



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ
—
ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ

Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής

Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων

Κατεύθυνση Φυτικής Παραγωγής

**Επίδραση Συμβιωτικών Μικροοργανισμών Στα Ποιοτικά
Χαρακτηριστικά Σπόρου Τομάτας**

Φοιτήτρια: Νεφέλη Καλκανά

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Δήμητρα Δούμα

Άρτα, 2018

**Effect of symbiotic microorganisms in quality characteristics of
tomato seed**

Εξεταστική επιτροπή

Δούμα Δήμητρα, Επίκουρος Καθηγήτρια Φυτικής Παραγωγής, ΤΕΙ Ηπείρου, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας & Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής

Καριπίδης Χαράλαμπος, Καθηγητής Φυτικής Παραγωγής, ΤΕΙ Ηπείρου, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας & Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής

Πατακιούτας Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ανθοκομίας & Αρχιτεκτονικής Τοπίου, ΤΕΙ Ηπείρου, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας & Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής

ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΗΨΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΗΣ ΕΥΘΥΝΗΣ

Με πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων, δηλώνω ενυπογράφως ότι είμαι αποκλειστικός συγγραφέας της παρούσας Πτυχιακής Εργασίας, για την ολοκλήρωση της οποίας κάθε βοήθεια είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται λεπτομερώς στην εργασία αυτή. Έχω αναφέρει πλήρως και με σαφείς αναφορές, όλες τις πηγές χρήσης δεδομένων, απόψεων, θέσεων και προτάσεων, ιδεών και λεκτικών αναφορών, είτε κατά κυριολεξία είτε βάσει επιστημονικής παράφρασης. Αναλαμβάνω την προσωπική και ατομική ευθύνη ότι σε περίπτωση αποτυχίας στην υλοποίηση των ανωτέρω δηλωθέντων στοιχείων, είμαι υπόλογος έναντι λογοκλοπής, γεγονός που σημαίνει αποτυχία στην Πτυχιακή μου Εργασία και κατά συνέπεια αποτυχία απόκτησης Τίτλου Σπουδών, πέραν των λοιπών συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων. Δηλώνω, συνεπώς, ότι αυτή η Πτυχιακή Εργασία προετοιμάστηκε και ολοκληρώθηκε από εμένα προσωπικά και αποκλειστικά και ότι, αναλαμβάνω πλήρως όλες τις συνέπειες του νόμου στην περίπτωση κατά την οποία αποδειχθεί, διαχρονικά, ότι η εργασία αυτή ή τμήμα της δεν μου ανήκει διότι είναι προϊόν λογοκλοπής άλλης πνευματικής ιδιοκτησίας.

ΝΕΦΕΛΗ ΚΑΛΚΑΝΑ

01-04-2018

Αφιέρωση

Αφιερώνω την πτυχιακή μου εργασία στους γονείς μου, για την ηθική και οικονομική υποστήριξη που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια των σπουδών μου στην Άρτα.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Επίκουρο Καθηγήτρια Φυτικής Παραγωγής του ΤΕΙ Ηπείρου Άρτας, κ. Δήμητρα Δούμα για τη δυνατότητα που μου έδωσε να πραγματοποιήσω την πτυχιακή μου εργασία, καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και τη βοήθεια που μου παρείχε κατά την εκπόνηση αυτής.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω εκ βαθέων τον Δρ Δημοσθένη Χάχαλη, Ερευνητή Α' και Προϊστάμενο του Εργαστηρίου Ζιζανιολογίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε για την περάτωση της παρούσας εργασίας. Οι σημαντικές υποδείξεις και συμβουλές του με κατεύθυναν σε ένα σωστό τρόπο σκέψης πάνω απ' όλα και μου προσέφεραν σημαντικά εφόδια για την μετέπειτα ζωή μου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την Δρ Αιμιλία Μαρκέλλου, Ερευνήτρια Β' του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του ΜΦΙ, την κ. Σοφία Μιγκάρδου, Τεχνικό βοηθό του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του ΜΦΙ, καθώς και την Δρ Μαρία Κ. Χολέβα, Ερευνήτρια Β' και Προϊσταμένη του Εργαστηρίου Βακτηριολογίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου για την τεχνική υποστήριξη και καθοδήγηση σε θέματα που αφορούσαν την πτυχιακή μου εργασία.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες εκφράζω στον καθηγητή μου κ. Χαράλαμπο Καριπίδη που συνέβαλλε στην εργασία αυτή, καθώς και σε όλους τους καθηγητές του Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Άρτας για τις πολύτιμες γνώσεις που μου προσέφεραν κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Τέλος, θέλω να εκφράσω ένα μεγάλο και εγκάρδιο ευχαριστώ στην οικογένειά μου που με στηρίζει ηθικά και οικονομικά όλα αυτά τα χρόνια, δίνοντάς μου κουράγιο να προχωρώ και να υπερπηδώ κάθε εμπόδιο για να φτάσω στο στόχο μου.

Περίληψη

Στα πλαίσια ερευνητικού προγράμματος που εκπονήθηκε στο ΤΕΙ Ηπείρου το διάστημα 2012-2015, μελετήθηκε εκτός άλλων παραμέτρων και η επίδραση των συμβιωτικών μικροοργανισμών *Glomus intraradices*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Trichoderma harzianum* κ.λ.π. στα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά της ντομάτας (δηλ. την *in vitro* βλαστικότητα της γύρης, το μήκος των γυρεοσωλήνων, τον αριθμό σπερμάτων ανά καρπό, καθώς και το βάρος 1000 σπόρων). Στο πείραμα που έγινε κατά την προηγούμενη τριετία, φυτά ντομάτας καλλιεργήθηκαν σε ανοικτό υδροπονικό σύστημα στο θερμοκήπιο του ΤΕΙ Ηπείρου στην Άρτα, αφού εμβολιάστηκαν με τους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς. Επιπλέον, αναπτύχθηκαν φυτά εμβολιασμένα με τους προαναφερόμενους μικροοργανισμούς και τον φυτοπαθογόνο μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Οι σπόροι που παρήχθησαν αποξηράνθηκαν, αποθηκεύτηκαν σε χάρτινους φακέλους σε συνθήκες δωματίου και αποτέλεσαν το πειραματικό μας υλικό. Στα πλαίσια των πειραμάτων αυτών πραγματοποιήθηκαν: τεστ βλαστικότητας, τεστ τετραζολίου και τεστ υγείας π.χ. ανίχνευση *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* στους σπόρους που προέρχονται από φυτά εμβολιασμένα με συμβιωτικούς μικροοργανισμούς και μη εμβολιασμένα (μάρτυρες), τα οποία αναπτύχθηκαν παρουσία ή μη του παθογόνου μύκητα.

Σκοπός του πειράματος ήταν να προσδιοριστούν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά (βλαστικότητα και ζωτικότητα) και να πραγματοποιηθεί ο έλεγχος της υγείας του παραγόμενου σπόρου σε κάθε μεταχείριση.

Abstract

Within the framework of a research program developed at the Technological Educational Institute of Epirus in the period 2012-2015, besides other parameters, the influence of the symbiotic microorganisms *Glomus intraradices*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Trichoderma harzianum* and others was studied. The reproductive characteristics of the tomato (ie in vitro pollen germination, pollen tube length, number of seeds per fruit, and the weight of 1000 seeds). In the experiment of the previous three years, tomato plants were cultivated in an open hydroponic system in the greenhouse of Technological Educational Institute of Epirus in Arta, after being inoculated with symbiotic microorganisms. Additionally, plants inoculated with the aforementioned microorganisms and the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* were grown.

The seeds produced were dried, stored in paper envelopes under room conditions and constituted our experimental material. In the framework of these experiments: germination test, tetrazolium test and agar plate test were contacted.

The purpose of the experiment was to determine the quality characteristics (germination and vigour) and to check the health of the seed produced in each treatment.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	1
ABSTRACT.....	2
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	5
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	6
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ	11
1.1. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΜΕ ΤΟΝ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟ ΜΥΚΗΤΑ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	11
1.2. ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΤΟΜΑΤΑ	13
1.2.1. Ταξινόμηση	13
1.2.2. Βοτανική περιγραφή	14
1.2.3. Στάδια ανάπτυξης.....	17
1.2.4. Ποικιλίες/Υβρίδια.....	18
1.3. Η ΣΠΟΡΟΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΤΟΜΑΤΑ.....	19
1.4. Ο ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΜΥΚΗΤΑΣ <i>Fusarium oxysporum</i>	21
1.4.1. Ταξινόμηση του <i>Fusarium oxysporum</i>	22
1.4.2. Επιδημιολογία του <i>Fusarium oxysporum</i>	24
1.4.3. Παθογόνος δράση του <i>Fusarium oxysporum</i> και ο κύκλος της ασθένειας.....	25
1.4.4. Στελέχη <i>Fusarium oxysporum</i> που προσβάλουν το φυτό της τομάτας	25
1.4.4.1. <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (FOL)	25
1.4.4.2. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis-lycopersici</i> (FORL)	27
1.4.5. Έλεγχος του φυτοπαθογόνου μύκητα <i>Fusarium oxysporum</i> στις καλλιέργειες.....	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	30
2.1. Ο ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ.....	30
2.1.1. Απολύμανση θερμοκηπίου (κανάλια) και απολύμανση σπόρων	31
2.1.2. Σκευάσματα συμβιωτικών μικροοργανισμών.....	31
2.1.3. Παρασκευή αιωρήματος του μύκητα (<i>F. oxysporum</i>) για τον εμβολιασμό της καλλιέργειας	33
2.1.4. Θρεπτικό διάλυμα καλλιέργειας τομάτας	33
2.1.5. Καλλιέργεια Τομάτας.....	34
2.1.6. Σποροπαραγωγή.....	34
2.1.7. Υλικό πειραμάτων.....	35
2.2. ΤΟ ΤΕΣΤ ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	36
2.2.1. Πειραματικό μέρος.....	37
2.3. ΤΟ ΤΕΣΤ ΤΕΤΡΑΖΟΛΙΟΥ.....	38

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1. 1 - Υποείδη του <i>F. oxysporum</i> που προσβάλουν διαφορετικά φυτικά είδη	23
Πίνακας 2. 1 - Σύσταση πυκνού διαλύματος για καλλιέργεια τομάτας στο βλαστικό στάδιο	33
Πίνακας 2. 2 - Τα δείγματα που μελετήθηκαν	35
Πίνακας 3. 1 - Ανάλυση διασποράς των δεδομένων της βλαστικότητας των σπόρων της τομάτας (τα δεδομένα της % βλαστικότητας, πριν την ανάλυση έχουν μετατραπεί σε μοίρες)	50
Πίνακας 3. 2 - Ανάλυση των απλών κύριων επιδράσεων του ενός παράγοντα μέσα σε κάθε ένα επίπεδο του άλλου για τα δεδομένα της βλαστικότητας των σπόρων (μετά από μετατροπή των τιμών της % βλαστικότητας σε μοίρες)	51
Πίνακας 3. 3 - Σύγκριση των μέσων της βλαστικότητας των σπόρων που προέρχονταν από φυτά που δεν εκτέθηκαν στην παρουσία του <i>Fusarium</i> sp. (μετά από μετατροπή των τιμών της % βλαστικότητας σε μοίρες)	52
Πίνακας 3. 4 - Σύγκριση των μέσων της βλαστικότητας των σπόρων που προέρχονταν από φυτά που εκτέθηκαν στην παρουσία του <i>Fusarium</i> sp. (μετά από μετατροπή των τιμών της % βλαστικότητας σε μοίρες)	52
Πίνακας 3. 5 - Επίδραση διαφόρων συμβιωτικών μικροοργανισμών στην % βλαστικότητα (μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα) των σπόρων τομάτας Formula F1 μετά από τρία έτη αποθήκευσης. Η στήλη 1 αφορά φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του <i>Fusarium</i> sp. στο υπόστρωμα ανάπτυξης, ενώ η στήλη 2 φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του μύκητα <i>Fusarium</i> sp.	53
Πίνακας 3. 6 - Αριθμητική απόδοση των αποτελεσμάτων των χρώσεων τετραζολίου των σπόρων της τομάτας	57
Πίνακας 3. 7 - Ανάλυση διασποράς των δεδομένων της ζωτικότητας των σπόρων της τομάτας	58
Πίνακας 3. 8 - Ανάλυση των απλών κύριων επιδράσεων του ενός παράγοντα μέσα σε κάθε ένα επίπεδο του άλλου για τα δεδομένα της έντασης της χρώσης με τετραζόλιο	59
Πίνακας 3. 9 - Σύγκριση των μέσων της ζωτικότητας των σπόρων που προέρχονταν από φυτά που δεν εκτέθηκαν στην παρουσία του <i>Fusarium</i> sp. (στήλες 1, 2 και 3) και των σπόρων που προέρχονταν από φυτά που εκτέθηκαν στην παρουσία του <i>Fusarium</i> sp. (στήλες 4, 5 και 6)	60
Πίνακας 3. 10 - Επίδραση διαφόρων συμβιωτικών μικροοργανισμών στην ένταση της χρώσης με τετραζόλιο (εκπερασμένο σε ποσοστό %, ως μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα) των εμβρύων των σπόρων τομάτας Formula F1 μετά από τρία έτη αποθήκευσης. Η στήλη 1 αφορά φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του μύκητα <i>Fusarium</i> sp.	61
Πίνακας 3. 11 - Επίδραση των συμβιωτικών μικροοργανισμών στην χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων της τομάτας που προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του μύκητα <i>Fusarium</i> sp.	62

Πίνακας 3. 12 - Επίδραση των συμβιωτικών μικροοργανισμών στην χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων της τομάτας που προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του μύκητα *Fusarium* sp. 64

Κατάλογος διαγραμμάτων

- Διάγραμμα 3. 1 - Χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων από φυτά τομάτας Formula F1 που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών (μάρτυρες) και από φυτά που εμβολιάστηκαν με τον συμβιωτικό μικροοργανισμό *Bacillus amyloliquefaciens*. Στο αριστερό σκέλος της εικόνας οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του παθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. Στο δεξιό σκέλος οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του παθογόνου μύκητα..... 65
- Διάγραμμα 3. 2 - Χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων από φυτά τομάτας Formula F1 που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών (μάρτυρες) και από φυτά που εμβολιάστηκαν με τον συμβιωτικό μικροοργανισμό *Trichoderma harzianum*. Στο αριστερό σκέλος της εικόνας οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του παθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. Στο δεξιό σκέλος οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του παθογόνου μύκητα 66
- Διάγραμμα 3. 3 - Χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων από φυτά τομάτας Formula F1 που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών (μάρτυρες) και από φυτά που εμβολιάστηκαν με τον συμβιωτικό μικροοργανισμό *Glomus intraradices*. Στο αριστερό σκέλος της εικόνας οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του παθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. Στο δεξιό σκέλος οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του παθογόνου μύκητα 67
- Διάγραμμα 3. 4 - Χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων από φυτά τομάτας Formula F1 που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών (μάρτυρες) και από φυτά που εμβολιάστηκαν με το μείγμα συμβιωτικών μικροοργανισμών Micosat-F WP Len. Στο αριστερό σκέλος της εικόνας οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του παθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. Στο δεξιό σκέλος οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του παθογόνου μύκητα..... 68
- Διάγραμμα 3. 5 - Χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων από φυτά τομάτας Formula F1 που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών (μάρτυρες) και από φυτά που εμβολιάστηκαν με το μείγμα συμβιωτικών μικροοργανισμών Robur Plus. Στο αριστερό σκέλος της εικόνας οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του παθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. Στο δεξιό σκέλος οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του παθογόνου μύκητα 69

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1. 1 - Φύλλα και καρποί τομάτας	15
Εικόνα 1. 2 - Άνθη τομάτας.....	16
Εικόνα 1. 3 - Καρπός τομάτας.....	17
Εικόνα 1. 4 - Στερεές καλλιέργειες σε PDA του <i>F. oxysporum</i>	23
Εικόνα 1. 5 - Σπόρια απομονωμένα από αποικίες μύκητα σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA (Toussoun & Nelson, 1976).....	24
Εικόνα 1. 6 - Το χαρακτηριστικό κιτρίνισμα των χαμηλότερων φύλλων στη μία πλευρά του προσβεβλημένου από το <i>F. oxysporum</i> sp. <i>lycopersici</i> φυτού στα αρχικά στάδια (Miller et al., 2004). 26	26
Εικόνα 1. 7 - Ο μαρασμός επεκτείνεται προοδευτικά σε όλο το φυτό όσο προχωρά η νόσος (Momol et al., 2005).....	26
Εικόνα 1. 8 - Ο χαρακτηριστικός καφέ χρωματισμός του αγγειακού ιστού του φυτού που έχει προσβληθεί από το <i>F. oxysporum</i> sp. <i>lycopersici</i> (Miller et al., 2004)	27
Εικόνα 1. 9 - Το κιτρίνισμα των φύλλων στα νεαρά στελέχη στα αρχικά στάδια της προσβολής από το <i>Fusarium oxysporum</i> sp. <i>radicis-lycopersici</i> (Momol et al., 2005)	28
Εικόνα 1. 10 - Ο μαρασμός των μεγαλύτερων φυτών σε προχωρημένο στάδιο (Momol et al., 2005).....	28
Εικόνα 1. 11 - Ο χαρακτηριστικός καφετί χρωματισμός και η σήψη στον ξυλώδη ιστό και τη ρίζα λόγω της προσβολής από το <i>Fusarium oxysporum</i> sp. <i>radicis-lycopersici</i> (Momol et al., 2005).....	29
Εικόνα 2. 1 - Τα ρολά τοποθετήθηκαν σε σφραγισμένες πλαστικές σακούλες, εισήχθησαν σε θάλαμο ανάπτυξης και διατηρήθηκαν στους 25°C για 3 εβδομάδες	38
Εικόνα 2. 2 - Αφαίρεση περιβλήματος σπόρων πριν την εμφάνιση στο διάλυμα τετραζολίου	40
Εικόνα 2. 3 - Αποστειρωμένο θρεπτικό υπόστρωμα PDA, αποιονισμένο νερό και filter papers.....	41
Εικόνα 2. 4 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 1 % για 0,5 min.....	42
Εικόνα 2. 5 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 1 % για 1 min.....	42
Εικόνα 2. 6 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 1 % για 2 min.....	42
Εικόνα 2. 7 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 2,5% για 0,5 min.....	42
Εικόνα 2. 8 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 2,5 % για 1 min.....	42
Εικόνα 2. 9 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 2,5 % για 2 min.....	42
Εικόνα 2. 10 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 5% για 0,5 min.....	43
Εικόνα 2. 11 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 5 % για 1 min.....	43

Εικόνα 2. 12 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 5% για 2 min.....	43
Εικόνα 2. 13 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 10% για 0,5 min.....	43
Εικόνα 2. 14 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 10% για 1 min.....	43
Εικόνα 2. 15 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 10% για 2 min.....	43
Εικόνα 2. 16 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 10% για 2 min.....	44
Εικόνα 2. 17 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 10% για 2 min.....	44
Εικόνα 2. 18 - Τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε θάλαμο επώασης στους 20°C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου	44
Εικόνα 3. 1 - Σπόροι μάρτυρες μεταχείρισης C.C.9 μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	46
Εικόνα 3. 2 - Σπόροι μάρτυρες μεταχείρισης C.F.2 μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	46
Εικόνα 3. 3 - Σπόροι μεταχείρισης B.C.2 (Rep1) μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	47
Εικόνα 3. 4 - Σπόροι μεταχείρισης B.C.2 (Rep2) μετά από 13 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	47
Εικόνα 3. 5 - Σπόροι μεταχείρισης B.F.5 (Rep1) μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	47
Εικόνα 3. 6 - Σπόροι μεταχείρισης B.F.5 (Rep2) μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	47
Εικόνα 3. 7 - Σπόροι μεταχείρισης G.C.4 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης .	47
Εικόνα 3. 8 - Σπόροι μεταχείρισης G.F.7 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης .	47
Εικόνα 3. 9 - Σπόροι μεταχείρισης ML.C.8 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	48
Εικόνα 3. 10 - Σπόροι μεταχείρισης ML.F.4 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	48
Εικόνα 3. 11 - Σπόροι μεταχείρισης T.C.5 (Rep1) μετά από 10 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	48
Εικόνα 3. 12 - Σπόροι μεταχείρισης T.C.5 (Rep2) μετά από 10 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	48
Εικόνα 3. 13 - Σπόροι μεταχείρισης RP.C.4 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	48

Εικόνα 3. 14 - Σπόροι μεταχείρισης RP.F.4 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	48
Εικόνα 3. 15 - Σπόροι μεταχείρισης T.F.3 (Rep1) μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	49
Εικόνα 3. 16 - Σπόροι μεταχείρισης T.F.3 (Rep2) μετά από 10 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης	49
Εικόνα 3. 17 – Σπόρος μη ζωτικός	55
Εικόνα 3. 18 – Σπόρος ζωτικός με χαμηλή ένταση χρώσης <25% σε διάφορα σημεία του εμβρύου	55
Εικόνα 3. 19 – Σπόρος ζωτικός με υψηλή ένταση χρώσης >25% σε διάφορα σημεία του εμβρύου	55
Εικόνα 3. 20 – Σπόρος ζωτικός με χρώση κυρίως ή μόνο στις κοτυληδόνες	55
Εικόνα 3. 21 – Σπόρος ζωτικός με χαμηλή ένταση χρώσης σε διάφορα σημεία του εμβρύου και στις κοτυληδόνες.....	56
Εικόνα 3. 22 – Σπόρος ζωτικός με υψηλή ένταση χρώσης σε διάφορα σημεία του εμβρύου και στις κοτυληδόνες.....	56
Εικόνα 3. 23 – Σπόρος ζωτικός με βαθμό χρώσης σε ολόκληρο το έμβρυο	56
Εικόνα 3. 24 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης C.C.11 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 5 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	70
Εικόνα 3. 25 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης C.C.11 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 15 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	70
Εικόνα 3. 26 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης C.F.5 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 3 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	70
Εικόνα 3. 27 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης C.F.6 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	70
Εικόνα 3. 28 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.C.2 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	71
Εικόνα 3. 29 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.C.2 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 15 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	71
Εικόνα 3. 30 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.C.2 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 15 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	71
Εικόνα 3. 31 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.C.5 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	71
Εικόνα 3. 32 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.C.5 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 15 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	71
Εικόνα 3. 33 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.F.5 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 7 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	71
Εικόνα 3. 34 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.F.5 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 7 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	72
Εικόνα 3. 35 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης B.C.8 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 3 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος	72

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

1.1. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΜΕ ΤΟΝ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟ ΜΥΚΗΤΑ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Η διεθνής βιβλιογραφία είναι πλούσια σε ερευνητικά δεδομένα που αφορούν την αλληλεπίδραση των υπό μελέτη συμβιωτικών μικροοργανισμών της παρούσας εργασίας με το φυτοπαθογόνο μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Η μεταξύ τους σχέση έχει διερευνηθεί τόσο σε *in vitro*, όσο και σε *in vivo* συνθήκες.

Με τη βιβλιογραφική ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της εργασίας διαπιστώθηκε ότι οι περισσότερες σχετικές ερευνητικές εργασίες αναφέρονται στο *T. harzianum*. Ο Sivan (1987) παρατήρησε πως η εφαρμογή σπορίων του *T. harzianum*, είτε με επικάλυψη του σπόρου της ντομάτας, είτε με την εφαρμογή και ανάμιξή τους με το έδαφος, επιτυγχάνει αύξηση της απόδοσης έως και 26,2% σε σχέση με τα προσβεβλημένα από το *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) φυτά-μάρτυρες. Αρκετά χρόνια πριν, ο Panteleev (1972) ανέφερε πως η επικάλυψη του σπόρου με το συγγενικό του είδος, *Trichoderma viride*, μείωσε την εμφάνιση του FOL από 29,5% σε 6-15%. Στο συμπέρασμα πως το *Trichoderma harzianum* συνιστά αποτελεσματικό μέσο για τον βιολογικό έλεγχο του FOL συνηγορούν και πολλές ακόμα έρευνες, όπως αυτή των Marois και Mitchell (1981) όπου —σε θερμοκηπιακές συνθήκες— 75 μέρες μετά την εφαρμογή του, προκάλεσε μείωση της δράσης του FOL κατά 80%.

Επιπροσθέτως, έχουν διενεργηθεί και συνδυαστικές έρευνες, οι οποίες αφορούν την αποτελεσματικότητα των *Trichoderma harzianum* και *Glomus intraradices*, είτε σε φυτά ντομάτας (Datnoff et al., 1995) είτε σε λαχανικά και κитροειδή (Datnoff & Strandberg, 1996) και με όλες διαπιστώθηκε η ικανότητα περιορισμού και μείωσης του FOL από τους συμβιωτικούς αυτούς μικροοργανισμούς.

Όσον αφορά το *Glomus intraradices*, οι Al-Hmoud & Al-Momany (2015), που δοκίμασαν 4 διαφορετικά εμπορικά σκευάσματά του ως προς την αποτελεσματικότητά τους στο *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, είδαν πως το ύψος των φυτών να αυξάνει και η προσβολή των ριζών από το FOL ελαττώνεται έως και κατά 50%. Επιπλέον, και οι Caron et al. (1986) με δυο έρευνές τους μελέτησαν την αλληλεπίδραση των *Glomus*

intraradices και *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* σε φυτά ντομάτας και παρατήρησαν μείωση της παρουσίας του παθογόνου, καθώς και αύξηση της απόδοσής των φυτών της τομάτας. Επίσης, άξια αναφοράς είναι η έρευνα του Utkhede (2006), όπου μελετώντας πολλά είδη του γένους *Glomus*, ανακάλυψε πως αρκετά από αυτά — και όχι μόνο το *Glomus intraradices* — δρουν αποτελεσματικά στην καταπολέμηση του FOL σε υδροπονική καλλιέργεια ντομάτας.

Τέλος, στην βιβλιογραφία όσον αφορά το *Bacillus amyloliquefaciens* υπάρχουν αρκετές μελέτες που με τα αποτελέσματά τους αποδεικνύουν πως πρόκειται για έναν ικανότατο ανταγωνιστή του FOL. Ο Cavaglieri (2005) ανέφερε πως πολλά είδη *Bacillus* συνιστούν υποσχόμενους βιολογικούς παράγοντες, ενώ ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί στο *Bacillus amyloliquefaciens* ως ένα σημαντικό και αποτελεσματικό όπλο εναντίον των μυκητολογικών ασθενειών —αλλά και ως προωθητικό της ανάπτυξης των φυτών. Οι Shahzad, Khan, Bilal, Asaf, Lee, (2017) μελέτησαν την αλληλεπίδρασή του με το FOL σε φυτά ντομάτας και τα αποτελέσματά τους ήταν πολύ θετικά, καθώς περιόρισε αποτελεσματικά το FOL, ενώ ταυτοχρόνως προέκυψαν και ενδείξεις πως αυτός ο περιορισμός επιτυγχάνεται μέσω της επαγωγή της διασυστηματικής αντοχής των φυτών (ISR) από το ενδοφυτικό αυτό βακτήριο. Σε μία άλλη πρόσφατη μελέτη (Sotoyama, Akutsu, Nakajima, 2015) παρατηρήθηκε η παρεμπόδιση της ανάπτυξης του FOL από το στέλεχος IUMC7 του *Bacillus amyloliquefaciens* σε *in vitro* συνθήκες, ενώ τέλος, μια πολύ ενδιαφέρουσα έρευνα (Ajilogba, Babalola and Ahmad, 2003) ασχολήθηκε με την δράση τεσσάρων διαφορετικών ειδών *Bacillus* ενάντια στο Φουζάριο της ντομάτας σε *in vitro* και *in vivo* συνθήκες. Σε *in vitro* συνθήκες το *Bacillus amyloliquefaciens* κατετάγη πρώτο με 95,2% ικανότητα περιορισμού του φουζάριου, ενώ σε *in vivo* δεύτερο —πίσω από το *Bacillus cereus*— με 75% ικανότητα αντιμετώπισης της ασθένειας.

Συμπερασματικά, στην διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει πληθώρα ερευνών που μελετούν την αλληλεπίδραση των συμβιωτικών μικροοργανισμών της παρούσας εργασίας με το *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* —είτε μέσω της επικάλυψης των σπόρων με τους βιολογικούς αυτούς παράγοντες, είτε μέσω της εφαρμογής τους στο έδαφος στη ζώνη του ριζικού συστήματος—, και από την συντριπτική τους πλειοψηφία προκύπτουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα που αφορούν την αντιμετώπιση, τον περιορισμό, ακόμη και τη μη εκδήλωση της ασθένειας που προκαλείται από το FOL. Μάλιστα, σε μεγάλο μέρος της βιβλιογραφίας, οι ερευνητές αφήνουν να εννοηθεί πως οι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί

γενικότερα, συνιστούν το μέλλον της φυτοπροστασίας σε περιπτώσεις ασθενειών του ριζικού συστήματος.

1.2. ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΤΟΜΑΤΑ

Σύνοψη, προαπαιτούμενη γνώση για τη βιομηχανική τομάτα

Η βιομηχανική τομάτα ανήκει στα βιομηχανικά φυτά και είναι φυτό μεγάλης οικονομικής σημασίας παγκοσμίως. Τα βοτανικά χαρακτηριστικά του φυτού και ο βιολογικός του κύκλος σχετίζονται άμεσα με την προσαρμοστικότητά του και την ορθή καλλιεργητική τεχνική. Στο κεφάλαιο περιλαμβάνεται η περιγραφή του ριζικού συστήματος, του στελέχους, των φύλλων, των ταξιανθιών και των καρπών του φυτού. Περιγράφονται αναλυτικά τα στάδια ανάπτυξης από το φύτευμα έως την ωρίμανση του φυτού. Βοτανικά χαρακτηριστικά σχετικά με το ριζικό σύστημα, το στέλεχος, τα φύλλα, τη διάταξη και τα μέρη των ανθέων της οικογένειας των Σολανωδών και ιδιαίτερα του γένους Σολανό.

