



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ  
UNIVERSITY OF WESTERN MACEDONIA

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ - ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
Μ.Π.Σ. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΚΙΝΗΣΗ ΦΥΤΙΚΟΥ  
ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ

**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«ΠΑΡΑΓΩΓΗ, ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΚΙΝΗΣΗ ΦΥΤΙΚΟΥ**  
**ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ»**

*«Προσδιορισμός και ταυτοποίηση παθογόνων αιτιών  
σήψεων στην καλλιέργεια του κρόκου στον Νομό  
Κοζάνης.»*

Μεταπτυχιακή Διατριβή  
που υποβλήθηκε στο Τμήμα Γεωπονίας  
του ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΔΥΤΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ  
ως μέρος των απαιτήσεων για την απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης  
στην «Παραγωγή, πιστοποίηση και διακίνηση φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού»  
από την

**Ξανθού Μαρία**

Φλώρινα

Σεπτέμβριος 2024

Τίτλος Διπλωματικής Εργασίας

«Προσδιορισμός και ταυτοποίηση παθογόνων αιτιών σήψεων στην καλλιέργεια του κρόκου στον Νομό Κοζάνης.»

Thesis title

” Identification and characterization of the pathogenic causes of corm rot in saffron cultivation in the region of Kozani.”

## Δήλωση Αυθεντικότητας (Copyright)

*«Ο μεταπτυχιακός φοιτητής που εκπόνησε την παρούσα Μεταπτυχιακή Διατριβή φέρει ολόκληρη την ευθύνη προσδιορισμού της δίκαιης χρήσης του υλικού, η οποία ορίζεται στη βάση των εξής παραγόντων: του σκοπού και χαρακτήρα της χρήσης (μη-εμπορικός, μη-κερδοσκοπικός, αλλά εκπαιδευτικός-ερευνητικός), της φύσης του υλικού που χρησιμοποιεί (τμήμα του κειμένου, πίνακες, σχήματα, εικόνες κ.λπ.), του ποσοστού και της σημαντικότητας του τμήματος που χρησιμοποιεί σε σχέση με το όλο κείμενο υπό copyright, και των πιθανών συνεπειών της χρήσης αυτής στην αγορά ή την γενικότερη αξία του υπό copyright κειμένου»*

Σελίδα Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

*«Η παρούσα Μεταπτυχιακή Διατριβή εγκρίθηκε ομόφωνα από την τριμελή εξεταστική επιτροπή η οποία ορίστηκε από την ΣΕ του Τμήματος Γεωπονίας (του Πανεπιστημίου Δυτικής Μακεδονίας, σύμφωνα με τον νόμο και τον εγκεκριμένο Οδηγό Σπουδών του ΠΜΣ «Παραγωγή, πιστοποίηση και διακίνηση φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού». Τα μέλη της Επιτροπής ήταν:*

- **Λαζαρίδου Θεανώ**, Καθηγήτρια Γενετικής και Γεωργίας του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Δυτικής Μακεδονίας (Επιβλέπουσα)
- **Παπαθανασίου Φωκίωνας**, Καθηγητής Βοτανικής και Φυσιολογίας Φυτών του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Δυτικής Μακεδονίας (Μέλος)
- **Παπαπαναγιώτου Αριστείδης**, Αναπληρωτής Καθηγητής Ζιζανιολογίας του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Δυτικής Μακεδονίας (Μέλος)

## ***Ευχαριστίες***

*Ολοκληρώνοντας τις μεταπτυχιακές μου σπουδές θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα Καθηγήτριά μου κ. Λαζαρίδου Θεανώ για την καθοριστική της συμβολή στην υλοποίηση της διπλωματικής μου εργασίας παρέχοντάς μου αμέριστη στήριξη και γνώση αλλά και για την επιστημονική και συμβουλευτική της καθοδήγησή.*

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	7
Abstract .....	9
Εισαγωγή .....	10
Η καλλιέργεια του Κρόκου .....	12
Τα παθογόνα του Κρόκου .....	15
Μυκητολογικές ασθένειες.....	16
Ιολογικές ασθένειες.....	22
Προσβολές από νηματώδεις.....	24
Η σημασία της σήψης του κόρμου. ....	26
Επιδημιολογία .....	28
Αμυντικές αντιδράσεις και ανάπτυξη ανθεκτικότητας έναντι παθογόνων.....	32
Ωφέλιμοι μικροοργανισμοί και ενίσχυση της άμυνας του Κρόκου .....	38
Υλικά και Μέθοδοι .....	43
Συλλογή και επεξεργασία δειγμάτων .....	43
Απομόνωση DNA .....	45
Ταυτοποίηση των απομονώσεων.....	45
Αποτελέσματα .....	47
Συζήτηση .....	51
Συμπεράσματα .....	54
Βιβλιογραφία .....	55

## Περίληψη

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Π.Μ.Σ. «Παραγωγή, πιστοποίηση και διακίνηση φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού» και αφορά την μελέτη και ταυτοποίηση των παθογόνων αιτιών σήψεων της καλλιέργειας του κρόκου στην περιοχή του Ν. Κοζάνης. Ο κρόκος (*Crocus sativus* L.) χαρακτηρίζεται για τις πολυάριθμες φαρμακευτικές του ιδιότητες και τις πολλαπλές του χρήσεις του στη βιομηχανία που τον καθιστούν ένα από τα ακριβότερα φαρμακευτικά φυτά παγκοσμίως. Η καλλιέργειά του ευδοκίμει σε περιορισμένες γεωγραφικές θέσεις καθώς επηρεάζεται έντονα από το μικροκλίμα των περιοχών και αφορά την παραγωγή του χαρακτηριστικού κόκκινου στίγματος των ανθέων του, που διακρίνεται για την περιεκτικότητά του σε κροκίνη, πικροκροκίνη και σαφρανάλη. Ωστόσο, παρά την εξέχουσα σημασία του φυτού, η καλλιέργειά του απειλείται από μια ποικιλία παθογόνων μικροοργανισμών που έχουν ως αποτέλεσμα της μείωση της παραγωγής και της ποιότητας του παραγόμενου προϊόντος.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη των διαφόρων παθογόνων του κρόκου δίνοντας έμφαση στα παθολογικά αίτια της σήψης του κόρμου η οποία, αποτελεί τον κύριο περιοριστικό παράγοντα επιτυχούς καλλιέργειας του φυτού, σημειώνοντας σοβαρές απώλειες και οικονομικές ζημίες. Η ένταση της ασθένειας οφείλεται τόσο στη χρήση μολυσμένου πολλαπλασιαστικού υλικού και στην επαναφύτευση σε προσβεβλημένους αγρούς όσο και στο γεγονός ότι η προσβολή αφορά σύμπλεγμα διαφόρων φυτοπαθογόνων και όχι μεμονωμένων μικροοργανισμών. Επιπλέον, η ιδιαιτερότητα του κρόκου να αναπαράγεται αποκλειστικά αγενώς με κόρμους καθώς, πρόκειται για ένα αυτοτριπλοειδές φυτό ( $2n = 3x = 24$ ), καθιστά βασική προϋπόθεση τη μελέτη των παθογόνων του για την παραγωγή υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού και συνεπώς την αποτελεσματική αντιμετώπιση των ασθενειών. Για την επίτευξη του ανωτέρω στόχου, συλλέχθηκαν 33 φυτά με εμφανή συμπτώματα προσβολών από δύο πειραματικούς αγρούς στην περιοχή της Κοζάνης. Για την ταυτοποίηση των επιμολύνσεων, πραγματοποιήθηκαν απομονώσεις από τους κόρμους, υγρή καλλιέργεια των αποικιών και στη συνέχεια εξαγωγή του γενετικού υλικού (DNA) το οποίο, αλληλουχήθηκε με τη μέθοδο Sanger. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων, κατέδειξε την παρουσία των γενών *Talaromyces*, *Fusarium* και *Epicoecum* με μεγαλύτερο ποσοστό στους συγκεκριμένους αγρούς ενώ,

ταυτοποιήθηκαν σε μικρότερο ποσοστό και τα γένη *Aspergillus*, *Truncatella*, *Plyonectria*, *Cladosporium* και *Penicillium*.

Λέξεις κλειδιά: *Crocus sativus* L, Φυτοπαθογόνα κρόκου, Σήψη του κόρμου, Μοριακή ταυτοποίηση μυκήτων



## Abstract

The present thesis was conducted in the framework of the master's degree programme "Production, certification and distribution of plant propagating material" and concerns the study and identification of the pathogenic causes of crocus corm rot in the area of Kozani. The plant *Crocussativus* L. is characterized for its numerous pharmaceutical properties and its multiple industrial uses, making it one of the most expensive medicinal plants worldwide. Its cultivation thrives in a limited geographical range as it is strongly influenced by the local microclimate. The cultivation aims to the production of the characteristic red stigma of its flowers, which is distinguished by its content to secondary metabolites such as crocin, picrocrocin and safranal. However, despite the plant's outstanding characteristics, its cultivation is threatened by a variety of pathogenic microorganisms resulting in the decrease of its yield and product quality.

The aim of the present study was to investigate the various pathogens of saffron cultivation emphasizing on the pathological causes of corm rot which, is the main limiting factor for its successful cultivation, causing serious crop and economic losses. The severity of the disease is due both to the use of contaminated propagating material and the replanting in polluted fields but also to the fact that the disease is caused by a complex of different plant pathogens and not by individual microorganisms. In addition, the particularity of crocus to reproduce exclusively asexually by corms, as it is an autosterile triploid plant ( $2n = 3x = 24$ ), makes it essential to study its pathogenic causes for the production of healthy propagating material and for the effective control of diseases. To achieve the above goal, 33 plants with obvious symptoms of infection were collected from two experimental fields in the Kozani area. For the identification of the infections, isolations from the corms, wet culture of the colonies and DNA extraction were carried out. The analysis of the results showed *Talaromyces*, *Fusarium* and *Epicoccum* as the main pathogens in these fields, while *Aspergillus*, *Truncatella*, *Ilyonectria*, *Cladosporium* and *Penicillium* were also identified to a smaller rate.

Key words: *Crocus sativus* L, Phytopathogenic fungi, Corm rot, Fungal molecular identification

## Εισαγωγή

Ο κρόκος (*Crocus sativus* L.) αποτελεί ένα από τα ακριβότερα φαρμακευτικά φυτά παγκοσμίως και είναι γνωστός για τη χρήση του ως καρύκευμα και τις πολυάριθμες ιδιότητές του στην ιατρική και τη κοσμετολογία (Leone κ.ά., 2018, Mzabri κ.ά., 2021). Πρόκειται για ένα πολυετές βολβώδες φυτό της οικογένειας Iridaceae που καλλιεργείται για το κόκκινο στίγμα του και συχνά φέρει την αναγνώριση της «γεωγραφικής ένδειξης» καθώς, η παραγωγή του εξαρτάται αποκλειστικά από το μικροκλίμα των καλλιεργούμενων περιοχών (Husaini, 2014). Αν και η καλλιέργειά του απαντάται σε διάφορες χώρες παγκοσμίως, το μικροκλίμα της Μεσογείου θεωρείται το βέλτιστο για την παραγωγή του κρόκου καθώς, οι κλιματικοί παράγοντες που το χαρακτηρίζουν επηρεάζουν σημαντικά τη βλάστηση των κόρμων, την έναρξη της ανθοφορίας και την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Mzabri κ.ά., 2019, Rezvani-Moghaddam, 2020). Η καλλιέργεια του κρόκου στη χώρα μας απαντάται στη Δυτική Μακεδονία στην περιοχή του νομού Κοζάνης και παρουσιάζει μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον τόσο στην περιοχή όσο και σε εθνικό επίπεδο. Συγκεκριμένα, η Ελλάδα κατατάσσεται 4<sup>η</sup> σε εμπορία κρόκου παγκοσμίως σημειώνοντας εισόδημα από την εμπορία του 10,4 εκ. \$ για το έτος 2021 (OEC, 2023). Ωστόσο, η καλλιέργεια αντιμετωπίζει σοβαρά προβλήματα, κυρίως λόγω ασθενειών, τα οποία μέχρι σήμερα δεν έχουν πλήρως επιλυθεί ενώ παρατηρούνται προβλήματα επανακαλλιέργειας, με τους αγρούς να εμφανίζουν ευπάθεια σε παθογόνους οργανισμούς. Το φαινόμενο αυτό απαντάται τόσο σε αγρούς που κατά την πρώτη παραγωγική περίοδο προσβλήθηκαν από παθογόνα όσο και σε αγρούς που δεν εμφάνισαν προηγουμένως συμπτώματα προσβολών. Γεγονός που καθιστά επιτακτική την ταυτοποίηση και μελέτη των αιτιών προσβολής για την εύρεση εναλλακτικών προσεγγίσεων για την προστασία της καλλιέργειας.

Οι βιοτικές καταπονήσεις που οφείλονται σε παθογόνα αφορούν τον κύριο παράγοντα καταστροφής της καλλιέργειας, που έχει οδηγήσει πολλές φορές στην εγκατάλειψή της. Με χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτό της Ινδίας όπου, οι περισσότεροι εμπορικοί αγροί πλήττονται από μυκητολογικές προσβολές με αποτέλεσμα την εμφανή μείωση της παραγωγής, τις υψηλές οικονομικές απώλειες και τη δημιουργία σοβαρών προβλημάτων επανακαλλιέργειας. (Ahmad κ.ά., 2018, Gupta κ.ά., 2021, Nehvi κ.ά., 2018). Οι περισσότερες προσβολές της καλλιέργειας του κρόκου παγκοσμίως, σχετίζονται με παθογόνα του εδάφους και κυρίως στην περιοχή

ανάπτυξης των κόρμων, επηρεάζοντας τη ζωτικότητα, τον πολλαπλασιασμό και την απόδοση του φυτών (Ahrazem κ.ά., 2010). Μεταξύ των διαφόρων προσβολών, η σήψη του κόρμου αποτελεί τη σοβαρότερη ασθένεια με πολλαπλά είδη μυκήτων που ανήκουν στα γένη *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Sclerotium*, *Phoma*, *Stromatinia*, *Cochliobolus* και *Rhizopus* να είναι υπεύθυνα για την εμφάνισή της (Gurta κ.ά., 2021). Η πολυπλοκότητα της ασθένειας, καθώς προκαλείται από ένα σύμπλεγμα πολλαπλών παθογόνων και όχι από ένα συγκεκριμένο είδος, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι ο κρόκος είναι αυτοτριπλοειδής και πολλαπλασιάζεται αποκλειστικά αγενώς με κόρμους, δυσχεραίνουν την αποτελεσματική αντιμετώπιση της. Ωστόσο, μια σειρά στρατηγικών μέτρων περιλαμβάνει την εξυγίανση των εδαφών και τον αποκλεισμό ολόκληρων περιοχών, όταν αυτό κρίνεται αναγκαίο, την ορθολογική χρήση χημικών σκευασμάτων και την εφαρμογή ορθών καλλιεργητικών πρακτικών, τον εμβολιασμό των εδαφών με ωφέλιμους μικροοργανισμούς που ενισχύουν τη φυσική άμυνα των φυτών και κυρίως την παραγωγή και χρήση υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού (Ahmad κ.ά., 2018).

Σκοπός αυτής της εργασίας ήταν, η ταυτοποίηση και μελέτη των παθογόνων της καλλιέργειας του κρόκου στην περιοχή της Κοζάνης, δίνοντας έμφαση στα παθογόνα αίτια της σήψης του κόρμου που αποτελεί τη σοβαρότερη ασθένεια της καλλιέργειας. Για την επίτευξη αυτού, πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία από προσβεβλημένους πειραματικούς αγρούς της περιοχής, έγινε καταγραφή των συμπτωμάτων τους και απομονώθηκε γενετικό υλικό (DNA) από τις αποικίες των παθογόνων το οποίο, και αλληλουχήθηκε για την αποτελεσματική ταυτοποίησή τους.

## Η καλλιέργεια του Κρόκου



Εικόνα 1. *Crocus sativus* L.

Ο κρόκος (*Crocus sativus* L.) είναι ένα πολυετές βολβώδες φυτό που ανήκει στην οικογένεια Iridaceae, γνωστός για τις φαρμακευτικές του ιδιότητες και τη χρήση του ως καρύκευμα (Εικόνα 1.). Καλλιεργείται για το στίγμα του και χαρακτηρίζεται ως «κόκκινος χρυσός» καθώς πρόκειται για ένα από τα ακριβότερα φαρμακευτικά φυτά παγκοσμίως (Εικόνα 2)

(Leone κ.ά., 2018). Η υψηλή οικονομική του αξία οφείλεται στον τρόπο με τον οποίο λαμβάνεται το στίγμα καθώς η συγκομιδή αλλά και οι περισσότερες καλλιεργητικές πρακτικές, γίνονται χειρωνακτικά. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τη χαμηλή απόδοση της καλλιέργειας, τις πολυάριθμες φαρμακευτικές ιδιότητές του και τη χρήση του στη βιομηχανία τροφίμων, αυξάνουν τη ζήτηση και την οικονομική αξία του κρόκου (Mzabri κ.ά., 2021).

Αποτελεί ένα από τα αρχαιότερα βότανα, με τις πρώτες αναφορές να γίνονται τον 15<sup>ο</sup> αιώνα π.Χ., στην αρχαία Αίγυπτο, στον Πάπυρο Έβερς, περίπου το 2.300 π.Χ. (Cardone κ.ά., 2020), ενώ χρονολογείται από την Εποχή του Χαλκού (3.300- 1.200 π.Χ.) στην Κρήτη, όπου πιστεύεται ότι έγινε η εξημέρωσή του κατά τη Μινωική περίοδο, σύμφωνα με ευρήματα στην Κνωσσό (Negbi, 1999). Η εξελικτική του πορεία παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς ο καλλιεργούμενος κρόκος είναι ένα αρρενόστειρο τριπλοειδές φυτό ( $2n = 3x = 24$ ) σε αντίθεση με τα συγγενικά του είδη που είναι διπλοειδή ( $2n = 2x = 16$ ) (Grilli Caiola κ.ά., 2004). Φυλογενετικές μελέτες έχουν δείξει στενή συγγένεια με διάφορα διπλοειδή είδη *Crocus* όπως, το άγριο διασταυρούμενο *Crocus cartwrightianus* Herb. που απαντάται στην ηπειρωτική Ελλάδα, το *C. hadriaticus* Herb., το *C. oreocreticus* Burt., το *C. pallasii* Goldb. ssp. *pallasii* και το *C. thomasii* Ten. (Harpe κ.ά., 2013). Στην προσπάθεια να προσδιορίσουν τους προγόνους του σημερινού κρόκου οι Nematī κ.ά., (2019) μέσω αναλύσεων πολυμορφισμού ενός νουκλεοτιδίου (single nucleotide polymorphism, SNP) συμπέραναν ότι αυτός εξελίχθηκε από τον συνδυασμό δύο διαφορετικών γενοτύπων του *C. cartwrightianus*. Ακόμη, τα δεδομένα της έρευνας επιτρέπουν να

στηριχθεί η υπόθεση ότι η τριπλοειδής στειρότητα και ο βλαστικός πολλαπλασιασμός του κρόκου απέτρεψαν τον εκ των υστέρων διαχωρισμό των ευνοϊκών χαρακτηριστικών του, με αποτέλεσμα την παγκόσμια καλλιέργεια μιας μοναδικής κλωνικής σειράς. Ταυτόχρονα, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η καλλιέργεια του κρόκου πέρα από την περιοχή εξάπλωσης του *C. cartwrightianus* οφείλεται σε μια πιθανή οικολογική μετατόπιση της θέσης του εν λόγω πολυπλοειδισμού.

Ως τριπλοειδές, ο κρόκος πολλαπλασιάζεται αποκλειστικά αγενώς με θυγατρικούς κόρμους διατηρώντας έναν ευνοϊκό συνδυασμό αλληλομόρφων που τον χαρακτηρίζουν (Caiola, 2004). Ο πολλαπλασιασμός του αυτός δυσχεραίνει τη γενετική του βελτίωση η οποία, μπορεί να επιτευχθεί μέσω ιστοκαλλιέργειας, βιοτεχνολογικών τεχνικών και διασταυρώσεων με συγγενικά είδη όπως το *C. cartwrightianus* και το *C. thomasi* που μπορούν να οδηγήσουν στην παραγωγή σπόρου. Σε επίπεδο αγρού, έχουν παρατηρηθεί μορφολογικές διαφορές οι οποίες πιθανόν οφείλονται σε γενετικές αλλαγές που μπορεί να προέκυψαν από χρωμοσωμικό ανασυνδυασμό, διαγραφές, αναστροφές, μετατοπίσεις, πολυπλοειδία και ατελή διαχωρισμό (Shokrpour, 2019). Ωστόσο, οι μεταλλάξεις αυτές αφορούν ένα μέρος του πληθυσμού το οποίο λόγω στειρότητας δεν μπορεί να κληρονομηθεί. Μάλιστα, παρά τη χαμηλή γενετική παραλλακτικότητα, οι επιγενετικές αλλαγές του κρόκου είναι εξαιρετικά σταθερές υπό φυσικές συνθήκες, υποστηρίζοντας τον ρόλο της επιγενετικής στη φαινοτυπική παραλλακτικότητα που παρατηρείται (Busconi κ.ά., 2018).

Όσον αφορά την καλλιέργεια του κρόκου, αυτή γίνεται σχεδόν κάθε χρόνο με τη φύτευση κόρμων οι οποίοι βλαστάνουν το φθινόπωρο. Η ανθοφορία διαρκεί από τα τέλη του φθινοπώρου έως τον Δεκέμβριο ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες και παρόλο που ο κρόκος συναντάται σε διάφορες χώρες, η καλλιέργειά του είναι εντοπισμένη, καθώς εξαρτάται ολοκληρωτικά από το μικροκλίμα των περιοχών προσδίδοντας στην καλλιέργεια και την αναγνώριση της «γεωγραφικής ένδειξης» (Husaini, 2014). Συγκεκριμένα, η καλλιέργειά του απαντάται στις χώρες της Μεσογείου, στην Κίνα, την Ιαπωνία και στην Νότια Αμερική, με κύριες παραγωγικές χώρες το Ιράν, που κατέχει και την πρώτη θέση στην παραγωγή κρόκου, την Ινδία, την Ιταλία, την Ελλάδα και το Μαρόκο (Mzabri κ.ά., 2021, Srivastava κ.ά., 2010). Μεταξύ αυτών, το μικροκλίμα της Μεσογείου, που χαρακτηρίζεται από ζεστά και ξηρά καλοκαίρια, έχει αποδειχθεί το βέλτιστο για την παραγωγή του κρόκου καθώς οι κλιματικοί παράγοντες, θερμοκρασία και υγρασία, έχουν εξέχουσα σημασία επηρεάζοντας τη βλάστηση των κόρμων, την έναρξη της ανθοφορίας και την ποιότητα

του τελικού προϊόντος (Mzabri κ.ά., 2019, Rezvani-Moghaddam, 2020). Επιπλέον, η καλλιέργεια ευδοκιμεί σε μια ποικιλία εδαφών και καθώς ο κρόκος είναι ανθεκτικός στην ξηρασία, ενδείκνυται για ξηρές και ημίξηρες περιοχές. Ωστόσο, ο βέλτιστος τύπος εδάφους για την ανάπτυξή του, φαίνεται να ποικίλλει σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. Υπάρχουν αναφορές οι οποίες υποστηρίζουν ότι τα βαθιά, καλά στραγγιζόμενα, πηλώδη και ασβεστοπηλώδη εδάφη (Mollafilabi κ.ά., 2004) αλλά και τα καλά κατεργασμένα και καλά στραγγιζόμενα αργιλώδη και αμμώδη εδάφη ενδείκνυται για την καλλιέργεια του κρόκου (Menia κ.ά., 2018, Ordoudi και Tsimidou, 2006). Ακόμη, η καλλιέργεια προσαρμόζεται καλά και σε αλατούχα ή φτωχά εδάφη και δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις σε λίπανση, ειδικά σε αζωτούχα λιπάσματα τα οποία αυξάνουν την ανάπτυξη του φυτού αλλά επιδρούν αρνητικά στην παραγωγή ενώ και το ανθρακικό ασβέστιο θεωρείται περιοριστικός παράγοντας (Hussain κ.ά., 2017).

Παραδοσιακά ο κρόκος χρησιμοποιείται ως καρύκευμα προσθέτοντας χρώμα, άρωμα και γεύση σε διάφορα πιάτα ενώ σύμφωνα με τους Pintado κ.ά., (2011) φαίνεται να έχει αντιβακτηριδιακή δράση έναντι της *Salmonella enterica*, παθογόνο βακτήριο που προκαλεί τροφικές δηλητηριάσεις. Ακόμη, χρησιμοποιείται στη βιομηχανία, ως χρωστική στην κλωστοϋφαντουργία αλλά και για το άρωμά και τις ιδιότητές του στην κοσμετολογία και την αρωματοποιία (Kothari κ.ά., 2021). Όσον αφορά τις φαρμακευτικές του ιδιότητες, είναι γνωστός για την αντικαρκινική του και για τη θεραπευτική του δράση σε ηπατικές διαταραχές. Παράλληλα χρησιμοποιείται ως αντικαταθλιπτικό, αγχολυτικό, αντιοξειδωτικό, αφροδισιακό, αντισπασμωδικό και τονωτικό του πεπτικού, του νευρικού και του καρδιακού συστήματος, αντιφλεγμονώδες και αναλγητικό ενώ επιδρά θετικά στον διαβήτη, σε παθήσεις του δέρματος και εγκαύματα αλλά και σε οφθαλμολογικές ασθένειες (Kothari κ.ά., 2021; Mzabri κ.ά., 2019; Srivastava κ.ά., 2010).



