



ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ

Ανέυρεση του ενδοφυτικού σταδίου του εντομοπαθογόνου μύκητα

*Beauveria bassiana* (Balsamo Vuillemin) (Deuteromycotina Hyphomycetes) σε φυτά  
αμπέλου.

Καταγραφή της επίδρασης του στην ανάπτυξη φυτών



Πτυχιακή εργασία της φοιτήτριας

Μπούσια Διονυσία Α.Μ 11676

Επιβλέπων Καθηγητής

Δρ Σπυρίδων Μαντζούκας

ΑΜΑΛΙΑΔΑ 2019

Ανέυρεση του ενδοφυτικού σταδίου του εντομοπαθογόνου μύκητα *Beauveria bassiana* (Balsamo Vuillemin) (Deuteromycotina Hyphomycetes) σε φυτά αμπέλου.

Καταγραφή της επίδρασης του στην ανάπτυξη φυτού

Πτυχιακή εργασία

Μπούσια Διονυσία

## Πίνακας περιεχομένων

Πίνακας περιεχομένων .....	3
Ευχαριστίες .....	5
Περίληψη.....	6
A Εισαγωγή.....	7
A.1 Αμπελος ( <i>Vitis vinifera</i> ).....	7
1.1 Η Καλλιέργεια της αμπέλου στην Ελλάδα και στον κόσμο.....	7
1.2 Βοτανική Ταξινόμηση.....	8
1.3 Προβλήματα αμπελοκαλλιέργειας στην Ελλάδα .....	8
1.4 Μορφολογία και Ανατομία αμπέλου .....	8
1.5 Φυσιολογία της αμπέλου και βλαστικός κύκλος.....	9
1.6 Κύκλος Αναπαραγωγής φυτών αμπέλου .....	11
1.7 Πολλαπλασιασμός Αμπέλου .....	12
1.7.1 Αγενής πολλαπλασιασμός.....	12
1.7.2 Εγγενής πολλαπλασιασμός.....	12
1.7.3 Πολλαπλασιασμός με εμβολιασμό.....	13
1.8 Σύστημα διαμορφώσεις πρέμων.....	14
1.9 Ποικιλίες αμπέλου επιτραπέζιες και οινοποιήσιμες.....	15
1.9.1 Κυριότερες και πιο διαδεδομένες οινοποιήσιμες ποικιλίες αμπέλου .....	15
1.9.2 Κυριότερες πιο διαδεδομένες επιτραπέζιες ποικιλίες αμπέλου:.....	16
1.10 Κλίμα και έδαφος.....	17
1.11 Προετοιμασίες εδάφους φύτευσης αμπελώνα ή και αναμπέλωσης .....	18
1.12 Καλλιεργητικές φροντίδες .....	19
1.13 Ωρίμαση σταφυλιών .....	20
1.14 Συλλογή των σταφυλιών και μεταφορά.....	21
A.2 ΕΧΘΡΟΙ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ.....	21
2.1 Ψευδόκοκος της αμπέλου ( <i>Planococcus ficus</i> Homoptera: Pseudococcidae).....	21
2.2 Τσιγαρολόγος ( <i>Buctiscus betulae</i> Coleoptera: Curculionidae: Attelabidae).....	23
2.3 <i>Anomala vitis</i> Coleoptera: Scarabaeidae .....	24
2.4 Φυλλοξήρα της αμπέλου ( <i>Viteus vitifoliae</i> Homoptera: Phylloxeridae) .....	24
2.5 Ευδεμίδα της αμπέλου ( <i>Lobesia botrana</i> Lepidoptera: Tortricidae) .....	26

2.6 Θρίπας της αμπέλου ( <i>Drepanothrips reuteri</i> Thysanoptera: Thripidae).....	28
2.7 Κοινός τετράνυχος ( <i>Tetranychus urticae</i> Tetranychidae) .....	29
2.8 Ερίνωση της αμπέλου ( <i>Eriophyes vitis</i> Eriophyidae).....	30
A.3 Ενδοφυτικοί εντομοπαθογόνοι μύκητες .....	31
3.1. Εντομοπαθογόνοι μύκητες ως ενδόφυτα .....	31
3.1.2 Το είδος <i>Beauveria bassiana</i> .....	32
3.1.3. Εμπορικά μικροβιακά σκευάσματα με βάση εντομοπαθογόνους μύκητες .....	34
A.4 Σκοπός της μελέτης.....	35
B. Μέθοδοι και Υλικά .....	35
B.1. Το έντομο <i>Tribolium confusum</i> .....	35
B.2 Εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί.....	36
B.2.1 Εντομοπαθογόνοι Μύκητες.....	36
B.2.2 Παρασκευή εναιωρημάτων εντομοπαθογόνου μύκητα .....	36
B.3 Μελέτη της επίδρασης του εντομοπαθογόνου μύκητα <i>B. bassiana</i> σε φυτά αμπέλου ποικιλίας Ασύρτικου .....	37
B.4 Απομόνωση εντομοπαθογόνου μύκητα από φύλλα, βλαστούς και ρίζες αμπέλου σε υπόστρωμα SDA .....	39
B.5 Απομόνωση του εντομοπαθογόνου μύκητα από το υπόστρωμα ανάπτυξης αμπέλου .....	40
B.6 Μοριακή ταυτοποίηση του εντομοπαθογόνου μύκητα από το κολεόπτερο <i>T. confusum</i> .....	41
B.7 Στατιστική επεξεργασία .....	42
Γ. Αποτελέσματα.....	42
Γ.1 Απομόνωση εντομοπαθογόνου μύκητα από βλαστούς φύλλα και ρίζες από τα φυτά αμπέλου σε υπόστρωμα SDA.....	42
Γ.2 Μύκητας που ταυτοποιήθηκε μέσω της αλληλούχισης από το κολεόπτερο <i>T. confusum</i> .....	43
Γ.3 Επίδραση του ενδόφυτου στην ανάπτυξη της αμπέλου.....	44
Δ. Συζήτηση .....	46
E. Βιβλιογραφία .....	48
E.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία.....	48
E.2 Ελληνική βιβλιογραφία .....	50

## Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο εργαστήριο Φυτοπροστασίας-Φαρμακολογίας του Τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων Δυτικής Ελλάδας σε συνεργασία με το Ινστιτούτο Φυτοπροστασίας Φυτών της Πάτρας

Με την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου διατριβής θέλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε εκείνους που με βοήθησαν να διεκπεραιώσω το έργο μου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Δρ. Σπυρίδωνα Μαντζούκα και τον κύριο Ιωάννη Λαγογιάννη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν και την υπομονή που έκαναν κατά τη διάρκεια υλοποίησης της πτυχιακής μου εργασίας, καθώς και για την πολύτιμη βοήθεια και την καθοδήγηση τους για την επίλυση διάφορων θεμάτων.

Θα ήθελα επίσης να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στους γονείς μου, οι οποίοι στήριξαν τις σπουδές μου με διάφορους τρόπους, φροντίζοντας για την καλύτερη δυνατή μόρφωση μου.

Τέλος να ευχαριστήσω την συμφοιτήτρια μου και φίλη μου Μπεκίρη Μαρία και το έτερον μου ήμισυΘανάση Θεοδορακόπουλογια την πολύτιμη βοήθεια τους καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής μου διαδικασίας. Επιπλέον ευχαριστώ τα Φυτόρια Αμπέλου Μπακασιέτα – VNB για τη χορήγηση των φυτών.

## Περίληψη

Μελετήθηκε σε συνθήκες αγρού η επίδραση του ενδοφυτικού σταδίου του εντομοπαθογόνου μύκητα *Beauveria bassiana* (Balsamo Vuillemin) (Deuteromycotina Hyphomycetes) σε φυτά αμπέλου. Παρατηρήθηκε ότι η παρουσία του μύκητα δεν επηρεάζει ούτε θετικά, ούτε αρνητικά τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φυτών της αμπέλου.

Οι πληροφορίες αυτές μπορεί να φανούν ιδιαίτερα χρήσιμες στο μέλλον για τον έλεγχο του εντόμου και εφόσον αξιοποιηθούν κατάλληλα μέσα από ολοκληρωμένα προγράμματα διαχείρισης εντόμων.

# A Εισαγωγή

## A.1 Αμπελος (*Vitis vinifera*)

### 1.1 Η Καλλιέργεια της αμπέλου στην Ελλάδα και στον κόσμο

Η καλλιέργεια της αμπέλου αμπελιού ξεκίνησε πριν από 5000 περίπου χρόνια, από την περιοχή του Καυκάσου (σήμερα κοινά σύνορα Γεωργίας και Αρμενίας) και διαδόθηκε στην Μεσοποταμία, όπου αναπτύχθηκε και ο πρώτος ανθρώπινος πληθυσμός. Στη Μεσόγειο και την Ελλάδα, το αμπέλι ήρθε αργότερα περνώντας από τη Φοινίκη, τον σημερινό Λίβανο. Από τους Έλληνες, το αμπέλι πέρασε στην Ρώμη, τη Γαλλία, την Ισπανία και σε όλες τις χώρες της Μεσογείου και από τη Μαύρη Θάλασσα όπου η αμπελουργία πήρε την σημερινή της πρόοδο και εξέλιξη. Μέχρι πριν τον τελευταίο μεγάλο Παγκόσμιο Πόλεμο, η καλλιεργούμενη έκταση με αμπέλια στην Ελλάδα, υπολογίζεται ότι έφτανε τα 3.000.000 στρέμματα. Η έκταση αυτή μειώθηκε σημαντικά καθώς τα αμερικανικά υποκείμενα, που χρησιμοποιήθηκαν για την αναμπέλωση μετά την εισβολή της φυλλοξήρας στις αρχές του αιώνα (1905), δεν ήταν κατάλληλα και οι μικρές αποδόσεις απογοήτευσαν τους αμπελουργούς. Αργότερα, με την ανάπτυξη της βιομηχανίας στις μεγάλες πόλεις και τη μετανάστευση, ο ορεινός πληθυσμός εγκατέλειψε τα χωριά και τα αμπέλια ξεριζώθηκαν με αποτέλεσμα να χαθούν ονομαστοί αμπελώνες, όπως στην Κεντρική Μακεδονία, τη Θράκη, και την Αράχοβα πλάι στους Δελφούς. Κατά τη μεταπολεμική Ελληνική γεωργία, η Αμπελουργία κατέχει αξιόλογη θέση. Σήμερα η καλλιεργούμενη με αμπέλια έκταση στην Ελλάδα είναι περίπου 1.320.000 στρέμματα, από τα οποία τα 146.453 είναι επιτραπέζια σταφύλια, 368.398 περίπου είναι σταφίδα (Σουλτανίνα και Κορινθιακή) και 696.482 οινοποιήσιμες ποικιλίες. Αντίστοιχα, η παραγωγή είναι 216.561 τόνοι επιτραπέζια σταφύλια, 84.833 τόνοι σταφίδα και 398.700 τόνοι οινοποιήσιμα. Οι κύριες αμπελοοινικές περιοχές είναι η Πελοπόννησος, η Κρήτη, η Στερεά Ελλάδα και η Εύβοια, η Μακεδονία και η Θράκη. Επίσης σημαντικές ποσότητες παράγονται στα νησιά του Αιγαίου και του Ιονίου, τα Δωδεκάνησα και η Θεσσαλία (Σταυρακάκης, 2013).

## 1.2 Βοτανική Ταξινόμηση

Το αμπέλι είναι φυτό κληματώδες, ανήκει στην τάξη *Rhamnales*, της οικογένειας *Vitaceae* των δικοτυλήδων. Για αμπελουργικούς σκοπούς ασχολούμαστε με το γένος *Vitis* το οποίο χωρίζεται σε δυο υπογένη *Muscadinia* και *Euvitis* (στο οποίο ανήκει και το είδος *Vitis vinifera*, η ευρωπαϊκή άμπελος που συνίσταται σε εύκρατες περιοχές της Ευρώπης, της βορείας Αφρικής, μέρος της Ασίας και στη Βόρειο Αμερική. Το είδος *Vitis vinifera* χωρίζεται σε τρία υποείδη, *V. vinifera* subsp. *silvestris* (άγρια οиноφόρος), *V. vinifera* subsp. *sativa* (καλλιεργούμενη) και *V. vinifera* subsp. *caucasica* (καυκασιανή οиноφόρος), ενώ η αμερικανική περιλαμβάνει 18-35 είδη που χρησιμοποιούνται κυρίως για υποκείμενα και τέλος η Ασιατική 15-20 είδη.

## 1.3 Προβλήματα αμπελοκαλλιέργειας στην Ελλάδα

Παρά τη σημαντική μείωση των καλλιεργούμενων εκτάσεων την τελευταία 15ετία στη χώρα μας, η παραγωγή παρέμεινε σταθερή λόγω των βελτιωμένων προγραμμάτων καλλιεργητικών μεθόδων και αναδιάρθρωσης των αμπελώνων με μείωση του κόστους παραγωγής και στόχο την παραγωγή ανώτερης ποιότητας αμπελουργικών προϊόντων.

## 1.4 Μορφολογία και Ανατομία αμπέλου

Τα φυτά αμπέλου αποτελούνται από το υπόγειο τμήμα: ρίζες και από το υπέργειο τμήμα: κορμός, βραχίονες, κόμη από τα οποία αναπτύσσονται τα φύλλα οι έλικες και οι ταξιανθίες. Το ριζικό σύστημα του φυτού αποτελείται από την κύρια ρίζα, τις δευτερεύουσες ρίζες και τα ριζικά τριχίδια, τα οποία χρησιμεύουν για την απορρόφηση νερού και θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος. Ο κύριος όγκος του ριζικού συστήματος του φυτού βρίσκεται σε βάθος 20-90 cm κάτω από την επιφάνεια του εδάφους. Το ριζικό σύστημα είναι αρχικά πασσαλώδες αλλά στη συνέχεια αναπτύσσονται πλευρικά ριζικά τριχίδια, ένα μεγάλο μέρος των οποίων καταστρέφεται κατά τη διάρκεια του χειμώνα όταν το φυτό πέφτει σε λήθαργο. Το



ριζικό σύστημα του φυτού παρουσιάζει σημαντική ανάπτυξη και αποτελεί περίπου το 30-40% του ξηρού βάρους ολόκληρου του φυτού.

Το ριζικό σύστημα παίζει σημαντικό ρολό γιατί σχετίζεται με την καλή στήριξη του φυτού στο έδαφος, την πρόσληψη νερού και ανόργανων θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος.

Το υπέργειο τμήμα, στη φυσική του κατάσταση είναι αναρριχώμενο με βλαστό εύκαμπτο και έντονη τάση για επιμήκυνση. Από μόνη της η άμπελος δεν σχηματίζει κορμό ισχυρό, παρά μόνο μετά το κλάδεμα διαμόρφωσης. Το υπέργειο τμήμα αποτελείται:

- α) Κορμός (είναι το μέρος εκείνο της αμπέλου, που περιλαμβάνεται μεταξύ των κυρίων ριζών και του σημείου που ξεκινά η διακλάδωση των βραχιόνων).
- β) Βραχίονες (είναι ουσιαστικά προεκτάσεις του κορμού της ίδιας περίπου ηλικίας).
- γ) Διετείς κληματίδες (οι οποίες φέρουν τους ετήσιους βλαστούς) και είναι τα τμήματα των κληματίδων που αφέθηκαν κατά το χειμερινό κλάδεμα
- δ) Βλαστοί (ηλικίας ενός έτους, τα όργανα που φέρουν τα σταφύλια) (Σταυρακάκης, 2013).



