ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ
& ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
Αριθ. Πρωτοκ. 122.
Ημερομηνία 14 - 10 - 1999.

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ
ΚΑΙ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Συγκριτική μελέτη βιολογικών ιδιοτήτων απομονώσεων του μύκητα *Pyricularia oryzae* από φυτά κτενάνθης και ρυζιού»

Φοιτήτρια: Μπονταρούδη Ροδούλα

ΒΟΛΟΣ
1999

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ
ΚΑΙ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Συγκριτική μελέτη βιολογικών ιδιοτήτων απομονώσεων του μύκητα *Pyricularia oryzae* από φυτά κτενάνθης και ρυζιού»

Φοιτήτρια: Μπονταρούδη Ροδούλα

Εισηγητής: Α.Χ. Παππάς (Καθηγητής)
Μέλη: Σ. Γαλανοπούλου-Σενδουκά (Καθηγήτρια)
Ι. Τσιτσιπής (Καθηγητής)

ΒΟΛΟΣ
1999

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 45/1
Ημερ. Εισ.: 08-08-2003
Δωρεά:
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ – ΓΦΖΠ
1999
ΜΠΟ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
0040000070103

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ *3*
ΠΡΟΛΟΓΟΣ *4*
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ *5*
1. ΡΥΖΙ *6*
1.1. ΓΕΝΙΚΑ **6**
1.2. ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ **6**
1.3. ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ **7**
1.4. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ **8**
1.5. ΕΧΘΡΟΙ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ **10**
1.6. ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΙΟΝΤΑ **10**
2. ΚΤΕΝΑΝΘΗ *12*
2.1. ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ **12**
3. Η ΠΥΡΙΚΟΥΛΑΡΙΩΣΗ *13*
3.1. ΠΑΘΟΓΟΝΟ ΑΙΤΙΟ **14**
3.2. ΠΑΘΟΓΟΝΕΣ ΦΥΛΕΣ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ **24**
4. ΚΥΚΛΟΣ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ *28*
4.1. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΠΟΡΙΩΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΜΟΛΥΣΜΑΤΟΣ **28**
4.3. ΔΙΑΧΕΙΜΑΝΣΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ **30**
5. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ *31*
6. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ *33*
7. ΞΕΝΙΣΤΕΣ *34*
8. ΑΠΩΛΕΙΕΣ *36*
9. ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΜΥΝΑΣ ΤΩΝ ΞΕΝΙΣΤΩΝ *37*
10. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ *39*
10.1 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ **39**
10.2 ΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ **39**
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ *45*
ΕΙΣΑΓΩΓΗ *46*

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ *49*
1. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΥΚΗΛΙΟΥ **51**
2. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΠΟΡΙΩΝ **51**
3. ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ **52**
4. ΤΡΟΠΟΣ ΑΣΗΠΤΙΚΗΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ **54**
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ *55*
ΣΥΖΗΤΗΣΗ *59*
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ *61*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής και Ζωικής Παραγωγής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, το θέρος του 1998. Ευχαριστώ τον Καθηγητή Φυτοπαθολογίας Δρ. Α.Χ. Παππά, διότι μου πρότεινε το θέμα της διατριβής, ανέλαβε την επίβλεψή της, παρακολούθησε την πορεία των εργασιών και προέβη σε χρήσιμες παρατηρήσεις και διορθώσεις στο κείμενο της μελέτης.

Επίσης, ευχαριστώ την συμφοιτήτριά μου Τσιλιοπούλου Μαρία για τη βοήθεια που μου προσέφερε κατά το πειραματικό μέρος της μελέτης, καθώς και τη Μπονταρούδη Μαρία για την παραχώρηση του Η/Υ και για τη βοήθεια της στην επεξεργασία του κειμένου.

Τέλος ευχαριστώ την οικογένεια μου διότι μου συμπαραστάθηκε σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στην παρούσα εργασία έγινε συγκριτική μελέτη των βιολογικών ιδιοτήτων απομονώσεων του μύκητα *Pyricularia oryzae* από φυτά κτενάνθης (*Ctenanthe oppenheimiana*) και ρυζιού (*Oryza sativa*).

Η μελέτη αποτελείται από το βιβλιογραφικό και το πειραματικό μέρος. Στο βιβλιογραφικό μέρος γίνεται μια προσπάθεια ανασκόπησης της ελληνικής και διεθνούς βιβλιογραφίας σχετικά με την ταξινόμηση, την ανατομία, τη μορφολογία και τη βιολογία του παθογόνου και δίνονται πληροφορίες σχετικά με την καλλιέργεια των ξενιστών που προσβάλλει. Επίσης, σε αυτό το τμήμα της εργασίας δίνεται μια περιγραφή της φυσιολογίας του παθογόνου, των κατάλληλων συνθηκών πρόκλησης και ανάπτυξης της ασθένειας (θερμοκρασία, υγρασία, φως). Γίνεται αναφορά στα συμπτώματα που εμφανίζονται στα διάφορα φυτικά όργανα του φυτού μετά την εγκατάσταση του παθογόνου, ενώ δίνονται στοιχεία σχετικά με την παθογένεση, την επιδημιολογία και την αντιμετώπιση του παθογόνου.

Στο πειραματικό μέρος μελετήθηκε η ανάπτυξη του μυκηλίου σε διαφορετικές θερμοκρασίες, η παθογόνος ικανότητα των απομονώσεων έπειτα από τεχνητή μόλυνση φύλλων και φυτών ρυζιού και κτενάνθης, η συμπτωματολογία της ασθένειας, η ικανότητα παραγωγής σπορίων απομονώσεων του μύκητα σε θρεπτικά υποστρώματα και ο τρόπος ασηπτικής απομόνωσης του παθογόνου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

1. ΡΥΖΙ

1.1. ΓΕΝΙΚΑ

Το ρύζι κατάγεται πιθανώς από την Ινδία ή την Ν.Α. Ασία. Καλλιεργείται από αρχαιότατους χρόνους (3.000 π.Χ.) στην Κίνα και εισήχθηκε στην Ευρώπη περί το 700 μ.Χ., στις δε Η.Π.Α. το 1885. Στην Ινδία υπάρχουν πολλά αυτοφυή είδη ρυζιού.

Η παγκόσμια παραγωγή ανέρχεται σε 300 εκ. τόνους αναποφλοίωτου ρυζιού, από την οποία το 90% παράγεται και καταναλώνεται στην Ασία. Άλλες χώρες που παράγουν ρύζι είναι η Βραζιλία, οι Η.Π.Α., η Αίγυπτος, η Πορτογαλία, η Ισπανία και η Ιταλία.

Στην Ελλάδα καλλιεργούνται 300 χιλ. στρ. περίπου, κυρίως στους νομούς Σερρών και Θεσσαλονίκης και λιγότερο στη Φθιώτιδα, Αιτωλοακαρνανία, ή άλλες περιοχές. Εντυπωσιακή αύξηση παρουσίασε στην Ελλάδα η μέση στρεμματική απόδοση που από 400-600 kg/στρ. το 1983 κυμάνθηκε τα τελευταία χρόνια στα 600-1200 kg/στρ. ώστε η Ελλάδα κατέλαβε την 1η θέση στην Ε.Ε και στην Μεσόγειο.

Για τη χώρα μας το ρύζι αποτελεί συμπληρωματική καλλιέργεια, που αξιοποιεί και βοηθά στη βελτίωση των αλατούχων και αλκαλικών εδαφών, ενώ παράλληλα καλύπτει τις εγχώριες ανάγκες. Προοπτικές για αύξηση δεν υπάρχουν επειδή ο περιοριστικός παράγοντας είναι το νερό, οπότε στα μη παθογενή εδάφη συμφέρει η καλλιέργεια άλλων φυτών όπως είναι το βαμβάκι, τα ζαχαρότευτλα, το καλαμπόκι κτλ.

1.2. ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ

Το ρύζι ανήκει στην υποοικογένεια Oryzeae της οικογένειας Gramineae. Καλλιεργούμενο είδος είναι κυρίως το *Oryza sativa L.* (2n=24). Αυτοφυή είδη στην Άπω Ανατολή είναι το *O. sativa spontanea, O. minuta* και *O. latifolia*. Στην Αφρική καλλιεργούνται ορισμένες νέες ποικιλίες του *O. glaberrima*.

Το μόνιμο ριζικό σύστημα του ρυζιού είναι θυσανώδες, πλούσιο και σχετικά επιφανειακό λόγω των συνθηκών καλλιέργειας. Το 80% αναπτύσσεται ως τα 10 cm και το υπόλοιπο μέχρι τα 20 cm βάθος. Το φύτρωμα του σπόρου ακολουθεί την ίδια διαδικασία όπως και στα άλλα σιτηρά (εμβρυακές ρίζες, φύτρο και κοντά στην επιφάνεια μόνιμες ρίζες). Το ρύζι μπορεί να βγάλει ρίζες και πάνω από την επιφάνεια του εδάφους.

Το στέλεχος είναι κοίλο καλάμι με κοντά μεσογονάτια και ύψος 0,60-1,80 m. Το αδέλφωμα είναι άφθονο και αρχίζει γύρω στις 40 ημέρες μετά τη σπορά από κόμπους κοντά στην επιφάνεια του εδάφους. Τα φύλλα αποτελούνται από μακρύ έλασμα και κολεό. Επίσης φέρουν γλωσσίδιο και δύο ωτίδια δρεπανοειδή που περιβάλλουν το στέλεχος.

Η ταξιανθία είναι φόβη και φέρει 100-150 σταχύδια. Κάθε σταχύδιο έχει ένα γόνιμο άνθος που φέρει 6 στήμονες και διχαλωτό στίγμα. Η άνθηση διαρκεί γύρω στις τρεις ώρες και απαιτεί θερμοκρασία 20-22^{0}C περίπου. Επίσης θέλει υγρασία αέρα 40-95% (άριστη 70-80%), η οποία στις ξηρές περιοχές εξασφαλίζεται στο περιβάλλον των φυτών από το νερό της άρδευσης.

Ο καρπός είναι καρύοψη μήκους 5-10 mm και περιβάλλεται από τα λέπυρα (χιτώνα και λεπίδα) που δεν αποχωρίζονται κατά τον αλωνισμό, αλλά με ειδικά μηχανήματα (ορυζόμυλοι). Τα περιβλήματα αποτελούν το 10-20% του κόκκου, που ζυγίζει 25-40 mg. Το χρώμα του κόκκου στις καλλιεργούμενες ποικιλίες είναι συνήθως λευκό ή ελαφρώς κιτρινοκάστανο. Ποικιλίες με κόκκινους κόκκους θεωρούνται κατώτερης ποιότητας.

Οι ποικιλίες του ρυζιού διακρίνονται από άποψη προσαρμοστικότητας σε δύο κατηγορίες:

1. Αυτές που είναι κατάλληλες για πεδινά εδάφη (Lowland ή Paddy), και στις οποίες κατά κανόνα εφαρμόζεται κατάκλυση.
2. Αυτές που προσαρμόζονται στα υψηλά υψόμετρα (Upland) και που βασίζονται στη βροχόπτωση των περιοχών της καλλιέργειας.

Οι μικρόκαρπες ποικιλίες ονομάζονται Ιαπωνικού (Japonica) τύπου, είναι κοντόσωμες και αντέχουν στο πλάγιασμα. Επίσης αντιδρούν σε ισχυρή αζωτούχο λίπανση. Οι μακρόκαρπες ποικιλίες ανήκουν στον Ινδικό (Indica) τύπο και έχουν ψηλά και αδύνατα στελέχη, γι' αυτό πλαγιάζουν αν λιπανθούν ισχυρά με άζωτο. Διασταυρώσεις μεταξύ των δύο τύπων είναι μερικώς στείρες στην F_1 γενιά. Προϊόν τέτοιων διασταυρώσεων και επιλογής είναι οι τύποι Ponlai της Ταϊβάν.

Στις Η.Π.Α. οι μικρόκαρπες καλλιεργούνται 10%, οι μεσόκαρπες κατά 40% και οι μεγαλόκαρπες κατά 50%. Οι ποικιλίες Japonica εκτός από την Ιαπωνία έχουν διαδοθεί τελευταία πολύ στην Ασία και σε άλλες χώρες του κόσμου. Στην Ινδονησία καλλιεργούνται μεγαλόκαρπες ποικιλίες (τύπου Bulu), με γερό καλάμι. Τέλος στις Ασιατικές χώρες καλλιεργούνται ορισμένες αρωματικές ποικιλίες.

Στην Ελλάδα οι καλλιεργούμενες σήμερα ποικιλίες ανήκουν σε δύο τύπους.

Από τις ποικιλίες τύπου Indica τη μεγαλύτερη διάδοση (περισσότερο από 80% των καλλιεργούμενων με ρύζι εκτάσεων) έχει η αμερικάνικη ποικιλία Τάι Μπονέτ που προσφέρει τον μεγαλύτερο όγκο εξαγώγιμου ρυζιού. Καλλιεργείται επίσης και η γαλλικής προέλευσης ποικιλία Ίνκα.

Από τις ποικιλίες τύπου Japonica καλλιεργούνται πέντε ελληνικές οι: Ισπανική Ε, Στρυμώνας, Αξιός, Ευρώπη, και Ρωξάνη. Το Ινστιτούτο Σιτηρών δημιούργησε και νεώτερες ελπιδοφόρες ποικιλίες. Από τις εισαγόμενες καλλιεργούνται κυρίως οι ιταλικές: Τούρμπο, Λίντο, Αριέτε, Ρόμα κ.α.

1.3. ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ

Κλίμα. Το ρύζι είναι φυτό με μεγάλη ικανότητα προσαρμογής. Ενώ είναι τροπικής προέλευσης, μπορεί να καλλιεργείται και σε μεγάλα πλάτη (Ουγγαρία, Ν.

Αργεντινή) και σε οροπέδια (Περού ,Φιλιππίνες). Η καλλιέργειά του εκτείνεται από 40^0 ΒΠ (Καλιφόρνια) ή 48^0 ΒΠ (Ασία) μέχρι $18\text{-}35^0$ ΝΠ. Το μισό της εκτάσεως δεν αρδεύεται (λοφώδεις περιοχές - τύπου Upland).Υπάρχουν ποικιλίες κατάλληλες για υγρά κλίματα (βάλτους) και άλλες, με μικρότερη βλαστική περίοδο, για υψίπεδα και βορειότερες περιοχές.

Η βλαστική περίοδος κυμαίνεται από 3 έως 7 μήνες. Οι σπόροι των τροπικών (όψιμων) ποικιλιών φυτρώνουν στους $15\text{-}20^0$C και στην ανάπτυξη απαιτούν θερμοκρασία υψηλότερη (άνω των 21^0C). Των υποτροπικών ποικιλιών η βλάστηση των σπόρων γίνεται στους $10\text{-}13^0$C. Η κατώτερη θερμοκρασία αδελφώματος είναι $16\text{-}18^0$C, ανθήσεως 22^0C και ωριμάνσεως 19^0C. Η άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως είναι $30\text{-}32^0$C. Η κατάλληλη θερμοκρασία του νερού της αρδεύσεως είναι $12\text{-}13^0$C στο φύτρωμα, $15\text{-}20^0$C αργότερα και $20\text{-}25^0$C στην ωρίμανση.

Η βραχεία φωτοπερίοδος (4-12ώρες) επιταχύνει την άνθηση. Υπάρχουν και ποικιλίες ουδέτερες που επηρεάζονται από την εποχή σποράς (επομένως από τη φωτοπερίοδο) εφόσον η θερμοκρασία είναι ευνοϊκή. Το ρύζι απαιτεί επίσης άφθονο φωτισμό.

Έδαφος. Οι εδαφικές απαιτήσεις του ρυζιού είναι περιορισμένες. Αξιοποιεί εδάφη πτωχά ως πλούσια, ελαφρά ως βαριά με pH από 4-8 (άριστο 5,5-6,5). Τα πολύ ελαφρά είναι ακατάλληλα επειδή έχουν μεγάλες απώλειες νερού και θρεπτικών συστατικών από διήθηση. Επίσης το ρύζι, ενώ δεν είναι αλατόφιλο, ανέχεται και αποδίδει στα αλατούχα εδάφη. Για λόγους τεχνικής της καλλιέργειας (κατάκλυση) πρέπει το έδαφος να είναι ισοπεδωμένο και να έχει μικρή κλίση.

1.4. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

Αμειψισπορά. Το ρύζι καλλιεργείται συνεχώς σε ελώδη ή κατακλυζόμενα εδάφη, με περιοδικές διακοπές για χρησιμοποίηση των αγρών ως βοσκοτόπων. Όπου μπορούν να εφαρμοστούν άλλες καλλιέργειες, διατηρείται ο ορυζώνας 1-3 έτη και διακόπτεται για 2-4 έτη συνήθως με καλλιέργεια μηδικής ή άλλων χορτοδοτικών. Πριν από το ρύζι μπορεί να καλλιεργείται άλλο σιτηρό (φθινοπωρινό ή εαρινό) ή σκαλιστικό φυτό. Μετά το ρύζι σπέρνεται αραβόσιτος ή τεύτλα ή τριφύλλι. Το τριφύλλι μπορεί να σπαρθεί μία ημέρα πριν τη συγκομιδή του ρυζιού χωρίς άλλη εργασία.

Προετοιμασία ορυζώνα. Η καλλιέργεια του ρυζιού στη χώρα μας ενδείκνυται για τα αλατούχα εδάφη με σκοπό τη βελτίωσή τους, υπό την προϋπόθεση ότι υπάρχει διαθέσιμο νερό. Τα εδάφη αυτά είναι πεδινά και συνεπώς μπορούν να υποστούν την απαραίτητη προετοιμασία διαμόρφωσης των αγροτεμαχίων με τριγύρω αναχώματα (τηγανιών) για τη σπορά.

Το μέγεθος και διάταξη των τηγανιών του ορυζώνα καθορίζονται από τη κλίση του εδάφους και τη διεύθυνση των ανέμων. Τα αναχώματα ακολουθούν τις ισοϋψείς, η δε μεγάλη μεριά των τηγανιών πρέπει να είναι κάθετη προς τη διεύθυνση των επικρατούντων ανέμων. Έτσι αποφεύγονται οι μεγάλοι κυματισμοί του νερού και συνεπώς ζημιές στα αναχώματα και τα νεαρά φυτά.

Γίνεται βαθύ σχετικώς όργωμα και ακολουθεί ισοπέδωση των τηγανιών, ώστε η υψομετρική διαφορά υψηλότερου και χαμηλότερου σημείου να μην ξεπερνά τα 5 cm.

Το δίκτυο άρδευσης και αποστράγγισης πρέπει να γίνει άρτιο, ώστε να εξασφαλίζει ομοιόμορφη παροχή νερού και ανανέωση αυτού. Αποστράγγιση γίνεται 1-2 φορές ενδιάμεσα, καθώς και στο τέλος πριν τη συγκομιδή.

Λίπανση. Το ρύζι θέλει απαραιτήτως λίπανση με N και P. Το N χορηγείται στην αρχή μόνο αμμωνιακό (συνήθως θειική αμμωνία), επειδή το νιτρικό εκπλύνεται εύκολα και επιπλέον δρα τοξικά στην καλλιέργεια. Σε ανεπτυγμένα φυτά μπορεί να χορηγηθεί και νιτρικό άζωτο χωρίς κίνδυνο, επειδή προσλαμβάνεται γρήγορα και δεν προλαβαίνει ούτε να εκπλυθεί ούτε να αναχθεί σε μορφή τοξική.

Όλος ο P και το μισό N χορηγείται με το όργωμα της σποράς. Το υπόλοιπο N δίνεται σε δύο δόσεις 25-35 (στο αδέλφωμα, μαζί με το υπόλοιπο K) και 50-60 (στο σχηματισμό των ανθικών καταβολών) ημέρες μετά τη σπορά, ανάλογα με την εμφάνιση της φυτείας. Για την παραγωγή ενός τόννου αναποφλοίωτου ρυζιού απορροφούνται περίπου 17 kg/στρ. N, 4P και 22 K. Από το Ινστιτούτο Σιτηρών συνιστάται λίπανση με 10 μονάδες N και 4 P όταν πρωτοκαλλιεργείται το ρύζι και στη συνέχεια η αζωτούχος λίπανση πρέπει να αυξάνεται κατά 4 μονάδες. Οι συνήθεις δόσεις λιπασμάτων που εφαρμόζονται σήμερα με τις υψηλές στρεμματικές αποδόσεις είναι: 14-17 kg/στρ. N, 0-10 P και 0-20 K. Σε μερικές περιπτώσεις χρειάζεται Ca, που προστίθεται ως γύψος.

Σπορά. Η πρώιμη σπορά εξασφαλίζει μεγαλύτερες αποδόσεις. Την εποχή σποράς καθορίζει όμως η θερμοκρασία εδάφους και περιβάλλοντος. Το νερό της άρδευσης πρέπει επίσης να έχει θερμοκρασία τουλάχιστον 11^0C.

Ο σπόρος πρέπει να είναι γενετικά καθαρός, της κατάλληλης ποικιλίας, να προέρχεται από την προηγούμενη εσοδεία με βλαστική ικανότητα άνω του 90%, να είναι ώριμος, υγιής, ελεύθερος από ζιζάνια και ερυθρούς κόκκους και να είναι απολυμασμένος.

Συνήθως σπέρνονται 10-18 kg/στρ. ανάλογα με τις συνθήκες. Στις μικρόκαρπες ποικιλίες σπέρνουμε λιγότερο σπόρο συγκριτικά με τις μεγαλόκαρπες.

Η σπορά γίνεται στα πεταχτά ή με μηχανές. Μούσκεμα πριν τη σπορά για 24-36 ώρες είναι ευεργετικό, δεν πρέπει όμως να γίνει προβλάστηση.

Μεταφυτευτικό ρύζι καλλιεργείται στη ΝΑ Ασία. Ελευθερώνοντας το χωράφι κατά το χρονικό διάστημα ανάπτυξης των φυτών στο σπορείο, κατορθώνουν να έχουν δύο εσοδείες το χρόνο. Επίσης έχουν οικονομία νερού και για ορισμένες ποικιλίες (ιδίως όψιμες) μεγαλύτερη απόδοση. Η έκταση του σπορείου είναι το 1/10 της έκτασης του αγρού που θα φυτευτεί, το δε ποσό του σπόρου στο σπορείο 60-100 kg/στρ. Η μεταφύτευση γίνεται με το χέρι ή με μηχανές.

Άρδευση. Το ύψος του νερού στα τηγάνια δεν πρέπει να ξεπερνάει τα 5cm μετά τη σπορά για καλύτερη ριζοβολία και αποφυγή κυματισμών που μπορούν να ξεριζώσουν τα μικρά φυτά. Η στάθμη αυξάνει προοδευτικά με την ανάπτυξη των φυτών αλλά τελικά δεν πρέπει να ξεπεράσει τα 10-15 cm.

Η ανανέωση του νερού είναι απαραίτητη, ιδίως στα αλατούχα εδάφη, όπου πρέπει να γίνεται κάθε εβδομάδα. Σε κανονικά εδάφη είναι ωφέλιμες 1-2 ενδιάμεσες αποξηράνσεις, όχι όμως και στα αλατούχα, στα οποία προκαλεί οψίμιση της

παραγωγής. Δέκα ημέρες πριν τη συγκομιδή διακόπτεται η άρδευση και αποστραγγίζεται το έδαφος για τη διευκόλυνση της εργασίας. Ανάλογα με τις εδαφικές συνθήκες η κατανάλωση νερού είναι 1200-1300 m^3 το στρέμμα

Καταπολέμηση ζιζανίων και φυκών. Από τα ζιζάνια επικρατεί η μουχρίτσα (*Panicum crus galli*). Συνιστάται ψεκασμός με Ordam, Stam F-34 κ.α. Το Ordam εφαρμοζόμενο σε υγρή μορφή με προφυτρωτική ενσωμάτωση ή με κοκκώδη μεταφυτρωτικά ελέγχει τη μουχρίτσα κατά 95%. Για τα φύκη συνιστώνται χαλκούχα σκευάσματα.

1.5. ΕΧΘΡΟΙ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Ζωικοί εχθροί. Το μαλακόστρακο *Apus cancriformis* αναδεύει το έδαφος και προκαλεί ζημιές κατά το φύτρωμα και τη ριζοβολία νεαρών φυτών. Αντιμετωπίζεται με στραγγίσεις και με δηλητήρια (π.χ. παραθείο).

Ζημιές από έντομα δεν είναι συνηθισμένες στους Ελληνικούς ορυζώνες. Αναφέρονται προσβολές από το ημίπτερο *Delphax* sp., το λεπιδόπτερο *Leucania* sp., το κολεόπτερο *Cybister* sp. και το δίπτερο *Ephydra macellaria*. Τελευταία σοβαρή ζημία προκαλεί η *Sesamia* spp. που μετά το ξεστάχυασμα, κατατρώει τα στελέχη.

Μύκητες. Ζημιές στη χώρα μας, κυρίως στη Δ. Ελλάδα (περιοχή Αγρινίου), προκαλεί ο *Pyricularia oryzae* σε όλα τα στάδια και μέρη του φυτού στις όψιμες σπορές και γόνιμα εδάφη.