Εικόνα 2 Απεικόνιση του σαφράν

## Τα παθογόνα του Κρόκου.

Οι φυτικοί οργανισμοί στο φυσικό τους περιβάλλον, συνεπώς και ο κρόκος, είναι εκτεθειμένοι σε ποικίλους παθογόνους οργανισμούς όπως, βακτήρια, μύκητες, ιούς και νηματώδεις (Agiros, 2005). Και παρά το γεγονός ότι, οι οργανισμοί αυτοί δεν αποτελούν καθολικά αίτια προσβολής, μεγάλο μέρος αυτών είναι υπεύθυνο παθολογικών ασθενειών. Πιο συγκεκριμένα, ως προσβολή ορίζεται η διατάραξη της ικανότητας των κυττάρων να εκτελούν θεμελιώδεις λειτουργίες για τη φυσιολογική ανάπτυξη και την επιβίωση των φυτών. Η διατάραξη αυτή, οδηγεί στην εκδήλωση ορατών συμπτωμάτων που σχετίζονται με μορφολογικές και φυσιολογικές αλλαγές επιβαρύνοντας την ακεραιότητα του φυτού. Η ασθένεια ξεκινά ως μια εντοπισμένη προσβολή σε έναν μικρό αριθμό κυττάρων η οποία, στην αρχή δεν είναι εμφανής και στη συνέχεια επεκτείνεται σε περισσότερα κύτταρα με αποτέλεσμα την εκδήλωση ορατών συμπτωμάτων στο φυτό (Gomez- Gomez, 2004). Έτσι, ως ασθένεια μπορεί να οριστεί η σειρά των ορατών και αόρατων αντιδράσεων του φυτού ως προς το παθογόνο, με τον βαθμό προσβολής να εκτιμάται με βάση την ένταση αυτών των συμπτωμάτων.

Ακόμη, ο τύπος των κυττάρων και των ιστών που θα προσβληθούν καθορίζουν και το είδος της φυσιολογικής λειτουργίας που θα διαταραχθεί ενώ παράλληλα, τα διάφορα παθογόνα έχουν αναπτύξει και διαφορετικούς τρόπους προσβολής με διακριτή συμπτωματολογία (Agiros, 2005). Για παράδειγμα, η προσβολή υπόγειων οργάνων, όπως είναι ο κόρμος του κρόκου, από παθογόνα του εδάφους δυσχεραίνει την αποτελεσματική απορρόφηση νερού και θρεπτικών στοιχείων επηρεάζοντας ολόκληρο το φυτό. Ταυτόχρονα, λόγω της εξειδίκευσης των διαφόρων παθογόνων η συμπτωματολογία που παρατηρείται διαφέρει, με την περίπτωση της σήψης του κόρμου που οφείλεται σε είδη *Fusarium* να χαρακτηρίζεται από στίγματα με χλωρωτικές κηλίδες που οδηγούν σε κιτρίνισμα, πτώση και μααρασμό των βλαστών και νέκρωση των φύλλων κατά την περίοδο της άνθησης (di Primo κ.ά., 2002). Επιπλέον, καθώς η ασθένεια εξελίσσεται και το φυτό είναι ιδιαίτερα ευπαθές, παρατηρούνται και δευτερογενείς μολύνσεις. Χαρακτηριστική είναι η εμφάνιση σημείων (γαλαζοπράσινη μούχλα) των *Penicillium spp.* στα φύλλα μετά την προσβολή από *Fusarium spp.* (Cappelli κ.ά., 1991).

Όσον αφορά την καλλιέργεια του κρόκου, οι περισσότερες προσβολές σχετίζονται με παθογόνα εδάφους με τις μολύνσεις να εντοπίζονται κυρίως στους κόρμους επηρεάζοντας τη ζωτικότητα, τον πολλαπλασιασμό και την απόδοση του

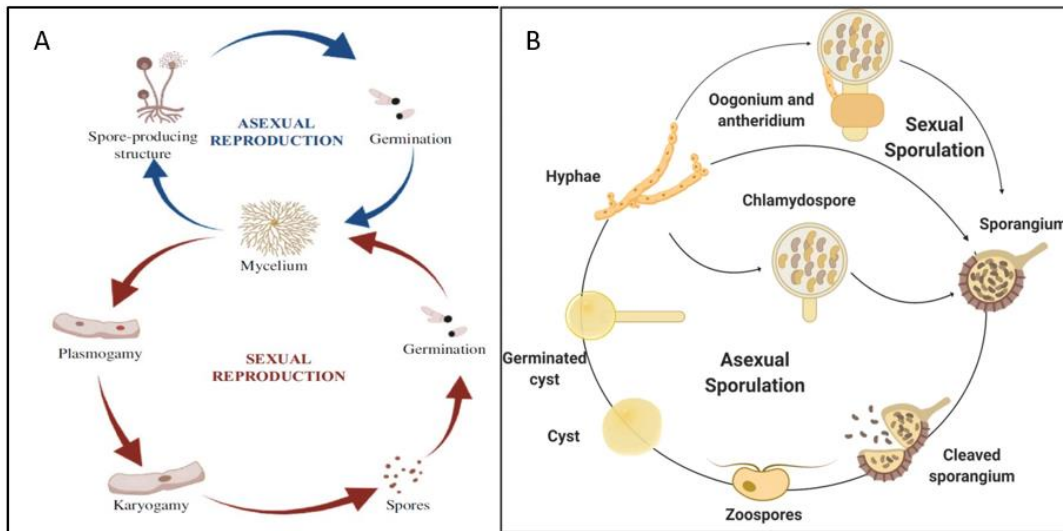
φυτού (Ahrazem κ.ά., 2010). Αν και τα περισσότερα παθογόνα δεν οδηγούν σε νέκρωση του φυτού, η μόλυνση των καλλιεργειών από αυτά έχει σοβαρές ποσοτικές και ποιοτικές επιπτώσεις στην παραγωγή και σημαντικές οικονομικές ζημιές. Σε παγκόσμιο επίπεδο, η καλλιέργεια του κρόκου παρουσιάζει αισθητή μείωση της απόδοσης λόγω βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων, με τη σήψη του κόρμου να αποτελεί κύριο περιοριστικό παράγοντα επιτυχούς καλλιέργειας του φυτού (Gurta κ.ά., 2021). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η Ινδία όπου, το μεγαλύτερο μέρος των εμπορικών αγρών του κρόκου πλήττεται από μυκητολογικές προσβολές των κόρμων αντιμετωπίζοντας σοβαρά προβλήματα επανακαλλιέργειας (Ahmad κ.ά., 2018, Gurta κ.ά., 2021, Nehvi κ.ά., 2018). Δεδομένου ότι, ο κρόκος είναι αυτοτριπλοειδές και πολλαπλασιάζεται αποκλειστικά με κόρμους η επιτυχής αντιμετώπιση των ασθενειών καθίσταται ιδιαίτερα δύσκολη (Gurta κ.ά., 2021). Συνεπώς, η επιλογή υγιούς φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού, η απολύμανση των εδαφών ή ακόμα και ο αποκλεισμός συγκεκριμένων περιοχών, η χρήση χημικών σκευασμάτων και η εφαρμογή ορθών καλλιεργητικών πρακτικών είναι καίριας σημασίας για την αποφυγή των διαφόρων προσβολών.

### Μυκητολογικές ασθένειες

Οι μυκητολογικές ασθένειες αφορούν το μεγαλύτερο ποσοστό των φυτικών ασθενειών αν και, από τα περίπου 100.000 είδη μυκήτων και ωομυκήτων που έχουν περιγραφεί, μόνο το 2% αυτών είναι υπεύθυνο προσβολών (Agrios, 2005). Οι μύκητες και οι ωομύκητες ανήκουν στους ευκαρυωτικούς, ετερότροφους οργανισμούς και αναπαράγονται τόσο εγγενώς όσο και αγενώς (Εικόνα 3). Ο βιολογικός τους κύκλος ποικίλλει μεταξύ των διαφόρων ειδών αλλά φέρει κοινά χαρακτηριστικά (Agrios, 2005, Bary, 1866). Έτσι, η έναρξη του βιολογικού κύκλου γίνεται με τη βλάστηση ενός σπορίου, υπό ευνοϊκές συνθήκες υποστρώματος και περιβάλλοντος, και τον σχηματισμό μιας βλαστικής υφής. Η άκρη αυτής αναπτύσσεται στη φυτική επιφάνεια σχηματίζοντας την πλάκα προσκόλλησης ή συγκράτησης (appressorium). Στη συνέχεια, δημιουργείται μια διατρητική υφή με την οποία, ο μύκητας εισέρχεται στο φυτό ενώ, πολλά είδη δεν ακολουθούν αυτήν την πορεία και προσβάλλουν το φυτό μέσω φυσικών ανοιγμάτων ή πληγών. Αφού ο μύκητας αποικίσει ένα σημαντικό μέρος του φυτού ακολουθεί ο σχηματισμός των αναπαραγωγικών οργάνων τα οποία, παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία μεταξύ των ειδών. Στα περισσότερα είδη, κατά την παρασιτική φάση, τα σπόρια και οι καρποφορίες σπορίων αναπτύσσονται στη



φυτική επιφάνεια ή κάτω από την εφυμενίδα επιτρέποντας την εύκολη απελευθέρωσή τους στο περιβάλλον. Αντίθετα, στους μύκητες που ο βιολογικός τους κύκλος περιλαμβάνει τόσο εγγενή όσο και αγενή φάση, η πρώτη πραγματοποιείται συνήθως μια φορά κατά τη διαχείμαση στο έδαφος ή σε φυτικά υπολείμματα ενώ, η αγενής αναπαραγωγή γίνεται κατά τον παρασιτισμό και λαμβάνει χώρα περισσότερες από μία φορές.



Εικόνα 3. Βιολογικός κύκλος (A) μυκήτων (Barzee κ.ά., 2021) και (B) ωομυκήτων (de Andrade Lourenço κ.ά., 2020).

Ανάλογα με τη τροφική τους δραστηριότητα, τα παθογόνα αυτά, μπορούν να διακριθούν σε βιότροφα, σαπρόφυτα και ημίτροφα (Bary, 1866). Οι βιότροφοι μύκητες απαιτούν για την ανάπτυξη και αναπαραγωγή τους ζωντανούς φυτικούς ιστούς και αναπτύσσουν μια στενή σχέση αλληλεπίδρασης με τον ξενιστή τους (Bary, 1866, Mendgen και Hahn, 2002). Η αλληλεπίδραση αυτή πιθανόν προκύπτει ως αποτέλεσμα της συνεξέλιξης τους, της ανάγκης διατήρησης των φυτικών ιστών ζωντανών για την απορρόφηση θρεπτικών στοιχείων και συνεπιβίωσης ενώ, παρουσιάζουν και υψηλό βαθμό εξειδίκευσης με μεμονωμένα φυτικά είδη. Ακόμη, τα είδη αυτά, σχηματίζουν δομές μόλυνσης για την εκτέλεση κρίσιμων σταδίων της παθογένεσης συμπεριλαμβανομένης της προσκόλλησης, της αναγνώρισης του ξενιστή, της διείσδυσης, του πολλαπλασιασμού και της διατροφής. Πιο συγκεκριμένα, χαρακτηρίζονται από τις εξαιρετικά ανεπτυγμένες δομές μόλυνσης που φέρουν και την περιορισμένη εκκριτική ικανότητα κυρίως λυτικών ενζύμων αλλά και τη μακροχρόνια καταστολή της άμυνας του ξενιστή που προκαλούν. Αντίθετα, η προσβολή από σαπροφυτικά είδη οδηγεί σε νέκρωση των φυτικών ιστών εξαιτίας των τοξικών μορίων και των λυτικών ενζύμων που εκκρίνουν, με σκοπό την αποσύνθεση των ιστών και την

απορρόφηση θρεπτικών στοιχείων για την ανάπτυξή τους εις βάρος των ξενιστών (van Kan, 2006). Όσον αφορά τα ημίτροφα είδη, αυτά εγκαθιδρύουν αρχικά μια βιοτροφική σχέση με τον ξενιστή η οποία στη συνέχεια γίνεται σαπροφυτική οδηγώντας στη νέκρωση των φυτικών κυττάρων (Latijnhouwers κ.ά., 2003, Perfect και Green, 2001). Η εναλλαγή αυτή των σχέσεων επέρχεται καθώς αυξάνεται η βιομάζα του παθογόνου και συνεπώς η ανάγκη για μεγαλύτερες ποσότητες θρεπτικών στοιχείων. Μάλιστα, ορισμένα από τα πιο σημαντικά φυτοπαθογόνα παγκοσμίως ανήκουν στους ημίτροφους μικροοργανισμούς. Επιπλέον, πολλά είδη μυκήτων και ωομυκήτων είναι προαιρετικά παράσιτα δηλαδή, έχουν την ικανότητα να επιβιώνουν, να αναπτύσσονται και να πολλαπλασιάζονται τόσο στο έδαφος όσο και σε νεκρά φυτικά υπολείμματα ενώ, υπό ευνοϊκές συνθήκες παρουσιάζουν παρασιτική δράση (Agrios, 2005).

Όσον αφορά τα είδη των μυκήτων και ωομυκήτων που έχουν απομονωθεί από προσβεβλημένα φυτά *C. sativus* τα, τα περισσότερα εντάσσονται στην κατηγορία των προαιρετικών παρασίτων (Ahrazem κ.ά., 2010). Μεταξύ άλλων, τα σημαντικότερα παθογόνα του κρόκου φαίνεται να ανήκουν στα γένη *Penicillium* και *Fusarium* (Εικόνα 4) (Ahrazem κ.ά., 2010, Di Primo κ.ά., 2002, Yadav κ.ά., 2024). Είδη *Penicillium* έχουν καταγραφεί επανειλημμένα σε απομονώσεις από προσβεβλημένους κόρμους κρόκου σε ποικίλες χώρες όπως, η Ιταλία, η Ισπανία, η Κίνα και το Μαρόκο (Ahrazem κ.ά., 2010, Aymani κ.ά., 2019, Belfiori κ.ά., 2021, Cappelli κ.ά., 1991, Gupta κ.ά., 2021, Sutton και Wale, 1985). Συγκεκριμένα το *Penicillium rot*, γνωστό και ως μπλε σήψη (blue mould rot), αποτελεί κύρια αιτία απώλειας των καλλιεργειών, ενώ είναι υπεύθυνο και για απώλειες κατά την αποθήκευση των κόρμων (Εικόνα 5). Άλλα είδη που έχουν αναφερθεί είναι τα *Penicillium corymbiferum* Westl., *P. crocicola* Yamamoto και *P. chrysogenum*, με το *P. corymbiferum* να προκαλεί τήξη των κόρμων και συχνά σκούρες αλλοιώσεις εσωτερικά του χιτώνα, σήψη της βάσης του βλαστού και μαρασμό (Cappelli κ.ά., 1991). Τα σημεία του μύκητα εμφανίζονται υπό τη μορφή γαλαζοπράσινης μούχλας και τα αναπτυσσόμενα φυτά από προσβεβλημένο πολλαπλασιαστικό υλικό, σε σύγκριση με αυτά από υγιές, είναι καχεκτικά και μικρά επιβαρύνοντας την απόδοση των καλλιεργειών.

Από την άλλη, ευρέως διαδεδομένο σε εδάφη και οργανικά υποστρώματα είναι το γένος *Fusarium*. Αυτό, περιλαμβάνει διάφορα είδη μυκήτων με το πιο σημαντικό να είναι ο ασκομύκητας *Fusarium oxysporum*, ο οποίος προκαλεί αγγειακή μάρανση και σήψη των ριζών σε περισσότερα από 100 φυτικά είδη (Berrocal-Lobo και Molina, 2008). Στον κρόκο εντοπίστηκε για πρώτη φορά στην Ιαπωνία (Yamamoto κ.ά., 1954)

και έκτοτε έχει αναφερθεί σε διάφορες περιοχές όπως η Ινδία (Shah και Srivastava, 1984), η Ισπανία (Garcia-Jimenez και Alfaro Garcia, 1987) και η Ιταλία (Cappelli, 1994). Πιο συγκεκριμένα, η σήψη από *F. oxysporum* αποτελεί την πιο καταστροφική ασθένεια του κρόκου προκαλώντας σοβαρές απώλειες και μείωση των αποδόσεων (Cappelli, 1994). Τα κυριότερα συμπτώματα της ασθένειας εντοπίζονται κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας, όπου τα προσβεβλημένα φυτά παρουσιάζουν φυλλόπτωση, ξήρανση, κιτρίνισμα και μάρανση των βλαστών αλλά και σήψη της βάσης των στελεχών και των κόρμων. Η είσοδος του μύκητα στα φυτά γίνεται κυρίως μέσω των ριζών και από πληγές των κόρμων κατά τη διάρκεια του βλαστικού σταδίου του παθογόνου ή του μυκηλιακού. Η επιβίωσή του στο έδαφος και στους κόρμους γίνεται μέσω διαφόρων μορφών όπως, μυκήλια, γλαυδοσπόρια, μακροκονίδια και μικροκονίδια και μπορεί να εξαπλωθεί σε άλλες περιοχές μέσω της χρήσης μη υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού (Di Primo κ.ά., 2002).



Εικόνα4. Προσβολή από *Fusarium oxysporum*. Καλλιέργεια του μύκητα (A) και συμπτώματα της ασθένειας (B,C,D) (Ahrzazem κ.ά., 2010).

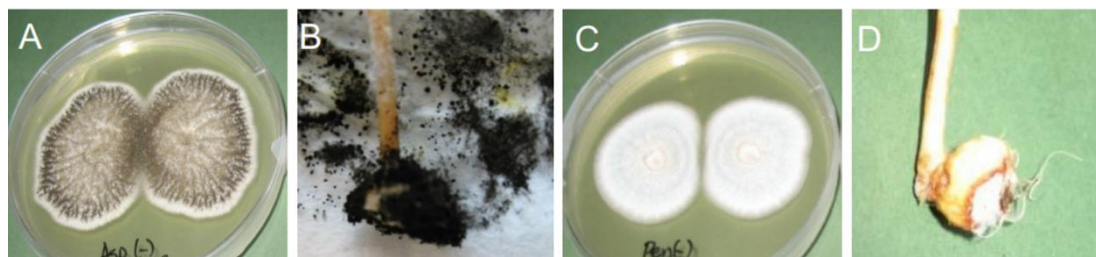
Επιπλέον, σημαντικά παθογόνα του κρόκου είναι τα γένη *Rhizoctonia* και *Sclerotium*. Πρόκειται για βασιδιομύκητες του εδάφους που προκαλούν σοβαρές ασθένειες στην καλλιέργεια. Η παρουσία του *Sclerotium* ως παθογόνο στον κρόκο αναφέρθηκε σχετικά πρόσφατα στην Ινδία όπου παρατηρήθηκαν μικρές κηλίδες που σταδιακά διευρύνονταν κάθε χρόνο σε προσβεβλημένους αγρούς (Kalha κ.ά., 2007). Τα συμπτώματα εκδηλώνονται υπό τη μορφή καφέ προς σκούρο καφέ βυθισμένων ακανόνιστων κηλίδων κάτω από τον φλοιό του βολβού. Στις περιπτώσεις όπου οι κόρμοι είναι έντονα προσβεβλημένοι το φύλλωμα των φυτών ξεραίνεται από την κορυφή και προς τα κάτω ενώ εμφανίζονται λευκά μυκήλια του μύκητα στην επιφάνεια των κόρμων οι οποίοι, σταδιακά αποσυντίθενται καθώς αναπτύσσεται η ασθένεια. Ο

μύκητας *Uromyces croci* είναι ένας βασιδιομύκητας, που ανήκει στην τάξη Uredinales και έχει καταγραφεί μόνο σε είδη *Crocus* στις μεσογειακές χώρες προσβάλλοντας κυρίως τα φύλλα και αναπτύσσοντας τη λεγόμενη ασθένεια της σκουριάς του κρόκου (Boerema και van Kesteren, 1956).

Επίσης, η διαδικασία μόλυνσης από *Rhizoctonia* περιλαμβάνει την προσκόλληση, τη διείσδυση, τον αποικισμό και την αντίδραση του ξενιστή (Anderson, 1982). Από τη στιγμή που υφές της *Rhizoctonia* έρθουν σε επαφή με την εξωτερική επιφάνεια ενός ξενιστή ξεκινά η διαδικασία μόλυνσης με την προσκόλληση των υφών και τον σχηματισμό διεισδυτικών υφολογικών δομών. Μετά τη διείσδυση, ο αποικισμός επιτυγχάνεται με την παραγωγή υδρολυτικών ενζύμων ικανών να αποικοδομούν διάφορα κυτταρικά τοιχώματα πέρα από τις προωθούμενες υφές. Από κυτταρολογική άποψη, η παθογένεια στην περίπτωση της *Rhizoctonia* χαρακτηρίζεται από σοβαρή καταστροφή ή νέκρωση των φυτικών κυττάρων, πριν ή αμέσως μετά τη διείσδυση και τον αποικισμό. Στους κόρμους του κρόκου, η *Rhizoctonia* προκαλεί σαπισμένες καστανές περιοχές που μπορεί να είναι επιφανειακές ή να επεκτείνονται προς τα μέσα στο μέσο του ριζικού συστήματος, ενώ τα σοβαρά μολυσμένα φυτά στερούνται ριζικό σύστημα (Ahrazem κ.ά., 2010). Οι σαπισμένοι ιστοί συνήθως αποσυντίθενται και ξηραίνονται, σχηματίζοντας μια βυθισμένη περιοχή γεμάτη με τα αποξηραμένα μέρη του φυτού αναμεμειγμένα με το μυκήλιο του μύκητα και τα σκληρώτια.

Άλλες σοβαρές προσβολές πραγματοποιούνται από το γένος *Phoma*. Τα είδη του γένους αυτού είναι κοινοί μύκητες του εδάφους και εμφανίζονται ως παράσιτα σε αδύναμα φυτά και εισέρχονται στους φυτικούς ιστούς μέσω πληγών (Ahrazem κ.ά., 2010, Madan και Thind, 1966). Παθογόνα εξασθενημένων φυτών κρόκου που εισβάλλουν μέσω πληγών του κόρμου είναι και τα *Rhizopus spp* τα οποία, είναι ζυγομύκητες και συμπεριφέρονται είτε σαπροφυτικά είτε παρασιτικά σε φυτά και φυτικά προϊόντα προκαλώντας μαλακές σήψεις ή μούχλες (Madan και Thind, 1966). Επίσης, τα είδη του γένους *Botrytis* είναι γνωστά παθογόνα με τις προσβολές στον κρόκο να οφείλονται συνήθως στον *B. Croci* και στον *B. gladiolorum* που περιγράφεται ως γκρίζα μούχλα (Boerema και Hamers, 1989, Hennebert, 1973). Η ασθένεια εμφανίζεται κυρίως υπό τη μορφή κηλίδων σε άνθη και φύλλα και οδηγεί σε σήψη των κόρμων τόσο στον αγρό όσο και κατά την αποθήκευση. Γενικότερα, τα είδη αυτά προκαλούν κυτταρικό θάνατο με αποτέλεσμα την προοδευτική αποσύνθεση του μολυσμένου φυτικού ιστού. Ως σαπροφυτικά παθογόνα του κρόκου συμπεριφέρονται

και τα είδη *Aspergillus*. Συγκεκριμένα, ο ασκομύκητας *Aspergillus niger* απαντάται παγκοσμίως και είναι υπεύθυνος για τη μαύρη μούχλα του κρόκου (Εικόνα 5)(Ahrazem κ.ά., 2010, Ebrahimi κ.ά., 2023). Ο μύκητας αυτός, μεταδίδεται μέσω μολυσμένων κόρμων ή μέσω του εδάφους και η προσβολή του ξεκινά συνήθως από τη ρίζα και συνεχίζεται κατά την αποθήκευση των κόρμων.



Εικόνα 4. Καλλιέργειες και προσβολές στους κόρμους από *Aspergillus niger* (A και B) και *Penicillium sp.* (C και D) (Ahrazem κ.ά., 2010)

Μια ακόμη σημαντική κατηγορία παθογόνων του κρόκου είναι οι ωομύκητες. Μεταξύ αυτών τα είδη *Pythium* απαντώνται υπό συνθήκες υπερβολικής υγρασίας ή έντονων βροχοπτώσεων σε συνδυασμό με χαμηλές θερμοκρασίες και προκαλούν σοβαρές ασθένειες είτε ως μοναδικά παθογόνα είτε συνεργατικά με τα *Fusarium spp.* και *Rhizoctonia spp.* (de Souza κ.ά., 2003). Τα είδη αυτά διαθέτουν υψηλό επίπεδο ποικιλομορφίας και έχουν καταγραφεί περισσότερα από 200 είδη. Μάλιστα, πολλά από αυτά εμφανίζονται ταυτόχρονα στην ίδια περιοχή και συχνά οι προσβολές αφορούν περισσότερα από ένα είδη. Οι μολύνσεις εντοπίζονται στις ρίζες, στη βάση των στελεχών και στους μαλακούς φυτικούς ιστούς και προκαλούν σήψεις στα σημεία αυτά (Schenk, 1970). Η αποσύνθεση των ιστών προκαλείται τόσο από ένζυμα που αποδομούν το κυτταρικό τοίχωμα, όπως πηκτινάσες, ημικυτταρινάσες, κυτταρινάσες και πρωτεϊνάσες όσο και από τοξίνες που παράγονται από το *Pythium* (Martin και Loper, 1999). Πιο συγκεκριμένα, στα φυτά του κρόκου οι μολύνσεις ξεκινούν από το ριζικό σύστημα όπου παρατηρείται ένας ευδιάκριτος καφέ αποχρωματισμός στις άκρες, αν και οι ρίζες του κρόκου είναι ευαίσθητες στο παθογόνο μόνο κατά τη διάρκεια μιας σύντομης περιόδου μετά τη φύτευση (van Os κ.ά., 1998). Επομένως, η εμφάνιση επιδημίας λαμβάνει χώρα όταν συμπίπτουν περίοδοι ευαισθησίας του ξενιστή, δραστηριότητας του παθογόνου και κατάλληλου βιοτικού και αβιοτικού περιβάλλοντος.

