprodione προκάλεσε πλήρη αναστολή ανάπτυξης του μυκηλίου στη συγκέντρωση 1ppm (Dalili *et al.* 2015), ενώ στην παρούσα εργασία οι περισσότερες απομονώσεις αναπτύχθηκαν σε αυτήν την συγκέντρωση μυκητοκτόνου. Το αποτέλεσμα αυτό ίσως δείχνει την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στη δραστική ουσία iprodione, γεγονός που έχει επισημανθεί στο παρελθόν και σε άλλες μελέτες (Xin *et al.* 2009; Attanayake *et al.* 2013). Ίσως αυτός είναι και κάποιος από τους λόγους που συνέβαλαν στην απόσυρση του μετά από ανάκληση της άδειας κυκλοφορίας του από το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (<http://www.minagric.gr/greek/data/ROVRAL-75WG-anaklisi-60182.pdf>)

## 5. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της παρούσας πτυχιακής διατριβής οδήγησαν στο εξής συμπέρασμα:

- Για τη δραστική ουσία cyproconazole για τις απομονώσεις A4, A5 και B3 η M.I.C. ήταν 1 ppm, για την A5 ήταν 5 ppm και για τις A2, A3, A6, B1, B2 ήταν μεγαλύτερη των 5ppm.. Επομένως, οι απομονώσεις A4, A5 και B3 είναι πιο ευαίσθητες στη cyproconazole απ' ότι οι υπόλοιπες..
- Όσον αφορά τη δραστική ουσία propiconazole για τις A2, A3, A4, A5, A6 και B1 η M.I.C. βρέθηκε 1 ppm, ενώ για τις B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8 και A1 ήταν 10ppm. Επομένως, οι απομονώσεις A2, A3, A4, A5, A6 και B1 είναι πιο ευαίσθητες στο propiconazole.
- Οι δραστικές ουσίες cyproconazole και propiconazole ήταν παλαιότερα αποτελεσματικότερες σε μικρότερες συγκεντρώσεις από αυτές της παρούσας εργασίας, γεγονός που υποδεικνύει ίσως την ανάπτυξη ανθεκτικότητας τα τελευταία χρόνια.
- Για τη δραστική ουσία fenhexamid, για τις A5, A6 και B1 η M.I.C. ήταν 10ppm , για τις A1, A2, A3, B2, B3 ήταν πάνω από 10ppm και η A4 παρουσίασε M.I.C. ίση με 1ppm. Άρα η A4 ήταν η πιο ευαίσθητη και οι A1, A2, A3, B2, B3 ήταν περισσότερο ανθεκτικές. Η σύγκριση με τα αποτελέσματα παλαιότερων ερευνών, δείχνει την αύξηση της ευαισθησίας των απομονώσεων στη συγκεκριμένη δραστική ουσία
- Η δραστική ουσία fludioxonil ήταν εξαιρετικά αποτελεσματική καθώς χρειάστηκε για τις απομονώσεις A1, A2, A3, A5, A6, B1, B2, B3 συγκέντρωση 0,1ppm για την πλήρη παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκηλίου, εκτός από την A6 και B1 που παρουσίασε 0,1cm ανάπτυξη σε μία από τις τρεις επαναλήψεις. Για τις απομονώσεις A4 και B3 βρέθηκε M.I.C. στη συγκέντρωση 0,01ppm. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν μεγάλη ευαισθησία των απομονώσεων αυτών στο fludioxonil.
- Για τη δραστική ουσία iprodione οι απομονώσεις A3, B1 παρουσίασαν M.I.C. 1ppm, ενώ οι A1, A2, A4, A5, A6, B2, B3 παρουσίασαν μικρή ανάπτυξη μυκηλίου. Πιθανή ανάπτυξη ανθεκτικότητας, καθώς χρειάστηκε μεγαλύτερη συγκέντρωση μυκητοκτόνου απ' ότι σε παλαιότερες έρευνες για την παρεμπόδιση του.
- Η δραστική ουσία fenhexamid ήταν η λιγότερο αποτελεσματική καθώς ήθελε συγκέντρωση πάνω από 10ppm για πλήρη παρεμπόδιση της ανάπτυξης μυκηλίου, ενώ η δραστική ουσία fludioxonil ήταν η αποτελεσματικότερη καθώς παρουσίασε M.I.C. στη συγκέντρωση 0,1ppm.

