

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ
ΓΕΝΙΚΗΣ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

Αθήνα 2016

Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Άσκηση 1η	3
ΜΥΚΗΤΕΣ: Μυκηλιακές κατασκευές - Αναπαραγωγή – Ταξινόμηση	3
Άσκηση 2η	8
ΧΡΩΜΙΣΤΑ (CHROMISTA) Οικ. : Pythiaceae	8
Άσκηση 3η	11
ΧΡΩΜΙΣΤΑ (CHROMISTA) : Οικ. : Peronosporaceae.....	11
Άσκηση 4η	14
ΜΥΚΗΤΕΣ (FUNGI): ΑΣΚΟΜΥΚΗΤΕΣ (ASCOMYCOTA)	14
Άσκηση 5η	19
ΜΥΚΗΤΕΣ (FUNGI): ΒΑΣΙΔΙΟΜΥΚΗΤΕΣ (BASIDIOMYCOTA).....	19
Άσκηση 6η	23
ΑΔΗΛΟΜΥΚΗΤΕΣ ή ΑΤΕΛΕΙΣ ΜΥΚΗΤΕΣ.....	23
Deuteromycetes- Mitosporic fungi- Fungi imperfecti	23
Άσκηση 7η	26
ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ	26
Άσκηση 8η	31
ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΙΩΝ	31

Άσκηση 1η

ΜΥΚΗΤΕΣ: Μυκηλιακές κατασκευές - Αναπαραγωγή – Ταξινόμηση

Ασθένεια είναι η απόκλιση από την κανονικότητα στην εκδήλωση φυσιολογικών, βιοχημικών και μοριακών διεργασιών του φυτού. Η διάρκεια και η ένταση της αποκλίσεως είναι δυνατόν να προκαλέσουν αταξία, διαταραχή ή διακοπή της ζωτικής δραστηριότητας του φυτού. Τα αίτια των ασθενειών των φυτών οφείλονται είτε σε παρασιτικά αίτια (Μύκητες, Ωομύκητες, Πρωτόζωα, Βακτήρια – Φυτοπλάσματα, Ιοί) είτε σε μη παρασιτικά αίτια (περιβαλλοντικοί παράγοντες, τοξικότητες, τροφοπενίες).

Οι μύκητες που προκαλούν ασθένειες στα φυτά, καλλιεργούμενα ή μη, παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία.

Σύμφωνα με την παλαιά κατάταξη οι μικροοργανισμοί αυτοί τοποθετούντο στο βασίλειο των Μυκήτων (FUNGI), ένα από τα πέντε βασίλεια στα οποία κατατάσσονται οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί (ANIMALIA, CHROMISTA, FUNGI, PLANTAE, PROTOZOA). Η παλαιά κατάταξη βασίζονταν σε ομοιότητες που αφορούσαν στη βιολογία και στη μορφολογία και ορίζονταν από τους μυκητολόγους ως μικροοργανισμοί ευκαρυωτικοί, ετερότροφοι, αναπτυσσόμενοι με την μορφή του μυκηλίου (σπανιότερα μονοκύτταροι) και αναπαραγόμενοι με σπόρια. Οι πρόοδοι που έγιναν στην μελέτη της λεπτής δομής, της βιοχημείας και κυρίως της μοριακής βιολογίας των μικροοργανισμών αυτών, οδήγησαν τους μυκητολόγους να τους κατατάξουν σε τρία διαφορετικά βασίλεια: PROTOZOA, CHROMISTA, FUNGI.

Μερικοί μύκητες από αυτούς που αναφέρονταν στη παλαιά κατάταξη ως κατώτεροι μύκητες θεωρούνται τώρα ότι ανήκουν στο βασίλειο PROTOZOA (όπως οι κλάσεις Myxomycetes και Plasmodiophoromycetes) ή στο βασίλειο CHROMISTA (όπως η κλάση Oomycetes). Οι μύκητες που ανήκουν στα δύο αυτά βασίλεια θεωρούνται σήμερα ως μικροοργανισμοί που μοιάζουν με μύκητες (Fungal like) και ονομάζονται Ψευδομύκητες (Pseudo-fungi). Οι πραγματικοί μύκητες (True Fungi) ανήκουν στο βασίλειο των Μυκήτων (FUNGI), (όπως οι κλάσεις Chytridiomycetes, Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes και Deuteromycetes). Πραγματικοί μύκητες θεωρούνται εκείνοι που σχηματίζουν μυκήλιο, δεν έχουν χλωροπλάστες και τα κυτταρικά τους τοιχώματα περιέχουν γλυκάνες και χιτίνη.

Οι μύκητες (Ψευδομύκητες και Πραγματικοί Μύκητες) ταξινομούνται σε φύλα (phylum- phyla). Φύλο είναι το επόμενο ταξινομικό άθροισμα μετά το

βασίλειο, που έχει υιοθετηθεί από τους σύγχρονους μυκητολόγους. Οι φυτοπαθογόνοι μύκητες ταξινομούνται στα εξής βασίλεια και φύλα.

PROTOZOA	CHROMISTA	FUNGI
Myxomycota	Oomycota	Chytridiomycota
Plasmodiophoromycota		Zygomycota
		Ascomycota
		Basidiomycota

Η περαιτέρω ταξινόμηση γίνεται βάσει χαρακτήρων σε κλάσεις, τάξεις, οικογένειες, γένη και είδη.

Από την σύγχρονη ταξινόμηση των μυκήτων που έχει υιοθετηθεί, η παλαιά κλάση των Αδηλομυκήτων (Deuteromycetes- Fungi Imperfecti) δεν γίνεται δεκτή ως επίσημη ταξινόμική κατηγορία. Διατηρείται ανεπίσημα με την ονομασία Mitosporic Fungi, παρ' όλο που είναι ένα άθροισμα τεχνητό, επειδή περιλαμβάνει αγενείς μορφές (ατελείς μορφές) Βασιδιομυκήτων και κυρίως Ασκομυκήτων.

Το σώμα των μυκήτων ονομάζεται **θαλλός** και τυπικά αποτελείται από λεπτά νημάτια που λέγονται **υφές**, το σύνολο των υφών ονομάζεται **μυκήλιο**. Οι υφές είναι διαφανείς σωληνίσκοι με πρωτόπλασμα και πυρήνες και είναι δυνατόν να φέρουν ή όχι, εγκάρσια χωρίσματα (septa).

Τα **εγκάρσια διαφράγματα** είναι χωρίσματα που φέρουν ανοίγματα για την επιλεκτική διακίνηση πρωτοπλάσματος, οργανιδίων ή πυρήνων μεταξύ των κυττάρων, αποτελούν χαρακτηριστικό των μυκηλιακών υφών πολλών μυκήτων και εξασφαλίζουν την σταθερότητα των υφών. Η ύπαρξη ή μη εγκαρσίων διαφραγμάτων χαρακτηρίζει το μυκήλιο και αντίστοιχα τους μύκητες ως πολυκύτταρους ή κοινοκύτταρους.

Οι μύκητες ως κατώτεροι οργανισμοί σχηματίζουν ψευδοϊστούς ενώ δεν σχηματίζουν πραγματικούς ιστούς. Οι μύκητες από ψευδοϊστούς σχηματίζουν διάφορες μυκηλιακές κατασκευές όπως **στρώμα**, **σκληρώτια**, **ριζόμορφα**, κ.ά..

Τα σπόρια των μυκήτων είναι οι αναπαραγωγικές μονάδες αυτών και αναλόγως των χαρακτηριστικών και των ιδιοτήτων τους διακρίνονται σε :

Ξηροσπόρια: έχουν υδρόφοβη επιφάνεια και απελευθερώνονται με την πνοή του ανέμου

Μυξοσπόρια: περιβάλλονται από κολλώδεις υδατοδιαλυτές ουσίες και με διάφορες μορφές νερού, απομακρύνονται από τις καρποφορίες τους.

Εφήμερα: έχουν μικρό χρόνο που κρατούν τη βλαστική τους ικανότητα (λίγες ώρες μέχρι λίγα 24ωρα)

Υπνοσπόρια: κρατούν για πολύ καιρό τη βλαστική τους ικανότητα

Απλανοσπόρια: χαρακτηρίζονται από παθητική κίνηση

Ζωοσπόρια: έχουν αυτόνομη κίνηση που εξασφαλίζεται με τα μαστίγια

Ενδογενή: παράγονται εσωτερικά σε καρποφορίες ή υφές

Εξωγενή: παράγονται εξωτερικά (επάνω στις καρποφορίες).

Όσον αφορά στον τρόπο παρασιτισμού οι μύκητες διακρίνονται στις ακόλουθες κατηγορίες :

Υποχρεωτικό Παράσιτο

Οργανισμός που μπορεί να ζήσει μόνο ως παράσιτο σε βάρους ζωντανών φυτικών κυττάρων

Υποχρεωτικό Σαπρόφυτο

Οργανισμός που στερείται παρασιτικής σχέσης με τον ξενιστή αλλά αναπτύσσεται και επιβιώνει σε νεκρά φυτικά υποστρώματα ή επιφανειακώς σε μελιτώδεις εκκρίσεις εντόμων ή σε εκκρίσεις του ίδιου του φυτού

Προαιρετικό Παράσιτο

Οργανισμός που ζει συνήθως με σαπροφυτικό τρόπο αλλά σε ορισμένα στάδια του βιολογικού του κύκλου ή κάτω από ορισμένες συνθήκες μπορεί να αναπτυχθεί και να επιβιώσει και ως παράσιτο

Προαιρετικό Σαπρόφυτο

Οργανισμός που ζει συνήθως με παρασιτικό τρόπο αλλά σε ορισμένα στάδια του βιολογικού του κύκλου ή κάτω από ορισμένες συνθήκες μπορεί να αναπτύσσεται εκτός του ξενιστή και να επιβιώνει και ως σαπρόφυτο.

