



Αξιολόγηση του βιολογικού σκευάσματος Serifel® (*Bacillus amyloliquefaciens* στέλεχος MBI600) στην ανάπτυξη μυκήτων *Colletotrichum* spp.

Δημήτριος Σαρέλλης, Χριστίνα Λαγογιάννη, Στέργιος Μπιτιβάνος, Δημήτριος Σέρβης, Αλίκη Τζίμα, Επαμεινώνδας Παπλωματάς

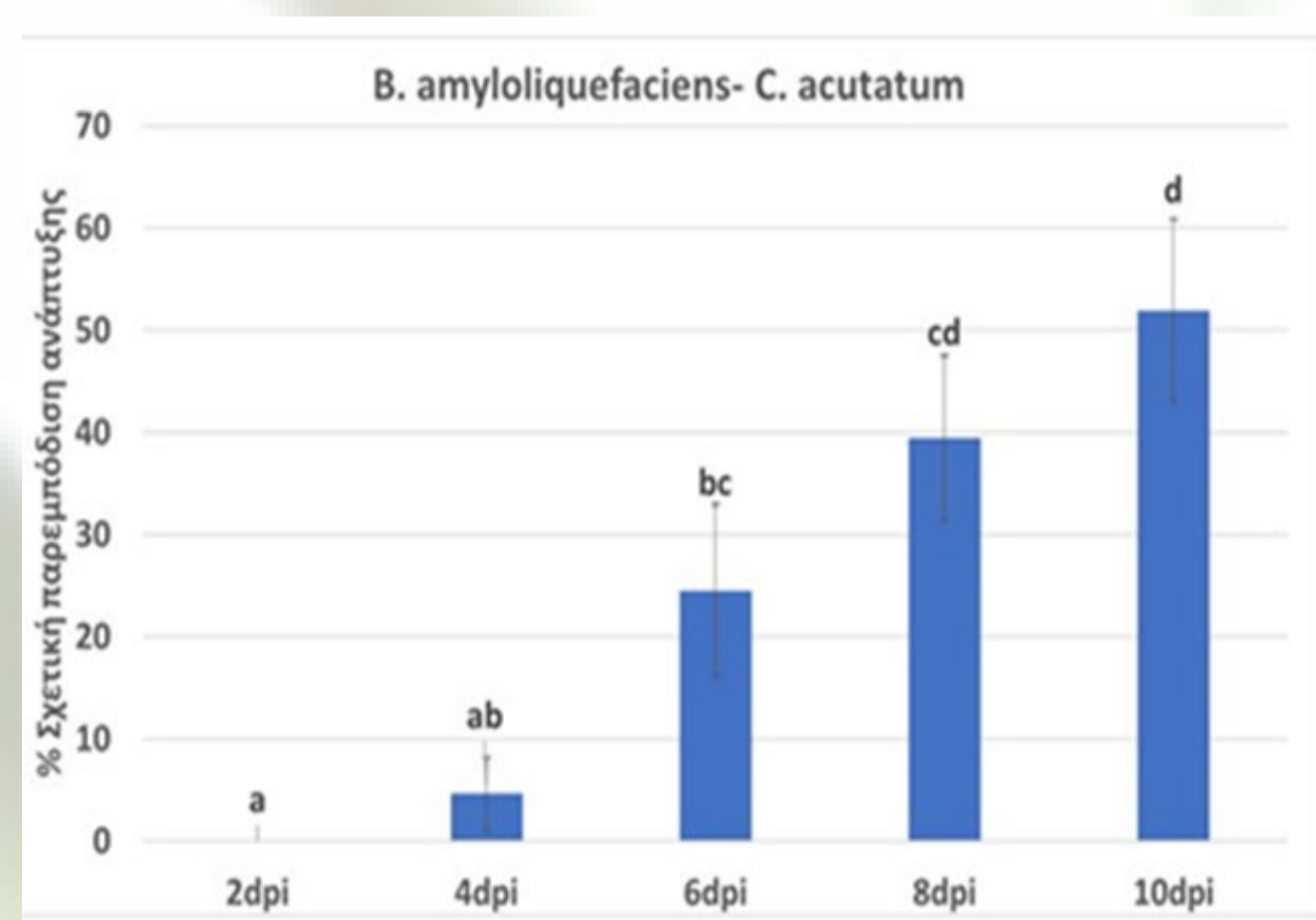
Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα, email: epaplom@aua.gr