### **Ελληνική βιβλιογραφία**

Ζιώγας Β.Ν., Μ. Α. (2017). *Γεωργική Φαρμακολογία* (3 ed.). Αθήνα: Greenbooks publications.

Παναγόπουλος Χ.Γ., 1995. Ασθένειες Κηπευτικών Καλλιεργειών. Εκδόσεις Α.Σταμούλη, Αθήνα.

Τζάμος, Ε. Κ., 2007. Φυτοπαθολογία. Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε., Αθήνα

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων <http://www.minagric.gr/greek/data/ROVRAL-75WG-anaklisi-60182.pdf> (Πρόσβαση στις 8 Φεβρουαρίου 2020)

### **Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία**

Abawi, G. S. and Grogan, R. G. (1979) ‘Phyto69n08\_899.PDF’.

Adams, P. B. and Ayers, W. A. (1979) ‘Phyto69n08\_896.pdf’.

Agrios, G. (2004) *Plant pathology: Fifth edition, Plant Pathology: Fifth Edition*. doi: 10.1016/C2009-0-02037-6.

Amselem, J. *et al.* (2011) ‘Genomic analysis of the necrotrophic fungal pathogens sclerotinia sclerotiorum and botrytis cinerea’, *PLoS Genetics*, 7(8). doi: 10.1371/journal.pgen.1002230.

Attanayake, R. N. *et al.* (2013) ‘Sclerotinia sclerotiorum populations infecting canola from China and the United States are genetically and phenotypically distinct’, *Phytopathology*, 103(7), pp. 750–761. doi: 10.1094/PHYTO-07-12-0159-R.

Bardin, S. D. and Huang, H. C. (2001) ‘Research on biology and control of Sclerotinia diseases in Canada 1’, *Canadian Journal of Plant Pathology*, 23(1), pp. 88–98. doi: 10.1080/07060660109506914.

Bary, D. (1887) *.Comparative morphology and biology of the Fungi, Mycetoza and Bacteria*. Oxford, transl. Henry E F. Garnsey and Isaac Bayley Balfour

Bell, A. A. and Wheeler, M. H. (1986) ‘Biosynthesis and Functions of Fungal Melanins’, *Annual Review of Phytopathology*. Annual Reviews, 24(1), pp. 411–451. doi: 10.1146/annurev.py.24.090186.002211.

- Boland, G. J. and Hall, R. (1994) 'Index of plant hosts of sclerotinia sclerotiorum', *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16(2), pp. 93–108. doi: 10.1080/07060669409500766.
- Bolton, M. D., Thomma, B. P. H. J. and Nelson, B. D. (2006) 'Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary: Biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen', *Molecular Plant Pathology*, 7(1), pp. 1–16. doi: 10.1111/j.1364-3703.2005.00316.x.
- Cayley, G. R. and Hide, G. A. (1980) 'Uptake of iprodione and control of diseases on potato stems', *Pesticide Science*, 11(1), pp. 15–19. doi: 10.1002/ps.2780110104.
- Clarkson, J. P. *et al.* (2007) 'Forecasting Sclerotinia disease on lettuce: A predictive model for carpogenic germination of Sclerotinia sclerotiorum sclerotia', *Phytopathology*, 97(5), pp. 621–631. doi: 10.1094/PHYTO-97-5-0621.
- Dalili, A. *et al.* (2015) 'Effect of some fungicides against the growth inhibition of Sclerotinia sclerotiorum mycelial compatibility groups', 55(4), pp. 354–361. doi: 10.1515/jppr-2015-0047.
- Henson, R. N. A. *et al.* (1999) 'Recollection and familiarity in recognition memory: An event-related functional magnetic resonance imaging study', *Journal of Neuroscience*, 19(10), pp. 3962–3972. doi: 10.1523/jneurosci.19-10-03962.1999.
- Holsx-Jensen, A. *et al.* (1997) 'Molecular phylogeny and evolution of monilinia (sclerotiniaceae) based on coding and noncoding run a sequences', *American Journal of Botany*, 84(5), pp. 686–701. doi: 10.2307/2445905.
- Huang, H. a. (1976). Penetration and infection of Sclerotinia sclerotiorum by Coniothyrium minitans. *Canadian Journal of Plant Pathology*, pp. 54:406-410.
- Huang, H. C. (1980) 'Control of sclerolinia wilt of sunflower by hyper parasites', *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2(1), pp. 26–32. doi: 10.1080/07060668009501458.
- Hudyncia, J. *et al.* (2000) 'Evaluation of wounds as a factor to infection of cabbage by ascospores of Sclerotinia sclerotiorum', *Plant Disease*, 84(3), pp. 316–320. doi: 10.1094/PDIS.2000.84.3.316.
- Kirk, P. M. *et al.* (2001) *Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi: 9th edition*. Wallingford: CABI Publishing.