## Ιολογικές ασθένειες

Σε αντίθεση με τους ζωικούς οργανισμούς, τα φυτά φέρουν ισχυρό κυτταρικό τοίχωμα το οποίο εμποδίζει την είσοδο των ιών. Συνεπώς, οι φυτικοί ιοί μεταδίδονται σπάνια με άμεση επαφή μεταξύ μολυσμένων και μη μολυσμένων φυτών (Van Regenmortel, 1990). Έτσι, οι τρόποι μετάδοσης περιλαμβάνουν παρασιτικά φυτά, μολυσμένο πολλαπλασιαστικό υλικό, έδαφος ή νερό ενώ η πιο αποτελεσματική μετάδοση γίνεται μέσω φορέων όπως έντομα, μύκητες, νηματώδεις και πρωτόζωα (Jones, 2018). Αν και οι παράγοντες που ορίζουν την κάθετη και οριζόντια μετάδοση δεν έχουν αποσαφηνιστεί ακόμα, η μετάδοση μέσω φορέων φαίνεται να είναι περισσότερο επιδημιολογικά και οικολογικά σημαντική (Jones, 2018, Nault, 1997). Επομένως, οι περισσότεροι φυτικοί ιοί απαιτούν την παρουσία ενός τρίτου οργανισμού ή την ύπαρξη τραυματισμών και πληγών που συνήθως δημιουργούνται από τις καλλιεργητικές τεχνικές.

Στην καλλιέργεια του κρόκου η μεγαλύτερη και σημαντικότερη ομάδα φορέων των φυτικών ιών είναι τα έντομα και ιδίως οι αφίδες οι οποίες, μεταδίδουν ποικίλους ιούς συμπεριλαμβανομένων των ιών *Potyvirus* και *Cucumovirus* (Caiola και Faoro, 2011). Τα συμπτώματα αυτών περιλαμβάνουν χλώρωση, νέκρωση των ιστών, μωσαϊκά σχέδια και καχεξία των φυτών. Μεταξύ των ιών *Potyvirus*, ίσως ο πιο διαδεδομένος και σημαντικός ιός που μολύνει τον κρόκο είναι ο *Turnip mosaic virus* (TuMV). Ο ιός αυτός έχει ανιχνευθεί σε φυτά κρόκου παγκοσμίως όπως, στην Κίνα (Chen, 2000), στη Νέα Ζηλανδία (Ochoa Corona κ.ά., 2007), στη Γαλλία (D'Agostino κ.ά., 2007), στην Ισπανία (Ahrazem κ.ά., 2010) και πρόσφατα στο Ιράν (Tavoosi κ.ά., 2022). Τα συμπτώματα που παρατηρήθηκαν κυμαίνονταν από χλώρωση, δημιουργία ήπιου ή σοβαρού μωσαϊκού έως και νέκρωση. Άλλοι ιοί της ίδιας οικογένειας που έχουν εντοπιστεί σε καλλιέργειες κρόκου είναι ο *Iris severe mosaic virus* (ISMV), ο *Narcissus mosaic virus* (NMV), ο *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) και σε μικρότερο ποσοστό οι ιοί *Tobacco necrosis virus* (TNV) και *Tobacco rattle virus* (TRV) (Miglino κ.ά., 2005). Οι τελευταίοι έχει αποδειχθεί ότι μεταδίδονται από τον μύκητα *Ospidium brassicae* και από νηματώδεις (Hull R., 2002). Τα συμπτώματα που εμφανίζουν τα προσβεβλημένα φυτά από τους ανωτέρω ιούς είναι τα τυπικά με χλωρωτικές περιοχές, μοτίβα μωσαϊκού και νεκρώσεις.

Όσον αφορά το γένος *Cucumovirus*, το σημαντικότερο είδος που προσβάλλει τον κρόκο είναι ο ιός *Cucumber mosaic virus* (CMV) (Caiola και Faoro, 2011). Ο ιός είναι

μεταδιδόμενος από αφίδες και πρόκειται πιθανώς για τον πιο μολυσματικό φυτοπαθογόνο ιό με το ευρύτερο φάσμα ξενιστών, καθώς έχει παγκόσμια διασπορά και προσβάλλει περισσότερα από 1.000 φυτικά είδη (Gallitelli, 2000). Τα συμπτώματά του σχετίζονται με καθυστερημένη ανάπτυξη, διάφορα μοτίβα μωσαϊκών, ραβδώσεις, κηλίδες και παραμόρφωση των ανθέων και των φύλλων. Μερικές φορές ο ιός περιορίζεται σε ορισμένα μέρη του φυτού όπως το αγγειακό σύστημα χωρίς να εξαπλωθεί σε ολόκληρο το φυτό μη προκαλώντας συστηματική μόλυνση (Caiola και Faoro, 2011). Επιπλέον, η μόλυνση δεν οδηγεί πάντα σε ορατή συμπτωματολογία με αποτέλεσμα πολλές φορές να μην ταυτοποιείται ή να συγχέεται με άλλα είδη. Το γεγονός αυτό παρατηρείται συχνά και είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι παραπάνω ιοί έχουν ταυτοποιηθεί μετά από εμφάνιση συμπτωμάτων, συνεπώς δεν είναι γνωστό αν ευθύνονται και για λανθάνουσες λοιμώξεις. Μάλιστα, ο αποκλειστικά αγενής πολλαπλασιασμός του κρόκου μέσω κόρμων πέρα από το ότι είναι ο κύριος παράγοντας μετάδοσης και εξάπλωσης των ιών, έχει ευνοήσει και τη δημιουργία στελεχών χαμηλής επιθετικότητας που ευθύνονται για ήπιες ή λανθάνουσες λοιμώξεις (Hull, 2002). Αυτές, σε συνδυασμό με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού που δεν επιτρέπουν τη γρήγορη και άμεση παρατήρηση των ήπιων συμπτωμάτων δυσχεραίνουν την αποτελεσματική εξακρίβωσή τους και ευνοούν την εξάπλωσή τους στις καλλιέργειες του κρόκου.

Από την άλλη πλευρά, είναι γνωστό ότι διάφορα παθογόνα όπως είναι οι ιοί μπορούν να επηρεάσουν τη φυσιολογία των φυτών τροποποιώντας τους δευτερογενείς μεταβολίτες (Jelinek κ.ά., 2012). Οι δευτερογενείς μεταβολίτες έχουν ενεργό ρόλο στην άμυνα των φυτών έναντι παθογόνων (Akula και Ravishankar, 2011) και σε συνδυασμό με την επιρροή των περιβαλλοντικών συνθηκών συμβάλλουν στην ποιότητα των παραγόμενων φυτικών προϊόντων (Ramakrishna και Ravishankar, 2013). Παρόλο που οι μολύνσεις από ιούς στον κρόκο εντοπίζονται σπάνια, αναφέρθηκε πρόσφατα στο Ιράν η παρουσία ενός ιού που ανήκει στο γένος *Potyvirus* και δεν προκαλεί την τυπική συμπτωματολογία (Parizad κ.ά., 2019). Αυτός είναι ο ιός *Saffron latent virus* (SaLV) ο οποίος και μελετήθηκε για την επίδρασή του στην ποιότητα του κρόκου καθώς η λοίμωξη δεν επηρέαζε αρνητικά την καλλιέργεια. Από τη μελέτη αυτή, εξήχθη το συμπέρασμα ότι ο ιός σε συνδυασμό με τις περιβαλλοντικές συνθήκες φαίνεται να επιδρά θετικά στην ποιότητα διαφόρων εστέρων που χαρακτηρίζουν τον κρόκο όπως είναι η κροκίνη, η πικροκροκίνη, η σαφρανάλη και η *καεμφερολη*.

## Προσβολές από νηματώδεις.

Οι νηματώδεις θεωρούνται από τα πιο καταστροφικά φυτοπαθογόνα προκαλώντας οικονομικές ζημίες και μείωση της παραγωγής των καλλιεργειών. Περισσότερα από 20 γένη νηματωδών είναι υπεύθυνα για φυτικές ασθένειες με τις προσβολές να πραγματοποιούνται κυρίως από νηματώδεις αρχικού σταδίου οι οποίοι, επιτίθενται στο ριζικό σύστημα και συγκεκριμένα στη ζώνη διαφοροποίησης και επιμήκυνσης (Sijmons κ.ά., 1994). Η σχέση που αναπτύσσουν με τον ξενιστή τους είναι βιοτροφική και διαρκεί περίπου δύο μήνες έως ότου δηλαδή ολοκληρώσουν το βιολογικό τους κύκλο. Έτσι, τα φυτικά κύτταρα δεν θανατώνονται αλλά χρησιμεύουν ως πηγές τροφής για τους νηματώδεις. Ωστόσο, οι μηχανισμοί προσβολής διαφέρουν μεταξύ των ειδών και είναι εξειδικευμένοι για κάθε μολυσματικό νηματώδη. Επιπλέον, επειδή οι νηματώδεις προσβάλλουν μόνο τα υπόγεια μέρη των φυτών τα συμπτώματα προσβολής δεν είναι εμφανή εγκαίρως στο υπέργειο τμήμα. Γενικά, οι προσβεβλημένοι ιστοί εμφανίζουν κίτρινες νεκρωτικές αλλοιώσεις οι οποίες, στη συνέχεια μετατρέπονται σε σκούρο καφέ και μπορούν να παρατηρηθούν στους βλαστούς αφού κοπούν κατά μήκος ή εγκάρσια. Ακόμη, τα σημεία προσβολής από νηματώδεις αποτελούν πηγές εισόδου για δευτερογενείς προσβολές όπως μύκητες, οι οποίοι με τη σειρά τους τελικά καλύπτουν τη δράση των νηματωδών (Melakeberhan, 2004)

Αν και ο εντοπισμός μολυσματικών νηματωδών είναι δύσκολος λόγω της απουσίας εμφανών συμπτωμάτων, μοριακές μελέτες έχουν ταυτοποιήσει μια σειρά νηματωδών σε καλλιέργειες κρόκου. Τα είδη *Meloidogyne spp.*, *Heterodera spp.*, *Globodera spp.*, *Pratylenchus spp.*, *Radopholus similis*, *Ditylenchus dispaci*, *Bursaphelenchus xylophilus*, *Rotylenchulus reniformis*, *Xiphinemaindex*, *Nacobus aberrans* και *Aphelenchoides besseyi* αποτελούν τα πιο επιβλαβή για την καλλιέργεια του κρόκου με επιστημονική και οικονομική σημασία (Jones και Perry, 1978). Ανάμεσά τους, οι *Pratylenchus penetrans* και *P. pratensis* είναι σημαντικοί εχθροί της καλλιέργειας προσβάλλοντας το ριζικό σύστημα και διεισδύοντας στους ιστούς ανεξάρτητα από το στάδιο ανάπτυξής τους (Metcalf Haven, 2010). Κατά την προσβολή δημιουργούν κοιλότητες στις οποίες αναπαράγονται με αποτέλεσμα οι ιστοί να περιέχουν χιλιάδες άτομα τα οποία, τρέφονται με παρεγχυματικά κύτταρα που είναι ακόμα υγιή οδηγώντας γρήγορα στην καταστροφή και νέκρωση των ιστών. Ακόμη, ο νηματώδης *Ditylenchus destructor* αποτελεί σοβαρό κίνδυνο καταστροφής των κόρμων σε δροσερά και υγρά εδάφη (Ortuño και Oros, 2002). Επίσης, οι Torrini κ.ά.



(2020) εντόπισαν την παρουσία ενός μυκητοφάγου νηματώδους, του *Bursaphelenchus fungivorus* στην Ιταλία ενώ οι Sheikh κ.ά., (2014) ανέφεραν ένα νέο είδος που σχετίζεται με τον κρόκο στο Κασμίρ, το *Helicotylenchus chishti*. Αν και τα *Helicotylenchus spp* θεωρούνται ήπια παθογόνα, μπορούν να αυξήσουν την ευπάθεια σε φυτοπαθολόγους μύκητες διευκολύνοντας την πρόσβαση στα κύτταρα του ξενιστή (Norton, 1978).

Όσον αφορά τη διαχείρισή τους, η κατανόηση της επίδρασης των ιδιοτήτων του εδάφους αποτελεί καίριας σημασίας, καθώς οι νηματώδεις εμφανίζουν μικροοικολογικά πρότυπα που σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά του εδάφους (Nielsen κ.ά., 2014). Μελετώντας την επίδραση του εδάφους, αρκετές μελέτες ανέφεραν τη συσχέτιση ορισμένων νηματωδών με την περιεκτικότητα του εδάφους σε ανόργανα άλατα, κυρίως Fe, P, Zn και Mg. Μεταξύ αυτών ο Francl 1993) διαπίστωσε μια θετική συσχέτιση της πυκνότητας του *Heteroderaglycines* και των επιπέδων μαγνησίου του εδάφους ενώ οι Mateille κ.ά., (2014) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι νηματώδεις, όπως τα *Hemicycliophora spp.*, *Longidorus spp.* και *Merlinius spp.*, αποικίζουν τα ανθρακούχα και ανόργανα εδάφη σε μεσογειακές περιοχές και φαίνεται να μην επηρεάζονται από την υψηλή αλατότητα. Επίσης, οι τελευταίοι συγγραφείς έδειξαν ότι οι νηματώδεις απαντώνται συχνότερα σε εδάφη με χονδροειδή υφή και σε oligοτροφικές συνθήκες. Ως προς την επίδραση της υφής, οι Moktini κ.ά., (2019) μελετώντας την συχνότητα των νηματωδών σε καλλιέργειες κρόκου στο Μαρόκο, παρατήρησαν ότι η κατανομή τους σχετίζεται σημαντικά με την κοκκομετρία του εδάφους και επιβεβαίωσαν ότι τα αμμώδη εδάφη αποτελούν ευνοϊκά ενδιαιτήματα για νηματώδεις όπως οι *Meloidogyne spp*, *Pratylenchus spp.* και *Tylenchorhynchus spp.*

## Η σημασία της σήψης του κόρμου.

Η καλλιέργεια του κρόκου παρουσιάζει σε παγκόσμιο επίπεδο σημαντική μείωση της απόδοσής της εξαιτίας βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων. Ανάμεσα στις βιοτικές καταπονήσεις, η σήψη του κόρμου αναγνωρίζεται ως ο πιο περιοριστικός παράγοντας επιτυχίας της καλλιέργειας και απασχολεί ιδιαίτερα τους παραγωγούς. Πιο συγκεκριμένα, κατά τις περιόδους αποθήκευσης και φύτευσης των κόρμων, το ποσοστό αυτών που έχουν προσβληθεί αγγίζει το 70% επιφέροντας μείωση της ποιότητας και σοβαρές οικονομικές ζημίες (Hu κ.ά., 2021). Η ασθένεια πρωτοαναφέρθηκε το 1728 από τον Duttamel και αποτέλεσε αιτία εγκατάλειψης της καλλιέργειας στην Γαλλία και την Αγγλία (Gupta κ.ά., 2021). Έκτοτε, έχει αναφερθεί σε όλες τις καλλιεργήσιμες περιοχές κρόκου σημειώνοντας σοβαρές απώλειες όπως και στην Ελλάδα όπου παρατηρήθηκε για πρώτη φορά τη δεκαετία του 90 (Goliaris, 1999 Gupta κ.ά., 2021). Η έντονη αυτή διασπορά της οφείλεται κυρίως στη χρήση μολυσμένου πολλαπλασιαστικού υλικού και στην επαναφύτευση σε προσβεβλημένους αγρούς.

Η ασθένεια αρχικά είχε αποδοθεί στην προσβολή από *Rhizoctonia crocorum* ενώ σήμερα είναι γνωστό ότι πολλά άλλα είδη μυκήτων που ανήκουν στα γένη *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Sclerotium*, *Phoma*, *Stromatinia*, *Cochliobolus* και *Rhizopus* σχετίζονται με αυτήν και οι περισσότερες αναφορές υποδεικνύουν το *F. oxysporum* ως κύριο παθογόνο (Gupta κ.ά., 2021; Mirghasempour κ.ά., 2022). Έτσι, λόγω της συσχέτισης πολλαπλών παθογόνων και δευτερογενών σαπροφύτων, η ασθένεια καλείται ως σύμπλεγμα της σήψης του κόρμου και η συμπτωματολογία ποικίλει ανάλογα τους φυτοπαθογόνους μικροοργανισμούς που εμπλέκονται (Εικόνα 6). Για παράδειγμα, η σήψη του κόρμου που οφείλεται στα *Fusarium spp.* χαρακτηρίζεται από κιτρίνισμα, πτώση και μαρασμό των βλαστών κατά την περίοδο της ανθοφορίας που οδηγεί σε έντονη φυλλόπτωση και απογύμνωση των φυτών (di Primo κ.ά., 2002). Ακόμη, οι κόρμοι των προσβεβλημένων φυτών εμφανίζουν στην άνω επιφάνεια μικρά στίγματα με χλωρωτικό άλως τα οποία, αργότερα, εξαπλώνονται σε ολόκληρο τον κόρμο μετατρέποντάς τον σε μια σκούρα κωνοειδή μάζα που τελικά αποσυντίθεται. Καθώς εξελίσσεται η ασθένεια παρατηρούνται και καφέ έως σκούρες καφέ, βυθισμένες ακανόνιστες κηλίδες κάτω από τους χιτώνες του κόρμου και μπορεί να διακριθεί το λευκό μυκήλιο του μύκητα πάνω στους αποσυντιθέμενους κόρμους. Μάλιστα, σε ορισμένες περιπτώσεις, εμφανίζονται

σκούρες αλλοιώσεις κάτω από το εξωτερικό στρώμα του χιτώνα μαζί με τη γαλαζοπράσινη μούχλα που οφείλεται στα *Penicillium spp.*(Cappelli κ.ά., 1991) ή σχηματίζονται σκληρώτια από την προσβολή των *Sclerotium rolfii* και *Rhizoctonia spp.* (Kalha κ.ά., 2007).

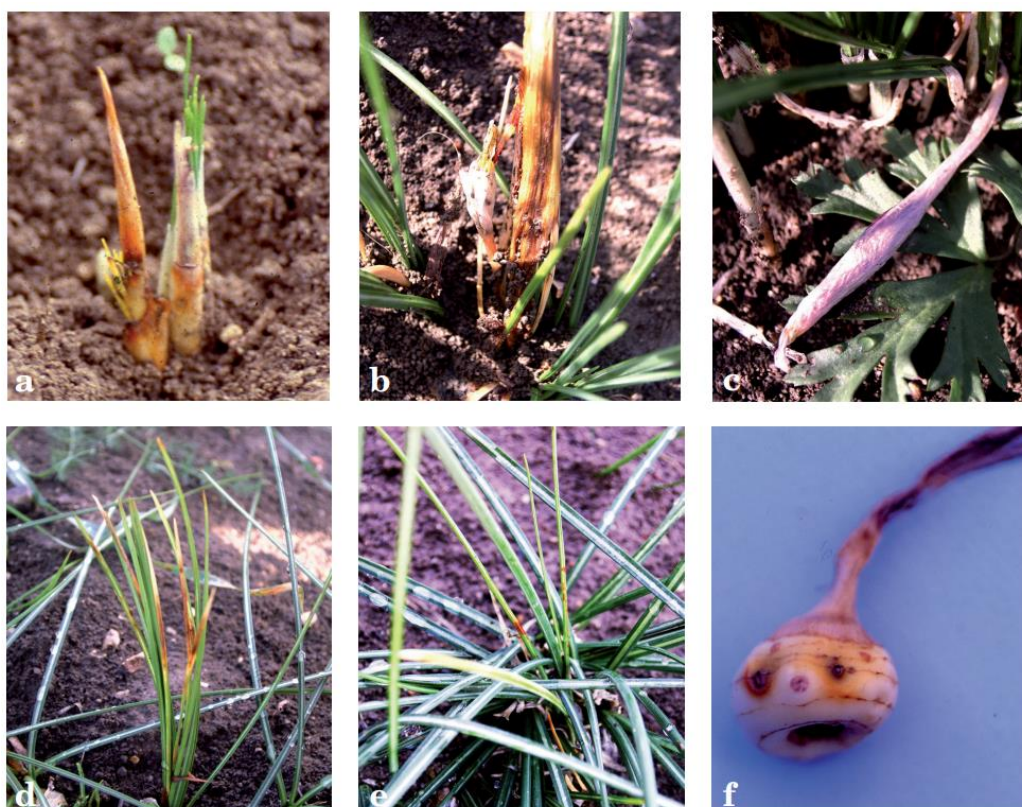


Εικόνα 6. Συμπτώματα της ασθένειας της σήψης του κόρμου στο υπέργειο τμήμα (A,B υγιή και E,F ασθενή) και στους κόρμους (C,D υγιή και G,H ασθενή)(Ren κ.ά., 2023).

Ακόμη, η κοινή σήψη των ριζών προκαλείται συνήθως από τα είδη *Cochliobolus* και τα συμπτώματά της είναι ίδια με αυτά των *Fusarium* (Ahrazem κ.ά., 2010). Τα μολυσμένα φυτά επεκτείνονται σε όλο τον αγρό και δεν απαντώνται εντοπισμένα σε κηλίδες ενώ συχνά δεν αναγνωρίζονται εύκολα καθώς, η προσβολή αφορά το υπόγειο τμήμα. Μόνο αφού η προσβολή προχωρήσει, τα βαριά μολυσμένα φυτά εμφανίζουν πρόωρη ωρίμανση και διακρίνονται σε πράσινες συστάδες εντός του αγρού. Επίσης, η προσβολή επιβαρύνει την ανάπτυξη των ριζών με αποτέλεσμα τα φυτά να εκριζώνονται εύκολα από το έδαφος και παράλληλα οι κατώτεροι μίσχοι, τα φύλλα και οι ρίζες παρουσιάζουν καστανές αλλοιώσεις που εμποδίζουν την εκβλάστηση νέων. Γενικότερα, τα προσβεβλημένα φυτά χαρακτηρίζονται από πρόωρη νέκρωση με αποτέλεσμα να μειώνεται ο όγκος και ο αριθμός των θυγατρικών κόρμων και των ανθέων οδηγώντας στη μείωση της ανθικής περιόδου και κατά συνέπεια στην υποβάθμιση της ποιότητας και στη μείωση της απόδοσης του κρόκου (Palmero κ.ά., 2014).

Αντίστοιχα, η βακτηριακή μαλακή σήψη που οφείλεται κυρίως στα είδη *Bacillus croci* και *Burkholderia gladioli* χαρακτηρίζεται από παρόμοια συμπτώματα τα οποία μπορούν να παρατηρηθούν στον αγρό κατά την περίοδο του φθινοπώρου και της άνοιξης (Εικόνα 7)(Fiori Mario κ.ά., 2011). Ιδιαίτερα το φθινόπωρο, κατά τη διάρκεια τόσο των βροχερών όσο και των ήπιων περιόδων λίγο πριν από την άνθηση, οι αναπτυσσόμενοι βλαστοί παρουσιάζουν καστανές αλλοιώσεις που αργότερα

εξαπλώνονται στα φύλλα και τα άνθη τα οποία τελικά σαπίζουν. Παράλληλα, στις άκρες των φύλλων σχηματίζονται ερυθροκάστανες κηλίδες που περιβάλλονται από εκτεταμένο χλωρωτικό άλως οι οποίες, στο τελευταίο στάδιο της ασθένειας, υπό συνθήκες υψηλής υγρασίας, σαπίζουν. Επιπλέον, το κύριο σημείο προσβολής, ο κόρμος αποτελείται από καφέ κηλίδες οι οποίες, περιβάλλονται από εκτεταμένα ερυθροκάστανα άλη.



Εικόνα 7 Συμπτώματα βακτηριακής μαλακής σήψης σε φυσικά μολυσμένα φυτά κρίκου: σήψη σε αναπτυσσόμενους βλαστούς, φύλλα και άνθη (α, b και c), κηλίδες στα φύλλα (d και e)- καφέ σημάδια μέσα σε ερυθροκάστανα άλως στους κόρμους (f)(Fiori Mario κ.ά., 2011)

## Επιδημιολογία

Η εκτεταμένη χρήση μη υγιούς φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού σε συνδυασμό με τη μονοκαλλιέργεια του κρίκου έχει οδηγήσει στην επικράτηση μεγάλου αριθμού παθογόνων στο έδαφος που εμπλέκονται στο σύμπλεγμα της σήψης του κόρμου (Gurta κ.ά., 2021). Τα παθογόνα αυτά προσβάλλουν το υπόγειο τμήμα του φυτού οδηγώντας στη σήψη και νέκρωση των κόρμων και τα συμπτώματα ξεκινούν με την βλάστηση των κόρμων και την ανάπτυξη των ριζών ενώ η ασθένεια συνεχίζεται και κατά την αποθήκευσή τους. Ως εκ τούτου η φύτευση των κόρμων αυτών

εμπλουτίζει το έδαφος συνεχώς με φυτοπαθογόνα τα οποία ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις μπορούν να οδηγήσουν σε καταστροφικές απώλειες και ολική αποτυχία της καλλιέργειας. Αμέσως μετά την φύτευση μολυσμένων κόρμων, η ασθένεια εμφανίζεται αρχικά σε μικρές κηλίδες που σταδιακά διευρύνονται με το πέρασμα του χρόνου, έως ότου μολυνθεί ολόκληρη η καλλιέργεια (Hassan και Devi 2003). Η διατήρηση αυτών στον αγρό έχει ως αποτέλεσμα να παρατηρείται μια εικόνα από χλωρωτικά φυτά σε συνδυασμό με κενά σημεία, καθώς οι βαριά προσβεβλημένοι κόρμοι δεν αναπτύσσονται και δεν βλαστάνουν. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε υποβάθμιση της ποιότητας των παραγόμενων ανθέων και σε σημαντική μείωση της παραγωγής.

