

Εργαστηριακές Ασκήσεις Γενικής Φυτοπαθολογίας
5ο Εξάμηνο

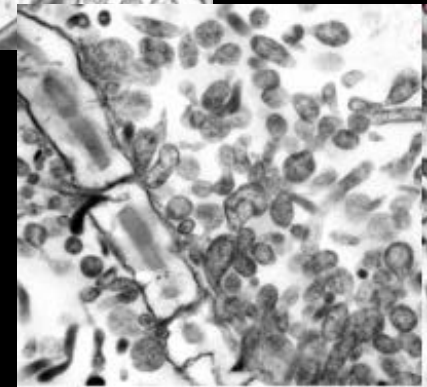
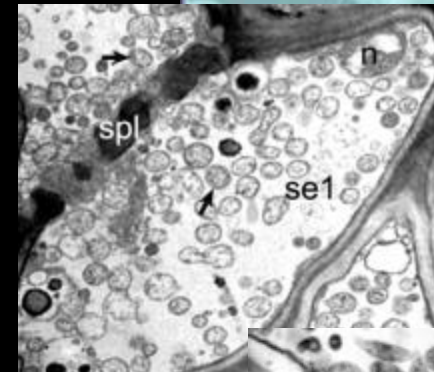
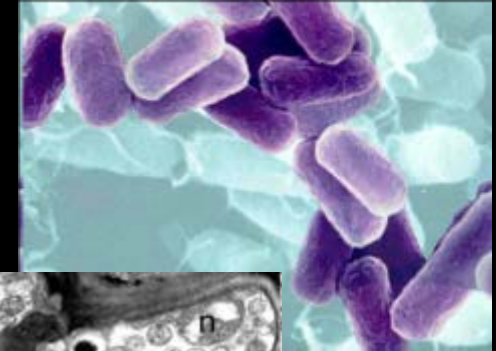
ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΑ ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής
Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας

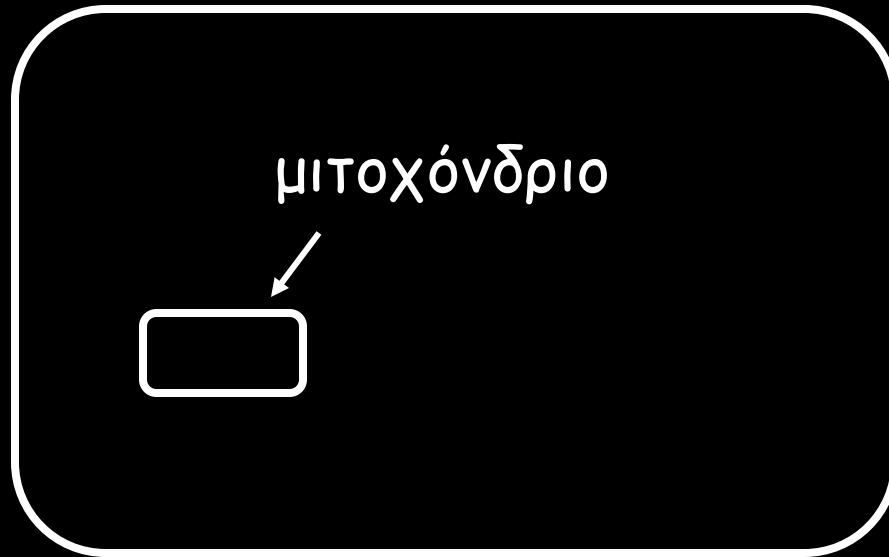
Προκαρυωτικός Οργανισμός

Μονοκύτταρος
μικροοργανισμός που:

- φέρει πρωτοπλασματική μεμβράνη
- δεν έχει οργανωμένο πυρήνα και πυρηνική μεμβράνη
- διαθέτει ένα γιγαντιαίο χρωμόσωμα, το πυρηνοειδές
- δεν έχει κυτταρικά οργανίδια όπως μιτοχόνδρια και ενδοπλασματικό δίκτυο



Μέγεθος



Ευκαρυωτικό κύτταρο



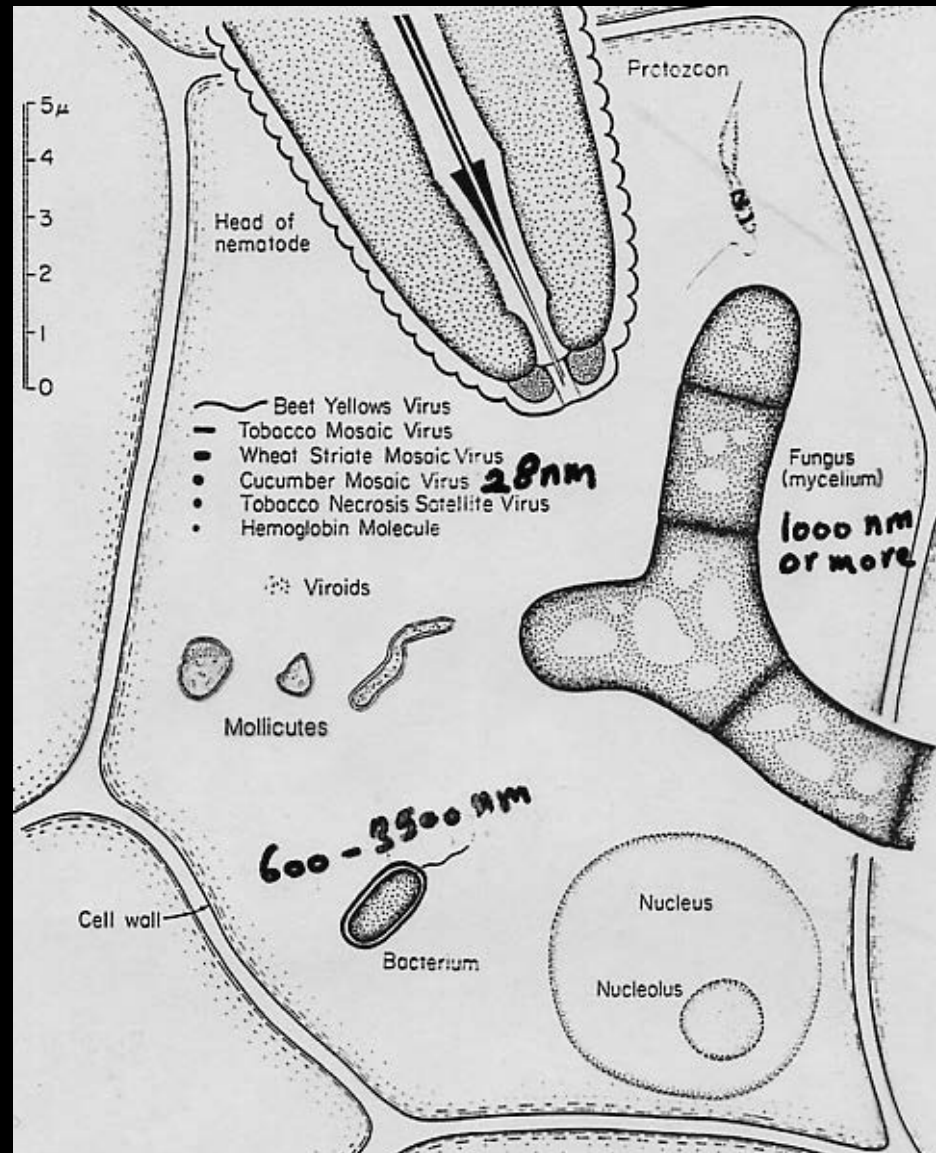
Προκαρυωτικό κύτταρο

Βακτήρια: 600-3500 nm

1 μέτρο = 1000 χιλ.

