



Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος

Παραδοτέο Π.3.4.2: Αποτελεσματικότητα φυτοπροστατευτικής ή βιοδιεγερτικής δράσης φυσικών προϊόντων προερχόμενα από φυτικές πηγές, από την αξιοποίηση μεταβολικά τροποποιημένων μικροβιακών βιοεργοστασίων

Πληροφορίες για το έγγραφο

Αριθμός παραδοτέου: **Π.3.4.2**

Ενότητα εργασίας: **ΕΕ3**

Επικεφαλής δικαιούχος: **[ΕΛΜΕΠΑ]**

Συγγραφείς: **[Βερβερίδης Φίλιππος, Πιπεράκης Νικόλαος, Τραντάς Εμμανουήλ]**

Έκδοση: **1.0**

Είδος Παραδοτέου: **[Έκθεση]**

Ημερομηνία παράδοσης: **[15 - Δεκεμβρίου – 2025]**

Στοιχεία Πράξης

Τίτλος: Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος

Τίτλος (EN): InnoPP-Innovations in Plant Protection for sustainable and environmentally friendly pest control

Κωδικός πράξης: ΤΑΕDR-0535675

Ακρωνύμιο έργου: InnoPP

Ημερομηνία έναρξης: 15 Μαΐου 2023

Διάρκεια: 28 Μήνες

Συντονιστής Φορέας: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Συντονιστής/ Επιστημονικός Υπεύθυνος: Ιωάννης Βόντας

Πίνακας Περιεχομένων

Περίληψη του Έργου	3
Σύνοψη της ΕΕ3	3
Συνοπτική παρουσίαση του παραδοτέου Π3.4.2	3
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ	4
2 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ	4
2.1 Υλικά και μέθοδοι	4
2.2 Αποτελέσματα και συζήτηση	5
2.2.1. Δράση του σκευάσματος “BIOMORE” σε ελεγχόμενες συνθήκες Εργαστηρίου στο φυτοπαθογόνο βακτήριο <i>Xanthomonas campestris pv campestris</i> (Xcc).	5
2.2.2. Δράση του σκευάσματος “BIOMORE” σε ελεγχόμενες συνθήκες Εργαστηρίου στο φυτοπαθογόνο βακτήριο <i>Pseudomonas syringae pv tomato</i> (Pst)	11
2.2.3. Δράση του σκευάσματος “BIOMORE” σε ελεγχόμενες συνθήκες Εργαστηρίου ενάντια στην ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων μυκήτων: <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Verticillium dahliae</i>	15
2.2.4. Δράση του σκευάσματος “BIOMORE” σε <i>in planta</i> πειράματα εφαρμογής	16
2.2.4.1. Προετοιμασία σκευάσματος BIOMORE για τους ψεκασμούς των φυτών	16
2.2.4.2. <i>In planta</i> πειράματα - Δράση του σκευάσματος “BIOMORE” σε φυτά που αναπτύσσονται σε ελεγχόμενες συνθήκες θαλάμου ανάπτυξης στα φυτοπαθογόνα βακτήρια <i>Xanthomonas campestris pv campestris</i> (Xcc) στο μπρόκολο	17
2.2.4.3. <i>In planta</i> πειράματα - Δράση του σκευάσματος “BIOMORE” σε φυτά που αναπτύσσονται σε συνθήκες ανοικτού θερμοκηπίου στα φυτοπαθογόνα βακτήρια <i>Pseudomonas syringae pv tomato</i> (Pst) στην τομάτα.	21
3 ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	24
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ	25

Περίληψη του Έργου

Το έργο «Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος» στοχεύει στην ανάπτυξη σύγχρονων και καινοτόμων μεθόδων για την προστασία των καλλιεργειών όπως τα κηπευτικά, τα εσπεριδοειδή και το επιτραπέζιο σταφύλι. Περιλαμβάνει τη δημιουργία προηγμένων διαγνωστικών εργαλείων για την ανίχνευση εχθρών και παθογόνων με τεχνολογίες αιχμής, όπως ηλεκτρονικές παγίδες και βιοαισθητήρες, καθώς και πλατφόρμες αλληλούχισης για τον πλήρη προσδιορισμό των ιωμάτων. Επιπλέον, θα αναπτυχθούν μοντέλα πρόβλεψης επιδημιών και καινοτόμα βιοφυτοπροστατευτικά προϊόντα, τα οποία θα αξιολογηθούν για την ασφάλεια τους σε μη στόχους οργανισμούς. Τέλος, οι νέες τεχνολογίες θα ενσωματωθούν σε συστήματα ολοκληρωμένης διαχείρισης φυτοπροστασίας και θα δοκιμαστούν σε πραγματικές συνθήκες, ενώ θα αξιολογηθούν οι κοινωνικοοικονομικές και περιβαλλοντικές επιπτώσεις τους.

Σύνοψη της ΕΕ3

Οι δραστηριότητες της ΕΕ3 περιλαμβάνουν τις βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας και τη βελτίωση και ανάπτυξη καινοτόμων μεθόδων και προϊόντων. Κύριες δράσεις της ΕΕ3 περιλαμβάνουν την ανάπτυξη και αξιολόγηση καινοτόμων βιοφυτοπροστατευτικών προϊόντων, όπως:

- βιοδραστικά μορία ανάπτυξης αντοχής στα φυτά (πεπτίδια, μεταβολίτες),
- φυτοπροστατευτικά φυσικής προέλευσης (εκχυλίσματα, μικροβιακοί μεταβολίτες, «green»),
- νέας γενιάς ελκυστικά και απωθητικά (παγίδες, παρεμπόδιση σύζευξης),
- ανθεκτικές ποικιλίες (και αλληλεπιδράσεις με το οικοσύστημα και τα ωφέλιμα).

Για τα πιο αποτελεσματικά καινοτόμα βιοφυτοπροστατευτικά, θα μελετηθούν και οι επιπτώσεις τους σε οργανισμούς μη στόχους (φυσικοί εχθροί, επικονιαστές, υδρόβιοι οργανισμοί, κυτταροκαλλιέργειες θηλαστικών).

Συνοπτική παρουσίαση του παραδοτέου Π3.4.2

Το παρόν παραδοτέο αποτελεί συνέχεια του έργου «INNOVA-PROTECT», στο πλαίσιο του οποίου αναπτύχθηκαν οι προδιαγραφές για το σκεύασμα «BIOMORE», το οποίο παρουσιάζει φυτοπροστατευτική και δυναμικά βιοδιεγερτική δράση. Το σκεύασμα έχει υποβληθεί για κατοχύρωση διπλώματος ευρεσιτεχνίας (EPO και WIPO). Στο πλαίσιο του Π.3.4.2, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές αποτελεσματικότητας του σκευάσματος έναντι σημαντικών παθογόνων, όπως:

- *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*, *Pseudomonas syringae* pv. tomato (σε τομάτα).
- *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (σε μπρόκολο). Επιπρόσθετα, αναμένονται τα αποτελέσματα δοκιμών έναντι εντομολογικών εχθρών (*Tuta absoluta*, *Tetranychus urticae* κ.ά.), καθώς και η αξιολόγηση της βιοδιεγερτικής του δράσης.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ

Το φυτοπαθογόνο βακτήριο *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) είναι ένα Gram-αρνητικό, υποχρεωτικά αερόβιο βακτήριο της οικογένειας Xanthomonadaceae και αποτελεί το αίτιο της μαύρης σήψης (black rot) στα σταυρανθή, μιας από τις σοβαρότερες ασθένειες παγκοσμίως. Η προσβολή εκδηλώνεται με την εμφάνιση νεκρωτικών κηλίδων σχήματος V με χαρακτηριστικό χλωρωτικό περιθώριο στα φύλλα, οδηγώντας σε πρόωρη φυλλόπτωση και μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας.

Το *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst) είναι το αίτιο της βακτηριακής κηλίδωσης της τομάτας. Προκαλεί το σχηματισμό νεκρωτικών κηλίδων σε φύλλα και καρπούς, οδηγώντας σε ποιοτική υποβάθμιση και μείωση της παραγωγής. Η ανάπτυξή του ευνοείται σε συνθήκες υψηλής υγρασίας και χαμηλών θερμοκρασιών.

Οι μύκητες του γένους *Verticillium* spp. και το *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* αποτελούν σημαντικά αγγειακά παθογόνα (αδρομυκώσεις) της τομάτας, προκαλώντας μάρανση μέσω του αποικισμού των αγγεία του ξύλου. Η αντιμετώπισή τους είναι δυσχερής λόγω της μακροχρόνιας επιβίωσης των μορφών αναπαραγωγής τους στο έδαφος.

Κατά τη διάρκεια των εργασιών πραγματοποιήθηκε δοκιμή της φυτοπροστατευτικής δράσης του σκευάσματος "BIOMORE" για τα παραπάνω φυτοπαθογόνα in vitro και in vivo (συνθήκες θαλάμου ανάπτυξης και θερμοκηπίου).

2. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

2.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικά συστατικά πρωτόκολλα σύνθεσης του σκευάσματος BIOMORE, όπως προέκυψαν από το παραδοτέο Π3.4.3, το οποίο μελετήθηκε πρώτο για ευνόητους λόγους.

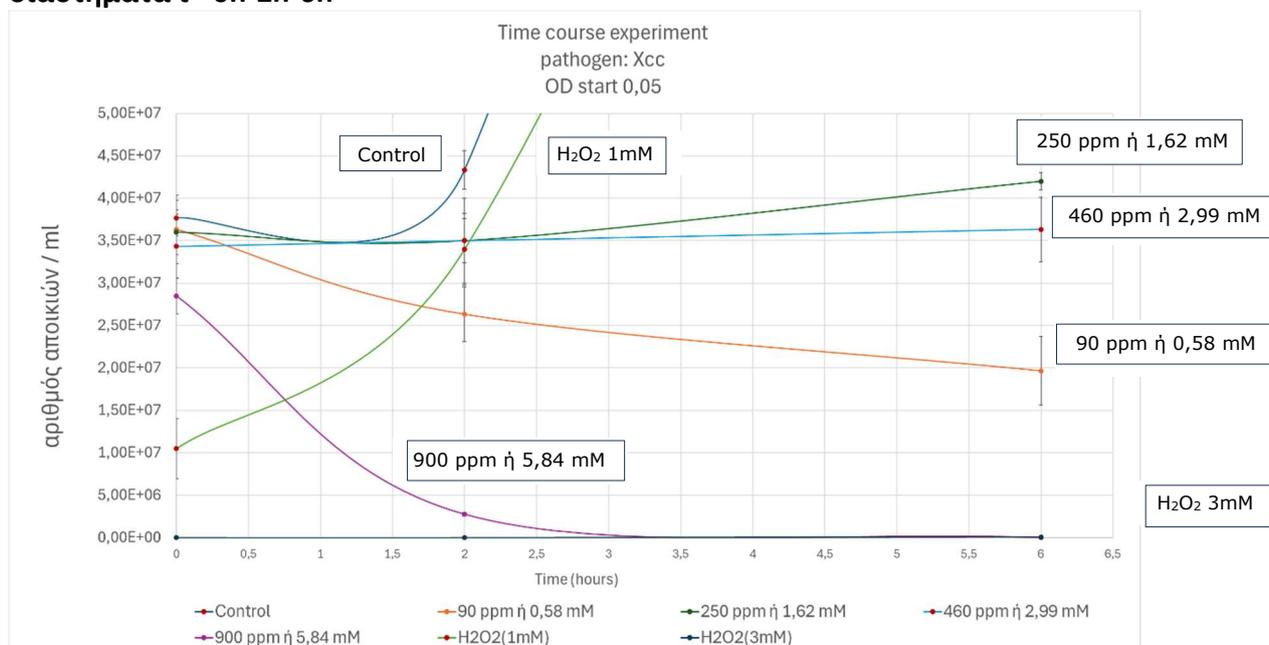
- Σύσταση #1 (Σταδιακή Αντίδραση): Περιείχε τη δραστική ουσία Υδροξυτυροσόλη (HT) και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (Phosphate buffer) με τελικό pH 8,2. Το ρυθμιστικό διάλυμα K_2HPO_4/K_3PO_4 παρασκευάστηκε σε συγκέντρωση 100x (2M/0,2M, pH 10,5). Η δραστική ουσία διαλύθηκε σε 10x ρυθμιστικό διάλυμα H_3PO_4/KH_2PO_4 (10mM/10mM, pH 2,15). Η ανάμιξη των δύο οδήγησε στο τελικό διάλυμα σε pH 8,2 με συγκεντρώσεις δραστικής ουσίας: (0,58mM- 6,49mM).
- Σύσταση #2 (Ταχεία Αντίδραση): Περιείχε τη δραστική ουσία HT και ρυθμιστικό διάλυμα ανθρακικών ($Na_2CO_3/NaHCO_3$ 2mM/5mM) με τελικό pH 9,3. Χρησιμοποιήθηκαν πυκνά διαλύματα $Na_2CO_3/NaHCO_3$ (1M/1M) τα οποία αναμίχθηκαν με τη δραστική ουσία (σε όξινο φωσφορικό buffer), ώστε να επιτευχθούν οι τελικές συγκεντρώσεις της δραστικής ουσίας: (0,58mM- 6,49mM) σε pH 9,3 για την πρόκληση έντονης αντίδρασης.

2.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

2.2.1. Δράση του σκευάσματος "BIOMORE" σε ελεγχόμενες συνθήκες εργαστηρίου στο φυτοπαθογόνο βακτήριο Xcc (OD_{start} 0.05, συνολική διάρκεια πειράματος 24 h).