1.2.1. Ταξινόμηση

Η τομάτα, της οποίας το επιστημονικό όνομα είναι *Solanum lycopersicum* L., ανήκει στο γένος *Solanum* της οικογένειας Solanaceae (Σολανωδών). Σαν συνώνυμά της έχουν αναφερθεί και τα *Lycopersicon lycopersicum* (L.) H. Karst. και *Lycopersicon esculentum* Mill.

Η τομάτα κατάγεται από την Κεντρική και Νότιο Αμερική και συγκεκριμένα το Μεξικό. Άμεσοι πρόγονοι της καλλιεργούμενης τομάτας είναι τα είδη *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* και *Lycopersicon esculentum* var. *pimpinellifolium*, που απαντώνται ως αυτοφυή στο Περού και στη Χιλή. Οι ιθαγενείς του Μεξικού που χρησιμοποιούσαν τους καρπούς του φυτού αυτού στη διατροφή τους πριν από την ανακάλυψη της Αμερικής, το ονόμασαν τομάτα, από όπου προέρχεται η κοινή ονομασία του φυτού. Η ονομασία Λυκοπερσικόν αναφέρεται για πρώτη φορά από τον Γαληνό για κάποιο άγνωστο δηλητηριώδες φυτό της Αιγύπτου, είναι σύνθετη λέξη από το «λύκος» και «περσικό» επειδή πίστευαν ότι ο καρπός ήταν δηλητηριώδες ροδάκινο. Αυτή την ονομασία κατέγραψε και ο Λινναίος τον 18^ο αιώνα όταν έδωσε το επιστημονικό όνομα στην τομάτα (*Lycopersicon esculentum*, δηλαδή εδώδιμο ροδάκινο του λύκου). Στην

Ευρώπη μεταφέρθηκε στα μέσα του 16^{ου} αιώνα και διαδόθηκε σαν καλλωπιστικό και φαρμακευτικό φυτό σε Πορτογαλία, Ισπανία, Ιταλία, Γαλλία Αγγλία, Βέλγιο και άλλες χώρες. Η πρώτη γραπτή περιγραφή του φυτού αναφέρεται το 1554 στην Ιταλία, όπου οι καρποί χαρακτηρίζονται ως χρυσά μήλα (romi d' oro), ενδεικτικό της μιας από τις δύο μορφές του φυτού με κίτρινους καρπούς. Η επιφυλακτικότητα στην κατανάλωση των καρπών της τομάτας αποδίδεται στη γνωστή περιεκτικότητα των φυτών της οικογένειας των Σολανωδών στο αλκαλοειδές σολανίνη που είναι τοξικό για τον άνθρωπο και τα ζώα. Η τομάτα περιέχει σολανίνη στα φύλλα της, όχι όμως στον καρπό. Άρχισε να καλλιεργείται σαν εδώδιμο από τον 18^ο αιώνα στην Ευρώπη, ενώ στις Η.Π.Α. καλλιεργήθηκε από το 1812 στη Λουιζιάνα. Η μεγάλη επέκταση της καλλιέργειας άρχισε μετά το 1900 με τη δραστηριοποίηση των βιομηχανιών κονσερβών στην Ιταλία για την παραγωγή τοματοπολτού και άλλων προϊόντων (Gould, 1992). Στην Ελλάδα εισάχθηκε από τον Φραγκίσκο Μονιέ, μοναχό της μονής των Καπουτσίνων στην Αθήνα, ως κηπευτική καλλιέργεια. Για βιομηχανική πρώτη ύλη χρησιμοποιήθηκε μετά τον Β' Παγκόσμιο Πόλεμο, αρχικά στα Δωδεκάνησα και τη Ν. Ελλάδα. Η σημαντική επέκταση της καλλιέργειας βιομηχανικής τομάτας άρχισε μετά το 1975 με τη δημιουργία σύγχρονων βιομηχανικών μονάδων μεταποίησης (Αυγουλάς & Παπαστυλιανού, 2012).

Το φυτό είναι γνωστό ως tomato (Αγγλία και ΗΠΑ), tomate (Γαλλία, Ισπανία και Γερμανία) και pomodoro (Ιταλία). Ο βασικός χρωμοσωμικός αριθμός της τομάτας είναι $2n=24$.

1.2.2. Βοτανική περιγραφή

Η τομάτα είναι δικότυλο, ποώδες, πολυετές φυτό, αλλά καλλιεργείται σαν ετήσιο. Αυτογονιμοποιούμενο σε υψηλό ποσοστό με την υποβοήθηση της επικονίασης από τον άνεμο ή τα έντομα.

Ριζικό σύστημα

Το ριζικό σύστημα της τομάτας αποτελείται από μία κεντρική, πασσαλώδη ρίζα που μπορεί να φτάσει σε βάθος 60 cm, επιμηκυνόμενη κατά 2-3 cm την ημέρα. Όταν η τομάτα μεταφυτεύεται, η κεντρική ρίζα καταστρέφεται και παράγονται δευτερεύουσες πλευρικές ρίζες ακόμη και από τον λαιμό του φυτού, γεγονός που θεωρείται πλεονέκτημα γιατί διευκολύνει την εγκατάσταση του φυτού κατά τη μεταφύτευση (Καββάδας, 1956).

Στέλεχος

Η τομάτα είναι φυτό ποώδες. Ο κεντρικός βλαστός φέρει φύλλα, στις μασχάλες των οποίων υπάρχουν οφθαλμοί που αναπτύσσουν πλευρικά στελέχη. Το σχήμα του βλαστού είναι κυλινδρικό και εσωτερικά είναι πλήρης. Στα πρώτα στάδια ανάπτυξης είναι τρυφερός, εύθραυστος, χυμώδης και μαλακός, αργότερα όμως γίνεται πιο σκληρός και αποκτά μηχανική αντοχή, χωρίς να ξυλοποιείται. Η ανάπτυξη του βλαστού, όσον αφορά το μήκος, καθορίζεται από γενετικούς παράγοντες με αποτέλεσμα το φυτό να αυξάνεται σε ύψος με ένα ή περισσότερα στελέχη που παράγουν φύλλα σε κάθε κόμβο και καταλήγουν σε μια ακραία ταξιανθία (φυτό καθορισμένης ανάπτυξης) ή σε βλαστό (φυτό μη καθορισμένης ανάπτυξης). Το σχήμα του φυτού μπορεί να είναι θαμνώδες, κρεμοκλαδές ή νάνο (Αυγουλάς & Παπαστυλιανού, 2012).

Φύλλα

Τα φύλλα (Εικόνα 1.1) είναι εναλλασσόμενα, σύνθετα, αποτελούμενα από 7-11 μικρότερα ανισομεγέθη, ακανόνιστα, πτεροσχιδή φυλλάρια με ένα μόνο ακραίο φυλλάριο και μικρά επιφυή παράφυλλα. Ο αριθμός των φυλλαρίων και το μέγεθός τους ποικίλλει ανάλογα με την ποικιλία και τη θέση του φύλλου πάνω στον βλαστό. Η άνω επιφάνεια των φυλλαρίων έχει χρώμα λαμπερό βαθύ πράσινο και η κάτω επιφάνεια ελαιώδη ανοικτό πράσινο χρωματισμό. Τα φύλλα όπως και οι βλαστοί καλύπτονται από αδενώδεις τρίχες που εκκρίνουν μια ουσία με χαρακτηριστικό άρωμα (Αγγίδης, 1996).



Εικόνα 1. 1 - Φύλλα και καρποί τομάτας

Ταξιανθία και άνθη

Τα άνθη της τομάτας είναι τοποθετημένα ανά 3-20 σε κυματώδεις ταξιανθίες που διακλαδίζονται συμμετρικά ή ασύμμετρα ανάλογα με την ποικιλία. Στο άκρο κάθε διακλάδωσης υπάρχει ένα άνθος που φέρει πράσινο δερματώδη κάλυκα με 5 σέπαλα,

στεφάνη με 5 ή περισσότερα ενωμένα κίτρινα πέταλα και 5 ή περισσότερους στήμονες. Οι στήμονες είναι ενωμένοι στη βάση τους με τη στεφάνη και ενωμένοι κατά μήκος μεταξύ τους ώστε να σχηματίζουν κώνο γύρω από τον στύλο, που είναι συνήθως πιο βραχύς, εγκλωβισμένος από τους ανθήρες. Η ωοθήκη είναι πολύχωρη με 2-7 ή και περισσότερους χώρους και σε κάθε χώρο περιλαμβάνει πολλά ωάρια.

Τα άνθη της τομάτας είναι ερμαφρόδιτα και αυτογονιμοποιούνται. Η άνθηση δεν είναι σύγχρονη και γίνεται σταδιακά, εκτός ορισμένων ποικιλιών για μηχανική συγκομιδή. Η βλάστηση της γύρης είναι βραδεία και γι' αυτό η γονιμοποίηση γίνεται περίπου 2 ημέρες μετά την επικονίαση και επηρεάζεται σημαντικά από τις καιρικές συνθήκες (Αυγουλάς & Παπαστυλιανού, 2012).



Εικόνα 1. 2 - Άνθη τομάτας

Καρπός και σπόρος

Ο καρπός είναι ράγα κόκκινου, ρόδινου ή κίτρινου χρώματος και χωρίζεται με σαρκώδη τοιχώματα σε 4-10 χώρους. Αποτελείται από τον φλοιό, τη σάρκα ή πούλπα και τους σπόρους που περιβάλλονται από μια ζελατινώδη ουσία. Η μέση σύσταση του καρπού είναι σάρκα και χυμός 96-97%, σπόροι 2-3% και φλοιός 1-2%. Το σχήμα του καρπού μπορεί να είναι σφαιρικό, επιμηκυμένο ή κυλινδρικό. Ο κόκκινος χρωματισμός του καρπού οφείλεται στο κυριότερο καροτενοειδές της τομάτας, το λυκοπένιο. Είναι ένας πολυακόρεστος υδρογονάνθρακας και μια από τις πλέον ισχυρές αντιοξειδωτικές ουσίες

φυτικής προέλευσης. Η βιοσύνθεση του λυκοπενίου πραγματοποιείται μόνο στους φυτικούς ιστούς και ο άνθρωπος το λαμβάνει αποκλειστικά μέσω της τροφής και κυρίως μέσω της κατανάλωσης νωπής τομάτας και των επεξεργασμένων προϊόντων της.

Ο σπόρος της τομάτας είναι ωοειδής, πεπλατυσμένος με μήκος 3-5 mm και πλάτος 2-4 mm, το χρώμα του είναι καφεκίτρινο και η επιφάνειά του καλύπτεται από τριχοειδείς αποφύσεις. Εσωτερικά από το περισπέρμιο, ο σπόρος φέρει ένα κυρτό, σε σχήμα σπείρας έμβρυο που περιβάλλεται από μικρού μεγέθους ενδοσπέρμιο. Το έμβρυο αποτελείται από δύο κοτύλες και τον εμβρυακό άξονα, που φέρει στη βάση του το ριζίδιο, αντιδιαμετρικά το επικοτύλιο και στο ενδιάμεσο το υποκοτύλιο. Το βάρος χιλίων κόκκων είναι 3,2-3,4 g, δηλαδή ένα γραμμάριο περιέχει περίπου 450 σπόρους (Αγγίδης, 1996).



Εικόνα 1. 3 - Καρπός τομάτας

1.2.3. Στάδια ανάπτυξης

Ο βιολογικός κύκλος διαρκεί 5-7 μήνες. Το φύτεμα των φυτών γίνεται μετά από 15 ημέρες ανάλογα με την ποικιλία/υβρίδιο και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Όταν ο σπόρος της τομάτας βρεθεί σε ευνοϊκές συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας, από το έμβρυο εμφανίζεται το ριζίδιο και αρχίζει η αύξηση του υποκοτυλίου με τη συνακόλουθη έκπτυξη των κοτυληδόνων και ανάδυσή τους πάνω από την επιφάνεια του εδάφους. Στη συνέχεια αναπτύσσεται το επικοτύλιο και ακολουθεί η βλαστητική ανάπτυξη, η άνθηση, η καρπόδεση και η ωρίμανση των καρπών. Το φύτεμα ξεκινά από θερμοκρασίες 12-13 °C και επιταχύνεται σε θερμοκρασίες μεταξύ 18-26 °C. Η εποχή σποράς ξεκινά μετά τις 15 Μαρτίου και μπορεί να επεκταθεί μέχρι το τέλος Απριλίου και γίνεται με απευθείας σπορά σε απλές ή δίδυμες σειρές. Τα τελευταία χρόνια έχει επικρατήσει η μεταφύτευση έτοιμων σποροφύτων, μέθοδος που πλεονεκτεί έναντι άλλων μεθόδων γιατί με αυτή προπαρασκευάζεται καλύτερα το έδαφος, αντιμετωπίζονται αποτελεσματικότερα τα

ζιζάνια, αποφεύγεται η αραίωση των φυταρίων, χρησιμοποιούνται μικρότερες ποσότητες σπόρου, επιτυγχάνεται πρώιμη και ομοιόμορφη παραγωγή και διευκολύνεται η μηχανική συγκομιδή (Αυγουλάς & Παπαστυλιανού, 2012). Η ανάπτυξη του φυτού ευνοείται σε θερμοκρασίες ημέρας μεταξύ 23-24 °C και νύχτας στους 14 °C. Άριστη καρπόδεση επιτυγχάνεται σε θερμοκρασίες 22-26 °C, ενώ θερμοκρασίες που υπερβαίνουν τους 30-33 °C προκαλούν ανθόρροια και έχουν αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη των καρπών και στον σχηματισμό των χρωστικών του. Ειδικότερα ο σχηματισμός της λυκοπίνης, που είναι υπεύθυνη για τον κόκκινο χρωματισμό των καρπών, αρχίζει από τα πρώτα στάδια της ωρίμανσης και ευνοείται σε θερμοκρασίες 16-21 °C, ενώ διακόπτεται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 30-32 °C (Αγγίδης, 1996).

Η μορφή της ανάπτυξης του φυτού μπορεί να είναι ακαθόριστη, ημιακαθόριστη ή καθορισμένη (Αυγουλάς & Παπαστυλιανού, 2012).

- Το κεντρικό στέλεχος αναπτύσσεται περισσότερο από τα δευτερεύοντα στελέχη. Το μήκος των μεσογονατίων διαστημάτων υπερβαίνει κατά μέσο όρο τα 10 cm. Η ανάπτυξη διαφοροποιείται μετά από την έκπτυξη της ταξιανθίας με έναν ακραίο οφθαλμό. Το σχήμα του φυτού είναι συνήθως κρεμοκλαδές και η μορφή της ανάπτυξης ακαθόριστη.

- Τα στελέχη παρουσιάζουν περιορισμένη ανάπτυξη, με μεσογονάτια διαστήματα μήκους περίπου 10 cm και ο ακραίος οφθαλμός άλλοτε υπάρχει και άλλοτε ελλείπει. Το σχήμα του φυτού είναι συνήθως νάνο και η μορφή της ανάπτυξης είναι ημιακαθόριστη.

- Η ανάπτυξη των στελεχών διακόπτεται από τη διαφοροποίηση των ακραίων ταξιανθιών και το μήκος των μεσογονατίων διαστημάτων είναι μικρότερο από 10 cm. Το σχήμα του φυτού είναι θαμνώδες ή νάνο και η μορφή της ανάπτυξης είναι καθορισμένη.

1.2.4. Ποικιλίες/Υβρίδια

Οι ποικιλίες και τα υβρίδια που καλλιεργούνται διαφέρουν στο σχήμα, το μέγεθος, το είδος της επιφάνειας και το χρώμα των καρπών, στην πρωιμότητα, στη σύγχρονη ή σταδιακή ωρίμανση των καρπών, στην αντοχή στις ασθένειες κ.ά. Μια ποικιλία τομάτας είναι κατάλληλη για βιομηχανική επεξεργασία όταν έχει υψηλή περιεκτικότητα σε ζάχαρα, χαμηλή οξύτητα, ζωνρό κόκκινο χρώμα, λεία επιφάνεια, αντέχει στη μεταφορά και τη σύνθλιψη, είναι παραγωγική και ανθεκτική στις ασθένειες (Αυγουλάς & Παπαστυλιανού, 2012).

Ειδικότερα, τα χαρακτηριστικά μιας ποικιλίας που την καθιστούν κατάλληλη για μεταποίηση είναι:

- Ικανότητα για σχηματισμό και ανάπτυξη καρπών σε μεγάλο εύρος διαφορετικών εδαφοκλιματικών συνθηκών έτσι ώστε να εξασφαλίζεται ικανοποιητική παραγωγή.
- Οι καρποί πρέπει να είναι συνεκτικοί και ελαστικοί, ανθεκτικοί σε μηχανικές πιέσεις κατά τη συλλογή, τη φόρτωση και τη μεταφορά.
- Συγκεντρωμένη ωρίμανση ή αυξημένη αντοχή στην υπερωρίμανση των καρπών των χαμηλότερων διακλαδώσεων του φυτού.
- Σχήμα καθορισμένο με περιορισμένη φυλλική επιφάνεια που επιτρέπει την απρόσκοπτη διέλευση των καλλιεργητικών εργαλείων μεταξύ των σειρών για την εκτέλεση των εργασιών διευκολύνει τον εντοπισμό των καρπών κατά τη συλλογή και ταυτόχρονα προστατεύει τους καρπούς στο διάστημα της ανάπτυξης και της ωρίμανσης.
- Ολοκληρωμένη ωρίμανση των καρπών έτσι ώστε να μην υπάρχουν μέρη της επιφάνειας με πράσινο χρωματισμό τα οποία επηρεάζουν αρνητικά το χρώμα και τις οργανοληπτικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος.
- Αυξημένη αναλογία διαλυτών στερεών συστατικών στον χυμό (υψηλό Brix), αυξημένη περιεκτικότητα σε ζάχαρα, μέση ή χαμηλή οξύτητα και ζωηρό κόκκινο χρώμα καρπού.
- Ανθεκτικότητα σε ασθένειες (βερτιτσίλιο, φουζάριο, φυτόφθορα) και στους νηματώδεις.
- Υψηλές αποδόσεις.

1.3. Η ΣΠΟΡΟΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΤΟΜΑΤΑ

Η τομάτα είναι ένα σχεδόν πλήρως αυτογονιμοποιούμενο είδος με ποσοστό αυτογονιμοποίησης 94 έως 99%. Το ποσοστό φυσικής διασταύρωσης εξαρτάται από την ποικιλία, τον τρόπο καλλιέργειας (θερμοκηπίου ή υπαίθρου), την παρουσία εντόμων, την συχνότητα των ανέμων, την ύπαρξη φρακτών, την σχετική υγρασία κ.αλ.

Για την σποροπαραγωγή, προηγείται η επιλογή των φυτών που προορίζονται για παραγωγή σπόρου, η οποία ξεκινά από το στάδιο του αρτίβλαστου και διαρκεί ως το στάδιο πριν την άνθηση, με απομάκρυνση των αδύναμων και ξένων (off-type) φυτών πριν την επικονίαση. Ιδιαίτερης σημασίας είναι η απομάκρυνση και των προσβεβλημένων από

παθογόνα και έντομα φυτών, καθώς και φυτών καταπονημένων από τις περιβαλλοντικές συνθήκες.

Μόλις αρχίσει η παραγωγή των καρπών, ελέγχονται χωριστά τα φυτά για την ποικιλιακή τους ταυτότητα (truenesstotype) όσον αφορά το χρώμα, το μέγεθος και τα εσωτερικά χαρακτηριστικά των καρπών τους και αφαιρούνται εκείνα που αποκλίνουν της ποικιλίας.

Για την παραγωγή των σπόρων, συγκομίζονται οι καρποί της πρώτης και δεύτερης ταξιανθίας, οι οποίοι θα πρέπει να φέρουν τα χαρακτηριστικά της ποικιλίας, και να έχουν το τυπικό χρώμα, μέγεθος και εσωτερικά χαρακτηριστικά. Αποφεύγονται οι παραμορφωμένοι και προσβεβλημένοι καρποί που φέρουν μώλωπες και πολλές ρωγμές. Οι καρποί συγκομίζονται σε υπερώριμο στάδιο χωρίς αυτό να σημαίνει ότι θα παραμείνουν παρατεταμένα στην φυτεία όταν υπάρχει μαρτυρία αποσύνθεσης. Θα πρέπει να έχουν ομοιόμορφο, πλήρες χρώμα και το περικάρπιο τους να είναι μαλακό. Ο χρόνος συλλογής εξαρτάται από την θερμοκρασία του περιβάλλοντος: σε πολύ θερμό καλοκαίρι οι καρποί συλλέγονται δύο μέρες νωρίτερα και συστήνεται να ωριμάζουν σε συνθήκες σκιάς. Το ίδιο και σε περίπτωση που η καλλιεργητική περίοδος μειώνεται πρόωρα από παγετό.

Σπόρος που προέρχεται από ανώριμο καρπό (δηλ. όταν αρχίσει και έχει τον πρώτο ελαφρύ χρωματισμό), συχνά βλαστάνει καλά αλλά δεν διατηρεί τη βιωσιμότητά του σε επίπεδα ανάλογα με σπόρο που προέρχεται από πλήρως ώριμο καρπό.

Μόλις συλλεγούν οι καρποί θα πρέπει να διατηρηθούν στην σκιά για να αποφευχθεί η έκθεση τους στο άμεσο ηλιακό φως για πολλές ώρες, η οποία δυνητικά αυξάνει την εσωτερική τους θερμοκρασία προκαλώντας ζημιά στον σπόρο. Στην συνέχεια πλένονται, τεμαχίζονται και τα σπέρματα απομακρύνονται μαζί με χυμό. Το προϊόν αυτό διατηρείται για τέσσερις τουλάχιστον ημέρες, οπότε υφίσταται ζύμωση. Η ζύμωση είναι φυσική διεργασία που είναι ελάχιστα επιζήμια για τον σπόρο και μπορεί να εξαλείψει τα διάφορα διασυστηματικά παθογόνα. Ο συνδυασμός των φυσικά περιεχόμενων ζυμών και σακχάρων στον χυμό επαρκούν για να αρχίσει η διαδικασία ζύμωσης οπότε μικρές φυσαλίδες αερίου εμφανίζονται στην επιφάνεια μέσα σε περίπου 20 ώρες. Η ζύμωση ολοκληρώνεται όταν η παραγωγή αερίων επιβραδυνθεί ή σταματήσει και όταν το κολλώδες υλικό γύρω από τον σπόρο διαλυθεί και ο σπάρος επικαθήσει στον πυθμένα του δοχείου. Ο χυμός κατά τη διάρκεια της ζύμωσης θα πρέπει να ανακινείται για τουλάχιστον δύο φορές την ημέρα

προκειμένου να διευκολυνθεί η διαδικασία και η απόσπαση των σπερμάτων από τη μάζα και το κολλώδες περίβλημά τους. Επίσης, η ανάδευση αποτρέπει τον σχηματισμό λευκού αφρού στην επιφάνεια του πολτού ο οποίος συχνά συνοδεύεται από δυσοσμία και είναι ένδειξη υπερανάπτυξης μυκήτων που μπορούν να βλάψουν τα σπέρματα. Η ταχύτητα της ζύμωσης επηρεάζεται σημαντικά από την θερμοκρασία. Ιδανική θερμοκρασία θεωρούνται οι 21°C καθώς υψηλότερη θερμοκρασία μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της βλαστικότητας των σπόρων μέσα σε 48 ώρες. Αν η ζύμωση πραγματοποιηθεί σε εξωτερικό χώρο, θα πρέπει να είμαστε βέβαιοι ότι επικρατούν συνθήκες σκιάς.

Όταν ολοκληρωθεί η ζύμωση, προστίθεται νερό στον πολτό έως ότου διπλασιαστεί ο όγκος του και αφού σταθεροποιηθεί το προϊόν, οι καλοί σπόροι βυθίζονται στον πυθμένα του δοχείου, ενώ οι ελαφρύτεροι, χαμηλής πυκνότητας σπόροι απομακρύνονται μαζί με το υγρό. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται από 3 έως 6 φορές και το προϊόν (σπόροι) στραγγίζεται και απλώνεται σε στεγνή πετσέτα για την απομάκρυνση της περίσσειας του νερού, το συντομότερο δυνατό και σε πάχος έως ¼ της ίντσας. Η ξήρανση που ακολουθεί πραγματοποιείται σε σκιερό χώρο το συντομότερο δυνατό για να αποφευχθεί η ανεπιθύμητη βλάστηση και το μούχλιασμα και ολοκληρώνεται μέσα σε διάστημα 24 με 36 ωρών. Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος κατά την ξήρανση δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τους 32°C, ενώ για θερμοκρασία ατμόσφαιρας άνω των 27°C, δεν θα πρέπει ο σπόρος να αποξηρανθεί στον ήλιο.

Μετά την ξήρανση, ο σπόρος καθαρίζεται από τα υπολείμματα της επιδερμίδας και αποθηκεύεται. Ο σπόρος της τομάτας διατηρεί την βλαστική του ικανότητα για 4-5 έτη. (Τσαυτάρης & Κούτσικα-Σωτηρίου, 2011, McCormack, 2004)

1.4. Ο ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΜΥΚΗΤΑΣ *Fusarium oxysporum*

Το είδος *Fusarium oxysporum*, προσβάλλει πάνω από 100 είδη φυτών. Απαντάται σε όλο τον κόσμο και από τη στιγμή που θα εγκατασταθεί σε μια περιοχή θεωρείται σχεδόν αδύνατη η εξάλειψή του. Πρόκειται για ένα εδαφογενές φυτοπαθογόνο το οποίο διαθέτει πολλά στελέχη Το μυκήλιο του αναπτύσσεται στην περιοχή των αγγείων και προκαλεί τη μηχανική τους έμφραξη (αδρομύκωση) που τελικά οδηγεί στη μαρανση των φύλλων, την ξήρανση του *φυτού* και μεγάλη οικονομική απώλεια για τον παραγωγό.

Σε όλον τον κόσμο έχουν γίνει πολλές μελέτες αναφορικά με την αδρομύκωση (*Fusarium wilt*) σε πλήθος ξενιστών όπως για παράδειγμα το μπιζέλι από τους Armstrong

& Armstrong το 1974, το σιτάρι και το βαμβάκι από τους Sivan & Chat το 1986, τη γλυκοπατάτα από τους Clark & Moyer το 1988, τη μπανάνα από τους Pegg et al. το 1996, το λάχανο και την τομάτα από τους Pascual & Melgarejo το 1997, για το σπανάκι από τους Tusuda et al. το 2001, το πεπόνι από τους Luo et al. το 2001, το κριθάρι από τους Schwarz et al. το 2001, το αγγούρι από τους Martinez et al. το 2003, το βαμβάκι από τους Emani et al. το 2003 και για το κίτρο από τους Manjula et al. το 2004.

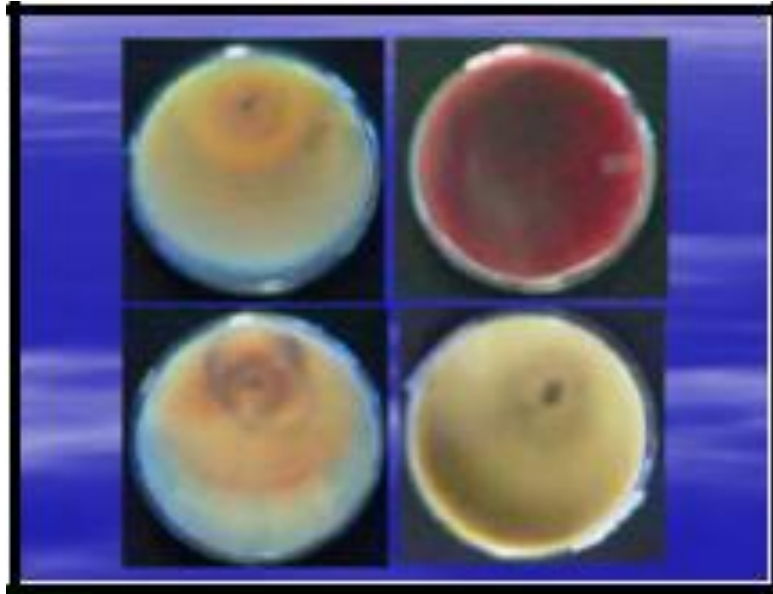
Παράλληλα, ο *Fusarium spp.* περιλαμβάνει και μη παθογόνα στελέχη, τα οποία έχουν απομονωθεί από υγιείς ρίζες φυτών και τα οποία μάλιστα έχει αποδειχθεί ότι προστατεύουν τα φυτά από τα αντίστοιχα παθογόνα. Οι Olivain et al. το 2006, μελέτησαν στο μικροσκόπιο τις αλληλεπιδράσεις του μη παθογόνου στελέχους *F. oxysporum* Fo47 και του παθογόνου Fo18 στις ρίζες της τομάτας στο έδαφος. Χρησιμοποιήθηκαν γονίδια για τη σήμανση των υφών ώστε να αναγνωρίζονται οι υφές των δύο στελεχών. Συγκεκριμένα το *F. oxysporum* Fo47 μετασχηματίστηκε με το GFP γονίδιο, ώστε να φαίνεται πράσινο, ενώ το *F. oxysporum* Fo18 μετασχηματίστηκε με το DsRed2 γονίδιο, ώστε να φαίνεται κόκκινο.