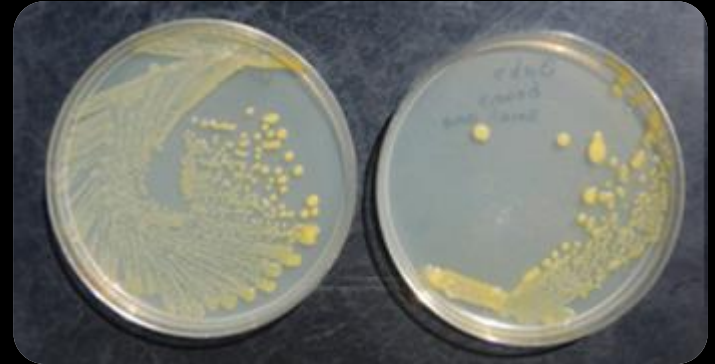
1 χιλ. = 1000 μm

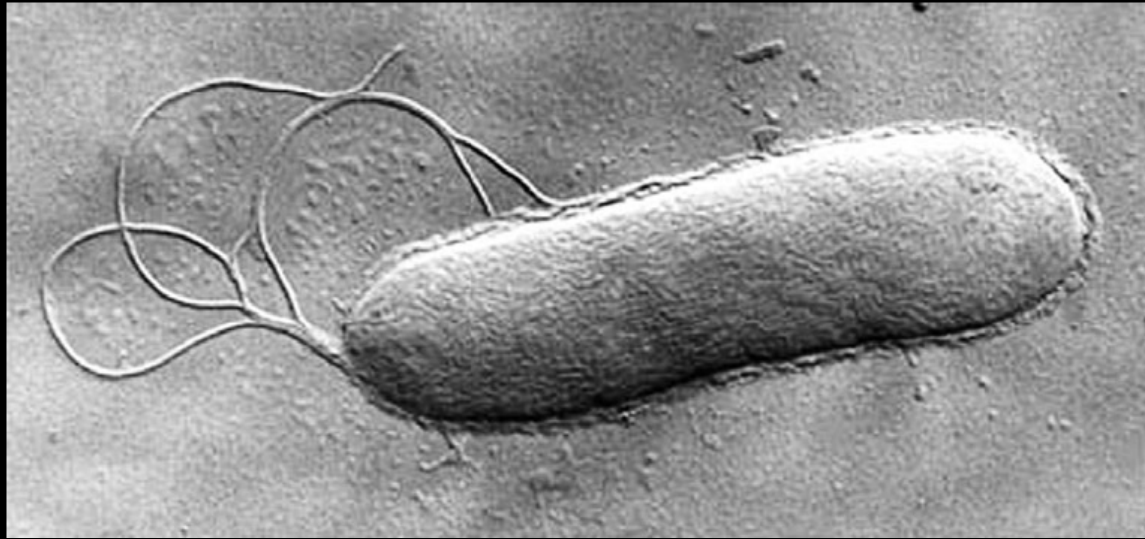
1 μm = 1000 nm



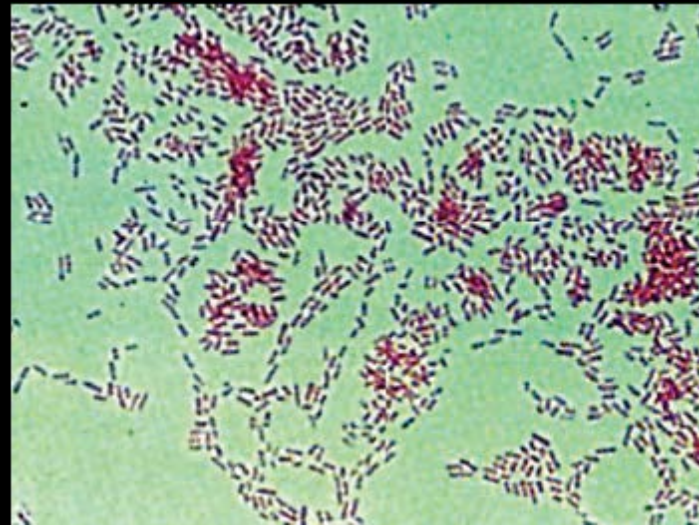
Φυτοπαθογόνα βακτήρια

- Ανήκουν στο βασίλειο των Προκαρυωτικών
- Περιβάλλονται από **κυτταρικό τοίχωμα**
- Τα περισσότερα έχουν αυτόνομη κίνηση με **μαστίγια**.
- Πολλαπλασιάζονται με διαίρεση
- Τα κυτταρικά τοιχώματά τους περιέχουν μουρεΐνη (πεπτιδογλυκάνες) και όχι χιτίνη ή κυτταρίνη.
- Οι κυτταρικές τους μεμβράνες δεν έχουν στερόλες.





X 100.000



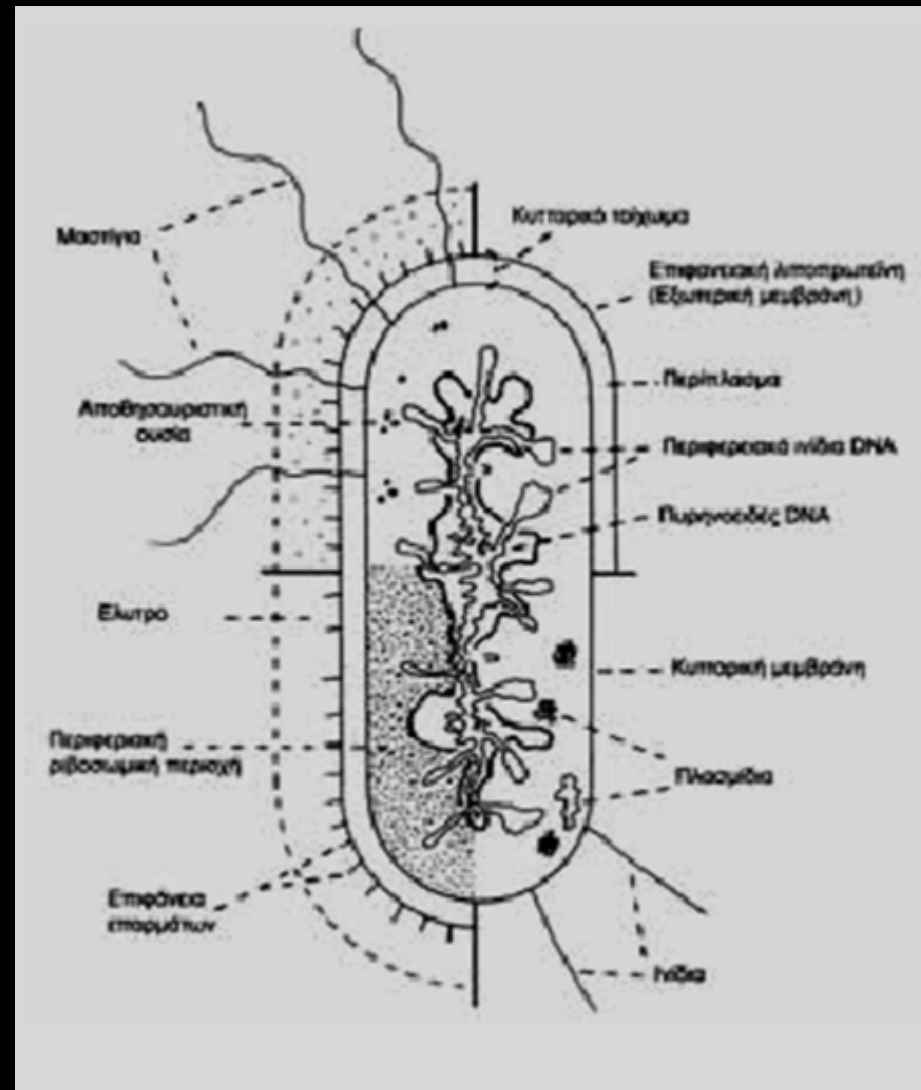
X 1000

Μικροσκοπικές φωτογραφίες βακτηριακών κυττάρων του γένους
Pseudomonas με μαστίγια

Κυτταρική κατασκευή βακτηρίων

(Α) ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΦΑΚΕΛΟΣ

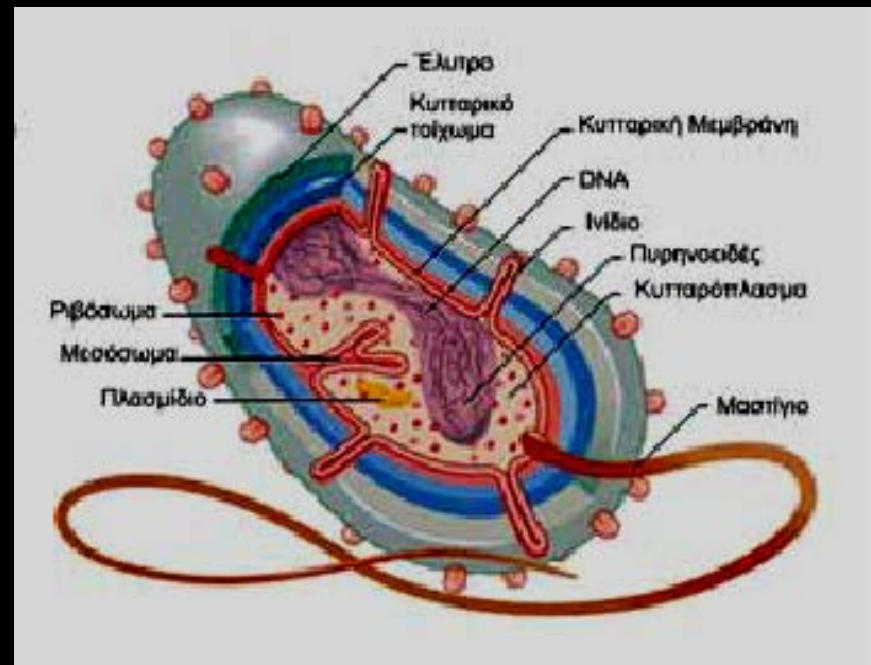
1. Εξωτερική μεμβράνη ή επιφανειακή λιποπρωτεΐνη
2. Περίπλασμα
3. Πρωτοπλασματική μεμβράνη
4. Κυτταρικό τοίχωμα: προσδίδει το σχήμα των βακτηρίων



Κυτταρική κατασκευή βακτηρίων

(B) ΕΣΩΤΕΡΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ

5. Πυρηνοειδές ή χρωμόσωμα
6. Πλασμίδια
7. Κυτταρόπλασμα
8. Ριβοσώματα
9. Έγκλειστα
10. Ενδοσπόρια

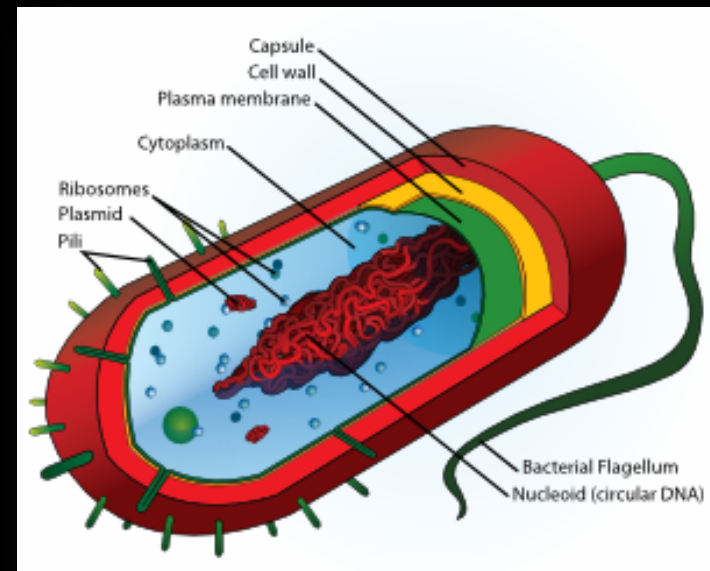
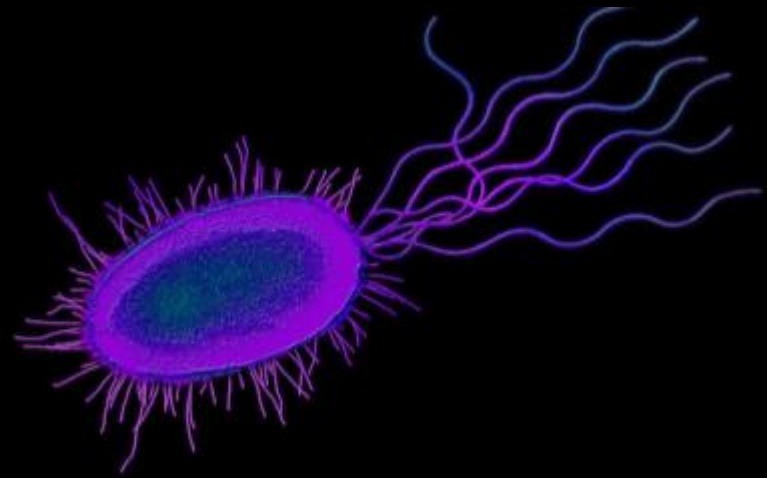


(Γ) ΕΞΩΤΕΡΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ

11. Μαστίγια

12. Ινίδια ή Τριχίδια ή Σμήριγγες : συμβάλλουν στην προσκόλληση κατά τη σεξουαλική συνένωση και ως εξειδικευμένες περιοχές αναγνώρισεως και προσκολλησεως από ιούς.