Η αναπαραγωγή των μυκήτων γίνεται αγενώς και εγγενώς.

Στην αγενή αναπαραγωγή δεν έχουμε ένωση πυρήνων, κάτι που συμβαίνει στην εγγενή αναπαραγωγή. Η αγενής αναπαραγωγή μπορεί να γίνει με κομμάτι μυκηλίου, σκληρώτια, ριζόμορφα και σπόρια. Ο τυπικός τρόπος αγενούς αναπαραγωγής γίνεται με τα σπόρια. Τα όργανα εκείνα των μυκήτων που πάνω ή μέσα στα οποία σχηματίζονται τα σπόρια ονομάζονται **καρποφορίες**.

Σπόρια αγενούς αναπαραγωγής

1. Κονίδια
2. Αρθροσπόρια
3. Βλαστοσπόρια
4. Ζωοσπόρια
5. Σποριαγγειοσπόρια

Οι αγενείς καρποφορίες διακρίνονται σε απλές και σύνθετες.

Απλές καρποφορίες αγενούς αναπαραγωγής

- α) Κονιδιοφόροι
- β) Σποριαγγειοφόροι

Σύνθετες καρποφορίες αγενούς αναπαραγωγής

- α) Πυκνίδιο
- β) Ακέρβουλο
- γ) Σωρός
- δ) Σποριοδόχειο κ. ά.

Σε αυτό το στάδιο η μορφή των μυκήτων ονομάζεται ατελής.

Η εγγενής αναπαραγωγή γίνεται με σπόρια που παράγονται από την ένωση δύο κυττάρων μετά από πλασμογαμία και καρυογαμία αφού έχει προηγηθεί μείωση.

Σε αυτό το στάδιο η μορφή των μυκήτων ονομάζεται τέλεια.

Σπόρια εγγενούς αναπαραγωγής

1. Ζυγοσπόρια
2. Ωοσπόρια
3. Ασκοσπόρια
4. Βασιδιοσπόρια

Οι εγγενείς καρποφορίες διακρίνονται επίσης σε απλές και σύνθετες.

Απλές καρποφορίες εγγενούς αναπαραγωγής

- α) Ασκοί
- β) Βασίδια

Σύνθετες καρποφορίες εγγενούς αναπαραγωγής

- α) Αποθήκιο
- β) Κλειστοθήκιο
- γ) Περιθήκιο
- δ) Σωρός

ε) Σποριοφόρος

ΟΛΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΣΚΗΣΗ

Μακροσκοπικές Παρατηρήσεις

- Παρατηρείστε την εμφάνιση του μυκηλίου στους μύκητες: *Rhizopus nigricans* και *Rhizoctonia solani* και των σκληρωτίων των μυκήτων *Sclerotium rolfsii* και *Sclerotinia sclerotiorum*.

Μικροσκοπικές Παρατηρήσεις

- Εξετάστε την παρουσία ή μη εγκαρσίων χωρισμάτων (septa) στους μύκητες *Rhizopus nigricans* και *Rhizoctonia solani*.
- Μελετείστε την μορφή σποριαγγείων, σποριαγγειοφόρων και σποριαγγειοσπορίων καθώς και των ριζοειδών στο μύκητα *Rhizopus nigricans* (*Rhizopus stolonifer*).

Άσκηση 2η

ΧΡΩΜΙΣΤΑ (CHROMISTA) Οικ. : Pythiaceae

Βάσει του παλαιότερου συστήματος ταξινομήσεως οι ωομύκητες είχαν ταξινομηθεί στους Μύκητες, οι μοριακές μέθοδοι όμως, τους ενέταξαν σε νέο βασίλειο, στα Χρώμιστα (CHROMISTA).

- **Βασίλειο** Χρώμιστα
- **Φύλο** Oomycota
 - **Κλάση** Oomycetes
 - **Τάξη** Saprolegniales
 - **Τάξη** Peronosporales
 - **Οικ.** Albuginaceae
 - **Οικ.** Pythiaceae
 - **Οικ.** Peronosporaceae

Σ' αυτό το βασίλειο κατατάσσονται τα καφέ άλγη, τα διάτομα, οι ωομύκητες καθώς και άλλοι παρόμοιοι προς αυτούς μικροοργανισμοί . Το σώμα τους (θαλλός) είναι μυκήλιο κοινοκύτταρο, του οποίου τα κυτταρικά τοιχώματα περιέχουν κυτταρίνη (αντί για χιτίνη που υπάρχει στους πραγματικούς μύκητες) και γλυκάνες. Υπάρχουν μερικές περιπτώσεις-εξαιρέσεις όπου είναι δυνατόν στο κοινοκύτταρο μυκήλιο να σχηματισθούν εγκάρσια χωρίσματα (septa). Οι περιπτώσεις αυτές είναι οι ακόλουθες :

- απομόνωση γηρασμένου τμήματος του μυκηλίου
- απομόνωση τραυματισμένου τμήματος του μυκηλίου
- σχηματισμός αναπαραγωγικών οργάνων
- ανάπτυξη σε τοξικό περιβάλλον

Οι Ωομύκητες χαρακτηρίζονται από αγενή και εγγενή αναπαραγωγή.

Τα σπόρια της αγενούς αναπαραγωγής είναι τα ζωοσπόρια, και σχηματίζονται μέσα στα ζωοσποριάγγεια, τα οποία βλαστάνουν είτε με σχηματισμό βλαστικής υφής είτε με απελευθέρωση των ζωοσπορίων. Τα ζωοσπόρια με τη βοήθεια δύο μαστιγίων, τα οποία διαθέτουν, έχουν αυτόνομη κίνηση και κινούνται προς την εστία μόλυνσης. Μετά σύντομο χρονικό διάστημα σταματούν να κινούνται, εγκυστεύονται, βλαστάνουν και η βλαστική υφή εισέρχεται στον ξενιστή.

Τα σπόρια της εγγενούς αναπαραγωγής είναι τα **ωοσπόρια** και σχηματίζονται από την ένωση δύο ανισομεγέθων και διαφορετικού συζευκτικού τύπου γαμεταγγείων, του θήλεος, που είναι μεγαλύτερο και ονομάζεται **ωογόνιο** και του άρρενος που είναι μικρότερο και ονομάζεται **ανθηρίδιο**. Το περιεχόμενο του ανθηριδίου μέσω του σωλήνα σύζευξης περνά στο ωογόνιο και πραγματοποιείται η γονιμοποίηση και ο σχηματισμός του εγγενούς σπορίου. Τα ανθηρίδια αναλόγως του σημείου που προσκολλώνται στο ωογόνιο χαρακτηρίζονται ως **αμφίγυνα** (περί την βάση του ωογονίου) και ως **παράγυνα** (οποιοδήποτε σημείο πλην της βάσης).

Τα ωοσπόρια χαρακτηρίζονται από παχιά τοιχώματα, επιβιώνουν σε φυτικούς ιστούς, στο χώμα ή στην επιφάνεια σπόρων και αποτελούν πηγή γενετικών ανασυνδυασμών.

Από το σύνολο των Ωομυκήτων θα ασχοληθούμε με παθογόνα φυτών που ανήκουν στην τάξη Peronosporales και συγκεκριμένα στις οικογένειες Pythiaceae και Peronosporaceae.

Η οικογένεια Pythiaceae περιλαμβάνει μύκητες από τους οποίους οι μεν κατώτεροι είναι υδρόβιοι, οι δε ανώτεροι προσαρμοσμένοι σε ξηροφυτικό περιβάλλον. Λίγοι είναι σαπρόφυτοι ενώ οι περισσότεροι είναι προαιρετικά παράσιτα. Οι ασθένειες τις οποίες προκαλούν είναι **τήξεις σπορίων** και **νεκρώσεις φυταρίων πριν ή μετά** την ανάδυσή τους, **σηψιρριζίες** και **σήψεις** σπερμάτων.

Χαρακτηρίζονται από λευκό, κοινοκύτταρο μυκήλιο ταχείας αναπτύξεως, απευθείας βλάστηση των ζωοσποριαγγείων (σφαιρικών ή απιοειδών, χωρίς θηλή) ή σχηματισμός των ζωοσπορίων μετά από προηγούμενη διαφοροποίηση του περιεχομένου του ζωοσποριαγγείου μέσα σε κύστη, από παράγυνα ανθηρίδια,

Οι μύκητες της οικογένειας **Pythiaceae** πολλαπλασιάζονται αγενώς με ζωοσπόρια, τα οποία σχηματίζονται σε ζωοσποριάγγεια διαφόρων τύπων. Η εγγενής αναπαραγωγή γίνεται με ωοσπόρια.

