

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ (UV-C) ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *BOTRYTIS CINEREA* ΣΕ ΑΝΘΗ ΦΡΕΖΙΑΣ

A. I. Δάρρας¹, N. Πομποδάκης¹ και Ειρήνη Βλουτόγλου²

¹ Cranfield University at Silsoe, Postharvest Technology Group, IBST, Silsoe, Bedfordshire, MK45 4DT, UK

² Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Τμήμα Φυτοπαθολογίας, Εργαστήριο Μυκητολογίας, Στ. Δέλτα 8, 145 61 Κηφισιά, Αθήνα

Περίληψη

Η κηλίδωση των πετάλων ανθέων φρέζιας (*Freesia hybrida* L.), που οφείλεται στο μύκητα *Botrytis cinerea* Pers.: Fr, αποτελεί σοβαρό πρόβλημα για παραγωγούς και εμπόρους δρεπτών ανθέων στις αγορές της Ολλανδίας και Αγγλίας. Σε πειράματα που έγιναν εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα της υπεριώδους ακτινοβολίας (UV-C), όταν εφαρμόζεται μετασυλλεκτικά, στην αντιμετώπιση του μύκητα *B. cinerea* σε σχέση με το χρόνο εφαρμογής και την ένταση. Τα πειράματα έδειξαν ότι πιο αποτελεσματική ήταν η υπεριώδης ακτινοβολία όταν εφαρμοζόταν μετά την τεχνητή μόλυνση των ανθέων με το παθογόνο παρά όταν εφαρμοζόταν πριν την τεχνητή μόλυνση. Πιο συγκεκριμένα, εφαρμογή 1 kJ/m² υπεριώδους ακτινοβολίας μετά την τεχνητή μόλυνση μείωσε την ένταση της ασθένειας, τον αριθμό και τη διάμετρο των νεκρωτικών κηλίδων κατά 74, 68 και 14%, αντίστοιχα σε σχέση με το μάρτυρα ($P < 0.05$). Επίσης, εφαρμογή 0.5, 2.5 και 5 kJ/m² υπεριώδους ακτινοβολίας μετά την τεχνητή μόλυνση μείωσε την ένταση της ασθένειας και τον αριθμό των νεκρωτικών κηλίδων κατά 46, 73 και 60% και κατά 37, 68 και 60%, αντίστοιχα. Αντίθετα, εφαρμογή 1 kJ/m² υπεριώδους ακτινοβολίας πριν την τεχνητή μόλυνση μείωσε την ένταση της ασθένειας και τον αριθμό των νεκρωτικών κηλίδων μόνο κατά 13 και 24%, αντίστοιχα σε σχέση με το μάρτυρα. Έκθεση σε 5 kJ/m² υπεριώδους ακτινοβολίας μείωσε τη διατηρησιμότητα κατά 1.4 ημέρες σε σχέση με το μάρτυρα.

Εισαγωγή

Ο μύκητας *B. cinerea* προσβάλλει ανθοκομικές καλλιέργειες στο θερμοκήπιο κάτω από συνθήκες υψηλής υγρασίας και χαμηλής θερμοκρασίας αλλά τα συμπτώματα της ασθένειας εμφανίζονται μετασυλλεκτικά στα δρεπτά άνθη κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης ή της μεταφοράς (Elad, 1988). Η ασθένεια προσβάλλει διάφορα είδη δρεπτών ανθέων, όπως το τριαντάφυλλο (Elad, 1988), τη ζέρμπερα (Salinas and Verhoeff, 1995) και το Geraldton waxflower (Joyce, 1993). Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αναφορές για προσβολή ανθέων φρέζιας από το μύκητα *B. cinerea*. Εντούτοις, μεγάλες ποσότητες προσβεβλημένων ανθέων φρέζιας προέλευσης Ολλανδίας απορρίπτονται κατά την εισαγωγή τους στην Αγγλία, προκαλώντας οικονομικές απώλειες στους παραγωγούς και τους εμπόρους (Darras *et al.*, 2004).

Έχει αναφερθεί ότι μικρές εντάσεις υπεριώδους ακτινοβολίας (UV-C) περιορίζουν τις μετασυλλεκτικές ασθένειες σε φρούτα και λαχανικά (Stevens *et al.*, 1996) και ότι η δράση αυτή είναι είτε άμεση (μικροβιοκτόνος) είτε έμμεση (επαγωγή των αμυντικών μηχανισμών του ξενιστή) (Chappell and Hahlbrock, 1984). Σκοπός της παρούσας

εργασίας ήταν η μελέτη του τρόπου δράσης καθώς και της αποτελεσματικότητας της υπεριώδους ακτινοβολίας (UV-C) στην αντιμετώπιση της ασθένειας που προκαλεί ο μύκητας *B. cinerea* στα δρεπτά άνθη φρέζιας.