Η εξέλιξη της ασθένειας επηρεάζεται τόσο από την μικροβιακή κοινότητα του εδάφους όσο και από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Ειδικότερα, υπό υγρές συνθήκες η ασθένεια εξελίσσεται γρηγορότερα, ενώ υπό ξηρές συνθήκες η μόλυνση γίνεται σταδιακά. Ακόμη, πιθανολογείται ότι η ένταση της σήψης είναι υψηλότερη σε ξηρά εδάφη σε σχέση με τα υγρά (Abe, 1993) και ότι σε συνθήκες υφαλμύρωσης, η ένταση αυξάνεται. Επομένως, κρίνεται απαραίτητη η καλή αποστράγγιση των εδαφών για την προστασία και τη βελτίωση της παραγωγικότητας του κρόκου (Sampathu κ.ά., 1984). Πέρα από το κλίμα και το έδαφος, η ποιότητα του κρόκου επηρεάζεται και από τον χρόνο, το βάθος και την πυκνότητα φύτευσης, το μέγεθος και το βάρος των κόρμων, την παροχή θρεπτικών στοιχείων, τη διαχείριση των ζιζανίων αλλά και τη συγκομιδή και τη διαχείριση των κόρμων μετά τη συγκομιδή (Kumar κ.ά., 2008). Έτσι, η εφαρμογή ορθών καλλιεργητικών πρακτικών συμβάλει στον περιορισμό της διάδοσης της ασθένειας.

Η διασπορά των παθογόνων σε μεγάλες αποστάσεις οφείλεται κυρίως στην ανταλλαγή πολλαπλασιαστικού υλικού, ενώ η διασπορά σε μικρές αποστάσεις μπορεί να σχετίζεται τόσο με ανθρωπογενείς όσο και με φυσικούς παράγοντες (Ahmad κ.ά., 2018). Δεδομένου ότι οι φαινομενικά ασυμπτωματικοί και οι μολυσμένοι θυγατρικοί κόρμοι λειτουργούν ως πηγή εμβολιασμού του εδάφους με παθογόνα, η έλλειψη μηχανισμών και μέτρων πιστοποίησης εντείνει τη διασπορά της ασθένειας (Gurta κ.ά., 2021, Shah και Srivastava, 1984). Από την άλλη, η ενεργός διασπορά του παθογόνου πραγματοποιείται μέσω των ριζών και των μολυσμένων κόρμων. Μόλις οι μολυσμένοι κόρμοι αποσυντεθούν, τα σπόρια του μύκητα απελευθερώνονται στο έδαφος και μετά τη βλάστησή τους προκαλούν εκ νέου μολύνσεις στους θυγατρικούς κόρμους ή στη νέα φυτεία. Κατά συνέπεια, οι παραγόμενοι θυγατρικοί κόρμοι από προσβεβλημένους ή

κοντά σ' αυτούς δημιουργούν ένα στρώμα εγκατάστασης και διατήρησης των παθογόνων που έχει ως αποτέλεσμα την επιτάχυνση της έντασης της ασθένειας και την διασπορά της στον αγρό.

Παρά το γεγονός ότι ο λεπτομερής κύκλος της ασθένειας και η επιδημιολογία των συγκεκριμένων παθογόνων δεν έχουν διερευνηθεί ακόμα πλήρως, το παράδειγμα του *Fusarium oxysporum* μπορεί να περιγράψει τι περίπου συμβαίνει κατά την προσβολή των κόρμων του κρόκου. Έτσι, το επικρατέστερο παθογόνο που προκαλεί τη σήψη του κόρμου, είναι γνωστό ότι επιβιώνει στους προσβεβλημένους ιστούς και στο έδαφος με τη μορφή μυκηλίου, γλαμυδοσπορίων, μακρο και μικροκονιδίων (Gordon, 2017). Από αυτά, τα γλαμυδοσπόρια διαθέτουν παχύ τοίχωμα και είναι ανθεκτικά στην ξηρασία με αποτέλεσμα να αντέχουν σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες και να μπορούν να επιβιώσουν στο έδαφος για περισσότερα από 20 χρόνια (Buddenhagen, 2009). Ταυτόχρονα, η ικανότητα του *F. oxysporum* να αναπτύσσεται σαπροφυτικά και να αποικίζει τα φυτικά υπολείμματα επιταχύνει την παραγωγή γλαμυδοσπορίων, γεγονός που αυξάνει την παραμονή του παθογόνου στο έδαφος (Stover και Waite, 1960). Γενικότερα, μετά την απελευθέρωση των σπορίων του μύκητα και την επικράτηση ευνοϊκών περιβαλλοντικών συνθηκών, αυτά βλαστάνουν και διεισδύουν στους υπόγειους ιστούς μέσω των βλαστικών σωλήνων, θέτοντας έτσι σε λειτουργία τη διαδικασία μόλυνσης με αποτέλεσμα την παραγωγή των τυπικών συμπτωμάτων. Επίσης, και τα σκληρώτια που σχηματίζονται από μύκητες όπως η *Rhizoctonia* και το *Sclerotium*, βοηθούν τα παθογόνα να ξεπεράσουν τις δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες και χρησιμεύουν ως κύρια πηγή μόλυνσης (Anderson, 1982). Ωστόσο, δεδομένου ότι η ασθένεια προκαλείται από μια σειρά παθογόνων και επηρεάζεται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες και το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, είναι σημαντική η κατανόηση των σχέσεων και των αλληλεπιδράσεων αυτών των παραγόντων.

Στην προσπάθεια κατανόησης της ασθένειας, της συνεργιστικής δράσης μεταξύ των παθογόνων και της σχέσης των αβιοτικών παραγόντων με την έναρξη και την ανάπτυξη της ασθένειας έχει μελετηθεί η μικροβιακή κοινότητα της ριζόσφαιρας και της κορμόσφαιρας του κρόκου. Συγκεκριμένα οι Ren κ.ά. (2023) απέδειξαν ότι η ασθένεια οδηγεί σε μείωση της μικροβιακής ποικιλότητας στα φυτά και στο έδαφος με τα είδη *Ascomycota* να απαντώνται σε μεγάλους πληθυσμούς στα μολυσμένα εδάφη. Ακόμη, έδειξαν ότι ο πληθυσμός των *Trichocomaceae* και *Talaromyces* είναι υψηλότερος στους προσβεβλημένους κόρμους ενώ στους έντονα μολυσμένους

κυριαρχούν τα είδη *Aspergillaceae* και ότι τα είδη *Penicillium* και *Dothideomycetes* απαντώνται σε κόρμους που δεν ανθίζουν και σ' αυτούς που παράγουν ένα με δύο άνθη, αντίστοιχα. Επίσης, μελετώντας τη σχέση μεταξύ παθογόνων και σταδίων ανάπτυξης του φυτού, παρατήρησαν ότι το *Zygomycota* ήταν το κυρίαρχο γένος στη ριζόσφαιρα και το *Basidiomycota* στην κορμόσφαιρα κατά το στάδιο της ανθοφορίας. Αντίθετα, στο στάδιο του ληθάργου επικρατούσε το γένος *Rhizopus* ενώ, τα είδη που εντοπίζονται στο στάδιο της ανθοφορίας δεν απαντώνται στο στάδιο του ληθάργου και αντίστροφα. Από την άλλη, και στα δύο αναπτυξιακά στάδια το γένος *Fusarium* βρίσκεται σε αφθονία στους προσβεβλημένους κόρμους ενώ τα είδη *Oidiodendron* και *Paraphaeosphaeria* μειώνονται σημαντικά.

Ωστόσο, έχει αποδειχθεί ότι το *Oidiodendron maius*, ένα στέλεχος μυκορριζικού μύκητα (ErMF), δημιουργεί συμβιωτική σχέση με το ριζικό σύστημα σε φυτά μύρτιλλου προάγοντας την ανάπτυξή του και συμβάλλοντας στην ανθεκτικότητά του στις ασθένειες (Daghino κ.ά., 2016, Shine κ.ά., 2015). Ταυτόχρονα και τα είδη *Paraphaeosphaeria* έχουν μελετηθεί ως προς την ικανότητά τους να περιορίζουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς (Gao κ.ά., 2021). Έτσι, η ιδιότητά τους αυτή φαίνεται να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση του *F. oxysporum* μέσω της αύξησης του πληθυσμού τους. Αντίστοιχα, η μείωση της αφθονίας των *Pseudomonas* στους προσβεβλημένους κόρμους υποδηλώνει ότι η επιτηδευμένη αύξησή τους μπορεί να λειτουργήσει θετικά στην αντιμετώπιση της ασθένειας (Gupta κ.ά., 2021). Πιο συγκεκριμένα, η απουσία τους έχει συσχετιστεί με την αύξηση της έντασης της ασθένειας ενώ η παρουσία τους συμβάλλει στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας έναντι δυσμενών συνθηκών και παθογόνων (Alam κ.ά., 2022). Τέλος, μια ιδιαίτερη περίπτωση είναι αυτή του *Penicillium* το οποίο, απαντάται σε αφθονία σε προσβεβλημένους κόρμους, και έχει οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι εμφανίζεται μετά την μόλυνση από *Fusarium* ως ευκαιριακός μύκητας ή ως σαπροφυτικός επιδεινώνοντας την ασθένεια (Ren κ.ά., 2023). Ωστόσο, πολλά είδη *Penicillium* έχουν χρησιμοποιηθεί για τη βιολογική καταπολέμηση διαφόρων εδαφογενών φυτικών ασθενειών (Boughalleb-M'Hamdi κ.ά., 2018, Hassine κ.ά., 2022, Li κ.ά., 2019). Το γεγονός αυτό, δημιουργεί αμφιβολίες για την παθογένειά του και το καθιστά υποψήφιο για την καταπολέμηση της σήψης του κόρμου.

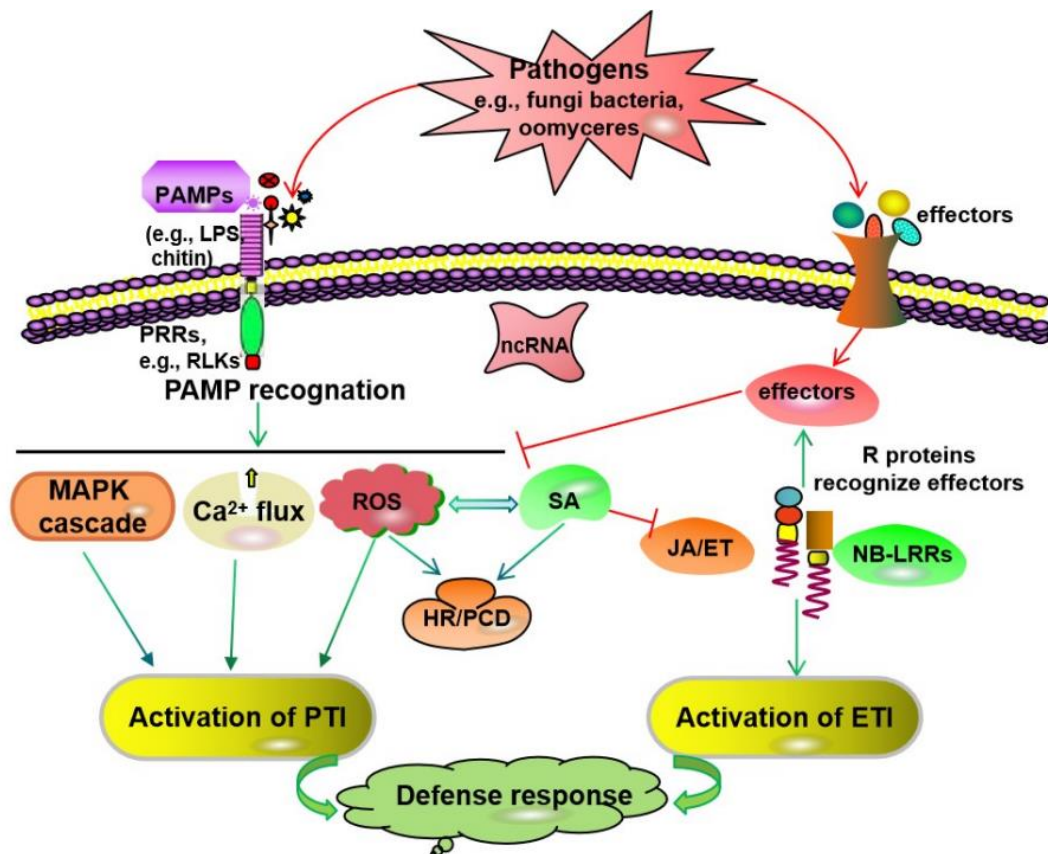
## Αμυντικές αντιδράσεις και ανάπτυξη ανθεκτικότητας έναντι παθογόνων.

Η συνεξέλιξη των οργανισμών έχει οδηγήσει στη δημιουργία διαδικασιών αμοιβαίας προσαρμογής ανάμεσα σε αλληλεπιδρόντα είδη. Μεταξύ αυτών, και η συνεξέλιξη ξενιστή παθογόνου έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη μηχανισμών άμυνας και μολυσματικότητας αντίστοιχα (Woolhouse κ.ά., 2002). Συνεπώς, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτών και παθογόνων επάγουν μια σειρά ενδοκυτταρικής μετάδοσης σημάτων που προκαλεί τη διέγερση του αμυντικού συστήματος του φυτού έναντι των παθογόνων. Πιο συγκεκριμένα, το αμυντικό σύστημα των φυτών διακρίνεται σε παθητικό και επαγόμενο και ο χρόνος ενεργοποίησης αλλά και η ένταση της αμυντικής απόκρισης καθορίζουν τον βαθμό ανθεκτικότητας του φυτού (Ding κ.ά., 2011). Το παθητικό αμυντικό σύστημα, περιλαμβάνει κυρίως φυσικούς φραγμούς στην επιφάνεια των φυτικών κυττάρων και ενδοκυτταρικές τοξικές ουσίες έναντι των παθογόνων όπως είναι οι αντιβακτηριακές ενώσεις, οι φαινόλες, οι ακόρεστες λακτόνες και τα αντιμικροβιακά πεπτιδία (Bacete κ.ά., 2018, Campos κ.ά., 2018, Zacchino κ.ά., 2017). Από την άλλη η επαγόμενη άμυνα λαμβάνει χώρα μετά τη μόλυνση και περιλαμβάνει την απελευθέρωση ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS), την αντίδραση υπερευαισθησίας (HR), τον σχηματισμό φυτοαλεξινών και την ενίσχυση και αποκατάσταση του κυτταρικού τοιχώματος (Almagro κ.ά., 2009, Bacete κ.ά., 2018).

Κατά τη διαδικασία των αλληλεπιδράσεων μεταξύ φυτών και παθογόνων, τα φυτά προκειμένου να επιβιώσουν χρησιμοποιούν μια σειρά σηματοδοτικών μονοπατιών αντίστασης ως απόκριση στις προσβολές (Overmyer κ.ά., 2018). Η αντίσταση αυτή, ρυθμίζεται από ένα πολύπλοκο δίκτυο μεταγωγής σήματος και περιλαμβάνει την έκφραση μιας σειράς γονιδίων που σχετίζονται με την άμυνα (Andersen κ.ά., 2018, Bentham κ.ά., 2020, Overmyer κ.ά., 2018). Μετά την προσβολή των φυτών, η αμυντική απόκριση βασίζεται σε μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με το παθογόνο (pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity, PTI). Αυτή, ενεργοποιείται από τους υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (pattern-recognition receptors, PRRs) που εδράζουν στην φυτική κυτταρική επιφάνεια και αναγνωρίζουν συντηρημένα μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με τα παθογόνα (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs). Έτσι, μετά την αναγνώριση των PAMPs προκαλείται η παραγωγή ιόντων ασβεστίου ( $Ca^{2+}$ ), ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) και ενεργοποιημένων με μιτογόνο πρωτεϊνικών κινασών (Mitogen-Activated Protein



Kinases MAPKs) οδηγώντας σε έναν καταρράκτη ενεργοποίησης σημάτων σαλικυλικού οξέος (Salicylic Acid, SA) και γιασμονικού οξέος/ αιθυλενίου (Jasmonic Acid, JA)/ Ethylene ET) με στόχο την αναστολή της ανάπτυξης του παθογόνου και τον περιορισμό της μόλυνσης. Ωστόσο, τα παθογόνα μπορούν να ξεπεράσουν αυτούς τους φραγμούς και να τροποποιήσουν τη φυσιολογία των φυτών εκκρίνοντας μόρια τελεστές για τη ρύθμιση γονιδίων αντίστασης. Για παράδειγμα, πρωτεΐνες όπως οι AvrPto, AvrPtoB και AvrPphB δρουν ως εκκινητές καθώς μεταφέρονται στα φυτικά κύτταρα κυρίως μέσω του συστήματος έκκρισης παθογόνων τύπου III (Schreiber κ.ά., 2021). Η επαγόμενη ανοσία, Effector-triggered immunity (ETI) οφείλεται στις αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών ανθεκτικότητας (R) των φυτών με τους προαναφερθέντες τελεστές και διεγείρει μια σειρά αμυντικών αποκρίσεων, όπως την HR, τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (PCD) και τη συστηματική επίκτητη αντίσταση (SAR).



Εικόνα 8. Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών άμυνας των φυτών έναντι των παθογόνων. Τα βέλη (πράσινο χρώμα) υποδεικνύουν θετική ρύθμιση, ενώ το ανοικτό τετράγωνο (κόκκινο χρώμα) υποδεικνύει αρνητική ρύθμιση (NB-LRR: περιοχή πρόσδεσης νουκλεοτιδίων με επαναλαμβανόμενα πεπτιδικά μόρια πλούσια σε λευκίνη, PRRs: υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων, SA: σαλικυλικό οξύ, JA/ET: γιασμονικό οξύ/αιθυλένιο, HR: αντίσταση υπερευαισθησίας, PCD: προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, SAR: συστηματική επίκτητη ανοχή, R: πρωτεΐνες ανθεκτικότητας, ROS: ενεργές μορφές οξυγόνου, MAPK: πρωτεϊνική κινάση ενεργοποιημένη από μιτογόνο, PAMPs: μοριακό πρότυπο που σχετίζεται με το παθογόνο, ncRNAs, μη κωδικοποιητικά RNAs. (Ding κ.ά., 2022)

Τα φυτά είναι εξοπλισμένα με ποικίλους αμυντικούς μηχανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των προσχηματισμένων αμυντικών μηχανισμών όπως είναι τα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος και οι δευτερογενείς μεταβολίτες (Osbourne, 1996). Συγκεκριμένα, η προσχηματισμένη άμυνα αποτελεί το αρχικό εμπόδιο με το οποίο έρχεται αντιμέτωπο ένα παθογόνο, όπως στην περίπτωση του κρόκου η παρουσία του ινώδους χιτώνα που προστατεύει τον κόρμιο από παθογόνα, έντομα και απώλεια νερού. Επιπλέον, ποικίλοι δευτερογενείς μεταβολίτες όπως σαπωνίνες, φαινολικά, κυκλικά υδροξυαμικά οξέα, κυανογενείς γλυκοζίτες, ισοφλαβονοειδή, σεσκιτερπένια και παράγωγα ινδόλης που περιέχουν θείο αντιπροσωπεύουν τα πρώτα χημικά εμπόδια για το παθογόνο. Μεταξύ αυτών, οι σαπωνίνες είναι γλυκοζυλιωμένα τριτερπενοειδή, στεροειδή ή στεροειδή αλκαλοειδή μόρια με αντιμυκητιασική δράση και παράγονται συστηματικά σε πολλά φυτά και μπορούν να επάγονται ως αποτέλεσμα της μόλυνσης από κάποιο παθογόνο. Ο κρόκος χαρακτηρίζεται από την παρουσία σαπωνινών στο στίγμα και στον ιστό του κόρμιου, όπου μπορούν να διαδραματίσουν αντιμυκητιασικό ρόλο (Hosseinzadeh και Younesi, 2002). Μάλιστα, ο κρόκος χαρακτηρίζεται και από την παρουσία 12 διαφορετικών φαινολικών ενώσεων, από τις οποίες έχουν αναγνωριστεί προσωρινά το πυρογαλλικό οξύ, η καεμφορόλη, το p-κουμαρικό οξύ και το γαλλικό οξύ, που εμπλέκονται στην απόκριση στο στρες (Ahrazem κ.ά., 2010). Ακόμη, τα φαινολικά εκχυλίσματα του κρόκου παρουσιάζουν σημαντική αντιμικροβιακή δράση και οι φαινολικές ενώσεις μαζί με τις υπεροξειδάσες και τις καταλάσες εξουδετερώνουν τις ROS προκειμένου να επιβιώσουν και να αποτρέψουν μοριακές βλάβες και ζημιές από μικροοργανισμούς, έντομα και φυτοφάγα ζώα (Nicholson και Hammerschmidt, 1992, Sengul κ.ά., 2009). Παρουσία και δράση υπεροξειδάσης, καταλάσης και υπεροξειδικής δισμουτάσης έχει ανιχνευθεί στους κόρμους του κρόκου σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια, ενώ γονιδιωματικές προσεγγίσεις έχουν επιτρέψει την ταυτοποίηση ομόλογων αλληλουχιών των ενζύμων αυτών (Keyhani κ.ά., 2006)

Γενικότερα, οι μηχανισμοί άμυνας των φυτών είναι πολυσύνθετοι και περιέχουν ποικίλους ρυθμιστικούς παράγοντες και γονίδια που εμπλέκονται στις αλληλεπιδράσεις φυτών-παθογόνων, στη μεταγωγή σημάτων αντίστασης και στην απόκριση άμυνας, σχηματίζοντας ένα πολύπλοκο ρυθμιστικό δίκτυο. Στο δίκτυο αυτό, σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν διάφορα μόρια σηματοδότησης, όπως τα  $Ca^{2+}$ , το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), το μονοξείδιο του αζώτου (NO), το SA, το JA, το ET και η ετεροτριμερής πρωτεΐνη G. Επιπλέον, η ανοσολογική απόκριση διαδραματίζεται από

την MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) και τα επακόλουθα αντιβακτηριακά προϊόντα, τις ROS, τις αμυνσίνες και τις φυτοαλεξίνες που μπορούν επίσης να ενισχύσουν την άμυνα έναντι των παθογόνων (Andersen κ.ά., 2018, Bentham κ.ά., 2020). Πιο αναλυτικά, μετά την αναγνώριση του παθογόνου από τον ξενιστή, ενεργοποιείται το σύστημα μεταγωγής σήματος προκαλώντας την απελευθέρωση ιόντων ασβεστίου, μια αντίδραση καταρράκτη MAPK και την ενεργοποίηση των γονιδίων *R* (Resistance Genes). Μεταξύ αυτών, τα  $Ca^{2+}$  αποτελούν ένα συντηρημένο δευτερογενή αγγελιοφόρο που είναι και ο κύριος μεσολαβητής των αποκρίσεων των φυτών στο ανοσοποιητικό σύστημα και στο στρες και ελέγχουν ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών μεταβολικών διεργασιών. Συνεπώς, εμπλέκονται στη ρύθμιση της οξειδωτικής έκκρισης, της γονιδιακής έκφρασης και της μεταγωγής σήματος αλλά και στην αποπτωτική διαδικασία ενώ είναι ζωτικής σημασίας για τη ρύθμιση διαφόρων γονιδίων στρες που εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα των φυτών (Aldon κ.ά., 2018).

Ακόμη, η συγκέντρωση των  $Ca^{2+}$  είναι σημαντική για την ανοσία που προκαλείται από τα PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns) εξαρτώμενα από  $Ca^{2+}$  και σε επαρκή εξωτερική συγκέντρωση κωδικοποιείται το κανάλι κυκλικών νουκλεοτιδίων (cAMP) που είναι ο καθοριστικός παράγοντας της σηματοδότησης  $Ca^{2+}$  και των αποκρίσεων PTI (PAMP-triggered immunity) που προκαλούνται από PAMPs και ROS. Έτσι, μετά την εισβολή ενός παθογόνου, ο διάυλος του καναλιού φωσφορυλιώνεται και ενεργοποιείται από RLKs (Receptor like kinases) όπως από την επαγόμενη από *Botrytis* κινάση 1 του συμπλόκου του υποδοχέα αναγνώρισης προτύπων, προκαλώντας αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης  $Ca^{2+}$  (Tian κ.ά., 2019). Ειδικότερα, τα ενδοκυτταρικά σήματα  $Ca^{2+}$  μεταδίδονται μέσω πρωτεϊνικών υποδοχέων, την καλμοδουλίνη (CaM) και την εξαρτώμενη από  $Ca^{2+}$  πρωτεϊνική κινάση (CDPK) (Ren κ.ά., 2021). Παράλληλα, τα  $Ca^{2+}$  που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα μπορούν να ενεργοποιήσουν τις CaMs και CMLs (calmodulin-like proteins) και ακολούθως να επάγουν τη σύνθεση NO και στη συνέχεια μια πρωτογενή ανοσολογική απόκριση, συμπεριλαμβανομένης της HR (Hypersensitive Response). Επιπλέον, ο παράγοντας ενεργοποίησης της μεταγραφής CaM εμπλέκεται στη βιοσύνθεση του SA και στις ανοσολογικές αποκρίσεις που προκαλούνται από αυτό (Kim κ.ά., 2017). Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι οι πρωτεΐνες CML, όπως οι CML13 και CML8, εμπλέκονται στις αμυντικές αποκρίσεις των φυτών σε πολλά παθογόνα, όπως τα *Pseudomonas syringae* και *Ralstonia solanacearum* ενώ η υπερέκφρασή τους ρυθμίζει

γονίδια που σχετίζονται με την παθογένεια (PR) καθώς και γονίδια που εμπλέκονται στη μεταγωγή σήματος και στις αποκρίσεις στρες (Zhu κ.ά., 2016, 2021).