Από τα γένη της οικογένειας Pythiaceae δύο παρουσιάζουν φυτοπαθολογικό ενδιαφέρον, το γένος **Pythium** και το γένος **Phytophthora**.

Οι μύκητες του γένους **Pythium** προκαλούν τήξεις σπορίων και φυταρίων σήψεις σπερμάτων και σηψιρριζίες. Χαρακτηρίζονται από λευκό, κοινοκύτταρο μυκήλιο ταχείας αναπτύξεως και παράγυνα ανθηρίδια. Στους μύκητες αυτούς παρατηρείται απευθείας βλάστηση ζωοσποριαγγείου ή σχηματισμός ζωοσπορίων μετά από προηγούμενη διαφοροποίηση του περιεχομένου τους μέσα σε κύστη.

Οι μύκητες του γένους *Phytophthora* προκαλούν σηψιρριζίες, προσβολές λαιμού, φύλλων ή καρπών.

Το πλέον εξελιγμένο είδος του γένους *Phytophthora* είναι ο *Phytophthora infestans* (προκαλεί την ασθένεια "περονόσπορο" της πατάτας και της τομάτας), του οποίου η βιολογία μοιάζει με εκείνη των πραγματικών περονόσπορων που ανήκουν στην οικογένεια Peronosporaceae και είναι προαιρετικό σαπρόφυτο. Σχηματίζει λεμονοειδή σποριάγγεια με θηλή και χαρακτηρίζεται από αμφίγυνα και παράγυνα ανθηρίδια. Παράγει λεπτούς, διακλαδισμένους σποριαγγειοφόρους με δυνατότητα συνεχούς και απεριόριστης ανάπτυξης. Τα σποριάγγεια αναλόγως της θερμοκρασίας δίδουν ζωοσπόρια ($\theta < 18 \text{ }^{\circ}\text{C}$) ή βλαστάνουν με βλαστική υφή ($\theta > 18 \text{ }^{\circ}\text{C}$).

ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΣΚΗΣΗ

Μακροσκοπικές Παρατηρήσεις

- Παρατηρήστε την εμφάνιση του μυκηλίου στους μύκητες: *Pythium* sp. και *Phytophthora* sp.

Μικροσκοπικές Παρατηρήσεις

- Παρατηρήστε το κοινοκύτταρο μυκήλιο, τα σπόρια και τα όργανα αναπαραγωγής των ιδίων μυκήτων, όπως: ζωοσποριάγγεια, ωογόνια, ανθηρίδια και ωοσπόρια

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Διαφορές: α) Pythiaceae και Peronosporaceae
β) *Pythium* sp. και *Phytophthora* sp.
γ) *Phytophthora infestans* με τους υπόλοιπους Pythiaceae.
2. Τι είδους ασθένειες προκαλούν οι Pythiaceae;
3. Περιγράψτε με λίγα λόγια το βιολογικό κύκλο ενός Pythiaceae.

Άσκηση 3η

ΧΡΩΜΙΣΤΑ (CHROMISTA) : Οικ. : *Peronosporaceae*

Οι μύκητες της οικογένειας *Peronosporaceae* είναι όλοι υποχρεωτικά παράσιτα ανώτερων φυτών και προκαλούν ασθένειες γνωστές με το όνομα **περονόσποροι**.

Προκειμένου για την διάγνωση μιας ασθένειας πρέπει να είναι γνωστές οι δύο ακόλουθες έννοιες :

Σύμπτωμα : ορατές αποκλίσεις από τις κανονικές διεργασίες που χαρακτηρίζουν τα υγιή φυτά σχετικά με την αύξηση, ανάπτυξη και μορφογένεσή τους (αναφέρεται στον ξενιστή)

Σημεία: ξένα προς το φυτό σώματα που συνίστανται από αναπαραγωγικά όργανα ή κατασκευές διαχειμάσεως ή άλλα τμήματα των παθογόνων (αναφέρεται στο παθογόνο).

Το μυκήλιο των *Peronosporaceae* είναι μεσοκυττάριο και τρέφεται με μυζητήρες. Όταν αυτό αναπτυχθεί αρκετά, μέσα στους ιστούς του ξενιστή και υπάρχει υψηλή υγρασία στο περιβάλλον, σχηματίζει τους **σποριαγγειοφόρους** του, οι οποίοι βγαίνουν κατά δέσμες, από τα στομάτια και σχηματίζουν τη χαρακτηριστική εξάνθηση (σημείο) των περονοσπόρων.

Τα **ωοσπόρια** των *Peronosporaceae* παράγονται στους μεσοκυττάριους χώρους των ιστών του ξενιστού και όταν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές, βλαστάνουν με βλαστική υφή ή δίνουν προμυκήλιο που στην άκρη του φέρει ένα ζωοσποριάγγειο.

Τα ενδιαφέροντα την Φυτοπαθολογία γένη της οικογένειας *Peronosporaceae* είναι τα γένη *Peronospora*, *Pseudoperonospora*, *Hyaloperonospora*, *Bremia* και *Plasmopara*.

Ως υποχρεωτικά παράσιτα εμφανίζουν εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή :

- *Bremia lactucae*: μαρούλι, αγκινάρα, ζωχός
- *Pseudoperonospora cubensis*: κολοκυνθοειδή
- *Hyaloperonospora parasitica*: σταυρανθή
- *Peronospora tabacina*: καπνός
- *Peronospora destructor*: κρεμμύδι
- *Peronospora farinosa*: σπανάκι
- *Plasmopara viticola*: αμπέλι

ΤΥΠΟΙ ΣΠΟΡΙΑΓΓΕΙΟΦΟΡΩΝ



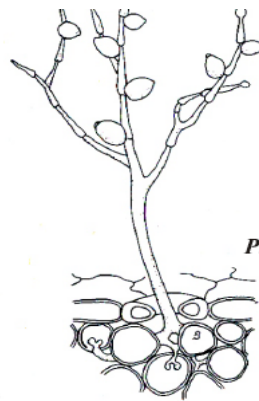
Peronospora
Pseudoperonospora
Hyaloperonospora



Plasmopara



Bremia



Phytophthora infestans

ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΣΚΗΣΗ

➤ *Μακροσκοπικές παρατηρήσεις*

Παρατηρείστε την εξάνθηση των μυκήτων:

Hyaloperonospora parasitica σε φύλλα σταυρανθών,

Pseudoperonospora cubensis σε φύλλα αγγουριάς,

Bremia lactucae σε φύλλα μαρουλιού, και

Plasmopara viticola σε φύλλα αμπελιού.

➤ *Μικροσκοπικές παρατηρήσεις*

Παρατηρείστε ζωοσποριαγγειοφόρους και ζωοσποριάγγεια μυκήτων των γενών:

Peronospora, *Hyaloperonospora*, *Pseudoperonospora*, *Bremia* και *Plasmopara*.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Διαφορές και ομοιότητες μεταξύ:
 - α) των πραγματικών περονοσπόρων και του "περονοσπόρου" της πατάτας.
 - β) των γενών *Peronospora* και *Pseudoperonospora*.
2. Τι είδους υπόστρωμα χρησιμοποιούμε για να διατηρούμε τους περονοσπόρους στο εργαστήριο ;
3. Ποια είναι η απαραίτητη προϋπόθεση για να σχηματίσουν οι Peronosporaceae τους σποριαγγειοφόρους τους ;
4. Πού βρίσκεται το μυκήλιο των Peronosporaceae και πώς τρέφεται ;
5. Πώς βλαστάνουν κατά κανόνα τα ζωοσποριάγγεια και τα ωοσπόρια των Peronosporaceae ;
6. Τι ονομάζεται σύμπτωμα και τι σημείο ;
7. Ταξινομείστε τα ενδιαφέροντα τη Φυτοπαθολογία γένη των Peronosporaceae και συγκρίνατε τη μορφολογία των σποριαγγειοφόρων και σποριαγγείων των Peronosporaceae με το σποριαγγειοφόρο και τα σποριάγγεια του μύκητα *Phytophthora infestans*.

Άσκηση 4η

ΜΥΚΗΤΕΣ (FUNGI): ΑΣΚΟΜΥΚΗΤΕΣ (ASCOMYCOTA)

Οι **Ασκομύκητες** είναι μύκητες των οποίων το μυκήλιο φέρει εγκάρσια χωρίσματα (septa), το χαρακτηριστικό δε που διακρίνει (ξεχωρίζει) τα μέλη αυτού του φύλου από όλους τους άλλους μύκητες είναι ο **ασκός**, ένα κύτταρο (καρποφορία) που μοιάζει με σάκο εντός του οποίου παράγονται τα **ασκοσπόρια** (εγγενή σπόρια), προϊόντα καρυογαμίας και μειώσεως.

Οι περισσότεροι Ασκομύκητες εκτός του εγγενούς σταδίου (teleomorph - τέλεια μορφή) έχουν και ένα αγενές στάδιο (anamorph - ατελής μορφή) και παράγουν αγενή σπόρια (κονίδια) σε ελεύθερους κονιδιοφόρους ή σε σύνθετες καρποφορίες αγενούς αναπαραγωγής.

Οι Ασκομύκητες είναι ένα φύλο δύσκολα ταξινομούμενο. Έχουν γίνει διάφορες προσπάθειες προκειμένου να ταξινομηθούν σε αθροίσματα μικρότερα του φύλου. Η ταξινόμηση τους βασίζεται σε στοιχεία μορφολογικά, λεπτής δομής και μοριακής βιολογίας.