Υλικά και μέθοδοι

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν ανθικά στελέχη φρέζιας (*Freesia hybrida*, ποικ. 'Cote d'Azur') με όλα τα άνθη στο στάδιο του κλειστού μπουμπουκιού. Για την ακτινοβολία χρησιμοποιήθηκαν χαμηλής πίεσης UV λάμπες (Osram HNS OFR, 2.5 x 88 cm, διάμετρος x μήκος), που τοποθετήθηκαν σε απόσταση 15 cm μεταξύ τους και σε ύψος 25 cm από τα άνθη. Η ακτινοβολία μετρήθηκε σε θερμοκρασία 20°C με τη βοήθεια ενός οπτικού ραδιομέτρου στο οποίο τοποθετήθηκε αισθητήρας υπεριώδους ακτινοβολίας UV-C στα 254 nm (Ultra-violet Products, Cambridge, UK). Τα άνθη τοποθετήθηκαν οριζόντια σε πλαστικούς δίσκους και περιστράφηκαν κατά τον επιμήκη άξονά τους ώστε και οι δύο πλευρές τους να εκτεθούν στην ίδια ένταση ακτινοβολίας. Δοκιμάστηκαν συνολικά πέντε εντάσεις υπεριώδους ακτινοβολίας των 0, 0.5, 1, 2.5 και 5 kJ/m², ενώ ο χρόνος έκθεσης των ανθέων υπολογίστηκε σύμφωνα με την εξίσωση: Χρόνος έκθεσης = Ένταση / 0.64. Όπου 0.64 mW/cm² είναι ο ρυθμός έντασης ο οποίος μετρήθηκε με τη βοήθεια ραδιομέτρου στις συνθήκες του πειράματος.

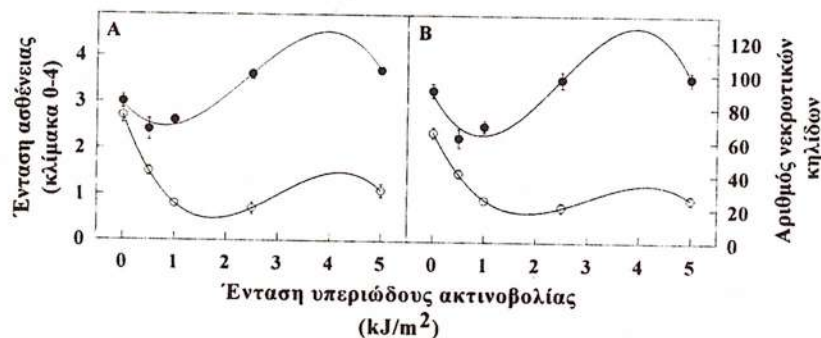
Τα άνθη μολύνθηκαν τεχνητά με αιώρημα κονιδίων του μύκητα *B. cinerea* είτε λίγο πριν είτε 24 h μετά την έκθεσή τους στην υπεριώδη ακτινοβολία. Η τεχνητή μόλυνση των ανθέων έγινε με ψεκάσμο μέχρι πλήρους διαβροχής με αιώρημα κονιδίων του μύκητα συγκέντρωσης 10⁴ κονίδια/ml. Μετά τη μόλυνση, τα άνθη καλύφθηκαν με διαφανείς πλαστικές σακούλες ώστε να εξασφαλιστούν ευνοϊκές για τη μόλυνση συνθήκες υγρασίας (RH 100%). Ακολούθως, τα άνθη τοποθετήθηκαν μεμονωμένα σε ανθοδοχεία όγκου 284 ml και επωάστηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας 20°C, μέχρι τη λήψη των αποτελεσμάτων. Για κάθε ένταση υπεριώδους ακτινοβολίας και χρόνο εφαρμογής χρησιμοποιήθηκαν 10 άνθη (επαναλήψεις). Η λήψη των αποτελεσμάτων έγινε 24, 48 και 72 h μετά την τεχνητή μόλυνση. Εκτιμήθηκε η ένταση της ασθένειας με τη χρήση της αυθαίρετης κλίμακας 0 - 4 (0 = απουσία νεκρωτικών κηλίδων στα πέταλα, 1 = 0-5%, 2 = 5-25%, 3 = 25-50%, και 4 = 50-100% κάλυψη των πετάλων με νεκρωτικές κηλίδες), ο αριθμός και η διάμετρος των νεκρωτικών κηλίδων.