Ο *Sclerotinia oryzae* προκαλεί σήψη λαιμού και αντιμετωπίζεται με αραιή σπορά, μέτρια λίπανση και ανθεκτικές ποικιλίες. Μικρότερες ζημίες προκαλούν οι μύκητες *Cercospora* sp., *Helminthosporium oryzae, Fusarium* sp., *Epicoccum neglectum, Mycosphaerella oryzae, Phoma necatrix, Pythium catenulatum* , κ.α.

1.6. ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΙΟΝΤΑ

Η χημική σύσταση του ρυζιού ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία και το βαθμό επεξεργασίας. Γενικά δεν είναι πλήρης τροφή, αν και διατρέφει τον μισό πληθυσμό της γης. Κυρίως λείπουν οι πρωτείνες και οι βιταμίνες, ιδίως αν λευκανθεί πλήρως κατά την επεξεργασία.

Το ρύζι χρησιμοποιείται στη βιομηχανία αμύλου, ζύθου, οινοπνεύματος κλπ. Το ριζάλευρο σε ανάμιξη με σιτάλευρο χρησιμοποιείται στην παρασκευή ψωμιού. Οι σπασμένοι κόκκοι, τα πίτυρα κ.α. υποπροϊόντα της επεξεργασίας διατίθενται στη διατροφή των ζώων ή άλλες χρήσεις (π.χ. εξαγωγή λαδιού από τα πίτυρα).

Τη βιομηχανική αξία του ρυζιού συνθέτουν τα διάφορα φυσικά, χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Τα σπουδαιότερα από αυτά, είναι τα παρακάτω:

1) Συνολική απόδοση του αναποφλοίωτου ρυζιού.
2) Συμπεριφορά του ρυζιού κατά το βρασμό.
3) Βαθμός και χρόνος ζελατινοποίησης του αμύλου.

4) Ιξώδες.
5) Ποσοστό συστατικών που βγαίνουν στο νερό βρασμού.
6) Περιεκτικότητα σε πρωτείνη και βιταμίνες.

Βασικές πηγές βιβλιογραφίας: Γαλανοπούλου-Σενδουκά, (1997), Δημητριάδης και Παναγόπουλος, (1979), Σφήκας, (1984).

2. ΚΤΕΝΑΝΘΗ

2.1. ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ

Η κτενάνθη (*Ctenanthe*), είναι μονοκοτυλήδονο φυτό της οικογένειας Marantaceae. Η οικογένεια Marantaceae περιλαμβάνει ποώδη φυτά, με φύλλα ως επί των πλείστον παράρριζα, συνήθως μακρόμισχα, των οποίων ο μίσχος είναι ενωμένος μέσω αρθρώσεως με γραμμοειδές ή ελλειψοειδές έλασμα. Τα άνθη είναι ερμαφρόδιτα, ζυγόμορφα και περιβάλλονται από σπαθόμορφα βράκτια. Το περιγόνιο είναι εξαμερές και διακρίνεται στον κάλυκα και στη στεφάνη. Τα άνθη φέρουν 4-5 στήμονες σε δύο σπονδύλους. Ο εσωτερικός φέρει 3 στήμονες από τους οποίους μόνο ο ένας είναι γόνιμος, πεταλοειδής με τους ανθήρες από τις δύο πλευρές, οι άλλοι στήμονες βρίσκονται στον εξωτερικό σπόνδυλο. Η ωοθήκη είναι υποφυής, τρίχωρη και σπάνια μονόχωρη ή δίχωρη, με μία σπερμοβλάστη σε κάθε χώρο και στύλο πεπιεσμένο. Ο καρπός είναι κάψα ή ράγα.

Περίπου 200 είδη ανήκουν στις υγρές γαίες των τροπικών και κυρίως της Αμερικής, τα οποία κατατάσσονται σε δύο υποοικογένειες και 12 είδη, συγγενικά με τις Zingiberaceae, Cannaceae και Musaceae. Η κατάταξη σε υποοικογένειες και γένη έγινε με βάση το είδος της ωοθήκης, τη μορφή και το μέγεθος των βρακτίων φύλλων και του σωλήνα της στεφάνης.

α) <u>Ωοθήκη τρίχωρη</u> (υποοικογένεια Phryneae) με σημαντικότερα γένη τα: Καλάθιο (*Calathea*), Τραχυφρύνιο (*Trachyprynium*) και Φρύνιο (*Phrynium*).

β) <u>Ωοθήκη μονόχωρη</u> (υποοικογένεια Maranteae) με σημαντικότερα γένη τα: Θάλια (*Thalia*), Μαράντα (*Maranta*), Στρώμανθο (*Stromanthe*) και Κτενάνθη (*Ctenanthe*).

Η κτενάνθη (*Ctenanthe*), είναι καλλωπιστικό φυτό με 12 περίπου είδη από τη Βραζιλία. Είναι πολυετής πόα με φύλλα παράρριζα, έμμισχα και ακέραια. Τα άνθη εμφανίζονται κατά επάκριους στάχεις ή βότρεις με τρία ξεχωριστά, ισομήκη σέπαλα. Η στεφάνη είναι σωληνοειδής- χοανοειδής, με λοβούς θολωτούς σχεδόν επιμήκεις, ενώ ο σωλήνας της είναι βραχύς και πλατύς. Ο σωλήνας των στημόνων είναι κοντός με δύο εξωτερικούς πεταλόμορφους πλάγιους λοβούς.

Σημαντικότερα είδη είναι: Κτενάνθη οππενχαϊμιάνα (*Ctenanthe oppenheimiana*), Κ. κουμεριανή (*C. kummeriana Eichl*) τα οποία έχουν ποικιλόχρωμα φύλλα και η Κ. τριχωτή (*C. setosa Eichl*) με φύλλα πράσινα.

<u>Βασική πηγή βιβλιογραφίας</u> : Καββάδας, (1956).

3. Η ΠΥΡΙΚΟΥΛΑΡΙΩΣΗ

Η καταγραφή της πυρικουλαρίωσης του ρυζιού (rice blast disease) έγινε από πολύ παλιά. Το 1637 ο Soong Ying-Shin στο βιβλίο του «Χρησιμότητα των Φυσικών Πόρων», περιέγραψε διάφορες ασθένειες του ρυζιού. Η πρώτη ασθένεια που περιέγραψε ήταν η καταστροφή νεαρών φυτών ρυζιού, τα οποία έμοιαζαν σαν ζεματισμένα. Την εποχή εκείνη, θεωρήθηκε ότι το πρόβλημα οφειλόταν στην θερμότητα που απορροφούσαν οι κόκκοι του ρυζιού κατά τη διάρκεια της ξηρασίας και στη συνέχεια αποθηκεύονταν πριν ψυχθούν. Όταν την επόμενη χρονιά οι κόκκοι αυτοί σπέρνονταν σε έναν αγρό, ο οποίος είχε λιπανθεί, παρουσία ζεστού, νοτιοανατολικού ανέμου η ασθένεια εκδηλωνόταν.

Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο M. Tsuchiya ανέφερε πρώτος την ασθένεια στην Ιαπωνία με το βιβλίο που δημοσίευσε το 1704. Στη συνέχεια η ασθένεια καταγράφηκε από τους: S. Miayanaga το 1788, N. Kojima το 1793, T. Konishi το 1809 κ.α. Στην Ιταλία η ασθένεια ονομάστηκε «brusone» και καταγράφηκε από τους Astolfi το 1828, Brugnatelli το 1838, Gera το 1846 κ.α. Στο Ιράκ αναφέρθηκε σαν «shara». Ο Metcalf ανέφερε ότι η ασθένεια είχε προκαλέσει καταστροφή στη Ν. Καρολίνα στις αρχές του 1876 και ότι θεωρήθηκε ως η πιο σοβαρή από τις οχτώ ασθένειες του ρυζιού που ήταν καταγεγραμμένες στις ΗΠΑ το 1907. Ήταν ίσως ο πρώτος που ανέφερε την ασθένεια πυρικουλαρίωση ως «blast» στην αγγλική γλώσσα. Ο Padmanabhan το 1956, ανέφερε για πρώτη φορά την ασθένεια στην Ινδία το 1913, ενώ μια καταστρεπτική επιδημία έλαβε χώρα το 1919 στο δέλτα Tanjore του Tamil Nadu. Ο παθογόνος οργανισμός ονομάστηκε *Pyricularia oryzae* από τον Cavara το 1891 και περιγράφηκε στην Ιαπωνία από τον Shirai το 1896 (Ou, 1987).

Η πυρικουλαρίωση είναι μια από τις πιο ευρέως διαδεδομένες ασθένειες των φυτών. Έχει αναφερθεί σε 85 χώρες σε όλο τον κόσμο, γεγονός που σημαίνει ότι η ασθένεια υπάρχει παντού. Στη Μέση Ανατολή όπου το ρύζι καλλιεργείται κάτω από συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και χαμηλής σχετικής υγρασίας και ποτίζεται με νερό από ποτάμια ή υπόγειες πηγές, ο μύκητας βρέθηκε να επηρεάζει τα γόνατα του φυτού λίγο πάνω από το επίπεδο του νερού, ενώ δε σχηματίζει κηλίδες στα φύλλα ή σε άλλο μέρος του φυτού (Ou, 1987).

Τον Μάιο του 1995, μια ασυνήθιστη καταστροφική κηλίδωση που έμοιαζε με βακτηριακή μόλυνση παρατηρήθηκε για πρώτη φορά σε φύλλα φυτών κτενάνθης των ειδών *C. oppenheimiana* (E. Morr.) K. Schum και *C. setosa* Eichl. Τα φυτά αναπτύσσονταν σε θερμοκήπιο του Νομού Μαγνησίας, ενώ είχαν εισαχθεί στην Ελλάδα λίγες ημέρες νωρίτερα από τη Βραζιλία μέσω Ολλανδίας. Ένα χρόνο αργότερα το Μάιο του 1996 παρουσιάστηκε η ίδια κηλίδωση σε φύλλα φυτών *C. oppenheimiana* ηλικίας 8 μηνών, σε θερμοκήπιο του Νομού Χανίων. Εργαστηριακή εξέταση μολυσμένων δειγμάτων, που πραγματοποιήθηκε στο Βακτηριολογικό Εργαστήριο του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, έδειξε απουσία βακτηρίου από μολυσμένους ιστούς φύλλων (Pappas και Paplomatas, 1998).

Σε φυτά της οικογένειας Marantaceae, παρασιτικές κηλιδώσεις φύλλων μπορεί να οφείλονται σε διάφορους μύκητες. Η πιο σοβαρή κηλίδωση φύλλων οφείλεται στον μύκητα *Dreschlera setariae (*Sawada) M. B. Ellis (ατελή μορφή *Helminthosporium*

setariae Sawada). Σύμφωνα όμως με τους Pappas και Paplomatas (1998) το αίτιο της ασθένειας αυτής διαπιστώθηκε ότι οφείλεται σε προσβολή του μύκητα *Pyricularia oryzae*.

3.1. ΠΑΘΟΓΟΝΟ ΑΙΤΙΟ

3.1.1. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Αρχικά χρησιμοποιήθηκαν δύο ονόματα για τον μύκητα που προκαλεί την ασθένεια πυρικουλαρίωση της ορύζης (rice blast), το όνομα *Pyricularia* και το *Dactylaria*. Το όνομα *Pyricularia* χρησιμοποίησε πρώτος ο Saccardo το 1880 βασιζόμενος στον μύκητα *Trichothecium griseum* Cooke που προσβάλλει το αιματόχορτο (*Digitaria sanguinalis*). Το όνομα *Dactylaria* χρησιμοποιήθηκε τον ίδιο χρόνο από τον Saccardo. Ο *Dactylaria purpurela* Sacc. βρέθηκε να αναπτύσσεται σε σαπισμένο ξύλο δρυός. Τα ονόματα *Pyricularia grisea* και *Dactylaria grisea*, *Pyricularia oryzae* και *Dactylaria oryzae* έχουν χρησιμοποιηθεί από πολλούς ερευνητές. Ο Asuyama το 1965, κατέληξε ότι ο μύκητας που προκαλεί την ασθένεια πυρικουλαρίωση (rice blast) στο ρύζι και στο αιματόχορτο ανήκει στο γένος *Pyricularia* (Ou, 1987).

Σε παλιότερη βιβλιογραφία το όνομα του μύκητα γραφόταν ως *Piricularia*. Ο Ou το 1987, ανέφερε ότι ο Saccardo αρχικά χρησιμοποίησε την ορθογραφία *Pyricularia* αλλά αργότερα την άλλαξε ως *Piricularia*. Σύμφωνα με τους Διεθνείς Κανόνες της Βοτανικής Ονοματολογίας πρέπει να χρησιμοποιείται η ορθογραφία Pyricularia γιατί μετά τη δημοσίευση του Hughes το 1958 οι περισσότεροι ερευνητές χρησιμοποιούσαν αυτή την ορθογραφία.

Ο Cavara το 1891 περιέγραψε πρώτος στην Ιταλία ένα είδος του *Pyricularia* στο ρύζι και το ονόμασε *Pyricularia oryzae*. Μια όμοια περιγραφή του μύκητα έγινε το 1892 από τους Briosi και Cavara, αλλά επειδή η πρώτη περιγραφή έγινε από τον Cavara αυτός αναφέρεται ως συγγραφέας. Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Cavara το 1893 περιέγραψε ένα νέο είδος το *Dactylaria parasitans* στο αιματόχορτο, το οποίο βρέθηκε ότι είναι συνώνυμο με τον *P. oryzae*.

Περιγράφοντας τον *P. oryzae* ως νέο είδος οι Briosi και Cavara, παρατήρησαν ότι διαφέρει από τον *P. grisea*. Στην πραγματικότητα το γεγονός δεν ήταν τόσο απλό όσο φαινόταν και οι παρατηρήσεις τους αργότερα προκάλεσαν πολλές διαφωνίες. Στην Ιαπωνία ο Shirai (1896) πρώτος περιέγραψε το μύκητα που προκαλεί την ασθένεια και βρήκε ότι έμοιαζε με τον το *P. oryzae* αν και διέφερε στον αριθμό των κονιδίων που φέρουν οι κονιδιοφόροι. Εκτός από το ρύζι και το αιματόχορτο ο μύκητας προσβάλλει το ιταλικό σόργο (*Setaria italica*), το γερμανικό σόργο (*S.italica* var. *germanica*) και το 'yellow foxtail' (*S.glausa*).

Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Sawada το 1917 θεώρησε ότι υπάρχουν δύο είδη του *Dactylaria*. Ο *D. oryzae* που προσβάλλει το ιταλικό σόργο, το κριθάρι και το σιτάρι, ενώ ο *D. grisea* μολύνει το αιματόχορτο και ιταλικό σόργο. Ο Nisicado το

1917 και 1927, αναγνώρισε 4 νέα είδη το *P. oryzae, P. grisea, P. setariae* και το *P. zingiberi* βασιζόμενος στη μολυσματικότητα τους σε αντίστοιχους ξενιστές (Ou, 1987).

Ο Ou το 1987, ανέφερε ότι ο Asuyama το 1969, είπε ότι είναι λογικό να χρησιμοποιείται ένα ειδικό όνομα για συγγενή μορφολογικά είδη, ενώ πρότεινε την υποδιαίρεση του μύκητα, όπως γίνεται στα σιτηρά και τα αυτοφυή αγρωστώδη.

Αντιμετωπίζοντας το πρόβλημα επιλογής του ονόματος του μύκητα ο Asuyama το 1965 δήλωσε, ότι με βάση τους όρους της ονοματολογίας πρέπει να χρησιμοποιείται το όνομα *P. grisea* επειδή δόθηκε πιο νωρίς (Ou, 1987). Ωστόσο στις περισσότερες βιβλιογραφίες ο μύκητας αναφέρεται με το όνομα *P. oryzae*, το οποίο είναι πολύ γνωστό και καλά θεμελιωμένο, γεγονός που καθιστά δύσκολη την απόρριψή του. Το όνομα *P. oryzae* χρησιμοποιείται για το μύκητα που προσβάλλει το ρύζι, ενώ το όνομα *P. grisea* για αυτόν που προσβάλλει άλλα σιτηρά και αυτοφυή αγροστώδη.

Σήμερα με βάση την ατελή ή κονιδιακή μορφή του παθογόνου αιτίου έχουμε την ακόλουθη συστηματική κατάταξη:

Βασίλειο : Φυτικό
Φύλο : Μύκητες (Mycophyta, fungi)
Κλάση : Αδηλομύκητες
Οικογένεια : Moniliaceae
Γένος : *Pyricularia*
Είδος : *oryzae*

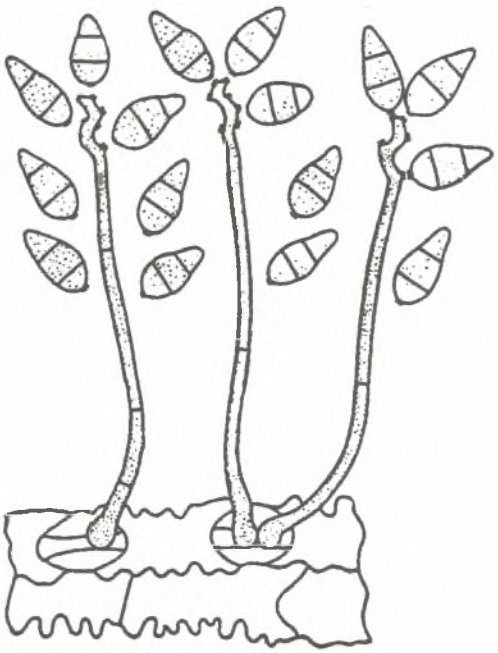
Ταξινομώντας με βάση την τέλεια μορφή έχουμε την παρακάτω συστηματική κατάταξη:

Βασίλειο : Φυτικό
Φύλο : Μύκητες (Mycophyta, fungi)
Κλάση : Ασκομύκητες
Γένος : *Magnaporthe*
Είδος : *grisea*

3.1.2. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ

Σύμφωνα με τον Ou (1987), οι Briosi και Cavara περιέγραψαν τους μορφολογικούς χαρακτήρες του *P. oryzae* ως εξής: οι υφές διασπείρονται σε σχήμα κυκλικό-ελλειψοειδές, είναι λεπτές στη βάση χωρίς διαφράγματα, γκρι χρώματος και με διαστάσεις 60-120 μm μήκος και 405 μm πλάτος Τα κονίδια είναι λεπτότερα στην κορυφή ενώ εκτείνονται σε κοντούς οδόντες στη βάση, έχουν δύο διαφράγματα, είναι σκοτεινού χρώματος και διαστάσεων 20-22 x 10-12 μm. Ένας κονιδιοφόρος φέρει περισσότερα από ένα κονίδια. Τα περισσότερα κονίδια σχηματίζονται στα άκρα των νέων διακλαδώσεων, οι οποίες εμφανίζονται ακριβώς κάτω από τη βάση του πρώτου κονιδίου και κονιδοφόρου. Ένας απλός κονιδιοφόρος μπορεί να φέρει από 1 ως 20 κονίδια.

Ο Nisikado το 1917 επίσης περιέγραψε τους κονιδιοφόρους όπως παράγονται κατά ομάδες από κάθε στομάτιο και σπάνια μόνοι τους με 2-4 διαφράγματα. Η βάση τους είναι διογκωμένη, ελαιώδης και λεπτότερη προς την πιο φωτεινά χρωματιστή κορυφή. Τα κονίδια ποικίλουν σε μέγεθος και σχήμα, είναι στρογγυλεμένα στη βάση, στενά στην κορυφή και έχουν 2 διαφράγματα. Μερικές φορές είναι ελαφρώς συσφιγμένα στο διάφραγμα, σχεδόν φιαλοειδή με ανοιχτό ελαιοπράσινο χρώμα και διαστάσεις 19-23 x 7-9 μm ενώ φέρουν ένα μικρό εξάρτημα στη βάση, διαστάσεων 1,6-2,4 μm. Τα κονίδια βλαστάνουν συνήθως από το κορυφαίο ή το κύτταρο της βάσης και σπάνια από τα μεσαία κύτταρα (Ou, 1987).



Εικόνα 1: Κονίδια και κονιδιοφόροι του μύκητα *Pyricularia oryzae* (x 500) (Ou, 1987).

Το μέγεθος των κονιδίων του μύκητα που απομονώθηκαν από στελέχη ρυζιού ποικίλουν ανάλογα με τις απομονώσεις και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Ο μέσος όρος του μήκους των κονιδίων κυμαίνεται από 21,2-29,9 μm για 16 απομονώσεις του μύκητα σε PDA. Οι απομονώσεις που προήλθαν από μολυσμένους στάχεις είχαν μακριά κονίδια, ενώ οι περισσότερες απομονώσεις που προήλθαν από γόνατα είχαν κοντά κονίδια. Το μέγεθος των κονιδίων διαφέρει επίσης ανάλογα με τους ξενιστές, όπως φαίνεται στον πίνακας 1.

Σε κηλίδες προσβολής ταχείας ανάπτυξης τα κονίδια είναι περισσότερο ή λιγότερα κυκλικά και μικρότερα συγκρινόμενα με εκείνα των χρόνιων κηλίδων. Τα κονίδια που παράγονται κάτω από συνθήκες υγρασίας, είναι μερικώς μεγαλύτερα σε μήκος, έναντι εκείνων που παράγονται σε συνθήκες ξηρασίας. Επίσης αυτά που σχηματίζονται σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας (30^0C και 27^0C), είναι μεγαλύτερα σε μήκος από εκείνα που σχηματίζονται σε χαμηλότερη θερμοκρασία (18-20^0C και 21-22^0C). Τα κονίδια που παράγονται σε θρεπτικά υποστρώματα είναι μεγαλύτερα

σε μήκος από εκείνα που παράγονται σε φυτά ξενιστές και το μέγεθός τους ποικίλει ανάλογα με το είδος του υποστρώματος. Ακόμα παρατηρήθηκε ότι τα κονίδια που προήλθαν από κονίδια ή κονιδιοφόρους, οι οποίοι είχαν πέσει πάνω σε επιφάνεια νερού, ήταν σημαντικά μικρότερα από τα κανονικά.

Πίνακας 1: Μέγεθος κονιδίων του *Pyricularia oryzae* από διάφορους ξενιστές (Asuyama, 1965).

Ερευνητές	Ξενιστές	Διαστάσεις (μm) (μήκος x πλάτος)	Μέσος όρος (μm)
Sawada (1917)	ρύζι	16-32 x 7.0-11	26.0 x 8.8
	αιματόχορτο (crab grass)	17-40 x 6.5-10	23.6 x 8.1
	Leersia japonica	20-35 x 7.0-10	27.0 x 8.6
	Panicum repens	17-28 x 8.5-12	22.5 x 10.2
	Ιταλικό σόργο	21-31 x 7.0-10	25.0 x 8.6
	Costus speciosus	20-30 x 7.5-10	24.0 x 8.6
Nisikado (1926)	ρύζι		19.2 x 8.6
			22.8 x 8.7
			23.1 x 8.1
	αιματόχορτο (crab grass)	16.6-27.4 x 6.0-7.6	22.5 x 7.2
	Ιταλικό σόργο	19.9-25.0 x 6.4-7.6	21.0 x 7.5
	green foxtail	17.2-29.0 x 6.0-9.0	23.9 x 8.2
	Zingiber mioga	14.3-20.2 x 7.1-8.3	17.5 x 7.8
Goto, Yamanaka & Kobayashi (1954)	*Zizania latifolia*	21.0-29.4 x 11.2-15.4	24.6 x 14.1
	Zingiber mioga	12.6-20.4 x 6.0-8.4	15.8 x 6.8

Ο Mizusawa το 1959, εξετάζοντας τα κονίδια στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, βρήκε ότι οι μεμβράνες των κυττάρων τους έχουν τουλάχιστον τρία στρώματα. Στο εξάρτημα της βάσης, τα δύο εξωτερικά στρώματα είχαν δημιουργήσει ένα άνοιγμα, ενώ το εσωτερικό στρώμα ήταν συνεχές, κλείνοντας τη βάση του εξαρτήματος (Ou, 1987).

Σύμφωνα με τον Ou (1987), οι Wu & Tsao το 1967 μελέτησαν τη δομή του *P. oryzae* και ανάφεραν ότι τα κύτταρα των κονιδίων αποτελούνται από τέσσερα στρώματα. Παρατήρησαν επίσης τον πυρήνα με τον πυρηνίσκο, τα μιτοχόνδρια, το ενδοπλασματικό δίκτυο και τον πόρο του διαφράγματος.

Τα κονίδια του *P. oryzae* σχηματίζουν πλάκα συγκράτησης (απρεσσόρια) στις κορυφές των βλαστικών σωλήνων όταν βλαστάνουν σε φυτά ξενιστές, σε γυαλί ή σε φύλλα σελοφάν. Τα απρεσσόρια ποικίλουν σε μέγεθος και σχήμα, είναι μαλακά, με λεπτά τοιχώματα, επιμήκη και με διάμετρο 5-15 μm. Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Suzuki θεωρούσε ότι το μέγεθος των απρεσσορίων είχε σχέση με την παθογένεια, δηλαδή στελέχη με μεγάλα απρεσσόρια είναι περισσότερο παθογόνα.

Ο αριθμός των πυρήνων σε κάθε κύτταρο του μυκηλίου, των κονιδίων και των απρεσσορίων δεν είναι σταθερός. Ο Suzuki το 1965 θεωρήσε ότι τα κύτταρα είναι πολυπύρηνα, με διάφορους αριθμούς χρωμοσωμάτων (2-6) και ότι ο μύκητας είναι ετεροκαρυωτικός. Σύμφωνα με τον Ou (1987), πολλοί ερευνητές παρατήρησαν ότι τα περισσότερα κύτταρα είναι μονοπύρηνα. Ωστόσο ορισμένα βαρελοειδή κύτταρα, έχουν τέσσερις ή περισσότερους πυρήνες και κυρίως έξι χρωμοσώματα.

