

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



## Πτυχιακή διατριβή

ΧΡΗΣΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ  
ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΚΥΣΤΟΝΗΜΑΤΩΔΗ ΤΗΣ  
ΠΑΤΑΤΑΣ *Globodera pallida*

Αρεστοπούλου Ειρήνη

Λεμεσός 2011



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

## Πτυχιακή διατριβή

ΧΡΗΣΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ  
ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΚΥΣΤΟΝΗΜΑΤΩΔΗ ΤΗΣ  
ΠΑΤΑΤΑΣ *Globodera pallida*

Αρεστοπούλου Ειρήνη

Επιβλέπων: Δρ. Νικόλας Ιωάννου, Καθηγητής

Συνεπιβλέποντες: Δρ. Δημήτριος Τσάλτας, Επ. Καθηγητής,

Κος. Μιχαλάκης Χριστοφόρου, Υποψήφιος Διδάκτωρ

Λεμεσός 2011

## **Πνευματικά δικαιώματα**

Copyright © Ειρήνη Αρεστοπούλου, 2011

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της πτυχιακής εργασίας από το Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του τμήματος.

## **Πρόλογος**

*Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον επιβλέποντα καθηγητή της εργασίας μου Δρ. Νικόλα Ιωάννου και τους συνεπιβλέποντες, επίκουρο καθηγητή Δρ. Δημήτριο Τσάλτα και υποψήφιο διδάκτωρα κύριο Μιχαλάκη Χριστοφόρου, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν αναθέτοντας μου αυτή την εργασία, καθώς και για την ευκαιρία που μου έδωσαν να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα. Επιπλέον, θα ήθελα να εκφράσω την βαθιά ευγνωμοσύνη μου στον επ. καθηγητή Δρ. Δημήτριο Τσάλτα και υποψήφιο διδάκτωρα κύριο Μιχαλάκη Χριστοφόρου, για την συνεχή και μεθοδική καθοδήγηση τους, κατά τη διάρκειά της πτυχιακής μου μελέτης. Τόσο οι συστάσεις τους, όσο και το επαγγελματικό και προσωπικό τους ενδιαφέρον, με βοήθησαν στην επίλυση προβλημάτων και αποριών που προέκυψαν κατά τη διάρκεια της μελέτης μου, συμβάλλοντας καθοριστικά στην ολοκλήρωση της. Κατά την διόρθωση της μελέτης μου, οι ουσιαστικές παρεμβάσεις και η επισήμανση των λαθών τόσο από τον Δρ. Νικόλα Ιωάννου όσο και από τον υποψήφιο διδάκτωρα κύριο Μιχαλάκη Χριστοφόρου, βελτίωσαν ιδιαίτερα το τελικό αποτέλεσμα του κειμένου της πτυχιακής μου μελέτης.*

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πατατοκαλλιέργεια αποτελεί τη σημαντικότερη καλλιέργεια στην Κύπρο. Το μεγαλύτερο ποσοστό της ετήσιας παραγωγής εξάγεται τόσο σε άλλες χώρες της ΕΕ όσο και σε τρίτες χώρες. Οι ποικιλίες πατάτας που καλλιεργούνται στην Κύπρο ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις των χωρών εισαγωγής και όχι στην ανάγκη αντιμετώπισης εχθρών ή ασθενειών της καλλιέργειας. Ο κυστογόνος νηματώδης της πατάτας (ΚΝΠ), *Globodera pallida* (Wollenweber) Behrens, είναι παθογόνο εδάφους που προκαλεί σημαντικές απώλειες στην παραγωγή. Οι παραγωγοί, για να μειώσουν τις απώλειες που προκαλεί ο *G. pallida* στην πατατοκαλλιέργεια, κάνουν εκτεταμένη χρήση χημικών νηματωδοκτόνων τα οποία έχουν αρνητικές επιπτώσεις τόσο στο περιβάλλον όσο και στην ανθρώπινη υγεία.

Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στη διαμόρφωση ενός ολοκληρωμένου προγράμματος αντιμετώπισης του *G. pallida* με την αξιοποίηση ανθεκτικών ποικιλιών. Σε πρώτο στάδιο έγινε μοριακή ταυτοποίηση του *G. pallida* σε αγροτεμάχιο που ήταν προσβεβλημένο με τους παθότυπους Pa2/3 του *G. pallida*. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την παρουσία του είδους *G. pallida*. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε πείραμα αξιολόγησης ανθεκτικών ποικιλιών σε συνδυασμό με νηματωδοκτόνα στον αγρό, όπου αξιολογήθηκαν οι ποικιλίες Innovator και Sante με πλήρη ανθεκτικότητα στους παθότυπους Pa2/3 του *G. pallida*. Ως ευπαθής μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε η ποικιλία Annabelle. Μαζί με τις ανθεκτικές ποικιλίες αξιολογήθηκαν τα κοκκώδη νηματωδοκτόνα fosthiazate (οργανοφωσφορικό) και oxamyl (καρβαμιδικό), στις συνιστώμενες δόσεις. Οι μέσοι όροι των επεμβάσεων διαχωρίστηκαν σύμφωνα με την μέθοδο πολλαπλών δοκιμών κατά Tuckey και ελαχίστων τετραγώνων (LSD). Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική μείωση του πληθυσμού του *G. pallida* στο έδαφος τόσο με τη χρήση ανθεκτικών ποικιλιών όσο και με το συνδυασμό τους με τα δύο νηματωδοκτόνα. Τα αποτελέσματα του ύψους παραγωγής και μεγέθους των κονδύλων των ανθεκτικών ποικιλιών, δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές σε καμία από τις επεμβάσεις, με ή χωρίς νηματωδοκτόνα. Στην ευπαθή ποικιλία Annabelle παρουσιάστηκε αύξηση του πληθυσμού του *G. pallida* στο έδαφος και μειωμένη παραγωγή στις επεμβάσεις χωρίς νηματωδοκτόνα, ενώ μείωση του πληθυσμού και αυξημένη παραγωγή παρατηρήθηκε στις επεμβάσεις με νηματωδοκτόνα.

## ABSTRACT

Potato is the most important crop in Cyprus. Potato varieties cultivated in Cyprus meet the requirements of importing countries rather than the need to deal with pests or diseases of the crop. Potato cyst nematode (PCN) *Globodera pallida* (Stone) Behrens comprise one of the most important phytopathological problems of potato, causing major losses in several potato growing areas of Cyprus. To alleviate losses, growers make excessive use of nematicides having a negative impact on both the environment and human health. The present study aims towards the integrated management of PCN through the utilisation of potato varieties resistant to *G. pallida*, pathotypes Pa2/3.

In a previous study, carried out in a potato field in the major potato production area of Kokkinochoria, *G. pallida* pathotypes Pa2/3, were identified. The presence of *G. pallida* only was confirmed in our study, using conventional PCR. In the tested field, where soil was heavily infested with *G. pallida* (~40 eggs/gr of soil on average) we conducted an experiment evaluating the resistant varieties, Innovator and Santé, in combination with granular nematicides, oxamyl and fosthiazate. As a control we used the susceptible variety Annabelle. The results of both, resistant and susceptible varieties treated with nematicides, showed an increase in tuber yield and significant reduction of nematode population in the soil. Results of resistant varieties Innovator and Santé, without nematicides, showed a significant reduction of nematode population in the soil and an increase in tuber yield, whereas results of susceptible variety Annabelle showed an increase of the nematode population in the soil and a significant reduction in tuber yield.

# ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

<i>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</i> .....	<i>iv</i>
<i>ABSTRACT</i> .....	<i>v</i>
<i>ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ</i> .....	<i>vi</i>
<i>ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ</i> .....	<i>ix</i>
<i>ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ</i> .....	<i>ix</i>
<i>ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ</i> .....	<i>x</i>
<i>ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ</i> .....	<i>xii</i>
<i>ΑΠΟΔΟΣΗ ΟΡΩΝ</i> .....	<i>xiv</i>
<i>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</i> .....	<i>xv</i>
<b>1</b> <i>Ιστορικό της πατατοκαλλιέργειας στην Κύπρο</i> .....	<b>1</b>
<b>1.1</b> <i>Βοτανικά και διατροφικά χαρακτηριστικά της πατάτας</i> .....	<b>2</b>
<b>1.2</b> <i>Η καλλιέργεια της πατάτας</i> .....	<b>3</b>
1.2.1 <i>Απαιτήσεις σε έδαφος</i> .....	3
1.2.2 <i>Λίπανση</i> .....	3
1.2.3 <i>Ανάγκες σε νερό – Συστήματα άρδευσης</i> .....	4
1.2.4 <i>Κλίμα</i> .....	4
<b>1.3</b> <i>Συγκομιδή και αποθήκευση</i> .....	<b>5</b>
<b>1.4</b> <i>Εμπορική αξία</i> .....	<b>5</b>
<b>1.5</b> <i>Προβλήματα που αντιμετωπίζει η καλλιέργεια της πατάτας στην Κύπρο</i> .....	<b>6</b>
1.5.1 <i>Αβιοτικοί παράγοντες</i> .....	6
1.5.2 <i>Βιοτικοί παράγοντες</i> .....	8
<b>2</b> <i>Κυστογόνοι Νηματώδεις της Πατάτας, ΚΝΠ</i> .....	<b>12</b>
<b>2.1</b> <i>Ταξινόμηση των Κυστογόνων Νηματωδών της Πατάτας</i> .....	<b>13</b>
<b>2.2</b> <i>Μορφολογικά χαρακτηριστικά των ΚΝΠ</i> .....	<b>14</b>
<b>2.3</b> <i>Βιολογικός κύκλος</i> .....	<b>15</b>
<b>2.4</b> <i>Παθότυποι των ΚΝΠ</i> .....	<b>16</b>
<b>2.5</b> <i>Μέθοδοι ταυτοποίησης των ΚΝΠ</i> .....	<b>17</b>
2.5.1 <i>Μορφομετρική – Μορφολογική ταυτοποίηση</i> .....	17



2.5.2	Ταυτοποίηση με τη χρήση διαφορικών ξενιστών .....	18
2.5.3	Μοριακή ταυτοποίηση .....	18
<b>2.6</b>	<b>Συμπτώματα - Ζημιές.....</b>	<b>19</b>
<b>2.7</b>	<b>Διασπορά των ΚΝΗ.....</b>	<b>20</b>
<b>2.8</b>	<b>Διαχείριση – Αντιμετώπιση των ΚΝΗ.....</b>	<b>21</b>
2.8.1	Χημική αντιμετώπιση .....	21
2.8.2	Ολοκληρωμένη διαχείριση.....	22
2.8.3	Βιολογική αντιμετώπιση .....	22
2.8.4	Χρήση φυτών παγίδων.....	23
2.8.5	Καλλιεργητικές πρακτικές .....	23
2.8.6	Χρήση ανθεκτικών ποικιλιών .....	24
<b>3</b>	<b>Υλικά και Μέθοδοι.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1</b>	<b>Δειγματοληψία εδάφους.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2</b>	<b>Εξαγωγή κύστεων .....</b>	<b>26</b>
<b>3.3</b>	<b>Μοριακή ταυτοποίηση .....</b>	<b>27</b>
3.3.1	Εξαγωγή DNA .....	27
3.3.2	Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης – PCR.....	28
<b>3.4</b>	<b>Έλεγχος εκκόλαψης προνυμφών 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2).....</b>	<b>29</b>
<b>3.5</b>	<b>Δειγματοληψία εδάφους προφυτρωτικά.....</b>	<b>30</b>
3.5.1	Μέτρηση αρχικού μολύσματος νηματωδών στο έδαφος (Pi) .....	30
<b>3.6</b>	<b>Επιλογή ανθεκτικών ποικιλιών και νηματωδοκτόνων.....</b>	<b>30</b>
<b>3.7</b>	<b>Εγκατάσταση πειράματος στον αγρό.....</b>	<b>31</b>
3.7.1	Πειραματικό σχέδιο .....	31
3.7.2	Εγκατάσταση πειράματος .....	32
3.7.3	Καλλιεργητικές φροντίδες .....	33
<b>3.8</b>	<b>Συλλογή αποτελεσμάτων.....</b>	<b>34</b>
3.8.1	Μέτρηση τελικού μολύσματος των νηματωδών στο έδαφος (Pf).....	34
3.8.2	Μέτρηση παραγωγής .....	34
3.8.3	Μέτρηση του μεγέθους των κονδύλων .....	34
<b>3.9</b>	<b>Στατιστική ανάλυση .....</b>	<b>35</b>
<b>4</b>	<b>Αποτελέσματα.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1</b>	<b>Μοριακή ταυτοποίηση .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2</b>	<b>Σύγκριση αρχικού (Pi) και τελικού (Pf) μολύσματος των νηματωδών στο έδαφος</b>	<b>37</b>

4.2.1	Ευπαθής ποικιλία Annabelle.....	37
4.2.2	Ανθεκτικές ποικιλίες Innovator και Sante .....	38
<b>4.3</b>	<b>Μέτρηση παραγωγής.....</b>	<b>39</b>
4.3.1	Ευαίσθητη ποικιλία Annabelle.....	39
4.3.2	Ανθεκτικές ποικιλίες Innovator και Sante .....	40
<b>4.4</b>	<b>Μέτρηση του μεγέθους των κονδύλων .....</b>	<b>42</b>
<b>4.5</b>	<b>Έλεγχος εκκόλαψης προνυμφών 2ου σταδίου (J2) .....</b>	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>Συζήτηση και Συμπεράσματα.....</b>	<b>44</b>
	<b><i>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</i></b>	<b>46</b>
	<b><i>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ.....</i></b>	<b>55</b>

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1 Ταξινόμηση των Κυστογόνων Νηματωδών της Πατάτας .....	13
Πίνακας 2 Μορφομετρικά χαρακτηριστικά κύστεων του γένους <i>Globodera</i> .....	55
Πίνακας 3 Μορφομετρικά χαρακτηριστικά προνυμφών (J2) του γένους <i>Globodera</i> .....	55
Πίνακας 4 Εμπορικές ποικιλίες με ανθεκτικότητα στα είδη <i>G. rostochiensis</i> και <i>G. pallida</i> .....	56

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Εικόνα 1 Οροσειρά των Ανδεων, Νότια Αμερική.....	1
Εικόνα 2 Κόνδυλοι άγριων ποικιλιών πατάτας .....	1
Εικόνα 3 Τα κυριότερα μέρη ενός φυτού πατάτας.....	2
Εικόνα 4 Ενδοπαρασιτικός κινητικός νηματώδης <i>Pratylenchus penetrans</i> .....	11
Εικόνα 5 Μετακίνηση των ΚΝΠ κατά τον 15 <sup>ο</sup> αιώνα.....	12
Εικόνα 6 Κύστεις των <i>Globodera</i> .....	14
Εικόνα 7 Κεφαλική περιοχή του <i>G. pallida</i> .....	14
Εικόνα 8 Βιολογικός κύκλος των ΚΝΠ.....	16
Εικόνα 9 Περινιακή περιοχή κύστης του <i>G. pallida</i> . .....	17
Εικόνα 10 α) Κηλίδα σε πατατοχώραφο. Συμπτώματα χλώρωσης και καχεξίας. β) Ρίζα πατάτας προσβεβλημένη από ΚΝΠ (Πηγή: AFBI) .....	20
Εικόνα 11 Κύστη από ΚΝΠ μέσα σε οφθαλμό κονδύλου πατάτας .....	20
Εικόνα 12 Πειραματικό αγροτεμάχιο 327. Ο μπλέ κύκλος δείχνει το χωρο εγκατάστασης του πειράματος.....	26
Εικόνα 13 Συσκευή Fenwick .....	27
Εικόνα 14 Κόνδυλοι των ποικιλιών α) Annabelle, β) Innovator και γ) Sante.....	31
Εικόνα 15 Νηματωδοκτόνα σε κοκκώδη μορφή (Αριστερά το καρβαμιδικό fosthiazate και δεξιά το οργανοφωσφορικό oxamyl, που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα αξιολόγηση των ανθεκτικών ποικιλιών. ....	31
Εικόνα 16 Πειραματικό σχέδιο.....	32
Εικόνα 17 Φύτευση κονδύλων και ταυτόχρονη εφαρμογή νηματωδοκτόνων στον αγρό...32	
Εικόνα 18 Συγκομιδή κονδύλων πατάτας.....	33
Εικόνα 19 Δείγματα εδάφους .....	33
Εικόνα 20 Ηλεκτροφορητική κατανομή των δειγμάτων της PCR σε 1,2% πήγμα αγαρόζης. Οι γραμμές 1-29 και 36-36 : αγνώστα δείγματα για τον προσδιορισμό του είδους στο πειραματικό τεμάχιο. Οι γραμμές 1 και 35 είναι μοριακά βάρη 100 βάσεων. Γραμμή 30:	

γνωστό δείγμα <i>G. rostochiensis</i> . Γραμμές 31 και 34: δείγματα χωρίς DNA. Γραμμή 32: Νερό. Γραμμή 33: γνωστό δείγμα <i>G. pallida</i> .	36
Εικόνα 21 Επίδραση των νηματωδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στο επίπεδο εδαφικού μολύσματος στην ευπαθή ποικιλία Annabelle. Προφυτρωτικά: LSD = 2,643, P >0,05, Μεταφυτρωτικά: LSD =4,5045, P <0,05.	37
Εικόνα 22 Επίδραση των νηματωδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στο επίπεδο εδαφικού μολύσματος στην ανθεκτική ποικιλία Innovator. Προφυτρωτικά: LSD =2,643, P >0,05. Μεταφυτρωτικά: LSD =2,158, P <0,05.	38
Εικόνα 23 Επίδραση των νηματωδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στο επίπεδο εδαφικού μολύσματος στην ανθεκτική ποικιλία Sante. Προφυτρωτικά: LSD =3,4722, P > 0,05. Μεταφυτρωτικά: LSD =3,52, P < 0,05.	38
Εικόνα 24 Η επίδραση των νηματωδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στην παραγωγή, στην ευπαθή ποικιλία Annabelle. LSD = 2,2469 και P < 0,05.	39
Εικόνα 25 Η επίδραση των νηματωδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στην παραγωγή, στην ποικιλία Sante, LSD = 2,6478 P > 0,05	40
Εικόνα 26 Η επίδραση των νηματωδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στην παραγωγή, στην ποικιλία Sante, LSD = 2,8711, P > 0,05	40
Εικόνα 27 Η επίδραση των νηματωδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στην παραγωγή των τριών ποικιλιών Annabelle, Innovator και Sante.	41
Εικόνα 28 Η επίδραση των νηματωδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στο μέγεθος των κονδύλων, στην ευπαθή ποικιλία Annabelle και στις ανθεκτικές ποικιλίες Innovator και Sante.	42
Εικόνα 29 Η επίδραση των νηματωδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στο μέγεθος των κονδύλων, στην ευπαθή ποικιλία Annabelle και στις ανθεκτικές ποικιλίες Innovator και Sante.	42
Εικόνα 30 Εκκόλαση αυγών του <i>G. pallida</i> στο εργαστήριο μετά από έκθεσή τους σε εκκρίσεις ριζών (PRD) για περίοδο από μία μέχρι έντεκα βδομάδες.	43

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ΤΕΠΑΚ:	Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου
ΚΝΠ:	Κυστογόνοι Νηματώδεις της Πατάτας
ΚΦ:	Καλλιεργούμενα Φυτά
Gr:	<i>Globodera rostochiensis</i>
Gp:	<i>Globodera pallida</i>
cv.:	Cultivar
°C:	Βαθμοί κελσίου
J1:	Προνύμφες 1 <sup>ου</sup> σταδίου
J2:	Προνύμφες 2 <sup>ου</sup> σταδίου
J4:	Προνύμφες 4 <sup>ου</sup> σταδίου
PCR:	Polymerase Chain Reaction
ELISA:	Enzyme- Linked Immunosorbent Assay
IEF:	Isoelectric focusing, IEF
DNA:	Deoxyribonucleic acid
EPPO:	European and Mediterranean Plant Protection Organization
pH:	Πεχά
ΣΥ:	Σχετική υγρασία
PRD:	Potato Root Diffusates
AFBI:	Agri-Food and Biosciences Institute
DAGPA:	Diacetylphloroglucinol
ITS:	Internal Transcribe Spacer
TAE:	Tris base, Acetic acid and EDTA
E.E.:	Ευρωπαϊκή Ένωση
Pi:	Αρχικό μόλυσμα
Pf:	Τελικό μόλυσμα
LSD:	Least Significant Difference
P:	Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας
ANOVA:	Analysis of Variance
P:	Φώσφορος
N:	Νάτριο
K:	Κάλιο
SL:	Stylet Length

SKW:	Stylet Knob Width
G:	Granular
WP	Wettable Powder
WG	Wettable Granules
SC	Soluble Concentrate liquid

## ΑΠΟΔΟΣΗ ΟΡΩΝ

Stylet knobs	Μύες που στηρίζουν το στιλέτο
Syncytia	Γιγαντιαία φυτικά κύτταρα
Vulval	Γεννητική περιοχή
Kits	Εμπορικά σκευάσματα
Eppendorf	Μικροσωλήνας
Vortex	Ομογενοποίηση
Springler	Εκτοξευτήρας



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η συνεχής αύξηση του πληθυσμού της γης και κατ' επέκταση η αύξηση των αναγκών σε τρόφιμα, οδήγησε στην εντατικοποίηση της καλλιέργειας της πατάτας σε παγκόσμια κλίμακα. Επακόλουθο της εντατικοποίησης είναι η ραγδαία αύξηση του πληθυσμού των εχθρών και των παθογόνων της πατάτας. Ένα από τα σοβαρότερα παθογόνα που πλήττει την καλλιέργεια της πατάτας, τόσο στην Κύπρο όσο και διεθνώς, είναι οι Κυστογόνοι Νηματώδεις της Πατάτας (ΚΝΠ). Η αύξηση του πληθυσμού των εχθρών και των παθογόνων οδήγησε στην υπερβολική χρήση χημικών φυτοφαρμάκων για την αντιμετώπισή τους. Από το 1950 και μετά, ανακαλύφθηκαν αρκετά χημικά σκευάσματα, τα οποία ήσαν αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση των εχθρών και των ασθeneιών (Khush, 1999). Για την αντιμετώπιση των ΚΝΠ, χρησιμοποιήθηκαν πληθώρα χημικών νηματωδοκτόνων, τα οποία με την πάροδο του χρόνου αποσύρθηκαν εξ' αιτίας των επιπτώσεων τους στο περιβάλλον, τον υπόγειο υδροφόρο και την ανθρώπινη υγεία. Το γεγονός αυτό οδήγησε στην αναζήτηση εναλλακτικών μεθόδων αντιμετώπισης των ΚΝΠ. Λόγω των δυσκολιών στην εφαρμογή και χρήση των φυσικών εχθρών και των παρασίτων των ΚΝΠ, μοναδική εναλλακτική λύση για την αντιμετώπιση της ασθένειας παραμένει, από τα μέσα του προηγούμενου αιώνα, η χρήση γενετικά βελτιωμένων ποικιλιών πατάτας με ανθεκτικότητα στους ΚΝΠ (Evans & Stone, 1977). Ποικιλίες πατάτας χαρακτηρίζονται ως ανθεκτικές στους ΚΝΠ όταν ο βαθμός ανάπτυξης των ΚΝΠ εμφανίζεται μειωμένος (Trudgill, 1991).

Έρευνες των Ellenby (1945) και Mai (1951), απέδειξαν ότι η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος μείωσης και ελέγχου των πληθυσμών των ΚΝΠ. Γι' αυτό και πολλές ευρωπαϊκές χώρες που αντιμετωπίζουν προβλήματα με τους ΚΝΠ, έθεσαν ως πρωταρχικό στόχο τη δημιουργία προγραμμάτων παραγωγής ανθεκτικών ποικιλιών.

Οι ΚΝΠ περιλαμβάνουν δύο είδη του γένους *Globodera*, τον *Globodera pallida* (Wollenweber) Behrens (Gp) και τον *Globodera rostochiensis* (Stone) Behrens (Gr). Τα δύο είδη των ΚΝΠ, Gp και Gr, παρουσιάζουν παραλλακτικότητα ανάμεσα στους πληθυσμούς τους. Η παραλλακτικότητα των πληθυσμών στο κάθε είδος, εκδηλώνεται με διαφορετικό βαθμό παθογένειας επί συγκεκριμένων ποικιλιών πατάτας, που αναφέρονται και ως διαφορετικοί ξενιστές. Οι διαφορετικοί πληθυσμοί του κάθε είδους, καλούνται

παθότυποι. Τα είδη των Gr και Gr παρουσιάζουν τρεις (Pa1, Pa2 και Pa3) και πέντε (Ro1, Ro2, Ro3, Ro4 και Ro5) παθότυπους, αντίστοιχα (Kort, Ross, Rumpenhorst, & Stone, 1977).