Σε δεύτερο πείραμα, που έγινε παράλληλα με το πρώτο σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών, μελετήθηκε η επίδραση της έντασης της υπεριώδους ακτινοβολίας στη διατηρησιμότητα των ανθέων φρέζιας στο ανθοδοχείο (σε ημέρες) και στο ναπό βάρος (ποσοστό μεταβολής του ναπού βάρους των ανθέων).

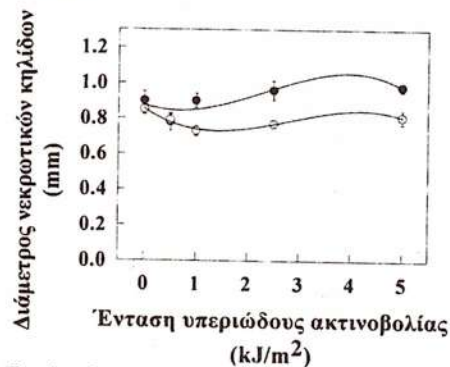
Αποτελέσματα και Συζήτηση

Τα άνθη που εκτέθηκαν στην υπεριώδη ακτινοβολία μετά την τεχνητή μόλυνση με το μύκητα *B. cinerea* εμφάνισαν χαμηλότερη ένταση ασθένειας τόσο σε σχέση με εκείνα που εκτέθηκαν πριν την τεχνητή μόλυνση όσο και με τους μάρτυρες (Εικόνα 1). Η ένταση της ασθένειας και ο αριθμός των κηλίδων στα άνθη που εκτέθηκαν μετά την τεχνητή μόλυνση σε 0.5, 1, 2.5 ή 5 kJ/m² υπεριώδους ακτινοβολίας μειώθηκε κατά 46, 70, 73 και 60% και κατά 37, 62, 68 και 60%, αντίστοιχα σε σχέση με το μάρτυρα (Εικόνα 1, Α & Β). Είναι πιθανόν, η υπεριώδης ακτινοβολία να παρεμπόδιζε τη βλάστηση των κονιδίων του μύκητα και επομένως να μείωσε σημαντικά την ασθένεια,

καθόσον σύμφωνα με πειράματα *in vitro* των Marquenie *et al.* (2002), ένταση 1 kJ/m^2 υπεριώδους ακτινοβολίας σταμάτησε τη βλάστηση των κονιδίων του μύκητα *B. cinerea*. Έκθεση των ανθέων σε 1 kJ/m^2 μετά την τεχνητή μόλυνση, μείωσε στατιστικά σημαντικά ($P < 0.05$) τη διάμετρο των νεκρωτικών κηλίδων (Εικόνα 2).



Εικόνα 1: Ένταση ασθένειας (Α) και αριθμός νεκρωτικών κηλίδων (Β) σε άνθη φρέζιας που εκτέθηκαν σε 0, 0.5, 1, 2.5 ή 5 kJ/m^2 υπεριώδους ακτινοβολίας. Η έκθεση έγινε λίγο πριν (●) ή 24 h μετά (○) την τεχνητή μόλυνση των ανθέων με το μύκητα *B. cinerea*.



Εικόνα 2: Διάμετρος νεκρωτικών κηλίδων σε άνθη φρέζιας που εκτέθηκαν σε 0, 0.5, 1, 2.5 ή 5 kJ/m^2 υπεριώδους ακτινοβολίας. Η έκθεση έγινε λίγο πριν (●) ή 24 h μετά (○) την τεχνητή μόλυνση των ανθέων με το μύκητα *B. cinerea*.

Καμία άλλη ένταση δεν μείωσε σημαντικά τη διάμετρο των νεκρωτικών κηλίδων (Εικόνα 2). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν επίσης ότι μείωση του αριθμού των νεκρωτικών κηλίδων και της έντασης της ασθένειας σε σχέση με το μάρτυρα μετά από επαγωγή των αμυντικών μηχανισμών του ξενιστή επιτεύχθηκε μόνο μετά από έκθεση των ανθέων σε 0.5 ή 1 kJ/m^2 υπεριώδους ακτινοβολίας πριν την τεχνητή μόλυνσή τους (Εικόνα 1, Α & Β). Η μετασυσλεκτική χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας έντασης $0.125 - 4 \text{ kJ/m}^2$ σε σταφύλια (Nigro *et al.*, 1998) και $1 - 40 \text{ kJ/m}^2$ σε τομάτες (Liu *et al.*, 1993) έχει αποδειχθεί ότι προάγει τους αμυντικούς μηχανισμούς του ξενιστή που σχετίζονται με την δράση της φαινολαλανίνης και την παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών οι οποίοι βοηθούν στην καταστολή του μύκητα *B. cinerea*.

