

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



Πτυχιακή εργασία

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥ
ΒΑΚΤΗΡΙΟΥ *Clavibacter michiganensis* subsp.
michiganensis ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ qPCR ΚΑΙ ΤΗ
ΧΡΗΣΗ ΡΜΑ

ΟΡΕΣΤΕΙΑ ΑΡΕΣΤΗ

Λεμεσός 2014

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ,
ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Πτυχιακή εργασία

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥ
ΒΑΚΤΗΡΙΟΥ *Clavibacter michiganensis* subsp.
michiganensis ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ qPCR ΚΑΙ ΤΗ
ΧΡΗΣΗ ΡΜΑ

ΟΡΕΣΤΕΙΑ ΑΡΕΣΤΗ

Σύμβουλος καθηγητής
Δρ. Λουκάς Κανέτης
Δρ. Γιώργος Μπότσαρης

Λεμεσός 2014

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright © Ορέστεια Αρέστη, 2014

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.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Με την πρόοδο της τεχνολογίας η ανάπτυξη της Φυτοπαθολογίας έχει πάρει πολύ μεγάλες διαστάσεις. Οι τεχνολογικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται προσφέρουν ακρίβεια στην αναγνώριση των ασθενειών και ευκολία στους Φυτοπαθολόγους για την ακριβή διάγνωση της ασθένειας, με αποτέλεσμα και την εύκολη αντιμετώπισή της.

Το βακτηριακό έλκος της τομάτας που προκαλείται από το βακτήριο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* έχει μεγάλη οικονομική σημασία, λόγω των απρόσμενων επιδημιών που προκαλεί.

Στην εργασία αυτή, χρησιμοποιήθηκε το εν λόγω βακτήριο και επιτεύχθηκε η ανίχνευσή του με τη μέθοδο της qPCR. Επιπρόσθετα, έγινε χρήση της φωτοευαίσθητης χρωστικής PMA για τη διαφοροποίηση των ζωντανών και νεκρών κυττάρων καθώς και μελέτη της βακτηριοστατικής δράσης του PMA.

ABSTRACT

In the last decades, the technological progress has been critical for the development of Phytopathology. Many methods for identifying plant pathogens have been developed and offer rapidity and reliability on their detection.

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* is the main cause of the bacterial canker of tomato. It causes unexpected epidemics which leads to economical losses for the growers.

In this work, we suggest a rapid method for identifying *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* with quantitative PCR. We have also used a DNA binding dye, propidium monoazide (PMA), which binds to nucleic acid with covalent cross linkage and differentiate dead from live cells. In addition, we investigate possible toxicity of the dye to the cells.

We achieved the identification of the bacteria using qPCR. PMA, was able to differentiate dead cells from live cells and we found that it was toxic to the cells.