- Συγκεντρώσεις HT (δραστική ουσία BIOMORE): 90ppm (0,58mM), 250ppm (1,62mM), 460ppm (2,99mM), 900ppm (5,84mM)
- Ανάπτυξη του παθογόνου σε θρεπτικό υγρό LB στο shaker (26°C 180 r.p.m) έως και 24h
- Μέτρηση ανάπτυξης αποικιών σε θρεπτικό μέσο LB

A.1.1. Ανάπτυξη φυτοπαθογόνου Xcc σε υγρές καλλιέργειες – Μετρήσεις σε χρονικά διαστήματα t= 0h-2h-6h

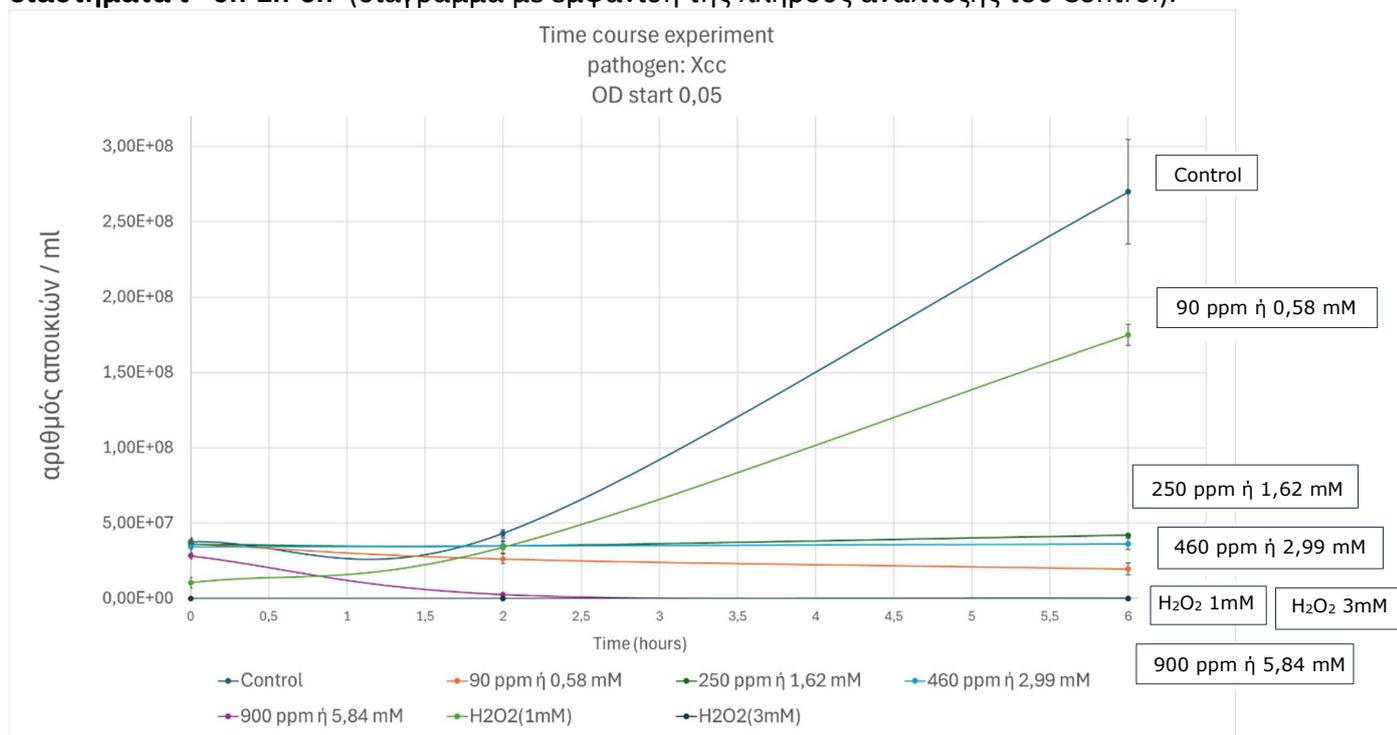


Εικόνα Π.3.4.2.1. Αριθμός αποικιών της βακτηριακής καλλιέργειας (OD_{start}₆₀₀ 0,05) στις 0-2-6 ώρες για τις εφαρμογές: Control, BIOMORE 90ppm (0,58mM), BIOMORE 250ppm (1,62mM), 460ppm (2,99mM), BIOMORE 900ppm (5,84mM), σκέτο H₂O₂ 34ppm (1mM), σκέτο H₂O₂ 102ppm (3mM)

Συμπεράσματα:

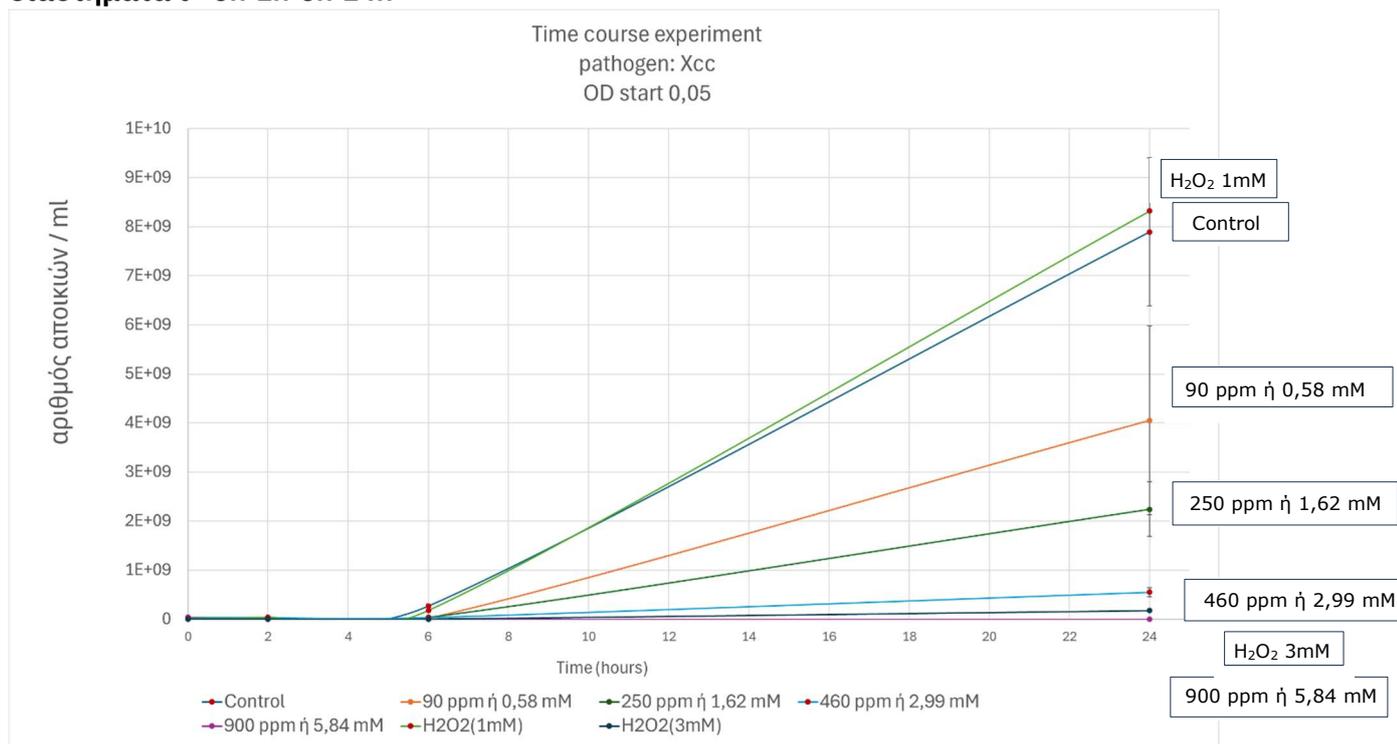
- Η ανάπτυξη του παθογόνου σε όλες οι επεμβάσεις με το BIOMORE ήταν χαμηλότερη από το Control.
- Προκαλεί εντύπωση ότι τα 90ppm (0,58mM) έδρασαν εντονότερα από τις υπόλοιπες εφαρμογές στις 6h.
- Το σκέτο H₂O₂ (1mM) δρα πολύ έντονα τη χρονική στιγμή t=0 όμως αμέσως μετά παρατηρείται απότομη αύξηση.
- Το σκέτο H₂O₂ (3mM) δρα πολύ έντονα τη χρονική στιγμή t=0 και κρατάει την ανάπτυξη της καλλιέργειας μηδενική μέχρι τις 6h
- Η εφαρμογή 900ppm του BIOMORE (5,84 mM) προκαλεί σταδιακή θανάτωση της καλλιέργειας στις 6h.

A.1.2. Ανάπτυξη φυτοπαθογόνου Xcc σε υγρές καλλιέργειες – Μετρήσεις σε χρονικά διαστήματα t= 0h-2h-6h (διάγραμμα με εμφάνιση της πλήρους ανάπτυξης του Control).



Εικόνα Π.3.4.2.2. Αριθμός αποικιών της βακτηριακής καλλιέργειας ($OD_{start_{600}} 0,05$) στις 0-2-6 ώρες για τις εφαρμογές: Control, BIOMORE 90ppm (0,58mM), BIOMORE 250ppm (1,62mM), 460ppm (2,99mM), BIOMORE 900ppm (5,84mM), σκέτο H_2O_2 34ppm (1mM), σκέτο H_2O_2 102ppm (3mM)

A.1.3. Ανάπτυξη φυτοπαθογόνου Xcc σε υγρές καλλιέργειες – Μετρήσεις σε χρονικά διαστήματα t= 0h-2h-6h-24h

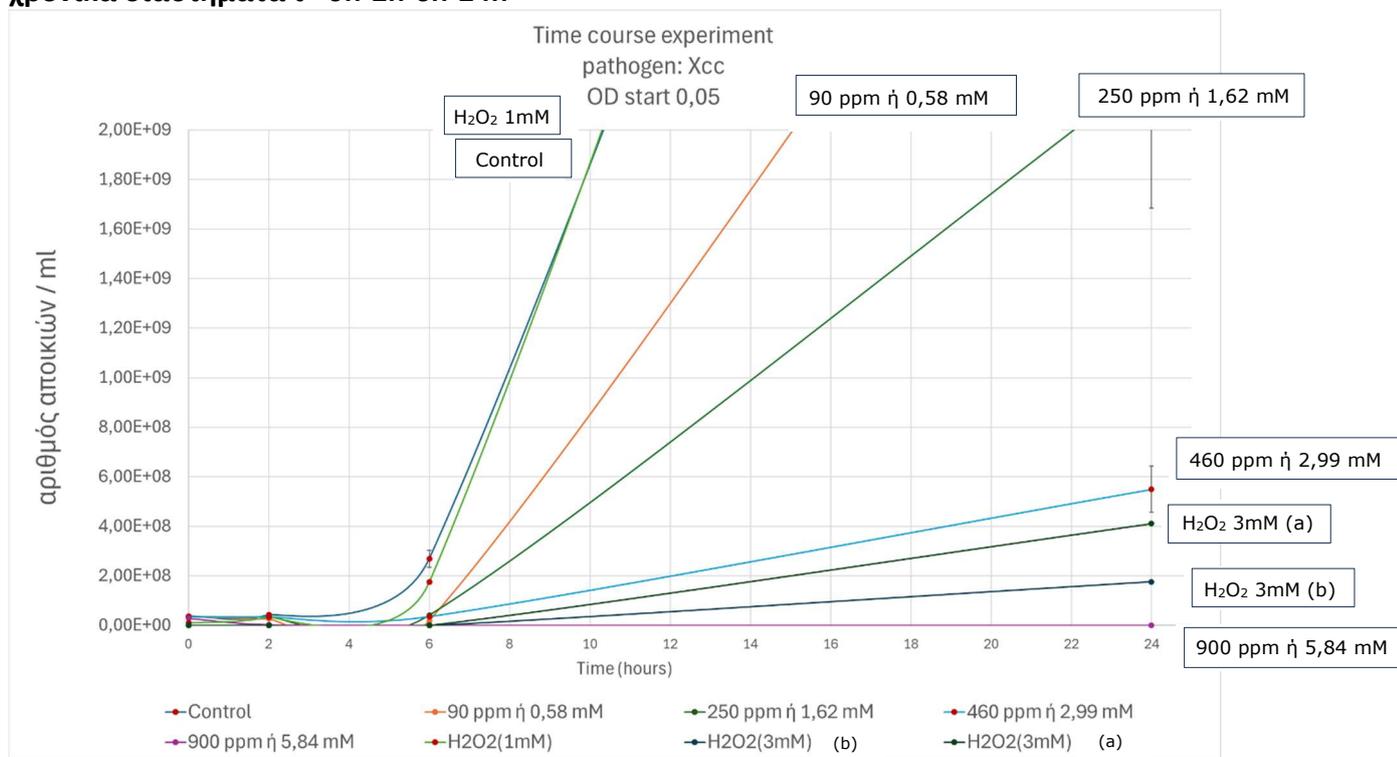


Εικόνα Π.3.4.2.3. Αριθμός αποικιών της βακτηριακής καλλιέργειας ($OD_{start_{600}} 0,05$) στις 0-2-6-24 ώρες για τις εφαρμογές: Control, BIOMORE 90ppm (0,58mM), BIOMORE 250ppm (1,62mM), 460ppm (2,99mM), BIOMORE 900ppm (5,84mM), σκέτο H_2O_2 34ppm (1mM), σκέτο H_2O_2 102ppm (3mM)

Στις 24h η δράση του σκευάσματος είναι ανάλογη της συγκεντρώσεως που χρησιμοποιείται.

- Η εφαρμογή 1mM H_2O_2 δεν επηρέασε την ανάπτυξη του παθογόνου.
- Η εφαρμογή 3mM H_2O_2 λειτούργησε περίπου όπως και η εφαρμογή 900ppm BIOMORE.
- Η εφαρμογή 900ppm (5,84mM) είναι η μοναδική που κράτησε την ανάπτυξη της καλλιέργειας στο μηδέν.

A.1.4. Ανάπτυξη φυτοπαθογόνου Xcc σε υγρές καλλιέργειες (επανάληψη) – Μετρήσεις σε χρονικά διαστήματα t= 0h-2h-6h-24h

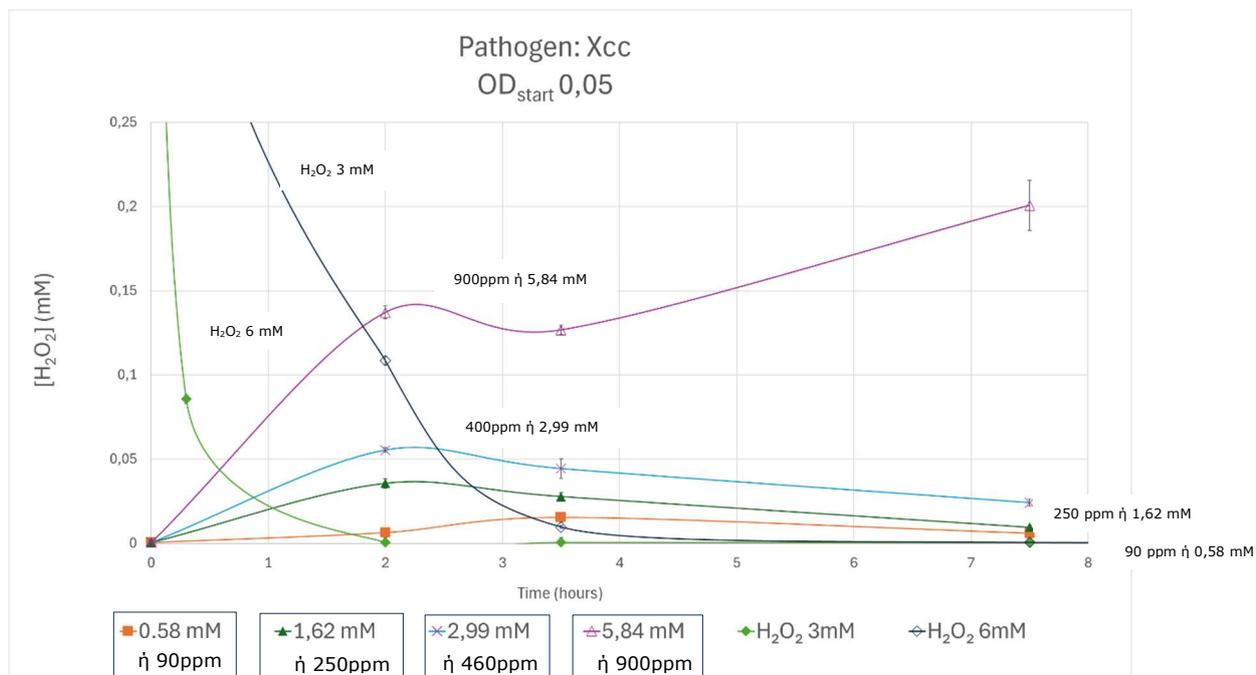


Εικόνα Π.3.4.2.4. Αριθμός αποικιών της βακτηριακής καλλιέργειας ($OD_{start_{600}} 0,05$) στις 0-2-6-24 ώρες για τις εφαρμογές: Control, BIOMORE 90ppm (0,58mM), BIOMORE 250ppm (1,62mM), 460ppm (2,99mM), BIOMORE 900ppm (5,84mM), σκέτο H_2O_2 34ppm (1mM), σκέτο H_2O_2 102ppm (3mM)

Σε αυτό το διάγραμμα διακρίνεται ότι η εφαρμογή του BIOMORE στα 900ppm (5,84 mM) κράτησε την ανάπτυξη του παθογόνου στο μηδέν καλύτερα ακόμα και από την εφαρμογή H_2O_2 (3 mM).

A.2. Επίπεδα H₂O₂ κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του παθογόνου έως 26h.