Τα αποτελέσματα όμως της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι έκθεση των ανθέων φρέζιας σε υψηλές δόσεις υπεριώδους ακτινοβολίας (2.5 ή 5 kJ/m^2) πριν την τεχνητή μόλυνση, προκάλεσε τραυματισμό των επιδερμικών κυττάρων και μεγαλύτερη ένταση ασθένειας (Εικόνα 1Α), ενώ παράλληλα μείωσε στατιστικά σημαντικά ($P<0.05$) τη διατηρησιμότητα των ανθέων στο ανθοδοχείο σε σχέση με το μάρτυρα (Πίνακας 1). Το νωπό βάρος των ανθέων που εκτέθηκαν σε 5 kJ/m^2 υπεριώδους ακτινοβολίας μειώθηκε στατιστικά σημαντικά ($P<0.05$) σε σχέση με το μάρτυρα, 6 και 8 ημέρες μετά την τοποθέτησή τους στο ανθοδοχείο (τα αποτελέσματα δεν εμφανίζονται). Εφαρμογή της υπεριώδους ακτινοβολίας μετασυσλεκτικά θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση της κηλίδωσης των πετάλων ανθέων φρέζιας από το μύκητα *B. cinerea*.

Πίνακας 1: Διατηρησιμότητα ανθέων φρέζιας μετά από έκθεση σε 0, 0.5, 1, 2.5 ή 5 kJ/m^2 υπεριώδους ακτινοβολίας (Υ.Α.)

Ένταση Υ.Α. (kJ/m^2)	Διατηρησιμότητα (ημέρες)	Φυτοτοξικότητα
0.0	10.3 α*	-
0.5	9.9 α	-
1.0	9.9 α	-
2.5	9.6 αβ	+
5.0	8.9 β	+

* Μέσοι όροι ($n=10$) με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (Duncan, $p=0.05$).

Βιβλιογραφία

- Chappell, J. and Hahlbrock, K., 1984. Transcription of plant defence genes in response to UV light or fungal elicitor. *Nature* 311 :76-78.
- Elad, Y., 1988. Latent infection of *Botrytis cinerea* in rose flowers and combined chemical and physiological control of the disease. *Crop Prot.* 7: 361-366.
- Darras, A.I., Joyce, D.C. and Terry L.A., 2004. A survey of possible associations between pre-harvest environment conditions and post-harvest rejections of cut freesia flowers. *Aust. J. Exp. Agr.* 44: 103-108.
- Joyce, D.C. 1993. Postharvest floral organ fall in Geraldton waxflowers (*Chamelauicum uncinatum* Schauert). *Aust. J. Exp. Agr.* 33: 481-487.
- Liu, J., Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J.Y., Wilson, C.L. Adeyeye, O., Kabwe, M.K., Pusey, P.L., Chalutz, E., Sultana, T., and Droby, S., 1993. Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. *J. Food Prot.* 56: 868-872.
- Marquenie, D., Lammertyn, J., Geeraerd, A.H., Soontjens, C., Van Impe, J.F., Nicolai, B.M., and Michiels, C.W., 2002. Using survival analysis to investigate the effect of UV-C and heat treatment on storage rot of strawberry and sweet cherry. *International J. Food Micr.* 73: 187-196.
- Nigro, F., Ippolito, A., Lima, G., 1998. Use of UV-C light to reduce *Botrytis* storage rot of table grapes. *Post. Biol. Tech.* 13: 171-181.
- Salinas, J., and Verhoeff, K., 1995. Microscopic studies of the infection of gerbera flowers by *Botrytis cinerea*. *Eur. J. Pl. Path.* 101: 377-386.
- Stevens, C., Wilson, C.L., Lu, J.Y., Khan, V.A., Chalutz, E., Droby, S., Kabwe, M.K., Haung, Z., Adeyeye, O., Pusey, L.P., Wisniewski, M.E., and West, M., 1996. Plant hormones induced by ultraviolet light-C for controlling postharvest disease of tree fruits. *Crop Prot.* 15: 129-134.