

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ  
ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

|   |
|---|
| ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ<br>& ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ |
| Αριθ. Πρωτοκ <u>-32-</u>                      |
| Ημερομηνία <u>1-9-1995</u>                    |

Κοσμαδάκη Χαρίκλεια

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

<<Μελέτη της δυνατότητας μετάδοσης με το σπόρο λαχανικών φυτών ενός νέου ιού της ομάδας *Nepovirus* από αμπέλι>>.

Βόλος, Σεπτέμβριος 1995



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

Αριθ. Εισ.: 76/1

Ημερ. Εισ.: 03-09-2003

Δωρεά:

Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ – ΓΦΖΠ

1995

ΚΟΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000070131

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ  
ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Κοσμαδάκη Χαρίκλεια

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

<<Μελέτη της δυνατότητας μετάδοσης με το σπόρο λαχανικών φυτών ενός νέου ιού της ομάδας *Nepovirus* από αμπέλι>>.

Βόλος, Σεπτέμβριος 1995

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΖΩΙΚΗΣ  
ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Κοσμαδάκη Χαρίκλεια

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

<<Μελέτη της δυνατότητας μετάδοσης με το σπόρο λαχανικών φυτών ενός νέου ιού της ομάδας *Nepovirus* από αμπέλι>>.

Εξεταστική επιτροπή: Α. Παππάς, Επιβλέπων καθηγητής  
Χ. Γούλας, Μέλος  
Ι. Τσιτσιπής, Μέλος

Βόλος, Σεπτέμβριος 1995

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο

## 1. ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

|  |   |
|--|---|
| 1.1. Η ΑΜΠΕΛΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ<br>ΚΑΙ ΤΟΝ ΚΟΣΜΟ..... | 6 |
| 1.2. ΚΑΤΑΓΩΓΗ.....   | 6 |
| 1.3. ΒΟΤΑΝΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ                                  |   |
| 1.3.1. ΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....           | 7 |
| 1.3.2. ΤΑΞΙΑΝΘΙΑ ΚΑΙ ΑΝΘΟΣ.....                            | 7 |
| 1.3.3. ΚΑΡΠΟΣ.....   | 8 |

## 2. ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| 2.1. ΚΛΙΜΑ - ΕΔΑΦΟΣ.....              | 8  |
| 2.2. ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ..... | 9  |
| 2.3. ΚΛΑΔΕΜΑ.....                     | 9  |
| 2.4. ΑΡΔΕΥΣΗ.....                     | 10 |
| 2.5. ΛΙΠΑΝΣΗ.....                     | 10 |
| 2.6. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΕΔΑΦΟΥΣ.....         | 11 |
| 2.7. ΤΡΥΓΗΤΟΣ.....                    | 12 |

|                            |    |
|----------------------------|----|
| 3. ΕΧΘΡΟΙ - ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ..... | 12 |
|----------------------------|----|

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο

### 1. ΙΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

|   |    |
|---|----|
| 1.1. ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΙΩΣΕΩΝ.....                                     | 16 |
| 1.2. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΙΩΝ.....                                    | 17 |
| 1.3. ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ.....  | 18 |
| 1.4. ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΙΩΝ.....  | 19 |
| 1.5. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΩΝ ΙΩΝ.....  | 19 |
| 1.6. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ.....                            | 20 |
| 1.7. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ.....                                      | 22 |
| 1.7.1. ΜΕΘΟΔΟΣ ELISA.....   | 23 |
| 1.7.2. ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΗΣΗ.....  | 27 |
| 1.7.3. ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ-ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΗΣΗ.....                              | 28 |
| 1.7.4. ΜΕΓΕΘΥΝΣΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΩΝ<br>(SEQUENCE AMPLIFICATION)..... | 31 |
| 1.8. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ.....                                  | 32 |
| 1.9. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΙΩΝ.....  | 34 |

### 2. ΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

|   |    |
|---|----|
| 2.1. ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΙΩΣΕΩΝ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ..... | 36 |
| 2.2. ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ.....                     | 37 |

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3ο

### 1. ΟΜΑΔΑ ΝΕΡΟΝΙΡΟΥΣ

|  |    |
|--|----|
| 1.1. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ.....            | 40 |
| 1.2. ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΦΟΡΕΙΣ.....                | 40 |
| 1.3. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ.....                      | 41 |
| 1.4. ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΙΣΤΟΥΣ.....  | 41 |
| 1.5. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΙΟΣΩΜΑΤΙΩΝ.....  | 42 |
| 1.6. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΕΝΩΜΑΤΟΣ.....       | 43 |
| 1.7. ΔΟΡΥΦ. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ.....               | 44 |
| 1.8. ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΕ ΤΗΝ ΟΜΑΔΑ.....           | 44 |
| 1.9. ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΣΕ ΜΕΛΗ ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ..... | 45 |

|  |    |
|--|----|
| 1.10. ΟΜΟΙΟΤΗΤΕΣ ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΟΜΑΔΕΣ.....  | 49 |
| <b>2. ΝΕΡΟΝΙΡΟΣ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ</b>        |    |
| 2.1. ΝΕΡΟΝΙΡΟΣ ΣΤΗΝ ΠΑΛΑΙΑ ΗΠΕΙΡΟ..... | 52 |
| 2.2. ΝΕΡΟΝΙΡΟΣ ΤΗΣ ΝΕΑΣ ΗΠΕΙΡΟΥ.....   | 58 |

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο

### 1. ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΜΕ ΤΟ ΣΠΟΡΟ

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| 1.1. ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΚΑΙ ΣΠΟΡΟΣ..... | 61 |
|-------------------------------|----|

### 2. ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΩΝ ΙΩΝ ΜΕ ΤΟ ΣΠΟΡΟ

|   |    |
|---|----|
| 2.1. ΓΕΝΙΚΑ.....  | 62 |
| 2.2. ΠΟΣΟΣΤΑ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ.....                                 | 63 |
| 2.3. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΤΑ ΦΥΤΑΡΙΑ.....                            | 64 |
| 2.4. ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΑΠΟ ΤΗ ΜΙΑ ΕΠΟΧΗ ΣΤΗΝ ΑΛΛΗ.....               | 64 |
| 2.5. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΔΙΑΣΠΟΡΑ.....                               | 65 |
| 2.6. ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΘΕΩΡΙΕΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΜΕ ΤΟ ΣΠΟΡΟ..          | 66 |
| 2.7. ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΣΠΟΡΟΥ.....                               | 68 |
| 2.8. ΤΡΟΠΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΩΝ ΙΩΝ<br>ΔΙΑΜΕΣΟΥ ΤΟΥ ΣΠΟΡΟΥ.....   | 70 |
| 2.8.1 ΜΗ ΕΜΒΡΥΑΚΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ.....                             | 70 |
| 2.8.2 ΕΜΒΡΥΑΚΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ.....                                | 73 |
| 2.9. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ<br>ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΜΕ ΣΠΟΡΟ..... | 75 |
| 2.10. ΙΟΙ ΠΟΥ ΜΕΤΑΔΙΔΟΝΤΑΙ ΜΕ ΣΠΟΡΟ.....                    | 79 |
| 2.11. ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΠΟΡΟΥ.....                                   | 86 |
| 2.11.1. ΟΠΤΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΣΠΟΡΟΥ.....                          | 87 |
| 2.11.2. ΕΛΕΓΧΟΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ .....                             | 88 |
| 2.11.3. ΕΛΕΓΧΟΙ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ.....                       | 89 |
| 2.11.4. ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ.....                             | 90 |
| 2.11.5. ΤΕΣΤ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΣΗΣ.....                | 92 |
| 2.12. ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗ ΣΠΟΡΟΥ.....                                | 93 |
| 2.13. ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΠΟΡΟΥ.....                               | 95 |

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5ο

Ο ΙΟΣ ΑΚ-7.....99

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....101

1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....102

1.1. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....105

1.2. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ ELISA.....106

1.3. ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ ELISA.....111

1.4. ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ.....113

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....114

3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....116

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....117



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Καθηγητή Μυκητολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Αθανάσιο Παππά για την προθυμία με την οποία δέχθηκε να μεσολαβήσει για την πραγματοποίηση της παρούσας πτυχιακής διατριβής, καθώς επίσης και για τον χρόνο που αφιέρωσε για τη διόρθωση και την τελική παρουσίαση της εργασίας αυτής.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Δρ. Απόστολο Αυγελή, Διευθυντή του Ινστιτούτου Προστασίας Φυτών Ηρακλείου ο οποίος αφιέρωσε πολύτιμο χρόνο συμβάλλοντας με τις γνώσεις, την εμπειρία και την επιστημονική του κατάρτιση στην εκτέλεση του πειραματικού μέρους, στην εξεύρεση της βιβλιογραφίας, καθώς και στη διόρθωση και ολοκλήρωση αυτής της πτυχιακής διατριβής.

Τέλος, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Δρ. Εμμανουήλ Τζωρτζακάκη για την σημαντική συμβολή του στη μετάφραση και τη διόρθωση των κειμένων.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το πειραματικό μέρος της παρούσας πτυχιακής διατριβής εκτελέστηκε στο Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών Ηρακλείου Κρήτης.

Η εργασία χωρίζεται σε δύο μέρη, το γενικό μέρος και το πειραματικό μέρος.

Το γενικό μέρος αποτελείται από 5 κεφάλαια.

Στο 1ο κεφάλαιο γίνεται αναφορά στα βασικά στοιχεία της καλλιέργειας της αμπέλου σχετικά με την καταγωγή, τους βοτανικούς χαρακτήρες, τη θέση της καλλιέργειας στην Ελλάδα και τον κόσμο, δίδονται στοιχεία για τον τρόπο καλλιέργειας και τέλος παρατίθενται σύντομα οι εχθροί και οι ασθένειες του φυτού.

Στο 2ο κεφάλαιο γίνεται λόγος γενικά για τις ιώσεις των φυτών, την οικονομική τους σημασία, την παθογένεση και τη μετάδοσή τους. Επίσης, αναφέρονται τα γενικά χαρακτηριστικά και η ταξινόμηση των ιών, η διάγνωση των ιολογικών ασθενειών, οι ιολογικές ασθένειες της αμπέλου και η σημασία τους.

Το 3ο κεφάλαιο διαπραγματεύεται τα χαρακτηριστικά της ιολογικής ομάδας *Nepovirus*, ενώ στη συνέχεια εξετάζονται πιο συγκεκριμένα οι ιώσεις της αμπέλου που ανήκουν σ' αυτήν την ομάδα.

Στο 4ο κεφάλαιο εξετάζεται η μετάδοση των ιών με το σπόρο, η διασπορά τους, η διατήρησή τους απ' τη μια εποχή στην άλλη, οι τρόποι μετάδοσης, οι παράγοντες που επηρεάζουν τη μετάδοσή τους και επίσης αναφέρονται ιοί που μεταδίδονται με τον τρόπο αυτό. Ακόμη, γίνεται λόγος για τις μεθόδους ελέγχου του σπόρου, την απολύμανση και την πιστοποίησή του.

Στο 5ο κεφάλαιο παρατίθενται στοιχεία για το νέο ιό της αμπέλου (AK-7) από τις προκαταρκτικές μελέτες που έχουν γίνει μέχρι τώρα στο εργαστήριο Ιολογίας του Ινστιτούτου

Προστασίας Φυτών Ηρακλείου. Η παρούσα πτυχιακή μελέτη ερευνά τη μετάδοση αυτού του ιού με το σπόρο λαχανικών.

Τέλος, στο πειραματικό μέρος παρουσιάζονται τα υλικά και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν, τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα της πειραματικής εργασίας.

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο

### 1. ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

#### 1.1. Η ΑΜΠΕΛΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΚΟΣΜΟ

Η αμπελουργία στην Ελλάδα κατέχει αξιόλογη θέση λόγω των αμπελουργικών προϊόντων, που η παρουσία τους στο διεθνές εμπόριο αποτελεί σημαντική πηγή εισαγωγής συναλλάγματος.

Στον Πίνακα 1 (1982) φαίνονται οι καλυπτόμενες από την άμπελο εκτάσεις και η παραγωγή σταφυλιών κατά διαμέρισμα, ενώ στον Πίνακα 2 (1986) φαίνονται οι καλυπτόμενες από την άμπελο εκτάσεις και τα παραγόμενα προϊόντα κατά κατηγορία.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 1.** Καλυπτόμενες αμπελουργικές εκτάσεις και παραγωγή σταφυλιών κατά διαμερίσματα.

| Αμπελουργική Περιφέρεια      | Έκταση σε στρέμματα | Παραγωγή σταφυλιών (τον.) |              |
|------------------------------|---------------------|---------------------------|--------------|
|                              |                     | Επιτραπέζια               | Οινοποίηση   |
| Κρήτης                       | 36479               | 25578                     | 25300        |
| Πελοποννήσου                 | 20414               | 18839                     | 6063         |
| Ιόνια Νησιά                  | 1358                | 707                       | 105          |
| Στερ. Ελλάδας -<br>Ευβοίας   | 5005                | 5163                      | 1118         |
| Θεσσαλίας                    | 52925               | 44168                     | 29887        |
| Ηπείρου                      | 278                 | 103                       |              |
| Μακεδονίας                   | 70385               | 99063                     | 26284        |
| Θράκης                       | 6119                | 3041                      | 1346         |
| Νησ. Αιγαίου                 | 12970               | 4180                      | 1719         |
| <b>ΣΥΝΟΛΟ</b>                | <b>205933</b>       | <b>200933</b>             | <b>91833</b> |
| Στοιχεία Υπ. Γεωργίας (1982) |                     |                           |              |

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Καλυπτόμενες αμπελουργικές εκτάσεις και τα παραγόμενα προϊόντα κατά κατηγορία.

| Κατηγορία αμπέλου |            |          |                   |         |
|-------------------|------------|----------|-------------------|---------|
|                   | Οινόμπελοι | Σταφίδες | Επιτραπέζια σταφ. | Σύνολο  |
| Έκταση (στρ.)     | 869000     | 685000   | 196000            | 1671000 |
| Παραγωγή (τον.)   | 529000     | 138000   | 269000            | -       |

ΣΗΜ. : 1) Η παραγωγή γλεύκους αφορά όλα τα σταφύλια που οινοποιήθηκαν και όχι μόνο τα των ποικιλιών οινοποισίας.  
 2) Στις σταφίδες περιλαμβάνονται μόνο η Σουλτανίνα και η Κορινθιακή σταφίδα.  
 3) Η παραγωγή επιτραπέζιων σταφυλιών περιλαμβάνει και ποσότητες από λοιπές ποικιλίες (π.χ. Σουλτανίνα).  
 4) Τα στοιχεία αναφέρονται στο 1986.  
 5) Πηγή: Υπ. Γεωργίας.

Οι κυριότερες αμπελουργικές εκτάσεις και η παραγωγή σταφυλιών κατά ήπειρο φαίνονται στον Πίνακα 3 και οι αμπελουργικές εκτάσεις των κυριότερων χωρών του κόσμου φαίνονται στον Πίνακα 4 (1983).

Αξιοσημείωτη είναι η συμμετοχή των αμπελουργικών προϊόντων στο σύνολο των εξαγόμενων γεωργικών προϊόντων, που ανέρχεται σε 40% περίπου σε όγκο και 25% σε αξία.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Αμπελουργικές εκτάσεις των κυριότερων χωρών στον κόσμο.

| Ήπειρος | Έκταση (στρ.) | % ποσοστό | Παραγωγή σταφυλιών (τον.) | % ποσοστό |
|---------|---------------|-----------|---------------------------|-----------|
| Ευρώπη  | 72.640.000    | 71.41     | 46.942.000                | 70.06     |
| Αμερική | 9.550.000     | 9.39      | 10.350.000                | 15.44     |
| Αφρική  | 4.330.000     | 4.26      | 2.295.000                 | 3.42      |
| Ασία    | 14.450.000    | 14.21     | 6.654.000                 | 9.93      |
| Ωκεανία | 750.000       | 0.74      | 772.000                   | 1.15      |
| ΣΥΝΟΛΟ  | 101.720.000   | 100       | 67.013.000                | 100       |

Πηγή: Ο.Ι.Β. 1979

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Οι αμπελουργικές εκτάσεις των κυριότερων χωρών στον κόσμο.

| Χώρα          | Έκταση σε εκτάρια |
|---------------|-------------------|
| Ισπανία       | 1.360.000         |
| Ιταλία        | 1.008.000         |
| Γαλλία        | 943.000           |
| Ρωσία         | 813.000           |
| Τουρκία       | 580.000           |
| Πορτογαλία    | 370.000           |
| Αργεντινή     | 229.000           |
| Η.Π.Α.        | 321.000           |
| Ρουμανία      | 252.000           |
| Γιουγκοσλαβία | 201.000           |
| Ελλάδα        | 138.000           |

Το θέμα του μικρού και πολυτεμαχισμένου αμπελουργικού κλήρου (4-14 στρέμματα), η μικρή έκταση του αμπελοτεμαχίου, η ανορθολογική, συχνά, σύνθεσή του από πλευράς ποικιλιών συνιστούν παράγοντες που οδηγούν στην παραγωγή υψηλού κόστους αμπελουργικών προϊόντων, με αδυναμίες στην τυποποίηση και σταθερότητα της ποιότητας, που σε συνδυασμό με τα προβλήματα που παρουσιάζουν οι γεωργικές βιομηχανίες καθιστούν τα γεωργικά προϊόντα μη ανταγωνιστικά στο διεθνές εμπόριο.

Ταυτόχρονα, η επέκταση της φυλλοξήρας και στις αμόλυντες αμπελοφόρες περιοχές της χώρας (Κρήτη - Πελοπόννησος) και η παρουσία ιώσεων αποτελούν σημαντικά προβλήματα.

## 1.2 ΚΑΤΑΓΩΓΗ

Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα πρώτα κέντρα του ανατολικού και κατ' επέκταση του παγκόσμιου πολιτισμού υπήρξαν η Αίγυπτος και η μεταξύ των δύο ποταμών (Μεσοποταμία)

βρισκόμαστε πιο κοντά στην αλήθεια, αν υποθέσουμε ότι εκεί πρωτοκαλλιεργήθηκε το αμπέλι.

### 1.3 ΒΟΤΑΝΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ

Αμπέλι: *Vitis sp.*

Οικογένεια: *Vitaceae* ή *Ampelidaceae*

Υπογένη: (*Euvitis*, n=19), (*Muscadinia*, n=20)

#### 1.3.1. Ανατομικά μορφολογικά χαρακτηριστικά

Το αμπέλι είναι ένας θάμνος αναρριχώμενος, ελικοφόρος, που φέρει ετερόστοιχους οφθαλμούς. Διαθέτει αρχικά ατρακτοειδή ρίζα, η οποία αργότερα πολυκλαδίζεται.

Ο βλαστός (κληματίδα) είναι λεπτός, κυλινδρικός κατά τη νεαρή ηλικία, λείος χνοώδης, πράσινος, αργότερα όμως γίνεται καστανός και ο φλοιός σχίζεται σε λωρίδες.

Τα φύλλα είναι έμμισχα, ετερόστοιχα και παλαμοσχιδή. Το έλασμά τους διαιρείται, συνήθως, από το κεντρικό νεύρο, σε δύο ασύμμετρα τμήματα και σχηματίζει 3-5 λοβούς και 3-5 κόλπους. Περιφερειακά φέρει δόντια, που καταλήγουν σε μικρό αγκάθι.

Οι έλικες είναι δισχιδείς, φυόμενοι από το 3<sup>ο</sup>- 5<sup>ο</sup> γόνατο και αντίθετα από τα φύλλα.

#### 1.3.2. Ταξιανθία και άνθος

Η ταξιανθία του αμπελιού είναι φόβη, συνήθως όμως λέγεται βότρυς και μπορεί να έχει διάφορα σχήματα και διαστάσεις.

Το άνθος είναι μικρό, σφαιροειδές, ακτινωτό, φέρει ποδίσκο και μπορεί να είναι ερμαφρόδιτο, δίκλινο, αρσενικό ή θηλυκό, (φυτό μόνοικο, δίοικο ή πολύγαμο). Αποτελείται από 3-8 πράσινα ή κιτρινοκάστανα πέταλα, συνήθως 5, που συμφύονται στην κορυφή τους σχηματίζοντας ένα είδος

καλύπτρας. Οι στήμονες είναι 3-8, συνήθως 5, ξεκινούν από τη βάση της ωοθήκης (υπάνθιο) και είναι μακρύτεροι ή βραχύτεροι από αυτή. Ο ύπερος είναι επιφυής. Η ωοθήκη είναι δίχωρη και κάθε χώρος φέρει 2 σπερμοβλάστες.

Το αμπέλι είναι φυτό μάλλον ανεμόγαμο και όσον αφορά τη γονιμοποίηση παρατηρείται αυτογαμία, ετερογαμία ή κλειστογαμία.

### 1.3.3. Καρπός

Το σταφύλι είναι καρποταξία του οποίου οι επιμέρους ράγες είναι οι καρποί του αμπελιού. Κάθε καρπός μετά τη γονιμοποίηση περιέχει 1-6, συνήθως 4 γίγαρτα (κουκούτσια). Οι ράγες έχουν γεύση, άρωμα, χρώμα και μέγεθος που διαφέρουν ανάλογα με την ποικιλία. Το σπέρμα (γίγαρτο ή κουκούτσι) αποτελείται από το ράμφος, που είναι το μυτερό τμήμα του και από το σώμα, που είναι το απιοειδές ή ωοειδές τμήμα του. Κάθε γίγαρτο φέρει 2 καρδιόσχημες ή λογχοειδείς κοτυληδόνες.

## 2. ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

### 2.1. Κλίμα - Έδαφος

Οι ποικιλίες της ευρωπαϊκής αμπέλου προσαρμόζονται σε όλα σχεδόν τα εδάφη εκτός από τα πολύ υγρά, τα βαριά αργιλώδη και εκείνα που περιέχουν άλατα. Αντίθετα, οι αμερικάνικες άμπελοι, που χρησιμοποιούνται ως υποκείμενα για την αντιμετώπιση της φυλλοξήρας προσαρμόζονται δύσκολα στα εδάφη και μερικές ποικιλίες έχουν ευαισθησία στο ανθρακικό ασβέστιο. Τα αργιλώδη και χουμώδη εδάφη



είναι ακατάλληλα για αμπελοκαλλιέργεια. Το αμπέλι ευδοκίμει κυρίως σε μεσογειακού τύπου κλίμα.

## 2.2. Πολλαπλασιασμός της αμπέλου

Ο εγγενής πολλαπλασιασμός εφαρμόζεται κυρίως από Ερευνητικά Ιδρύματα με σκοπό τη βελτίωση της αμπέλου.

Μετά τη διαπίστωση της ευαισθησίας των ριζών των ποικιλιών παραγωγής στη φυλλοξήρα, ο εμβολιασμός σε ανθεκτικά υποκείμενα αποτελεί πλέον προϋπόθεση για την καλλιέργεια της αμπέλου σε φυλλοξηριώσες περιοχές. Σαν πολλαπλασιαστικό υλικό χρησιμοποιούνται απλά έρριζα εμβολιασμένα μοσχεύματα ανθεκτικών υποκειμένων σε περιοχές που οι καιρικές συνθήκες κατά τη φυτευτική περίοδο είναι ευνοϊκές, ή έρριζα εμβολιασμένα μοσχεύματα ανθεκτικών υποκειμένων σε περιοχές που επικρατούν αντίξοες συνθήκες για την επιτυχία του επιτόπιου εμβολιασμού. Ο εμβολιασμός έχει αρνητικές επιπτώσεις στη μακροβιότητα των πρέμνων, συμβάλλει στη διάδοση ασθενειών (ιώσεων) και αυξάνει το κόστος εγκατάστασης του αμπελώνα. Παρόλα αυτά αποτελεί το μόνο μέσο για την αντιμετώπιση του προβλήματος.

## 2.3. Κλάδεμα

Στην άμπελο εφαρμόζονται χειμερινά ή ξηρά και θερινά ή χλωρά κλαδέματα.

Το χειμερινό κλάδεμα που εφαρμόζεται τέλος χειμώνα μέχρι αρχές άνοιξης διακρίνεται σε: α) κλάδεμα διαμόρφωσης και β) κλάδεμα καρποφορίας.

Στα θερινά κλαδέματα περιλαμβάνονται:

α) Το βλαστολόγημα. Η επέμβαση αυτή γίνεται πριν από την ανθοφορία, Απρίλιο - Μάιο.

β) Το κορυφολόγημα που γίνεται πριν από την άνθηση, κατά τη διάρκεια της άνθησης ή μετά την άνθηση.

γ) Το ξεφύλλισμα γίνεται λίγο πριν την ωρίμανση.

## 2.4. Άρδευση

Τις μεγαλύτερες ανάγκες σε νερό τις έχουν τα πρέμνα κατά την περίοδο από την καρπόδεση μέχρι το γυάλισμα των ραγών. Ο χρόνος εφαρμογής, ο απαιτούμενος αριθμός και η δόση άρδευσης εξαρτώνται από τις συνθήκες κλίματος και εδάφους της περιοχής, την ποικιλία και τον προορισμό της παραγωγής. Η άρδευση μπορεί να γίνει με κατάκλιση, με αυλάκια, με τεχνητή βροχή ή με στάγδην άρδευση, ενώ σε πολλές περιοχές το νερό των βροχών αποτελεί τη μοναδική πηγή υγρασίας για το αμπέλι.

## 2.5. Λίπανση

Σε έναν αμπελώνα, απαραίτητη είναι η χορήγηση αζώτου, καλίου και φωσφόρου. Η χορήγηση μαγνησίου και ιχνοστοιχείων γίνεται όταν υπάρχει έλλειψη.

Το άζωτο χρησιμοποιείται σε διάφορες μορφές, ανάλογα με τη φύση του εδάφους. Στα ασβεστούχα εδάφη χρησιμοποιείται η θειική αμμωνία με ελαφρό παράχωμα (21-0-0) κατά τον Ιανουάριο - Φεβρουάριο σε ποσότητα 80-120 gr / πρέμνο, (30-40 Kg/στρέμμα). Μπορεί το άζωτο να δοθεί κλιμακωτά, ως θειική αμμωνία το χειμώνα και ως νιτρική αμμωνία την άνοιξη.

Για την φωσφορούχο λίπανση, χρησιμοποιούνται κατά κανόνα σύνθετα λιπάσματα του τύπου 6-8-8 ή 11-15-15 σε ποσότητα 250-300gr/πρέμνο. Σε περίπτωση περιοδικής φωσφορικής λίπανσης χρησιμοποιείται το υπερφωσφορικό σε ποσότητα 80-100 gr / πρέμνο.

Το κάλιο χορηγείται ως βασική λίπανση αλλά όπως και με το φώσφορο, εφαρμόζεται και ετησίως με τη μορφή σύνθετου λιπάσματος. Όταν δίδεται περιοδικά (ανά 2-3 έτη) χρησιμοποιείται το θειικό κάλι (0-0-48) σε ποσότητα 200-250 gr / πρέμνο (60-80 Kg / στρέμμα).

Για την κάλυψη των αναγκών των πρέμνων σε ιχνοστοιχεία (σίδηρος, μαγγάνιο κ.τ.λ.) εφαρμόζεται η διαφυλλική λίπανση, όταν τα φύλλα βρίσκονται στην πρώτη φάση ανάπτυξής τους, κατά τις πρωινές ή απογευματινές ώρες.

Με υδρολίπανση συνήθως χορηγείται μόνο ένα μέρος των θρεπτικών στοιχείων, συμπληρωματικά σε εκείνα που χορηγήθηκαν με τη λίπανση. Για την υδρολίπανση πρέπει να χρησιμοποιούνται υδατοδιαλυτά λιπάσματα.

Ο εμπλουτισμός του εδάφους με οργανική ουσία είναι απαραίτητος σε συνεκτικά (σφικτά) και σε πολύ αμμώδη (ελαφρά) εδάφη. Για την οργανική λίπανση χρησιμοποιείται κοπριά, διάφορα φυτικά υπολείμματα όπως τα τσίπουρα και κυρίως η τύρφη και άλλα ειδικά προϊόντα που διατίθενται στο εμπόριο.

## 2.6. Καλλιέργεια εδάφους

Η καλλιέργεια του εδάφους του αμπελώνα αποσκοπεί στην καταπολέμηση των ζιζανίων, στην ενσωμάτωση των λιπασμάτων και στην αύξηση της υδατοχωρητικότητας και υδατοπερατότητάς του. Σήμερα η καλλιέργεια του εδάφους γίνεται με μηχανικά μέσα και μόνο σε μικρές εκμεταλλεύσεις με μεγάλη κλίση χρησιμοποιούνται τα παραδοσιακά μέσα καλλιέργειας (τσάπα κ.λ.π.).

Κατά κανόνα χρησιμοποιούνται αμπελουργικοί ελκυστήρες που μπορούν να κινούνται ιππαστί των γραμμών των πρέμνων. Τελευταία, έχει διαδοθεί ένας τύπος μικρής ιπποδύναμης ελκυστήρα, γνωστός ως <<σκαπτική φρέζα>>.

<<φρέζα>>, ή και <<σκαπτικό>>, που χρησιμοποιείται ευρύτατα.

## 2.7. Τρυγητός

Οι διάφορες ποικιλίες της αμπέλου ωριμάζουν τα σταφύλια σε περίοδο 3 έως 4 μηνών, από τον Ιούλιο ως τον Οκτώβριο.

Ο προσδιορισμός της ωρίμανσης των σταφυλιών γίνεται είτε εμπειρικά, είτε με διάφορες φυσικές και χημικές μεθόδους.

## 3. ΕΧΘΡΟΙ - ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Οι κυριότεροι εχθροί του αμπελιού είναι:

**Φυλλοξήρα.** *Phylloxera vitifoliae*. Έχει δύο μορφές, τη φυλλόβια και τη ριζόβια. Στις αμερικάνικες ποικιλίες, η ριζόβια αναπτύσσεται στις ρίζες χωρίς να προξενεί ζημιά, ενώ η φυλλόβια προκαλεί κηκίδες στα φύλλα χωρίς σημαντική επίπτωση στο φυτό. Αντίθετα, στις ευρωπαϊκές ποικιλίες η ριζόβια προκαλεί μικρά εξογκώματα στις ρίζες και σταδιακή εξασθένιση και ξήρανση των πρέμνων. Η αντιμετώπιση γίνεται με τη φύτευση ευρωπαϊκών ποικιλιών εμβολιασμένων σε αμερικάνικα υποκείμενα.

**Ευδεμίδα.** *Lobesia botrana*. Πρόκειται για μια μικρή πεταλούδα που η προνύμφη της κάνει ζημιά στα άνθη και στις ράγες των σταφυλιών. Καταπολεμάται με ψεκασμούς με acephate, carbaryl, azinfos-methyl κ.α.

**Τζιτζικάκι.** *Empoasca spp.* Η νύμφη με τα νύγματά της προκαλεί γύρισμα των άκρων των φύλλων, περιφερειακό μεταχρωματισμό και τοπική νέκρωση των νεύρων.

Καταπολεμάται με ψεκασμούς από τέλη Αυγούστου με οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα, πυρεθρίνες κ.α.

**Θρίπες.** Διάφορα είδη θριπών προσβάλλουν το αμπέλι προκαλώντας κυρίως εσχάρωσεις στις ράγες και τη ράχη των σταφυλιών. Ιδιαίτερα επικίνδυνος είναι ο αμερικάνικος θρίπας (*Frankliniella occidentalis*). Καταπολέμηση με methomyl, acephate, methamidophos κ.α.

**Ψευδόκκοκος ή Βαμβακάδα.** *Planococcus citri*. Αρχικά η παρουσία του γίνεται αισθητή από την ύπαρξη μελιτωδών εκκρίσεων στους βλαστούς και τα φύλλα. Αργότερα εμφανίζεται <<βαμβακάδα>> στα φύλλα και τα σταφύλια εκμηδενίζοντας την εμπορική τους αξία. Καταπολέμηση με carbaryl, methomyl, parathion κ.α.

**Eriophyes vitis** (Ερίνωση). Η φυλή ερίνωσης προσβάλλει τα φύλλα. Προκαλεί κηλίδες, που στην πάνω επιφάνεια παρουσιάζονται σαν διόγκωση και στην κάτω σαν κοιλότητα γεμάτη από πυκνό τρίχωμα. Η φυλή των ματιών προσβάλλει τα μάτια του αμπελιού. Συνιστώνται ψεκασμοί την άνοιξη με endosulfan, carbaryl, azinphos-methyl και Dicofol + Tedion.

