

A close-up photograph of a petri dish containing a dark agar medium. Numerous bacterial colonies of various sizes and colors (white, yellow, orange, brown) are visible, some showing concentric rings or spreading patterns. The text is overlaid on the image.

*Τα βακτήρια ως
παράγοντες
βιοεξυγίανσης και
βιοελέγχου*

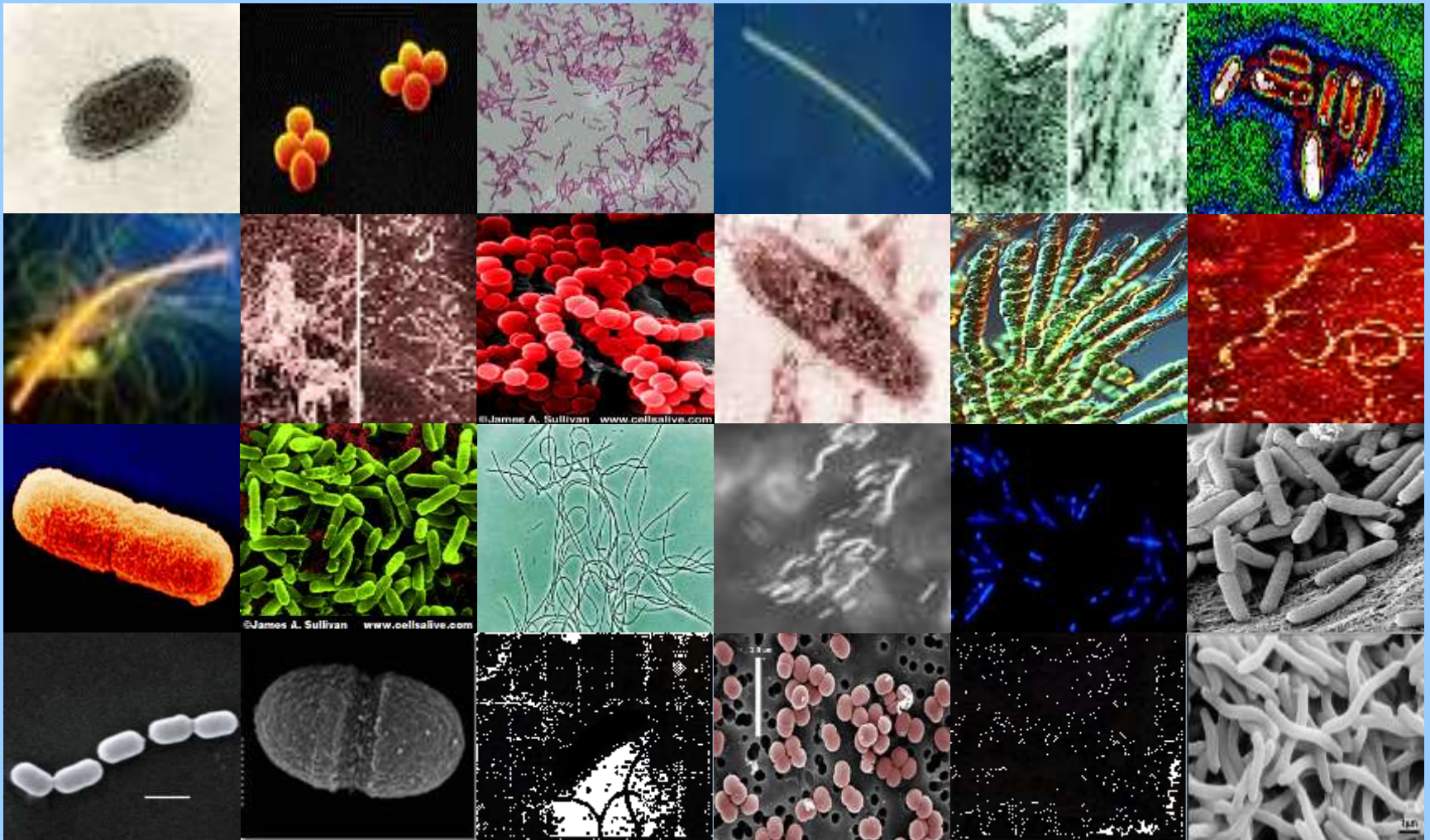
Δρ. Ε. Α. Κατσίφας

Βιοτεχνολογία

"Κάθε τεχνολογική εφαρμογή που χρησιμοποιεί βιολογικά συστήματα, ζώντες οργανισμούς ή παράγωγα αυτών για την παραγωγή ή τροποποίηση προϊόντων ή για διαδικασίες ειδικών σκοπών "

Η χρήση μικροοργανισμών όπως τα βακτήρια ή βιολογικών ουσιών όπως είναι τα ένζυμα, για την εκτέλεση ειδικών βιομηχανικών ή άλλων διαδικασιών παραγωγής όπως είναι η παραγωγή ορισμένων φαρμάκων, συνθετικών ορμονών, τροφίμων καθώς και η βιομετατροπή οργανικών αποβλήτων και ο καθαρισμός ρύπων.

ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ





250.000



750.000

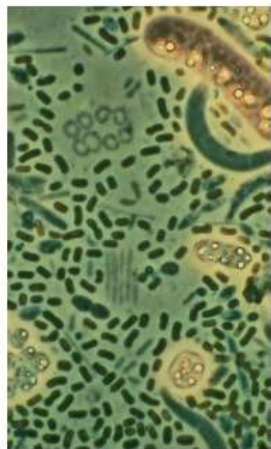


41.000

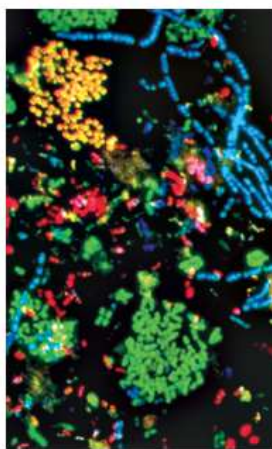


ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ : 3,7 - 4 δισεκατομμύρια έτη

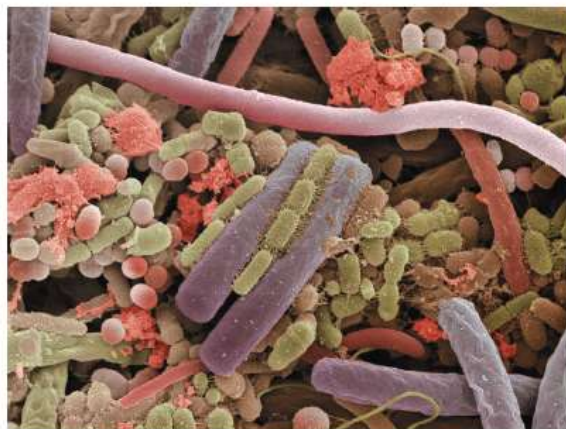
- Μέγεθος κυττάρου $\ll 1 \text{ mm}$
- Ολική βιομάζα 25 φορές $>$ Ολική βιομάζα των ζώων



(α)



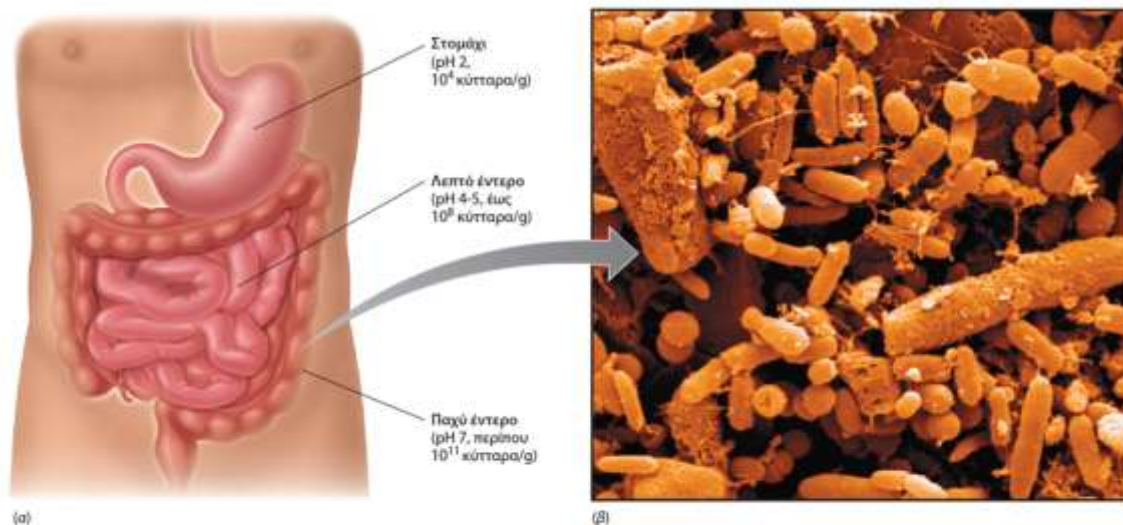
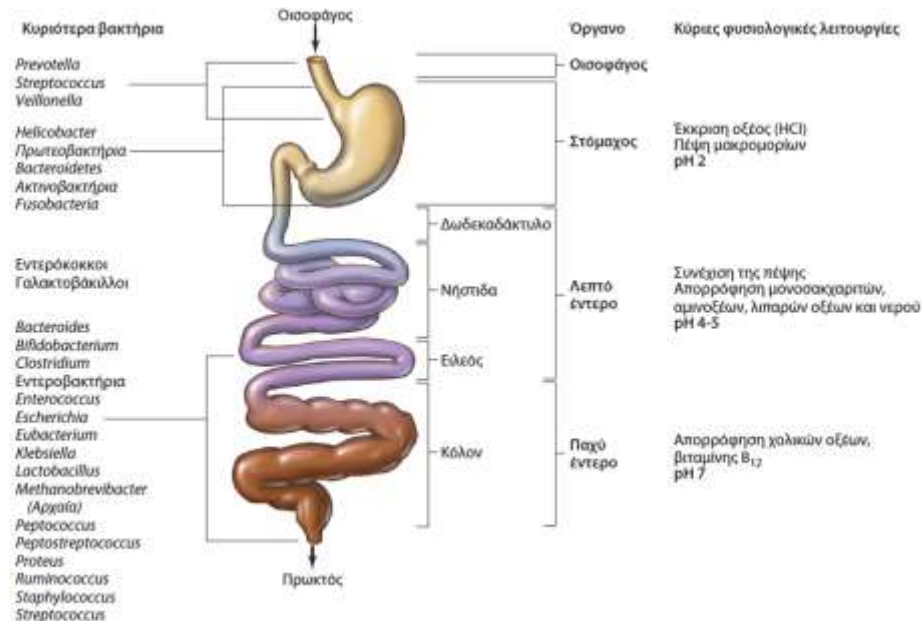
(β)



(γ)

Εικόνα 1.7 Μικροβιακές κοινότητες. (α) Βακτηριακή κοινότητα που αναπτύχθηκε στον βυθό μιας μικρής λίμνης στο Michigan των ΗΠΑ· απεικονίζονται κύτταρα από διάφορα πράσινα και πορφυρά (μεγάλα κύτταρα με κοκκία θείου) φωτοτροφικά βακτήρια. (β) Βακτηριακή κοινότητα σε δείγμα αστικών αποβλήτων. Το δείγμα έχει χρωματιστεί με σειρά χρωστικών, καθενιά από τις οποίες χρωματίζει συγκεκριμένη ομάδα βακτηρίων. Από το *Journal of Bacteriology* 178: 3496-3500, Fig. 2b. © 1996 American Society for Microbiology. (γ) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα σάρωσης μικροβιακής κοινότητας που συλλέχθηκε από ανθρώπινη γλώσσα.

Εικόνα 23.5
Η μικροχλωρίδα της ανθρωπίνης γαστρεντερικής οδού. Τούτες οι ταξινομημένες κατηγορίες είναι αντιπροσωπευτικές των μικροοργανισμών που απαντούν σε υγιείς ενήλικους. Δεν φέρουν όλα τα άτομα όλους αυτούς τους μικροοργανισμούς.



Εικόνα 1.10 Ο γαστρεντερικός σωλήνας του ανθρώπου. (α) Διάγραμμα του ανθρώπινου γαστρεντερικού σωλήνα, που απεικονίζει τα κύρια όργανα. (β) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα σάρωσης μικροβιακών κυττάρων στο ανθρώπινο κόλον (παχύ έντερο). Ο αριθμός των κυττάρων στο κόλον μπορεί να φτάσει και τα 10¹¹ ανά γραμμάριο. Και ο κυτταρικός αριθμός είναι ιδιαίτερα υψηλός και η μικροβιακή ποικιλότητα είναι επίσης ιδιαίτερα υψηλή.

Μικροβιακή Ποικιλότητα και Βιοτεχνολογία

1. Παραγωγή βιοενεργών ενώσεων
 - Περίπου το 80 % των αντιβιοτικών που διακινούνται από την παγκόσμια φαρμακοβιομηχανία παράγονται από βακτήρια (*Actinobacteria*)
 - Αυξανόμενες ανάγκες εξαιτίας δημιουργίας ανθεκτικών στελεχών
 - Ανάγκη για φυσικά «εντομοκτόνα» και «ζιζανιοκτόνα» που δεν επιβαρύνουν το περιβάλλον

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ – ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΠΑΝΤΟΣ ΤΥΠΟΥ

ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ



ΧΗΜΙΚΕΣ ΤΡΟΠΕΣ 

ΜΕΣΩ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΖΥΜΩΣΩΝ



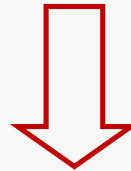
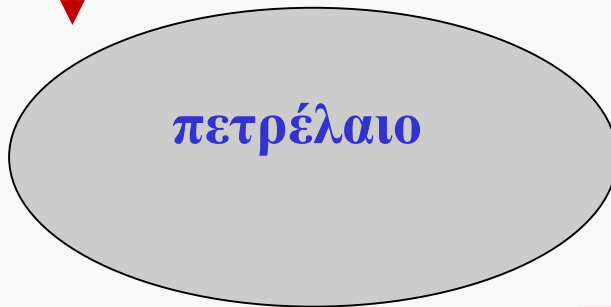
Παράδειγμα : Βιολογική Απόσμιση Κάδων Απορριμμάτων,
Απορριματοφόρων Αυτοκινήτων

Συνδυασμός των βακτηρίων

Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis, Bacillus megaterium

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ - ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΠΑΝΤΟΣ ΤΥΠΟΥ

Δημιουργείται από
μικροοργανισμούς



Αποικοδομείται από μικροοργανισμούς



Λύση στη μόλυνση του περιβάλλοντος : ΒΑΚΤΗΡΙΑ
(100 δισεκατ. δολάρια !!)

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ – ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΠΑΝΤΟΣ ΤΥΠΟΥ

ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ

- Είναι λιγότερο ακριβή
- Εφαρμόζεται *in situ* σε έδαφος και υπόγεια νερά
- Ελάχιστες απαιτήσεις σε ενέργεια
- Διατήρηση της δομής του εδάφους



**ΠΡΙΝ την επεξεργασία με
ΒΑΚΤΗΡΙΑ**



**ΜΕΤΑ την επεξεργασία με
ΒΑΚΤΗΡΙΑ**

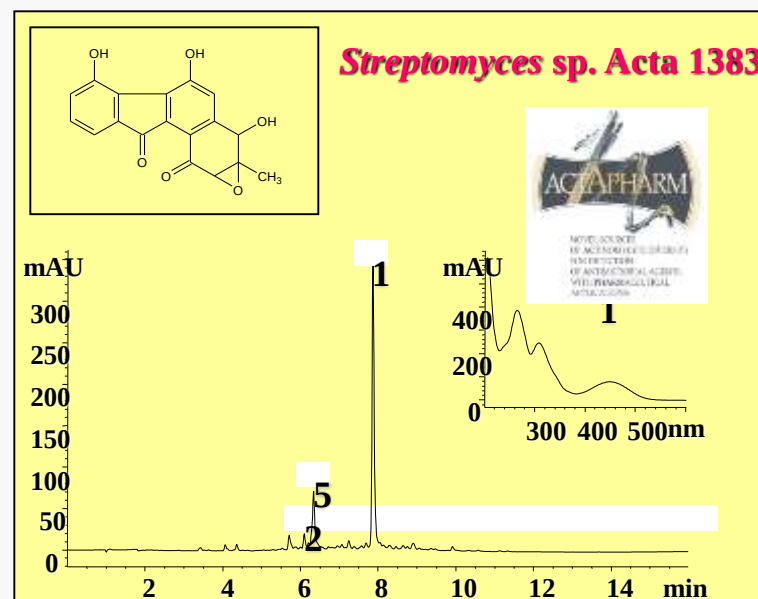
ΓΕΩΡΓΙΑ - ΒΙΟΕΛΕΓΧΟΣ

Εθνικός Μικροβιακός
Πλούτος Υπεδάφους

Τεράστια μικροβιακή ποικιλότητα

Βιοέλεγχος καλλιεργειών

Μικροοργανισμοί
παραγωγείς
βιοενεργών ενώσεων



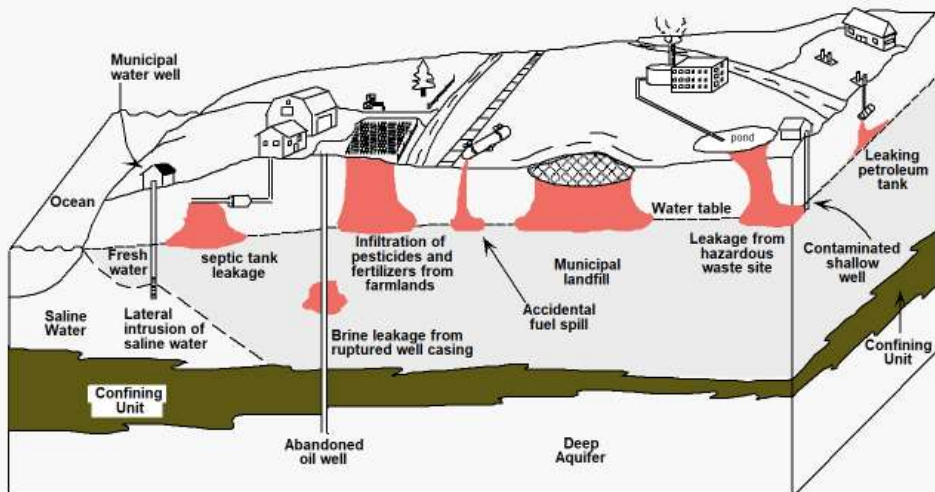
A petri dish containing a dark agar medium with numerous circular microbial colonies of varying sizes and colors, including white, yellow, orange, and brown. The colonies are distributed across the surface of the agar. The text "Βιοεξυγίανση" is overlaid in the center in a yellow, stylized font.

Βιοεξυγίανση

Τι είναι η Βιοεξυγίανση

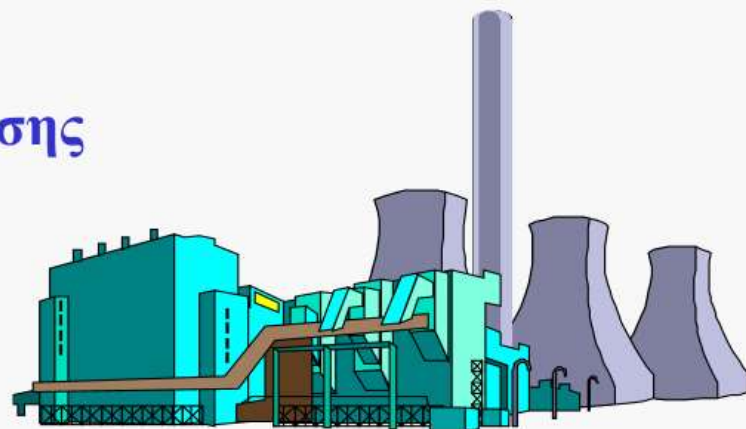
- Η χρησιμοποίηση μικροοργανισμών εδάφους στην μετατροπή τοξικών ρυπαντών σε λιγότερο τοξικά ή και ακίνδυνα βιοπροϊόντα.
 - ✓ Βιοαποικοδόμηση
 - ✓ Αναοργανοποίηση
 - ✓ Βιομετατροπή
- Μέθοδοι και είδη βιοεξυγίανσης
 - ✓ Φυσική εξουδετέρωση
 - ✓ Ενισχυμένη βιοεξυγίανση
 - ✓ Βιοαύξηση





Αιτίες Ρύπανσης

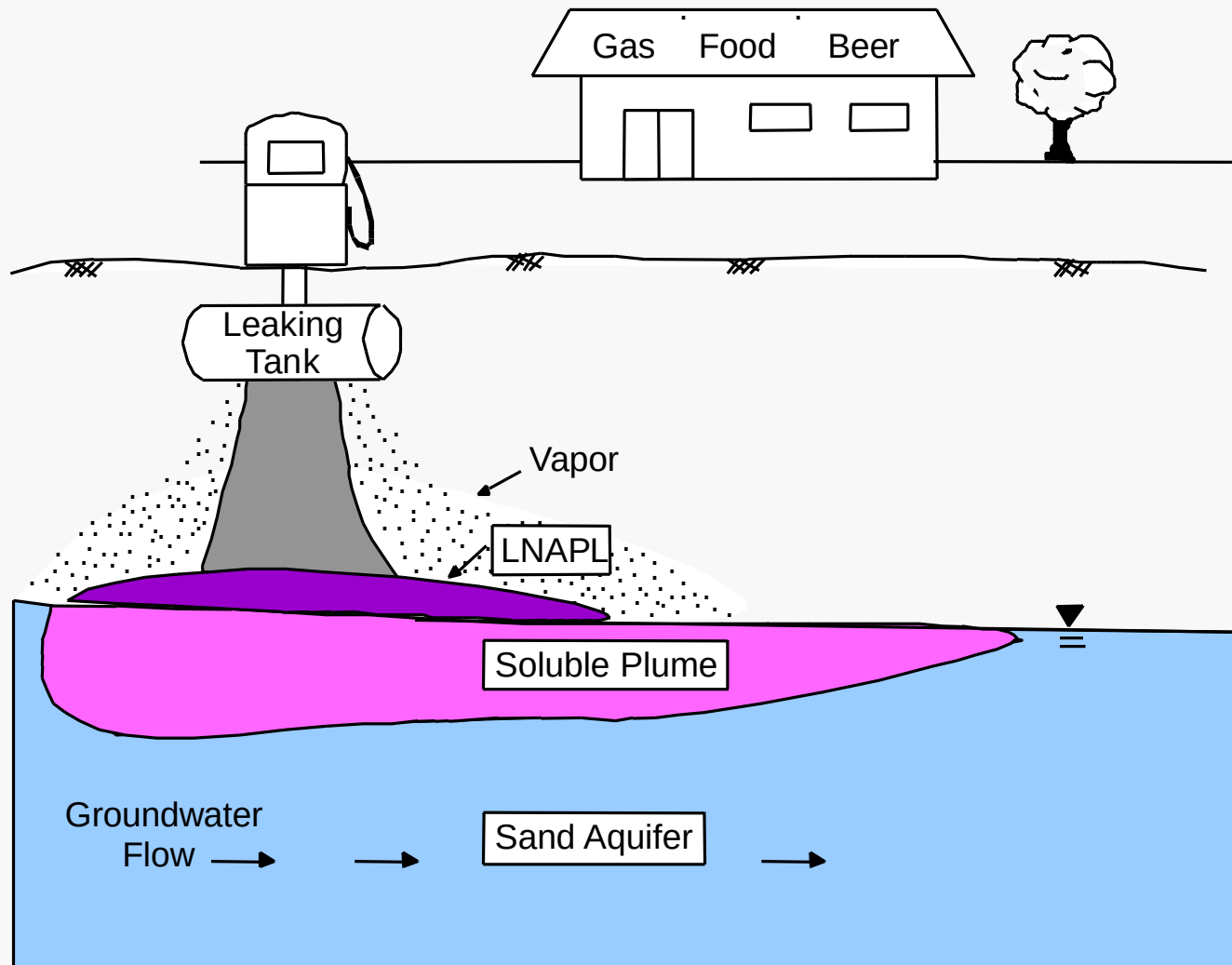
- Βιομηχανικές διαρροές
- Επιφανειακές κατακρημνίσεις
- Δεξαμενές και σωλήνες αποθήκευσης
- Χώροι υγειονομικής ταφής
- Χώροι ταφής και χωματερές
- Φρεάτια έγχυσης



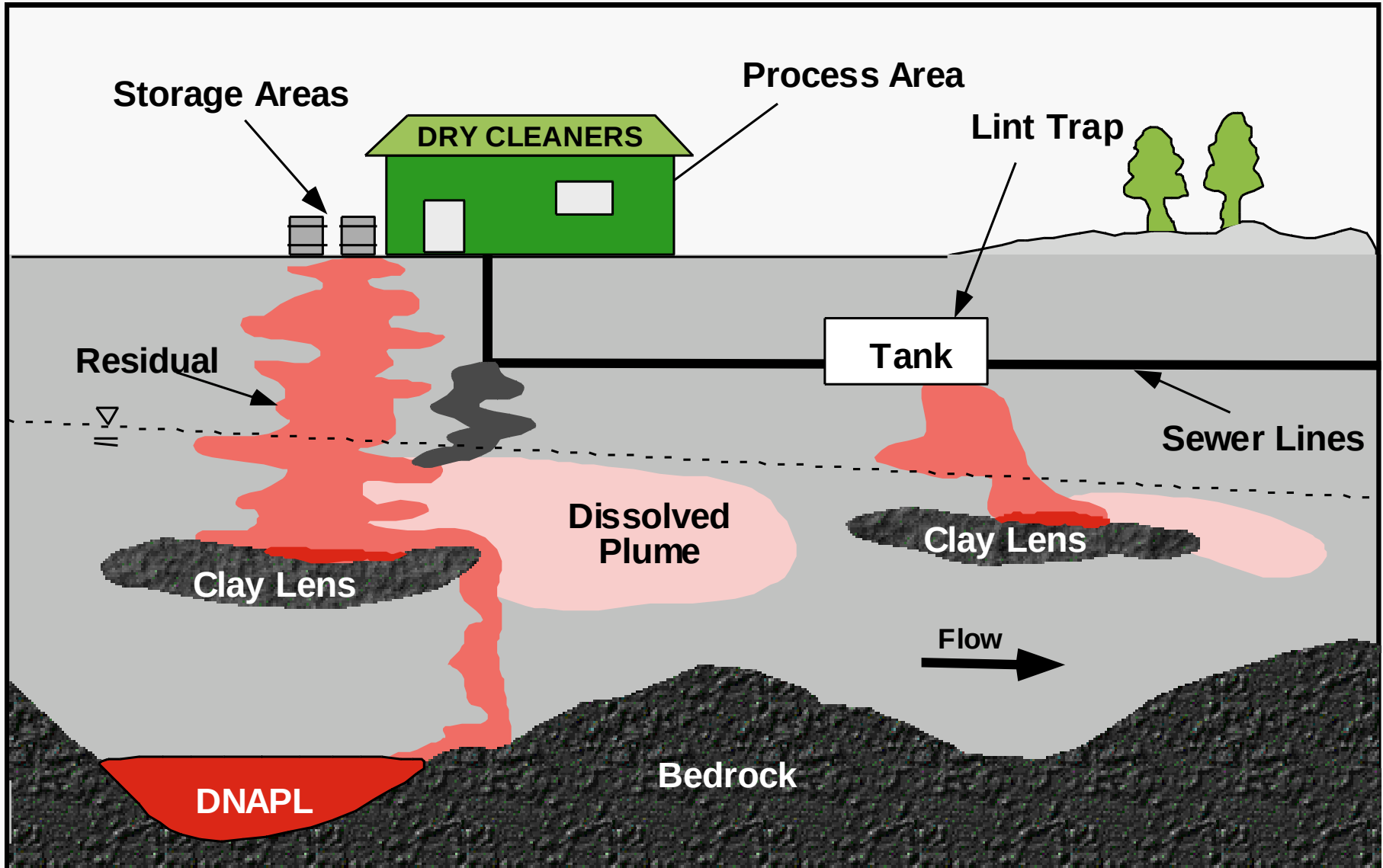
Είδη ρυπαντών εδάφους και υδάτων

- Το βενζόλιο και τα συναφή συστατικά καυσίμων
- Πυρένιο και άλλα πολυπυρηνικά αρωματικά
- Χλωριωμένα αρωματικά και διαλύτες
- Ζιζανιοκτόνα και παρασιτοκτόνα
- Νιτροαρωματικά εκρηκτικά και πλαστικοποιητές

Τυπική διαρροή καυσίμων



Διαρροές διαφόρων τύπων



Μορφές βιοεξυγίανσης

➤ *In situ* βιοεξυγίανση

Η επεξεργασία του ρυπαντή γίνεται επιτόπου

➤ *Ex situ* βιοεξυγίανση

Η επεξεργασία του ρυπαντή γίνεται αφού μεταφερθεί σε
άλλο σημείο

In situ Βιοεξυγίανση

➤ Έδαφος

Πλεονεκτήματα:

- ✓ Δεν απαιτείται εκσκαφή του εδάφους, είναι πιο οικονομική και είναι μικρότερη η πιθανότητα ρύπανσης γειτονικών περιοχών.
- ✓ Δυνατότητα διαχείρισης μεγάλου εδαφικού όγκου.

Μειονεκτήματα:

- ✓ Μπορεί να είναι χρονοβόρα και δύσκολη στην εφαρμογή.
- ✓ Απαιτεί άθικτες περιοχές.