Ο Ou (1987), ανέφερε ότι οι Kameswar Row και Grill το 1979, μελέτησαν τους πυρήνες και τα χρωμοσώματα των υφών και των κυττάρων των κονιδίων τριών απομονώσεων και βρήκαν ότι, το μέγεθος των κυττάρων των υφών, σχετίζεται με το μέγεθος των πυρήνων και το μέγεθος των πυρήνων με των αριθμό των χρωμοσωμάτων. Ο αριθμός των χρωμοσωμάτων στα κύτταρα των υφών, κυμαίνεται από 2-12, αλλά είναι κυρίως 3 ή 6. Στη συνέχεια θεωρήθηκε ότι ο αριθμός των χρωμοσωμάτων είναι τρία. Αυτή η διακύμανση στον αριθμό των χρωμοσωμάτων είναι αποτέλεσμα των ανισόχρονων διαιρέσεων, κατά τη διάρκεια διαιρέσεων του πυρήνα.

Τελικά, η μορφολογία ποικίλει σημαντικά ανάλογα με τις απομονώσεις και τα μέσα που χρησιμοποιούνται. Το ποσό του εναέριου μυκηλίου, κυμαίνεται από πολύ λίγο έως μια λεπτή βαμβακώδη μάζα, ενώ το χρώμα του μπορεί να είναι λευκό, ροζ, γκρι έως ελαιώδες.

3.1.3. ΤΕΛΕΙΑ ΜΟΡΦΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ

Πολλοί ερευνητές παλιότερα είχαν προσπαθήσει να βρουν την τέλεια μορφή του *P. oryzae* όπως και άλλα είδη του *Pyricularia*. Τα περιθήκια μερικών ασκομύκητων όπως του *Sphaerella malinverniana* έμοιαζαν με του *Pyricularia oryzae*.

Η τέλεια μορφή του μύκητα απομονώθηκε μετά από διασταύρωση απομονώσεων του ρυζιού με απομονώσεις από κεχρί (*Eleusine coracana* και *E. Indica*) και *φάλαρη* (*Phalaris arundinacea*). Η μορφολογία του ήταν όμοια με του *Ceratosphaeria grisea*.

Ο Yaegashi το 1977, πίστευε ότι όλα τα είδη του *Pyricularia* είναι ετερόθαλλα και ότι η απουσία της τέλειας μορφής από τη φύση, οφειλόταν στη γεωγραφική απομόνωση. Διαπιστώθηκε ότι ο μύκητας είναι ετερόθαλλος με τύπους Α και Β, ύστερα από διασταυρώσεις απομονώσεων του *Pyricularia* από κεχρί του Νεπάλ και της Ιαπωνίας. Ο λόγος για τον οποίο δεν παράγεται η τέλεια μορφή του μύκητα σε απομονώσεις ρυζιού, είναι ότι όλες ανήκουν στον τύπο Α. Μελετώντας τις καλλιεργητικές συνθήκες που επηρεάζουν το σχηματισμό της τέλειας μορφής, βρέθηκε ότι τα περιθήκια παράγονται σε διάφορα μέσα. Επίσης μικρή έκθεση στο φως, είναι απαραίτητη για το σχηματισμό περιθηκίων, ενώ προσθήκη ζάχαρης τον αναστέλλει (Ou,1987).

Τελικά ο Kato το 1979 σύμφωνα με τον Ou (1987), κατάφερε να σχηματίσει την τέλεια μορφή διασταυρώνοντας απομονώσεις ρυζιού από απομακρυσμένες χώρες. Τα περιθήκια είναι απλά ή σε ομάδες μερικώς ή εξ ολοκλήρου θαμμένα, με μακρύ ράμφος που προεξέχει από την επιφάνεια, σκούρου καστανού ή μαύρου χρώματος

και διαμέτρου 180 μm. Το ράμφος τους είναι υαλώδες, καστανωπό, διαστάσεων 90 x 600 μm, με μεγάλου μήκους παραφύσεις στο εσωτερικό. Οι ασκοί είναι κυλινδρικοί, με λεπτά τοιχώματα και με διαστάσεις 8,5 x 70 μm. Τα ασκοσπόρια είναι υαλώδη, ατρακτοειδή, συνήθως ελαφρώς κεκαμένα, με 3 διαφράγματα, με ελαφρά ή καθόλου σύσφιξη στα διαφράγματα και με διαστάσεις 5 x 21 μm.

3.1.4. ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ

Πολλές μελέτες έχουν γίνει σχετικά με τις απαιτήσεις του μύκητα ως προς τη θερμοκρασία, την υγρασία, το φως καθώς επίσης και για τις επιδράσεις των παραγόντων αυτών, στην ανάπτυξη του μυκηλίου και την παραγωγή σπορίων.

Η άριστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη του μυκηλίου είναι 28^0C όπως αναφέρθηκε από πολλούς ερευνητές, ενώ τα όρια ανάπτυξης κυμαίνονται από 8-9^0C ως 37^0C. Η άριστη θερμοκρασία και τα όρια ανάπτυξης ποικίλουν ανάλογα με τις απομονώσεις. Παραγωγή σπορίων παρατηρείται όταν η θερμοκρασία κυμαίνεται μεταξύ 10-15^0C ως 37^0C με άριστη τους 28^0C.

Η παραγωγή σπορίων σχετικά με το χρόνο ποικίλει ανάλογα με τη θερμοκρασία. Στους 28^0C τα σπόρια παράγονται γρήγορα, αλλά η παραγωγή τους μειώνεται μετά από εννέα ημέρες. Η παραγωγή σπορίων στους 19, 20 και 24^0C τείνει να αυξηθεί ακόμα και μετά από 15 ημέρες. Η απομάκρυνση των κονιδίων από τους κονιδιοφόρους δεν επηρεάζεται όταν η θερμοκρασία είναι 15-35^0C. Τα κονίδια νεκρώνονται αν παραμείνουν 13-15 min σε νερό στους 50^0C, ενώ κάτω από ξηρές συνθήκες μερικά κονίδια επιζούν έως και 30 ώρες στους 60^0C. Οι μυκηλιακές υφές ανέχονται την υψηλή θερμοκρασία περισσότερο από το κρύο. Περίπου το 1/5 των κονιδίων επιζεί για 50-60 ημέρες στους -4 έως -6^0C. Με απότομη κατάψυξη οι καλλιέργειες μπορούν να διατηρηθούν στους -30^0C για 18 μήνες τουλάχιστον (Ou, 1987).

Σε κηλίδες ρυζιού παράγονται κονίδια μόνο όταν η σχετική υγρασία του αέρα είναι 93% και πάνω. Το ποσοστό των παραγόμενων σπορίων αυξάνει με αύξηση της σχετικής υγρασίας. Τα κονίδια βλαστάνουν στο νερό, αλλά σπάνια στον υγρό αέρα. Η κρίσιμη υγρασία του αέρα για τη βλάστηση των σπορίων είναι 92-96%. Ποσοστό 8% των κονιδίων μπορεί να βλαστήσει σε επιφάνεια νερού και να ξαναπαράγει κονίδια μετά από 24 ώρες. Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Abe το 1941 βρήκε ότι η διάμετρος του μυκηλίου αυξάνει περισσότερο όταν η σχετική υγρασία του αέρα είναι 93%, ενώ η ανάπτυξή του σταματά κάτω από αυτό το σημείο.

Το φως φαίνεται να επηρεάζει την παραγωγή σπορίων σημαντικά. Στη φύση τα κονίδια μεταφέρονται τη νύχτα. Από τις κηλίδες προσβλημένων φύλλων, τα οποία διατηρούνται σε σχετική υγρασία 100%, απελευθερώνονται κονίδια μόνο τη νύχτα. Η ελευθέρωσή τους ξεκινάει το ηλιοβασίλεμα, φθάνοντας σε λίγες ώρες στο μέγιστο, ενώ μετά μειώνεται σταδιακά σταματώντας την αυγή. Όταν παραταθεί το σκοτάδι ή το φως για μία ή δύο ημέρες, κανένα ή ελάχιστα κονίδια ελευθερώνονται μέχρι να εκτεθούν ξανά οι κηλίδες σε φως ή σκοτάδι. Η εναλλαγή φωτός ή σκότους φαίνεται ότι είναι απαραίτητη. Σε μία καλλιέργεια η παραγωγή σπορίων μειώνεται με

μείωση του φωτός περισσότερο από ότι αν εκτεθεί σε φθορίζον ή διάχυτο φως. Στο "black light" (360 nm, 340-365 nm), αυξάνεται η παραγωγή σπορίων, ενώ σε συνεχές σκοτάδι μειώνεται. Διαλείπουσα έκθεση σε ακτινοβολία, με διάστημα έξι ωρών, καταστέλλει την παραγωγή σπορίων κατά τη διάρκεια του σκότους, ενώ με διάστημα 12 ωρών δεν καταστέλλει την παραγωγή σπορίων.

Η ελευθέρωση σπορίων σταματά μετά από μία ώρα φωτός στις 1-2 μμ. Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Sueda το 1928 υποστήριξε ότι απευθείας φωτισμός καταστέλλει τη βλάστηση των κονιδίων και ότι το ποσοστό των βλαστανόντων κονιδίων μειώνεται στο μισό, από ότι όταν εκτεθούν στο σκοτάδι. Επίσης το φως εμποδίζει τη βλάστηση του βλαστικού σωλήνα.

3.1.5. ΘΡΕΠΤΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ

Ο μύκητας αναπτύσσεται ικανοποιητικά σε διάφορα υποστρώματα, τα οποία περιέχουν ιστούς φυτών, ενώ είναι δύσκολο να αναπτυχθεί σε συνθετικά υλικά. Η προσθήκη μικρής ποσότητας εκχυλίσματος ζεστού νερού από στελέχη ρυζιού διεγείρει την ανάπτυξη και τη διασπορά του, γεγονός που σημαίνει ότι υπάρχουν στο εκχύλισμα ουσίες απαραίτητες για την ανάπτυξη του μύκητα. Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Leaver και οι συνεργάτες του το 1947 ανέφεραν ότι η βιοτίνη και η θειαμίνη είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη του μύκητα , ενώ άλλες βιταμίνες δεν απαιτούνται.

Το εκχύλισμα του καλαμιού από το οποίο προέρχεται η βιοτίνη με ενεργητικό τρόπο διεγείρει την ανάπτυξη του μύκητα ακόμα και όταν η βιοτίνη και η θειαμίνη προστεθούν ξεχωριστά. Μερικά συστατικά που πρέπει να έχει το εκχύλισμα για να δράσει, είναι η βιοτίνη. Ο Tamara και οι συνεργάτες του το 1956 ανέφεραν ότι το ηλεκτρικό, το μηλικό και το κιτρικό οξύ, γνωστά ως συστατικά του κύκλου των τρικαρβοξυλικών οξέων (TCA) και των φύλλων του ρυζιού θεωρούνται εξαιρετικοί διεγέρτες (Ou,1987). Επίσης, ελεύθερα αμινοξέα, όπως το γλουταμινικό και το ασπαρτικό οξύ και ιχνοστοιχεία όπως το μαγγάνιο, ο ψευδάργυρος και το μολυβδαίνιο θεωρούνται παράγοντες ανάπτυξης και διεγέρτες. Στον Πίνακα 2 αναφέρονται διάφορα συνθετικά υποστρώματα, τα οποία επιτρέπουν πιο λεπτομερή μελέτη των θρεπτικών απαιτήσεων του μύκητα *P. oryzae*.

Ο Octani το 1953 ανέφερε ότι, όσον αφορά τις ενώσεις του άνθρακα, η μαλτόζη, ζακχαρόζη, γλυκόζη, μανιτόλη, καθώς και τα οργανικά οξέα, είναι οι καλύτερες πηγές άνθρακα, αντίθετα με τη λακτόζη και τη γαλακτόζη που δε θεωρούνται κατάλληλες για την απομόνωση του μύκητα, ο οποίος στη συνέχεια πρόκειται να χρησιμοποιηθεί ως παθογόνο (Ou, 1987). Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Ostua το 1965 χρησιμοποιώντας 32 διαφορετικές ενώσεις του άνθρακα και 47 απομονώσεις κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η ζακχαρόζη, μαλτόζη, φρουκτόζη, λακτόζη και η ξυλόζη είναι οι καταλληλότερες πηγές άνθρακα. Όλες οι απομονώσεις χρησιμοποιούν άμυλο, δεξτρόζη, μανόζη, αραβινόζη, γαλακτόζη, ραμνόζη, ραφινόζη αλλά δε χρησιμοποιούν ινοσιτόλη και οργανικά οξέα. Γενικά, τα οργανικά οξέα δεν

είναι κατάλληλες πηγές άνθρακα. Μερικά στελέχη χρησιμοποιούν σορβόζη, σορβιτόλη, μανιτόλη και γλυκερόλη. Υπάρχουν εμφανείς διαφορές σχετικά με τη χρησιμοποίηση της σορβόζης, σορβιτόλης και μανιτόλης από κάθε απομόνωση. Η χρήση των ενώσεων του άνθρακα ποικίλει ανάλογα με την απομόνωση του μύκητα.

Πίνακας 2: Συνθετικά υποστρώματα, για την ανάπτυξη του *Pyricularia oryzae* (Tanaka, 1965).

Μέσο A		Μέσο B		Μέσο C	
Σακχαρόζη	15 g	Σακχαρόζη	30 g	Σακχαρόζη	15 g
NH_4NO_3	1g	KNO_3	3g	KNO_3	1g
KH_2PO_4	0.5g	Ουρία	0.5g	KH_2PO_4	0.25g
K_2HPO_4	0.5g	KH_2PO_4	1g	K_2HPO_4	0.25g
$MgSO_4$ $7H_2O$	0.25g	K_2HPO_4	1g	$MgSO_4$ $7H_2O$	0.25g
$CaCl_2$ $6H_2O$	0.05g	$MgSO_4$ $7H_2O$	0.5g	$CaCl_2$ $6H_2O$	0.05g
$FeSO_4$ $7H_2O$	0.75mg	$CaCl_2$ $6H_2O$	0.1 g	Κιτρικό NH_4 H_2O	1g
$MnSO_4$ $5H_2O$	0.22 mg	$FeSO_4$ $7H_2O$	0.75mg	Γλουταμινικό Να	1g
$CuSO_4$ $5H_2O$	0.60mg	$MnSO_4$ $5H_2O$	0.22mg	Οξικό Να	0.25g
$ZnCl_2$	7.50 mg	$ZnCl_2$	7.50 mg	Θειογλυκολικό Να	0.1 g
$(NH_4)_6No_7O_{24}$		$(NH_4)_6No_7O_{24}$		$FeSO_4$ $7H_2O$	0.75mg
$4H_2O$	0.06mg	$4H_2O$	0.06mg		
H_3BO_3	0.09 mg	H_3BO_3	0.09 mg	$MnSO_4$ $5H_2O$	0.22 mg
Βιοτίνη	5μg	Βιοτίνη	5mg	$CuSO_4$ $5H_2O$	0.60mg
Θειαμίνη	2.5mg	Θειαμίνη	1mg	$ZnCl_2$	7.5mg
H_2O	1000g	H_2O	1000g	Βιοτίνη	1μg
				Θειαμίνη	2mg
				H_2O	1000g

Πηγή: Ou, (1987)

Ο Otani το 1952, ανέφερε σχετικά με τις αζωτούχες ενώσεις ότι το KNO_3, $NaNO_3$, γλυκίνη, L-αλανίνη, ασπαρτικό οξύ, DL-γλουταμινικό οξύ και ασπαραγίνη επιταχύνουν την ανάπτυξη του μύκητα, ενώ το $NaNO_2$, η κυστίνη, ταουρίνη και η κρεατίνη εμποδίζουν την ανάπτυξη των απομονώσεων (Ou, 1987).

Το μειονέκτημα του αμμωνιακού αζώτου βρέθηκε ότι οφείλεται στην πτώση του pH. Σε pH=7 ο μύκητας αναπτύσσεται ικανοποιητικά με αμμωνιακό άζωτο. Σύμφωνα με τον Ou (1987),ο Otsuka και οι συνεργάτες του το 1957 χρησιμοποίησαν 23 νιτρικές ενώσεις και 47 απομονώσεις του μύκητα και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το KNO_3, $NaNO_3$, το L-ασπαρτικό οξύ, L-ασπαραγίνη, L-αργινίνη, L-αλανίνη, L-προλίνη, L-σερίνη, γλυκίνη, L-γλουταμινικό και η L-ιστιδίνη είναι κατάλληλα για την ανάπτυξη του μύκητα, ενώ η οξυπρολίνη, L-κυστίνη και L-φαινυλαλανίνη δεν χρησιμοποιούνται γενικά. Η χρήση της L-φαινυλαλανίνης, L-κυστίνης, L-τρυπτοφάνης και $NaNO_2$ ποικίλει ανάλογα με την απομόνωση του μύκητα.

Με βάση τις θρεπτικές διαφορές και άλλα φυσιολογικά χαρακτηριστικά, οι απομονώσεις του μύκητα κατατάσσονται σε 13 βιοχημικούς τύπους.

Η παραγωγή σπορίων επίσης επηρεάζεται από τη θρέψη. Μερικά είδη φυσικών συστατικών, όπως ειδικές ενώσεις, έγινε προσπάθεια να προκαλέσουν άφθονη παραγωγή σπορίων.

3.1.6. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

Σύμφωνα με τον Ou (1987), οι Tamari και Kagi το 1954 απομόνωσαν δύο τοξίνες από ιστούς ασθενών φυτών και καλλιέργειες του μύκητα. Η μία τοξίνη ταυτίστηκε με το α-πικολινικό οξύ με μοριακό τύπο $C_6H_5NO_2$, ενώ η άλλη ήταν μια άγνωστη ένωση, η οποία ονομάστηκε πυρικουλαρίνη. Η πυρικουλαρίνη είναι μια ουσία σταθερή στο νερό, με τις εξής φυσικοχημικές ιδιότητες: κρύσταλλο άχρωμο, μεγάλο πρίσμα με σημείο τήξεως 73,5^{0}C και μοριακό τύπο $C_{18}H_{14}N_2O_3$. Η εφαρμογή της πυρικουλαρίνης σε ώριμα φύλλα ρυζιού, οδήγησε στο σχηματισμό νεκρωτικών κηλίδων, οι οποίες έμοιαζαν πολύ με τις κηλίδες που προκαλεί η ασθένεια. Οι τοξίνες εμποδίζουν στην ανάπτυξη των νεαρών φυτών ρυζιού, καθώς και την βλάστηση των κονιδίων του μύκητα. Αργότερα μελετήθηκαν άλλες δύο τοξίνες η 'Pyricol' και το 'Tenuazonic' οξύ.

Ο Tsuaca το 1959 και 1961, ανέφερε ότι στις καλλιέργειες του μύκητα παράγονται αμινοξέα και βιταμίνες. Γενικά ο μύκητας παράγει σε συνθετικό υπόστρωμα σημαντικές ποσότητες λιπαρών αμινοξέων, όπως βαλίνη, σερίνη, αλανίνη καθώς και όξινα αμινοξέα, όπως γλουταμινικό και ασπαρτικό οξύ. Σε μικρότερες ποσότητες παράγονται ετεροκυκλικά, αρωματικά αμινοξέα και θειαμινοξέα. Το ποσό των αμινοξέων που παράγεται ποικίλει ανάλογα με τις απομονώσεις. Τα στελέχη που έχουν μελετηθεί βρέθηκε ότι παράγουν σε καλλιέργειες ριβοφλαβίνη, βιταμίνη Β6 και φολικό οξύ (Ou, 1987).

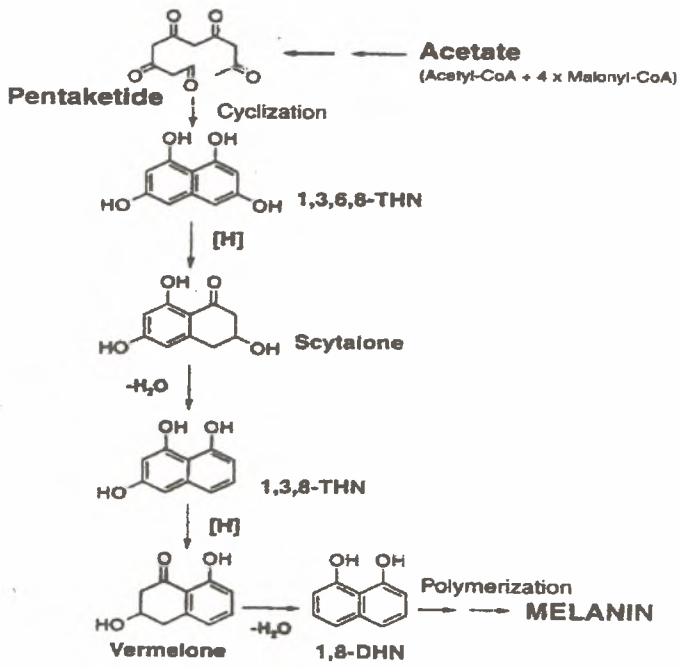
Η κυτοχρωματική οξειδάση βρέθηκε ότι παίζει πρωταρχικό ρόλο στο τελικό οξειδωτικό σύστημα των αρχικών σταδίων ανάπτυξης του μύκητα σε καλλιέργειες, ενώ η πολυφαινολική οξειδάση είναι διακεκριμένη στα επόμενα στάδια ανάπτυξης.

Η υδρόλυση του αμύλου βρέθηκε ότι είναι γενικά μικρή ή ότι ποικίλει ανάλογα με τις απομονώσεις. Σε καμιά απομόνωση δεν παράχθηκε H_2S, ενώ μόνο σε λίγες παρατηρήθηκε ελάχιστη ρευστοποίηση ζελατίνης. Επίσης βρέθηκε ότι ο μύκητας παράγει κελουλόζη και β-γλυκοσιδάση.

3.1.7. ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΜΕΛΑΝΙΝΗΣ

Ο *P. oryzae*, ανήκει σε μια ομάδα μυκήτων που συνθέτουν μελανίνη. Πρόκειται για μια ουσία η οποία προσδίδει στις αποικίες των ασκομυκήτων και των ατελών μυκήτων, που τη συνθέτουν, καστανό έως μαύρο χρώμα, ενώ είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική λειτουργία του απρεσσορίου.

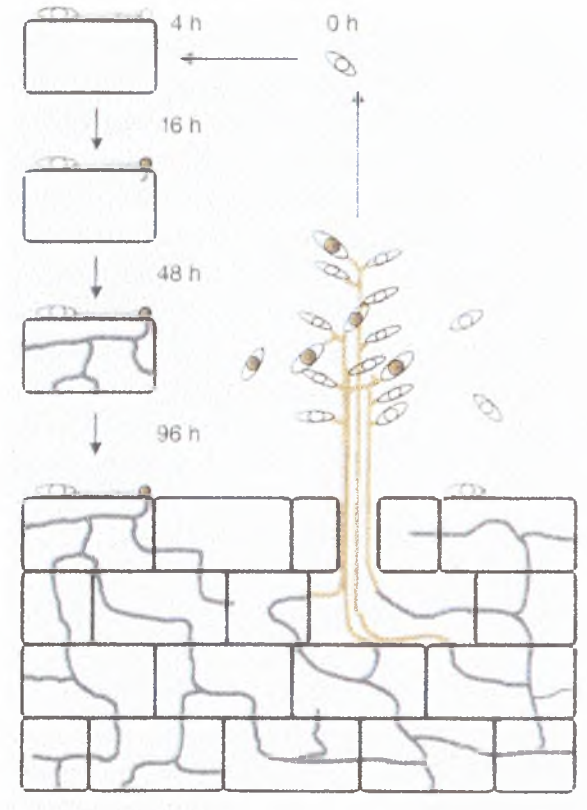
Στον *P. oryzae*, όπως και σε άλλους μύκητες το ράμφος μόλυνσης διαπερνά τα κηρώδη στρώματα μηχανικά, ώστε να επιτυγχάνεται η επαφή του ενζύμου κουτινάση με την κουτίνη (υμενίνη) της εφυμενίδας. Για να αναπτυχθεί η κατάλληλη μηχανική πίεση στην άκρη του ράμφους μόλυνσης, πρέπει στα τοιχώματα του υπόλοιπου απρεσσορίου να συσσωρευτεί μελανίνη, η οποία προκαλεί τη σκλήρυνσή τους, ώστε να μην υποχωρούν στην ωσμωτική πίεση. Η διαδικασία βιοσύνθεσης μελανίνης φαίνεται στην εικόνα 2.



Εικόνα 2: Διαδικασία βιοσύνθεσης μελανίνης.