A.2.1. Μετρήσεις παραγωγής H₂O₂ κατά την ανάπτυξη φυτοπαθογόνου Xcc σε υγρές καλλιέργειες – Μετρήσεις σε χρονικά διαστήματα t= 0h-2h-3,5h-7,5h



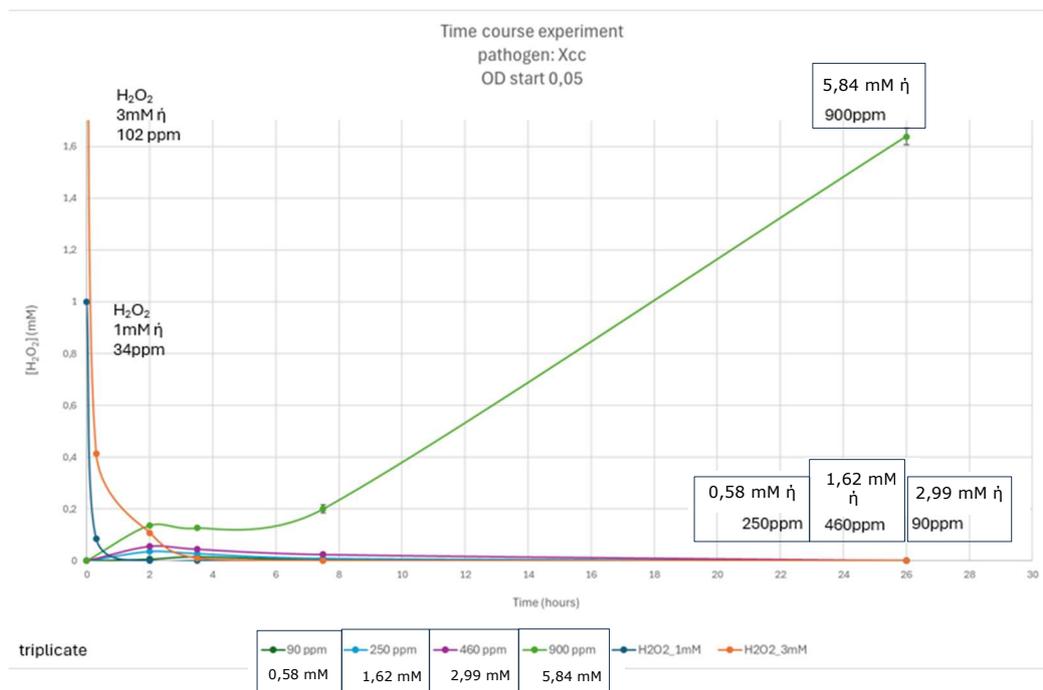
Εικόνα Π.3.4.2.5. Τα επίπεδα H₂O₂ στην πάροδο του χρόνου για τις εφαρμογές: BIOMORE 90ppm (0,58mM), BIOMORE 250ppm (1,62mM), 460ppm (2,99mM), BIOMORE 900ppm (5,84mM), σκέτο H₂O₂ 34ppm (1mM), σκέτο H₂O₂ 102ppm (3mM)

Από τις μετρήσεις H₂O₂ που πραγματοποιήθηκαν λήφθηκαν τα εξής δύο σημαντικά συμπεράσματα:

- Το σκέτο H₂O₂ διασπάται αμέσως από την καταλάση του βακτηρίου
- Μόνο η εφαρμογή BIOMORE 900ppm (5,84 mM) κατάφερε να διατηρήσει τα επίπεδα του H₂O₂ αυξανόμενα. Ήταν η εφαρμογή που θανάτωσε πλήρως τη βακτηριακή καλλιέργεια από τις 6 πρώτες ώρες.

Το παρακάτω διάγραμμα καταγράφει τη μεταβολή της συγκέντρωσης υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) σε βάθος χρόνου 26 h. Στους μάρτυρες όπου προστέθηκε απευθείας υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂O₂ 1mM και 3mM), παρατηρείται ταχεία αποδόμησή του, με τη συγκέντρωση να μηδενίζεται σχεδόν εντός των πρώτων 2-4 ωρών, γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη μηχανισμών εξουδετέρωσης από το παθογόνο. Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις του BIOMORE (90, 250 και 460 ppm), τα επίπεδα του H₂O₂ παραμένουν εξαιρετικά χαμηλά έως μηδενικά καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Αντίθετα, η συγκέντρωση των 900 ppm παρουσιάζει μια εντελώς διαφορετική συμπεριφορά: μετά από μια αρχική φάση υστέρησης, η συγκέντρωση του H₂O₂ αυξάνεται σταδιακά και σταθερά, φτάνοντας σε πολύ υψηλά επίπεδα (άνω του 1,6 mM) στο τέλος των 26 ωρών, υπερβαίνοντας τελικά ακόμη και την αρχική συγκέντρωση του θετικού μάρτυρα των 3mM.

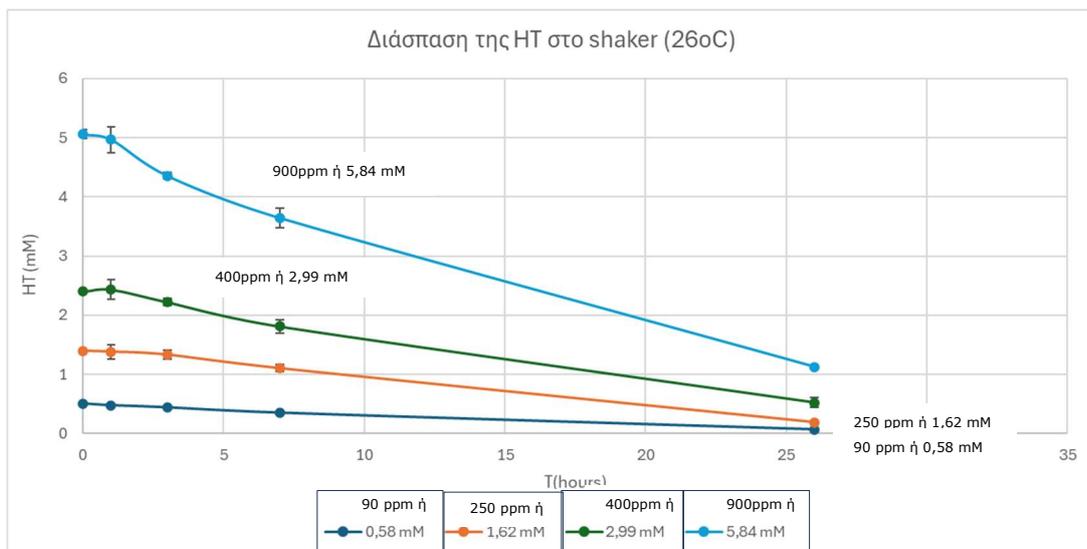
A.2.2. Μετρήσεις παραγωγής H₂O₂ κατά την ανάπτυξη φυτοπαθογόνου Xcc σε υγρές καλλιέργειες – Μετρήσεις σε χρονικά διαστήματα t= 0h-2h-3,5h-7,5h-26h



Εικόνα Π.3.4.2.6. Τα επίπεδα H₂O₂ στην πάροδο του χρόνου για τις εφαρμογές: BIOMORE 90ppm (0,58mM), BIOMORE 250ppm (1,62mM), 460ppm (2,99mM), BIOMORE 900ppm (5,84mM), σκέτο H₂O₂ 34ppm (1mM), σκέτο H₂O₂ 102ppm (3mM)

A.3. Μετρήσεις Διάσπασης HT κατά την ανάπτυξη φυτοπαθογόνου Xcc σε υγρές καλλιέργειες Μετρήσεις σε χρονικά διαστήματα t= 0h έως 26h.

Το διάγραμμα παρουσιάζει την κινητική της αποδόμησης της δραστικής ουσίας του BIOMORE σε τέσσερις διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις (0,58 mM, 1,62 mM, 2,99 mM και 5,84 mM) υπό συνθήκες ανάδευσης στους 26°C, σε χρονικό διάστημα 26 ωρών. Παρατηρήθηκε μια σαφής, σταδιακή μείωση της συγκέντρωσης της HT σε όλες τις εξεταζόμενες περιπτώσεις, γεγονός που υποδεικνύει ότι η ουσία είναι ασταθής στις συγκεκριμένες συνθήκες. Στην υψηλότερη αρχική συγκέντρωση, καταγράφηκε η πιο απότομη πτώση, με τη συγκέντρωση να μειώνεται περίπου στο 1 mM μετά από 26 ώρες. Αντίστοιχη φθίνουσα πορεία ακολούθησαν και οι ενδιάμεσες συγκεντρώσεις (2,99 mM και 1,62 mM), καταλήγοντας σε τιμές κάτω του 0,5 mM στο τέλος του πειράματος. Η χαμηλότερη συγκέντρωση (0,58 mM) παρουσίασε μικρότερο ρυθμό μείωσης, ωστόσο και αυτή τείνει προς το μηδέν στο χρονικό σημείο των 26 ωρών.

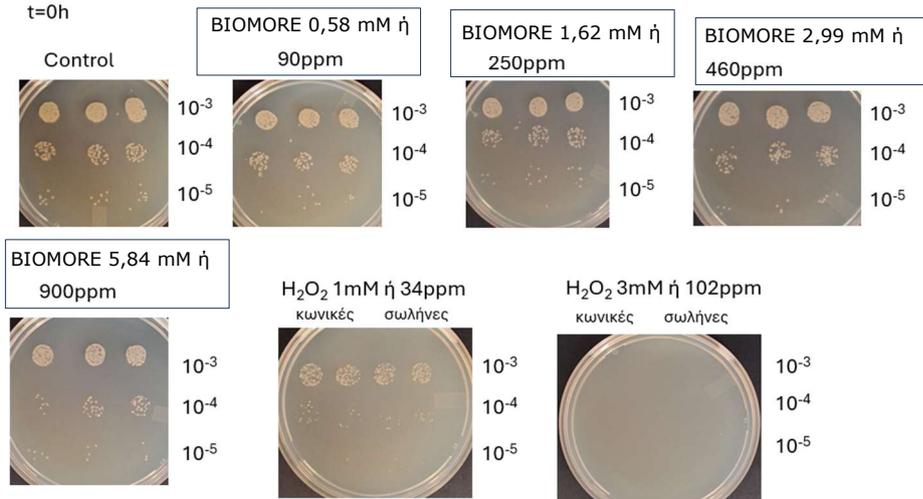


Εικόνα Π.3.4.2.7. Η διάσπαση της HT στην πάροδο του χρόνου για τις εφαρμογές: BIOMORE 90ppm (0,58mM), BIOMORE 250ppm (1,62mM), 460ppm (2,99mM), BIOMORE 900ppm (5,84mM)