Φαίνεται πως δεν υπάρχουν ειδικές θέσεις αποικισμού της ρίζας για το κάθε στέλεχος, ενώ η προστασία του φυτού οφείλεται στον ανταγωνισμό μεταξύ των μικροοργανισμών ως προς την πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και την επαγωγή των αμυντικών μηχανισμών του φυτού.

1.4.1. Ταξινόμηση του *Fusarium oxysporum*

Το είδος *F. oxysporum* ανήκει οικογένεια Tuberculariaceae της τάξης Moniliales των Ατελών Μυκήτων. Στον Πίνακα 1.1 φαίνονται ενδεικτικά υποείδη του *Fusarium oxysporum* που προσβάλλουν διάφορα φυτά.

Η αποικία του *F. oxysporum* σε καλλιέργεια με υπόστρωμα PDA (Potato Dextrose Agar) μπορεί να εμφανίζει διαφορετική μορφολογία. Αρχικά το εναέριο μυκήλιο είναι λευκό, και στη συνέχεια έγχρωμο μεταξύ του βιολετί και του έντονου μωβ ανάλογα με το στέλεχος του *F. oxysporum*. (Εικόνα 1.4). Όταν αφθονούν τα σποροδοχεία η αποικία μπορεί να εμφανίζεται κρεμώδης ή πορτοκαλί.



Εικόνα 1. 4 - Στερεές καλλιέργειες σε PDA του *F. oxysporum*

Πίνακας 1. 1 - Υποείδη του *F. oxysporum* που προσβάλλουν διαφορετικά φυτικά είδη

Υποείδη του <i>F. oxysporum</i>	Φυτό
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i>	φοινικόδεντρο
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>asparagi</i>	σπαράγγι
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>batatas</i>	κινέζικη πατάτα
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>betae</i>	τεύτλο
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>callistephi</i>	κινέζικη μαργαρίτα
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>citri</i>	κίτρο
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>coffea</i>	δέντρο του καφέ
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i>	μπανάνα
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cyclaminis</i>	κυκλάμινο
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>dianthi</i>	γαρίφαλο
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>zingiberi</i>	πιπερόριζα
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	τομάτα
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>melonis</i>	πεπόνι
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>nicotianae</i>	καπνός
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>niveum</i>	καρπούζι
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i>	φασολιά
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>tulipae</i>	τουλίπα

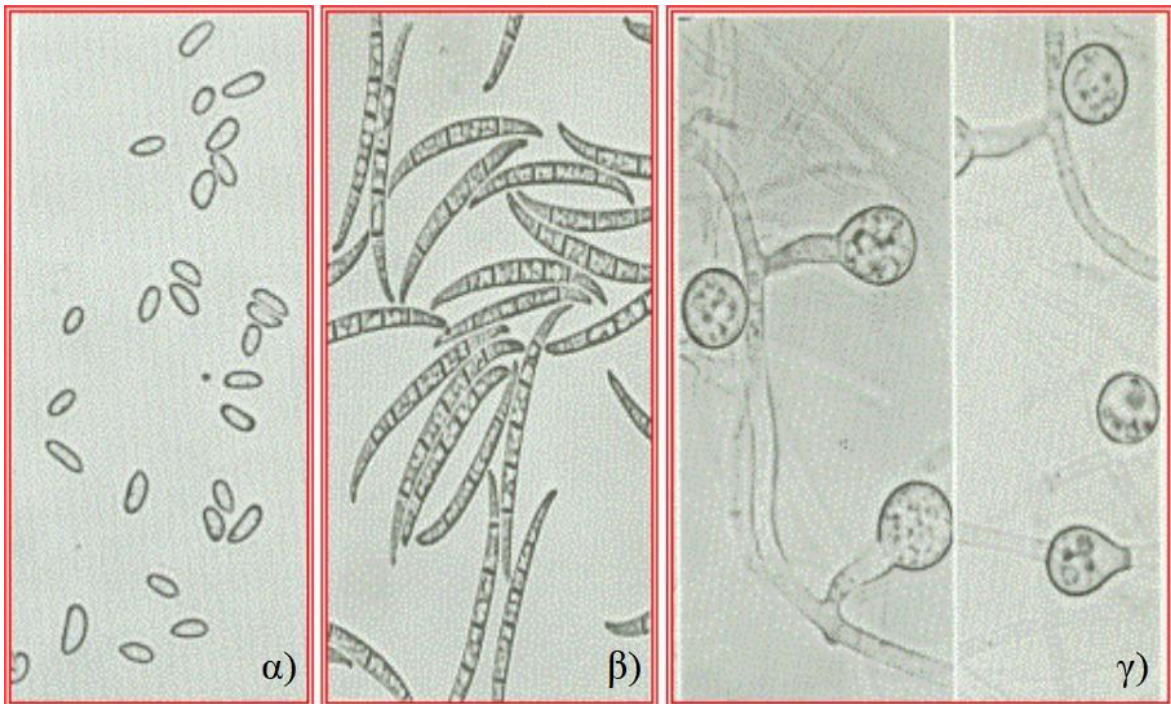
Ο *Fusarium oxysporum* παράγει 3 είδη αγενών σπορίων: τα μικροκονίδια, τα μακροκονίδια και τα γλαμυδοσπόρια (Εικόνα 1.5)

Τα μικροκονίδια (Εικόνα 1.5α) τα οποία διαθέτουν 1-2 κύτταρα έχουν την ικανότητα να επιβιώνουν πάνω σε μη ειδικά φυτά σε περίπτωση απουσίας του ξενιστή τους. Αυτά τα φυτά λειτουργούν ως φορείς. Τα μικροκονίδια μπορούν να παραχθούν σε μεγάλους πληθυσμούς. Είναι ελλειψοειδή ή κυλινδρικά ευθεία ή ελαφρά καμπυλοειδή διαστάσεων 5

- 12 x 2.3 - 3.5 μm. Επίσης, είναι ο τύπος των σπορίων που παράγονται μέσα στα αγγεία των μολυσμένων φυτών.

Τα μακροκονίδια (Εικόνα 1.5β) με 3-5 κύτταρα έχουν καμπύλα άκρα, διαστάσεις 23 - 54 x 3 - 4.5 μm και απαντώνται κυρίως στην επιφάνεια των φυτών που έχουν προσβληθεί από τον μύκητα.

Τα χλαμυδοσπόρια (Εικόνα 1.5γ) με 1-2 κύτταρα είναι στρογγυλά με παχιά τοιχώματα και παράγονται πάνω σε παλαιότερο μυκήλιο ή πάνω σε μακροκονίδια. Μπορούν να εμφανίζονται μεμονωμένα ή και σε ζευγάρια. Τα χλαμυδοσπόρια μπορούν να παραμείνουν σε ληθαργική κατάσταση και να μολύνουν τα φυτά ακόμη και μεπτά από 30 χρόνια, γεγονός που καταδεικνύει πόσο δύσκολη είναι η αντιμετώπιση του *Fusarium oxysporum* (Nelson et al., 1981 & Agrios, 1988).



Εικόνα 1. 5 - Σπόρια απομονωμένα από αποικίες μύκητα σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA (Toussoun & Nelson, 1976)

1.4.2. Επιδημιολογία του *Fusarium oxysporum*

Σε κοντινές αποστάσεις, ο μύκητας διασπείρεται μέσω του μολυσμένου νερού και των μολυσμένων γεωργικών εργαλείων, υποδημάτων και ειδών ρουχισμού. Σε μακρινές αποστάσεις, η διασπορά γίνεται μέσω μολυσμένων μοσχευμάτων και του μολυσμένου εδάφους. Επίσης, είναι δυνατή η μεταφορά του με τον άνεμο, ενώ θεωρείται σπάνια η διασπορά με μολυσμένους σπόρους των φρούτων (Agrios, 1988).

1.4.3. Παθογόνος δράση του *Fusarium oxysporum* και ο κύκλος της ασθένειας

Ο μύκητας αποικίζει το αγγειακό σύστημα του φυτού με αποτέλεσμα την έμφραξη και την τελική κατάρρευση του ξυλώδους ιστού, οπότε και εμφανίζονται συμπτώματα στα φυτά, όπως το κιτρίνισμα και ο μαρασμός των φύλλων και τελικά οδηγούν στο θάνατο του φυτού. Το παθογόνο εισβάλλει στο φυτό είτε κατά τη φάση του σποριοδοχείου, είτε κατά τη φάση του μυκηλίου, το οποίο προσβάλλει κατ' ευθείαν τις ρίζες. Απ' τη στιγμή που είναι μέσα στο φυτό το μυκήλιο αναπτύσσεται ενδοκυτταρικά στο φλοιό της ρίζας. Όταν το μυκήλιο φθάσει στον ξυλώδη ιστό, εισδύει στα αγγεία διαμέσου των βοθρίων. Στα αγγεία παράγονται τα μικροκονίδια, τα οποία και μεταφέρονται σε όλο το φυτό με τους χυμούς που κυκλοφορούν στο αγγειακό σύστημα του φυτού. Εξαιτίας της ανάπτυξης του μύκητα μέσα στο αγγειακό σύστημα του φυτού, επηρεάζεται πάρα πολύ ο εφοδιασμός του φυτού με νερό. Αυτή η έλλειψη νερού έχει σαν αποτέλεσμα το να κλείνουν τα στόματα των φύλλων, οπότε τα φύλλα μαραίνονται και τελικά το φυτό πεθαίνει. Σ' αυτό το σημείο ο μύκητας εισέρχεται στον παρεγχυματικό ιστό του φυτού μέχρι που φθάνει στην επιφάνεια του νεκρού ιστού, όπου και προχωρά στον σχηματισμό σπορίων, τα οποία μπορούν να προσβάλουν άλλα φυτά (Gonsalves & Ferreira, 1993).

1.4.4. Στελέχη *Fusarium oxysporum* που προσβάλουν το φυτό της τομάτας

Υπάρχουν διαφορετικά υποείδη *Fusarium oxysporum* που προκαλούν ασθένειες στο φυτό της τομάτας. Το υποείδος *F. oxysporum* sp. *lycopersici* (FOL) είναι υπεύθυνο για την εκδήλωση αδρωμύκωσης (*Fusarium wilt*) ενώ το υποείδος *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (FORL) είναι υπεύθυνο για τη σήψη του λαιμού και των ριζών του ξενιστή (*Fusarium Crown and RootRot*) (Momol et al., 2005).

1.4.4.1. *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL)

Το στέλεχος του μύκητα *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* προσβάλλει κυρίως τα μεγαλύτερα φυτά, στα οποία τα συμπτώματα συνήθως εμφανίζονται στο διάστημα μεταξύ ανθοφορίας και ωρίμανσης των καρπών. Στην αρχή κιτρινίζουν τα παλαιότερα και χαμηλότερα φύλλα και μάλιστα είναι χαρακτηριστικό όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.6, πως αυτό μπορεί να παρατηρείται στη μία πλευρά του φυτού.

Κατόπιν, προοδευτικά ο μαρασμός επεκτείνεται σε όλο το φυτό (Εικόνα 1.7), ενώ πολύ χαρακτηριστικός είναι ο καστανός μεταχρωματισμός του αγγειακού ιστού του φυτού

(Εικόνα 1.8). Η μόλυνση των καρπών της τομάτας είναι περιστασιακή και διακρίνεται από τον αποχρωματισμό του αγγειακού ιστού μέσα στον καρπό.

Η ανάπτυξη του παθογόνου οργανισμού ευνοείται σε θερμοκρασίες των 27–30 °C, σε όξινα και αμμώδη εδάφη. Η εφαρμογή αμμωνιακού αζώτου επάγει τα συμπτώματα της νόσου, ενώ η χρήση νιτρικού αζώτου μειώνει τη σοβαρότητα της νόσου (Miller et al., 2004 & Momol et al., 2005).



Εικόνα 1. 6 - Το χαρακτηριστικό κιτρίνισμα των χαμηλότερων φύλλων στη μία πλευρά του προσβεβλημένου από το *F. oxysporum* sp. *lycopersici* φυτού στα αρχικά στάδια (Miller et al., 2004)



Εικόνα 1. 7 - Ο μαρasmus επεκτείνεται προοδευτικά σε όλο το φυτό όσο προχωρά η νόσος (Momol et al., 2005)



Εικόνα 1. 8 - Ο χαρακτηριστικός καφέ χρωματισμός του αγγειακού ιστού του φυτού που έχει προσβληθεί από το *F. oxysporum* sp. *lycopersici* (Miller et al., 2004)

1.4.4.2. *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (FORL)

Το στέλεχος του μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* προσβάλλει τους νεαρούς βλαστούς και τα μεγαλύτερα φυτά. Τα πρώτα συμπτώματα στα νεαρά φυτά περιλαμβάνουν μειωμένη ανάπτυξη, κιτρίνισμα και πρόωρη απώλεια των κοτυληδόνων και των πρώτων πραγματικών φύλλων (Εικόνα1.9). Στα μεγαλύτερης ηλικίας φυτά παρατηρείται καστανή σήψη του φλοιώδους ιστού και μεταχρωματισμός της περιοχής των αγγείων.

Όταν αρχίσει η καρποφορία των φυτών, τα χαμηλότερα φύλλα αρχίζουν να κιτρινίζουν και μαραίνονται (Εικόνα 1.10).

Στην αρχή ο μαρασμός φαίνεται έντονα τις ζεστές ώρες της ημέρας, ενώ το φυτό φαίνεται να ανακάμπτει τις βραδινές ώρες. Τελικά σε κάποια φυτά μπορεί να σαπίσει ολοκληρωτικά η ρίζα οπότε και να πεθάνουν, ενώ κάποια άλλα φυτά επιβιώνουν, αλλά παράγουν καρπούς χαμηλότερης ποιότητας και μικρότερης ποσότητας. Στην κατά μήκος τομή των προσβεβλημένων φυτών είναι εμφανείς ο καστανός μεταχρωματισμός και η σήψη στον ξυλώδη ιστό και τη ρίζα (Εικόνα 1.11) και η δημιουργία καρκινώματος στη βάση του βλαστού.

Η ασθένεια ευνοείται από το χαμηλό pH, τη υπερβολική υγρασία του εδάφους και θερμοκρασίες μεταξύ 20–25 °C (Miller et al., 2004 & Momol et al., 2005).



Εικόνα 1. 9 - Το κιτρίνισμα των φύλλων στα νεαρά στελέχη στα αρχικά στάδια της προσβολής από το *Fusarium oxysporum* sp. *radicis-lycopersici* (Momol et al., 2005)



Εικόνα 1. 10 - Ο μαρασμός των μεγαλύτερων φυτών σε προχωρημένο στάδιο (Momol et al., 2005)



Εικόνα 1. 11 - Ο χαρακτηριστικός καφετί χρωματισμός και η σήψη στον ξυλώδη ιστό και τη ρίζα λόγω της προσβολής από το *Fusarium oxysporum* sp. *radicis-lycopersici* (Momol et al., 2005)

1.4.5. Έλεγχος του φυτοπαθογόνου μύκητα *Fusarium oxysporum* στις καλλιέργειες

Μέχρι πρόσφατα ο μύκητας *Fusarium oxysporum* και οι ασθένειες που προκαλούσε αντιμετωπιζόταν με το θειάφισμα του εδάφους, την καλλιέργεια ανθεκτικών ποικιλιών και την κυκλική εναλλαγή των καλλιεργειών των φυτών. Τα προϊόντα που χρησιμοποιούνται πριν τη σπορά, ειδικά το βρωμιούχο μεθύλιο, είναι ιδιαίτερα επιβλαβή για το περιβάλλον (Frame et al., 2003). Το βρωμιούχο μεθύλιο το 2005, απαγορεύτηκε στην Ιαπωνία και μέχρι το 2015 θα έχει απαγορευθεί σε όλον τον κόσμο εξαιτίας της βλάβης που προκαλεί στο στρώμα του όζοντος (Kita et al., 2005). Η καλλιέργεια ανθεκτικών ποικιλιών αποτελεί την πιο οικονομική και ασφαλή για το περιβάλλον λύση, όμως η αναπαραγωγή τους μπορεί να είναι δύσκολη και χρονοβόρα όταν το κυρίαρχο γονίδιο δεν είναι γνωστό. Επιπλέον, ο παθογόνος οργανισμός είναι σε θέση να υπερνικήσει την ανθεκτικότητα του ξενιστή. Έτσι ο βιοέλεγχος φαίνεται να είναι μια καλή λύση αντιμετώπισης των ασθενειών των φυτών που ξεκινούν από το έδαφος. Ένα ιδιαίτερο πλεονέκτημα στις στρατηγικές του βιοελέγχου είναι ότι οι πληθυσμοί των παθογόνων οργανισμών αναπτύσσουν πολύ αργά συνήθως ανθεκτικότητα στα προϊόντα των παραγόντων βιοελέγχου. Αυτό συμβαίνει διότι:

α) παράγουν περισσότερες από μία αντιμικροβιακές ουσίες και η ανθεκτικότητα σε πολλούς διαφορετικούς αντιμικροβιακούς παράγοντες συμβαίνει με μικρή συχνότητα.

β) η συνολική έκθεση του παθογόνου πληθυσμού στον αντιμικροβιακό παράγοντα είναι μικρή γιατί σε γενικές γραμμές οι πληθυσμοί των παραγόντων βιοελέγχου απαντώνται πολύ κοντά στη ρίζα (Jenkins & Grzywacz 2000 & Frame et al., 2003).

Από τα χημικά μυκητοκτόνα πιο αποτελεσματικά θεωρούνται τα Prochloraz και Carbendazim. Τα μυκητοκτόνα όμως έχουν περιορισμένο αποτελέσματα, η αποστείρωση του εδάφους είναι ιδιαίτερα ακριβή λύση για τους περισσότερους αγρότες, οπότε η πιο προσιτή λύση φαίνεται να είναι η χρήση ήδη ανθεκτικών φυτών. Στο εμπόριο κυκλοφορούν σπόροι τομάτας, οι οποίοι όταν είναι ανθεκτικοί στη σήψη από *Fusarium* ή από *Rhizoctonia* φέρουν αντίστοιχα την ένδειξη F ή/και V (Song et al., 2004 & Pottorf, 2006).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Ο ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε κατά το χρονικό διάστημα Αύγουστος 2012 με Απρίλιο 2013. Για την καλλιέργεια χρησιμοποιήθηκε το υβρίδιο τομάτας (Formula F1) το οποίο καλλιεργήθηκε με υδροπονικό σύστημα σε υπόστρωμα πετροβάμβακα στο θερμοκήπιο του ΤΕΙ Ηπείρου. Για τον εμβολιασμό των φυτών με συμβιωτικούς μικροοργανισμούς χρησιμοποιήθηκαν τα εμπορικά σκευάσματα, Trianum-P, Greener, MycosymTri-Ton, Micosat-F WP Len , Robur Plus. Για τη μόλυνση των φυτών χρησιμοποιήθηκε στέλεχος του *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* BPIC-2550.

Οι μεταχειρίσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

C.C.: φυτά μάρτυρες που αναπτύχθηκαν απουσία συμβιωτικού και η ανάπτυξή τους έγινε χωρίς επιμόλυνση με παθογόνο

C.F.: φυτά που αναπτύχθηκαν απουσία συμβιωτικού και η ανάπτυξή τους έγινε με επιμόλυνση με παθογόνο

T.C.: φυτά στα οποία έγινε εφαρμογή του σκευάσματος Trianum-P και η ανάπτυξή τους έγινε χωρίς επιμόλυνση με παθογόνο

T.F.: φυτά στα οποία έγινε εφαρμογή του σκευάσματος Trianum-P και η ανάπτυξή τους έγινε με επιμόλυνση με παθογόνο

B.C.: φυτά στα οποία έγινε εφαρμογή του σκευάσματος Greener και η ανάπτυξή τους έγινε χωρίς επιμόλυνση με παθογόνο

B.F.: φυτά στα οποία έγινε εφαρμογή του σκευάσματος Greener και η ανάπτυξή τους έγινε με επιμόλυνση με παθογόνο

G.C.: φυτά στα οποία έγινε εφαρμογή του σκευάσματος Mycosym Tri-Ton και η ανάπτυξή τους έγινε χωρίς επιμόλυνση με παθογόνο

G.F.: φυτά στα οποία έγινε εφαρμογή του σκευάσματος Mycosym Tri-Ton και η ανάπτυξή τους έγινε με επιμόλυνση με παθογόνο

ML.C.: φυτά στα οποία έγινε εφαρμογή του σκευάσματος Micosat-F WP Len και η ανάπτυξή τους έγινε χωρίς επιμόλυνση με παθογόνο

ML.F.: φυτά στα οποία έγινε εφαρμογή του σκευάσματος Micosat-F WP Len και η ανάπτυξή τους έγινε με επιμόλυνση με παθογόνο

RP.C.: φυτά στα οποία έγινε εφαρμογή του σκευάσματος Robur Plus και η ανάπτυξή τους έγινε χωρίς επιμόλυνση με παθογόνο

RP.F.: φυτά στα οποία έγινε εφαρμογή του σκευάσματος Robur Plus και η ανάπτυξή τους έγινε με επιμόλυνση με παθογόνο

Από κάθε επιλεγμένο φυτό, συγκομίστηκε ο καρπός της πρώτης ταξιανθίας. Οι σπόροι που παρήχθησαν, αποξηράνθηκαν, αποθηκεύτηκαν σε χάρτινους φακέλους και συνθήκες δωματίου, αποτέλεσαν το πειραματικό υλικό της εργασίας στο οποίο στο οποίο ελέγχθηκε η βλαστικότητα, η ζωτικότητα και η υγεία των σπόρων για κάθε μεταχείριση.

2.1.1. Απολύμανση θερμοκηπίου (κανάλια) και απολύμανση σπόρων

Τα κανάλια όπου τοποθετήθηκαν οι πλάκες πετροβάμβακα καθαρίστηκαν αρχικά με αραιό διάλυμα οξέος, στη συνέχεια απολυμάνθηκαν με διάλυμα χλωρίνης και ξεπλύθηκαν καλά με νερό.

Η απολύμανση των σπόρων της τομάτας πραγματοποιήθηκε με την εμβάπτυσή τους σε διάλυμα NaOCl 0,5% για 2 min. Στη συνέχεια οι σπόροι ξεπλύθηκαν με αποστειρωμένο νερό.

2.1.2. Σκευάσματα συμβιωτικών μικροοργανισμών

- **Trianium –P** (KOPPERTB.V): *T. harzianum*(T-22)
- **Greener** (IntrachemΕλλάςΕ.Π.Ε.): *B. amyloliquefaciens*FZB42

- **MycosymTri-Ton** (ΧελλαφαρμαΑ.Ε.): *G. intraradices*
- **Micosat-F WP Len** (C.C.S. Aostas.r.l. Ιταλία): Ενδομυκώριζες 10% του γένους *Glomus*: *G. Coronatum* G001, *G. Coronatum* GU53, *G. caledonium* GM24, *G. Intraradices* GB67 & GG31, *G. Mosseae* GP11 & GC11, *G. viscosum* GC41. Βιολογικά ενεργοί μικροοργανισμοί 10%: *Streptomyces* spp. SB 14, Σαπροφυτικούς μύκητες *Beauveria* spp BB41, *Metarhizium anisoplia* MA45, *Paecilomyces lilacinus* PL42
- **Robur Plus** (PHC Glasshouse PRO): Rizobacteria (8 είδη *Bacillus*), Fungi (5 είδη *Trichoderma*), Στρεπτομύκητες, Ακτινομύκητες, χουμικό οξύ, σάκχαρα

Τα σκευάσματα εφαρμόστηκαν κατά τη σπορά και το στάδιο της μεταφύτευσης των φυτών. Για όλες τις μεταχειρίσεις εκτός της μεταχείρισης *G. Intraradiceo* εμβολιασμός επαναλήφθηκε μετά από τέσσερις εβδομάδες. Για κάθε εμβολιασμό εφαρμόστηκε η μισή της συνιστώμενης δόσης που αναγράφονταν στις οδηγίες κάθε σκευάσματος.

Αναλυτικότερα:

- **Trianium -P:** Σπορά 0.008 g σκευάσματος/ κύβο 0,0075g/ θέση μεταφύτευση Και για τις δύο εφαρμογές προετοιμάστηκε αιώρημα σπορίων, το οποίο εφαρμόστηκε με διαβροχή.
- **Greener:** Σπορά διαβροχή κύβων σποράς με 160 mL αιωρήματος κυττάρων συγκέντρωσης 0,5 mL L⁻¹. Διαβροχή με 100 mL αιώρημα κυττάρων συγκέντρωσης 10⁷ CFU mL⁻¹ / θέση μεταφύτευσης.
- **MycosymTri-Ton:** Σπορά 1.1 g σκευάσματος/ κύβο, 0.75 g/θέση μεταφύτευση
- **Micosat-F WP Len:** Σπορά 0.098g σκευάσματος/ κύβο σποράς, 0.01125 gr / θέση μεταφύτευσης. Προετοιμάστηκε αιώρημα, το οποίο εφαρμόστηκε με διαβροχή.
- **RoburPlus:** Σπορά 0.0225g σκευάσματος/ κύβο σποράς, 0.18 g σκευάσματος/θέση μεταφύτευσης. Προετοιμάστηκε αιώρημα το οποίο εφαρμόστηκε με διαβροχή.

2.1.3. Παρασκευή αιωρήματος του μύκητα (*F. oxysporum*) για τον εμβολιασμό της καλλιέργειας

Το στέλεχος του *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* BPIC-2550 (Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο), καλλιεργήθηκε σε τρυβλία Petri με υπόστρωμα PDA στους 26°C. Σε τρυβλία με καλλιέργεια 7 ημερών προστέθηκαν 5 mL απεσταγμένο και αποστειρωμένο νερό. Στη συνέχεια με τη βοήθεια ενός πλαστικού αποστειρωμένου κρίκου εμβολιασμού τα κονίδια μεταφέρθηκαν σε αποστειρωμένο coning. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε 2-3 φορές για κάθε τρυβλίο. Ακολούθησε διήθηση του αιωρήματος των σπορίων σε ηθμό αποτελούμενο από τριπλή αποστειρωμένη φαρμακευτική γάζα και φυγοκέντρηση στις 4000 rpm για 10 min. Στη συνέχεια το υπερκείμενο απορρίφθηκε και το ίζημα των σπορίων επαναιωρήθηκε στο απεσταγμένο και αποστειρωμένο νερό που προστέθηκε. Στο τέλος αυτής της διαδικασίας πραγματοποιήθηκε καταμέτρηση του πληθυσμού των σπορίων με τη βοήθεια αιματοκυτταρόμετρου.

2.1.4. Θρεπτικό διάλυμα καλλιέργειας τομάτας

Στον πίνακα που ακολουθεί (Πινάκας 2.1) αναφέρεται η σύσταση του πυκνού θρεπτικού διαλύματος που χρησιμοποιήθηκε για την καλλιέργεια της τομάτας στο βλαστικό στάδιο.

Πίνακας 2. 1 - Σύσταση πυκνού διαλύματος για καλλιέργεια τομάτας στο βλαστικό στάδιο

E.C.		2,60	dS/m
pH		5,60	
Πυκνό διάλυμα Α		50	ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό ασβέστιο	4,538	Kg
2	Νιτρικό κάλιο	0,669	Kg
3	Νιτρικό αμμώνιο	0,264	Kg
4	Χηλικός σίδηρος	0,070	Kg
Πυκνό διάλυμα Β		50	ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό κάλιο	0,647	Kg
2	Θεικό μαγνήσιο	2,586	Kg
3	Φωσφορικό μονοκάλιο	1,021	Kg
4	Θεικό κάλιο	1,262	Kg
5	Θεικό μαγγάνιο	8,45	g
6	Θεικός ψευδάργυρος	4,10	g
7	Θεικός χαλκός	1,00	g
8	Βόρακας	16,68	g
9	Μολυβδαινικό νάτριο	0,60	g
Πυκνό διάλυμα οξέως		50	ΛΙΤΡΑ
1	Νιτρικό οξύ	1,173	λίτρα

2.1.5. Καλλιέργεια Τομάτας

Η σπορά των απολυμασμένων σπόρων πραγματοποιήθηκε σε κύβους πετροβάμβακα διαστάσεων 7,5 cmx 7,5 cmx 6,5 cm. . Αρχικά πραγματοποιήθηκε καλή διαβροχή του υποστρώματος με θρεπτικό διάλυμα και ο σπόρος τοποθετήθηκε με τη βοήθεια αποστειρωμένων λαβίδων στη θέση σποράς η οποία ήταν καλυμμένη με αποστειρωμένο βερμικουλίτη.

Η μεταφύτευση των φυτών τομάτας πραγματοποιήθηκε σε πλάκες πετροβάμβακα διαστάσεων 1 mx 15 cmx 7,5 cm. Σε κάθε κανάλι τοποθετήθηκαν 4 πλάκες πετροβάμβακα με 3 φυτά την κάθε πλάκα. Πριν τη μεταφύτευση πραγματοποιήθηκε διαβροχή του υποστρώματος με θρεπτικό διάλυμα. Πάνω από κάθε κανάλι τοποθετήθηκαν παγίδες Ho1iver για τον έλεγχο εντομολογικών προσβολών. Τα φυτά κάθε καναλιού αρδεύονταν αυτόματα με έναν σταλάκτη ανά θέση φυτού, από ανοιχτό υδροπονικό σύστημα με θρεπτικό διάλυμα συγκεκριμένης σύνθεσης.

Κατά την διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν όλες οι απαραίτητες καλλιεργητικές φροντίδες για την ανάπτυξη των φυτών της τομάτας (κλάδεμα, υποστύλωση, αποφύλλωση, συγκομιδή) καθώς και μέτρηση της τιμής του pH και της Ηλεκτρικής αγωγιμότητας (EC) στα βαρέλια απορροής.