**Φυλλοκόπτης.** *Phyllocoptes vitis*. Προσβάλλει τους νεαρούς βλαστούς που γίνονται ασθενικοί και τα φύλλα (κηλίδωση, παραμόρφωση). Ψεκασμοί την άνοιξη ή το καλοκαίρι με acephate, dimethoate, endosulfan κ.α.

**Brevipalpus lewisi** (Καστανή εσχάρωση). Στη βάση των νέων βλαστών, μέχρι το 3-4 γόνατο, αναπτύσσεται ένας μελανός μεταχρωματισμός που εξελίσσεται σε καστανή εσχάρωση. Αντιμετωπίζεται με θειάφι, από τη βλάστηση μέχρι την άνθηση.

**Τετράνυχος.** *Tetranychus urticae*. Προκαλεί αποχρωματισμό των φύλλων, φυλλόπτωση και εξασθένηση των πρέμνων. Σε μεγάλους αριθμούς σχηματίζει χαρακτηριστικό ιστό. Καταπολέμηση με methamidophos, methidathion, amitraz, benzoaximate κ.α.

**Νηματώδεις.** Το αμπέλι προσβάλλεται από εκτοπαρασιτικούς (*Xiphinema*, *Longidorus*) και ενδοπαρασιτικούς (*Meloidogyne*,

*Pratylenchus*) νηματώδεις, οι οποίοι μειώνουν σημαντικά την λειτουργικότητα των ριζών. Επιπλέον ορισμένοι εκτοπαρασιτικοί νηματώδεις αποτελούν φορείς ιώσεων. Αντιμετωπίζονται κυρίως με εφαρμογή νηματωδοκτόνων και σε μικρότερο βαθμό με χρήση ανθεκτικών/ανεκτικών υποκειμένων.

**Οι κυριότερες ασθένειες του αμπελιού είναι:**

**Ωίδιο.** *Uncinula necator*. Προσβάλλει α) φύλλα: λευκόσταχτί επίχρισμα σαν σκόνη, β) τους βλαστούς: μελανές κηλίδες, γ) τα άνθη: μειωμένη καρπόδεση και δ) τα σταφύλια: σχάσιμο ραγών, δευτερογενής ανάπτυξη σήσεων. Συνιστώνται ψεκασμοί με benomyl, carbendazim, pyrazophos κ.α. ή επίπαση με θειάφι.

**Περονόσπορος.** *Plasmopara viticola*. Προσβάλλει τα φύλλα σχηματίζοντας κηλίδες που μοιάζουν με λαδιά, τους βλαστούς δημιουργώντας κηλίδες και τα σταφύλια ξεραίνοντάς τα ή καλύπτοντάς τα με λευκή εξάνθηση. Συνιστώνται ψεκασμοί με captan, dichlofluanid, folpet κ.α.

**Βοτρύτης.** *Botrytis cinerea*. Η συχνότερη και σοβαρότερη ζημιά γίνεται στα ώριμα σταφύλια το φθινόπωρο. Προκαλείται στην επιφάνεια μερικών ραγών μια μελανή κηλίδα υγρής σήσης που επεκτείνεται. Συνιστώνται ψεκασμοί με benomyl, carbendazim, zineb κ.α.

**Ίσκα.** *Phenilus igniarius* και *Polyporus igniarius*. Στα φύλλα της βάσης εμφανίζεται περιφερειακό και μεσονεύριο κιτρίνισμα με πράσινη ζώνη κατά μήκος των νεύρων. Το κέντρο του ξύλου γίνεται μαλακό, λευκοκίτρινο και σπογώδες. Συνιστώνται ψεκασμοί με αρσενικόδες νάτριο, δινιτροορθοκρεζόλη κ.α.

**Φόμοψη.** *Phomopsis viticola*. Εμφανίζονται νεκροί βραχίονες με υπόφαια βάση και μικρά μαύρα στίγματα (πυκνίδια του μύκητα). Συνιστώνται ψεκασμοί με fosetyl AI, propineb, dichlofluanid κ.α.

**Ευτυπίωση.** *Eutypa lata*. Προκαλεί έλκη τα οποία αρχίζουν από παλιά πληγή κλαδέματος στο βραχίονα και μπορεί να προχωρούν στον κορμό μέχρι τη ρίζα. Συνίσταται επάλειψη των τομών κλαδέματος με διάλυμα benomyl, carbendazim κ.α.

**Ίκτερος.** Μυκόπλασμα ή ρικέτσια. Σε ορισμένες κλιματίδες τα φύλλα παρουσιάζουν κιτρίνισμα κατά μήκος νεύρων ή σε ακανόνιστες κηλίδες και καρούλιασμα προς τα κάτω. Επίσης παρατηρείται ακαρπία και νέκρωση των σταφυλιών. Δεν υπάρχει αποτελεσματική αντιμετώπιση.

**Μολυσματικός εκφυλισμός.** Ιός τύπου nero. Στις κλιματίδες εμφανίζονται διπλοί κόμποι, διχάλωση, βραχυγονάτωση κ.α. Στα φύλλα προκαλούνται διάφορες παραμορφώσεις που δίνουν το σχήμα βεντάλιας κ.α. Δεν υπάρχουν θεραπευτικά μέσα.

**Βακτηριακή νέκρωση ή Τσιλίκ μαράζι.** *Xanthomonas ampelina*. Εμφανίζονται στις νεαρές κλιματίδες καστανόμαυρα έλκη που συνενώνονται και καταλήγουν σε μαύρη βαθειά ρωγμή στη μια πλευρά της κληματίδας. Συνιστάται μετά το κλάδεμα ψεκασμός με βορδιγάλιο πολτό 2% ή οξυχλωρ. χαλκό 1%.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο

### 1. ΙΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

#### 1.1. ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΙΩΣΕΩΝ

Οι ιολογικές ασθένειες έρχονται από απόψεως αριθμού αμέσως μετά από τις μυκητολογικές ασθένειες.

Τα περισσότερα αν όχι όλα τα καλλιεργούμενα φυτά προσβάλλονται από έναν ή περισσότερους ιούς. Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί περισσότερες από 600 ιολογικές ασθένειες.

Οι επιπτώσεις των ιολογικών προσβολών είναι <<άμεσες>> και <<έμμεσες>>.

Στις <<άμεσες>> επιπτώσεις περιλαμβάνονται:

α) Μειωμένη ανάπτυξη και σφρίγος των φυτών (μειωμένη παραγωγή, αποτυχία της καλλιέργειας, ταχύτερη πτώση της παραγωγικότητας, μεγαλύτερη προδιάθεση άλλων παθογόνων και μειωμένη αντίσταση στις αντίξοες συνθήκες του περιβάλλοντος).

β) Χαμηλή ποιότητα της παραγωγής (ανωμαλίες στο σχήμα και στο χρώμα των καρπών, μειωμένες διαστάσεις, αλλοιώσεις των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, μερική ή ολική καταστροφή του πολλαπλασιαστικού υλικού).

Στις <<έμμεσες>> επιπτώσεις περιλαμβάνονται οι δαπάνες για την πρόληψη των προσβολών (προληπτικές εφαρμογές, καταπολέμηση φορέων, αγορά πιστοποιημένου υλικού).

Στις ετήσιες καλλιέργειες που αναπαράγονται με σπόρο, όπου ανήκουν τα περισσότερα λαχανικά και τα σιτηρά, οι ζημιές περιορίζονται στη συγκεκριμένη καλλιεργητική περίοδο και η έντασή τους καθορίζεται από ορισμένους επιδημιολογικούς παράγοντες. Αντίθετα, στις πολυετείς καλλιέργειες, όπως τα οπωροφόρα δέντρα, οι επιπτώσεις μιας ιολογικής προσβολής είναι πολύ σοβαρές γιατί συνήθως διαρκούν όσο και η ζωή του ασθενούς φυτού .



## 1.2. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΙΩΝ

Οι ιολογικές ασθένειες, γνωστές περισσότερο ως ιώσεις, οφείλονται στους παθογόνους μικροοργανισμούς που ονομάζονται ιοί. Σήμερα με τον όρο ιοί χαρακτηρίζονται τα μοριακά στοιχεία αποτελούμενα από ένα ή περισσότερα νουκλειικά οξέα (RNA ή DNA), έγκλειστα μέσα σε ένα προστατευτικό κάλυμμα πρωτεΐνης ή λιποπρωτεΐνης, τα οποία είναι ικανά να οργανώσουν την πανομοιότυπη <<αναπαραγωγή τους>> μόνο μέσα σε κατάλληλο κύταρο - ξενιστή. Στο σωματίδιο του ιού, που στη διεθνή γλώσσα λέγεται νιρίον, το νουκλειικό οξύ περιβάλλεται, συνήθως, από ένα πρωτεϊνικό καψίδιο. Τα μόρια πρωτεΐνης, που αποτελούν το καψίδιο και που λέγονται καψομερή είναι κατά κανόνα όμοια. Οι πρωτεΐνες προστατεύουν το νουκλειικό οξύ που είναι το κυρίαρχο τμήμα του ιοσωματίου (56-95% του βάρους του) και παίζουν ρόλο αντιγονικής εξειδικεύσεως.

Το νουκλειικό οξύ των ιών που κυριαρχεί είναι το RNA. Η περιεκτικότητα σε νουκλειικό οξύ είναι σταθερή για κάθε <<είδος>> ιού (0,6-44% του βάρους του). Τα λιπίδια είναι συστατικά λίγων φυτικών ιών.

Οι ιοί είναι μικρότεροι από τα βακτήρια και τους μύκητες. Μαζί με τα ιοειδή αποτελούν την κατώτερη βαθμίδα ζωής. Οι ιοί είναι αόρατοι στο γυμνό ανθρώπινο μάτι και στο οπτικό μικροσκόπιο. Μόνο με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μπορούμε να τους δούμε και να τους μελετήσουμε. Οι ιοί ανήκουν στα υποχρεωτικά παράσιτα. Δεν διαθέτουν ένζυμα για την παραγωγή ενέργειας. Θα πρέπει δηλαδή να εκμεταλλευτούν το μεταβολισμό του φυτού για να εξοικονομήσουν τα ένζυμα που τους χρειάζονται για τον πολλαπλασιασμό τους. Στη μεγάλη πλειονότητα των ιών των φυτών, οι γενετικές πληροφορίες είναι κωδικοποιημένες πάνω σε RNA, που με πολύ λίγες εξαιρέσεις είναι απλής αλυσίδας. Κατά κανόνα έχουμε ένα μόνο μόριο RNA ανά σωματίδιο και ένα μόνο είδος πρωτεΐνης στον κάθε ιό.

Οι ιοί των φυτών έχουν διάφορα σχήματα, αλλά συνήθως είναι ραβδόμορφοι, σφαιρικοί (στην πραγματικότητα πολυεδρικοί), σκωληκόμορφοι ή ελικοειδείς. Όταν έχουν μικρή και μεγάλη διάσταση, το πάχος είναι περίπου 0,1 μ. και το μήκος μέχρι 2,0 μ. Η επιφάνειά τους αποτελείται πάντοτε από συγκεκριμένο για κάθε ιό αριθμό πρωτεϊνικών υπομονάδων (καψομερή).

Μεγάλη σημασία για τον προσδιορισμό των ιών έχει η χρησιμοποίηση των φυτών δεικτών, που δίνουν συγκεκριμένα συμπτώματα, όταν μολυνθούν με συγκεκριμένο ιό. Οι ορολογικές ιδιότητες είναι επίσης πολύ χρήσιμες για τον προσδιορισμό των ιών, την αναγνώριση συγγενείας μεταξύ ιών και τη διαπίστωση λανθανουσών ιώσεων.

### 1.3. ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ

Οι ιοί των φυτών μολύνουν πάντα από πληγές. Στη φύση, για να επιτευχθεί η είσοδος των φυτικών ιών, απαιτείται η λύση της συνέχειας των προστατευτικών στρωμάτων του κυτταρικού τοιχώματος και της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Εξαίρεση θα μπορούσε να θεωρηθεί η μεταφορά των ιών με τους κόκκους της γύρης και με το σπόρο.

Οι πιο σημαντικές πληγές στη φύση, που επιτρέπουν είσοδο ιών, είναι αυτές που προκαλούνται από οργανισμούς, που είναι φορείς του συγκεκριμένου ιού. Με την εγκατάστασή τους αναδιπλασιάζονται ακατάπαυστα. Η παθογένεσή τους χαρακτηρίζεται από τα τρία παρακάτω στάδια: διείσδυση των ιοσωματίων στο κύτταρο, αναπαραγωγή των ιοσωματίων και διάδοση στο φυτό ξενιστή. Κάθε προσβεβλημένο κύτταρο μπορεί να περιέχει εκατομμύρια σωματιδίων ιών. Πολύ εύκολα δε και με τη βοήθεια των πλασμοδεσμάτων μπορούν να περάσουν από κύτταρο σε κύτταρο και να κυριαρχήσουν σε όλο το φυτό, από τη ρίζα μέχρι και τα φύλλα. Στον αγρό έχουμε κατά κανόνα διασυστηματικές μολύνσεις, οπότε ο ιός

βρίσκεται σε όλα τα όργανα του φυτού. Εντοπισμένες μολύνσεις με πρόκληση χαρακτηριστικών κηλίδων έχουμε συνήθως στα φυτά - δείκτες που μολύνουμε τεχνητά στο εργαστήριο. Αν παρά την παρουσία του ιού το φυτό δε δείχνει συμπτώματα, ο ιός λέγεται λανθάνων (latent).

Έπειτα από όλα αυτά μπορούμε να πούμε πως οι ιώσεις παρουσιάζουν μερικά ιδιαίτερα χαρακτηριστικά:

- Προκαλούν γενικά διασυστηματικές ασθένειες.
- Ένα φυτό προσβεβλημένο από ίωση είναι μολυσμένο για όλη του την ζωή.
- Ο τρόπος μετάδοσης των ιών διαφέρει από εκείνο άλλων παθογόνων μικροοργανισμών (μυκήτων, βακτηρίων κ.α.).
- Οι ασθένειες που προκαλούνται εξωτερικεύονται (εξαίρεση αποτελεί η λανθάνουσα μόλυνση) με χαρακτηριστικά και εμφανή συμπτώματα όπως: διάφορους μεταχρωματισμούς και νεκρώσεις στα φύλλα και στους καρπούς, οι οποίοι συνοδεύονται από παραμορφώσεις (καρούλιασμα, κατσάρωμα, νηματοφυλλία) και γενική κατάπτωση του φυτού (νανισμό, όψη θάμνου και μειωμένη παραγωγή).

#### 1.4. ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΙΩΝ

Όλοι οι φυτικοί ιοί μεταδίδονται με όλα τα όργανα αγενούς αναπαραγωγής των φυτών. Φυτά που προκύπτουν από μοσχεύματα, βολβούς, κονδύλους, ριζώματα, κ.λ.π., που πήραμε από ιωμένα φυτά, είναι όλα προσβεβλημένα από τον ίδιο ιό.

#### 1.5. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΩΝ ΙΩΝ.

Όλοι επίσης οι φυτικοί ιοί μεταδίδονται κατά τον εμβολιασμό και από το υποκείμενο στο εμβόλιο και από το

εμβόλιο στο υποκείμενο, πράγμα που δημιουργεί κινδύνους για τις δενδρώδεις καλλιέργειες.

Από τους πάνω από 500 φυτικούς ιούς, που έχουν μελετηθεί, μόνο περίπου 100 μεταφέρονται με τα σπέρματα. Υπάρχουν περιπτώσεις που ιοί μπορεί να μεταφερθούν με τη γύρη.

Για μερικούς ιούς είναι δυνατή η μηχανική μετάδοση με μεταφορά χυμού από ασθενές σε υγιές φυτό, αλλά στη φύση αυτός ο τρόπος μετάδοσης είναι σπάνιος. Τραυματισμοί για την πιθανή είσοδο ιών προκαλούνται από τον άνεμο κατά την επαφή γειτονικών φυτών, από τον άνθρωπο κατά τις καλλιεργητικές εργασίες, με τα εργαλεία, τα χέρια ή τα ρούχα του. Επίσης, μηχανική μετάδοση μπορεί να προκληθεί και από άλλους ζωικούς οργανισμούς.

Στη φύση, οι ιώσεις μπορεί να μεταδοθούν με έντομα φορείς. Οι σημαντικότεροι ανήκουν στην τάξη Homoptera και στις οικογένειες Aphididae και Cicadellidae και κατά δεύτερο λόγο στις Aleurodidae, Coccoidae και Membrasidae. Όταν τα μυζητικά έντομα έχουν τον ιό μόνο στα στοματικά τους μόρια, πρόκειται για μη έμμονο ιό, ενώ όταν τον διατηρούν στο εσωτερικό τους, ο ιός λέγεται έμμονος. Επίσης μερικοί ιοί μεταδίδονται με ακάρεα των οικογενειών Eriophyidae και Tetranychidae, με νηματώδεις των γενών *Xiphinema*, *Longidorus* και *Trichodorus*, με κολεόπτερα, με ζωοσπόρια κατώτερων μυκήτων και τέλος με σπερματοφύτα παράσιτα του γένους *Cuscuta*.

## 1.6. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

Τα συμπτώματα των ιώσεων διακρίνονται σε εξωτερικά και εσωτερικά.

### α) Εξωτερικά συμπτώματα

Οι ιολογικές ασθένειες στα φυτά εκδηλώνονται με δύο κύριες μορφές. Πρώτον, τη μορφή των τοπικών μολύνσεων και

δεύτερον τη μορφή των γενικών ή διασυστηματικών μολύνσεων.

#### α<sub>1</sub>) Τοπικές μολύνσεις

Υπάρχουν ιοί οι οποίοι δεν εξαπλώνονται μέσα στο φυτό, αλλά εντοπίζονται στα σημεία της μολύνσεως. Αυτές οι μολύνσεις ονομάζονται τοπικές.

#### α<sub>2</sub>) Γενικές μολύνσεις

Στις γενικές μολύνσεις, ο ιός εξαπλώνεται σ' ολόκληρο το φυτό και τα συμπτώματα εμφανίζονται σ' όλα τα ευπαθή όργανά του.

Παίρνοντας υπόψιν την αντίδραση των διαφόρων φυτών έναντι των διαφόρων ιών, διακρίνουμε i) ανθεκτικά φυτά, ii) ανεκτικά φυτά, iii) ευπαθή φυτά και iv) υπερευπαθή φυτά.

#### β) Εσωτερικά συμπτώματα

Τα εσωτερικά συμπτώματα περιλαμβάνουν κυτταρικά εγκλείσματα και ιστολογικές αλλοιώσεις.

#### β<sub>1</sub>) Κυτταρικά εγκλείσματα

Πολλοί ιοί έχουν την ιδιότητα να σχηματίζουν μέσα στα κύτταρα των προσβαλλόμενων φυτών, χαρακτηριστικά σωμάτια, ορατά με το μικροσκόπιο, τα οποία έχουν αμοιβαδοειδή και κρυσταλλική μορφή. Αυτά παρατηρούνται και στο πρωτόπλασμα και στον πυρήνα.

#### β<sub>2</sub>) Ιστολογικές αλλοιώσεις.

Σε ορισμένες ιώσεις παρατηρούνται νεκρώσεις της βίβλου και αλλοιώσεις των αγγείων του ξύλου.

Παράγοντες που επηρεάζουν τη μορφή των συμπτωμάτων:

- α) Είδος του ιού
- β) Φυλή του ιού
- γ) Είδος ξενιστή
- δ) Ποικιλία ξενιστή
- ε) Τρόπος μολύνσεως
- στ) Παρουσία και άλλου ιού

ζ) Συνθηκες περιβάλλοντος (φως, θερμοκρασία, θρέψη των φυτών).

### 1.7. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

Η διάγνωση των ιώσεων μπορεί να γίνει είτε με απευθείας παρατήρηση των συμπτωμάτων στα φυτά ή το πολλαπλασιαστικό υλικό, είτε με έμμεσο τρόπο που απαιτεί τη χρησιμοποίηση ειδικών μεθοδολογιών. Γενικά, η διάγνωση και ειδικά η ταυτοποίηση του υπαίτιου ιού με μοναδικό στοιχείο τα εμφανιζόμενα συμπτώματα είναι σχεδόν αδύνατη. Δυστυχώς, όμοια συμπτώματα προκαλούν πολυάριθμοι φυτικοί ιοί και αρκετά συχνά είναι παρόμοια με εκείνα που οφείλονται σε διάφορους βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες. Από τους έμμεσους τρόπους διάγνωσης των ιώσεων σε χρήση, σήμερα σε διαγνωστικά και ερευνητικά κέντρα οι σημαντικότεροι είναι:

**Βιολογικός έλεγχος.** Συνίσταται στη μετάδοση του ιού σε φυτοδείκτες (όταν μολύνονται εμφανίζουν χαρακτηριστικά συμπτώματα) είτε μηχανικά (τριβή των φύλλων του φυτοδέκτη με χυμό, που εξήχθη από το υπό έλεγχο φυτό), είτε με εμβολιασμό ή με φυσικούς φορείς (στις περιπτώσεις μη μηχανικά μεταδιδόμενων ιών). Η δοκιμή αυτή επιβεβαιώνει τη φύση του παθογόνου, αλλά σπάνια οδηγεί στην ταυτότητα του ιού. Ο χρόνος που απαιτείται για την εμφάνιση στους φυτοδείκτες των ενδεικτικών συμπτωμάτων κυμαίνεται από λίγες ημέρες (μηχανική μετάδοση με δημιουργία τοπικών κηλίδων) μέχρι αρκετούς μήνες (διασυστηματικά συμπτώματα).

**Ορολογικός έλεγχος.** Εφαρμόζεται μόνο για την ταυτοποίηση ιών, των οποίων έχει επιτευχθεί η κάθαρση (λήψη καθαρών νουκλεοπρωτεϊνών του ιού) και συνεπώς η δημιουργία αντιορού. Μέχρι και το τέλος της δεκαετίας του 1970 οι ορολογικές τεχνικές που εφαρμόζονταν δεν επέτρεπαν πολύ συχνά την ανίχνευση του ιού σε απευθείας εκχύλισμα χυμού

από το φυτό, εξαιτίας της χαμηλής συγκέντρωσης των ιοσωματιδίων του, δηλαδή τα τέστ ήταν μικρής ή ανεπαρκούς ευαισθησίας. Μεταξύ αυτών που χρησιμοποιήθηκαν ευρύτατα-μερικά είναι ακόμη σε χρήση για ερευνητικούς σκοπούς- είναι: η ιζήματοαντίδραση σε σωλήνες (tube precipitin test), η μικρο-ιζήματοαντίδραση σε σταγόνες (micro-precipitin test) [δημιουργία συσσωματώσεων με σχηματισμό ιζήματος καθίζησης μεταξύ αντισωμάτων (γ-ανοσοσφαιρίνες) και ομόλογου αντιγόνου (ιός), που γίνονται ευκρινείς με τη χρήση στερεοσκοπίου ή μικροσκοπίου] και η διπλή ανοσοδιάχυση σε πηκτική άγαρ (agar gel double diffusion test) (δημιουργία εμφανούς ιζήματος στη γραμμή επαφής αντισωμάτων - αντιγόνου). Προς το τέλος της δεκαετίας του 1970 εισήχθηκε και στη φυτική ιολογία η ανοενζυμική δοκιμή γνωστή ως ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), με την οποία επιτεύχθηκε αύξηση της ευαισθησίας του ορολογικού ελέγχου κατά 1000 - 2000 φορές.

### 1.7.1. Η ΜΕΘΟΔΟΣ ELISA

Η εφαρμογή της ανοσοενζυματικής μεθόδου ELISA (Enzyme - Linked ImmunoSorbent Assay) στη φυτική ιολογία το 1976 από τους Voller και τους συνεργάτες του και τους Clark και Adams έφερε αληθινή επανάσταση στην ορολογική διάγνωση των ιών. Η ELISA σε σχέση με άλλες μεθόδους μπορεί:

α) Να ανιχνεύσει ιούς σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις από τις κλασικές ιζήματοαντιδράσεις: ανιχνεύει συγκέντρωση ιού μικρότερη από 0,1 ng/ml ενώ η μικροιζηματοποίηση ανιχνεύει 0,5 ng/ml και η ανοσοδιάχυση 1 ng/ml.

β) Δεν παρουσιάζει τα μειονεκτήματα της ραδιοανοσολογίας (χρήση ραδιοισοτόπων, ακριβά αντιδραστήρια και όργανα καθορισμού, δυσκολία στη

<<σήμανση>> με ραδιενεργά στοιχεία των φυτικών ιών in vitro), ενώ έχει αποτελέσματα ανάλογα με αυτήν.

γ) Παρουσιάζει μεγάλη προσαρμοστικότητα, εφαρμόζεται σε φυτικά εκχυλίσματα ή και καθαρά παρασκευάσματα ιού.

δ) Είναι σχετικώς ανεπηρέαστη από το μέγεθος και τη μορφολογία του αντιγόνου.

ε) Παρουσιάζει εξειδίκευση, που εξαρτάται από τον αντιορό και το εφαρμοζόμενο πρωτόκολλο.

στ) Δίνει ποσοτική ακρίβεια και δυνατότητα αναπαραγωγής των αποτελεσμάτων.

ζ) Παρέχει δυνατότητα αυτοματοποίησης.

η) Έχει χαμηλό κόστος και τα αντιδραστήρια είναι ακίνδυνα και έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής.

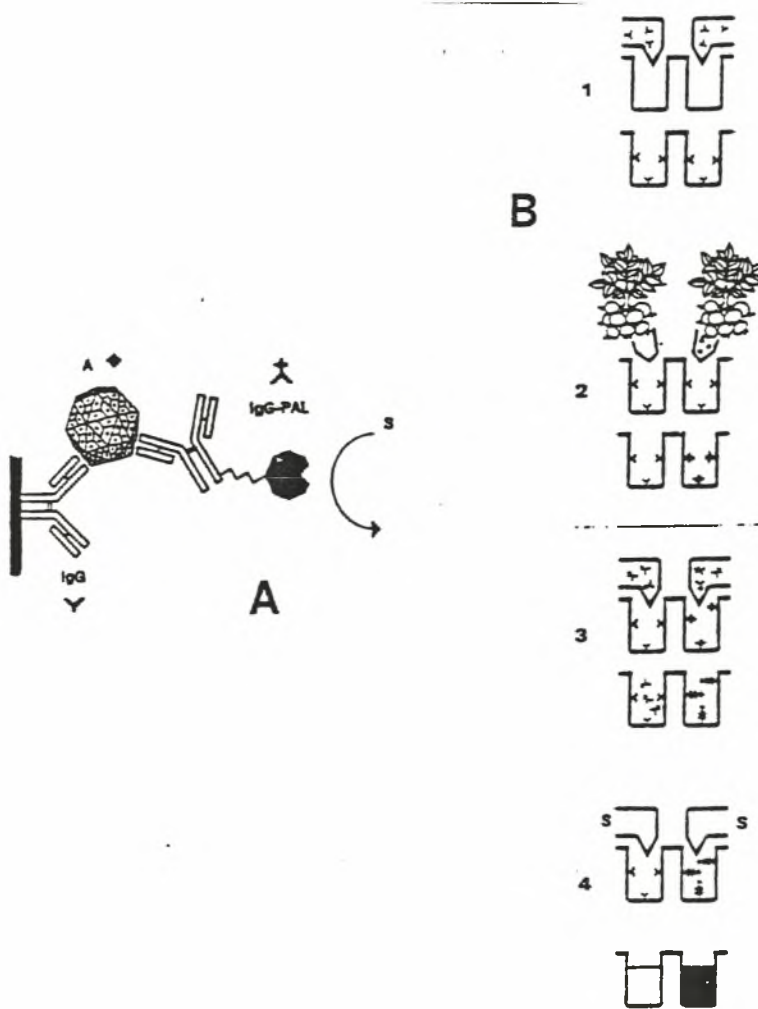
θ) Ο χρησιμοποιούμενος βασικός εξοπλισμός είναι απλός.

Στην ELISA ο ιός από το φυτικό δείγμα παγιδεύεται εκλεκτικά και ακινητοποιείται από ειδικά αντισώματα που έχουν απορροφηθεί στην επιφάνεια της στερεής φάσης. Ο παγιδευμένος ιός κατόπιν αντιδρά με τα ειδικά αντισώματα τα οποία είναι <<σημασμένα>> μ'ένα ένζυμο, δίνοντας τη μορφή του <<διπλού σάντουιτς>> αντισωμάτων. Μετά από πλύση και απομάκρυνση των μη αντιδρώντων συστατικών, τα <<σημασμένα>> αντισώματα που έχουν αντιδράσει με τον παγιδευμένο ιό, ανιχνεύονται έμμεσα, με την ανάπτυξη χρώματος ή φθορισμού με την προσθήκη του κατάλληλου υποστρώματος του ενζύμου. Η μέτρηση μπορεί να γίνει είτε με οπτικά είτε με τη χρησιμοποίηση φασματοφωτόμετρου ή φθοριόμετρου.

Η περισσότερο χρησιμοποιούμενη μορφή της δοκιμής ELISA για την ανίχνευση και ταυτοποίηση ιών και βακτηρίων στο ΠΥ είναι η ονομαζόμενη <<διπλό σάντουιτς>> (Double antibody sandwich = DAS - ELISA) (Εικόνα 1Α). Για την υλοποίηση της δοκιμής χρησιμοποιούνται ειδικές πλάκες πολυεστέρα με 96 υποδοχές χωρητικότητας 400 μl, σε κάθε μία από τις οποίες μπορεί να ελεγχθεί ένα δείγμα και απαιτείται η διάθεση γ-ανοσοσφαιρίνης (IgG) και γ-



ανοσοσφαιρίνης συζευγμένη με το ένζυμο αλκαλική φωσφατάση (IgG-PAL). Οι γ-ανοσοσφαιρίνες λαμβάνονται από το αίμα μικρού θηλαστικού (συνήθως κουνελιού) το οποίο είχε ευαισθητοποιηθεί με σειρά ενέσεων καθαρών νουκλεοπρωτεϊνών ενός ιού [ο ιός και συγκεκριμένα η καψιδιακή πρωτεΐνη του λειτουργεί ως αντιγόνο με επακόλουθο την παραγωγή από το ανοσοποιητικό σύστημα του κουνελιού ομόλογων αντισωμάτων (ανοσοσφαιρίνες από τις οποίες οι γ-ανοσοσφαιρίνες αποτελούν περίπου το 75 - 80% του συνόλου)].



ΕΙΚΟΝΑ 1. (A)= Αναλυτική γραφική παράσταση της τεχνικής <<διπλό σάντουιτς>> ELISA (IgG= γ-ανοσοσφαιρίνες, A= ιός-αντιγόνο, IgG-PAL= γ-ανοσοσφαιρίνες + ένζυμο, S= υπόστρωμα) και (B)= τα τέσσερα στάδια της DAS-ELISA.

Η δοκιμή έχει τις εξής φάσεις (Εικόνα 1B):

α) Στις υποδοχές της πλάκας τοποθετούνται πρώτα οι εξειδικευμένες IgG του υπό έλεγχο ιού (100 - 300  $\mu$ l/υποδοχή) και ακολουθεί επώαση για 2 - 6 ώρες στους 37 °C: οι IgG προσκολλούνται στα τοιχώματα της υποδοχής.

β) Μετά από τρία διαδοχικά πλυσίματα της πλάκας για 3 min με κατάλληλο διάλυμα για να απομακρυνθούν οι IgG που κόλλησαν στα τοιχώματα, τοποθετείται το δείγμα σε ένα ή δύο υποδοχείς (100 - 250  $\mu$ l χυμού αραιωμένο με κατάλληλο διάλυμα εξαγωγής) και το τρυβλίο επωάζεται στους 4 - 6 °C για 12 - 18 ώρες: εάν στο δείγμα υπάρχει ο ιός, τότε αναγνωρίζεται και συνδέεται με τις ομόλογες IgG.