**Εικ 1.** Μορφολογία και ανατομία αμπέλου. (<http://www.docplayer.gr>.)

### 1.5 Φυσιολογία της αμπέλου και βλαστικός κύκλος

Ο Βλαστικός κύκλος ξεκινά με την εκβλάστηση (έκπτυξη οφθαλμών και αύξηση) και λήξει με τη φυλλόπτωση. Κάθε έτος πρέπει να σχηματίζει βλαστούς και φύλλα, τα οποία θα εξασφαλίσουν την ανάπτυξη του υπέργειου τμήματος και του

ριζικού συστήματος, καθώς επίσης και την αύξηση σε διάμετρο του κορμού. Μετά τη φυλλόπτωση, το φυτό εισέρχεται σε βραδείς ρυθμούς και λήθαργο. Ο ρυθμός βλάστησης στην εύκρατη ζώνη είναι ασυνεχής, δηλαδή υπάρχει εναλλαγή περιόδων βλάστησης (ενεργός ζωή) και ληθάργου. Στην Ελλάδα, οι οφθαλμοί εισέρχονται σε αύξηση στην αρχή της άνοιξης (τέλος Μαρτίου) και αυτή η αύξηση εκδηλώνεται με την εκβλάστηση των οφθαλμών. Το καλοκαίρι (Ιούλιος-Αύγουστος) σταματά η αύξηση και αρχίζει η ωρίμανση των σταφυλιών και κληματίδων. Έπειτα από τον βλαστικό κύκλο αρχίζει ο κύκλος αναπαραγωγής που ξεκινά με την εμφάνιση των ταξιανθιών λίγες ημέρες μετά την εκβλάστηση, οι οποίες αναπτύσσονται κυρίως μέχρι την άνθιση (Μάιος-Ιούνιος). Έπειτα ακολουθεί η έναρξη ωρίμανσης (περκασμός) και εκδηλώνεται με την αλλαγή του χρώματος των πράσινων ραγών τον Ιούνιο, για τις πρώιμες ποικιλίες, ή τον Αύγουστο για τις μέσες & όψιμες ποικιλίες. Τέλος ο χρόνος του τρυγητού επηρεάζεται από τη φύση της ποικιλίας (πρώιμη, μέση, όψιμη εποχή ωρίμανσης), το μικρόκλιμά της περιοχής και την πορεία των κλιματικών συνθηκών του έτους. Η εποχή τρυγητού, επιτραπέζιες ποικιλίες ξεκινά αρχές Ιουλίου (πρώιμη ωρίμανση) και συνεχίζεται μέχρι και το Νοέμβριο (μέσες και όψιμες ποικιλίες). Για τις οινοποιήσιμες ποικιλίες, ο τρυγητός ξεκινά τέλος Αυγούστου στις πρωιμότερες περιοχές και σε έτη έντονης ξηρασίας, για να συνεχιστεί μέχρι Σεπτέμβριο ή και Οκτώβριο στις όψιμες περιοχές.

Άλλες σημαντικές φάσεις του βλαστικού κύκλου είναι:

- (1) Δακρύρροια. Η πρώτη εξωτερική εκδήλωση από το λήθαργο στο τέλος του χειμώνα και η πρώτη επαναδραστηριοποίηση των ριζικών κυττάρων, λόγω της αύξησης της θερμοκρασίας στο έδαφος.
- (2) Εκβλάστηση. Αποτελεί την πρώτη ορατή εκδήλωση της αύξησης κατά την έναρξη του βλαστικού κύκλου όπου οι χειμέριοι (λανθάνοντες) οφθαλμοί εκπύσσονται κατά την άνοιξη.
- (3) Αύξηση. Είναι το μέγλωμα των διαστάσεων του φυτού και η επιμήκυνση των βλαστών, που προήλθαν από την εκβλάστηση των οφθαλμών και αρχίζει το ξεδίπλωμα των νεαρών φυλλαρίων του φυτού.
- (4) Ωρίμανση ξύλου. Κατά την διαδικασία ωρίμανσης ξύλου λαμβάνουν χώρα μορφολογικές και ανατομικές μεταβολές στους βλαστούς και στις ρίζες διότι προκαλούνται μορφολογικές μεταβολές όπως από πράσινος ο βλαστός αρχίζει να γίνεται καφέ να φτάνει στο στάδιο ξυλοποίησης.

(5) Φυλλόπτωση. Η πτώση των φύλλων από τις κληματίδες το φθινόπωρο, στο τέλος της βλαστικής περιόδου.

(6) Χειμερία ανάπαυση (λήθαργος). Είναι η λήξη κάθε ορατής δραστηριότητας από τη φυλλόπτωση μέχρι τη δακρύρροια, λόγω της επίδρασης δυσμενών συνθηκών για την αύξηση των οφθαλμών.



Εικ 2. Βλαστικά στάδια αμπελιού. (<http://www.erosmykonos.gr>)



Εικ 3 . Στάδια ανάπτυξης αμπέλου. (<http://www.blog.farmacon.gr>)

## 1.6 Κύκλος Αναπαραγωγής φυτών αμπέλου

Ο κύκλος αναπαραγωγής ολοκληρώνεται σε 2 βλαστικούς κύκλους και αποτελείται από την άνθιση, τη γονιμοποίηση και την καρπόδεση.

**Άνθιση.** Λαμβάνει χώρα λίγες ημέρες μετά την εκβλάστηση των οφθαλμών, οπότε εμφανίζονται οι ταξιανθίες, χρώματος πράσινου ή κοκκινωπού, ανάλογα με την ποικιλία. Μόλις τα πρώτα φύλλα ανοίξουν, οι σταφυλές γίνονται ορατές. Αυτό είναι το στάδιο (στα 4 με 6 φύλλα) που εμφανίζονται οι βότρες.

**Επικονίαση.** Αφορά τη μεταφορά γύρης, όταν οι συνθήκες για επικονίαση είναι κατάλληλες και τα φυτά έχουν φτάσει σε στάδιο να έλκουν τα έντομα (π.χ. μέλισσες). Το αμπέλι είναι αυτόγαμο κυρίως φυτό και η επικονίαση γίνεται με μεταφορά της γύρης.

**Γονιμοποίηση.** Η διαδικασία κατά την οποία ο γυρεόκοκκος εισέρχεται και επικάθεται στο στίγμα του άνθους, συγκρατείται από το στιγματικό υγρό και σε ~40

λεπτά βλαστάνει με το γυρεοσωλήνα, με τη βοήθεια κατάλληλων ορμονών. Από την βλάστηση του γυρεόκοκκου έως την γονιμοποίηση απαιτούνται από 2-5 ημέρες.

**Καρπόδεση.** Είναι η ανάπτυξη γιγάρτων. Κάποιες ποικιλίες δίνουν εγγίγαρτες ράγες και κάποιες άλλες αγίγαρτες ράγες ή μικρότερο αριθμό γιγάρτων.

### 1.7 Πολλαπλασιασμός Αμπέλου

Το αμπέλι στην άγρια μορφή του ως αυτοφυής αναρριχώμενος θάμνος (*Vitis vinifera silvestris*) πολλαπλασιάζεται εγγενώς με την βλάστηση των γιγάρτων και πιο σπάνια αγενώς με την ανάπτυξη εναέριων ριζών σε κληματίδες που βρίσκονται σε επαφή με το έδαφος. Στην καλλιεργούμενη μορφή της (*Vitis vinifera sativa*) μπορεί να πολλαπλασιαστεί εγγενώς και αγενώς.

#### 1.7.1 Αγενής πολλαπλασιασμός

Στην σύγχρονη αμπελουργία, ο αγενής πολλαπλασιασμός αποτελεί ένα τρόπο εγκατάστασης παραγωγικών αμπελώνων. Ιδιαίτερα σημαντικό είναι το γεγονός ότι αποκτά ιδιαίτερη σημασία στην σύγχρονη παραγωγική αμπελουργία με τη μεταπήδηση από την αμπελογραφία ποικιλιών σε εκείνη των κλώνων. Οι καλλιεργούμενες ποικιλίες προέρχονται με αγενή πολλαπλασιασμό αφού οι κλώνοι διακρίνονται για τις διαφορετικές μορφολογικές, φυσιολογικές, παραγωγικές ιδιότητες καθώς και για τις διαφορές στην εκδήλωση των φαινολογικών σταδίων (έναρξη βλάστησης, έναρξη και πλήρης ωρίμανση). Αγενώς, η άμπελος μπορεί να πολλαπλασιαστεί με μοσχεύματα, εμφολιασμό, καταβολάδες και με ιστοκαλλιέργεια. Ο πολλαπλασιασμός με μοσχεύματα στηρίζεται στη βιολογική σταθερότητα των πρεμνών και στην ικανότητα διάφορων οργάνων να αναπαράγουν νέα φυτά πιστά αντίγραφα των μητρικών φυτών.

#### 1.7.2 Εγγενής πολλαπλασιασμός

Ο εγγενής πολλαπλασιασμός γίνεται με την σπορά των σπερμάτων που συλλέγονται από τα σταφύλια μετά την γονιμοποίηση. Εφαρμόζεται στα προγράμματα βελτίωσης (απόκτησης νέων ποικιλιών) και δε συνίσταται για την

εγκατάσταση παραγωγικών αμπελώνων γιατί δεν μπορούν να είναι ίδια με τα μητρικά φυτά.

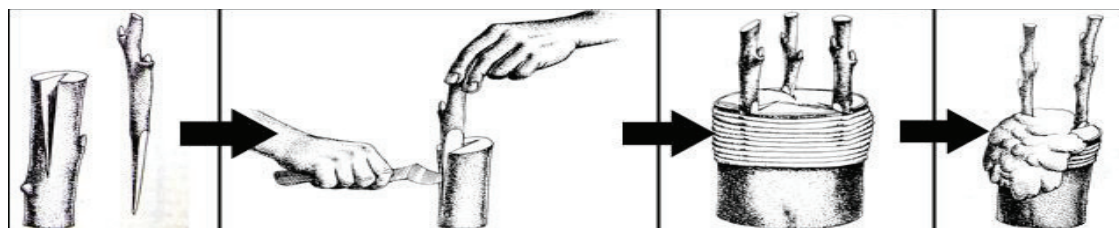
### 1.7.3 Πολλαπλασιασμός με εμβολιασμό

Ο πολλαπλασιασμός με εμβολιασμό είναι μια διαδικασία που αποσκοπεί να προσαρμόσει την μεταμόσχευση ενός τμήματος του φυτού (εμβόλιο) πάνω σε ένα άλλο ζωντανό φυτικό τμήμα (υποκείμενο) (Εικ.5). Για επιτυχή εμβολιασμό πρέπει η σχέση εμβολίου – υποκειμένου, η υγρασία και η θερμοκρασία να είναι άριστες (21-24°C).

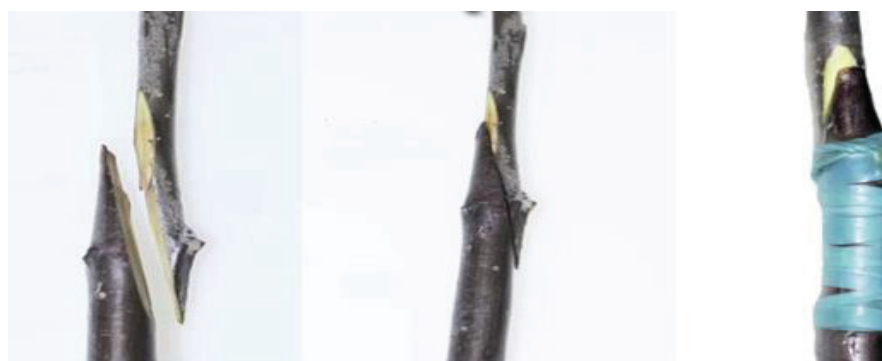
Υπάρχουν δυο τρόποι εμβολιασμού ο επιτραπέζιος και ο επιτόπιος εμβολιασμός.

Ο επιτόπιος διακρίνεται σε α) πλήρους σχισμής σε νεαρά υποκείμενα β) εγκοπής γ) πλάγιο εμβολιασμό και δ) μαγιόρκιο εμβολιασμό.

Ο επιτραπέζιος διακρίνεται σε α) εμβολιασμό με μηχανές και β) αγγλικό εμβολιασμό μακριάς τομής ή βραχείας τομής.



Εικ 4. Πολλαπλασιασμός με εμβολιασμό υποκείμενα και εμβόλια (<http://www.cropscience.gr>)



Εικ 5. Πολλαπλασιασμός με εμβολιασμό (<http://www.cropscience.gr>)

## 1.8 Σύστημα διαμορφώσεις πρέμων

Κλάδεμα είναι η αφαίρεση ζωντανών τμημάτων του πρέμνου όπως βραχίονες, κληματίδες, βλαστοί, φύλλα, ταξιανθίες και αποσκοπεί στην εξασφάλιση της καρποφορίας της αμπέλου, την αύξηση της παραγωγής και την καλύτερη ποιότητα σταφυλιών. Το κλάδεμα της αμπέλου διακρίνεται ανάλογα με την εποχή που εφαρμόζεται και με τη μορφή των οργάνων που δέχονται την επέμβαση. Το χειμερινό (ξηρό) κλάδεμα γίνεται το φθινόπωρο, μετά την πτώση των φύλλων ή τον χειμώνα, με το σταμάτημα της βλάστησης και αφορά τα ξυλοποιημένα όργανα του πρέμνου. Το θερινό (χλωρό) γίνεται το καλοκαίρι όταν η άμπελος είναι σε πλήρη βλάστηση (Πιτσώλη, 2017).

Τα κλαδέματα μόρφωσης σχήματος της αμπέλου εκτελούνται κατά το 3<sup>ο</sup>-4<sup>ο</sup> έτος φύτευσης του αμπελώνα με σκοπό:

- Να δοθεί η κατάλληλη μορφή (σχήμα) στο πρέμνο.
- Να εξασφαλιστεί η άνετη κυκλοφορία και διανομή των χυμών εντός των στελεχών και των βραχιόνων, με την αποφυγή μεγάλων πληγών κατά το κλάδεμα.
- Να διευκολυνθεί η εκτέλεση των διαφόρων καλλιεργητικών εργασιών και η άνετη κυκλοφορία των γεωργικών μηχανημάτων και διαφόρων εργαλείων.
- Να δοθεί καλή διάταξη του φυλλώματος για να αποφευχθεί η συσσώρευση αυτών και να υπάρξει φωτισμός και επαρκής αερισμός του εσωτερικού του φυλλώματος.
- Να προστατευθεί η άμπελος από τις κλιματικές συνθήκες.
- Να ελαττωθούν οι κίνδυνοι προσβολής ασθενειών.

Τα σχήματα μόρφωσης της αμπέλου είναι:

- Κυπελλοειδές: φέρει κορμό βραχίονες και παραγωγικές μονάδες οι οποίες σχηματίζουν ανοιχτό κύπελλο (Εικ.6).
- Γραμμικό τύπου Guyot: σύστημα εναλλασσόμενου βραχίονα, το οποίο διατηρείται μια αμολυτή και μια κεφαλή 2 οφθαλμών.
- Γραμμικό τύπου Royat ή κορδόνι: φέρει κορμό που κατά το ένα μέρος του είναι 14cm κατακόρυφος και κατά το άλλο μέρος οριζόντιος. Οι βραχίονες

βρίσκονται στην πάνω πλευρά του οριζόντιου κλάδου του κορμού. Μπορεί να είναι είτε μονόπλευρο, είτε αμφίπλευρο (Εικ.7).