Περίπου 40 ημέρες μετά την μεταφύτευση πραγματοποιήθηκε ο πρώτος εμβολιασμός (ριζοπότισμα) των φυτών με 50 mL αιωρήματος μικροκονιδίων του *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, συγκέντρωσης 10^6 cfu/ml.

Περίπου 35 ημέρες μετά τον πρώτο πραγματοποιήθηκε και δεύτερος εμβολιασμός με 100 mL φουζάριο ανά φυτό (ριζοπότισμα).

2.1.6. Σποροπαραγωγή

Για την παραγωγή σπόρων, συγκομίστηκαν από τυχαία επιλεγμένα φυτά κάθε μεταχείρισης, οι καρποί της πρώτης ταξιανθίας, οι οποίοι ήταν στο κατάλληλο στάδιο συλλογής, υπερώριμοι, με πλήρη χρωματισμό και μαλακό περικάρπιο. Οι καρποί στην συνέχεια πλύθηκαν και τεμαχίστηκαν και αφαιρέθηκε το εσωτερικό τους μαζί με τα σπέρματα που περιείχε. Το προϊόν κάθε καρπού διατηρήθηκε για 4 ημέρες σε σκιερό περιβάλλον προς ζύμωση και στην συνέχεια τοποθετήθηκε σε τούλι και ξεπλύθηκε καλά κάτω από τρεχούμενο νερό βρύσης. Αφού απομακρύνθηκε ο πολτός και τα σπέρματα αποσπάστηκαν από τη μάζα και το κολλώδες περίβλημά τους, οι σπόροι στραγγίστηκαν

καλά και απλώθηκαν χωριστά σε λεπτό στρώμα πάνω σε διηθητικό χαρτί προκειμένου να αποξηραθούν. Μετά από ένα εικοσιτετράωρο, οι αποξηραμένοι σπόροι καθαρίστηκαν από τα υπολείμματα της επιδερμίδας και αποθηκεύτηκαν σε χάρτινες σακούλες για διάστημα τριών ετών, σε ξηρό χώρο και σε θερμοκρασία δωματίου.

2.1.7. Υλικό πειραμάτων

Το σύνολο των πειραμάτων διεξήχθησαν σε σπόρους που παρήγαγαν φυτά υβριδίου ντομάτας Formula 1 (γένος *Lycopersicon*, Οικογένεια *Solanaceae*). Τα δείγματα που μελετήθηκαν αποτελούνταν από:

- σπόρους προερχόμενους από φυτά εμβολιασμένα με τους μικροοργανισμούς και με τον φυτοπαθογόνο μύκητα *Fusarium oxisporum* f.sp. *lycopersici*. (FOL) (μεταχειρίσεις T.F., B.F., G.F., ML.F. και RP.F)
- σπόρους προερχόμενους από φυτά εμβολιασμένα μόνο με τους μικροοργανισμούς που προαναφέρθηκαν (μεταχειρίσεις T.C., B.C., G.C.. ML.C. και RP.C.)
- σπόρους προερχόμενους από φυτά εμβολιασμένα με τον φυτοπαθογόνο μύκητα *Fusarium oxisporum* f.sp. *lycopersici* (μεταχείριση C.F.)
- σπόρους μάρτυρες προερχόμενους από φυτά ντομάτας (F1) (μεταχείριση C.C.)

Από κάθε μεταχείριση επιλέχθηκαν 5 δείγματα (κάθε δείγμα αντιστοιχεί σε ένα ξεχωριστό φυτό). Το σύνολο των δειγμάτων ντομάτας που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 2. 2 - Τα δείγματα που μελετήθηκαν

	Σπορομερίδες προερχόμενες από φυτά	
	μη εμβολιασμένα με τον μύκητα FOL	εμβολιασμένα με τον μύκητα FOL
Control	C.C.3	C.F.2
	C.C.6	C.F.5
	C.C.8	C.F.6
	C.C.9	C.F.9
	C.C.11	C.F.11
Trianum-P (<i>Trichoderma harzianum</i> T-22)	T.C.2	T.F.2
	T.C.3	T.F.3
	T.C.4	T.F.4
	T.C.5	T.F.5
	T.C.11	T.F.11

Greener (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>)	B.C.2	B.F.2
	B.C.4	B.F.5
	B.C.8	B.F.7
	B.C.9	B.F.9
	B.C.11	B.F.11
Mycosym Tri-Ton (<i>Glomus intraradices</i>)	G.C.3	G.F.4
	G.C.4	G.F.7
	G.C.6	G.F.8
	G.C.7	G.F.10
	G.C.11	G.F.11
Micosat-F WP Len	ML.C.2	ML.F.2
	ML.C.4	ML.F.3
	ML.C.5	ML.F.4
	ML.C.8	ML.F.7
	ML.C.9	ML.F.
Robur Plus	RP.C.2	RP.F.3
	RP.C.4	RP.F.4

2.2. ΤΟ ΤΕΣΤ ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Ως βλαστική ικανότητα (B.I.) ορίζεται το ποσοστό των σπόρων που θα φυτρώσει κάτω από ελεγχόμενες και συγκεκριμένες για κάθε φυτό συνθήκες. Ως φυτρωτική ικανότητα (Φ.Ι.) ορίζεται το ποσοστό των σπόρων που θα φυτρώσουν στον αγρό, κάτω από τις επικρατούσες συνθήκες του περιβάλλοντος. Μεταξύ βλαστικής και φυτρωτικής ικανότητας ισχύει πάντοτε η σχέση $\Phi.Ι. < Β.Ι.$ Ζωτικότητα είναι η δύναμη που έχουν οι σπόροι και εκφράζεται με το χρόνο που κάνουν οι σπόροι για να φυτρώσουν. Έτσι, όσο μεγαλύτερη είναι η ζωτικότητα των σπόρων τόσο πιο γρήγορα φυτρώνουν. Η βλαστική ικανότητα και κατά συνέπεια και η φυτρωτική ικανότητα επηρεάζονται από τις συνθήκες αποθήκευσης των σπόρων. Όταν οι τελευταίες είναι κατάλληλες, τότε οι ιδιότητες αυτές των σπόρων διατηρούνται για αρκετά χρόνια. Γενικά, η βλαστική ικανότητα είναι μια ιδιότητα που χαρακτηρίζει κατά πολύ τον σπόρο και εξαρτάται από το γονότυπο, από το βαθμό ωριμότητας του σπόρου, από την φυσική κατάσταση (καλή ή όχι) του μητρικού φυτού, από την φυσική κατάσταση του ίδιου του σπόρου, από την ηλικία του, από το είδος της επεξεργασίας που υπέστη και από την παρτίδα.

Η βλαστική ικανότητα είναι ποιοτικό γνώρισμα και έχει μεγάλη σημασία όταν ο σπόρος πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για σπορά, γιατί αποτελεί μια ασφαλή ένδειξη της φυτρωτικής του ικανότητας. Τις περισσότερες φορές χρησιμοποιούνται για τη σπορά σπόροι που συγκομίσθηκαν κατά την προηγούμενη καλλιεργητική περίοδο και για το λόγο αυτό έχουν άριστη βλαστική ικανότητα. Όταν όμως δεν είναι γνωστή η ηλικία των σπόρων

ή όταν είναι προηγούμενων ετών τότε θα πρέπει να ελέγχεται η βλαστική τους ικανότητα ώστε να επιτευχθεί η καλύτερη πυκνότητα της φυτείας (αν η βλαστική ικανότητα βρεθεί μικρότερη από το αναμενόμενο τότε χρησιμοποιείται για τη σπορά μεγαλύτερη ποσότητα σπόρου). Εκτός όμως από τη βλαστική ικανότητα σημασία έχει και η παροχή των καλύτερων δυνατών συνθηκών, που εξασφαλίζουν καλό φύτρωμα: να υπάρχει νερό (σχετική υγρασία 90%), κατάλληλη θερμοκρασία. Ενίοτε απαιτείται και διακοπή του ληθάργου του σπόρου.

Για να εκτιμηθεί η βλαστική ικανότητα των σπόρων χρησιμοποιούνται τέσσερα επαναλήψεις των 50 ή 100 σπόρων. Ως υπόστρωμα για το φύτρωμα των σπόρων χρησιμοποιείται άμμος και απορροφητικό χαρτί, για μεγάλους και μικρούς σπόρους αντίστοιχα. Το υπόστρωμα με τους σπόρους τοποθετείται σε περιβάλλον με συνθήκες άριστες για το συγκεκριμένο φυτικό είδος, ενώ η διάρκεια της δοκιμής κυμαίνεται από 5 έως 28 ημέρες. Πραγματοποιείται εκτίμηση των παραγόμενων αρτιβλάστων (φυταρίων) και διαχωρισμός τους σε : (α) κανονικά αρτίβλαστα (με κανονικά διαμορφωμένο ριζικό σύστημα και υπέργειο τμήμα), (β) μη κανονικά αρτίβλαστα (τραυματισμένα, παραμορφωμένα, προσβεβλημένα και νεκρά). Οι οι σπόροι που δεν βλάστησαν λαμβάνονται υπόψη .και .η βλαστική ικανότητα εκφράζεται ως εκατοστιαία αναλογία των σπόρων που παρήγαγαν κανονικά (φυσιολογικά) αρτίβλαστα.

2.2.1. Πειραματικό μέρος

Για κάθε σπορομερίδα , τρεις επαναλήψεις των 20 σπόρων τοποθετήθηκαν ομοιόμορφα σε βρεγμένο με απιονισμένο νερό χαρτί προ βλάστησης το οποίο διπλώθηκε στη μέση,, ώστε να καλυφθούν οι σπόροι που τοποθετήσαμε στο πρώτο μισό μέρος του χαρτιού. Στη συνέχεια, διπλώθηκε το χαμηλότερο μέρος του χαρτιού περίπου 5 εκατοστά και τυλίχτηκε ολόκληρο έτσι, ώστε να σχηματιστεί ένα χαλαρό ρολό. Τα ρολά τοποθετήθηκαν, πάντα σε όρθια θέση, μέσα σε σφραγισμένες πλαστικές σακούλες, οι οποίες εισήχθησαν σε θάλαμο ανάπτυξης στους 25°C για 3 εβδομάδες.



Εικόνα 2. 1 - Τα ρολά τοποθετήθηκαν σε σφραγισμένες πλαστικές σακούλες, εισήχθησαν σε θάλαμο ανάπτυξης και διατηρήθηκαν στους 25°C για 3 εβδομάδες

2.3. ΤΟ ΤΕΣΤ ΤΕΤΡΑΖΟΛΙΟΥ

Η βλαστική ικανότητα του σπόρου συνδέεται άμεσα και με την ζωτικότητα του σπόρου. Για τον έλεγχο της ζωτικότητας του σπόρου χρησιμοποιείται το τεστ τετραζολίου (TZ τεστ), το οποίο δίνει αποτελέσματα σχετικά με το εάν ένας σπόρος είναι ζωντανός και κατ' επέκταση εάν ο σπόρος αυτός είναι ικανός να βλαστήσει. και αναγνωρίζεται ευρέως ως ένα ακριβές μέσο για την εκτίμηση της ζωτικότητας των σπόρων. Η μέθοδος αυτή αναπτύχθηκε στη Γερμανία, στις αρχές της δεκαετίας του 1940, από τον καθηγητή George Lakon.

Ο Lakon κατάφερε να κάνει διάκριση μεταξύ ζωντανών και νεκρών σπόρων με την έκθεσή τους σε άλατα τετραζολίου, παρατηρώντας ουσιαστικά αν οι εμβρυικοί ιστοί αναπνέουν. Στην συνέχεια ανέπτυξε μια μέθοδο κατά την οποία χρησιμοποιείται το λιγότερο τοξικό τετραζόλιο ως δείκτης ζωτικότητας. Σήμερα η δοκιμή αυτή χρησιμοποιείται σε όλο τον κόσμο ως μια άκρως αναγνωρισμένη μέθοδος για τον υπολογισμό της ζωτικότητας σπόρων και είναι τεστ ρουτίνας σε πολλά εργαστήρια δοκιμών σπόρων προς σπορά.

Το τεστ τετραζολίου είναι μια βιοχημική εξέταση, η οποία διαφοροποιεί τους ζωντανούς από τους νεκρούς ιστούς των εμβρύων του σπόρου με βάση την δράση του ενζύμου αφυδρογονάση (ένζυμο αναπνοής). Μετά την ενυδάτωση του σπόρου, η

δραστηριότητα των ενζύμων της αφυδρογονάσης αυξάνει, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση ιόντων υδρογόνου, τα οποία ανάγουν το άχρωμο διάλυμα άλατος τετραζολίου (2,3,5-τριφαινυλο τετραζόλιο) σε μια χημική ένωση που ονομάζεται κόκκινο φορμαζάνης. Τα σημεία φορμαζάνης κόκκινου χρώματος εμφανίζονται στα ζωντανά κύτταρα, ενώ τα νεκρά κύτταρα παραμένουν άχρωμα. Η ζωτικότητα των σπόρων ερμηνεύεται σύμφωνα με το πρότυπο χρώσης του εμβρύου και την ένταση του χρωματισμού. Ωστόσο, η ερμηνεία απαιτεί δεξιότητες και εμπειρία. Σημαντικό πλεονέκτημα της μεθόδου αποτελεί η ταχύτητά του, Δεν μπορεί να υποκαταστήσει το τεστ βλαστικότητας καθώς τα αποτελέσματά του συχνά δεν ανταποκρίνονται στα αποτελέσματα της βλαστικότητας και χρησιμοποιείται συνήθως συμπληρωματικά.

2.3.1. Πειραματικό μέρος

Προετοιμασία διαλυμάτων

Για να αποφευχθούν προβλήματα με το pH κατά την παρασκευή του χρωστικού διαλύματος του τετραζολίου παρασκευάστηκαν αρχικά ρυθμιστικά διαλύματα:

Διάλυμα 1- Διαλύονται 9.078 γραμμάρια (g) δισόξινου φωσφορικού καλίου (KH_2PO_4 , Merck) σε 1000 χιλιοστόλιτρα (ml) απιονισμένου ύδατος.

Διάλυμα 2 - Διαλύονται 9.472 γραμμάρια (g) άνυδρου, διβασικού φωσφορικού νατρίου (Na_2HPO_4 , Sigma-Aldrich) σε 1000 χιλιοστόλιτρα (ml) απιονισμένου ύδατος.

Εν συνεχεία αναμείχθηκαν δύο μέρη του πρώτου διαλύματος με τρία μέρη του δεύτερου διαλύματος για την παρασκευή του τελικού ρυθμιστικού διαλύματος. Για την προετοιμασία χρωστικού διαλύματος τετραζολίου (TZ) συγκέντρωσης 0.1% (w/v) διαλύθηκε 1 γραμμάριο (g) άλατος τετραζολίου (2, 3, 5-triphenyltetrazoliumchloride (TTC)) ($\geq 95\%$, SigmaAldrich) σε 1000 χιλιοστόλιτρα (ml) του τελικού ρυθμιστικού διαλύματος. Το χρωστικό διάλυμα αποθηκεύτηκε σε αδιαφανές γυάλινο δοχείο στους 5°C .

Προετοιμασία δειγμάτων σπόρου ντομάτας

Τρεις επαναλήψεις των 20 σπόρων ανά δείγμα εμβαπτίστηκαν σε απιονισμένο νερό μέσα σε τρυβλία Petri (ένα για κάθε δείγμα) και παρέμειναν σε θερμοκρασία $20\text{-}25^\circ\text{C}$ για 15 λεπτά. Με χρήση λεπτών λαβίδων αφαιρέθηκαν τα περιβλήματα των σπόρων (Εικόνα 2.2.).



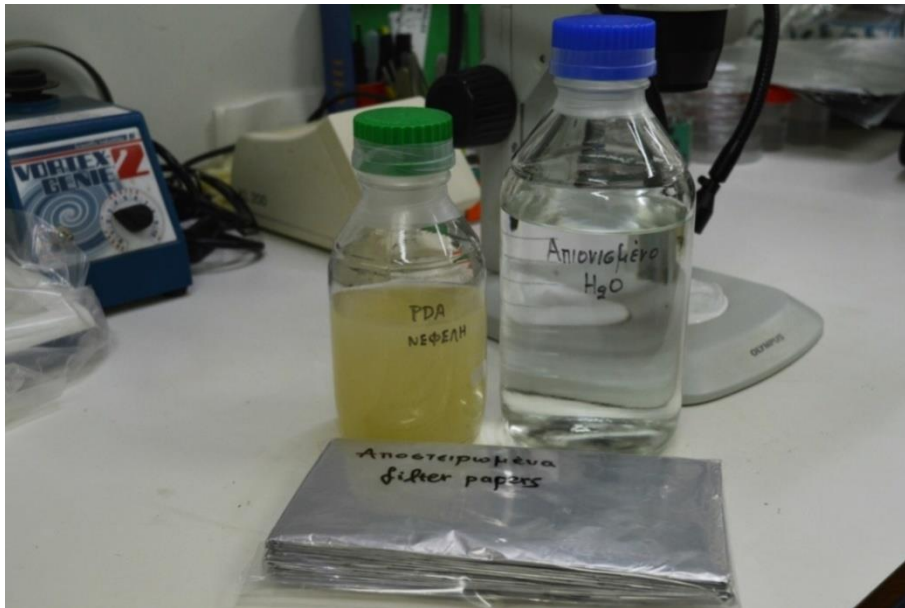
Εικόνα 2. 2 - Αφαίρεση περιβλήματος σπόρων πριν την εμφύτευση στο διάλυμα τετραζολίου

Στη συνέχεια, οι σπόροι εμφυτίστηκαν σε διάλυμα τετραζολίου συγκέντρωσης 0,1%(w/v) μέσα σε τρυβλία Petri, τα οποία τυλίχτηκαν με αλουμινόχαρτο και διατηρήθηκαν στους 35°C για 24 ώρες. Έπειτα αφαιρέθηκε το διάλυμα τετραζολίου και οι σπόροι ξεπλύθηκαν με άφθονο νερό. Εν τέλει, οι σπόροι τέμνονται κατά μήκος διχοτομώντας το έμβryo και φυλάσσονται στους 5°C έως ότου γίνει η εκτίμηση. Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν 3 επαναλήψεις.

2.4. AGAR PLATE TEST

Παρασκευή θρεπτικού διαλύματος

Για την παρασκευή του θρεπτικού διαλύματος ζυγίσαμε, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, 39 γραμμάρια Potato Dextrose Agar (PDA) και αναμείξαμε με 1 λίτρο απιονισμένο νερό. Μετά την ανάδευση, θερμάνουμε το διάλυμα προκειμένου να ομογενοποιηθούν τα υλικά και στην συνέχεια ακολούθησε αποστείρωση στον κλίβανο υγρής αποστείρωσης στους 121°C για 15 λεπτά. Μαζί τοποθετήσαμε για αποστείρωση τα υπόλοιπα υλικά που θα χρειαζόταν για το πείραμα, όπως διηθητικό χαρτί και απιονισμένο νερό μέσα σε αδιαφανές γυάλινο δοχείο. Τα υλικά μας μεταφέρθηκαν στο χώρο αποθήκευσης μέχρι την χρήση τους.



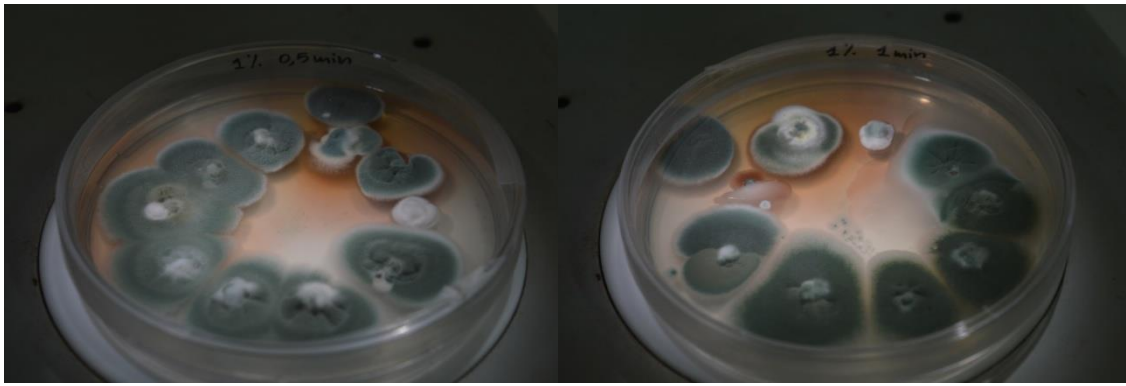
Εικόνα 2. 3 - Αποστειρωμένο θρεπτικό υπόστρωμα PDA, απιονισμένο νερό και filter papers

Απολύμανση σπόρων

Προκειμένου να επιτευχθεί η καλύτερη δυνατή απολύμανση των σπόρων, πραγματοποιήθηκε προκαταρκτικό πείραμα με σκοπό την ανάδειξη των διαφορών στα αποτελέσματα μεταξύ τεσσάρων διαφορετικών συγκεντρώσεων υποχλωριώδους νατρίου ($NaClO$), αλλά και της διαφορετικής μεταχείρισης των σπόρων όσον αφορά τη χρονική διάρκεια παραμονής τους στο διάλυμα, με συνεχή ανάδευση.

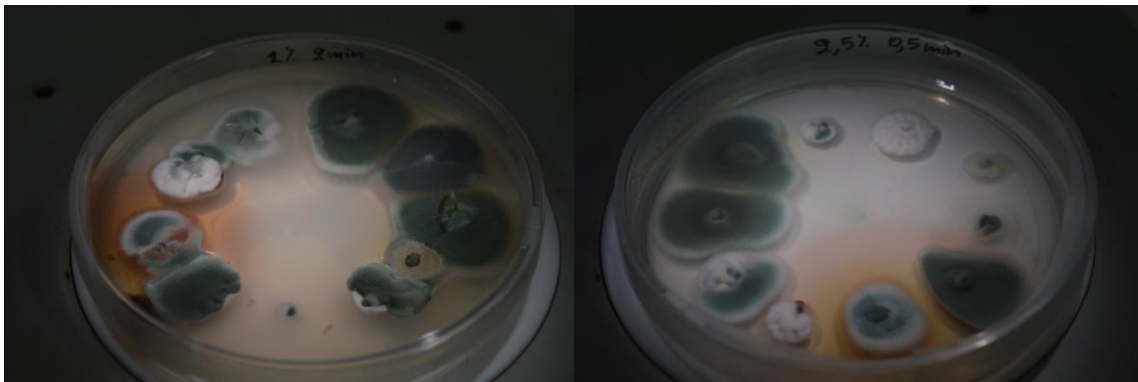
Έτσι, στο θάλαμο νηματικής ροής ιστοκαλλιέργειας (laminar flow hood), 12 δείγματα από 10 σπόρους υβριδίου τομάτας Formula 1 απολυμάνθηκαν σε διαλύματα τεσσάρων διαφορετικών συγκεντρώσεων υποχλωριώδους νατρίου (1%, 2.5%, 5%, 10%) και αναδεύτηκαν για τρεις διαφορετικούς χρόνους (0,5 min, 1min, 2 min) σε κάθε συγκέντρωση. Οι σπόροι αφαιρέθηκαν στην συνέχεια χρησιμοποιώντας μεταλλική, αποστειρωμένη σε φωτιά, λαβίδα. Ύστερα στεγνώθηκαν σε αποστειρωμένο διηθητικό χαρτί και τοποθετήθηκαν πάνω σε θρεπτικό υπόστρωμα (PDA) σε τρυβλία Petri. Τα τρυβλία μεταφέρθηκαν στην συνέχεια σε θάλαμο επώασης στους 20°C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου (NUV ακτινοβολία και σκοτάδι) για 10 ημέρες.

Η παρατήρηση έγινε μακροσκοπικά για τυχόν εμφάνιση επιφανειακών μολύνσεων στο υπόστρωμα (Εικόνες 2.5 έως 2.16) και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ιδανική συγκέντρωση υποχλωριώδους νατρίου είναι 10%, ενώ η χρονική διάρκεια παραμονής και ανάδευσης των σπόρων στο διάλυμα είναι τα 2 λεπτά.



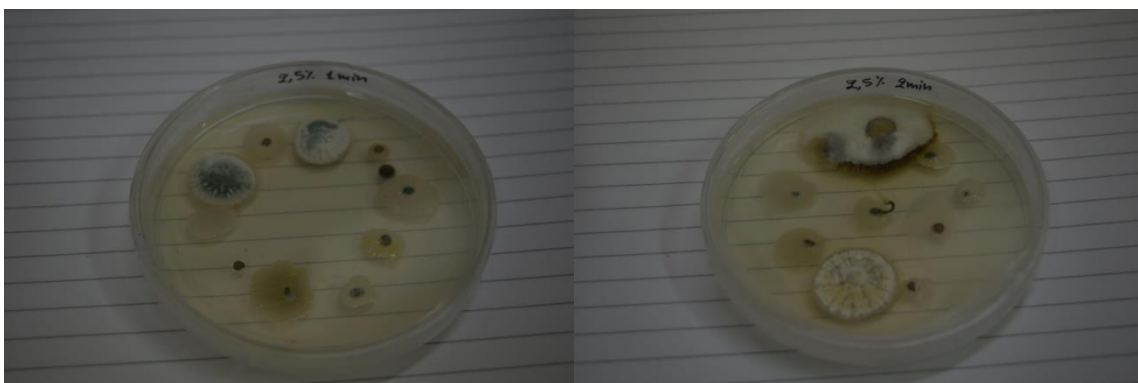
Εικόνα 2. 4 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 1% για 0,5 min

Εικόνα 2. 5 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 1% για 1 min



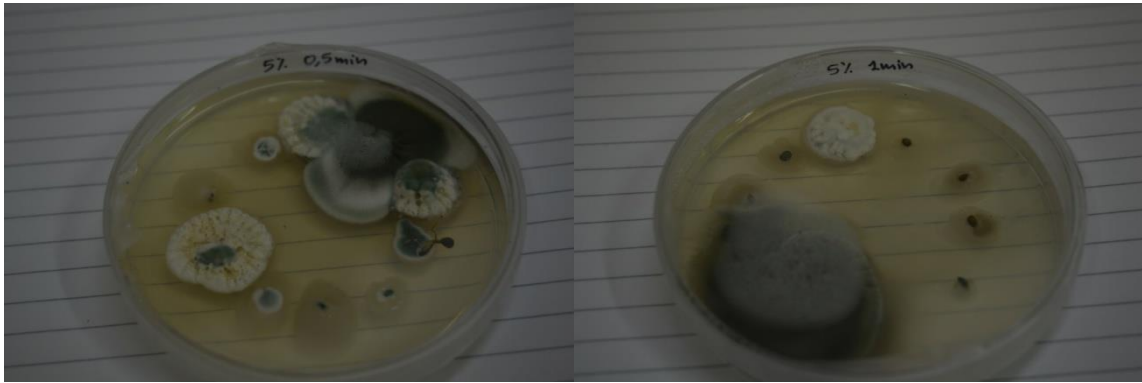
Εικόνα 2. 6 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 1% για 2 min

Εικόνα 2. 7 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 2,5 % για 0,5 min



Εικόνα 2. 8 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 2,5 % για 1 min

Εικόνα 2. 9 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 2,5 % για 2 min



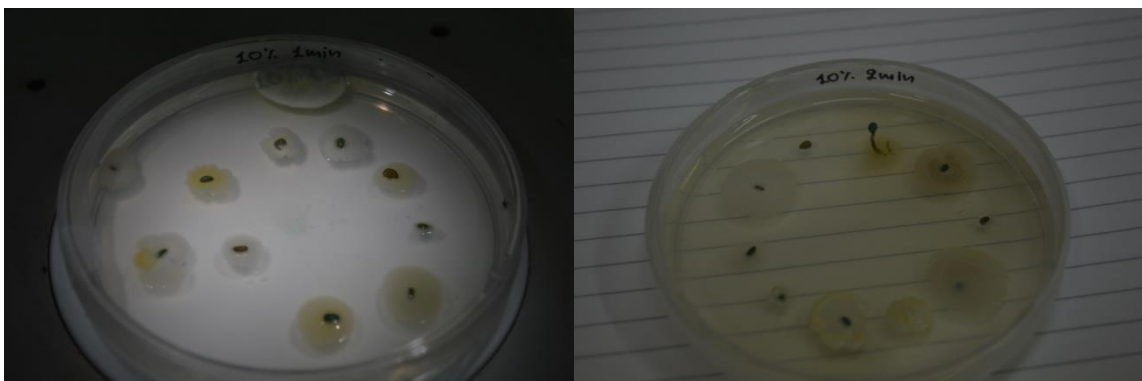
Εικόνα 2. 10 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 5% για 0,5 min

Εικόνα 2. 11 - Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 5% για 1 min



Εικόνα 2. 12- Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 5% για 2 min

Εικόνα 2. 13- Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 10% για 0,5 min

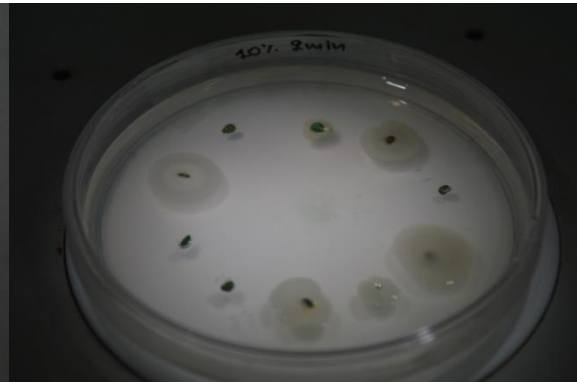


Εικόνα 2. 14- Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 10% για 1 min

Εικόνα 2. 15- Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 10% για 2 min



Εικόνα 2. 16- Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 10% για 2 min

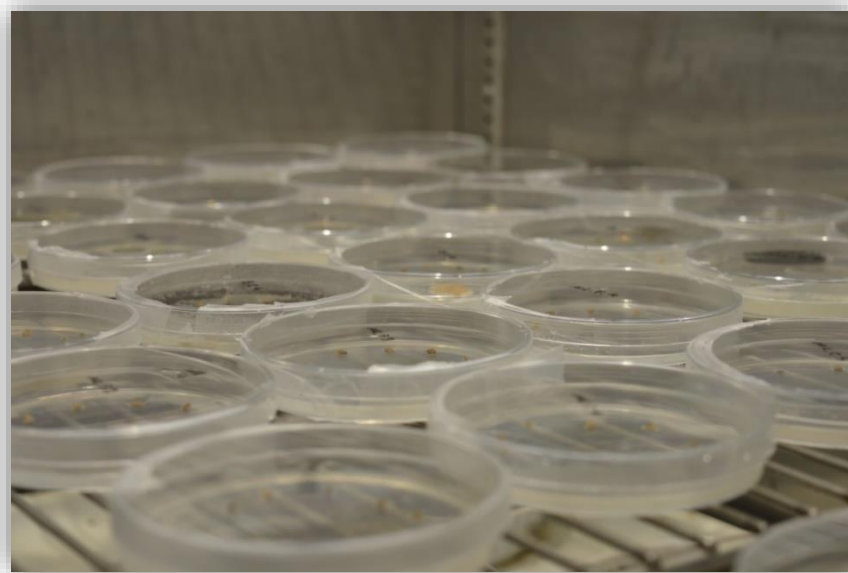


Εικόνα 2. 17- Σπόροι τομάτας υβριδίου F1 σε υπόστρωμα PDA μετά την απολύμανσή τους σε δ/μα NaClO 10% για 2min

2.4.1. Πειραματικό μέρος

Για κάθε δείγμα τομάτας, 10 σπόροι απολυμάνθηκαν επιφανειακά σε διάλυμα 10% υποχλωριώδες νάτριου και αναδεύτηκαν για 2 λεπτά. Οι απολυμασμένοι σπόροι στην συνέχεια αφαιρέθηκαν χρησιμοποιώντας μεταλλική, αποστειρωμένη σε φωτιά, λαβίδα. Έστερα στεγνώθηκαν σε αποστειρωμένο διηθητικό χαρτί και τοποθετήθηκαν ομοιόμορφα πάνω σε θρεπτικό υπόστρωμα (PDA) σε τρυβλία Petri.