Βάσει των ανωτέρω οι Ασκομύκητες κατατάσσονται σε τρεις κλάσεις :

I. **ARCHIASCOMYCETES**: Ένα ετερογενές άθροισμα μυκήτων με κοινά στοιχεία βάσει της μοριακής βιολογίας. Μια μόνο τάξη ενδιαφέρει τη φυτοπαθολογία η τάξη **Taphrinales** με την οικογένεια **Taphrinaceae**, στην οποία υπάγονται οι μύκητες του γένους **Taphrina** που προκαλούν τις ασθένειες με το όνομα εξώασκοι, αυτοί δε σχηματίζουν γυμνούς ασκούς πάνω στον ξενιστή.

II. **SACCHAROMYCETES**: Η κλάση αυτή περιλαμβάνει μονοκύτταρους μύκητες που σχηματίζουν γυμνούς ασκούς και αναπαράγονται δι' εκβλαστήσεως, σ' αυτή την κλάση υπάγονται οι κοινές **ζύμες**.

III. **FILAMENTOUS FUNGI (ΜΥΚΗΛΙΑΚΟΙ ΑΣΚΟΜΥΚΗΤΕΣ)**: Ετερογενής κλάση η οποία περιλαμβάνει μύκητες που διαφέρουν μεταξύ τους στην κατασκευή των ασκών και στη μορφολογία των ασκοκαρπίων. Στην κλάση αυτή ανήκουν μύκητες με φυτοπαθολογικό ενδιαφέρον ως παθογόνα καλλιεργουμένων φυτών (**φουζικλάδια, σκληρωτινιάσεις, ωΐδια**).

Οι μυκηλιακοί μύκητες ομαδοποιούνται, βάσει του τύπου του ασκοκαρπίου που σχηματίζουν, στις εξής κατηγορίες που δεν είναι δόκιμα ταξινομικά αθροίσματα.

A) **Πυρηνομύκητες** : Ασκομύκητες με σύνθετη εγγενή καρποφορία
το **περιθήκιο**.

Β) **Ασκοστρωματομύκητες** : Ασκομύκητες με σύνθετη εγγενή καρποφορία
το **ασκόστρομα**.

Γ) **Δισκομύκητες** : Ασκομύκητες με σύνθετη εγγενή καρποφορία
το **αποθήκιο**.

Δ) **Ατελείς Μύκητες** : Ασκομύκητες χωρίς εγγενή αναπαραγωγή.

Στην σημερινή άσκηση θα ασχοληθούμε με τους μύκητες που προκαλούν τις γνωστές σαν **ωΐδια** ασθένειες των φυτών. Με τον όρο ωΐδιο χαρακτηρίζεται τόσο η ασθένεια όσο και το παθογόνο.

Οι μύκητες αυτοί λόγω ιδιαίτερων ταξινομικών χαρακτήρων δεν ομαδοποιούνται σε ευρύτερη κατηγορία αλλά τοποθετούνται όλοι στην τάξη **Erysiphales** και σε μία μόνο οικογένεια την **Erysiphaceae**.

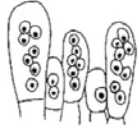
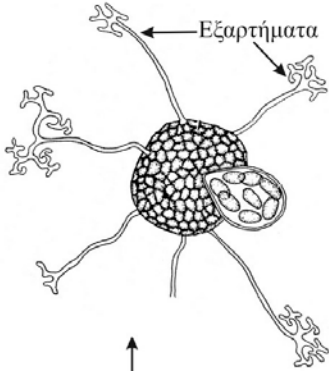


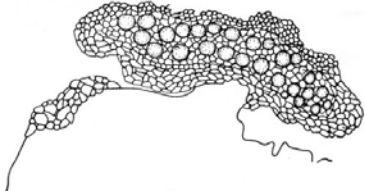
Στην τάξη αυτή οι ασκοί σχηματίζονται σε ασκοκάρπια κλειστά που καλούνται **κλειστοθήκια**

Η ταξινόμηση των γενών της οικογένειας Erysiphaceae γίνεται με βάση τον αριθμό των ασκών που παράγονται στο κλειστοθήκιο καθώς και την μορφολογία των εξαρτημάτων των κλειστοθηκίων, διακρίνονται έτσι τα εξής επτά γένη: **Sphaerotheca, Podosphaera, Erysiphe, Phyllactinia, Microsphaera, Uncinula και Leveillula**.

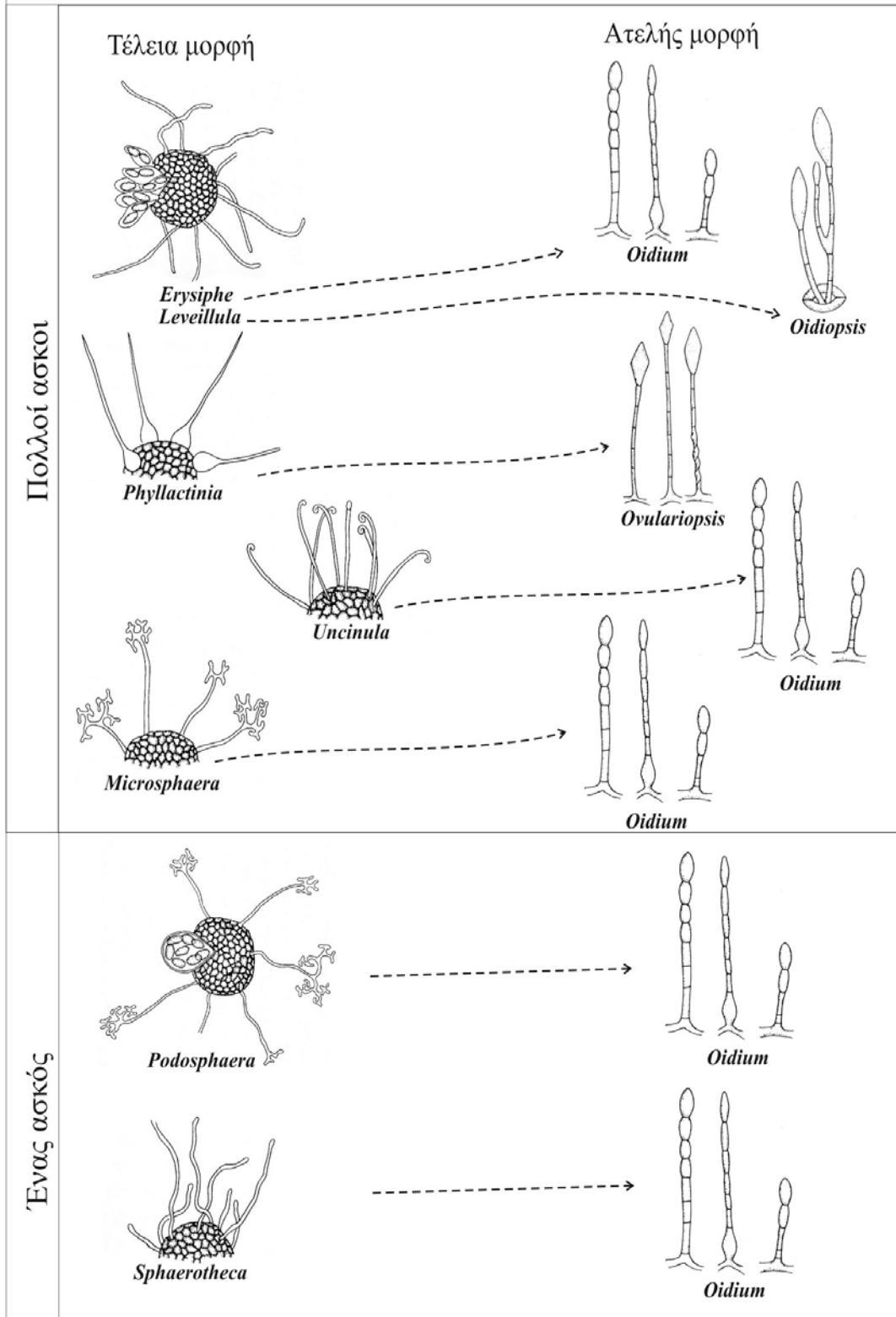
Όλα τα γένη των Erysiphaceae είναι υποχρεωτικά παράσιτα το δε μυκήλιο τους, εκτός των γενών *Leveillula* και *Phyllactinia* (ενδοπαράσιτο και ημιενδοπαράσιτο αντίστοιχα), είναι εκτοπαράσιτο και τρέφεται με μυζητήρες που στέλνει στα κύτταρα της επιδερμίδας του ξενιστή που παρασιτεί. Στην επιφάνεια των ξενιστών, οι μύκητες αυτοί σχηματίζουν χαρακτηριστική εξάνθηση, η οποία αποτελείται από μυκήλιο και καρποφορίες (κονιδιοφόροι - κονίδια) της αγενούς τους μορφής . Πολλές φορές η εξάνθηση συνδυάζεται με πολυστιγμία όταν στον ξενιστή σχηματίζονται και οι εγγενείς καρποφορίες (κλειστοθήκια).