Από την άλλη, το NO αποτελεί ένα οξειδοαναγωγικό σηματοδοτικό μόριο που είναι διαδεδομένο στους οργανισμούς και συμμετέχει σε ποικίλες φυσιολογικές διεργασίες μέσω της ρύθμισης διαφόρων μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων (PTMs) (Yu κ.ά., 2014). Η σύνθεση NO αυξάνεται μετά την προσβολή από παθογόνα και μπορεί να προκαλέσει τη συσσώρευση φυτοαλεξινών, να επηρεάσει τη συσσώρευση υπεροξειδωτικών ROS, να προκαλέσει την παραγωγή H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, να ρυθμίσει την οξειδοαναγωγική κατάσταση του ξενιστή και να ενεργοποιήσει την έκφραση των αμυντικών γονιδίων MAPK και πρωτεϊνών που σχετίζονται με ασθένειες (Keshavarz-Tohid κ.ά., 2016). Μάλιστα, πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι το NO ρυθμίζει την HR/PCD (Hypersensitive Response/ Programmed cell death) και ενεργοποιεί την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την ανθεκτικότητα των φυτών και την άμυνα μέσω συνεργατικών δράσεων με ROS (Corpas κ.ά., 2019). Οι ROS παράγονται με υψηλούς ρυθμούς στα φυτά κατά τη διάρκεια βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων με αποτέλεσμα η κυτταρική τους συγκέντρωση να είναι σημαντικά μεγαλύτερη από την κανονική και να παρατηρείται οξειδωτική έκρηξη (del Río, 2015; Garcia, 2009; Kollist κ.ά., 2019; Yoshioka κ.ά., 2008). Η έκρηξη ROS θεωρείται χαρακτηριστική αντίδραση της HR και είναι μία από τις πρώτες αντιδράσεις των φυτών έναντι των παθογόνων. Γενικότερα οι ROS έχουν διπλή λειτουργία σε συνθήκες καταπόνησης (Kolupaev και Karpets, 2014) καθώς λόγω των ισχυρών οξειδωτικών ιδιοτήτων τους, διαταράσσουν τον φυσιολογικό μεταβολισμό των οργανισμών, προκαλώντας την αποικοδόμηση μακρομορίων, με αποτέλεσμα την κυτταρική βλάβη, την απώλεια των φυσιολογικών λειτουργιών και τη νέκρωση. Ωστόσο, οι ROS, ως σημαντικά σηματοδοτικά μόρια, είναι ενεργά σε πολλά βιολογικά συστήματα (del Río, 2015) και πέρα από το ότι αποτελούν σήμα για την ενεργοποίηση της SAR (Systemic Acquired Resistance), μπορούν να δράσουν άμεσα ως αντιβακτηριακοί παράγοντες έχοντας άμεση τοξικότητα έναντι διεισδυτικών παθογόνων (Fang, 2011) και ενισχύοντας την άμυνα του ξενιστή. Ακόμη, συμμετέχουν στη λιγνινοποίηση του κυτταρικού τοιχώματος ενισχύοντάς το και αυξάνοντας τη δομική αντίσταση του ξενιστή σε ασθένειες (Slesak κ.ά., 2007).

Μια ακόμη σημαντική κατηγορία μορίων που χαρακτηρίζει τόσο το αμυντικό σύστημα PTI όσο και το ETI (PAMP-triggered immunity και Effector-triggered immunity) είναι οι φυτικές ορμόνες με κύρια σήματα τα SA, JA και ET. Μετά τη

μόλυνση, το SA είναι στενά συνδεδεμένο με το σχηματισμό τοπικής αντίστασης των προσβεβλημένων ιστών και της SAR των μη προσβεβλημένων. Έχει τεκμηριωθεί ότι η απόκριση HR που παρατηρείται σε προσβεβλημένους ιστούς οφείλεται στην παραγωγή SA και την ενεργοποίηση της έκφρασης του γονιδίου SAR (Bernsdorff κ.ά., 2016). Βασικά ρυθμιστικά γονίδια στο μονοπάτι αντίστασης είναι το *avirulent (Avr)* που μπορεί να διεγείρει μια σειρά αμυντικών αποκρίσεων όπως η HR/PCD και η SAR, οι οποίες και επάγονται από το SA. Το SA, ως σήμα του συστήματος, μπορεί επίσης να προκαλέσει αύξηση του επιπέδου του, ελέγχοντας την έκφραση των ρυθμιστικών του γονιδίων όπως τα *GDGI*, *EDSI* και *PAD4* μέσω ενός θετικού βρόχου ανατροφοδότησης και στη συνέχεια να επάγει την έκφραση γονιδίων PR (Pathogenesis-related) οδηγώντας σε καθολική ανθεκτικότητα έναντι παθογόνων (Tsuda κ.ά., 2008). Αντιθέτως, τα σηματοδοτικά μονοπάτια JA/ET ευθύνονται κυρίως για την αντίσταση των φυτών σε νεκρωτικά παθογόνα και πληγές. Το JA αποτελεί επίσης ένα μόριο που συσσωρεύεται γρήγορα και μαζικά όταν οι φυτικοί ιστοί προσβάλλονται από μικροβιακά παθογόνα και μπορεί να επάγει την έκφραση πρωτεϊνών που σχετίζονται με την άμυνα, όπως η πολυφαινολική οξειδάση, οι αναστολείς πρωτεασών, η υπεροξειδάση και η λιποξυγενάση (Wasternack και Song, 2016). Παράλληλα, μπορεί να επάγει και την παραγωγή αλκαλοειδών και ορισμένων πτητικών ουσιών αλλά και τον σχηματισμό αμυντικών δομών αυξάνοντας την ανθεκτικότητα του ξενιστή. Ομοίως, το ET διαδραματίζει σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο σε διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες των φυτών και μαζί με το JA μεσολαβούν στην επαγόμενη από μικροοργανισμούς της ριζόσφαιρας συστημική αντίσταση (ISR). Επιπλέον, το μονοπάτι μεταγωγής σήματος JA/ET ενεργοποιεί γονίδια που σχετίζονται με την άμυνα, όπως τα *PR-3*, *PR-4* και *PR-12* τα οποία, κωδικοποιούν αντιμικροβιακά πεπτιδία που εμπλέκονται στην απόκριση JA/ET (Huang κ.ά., 2016).

Όσον αφορά τις πρωτεΐνες ανθεκτικότητας PR, αυτές απουσιάζουν ή βρίσκονται μόνο σε βασικές συγκεντρώσεις σε υγιείς ιστούς, ενώ σε παθολογικές συνθήκες ανιχνεύεται συσσώρευση αυτών (Sels κ.ά., 2008). Οι πρωτεΐνες αυτές περιλαμβάνουν 17 οικογένειες μεταξύ των οποίων οι πρωτεΐνες PR-1 και PR-17 οι οποίες δεν έχουν χαρακτηριστεί λειτουργικά, οι 1,3-γλυκανάσες (PR-2), οι φυτικές χιτινάσες που αντιπροσωπεύονται από διάφορες οικογένειες (PR-4, PR-4, PR-8, PR-11), πρωτεΐνες που μοιάζουν με την ταουματίνη (PR-5), αναστολείς πρωτεϊνών (PR-6), ενδοπρωτεϊνάσες (PR-7), υπεροξειδάσες (PR-9), πρωτεΐνες που μοιάζουν με ριβονουκλεάσες (PR-10), ντεφενσίνες (PR-12), θιονίνες (PR-13), πρωτεΐνες

μεταφοράς λιπιδίων (PR-14), οξειδάσες οξαλικών (PR-15) και οξειδάσες που μοιάζουν με οξαλικές οξειδάσες (PR-16). Οι πρωτεΐνες αυτές, παρά το γεγονός ότι παρουσιάζουν αντιμικροβιακές δράσεις σε εργαστηριακές συνθήκες και η συσσώρευσή τους στα φυτά σχετίζεται με τις αποκρίσεις άμυνας των φυτών, δεν έχει αποδειχθεί ακόμα ο άμεσος λειτουργικός ρόλος τους. Σε ένα γενικότερο πλαίσιο, οι πρωτεΐνες αυτές παρουσιάζουν ποικίλους μηχανισμούς δράσης όπως, για παράδειγμα, την αναστολή της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος του μύκητα ή τη διαταραχή της δομής και της λειτουργίας του, τη βλάβη των κυτταρικών ριβοσωμάτων αλλά και την αναστολή της σύνθεσης του DNA (Theis και Stahl, 2004).

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι, η ανάλυση των βιβλιοθηκών του κόρμου και του στίγματος του κρόκου έχει εντοπίσει αρκετά γονίδια που κωδικοποιούν ανάλογες πρωτεΐνες (D'Agostino κ.ά., 2007). Τα αποτελέσματα αυτών των αναλύσεων έχουν καταλήξει στην ταυτοποίηση αντιμικροβιακών πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα στους ιούς και στην αναγνώριση των μυκήτων αλλά και στην ανίχνευση δύο ομόλογων του γονιδίου *WRKY TF*, τα *WRKY2* και *WRKY4*. Πιο συγκεκριμένα, οι παράγοντες τύπου *WRKY* με δακτύλιο ψευδαργύρου διαδραματίζουν ένα ευρύ και καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της άμυνας και η πλειονότητα των γονιδίων *WRKY* που έχουν αναλυθεί επιβεβαιώνουν τη σημασία τους στην ενίσχυση της ανθεκτικότητας των φυτών (Eulgem και Somssich, 2007, Pandey και Somssich, 2009). Ταυτόχρονα, στον κρόκο έχει παρατηρηθεί ένας μεγάλος αριθμός αμυντικών πρωτεϊνών ικανών να συνδεθούν με χιτίνη και ολιγοσακχαρίτες χιτίνης (Ahrazem κ.ά., 2010). Η παρουσία αυτών εικάζεται ότι σχετίζεται με την άμυνα του φυτού καθώς η χιτίνη είναι το κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος στους νηματοειδείς μύκητες όπως, τα είδη *Aspergillus* και *Fusarium*. Πέρα από την χιτινάση, στον κόρμο του κρόκου, έχουν εντοπιστεί και γονίδια που σχετίζονται με την αναστολή της πολυγαλακτουρονάσης των μυκήτων (Polygalacturonase inhibitor, PGIPs) καθώς και γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες μεταφοράς λιπιδίων και πιθανώς εμπλέκονται στις αλληλεπιδράσεις φυτών-μυκήτων (LTP, PR-14).

### Ωφέλιμοι μικροοργανισμοί και ενίσχυση της άμυνας του Κρόκου

Μεταξύ φυτών και μικροβιώματος (ριζοβακτήρια, επίφυτοι και ενδοφυτικοί μικροοργανισμοί) έχει αναπτυχθεί μια συμβιωτική σχέση όπου τα πρώτα προσφέρουν θρεπτικά στοιχεία στους μικροοργανισμούς οι οποίοι, με τη σειρά τους, παρέχουν θρεπτικά συστατικά στα φυτά όπως, άζωτο, φωσφόρο και σίδηρο μέσω της

αζωτοποίησης, της διαλυτοποίησης φωσφορικών και της παραγωγής σιδηροφόρων, αντίστοιχα (Afzal κ.ά., 2019, Hardoim κ.ά., 2015). Επιπλέον, το μικροβίωμα συμβάλλει στην αύξηση της ανθεκτικότητας των φυτών έναντι των παθογόνων μέσω της παραγωγής βιοδραστικών μεταβολιτών και τη σύνθεση φυτοορμονών (Lucy κ.ά., 2004) και μειώνει την εμφάνιση λοιμώξεων καθώς ανταγωνίζεται τα παθογόνα για χώρο και θρεπτικά συστατικά (Liu κ.ά., 2017). Συνεπώς, τα φυτά συνδέονται με μια πληθώρα σημαντικών μικροβίων που φέρουν δυνατότητες βιοελέγχου, ανθεκτικότητας στο στρες, φυτοεξυγίανσης και προώθησης της ανάπτυξης (Ryan κ.ά., 2008). Αντίστοιχα, στα φυτά του κρόκου παρατηρούνται τέτοιες συμβιωτικές σχέσεις με βακτήρια τα οποία μπορούν να διαλύσουν και να μεταβολίσουν την πηκτίνη που παράγεται σε υψηλές ποσότητες από το φυτό και με τη σειρά τους να παράγουν ορισμένους χρήσιμους μεταβολίτες για τον ξενιστή (Choi κ.ά., 2005, Katariya, 2011). Ομοίως, το στέλεχος του κρόκου είναι πλούσιο σε μονοσακχαρίτες όπως λυκόζη, ξυλόζη, ριβόζη, γλυκόζη, μαννόζη, γαλακτόζη, ραμνόζη, σελοβιόζη, μαλτόζη, λακτόζη και φρουκτόζη, οι οποίοι χρησιμεύουν ως πηγή τροφής για τη μικροβιακή κοινότητα, η οποία αποικίζει τμήματα του κρόκου προσφέροντας ιδιότητες αντοχής σε παθογόνα και προώθηση της ανάπτυξης (Haining κ.ά., 2013).

Για την κατανόηση των συμβιωτικών σχέσεων μεταξύ φυτών και βακτηρίων, έχουν προταθεί πολυάριθμοι μηχανισμοί μεταξύ των οποίων, η ικανότητα των βακτηρίων να παράγουν φυτοορμόνες που προάγουν την ανάπτυξη του φυτού όπως, το ινδολ-3-οξικό οξύ (IAA), οι γιββερελλίνες και οι κυτοκινίνες (Glick, 1995), η ικανότητά τους να ενισχύουν την μη συμβιωτική δέσμευση  $N_2$  (Khan, 2005), τη διαλυτοποίηση ανόργανων και οργανικών φωσφορικών αλάτων και άλλων θρεπτικών στοιχείων (Glick, 1995) και η ικανότητά τους να ανταγωνίζονται τα φυτοπαθογόνα λόγω της ανάπτυξης σιδηροφόρων και της παραγωγής αντιβιοτικών και λυτικών ενζύμων που περιορίζουν την ανάπτυξη των μυκήτων (Arena κ.ά., 2018, Xianfeng κ.ά., 2020). Τα σιδηροφόρα παίζουν σημαντικό ρόλο στη βιολογική καταπολέμηση ορισμένων εδαφογενών ασθενειών καθώς δεσμεύουν την ήδη περιορισμένη περιεκτικότητα σιδήρου στη ριζόσφαιρα, μειώνουν τη διαθεσιμότητά του στα παθογόνα και τελικά καταστέλλουν την ανάπτυξή τους (Leong, 1986). Από την άλλη, τα υδρολυτικά ένζυμα χρησιμεύουν ως παράγοντες πρόληψης των ασθενειών, προκαλώντας τη λύση των παθογόνων μικροβίων που βρίσκονται κοντά στο φυτό, καθώς εκκρίνουν αυξημένα επίπεδα λυτικών ενζύμων του κυτταρικού τοιχώματος (πρωτεάσες, λιπάση, αμυλάση, κυτταρινάση και χιτινάση) (Zerihun κ.ά., 2019).

Μάλιστα, τα PGP (Plant Growth Promoting) βακτήρια που συνθέτουν ένα ή περισσότερα λυτικά ένζυμα όπως, πρωτεάσες, κυτταρινάσες και χιτινάσες, παρουσιάζουν αντιμυκητιασική δράση κατά των *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora spp.*, *Rhizoctonia solani* και *Pythium ultimum* (Kour κ.ά., 2018). Επιπλέον, τα βακτηριακά ενδόφυτα χρησιμοποιούν και διαφορετικές στρατηγικές για την αναστολή των παθογόνων, όπως ο άμεσος παρασιτισμός και η πρόκληση ανοσοποιητικών συστημάτων των φυτών (Fadji και Babalola, 2020).

Μια σημαντική κατηγορία ωφέλιμων βακτηρίων αποτελεί αυτή της ριζόσφαιρας η πλειονότητα των οποίων είναι αρνητικά κατά Gram βακτήρια και η οποία έχει εξελιχθεί λόγω των αμοιβαίων οφελών μεταξύ φυτών και μικροβίων (Johansen και Olsson, 2005, Söderberg κ.ά., 2004). Αντίστοιχα, μελέτες στη ριζόσφαιρα του κρόκου κατέδειξαν πλειονότητα αρνητικών κατά Gram βακτηρίων όπως, *Pseudomonas tremae*, *P. kilonensis* και *P. koreensis*, *Acinetobacter calcoaceticus* και *Chryseobacterium elymi*, εν αντιθέσει με τα θετικά κατά Gram βακτήρια που αντιπροσωπεύονταν μόνο από ένα είδος το *Bacillus aryabhattai*. Ωστόσο, περισσότερα θετικά κατά Gram βακτήρια έχουν βρεθεί στο χύδην έδαφος όπου κυριαρχούσαν διάφορα είδη *Bacillus* και *Brevibacterium* (Söderberg κ.ά., 2004, Ambardar και Vakhlu, 2013). Γενικότερα, η ζώνη της ριζόσφαιρας διαφέρει ως προς τις φυσικές, χημικές και βιολογικές ιδιότητές της σε σύγκριση με το χύδην έδαφος και βρίσκεται υπό την επίδραση των εκκρίσεων της ρίζας, την αποκόλληση των ριζικών κυττάρων, τον θάνατο των ριζών και την έκκριση ενώσεων άνθρακα που ευνοούν την ανάπτυξη επιλεγμένων μικροβίων (Hartmann κ.ά., 2009). Ο όρος της ριζόσφαιρας περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Hiltner το 1904 και αναφέρεται σε ένα μικροπεριβάλλον που βρίσκεται υπό την επήρεια των ριζών και διαφέρει από το έδαφος (Hinsinger κ.ά., 2009). Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην *Arabidopsis thaliana* και διερευνούσε τη σχέση μεταξύ των χαρακτηριστικών της και των βασικών μικροοργανισμών της ριζόσφαιρας, διαπιστώθηκε ότι τα φυτά μπορούσαν να ρυθμίσουν τη σύνθεση του μικροβιώματος και ότι η διαφορετική μικροβιακή σύνθεση της ριζόσφαιρας είχε διαφορετικές επιδράσεις στα χαρακτηριστικά των φυτών, όπως στην ανάπτυξη και την αντοχή στις ασθένειες (Hou κ.ά., 2021).

Στον κρόκο, τα κύρια βακτήρια της ριζόσφαιρας, είναι τα *Pseudomonas aeruginosa*, *Brevibacterium frigoritolerans*, *Alcaligenes faecalis* sub sp. phenolicus και *Bacillus aryabhattai* τα οποία, έχουν ιδιότητες προώθησης της ανάπτυξης του φυτού



και ελέγχουν αποτελεσματικά την ανάπτυξη παθογόνων μυκήτων (Hu κ.ά., 2021a, Rasool κ.ά., 2021, Sharma κ.ά., 2015). Ειδικότερα, τα βακτηριακά γένη *Bacillus* και *Pseudomonas* χρησιμοποιούνται εκτενώς για τον έλεγχο ασθενειών που προκαλούν σήψη των ριζών (Preston, 2004). Ανάμεσα στα στελέχη του *Pseudomonas aeruginosa*, το ΥΥ322, παρουσιάζει εξαιρετικά αποτελεσματική ανταγωνιστική δραστηριότητα έναντι των παθογόνων του κρόκου, συμπεριλαμβανομένων των *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Penicillium citreosulfuratum*, *Penicillium citrinum* και *Stromatinia gladioli* (Hu κ.ά., 2021a). Μέσω της έκκρισης πρωτεασών και γλυκανασών αποικοδομεί το κυτταρικό τοίχωμα των μυκήτων και μέσω της κωδικοποίησης γονιδίων που σχετίζονται με την παραγωγή φαιναζίνης, υδροκυανίου (HCN), SA, τον σχηματισμό βιοφίλμ και τον αποικισμό ενισχύει την ανθεκτικότητα των φυτών. Επίσης, τα είδη *Bacillus* φέρουν αντιβιοτική δράση και έχει διαπιστωθεί ότι καταστέλλουν την ασθένεια της σήψης των ριζών που προκαλείται από το *F. oxysporum*, κύριο παθογόνο της σήψης του κόρμου του κρόκου (Idris κ.ά., 2007).

Άλλα είδη *Bacillus* που έχουν καταγραφεί στη ριζόσφαιρα του κρόκου είναι τα *B. stratosphericus*, *Bpumilus* και *B. Ubtilis* (Gupta κ.ά., 2020). Συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί ότι το *B. amyloliquefaciens* αναστέλλει σημαντικά την ακτινωτή ανάπτυξη του *F. oxysporum*, η οποία μπορεί να οφείλεται στην παραγωγή αντιβιοτικών, σιδηροφόρων και ενζύμων (Gupta και Vakhlu, 2015). Επιπλέον, η μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. oxysporum* f. sp. *Gladioli* έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλεται από τα βακτήρια *Burkholderiacepacia*, *Bacillus subtilis* και *P. fluorescens* (Shanmugam κ.ά., 2011). Από την άλλη, σε μελέτη των Zhang κ.ά., (2022) για τον περιορισμό της ανάπτυξης του *F. oxysporum* βρέθηκε ότι τα *Trichoderma yunnanense* SR38, *Talaromyce ssp.* SR55, *Burkholderia gladioli* SR379 και *Enterobacter sp.* SR343 έφεραν αντιμυκητησιακή δράση έναντι του παθογόνου. Γενικότερα, η αποτελεσματικότητα των *Trichoderma spp.* για την αναστολή της ανάπτυξης του *F. oxysporum* f. sp. *Gladioli* (Couillerot κ.ά., 2009, Elad, 1980) αλλά και των *Trichoderma viride* και *Trichoderma harzianum* ως πιθανούς ανταγωνιστές για την αναστολή της ανάπτυξης διαφόρων εδαφογενών και σπορογενών φυτοπαθογόνων έχει καταγραφεί εκτενώς (Elad, 1980).

Για τη μείωση της σήψης του κόρμου από το παθογόνο *F. oxysporum* σε επίπεδο εργαστηρίου αλλά και αγρού, έχει καταδειχθεί και το ενδοφυτικό βακτήριο *Burkholderia gladioli* και συγκεκριμένα το στέλεχος E39CS3 (Ahmad κ.ά., 2022). Αν και το *B. gladioli* έχει τεθεί υπεύθυνο για τη βακτηριακή μόλυνση του κρόκου (Fioriti κ.ά., 2011), το στέλεχος E39CS3 δεν προκάλεσε σκωρίωση τόσο στον κρόκο όσο και

στο στενά συγγενικό φυτό *Gladiolus*, αποδεικνύοντας τη μη παθογόνο δράση του. Ωστόσο, αναδείχθηκε για τη μυκητοκτόνο δράση του, περιορίζοντας έντονα τόσο στελέχη του *F. oxysporum* όσο και άλλα ειδικά και μη ειδικά παθογόνα του κρόκου προκαλώντας τον κυτταρικό θάνατο των μυκηλίων (Ahmad κ.ά., 2022). Η αποτελεσματικότητά του έγκειται στο γεγονός ότι παράγει χιτινάσες και β-1,3-γλυκανάση που εμπλέκονται στην αποικοδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος των παθογόνων ενώ ενισχύει και τα ενδογενή επίπεδα JA συμβάλλοντας στην ενεργοποίηση της ISR. Μάλιστα, το BG-E39 φαίνεται να αναπτύσσεται πάνω στις μυκηλιακές υφές του μύκητα και να τρέφεται με αυτές, φαινόμενο γνωστό ως μυκοφαγία (Swain κ.ά., 2017).

Μια ακόμη σημαντική παρατήρηση στη ριζόσφαιρα του κρόκου είναι η παρουσία του ακτινομύκητα *Streptomyces yangpuensis* CM253 που διαθέτει ισχυρή ανταγωνιστική δράση έναντι τόσο του *F. oxysporum* όσο και των *F. solani*, *Penicillium citreosulfuratum*, *P. citrinum* αναστέλλοντας την ανάπτυξη των μυκηλιακών υφών (Tian κ.ά., 2022). Διάφορες μελέτες έχουν δείξει την παρουσία ακτινομυκήτων στη ριζόσφαιρα των φαρμακευτικών φυτών οι οποίοι, μπορούν να παράγουν μια ποικιλία αντιβιοτικών και εξωκυττάρων ενζύμων για την προώθηση της ανάπτυξης και την προστασία των φυτών από τα παθογόνα (Djemouai κ.ά., 2022, Madhurama κ.ά., 2014, Selim κ.ά., 2021). Όσον αφορά το συγκεκριμένο στέλεχος, βρέθηκε ότι παράγει NH<sub>3</sub>, πρωτεάση, γλυκανάση, κυτταρινάση, IAA και ACC δεαμινάση, φέρει 24 γονίδια σύνθεσης δευτερογενών μεταβολιτών και γονίδια που κωδικοποιούν 2,3-βουτανοδιόλη, μεθειονίνη, ισοπρένιο, τον σχηματισμό βιοφίλμ και τον αποικισμό (Tian κ.ά., 2022). Ο μηχανισμός μείωσης της ανάπτυξης των παθογόνων από τον ενδοφυτικό μύκητα περιλαμβάνει τον ανταγωνισμό για θρεπτικά συστατικά και χώρο, τη σύνθεση αντιβιοτικών και βιοδραστικών ουσιών και την επαγωγή της ανθεκτικότητας του ξενιστή (Vurukonda κ.ά., 2018). Ακόμη, εξίσου σημαντική είναι και η παρατήρηση του βακτηρίου *P. koreensis* στη ριζόσφαιρα του κρόκου, το οποίο παράγει βιοτασιενεργές ουσίες που είναι αποτελεσματικές κατά των παθογόνων *Pythium ultimum* και του *Phytophthora infestans* (Hultberg κ.ά., 2010).

## Υλικά και Μέθοδοι

### Συλλογή και επεξεργασία δειγμάτων

Για τον προσδιορισμό των κυρίαρχων παθογόνων του κρόκου στην χώρα μας και συγκεκριμένα στην περιοχή του Ν. Κοζάνης όπου καλλιεργείται αποκλειστικά, εγκαταστάθηκαν δύο πειραματικοί αγροί, στις περιοχές Άγιο Πνεύμα και Γήπεδο. Συγκεκριμένα, ο πειραματικός σχεδιασμός περιλάμβανε τέσσερα (4) πειραματικά τεμάχια/επέμβαση (200 φυτά/επανάληψη/επέμβαση) και η συλλογή των παραγόμενων κόρμων έλαβε χώρα τους μήνες Μάιο (26/05/2023) και Ιούνιο (14/06/2023). Η δειγματοληψία αφορούσε προσβεβλημένους κόρμους με εμφανή συμπτώματα (Πίνακας 1.) από τους οποίους, απομονώθηκαν τα μυκήλια των προς εξέταση μυκήτων. Συνολικά συλλέχθηκαν 33 φυτά και οι απομονώσεις των αποικιών καλλιεργήθηκαν σε υγρό θρεπτικό υπόστρωμα PDA (Potato Dextrose Agar) και LB agar (Luria Bertani agar/lit: Tryptone 10 g; NaCl 10 g; Yeast extract 5g; Bacteriological agar 1.5%). Στη συνέχεια, έγινε καθαρισμός των καλλιεργειών από τυχόν επιμολύνσεις με τη χρήση κατάλληλων υποστρωμάτων στα οποία προστέθηκαν αντιβιοτικά και ακολούθησε απομόνωση του γενετικού υλικού και αλληλούχηση κατά Sanger για την ταυτοποίηση των κυρίαρχων παθογόνων.