Η ύπαρξη μηχανισμών ανθεκτικότητας στην πατάτα, έναντι των παθότυπων των δύο ειδών των ΚΝΠ, ήταν γνωστή από τη δεκαετία του '50. Όμως, οι έρευνες για την εξακρίβωση του τρόπου έκφρασης της ανθεκτικότητας, έγιναν αργότερα, κατά την δεκαετία του '70, οπότε διαπιστώθηκαν ανατομικές και ιστολογικές αλλαγές εντός του ριζικού συστήματος της πατάτας, στο σημείο θρέψης (syncytia) των προνυμφών των ΚΝΠ (Brodie, 1999). Για την εξεύρεση νέων μηχανισμών ανθεκτικότητας, οι ερευνητές τα τελευταία χρόνια έστρεψαν το ενδιαφέρον τους στη γενετική παραλακτικότητα ανάμεσα σε άγριες ποικιλίες πατάτας που ενδημούν στην περιοχή των Άνδεων στη Λατινική Αμερική, με σκοπό τον εντοπισμό γονιδίων που εκφράζουν ανθεκτικότητα στα δύο είδη των ΚΝΠ (Grenier, Fournet, Petit, & Anthoine, 2010).

Η έκφραση ανθεκτικότητας σε συγκεκριμένους παθότυπους μόνο, οδήγησε στην διερεύνηση του αιτίου έκφρασης της ανθεκτικότητας στο γονιδίωμα των ανθεκτικών ποικιλιών πατάτας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η έκφραση των γονιδίων H1 (Ellenby 1954) και H2 στα φυτά πατάτας, προσδίδουν ανθεκτικότητα στους παθότυπους Ro1, Ro4 του Gr και Pa1 του Gr, αντίστοιχα (Kort et al., 1977; Phillips, Bradshaw, & Mackay, 1994; Saenz & De Scurrah, 1977). Το γονίδιο H2 ανακαλύφθηκε το 1960 από τον Dunnett, στο είδος *Solanum multidissectum* PH1366. Παρά την υψηλή ανθεκτικότητα των ποικιλιών πατάτας που φέρουν τα γονίδια H1 και H2, έναντι των ΚΝΠ, ευρεία χρήση σε εμπορική κλίμακα είχαν μόνο οι ποικιλίες πατάτας που έφεραν το γονίδιο H1.

Το 1985, οι Rice et al, παρατήρησαν αντιδράσεις υπερευαισθησίας που οδηγούσαν σε εκφυλισμό και αλυσιδωτή νέκρωση των γειτονικών κυττάρων στο σημείο θρέψης, σε φυτά που είχαν το γονίδιο H1 κατά την προσβολή από τους παθότυπους Ro1 και Ro4 του Gr. Στις περιπτώσεις αυτές, σταματούσε η μεταφορά των θρεπτικών συστατικών από το φυτό στο σημείο θρέψης, με αποτέλεσμα το θάνατο του νηματώδη από αστία (Rice, Leadbeater, & Stone, 1985).

Η αξιολόγηση της ανθεκτικότητας ποικιλιών πατάτας έναντι των ΚΝΠ, στηρίζεται στο ρυθμό πολλαπλασιασμού (multiplication rates) των ΚΝΠ επί των ποικιλιών πατάτας. Ο ρυθμός πολλαπλασιασμού του μολύσματος των ΚΝΠ εκφράζεται μέσω της εξίσωσης

Pf/Pi, όπου Pf είναι το τελικό και Pi το αρχικό μόλυσμα. Ως ανθεκτικές θεωρούνται οι ποικιλίες των οποίων το πηλίκο Pf/Pi είναι μικρότερο του ενός (<1) (EPPO, 2004).

Η εντατική χρήση εμπορικών ποικιλιών πατάτας με ανθεκτικότητα στον Gr, ξεκίνησε το 1967 με την καλλιέργεια της ποικιλίας cv. Maris piper, που φέρει το γονίδιο H1 με ανθεκτικότητα στους παθότυπους Ro1 και Ro4, ενώ η πρώτη ποικιλία πατάτας (cv. Pedher) με πλήρη ανθεκτικότητα στους ευρωπαϊκούς παθότυπους του Gr, Pa1/2/3, κυκλοφόρησε στην αγορά το 2009. Η ποικιλία αυτή δεν είναι αποτελεσματική έναντι των αμερικάνικων παθότυπων του Gr (Grenier et al., 2010).

Για την αντιμετώπιση του Gr χρησιμοποιούνται εμπορικές ποικιλίες πατάτας (π. χ. Sante, Innovator, Morag) που φέρουν ανθεκτικότητα μόνο σε ένα ή δύο, από τους τρεις παθότυπους του Gr. Πειράματα αγρού που διεξήχθησαν την δεκαετία του '80 με σκοπό την αξιολόγηση ανθεκτικών ποικιλιών και νηματωδοκτόνων έναντι του Gr, έδειξαν ότι οι ανθεκτικές ποικιλίες ήταν πιο αποτελεσματικές από τα νηματωδοκτόνα. Ο συνδυασμός των δύο, ανθεκτικών ποικιλιών και νηματωδοκτόνων ήταν ο πιο αποτελεσματικός (Whitehead, Nichols, & Senior, 1991). Εξαιτίας του μικρού αριθμού ανθεκτικών ποικιλιών στο Gr, έχουν χρησιμοποιηθεί κατά το παρελθόν ποικιλίες πατάτας (π. χ. cv. Cara), οι οποίες δείχνουν μεγάλο βαθμό ανεκτικότητας (tolerance) στον Gr, επιτρέποντας την ανάπτυξη των νηματωδών και τη δημιουργία νέου μολύσματος ενώ παράλληλα δίνουν ικανοποιητική παραγωγή (Trudgill et al., 1983).

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η αξιολόγηση ποικιλιών πατάτας με ανθεκτικότητα στους παθότυπους Pa2/Pa3 του φυτοπαρασιτικού νηματώδη *Globodera pallid*, σε συνδυασμό με χημικά νηματωδοκτόνα, σε συνθήκες αγρού. Η αξιολόγηση των ανθεκτικών ποικιλιών διεξήχθη σε αγροτεμάχιο που βρέθηκε μολυσμένο με τους παθότυπους Pa2/Pa3 του Gr, στην περιοχή Σωτήρας (Χριστοφόρου, 2011). Στα πλαίσια της ορθολογικής διαχείρισης των ΚΝΠ, απαιτείται η αξιοποίηση ποικιλιών που φέρουν ανθεκτικότητα έναντι των παθότυπων των ΚΝΠ, βάσει της νέας κοινοτικής οδηγίας της 2007/33/EC, η οποία υποχρεώνει τα κράτη μέλη της Ε.Ε. να λάβουν μέτρα για την αντιμετώπιση του προβλήματος (E.U., 2007).

Η μελέτη αποσκοπεί στην αξιοποίηση εμπορικών ποικιλιών πατάτας με ανθεκτικότητα στους παθότυπους Pa2/Pa3 του Gr, έτσι ώστε να μειωθεί η χρήση χημικών νηματωδοκτόνων στην Κύπρο. Μέσω της μελέτης αυτής θα διαφανεί κατά πόσο η χρήση

ανθεκτικών ποικιλιών μπορεί από μόνη της να αποτελέσει εναλλακτική λύση στην εφαρμογή νηματωδοκτόνων. Θα μελετηθεί επίσης τυχόν αθροιστική και/ή συνεργιστική αλληλεπίδραση της συνδυασμένης χρήσης ανθεκτικών ποικιλιών και νηματωδοκτόνων. Τα αποτελέσματα, θα συμβάλλουν στην αντιμετώπιση των ΚΝΠ, μέσω προγραμμάτων ολοκληρωμένης διαχείρισης ασθενειών.

# 1 Ιστορικό της πατατοκαλλιέργειας στην Κύπρο

Το φυτό πατάτα (*Solanum tuberosum* L.), προέρχεται από τα υψίπεδα των Άνδεων της Νότιας Αμερικής (Περού, Κολομβία, Ισημερινός, Βολιβία) (Εικ. 1) και μεταφέρθηκε για πρώτη φορά στην Ευρώπη από τους Ισπανούς εξερευνητές το 1537. Η πατάτα καλλιεργείτο από τους Ίνκας για περίπου 2.000 χρόνια πριν από την ανακάλυψη της Αμερικής (Bradshaw & Ramsay, 2009). Αρχαιολογικά ευρήματα υποδεικνύουν ότι η πατάτα αποτελούσε τη βασική τροφή των ανθρώπων κατά την αρχαιότητα. Αυτό επιβεβαιώνεται και μέσω πρόσφατης έρευνας, όπου με τη χρήση ραδιενεργού άνθρακα ( $^{14}\text{C}$ ) προσδιορίστηκε η ηλικία κόκκων αμύλου πατάτας ηλικίας 8.000 χρόνων (Ολύμπιος, 2009).



Εικόνα 1 Οροσειρά των Άνδεων, Νότια Αμερική

Εκτός από την καλλιεργούμενη πατάτα *S. tuberosum*, υπάρχουν και άλλα έξι είδη που καλλιεργούνται αποκλειστικά στις Άνδεις. Επιπρόσθετα από τα επτά καλλιεργούμενα είδη πατάτας, το 2001 καταγράφηκαν 199 άγρια είδη πατάτας τα οποία ενδημούν μόνο στην Αμερική και εκτείνονται από τις νοτιοδυτικές Ηνωμένες Πολιτείες μέχρι την κεντρική Αργεντινή, Βολιβία, Περού και Χιλή (Εικ. 2) (Spooner & Hijmans, 2001).



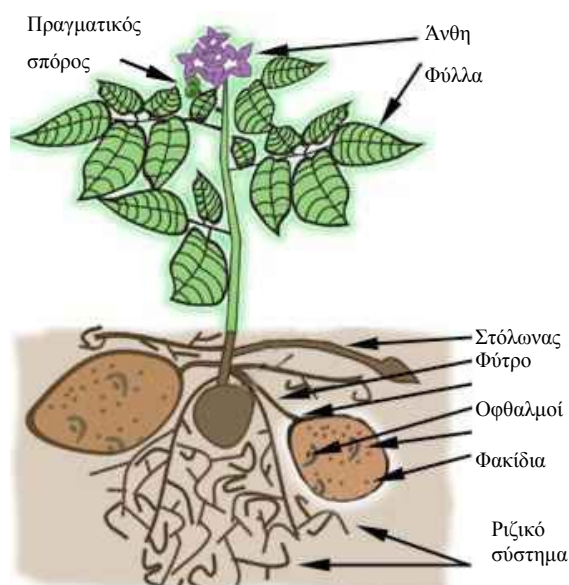
Εικόνα 2 Κόνδυλοι άγριων ποικιλιών πατάτας

## 1.1 Βοτανικά και διατροφικά χαρακτηριστικά της πατάτας

Η πατάτα, είναι κονδυλώδες φυτό της οικογένειας *Solanaceae*. Είναι το μοναδικό λαχανικό μεταξύ των 5 κυριότερων καλλιεργούμενων φυτικών ειδών στη διατροφή του ανθρώπου (Li, 1985; Walker, Schmiediche, & Hijmans, 1999). Η πατάτα καταναλώνεται μαγειρεμένη, άμεσα υπό τη μορφή κονδύλων και έμμεσα υπό τη μορφή βιομηχανικών προϊόντων.

Η πατάτα είναι ετήσιο, δικοτυλήδονο, ποώδες φυτό. Ο βιολογικός της κύκλος διαρκεί 3 - 5 μήνες, ανάλογα με το είδος, την ποικιλία και τις κλιματολογικές συνθήκες.

Πολλαπλασιάζεται αγενώς κυρίως με υπόγειους κονδύλους (πατατόσπορος). Ο πραγματικός σπόρος (βοτανικός υπέργειος σπόρος) χρησιμοποιείται όταν επιδιώκεται η δημιουργία νέων τύπων ή ποικιλιών.



Εικόνα 3 Τα κυριότερα μέρη ενός φυτού πατάτας

Το φυτό της πατάτας χαρακτηρίζεται από συμπαγή θαμνώδη ανάπτυξη. Η ρίζα της αποτελείται από πολυάριθμα λεπτά ινώδη ριζίδια, αρκετά καλά αναπτυγμένα. Τα φύλλα του φυτού είναι σύνθετα και τα άνθη του φέρονται σε ταξιανθίες που έχουν μακρύ άξονα και αναπτύσσονται από την μασχάλη του τελευταίου φύλλου του βλαστού (Εικ. 3) (Cutter, 1978; Ολύμπιος, 2009).

Η πατάτα είναι λαχανικό με πλούσια θρεπτική αξία και κατέχει σημαντικό ρόλο στη μεσογειακή διαίτα. Το εδάδιμο μέρος της πατάτας, ο κόνδυλος, περιέχει 2, 1% πρωτεΐνη και 20, 8% υδατάνθρακες, ενώ παράλληλα είναι πλούσιο σε βιταμίνες C και D (Berti et al., 2010). Οι πατάτες χρησιμοποιούνται για άμεση και έμμεση κατανάλωση ως φρέσκες και ως βιομηχανοποιημένες, αντίστοιχα. Οι βιομηχανοποιημένες πατάτες διατίθενται στην αγορά υπό την μορφή σκόνης – πουρέ, προτηγανισμένες και πατατάκια.

## **1.2 Η καλλιέργεια της πατάτας**

Σήμερα, η πατατοκαλλιέργεια αποτελεί τη σημαντικότερη καλλιέργεια για περισσότερες από 57 χώρες, μεταξύ των οποίων και η Κύπρος. Η πατάτα είναι κατά παράδοση η κύρια καλλιέργεια του νησιού και το μεγαλύτερο ποσοστό της παραγωγής της κάθε χρόνο εξάγεται σε χώρες-μέλη της Ε.Ε. ή σε τρίτες χώρες. Στοιχεία της Στατιστικής Υπηρεσίας Κύπρου υποδεικνύουν ότι οι εξαγωγές πατατών κατά την περίοδο 2007 – 2008 ήταν 89. 216 τόνοι με έσοδα 46. 680 εκατομμύρια ευρώ (Alexandrou, Pelagia, & Pitiri, 2010). Για την πλήρη ανάπτυξη της, η πατάτα χρειάζεται 90 – 120 μέρες από τη φύτευση μέχρι τη συγκομιδή της, ανάλογα με την ποικιλία και την περιοχή της καλλιέργειας.

### **1.2.1 Απαιτήσεις σε έδαφος**

Η πατάτα παρουσιάζει ευρύ φάσμα αντοχής σε όλους τους τύπους εδαφών και στο pH. Απαραίτητες συνιστώσες για την επιτυχή προσαρμογή της καλλιέργειας είναι το ικανοποιητικό ποσοστό οργανικής ουσίας στο έδαφος, ο καλός αερισμός, η στράγγιση και η γονιμότητα του εδάφους. Επίσης, το έδαφος πρέπει να είναι εύθρυπτο και ελαφρύ. Επομένως, για μεγαλύτερες αποδόσεις και καλή ποιότητα προϊόντος, προτιμώνται τα αμμοπηλώδη και πηλοαμμώδη εδάφη (Thornton & Sieczka, 1980).

Η προετοιμασία του εδάφους για την καλλιέργεια της πατάτας, επιτυγχάνεται όταν το έδαφος βρίσκεται στο ρώγο του και αποσκοπεί στη δημιουργία κατάλληλης δομής για καλό αερισμό και στράγγιση. Ως αποτέλεσμα της καλής προετοιμασίας του εδάφους, ο πατατόσπορος που θα φυτευτεί, θα αναπτυχθεί γρήγορα σε σχετικά αφράτο έδαφος χωρίς σβώλους, σε ικανοποιητικό βάθος, έτσι ώστε οι ρίζες και αργότερα οι κόνδυλοι να αναπτύσσονται χωρίς εμπόδια. Οι αποστάσεις φύτευσης των κονδύλων κυμαίνονται από 6 μέχρι 15 cm ανάλογα με την ποικιλία.

### **1.2.2 Λίπανση**

Η πατάτα είναι φυτό που απορροφά από το έδαφος μεγάλες ποσότητες θρεπτικών στοιχείων σε μικρό χρονικό διάστημα. Η ποσότητα της οργανικής ουσίας και των κύριων θρεπτικών στοιχείων αζώτου (N), φωσφόρου (P) και καλίου (K) που θα προστεθούν, ποικίλει ανάλογα με τη γονιμότητα του εδάφους, το βαθμό έκπλυσης, τη ποικιλία και το μήκος της βλαστικής περιόδου. Στην Κύπρο, και στις δύο καλλιεργητικές περιόδους,

φθινοπωρινή και ανοιξιιάτικη, καθώς και στην καλλιέργεια για παραγωγή πατατοσπόρου, συνιστάται να ενσωματώνεται στο έδαφος βασική λίπανση (110 Kg/στρέμμα θεικής αμμωνίας (21-0-0), 25 Kg/στρέμμα τριπλό υπερφωσφορικό λίπασμα (0-48-0) και 38 Kg θειικό κάλι (0-0-52) (Ολύμπιος, 2009). Πολύ σπάνια παρίσταται ανάγκη εφαρμογής ιχνοστοιχείων. Η πατάτα είναι πολύ επιρρεπής στην έλλειψη μαγγανίου και λιγότερο ψευδαργύρου και χαλκού. Τυχόν έλλειψη των ιχνοστοιχείων αυτών αντιμετωπίζεται μέσω διαφυλλικών ψεκασμών (Navarre, Goyer, & Shakya, 2009).

### **1.2.3 Ανάγκες σε νερό – Συστήματα άρδευσης**

Η πατάτα χρειάζεται νερό σε όλα τα στάδια ανάπτυξης της, από τη φύτευση μέχρι την ωρίμανση των κονδύλων. Στην Κύπρο οι πατάτες καλλιεργούνται σε δύο περιόδους, άνοιξη και φθινόπωρο. Στις παραθαλάσσιες περιοχές η φύτευση γίνεται νωρίς τον Αύγουστο και έτσι οι ανάγκες σε νερό είναι μεγαλύτερες από εκείνες της άνοιξης, όπου οι κόνδυλοι φυτεύονται αρχές Νοεμβρίου. Αντίθετα, στην ενδοχώρα η φθινοπωρινή φύτευση γίνεται περί τα τέλη Σεπτεμβρίου, όπου οι ανάγκες σε νερό είναι λιγότερες, ενώ η ανοιξιιάτικη φύτευση γίνεται Ιανουάριο με αποτέλεσμα οι ανάγκες σε νερό να είναι μεγαλύτερες, κυρίως στις όψιμες πατάτες που εκριζώνονται Μάιο και Ιούνιο.

Η ευαισθησία της πατάτας στο νερό και η αβαθής ριζική της ζώνη, ευνοεί αρδευτικά συστήματα ικανά για ελαφρές, συχνές και ομοιόμορφες εφαρμογές νερού (King, Reeder, Wall, & Stark, 2002; Spooner & Hijmans, 2001; Thornton & Sieczka, 1980). Η πατάτα μπορεί να καλλιεργηθεί με όλους τους τύπους άρδευσης, όπως σταθερά τοποθετούμενα, γραμμικά μεταφερόμενα περιστρεφόμενης ράμπας, πλευρικής κύλισης και χειροκίνητα συστήματα εκτοξευτήρων (Onder, Caliskan, Onder, & Caliskan, 2005). Οι κλιματολογικές συνθήκες της Κύπρου επιτρέπουν μόνο τη χρήση σταθερών ή χειροκίνητων εκτοξευτήρων.

### **1.2.4 Κλίμα**

Η πατάτα είναι φυτό ψυχρής εποχής (Thornton & Sieczka, 1980). Οι άριστες μέσες θερμοκρασίες αέρος για μέγιστη παραγωγή, κυμαίνονται μεταξύ 16 – 21 °C. Η άριστη θερμοκρασία εδάφους για φύτρωση των κονδύλων είναι 22 °C. Θερμοκρασίες χαμηλότερες των 22 °C καθυστερούν σημαντικά την φύτρωση, ενώ οι υψηλότερες εμποδίζουν τη βλάστηση (Ολύμπιος, 2009).



### **1.3 Συγκομιδή και αποθήκευση**

Άριστες συνθήκες αποθήκευσης των κονδύλων επιτυγχάνονται με θερμοκρασίες που κυμαίνονται στους 4 – 10 °C και 90% σχετική υγρασία (ΣΥ). Έτσι αποφεύγεται η αφυδάτωση, που προκαλεί μείωση βάρους, μείωση της σπαργής και υποβάθμιση της ποιότητας. Χαμηλότερες θερμοκρασίες αποθήκευσης συμβάλλουν στη μετατροπή του αμύλου σε σάκχαρο. Επιπρόσθετα, κατά την διάρκεια της αποθήκευσης, πρέπει να επικρατεί σκοτάδι, για να εμποδίζεται το πρασίνισμα. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται και στην λήψη μέτρων για αποφυγή από προσβολές εντόμων κατά την αποθήκη. Πριν από κάθε αποθήκευση, ο χώρος που θα τοποθετηθούν οι πατάτες, απολυμαίνεται, ώστε να προφυλάσσονται από εστίες μόλυνσης.

### **1.4 Εμπορική αξία**

Οι κυπριακές πατάτες καλλιεργούνται ως επί το πλείστον σε κοκκινογή (60% άργιλος, 10% ιλύς, 30% άμμος), η οποία προσδίδει καλύτερα ποιοτικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά (σχήμα και γυαλάδα) στους κονδύλους σε σχέση με τις πατάτες που καλλιεργούνται σε γκρίζα γη (Buftow, 2011). Εξ αυτού, συχνά η κυπριακή πατάτα πωλείται στο εξωτερικό σε διπλάσιες τιμές από ότι οι πατάτες άλλων γειτονικών χωρών της Κύπρου, όπως είναι το Ισραήλ και η Αίγυπτος (Buftow, 2011).

Η αυξημένη ζήτηση της κυπριακής πατάτας από χώρες της Ε.Ε. και οι κλιματικές συνθήκες της Κύπρου, οι οποίες επιτρέπουν την καλλιέργεια της πατάτας δύο φορές το χρόνο, οδήγησαν στη ραγδαία αύξηση της καλλιέργειας καταλαμβάνοντας μεγάλες εκτάσεις, κυρίως στην περιοχή των κοκκινοχωριών και στην επαρχία Λευκωσίας. Αποτέλεσμα αυτού, είναι η μετατροπή της πατατοκαλλιέργειας σε εντατική καλλιέργεια με πολλά οικονομικά οφέλη στους πατατοπαραγωγούς, αλλά και πολλά φυτοπαθολογικά και εδαφολογικά προβλήματα.

## **1.5 Προβλήματα που αντιμετωπίζει η καλλιέργεια της πατάτας στην Κύπρο**

Η πατατοκαλλιέργεια στην Κύπρο αντιμετωπίζει αρκετά προβλήματα που οφείλονται τόσο σε βιοτικούς (έντομα, νηματώδεις, μύκητες, βακτήρια, ιούς και ζιζάνια), όσο και αβιοτικούς παράγοντες (τροφοπενίες, τοξικότητες, κλιματολογικές συνθήκες, έλλειψη νερού και αλατότητα).

### **1.5.1 Αβιοτικοί παράγοντες**

Οι δυσμενείς επιπτώσεις των αβιοτικών παραγόντων προκαλούν σοβαρές ζημιές στους βλαστούς, στα φύλλα και στους κονδύλους. Το υπέργειο μέρος των φυτών πλήττεται κυρίως από το χαλάζι και τον άνεμο, ενώ καύσωνες και παγετοί επηρεάζουν τόσο το υπέργειο μέρος όσο και τους κονδύλους. Επιπλέον, αρνητικές επιπτώσεις στην παραγωγή της πατάτας έχουν οι τροφοπενίες εξαιτίας της παρατεταμένης χρήσης των πατατοχώραφων και οι τοξικότητες από φυτοπροστατευτικά προϊόντα.

Τα τελευταία χρόνια, η πατατοκαλλιέργεια στις παραθαλάσσιες περιοχές πλήττεται σημαντικά από τις υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων στο νερό άρδευσης, εξαιτίας της υπεράντλησης των υπόγειων νερών και της εισροής θαλασσινού νερού στις γεωτρήσεις.