Οι ατελείς μορφές των ωΐδιων ταξινομούνται, αναλόγως με τη μορφολογία των κονιδιοφόρων, στα εξής τρία γένη **Oidium, Oidiopsis και Ovulariopsis** των Hyphomycetes των Ατελών Μυκήτων (Mitosporic Fungi).

Τύποι Καρποφοριών Ασκομυκήτων

Γυμνοί ασκοί	 Τάξη Taphrinales
Ασκοί σε ασκοκάρπια	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  Κλειστοθήκιο Erysiphales </div> <div style="text-align: center;">  Περιθήκιο ΠΥΡΗΝΟΜΥΚΗΤΕΣ </div> <div style="text-align: center;">  Αποθήκιο ΔΙΣΚΟΜΥΚΗΤΕΣ </div> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  ασκόστρωμα ΑΣΚΟΣΤΡΩΜΑΤΟΜΥΚΗΤΕΣ </div>

ΚΑΡΠΟΦΟΡΙΕΣ ΩΙΔΙΩΝ



ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΣΚΗΣΗ

Μακροσκοπικές παρατηρήσεις

- Παρατηρείστε την εξάνθηση και τις καρποφορίες των ωιδίων.
- Διακρίνετε μακροσκοπικές διαφορές μεταξύ περονόσπορων και ωιδίων.

Μικροσκοπικές παρατηρήσεις

- Παρατηρείστε τους κονιδιοφόρους και τα κονίδια του γένους *Oidium*.
- Παρατηρείστε και διακρίνετε τα κλειστοθήκια των γενών *Erysiphe*, *Phyllactinia*, *Uncinula* και *Podosphaera*. (Παρατήρηση εξαρτημάτων και αριθμού ασκών).

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Ποιες ασθένειες ονομάζονται εξώασκοι ;
2. Ποιοι μορφολογικοί χαρακτήρες χρησιμοποιούνται για τη διάκριση των γενών (τελείας και ατελούς μορφής) των ωιδίων ;
3. Τι συμπτώματα και τι σημεία προκαλούν τα ωΐδια ;
4. Που μοιάζουν και που διαφέρουν οι περονόσποροι από τα ωΐδια ;
5. Γιατί πρέπει να είναι γνωστή η σχέση ατελούς και τελείας μορφής στους Ασκομύκητες;

Άσκηση 5η

ΜΥΚΗΤΕΣ (FUNGI): ΒΑΣΙΔΙΟΜΥΚΗΤΕΣ (BASIDIOMYCOTA)

Οι **Βασιδιομύκητες** είναι μύκητες των οποίων το μυκήλιο φέρει εγκάρσια χωρίσματα και χαρακτηρίζονται κυρίως από το γεγονός ότι παράγουν τα εγγενή τους σπόρια, **τα βασιδιοσπόρια**, στο εξωτερικό μίας ειδικής μικροσκοπικής κατασκευής-καρποφορίας που ονομάζεται **βασίδιο**. Το τυπικό βασίδιο είναι ροπαλοειδές και σχηματίζει τέσσερα βασιδιοσπόρια προϊόντα καρυογαμίας και μειώσεως. Υπάρχουν όμως και Βασιδιομύκητες των οποίων το βασίδιο διαφέρει από την τυπική αυτή ροπαλοειδή κατασκευή (άτυπο).

Το βασίδιο σχηματίζεται είτε από μυκήλιο είτε από την βλάστηση του τελειοσπορίου. **Το τελειοσπόριο** είναι ένα χαρακτηριστικό σπόριο το οποίο παράγεται από ορισμένες τάξεις Βασιδιομυκήτων με ιδιαίτερο φυτοπαθολογικό ενδιαφέρον.

Πολλοί Βασιδιομύκητες παράγουν τα βασίδιά τους σε καρποφορίες που ονομάζονται βασιδιοκάρπια (σποριοφόροι - μεγάλα μανιτάρια) καρποφορίες ανάλογες των ασκοκαρπίων των Ασκομυκήτων.

Οι Βασιδιομύκητες είναι ένα ενδιαφέρον άθροισμα μυκήτων. Περιλαμβάνει είδη που προκαλούν σοβαρές ασθένειες σε καλλιεργούμενα και δασικά φυτά. Οι σποριοφόροι πολλών ειδών είναι εδώδιμοι, ενώ άλλοι είναι δηλητηριώδεις. Ορισμένοι Βασιδιομύκητες συμβιώνουν με τις ρίζες ανωτέρων φυτών ως **μυκόρριζες**.

Από πλευράς ταξινόμησης με φυλογενετικά κριτήρια, τα δεδομένα της Μοριακής Βιολογίας έχουν δώσει λίγες πληροφορίες, γι' αυτό και η ταξινόμηση σε υψηλότερα ταξινομικά αθροίσματα όπως κλάσεις και υποκλάσεις είναι υπό διαμόρφωση. Ως αποτέλεσμα αυτών των δεδομένων τα χαρακτηριστικά της τάξεως έχουν επιλεγεί σαν τα πλέον αξιόπιστα για την κατάταξη των Βασιδιομυκήτων.

Οι πλέον ενδιαφέρουσες τάξεις από Φυτοπαθολογικής πλευράς είναι οι ακόλουθες:

1. Τάξη Agaricales (Μανιτάρια). Βασίδια τυπικά χωρίς εγκάρσια χωρίσματα παραγόμενα σε ακτινωτά ελάσματα.

Armillaria mellea (Σηψιρριζίες δασικών και καλλιεργουμένων δένδρων).

Omphalotus olearius (Σηψιρριζίες στην ελιά)

Pleurotus spp. (Εδώδιμα και επιζήμια είδη σε δασικά φυτά).

Επίσης υπάρχουν γένη που συμβιώνουν με τις ρίζες ανωτέρων φυτών ως μυκόρριζες.

2. Τάξη Aphillophorales. Βασίδια παραγόμενα σε υμένα τα οποία επενδύουν την εσωτερική επιφάνεια πόρων ή σωληνίσκων.

Phellinus spp.

Stereum spp.

Polyporus spp.

Corticium spp.

Phaeomoniella sp.

Fomitiporia sp.

Πολλά είδη αυτών των γενών προκαλούν σήψεις του ξύλου των δένδρων, ενώ τα δύο τελευταία γένη προκαλούν την γνωστή ασθένεια της αμπέλου ίσκα.

3. Τάξη Ustilaginales. Βασίδια με εγκάρσια ή χωρίς εγκάρσια χωρίσματα, παραγόμενα από την βλάστηση των τελειοσπορίων. Τελειοσπόρια μεμονωμένα ή σε σωρούς. Παρασιτούν τα φυτά με δικάρυο μυκήλιο σχηματιζόμενο από την ένωση συμβατών σπορίων ή υφών. Παράγουν μόνο τελειοσπόρια ή βασιδιοσπόρια. Προαιρετικά σαπρόφυτα.

Ustilago spp. (άνθρακες)

Tilletia spp. (δαυλίτες)

Urocystis spp. (γραμμωτοί άνθρακες)

4. Τάξη Uredinales. Βασίδιο με εγκάρσια χωρίσματα, παραγόμενο από την βλάστηση του τελειοσπορίου. Δικαρύωση επιτυγχάνεται με την ένωση σπερματίων με συμβατές δεκτικές υφές. Παράγουν δύο ή περισσότερους τύπους σπορίων : τελειοσπόρια, βασιδιοσπόρια, αικιδιοσπόρια και ουρεδοσπόρια. Υποχρεωτικά παράσιτα. Τα ακόλουθα γένη προκαλούν τις γνωστές ως **σκωριάσεις** ασθένειες των φυτών.

Uromyces spp.

Pileolaria spp.

Hemileia spp.