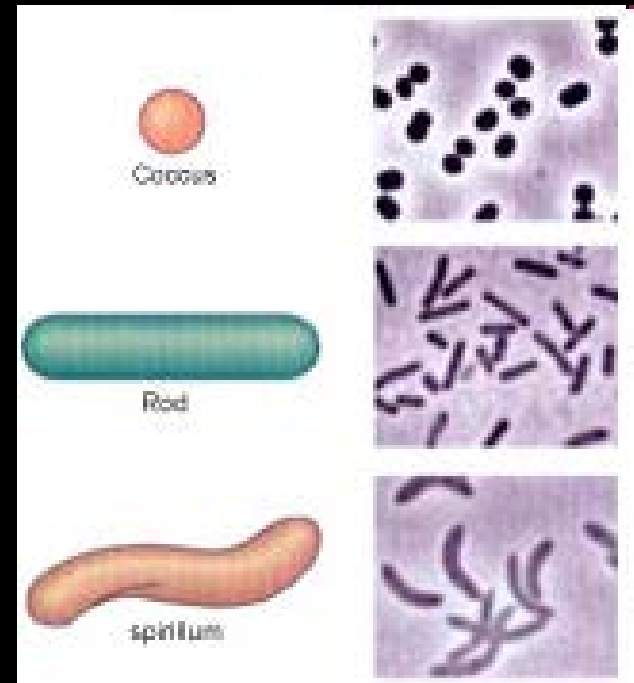
13. Εξωτερικοί πολυσακχαρίτες: έλυτρο (capsule).



Ταξινόμηση βακτηρίων

Ταξινομούνται με βάση:

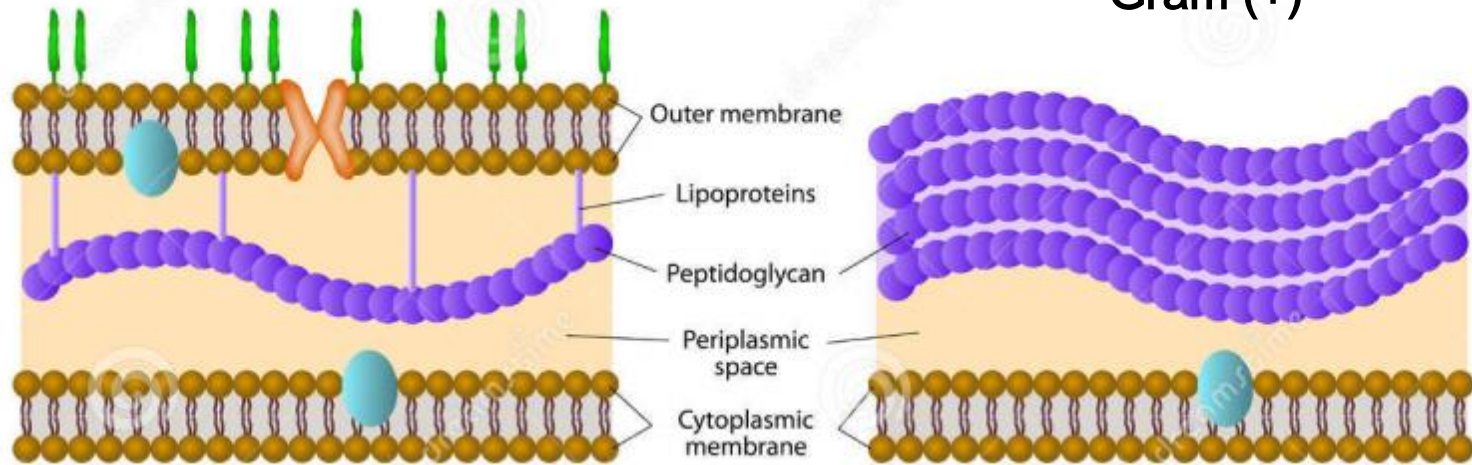
- την ικανότητά τους να χρωματίζονται ή όχι κατά την **χρώση Gram**, τα Gram (+) και Gram(-).
- τα **μορφολογικά χαρακτηριστικά** των βακτηρίων και των αποικιών τους
- τη θέση πρόσφυσης και του αριθμού των **μαστιγίων**
- τις τροφικές, φυσιολογικές, βιοχημικές, γενετικές και φυτοπαθολογικές ιδιότητες.



GRAM-NEGATIVE

GRAM-POSITIVE

Gram (+)



Gram (-)



Lipopolysaccharides



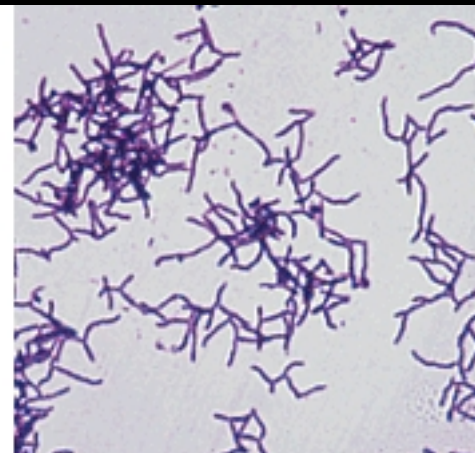
Porin



Protein



Gram Negative



Gram Positive

Φυτοπαθογόνα βακτήρια

- **Αρνητικά κατά Gram**

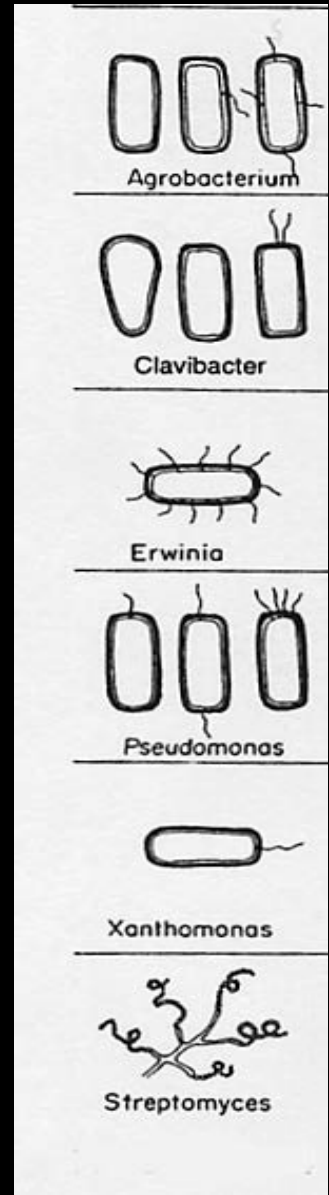
- *Erwinia*
- *Pseudomonas*
- *Ralstonia*
- *Xanthomonas*
- *Agrobacterium*
- *Xylella*

- **Θετικά κατά Gram**

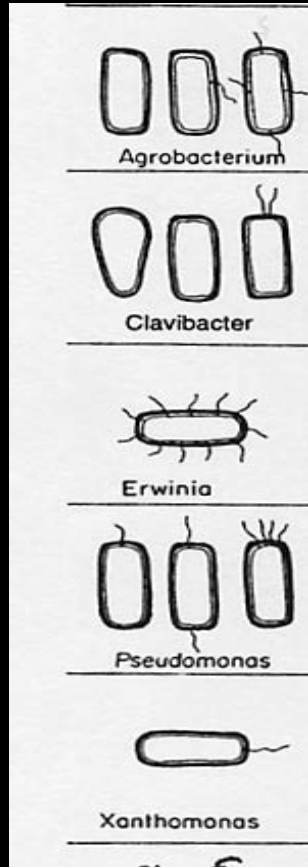
- *Clavibacter*
- *Streptomyces*
 - (ακτινομύκητας)

- **Σχήμα**

- Ραβδόμορφο
- Ραβδόμορφο
- Ραβδόμορφο
- Ραβδόμορφο
- Ραβδόμορφο
- Ραβδόμορφο
- Ραβδόμορφο
- Με υφές



Ραβδόμορφα βακτήρια



Τα περισσότερα έχουν μαστίγια

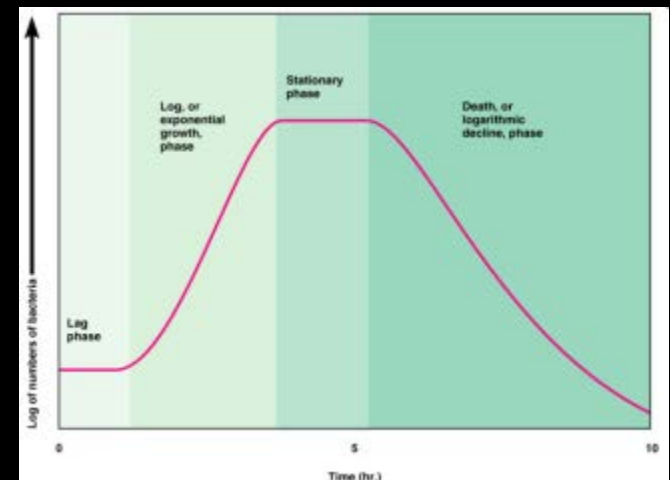
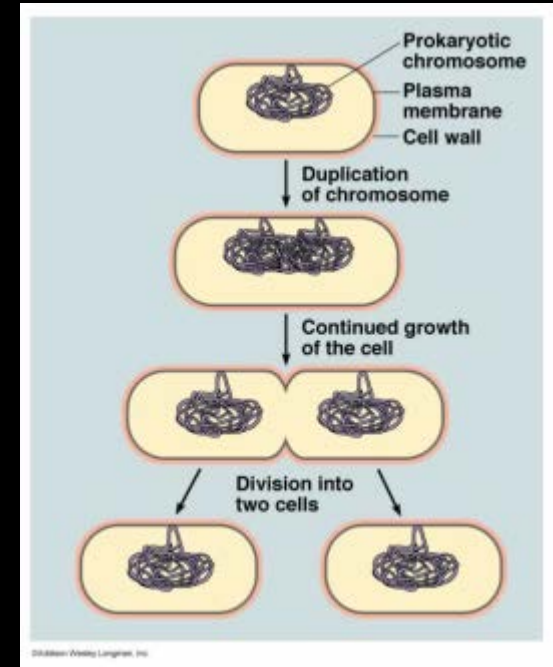
Αποικίες βακτηρίων