**Εικ 6.** Σχήμα κυπελλοειδές καλλιέργειας αμπελιού (<http://www.naturalife.site.gr>)



**Εικ 7.** Σχήμα γραμμικό τύπου Royat καλλιέργειας αμπέλου (<http://www.ftiaxno.gr>)

## 1.9 Ποικιλίες αμπέλου επιτραπέζιες και οινοποιήσιμες

### 1.9.1 Κυριότερες και πιο διαδεδομένες οινοποιήσιμες ποικιλίες αμπέλου

Ροδίτης: αρκετά παλιά ποικιλία, ρόδινου χρωματισμού ποικιλία, καλλιεργούμενη σε 32 Νομούς της χώρας, στη ΒΔ Πελοπόννησο, την Αττική, τη Βοιωτία, την Εύβοια, τη Θεσσαλία, τη Μακεδονία και τη Θράκη. Εμφανίζει σημαντική παραλλακτικότητα, που εντείνεται από τα διαφορετικά μικροκλίματα στα οποία καλλιεργείται.

Ασύρτικο: πολυδυναμική ποικιλία, η οποία στον τόπο καταγωγής του, τη Σαντορίνη, δίνει οίνους με υψηλή οξύτητα, πλούσιο σώμα, με υψηλό αλκοολικό βαθμό (13-14,5) χωρίς να χάνουν σε φινέτσα.

Σαββατιανό: λευκή ποικιλία καλλιεργούμενη κυρίως στους νομούς Αττικής, Ευβοίας, Βοιωτίας και, σε μικρότερη έκταση, στις Κυκλάδες, τη Δυτική Κρήτη, την Πελοπόννησο και τη Μακεδονία, ξεπερνώντας συνολικά τα 180.000 στρέμματα.

Αθήρι: παλιά ποικιλία του κεντρικού και νότιου Αιγαίου, συνιστώμενη και καλλιεργούμενη σήμερα σε αρκετούς Νομούς της χώρας, σε μια έκταση που ξεπερνά

τα 10.000 στρέμματα. Το Αθήρι δίνει κρασιά μέτριου αλκοολικού τίτλου, ελαφρά αρωματικά, μικρής όμως οξύτητας, ιδίως όταν ο τρυγητός πραγματοποιείται σε προχωρημένο στάδιο ωρίμανσης.

Μοσχοφίλερο: γκρίζα ποικιλία, μια γνήσια κάπνειος άμπελος, όπως χαρακτηριστικά ονομαζόταν στην αρχαιότητα από όπου συναντάμε αρκετές αναφορές, τόσο στον Θεόφραστο όσο και στον Αριστοτέλη. Είναι η ποικιλία που δεσπόζει στους αμπελώνες της Μαντινείας, στο οροπέδιο της Αρκαδίας, στην καρδιά της Πελοποννήσου.

Βηλάνα: απαιτεί προσεκτική εφαρμογή των αμπελοκομικών επεμβάσεων, ώστε να περιορίζεται η ζωηρότητα και η ευρωστία των πρέμων και η παραγωγή να μην υπερβαίνει τα 1200 κιλά ανά στρέμμα.

Μοσχάτο: είναι λεπτόρωγο, προσφέρει απ' άκρη σ' άκρη στην Ελλάδα μοσχοβολιστά ξηρά, αλλά κυρίως σπουδαία γλυκά κρασιά, που δίκαια τοποθετούνται ανάμεσα στα καλύτερα επιδόρπια κρασιά του κόσμου («Μοσχάτο Πατρών», «Μοσχάτο Ρίου Πατρών», «Μοσχάτο Ρόδου», «Μοσχάτο Σάμου», και «Μοσχάτο Κεφαλλονιάς»).

Μαλαγουζιά: λευκή ποικιλία καταγόμενη από την Αιτωλοακαρνανία, η οποία καλλιεργείται στη Μακεδονία, Χαλκιδική, Θεσσαλονίκη και διάσπαρτα στη Στερεά Ελλάδα, Αιτωλοακαρνανία, Φθιώτιδα, Αττική και την Πελοπόννησο (Κούσουλας, 2002).

### *1.9.2 Κυριότερες πιο διαδεδομένες επιτραπέζιες ποικιλίες αμπέλου:*

Italia: καλλιεργείται σε μικρή έκταση στη χώρα μας. Συναντάται σε ορισμένες περιοχές του Νομού Κορινθίας.

Ραζάκι: είναι η σπουδαιότερη ποικιλία επιτραπέζιων σταφυλιών για τη χώρα μας. Συνιστάται για τις περιοχές των Νομών Έβρου, Καβάλας, Θεσσαλονίκης, Κορινθίας, Εύβοιας, Λασιθίου, Ηρακλείου, Ρεθύμνης και Χανίων. Συνώνυμά του αναφέρονται τα Κέρινο και Συμυρναίικο.

Σουλτανίνα: λευκή απύρηνη ποικιλία με πάρα πολύ μεγάλη διάδοση σε πολλές περιοχές της Μεσόγειο.

Αττική: μαύρη άσπερμη ποικιλία επιτραπέζιου σταφυλιού, με μακρόστενη ράγα που ωριμάζει στις αρχές του Αυγούστου.



Φράουλα: καλλιεργείται από πολλά χρόνια στη χώρα μας και θεωρείται ιθαγενής ποικιλία. Καλλιεργείται κυρίως στη βόρεια Πελοπόννησο.

Κορινθιακή σταφίδα: εντοπίζεται στις περιοχές της Βόρειας και Δυτικής Πελοποννήσου, καθώς και τη Ζάκυνθο.

Μοσχάτο Αμβούργου: καλλιεργείται στις αμπελουργικές περιοχές της Θεσσαλίας και Μακεδονίας, σε έκταση αρκετά σημαντική. Κατατάσσεται στις επιτρεπόμενες και όχι στις συνιστώμενες ποικιλίες. Είναι γνωστή σαν ποικιλία και ως Μοσχάτο μαύρο.

Σιδερίτης: καλλιεργείται συστηματικά στη Βόρεια και Βορειοδυτική Πελοπόννησο και την Εύβοια, ενώ απαντάται σποραδικά σε όλες τις αμπελουργικές περιοχές της χώρας. Χαρακτηρίζεται ως «επιτρεπόμενη για καλλιέργεια ποικιλία» για τις περιοχές των νομών Ιωαννίνων και Θεσσαλίας (Κούσουλας, 2002).

## 1.10 Κλίμα και έδαφος

Κλίμα είναι το σύνολο των συνθηκών που επηρεάζει το υπέργειο τμήμα των φυτών της αμπέλου και γενικότερα όλων των φυτών και αποτελείται από το σύνολο των μετεωρολογικών παραγόντων:

Φως: ο βασικότερος παράγοντας που επιδρά στο σχηματισμό υδατανθράκων στα φύλλα και επηρεάζει τη σύνθεση του σταφυλιού.

Θερμοκρασία και ηλιοφάνεια: επηρεάζουν την αύξηση, την επικονίαση, τη γονιμότητα οφθαλμών και την ωρίμανση των καρπών. Από την ανθοφορία μέχρι την αλλαγή του χρωματισμού χρειάζονται 22°C-26°C. Από την αλλαγή του χρωματισμού των ραγών μέχρι την ωρίμανση 20°C- 24°C. Από την έναρξη μέχρι τη λήξη του τρυγητού 18°C- 22°C. Το αμπέλι πάντως είναι γενικά ένα φυτό που δεν αγαπάει ούτε το υπερβολικό κρύο αλλά ούτε και τις πολύ ζεστές, υγρές συνθήκες.

Βροχόπτωση: οι βροχές επιδρούν στη βλάστηση και παραγωγή της αμπέλου. Οι βροχοπτώσεις κατά την περίοδο της Άνοιξης και του Θέρους (Απρίλιος-Σεπτέμβριος) επηρεάζουν:

- Τη γεωγραφική κατανομή της καλλιέργειας αμπέλου
- Την επιλογή της ποικιλίας, που θα καλλιεργηθεί
- Την τεχνική της καλλιέργειας

Άνεμος: επιδρά ανάλογα με το βλαστικό στάδιο. Την άνοιξη ο ελαφρύς άνεμος εμποδίζει τη δημιουργία νυχτερινών παγετών, ενώ ο ισχυρός, ιδιαίτερα στην αρχή του

βλαστικού κύκλου, προκαλεί ζημίες μιας και τότε οι νέοι βλαστοί αποσπώνται εύκολα («ξεμασκαλίζονται») από το πρέμνο με αποτέλεσμα να έχει επιπτώσεις όπως (μείωση παραγωγής, δυσκολία χειμερινού κλαδέματος διαμόρφωσης & καρποφορίας). Κατά την περίοδο της άνθισης, ο ελαφρύς άνεμος διασπείρει τη γύρη. Οι δυνατοί άνεμοι, κατά το θέρος, ξηραίνουν αέρα και έδαφος και τραυματίζουν βλαστούς και βότρες.

Έδαφος: ιδανικά για την καλλιέργεια αμπελώνων είναι τα αμμοχαλικώδη ελαφρά, και μέτριας γονιμότητας εδάφη. Απαραίτητη προϋπόθεση για την γρήγορη ανάπτυξη του ριζικού συστήματος είναι να εξασφαλίζεται η καλή στράγγιση εδάφους και ο σωστός εφοδιασμός με επαρκή ποσότητα νερού για την κάλυψη των υδατικών αναγκών των φυτών. Επιπλέον το pH του εδάφους να κυμαίνεται από 6,5-7,5.

### 1.11 Προετοιμασίες εδάφους φύτευσης αμπελώνα ή και αναμπέλωσης

Η σειρά που πρέπει να ακολουθείται κατά τη φύτευση ή την αναδιάρθρωση ενός αμπελώνα είναι:

ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΔΑΦΟΥΣ

↓

ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΩΝ ΛΙΠΑΣΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΟΥΣΙΑΣ

↓

ΒΑΘΥ ΟΡΓΩΜΑ

↓

ΙΣΟΠΕΔΩΣΗ

↓

ΧΑΡΑΞΗ ΑΜΠΕΛΩΝΑ

↓

ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΥΠΟΣΤΥΛΩΣΗΣ

↓

ΦΥΤΕΥΣΗ

Οι καλλιεργητικές προετοιμασίες ενός αμπελώνα αφορούν την κατεργασία εδάφους, καταστροφή ζιζανίων, προσθήκη λιπασμάτων, φυτοπροστασία και άρδευση.

Η κατεργασία εδάφους έχει πρωταρχική σημασία στη εγκατάσταση αμπελώνα και περιλαμβάνει την ανάλυση του εδάφους, την προσθήκη απαιτούμενων λιπασμάτων και οργανικής ουσίας, βαθύ όργωμα, ισοπέδωση και χάραξη του αγρού και τέλος την κατασκευή της υποστύλωσης.

Στις περιπτώσεις αναμπελώσεων, πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν η ανάλυση εδάφους για τον έλεγχο επί της παρουσίας φυτοπαρασιτικών νηματωδών και να εφαρμόζονται επιπλέον καλλιεργητικά μέτρα, δηλαδή προσεκτική απομάκρυνση ριζών και πρέμων του προηγούμενου αμπελώνα και εφαρμογή αγρανάπαυσης ή αμειψισποράς για τουλάχιστον 4 χρόνια. Στην περίπτωση αγρανάπαυσης πρέπει να γίνεται ζιζανιοκτονία για την καταστροφή των ζιζανίων που φυτρώνουν στον αμπελώνα και αρκετά οργώματα.

### 1.12 Καλλιεργητικές φροντίδες

Οι καλλιεργητικές φροντίδες, που γίνονται στους αμπελώνες αφορούν κατεργασία του εδάφους, καταστροφή των ζιζανίων, προσθήκη λιπασμάτων και αρδεύσεις.

Κατεργασία εδάφους: Πραγματοποιείται ένα φρεζάρισμα το φθινόπωρο σε βάθος 10-15εκ για τη συγκράτηση του βρόχινου νερού. Το φθινόπωρο επίσης πραγματοποιείται το περιλάκωμα (ξελάκκωμα) γύρω από τα πρέμνα (με προσοχή μην καταστραφεί το ριζικό σύστημα) για την εναπόθεση λιπασμάτων και την συγκράτηση του νερού της βροχής. Ένα δεύτερο φρεζάρισμα μπορεί να πραγματοποιηθεί την άνοιξη εφ' όσον είναι ανάγκη σε βάθος 5-8 εκ με προσοχή να μην καταστραφούν τα νέα απορροφητικά ριζίδια τα οποία αποτελούν και το ενεργό ριζικό στρώμα.

Καταστροφή των ζιζανίων: Η καταστροφή ζιζανίων γίνεται είτε με μηχανικά είτε με χημικά μέσα με την εφαρμογή ζιζανιοκτόνων. Αποφεύγεται η συνεχή χρήση μηχανικών μέσων γιατί προκαλεί ασφυξία στο ριζικό σύστημα της καλλιέργειας. Η χρήση ζιζανιοκτόνων γίνεται με εκλεκτική εφαρμογή στις γραμμές, όπου είναι

συγκεντρωμένα ζιζάνια. Η χρήση ζιζανιοκτόνων μπορεί να γίνει από το Νοέμβριο έως τον Μάρτιο.

Προσθήκη λιπασμάτων: Το αμπέλι, όπως όλα τα φυτά, για να αναπτυχθεί και να δώσει παραγωγή έχει ανάγκη από ορισμένα θρεπτικά στοιχεία που μαζί με το νερό αποτελούν βασικά συστατικά για την ολοκλήρωση της ανάπτυξης των φυτών, όπως το άζωτο, επίσης το κάλιο, απαραίτητο για την ωρίμανση και την ποιότητα των καρπών, ο φώσφορος, το θείο, το μαγνήσιο κ.α. Πέραν τούτων, αν παρουσιαστούν ελλείψεις ιχνοστοιχείων όπως σίδηρος, βόριο, ψευδάργυρος, χαλκός κ.α τότε προτείνονται και εφαρμόζονται διαφυλλικές λιπάνσεις.

Άρδευση αμπελώνων: Είναι απαραίτητη όπως σε όλες τις καλλιέργειες, αν και η άμπελος μπορεί να επιβιώσει και να αναπτυχθεί και σε πιο ξηρικές συνθήκες. Μπορούμε να αρδεύουμε συχνά εκτός από την περίοδο άνθισης έως και το δέσιμο των καρπών όπου το νερό επιδρά αρνητικά. Οι ανάγκες για άρδευση είναι υψηλές από το τέλος Μαΐου μέχρι τις αρχές Αυγούστου.