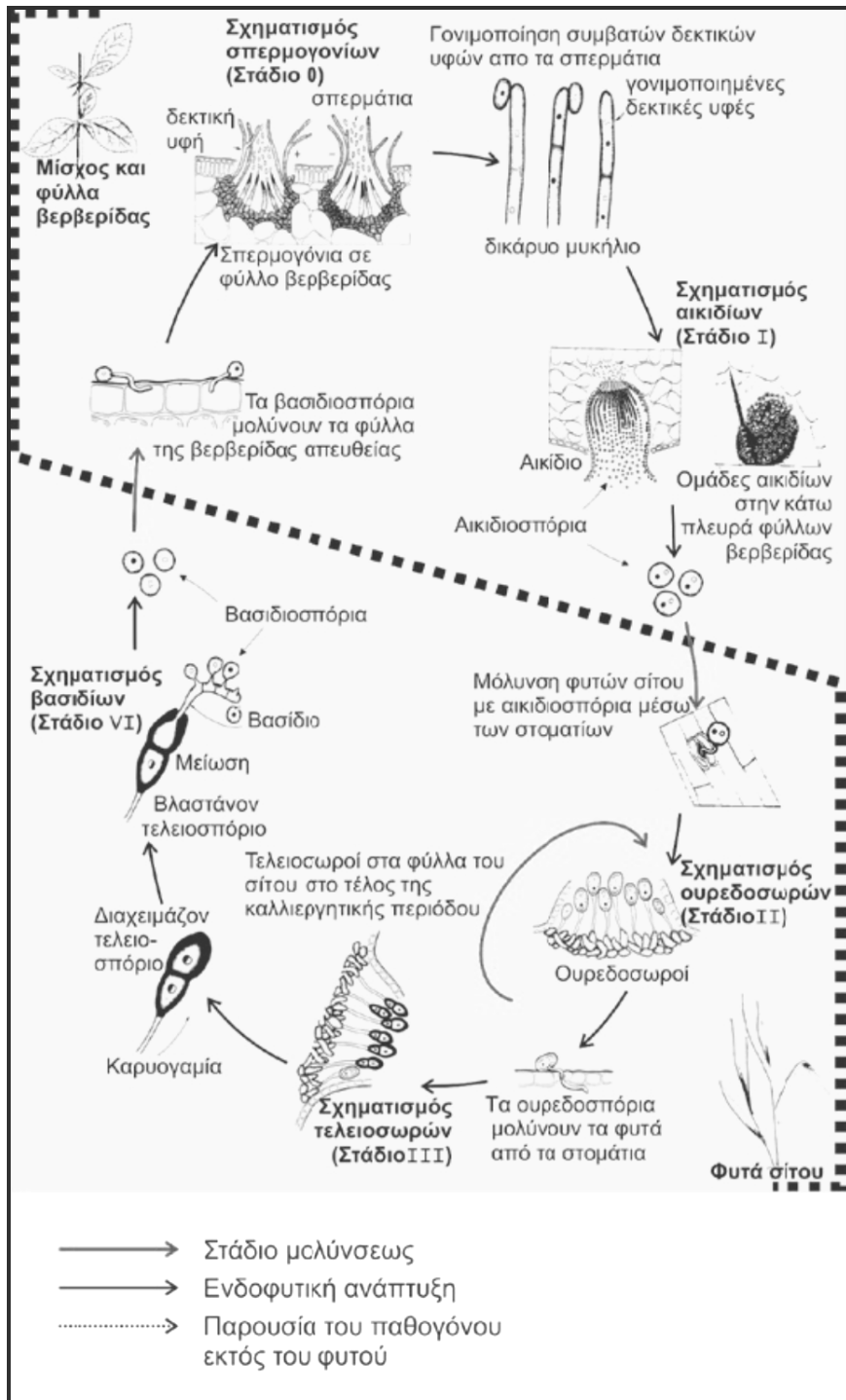
Tranzschelia spp.

Puccinia spp.

Gymnosporangium spp.

Phragmidium spp.

Βιολογικός κύκλος του μύκητα *Puccinia graminis*



ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΣΚΗΣΗ

➤ *Μακροσκοπικές παρατηρήσεις*

1. Παρατηρείστε, σε διάφορα σιτηρά, συμπτώματα και σημεία, από προσβολές, μυκήτων του γένους *Ustilago*.
2. Διακρίνετε μακροσκοπικές διαφορές μεταξύ σκωριάσεων και ανθράκων, στα σιτηρά.
3. Παρατηρείστε τον τύπο προσβολής, σε αχλαδιά και *Juniperus* sp., από τον μύκητα *Gymnosporangium fuscum*.

➤ *Μικροσκοπικές παρατηρήσεις*

1. Παρατηρείστε τα τελειοσπόρια του γένους *Ustilago*.
2. Παρατηρείστε ουρεδοσπόρια και τελειοσπόρια των μυκήτων *Uromyces appendiculatus*, *Puccinia graminis* και *Phragmidium* sp.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Ποιες είναι οι διαφορές μεταξύ Ασκομυκήτων και Βασιδιομυκήτων;
2. Ποιες είναι οι διαφορές μεταξύ των τάξεων Ustilaginales και Uredinales;
3. Ποια είναι τα είδη των καρποφοριών των σκωριάσεων και ποια στάδια χαρακτηρίζουν;
4. Ποια είναι τα σπουδαιότερα, από επιδημιολογική άποψη, σπόρια των σκωριάσεων και γιατί;
5. Ποια είναι η καρποφορία που δεν μπορεί να λείπει από ένα μικροκυκλικό Uredinales;
6. Ποιος είναι ο ρόλος των πυκνιοσπορίων;
7. Τι ομοιότητα παρουσιάζει το μυκήλιο του μύκητα *Taphrina deformans* με αυτό των σκωριάσεων;

Άσκηση 6η

ΑΔΗΛΟΜΥΚΗΤΕΣ ή ΑΤΕΛΕΙΣ ΜΥΚΗΤΕΣ

Deuteromycetes- Mitosporic fungi- Fungi imperfecti

Είναι ένα τεχνητό άθροισμα και περιλαμβάνει μύκητες των οποίων μόνο η αγενής αναπαραγωγή είναι γνωστή. Στο άθροισμα αυτό εκτός από αυτούς που έχουν χάσει την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται εγγενώς κατατάσσονται και μύκητες, όπως είναι πολλά παθογόνα φυτών που σχηματίζουν τις τέλειες μορφές (teleomorph-εγγενείς καρποφορίες) σχετικά σπάνια, μία φορά το χρόνο μετά το θάνατο του φυτού ξενιστή. Αυτούς τους συναντάμε μόνο με την αγενή τους μορφή (anamorph-αγενείς καρποφορίες) στα φυτά ξενιστές και αποτελούν τις αγενείς μορφές Ασκομυκήτων και Βασιδιομυκήτων.

Στους **Αδηλομύκητες** κατατάσσονται επίσης αρκετοί μύκητες των οποίων ο βιολογικός κύκλος δεν είναι πλήρως γνωστός και ενδεχομένως αργότερα όταν μελετηθούν επαρκώς, να γίνει ο συσχετισμός ατελούς και τέλειας μορφής.

Η ταξινόμηση των Ατελών Μυκήτων κατά φυλογενετικό τρόπο είναι αδύνατος, γιατί το άθροισμα είναι ετερογενές και τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται είναι μόνο μορφολογικά. Γι' αυτό για την ταξινόμησή τους δεν χρησιμοποιούνται ταξινομικά αθροίσματα μεταξύ της κλάσεως και του γένους.

Για την ταξινόμηση σε κλάσεις το ταξινομικό κριτήριο που χρησιμοποιείται είναι ο τύπος της αγενούς καρποφορίας. Ο προσδιορισμός του γένους γίνεται με κριτήρια που αφορούν σε χαρακτηριστικά της καρποφορίας πάνω ή μέσα στην οποία παράγονται τα κονίδια, επίσης σε χαρακτηριστικά των κονιδίων, όπως είναι το σχήμα, το χρώμα και ο αριθμός των κυττάρων τους.

Τρεις κλάσεις αναγνωρίζονται παραδοσιακά:

Hyphomycetes: Παράγουν κονίδια σε ελεύθερους κονιδιοφόρους ή σε κονιδιοφόρους που σχηματίζουν συννήματα ή σποριοδόχεια.

Agonomycetes: Δεν παράγουν κανενός είδους σπόρια. Αναπαράγονται με σκληρώτια, γλαμυδοσπόρια και άλλους μυκηλιακούς σχηματισμούς.

Coelomycetes: Παράγουν κονίδια σε πυκνίδια και ακέρβουλα.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ Α' ΑΣΚΗΣΗ

➤ *Μακροσκοπικές παρατηρήσεις*

Παρατηρείστε τα συμπτώματα και τα σημεία των μυκήτων *Septoria* spp. σε φύλλα σέλινου και φιστικιάς.

Παρατηρείστε τα συμπτώματα και τα σημεία του μύκητα *Marssonina juglandis* σε φύλλα καρυδιάς.

➤ *Μικροσκοπικές παρατηρήσεις*

Μελετείστε τα πυκνίδια και πυκνιδιοσπόρια των μυκήτων *Phoma* sp. και *Septoria* sp. καθώς και τα σπόρια του μύκητα *Marssonina juglandis*.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ Β' ΑΣΚΗΣΗ

➤ *Μακροσκοπικές παρατηρήσεις*

Παρατηρείστε την εμφάνιση του μυκηλίου των μυκήτων *Botrytis cinerea*, *Verticillium dahliae*, *Thielaviopsis basicola*, *Penicillium* sp., *Alternaria* sp. και *Fusarium* sp.