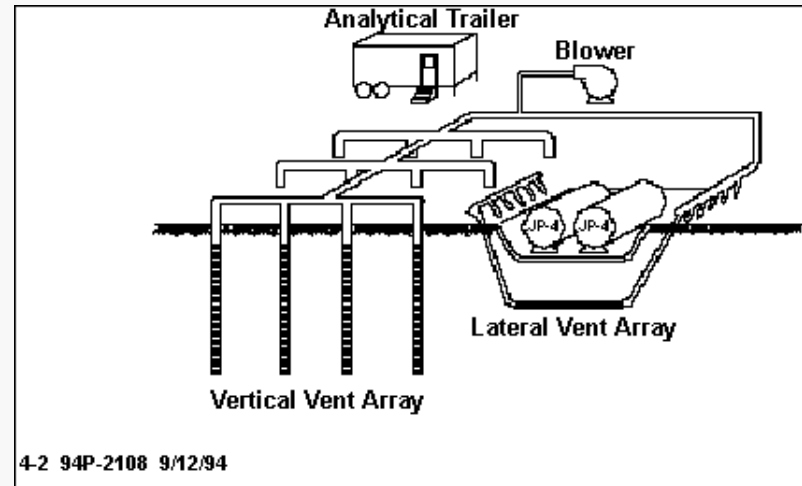
Παράγοντες που επηρεάζουν την Βιοεξυγίανση

- ✓ Μορφολογικά χαρακτηριστικά της περιοχής
- ✓ Μικροβιακός πληθυσμός
- ✓ Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Τεχνικές Βιοεξυγίανσης

In Situ βιοεξυγίανση εδαφους

Βιοαερισμός

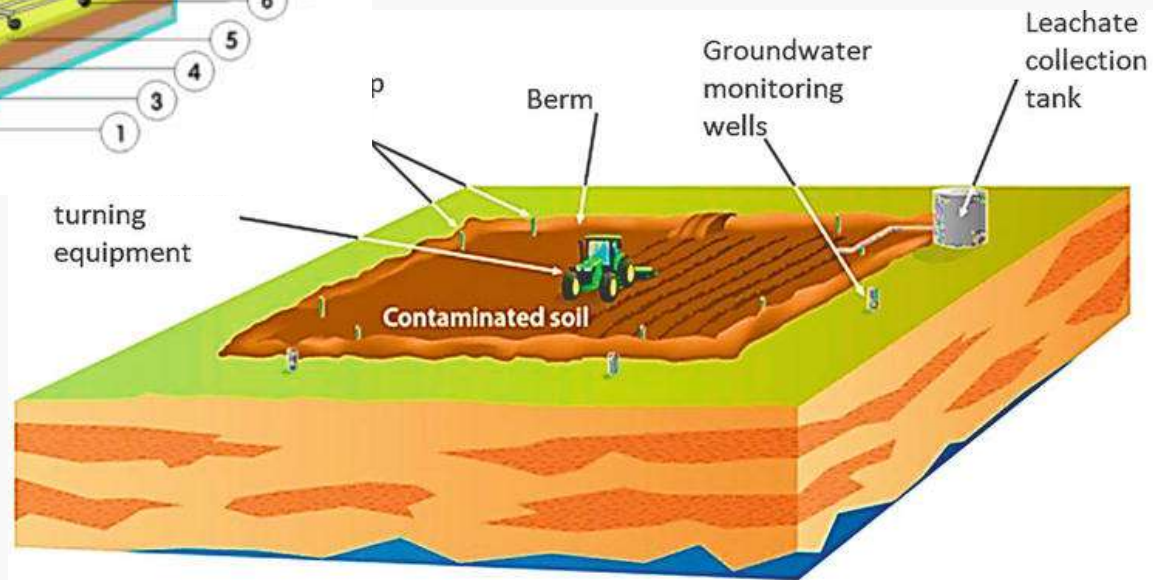
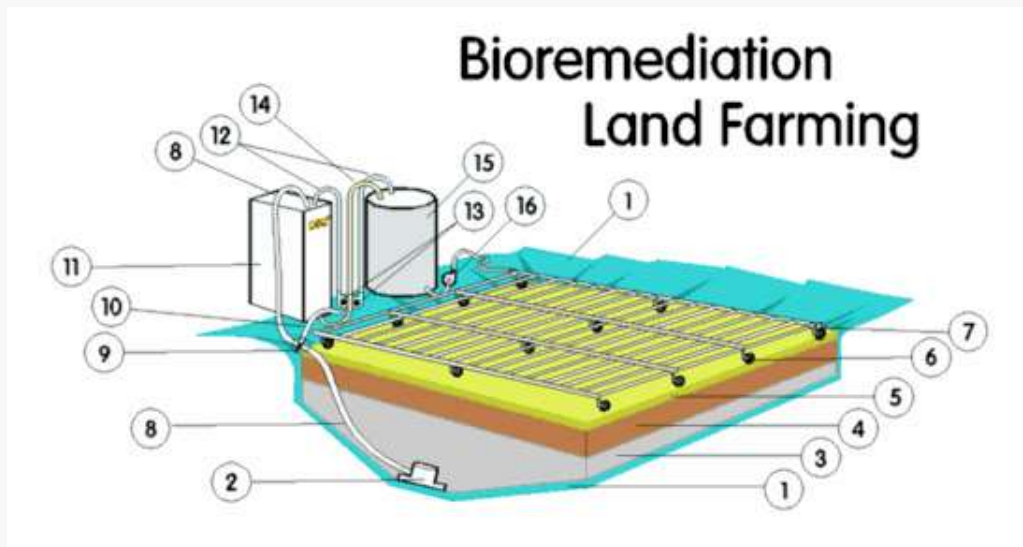


In Situ βιοεξυγίανση υπόγειων υδάτων

Βιοαντιδραστήρες ενεργούς βιομάζας

Ex situ βιοεξυγίανση εδάφους

- Βιοαντιδραστήρες αποβλήτων
- Landfarming (εδαφική βιοκαλλιέργεια)





T. D. Brock



T. D. Brock

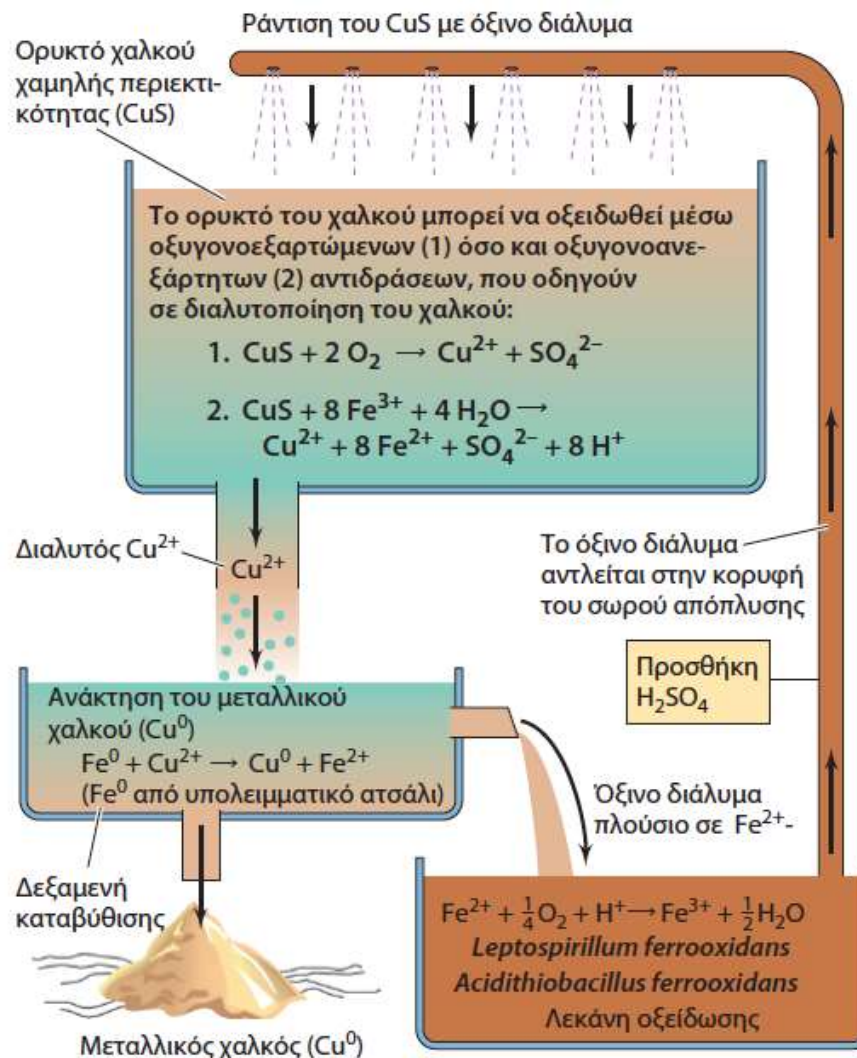


T. D. Brock



T. D. Brock

Εικόνα 21.1 Απόπλυση χαμηλής ποιότητας ορυκτών του χαλκού με τη χρήση σιδηροοξειδωτικών βακτηρίων. (α) Μια τυπική λεκάνη απόπλυσης. Το χαμηλής ποιότητας μετάλλευμα έχει συνθλιβεί και εναποτεθεί κατά τέτοιο τρόπο ώστε να αυξηθεί η ειδική του επιφάνεια όσο το δυνατόν περισσότερο. Το όξινο νερό απόπλυσης κατανέμεται με σωλήνες πάνω στην επιφάνεια του σωρού. Το όξινο νερό διεισδύει αργά μέσα στον σωρό και εξέρχεται στο κάτω μέρος. (β) Υγρά απόβλητα από τη χωματερή απόπλυση του χαλκού. Το όξινο νερό είναι πολύ πλούσιο σε Cu^{2+} . (γ) Ανάκτηση μεταλλικού χαλκού (Cu^0) με διέλευση του πλούσιου σε Cu^{2+} διαλύματος πάνω από μεταλλικό σίδηρο σε μακρόστενο υδαταγωγό (κανάλι). (δ) Ένας μικρός σωρός μεταλλικού χαλκού, που μόλις απομακρύνθηκε από τον υδαταγωγό, έτοιμος να εισέλθει στα επόμενα στάδια καθαρισμού.

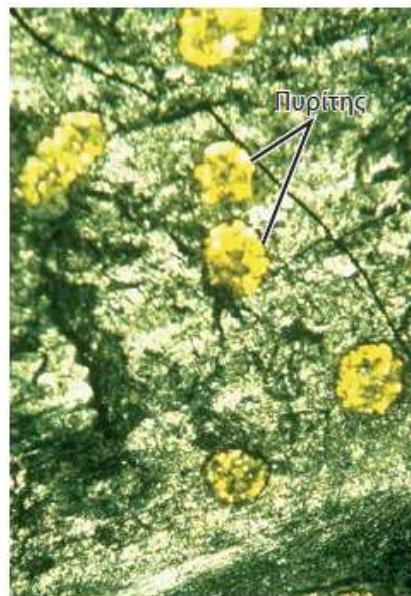


Εικόνα 21.2 Διάταξη ενός σωρού απόπλυσης και αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά τη μικροβιακή απόπλυση των ορυκτών του θειούχου χαλκού για την παραγωγή μεταλλικού χαλκού. Η αντίδραση 1 πραγματοποιείται βιολογικά όσο και χημικά. Η αντίδραση 2 γίνεται μόνο χημικά και αποτελεί την πιο σημαντική αντίδραση στις διαδικασίες απόπλυσης του χαλκού. Για να προχωρήσει η αντίδραση 2, είναι απαραίτητο ο Fe^{2+} που παράγεται κατά την οξείδωση του θειούχου ιόντος του CuS σε θειικά ιόντα να οξειδωθεί προς Fe^{3+} από σιδηροχρημειολιθότροφα (βλ. αντίδραση στη λεκάνη οξείδωσης).



Ashanti Goldfields Corp., Ghana

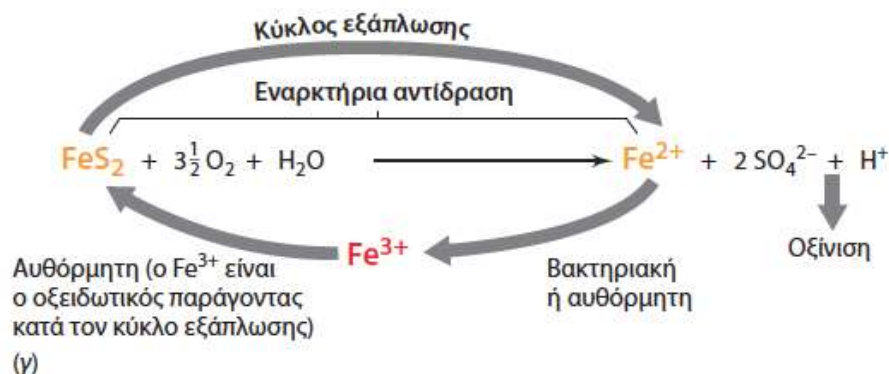
Εικόνα 21.3 Βιολογική απόπλυση χρυσού. Δεξαμενές απόπλυσης χρυσού στην Γκάνα (Αφρική). Μέσα στις δεξαμενές, ένα μείγμα *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* και *Leptospirillum ferrooxidans* διαλυτοποιεί τα ορυκτά πυριτίου/αρσενικού, απελευθερώνοντας έτσι τον παγιδευμένο σε αυτά χρυσό.



(α)



(β)



Εικόνα 21.4 Άνθρακας και πυρίτης. (α) Άνθρακας από τον σχηματισμό Black Mesa στη βόρεια Αριζόνα (ΗΠΑ). Ο σφαιρικοί δίσκοι χρυσού χρώματος (με διάμετρο περίπου 1 mm) είναι σωματίδια πυρίτη (FeS_2). (β) Μια φλέβα άνθρακα σε μια επιφανειακή θέση εξόρυξης άνθρακα. Η έκθεση του άνθρακα στο οξυγόνο και στην υγρασία επάγει τη δράση των σιδηροοξειδωτικών βακτηρίων που αναπτύσσονται πάνω στον πυρίτη του άνθρακα. (γ) Αντιδράσεις κατά την αποικοδόμηση του πυρίτη. Η κατά κύριο λόγο αβιοτική εναρκτήρια αντίδραση προετοιμάζει το έδαφος για την κύρια βακτηριακή οξείδωση του Fe^{2+} σε Fe^{3+} . Ο Fe^{3+} προσβάλλει και οξειδώνει αβιοτικά τον FeS_2 κατά τον κύκλο εξάπλωσης.



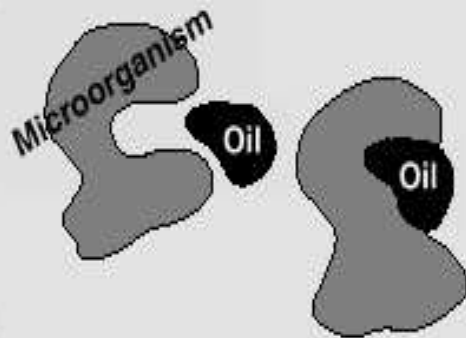
T. D. Brock

Εικόνα 21.5 Στράγγιση όξινων νερών από μια επιφανειακή θέση εξόρυξης άνθρακα. Το κιτρινοκόκκινο χρώμα οφείλεται στην καταβύθιση οξειδίων του σιδήρου στη στράγγιση (βλ. Εικόνα 21.4γ για τις αντιδράσεις που πραγματοποιούνται κατά τη στράγγιση όξινων νερών ορυχείου).

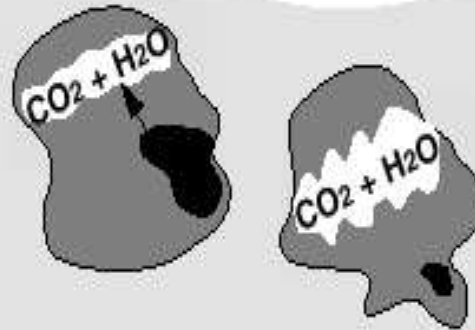


Ken Williams

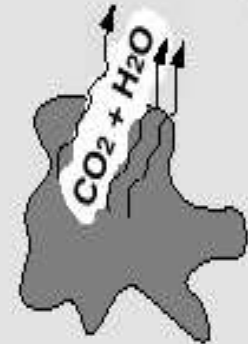
Εικόνα 21.6 Βιοαποκατάσταση ουρανίου. Πειραματική διάταξη του υπουργείου Ενέργειας των ΗΠΑ σε μια περιοχή μολυσμένη με ουράνιο. Οργανικός άνθρακας (οξικό οξύ) εγχέεται στο χώμα (ένθετη φωτογραφία) και διαχέεται μέσω των υπογείων υδάτων προς την κατεύθυνση που υποδεικνύει το βέλος στην κύρια φωτογραφία. Το οξικό οξύ είναι ο δότης ηλεκτρονίων για την αναγωγή του U^{6+} σε U^{4+} , η οποία και ακινητοποιεί το ουράνιο.



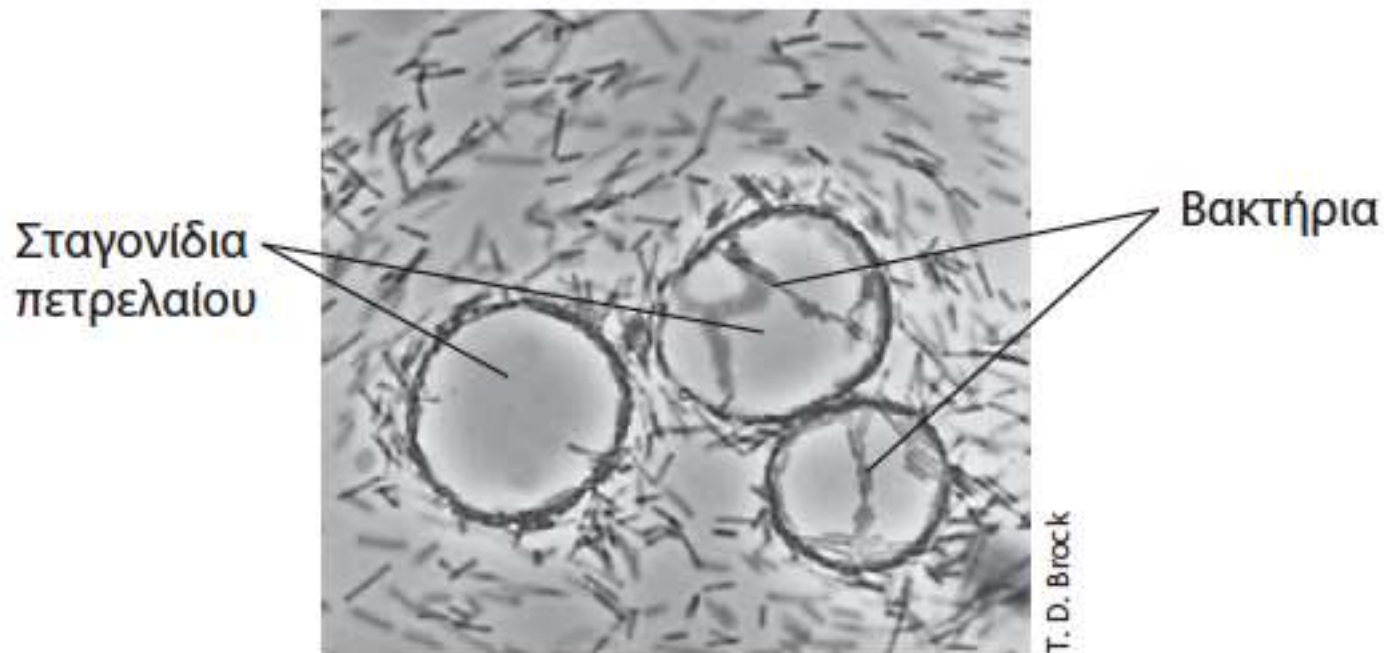
Microorganisms eat oil
or other organic
contaminant



Microorganisms digest oil and
convert it to carbon dioxide (CO₂)
and water (H₂O)



Microorganisms
give off CO₂ and
H₂O



Εικόνα 21.8 Βακτήρια που οξειδώνουν υδρογονάνθρακες, σε σταγονίδια πετρελαίου. Τα βακτήρια συγκεντρώνονται σε μεγάλους αριθμούς στη διεπιφάνεια πετρελαίου-νερού, αλλά στην πραγματικότητα δεν βρίσκονται στο εσωτερικό τού σταγονιδίου.



US Environmental Protection Agency

(α)



US Environmental Protection Agency

(β)



Bassam Lahoud, Lebanese American University

(γ)

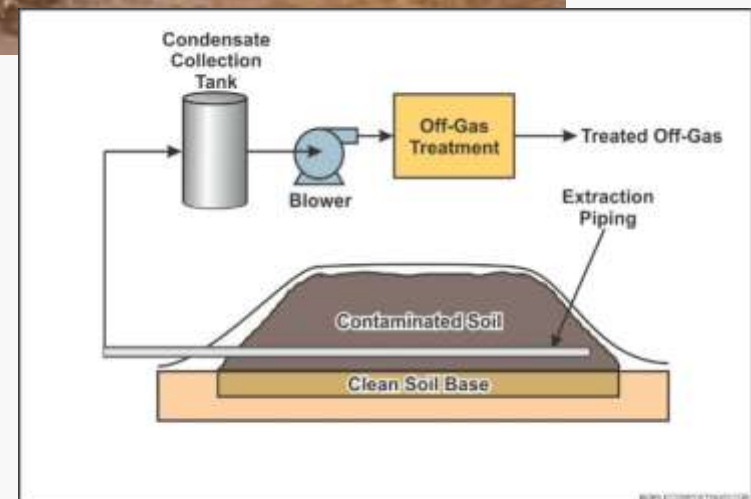
Εικόνα 21.7 Περιβαλλοντικές επιπτώσεις μεγάλων πετρελαιοκηλίδων και η επίδραση της βιοαποκατάστασης. (α) Μια παραλία κατά μήκος της ακτογραμμής της Αλάσκας η οποία έχει μολυνθεί από πετρέλαιο που έχει διαφύγει από το ατύχημα του δεξαμενόπλοιου *Exxon Valdez* το 1989. (β) Στο παραλληλόγραμμο τμήμα (βέλος) έχουν προστεθεί ανόργανες θρεπτικές ουσίες προκειμένου να διεγερθεί η βιοαποκατάσταση του διαφυγόντος πετρελαίου από τους μικροοργανισμούς, ενώ στα τμήματα εκατέρωθεν δεν έχουν προστεθεί θρεπτικές ουσίες. (γ) Πετρέλαιο που έχει διαφύγει στη Μεσόγειο από τις εγκαταστάσεις ηλεκτροπαραγωγής Jiyeh (Λίβανος) και έχει φτάσει στο λιμάνι της Βύβλου, κατά τη διάρκεια του πολέμου στον Λίβανο το 2006.

Παραδείγματα ex-situ τεχνικών:

- 1- Bioslurry reactor.
- 2- Biopile.
- 3- landfarming



Bioslurry reactor.



Biopile.

Βιοεξυγίανση νερού και αέρα

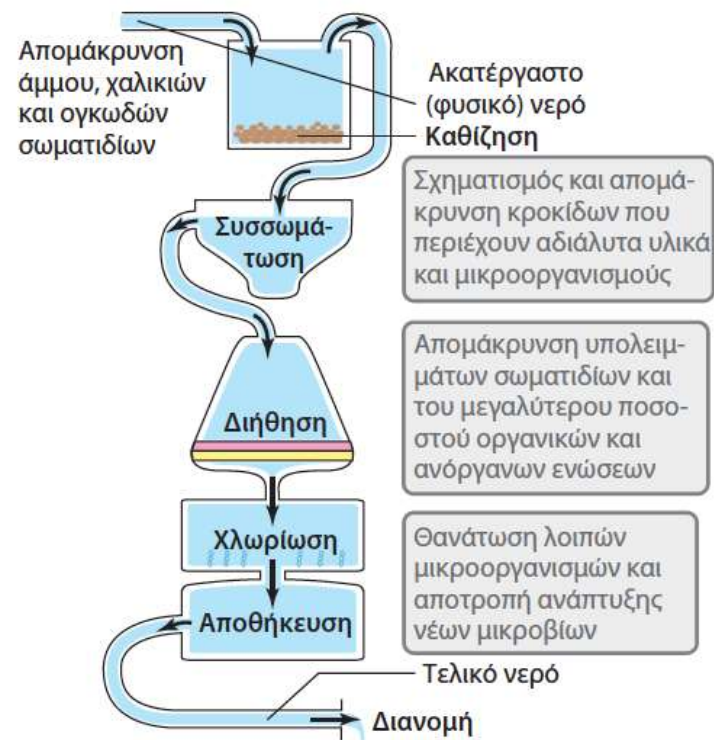
Η **βιοδιήθηση** (biofiltration): οι μικροοργανισμοί συνδέονται σε φίλτρα και συμμετέχουν στην βιοεξυγίανση του αέρα, άλλων αερίων και του νερού.

Τύποι βιοφίλτρων:

- ▶ 1- Βιοκαθαριστές (bioscrubbers)
- ▶ 2- Φίλτρα βιολογικού ψεκασμού (biotrickling filters)
- ▶ 3- Φίλτρα άμμου ή ενεργού άνθρακα

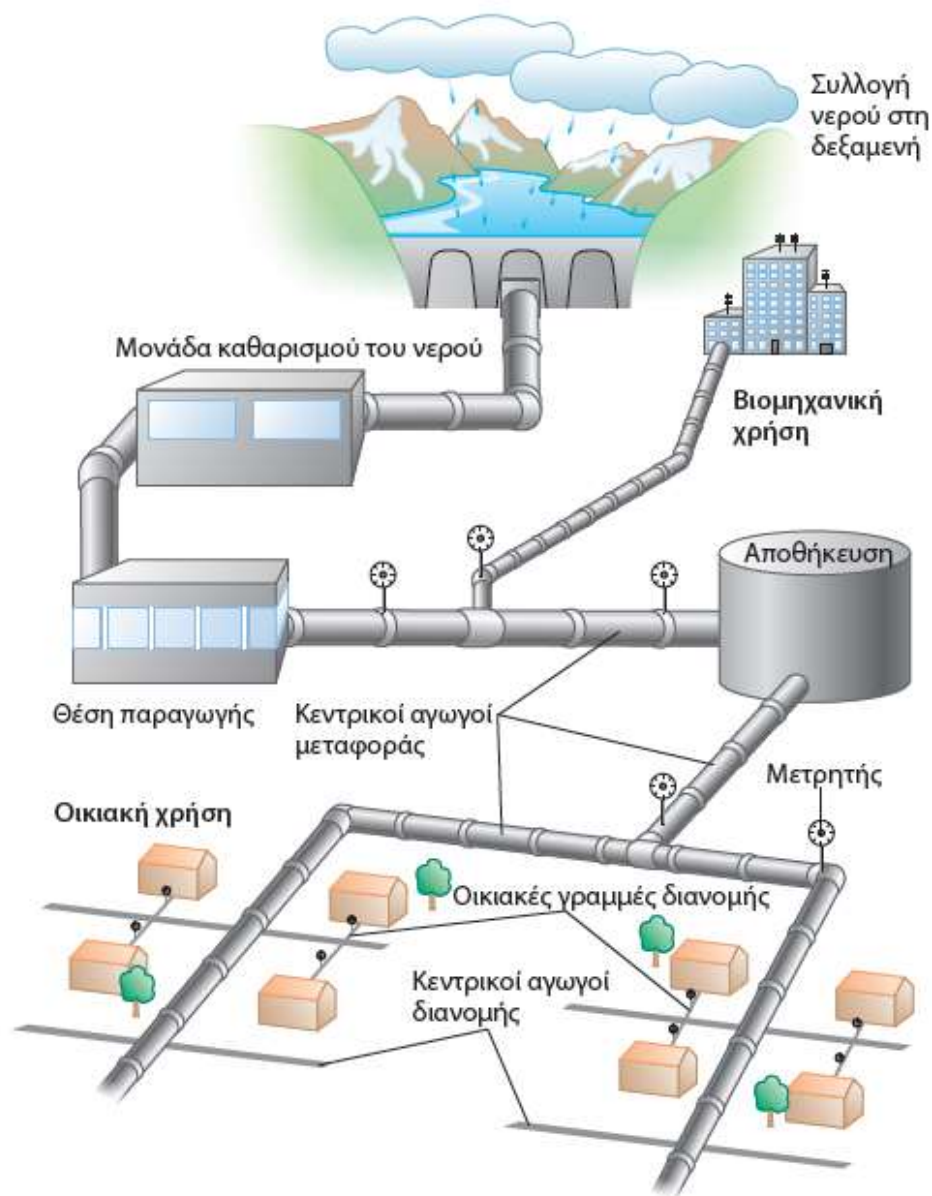


(α)

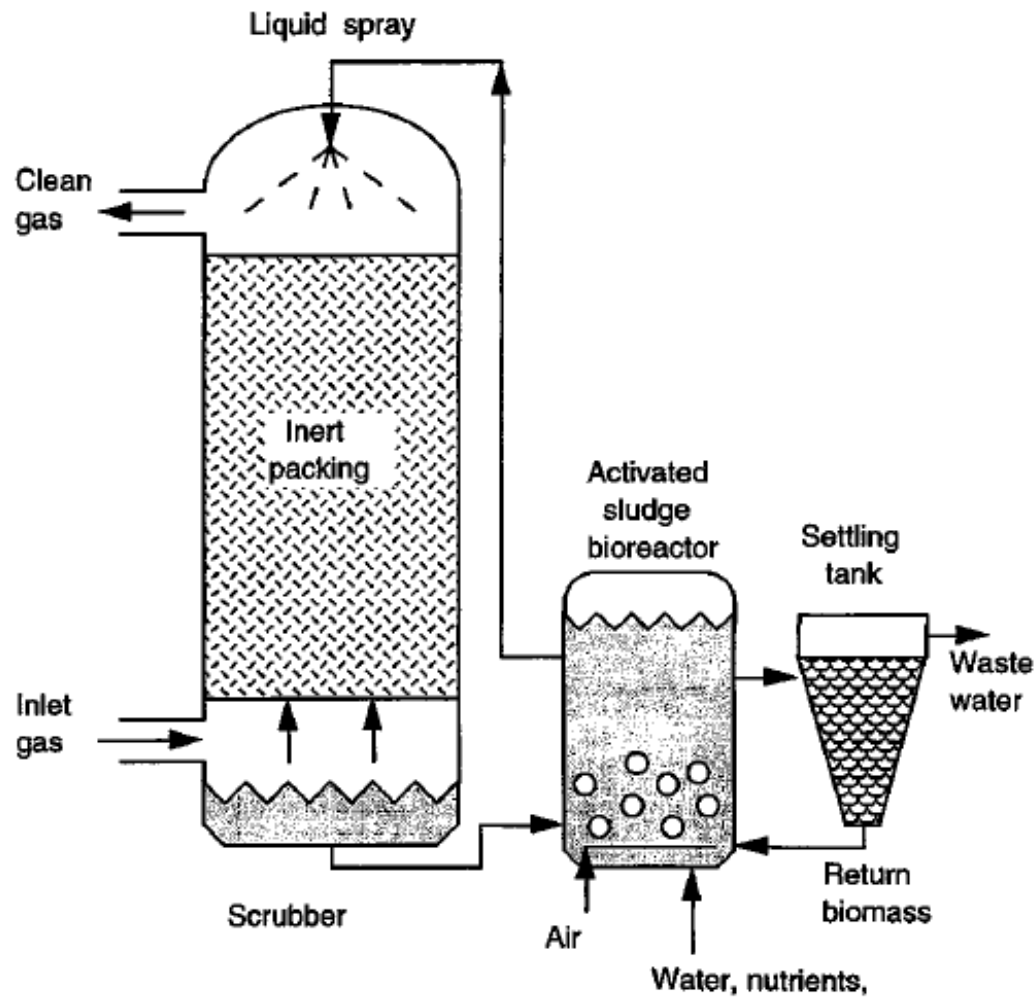


(β)

Εικόνα 21.19 Μονάδα καθαρισμού νερού. (α) Από αέρος, εικόνα μιας μονάδας επεξεργασίας νερού στο Louisville, στο Kentucky των ΗΠΑ. Τα βέλη υποδεικνύουν την πορεία της ροής του νερού μέσα στη συγκεκριμένη μονάδα. (β) Σχηματική αναπαράσταση ενός τυπικού συστήματος καθαρισμού νερού.



Εικόνα 21.20 Σύστημα διανομής πόσιμου νερού. Ένα δημοτικό σύστημα διανομής πόσιμου νερού αποτελείται από μια δεξαμενή επιφάνειας, τη μονάδα καθαρισμού του νερού, τους κεντρικούς αγωγούς διανομής και τις οικιακές γραμμές διανομής, οι οποίες σε μια τυπική κοινότητα εκτείνονται σε πολλά χιλιόμετρα.



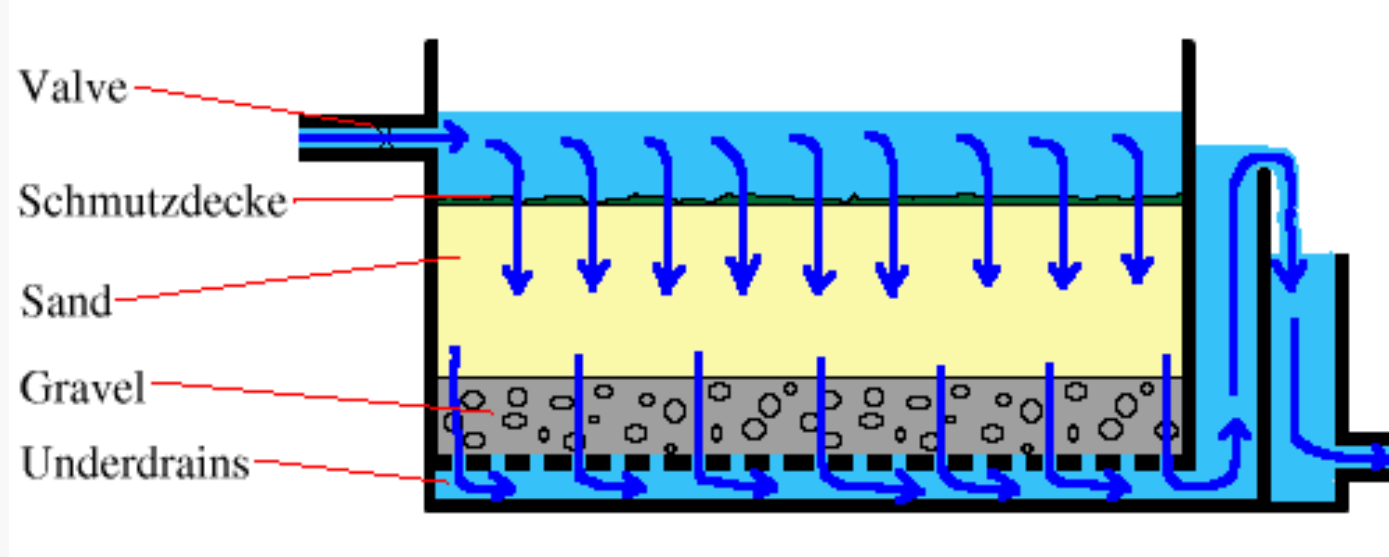
Βιοκαθαριστές (bioscrubbers)

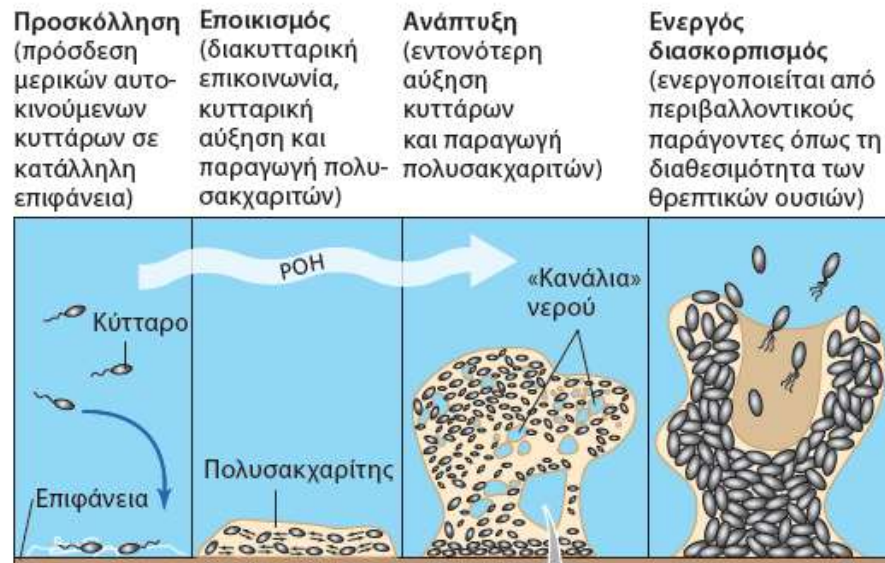


Εικόνα 21.9 Μεγάλες δεξαμενές αποθήκευσης πετρελαϊκών προϊόντων. Οι δεξαμενές αποθήκευσης καυσίμων συνήθως υποστηρίζουν τη μικροβιακή ανάπτυξη στις διεπιφάνειες πετρελαίου - νερού.