Πίνακας 1. Σύνολο δειγμάτων και καταγραφή συμπτωματολογίας των προσβεβλημένων ιστών.

A/A	Κωδικός απομόνωσης	Περιοχή	Συμπτώματα Δείγματος
1	A.1	Αγιο Πνεύμα	Καχεκτική ανάπτυξη, χλωρώσεις φύλλων, μαλακή σήψη κόρμου
2	A.2	Αγιο Πνεύμα	Μαλακή σήψη κόρμου, καχεκτικότητα
3	A.3	Αγιο Πνεύμα	
4	A.4	Αγιο Πνεύμα	
5	A.5	Αγιο Πνεύμα	Καχεκτική ανάπτυξη, χλωρώσεις και νεκρώσεις φύλλων, ξηρή σήψη
6	A.6	Αγιο Πνεύμα	
7	A.7	Αγιο Πνεύμα	Κόρμοι με καχεκτικότητα, χλωρώσεις, ξηράνσεις, ξηρή σήψη στον μητρικό κόρμο
8	A.8	Αγιο Πνεύμα	Καχεκτικότητα, χλωρώσεις, ξηράνσεις, μαλακή σήψη, συστροφή φύλλων
9	A.9	Αγιο Πνεύμα	Αδύνατα φύλλα, χλωρώσεις, ξηρή σήψη σε μητρικό κόρμ
10	A.10	Αγιο Πνεύμα	Ξηρή σήψη στο μητρικό κόρμο, καχεκτικότητα, χλωρώσεις φύλλα
11	A.11	Αγιο Πνεύμα	
12	A.12	Αγιο Πνεύμα	
13	A.13	Αγιο Πνεύμα	Κόρμοι με καχεκτικότητα, χλωρώσεις, ξηράνσεις, ξηρή σήψη στον μητρικό κόρμο
14	A.14	Αγιο Πνεύμα	Γειτονικοί κόρμοι με ακανόνιστη πλευρική έκπτυξη ιστού, καχεκτική ανάπτυξη, χλωρώσεις, νεκρωτικές κηλίδες
15	A.15	Αγιο Πνεύμα	Καχεκτικότητα, ξηρή σήψη στον μητρικό κόρμο
16	A.16	Αγιο Πνεύμα	Καχεκτικότητα, χλωρώσεις, μαλακή σήψη σε μητρικό κόρμο, ξηρή σήψη σε έναν βολβό, νεκρωτικές κηλίδες
17	A.17	Αγιο Πνεύμα	Καχεκτικότητα, μαλακές και ξηρές σήψεις, νεκρωτικές κηλίδες
18	A.18	Αγιο Πνεύμα	Καχεκτική ανάπτυξη, χλωρώσεις και νεκρώσεις φύλλων, ξηρή σήψη
19	A.19	Αγιο Πνεύμα	Καχεκτικότητα, χλωρώσεις, ξηράνσεις, προσβολές σε γειτονικούς μητρικούς κόρμο
20	A.20	Αγιο Πνεύμα	Γειτονικοί κόρμοι με ακανόνιστη πλευρική έκπτυξη ιστού, καχεκτική ανάπτυξη, χλωρώσεις, νεκρωτικές κηλίδες
21	A.21	Αγιο Πνεύμα	Κόρμοι με καχεκτικότητα, χλωρώσεις, ξηράνσεις, ξηρή σήψη στον μητρικό κόρμο
22	A.22	Αγιο Πνεύμα	Καχεκτικότητα, χλωρώσεις, ξηράνσεις, μαλακή σήψη, συστροφή φύλλων
23	B.1	Γήπεδο	Καχεκτικότητα, χλωρώσεις, ξηράνσεις φύλλου, παρουσία έλκους στο μητρικό κόρμο
24	B.2	Γήπεδο	Καχεκτικότητα, χλώρωση, μαλακή και σκληρή σήψη, μικρά φύλλα
25	B.3	Γήπεδο	Σκληρή σήψη στους μητρικούς κόρμους, λεπτά και αδύνατα φύλλα
26	B.4	Γήπεδο	Καχεκτικότητα, χλωρώσεις, ξηράνσεις
27	B.5	Γήπεδο	Καχεκτικότητα, χλώρωση, μαλακή και σκληρή σήψη, μικρά φύλλα
28	B.6	Γήπεδο	Καχεκτικότητα, χλωρώσεις, ξηρή σήψη
29	B.7	Γήπεδο	Εξαντλημένα φυτά με καχεκτική ανάπτυξη, ξηράνσεις και καταστροφή ελάσματος (σαν κορδόνι), μουμιοποίηση στον μητρικό κόρμο
30	B.8	Γήπεδο	
31	B.9	Γήπεδο	
32	B.10	Γήπεδο	Σκληρή σήψη στους μητρικούς κόρμους, λεπτά και αδύνατα φύλλα
33	B.11	Γήπεδο	

## Απομόνωση DNA

Για την μοριακή ταυτοποίηση των απομονώσεων, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση του ολικού DNA από μυκήλια, αφού υπέστησαν λυοφιλίωση, το οποίο συλλέχθηκε από υγρή καλλιέργεια σε θρεπτικό υπόστρωμα Potato Dextrose Broth (PDB, Merck, Germany). Η απομόνωση του DNA πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τροποποιημένο πρωτόκολλο CTAB και η συγκέντρωση μετρήθηκε σε νανοφωτόμετρο.

### Πρωτόκολλο απομόνωσης γενωμικού DNA

- Προσθήκη 600 μL διαλύματος CTAB 3% και β-μερκαπτοαιθανόλη 3% σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα και ομογενοποίηση των δειγμάτων.
- Φυγοκέντρηση για 10 λεπτά σε 10.000 rpm και μεταφορά του υπερκειμένου σε νέο δοκιμαστικό σωλήνα.
- Προσθήκη 600 μL χλωροφορμίου και καλή ανακίνηση των δειγμάτων.
- Φυγοκέντρηση για 15 λεπτά σε 13.000 rpm και μεταφορά του υπερκειμένου σε νέο δοκιμαστικό σωλήνα.
- Προσθήκη ίσου όγκου χλωροφορμίου, ανάδευση και φυγοκέντρηση σε 13.000 rpm για 10 λεπτά.
- Μεταφορά υπερκειμένου σε νέο δοκιμαστικό σωλήνα και προσθήκη ενός όγκου ισοπροπανόλης, ανάδευση και κατακρήμνιση στους -20°C για όλο το βράδυ.
- Φυγοκέντρηση για 20 λεπτά σε 13,000 rpm. Απομάκρυνση του υπερκειμένου και στέγνωμα της πελέτας.
- Ξέπλυμα της πελέτας με τη χρήση 200 μL διαλύματος αιθανόλης 70%.
- Φυγοκέντρηση σε 13,000 rpm για 5 λεπτά, απομάκρυνση του υπερκειμένου και στέγνωμα της πελέτας.
- Διαλυτοποίηση της πελέτας σε 50μL molecular grade νερό.

### Ταυτοποίηση των απομονώσεων

Ο μοριακός χαρακτηρισμός σε επίπεδο είδους πραγματοποιήθηκε μέσω ανάλυσης αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR), με ενίσχυση του γονιδίου

της β- τουμπουλίνης. Το ζεύγος των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: Bt2a (5'-GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC-3') και Bt2b (5'- ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC-3'). Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης πραγματοποιήθηκε σε αυτόματο θερμοκυκλοποιητή Labcycler (SensoQuest, GmbH, Göttingen, Germany) σε τελικό όγκο αντίδρασης 25 μL. Πιο συγκεκριμένα, στο μίγμα της PCR ανά δείγμα προστέθηκαν: 16.5 μL νερού που υπέστη μεταχείριση με diethyl carbonate (DEPC), 12.5 μl Quick 2x OneTaq Mastermix, 0,5 μL από τον κάθε εκκινητή (New England Biolabs® Ipswich, Massachusetts, USA) και τέλος 5 μL εκχυλίσματος DNA του κάθε στελέχους. Οι συνθήκες της PCR ήταν, αρχική προθέρμανση για αποδιάταξη στους 94 °C για 30 δευτερόλεπτα ενώ στη συνέχεια ακολούθησαν 3 στάδια που επαναλήφθηκαν για 35 κύκλους, με πρώτη την αποδιάταξη του εκμαγείου στους 94 °C για 30 δευτερόλεπτα, υβριδοποίηση των εκκινητών με το εκμαγείο τους στους 58 °C ενώ, η επέκταση των αλυσίδων έγινε στους 68 °C για 35 δευτερόλεπτα. Η αντίδραση ολοκληρώθηκε με επώαση στους 68 °C για 5 λεπτά. Στην συνέχεια, τα προϊόντα της PCR διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 1% σε διάλυμα Tris-acetate (TAE) buffer και ακολούθησε η οπτικοποίησή τους κάτω από ακτινοβολία UV μετά τον χρωματισμό τους με τη μη τοξική χρωστική Midori Green (NipponGenetics, Germany). Τα προϊόντα της PCR καθαρίστηκαν με τη χρήση του Monarch® PCR DNA Cleanup Kit σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή (NEB; New England BioLabs, USA) και αλληλουχήθηκαν. Η στοίχιση των αλληλουχιών πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια των προγραμμάτων ChromasPro Version 1.6 και Geneious Prime. Οι αλληλουχίες συγκρίθηκαν με ήδη καταχωρημένες αλληλουχίες στη βάση δεδομένων του National Centre for Biotechnology Information (NCBI) χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο Blast (Altschul κ.ά., 1990), και έτσι ολοκληρώθηκε η μοριακή ταυτοποίηση των απομονώσεων σε επίπεδο είδους.

## Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα των αλληλουχίσεων αντιστοιχήθηκαν με υπάρχουσα δεδομένα στην NCBI μέσω του αλγορίθμου BLAST. Από το σύνολο των 33 δειγμάτων, ταυτοποιήθηκαν 14 είδη μυκήτων ενώ 6 δείγματα δεν έδωσαν στατιστικώς σημαντική ομοιότητα με τις αλληλουχίες στη βάση δεδομένων (Πίνακας 2.). Τα είδη των μυκήτων που ταυτοποιήθηκαν ήταν τα *Aspergillus niger* (3), *Cladosporium sp* (1), *Epicoccum layence* (1), *E. nigrum* (4), *Fusarium oxysporum* (3), *F. solani* (1), *F. carvatum* (1), *Ilyonectria crassa* (1), *Penicillium tulipae/radicicola* (1), *Talaromyces minioluteus* (3), *T. pinophilus* (2), *T. gaditanus* (1), *T.brunneus* (2) και *Truncatella angustata* (3).

Πίνακας 2. Ταυτοποίηση απομονώσεων.

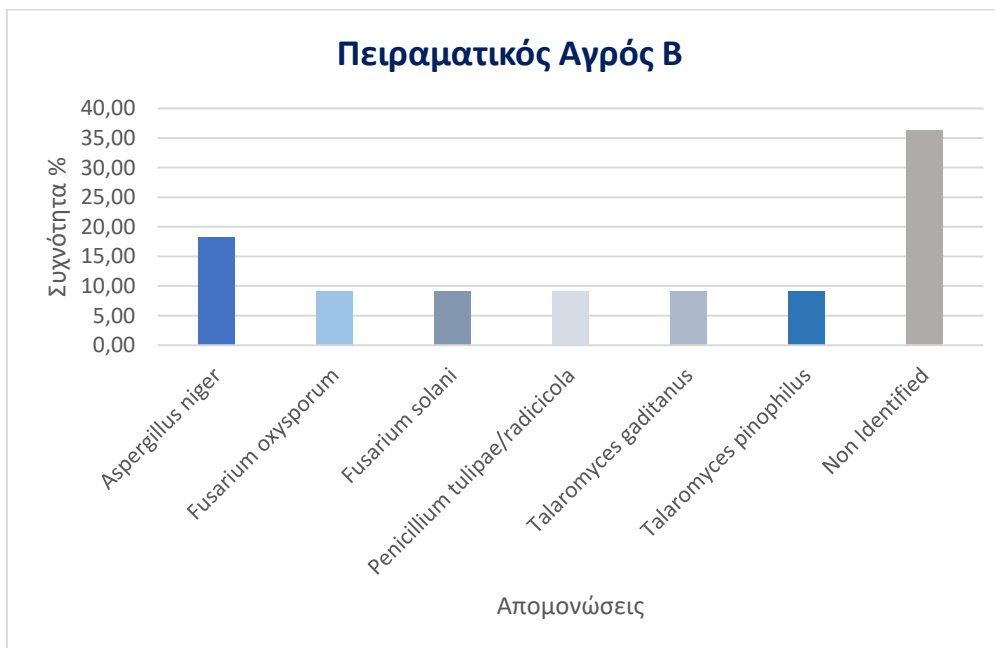
A/A	Κωδικός απομόνωσης	Αποτέλεσμα Ταυτοποίησης	E-value	Ποσοστό Ταυτοποίησης
1	A.1	N/I		
2	A.2	<i>Epicoccum layence</i>	1,74E-158	99,6
3	A.3	<i>Aspergillus niger</i>	0,00E+00	100
4	A.4	<i>Epicoccum nigrum</i>	7,51E-170	99,6
5	A.5	<i>Epicoccum nigrum</i>	2,54E-159	99
6	A.6	<i>Ilyonectria crassa</i>	1,30E-177	99,8
7	A.7	<i>Truncatella angustata</i>	0,00E+00	100
8	A.8	N/I		
9	A.9	<i>Talaromyces pinophilus</i>	0,00E+00	100
10	A.10	<i>Fusarium oxysporum</i>	4,43E-152	100
11	A.11	<i>Fusarium oxysporum</i>	3,59E-132	100
12	A.12	<i>Epicoccum nigrum</i>	1,36E-124	99,6
13	A.13	<i>Talaromyces minioluteus</i>	0,00E+00	100
14	A.14	<i>Truncatella angustata</i>	0,00E+00	96,2
15	A.15	<i>Talaromyces minioluteus</i>	0,00E+00	100
16	A.16	<i>Talaromyces minioluteus</i>	0,00E+00	100
17	A.17	<i>Epicoccum nigrum</i>	1,07E-164	99,6
18	A.18	<i>Fusarium carvatum</i>	8,31E-144	100
19	A.19	<i>Cladosporium sp.</i>	0,00E+00	100
20	A.20	<i>Truncatella angustata</i>	0,00E+00	100
21	A.21	<i>Talaromyces brunneus</i>	6,34E-122	99
22	A.22	<i>Talaromyces brunneus</i>	4,65E-109	99
23	B.1	<i>Aspergillus niger</i>	0,00E+00	100
24	B.2	<i>Fusarium solani</i>	4,09E-152	99,8
25	B.3	<i>Aspergillus niger</i>	0,00E+00	99,9
26	B.4	<i>Talaromyces pinophilus</i>	0,00E+00	100
27	B.5	<i>Penicillium tulipae/radicicola</i>	0,00E+00	99,4
28	B.6	<i>Talaromyces gaditanus</i>	4,72E-177	99,6
29	B.7	N/I		
30	B.8	<i>Fusarium oxysporum</i>	1,23E-167	99,8
31	B.9	N/I		
32	B.10			
33	B.11			

Όσον αφορά τους μύκητες που ταυτοποιήθηκαν ανά πειραματικό τεμάχιο, τα είδη *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* και *Talaromyces pinophilus* απομονώθηκαν και στους δύο πειραματικούς αγρούς. Η παρουσία των ειδών αυτών εντοπίστηκε με διαφορετική συχνότητα μεταξύ των απομονώσεων, με το *Aspergillus niger* να απαντάται με ποσοστό 4,55% στον αγρό Α ενώ με ποσοστό 18,18% στον αγρό Β. Αντίθετα, ο μύκητας *Fusarium oxysporum* ταυτοποιήθηκε σε 2 δείγματα στον αγρό Α και μόνο σε 1 στον αγρό Β αλλά, με ίδιο ποσοστό συχνότητας μεταξύ των απομονώσεων (9,09%) καθώς, συλλέχθηκαν σχεδόν τα διπλάσια δείγματα από τον πρώτο αγρό. Από την άλλη, ο μύκητας *Talaromyces pinophilus* απομονώθηκε από ένα μόνο δείγμα και στους δύο πειραματικούς αγρούς. Παρά το γεγονός ότι η παρουσία των τελευταίων δύο μυκήτων απαντάται και στους δύο πειραματικούς αγρούς, η συχνότητα με την οποία συναντάται είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με τα υπόλοιπα είδη που ταυτοποιήθηκαν. Μάλιστα, οι δύο πειραματικοί αγροί διέφεραν ως προς τα είδη των μυκήτων που φαίνεται να απασχολούν την καλλιέργεια. Έτσι, στον πειραματικό αγρό Α, τα είδη που προκαλούν το μεγαλύτερο ποσοστό των προσβολών μεταξύ των δειγμάτων είναι τα *Epicoccum nigrum* (18,18%), *Talaromyces minioluteus* και *Truncatella angustata* (13,64%) αλλά και τα είδη *Fusarium oxysporum* και *Talaromyces brunneus* (9,09%) (Γράφημα 1.). Ωστόσο, σε μεμονωμένα δείγματα ταυτοποιήθηκαν και τα είδη *Cladosporium sp.*, *Epicoccum layuence*, *Fusarium carvatum*, *Ilyonectria crassa* και *Talaromyces pinophilus*, ενώ δύο δείγματα δεν είχαν στατιστικώς σημαντική ομοιότητα με τις υπάρχουσες αλληλουχίες της βάσης δεδομένων (NCBI). Αντίθετα, στον πειραματικό αγρό Β το είδος *Aspergillus niger* αφορούσε το μεγαλύτερο ποσοστό των απομονώσεων (18,18%), ενώ τα υπόλοιπα δείγματα έφεραν διαφορετικές αποικίες, με τους μύκητες *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Penicillium tulipae/radicicola*, *Talaromyces gaditanus* και *Talaromyces pinophilus* να αφορούν μεμονωμένους κόρμους. Ακόμη, ένα σχετικά μεγάλο ποσοστό των απομονώσεων (4/11) δεν μπόρεσε να ταυτοποιηθεί σύμφωνα με τα δεδομένα στην NCBI. Παρ' όλα αυτά, σε επίπεδο γένους, το μεγαλύτερο μέρος των μυκήτων που απομονώθηκαν και από τους δύο πειραματικούς αγρούς ανήκαν στο *Talaromyces* με ποσοστό 24,24% ακολουθούμενο από τα *Fusarium* και *Epicoccum* με 15,15% αλλά και τα *Aspergillus* και *Truncatella* με 9,09% ενώ, τα γένη *Ilyonectria*, *Cladosporium* και *Penicillium* αφορούσαν μεμονωμένα δείγματα (Γράφημα 3.).

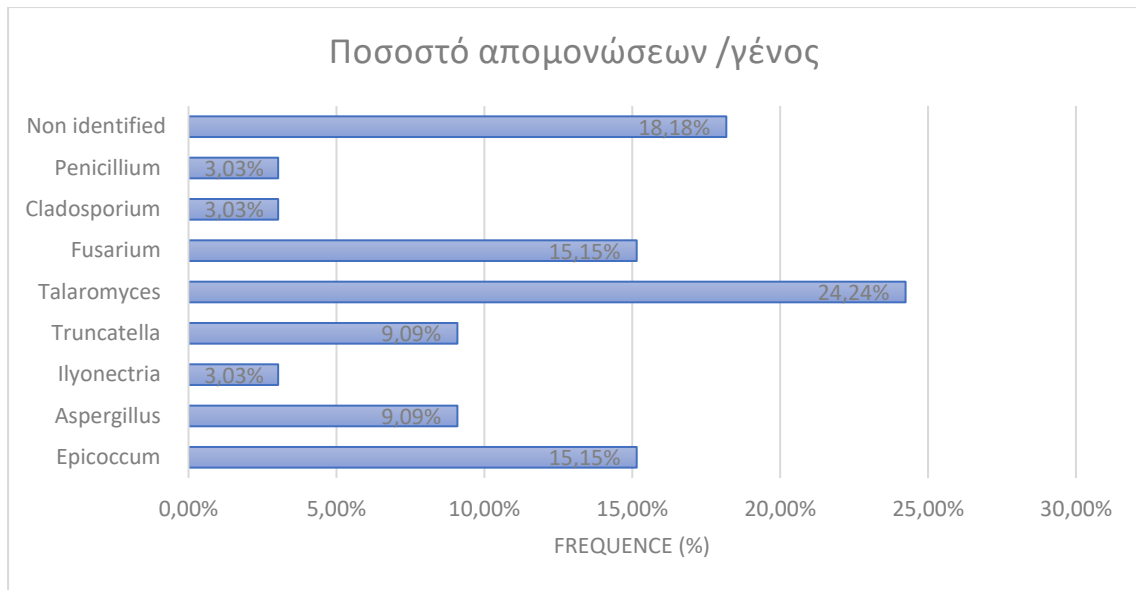




Γράφημα 1 Ποσοστό απομονώσεων στον Πειραματικό Αγρό Α.



Γράφημα 2 Ποσοστό απομονώσεων στον Πειραματικό Αγρό Β.



*Γράφημα 3 Ποσοστό απομονώσεων σε επίπεδο γένους.*

## Συζήτηση

Η εκπόνηση της παρούσας εργασίας επικεντρώθηκε στην αναζήτηση των παθογόνων αιτιών που προσβάλλουν τον κρόκο στην περιοχή του Ν. Κοζάνης. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν δύο πειραματικοί αγροί της περιοχής, με τις τοπωνυμίες Άγιο Πνεύμα και Γήπεδο. Οι πειραματικοί αυτοί αγροί, παρουσίαζαν ποικίλες προσβολές καθ' όλη τους την έκταση, με καχεκτικά και χλωρωτικά φυτά σε διάσπαρτα σημεία. Πιο συγκεκριμένα, ο πειραματικός αγρός Α, στην περιοχή Άγιο Πνεύμα, ο οποίος είχε ξαναφυτευτεί με κρόκο και παρουσίαζε τις περισσότερες προσβολές με μαλακές και ξηρές σήψεις στους μητρικούς κόρμους και καχεκτική, ακανόνιστη ανάπτυξη με νεκρωτικές κηλίδες και χλωρώσεις στους θυγατρικούς κόρμους. Από την άλλη, ο πειραματικός αγρός Β, στην περιοχή Γήπεδο, είχε εμφανή συμπτώματα καχεξίας στα φυτά, με πολλαπλές προσβολές στα φύλλα, τα οποία ήταν μικρά, λεπτά και αδύνατα και έφεραν συμπτώματα χλώρωσης και ξηράνσεων. Επίσης, οι μητρικοί κόρμοι είχαν συμπτώματα ξηρής σήψης, μούμιοποίησης και παρουσίαζαν σημάδια έλκους. Η συλλογή και ανάλυση αυτών των φυτών κατέδειξε τα γένη *Talaromyces*, *Fusarium* και *Epicoccum* ως κύριες αποικίες μυκήτων, ενώ ταυτοποιήθηκαν σε μικρότερο ποσοστό και τα γένη *Aspergillus*, *Truncatella*, *Ilyonectria*, *Cladosporium* και *Penicillium*. Αποτελέσματα που συμφωνούν με προηγούμενα ευρήματα μελετών στην καλλιέργεια του κρόκου (Ahrazem κ.ά., 2010; Belfiori κ.ά., 2021; Cappelli, 1994; Cappelli κ.ά., 1991; Gupta κ.ά., 2021; Hassan M. G. & Devi L. S., 2003; Ren κ.ά., 2023)

Ειδικότερα, τα γένη *Fusarium*, *Penicillium* και *Aspergillus* είναι ευρέως διαδεδομένα στην καλλιέργεια και η παρουσία τους είναι συνυφασμένη με τα παθογόνα αίτια του κρόκου. Σειρά μελετών για την ταυτοποίηση των παθογόνων που προσβάλλουν τον κρόκο έχει καταδείξει την παθογόνο δράση των γενών αυτών και έχει επισημάνει τη παρουσία τους σε σοβαρά προσβεβλημένους αγρούς που συχνά εγκαταλείπονται εξαιτίας της δυσκολίας αντιμετώπισης των παθογόνων αυτών (Cappelli, 1994; Garcia-Jimenez και Alfaro Garcia, 1987; Gupta κ.ά. 2021; Hassan M. G. και Devi L. S., 2003; Mirghasempour κ.ά. 2022; Palmero κ.ά. 2014; Ren κ.ά. 2023; Yamamoto κ.ά. 1954). Μάλιστα, πρόσφατη μυκητολογική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε καλλιέργειες κρόκου στο Μαρόκο, κατέληξε στην ταυτοποίηση και των τριών αυτών γενών ενώ έδειξε ότι το σύμπλεγμα των μυκήτων αυτών ήταν σχεδόν πανομοιότυπο μεταξύ των υπό μελέτη αγρών και περιλάμβανε κυρίως τα είδη

*Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. culmorum*, *F. roseum*, *Fusarium sp.*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, και *Penicillium sp.* (Aymani κ.ά., 2019). Από την άλλη, παρόμοια αποτελέσματα είχαν και οι Belfiori κ.ά. (2021) σε μελέτη τους για τη βιοποικιλότητα των ενδοφυτικών μυκήτων του κρόκου σε δέκα ιταλικές περιοχές. Τα αποτελέσματα των απομονώσεων έδειξαν μεταξύ άλλων παθογόνων, την έντονη παρουσία του *Fusarium oxysporum* ενώ, ταυτοποιήθηκαν και τα ενδοφυτικά γένη *Talaromyces*, και *Epicoccum* σε μεγάλη συχνότητα, όπως παρατηρήθηκε και στην παρούσα μελέτη.