Τα τρυβλία μεταφέρθηκαν σε θάλαμο επώασης στους 20°C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου (NUV ακτινοβολία και σκοτάδι) για 10 ημέρες.



Εικόνα 2. 4 - Τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε θάλαμο επώασης στους 20°C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου

Ακολούθησε η καταγραφή της βλάστησης των σπόρων και ο τύπος των εμφανιζόμενων αποικιών. Η παρατήρηση έγινε μακροσκοπικά (το χρώμα των αποικιών κτλ) και μικροσκοπικά (σπόροι, σποριάγγεια, κολλοειδή σωματίδια κτλ).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

3.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΖΩΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Σπόροι τομάτας (Formula F1) που προερχόταν από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία ή όχι του παθογόνου μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* και ταυτόχρονα παρουσία ή όχι των συμβιωτικών μικροοργανισμών *Trichoderma harzianum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Glomus intraradices*, ή μειγμάτων συμβιωτικών μικροοργανισμών με τις εμπορικές ονομασίες **Robur Plus** και **Micosat-F WP Len**, διατηρήθηκαν για τρία 3 έτη, σε συνθήκες δωματίου. Μετά από την παρέλευση του παραπάνω διαστήματος αποθήκευσης, οι σπόροι υποβλήθηκαν σε δοκιμές βλαστικότητας για να διερευνηθεί η επίδραση του παθογόνου μικροοργανισμού αλλά και των συμβιωτικών μικροοργανισμών στην αποθηκευσιμότητα των σπόρων της τομάτας.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν:

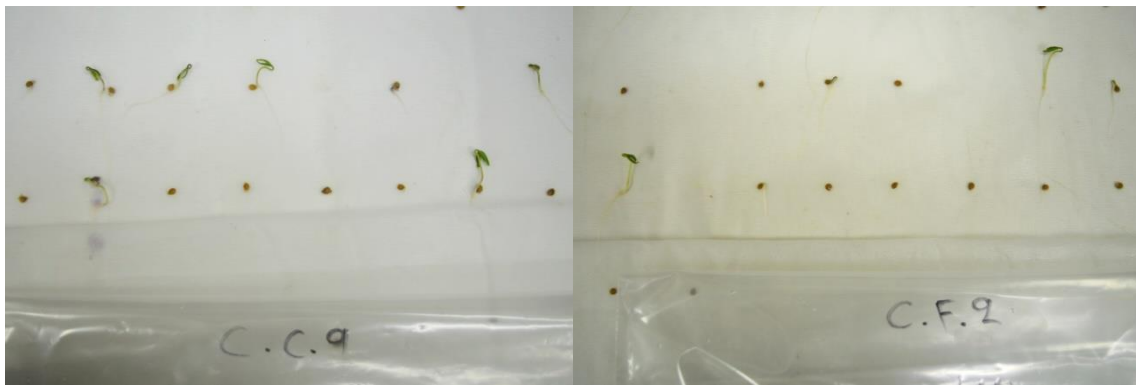
1. Η % βλαστικότητα σπόρων τομάτας
2. Η εκτίμηση της ζωτικότητας των σπόρων της τομάτας με την αντίδραση τετραζολίου
3. Η μεταβολή (αύξηση) του ποσοστού βλαστικότητας σε σχέση με τον χρόνο.

3.1.1. Βλαστικότητα σπόρων τομάτας

Εκτίμηση δειγμάτων

Στην εργασία πραγματοποιήθηκε έλεγχος της βλαστικότητας των σπόρων με τεστ βλαστικότητας. Στις εικόνες 3.1 έως 3.16 φαίνεται η βλάστηση των σπόρων προερχόμενων από φυτά τομάτας όλων των μεταχειρίσεων σε υπόστρωμα διηθητικού χαρτιού και διατήρηση σε θάλαμο ανάπτυξης με θερμοκρασία 25°C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου (NUV ακτινοβολία και σκοτάδι). Τα φυτάρια που παρήχθησαν

εκτιμήθηκαν κατά ISTA ως προς τη βλαστικότητα του σπόρου αλλά και ως προς τις πιθανές ανωμαλίες που παρουσίασαν. Ως ομαλά αναπτυσσόμενα φυτάρια θεωρήθηκαν εκείνα που όλα τα σημαντικά ζωτικά μέρη του φυτού είχαν αναπτυχθεί πλήρως και υγιώς, δεν παρουσίαζαν ελαττώματα ή τα ελαττώματά τους ήταν περιορισμένης έκτασης και δεν επηρέαζαν την ομαλή ανάπτυξη του φυτού και τέλος, τα φυτάρια τα οποία παρουσίασαν δευτερογενή μόλυνση η οποία δεν προερχόταν από τον σπόρο γονέα. Έτσι, παραμορφώσεις στο βλαστίδιο, στη ρίζα και στο υποκοτύλιο, με υαλόμορφη ή χλωρωτική εμφάνιση, κατεστραμμένες/μη λειτουργικές κοτυληδόνες σε ποσοστό >50% καθώς και με εμφάνιση πρωτογενούς μόλυνσης συνεπάγονταν ανώμαλη ανάπτυξη των φυταρίων, τα οποία δεν προσμετρήθηκαν στο τελικό ποσοστό βλαστικότητας. Οι εικόνες είναι επιλεγμένες και αφορούν ορισμένα από τα δείγματα των παραγόμενων σπόρων όλων των μεταχειρίσεων.



Εικόνα 3. 1 - Σπόροι μάρτυρες μεταχείρισης C.C.9 μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης

Εικόνα 3. 2 - Σπόροι μάρτυρες μεταχείρισης C.F.2 μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



Εικόνα 3. 3 - Σπόροι μεταχείρισης B.C.2 (Rep1) μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



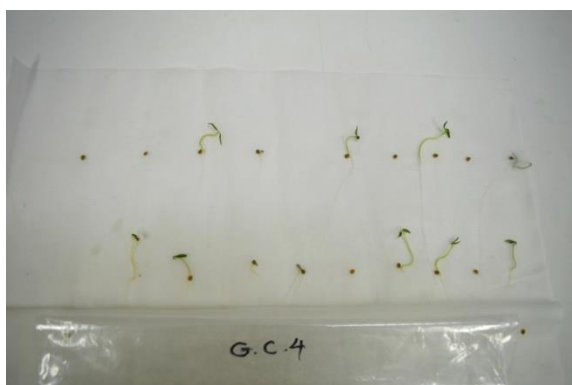
Εικόνα 3. 4 - Σπόροι μεταχείρισης B.C.2 (Rep2) μετά από 13 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



Εικόνα 3. 5 - Σπόροι μεταχείρισης B.F.5 (Rep1) μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



Εικόνα 3. 6 - Σπόροι μεταχείρισης B.F.5 (Rep2) μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



Εικόνα 3. 7 - Σπόροι μεταχείρισης G.C.4 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



Εικόνα 3. 8 - Σπόροι μεταχείρισης G.F.7 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



Εικόνα 3. 9- Σπόροι μεταχείρισης ML.C.8 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



Εικόνα 3. 10- Σπόροι μεταχείρισης ML.F.4 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



Εικόνα 3. 11- Σπόροι μεταχείρισης T.C.5 (Rep1) μετά από 10 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



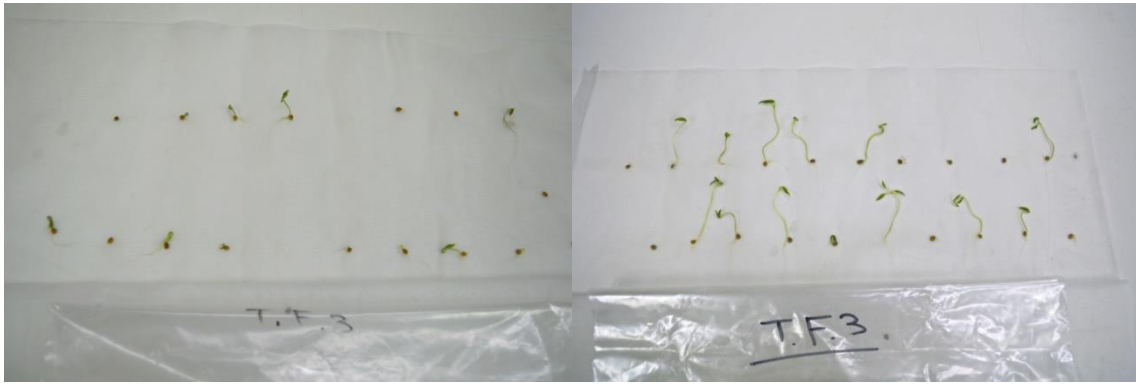
Εικόνα 3. 12- Σπόροι μεταχείρισης T.C.5 (Rep2) μετά από 10 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



Εικόνα 3. 13- Σπόροι μεταχείρισης RP.C.4 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



Εικόνα 3. 14- Σπόροι μεταχείρισης RP.F.4 μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης



Εικόνα 3. 15- Σπόροι μεταχείρισης T.F.3 (Rep1) μετά από 5 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης

Εικόνα 3. 16- Σπόροι μεταχείρισης T.F.3 (Rep2) μετά από 10 ημέρες επώασης στους 25°C στο θάλαμο ανάπτυξης

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων της % βλαστικότητας (τελικής), όπως και της ζωτικότητας των σπόρων με το test του τετραζολίου έγινε με την ανάλυση της διασποράς (ANOVA) σύμφωνα με το Εντελώς Τυχαιοποιημένο Σχέδιο σε ένα 2×6 διπαραγοντικό πείραμα. Ο ένας παράγοντας (C1) είναι το παθογόνο *Fusarium* sp. με δύο επίπεδα (απουσία παθογόνου και παρουσία παθογόνου) και ο δεύτερος (C2) οι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί με έξι επίπεδα (1: απουσία συμβιωτικού μικροοργανισμού, 2: *Trichoderma*, 3: Robur-Plus, 4: *Bacillus*, 5: Micosat-F WP Len, και 6: *Glomus*).

Η ανάλυση της διασποράς των δεδομένων της βλαστικότητας έγινε μετά από μετατροπή των τιμών της % βλαστικότητας σε μοίρες (arcsintransformation).

$$\omega^{\circ} = \sin^{-1} \left(\sqrt{\frac{\%germin}{100}} \right)$$

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης της διασποράς παρουσιάζονται στον πίνακα 3.1 που παρατίθεται στο συνημμένο παράρτημα.

Πίνακας 3. 1 - Ανάλυση διασποράς των δεδομένων της βλαστικότητας των σπόρων της τομάτας (τα δεδομένα της % βλαστικότητας, πριν την ανάλυση έχουν μετατραπεί σε μοίρες)

Source	df	Type III SS	MS	F	P
Main Effects					
C1	1	313.7387796	313.73878	7.03556	.0089 **
C2	5	2650.15069	530.03014	11.885872	.0000 ***
Interaction					
C1 * C2	5	4027.357005	805.4714	18.062614	.0000 ***
Error	145	6466.0273	44.593292		
Total					
	156	13158.74331			
Model					
	11	6692.716011	608.42873	13.643952	.0000 ***

$R^2 = SS_{\text{model}}/SS_{\text{total}} = 0.50861361551$

Root MSerror = $\sqrt{MS_{\text{error}}}$ = 6.67782088142

Mean Y = 43.8654709427

Coefficient of Variation = $(\text{Root MSerror}) / \text{abs}(\text{Mean Y}) * 100\% = 15.223411\%$

Source: Πηγή παραλλακτικότητας

Main Effects: Κύριες επιδράσεις – παράγοντες του πειράματος

Interaction: Αλληλεπίδραση

Error: Πειραματικό σφάλμα - υπόλοιπο

df: Βαθμοί ελευθερίας

Type III SS: Άθροισμα τετραγώνων (κατά το πρότυπο III)

MS=SS/df : Μέσο τετράγωνο (εκτιμά την διασπορά της εκάστοτε πηγής παρ/τητας)

F= $MS_{\text{source}}/MS_{\text{error}}$: Πειραματικές τιμές της στατιστικής του F

P: Η πιθανότητα να μην υπάρχει σημαντική επίδραση

Σύμφωνα με αυτή την ανάλυση προκύπτει ότι:

1. το παθογόνο έχει σημαντική επίδραση στην βλαστικότητα των σπόρων της τομάτας στο σύνολο των μεταχειρίσεων με συμβιωτικούς μικροοργανισμούς (F= 7,03 df:1 και 145 , P=0,009).
2. υπάρχει σημαντική επίδραση των μικροοργανισμών στην βλαστικότητα των σπόρων της τομάτας (F= 11,9 df:5 και 145, P<0,001).
3. Το μεγαλύτερο όμως μέρος της ολικής παραλλακτικότητας που παρουσίασε η βλαστικότητα των σπόρων της τομάτας οφείλεται στην σημαντική αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων (παθογόνο και μικροοργανισμοί) (F= 18,06 df:5 και 145, P<0,001). Αυτό μπορεί να σημαίνει ότι: α) η επίδραση του παθογόνου στην βλαστικότητα των σπόρων της τομάτας διαφέρει ανάλογα με την παρουσία και το είδος του συμβιωτικού μικροοργανισμού που αναπτύσσονται τα φυτά της τομάτας και β) η επίδραση του εκάστοτε μικροοργανισμού στην βλαστικότητα των σπόρων διαφέρει ανάλογα με το αν τα φυτά της τομάτας αναπτύσσονται παρουσία ή όχι του παθογόνου.

Η διερεύνηση των δύο αυτών ερωτημάτων, δηλαδή α) ποια είναι η επίδραση της παρουσίας του παθογόνου στην βλαστικότητα των σπόρων της τομάτας όταν τα φυτά

αναπτύσσονται παρουσία ή όχι κάποιου συγκεκριμένου συμβιωτικού μικροοργανισμού και β) ποια είναι η επίδραση ενός συγκεκριμένου μικροοργανισμού στην βλαστικότητα των σπόρων της τομάτας όταν τα φυτά της τομάτας αναπτύσσονται παρουσία ή όχι παθογόνου, γίνεται με την **ανάλυση των απλών κύριων επιδράσεων του ενός παράγοντα μέσα σε κάθε ένα επίπεδο του άλλου**, η οποία παρουσιάζεται στον πίνακα 3.2 του παραρτήματος.

Η ανάλυση αυτή είναι ουσιαστικά μια μονοπαραγοντική ανάλυση της διασποράς των τιμών της βλαστικότητας που προέκυψαν από την επίδραση των διαφορετικών μεταχειρίσεων (επιπέδων) του ενός παράγοντα μέσα σε κάθε ένα επίπεδο του άλλου. Η μηδενική υπόθεση ($\bar{Y}_{1..} = \bar{Y}_{2..} = \dots = \bar{Y}_{i..}$, $i = 2$) και ($\bar{Y}_{.1} = \bar{Y}_{.2} = \dots = \bar{Y}_{.j}$, $j = 5$) ελέγχεται και αυτή με το κριτήριο του F.

Πίνακας 3. 2 - Ανάλυση των απλών κύριων επιδράσεων του ενός παράγοντα μέσα σε κάθε ένα επίπεδο του άλλου για τα δεδομένα της βλαστικότητας των σπόρων (μετά από μετατροπή των τιμών της % βλαστικότητας σε μοίρες)

		(C1)						
		Ctr	Fus	$\bar{Y}_{.j}$	AT C1 στον C2	MT C1 στον C2	F	P
(C2)	null	39,66262	40,55622	40,09401	5,782437	5,782437	0,129651	0,72
	TrHdr	48,37675	49,27007	48,82341	5,985235	5,985235	0,134198	0,71
	RP	53,76212	40,58715	47,17464	520,7394	520,7394	11,67577	<0,001
	Bac	43,06036	52,50911	47,62183	646,5018	646,5018	14,49556	<0,001
	ML	40,69045	44,65059	42,52908	109,2188	109,2188	2,448852	0,12
	GL	48,30348	28,35393	38,67266	2881,959	2881,959	64,61791	<0,001
	$\bar{Y}_{i..}$	44,74046	42,93291					
	AT C2 στον C1	1552,255	5012,351					
	MT C2 στον C1	310,4511	1002,47					
	F	6,960786	22,47691					
	P	<0,001	<0,001					
	MT yp	44,6						
	KΠ (LSD)	4,256728	4,394521					
	t(0,05 BE=145)	1,656						

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι η βλαστικότητα των σπόρων των φυτών της τομάτας που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία παθογόνου παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές οι οποίες μεταβάλλονται ανάλογα με το είδος του συμβιωτικού μικροοργανισμού (F= 6,96 df:5 και 145, P<0,001).

Επίσης όταν τα φυτά της τομάτας αναπτύσσονται παρουσία του παθογόνου, η επίδραση των μικροοργανισμών στην βλαστικότητα των σπόρων της, είναι στατιστικά σημαντική (F= 22,47 df:5 και 145, P<0,001).

3.1.1.1. Συγκρίσεις μέσων βλαστικότητας μέσα στα επίπεδα του παράγοντα C1- (παθογόνο)

Η κρίσιμη περιοχή (ΚΠ) την οποία πρέπει να ξεπερνά η διαφορά δύο μέσων για να χαρακτηριστεί στατιστικά σημαντική δίνεται από τον παρακάτω τύπο:

$$LSD = t_{(0,05, BE_{un1})} \times \sqrt{\frac{2 \times MT_{un1}}{n}}$$

(Σημείωση: Επειδή σε κάθε μία από τις έξι μεταχειρίσεις υπάρχει άνισος αριθμός επαναλήψεων ως n λαμβάνεται κατά προσέγγιση ο μέσος αριθμός επαναλήψεων ανά μεταχείριση).

Πίνακας 3. 3 - Σύγκριση των μέσων της βλαστικότητας των σπόρων που προέρχονταν από φυτά που δεν εκτέθηκαν στην παρουσία του *Fusarium* sp. (μετά από μετατροπή των τιμών της % βλαστικότητας σε μοίρες)

	Ctr	LSD=4,25
RP	53,76212344	z
TrHdr	48,37674614	y
GL	48,30348393	y
Bac	43,06036481	x
ML	40,69044873	x
nul	39,6626165	x

Πίνακας 3. 4 - Σύγκριση των μέσων της βλαστικότητας των σπόρων που προέρχονταν από φυτά που εκτέθηκαν στην παρουσία του *Fusarium* sp. (μετά από μετατροπή των τιμών της % βλαστικότητας σε μοίρες)

	Fus	LSD=4,39
Bac	52,50911201	z
TrHdr	49,27007211	z
ML	44,65058768	y
RP	40,58715454	y
nul	40,55621986	y
GL	28,35392853	x

Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

3.1.1.2. Συγκρίσεις μέσων βλαστικότητας μέσα στα επίπεδα του παράγοντα C2 (συμβιωτικός μικροοργανισμός)

Στις συγκρίσεις αυτές έχουμε σε κάθε επίπεδο του παράγοντα συμβιωτικός μικροοργανισμός, δύο μέσους και αρκεί η σημαντικότητα του F για την σημαντικότητα της διαφοράς δύο μέσων.

Διαπιστώνεται ότι στις περιπτώσεις των φυτών που αναπτύχθηκαν είτε απουσία συμβιωτικού μικροοργανισμού είτε παρουσία του *Trichoderma*, η βλαστικότητα των σπόρων της τομάτας δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των φυτών που αναπτύχθηκαν είτε απουσία είτε παρουσία του παθογόνου μύκητα ($F=0,129$ και $F=0,134$ αντίστοιχα με $df:1$ και 145 , $P>0,05$). Επίσης και τα φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του συμβιωτικού Micosat-F WP Len οι διαφορές της βλαστικότητας των σπόρων από φυτά χωρίς την παρουσία του *Fusarium* sp. και από φυτά με παρουσία του *Fusarium* sp. δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($F= 2,44$ με $df:1$ και 145 , $P=0,12$)

Στην περίπτωση όμως των φυτών που αναπτύχθηκαν παρουσία των Robur-Plus και *Glomus*, η βλαστικότητα των σπόρων παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μείωση όταν τα φυτά αναπτύσσονται παρουσία του παθογόνου ($F=11,67$ και $F= 64,62$ αντίστοιχα με $df:1$ και 145 , $P<0,001$). Αντίθετα στην περίπτωση του συμβιωτικού μικροοργανισμού *Bacillus*, η βλαστικότητα των σπόρων των φυτών που αναπτύχθηκαν παρουσία του παθογόνου ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη από την βλαστικότητα των σπόρων των φυτών που αναπτύχθηκαν απουσία του παθογόνου ($F=14,45$ με $df:1$ και 145 , $P<0,001$).

Όλα τα παραπάνω παρουσιάζονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3. 5 - Επίδραση διαφόρων συμβιωτικών μικροοργανισμών στην % βλαστικότητα (μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα) των σπόρων τομάτας Formula F1 μετά από τρία έτη αποθήκευσης. Η στήλη 1 αφορά φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του *Fusarium* sp. στο υπόστρωμα ανάπτυξης, ενώ η στήλη 2 φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του μύκητα *Fusarium* sp.

	1	Control	2	<i>Fusarium</i>
Απουσία συμβ. μικροοργανισμών	40,87±1,93	xA	42,52±3,72	yA
<i>Trichoderma harzianum</i>	55,66±3,4	yA	57,33±2,88	zA
Robur Plus	65±1,82	zA	42,5±5,12	yB
<i>Bacillusamyloliquefaciens</i>	46,66±2,27	xB	62,5±3,46	zA
Micosat-F WP Len	42,66±3	xA	49,39±2,42	yA
<i>Glomus intraradices</i>	55,66±2,7	yA	23,57±3	xB

Οι μέσοι στην ίδια γραμμή που συνοδεύονται με το ίδιο κεφαλαίο γράμμα του λατινικού αλφαβήτου δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Αντίστοιχα οι μέσοι στην ίδια στήλη που συνοδεύονται από το ίδιο πεζό γράμμα του λατινικού αλφαβήτου δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$). (Η στατιστική ανάλυση έγινε μετά από μετατροπή των ποσοστών σε μοίρες).

3.1.2. Ανάλυση ζωτικότητας των σπόρων της τομάτας σύμφωνα με την ένταση της χρώσης κατά την αντίδραση του τετραζολίου .

Εκτίμηση δειγμάτων

20 σπόροι τομάτας από κάθε μία από τις 12 προηγούμενες μεταχειρίσεις, υποβλήθηκαν σε τεστ τετραζολίου. Οι εικόνες 3.17 έως 3.23 αφορούν ορισμένα από τα δείγματα των παραγόμενων σπόρων όλων των μεταχειρίσεων και απεικονίζουν τις επτά κατηγορίες με βάση των οποίων εκτιμήθηκαν τα δείγματα. Οι σπόροι της τομάτας καταμετρούνται ως ζωντανοί όταν περισσότερο από τα 2/3 των κοτυληδόνων έχουν χρωματιστεί, δεν υπάρχουν σε αυτές μεγάλες περιοχές νεκρωμένου ιστού και δεν έχει ζημιωθεί ο ιστός του ριζιδίου. Ακόμα και αν η κορυφή του ριζιδίου δεν χρωματιστεί ο σπόρος θεωρείται ζωντανός εφόσον οι κοτυληδόνες έχουν χρωματιστεί ικανοποιητικά. Για την κατάταξη του σπόρου ως προς την ευρωστία του, οι σπόροι χωρίστηκαν σε 5 διαβαθμίσεις, ανάλογα με το ποσοστό του εμβρύου που χρωματίστηκε (χρώση 100%, χρώση >75%, χρώση >50%, χρώση >25%, χρώση 0%), ανεξαρτήτως της έντασης του χρωματισμού και σε δεύτερη φάση ανάλογα με την ένταση του χρωματισμού. Έτσι, κάθε σπόρος εκτιμήθηκε με βάση τις παρακάτω επτά κατηγορίες:

ΚΛΙΜΑΚΑ ΒΑΘΜΟΥ ΧΡΩΣΗΣ

	Έκταση χρώσης	Ένταση χρώσης	Περιοχή χρώσης				
			Καθόλου χρώση	Σε διάφορα σημεία του εμβρύου	Κυρίως ή μόνο στις κοτυληδόνες	Σε διάφορα σημεία του εμβρύου και στις κοτυληδόνες	Σε ολόκληρο το έμβρυο
1. <u>Dead</u>	0%	Καθόλου χρώση	✓	-	-	-	-
2. <u>Middle</u> ↓↓	>25%	Χαμηλή	-	✓	-	-	-
3. <u>Middle</u> ↓		Υψηλή	-	✓	-	-	-

4.	Middle	>50%	-	-	✓	-	-
5.	Middle↑	>75%	Χαμηλή	-	-	✓	-
6.	Middle↑↑		Υψηλή	-	-	✓	-
7.	Viable	100%	Καθολική χρώση	-	-	-	✓



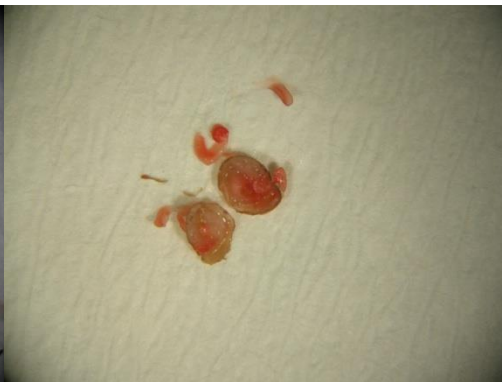
Εικόνα 3. 17– Σπόρος μη ζωτικός



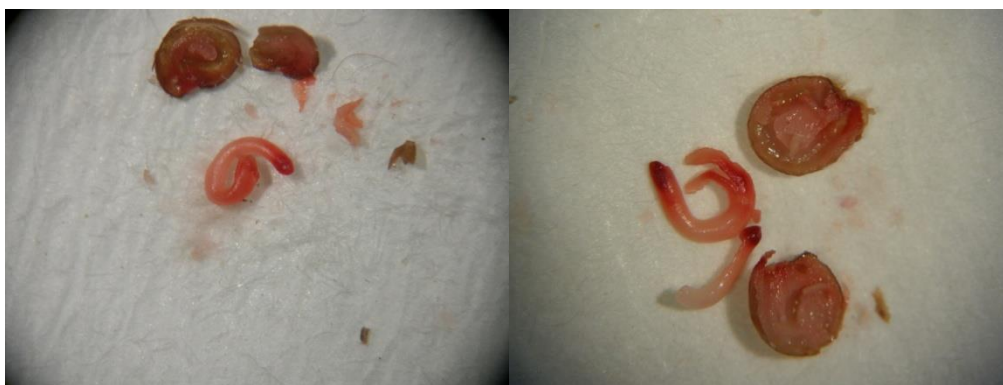
Εικόνα 3. 18– Σπόρος ζωτικός με χαμηλή ένταση χρώσης <25% σε διάφορα σημεία του εμβρύου



Εικόνα 3. 19– Σπόρος ζωτικός με υψηλή ένταση χρώσης >25% σε διάφορα σημεία του εμβρύου



Εικόνα 3. 20– Σπόρος ζωτικός με χρώση κυρίως ή μόνο στις κοτυληδόνες



Εικόνα 3. 21– Σπόρος ζωτικός με χαμηλή ένταση χρώσης σε διάφορα σημεία του εμβρύου και στις κοτυληδόνες

Εικόνα 3. 22– Σπόρος ζωτικός με υψηλή ένταση χρώσης σε διάφορα σημεία του εμβρύου και στις κοτυληδόνες



Εικόνα 3. 1 – Σπόρος ζωτικός με βαθμό χρώσης σε ολόκληρο το έμβρυο

Ανάλογα με την ένταση και έκταση της χρώσης, κάθε σπόρος βαθμονομήθηκε και ταξινομήθηκε σε μία από τις παρακάτω επτά κατηγορίες (1^η στήλη)

Κλίμακα βαθμού χρώσης		Κλίμακα Γωνιών (°)	Κλίμακα Ποσοστών (%)
1	Dead	0	0
2	Middle ↓↓	15	6,7
3	Middle ↓	30	25
4	Middle	45	50
5	Middle ↑	60	75
6	Middle ↑↑	75	93,3
7	Viable	90	100

Στις επτά αυτές κλάσεις έντασης-έκτασης χρώσης αντιστοιχούν επτά υποδιαίρεσεις γωνιών από 0 ως 90 μοίρες ($90/6=15$), και με αυτό τον τρόπο διαμορφώνεται η προσχηματισμένη κλίμακα γωνιών (2^η στήλη). Το τετράγωνο του ημιτόνου της εκάστοτε γωνίας αποδίδει την εκατοστιαία αναλογία (3^η στήλη) που αναλογεί στην αρχική κλίμακα χρώσης (αντιστροφή της συνάρτησης μετατροπής αναλογιών σε μοίρες arcsintransformation). Με αυτό τον τρόπο μετατρέπεται μία ποιοτική (μη αριθμητική) κλίμακα βαθμονόμησης ενός χαρακτηριστικού, σε μία αλγεβρική κλίμακα τιμών, την διασπορά των οποίων μπορούμε να αναλύσουμε στατιστικά (ANOVA).