γ) Μετά από τρία πάλι διαδοχικά πλυσίματα για να απομακρυνθούν όλα τα ελεύθερα συστατικά του δείγματος τοποθετείται σε κάθε υποδοχή ποσότητα 100 - 200  $\mu$ l IgG - PAL και ακολουθεί επώαση για 3 - 4 ώρες στους 37 °C: η IgG - PAL συνδέεται με το υπάρχον σύμπλοκο ιός + IgG.

δ) Επαναλαμβάνονται τα τρία διαδοχικά πλυσίματα και προστίθενται σε κάθε υποδοχή 100 - 200  $\mu$ l ενζυμικού υποστρώματος (p-nitrophenylphosphate) και τα τρυβλία παραμένουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος υπό παρατήρηση για 1 - 3 ώρες: το ενζυμικό υπόστρωμα υδρολύεται από το ένζυμο PAL μόνο στις υποδοχές όπου αυτό υπάρχει ως σύμπλοκο IgG + ιός + IgG-PAL, δίνοντας ένα χρώμα κίτρινο με ένταση ανάλογη με την ποσοτική παρουσία του PAL και συνεπώς και του υπό ανίχνευση ιού.

Σε κάθε πλάκα λαμβάνεται μέριμνα ώστε μερικοί υποδοχείς να δέχονται ένα <<λευκό>> δείγμα (ρυθμιστικό διάλυμα) για το μηδενισμό της μέτρησης που γίνεται με φωτόμετρο στα 405 nm μήκος κύματος, ενώ μερικοί άλλοι υποδοχείς συμπληρώνονται με χυμό από υγιή φυτά (αρνητικός μάρτυρας) και χυμό από σίγουρα μολυσμένα φυτά (θετικός μάρτυρας). Συνήθως ως θετική ένδειξη ή αντίδραση (δηλαδή βέβαιη παρουσία του ιού) λαμβάνονται οι τιμές εκείνες που είναι τουλάχιστον τρεις φορές μεγαλύτερες από το μέσο όρο

των τιμών των αρνητικών μαρτύρων. Η δοκιμή DAS-ELISA που περιγράψαμε χρειάζεται δύο ημέρες για να ολοκληρωθεί και με ένα και μόνο τεχνικό μπορούν να ελεχθούν εκατοντάδες δείγμάτων, όταν μάλιστα διατίθενται αυτόματοι μηχανισμοί εξαγωγής χυμού δείγματος και μέτρησης.

### 1.7.2. ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΗΣΗ

Είναι φανερό ότι η μέθοδος αυτή απαιτεί ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (ΗΜ), ένας εξοπλισμός πολύ ακριβός, αλλά είναι απλή και αρκετά γρήγορη. Βέβαια η χρήση του ΗΜ επιτρέπει την παρατήρηση και τη μελέτη των μορφολογικών χαρακτηριστικών των ιών, αλλά δεν βοηθά στην ταυτοποίηση (υπάρχουν δεκάδες σφαιρικοί ιοί με διάμετρο 25-30nm και δεκάδες νηματοειδείς ιοί με διαστάσεις 12X750 nm).

Συνήθως στο ΗΜ ανιχνεύονται εύκολα οι επιμήκεις ιοί απ' ευθείας στους φυτικούς ιστούς του δείγματος εφαρμόζοντας τη μέθοδο της σταγόνας (dip method): τοποθετείται ένα μικροπλέγμα χαλκού (διαμέτρου 3 mm με 60-160 θηλιές ανά  $\text{cm}^2$  επικαλυμένο με κολλώδιο και φιλμ άνθρακα) επάνω σε μία σταγόνα που προέρχεται από τις επανειλημμένες τομές ενός μικρού φυτικού τμήματος του δείγματος βρεγμένου με ειδική χρωστική \*. Το μικροπλέγμα στεγνώνεται για μερικά λεπτά και αμέσως εισάγεται για παρατήρηση στο ΗΜ. Με τη μέθοδο αυτή δεν ταυτοποιείται ο παρατηρηθείς ιός, μολονότι μπορούμε να διακρίνομε με ευχέρεια τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τα οποία θα μας επιτρέψουν την αναγνώριση της ταξινομικής ομάδας του (π.χ. ένας ιός με διαστάσεις 15X300 nm ανήκει στους Tobamovirus η με διαστάσεις 12X1200 nm στους Closterovirus).

\* είναι ορισμένες "ηλεκτρονικά πυκνές" ουσίες, όπως uranyl acetate η potassium phosphotungstate, οι οποίες επιτρέπουν την εμφάνιση των σωματιδίων των ιών με έντονη φωτεινότητα σε φόντο σκοτεινό.

Η παρατήρηση σφαιρικών ιών δεν είναι συχνά δυνατή γιατί εμποδίζεται από την παρουσία των κυτταρικών υπολειμμάτων και ακόμη απαιτείται ένα ελάχιστο όριο συγκέντρωσης των ιοσωματίων στο παρασκεύασμα. Το τελευταίο επιτυγχάνεται εάν χρησιμοποιηθεί στη διαδικασία υλικό από φυτοδείκτη που μολύνθηκε προηγουμένως με το υπό έλεγχο δείγμα.

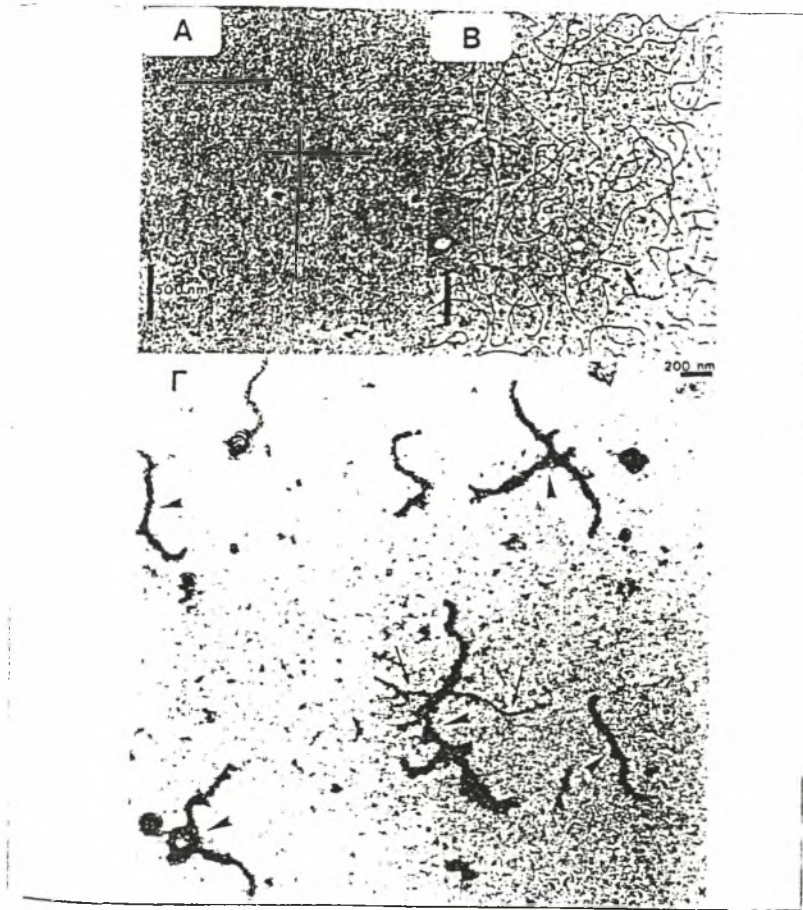
### 1.7.3. ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ - ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΗΣΗ

Η ευρεία χρησιμοποίηση του ΗΜ για τη διάγνωση και ταυτοποίηση των ιων άρχισε στα μέσα της δεκαετίας του '70 συνδυάζοντας τα πλεονεκτήματα της ηλεκτρονικής μικροσκόπησης και των ορολογικών δοκιμών. Δύο τεχνικές έχουν καθιερωθεί σήμερα: η ανοσο-απορροφητική ηλεκτρονική μικροσκόπηση (immunosorbent electron microscopy - ISEM) του Derrick (1973) και η παγίδευση αντισωμάτων ή στεφάνωση (antibody trapping ή decoration) των Milne και Luisoni (1977) (Εικόνα 2).

Η πρώτη, η ISEM, εκτελείται ως εξής: σε σταγόνες αντιορού συγκεκριμένου ιού κατάλληλα αραιωμένου (1:10 - 1:50) τοποθετούνται μικροπλέγματα για 50-60 min σε χώρο κορεσμένης υγρασίας. Τα αντισώματα (γ-ανοσοσφαιρίνες) προσκολλώνται στο φιλμ του μικροπλέγματος ευαισθητοποιώντας το έναντι του ομόλογου ιού. Τα μικροπλέγματα πλένονται με κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα και τοποθετούνται επάνω σε σταγόνες χυμού που εξήχθηκε από το φυτικό δείγμα. Εάν υπάρχουν σωματίδια του ιού αυτά συμπλέκονται με τα αντισώματα. Ακολουθεί <<βάψιμο>> των μικροπλεγμάτων με τοποθέτηση επάνω σε σταγόνες μιας χρωστικής και τοποθέτησή τους κατόπιν στον άξονα εισόδου - παρατήρησης του ΗΜ. Εάν στο δείγμα υπάρχει ο ομόλογος ιός, τότε εμφανίζονται ευκρινώς τα σωματίδιά του.

Η μέθοδος της "παγίδευσης των αντισωμάτων" ακολουθεί την αντίστροφη διαδικασία της ISEM: πρώτα τοποθετούνται τα

μικροπλέγματα σε σταγόνες του υπό εξέταση δείγματος, ώστε τα ιοσωμάτια (εάν υπάρχουν) να κολλήσουν στο φιλμ και μετά τοποθετούνται σε σταγόνες αντιορού (για να προσκολληθούν τα αντισώματα στα σωματίδια του ιού). Με αυτή τη διαδικασία έχουμε καλύτερη παρατήρηση της συνένωσης αντιγόνο - αντισώμα (δηλαδή ιού και γ-ανασοσοσφαιρίνης), καθόσον εμφανίζεται το ιοσωμάτιο με χαρακτηριστική στεφάνη αντισωμάτων που επιτρέπει τη σίγουρη διάγνωση και ταυτοποίηση του ιού. Μειονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι η μικρότερη συγκράτηση των ιοσωματίων στο φιλμ του μικροπλέγματος (τα αντισώματα κολλούν καλύτερα από τους ιούς). Για το λόγο αυτό η μέθοδος αυτή δεν είναι η κατάλληλη για ιολογικό έλεγχο ιών με μικρή συγκέντρωση στο χυμό του ξενιστή.



Εικόνα 2. Ανοσο-απορροφητική ηλεκτρονική μικροσκόπηση με αντιορρό έναντι του ιού της τριστέσσας των Εσπεριδοειδών (*Citrus tristeza closterovirus*): A=δείγμα υγιές και B=δείγμα με παρουσία του ιού (βέλος δείχνει ακέραιο σωματίδιο του ιού). Γ="παγίδευση αντισωμάτων" του αντιορού έναντι του ιού A της αμπέλου (*Grapevine virus A-GVA*) σε δείγμα μολυσμένου πρέμνου (οι ακίδες δείχνουν σωματίδια του GVA "στεφανωμένα" με τα αντισώματα του GVA, ενώ τα βέλη σωματίδιο νηματοειδούς ιού διαφορετικού του GVA).

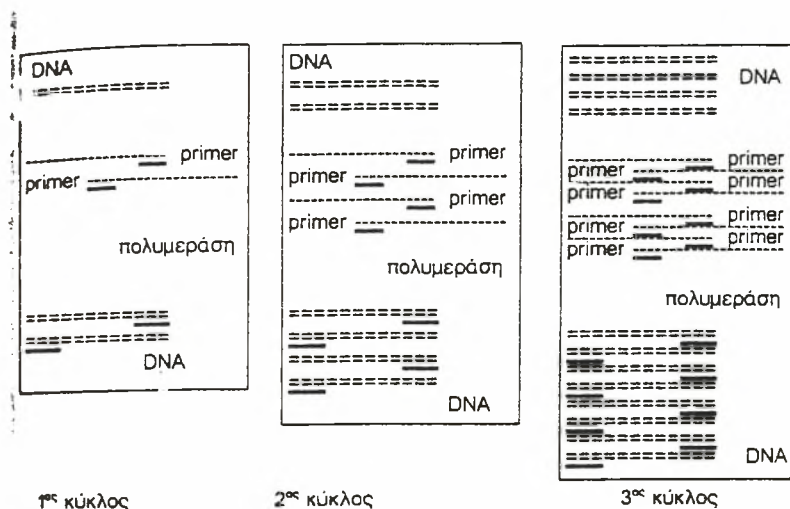
#### 1.7.4. ΜΕΓΕΘΥΝΣΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΩΝ (SEQUENCE AMPLIFICATION)

Είναι μία από τις νεώτερες μοριακές τεχνικές που προκάλεσε επανάσταση στο χώρο της μοριακής βιολογίας όσο και σε διάφορους τομείς έρευνας, από τη μικροβιολογία μέχρι τη διάγνωση - ταυτοποίηση οργανισμών. Στηρίζεται στην αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction - PCR), η οποία είναι μία ενζυματική διαδικασία σύνθεσης DNA, που οδηγεί στον πολλαπλασιασμό ή "μεγέθυνση" (sequence amplification) του DNA - στόχου με επαναλαμβανόμενους κύκλους σύνθεσης *in vitro* (με 20 κύκλους PCR λαμβάνεται "μεγέθυνση"  $2^{20}$  που πρακτικά ισούται με συγκέντρωση του υπό ανίχνευση DNA μέχρι και  $10^6$  φορές της αρχικής).

Η PCR εκτελείται σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει όλα τα απαραίτητα συστατικά για την *in vitro* σύνθεση DNA (όπως ρυθμιστικό διάλυμα pH 7,5-8,5, υπόστρωμα αποτελούμενο από τα 4 τριφωσφορικά δεσοξυριβουοκλεοτίδια (ATP, TTP, CTP και GTP), συνθετικό ολιγονουκλεοτίδιο (primer) συμπληρωματικό των άκρων της αλληλουχίας του DNA - στόχου, ένζυμο πολυμεράση που θα αντιγράψει το DNA-στόχο (χρησιμοποιείται η θερμο-ανθεκτική Taq πολυμεράση - απομονώθηκε από το βακτήριο *Thermus aquaticus*) και βέβαια το παρασκεύασμα που περιέχει το DNA στόχο, και χαρακτηρίζεται από τρία στάδια: αποσύνδεση της διπλής αλυσίδας του DNA-στόχου με θέρμανση στους  $94^{\circ}\text{C}$ , "ζευγάρωμα" του primer με το άκρο της αλυσίδας του DNA-στόχου και σύνθεση δύο διπλών αλυσίδων του DNA - στόχου με τη βοήθεια του ενζύμου πολυμεράση. Η διαδικασία αποσύνδεση-"ζευγάρωμα"-σύνθεση πραγματοποιείται σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες ( $94 - 37 - 74^{\circ}\text{C}$ ) και αποτελούν ένα κύκλο που επαναλαμβάνεται από τις 20 έως 40 φορές. Μετά τη "μεγέθυνση" ακολουθεί ο άμεσος βιοχημικός προσδιορισμός του πολλαπλασιασθέντος DNA - στόχου, π.χ. με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης.

Για την ανίχνευση ιών είναι αναγκαίο πρώτα να γίνει η σύνθεση μορίων DNA συμπληρωματικών (cDNA) των RNA με τη βοήθεια ενζύμων αντίστροφης μεταγραφάσης (inverse transcriptase) (βλέπουν RNA και συνθέτουν DNA).

Οι δυνατότητες “μεγέθυνσης” απειροελάχιστης ποσότητας νουκλεϊκού οξέος με την εφαρμογή της PCR είναι προφανείς (Εικόνα 3) και μπορούν να συγκριθούν μόνο με την διαδικασία μοριακής κλωνοποίησης, που χρησιμοποιεί τη “μεγέθυνση” *in vivo* με γενετικά τροποποιημένα βακτήρια.

1<sup>ος</sup> κύκλος2<sup>ος</sup> κύκλος3<sup>ος</sup> κύκλος

Εικόνα 3 Σχηματική παράσταση τριών κύκλων PCR.

Εικόνα 3. Σχηματική παράσταση τριών κύκλων PCR.

## 1.8. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

Ορισμένα παθογόνα των φυτών, όπως οι μύκητες και τα βακτήρια, καταπολεμούνται με χρησιμοποίηση χημικών ενώσεων (μυκητοκτόνα, βακτηριοκτόνα), τα οποία δρουν στο μεταβολισμό του παθογόνου και μειώνουν ή εμποδίζουν την



ανάπτυξή του. Δυστυχώς μέχρι σήμερα δεν έχουν παραχθεί χημικές ουσίες (ιοκτόνα) που να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην γεωργική πράξη για την αντιμετώπιση των ιολογικών ασθενειών. Ο πολλαπλασιασμός (αναπαραγωγή) των ιών του ξενιστή εξαρτάται από τα ένζυμα που παράγονται στον ξενιστή ως αποτέλεσμα της ιολογικής μόλυνσης ή σε ελάχιστες περιπτώσεις από δικά τους ένζυμα. Εφαρμογή χημικών ουσιών για την αναστολή της δραστηριότητας των ενζύμων, που απαιτούνται για την παραγωγή των ιών, προκαλεί επίσης διάσπαση ενζύμων βασικών για την φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων του ξενιστή. Συνεπώς, <<επίθεση>> εναντίον των ιών με εφαρμογή χημικών ουσιών στα ασθενή φυτά συνήθως καταλήγει σε νέκρωση κυττάρων, ιστών ή και ολόκληρων φυτών - ξενιστών του ιού. Έτσι, για την αντιμετώπιση των ιών επιβάλλεται η αναζήτηση μεθόδων εκτός της χημειοθεραπείας. Για την επιλογή της κατάλληλης στρατηγικής αντιμετώπισης ενός ιού απαιτείται γνώση της ταυτότητάς του, της οικολογίας και της επιδημιολογίας.

Η αντιμετώπιση μιας ιολογικής ασθένειας απαιτεί αρκετά συχνά συνδυασμό διαφόρων μεθόδων, μια προσέγγιση ευρέως γνωστή στη φυτοπροστασία ως ολοκληρωμένη καταπολέμηση.

Τα κυριότερα μέτρα, που λαμβάνονται για την αντιμετώπιση των φυτικών ιών, είναι:

- α) Μείωση των πηγών του ιού
- β) Αποφυγή των πηγών μόλυνσης
- γ) Αποφυγή των φορέων
- δ) Χημική καταπολέμηση των φορέων
- ε) Αντιμετώπιση των φορέων με μη χημικά μέσα
- στ) Εφαρμογή της <<διασταυρωτής προστασίας>> (cross protection).
- ζ) Καταστολή των συμπτωμάτων με εφαρμογή χημικών ουσιών

## 1.9. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΙΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Ιοί με γένωμα μονόκλωνο RNA και ισωμάτια που περιβάλλονται με φάκελο.

|  |
|--|
| Ιοί με γένωμα μονόκλωνο RNA και ισωμάτια που περιβάλλονται με φάκελο |
| Rhabdovirus, Tomato spotted virus<br>Υποομάδα 1, Υποομάδα 2.         |

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Ιοί με γένωμα μονόκλωνο RNA χωρίς φάκελο.

| Ιοί με γένωμα μονόκλωνο RNA χωρίς φάκελο |                                      |
|--|--------------------------------------|
| Με ισοδιαμετρικά σωματίδια               | Με ραβδόμορφα ισωμάτια               |
| Alfalfa mosaic virus                     | Barley yellow mosaic                 |
| Bromovirus                               | Capillovirus                         |
| Carmovirus                               | Carlavirus                           |
| Cocksfoot mild mosaic                    | Closterovirus                        |
| Comovirus                                | Furovirus                            |
| Cucumovirus                              | Horrdeivirus                         |
| Dianthovirus                             | Potexvirus                           |
| Fabavirus                                | Potyvirus                            |
| Ilarvirus                                | Υποομάδα 1 (μετάδοση με αφίδες).     |
| Lyteovirus                               | Υποομάδα 2 (μετάδοση με ακάρεα).     |
| Marafivirus                              | Υποομάδα 3 (μετάδοση με αλευρώδεις). |
| Necrovirus                               | Tennivirus                           |
| Nepovirus                                | Tobamovirus                          |
| Parsnip yellow fleck                     | Tobravirus                           |
| Pea enation mosaic                       |                                      |
| Satellite                                |                                      |
| Sobemovirus                              |                                      |
| Tombusvirus                              |                                      |
| Tymovirus                                |                                      |

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. Ιοί με γένωμα δίκλωνο RNA.

|                           |
|---------------------------|
| Ιοί με γένωμα δίκλωνο RNA |
| Caulimovirus              |

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Ιοί με γένωμα μονόκλωνο RNA.

|  |
|--|
| Ιοί με γένωμα μονόκλωνο RNA                            |
| Geminivirus  |
| Υποομάδα Β (ιός του Αφρικάνικου μωσαικού της κασσάβα)  |
| Υποομάδα Α (ομάδα του ιού της ράβδωσης του αραβοσίτου) |

## 2. ΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

Είκοσι περίπου ιοί έχουν απομονωθεί από το αμπέλι σε διεθνές επίπεδο. Για άλλες 13 ασθένειες πιστεύεται ότι το παθογόνο τους είναι ιός. Ακόμη υπάρχουν μερικές ασθένειες που αποδίδονται σε μικροοργανισμούς τύπου μυκοπλάσματος ή ρικέτσιας. Η εξάπλωση και μετάδοσή τους γίνεται κυρίως με το πολλαπλασιαστικό υλικό, με εμβολιασμό, με νηματώδεις και με έντομα.

Μεγαλύτερης οικονομικής σημασίας είναι ο τρόπος εξάπλωσης με το πολλαπλασιαστικό υλικό, γιατί όλες οι ιώσεις της αμπέλου μεταδίδονται με χρησιμοποίηση μολυσμένου πολλαπλασιαστικού υλικού. Πράγματι, η χρησιμοποίηση πολλαπλασιαστικού υλικού προερχόμενου από μολυσμένα πρέμνα (μοσχεύματα, καταβολάδες) οδηγεί στην ανάπτυξη πάλι ασθενών φυτών, γιατί το παθογόνο βρίσκεται σχεδόν σε ολόκληρο το προσβεβλημένο πρέμνο. Με τον τρόπο αυτό έχουν μεταδοθεί και εξαπλωθεί οι ιώσεις του αμπελιού σε όλες τις αμπελουργικές περιοχές. Ιδιαίτερη σημασία αποκτά ο τρόπος εξάπλωσης με εμβολιασμό στην περίπτωση του μολυσματικού

εκφυλισμού, λόγω της μεγάλης ευαισθησίας των αμερικάνικων υποκειμένων στην ίωση αυτή.

Μια κατηγορία ιών που προσβάλλουν το αμπέλι (NEPOVIRUS πολυεδρικοί ιοί διαμέτρου 30 nm) μεταδίδονται με ορισμένα είδη νηματωδών που ανήκουν στα γένη *Xiphinema* και *Longidorus*.

Ασήμαντος φαίνεται να είναι ο ρόλος των εντόμων στη μετάδοση και εξάπλωση των ιώσεων στο αμπέλι: οι ιοί του μωσαικού της μηδικής (*Alfalfa mosaic virus*) και ο ιός του μαρασμού των κουκιών (*Broadbean wilt virus*) μεταδίδονται με αφίδες.

Τέλος, αξίζει να αναφέρουμε τον τρόπο μετάδοσης ορισμένων ιών του αμπελιού με διάφορους τρόπους, όπως η μετάδοση του ιού *Tobacco necrosis virus* με το μύκητα *Oidium brassicae* και η μετάδοση ιών με σπέρματα ή γύρη.

## 2.1. ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΙΩΣΕΩΝ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

Οι δυσκολίες που παρουσιάζονται στην έγκαιρη διάγνωση των ιολογικών προσβολών στο αμπέλι έχουν μεγάλες οικονομικές επιπτώσεις για τον παραγωγό. Τα συμπτώματα των ασθενειών αυτών είναι λιγότερο οφθαλμοφανή, σε σύγκριση με άλλες μυκητολογικές ή εντομολογικές προσβολές και συχνά περνούν χρόνια από την προσβολή μέχρι την εκδήλωσή τους. Συχνά, η προσβολή είναι λανθάνουσα και γίνεται αντιληπτή μόνο με τη βοήθεια κατάλληλων φυτών δεικτών.

Σε ορισμένες περιπτώσεις τα συμπτώματα γίνονται αντιληπτά μόνο σε 2 ή 3 φύλλα του πρέμνου, ενώ η παραγωγή είναι σχεδόν μηδενική (π.χ. ο ιός του περινεύριου μωσαικού). Εξάλου, σχετικά εύκολα μπορεί να μπερδευτεί με άλλες προσβολές ή ανωμαλίες θρέψεως.

Από το σύνολο των ιών που προσβάλλουν το αμπέλι, μερικοί προκαλούν μεγάλες απώλειες, αλλά έχουν

περιορισμένη γεωγραφική εξάπλωση, ενώ άλλοι είναι ευρύτερα διαδεδομένοι, αλλά έχουν μικρή ή ασήμαντη επίπτωση στην παραγωγή. Μερικοί ιοί, που βασικά έχουν άλλους ξενιστές, βρίσκονται στο αμπέλι σε λανθάνουσα κατάσταση και η οικονομική τους σημασία δεν έχει γίνει γνωστή π.χ. ο ιός του μωσαικού του καπνού (*Tobacco mosaic virus*), ο ιός της νέκρωσης του καπνού (*Tobacco necrosis virus*) κ.α.

Ο μολυσματικός εκφυλισμός (*Grapevine fanleaf virus*) είναι ευρύτερα διαδεδομένος σε όλες τις αμπελουργικές περιοχές του πλανήτη, προσβάλλει ευρωπαϊκές και αμερικάνικες ποικιλίες του αμπελιού και επιφέρει μεγάλες απώλειες στην παραγωγή. Οι απώλειες ανέρχονται συνήθως σε 20-30%, αλλά ακόμη και μέχρι 50%. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι παράλληλα με τις ετήσιες απώλειες, αξιοσημείωτη είναι και η ζημιά που προέρχεται από τη μείωση της οικονομικής ζωής του αμπελώνα.

## 2.2. Η ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Στην Ελλάδα, κυρίαρχο ιολογικό πρόβλημα αποτελεί ο ιός του μολυσματικού εκφυλισμού της αμπέλου (*Grapevine fanleaf virus*), όπως γενικά συμβαίνει σε όλες τις αμπελουργικές χώρες. Έχει αναφερθεί στη χώρα μας από τη δεκαετία του 1950 και είναι ευρύτερα διαδεδομένος, κυρίως όπου χρησιμοποιούνται αμερικάνικα υποκείμενα κατά της φυλλοξήρας. Προκαλεί σοβαρά συμπτώματα, μειώνοντας τη ζωηρότητα και ζωτικότητα των πρέμνων, καθώς και την ποσότητα και την ποιότητα της παραγωγής. Κατά την τελευταία εικοσαετία σημειώθηκε επίσης, σε σημαντική κλίμακα στην Κορινθία, Αχαΐα και Ηλεία, το κίτρινο μωσαικό της αμπέλου (*Grapevine yellow mosaic*), το οποίο προκαλείται από την ομώνυμη φυλή του ιού.

Δεύτερη σε σημασία ασθένεια φαίνεται να είναι ο ίκτερος της αμπέλου, ο οποίος έχει σημειωθεί στη χώρα μας

από το 1971. Το 1973 βρέθηκε ότι είχε διαδοθεί ευρέως, προκαλώντας σοβαρά προβλήματα σε περιοχές της Καβάλας. Έκτοτε παρουσιάστηκε σε διάφορες άλλες περιοχές της χώρας μας.

Η βοθρίωση του ξύλου (*Grapevine lengo riccio* ή *grapevine stem pitting*), φαίνεται να είναι η τρίτη σε οικονομική σημασία ίωση της αμπέλου στη χώρα μας.

Τα γλωσσίδια της αμπέλου (*Grapevine enation*) που παρουσιάστηκαν στη Λήμνο το 1973, βρέθηκε αργότερα ότι έχουν μικρή διάδοση στην Κρήτη.

Συμπτώματα της σοβαρής ιώσεως του καρουλιάσματος των φύλλων της αμπέλου (*Grapevine leafroll*), έχουν σημειωθεί σποραδικά στη χώρα μας κατά την τελευταία εικοσαετία. Επίσης το 1990 έχουν παρατηρηθεί συμπτώματα αστεροειδούς μωσαικού (*Asteroid mosaic*) στην Κορινθία.

Τέλος, στην Ελλάδα έχουν επισημανθεί, μολονότι δεν υπάρχουν επιβεβαιώσεις και άλλοι ιοί όπως: ο ιός του μωσαικού της αραβίδας (*Arabis mosaic virus*), ο ιός της δακτυλιωτής κηλιδώσεως του καπνού (*Tobacco ringspot virus*), ο ιός του μαύρου δακτυλίου της τομάτας (*Tomato black ring virus*) κ.α.

Σχετικά με την αντιμετώπιση των ιώσεων της αμπέλου στην Ελλάδα, οι πρώτες προσπάθειες άρχισαν τη δεκαετία του 1960 με τον έλεγχο της υγείας των μητρικών φυτειών αμερικάνικων αμπέλων. Οι προσπάθειες όμως αυτές βασίστηκαν μόνο σε παρατηρήσεις συμπτωμάτων στον αγρό και όχι σε ιολογικό έλεγχο με φυτοδείκτες και άλλους τρόπους. Ακολούθησαν προσπάθειες του Υπουργείου Γεωργίας για την απόκτηση προυποθέσεων ιολογικού ελέγχου της ίδιας μητρικής φυτείας (εξειδίκευση προσωπικού κ.λ.π.).

Κατά τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες σε ερευνητικά ιδρύματα για την παραγωγή υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού με την καλλιέργεια ιστών *in vitro*.

Γενικά όμως, πρέπει να ομολογήσουμε ότι είναι επιτακτική ανάγκη, η παραγωγή υγιούς πολλαπλασιαστικού

υλικού στη χώρα μας, η οποία έχει καθυστερήσει σε σχέση με άλλες χώρες.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3ο

### 1. ΟΜΑΔΑ ΝΕΡΟVIRUS

Κρυπτόγραμμα ομάδας: [R/1Q2.4-2.2/27-40+2X1.4/46:S/S:/C, Ve/Ne]

#### 1.1. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ

Μεμονωμένοι νερο-ιοί παρουσιάζουν περιορισμένη εξάπλωση που καθορίζεται από το φυσικό φορέα, αλλά σαν ομάδα έχουν παρατηρηθεί στα περισσότερα μέρη του κόσμου. Έχουν επίσης μεταδοθεί με μολυσμένο σπόρο και φυτικό υλικό.

#### 1.2. ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΦΟΡΕΙΣ

Μετάδοση με ελεύθερα εκτοπαράσιτα, νηματώδεις που ζουν στο έδαφος (είδη του γενών *Longidorus* και *Xiphinema*) και τρέφονται σε ρίζες φυτών. Μετά την απόκτηση του ιού, οι νηματώδεις διατηρούν την ικανότητα μετάδοσης του για αρκετές εβδομάδες (*Longidorus* spp.), ή μήνες (*Xiphinema* spp.), αλλά σταματούν να τον μεταδίδουν μετά την έκδυση. Οι ιοί δεν πολλαπλασιάζονται μέσα στους φορείς τους και δεν υπάρχει μετάδοση των ιών με αυγό. Τα ισωμάτια των ιών σχετίζονται με ιδιαίτερες θέσεις στην περιοχή του πρόσθιου πεπτικού συστήματος, στον αυλό του στιλέτου και στον οδηγό δακτύλιο ή στην επένδυση της επιδερμίδας του οισοφάγου.

Η εξειδίκευση της σχέσης μεταξύ των νερο-ιών και των φορέων τους φαίνεται να εξαρτάται από τις ιδιότητες των πρωτεϊνών των ισωματίων.