### 1.13 Ωρίμαση σταφυλιών

Η ωρίμαση του σταφυλιού περνά από διάφορα στάδια: στο πρώτο στάδιο, η ράγα είναι πράσινη λόγω παρουσίας χλωροφύλλης, ενώ η γεύση της έντονα ξινή, λόγω αυξημένης περιεκτικότητας σε οξέα. Αυτή την περίοδο η ράγα είναι μικρή. Κατά το δεύτερο στάδιο, η ράγα αλλάζει χρώμα, αυξάνεται σημαντικά ο όγκος της και γίνεται πιο μαλακή. Οι ερυθρές χρωστικές κάνουν την εμφάνισή τους στις ερυθρές ποικιλίες, ενώ δημιουργούνται και οι χρωστικές των λευκών ποικιλιών. Η ωρίμαση ορίζεται με διάφορους τρόπους: η περιεκτικότητα σε σάκχαρα πρέπει να φτάσει στη μέγιστη συγκέντρωση, ενώ η ωρίμανση μπορεί να καθοριστεί και με βάση τα αρωματικά συστατικά. Η σχέση σακχάρων προς τα οξέα είναι ο πιο απλός δείκτης καθορισμού του σημείου ωρίμανσης, καθώς με τη βοήθεια της φωτοσύνθεσης η οξύτητα μειώνεται απότομα ενώ η συγκέντρωση των σακχάρων αυξάνεται. Στο τρίτο στάδιο, το σταφύλι ωριμάζει στην τελική του κατάσταση, με αποτέλεσμα να παρατηρείται αυξημένη περιεκτικότητα σε σάκχαρα και πολύ χαμηλή σε οξέα.

## 1.14 Συλλογή των σταφυλιών και μεταφορά

Τρυγητός λέγεται η συλλογή των σταφυλιών και γίνεται όταν αυτά ωριμάσουν. Γίνεται χειρωνακτικά αλλά και με μηχανικά μέσα, με ιδιαίτερη προσοχή να μην τραυματισθούν οι ράγες. Η συλλογή γίνεται σε καλάθια τρύγου ή καφάσια (τελάρα), ανάλογα με τον τρόπο που έχουμε επιλέξει να γίνει η μεταφορά. Ίσως το καλύτερο χρονικό σημείο για τον τρύγο είναι όταν τα σταφύλια έχουν αναπτύξει το ανώτατο απόλυτο ποσό σακχάρου και η οξύτητά του κυμαίνεται από 12-14 brix. Γενικά, τα δεδομένα παλαιότερων ετών για κάθε ποικιλία και περιοχή είναι καλός οδηγός για την επιλογή του χρόνου του τρυγητού. Οι ποικιλίες οιναμπέλου διακρίνονται σε πρώιμες, μεσοπρώιμες και όψιμες.

## A.2 ΕΧΘΡΟΙ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

### 2.1 Ψευδόκοκος της αμπέλου (Planococcus ficus Homoptera: Pseudococcidae)

**Μορφολογικά χαρακτηριστικά – Βιολογικός Κύκλος – Ζημιές:** Το θηλυκό ακμαίο του ψευδόκοκκου έχει σώμα ωσειδές, δεν έχει πτέρυγες και έχει μήκος 2.5-5mm και χρώμα πορτοκαλί, κίτρινο ή ρόδινο και το σώμα του καλύπτεται από λευκό επίχρισμα. Φέρει περιφερειακά 17-18 ζεύγη κηρωδών αποφύσεων από τα οποία το τελευταίο είναι μικρότερο και είναι κινητό σε όλα τα στάδια. Το αρσενικό έχει διαστάσεις 1.0x0.2-0.3mm και χρώμα καστανοκίτρινο, καστανέρυθρο ή τεφροκαστανό. Η προνύμφη έχει ανοικτό καστανό χρώμα και στην τελική της μορφή παίρνει το χρώμα του ενήλικου θηλυκού. Το έντομο συμπληρώνει 4-6 γενεές το χρόνο. Διαχειμάζει σε όλα τα στάδια ανάπτυξης σε προστατευμένες θέσεις σε όλα τα μέρη του πρέμνου. Την Άνοιξη καθώς η θερμοκρασία του περιβάλλοντος ανεβαίνει, ο πληθυσμός του ψευδόκοκκου αυξάνεται και παρατηρείται μετακίνησή τους προς τους βραχίονες και τα υπέργεια μέρη του φυτού (τρυφερή βλάστηση). Στο τέλος της Άνοιξης και το Καλοκαίρι, ο ψευδόκοκος βρίσκεται σε όλα τα υπέργεια μέρη της αμπέλου συμπεριλαμβανομένων των φύλλων και των βοτρυών. Μετά την συγκομιδή ο πληθυσμός του ψευδόκοκκου μειώνεται. Το θηλυκό, κατά την ωοτοκία, εκκρίνει

κηρώδη νημάτια και σχηματίζει μεγάλο βαμβακώδη ωόσακκο, περίπου ίσο με το μέγεθος του σώματός του, όπου τοποθετεί κατά μέσο όρο 400-500 ωά χρώματος ωχροκίτρινου. Η ζημιά στα φυτά προκαλείται τόσο από τις προνύμφες όσο και από τα ενήλικα άτομα. Νυσσει και μυζεί χυμό, οπότε στα σημεία αυτά ο φυτικός ιστός φαίνεται σαν να είναι «βρεγμένος» και καλύπτεται με κηρώδη και μελιτώδη εκκρίματα, τα οποία έχουν ως επακόλουθο την ανάπτυξη καπνιάς και υπό προϋποθέσεις μπορούν να οδηγήσουν ακόμα και στην αποφύλλωση ολόκληρου του φυτού. Η ζημιά που προκαλείται είναι κυρίως έμμεση καθώς οι καρποί υφίστανται σημαντική υποβάθμιση ως προς την εμπορική τους αξία.



**Εικ 8.** Ακμαίο άτομο ψευδόκκοκου *Planococcus ficus* (<http://www.gaiapedia.gr>)



**Εικ 9.** Προσβολή βλαστού και ραγών από *Planococcus ficus* (<http://www.blog.farmacon.gr>)

**Αντιμετώπιση:** τα σταφύλια δεν πρέπει να σκιάζονται κατά την βλαστική περίοδο, οπότε πρέπει να γίνεται αραίωμα των φύλλων του φυτού ώστε να επιτυγχάνεται και καλύτερη κάλυψη των σταφυλιών με ψεκαστικό υγρό. Εφαρμόζονται 2 ψεκασμοί με οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα σε συνδυασμό με θερινό πολτό. Ο ένας ψεκασμός γίνεται όταν η καλλιέργεια βρίσκεται στο στάδιο του χειμερινού ληθάργου, ιδιαίτερα όταν οι αμπελώνες την προηγούμενη χρονιά είχαν υψηλούς πληθυσμούς. Ένας ακόμα ψεκασμός γίνεται κατά την περίοδο της βλάστησης εάν χρειαστεί.

**Βιολογική αντιμετώπιση:** γίνεται με διάφορα είδη αρπακτικών εντόμων, κυρίως τα *Cryptolaemus montrouzieri* και *Nephus includens* (Coleoptera: Coccinellidae) καθώς και παρασιτοειδών όπως το *Anagyrus pseydococci* (Hymenoptera: Encyrtidae).

## 2.2 Τσιγαρολόγος (*Buctiscus betulae* Coleoptera: Curculionidae: Attelabidae)

**Μορφολογικά χαρακτηριστικά – Βιολογικός Κύκλος -Ζημιές:** Έχει μια γενιά ανά έτος. Το ακμαίο έχει μήκος 4.5-7 mm φέρει ρύγχος και έχει χρώμα χαλκοπράσινο μεταλλικό ή χρυσίζον ή ιώδες. Η προνύμφη είναι άποδη, υπόλευκου έως ανοιχτού κίτρινου χρώματος, τυπική των Curculionidae. Διαχειμάζει ως ενήλικο, συνήθως στο έδαφος στο κελί νύμφωσης. Τα ενήλικα της διαχειμάζουσας γενεάς εμφανίζονται την Άνοιξη, συνήθως Απρίλιο-Μάιο, και τρέφονται με το παρέγχυμα των φύλλων και το φλοιό τρυφερών βλαστών. Περί τα τέλη Μαΐου με μέσα Ιουνίου, το θηλυκό ωοτοκεί σε φύλλο ή ομάδα φύλλων (ανάλογα με το είδος του φυτού), το έλασμα των οποίων τυλίγει, δημιουργώντας στενόμακρη θήκη, σαν «τσιγάρο», μήκους 6.5-10 mm. Κόβει εν μέρει το μίσχο, ώστε το φύλλο να μαραθεί και να μπορέσει να το τυλίξει, στην άμπελο τυλίγει 1 ή 2 φύλλα. Σε κάθε θήκη αποθέτει κατά μέσον όρο 1-8 ωά, κυρίως όμως 3-4. Οι προνύμφες αναπτύσσονται τρώγοντας το εσωτερικό του συνεστραμμένου φύλλου. Συμπληρώνουν την ανάπτυξή τους σε 20-30 ημέρες και πέφτουν στο έδαφος, όπου σε μικρό βάθος κατασκευάζουν η καθεμιά το κελί νύμφωσης. Η ενηλικίωση γίνεται συνήθως τον Αύγουστο και το ενήλικο μένει στο έδαφος εντός του κελιού νυμφώσεως ή εξέρχεται από αυτό και κατευθύνεται προς άλλες προφυλαγμένες θέσεις επάνω ή κοντά στα δέντρα έως την επόμενη άνοιξη. Τρώει τα φύλλα (αφήνουν μόνο τα κύρια νεύρα) (Εικ.10), τους οφθαλμούς, τις τρυφερές κορυφές των βλαστών και τους καρπούς.



**Εικ 10.** Ακμαίο του κολεοπτέρου *Buctiscus betulae* και στάδια προσβολής (<http://www.gaiapedia.gr>)

**Αντιμετώπιση:** χημική καταπολέμηση με ψεκασμούς με κατάλληλα εντομοκτόνα.

### 2.3 Anomala vitis Coleoptera: Scarabaeidae

**Μορφολογικά χαρακτηριστικά – Βιολογικός Κύκλος – Ζημιές:** Το ακμαίο έχει σχήμα ωοειδές μήκους 14-18mm και χρώμα πράσινο μεταλλικό ή κυανό. Η προνύμφη είναι εδαφόβια κυρτή (Scarabaeidae) έχει μήκος περίπου 25mm και υπόλευκο χρώμα με καστανέρυθρη κεφαλή. Έχει 1 γενιά ανά έτος. Διαχειμάζει ως προνύμφη στο έδαφος. Την Άνοιξη νυμφώνεται και τα ενήλικα εξέρχονται από το έδαφος αρχές ή μέσα Καλοκαιριού. Η έξοδος των ενηλίκων μπορεί να είναι μαζική και έτσι να συγκεντρωθεί ένας μεγάλος αριθμός εντόμων, ο οποίος μπορεί να προκαλέσει σοβαρές ζημιές στο αμπέλι. Το ενήλικο καταστρέφει το έλασμα του φύλλου εκτός των κεντρικών νεύρων, τους οφθαλμούς και τις τρυφερές κορυφές βλαστών. Η προνύμφη προσβάλλει τις ρίζες, χωρίς όμως η ζημιά να είναι αισθητή, ούτε εύκολα προσδιορίσιμη. Ωοτοκεί σε αμμώδη και ελαφρά κατά προτίμηση εδάφη.

**Αντιμετώπιση:** οι ζημιές είναι συνήθως σποραδικές και αν χρειαστεί γίνεται ψεκάσμος με ένα κατάλληλο εντομοκτόνο.



**Εικ 11.** Ακμαίο του εντόμου *Anomala vitis* (<http://www.BioLib.gr>)

### 2.4 Viteus vitifoliae Homoptera: Phylloxeridae)

**Μορφολογικά χαρακτηριστικά – Βιολογικός Κύκλος – Ζημιές:** Είναι πολυμορφική αφίδα. Έχει διαφορετικό κύκλο ζωής στα αμερικάνικα είδη από ότι στην ευρωπαϊκή άμπελο. Στην ευρωπαϊκή παρατηρείται μόνο η ριζόβια και σπάνια η φυλλόβια μορφή, ενώ στα αμερικάνικα είδη παρατηρούνται 5 μορφές: η κικηδόβια, η ριζόβια και η φυλογόνος αρσενικό και θηλυκό. Τα φυλλόβια και ριζόβια άτομα ακολουθούν 4-7 γενεές. Στην αμερικανική άμπελο προσβάλλει μόνο το υπέργειο τμήμα του φυτού, ενώ αντίθετα στην Ευρωπαϊκή μόνο το υπόγειο. Διαχειμάζει ως χειμερινό ωό κάτω από ξηρούς φλοιούς ή σε άλλες προστατευόμενες θέσεις του φλοιού του κορμού, των βραχιόνων ή των κληματίδων του πρέμνου.





**Εικ 12.** Προσβολή φύλλου από φυλλοξήρα *Viteus vitifoliae* (<http://www.gaiapedia.gr>)



**Εικ 13.** Ακμαίο *Viteus vitifoliae* (<http://www.gaiapedia.gr>)

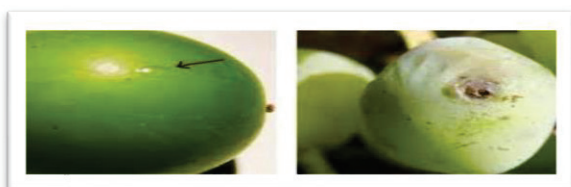
**Αντιμετώπιση:** Δεν υπάρχει χημική καταπολέμηση για τη φυλλοξήρα της αμπέλου. Τα αμερικάνικα είδη αμπέλου προσβάλλονται στο ριζικό τους σύστημα από την φυλλοξήρα, αλλά έχουν την ικανότητα να δημιουργούν γρήγορα φελλώδη ιστό που απομονώνει το προσβεβλημένο μέρος και εμποδίζει την επέκταση της σήψης. Χρησιμοποίηση ανθεκτικών φυτών, δηλ. εμβολιασμός ευρωπαϊκών ποικιλιών σε αμερικάνικα υποκείμενα είναι η μόνη λύση και έτσι, έχουμε πρέμνα με απρόσβλητο φύλλωμα και ανθεκτικό ριζικό σύστημα. Σήμερα ο αποτελεσματικότερος και πρακτικότερος τρόπος αντιμετώπισης της φυλλοξήρας είναι η χρησιμοποίηση ανθεκτικών φυτών. Αυτό επιτυγχάνεται με εμβολιασμό των ευαίσθητων φυτών (ευρωπαϊκές ποικιλίες) σε ανθεκτικά υποκείμενα όπως είναι : α) τα αμερικάνικα είδη (*V. riparia*, *V. rupestris*, *V. berlandieri* κ.ά) ή β) προϊόντα διασταύρωσης των ειδών αυτών μεταξύ τους ή με ποικιλίες της ευρωπαϊκής αμπέλου. Ο εμβολιασμός της ευρωπαϊκής αμπέλου με κάποιο ανθεκτικό υποκείμενο, δημιουργεί φυτό με απρόσβλητο φύλλωμα και ανθεκτικό ριζικό σύστημα.