### **Κλιματικές συνθήκες**

Όταν η καλλιέργεια εκτεθεί σε χαμηλές θερμοκρασίες - παγετό, τότε παρουσιάζεται στο φύλλωμα των νεαρών φυτών καθολικός ή μερικός καστανός μεταχρωματισμός. Σε συνθήκες ελαφρού παγετού ( $> -2$  °C), κατά τη διάρκεια της νύχτας, επηρεάζονται τα κορυφαία και περιφερειακά φύλλα του φυτού ενώ σε συνθήκες σοβαρού παγετού ( $< -2$  °C) κατά τη διάρκεια της νύχτας, επέρχεται ολοκληρωτική καταστροφή της καλλιέργειας, συμπεριλαμβανομένων και των κονδύλων (Mulder & Turkensteen, 2005). Αντίθετα, υψηλές θερμοκρασίες κατά την κονδυλοποίηση προκαλούν δυσμορφίες στους κονδύλους (bottle shape), ενώ υψηλές θερμοκρασίες κατά την εκρίζωση έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ηλιακών εγκαυμάτων στους κονδύλους (sunscald), οι οποίοι μοιάζουν με μαύρα σαπούνια (Brinkman & Mulder, 2005).

Επιπλέον, η πατάτα υφίσταται ζημιές - πληγές στο υπέργειο τμήμα του φυτού (βλαστοί και φύλλα), από την πτώση χαλαζιού και την διαπνοή ισχυρών ανέμων και

ανεμοστρόβιλων, μέσω των οποίων προκαλείται σπάσιμο των βλαστών, δημιουργία πληγών (είσοδος πολλών παθογόνων) και παράλληλα αφυδάτωση των φυτών.

### **Ακανόνιστα ποτίσματα**

Η πατάτα θεωρείται ευαίσθητο φυτό στην ξηρασία. Για ποικιλίες ευαίσθητες, ακόμη και μικρές περίοδοι υδατοκαταπόνησης μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές μειώσεις στην παραγωγή και υποβάθμιση της ποιότητας των κονδύλων (Pereira & Shock, 2006). Τόσο η υπό-άρδευση όσο και η υπέρ-άρδευση έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής. Η υπερβολική άρδευση σε συνδυασμό με την κακή στράγγιση του εδάφους επηρεάζει την ανάπτυξη των κονδύλων λόγω μειωμένου αερισμού και αυξάνει την προσβολή των κονδύλων και των ριζών από αναερόβια βακτήρια και μύκητες (Holder & Cary, 1984). Η παρουσία υψηλής εδαφικής υγρασίας (πλημμύρα) στην καλλιέργεια της πατάτας οδηγεί στη δημιουργία φακιδίων (enlarged lenticels – δημιουργία κάλλου) πάνω στην επιδερμίδα των κονδύλων, που μοιάζουν με μικρά, λευκά εξογκώματα. Επιπλέον, τα ακανόνιστα ποτίσματα συμβάλλουν στην εμφάνιση της φυσιολογικής ανωμαλίας «Εσωτερική καστάνωση - Brown Heart» καθώς και της δημιουργίας ρωγμών κατά μήκος των κονδύλων (growth cracks) (Brinkman & Mulder, 2005).

### **Τροφοπενίες**

Η έλλειψη των βασικών στοιχείων (N, P, K) από το έδαφος καθώς και ιχνοστοιχείων, οδηγεί στην εμφάνιση διαφόρων συμπτωμάτων στα φυτά πατάτας, όπως καχεξία, μεταχρωματισμό, συστροφή, χλώρωση ή νέκρωση των φύλλων, καθυστερημένη ανάπτυξη και παραμόρφωση των κονδύλων. Όλα αυτά οδηγούν στη μείωση των αποδόσεων της πατάτας (Mulder & Turkensteen, 2005).

### **Μεταχρωματισμός κονδύλων (πρασίνισμα, μελάνιασμα)**

Η εμφάνιση πράσινου χρώματος στους κονδύλους οφείλεται στη δημιουργία χλωροφύλλης εξαιτίας της έκθεσης των κονδύλων στην ηλιακή ακτινοβολία μέσω των ρωγμών που δημιουργούνται στο έδαφος κατά τη διάρκεια περιόδων ξηρασίας. Επίσης, το φαινόμενο αυτό προκαλείται και σε περιόδους έντονης βροχόπτωσης, όπου η μετακίνηση χρώματος οδηγεί στην έκθεση των κονδύλων στην ηλιακή ακτινοβολία.

Επιπλέον, παρατηρείται κατά την ανοιξιάτικη καλλιέργεια η εμφάνιση μελανού χρώματος στο εσωτερικό των κονδύλων λόγω της παραγωγής ανθοκυανινών. Το ακριβές αίτιο αυτής της μελάνωσης δεν είναι ακόμα γνωστό. Οι παράγοντες που συμβάλλουν στην εμφάνιση του μελανού χρώματος είναι η έντονη ηλιακή ακτινοβολία σε συνδυασμό με τις χαμηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια της ημέρας, τους μήνες Μάρτιο και Απρίλιο (Brinkman & Mulder, 2005).

### **1.5.2 Βιοτικοί παράγοντες**

Οι βιοτικοί παράγοντες που προσβάλλουν την πατατοκαλλιέργεια στην Κύπρο επηρεάζονται από το μέγεθος του πληθυσμού/μολύσματος τους και τις κλιματικές συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη και διασπορά τους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα επιδημίας που προκάλεσε ολοκληρωτική καταστροφή στην πατατοκαλλιέργεια την περίοδο 2009 – 2010, εξαιτίας των παρατεταμένων βροχοπτώσεων που έπληξαν το νησί, ήταν η προσβολή από τον περονόσπορο της πατάτας, *Phytophthora infestans*. Στους βιοτικούς παράγοντες συγκαταλέγονται τα αρθρόποδα (έντομα και ακάρεα), τα μαλάκια (σαλιγκάρια), οι ασθένειες (μύκητες, βακτήρια, ιοί και νηματώδεις) και τα ζιζάνια.

#### **Εντομολογικοί εχθροί της πατάτας**

Οι εχθροί που προκαλούν προβλήματα στην καλλιέργεια την πατάτας στην Κύπρο χωρίζονται ανάλογα με τον τρόπο προσβολής σε μυζητικούς και μασητικούς. Στους μυζητικούς εχθρούς εντάσσονται οι αφίδες (Aphididae), οι αλευρώδεις (Aleyrodidae), και τα ακάρεα (Tetranychidae). Τα περισσότερα είδη των μυζητικών εχθρών μεταδίδουν φυτικούς ιούς.

Στους μασητικούς εχθρούς εντάσσονται κυρίως προνύμφες λεπιδόπτερον, ορθόπτερον και κολεόπτερον. Οι προνύμφες της λυριόμυζας (*Lyriomyza bryoniae* M., *L. trifolii* P., *L. huidobrensis* B.), της τούτας (*Tuta absoluta* M.) και της φθοριμαίας ή λίτας (*Phthorimaea operculella* Z.), προκαλούν ζημιές στο φύλλωμα. Η λίτα και ο κρεμμυδοφάγος (*Gryllotalpa gryllotalpa* L.) προκαλούν ζημιές στους κονδύλους κατά το τέλος της ανοιξιάτικης εσοδείας (Mulder & Stolte, 2005; Wale, Platt, & Cattlin, 2008b).

## **Ζιζάνια**

Τα ζιζάνια προκαλούν ζημιές στα καλλιεργούμενα φυτά, στα φυσικά λιβάδια (εξάπλωση δηλητηριωδών ζιζανίων ή ζιζανίων με ασήμαντη θρεπτική αξία), στον άνθρωπο (αλλεργίες, δηλητηριάσεις), όσο και στα ζώα (δηλητηριάσεις). Μεγαλύτερη σπουδαιότητα αποδίδεται στις ζημιές που προκαλούν τα ζιζάνια κυρίως στα ΚΦ, εξαιτίας του ανταγωνισμού μεταξύ τους για θρεπτικά στοιχεία, νερό, φως και χώρο. Αποτέλεσμα του ανταγωνισμού μεταξύ ζιζανίων και ΚΦ, είναι η μειωμένη ανάπτυξη των ΚΦ και συνεπώς η υποβάθμιση της ποιότητας και η μείωση της παραγωγής (Ελευθεροχωρινός, 2002).

Η καλλιέργεια της πατάτας αντιμετωπίζει σοβαρά προβλήματα εξαιτίας της παρουσίας πλατύφυλλων ζιζανίων, τα οποία εμποδίζουν την εφαρμογή μεταφυτρωτικών ζιζανιοκτόνων με δράση στα πλατύφυλλα ζιζάνια. Για το λόγο αυτό, η αντιμετώπιση των ζιζανίων στις πατατοκαλλιέργειες γίνεται προφυτρωτικά, ή στο στάδιο των 3 – 4 φύλλων.

Τα σημαντικότερα είδη ζιζανίων που προκαλούν ζημιές στην καλλιέργεια της πατάτας είναι η αγριοντοματιά (*Solanum nigrum* L.), η μολόχα (*Malva ssp.*), τα βλήτα (*Amaranthus ssp.*), η λουβουδιά (*Chenopodium album* L.), η αγριομελιτζάνα (*Xanthium strumarium* L.), η περικοκλάδα (*Convolvulus arvensis* L.), η τσουκνίδα (*Urtica ssp.*), ο τάτουλας (*Datura stramonium* L.), η κολλητσίδα (*Galium ssp.*), το άγριο σινάπι (*Sinapis arvensis* L.) και τα παρασιτικά ζιζάνια κουσκούτα (*Cuscuta ssp.*) και οροβάγχη (*Orobanche ssp.* L.) (Ιοαννου, 2000; Ελευθεροχωρινός, 2002).

## **Φυτοπαθολογικές ασθένειες της πατάτας**

Οι φυτοπαθολογικές ασθένειες που προσβάλλουν την πατάτα είναι μεγάλης οικονομικής σημασίας. Προκαλούν ζημιές – συμπτώματα (ξηράνσεις, σήψεις, τήξεις, παραμορφώσεις και μεταχρωματισμούς) τόσο στο υπέργειο μέρος (φύλλα και βλαστούς), όσο και στο υπόγειο μέρος της πατάτας (ρίζες και κονδύλους). Τα αίτια που προκαλούν φυτοπαθολογικές ασθένειες στην πατάτα, περιλαμβάνουν είδη μυκήτων, βακτηρίων, ιών, ιοειδών και νηματωδών.

Πιο σημαντικοί **μύκητες** που προσβάλλουν τις πατατοκαλλιέργειες, είναι ο όψιμος περονόσπορος (*Phytophthora infestans* M.), ο πρώιμος περονόσπορος *Alternaria solani* S. , η ριζοκτόνια (*Rhizoctonia solani* K.) και οι αδρομυκώσεις (*Fusarium ssp.* και *Verticillium*

*spp.*). Ο όψιμος περονόσπορος και η φουζαρίωση προκαλούν υγρή και ξηρή σήψη, αντίστοιχα, κατά την αποθήκευση των κονδύλων (Turkensteen & Baarlen, 2005; Wale, Platt, & Cattlin, 2008a).

Τα **βακτήρια** προκαλούν συμπτώματα και ζημιές στα φύλλα, τους βλαστούς και κυρίως στους κονδύλους, προσυλλεκτικά και μετασυλλεκτικά. Η προσβολή, τόσο στο υπέργειο όσο και στο υπόγειο μέρος των φυτών, επιτυγχάνεται κάτω από συνθήκες υψηλής υγρασίας και δημιουργίας πληγών. Οι σοβαρότερες ζημιές που προκαλούνται στην πατατοκαλλιέργεια από βακτήρια είναι η εναέρια σήψη στελεχών, *Dickeya dianthicola* (= *Erwinia chrysanthemi*), η μελάνωση του λαιμού, *Pectobacterium atrosepticum* (= *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*), η μαλακή βακτηριακή σήψη, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (= *E. carotovora* subsp. *carotovora*), η αδροβακτηρίωση και καστανή σήψη, *Ralstonia solanacearum* (= *Burkholderia solanacearum* ή *Pseudomonas solanacearum*), η βακτηριακή εσχάρωση, *Streptomyces scabies*, *S. europaeiscabiei*, *S. stelliscabiei* και η δακτυλιοειδής σήψη, *Clavibacter michiganensis* (Filofteia, 2011; Huang et al., 2010; Lamichhane et al., 2010).

Η κατηγορία των **φυτοίων** που προσβάλλουν την πατάτα περιλαμβάνει γένη που μεταδίδονται με έντομα – φορείς, μηχανικά στον αγρό και με τον πατατόσπορο. Τα συμπτώματα που προκαλούν οι φυτοιοί είναι κυρίως μεταχρωματισμοί - μωσαϊκά, νεκρωτικές κηλίδες σε κονδύλους και φύλλα, συστρόφη των φύλλων και καχεξία των φυτών. Οι κυριότεροι ιοί που προσβάλλουν την πατάτα είναι ο Ιός Y της πατάτας (Potato virus Y, PVY), ο Ιός του καρουλιάσματος των φύλλων της πατάτας (Potato leaf roll virus, PLRV) και ο Ιός X της πατάτας (Potato virus X, PVX) (Bokx & Want, 1987).

### **Φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις της πατάτας**

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις (ενδοπαρασιτικοί και εκτοπαρασιτικοί), προκαλούν ποιοτική και ποσοτική υποβάθμιση στην παραγωγή της πατατοκαλλιέργειας, παρασιτώντας το ριζικό σύστημα των φυτών. Κατά την προσβολή των φυτών από τους νηματώδεις παρουσιάζονται συμπτώματα χλώρωσης, μαρασμού, καχεξίας και μείωσης του μεγέθους και του αριθμού των κονδύλων.

Τα κυριότερα είδη νηματωδών που προσβάλλουν την καλλιέργεια της πατάτας είναι: *Meloidogyne chitwoodi* C., *M. hapla* G., *G. rostochiensis*, *G. pallida*, *Ditylenchus*

*destructor* T., *D. Dipsaci* K., *Pratylenchus penetrans* P. (Εικ. 4) και *Paratrichodorus pachydermus* S. Από τα πιο πάνω είδη νηματώδων, τη σημαντικότερη ζημιά προκαλούν τα δύο είδη ΚΝΠ, *G. rostochiensis* και *G. pallida*. Οι ΚΝΠ συγκαταλέγονται στα φυτοπαθογόνα καραντίνας γεγονός που δυσχεραίνει την εμπορία πατατών σε χώρες που είτε δεν έχουν καθόλου ΚΝΠ, ή έχουν μόνο το ένα είδος ή έχουν συγκεκριμένο/ους παθότυπο/ους και δεν επιτρέπουν την εισαγωγή νέων συγγενικών παθότυπων.

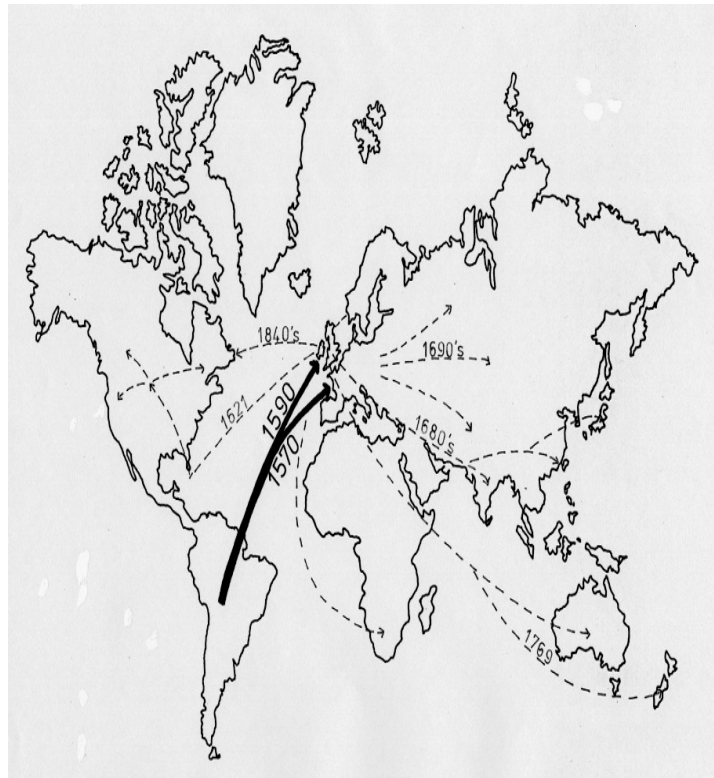


**Εικόνα 4** Ενδοπαρασιτικός κινητικός νηματώδης *Pratylenchus penetrans*

## 2 Κυστογόνοι Νηματώδεις της Πατάτας, ΚΝΠ

Από την αρχή της καλλιέργειας της πατάτας στην Κύπρο μέχρι και σήμερα απαραίτητη ήταν η εισαγωγή πατατοσπόρου από χώρες της Ε.Ε. ή από τρίτες χώρες. Με την άφιξη του πατατόσπορου γινόταν και γίνεται, εισαγωγή αρκετών παθογόνων οργανισμών (εχθρών και ασθενειών) οι οποίοι επιφέρουν σοβαρά προβλήματα στην πατατοκαλλιέργεια. Μία από τις σημαντικότερες ασθένειες της πατάτας με σοβαρές απώλειες στην ποιότητα και την παραγωγή, είναι οι Κυστογόνοι Νηματώδεις της Πατάτας (ΚΝΠ) (Jensen, Armostron, & Jatala, 1979). Τα δύο είδη ΚΝΠ είναι ο λευκός νηματώδης *Globodera pallida* (Gp) (Stone) και ο χρυσονηματώδης *Globodera rostochiensis* (Gr), (Woll) (Stone, 1972).

Η μετακίνηση και εξέλιξη των ειδών των ΚΝΠ συνδέεται με αυτή του κύριου ξενιστή τους, τη πατάτα. Επομένως, η μετακίνηση των ΚΝΠ και η εξάπλωσή τους σε ολόκληρο τον πλανήτη σηματοδοτείται από τις ορεινές περιοχές των Άνδεων (Περού, Βολιβία). Μετά την ανακάλυψη της Αμερικής τον 15<sup>ο</sup> αιώνα, οι ΚΝΠ εισήχθησαν στην Ευρώπη, και μεταγενέστερα εξαπλώθηκαν σε όλες τις τροπικές και υποτροπικές ζώνες του πλανήτη (Εικ. 5), όπου καλλιεργούνται πατάτες, μέσω της εμπορίας της πατάτας (Mai, 1977).



Εικόνα 5 Μετακίνηση των ΚΝΠ κατά τον 15<sup>ο</sup> αιώνα.

Πρώτη αναφορά για την παρουσία των ΚΝΠ στη Κύπρο έγινε το 1971 (Morris, 1971). Τα δύο είδη, *Gp* και *Gr*, ταυτοποιήθηκαν μορφομετρικά από τους Morris και Φιλή (Philis, 1981). Δεν έχει εξακριβωθεί η ακριβής περίοδος άφιξης των ΚΝΠ στην Κύπρο ούτε και η ακριβής προέλευση τους (Zaheer, Fleming, Turner, & Philis, 1996).



## 2.1 Ταξινόμηση των Κυστογόνων Νηματωδών της Πατάτας

Οι ΚΝΠ, αποτελούσαν ένα είδος του γένους *Heterodera*, τον *Heterodera rostochiensis*. Ο *H. rostochiensis* χαρακτηρίστηκε αρχικά από τον Wollenweber (1923), ο οποίος τον διαφοροποίησε από τα υπόλοιπα είδη του γένους, εξαιτίας των μορφολογικών και μορφομετρικών διαφορών που

**Πίνακας 1** Ταξινόμηση των Κυστογόνων Νηματωδών της Πατάτας

Kingdom: Animalia  
Phylum: Nematoda  
Order: Tylenchida  
Superfamily: Tylenchoidea  
Family: Heteroderidae  
Subfamily: Heteroderinae  
Genus: *Globodera*  
Species: *G. rostochiensis*, *G. pallida*



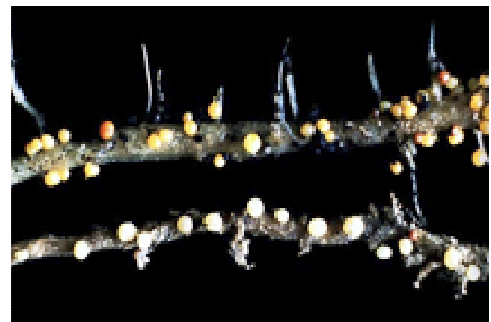
παρουσίαζαν, καθώς και της εξειδίκευσης του ως υποχρεωτικό παράσιτο της πατάτας. Αρκετά χρόνια αργότερα, παρατηρήθηκαν επιπλέον μορφολογικές διαφορές ανάμεσα στα άτομα του *H. rostochiensis*, όταν τα θηλυκά άτομα παρουσίασαν διαφορετικό χρώμα στο σώμα τους μετά την γονιμοποίηση. Κάποια άτομα παρουσίαζαν χρώμα χρυσό (Golden nematode) και άλλα λευκό (Pale nematode). Αυτή η διαφοροποίηση, οδήγησε στην διαίρεση του *H. rostochiensis*. Η νέα ανακάλυψη ώθησε τους ερευνητές να ψάξουν για επιπλέον διαφορές ανάμεσα στα δύο είδη. Οι διαφορές εστιάστηκαν σε μορφομετρικά χαρακτηριστικά, όπως το μέγεθος του σώματος των προνυμφών 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2), η περινιακή περιοχή των κύστεων και οι κλώνοι και ποικιλίες-ξενιστές που παρασιτούσαν (Guile, 1970). Επιπλέον, τα δύο νέα είδη παρουσίασαν διαφορές και στον χρόνο εκκόλαψης τους τοποθετούμενα σε εκκρίματα ριζών (Potato Root Diffusates, PRD). Τα δύο είδη, Χρυσονηματώδης και Λευκός νηματώδης, μετονομάστηκαν σε *H. rostochiensis* και *H. pallida*, αντίστοιχα (Jones, Carpenter, Parrott, Stone, & Trudgill, 1970). Στη δεκαετία του '70, τα δύο είδη εντάχθηκαν στο γένος *Globodera* και μετονομάστηκαν σε *Globodera rostochiensis* και *G. pallida* (βλ. πίνακα 1) (Behrens, 1975; Mulvey & Stone, 1976). Έκτοτε, εντάχθηκαν και άλλα είδη στο γένος *Globodera*, όπως *G. tabacum*, *G. achilleae* και *G. artemisiae* (Ferris, 1979), τα οποία παρασιτούν τον καπνό, ζιζάνια της οικογένειας *Solanaceae* και την αρτεμισία, αντίστοιχα, όχι όμως την πατάτα (Ferris, 1979). Για αρκετό διάστημα τα μη παρασιτικά είδη του γένους *Globodera* συγγέονταν μορφολογικά με τους ΚΝΠ προκαλώντας προβλήματα στην διάγνωση που οδηγούσε σε λανθασμένες και αχρείαστες μεθόδους αντιμετώπισης.

Στην προσπάθεια τους οι ερευνητές να κατανοήσουν τη βιολογία και την οικολογία των δύο ειδών ΚΝΠ, εντόπισαν σημαντικές διαφορές στις γονιδιακές αλληλεπιδράσεις που

παρουσίαζαν με τους ξενιστές τους. Το κάθε είδος παρουσίαζε διαφορετικό βαθμό αναπαραγωγής μεταξύ των ξενιστών. Αποτέλεσμα αυτού, ήταν ο περαιτέρω διαχωρισμός του κάθε είδους σε παθότυπους. Σήμερα, η διαφοροποίηση των παθότυπων γίνεται με τη χρήση διαφορετικών ξενιστών πατάτας που φέρουν ανθεκτικότητα σε συγκεκριμένους παθότυπους του κάθε είδους (Kort et al., 1977).

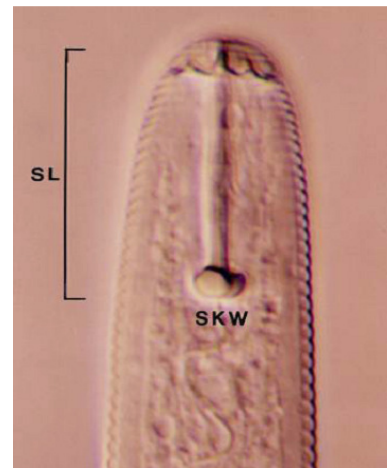
## 2.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά των ΚΝΠ

Τα είδη του γένους *Globodera* εύκολα μπορούν να αναγνωριστούν και να διαχωριστούν από άλλα είδη κυστογόνων νηματωδών του γένους *Heterodera*. Τα είδη του γένους *Globodera* χαρακτηρίζονται από το σφαιρικό σχήμα των κύστεων τους, σε αντίθεση με τα είδη του γένους *Heterodera* των οποίων το σχήμα των



Εικόνα 6 Κύστες των *Globodera*

κύστεων είναι λεμονοειδές (Marks & Brodie, 1998). Τα δύο είδη του γένους *Globodera* που προσβάλλουν την πατάτα είναι ο *G. rostochiensis* (Gr) και ο *G. pallida* (Gp). Μεταξύ των δύο ειδών υπάρχουν μορφομετρικές και φαινοτυπικές διαφορές με τις οποίες μπορούν να διαχωριστούν. Τα γονιμοποιημένα θηλυκά – κύστες των δύο ειδών Gr και Gp, έχουν διαφορετικό χρώμα (χρυσό και λευκό, αντίστοιχα) πριν από την ωρίμανση τους, το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε σκούρο καφέ (Εικ. 6).