### 1.3. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ

Οι ασθένειες οι οποίες προκαλούνται από τους νερο-ιούς εμφανίζονται κατά μπαλώματα (κηλίδες) στον αγρό δείχνοντας την οριζόντια εξάπλωση των νηματώδων - φορέων στο έδαφος. Οι νηματώδεις μεταναστεύουν αργά στο έδαφος και αντίθετα από τους εναέριους φορείς, μπορούν να μεταφέρουν τους ιούς στις καλλιέργειες μόνο σε γειτονικές περιοχές. Διάδοση ιών παρουσιάζεται με μολυσμένο πολλαπλασιαστικό υλικό, με μολυσμένο σπόρο ή γύρη καλλιεργουμένων φυτών και ζιζανίων - ξενιστών. Σε μερικούς ξενιστές το ποσοστό των μολυσμένων σπόρων, συχνά υπερβαίνει το 50%.

Η επιβίωση στους σπόρους είναι επίσης ένα σημαντικό μέσο παραμονής των ιών στους αγρούς, ειδικά στον ιό της δακτυλιωτής κηλίδωσης του βατόμουρου (*Raspberry ringspot virus, RRV*) και τον ιό των μαύρων δακτυλίων της τομάτας (*Tomato black ring virus, TBRV*). Έδαφος με πρόβλημα από τους ιούς αυτούς συνήθως περιέχει πολλούς σπόρους ζιζανίων ξενιστών.

### 1.4. ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΙΣΤΟΥΣ

Οι *Nepovirus* προσβάλλουν όλα τα μέρη των μολυσμένων φυτών, μεταξύ αυτών η γύρη, ο σπόρος και τα κορυφαία μεριστώματα. Αρχικά όταν προσβάλλεται ένας ιστός, συνήθως εμφανίζει μια αντίδραση <<shock>>, αλλά στα φύλλα που προσβάλλονται μεταγενέστερα, τα συμπτώματα είναι λιγότερο εμφανή ή απόντα και τότε λέμε ότι ο ιός βρίσκεται σε λανθάνουσα κατάσταση. Πολυετή φυτά μπορεί να δείξουν αυτήν την αλληλουχία συμπτωμάτων κάθε χρόνο. Πολλά φυτά μολυσμένα διαμέσου του σπόρου δεν παρουσιάζουν συμπτώματα, δηλαδή ο ιός βρίσκεται σε λανθάνουσα κατάσταση.

Πολλοί *neponivirus* όπως ο ιός του μωσαικού του *Arabidopsis* (*Arabidopsis mosaic virus*, AMV) και ο ιός της δακτυλιωτής κηλίδωσης του βατόμουρου (*Raspberry ringspot virus*, RRV) επιφέρουν τη δημιουργία κενοδομικών, μεμβρανικών, έγκλειστων σωματιδίων που περιέχουν ριβοσώματα, στο κυτόπλασμα των μολυσμένων κυττάρων, συχνά κοντά στον πυρήνα. Ισοσώματα των ιών του καρουλιάσματος των φύλλων της κερασιάς (*Cherry leaf roll virus*, CLRV), της δακτυλιωτής κηλίδωσης της φράουλας (*Strawberry latent ringspot virus*, SLRV), του μολυσματικού εκφυλισμού της αμπέλου (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV) και της δακτυλιωτής κηλίδωσης του βατόμουρου (*Raspberry ringspot virus*, RRV) εμφανίζονται μέσα στους μεμβρανικούς σωληνίσκους οι οποίοι μπορεί να περνούν διαμέσου των απολήξεων του κυτταρικού τοιχώματος, αναπτυσσόμενοι από τα πλασμοδέσματα. Με τον SLRV, οι σωληνίσκοι είναι με διπλό τοίχωμα και επίσης εμφανίζονται στα έγκλειστα σωματίδια. Ισοσώματα AMV εμφανίζονται σε σφαιρικές ομάδες στο κυτόπλασμα.

### 1.5. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΙΟΣΩΜΑΤΙΩΝ

Ο όρος *Neponivirus* προέρχεται από τις αρχικές συλλαβές των λέξεων *nematode*, *polyhedral* και τη λέξη *virus* (νηματώδης + πολυεδρικός + ιός), που υποδηλώνει ιούς ισοδιαμετρικούς που μεταδίδονται με νηματώδεις της οικογένειας *Longidoridae* των γενών *Xiphinema* και *Longidorus*.

Οι *Neponivirus* διαθέτουν τρία είδη εικοσαεδρικών σωματιδίων, T (top = ανώτερο), M (middle = μεσαίο) και B (bottom = κατώτερο), που αντιστοιχούν σε διάφορους συντελεστές καθίζησης\*.

\* Ο συντελεστής καθίζησης εκφράζει την ταχύτητα μετατόπισης σε εκατομμυριοστά / sec ενός μακρομορίου όταν υφίσταται δύναμη 1 Din και σημειώνεται ως  $S \times 10^{-13}$ .

Οι καλά μελετημένοι Νερονίγυς έχουν πολυπεπτίδιο με Μ.Β (μοριακό βάρος) 55000 ds, μεγαλύτερο από εκείνα άλλων μικρών ισοδιαμετρικών ιών.

Τα πρωτεϊνικά καψίδια είναι πιθανόν T=1 εικοσαεδρικές κατασκευές, που περιέχουν 60 από αυτά τα μόρια. Στους περισσότερους Νερονίγυς, οι πρωτεϊνικές υπομονάδες σχηματίζουν σταθερά σωματίδια τύπου T στερούμενα RNA, υποδηλώνοντας ότι το καψίδιο είναι κυρίως σταθεροποιημένο από πρωτεϊνικούς δεσμούς. Σε μερικούς Νερονίγυς όμως, το T σωματίδιο είναι απόν ή καταστρέφεται εύκολα κατά τις διαδικασίες κάθαρσης, δείχνοντας ότι το RNA σ' αυτούς τους ιούς τουλάχιστον, μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στη σταθεροποίηση των ιοσωματίων.

Οι Νερονίγυς περιέχουν μονόκλωνο RNA. Όλοι έχουν 2 κύρια μόρια RNA-1, με Μ.Β. (μοριακό βάρος)  $2,4 \times 10^6$  ds και RNA-2, με Μ.Β. από  $1,4 \times 10^6$  -  $2,2 \times 10^6$  ds. Τα ιοσωμάτια που περιέχουν RNA-1 είναι σωματίδια τύπου Β και έχουν συντελεστή καθίζησης από 120 - 130 S. Τα ιοσωμάτια που περιέχουν RNA-2 (σωματίδιο τύπου Μ) έχουν συντελεστή καθίζησης από 90 - 120 S και εξαρτάται από το Μ.Β. του RNA. Ιοί που περιέχουν RNA-2 με Μ.Β.  $1,4 \times 10^6$  ds παράγουν επίσης ένα δεύτερο τύπο σωματιδίου Β που περιέχει δύο μόρια RNA-2.

Σωματίδια T, Μ και Β των AMV και SLRV διαφέρουν κάπως στη συμπεριφορά κατά την ηλεκτροφόρηση.

## 1.6. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΕΝΩΜΑΤΟΣ

Οι Νερονίγυς χρειάζονται και το RNA-1 και το RNA-2 για να προκαλέσουν μόλυνση. Στον ιό της δακτυλιωτής κηλίδωσης του καπνού (Tobacco ringspot virus, TobRV), λίγο ή καθόλου, από τη νουκλεοτιδική αλληλουχία ένα από τα είδη RNA εμφανίζεται και στην άλλη. Ψευδοανασυνδυαζόμενες απομονώσεις (RRV και TBRV) μπορούν να παραχθούν από μια

διαφορετική, αλλά στενά σχετιζόμενη φυλή. Αυτές παράγονται λιγότερο εύκολα, όταν οι *Nepovirus* δεν είναι ορολογικά στενά σχετιζόμενοι, ενώ δεν παράγονται καθόλου, όταν δεν σχετίζονται καθόλου. Στους RRV και TBRV, το RNA-1 μεταφέρει τους καθοριστικούς παράγοντες για το εύρος των ξενιστών, τη μεταδοτικότητα με το σπόρο και το είδος του συμπτώματος, ενώ το RNA-2 μεταφέρει τους καθοριστικούς παράγοντες για άλλες αντιδράσεις συμπτωμάτων, ορολογική εξειδίκευση και μεταδοτικότητα από νηματώδεις. Η μολυσματικότητα εξαρτάται και από τα δύο είδη RNA.

### 1.7. ΔΟΡΥΦΟΡΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Αναφέρονται στους TobRV, TBRV, RRV και ιό της λανθάνουσας δακτυλίωσης της *Myrobalan* (*Myrobalan latent ringspot virus*, MLRV). Κάθε δορυφορικό RNA αναδιπλασιάζεται μόνο σε κύτταρα μολυσμένα, με το δικό του <<βοηθητικό>> ιό και παράγεται όταν περιέχεται στο μόλυσμα. Τα μόρια του δορυφορικού RNA πακετάρονται στα καψίδια της πρωτεΐνης του <<βοηθητικού>> ιού. Στον TobRV, το δορυφορικό RNA έχει M.B.  $0,9 \times 10^5$  ds. Η παρουσία του στις καλλιέργειες προκαλεί διάφορους τύπους συμπτωμάτων, η σύνθεσή του επικρατεί αυτής των RNA και του <<βοηθητικού>> ιού και τα νουκλεοπρωτεϊνικά ισωμάτια που παράγονται έχουν το κάθε ένα 12-25 μόρια δορυφορικού RNA. Στους TBRV και MLRV το δορυφορικό RNA έχει από M.B. περίπου  $5 \times 10^5$  ds, δεν επηρεάζει τα συμπτώματα και παράγεται σε σχετικά μικρές ποσότητες.

### 1.8. ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΕΣΑ ΣΤΗΝ ΟΜΑΔΑ

Υποομάδες βασισμένες σε ορολογικές σχέσεις φαίνονται στον Πίνακα 9 που ακολουθεί. Οι ιοί κατατάσσονται σε ομάδες

με βάση το M.B. των RNA-2 όπως ακολουθεί: α) Μοριακό βάρος  $1,4-1,5 \times 10^6$  ds, μερικά συστατικά Β των ισσωματίων περιέχουν 2 μόρια: RRV, TobRV και AMV υποομάδες, β) Μοριακό βάρος  $1,5-1,6 \times 10^6$  ds, ένα μόριο ανά ισσωμάτιο: TBRV, ιός της νέκρωσης του κακάο (Cacao necrosis virus, CNV), ιός του κίτρινου χρωμίου του μωσαικού της αμπέλου (Grapevine chrome mosaic virus, GCMV) και ιταλικός λανθάνων ιός της αγκινάρας (Artichoke Italian latent virus, AILV), γ) Μοριακό βάρος μεγαλύτερο από  $1,6 \times 10^6$  ds, ένα μόριο ανά ισσωμάτιο: TomRV, ιός του μωσαικού με ροζέτα της ροδακινιάς (Peach rosette mosaic virus, PRMV) και ιός του καρουλιάσματος των φύλλων της κερασιάς (Cherry leaf roll virus, CLRV). Τελικά η ομάδα Neronivirus μπορεί να χωριστεί σε 2 τμήματα σύμφωνα με το γένος των νηματωδών φορέων (Πίνακας 9).

### 1.9. ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΣΕ ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕΛΗ

SLRV: δεν διαθέτει Μ σωματίδιο και η καψιδιακή πρωτεΐνη συνίσταται από 2 πολυπεπτιδικά είδη (M.B. 20000 και 44000 ds), αλλά ο ιός μοιάζει με τους Neronivirus όσον αφορά τη μεταδοτικότητα με νηματώδεις και σπόρο, το ευρύ φάσμα ξενιστών, τη σταθερότητα των ισσωματίων και τον αριθμό RNA του γενώματος.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9. Τυπικά και πειραματικά μέλη της ομάδας Neronivirus.

| Ιός  | Κύριος φυσικός ζενιστής | Συντελεστές καθίζησης | M.B. RNA προσεγγιστικά (X10 <sup>6</sup> ) |     |
|--|-------------------------|-----------------------|--|-----|
|  |                         |                       | 1  | 2   |
| Α. Τυπικά μέλη   |                         |                       |  |     |
| Ιός των μαύρων δακτυλίων της τομάτας (Tomato black ring, TBRV) υποομάδα + TBRV, φυλή του μπουκέτου της πατάτας (potato bouquet strain) | <i>L. attenuatus</i>    | 55, 97, 121           | 2,5  | 1,5 |
| TBRV, φυλή της δακτυλιωτής κηλίδωσης του τεύτλου (beet ring spot strain)   | <i>L. elongatus</i>     | 55, 97, 121           | 2,5  | 1,5 |
| Νέκρωση του κακάο (Cacao necrosis, CNV)  | Άγνωστος                | 54, 101, 129          |  |     |
| Ιός του κίτρινου χρωμίου του μωσαικού της αμπέλου (Grapevine chrome mosaic, GCMV)  | Άγνωστος                | -, 92, 117            |  |     |
| Ιός της λανθάνουσας δακτυλίωσης του Myrobalan (Myrobalan latent ringspot, MLRV)  | Άγνωστος                | -, 105, 115           | 2,6  | 1,9 |
| Ιταλικός λανθάνων ιός της αγγινάρας (Artichoke Italian latent, AILV)   | <i>L. apulus</i>        | 55, 96, 121           | 2,4  | 1,5 |

|  |                   |             |  |  |
|--|-------------------|-------------|--|--|
| Δακτυλιωτή κηλίδωση της μουριάς (Mulberry ringspot, MRV) | <i>L. martini</i> | 50, 96, 126 |  |  |
|--|-------------------|-------------|--|--|

Συνέχεια ΠΙΝΑΚΑ 9.

| Ιός  | Κύριος φυσικός ξενιστής   | Συντελεστές καθίζησης | Μ.Β. RNA προσεγγιστικά (X10 <sup>6</sup> ) |        |
|--|---------------------------|-----------------------|--|--------|
|  |                           |                       |  |        |
| Δακτυλιωτή κηλίδωση του βατόμουρου (Raspberry ringspot, MRV)<br>RRV, τυπική φυλή<br>RRV, Αγγλική φυλή  | <i>L. elongatus</i>       | 50, 91, 125           | 2,4  | 1,4    |
|  | <i>L. macrosoma</i>       | 50, 91, 125           | 2,4  | 1,4    |
| Δακτυλιωτή κηλίδωση του καπνού (Tobacco ringspot, RRV), υποομάδα<br>TobRV, τυπική φυλή<br>TobRV, φυλή της ποικιλόχρωσης του eucharis (eucharis mottle strain)<br>Μαύρη δακτυλιωτή κηλίδωση της πατάτας (Potato black ringspot, PBRV) | <i>X. americanum</i>      | 53, 91, 126           | 2,4  | 1,4    |
|  | Άγνωστος                  | - , - , -             | 2,4  | 1,4    |
|  | Άγνωστος                  | 49, 88, 117           | 2,5  | 1,5    |
| Ιός του μωσαικού του Arabis (Arabis mosaic, AMV), υποομάδα<br>AMV, τυπική φυλή<br>Μολυσματικός εκφυλισμός της αμπέλου (Grapevine fanleaf, GFLV)  | <i>X. diversicaudatum</i> | 53, 93, 126           | 2,4  | 1,4    |
|  | <i>X. index</i>           | 50, 86, 120           | 2,4  | 1,4    |
| Δακτυλιωτή κηλίδωση της τομάτας (Tomato ringspot, TomRV)   | <i>X. americanum</i>      | 53, 119, 127          | 2,3  | c. 2,2 |

Συνέχεια ΠΙΝΑΚΑ 9.

| Ιός   | Κύριος φυσικός<br>ξενιστής                  | Συντελεστές<br>καθίζησης | M.B. RNA<br>προσεγγιστικά<br>(X10 <sup>6</sup> ) |     |
|---|---|--------------------------|--|-----|
|   |   |                          |  |     |
| Ιός του μωσαικού<br>με ροζέτα της<br>ροδακινιάς (Peach<br>rosette mosaic,<br>PRMV)                    | <i>X. americanum</i>                        | 52, 115, 134             |  |     |
| Καρούλιασμα των<br>φύλλων της<br>κερασιάς (cherry<br>leaf roll, CLRV)                                 | <i>X. diversicaudatum</i><br><i>X. coxi</i> | -, 115, 128              | 2,4  | 2,1 |
|   |   |                          |  |     |
| Β. «Πειραματικά»<br>μέλη  |   |                          |  |     |
| Λανθάνων ιός της<br>δακτυλιωτής<br>κηλίδωσης της<br>φράουλας<br>(Strawberry latent<br>ringspot, SLRV) | <i>X. diversicaudatum</i><br><i>X. coxi</i> | 58, -, 126               | 2,6  | 1,6 |
| Ιός του πριονωτού<br>φύλλου της<br>κερασιάς (Cherry<br>rasp leaf, CRLV)                               | <i>X. americanum</i>                        | 56, 96, 128              | 2,0  | 1,5 |
| Ιός νέκρωσης της<br>κορυφής της<br>τομάτας (Tomato<br>top necrosis,<br>TTNV)                          | Άγνωστος                                    | 52, 102, 126             |  |     |
| Βουλγαρικός<br>λανθάνων ιός της<br>αμπέλου<br>(Grapevine<br>Bulgarian latent,<br>GBLV)                | Άγνωστος                                    | 52, 120, 127             | 2,2  | 2,1 |



GLRV: έχει ισωμάτια που περιέχουν 2 πολυπεπτιδικά είδη (M.B. 24000 και 22500), αλλά ο ιός μοιάζει στους Neronivirus σε πολλά άλλα χαρακτηριστικά.

Ιός της νέκρωσης της κορυφής της τομάτας (Tomato top necrosis virus, TTNV): επιφανειακά μοιάζει με τους Neronivirus αλλά ο φορέας, το πολυπεπτίδιο, το M.B. και το M.B. του RNA δεν είναι γνωστά.

Βουλγαρικός λανθάνων ιός της αμπέλου (Grapevine Bulgarian latent virus, GBLV): έχει ένα απλό πολυπεπτίδιο και 2 είδη RNA μοριακού βάρους που μοιάζει με εκείνο των Neronivirus, αλλά δεν είναι γνωστό αν μεταδίδεται με νηματώδεις ή με σπόρο.

## 1.10 ΟΜΟΙΟΤΗΤΕΣ ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΟΜΑΔΕΣ

Οι ιοί με στενότερες ομοιότητες με τους Neronivirus είναι: ο ιός του μαρασμού του κουκιού (Broadbean wrinkling virus, BBWV) και οι Comovirus. Ο BBWV διαφέρει από τους Neronivirus, στο ότι μεταδίδεται με αφίδες και όχι με νηματώδεις ή σπόρο και στο ότι έχει 2 πολυπεπτίδια M.B. 26000 και 42000 ds. Οι Comovirus μεταδίδονται με σκαθάρια και ίσως όχι με νηματώδεις. Διαφέρουν επίσης από τους Neronivirus, στο ότι έχουν στενότερα φάσματα ξενιστών, δεν προκαλούν συμπτώματα δακτυλιωτής κηλίδωσης, εμφανίζονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο χυμό και κάθε ένα έχει πολυπεπτίδιο από M.B. περίπου 25000 και 44000 ds.

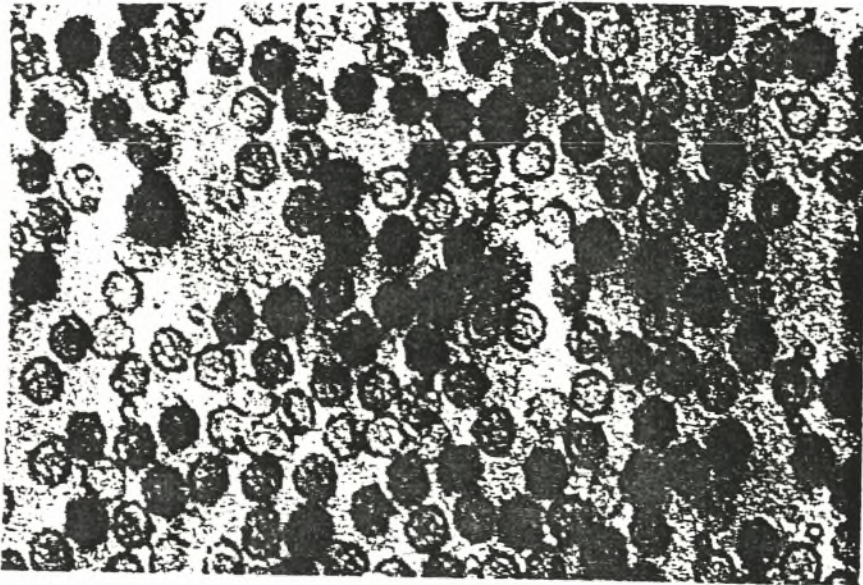
## 2. ΝΕΡΟΝΙΡΟΥΣ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

Από τα 36 τυπικά και <πειραματικά>> μέλη του γένους Neronivirus, 13 έχουν συσχετιστεί άμεσα με το μολυσματικό

εκφυλισμό και την παρακμή της αμπέλου. Μολονότι και οι 13 *Nepovirus* της αμπέλου διαθέτουν ισοδιαμετρικά σωματίδια με διάμετρο περίπου 30 nm και δισυστατικό γένωμα δύο λειτουργικών ssRNA εμφανίζουν μεταξύ τους μεγάλες διαφορές στα φυσικοχημικά, υδροδυναμικά και ορολογικά χαρακτηριστικά, στη γεωγραφική εξάπλωση, στο εύρος των φυσικών ξενιστών, στο είδος του νηματώδη φορέα και στα άλλα μέσα φυσικής διασποράς.

Οι ιοί αυτοί απαρτίζονται, συνήθως, από τρία είδη ισομετρικών σωματιδίων που αντιστοιχούν σε τρεις κλάσεις καθίζησης: T (top = ανώτερη), M (middle = μεσαία) και B (bottom = κατώτερη) (Εικόνα 2) , με συντελεστές καθίζησης 50, 90-120 και 120-130 S, αντίστοιχα.

ΕΙΚΟΝΑ 4. Σωματίδια *Nepovirus* της κλάσης T “κενά” και των κλάσεων M και B “γεμάτα”.



Τα ισωμάτια T αποτελούνται από κενά καψιδιακά κελύφη, δομημένα με ένα πολυπεπίδιο M.B. 55000 ds, δηλαδή δεν περιέχουν νουκλεικό οξύ. Τα ισωμάτια M περιέχουν ένα μόριο RNA-1 με M.B.  $1,4-2,2 \times 10^6$  ds, που αποτελεί το 27-46% του βάρους του σωματιδίου. Εντούτοις, ένας από τους 12 καλά μελετημένους Νερονίγους της αμπέλου συγκροτεί το πρωτεϊνικό καψίδιο με δύο διαφορετικού μοριακού βάρους πολυπεπίδια και τέσσερα άλλα ετερογενή σωματίδια στην κλάση B, επειδή περικλείουν είτε ένα μόριο RNA-2, είτε δύο μόρια RNA-1. Στη συνέχεια παρατίθενται για κάθε ένα από τους 12 γνωστούς Νερονίγους της αμπέλου, ορισμένα χρήσιμα φυσικοχημικά και ορολογικά χαρακτηριστικά (Πίνακας 10).

ΠΙΝΑΚΑΣ 10. Ταξινόμηση των 12 Νερονίγους της αμπέλου με βάση τα φυσικο-χημικά και ορολογικά χαρακτηριστικά.

A. Φυσικο-χημικά χαρακτηριστικά.

| Πρωτεϊνικό καψίδιο από ένα πολυπεπίδιο   |  | Πρωτεϊνικό καψίδιο από δύο πολυπεπίδια |
|--|--|--|
| Ομοιογενή σωματίδια B<br>(ένα μόριο RNA-1)   | Ετερογενή σωματίδια B<br>(ένα μόριο RNA-2 ή δύο μόρια RNA-1) |  |
| RNA-2 με MB      RNA-2 με<br>MB<br>-1,5X10 <sup>6</sup> ds<br>2,05X10 <sup>6</sup> ds        | ArMV<br>GFLV<br>RRV<br>TobRSV                                | SLRV                                   |
| BBLMV<br>AILV*                      GBLV<br>GCMV                      PRMV<br>TBRV<br>TomRSV |  |  |

## B. Ορολογικά χαρακτηριστικά

| Ορολογικές ομάδες |      |     |      |           |       |        |      |      |
|-------------------|------|-----|------|-----------|-------|--------|------|------|
| 1n                | 2n   | 3n  | 4n   | 5n        | 6n    | 7n     | 8n   | 9n   |
| ArMV              | TBRV |     |      | BBLM      |       |        |      |      |
| GFLV              | GCMV | RRV | SLRV | V<br>GBLV | TbRSV | TomRSV | AILV | PRMV |

### 2.1. ΝΕΡΟΝΙΡΟΥΣ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ ΣΤΗΝ ΠΑΛΑΙΑ ΗΠΕΙΡΟ (Ευρώπη και μεσογειακές χώρες)

#### 1. Grapevine fanleaf virus GFLV (Μολυσματικός εκφυλισμός)

##### Εξάπλωση

Είναι ο πλέον σπουδαίος και διαδομένος Νερονίρουσ (πολυεδρικοί ιοί, με σωματίδια διαμέτρο 30 nm, που μεταδίδονται με νηματώδεις) του αμπελιού. Ανάλογα με τη φυλή του ιού διακρίνουμε τις ακόλουθες τρεις συμπτωματολογικές εικόνες: ριπιδοειδούς φύλλου (fanleaf), κίτρινο μωσaiκό (yellow mosaic) και περινεύριος μεταχρωματισμός (vein banding). Η πρώτη όμως φυλή είναι πιο διαδεδομένη σε ποσοστό 90% των περιπτώσεων, ενώ οι άλλες δύο καλύπτουν το υπόλοιπο 10%.

##### Ξενιστές

Ο GFLV ξενίζεται στα φυτά των οικογενειών Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Leguminosae, Solanaceae κ.α. (σε περιβάλλον εργαστηρίου) και το γένος *Vitis* (στη φύση ο GFLV ξενίζεται αποκλειστικά στα είδη του γένους *Vitis*).

##### Κύρια συμπτώματα

α) Στις κλιματίδες μπορεί να παρατηρηθούν:

α<sub>1</sub>) διπλοί κόμβοι, βραχυγονάτωση (μικρά μεσογονάτια διαστήματα, συνήθως σε διάταξη ζικ - ζακ),

α<sub>2</sub>) ανισογονάτωση (διαδοχή μικρών και μεγάλων μεσογονάτιων διαστημάτων), ..

α<sub>3</sub>) διχάλωση.

Τα συμπτώματα αυτά όμως δεν θεωρούνται τυπικά του ιού του μολυσματικού εκφυλισμού, γιατί ορισμένα μπορεί να προκληθούν και από άλλους ιούς της ίδιας κατηγορίας (Nero) ή άλλης ή από διάφορες άλλες αιτίες. Ακόμη και σε υγιή πρέμνα μπορεί να παρατηρηθούν διπλοί κόμβοι ή βραχυγονάτωση. Σε αρκετές ποικιλίες η παρουσία βραχυγονάτωσης ή διπλών κόμβων, θεωρείται σαν γενετικό χαρακτηριστικό που κληρονομείται.

β) Στα φύλλα εμφανίζονται διάφοροι τύποι μωσαικών και παραμορφώσεων όπως:

β<sub>1</sub>) ασυμμετρία του ελάσματος,

β<sub>2</sub>) ανώμαλη ανάπτυξη του δικτύου των νευρώσεων, ώστε το φύλλο να εμφανίζεται σαν διπλό.

γ) Στους βότρες μπορούν να παρατηρηθούν:

γ<sub>1</sub>) αραιορραγία, ανισορραγία, μικρορραγία. Αυτά είναι αποτελέσματα και της μη ή της ατελούς γονιμοποίησης των ανθέων. Τα συμπτώματα αυτά όμως μπορεί να προκληθούν και από άλλους ιούς ή ακόμη και από άλλες αιτίες, όπως από δυσμενείς κλιματολογικές συνθήκες, τροφικές ανωμαλίες, γενετικά αίτια κ.α.

γ<sub>2</sub>) δεσμίωση του κεντρικού άξονα της ταξιανθίας. Σε αντίθεση με τα υγιή πρέμνα, στα ασθενή, ο κεντρικός άξονας της ταξιανθίας μπορεί να είναι και μεγαλύτερος,

γ<sub>3</sub>) εσωτερικά συμπτώματα. Εμφάνιση κορδονιών στα μεσογονάτια διαστήματα, όπου συχνά παρατηρούνται με το μικροσκόπιο.

### Μετάδοση

Ο ιός του μολυσματικού εκφυλισμού μεταδίδεται από το έδαφος με το νηματώδη *Xiphinema index* (ο οποίος φαίνεται ότι προσλαμβάνει τον ιό έπειτα από 15 λεπτά τροφικής επαφής με τις ρίζες του μολυσμένου πρέμνου και όταν χρησιμοποιήθηκε ένας μεγάλος αριθμός νηματώδων, 5 λεπτά ήταν αρκετά για να γίνει στη συνέχεια η μετάδοση), ενώ μετάδοση με το *Xiphinema italiae* που αναφέρθηκε στο Ισραήλ

δεν επιβεβαιώθηκε. Επίσης, ο GFLV μεταδίδεται μέσω μολυσμένων κλιματίδων και ριζωμάτων. Στο εργαστήριο ο ιός μπορεί να μεταδοθεί με μηχανική μετάδοση από μολυσμένους ιστούς αμπελιού σε ποικίλους βοτανικούς ξενιστές π.χ. *Chenopodium quinoa* ή *Chenopodium amaranticolor* και είδη των οικογενειών των οποίων είναι ξενιστής. Ο ιός μεταδίδεται επίσης με τους σπόρους των *Chenopodium quinoa* και *Chenopodium amaranticolor*, στο περιβάλλον του εργαστηρίου, καθώς επίσης και με σπόρο του *Vitis*, αλλά στερείται επιδημιολογικής σημασίας.

## 2. Strawberry latent nepovirus (SLRV)

(Ιός της λανθάνουσας δακτυλίωσης της φράουλας)

### Εξάπλωση

Ο ιός έχει επισημανθεί σε αμπέλια της Γερμανίας, Β. Ιταλίας, Τουρκίας, Πορτογαλίας.

### Ξενιστές

Αρκετά αυτοφυή και καλλιεργούμενα είδη κυρίως πολυετή ( φράουλα, σμέουρο, κερασιά, ροδακινιά κ.α.).

### Κύρια συμπτώματα

Τα συμπτώματα που εμφανίζονται μοιάζουν με εκείνα του GFLV.

### Μετάδοση

Μεταδίδεται με τον νηματώδη *Xiphinema diversicaudatum* ο οποίος είναι σε θέση να τον μεταδίδει και έπειτα από τρεις μήνες ασυμπτίας.

## 3. Grapevine chrome mosaic nepovirus (GCMV)

(Ιός του μωσαικού χρωμίου της αμπέλου)

### Εξάπλωση

Βρέθηκε για πρώτη φορά στην Ουγγαρία, γι αυτό εξάλλου ονομάζεται και ουγγρικός GCMV. Έχει επίσης

ανιχνευτεί στην Τσεχοσλοβακία και την Κροατία. Δεν έχει επισημανθεί στη χώρα μας.

#### **Ξενιστές**

Αποκλειστικός φυτικός ξενιστής είναι το αμπέλι.

#### **Κύρια συμπτώματα**

Στα φύλλα προκαλεί κίτρινες κηλίδες, φαινόμενο που εμφανίζεται όταν έχουμε και προσβολή από τον GFLV.

#### **Μετάδοση**

Παρόλο που σωματίδια του ιού έχουν παρατηρηθεί στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο στον *Xiphinema index*, πρόσφατες μελέτες που να υποστηρίζουν τη μετάδοσή του δεν υπάρχουν. Τέλος, ο GCMV μεταδίδεται με σπόρους και φυτώρια αμπελιού.

### **4. Artichoke italian latent nepovirus (AILV)**

(Ιταλικός λανθάνων ιός της αγκινάρας)

#### **Εξάπλωση**

Ο ιός AILV έχει βρεθεί σε αμπέλια μόνο στη Βουλγαρία. Η οικονομική του σημασία είναι περιορισμένη.

#### **Ξενιστές**

Έχει βρεθεί στη φύση σε λίγα φυτικά είδη (αγκινάρα, αντίδι, *Pelargonium*, *Papaver*).

