



Τεχνολογικό  
Πανεπιστήμιο  
Κύπρου

Σχολή Γεωτεχνικών  
Επιστημών και  
Διαχείρισης  
Περιβάλλοντος

## **Πτυχιακή εργασία**

**Αξιολόγηση ωφέλιμων μικροοργανισμών από τον κυπριακό  
αμπελώνα για τη διαχείριση ασθενειών ξύλου της αμπέλου**

**Σπυριδούλλα Χατζηγιαννακού**

**Λεμεσός, Ιούνιος 2024**



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ

Σχολή Γεωτεχνικών Επιστημών και Διαχείρισης Περιβάλλοντος

Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων

Πτυχιακή εργασία

Αξιολόγηση ωφέλιμων μικροοργανισμών από τον κυπριακό  
αμπελώνα για τη διαχείριση ασθενειών ξύλου της αμπέλου

της

Σπυριδούλλα Χατζηγιαννακού

Επιβλέπων Καθηγητής

Δρ. Λουκάς Κανέτης

Λεμεσός, Ιούνιος 2024

## **Πνευματικά δικαιώματα**

Copyright © Σπυριδούλλα Χατζηγιαννακού, 2024

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/της συγγραφέα εκ μέρους  
του Τμήματος.

Η παρούσα πτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Φυτικής Παραγωγής του τμήματος Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου καθώς και στο αγρόκτημα του τμήματος που βρίσκεται στο χωριό Λόφου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω και να εκφράσω τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη στον Επίκουρο καθηγητή μου Λουκά Κανέτη για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ και να εμπλακώ με το συγκεκριμένο γνωστικό αντικείμενο. Επίσης τις ευχαριστίες μου που με καθοδήγησε, με επέβλεψε και ήταν δίπλα μου καθ' όλο το διάστημα διεξαγωγής της πτυχιακής διατριβής. Να τον ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη και την στήριξη του. Η συνεργασία μας όλο αυτό το διάστημα με βοήθησε στην απόκτηση γνώσεων αλλά και στην απόκτηση σωστού ερευνητικού τρόπου σκέψης και οργάνωσης.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου και ερευνητικό συνεργάτη κ. Μιχαλάκη Χριστοφόρου για την μεγάλη βοήθεια και τον για τον χρόνο που αφιέρωσε, ούτως ώστε να υλοποιηθεί το πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο αγρόκτημα.