## 2.5 Ευδεμίδα της αμπέλου (*Lobesia botrana* Lepidoptera: Tortricidae)

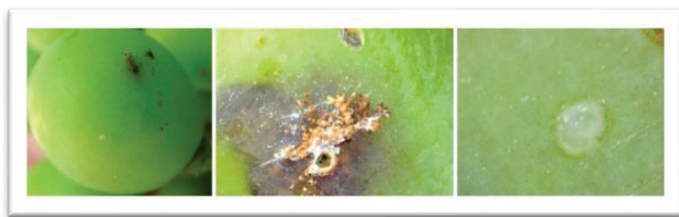
**Μορφολογικά χαρακτηριστικά – Βιολογικός Κύκλος – Ζημιές:** Έχει 3-4 γενιές ανά έτος. Το ενήλικο έντομο έχει μήκος 6-8 mm, άνοιγμα πτερύγων 11-16mm και καστανοπράσινο χρώμα και φέρουν έντονες μαύρες κηλίδες. Η προνύμφη έχει μήκος 10-12mm και κιτρινοπράσινο με καστανοπράσινο χρωματισμό. Είναι ζωηρή και ευκίνητη και όταν ενοχληθεί πέφτει στο έδαφος εξαρτώμενη από μετάξινο νήμα. Έχει 5 προνυμφικές ηλικίες. Νύμφη έχει μήκος περίπου 4.5 – 6.5 mm, σκούρο καστανό χρώμα και περιβάλλεται από λευκό βομβύκιο. Στα αρσενικά είναι λίγο μικρότερη. Στην Ελλάδα έχει 3 γενεές, σε ορισμένες όμως περιοχές της όπου οι κλιματολογικές συνθήκες ευνοούν την ανάπτυξή του έχουν παρατηρηθεί έως και 5 γενεές ανά έτος. Η 1η γενεά είναι ανθοφάγος και εμφανίζεται τον Απρίλιο. Η 2η και 3η γενεά είναι καρποφάγες και εμφανίζονται τον Ιούνιο και τον Αύγουστο αντίστοιχα. Διαχειμάζει ως νύμφη στους ξηρούς φλοιούς των πρέμων ή στο έδαφος σε μικρό βάθος. Τα ενήλικα της 3ης γενεάς εμφανίζονται τον Απρίλιο και ωοτοκούν στους μόλις εμφανιζόμενους βότρεις και στα φύλλα. Οι προνύμφες της 1ης γενεάς συνδέουν με μετάξινο ιστούς τα άνθη που προσβάλλουν με τα γειτονικά τους. Ζημιές που προκαλούνται από την ευδεμίδα είναι άμεση ζημιά και λόγω καταστροφής των ραγών (σοβαρότερη ζημιά σε πυκνόρραγες ποικιλίες). Έμμεση ζημιά είναι οι σήψεις από μύκητες στις ράγες οι οποίες είναι προσβεβλημένες από βοτρυτή και άλλα παθογόνα ιδίως όταν επικρατεί αυξημένη υγρασία.



**Εικ 14.** Ακμαίο *Lobesia botrana* πάνω σε φύλλο αμπέλου (<http://www.gaiapedia.gr>)



**Εικ 15.** Συμπτώματα από προσβολή Ευδεμίδας (*Lobesia botrana*) σε ράγα (<http://www.erosmykonos.gr>)



**Εικ 16.** Ωα και προνυμφική δραστηριότητα Ευδεμίδας (*Lobesia botrana*)

(<http://www.froutonea.gr>)



**Εικ 17.** Διάφορα στάδια προσβολής από Ευδεμίδα (*Lobesia botrana*)

(<http://www.blog.farmacon.gr>)

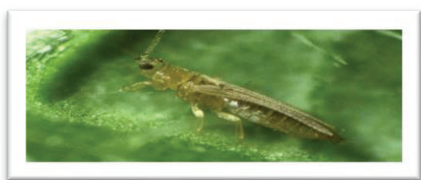
**Αντιμετώπιση:** χημική καταπολέμηση με εφαρμογές συνθετικών εντομοκτόνων, καρβαμιδικών και οργανοφωσφορικών. Εφαρμογές ψεκασμών με λιγότερο αποτελεσματικά εκλεκτικά μικροβιακά λίγο πριν την εκκόλαψη και με θερμό καιρό για οινοποιήσιμες ποικιλίες. Τα οργανοφωσφορικά δρουν ενάντια των νεαρών προνυμφών και ενήλικων. Τα καρβαμιδικά (fenoxycarb και methomyl) είναι και ωοκτόνα. Ενάντια των ωών και προνυμφών 2<sup>ης</sup> και 3<sup>ης</sup> γενιά απαιτούνται 1-3 ψεκασμοί κάθε 2-3 εβδομάδες. Όριο επέμβασης το 2-3% για τις επιτραπέζιες και 3-5% για τις οινοποιήσιμες ποικιλίες. Αν ο πληθυσμός δεν παρακολουθείται, ο πρώτος ψεκασμός εφαρμόζεται όταν τα άνθη είναι ακόμα κλειστά και ο δεύτερος ψεκασμός μπορεί να εφαρμοστεί όταν οι ράγες έχουν μέγεθος μπιζελιού ή όταν βρίσκονται στο γυάλισμα και τέλος ο τρίτος ψεκασμός γίνεται όταν έχει αρχίσει η ωρίμανση.

**Βιολογική αντιμετώπιση:** με χρήση σκευασμάτων που περιέχουν τον κρύσταλλο της δ-ενδοτοξίνης του *Bacillus thuringiensis* και εφαρμόζονται μία εβδομάδα μετά την

έναρξη των πτήσεων και επαναλαμβάνονται έπειτα από 8-10 ημέρες εφόσον απαιτηθεί.

## 2.6 Θρίπας της αμπέλου (*Drepanothrips reuteri* Thysanoptera: Thripidae)

**Μορφολογικά χαρακτηριστικά – Βιολογικός Κύκλος – Ζημιές:** Έχει 5-7 γενεές ανά έτος. Ο θρίπας της αμπέλου έχει σώμα μήκους 0,6-0,9mm και χρώμα συνήθως κιτρινωπό, φέρει κροσσωτές πτέρυγες. Η κεφαλή είναι μεγαλύτερη σε πλάτος σε σχέση με το μήκος της, ενώ οι κεραίες έχουν 6 άρθρα συνολικά. Η προνύμφη στη νεαρή της ηλικία είναι υπόλευκου χρώματος με κόκκινους οφθαλμούς. Διαχειμάζει ως ενήλικο σε διάφορα καταφύγια και κυρίως επί των πρέμων. Την άνοιξη δραστηριοποιείται και αρχίζει να μυζά χυμούς προσβάλλοντας τη νεαρή βλάστηση όπως οφθαλμούς, φύλλα, βλαστούς, ανθοταξίες προκαλώντας χαρακτηριστικές διαβρώσεις, με αποτέλεσμα τη νέκρωση των προσβεβλημένων ιστών και την δημιουργία ουλών, την ανάσχεση της ανάπτυξης των οργάνων και ολόκληρου του φυτού, καθώς επίσης και βραχυγονάτωση, μικροφυλλία και παραμόρφωση των φύλλων. Η ζημιά είναι σημαντική κυρίως για τις επιτραπέζιες ποικιλίες και λιγότερο για τις οινοποιήσιμες.



**Εικ 18.** Ακμαίο *Drepanothrips reuteri* πάνω σε φύλλο (<http://www.kalliergo.gr>)



**Εικ 19.** Φύλλο αμπέλου με προσβολή από τον θρίπα *Drepanothrips reuteri*. (<http://www.kalliergo.gr>)

**Αντιμετώπιση:** χημική καταπολέμηση με εφαρμογή ψεκασμών στα πρώτα βλαστικά στάδια δηλ. στην έκπτυξη των φύλλων με δραστικές ουσίες όπως methomyl, spinosad

κ.α. με εναλλαγή και συνδυασμένη χρήση για την αντιμετώπιση άλλων εχθρών, λόγω του ότι το είδος αυτό αναπτύσσει ταχύτατα ανθεκτικότητα. Χρήση κολλητικών παγίδων για την παρακολούθηση των πληθυσμών.

**Βιολογική αντιμετώπιση:** Με διάφορα αρπακτικά έντομα (*Macrolophus*, *Nabis*, *Orius*) και ακάρεα (Phytoseidae) που μπορούν να περιορίζουν σημαντικά τους πληθυσμούς.

## 2.7 Κοινός τετράνυχος (*Tetranychus urticae* Tetranychidae)

**Μορφολογικά χαρακτηριστικά – Βιολογικός Κύκλος – Ζημιές:** Τα ωά του είναι σφαιρικά, πολύ μικρά με διάμετρο 0.15mm, χρώμα διαφανές όταν αρχικά εναποτίθενται και λίγο πριν την εκκόλαψη υπόλευκο ή κιτρινοπράσινο. Οι προνύμφες έχουν 3 ζεύγη ποδιών και είναι ημιδιαφανείς με κόκκινα μάτια. Τα ενήλικα είναι ωοειδή, έχουν δύο χαρακτηριστικές μαύρες κηλίδες στην πλάτη και 4 ζεύγη ποδιών. Είναι πολύ διαδεδομένος σε όλη τη χώρα και προσβάλλει πάρα πολλά καλλιεργούμενα φυτά και τους προκαλεί σοβαρές ζημιές. Προσβάλλει τα φύλλα και προκαλεί αποξήρανση αυτών. Ελαφρές προσβολές προκαλούν μείωση στην ανάπτυξη των βλαστών και μη ικανοποιητική ωρίμανση των βοτρώων και του ξύλου. Σοβαρές προσβολές μπορεί ναπροκαλέσουν φυλλόπτωση με αποτέλεσμα την ολοσχερή απώλεια της παραγωγής.



**Εικ 20.** Ακμαία και ωά τετράνυχου (*Tetranychus urticae*) πάνω σε φύλλο αμπέλου  
(<http://www.okipakosmou.wordpress.com>)

**Αντιμετώπιση:** χημική καταπολέμηση με 2 ψεκασμούς σε διάστημα 12-15 ημερών με κατάλληλο ακαρεοκτόνο, όταν εμφανιστεί προσβολή. Σε καλλιέργειες αμπελώνων όπου σημειώθηκε προσβολή την προηγούμενη χρονιά οι ψεκασμοί πρέπει να

εφαρμόζονται στις αρχές καλοκαιριού. Επίσης κίνδυνος για προσβολή υπάρχει μέχρι αργά τον Αύγουστο η και τον Σεπτέμβριο.

## 2.8 Ερίνωση της αμπέλου (*Eriophyes vitis* *Eriophyidae*)

**Μορφολογικά χαρακτηριστικά – Βιολογικός Κύκλος – Ζημιές:** Προκαλείται από ένα μικροσκοπικό άκαρι, αόρατο με γυμνό μάτι, το οποίο γίνεται αντιληπτό από τα χαρακτηριστικά συμπτώματα που προκαλεί (φλύκταινες). Διαχειμάζει μέσα στα μάτια και κάτω από τον φλοιό στην βάση των κληματίδων. Αναπτύσσει 5-8 γενεές το έτος. Προσβάλλει τα φύλλα, όπου σχηματίζονται διογκωμένες ανώμαλες κηλίδες (φλύκταινες). Σε περίπτωση σοβαρής προσβολής μπορεί να παρατηρηθεί αναχαίτιση της ανάπτυξης των βλαστών ή ζημιές στις ταξιανθίες. Σε περιπτώσεις προσβολής των οφθαλμών μπορεί να μην εκπτυχθούν ή να δώσουν ασθενική και παραμορφωμένη βλάστηση.

**Αντιμετώπιση:** Συνιστάται εφαρμογή βρέξιμου θείου κατά το φούσκωμα των οφθαλμών σε αμπελώνες με πολύ σοβαρές προσβολές στο φύλλωμα την περασμένη περίοδο. Η συστηματική χρήση του θείου μειώνει σημαντικά τον πληθυσμό.

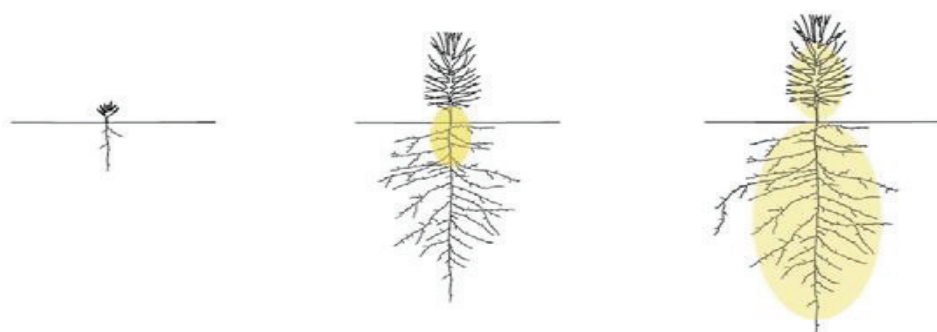


**Εικ 21.** Σύμπτωμα σε φύλλο αμπέλου από προσβολή από *Eriophyes vitis*  
(<http://www.agroepirus.gr>)

## A.3 Ενδοφυτικοί εντομοπαθογόνοι μύκητες

### 3.1. Εντομοπαθογόνοι μυκήτες ως ενδόφυτα

Ο όρος " ενδοφύτο" επινοήθηκε από την De Bary (1884) και χρησιμοποιείται για να καθορίσει τον οργανισμό που συμβιώνει στο εσωτερικό των ασυμπτωματικών υγιών φυτικών ιστών (Hyde και Soytong 2008, Vegaetal. 2008). Συνήθως αυτά είναι μύκητες που δεν έχουν καμία επίδραση στο ξενιστή τους έκτος της ικανότητας να παρέχουν φυσικά άμυνα εναντίον των εχθρών (Backman και Sikora 2008). Ο μύκητας αποικίζει και διαδίδεται διάμεσο των παρεγχυματικών ιστών του φυτικού οργανισμού (Wanger και Lewis 2000, Brownbridge et al. 2012). Μερικοί εντομοπαθογόνοι μύκητες έχουν αναφερθεί και ως φυσικά ενδοφυτά ενώ άλλοι έχουν εισαχθεί στο φυτικό ξενιστή με τη χρήση διαφορών τεχνικών. Οι μελέτες αυτές είχαν ως στόχο την εισαγωγή του εντομοπαθογόνου μύκητα ως ενδοφύτο και την δράση του ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου επιβλαβών οργανισμών (Vega et al. 2008).



**Εικ 22.** Γραφική απεικόνιση της πορείας του αποικισμού του φυτού από εντομοπαθογόνο μύκητα (Brownbridgeetal. 2012)

Διάφορα γένη εντομοπαθογόνων μυκήτων έχουν χαρακτηριστεί ως ενδοφύτα όπως ο *B. bassiana*, ο *Peacilomyces* (= *Isaria*) spp. ο *M. robertsii* (= *anisopliae*) σε πολλούς φυτικούς οργανισμούς όπως σε φυτά καλαμποκιού (Bing και Lewis 1991, 1992 a, b, Lomer et al. 1997, Cherry et al. 1999, 2004, Wagner και Lewis 2000, Arnold και Lewis 2005), σε φυτά μπανάνας (Akello et al. 2007) σε φυτά καφέ (Posada και Vega 2006, Posada et al. 2007, Vega et al. 2008), σε φυτά κριθαριού (Larran et al. 2002a), σε φυτά φασολιάς (Larran et al. 2002b), σε φυτά τομάτας (Leckie 2002, Ownley et al. 2004), σε φυτά κακάο (Posada και Vega 2006), σε φοίνικοειδή (Gomez – Vidal et al. 2006), σε σπόρους και βελόνες πεύκων (Ganley και Newcombe 2005, Reay et al.