#### **Κύρια συμπτώματα**

Τα συμπτώματα που προκαλούνται στα αμπέλια εξαιτίας του AILV είναι όμοια με εκείνα που εμφανίζονται εξαιτίας του GFLV.

#### **Μετάδοση**

Μεταδίδεται με τον νηματώδη *Longidorus apulus*.

**5. Grapevine Bulgarian latent nepovirus (GBLV)**  
(Βουλγαρικός λανθάνων ιός της αμπέλου)

**Εξάπλωση**

Ο GBLV για πρώτη φορά βρέθηκε στην Βουλγαρία όπου είναι αρκετά διαδεδομένος και προσβάλλει αρκετές ποικιλίες. Πρόσφατα μια φυλή αυτού του ιού έχει εμφανιστεί και στην Πορτογαλία όπου περιγράφηκε ως ιός GM 112. Ο GBLV έχει επίσης απομονωθεί σε αμπέλια στην Ουγγαρία και τη Γιουγκοσλαβία.

Ξενιστές: Αμπέλι

**Κύρια συμπτώματα**

Τα συμπτώματα που προκαλούνται εξαιτίας του GBLV μοιάζουν με αυτά που προκαλούνται εξαιτίας του GFLV.

**Μετάδοση**

Φαίνεται ότι ο GBLV μεταδίδεται με το σπόρο του αμπελιού και με το σπόρο του *Chenopodium quinoa*.

**6. Grapevine Tunisian ringspot nepovirus( GTRV)**  
(Ο Τυνησιακός ιός της δακτυλίωσης της αμπέλου)

**Εξάπλωση**

Ο GTRV έχει απομονωθεί πρόσφατα από αμπέλια στην Τυνησία. Δεν σχετίζεται με κανένα από τους γνωστούς Νεποϊρίους που μολύνουν το αμπέλι και έτσι πιθανότα πρόκειται για ένα νέο Νεποϊρίους του αμπελιού.

Ξενιστές: Αμπέλι.

**Μετάδοση**

Είναι ένας ιός που μεταδίδεται με το χυμό των φυτών και με το πολλαπλασιαστικό υλικό της αμπέλου.



## 7. Arabis mosaic perovirus (ArMV)

(Ιός του μωσαικού του Arabis)

### Εξάπλωση

Έχει προσβάλλει αμπέλια στην Α. Γερμανία, τη Β. Γαλλία, τη Σουηδία, την Ιταλία, τη Γιουγκοσλαβία, την Ουγγαρία, το Ισραήλ και την Ιαπωνία (στην τελευταία περίπτωση πρόκειται για αμπέλια που έχουν εισαχθεί στην Ευρώπη).

### Ξενιστές

Ο ArMV στη φύση ξενίζεται σε μεγάλο αριθμό αυτοφυών και καλλιεργούμενων φυτών στην Κ. Ευρώπη, όπως το ζαχαρότευτλο, το σέλινο, το αγγούρι, το τριαντάφυλλο, η ελιά, *Ligustrum*, *Rubus* και *Sambucus*.

### Κύρια συμπτώματα

Τα προσβεβλημένα αμπέλια από τον ArMV εμφανίζουν τα ίδια συμπτώματα με αυτά του GFLV.

### Μετάδοση

Μεταδίδεται στο αμπέλι από τους νηματώδεις *Xiphinema diversicaudatum* και *Xiphinema index*. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο πρώτος νηματώδης είναι σε θέση να μεταδώσει τον ιό και έπειτα από 4 μήνες ασιτίας.

## 8. Tomato black ring perovirus (TBRV)

(Ιός της μαύρης δακτυλίωσης της τομάτας)

### Εξάπλωση

Ο ιός επισημάνθηκε για πρώτη φορά σε αμπέλια της Α. Γερμανίας. Πιο πρόσφατα έχει βρεθεί σε αμπέλια στη Γιουγκοσλαβία, την Ελλάδα και το Ισραήλ.

### Ξενιστές

Ο ιός αυτός έχει αρκετούς φυσικούς ξενιστές μεταξύ των οποίων τα καλλιεργούμενα είδη αγκινάρα, φασόλι, σέλινο, μαρούλι, πατάτα, ροδακινιά, φράουλα, αμπέλι.

**Κύρια συμπτώματα**

Η προσβολή των αμπελιών από τον TBRV έχει αρνητικές επιπτώσεις τόσο στην ανάπτυξη, όσο και στην παραγωγή. Στα φύλλα εμφανίζονται χλωρωτικές κηλίδες και έντονες γραμμώσεις, ενώ στους βλαστούς παρατηρούμε διπλούς κόμπους, βραχυγονάτωση και στα σταφύλια μικρορραγία.

**Μετάδοση**

Φορείς του ιού είναι οι νηματώδεις *Longidorus attenuatus* και *Longidorus elongatus*.

### 9. Raspberry ringspot nepovirus (RRV) (Ιός της δακτυλίωσης του σμέουρου)

**Εξάπλωση**

Ο ιός αυτός έχει βρεθεί σε αμπέλια στην Α. Γερμανία.

**Ξενιστές**

Ο ιός αυτός ξενίζεται σε πολλά καλλιεργούμενα φυτά (σμέουρο, φράουλα, κερασιά, αμπέλι) και άλλα αυτοφυή.

**Κύρια συμπτώματα**

Τα συμπτώματα που εμφανίζονται εξαιτίας του RRV είναι όμοια με εκείνα του GFLV.

**Μετάδοση**

Μεταδίδεται με τους νηματώδεις *Longidorus macrosoma* και *Longidorus alongatus*.

## 2.2 ΝΕΡΟΝΙΡΟΥΣ ΤΗΣ ΝΕΑΣ ΗΠΕΙΡΟΥ

**( Β. Αμερικής)**

1. Tomato ringspot nepovirus-Tom RSV. (Ιός των δακτυλιωδών κηλίδων της τομάτας).
2. Peach rosette mosaic nepovirus PRM. (Ιός του μωσαικού με ροζέτα της ροδακινιάς).
3. Tobacco ringspot nepovirus- TobRSV. (Ιός των δακτυλιωδών κηλίδων του καπνού).

4. Blueberry leaf mottle nepovirus-BBLMV. (Ιός της ποικιλόχρωσης των φύλλων του *Vaccinium*).

#### Κύρια συμπτώματα

Οι συμπτωματολογικές αντιδράσεις των αμπελιών ποικίλουν ανάλογα με τον ιό με τον οποίο προσβλήθηκαν και ανάλογα με τις κλιματολογικές συνθήκες.

Σε ψυχρά κλίματα, τα αμπέλια προσβάλλονται από τους ιούς TomRSV και TobRSV, οι οποίοι εξασθενούν γρήγορα τα πρέμνα, τα οποία παρουσιάζουν καχεκτική ανάπτυξη, ποικιλοχρωμία και παραμόρφωση στα φύλλα και στις κλιματίδες τους.

Σε θερμότερα κλίματα επηρεάζεται η παραγωγή, αλλά όχι και η ποιότητα των καρπών. Τέτοια συμπτώματα μπορούν να προκληθούν από τον PRMV και από τη φυλή του TomRSVV, κίτρινα νεύρα, στην Καλιφόρνια.

Οι ιοί αυτοί προσβάλλουν είτε μεμονωμένα, είτε σε συνδιασμό μεταξύ τους τα αμπέλια της Β. Αμερικής. Ολοι αποτελούνται από ισομετρικά σωματίδια διαμέτρου περίπου 30 nm.

#### Μετάδοση

Οι παραπάνω ιοί μεταδίδονται μηχανικά και με το πολλαπλασιαστικό υλικό. Επίσης μεταδίδονται με νηματώδεις, εκτός από τον BBLMV, του οποίου δεν είναι γνωστός κανένας φορέας, αλλά είναι γνωστό ότι μεταδίδεται με τη γύρη. Συγκεκριμένα, ο TomRSV μεταδίδεται με το νηματώδη *Xiphinema rivesi*.

Ο TobRSV μεταδίδεται με τον *Xiphinema americanum sensu stricto*, ενώ, ο RMV μεταδίδεται με τον *Xiphinema americanum sensu stricto*, με τον *Longidorus diadecturus* και τον *Longidorus elongatus*.

Επίσης οι PRMV, TomRSV και BBLMV μεταδίδονται και με τους σπόρους των σταφυλιών.

#### Ευαισθησία ποικιλιών

Οι διάφορες ποικιλίες αμπελιού αντιδρούν διαφορετικά στην πιθανή προσβολή τους, από τους ιούς αυτής της

κατηγορίας. Έτσι τα υποκείμενα των ποικιλιών *Vitis riparia*, *Vitis rupestris* και *Vitis labrusca* είναι ανθεκτικά ή δείχνουν αντοχή στον TomRSV και τον PRMV, ενώ αυτά της *Vitis labrusca* είναι ανθεκτικά και στον TobRSV.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο

### 1. ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΜΕ ΣΠΟΡΟ

#### 1.1. ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΚΑΙ ΣΠΟΡΟΣ

Η αναπαραγωγή με το σπόρο ο οποίος προέρχεται από προσβλημένα μητρικά φυτά και τα παθογόνα έρχονται σε επαφή με το σπόρο (επάνω ή μέσα) έχει μεγάλη σημασία, τόσο για λόγους επιδημιολογικούς όσο και για λόγους που έχουν σχέση με τις διαδικασίες ανταλλαγής και εισαγωγής υλικού για βελτίωση. Συνήθως, ο μολυσμένος σπόρος δεν εμφανίζει ορατά και ευκρινή συμπτώματα προσβολής, ιδίως όταν τα παθογόνα ευρίσκονται στο εσωτερικό του, έμβρυο και κοτυληδόνες ή ενδοσπέρμιο. Λίγες φορές, η εσωτερική παρουσία του παθογόνου δημιουργεί εμφανή συμπτώματα, όπως ο ιός του μωσαικού της σόγιας (*Soybean mosaic rotynivus*) με αποχρωματισμούς του περιβλήματος.

Από τα ιοειδή μόνο το ιοειδές των ατρακτοειδών κονδύλων της πατάτας έχει αναφερθεί ότι μεταδίδεται με το βοτανικό σπόρο της πατάτας και μάλιστα σε σημαντικά ποσοστά.

Τα βακτήρια που σχετίζονται με το σπόρο δεν είναι πολυάριθμα (είδη *Xanthomonas* και *Pseudomonas* κυρίως) και συνήθως φιλοξενούνται εξωτερικά του εμβρύου ή επιμολύνουν το περίβλημα.

Αντίθετα, οι μύκητες που φέρονται στο σπόρο είναι πολυάριθμοι, μολονότι τα σπόρια ή το μυκήλιο είναι στην πλειονότητα των περιπτώσεων προσκολλημένα στο περίβλημα.

## 2. ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΩΝ ΙΩΝ ΜΕ ΣΠΟΡΟ

### 2.1. ΓΕΝΙΚΑ

Παρόλο που οι ιοί προσβάλλουν το βλαστικό μέρος των φυτών ξενιστών τους, συμπεριλαμβανομένου του αγενούς φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού, οι περισσότεροι σπόροι των μολυσμένων φυτών είναι <<ελεύθεροι>> από ιούς, γιατί η μετάδοση με σπόρο δεν είναι συνηθισμένος τρόπος μετάδοσης των ιών.

Σχετικά νωρίς, μερικοί ιοί βρέθηκε να είναι ικανοί να μεταφέρονται στους απογόνους μέσου του σπόρου, όπως διαπιστώθηκε για το μωσαικό της τομάτας (Tomato mosaic virus) στην τομάτα, τον ιό του κοινού μωσαικού του φασολιού (Bean common mosaic virus, BCMV), τον ιό του μωσαικού του αγγουριού (Cucumber mosaic virus, CMV) στο άγριο αγγούρι (*Enchinocystis lobata*), τον ιό του μωσαικού του μαρουλιού στο μαρούλι (Lettuce mosaic virus, LMV) και τον ιό του μωσαικού της σόγιας στη σόγια (Soybean mosaic virus, SMV), αλλά αυτές οι περιπτώσεις φαίνεται να είναι η εξαίρεση παρά ο κανόνας. Τα τελευταία χρόνια όμως, ο αριθμός των αναφορών σε ιούς που μεταδίδονται με το σπόρο έχει αυξηθεί ιδιαίτερα. Στην ανασκόπηση του Phatak (1974) αναφέρονται 85 ιοί που μεταδίδονται σίγουρα με το σπόρο των ξενιστών τους.

Σήμερα, η μετάδοση των φυτικών ιών με σπόρο παίζει πολύ σπουδαίο ρόλο στην επιδημιολογία και οικολογία των ιώσεων των καλλιεργειών. Προφανώς, τα φυτά που έχουν προέλθει από μολυσμένο σπόρο υφίστανται τις επιπτώσεις της μόλυνσης. Επιπλέον, τα μολυσμένα φυτάρια μπορούν να λειτουργήσουν σαν τυχαίες σκόρπιες πηγές μόλυνσης σε ένα φυτεμένο αγρό, από όπου το παθογόνο μπορεί να απλωθεί προκαλώντας μεγάλης κλίμακας μόλυνση στην καλλιέργεια και έτσι να διαιωνίζεται η μόλυνση από τη μια εποχή στην άλλη. Ο μολυσμένος σπόρος επίσης επιτρέπει τη μεταφορά των ιών σε μακρινές αποστάσεις αυξάνοντας τη διασπορά

της ασθένειας. Έτσι, η μεταφορά των ιών με το σπόρο είναι τεράστιας οικονομικής σημασίας.

## 2.2. ΠΟΣΟΣΤΑ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

Τα ποσοστά της μετάδοσης ιών με το σπόρο ποικίλουν αξιόσημείωτα και εξαρτώνται από τον ιό και τη φυλή του, από το είδος των ξενιστών και των καλλιεργειών, από τις συνθήκες, το χρόνο μόλυνσης και τον τύπο του σπόρου.

Για τον ιό του κοινού μωσαικού του φασολιού (*Bean common mosaic virus*), βρέθηκε ότι το 50% των φυταρίων από σπόρους μολυσμένων φυτών έδειξαν συμπτώματα. Τα μετέπειτα δημοσιευμένα στοιχεία σχετικά με αυτόν τον ιό ποικίλουν, αναφέροντας τις μολύνσεις να φτάνουν σχεδόν το 94% των σπόρων από μολυσμένα φυτά φασολιού. Κανονικά τα ποσοστά μολύνσεων για τους άλλους σπορομεταδιδόμενους ιούς είναι πολύ χαμηλότερα. Η μετάδοση με το σπόρο του ιού του μωσαικού του μαρουλιού (*Lettuce mosaic virus*) στο μαρούλι, συνήθως ανέρχεται σε ποσοστό 3,1%, αλλά μπορεί να ποικίλει μεταξύ 0,21 - 14,18%, αν οι σπόροι έχουν συγκομιστεί από έντονα μολυσμένα φυτά. Ένα παράδειγμα πολύ χαμηλής μετάδοσης με σπόρο είναι αυτό του ιού του μωσαικού του ζαχαροκάλαμου (*Sugarcane mosaic virus*) στο καλαμπόκι με ποσοστό 0,1 - 0,4%. Φυσικά, τα ποσοστά της μόλυνσης μπορεί να είναι ιδιαίτερα χαμηλά στις εμπορικές παρτίδες του σπόρου γιατί έχουν συγκομιστεί από καλλιέργειες που έχουν μερικώς επηρεαστεί από τη μόλυνση.

Οι Athow και Bancroft το 1959 βρήκαν ιδιαίτερα υψηλά ποσοστά μόλυνσης στη σόγια μέχρι και 100% από τον ιό της δακτυλιωτής κηλίδωσης του καπνού (*Tobacco ringspot virus*). Σήμερα είναι γνωστό ότι τέτοια υψηλά ποσοστά μετάδοσης σε πολλούς αυτοφυείς και καλλιεργούμενους ξενιστές δεν είναι ασυνήθιστα για σπορομεταδιδόμενους ιούς που ταυτόχρονα μεταδίδονται στο έδαφος με νηματώδεις.

### 2.3. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΤΑ ΦΥΤΑΡΙΑ

Η δεικνύση των ιών διαμέσου του σπόρου προϋποθέτει ότι ο μολυσμένος σπόρος είναι βιώσιμος. Στην πραγματικότητα δεν υπάρχουν πολλές πληροφορίες για τις επιπτώσεις των ιών στην ποιότητα του σπόρου. Παρόλα αυτά οι αναφορές δείχνουν ότι η βιωσιμότητά του δεν επηρεάζεται όπως π.χ. στο σπόρο του φασολιού με τον ιό του κοινού μωσαικού του φασολιού (Bean common mosaic virus, BCMV).

Ο Bennett (1969) υποστηρίζει ότι η εκδήλωση συμπτωμάτων στα νεαρά φυτάρια ποικίλει ανάλογα με τον ιό και το φυτό ξενιστή. Με τους περισσότερους ιούς που μεταδίδονται και με τους νηματώδεις, τα μολυσμένα φυτάρια συνήθως έχουν φυσιολογική εμφάνιση. Ο Bennett (1969) συνοψίζει ότι τα φυτάρια από μολυσμένους σπόρους είναι πιθανόν να δείξουν συμπτώματα όμοια με εκείνα που παρουσιάζουν τα μητρικά φυτά σε ένα χρόνιο στάδιο της ασθένειας.

### 2.4. ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΑΠΟ ΤΗ ΜΙΑ ΕΠΟΧΗ ΣΤΗΝ ΑΛΛΗ

Όταν δεν υπάρχουν εναλλακτικοί ξενιστές για έναν ιό και το φυτικό είδος - ξενιστής διαχειμάζει με τη μορφή σπόρου, τότε η δεικνύση με σπόρο είναι ο μόνος τρόπος επιβίωσης του ιού από τη μια εποχή στην άλλη, όπως π.χ. ο ιός του μωσαικού του φασολιού (Bean common mosaic virus) στο φασόλι και ο ιός του μωσαικού του μαρουλιού (Lettuce mosaic virus) στο μαρούλι.

Μολυσμένοι σπόροι ζιζανίων μπορεί να παραμείνουν βιώσιμοι στο έδαφος για μερικά χρόνια. Ως προς αυτό το σημείο, η μετάδοση του ιού με το σπόρο των ζιζανίων βοηθάται σε μεγάλη έκταση και από τη μακροχρόνια παραμονή στο έδαφος των ιών που μεταδίδονται με εδαφικούς φορείς



(νηματώδεις), ακόμη και κατά την προσωρινή απουσία των ευπαθών καλλιεργειών.

Ιοί που μολύνουν το έμβρυο φαίνεται να επιβιώνουν για όσο χρόνο ο σπόρος παραμένει βιώσιμος. Αυτό το φαινόμενο αυξάνει τη διαιώνιση των ιών στον αγρό, στους σπόρους των ζιζανίων (οι οποίοι έχουν συχνά σκληρό περίβλημα και μπορούν να παραμείνουν βιώσιμοι για χρόνια) και στους σπόρους της καλλιέργειας (μπορεί να διατηρηθούν αποθηκευμένοι για χρόνια πριν τη χρήση), όπως π.χ. ο ιός του κοινού μωσαικού του φασολιού (*Bean common mosaic virus*) που ανιχνεύτηκε σε φυτάριο φασολιού που προήλθε από σπόρο αποθηκευμένο για 30 χρόνια.

## 2.5. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΔΙΑΣΠΟΡΑ

Οι οικονομικές συνέπειες της μόλυνσης του ιού από το μολυσμένο σπόρο εξαρτώνται από την ευπάθεια της καλλιέργειας, τη μολυσματικότητα του ιού και φυσικά από το ποσοστό μολυσμένων σπόρων. Το τελευταίο εξαρτάται από τον τρόπο της μετάδοσης και από τους φορείς. Αυτά με τη σειρά τους εξαρτώνται από την ποικιλία των κλιματικών και οικολογικών συνθηκών.

Ο κίνδυνος της εισαγωγής και εγκατάστασης ιών σε καινούργιες περιοχές μέσου του μολυσμένου σπόρου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα επιδημιολογικά και οικολογικά χαρακτηριστικά του ιού. Οι περιπτώσεις αυτές αυξάνονται όταν τα ποσοστά μετάδοσης με σπόρο είναι υψηλά (έτσι η παρουσία του ιού συνεχίζει να υφίσταται για αρκετές γενεές του ευπαθούς φυτικού είδους, ακόμη και όταν απουσιάζει ο φορέας ή ο εναλλακτικός ξενιστής), και όταν παράλληλα υφίσταται μετάδοση με υπέργειους ζωικούς φορείς - έντομα συνήθως η ευρεία υπέργεια εξάπλωση, που βρίσκεται σε αντίθεση με την πολύ περιορισμένη ευκινησία των φορέων των ιών μέσα στο έδαφος, αποτελεί ένα

ουσιαστικό παράγοντα για τη μόνιμη πλέον εγκατάσταση σε μιά νέα περιοχή). Η μετάδοση των σπορομεταδιδόμενων ιών που έχουν φορείς έντομα γίνεται γενικά με μη έμμονο τρόπο.

Η διασπορά των ιών μπορεί θεωρητικά να είναι μεγαλύτερη όταν και άλλοι παράγοντες συμμετέχουν στη διασπορά του σπόρου, όπως το νερό, τα ζώα και ιδιαίτερα τα πουλιά (οι σπόροι μπορούν να διατηρηθούν βιώσιμοι για μεγάλες περιόδους στο πεπτικό σύστημα των πουλιών), παρόλο που ο ρόλος τους δεν έχει τεκμηριωθεί.

## 2.6. ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΘΕΩΡΙΕΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΜΕ ΤΟ ΣΠΟΡΟ

Τα περιβλήματα του σπόρου και το περισπέρμιο είναι τμήματα των μητρικών ιστών του φυτού, ενώ το ενδοσπέρμιο μαζί με το έμβρυο σχηματίζονται σε στενή επαφή με το μητρικό φυτό και διατρέφονται από αυτό. Με δεδομένο γεγονός ότι οι ιοί μεταφέρονται ικανοποιητικά στα διάφορα όργανα και ιστούς των φυτών ξενιστών τους με παθητικό τρόπο, κάποιος θα μπορούσε να περιμένει υψηλή μόλυνση στους αναπτυσσόμενους σπόρους. Όμως, τα συνήθη χαμηλά ποσοστά και συχνά η παντελής απουσία μόλυνσης του σπόρου είναι εκπληκτικά. Τα φυτά φαίνεται να διαθέτουν (παρόλο που δεν έχει πλήρως τεκμηριωθεί) ικανά εμπόδια ενάντια στη μόλυνση του σπόρου.

Ο ιός μπορεί να μολύνει το έμβρυο διαμέσου του ωαρίου ή της γύρης ή και των δύο.

Είναι γενικά αποδεκτό ότι για να υπάρχει σίγουρη μετάδοση με σπόρο πρέπει ο ιός να εισαχθεί και να επιβιώσει στο έμβρυο. Αν ένας ιός δεν είναι ικανός να μπει στο έμβρυο ή αν μπει και αργότερα εξαλειφθεί, η μετάδοση με σπόρο δεν λαμβάνει χώρα. Ελάχιστοι ιοί, που συσχετίζονται αποκλειστικά με αγγειακούς ιστούς, μπορεί να είναι ικανοί να εισχωρήσουν στα ωάρια που δεν έχουν αγγειακή επαφή με το μητρικό φυτό.

Έχουν διαπιστωθεί επίσης ανασταλτικοί παράγοντες της ιολογικής μόλυνσης σε εκχυλίσματα σπόρων, όπως π.χ. ένα RNA χαμηλού μοριακού βάρους που απομονώθηκε από έμβρυα κριθαριού που εμποδίζει ειδικά την έναρξη της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Τέτοια μόρια θα μπορούσαν να παίξουν ανασταλτικό ρόλο στη σύνθεση των ιών από σπόρο και επομένως στη μετάδοση με σπόρο μερικών ειδών.

Υπάρχουν πολλά ερωτηματικά σχετικά με τους περισσότερους σπόρους που δεν είναι μολυσμένοι, ακόμη κι όταν έχουν παραχθεί από μητρικά φυτά που είναι σίγουρα μολυσμένα.

Η απουσία ή το χαμηλό ποσοστό μετάδοσης ιών με σπόρο έχει αποδοθεί στην αδρανοποίηση των ιών κατά την ωρίμανση του σπόρου. Ένα τυπικό παράδειγμα είναι ο Νότιος ιός του μωσαικού του φασολιού (*Bean southern mosaic virus*): στα φυτάρια από ανώριμο σπόρο έχει παρατηρηθεί 58-80% μόλυνση, ενώ εκείνα από ώριμους σπόρους είναι συνήθως υγιή.

Ο ρόλος της προαναφερθείσας αδρανοποίησης στη μείωση του ποσοστού μόλυνσης ίσως υπερεκτιμάται. Ο Caldwell (1934) πρώτος υπέθεσε ότι η απουσία πλασματοδεσμάτων μεταξύ εμβρύου και μητρικού φυτού ευθύνεται για τη μη μετάδοση των ιών με σπόρο στις περισσότερες ιολογικές ασθένειες. Το αναπτυσσόμενο έμβρυο φαίνεται ότι περιβάλλεται από ανέπαφα κυτταρικά τοιχώματα, και είναι γνωστό ότι κανένας (ακόμη και ο ιός του μωσαικού του καπνού, *Tobacco mosaic virus*) φυτικός ιός δεν είναι ικανός να διαπεράσει τα ανέπαφα κυτταρικά τοιχώματα.

Αυτή η υπόθεση είναι σήμερα γενικώς αποδεκτή και εξηγεί γιατί η μόλυνση των μητρικών φυτών μετά την άνθηση δεν οδηγεί σε μετάδοση με σπόρο.

Μια προϋπόθεση που φαίνεται να υπάρχει για τη μετάδοση με σπόρο διαμέσου του εμβρύου είναι η έγκαιρη μόλυνση των γαμετών. Παρόλα αυτά, μερικοί ιοί, όπως ο ιός του μωσαικού του καπνού (*Tobacco mosaic virus*) και ο ιός X της πατάτας (*Potato virus X*) δεν εμφανίζονται ποτέ στο

έμβρυο. Ίσως ο κύριος λόγος για τη συνήθη απουσία των ιών από το έμβρυο μπορεί να είναι η ανικανότητα του μεριστωματικού ιστού να βοηθήσει στον πολλαπλασιασμό των περισσοτέρων ιών. Με αυτή την παραδοχή εξηγείται η απουσία των ιών από τα κορυφαία μεριστώματα μολονότι υπάρχουν και πάλι εξαιρέσεις όπως π.χ. ο ιός του καρουλιάσματος της κερασιάς (Cherry leaf roll virus) στο *Nicotiana rustica*.

Η παραδοχή ενός φυσιολογικού εμποδίου ενισχύεται από την παρατήρηση κατά την οποία φυτάρια εσπεριδοειδών, που προέκυψαν μετά από επίπονες προσπάθειες από πυρηνικά (σωματικά) έμβρυα μολυσμένων δέντρων με ιό, είναι συνήθως υγιή. Όταν το ζυγωτό αναπτύσσεται μέσα στο έμβρυο είναι ήδη απομονωμένο (απουσία πλασμοδεσμάτων κυτταροπλασματικής επικοινωνίας) από τους περιβάλλοντες μολυσμένους γονικούς ιστούς, είτε πυρηνικούς είτε ενδοσπερματικούς.

## 2.7. ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΣΠΟΡΟΥ

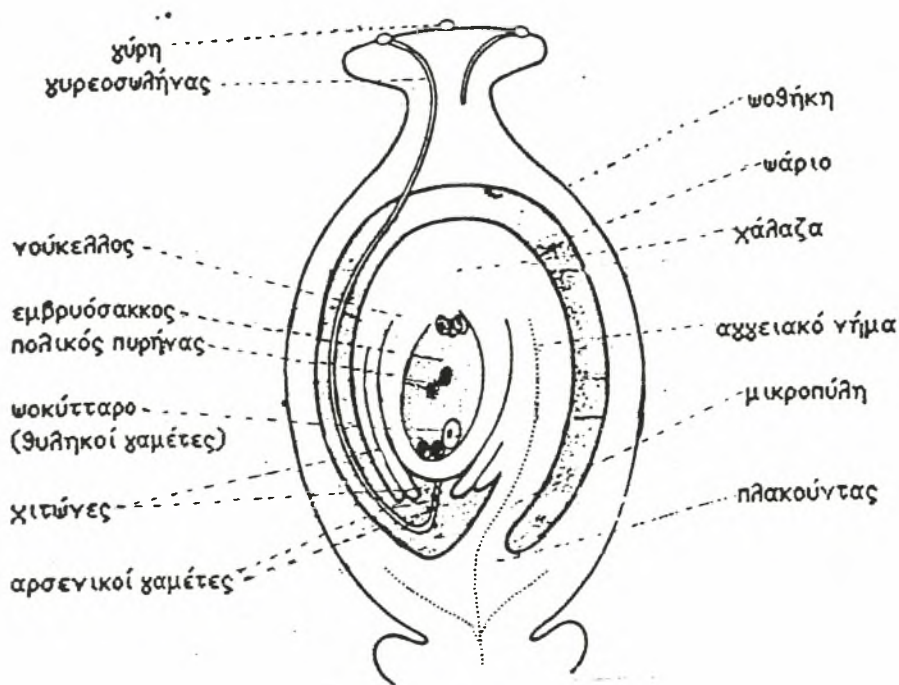
Εξαιτίας της άμεσης σχέσης μεταξύ των σπόρων και των ιών, όπως επίσης και άλλων παθογόνων, είναι απαραίτητο να είναι γνωστή η ανατομία του σπόρου (Εικόνα 5). Η ωθήκη η οποία γίνεται αργότερα σπόρος, διαφοροποιείται από τον ωθητικό πλακούντα. Το εξωτερικό τοίχωμα της ωθήκης αποτελείται από έναν ή δύο χιτώνες, περικλείει τον πυρήνα και τον μεριστωματικό ιστό στον οποίο σχηματίζεται το μεγασπόριο. Το μεγασπόριο είναι διπλοειδής μητρικός ιστός, πιθανώς από κυττοπλασματική επαφή με το μητρικό φυτό. Κατά τη διάρκεια της μείωσης, σχηματίζεται ο απλοειδής εμβρυακός σάκκος και ακολουθούν πυρηνικές διαιρέσεις που οδηγούν στην παραγωγή του ωοκυττάρου (θηλυκός γαμέτης) και δύο πολικών πυρήνων (οι οποίοι καταστρέφονται μέσα στον πυρήνα του εμβρυοσάκκου). Το ενδογενώς σχηματισμένο ωοκύτταρο μπορεί να στερείται κυττοπλασματικών συνδέσμων με τον πυρήνα. Για παράδειγμα στο φασόλι, στη χάλαζα και

στον πυρήνα, ο πυρηνικός ιστός αρχίζει να καταστρέφεται πριν ακόμη αρχίσει η γονιμοποίηση.

Στα διπλοειδή μητρικά κύτταρα γύρης των ανθέρων, η μείωση οδηγεί στην παραγωγή τετράδων από απλοειδή μικροσπόρια. Οι κυτοπλασματικές συνδέσεις με το μητρικό φυτό είναι κλειστές όταν σχηματίζονται τα τοιχώματα των κόκκων της γύρης.

Ο βλαστώνων κόκκος γύρης πάνω στο στίγμα αναπτύσσει ένα γυρεοσωλήνα που διαπερνά το στύλο και τη μικροπύλη μέσα στον πυρήνα, οι αρσενικοί γαμέτες ενώνονται σε ένα πυρήνα του ωοκυττάρου και οι άλλοι με τον δεύτερο πυρήνα του εμβρυόσακου.

ΕΙΚΟΝΑ 5. Ανατομία σπόρου.



Τότε, ο μεγενθυμένος και διαφοροποιημένος ζυγώτης αναπτύσσεται στο έμβρυο και ο τριπλοειδής πυρήνας του εμβρυόσακου μέσα στο ενδοσπέρμιο. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του σπόρου τα συστατικά, που συνιστούν την τροφή του, μπορούν να αποθηκευτούν στο περισπέρμιο (πυρηνικός ιστός) ή στο ενδοσπέρμιο ή μεταφέρονται στο έμβρυο και ιδιαίτερα στις κοτυληδόνες.