Εικόνα 7 Κεφαλική περιοχή του *G. pallida*

Το στυλέτο του Gr έχει μήκος 19-23μm (SL) (Εικ. 7) και οι μύες που το στηρίζουν (knobs, SKW) εμφανίζονται στο πίσω μέρος του, ενώ του Gp έχει μήκος 23-24 μm και τα knobs εμφανίζονται στο μπροστινό μέρος του (L. Den Nijs & Karssen, 2001). Ο νηματώδης χρησιμοποιεί το στυλέτο για δύο λόγους: i) για να διατρύπα τα κύτταρα της ρίζας και ii) για να μυζά χυμούς και θρεπτικά στοιχεία. Τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά των ειδών του γένους *Globodera* παρουσιάζονται στους πίνακες 3 και 4 του παραρτήματος.

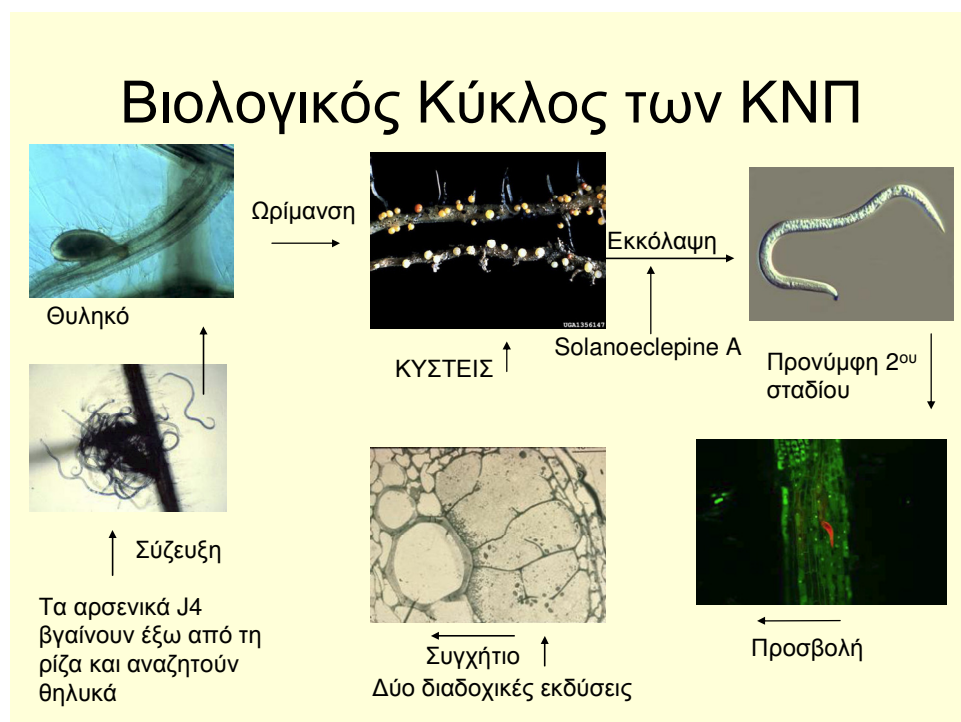
### 2.3 Βιολογικός κύκλος

Οι ΚΝΠ, Gr και Gp, είναι εξειδικευμένα παράσιτα του ριζικού συστήματος των φυτών της οικογένειας των σολανωδών. Για την εκκόλαψη των αυγών μέσα από τις κύστει απαραίτητη προϋπόθεση είναι η παρουσία του φυτού ξενιστή. Οι νηματώδεις (εγκυστωμένα αυγά – J2) διεγείρονται και εκκολάπτονται στην παρουσία των PRD που εκκρίνονται από τις ρίζες των σολανωδών φυτών (L. J. M. F. Den Nijs & Lock, 1992). Στη συνέχεια οι εκκολαπτόμενες J2, εντοπίζουν τις ρίζες και κατευθύνονται προς αυτές χημειοτακτικά, διαπερνούν την επιδερμίδα της ρίζας ακριβώς πίσω από το σημείο ανάπτυξης και κινούνται διαμέσου του φλοιώματος προς τις αγγειακές δέσμες (Rawsthorne & Brodie, 1986; Turner & Stone, 1981). Οι J2 επιλέγουν το σημείο διατροφής τους, εισέρχονται σε κατάσταση στασιμότητας και εκκρίνουν ένζυμα (κελλουλάσες και πεκτινάσες) τα οποία διαμέσου του στιλέτου εκχύνονται προς τα φυτικά κύτταρα που περιβάλλουν την κεφαλή. Τα ένζυμα εισέρχονται μέσα στα φυτικά κύτταρα τα οποία και αποδιοργανώνουν (Poreijus et al., 2000). Ένα μέρος των κυττάρων που δεν αποδιοργανώθηκαν, διεγείρονται και σχηματίζουν ένα σύμπλοκο γιγάντιων κυττάρων θρέψης, το συγχύτιο (syncytia), το οποίο τροφοδοτεί τον νηματώδη με θρεπτικά συστατικά (Greco, 1988).

Αφού σχηματιστούν τα συγχύτια, οι J2 υφίστανται δύο διαδοχικές εκδύσεις και στο τέταρτο προνυμφικό στάδιο διαχωρίζονται σε αρσενικά και θηλυκά άτομα. Ο διαχωρισμός των δύο φύλων στους ΚΝΠ εξαρτάται από την ποιότητα και την ποσότητα της διατροφής τους κατά τα προνυμφικά στάδια. Προνύμφες που εισέρχονται σε πλευρικές ρίζες συνήθως μετατρέπονται σε αρσενικά άτομα (Trudgill, 1967). Κατά το 4<sup>ο</sup> προνυμφικό στάδιο (J4), τα αρσενικά εξέρχονται από τις ρίζες και κινούνται προς αναζήτηση θηλυκών. Τα θηλυκά, σκίζουν την επιδερμίδα προκαλώντας την διάρρηξη των ιστών του φλοιού της ρίζας, προβάλλοντας έτσι τη γεννητική τους περιοχή (vulval), προς τα έξω διατηρώντας το κεφάλι σταθερό στο συγχύτιο. Τα αρσενικά εντοπίζουν τα θηλυκά τα οποία και γονιμοποιούν. Τα γονιμοποιημένα θηλυκά αυξάνουν σε μέγεθος και μπορούν να γίνουν ευδιάκριτα ως λευκές και χρυσές κύστει για τον Gp και Gr, αντίστοιχα. Τα αρσενικά αφού γονιμοποιήσουν τα θηλυκά περιφέρονται ελεύθερα μέχρι να πεθάνουν (Marks & Brodie, 1998). Τα γονιμοποιημένα θηλυκά αυξάνονται σε μέγεθος, φτάνοντας περίπου σε διάμετρο 0,4-0,65 mm και σχηματίζουν 100-500 αυγά ανά θηλυκό. Τα θηλυκά στη

συνέχεια πεθαίνουν μετατρέποντας το σώμα τους σε κύστη. Οι ώριμες κύστεις απομακρύνονται εύκολα από τις ρίζες και πέφτουν στο έδαφος.

Τα αυγά παραμένουν μέσα στις κύστεις ως J1 και σταδιακά διέρχονται από μία έκδυση, ανάλογα με τον βαθμό διάπαυσης τους οπότε και μετατρέπονται σε εγκυστωμένα J2. Ένας μικρός αριθμός αυγών (περίπου 5-10%) εκκολάπτεται αυθόρμητα χωρίς την παρουσία ξενιστή ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό των αυγών εκκολάπτονται κατά την επόμενη καλλιεργητική περίοδο ως J2 (L. J. M. F. Den Nijs & Lock, 1992). Τα αυγά είναι καλά προστατευμένα εντός των κύστεων. Μπορούν να επιβιώσουν σε συνθήκες έντονης ξηρασίας και ψύχους. Το 80–90% των εγκυστωμένων αυγών πεθαίνουν μετά την πάροδο 7 χρόνων χωρίς την παρουσία φυτού ξενιστή. Έχουν αναφερθεί αρκετές περιπτώσεις στις οποίες κύστεις περιείχαν ζωντανά αυγά μετά την πάροδο 20 χρόνων, ενώ ο Whitehead ανέφερε την παρουσία ζωντανών αυγών μέσα σε κύστεις ηλικίας 30 χρόνων (Whitehead, 1992) (Εικ. 8).



Εικόνα 8 Βιολογικός κύκλος των ΚΝΠ

## 2.4 Παθότυποι των ΚΝΠ

Τα δύο είδη των ΚΝΠ (*G. pallida* και *G. rostochiensis*) παρουσιάζουν πολλές διαφορές όσον αφορά τη βιολογία τους. Αυτό οφείλεται σε γενετικές αλληλεπιδράσεις με τα φυτά ξενιστές τους (Bakker, Folkertsma, Rouppe van der Voort, J.N.A.M., de Boer, &

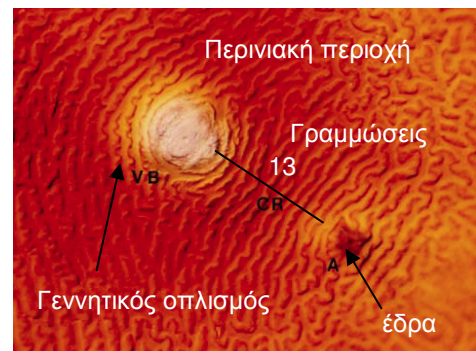
Gommers, 1993). Η παρατεταμένη περίοδος συμβίωσης μεταξύ ΚΝΠ και των ειδών *Solanum*, οδήγησε στη δημιουργία δύο διαφορετικών ειδών, των *G. pallida* και *G. rostockiensis* (Ellenby, 1952; Toxopeus & Huijsman, 1952). Επιπλέον, παρατηρήθηκε διαφορετικός βαθμός αναπαραγωγής του κάθε είδους (Gr και Gr) ξεχωριστά κατά τη μόλυνση διαφόρων ειδών *Solanum*. Το γεγονός ότι ένα είδος είχε διαφορετικό βαθμό προσβολής και αναπαραγωγής επί συγκεκριμένων ξενιστών πατάτας οδήγησε στο διαχωρισμό των ατόμων του είδους σε παθότυπους. Στα ευρωπαϊκά είδη ΚΝΠ παρατηρήθηκαν πέντε παθότυποι (Ro1, Ro2, Ro3, Ro4 και Ro5) στον Gr και τρεις παθότυποι (Pa1, Pa2 και Pa3) στον Gr. Το 1977 δημοσιεύτηκε πρωτόκολλο διαχωρισμού των παθότυπων των ΚΝΠ με τη χρήση συγκεκριμένων διαφορικών ξενιστών πατάτας (differential clones) (Kort et al., 1977).

## 2.5 Μέθοδοι ταυτοποίησης των ΚΝΠ

### 2.5.1 Μορφομετρική – Μορφολογική ταυτοποίηση

Οι ΚΝΠ, *G. pallida* και *G. rostockiensis*, έχουν παρόμοια μορφολογικά και μορφομετρικά χαρακτηριστικά (Stone, 1972) και γι' αυτό η διαφοροποίηση των ειδών ήταν για μισό αιώνα αδύνατη.

Οι παραδοσιακοί τρόποι διάγνωσης και διαχωρισμού των ΚΝΠ στηρίζονταν σε ελάχιστες και πολύ λεπτές μορφολογικές διαφορές οι οποίες απαιτούσαν τεράστιο χρόνο και μεγάλο αριθμό εργατικών χεριών. Οι μορφολογικές διαφορές των δύο ειδών περιλαμβάνουν κυρίως την αλλαγή του χρώματος στις κύστες (χρυσές και άσπρες για τον Gr και Gr, αντίστοιχα), κατά την ωρίμανση τους στις ρίζες του ξενιστή. Επιπλέον, μορφομετρικά



Εικόνα 9 Περινιακή περιοχή κύστης του *G. pallida*.

χαρακτηριστικά παρατηρήθηκαν τόσο στις κύστες, στο ύψος της περινιακής περιοχής (Εικ. 9) μεταξύ του γεννητικού εξοπλισμού και της έδρας (Marks & Brodie, 1998), όσο και στις J2 όπου παρουσιάζουν διαφορές στο μέγεθος του στίλετου (Gr > Gr) και το μέγεθος και το σχήμα των μυών του στίλετου (stylet knobs). Ο Gr εμφανίζει μικρότερα στρογγυλά knobs σε αντίθεση με τον Gr του οποίου τα knobs είναι πιο εύρωστα και αγκυλωτά (González, Phillips, & Hackett, 1992).

### 2.5.2 Ταυτοποίηση με τη χρήση διαφορικών ξενιστών

Οι ΚΝΠΙ είναι εξειδικευμένα παράσιτα της οικογένειας των σολανωδών και πιο συγκεκριμένα της πατάτας, της μελιντζάνας (*Solanum melongena* L.), της ντομάτας (*Solanum lycopersicum* L.) και αρκετών ζιζανίων. Αυτή η εξειδίκευση παθογόνου (ΚΝΠΙ) ξενιστή δίνει την δυνατότητα διαφοροποίησης των ΚΝΠΙ από τα υπόλοιπα είδη του γένους *Globodera* (Lownsbery & Lownsbery, 1954).

Τα δύο είδη ΚΝΠΙ παρουσιάζουν διαφορές στην παθογένεια τους στους διάφορους ξενιστές της οικογένειας των σολανωδών. Οι διαφορές εστιάζονται τόσο στον τρόπο προσβολής όσο και στην αποτελεσματικότητα της προσβολής η οποία εκφράζεται ως ρυθμός αναπαραγωγής επί του φυτού ξενιστή. Για πολλά χρόνια οι φυτοπαθολόγοι χρησιμοποιούσαν τον βαθμό ανθεκτικότητας που είχαν κάποιοι ξενιστές στους ΚΝΠΙ για να τους ταυτοποιήσουν. Στηριζόμενοι για χρόνια, στη χρήση ξενιστών με διαφορετικό βαθμό ανθεκτικότητας, διαπιστώθηκε ότι διαφορές στον βαθμό προσβολής και αναπαραγωγής επί του ξενιστή, υπήρχαν ακόμα και σε άτομα του ίδιου είδους τα οποία μεταγενέστερα διαχώρισαν και αποκάλεσαν παθότυπους.

Η ταυτοποίηση των παθότυπων με τη χρήση διαφορικών ξενιστών πατάτας που φέρουν διαφορετικό βαθμό ανθεκτικότητας στον κάθε παθότυπο των ΚΝΠΙ, αποτελεί μέχρι σήμερα τη μοναδική μέθοδο ταυτοποίησης των παθότυπων. Παρόλα αυτά, η χρήση διαφορικών ξενιστών για σκοπούς ταυτοποίησης δεν αποτελεί και το πλέον αξιόπιστο κριτήριο αφού είναι κοινή διαπίστωση ότι η συνεχής αλληλεπίδραση παθογόνου και ξενιστή που φέρει εξειδικευμένα γονίδια ανθεκτικότητας δεν μπορεί να υφίσταται επ άπειρον, αφού το παθογόνο αναπτύσσει νέους μηχανισμούς για την αντιμετώπιση των γονιδίων ανθεκτικότητας με αποτέλεσμα η ιδιότητα της ανθεκτικότητας να παύει να υφίσταται. Αυτή η διαπίστωση ενδέχεται στα προσεχή χρόνια να παρουσιάσει προβλήματα στη χρήση ανθεκτικών ποικιλιών πατάτας για την αντιμετώπιση των ΚΝΠΙ, εξαιτίας της συνεχούς χρήσης ανθεκτικών ποικιλιών που στηρίζουν την ανθεκτικότητα τους σε ένα και μοναδικό γονίδιο.

### 2.5.3 Μοριακή ταυτοποίηση

Την τελευταία δεκαετία έχουν αναπτυχθεί και χρησιμοποιηθεί ορολογικές και μοριακές τεχνικές για την ταυτοποίηση των δύο ειδών ΚΝΠΙ, όπως είναι οι ανοσοενζυμικές

δοκιμές (Enzyme- Linked Immunosorbent Assay, ELISA), εστίαση ισοηλεκτρικού σημείου (Isoelectric focusing, IEF) και η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) (Ibrahim et al., 2001). Οι μέθοδοι αυτές είναι πλέον και οι πιο διαδεδομένες, αφού δεν είναι χρονοβόρες και δεν απαιτούν εξειδικευμένο επιστημονικό προσωπικό με γνώσεις στη μορφολογική και μορφομετρική ταυτοποίηση για την πραγματοποίησή τους. Επικρατέστερη τεχνική είναι η PCR, η οποία περιλαμβάνει αντιδράσεις πολυμερισμού του γενετικού υλικού, δεσοξυριβονουκλεϊνικού οξέος (DNA), για την ενίσχυση και ακολούθως ανίχνευση του DNA στόχου.

## **2.6 Συμπτώματα - Ζημιές**

Τα πρώτα μακροσκοπικά συμπτώματα στο χωράφι διακρίνονται υπό τη μορφή μικρών η μεγάλων κηλίδων από φυτά με καθυστερημένη ανάπτυξη. Οι κηλίδες συνήθως είναι αισθητά εμφανείς και ποικίλουν σε μέγεθος (Εικ. 10). Μπορεί να αποτελούνται από μερικά φυτά μιας σειράς ή από μερικά τετραγωνικά μέτρα. Φυτά προσβεβλημένα με ΚΝΠ, έχουν αρχικά βαθύ πράσινο χρώμα το οποίο μεταγενέστερα μετατρέπεται σε χλωρωτικό κίτρινο και ανθοφορούν αργότερα σε σύγκριση με τα υγιή. Το ριζικό σύστημα μοιάζει με μία γενειάδα, διακρινόμενη από πυκνές διακλαδιζόμενες ρίζες. Σε περιπτώσεις σοβαρής προσβολής, το ριζικό σύστημα μειώνεται κατά πολύ.

Το μέγεθος της ζημιάς που προκαλείται εξαιτίας των ΚΝΠ, εξαρτάται από το είδος και την ποικιλία του ξενιστή καθώς και από τον πληθυσμό των ΚΝΠ στο αγροτεμάχιο. Υψηλή συγκέντρωση του πληθυσμού μπορεί να προκαλέσει απώλειες στην καλλιέργεια που φτάνουν και το 50%.

Πολλές φορές, συμπτώματα παρόμοια με αυτά που προκαλούν οι ΚΝΠ, μπορεί να οφείλονται και σε άλλους παράγοντες. Για το λόγο αυτό, θα πρέπει τα φυτά να εξετάζονται μακροσκοπικά με φακό ή στερεοσκόπιο για τον εντοπισμό κύστεων και νεαρών θηλυκών στην επιφάνεια της ρίζας ή να λαμβάνονται δείγματα εδάφους ώστε να εξεταστούν εργαστηριακά.



**Εικόνα 10** α) Κηλίδα σε πατατοχώραφο. Συμπτώματα χλώρωσης και καχεξίας. β) Ρίζα πατάτας προσβεβλημένη από ΚΝΠ (Πηγή: AFBI)

## 2.7 Διασπορά των ΚΝΠ

Οι ΚΝΠ είναι παθογόνα εδάφους. Η εξάπλωση των κύστεων επηρεάζεται άμεσα από τη μετακίνηση του εδάφους τόσο από βιοτικούς όσο και από αβιοτικούς παράγοντες. Η μεταφορά του μολυσμένου εδάφους επιτυγχάνεται μέσω i) της διάβρωσης του εδάφους σε περιόδους έντονης πλημμύρας, ii) τον άνεμο και τους ανεμοστρόβιλους, iii) τα διάφορα είδη πανίδας που διέρχονται από τα μολυσμένα τεμάχια και iv) από τον άνθρωπο. Η διασπορά των ΚΝΠ από τεμάχιο σε τεμάχιο γίνεται κυρίως με τη μετακίνηση εδάφους μέσω των γεωργικών μηχανημάτων (γεωργικοί ελκυστήρες και τα παρελκόμενα τους). Η εξάπλωση όμως,



**Εικόνα 11** Κύστη από ΚΝΠ μέσα σε οφθαλμό κονδύλου πατάτας



σχεδόν σε ολόκληρο τον πλανήτη έγινε αποκλειστικά με την μετακίνηση κύστεων μέσω του κύριου ξενιστή των ΚΝΠ, την πατάτα (Εικ. 11).

Ο κυριότερος παράγοντας εξάπλωσης των ΚΝΠ στην Κύπρο, είναι η μεταφορά μεγάλων ποσοτήτων εδάφους από μολυσμένα αγροτεμάχια κατά την περίοδο του αναδασμού στις επαρχίες Λάρνακας και Αμμοχώστου. Στις υπόλοιπες επαρχίες του νησιού όπου καλλιεργούνται πατάτες, δεν έχει εντοπιστεί η παρουσία των ΚΝΠ ακόμα. Η διασπορά των ΚΝΠ σε όλες τις περιοχές που καλλιεργούνται με πατάτες, είναι θέμα χρόνου εξαιτίας της έλλειψης γνώσεων από τους πατατοπαραγωγούς, για τα προβλήματα που προκαλούν οι ΚΝΠ και για τον τρόπο μετακίνησης τους.

## **2.8 Διαχείριση – Αντιμετώπιση των ΚΝΠ**

### **2.8.1 Χημική αντιμετώπιση**

Η διαχείρισή των ΚΝΠ στη Κύπρο στηρίζεται στη χρήση καρβαμιδικών (oxamyl) και οργανοφωσφορικών (fosthiazate, ethoprophos) νηματοδοκτόνων (Philis, 1997; Philis, 2001). Η εφαρμογή τους όμως δεν εξασφαλίζει πλήρη προστασία της καλλιέργειας, αφού μέρος του μολύσματος δεν εκκολάπτεται και παραμένει εγκυστωμένο στις κύστες, όπου και προστατεύεται.

Το oxamyl και το fosthiazate είναι διασυστηματικά νηματοδοκτόνα τα οποία χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση τόσο των ΚΝΠ όσο και αρκετών άλλων φυτοπαρασιτικών νηματωδών. Στην πατατοκαλλιέργεια εφαρμόζονται υπό τη μορφή κόκκων βραδείας απελευθέρωσης. Η ενσωμάτωση των κοκκωδών νηματοδοκτόνων στο έδαφος γίνεται κατά την φύτευση της πατάτας. Δεν συνιστάται η εφαρμογή υγρών σκευασμάτων εξαιτίας της βραδείας εκκόλαψης των ΚΝΠ και της ταχείας διάσπασης του oxamyl (2-7 μέρες), κυρίως σε υγρές συνθήκες, καθώς και της έκπλυσης του fosthiazate στον υπόγειο υδροφόρο.

Η αυξανόμενη χρήση των χημικών νηματοδοκτόνων, πιθανό να προκαλεί διαταραχές στην ισορροπία του οικοσυστήματος, λόγω της αρνητικής επίδρασής που έχουν στους ωφέλιμους οργανισμούς ή οργανισμούς μη στόχους καθώς και στην πιθανότητα ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα νηματοδοκτόνα από μέρους των ΚΝΠ (Haydock et al., 2006). Για τον λόγο αυτό συνιστάται η χρήση κοκκωδών νηματοδοκτόνων σε συνδυασμό με ποικιλίες που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στους ΚΝΠ (Minnis, Haydock, & Evans, 2004).

Μελέτες έδειξαν ότι τα νηματωδοκτόνα oxamyl και fosthiazate είναι πολύ αποτελεσματικά κατά του Gr ενώ είναι μετρίως αποτελεσματικά κατά του Gr (Whitehead et al., 1991). Αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στο γεγονός ότι οι J2 του Gr εκκολάπτονται καθυστερημένα και έτσι αποφεύγουν την έκθεση τους στα νηματωδοκτόνα (Whitehead, 1992).