Μόνο τα απρεσσόρια που έχουν μελανίνη είναι ικανά να προκαλέσουν ικανοποιητική μόλυνση με αναπτυσσόμενο μυκήλιο στην επιδερμίδα του φύλλου, ενώ τα απρεσσόρια που δεν σχηματίζουν μελανίνη δημιουργούν μεγαλύτερο πόρο μόλυνσης και δεν συγκεντρώνονται στην επιφάνεια των φύλλων. Η πιο σημαντική δράση της εναπόθεσης μελανίνης στο κυτταρικό τοίχωμα του απρεσσορίου είναι ότι μειώνει τη σταθερότητα των τοιχωμάτων των χαμηλομοριακών μεταβολιτών. Λίγο πριν γίνει η μόλυνση, παρατηρείται σημαντική αύξηση της γλυκερόλης του απρεσσορίου, ενώ ακολουθεί απώλεια νερού λόγω ωσμωτικής πίεσης. Η ωσμωτική

πίεση μπορεί να φτάσει σε τιμές πάνω από 8 Mpa εμποδίζοντας έτσι τη διείσδυση της μυκηλιακής υφής μέσα στην επιδερμίδα του φυτού (Kurahashi και Pontzen, 1998). Στην εικόνα 3 φαίνεται η ανάπτυξη του μύκητα *P. oryzae* σε ευαίσθητο φυτό ρυζιού. Με καστανό χρώμα παριστάνονται οι μυκηλιακές κατασκευές που περιέχουν μελανίνη, ενώ με λευκό και γαλάζιο παριστάνονται οι μυκηλιακές κατασκευές που δεν περιέχουν μελανίνη.



Εικόνα 3: Ανάπτυξη του *Pyricularia oryzae* σε ευαίσθητο φυτό ρυζιού.

3.2. ΠΑΘΟΓΟΝΕΣ ΦΥΛΕΣ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ

Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Sasaki το 1922 πρώτος επισήμανε ότι τα στελέχη του *P. oryzae* διαφέρουν ως προς την παθογένεια. Διαπίστωσε ότι καλλιεργούμενες ποικιλίες ρυζιού, οι οποίες ήταν ανθεκτικές στο στέλεχος Α, μολύνθηκαν σοβαρά από το στέλεχος Β. Εντατικές μελέτες για τις παθογόνες φυλές του μύκητα, δεν είχαν γίνει μέχρι το 1950, όταν μερικές καλλιεργούμενες ποικιλίες, όπως η Futada, η οποία προήλθε από διασταύρωση, ενώ ήταν ανθεκτική για 10 χρόνια, ξαφνικά έγινε πολύ ευαίσθητη. Το 1960 δώδεκα καλλιεργούμενες ποικιλίες συγκεντρώθηκαν σαν 'ποικιλίες διαφοροποίησης φυλών' (differentials), δύο τροπικές, τέσσερις με

καταγωγή την Κίνα και έξι με καταγωγή την Ιαπωνία. Βρέθηκαν 13 παθογόνες φυλές οι οποίες κατατάχθηκαν σε τρεις ομάδες, τις Τ, C, N.

Στις Η.Π.Α. το 1954 αναφέρθηκαν 15 παθογόνες φυλές, ενώ αργότερα προστέθηκε άλλη μία. Στα μέσα του 1950 στην Ταϊβάν, χρησιμοποιήθηκαν 16 καλλιεργούμενες 'ποικιλίες διαφοροποίησης φυλών' και διαπιστώθηκαν 19 φυλές του μύκητα. Στην Ιαπωνία είχαν καταγραφεί 18 φυλές, στην Ταϊβάν 27 και στις Φιλιππίνες περισσότερες από 250. Κάθε χώρα χρησιμοποίησε διαφορετικές καλλιεργούμενες ποικιλίες, προκειμένου να διαπιστωθούν οι παθογόνες φυλές. Το γεγονός αυτό είχε ως αποτέλεσμα η παθογένεια των φυλών, που διαπιστώθηκαν σε μία χώρα, να μη μπορεί να συγκριθεί με την παθογένεια φυλών από άλλη χώρα. Σε μια προσπάθεια απλούστευσης της κατάστασης, έγινε μια προσπάθεια συνεργασίας ανάμεσα στην Ιαπωνία και στις Η.Π.Α. το 1963, προκειμένου να αναπτυχθεί μια διεθνής σειρά ποικιλιών διαφοροποίησης φυλών. Τελικά επιλέχθηκαν οκτώ καλλιεργούμενες ποικιλίες και 32 ομάδες φυλών. Οι παθογόνες φυλές ονομάστηκαν διεθνείς φυλές και ορίστηκαν ως ΙΑ, ΙΒ ως ΙΗ, για να δείξουν τις ομάδες και ακολουθούνται από αριθμούς που δείχνουν τους αριθμούν των φυλών. Η αρίθμηση προτάθηκε για να αποφευχθεί σύγχυση.

Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Yamada το 1976 πρότεινε μια νέα ομάδα εννέα ποικιλιών διαφοροποίησης φυλών στην Ιαπωνία, όπου κάθε καλλιεργούμενη ποικιλία είχε ένα γνωστό γόνο ανθεκτικότητας. Για την αρίθμηση των φυλών χρησιμοποιήθηκε το Octal σύστημα του Gilmour: Shin 2 (Pi-K), Aichi-asahi (Pi-a), Ishikari-shiroke (Pi-K), Kanto 51 (Pi-K), Tsuyuake (Pi-m), Fukunishiki (Pi-z), Yashiromochi (Pi-ta), Pi No4 (Pi-ta^2) και Toride 1 (Pi-z^t).

Οι Correa-Victoria και Zeigler (1993), ανέφεραν 45 διεθνείς φυλές του μύκητα *P. oryzae* που αντιπροσωπεύουν τις 9 ομάδες φυλών. Ο μεγαλύτερος αριθμός φυλών ανήκει στην ομάδα ΙΑ. Το σύστημα των διεθνών φυλών δεν περιγράφει τελείως την παθογόνο δύναμη των απομονώσεων, ώστε διάφορες φυλές να μπορέσουν να διαφοροποιηθούν σε διάφορους φαινοτύπους χρησιμοποιώντας ως ποικιλίες διαφοροποίησης φυλών, τοπικές εμπορικές ποικιλίες. Η συμβατότητα υπήρχε στους παθογενείς πληθυσμούς για τουλάχιστον 13 γνωστούς γόνους ανθεκτικότητας. Η συχνότητα των ισχυρά παθογόνων γενοτύπων για 42 ποικιλίες που δοκιμάστηκαν, κυμαίνονταν από 0,0 έως 0,86, χωρίς καμιά ποικιλία να είναι ευαίσθητη σε όλες τις απομονώσεις. Η χαμηλότερη συμβατότητα συχνοτήτων σχετιζόταν με το συνδυασμό των γόνων. Ήταν σπάνιο να ανακτήσουν οι απομονώσεις την συμβατότητά τους με τις ποικιλίες K-8, Peta, Ceysvoni, IR-42, Fujisaka 5, Fukunishiki, Zenith και NP-125. Καμιά απομόνωση δεν ανάκτησε τη συμβατότητά της με τις νέες ποικιλίες Oryzica Llanos 4 και 5 που κυκλοφορούν, βελτιωμένες σε αυτό τον τομέα και πολύ λίγο μολύνθηκε η CICA 9.

Οι Παπλωματάς και Παππάς (1998), διαπίστωσαν ότι η καταστρεπτική κηλίδωση που παρατηρήθηκε σε νεαρά φυτά κτενάνθης οφειλόταν σε προσβολή από το μύκητα *P. oryzae*. Πειράματα παθογένειας έδειξαν ότι, ενώ οι απομονώσεις του μύκητα από φυτά κτενάνθης ήταν εξαιρετικά παθογόνες σε είδη της οικογένειας Marantaceae, απομονώσεις από φυτά ρυζιού προκαλούσαν αντίδραση υπερευ-αισθησίας ή ήταν μη παθογόνες σε μέλη της αυτής οικογένειας. Για τη μελέτη της φυλογενετικής σχέσης μεταξύ απομονώσεων του μύκητα από φυτά κτενάνθης και ρυζιού χρησιμοποίησαν

μοριακούς δείκτες. Έτσι διαπίστωσαν ότι οι απομονώσεις του μύκητα από τον κάθε ξενιστή διαφοροποιούνται σε δύο ξεχωριστές ομάδες. Επιπλέον διαπίστωσαν ποικιλομορφία των απομονώσεων μέσα σε κάθε ομάδα.

Διαφορετικές παθογόνες φυλές δεν παρουσιάστηκαν μόνο σε απομονώσεις από τον αγρό, αλλά και ανάμεσα σε κονίδια, τα οποία προήλθαν από τις ίδιες κηλίδες ή από μονοκονιδιακές καλλιέργειες. Οι Ou και Ayad (1968), εξέτασαν 56 μονοκονιδιακές καλλιέργειες, οι οποίες προέρχονταν από μία κηλίδα φύλλου, μιας ομάδας Φιλιππινέζικων ποικιλιών διαφοροποίησης φυλών και προσδιόρισαν 14 φυλές του μύκητα. Στη συνέχεια 44 μονοκονιδιακές καλλιέργειες από μία δεύτερη κηλίδα διαφοροποιήθηκαν σε οκτώ φυλές. Βρήκαν επίσης ότι 25 μονοκονιδιακές υποκαλλιέργειες, από την κάθε απλή κονιδιακή καλλιέργεια, διαφοροποιήθηκαν σε εννέα και δέκα φυλές. Σύμφωνα με τον Ou (1987), οι Giatgong & Frederiksen το 1969, βρήκαν ότι 20 μονοκονιδιακές 'αδερφές' σειρές χωρίστηκαν σε 4-6 φυλές, όταν δοκιμάστηκαν σε 4 καλλιεργούμενες ποικιλίες. Σε τρεις διαδοχικές γενεές οι μονοκονιδιακές σειρές συνέχισαν να διαφοροποιούνται σε νέες φυλές.

Οι παραπάνω μελέτες έδειξαν ότι χρησιμοποιώντας συνηθισμένες μεθόδους για τη διαπίστωση των φυλών, όπως είναι οι απλές κονιδιακές καθαρές καλλιέργειες, παρουσιάζεται μόνο ένα μέρος και όχι μια ολοκληρωμένη εικόνα της παθογένειας. Η παθογένεια είναι ένα παροδικό φαινόμενο το οποίο μοιάζει πάρα πολύ με την ποικιλομορφία των κονιδίων του *Fusarium*. Η νέα αυτή διάσταση της ποικιλομορφίας των φυλών, μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη ανθεκτικών ποικιλιών.

3.2.1. ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΦΥΛΩΝ ΣΤΟΝ ΑΓΡΟ

Ο μύκητας είναι ίσως πολύ ευμετάβλητος και ικανός να παράγει μεγάλο αριθμό φυλών. Οι φυλές που επικρατούν σε μια περιοχή εξαρτώνται από τις ποικιλίες ρυζιού που καλλιεργούνται στην περιοχή, καθώς και από άλλους παράγοντες.

Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Morishima το 1969 ανέλυσε την αντοχή 696 καλλιεργούμενων ποικιλιών από 17 χώρες, σε 21 φυλές που προέρχονταν 8 χώρες. Τελικά κατέληξε να τις ομαδοποιήσει σε δύο ομάδες, την Indica και την Japonica. Ο Matsumoto το 1969, μελέτησε απομονώσεις από 13 χώρες και τις ομαδοποίησε σε τρεις ομάδες, την Ιαπωνική, Φιλιππινέζικη και την Ινδική, ενώ αργότερα το 1975, τις χώρισε σε τέσσερις ομάδες, την Ιαπωνική, Φιλιππινέζικη, Ινδική και την Αμερικάνικη. Αν και τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για τις παραπάνω μελέτες δεν ήταν αρκετά, παρόλα αυτά φάνηκαν καθαρά οι γεωγραφικές διαφορές στην παθογόνο δύναμη των φυλών. Σε χώρες ή περιοχές όπου καλλιεργείται ρύζι, αναφέρθηκαν αλλαγές ή μεταβολές των φυλών. Στην Ιαπωνία σημειώθηκε αύξηση και μείωση των φυλών της ομάδας C, όταν αυξήθηκαν και μειώθηκαν οι ποικιλίες με γόνο Pi-K (Ou, 1987).

Ποικιλίες ρυζιού οι οποίες θεωρήθηκαν ευαίσθητες σε κάποιες φυλές του μύκητα, ίσως έχουν διαφορετικά αποτελέσματα στο πολλαπλασιασμό τους και τελικά στην επικράτηση των φυλών. Οι Yamada και Iwano το 1975, βρήκαν ότι η φυλή C-8

πλεονεκτεί έναντι της φυλής C-1 στον πολλαπλασιασμό. Όταν δύο απομονώσεις εμβολιαστούν μαζί, η μία γίνεται επικρατέστερη ύστερα από τέσσερις γενεές, ενώ από απλές κηλίδες απομονώνεται πιο συχνά η μία από την άλλη. Συγκρίνοντας τον πολλαπλασιασμό των φυλών C-1 και C-3 σε δύο ποικιλίες τις Tatsuminochi και Fukei 69, τύπου Kanto-51, διαπιστώθηκε ότι στην Tatsuminochi η φυλή C-1 παράγει περισσότερα σπόρια και δημιουργεί μεγαλύτερες κηλίδες από ότι η φυλή C-3, ενώ στην ποικιλία Fukei 69 δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές (Ou ,1987).

3.2.2. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑΣ

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι απομονώσεις του *P. oryzae* διαφέρουν ως προς τα χαρακτηριστικά των καλλιεργειών τους, τις θρεπτικές τους απαιτήσεις και τη παθογένεια. Η μεγάλη ποικιλομορφία της παθογένειας που υπάρχει ανάμεσα στις απομονώσεις, έχει ως αποτέλεσμα να γίνεται πιο δύσκολη η δημιουργία ανθεκτικών ποικιλιών. Για να δημιουργηθούν ανθεκτικές ποικιλίες απαραίτητη προϋπόθεση είναι να γνωρίζουμε που οφείλεται αυτή η ποικιλομορφία.

Για πολλά χρόνια ο Suzuki μελέτησε το μύκητα και ανέφερε ότι τα κονίδια, τα μυκηλιακά κύτταρα και τα απρεσσόρια είναι ετεροκαριωτικά, η αναστόμωση είναι συνηθισμένη και κάθε κύτταρο περιέχει 3-7 πυρήνες. Θεώρησε λοιπόν ότι η ποικιλομορφία οφείλεται στην ετεροκαρίωση. Όπως ανάφερε ο Ou (1987), οι Chu και Li το 1965 βρήκαν ότι τα κύτταρα του μυκηλίου και των κονιδίων είναι πολυπύρηνα και ότι ο αριθμός των πυρήνων τους εξαρτάται από τις συνθήκες κάτω από τις οποίες γίνεται η ανάπτυξη του μύκητα. Από την άλλη, οι Yamasaki και Niizeki το 1965, ανέφεραν ότι τα περισσότερα κύτταρα του μύκητα είναι μονοπύρηνα. Βρέθηκε ότι 13-20% των κυττάρων είναι πολυπύρηνα και περιέχουν 2-6 πυρήνες.

Σύμφωνα με τον Ou (1987), οι Giatgong και Frederiksen το 1967 και το 1969, παρατήρησαν ότι μόνο μερικά βλαστάνοντα κύτταρα κονιδίων είχαν περισσότερους από έναν πυρήνες και ότι η αναστόμωση βρέθηκε σε μονοκονιδιακή καλλιέργεια. Έτσι πίστευαν, ότι η ποικιλομορφία της παθογένειας σε μονοκονιδιακές καλλιέργειες δεν μπορούσε να εξηγηθεί με βάση την ετεροκαρίωση.

Ένας άλλος μηχανισμός γενετικής αλλαγής είναι η παραγένεση. Η παραγένεση παρατηρήθηκε από τους Yamasaki και Niizeki, οι οποίοι ανέφεραν την αναστόμωση, τη μετανάστευση και συγχώνευση των πυρήνων.

Οι παραπάνω επισημάνσεις ίσως παίζουν σημαντικό ρόλο στην ποικιλομορφία της παθογένειας του οργανισμού. Ο πιο σημαντικός παράγοντας ίσως είναι η συνεχής αλλαγή του αριθμού των χρωμοσωμάτων στα κύτταρα των κονιδίων και του μυκηλίου εξαιτίας της μη-διάζευξης, των ασύγχρονων διαιρέσεων και της υστέρησης κατά τη διάρκεια της διαίρεσης του πυρήνα .

4. ΚΥΚΛΟΣ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ

4.1. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΠΟΡΙΩΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΜΟΛΥΣΜΑΤΟΣ

Τα κονίδια παράγονται στις κηλίδες των φυτών του ρυζιού περίπου έξι ημέρες μετά τη μόλυνση. Το ποσοστό των παραγόμενων σπορίων αυξάνει με αύξηση της σχετικής υγρασίας, ενώ δεν παράγονται κονίδια όταν η σχετική υγρασία είναι μικρότερη από 93%. Μια τυπική κηλίδα είναι ικανή να παράγει 2000-6000 κονίδια για 14 ημέρες κάτω από συνθήκες εργαστηρίου. Ο σχηματισμός των κονιδίων γίνεται μέγιστος 3-8 ημέρες μετά την εμφάνιση των κηλίδων στα φύλλα και 10-20 ημέρες μετά την εμφάνιση των κηλίδων στις ταξιανθίες. Οι κηλίδες που σχηματίζονται στα πέντε πρώτα φύλλα μπορούν να παράγουν κονίδια ικανά να προκαλέσουν μόλυνση στα αρχικά στάδια. Η παραγωγή σπορίων επιταχύνεται μεγάλη όταν η θερμοκρασία είναι υψηλή, αλλά γίνεται μέγιστη σε μέτρια θερμοκρασία. Οι Toyada και Susuki το 1952, μελέτησαν την παραγωγή σπορίων σε διαφορετικού τύπου κηλίδες και διαπίστωσαν ότι σε μικρές κηλίδες παράγονται λιγότερα σπόρια σε περισσότερο χρόνο σε σχέση με τις μεγάλες κηλίδες (Ou, 1987).

Τα περισσότερα σπόρια παράγονται και ελευθερώνονται τη νύχτα και κυρίως μεταξύ 2-6 π.μ. Στις τροπικές περιοχές ένα δεύτερο μέγιστο ελευθέρωσης παρατηρείται το απόγευμα μετά από θερινή βροχή. Για να γίνει η ελευθέρωση των σπορίων κρίνεται απαραίτητη η παρουσία του νερού. Όσο περισσότερες σταγόνες νερού συγκρατούνται στα μολυσμένα φύλλα τόσο περισσότερα σπόρια ελευθερώνονται. Τα πιο πολλά σπόρια παρουσία νερού ελευθερώνονται μέσα σε 2 min και κυρίως κατά τα πρώτα 30 sec. Επίσης όσο μεγαλύτερη είναι η περίοδος της δροσιάς τόσο περισσότερα σπόρια ελευθερώνονται, ενώ η βροχή μειώνει τη διασπορά των κονιδίων. Ο δυνατός άνεμος συμβάλλει στην ελευθέρωση των κονιδίων. Όσο μεγαλύτερη είναι η ένταση του ανέμου τόσο μεγαλύτερη είναι η μεταφορά των σπορίων. Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Susuki το 1974, ανέφερε την κάθετη διανομή των σπορίων σε ένα προσβλημένο αγρό. Τα περισσότερα κονίδια ήταν κάτω από το επίπεδο του νερού που καλύπτει το ρύζι. Η οριζόντια κατανομή σπορίων ήταν κοντά στην πηγή μολύσματος, κυρίως στο 1m πολύ κοντά στην πηγή, όταν τα φυτά δεν είναι πέρα από το στάδιο του αδελφώματος.

Ο αριθμός των κηλίδων που υπάρχουν στα φύλλα, ποικίλει σημαντικά ανάλογα με τη θέση των φύλλων και τη γωνία που σχηματίζουν με το στέλεχος. Τα περισσότερα σπόρια εντοπίζονται στο τρίτο φύλλο παρά στο δεύτερο, ενώ ακόμα λιγότερα εντοπίζονται στα φύλλα της κορυφής. Ποικιλίες των οποίων τα φύλλα είναι οριζόντια εμφανίζουν περισσότερα σπόρια, σχετικά με εκείνες των οποίων τα φύλλα σχηματίζουν οξεία γωνία με το στέλεχος.

Στην Ιαπωνία το μέγιστο των κονιδίων που μεταφέρονται με τον άνεμο παρατηρείται τον Αύγουστο. Στις τροπικές περιοχές το μέγιστο των κονιδίων που μεταφέρονται με τον άνεμο εκτείνεται από το Μάιο/Ιούνιο ως το Νοέμβριο/Δεκέμβριο.

Τα κονίδια που μεταφέρονται με τον άνεμο είναι το σημαντικότερο μέσο διάδοσης του *P. oryzae*, παρόλο που ο μύκητας μπορεί να μεταφερθεί με τον προσβλημένο σπόρο, το καλάμι και με τα κονίδια που πέφτουν στο νερό ποτίσματος.

4.2. ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΣΠΟΡΙΩΝ ΚΑΙ ΜΟΛΥΝΣΗ

Η μόλυνση ακολουθεί τη βλάστηση των σπορίων, το σχηματισμό της πλάκας συγκράτησης (απρεσσορίου), την παραγωγή του ράμφους μόλυνσης από τα απεσσόρια και την διείσδυση τους μέσω της επιδερμίδας. Η είσοδος του παθογόνου μπορεί να γίνει και από τα στόματα. Το ράμφος μόλυνσης αφού εισέλθει στα κύτταρα σχηματίζει μια διόγκωση, η οποία δημιουργεί υφές. Στις ανθεκτικές ποικιλίες τα προσβλημένα κύτταρα παράγουν καστανές κηλίδες ή μια ουσία σαν ρητίνη, η οποία σταματά την ανάπτυξη των υφών. Στις ευαίσθητες ποικιλίες τα κύτταρα ανταποκρίνονται αργά, με αποτέλεσμα οι υφές να αναπτύσσονται ελεύθερα.

Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο El Refaei το 1977, ενώ συμφωνούσε με τους περισσότερος επιστήμονες ότι η άριστη θερμοκρασία για τη βλάστηση των σπορίων είναι 26-28^{0}C, βρήκε ότι η άριστη θερμοκρασία για το σχηματισμό απρεσσορίου συμπίπτει με την άριστη θερμοκρασία στην οποία γίνεται η μόλυνση. Ανέφερε επίσης, ότι η είσοδος του παθογόνου στους ξενιστές γίνεται κυρίως με το σχηματισμό απρεσσορίων.

Ο χρόνος που απαιτείται για να γίνει η μόλυνση των κυττάρων των ξενιστών ποικίλει ανάλογα με τη θερμοκρασία. Ο ελάχιστος χρόνος που είναι απαραίτητος για να γίνει η μόλυνση είναι 10 ώρες στους 32^{0}C, 8 ώρες στους 28^{0}C και 6 ώρες στους 26^{0}C. Μέγιστη μόλυνση των φυτών παρατηρείται στους 24-28^{0}C, με συνεχή διαβροχή για 16-24 ώρες. Για να γίνει η βλάστηση των σπορίων είναι απαραίτητη η παρουσία νερού, ενώ για να γίνει η μόλυνση απαιτείται υψηλή σχετική υγρασία, τέτοια ώστε να προκαλεί διαβροχή. Όσο μεγαλύτερη είναι η περίοδος διαβροχής των φύλλων τόσο πιο μεγάλη είναι η μόλυνση.

Ο Susuki το 1969, ανέφερε ότι αν τα κονίδια εκτεθούν σε νερό για 20 δευτερόλεπτα έως 3 ώρες και στη συνέχεια ξεραθούν χάνουν τη βλαστική τους ικανότητα, ακόμα και αν ξαναβρεθούν σε νερό (Ou, 1987). Τα σπόρια είναι επίσης ευαίσθητα αν εκτεθούν στον αέρα χωρίς νερό.

Η περίοδος επώασης της ασθένειας ποικίλει ανάλογα με τη θερμοκρασία. Όταν η θερμοκρασία είναι 9-10^{0}C απαιτούνται 13-28 ημέρες, στους 17-18^{0}C 7-9 ημέρες, στους 24-25^{0}C 5-6 ημέρες και στους 26-28^{0}C 4-5 ημέρες. Η καλύτερη θερμοκρασία για να επιτευχθεί η μόλυνση είναι όμοια με εκείνη που απαιτείται για την ανάπτυξη του μυκηλίου, την παραγωγή σπορίων και τη βλάστηση των κονιδίων.

Το φως και το σκοτάδι έχει βρεθεί επίσης ότι επηρεάζουν την μόλυνση. Η μόλυνση καταστέλλεται κάτω από διάχυτο φως, ενώ γίνεται πιο εύκολα στο σκοτάδι. Φυτά που διατηρούνται στο σκοτάδι πριν γίνει η μόλυνση σχηματίζουν στα φύλλα κηλίδες οξέως τύπου.