Εισαγωγή

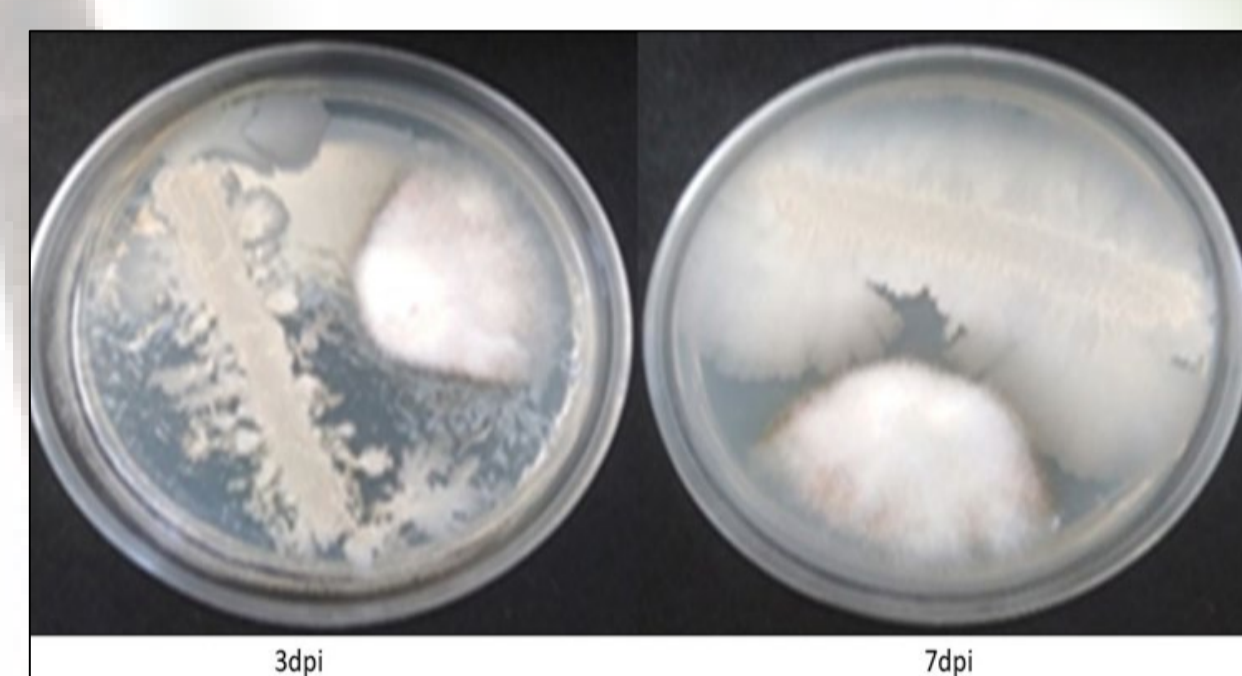
Η ασθένεια του Γλοιοσπορίου ή ανθράκωση της ελιάς είναι η σοβαρότερη ασθένεια του ελαιόκαρπου, που προκαλείται από μύκητες του γένους *Colletotrichum*. Η αντιμετώπιση της μέχρι τώρα βασίζεται μόνο στη χρήση χαλκικών και οργανικών μυκητοκτόνων, προκαλώντας προβλήματα ανθεκτικότητας και συσσώρευσης υπολειμμάτων στα παραγόμενα προϊόντα και στο περιβάλλον.

In vitro πειράματα ανταγωνιστικότητας

Σε *in vitro* πειράματα ανταγωνιστικότητας ο βάκιλος παρεμπόδισε την μυκηλιακή αύξηση στελέχους του μύκητα *C. acutatum* μέχρι 50%, όταν αναπτύσσονται στον ίδιο χώρο (Εικ.1, Διαγ.1).



Διάγ. 1: Η παρεμπόδιση που ασκείται στην ανάπτυξη του μύκητα *C. acutatum*, από τον ανταγωνισμό του *Bacillus amyloliquefaciens* για χώρο και θρεπτικά στοιχεία.