Δεν θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω την υποψήφιο διδάκτορα Στυλιάνα Ευσταθίου που χωρίς αυτήν, η ολοκλήρωση της παρούσας πτυχιακής διατριβής θα ήταν αδύνατη. Της εκφράζω ένα βαθύ ευχαριστώ που με επέλεξε και πίστεψε σε εμένα από την πρώτη στιγμή και με την στήριξη, την υπομονή καθώς και την καθοδήγηση που μου πρόσφερε τα τελευταία χρόνια είχαν ως αποτέλεσμα την επιτύχει ολοκλήρωση αυτής της πτυχιακής και την δημιουργία μιας φιλίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια αλλά και τους φίλους μου, που με την στήριξη και με την θετική τους ενέργεια αποτέλεσαν κινητήριο δύναμη για εμένα κατά τη διάρκεια της συγγραφής της πτυχιακής μου διατριβής.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ασθένειες του ξύλου της αμπέλου (Grapevine Trunk Diseases, GTDs) προκαλούν παγκοσμίως σημαντική μείωση της παραγωγής και της μακροζωίας των προσβεβλημένων φυτών. Η διαχείρισή τους βασίζεται κατά βάση στην προστασία των πηγών που δημιουργούνται κατά το ετήσιο κλάδεμα διαμόρφωσης. Παρά ταύτα η απαγόρευση της χρήσης αποτελεσματικών χημικών σκευασμάτων (π.χ. αρσενικόδες νάτριο, βρωμιούχου μεθυλίου, benomyl) αλλά και η απουσία αποτελεσματικών εναλλακτικών μεθόδων, ωθεί την έρευνα προς την ανεύρεση νέων δραστικών ουσιών και την ανάδειξη καλλιεργητικών πρακτικών που περιορίζουν το πρόβλημα. Στο πλαίσιο αυτό αξιολογήθηκε η ανταγωνιστική δράση βιολογικών παραγόντων (μυκήτων και βακτηρίων) που απομονώθηκαν από κυπριακούς αμπελώνες. Αρχικά, αξιολογήθηκε *in vitro* η ικανότητα παρεμπόδισης της μυκηλιακής ανάπτυξης πέντε παθογόνων που εμπλέκονται σε GTDs (*Botryosphaeria dothidea*, *Neofusicoccum parvum*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Dactylonectria alcacerensis*, *D. torresensis*) από στελέχη των μυκήτων *Clonostachys rosea* (n=37), *Epicoccum nigrum* (n=1), *Fusarium oxysporum* (n=17), *Xylogone sphaerospora* (n=3) και του γένους *Trichoderma* (n=2), καθώς και των ριζοβακτηρίων *Bacillus subtilis* (4) και *B. wiedmannii*. (n=1). Ακολούθησε *in planta* αξιολόγηση της προστατευτικής εφαρμογής επιλεγμένων στελεχών βιολογικών παραγόντων που παρουσίασαν υψηλά επίπεδα μυκηλιακής παρεμπόδισης έναντι δύο παθογόνων που εμπλέκονται στη ασθένεια της μελανής νέκρωσης των βραχιόνων (*B. dothidea* και *N. parvum*). Στην αξιολόγηση συμπεριλήφθηκε και το εμπορικό σκεύασμα Esquive® (*Trichoderma atroviridae*) ως θετικός μάρτυρας. Ο υψηλότερος μέσος έλεγχος της προσβολής από τον *N. parvum* παρατηρήθηκε από το ριζοβακτήριο X1Z (*B. wiedmannii*), τόσο στα 2 όσο και 5 εκατοστά από το σημείο προσβολής, σε ποσοστό 93,1 και 96,6% αντίστοιχα, σε σχέση με τον μολυσμένο μάρτυρα. Υψηλά ποσοστά παρεμπόδισης παρατηρήθηκαν και από την εφαρμογή του στελέχους *Trichoderma* 40b1 (76,8 και 91,1% στα 2 και 5 εκ. αντίστοιχα). Όσον αφορά το παθογόνο *B. dothidea* η πλειοψηφία των βιολογικών παραγόντων παρουσίασαν υψηλή επίπεδα παρεμπόδισης που κυμαίνονταν από 69,9 έως 54,5% και από 83,7 έως 65,9% σε απόσταση 2 και εκ. από το σημείο μόλυνσης, αντίστοιχα. Τέλος, είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί επίσης ότι η αποτελεσματικότητα του εμπορικού σκευάσματος κυμάνθηκε μεταξύ 35,3 και 65,9%.