### **2.8.2 Ολοκληρωμένη διαχείριση**

Ως αποτέλεσμα των επιπτώσεων των χημικών επεμβάσεων, έχει δημιουργηθεί η ανάγκη για εξεύρεση νέων μεθόδων αντιμετώπισης των ΚΝΠ, φιλικότερων προς το περιβάλλον και κατ' επέκταση προς τον άνθρωπο και την κοινωνία. Τέτοιες μέθοδοι βρίσκονται ακόμη υπό αξιολόγηση και σκοπός τους είναι η ολοκληρωμένη διαχείριση των φυτοπαρασίτων που θα ελαχιστοποιεί ή και θα αποκλείει τη χρήση νηματωδοκτόνων, ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν σε κάθε περιοχή (Kerry, Barker, & Evans). Για το λόγο αυτό, η νέα Κοινοτική οδηγία της Ε.Ε. 2007/33/EC, υποχρεώνει τα κράτη μέλη να λάβουν μέτρα για ορθολογική διαχείριση των ΚΝΠ και να περιορίσουν την εξάπλωση τους σε περεταίρω εδάφη. Επίσης, απαιτεί τον καθορισμό των ειδών και βιοτύπων των ΚΝΠ που υπάρχουν σε κάθε κράτος μέλος και την αξιοποίηση ανθεκτικών ποικιλιών έναντι των πιο διαδεδομένων παθότυπων κάθε χώρας ή περιοχής (E.U., 2007).

### **2.8.3 Βιολογική αντιμετώπιση**

Οι ΚΝΠ έχουν πολλούς φυσικούς εχθρούς, κυρίως νηματωδοφάγους μύκητες και βακτήρια. Οι νηματωδοφάγοι μικροοργανισμοί είναι υπεύθυνοι για την φυσική διαχείριση των ΚΝΠ στο έδαφος (Mankau, 1980). Νηματωδοφάγοι μύκητες, όπως ο *Pochonia chlamydosporia* και ο *Plectosphaerella cucumerina* A. , αποτελούν επιτυχή παραδείγματα βιολογικής διαχείρισης των *G. pallida* και *G. rostochiensis*. Πειράματα αγρού έδειξαν ότι ο μύκητας *P. cucumerina* προκάλεσε μείωση του πληθυσμού των ΚΝΠ , σε ποσοστό μέχρι και 60%. (Atkins, Clark, Sosnowska, Hirsch, & Kerry, 2003; Tobin, Haydock, Hare, Woods, & Crump, 2008). Επίσης, ο βιοέλεγχος έναντι των ΚΝΠ μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση στελεχών της ψευδομονάδας *Pseudomonas fluorescens* M. F113, η οποία παράγει την τοξική ουσία για τους ΚΝΠ 2,4 – diacetylphloroglucinol (DAPG). Το DAPG δρα κατά την εκκόλαψη και μετακίνηση των J2 του *G. rostochiensis* προς το ριζικό σύστημα του φυτού ξενιστή, με αποτέλεσμα τη μείωση του ποσοστού των προνυμφών του Gr που βρίσκονταν σε κινητικότητα στο έδαφος (Cronin et al., 1997).

Η χρήση ωφέλιμων μικροοργανισμών για τη διαχείριση των ΚΝΠ αποτελεί την ασφαλέστερη μέθοδο αντιμετώπισης τους. Πρόβλημα αποτελεί η μαζική παραγωγή των μικροοργανισμών, το υψηλό κόστος αγοράς τους, ο τρόπος εφαρμογής τους και οι κλιματικές συνθήκες κάτω από τις οποίες μπορούν να αναπτυχθούν και να προκαλέσουν μείωση του πληθυσμού των ΚΝΠ. Στην προσπάθεια διατήρησης της ιδέας για χρήση βιολογικών μεθόδων αντιμετώπισης, οι ερευνητές έστρεψαν το ενδιαφέρον τους στην εξεύρεση φυτικών εκχυλισμάτων – βιομορίων των οποίων η παρουσία είναι τοξική στους ΚΝΠ. Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η χρήση φυτικών εκχυλισμάτων της οικογένειας *Brassicaceae* (μπρόκολο, κουνουπίδι), σε φυτά πατάτας μολυσμένα με ΚΝΠ, μείωσε τον βαθμό προσβολής και τη δημιουργία νέου μολύσματος (Aires, Carvalho, Da Conceição Barbosa, & Rosa, 2009).

#### **2.8.4 Χρήση φυτών παγίδων**

Η καλλιέργεια πατατών, με σκοπό τη διέγερση της εκκόλαψης των ΚΝΠ και στη συνέχεια καταστροφή της καλλιέργειας με σκοπό την παρεμπόδιση της δημιουργίας νέου μολύσματος θα αποτελούσε την ιδανικότερη λύση για την αντιμετώπιση των ΚΝΠ. Δυστυχώς αυτή η μέθοδος δεν μπορεί να εφαρμοστεί εξαιτίας του υψηλού κόστους αγοράς πατατοσπόρου. Επίσης, η πρώιμη εξαγωγή πατατών, όταν ακόμα οι κόνδυλοι είναι μικροί, μπορεί να προσφέρει ανάλογα αποτελέσματα (Webley & Jones, 1981). Παρόλα αυτά, η ιδέα δεν έχει εγκαταλειφθεί πλήρως. Αρκετά σολανώδη φυτά παράγουν την ουσία Solanoeclerin A η οποία είναι υπεύθυνη για τη διέγερση και εκκόλαψη των ΚΝΠ. Φυτά της οικογένειας των σολανοειδών όπως το *Solanum nigrum* και *S. sisymbriifolium* L., χρησιμοποιήθηκαν ως φυτά παγίδες κατά το παρελθόν, με αρκετά καλά αποτελέσματα. Η καταστροφή των φυτών πραγματοποιείτο προτού τα θηλυκά γονιμοποιηθούν και έτσι δεν υπήρχε νέο μόλυσμα (Whitehead & Turner, 1998). Αυτή η μέθοδος δεν φαίνεται να έχει ευρεία εφαρμογή διότι τα δύο φυτά *S. nigrum* και *S. sisymbriifolium* είναι ζιζάνια τα οποία εύκολα μπορούν να εξαπλωθούν.

#### **2.8.5 Καλλιεργητικές πρακτικές**

Η διαχείριση των ΚΝΠ μέσω καλλιεργητικών πρακτικών περιλαμβάνει i) την αναστροφή του εδάφους, ii) τη χρήση πρώιμων ποικιλιών πατάτας, iii) χρήση αμειμισποράς και iv) εφαρμογή επταετούς αγρανάπαυσης.

Η αναστροφή του εδάφους κατά την καλοκαιρινή περίοδο σκοπό έχει τη θανάτωση των εγκυστωμένων αυγών κατά την έκθεση των κύστεων στην ηλιακή ακτινοβολία και τις υψηλές θερμοκρασίες. Η χρήση πρώιμων ποικιλιών πατάτας αποτελεί σημαντικό μέτρο για την αντιμετώπιση του Gr ο οποίος εκκολάπτεται κατά μέσο όρο δύο εβδομάδες καθυστερημένα σε σχέση με τον Gr, με αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της ολοκλήρωσης του βιολογικού κύκλου του Gr. Μέσω της εναλλαγής των καλλιεργειών (συνήθως τριετής αμειψισπορά), γίνεται αντικατάσταση του φυτού ξενιστή με άλλα φυτά τα οποία δεν προσβάλλονται με ΚΝΠ. Στην απουσία ξενιστή, περίπου το 20-30% των εγκυστωμένων αυγών των ΚΝΠ εκκολάπτεται αυθόρμητα και πεθαίνει, κάθε χρόνο (Marks & Brodie, 1998). Η εφαρμογή αγρανάπαυσης για μια περίοδο επτά ετών μπορεί να μειώσει το ποσοστό του μολύσματος στο 10% του αρχικού. Κατά την εφαρμογή της αγρανάπαυσης, προσοχή θα πρέπει να δίνεται στην καταστροφή των ζιζανίων, ιδιαίτερα των ειδών της οικογένειας *Solanaceae* τα οποία ενδεχομένως να είναι ξενιστές των ΚΝΠ.

#### **2.8.6 Χρήση ανθεκτικών ποικιλιών**

Η διαχείριση των ΚΝΠ, μπορεί να επιτευχθεί μέσω εφαρμογής χημικών νηματοδοκτόνων, βιολογικών παραγόντων, καλλιεργητικών πρακτικών και φυτών παγίδων. Παρόλα αυτά, η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών, πιστεύεται ότι αποτελεί την πιο οικονομική, αποτελεσματική και φιλικότερη προς το περιβάλλον μέθοδο, για την προστασία της πατατοκαλλιέργειας έναντι των ΚΝΠ (EPPO/ OEPP, 2004).

Μία ποικιλία πατάτας χαρακτηρίζεται ως ανθεκτική, όταν με την καλλιέργεια της σε αγροτεμάχιο προσβεβλημένο από ΚΝΠ, παρατηρείται μείωση του αρχικού μολύσματος των ΚΝΠ. Ο βαθμός ανθεκτικότητας της ποικιλίας, εκφράζεται από την σχέση Pf/ Pi, όπου Pf είναι το τελικό και Pi το αρχικό μόλυσμα. Ως ανθεκτικές θεωρούνται οι ποικιλίες των οποίων το πηλίκο Pf/Pi είναι μικρότερο του ενός (<1) (EPPO, 2004).

Η δημιουργία ανθεκτικών καλλιεργούμενων ποικιλιών πατάτας, είναι αποτέλεσμα διασταυρώσεων μεταξύ άγριων ειδών πατάτας που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στους ΚΝΠ (*Solanum tuberosum ssp. andigena*, *S. vernei*, *S. spgazzini*, *S. gourlavi*, *S. sparsipilum*, *S. multidissectum*, *S. kurtzianum*, *S. michoacanum*, *S. oplocense*, *S. chacoense*) (Caromel et al., 2005; Castelli, Ramsay, Bryan, Neilson, & Phillips, 2003; Ross, 1979; Ruiz de Galarreta et al., 1998; Wenzel & Uhrig, 1981).

Η εντατική χρήση εμπορικών ποικιλιών πατάτας με ανθεκτικότητα στους ΚΝΠ, ξεκίνησε το 1967, με την καλλιέργεια της ποικιλίας cv. *Magys riper*, η οποία εκφράζει ανθεκτικότητα έναντι των παθοτύπων Ro1 και Ro4, του Gr. Έκτοτε έχουν δημιουργηθεί πολλές νέες ποικιλίες που φέρουν μερική ή πλήρη ανθεκτικότητα στον Gr. Αντίθετα, ο αριθμός των ανθεκτικών ποικιλιών με ανθεκτικότητα στον Gr είναι περιορισμένος. Πρόσφατα (2009), μια καινούργια ποικιλία πατάτας, η cv. *Pedher*, η οποία παρουσιάζει πλήρη ανθεκτικότητα στους ευρωπαϊκούς παθότυπους του Gr (Pa1, Pa2 και Pa3), έχει εγγραφεί στη Γαλλία.

Στον πίνακα 5 του παραρτήματος αναγράφονται οι εμπορικές ποικιλίες πατάτας που φέρουν ανθεκτικότητα σε ένα ή περισσότερους παθότυπους των ΚΝΠ και έχουν καλλιεργηθεί στην Κύπρο μέχρι σήμερα.

### 3 Υλικά και Μέθοδοι

Το πείραμα αξιολόγησης ποικιλιών πατάτας που φέρουν ανθεκτικότητα στους παθότυπους Pa2/3 του *G. pallida* σε συνδυασμό με νηματωδοκτόνα, πραγματοποιήθηκε σε συνθήκες αγρού, την περίοδο Δεκέμβριος 2009 – Απρίλιος 2010, σε αγροτεμάχιο (Τεμάχιο 327) του χωριού Σωτήρα (Εικ. 12). Προηγούμενες έρευνες ταυτοποίησης των ΚΝΠ στο πειραματικό αγροτεμάχιο, έδειξαν την παρουσία μόνο του Gr και τους παθότυπους Pa2/3 (Χριστοφόρου et al., 2011). Υλικά και μέθοδοι



**Εικόνα 12** Πειραματικό αγροτεμάχιο 327. Ο μπλέ κύκλος δείχνει το χώρο εγκατάστασης του πειράματος

#### 3.1 Δειγματοληψία εδάφους

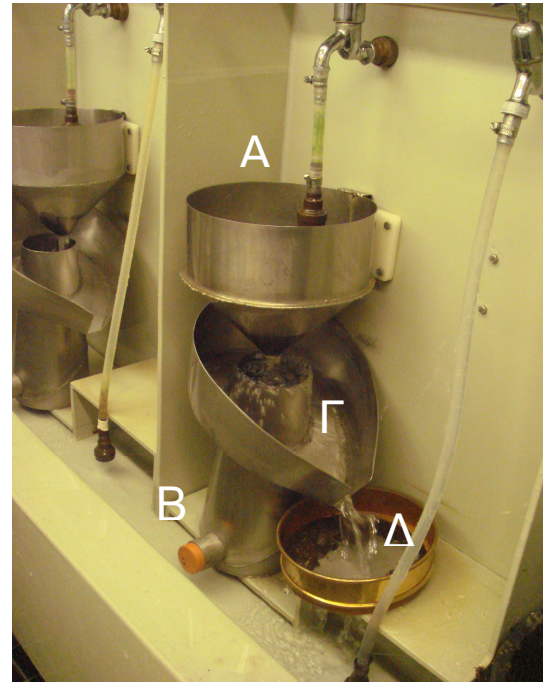
Αρχικά λήφθηκαν 30 δείγματα εδάφους από το πειραματικό αγροτεμάχιο έκτασης 5 δεκαρίων. Κατά τη διεξαγωγή της δειγματοληψίας, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος W. Οι αποστάσεις μεταξύ των δειγματοληπτικών σημείων ήταν 10 – 15 βήματα και κάθε δείγμα εδάφους αντιπροσώπευε περίπου μία έκταση 100 m<sup>2</sup>. Το κάθε δείγμα λήφθηκε από βάθος 10 - 20 cm και είχε βάρος ένα κιλό (Kg). Ακολούθως, τα δείγματα εδάφους τοποθετήθηκαν σε πλαστικά δοχεία χωρητικότητας δύο λίτρων (L) και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο όπου και αποξηράθηκαν.

#### 3.2 Εξαγωγή κύστεων

Η εξαγωγή των κύστεων από τα αποξηραμένα δείγματα εδάφους πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Fenwick (Fenwick, 1940) (Εικ. 13). Κάθε δείγμα εδάφους τοποθετήτο σε κόσκινο διαμετρήματος 850 μm της συσκευής Fenwick (σημείο A). Σε συνεχή ροή νερού το δείγμα εδάφους διέρχεται από το πρώτο κόσκινο και καταλήγει στο εσωτερικό της συσκευής. (σημείο B) με σκοπό την διέλευση των κύστεων και των υλικών που έχουν διάμετρο μικρότερη των 850 μm.

Τα σωματίδια εδάφους καθιζάνουν λόγω βαρύτητας ενώ τα οργανικά υλικά (κύστεις, σπόροι και φυτικά υπολείμματα) που επιπλέουν εξέρχονται από το στόμιο εκροής (σημείο Γ) και καταλήγουν σε κόσκινο διαμέτρου 250  $\mu\text{m}$  (σημείο Δ). Τα οργανικά υλικά οδηγούνται με τη βοήθεια νερού, σε χωνί με διηθητικό χαρτί.

Αφού ηρεμήσει το υπερκείμενο μέσα στο διηθητικό χαρτί, προστίθεται μία σταγόνα απορρυπαντικού Tween 20 για να μετακινηθούν οι κύστεις προς τα τοιχώματα του διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 13 Συσκευή Fenwick

Τέλος, το διηθητικό χαρτί στο οποίο παρέμειναν οι κύστεις και οργανικά κατάλοιπα, διατρύπεται και αφήνεται να ξηραθεί. Το εξαχθέν προϊόν, συλλέγεται από το διηθητικό χαρτί και αποθηκεύεται σε θερμοκρασία 4 °C.

### 3.3 Μοριακή ταυτοποίηση

Από κάθε δείγμα συλλέχθηκαν 10 κύστεις ανά 100 gr εδάφους. Ακολούθησε λειοτρίβιση τους και εξαγωγή ολικού DNA με τη χρήση του DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen). Ακολούθως, το DNA χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση των ΚΝΠ, με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR).

#### 3.3.1 Εξαγωγή DNA

Σε αποστειρωμένους μικροσωλήνες (eppendorf), χωρητικότητας 1,5 ml (ένα για κάθε δείγμα) τοποθετήθηκαν 10 στρογγυλές κύστεις και προστέθηκαν 50  $\mu\text{l}$  Buffer ATL. Οι κύστεις λειοτριβήθηκαν μηχανικά και ακολούθως προστέθηκαν ακόμα 130  $\mu\text{l}$  Buffer ATL και 20  $\mu\text{l}$  πρωτεΐνάση K. Το ATL χρησιμοποιείται για τη λύση των κυττάρων και την ελευθέρωση του DNA ενώ η πρωτεΐνάση K προστίθεται για να προφυλάξει το DNA από τις εξωνουκλεάσες, που αποδομούν τα νουκλεϊκά οξέα. Ακολούθησε ομογενοποίηση (vortex) του μίγματος και επώαση στους 56 °C για δύο ώρες, ώστε οι κύστεις να υποστούν

πλήρη λύση. Ανά 30 λεπτά γινόταν ομογενοποίηση των υλικών. Μετά την επώαση, προστέθηκαν 200 µl Buffer AL (guanidine hydrochloride), το οποίο δεσμεύει το DNA και ακολούθησε ομογενοποίηση για 15 s. Στη συνέχεια προστέθηκαν 200 µl αιθανόλης (96 – 100%) και ομογενοποίηση για 15 s, για την απομάκρυνση των οργανικών υλικών (πρωτεϊνών, λιπιδίων κλπ) από το δείγμα. Το υλικό μεταφέρθηκε σε αποστειρωμένους σωλήνες - κολώνες που περιείχαν μεμβράνη πυριτίου (silica-membrane RNeasy spin columns) χωρητικότητας 100 µg DNA. Η μεμβράνη πυριτίου δεσμεύει το ATL buffer πάνω στο οποίο είναι προσκολλημένο το DNA. Τα δείγματα φυγοκεντρίθηκαν στις 6.000 x g για ένα λεπτό. Οι κολώνες τοποθετήθηκαν σε καθαρούς σωλήνες, και μέσα στις κολώνες προστέθηκαν 500 µl Buffer AW1 (guanidine hydrochloride) για τον καθαρισμό της μεμβράνης και απομάκρυνση των ανεπιθύμητων ουσιών όπως πρωτεΐνες, ένζυμα και παρεμποδιστές της PCR. Ακολούθησε φυγοκέντριση στις 6.000 x g για ένα λεπτό. Οι κολώνες τοποθετήθηκαν εκ νέου σε καθαρούς σωλήνες και μέσα προστέθηκαν 500 µl Buffer AW2 για τον περεταίρω καθαρισμό της μεμβράνης. Τα δείγματα φυγοκεντρίθηκαν στις 20.000 x g για τρία λεπτά. Τέλος, προστέθηκαν 200 µl AE, το οποίο αποδεσμεύει το DNA από την μεμβράνη πυριτίου. Με φυγοκέντριση στις 6.000 x g για ένα λεπτό, το ολικό DNA εκχυλίζεται σε αποστειρωμένο σωλήνα και αποθηκεύεται στους -20 °C μέχρι να χρησιμοποιηθεί.

### 3.3.2 Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης – PCR

Η PCR, πραγματοποιήθηκε σε θερμοκυκλοποιητή (C1000<sup>TM</sup> Thermal cycler, Biorad). Για τις αντιδράσεις της PCR χρησιμοποιήθηκαν εκκινητές (primers) από την ριβοσωμική περιοχή του γενωμικού DNA (Internal Transcribe Spacer, ITS). Οι PITSr3 (5'-AGCGCAGACATGCCGCAA-3') και PITSr4 (5'-ACAACAGCAATCGTCGAG-3') χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση του *G. rostochiensis* και *G. Pallida*, αντίστοιχα, σε συνδυασμό με τον εκκινητή ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') (Bulman & Marshall, 1997). Ποσότητα 1 µl (5 ng/µl) DNA χρησιμοποιήθηκε σε αντιδράσεις της PCR που περιείχαν 1 µl (20 mM) από τον κάθε εκκινητή, 2,5 µl 10x PCR buffer, 1,6 µl (1,25 mM) μείγμα νουκλεοτιδίων (dNTPs), 2,5 µl MgCL<sub>2</sub> (2 mM), 0,1 µl Hotstart Taq DNA polymerase (100units/20µl, Qiagen) και αποστειρωμένο – απιονισμένο νερό σε τελικό όγκο 25 µl.



## **Πρωτόκολλο ενίσχυσης και πολλαπλασιασμού του DNA (DNA amplification)**

Η ενίσχυση και ο πολλαπλασιασμός του DNA χωρίζεται σε τρία στάδια: i) στάδιο της αποδιάταξης του εκμαγείου DNA στους 94°C για 5 λεπτά στον πρώτο κύκλο και για 30 s στους υπόλοιπους 39 κύκλους, ii) στάδιο επανασύνδεσης του εκμαγείου με τους εκκινητές στους 57°C για 30 s και iii) στάδιο της επιμήκυνσης των δεσμευμένων εκκινητών στους 72°C για 30 s. Τα τρία στάδια της ενίσχυσης επαναλήφθηκαν για 39 κύκλους.

### **Ηλεκτροφόριση δειγμάτων της PCR σε πηκτική αγαρόζη**

Τα προϊόντα της PCR αναμείχθηκαν με διάλυμα φόρτωσης (loading buffer) (0,1% bromophenol blue, 50% γλυκερίνη, 10 mM Tris-HCl pH 8) πυκνότητας 6X. Ως σταθερά χρησιμοποιήθηκε η κλίμακα μοριακών βαρών 100 bp DNA ladder (Invitrogen). Το πήγμα ηλεκτροφόρησης περιείχε 1,2% αγαρόζη (Molecular Biology Agarose, Biorad) και 7 μl/100ml χρωστικής SYBR Safe™ DNA gel stain (Invitrogen) σε ρυθμιστικό διάλυμα TAE 1X (Tris base, Acetic acid and EDTA). Η ηλεκτροφόρηση του πηγματος πραγματοποιήθηκε στο ίδιο ρυθμιστικό διάλυμα με εφαρμογή τάσης 100 V στα άκρα της συσκευής ηλεκτροφόρησης για 55 λεπτά. Η απεικόνιση των προϊόντων της PCR πραγματοποιήθηκε σε τράπεζα απεικόνισης πηγμάτων αγαρόζης.

### **3.4 Έλεγχος εκκόλαψης προνυμφών 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2)**

Για τον έλεγχο εκκόλαψης των προνυμφών 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2), χρησιμοποιήθηκαν 20 κύστεις του *G. pallida*, επί 12 επαναλήψεις. Κατόπιν, οι κύστεις τοποθετήθηκαν σε πλαστικά δίχτυα διαμέτρου 100 μm, τα οποία, μετέπειτα τοποθετήθηκαν σε σωλήνες Falcon χωρητικότητας 45 ml. Στους σωλήνες Falcon προστέθηκαν 15 ml υγρού διαλύματος από εκκρίματα ριζών φυτών πατάτας (PRD), με σκοπό τη διέγερση της εκκόλαψης των προνυμφών του Gr. Οι κύστεις παρέμειναν στο σωλήνα Falcon για επτά μέρες. Ακολούθως, μετρήθηκε ο αριθμός των εκκολαφθέντων προνυμφών από το σύνολο των 15 ml PRD, με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου διελεύσεως. Η προσθήκη PRD στους σωλήνες Falcon και η μέτρηση των εκκολαφθέντων προνυμφών, επαναλαμβανόταν ανά επτά ημέρες. Η διαδικασία εκκόλαψης διήρκησε έντεκα εβδομάδες, χρόνος μετά τον οποίο δεν παρατηρήθηκε περαιτέρω εκκόλαψη J2.