2010), σε φυτά πατάτας και σε βαμβάκι (Jones 1994), σε ρίζες ζαχαροκάλαμου (Fuller – Schaefer 2005), σε παπαρούνα *Opium poppy* (Quesada-Moraga et al. 2006, 2009) και τέλος σε φυτά ρυζιού (Tian et al. 2004). Επίσης έχει αναφερθεί από τους Tefera και Vidal (2009) και τους Reddy et al (2009) σε φυτά σόργου η ύπαρξη ενδοφυτικού σταδίου του εντομοπαθογόνου μύκητα *B. bassiana*.

### 3.1.2 Το είδος *Beauveria bassiana*



**Εικ 23.** Αποικία του μύκητα *B. bassiana* Balsamo επί θρεπτικού υλικού SDA και μορφολογία του σε οπτικό μικροσκόπιο.

Οι μύκητες του γένους *Beauveria* χαρακτηρίζονται μορφολογικά από ελικοειδή συσσωματώματα σφαιρικών έως και φιαλοειδών κονιδιοφόρων. Το σχήμα των κονιδίων μπορεί να είναι σφαιρικό, ελλειψοειδές, νεφροειδές μέχρι και κυλινδρικό και το μέγεθος κυμαίνεται από 1.7μm έως 5.5μm. Ο εντομοφάγος αυτός μύκητας εισβάλλει στο σώμα του εντόμου αφού τα κονίδια του έλθουν σε επαφή με τον εξωσκελετό του και βλαστήσουν. Διαπερνούν την επιδερμίδα και πολλαπλασιάζονται μέσα στο σώμα του εντόμου (Roditakis et al. 2000, Lu et al. 2008). Τα κονίδια του μύκητα είναι μονοκύτταρα, απλοειδή και υδρόφοβα (St Leger et al. 1992, Jeffs και Khachatourians 1997, Leckie et al. 2002, Quesada-Moraga και Vey 2004; Rehner και Buckley 2005, Robertson et al. 2007). Η υψηλή υγρασία είναι απαραίτητη για τον πολλαπλασιασμό των κονιδίων και η μόλυνση ολοκληρώνεται



μέσα σε 24-48 ώρες αναλόγως της θερμοκρασίας (Jeffs και Khachatourians 1997, Leckie et al 2002, Quesada-Moraga και Vey 2004 ). Το έντομο μπορεί να επιζήσει μέχρι και 3-5 μέρες αφού μολυνθεί (Champlin και Grula 1979, Charnley 1984).

Η διείσδυση των εντομοπαθογόνων μυκήτων *B. bassiana* από την επιδερμίδα του εντόμου πραγματοποιείται με δημιουργία βλαστικού σωλήνα, ενώ δε δημιουργεί απρεσσόρια. Μόλις οι βλαστικοί σωλήνες διεισδύσουν στα επιδερμικά κύτταρα, τότε ο μύκητας αναπτύσσεται προς την κατεύθυνση της αιμολέμφου όπου τα βλαστοσπόρια γίνονται εμφανή σε περίπου 48 ώρες μετά τη μόλυνση. Το λεπιδόπτερο *Helicoverpa zea*, εμφανίζει πολύ μικρή ζημία ιστούς και μετά 60-70 ώρες εμφανίζεται λοίμωξη, όταν το σωματικό λίπος εμφανίζει σημάδια φθοράς. Το έντερο και Μαλπιγγειανοί σωλήνες επηρεάζονται σε 6-7 ημέρες, όταν ο θάνατος και η μουμιοποίηση συμβούν. Ωστόσο, το έντερο, οι μύες, αδένες μεταξιού και το τραχειακό σύστημα της προνύμφης μπορεί να παραμείνουν ανέπαφα καθ' όλη την διάρκεια της λοίμωξης. Ο θάνατος είναι πιθανό να οφείλεται στη εξάντληση θρεπτικών συστατικών, αφυδάτωση, ή/και από την παραγωγή τοξίνης από το μύκητα. Οι μύκητες του είδους *Beauveria bassiana* κατά την ανάπτυξη του εντός του εντόμου παράγουν τις τοξίνες Μποβερισίνη, Μποβερολίντες, Μπασσιονολίντες καθώς και αντιβακτηριδιακές ουσίες που παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των σαπροφυτικών βακτηρίων ευνοώντας την ανάπτυξη του (Leckie et al. 2002, Quesada-Moraga και Vey 2004, Isaka et al. 2005, Rehner και Buckley 2005). Η Μποβερισίνη είναι ένα βιοενεργό εξαδεψιπεπτίδιο αποτελούμενο από τρία μόρια N – μέθυλο – D – φενιλαλανίνη και τρία μόρια 2 – υδροξυισοβαρελλικό οξύ και έχει εντομοκτόνο και αντιμικροβιακή δράση και σα λιπόφιλο μόριο έχει τη δυνατότητα της βιοσυσσώρευσης (Quesada-Moraga και Vey 2004, Rehner και Buckley 2005). Οι Μποβερολίντες είναι κυκλοτετραδεψιπεπτιδία που περιέχουν γραμμικά και διακλαδισμένα 9 άτομα άνθρακα (C<sub>9</sub>) ή C<sub>11</sub> – b – υδρόξυ οξύ (Charnley 1990, Jegorov et al.1994, Quesada-Moraga και Vey 2004, Rehner και Buckley 2005). Η Μπασσιονολιντή είναι ένα εντομοκτόνο κυκλοδεψιπεπτίδιο, του οποίου η δομή συντίθεται από 4 μονάδες D – αυδρόξυ-ισοβαλεριλίνη L – N – μέθυλολευκίνη (Leckie et al. 2002, Quesada-Moraga και Vey 2004, Rehner και Buckley 2005).

Οι μύκητες αναπτύσσονται ικανοποιητικά στους 20°C – 30°C με άριστους τους 25°C - 30°C. Σπόρια παράγονται σε 15 - 35°C, ενώ κάτω 10°C και άνω των 35°C δεν παράγονται. Διατηρούν δε την βλαστικότητα τους στους 8°C για 12 μήνες (Jeffs και Khachatourians 1997, Robertson et al. 2007). Πρόσφατα απομονώθηκε η τέλεια

μορφή του μύκητα που προέρχεται από του μύκητες του γένους *Cordyceps*, καταδεικνύοντας ότι ορισμένα είδη *Beauveria* έχουν εγγενές στάδιο (Li et al. 2001, Rehner και Buckley 2005).

Στην Ευρώπη κυκλοφορούν εμπορικά σκευάσματα όπως τα Naturalis-L, Bio-power, Botanigard κ.α. Ο μύκητας αυτός δεν παρουσιάζει φυτοτοξικότητα ούτε δημιουργεί τοξικότητες σε πτηνά, ζώα και ψάρια (Copping 2001). Τα προϊόντα που περιέχουν τα κονίδια του μύκητα μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνα τους ή σε συνδυασμό με άλλα εντομοκτόνα. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με μυκητοκτόνα και σε περίπτωση που πρέπει να γίνει εφαρμογή μυκητοκτόνων πρέπει να έχουν περάσει 48 ώρες από την εφαρμογή του προϊόντος.

### 3.1.3. Εμπορικά μικροβιακά σκευάσματα με βάση εντομοπαθογόνους μύκητες

Στην Ελλάδα κυκλοφορεί μόνο το εμπορικό σκευάσμα του *B. bassiana* (Naturalis SC) για την αντιμετώπιση αφίδων, αλευρωδών και θριπών, το οποίο έχει δείξει υψηλή αποτελεσματικότητα και επί άλλων εντομολογικών εχθρών. Επίσης κατά το παρελθόν έχουν δοκιμαστεί εμπορικά σκευάσματα του *Lecanicillium* (*Verticillium*) *lecanii* (Mycotal, Vertalec) εναντίον αλευρωδών, θριπών, αφίδων και κοκκοειδών με ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Στο εξωτερικό κυκλοφορούν εμπορικά σκευάσματα και άλλων μυκήτων όπως του *Beauveria brongniartii* (= *B. tenella*) για την αντιμετώπιση κολεοπτέρων Scarabeidae, του *Legendium giganteum* για την αντιμετώπιση δίπτερων, του *M. robertsii* (Bischoff et al. 2009) για την αντιμετώπιση κολεοπτέρων, λεπιδοπτέρων και ισοπτέρων, του *M. anisopliae acridium* για την αντιμετώπιση ορθόπτέρων, του *M. robertsii* για την αντιμετώπιση του κολεοπτέρου *Dermolepida albohirtum* (Scarabeidae), του *M. robertsii* strain ICIP30 για την αντιμετώπιση ισοπτέρων και θυσανοπτέρων, του *M. flavoviridae* για την αντιμετώπιση του κολεοπτέρου *Adoryphorus coultonii* (Scarabeidae) και του *Isaria fumosorosea* για την αντιμετώπιση αφίδων, αλευρωδών, θριπών και αραχνοειδών.

## A.4 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να δώσει μια ενδεχόμενη λύση στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των εχθρών στα φυτά αμπέλου αποφεύγοντας τη χρήση φυτοφαρμάκων και διαφόρων χημικών. Ο εντομοπαθογόνος μύκητας *Beauveria bassiana* αποτελεί σημαντικό κομμάτι στη φυτοπροστασία φυτών αμπέλου και την αντιμετώπιση προσβολών από διάφορα επιβλαβή έντομα, με αποτέλεσμα να παρουσιάζει μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον στα πλαίσια της βιολογικής γεωργίας.

Ο εντομοπαθογόνος μύκητας *Beauveria bassiana* μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως εντομοκτόνο γεγονός και να αποτελέσει σπουδαίο εργαλείο για την αντιμετώπιση επιβλαβών εχθρών της αμπέλου. Η μελέτη αυτή ενδεχομένως να δώσει σημαντικά στοιχεία απαραίτητα για τη διαχείριση των εχθρών στις καλλιέργειες αμπελώνων.

## B. Μέθοδοι και Υλικά

### B.1. Το έντομο *Tribolium confusum*

Το έντομο *Tribolium confusum* χρησιμοποιήθηκε για την απομόνωση των εντομοπαθογόνων μυκήτων από το υπόστρωμα ανάπτυξης των πειραματοφύτων.

Η εκτροφή του εντόμου έγινε στο Ινστιτούτο Φυτοπροστασίας του Ελληνικού Γεωργικού Οργανισμού Δήμητρα (ΕΛΓΟ) στην Πάτρα σε αποστειρωμένο αλεύρι. Σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του εντόμου επικρατούσαν συνθήκες 25°C και υγρασία 60-70%. Τα έντομα αναπτύσσονταν σε υάλινα βάζα στα οποία πραγματοποιούνταν και αραιώσεις ώστε να αποφεύγεται ο συνωστισμός που θα επηρέαζε την ανάπτυξη και την πρόσληψη τροφής των προνυμφών.



**Εικ 24.** Διαχωρισμός εντόμων *Tribolium confusum* (φωτογραφία από προσωπικό αρχείο, Μπούσια Διονυσία)

## B.2 Εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί

### B.2.1 Εντομοπαθογόνοι Μύκητες

Χρησιμοποιήθηκε ο εντομοπαθογόνος μύκητας *Beauveria bassiana* Balsamo (Vuillemin) (Hypocreales: Cordycipitaceae) από τη συλλογή του Δρ Σπυρίδωνος Μαντζούκα. Ο μύκητας απομονώθηκε με τη χρήση ως δολώματος εντόμων αποθηκών (Μέθοδος StoredpestBait) και με τη μέθοδο των ημικλεκτικών υποστρωμάτων από εδάφη του νομού Αχαΐας.

### B.2.2 Παρασκευή εναιωρημάτων εντομοπαθογόνου μύκητα

Προκειμένου να παρασκευαστούν τα εναιωρήματα για τις ανάγκες των πειραμάτων, οι απομονώσεις του μύκητα καλλιεργήθηκαν σε τρυβλία Petri 9cmØ με Sabouraud Dextrose Agar (SDA), τα οποία αφέθηκαν να αναπτυχτούν στο σκοτάδι για 15 μέρες στους  $25^{\circ}\text{C}\pm 1$ . Τα τρυβλία είχαν ασφαλιστεί με Parafilm® για να προστατευτούν από επιμολύνσεις. «Φρέσκα» κονίδια συλλεχτήκαν από τις καλλιέργειες 15 ημερών για να χρησιμοποιηθούν στα πειράματα. Τα εναιωρήματα κονιδίων, παρασκευάστηκαν με «ξύσιμο» της επιφανείας της καλλιέργειας με την χρήση αποστειρωμένου μεταλλικού «γάντζου», μεταφέροντας το υλικό σε φιάλες των 500ml που περιείχαν 50ml αποστειρωμένου νερού με 0,05% Tergitol®NP9. Το

διάλυμα κονιδίων φιλτραρίστηκε διαμέσου αρκετών στρωμάτων αποστειρωμένου υφάσματος μικρής διατομής και στη συνέχεια το διάλυμα ομογενοποιήθηκε για 5 λεπτά με την βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα (Goettel και Inglis 1997, Quesada – Moraga et al. 2007). Στην συνέχεια, σε οπτικό μικροσκόπιο (400x) με αιματοκυτταρόμετρο Neubauer, καθορίστηκαν οι επιθυμητές δόσεις.

Η βλάστηση των κονιδίων ήταν 95%. Αυτό εκτιμήθηκε με την εξέταση 100 κονιδίων των μυκήτων με χρήση οπτικού μικροσκοπίου (40x) υστέρη από την επώαση τους στο σκοτάδι και μετά το πέρας 24h.



**Εικ 25.** Ανάπτυξη καλλιέργειας μύκητα *B.bassiana* (φωτογραφία από προσωπικό αρχείο, Μπούσια Διονυσία)

### B.3 Μελέτη της επίδρασης του εντομοπαθογόνου μύκητα *B. bassiana* σε φυτά αμπέλου ποικιλίας Ασύρτικου

Για τη μελέτη της ενδοφυτικού σταδίου του εντομοπαθογόνου μύκητα *B. bassiana* έγινε ριζοπότισμα με διάλυμα κονιδίων σε πυκνότητα  $10^8$  κονιδία/ml σε φυτά αμπέλου ποικιλίας Ασύρτικου (R110) και αυτόρριζα. Επίσης στο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες φυτά αμπέλου ίδιας ποικιλίας, τα οποία ριζοποτίστηκαν με 800ml απιονισμένου νερού (dH20 + 0.05% Tergitol NP9). Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε φυτοδοχεία σε ένα πλήρως τυχαιοποιημένο σχέδιο με τέσσερις χειρισμούς.

Πραγματοποιήθηκε φύτευση 50 αυτόρριζων πρεμνών ποικιλίας Ασύρτικου και 50 πρεμνών R110. Χρησιμοποιήθηκαν πήλινα αποστειρωμένα δοχεία, όγκου 12 L, τα οποία περιείχαν υπόστρωμα τύρφης τύπου Βαλτικής με βάση το sphagnum και άμμο σε αναλογία 2:1, στα οποία μεταφυτεύτηκαν τα φυτά. Τα φυτοδοχεία

τοποθετήθηκαν σε γραμμές που απέιχαν μεταξύ τους 3cm. Τα φυτά ποτιστήκαν με αποστειρωμένη πιπέτα όγκου 750ml. Εν συνεχεία το υπόστρωμα καλύφθηκε και έπειτα από 7 ημέρες πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις ύψους και πάχους των πρέμων, του αριθμού των φύλλων και του μήκος των βλαστών. Μετά την πάροδο 4 μηνών έγινε ολική εκρίζωση των φυτών και καταμέτρηση του νωπού και ξηρού βάρους ολόκληρων των φυτών (βλαστών, φύλλων, ριζών, πρεμών). Στη συνέχεια ελήφθηκε δείγμα από τα φύλλα των φυτών και των ριζών και τοποθετηθήκαν σε τριβλία με υλικό SDA για να εξακριβωθεί αν ο μύκητας είχε εισήχθη στα φυτά.