- Καλλιεργούνται σε θρεπτικά υποστρώματα
- Πορτοκαλιές και κόκκινες περιοχές είναι οι αποικίες των βακτηρίων
- Καθε αποικία αποτελείται από χιλιάδες κύτταρα



Αναπαραγωγή των βακτηρίων

- Αναπαράγονται αγενώς με **διχοτόμηση**.
- Η **ανταλλαγή** γενετικού υλικού μεταξύ των βακτηριακών κυττάρων γίνεται με:
 - **βακτηριακή σύζευξη**
 - με τη βοήθεια **ήπιων βακτηριοφάγων** κατά τη μεταγωγή
- Τα βακτήρια αναπαράγονται με εντυπωσιακά **ταχείς ρυθμούς**.
- Υπό ευνοϊκές συνθήκες μπορεί να διαιρούνται κάθε 20-50 min, με **γεωμετρική πρόοδο**.



Βακτηριακή διασπορά, επίβιωση και μόλυνση

Διασπορά

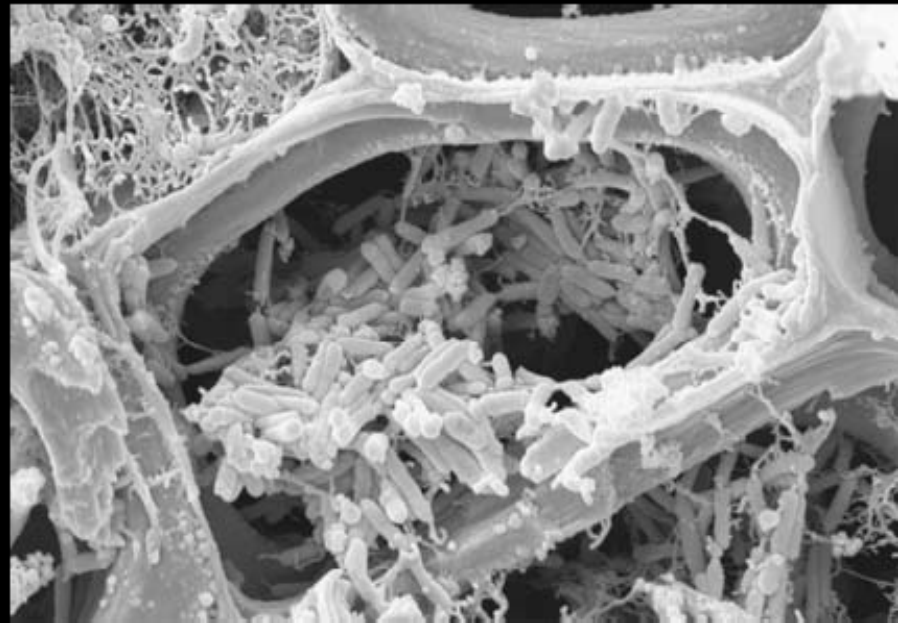
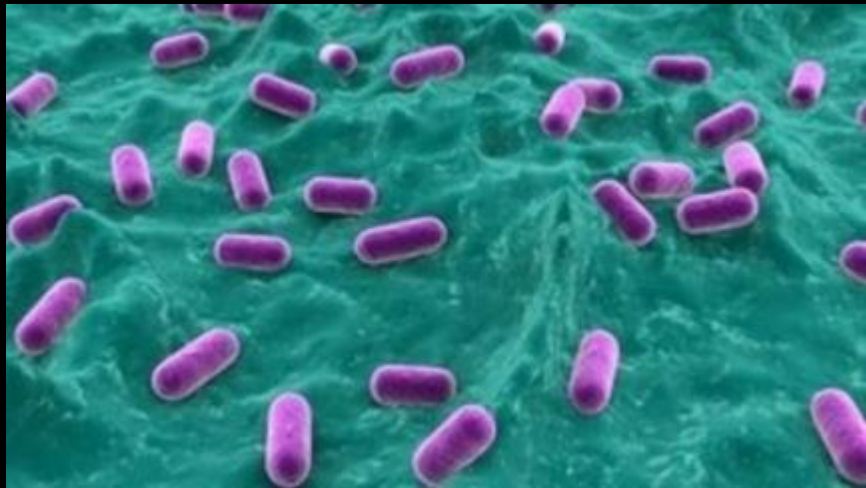
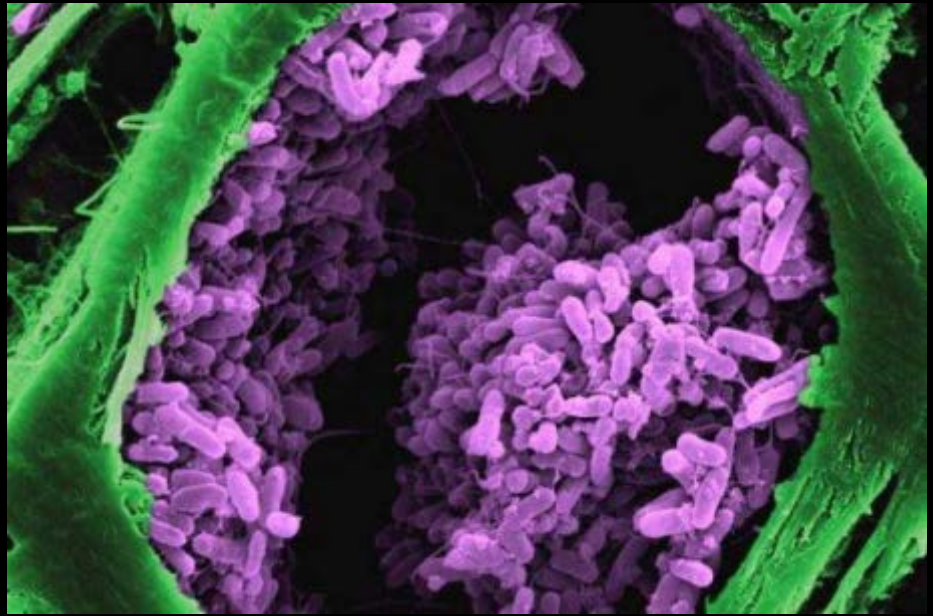
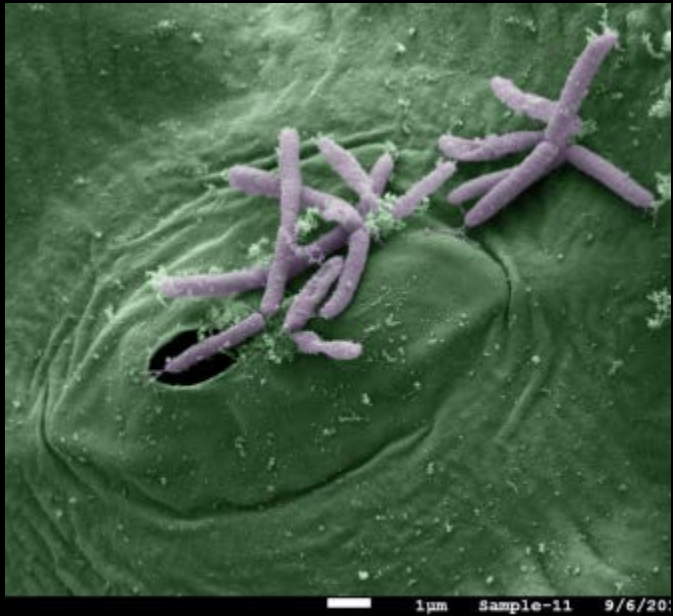
- Νερό
- Άνεμος
- Έντομα φορείς
- Πτηνά
- Σπόροι
- Μηχανικά

Επιβίωση

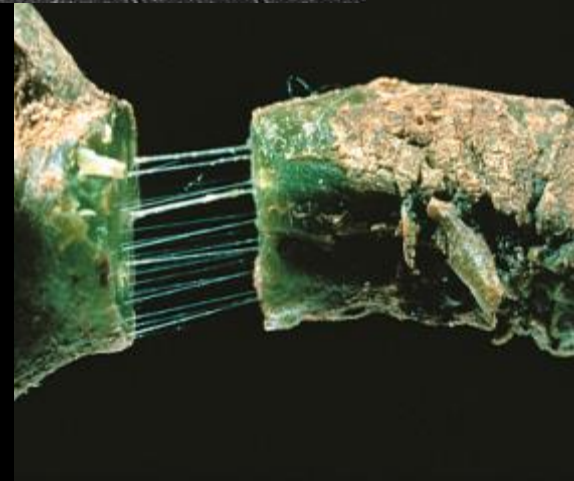
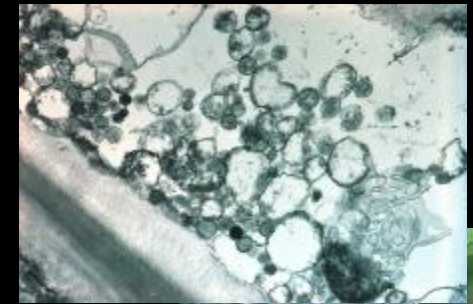
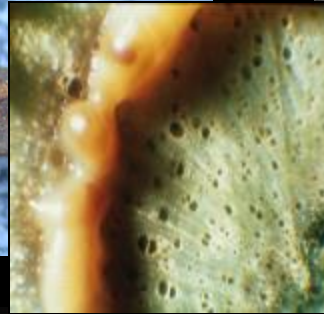
- φυτικά υπολείμματα
- ριζόσφαιρα, έδαφος
- επίφυτα
- σπόροι
- έντομα, νηματώδεις
- άλλοι ξενιστές
- νερό