### **3.5 Δειγματοληψία εδάφους προφυτρωτικά**

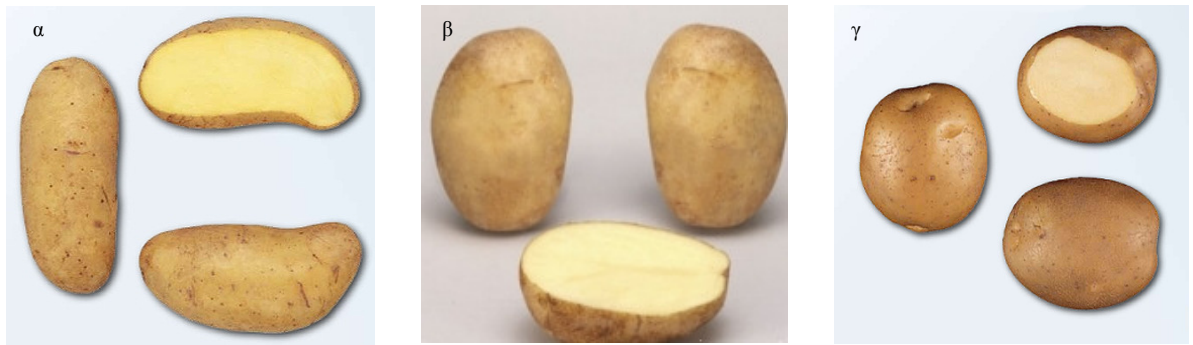
Κατά την εγκατάσταση του πειράματος στο βόρειο τμήμα του τεμαχίου όπου παρατηρήθηκε έντονη προσβολή (40 – 45 αυγά/gr εδάφους) από τον *G. pallida* πραγματοποιήθηκε εκ νέου δειγματοληψία εδάφους για τον προσδιορισμό του πληθυσμού του *G. pallida* (Εικ. 12, σελ. 24). Για κάθε επέμβαση, η οποία περιελάμβανε τέσσερις γραμμές φύτευσης μήκους πέντε μέτρων (5 m), λήφθηκε ποσότητα εδάφους από πέντε διαφορετικά σημεία. Το έδαφος ομογενοποιήθηκε και ένα κιλό χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των κύστεων (βλ. 3.2) και ταυτοποίησή τους με την μέθοδο PCR (βλ. 3.3).

#### **3.5.1 Μέτρηση αρχικού μολύσματος νηματωδών στο έδαφος (Pi)**

Ο αριθμός των κύστεων (30 κύστεις/ 100 gr εδάφους) του Gr που συλλέχθηκαν από κάθε επέμβαση προφυτρωτικά, χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό των εμβρυομένων αυγών και προνυμφών J2 του Gr, αναγόμενο σε αριθμό αυγών ανά γραμμάριο εδάφους. Οι κύστεις τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Petri (10 κύστεις ανά τρυβλίο), που περιείχαν 3 ml νερό και διαμελίστηκαν προσεκτικά με νυστέρι για να ελευθερωθούν τα αυγά. Για τη μέτρηση των αυγών χρησιμοποιήθηκε οπτικό μικροσκόπιο διελεύσεως σε μεγέθυνση 10X40. Ο συνολικός αριθμός των αυγών και J2 που καταμετρήθηκαν προφυτρωτικά αποτελεί το αρχικό μόλυσμα (Pi).

### **3.6 Επιλογή ανθεκτικών ποικιλιών και νηματωδοκτόνων**

Για το πείραμα αξιολόγησης ανθεκτικών ποικιλιών στον *G. pallida* επιλέγησαν τρεις εμπορικές ποικιλίες πατάτας, δύο με πλήρη ανθεκτικότητα (Innovator και Sante) στους παθότυπους Pa 2/3 και μία με πλήρη ευπάθεια (Annabelle) στον Gr (Εικ. 14). Και οι τρεις ποικιλίες αξιολογήθηκαν σε συνδυασμό με δύο κοκκώδη νηματωδοκτόνα, το οργανοφωσφορικό Fosthiazate 10 % w/w (Nemathorin 10 G; ISK Biosciences Europe S. A) και το καρβαμιδικό Oxamyl 10 % w/w (Vydate 10 G; Dupont Agro Hellas) (Εικ. 15), στις συνιστώμενες δόσεις των τεσσάρων και τριών κιλών ανά δεκάριο, αντίστοιχα.



**Εικόνα 14** Κόνδυλοι των ποικιλιών α) Annabelle, β) Innovator και γ) Sante

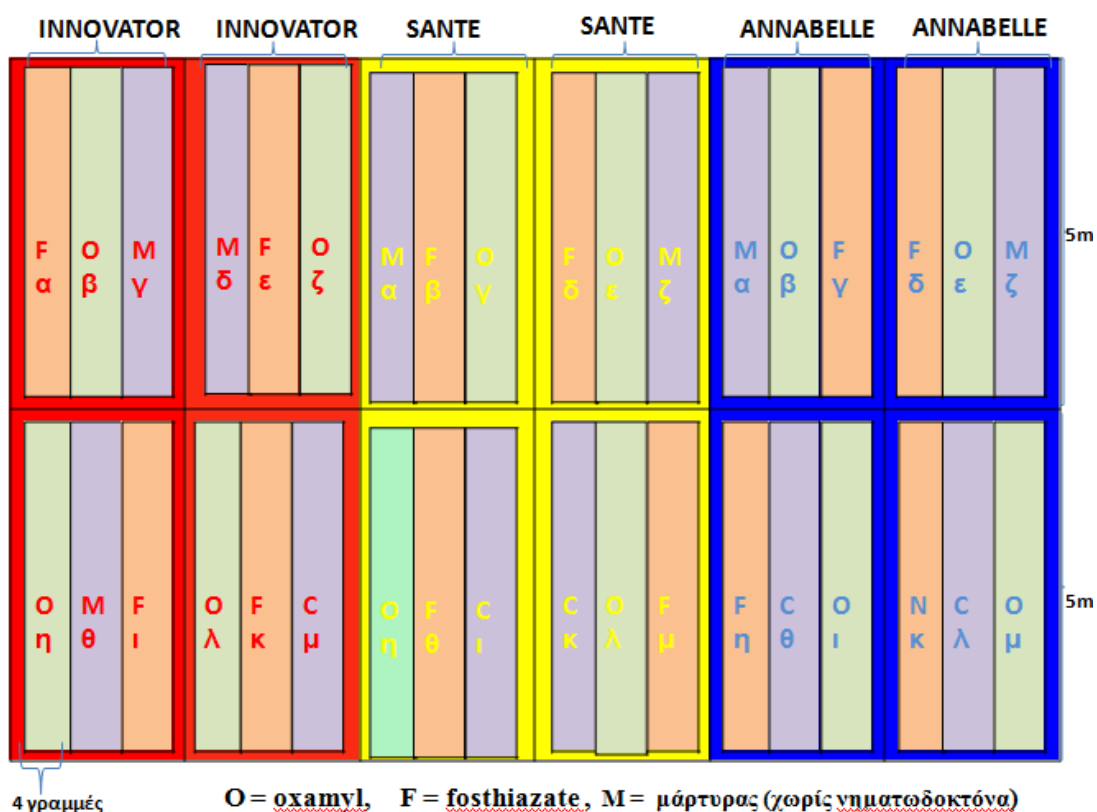


**Εικόνα 15** Νηματωδοκτόνα σε κοκκώδη μορφή (Αριστερά το καρβαμιδικό fosthiazate και δεξιά το οργανωφοσφορικό oxamyl, που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα αξιολόγηση των ανθεκτικών ποικιλιών.

### 3.7 Εγκατάσταση πειράματος στον αγρό

#### 3.7.1 Πειραματικό σχέδιο

Η κάθε ποικιλία αξιολογήθηκε χωριστά καθότι δεν ήταν εφικτή η τυχαιοποίηση των ποικιλιών, λόγω του ότι η καλλιέργεια της πατάτας είναι γραμμική (Εικ. 16). Η αποτελεσματικότητα των δύο νηματωδοκτόνων αξιολογήθηκε για την κάθε ποικιλία ξεχωριστά χρησιμοποιώντας το πλήρες τυχαιοποιημένο σχέδιο (Randomized Complete Block Design), που περιλάμβανε τέσσερις επαναλήψεις της κάθε επέμβασης με fosthiazate, oxamy ή μάρτυρα.



Εικόνα 16 Πειραματικό σχέδιο

### 3.7.2 Εγκατάσταση πειράματος

Η εγκατάσταση του πειράματος στον αγρό πραγματοποιήθηκε στις 24 Ιανουαρίου 2009. Η κάθε επέμβαση είχε πλάτος τέσσερις γραμμές και μήκος πέντε μέτρα (5m). Η φύτευση των κονδύλων έγινε με αυτόματη μηχανή φύτευσης σε βάθος 20 cm. Οι αποστάσεις φύτευσης μεταξύ των κονδύλων ήταν 15 cm επί της γραμμής. Η εφαρμογή των κοκκωδών νηματοδοκτόνων έγινε με αυτόματη μηχανή ελευθέρωσης των κόκκων σε βάθος 10 – 15 cm (Εικ. 17).



Εικόνα 17 Φύτευση κονδύλων και ταυτόχρονη εφαρμογή νηματοδοκτόνων στον αγρό

### 3.7.3 Καλλιεργητικές φροντίδες

Οι καλλιεργητικές πρακτικές που εφαρμόστηκαν στα διάφορα στάδια ανάπτυξης των φυτών ακολουθούσαν τις συνήθειες πρακτικές που εφάρμοζε ο παραγωγός. Κατά την φύτευση του πειράματος προστέθηκαν στο έδαφος 100 κιλά ανά δεκάριο, εδαφοβελτιωτικού λιπάσματος 20-10-10. Προφυτρωτικά έγινε μια εφαρμογή με το ζιζανιοκτόνο Linuron (Karox 50 WP; Cooperative Central Bank) και μεταφυτρωτικά στο στάδιο των 3-5 φυλλων έγινε πρώτη εφαρμογή με το προστατευτικό μυκητοκτόνο Propineb 70% w/w (Antracol 70 WP; Bayer CropScience AG).

Κατά το στάδιο της κονδυλοποίησης πραγματοποιήθηκαν ακόμα δύο ψεκασμοί με τα μυκητοκτόνα Zoxamide 8,3 %, Mancozeb 66,7% (Electis 75 WG; Dow Agrosiences Export S. A. S) και mandipropamid (Revus 25 SC; Syngenta Hellas AEBE) για την αντιμετώπιση του περονοσπόρου της πατάτας, *Phytophthora infestans*. Η άρδευση της καλλιέργειας γινόταν με εκτοξευτήρες (springler) ανα 10 μέρες και σε ποσότητα 30 τόνων νερού ανά δεκάριο. Η εκρίζωση και συλλογή των κονδύλων έγινε μηχανικά στις 20 Απριλίου 2010 (Εικ. 18).



Εικόνα 18 Συγκομιδή κονδύλων πατάτας



Εικόνα 19 Δείγματα εδάφους

### **3.8 Συλλογή αποτελεσμάτων**

Οι τρεις ποικιλίες πατάτας (δύο ανθεκτικές ποικιλίες, Innovator και Sante και η ευαίσθητη ποικιλία Annabelle) σε συνδυασμό με τα δύο νηματωδοκτόνα (Fosthiazate και Oxamyl), αξιολογήθηκαν βάσει i) του αριθμού του τελικού μολύσματος στο έδαφος (Pf), ii) του ύψους της παραγωγής (Kg) και iii) του μεγέθους των κονδύλων (<40mm<). Όλα τα δείγματα λήφθηκαν από τις δύο εσωτερικές γραμμές κάθε επέμβασης, και σε μήκος τριών μέτρων από τα πέντε επί των γραμμών.

#### **3.8.1 Μέτρηση τελικού μολύσματος των νηματωδών στο έδαφος (Pf)**

Από κάθε επέμβαση, λήφθηκε δείγμα εδάφους ενός κιλού (Εικ. 19), από το οποίο πραγματοποιήθηκε εξαγωγή των κύστεων με τη μέθοδο Fenwick (βλ. 3.2 και 3.5). Ο αριθμός των κύστεων (30 κύστες/ 100 gr εδάφους) του Gr που συλλέχθηκαν από κάθε επέμβαση, χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση των εμβρυομένων αυγών και J2 του Gr, αριθμός που αποτελεί το τελικό μόλυσμα Pf (βλ. 3.5.1). Η αποτελεσματικότητα των ανθεκτικών ποικιλιών αξιολογήθηκε από το πηλίκο της εξίσωσης Pf/Pi. Όταν Pf/Pi >1 η ποικιλία θεωρήθηκε ως ευαίσθητη ενώ όταν Pf/Pi <1 ως ανθεκτική.

#### **3.8.2 Μέτρηση παραγωγής**

Από κάθε επέμβαση, μετρήθηκε το συνολικό βάρος (Kg) των κονδύλων από τις δύο ενδιάμεσες γραμμές και σε μήκος τριών μέτρων επί της γραμμής, με τη χρήση ηλεκτρονικής ζυγαριάς. Οι κόνδυλοι από τις δύο εξωτερικές γραμμές καθώς και σε απόσταση ενός μέτρου από την επόμενη επέμβαση κατά μήκος των γραμμών, δεν συμπεριλήφθηκαν στη μέτρηση, για αποφυγή τυχόν αλληλεπιδράσεων με τις διπλανές επεμβάσεις.

#### **3.8.3 Μέτρηση του μεγέθους των κονδύλων**

Οι κόνδυλοι που χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση της παραγωγής σε Kg, διαχωρίστηκαν βάση του μεγέθους τους σε: i) κόνδυλους > 40 mm και ii) κόνδυλους < 40 mm και καταμετρήθηκαν για κάθε επέμβαση χωριστά. Ο διαχωρισμός των κονδύλων σε δύο μεγέθη έγινε με βάση την εμπορευσιμότητα των κονδύλων. Κόνδυλοι μεγέθους >40mm έχουν μεγαλύτερη εμπορική και οικονομική αξία.

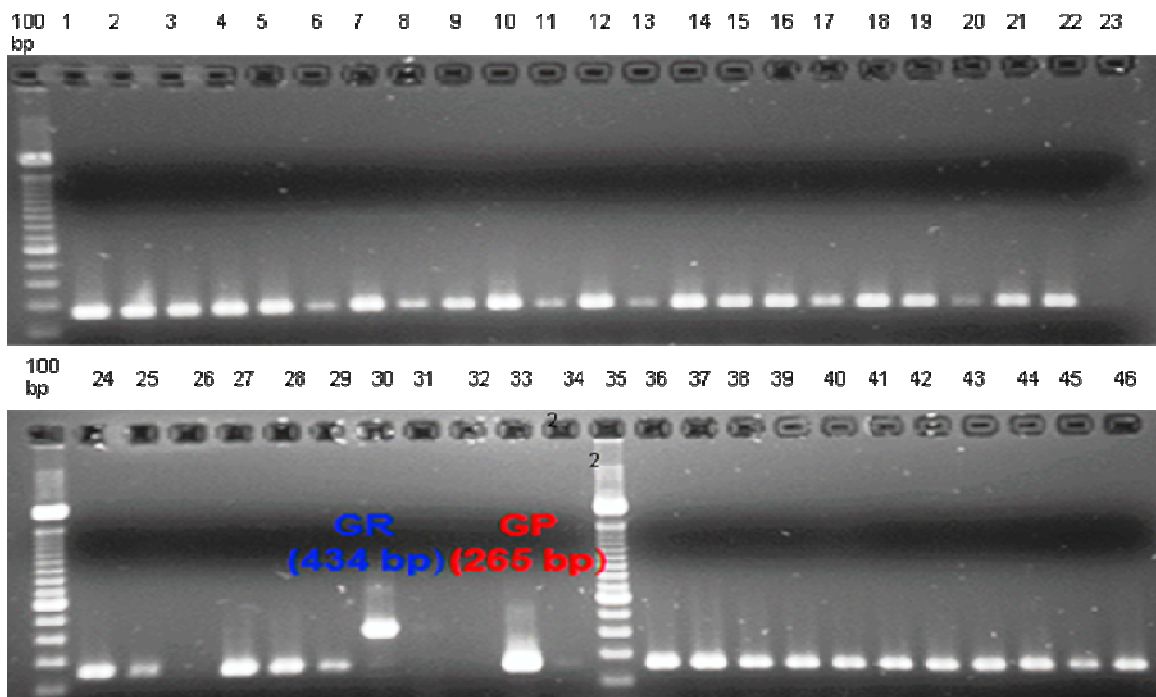
### 3.9 Στατιστική ανάλυση

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SAS 9.1.2 (SAS, Institute Inc., Chicago, IL). Τα δεδομένα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας το γενικό γραμμικό μοντέλο (General Linear Model) με απλή γραμμική παλινδρόμηση, για την επίδραση των ανθεκτικών ποικιλιών και των νηματωδοκτόνων κατά τις δειγματοληψίες εδάφους (μέτρηση αρχικού και τελικού μολύσματος), της ζύγισης του βάρους των κονδύλων και της μέτρησης του μεγέθους των κονδύλων. Οι τιμές των παρατηρήσεων υποβλήθηκαν σε ανάλυση της παραλλακτικότητας (Analysis of Variance - ANOVA), ενώ ο διαχωρισμός των μέσων όρων έγινε με τη χρήση του κριτηρίου LSD (Least Significant Difference), με το επίπεδο σημαντικότητας (τιμή κριτηρίου) στο 95% ( $P < 0.05$ ).

## 4 Αποτελέσματα

### 4.1 Μοριακή ταυτοποίηση

Ο προσδιορισμός του είδους των ΚΝΠ στο πειραματικό τεμάχιο καθορίστηκε με τη PCR, χρησιμοποιώντας τους εκκινητές PITSp3, PITSp4 και ITS5 (Bulman & Marshall). Τα αποτελέσματα έδειξαν την παρουσία μόνο του *G. pallida* στα δείγματα που συλλέχθηκαν από το πειραματικό τεμάχιο (Εικ. 20).



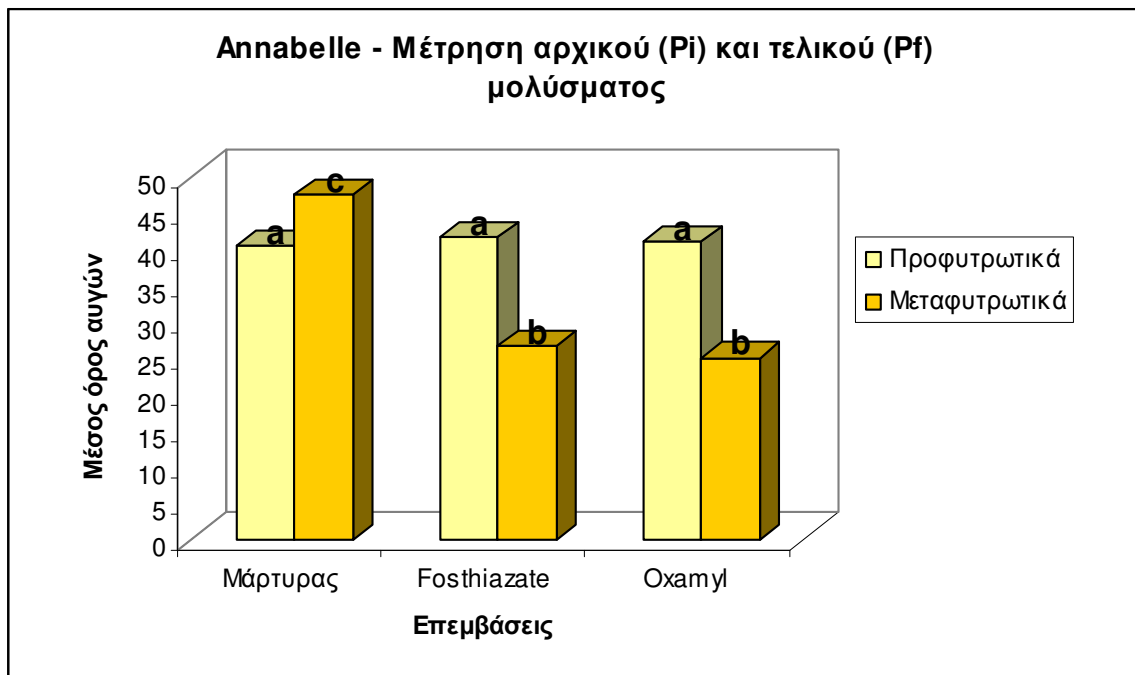
**Εικόνα 20** Ηλεκτροφορητική κατανομή των δειγμάτων της PCR σε 1,2% πήγμα αγαρόζης. Οι γραμμές 1-29 και 36-36 : αγνώστα δείγματα για τον προσδιορισμό του είδους στο πειραματικό τεμάχιο. Οι γραμμές 1 και 35 είναι μοριακά βάρη 100 βάσεων. Γραμμή 30: γνωστό δείγμα *G. rostochiensis*. Γραμμές 31 και 34: δείγματα χωρίς DNA. Γραμμή 32: Νερό. Γραμμή 33: γνωστό δείγμα *G. pallida*.



## 4.2 Σύγκριση αρχικού (Pi) και τελικού (Pf) μολύσματος των νηματωδών στο έδαφος

### 4.2.1 Ευπαθής ποικιλία Annabelle

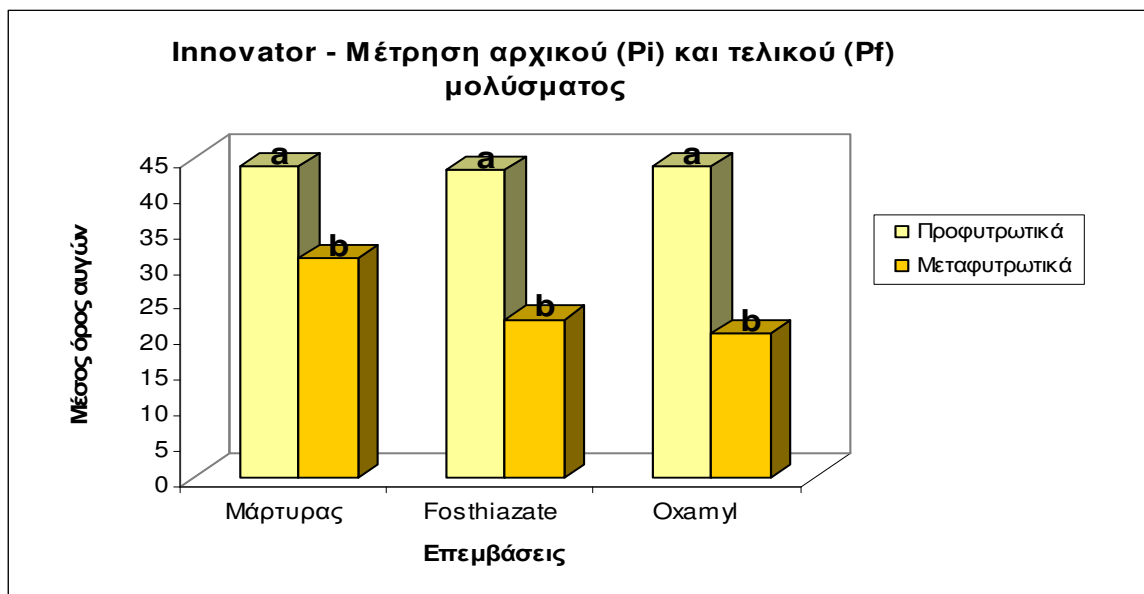
Στην ευπαθή ποικιλία Annabelle, ο αριθμός των νηματωδών στο έδαφος προφυτρωτικά δεν είχε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών επεμβάσεων fosthiazate, oxamyl και μάρτυρα. Αντίθετα, ο αριθμός των νηματωδών μεταφυτρωτικά (Pf), παρουσιάζει αύξηση στο μάρτυρα και σημαντική μείωση στις επεμβάσεις με νηματωδοκτόνα, σε σχέση με το αρχικό μόλυσμα των νηματωδών στο έδαφος (Pi). Οι μέσοι όροι των αυγών πριν τη φύτευση και μετά την εκρίζωση, παρουσιάζονται στην Εικόνα 21.