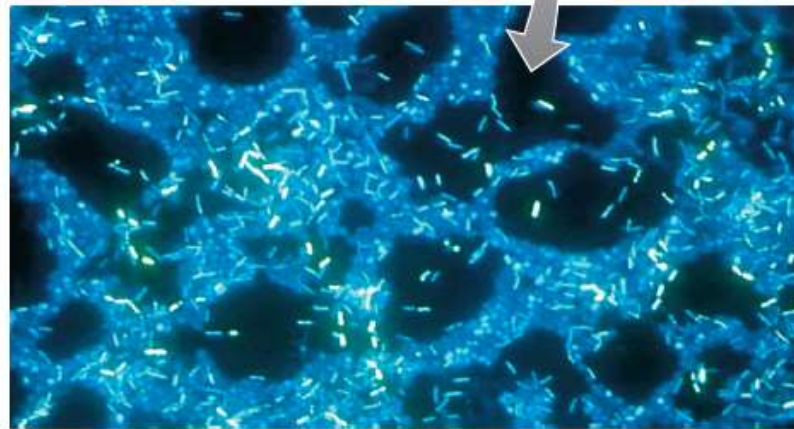
Φίλτρα άμμου ή ενεργού άνθρακα

- ▶ Στα φίλτρα αυτά σχηματίζεται ένα βιοϋμένιο (biofilm layer) στα πρώτα χιλιοστά της επιφάνεια του.
- ▶ Το βιοϋμένιο περιέχει βακτήρια αλλά και διάφορες άλλες ομάδες οργανισμών (π.χ. μύκητες, πρωτόζωα ή ακόμα και λάρβες εντόμων).





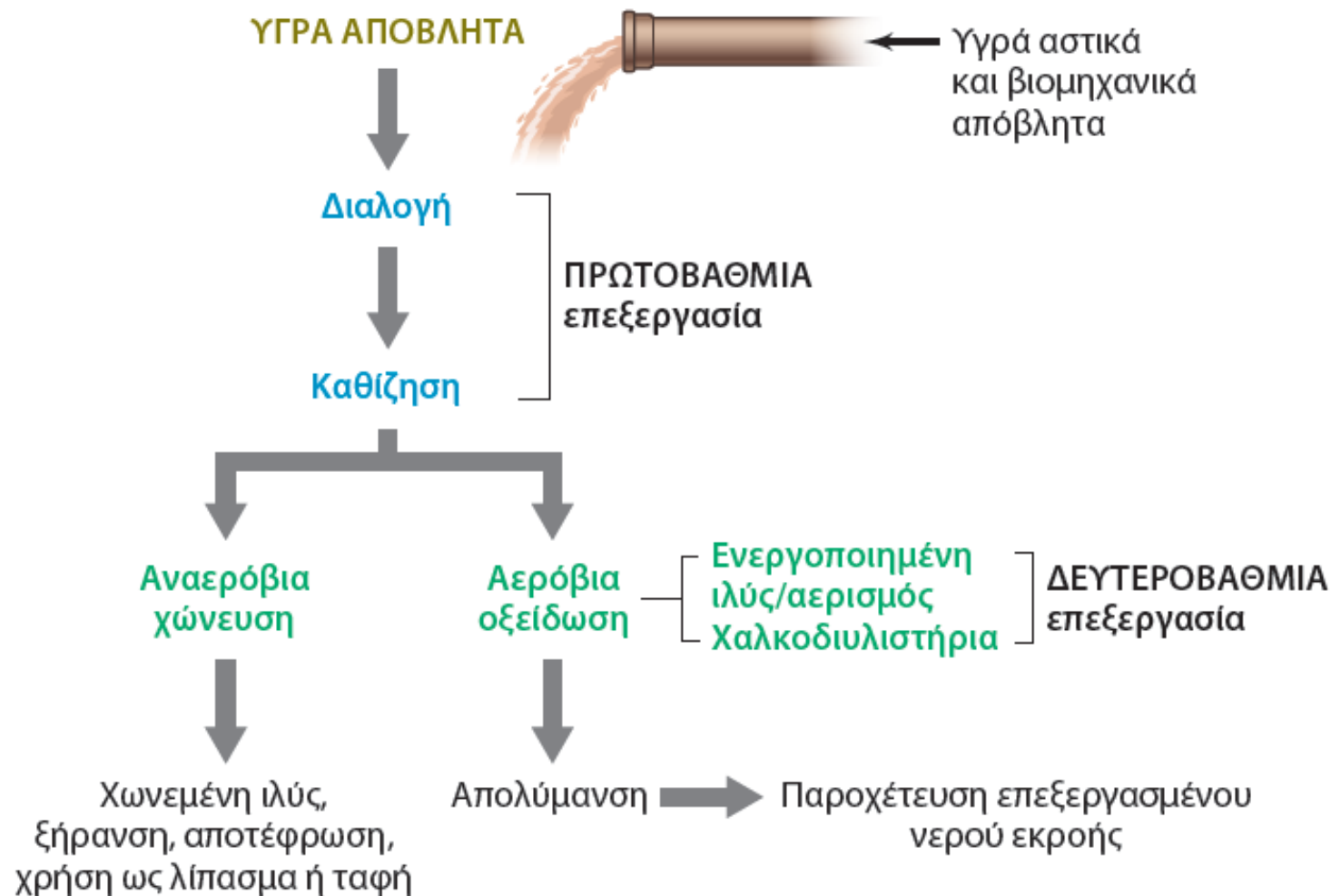
(α)



Rodney M. Donlan and Emerging Infectious Diseases

(β)

Εικόνα 19.6 Σχηματισμός βιοφίλμ. (α) Ο σχηματισμός ενός βιοφίλμ ξεκινά με την προσκόλληση μικρού αριθμού κυττάρων, τα οποία κατόπιν πολλαπλασιάζονται και επικοινωνούν με τα άλλα κύτταρα. Σχηματίζεται έτσι η μήτρα, η οποία αυξάνεται σε όγκο καθώς αναπτύσσεται το βιοφίλμ. Εντέλει, απελευθερώνονται κύτταρα από αυτή. (β) Μικροφωτογραφία βιοφίλμ που έχει αναπτυχθεί στην επιφάνεια ατσάλινου σωλήνα και έχει χρωσθεί με DAPI. Παρατηρήστε τα εσωτερικά «κανάλια» νερού (μαύρο χρώμα).



Εικόνα 21.13 Διαδικασίες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων. Στις αποτελεσματικές μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων εφαρμόζονται οι μέθοδοι πρωτοβάθμιας και δευτεροβάθμιας επεξεργασίας που παρουσιάζονται εδώ. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί και τριτοβάθμια επεξεργασία προκειμένου να μειωθεί η ποσότητα του βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου (BOD) στο νερό εκροής σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα.



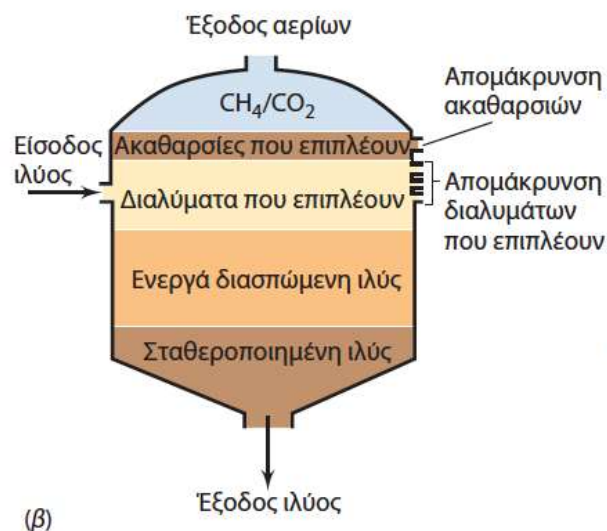
John M. Martinko and Deborah O. Jung

Εικόνα 21.14 Πρωτοβάθμια επεξεργασία υγρών αποβλήτων. Τα απόβλητα αντλούνται προς μια δεξαμενή αποθήκευσης (αριστερά), όπου γίνεται η καθίζηση των στερεών. Καθώς η στάθμη του υγρού ανεβαίνει, το νερό υπερχειλίζει και οδηγείται μέσα από σχάρες προς διαδοχικά χαμηλότερα επίπεδα. Το νερό από το χαμηλότερο επίπεδο, απαλλαγμένο πια από στερεά κατάλοιπα, εισέρχεται στον υπερχειλιστή (βέλος) και οδεύει με άντληση προς τις εγκαταστάσεις δευτεροβάθμιας επεξεργασίας.

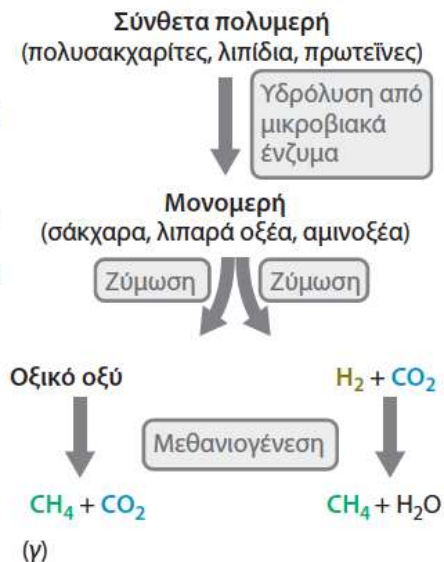


T.D. Brock

(α)



(β)



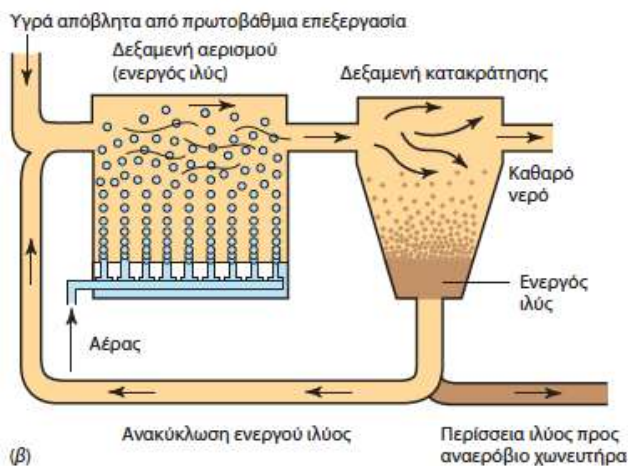
(γ)

Εικόνα 21.15 Δευτεροβάθμια αναερόβια επεξεργασία υγρών αποβλήτων. (α) Αναερόβιος χωνευτήρας ιλύος. Παρουσιάζεται μόνον το επάνω μέρος της δεξαμενής· τα υπόλοιπα τμήματα είναι υπόγεια. (β) Εσωτερική λειτουργία ενός χωνευτήρα ιλύος. (γ) Οι κύριες μικροβιακές δράσεις κατά την αναερόβια χώνευση της ιλύος. Τα κύρια προϊόντα της αναερόβιας βιοαποικοδόμησης είναι το μεθάνιο (CH_4) και το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2).



John M. Marinho and Deborah O. Jung

(α)



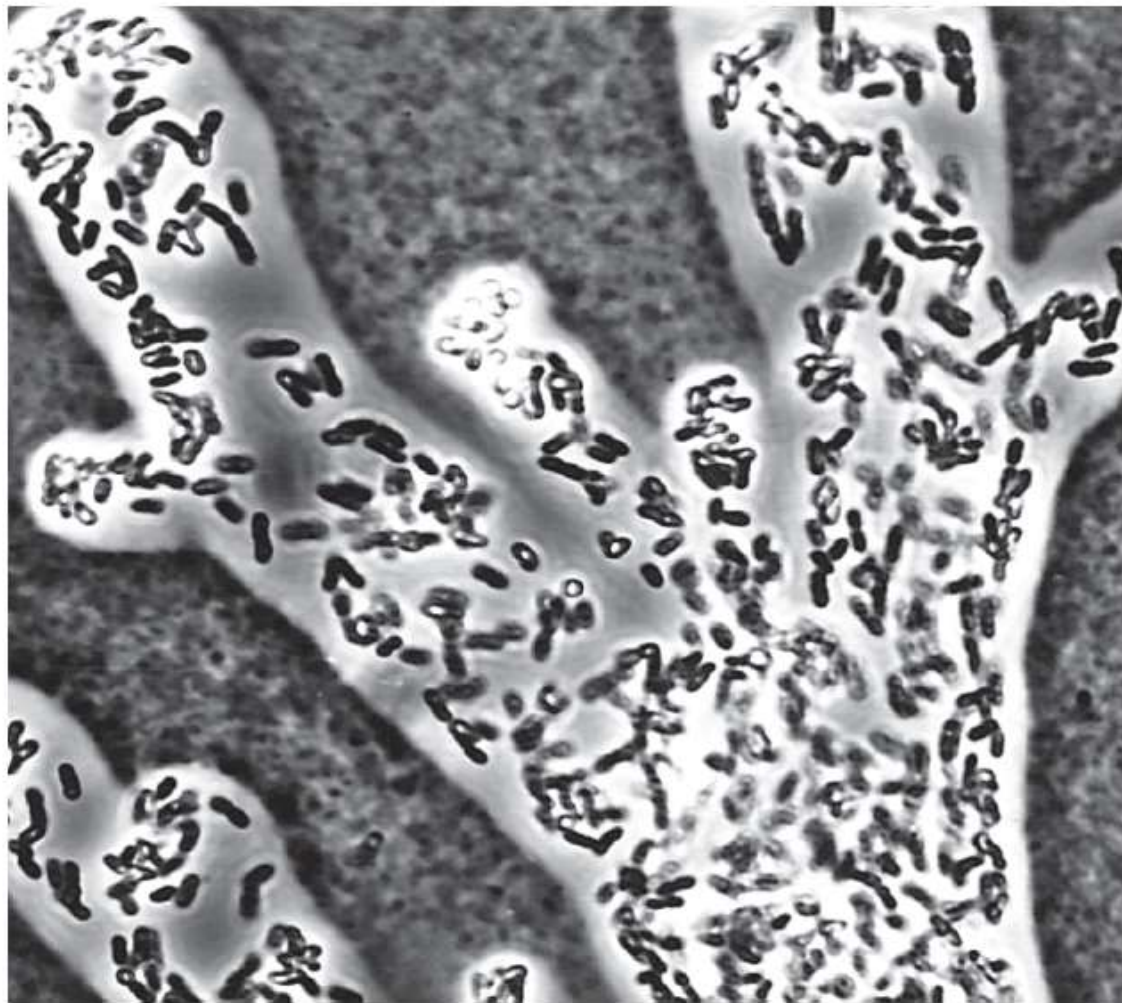
(β)



John M. Marinho and Deborah O. Jung

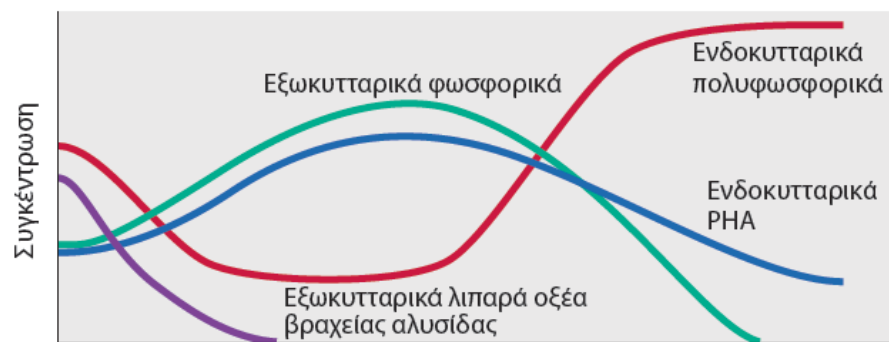
(γ)

Εικόνα 21.16 Διεργασίες αερόβιας δευτεροβάθμιας επεξεργασίας υγρών αποβλήτων. Στα (α) και (β) απεικονίζεται η μέθοδος της ενεργού ιλύος. (α) Δεξαμενή αερισμού σε μια εγκατάσταση ενεργού ιλύος μιας μονάδας επεξεργασίας αποβλήτων μητροπολιτικής πόλης. Η δεξαμενή έχει μήκος 30 m, πλάτος 10 m και βάθος 5 m. (β) Διάγραμμα ροής αποβλήτων σε μια εγκατάσταση ενεργού ιλύος. Η επανακυκλοφορία της ενεργού ιλύος πίσω στη δεξαμενή αερισμού εισάγει μικροοργανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την οξειδωτική αποικοδόμηση των οργανικών συστατικών των υγρών αποβλήτων. (γ) Η μέθοδος του χαλκοδιυλιστηρίου. Οι περιστρεφόμενοι βραχίονες διασκορπίζουν τα υγρά απόβλητα αργά και ομαλά πάνω στο στρώμα των λίθων. Οι λίθοι έχουν διάμετρο περίπου 10-15 cm και το στρώμα έχει βάθος 2 m.

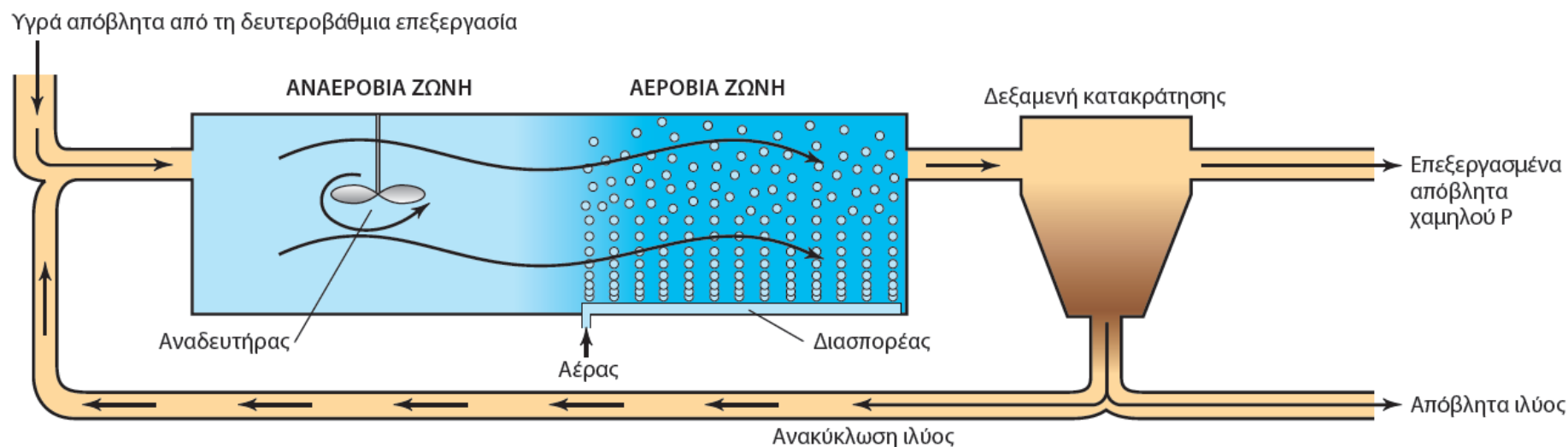


Richard Unz

Εικόνα 21.17 Κροκίδα υγρών αποβλήτων που έχει σχηματιστεί από το βακτήριο *Zoogloea ramigera*. Οι κροκίδες που σχηματίζονται στη διαδικασία ενεργού ιλύος περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό μικρών, ραβδόμορφων κυττάρων *Z. ramigera*, τα οποία περιβάλλονται από βλεννοστιβάδα πολυσακχαριτών και διατάσσονται σε χαρακτηριστικές προεκβολές που μοιάζουν με δάχτυλα χεριού, όπως φαίνεται σε αυτή την εικόνα αρνητικής χρώσης με ινδική μελάνη.



(α)

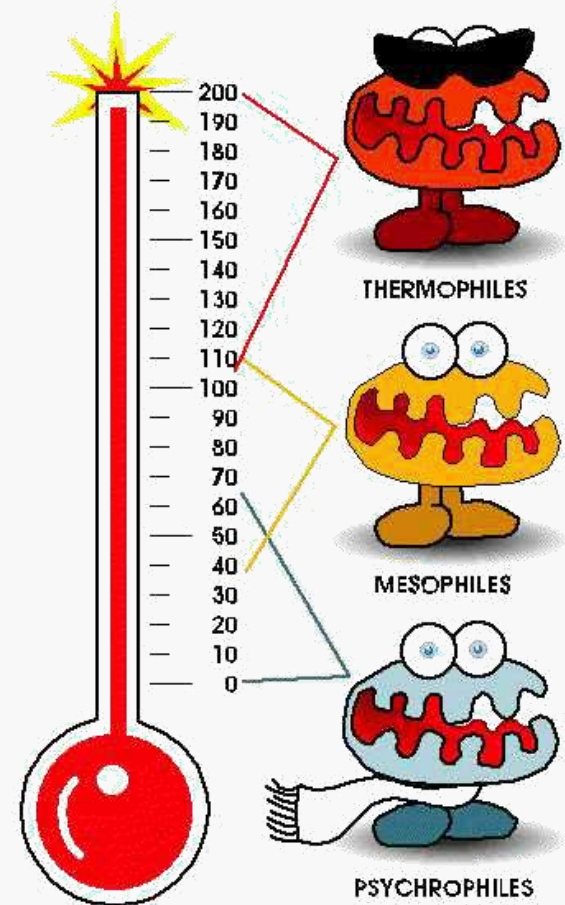


(β)

Εικόνα 21.18 Η διαδικασία της ενισχυμένης βιολογικής απομάκρυνσης του φωσφόρου. Κατά τη διέλευση των αποβλήτων από το σύστημα των αντιδραστήρων, η μικροβιακή κοινότητα μεταβαίνει από την αναερόβια στην αερόβια ανάπτυξη. Στην αναερόβια ζώνη, τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας προσλαμβάνονται, και οι ενδοκυτταρικές αποθήκες πολυφωσφορικών (polyP) απελευθερώνονται με τη μορφή εξωκυτταρικών ορθοφωσφορικών. Στην αερόβια ζώνη, τα εξωκυτταρικά φωσφορικά ιόντα επαναποθηκεύονται με τη μορφή polyP, ενώ οι ενδοκυτταρικές αποθήκες πολυ-υδροξυαλκανοϊκών (PHA) μεταβολίζονται. Τελικά, η ιλύς υψηλής περιεκτικότητας σε φωσφόρο συλλέγεται προς απόρριψη.

Γιατί Βιοεξυγίανση;

- Δεν υπάρχει επιπλέον κόστος διάθεσης
- Χαμηλή συντήρηση
- Δεν προκαλεί αντιαισθητικό θέαμα
- Επηρεάζει απευθείας την πηγή του προβλήματος και έτσι μειώνει τον χρόνο καθαρισμού του χώρου

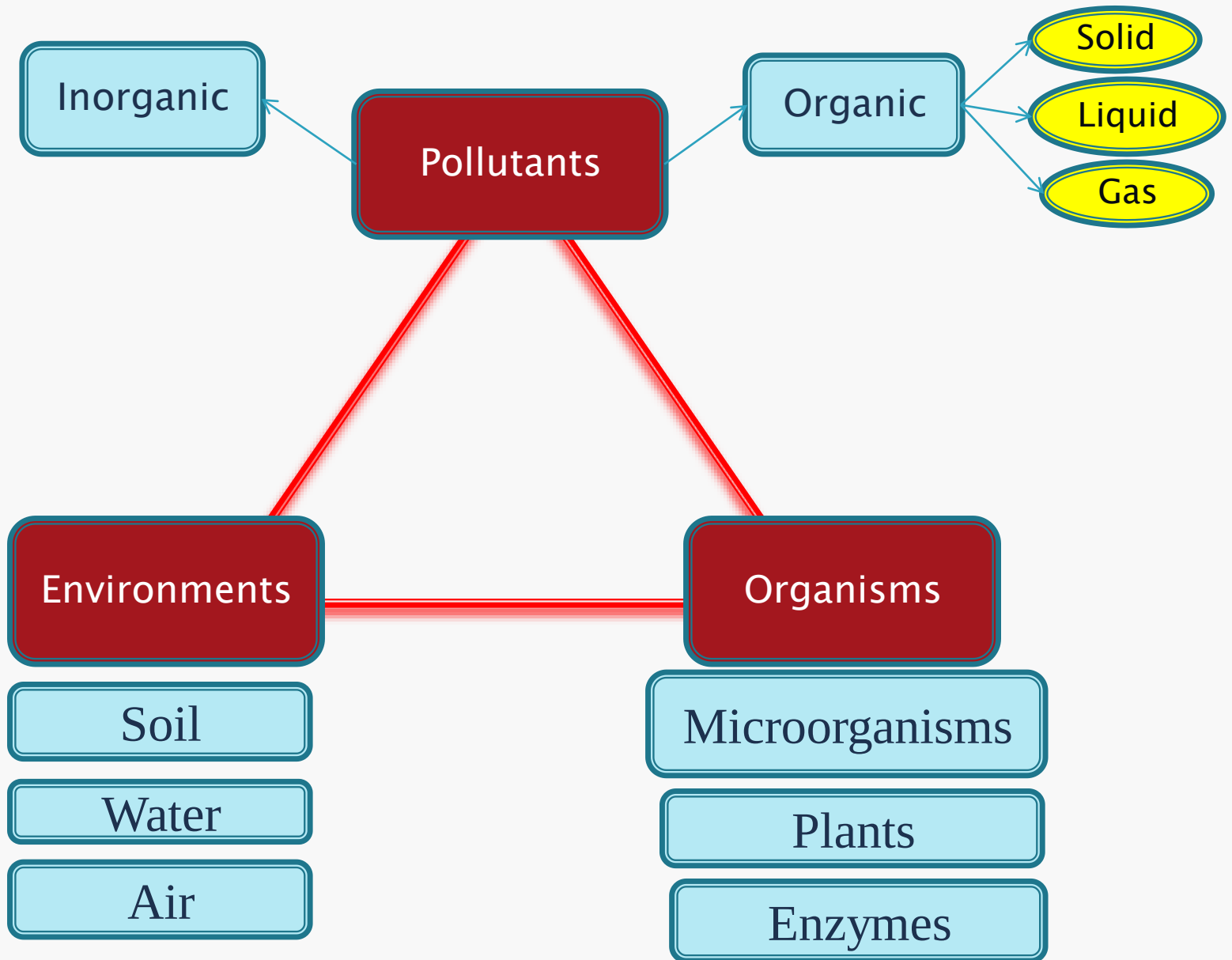


Πλεονεκτήματα

- ▶ Η βιοεξυγίανση είναι μια φυσική διαδικασία και ως εκ τούτου είναι εύκολα αποδεκτή από την κοινή γνώμη.
- ▶ Είναι μια διαδικασία που μπορεί να οδηγήσει στην πλήρη καταστροφή μιας ευρείας ποικιλίας ρυπαντών.
- ▶ Αντί να μεταφέρονται οι ρυπαντές από ένα περιβαλλοντικό μέσο σε άλλο, για παράδειγμα, από το έδαφος, στο νερό ή στον αέρα, είναι δυνατή η πλήρης καταστροφή τους επιτόπου χωρίς συχνά να υπάρχει σημαντική διακοπή των φυσιολογικών δραστηριοτήτων.
- ▶ Η βιοαποκατάσταση μπορεί να αποδειχθεί λιγότερο δαπανηρή από άλλες τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται για τον καθαρισμό επικίνδυνων αποβλήτων.

Μειονεκτήματα

- ▶ Η βιοεξυγίανση περιορίζεται σε εκείνες τις ενώσεις που είναι βιοαποικοδομήσιμες. Δεν είναι όλες οι ενώσεις επιρρεπείς σε ταχεία και πλήρη αποικοδόμηση.
- ▶ Υπάρχουν ορισμένες ανησυχίες ότι τα προϊόντα βιοεξυγίανσης μπορεί να είναι πιο ανθεκτικά ή τοξικά από τα αρχικά.
- ▶ Οι βιολογικές διεργασίες είναι συχνά ιδιαίτερα εξειδικευμένες καθώς συνδέονται στενά με τους μικροβιακούς πληθυσμούς, τις κατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης αυτών και τα κατάλληλα επίπεδα θρεπτικών ουσιών και ρύπων.
- ▶ Είναι δύσκολο να εξάγουμε συμπεράσματα για την εφαρμογή των αποτελεσμάτων εργαστηριακής ή πιλοτικής κλίμακας στο πεδίο.
- ▶ Η διαδικασίες βιοεξυγίανσης συχνά χρειάζονται περισσότερο χρόνο από άλλες διαδικασίες διαχείρισης.



Απομόνωση βακτηρίων

- Isolation of bacteria is performed on **Mineral Salt Medium** (MSM) supplemented with the **pollutant** to be biodegraded as a sole source of carbon (**enriched technique**).
- This medium can be used as **liquid or solid**.

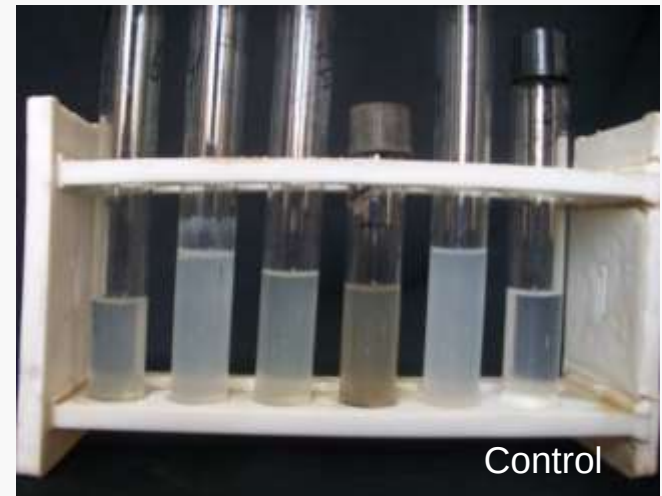


Soil

pollutant

Control

Isolation of petroleum biodegrading bacteria from soil and petroleum pollution.



Control

Isolation of pesticide biodegrading bacteria from soil.

Ανάπτυξη σε καθαρή καλλιέργεια

- ▶ This is simply performed by **streaking** of a loop of the MSM microbial culture or by **pouring** dishes technique.
- ▶ The used medium is solid MSM supplemented with the pollutant as a sole source of carbon.