Όχι άμεση διείσδυση στο φυτό

- Φυσικά ανοίγματα – (π.χ. στομάτια)
- Πληγές (μηχανικές, έντομα, νηματώδεις)



Βακτηριολογικές ασθένειες - Φυτοπλάσματα



ΚΥΡΙΕΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

- **Νεκρώσεις και κηλιδώσεις**
 - *Pseudomonas, Xanthomonas, Erwinia*
- **Καρκίνοι, Όγκοι (υπερπλασίες)**
 - *Agrobacterium, Pseudomonas, Xanthomonas*
- **Μαράνσεις, Αδροβακτηριώσεις**
 - *Ralstonia, Erwinia, Clavibacter*
- **Μαλακές σήψεις**
 - *Erwinia*
- **Ακτινομύκωση**
 - *Streptomyces*


























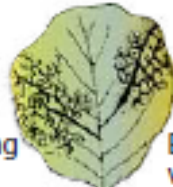








 Agrobacterium	 Crown gall	 Twig gall	 Cane gall	 Hairy root		
 Clavibacter	 Potato ring rot	 Tomato canker and wilt	 Fruit spot	 Fasciation		
 Erwinia	 Blight	 Wilt	 Soft rot	 Soft rot		
 Pseudomonas	 Leaf spots	 Leaf spots	 Galls (olive)	 Banana wilt	 Blight (lilac)	 Canker and bud blast
 Xanthomonas	 Leaf spots	 Cutting rot	 Black venation	 Bulb rot	 Citrus canker	 Walnut blight
 Streptomyces	 Potato scab	 Soil rot of sweet potato	 Rhizobium	 Root nodules of legumes		

FIGURE 12-4 The most important genera of plant pathogenic bacteria and the kinds of symptoms they cause.

Pseudomonas & Erwinia

- Νεκρώσεις
- Έλκη



Erwinia amylovora



Pseudomonas amygdali

Pseudomonas & Xanthomonas

- Κηλίδες
- Χλώρωση
- Νέκρωση
- Άλω
(τοξίνες)



U W Madison

Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria

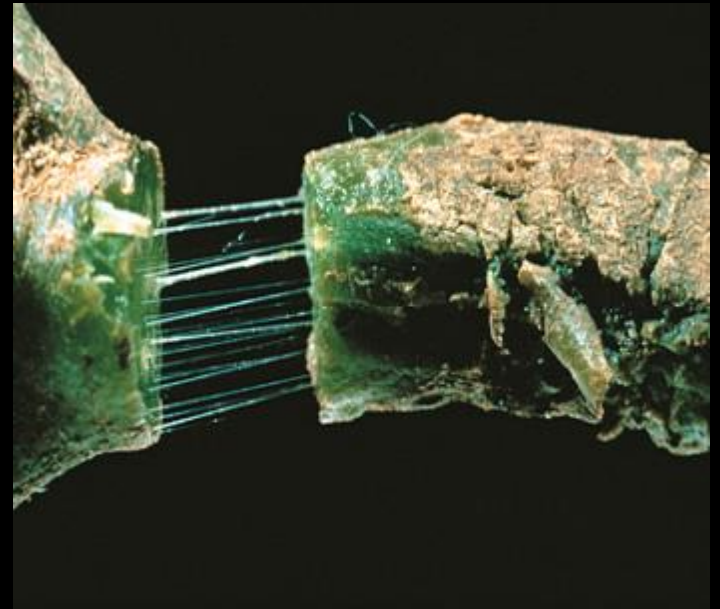


Clavibacter – Ralstonia - Erwinia

- Μαράνσεις
- Αδροβακτηριώσεις



Αδροβακτηρίωση της τομάτας



Ralstonia solanacearum



Καθολικά συμπτώματα νεκρώσεων από την αδροβακτηρίωση της τομάτας που οφείλεται στο βακτήριο *Ralstonia solanacearum*

Καρκίνος



Agrobacterium tumefaciens

Ακτινομύκωση - Scab
Streptomyces



Μαλακή σήψη: *Erwinia*

- Πολύ σοβαρό πρόβλημα σε προσυλλεκτικό και μετασυλλεκτικό επίπεδο σε φρούτα και λαχανικά
 - *Erwinia carotovora*, *E. chrysanthemi*
- Πηκτινολυτικό σύστημα
- Αποικοδομούν την πηκτίνη ανάμεσα στα φυτικά κύτταρα

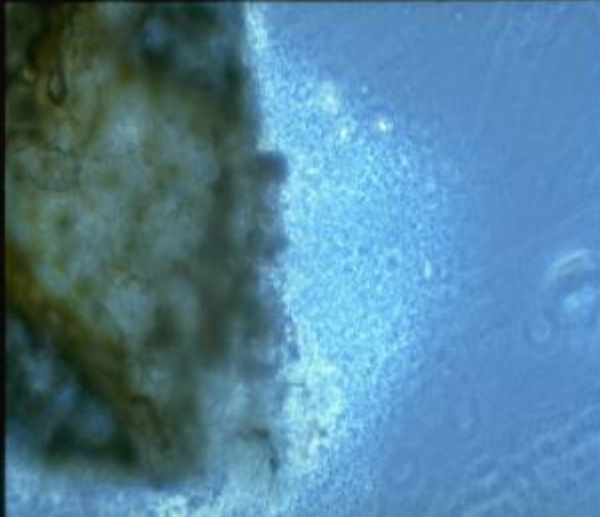


Σήψεις βλαστών



Erwinia carotovora

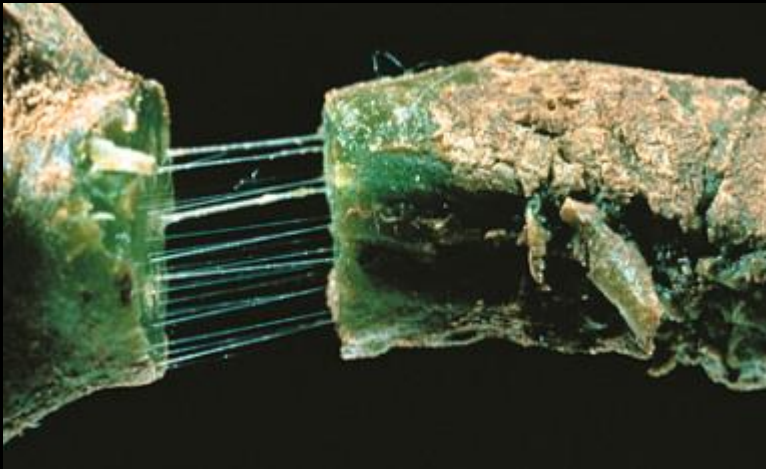
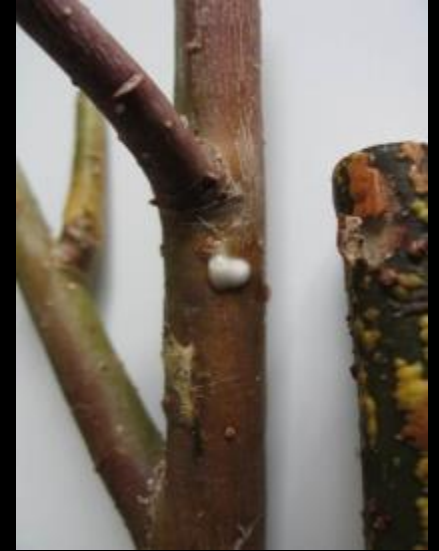
Σημεία βακτηριολογικών προσβολών