## ABSTRACT

Grapevine trunk diseases (GTDs) form an aggregate of fungal diseases that are currently considered the most destructive biotic factor of grapevines globally, reducing the longevity and profitable vineyard lifespan. GTDs management is mainly based on pruning wound protection. However, the ban of registered, effective plant protection products (e.g. sodium arsenite, methyl bromide, benomyl) and the lack of effective alternative methods, leads research efforts towards the development of novel active ingredients and cultivation practices that limit the problem. In this context, the competitive action of biological agents (fungi and bacteria) isolated from Cypriot vineyards was evaluated in this research. Initially, we evaluated the capacity of numerous potential biological control fungal strains, *Clonostachys rosea* (v=37), *Epicoccum nigrum* (v =1), *Fusarium oxysporum* (n=17), *Xylogone sphaerospora* (n=3) and the genus *Trichoderma* (n=2), as well as rhizobacterial strains *Bacillus subtilis* (4) and *B. wiedmannii*. (n=1), to inhibit the mycelial growth of five pathogens involved in GTDs (*Botryosphaeria dothidea*, *Neofusicoccum parvum*, *Phaeoconiella chlamydospora*, *Dactylonectria alcacerensis*, *D. torresensis*). The protective application of selected strains that exhibited significant *in vitro* mycelial inhibition was evaluated also *in planta* against two pathogens involved in Botryosphaeria dieback (*B. dothidea* and *N. parvum*). The commercial formulation Esquive® (*Trichoderma atroviridae*) was also included in this experiment, serving as a positive control. The highest disease control (%) of *N. parvum* was provided by the rhizobacterium strain X1Z (*B. wiedmannii*), both at 2 and 5 cm from the point of inoculation, at 93.1 and 96.6% respectively, compared to infected control. The application of *Trichoderma* 40b1 also provided high inhibition rates (76.8 and 91.1% at 2 and 5 cm respectively). Regarding *B. dothidea*, most of the examined biological agents showed high disease control rates ranging from 69.9 to 54.5% and from 83.7 to 65.9% at 2 and 5 cm from the point of infection, respectively. Finally, it is interesting to mention that the effectiveness of the commercial formulation ranged between 35.3 and 65.9%.



## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1 Εισαγωγή .....	1
1.1 Γηγενείς Κυπριακές ποικιλίες αμπέλου.....	2
1.1.1. ΞΥΝΙΣΤΕΡΙ .....	2
1.2 ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΤΟΥ ΞΥΛΟΥ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ .....	3
1.2.1 Σύνδρομο της Παρακμής Νεαρών Αμπελώνων -Ασθένεια της βάσης του υποκειμένου (Black foot disease) .....	4
1.2.2 Σύνδρομο της Παρακμής Νεαρών Αμπελώνων - Ασθένεια Petri .....	5
1.2.3.Σύμπλοκο της Ίσκας (Esca) .....	6
1.2.5. Μελανή νέκρωση των βραχίωνων (Botryosphaeria dieback).....	9
1.3 Διαχείριση των ασθενειών του ξύλου της αμπέλου.....	11
1.3.1 Κλάδεμα.....	12
1.3.2 Υγιεινή του αμπελώνα .....	14
1.3.3 Επανορθωτική χειρουργική επέμβαση .....	14
1.3.4 Θερμοθεραπεία (Hot water treatment, HWT) .....	14
1.3.5 Χημικά φυτοπροστατευτικά .....	15
1.3.4. Βιολογικός έλεγχος.....	16
1.4. Μηχανισμοί δράσης βιολογικών παραγόντων επί των φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών.....	18
1.4.1. Μυκοπαρασιτισμός.....	18
1.4.2. Ανταγωνισμός.....	18
1.4.3. Παραγωγή αντιβιοτικών .....	19
1.4.4. Επαγόμενη διασυστηματική αντοχή.....	19
1.4.5. Παραγωγή υδρολυτικών ενζύμων .....	20

1.4.6	Υδροκυάνιο.....	20
1.4.7	Πτητικές οργανικές ουσίες .....	20
1.4.8	PGPR - Plant Growth Promoting Rhizobacteria.....	21
1.4	ΣΤΟΧΟΣ.....	21
2	ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΕΡΕΥΝΑΣ.....	23
2.1	Συλλογή και απομόνωση δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν .....	23
2.2	Προσδιορισμός του ποσοστού παρεμπόδισης και ανάπτυξης για τους επιλεγμένους μύκητες ανά παθογόνο μύκητα και βακτήρια .....	23
2.2.1	Μέθοδος διπλής καλλιέργειας .....	23
2.3	Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας επιλεγμένων μυκήτων και βακτηριών έναντι παθογόνων μυκήτων υπό συνθήκες αγρού .....	26
3	Αποτελέσματα.....	31
3.1.	Αποτελέσματα της μεθόδου διπλής καλλιέργειας .....	31
3.2.	Αποτελέσματα επιλεγμένων μυκήτων και βακτηριών έναντι παθογόνων μυκήτων υπό συνθήκες αγρού. ....	40
4	Συζήτηση .....	47