Εικόνα 1: Αξιολόγηση της ικανότητας του *Bacillus amyloliquefaciens* στέλεχος MBI600 να παρεμπόδιζει την ανάπτυξη του παθογόνου μύκητα *C. acutatum*

Μέσω πτητικών ενώσεων που παράγει το βακτήριο παρεμποδίστηκε η ανάπτυξη του *C. acutatum* μέχρι 30% (Εικ.2). Επίσης, νεκρωμένα (με χλωροφόρμιο) κύτταρα βακίλου παρεμποδίζουν την ανάπτυξη του μύκητα μέσω παραγωγής δευτερογενών μεταβολιτών, δημιουργώντας ζώνη παρεμπόδισης (Εικ. 3).



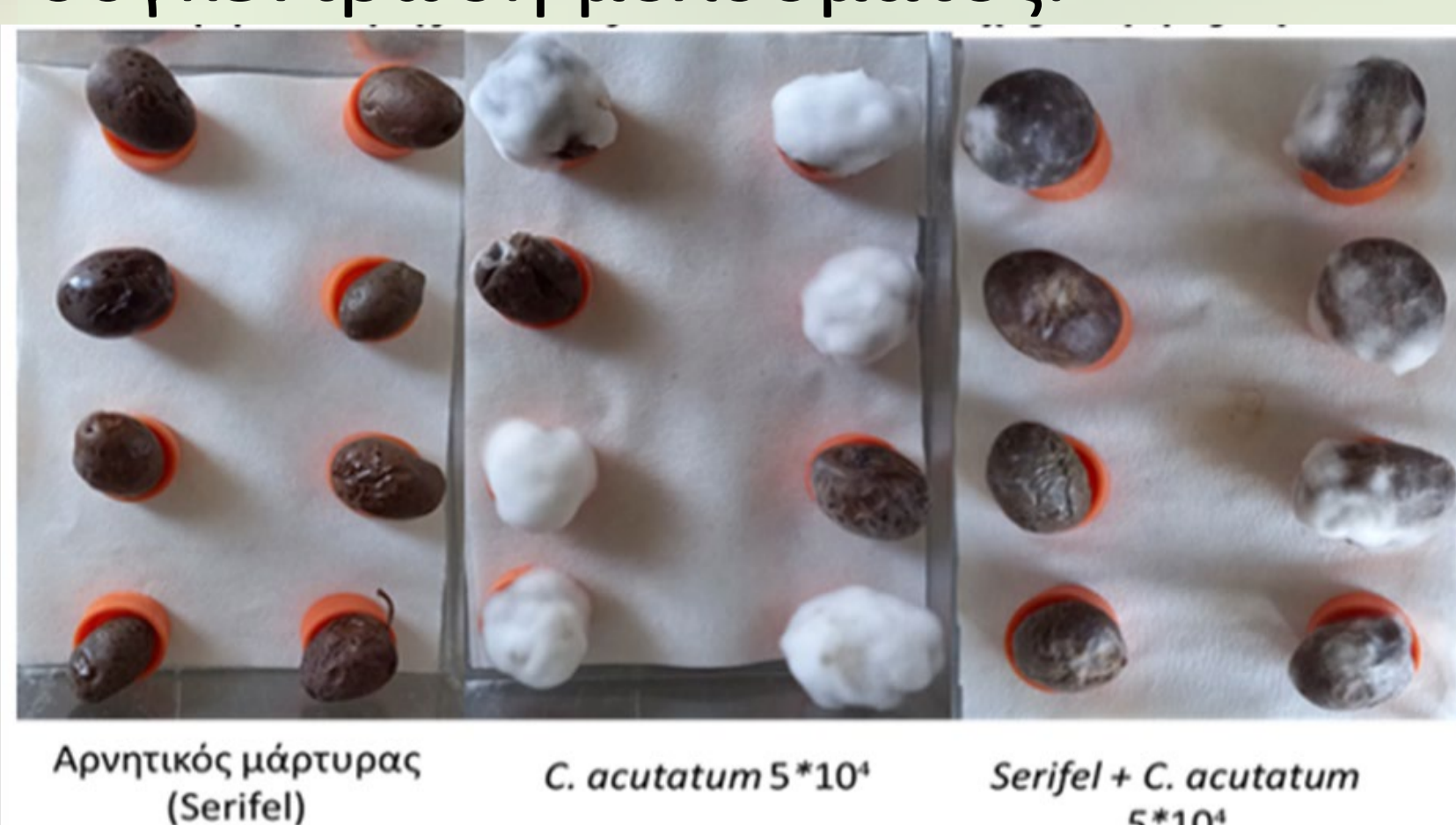
Εικόνα 2: Αξιολόγηση του *Bacillus amyloliquefaciens* στέλεχος MBI600 να παρεμπόδιζει την ανάπτυξη του *C. acutatum* μέσω πτητικών ουσιών, μετά από ταυτόχρονη ανάπτυξη σε τριβλίο με PDA και διαχωριστικό.