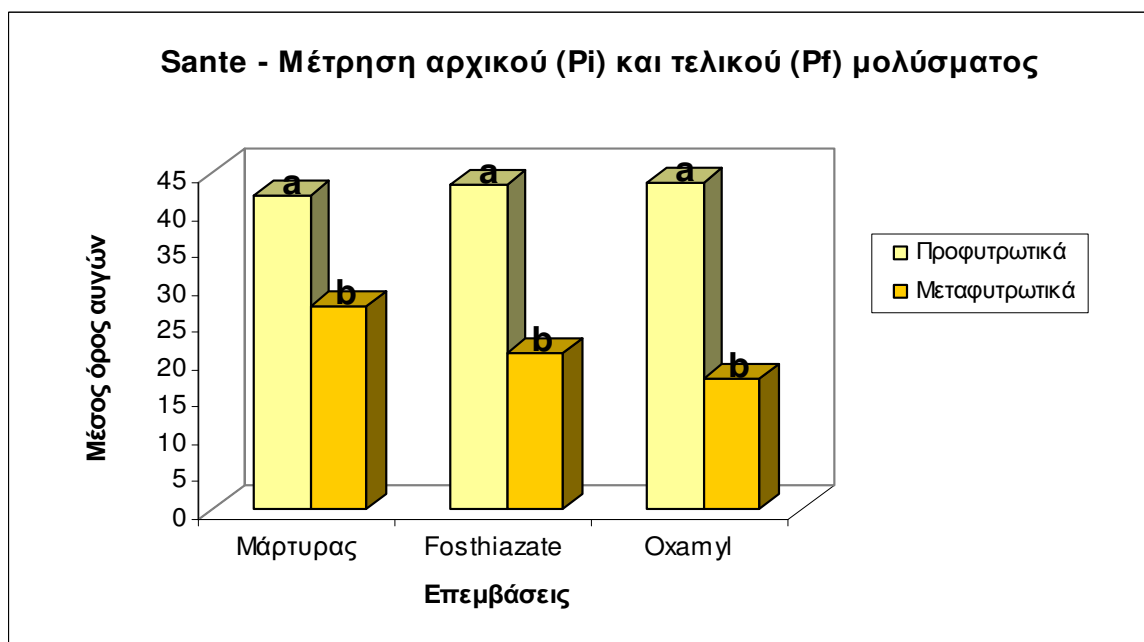
**Εικόνα 21** Επίδραση των νηματωδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στο επίπεδο εδαφικού μολύσματος στην ευπαθή ποικιλία Annabelle. Προφυτρωτικά: LSD = 2,643, P >0,05, Μεταφυτρωτικά: LSD =4,5045, P <0,05.

#### 4.2.2 Ανθεκτικές ποικιλίες Innovator και Sante

Στις ανθεκτικές ποικιλίες, Innovator και Sante, το τελικό μόλυσμα των νηματωδών στο έδαφος (Pf), μειώθηκε σημαντικά σε σχέση με το αρχικό μόλυσμα (Pi), τόσο στις επεμβάσεις με νηματοδοκτόνα (fosthiazate, oxamyl), όσο και στο μάρτυρα. Οι μέσοι όροι των αυγών μετά τη συγκομιδή, σε όλες τις επεμβάσεις και στις δύο ποικιλίες δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Εικ. 22 και 23).



**Εικόνα 22** Επίδραση των νηματοδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στο επίπεδο εδαφικού μολύσματος στην ανθεκτική ποικιλία Innovator. Προφυτρωτικά: LSD =2,643, P >0,05. Μεταφυτρωτικά: LSD =2,158, P <0,05.

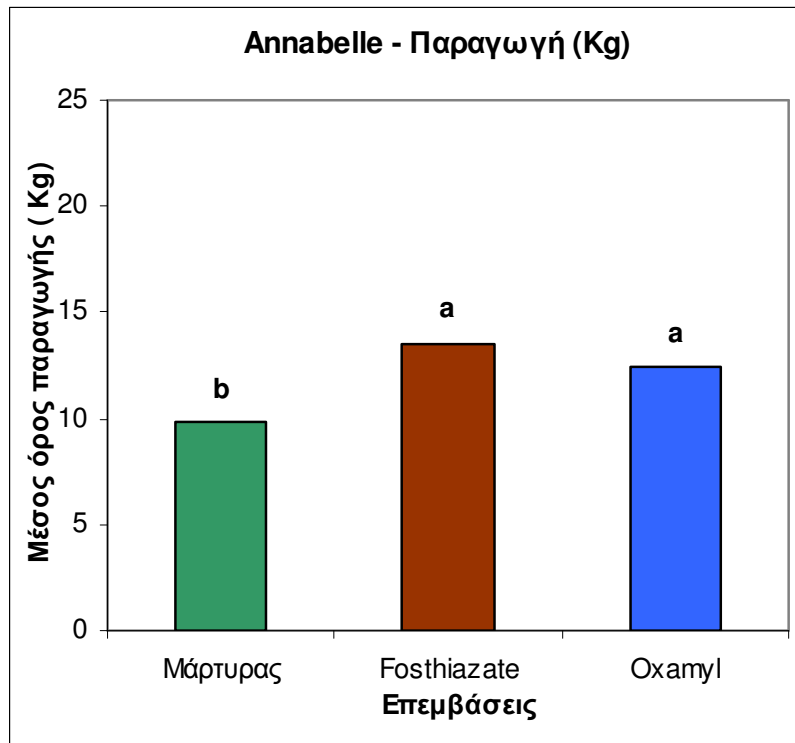


**Εικόνα 23** Επίδραση των νηματοδοκτόνων Fosthiazate και Oxamyl στο επίπεδο εδαφικού μολύσματος στην ανθεκτική ποικιλία Sante. Προφυτρωτικά: LSD =3,4722, P > 0,05. Μεταφυτρωτικά: LSD =3,52, P < 0,05.

### 4.3 Μέτρηση παραγωγής

#### 4.3.1 Ευαίσθητη ποικιλία Annabelle

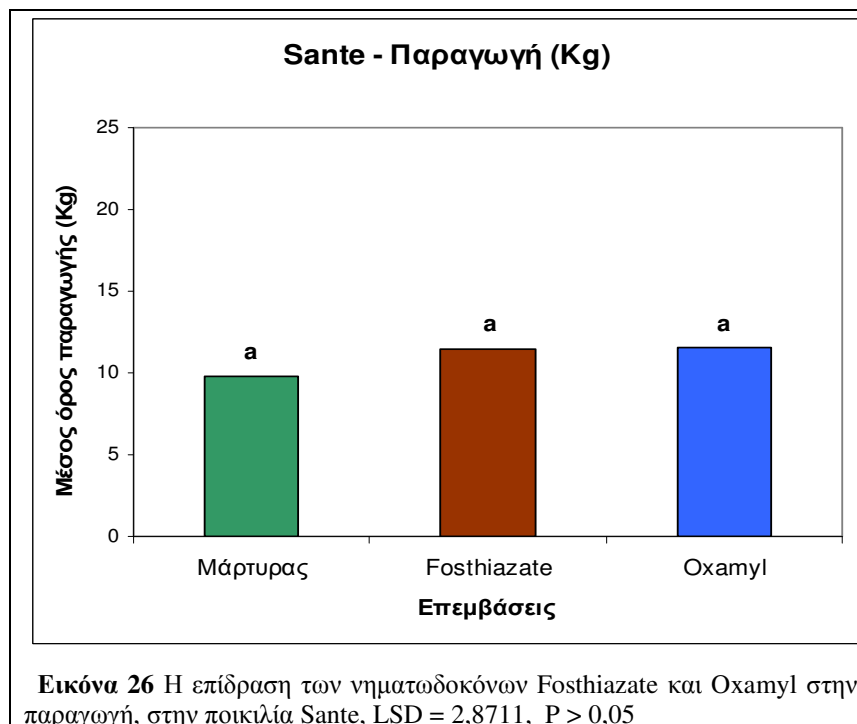
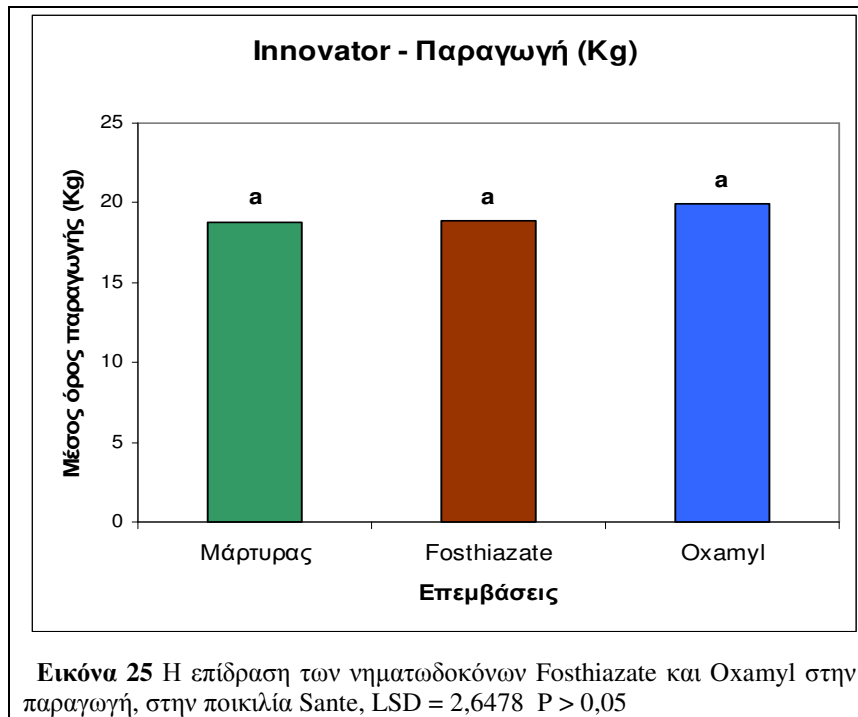
Το ύψος της παραγωγής (Kg) στην ευπαθή ποικιλία Annabelle, ήταν σημαντικά μειωμένο στο μάρτυρα σε σχέση με τις επεμβάσεις με νηματοδοκτόνα (Εικ. 24).

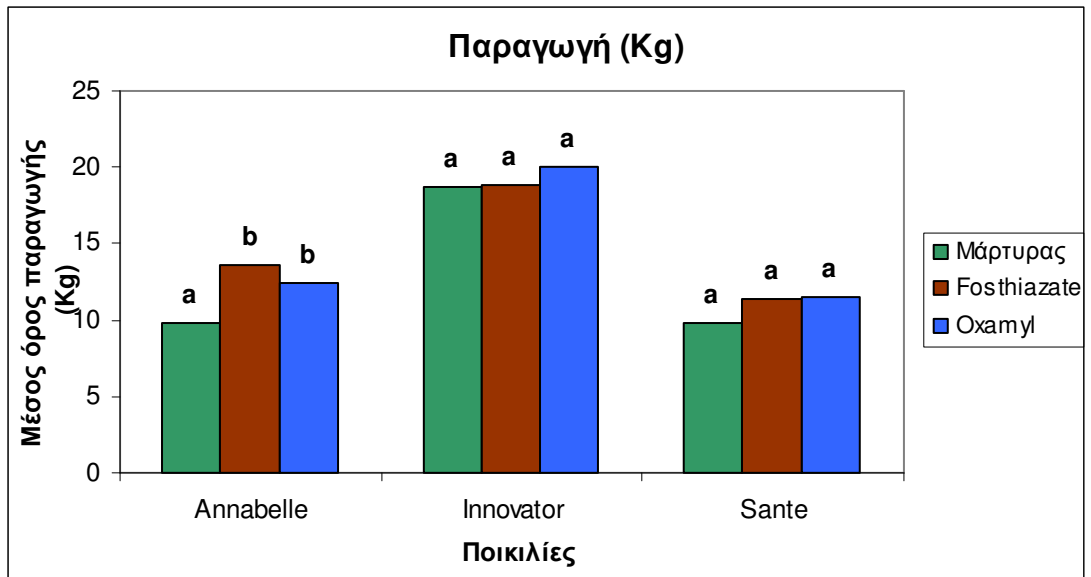


**Εικόνα 24** Η επίδραση των νηματοδοκόνων Fosthiazate και Oxamyl στην παραγωγή, στην ευπαθή ποικιλία Annabelle. LSD = 2,2469 και  $P < 0,05$ .

### 4.3.2 Ανθεκτικές ποικιλίες Innovator και Sante

Το ύψος της παραγωγής στις ανθεκτικές ποικιλίες Innovator και Sante, δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων fosthiazate, oxamyl και μάρτυρα (Εικ. 25 και 26). Οι αποδόσεις όλων των ποικιλιών και επεμβάσεων παρουσιάζονται στην εικόνα 27.

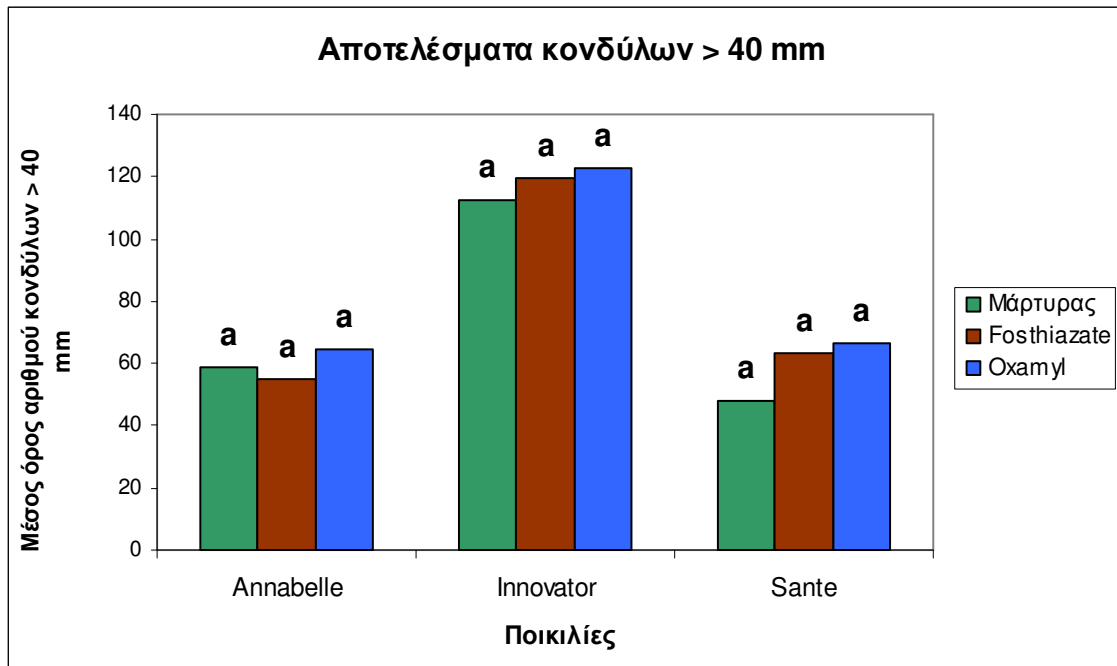




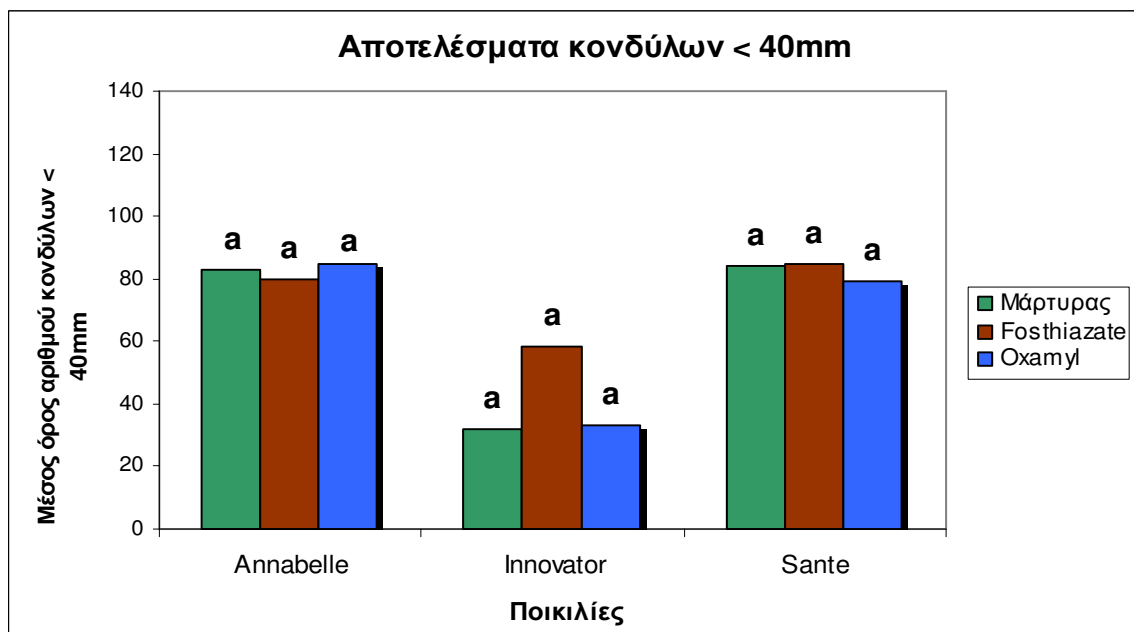
**Εικόνα 27** Η επίδραση των νηματοδοκόνων Fosthiazate και Oxamyl στην παραγωγή των τριών ποικιλιών Annabelle, Innovator και Sante.

#### 4.4 Μέτρηση του μεγέθους των κονδύλων

Τόσο στην ευπαθή ποικιλία Annabelle όσο και στις ανθεκτικές ποικιλίες Innovator και Sante, δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών επεμβάσεων, ως προς το μέγεθος των κονδύλων > 40 mm ή < 40 mm (Εικ. 28 και 29)



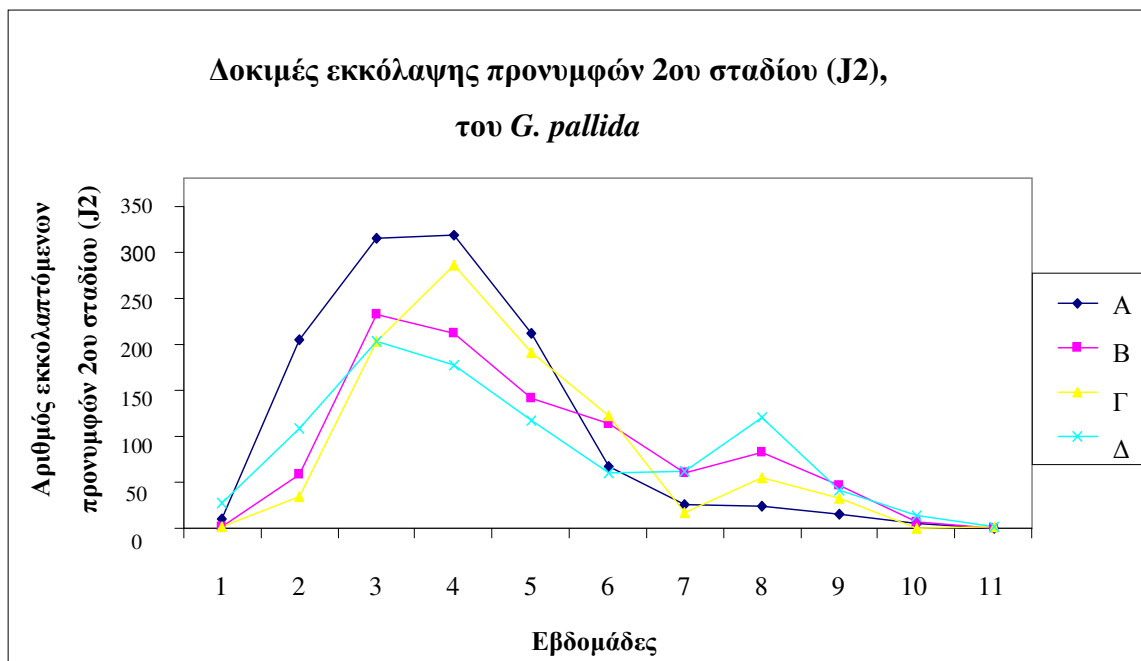
Εικόνα 28 Η επίδραση των νηματοδοκόνων Fosthiazate και Oxamyl στο μέγεθος των κονδύλων, στην ευπαθή ποικιλία Annabelle και στις ανθεκτικές ποικιλίες Innovator και Sante



Εικόνα 29 Η επίδραση των νηματοδοκόνων Fosthiazate και Oxamyl στο μέγεθος των κονδύλων, στην ευπαθή ποικιλία Annabelle και στις ανθεκτικές ποικιλίες Innovator και Sante.

#### 4.5 Έλεγχος εκκόλαψης προνυμφών 2ου σταδίου (J2)

Για τον έλεγχο εκκόλαψης των προνυμφών 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2), οι κύστει που λήφθηκαν από τέσσερα διαφορετικά σημεία στο έδαφος (Α, Β, Γ και Δ) τοποθετήθηκαν σε εκκρίματα ριζών πατάτας (PRD) για περίοδο 11 εβδομάδων. Κατά το διάστημα της πρώτης εβδομάδας, παρατηρήθηκε μερική εκκόλαψη των J2. Ακολούθως, τη δεύτερη και τρίτη εβδομάδα, παρατηρήθηκε ελαφρά αύξηση του αριθμού των εκκολαπτόμενων J2, ενώ το διάστημα μεταξύ της τρίτης και πέμπτης εβδομάδας, η εκκόλαψη των J2, έφτασε στο μέγιστο αριθμό. Στην συνέχεια από την 5<sup>η</sup> μέχρι την 9<sup>η</sup> εβδομάδα, η εκκόλαψη αρχίζει να μειώνεται σημαντικά, ενώ κατά τη 10<sup>η</sup> και 11<sup>η</sup> εβδομάδα, δεν παρατηρήθηκε περαιτέρω εκκόλαψη των J2 (Εικ. 30).



**Εικόνα 30** Εκκόλαψη αυγών του *G. pallida* στο εργαστήριο μετά από έκθεσή τους σε εκκρίσεις ριζών (PRD) για περίοδο από μία μέχρι έντεκα εβδομάδες.

Οι ΚΝΠ, *G. rostochiensis* και *G. pallida*, αποτελούν μία από τις σημαντικότερες ασθένειες που προσβάλλουν την πατατοκαλλιέργεια, προκαλώντας ποσοτικές και ποιοτικές απώλειες στην παραγωγή. Ιδιαίτερη δυσκολία παρουσιάζεται στην αντιμετώπιση του *G. pallida* λόγω του μικρού αριθμού εμπορικών ποικιλιών με ανθεκτικότητα, που έχουν στη διάθεση τους οι πατατοπαραγωγοί.

## 5 Συζήτηση και Συμπεράσματα

Η ευπαθής ποικιλία Annabelle ήταν αναμενόμενο να παρουσιάσει αύξηση του αριθμού των αυγών στο έδαφος και μείωση του ύψους της παραγωγής, στις επεμβάσεις χωρίς νηματωδοκτόνα. Στην ποικιλία αυτή τα δύο νηματωδοκτόνα, fosthiazate και oxamyl παρουσίασαν μεγάλη αποτελεσματικότητα μειώνοντας το ποσοστό του μολύσματος κατά 50% περίπου και αυξάνοντας σημαντικά τη παραγωγή.

Αντίθετα, οι δύο ανθεκτικές ποικιλίες Innovator και Sante παρουσίασαν μείωση του αριθμού των αυγών στο έδαφος σε ποσοστό 40 % περίπου και στις τρεις επεμβάσεις τους. Το ύψος της παραγωγής στις δύο ποικιλίες δεν παρουσίασε διαφορές ανάμεσα στο μάρτυρα και στις επεμβάσεις με νηματωδοκτόνα.

Τα αποτελέσματα αξιολόγησης των ανθεκτικών ποικιλιών σε συνδυασμό με νηματωδοκτόνα, που παρουσιάζονται στην παρούσα μελέτη, είναι αντίστοιχα των αποτελεσμάτων άλλων ερευνητών (Whithead *et al.*, 1998), οι οποίοι παρατήρησαν ότι σε ευπαθείς ποικιλίες χωρίς την εφαρμογή νηματωδοκτόνων, παρουσιάστηκε μείωση της παραγωγής και αύξηση του τελικού μολύσματος των νηματωδών στο έδαφος. Αντίθετα, με τη χρήση ανθεκτικών ποικιλιών παρουσιαζόταν μείωση του τελικού αριθμού των νηματωδών στο έδαφος, τόσο στις επεμβάσεις με νηματωδοκτόνα (oxamyl, adicarb) όσο και στις επεμβάσεις χωρίς νηματωδοκτόνα. Επιπρόσθετα, μεταξύ των επεμβάσεων (μάρτυρας, νηματωδοκτόνα) δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στο ύψος της παραγωγής (Whitehead, Tite, Fraser, & Nichols, 1984; Whitehead & Turner, 1998).

Το ύψος της παραγωγής μεταξύ των ποικιλιών δεν μπορεί να συγκριθεί καθότι οι τρεις ποικιλίες έχουν διαφορετικό βαθμό εμπορικότητας και διαφορετικές χρήσεις. Η ποικιλία Innovator χρησιμοποιείται ως τηγανιτή πατάτα ή πατάτα φούρνου. Λόγω του μεγάλου μεγέθους της δεν είναι αποδεκτή από την ευρωπαϊκή αγορά. Παρόλα αυτά, έχει μεγάλη εμπορική αξία αφού χρησιμοποιείται από μεγάλες πολυεθνικές εταιρίες ως τηγανιτή πατάτα.