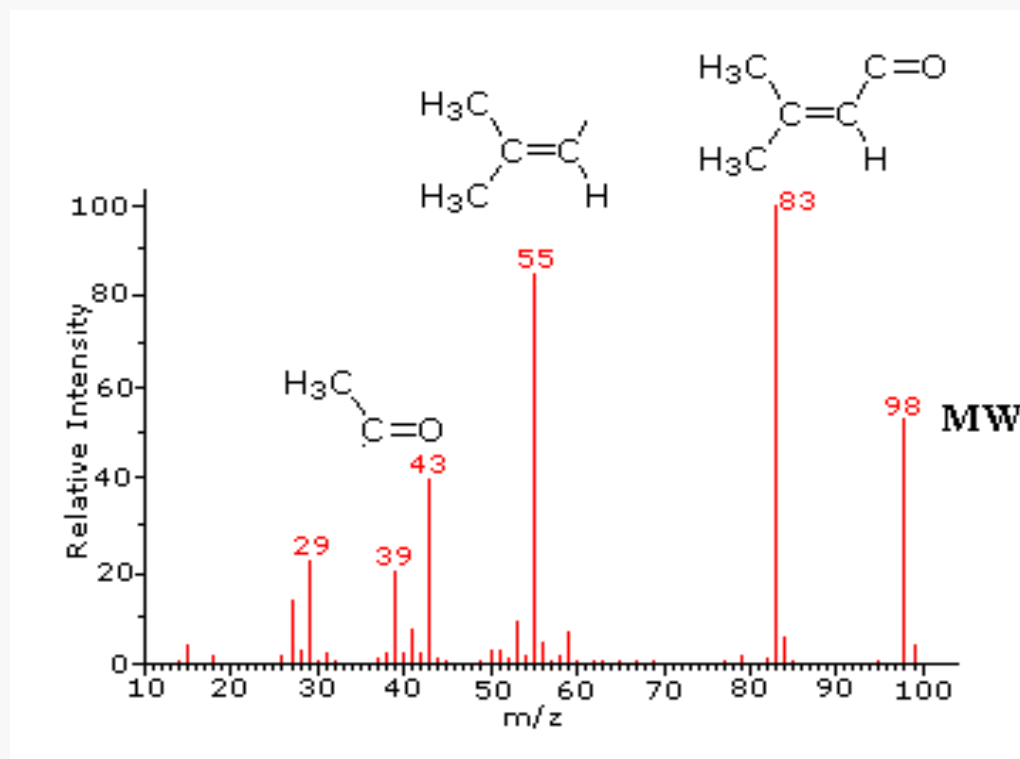
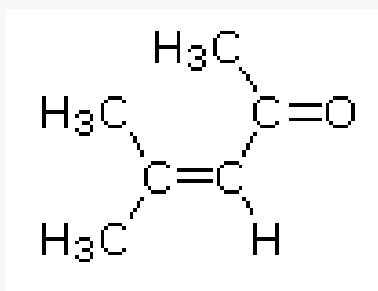
Purification by pouring

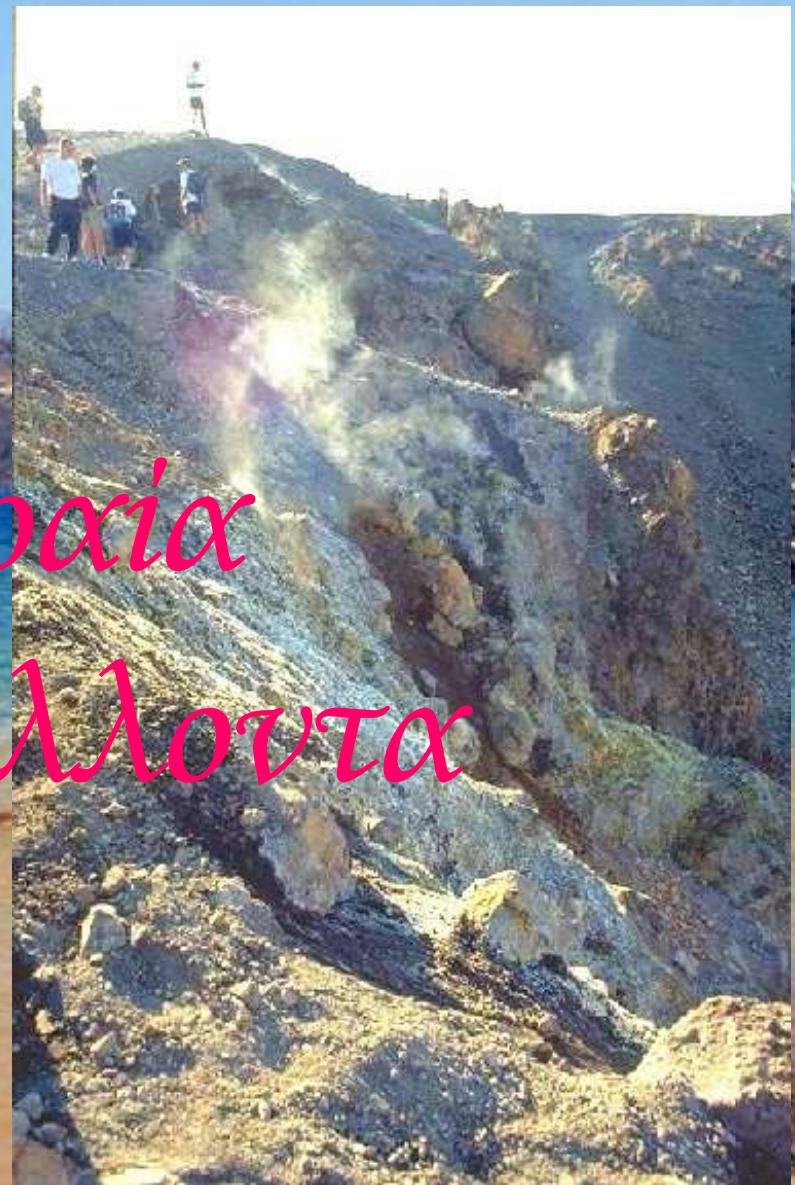


Purification by streaking

Προσδιορισμός της δυνατότητας βιοαποικοδόμησης και των προϊόντων της

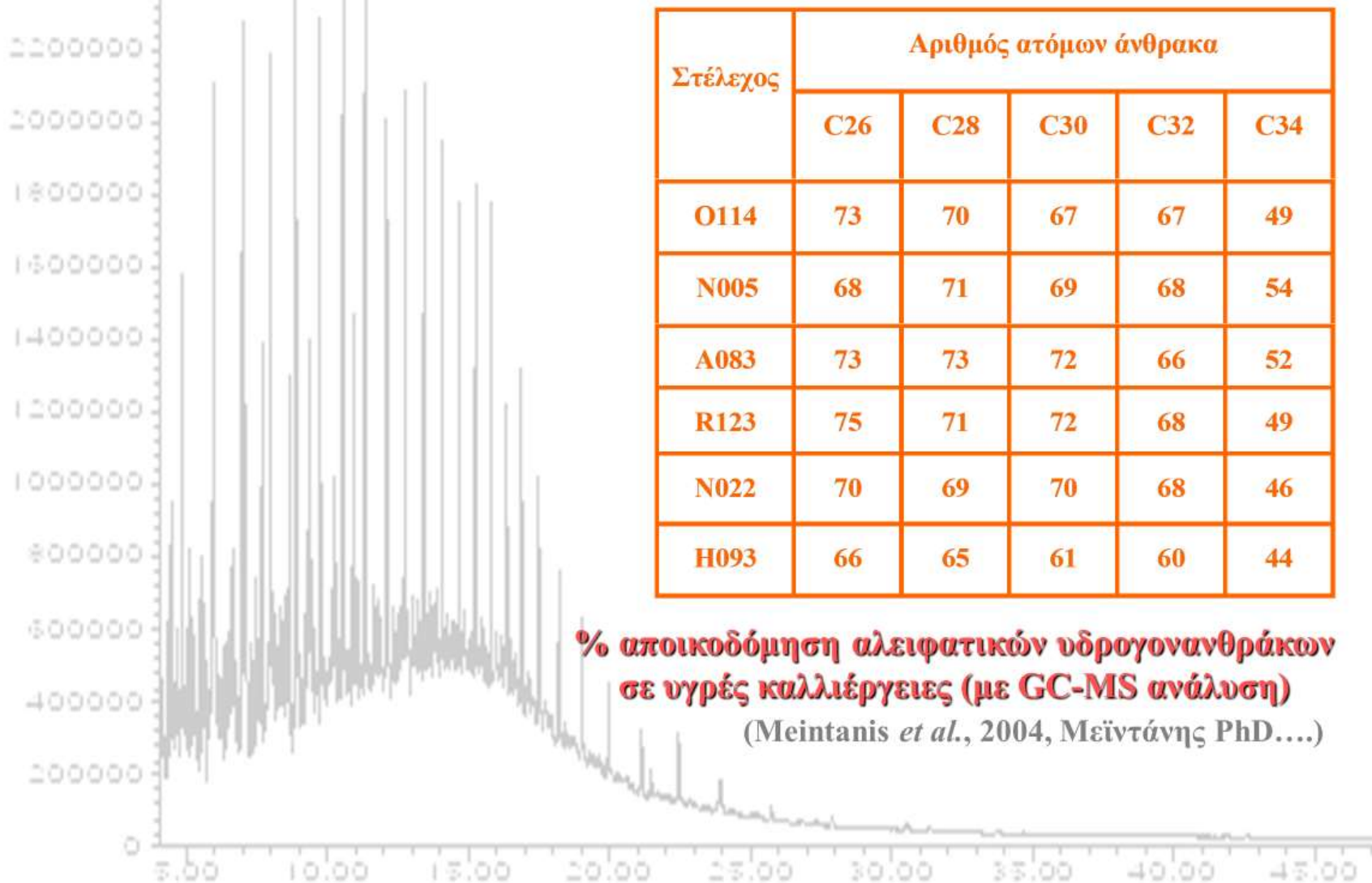
- 1- Spectrophotometer.
- 2- HPLC
- 3- GC/MS

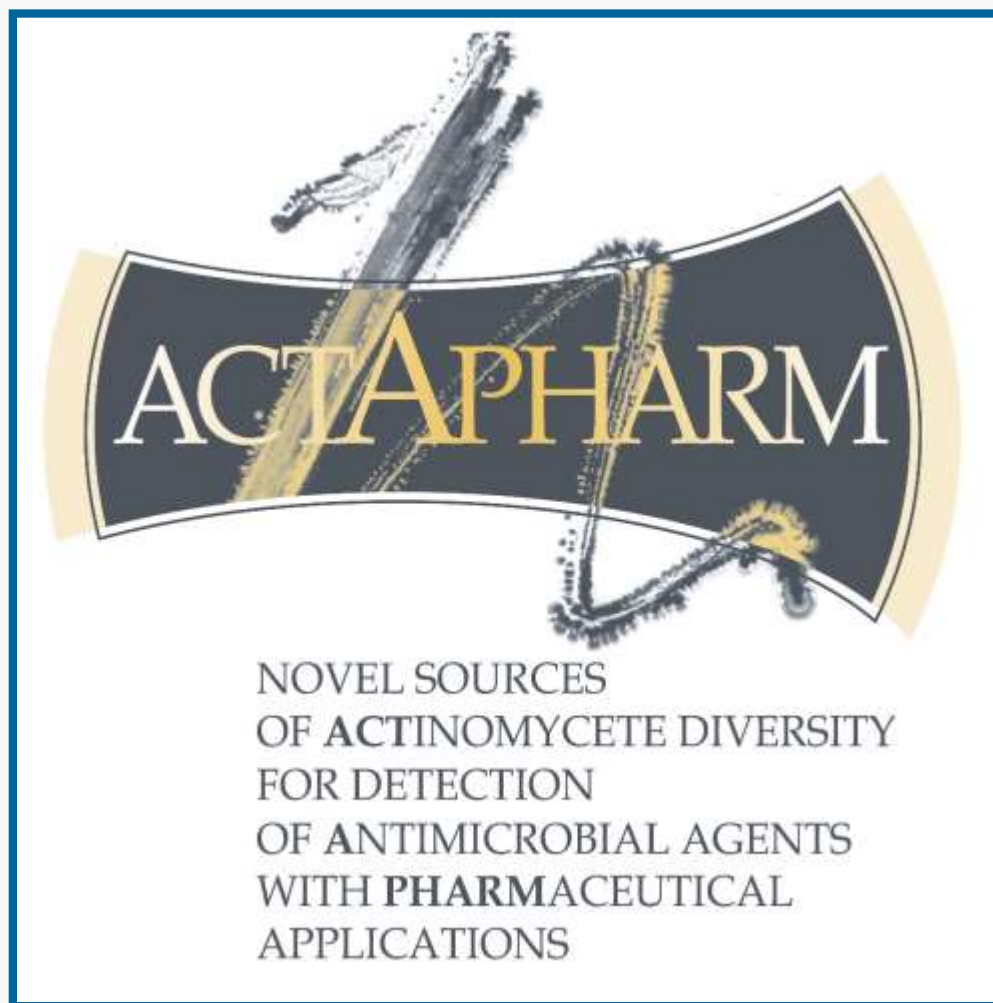




*Ακραία
περιβάλλοντα*

Στρεπτομύκητες από ακραία περιβάλλοντα με ικανότητα αποικοδόμησης πετρελαϊκών υδρογονανθράκων από 44% έως 75%





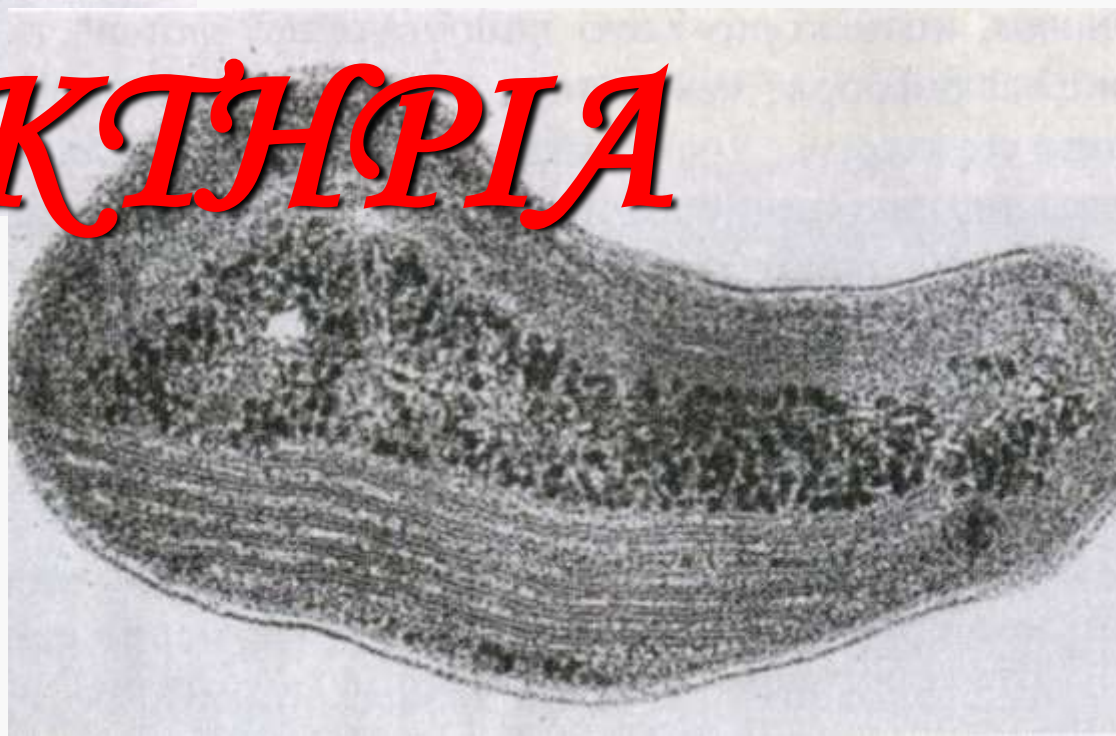
www.actapharm.org





ΜΕΘΑΝΙΟΤΡΟΦΑ

ΒΑΚΤΗΡΙΑ



ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ

- **ΟΞΕΙΑΩΝΟΥΝ ΤΟ CH_4 ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΠΙΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ ΑΕΡΙΟ ΤΟΥ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟΥ**
- **ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΟΥΝ ΤΟΞΙΚΕΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ (ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ)**
- **ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΜΟΝΟΞΥΓΕΝΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕΘΑΝΙΟΥ (ΜΜΟ) ΠΟΥ ΔΙΝΕΙ ΤΗ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΜΕ ΕΜΠΟΡΙΚΗ ΑΞΙΑ**
- **ΕΊΝΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΑ ΜΟΝΑΔΙΚΑ (ΑΜΕΣΗ ΣΧΕΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΛΟΓΕΝΕΣΗΣ - ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝ)**

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

ΤΟ **1906** Ο SÖHNGEN ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕ ΟΤΙ ΤΟ CH_4 ΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΣΕ ΜΕΓΑΛΕΣ ΠΟΣΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΥΠΕΘΕΣΕ ΟΤΙ Η ΜΙΚΡΗ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΑΥΤΟΥ ΤΟΥ ΑΕΡΙΟΥ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΟΥ ΑΠΟ ΜΙΚΡΟΒΙΑ

ΑΠΟΜΟΝΩΣΕ ΤΟ ΠΡΩΤΟ ΜΕΘΑΝΙΟΤΡΟΦΟ

Bacillus methanicus

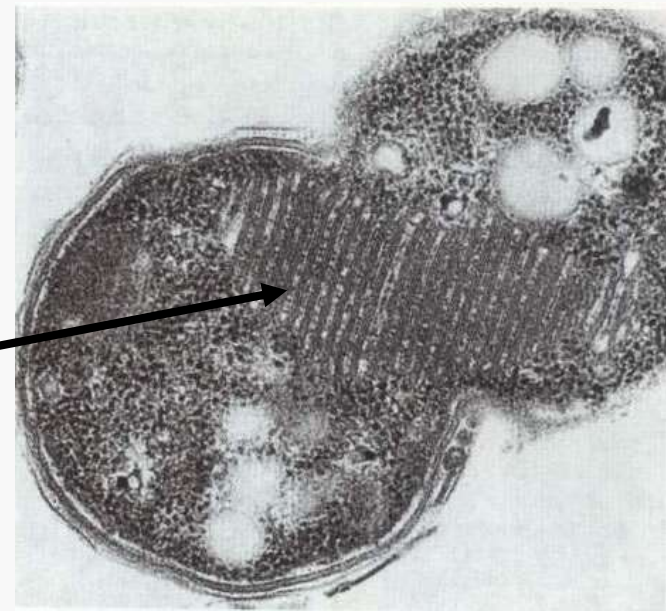
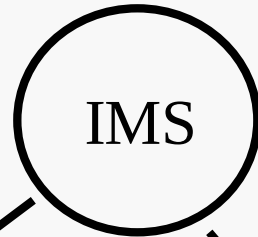
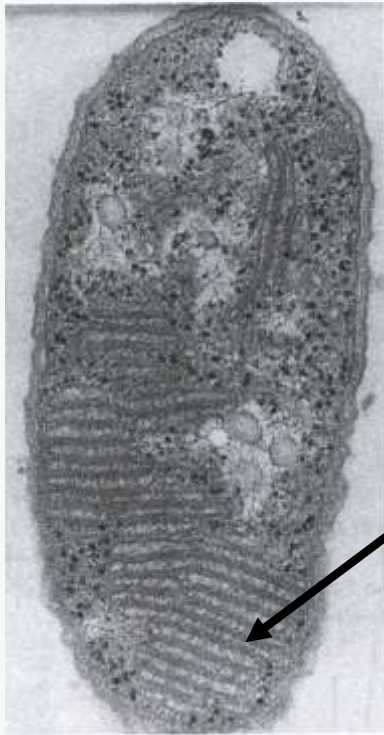
ΜΕΘΑΝΙΟΤΡΟΦΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

- αερόβια, αρνητικά κατά Gram βακτήρια που χρησιμοποιούν το μεθάνιο σαν **μοναδική** πηγή άνθρακα και ενέργειας.
- απαντούν στο έδαφος, ιζήματα, θερμές πηγές, θαλασσινό νερό, ριζόσφαιρα κ.α.
- 9 γένη (***Methylococcus***, ***Methylomonas***, ***Methylomicrobium***, ***Methylobacter***, ***Methylocaldum***, ***Methylosphaera***, ***Methylocystis***, ***Methanomonas*** και ***Methylosinus***) που διαχωρίζονται σε 3 διακριτούς τύπους με βάση τις διαφορές τους στη δομή των ενδοκυτταρικών μεμβρανών και στα αναβολικά μονοπάτια.

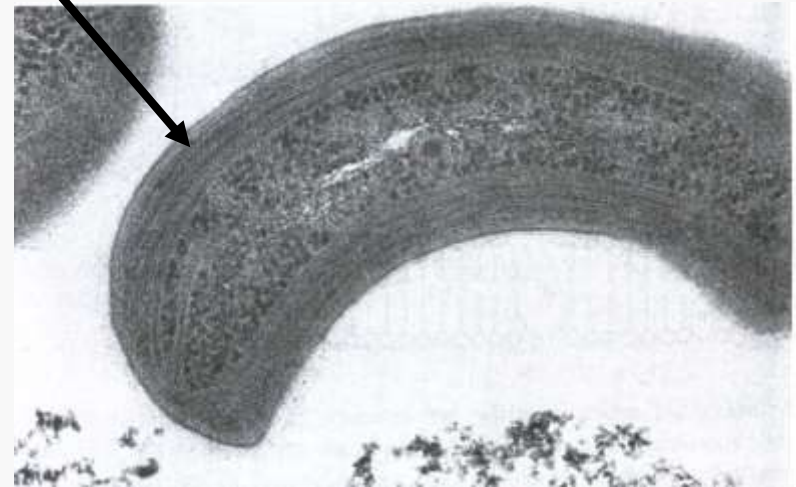
Τύπος I: *Methylomonas*, *Methylomicrobium*, *Methylobacter*, *Methylocaldum*, *Methylosphaera*
(α-πρωτεοβακτήρια)

Τύπος II: *Methylocystis*, *Methanomonas* και *Methylosinus*
(γ-πρωτεοβακτήρια)

Τύπος X: *Methylococcus*



Methylococcus capsulatus
(τύπου X)



Methanomonas methanooxidans
(τύπου II)

Methylobionas methanica (τύπου I)

IMS: Εσωτερικό Σύστημα
Μεμβρανών

Εντοπίζεται η
μεμβρανοσυνδεόμενη
μονοξυγενάση του μεθανίου

C1 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Είναι τα μεταβολικά μονοπάτια που περιλαμβάνουν την οξείδωση/αναγωγή οργανικών ενώσεων με ένα άτομο άνθρακα και λειτουργούν έτσι ώστε να παράγουν C1 ενδιάμεσες ενώσεις που χρησιμοποιούνται σε διάφορες αναβολικές διεργασίες και για την παραγωγή ενέργειας.

Μεθανιότροφα: Αφορά την οξείδωση του μεθανίου προς φορμαλδεΰδη η οποία στη συνέχεια είτε οξειδώνεται προς CO_2 είτε εισέρχεται σε κάποια από τις αναβολικές πορείες του μονοπατιού της σερίνης ή του μονοπατιού της μονοφωσφορικής ριβουλόζης (RuMP).

*Αποικοδόμηση χημικών
τοξικών ουσιών από
μεθανότροφα βακτήρια*

Αποικοδόμηση χημικών τοξικών ουσιών από μεθανιότροφα βακτήρια

- ✓ Τα μεθανιότροφα βακτήρια μπορούν να αποικοδομήσουν αλογονωμένους υδρογονάνθρακες χαμηλού μοριακού βάρους οι οποίοι είναι ευρέως διαδεδομένοι τοξικοί ρυπαντές (π.χ. τριχλωροαιθέριο, 1,2-διχλωροαιθέριο, χλωροφόρμιο).
- ✓ Η χρήση των μεθανιότροφων βακτηρίων έχει κυρίως μελετηθεί στην αποικοδόμηση του τριχλωροαιθενίου (TCE) στο έδαφος και σε υπόγεια ύδατα.

Χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες

Ιδιότητες

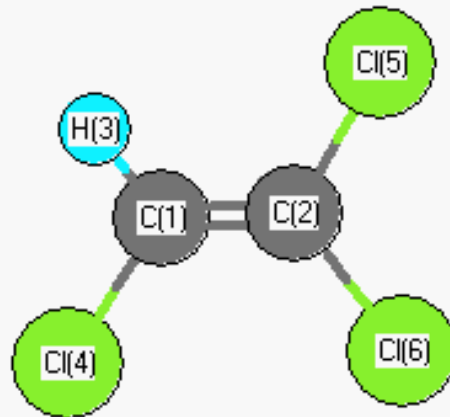
- πολύ σταθερές ενώσεις
- διαλυτικές ιδιότητες
- δεν είναι εύφλεκτοι

Χρήσεις

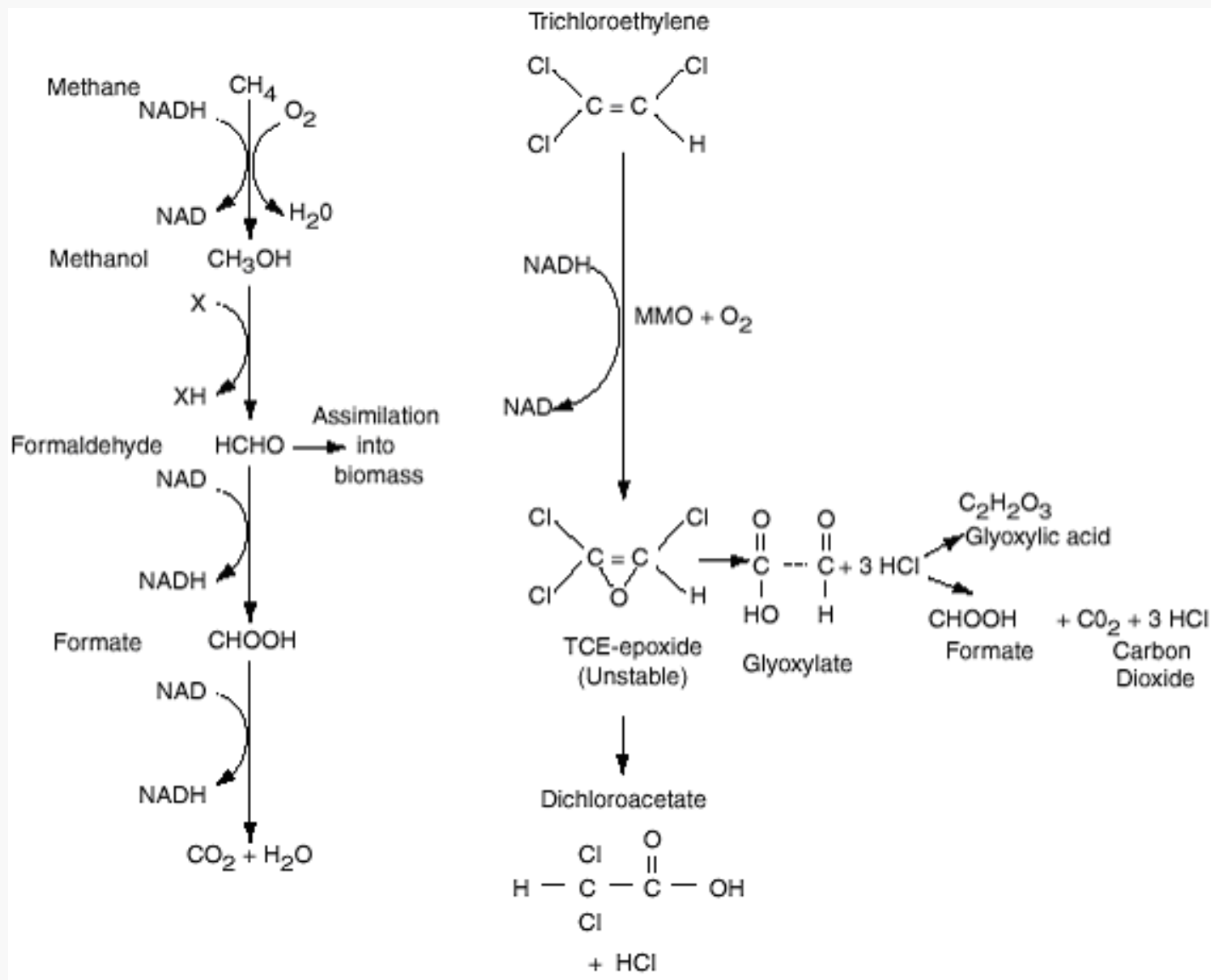
- διαλύτες
- ανάκτηση μετάλλων
- στεγνό καθαρίσμα
- προωθητικά αέρια
- παρασιτοκτόνα
- μέσα εξαγωγής της καφεΐνης από τον καφέ
- αναισθητικά
- βιομηχανία των πλαστικών

TCE (τριχλωροαιθέριο)

- ο πιο συχνά αντιμετωπιζόμενος ρύπος στα υπόγεια νερά
- χρόνος ημιζωής 300 μέρες
- τοξική ένωση
- πιθανό καρκινογόνο για τον άνθρωπο



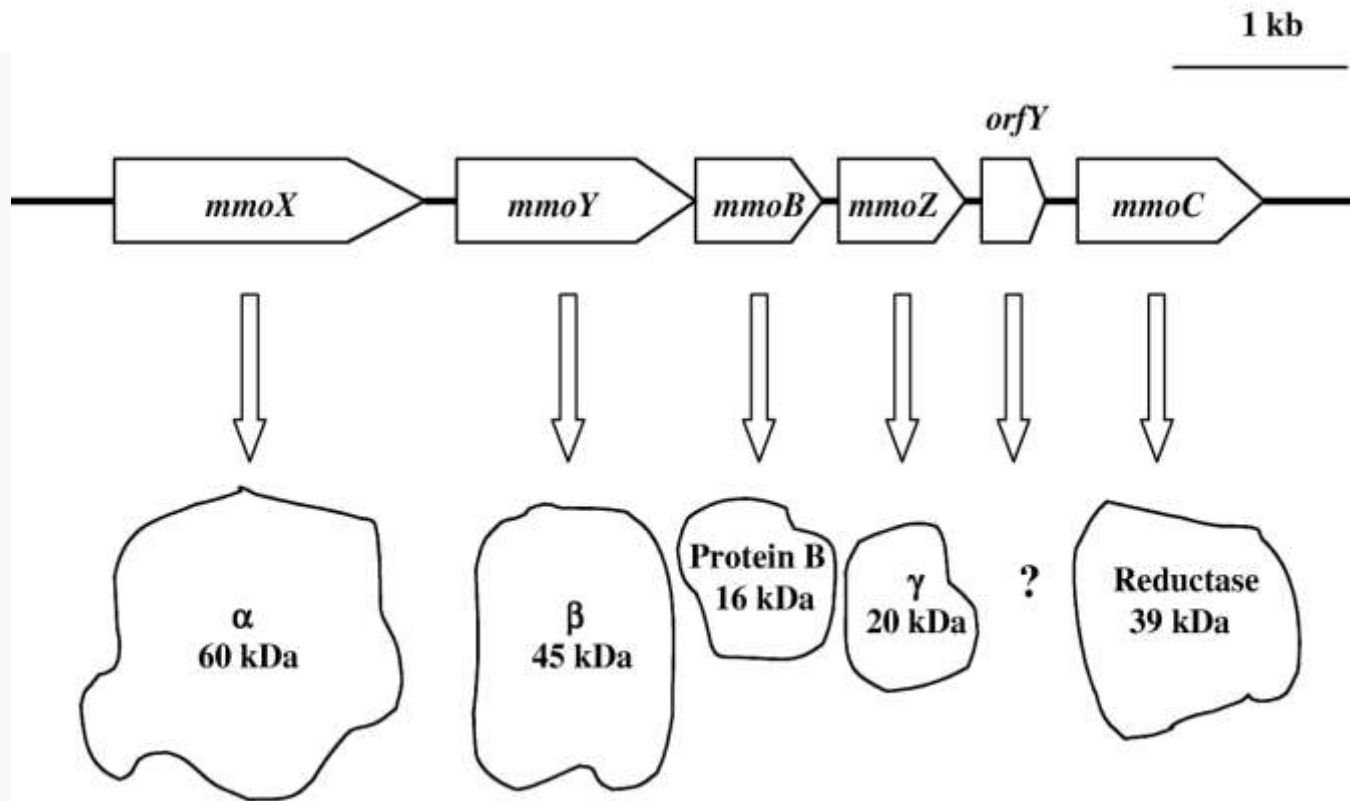
Βιοαποικοδόμηση του TCE (Συν-μεταβολισμός)



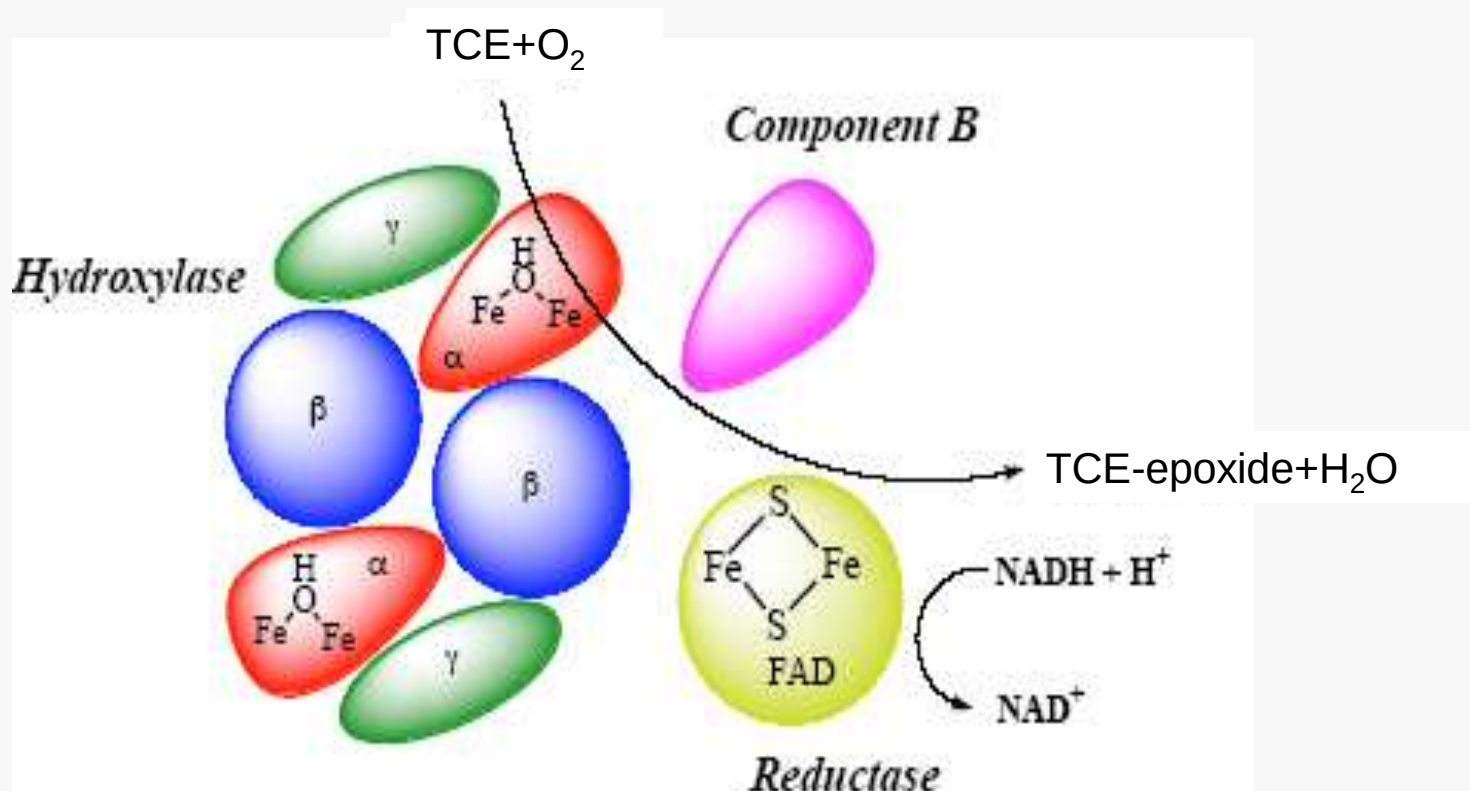
Βιοαποικοδόμηση του TCE (Συν-μεταβολισμός)

1. Το TCE μετατρέπεται σε **εποξείδιο** με τη βοήθεια της μονοοξυγενάσης του μεθανίου (MMO). Το ένζυμο αυτό οξειδώνει το TCE με ένα οξυγόνο και ενσωματώνει το άλλο στο μόριο νερού.
2. Το εποξείδιο του TCE εκκρίνεται από το κύτταρο αλλά είναι ασταθές και έτσι **σπάει αυθόρμητα** σε υδατικό περιβάλλον. Τα προϊόντα της διάσπασης είναι τα εξής : **CO, φορμικό οξύ, γλυοξυλικό οξύ, διχλωροξικό οξύ.**
3. Τα προϊόντα αυτά χρησιμοποιούνται από μεθανιότροφα βακτήρια ως **πηγές άνθρακα και ενέργειας** όταν δεν υπάρχει αρκετό μεθάνιο. Υπάρχουν και άλλα ετερότροφα βακτήρια που μπορούν να μεταβολίσουν αυτές τις ουσίες.
4. Σε μεικτές καλλιέργειες το TCE **ανοργανοποιείται πλήρως** σε CO_2 και HCl .