Κατά τη διάρκεια της ταχείας ανάπτυξης του εμβρυακού ιστού και του ιστού του ενδοσπερμίου μέσα στον πυρήνα, τα πλασμοδέσματα και ο πυρήνας διαρρηγνύονται. Όταν ο σπόρος αναπτύσσεται περισσότερο, οι χιτώνες και τα πυρηνικά υπολείμματα σχηματίζουν το περίβλημα του σπόρου, αφυδατώνονται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και τελικά μετατρέπονται σε νεκρό ιστό.

## **2.8. ΤΡΟΠΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΩΝ ΙΩΝ ΔΙΑΜΕΣΟΥ ΤΟΥ ΣΠΟΡΟΥ**

Οι φυτικοί ιοί μπορούν να μεταφερθούν με το σπόρο με διάφορους τρόπους. Η μόλυνση του εμβρύου οδηγεί στην άμεση μόλυνση των απογόνων. Ο ιός επίσης μπορεί απλώς να μεταφερθεί με το σπόρο, έξω από το έμβρυο, στο ενδοσπέρμιο ή στο περισπέρμιο και μέσα ή πάνω στο περίβλημα του σπόρου. Όμως, ο αριθμός των ιών που μπορούν να αντισταθούν στην πλήρη αφυδάτωση και στη νέκρωση των ιστών, όπως στο περίβλημα του σπόρου, είναι περιορισμένος.

### **2.8.1. ΜΗ ΕΜΒΡΥΑΚΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ**

Ίσως το καλύτερο παράδειγμα μη εμβρυακής μετάδοσης είναι η μετάδοση του ιού του μωσαικού της τομάτας με σπόρο τομάτας. Μελέτες βασισμένες σε δοκιμές μολυσματικότητας, έδειξαν ότι ο ιός εντοπίζεται κυρίως στο περίβλημα του σπόρου, ενώ, σε ελάχιστες περιπτώσεις απομονώνεται και στο

ενδοσπέρμιο. Όμως ποτέ δε βρέθηκε στο έμβρυο του σπόρου. Η είσοδος του ιού στα νεαρά φυτάρια γίνεται από πληγές που δημιουργούνται κυρίως κατά τη μεταφύτευση των φυταρίων. Εάν τα φυτάρια που προέρχονται από μολυσμένο σπόρο δε μεταφυτευθούν, το ποσοστό των μολυσμένων φυτών είναι, θεωρητικά τουλάχιστον, μηδέν. Η αδρανοποίηση του ιού, στην περίπτωση αυτή, μπορεί να γίνει σχετικά εύκολα με εμβάπτιση του σπόρου σε αραιό υδροχλωρικό οξύ ή ορθοφωσφορικό νάτριο ή με θερμοθεραπεία (72°C για τρεις ημέρες).

Η μεταφορά ιών σε μη εμβρυακούς ιστούς σπόρων έχει εμφανιστεί σε ένα μικρό αριθμό ιών. Ο ιός του μωσαικού του καπνού (*Tobacco mosaic virus*) και ο ιός του μωσαικού της πράσινης ποικιλοχλώρωσης με μωσαικό της αγγουριάς (*Cucumber green mottle mosaic virus*) παραμένουν μέσα και πάνω στο περίβλημα του σπόρου στα αφυδατωμένα υπολείμματα του χυμού των καρπών της τομάτας και του αγγουριού, αντίστοιχα. Ο ιός του μωσαικού του καπνού (*Tobacco mosaic virus*) έχει επίσης βρεθεί μέσα στο περίβλημα του σπόρου της τομάτας και της πιπεριάς.

Ένας άλλος ιός που έχει ανιχνευθεί μέσα στο περίβλημα του σπόρου και στο ενδοσπέρμιο του φασολιού, είναι ο Νότιος ιός του μωσαικού του φασολιού (*Southern bean mosaic virus*).

Μολονότι ορισμένοι ιοί έχουν διαπιστωθεί στα περιβλήματα του σπόρου, φαίνεται ότι δεν επιβιώνουν κατά την αφυδάτωση και την ωρίμανση του σπόρου. Σε αυτούς περιλαμβάνονται ο ιός του μωσαικού της μηδικής (*Alfalfa mosaic virus*) στη σόγια και σε άλλα ψυχανθή, ο ιός του ραβδωτού μωσαικού του κριθαριού (*Barley stripe mosaic virus*) στο κριθάρι, ο ιός του κίτρινου μωσαικού του φασολιού (*Bean yellow mosaic virus*) στο φασόλι, στη σόγια και σε άλλα είδη, η μια φυλή νέκρωσης του μπιζελιού (*Pea necrosis*) του ιού του μωσαικού των νεύρων του κόκκινου τριφυλλιού (*Red clover vein mosaic virus*) στο μπιζέλι. Οι μοναδικές γνωστές εξαιρέσεις στον κανόνα, σύμφωνα με τον οποίο οι ιοί συνήθως δεν επιβιώνουν στην αφυδάτωση και στην ωρίμανση, είναι ο

ιός του μωσαικού του καπνού (*Tobacco mosaic virus*) και ο Νότιος ιός του μωσαικού του φασολιού (*Southern bean mosaic virus*, SBMV). Η αδρανοποίηση δε φαίνεται να οφείλεται σε παρεμποδιστικές ουσίες ή σε ουσίες αδρανοποίησης στο περίβλημα του σπόρου ή σε άλλα μέρη του σπόρου. Για τον ιό του μωσαικού του καπνού (*Tobacco mosaic virus*), στην πράξη, η μετάδοση στα φυτάρια μπορεί να λάβει χώρα μόνο όταν τα φυτάρια μεταφυτεύονται και πιθανώς πληγώνονται στον χειρισμό. Ο ίδιος μηχανισμός θεωρείται ότι ισχύει για τη μετάδοση του Νότιου ιού του μωσαικού του φασολιού (*Southern bean mosaic virus*). Αξίζει να σημειωθεί ότι στη φυλή της νέκρωσης του πιζελιού (*Pea necrosis*) του ιού του μωσαικού των νεύρων του κόκκινου τριφυλλιού (*Red clover vein mosaic virus*), μολονότι δεν ανιχνεύθηκε μόλυνση στο έμβρυο, 8 από τα 27 φυτάρια που βλάστησαν από ώριμο σπόρο παρουσίασαν συμπτώματα. Όμως, οι προβλαστάνοντες σπόροι φυτεύτηκαν σε θερμοκήπιο, και όπως και με τον ιό του μωσαικού του καπνού (*Tobacco mosaic virus*), μπορεί η μεταφύτευση που ακολούθησε να ήταν υπεύθυνη για τη μόλυνση των φυταρίων.

Η μόλυνση από τα περιβλήματα του σπόρου κατά τη διάρκεια της αρχικής ανάπτυξης του σπόρου είναι πιθανόν να συμβαίνει στους περισσότερους ιούς. Αλλά μόνο αυτοί που μπορούν να επιβιώσουν από την αφυδάτωση και είναι πολύ μεταδοτικοί, όπως ο TMV και ο ιός της πράσινης ποικιλοχλώρωσης του μωσαικού του αγγουριού (*Cucumber green mottle mosaic virus*) έχουν την ικανότητα να μολύνουν τα πληγωμένα φυτάρια.

Ο Broadbent (1965) ανέφερε ότι ο ιός του μωσαικού της τομάτας (*Tomato mosaic virus*) μεταφερόταν εξωτερικά πάνω σε σπόρους τομάτας σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Επίσης υποστήριξε ότι ο ιός μεταφερόταν εσωτερικά (σε ποσοστό 25%) από τα περιβλήματα του σπόρου ή στο ενδοσπέρμιο. Η πρώιμη μόλυνση, αντίθετα με την καθυστερημένη μόλυνση των μητρικών φυτών, επέφερε την αύξηση του ποσοστού των



μολυσμένων σπόρων με ανωμαλίες, ειδικά στους σπόρους με μολύνσεις στο ενδοσπέρμιο.

Ο Ford (1966) δημοσίευσε ότι ο ιός των γραμμώσεων του μπιζελιού (Pea streak virus) φαίνεται να είναι ένας σπορομεταδιδόμενος (seed-borne) ιός, που μεταδίδεται με μη εμβρυακούς ιστούς. Όμως, πρέπει να τονιστεί η εξαίρεση του Pea streak virus που μεταδιδόταν μόνο με ανώριμους σπόρους και όχι με ώριμους σπόρους που ξεραινόταν και αποθηκεύονταν φυσιολογικά. Σε ανώριμα ή ώριμα έμβρυα δεν ανιχνεύθηκε ιός, ενώ ανιχνεύθηκε σε ανώριμα βάρια και περιβλήματα του σπόρου. Όμως, ο Bos (1973) ανέφερε ότι ο ιός των γραμμώσεων του μπιζελιού (Pea streak virus) δε μεταδιδόταν με σπόρο.

### 2.8.2. ΕΜΒΡΥΑΚΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ

Η μόλυνση από το έμβρυο είναι μέχρι τώρα, ο σπουδαιότερος τρόπος μετάδοσης των ιών διαμέσου του σπόρου. Αυτού του είδους η μετάδοση οδηγεί στην άμεση μόλυνση των φυταρίων κατά τη βλάστηση του σπόρου και σημαίνει <<σίγουρη>> μετάδοση με σπόρο.

Γενικά, η μετάδοση εξαρτάται από τη μόλυνση του μητρικού υλικού πριν την άνθηση (τουλάχιστον πριν από το σχηματισμό της ωοθήκης). Αυτό δείχνει ότι η μόλυνση του εμβρύου γίνεται από το μητρικό φυτό διαμέσου των θηλυκών γαμετών. Πράγματι, όπως με τον ιό του ραβδωτού μωσαικού του κριθαριού (Barley stripe mosaic virus), τα ισωμάτια έχουν παρατηρηθεί με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο στα ωοκύτταρα. Η υπόθεση της μόλυνσης με τους γαμέτες υποστηρίζεται περισσότερο από την παρατήρηση ότι ο ιός μπορεί να μεταδοθεί με τη γύρη σε υγιή μητρικά φυτά όπως π.χ. με τον ιό του κοινού μωσαικού του φασολιού (Bean common mosaic virus) και αρκετούς άλλους ιούς. Με αυτόν τον τρόπο, μολυσμένοι σπόροι μπορούν να παραχθούν από μητρικά φυτά <<ελεύθερα>> από ιούς.

Γνωστοί ιοί έχουν παρατηρηθεί με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο επάνω στη γύρη και απομονωθεί με μηχανική μετάδοση, όπως π.χ. ο Νότιος ιός του μωσαικού του φασολιού (*Bean southern mosaic virus*) και ο ιός της δακτυλιωτής νέκρωσης της κερασιάς (*Prunus necrotic ringspot virus*).

Η ικανότητα μετάδοσης ιών με γύρη ποικίλει ανάλογα με τον ιό, τον ξενιστή και τις συνθήκες. Η ικανότητα αυτή μπορεί να είναι αμελητέα εξαιτίας της χαμηλής βλαστικής ικανότητας και της αργής ανάπτυξης του σπερματικού σωλήνα της μολυσμένης γύρης, αν συγκριθεί με την ανάπτυξη σε γύρη <<ελεύθερη>> από ιό, όπως συμβαίνει με τον ιό της δακτυλίωσης του καπνού στη σόγια (*Tobacco ringspot virus*). Υπάρχουν παραδείγματα μόλυνσης σε μητρικά φυτά με μολυσμένη γύρη, αλλά αυτό το φαινόμενο δεν είναι τόσο συχνό.

Υπάρχουν αρκετές τεκμηριωμένες περιπτώσεις γνωστών ιών που προσβάλλουν το έμβρυο. Εξέταση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, σε μολυσμένα φυτά μηδικής, έδειξε ότι υπήρχαν ιοσωμάτια στις ανθοδόχες, τους ανθήρες, τη γύρη, τα κύτταρα των τοιχωμάτων της ωοθήκης και τα ώριμα έμβρυα. Δεν βρέθηκαν ιοσωμάτια σε σπερματικά κύτταρα κόκκων γύρης ή ωάρια. Όμως, υποστηρίχθηκε ότι δεν υπήρχε προφανές δομικό εμπόδιο για να εμποδίσει την προσβολή των ωαρίων από ιό, επειδή τα πλασμοδέσματα ήταν κοινά μεταξύ της ωοθήκης και των κυττάρων των ωαρίων. Ακόμη βρέθηκε ότι ο ιός του μωσαικού της μηδικής (*Alfalfa mosaic virus*) μεταδίδεται με σπόρους του *Nicadra physaloides*, και το ποσοστό μετάδοσης ήταν 23%. Με την ηλεκτρονική μικροσκοπία ανιχνεύτηκαν ιοσωμάτια σε κοτυληδόνες των εμβρύων.

Όσον αφορά τη μετάδοση του ιού του κοινού μωσαικού του φασολιού (*Bean common mosaic virus*) σε σπόρους φασολιού, παρατηρήθηκε ότι σημαντικό ήταν το γεγονός ότι για να μολυνθούν οι σπόροι του φασολιού η μόλυνση των μητρικών φυτών έπρεπε να πραγματοποιηθεί πριν του σχηματισμού των μπουμπουκιών. Με δοκιμές

μολυσματικότητας, ο ιός ανιχνεύτηκε σε ωθήκες, wάρια, σπόρους, ώριμα και ανώριμα έμβρυα. Ηλεκτρονική μικροσκοπική εξέταση λεπτών τεμαχίων του εμβρυόσακκου και των γύρω ιστών έδειξε ότι δεν εμφανίστηκαν πλασμοδέσματα στα κυτταρικά τοιχώματα του εσωτερικού περιβλήματος οριακά του εμβρυόσακκου. Η μικροσκοπία έδειξε επίσης, ότι πριν ακριβώς απ'τη γονιμοποίηση ο πυρηνικός ιστός του τέλους της χάλαζας του εμβρυόσακκου είχε αρχίσει ν'αποσυντίθεται. Η απουσία των πλασμοδεσμάτων μεταξύ του εσωτερικού περιβλήματος και του εμβρυόσακκου και η παρουσία του αποσυντιθέμενου πυρηνικού ιστού μπορεί να εμποδίσει την προσβολή του εμβρυόσακκου, την περίοδο κατά την οποία το wάριο έχει φτάσει στην κριτική περίοδο της ανάπτυξής του.

Οι Owusu *et al.* (1968) βρήκαν ότι η ηλικία των μητρικών φυτών της σόγιας τη στιγμή που μολύνονται με τον ιό της δακτυλίωσης του καπνού (Tobacco ringspot virus) είναι ο σημαντικότερος παράγοντας που καθορίζει τον αριθμό των μολυσμένων σπόρων που παράχθηκαν. Δοκιμές μολυσματικότητας έδειξαν ότι ο ιός αυτός ήταν σταθερά παρών σε έμβρυα και ιστούς περισπερμίου μολυσμένων ώριμων σπόρων αλλά όχι στα περιβλήματα του σπόρου.

## 2.9. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΜΕ ΣΠΟΡΟ

### α) Ιός - φυλή - ξενιστής ιού

Δεν υπάρχει γενικός κανόνας που να διέπει τη μετάδοση των ιών με σπόρο όσον αφορά το είδος του ιού ή το είδος του ξενιστή, όμως υπάρχουν στοιχεία για την επίδραση συγκεκριμένων συνθηκών αλλά οι επιδράσεις τους είναι μεταβλητές.

ται με συγκεκριμένες  
; που μεταδίδονται με

όπως της ομάδας  
πνού, Tobacco mosaic  
υκολότερα από τους  
ουν την ικανότητα να  
βλήματος του σπόρου  
να μολύνουν μηχανικά  
ια <<ελεύθερα>> από

διαφέρει ανάλογα με  
σόγιας του ιού των  
virus) ήταν 2,6-30,6%  
ενώ η τυπική φυλή  
οτικότητα.

του ξενιστή. Ο ιός  
common mosaic virus)  
ασόλι, παρόλο που  
φασολιού. Ο ιός του  
αι με το σπόρο της  
iant και μεταξύ 30  
χθηκαν το καθένα  
θηκε από 0,21 έως

περιβαλλοντολογικών  
σης ών με σπόρο,  
αποτελέσματα είναι  
κοινού μωσαικού του  
O Bennett (1969)  
ίδωσης μπορεί να  
και αλλάζει πολύ,  
κίλλει ανάλογα με

ν ξεραθεί καλά είναι πολύ περισσότερο  
; θερμοκρασίες απ'ότι τα άλλα μέρη του  
ρομεταδιδόμενοι ιοί αντέχουν σε τόσο  
όσο και οι σπόροι που μολύνουν π.χ. ο  
κολοκυθιάς (Squash mosaic Comovirus).  
σπόρο της σόγιας στους 16 - 32 °C το  
ισο και στους 1 - 2 °C, παρόλο που η  
υ είχε μειωθεί σε μεγάλο βαθμό σε  
ίες. Ο λόγος της αντοχής αυτών των  
ι γνωστός και μπορεί να οφείλεται στο  
ων, όπως ανέπαφα ιοσωμάτια, χαμηλή  
πεινικό περιεχόμενο.

#### ου φυτού

μεταδοτικότητα με σπόρο μεταξύ  
ιών σε ένα φυτό φαίνεται να είναι  
ό του μωσαικού του μαρουλιού (Lettuce  
μαρούλι, αλλά οι περιπτώσεις της  
πόρο είναι συνήθως περισσότερες σε  
αν αργότερα (δηλαδή μετά τη μόλυνση  
ται να έρχεται σε αντίθεση με την  
czak (1970) σύμφωνα με την οποία η  
ύ του κίτρινου μωσαικού του φασολιού  
ow mosaic virus), είναι μικρότερη στους  
ύς. Ποικίλες αναφορές δείχνουν ότι η  
της μεταξύ σπόρων ψυχανθών είναι  
με τον ιό του κοινού μωσαικού του  
on mosaic virus) στο φασόλι και τον ιό  
του φασολιού (Bean yellow mosaic virus)

ο μοναδικός κανόνας που ισχύει για τη  
ε το σπόρο, εκτός από τον ιό του  
ού (Barley mosaic virus), είναι ότι η  
τών μετά την άνθηση δεν οδηγεί σε  
νώ όσο νωρίτερα μολυνθεί ένα φυτό,

τόσο μεγαλύτερο θα είναι το ποσοστό των μολυσμένων σπόρων που θα παραχθούν.

#### δ) Θέση του σπόρου πάνω στο φυτό

Η θέση του σπόρου πάνω στο φυτό φαίνεται να είναι ασταθής παράγοντας που επηρεάζει τον τρόπο που οι μολυσμένοι ή αμόλυντοι σπόροι υπάρχουν πάνω στο φυτό. Βρέθηκε ότι η θέση του καρπού πάνω στο φυτό δεν επηρέασε το ποσοστό των σπόρων της σόγιας που μολύνθηκαν από τον TRSV. Για τα φυτά που υπάρχει διαδοχική παραγωγή σπόρων για μια περίοδο, μπορεί να υπάρχει τέτοια διασπορά κατά την οποία οι πιο ηλικιωμένοι σπόροι μπορεί να παρουσιάζουν μικρότερο ποσοστό μόλυνσης από τους λιγότερο ηλικιωμένους.

#### ε) Ηλικία του σπόρου

Σε ιούς που μεταφέρονται ευρέως με υπολείμματα πολτού, με το περίβλημα του σπόρου, με το περισπέρμιο ή το ενδοσπέρμιο και σε αυτούς που μολύνουν τα αναπτυσσόμενα φυτάρια κατά τον τραυματισμό, τα ποσοστά της μόλυνσης του σπόρου, συχνά μειώνονται σε σχέση με το χρόνο, π.χ. η μολυσματικότητα του ιού του μωσαικού της τομάτας (Tomato mosaic virus) σε σπόρους τομάτας πέφτει κατακόρυφα μετά ένα χρόνο αποθήκευση, παρόλο που διατηρείται και μετά από 3 χρόνια. Ομοίως, σε σπόρους αγγουριάς, η μόλυνση του ιού της πράσινης ποικιλοχλώρωσης με μωσαικό του αγγουριού (Cucumber green mottle mosaic virus), μειώθηκε ταχύτατα τους πρώτους 7 μήνες αποθήκευσης.

Μερικοί άλλοι ιοί, επίσης τείνουν να χάνουν τη μολυσματικότητα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, όπως ο ιός της νεκρωτικής δακτυλίωσης (Prune ringspot virus) και του νανισμού της δαμασκηιάς (Prune dwarf virus) σε σπόρους μερικών ειδών δαμασκηιάς. Οι περισσότεροι ιοί που μολύνουν το έμβρυο κι έτσι είναι πραγματικά σπορομεταδιδόμενοι, παραμένουν βιώσιμοι, για μεγάλες περιόδους και φαίνεται πιθανό ότι υπάρχουν αρκετοί ιοί οι οποίοι μπορούν να διατηρηθούν ενεργοί σε σπόρους, όσο οι σπόροι είναι βιώσιμοι. Ένα ακραίο παράδειγμα είναι αυτό της απομόνωσης του ιού

του κοινού μωσαικού του φασολιού (Bean common mosaic virus) από φυτάρια φασολιού που προήλθαν από σπόρους μετά από 30 χρόνια αποθήκευσης.

Ιοί που μεταδίδονται με σπόρο μπορούν να έχουν υψηλή συγκέντρωση στους σπόρους. Οι Wilson και Dean (1964) αναφέρουν ότι το αλεύρι, από μολυσμένο σπόρο φασολιού, είναι μια πολύ καλή πηγή μόλυσματος, ακόμη και μετά από αποθήκευση για 30 μήνες στους  $-2^{\circ}\text{C}$ . Επίσης, σπόροι μπιζελιού, μουσκεμένοι σε νερό για μια νύχτα και τριμμένοι σε γουδί, είναι άριστη πηγή του ιού του πρώιμου καστανώματος του αρακά (Pea early-browning virus). Ο ιός του μωσαικού του μαρουλιού (Lettuce mosaic virus), αν είναι παρών σε σπόρους μαρουλιού, εμφανίζεται σε τόσο υψηλές συγκεντρώσεις που ένας απλός μολυσμένος σπόρος ανιχνεύεται σε τεστ μολυσματικότητας με ανακατεμένο μόλυσμα από δείγματα 700 σπόρων.

## 2.10. ΙΟΙ ΠΟΥ ΜΕΤΑΔΙΔΟΝΤΑΙ ΜΕ ΣΠΟΡΟ

Ο πρώτος κατάλογος με ιούς που μεταδίδονται με σπόρο φτιάχτηκε το 1955 και 30 από αυτούς μπορεί να είναι διαφορετικοί ιοί. Ο Phatak (1974) έφτιαξε ένα κατάλογο με 85 ιούς (Πίνακας 11). Μερικοί από αυτούς δεν είναι καλά μελετημένοι κι έτσι ο πραγματικός τους αριθμός μπορεί να είναι μικρότερος.

Όλοι σχεδόν οι ιοί του καταλόγου μεταδίδονται μηχανικά και με αφίδες με μη έμμονο τρόπο ή με νηματώδεις. Μερικοί έχουν άγνωστο φορέα. Η σχέση μεταξύ της μεταδοτικότητας με σπόρο και της μεταδοτικότητας με χυμό γίνεται εύκολα κατανοητή, επειδή είναι σε θέση να μολύνει παρεγχυματικούς ιστούς μέσω του αγγειακού συστήματος, δυνατότητα που αξιοποιείται ώστε να μπορέσουν να πλησιάσουν το έμβρυο. Αυτό είναι αδύνατο για ιούς που μεταδίδονται με έντομα με έμμονο τρόπο και για όλα τα μυκοπλάσματα και τους συσχετιζόμενους μικροοργανισμούς.

Είναι ενδιαφέρον, ότι το μεταδοτικό παθογόνο των ατρακτοειδών κονδύλων της πατάτας, το οποίο έχει υψηλά ποσοστά μεταδοτικότητας με σπόρο (βοτανικό) είναι γνωστό ότι είναι ιοειδές (Potato spindle tuber viroid).

ΠΙΝΑΚΑΣ 11: Ιοί που μεταδίδονται με το σπόρο

| Ιός                      | Φυτό που έγινε η δοκιμή        | Μετάδοση ιού (%) |
|--------------------------|--------------------------------|------------------|
| Abutilon mosaic          | <i>Abutilon thompsonii</i>     | 0,7              |
|                          | <i>A. mulleri</i>              |                  |
| Alfalfa mosaic           | <i>Capsicum annuum</i>         | 1 -5-            |
|                          | <i>Medicago sativa</i>         | μέχρι 6          |
| Apple chlorotic leafspot | <i>Rubus spp</i>               | 30 -40           |
| Apricot gummosis         | <i>Prunus avium</i>            | 15               |
| Arabis mosaic            | <i>Beta vulgaris</i>           | 13               |
|                          | <i>Capsella bursa pastoris</i> | 33               |
|                          | <i>Chenopodium album</i>       | 80               |
|                          | <i>Fragaria X ananassa</i>     | 6,9              |
|                          | <i>Glycine max</i>             | 6,3              |
|                          | <i>Humulus spp</i>             | 10               |
|                          | <i>Lactuca sativa</i>          | 60 - 100         |
|                          | <i>Lamium amplexicaule</i>     | 1,2 - 25         |
|                          | <i>Lycopersicon esculentum</i> | 1,8              |
|                          | <i>Myosotis arvensis</i>       | 19 - 25          |
|                          | <i>Petunia hybrida</i>         | 20               |
|                          | <i>Petunia violacea</i>        | 20 - 37          |
|                          | <i>Plantago major</i>          | 5,4 - 28         |
|                          | <i>Polygonum persicaria</i>    | 21 - 100         |
|                          | <i>Senecio vulgaris</i>        | 2,2              |
|                          | <i>Stellaria media</i>         | 57               |
| Asparagus latent         | <i>Asparagus officinalis</i>   | μέχρι 65         |
| "Asparagus stunt"        | <i>A. officinalis</i>          | ?                |
| Avocado pear sun blotch  | <i>Persea americana</i>        | 76               |
| Banana viruses           | <i>Musa acuminata</i>          | υψηλό            |
|                          | <i>M. balbisiana</i>           | υψηλό            |
| Barley mosaic            | <i>Hordeum vulgare</i>         | 2 - 45           |
| Barley stripe mosaic     | <i>Avena sativa</i>            | 0 - 9,5          |
|                          | <i>Commelina communis</i>      | 4                |



|   |  |           |
|---|--|-----------|
| Barley stripe mosaic                        | <i>Hordeum vulgare</i>                                 | 58        |
|   | <i>Triticum aestivum</i>                               | 6,7 - 81  |
|   | Πολλά είδη αγροστωδών                                  | 2 - 8     |
| Bean common mosaic                          | <i>Phaseolus vulgaris</i>                              | 50        |
|   | <i>Vigna sesquipedalis</i>                             | 37        |
| Bean southern mosaic                        | <i>Vigna sinensis</i>                                  | 3 - 4     |
| Bean western mosaic                         | <i>Phaseolus vulgaris</i>                              | 2 - 3     |
| Bean yellow mosaic                          | <i>Lupinus albus</i>                                   | ?         |
|   | <i>L. luteus</i>                                       | 6,2       |
|   | <i>Melilotus alba</i>                                  | ?         |
|   | <i>M. alba</i>   | 3 - 5     |
|   | <i>Vicia faba</i>                                      | χαμηλό    |
| Pea mosaic strain                           | <i>Pisum sativum</i>                                   | 0,5       |
|   | <i>Trifolium hybridum</i>                              | 0,5       |
|   | <i>Trifolium pratense</i>                              | 47        |
| Subterranean clover virus<br>(BYMV strain?) | <i>Trifolium subterraneum</i>                          | ?         |
| Beet 41 yellows                             | <i>Beta vulgaris</i>                                   | 47        |
| Broadbean mosaic                            | <i>Vicia faba</i>                                      | ?         |
| Broadbean mild mosaic                       | <i>Vicia faba</i>                                      | ?         |
| Broadbean mottle                            | <i>Phaseolus mungo</i>                                 | 0 - 6,7   |
| Broadbean strain                            | <i>Vicia faba</i>                                      | 1         |
|   | <i>Vicia faba</i>                                      | μέχρι 10  |
| Broadbean true mosaic                       | <i>Vicia faba</i>                                      | 1 - 3     |
|   | <i>Vicia faba</i>                                      | μέχρι 15  |
| Carrot red leaf                             | <i>Daucus carota</i>                                   | 25        |
| Cherry leafroll                             | <i>Glycine max</i>                                     | 100       |
|   | <i>Phaseolus vulgaris</i>                              | 12 - 40   |
|   | <i>Viola tricolor</i>                                  | 1,2 - 6,1 |
| Elm mosaic strain                           | <i>Ulmus americana</i>                                 | 1,0 - 3,5 |
| Cherry necrotic rusty<br>mottle             | <i>Prunus avium</i>                                    | ?         |
| Citrus psorosis                             | <i>Citrus sinensis X</i><br><i>Poncirus trifoliata</i> | 19        |
| (Crinkly - leaf type)                       | <i>Citrus sp</i>                                       | Ιχνη      |
| Citrus xyloporosis                          | <i>Citrus sp</i>                                       | 66        |
| Clover (red) vein mosaic                    | <i>Trifolium pratense</i>                              | ?         |
|   | <i>Vicia faba</i>                                      | μέχρι 100 |
| Clover red virus                            | <i>Trifolium pratense</i>                              | 12 - 18   |
| Clover (white) mosaic                       | <i>Trifolium pratense</i>                              | 6,0       |



|   |  |           |
|---|--|-----------|
| Clover (white) yellow<br>mosaic                   | <i>Trifolium pratense</i>                  | 7,6       |
| Coffee ringspot                                   | <i>Coffea excella</i>                      | 8,7       |
| Cowpea arhid borne<br>mosaic                      | <i>Vigna sinensis</i>                      | 0,3 - 1,6 |
|   | <i>Vigna unguiculata</i>                   | 3 - 19    |
| " Cowpea mosaic"                                  | <i>Vigna catiang</i>                       | 17        |
|   | <i>Vigna sinensis</i>                      | 23        |
| Cowpea mosaic (beetle<br>trans)                   | <i>Vigna sesquipedalis</i>                 | 8         |
|   | <i>Vigna sinensis</i>                      | 10        |
| "Cowpea mosaic" (aphid<br>transmitted, isometric) | <i>Vigna sinensis</i>                      | 5 - 16    |
| Cowpea mild mosaic                                | <i>Glycine max</i>                         | ?         |
| Cowpea ringspot                                   | <i>Vigna unguiculata</i>                   | 10 - 30   |
| Cucumber green mottle<br>mosaic                   | <i>Cucumis sativus</i>                     | 44        |
| Cucumber mosaic                                   | <i>Cerastum holosteoides</i>               | 2         |
|   | <i>Cucumis sativus</i>                     | ixvn      |
|   | <i>Cucurbita pepo</i>                      | 0,007     |
|   | <i>Cucurbita pepo</i>                      | 6,3       |
|   | <i>Echinocystis lobata</i>                 | 9,1       |
|   | <i>Lamium purpureum</i>                    | 4         |
|   | <i>Lupinus luteus</i>                      | ?         |
|   | <i>Lycopersicon esculentum</i>             | 0,2       |
|   | <i>Phaseolus aureus</i>                    | 0,3       |
|   | <i>Spergula arvensis</i>                   | 2         |
|   | <i>Stellaria media</i>                     | 21 - 40   |
|   | <i>Vigna sesquipedalis</i>                 | ?         |
|   | <i>Vigna sinensis</i>                      | 4 - 28    |
| Datura "quercina"                                 | <i>Datura stramonium</i>                   | 79        |
| Dodder latent mosaic                              | <i>Cuscuta californica</i>                 | 2,4       |
|   | <i>Cuscuta campestris</i>                  | 4,9       |
| Dulcamara mottle                                  | <i>Solanum dulcamara</i>                   | 2 - 3     |
| Grapevine fanleaf                                 | <i>Chenopodium</i><br><i>amaranticolor</i> | 1,3       |
|   | <i>Ch. quinoa</i>                          | ?         |
|   | <i>Glycine max</i>                         | 0 - 59    |
| Grapevine yellow mosaic<br>strain                 | <i>Ch. amaranticolor</i>                   | 0,7       |
| Hop chlorotic disease                             | <i>Humulus lupulus</i>                     | 27        |