Αποικίες Εικόνας Π.3.4.2.2. – t=0h

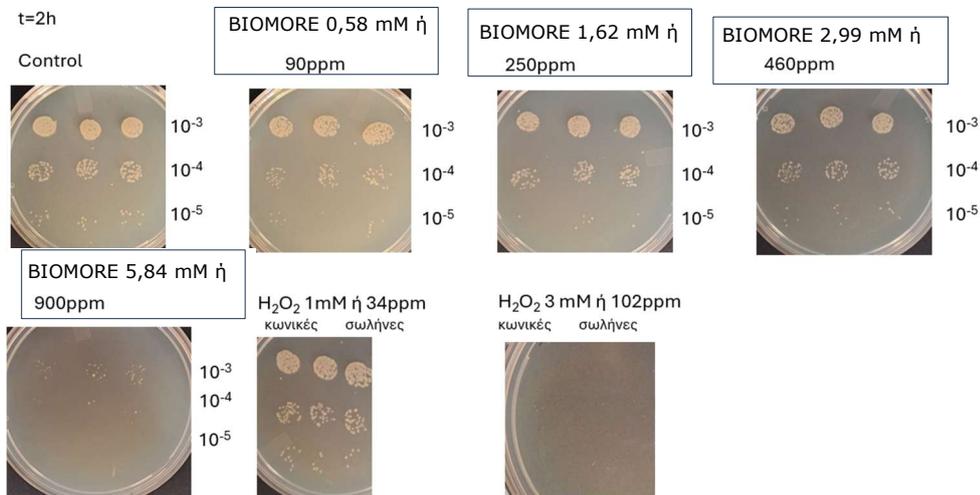
Φωτογραφικό υλικό

t=0h

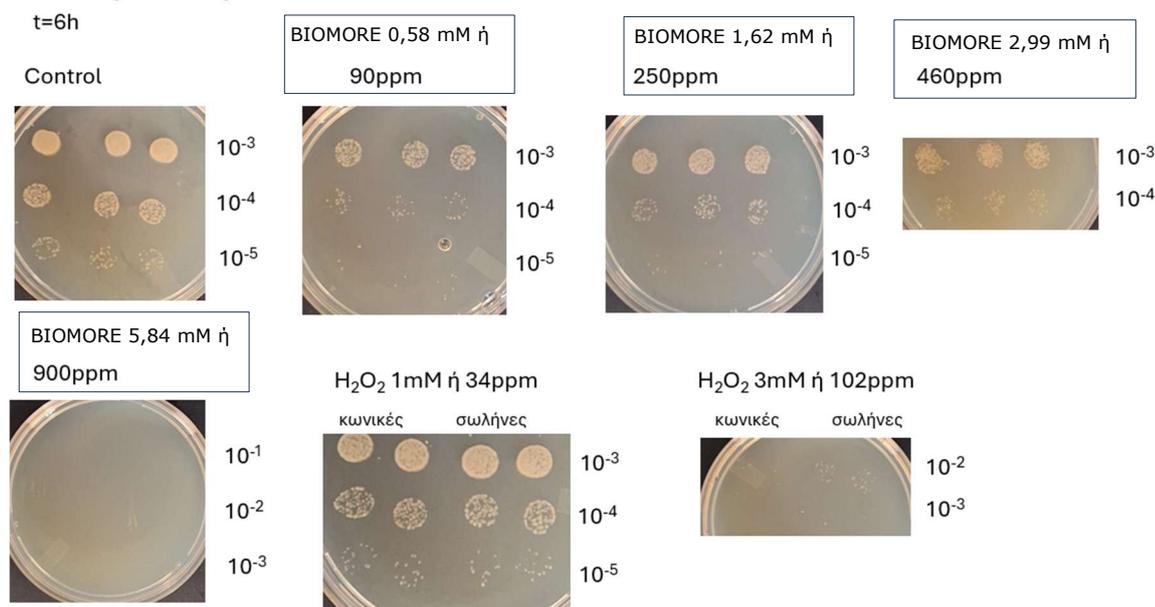


Αποικίες εικόνας Π.3.4.2.2. – t=2h

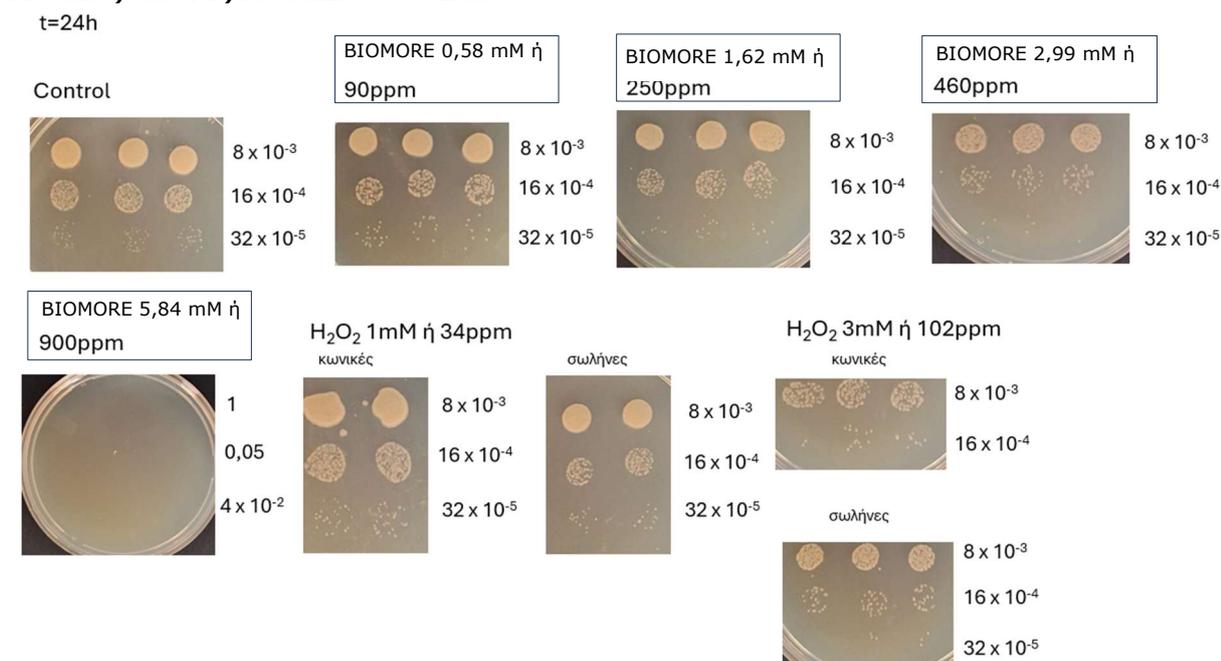
t=2h



Αποικίες εικόνας Π.3.4.2.2. – t=6h



Αποικίες εικόνας Π.3.4.2.3. – t=24h

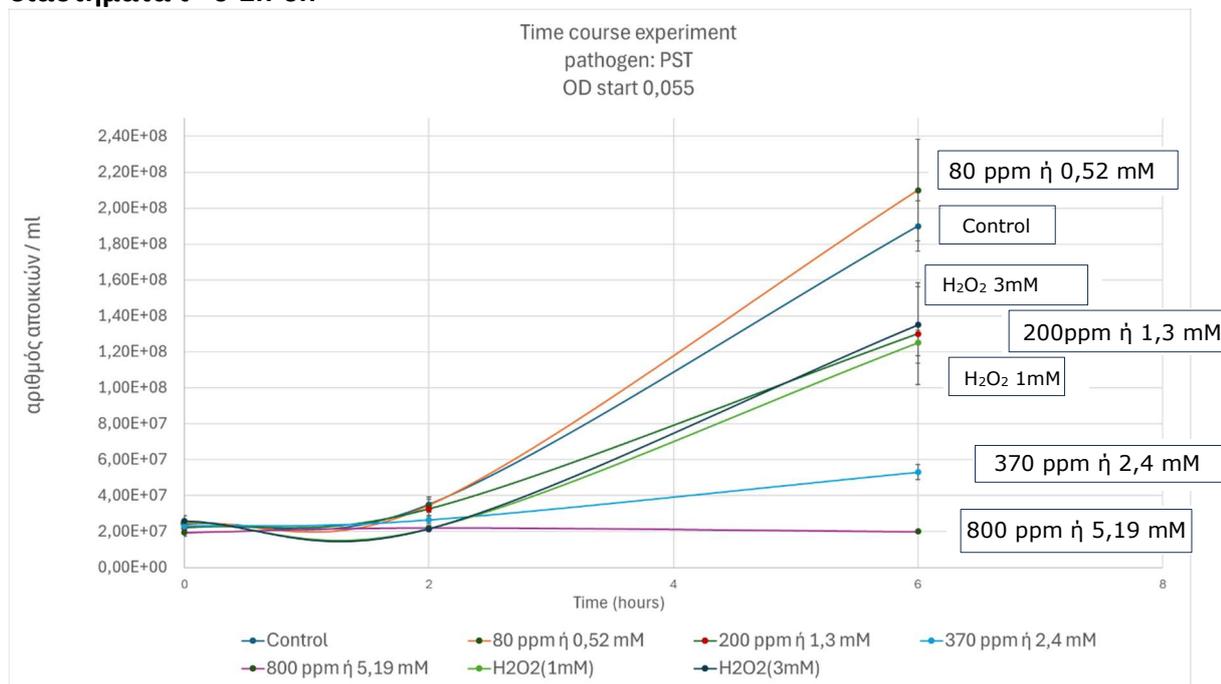


Εικόνα Π.3.4.2.8. Φωτογραφικό υλικό από τις αποικίες των επεμβάσεων: BIOMORE 90ppm (0,58mM), BIOMORE 250ppm (1,62mM), 460ppm (2,99mM), BIOMORE 900ppm (5,84mM), σκέτο H₂O₂ 34ppm (1mM), σκέτο H₂O₂ 102ppm (3mM) σε θρεπτικό υλικό LB για τις χρονικές στιγμές 0-2-6-24h

2.2.2. Δράση του σκευάσματος "BIOMORE" σε ελεγχόμενες συνθήκες Εργαστηρίου στο φυτοπαθογόνο βακτήριο *Pseudomonas syringae pv tomato (Pst)* (OD_{start} 0.05, συνολική διάρκεια πειράματος 24 h).

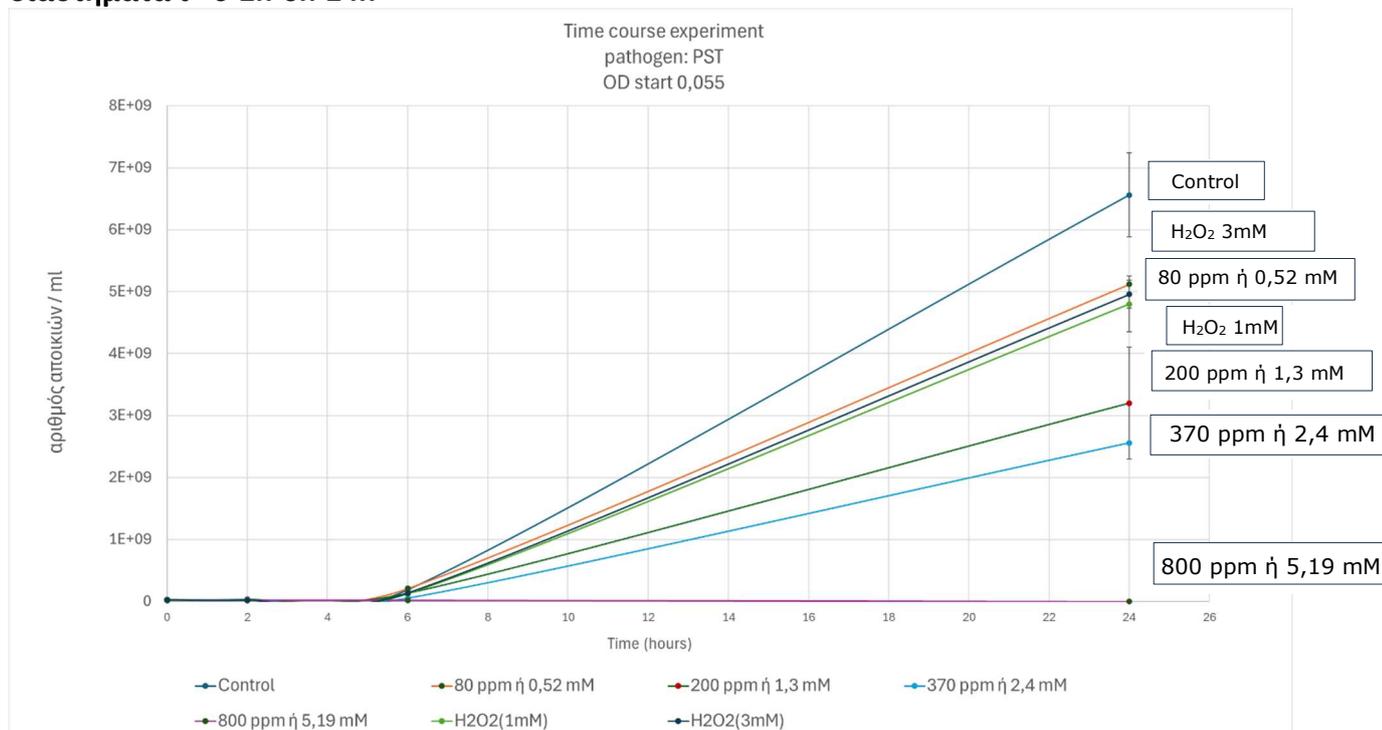
- Συγκεντρώσεις σκευάσματος: 80ppm (0,52mM), 200ppm (1,3mM), 370ppm (2,4mM), 800ppm (5,19mM)
- Ανάπτυξη του παθογόνου σε θρεπτικό υγρό LB στο shaker (26°C 180 r.p.m) έως και 24h
- Μέτρηση ανάπτυξης αποικιών σε θρεπτικό μέσο LB

Β.1. Ανάπτυξη φυτοπαθογόνου Pst σε υγρές καλλιέργειες – Μετρήσεις σε χρονικά διαστήματα $t= 0-2h-6h$



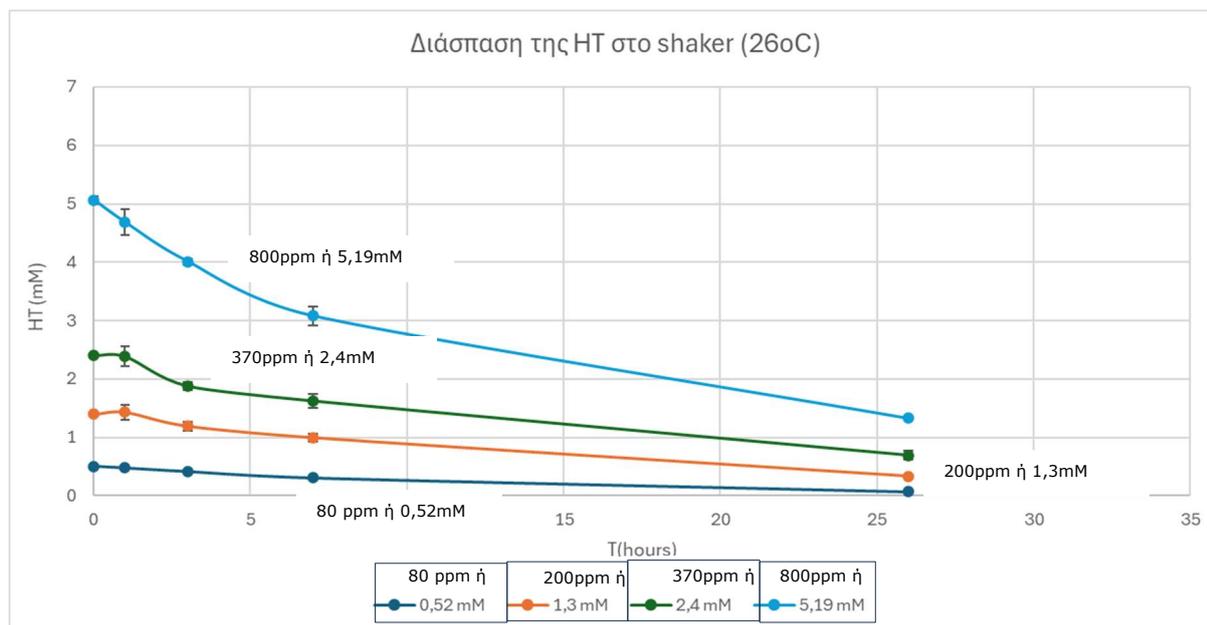
Εικόνα Π.3.4.2.9. Αριθμός αποικιών της βακτηριακής καλλιέργειας ($OD_{start_{600}} 0,05$) στις 0-2-6 ώρες για τις εφαρμογές: Control, BIOMORE 80ppm (0,52mM), BIOMORE 200ppm (1,3mM), BIOMORE 370ppm (2,4mM), BIOMORE 800ppm (5,19mM), σκέτο H₂O₂ 34ppm (1mM), σκέτο H₂O₂ 102ppm (3mM)

Β.1.2. Ανάπτυξη φυτοπαθογόνου Pst σε υγρές καλλιέργειες – Μετρήσεις σε χρονικά διαστήματα $t= 0-2h-6h-24h$



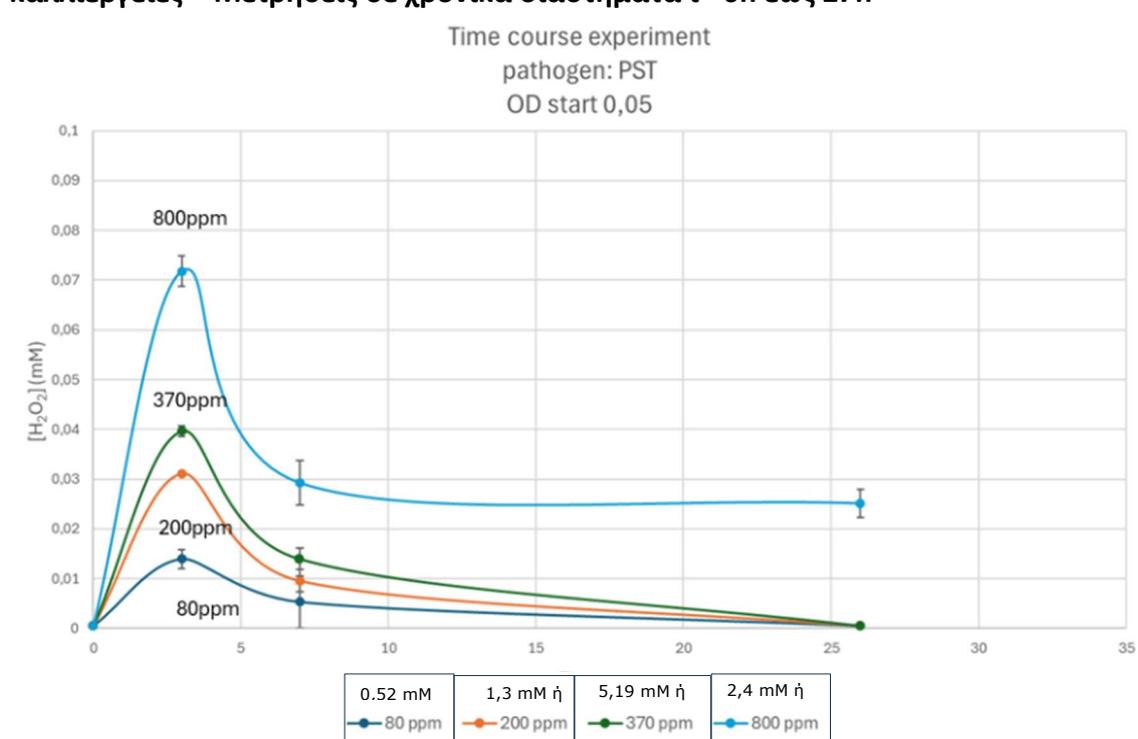
Εικόνα Π.3.4.2.10. Αριθμός αποικιών της βακτηριακής καλλιέργειας ($OD_{start_{600}} 0,05$) στις 0-2-6-24 ώρες για τις εφαρμογές: Control, BIOMORE 80ppm (0,52mM), BIOMORE 200ppm (1,3mM), BIOMORE 370ppm (2,4mM), BIOMORE 800ppm (5,19mM), σκέτο H₂O₂ 34ppm (1mM), σκέτο H₂O₂ 102ppm (3mM)

Β.2. Μετρήσεις Διάσπασης HT κατά την ανάπτυξη φυτοπαθογόνου *Pst* σε υγρές καλλιέργειες – Μετρήσεις σε χρονικά διαστήματα $t=0h$ έως $26h$



Εικόνα Π.3.4.2.11. Έλεγχος της διάσπασης της HT για τις εφαρμογές: Control, BIOMORE 80ppm (0,52mM), BIOMORE 200ppm (1,3mM), BIOMORE 370ppm (2,4mM), BIOMORE 800ppm (5,19mM)