Μονοοξυγενάση του μεθανίου (διαλυτή)



Μονοοξυγενάση του μεθανίου (διαλυτή)



Παράγοντες που επηρεάζουν την αποικοδόμηση του TCE

- η συγκέντρωση του μεθανίου
- η παρουσία χαλκού
- οι πηγές αζώτου
- η διαθεσιμότητα του οξυγόνου
- pH
- θερμοκρασία
- η φυσιολογία του μεθανιοτροφικού στελέχους



*“Ενζυμα με βιοτεχνολογικές
εφαρμογές από μεθανιότροφα και
μεθυλότροφα βακτήρια*

Βιοτεχνολογικές μέθοδοι για την αποικοδόμηση του TCE από μεθανιότροφα και μεθυλότροφα βακτήρια.

Βιοαντιδραστήρες (για την αφαίρεση χλωριωμένων υδρογονανθράκων από μολυσμένα υπόγεια ύδατα, απόβλητα)

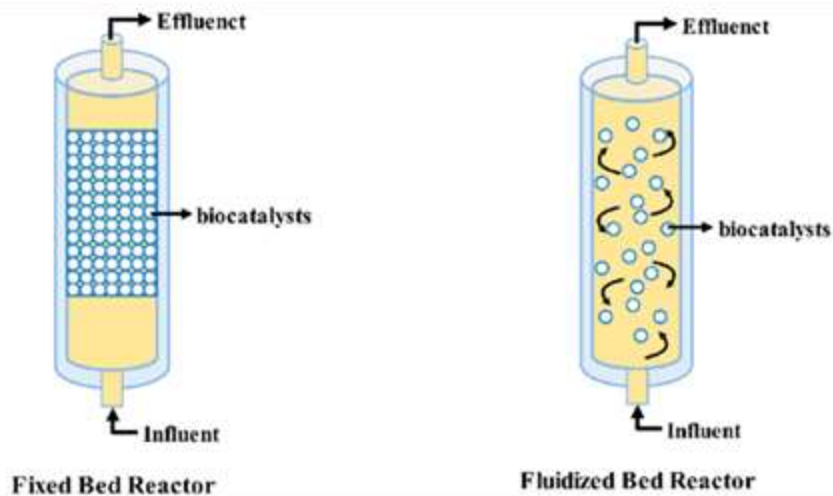
Προϋποθέσεις για την κατασκευή βιοαντιδραστήρα

- ανταγωνισμός μεταξύ χλωριωμένου υποστρώματος και μεθανίου για το ενεργό κέντρο της μονοοξυγενάσης
- μειωμένους ρυθμούς μετατροπής

Βιοτεχνολογικές εφαρμογές

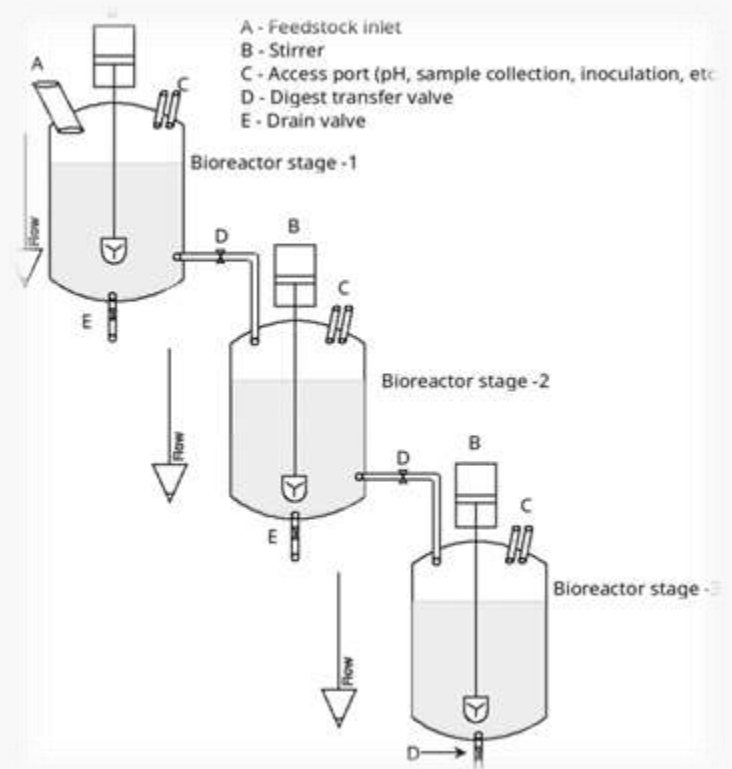
ex situ

Βιοαντιδραστήρες ενός σταδίου



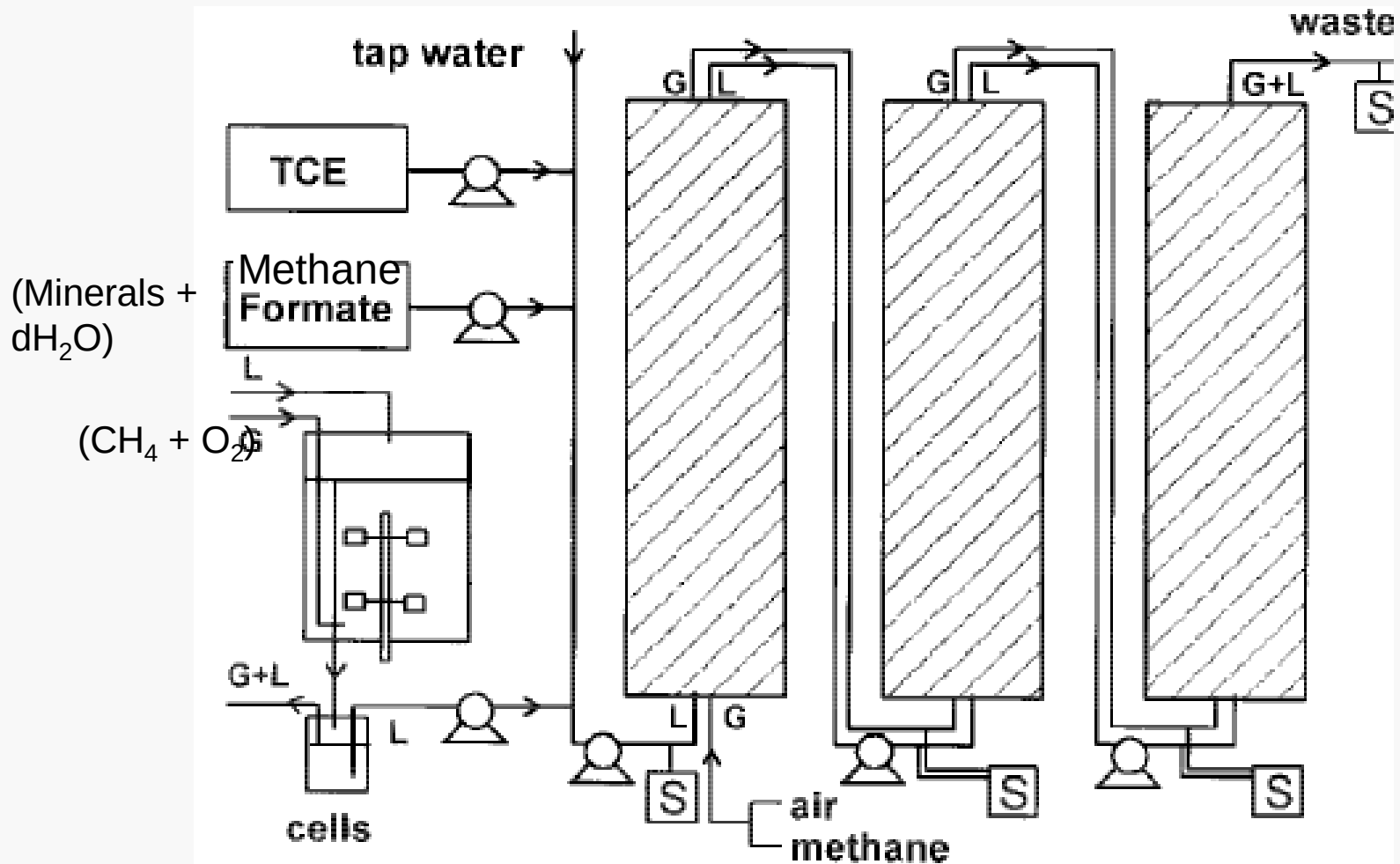
©Liu et al., 2022

Βιοαντιδραστήρες πολλαπλών σταδίων



©Nagaraju et al., 2021

**Αποικοδόμηση του TCE από *Methylosinus trichosporium*
στέλεχος OB3b σε βιοαντιδραστήρα δυο-σταδίων**



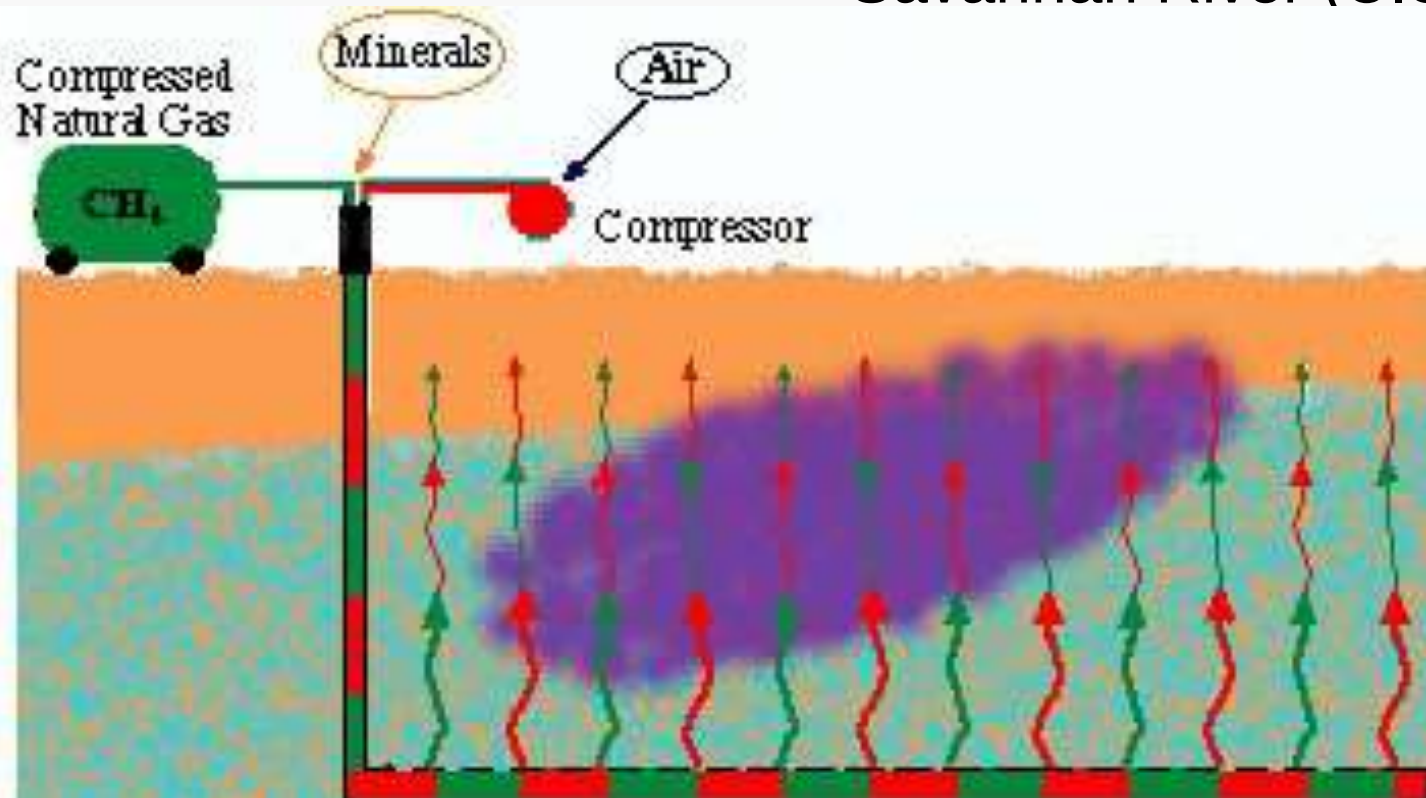
Βιοτεχνολογικές μέθοδοι για την αποικοδόμηση του TCE από μεθανιότροφα και μεθυλότροφα βακτήρια.

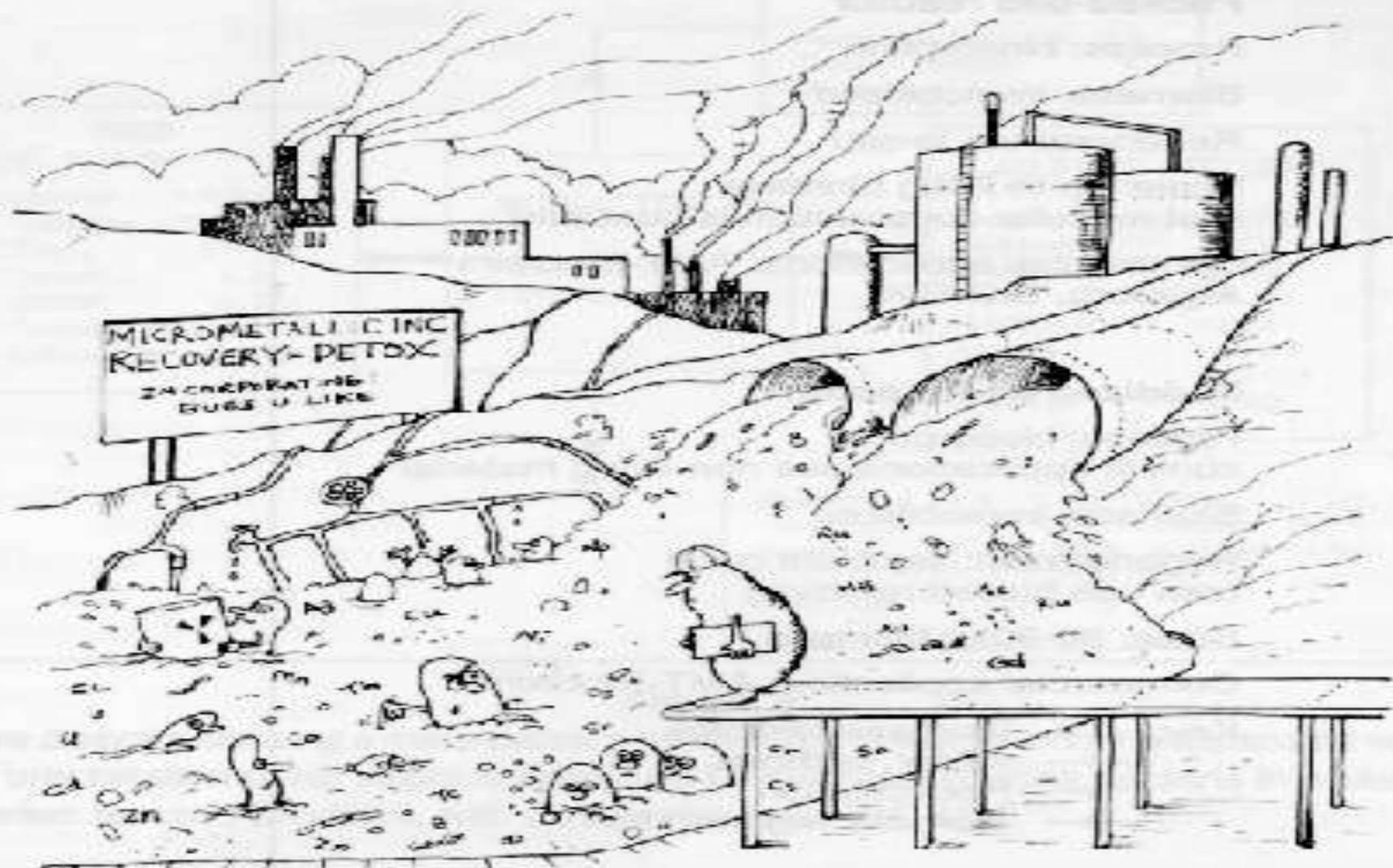
In situ αποικοδόμηση :

- ενεργοποίηση των ενδογενών μικροβιακών πληθυσμών (ρυπαντές του εδάφους)
- εμπλουτισμός με στελέχη μικροοργανισμών για τα οποία είναι αποδεδειγμένη η βιοαποικοδομητική τους δραστηριότητα

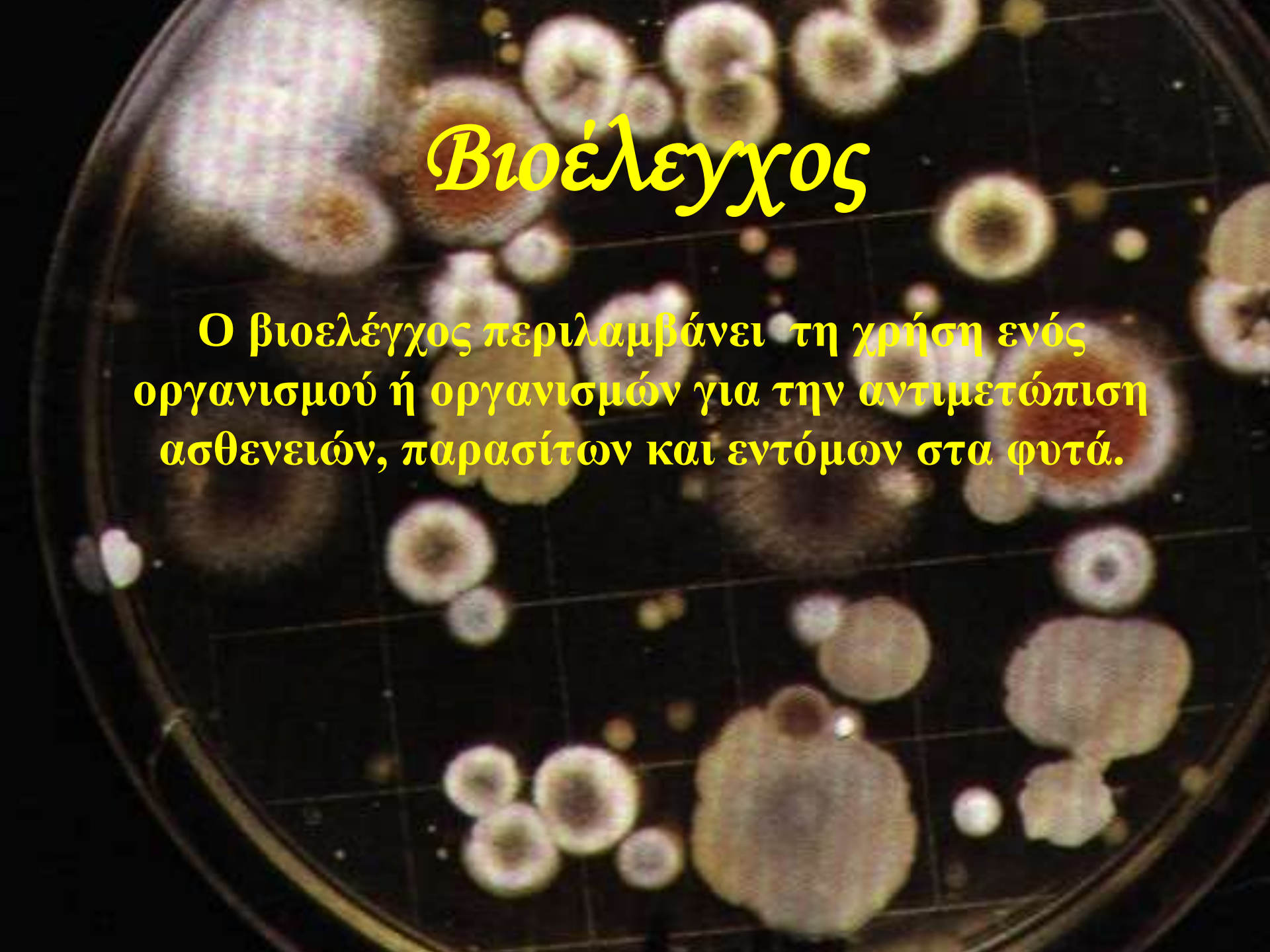
Ενεργοποίηση ενδογενών *Methylosinus trichosporium* OB3b με ένεση Μεθανίου

Savannah River (U.S.A.)





"So let's get this straight – we work for 24 hours, in these conditions, and for no pay?!?"

A petri dish containing a grid of various microbial colonies. The colonies are of different sizes, shapes, and colors, including white, yellow, orange, and brown. Some are circular and well-defined, while others are more irregular and spread out. The background is dark, and the colonies are illuminated from above, creating a slight shadow.

Βιοέλεγχος

Ο βιοελέγχος περιλαμβάνει τη χρήση ενός οργανισμού ή οργανισμών για την αντιμετώπιση ασθενειών, παρασίτων και εντόμων στα φυτά.



- ✓ Η αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού έχει επιφέρει μια κλιμακούμενη ανάγκη για αύξηση των διαθέσιμων διατροφικών πόρων.
- ✓ Οι παραδοσιακές γεωργικές πρακτικές βασίζονται σε μεγάλο βαθμό σε χημικά μυκητοκτόνα/παρασιτοκτόνα για τον έλεγχο των παρασίτων και των παθογόνων μικροοργανισμών, προκαλώντας επιβλαβείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον.
- ✓ Η διερεύνηση εναλλακτικών λύσεων αντί των χημικών λιπασμάτων ή φυτοφαρμάκων είναι απαραίτητη για τη βιώσιμη και φιλική προς το περιβάλλον γεωργία.

- **Βιοέλεγχος:** Αρχικά: Η χρήση ζωντανών αρπακτικών εντόμων ή εντομοπαθογόνων νηματωδών οργανισμών, για να μειωθεί ένας πληθυσμός εντόμων–παρασίτων (Debach 1964)
- Στην παθολογία των φυτών: Η χρήση διάφορων μικροοργανισμών που ανταγωνίζονται άλλους μικροοργανισμούς οι οποίοι προκαλούν ασθένειες στα φυτά. (Clifford & Cook 1990)
- A.N.A.S.: Η χρήση φυσικών ή γενετικά τροποποιημένων οργανισμών, γονιδίων ή προϊόντων γονιδίων με σκοπό τη μείωση των επιδράσεων ανεπιθύμητων οργανισμών και την υπερίσχυση επιθυμητών οργανισμών όπως φυτά, ζώα, ωφέλιμα έντομα και μικροοργανισμούς (Pal & Gardener, 2006)
- **Παράγοντας βιοελέγχου: biological control agent (BCA):** ο οργανισμός ή η ουσία που προκαλεί την καταστολή

Βιοέλεγχος

Οι παράγοντες βιοελέγχου είναι:

- ✓ Ακριβοί
- ✓ Δύσκολοι στην εφαρμογή
- ✓ Εξειδικευμένοι στους ξενιστές

Ενώ τα χημικά σκευάσματα:

- ✓ Έχουν καλύτερη σχέση τιμής/απόδοσης
- ✓ Είναι εύκολες στην εφαρμογή
- ✓ Έχουν ευρύ φάσμα δράσης

Όμως τα χημικά σκευάσματα:

- ✓ Ενέχονται σε περιβαλλοντικά και οικολογικά προβλήματα και σε προβλήματα στην υγεία του ανθρώπου
- ✓ Απαιτούν ετήσια εφαρμογή
- ✓ Έχοντας ευρύ φάσμα δράσης είναι τοξικά τόσο για το υπό καταπολέμηση είδος όσο και για την ωφέλιμη καλλιέργεια

Οι παράγοντες βιοελέγχου από την άλλη :

- ✓ Είναι μη τοξικοί για τον άνθρωπο
- ✓ Δεν μολύνουν το νερό
- ✓ Μπορούν να διαρκέσουν για χρόνια μετά την πρώτη εφαρμογή
- ✓ Είναι εξειδικευμένοι ως προς τον ξενιστή (επιδρούν σε ένα ή λίγα είδη)

Μηχανισμοί άμυνας των φυτών ενάντια εντόμων

- Τα φυτά και τα φυτοφάγα έντομα ζουν μαζί στη Γη εδώ και περισσότερα από 400 εκατομμύρια χρόνια (War et al., 2012).
- Και οι δύο οργανισμοί έχουν εξελίξει στρατηγικές για να αποφεύγουν τα αμυντικά συστήματα ο ένας του άλλου προκειμένου να επιβιώσουν.
- Σε κάθε φυτικό οργανισμό, το αμινοξύ φαινυλαλανίνη βοηθάει τόσο στην ανάπτυξη όσο και στην άμυνα των φυτών. Αυτό σημαίνει ότι η χρησιμοποίησή του από το φυτό γίνεται και για τις δύο διεργασίες με έναν ανταγωνιστικό τρόπο (Karabourniotis et al., 2012).

- Σε πολλές περιπτώσεις, η εξημέρωση φυτικών ειδών (σύγχρονες καλλιέργειες) οδηγεί στην απώλεια ή μείωση έντασης έκφρασης των χαρακτηριστικών εκείνων που σχετίζονται με την άμυνα ενάντια στους «εχθρούς» (Mitchell et al., 2016).
- Αυτό, μπορεί να συνέβη επειδή οι βελτιωτές εστίαζαν περισσότερο σε άλλα εμπορικά σημαντικά χαρακτηριστικά όπως η αυξημένη παραγωγικότητα των φυτών.
- Ταυτόχρονα, η χρήση εντομοκτόνων αντιστάθμιζε αυτή την απώλεια, βοηθώντας στον έλεγχο των εχθρών και μειώνοντας την ανάγκη τα φυτά να φέρουν συστήματα ανθεκτικότητας.

- Πλέον όμως, η ευαισθησία των σύγχρονων καλλιεργειών, σε συνδυασμό με την αυξημένη σοβαρότητα της ζημιάς που προκαλούν τα φυτοφάγα έντομα και η ανάγκη μείωσης της εξάρτησης από τη χημική αντιμετώπιση, έχει οδηγήσει τους βελτιωτές πίσω στους **άγριους συγγενείς** των καλλιεργειών και στα χαρακτηριστικά τους που σχετίζονται με τους αμυντικούς μηχανισμούς του φυτού έναντι των παρασίτων.

Άμυνα έναντι εντόμων - Στρατηγικές που ακολουθούν τα φυτά για να προστατεύονται από τα έντομα.

Τα φυτά ακολουθούν δύο κύριες στρατηγικές για να αμύνονται εναντίον των εχθρών τους:

- ✓ **Ανθεκτικότητα:** προκύπτει όταν τα δομικά ή χημικά χαρακτηριστικά του φυτού που εμποδίζουν τα έντομα να τρέφονται με το φυτό, μειώνουν την πεπτικότητα-γευστικότητα των φυτικών ιστών (λόγω της παραγωγής τοξικών ενώσεων όπως αλκαλοειδή, τερπενοειδή ή γλυκοζινολικές ενώσεις). Αυτό ελαχιστοποιεί την ποσότητα της ζημιάς στο φυτό από φυτοφάγα έντομα.
- ✓ **Ανοχή** (ή Ανεκτικότητα): προκύπτει όταν τα χαρακτηριστικά των φυτών επιτρέπουν στα έντομα να τρέφονται από αυτά, αλλά το φυτό ελέγχει-περιορίζει το επίπεδο της βλάβης (ανά μονάδα εντόμου που υπάρχει) και διαθέτει ισχυρούς μηχανισμούς ανάκαμψης.