|   |                                |           |
|---|--------------------------------|-----------|
| Hippeastrum mosaic                          | <i>Hippeastrum hybridum</i>    | ?         |
| Lettuce mosaic                              | <i>Chenopodium quinoa</i>      | 0,4       |
|   | <i>Lactuca sativa</i>          | 3,1       |
|   | <i>Lactuca serriola</i>        | 0,2 - 6,2 |
|   | <i>Senecio vulgaris</i>        | ?         |
|   | <i>Senecio vulgaris</i>        | 2,3       |
| Limabean virus (with mild mottle)           | <i>Phaseolus lunatus</i>       | 0,3       |
| Loganberry degeneration                     | <i>Rubus sp</i>                | ?         |
| Lychnis ringspot                            | <i>Beta vulgaris</i>           | 9,5       |
|   | <i>Capsella bursa-pastoris</i> | 9,4       |
|   | <i>Cerastium viscosum</i>      | 27        |
|   | <i>Lychnis divaricata</i>      | 58        |
|   | <i>Silene gallica,</i>         | 28        |
|   | <i>Silene noctiflora</i>       | 41        |
| Maize dwarf mosaic                          | <i>Zea mays</i>                |           |
| Mungbean mosaic                             | <i>Phaseolus aureus</i>        | 0 - 25    |
|   | <i>Phaseolus aureus</i>        | 5 - 30    |
| Muskmelon mosaic                            | <i>Cucumis melo</i>            | 12 - 93   |
|   | <i>Cucurbita flexuosus</i>     | Συχνή     |
|   | <i>C. moschata</i>             | Συχνή     |
|   | <i>C. pepo</i>                 | Συχνή     |
| Onion yellow dwarf                          | <i>Allium cepa</i>             | ?         |
| Pea early browning                          | <i>Pisum sativum</i>           | 37        |
| Pea false leafroll                          | <i>Pisum sativum</i>           | 40        |
| Pea leafrolling mosaic                      | <i>Pisum sativum</i>           | 2 - 55    |
| Pea seed borne mosaic<br>syn. pea fizzletop | <i>Pisum sativum</i>           | 2 - 30    |
| Peanut marginal chlorosis                   | <i>Arachis hypogaea</i>        | 30 - 100  |
| Peanut mottle                               | <i>Arachis hypogaea</i>        | 2         |
| Peanut stunt                                | <i>Arachis hypogaea</i>        | 0,2       |
| Potato (Andean)                             | <i>Nicotiana clevelandii</i>   | ?         |
| latent                                      | <i>Petunia hybrida</i>         | ?         |
| Potato spindle tuber                        | <i>Lycopersicon esculentum</i> | 2 - 11    |
|   | <i>Physalis peruviana</i>      | 29        |
|   | <i>Solanum incanum</i>         | 53        |
|   | <i>Solanum tuberosum</i>       | 6 - 12    |
|   | <i>S. tuberosum</i>            | 87 - 100  |
| Prune dwarf (syn. cherry yellows)           | <i>Prunus cerasus</i>          | 9,0       |
|   | <i>P. cerasus</i>              | 15        |

|                                   |  |                |
|-----------------------------------|--|----------------|
| Prune dwarf (syn. cherry yellows) | <i>P. mahaleb</i>                                | 8,7            |
| Prunus necrotic ringspot          | <i>Cucurbita maxima</i>                          | 2,7            |
|                                   | <i>Prunus americana</i>                          | μη καθορισμένο |
|                                   | <i>P. avium</i>                                  | 6,0            |
|                                   | <i>P. cerasus</i>                                | 30             |
|                                   | <i>P. mahaleb</i>                                | 10             |
| Peach necrotic leafspot strain    | <i>P. persica</i>                                | 3 - 9          |
|                                   |  |                |
| Raspberry bushy dwarf             | <i>Rubus idaeus</i>                              | 40 - 50        |
| Raspberry (black) latent          | <i>Rubus spp</i>                                 | 10             |
|                                   | <i>Stellaria media</i>                           | 8 - 26         |
| Raspberry ringspot                | <i>Beta vulgaris</i>                             | 50 - 55        |
|                                   | <i>Capsella bursa pastoris</i>                   | 2,2 - 3,3      |
|                                   | <i>Fragaria X ananasa</i>                        | 35             |
|                                   | <i>Glycine max</i>                               | 7,2            |
|                                   | <i>Petunia violacea</i>                          | 11 - 8 -21     |
|                                   | <i>Rubus idaeus</i>                              | 18             |
|                                   | <i>Stellaria media</i>                           | 29             |
|                                   |  |                |
| Runnerbean mosaic                 | <i>Phaseolus coccineus (syn. P. multiflorus)</i> | 42             |
|                                   |  |                |
| Sincamas mosaic                   | <i>Pachyrrhizus erosus</i>                       | 40 - 80        |
| Sowbane mosaic                    | <i>Atriplex pacifica</i>                         | 21             |
|                                   | <i>Chenopodium album</i>                         | 30             |
|                                   | <i>Ch. amaranticolor</i>                         | 34 - 62        |
|                                   | <i>Ch. murale</i>                                | 45             |
|                                   | <i>Ch. quinoa</i>                                | 1,6            |
| Soyabean mosaic                   | <i>Glycine max</i>                               | 0 - 68         |
|                                   | <i>G. max</i>                                    | 1 - 18         |
| Soybean stunt                     | <i>Glycine max</i>                               | 50             |
| Squash mosaic                     | <i>Citrullus vulgaris</i>                        | 1,5            |
|                                   | <i>Cucumis melo</i>                              | 6,6 - 20       |
|                                   | <i>Cucurbita maxima</i>                          | 0,2 - 1,5      |
|                                   | <i>C. mixta</i>                                  | 0,3            |
|                                   | <i>C. moschata</i>                               | ?              |
|                                   | <i>C. pepo</i>                                   | 2,2            |
| Strawberry latent ringspot        | <i>Apium graveolens</i>                          | 98 - 100       |
|                                   | <i>Chenopodium quinoa</i>                        | 63 - 100       |
|                                   | <i>Mentha arvensis</i>                           | 6              |
| Sugercane mosaic                  | <i>Zea mays</i>                                  | 0,4            |

|                  |                                |           |
|------------------|--------------------------------|-----------|
| Sugercane mosaic | <i>Capsicum annuum</i>         | ?         |
|                  | <i>C. frutescens</i>           | 22        |
|                  | <i>Lycopersicon esculentum</i> | 2         |
|                  | <i>Malus platycarpa</i>        | 38        |
|                  | <i>M. sylvestris</i>           | 3 - 37    |
|                  | <i>Pyrus communis</i>          | 35        |
|                  | <i>Vigna unguiculata</i>       | 1 - 4     |
|                  | <i>Vitis spp</i>               | 20        |
| Tobacco rattle   | <i>Capsella bursa pastoris</i> | 1,9       |
| Tobacco rattle   | <i>Lamium amplexicaule</i>     | 2,2       |
|                  | <i>Myosotis arvensis</i>       | 6,0       |
|                  | <i>Papaver rhoeas</i>          | 1,1       |
| Tobacco ringspot | <i>Cucumis melo</i>            | 3 - 7     |
|                  | <i>Glycine max</i>             | 54 - 78   |
|                  | <i>Gomphrena globosa</i>       | 25 - 50   |
|                  | <i>Lactuca sativa</i>          | 3,0       |
|                  | <i>Nicotiana glutinosa</i>     | ?         |
|                  | <i>Nicotiana tabacum</i>       | 4,9       |
|                  | <i>Petunia violacea</i>        | 19        |
|                  | <i>Senecio vulgaris</i>        | ?         |
|                  | <i>Taraxacum officinale</i>    | 9 - 36    |
| Tobacco streak   | <i>Chenopodium quinoa</i>      | ?         |
|                  | <i>Datura stramonium</i>       | ?         |
|                  | <i>Phaseolus vulgaris</i>      | 1 - 26    |
|                  | <i>P. vulgaris</i>             | ?         |
| Tomato aspermy   | <i>Stelaria media</i>          | ?         |
| Tomato blackring | <i>Beta vulgaris</i>           | 56        |
|                  | <i>Capsella bursa pastoris</i> | 90        |
|                  | <i>Cerastium vulgatum</i>      | 33 - 100  |
|                  | <i>Chenopodium album</i>       | 84        |
|                  | <i>Fragaria X ananassa</i>     | 40        |
|                  | <i>Fumaria officinalis</i>     | 100       |
|                  | <i>Glycine max</i>             | 83        |
|                  | <i>Lamium amplexicaule</i>     | 10 - 48   |
|                  | <i>Ligustrum vulgare</i>       | 5,7 - 8,3 |
|                  | <i>Lycopersicon esculentum</i> | 19        |
|                  | <i>Myosotis arvensis</i>       | 100       |
|                  | <i>Nicotiana rustica</i>       | 4,4 - 8,8 |
|                  | <i>Petunia violacea</i>        | 26 - 30   |
|                  | <i>Poa annua</i>               | 2,7       |
|                  | <i>Polygonum persicaria</i>    | 21 - 100  |

|                     |                                     |          |
|---------------------|-------------------------------------|----------|
| Tomato blackring    | <i>Rubus idaeus</i>                 | 1 - 6    |
|                     | <i>Senecio vulgaris</i>             | 14       |
|                     | <i>Spergula arvensis</i>            | 63       |
|                     | <i>Stellaria media</i>              | 65       |
|                     | <i>Vigna sinensis</i>               | 23       |
| Tomato bushy stunt  | <i>Malus sp.</i>                    | ?        |
| Tomato ringspot     | <i>Fragaria</i><br><i>Xananassa</i> | ?        |
|                     | <i>Glycine max</i>                  | 76       |
|                     | <i>Lycopersicon esculentum</i>      | 3        |
| Tobacco rattle      | <i>Nicotiana tabacum</i>            | ?        |
|                     | <i>Pelargonium sp</i>               | 30       |
|                     | <i>Rubus idaeus</i>                 | ?        |
|                     | <i>Sambucus spp</i>                 | 11       |
|                     | <i>Trifolium pratense</i>           | 3 - 7    |
| Tomato spotted wilt | <i>Lycopersicon esculentum</i>      | ?        |
|                     | <i>Senecio cruentus</i>             | μέχρι 96 |
| Watermelon mosaic   | <i>Echinocystis lobata</i>          | 2        |

## 2.11. ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΣΠΟΡΟΥ

Η διάδοση των ιών με σπόρο δεν μπορεί να αποτραπεί εύκολα χρησιμοποιώντας σπόρους από φυτά που δεν εμφάνισαν συμπτώματα και ελέγχοντας οπτικά την υγεία της μητρικής καλλιέργειας, ακόμη και όταν τα φυτά έχουν αναπτυχθεί σε προστατευμένα, από έντομα, θερμοκήπια. Για παράδειγμα, παρόλο που στο μαρούλι έχουμε απουσία συμπτωμάτων, έχουμε παραγωγή μολυσμένων σπόρων. Έτσι, ο έλεγχος της υγείας του σπόρου είναι προϋπόθεση για την πιστοποίηση. Ωστόσο, λίγα πράγματα έχουν γίνει για τον έλεγχο του σπόρου, όσον αφορά τη μόλυνση από ιό, με σκοπό την πιστοποίηση. Η έλλειψη πληροφοριών μπορεί να οφείλεται στην πολυπλοκότητα που γενικά υπεισέρχεται στην ανίχνευση ιών. Οι μεθοδολογίες για τον έλεγχο του σπόρου περιλαμβάνουν άμεση οπτική εξέταση των σπόρων, έμμεση εξέταση της ποιότητας του σπόρου κατά τους ελέγχους της καλλιέργειας και τους ελέγχους για παρουσία ιών με δοκιμές

μολυσματικότητας, με την ορολογική ανίχνευση και ηλεκτρονική μικροσκόπηση.

### 2.11.1. ΟΠΤΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ

Υπάρχουν μερικές αναφορές για εξωτερικές ορατές ανωμαλίες που σχετίζονται με την ιολογική μόλυνση των σπόρων, παρόλο που τα δεδομένα συχνά αλληλοαντικρούονται.

Ο λόγος μπορεί να είναι ότι η έρευνα έγινε σε διαφορετικές φυλές ιών, είδη ξενιστών και καλλιέργειες και κάτω από διαφορετικές συνθήκες. Ο Phatak (1974) έδωσε έμφαση στο γεγονός ότι οι μορφολογικές ανωμαλίες του σπόρου συνδέονται περισσότερο με τη μόλυνση του μητρικού φυτού, παρά με τη μόλυνση του σπόρου, αφού το εξωτερικό του σπόρου είναι κομμάτι του μητρικού φυτού.

Ανωμαλίες που μπορεί να εμφανιστούν στο σπόρο είναι: μειωμένο μέγεθος, παραμόρφωση, ποικιλόχρωση, ζαρωμένο περίβλημα, περιφερειακή νέκρωση, περίβλημα με ρωγμές, περιορισμένη πλήρωση του σπόρου κ.α.

Για παράδειγμα, η ποικιλόχρωση του περιβλήματος του σπόρου σε φυτά σόγιας σχετίζεται με τη μόλυνσή του με τον ιό του μωσαικού της σόγιας (Soybean mosaic virus). Συγκρίνοντας τους κανονικούς άσπρους σπόρους με τους σπόρους με τις ανωμαλίες, παρατηρούμε ότι οι δεύτεροι έχουν μαύρες ή καφεκόκκινες λωρίδες ή ζώνες που απλώνονται ακτινωτά στο σπόρο. Οι λωρίδες είναι περισσότερο ή λιγότερο συμμετρικές πάνω και στις δύο πλευρές και είναι σταθερές με λωρίδες στα εξωτερικά περιθώρια. Μερικοί σπόροι εμφανίζουν διάχυτες γκριζωπές ζώνες. Επιπρόσθετα, σπόροι χωρίς στίγματα μπορεί να περιέχουν τον ιό, ενώ μερικοί διάστικτοι σπόροι, βρέθηκε ότι δεν ήταν μολυσμένοι. Όταν οι σπόροι αναπτύχθηκαν στους 30 °C, ο ιός βρέθηκε περισσότερο συχνά σε σπόρους με απουσία συμπτωμάτων.

Ομοίως, το μικρότερο μέγεθος και βάρος του σπόρου του μαρουλιού δεν σχετιζόταν εντελώς με τη μόλυνση από το μωσαικό του μαρουλιού, ούτε και το μικρότερο μέγεθος του σπόρου του κριθαριού σχετιζόταν με τη μόλυνση του ιού του ραβδωτού μωσαικού του κριθαριού (*Barley stripe mosaic*), ούτε το μεγαλύτερο μέγεθος και το πιο οξύληκτο σχήμα του σπόρου του λούπινου με τη μόλυνση του ιού του κίτρινου μωσαικού του φασολιού (*Bean yellow mosaic*), ούτε οι ρωγμές στο περίβλημα του σπόρου μπιζελιού με τη μόλυνση του ιού του μωσαικού του μπιζελιού (*Pea mosaic virus*).

Οι ιολόγοι ερευνητές τονίζουν ότι η μετάδοση με το σπόρο σχετίζεται συχνά με τη λανθάνουσα μόλυνση, όπως αξιοσημείωτα επικρατεί με τους ιούς που μεταδίδονται στο έδαφος από νηματώδεις (*Nemovirus*). Σε αυτές τις περιπτώσεις, οι μολυσμένοι σπόροι είναι κανονικοί στην εμφάνιση.

### 2.11.2. ΕΛΕΓΧΟΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Ο παλιότερος και φαινομενικά ο απλούστερος τρόπος για τον έλεγχο της μόλυνσης με σπόρο είναι ο έλεγχος της ανάπτυξης (*growth test*), κατά τον οποίο τα φυτάρια που βλαστάνουν εξετάζονται για συμπτώματα. Σε αυτόν τον έλεγχο όμως, παραλείπεται η ενδεχόμενη επιδημιολογική σπουδαιότητα της απουσίας συμπτωμάτων των μολυσμένων φυταρίων (λανθάνουσα μόλυνση), δηλαδή η δυνατότητα λειτουργίας των σαν πηγές μόλυνσης και γι' αυτό πρέπει να συνδιάζεται με άμεσους ελέγχους για την παρουσία του ιού.

Ιολόγοι ερευνητές έχουν τονίσει ότι οι ιοί που υπάρχουν στο σπόρο (*seed-borne*) μπορεί να έχουν μικρή ή καθόλου επίδραση πάνω στα φυτάρια κι έτσι ξεφεύγουν της προσοχής. Οι έλεγχοι ανάπτυξης σχετίζονται με τη θεωρία ότι οι ιοί έχουν το πλεονέκτημα της άμεσης εξωτερίκευσης του βαθμού της μόλυνσης του σπόρου.

Οι έλεγχοι ανάπτυξης εφαρμόσθηκαν πρώτα για τον ιό του κοινού μωσαικού του φασολιού (Bean common mosaic virus) και αργότερα για τον ιό του ραβδωτού μωσαικού του φασολιού (Barley stripe mosaic virus) και τον ιό του μωσαικού του μαρουλιού (Lettuce mosaic virus). Οι διαδικασίες ελέγχου πρέπει να πραγματοποιούνται κάτω από τεχνητές - εργαστηριακές συνθήκες, ώστε να αποτραπεί η μόλυνση από εξωτερικές πηγές ή από απλά μολυσμένα φυτάρια διαμέσων των φορέων ή από επαφή όταν μεγαλώνουν δίπλα - δίπλα όπως με τον ιό του ραβδωτού μωσαικού του κριθαριού (Barley stripe mosaic virus). Τα αποτελέσματα είναι περισσότερο ομοιόμορφα κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες με θερμοκρασία και φως κατάλληλα ρυθμιζόμενα.

Ο ιός του μωσαικού του φασολιού (Bean mosaic virus) είναι ένας ιός για τον οποίο πολύ συχνά έχουν μερικές φορές ελεγχθεί σπόροι φασολιού. Αναφέρεται ότι ο έλεγχος στο θερμοκήπιο το χειμώνα απαιτεί πρόσθετο φωτισμό και μεγάλη διάρκεια ημέρας 16 ώρες για ισότιμα αποτελέσματα με το χωράφι

Ένα πρόβλημα το οποίο δεν πρέπει να παραβλεφθεί είναι η εμφάνιση συμπτωμάτων που μοιάζουν με εκείνα των ιών, π.χ. στο φασόλι το βακτήριο *Pseudomonas phaseolicola* μπορεί να προκαλέσει συμπτώματα που θυμίζουν μόλυνση από το κοινό μωσαικό του φασολιού.

### 2.11.3. ΕΛΕΓΧΟΙ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Στους ελέγχους μολυσματικότητας χρησιμοποιούνται φυτά δείκτες που αντιδρούν εξειδικευμένα στη μόλυνση συγκεκριμένων ιών και έχουν το πλεονέκτημα της εκδήλωσης της παρουσίας των ιών ανεξάρτητα από την παρουσίαση ή μη συμπτωμάτων στο ελεγχόμενο υλικό. Τέτοιοι έλεγχοι, που συχνά χρησιμοποιούνται σαν συμπλήρωμα στους ελέγχους ανάπτυξης έχουν φανεί χρήσιμοι και στους ελέγχους σπόρων



άμεσα, είτε σε ξηρή κατάσταση είτε, στο στάδιο της προβλάστησης. Ευνόητο είναι ότι τα φυτά - δείκτες πρέπει να αναπτυχθούν χωρίς να μολυνθούν από κάποιο ιό, π.χ. φυτά του γένους *Chenopodium*, που συχνά χρησιμοποιούνται ως δείκτες, έχουν βρεθεί πολλές φορές να είναι μολυσμένα με ιούς που μεταδίδονται με το σπόρο των μητρικών τους φυτών.

Οι έλεγχοι μολυσματικότητας μπορούν θεωρητικά να εφαρμοστούν σε όλους τους ιούς που υπάρχουν στο σπόρο, που μεταδίδονται με το σπόρο και είναι ικανοί να μολύνουν τον παρεγχυματικό ιστό και οι οποίοι θα μπορούσαν να μεταδοθούν μηχανικά.

Πρόσφατα, στην Καλιφόρνια η μέθοδος της εκτίμησης με τη χρησιμοποίηση του *Chenopodium* βρέθηκε να είναι το ίδιο ικανοποιητική όπως η εκτίμηση με την ανάπτυξη φυταρίων και αφού απαιτείται λιγότερη εργασία και χώρος στο θερμοκήπιο είναι και πιο οικονομική.

#### 2.11.4. ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ

Θεωρητικά, αρκετά μειονεκτήματα των ελέγχων που προαναφέρθηκαν προηγουμένως, μπορούν να καλυφθούν από τις ορολογικές δοκιμές, οι οποίες γενικά είναι άμεσες, εξειδικευμένες και ταχύτατες (βλέπε Διάγνωση ιολογικών ασθενειών).

Η περισσότερη εργασία στην ορολογική εξέταση της μόλυνσης σπόρου έχει γίνει για τον ιό του μωσαικού του κριθαριού (*Barley mosaic virus*). Η πρώτη δοκιμή έγινε από τον Scott (1961) και η αντίδραση εμφανίστηκε μετά 2-3 εβδομάδες.

Αργότερα, ο Hamilton (1965) ανέπτυξε μια πρακτική τεχνική διπλής διάχυσης. Τα έμβρυα του κριθαριού συνθλίβηκαν μέσα σε μικρά δισκάκια διηθητικού χαρτιού, τα οποία τοποθετήθηκαν σε άγαρ κοντά σε ένα άλλο δίσκο διηθητικού χαρτιού με αντιορό του ιού του μωσαικού του κριθαριού (*Barley mosaic virus*). Ένα απορρυπαντικό, Leonil SAR, προστέθηκε στο άγαρ αυξάνοντας την ευαισθησία της

δοκιμής, εμποδίζοντας τη συγκέντρωση του ιού και διαχωρίζοντας τον ιό σε περισσότερο κινούμενα αντιγόνα. Η δοκιμή βρέθηκε εξαιρετικά κατάλληλη για την πιστοποίηση του σπόρου στο Εργαστήριο Σπόρου της Μοντάνα, Η.Π.Α.

Μια δοκιμή που υπόσχεται πολλά για την καθαρότητα του σπόρου είναι αυτή της ακτινικής διάχυσης σε άγαρ (radial agar diffusion) των Slack και Shepherd (1975) για τον έλεγχο του σπόρου σιταριού και κριθαριού. Τεμάχια φύλλων από βλαστημένους σπόρους βυθίστηκαν σε άγαρ και σε 24 με 36 ώρες ακολούθησαν ορατές αντιδράσεις. Περίπου 500-600 δείγματα μπορούσαν να εκτιμηθούν σε ένα τρυβλίο Petri με 100 έως 200 δείγματα για κάθε άτομο την ώρα. Η δοκιμή έχει επίσης το πλεονέκτημα ότι δείχνει άμεσα το ποσοστό της μόλυνσης, ενώ τα φυτάρια που είναι <<ελεύθερα>> από ιούς μπορούν να αναπτυχθούν διατηρώντας έτσι το γενετικό υλικό. Αυτή η τεχνική χρησιμοποιεί αντιορό, του οποίου η πρωτεΐνη έχει διασπασθεί με πυρολίνη. Τα Petri περιέχουν ένα κατάλληλα αραιωμένο αντιορό, που περιέχει 1% απορρυπαντικό Leonil SAR και 0,4 sodium azide με έναν ισοδύναμο όγκο διαλύματος 1% Ionagar No 2 σε ρυθμιστικό διάλυμα 0,1 M Tris-HCl (pH=7.2) με 1,7% NaCl. 15ml από αυτό το παρασκεύασμα χύθηκαν σε πλαστικό Petri διαμέτρου 90 mm και αφήθηκαν για να στερεοποιηθούν σε υγρό θάλαμο σε θερμοκρασία δωματίου. Οι σπόροι βλάστησαν σε θάλαμο κάτω από συνεχή υγρασία για 5 ημέρες σε θερμοκρασία 20 °C. Από κάθε φυτάριο κόβεται ένα τεμάχιο 1 mm από το πρωταρχικό φύλλο που προεξέχει από την κολεοπτύλη. Τα τεμάχια του φύλλου βυθίζονται αμέσως στο στερεοποιημένο άγαρ πιάνοντας τον ιστό προσεκτικά με λαβίδες και πιέζοντας τον μέσα στο άγαρ. Τα Petri επωάζονται σε υγρό θάλαμο για 24-36 ώρες μέχρι να πραγματοποιηθεί η αντίδραση καθίζησης. Αντιδράσεις παρατηρούνται με οπτικό μικροσκόπιο από X10 έως X 20 σε σκοτεινό πεδίο.

Οι Jermoliev και Chod (1966 ) υποστηρίζουν μια ορολογική τεχνική για τον ιό του μωσαικού του φασολιού (Bean common

mosaic virus) σε βλαστημένους σπόρους φασολιού. Δίσκοι διηθητικού χαρτιού βρέχονται με χυμό και προστίθενται σταγόνες αντιορού που προκαλούν χλωροπλαστική συγκόλληση αν ο ιός είναι παρών.

Ο Phatak διερεύνησε τις δυνατότητες της ορολογίας για τον έλεγχο της υγείας των σπόρων για έναν αριθμό ιών. Τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά όταν τριμμένα δείγματα 50-500 σπόρων τομάτας ελέγχθηκαν για τον ιό του μωσαικού της τομάτας (Tomato mosaic virus) με τεστ διάχυσης στερεοποιημένου άγαρ. Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε στην υψηλής ευαισθησίας τεχνική συγκόλλησης χυμού (latex agglutination technique).

Σε μερικές περιπτώσεις τα αιωρήματα σωματιδίων χυμού παραμένουν σταθερά για πάνω από τρία χρόνια. Τα σωματίδια του χυμού συγκολλούνται κατά την παρουσία του ιού που ταιριάζει και τα σύμπλοκα είναι αμέσως ορατά. Επίσης μολύνσεις που δεν εμφανίζουν συμπτώματα γίνονται φανερές. Γενικά χρειάζεται περισσότερη έρευνα πριν τα ορολογικά τεστ του σπόρου τα οποία σε καθημερινό επίπεδο είναι πρακτικά.

Την δεκαετία του 80 έγινε πλήρη αξιοποίηση της τεχνικής ELISA για τον έλεγχο σπόρων με αποτέλεσμα οι προαναφερθείσες ορολογικές τεχνικές να έχουν μόνο ιστορική αξία.

### 2.11.5 ΤΕΣΤ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΣΗΣ

Ενας σημαντικός αριθμός αναφορών σχετίζεται με την ηλεκτρονική μικροσκόπηση για την απόδειξη της παρουσίας ιοσωματίων ιών στη γύρη, τον ύπερο, την ωοθήκη και μέρη του σπόρου όπως το ενδοσπέρμιο και το έμβρυο ή στις ομογενοποιήσεις των ιστών ή κατευθείαν κατά θέση σε πολύ μικρά τεμάχια. Φυσικά τέτοιες έρευνες είναι πολύ σημαντικές για την κατανόηση των σχέσεων ιού-φυτού που μας ενδιαφέρει. Όμως καμμία από αυτές τις τεχνικές δεν έχει

ακόμη εφαρμοστεί σε μαζικούς ελέγχους σπόρου για παρουσία ιών.

Η ηλεκτρονική μικροσκόπηση δεν φαίνεται να είναι η πιο ευαίσθητη μέθοδος. Ο Phathak (1974) δεν μπόρεσε να ανιχνεύσει σωματίδια του ιού του μωσαικού του μαρουλιού (*Lettuce mosaic virus*) σε εκχυλίσματα μολυσμένων σπόρων μαρουλιού. Όμως μπόρεσε να ανιχνεύσει σωματίδια του ιού του ραβδωτού μωσαικού του κριθαριού (*Barley stripe mosaic virus*), του ιού του κοινού μωσαικού του φασολιού (*Bean common mosaic virus*) και του ιού του μωσαικού της σόγιας (*Soybean mosaic virus*) σε εκχυλίσματα των τριχιδίων του σπόρου των αντίστοιχων ξενιστών τους.

Όμως, η ηλεκτρονική μικροσκόπηση παραμένει μια πολύ ταχεία και χρήσιμη τεχνική για τον έλεγχο της μόλυνσης των φυταρίων και κυρίως για την άμεση διαπίστωση του μορφολογικού τύπου του ιού που εξετάζεται (βλέπε Διάγνωση ιολογικών ασθενειών).

## 2.12. ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗ ΣΠΟΡΟΥ

Οι περισσότερες προσπάθειες για να απαλλαγούν οι παρτίδες σπόρου από την ιολογική μόλυνση έχουν γίνει με τεχνικές απολύμανσης οι οποίες διαφοροποιούνται ανάλογα αν η μόλυνση προέρχεται από μέσα ή πάνω στο περίβλημα του σπόρου ή το περισπέρμιο και το ενδοσπέρμιο ή μέσα από το έμβρυο.

Η επεξεργασία για τη λήψη του σπόρου μπορεί να βοηθήσει να μεταφερθεί η εξωτερική μόλυνση, στα υπολείμματα του πολτού του χυμού όπως ο ιός του μωσαικού της τομάτας (*Tomato mosaic virus*) σε σπόρους τομάτας και του ιού του μωσαικού της πράσινης ποικιλόχρωσης του αγγουριού (*Cucumber green mottle mosaic virus*) στους σπόρους του κολοκυθιού. Αυτή η επεξεργασία μπορεί να είναι μηχανική διαμέσου της ζύμωσης του πολτού του χυμού, ή με ένζυμα, με απορρυπαντικά ή άλλα χημικά. Επιπρόσθετα, οι δύο ιοί

εμφανίζονται μέσα στα περιβλήματα του σπόρου και μερικές φορές σε βαθύτερους ιστούς.

Υπάρχουν αναφορές ότι η μόλυνση σε εμβρυακούς ιστούς μειώνεται ταχύτατα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης π.χ. κατά τη διάρκεια του πρώτου χρόνου όπως με τον ιό του μωσαικού της τομάτας (Tomato mosaic virus) σε σπόρους τομάτας, αλλά μπορεί και να παραμείνει για μεγαλύτερες περιόδους. Οι Taylor *et al.* (1961) ισχυρίζονται ότι η εμφάνιση ενός ιού στο ενδοσπέρμιο της τομάτας μειώνεται βαθμιαία κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Η βιωσιμότητα του σπόρου επίσης μειώνεται αν και λιγότερο από ότι η μολυσματικότητα του ιού.

Με τους ιούς που μολύνουν το έμβρυο, η αποθήκευση του σπόρου δεν φαίνεται να βοηθά στη μείωση της μεταδοτικότητας του σπόρου, από τη στιγμή που τέτοιοι ιοί μπορούν να επιβιώσουν όσο οι σπόροι παραμένουν βιώσιμοι. Η μοναδική γνωστή εξαίρεση είναι αυτή του Νότιου ιού του μωσαικού του φασολιού (Bean southern mosaic virus) που εμφανίζεται σε ανώριμους σπόρους και εξαφανίζεται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Στον ώριμο σπόρο όμως, η μόλυνση περιορίζεται στο περίβλημα του σπόρου, από όπου μπορεί να μολυνθεί το φυτάριο κατά τη βλάστηση.

Οι χημικές απολυμάνσεις, ειδικά όταν σχετίζονται με μούσκεμα μπορούν να επιδράσουν σε βαθύτερους ιστούς. Ο Crawley έχει αναφέρει ότι 10% Teepol (απορρυπαντικό) δεν μπορεί να επιδράσει σε εσωτερικούς ιστούς του σπόρου. Ο ιός του μωσαικού της τομάτας (Tomato mosaic virus) αδρανοποιήθηκε σε σπόρους τομάτας και στα περιβλήματα του σπόρου με μούσκεμα των σπόρων σε 1% υδατικό διάλυμα από trisodium orthophosphate για 15 λεπτά και μετά σε 0,525%

Η θερμοθεραπεία έχει μελετηθεί ευρύτατα. Δεν έχει επίδραση σε ιούς που έχουν αποδειχθεί ότι μεταδίδονται με τη μόλυνση του εμβρύου, όπως οι Barley stripe mosaic virus στο κριθάρι, ο Bean common mosaic virus στο φασόλι, ο Lettuce mosaic virus στο μαρούλι κ.α. Αλλά η θερμοθεραπεία έχει

αρνητική επίδραση σε πολλούς σπόρους. Σπόροι αγγουριού βρέθηκε ότι αντέχουν σε ξηρή θερμότητα, παρόλο που στους 80°C η βλάστηση καθυστέρησε και οι κοτυληδόνες παραμορφώθηκαν.