Στην παρούσα μελέτη, μεταξύ των μυκήτων που ταυτοποιήθηκαν, μόνο τα γένη *Fusarium*, *Aspergillus* και *Penicillium* έχουν φυτοπαθογόνο δράση. Μάλιστα, τα είδη αυτά είναι υπεύθυνα για τη σήψη του κόρμου του κρόκου, με το γένος *Fusarium* να αποτελεί κύριο παθογόνο της ασθένειας. Η σήψη του κόρμου που οφείλεται στους ασκομύκητες *Fusarium spp.*, με σημαντικότερο το *Fusarium oxysporum* φέρει συμπτώματα που παρατηρήθηκαν στον αγρό όπως χλωρώσεις των φύλλων και των κόρμων, αγγειακή μάρανση και σήψη των ριζών (Berrocal-Lobo και Molina, 2008). Επιπλέον, είναι συχνή και η παρουσία του *Penicillium* σε κόρμους που έχουν προσβληθεί από είδη *Fusarium*, προκαλώντας τη γνωστή σήψη από μπλε μούχλα και μαζί με το *Fusarium oxysporum* αποτελεί έναν από τους κυριότερους παράγοντες απώλειας της καλλιέργειας (Carpelli κ.ά., 1991). Ακόμη, ο ασκομύκητας *Aspergillus niger* που έχει καταγραφεί παγκοσμίως σε καλλιέργειες κρόκου, ευθύνεται για τη μαύρη μούχλα του κόρμου και όπως οι μύκητες *Fusarium spp.* και *Penicillium spp.* μεταδίδεται μέσω μολυσμένου πολλαπλασιαστικού υλικού ή μέσω του εδάφους και η προσβολή του ξεκινά συνήθως από τη ρίζα και συνεχίζεται κατά την αποθήκευση των κόρμων (Ahrazem κ.ά., 2010; Ebrahimi κ.ά., 2023). Όσον αφορά το *Ilyonectria crassa*, παρά το γεγονός ότι αποτελεί κοινό παθογόνο του εδάφους (Chudinova κ.ά., 2019), δεν έχει αναφερθεί μέχρι σήμερα κάποια προσβολή από τον μύκητα αυτό στην καλλιέργεια του κρόκου.

Σε αντίθεση με τους παθογόνους μύκητες *Fusarium*, *Penicillium* και *Aspergillus*, οι μύκητες που ανήκουν στα γένη *Talaromyces*, *Epicoccum*, *Truncatella*, και *Cladosporium* έχουν χαρακτηριστεί ως ενδοφυτικοί οργανισμοί τόσο του κρόκου όσο και άλλων φυτών, παρουσιάζοντας αντιμυκητιασική δράση (Belfiori κ.ά., 2021, Du κ.ά., 2023, Madhurama κ.ά., 2014). Ειδικότερα, τα *Talaromyces spp.* θεωρούνται τυπικοί ανταγωνιστές και παράσιτα των μυκήτων, με το *T. pinophilus* να είναι αποτελεσματικός παράγοντας περιορισμού του *Botrytis cinera* που ευθύνεται για τη φαιά μούχλα, διεισδύοντας στις υφές του παθογόνου και λύοντας το κυτταρικό του

τοίχωμα (Abdel-Rahim και Abo-Elyousr, 2018). Στον κρόκο, τα *Talaromyces spp.* έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν σημαντικά τη σήψη του κόρμου και προωθούν την ανάπτυξη των φυτών μέσω της παραγωγής δευτερογενών μεταβολιτών και ενζύμων (Du κ.ά., 2023). Ομοίως, το γένος ασκομυκήτων *Epicoccum* που συχνά συνδέεται με το μικροβίωμα των αμπελιών (*Vitis vinifera*) φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενο για τη βιολογική καταπολέμηση των μυκήτων λόγω της ανταγωνιστικής αλληλεπίδρασής του με ορισμένα παθογόνα (Del Frati κ.ά., 2019). Η παρουσία των *Epicoccum spp.* έχει αναφερθεί και σε μελέτες για τους ενδοφυτικούς μικροοργανισμούς του κρόκου, ωστόσο δεν υπάρχει κάποια εμπεριστατωμένη άποψη για τον ρόλο του στις προσβολές του φυτού (Du κ.ά., 2023). Αντίστοιχα, και η παρουσία των γενών *Truncatella* και *Cladosporium* έχει βρεθεί στην ενδοφυτική μικροβιακή κοινότητα του κρόκου, υποδεικνύοντας τον ρόλο τους στην ενίσχυση της άμυνας του φυτού και την προώθηση της ανάπτυξής του, χωρίς όμως να υπάρχουν σαφείς αναφορές (Belfiori κ.ά., 2021).

## Συμπεράσματα

Το εγχείρημα της παρούσας διατριβής να αναγνωριστούν τα παθογόνα αίτια των ασθενειών που απασχολούν την καλλιέργεια του κρόκου στην περιοχή της Κοζάνης κατέληξε στην ταυτοποίηση 14 μυκήτων. Συγκεκριμένα, ταυτοποιήθηκαν τα είδη *Aspergillus niger*, *Cladosporium sp*, *Epicoccum layence*, *E. nigrum*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Fcarvatum*, *Ilyonectria crassa*, *Penicillium tulipae/radicicola*, *Talaromyces minioluteus*, *T. pinophilus*, *T. gaditanus*, *T. brunneus* και *Truncatella angustata*. Από τους προσβεβλημένους κόρμους που συλλέχθηκαν και από τους δύο πειραματικούς αγρούς, το γένος *Talaromyces* εμφανιζόταν σε μεγαλύτερο ποσοστό ακολουθούμενο από τα γένη *Fusarium* και *Epicoccum* και σε μικρότερο ποσοστό τα *Aspergillus* και *Truncatella* ενώ, ταυτοποιήθηκαν σε μεμονωμένα δείγματα και τα γένη *Ilyonectria*, *Cladosporium* και *Penicillium*. Παρόλο που τα παραπάνω παθογόνα απομονώθηκαν από συμπτωματικούς κόρμους, δεν θεωρούνται όλα παθογόνα της καλλιέργειας του κρόκου. Πιο συγκεκριμένα, μόνο τα γένη *Aspergillus*, *Fusarium* και *Penicillium* είναι υπεύθυνα για προσβολές στον κρόκο και αποτελούν σημαντικά παθογόνα της σήψης του κόρμου. Τα υπόλοιπα γένη δεν αποτελούν απειλή για την καλλιέργεια, αντίθετα φαίνεται να έχουν ανταγωνιστική δράση έναντι των παθογόνων μυκήτων και να συμβάλουν στην προώθηση της ανάπτυξης των φυτών. Συνεπώς, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης πέρα από παθογόνους μύκητες κατέδειξαν και ενδοφυτικούς που αποτελούν δυνητικοί ανταγωνιστές των παθογόνων και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε ένα σύστημα ενίσχυσης της φυσικής άμυνας των φυτών.

## Βιβλιογραφία

- Abdel-Rahim, I. R., & Abo-Elyousr, K. A. M. (2018). Talaromyces pinophilus strain AUN-1 as a novel mycoparasite of Botrytis cinerea, the pathogen of onion scape and umbel blights. *Microbiological Research*, 212–213, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.004>
- Abe, T. (1993). . Studies on a new dry rot disease of the bulb of *Crocus sativus* L. caused by *Fusarium bulbigenum* Cke. et. Mass var. *blasticola* (Rostr.) Wr. Trans. *Tottori Soc. Agric. Sci.*, 4, 212–228.
- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., & Shahzad, S. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*, 221, 36–49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
- Agrios N.G. (2005). *Plant Pathology* (Academic Press, Ed.; 5th ed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02037-6>
- Ahmad, M., Sagar, V., Shah, M.-U.-D., Padder, B. A., Ahanger, F. A., Sofi, T. A., Mir, A. A., Nabi, A., Farahanaz, & Khan, M. A. (2018). Management of corm rot of saffron (*Crocus sativus* L.) in Kashmir, India. *Acta Horticulturae*, 1200, 111–114. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1200.18>
- Ahmad, T., Bashir, A., Farooq, S., & Riyaz-Ul-Hassan, S. (2022). *Burkholderia gladioli* E39CS3, an endophyte of *Crocus sativus* Linn., induces host resistance against corm-rot caused by *Fusarium oxysporum*. *Journal of Applied Microbiology*, 132(1), 495–508. <https://doi.org/10.1111/jam.15190>
- Ahrazem, O., Rubio-Moraga, Á., Castillo-López, R., Almudena, •, Mozos, T., & Lourdes Gómez-Gómez, •. (2010). *Crocus sativus* Pathogens and Defence Responses.
- Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6(11), 1720–1731. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>
- Alam, K. M., Yan, Y., Lin, M., Islam, Md. A., Gaber, A., & Hossain, A. (2022). Insight rifampicin-resistant (rpoB) mutation in *Pseudomonas stutzeri* leads to enhance the biosynthesis of secondary metabolites to survive against harsh environments. *Archives of Microbiology*, 204(7), 437. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03064-9>
- Aldon, D., Mbengue, M., Mazars, C., & Galaud, J.-P. (2018). Calcium Signalling in Plant Biotic Interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 665. <https://doi.org/10.3390/ijms19030665>
- Almagro, L., Gómez Ros, L. V., Belchi-Navarro, S., Bru, R., Ros Barceló, A., & Pedreño, M. A. (2009). Class III peroxidases in plant defence reactions. *Journal of Experimental Botany*, 60(2), 377–390. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern277>
- Ambardar, S., & Vakhlu, J. (2013). Plant growth promoting bacteria from *Crocus sativus* rhizosphere. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(12), 2271–2279. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1393-2>
- Andersen, E. J., Ali, S., Byamukama, E., Yen, Y., & Nepal, M. P. (2018). Disease Resistance Mechanisms in Plants. *Genes*, 9(7), 339. <https://doi.org/10.3390/genes9070339>

- Anderson, N. A. (1982). The Genetics and Pathology of *Rhizoctonia Solani*. *Annual Review of Phytopathology*, 20(1), 329–347. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.20.090182.001553>
- Arena, M. P., Capozzi, V., Russo, P., Drider, D., Spano, G., & Fiocco, D. (2018). Correction to: Immunobiosis and probiosis: antimicrobial activity of lactic acid bacteria with a focus on their antiviral and antifungal properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(22), 9871–9871. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9441-3>
- Aymani, I. El, Qostal, S., Mouden, N., Selmaoui, K., Touhami, A. O., Benkirane, R., & Douira, A. (2019). FUNGI ASSOCIATED WITH SAFFRON (*Crocus sativus*) IN MOROCCO. *Original Research Article Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 20(24), 1180–1188.
- Bacete, L., Mérida, H., Miedes, E., & Molina, A. (2018). Plant cell wall-mediated immunity: cell wall changes trigger disease resistance responses. *The Plant Journal*, 93(4), 614–636. <https://doi.org/10.1111/tpj.13807>
- Bary, A. de. (1866). *Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten* /. W. Engelmann., <https://doi.org/10.5962/bhl.title.120970>
- Barzee, T. J., Cao, L., Pan, Z., & Zhang, R. (2021). Fungi for future foods. *Journal of Future Foods*, 1(1), 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2021.09.002>
- Belfiori, B., Rubini, A., & Riccioni, C. (2021). Diversity of Endophytic and Pathogenic Fungi of Saffron (*Crocus sativus*) Plants from Cultivation Sites in Italy. *Diversity*, 13(11), 535. <https://doi.org/10.3390/d13110535>
- Bentham, A. R., De la Concepcion, J. C., Mukhi, N., Zdrzałek, R., Draeger, M., Gorenkin, D., Hughes, R. K., & Banfield, M. J. (2020). A molecular roadmap to the plant immune system. *Journal of Biological Chemistry*, 295(44), 14916–14935. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.010852>
- Bernsdorff, F., Döring, A.-C., Gruner, K., Schuck, S., Bräutigam, A., & Zeier, J. (2016). Pipecolic Acid Orchestrates Plant Systemic Acquired Resistance and Defense Priming via Salicylic Acid-Dependent and -Independent Pathways. *The Plant Cell*, 28(1), 102–129. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00496>
- Berrocal-Lobo, M., & Molina, A. (2008). Arabidopsis defense response against *Fusarium oxysporum*. *Trends in Plant Science*, 13(3), 145–150. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.12.004>
- Boerema, G. H., & Hamers, M. E. C. (1989). Check-list for scientific names of common parasitic fungi. Series 3b: Fungi on bulbs: Amaryllidaceae and Iridaceae. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 95(S3), 1–29. <https://doi.org/10.1007/BF01981520>
- Boerema GH, & van Kesteren HA. (1956). The underground attacks on *Crocus* and *Colchicum* by the rusts *Uromyces croci* and *Uromyces colchici* respectively. . *European Journal of Plant Pathology*, 71, 136–144.
- Boughalleb-M’Hamdi, N., Salem, I. Ben, & M’Hamdi, M. (2018). Evaluation of the efficiency of *Trichoderma*, *Penicillium*, and *Aspergillus* species as biological control agents against four soil-borne fungi of melon and watermelon. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s41938-017-0010-3>



- Buddenhagen, I. (2009). UNDERSTANDING STRAIN DIVERSITY IN FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. CUBENSE AND HISTORY OF INTRODUCTION OF “TROPICAL RACE 4” TO BETTER MANAGE BANANA PRODUCTION. *Acta Horticulturae*, 828, 193–204. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.828.19>
- Busconi, M., Soffritti, G., Stagnati, L., Marocco, A., Marcos Martínez, J., De Los Mozos Pascual, M., & Fernandez, J. A. (2018). Epigenetic stability in Saffron (*Crocus sativus* L.) accessions during four consecutive years of cultivation and vegetative propagation under open field conditions. *Plant Science*, 277, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.09.005>
- Caiola, M. G., & Faoro, F. (2011). Latent virus infections in *Crocus sativus* and *Crocus cartwrightianus*. *Phytopathologia Mediterranea*, 50(2), 175–182.
- Campos, M. L., de Souza, C. M., de Oliveira, K. B. S., Dias, S. C., & Franco, O. L. (2018). The role of antimicrobial peptides in plant immunity. *Journal of Experimental Botany*, 69(21), 4997–5011. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery294>
- Cappelli C. (1994). Occurrence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* on saffron in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 33, 93–94.
- Cappelli, C., Buonauro, R., & Polverari, A. (1991). Occurrence of *Penicillium corymbiferum* on saffron in Italy. *Plant Pathology*, 40(1), 148–149. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1991.tb02304.x>
- CAPPELLI, C., BUONAURIO, R., & POLVERARI, A. (1991). Occurrence of *Penicillium corymbiferum* on saffron in Italy. *Plant Pathology*, 40(1), 148–149. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1991.tb02304.x>
- Cardone, L., Castronuovo, D., Perniola, M., Cicco, N., & Candido, V. (2020). Saffron (*Crocus sativus* L.), the king of spices: An overview. In *Scientia Horticulturae* (Vol. 272). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109560>
- Chen, J. (2000). Occurrence and control of mosaic disease [turnip mosaic virus] in saffron (*Crocus sativus*). *Zhejiang Nongye Kexue*, 3, 132–135.
- Choi YW, Hodgkiss IJ, & Hyde KD. (2005). Enzyme production by endophytes of *Brucea javanica*. *Journal of Agricultural Technology*, 1, 55–56.
- Chudinova, E., Platonov, V., Elansky, S., Alexandrova, A., Kokaeva, L., & Krutyakov, Y. (2019). First report of *Ilyonectria crassa* on potato. *Journal of Plant Pathology*, 101(4), 1293–1294. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00355-x>
- Corpas, F. J., del Río, L. A., & Palma, J. M. (2019). Impact of Nitric Oxide (NO) on the ROS Metabolism of Peroxisomes. *Plants*, 8(2), 37. <https://doi.org/10.3390/plants8020037>
- Couillerot, O., Prigent-Combaret, C., Caballero-Mellado, J., & Moëgne-Loccoz, Y. (2009). *Pseudomonas fluorescens* and closely-related fluorescent pseudomonads as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 48(5), 505–512. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02566.x>
- Daghino, S., Martino, E., & Perotto, S. (2016). Model systems to unravel the molecular mechanisms of heavy metal tolerance in the ericoid mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 26(4), 263–274. <https://doi.org/10.1007/s00572-015-0675-y>
- D’Agostino, N., Pizzichini, D., Chiusano, M. L., & Giuliano, G. (2007). An EST database from saffron stigmas. *BMC Plant Biology*, 7(1), 53. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-7-53>

- de Andrade Lourenço, D., Branco, I., & Choupina, A. (2020). Phytopathogenic oomycetes: a review focusing on *Phytophthora cinnamomi* and biotechnological approaches. *Molecular Biology Reports*, 47(11), 9179–9188. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05911-8>
- de Souza, J. T., Arnould, C., Deulvot, C., Lemanceau, P., Gianinazzi-Pearson, V., & Raaijmakers, J. M. (2003). Effect of 2,4-Diacetylphloroglucinol on *Pythium*: Cellular Responses and Variation in Sensitivity Among Propagules and Species. *Phytopathology*®, 93(8), 966–975. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.8.966>
- Del Frari, G., Cabral, A., Nascimento, T., Boavida Ferreira, R., & Oliveira, H. (2019). *Epicoccum layuense* a potential biological control agent of esca-associated fungi in grapevine. *PLOS ONE*, 14(3), e0213273. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213273>
- del Río, L. A. (2015). ROS and RNS in plant physiology: an overview. *Journal of Experimental Botany*, 66(10), 2827–2837. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv099>
- Di Primo, P., Cappelli, C., & Katan, T. (2002). Vegetative Compatibility Grouping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* from Saffron. *European Journal of Plant Pathology*, 108(9), 869–875. <https://doi.org/10.1023/A:1021204022787>
- Ding, L., Xu, H., Yi, H., Yang, L., Kong, Z., Zhang, L., Xue, S., Jia, H., & Ma, Z. (2011). Resistance to Hemi-Biotrophic *F. graminearum* Infection Is Associated with Coordinated and Ordered Expression of Diverse Defense Signaling Pathways. *PLoS ONE*, 6(4), e19008. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019008>
- Ding, L.-N., Li, Y.-T., Wu, Y.-Z., Li, T., Geng, R., Cao, J., Zhang, W., & Tan, X.-L. (2022). Plant Disease Resistance-Related Signaling Pathways: Recent Progress and Future Prospects. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24), 16200. <https://doi.org/10.3390/ijms232416200>
- Djemouai, N., Meklat, A., Gaceb-Terrak, R., Youcef, K. O. H., Nacer, A., Saadi, S. A., Saad, S., Verheecke-Vaessen, C., & Bouras, N. (2022). *Streptomyces* species from the rhizosphere of the medicinal plant *Artemisia herba-alba* Asso: screening for biological activities. *Biologia*, 77(8), 2281–2299. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01070-2>
- Du, S., Lu, J., Hu, B., Han, T., Kong, Z., Qin, L., & Zhu, B. (2023). Endophytic Fungi Prevent Corm Rot Disease and Stimulate the Growth and Metabolism of *Crocus sativus*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 59(4), 503–510. <https://doi.org/10.1134/S0003683823040038>
- Ebrahimi, E., Hosseini, S. I., Samadlouie, H. R., Mohammadhosseini, B., & Cullen, P. J. (2023). Surface Barrier Discharge Remote Plasma Inactivation of *Aspergillus niger* ATCC 10864 Spores for Packaged *Crocus sativus*. *Food and Bioprocess Technology*, 16(11), 2570–2581. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03083-4>
- Elad, Y. (1980). *Trichoderma harzianum*: A Biocontrol Agent Effective Against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 70(2), 119. <https://doi.org/10.1094/Phyto-70-119>
- Eulgem, T., & Somssich, I. E. (2007). Networks of WRKY transcription factors in defense signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(4), 366–371. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.04.020>

- Fadiji, A. E., & Babalola, O. O. (2020). Elucidating Mechanisms of Endophytes Used in Plant Protection and Other Bioactivities With Multifunctional Prospects. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00467>
- Fang, F. C. (2011). Antimicrobial Actions of Reactive Oxygen Species. *MBio*, 2(5). <https://doi.org/10.1128/mBio.00141-11>
- Fiori Mario, Ligios Virna, & Schiaffino Angela. (2011). Identification and characterization of Burkholderia isolates obtained from bacterial rot of saffron (*Crocus sativus* L.) grown in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 50(3), 450–461.
- Francl, L. J. (1993). Multivariate analysis of selected edaphic factors and their relationship to Heterodera glycines population density. *Journal of Nematology*, 25, 270–276.
- Gallitelli, D. (2000). The ecology of Cucumber mosaic virus and sustainable agriculture. *Virus Research*, 71(1–2), 9–21. [https://doi.org/10.1016/S0168-1702\(00\)00184-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(00)00184-2)
- Gao, M., Xiong, C., Gao, C., Tsui, C. K. M., Wang, M.-M., Zhou, X., Zhang, A.-M., & Cai, L. (2021). Disease-induced changes in plant microbiome assembly and functional adaptation. *Microbiome*, 9(1), 187. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01138-2>
- Garcia, B. A. (2009). Mass Spectrometric Analysis of Histone Variants and Post-translational Modifications. *Frontiers in Bioscience*, 1(1), 142. <https://doi.org/10.2741/e14>
- Garcia-Jimenez, J., & Alfaro Garcia, A. (1987). Fusarium oxysporum Schlecht as causal agent of a seedborne disease of saffron (*Crocus sativus* L.). *7th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, 156.
- Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(2), 109–117. <https://doi.org/10.1139/m95-015>
- Goliaris, A. H. (1999). *Saffron cultivation in Greece. In Saffron Crocus sativus L. Medicinal and Aromatic Plants Industrial profiles*; . Industrial profiles; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, The Netherlands.
- Gomez- Gomez, L. (2004). Plant perception systems for pathogen recognition and defence. *Molecular Immunology*, 41(11), 1055–1062. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2004.06.008>
- Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* Wilt Syndrome. *Annual Review of Phytopathology*, 55(1), 23–39. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095919>
- Grilli Caiola, M. (2004). SAFFRON REPRODUCTIVE BIOLOGY. *Acta Horticulturae*, 650, 25–37. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.650.1>
- Grilli Caiola, M., Caputo, P., & Zanier, R. (2004). RAPD Analysis in *Crocus sativus* L. Accessions and Related *Crocus* Species. *Biologia Plantarum*, 48(3), 375–380. <https://doi.org/10.1023/B:BIOP.0000041089.92559.84>
- Gupta, R., & Vakhlu, J. (2015). Native *Bacillus amyloliquefaciens* W2 as a potential biocontrol for *Fusarium oxysporum* R1 causing corm rot of *Crocus sativus*. *European Journal of Plant Pathology*, 143(1), 123–131. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0670-3>

- Gupta, V., Kumar, K., Fatima, K., Razdan, V. K., Sharma, B. C., Mahajan, V., Rai, P. K., Sharma, A., Gupta, V., Hassan, M. G., & Hussain, R. (2020). Role of Biocontrol Agents in Management of Corm Rot of Saffron Caused by *Fusarium oxysporum*. *Agronomy*, *10*(9), 1398. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091398>
- Gupta, V., Sharma, A., Rai, P. K., Gupta, S. K., Singh, B., Sharma, S. K., Singh, S. K., Hussain, R., Razdan, V. K., Kumar, D., Paswal, S., Pandit, V., & Sharma, R. (2021). Corm Rot of Saffron: Epidemiology and Management. *Agronomy*, *11*(2), 339. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020339>
- Haining MA, Yujuan HUA, Chunyan TU, Lihong YUAN, & Ping WEI. (2013). Analysis of monosaccharides in the saffron corm glycoconjugate by capillary electrophoresis. *Chinese Journal of Chromatography*, *30*(3), 304–308. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1123.2011.11015>
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. (2015). The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *79*(3), 293–320. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14>
- Harpke, D., Meng, S., Rutten, T., Kerndorff, H., & Blattner, F. R. (2013). Phylogeny of *Crocus* (Iridaceae) based on one chloroplast and two nuclear loci: Ancient hybridization and chromosome number evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *66*(3), 617–627. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.10.007>
- Hartmann, A., Schmid, M., Tuinen, D. van, & Berg, G. (2009). Plant-driven selection of microbes. *Plant and Soil*, *321*(1–2), 235–257. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9814-y>
- Hassan M. G., & Devi L. S. (2003). Corm rot diseases of saffron in Kashmir valley. *Indian Phytopathology*, *56*(1), 122.
- Hassine, M., Aydi-Ben-Abdallah, R., Jabnoun-Khireddine, H., & Daami-Remadi, M. (2022). Soil-borne and compost-borne *Penicillium* sp. and *Gliocladium* spp. as potential microbial biocontrol agents for the suppression of anthracnose-induced decay on tomato fruits. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *32*(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00519-5>
- Hennebert GL. (1973). *Botrytis and Botrytis-like genera* (Persoonia 7, Ed.).
- Hinsinger, P., Bengough, A. G., Vetterlein, D., & Young, I. M. (2009). Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant and Soil*, *321*(1–2), 117–152. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9885-9>
- Hosseinzadeh, H., & Younesi, H. M. (2002). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacology*, *2*(1), 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2210-2-7>
- Hou, S., Thiergart, T., Vannier, N., Mesny, F., Ziegler, J., Pickel, B., & Hacquard, S. (2021). A microbiota–root–shoot circuit favours *Arabidopsis* growth over defence under suboptimal light. *Nature Plants*, *7*(8), 1078–1092. <https://doi.org/10.1038/s41477-021-00956-4>
- Hu, S., Wang, X., Sun, W., Wang, L., & Li, W. (2021a). In Vitro Study of Biocontrol Potential of Rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* against Pathogenic Fungi of Saffron (*Crocus sativus* L.). *Pathogens*, *10*(11), 1423. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111423>