Kohn (1979) 'A monographic revision of the genus *Sclerotinia* [Fungi]'

Libert (1837) 'Plante cryptogamicae arduennae (Exsiccati) no. 326. Published by the author'

Mahalingam, T. *et al.* (2016) 'First Report of White Mold Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on Cabbage in Sri Lanka', *Plant Disease*. Scientific Societies, 101(1), p. 249. doi: 10.1094/PDIS-05-16-0693-PDN.

Matheron, M. E. and Porchas, M. (2004) 'Growth of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum* and Development of Lettuce Drop', *Plant Disease*, 88(6), pp. 665-668.

Merriman, P. R. *et al.* (1979) 'Survival of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* and effects of cultivation practices on disease', *Soil Biology and Biochemistry*, 11(6), pp. 567–570. doi: 10.1016/0038-0717(79)90023-3.

Mueller, D. S., Hartman, G. L. and Pedersen, W. L. (1999) 'Development of sclerotia and apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* from infected soybean seed and its control by fungicide seed treatment', *Plant Disease*, 83(12), pp. 1113–1115. doi: 10.1094/PDIS.1999.83.12.1113.

Patterson, C. L. (1985) 'Differences in Epidemiology and Control of Lettuce Drop Caused by *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum*', *Plant Disease*, p. 766. doi: 10.1094/pd-69-766.

Prova, A. *et al.* (2018) 'Characterization of *sclerotinia sclerotiorum*, an emerging fungal pathogen causing blight in hyacinth bean (*Lablab purpureus*)', *Plant Pathology Journal*, 34(5), pp. 367–380. doi: 10.5423/PPJ.OA.02.2018.0028.

Purdy, L. H. (1979) '*Sclerotinia sclerotiorum*: History, Diseases and Symptomatology, Host Range, Geographic Distribution, and Impact', *Phytopathology*, 69(8), p. 875. doi: 10.1094/phyto-69-875.

Reis, A. and Lopes, C. A. (2007) 'Epidemiologia e manejo do mofo-branco em hortaliças', *Comunicado Técnico*.

Rollins, J. A. and Dickman, M. B. (2001) 'pH signaling in *Sclerotinia sclerotiorum*: Identification of a *pacC/RIM1* homolog', *Applied and Environmental Microbiology*, 67(1), pp. 75–81. doi: 10.1128/AEM.67.1.75-81.2001.

Sanogo, S. and Puppala, N. (2007) 'Characterization of a darkly pigmented mycelial isolate of



Sclerotinia sclerotiorum on Valencia peanut in New Mexico’, *Plant Disease*, 91(9), pp. 1077–1082. doi: 10.1094/PDIS-91-9-1077.

Shin, H. J., Kim, C. J. and Kim, S. B. (2008) ‘Improved production of rifamycin SV by *Amycolatopsis mediterranei* MM2 by the feeding method of carbon source’, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13(3), pp. 293–297. doi: 10.1007/s12257-008-0023-6.

Smith (1900) ‘Botrytis and Sclerotinia: their relation to certain plant diseases and to each other. Botanical Gazette Gaz. 1900; 29:369-407.’

Whipps, J.M. 1987. Effect of media on growth and interactions between a range of soil- borne glasshouse pathogens and antagonistic fungi. *New Phytol.* 107:127-142

Willetts, H. J. and Wong, A. L. (1971) ‘Ontogenetic diversity of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* and related species’, *Transactions of the British Mycological Society*, 57, p. 515. doi: 10.1016/S0007-1536(71)80066-9.