Για την μέτρηση του ξηρού βάρους τα φύλλα, οι βλαστοί (τεμαχίστηκαν σε μικρότερα κομμάτια) και οι ρίζες (πλυθήκαν με απιονισμένο νερό για να καθαριστούν) τοποθετήθηκαν σε φούρνο θερμού αέρα στους 80°C για 48 ώρες. Μετά το πέρας των 48 ωρών μετρήθηκε το ξηρό βάρος με ζυγό ακριβείας (ShimadzuLibror EB-130W).



**Εικ 26.** Υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή διαλύματος (φωτογραφία από προσωπικό αρχείο, Μπούσια Διονυσία)



**Εικ 27.** Αυτόρριζα φυτά αμπέλου ποικιλίας Ασύρτικο και R110, ριζοποτισμένα με νερό (φωτογραφία από προσωπικό αρχείο, Μπούσια Διονυσία)



**Εικ 28.** Αυτόρριζα φυτά αμπέλου ποικιλίας Ασύρτικο και R110 ριζοποτισμένα με διάλυμα μύκητα (φωτογραφία από προσωπικό αρχείο, Μπούσια Διονυσία)

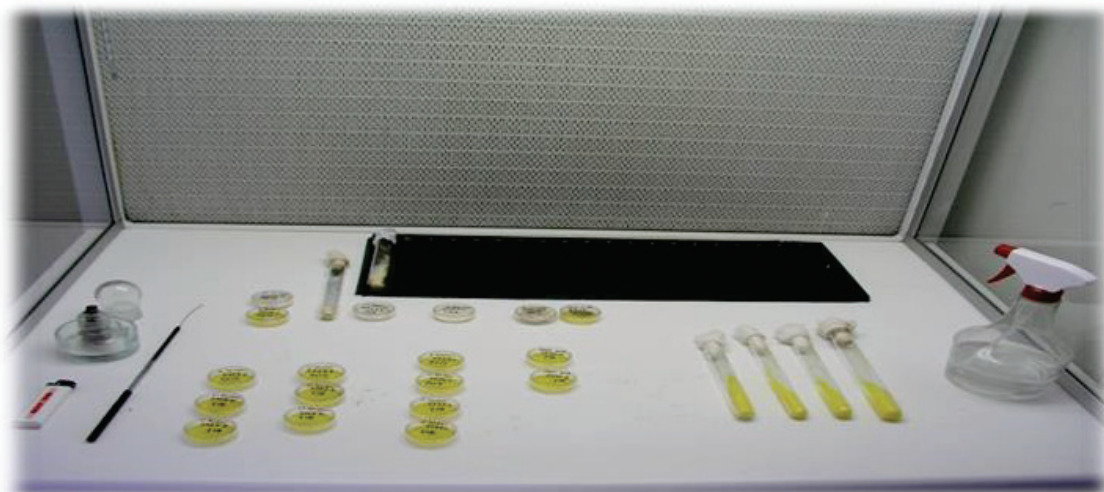
#### B.4 Απομόνωση εντομοπαθογόνου μύκητα από φύλλα, βλαστούς και ρίζες αμπέλου σε υπόστρωμα SDA

Με τη βοήθεια αποστειρωμένου ψαλιδιού, ελήφθησαν δείγματα από φύλλα, βλαστούς και ρίζες ίδιας ηλικίας, σε διαστήματα 15 και 30 ημερών από την εφαρμογή των εντομοπαθογόνων μυκήτων. Οι βλαστοί τεμαχίστηκαν σε τμήματα 4 cm και πάχους 1 cm και τα φύλλα σε τμήματα μήκους 3 cm και πάχους 0.2 cm, με βοήθεια αποστειρωμένου ψαλιδιού σε θάλαμο νηματικής ροής. Αποστειρώθηκαν επιφανειακά με την εμβάπτιση τους σε διάλυμα 96% αιθανόλης για 1 λεπτό, στη συνέχεια σε διάλυμα 6% υποχλωριώδους νατρίου (NaOCl) για 5 λεπτά και τέλος πάλι σε διάλυμα 96% αιθανόλης για 30 δευτερόλεπτα (Luginbuhl και Muller 1980) Στη συνέχεια, μεταφέρθηκαν σε υπόστρωμα SDA με την βοήθεια αποστειρωμένου γάντζου. Οι καλλιέργειες αφέθηκαν να αναπτυχθούν στο σκοτάδι στους  $25^{\circ}\text{C}\pm 1$ . Ο έλεγχος της ανάπτυξης διήρκεσε 15 ημέρες (Reddy et al. 2009). Η βλάστηση των κονιδίων των μυκήτων πάνω στα φύλλα εκτιμήθηκε με χρήση οπτικού μικροσκοπίου (40x) και ο αριθμός των φύλλων, που έδειξαν ανάπτυξη των μυκήτων σε σχέση με το συνολικό αριθμό υπολογίστηκε επί της εκατό (%) (Reddy et al. 2009).

Για την παρασκευή του υποστρώματος χρησιμοποιήθηκαν 65 g SDA (SigmaAldrich, USA) με 0.01% στρεπτομυκίνη (0.05mg/ml για να αποφευχθεί βακτηριακή μόλυνση) σε 1000 ml κρύου αποστειρωμένου νερού, τα οποία θερμάνθηκαν σε σημείο βρασμού για να διαλυθεί το μέσο εντελώς. Το υλικό αποστειρώθηκε σε κλίβανο για 15 λεπτά στους  $121^{\circ}\text{C}$  (Chase et al. 1986).

## B.5 Απομόνωση του εντομοπαθογόνου μύκητα από το υπόστρωμα ανάπτυξης αμπέλου

Από κάθε πήλινο δοχείο ελήφθησαν τρία δείγματα υποστρώματος των 50g. Το υπόστρωμα μεταφέρθηκε σε μικρά πλαστικά δοχεία, όπου τοποθετήθηκαν 10 ακμαία του κολεοπτέρου *T. confusum*. Τα τρυβλία τύπου Petri αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου ( $25\pm 1^\circ\text{C}$ ) για 18 – 20 ημέρες και για τις πρώτες 4 ημέρες αναποδογυρίζονταν κάθε μέρα ώστε οι προνύμφες να μπορούν κινούνται μέσα στο υπόστρωμα (Keller et al 2000). Ο έλεγχος της θνησιμότητας των εντόμων παρακολουθήθηκε για 7, 12, και 14 ημέρες αντίστοιχα (Mietiewski et al 1996). Τα νεκρά ή μουμιοποιημένα ακμαία απομακρύνθηκαν και εν συνεχεία αποστειρώθηκαν σε NaCl 1% για μερικά δευτερόλεπτα. Εν συνεχεία, τα ακμαία που εμφάνισαν σημεία του εντομοπαθογόνου μύκητα τοποθετήθηκαν σε πλαστικά τρυβλία τύπου Petri με υψηλή υγρασία (moist chamber) που κατασκευάζονταν τοποθετώντας εσωτερικά του τρυβλίου κυκλικά τεμάχια υγρού διηθητικού χαρτιού. Μετά από την πάροδο 72 ωρών, δείγματα από τα προσβλημένα ακμαία μεταφέρονταν σε υπόστρωμα S.D.A ή P.D.A σε θάλαμο νηματικής ροής για την καλλιέργεια του μύκητα και παραγωγή κονιδίων.



**Εικ 29.** Υλικά για την εφαρμογή μεθόδου της ταυτοποίησης σε θάλαμο νηματικής ροής (φωτογραφία από προσωπικό αρχείο, Μπούσια Διονυσία)



## B.6 Μοριακή ταυτοποίηση του εντομοπαθογόνου μύκητα από το κολεόπτερο *T. confusum*

Η απομόνωση του DNA είναι το πρώτο βήμα για τη μοριακής ταυτοποίηση των μυκήτων. Για την απομόνωση DNA ακολουθείται η παρακάτω διαδικασία:

1. Το μυκήλιο των μυκήτων λαμβάνεται από υγρή καλλιέργεια.
2. Το μυκήλιο μεταφέρεται με τη βοήθεια αποστειρωμένης βελόνας σε σωλήνα erpendorf
3. Προστίθενται 200 μl διάλυμα SDS και γίνεται ομογενοποίηση με οδοντιατρικό εργαλείο επί κεφαλής τρυπανιού οικιακής χρήσης, με στροφές κατά το δοκούν ώστε να μην υπερθερμαίνεται ή καταστρέφεται το σωληνάριο, για 1' – 3' και ταυτόχρονα να εμφανίζεται ικανοποιητική ομογενοποίηση.
4. Ακολουθεί προσθήκη 300 μl διάλυμα SDS.
5. Προστίθεται ίσος όγκος μίγματος φαινόλης – χλωροφορμίου/ ισοαμυλικής αλκοόλης ογκομετρικής αναλογίας 25:24:1 και γίνεται ανάδευση.
6. Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 1h στις 10800 rpm στους 4°C. Μετά το πέρας της φυγοκέντρησης, το υπερκείμενο μεταφέρεται σε νέο σωλήνα erpendorf.
7. Προστίθεται ίσος όγκος χλωροφορμίου Αναμιν, οπουαναμίξαμε με ίσοόγκο χλωροφορμίου και γίνεται ανάδευση.
8. Ακολουθεί φυγοκέντρηση σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min στις 15000 rpm.
9. Μετά το πέρας της φυγοκέντρησης, το υπερκείμενο μεταφέρεται σε νέο σωλήνα erpendorf, ογκομετρείται και προστίθεται ίσος όγκος ισοπροπανόλης θερμοκρασίας -20°C και γίνεται ανάδευση.
10. Τα δείγματα τοποθετούνται στους -20°C για 15 min και ακολουθεί φυγοκέντρηση σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min στις 15000 rpm.
11. Το υπερκείμενο απορρίπτεται και προστίθενται 200 μl μίγματος αιθανόλης/ αποστειρωμένου ύδατος ογκομετρικής αναλογίας 7:3.
12. Ακολουθεί φυγοκέντρηση σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min στις 15.000 rpm.
13. Το υπερκείμενο απορρίπτεται και το ίζημα αφήνεται να στεγνώσει στους 55°C για 10 λεπτά.

Η μέθοδος PCR(Polymerase chain reaction = αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης) χρησιμοποιείται για να πολλαπλασιάσει μια συγκεκριμένη περιοχή

γονιδιώματος μέχρι και δισεκατομμύρια φορές, όταν είναι γνωστή η νουκλεοτιδική του αλληλουχία.

Ένας πλήρης κύκλος μιας αντίδρασης PCR περιλαμβάνει την επώαση των δειγμάτων σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες και πραγματοποιείται από ειδικές συσκευές τους θερμοκυκλοποιητές, σε τρία στάδια:

- i. Αποδιάταξη του DNA (denaturation)
- ii. Προσαρμογή των εκκινητών στο μονόκλωνο πλέον DNA (annealing)
- iii. Επιμήκυνση των εκκινητών (extension).

Τα προϊόντα της PCR ηλεκτροφορούνται σε πήκτωμα αγαρόζης 2,0-3% σε 0.5XTBE υπό ένταση ως 100mA με τυπικό διάλυμα φόρτωσης και φθορίζουσα χρώση SybrSafeGreen.

## B.7 Στατιστική επεξεργασία

Η ανάλυση της διακύμανσης των μέσων όρων των τιμών των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με την τεχνική της ανάλυσης της διακύμανσης ως προς ένα παράγοντα (OnewayANOVA) για όλα τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φυτών και για το μήκος της στοάς που δημιούργησε η προνύμφη του εντόμου. Η σύγκριση των μέσων τιμών για τη διαπίστωση στατιστικά σημαντικών ή μη διαφορών μεταξύ των υπό μελέτη παραμέτρων έγινε με το τεστ Bonferroni για επίπεδο σημαντικότητας  $P=0.05$ .

## Γ. Αποτελέσματα

### Γ.1 Απομόνωση εντομοπαθογόνου μύκητα από βλαστούς φύλλα και ρίζες από τα φυτά αμπέλου σε υπόστρωμα SDA

Μετρήθηκαν μόνο οι ιστοί που εμφάνισαν μυκήλιο. Τα φύλλα της αμπέλου που εμφάνισαν μυκήλιο του μύκητα *B. bassiana* ήταν για το R110 σε ποσοστό 45% ενώ για το αυτόρριζο 53%. Το ποσοστό των ριζών που εμφάνισαν μυκήλιο ήταν για

το R110 85% και για το αυτόρριζο 97%. Τέλος το ποσοστό των βλαστών εμφάνισαν μυκήλιο ήταν για το R110 35% και αυτόρριζο 33%.



**Εικ 30.** Δείγμα από ρίζα φυτού Ασύρτικο R110 και από φύλλο φυτού Ασύρτικο R110 (φωτογραφία από προσωπικό αρχείο, Μπούσια Διονυσία)

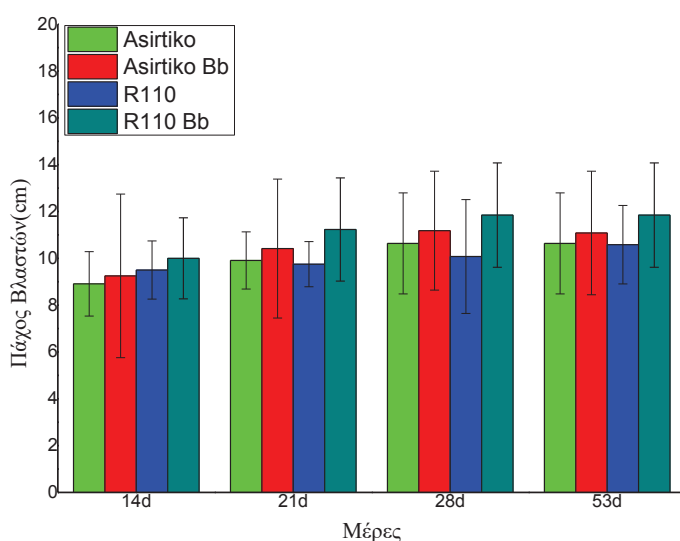
## Γ.2 Μύκητας που ταυτοποιήθηκε μέσω της αλληλούχισης από το κολεόπτερο *T. confusum*

Τα αποτελέσματα της αλληλούχισης επεξεργαστήκαν στη διαδικτυακή βάση δεδομένων.ncbi με το BLAST και τέλος, προέκυψαν οι πιθανοί μύκητες από την αλληλουχημένη σειρά βάσεων με σειρά ομοιότητας.

1. Χαρακτηρισμός βασισόμενος στην ITS αλληλουχία του (BLASTN).
2. Το μήκος της ταυτόσημης συγκρινόμενης αλληλουχίας με τη χρήση BLASTN.