4.3. ΔΙΑΧΕΙΜΑΣΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ

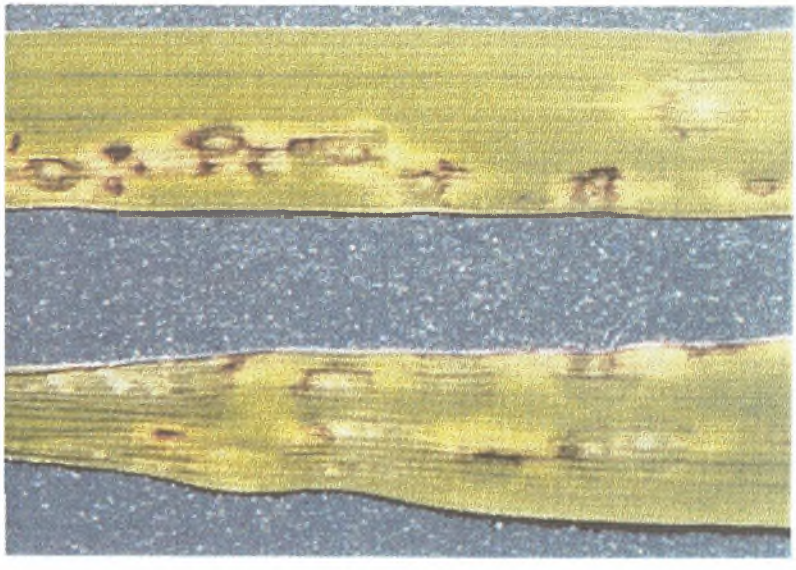
Ο μύκητας διαχειμάζει στις εύκρατες περιοχές με τη μορφή μυκηλίου ή με κονίδια σε προσβλημένους σπόρους ή σε προσβλημένα στελέχη. Σε ξηρές συνθήκες και σε θερμοκρασία δωματίου τα κονίδια διατηρούνται περισσότερο από ένα χρόνο, ενώ το μυκήλιο σχεδόν για τρία χρόνια. Σε υγρές συνθήκες το μυκήλιο και τα κονίδια δεν διατηρούνται ούτε μέχρι την επόμενη καλλιεργητική περίοδο. Το διαχειμάζον μυκήλιο παράγει κονίδια μόνο όταν βρέχεται, ενώ τα κονίδια που διαχειμάζουν μπορούν να μολύνουν τα φυτά εύκολα. Στον αγρό η πιο κοινή πηγή μόλυνσης είναι το καλάμι. Τα κονίδια και το μυκήλιο που αναπτύσσονται στην επιφάνεια του καλαμιού πεθαίνουν πριν την επόμενη άνοιξη, ενώ εκείνα που βρίσκονται στο εσωτερικό του καλαμιού διαχειμάζουν εύκολα. Ο μύκητας μπορεί να βρίσκεται μέσα στο έμβρυο, στο ενδοσπέρμιο, στα λέπυρα του σπόρου ενώ μερικές φορές μπορεί να βρίσκεται ανάμεσα στα λέπυρα και τους κόκκους. Ο μύκητας επίσης μπορεί να διαχειμάζει σε χειμερινά σιτηρά και σε φυτά εθελοντές. Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Ito το 1979, ανέφερε ότι μπορεί να διαχειμάζει ως μυκήλιο σε προσβεβλημένα φυτά μπαμπού και αυτοφυή αγρωστώδη μπαμπού, τα οποία είναι συνηθισμένα στην Ιαπωνία.

Στις τροπικές περιοχές ο μύκητας διατηρείται όλο το χρόνο επί των διαφόρων ξενιστών. Ωστόσο η διαχείμαση δεν είναι απαραίτητη, γιατί τα κονίδια που μεταφέρονται με τον άνεμο διατηρούνται όλη τη διάρκεια του χρόνου.

5. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ

Ο *P. oryzae* στο ρύζι προκαλεί κηλίδες στα φύλλα, στα γόνατα, σε διάφορα μέρη της ταξιανθίας και στους καρπούς, ενώ σπάνια προσβάλλει τον κολεό του φύλλου.

Οι κηλίδες των φύλλων είναι ελλειπτικές, με περισσότερο ή λιγότερο αιχμηρό τέλος, με γκρίζο ή υπόλευκο κέντρο και με καστανό ή καστανοκόκκινο περιθώριο. Το χρώμα και το σχήμα των κηλίδων ποικίλει ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες, την ηλικία των κηλίδων και το βαθμό ευπάθειας της ποικιλίας. Στο έλασμα των φύλλων αρχικά εμφανίζονται μικρά, υδατώδη, λευκά, γκρίζα ή κυανά σημεία, τα οποία στις ευαίσθητες ποικιλίες γρήγορα μεγεθύνονται κάτω από συνθήκες υγρασίας. Οι πλήρως ανεπτυγμένες κηλίδες συνήθως περιβάλλονται από καστανή άλω και έχουν μήκος 1-1,5cm και πλάτος 0,3-0,5cm. Σε ευαίσθητες ποικιλίες οι κηλίδες που σχηματίζονται κάτω από συνθήκες υγρασίας και σκιά, περιβάλλονται από πολύ μικρή καστανή ή κίτρινη άλω. Σε ανθεκτικές ποικιλίες παρατηρούνται μικρές καστανές κηλίδες σε μέγεθος καρφίτσας, ενώ σε ποικιλίες ενδιάμεσης αντίδρασης σχηματίζονται μικρές κυκλικές ή ελλειπτικές κηλίδες, μήκους λίγων mm που περιβάλλονται από καστανό περιθώριο. Οι μικρές αυτές κηλίδες ονομάζονται χρόνιες, ενώ εκείνες που εμφανίζουν γκρίζο χρώμα και εκείνες που μεγεθύνονται σημαντικά ονομάζονται οξείες κηλίδες (Ou, 1987).



Εικόνα 4: Συμπτώματα της πυρικουλαρίωσης του ρυζιού σε ευαίσθητο φυτό.

Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Yoshii το 1937 διέκρινε τρεις ζώνες στις νεκρωτικές κηλίδες: α) την αξιοσημείωτη (καλοσχηματισμένη), β) τη νεκρωτική και γ) τη ζώνη αποσύνθεσης. Η αξιοσημείωτη ζώνη αποτελεί την εξωτερική μεριά της κηλίδας, που σχηματίζεται από διείσδυση τοξικών ουσιών του μύκητα και αποτελεί

την κίτρινη ζώνη η οποία συγχωνεύεται με τους υγιείς ιστούς. Η νεκρωτική ζώνη είναι συνήθως μια καστανή, στενή λωρίδα η οποία εκτείνεται κατά μήκος της εσωτερικής πλευράς της αξιοσημείωτης ζώνης. Στη νεκρωτική ζώνη τα κύτταρα και τα κυτταρικά τοιχώματα εκφυλίζονται και αλλάζουν χρώμα, ενώ στη ζώνη αποσύνθεσης είναι τελείως κατεστραμμένα.

Όταν στα φύλλα σχηματίζονται πολυάριθμες κηλίδες, οι οποίες σύντομα εξελίσσονται σε νεκρωτικές, προκαλείται ξήρανση του κολεού των φύλλων. Όταν μολυνθούν τα γόνατα, όλα τα μέρη πάνω από αυτά νεκρώνονται. Επίσης, κάθε μέρος της ταξιανθίας μπορεί να μολυνθεί και να εμφανίσει καστανές κηλίδες. Συχνά προσβάλλονται περιοχές που βρίσκονται κοντά στη βάση της ταξιανθίας με αποτέλεσμα να προκαλείται σήψη λαιμού και πτώση της ταξιανθίας.

Τα συμπτώματα που εμφανίζονται σε κάθε περιοχή εξαρτώνται από τους κλιματικούς παράγοντες. Στις εύκρατες περιοχές, όπου επικρατούν μεγάλες περίοδοι ψιλής βροχής, τα μολυσμένα φύλλα στο στάδιο του αδελφώματος μπορούν να νεκρώσουν τελείως τα φυτά. Στις τροπικές περιοχές τα νεαρά φυτά είναι ευαίσθητα αλλά μετά τη μεταφύτευση σπάνια εμφανίζουν μολύνσεις. Επίσης όταν οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι ευνοϊκές, προκαλείται σήψη λαιμού.

Στην κτενάνθη τα πρώτα συμπτώματα της ασθένειας εμφανίζονται σε μερικώς ανεπτυγμένα καινούρια φύλλα. Στα φύλλα παρατηρούνται μεμονωμένες κυκλικές ως ελαφρά ακανόνιστες καλά καθορισμένες κηλίδες, με διάμετρο 1-3 mm. Σε διερχόμενο φως οι κηλίδες παρουσιάζουν λευκό νεκρωτικό κέντρο με καλοσχηματισμένη, στενή, καστανο-κίτρινη άλω. Στα ώριμα φύλλα, οι αρχικές κηλίδες γίνονται λευκές και εξελίσσονται σε νεκρωτικές πριν η διάμετρος τους γίνει 3-8 mm. Η νεκρωτική περιοχή βρίσκεται συνήθως κοντά στην περιφέρεια ή στη βάση των φύλλων. Αυτά τα συμπτώματα μοιάζουν με φυτοτοξικότητα από χημικά ή λίπανση.

Σοβαρά προσβεβλημένα νεαρά φυτά εμφανίζουν συμπτώματα παραμόρφωσης και μαρασμού των κατώτερων φύλλων, καθυστερημένη ανάπτυξη και τελικά πεθαίνουν. Στα νεαρά φυτά τα συμπτώματα της προσβολής εμφανίζονται πριν ολοκληρωθεί η έκπτυξη των φύλλων. Τα ώριμα φύλλα που σκιάζονται είναι ευαίσθητα στη μόλυνση, αλλά η ασθένεια εξαπλώνεται όταν η σχετική υγρασία ή η διύγρανση των φύλλων είναι υψηλή για τουλάχιστον 24 ώρες (Pappas και Paplomatas, 1998).

Εικόνα 5: Συμπτώματα της πυρικουλαρίωσης σε φυτό κτενάνθης.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Επιδημιολογία είναι η μελέτη των παραγόντων που επιδρούν στην έναρξη, ανάπτυξη και εξάπλωση μιας μολυσματικής ασθένειας. Είναι η μελέτη των συνθηκών του περιβάλλοντος, οι οποίες επηρεάζουν την ποσότητα και την κατανομή της ασθένειας στους πληθυσμούς των φυτών.

Στην Ανατολική Ασία η διάδοση της ασθένειας εξαρτάται στις εύκρατες περιοχές, από την επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του μύκητα, στις υπο-εύκρατες από τη θερμοκρασία και τη σχέση ανάμεσα στην ηλικία του φυτού και στην ικανότητά του να αμύνεται στην είσοδο και εγκατάσταση του παθογόνου, ενώ στις τροπικές και υπο-τροπικές περιοχές η διάδοση της ασθένειας συνδέεται κυρίως με την ανθεκτικότητα του ξενιστή.

Στις Φιλιππίνες, όπως και στις περισσότερες τροπικές περιοχές της Ασίας, η θερμοκρασία τις νύχτες είναι πάντα ευνοϊκή (21-25^{0}C) για την εξέλιξη της ασθένειας, τη βλάστηση των σπορίων, το σχηματισμό απρεσσορίου, τη μόλυνση, τη μεγέθυνση των κηλίδων, την παραγωγή και την ελευθέρωση των σπορίων.

Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο El Refaei το 1977 μελέτησε τη σχέση ανάμεσα στον αριθμό των κηλίδων και τους κλιματικούς παράγοντες και διαπίστωσε ότι, αφού η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία τις νύχτες είναι ευνοϊκές, ο σημαντικότερος παράγοντας είναι η διάρκεια της δρόσου.

Επιπλέον, η ασθένεια είναι σοβαρότερη στις ποικιλίες που προσαρμόζονται στα υψηλά υψόμετρα (Upland) καλλιέργειες παρά σε εκείνες που καλλιεργούνται υπό συνθήκες κατάκλισης (Paddy). Μια εξήγηση αντίθετη με την κοινή αντίληψη είναι ότι, η περίοδος δροσιάς στα υψηλά υψόμετρα είναι μεγαλύτερης διάρκειας σε αντίθεση με τις πεδινές περιοχές. Αυτό συμβαίνει γιατί ο τροπικός ήλιος πέφτει στο νερό του αγρού με 42^{0}C ή περισσότερους, με αποτέλεσμα το νερό να ελευθερώνει θερμότητα αργά τη νύχτα και έτσι να καθυστερεί ο σχηματισμός δροσιάς. Η περίοδος της δροσιάς έχει μικρότερη διάρκεια κοντά στην επιφάνεια του νερού. Παρόλο που οι Upland ποικιλίες περιέχουν υψηλότερα ποσοστά σακχάρων και πρωτεϊνών σε σχέση με τις υπό κατάκλυση (Paddy) ποικιλίες, γεγονός που καθιστά τα φυτά πιο ευαίσθητα, η εξέλιξη της ασθένειας καθορίζεται κυρίως από τη διάρκεια της δροσιάς. Γενικά η πυρικουλαρίωση είναι μια ασθένεια της νύχτας, η οποία ελέγχεται κυρίως από τη δροσιά (Ou, 1987).

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

7. ΞΕΝΙΣΤΕΣ

Η ασθένεια που προκαλεί ο μύκητας *P. oryzae* θεωρείται η κυριότερη ασθένεια του ρυζιού, εξαιτίας της ευρύτατης κατανομής της και της καταστροφής που προκαλεί κάτω από ευνοϊκές συνθήκες. Το 1898 βρέθηκε στην Ιαπωνία ότι ελεύθερα κονίδια του μύκητα, που παράχθηκαν σε μολυσμένα φυτά ρυζιού μόλυναν με επιτυχία το αιματόχορτο (*Digitaria sanguinalis*). Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Hemmi και οι συνεργάτες του το 1949, απομόνωσαν από το αιματόχορτο μια φυλή του μύκητα, η οποία ήταν παθογόνος στα νεαρά φυτά ρυζιού.

Ο Andersen και οι συνεργάτες του το 1947 ανέφεραν ότι ο μύκητας του ρυζιού μολύνει και άλλα σιτηρά όπως το σιτάρι, το κριθάρι και το καλαμπόκι, ενώ ο Hemmi και οι συνεργάτες του το 1949 ανέφεραν ότι προσβάλλει επίσης το "Darnyard grass", *Eleusine indica, Oplismenus undulatifolius*, Ιταλικό σόργο (Ou, 1987). Οι Pappas και Paplomatas το 1998 ανέφεραν για πρώτη φορά, ότι φυλές του μύκητας *P. oryzae* πρόσβαλλαν και το καλλωπιστικό φυτό κτενάνθη (*Ctenanthe*). Εκτός από τα παραπάνω φυτά ο *Pyricularia* βρέθηκε ότι προσβάλλει ένα μεγάλο αριθμό καλλιεργούμενων και άγριων ειδών της οικογένειας Gramineae και ορισμένα είδη των: Zingiberaceae, Cannaceae, Musaceae και Cyperaceae. Ως ξενιστές του μύκητα σύμφωνα με τον σύμφωνα με τον Ou (1987), καταγράφηκαν τα παρακάτω:

1) οικογ. Gramineae.
Eriochloa villosa (Nisikado, 1926)
Eremochloa ophuroides (Johnson, 1954)
Leersia japonica (Sawada, 1917)
L. hexandra (Ieraragharan & Padmanabhan,1965)
Panicum repens (Sawada, 1917)
Phragmites communis (Kuribayash, 1953
Arundo donax (Srinivasan & Vijayalakshmi, 1957)
Brachiaria mutica (Mclntosh, 1951)
Stenotaphrum secundatum (Johnson, 1954)
Saccharum officinarum (Hastings de Gutierrez, 1955)
Pennisetum typhoides (Mehta,1952)

2) οικογ. Zingiberaceae.
Zingiber officinale (Nisikado, 1926)
Z. mioga (Nisikado, 1926)
Curcuma aromatica (Sawada, 1959)
Costus speciosus (Sawada, 1917)

3) οικογ. Cannaceae.
Canna indica (Roldan , 1938, Sawada, 1959)

4) οικογ. Musaceae.
Musa sapientum (Stehle, 1954)

5) οικογ. Cyperaceae.
Cyperus rotundus (Lutterell, 1954)
C. compressus (Thirumalachar, 1956)

6) οικογ. Marantaceae. *Ctenanthe oppenheimiana* (Pappas και Paplomatas, 1998)
C. setosa (Pappas και Paplomatas, 1998)

8. ΑΠΩΛΕΙΕΣ

Η πυρικουλαρίωση είναι η σοβαρότερη ασθένεια του ρυζιού, εξαιτίας της μεγάλης καταστροφής που προκαλεί κάτω από ευνοϊκές συνθήκες. Συχνά τα νεαρά φυτάρια ή τα φυτά στο στάδιο του αδελφώματος πεθαίνουν, ενώ η προσβολή της ταξιανθίας μπορεί να αποβεί επιζήμια για την παραγωγή του ρυζιού.

Το 1962 στην Ιαπωνία, η ασθένεια εμφανίστηκε ως προσβολή των φύλλων σε μια περιοχή πάνω από 865.000 εκτάρια, από τα οποία στα 847.000 εκτάρια είχε γίνει εφαρμογή χημικής καταπολέμησης. Μόλυνση της ταξιανθίας παρατηρήθηκε σε 721.000 εκτάρια, ενώ είχαν ψεκαστεί 909.000 εκτάρια. Το 1960 οι απώλειες της παραγωγής, λόγω της ασθένειας έφτασαν τους 273.300 τόνους, περίπου 24,8% των συνολικών απωλειών που προκλήθηκαν από έντομα, άλλες ασθένειες, παγετούς, πλημμύρες και τυφώνες. Το 1953 οι απώλειες έφτασαν τους 800.000 τόνους εξαιτίας μιας επιδημίας. Οι ετήσιες απώλειες την περίοδο 1953-1960 ποίκιλαν από 1,4-7,3%, με μέσο όρο 2,98% της συνολικής παραγωγής, παρόλο που είχε εφαρμοστεί εκτενής χημική καταπολέμηση. Στην Ινδία την περίοδο 1960-1961 χάθηκαν πάνω από 266.000 τόννοι ρυζιού.

Για τον υπολογισμό των απωλειών οι Kuribayashi και Ichikawa το 1952, ανέπτυξαν τον τύπο: $y=0,69x+2,8$, όπου y είναι ο λόγος των απωλειών και x το ποσοστό επί τοις εκατό των προσβλημένων φύλλων και ταξιανθιών (Ou, 1987). Επίσης, το ποσό των απωλειών επηρεάζεται και από το χρόνο που γίνεται η μόλυνση, όσο πιο νωρίς γίνει η μόλυνση τόσο πιο πολλές είναι οι απώλειες.

Προσβολή 10% των λαιμών προκαλεί μείωση της παραγωγής κατά 6% και αύξηση του 'λαπαδιάσματος' των κόκκων με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητας μια ή δύο κλάσεις. Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Padmanabhan το1965 υπολόγισε τις απώλειες της παραγωγής, συγκρίνοντας παραγωγές από: 1) επιδημικές και μη επιδημικές περιοχές, 2) ανθεκτικές και ευαίσθητες ποικιλίες με το ίδιο παραγωγικό δυναμικό ικανότητες και 3) προστατευόμενους και απροστάτευτους αγρούς με μυκητοκτόνα. Παρόλο που εμπλέκονται και άλλοι παράγοντες, ανέφερε ότι 1% μόλυνση στο λαιμό μείωσε την παραγωγή κατά 1,4% στην πρώτη περίπτωση, κατά 17,4% και 0,4% στις άλλες περιπτώσεις αντίστοιχα.

Η προσβολή των ταξιανθιών συνήθως προηγείται της προσβολής των φύλλων. Η προσβολή των φύλλων εμποδίζει την ανάπτυξη των φυτών και μειώνει τον αριθμό των ώριμων σταχυδίων, το βάρος 1000 κόκκων κτλ, το στάδιο ανάπτυξης στο οποίο γίνεται η μόλυνση βρέθηκε να επηρεάζει τη σοβαρότητα της ασθένειας και τελικά την παραγωγή.

9. ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΜΥΝΑΣ ΤΩΝ ΞΕΝΙΣΤΩΝ

Το κυτταρικό τοίχωμα του φυτού αποτελεί τον πρώτο μηχανισμό άμυνας εναντίον κάθε παθογόνου. Ωστόσο πολλοί μύκητες έχουν αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς ώστε να διεισδύουν διαμέσου της κηρώδους επιδερμίδας και να επιτυγχάνουν την είσοδό τους στους εσωτερικούς ιστούς των ξενιστών.

Τα ανθεκτικά φυτά αναπτύσσουν διάφορες αντιδράσεις άμυνας για να εμποδίσουν την εξάπλωση της ασθένειας. Ο σημαντικότερος μηχανισμός άμυνας είναι η παραγωγή μετά την μόλυνση, αντιμικροβιακών ουσιών, όπως οι περοξειδάσες, οι φαινολικές ουσίες και τα τοξικά γλυκοσίδια. Σε αυτή την περίπτωση ανήκει η αντίδραση υπερευαισθησίας (hypersensitive response), κατά την οποία παρατηρείται θανάτωση ενός κυττάρου ή ενός μικρού αριθμού κυττάρων, μόλις το πρωτόπλασμα του φυτού έρθει σε επαφή με την επιφάνεια του παθογόνου. Πριν το χημικό μηχανισμό που οδηγεί στην αντίδραση της υπερευαισθησίας, προηγείται η απώλεια της σπαργής των κυττάρων (μάλλον από βλάβη της ημιπερατότητας των μεμβρανών) και μια σημαντική αύξηση του ρυθμού της αναπνοής. Σημαντικό ρόλο στην αντοχή των φυτών στην ασθένεια, παίζουν μικρού μοριακού βάρους ενώσεις, οι φυτοαλεξίνες, οι οποίες παράγονται στο σημείο εισόδου του μύκητα στον ξενιστή. Οι πιο γνωστές φυτοαλεξίνες που απομονώθηκαν από φυτά ρυζιού είναι, η ρυζοαλεξίνη (Oryzalexins) και οι 'Momilactones'. Η παραγωγή αυτών των ουσιών ελέγχεται από την παθογόνο δύναμη του μύκητα και από γόνους ανθεκτικότητας του ξενιστού. Η παρουσία των γόνων σχετίζεται με την παραγωγή διεγερτών (Elicitors) και καταστολέων (Suppressors), της παραγωγής φυτοαλεξινών. Συγκεκριμένα διαπιστώθηκε ότι, μεγάλου μοριακού βάρους συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος του παθογόνου, όπως γλυκοπρωτεΐνες και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, επάγουν τη συσσώρευση φυτοαλεξινών στους φυτικούς ιστούς. Αντίθετα, μικρού μοριακού βάρους γλυκάνες αντιδρούν με μόρια-δέκτες της κυτοπλασματικής μεμβράνης των κυττάρων του ξενιστή και έτσι παρεμποδίζεται η παραγωγή φυτοαλεξινών (Γεωργόπουλος και Ζιώγας, 1992).

Η αντίσταση και οι αντιδράσεις άμυνας του φυτού εναντίον της ασθένειας επηρεάζονται επίσης από τις κλιματικές συνθήκες και το στάδιο ανάπτυξης των φυτών. Τα νεαρά φυτά είναι ευαίσθητα στο στάδιο 'leaf-blast', ενώ γίνονται ανθεκτικά στο στάδιο 'booting'. Σοβαρή προσβολή παρατηρείται όταν τα φυτά βρίσκονται στο ευαίσθητο στάδιο και οι κλιματικές συνθήκες είναι ευνοϊκές για την ανάπτυξη του παθογόνου. Μέσες ημερήσιες θερμοκρασίες κάτω από 19^0C και πάνω από 28^0C αποτελούν περιοριστικό παράγοντα για την εξάπλωση της ασθένειας, παρότι οι υψηλές θερμοκρασίες είναι ευνοϊκές για την ανάπτυξη του μύκητα. Η ασθένεια εξαπλώνεται ως επιδημία σε χαμηλές θερμοκρασίες γιατί οι αντιδράσεις αντίστασης του ξενιστή περιορίζονται περισσότερο από ότι η ανάπτυξη του παθογόνου. Ακόμα μειώνοντας την ποσότητα του διαλυτού N στα φυτά, αυξάνεται η ανθεκτικότητα των ξενιστών στην ασθένεια. Όταν επικρατούν χαμηλές θερμοκρασίες για 1-2 εβδομάδες η συγκέντρωση του αζώτου αυξάνεται ενώ η αντίσταση του φυτού μειώνεται, το ίδιο συμβαίνει και όταν τα φυτά λιπαίνονται με άζωτο. Ο Yoshino και

οι συνεργάτες του το 1974 ανέφεραν ότι όταν τα φυτά σκιάζονται παρατηρείται προσωρινή αύξηση της αντίστασης τους (Ou, 1987).

Σε χρονιές με μεγάλες περιόδους χαμηλών θερμοκρασιών η ανάπτυξη των φυτών καθυστερεί, ενώ σε χρονιές με υψηλές θερμοκρασίες η ανάπτυξη επιταχύνεται και το ξεστάχυασμα γίνεται πρώιμα.

Ο Sakamoto το 1940 ανέφερε ότι ισχυρός άνεμος τραυματίζει την επιφάνεια των ξενιστών και δημιουργεί πληγές, οι οποίες συμβάλλουν στην είσοδο του παθογόνου στους ιστούς των ξενιστών. Ο άνεμος διεγείρει επίσης τη διαπνοή των ξενιστών, οδηγεί στην εναπόθεση σιλικόνης στους ιστούς και στηρίζει την άμυνά τους (Ou, 1987).

Σύμφωνα με τον Ou (1987), όταν επικρατούν βροχερές ή συννεφιασμένες ημέρες αυξάνεται η αφομοίωση του CO_2 η αναπνοή των φυτών, η φυσιολογική ικανότητα του ξενιστή, η σκληρότητα των ιστών και η συσσώρευση διαλυτού αζώτου στους ιστούς, ενώ μειώνεται η αντίσταση στην ασθένεια. Αύξηση της υγρασίας χωρίς ηλιοφάνεια, μειώνει τη διαπνοή του ξενιστή, παρεμποδίζοντας την αντίσταση του φυτού στο παθογόνο.

10. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Η αντιμετώπιση του *P. oryzae* είναι δύσκολη όταν δεν ακολουθείται ένα ολοκληρωμένο πρόγραμμα καταπολέμησης. Μια τέτοια στρατηγική προϋποθέτει το συνδυασμό καλλιεργητικών και χημικών μεθόδων.

10.1 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ο χρόνος φύτευσης έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει σημαντικά στην ανάπτυξη της ασθένειας. Στην Ιαπωνία οι όψιμες φυτείες αντιμετωπίζουν εντονότερο πρόβλημα από τις πρώιμες. Αυτό συμβαίνει γιατί στις πρώιμες φυτείες η θερμοκρασία του αέρα είναι πολύ χαμηλή στο στάδιο του αδελφώματος και πολύ υψηλή στο στάδιο του ξεσταχυάσματος, με αποτέλεσμα η ασθένεια να μην ευνοείται στο στάδιο του ξεσταχυάσματος και να προκαλεί μικρότερη ζημιά.

Τα φυτάρια που αναπτύσσονται σε φυτώρια που βρίσκονται σε μεγάλο υψόμετρο (Upland), είναι περισσότερο ευαίσθητα ακόμα και μετά τη μεταφύτευση, γιατί τα επιδερμικά τους κύτταρα έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε σιλικόνη. Επίσης, αυτά τα φυτά παράγουν περισσότερες ρίζες, απορροφούν περισσότερο N και περιέχουν περισσότερο διαλυτό N, αμινοξέα και αμίνες τα οποία ευνοούν την ανάπτυξη της ασθένειας.

Όπως έχει αναφερθεί η αζωτούχος λίπανση επιδρά στην εξέλιξη της ασθένειας. Συγκεκριμένα, πολλοί παραγωγοί δεν εφάρμοζαν αζωτούχο λίπανση για να αποφύγουν τις επιπτώσεις της ασθένειας. Ο τύπος του εδάφους πρέπει πάντα να λαμβάνεται υπόψη προκειμένου να καθοριστεί η λιπαντική αγωγή.

Η ασθένεια ευνοείται επίσης, όταν η θερμοκρασία του νερού άρδευσης είναι 20^0C ή χαμηλότερη. Αυτό συνδέεται με το χρονικό διάστημα που τα φυτά είναι εκτεθειμένα σε κρύο νερό.

Στην Ιαπωνία έχει βρεθεί ότι το μεγάλο βάθος φύτευσης εκτός του ότι καθυστερεί την ανάπτυξη, την ωρίμανση και μειώνει την παραγωγή, συμβάλλει σημαντικά και στην ανάπτυξη της ασθένειας (Ou, 1987).

10.2 ΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για την αντιμετώπιση της ασθένειας χρησιμοποιούνται μεγάλες ποσότητες χημικών. Σχεδόν όλα τα χωράφια στα οποία καλλιεργείται ρύζι έχουν δεχθεί ψεκασμούς. Στην Ιαπωνία, η βιομηχανία είναι καλά ανεπτυγμένη και ικανή να παράγει σχετικά φθηνά χημικά προϊόντα. Η σχετικά χαμηλή ανάπτυξη των καλλιεργούμενων ποικιλιών του ρυζιού ευνοεί τη χρήση απλού εξοπλισμού για την προσθήκη χημικών σε ατομικά φυτά, αλλά στις καλά οργανωμένες κοινωνίες γίνεται

χρήση αεροσκαφών για μεγάλης κλίμακας εφαρμογή, παρότι οι μεμονωμένες εκτάσεις του κάθε γεωργού είναι μικρές. Το κόστος της εφαρμογής είναι ίσο με 1,5-4 % της αξίας του προϊόντος, γεγονός που σημαίνει ότι ακόμα και αν η ασθένεια έχει προκαλέσει μικρή ζημιά στον καρπό αξίζει οικονομικά να ελεγχθεί χημικά (Ou, 1987).

Για την προστασία των φυτών αρχικά χρησιμοποιήθηκαν χαλκούχες ενώσεις, όπως ο βορδιγάλιος πολτός. Το μίγμα αυτό, όπως και άλλες χαλκούχες ενώσεις, χρησιμοποιούνταν εκτενώς στις ψυχρότερες περιοχές της Ιαπωνίας, όπου η ασθένεια ήταν διαδεδομένη (Ou, 1987). Το πιο γνωστό μυκητοκτόνο ήταν μέχρι πριν μερικά χρόνια ο βορδιγάλιος πολτός, που προέρχεται από αντίδραση θεϊκού χαλκού ($CuSO_4.5H_2O$) και υδροξειδίου του ασβεστίου [$Ca(OH)_2$] σε υδατικό περιβάλλον. Μια παραλλαγή του βορδιγάλιου πολτού είναι ο βουργούνδιος πολτός στον οποίο η άσβεστος αντικαθίσταται από σόδα ($NaCO_3.10H_2O$) (Γεωργόπουλος και Ζιώγας 1992). Οι χαλκούχες ενώσεις όμως έχουν δύο μειονεκτήματα : α) είναι φυτοτοξικές για τα φυτά και μερικές φορές μειώνουν την απόδοση και β) δεν ελέγχουν την ασθένεια κάτω από επιδημικές συνθήκες.

Μετά το 2° παγκόσμιο πόλεμο, χρησιμοποιήθηκαν χαλκούχες ενώσεις με PMA (φαίνυλ-υδραργυρικό acetate). Το μίγμα αυτό είναι πιο αποτελεσματικό από ότι ο χαλκός στον έλεγχο της ασθένειας και είναι λιγότερο τοξικό για τα φυτά. Σύμφωνα με τον Ou (1987), οι Kamoto και Yamamoto το1961 και οι Kamoto και Hayama το1962, βρήκαν ότι τα οργανο-υδραργυρικά μυκητοκτόνα με τύπο R-Hg-X είναι πιο αποτελεσματικά. Οι φαινυλυδραργυρικές ενώσεις απορροφούνται από τους φυτικούς ιστούς, γεγονός που σημαίνει ότι έχουν πολύ πιο ισχυρή προστατευτική δράση εναντίον της μόλυνσης και της εξάπλωσης των κηλίδων από τις χαλκούχες. Επίσης, προλαμβάνουν τη μόλυνση όχι μόνα στα ψεκαζόμενα φυτικά μέρη, αλλά και στα μη ψεκαζόμενα. Οι φαινυλυδραργυρικές ενώσεις έχουν μικρή ή καθόλου τοξική δράση σε ποικιλίες ρυζιού Japonica, ενώ σε μερικές ποικιλίες Indica έχουν τοξική δράση. Ακόμα έχει βρεθεί ότι αυξάνουν ελαφρά την απόδοση των Japonica, παρότι προκαλούν μερικές μη ορατές κηλίδες.

Από το 1950 και για 15 χρόνια οι οργανικές ενώσεις του υδραργύρου ήταν οι πιο διαδεδομένες στη χρήση, όμως η χρήση τους απαγορεύτηκε το 1968 στην Ιαπωνία και το 1974 στην Ελλάδα γιατί οι ενώσεις αυτές είναι πολύ τοξικές και σοβαροί ρυπαντές του περιβάλλοντος.

Για την αντιμετώπιση της ασθένειας χρησιμοποιήθηκαν και αντιβιοτικά. Αντιβιοτικά είναι οργανικές ενώσεις, που παράγονται από μικροοργανισμούς και είναι τοξικές, σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε άλλους μικροοργανισμούς. Πολλές τέτοιες ενώσεις, αφού πρώτα αναγνωρίστηκαν ως αντιβιοτικά, μπορεί αργότερα να παρασκευαστούν συνθετικά σε εμπορική κλίμακα. Αυτό δεν σημαίνει ότι θα πρέπει να πάψουν να λέγονται αντιβιοτικά. Η χημική δομή των περισσότερων αντιβιοτικών είναι οπωσδήποτε πολύπλοκη. Παρότι πολλά αντιβιοτικά έχουν επιτύχει κατάπολέμηση ασθενειών των φυτών σε πειραματική κλίμακα, στη γεωργική πράξη λίγα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται, αφού η τιμή τους είναι στις περισσότερες περιπτώσεις υψηλότερη από την τιμή συνθετικών φαρμάκων. Κατά κανόνα, τα αντιβιοτικά είναι διασυστηματικά φάρμακα. Ανάλογα με την καταλληλότητα τους για την καταπο-

λέμηση βακτηρίων ή μυκήτων, μπορούμε να διακρίνουμε τα αντιβιοτικά σε αντιβακτηριακά και αντιμυκωτικά (Γεωργόπουλος και Ζιώγας, 1992).

Πολλά από τα αντιβιοτικά που παρεμποδίζουν κυτταρικές λειτουργίες σε ευκαριωτικούς οργανισμούς είναι τοξικά στους μύκητες, αλλά η χρήση αντιβιοτικών για την καταπολέμηση μυκήτων, που προκαλούν ασθένειες φυτών, είναι πολύ μικρή, σχεδόν μηδαμινή. Μοναδική, ίσως εξαίρεση είναι η καταπολέμηση ασθενειών ρυζιού στην Ιαπωνία, που πραγματοποιείται κατά ένα μέρος με αντιβιοτικά. Σύμφωνα με τον Ou (1987), ο Yoshii το1949, ανακάλυψε πρώτος ένα αντιβιοτικό, το οποίο εμποδίζει την ανάπτυξη του *P. oryzae*. Το ονόμασε cephalothecin επειδή παράχθηκε από είδη του *Cephalothecium*. Αργότερα βρέθηκαν και δοκιμάστηκαν και άλλα όπως το antiblastin (Susuki, 1954), antimycin A (Harada, 1955), blastimycin (Wafanable, 1957) και το blasticidin A (Fukunaga, 1955).Όμως κανένα από τα παραπάνω δεν μπορούσε να χρησιμοποιηθεί λόγω της χημικής τους αστάθειας και της υψηλής τοξικότητάς τους στα ψάρια.

Το Blasticidin S αναπτύχθηκε το 1955 από τους Fukunaga και Misato και βρέθηκε ότι έχει εξαιρετικές ιδιότητες για την αντιμετώπιση της ασθένειας. Παράγεται από τον *Streptomyces griseo-Chromogenes Fukunaga*, από είδη του οποίου παράγεται και το Blasticidin A.

Το blasticidin S εμποδίζει τελείως τη βλάστηση των σπορίων, όταν χρησιμοποιηθεί σε συγκέντρωση 1 ppm και είναι τόσο αποτελεσματικό όσο και το PMA. Επίσης, 1 ppm από το Blasticidin S ελέγχει την ανάπτυξη του μυκηλίου, ενώ απαιτούνται 10 ppm του PMA. Αυτό εξηγεί την θεραπευτική δράση του αντιβιοτικού, ενώ η προστατευτική του δράση είναι ελαφρά μικρότερη από του PMA, γεγονός που σημαίνει ότι αποσυντίθεται πιο γρήγορα. Το Blasticidin S δρα στην αναπνοή και στο μεταβολισμό του *P. oryzae*, ενώ σε συγκέντρωση 1 ppm εμποδίζει ισχυρά το σχηματισμό γλουταμινικού οξέος. Είναι τοξικό στα φυτά μόνο όταν χρησιμοποιηθεί σε υπερβολική ποσότητα.

Για τον έλεγχο της ασθένειας αναπτύχθηκαν και πολλά μη-υδραργυρικά μυκητοκτόνα όπως τα: Kitazin (IBP), Hinosan (edifenphos), Fuji-one (isoprothiodane), Rabcide (fthalide), El-291 (tricyclazole). Εκτός από τα παραπάνω το benomyl (Benlate) βρέθηκε επίσης αποτελεσματικό εναντίον της ασθένειας, ενώ μίγματα benomyl, thiram και topsin M, thiram χρησιμοποιήθηκαν με επιτυχία στην Ιαπωνία για την εμβάπτιση φυταρίων (Ou, 1987).

Τα μυκητοκτόνα Kitazin (IBP) και Hinosan (edifenphos), είναι από τα λίγα οργανοφωσφορικά που έχουν αντιμυκωτική δράση και χρησιμοποιούνται εναντίον του *P. oryzae* και άλλων μυκήτων που προκαλούν ασθένειες στο ρύζι. Τα μυκητοκτόνα αυτά παρεμποδίζουν τη βιοσύνθεση των φωσφολιπιδίων της κυτοπλασματικής μεμβράνης. Συγκεκριμένα, παρεμποδίζουν το ένζυμο φωσφολιπιδική N-μεθυλο τρανσφεράση, που έχει ως αποτέλεσμα να μη σχηματίζεται φωσφατιδυλοχολίνη, ένα κύριο συστατικό των μεμβρανών του *P. oryzae*. Η παρεμπόδιση της βιοσύνθεσης φωσφατιδυλοχολίνης επιφέρει αλλαγές στη δομή και τις ημιπερατές ιδιότητες της μεμβράνης, που εξηγούν τη μυκητοτοξικότητα των ενώσεων αυτών. Διαπιστώθηκε επίσης, ότι το Kitazin (IBP)και το Hinosan (edifenphos) δρουν και ως παρεμποδιστές της κουτινάσης οδηγώντας έτσι σε παρεμπόδιση της ασθένειας χωρίς άμεση τοξική δράση στο παθογόνο. Με τον όρο

κουτινάση αναφερόμαστε στο ένζυμο (ή ένζυμα) των παθογόνων, με το οποίο επιτυγχάνεται η διάσπαση της κουτίνης (Γεωργόπουλος και Ζιώγας, 1992).

Τα μυκητοκτόνα Rabcide (fthalide) και El-291 (tricyclazole) αποτελούν εξειδικευμένους παρεμποδιστές βιοσύνθεσης μελανίνης. Σε συγκεντρώσεις, που επιτυγχάνουν καταπολέμηση της ασθένειας που προκαλεί *ο P. oryzae*, οι παραπάνω ενώσεις παρεμποδίζουν αναγωγικές αντιδράσεις της μεταβολικής οδού που οδηγεί στη βιοσύνθεση μελανίνης χωρίς να έχουν καμία επίδραση στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα ή την παραγωγή σπορίων. Όταν όμως αφαιρέσουμε ή τρυπήσουμε την επιδερμίδα των φύλλων, έχουμε μόλυνση του φυτού παρά την παρουσία του παρεμποδιστή γιατί τότε δε χρειάζεται η σκλήρυνση των τοιχωμάτων του απρεσσορίου και η άσκηση πίεσης από το ράμφος μόλυνσης. Ο ρόλος της μελανίνης αποδεικνύεται από το γεγονός ότι αν η ικανότητα βιοσύνθεσης μελανίνης χαθεί, λόγω μεταλλαγής, τα μεταλλαγμένα στελέχη που δεν έχουν την ικανότητα να παράγουν μαύρα απρεσσόρια, χάνουν συγχρόνως και την παθογόνο δύναμη. Στα άγρια στελέχη τα τοιχώματα του απρεσσορίου είναι μαύρα εκτός αν υπάρχει ο παρεμποδιστής. Φαίνεται δηλαδή ότι τα τοιχώματα του απρεσσορίου χρειάζονται την μελανίνη για να έχουν την κατάλληλη στερεότητα για την εφαρμογή της πίεσης, που απαιτείται στη διαδικασία της διείσδυσης του παθογόνου στον ξενιστή (Γεωργόπουλος και Ζιώγας, 1992).

Για την αύξηση της ανθεκτικότητας του ξενιστή χρησιμοποιούνται διάφορες χημικές ενώσεις όπως οι διεγέρτες φυτοαλεξινών, το διχλωροπροπανυλοκαρβοξυλικό οξύ και το probenazole. Ενδιαφέρουσα είναι η περίπτωση να χρησιμοποιηθούν οι φυσικοί διεγέρτες παραγωγής φυτοαλεξινών ως μέσα χημικής καταπολέμησης. Τα φυτά ως αντίδραση στη μόλυνση από το παθογόνο παράγουν φυτοαλεξίνες. Η παραγωγή των ουσιών αυτών επάγεται από προϊόντα των παθογόνων, που ονομάζονται διεγέρτες (elicitors). Τέτοιοι φυσικοί διεγέρτες βρίσκονται σε χαμηλή συγκέντρωση στα κυτταρικά τοιχώματα των μυκήτων και έχει επιτευχθεί η απομόνωσή τους από τα τοιχώματα αυτά. Η εφαρμογή όμως διεγερτών για την ενεργοποίηση των μηχανισμών άμυνας του φυτού φαίνεται να παρουσιάζει προβλήματα. Οι φυτοαλεξίνες δεν είναι 'αθώες' χημικές ενώσεις, υπερβολική επαγωγή τους μπορεί να οδηγήσει σε τοξικότητα στα φυτά αλλά και στα θηλαστικά. Επιπλέον η απομόνωση των διεγερτών είναι δύσκολη και δαπανηρή και είναι δύσκολο να έχουμε ικανή ποσότητα για εφαρμογή στον αγρό. Προσπάθειες βέβαια γίνονται για την σύνθεση τέτοιων ουσιών σε βιομηχανική κλίμακα και τη χρησιμοποίησή τους ως μυκητοκτόνων. Η πειραματική ένωση διχλωροπροπανυλοκαρβοξυλικό οξύ σε συγκεντρώσεις, που δεν επηρεάζουν την μυκηλιακή αύξηση, είναι κατάλληλη για την καταπολέμηση της ασθένειας που προκαλείται από τον μύκητα *P. oryzae*. Σε αντίθεση με τους παρεμποδιστές βιοσύνθεσης μελανίνης το διχλωροπροπανυλοκαρβοξυλικό οξύ δεν εμποδίζει το πέρασμα της επιδερμίδας από τον μύκητα αλλά επάγει τους μηχανισμούς άμυνας του φυτού μετά την είσοδο του παθογόνου και προκαλείται η αντίδραση υπερευαισθησίας. Η αντίδραση αυτή φαίνεται ότι οφείλεται στη γρήγορη συσσώρευση φυτοαλεξινών στη θέση εισόδου του παθογόνου. Η ένωση probenazole χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση του *P. oryzae* και μερικών βακτηρίων. Αν και παρεμποδίζει ελάχιστα την αύξηση του μύκητα ή τη βλάστηση των κονιδίων στο εργαστήριο, έχει πολύ καλή

αποτελεσματικότητα στην αντιμετώπιση της ασθένειας. Πιστεύεται ότι αυτή η ένωση επάγει την αναγνώριση μεταξύ ξενιστή και παθογόνου, που οδηγεί μέσα από διάφορες μεταβολικές αλλαγές, τόσο στην παραγωγή μυκητοκτόνων ενώσεων από το φυτό όσο και στην εναπόθεση λιγνίνης γύρω από τις θέσεις εισόδου του παθογόνου (Γεωργόπουλος και Ζιώγας, 1992).

Στη δεκαετία του 1980 αναπτύχθηκε μία νέα ομάδα μυκητοκτόνων, οι στρουμπιλουρίνες. Είναι παράγωγα δευτερογενών μεταβολιτών, τα οποία παράγονται από μύκητες όπως οι *Strobilurus tenacallus* και *Oudemansiella mudica*. Η χημική αστάθεια και η πτητικότητα των φυσικών στρουμπιλουρινών έχει ξεπεραστεί σε τρεις ενώσεις : azoxystrobin, kresoxim-methyl και metominostrobin. Η δράση τους είναι η παρεμπόδιση της μιτοχονδριακής ανάπτυξης με μπλοκάρισμα της μεταφοράς e^- μεταξύ του κυτοχρώματος b και c. Αυτή η ομάδα έχει ευρύ φάσμα δράσης εναντίον Ασκομυκήτων, Βασιδιομυκήτων, Δευτερομυκήτων και Ωομυκήτων σε δημητριακά, ρύζι, φρούτα, αμπέλια, λαχανικά και αυτοφυή αγροστώδη. Το kresoxim-methyl δεν είναι πολύ αποτελεσματικό σε παθογόνα που ζουν στο εσωτερικό των φυτών και αυτό οφείλεται στον ταχύ μεταβολισμό του προϊόντος μέσα στα φύλλα. Ωστόσο είναι πολύ δραστικό σε παθογόνα που ζουν πάνω στη φυτική επιφάνεια, όπως το *Erysiphae graminis*. Σε αντίθεση το azoxystrobin κινείται διασυστηματικά στα αγγεία του ξύλου και έτσι ελέγχει καλύτερα παθογόνα που βρίσκονται στο εσωτερικό των φυτικών ιστών, όπως το *Puccinia* spp. Το metominostrobin έχει αναφερθεί ότι αντιμετωπίζει την πυρικουλαρίωση (Jorgensen, 1998).

Στην Ιαπωνία έχουν εγγραφεί επτά μυκητοκτόνα για την αντιμετώπιση της ασθένειας και ο τρόπος δράσης τους φαίνεται στους Πίνακες 3 και 4.

Πίνακας 3: Τρόπος δράσης μυκητοκτόνων εναντίον της ασθένειας στην Ιαπωνία (Mogi, 1979).

	Προληπτική δράση		**Παρεμποδιστική δράση**				
Μυκητοκτόνα	**Βλάστηση σπορίων**	**Διείσδυση**	**Ανάπτυξη κηλίδων**	**Εξάπλωση**	**Υγρή αντοχή**	**Διασυστ/κή δράση**	**Υπολειμ/κή δράση**
Blasticidin S	+ +	+ +	+ + +	+ + +	-	-	-
Kasufamycin	-	-	+ + + +	+ + +	-	+ + +	+ +
IBP Kitazin P	+ +	+ +	+ + +	+ + +	+ +	+ + + +	+
Edifenpos (Hinosan)	+ +	+ +	+ + +	+ + +	+	+	+ + +
Fthalide (Rabcide)	-	+ + + +	-	+ + +	+	+	+ + + +
Probenazole (Oryzemate)	-	+ + + +	+ + +	+ + +	+ +	+ + + + +	+
Isoprothidane (Fuji-one)	-	+ + + +	+ + +	+ + +	+ +	+ + + + +	+ +

Πηγή: Ou, (1987)

Πίνακας 4: Μυκητοκτόνα για την αντιμετώπιση της ασθένειας στην Ιαπωνίας (Mogi, 1979).

Μυκητοκτόνα	Εφαρμογή	Τρόπος δράσης
Blasticidin S (αντιβιοτικό)	επίπαση ή ψεκασμός	Παρεμπόδιση βλάστησης σπορίων και μυκηλιακής ανάπτυξης
Kasufamycin (αντιβιοτικό)	επίπαση ή ψεκασμός	Παρεμπόδιση μυκηλιακής ανάπτυξης (πολύ χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά)
Kitazin P (IBP)	επίπαση ή ψεκασμός, εμβάπτιση	Παρεμπόδιση βλάστησης σπορίων και μυκηλιακής ανάπτυξης
Hinosan (edifenpos)	επίπαση ή ψεκασμός	Παρεμπόδιση βλάστησης σπορίων και μυκηλιακής ανάπτυξης (αποτελεσματικό εναντίον Drechslera & Fusarium)
Rabcide (fthalide)	επίπαση ή ψεκασμός	Παρεμπόδιση διείσδυσης (μεγάλη υπολειμματική δράση)
Oryzemate (probenazole)	εμβάπτιση	Παρεμπόδιση διείσδυσης και μυκηλιακής ανάπτυξης (αποτελεσματικό εναντίον του Xanthomonas campestris pv oryzae). Σχηματισμός φυτοαλεξινών
Fuji-one (isoprothidane)	εμβάπτιση εφαρμογή σε φυτάρια	Παρεμπόδιση διείσδυσης και μυκηλιακής ανάπτυξης

Πηγή: Ou, (1987)

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη των βιολογικών ιδιοτήτων του μύκητα *P. oryzae* από φυτά ρυζιού και κτενάνθης.

Για το σκοπό αυτό αρχικά μελετήθηκε η ανάπτυξη της διαμέτρου του μυκηλίου του μύκητα *P. oryzae* σε πέντε διαφορετικές θερμοκρασίες. Μυκηλιακοί δίσκοι διαμέτρου 5 mm, οι οποίοι είχαν κοπεί με φελλοτρυπητή από την περιφέρεια της αποικίας τοποθετήθηκαν σε τριβλία που περιείχαν θρεπτικό υπόστρωμα PDA. Τα τριβλία επωάστηκαν για 14 ημέρες σε θερμοκρασίες 15, 20, 25, 30 και 35°C.

Το πείραμα για τον προσδιορισμό του αριθμού των σπορίων των απομονώσεων, πραγματοποιήθηκε σε τριβλία που περιείχαν καλλιέργειες 16 ημερών. Για την αποκόλληση των σπορίων από την επιφάνεια των καλλιεργειών προστέθηκαν 10 ml νερού σε κάθε τριβλίο και ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές για 10 min.

Η παθογόνος ικανότητα του μύκητα *P. oryzae* ελέγχθηκε με ψεκασμό ή εναπόθεση σταγόνας αιωρήματος σπορίων, τόσο σε φυτά ρυζιού και κτενάνθης που αναπτύσσονταν σε γλάστρες, όσο και σε τεμαχισμένους ιστούς φύλλων που επέπλεαν σε τριβλία που περιείχαν αποστειρωμένο νερό. Τα φυτά ρυζιού και κτενάνθης αφού μολύνθηκαν τεχνητά, σκεπάστηκαν με υγρές σακκούλες πολυαιθυλενίου. Στη συνέχεια ακολούθησε επώαση σε θάλαμο ανάπτυξης φυτών σε θερμοκρασία 20-22 ^{O}C, σχετική υγρασία 80% και 12-14 ώρες κανονικό φωτισμό.