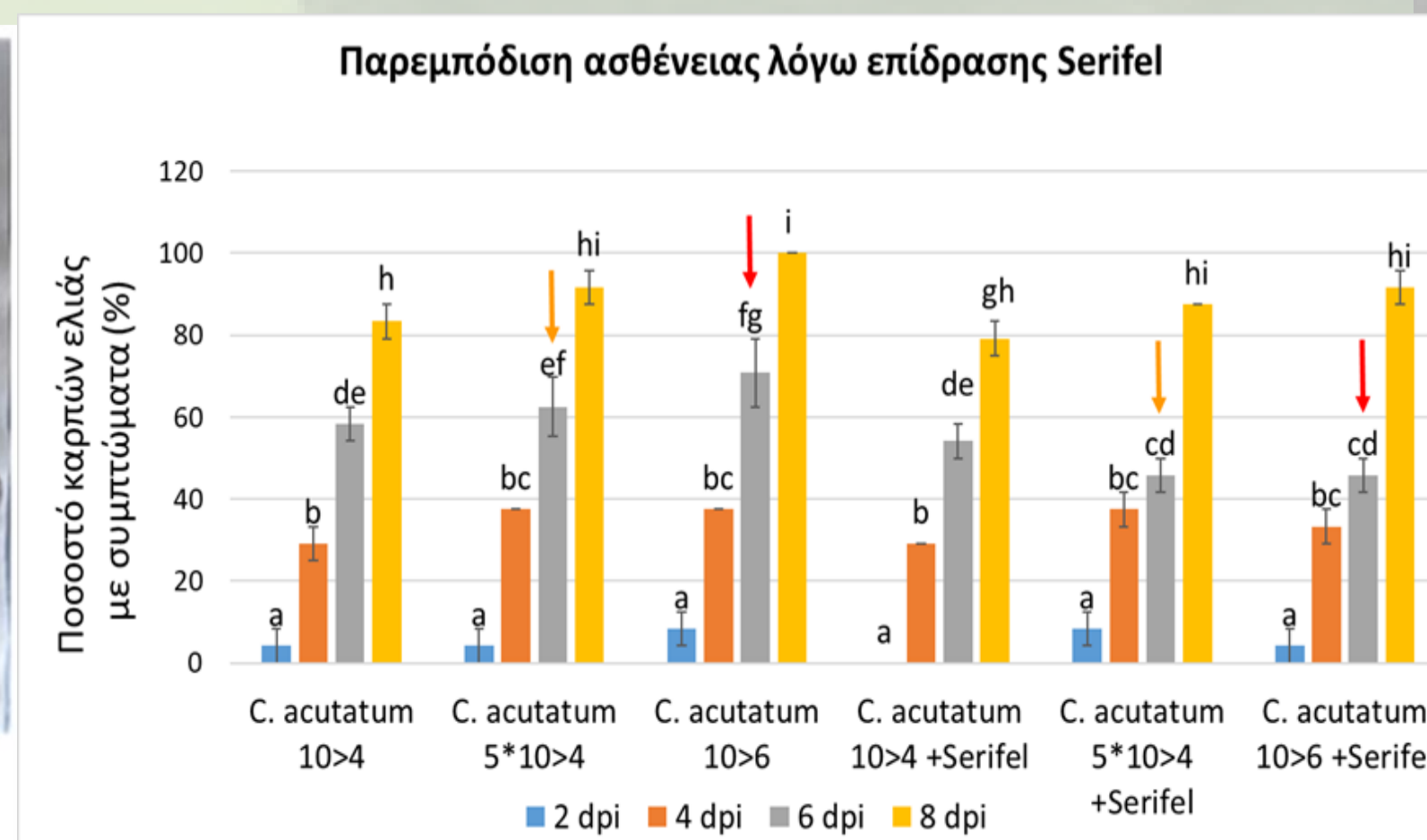
Εικόνα 3: Το βακτήριο *Bacillus amyloliquefaciens* (MBI600) παρεμπόδιζει την ανάπτυξη του *C. acutatum*, μέσω παραγωγής δευτερογενών μεταβολιτών στα 4 dpi μετά από έκθεση σε χλωροφόρμιο για 50 λεπτά.