### Γ.3 Επίδραση του ενδόφυτου στην ανάπτυξη της αμπέλου

Το μέσο πάχος των βλαστών μετά από 53 ημέρες ήταν για το αυτόρριζο  $10.63 \pm 2.15$ , για το αυτόρριζο Bb  $11.08 \pm 2.53$ cm, για το R110  $10.58 \pm 1.67$ cm και για το R110 Bb  $11.88 \pm 2.25$ cm (Διαγρ. 1.) και το μέσο ύψος των φυτών ήταν για αυτόρριζο  $40.1 \pm 9.1$ cm, για το αυτόρριζο Bb  $38.8 \pm 6.1$ cm, για το R110  $34 \pm 1.9$ cm και για το R110 Bb  $33.53 \pm 1.8$ cm (Διαγρ 2.).



**Διάγραμμα 1.** Η μέση διακύμανση του πάχους των βλαστών ανά δειγματοληψία

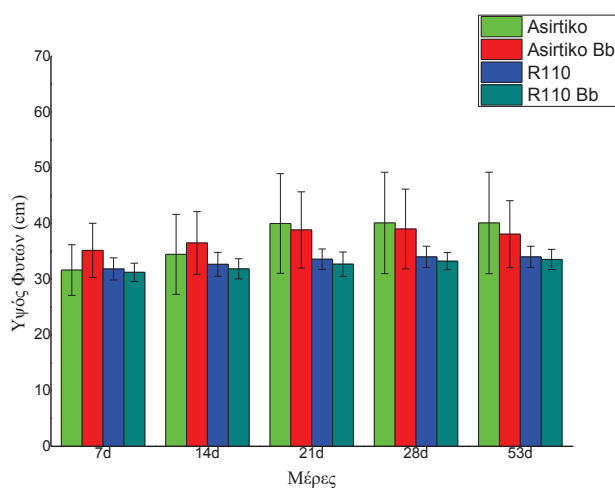
**Πίνακας 1.** PostHocAnova με DependentVariable: Σύγκριση πάχους βλαστών σε επίπεδο σημαντικότητας 95%.

DependentVariable: Πάχος βλαστών			
Source	df	F	Sig.
CorrectedModel	15	2,199	,008
Intercept	1	3169,807	,000
Variety	3	6,692	,000
Measurement	3	4,112	,008
Variety * Measurement	9	,064	1,000
Error	176		
Total	192		
CorrectedTotal	191		
a. R Squared = ,158 (Adjusted R Squared = ,086)			
b. Computedusingalpha = ,05			

**Πίνακας 2.** PostHocAnova με DependentVariable: Πάχος βλαστών σύγκριση σε επίπεδο σημαντικότητας 95% ανά ποικιλία (1) Ασύρτικο αυτόρριζο (2) Ασύρτικο αυτόρριζο Bb (3) R110 και (4) R110 Bb.

MultipleComparisons						
DependentVariable: Πάχος βλαστών						
Tukey HSD						
(I) Variety	(J) Variety	MeanDifference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% ConfidenceInterval	
					LowerBound	UpperBound
1	2	-1,27	,518	,071	-2,61	,07
	3	-,92	,518	,291	-2,26	,43
	4	-2,29*	,518	,000	-3,63	-,95
2	1	1,27	,518	,071	-,07	2,61
	3	,35	,518	,903	-,99	1,70
	4	-1,02	,518	,203	-2,36	,32
3	1	,92	,518	,291	-,43	2,26
	2	-,35	,518	,903	-1,70	,99
	4	-1,37*	,518	,043	-2,72	-,03
4	1	2,29*	,518	,000	,95	3,63
	2	1,02	,518	,203	-,32	2,36
	3	1,37*	,518	,043	,03	2,72

Based on observed means.  
The error term is Mean Square(Error) = 6,435.  
\*. The mean difference is significant at the ,05 level.



**Διάγραμμα 2.** Η μέση διακύμανση του ύψους των φυτών ανά δειγματοληψία

**Πίνακας 3.** PostHocAnova με DependentVariable: Ύψος βλαστών σύγκριση σε επίπεδο σημαντικότητας 95%

<b>DependentVariable: Ύψος βλαστών</b>			
Source	df	F	Sig.
CorrectedModel	47	23,914	,000
Intercept	1	27177,646	,000
Variet	3	26,813	,000
Phyto	11	18,280	,000
Variet * Phyto	33	25,528	,000
Error	192		
Total	240		
CorrectedTotal	239		
a. R Squared = ,854 (Adjusted R Squared = ,818)			
b. Computedusingalpha = ,05			

## Δ. Συζήτηση

Οι εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί, και ιδιαίτερα οι εντομοπαθογόνοι μύκητες, σαν ενδόφυτα παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία των φυτών εναντίον των εντόμων με ενδοφυτικό στάδιο ανάπτυξης (Jallow et al. 2004, 2008). Ο εντομοπαθογόνος μύκητας *B. bassiana* ανακαλύφθηκε ως ενδόφυτο μόλις το 1990 (Vega et al. 2008). Το ενδοφυτικό στάδιο του μύκητα έχει αναφερθεί σε πολλούς φυτικούς οργανισμούς όπως σε καλαμπόκι (Bing και Lewis 1991, 1992a, b, Lomer et al. 1997, Cherry et al. 1999, 2004, Wanger και Lewis 2000, Arnold και Lewis 2005), μπανάνα (Akello et al. 2007) καφέ (Posada et al. 2007), σε φύλλα κριθαριού (Larran et al. 2002a), σε φύλλα φασολιάς (Larran et al. 2002b), τομάτα (Leckie 2002, Ownley et al. 2004), κακάο (Posada και Vega, 2006), σε φυτά φοίνικα (Gomez – Vidal 2006), σε σπόρους και βελόνες πεύκων (Ganley και Newcombe, 2005), και τέλος σε φυτά πατάτας και σε βαμβάκι (Jones, 1994), οι Bingκαι Lewis (1991) αναφέρουν ότι η παρουσία του εντομοπαθογόνου μύκητα *B.bassiana* σε φυτά καλαμποκιού μείωσε σε μεγάλο βαθμό την στοά που δημιουργούσε το λεπιδόπτερο *Ostrinia nubilallis*. Επιπλέον, ο Steinhaus (1949) έγραψε για τον *B. globulifera* (*B. bassiana*) ότι αναπτύσσεται στο καλαμπόκι και σε άλλα φυτά με την ίδια επιτυχία χωρίς όμως να φτάνει το ποσοστό «απευθείας» προσβολής που παρουσιάζεται στα έντομα, χωρίς όμως να δικαιολογεί το συμπέρασμα στο οποίο κατέληξε.

Οι Vega et al. (2008) αναφέρουν ότι οι Fuller – Schaefer (2005) βρήκαν αποικισμένες ρίζες σακχαροκάλαμου από τους εντομοπαθολόγους μικροοργανισμούς *B.bassiana* και *M. robertsii*. Επίσης, ο εντομοπαθολόγος μύκητας *Peacilomyces* (= *Isaria*) spp. βρέθηκε σε φυτά ρυζιού να αποικίζει τους παρεγχυματικούς ιστούς (Tianetal. 2004).

Οι εντομοπαθολόγοι μύκητες όπως ο *B.bassiana* εκκρίνουν δευτερογενείς μεταβολίτες που ίσως να εμπλέκονται στη διαδικασία μόλυνσης (Roberts 1981, Strasser et al. 2000, Vey et al. 2001, Vestergaard et al. 2003). Μερικοί από αυτούς τους μεταβολίτες είναι πιθανόν τοξικοί, μερικοί είναι κυρίως εντομοπαθολόγοι ενώ άλλοι εμφανίζουν αντί-μικροβιακή δράση και επιδρούν στην πρόσληψη τροφής του εντόμου.

Στο παρόν πείραμα δεν παρατηρήθηκε ούτε θετική, ούτε αρνητική επίδραση του εντομοπαθολόγου μύκητα στα φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φυτών. Οι πληροφορίες αυτές μπορεί να φανούν ιδιαίτερα χρήσιμες στο μέλλον για τον έλεγχο του εντόμου και εφόσον αξιοποιηθούν κατάλληλα μέσα από ολοκληρωμένα προγράμματα διαχείρισης εντόμων.

## E. Βιβλιογραφία

### E.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Akello, J.T., Dubois, T., Gold, C.S., Coyne, D., Nakavuma, J., Paparu, P., 2007. *Beauveria bassiana*(Balsamo) Vuillemin as an endophyte in tissue culture banana (*Musa spp.*). *Journal of Invertebrate Pathology* 96: 34–42.
- Bing, L.A., Lewis, L.C., 1992b. Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in corn: the influence of the plant growth stage and *Ostrinia nubilalis* (Hubner). *Biocontrol Science and Technology*. 2: 39–47.
- Cherry, A.J., Lomer, C.J., Djegui, D., Shulthess, F., 1999. Pathogen incidence and their potential as microbial control agents in IPM of maize stem borers in West Africa. *BioControl*. 44: 301–327.
- Cherry, A.J., Banito, A., Djegui, D., Lomer, C., 2004. Suppression of the stem-borer *Sesamia calamistis* (Lepidoptera; Noctuidae) in maize following seed dressing, topical application and stem injection with African isolates of *Beauveria bassiana*. *International Journal of Pest Management*. 50: 67–73.
- Fuller-Schaefer, C., Jung, K., Jaronski, S., 2005. Colonization of sugar beet roots by entomopathogenic fungi. In: *Proceedings of the 38th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology*, Anchorage, Alaska. pp. 49.
- Gomez-Vidal, S., Lopez-Llorca, L.V., Jansson, H.-B., Salinas, J., 2006. Endophytic colonization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) leaves by entomopathogenic fungi. *Micron*. 37: 624–632.
- Goettel, M.S. και Inglis, G.D., 1997. Fungi: *Hyphomycetes*. *Manual of Techniques in Insect Pathology* (ed. L.A. Lacey), pp. 213–249. Academic Press, San Diego, CA.
- Ganley, R.J., Newcombe, G., 2005. Fungal endophytes in seeds and needles of *Pinus monticola*. *Mycological Research*. 1(10): 318–327.
- Jeffs, L.B., Khachatourians, G.G., 1997. *Toxic properties of Beauveria pigments on erythrocyte membranes*. *Toxicon*. 35: 1351–1356.
- Jallow, M.F.A., Dugassa-Gobena D., Vidal S., 2008. Influence of an endophytic fungus on host plant selection by a polyphagous moth via volatile spectrum changes. *Arthropod-Plant Interact*. 2: 53–62.



- Larran, S., Perello, A., Simon, M.R., Moreno, V., 2002a. *Isolation and analysis of endophytic microorganisms in wheat (Triticum aestivum L.) leaves*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 18: 683–686.
- Larran, S., Rollan, C., Bruno Angeles, H., Alippi, H.E., Urrutia, M.I., 2002b. *Endophytic fungi in healthy soybean leaves*. InvestigacionAgraria: Produccion y Proteccion de Vegetales. 17:173–177.
- Leckie, B.M., 2002. Effects of Beauveria bassiana mycelia and metabolites incorporated into synthetic diet and fed to larval Helicoverpa zea, and detection of endophytic Beauveria bassiana in tomato plants using PCR and ITS. M.S. thesis, Department of Entomology, The University of Tennessee.
- Lewis, L.C., Bing, L.A., 1991. Bacillus thuringiensis Berliner and Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin for European corn borer control: program for immediate and season long suppression. Canadian Entomologist. 123: 387–393.
- Vey, F.E., Hoagland R. και Butt T.M., 2001. *Toxic metabolites of fungal biological control agents*. Cab International, Wallingford, Oxon, Uk, pp 311-345.
- Ownley, B.H., Pereira, R.M., Klingeman, W.E., Quigley, N.B., Leckie, B.M., 2004. Beauveria bassiana, a dual purpose biocontrol organism, with activity against insect pests and plant pathogens. In: Lartey, R.T., Cesar, A.J. (Eds.), *Emerging Concepts in Plant Health Management*. Research Signpost, India, pp. 255–269.
- Posada, F., Vega, F.E., 2006. Inoculation and colonization of coffee seedlings (Coffea arabica L.) with the fungal entomopathogen Beauveria bassiana (Ascomycota: Hypocreales). Mycoscience. 47: 284–289.
- Robertson J.L., Preisler H.K., Russel M.R., Savin N.E., 2007. *Pesticide bioassays with arthropods, second edition*, CRC, Boca Raton pp. 196.
- Roditakis, E., Couzin, I.D., Balrow, K., Franks, N.R. & Charnley A.K., 2000. *Improving secondary pick up of insect fungal pathogen conidia by manipulating host behaviour*. Annals of Applied Biology. 137(3): 329-335.
- Roberts, D.W., Humber, R.A., 1981. *Entomogenous fungi*. In: Cole, G.T., Kendrick, W.B. (Eds), vol. 2. Academic Press, New York, pp. 201-236.
- Quesada-Moraga, E., Landa, B.B., Munoz-Ledesma, J., Jimenez-Diaz, R.M., Santiago-Alvarez, C., 2006. *Endophytic colonization of opium poppy, Papaver somniferum, by an entomopathogenic Beauveria bassiana strain*. Mycopathologia. 161: 323–329.

- Quesada-Moraga, E., Vey, A., 2004. Bassiacridin, a protein toxic for locusts secreted by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Mycology Research*. 108: 441–452.
- Tian, X.L., Cao, L.X., Tan, H.M., Zeng, Q.G., Jia, Y.Y., Han, W.Q., Zhou, S.N., 2004. Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities in vitro. *WorldJournalofMicrobiology&Biotechnology*. 20: 303–309.

## E.2 Ελληνική βιβλιογραφία

- Καραντινάκη Μ. (2014). Η επίδραση των τεχνικών ελλειμματικής άρδευσης στην καλλιέργεια αμπέλου περιγραφή των μορφολογικών ανατομικών φυσιολογικών και βιοχημικών προσαρμογόντων κυριότερων καλλιεργουμένων ποικιλιών. Τ.Ε.Ι. Κρήτης, Ηράκλειο.
- Κούσουλας Ι. (2002) *Αμπελουργία* (2η έκδοση).
- Λυκουρέσης, 1995. Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση εντόμων – εχθρών καλλιεργειών. Πανεπιστημιακές παραδόσεις. Γεωπονικό πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
- Μαντζούκας Δ. Σ. (2008) *Έρευνα για την ανεύρεση εντομοπαθογόνων μυκήτων στα εδάφη της Ελλάδος*. Ιωάννινα.
- Μαντζούκας Δ. Σ. (2016) *Ανεύρεση των ενδόφυτων εντομοπαθογόνων μυκήτων με μοριακές και μη μεθόδους*. Πάτρα
- Μήτου Κ. (2017). *Ανάπτυξη αμπελοοινολογικής μονάδας στην περιοχή Παπαδάτες του νομού Πρέβεζας* Τ.Ε.Ι Ηπείρου.
- Ναβροζίδης Ι. (2015). *Γεωργικά φάρμακα & Φυτοπροστασία*. Θεσσαλονίκη
- Πασχαλίδης Χ. (1999) *Αμπελοκομικές τεχνικές και παραγωγή κρασιού στο Λιλαντίο πεδίο Ευβοίας*, Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας.
- Πασχώνης Κ. (2018) <http://www.agrorama.gr>.
- Πιτσώλη Θ. (2017). *Κλάδεμα αμπέλου*. Συμβουλές & τεχνικές. Τμήμα αμπέλου Αθηνών
- Ρούμπος Χ. Ι. (2016). *Εχθροί της αμπέλου*. Σταμούλης Α.Ε.
- Σκούπρας Ι. <http://www.skouprasgroup.gr>.
- Σταυρακάκης Ν. (2013). *Αμπελουργία*. Γραφικές τέχνες.