- Hu, S., Wang, X. X., Sun, W. J., Wang, L. L., & Li, W. K. (2021b). Investigation on main disease types of *Crocus sativus* in Chongming. *Chin. Soc. Plant Patho*, 1, 148–178.
- Huang, P.-Y., Catinot, J., & Zimmerli, L. (2016). Ethylene response factors in *Arabidopsis* immunity. *Journal of Experimental Botany*, 67(5), 1231–1241. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv518>
- Hull R. (2002). *Matthews' Plant Virology*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-361160-4.X5050-6>
- Hultberg, M., Bengtsson, T., & Liljeroth, E. (2010). Late blight on potato is suppressed by the biosurfactant-producing strain *Pseudomonas koreensis* 2.74 and its biosurfactant. *BioControl*, 55(4), 543–550. <https://doi.org/10.1007/s10526-010-9289-7>
- Husaini, A. M. (2014). Challenges of climate change: omics-based biology of saffron plants and organic agricultural biotechnology for sustainable saffron production. In *GM crops & food* (Vol. 5, Issue 2, pp. 97–105). <https://doi.org/10.4161/gmcr.29436>
- Hussain Dar, M., Razvi, S. M., Singh, N., Dar, M. H., Groach, R., Razvi, S. M., & Singh, N. (2017). Saffron Crop (Golden Crop) in Modern Sustainable Agricultural Systems. *SJ Impact Factor:6*, 887. [www.ijraset.com](http://www.ijraset.com)247
- Idris, H. A., Labuschagne, N., & Korsten, L. (2007). Screening rhizobacteria for biological control of *Fusarium* root and crown rot of sorghum in Ethiopia. *Biological Control*, 40(1), 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.07.017>
- JELÍNEK, L., DOLEČKOVÁ, M., KARABÍN, M., HUDCOVÁ, T., KOTLÍKOVÁ, B., & DOSTÁLEK, P. (2012). Influence of growing area, plant age, and virus infection on the contents of hop secondary metabolites. *Czech Journal of Food Sciences*, 30(6), 541–547. <https://doi.org/10.17221/50/2012-CJFS>
- Johansen, A., & Olsson, S. (2005). Using Phospholipid Fatty Acid Technique to Study Short-Term Effects of the Biological Control Agent *Pseudomonas fluorescens* DR54 on the Microbial Microbiota in Barley Rhizosphere. *Microbial Ecology*, 49(2), 272–281. <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0135-2>
- Jones, F. G. W., & Perry, J. N. (1978). Modelling Populations of Cyst-Nematodes (Nematoda: Heteroderidae). *The Journal of Applied Ecology*, 15(2), 349. <https://doi.org/10.2307/2402596>
- Jones, R. A. C. (2018). *Plant and Insect Viruses in Managed and Natural Environments: Novel and Neglected Transmission Pathways* (pp. 149–187). <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.02.006>
- Kalha, C. S., Gupta, V., Gupta, D., & Priya, S. (2007). First Report of Sclerotial Rot of Saffron Caused by *Sclerotium rolfsii* in India. *Plant Disease*, 91(9), 1203–1203. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-9-1203B>
- Katariya Dhirajkumar Champalal. (2011). Detailed profile of *Crocus sativus*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1), 530–540.
- Keshavarz-Tohid, V., Taheri, P., Taghavi, S. M., & Tarighi, S. (2016). The role of nitric oxide in basal and induced resistance in relation with hydrogen peroxide and antioxidant enzymes. *Journal of Plant Physiology*, 199, 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.05.005>

- KEYHANI, E., GHAMSARI, L., KEYHANI, J., & HADIZADEH, M. (2006). Antioxidant Enzymes during Hypoxia–Anoxia Signaling Events in *Crocus sativus* L. Corm. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1091(1), 65–75. <https://doi.org/10.1196/annals.1378.055>
- Khan, A. G. (2005). Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(4), 355–364. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.02.006>
- Kim, Y. S., An, C., Park, S., Gilmour, S. J., Wang, L., Renna, L., Brandizzi, F., Grumet, R., & Thomashow, M. F. (2017). CAMTA-Mediated Regulation of Salicylic Acid Immunity Pathway Genes in Arabidopsis Exposed to Low Temperature and Pathogen Infection. *The Plant Cell*, 29(10), 2465–2477. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00865>
- Kollist, H., Zandalinas, S. I., Sengupta, S., Nuhkat, M., Kangasjärvi, J., & Mittler, R. (2019). Rapid Responses to Abiotic Stress: Priming the Landscape for the Signal Transduction Network. *Trends in Plant Science*, 24(1), 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.10.003>
- Kolupaev, Yu. E., & Karpets, Yu. V. (2014). Reactive oxygen species and stress signaling in plants. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 86(4), 18–35. <https://doi.org/10.15407/ubj86.04.018>
- Kothari, D., Thakur, R., & Kumar, R. (2021). Saffron (*Crocus sativus* L.): gold of the spices—a comprehensive review. In *Horticulture Environment and Biotechnology* (Vol. 62, Issue 5, pp. 661–677). Korean Society for Horticultural Science. <https://doi.org/10.1007/s13580-021-00349-8>
- Kour, R., Ambardar, S., & Vakhlu, J. (2018). Plant growth promoting bacteria associated with corm of *Crocus sativus* during three growth stages. *Letters in Applied Microbiology*, 67(5), 458–464. <https://doi.org/10.1111/lam.13042>
- Kumar, R., Singh, V., Devi, K., Sharma, M., Singh, M. K., & Ahuja, P. S. (2008). State of Art of Saffron (*Crocus sativus* L.) Agronomy: A Comprehensive Review. *Food Reviews International*, 25(1), 44–85. <https://doi.org/10.1080/87559120802458503>
- Latijnhouwers, M., de Wit, P. J. G. M., & Govers, F. (2003). Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants. *Trends in Microbiology*, 11(10), 462–469. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2003.08.002>
- Leone, S., Recinella, L., Chiavaroli, A., Orlando, G., Ferrante, C., Leporini, L., Brunetti, L., & Menghini, L. (2018). Phytotherapeutic use of the *Crocus sativus* L. (Saffron) and its potential applications: A brief overview. In *Phytotherapy Research* (Vol. 32, Issue 12, pp. 2364–2375). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/ptr.6181>
- Leong, J. (1986). Siderophores: Their Biochemistry and Possible Role in the Biocontrol of Plant Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 24(1), 187–209. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.24.090186.001155>
- Li, Y., Guo, Q., Wei, X., Xue, Q., & Lai, H. (2019). Biocontrol effects of *Penicillium griseofulvum* against monkshood (*Aconitum carmichaelii* Debx.) root diseases caused by *Sclerotium rolfsii* and *Fusarium* spp. *Journal of Applied Microbiology*, 127(5), 1532–1545. <https://doi.org/10.1111/jam.14382>

- Liu, H., Carvalhais, L. C., Crawford, M., Singh, E., Dennis, P. G., Pieterse, C. M. J., & Schenk, P. M. (2017). Inner Plant Values: Diversity, Colonization and Benefits from Endophytic Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02552>
- Lucy, M., Reed, E., & R. Glick, B. (2004). Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86(1), 1–25. <https://doi.org/10.1023/B:ANTO.0000024903.10757.6e>
- Madan M, & Thind, K. S. (1966). *Physiology of fungi* (A.P.H. Publishing Corporation, Ed.). S. B. Nangia.
- Madhurama, G., Sonam, D., Urmil, P. G., & Ravindra, N. K. (2014). Diversity and biopotential of endophytic actinomycetes from three medicinal plants in India. *African Journal of Microbiology Research*, 8(2), 184–191. <https://doi.org/10.5897/AJMR2012.2452>
- Martin, F. N., & Loper, J. E. (1999). Soilborne Plant Diseases Caused by *Pythium* spp.: Ecology, Epidemiology, and Prospects for Biological Control. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 18(2), 111–181. <https://doi.org/10.1080/07352689991309216>
- Mateille, T., Tavoillot, J., Martiny, B., & Fargette, M. (2014). Importance of soil characteristics for plant-parasitic nematode communities in European coastal foredunes. *European Journal of Soil Biology*, 64, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2014.08.002>
- Melakeberhan, H. (2004). Physiological interactions between nematodes and their host plants. In *Nematology: advances and perspectives. Volume 2: Nematode management and utilization* (pp. 771–794). CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/9780851996462.0771>
- Mendgen, K., & Hahn, M. (2002). Plant infection and the establishment of fungal biotrophy. *Trends in Plant Science*, 7(8), 352–356. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02297-5](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02297-5)
- Menia, M., Sadaf Iqbal, I., Zahida, I. R., Tahir, I. S., Kanth, I. R., Aashq Hussian, I., Iqbal, S., & Hussian, A. (2018). Production technology of saffron for enhancing productivity. ~ 1033 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1).
- Metcalf Haven. (2010). *Cultural Studies Of A Nematode Associated With Plant Decay (1903)*. Kessinger Publishing, LLC .
- Miglino, R., Jodlowska, A., & van Schadewijk, A. R. (2005). First Report of *Narcissus mosaic virus* Infecting *Crocus* spp. Cultivars in the Netherlands. *Plant Disease*, 89(3), 342–342. <https://doi.org/10.1094/PD-89-0342C>
- Mirghasempour, S. A., Studholme, D. J., Chen, W., Cui, D., & Mao, B. (2022). Identification and Characterization of *Fusarium nirenbergiae* Associated with Saffron Corm Rot Disease. *Plant Disease*, 106(2), 486–495. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-21-0871-RE>
- Mokrini, F., Laasli, S.-E., Karra, Y., El Aissami, A., & Dababat, A. A. (2019). Diversity and incidence of plant-parasitic nematodes associated with saffron (*Crocus sativus* L.) in Morocco and their relationship with soil physicochemical properties. *Nematology*, 22(1), 87–102. <https://doi.org/10.1163/15685411-00003286>
- Mollafilabi, A., Sci, K., & Park, T. (n.d.). *Experimental Findings of Production and Echo Physiological Aspects of Saffron (Crocus sativus L.)*.

- Mzabri, I., Addi, M., & Berrichi, A. (2019). Traditional and modern uses of saffron (*Crocus sativus*). In *Cosmetics* (Vol. 6, Issue 4, pp. 1–11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/COSMETICS6040063>
- Mzabri, I., Charif, K., Rimani, M., Kouddane, N., Boukroute, A., & Berrichi, A. (2021). History, biology, and culture of *Crocus sativus*: Overview and perspectives. *Arabian Journal of Chemical and Environmental Research*, *08*, 1–28. [www.mocedes.org](http://www.mocedes.org).
- Nault, L. R. (1997). Arthropod Transmission of Plant Viruses: a New Synthesis. *Annals of the Entomological Society of America*, *90*(5), 521–541. <https://doi.org/10.1093/aesa/90.5.521>
- Negbi Mosche. (1999). *Saffron* (M. Negbi, Ed.; 1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203303665>
- Nehvi, F. A., Iqbal, A. M., Sameer, S. S., Naseer, S., Nagoo, S. A., Manzar, A., & Allaie, B. A. (2018). Integrated capsule for enhancing saffron productivity. *Acta Horticulturae*, *1200*, 95–100. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1200.15>
- Nemati, Z., Harpke, D., Gemicioglu, A., Kerndorff, H., & Blattner, F. R. (2019). Saffron (*Crocus sativus*) is an autotriploid that evolved in Attica (Greece) from wild *Crocus cartwrightianus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *136*, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.03.022>
- Nicholson, R. L., & Hammerschmidt, R. (1992). Phenolic Compounds and Their Role in Disease Resistance. *Annual Review of Phytopathology*, *30*(1), 369–389. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.30.090192.002101>
- Nielsen, U. N., Ayres, E., Wall, D. H., Li, G., Bardgett, R. D., Wu, T., & Garey, J. R. (2014). Global-scale patterns of assemblage structure of soil nematodes in relation to climate and ecosystem properties. *Global Ecology and Biogeography*, *23*(9), 968–978. <https://doi.org/10.1111/geb.12177>
- Norton DC. (1978). *Ecology of plant parasitic nematodes*. (N. Y. John Wiley Inter Science and Sons, Ed.).
- Ochoa Corona, F. M., Lebas, B. S. M., Elliott, D. R., Tang, J. Z., & Alexander, B. J. R. (2007). New host records and new host family range for *Turnip mosaic virus* in New Zealand. *Australasian Plant Disease Notes*, *2*(1), 127. <https://doi.org/10.1071/DN07051>
- OEC. (2023). *Saffron exports 2021*.
- Ordoudi, S. A., & Tsimidou, M. Z. (2006). Saffron Quality: Effect of Agricultural Practices, Processing and Storage. In *Production Practices and Quality Assessment of Food Crops Volume 1* (pp. 209–260). Kluwer Academic Publishers. [https://doi.org/10.1007/1-4020-2533-5\\_8](https://doi.org/10.1007/1-4020-2533-5_8)
- Ortuño N., & Oros R. (2002). Nematodos que atacan cultivos ornamentales. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)*, *66*, 76–81.
- OS, G. J. VAN, GULIK, W. J. M. VAN, & BOER, W. J. DE. (1998). Disease development of *Pythium* root rot in bulbous *Iris* and *Crocus*. *Annals of Applied Biology*, *132*(2), 227–238. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1998.tb05199.x>
- Osborn, A. (1996). Saponins and plant defence — a soap story. *Trends in Plant Science*, *1*(1), 4–9. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(96\)80016-1](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(96)80016-1)



- Overmyer, K., Vuorinen, K., & Brosché, M. (2018). Interaction points in plant stress signaling pathways. *Physiologia Plantarum*, *162*(2), 191–204. <https://doi.org/10.1111/ppl.12639>
- Palmero, D., Rubio-Moraga, A., Galvez-Patón, L., Nogueras, J., Abato, C., Gómez-Gómez, L., & Ahrazem, O. (2014). Pathogenicity and genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from corms of *Crocus sativus*. *Industrial Crops and Products*, *61*, 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.051>
- Pandey, S. P., & Somssich, I. E. (2009). The Role of WRKY Transcription Factors in Plant Immunity. *Plant Physiology*, *150*(4), 1648–1655. <https://doi.org/10.1104/pp.109.138990>
- Parizad, S., Dizadji, A., Habibi, M. K., Winter, S., Kalantari, S., Movi, S., Lorenzo Tendero, C., Alonso, G. L., & Moratalla-Lopez, N. (2019). The effects of geographical origin and virus infection on the saffron (*Crocus sativus* L.) quality. *Food Chemistry*, *295*, 387–394. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.116>
- Perfect, S. E., & Green, J. R. (2001). Infection structures of biotrophic and hemibiotrophic fungal plant pathogens. *Molecular Plant Pathology*, *2*(2), 101–108. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2001.00055.x>
- Pintado, C., de Miguel, A., Acevedo, O., Nozal, L., Novella, J. L., & Rotger, R. (2011). Bactericidal effect of saffron (*Crocus sativus* L.) on *Salmonella enterica* during storage. *Food Control*, *22*(3–4), 638–642. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.031>
- Preston, G. M. (2004). Plant perceptions of plant growth-promoting *Pseudomonas*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *359*(1446), 907–918. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1384>
- Ramakrishna, A., & Ravishankar, G. A. (2013). Role of Plant Metabolites in Abiotic Stress Tolerance Under Changing Climatic Conditions with Special Reference to Secondary Compounds. In *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance* (pp. 705–726). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9783527675265.ch26>
- Rasool, A., Imran Mir, M., Zulfajri, M., Hanafiah, M. M., Azeem Unnisa, S., & Mahboob, M. (2021). Plant growth promoting and antifungal asset of indigenous rhizobacteria secluded from saffron (*Crocus sativus* L.) rhizosphere. *Microbial Pathogenesis*, *150*, 104734. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104734>
- Ren, H., Zhao, X., Li, W., Hussain, J., Qi, G., & Liu, S. (2021). Calcium Signaling in Plant Programmed Cell Death. *Cells*, *10*(5), 1089. <https://doi.org/10.3390/cells10051089>
- Ren, T., Dai, D., Yu, M., Li, T., & Zhang, C. (2023a). Identification and characterization of pathogens causing saffron corm rot in China. *Frontiers in Microbiology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1188376>
- Ren, T., Dai, D., Yu, M., Li, T., & Zhang, C. (2023b). Identification and characterization of pathogens causing saffron corm rot in China. *Frontiers in Microbiology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1188376>
- Rezvani-Moghaddam, P. (2020). Ecophysiology of saffron. In *Saffron: Science, Technology and Health* (pp. 119–137). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818638-1.00008-3>

- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., & Dowling, D. N. (2008). Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiology Letters*, 278(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00918.x>
- Sampathu, S. R., Shivashankar, S., Lewis, Y. S., & Wood, A. B. (1984). Saffron (*Crocus Sativus* Linn.) — Cultivation, processing, chemistry and standardization. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 20(2), 123–157. <https://doi.org/10.1080/10408398409527386>
- Schenk, P. K. (1970). Root rot in crocus. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 76(3), 159–164. <https://doi.org/10.1007/BF01974324>
- Schreiber, K. J., Chau-Ly, I. J., & Lewis, J. D. (2021). What the Wild Things Do: Mechanisms of Plant Host Manipulation by Bacterial Type III-Secreted Effector Proteins. *Microorganisms*, 9(5), 1029. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051029>
- Selim, M. S. M., Abdelhamid, S. A., & Mohamed, S. S. (2021). Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00156-9>
- Sels, J., Mathys, J., De Coninck, B. M. A., Cammue, B. P. A., & De Bolle, M. F. C. (2008). Plant pathogenesis-related (PR) proteins: A focus on PR peptides. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(11), 941–950. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.06.011>
- Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z., & Ercisli, S. (2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(1), 102–106.
- Shah, A., & Srivastava, K. K. (1984). Control of corm rot of saffron. *Progressive Horticulture*, 16.
- Shanmugam, V., Kanoujia, N., Singh, M., Singh, S., & Prasad, R. (2011). Biocontrol of vascular wilt and corm rot of gladiolus caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* using plant growth promoting rhizobacterial mixture. *Crop Protection*, 30(7), 807–813. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.02.033>
- Sharma, T., Kaul, S., & Dhar, M. K. (2015). Diversity of culturable bacterial endophytes of saffron in Kashmir, India. *SpringerPlus*, 4(1), 661. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1435-3>
- Sheikh JH, Chishti MZ, Rasheed M, Tak IUR, & Dar SA. (2014). Occurrence of *Helicotylenchus chisti* sp. n. (order= Tylenchida) on *Crocus sativus* (Safron) and its generic buildup analysis and a note on its possible management strategy. *J Zool Biosci Res*, 1(3), 10–14.
- Shine, A. M., Shakya, V. P., & Idnurm, A. (2015). Phytochelatin synthase is required for tolerating metal toxicity in a basidiomycete yeast and is a conserved factor involved in metal homeostasis in fungi. *Fungal Biology and Biotechnology*, 2(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s40694-015-0013-3>
- Shokrpour, M. (2019). Saffron (*Crocus sativus* L.) Breeding: Opportunities and Challenges. In *Advances in Plant Breeding Strategies: Industrial and Food Crops* (pp. 675–706). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-23265-8\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-030-23265-8_17)
- Sijmons, P. C., Atkinson, H. J., & Wyss, U. (1994). PARASITIC STRATEGIES OF ROOT NEMATODES AND ASSOCIATED HOST CELL RESPONSES. *Annual*

- Review of Phytopathology*, 32(1), 235–259.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.py.32.090194.001315>
- Slesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S., & Miszalski, Z. (2007). The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. *Acta Biochimica Polonica*, 54(1), 39–50.
- Söderberg, K. H., Probanza, A., Jumpponen, A., & Bååth, E. (2004). The microbial community in the rhizosphere determined by community-level physiological profiles (CLPP) and direct soil- and cfu-PLFA techniques. *Applied Soil Ecology*, 25(2), 135–145. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2003.08.005>
- Srivastava, R., Ahmed, H., Dixit, R., Dharamveer, & Saraf, S. (2010). Crocus sativus L.: A comprehensive review. In *Pharmacognosy Reviews* (Vol. 4, Issue 8, pp. 200–208). <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70919>
- Stover, R. H., & Waite, B. H. (1960). STUDIES ON FUSARIUM WILT OF BANANAS: V. PATHOGENICITY AND DISTRIBUTION OF F. OXYSPORUM f. CUBENSE RACES 1 AND 2. *Canadian Journal of Botany*, 38(1), 51–61. <https://doi.org/10.1139/b60-005>
- Sutton, M. W., & Wale, S. J. (1985). The control of *Penicillium corymbiferum* on crocus and its effect on corm production. *Plant Pathology*, 34(4), 566–570. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1985.tb01408.x>
- Swain, D. M., Yadav, S. K., Tyagi, I., Kumar, R., Kumar, R., Ghosh, S., Das, J., & Jha, G. (2017). A prophage tail-like protein is deployed by Burkholderia bacteria to feed on fungi. *Nature Communications*, 8(1), 404. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00529-0>
- Tavoosi, M., Moradi, Z., & Mehrvar, M. (2022). First report of Turnip mosaic virus infecting saffron in Iran. *VirusDisease*, 33(4), 489–491. <https://doi.org/10.1007/s13337-022-00798-4>
- Theis, T., & Stahl, U. (2004). Antifungal proteins: targets, mechanisms and prospective applications. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*, 61(4), 437–455. <https://doi.org/10.1007/s00018-003-3231-4>
- Tian, L., Hu, S., Wang, X., Guo, Y., Huang, L., Wang, L., & Li, W. (2022). Antagonism of Rhizosphere Streptomyces yangpuensis CM253 against the Pathogenic Fungi Causing Corm Rot in Saffron (Crocus sativus L.). *Pathogens*, 11(10), 1195. <https://doi.org/10.3390/pathogens11101195>
- Tian, W., Hou, C., Ren, Z., Wang, C., Zhao, F., Dahlbeck, D., Hu, S., Zhang, L., Niu, Q., Li, L., Staskawicz, B. J., & Luan, S. (2019). A calmodulin-gated calcium channel links pathogen patterns to plant immunity. *Nature*, 572(7767), 131–135. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1413-y>
- Torrini, G., Strangi, A., Simoncini, S., Luppino, M., Roversi, P. F., & Marianelli, L. (2020). First report of *Bursaphelenchus fungivorus* (Nematoda: Aphelenchida) in Italy and an overview of nematodes associated with *Crocus sativus* L. *Journal of Nematology*, 52(1), 1–11. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2020-023>
- Tsuda, K., Sato, M., Glazebrook, J., Cohen, J. D., & Katagiri, F. (2008). Interplay between MAMP-triggered and SA-mediated defense responses. *The Plant Journal*, 53(5), 763–775. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03369.x>

- van Kan, J. A. L. (2006). Licensed to kill: the lifestyle of a necrotrophic plant pathogen. *Trends in Plant Science*, *11*(5), 247–253. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.03.005>
- Van Regenmortel, M. H. V. (1990). Virus Species, a Much Overlooked but Essential Concept in Virus Classification. *Intervirology*, *31*(5), 241–254. <https://doi.org/10.1159/000150159>
- Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D., & Stefani, E. (2018). Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of *Streptomyces* spp. as Endophytes. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(4), 952. <https://doi.org/10.3390/ijms19040952>
- Wasternack, C., & Song, S. (2016). Jasmonates: biosynthesis, metabolism, and signaling by proteins activating and repressing transcription. *Journal of Experimental Botany*, erw443. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw443>
- Woolhouse, M. E. J., Webster, J. P., Domingo, E., Charlesworth, B., & Levin, B. R. (2002). Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nature Genetics*, *32*(4), 569–577. <https://doi.org/10.1038/ng1202-569>
- Xianfeng Ren, Zhang, Q., Zhang, W., Mao, J., & Li, P. (2020). Control of Aflatoxigenic Molds by Antagonistic Microorganisms: Inhibitory Behaviors, Bioactive Compounds, Related Mechanisms, and Influencing Factors. *Toxins*, *12*(1), 24. <https://doi.org/10.3390/toxins12010024>
- Yadav, P., Yadav, K., Mishra, A., & Singh, K. (2024). An assessment and analysis of diseases of economically important plant members of family Iridaceae. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *131*(2), 329–346. <https://doi.org/10.1007/s41348-023-00836-3>
- Yamamoto, W., Omatsu, T., & Takami, K. (1954). Studies on the corm rots of *Crocus sativus* L. I. On the saprophytic propagation of *Sclerotinia gladioli* and *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* on various plants and soils. *Scientific Reports Hyogo University of Agriculture*, *1*, 64–70.
- Yoshioka, H., Bouteau, F., & Kawano, T. (2008). Discovery of oxidative burst in the field of plant immunity. *Plant Signaling & Behavior*, *3*(3), 153–155. <https://doi.org/10.4161/psb.3.3.5537>
- Yu, M., Lamattina, L., Spoel, S. H., & Loake, G. J. (2014). Nitric oxide function in plant biology: a redox cue in deconvolution. *New Phytologist*, *202*(4), 1142–1156. <https://doi.org/10.1111/nph.12739>
- Zacchino, S. A., Butassi, E., Liberto, M. Di, Raimondi, M., Postigo, A., & Sortino, M. (2017). Plant phenolics and terpenoids as adjuvants of antibacterial and antifungal drugs. *Phytomedicine*, *37*, 27–48. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2017.10.018>
- Zerihun, T., Birhanu, G., Genene, T., Adey, F., & Solomon, C. (2019). Isolation and biochemical characterization of Plant Growth Promoting (PGP) bacteria colonizing the rhizosphere of Tef crop during the seedling stage. *Journal of Plant Science and Phytopathology*, *3*(1), 013–027. <https://doi.org/10.29328/journal.jpssp.1001027>
- Zhang, J., Lu, J., Zhu, Y., Huang, Q., Qin, L., & Zhu, B. (2022). Rhizosphere microorganisms of *Crocus sativus* as antagonists against pathogenic *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in Plant Science*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1045147>

- Zhu, X., Mazard, J., Robe, E., Pignoly, S., Aguilar, M., San Clemente, H. S., Lauber, E., Berthomé, R., & Galaud, J.-P. (2021). The Same against Many: AtCML8, a Ca<sup>2+</sup> Sensor Acting as a Positive Regulator of Defense Responses against Several Plant Pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), 10469. <https://doi.org/10.3390/ijms221910469>
- Zhu, X., Robe, E., Jomat, L., Aldon, D., Mazars, C., & Galaud, J.-P. (2016). CML8, an Arabidopsis Calmodulin-Like Protein, Plays a Role in *Pseudomonas syringae* Plant Immunity. *Plant and Cell Physiology*, pcw189. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw189>