Αξιολόγηση του βιολογικού σκευάσματος SERIFEL® στην παρεμπόδιση του μύκητα *C. acutatum* σε καρπούς ελιάς

Η εφαρμογή του βιολογικού σκευάσματος Serifel® σε καρπούς ελιάς, έναντι του μύκητα *C. acutatum* επέφερε στατιστικά σημαντική μείωση της ασθένειας στις 6 μέρες μετά την μόλυνση με μέτρια και υψηλή συγκέντρωση μολύσματος.



Εικόνα 4: Παρεμπόδιση στην ένταση της ασθένειας που προκαλεί ο μύκητας *C. acutatum*- Στέλεχος αναφοράς στα 6 dpi σε συγκέντρωση 5×10^4 κον/μL. Η μόλυνση πραγματοποιήθηκε 5 ημέρες μετά από εμβάπτιση των καρπών στο βιολογικό σκευάμα Serifel® (δόση ετικέτας)



Διαγ.3: Αξιολόγηση της παρεμπόδισης στην εξέλιξη της έντασης της ασθένειας που προκαλεί ψεκασμός του μύκητα *C. acutatum*, με 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις μολύσματος (10^4 , 5×10^4 και 10^6 σπόρια μύκητα / ml) 5 ημέρες μετά από εμβάπτιση καρπών ποικιλίας Καλαμών στο βιολογικό σκευάμα Serifel® (δόση ετικέτας)

Σκοπός της Εργασίας

Η αξιολόγηση του βιολογικού σκευάσματος Serifel® (*Bacillus amyloliquefaciens* στέλεχος MBI600) ως προς:

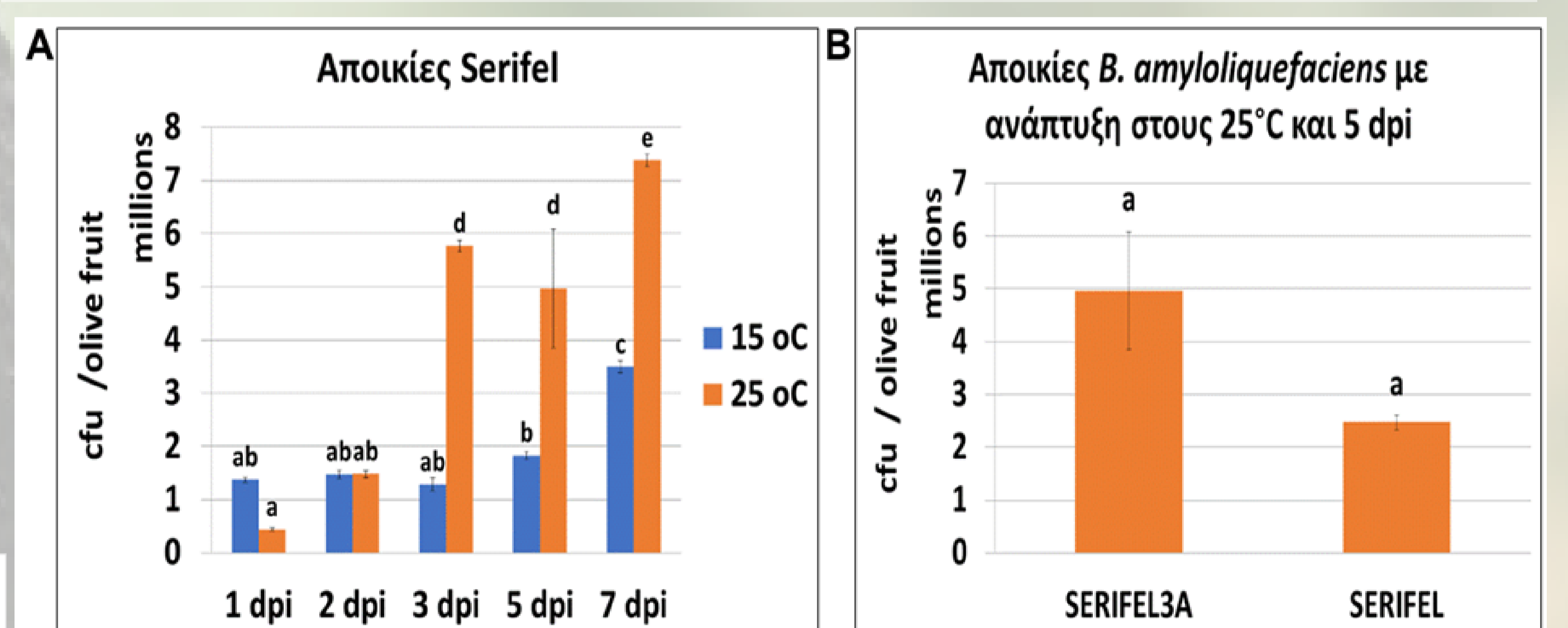
- Την παρεμπόδιση της ανάπτυξης μυκήτων *Colletotrichum* spp. *in vitro* και σε καρπούς ελιάς
- Συνθήκες εγκατάστασης του βακτηρίου σε καρπούς ελιάς