Και οι δύο στρατηγικές περιλαμβάνουν δύο επίπεδα άμυνας:

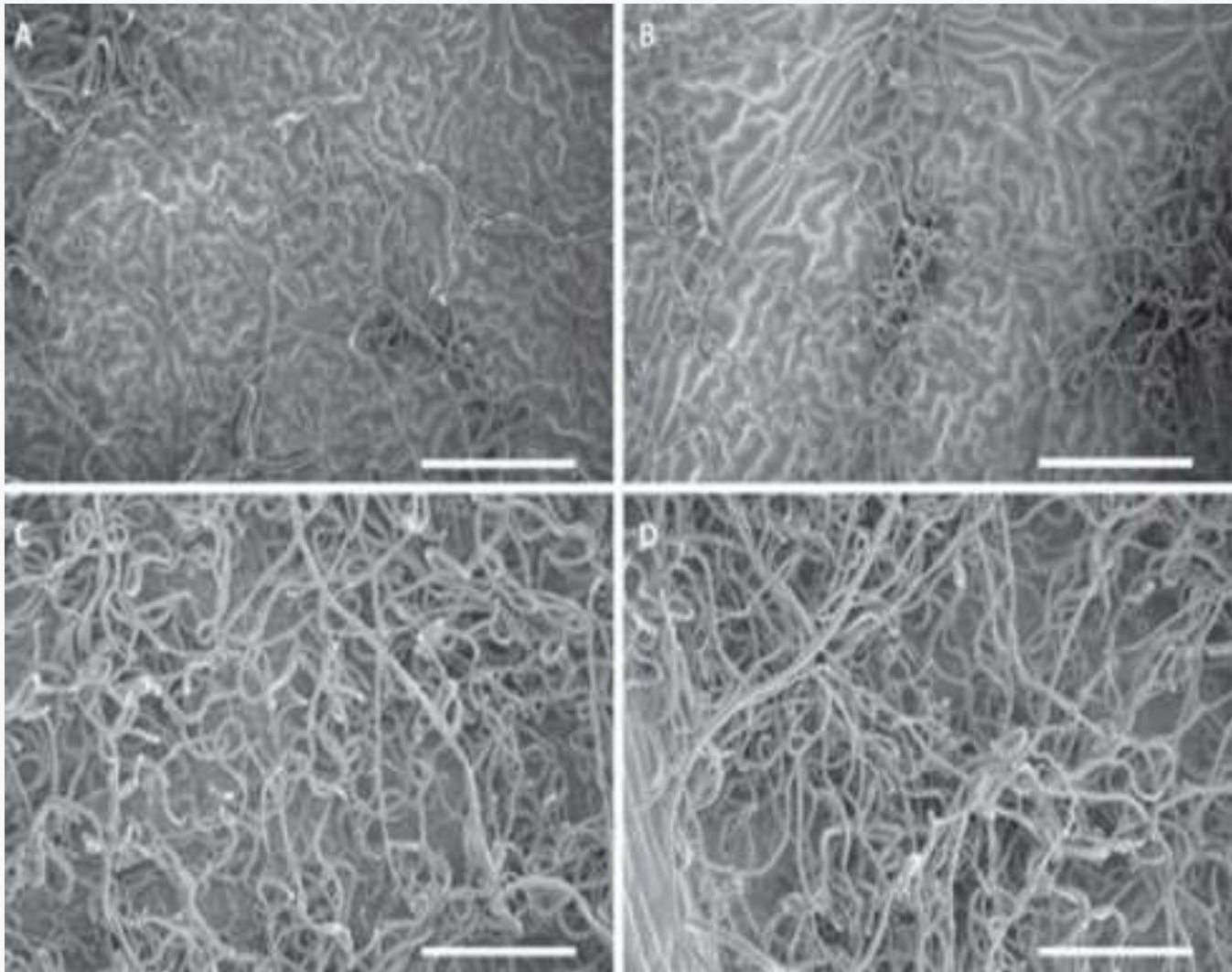
- **Θεμελιώδης ή προϋπάρχουσα άμυνα:** περιλαμβάνει όλα τα φυτικά χαρακτηριστικά- φυσικά και χημικά εμπόδια- που προστατεύουν συνεχώς το φυτό. Τέτοια παραδείγματα θα μπορούσαν να είναι ένας σκληρός φυτικός ιστός (πηκτίνη, κυτταρίνη και λιγνίνη), κηρώδεις εφυμενίδες, τριχώματα κ.α. Οι περισσότεροι από αυτούς τους προστατευτικούς μηχανισμούς είναι αποτελεσματικοί για μια μεγάλη ποικιλία εχθρών και περιλαμβάνονται στην άμυνα ευρέος φάσματος.
- **Επαγόμενη άμυνα:** περιλαμβάνει όλα τα φυτικά χαρακτηριστικά που ενεργοποιούνται μόνο όταν το φυτό αναγνωρίζει την απειλή των εντόμων μέσω της ύπαρξης ενός συστήματος επιτήρησης. Αυτός ο τύπος άμυνας μπορεί να εξοικονομήσει τους πόρους του φυτού μέχρι να χρειαστούν κρίσιμα για την επιβίωση του. Μερικά παραδείγματα επαγόμενης άμυνας στα φυτά, αποτελούν η ενίσχυση του κυτταρικού τοιχώματος (καλλόζη + εναπόθεση λιγνίνης), η παραγωγή τοξικών μεταβολιτών και ο τοπικός κυτταρικός θάνατος μέσω της αντίδρασης υπερευαισθησίας(HR).

Τέλος, μια κατηγοριοποίηση που μπορεί να γίνει για τους τύπους άμυνας των φυτών είναι η άμεση και η έμμεση άμυνα.

- **Άμεση άμυνα** είναι η άμυνα κατά την οποία τα φυτά χρησιμοποιούν τα δικά τους εργαλεία για άμυνα έναντι των εντόμων.
- **Έμμεση άμυνα** είναι η άμυνα κατά την οποία τα φυτά έχουν την ικανότητα να προσελκύουν φυσικούς εχθρούς των φυτοφάγων εντόμων. Οι φυσικοί εχθροί στη συνέχεια μειώνουν τον πληθυσμό των επιβλαβών εντόμων, ώστε τα φυτά να μην κινδυνεύουν πλέον.

Μηχανισμοί ανθεκτικότητας

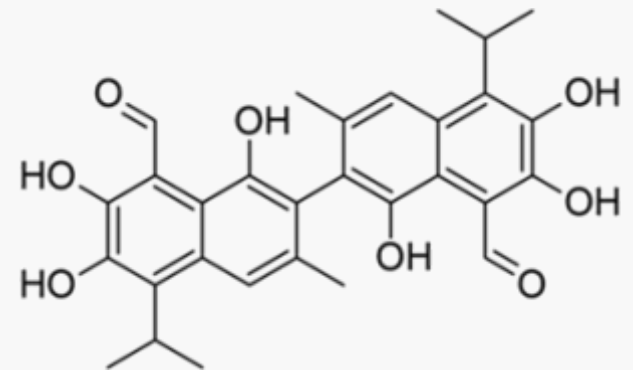
1. Δομικά χαρακτηριστικά: Τα φυτά διαθέτουν χαρακτηριστικά όπως τρίχωμα και κηρώδεις εφυμενίδες που δημιουργούν προβλήματα στην προσκόλληση, την τροφοληψία και την εναπόθεση ωών των αρθρόποδων-εχθρών (Mitchell et al., 2016). Για παράδειγμα, ο ευρέως διαδεδομένος εχθρός *Tetranychus urticae* μειώθηκε σημαντικά σε γονότυπους βατόμουρου με υψηλή πυκνότητα τριχώματος στα φύλλα. Επιπλέον, τα φυτά αναπτύσσουν σκληρεγχυματικούς ιστούς στα όργανά τους, οι οποίοι δυσκολεύουν τα εντόμα να τα καταναλώσουν και να τα πέψουν (λόγω της υψηλής συγκέντρωσης λιγνίνης). Με αυτόν τον τρόπο, τα εντόμα αποτρέπονται από το να καταναλώνουν το φυτό.



Διαφορετική πυκνότητα τριχώματος μεταξύ ποικιλιών του είδους *Rubus idaeus*. Όσο πιο πυκνό το τρίχωμα, τόσο πιο δύσκολο για τον δίστιχτο τετράνυχο να εγκατασταθεί.

Μηχανισμοί ανθεκτικότητας

2. Χημικά χαρακτηριστικά: Η χημική άμυνα των φυτών είναι ένα πολύ ενδιαφέρον και πλούσιο πεδίο έρευνας. Τα φυτά διαθέτουν ενώσεις που διαφέρουν ανά φυτικό είδος και μπορούν να είναι τοξικές ή να προκαλούν προβλήματα στη συμπεριφορά ή την αναπαραγωγή των εντόμων εχθρών. Οι πιο δημοφιλείς ομάδες τέτοιων μορίων είναι τα αλκαλοειδή, οι γλυκοσινολικές ενώσεις και οι τερπενοειδείς ενώσεις. Ένα πολύ δημοφιλές μόριο είναι η γκοσσυπόλη που υπάρχει στο βαμβάκι και χρησιμεύει για να προστατεύει το φυτό.

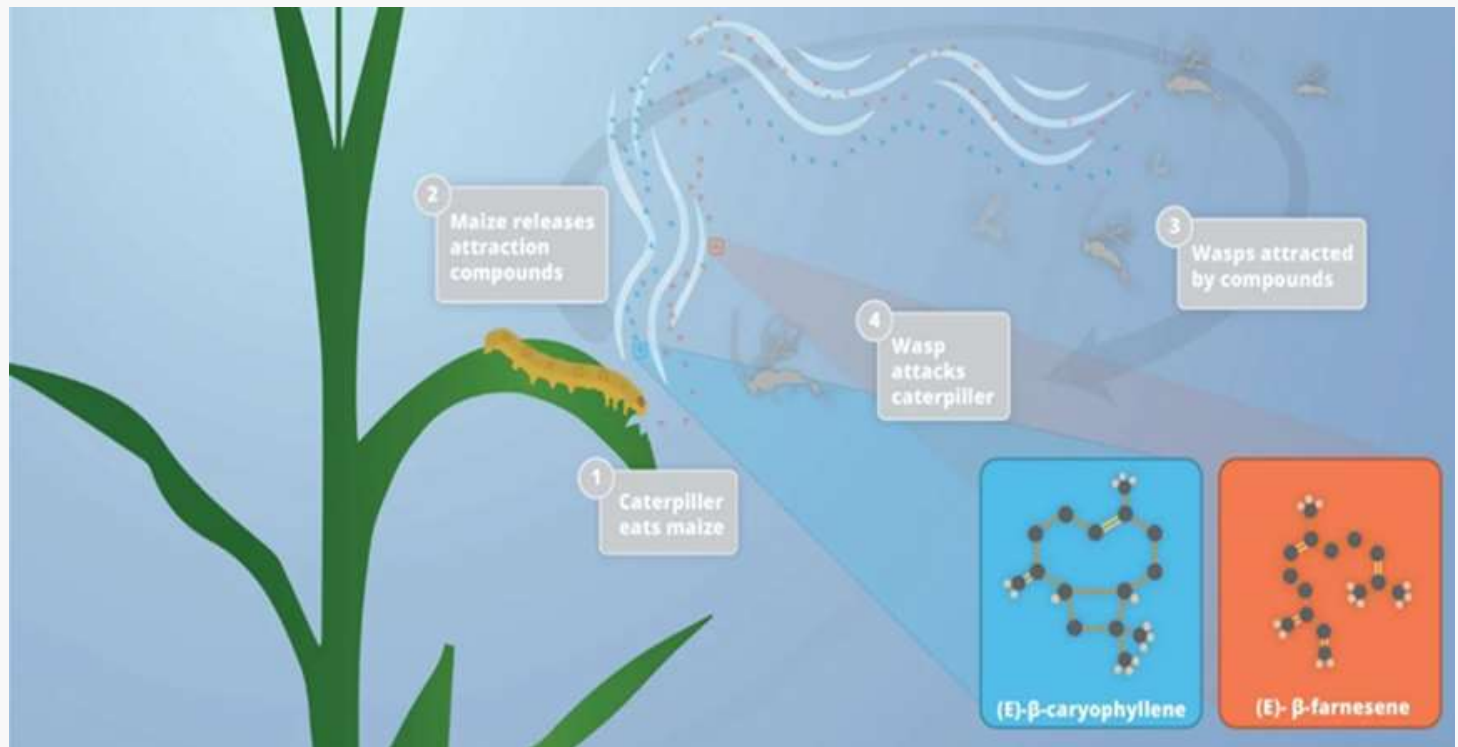


Μηχανισμοί ανθεκτικότητας

3. Τα φυτά που υποφέρουν από φυτοφάγα έντομα παράγουν αμυντικές και τραυματικές πρωτεΐνες (Systemic Wound Response Proteins) (Karabourniotis et al., 2012), όπως λεκτίνες και χιτινάσες. Ο ρόλος αυτών των πρωτεϊνών είναι να αναστέλλουν συγκεκριμένα ένζυμα των φυτοφάγων οργανισμών, ώστε να καθιστούν επώδυνη τη διαδικασία της πέψης.

Επιπλέον, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα φυτά έχουν τη δυνατότητα να εκπέμπουν στο περιβάλλον μόρια που προσελκύουν φυσικούς εχθρούς και ταυτόχρονα λειτουργούν ως σήματα για γειτονικά φυτά, προκειμένου να ενεργοποιήσουν την επαγόμενη άμυνά τους.

Παράδειγμα επαγόμενης άμυνας. Το φυτό προσελκύει ένα φυσικό εχθρό της κάμπιας απελευθερώνοντας συγκεκριμένα μόρια στο αέριο περιβάλλον. Αυτά τα μόρια ενημερώνουν το παρασιτοείδες της κάμπιας και αυτό ακολουθεί την πηγή των εκπομπών τους



Μηχανισμοί ανοχής των φυτών ενάντια στα έντομα

- **Ενίσχυση της φωτοσύνθεσης και της ανάπτυξης:** Ορισμένα έντομα προκαλούν αύξηση του ρυθμού φωτοσύνθεσης και διαφοροποιούν την φυσιολογία του αζώτου εντός των φυτών. Χάρη σε αυτούς τους μηχανισμούς, τα φυτά είναι ικανά να αντιμετωπίζουν τις αρνητικές επιπτώσεις της φυτοφαγίας, δημιουργώντας νέα φύλλα και βλαστούς. Ως αποτέλεσμα, συνεχίζουν να είναι παραγωγικά.
- **Φαινολογικός κύκλος:** Ορισμένα φυτά έχουν εξελιχθεί ώστε να καθυστερούν την ανάπτυξη, την ανθοφορία ή την παραγωγή καρπών τους μέχρι να περάσει η απειλή της επίθεσης (Mitchell et al., 2016). Για παράδειγμα, τα φυτά καλαμποκιού φαίνεται να αναβάλλουν τη διατροφή των ριζών τους για να αποφύγουν το μέγιστο του πληθυσμού του εντόμου *Diabrotica virgifera*.

Είναι εμφανές ότι τα φυτά έχουν την ικανότητα να αμυνθούν εναντίον των εντόμων που θεωρούμε σημαντικά για τη γεωργική παραγωγή.

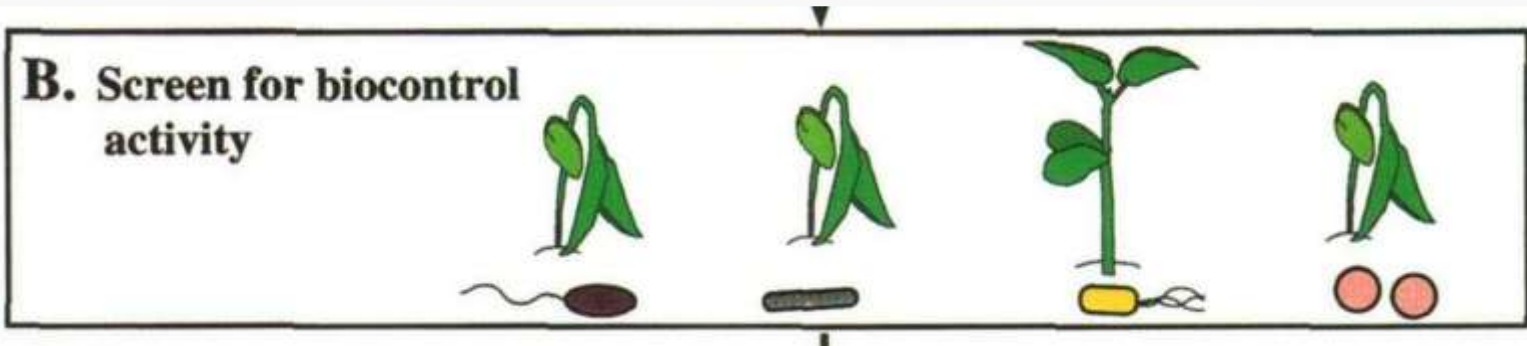
Η βελτίωση των φυτών πρέπει να επικεντρωθεί στην αναζήτηση γνωρισμάτων που προστατεύουν τις καλλιέργειες από συγκεκριμένα έντομα και στη μελέτη του πώς οι περιβαλλοντικές συνθήκες επηρεάζουν την έκφρασή τους (Mitchell et al., 2016).

Επίσης, πρέπει να γίνουν έρευνες για το πώς ορισμένα έντομα καταφέρνουν να ξεπεράσουν τους μηχανισμούς άμυνας των φυτών.

Οπωσδήποτε, η φύση έχει πάντα την απάντηση...

Επιτυχημένος βιοέλεγχος

1. Επιλογή του πιο αποδοτικού βακτηριακού στελέχους και ανάπτυξή του
 - Να μπορεί να ανταγωνιστεί τα υπάρχοντα είδη
 - Να μπορεί να αποικίσει και να πολλαπλασιαστεί
 - Να μην είναι παθογόνο για το φυτό και να μην επηρεάζει το περιβάλλον



2. Η διαδικασία παραγωγής του παράγοντα και τυποποίησης του να είναι οικονομικά συμφέρουσα

- Η παραγωγή πρέπει να δίνει υψηλής βιωσιμότητας βιομάζα
- Για να εφαρμοσθεί στον αγρό θα πρέπει να είναι:

1. Οικονομικό

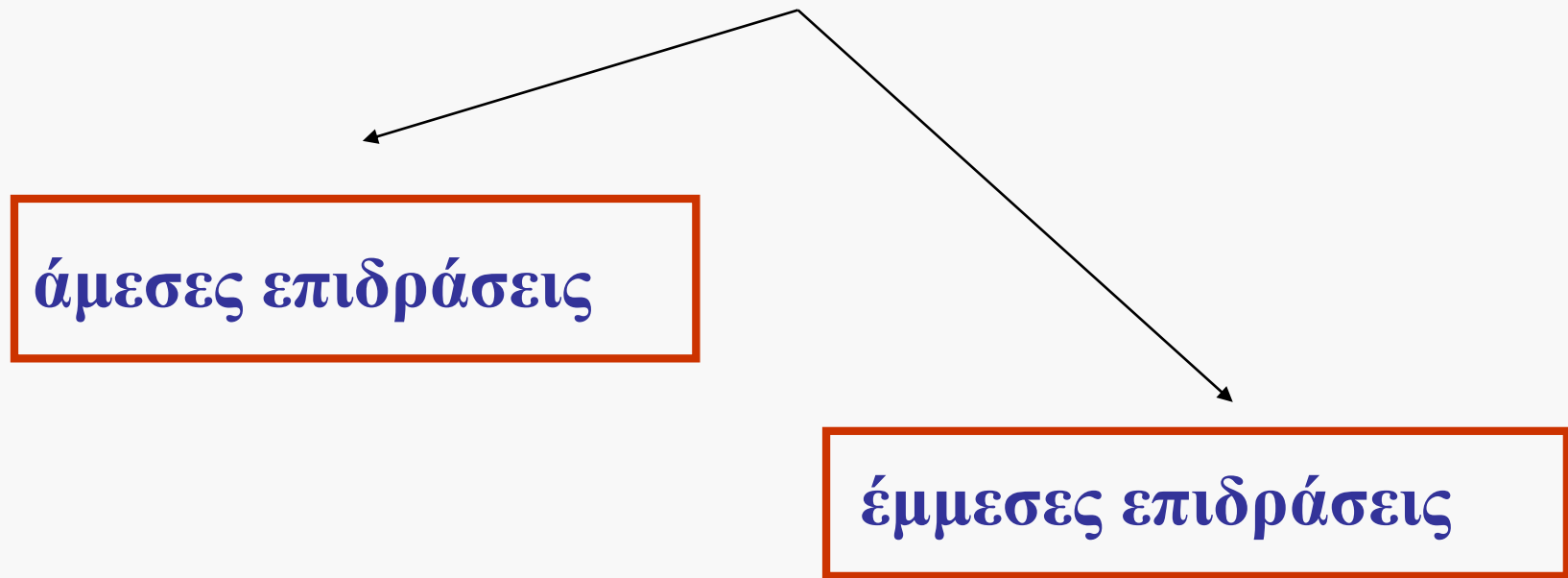
2. Να μπορεί να παραχθεί σε μεγάλες ποσότητες

3. Να παραμένει ενεργός (μεγάλη βιωσιμότητα)

3. Η μεταφορά και η εφαρμογή του παράγοντα βιοελέγχου πρέπει να επιτρέπει την πλήρη έκφραση του δηλαδή ότι ο παράγοντας θα αυξηθεί και θα επιτύχει στην καταπολέμηση (υψηλή απόδοση)



ΤΡΟΠΟΙ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΒΙΟΕΛΕΓΧΟΥ



(Compant & συνεργάτες 2005)
(Barea & συνεργάτες 2005)

ΑΜΕΣΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

1. Ανταγωνισμός για τα θρεπτικά υποστρώματα και το χώρο αποικισμού
2. Παραγωγή αντιβιοτικών και λυτικών ενζύμων
3. Αδρανοποίηση των ενζύμων του παθογόνου οργανισμού
4. Παρασιτισμός

(Compant & συνεργάτες 2005)

(Barea & συνεργάτες 2005)

- **Ανταγωνισμός θρεπτικών συστατικών:** ανταγωνισμός μεταξύ μικροοργανισμών για άνθρακα, νιτρικά, O₂, σίδηρο και άλλα θρεπτικά συστατικά. Η πιο συχνή δράση είναι ο περιορισμός της αύξησης των παθογόνων μικροοργανισμών. Παράδειγμα : Το στέλεχος *P. fluorescens*, VITCUS, αποτρέπει την ασθένεια που οφείλεται στο βακτήριο *P. Tolaasii* (βακτηριακή κηλίδωση)
- **Αντιβιοτικά :** Η παραγωγή αντιβιοτικών είναι κοινή σε βακτήρια και μύκητες που ζουν στο έδαφος. Παράδειγμα: zwittermicin παράγεται από τον *Bacillus cereus* κατά της ασθένειας που προκαλεί σήψη της ρίζας (δράση του φυτοπαθογόνου μύκητα *Phytophthora* sp.)

ΕΜΜΕΣΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

Ενεργοποίηση του αμυντικού συστήματος των φυτών



ISR

Μορφολογικές και βιοχημικές αλλαγές στον ξενιστή-φυτό



Ενδυνάμωση της ανθεκτικότητας στην καταπόνηση

(Compant & συνεργάτες 2005)
(Barea & συνεργάτες 2005)

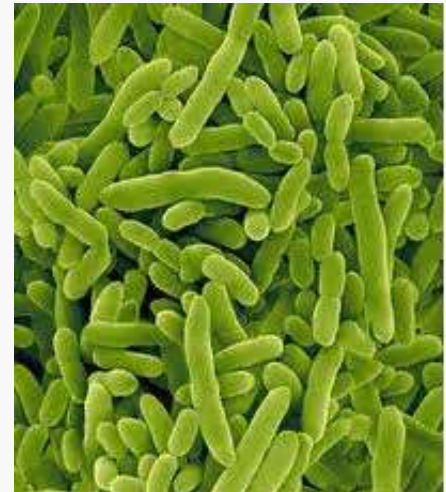
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΕΙ ΩΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΒΙΟΕΛΕΓΧΟΥ

Βακτήρια: γένη *Bacillus*, *Burkholderia*, *Lysobacter*, *Pantoea*,
Pseudomonas, *Streptomyces*

Μύκητες: γένη *Ampelomyces*, *Coniothyrium*, *Dactylella*, *Gliocladium*,
Paecilomyces, *Trichoderma*

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΠΙΛΟΓΗΣ

- Παρατήρηση των ζωνών αναστολής σε τρυβλία Petri
- Εκτίμηση ενζυμικής ενεργότητας
- Εκτίμηση ταχύτητας αποικισμού του χώματος
- In planta διαδικασίες



(Brian & συνεργάτες 2002)
(Shishido & συνεργάτες 2005)

Bacillus

Μια “πράσινη” λύση για πιο βιώσιμη αγροτική παραγωγή

- ✓ Το γένος *Bacillus* είναι μια ομάδα βακτηρίων. Τα βακτήρια αυτά έχουν ήδη κερδίσει σημαντική προσοχή για την ικανότητά τους να καταπολεμούν φυτοπαθογόνα και παράσιτα, ελαχιστοποιώντας παράλληλα τη βλάβη στα ωφέλιμα έντομα, τον άνθρωπο και το περιβάλλον.

- ✓ Τα είδη του γένους *Bacillus* spp. περιλαμβάνουν βακτήρια ραβδόμορφα, θετικά κατά Gram, αερόβια ή προαιρετικά αναερόβια και θετικά ως προς την καταλάση.
- ✓ Μπορούν να παράγουν ενδοσπόρια και δυνητικά να επιβιώσουν σε δυσμενείς συνθήκες.
- ✓ Αποικούν κυρίως το έδαφος και τη ριζόσφαιρα και θεωρούνται ως τα πιο διαδεδομένα ενδοφυτικά βακτήρια.

✓ Τα *Bacillus* spp. είναι μια μεγάλη και ποικίλη ομάδα μη παθογόνων βακτηρίων.

✓ Τα περισσότερα είδη μαζί με τα προϊόντα τους θεωρούνται ασφαλή για προς το περιβάλλον.

✓ Ορισμένα από τα πιο κοινά και ωφέλιμα είδη *Bacillus* περιλαμβάνουν τα *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. velezensis*, *B. cereus* κ.λπ.

✓ Χρησιμοποιούνται ευρέως λόγω της φιλικής προς το περιβάλλον φύση τους, είναι κατάλληλα για την αειφόρο γεωργία λόγω των των βιομυκητοκτόνων, βιοεντομοκτόνων και βιονεματοδοκτόνων ιδιοτήτων τους (Surovy et al., 2022).

✓ Προάγουν την ανάπτυξη των φυτών μέσω της πρόσληψης θρεπτικών συστατικών, της δέσμευσης αζώτου, της διαλυτοποίησης φωσφόρου και της παραγωγής ορμονών ανάπτυξης.

✓ Ελέγχουν τα παθογόνα μέσω του ανταγωνισμού αλλά και των αντιβιοτικών και των αντιμικροβιακών μεταβολιτών που παράγουν.

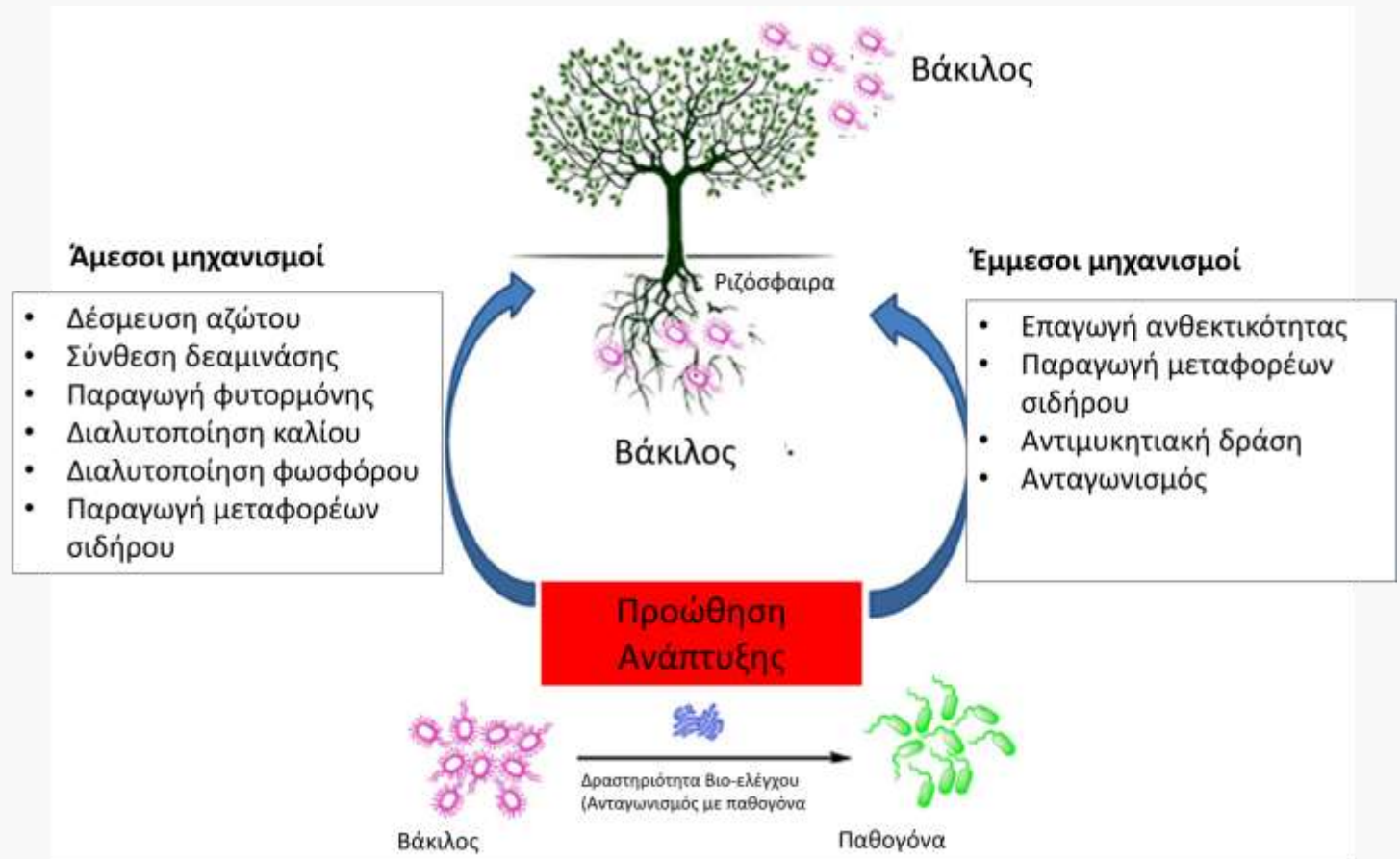
✓ Ο βάκιλος μπορεί να παράγει διαφορετικούς τύπους αντιβιοτικών και ενζύμων για τον έλεγχο των παθογόνων στα φυτά.

✓ Ανταγωνίζεται με τα φυτοπαθογόνα για τα θρεπτικά και για το χώρο.

✓ Έμμεσα προκαλεί επίσης συστηματική αντίσταση των φυτών έναντι παθογόνων ή προσβολών από παράσιτα.

✓ Επομένως, η επαγωγή συστηματικής ανθεκτικότητας από τα βακτήρια αυτά παρέχει καλύτερη προστασία και επάγει την ανθεκτικότητα του φυτού σε παράσιτα και παθογόνα.

✓ Επίσης αυξάνει τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων και παράγει αντιμικροβιακούς δευτερογενείς μεταβολίτες και πτητικές οργανικές ενώσεις, οι οποίες συμβάλλουν στον βιολογικό έλεγχο των παθογόνων και των παρασίτων.



✓ Τα βακτήρια που αποικούν στις ρίζες παράγουν νηματοδοκτόνες τοξίνες, πτητικές ενώσεις και δευτερογενείς μεταβολίτες που υποβαθμίζουν την επιδερμίδα των νηματωδών και διαταράσσουν το κέλυφος των αυγών.

✓ Τα βακτήρια αυτά επίσης, παράγουν ανθεκτικά ενδοσπόρια για να επιβιώνουν στο περιβάλλον για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

✓ Αυτά τα σπόρια μπορούν να αποικίσουν στις ρίζες των φυτών και είναι πανταχού παρόντα στη ριζόσφαιρα.

✓ Παράγουν διαφορετικούς τύπους πρωτεολυτικών ενζύμων όπως η σφιγγοσίνη (νηματοδοκτόνος τοξίνη), η υπεροξειδική δισμουτάση, η υπεροξειδάση, η νηματοδοκτόνες πτητικές ουσίες όπως το διμεθυλοδισουλφίδιο και δευτερογενείς μεταβολίτες που αποικοδομούν την επιδερμίδα του νηματώδη και αυξάνουν την τοξικότητα.

✓ Ως αποτέλεσμα, επέρχεται παράλυση και θάνατος του νηματώδη.

✓ Αυτοί οι μεταβολίτες και τα τοξικά ένζυμα διαταράσσουν επίσης το κέλυφος των αυγών του νηματώδη και ενδεχομένως τον ελέγχουν.

✓ Έτσι, αναμφίβολα ο βάκιλος είναι ένα ιδανικό βακτήριο για τον βιοέλεγχο των νηματωδών και ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (USFDA) κήρυξε τα είδη του βάκιλου ως “θεωρούμενα ασφαλή”.