➤ *Μικροσκοπικές παρατηρήσεις*







Παρατηρείστε τους κονιδιοφόρους και τα κονίδια των μυκήτων *Botrytis cinerea*, *Verticillium dahliae*, *Thielaviopsis basicola*, *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Ποια η σχέση Ασκομυκήτων και Αδηλομυκήτων ;
2. Πού βασίζεται η υποδιαίρεση των Αδηλομυκήτων σε τάξεις και γένη ;
3. Γιατί η τάξη των Αδηλομυκήτων θεωρείται τεχνητό άθροισμα ;
4. Γιατί εξακολουθούμε να ονομάζουμε ορισμένους μύκητες, με το όνομα της ατελούς τους μορφής, αν και γνωρίζουμε την τέλεια ;

ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΕΩΣ των γενών των Ανωτέρων Μυκήτων κατά SACCARDO

Το σύστημα αυτό βασίζεται στους μορφολογικούς χαρακτήρες των σπορίων (σχήμα, χρώμα, αριθμός και διάταξη εγκαρσίων χωρισμάτων)

Μορφολογικοί χαρακτήρες σπορίου: σχήμα, αριθμός και διάταξη εγκαρσίων χωρισμάτων	Τύπος σπορίου και όνομα του αθροίσματος των γενών	Σπόρια ναλώδη (άχρωμα) ή με ανοικτούς χρωματισμούς (HYALO-)	Σπόρια σκοτεινού χρώματος έως μελανού (PHEO-)
Σπόρια μονοκύτταρα: Σφαιρικά ή ωσειδή ή ελαφρώς επιμήκη	ΑΜΕΡΟΣΠΟΡΙΑ Όνομα αθροίσματος γενών: AMEROSPORAE 	HYALOSPORAE	PHEOSPORAE
Σπόρια δικύτταρα: Σφαιρικά ή ωσειδή ή ελαφρώς επιμήκη	ΔΙΔΥΜΟΣΠΟΡΙΑ Όνομα αθροίσματος γενών: DIDYMOSPORAE 	HYALODIDYMAE	PHEODIDYMAE
Σπόρια με δύο ή περισσότερα εγκάρσια χωρίσματα	ΦΡΑΓΜΟΣΠΟΡΙΑ Όνομα αθροίσματος γενών: PHRAGMOSPORAE 	HYALOPHRAGMIAE	PHEOPHRAGMIAE
Σπόρια με εγκάρσια και επιμήκη χωρίσματα	ΔΙΚΤΥΟΣΠΟΡΙΑ Όνομα αθροίσματος γενών: DICTYOSPORAE 	HYALODICTYAE	PHEODICTYAE
Σπόρια νηματοειδή σκοληκόμορφα μονοκύτταρα ή πολυκύτταρα	ΣΚΩΛΗΚΟΣΠΟΡΙΑ Όνομα αθροίσματος γενών: SCOLECOSPORAE 	Χωρίς διάκριση χρώματος	Χωρίς διάκριση χρώματος
Σπόρια διαφόρων άλλων σχημάτων χωρίς φυτοπαθολογικό ενδιαφέρον	ΕΛΙΚΟΣΠΟΡΙΑ ΣΤΑΥΡΟΣΠΟΡΙΑ 		

Άσκηση 7η

ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Τα φυτοπαθογόνα βακτήρια ανήκουν στο βασίλειο των Προκαρυωτικών. Ταξινομούνται με βάση την ικανότητά τους να χρωματίζονται ή όχι κατά την χρώση Gram, τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των βακτηρίων και των αποικιών τους και κυρίως τις τροφικές, φυσιολογικές, βιοχημικές, γενετικές και φυτοπαθολογικές ιδιότητες.

Τα φυτοπαθογόνα βακτήρια είναι προκαρυωτικοί μικροοργανισμοί που περιβάλλονται από κυτταρικό τοίχωμα, σχήματος σφαιρικού όπως οι κόκκοι, ραβδοειδούς, όπως οι βάκιλοι, ή νηματοειδούς όπως οι ακτινομύκητες και με διαστάσεις από 0.5-0.8×2-3 μm.

Τα περισσότερα έχουν αυτόνομη κίνηση με μαστίγια.

Πολλαπλασιάζονται με διαίρεση.

Τα κυτταρικά τοιχώματά τους περιέχουν μуреΐνη (πεπτιδογλυκάνες) και όχι χιτίνη ή κυτταρίνη.

Οι κυτταρικές τους μεμβράνες δεν έχουν στερόλες.

Στην ομάδα των Βακτηρίων συμπεριλαμβάνονται και οι ρικέτσιες και τα γλαμύδια (με υποχρεωτικό ενδοκυτταρικό τρόπο διαβίωσης), οι σπειροχαΐτες (με χαρακτηριστική κυτταρική κατασκευή) καθώς και τα μυκοπλάσματα (στερούμενα καθορισμένου κυτταρικού τοιχώματος). Σύμφωνα με παλαιότερη ταξινομική κατάταξη, μόνο 6 γένη περιελάμβαναν είδη που είναι παθογόνα ανώτερων φυτών: *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* και *Xanthomonas*. Σύμφωνα με πρόσφατη κατάταξη τα φυτοπαθογόνα βακτήρια ανήκουν στα γένη *Acidovorax*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Clavibacter*, *Clostridium*, *Curtobacterium*, *Erwinia*, *Gluconobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Rathayibacter*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Xanthomonas*, *Xylella* και *Xylophilus*.

ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Η διάγνωση των οφειλομένων σε βακτήρια ασθενειών βασίζεται : **α)** στην παρατηρούμενη συμπτωματολογία (π.χ. υπερπλασίες, νεκρωτικές κηλίδες σε βλαστούς / φύλλα / καρπούς, υγρές και μαλακές σήψεις), **β)** στην απομόνωση του

παθογόνου από τον προσβεβλημένο φυτικό ιστό και γ) σε σειρά βιοχημικών, ορρολογικών, μοριακών και βιολογικών δοκιμών για την ταυτοποίηση του απομονωθέντος παθογόνου. Στις βιολογικές δοκιμές περιλαμβάνονται η αντίδραση υπερευαισθησίας (Hypersensitive Response, HR) και η δοκιμή παθογένειας σε φυτά ξενιστές για το υπό εξέταση φυτοπαθογόνο βακτήριο.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Για την απομόνωση ενός παθογόνου βακτηρίου σε καθαρή καλλιέργεια επιλέγονται φυτικά τμήματα με αρχικά συμπτώματα, ώστε να αποφεύγεται η έντονη παρουσία δευτερογενών σαπροφυτικών μικροοργανισμών, καθώς και οριακές περιοχές μεταξύ υγιούς και προσβεβλημένου ιστού. Υπό ασηπτικές συνθήκες παρασκευάζονται λεπτές τομές από τις επιλεγμένες περιοχές και μεταφέρονται σε σταγόνες αποστειρωμένου νερού, όπου γίνεται διάχυση των βακτηρίων από τους ιστούς προς το νερό (δημιουργία βακτηριακού αιωρήματος). Με τον μικροβιολογικό κρίκο μικρή ποσότητα του αιωρήματος μεταφέρεται ασηπτικά και επιστρώνεται με γραμμωτή διασπορά (streaking) σε τρυβλίο με κατάλληλο στερεό αποστειρωμένο θρεπτικό υπόστρωμα (Σχήμα 1). Τα τρυβλία αφήνονται για επώαση συνήθως στους 25-26 °C για 24-72 ώρες. Μεμονωμένες αποικίες μεταφέρονται σε νέο τρυβλίο με κατάλληλο στερεό αποστειρωμένο θρεπτικό υπόστρωμα δημιουργώντας καθαρές καλλιέργειες, για προσδιορισμό του βακτηριακού γένους και είδους ή για περαιτέρω έρευνα.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΥΠΕΡΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ

Η αντίδραση υπερευαισθησίας είναι μία μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου και εκδηλώνεται ως ακραία έκφραση αντοχής των φυτών σε βακτηριολογικές, μυκητολογικές και ιολογικές προσβολές. Η αντίδραση γίνεται ορατή με την ταχεία νέκρωση κυττάρων του ξενιστή, ως επακόλουθο της επιχειρούμενης μόλυνσης. Η ταχεία τοπική νέκρωση των φυτικών κυττάρων (λόγω απώλειας της επιλεκτικής διαπερατότητας του συστήματος των βιομεμβρανών τους και επακόλουθης αφυδάτωσής τους) και η παραγωγή αντιμικροβιακών ενώσεων (φυτοαλεξινών) που συσσωρεύονται στα σημεία εισόδου του παθογόνου στο φυτό εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό του παθογόνου και την επέκτασή του στο φυτό. Θεωρείται ότι για τη νέκρωση ενός φυτικού κυττάρου ευθύνεται ένα βακτηριακό κύτταρο. Η επαγωγή αντίδρασης υπερευαισθησίας σε ένα ετερόλογο φυτό (μη-

ξενιστή) αποτελεί μία ταχεία μέθοδο εκτίμησης της φυτοπαθογόνου ικανότητας βακτηριακών στελεχών, όπως άλλωστε και οι απλές δοκιμές παθογένειας σε φυτικά τμήματα ή μολύνσεις νεαρών φυτών σε γλάστρες. Στην περίπτωση των ευπαθών φυτών-ξενιστών, το παθογόνο έχει αναπτύξει μηχανισμούς που του επιτρέπουν να παρακάμπτει την αντίδραση υπερευαισθησίας, να εγκαθίσταται και να προκαλεί συμπτώματα της ασθένειας. Υπεύθυνα για την επαγωγή αμυντικών αντιδράσεων σε ανθεκτικά φυτά αλλά και για την πρόκληση ασθενειών σε ευπαθή θεωρούνται τα γονίδια *hpr* που έχουν ανιχνευτεί σε πολλά φυτοπαθογόνα βακτήρια και που κωδικοποιούν συστατικά ενός εξειδικευμένου συστήματος έκκρισης πρωτεϊνών.

ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Η αύξηση των βακτηρίων σε κλειστό περιβάλλον υπό μη περιοριστικές συνθήκες (με όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά σε ποσότητες μη περιοριστικές και με σταθερές φυσικοχημικές συνθήκες) περιγράφεται από την εκθετική εξίσωση $X_t = X_0 2^{t/t_d}(1)$, όπου x_t το μέγεθος του πληθυσμού μετά από μια περίοδο αύξησης t , x_0 το αρχικό μέγεθος του πληθυσμού και t_d ο χρόνος w συμπληρώσεως μίας γενιάς που οδηγεί σε διπλασιασμό του μεγέθους του πληθυσμού (Σχήμα 2.).