Williams, G. H. and Western, J. H. (1965) ‘The biology of *Sclerotinia trifoliorum* Erikss. and other species of sclerotium-forming fungi’, *Annals of Applied Biology*, 56, pp. 261–258.

Xin, L. *et al.* (2009) ‘Sensitivity to iprodione and boscalid of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates collected from rapeseed in China.’, *Pesticide Biochemistry and Physiology*. Amsterdam: Elsevier, 95(2), pp. 106–112. doi: 10.1016/j.pestbp.2009.07.006.

Young, C. S. *et al.* (2004) ‘Environmental conditions influencing *Sclerotinia sclerotiorum* infection and disease development in lettuce’, *Plant Pathology*, 53(4), pp. 387–397. doi: 10.1111/j.1365-3059.2004.01018.x.

## Παράρτημα

Πίνακας 3. Bumpei, αποτελέσματα ανάπτυξης μυκηλίου (διάμετρος σε cm) για 10 ppm, 1 ppm και 0 ppm.

C σε ppm	A1	A2	A3	A4	A5	A6	B1	B2	B3	B5	B6	B7	B8
10ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1ppm	1	0	0	0	0	0	0	1,9	0,2	1,6	3,3	1,7	1,2
0 ppm	4,8	4,1	3,3	1,5	4,9	4,4	4	6	4,4	8	8	8	8

Πίνακας 4. Teldor, αποτελέσματα ανάπτυξης μυκηλίου (διάμετρος σε cm) για 10 ppm, 1 ppm και 0 ppm.

C σε ppm	A1	A2	A3	A4	A5	A6	B1	B2	B3
10ppm	0,1	0,2	0,1	0	0	0	0	2,6	0,6
1ppm	1,3	0,4	3,8	0	4	2,2	0,1	4,7	0,8
0 ppm	2,7	2,6	6,7	2,1	5,5	3,7	4,6	5,9	4,4

Πίνακας 5. Atemi, αποτελέσματα ανάπτυξης μυκηλίου (διάμετρος σε cm) για 5 ppm, 1 ppm, 0,5ppm, 0.1ppm και 0 ppm.

C σε ppm	A1	A2	A3	A6
5ppm	0	0,1	0,1	1,7
0,5ppm	2,9	4,8	4	3,3
0 ppm	4,6	5,6	5,3	4,7

C σε ppm	A4	A5	B1	B2	B3
1ppm	0	0	0,3	0,2	0
0,1ppm	3,7	0	2,7	4,2	2,3
0ppm	4,2	5,5	5,6	6,8	5,4

Πίνακας 6. Γεοχε, αποτελέσματα ανάπτυξης μυκηλίου (διάμετρος σε cm) για 0,1 ppm, 0,01 ppm και 0 ppm.

<b>C σε ppm</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>	<b>A4</b>	<b>A5</b>	<b>A6</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>
<b>0,1ppm</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>0,01ppm</b>				<b>0</b>			<b>0,1</b>	<b>0,1</b>	<b>0</b>
<b>0 ppm</b>	<b>2,7</b>	<b>5,6</b>	<b>6,1</b>	<b>4</b>	<b>3,6</b>	<b>4,4</b>	<b>6,4</b>	<b>5,4</b>	<b>5,1</b>

Πίνακας 7. Ρονγαl, αποτελέσματα ανάπτυξης μυκηλίου (διάμετρος σε cm) για 1 ppm, 0,1 ppm και 0 ppm.

<b>C σε ppm</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>	<b>A4</b>	<b>A5</b>	<b>A6</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>
<b>1ppm</b>	<b>1,1</b>	<b>0,7</b>	<b>0</b>	<b>0,2</b>	<b>0,4</b>	<b>0,8</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0,8</b>
<b>0,1ppm</b>	<b>4,7</b>	<b>0,6</b>	<b>3,5</b>	<b>7,8</b>	<b>6,5</b>	<b>5,7</b>	<b>7,8</b>	<b>7,8</b>	<b>7,8</b>
<b>0 ppm</b>	<b>5</b>	<b>4,2</b>	<b>5,2</b>	<b>7,8</b>	<b>6,3</b>	<b>4,7</b>	<b>7,8</b>	<b>7,8</b>	<b>7,8</b>