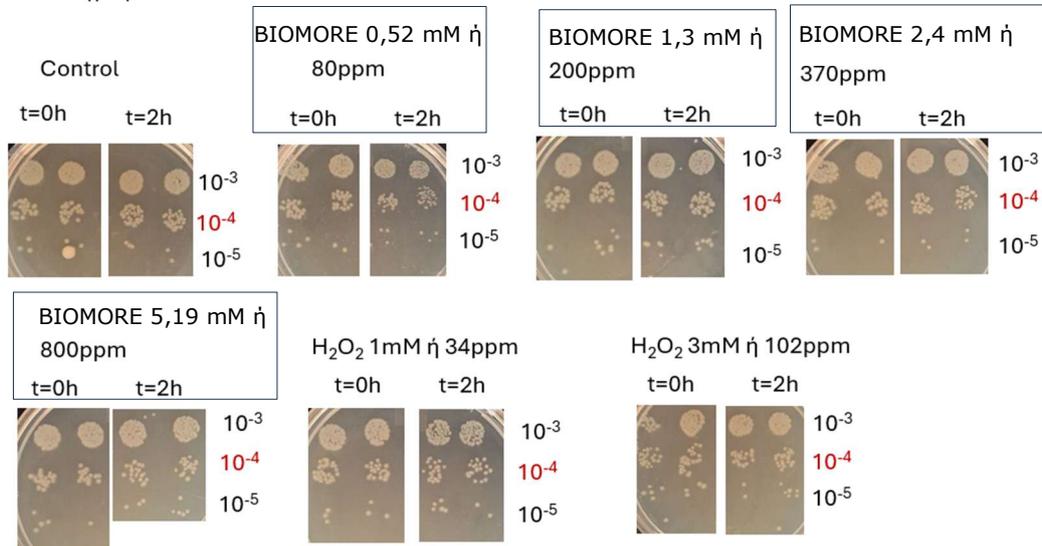
Β.3. Μετρήσεις παραγωγής H_2O_2 κατά την ανάπτυξη φυτοπαθογόνου *Pst* σε υγρές καλλιέργειες – Μετρήσεις σε χρονικά διαστήματα $t=0h$ έως $27h$



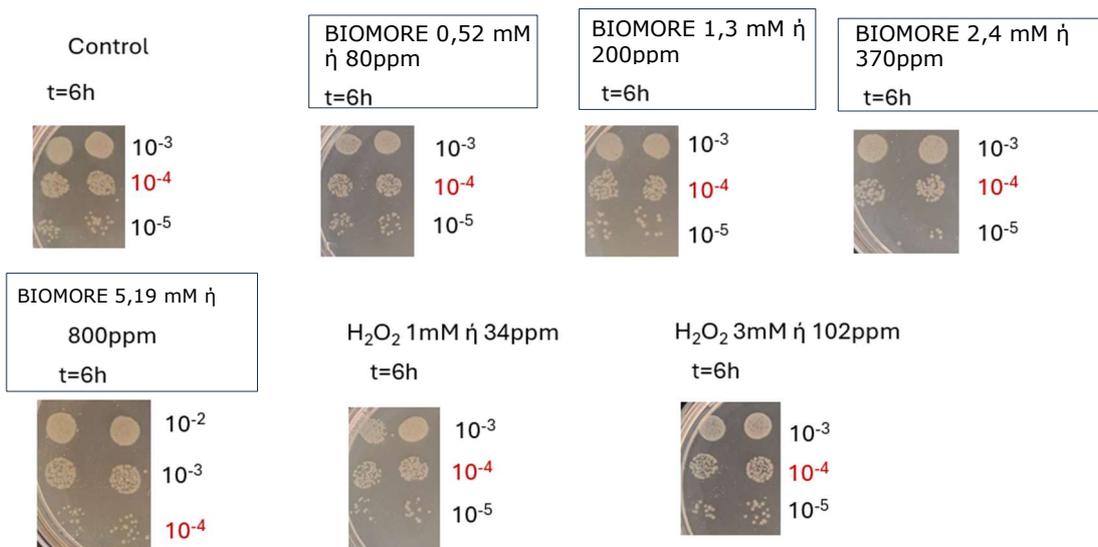
Εικόνα Π.3.4.2.12. Τα επίπεδα H_2O_2 στην πάροδο του χρόνου για τις εφαρμογές: BIOMORE 80ppm (0,52mM), BIOMORE 200ppm (1,3mM), BIOMORE 370ppm (2,4mM), BIOMORE 800ppm (5,19mM)

Αποικίες Εικόνας Π.3.4.2.9.

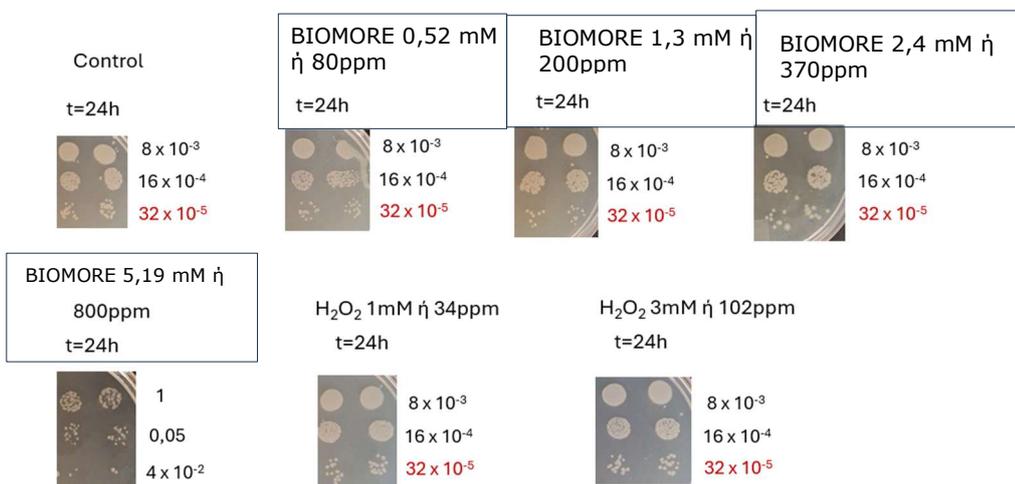
Φωτογραφικό υλικό



Αποικίες εικόνας Π.3.4.2.9.



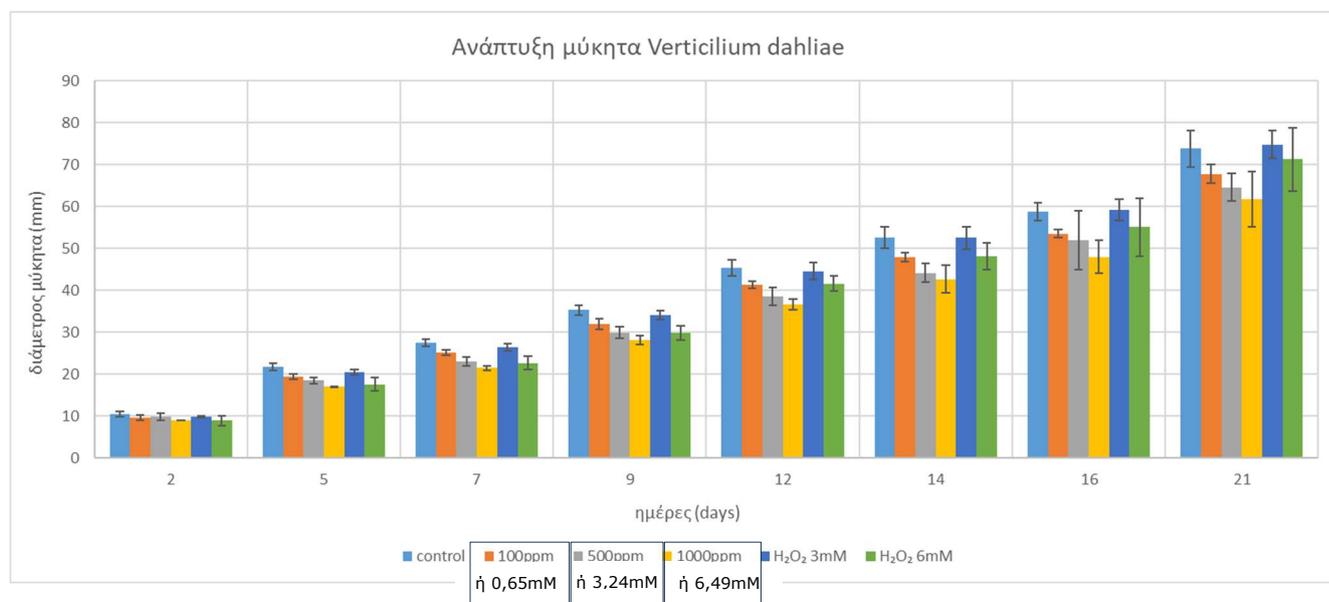
Αποικίες εικόνας Π.3.4.2.10.



Εικόνα Π.3.4.2.13. Φωτογραφικό υλικό από τις αποικίες των επεμβάσεων: Control, BIOMORE 80ppm (0,52mM), BIOMORE 200ppm (1,3mM), BIOMORE 370ppm (2,4mM), BIOMORE 800ppm (5,19mM), σκέτο H₂O₂ 34ppm (1mM), σκέτο H₂O₂ 102ppm (3mM) σε θρεπτικό υλικό LB για τις χρονικές στιγμές 0-2-6-24h

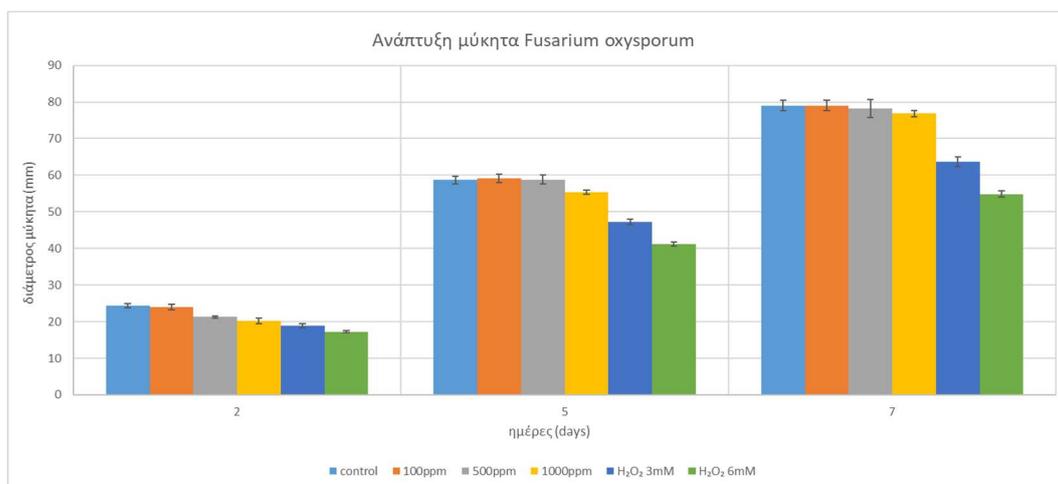
2.2.3. Δράση του σκευάσματος "BIOMORE" σε ελεγχόμενες συνθήκες Εργαστηρίου ενάντια στην ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων μυκήτων: *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*.

Από το επόμενο πείραμα προέκυψε ότι το σκεύασμα "BIOMORE" εμφάνισε μια μικρή ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη του μύκητα *Verticillium dahliae* σε σύγκριση με τον μάρτυρα (control). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μια δόσοεξαρτώμενη συμπεριφορά, καθώς η αύξηση της συγκέντρωσης του σκευάσματος οδήγησε σε μεγαλύτερη μείωση της διαμέτρου της αποικίας του μύκητα. Η συγκέντρωση των 1000ppm επέτυχε την αποτελεσματικότερη αναστολή της ανάπτυξης σε όλα τα χρονικά σημεία (από την 2η έως την 21η ημέρα), διατηρώντας τη διάμετρο του μύκητα στα χαμηλότερα επίπεδα σε σχέση με όλες τις άλλες μεταχειρίσεις. Αντίθετα, οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις (100ppm και 500ppm) παρουσίασαν μικρότερη αποτελεσματικότητα, αν και εξακολούθησαν να περιορίζουν την ανάπτυξη συγκριτικά με τον μάρτυρα.



Εικόνα Π.3.4.2.14. Η διάμετρος του μύκητα *Verticillium dahliae* στην πάροδο του χρόνου στις εφαρμογές: Control, 100ppm, 500ppm, 1000ppm, και σκέτου H₂O₂ 3mM (102ppm), H₂O₂ 6mM (204ppm). Η ανάπτυξη του μύκητα έγινε σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

Η ανάπτυξη του μύκητα *Fusarium oxysporum* (μετρούμενη ως διάμετρος της αποικίας σε mm) καταγράφηκε κατά την 2η, 5η και 7η ημέρα επώασης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το σκεύασμα "BIOMORE", στις συγκεντρώσεις των 100ppm και 500ppm, δεν παρουσίασε σημαντική ανασταλτική δράση, καθώς η ανάπτυξη του μύκητα κυμάνθηκε στα ίδια επίπεδα με τον μάρτυρα (control) σε όλα τα χρονικά σημεία (φτάνοντας περίπου τα 80mm την 7η ημέρα). Στη συγκέντρωση των 1000ppm, παρατηρήθηκε μια ελαφρά μείωση της διαμέτρου του μύκητα συγκριτικά με τον μάρτυρα, ωστόσο η διαφορά αυτή ήταν αμελητέα. Αντίθετα, η χρήση υπεροξειδίου του υδρογόνου στα 3mM και 6mM επέδειξε σαφή μυκητοστατική δράση, μειώνοντας αισθητά τη διάμετρο της αποικίας, ιδιαίτερα κατά την 5η και 7η ημέρα, σε σύγκριση με όλες τις εφαρμογές του σκευάσματος "BIOMORE".



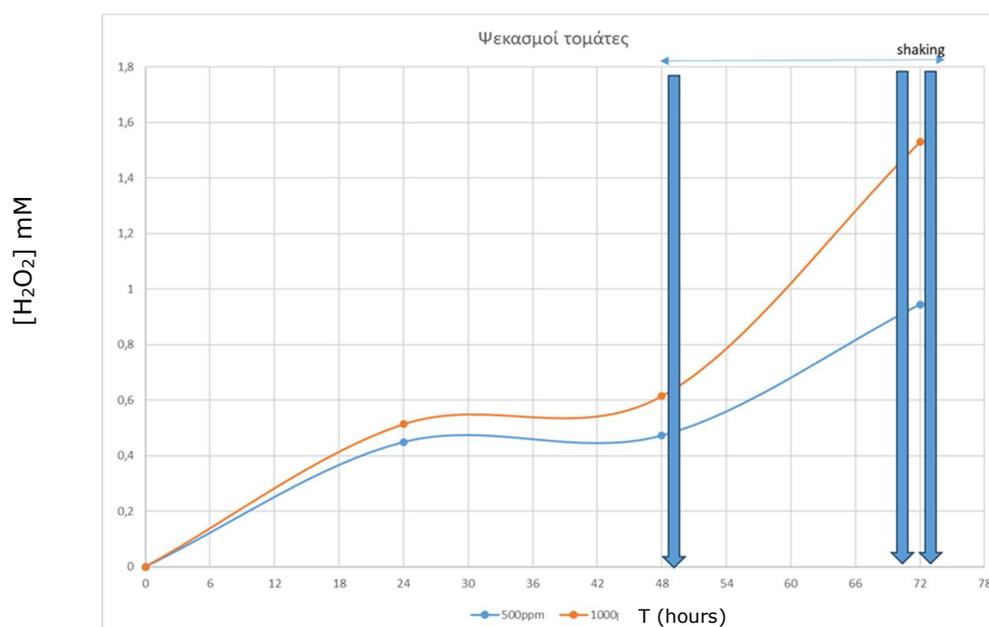
Εικόνα Π.3.4.2.15. Η διάμετρος του μύκητα *Fusarium oxysporum* στην πάροδο του χρόνου στις εφαρμογές: Control, 100ppm, 500ppm, 1000ppm, και σκέτου H₂O₂ 3mM (102ppm), H₂O₂ 6mM (204ppm). Η ανάπτυξη του μύκητα έγινε σε θρεπτικό υπόστρωμα PDA.