Βακτηριακό νέφος



Βακτηριακή εξίδρωση

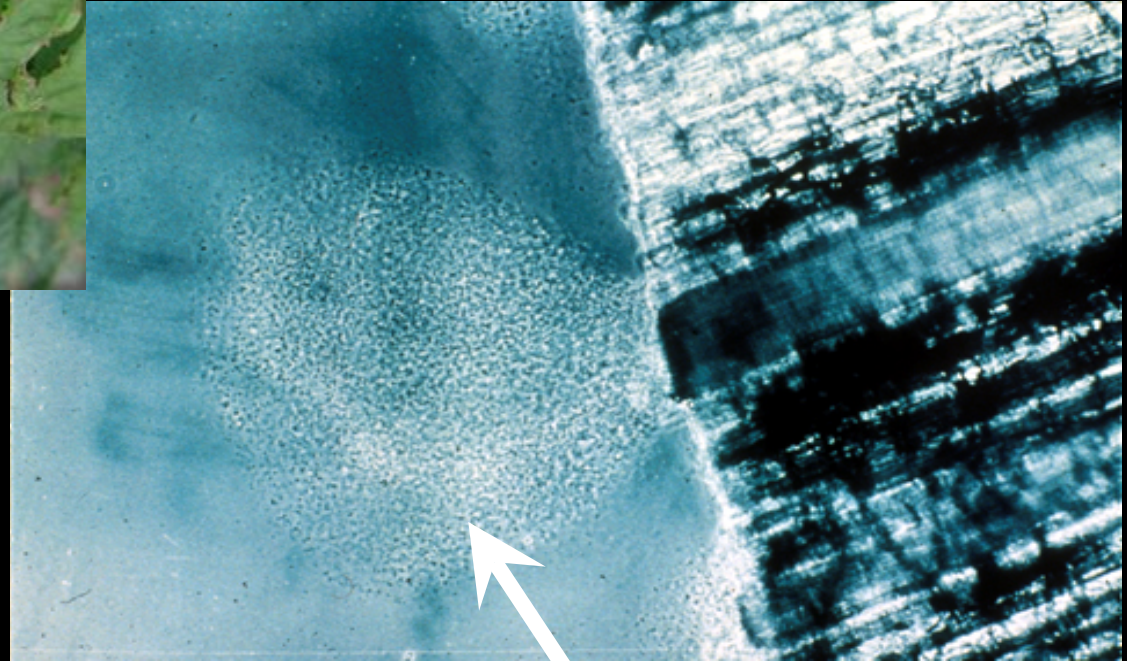


ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

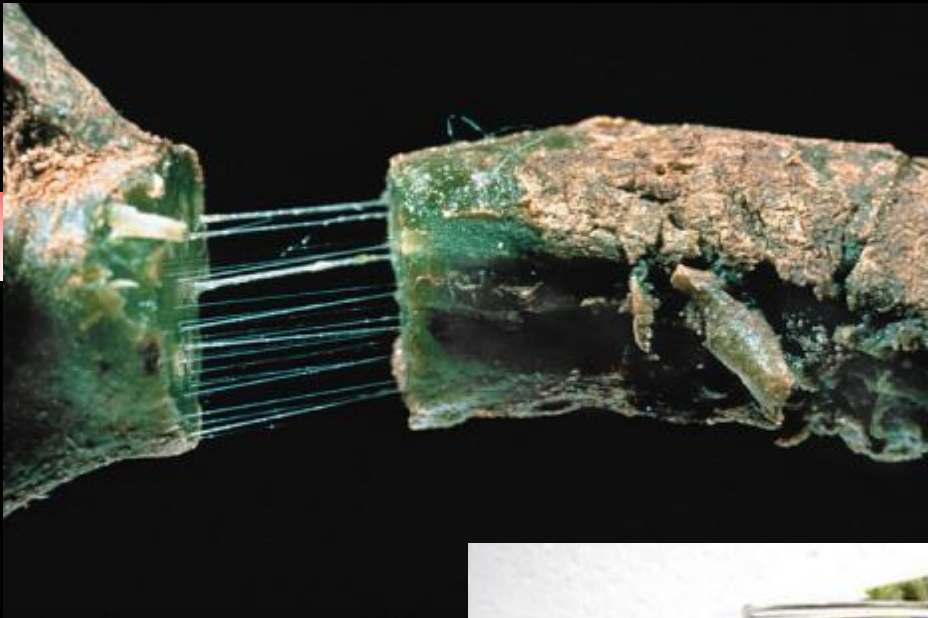
- **Συμπτωματολογική παρατήρηση** (π.χ. υπερπλασίες, νεκρωτικές κηλίδες σε βλαστούς / φύλλα / καρπούς, υγρές και μαλακές σήψεις)
- **Μακροσκοπική εξέταση** (π.χ. παρουσία βακτηριακού εκκρίματος)
- **Μικροσκοπική παρατήρηση** (λεπτή τομή ιστών σε σταγόνα νερού σε αντικειμενοφόρο – παρατήρηση σε 400X-500X μεγέθυνση κατά προτίμηση σε μικροσκόπιο αντιθέσεων φάσεως – βακτηριακό νέφος - διάκριση παθογόνων από σαπρόφυτα)
- **Απομόνωση του παθογόνου** από τον προσβεβλημένο φυτικό ιστό
- **Χρώση κατά Gram**
- Σειρά **βιοχημικών, ορολογικών, μοριακών και βιολογικών** δοκιμών (αντίδραση υπερευαισθησίας, δοκιμή παθογένειας σε φυτά ξενιστές) για την ταυτοποίηση του απομονωθέντος παθογόνου.



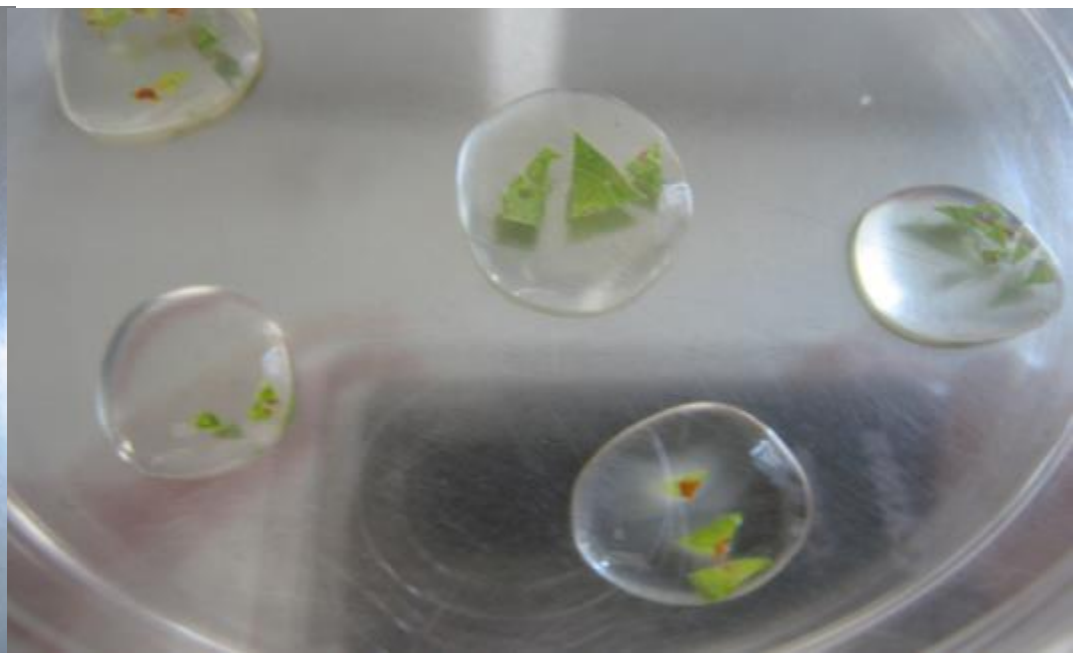
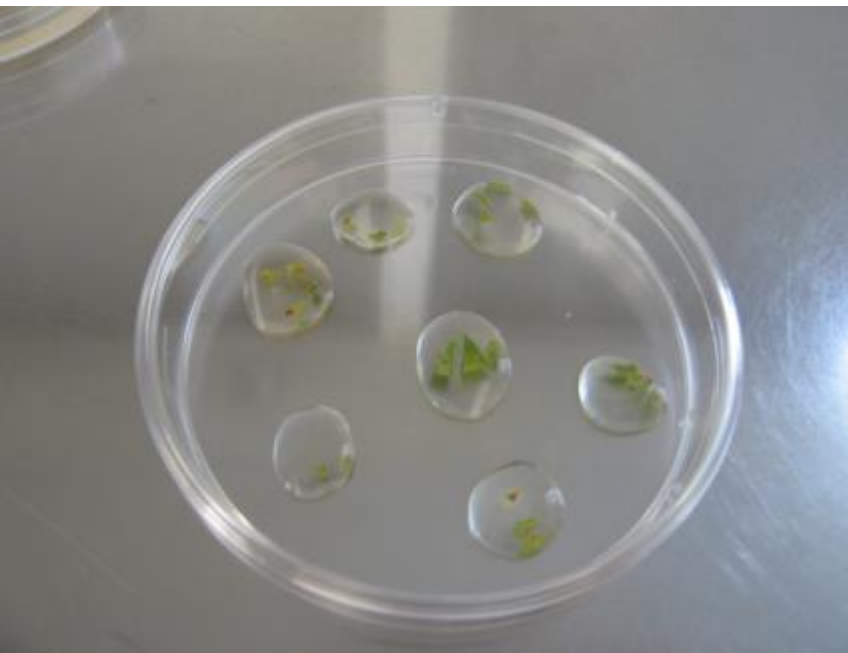
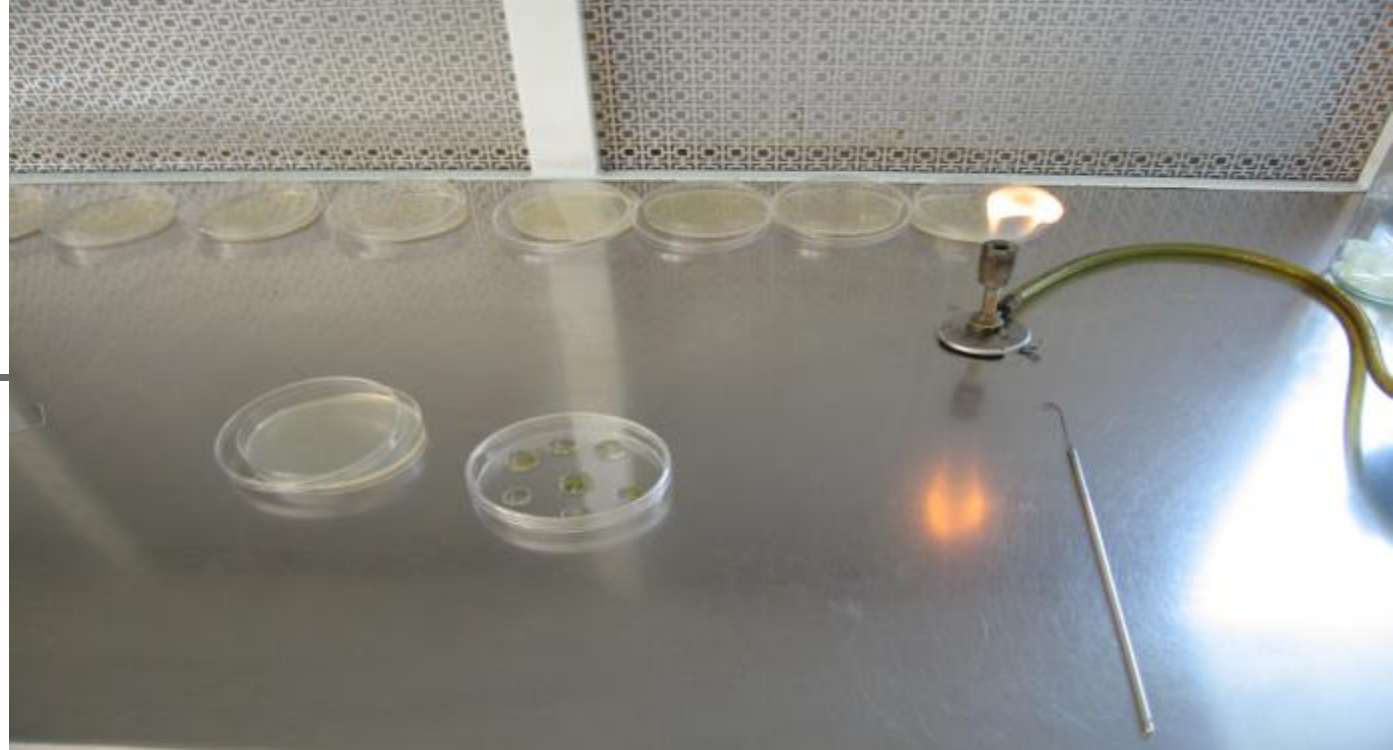
*Pseudomonas
syringae* pv.
tomato



ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟ ΝΕΦΟΣ

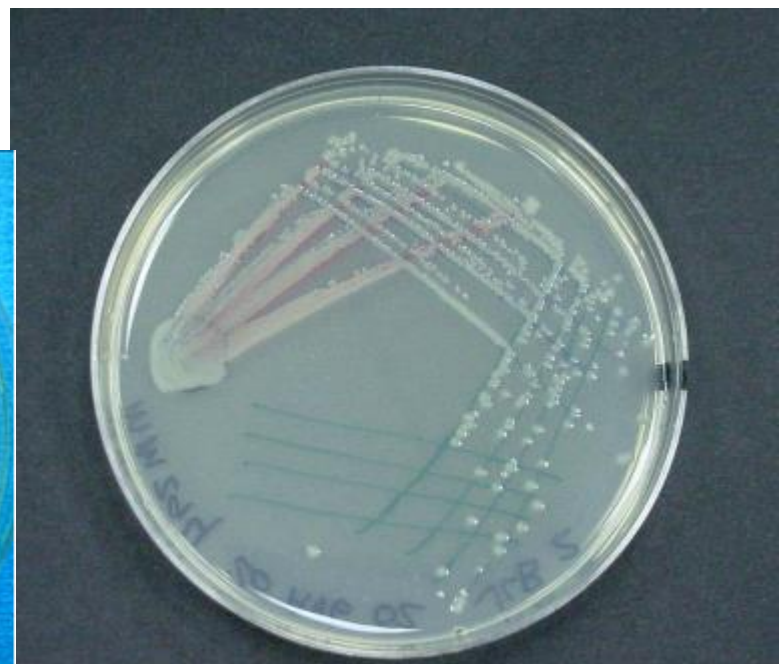


Ralstonia solanacearum

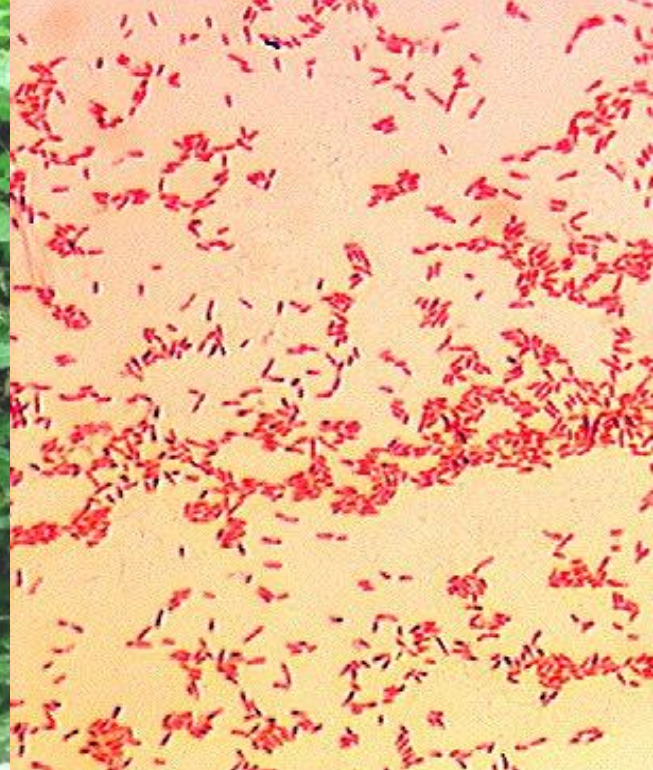




Γραμμωτή διασπορά



Ralstonia solanacearum Gram(-)



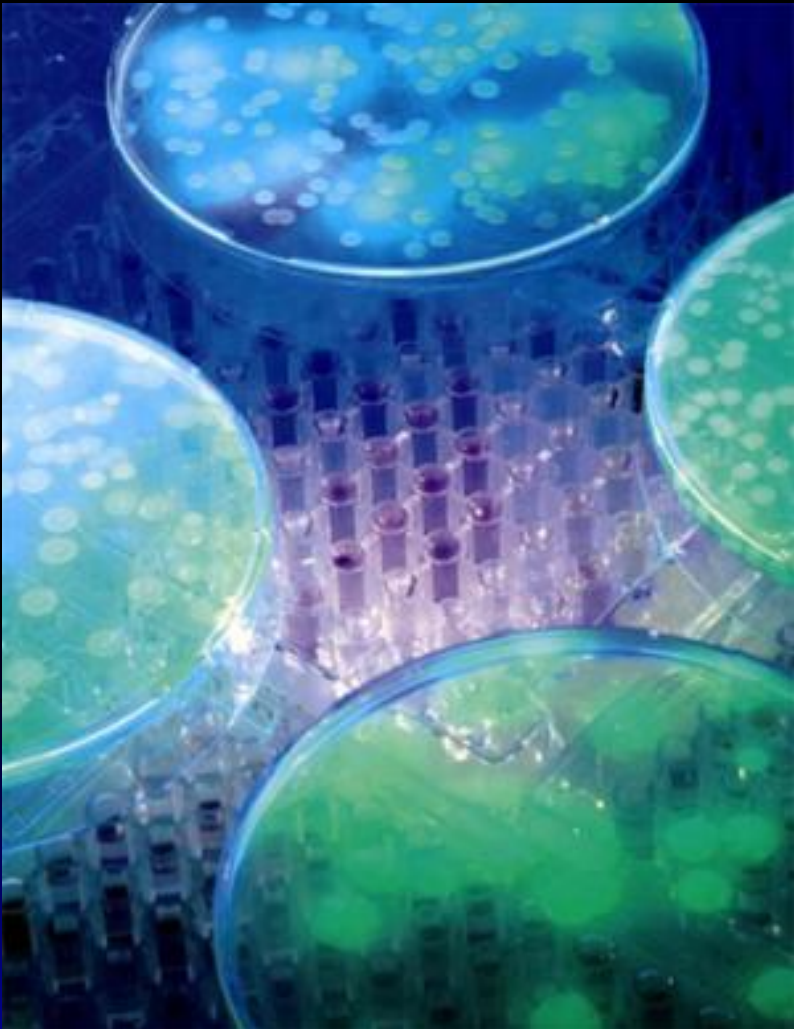
Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* Gram (+)



5368886



ASM MicrobeLibrary.org©Delisle and Tomalty



Ταυτοποίηση των κοινών γενών βακτηρίων που προσβάλλουν τα φυτά

Εύκολα καλλιεργούμενα

Acidovorax
Agrobacterium
Bacillus
Burkholderia
Clavibacter
Clostridium
Erwinia
Pantoea
Pseudomonas
Ralstonia
Streptomyces
Xanthomonas

Μη ή δύσκολα καλλιεργούμενα

Rhizomonas
Spiroplasma
Xylella
Xylophilus
Phytoplasma Phloem-limited

Πίνακας 5.1: Βασικά Χαρακτηριστικά Διαφόρων Φυτοπαθογόνων Βακτηρίων

Γένος	Χρώση Gram	Μαστίγια	Χρώση αποικιών σε ΝΑ	Διαχεόμενη χρωστική	Μεταβολισμός Γλυκόζης	Παραγωγή οξειδάσης	Παράδειγμα είδους
<i>Acidovorax</i>	-	1 πολικό	-	Μελανίνη	Αερόβιος	+	<i>A. avenae</i>
<i>Agrobacterium</i>	-	Πλάγια	Υπόλευκο	-	Αερόβιος	+	<i>A. tumefaciens</i>
<i>Clavibacter (Corynebacterium)</i>	+	-	Κίτρινο ή πορτοκαλί	-	Αερόβιος	-	<i>C. michiganensis</i>
<i>Curtobacterium (Corynebacterium)</i>	+	1-3 πολικά	Κίτρινο ή πορτοκαλί	-	Αερόβιος	-	<i>C. flaccumfaciens</i>
<i>Erwinia</i>	-	Περίτριχα	Υπόλευκο ή υποκίτρινο	-	Προαιρετικά αναερόβιος	-	<i>E. amylovora</i>
<i>Pantoea</i>	-	Περίτριχα	Κίτρινο ή πορτοκαλί	-	Προαιρετικά αναερόβιος	-	<i>P. stewartii</i>
<i>Pseudomonas</i>	-	Πολικά	Υπόλευκο	Πράσινη φθορίζουσα	Αερόβιος	-	<i>P. syringae</i>
<i>Ralstonia (Pseudomonas)</i>	-	Κανένα ή Πολικά	-	-	Αερόβιος	+	<i>R. solanacearum</i>
<i>Streptomyces</i>	+	-	Λευκό	Μελανίνη σε υλικό τυροσίνης	Αερόβιος	-	<i>S. scabies</i>
<i>Xanthomonas</i>	-	1 πολικό	Κίτρινο	Καστανή σε υλικό τυροσίνης (ορισμένοι παθότυποι μόνο)	Αερόβιος	-	<i>X. campestris</i> pv. <i>malvacearum</i>
<i>Xylophilus</i>	-	1 πολικό	Κίτρινο	-	Αερόβιος	-	<i>X. ampelinus</i>

Αντίδραση Υπερευαισθησίας



**Παραδείγματα
βακτηριολογικών
ασθενειών**

1. Καρκίνωση ή φυματίωση της ελιάς

- Αίτιο: *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*.
- Σχηματισμός υπερπλασιών (καρκινώματα ή φυμάτια) στους κλάδους, τον κορμό, τις ρίζες και τα φύλλα και καστανές κηλίδες και φυμάτια στους καρπούς (σπανιότερα).
- Ξήρανση μικρών ή μεγάλων κλαδιών - μείωση της ζωτικότητας των δένδρων







- Το βακτήριο επιβιώνει στους όγκους και επιφυτικώς στα πράσινα μέρη του δένδρου.
- Η μόλυνση γίνεται πάντα μέσω πρόσφατων πληγών.
- Η μετάδοση του παθογόνου με τη βροχή, τον άνεμο και το πολλαπλασιαστικό υλικό.



2. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

- **Αίτιο:** *Agrobacterium vitis*
- Το βακτήριο μεταφέρει μέρος του DNA στο φυτό, και αυτό το DNA ενώνεται με τα γονίδια του φυτού, προκαλώντας την παραγωγή όγκων και συσχετιζόμενες αλλαγές στο μεταβολισμό του φυτού.



Συμπτώματα



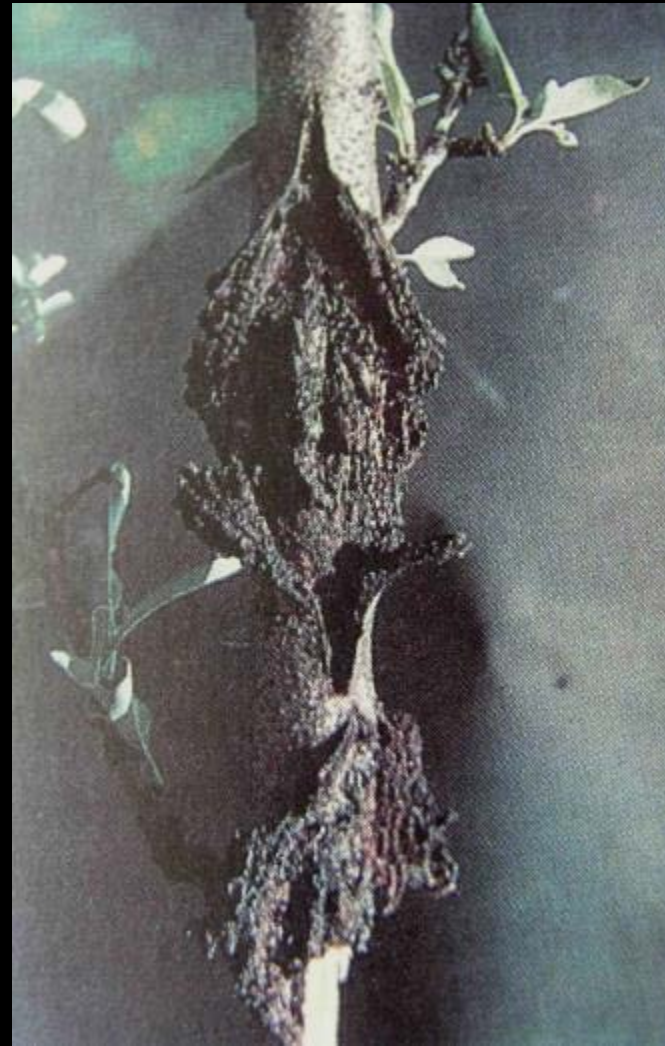
- όγκοι στις ρίζες, λαιμό και κορμούς.
- μειωμένη ανάπτυξη βλαστού και πιθανή νέκρωση

Καρκίνος καρποφόρων και καλλωπιστικών

- Αίτιο: *Agrobacterium tumefaciens*



3. Υπερπλαστικό έλκος αμυγδαλιάς



Pseudomonas amygdali - Αμυγδαλιά

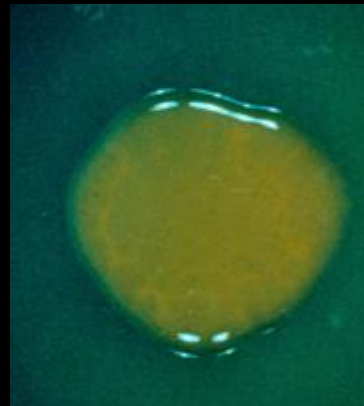
4. Γωνιώδης κηλίδωση

- Παθογόνο: *Xanthomonas citri* subsp. *malvacearum*)
- Προσβάλλει κοτυληδόνες, φύλλα, στελέχη και κάψες
- Υδατώδεις κηλίδες μεταξύ των νευρώσεων που εξελίσσονται σε γωνιώδεις καστανόμαυρες κηλίδες
- Νεκρωτικές κηλίδες στα καρύδια τα οποία σε νεαρό στάδιο πέφτουν ενώ τα μεγαλύτερης ηλικίας σαπίζουν και παράγουν ίνες χαμηλής ποιότητας

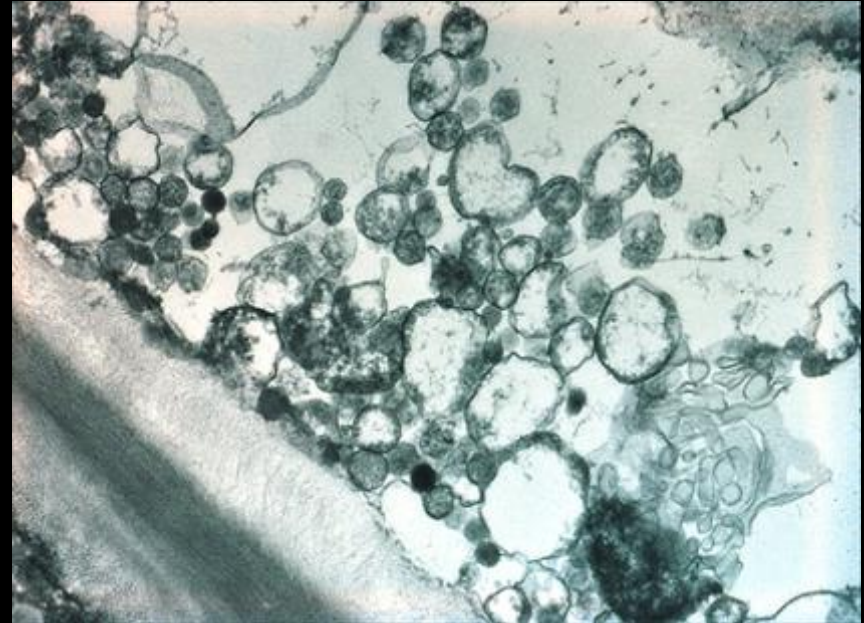
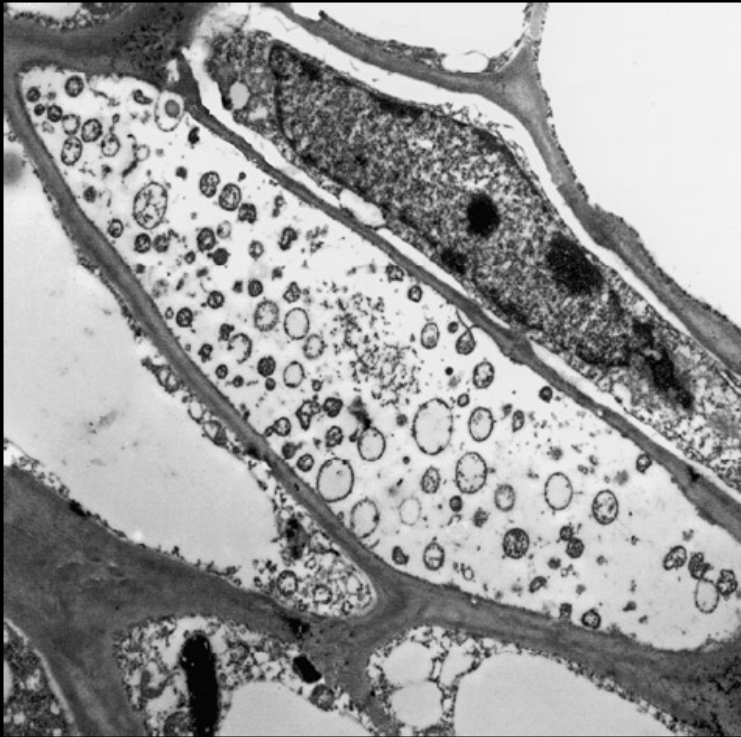


Συμπτώματα - Σημεία

- Με υγρές συνθήκες είναι πιθανή η παρουσία βακτηριακής εξιδρωσης



Φυτοπλάσματα



Παρουσία πλειομορφικών κυττάρων φυτοπλάσμάτων σε αγγεία ηθμού φυτού τομάτας

Προκαρυωτικοί μονοκύτταροι φυτοπαθογόνοι οργανισμοί **χωρίς κυτταρικό τοίχωμα**

- Αποικίζουν τα **αγγεία του ηθμού**,
- Μεταδίδονται με τον εμβολιασμό, την κουσκούτα και κυρίως με εξειδικευμένα έντομα όπως μικροτέττιγες, τέττιγες και ψύλλες

Φυτοπλάσματα - Ίκτερος

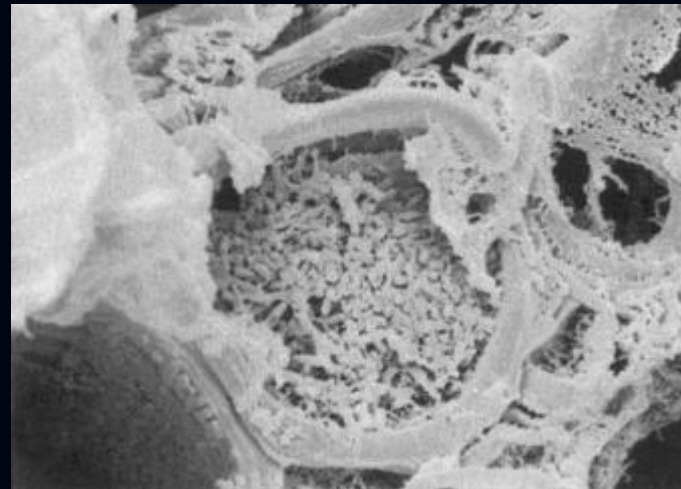


Φυτοπλάσματα Χλωρανθία σε ταξιανθία ορτανσίας



ΘΡΕΠΤΙΚΩΣ ΑΠΑΙΤΗΤΙΚΑ ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΑ ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΤΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ ΤΟΥ ΗΘΜΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΞΥΛΟΥ

Τα θρεπτικώς απαιτητικά φυτοπαθογόνα βακτήρια των αγγείων του ξύλου γνωστά ως *Rickettsia Like Organisms*, (RLO), που προκαλούν ασθένειες στα φυτά δεν αναπτύσσονται σε συνήθη τεχνητά θρεπτικά υποστρώματα. Τα περισσότερα είναι αρνητικά κατά Gram και ανήκουν στο γένος *Xylella*.



Xylella fastidiosa,
προκαλεί την ασθένεια του Pierce της αμπέλου