Η ασηπτική απομόνωση του μύκητα από φυτά ρυζιού και κτενάνθης πραγματοποιήθηκε από φύλλα που είχαν εμφανίσει τα συμπτώματα της ασθένειας. Τα προσβλημένα τεμάχια των φύλλων αφού απολυμάνθηκαν με διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου (NaClO) 0,5% τοποθετήθηκαν σε τριβλία που περιείχαν τα εξής θρεπτικά υποστρώματα: PDA, PDA με πενικιλίνη και στρεπτομυκίνη και PA με χλωραμφαινικόλη.

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων έδειξαν ότι, τόσο η άριστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη της διαμέτρου της αποικίας, όσο και ο αριθμός των σπορίων ανά ml ή ανά cm^2 αποικίας ποικίλει ανάλογα με την απομόνωση. Όσον αφορά την παθογένεια των απομονώσεων τα πειράματα έδειξαν ότι, τα πρώτα μακροσκοπικά συμπτώματα της ασθένειας εμφανίστηκαν στα φυτά κτενάνθης 4 ημέρες μετά την τεχνητή μολυνσή τους από τις απομονώσεις Ct4 και Ct6, ενώ στα φυτά ρυζιού 5 ημέρες μετά την μόλυνσή τους από την απομόνωση R9. Τέλος η απομόνωση R9 επαναπομονώθηκε 3 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση στα θρεπτικά υποστρώματα PDA και PA με χλωραμφαινικόλη, ενώ η απομόνωση Ct6 επαναπομονώθηκε στα μέσα PDA και PDA με πενικιλίνη και στρεπτομυκίνη. Η απομόνωση Ct4 δεν κατάφερε να επαναπομονωθεί.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γένος *Pyricularia* φιλοξενεί ένα σημαντικό αριθμό ειδικευμένων ειδών που προσβάλλουν ένα μεγάλο κύκλο ξενιστών.

Η πυρικουλαρίωση του ρυζιού (rice blast) οφείλεται στον μύκητα *Pyricularia oryzae* και θεωρείται η σοβαρότερη ασθένεια του ρυζιού λόγω της ευρύτατης εξάπλωσης που παρουσιάζει και της μεγάλης καταστροφής που προκαλεί κάτω από ευνοϊκές συνθήκες. Προσβάλλει επίσης και αλλά σιτηρά όπως σιτάρι, κριθάρι και καλαμπόκι, το καλλωπιστικό φυτό κτενάνθη (*Ctenanthe oppenheimiana*), το αυτοφυές αιματόχορτο, και άλλα καλλιεργούμενα και άγρια είδη της οικογένειας Gramineae, και των οικογενειών Zingiberaceae, Cannaceae, Musaceae και Cyperaceae.

Ο παθογόνος οργανισμός προκαλεί μόλυνση σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του ρυζιού και σε όλα τα τμήματά του. Ωστόσο οι προσβολές παρατηρούνται κυρίως στις όψιμες σπορές και σε γόνιμα εδάφη. Ο Ou το 1987, ανέφερε ότι τα συμπτώματα της ασθένειας ποικίλουν ανάλογα με τις συνθήκες του περιβάλλοντος, το είδος και την ηλικία των ιστών. Οι Παπλωματάς και Παππάς το 1998, ανέφεραν ότι στην κτενάνθη τα πρώτα συμπτώματα εμφανίζονται σε μερικώς εκπτυσσόμενα καινούρια φύλλα, αλλά η ασθένεια εξαπλώνεται όταν η σχετική υγρασία ή η διύγρανση των φύλλων είναι υψηλή για τουλάχιστον 24 ώρες.

Η αντιμετώπιση της ασθένειας έγκειται στην λήψη καλλιεργητικών και χημικών μέτρων. Ο χρόνος σποράς, λίπανσης και η θερμοκρασία του αρδευτικού νερού πρέπει να ρυθμίζονται έτσι ώστε να δημιουργούνται συνθήκες που δεν ευνοούν την ανάπτυξη και την εξάπλωση της ασθένειας. Τα μυκητοκτόνα που χρησιμοποιήθηκαν ή χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα είναι: χαλκούχες ενώσεις, ενώσεις υδραργύρου, αντιβιοτικά, οργανοφωσφορικές ενώσεις και οι στρουμπιλουρίνες.

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη των βιολογικών ιδιοτήτων απομονώσεων του μύκητα *Pyricularia oryzae* από φυτά ρυζιού και κτενάνθης. Για το σκοπό αυτό μελετήθηκε: α) Η ανάπτυξη της διαμέτρου του μυκηλίου, β) η παραγωγή σπορίων, γ) η παθογόνος ικανότητα των απομονώσεων και δ) έγινε προσπάθεια και η επαναπομόνωση του μύκητα.

Σύμφωνα με τον Ou (1987), πολλοί ερευνητές ανέφεραν ότι η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης του μυκηλίου είναι 28°C, ενώ τα όρια ανάπτυξης κυμαίνονται από 8-9°C ως 37°C. Η άριστη θερμοκρασία και τα όρια ανάπτυξης ποικίλουν ανάλογα με τις απομονώσεις.

Παραγωγή σπορίων παρατηρείται όταν η θερμοκρασία κυμαίνεται μεταξύ 10-15^{0}C ως 37^{0}C, με άριστη τους 28^{0}C. Ο αριθμός των σπορίων ανά cm^{2} αποικίας όπως και η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης της διαμέτρου της αποικίας, ποικίλει ανάλογα με την απομόνωση. Το ποσοστό των παραγόμενων σπορίων αυξάνει με αύξηση της σχετικής υγρασίας, ενώ μια τυπική κηλίδα είναι ικανή να παράγει 2000-6000 κονίδια για 14 ημέρες κάτω από συνθήκες εργαστηρίου (Ou, 1987).

Οι Παπλωματάς και Παππάς το 1998, ανέφεραν όσον αφορά τον έλεγχο της μολυσματικότητας των τριών απομονώσεων, ότι πειράματα παθογένειας έδειξαν πως

ενώ οι απομονώσεις του μύκητα από φυτά κτενάνθης ήταν εξαιρετικά παθογόνες σε είδη της οικογένειας Marantaceae, απομονώσεις από φυτά ρυζιού προκάλεσαν αντίδραση υπερευαισθησίας ή ανοσίας σε μέλη της αυτής οικογένειας.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα θρεπτικά υποστρώματα που αναφέρονται διεξοδικά παρακάτω. Όλα τα υλικά αποστειρώθηκαν σε θάλαμο υγρής αποστείρωσης (autoclave) για 15 min στις 1,2 Atm στους 121^{0}C.

Α) Θρεπτικά Υποστρώματα

1) Potato Dextrose Agar (LAB M)

Για την παρασκευή του υποστρώματος ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας 39 gr σκόνης του τυποποιημένου σκευάσματος και προστέθηκαν σε ένα λίτρο δις-απεσταγμένου νερού εντός κωνικής φιάλης 2 lt. Το αιώρημα θερμάνθηκε με συνεχή ανακίνηση ως το σημείο βρασμού και μοιράστηκε σε κωνικές φιάλες των 250 ml. Ακολούθησε αποστείρωση.

2) Potato Agar (PA)

Το PA είναι όμοιο με το PDA με τη μόνη διαφορά ότι δεν περιέχει δεχτρόζη και παρασκευάστηκε στο εργαστήριο ως εξής: σε ένα λίτρο δις-απεσταγμένου νερού έβρασαν 100 gr καθαρισμένες, πλυμμένες και κομμένες σε κύβους πατάτες μέχρι να μαλακώσουν. Για την απομάκρυνση των στερεών υπολειμμάτων της πατάτας χρησιμοποιήθηκε διπλό ύφασμα μουσελίνας και βαμβάκι, ενώ το διάλυμα που απέμεινε τοποθετήθηκε σε κωνική των 2 lt. Στην κωνική φιάλη προστέθηκαν 10 gr άγαρ και στην συνέχεια συμπληρώθηκε ως τα 1500 ml με δις-απεσταγμένο νερό. Στη συνέχεια το διάλυμα θερμάνθηκε με συνεχή ανακίνηση ως το σημείο βρασμού και τοποθετήθηκε σε κωνικές φιάλες των 250 ml. Ακολούθησε αποστείρωση.

3) Υποστρώματα ρυζιού

Σε 100 ml απεσταγμένου νερού προστέθηκαν 32 gr αναποφλοίωτου ρυζιού και πολτοποιήθηκαν σε ομογενοποιητή. Εντός κωνικής φιάλης των 2 lt που περιείχε το παραπάνω αιώρημα προστέθηκε 1 lt δις-απεσταγμένου νερού και 20 gr άγαρ. Το αιώρημα θερμάνθηκε με συνεχή ανακίνηση ως το σημείο βρασμού και μοιράστηκε σε κωνικές φιάλες των 250 ml. Οι κωνικές φιάλες στη συνέχεια αποστειρώθηκαν.

Για την απαλλαγή των απομονώσεων του μύκητα από επιμολύνσεις βακτηρίων χρησιμοποιήθηκαν τα παραπάνω θρεπτικά υλικά εμπλουτισμένα με αντιβιοτικά:

1) **Υλικό με chloramphenicol 0-0,5 gr/lt ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$)**

Σε 5ml αιθυλικής αλκοόλης 95%, διαλύθηκαν 50 mg chloramphenicol. Ακολούθησε προσθήκη του παραπάνω αιωρήματος σε 1000 ml άγαρ, τα οποία παρασκευάστηκαν όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Το αιώρημα με συνεχή ανακίνηση ομογενοποιηθήκε και αποστειρώθηκε.

2) **Υλικό με Penicillin + Streptomycin**

Σε 200 ml δις-απεσταγμένου νερού προστέθηκαν 60 mg πενικιλίνης και το αιώρημα παρέμεινε εντός του ψυγείου, ενώ 1 gr στρεπτομυκίνης προστέθηκε σε 750 ml δις-απεσταγμένου νερού. Πριν το μέσο καλλιέργειας μοιραστεί στα τριβλία προστέθηκε 1 ml από το κάθε αιώρημα σε κάθε 10ml υποστρώματος

β) Μελέτη βιολογικών χαρακτηριστικών του μύκητα

1. Ανάπτυξη μυκηλίου

Υλικά: Η ανάπτυξη μυκηλίου εκτιμήθηκε σε τρεις απομονώσεις του μύκητα *Pyricularia oryzae*, τις Ct4, Ct6 και R9. Οι απομονώσεις Ct4 και Ct6 απομονώθηκαν από φυτά κτενάνθης (*Ctenanthe oppenherimiana*), ενώ η R9 προήλθε από φυτά ρυζιού. Ως υπόστρωμα για την ανάπτυξη του μυκηλίου των απομονώσεων χρησιμοποιήθηκε PDA, 15 cm^3 σε κάθε τριβλίο. Για την απαλλαγή των απομονώσεων του μύκητα από επιμολύνσεις βακτηρίων χρησιμοποιήθηκε άγαρ με χλωραμφαινικόλη.

Μέθοδος: Από τις τρεις απομονώσεις ετοιμάστηκαν αρχικές καλλιέργειες, μεταφυτεύοντας σε τριβλία με PDA μυκήλιο ή κονίδια. Στη συνέχεια ετοιμάστηκαν νέες μητρικές καλλιέργειες, μεταφυτεύοντας μυκηλιακούς δίσκους 13 ημερών και διαμέτρου 5mm σε τριβλία με PDA. Οι δίσκοι κόπηκαν με φελλοτρυπητή (d=5mm) από την περιφέρεια της αποικίας.

Για την απαλλαγή των καλλιεργειών του μύκητα από επιμολύνσεις βακτηρίων, έγιναν νέες καλλιέργειες μεταφυτεύοντας μυκηλιακούς δίσκους 7 ημερών και διαμέτρου 5mm σε τριβλία που περιείχαν άγαρ με χλωραμφαινικόλη. Από αυτές τις καλλιέργειες μεταφέρθηκαν δίσκοι μυκηλίου 11 ημερών και διαμέτρου 5mm σε τριβλία με PDA.

Όλες οι παραπάνω καλλιέργειες επωάστηκαν σε θάλαμο επώασης, στο σκοτάδι στους 22^0C.

Από τις τελευταίες καλλιέργειες μεταφυτεύθηκαν κάτω από ασηπτικές συνθήκες μυκηλιακοί δίσκοι, σε 15 τριβλία με PDA για κάθε στέλεχος. Οι μυκηλιακοί δίσκοι κόπηκαν με φελλοτρυπητή, είχαν διάμετρο 5mm και πάρθηκαν από την περιφέρεια της αποικίας. Τρία τριβλία ανά απομόνωση επωάστηκαν σε πέντε διαφορετικές θερμοκρασίες 15, 20, 25, 30 και 35^0C. Η επώαση είχε διάρκεια 14 ημέρες στο σκοτάδι και πραγματοποιήθηκε σε κατάλληλα διαμορφωμένους θαλάμους επώασης.

Κάθε 24 ώρες για 14 ημέρες γίνονταν μετρήσεις για την ταχύτητα ανάπτυξης του μυκηλίου. Κάθε ημέρα με τη βοήθεια βαθμονομημένου χάρακα, μετρούνταν η διάμετρος του μυκηλίου της κάθε απομόνωσης.

2. Παραγωγή σπορίων

Υλικά: Η παραγωγή σπορίων των στελεχών, εκτιμήθηκε σε καλλιέργειες 16 ημερών, που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα PDA. Οι καλλιέργειες επωάστηκαν επί 13 ημέρες στο σκοτάδι στους 25^0C, ενώ εκτέθηκαν σε 'black light' (12 h ημερησίως) για 3 ημέρες. Για τη μέτρηση των παραγόμενων σπορίων χρησιμοποιήθηκαν 10 ml νερού, διπλό ύφασμα μουσελίνας, αιματοκυτόμετρο και μηχανικός μετρητής.

Μέθοδος: Σε κάθε τριβλίο με καλλιέργεια 16 ημερών προστέθηκαν 10ml νερού. Γυάλινη κεκαμένη ράβδος, η οποία πρώτα είχε αποστειρωθεί σε φλόγα λύχνου, σύρθηκε προσεκτικά στην επιφάνεια της αποικίας για να γίνει η αποκόλληση των σπορίων. Το αιώρημα των σπορίων τοποθετήθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα, αφού πρώτα διηθήθηκε από διπλό ύφασμα μουσελίνας για τη συγκράτηση των υφών του μύκητα. Το διήθημα με τα κονίδια φυγοκεντρήθηκε στις 3000 στροφές / min επί 10 min. Στη συνέχεια με τη βοήθεια πιπέττας απομακρύνθηκε προσεκτικά το υπερκείμενο του 1 ml στρώμα νερού και το εναπομείναν υπόλοιπο που περιείχε τα καθιζάνοντα κονίδια αναταράχτηκε σε περιστροφικό αναδευτήρα για να γίνει ομογενοποίηση του αιωρήματος. Στη συνέχεια με αποστειρωμένη πιπέττα Παστέρ, τοποθετήθηκαν δύο σταγόνες από το αιώρημα στο αιματοκυτόμετρο και μετρήθηκαν τα σπόρια στο μικροσκόπιο με τη βοήθεια του μηχανικού μετρητή.

Ο αριθμός των σπορίων ανά ml αιωρήματος , ισούται με τον αριθμό που έδωσε η καταμέτρηση σπορίων στο τετράγωνο του αιματοκυτόμετρου, που φαίνεται στο οπτικό πεδίο του μικροσκοπίου και στην μεγέθυνση 10, επί 10000.

Για να προσδιοριστεί ο αριθμός σπορίων / cm^2 αποικίας, αρχικά υπολογίστηκε το εμβαδόν της αποικίας με τον τύπο $E=\pi r^2$ όπου r η ακτίνα του μυκηλίου και στη συνέχεια έγινε αναγωγή στο 1 cm^2.

3. Έλεγχος παθογένειας

Υλικά: Ο έλεγχος της παθογόνου ικανότητας των απομονώσεων του μύκητα *P. oryzae* έγινε με ψεκασμό ή με εναπόθεση σταγόνας αιωρήματος σπορίων σε φυτά ρυζιού και κτενάνθης που αναπτύσσονταν σε γλάστρες, καθώς και σε φύλλα των φυτών αυτών που επέπλεαν σε τριβλία με αποστειρωμένο νερό.

Για να επιτευχθεί η τεχνητή μόλυνση χρησιμοποιήθηκε αιώρημα σπορίων τριών απομονώσεων του μύκητα *P. oryzae,* των απομονώσεων Ct4 και Ct6 που απομονώθηκαν από φυτά κτενάνθης και της απομόνωσης R9 που απομονώθηκε από φυτά ρυζιού. Οι τρεις απομονώσεις είχαν αναπτυχθεί σε υπόστρωμα PDA και υπόστρωμα ρυζιού ενώ επωάστηκαν για 33 ημέρες στο σκοτάδι στους 25^0C.

Μέθοδος: Η πυκνότητα του αιωρήματος της κάθε απομόνωσης βρέθηκε ότι ήταν: για την Ct4 70000 σπόρια / ml, για την Ct6 50000 σπόρια / ml και για την R9 15000 σπόρια / ml.

Επειδή η πυκνότητα των παραπάνω αιωρημάτων ήταν πολύ υψηλή, έγινε αραίωση προκειμένου να δημιουργηθούν αιωρήματα με πυκνότητα 10000 σπόρια / ml. Για την παρασκευή 10 ml μολύσματος τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα 8,6 ml απεσταγμένου νερού και 1,4 ml από το αιώρημα των 70000 σπορίων / ml της απομόνωσης Ct4. Για την παρασκευή 10 ml μολύσματος της απομόνωσης Ct6 χρησιμοποιήθηκαν 8 ml απεσταγμένου νερού και 2 ml μολύσματος, ενώ για την παρασκευή 10 ml μολύσματος της απομόνωσης R9 τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα 4 ml απεσταγμένου νερού και 6 ml μολύσματος.

Στα φυτά που μολύνθηκαν τεχνητά με ψεκασμό ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία: τα φυτά ρυζιού ψεκάστηκαν στις μασχάλες των φύλλων με μολύσματα συγκέντρωσης $7x10^4$, $5x10^4$ και $1,5x10^4$ σπόρια / ml των απομονώσεων Ct4, Ct6 και R9 αντίστοιχα. Τα φυτά κτενάνθης ψεκάστηκαν στην κάτω επιφάνεια των φύλλων με μολύσματα συγκέντρωσης $7x10^4$ και $5x10^4$ σπόρια / ml των απομονώσεων Ct4 και Ct6. Ακολούθησε κάλυψη των γλαστρών που περιείχαν τα φυτά με υγρές σακκούλες πολυαιθυλενίου, οι οποίες πρώτα είχαν διαβραχεί με απεσταγμένο νερό και ακολούθησε επώαση αυτών σε θάλαμο ανάπτυξης φυτών σε θερμοκρασία 20-22^{0}C, σχετική υγρασία 80% και 12-14 ώρες κανονικό φωτισμό. Χρησιμοποιήθηκαν και φυτά δείκτες τα οποία ψεκάστηκαν με απεσταγμένου νερού.

Στα φυτά που μολύνθηκαν τεχνητά με σταγόνα ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία: οι σακκούλες πολυαιθυλενίου ψεκάστηκαν με απεσταγμένο νερό όπως προηγουμένως. Με αποστειρωμένη πιπέττα Παστέρ τοποθετήθηκαν στις μασχάλες των φυτών ρυζιού σταγόνες μολύσματος των απομονώσεων Ct4, Ct6 και R9 με συγκεντρώσεις $7x10^4$, $5x10^4$ και $1,5x10^4$ σπόρια / ml αντίστοιχα, ενώ στα φυτά κτενάνθης τοποθετήθηκαν στην κάτω επιφάνεια των φύλλων σταγόνες μολύσματος των απομονώσεων Ct4 και Ct6 με συγκεντρώσεις $7x10^4$ και $5x10^4$ σπόρια / ml αντίστοιχα. Στη συνέχεια οι γλάστρες καλύφθηκαν με τις υγρές σακκούλες πολυαιθυλενίου. Χρησιμοποιήθηκαν και φυτά δείκτες (μάρτυρες) τα οποία μολύνθηκαν με σταγόνες απεσταγμένου νερού.

Σε 12 τριβλία που περιείχαν 15 ml απεσταγμένου νερού, τοποθετήθηκαν τρία τεμάχια ελάσματος φύλλων ρυζιού και κτενάνθης, μήκους 5 cm το καθένα. Σε έξι τριβλία τοποθετήθηκαν τεμάχια ελάσματος φύλλων ρυζιού και κτενάνθης, τα οποία είχαν απολυμανθεί με υποχλωριώδες νάτριο 13%, το οποίο είχε αραιωθεί σε αναλογία 1/10 με αποστειρωμένο νερό. Τα φύλλα παρέμειναν στο υποχλωριώδες νάτριο για 5 min και μετά στεγνώθηκαν ελαφρά με στιπόχαρτο. Ακολούθησε τεχνητή μόλυνση τοποθετώντας στην επιφάνεια κάθε φύλλου ρυζιού με πιπέττα Παστέρ μία σταγόνα μολύσματος με συγκέντρωση σπορίων $7x10^4$, $5x10^4$ και $1,5x10^4$ σπόρια / ml των απομονώσεων Ct4, Ct6 και R9 αντίστοιχα. Στα φύλλα της κτενάνθης έγινε τεχνητή μόλυνση με τη βοήθεια πιπέττας Παστέρ τοποθετώντας μία σταγόνα μολύσματος συγκέντρωσης $7x10^4$ και $5x10^4$ σπόρια / ml των απομονώσεων Ct4 και Ct6 στην κάτω επιφάνεια των φύλλων. Χρησιμοποιήθηκαν και 3 τριβλία ως δείκτες, τα οποία περιείχαν φύλλα που είχαν μολυνθεί με σταγόνες απεσταγμένου νερού.

Ορισμένα από τα τεχνητώς μολυσμένα φυτά ρυζιού και κτενάνθης και τα τριβλία που περιείχαν τμήματα ελάσματος αυτών, επωάστηκαν σε θάλαμο επώασης φυτών σε θερμοκρασία 20-22^{0}C και σχετική υγρασία 80%, ενώ τα υπόλοιπα επωάστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου.

4. Τρόπος ασηπτικής απομόνωσης του μύκητα

Υλικά: Χρησιμοποιήθηκαν φυτά ρυζιού και φυτά κτενάνθης που είχαν εμφανίσει συμπτώματα. Ως υποστρώματα χρησιμοποιήθηκαν PDA, PA με χλωραμφαινικόλη και PDA με πενικιλίνη και στρεπτομυκίνη. Για την απολύμανση των φύλλων χρησιμοποιήθηκε υποχλωριώδες νάτριο 0,5%.

Μέθοδος: Από τα μολυσμένα φυτά κτενάνθης απομονώθηκαν φύλλα που εμφάνιζαν συμπτώματα και τοποθετήθηκαν σε σακκούλες πολυαιθυλενίου. Οι σακκούλες πολυαιθυλενίου παρέμειναν εντός του ψυγείου για μία ημέρα και την επόμενη έγινε η απομόνωση των στελεχών Ct4 και Ct6. Από τριβλία που περιείχαν φύλλα ρυζιού, πάρθηκαν τεμάχια ελάσματος που εμφάνισαν συμπτώματα κατά μήκος του κεντρικού νεύρου. Τα τεμάχια αυτά του ελάσματος τοποθετήθηκαν σε τριβλία των οποίων η βάση είχε καλυφθεί με αποστειρωμένο στιπόχαρτο. Στη συνέχεια παρέμειναν εντός του ψυγείου για μία ημέρα και την επόμενη έγινε η απομόνωση των στελεχών Ct4, Ct6 και R9.

Από τα προσβεβλημένα φύλλα της κτενάνθης και του ρυζιού κόπηκαν τα τμήματα που εμφάνιζαν κηλίδες. Τα τμήματα αυτά του ελάσματος των φύλλων με τη βοήθεια λαβίδας και κάτω από ασηπτικές συνθήκες εμβαπτίστηκαν σε καθαρή αλκοόλη 95% και στη συνέχεια σε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου (NaClO) 0,5%, όπου παρέμειναν για 3 min. Ακολούθησε πλύσιμο των προσβλημένων τμημάτων τρεις φορές, με συνεχή ανάδευση μέσα σε δοκιμαστικούς σωλήνες με αποστειρωμένο νερό. Τα προσβεβλημένα τμήματα τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένο χαρτί διήθησης για να στεγνώσουν. Κατόπιν, σε τριβλία που περιείχαν τρία διαφορετικά υποστρώματα, τοποθετήθηκαν 2 ή 3 τεμάχια ελάσματος φύλλου που εμφάνιζαν συμπτώματα. Για κάθε υπόστρωμα δημιουργήθηκαν πέντε τριβλία, τρία με απομονώσεις Ct4, Ct6 και R9 από φυτά ρυζιού και δύο με απομονώσεις Ct4 και Ct6 από φυτά κτενάνθης. Η επώαση είχε διάρκεια 4 ημέρες και πραγματοποιήθηκε στους 25^{0}C στο σκοτάδι.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Ανάπτυξη μυκηλίου

Στο πείραμα ανάπτυξης του μυκηλίου των τριών απομονώσεων Ct4, Ct6 και R9 του μύκητα *P. oryzae* βρέθηκε ότι η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης ποικίλει ανάλογα με την απομόνωση. Για την απομόνωση Ct4 που προέρχεται από φυτά κτενάνθης, βρέθηκε ότι η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι 20^0C, για την απομόνωση Ct6 είναι 25^0C και για την απομόνωση R9 που προέρχεται από φυτά ρυζιού η άριστη θερμοκρασία είναι 25^0C (διάγραμματα 1, 2 και 3). Σε όλη τη διάρκεια των μετρήσεων η σχετική υγρασία παρέμενε σταθερή 65%.