2.2.4. In planta πειράματα εφαρμογής του σκευάσματος BIOMORE

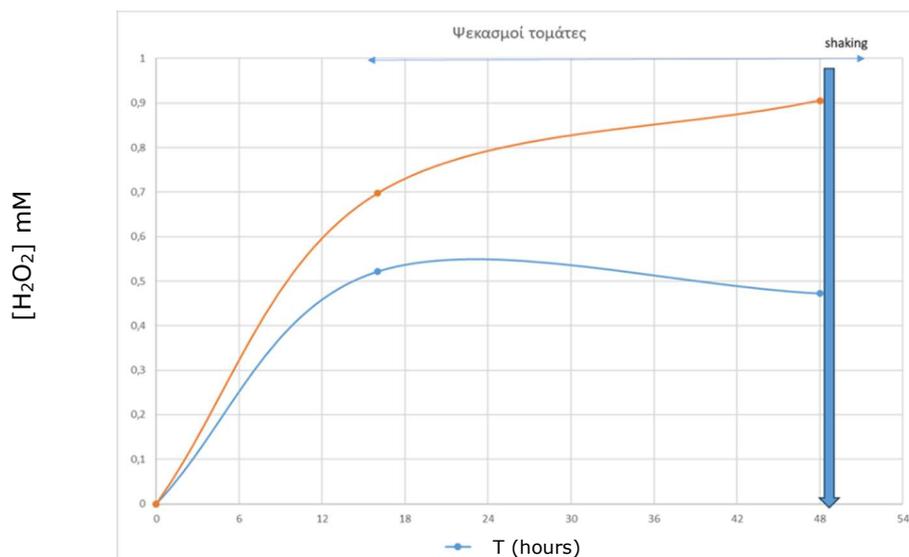
2.2.4.1. Προετοιμασία σκευάσματος BIOMORE για τους ψεκασμούς των φυτών.

Για τη δημιουργία του σκευάσματος γινόταν ανάμειξη των συστατικών με τον τρόπο που αναφέρθηκε στην ενότητα 2.1. (υλικά και μέθοδοι). Τα σκευάσματα της σύστασης #1 (σταδιακή αντίδραση) αφήνονταν για ανάδευση στο shaker στα 100 r.p.m. για 24h πριν τον ψεκασμό ώστε να εξασφαλιστεί η μέγιστη παραγωγή H₂O₂.

Στα παρακάτω διαγράμματα των Εικόνων Π.3.4.2.16 (χωρίς ανάδευση στο shaker στα 100 r.p.m. για 24h) και Π.3.4.2.17 (με ανάδευση στο shaker στα 100 r.p.m. για 24h) απεικονίζεται η διαφορά με μέτρηση του H₂O₂ με τη μέθοδο FOX, σε κάθε στιγμή ψεκασμού και αφορά τα σκευάσματα της σύστασης #1 (σταδιακή αντίδραση).



Εικόνα Π.3.4.2.16: Εφαρμογές BIOMORE in planta σε φυτά τομάτας, σε συγκεντρώσεις 500ppm (ή 3,24mM, μπλε γραμμή) και 1.000 (ή 6,48mM, πορτοκαλί γραμμή). Οι διαδοχικοί ψεκασμοί (μπλε κάθετα βέλη) αφορούν στα τα χρονικά διαστήματα, 1^{ος} ψεκασμός 1 ημέρα πριν, 2^{ος} 1 ώρα πριν και 3^{ος} 1 ώρα μετά τη μόλυνση αντίστοιχα. Τα σκευάσματα της σύστασης BIOMORE #1 (σταδιακή αντίδραση) αρχικά ΔΕΝ αφήνονταν για ανάδευση στο shaker στα 100 rpm για 24h πριν τον ψεκασμό.



Εικόνα Π.3.4.2.17: Εφαρμογές BIOMORE in planta σε φυτά τομάτας, σε συγκεντρώσεις 500ppm (ή 3,24mM, μπλε γραμμή) και 1.000ppm (ή 6,48mM, πορτοκαλί γραμμή). Τα σκευάσματα της σύστασης BIOMORE #1 (σταδιακή αντίδραση) στο πείραμα αυτό αφήνονταν για ανάδευση στο shaker στα 100 rpm για 24h πριν τον ψεκασμό, ώστε να εξασφαλιστεί η μέγιστη παραγωγή H₂O₂. Ο ψεκασμός αφορά στο χρονικό διαστήμα, 1^{ος} ψεκασμός (μπλε κάθετο βέλος) 1 ημέρα πριν, τη μόλυνση. Η διαπίστωση αυτή διορθώνει το αποτέλεσμα του πειράματος της Εικόνας Π.3.4.2.16.

Η διαφορά στα επίπεδα παραγωγής του προϊόντος του σκευάσματος BIOMORE, όταν αρχικά ΔΕΝ αφήνονταν για ανάδευση στο shaker στα 100 rpm για 24h πριν τον ψεκασμό (Εικόνα Π.3.4.2.16), σε σχέση με το πείραμα όπου αφήνονταν για ανάδευση στο shaker στα 100 rpm για 24h πριν τον ψεκασμό (Εικόνα Π.3.4.2.17), ώστε να εξασφαλιστεί η μέγιστη παραγωγή H₂O₂ είναι εμφανής στις 2 Εικόνες για το ψεκασμό που αφορά στο χρονικό διαστήμα, 1^{ος} ψεκασμός (μπλε κάθετο βέλος) 1 ημέρα πριν, τη μόλυνση, όπου στις 48h στα 1.000ppm (ή 6,48mM) συγκέντρωσης BIOMORE, εμφανίζεται να παράγει από 0,6mM (χωρίς shaking) 0,9mM (κατόπιν εφαρμογής shaking) ποσότητα H₂O₂, αντίστοιχα.

2.2.4.2. In planta πειράματα - Δράση του σκευάσματος "BIOMORE" σε φυτά που αναπτύσσονται σε ελεγχόμενες συνθήκες θαλάμου ανάπτυξης στο φυτοπαθογόνο βακτήριο *Xanthomonas campestris* pv *campestris* (Xcc) στο μπρόκολο.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τις εφαρμογές του σκευάσματος BIOMORE in planta. Τα φυτοπαθογόνα βακτήρια που εξετάστηκαν ήταν τα εξής:

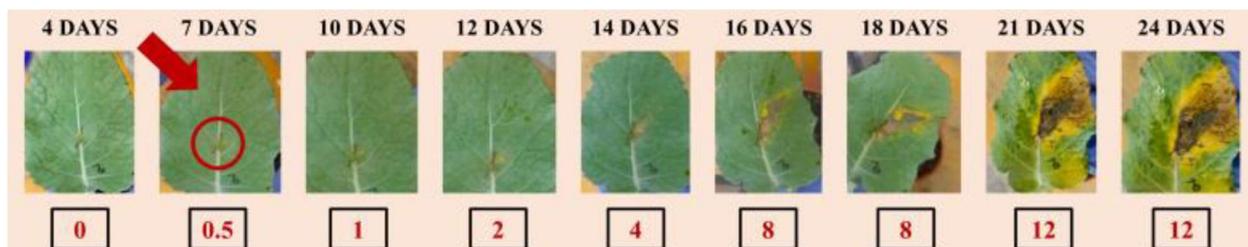
- *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) σε φυτά μπρόκολου, και

Επίδραση BIOMORE στον έλεγχο του παθογόνου Xcc σε φυτά μπρόκολου σε θάλαμο ανάπτυξης.

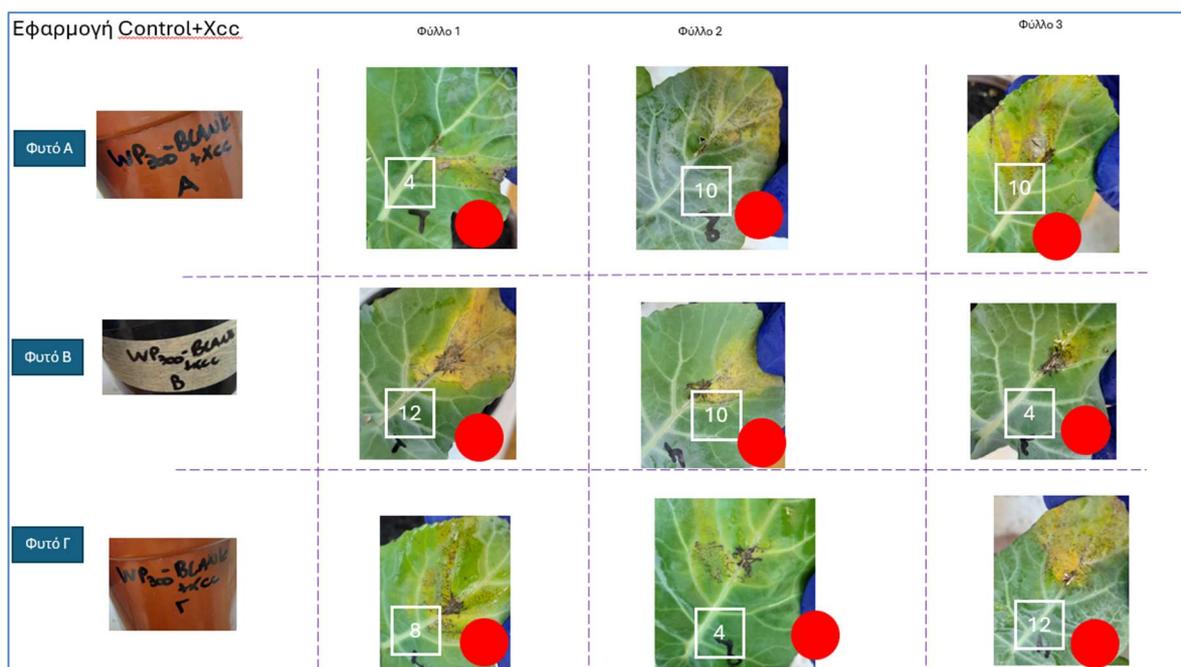
Η εργασία μας αυτή αφορά στο καλά μελετημένο παθοσύστημα που περιλαμβάνει φυτά μπρόκολου και τεχνητές μολύνσεις με το φυτοπαθογόνο βακτήριο Xcc, ένα παθογόνο που μοιράζεται κοινά χαρακτηριστικά με το παθογόνο βακτήριο καραντίνας (*Xylella fastidiosa*, Xf) όσον αφορά την παθογένεση συμπτωματολογία επιδράσεις. Δεδομένου ότι το Xf περιλαμβάνεται στον κατάλογο A2 του EPPO των παθογόνων οργανισμών που υπόκεινται σε καραντίνα και παρόλο που πρόσφατα εμφανίστηκαν νέα καινοτόμα φυτοπροστατευτικά μέσα (Ververidis et al., 2022, Trantas et al., 2019, Tsagkarakis et al., 2018), δεν μπορούσαμε να εργαστούμε με το Xf. Σε περίπτωση

αποδείξεως της εγκυρότητας της ιδέας, θα μπορούσαμε να επεκτείνουμε τη χρήση του BIOMORE, για την ανίχνευση του *Xf*, για παράδειγμα, στα σημεία εισόδου όπου συλλέγεται και επιθεωρείται το πολλαπλασιαστικό υλικό.

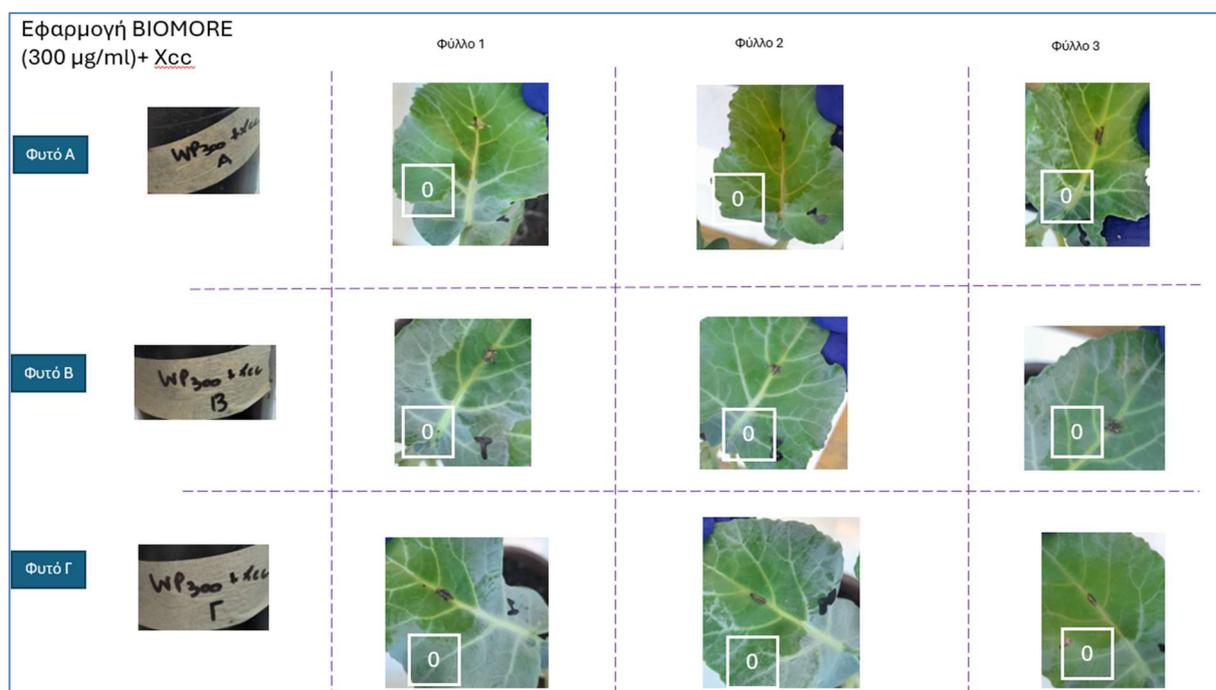
Σε προηγούμενη εργασία μας (Tserevelakis et al., 2023), όταν τα φύλλα του μπρόκολου εκτέθηκαν στο *Xcc*, οι μεταβολές στην οπτική απορρόφηση με τη χρήση τεχνολογίας Υβριδικού αυτοφθορισμού και οπτοακουστική μικροσκοπία (Hybrid Autofluorescence and Optoacoustic Microscopy) μεταγράφηκαν στα φυτικά κύτταρα και η επακόλουθη αλληλεπίδραση λείζερ-ιστού οδήγησε στην εκπομπή οπτοακουστικών σημάτων που μπορούσαν να ανιχνευθούν από τα όργανα μέτρησης μας (Εικόνα 3, προηγ. Ref). Αν και τα σήματα αυτά μπορεί να μην ήταν ειδικά για το *Xcc*, μπορούσαν να συσχετιστούν με την επιβεβαιωμένη μόλυνση, καθώς τα φύλλα των φυτών ελέγχου, που δεν εκτέθηκαν στον παθογόνο οργανισμό, δεν παρουσίασαν καμία παρόμοια αντίδραση (Εικόνα 2, προηγ. Ref). Ακόμα πιο ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι η διαδικασία ποσοτικοποίησης του σήματος (Εικόνα 4) έδειξε ότι, μόλις 24 ώρες μετά την τεχνητή μόλυνση, το όργανο μπορούσε να ανιχνεύσει με αξιοπιστία τις αλλαγές στους ιστούς που προκλήθηκαν από τον παθογόνο οργανισμό. Μετά από 48 ή 72 ώρες, το σήμα ενισχύθηκε περαιτέρω, σε αντίθεση με τα μακροσκοπικά συμπτώματα που εμφανίζονται συνήθως μετά την 7η έως 10η ημέρα μετά τη βακτηριακή μόλυνση. Τα συμπτώματα στα λαχανικά του γένους *Brassica*, όπως το μπρόκολο, εμφανίζονται συνήθως κατά τη διάρκεια της 7ης έως 10ης ημέρας (Vincente et al., 2013). Στην παρούσα εργασία μας, τα μακροσκοπικά συμπτώματα της νόσου μπορούσαν να παρατηρηθούν οπτικά μόνο μετά την 7η ημέρα της τεχνητής μόλυνσης (Εικόνα Π.3.4.2.18), καθώς εμφανίστηκαν τυπικές κίτρινες νεκρωτικές αλλοιώσεις σε σχήμα V (ξεκινώντας από τα περιθώρια των φύλλων) και μαύρισμα των νευρώσεων.