Σύμφωνα με αυτή την μετατροπή τα αποτελέσματα των χρώσεων τετραζολίου των σπόρων της τομάτας αποδίδονται αριθμητικά στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3. 6 - Αριθμητική απόδοση των αποτελεσμάτων των χρώσεων τετραζολίου των σπόρων της τομάτας

Ctr	Fus ar	Crt+Tr Hdr	Fus+Tr Hdr	Ctr+ RP	Fus+ RP	Ctr+ Bac	Fus+ Bac	Ctr+ ML	Fus+ ML	Ctr+ Gl	Fus+ Gl
50	50	0	75	6,7	50	0	0	50	0	0	50
50	50	6,7	75	50	0	0	100	50	0	50	50
50	0	25	75	25	93,3	0	0	0	0	50	0
50	0	0	6,7	50	50	0	6,7	50	0	25	100
50	50	0	50	50	0	0	6,7	50	0	0	0
0	0	0	100	50	0	0	6,7	0	0	0	100
50	0	75	100	93,3	0	0	0	0	0	50	0
50	0	50	0	0	0	0	0	25	0	50	0
50	25	0	75	50	0	0	0	0	0	93,3	100
50	25	0	75	25	0	0	93,3	25	0	0	100
50	75	25	50	50	0	0	0	25	0	0	0
50	50	0	75	0	0	75	0	0	0	25	50
50	50	25	93,3	6,7	0	0	0	25	25	0	0
50	50	50	93,3	93,3	50	6,7	0	0	0	25	50
50	0	0	100	93,3	50	6,7	0	25	25	100	25
50	6,7	0	93,3	50	25	6,7	0	25	0	0	75
50	0	25	75	25	100	0	0	25	75	100	100
0	25	25	100	93,3	25	0	0	25	0	0	50
0	0	0	50	25	50	93,3	0	25	75	0	100
0	0	0	100	93,3	50	25	0	25	25	0	25

Η ανάλυση της διασποράς των παραπάνω τιμών που προκύπτει σύμφωνα με το Εντελώς τυχαιοποιημένο Σχέδιο με δύο παράγοντες (2×6), αποδίδεται στο παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3. 7 - Ανάλυση διασποράς των δεδομένων της ζωτικότητας των σπόρων της τομάτας

```
ANOVA
2017-03-18 09:38:42
Using: E:\KALKANA\TETRAZ 4A.dt
.AOV Filename: 2WCR.AOV - 2 way Completely Randomized
Y Column: 3) Ctr
1st Factor: 1) C1
2nd Factor: 2) C2
Keep If:

Rows of data with missing values removed: 0
Rows which remain: 240
```

Source	df	Type III SS	MS	F	P
Main Effects					
C1	1	1533.687042	1533.687	1.8563243	.1744 ns
C2	5	34790.00837	6958.0017	8.4217361	.0000 ***
Interaction					
C1 * C2	5	43894.77171	8778.9543	10.625757	.0000 ***
Error	228	188372.6075	826.19565<-		
Total					
	239	268591.0746			
Model					
	11	80218.46712	7292.5879	8.8267082	.0000 ***

```
R^2 = SSmodel/SStotal = 0.29866393452
Root MSError = sqrt(MSError) = 28.7436192385
Mean Y = 29.76375
Coefficient of Variation = (Root MSError) / abs(Mean Y) * 100% = 96.572573%
```

Όπως και προηγούμενα στην ανάλυση των τιμών βλαστικότητας, το μεγαλύτερο μέρος της ολικής παραλλακτικότητας που παρουσίασε η ένταση της χρώσης των σπόρων της τομάτας με το τετραζόλιο, οφείλεται στην σημαντική αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων (παθογόνο και μικροοργανισμοί) (F= 10,6 df:5 και 228, P<0,001). Αυτό μπορεί σημαίνει ότι: α) η επίδραση του παθογόνου στην ένταση της χρώσης με τετραζόλιο των σπόρων της τομάτας διαφέρει ανάλογα με την παρουσία και το είδος του συμβιωτικού μικροοργανισμού που αναπτύσσονται τα φυτά της τομάτας και β) η επίδραση του εκάστοτε μικροοργανισμού στην ένταση της χρώσης με τετραζόλιο των σπόρων της τομάτας διαφέρει ανάλογα με το αν τα φυτά της τομάτας αναπτύσσονται παρουσία ή όχι του παθογόνου.

Λόγω της σημαντικής αλληλεπίδρασης θα πρέπει να γίνει **ανάλυση των απλών κύριων επιδράσεων του ενός παράγοντα μέσα σε κάθε ένα επίπεδο του άλλου**

Με την ανάλυση αυτή μπορούμε να διερευνήσουμε α) ποια είναι η επίδραση της παρουσίας του παθογόνου στην ένταση της χρώσης με τετραζόλιο των σπόρων της τομάτας όταν τα φυτά αναπτύσσονται παρουσία ή όχι κάποιου συγκεκριμένου

συμβιωτικού μικροοργανισμού και β) ποια είναι η επίδραση ενός συγκεκριμένου μικροοργανισμού στην ένταση της χρώσης με τετραζόλιο των σπόρων της τομάτας όταν τα φυτά αναπτύσσονται παρουσία ή όχι παθογόνου.

Πίνακας 3. 8 - Ανάλυση των απλών κύριων επιδράσεων του ενός παράγοντα μέσα σε κάθε ένα επίπεδο του άλλου για τα δεδομένα της έντασης της χρώσης με τετραζόλιο

		Παράγοντας C1 (Παθογόνο)		$\bar{Y}_{.j}$	AT A to B	MT A to B	F	P
		Ctr	Fus					
Παράγοντας C2 (Συμβιωτικός Μικρ)	nul	40	22,835	31,4175	2946,372 3	2946,37 2	3,48188 6	0,063
	TrHdr	15,335	73,08	44,2075	33344,85	33344,8 5	39,4054	<0,00 1
	RP	46,495	27,165	36,83	3736,489	3736,48 9	4,41561	0,036
	Bac	10,67	10,67	10,67	9,466E- 29	9,47E- 29	1,12E- 31	0,99
	ML	22,5	11,25	12,5	1523,437 5	1523,43 8	1,80032 8	0,18
	GL	28,415	48,75	36,4433 3	3238,622 7	3238,62 3	3,82725 4	0,051
	$\bar{Y}_{i..}$	27,23583 3	32,2916 7					
	AT B to A	19474,29 3	59210,4 9					
	MT B to A	3894,858 7	11842,1					
	F	4,602763 7	13,9944 4					
	P	<0,001	<0,001					
	MT γρ	846,2						
	KΠ (LSD)	15,2334	15,2334					
	t(0,05 BE=228)	1,656						

3.1.2.1. Συγκρίσεις μέσω της έντασης της χρώσης μέσα στα επίπεδα του παράγοντα C1-(παθογόνο)

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι η ένταση της χρώσης με τετραζόλιο των σπόρων των φυτών της τομάτας που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία παθογόνου

παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές οι οποίες μεταβάλλονται ανάλογα με το είδος του συμβιωτικού μικροοργανισμού (F= 4,6 df:5 και 228, P<0,001).

Επίσης όταν τα φυτά της τομάτας αναπτύσσονται παρουσία του παθογόνου, η επίδραση των μικροοργανισμών στην ένταση της χρώσης με τετραζόλιο των σπόρων της, είναι στατιστικά σημαντική (F= 13,99 df:5 και 228, P<0,001).

Η κρίσιμη περιοχή (ΚΠ) την οποία πρέπει να ξεπερνά η διαφορά δύο μέσων για να χαρακτηριστεί στατιστικά σημαντική δίνεται από τον παρακάτω τύπο:

$$LSD = t_{(0,05, BE_{n-1})} \times \sqrt{\frac{2 \times MT_{n-1}}{n}}, n=20$$

Πίνακας 3. 9 - Σύγκριση των μέσων της ζωτικότητας των σπόρων που προέρχονταν από φυτά που δεν εκτέθηκαν στην παρουσία του *Fusarium* sp. (στήλες 1, 2 και 3) και των σπόρων που προέρχονταν από φυτά που εκτέθηκαν στην παρουσία του *Fusarium* sp. (στήλες 4, 5 και 6)

	Ctr	LSD=15,23		Fus	LSD=15,23
RP	46,495	z	TrHdr	73,08	z
nul	40	zy	GL	48,75	y
GL	28,415	yx	RP	27,165	x
ML	22,5	xw	nul	22,835	xw
TrHdr	15,335	xw	ML	11,25	w
Bac	10,67	x	Bac	10,67	w

Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

3.1.2.2. Συγκρίσεις μέσων της έντασης της χρώσης μέσα στα επίπεδα του παράγοντα C2 (συμβιωτικός μικροοργανισμός)

Οι δοκιμασία του F για τις μεταχειρίσεις χωρίς συμβιωτικό μικροοργανισμό, όπως και οι μεταχειρίσεις με τους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς *Bacillus* και *Mili Lens*, έδειξαν ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην ένταση της χρώσης μεταξύ των σπόρων από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία παθογόνου και εκείνων που αναπτύχθηκαν παρουσία του *Fusarium*.

Από την άλλη μεριά φαίνεται ότι το παθογόνο επηρεάζει την ένταση της χρώσης των σπόρων με τετραζόλιο, σε σχέση με τα φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία παθογόνου, καθώς διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση στην ένταση της χρώσης των σπόρων

στα φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του *Trichoderma* όπως επίσης και του *Glomus*. Αντίθετα στην περίπτωση του RP παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση στην ένταση της χρώσης με τετραζόλιο.

Όλα τα παραπάνω παρουσιάζονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3. 10 - Επίδραση διαφόρων συμβιωτικών μικροοργανισμών στην ένταση της χρώσης με τετραζόλιο (εκπεφρασμένο σε ποσοστό %, ως μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα) των εμβρύων των σπόρων τομάτας Formula F1 μετά από τρία έτη αποθήκευσης. Η στήλη 1 αφορά φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του μύκητα *Fusarium* sp.

	1	Control	2	<i>Fusarium</i>
Απουσία συμβ. μικροοργανισμών	40±4,6	A zy	22,83±5,64	A xw
<i>Trichoderma harzianum</i>	15,33±4,9	B xw	73,08±6,5	A z
Robur Plus	46,49±7,3	A z	27,16±7,3	B x
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	10,67±5,8	A x	10,67±6,6	A w
Micosat-F WP Len	22,5±4	A xw	11,25±5,28	A w
<i>Glomus intraradices</i>	28,4±8	B yx	48,75±9,1	A y

Οι μέσοι στην ίδια γραμμή που συνοδεύονται με το ίδιο κεφαλαίο γράμμα του λατινικού αλφαβήτου δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Αντίστοιχα οι μέσοι στην ίδια στήλη που συνοδεύονται από το ίδιο πεζό γράμμα του λατινικού αλφαβήτου δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$).

3.1.3. Μεταβολή του ποσοστού βλαστικότητας σε σχέση με τον χρόνο (χρονική πορεία φύτρωσης)

Η μεταβολή της βλαστικότητας μιας σπορομερίδας σε σχέση με τον χρόνο κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού, ακολουθεί μια σιγμοειδή καμπύλη, της οποίας η μαθηματική έκφραση αποτελεί μια τροποποιημένη έκφραση της γενικής σιγμοειδούς συνάρτησης Boltzmann:

$$Y = A_{\text{bot}} + \frac{(A_{\text{top}} - A_{\text{bot}})}{1 + \exp\left(\frac{X_{50} - X}{d_x}\right)} \quad (1)$$

Όπου Y: η τιμή της εξαρτημένης μεταβλητής στον χρόνο X

A_{bot} : η ελάχιστη (αρχική) τιμή της εξαρτημένης μεταβλητής Y

A_{top} : η μέγιστη (τελική) τιμή της εξαρτημένης μεταβλητής Y

X_{50} : η τιμή του χρόνου (ανεξάρτητη μεταβλητή) όπου η εξαρτημένη μεταβλητή Y αυξάνεται κατά το 50% (1/2) της διαφοράς $A_{\text{top}} - A_{\text{bot}}$

d_x : η κλίση (slope) της καμπύλης, η οποία εκφράζει το πόσο απότομα αυξάνεται η εξαρτημένη μεταβλητή Y (μικρή τιμή της d_x σημαίνει ότι η Y αυξάνεται «απότομα» και λαμβάνει την μέγιστη τιμή της σε συντομότερο χρονικό διάστημα)

Στην περίπτωση της βλαστικότητας των σπόρων η αρχική τιμή της Y είναι 0 και συνεπώς η συνάρτηση (1) γίνεται:

$$Y = \frac{A_{top}}{1 + \exp\left(\frac{X_{50}-X}{d_x}\right)} \quad (2)$$

Όπου A_{top} είναι ο συνολικός αριθμός σπόρων που βλάστισαν και X_{50} ο χρόνος κατά τον οποίο βλαστάνει το 50% των σπόρων που είναι σε θέση να βλαστήσουν (πχ αν σε 300 σπόρους βλαστάνουν οι 200, X_{50} είναι ο χρόνος που βλαστάνουν οι 100 πρώτοι).

Αν διαιρέσουμε και τα δύο μέλη της σχέσης (2) με τον συνολικό αριθμό σπόρων που υποβάλουμε σε διαδικασία προβλάστησης και πολλαπλασιάσουμε με το 100, τότε στην σχέση (2) η Y θα αποδίδει το ποσοστό της % βλαστικότητας για δεδομένη τιμή του χρόνου X και η τιμή A_{top} την τελική % βλαστικότητα της σπορομερίδας.

3.1.3.1. Ανάλυση της χρονικής πορείας φύτευσης σπόρων από φυτά που αναπτύχθηκαν απουσία του μύκητα *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι εξισώσεις της χρονικής μεταβολής της βλαστικότητας των σπόρων της τομάτας. Τα φυτά αναπτύχθηκαν παρουσία ή όχι (μάρτυρες) διαφόρων συμβιωτικών μικροοργανισμών. Επίσης οι συγκεκριμένες συναρτήσεις και οι παράμετροι βλαστικότητας αφορούν φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του μύκητα *Fusarium sp.*

Πίνακας 3. 11 - Επίδραση των συμβιωτικών μικροοργανισμών στην χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων της τομάτας που προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του μύκητα *Fusarium sp.*

	Control (χωρίς <i>Fusarium</i>)	A_{top}	X_{50}	d_x
Απουσία συμβ. μικροοργανισμών	$Y = \frac{40}{1 + \exp\left(\frac{12,4-X}{2,7}\right)}$	40	12,4	2,7
<i>Trichoderma harzianum</i>	$Y = \frac{57}{1 + \exp\left(\frac{9,3-X}{1,9}\right)}$	57	9,3	1,9

Robur Plus	$Y = \frac{61,9}{1 + \exp\left(\frac{10,7-X}{2,3}\right)}$	61,9	10,7	2,3
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	$Y = \frac{46,6}{1 + \exp\left(\frac{7,9-X}{2,3}\right)}$	46,6	7,9	2,3
Micosat-F WP Len	$Y = \frac{42,5}{1 + \exp\left(\frac{9,8-X}{3}\right)}$	42,5	9,8	3
<i>Glomus intraradices</i>	$Y = \frac{55}{1 + \exp\left(\frac{8,7-X}{2,3}\right)}$	55	8,7	2,3

Από τις τιμές των παραμέτρων φύτευσης (X_{50} και dx) μπορούμε να διαπιστώσουμε ότι:

1. Ανεξάρτητα από τις τιμές της τελικής βλαστικότητας A_{top} , (η στατιστική ανάλυση της οποίας αναπτύχθηκε στα προηγούμενα), φαίνεται ότι παρουσία των συμβιωτικών μικροοργανισμών, η βλάστηση των σπόρων της τομάτας γίνεται νωρίτερα, καθώς σε κάθε περίπτωση οι τιμές της X_{50} ήταν αξιοσημείωτα μικρότερες της τιμής 12,4 που προσδιορίστηκε για τα φυτά μάρτυρες.

2. Από τις πέντε μεταχειρίσεις συμβιωτικών μικροοργανισμών η μεταχείριση με *B. amyloliquefaciens*, έδωσε σπόρους οι οποίοι παρουσίασαν την πρωιμότερη βλάστηση ($X_{50}=7,9$).

3. Επιπλέον στην περίπτωση του μύκητα *Trichoderma harzianum*, η διαδικασία φύτευσης των σπόρων όχι μόνο γίνεται νωρίτερα από τα φυτά μάρτυρες, αλλά ολοκληρώνεται και σε συντομότερο χρονικό διάστημα, καθώς σε αυτή την μεταχείριση η καμπύλη της χρονικής πορείας φύτευσης παρουσίασε την μικρότερη κλίση ($dx=1,9$).

3.1.3.2. Ανάλυση της χρονικής πορείας φύτευσης σπόρων από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του μύκητα *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι εξισώσεις και οι παράμετροι της χρονικής μεταβολής της βλαστικότητας των σπόρων της τομάτας. Τα φυτά αναπτύχθηκαν παρουσία ή όχι (μάρτυρες) διαφόρων συμβιωτικών μικροοργανισμών, αλλά και με την ταυτόχρονη παρουσία του μύκητα *Fusarium*.

Πίνακας 3. 12 - Επίδραση των συμβιωτικών μικροοργανισμών στην χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων της τομάτας που προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του μύκητα *Fusarium* sp.

	Παρουσία <i>Fusarium</i>	A _{top}	X ₅₀	dx
Απουσία συμβ. μικροοργανισμών	$Y = \frac{42,3}{1 + \exp\left(\frac{10,7-X}{2,3}\right)}$	42,3	10,7	2,3
<i>Trichoderma harzianum</i>	$Y = \frac{55,3}{1 + \exp\left(\frac{10,5-X}{1,8}\right)}$	55,3	10,5	1,8
Robur Plus	$Y = \frac{36,5}{1 + \exp\left(\frac{9-X}{2,3}\right)}$	36,5	9	2,3
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	$Y = \frac{61,6}{1 + \exp\left(\frac{7,7-X}{2}\right)}$	61,6	7,7	2
Micosat-F WP Len	$Y = \frac{47,6}{1 + \exp\left(\frac{10-X}{2,2}\right)}$	47,6	10	2,2
<i>Glomus intraradices</i>	$Y = \frac{23}{1 + \exp\left(\frac{8,2-X}{1,3}\right)}$	23	8,2	1,3

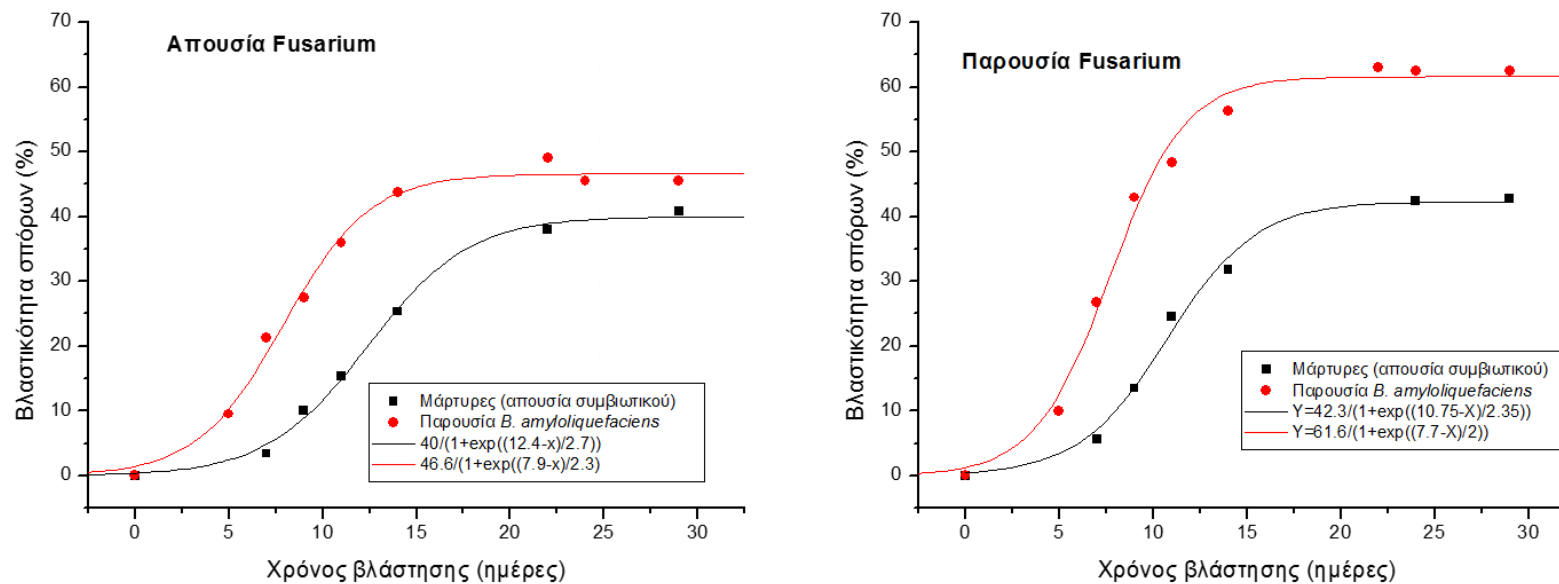
Από τις τιμές των παραμέτρων φύτευσης (X₅₀ και dx) μπορούμε να διαπιστώσουμε ότι:

1. Οι σπόροι από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του μύκητα *Fusarium* sp. και απουσία κάποιου άλλου συμβιωτικού μικροοργανισμού, παρουσίασαν ταχύτερη βλάστηση σε σχέση με τους σπόρους από φυτά που αναπτύχθηκαν απουσία του μύκητα *Fusarium* sp. και απουσία κάποιου άλλου συμβιωτικού μικροοργανισμού (X₅₀:10,7<12,4).

2. Οι σπόροι που προέρχονταν από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του *Bacillus amyloliquefaciens*, παρουσίασαν και στην περίπτωση της ταυτόχρονης παρουσίας του *Fusarium* sp. την πρωιμότερη βλάστηση (X₅₀=7,7).

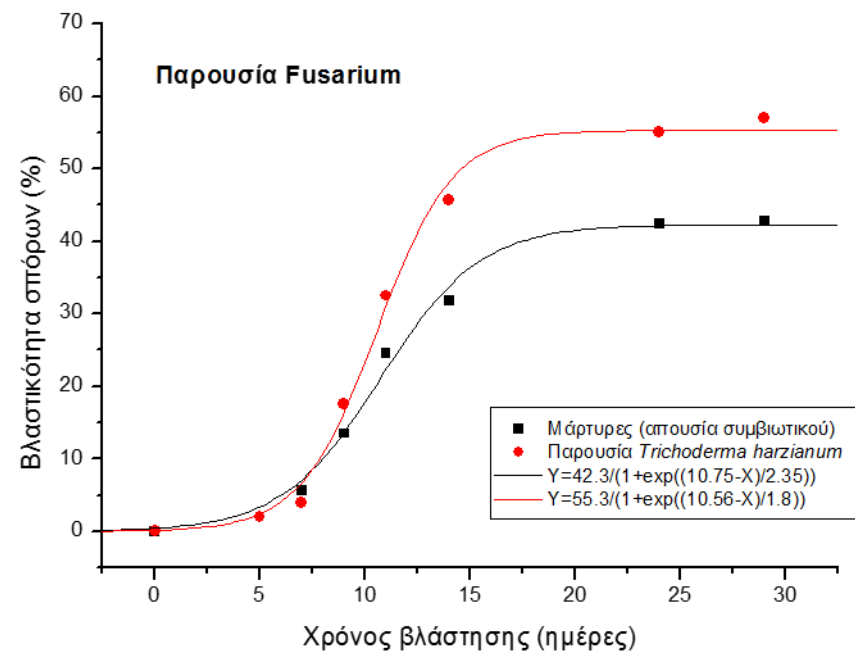
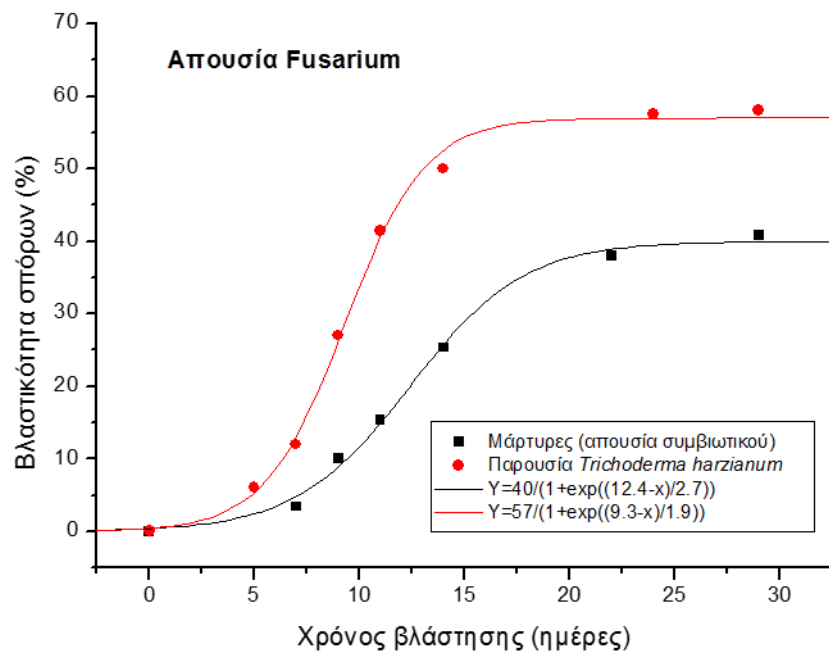
3. Όπως και στην περίπτωση των φυτών που αναπτύχθηκαν απουσία του μύκητα *Fusarium*, έτσι και στην περίπτωση των φυτών που αναπτύχθηκαν παρουσία του *Fusarium*, οι σπόροι από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του *Trichoderma harzianum* είχαν μια χρονική πορεία φύτευσης με αντίστοιχα μικρή κλίση (dx=1,9), κάτι που σημαίνει πως η διαδικασία φυτρώματος ολοκληρώνεται σε πιο σύντομο χρονικό διάστημα σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις συμβιωτικών μικροοργανισμών. Μόνο στη περίπτωση του *Glomus intraradices* βρέθηκε μικρότερος συντελεστής απόσβεσης, αλλά αυτό πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι στην μεταχείριση αυτή η βλαστικότητα των σπόρων ήταν πάρα πολύ χαμηλή (η μισή σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις).