Η πορεία ανάπτυξης των βακτηρίων σε θρεπτικά υλικά μπορεί να παρασταθεί με καμπύλη η οποία διαχωρίζεται σε τέσσερις φάσεις.

Στάσιμη φάση (Lag phase). Στη φάση αυτή δεν παρατηρείται πολλαπλασιασμός των βακτηρίων, αλλά τα κύτταρα των βακτηρίων συνθέτουν τα απαραίτητα ένζυμα, και τις πρωτεΐνες για την επόμενη φάση. Πρόκειται για φάση προσαρμογής του βακτηρίου στις συνθήκες που βρέθηκε, και η διάρκεια αυτής της φάσης εξαρτάται από τον αρχικό αριθμό των βακτηρίων, από την ηλικία της καλλιέργειας και από τη σύσταση του θρεπτικού υλικού.

Λογαριθμική φάση (εκθετική-log or exponential phase). Η φάση αυτή χαρακτηρίζεται από έντονο πολλαπλασιασμό των μικροβίων, καθόσον μετά από κάθε διαίρεση των μικροβιακών κυττάρων (χρόνος γενεάς) ο αριθμός των μικροβίων διπλασιάζεται. Ο χρόνος γενεάς για τα περισσότερα βακτήρια είναι 20-30'. Τα Εντεροβακτήρια αναπτύσσονται με χρόνο γενεάς 15-30'. Κατά τη διάρκεια της φάσης αυτής τα κύτταρα μπορούν να υποστούν αλλαγές στο μέγεθος, επίσης στο τέλος της φάσης παρατηρείται αναστολή της ανάπτυξης καθόσον τα αρχικά θρεπτικά υλικά εξαντλούνται, και λόγω συγκέντρωσης στο υλικό προϊόντων ανταλλαγής της ύλης βλαπτικών για τον περαιτέρω πολλαπλασιασμό των βακτηρίων. Για τους

αερόβιους μικροοργανισμούς η έλλειψη οξυγόνου αποτελεί κύριο αίτιο αναστολής της ανάπτυξης.

Φάση στασιμότητας (Stationary phase). Κατά τη φάση αυτή αναστέλλεται ο πολλαπλασιασμός των βακτηρίων λόγω έλλειψης θρεπτικών υλικών, ελάττωσης σε οξυγόνο, και συσσώρευσης τοξικών προϊόντων από το μεταβολισμό των κυττάρων. Παρατηρείται όμως ελάχιστος πολλαπλασιασμός, ικανός να αντικαθιστά τον αριθμό των νεκρών κυττάρων.

Φάση θανάτου (Death phase). Κατά τη φάση αυτή ο αριθμός των νεκρών κυττάρων υπερβαίνει κατά πολύ τον αριθμό των παραγομένων. Παρατηρείται σε ορισμένες περιπτώσεις συσσώρευση οξέων. Παρατηρούνται επίσης ανώμαλες μορφές των βακτηρίων και αλλαγές των χρωστικών ιδιοτήτων και τα Gram-θετικά μικρόβια είναι δυνατόν να ερμηνευτούν μετά από χρώση ως Gram-αρνητικά. Η διάρκεια της φάσης θανάτου εξαρτάται από το βακτήριο.

Σημείωση: μερικά βλαστικά κύτταρα μπορούν να επιβιώσουν για μήνες ή χρόνια (σε φάση στασιμότητας), ενώ τα σπόρια βακτηρίων επιβιώνουν για αιώνες

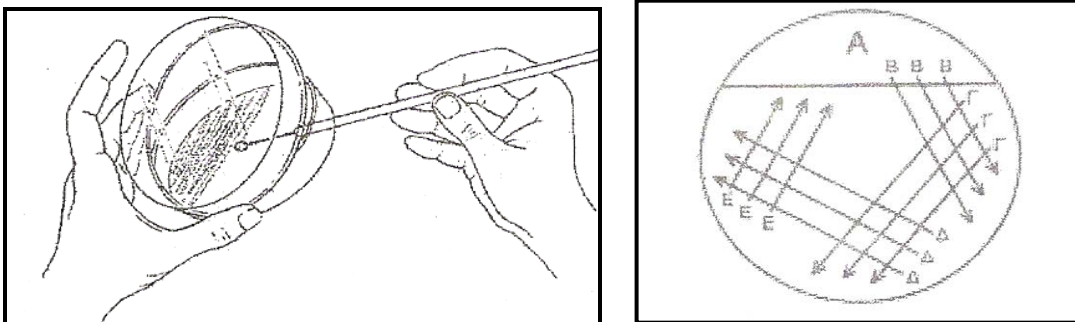
Παραδείγματα προκαρυωτικών ασθενειών ανωτέρων φυτών

A) Καρκίνωση ή φυματίωση της ελιάς: Η ασθένεια οφείλεται στο βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* subsp. *savastanoi*, το οποίο προκαλεί ξήρανση κλάδων και μείωση της ζωτικότητας των δένδρων. Το χαρακτηριστικό σύμπτωμα της ασθένειας είναι ο σχηματισμός όγκων (καρκινώματα ή φυμάτια) στους κλάδους, τον κορμό, τις ρίζες και τα φύλλα και καστανές κηλίδες και φυμάτια στους καρπούς (σπανιότερα). Το βακτήριο επιβιώνει μέσα στους όγκους αλλά και επιφυτικώς στα πράσινα μέρη του δένδρου. Οι ιστοί της ελιάς είναι ευπαθείς καθ' όλη τη διάρκεια του έτους και η μόλυνση γίνεται πάντα μέσω πρόσφατων πληγών. Η μετάδοση του παθογόνου σε μικρές αποστάσεις γίνεται με τη βροχή και τον άνεμο, ενώ σε αμόλυντες περιοχές με το πολλαπλασιαστικό υλικό.

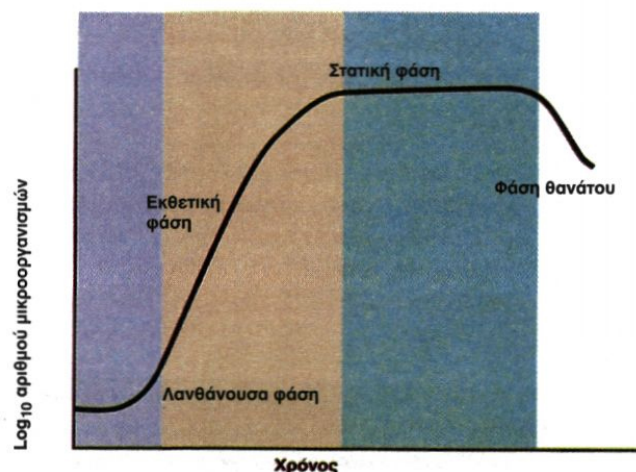
B) Βακτηριακό έλκος της αμυγδαλιάς : Σοβαρή ασθένεια της αμυγδαλιάς που προκαλεί βαθμιαία εξασθένηση, αποξήρανση κλάδων και μείωση της παραγωγής. Το παθογόνο αίτιο είναι το βακτήριο *Pseudomonas amygdali*, το οποίο προκαλεί εξογκωμένα ανοικτά έλκη στους κλάδους, κάθε ηλικίας και στον κορμό των δένδρων. Ο σχηματισμός των ελκών ξεκινά από μηχανικές πληγές ή από τις ουλές πτώσεως των φύλλων και τα έλκη παραμένουν ενεργά για πολλά έτη. Οι ιστοί της αμυγδαλιάς

είναι ευπαθείς καθ' όλη τη διάρκεια του έτους και η μετάδοση σε αμόλυντες περιοχές γίνεται με το πολλαπλασιαστικό υλικό.

Γ) Βακτηριακό κάψιμο : Το βακτηριακό κάψιμο αποτελεί μια σοβαρή ασθένεια κυρίως για τις καλλιέργειες της μηλιάς και της αχλαδιάς. Το πιο χαρακτηριστικό σύμπτωμα της ασθένειας είναι το μαύρισμα των ταξιανθιών, των φύλλων και των βλαστών που μοιάζουν σαν να έχουν ζημιωθεί με φωτιά. Οι καρποί παρουσιάζουν καστανή σήψη. Οι μολύνσεις αρχίζουν από τα άνθη και τους τρυφερούς βλαστούς την άνοιξη και με υγρό και ζεστό καιρό οι προσβεβλημένοι ιστοί καλύπτονται από βακτηριακή εξίδρωση. Η ασθένεια προκαλείται από το βακτήριο *Erwinia amylovora* το οποίο διαχειμάζει στα έλκη των κλάδων. Η μεταφορά των μολυσμάτων γίνεται με τη βροχή, τον άνεμο, τα έντομα και τον άνθρωπο. Η μετάδοση σε αμόλυντες περιοχές γίνεται με το πολλαπλασιαστικό υλικό.



Σχήμα 1: Γραμμωτή διασπορά (streaking) σε τρυβλίο με κατάλληλο στερεό αποστειρωμένο θρεπτικό υπόστρωμα. Ο μικροβιολογικός κρίκος αποστειρώνεται κάθε φορά που αλλάζουν οι παράλληλες γραμμές.



Σχήμα 2: Πορεία αύξησης βακτηριακού πληθυσμού