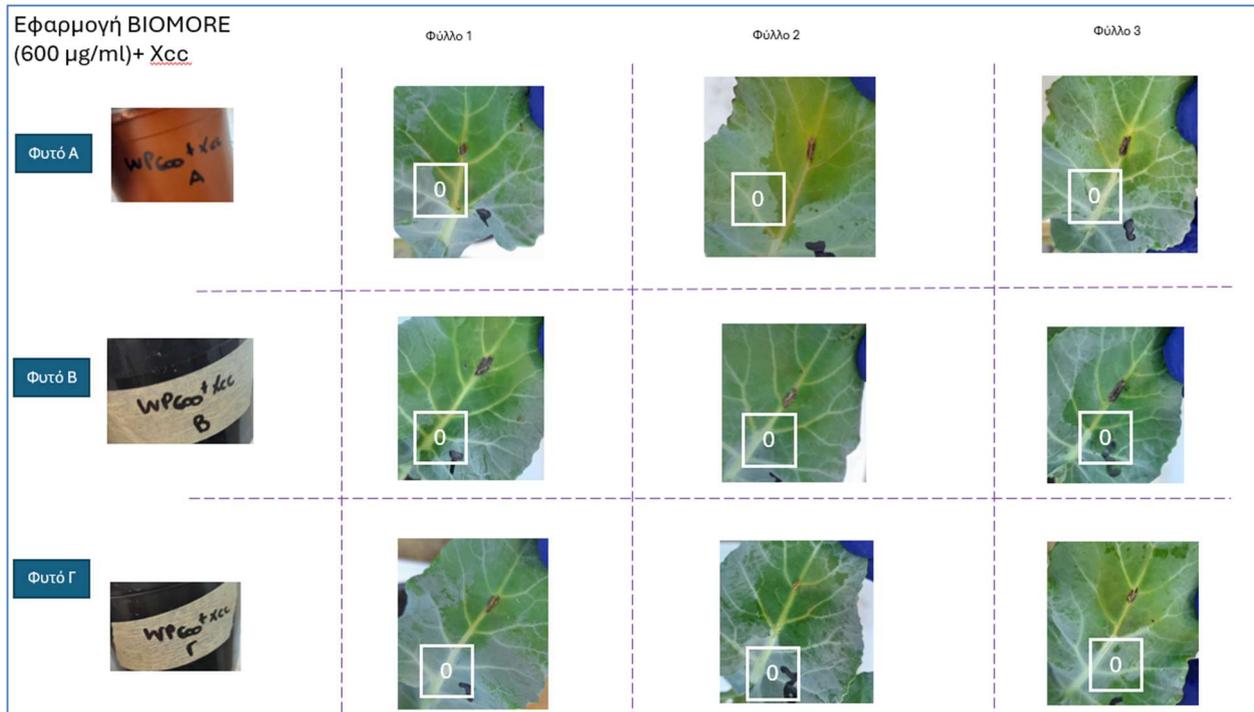
Εικόνα Π.3.4.2.18. Επίδραση του φυτοπαθογόνου *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (*Xcc*). Ανάπτυξη συμπτωμάτων της νόσου που προκαλείται από τον παθογόνο οργανισμό *Xcc* σε φύλλα φυτού μπρόκολου (*Brassica oleracea* var. *italica*) που μολύνθηκε τεχνητά κατά τη διάρκεια περιόδου παρατήρησης 24 ημερών. Οι αριθμοί κάτω από κάθε φωτογραφία υποδεικνύουν την κλίμακα σοβαρότητας του συμπτώματος (0: κανένα σύμπτωμα, 12: πλήρης καταστροφή του φύλλου λόγω τυπικής βλάβης σε σχήμα V από μαύρη σήψη). Η μακροσκοπική ανίχνευση της εμφάνισης των συμπτωμάτων της νόσου υποδεικνύεται με ένα κόκκινο βέλος την 7η ημέρα μετά τον εμβολιασμό ως η έναρξη του κιτρίνισμα μέσα στον κόκκινο κύκλο.



Εικόνα Π.3.4.2.19. Επίδραση του φυτοπαθογόνου *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) 20 ημέρες μετά τη μόλυνση σε φυτά μπρόκολου (φυτά μάρτυρες). Στο άσπρο πλαίσιο υποδηλώνεται η σοβαρότητα του συμπτώματος με βάση την κλίμακα της Εικόνας Π.3.4.2.18. Το κόκκινο σημάδι κάθε μεταχείρισης εφόσον υπάρχει δηλώνει εντοπισμό μόλυνσης του Xcc. Η κάθε σειρά αφορά σε 3 φύλλα από 3 διαφορετικές επαναλήψεις φυτών.



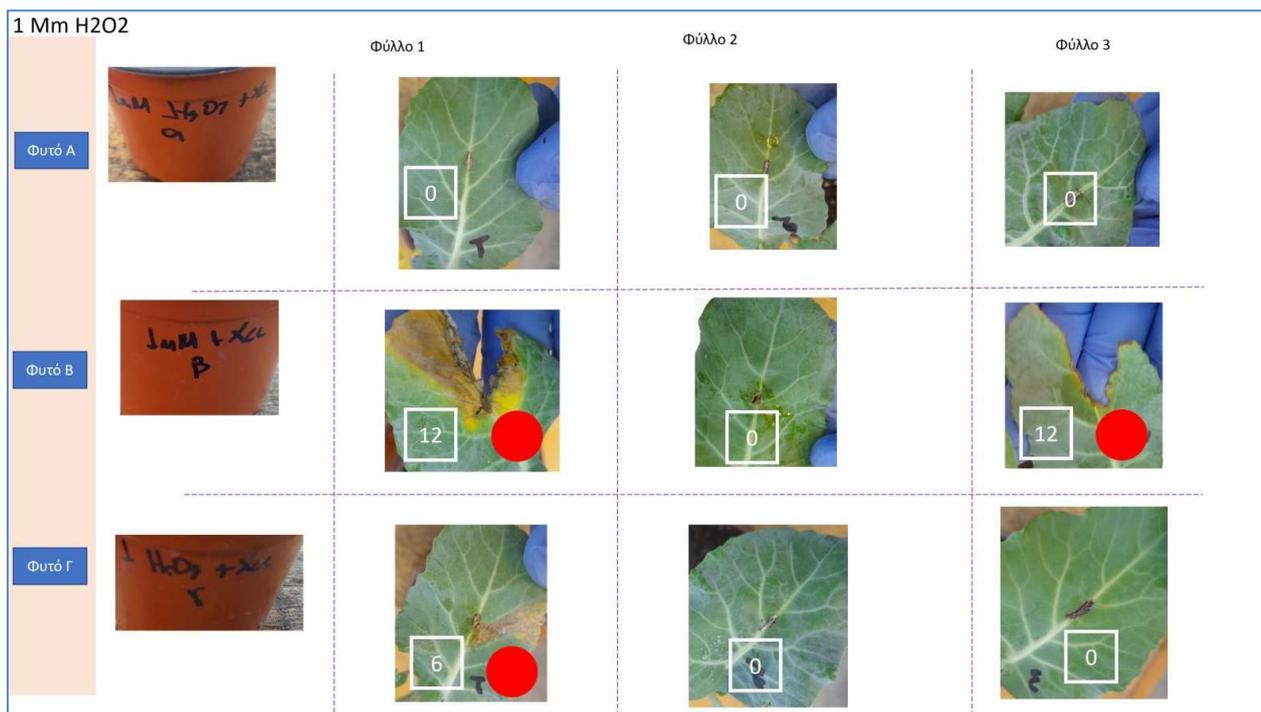
Εικόνα Π.3.4.2.20. Επίδραση του φυτοπαθογόνου *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) έπειτα από την επέμβαση με **300ppm (ή 1,95mM) BIOMORE** (carbonate buffer, pH=9,3), 20 ημέρες μετά τη μόλυνση. Η κάθε σειρά αφορά σε 3 φύλλα από 3 διαφορετικές επαναλήψεις φυτών. Στο άσπρο πλαίσιο υποδηλώνεται η σοβαρότητα του συμπτώματος με βάση την κλίμακα της Εικόνας Π.3.4.2.18. Το κόκκινο σημάδι κάθε μεταχείρισης εφόσον υπάρχει δηλώνει εντοπισμό μόλυνσης του Xcc. Η κάθε σειρά αφορά σε 3 φύλλα από 3 διαφορετικές επαναλήψεις φυτών.



Εικόνα Π.3.4.2.21. Επίδραση του φυτοπαθογόνου *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Χcc) έπειτα από την επέμβαση με **600ppm (ή 3,90mM) BIOMORE** (carbonate buffer, pH=9,3), 20 ημέρες μετά τη μόλυνση. Στο άσπρο πλαίσιο υποδηλώνεται η σοβαρότητα του συμπτώματος με βάση την κλίμακα της Εικόνας Π.3.4.2.18. Το κόκκινο σημάδι κάθε μεταχείρισης εφόσον υπάρχει δηλώνει εντοπισμό μόλυνσης του Χcc. Η κάθε σειρά αφορά σε 3 φύλλα από 3 διαφορετικές επαναλήψεις φυτών.



Εικόνα Π.3.4.2.22. Επίδραση του φυτοπαθογόνου *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Χcc) έπειτα από την επέμβαση με **0,5mM H₂O₂ αντί του BIOMORE**, 20 ημέρες μετά τη μόλυνση. Στο άσπρο πλαίσιο υποδηλώνεται η σοβαρότητα του συμπτώματος με βάση την κλίμακα της Εικόνας Π.3.4.2.18. Το κόκκινο σημάδι κάθε μεταχείρισης εφόσον υπάρχει δηλώνει εντοπισμό μόλυνσης του Χcc. Η κάθε σειρά αφορά σε 3 φύλλα από 3 διαφορετικές επαναλήψεις φυτών.

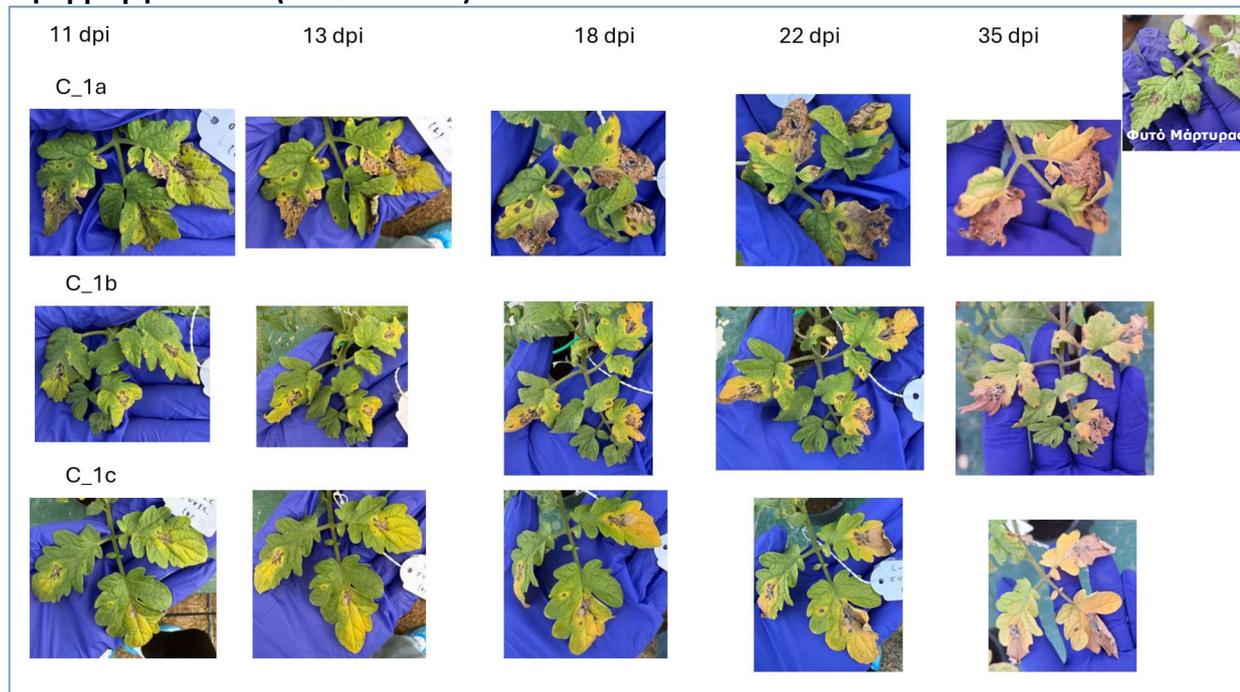


Εικόνα Π.3.4.2.23. Επίδραση του φυτοπαθογόνου *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) έπειτα από την επέμβαση με **1mM H₂O₂ αντί του BIOMORE**, 20 ημέρες μετά τη μόλυνση. Στο άσπρο πλαίσιο υποδηλώνεται η σοβαρότητα του συμπτώματος με βάση την κλίμακα της Εικόνας Π.3.4.2.18. Το κόκκινο σημάδι κάθε μεταχείρισης εφόσον υπάρχει δηλώνει εντοπισμό μόλυνσης του Xcc. Η κάθε σειρά αφορά σε 3 φύλλα από 3 διαφορετικές επαναλήψεις φυτών.

2.2.4.3. *In planta* πειράματα - Δράση του σκευάσματος “BIOMORE” σε φυτά που αναπτύσσονται σε συνθήκες ανοικτού θερμοκηπίου στο φυτοπαθογόνο βακτήριο *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst) στην τομάτα.

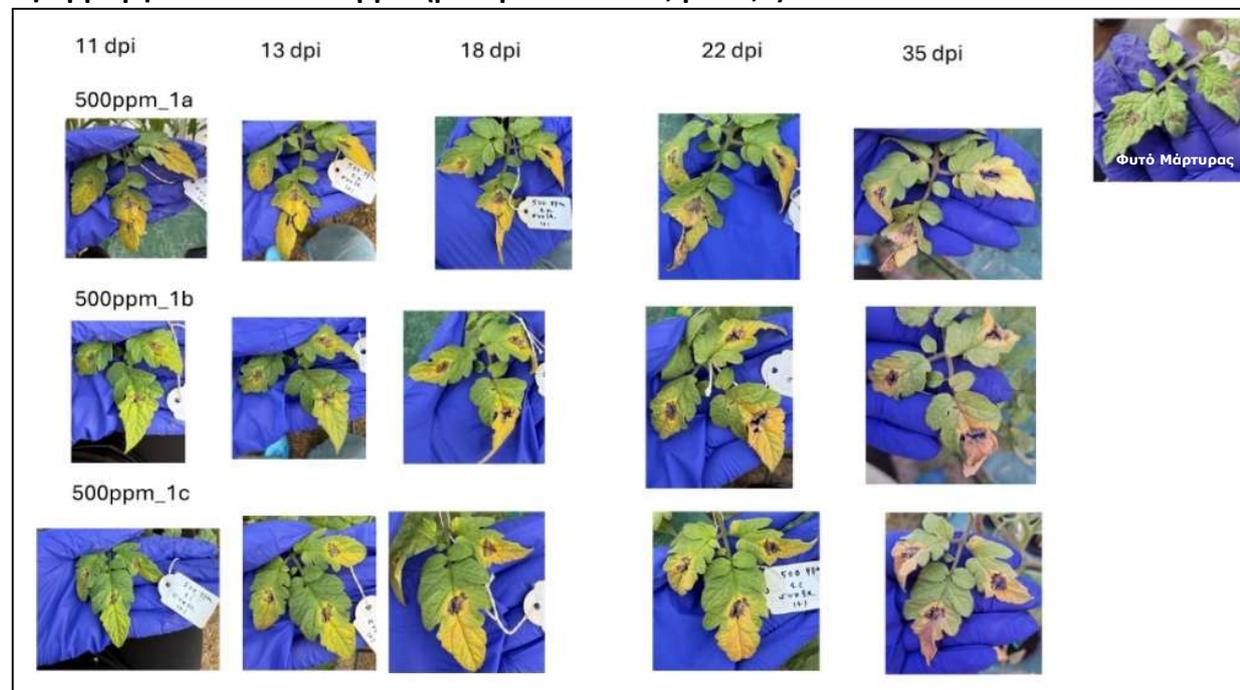
Σε κάθε εικόνα στην πάνω δεξιά μεριά απεικονίζεται ο αρνητικός μάρτυρας (χωρίς το φυτοπαθογόνο).