Συμπεράσματα

- Το βακτήριο *B. amyloliquefaciens* στέλεχος MBI600 του βιολογικού σκευάσματος Serifel® παρεμπόδισε *in vitro* την ανάπτυξη του *C. acutatum* μέσω πτητικών ενώσεων και δευτερογενών μεταβολιτών.
- Το βακτήριο εγκαθίσταται πιο αποτελεσματικά σε καρπούς ελιάς μετά από πάροδο 3-7 ημερών στους 25°C
- Εφαρμογή του Serifel® σε καρπούς ελιάς μείωσε σημαντικά την ασθένεια έναντι του μύκητα *C. acutatum* 6 μέρες μετά την μόλυνση.
- Ωστόσο απαιτείται περαιτέρω πειραματισμός της δράσης του βιολογικού σκευάσματος Serifel®

Εγκατάσταση του *B. amyloliquefaciens* MBI600 σε καρπούς ελιάς

Κατά την διερεύνηση των συνθηκών εγκατάστασης του *Bacillus amyloliquefaciens* στέλεχος MBI600 σε καρπούς ελιάς, παρατηρήθηκε ότι στους 25°C, ο πληθυσμός του βακτηρίου βαίνει αυξανόμενος από την 3^η μέρα μετά την εφαρμογή (~13 φορές αύξηση σε σχέση με την 1^η μέρα) μέχρι και την 7^η μέρα (~16 φορές αύξηση). Κατά την επώαση στους 15°C, ο πληθυσμός αυξάνεται σημαντικά στα 7 dpi ($3,5 \times 10^6$ cfu), χωρίς να φτάσει τα επίπεδα πληθυσμού στους 25°C (Διαγ. 2A). Προσθήκη του υγρού λιπάσματος TriaAlfa Essence® διπλασίασε τον πληθυσμό του βακτηρίου στον ελαιόκαρπο αν και όχι στατιστικά σημαντικά (Διαγ. 2A).



Διαγ. 2A-B: A) Εγκατάσταση και ανάπτυξη αποικιών του βακίλου *B. amyloliquefaciens* στέλεχος MBI600 παρουσία TriaAlfa Essence® πάνω σε καρπούς ελιάς, ποικιλίας Κορωνέικη, υπό την επίδραση δύο θερμοκρασιών, 15°C και 25°C B) Έλεγχος επίδρασης TriaAlfa Essence® στον πληθυσμό του *B. amyloliquefaciens* στέλεχος MBI600 πάνω σε καρπούς ελιάς ίδιας ποικιλίας, στους 25°C μετά από 5 μέρες ανάπτυξης.

Βιβλιογραφία: 1) Cacciola, S.O., et al. 2012. Journal of Plant Pathology 94:29, 2) Schena et al., 2017. EJP 149:337, 3) Iliadi et al., 2018. Plant Disease 102:4, 820, 4) Hyun et al., 2013. Mycobiology, 41:4, 234

Χρηματοδότηση: Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε στα πλαίσια ιδιωτικού προγράμματος ανάμεσα στην εταιρεία BASF με τον ΕΛΚΕ ΓΠΑ (κωδικός έργου 34.0468) κατά την περίοδο 2019-2020.