Bacillus thuringiensis (Bt)

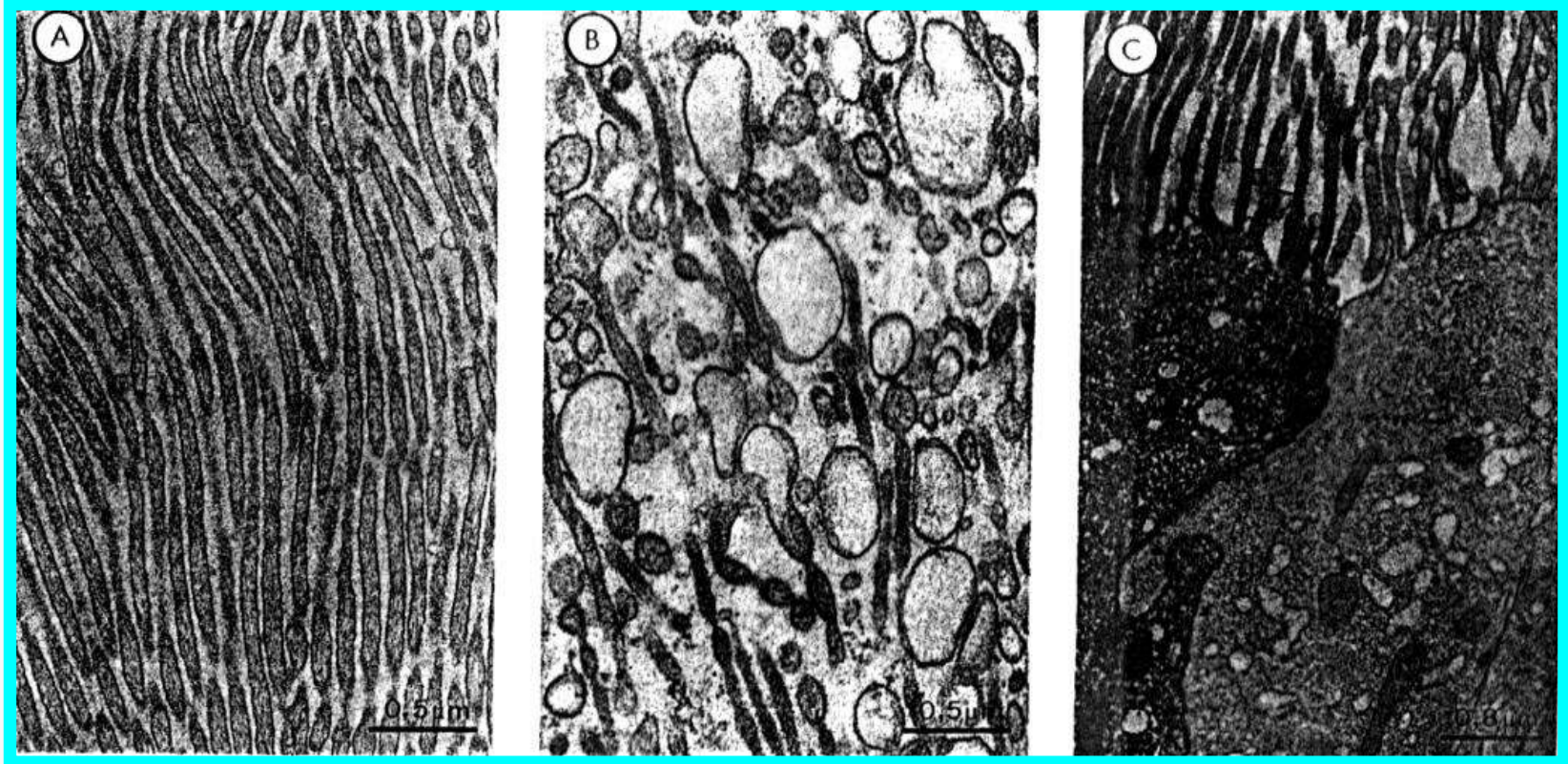
- απομονώθηκε το 1902
- είναι παθογόνο εντόμων (π.χ. λεπιδόπτερα, δίπτερα, κολεόπτερα)
- παράγει ενδοκυτταρική κρυσταλλική πρωτεΐνη την δ-ενδοτοξίνη (Cry)
- η δ-ενδοτοξίνη συντίθεται στα πρώτα στάδια σχηματισμού του σπορίου
- είναι γνωστή ως παρασπορικό σώμα

- γίνεται πέψη από τις λάρβες των εντόμων
- η προ-τοξίνη μετατρέπεται σε τοξικά πολυπεπτίδια
- προκαλούν παράλυση του εντέρου
- τα κύτταρα διογκώνονται
- κυστοποιούνται και σπάνε
- ο θάνατος προέρχεται από δηλητηρίαση/ σηψαιμία ή ασιτία
- ο θάνατος των εντόμων επέρχεται μέσα σε 1-5 ημέρες και προσβάλλονται κυρίως οι νεαρές προνύμφες

- Καταχωρημένο φυτοφάρμακο.
- Τα προϊόντα Bt χρησιμοποιούνται σε καλλιέργειες και καλλωπιστικά φυτά για εναέρια εφαρμογή.
- Επίσης είναι κατάλληλο για τη βιολογική γεωργία.
- Γενικά, τα κοινά προϊόντα Bt βρίσκονται στην αγορά ως σπρέι, κόκκοι, σκόνες, συμπυκνώματα και σφαιρίδια.

➤ Μέχρι σήμερα, η Επιτροπή Ονοματολογίας Τοξινών Bt έχει ταξινομήσει 73 διαφορετικούς τύπους πρωτεϊνών Cry (Cry1 έως Cry73), για τις οποίες είναι καλά τεκμηριωμένες για την τοξικότητά τους έναντι λεπιδοπτέρων, κολεοπτέρων, ημιπτέρων, διπτέρων, νηματωδών, συμπεριλαμβανομένων των παρασίτων του ανθρώπου και των ζώων (Rhabditida), και σαλιγκαριών.

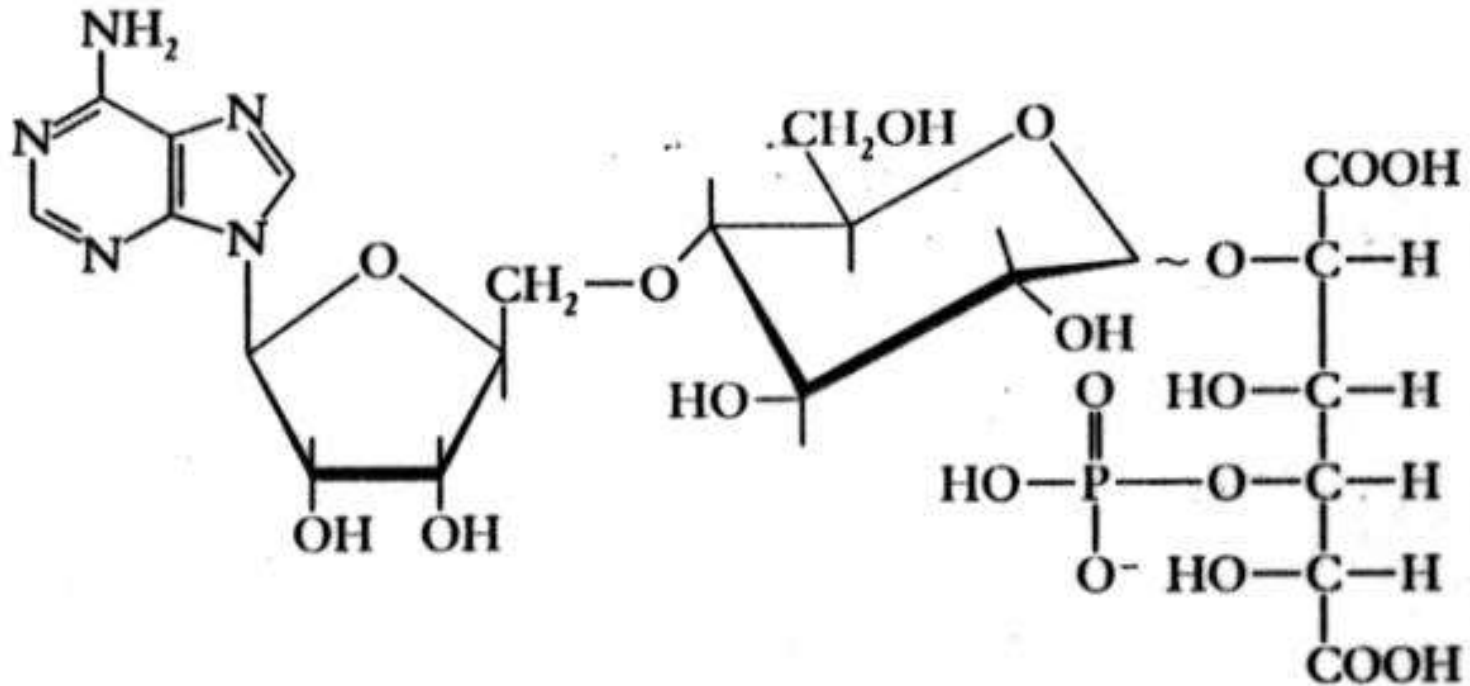
10 λεπτά μετά την επίδραση
της δ-ενδοτοξίνης



κυτταροκαλλιέργεια

χάνουν τον έλεγχο
διαπερατότητας

β -ενδοτοξίνη του *B. thuringiensis*



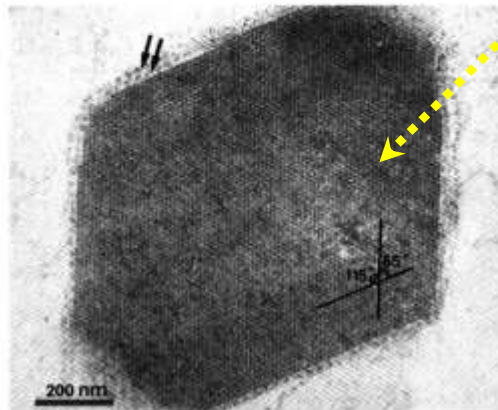
Φωτογραφία από ηλεκτρονικό
μικροσκόπιο του *B. sphaericus*

Ενδοσπόριο

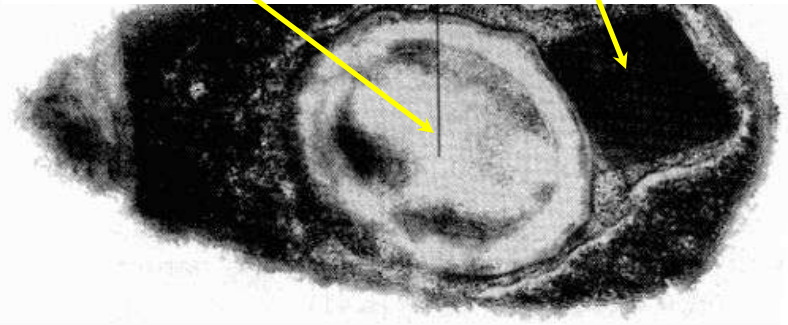
Παρασπορικό Σώμα

Φωτογραφία από ηλεκτρονικό
μικροσκόπιο του *B. thuringiensis*

Ενδοσπόριο Παρασπορικό
Σώμα

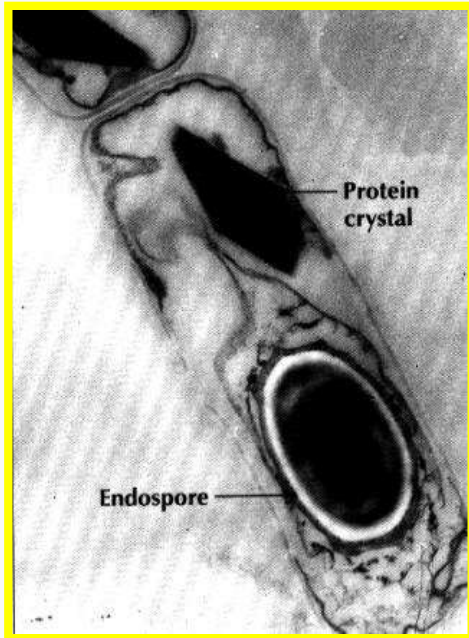
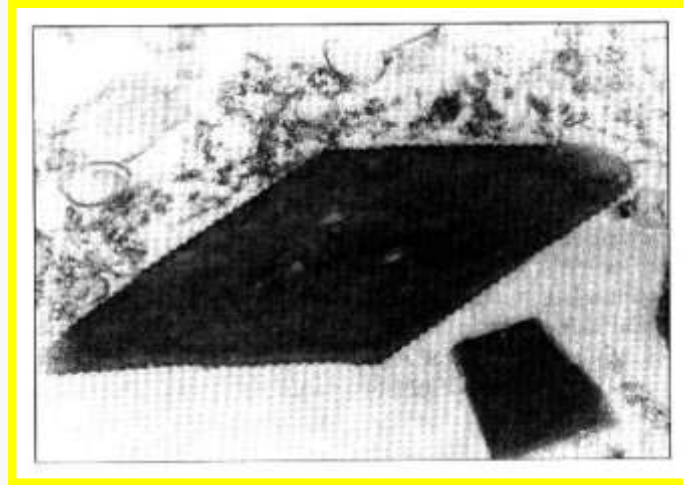


(b)





Κρύσταλλοι της τοξίνης που παράγεται από τον *B. thuringiensis*

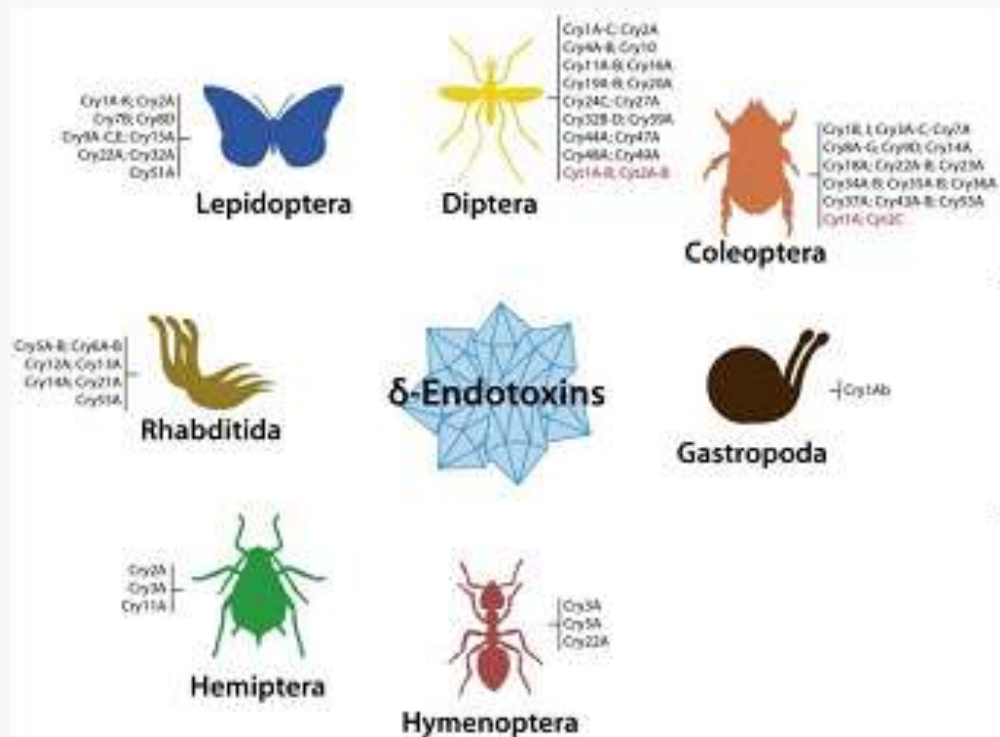


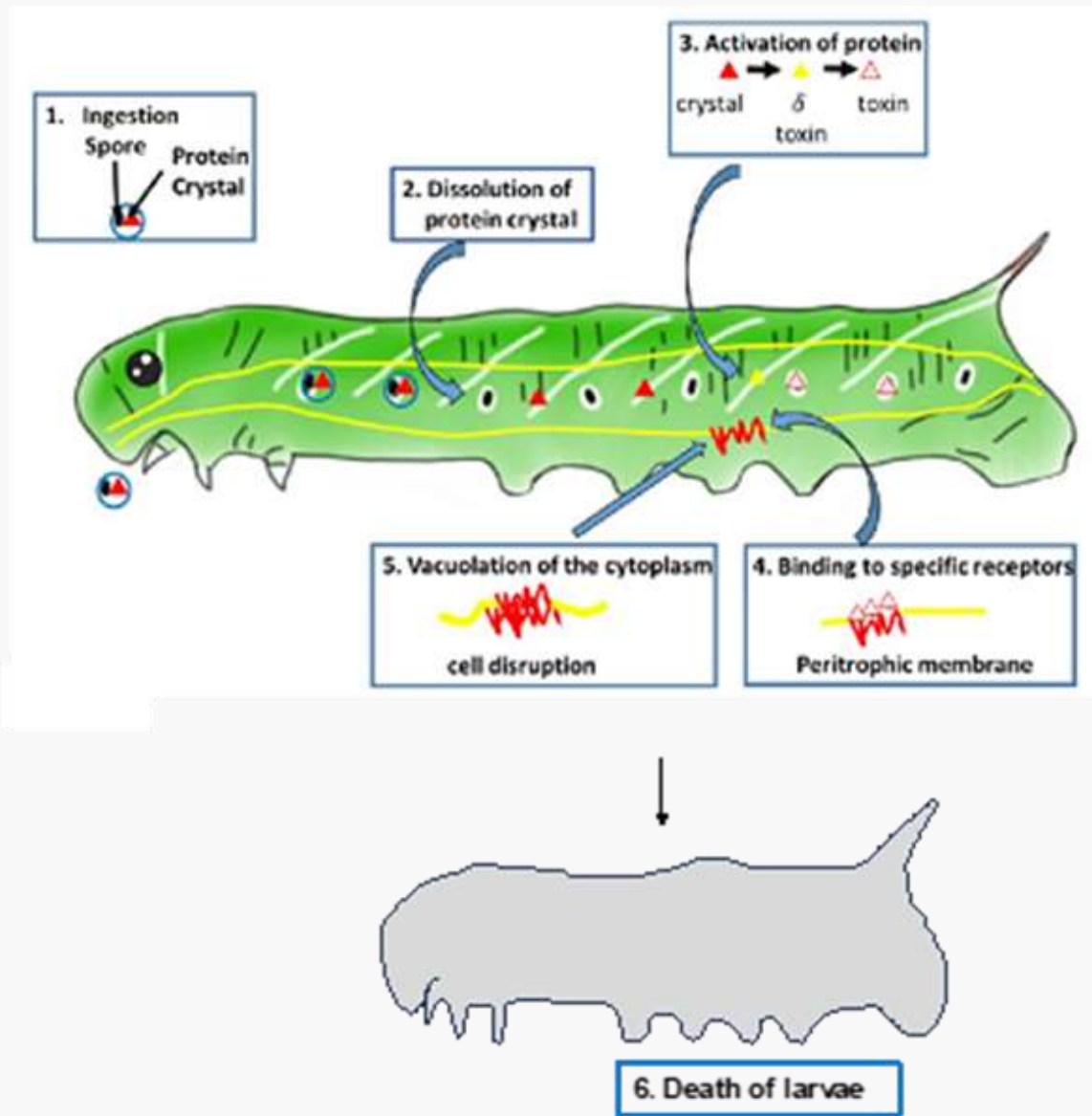
Κρύσταλλος τοξίνης και ενδοσπόριο *B. thuringiensis*

A



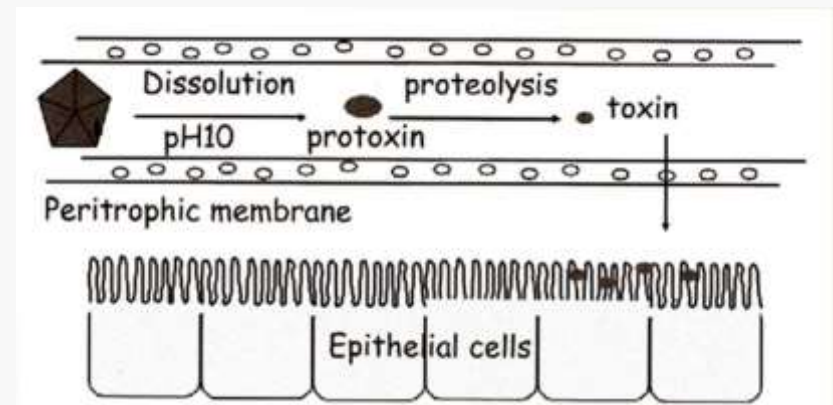
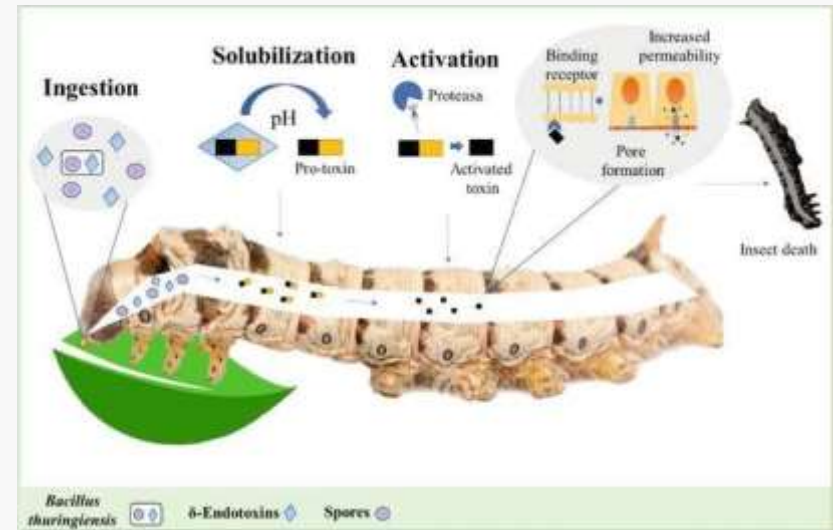
B





Ο μηχανισμός δράσης των Cry τοξινών

- Η προνύμφη του εντόμου καταπίνει σπόρια Bt ή πρωτεϊνικούς κρυστάλλους
- Διάλυση των κρυστάλλων στον εντερικό σωλήνα και απελευθέρωση πρωτοξινών
- Πρωτεολυτική διάσπαση τις ενεργοποιεί
- Προσδένονται σε υποδοχείς των επιθηλιακών κυττάρων
- Δημιουργούν πόρους -> Λύση των κυττάρων
- Το έντομο σταματά να τρέφεται και πεθαίνει (1-5 μέρες)
- Παρατηρείται και σηψαιμία λόγω της εκβλάστησης των σπορίων



Καλλιέργειες Bt

- ✓ Μέσω της γενετικής μηχανικής, με την εισαγωγή γονιδίων κρυσταλλικής πρωτεΐνης (γονίδια Cry) από τον *Bacillus thuringiensis* στο γονιδίωμα των καλλιεργειών εισάγονται νέες διαγονιδιακές καλλιέργειες.
- ✓ Αυτές οι διαγονιδιακές καλλιέργειες είναι ανθεκτικές στα έντομα εχθρούς των καλλιεργειών.
- ✓ Ακόμα και σήμερα, υπάρχει μια διαμάχη σχετικά με τη χρήση γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών.
- ✓ Ως εκ τούτου, μόνο ορισμένες γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες έχουν λάβει έγκριση.

Κατάλογος των καλλιεργειών Bt που έχουν εγκριθεί για καλλιέργεια

Καλλιέργεια	Παράσιτο-στόχος	Εγκεκριμένη χώρα
Καλαμπόκι Bt	σκουλήκι καλαμποκιού	Ισπανία, Πορτογαλία, Ρουμανία, Τσεχική Δημοκρατία και Σλοβενία
Βαμβάκι Bt	Ρόδινο σκουλήκι, στρατοσκώληκος	Ινδία, Κίνα
Μελιτζάνα Bt	σκόρος της μελιτζάνας	Μπαγκλαντές

- ✓ Τα σπόρια του *Bacillus thuringiensis* βλάπτουν το έντερο των προνυμφών μετά την κατανάλωσή τους.
- ✓ Το έντερο των εντόμων είναι αλκαλικό (pH 9,0 έως 10,5) και ο βάκιλος απαιτεί ιδιαίτερα αλκαλικές συνθήκες για την απελευθέρωση ειδικών ενζύμων για την ενεργοποίηση των τοξινών του.
- ✓ Αντιθέτως, το έντερο του ανθρώπου/θηλαστικών είναι πιο όξινο με χαμηλό pH. Έτσι, δεν απελευθερώνουν ειδικά ένζυμα που διασπούν τις πρωτεΐνες των σπορίων για την ενεργοποίηση των τοξινών Bt.
- ✓ Επομένως, με βάση τις τρέχουσες επιστημονικές γνώσεις, η Bt δεν ενέχει σημαντικούς κινδύνους για την υγεία του ανθρώπου ή των θηλαστικών.

Η τύχη των τοξινών του *Bacillus* στο περιβάλλον

- ✓ Οι σπόροι Bt βρίσκονται συνήθως στα ανώτερα εκατοστά του εδάφους και μπορούν να παραμείνουν αδρανείς στις περισσότερες φυσικές συνθήκες του εδάφους.
- ✓ Ωστόσο, η επιβίωση και η ανάπτυξή τους στο έδαφος εξαρτάται από τις εδαφικές συνθήκες και τις ιδιότητες του εδάφους.
- ✓ Ο Bt από το έδαφος μπορεί φυσικά να εγκατασταθεί στα φύλλα των φυτών με διάφορους τρόπους, όπως η βροχή, η εναπόθεση από περιττώματα ζώων, η βλάστηση σπόρων ή μολυσμένα έντομα.
- ✓ Έχει βρεθεί σε διάφορα υδάτινα περιβάλλοντα και μπορεί να εισέλθει σε φυσικές πηγές νερού μέσω της βροχής, του ανέμου, των περιττωμάτων ζώων αλλά και της απορροής.

Η τύχη των τοξινών του *Bacillus* στο περιβάλλον

- ✓ Οι τοξίνες Bt είναι συγκεκριμένες για κάθε ξενιστή και διασπώνται στις επιφάνειες των φύλλων από φυσικούς παράγοντες όπως το υπεριώδες φως του ηλιακού φωτός (UV), οι καιρικές συνθήκες και τα ένζυμα που εκκρίνουν τα φυτά.
- ✓ Επιπλέον, τα σπόρια μπορούν να ξεπλυθούν από την επιφάνεια των φύλλων με τη βροχόπτωση.
- ✓ Οι τοξίνες Bt αποικοδομούνται γενικά ταχύτερα από τα σπόρια, με χρόνο ημιζωής που κυμαίνεται από λιγότερο από μία ημέρα έως και 46 ημέρες.
- ✓ Ωστόσο, ίχνη της τοξίνης μπορούν να παραμείνουν στο έδαφος για έως και έξι μήνες.

Η τύχη των τοξινών του *Bacillus* στο περιβάλλον

- ✓ Η τυπική διάρκεια ζωής των τοξινών Bt στο φύλλωμα κυμαίνεται από μία έως τέσσερις ημέρες.
- ✓ Η παραμονή και η μετακίνηση της Bt εξαρτώνται από τις εδαφικές συνθήκες, την έκθεση στο ηλιακό φως και τις φυσικές διεργασίες όπως η βροχόπτωση και η απορροή.
- ✓ Αυτές οι δυναμικές επηρεάζουν τη διάσπαση και την κατανομή των σπορίων και των τοξινών Bt, εξασφαλίζοντας την παρουσία τους σε διαφορετικά οικολογικά περιβάλλοντα και χωρίς να προκαλούν βλάβη στο περιβάλλον.

Εφαρμογή των ιδιοτήτων του Bt στην καταπολέμηση επιβλαβών 6 εντόμων

- > Παραγωγή σκευασμάτων Bt που περιέχουν σπόρια και κρυστάλλους
- > Κατάλληλα για τη Βιολογική Γεωργία
- > Μείωση της χρήσης χημικών βιοκτόνων
- > Τα κοινά προϊόντα Bt έχουν μορφή σπρέι, βρέξιμης σκόνης, κόκκων ή σφαιριδίων
- > Η απομόνωση και η δημιουργία νέων στελεχών του Bt οδήγησε στη διεύρυνση του εύρους των εντόμων-στόχων και στην αυξημένη δραστηριότητα και την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας των εντόμων



Bacillus thuringiensis kurstaki

8

Το υποείδος *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) περιλαμβάνει βακτηριακά στελέχη με δράση κατά των Λεπιδόπτερων.

Στέλεχος	Έντομα-στόχοι	Εμπορικά Σκευάσματα
Bt kurstaki HD-1	Λεπιδόπτερα (πχ Πυραλίδα καλαμποκιού, Καρπόκαψα της μηλιάς)	Bactospeine, Biobit, Dipel, Thuricide
Bt kurstaki EG2424	Λεπιδόπτερα, Κολεόπτερα (Πυραλίδα καλαμποκιού, Δορυφόρος της πατάτας)	Foil
Bt kurstaki EG2348	Λεπιδόπτερα	Condor

Bacillus thuringiensis israelensis

Το υποείδος *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti) απομονώθηκε αρχικά το 1976 στο Ισραήλ και έκτοτε χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση των Διπτέρων.

Στέλεχος	Έντομα-στόχοι	Εμπορικά Σκευάσματα
Bt israelensis AM65-52	Κουνούπια (<i>Aedes</i> , <i>Anopheles</i>) και μύγες (<i>Simuliidae</i>)	Bactimos, VectoBac
Bt israelensis EG2215	Κουνούπια	Ecogen ΒΠ

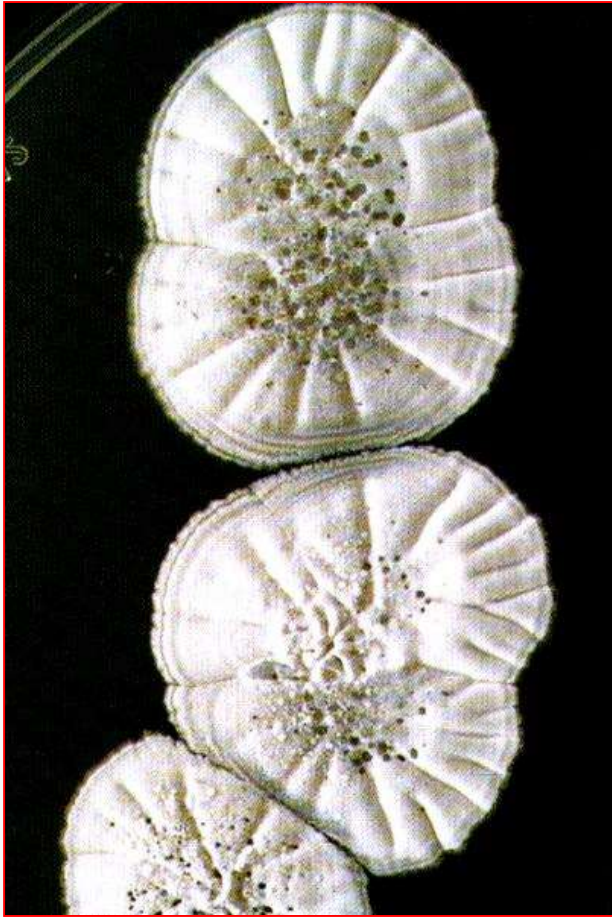
Bacillus thuringiensis aizawai & Bacillus thuringiensis tenebrionis

10

- > Bacillus thuringiensis subsp. aizawai (Bta): Στελέχη του χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση Λεπιδόπτερων
- > Bacillus thuringiensis subsp. tenebrionis (Btt): Στελέχη του χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση Κολεόπτερων

Στέλεχος	Έντομα-στόχοι	Εμπορικά Σκευάσματα
Bt aizawai GC-91	Lepidoptera (πχ Plutella xylostella, Spodoptera spp)	Agree
Bt tenebrionis NB 176	Coleoptera (Chrysomelidae, πχ Δορυφόρος της πατάτας)	Novodor

Nocardia farcinica



Streptomyces noursei



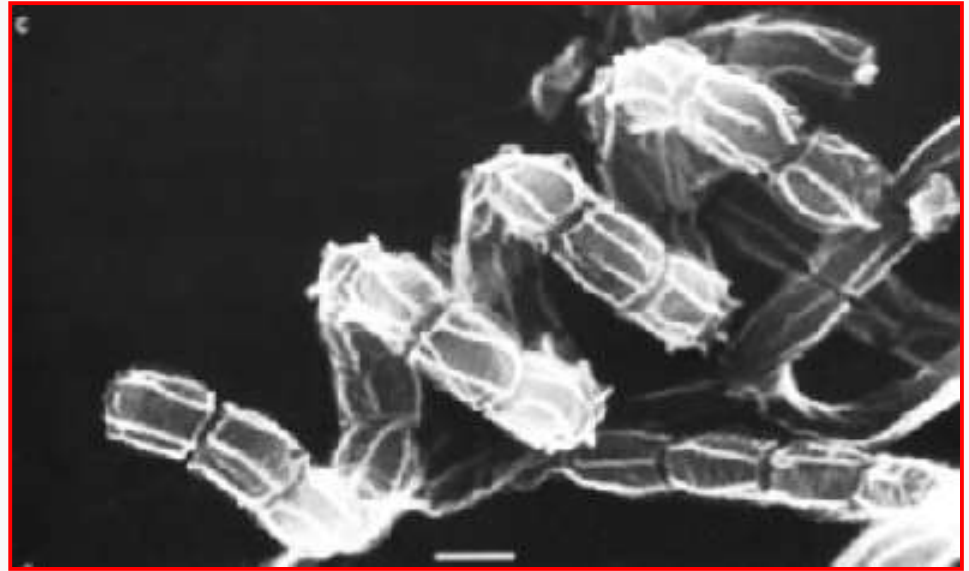
Streptomyces cattleya



Streptosporangium nondiaststicum

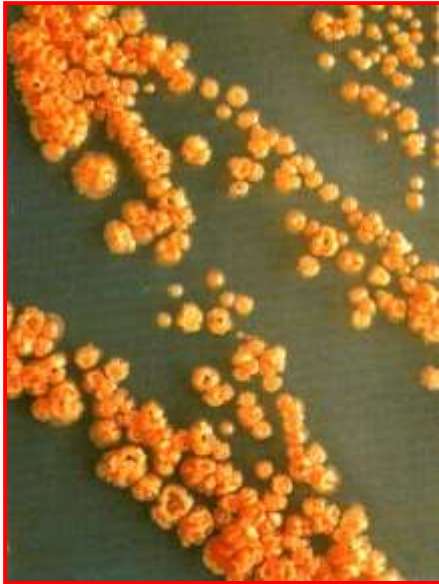


Herbidospora cretacea



Streptomyces plicatosporus

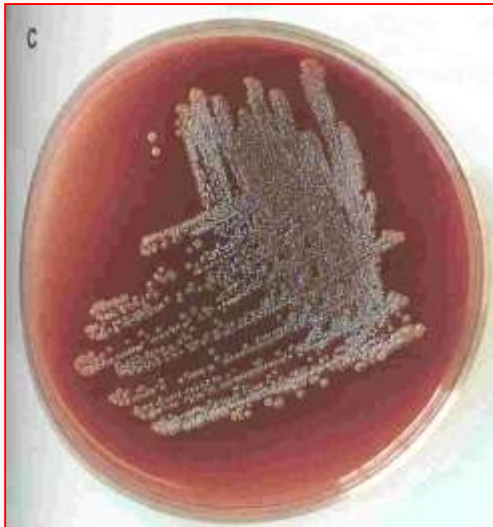
Αποικίες ακτινοβακτηρίων σε στερεό θρεπτικό υπόστρωμα.