Εφαρμογή: Control (No BIOMORE)



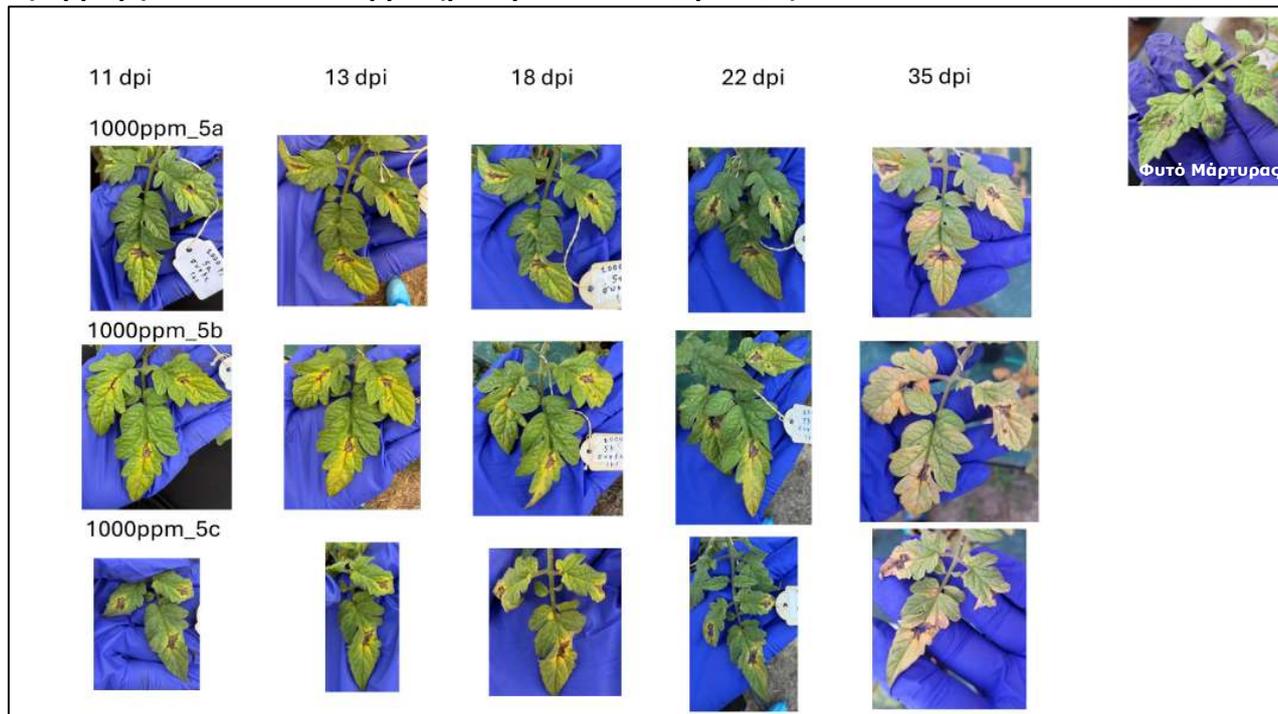
Εικόνα Π.3.4.2.24. Επίδραση του φυτοπαθογόνου *Pseudomonas Syringae* tomato σε φυτά τομάτας 11, 13, 18, 22 και 35 ημέρες μετά τη μόλυνση (φυτά μάρτυρες).

Εφαρμογή: BIOMORE 500ppm (phosphate buffer, pH=8,2)



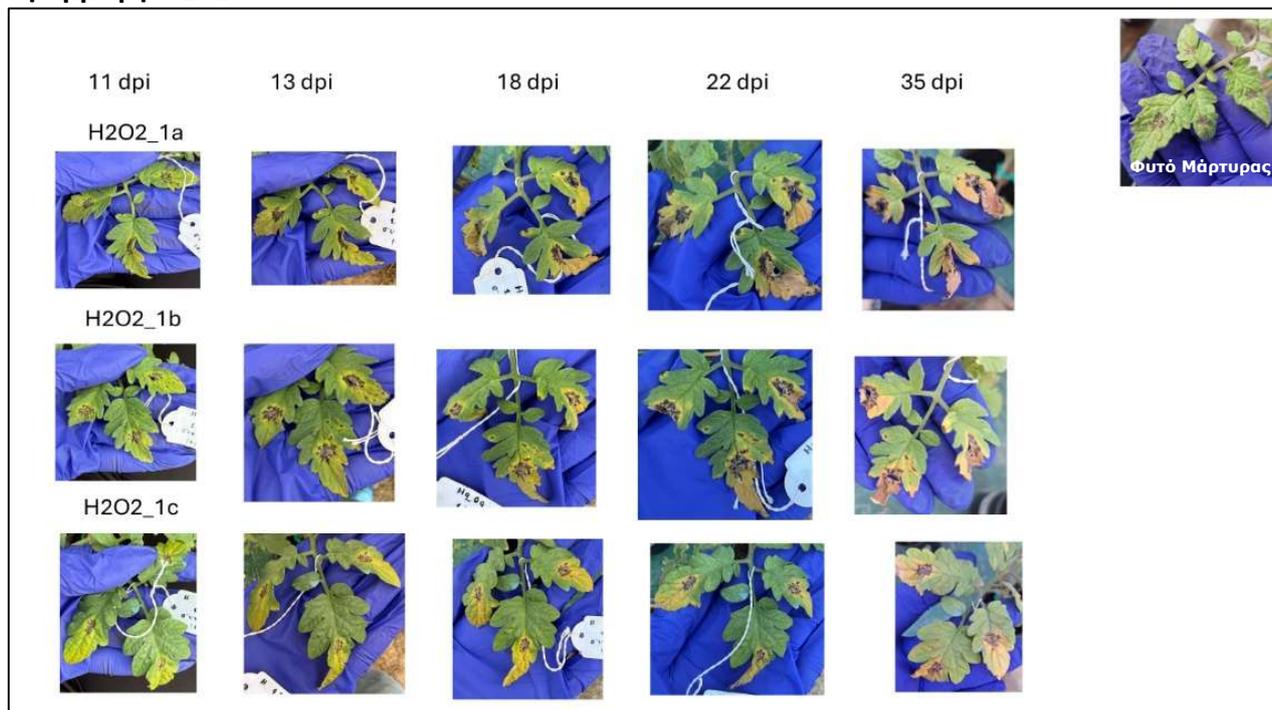
Εικόνα Π.3.4.2.25. Επίδραση του φυτοπαθογόνου *Pseudomonas Syringae* tomato σε φυτά τομάτας έπειτα από επέμβαση 500ppm (phosphate buffer, pH=8,2) 11, 13, 18, 22 και 35 ημέρες μετά τη μόλυνση.

Εφαρμογή: BIOMORE 1000ppm (phosphate buffer, pH=8,2)



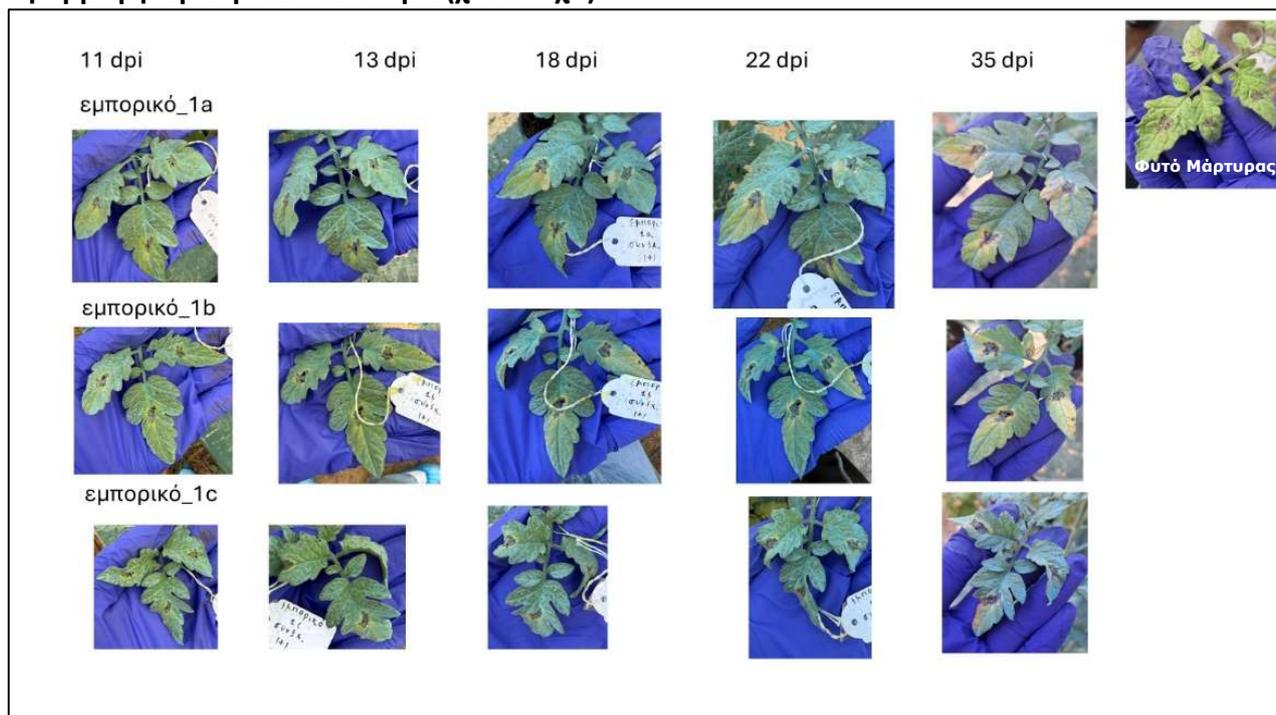
Εικόνα Π.3.4.2.26. Επίδραση του φυτοπαθογόνου *Pseudomonas Syringae* tomato σε φυτά τομάτας έπειτα από επέμβαση 1000ppm (phosphate buffer, pH=8,2) 11, 13, 18, 22 και 35 ημέρες μετά τη μόλυνση.

Εφαρμογή: H₂O₂ 3mM



Εικόνα Π.3.4.2.27. Επίδραση του φυτοπαθογόνου *Pseudomonas Syringae* tomato σε φυτά τομάτας έπειτα από επέμβαση 3mM H₂O₂ 11, 13, 18, 22 και 35 ημέρες μετά τη μόλυνση.

Εφαρμογή: εμπορικό σκεύασμα (χαλκούχο)



Εικόνα Π.3.4.2.28. Επίδραση του φυτοπαθογόνου *Pseudomonas Syringae* tomato σε φυτά τομάτας έπειτα από επέμβαση χαλκούχο εμπορικό σκεύασμα 11, 13, 18, 22 και 35 ημέρες μετά τη μόλυνση.

3. ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα συνολικά αποτελέσματα από την αξιολόγηση του σκευάσματος "BIOMORE" καταδεικνύουν σαφή βιολογική δραστικότητα του σκευάσματος, με διαφοροποίηση ανάλογα με τον παθογόνο οργανισμό και το πειραματικό σύστημα. Τα *in vitro* δεδομένα στα φυτοπαθογόνα βακτήρια Xcc και Pst είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά και επιβεβαιώνουν τη βακτηριοστατική δράση του σκευάσματος σε συγκεντρώσεις δραστικής ουσίας >250 ppm (>1,62 mM). Σε αντίθεση με το σκέτο H₂O₂ (1 mM), το οποίο αποδομείται ταχύτατα λόγω της βακτηριακής δραστικότητας της καταλάσης (data not shown), η εφαρμογή του BIOMORE σε συγκεντρώσεις 800-900 ppm (5,19–5,84 mM) διατηρεί ανασταλτική επίδραση στην ανάπτυξη των βακτηρίων έως και 48 ώρες. Στα *in vitro* πειράματα με φυτοπαθογόνους μύκητες παρατηρήθηκε ήπια αλλά επαναλαμβανόμενη καθυστέρηση της ανάπτυξης του *Verticillium dahliae* σε όλες τις επεμβάσεις του σκευάσματος, ενώ στην περίπτωση του *Fusarium oxysporum* η επίδραση ήταν περιορισμένη και πρακτικά αμελητέα.

Όσον αφορά τα *in planta* πειράματα, στο θερμοκήπιο καταγράφηκε μέτριο επίπεδο προστασίας όταν το BIOMORE εφαρμόστηκε σε συγκεντρώσεις δραστικής ουσίας >500 ppm (>3,24 mM), ενώ τα πειράματα στον θάλαμο ανάπτυξης παρείχαν πιο συνεπή και αξιόπιστα αποτελέσματα, δείχνοντας σημαντική προστατευτική δράση ήδη από τα 300 ppm (1,95 mM), η οποία ενισχύθηκε περαιτέρω στα 600 ppm (3,89 mM). Συνολικά, τα δεδομένα τεκμηριώνουν το δυναμικό του BIOMORE ως καινοτόμου φυτοπροστατευτικού σκευάσματος με σημαντική αντιβακτηριακή και μικρού βαθμού αντιμυκητιακή δράση, δικαιολογώντας τη μετάβαση σε περαιτέρω πειράματα βελτιστοποίησης και εφαρμογής σε συνθήκες αγρού.

Βιβλιογραφικές Πηγές

- Ververidis, F.; Theocharis, A.; Trantas, E. Antibacterial Formulations against Members of Xanthomonadaceae Family Preventing Plant Diseases. EU Patent 22,386,086.7, 27 November 2022.
- Trantas, E.; Navakoudis, E.; Pavlidis, T.; Nikou, T.; Halabalaki, M.; Skaltsounis, L.; Ververidis, F. Dual pathway for metabolic engineering of *Escherichia coli* to produce the highly valuable hydroxytyrosol. *PLoS ONE* **2019**, 14, e0212243.
- Tsagkarakis, E.A.; Afentoulis, D.G.; Matared, M.; Thanou, Z.N.; Stamatakou, G.D.; Kalaitzaki, A.P.; Tzobanoglou, D.K.; Goumas, D.; Trantas, E.; Zarboutis, I.; et al. Identification and Seasonal Abundance of Auchenorrhyncha with a Focus on Potential Insect Vectors of *Xylella fastidiosa* in Olive Orchards in Three Regions of Greece. *J. Econ. Entomol.* **2018**, 111, 2536–2545.
- Tserevelakis GJ, Theocharis A, Spyropoulou S, Trantas E, Goumas D, Ververidis F, Zacharakis G. Hybrid Autofluorescence and Optoacoustic Microscopy for the Label-Free, Early and Rapid Detection of Pathogenic Infections in Vegetative Tissues. *Journal of Imaging*. 2023;9(9):176.
- Vicente, J.G.; Holub, E.B. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops. *Mol. Plant Pathol.* **2013**, 14, 2–18. [