Η ποικιλία Santé είναι ελαφρώς κιτρινόσαρκη πατάτα και χρησιμοποιείται με όλους τους τρόπους μαγειρέματος. Το μέγεθος της είναι μέτριο προς μεγάλο, 40 - 65 mm. Έχει ευρεία κατανάλωση σε όλες τις χώρες της Ευρώπης.



Η Annabelle είναι κιτρινόσαρκη πατάτα και το μέγεθος των κονδύλων της κυμαίνεται από 25 - 55 mm. Κόνδυλοι μεγαλύτερου μεγέθους έχουν πολύ χαμηλή εμπορική αξία στις χώρες της Δυτικής Ευρώπης, όπου η Annabelle καταναλώνεται σε μεγάλες ποσότητες ως σαλατοπατάτα.

Η χρήση νηματωδοκτόνων στο έδαφος είναι αναγκαία κατά την καλλιέργεια ευπαθών ποικιλιών πατάτας. Ο χρόνος εφαρμογής των νηματωδοκτόνων χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Όταν η εφαρμογή γίνεται κατά την φύτευση των κονδύλων, μέχρι να βλαστήσουν οι κόνδυλοι και προκαλέσουν εκκόλαψη των αυγών, μεγάλη ποσότητα του νηματωδοκτόνου εκπλύνεται στο έδαφος ή διασπάται. Επιπλέον, ο *G. pallida* παρουσιάζει καθυστερημένη εκκόλαψη, τουλάχιστο 1-2 εβδομάδες μετά την παρουσία εκριμάτων ριζών πατάτας στο περιβάλλον του, με αποτέλεσμα οι προνύμφες που εκκολάπτονται την 6-9 εβδομάδα να διαφεύγουν της δράσης των νηματωδοκτόνων.

Οι δύο ανθεκτικές ποικιλίες πατάτας που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη έδειξαν υψηλό βαθμό ανθεκτικότητας, μειώνοντας σημαντικά τους πληθυσμούς του παθογόνου στο έδαφος. Επίσης, η χρήση νηματωδοκτόνων συνέβαλε σημαντικά στην μείωση των πληθυσμών του ΚΝΠ στο έδαφος. Όμως, αποκλειστική εφαρμογή είτε των ανθεκτικών ποικιλιών είτε των νηματωδοκτόνων δεν συστήνεται διότι, λόγω της υψηλής πίεσης επιλογής, αυξάνεται η πιθανότητα να απυλεσθεί η ανθεκτικότητα των ποικιλιών της πατάτας ή να κυριαρχήσουν ανθεκτικοί πληθυσμοί στα νηματωδοκτόνα, αντίστοιχα. Στα πλαίσια ενός ολοκληρωμένου συστήματος διαχείρισης του σημαντικού προβλήματος που προκύπτει στη καλλιέργεια της πατάτας από προσβολές του ΚΝΠ συστήνεται η συνδυασμένη εφαρμογή και των δύο μεθόδων.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aires, A., Carvalho, R., Da Conceição Barbosa, M., & Rosa, E. (2009). Suppressing potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, with extracts of brassicacea plants. *American Journal of Potato Research*, 86(4), 327-333.
- Alexandrou, L., Pelagia, S., & Pitiri, D. (2010). *Agricultural statistics 2008*. Nicosia, Cyprus: Printing Office of the Republic of Cyprus.
- Atkins, S. D., Clark, I. M., Sosnowska, D., Hirsch, P. R., & Kerry, B. R. (2003). Detection and quantification of *Plectosphaerella cucumerina*, a potential biological control agent of potato cyst nematodes, by using conventional PCR, real-time PCR, selective media, and baiting. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8), 4788.
- Bakker, J., Folkertsma, R. T., Rouppe van der Voort, J.N.A.M., de Boer, J. M., & Gommers, F. J. (1993). Changing concepts and molecular approaches in the management of virulence genes in potato cyst nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 31(1), 169-190.
- Behrens, E. (1975). *Globodera skarbilovich*, 1959, eine selbständige gattung in der unterfamilie *Herteroderinae skarbilovich*, 1947 (nematoda: Heteroderidae). *Vortragstagung (1) Zu Aktuellen Problemen Der Phytoneematologie Am*, 29(1975), 12-26.
- Berti, P. R., Jones, A. D., Cruz, Y., Larrea, S., Borja, R., & Sherwood, S. (2010). Assessment and characterization of the diet of an isolated population in the bolivian andes. *American Journal of Human Biology : The Official Journal of the Human Biology Council*, 22(6), 741-749.
- Bokx, J. A., & Want, J. P. H. (1987). *Viruses of potatoes and seed-potato production*. Centre for Agricultural Publishing and Documentation (Pudoc).
- Bradshaw, J. E., & Ramsay, G. (2009). Potato origin and production. *Advances in Potato Chemistry and Technology*, , 1-26.

- Brinkman, H., & Mulder, A. (2005). Remaining non-parasitic defects. In A. Mulder, & L. J. Turkensteen (Eds.), *Potato diseases* (pp. 229-274). Nipad, Holland: Aardappel wereld magazine.
- Brodie, B. B. (1999). Classical and molecular approaches for managing nematodes affecting potato. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 21, 222-230.
- Burrow, R. (2011). *Potato council: Euro potato*. Retrieved 01/2009, 2009, from <http://www.potato.org.uk/index.html>
- Caromel, B., Mugniéry, D., Kerlan, M. C., Andrzejewski, S., Palloix, A., Ellissèche, D., et al. (2005). Resistance quantitative trait loci originating from *Solanum sparsipilum* act independently on the sex ratio of *Globodera pallida* and together for developing a necrotic reaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 18(11), 1186-1194.
- Castelli, L., Ramsay, G., Bryan, G., Neilson, S. J., & Phillips, M. S. (2003). New sources of resistance to the potato cyst nematodes *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* in the commonwealth potato collection. *Euphytica*, 129(3), 377-386.
- Cronin, D., Moenne-Loccoz, Y., Fenton, A., Dunne, C., Dowling, D. N., & O'Gara, F. (1997). Role of 2, 4-diacetylphloroglucinol in the interactions of the biocontrol pseudomonad strain F113 with the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(4), 1357.
- Cutter, E. G. (1978). Structure and development of the potato plant. *The Potato Crop*, , 70-152.
- Den Nijs, L., & Karssen, G. (2001). *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*.
- Den Nijs, L. J. M. F., & Lock, C. A. M. (1992). Differential hatching of the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* in root diffusates and water of differing ionic composition. *European Journal of Plant Pathology*, 98(2), 117-128.
- E.U. (2007). Council directive 2007/33/EC of 11 June 2007 on the control of potato cyst nematodes and repealing directive 69/465/EEC. *Official Journal of the European Union*, 50(L156), 12-22.

- Ellenby, C. (1952). Resistance to the potato root eelworm, *Heterodera rostochiensis* wollenweber.
- EPPO. (2004). *A revisio of the EPPO recommendation 92/3784 on the testing of potato cultivars to assess partial resistance to potato cyst nematodes, Globodera rostochiensis and G. pallida*. Brussels: EPPO.
- EPPO/ OEPP. (2004). Diagnostic protocols for regulated pests, european and mediterranean plant protection organization. *Bulletin 34*, 309-314.
- Evans, K., & Stone, A. R. (1977). A review of the distribution and biology of the potato cyst-nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *International Journal of Pest Management*, 23(2), 178-189.
- Ferris, V. R. (1979). Cladistic approaches in the study of soil and plant parasitic nematodes. *American Zoologist*, 19(4), 1195.
- Filofteia, M. (2011). Monitoring of potato quarantine bacteria. *Annals of the University of Craiova-Agriculture, Montanology, Cadastre Series*, 39(2), 202-206.
- González, J. A., Phillips, M. S., & Hackett, C. A. (1992). Morphological variability of potato cyst nematodes (*Globodera* spp.) in the canary islands. *Annals of Applied Biology*, 120(2), 315-328.
- Greco, N. (1988). Potato cyst nematodes: *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Nematology Circular*,
- Grenier, E., Fournet, S., Petit, E., & Anthoine, G. (2010). A cyst nematode's species factory'called the andes. *Nematology*, 12(2), 163-169.
- Guile, C. T. (1970). Further observations on cyst colour changes in potato cyst eelworm pathotypes. *Plant Pathology*, 19(1), 1-6.
- Haydock, P. P. J., Woods, S. R., Grove, I. G., Hare, M. C., Perry, R. N., & Moens, M. (2006). Chemical control of nematodes. *Plant Nematology*, , 392-410.

- Holder, C. B., & Cary, J. W. (1984). Soil oxygen and moisture in relation to russet burbank potato yield and quality. *American Journal of Potato Research*, 61(2), 67-75.
- Huang, L. F., Fang, B. P., Luo, Z. X., Chen, J. Y., Zhang, X. J., & Wang, Z. Y. (2010). First report of bacterial stem and root rot of sweetpotato caused by a *Dickeya* sp.(*Erwinia chrysanthemi*) in china. *Plant Disease*, 94(12), 1503-1503.
- Ibrahim, S. K., Minnis, S. T., Barker, A. D. P., Russell, M. D., Haydock, P. P. J., Evans, K., et al. (2001). Evaluation of PCR, IEF and ELISA techniques for the detection and identification of potato cyst nematodes from field soil samples in england and wales. *Pest Management Science*, 57(11), 1068-1074.
- Ioannou, N. (2000). Soil solarization as a substitute for methyl bromide fumigation in greenhouse tomato production in Cyprus. *Phytoparasitica*, 28(3), 248-256.
- Jensen, H. J., Armostron, J., & Jatala, P. (1979). Annotated bibliography of nematode pests of potato.
- Jones, F. G. W., Carpenter, J. M., Parrott, D. M., Stone, A. R., & Trudgill, D. L. (1970). Potato cyst nematode: One species or two? 227, 83-84.
- Kerry, B., Barker, A., & Evans, K. Investigation of potato cyst nematode control.
- Khush, G. S. (1999). Green revolution: Preparing for the 21st century. *Genome*, 42(4), 646-655.
- King, B. A., Reeder, R. E., Wall, R. W., & Stark, J. C. (2002). Comparison of site-specific and conventional uniform irrigation management for potatoes. *2002 ASAE Annual International Meeting/CIGR XVth World Congress, Hyatt Regency Chicago, Chicago, Illinois*,
- Kort, J., Ross, H., Rumpfenhorst, H. J., & Stone, A. R. (1977). An international scheme for identifying and classifying pathotypes of potato cyst-nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Nematologica*, 23(3), 333-339.

- Lamichhane, J. R., Balestra, G. M., & Varvaro, L. (2010). Occurrence of potato soft rot caused by *erwinia carotovora* (synonym *pectobacterium carotovorum*) in nepal: A first report. *Plant Disease*, *94*(3), 382-382.
- Li, P. H. (1985). *Potato physiology*. Academic Press, Inc.
- Lownsbery, B. F., & Lownsbery, J. W. (1954). *Heterodera tabacum* new species, a parasite of solanaceous plants in connecticut. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, *21*(1), 42-47.
- Mai, W. F. (1977). Worldwide distribution of potato-cyst nematodes and their importance in crop production. *Journal of Nematology*, *9*(1), 30.
- Mankau, R. (1980). Biological control of nematode pests by natural enemies. *Annual Review of Phytopathology*, *18*(1), 415-440.
- Marks, R. J., & Brodie, B. B. (Eds.). (1998). *Potato cyst nematodes biology, distribution and control*. New York, Usa: CAB International.
- Minnis, S. T., Haydock, P. P. J., & Evans, K. (2004). Control of potato cyst nematodes and economic benefits of application of 1, 3-dichloropropene and granular nematicides. *Annals of Applied Biology*, *145*(2), 145-156.
- Morris, R. F. (1971). Distribution and biology of the golden nematode *Globodera rostochiensis* in Cyprus. *Nematologica*, *26*, 637-639.
- Mulder, A., & Stolte, A. (2005). Arthropods. In A. Mulder, & L. J. Turkensteen (Eds.), (pp. 147-191). Holland: Aardappelwereld B.V. & NIVAP.
- Mulder, A., & Turkensteen, L. J. (2005). Deficiency and excess diseases. In A. Mulder, & L. J. Turkensteen (Eds.), *Potato diseases* (pp. 197-228). Holland: Aardappelwereld B.V. & NIVAP.
- Mulvey, R. H., & Stone, A. R. (1976). Description of *Punctodera matadorensis* n. gen., n. sp.(nematoda: *Heteroderidae*) from saskatchewan with lists of species and generic

- diagnoses of *Globodera* (n. rank), *Heterodera*, and *Sarisodera*. *Can.J.Zool*, 54(5), 772-785.
- Navarre, D. A., Goyer, A., & Shakya, R. (2009). Nutritional value of potatoes: Vitamin, phytonutrient, and mineral content. *Advances in Potato Chemistry and Technology*, , 395.
- Onder, S., Caliskan, M. E., Onder, D., & Caliskan, S. (2005). Different irrigation methods and water stress effects on potato yield and yield components. *Agricultural Water Management*, 73(1), 73-86.
- Pereira, A. B., & Shock, C. C. (2006). Development of irrigation best management practices for potato from a research perspective in the united states. *Sakia.Org e-Publish*, 1(1), 1-20.
- Philis, J. (1981). Species of potato cyst nematode from the Xylophagou area in Cyprus. *Nematol.Medit*, 9, 57-61.
- Philis, J. (1997). Effect of cadusafos and carbofuran against *pratylenchus penetrans* and some ectoparasitic nematodes infesting potato in cyprus. *Nematologia Mediterranea*, 25, 169-172.
- Philis, J. (2001). *Control of the potato cyst-nematode (Globodera rostochiensis) with cadusafos, under cyprus field conditions. spyros stavrinides chemicals ltd. Nicosia, Cyprus. 5pp. July.* Unpublished manuscript.
- Phillips, M. S., Bradshaw, J. E., & Mackay, G. R. (1994). Inheritance of resistance to nematodes. *Potato Genetics.*, , 319-337.
- Popeijus, H., Overmars, H., Jones, J., Blok, V., Goverse, A., Helder, J., et al. (2000). Enzymology: Degradation of plant cell walls by a nematode. *Nature*, 406(6791), 36-37.
- Rawsthorne, D., & Brodie, B. B. (1986). Relationship between root growth of potato, root diffusate production, and hatching of *Globodera rostochiensis*. *Journal of Nematology*, 18(3), 379.

- Rice, S. L., Leadbeater, B. S. C., & Stone, A. R. (1985). Changes in cell structure in roots of resistant potatoes parasitized by potato cyst-nematodes. I. potatoes with resistance gene H1 derived from *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. *Physiological Plant Pathology*, 27(2), 219-234.
- Ross, H. (1979). Wild species and primitive cultivars as ancestors of potato varieties.
- Ruiz de Galarreta, J. I., Carrasco, A., Salazar, A., Barrena, I., Iturrutxa, E., Marquinez, R., et al. (1998). Wild *Solanum* species as resistance sources against different pathogens of potato. *Potato Research*, 41(1), 57-68.
- Saenz, C., & De Scurrah, M. M. (1977). Races of the potato cyst nematode in the andean region and a new system of classification. *Nematologica*, 23(3), 340-349.
- Spooner, D. M., & Hijmans, R. J. (2001). Potato systematics and germplasm collecting, 1989–2000. *American Journal of Potato Research*, 78(4), 237-268.
- Stone, A. R. (1972). *Heterodera pallida* N. sp.(nematoda: *Heteroderidae*), a second species of potato cyst nematode 1). *Nematologica*, 18(4), 591-606.
- Thornton, R. E., & Sieczka, J. B. (1980). Commercial potato production in north america (potato association of america handbook). *Commercial Potato Production in North America (Potato Association of America Handbook)*, (American Potato Journal Supplement Vol. 57)
- Tobin, J. D., Haydock, P. P. J., Hare, M. C., Woods, S. R., & Crump, D. H. (2008). Effect of the fungus *chlamydosporia* and fosthiazate on the multiplication rate of potato cyst nematodes (*Globodera pallida* and *G. rostochiensis*) in potato crops grown under UK field conditions. *Biological Control*, 46(2), 194-201.
- Toxopeus, H. J., & Huijsman, C. A. (1952). Genotypical background of resistance to *Heterodera rostochiensis* in *Solanum tuberosum*, var. *andigenum*. *Nature*, 170, 1016.
- Trudgill, D. L. (1967). The effect of environment on sex determination in *Heterodera rostochiensis*. *Nematologica*, 13(2), 263-272.



- Trudgill, D. L. (1991). Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. *Annual Review of Phytopathology*, 29(1), 167-192.
- Trudgill, D. L., Holliday, J. M., Mathias, P. L., French, N., Mackintosh, G. M., & Tones, S. J. (1983). Effect of the nematicide oxamyl on the multiplication of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* and on the haulm growth and yield of six potato cultivars with different levels of resistance and tolerance. *Annals of Applied Biology*, 103(3), 477-484.
- Turkensteen, L. J., & Baarlen, P. (2005). Fungus diseases. In A. Mulder, & L. J. Turkensteen (Eds.), *Potato diseases* (pp. 11-69). Holland: Aardappelwereld B.V. & NIVAP.
- Turner, S. J., & Stone, A. R. (1981). Hatching of potato cyst-nematodes (*Globodera rostochiensis*, *G. pallida*) in root exudates of *Solanum vernei* hybrids. *Nematologica*, 27(3), 315-318.
- Wale, S., Platt, H. W., & Cattlin, N. (2008a). Fungal and fungal-like diseases. *Diseases, pests and disorders of potatoes* (Second ed., pp. 28-68). London: Manson Publishing.
- Wale, S., Platt, H. W., & Cattlin, N. (2008b). Insects and other pests. *Diseases, pests and disorders of potatoes* (Second ed., pp. 103-136). London: Manson Publishing.
- Walker, T. S., Schmiediche, P. E., & Hijmans, R. J. (1999). World trends and patterns in the potato crop: An economic and geographic survey. *Potato Research*, 42(2), 241-264.
- Webley, D. P., & Jones, F. G. W. (1981). Observations on *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* on early potatoes. *Plant Pathology*, 30(4), 217-224.
- Wenzel, G., & Uhrig, H. (1981). Breeding for nematode and virus resistance in potato via anther culture. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 59(6), 333-340.
- Whitehead, A. G. (1992). Emergence of juvenile potato cyst-nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* and the control of *G. pallida*. *Annals of Applied Biology*, 120(3), 471-486.

- Whitehead, A. G., Nichols, A. J. F., & Senior, J. C. (1991). Control of potato pale cyst-nematode, *Globodera pallida*, with a granular nematicide and partially resistant potatoes. *Annals of Applied Biology*, 118(3), 623-636.
- Whitehead, A. G., Tite, D. J., Fraser, J. E., & Nichols, A. J. F. (1984). Differential control of potato cyst-nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* by oxamyl and the yields of resistant and susceptible potatoes in treated and untreated soils. *Annals of Applied Biology*, 105(2), 231-244.
- Whitehead, A. G., & Turner, S. J. (1998). Management and regulatory control strategies for potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*). In R. J. Marks, & B. B. Brodie (Eds.), *Potato cyst nematodes biology, distribution and control* (pp. 135-152). New York, USA: Cab International.
- Zaheer, K., Fleming, C., Turner, S. J., & Philis, J. (1996). Genetic variation and pathotype response in potato cyst-nematode from cyprus. *Nematologia mediterranea*, 24, 161-168.
- Ελευθεροχωρινός, Η. Γ. (2002). *Ζιζανιολογία Ζιζάνια, Ζιζανιοκτονία, Περιβάλλον Αρχές και Μέθοδοι Διαχείρισης* (2η ed.). Αθήνα, Ελλάδα: ΑγροΤύπος ΑΕ.
- Ολύμπιος, Μ. Χ. (2009). Πατάτα. *Λαχανικά Υπαίθρου* (pp. 127-209). Αθήνα, Ελλάδα:
- Χριστοφόρου, Μ. (2011). Χρήση ανθεκτικών ποικιλιών σε συνδυασμό με νηματωδοκτόνα για την αντιμετώπιση των κυστογόνων νηματωδών της πατάτας. Unpublished manuscript.
- Χριστοφόρου, Μ., Τσάλτας, Δ., Παπαγιάννης, Λ., Νεοφύτου, Γ., Ιωάννου, Γ., Φελλάς, Π., et al. (2011, Ταυτοποίηση και χαρτογράφηση των κυστογόνων νηματωδών της πατάτας στην Κύπρο.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

**Πίνακας 2** Μορφομετρικά χαρακτηριστικά κύστεων του γένους *Globodera*

Species	Number of cuticular ridges between anus and vulval basin	Length of vulval slit (μm)	Distance between anus and fenestra (μm)	Width of fenestra (μm)	Granek's ratio
<i>G. rostochiensis</i>	12-31 (>14)	6-11 (9)	37-77 (60) 29-116 (68)	18	1.3-9.5 (>3.0)
<i>G. pallida</i>	8-20 (<14)	9-15 (11)	22-67 (44)	19	1.2-3.5 (<3.0)
<i>G. tabacum</i>	10-14	10-11	39	28	1.0-4.2 (<2.8)
<i>G. achilleae</i>	4-11 (<10)	2.8-5.6 (5)	22-34 (27)	14-28 (23)	1.3-1.9 (1.6)
<i>G. artemisiae</i>	-	12-15 (14)	19-47 (26)	-	1.6-8.3 (3.2) 0.8-1.7 (1.0)

**Πίνακας 3** Μορφομετρικά χαρακτηριστικά προνυμφών (J2) του γένους *Globodera*

Species	Shape of anterior surface of stylet knob	Stylet length (μm)
<i>G. rostochiensis</i>	Rounded	19-23 (21.8)
		21-23 (22)
		19-26 (23)
<i>G. pallida</i>	Pointed	22-24 (23.8)
		21-26 (24)
<i>G. tabacum</i>	Pointed to concave	23-24
		22-26 (24)
		22
<i>G. achilleae</i>	Pointed	24-26 (25)
		24-25 (25)
<i>G. artemisiae</i>	Rounded	19-22.5 (21)
		18-29 (23)

**Πίνακας 4** Εμπορικές ποικιλίες με ανθεκτικότητα στα είδη *G. rostochiensis* και *G. pallida*

Ποικιλία	Globodera rostochiensis					Globodera pallida		
	Ro1	Ro2	Ro3	Ro4	Ro5	Pa1	Pa2	Pa3
Agata	9	-	-	-	-	-	-	-
Agria	9	-	-	-	-	-	-	-
Agipa	9	-	-	-	-	-	-	-
Almera	9	-	-	-	-	-	-	-
Amora	9	-	-	-	-	-	-	-
Arinda	9	-	-	-	-	-	-	-
Bintje	9	-	-	-	-	-	-	-
Caesar	9	-	-	-	-	-	-	-
Carlita	9	-	-	-	-	-	-	-
Carrera	9	-	-	-	-	-	-	-
Courage	9	-	-	-	-	-	-	-
Ditta	9	-	-	-	-	-	-	-
Frisia	9	-	-	-	-	-	-	-
Hermes	9	-	-	-	-	-	-	-
Inova	9	-	-	-	-	-	-	-
Lady christl	9	-	-	-	-	-	-	-
Lady clair	9	-	-	-	-	-	-	-
Lady rosetta	9	-	-	-	-	-	-	-
Liseta	9	-	-	-	-	-	-	-
Madeleine	9	-	-	-	-	-	-	-
Margarita	9	-	-	-	-	-	-	-
Markies	9	-	-	-	-	-	-	-
Minerva	9	-	-	-	-	-	-	-
Miranda	9	-	-	-	-	-	-	-
Nicola	9	-	-	-	-	-	-	-
Red baron	9	-	-	-	-	-	-	-
Red scarlet	9	-	-	-	-	-	-	-
Santana	9	-	-	-	-	-	-	-
Saturna	9	-	-	-	-	-	-	-
Timate	9	-	-	-	-	-	-	-
Ultra	9	-	-	-	-	-	-	-
Bellini	8	-	-	-	-	-	-	-
Fontane	7	-	-	-	-	-	-	-
Victoria	7	-	-	-	-	-	-	-
Annabelle	9	8	8	-	-	-	-	-
Innovator	-	-	-	-	-	-	8	9
Avarna	9	9	9	-	-	-	9	9
Aveka	8	8	8	-	-	-	9	9
Festien	9	-	-	-	-	-	9	9
Sante	9	7	7	-	-	-	7	-
Starga	9	-	-	-	-	-	-	9

\*Ο αριθμός 9 αντιπροσωπεύει το μεγαλύτερο βαθμό ανθεκτικότητας