Actinoplanes sp.

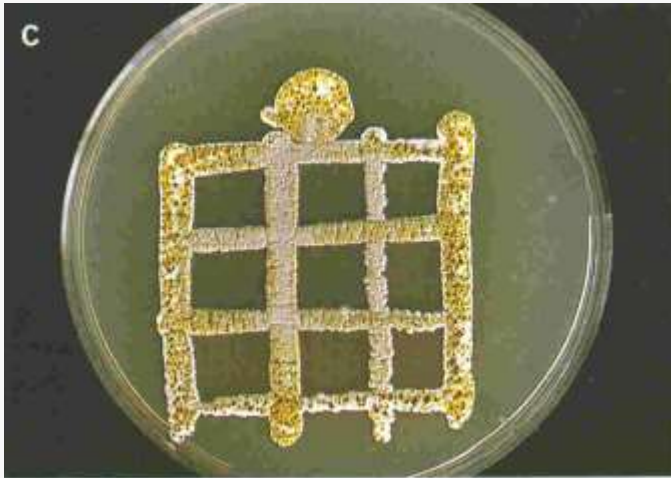


Actinomadura rugatopispora

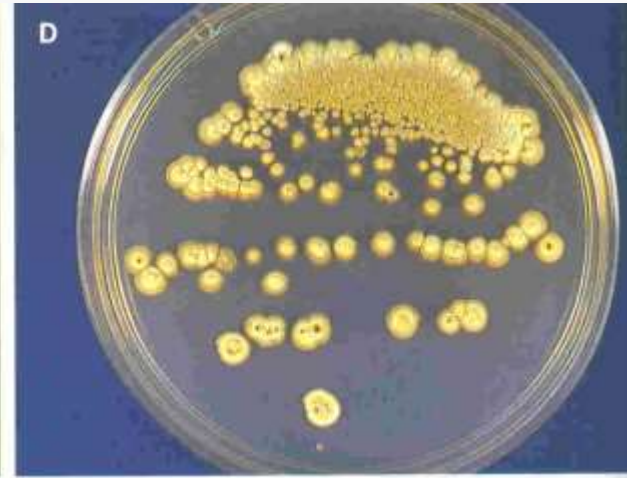


Dactylosporangium vinaceum

Streptomyces hygroscopicus



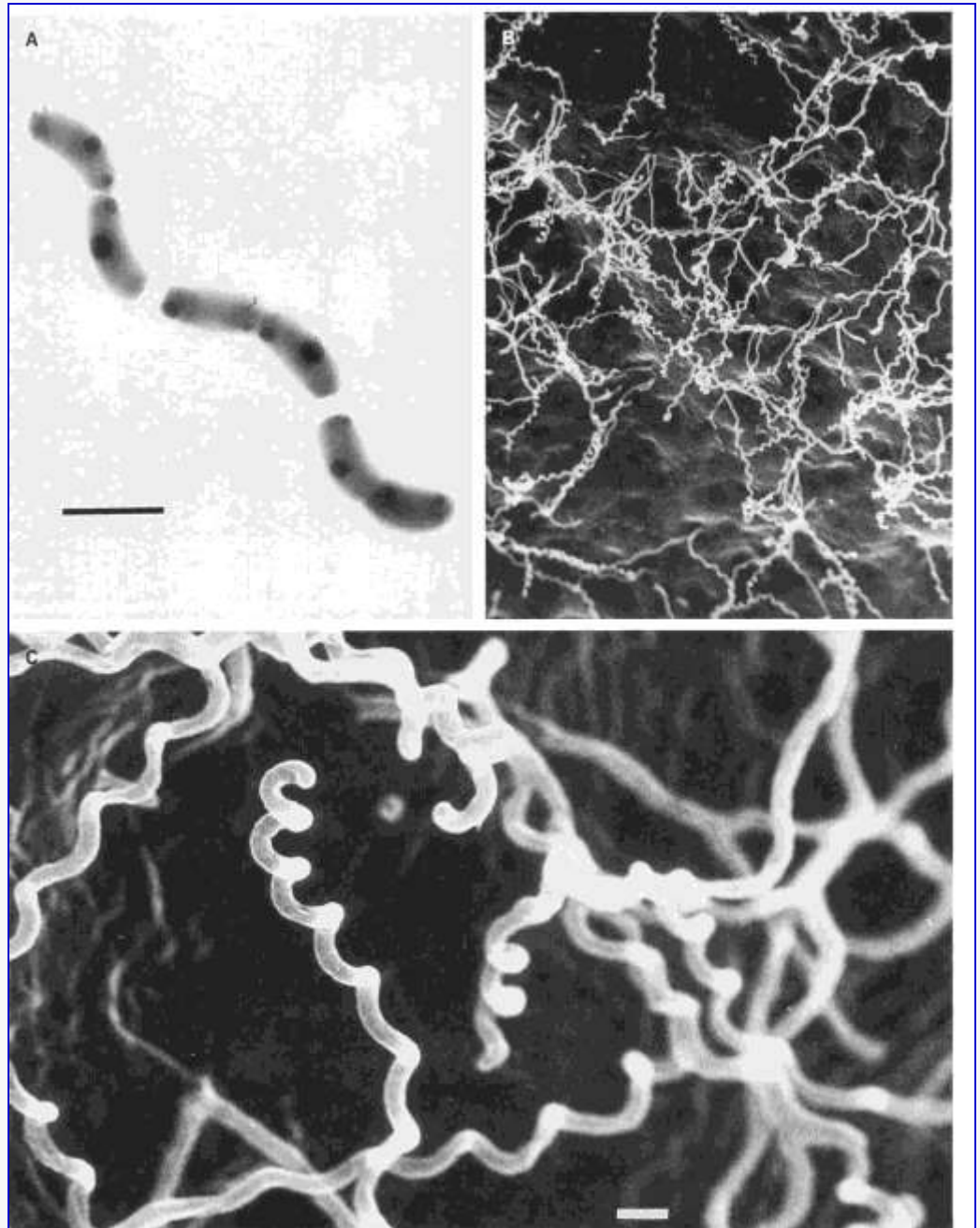
Streptomyces hanamyceticus



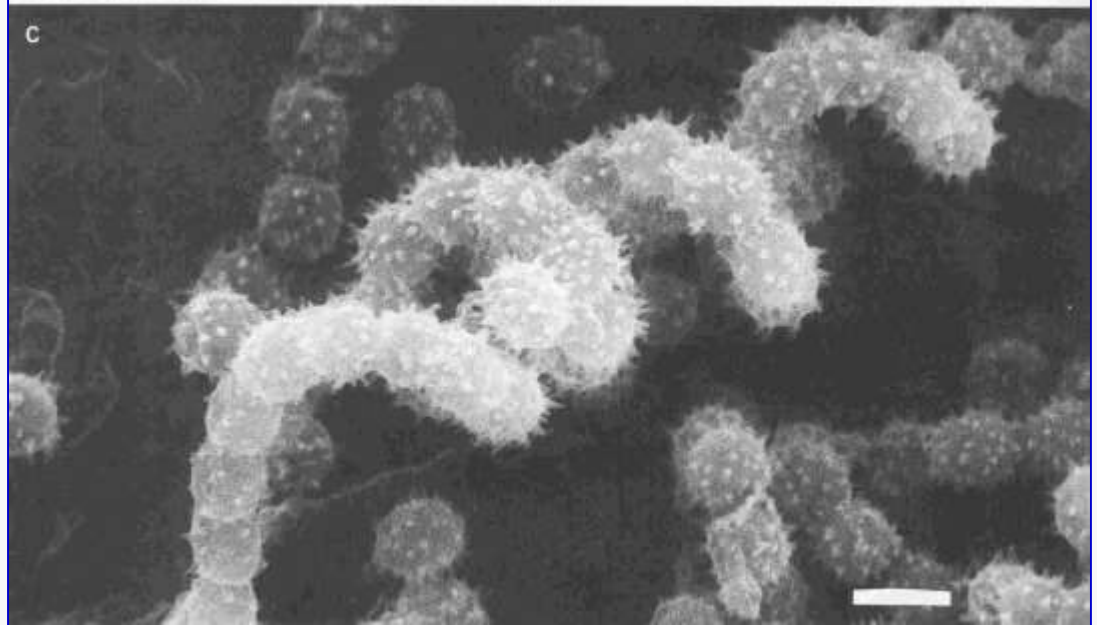
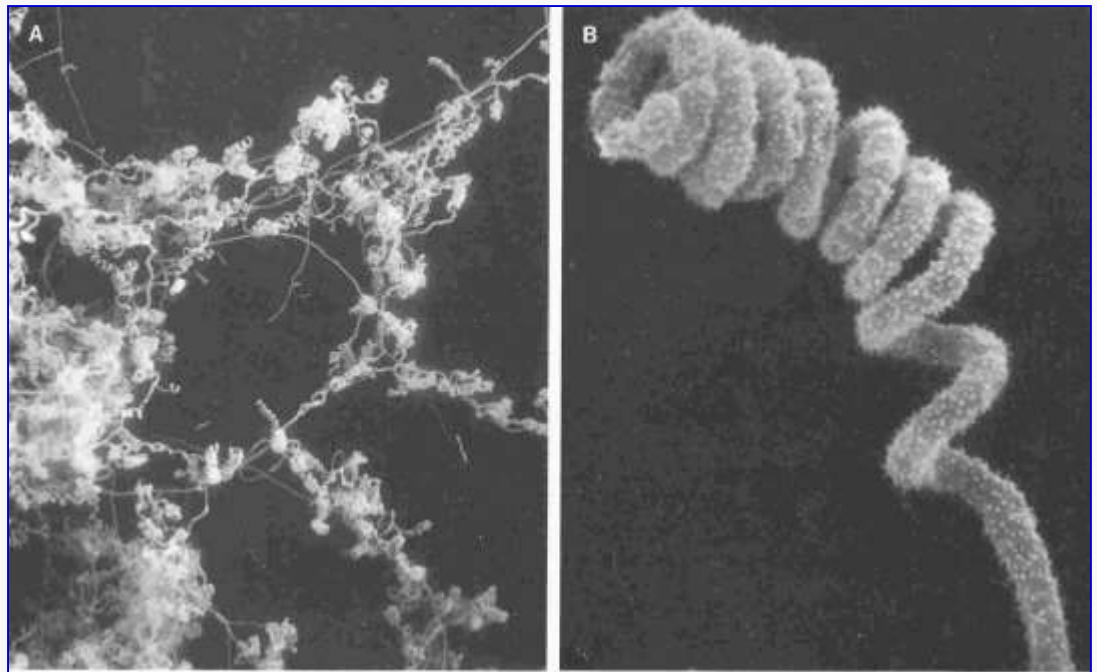
Streptomyces avermitilis

Streptomyces sulfonofaciens

Nocardia brasiliensis



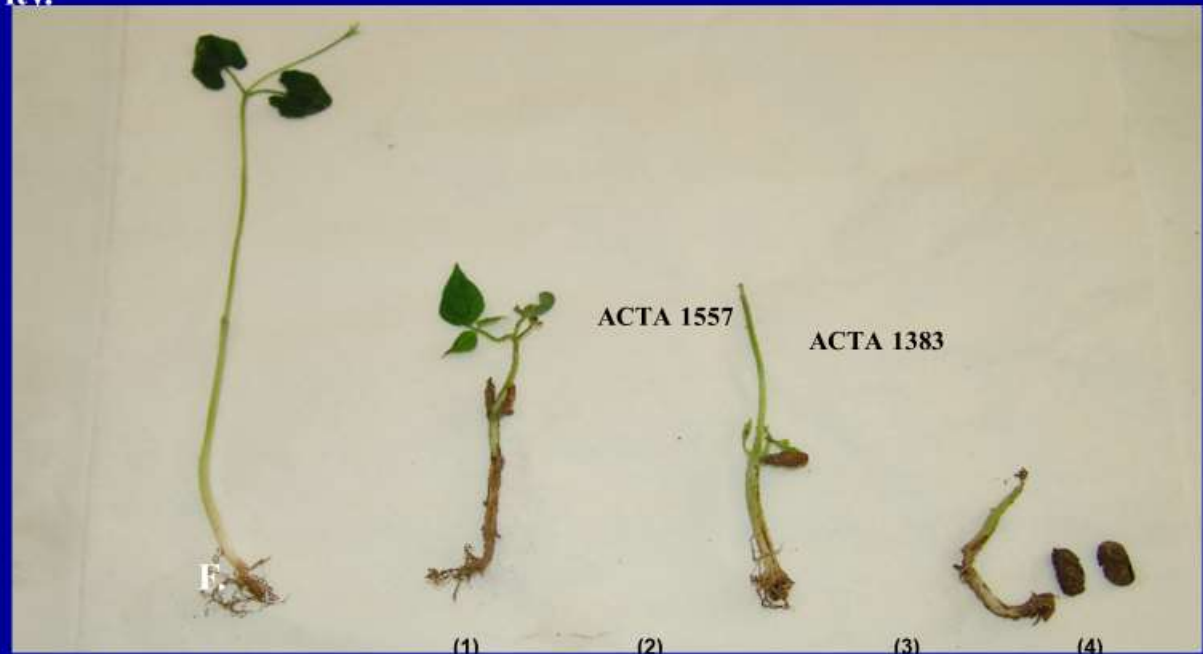
Streptomyces albulus



Streptomyces filipinensis

BIOCONTROL

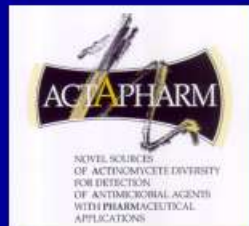
- ✓ *Streptomyces* isolates as biocontrol agents against several phytopathogenic fungi such as *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum*
- ✓ Two *Streptomyces* isolates (ACTA 1383 and ACTA 1557), were selected due to their highest antifungal activity.



- (1) Not treated seeds planted in untreated sterile soil (control),
- (2) Seeds treated with *Streptomyces* sp. ACTA 1557 and planted in *R. solani* infected soil,
- (3) Seeds treated with *Streptomyces* sp. ACTA 1383 and planted in *R. solani* infected soil,
- (4) Non treated seeds planted in *R. solani* infected soil.

1. Kanini et al., (2005) 8th Symposium on Bacterial Genetics and Ecology (BAGECO-8), France
2. Kanini et al., (2006) 11th International Symposium on Microbial Ecology (ISME-11), Austria
3. Gotzis et al., (2007) 14th International Symposium on the Biology of *Actinomyces* (ISBA-14), UK
4. Kanini et al., (2008) 4th International Symposium on *Rhizoctonia*, Germany

National and Kapodistrian University of Athens, Greece



Έλεγχος *in planta* της ικανότητας βιοελέγχου του *F. oxysporum* από στελέχη στρεπτομυκήτων σε φυτά τομάτας

S. lavendulae ACTA 1383 (REA17)

Streptomyces exfoliatus ACTA1380 (AMO58)

Streptomyces rochei M5



Φυτά ST PIERRE AGRIS στις 26 ημέρες

Streptomyces exfoliatus
ACTA1380 (AMO58))

***Streptomyces rochei* M5**

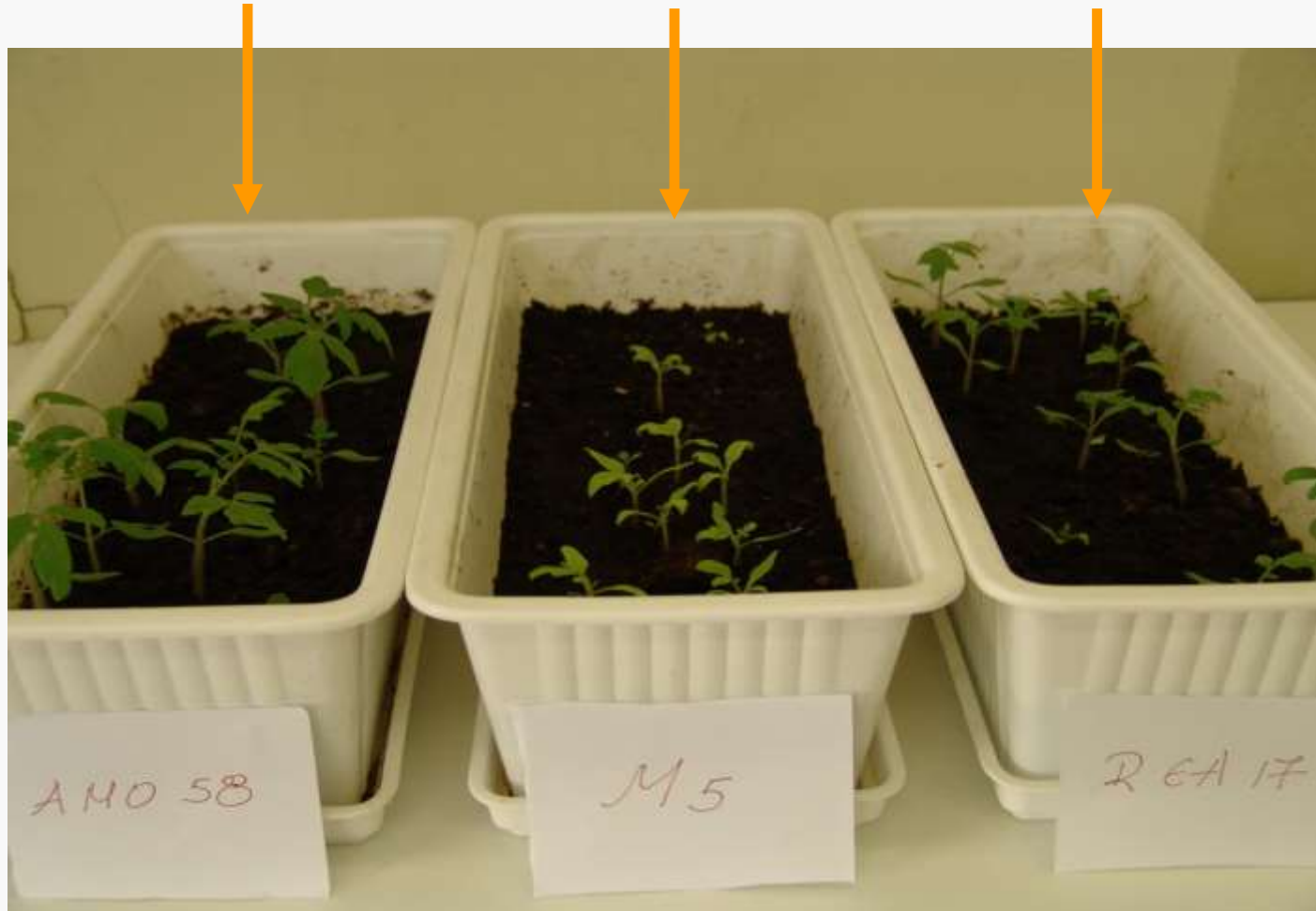


Φυτά ST PIERRE AGRIS στις 26 ημέρες

Streptomyces exfoliatus
ACTA1380 (AMO58)

Streptomyces
***rochei* M5**

S. lavendulae
ACTA 1383 (REA17)



Φυτά ACE 55 HELLAS στις 26 ημέρες

Streptomyces rochei M5
+
Fusarium oxysporum

αρνητικός μάρτυρας

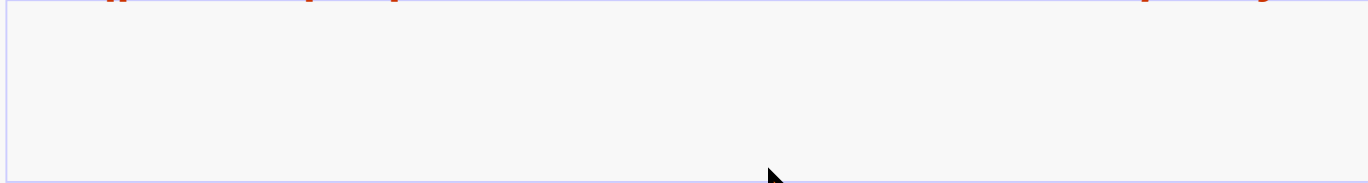


Φυτά ACE 55 HELLAS στις 26 ημέρες

ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΤΟΣΟ ΩΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΒΙΟΕΛΕΓΧΟΥ, ΟΣΟ ΚΑΙ ΩΣ ΕΝΙΣΧΥΤΕΣ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ (GROWTH PROMOTERS)

(Sessitsch & συνεργάτες 2004)

Χαρακτηριστικά γένη: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*



Streptomyces hygroscopicus S-17



Προάγει την ανάπτυξη της τομάτας:

2 φορές /το ύψος και 8 φορές /το βάρος της

(Igarashi & Miura 2005)

Θηρευτές

- Είναι συνήθως μεγαλύτερα από τα έντομα που τρώνε
- Τρώνε πολλά έντομα
- Συνήθως μετακινούνται γρήγορα
- Είναι κατά κανόνα μη εξειδικευμένοι, έτσι ώστε να τρώνε και παράσιτα και μη παράσιτα ή ακόμα και ο ένας τον άλλο κατά περιόδους (αν χρειαστεί)



Lady Beetles (πασχαλίτσες)

- Τα ενήλικα σκαθάρια είναι συνήθως πορτοκαλί ή ροζ με ή χωρίς μαύρες κηλίδες.
- Τα σκαθάρια είναι κυρίαρχα σαρκοφάγα και τρώνε πολλές αφίδες.
- Επίσης τρέφονται με αυγά εντόμων και νεαρές κάμπιες.





Lady beetle eggs



Lady beetle larvae



Lady beetle pupa



Lady beetle adults



- ✓ Ο φυσικός βιολογικός έλεγχος συμβαίνει όταν κάποιος φυσικός εχθρός, που βρίσκεται στο σημείο, επιτίθεται ως αρπακτικό, στο παράσιτο που έχει προσβάλει την καλλιέργεια εκείνη τη στιγμή.
- ✓ Επομένως, ο φυσικός βιολογικός έλεγχος, αν και επιθυμητός, δεν μπορεί να λάβει χώρα παρά μόνο αυθόρμητα. Επομένως, πολλές φορές δεν αρκεί για επιτυχή αντιμετώπιση των προσβολών από παράσιτα.



- ✓ Ένας από τους συνηθισμένους τρόπους διέγερσης και ενίσχυσης της αύξησης των πληθυσμών των φυσικών εχθρών των παρασίτων είναι μέσω της συστηματοποιημένης αναπαραγωγής αρπακτικών σε εξειδικευμένα εργαστήρια για μετέπειτα απελευθέρωσή τους σε προσβεβλημένες καλλιέργειες.
- ✓ Αυτή η διαδικασία ονομάζεται **Τεχνητός Βιολογικός Έλεγχος** και συνίσταται στην παραγωγή αρπακτικών σε βιομηχανική κλίμακα σε εργαστήρια για μεταγενέστερη μαζική εφαρμογή/απελευθέρωση σε καλλιέργειες. Αυτός ο τύπος ελέγχου είναι πολύ γρήγορος και παρόμοιος με τα φυτοφάρμακα.



- ✓ Ωστόσο, αυτές οι πρακτικές, εκτός από πολύ ακριβές, είναι δύσκολα εφαρμόσιμες για τους μέσους αγρότες, οι οποίοι συνήθως παράγουν για ιδιοκατανάλωση ή για διάθεση στο τοπικό εμπόριο.
- ✓ Όταν ενισχύεται ο φυσικός βιολογικός έλεγχος, μέσω συστηματοποιημένων ερεθισμάτων, με μη αυθόρμητες ενέργειες, που στοχεύουν στην αύξηση των πληθυσμών των αρπακτικών και την πλήρη εξάλειψη των παρασίτων στις καλλιέργειες, λέμε ότι εφαρμόζουμε **Βιολογικό Έλεγχο**.



- ✓ Επομένως, ο Βιολογικός Έλεγχος είναι μια φυσική μέθοδος καταπολέμησης των παρασίτων των καλλιεργειών που ανήκει στον τομέα της αγροοικολογίας. Είναι οικονομικά και οικολογικά βιώσιμος, κοινωνικά δίκαιος, πολιτισμικά και τεχνολογικά κατάλληλος και αποδεδειγμένα αποτελεσματικός.
- ✓ Συνίσταται ιδιαίτερα για εφαρμογή σε εκμεταλλεύσεις μικρών παραγωγών. Αποτελεί μια βιώσιμη και κοινωνικο-περιβαλλοντικά σωστή στρατηγική για την καταπολέμηση των παρασίτων των καλλιεργειών, χωρίς να επηρεάζονται τα οικοσυστήματα, οι οικότοποι και η βιοποικιλότητα.



- ✓ Αυτός ο τύπος καταπολέμησης ενθαρρύνει την εγκατάσταση ωφέλιμων βιολογικών παραγόντων, που ευρέως αποκαλούνται αρπακτικά, καθώς αναγνωρίζονται ως φυσικοί εχθροί των γεωργικών παρασίτων. Με αυτόν τον τρόπο, συμβάλλουν στην αύξηση και στην διασφάλιση της υγιεινής παραγωγής, απαλλάσσοντάς την από επικίνδυνες χημικές ουσίες.
- ✓ Ως εκ τούτου, οι προσπάθειες υποστήριξης της μεθόδου του βιολογικού ελέγχου θα πρέπει να επικεντρωθούν σε απλές στρατηγικές ενίσχυσης της αύξησης των ωφέλιμων βιολογικών παραγόντων, οι οποίοι με την σειρά τους ενισχύουν την αποτελεσματικότητα του φυσικού βιολογικού ελέγχου.



Κατάλληλη διαχείριση κατά των παρασίτων για το έδαφος

- Χρήση μόνο πιστοποιημένων και υγιών σπόρων.
- Αμειψισπορά για δύο έως τρία χρόνια, κατά προτίμηση με αγρωστώδη.
- Μεγαλύτερη δυνατή απόσταση μεταξύ των φυτών για διευκόλυνση του αερισμού τους.
- Μη συσσώρευση οργανικής ύλης μέσα ή κοντά στα χωράφια.
- Κομποστοποίηση, οργανικά λιπάσματα και παρασιτοκτόνα.



- **Φύτευση και διατήρηση** ανθοφόρων φυτικών ειδών δίπλα στις κύριες καλλιέργειες, που μπορούν να αποτελέσουν καταφύγιο και τροφή για φυσικούς εχθρούς των παρασίτων της κύριας καλλιέργειας.
- **Ο ηλίανθος** μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συμπληρωματικός βιολογικός παράγοντας για την ενίσχυση του φυσικού βιολογικού ελέγχου σε διάφορες καλλιέργειες, όπως σόγια, φασόλια, φιστίκια, καλαμπόκι, ντομάτες κ.λπ.
- Το κίτρινο χρώμα του διεγείρει το ένστικτο του εντόμου για αναζήτηση τροφής, καθώς υπάρχει μια ισχυρή σχέση μεταξύ αυτού του χρώματος και της παρουσίας κόκκων γύρης στο κέντρο των λουλουδιών, όπου βρίσκεται το νέκταρ.



- Για το σκοπό αυτό, ο ηλιάνθος πρέπει να φυτευτεί στα όρια των κύριων καλλιεργειών για να σχηματίσει ένα φυσικό φράγμα ενάντια στα βλαβερά έντομα, τα οποία προτιμούν να τρέφονται με τα φύλλα και τις ταξιανθίες του και έτσι δεν κινούνται στο εσωτερικό της καλλιέργειας. Κάποιες φορές, μπορεί να φυτευτεί και ως συγκαλλιέργεια.
- Μπορεί επίσης να θεωρηθεί φυτό παγίδα, γιατί όταν φυτεύεται σε καλλιέργειες, **προσελκύει** και τα επιβλαβή έντομα, αλλά και τους φυσικούς εχθρούς τους, ευνοώντας την τοπική θήρευση.



- Μερικά παράσιτα που προσελκύονται από τον ηλίανθο: ακάρεα, αλευρώδεις, σκαθάρια του είδους *Astylus variegatus*, τα γένη *Diabrotica*, *Paranapiacaba*, *Microtheca*, τα έντομα *Oxydia saturniata*, καθώς και εκείνα του γένους *Spodoptera* και *Helicoverpa*.
- Μερικοί θηρευτές που προσελκύονται από τους ηλίανθους είναι: πουλιά, παρασιτικές σφήκες, πασχαλίτσες, κοριοί και έντομα-επικονιαστές (μέλισσες, βομβίνοι και σφήκες).

**Συνιστώμενη απόσταση για φύτευση ηλίανθου
ως βοηθητικό μέσο για τον φυσικό βιολογικό
έλεγχο.**

- Η απόσταση εξαρτάται κάθε φορά από την κύρια καλλιέργεια.
- Έχετε υπόψη ότι ο ηλίανθος έχει πολλές σημαντικές χρήσεις, όπως η παραγωγή λαδιού, η πώληση ως ζωοτροφή, καθώς και η πώληση ως χλωρή λίπανση. Όλες αυτές οι χρήσεις μπορούν να ενισχύσουν το εισόδημα των αγροτών.



lower protecting tomato

- Έχετε, επίσης, υπόψη ότι το βλαστικό στάδιο του ηλίανθου μπορεί να διαφέρει από τον κύκλο της κύριας καλλιέργειας. Είναι ιδανικό, λοιπόν, να μεταφυτεύσετε τον ηλίανθο λίγες μέρες μετά την φύτευση της κύριας καλλιέργειας. Έτσι, οι ταξιανθίες θα είναι παρούσες σε όλο το βλαστικό στάδιο της κύριας καλλιέργειας. Μερικές φορές, απαιτείται η μεταφύτευση ηλίανθων στο χωράφι δύο με τρεις φορές μέχρι την ολοκλήρωση της συγκομιδής της κύριας καλλιέργειας.
- Έτσι, κατά την δοκιμή, συνίσταται η τήρηση απόστασης από μισό έως ένα μέτρο στα όρια της καλλιεργούμενης έκτασης.
- Εάν φυτευτεί ως συγκαλλιέργεια, μια πρόταση είναι να φυτέψετε μια σειρά ηλίανθων κάθε δύο ή τρεις σειρές της κύριας καλλιέργειας, με απόσταση 70 cm μεταξύ των δύο σειρών και απόσταση 30 cm μεταξύ των ηλίανθων στη σειρά της.



lower protecting tomato

Examples of conservation biological control in Oregon

Calendula, orache, *Alyssum*
insectary strips, among vegetable
crop rows

Sunflower, buckwheat and wild
Cruciferae insectary plantings





Συνολικά τα πλεονεκτήματα του βιοελέγχου

- ✓ Διαδικασία φιλική προς το περιβάλλον,
- ✓ Ο παράγοντας παραμένει ενεργός για μεγάλο χρονικό διάστημα
- ✓ Καλή σχέση κόστους/απόδοσης
- ✓ Δεν διαταράσσει το έδαφος
- ✓ Δεν δημιουργεί μεγάλες κενές περιοχές όπου θα μπορούσαν να αποικίσουν άλλοι εισβολείς.
- ✓ Επιτρέπει στη φυσική βλάστηση της περιοχής να ανακάμψει σταδιακά στη θέση των νεκρών ζιζανίων.
- ✓ Αυξάνει τις πιθανότητες αποκατάστασης της εκκαθαρισμένης περιοχής