Όσον αφορά την ταχύτητα ανάπτυξης του μυκηλίου, βρέθηκε ότι εξαρτάται επίσης από τη θερμοκρασία. Για παράδειγμα σε θερμοκρασία 20^0C η διάμετρος του μυκηλίου την $14^η$ ημέρα ήταν 43,67 mm για την απομόνωση Ct4, 43mm για την Ct6 και 57,67 mm για την R9. Σε θερμοκρασία 25^0C η διάμετρος του μυκηλίου την ίδια ημέρα ήταν 36,33 mm για την απομόνωση Ct4, 66,33 mm για την Ct6 και 81,67 mm για την R9. Στο διάγραμμα 4 φαίνεται σε ποια θερμοκρασία αναπτύσσεται ικανοποιητικά η κάθε απομόνωση.

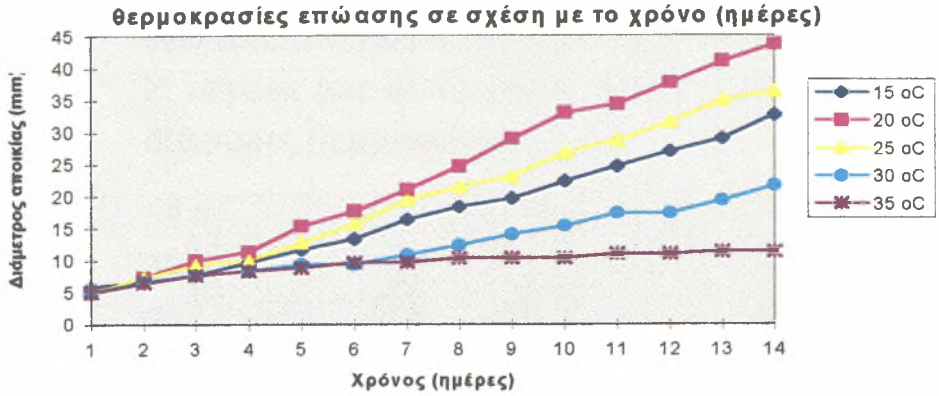
2. Παραγωγή σπορίων

Στο πείραμα μέτρησης των σπορίων, βρέθηκε ότι ο αριθμός σπορίων ανά ml ή ανά cm^2 αποικίας ποικίλει επίσης ανάλογα με την απομόνωση. Στην απομόνωση Ct4 μετρήθηκαν 40000 σπόρια / ml, τα οποία αντιστοιχούν σε 758 σπόρια / cm^2 αποικίας, στην απομόνωση Ct6 βρέθηκαν 950000 σπόρια / ml, τα οποία ισούνται με 19392 σπόρια / cm^2 αποικίας, ενώ στην απομόνωση R9 μετρήθηκαν 20000 σπόρια / ml, τα οποία αντιστοιχούν σε 353 σπόρια / cm^2 αποικίας

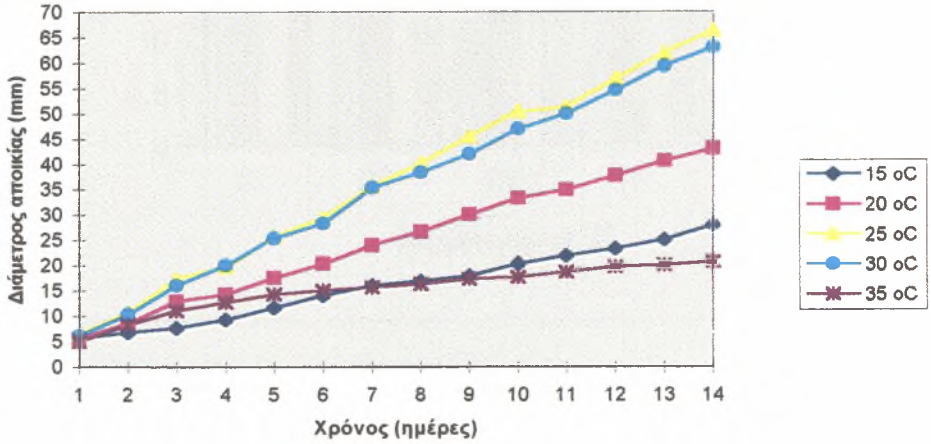
Πίνακας 5: Αριθμός σπορίων / cm^2 αποικίας που παρατηρήθηκαν στις απομονώσεις Ct4, Ct6 και R9 του μύκητα *Pyricularia oryzae*.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΣΠΟΡΙΩΝ/cm^2 ΑΠΟΙΚΙΑΣ
Ct4	758
Ct6	19392
R9	353

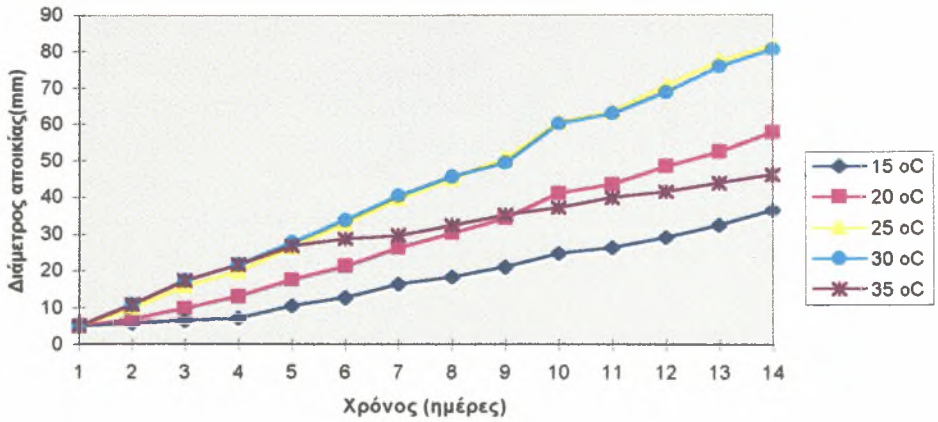
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1: Ανάπτυξη μυκηλίου της απομόνωσης Ct4 του μύκητα *P. oryzae* από φυτά κτενάνθης σε διάφορες θερμοκρασίες επώασης σε σχέση με το χρόνο (ημέρες)



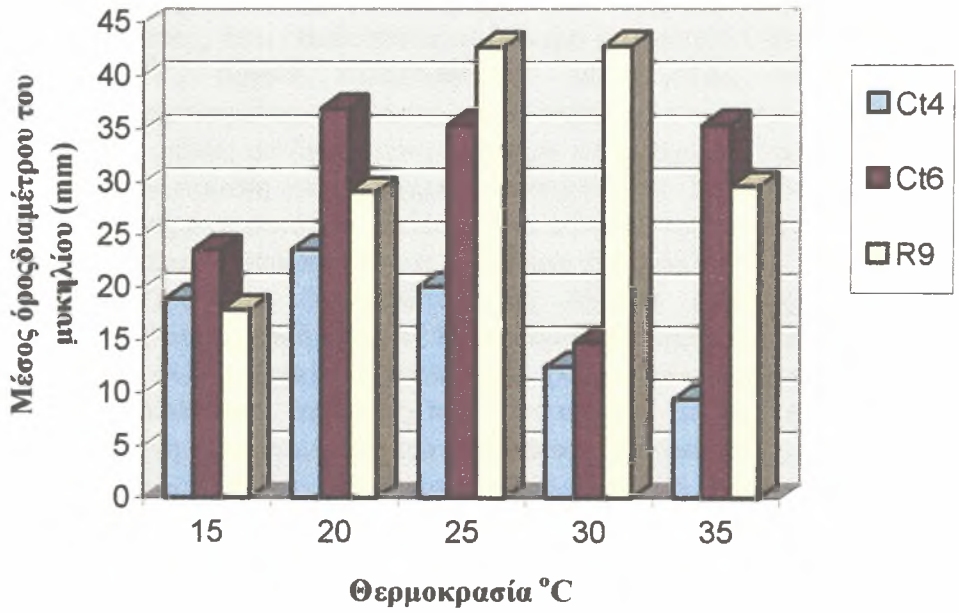
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 2:Ανάπτυξη μυκηλίου της απομόνωσης Ct6 του μύκητα P. oryzae από φυτά κτενάνθης σε διάφορες θερμοκρασίες επώασης σε σχέση με το χρόνο (ημέρες)



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 3: Ανάπτυξη μυκηλίου της απομόνωσης R9 του μύκητα *P. oryzae* από φυτά ρυζιού σε διάφορες θερμοκρασίες σε σχέση με το χρόνο



Διάγραμμα 4: Συγκριτική ανάπτυξη μυκηλίου των απομονώσεων Ct4, Ct6 και R9 του μύκητα P. oryzae απο φυτά κτενάνθης και ρυζιού σε διάφορες θερμοκρασίες



3. Έλεγχος παθογένειας

Στα πειράματα ελέγχου της μολυσματικότητας των τριών στελεχών Ct4, Ct6 και R9, τα πρώτα μακροσκοπικά συμπτώματα της ασθένειας στα φυτά κτενάνθης εμφανίστηκαν 4 ημέρες μετά από την τεχνητή μόλυνσή τους από τις απομονώσεις Ct4 και Ct6, ενώ στα φυτά ρυζιού εμφανίστηκαν 5 ημέρες μετά την μόλυνσή τους με την απομόνωση R9.

Στα φυτά κτενάνθης, που επωάστηκαν σε θάλαμο με σχετική υγρασία 80 % και θερμοκρασία 20-22^{0}C, αρχικά παρατηρήθηκαν σε μερικώς αναπτυσσόμενα καινούρια φύλλα μεμονωμένες κυκλικές ως ελαφρά ακανόνιστες καλά καθορισμένες κηλίδες, οι οποίες σε διερχόμενο φωτισμό παρουσίαζαν λευκό νεκρωτικό κέντρο με καλοσχηματισμένη στενή κιτρινο-κάστανη άλω. Στα ώριμα φύλλα οι αρχικές λευκές κηλίδες στη συνέχεια εξελίσσονται σε νεκρωτικές και η νεκρωτική περιοχή συχνά εκτείνεται ως την περιφέρεια ή τη βάση των φύλλων.

Στα φυτά ρυζιού που διατηρήθηκαν σε θάλαμο επώασης φυτών σε θερμοκρασία 20-22^{0}C και σχετική υγρασία 80 % παρατηρήθηκαν κηλίδες στα φύλλα και στα γόνατα. Στα φύλλα αρχικά σχηματίστηκαν χλωρωτικές επιμήκεις κηλίδες, οι οποίες σύντομα εξαπλώθηκαν και εξελίχθηκαν σε κηλίδες με γκρίζο ή υπόλευκο κέντρο και με καστανή ή καστανοκόκκινο περιθώριο. Στις μασχάλες των φύλλων, στα σημεία όπου εφαρμόστηκαν οι σταγόνες μόλυνσης, εμφανίστηκε καστανός μεταχρωματισμός ή επιμήκεις καστανές κηλίδες με μη καθορισμένα όρια. Σε διάστημα 15 ημερών ακολούθησε κάμψη των προσβλημένων φύλλων.

Τα φυτά του ρυζιού και της κτενάνθης που επωάστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου, η οποία κυμαινόταν από 23-36^{0}C επί 11 ημέρες για 16 ώρες στο σκοτάδι εμφάνισαν παρόμοια συμπτώματα σε 5 ημέρες.

Όλα τα φυτά μάρτυρες που μολύνθηκαν με σταγόνες νερού και διατηρήθηκαν κάτω από τις ίδιες συνθήκες δεν εμφάνισαν συμπτώματα.

4. Ασηπτική απομόνωση του μύκητα

Το πείραμα ασηπτικής απομόνωσης των τριών απομονώσεων του μύκητα *P. oryzae*, Ct4, Ct6 και R9, από προσβεβλημένα φυτά κτενάνθης και ρυζιού δοκιμάστηκε σε τρία διαφορετικά υποστρώματα σε PDA, PA με χλωραμφαινικόλη και PDA με στρεπτομυκίνη και πενικιλίνη. Στις δοκιμαζόμενες απομονώσεις που έγιναν από μολυσμένα τμήματα φυτών ρυζιού 3 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση ξαναπομονώθηκε το στέλεχος R9 του μύκητα *P. oryzae* στα μέσα PDA και PA με χλωροφαινυκόλ, ενώ από τα μολυσμένα τμήματα των φυτών κτενάνθης ξαναπομονώθηκε το στέλεχος Ct6 του μύκητα στα μέσα PDA και PDA με στρεπτομυκίνη και πενικιλίνη.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η απομόνωση του μύκητα *P. oryzae* από φυτά *C. oppenheimiana* είναι ένα νέο παθογόνο για τα φυτά της οικογένειας Marantaceae που προκαλεί μια καταστρεπτική ασθένεια των φύλλων (Pappas και Paplomatas, 1998). Επειδή οι απομονώσεις του μύκητα από φυτά κτενάνθης ήταν όμοιες με τις απομονώσεις από φυτά ρυζιού που χρησιμοποιήθηκαν για σύγκριση, οι Pappas και Paplomatas (1998) χρησιμοποίησαν το καλά εδραιωμένο όνομα *P. oryzae* για την απομόνωσή τους.

Στα πειράματα για τη δοκιμή της παθογόνου ικανότητας των απομονώσεων, τα πρώτα μακροσκοπικά συμπτώματα της ασθένειας στα φυτά κτενάνθης εμφανίστηκαν 4 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση με τις απομονώσεις Ct4 και Ct6. Σε μερικώς εκπτυσσόμενα καινούργια φύλλα παρατηρούνται μεμονωμένες κυκλικές έως ελαφρά ακανόνιστες καλά καθορισμένες κηλίδες, οι οποίες σε διερχόμενο φωτισμό παρουσιάζουν λευκό νεκρωτικό κέντρο με στενή καλοσχηματισμένη κιτρινο-κάστανη άλω. Στα ώριμα φύλλα οι αρχικές λευκές κηλίδες εξελίσσονται σε νεκρωτικές και η νεκρωτική περιοχή συχνά εκτείνεται ως την περιφέρεια ή την βάση των φύλλων. Τα νέα φύλλα είναι επιρρεπή στη μόλυνση γιατί το νερό παραμένει στο εσωτερικό του κυλίνδρου που σχηματίζει κάθε νέο φύλλο, ενώ τα ώριμα σκιαζόμενα φύλλα προσβάλλονται πιθανώς γιατί παραμένουν υγρά για παρατεταμένη χρονική περίοδο (Pappas και Paplomatas, 1998). Στα φυτά ρυζιού τα συμπτώματα εμφανίζονται στα φύλλα, στα γόνατα, στην ταξιανθία και το βλαστό. Στα φύλλα σχηματίζονται χλωρωτικές επιμήκεις κηλίδες, οι οποίες εξελίσσονται σε κηλίδες με γκρίζο ή υπόλευκο κέντρο και με καστανό ή καστανοκόκκινο περιθώριο. Στις μασχάλες των φύλλων όπου εφαρμόστηκαν οι σταγόνες μόλυνσης παρουσιάζεται καστανός μεταχρωματισμός και σε διάστημα 15 ημερών ακολουθεί κάμψη των προσβεβλημένων φύλλων.

Η εκτεταμένη νέκρωση που παρατηρείται συχνά στα προσβεβλημένα φύλλα των φυτών πιθανώς οφείλεται στις τοξίνες που παράγει το παθογόνο. Σύμφωνα με τους Pappas και Paplomatas (1998), ο Fujita και οι συνεργάτες του το 1994, παρατήρησαν ότι τα φυτοτοξικά συμπτώματα που παρατηρούνται στα φυτά ξενιστές οφείλονται στις τοξίνες που ελευθερώνονται κατά την βλάστηση των σπορίων.

Ο *P. oryzae* που απομονώθηκε από φυτά κτενάνθης βρέθηκε ότι είναι παθογόνος σε πολλά μέλη των οικογενειών Marantaceae και Musaceae, ενώ 3 είδη της οικογένειας Marantaceae και η Musa sapientum της οικογένειας Musaceae, παρουσίασαν αντίδραση υπερευαισθησίας στο τεχνητό μόλυσμα. Κανένα είδος της οικογένειας Marantaceae δε βρέθηκε να είναι ευαίσθητο σε απομονώσεις του μύκητα που προέρχονται από φυτά ρυζιού (Pappas και Paplomatas, 1998). Η αντίδραση υπερευαισθησίας και η αντοχή διαφόρων ειδών της οικογένειας Marantaceae που παρατηρήθηκαν μετά τη τεχνητή μόλυνση αποκαλύπτουν την ύπαρξη γόνου ή γόνων στα φυτά αυτής της οικογένειας, οι οποίοι παρέχουν αντίσταση εναντίον της ασθένειας. Ο προσδιορισμός, η απομόνωση και η μεταφορά τέτοιου γενετικού υλικού σε ποικιλίες ρυζιού ίσως συμβάλλουν σημαντικά στον έλεγχο της πυρικουλαρίωσης, της πιο καταστρεπτικής ασθένειας του ρυζιού.

Με βάση τις δοκιμές παθογένειας διαπιστώθηκε μια ξεκάθαρη διαφορά ανάμεσα στις απομονώσεις του μύκητα *P. oryzae* που προέρχονταν από φυτά κτενάνθης (καταγωγή Βραζιλία) και από φυτά ρυζιού (καταγωγή Ελλάδα). Αυτά τα δεδομένα αποτελούν σοβαρή ένδειξη ότι η κύρια πηγή μολύσματος αυτής της ασθένειας μεταφέρθηκε με την εισαγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού κτενάνθης. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τη μακρά διάρκεια διύγρανσης των φύλλων και την υψηλή θερμοκρασία και σχετική υγρασία προκαλούν τη γρήγορη εξάπλωση της ασθένειας. Κάτω από αυτές τις συνθήκες η περίοδος επώασης της ασθένειας δεν ξεπερνά τις 4-5 ημέρες. Επιδημία στο ρύζι παρουσιάζεται όταν επικρατεί σχετικά υψηλή θερμοκρασία (περίπου 20^0C) τη νύχτα, σε εναλλαγή με θερμοκρασία ημέρας 30-35 ^{0}C (Pappas και Paplomatas, 1998). Σύμφωνα με τον Ou (1987), τα κονίδια παράγονται στις κηλίδες των φύλλων 6 ημέρες μετά τη μόλυνση μόνο όταν η σχετική υγρασία κυμαίνεται πάνω από 93%, ενώ η μεγάλη διάρκεια διύγρανσης των φύλλων φαίνεται ότι είναι απαραίτητος παράγοντας για την ελευθέρωση και τη βλάστηση των σπορίων του *P. oryzae*.

Από τα πειράματα που έγιναν για να μελετηθεί η ανάπτυξη της διαμέτρου του μυκηλίου σε 5 διαφορετικές θερμοκρασίες, φαίνεται ότι η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης του μυκηλίου ποικίλει ανάλογα με τις απομονώσεις. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι μελέτες πολλών ερευνητών όπως του Konishi, Tochina και Shimamura και Tseug και των συνεργατών του. Τα όρια ανάπτυξης κυμαίνονται από 8-9^0C έως 37^0C, ενώ η άριστη θερμοκρασία για ην ανάπτυξη του μυκηλίου είναι 28^0C (Ou,1987). Από το διάγραμμα 4 φαίνεται, ότι οι απομονώσεις Ct4 και Ct6 αναπτύσσονται ικανοποιητικότερα στους 20^0C, ενώ η απομόνωση R9 αναπτύσσεται πιο ικανοποιητικά στους 25^0C και 30^0C. Αυτό σημαίνει ότι η απομόνωση R9 απαιτεί πιο υψηλή θερμοκρασία ανάπτυξης σχετικά με τις απομονώσεις Ct4 και Ct6.

Από τα αποτελέσματα του πειράματος της μέτρησης των σπορίων βρέθηκε ότι ο αριθμός σπορίων / ml ή / cm^2 αποικίας επίσης ποικίλει ανάλογα με την απομόνωση. Οι καλλιέργειες επωάστηκαν 13 ημέρες στο σκοτάδι στους 25^0C και εκτέθηκαν σε black light για 3 ημέρες. Στην απομόνωση Ct4 μετρήθηκαν 758 σπορίων / cm^2 αποικίας, στην Ct6 19392 σπορίων / cm^2 αποικίας και στην R9 353 σπορίων / cm^2 αποικίας. Διαπιστώθηκε ότι η απομόνωση Ct6 παράγει το μεγαλύτερο αριθμό σπορίων / cm^2 αποικίας σχετικά με τις Ct4 και R9, παρόλο που σε θερμοκρασία 25^0C η απομόνωση R9 παρουσίασε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη μυκηλίου. Σύμφωνα με τον Ou (1987), το ποσοστό των παραγόμενων σπορίων αυξάνει με αύξηση της σχετικής υγρασίας, ενώ μια τυπική κηλίδα είναι ικανή να παράγει 2000-6000 κονίδια για 14 ημέρες κάτω από συνθήκες εργαστηρίου.

Στο πείραμα ασηπτικής απομόνωσης του μύκητα από προσβλημένα φυτά κτενάνθης και ρυζιού, η απομόνωση Ct6 επαναπομονώθηκε από μολυσμένα τμήματα φυτών κτενάνθης σε υποστρώματα PDA, και PDA με στρεπτομυκίνη και πενικιλίνη, ενώ η απομόνωση R9 επαναπομονώθηκε από μολυσμένα τμήματα φυτών ρυζιού σε υποστρώματα σε PDA και PA με χλωραμφαινικόλη. Όπως διαπιστώθηκε και οι δύο απομονώσεις 3 ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση στα φυτά κτενάνθης και ρυζιού επαναπομονώθηκαν σε μέσο PDA.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

[1]. Asuyama, H., 1965. *Morphology, taxonomy, host range, and life cycle of Pyricularia oryzae*. Johns Hopkins Press, Baltimore.

[2]. Γαλανοπούλου - Σενδουκά, Σ., 1997. *Ειδική Γεωργία Ι*. Πανεπιστημιακές Σημειώσεις. Βόλος. 73-80.

[3]. Γεωργόπουλος, Σ.Γ. και Ζιώγας, Β.Ν., 1992. *Αρχές και μέθοδοι καταπολέμησης των ασθενειών των φυτών*. Β. Ζιώγας, Αθήνα.

[4]. Δημητριάδης, Σ., Παναγόπουλος, Χ., Γρηγορίου, Α., Κατσίκα, Κ., Εμμανουήλ, Β., Δημοπούλου- Λέκκα, Δ. και Πανούτσου, Δ., 1979. *Παρατηρηθείσαι εις την Ελλάδα Ασθένειαι των Καλλιεργούμενων Φυτών*. Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινσιτούτο, Κηφισιά, Αθήναι.

[5]. Jorgensen, N.L., 1998. Use attributes of strobilurin analogs for disease control. *In:* 7th International Congress of Plant Pathology. Edinburgh, Scotland, Abstract no. 5.6.2s.

[6]. Καββάδας, Δ.Σ., 1956. *Εικονογραφημένον Βοτανικόν- Φυτολογικόν Λεξικόν*. Αθήναι: **Ε΄** 2515, 2169.

[7]. Kurahashi, Y., Pontzen, R., 1998. Carpopamid: a new melanin biosynthesis inhibitor. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer **51**, 245-46.

[8]. Ou, S.H., 1987. *Rice Disease*. Los Banos, Philippines: Commonwealth Mycological Institute, C.A.B International.

[9]. Ou, S.H., Ayad, M. R., 1968. Pathogenic race of *Pyricularia oryzae* originating from single lesions and monoconidial cultures. Phytopathology **58**, 179-182.

[10]. Παπλωματάς, Ε.Ι., και Παππάς, Α.Χ., 1998. Διαφοροποίηση απομονώσεων του μύκητα Pyricularia oryzae από φυτά κτενάνθης και ρυζιού με τη χρήση μοριακών δεικτών. Πρακτικά του 9ου Πανελλήνιου Φυτοπαθολογικού Συνεδρίου. Αθήνα, Ελλάδα, 104.

[11]. Pappas, A.C., Paplomatas, E.J., 1998. *Pyricularia* Leaf Spot: A New Disease of Ornamental Plants of the Family Marantaceae. Plant Disease **82**, 465-69.

[12]. Σφήκας, Α.Γ., 1991. *Ειδική Γεωργία Ι Σιτηρά, Ψυχανθή και Χορτοδοτικά Φυτά*. Θεσσαλονίκη 1991. 140-50.

[13]. Thieron, M., Pontzen, R., Kurahashi, Y., 1998. Carpopamid: a rice fungicide with two modes of action. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer **51**, 257-58.

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