Bacillus amyloliquefaciens



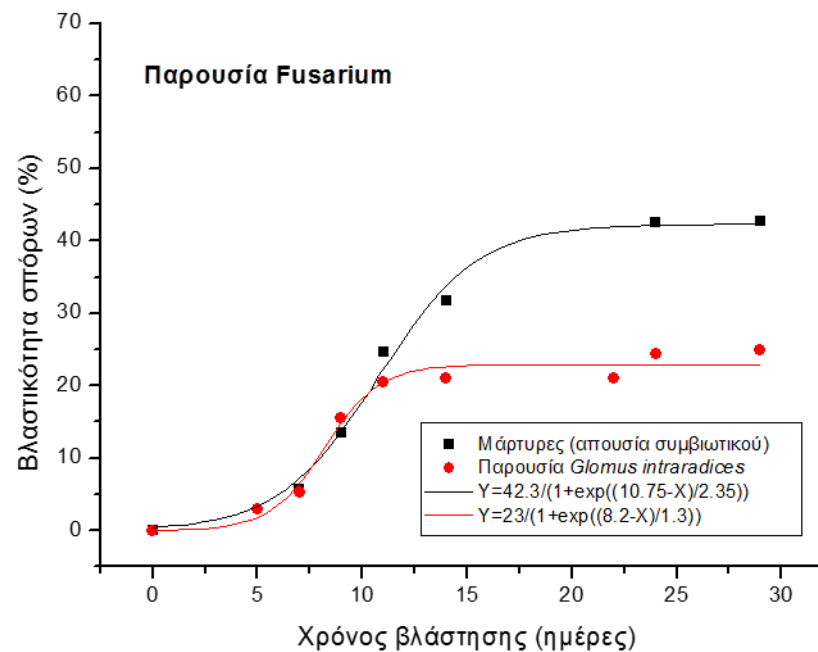
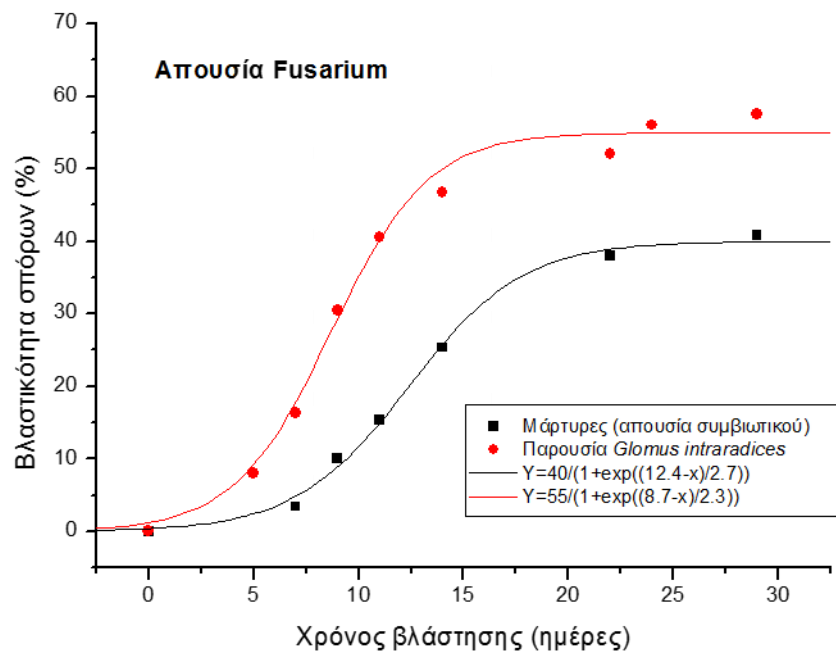
Διάγραμμα 3. 1 - Χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων από φυτά τομάτας Formula F1 που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών (μάρτυρες) και από φυτά που εμβολιάστηκαν με τον συμβιωτικό μικροοργανισμό *Bacillus amyloliquefaciens*. Στο αριστερό σκέλος της εικόνας οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του παθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. Στο δεξιό σκέλος οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του παθογόνου μύκητα

Trichoderma harzianum



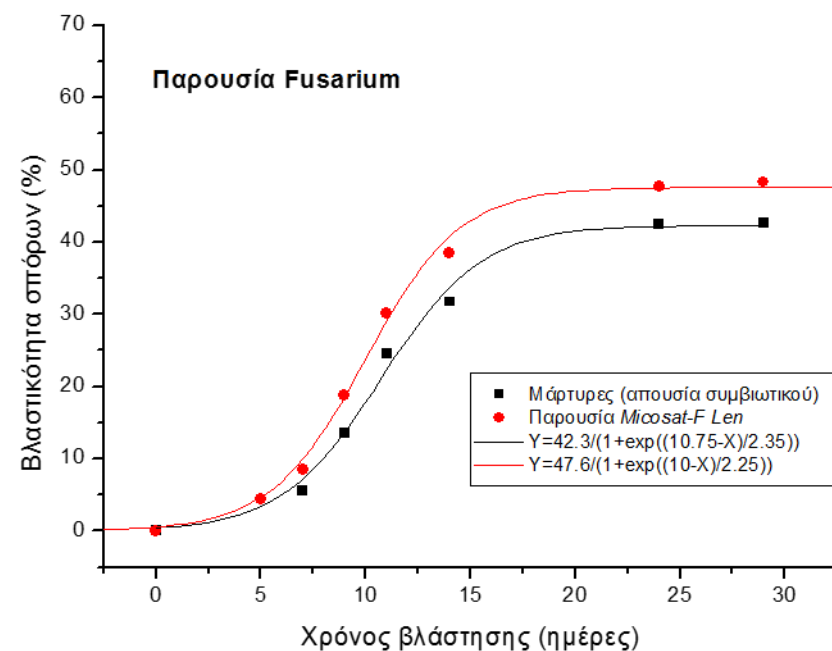
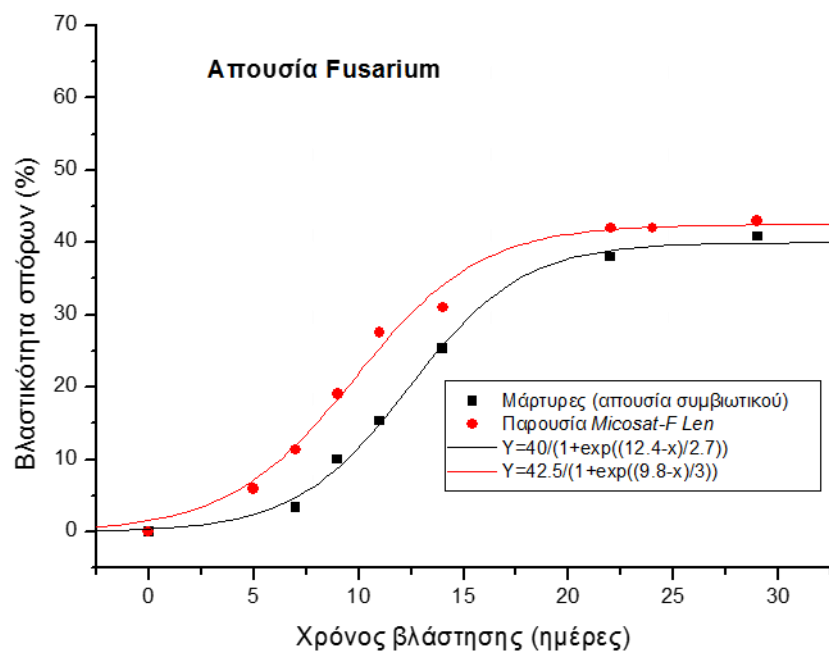
Διάγραμμα 3. 2 - Χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων από φυτά τομάτας Formula F1 που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών (μάρτυρες) και από φυτά που εμβολιάστηκαν με τον συμβιωτικό μικροοργανισμό *Trichoderma harzianum*. Στο αριστερό σκέλος της εικόνας οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του παθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. Στο δεξιό σκέλος οι σπόροι προέρχονταν από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του παθογόνου μύκητα.

Glomus intraradices



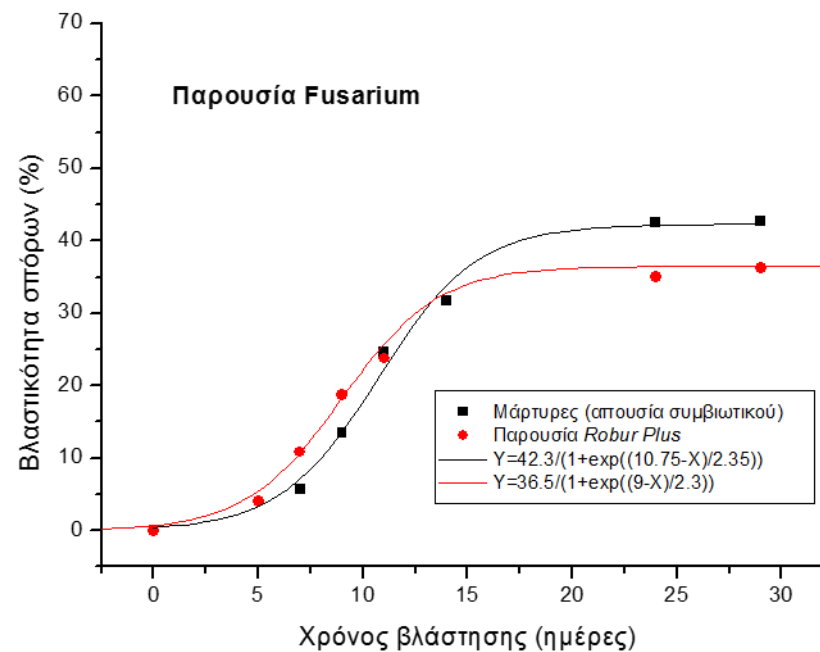
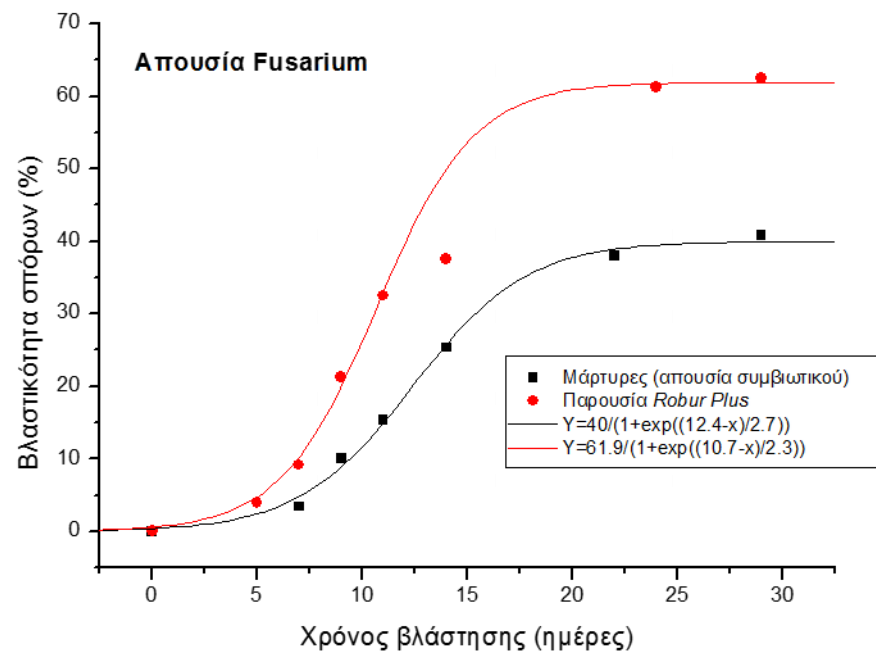
Διάγραμμα 3. 3 - Χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων από φυτά τομάτας Formula F1 που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών (μάρτυρες) και από φυτά που εμβολιάστηκαν με τον συμβιωτικό μικροοργανισμό *Glomus intraradices*. Στο αριστερό σκέλος της εικόνας οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του παθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. Στο δεξιό σκέλος οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του παθογόνου μύκητα.

Micosat-F WP Len



Διάγραμμα 3. 4 - Χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων από φυτά τομάτας Formula F1 που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών (μάρτυρες) και από φυτά που εμβολιάστηκαν με το μείγμα συμβιωτικών μικροοργανισμών *Micosat-F WP Len*. Στο αριστερό σκέλος της εικόνας οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του παθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. Στο δεξιό σκέλος οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του παθογόνου μύκητα.

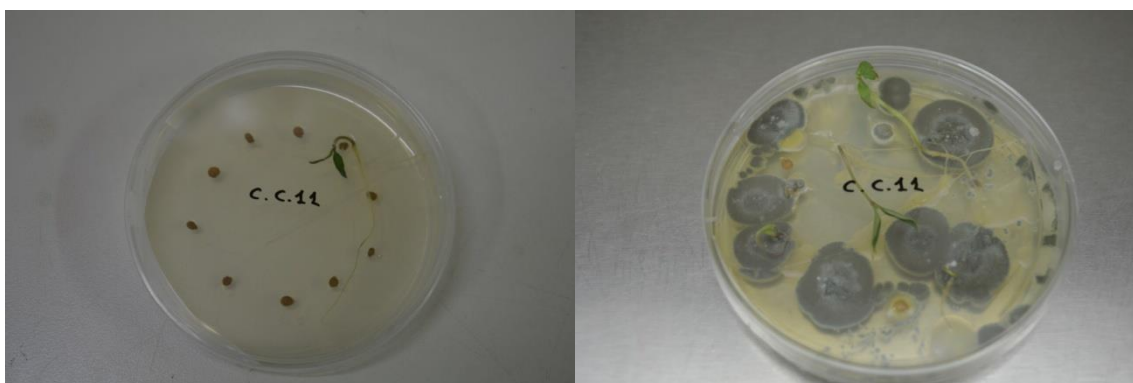
RoburPlus



Διάγραμμα 3. 5 - Χρονική πορεία φύτευσης των σπόρων από φυτά τομάτας Formula F1 που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών (μάρτυρες) και από φυτά που εμβολιάστηκαν με το μείγμα συμβιωτικών μικροοργανισμών Robur Plus. Στο αριστερό σκέλος της εικόνας οι σπόροι προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς την παρουσία του παθογόνου μύκητα *Fusarium* sp. Στο δεξιό σκέλος οι σπόροι προέρχονταν από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του παθογόνου μύκητα

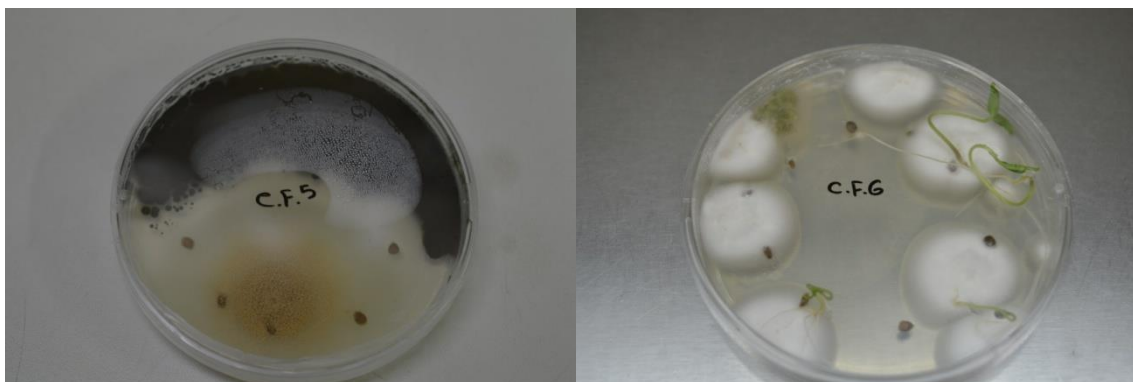
3.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΗΣ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ

Στην εργασία πραγματοποιήθηκε έλεγχος της υγείας με δοκιμή agar plate test. Στις εικόνες 3.24 έως 3.50 φαίνεται η βλάστηση των σπόρων προερχόμενων από φυτά τομάτας όλων των μεταχειρίσεων σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20°C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου (NUV ακτινοβολία και σκοτάδι). Επίσης, στις ίδιες εικόνες φαίνονται οι αποικίες των μυκήτων που αναπτύχθηκαν μέχρι την ολοκλήρωση του ελέγχου. Οι εικόνες είναι επιλεγμένες και αφορούν ορισμένα από τα δείγματα των παραγόμενων σπόρων όλων των μεταχειρίσεων. Η ανάπτυξη των αποικιών δεν συμπίπτει με την τυπική ανάπτυξη αποικιών του *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.



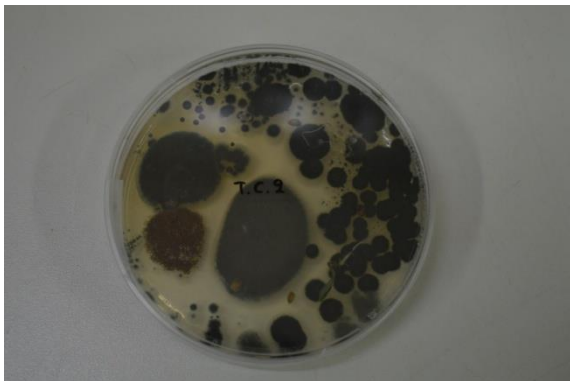
Εικόνα 3. 24- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης C.C.11 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 5 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος

Εικόνα 3. 25- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης C.C.11 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 15 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος

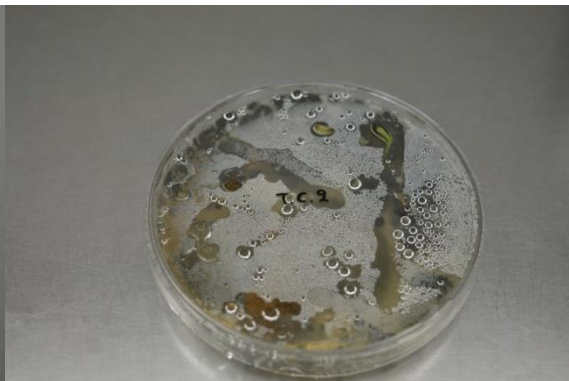


Εικόνα 3. 26- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης C.F.5 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 3 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος

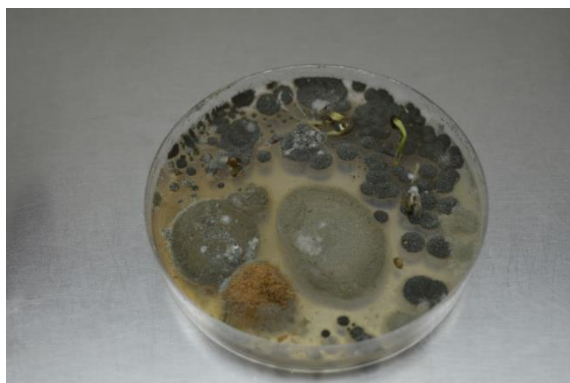
Εικόνα 3. 27- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης C.F.6 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



Εικόνα 3. 28- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.C.2 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



Εικόνα 3. 29- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.C.2 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 15 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



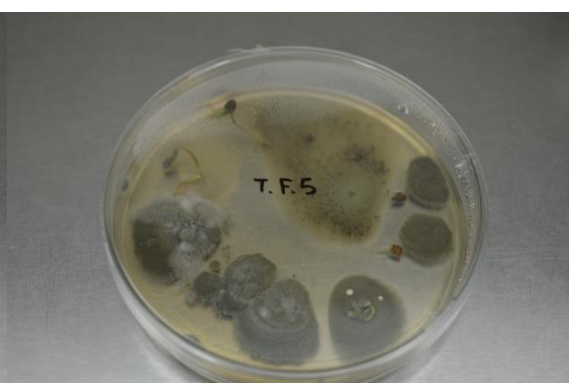
Εικόνα 3. 30- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.C.2 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 15 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



Εικόνα 3. 31- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.C.5 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



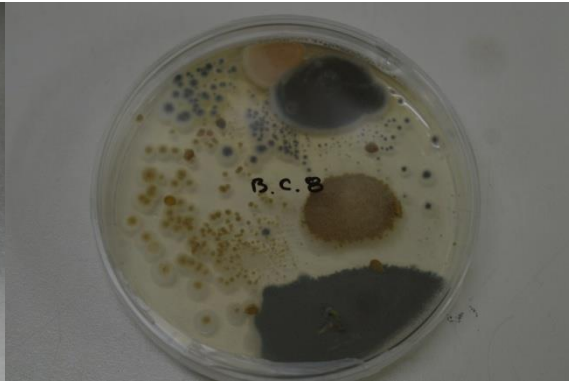
Εικόνα 3. 32- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.C.5 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 15 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



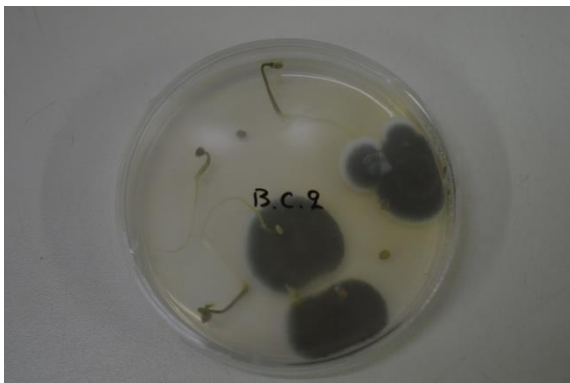
Εικόνα 3. 33- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.F.5 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 7 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



Εικόνα 3. 34- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης T.F.5 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 7 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



Εικόνα 3. 35- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης B.C.8 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 3 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



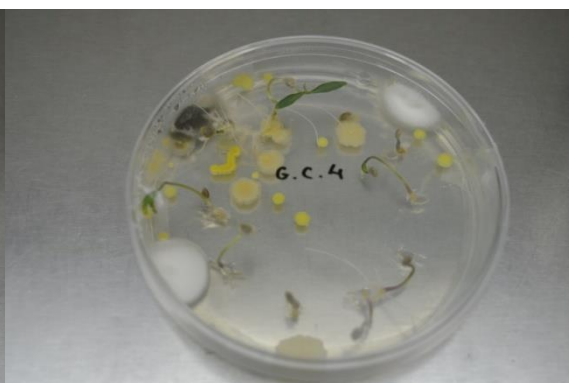
Εικόνα 3. 36- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης B.C.2 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 7 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



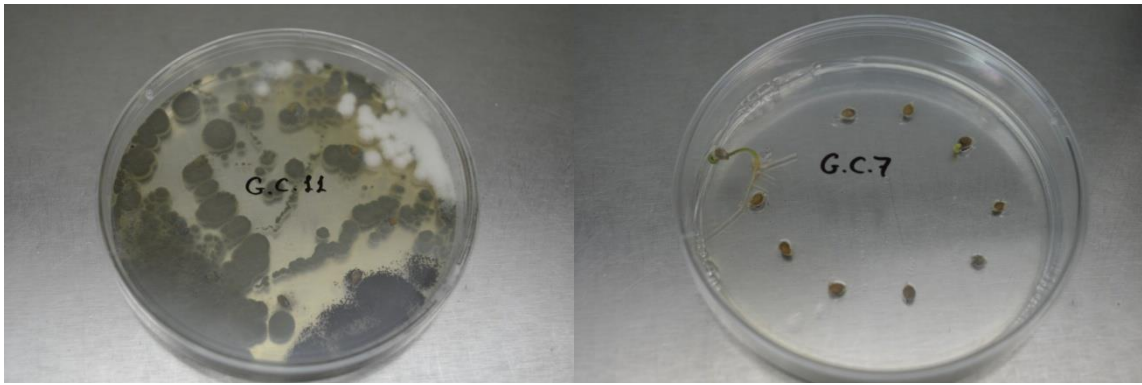
Εικόνα 3. 37- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης B.F.5 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



Εικόνα 3. 38- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης G.C.3 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος

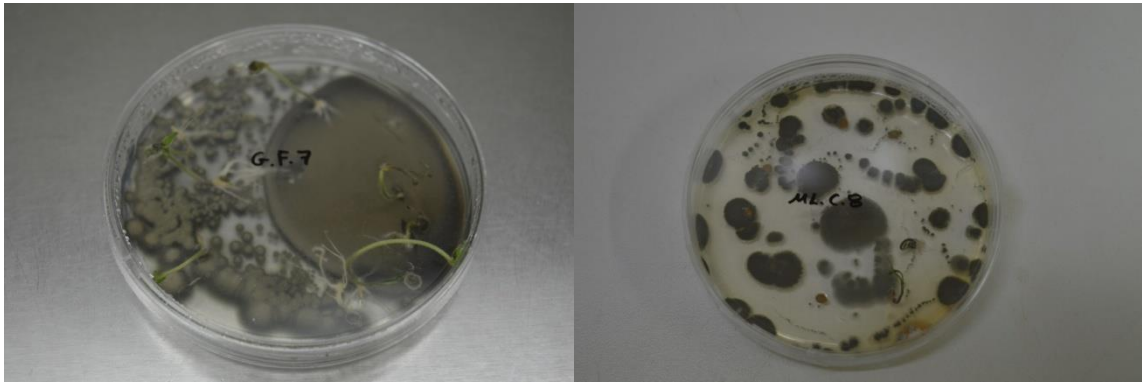


Εικόνα 3. 39- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης G.C.4 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



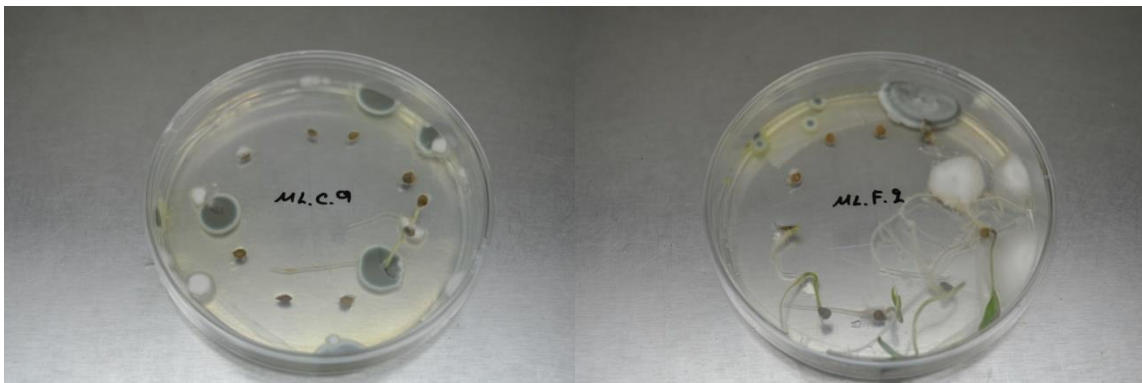
Εικόνα 3. 40- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης G.C.11 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 7 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος

Εικόνα 3. 41- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης G.C.7 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 3 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



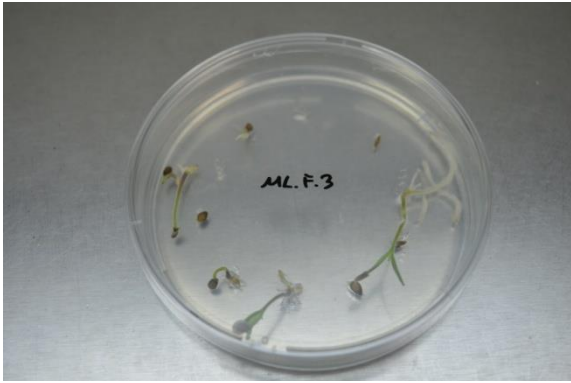
Εικόνα 3. 42- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης G.F.7 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 15 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος

Εικόνα 3. 43- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης M.L.C.8 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 5 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος

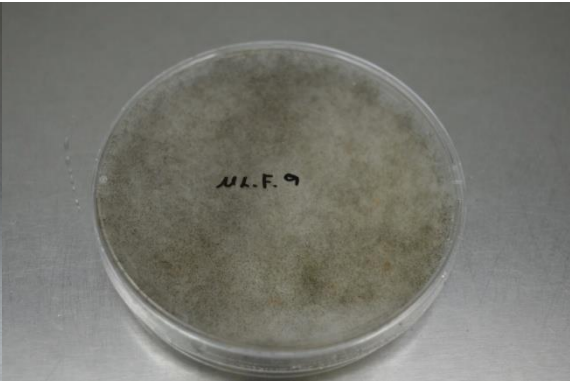


Εικόνα 3. 44- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης M.L.C.9 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 3 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος

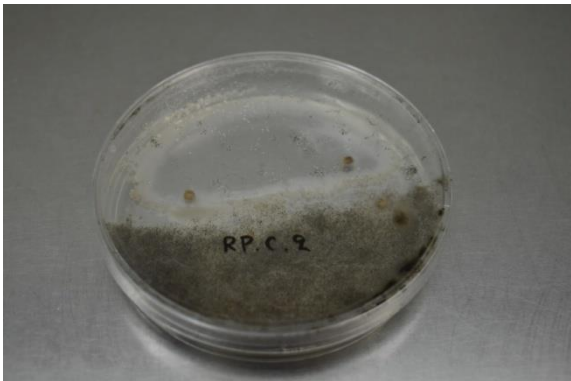
Εικόνα 3. 45- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης M.L.F.2 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



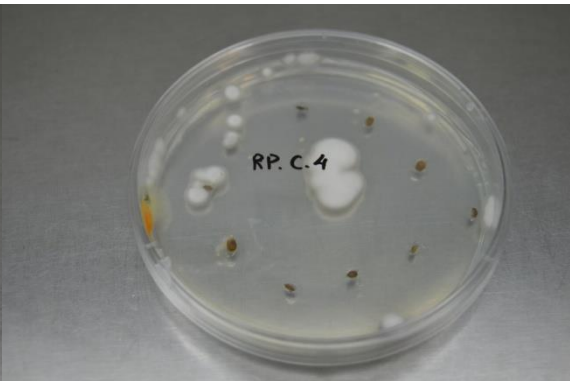
Εικόνα 3. 46- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης ML.F.3 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



Εικόνα 3. 47- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης ML.F.9 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



Εικόνα 3. 2 - Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης RP.C.2 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 5 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



Εικόνα 3. 49- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης RP.C.4 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20 °C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 3 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος



Εικόνα 3. 50- Βλάστηση σπόρων μεταχείρισης RP.F.3 σε υπόστρωμα PDA και σε θερμοκρασία 20°C με εναλλασσόμενο κύκλο φωτοπεριόδου. 10 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

4.1 Βλάστηση και ζωτικότητα σπόρων

4.1.1. Χαρακτηριστικά βλάστησης σπόρων τομάτας παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών και απουσία παθογόνου μύκητα

Η απόδοση ενός δεδομένου αρτιβλάστου είναι το αποτέλεσμα του γονότυπου του, του περιβάλλοντος στο οποίο αναπτύσσεται καθώς και του περιβάλλοντος στο οποίο αναπτύχθηκε το φυτό από το οποίο προήλθε (maternaleffects). Οι επιδράσεις του μητρικού φυτού μπορούν γενικά να διαιρεθούν σε γενετικές και περιβαλλοντικές (ανασκόπηση στο RoachandWulff, 1987). Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η φωτοπερίοδος, το διοξείδιο του άνθρακα, η ποιότητα του φωτός, η διαθεσιμότητα ύδατος ή τα επίπεδα θρεπτικών συστατικών στα οποία εκτίθενται τα μητρικά φυτά μπορούν να επηρεάσουν τη βλάστηση, την επιβίωση και την απόδοση των παραγόμενων σπόρων (ανασκόπηση στο Baskin και Baskin, 1998) (Varga , 2010).

Στην παρούσα εργασία οι σπόροι των οποίων τα ποιοτικά χαρακτηριστικά ελέγχθηκαν, προήλθαν από διαφορετικές μεταχειρίσεις των φυτών που τους παρήγαγαν, κατά τις οποίες έγινε εφαρμογή συμβιωτικών μικροοργανισμών, δηλ. ενδομυκορριζικών μυκήτων (*G. intraradices*), ανταγωνιστικών μυκήτων (*T. harzianum*), ριζοβακτηρίων (*B. amyloliquefaciens*) καθώς και μίγματα μικροοργανισμών (Microsat FWP Len και Roburplus) παρουσία ή απουσία του φυτοπαθογόνου μύκητα FOL.

Αρχικά ελέγχθηκε η βλαστικότητα των σπόρων παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών και απουσία του παθογόνου μύκητα FOL. Η βλαστικότητα σε αυτή την περίπτωση βρέθηκε ότι παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές (Πίνακας 3.2), οι οποίες μεταβάλλονται ανάλογα με το είδος του συμβιωτικού μικροοργανισμού.

Συμπεραίνουμε επομένως ότι υπάρχει σημαντική επίδραση των μικροοργανισμών στην βλαστικότητα των σπόρων της τομάτας.

Γενικά μπορούμε να συμπεράνουμε ότι ορισμένοι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί έχουν θετική επίδραση στην διατήρηση της βλαστικότητας των σπόρων της τομάτας καθώς φαίνεται ότι οι σπόροι των φυτών που ανέπτυξαν συμβιωτικές σχέσεις είχαν υψηλότερα

ποσοστά βλαστικότητας σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες. Όμως ο «βαθμός» της επίδρασης αυτής, διαφέρει μεταξύ του είδους του συμβιωτικού μικροοργανισμού (Πίνακας 3.3) .

Ειδικότερα, σπόροι που προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν με τους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς του Robur-Plus, το *Trichoderma* και το *Glomus*, παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερα ποσοστά % βλαστικότητας σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες, ενώ τα φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία *Bacillus* και των μικροοργανισμών του Micosat-F WP Len, ελαφρά μόνο αυξημένα (και όχι στατιστικά σημαντικά) ποσοστά σε σχέση με την βλαστικότητα των σπόρων από φυτά μάρτυρες.

Από τα αποτελέσματά μας φαίνεται επίσης, ότι παρουσία των συμβιωτικών μικροοργανισμών, η βλάστηση των σπόρων της τομάτας γίνεται νωρίτερα (Πίνακας 3.11, Διαγράμματα 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5).

Από τις πέντε μεταχειρίσεις συμβιωτικών μικροοργανισμών η μεταχείριση με *B.amyloliquefaciens*, έδωσε σπόρους οι οποίοι παρουσίασαν την πρωιμότερη βλάστηση.

Επιπλέον στην περίπτωση του μύκητα *Trichoderma harzianum*, η διαδικασία φύτευσης των σπόρων όχι μόνο γίνεται νωρίτερα από τα φυτά μάρτυρες, αλλά ολοκληρώνεται και σε συντομότερο χρονικό διάστημα .

Συμπεραίνεται επομένως ότι η παρουσία των συμβιωτικών μικροοργανισμών κατά την καλλιέργεια των φυτών τομάτας δρα ευεργετικά στα χαρακτηριστικά της βλάστησης των παραγόμενων σπόρων.

Οι εργασίες που αφορούν την επίδραση των συμβιωτικών μικροοργανισμών στην παραγωγή σπόρων και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων σπόρων είναι σχετικά περιορισμένες. Σε πρόσφατη εργασία του Bhardwaj (2016) μελετήθηκε η επίδραση των συμβιωτικών μυκήτων AM στην σποροπαραγωγή τομάτας και αναφέρεται ότι είναι η πρώτη προσπάθεια διερεύνησης της βλαστικότητας του σπόρου που παράγουν φυτά εμβολιασμένα με AM συμβιωτικό μύκητα. Βρέθηκε ότι οι συμβιωτικοί μύκητες AM σε συνδυασμό με την συνιστώμενη δόση φωσφόρου αυξάνουν σημαντικά το % ποσοστό βλαστικότητας και τη μέγιστη ταχύτητα βλάστησης σε σχέση με το μάρτυρα (μη εμβολιασμένα φυτά).

Επίσης, σε εργασία των Srivastava & Mukerjick (1995) μελετήθηκε εκτός άλλων η εκατοστιαία βλάστηση σπόρων (της F1 γενιάς) που προέκυψαν κατά τον εμβολιασμό φυτών του είδους *Medicago sativa* με είδη του γένους *Glomus* και βρέθηκε ότι ήταν υψηλότερη στους σπόρους εκείνους που προερχόταν από γονείς εμβολιασμένους ενώ οι

σπόροι μη εμβολιασμένων γονικών φυτών έδειξαν τη χαμηλότερη βλάστηση. Η παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών όπως των Arbuscular mycorrhiza (AM) μυκήτων φαίνεται ότι εκτός των άλλων συνδέεται με τα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά των φυτών (γύρη και σπόροι) κι αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την επίδρασή τους και στην επόμενη γενιά. Στην τομάτα συγκεκριμένα αναφέρεται ότι ανάλογα με τον γονότυπο της, η επίδραση των συμβιωτικών AM στα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά της έχει παρατηρηθεί ότι άλλες φορές είναι θετική και άλλες φορές ουδέτερη (Bryla & Koide, 1990, Poulton κ.ά., 2001). Ο Varga (2010) σε εργασία του ισχυρίζεται ότι οι συμβιωτικοί μύκητες AM έχουν αναφερθεί ότι αυξάνουν τη μάζα και την παροχή σπόρων και ότι αυτές οι αποκρίσεις μεταφράζονται σε καλύτερη ανάπτυξη και επιβίωση των φυτών που προκύπτουν. Η καλύτερη απόδοση των απογόνων πιθανόν σχετίζεται με τη βελτιωμένη συγκέντρωση P στον σπόρο (Lewis και Koide, 1990, Heppell κ.ά., 1998), παρότι έχουν αναφερθεί εγγενείς διαφορές στην ανάπτυξη που δεν σχετίζονται με την πρόσληψη θρεπτικών ουσιών (Koide and Lu, 1995).

4.1.2. Ζωτικότητα σπόρων τομάτας παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών και απουσία παθογόνου μύκητα

Για τον έλεγχο της βιωσιμότητας του σπόρου χρησιμοποιείται το τεστ τετραζολίου (TZ τεστ), το οποίο δίνει αποτελέσματα σχετικά με το εάν ένας σπόρος είναι ζωντανός και κατ' επέκταση εάν ο σπόρος αυτός είναι ικανός να βλαστήσει. Αναγνωρίζεται ευρέως ως ένα ακριβές μέσο για την εκτίμηση της βιωσιμότητας των σπόρων. Οι σπόροι της ντομάτας καταμετρούνται ως ζωντανοί όταν περισσότερο από τα 2/3 των κοτυληδόνων έχουν χρωματιστεί, δεν υπάρχουν σε αυτές μεγάλες περιοχές νεκρωμένου ιστού και δεν έχει ζημιωθεί ο ιστός του ριζιδίου. Ακόμα και αν η κορυφή του ριζιδίου δεν χρωματιστεί ο σπόρος θεωρείται ζωντανός εφόσον οι κοτυληδόνες έχουν χρωματιστεί ικανοποιητικά. Εξάλλου, το τεστ τετραζολίου χρησιμοποιείται και για τον έλεγχο της ζωτικότητας των σπόρων όπου λαμβάνεται υπόψη η ένταση της χρώσης και οι σπόροι βαθμολογούνται και κατατάσσονται σε 7 διαφορετικές κατηγορίες έντασης χρώσης, από καθόλου έως καθολική. **Ζωτικότητα σπόρων** είναι το μέγεθος που προσδιορίζει το επίπεδο της δραστηριότητας ενός σπόρου ή μιας σπορομερίδας κατά την φύτευση και την ανάπτυξη του αρχέφυτρου. Η ζωτικότητα δηλαδή, είναι μέγεθος που εξετάζει το μεταβολικό και ενζυμικό δυναμικό του σπόρου απαραίτητο για την πραγματοποίηση των αντιδράσεων της φύτευσης. Σπόρος με υψηλό επίπεδο ζωτικότητας, είναι σπόρος που φυτρώνει και

εμφανίζει αρχέφυτρο ακόμα και κάτω από δύσκολες συνθήκες πεδίου. Εξάλλου, σπορομερίδα με υψηλή ζωτικότητα αποθηκεύεται, για ικανοποιητικό χρονικό διάστημα και με μικρή πτώση της αρχικής της βλαστικότητας (Δούμα, 2012).

Στην εργασία ελέγχθηκε η ένταση της χρώσης με τετραζόλιο των σπόρων που προήλθαν από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών και απουσία του παθογόνου μύκητα FOL, προκειμένου να διαπιστωθεί η ζωτικότητα τους και αν αυτή επηρεάζεται από την παρουσία των συμβιωτικών οργανισμών.

Από τα αποτελέσματα είναι φανερό ότι η ένταση της χρώσης παρουσιάζει σημαντικές διαφορές οι οποίες μεταβάλλονται ανάλογα με το είδος του συμβιωτικού μικροοργανισμού (Πίνακες 3.8 και 3.9). Μια διαπίστωση που δεν ήταν αναμενόμενη ήταν η αρνητική επίδραση των συμβιωτικών μικροοργανισμών στην ένταση της χρώσης με τετραζόλιο των παραγόμενων σπόρων. Γενικά, παρουσία ορισμένων συμβιωτικών (*Trichoderma* κλπ) **μειώνεται** σημαντικά η ένταση της χρώσης σε σχέση με το μάρτυρα (Πίνακες 3.8 και 3.9). Συμπεραίνεται επομένως ότι δεν υπάρχει πλήρης **αντιστοιχία** σε όλες τις περιπτώσεις συμβιωτικών μικροοργανισμών μεταξύ των αποτελεσμάτων βλαστικότητας των σπόρων και του τεστ τετραζολίου. Προφανώς, αν και οι σπόροι που παρήχθησαν παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών είχαν βελτιωμένα χαρακτηριστικά βλαστικότητας σε σχέση με το μάρτυρα, η ζωτικότητά τους δεν είχε την ίδια καλή συμπεριφορά.

4.1.3. Χαρακτηριστικά βλάστησης σπόρων τομάτας παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών και παρουσία παθογόνου μύκητα

Όπως και στην περίπτωση καλλιέργειας των φυτών απουσία παθογόνου, όταν τα φυτά της τομάτας αναπτύσσονται παρουσία του παθογόνου, η επίδραση των μικροοργανισμών στην βλαστικότητα των σπόρων της είναι σημαντική (Πίνακας 3.2).

Παρουσία του παθογόνου μύκητα, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι ορισμένοι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί έχουν θετική επίδραση στην διατήρηση της βλαστικότητας των παραγόμενων σπόρων της τομάτας καθώς φαίνεται ότι τα φυτά που ανέπτυξαν συμβιωτικές σχέσεις είχαν υψηλότερα ποσοστά βλαστικότητας σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες. Οι σπόροι που προέρχονταν από φυτά τομάτας παρουσία των μικροοργανισμών *Bacillus* και *Trichoderma*, παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά βλαστικότητας σε σχέση με τα φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς κάποια συμβιωτική σχέση. Επίσης, μικρή αύξηση στην βλαστικότητα των σπόρων τους παρουσίασαν τα φυτά που αναπτύχθηκαν

παρουσία των μικροοργανισμών του Micosat-F WP Len, ενώ παρουσία του Robur-Plus δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην βλαστικότητα των σπόρων σε σχέση με τα φυτά που αναπτύχθηκαν χωρίς κάποια συμβιωτική σχέση. Η μοναδική περίπτωση όπου βρέθηκαν μικρότερα ποσοστά βλαστικότητας είναι στην περίπτωση του συμβιωτικού μικροοργανισμού *Glomus* (Πίνακες 3.4 και 3.5).

Από το πείραμά μας φαίνεται επίσης, ότι παρουσία των συμβιωτικών μικροοργανισμών, η βλάστηση των παραγόμενων σπόρων της τομάτας γίνεται νωρίτερα (Πίνακας 3.12, Διαγράμματα 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5).

Όπως και στην περίπτωση απουσίας παθογόνου μύκητα, όταν τα φυτά της τομάτας επιμολύνθηκαν με *Fusarium* sp. και αναπτύχθηκαν παρουσία του *Bacillus amyloliquefaciens*, παρουσίασαν την πρωιμότερη βλάστηση.

Επίσης, όπως και στην περίπτωση των φυτών που αναπτύχθηκαν απουσία του παθογόνου, έτσι και στην περίπτωση των φυτών που αναπτύχθηκαν παρουσία του, οι σπόροι από φυτά στα οποία έγινε εφαρμογή του *Trichoderma harzianum* είχαν μια χρονική πορεία φύτευσης με αντίστοιχα μικρή κλίση, κάτι που σημαίνει πως η διαδικασία φυτρώματος ολοκληρώνεται σε πιο σύντομο χρονικό διάστημα σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις συμβιωτικών μικροοργανισμών. Αξιοσημείωτο είναι ότι στη περίπτωση του *Glomus intraradices* βρέθηκε η μικρότερη σταθερά ρυθμού βλάστησης (dx) αλλά αυτό πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι στην μεταχείριση αυτή η βλαστικότητα των σπόρων ήταν πάρα πολύ χαμηλή (η μισή σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις).

Γενικά μπορούμε να πούμε ότι και στην περίπτωση επιμόλυνσης των φυτών με τον παθογόνο μύκητα, η παρουσία των συμβιωτικών μικροοργανισμών κατά την καλλιέργεια των φυτών τομάτας δρα ευεργετικά στα χαρακτηριστικά της βλάστησης των παραγόμενων σπόρων.

4.1.4. Ζωτικότητα σπόρων τομάτας παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών και παρουσία παθογόνου μύκητα

Όταν τα φυτά της τομάτας αναπτύσσονται παρουσία του παθογόνου, η επίδραση των μικροοργανισμών στην ένταση της χρώσης με τετραζόλιο των σπόρων της, είναι σημαντική (Πίνακας 3.8). Έτσι, διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση στην ένταση της χρώσης των σπόρων στα φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του *Trichoderma* όπως επίσης και του *Glomus* σε σχέση με τα εμβολιασμένα με το παθογόνο φυτά του μάρτυρα. Αντίθετα, στην

περίπτωση του *Bacillus* παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση στην ένταση της χρώσης με τετραζόλιο (Πίνακας 3.9).

Συμπεραίνεται επομένως ότι και παρουσία του παθογόνου μύκητα δεν υπάρχει πλήρης **αντιστοιχία** σε όλες τις περιπτώσεις συμβιωτικών μικροοργανισμών μεταξύ των αποτελεσμάτων βλαστικότητας των σπόρων και του τεστ τετραζολίου.

4.1.5. Αλληλεπίδραση παθογόνου και συμβιωτικών μικροοργανισμών στα χαρακτηριστικά της βλάστησης των σπόρων τομάτας

Αυτό που προκύπτει από τα αποτελέσματα της βλαστικότητας είναι ότι υπάρχει κάποιο είδος αλληλεπίδρασης (θετικής ή αρνητικής) (Πίνακας 3.1) μεταξύ ορισμένων συμβιωτικών μικροοργανισμών και του παθογόνου που εκδηλώνεται ως εξής (Πίνακας 3.5):

1. Θετική αλληλεπίδραση : Υπάρχει περίπτωση ο συμβιωτικός μικροοργανισμός να αναστέλλει την ανάπτυξη του παθογόνου, να δρα επωφελώς για το μητρικό φυτό και επομένως να προκαλεί αύξηση στα ποσοστά βλαστικότητας των σπόρων της τομάτας (περίπτωση *Bacillus*).
2. Αρνητική αλληλεπίδραση : Πιθανόν ο συμβιωτικός μικροοργανισμός δεν αναστέλλει αποτελεσματικά την ανάπτυξη του παθογόνου, οπότε η ανάπτυξη του έχει ως αποτέλεσμα την εκδήλωση της ασθένειας με επακόλουθο τη μείωση της βλαστικότητας των σπόρων (περίπτωση *Glomus*).

Στην περίπτωση του *Trihoderma* παρολαυτά δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση του συμβιωτικού μικροοργανισμού στην δράση του παθογόνου και η βλαστικότητα παρέμεινε σταθερά υψηλή ανεξάρτητα αν τα φυτά της τομάτας αναπτύχθηκαν παρουσία ή απουσία του *Fusarium* sp.

4.1.6. Αλληλεπίδραση παθογόνου και συμβιωτικών μικροοργανισμών στη ζωτικότητα των σπόρων τομάτας

Το μεγαλύτερο μέρος της ολικής παραλλακτικότητας που παρουσίασε η ένταση της χρώσης των σπόρων της τομάτας με το τετραζόλιο, οφείλεται στην σημαντική αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων (παθογόνο και μικροοργανισμοί) (Πίνακας 3.7).

Διαπιστώνεται ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των συμβιωτικών μικροοργανισμών και του παθογόνου όσον αφορά την ένταση της χρώσης των σπόρων με τετραζόλιο.

4.1.7. Επίδραση του παθογόνου στα χαρακτηριστικά βλάστησης και στην ζωτικότητα του σπόρου του μάρτυρα

Το παθογόνο δεν φαίνεται να επηρεάζει τα αποτελέσματα της βλαστικότητας καθώς τόσο τα εμβολιασμένα όσο και τα μη εμβολιασμένα με το παθογόνο φυτά του μάρτυρα παρουσίασαν το ίδιο ποσοστό βλαστικότητας των σπόρων. (Πίνακας 3.5).

Επίσης, στην εργασία μας παρατηρήθηκε το εξής παράδοξο : οι σπόροι που παρήχθησαν από εμβολιασμένα με το παθογόνο φυτά του μάρτυρα, παρουσίασαν ταχύτερη βλάστηση σε σχέση με τους σπόρους που λήφθηκαν από τα αντίστοιχα μη εμβολιασμένα με το παθογόνο φυτά (Πίνακες 3.11 και 3.12) .

Τέλος, το παθογόνο δεν φαίνεται να επηρεάζει τα αποτελέσματα της έντασης της χρώσης με τετραζόλιο καθώς τόσο τα εμβολιασμένα όσο και τα μη εμβολιασμένα με το παθογόνο φυτά του μάρτυρα παρουσίασαν το ίδιο ποσοστό χρώσης (Πίνακας 3.10).

4.2. ΥΓΕΙΑ ΣΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΑΡΤΙΒΛΑΣΤΩΝ

Από τον έλεγχο της υγείας με agarplatetest διαπιστώθηκε ότι σε όλες τις μεταχειρίσεις πραγματοποιήθηκε κανονικά η βλάστηση των σπόρων και ότι τα παραγόμενα αρτίβλαστα δεν είχαν συμπτώματα προσβολής από φυτοπαθογόνους μύκητες. Από τη μακροσκοπική και μικροσκοπική παρατήρηση διαπιστώθηκε ότι σε καμία από τις μεταχειρίσεις δεν αναπτύχθηκαν στο υπόστρωμα PDA αποικίες του φυτοπαθογόνου μύκητα *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, γεγονός που υποδεικνύει ότι, παρόλη την επιμόλυνση των φυτών με το φυτοπαθογόνο *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, δεν υπήρξε προσβολή του παραγόμενου σπόρου με τον παραπάνω μύκητα. Οι αποικίες μυκήτων που αναπτύχθηκαν στο θρεπτικό υπόστρωμα PDA, δεν ταυτοποιήθηκαν αλλά πιθανόν οφείλονται σε σαπροφυτικούς μύκητες οι οποίοι αφορούν μέρος της μικροχλωρίδας των σπόρων και δεν φαίνεται να επηρεάζουν την βλάστηση και την υγεία των παραγόμενων αρτιβλάστων (φυταρίων).

Βιβλιογραφία

- Agrios G. N.**, 1988. Plant Pathology, 3rd. ed., Academic Press, Inc.: New York., 803.
- Ajillogba C. F. and Babalola O. O.**, 2003. RAPD Profiling of *Bacillus* spp with PGPR Potential and Their Effects on Mineral Composition of Tomatoes. *Journal of Human Ecology*, 56, 1-2, 42-54.
- Al-Hmoud G. and Al-Momany A.**, 2015. Effect of Four Mycorrhizal Products on *Fusarium* Root Rot on Different Vegetable Crops. Department of Plant Protection, University of Jordan, Faculty of agriculture, Amman, Jordan.
- Armstrong G. M. and Armstrong J. K.**, 1974. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, causal agents of wilt of pea. *Phytopathology*.
- Benitez T., Delgado-Jarana J., Rincon A., Rey M. and Limon M. C.**, 1998. Biofungicides: *Trichoderma* as a biocontrol agent against phytopathogenic fungi. *Recent Res. Devel. Microbiol.*
- Bhardwaj S.**, 2016. Influence of Arbuscular Mycorrhizal fungi on seed production and tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Thesis of MSc on Seed Science and Technology, College of Agriculture. India: University of Horticulture & Forestry, Solan (Nauni) HP-173230.
- Bryla D. R. and Koide R. T.**, 1990. Regulation of reproduction in wild and cultivated *Lycopersicon esculentum* Mill. by vesicular-arbuscular mycorrhizal infection. *Oecologia*. USA: The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802, 84, 74-81.
- Chet I. and Inbar J.**, 1994. Biological control of fungal pathogens.
- Clark C. A. and Moyer J. W.**, 1988. Compendium of sweet potato diseases. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN.
- Emani C., Garcia J. M., Lopata-Finch E., Pozo M. J., Uribe P., Kin D. J., Sunilkumar G., Cook D. R., Kenerley C. M. and Rathore K. S.**, 2003. Enhanced fungal resistance in transgenic cotton expressing an endochitinase gene from *Trichoderma virens*. *Plant Biotechnol. J.*, 321-336.
- Fravel D., Olivain C. and Alabouvette C.**, 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytologist*.
- Gardener B. B. and Fravel D. R.**, 2002. Biological control of plant pathogens: Research, commercialization and application in the USA *Plant Health Progress*.
- Gonsalves A. K. and Ferreira S. A.**, 1993. *Fusarium oxysporum* (http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/f_oxys.htm)

- Gould W. A.**, 1992. Tomato Production, Processing and Technology. 3rd ed. Baltimore, Maryland: CTI Publications Inc, 550.
- Heppell K. B., Shumway D. L. and Koide R. T.**, 1998. The effect of mycorrhizal infection of *Abutilon theophrasti* on competitiveness of offspring. *Functional Ecology*, 12, 171-175.
- Ibrahim and Ashwag Mohammed Abbashar**, 2003. Investigations on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. The Casual Agent of Tomato Wilt (*Lycopersicon esculentum* Mill). Faculty of Agriculture, Crop Protection.
- Jarvis W. R. and Shoemaker R. A.**, 1978. Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. *Phytopathology*.
- Jenkins N. E. and Grzywas D.**, 2000. Quality control of fungal and biocontrol agents - assurance of product performance. *Biocontrol Science and Technology*, 10, 753-777.
- Kita N., Ohya T., Uekusa H., Nomura K., Manago M. and Shoda M.**, 2005. Biological control of damping-off of tomato seedlings and cucumber *Phomopsis* root rot by *Bacillus subtilis* RB14-CJARQ, 39.
- Koide R. T. and Lewis J. D.**, 1990. Phosphorus Supply, Mycorrhizal Infection and Plant Offspring Vigour. *Functional Ecology*, 4, 5, 695-702.
- Koide R. T. and Lu X.**, 1995. On the cause of offspring superiority conferred by mycorrhizal infection of *Abutilon theophrasti*. *New Phytologist*, 131, 435-441.
- Lew-Smith J.**, 2011. Seedborne Disease and its Control. *Organicology conference*.
- Manjula K., Krishna G. K. and Podile A. R.**, 2004. Whole cell of *Bacillus subtilis* AF 1 proved more effective than cell-free and chitinase-based formulations on biological control of citrus fruit rot and groundnut rust. *Can J. Microbiol.*, 50, 737-744.
- Martinez R., Aguilar M. I., Guirado M. L., Alvarez A. and Gomez J.**, 2003. First report on *Fusarium* wilt of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* in Spain. *Plant Pathology*, 52, 410.
- Miller S. A., Rowe R. C. and Riedel R. M.**, 2004. *Fusarium* and *Verticillium* wilts of tomato, potato, pepper and eggplant. The Ohio State University.
- Momol T., Pingsheng J., Pernezny K., McGovern R. and Olson S.**, 2005. Three soilborne tomato diseases caused by *Ralstonia* and *Fusarium* species and their field diagnostics. University of Florida.
- Nelson P. E., Toussoun T. A. and Cook R. J.**, 1981. *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press: University Park, Pennsylvania., 457.

- Olivain C., Humbert C., Nahalkova J., L'Haridon F. J. and Alabouvette C., 2006.** Colonization of tomato root by pathogenic and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strains inoculated together and separately into the soil. *Appl Environ Microbiol.* 72, 1523-1531.
- Pal K. K. and Gardener B. M., 2006.** Biological control of plant pathogens. The Plant Health Instructor.
- Pascual A. and Melgarejo P., 1997.** A rapid laboratory method for assessing the biological control potential of *Penicillium oxalicum* against *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Pathology.*, 46, 699-707.
- Pegg K.G., Moore N.Y. and Bentley S., 1996.** *Fusarium* wilt of banana in Australia: a review. *Aust. J. Agr. Res.*, 47, 637-650.
- Pottorff L., 2006.** Recognizing tomato problems. Colorado State University Extension plant pathologist, Integrated Pest Management Program, Jefferson County.
- Poulton J. L., Koide R. T. and Stephenson A. G., 2001.** Effects of mycorrhizal infection, soil phosphorus availability and fruit production on the male function in two cultivars of *Lycopersicon esculentum*. *Plant, Cell and Environment*, 24, 841-849.
- Punja Z. K. and Utkhede R. S., 2003.** Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. *Trends in Biotechnology.*, 21, 400-407.
- Santos M. A. O., Novembre A. D. L. C. and Marcos-Filho J., 2007.** Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds. Department of Crop Science, Piracicaba, Brazil: Seed Science and Technology.
- Shahzad R., Khan A.L., Bilal S., Asaf S. and Lee I., 2017.** Plant growth-promoting endophytic bacteria versus pathogenic infections: an example of *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in tomato. Bettina Hause.
- Sivan A. and Chet I., 1986.** Biological control of *Fusarium* sp. in cotton, wheat and muskmelon by *Trichoderma harzianum*. *J. Phytopathol*, 116, 39-47.
- Song W., Zhou L., Yang C., Cao X., Zhang L. and Liu X., 2004.** Tomato *Fusarium* wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. *Crop Protection* 23, 243-247.
- Sotoyama K, Akutsu K. and Nakajima M., 2015.** Biological control of *Fusarium* wilt by *Bacillus amyloliquefaciens* IUMC7 isolated from mushroom compost., *Journal of General Plant Pathology*, 82, 2, 105-109.
- Srivastava D. and Mukerji K. G., 1995.** Field response of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Medicago sativa* var. local in the F1 generation Mycorrhiza 5., 219-221.

- Tusuda K., Kosaka Y., Tsuge S., Kubo Y. and Horino O.**, 2001. Evaluation of the endophyte *Enterobacter cloacae* SM10 isolated from spinach root for biological control against *Fusarium* wilt of spinach., *J. Gen. Plant Pathology.*, 67, 78-84.
- Utkhede R.**, 2006. Increased Growth and Yield of Hydroponically Grown Greenhouse Tomato Plants Inoculated with Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Springer Netherlands.
- Varga S.**, 2010. Effects of arbuscular mycorrhizas on reproductive traits in sexually dimorphic plants., *Spanish Journal of Agricultural Research.*, 8, 11-24.
- Zeliha K., Hulya O., Ibrahim E. and Figen E.**, 2011. Effect of *Glomus intraradices* on infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in tomatoes over a 12-week period. Department of Plant Protection, Agricultural Faculty, Suleyman Demirel University, Isparta, Turkey: *Canadian Journal of Botany*.
- Αγγίδης Α.**, 1996. Τομάτα υπαίθρια, επιτραπέζια, βιομηχανική. Καλλιέργεια, αξιοποίηση. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Ζήτη, 264.
- Ανγουλός Χ. και Παπαστυλιανού Π.**, 2012. Βιομηχανική τομάτα. Πανεπιστημιακές σημειώσεις ΓΠΑ, 23.
- Δούμα Λ.**, 2012. Σημειώσεις εργαστηριακών ασκήσεων παραγωγής πολλαπλασιαστικού υλικού. Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, ΤΕΙ Ηπείρου, Άρτα.
- Καββάδας Σ.**, 1956. Εικονογραφημένον Βοτανικόν Φυτολογικόν Λεξικόν., Αθήναι.
- Ξυνιάς Ι. Ν.**, 2005. Σποροπαραγωγή, εργαστηριακές ασκήσεις. Χαλκιδική: Έμβρυο, 43.