Οι ακτίνες γ έχουν σπανίως μελετηθεί για την επίδραση τους στην εξάλειψη μολυσματικότητας του ιού από το σπόρο. Ακτινοβόληση σπόρων κριθαριού, μερικώς μολυσμένων με τον *Barley stripe mosaic virus* ξηρών και μουσκεμένων σε H<sub>2</sub>O, για 18h σε 10 στάδια από 0 R μέχρι θανατηφόρες δόσεις έδειξε ότι η αυξανόμενη ακτινοβολία μειώνει το ποσοστό μόλυνσης, αλλά υψηλότερες δόσεις (32 KR και πάνω) προκαλούν ζημιές, καθόσον λίγα φυτά επιβιώνουν ενώ η μόλυνση του σπόρου παραμένει μάλλον υψηλή.

### 2.13. ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΠΟΡΟΥ

Η εξάλειψη της μόλυνσης είναι πρακτικά αδύνατη σε μεγάλη κλίμακα στις παρτίδες του μολυσμένου σπόρου. Κατά τη διάρκεια του πολλαπλασιασμού (σποροπαραγωγή), η επαναμόλυνση πρέπει να εμποδιστεί με κάθε τρόπο. Τελικά η απουσία ιών πρέπει να είναι εγγυημένη με πιστοποιητικό. Πρέπει να διευκρινιστεί ότι το πιστοποιητικό του σπόρου που αναφέρεται εδώ, αφορά στην εγγύηση της υγείας που δίνεται από τους διεθνείς οργανισμούς πιστοποίησης σπόρου. Αυτοί οι οργανισμοί είναι επιβλέποντες εταιρείες των παραγωγών σπόρων και των εμπόρων.

Οι περισσότερες εμπειρίες στην παραγωγή και πιστοποίηση σπόρων ελευθέρων από ιούς, έχουν αποκτηθεί από ανάλογες που αφορούν το αγενές φυτικό υλικό. Πολύ λίγη δουλειά έχει γίνει για την παραγωγή πραγματικά αμόλυντου σπόρου και για την πιστοποίησή του. Οι πιο λεπτομερείς πληροφορίες αφορούν το μαρούλι. Στην Καλιφόρνια για παράδειγμα, ο σπόρος παράγεται από <<ελεύθερα>> από ιούς

φυτά που αναπτύσσονται σε συνθήκες θερμοκηπίου, χωρίς αφίδες.

Για μερικές άλλες καλλιέργειες, όπου είναι πιθανό ιοί που μεταδίδονται με το σπόρο να περιλαμβάνονται σε προγράμματα πιστοποίησης σπόρου, η πραγματική πιστοποίηση για την απουσία ιών βασίζεται κυρίως και μόνο στον έλεγχο στο χωράφι της καλλιέργειας που παράγει τον πιστοποιημένο σπόρο επειδή δεν είναι διαθέσιμα ακόμη οικονομικά, αξιόπιστα και εύκολα στην εφαρμογή τους τέστ.

Θεωρητικά, μόνο οι έλεγχοι του σπόρου που έχουν αποδειχθεί αξιόπιστοι μπορούν να είναι η μοναδική βάση της πιστοποίησης του σπόρου από παθόγωνα και παράσιτα. Αυτό συμβαίνει γιατί οι καλλιέργειες μπορεί να είναι μολυσμένες χωρίς την εμφάνιση συμπτωμάτων, όπως συμβαίνει με τους ιούς που μεταδίδονται με το σπόρο ή όταν μια υγιής καλλιέργεια μπορεί να μολυνθεί κατά τη γονιμοποίηση (με μολυσμένη γύρη) από μια μολυσμένη γειτονική καλλιέργεια. Ομως, οι έλεγχοι του σπόρου για ιούς είναι συνήθως δύσκολοι και ακριβοί και ελάχιστες μέθοδοι είναι πλήρως αξιόπιστες. Γι αυτό η πιστοποίηση του σπόρου είναι συνήθως ένα γεγονός συμβιβασμού και βασίζεται ή στην επιθεώρηση και στον έλεγχο στον αγρό ή στον έλεγχο του σπόρου ή και στα δύο. Ακόμη και με αυστηρότερους κανονισμούς είναι συνήθως αδύνατο εμπορικά να παραχθούν σπόροι τελείως <<ελεύθεροι>> από ιούς.

Ανεκτά επίπεδα υιοθετούνται και εξαρτώνται από ένα συμβιβασμό μεταξύ κόστους της βελτίωσης της υγείας του σπόρου και της οικονομικής ζημιάς. Έτσι τα ανεκτά επίπεδα εξαρτώνται από τον ιό, τον ξενιστή, το σκοπό της καλλιέργειας και τις συνθήκες.

Υπάρχει η δυνατότητα να γίνουν περισσότερα για την παραγωγή αξιόπιστου σπόρου. Ένα σύνολο φυτουγειονομικών μέτρων μπορεί να επηρεάσει θετικά την παραγωγή:

α) Αποφυγή των αρχικών πηγών μόλυνσης παίρνοντας τα παρακάτω μέτρα:

- α<sub>1</sub>) Χρησιμοποίηση πολλαπλασιαστικού υλικού <<ελεύθερο>> από ιούς
- α<sub>2</sub>) Απομάκρυνση των μολυσμένων φυτών κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας
- α<sub>3</sub>) Παρεμπόδιση της παρουσίας κοντινών πηγών μόλυνσης, όπως είναι όμοιες καλλιέργειες ή άλλες που ξενίζουν του ίδιους ιούς που μεταδίδονται με σπόρο και ζιζάνια σε κοντινές στην καλλιέργεια περιοχές ή γειτονική άγρια βλάστηση
- α<sub>4</sub>) Παρεμπόδιση των ιών που περιέχονται στο έδαφος και των φορέων τους.
- β) Παρεμπόδιση της εισαγωγής ιών και εξάπλωσή τους με επαφή ή με τους φορείς τους:
- β<sub>1</sub>) Προσοχή κατά τους χειρισμούς της καλλιέργειας
- β<sub>2</sub>) Καλλιέργεια σε περιοχή απαλλαγμένη από φορείς ιώσεων (π.χ. γυάλινο θερμοκήπιο, ή θερμοκήπιο προφυλαγμένο από έντομα, επιλογή καλλιέργειας σε περίοδο που δεν υπάρχουν φορείς ή σε έδαφος απαλλαγμένο από ιούς που μεταδίδονται με το έδαφος και τους φορείς τους.
- β<sub>3</sub>) Άμεσος έλεγχος των φορέων π.χ. με εντομοκτόνα ή ψεκασμούς με λάδια. Επειδή οι περισσότεροι ιοί που μεταδίδονται με σπόρο και με έντομα είναι μη έμμου του τύπου, τα διασυστηματικά εντομοκτόνα δεν βοηθούν πολύ, ενώ η συχνή χρήση ψεκασμών με λάδια μπορεί να βοηθήσει.
- γ) Βελτίωση της ανθεκτικότητας της καλλιέργειας στη μετάδοση ιών με σπόρο.
- δ) Εφαρμογή αξιόπιστων μεθόδων για καθημερινό έλεγχο των σπόρων για μόλυνση από ιούς καθώς επίσης ανάπτυξη και βελτίωση τέτοιων τεχνικών.

Επειδή η ανάπτυξη πιστοποιημένου σπόρου είναι πολύπλοκη και η οικονομική ζημιά από ελάχιστα μολυσμένα φυτάρια είναι συνήθως μικρότερη από το κόστος παραγωγής σπόρου που είναι απαλλαγμένο από ιούς, εταιρείες που πιστοποιούν το σπόρο ποτέ δεν εγγυώνται εντελώς την απουσία ιών. Η εμπορική παραγωγή σπόρου για εθνική χρήση στηρίζεται συνήθως μόνο στην τυχαία επιθεώρηση,



δειγματοληψία και έλεγχο. Στις εξαγωγές, τα πιστοποιητικά υγείας με διεθνή συμφωνία παρέχονται από υπηρεσίες προστασίας φυτών της χώρας εξαγωγής. Βασίζονται συχνά σε εθνικά πιστοποιητικά και μερικές φορές σε πληροφορίες που αμφισβητούν την απουσία ενός παθογόνου στη χώρα εξαγωγής. Το ίδιο ισχύει και για τις άδειες εισαγωγής φυτών που παρέχονται από τις χώρες εισαγωγής για υλικό από χαμηλής επικινδυνότητας περιοχές του κόσμου.

Τέτοια εθνικά και διεθνή πιστοποιητικά και άδειες εισαγωγής αγνοούν συνήθως την εισαγωγή ενός νέου σπορομεταδιδόμενου παθογόνου ή μιας φυλής του σε μια νέα περιοχή.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5ο

### <<Ο ΙΟΣ ΑΚ-7>>

Ο ΑΚ-7 απομονώθηκε για πρώτη φορά πριν από 2 χρόνια περίπου από τυχαίο δείγμα αμπελώνα της κοινότητας Αγ. Θωμά του νομού Ηρακλείου, όπου η κυριαρχούσα οινοποιήσιμη ποικιλία ανάμεσα στις διάφορες οινοποιήσιμες ποικιλίες που συνιστούσαν τον αμπελώνα ήταν το Κοτσιφάλι.

Σύμφωνα με προκαταρκτικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών Ηρακλείου Κρήτης ο ΑΚ-7 εντάχτηκε στην ταξινομική ομάδα των Νερονίρις που μεταδίδονται με νηματώδεις *Xiphinema* και *Longidorus*.

Κατά τη διαδικασία της κάθαρσης η απόδοση υπολογίστηκε στα 2 ng/100gr φυτών του γένους *Gomphrena* και η περιεκτικότητα σε νουκλεικό οξύ της ζώνης καθίζησης του τρισυστατικού ιού (T+M+B) υπολογίστηκε ίση με 14,5%.

Όσον αφορά τις φυσικές ιδιότητες του ιού ΑΚ-7 βρέθηκε ότι το όριο αραίωσης είναι  $10^{-5}$ , η θερμοκρασία αδρανοποίησης 70°C και η μακροβιότητά του *in vitro* μικρή (3 ημέρες).

Ο ΑΚ-7 είναι <<καλός>> παραγωγός αντισωμάτων, αφού ο αντιορός του έχει τίτλο 1:256. Επίσης ο ιός δεν αντέδρασε ορολογικά με κανένα από τους αντιορούς γνωστών ιών του αμπελιού που χρησιμοποιήθηκαν και είναι οι εξής: Ο ιός του μωσαικού του *Arabis* (*Arabis mosaic virus*), ο ιός του μολυσματικού εκφυλισμού (*Grapevine mosaic virus*), ο λανθάνων Βουλγάρικος ιός του αμπελιού (*Grapevine Bulgarian latent virus*), ο ιός της δακτυλιωτής κηλίδωσης του σμέουρου (*Raspberry ringspot virus*), ο ιός του μωσαικού του χρωμίου της αμπέλου (*Grapevine chrome mosaic virus*), ο ιός της λανθάνουσας δακτυλίωσης της φράουλας (*Strawberry latent ringspot virus*), ο ιός των μαύρων δακτυλίων της τομάτας (*Tomato black ring*), ο ιός της δακτυλιωτής κηλίδωσης της

τομάτας (Tomato ringspot virus) και ο ιός της δακτυλιωτής κηλίδωσης του καπνού (Tobacco ringspot virus).

Επίσης ο AK-7 σύμφωνα μ'αυτές τις μελέτες μεταδίδεται μηχανικά σε φυτοδείκτες των οικογενειών: Chenopodiaceae, Compositae, Cucurbitaceae, Leguminosae, Amaranthaceae και Solanaceae με μια τάση προτίμησης στα γένη των οικογενειών Leguminosae και Solanaceae. Δοκιμές που έγιναν οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι ο ιός αυτός δε μεταδίδεται με αφίδες τουλάχιστον με μη έμμονο τρόπο.

Το εύρος των ξενιστών και τα προκαλούμενα συμπτώματα δε φαίνεται να έχουν ομοιότητες με γνωστούς ιούς του αμπελιού.

Τα συμπτώματα που προκαλεί ο ιός, όπου η μόλυνση είναι τοπική, σε φυτά των οικογενειών που προαναφέρθηκαν ήταν: νέκρωση, δακτυλιωτή κηλίδωση, νεκρωτικές κηλίδες, χλωρωτικές κηλίδες ή νεκρωτικές και χλωρωτικές κηλίδες.

Ενώ τα συμπτώματα κατά τη διασυστηματική μόλυνση του AK-7 ήταν: δακτυλιωτή κηλίδωση, νεκρωτικές κηλίδες, παραμορφώσεις, ποικιλοχρώσεις, νέκρωση βλαστικής κορυφής ή γραμμικά σχέδια.

Και κατά την τοπική και κατά τη διασυστηματική μόλυνση πολύ συχνή ήταν η παντελής απουσία συμπτωμάτων.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στο πειραματικό μέρος της παρούσας πτυχιακής μελέτης ερευνήθηκε η μετάδοση ενός πιθανώς νέου ιού της αμπέλου, του AK-7, με σπόρο των ειδών *Vicia faba*, *Pisum sativum* και *Chenopodium quinoa*. Στα φυτά που αναπτύχθηκαν από τους σπόρους, που προήλθαν από μηχανικά μολυσμένα μητρικά φυτά, δεν παρουσιάστηκαν συμπτώματα και με τη μέθοδο ELISA εξετάστηκε η πιθανή παρουσία του ιού σε λανθάνουσα κατάσταση.

Η μέθοδος ELISA εκτελέστηκε 2 φορές. Η επανάληψη κρίθηκε αναγκαία καθόσον τα διαγνωστικά σκευάσματα, κατά τον πρώτο έλεγχο το καλοκαίρι του 1994, δεν κρίθηκαν αξιόπιστα. Με το δεύτερο έλεγχο που έγινε το χειμώνα 1994-1995 διαπιστώθηκε ότι ο AK-7 μεταδίδεται σε πολύ μικρό ποσοστό με σπόρους του *Ch. quinoa*. Παράλληλα πραγματοποιήθηκαν και δοκιμές μηχανικής μετάδοσης του ιού AK-7 σε φυτά του είδους *Gomphrena globosa* με σκοπό αφενός να διαπιστωθεί το ποσοστό μόλυνσης και αφετέρου για την σύγκριση των δύο μεθοδολογιών. Τελικά τα αποτελέσματα των δύο μεθόδων που ακολουθήθηκαν κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους συνέπεσαν.

## 1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.

Φυτά των ειδών *Vicia faba*, *Pisum sativum* και *Chenopodium quinoa* μολύνθηκαν μηχανικά με το AK-7 και μεταφυτεύτηκαν σε γλάστρες όγκου 10 L σε χώρο του Εργαστηριακού θερμοκηπίου. Μετά την ωρίμανση των σπόρων, ακολούθησε αλλαγή και διατήρηση σε θερμοκρασία δωματίου (18-20°C) περίπου 2 μήνες. Κάθε παρτίδα σπόρου αποτελείτο από τους σπόρους τουλάχιστον 20 μητρικών φυτών. Τα συμπτώματα των μητρικών φυτών ειδών *Vicia faba* και *Pisum sativum* εμφανίζονται αντίστοιχα στις Εικόνες 6 και 7.

Η φύτευση 700 σπόρων *Vicia faba* και 500 σπόρων *Pisum sativum* έγινε σε πλαστικά γλαστράκια όγκου 200 ml που περιείχαν μίγμα χώματος, τύρφης και άμμου (1:2:1) κατάλληλα λιπασμένο. Προηγουμένως, τα πλαστικά γλαστράκια είχαν απολυμανθεί σε διάλυμα 10%  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  για 20 λεπτά της ώρας. Στη συνέχεια τα φυτά παρέμειναν στο θερμοκήπιο κάτω από ημιελεγχόμενες συνθήκες (18-24 °C και 60-70% υγρασία).

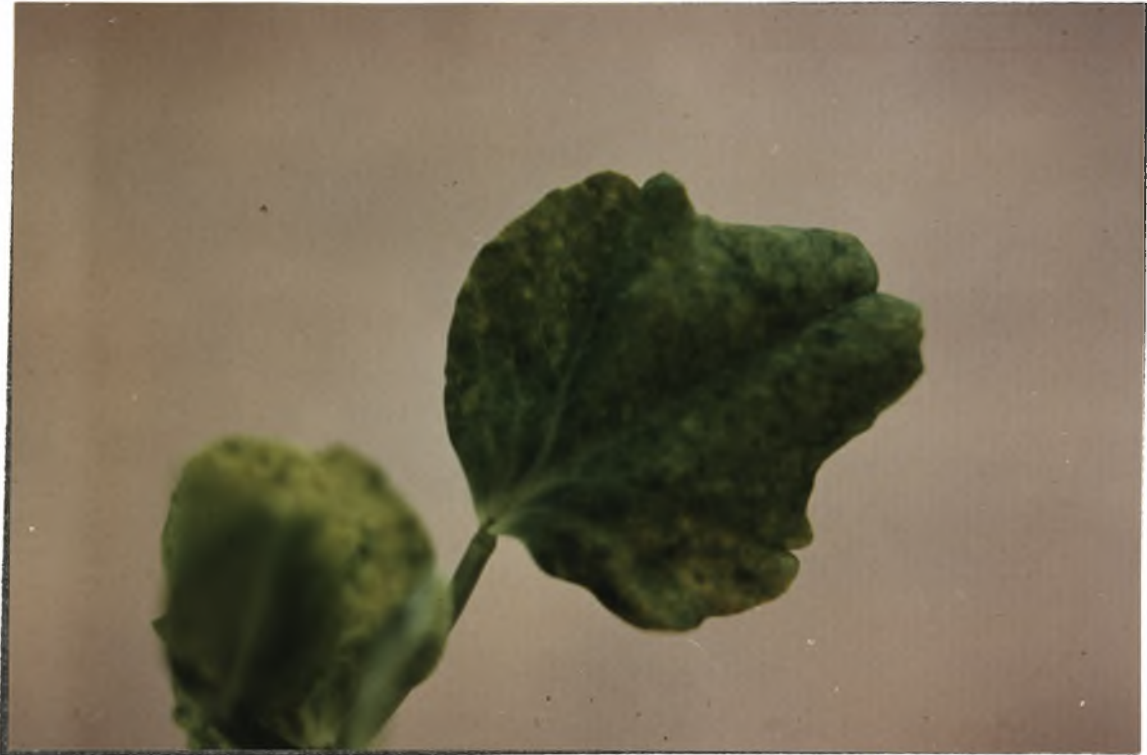
Περισσότεροι από 600 σπόροι του *Chenopodium quinoa* φυτεύτηκαν σε σπορείο το οποίο έγινε σε εμπορικό υπόστρωμα DEGA και τα φυτά παρέμειναν σε χώρο ρυθμιζόμενων συνθηκών (22 °C και 16 ώρες φωτισμό).

Καθημερινώς γινόταν μακροσκοπικός έλεγχος για την εμφάνιση ιολογικών συμπτωμάτων στα φυτά.

Εικόνα 6. Διασυστηματικά συμπτώματα δακτυλιοειδών νεκρωτικών κηλίδων και παραμορφώσεων σε φυτάρια *Vicia faba* έπειτα από μηχανική μόλυνση του ιού AK-7.



Εικόνα 7. Ποικιλόχρωση σε φύλλο *Pisum sativum* μετά από τη μηχανική μετάδοση του AK-7.



### 1.1. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η λήψη των δειγμάτων για την πραγματοποίηση της δοκιμής ELISA έγινε από τα φυτά των ειδών *P. sativum*, *V. faba* και *Ch. quinoa*. Για την παρασκευή των δειγμάτων αυτών χρησιμοποιήθηκαν:

- α) Οι κορυφές των φυτών των *P. sativum* και *V. faba* 2 εβδομάδες περίπου μετά τη φύτευση
- β) Ολόκληρο το φυτάριο του *Ch. quinoa* εκτός από τη ρίζα (10 ημέρες από τη σπορά).

Η λήψη των δειγμάτων έγινε με τη χρήση γαντιών με σκοπό την αποφυγή μετάδοσης του ιού μεταξύ των δειγμάτων. Για κάθε δείγμα ακολουθήθηκε η διαδικασία της ομογενοποίησης μέσα σε αποστειρωμένο γουδί πορσελάνης. Η ομογενοποίηση των δειγμάτων γινόταν παρουσία ρυθμιστικού διαλύματος εξαγωγής Tris-HCl, pH=8.2 (Πίνακας 12) σε ποσότητα 5 ml/1 gr φυτικού ιστού.

ΠΙΝΑΚΑΣ 12. Παρασκευή 1000 ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl, pH: 8.2.

| Σε κωνική φιάλη του 1 lit προστίθενται:                               |
|---|
| 24.2 gr Tris  |
| 700 ml διπλά απεσταγμένο H <sub>2</sub> O                             |
| 8 gr NaCl   |
| 20 gr PVP   |
| 0.5 ml Tween 20   |
| Ρυθμίζουμε το pH στο 8.2 με 10% HCl                                   |
| Μετά προσθέτουμε διπλά απεσταγμένο H <sub>2</sub> O μέχρι τα 1000 ml. |



Η ομογενοποίηση έγινε ως εξής:

Κάθε φορά ζυγίζοταν 1 gr φυτικού ιστού *P. sativum* και *V. faba* και περίπου 0,4 gr φυτικού ιστού *Ch. quinoa* και τοποθετούνταν μέσα σε απολυμασμένο πορσελάνινο γουδί, στο οποίο υπήρχε ήδη και 1 ml Tris-HCl και συνθλιβόταν όσο το δυνατόν καλύτερα. Μετά προσθέτονταν άλλα 4 ml Tris-HCl για τα φυτά *P. sativum* και *V. faba* και άλλα 1-2 ml Tris-HCl για τα φυτά του είδους *Ch. quinoa*.

Ακολούθως το περιεχόμενο του γουδιού συγκεντρωνόταν σε απολυμασμένο γυάλινο σωληνάκι των 10 ml και τα δείγματα παρέμειναν στον καταψύκτη (-22 °C) έως τη χρησιμοποίησή τους στη δοκιμή ELISA (συνήθως μία εβδομάδα).

## 1.2. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ ELISA.

Για την εκτέλεση της δοκιμής ELISA πρέπει να έχουμε στη διάθεσή μας τα αντισώματα του ιού που πρέπει να ανιχνεύσουμε κάθε φορά, όπως επίσης και να διαθέτουμε το κατάλληλο ένζυμο.

### α) Απομόνωση της γ-ανοσοσφαιρίνης του αντιορού

Για τη λήψη της γ-ανοσοσφαιρίνης του αντιορού ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία: σε 2 ml αντιορού του AK-7 προσθέσαμε 8 ml διπλά απεσταγμένου νερού και 8 ml κορεσμένου θειικού αμμωνίου  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Αφήσαμε το διάλυμα για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου και το φυγοκεντρίσαμε για 10 min στα 8500g. Από τη φυγοκέντριση πήραμε το ίζημα στο οποίο προσθέσαμε 2 ml ρυθμιστικού διαλύματος μισής δύναμης PBS (Πίνακας 13). Τοποθετήσαμε το αιωρημένο ίζημα σε <<σάκο διαπήδησης>> και το αφήσαμε για 12 ώρες μέσα σε 500ml ρυθμιστικού διαλύματος PBS στο ψυγείο σε θερμοκρασία 4°C.

ΠΙΝΑΚΑΣ 13. Παρασκευή 1000 ml ρυθμιστικού διαλύματος μισής δύναμης PBS.

|  |
|--|
| Σε κωνική φιάλη του 1 lit προστίθενται:    |
| 50 ml PBS (10X)                            |
| 950 ml διπλά απεσταγμένο H <sub>2</sub> O. |

Μετά από 24 ώρες τοποθετήσαμε το <<σάκο διαπήδησης>> σε νέο ρυθμιστικό PBS και τη διαδικασία αυτή την επαναλάβαμε και για τρίτη φορά. Ακολούθως το περιεχόμενο του <<σάκου διαπήδησης>> το περάσαμε μέσα από κολώνα Sephadex.

Η κολώνα του Sephadex είχε γίνει προηγουμένως ζυγίζοντας 2,5g Sephadex (G 25) που τοποθετήθηκαν σε κατάλληλη γυάλινη σύριγγα και τα οποία ξεπλύθηκαν συνεχώς για 3 μέρες με ρυθμιστικό διάλυμα PBS μισής δύναμης.

Το περιεχόμενο του <<σάκου διαπήδησης>> τοποθετήθηκε στην κολώνα του Sephadex και πήραμε 3 κλάσματα των 2ml στη διάρκεια της έκπλυσης με 10ml μισής δύναμης PBS.

Κάθε κλάσμα μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης HITACHI σε μήκος κύματος 280 και 250 nm. Αρχικά έγινε η ρύθμιση του οργάνου και μετά μετρήθηκαν τα τρία κλάσματα που πήραμε από την κολώνα του Shephadex. Έτσι στα 280 nm είχαμε τις εξής ενδείξεις:

- 1<sup>ο</sup> : 0,57
- 2<sup>ο</sup> : 3,38
- 3<sup>ο</sup> : 0,35

Ακολούθησε η μέτρηση στα 250 nm. Μετρήθηκε μόνο το δεύτερο κλάσμα γιατί σε αυτό υπήρχε σχεδόν όλη η γ-ανοσοσφαιρίνη (όπως φαίνεται από τις μετρήσεις στα 280 nm). Η τιμή λοιπόν στα 250 nm ήταν 1,8.

Η σχέση των μετρήσεων στα 280 και 250 nm καθορίζει την optimum τιμή καθαρότητας η οποία έχει τιμή περίπου 2,5.

Στην περίπτωση μας η σχέση 280 / 250 ήταν ίση με 1,87 που κρίνεται καλή. Επειδή 1 mg/ml γ-ανοσοσφαιρίνης έχει

απορρόφηση στα 280 nm ίση με 1,40 έγινε αραίωση του 2ου κλάσματος με PBS μισής δύναμης ώστε η απορρόφηση από 3,38 να πέσει στην τιμή 1,40.

Στη συνέχεια το αραιωμένο κλάσμα γ-ανοσοσφαιρίνη καταμερίσθηκε σε γυάλινα σωληνάρια. Σε κάθε σωληνάριο προσθέσαμε 0,001 ml  $\text{NaN}_3$  10% (αζίδιο του νατρίου) και τα τοποθετήσαμε στο ψυγείο (4°C).

#### β) Σύζευξη γ-ανοσοσφαιρίνης με ένζυμο

Για την πραγματοποίηση της σύζευξης της γ-ανοσοσφαιρίνης με ένζυμο, που στην συγκεκριμένη περίπτωση είναι η αλκαλική φωσφάταση 5000 μονάδων όγκου 0,46 ml (Alcaline Phosphatase Type VII-T, SIGMA) έγιναν τα εξής:

Προσθέσαμε το ένζυμο σε 1 ml γ-ανοσοσφαιρίνης. Το μίγμα τοποθετήθηκε μέσα σε <<σάκο διαπήδησης>> και ακολούθησε ξέπλυμα σε 500ml κανονικής δύναμης ρυθμιστικού διαλύματος PBS στους 4°C για 24 ώρες. Επειτα το μίγμα αφαιρέθηκε από το <<σάκο διαπήδησης>> και τοποθετήθηκε σε γυάλινο σωληνάριο στο οποίο προσθέσαμε 120 ml καθαρής γλουταραλδεύδης 25% και παρέμεινε για 4 ώρες περίπου σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια για να απομακρυνθεί η γλουταραλδεύδη από το μίγμα, ακολούθησε διαπήδηση για μία ολόκληρη νύχτα μέσα σε διάλυμα κανονικής δύναμης PBS. Τελικά στο σκεύασμα προσθέσαμε 5mg/ml bovine serum albumine (BSA) και διατηρήθηκε στους 4°C.

#### γ) Τιτλοδότηση του σκευάσματος γ-ανοσοσφαιρίνης και γ-ανοσοσφαιρίνης + αλκαλικής φωσφατάσης.

Για να προσδιοριστούν οι άριστες αραιώσεις (που ανιχνεύουν τον ιό) της γ-ανοσοσφαιρίνης και της συζευγμένης γ-ανοσοσφαιρίνης + αλκαλικής φωσφατάσης έγινε τιτλοδότηση σε πολυεστερική πλάκα ELISA LINBRO E.I.A MICROTITRATION 96 Flat bottom wells. Έτσι παρασκευάστηκαν οι εξής αραιώσεις:

- γ-ανοσοσφαιρίνης : 1:500, 1:1000, 1:1500, σε ρυθμιστικό διάλυμα επίστρωσης (coating buffer) (Πίνακας 14).

- γ-ανοσοσφαιρίνης + αλκαλικής φωσφατάσης : 1:1000, 1:2000, 1:3000 σε PBS-TPO (Πίνακας 14)
- Υγιής χυμός : 1:10, 1:50, 1:100, σε PBS-TPO
- Μολυσμένος χυμός: 1:10, 1:100 σε PBS-TPO.
- Καθαρό παρασκεύασμα ιού: 0.1 mg/ml σε PBS-TPO.

ΠΙΝΑΚΑΣ 14. Παρασκευή 1000 ml διαλύματος PBS-TPO.

|  |
|--|
| Σε κωνική φιάλη προστίθενται:  |
| Polyvinyl pyrrolidone 2%   |
| Ovalbumin 0,2%   |
| PBS-Tween έως τη συμπλήρωση 1 lit  |
| Προσοχή! Το διάλυμα απαιτείται να είναι φρεσκοετοιμασμένο.<br>Διατηρείται εντός υγείου μόνο για 24 ώρες. |

Τοποθετήσαμε 200 μl/κυψελίδα γ-ανοσοσφαιρίνης σύμφωνα με το σχεδιάγραμμα (βλέπε Εικόνα 1), ενώ στις περιφερειακές τοποθετήσαμε νερό, γεγονός που ακολουθήθηκε καθόλη τη διάρκεια της τιτλοδότησης.

Η πλάκα παρέμεινε για 4 ώρες σε επωαστικό θάλαμο σε θερμοκρασία 37°C, αφού προηγουμένως τοποθετήθηκε σε ειδικό δοχείο για την αποφυγή εξάτμισης. Κατόπιν χρησιμοποιώντας ρυθμιστικό διάλυμα PBS-Tween (Πίνακας 15) έγιναν τρία πλυσίματα, με τρίλεπτο διάλειμμα και η πλάκα στεγνώθηκε με χτυπήματα πάνω σε απορροφητικό χαρτί.

ΠΙΝΑΚΑΣ 15. Παρασκευή 1000 ml ρυθμιστικού διαλύματος PBS-Tween pH:7.4.

|   |
|---|
| Σε κωνική φιάλη του 1 lit προστίθενται: |
| 1 lit PBS                               |
| 0,5 ml Tween 20.                        |



υπόστρωμα σε ποσότητα 200μl/κυψελίδα, που συνίσταται από 0,0006 mg/ml (P- nitrophenyl phoshate) σε ρυθμιστικό διάλυμα Diethanolamine pH 9.8 (Πίνακας 18). Μετά η πλάκα παρέμεινε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και μετρήθηκε μετά 1 ώρα και 1 ώρα και 30 λεπτά, στα 405 nm με το Reader ELISA MERCK και οι μετρήσεις φαίνονται στους πίνακες 16 και 17 που ακολουθούν. Από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι η κατάλληλη αραίωση για τη γ-ανοσοσφαιρίνη είναι 1/1000, ενώ για το σύμπλοκο γ-ανοσοσφαιρίνη + αλκαλική φωσφατάση 1/2000.

ΠΙΝΑΚΑΣ 18: Παρασκευή Diethanolamine buffer.

|  |
|--|
| Σε κωνική φιάλη προστίθενται:  |
| 19,4 ml Diethanolamine   |
| 160 ml διπλά απεσταγμένο H <sub>2</sub> O  |
| 0,02 gr NaN <sub>3</sub>   |
| Το μίγμα στη συνέχεια αναδεύεται σε μαγνητικό αναδευτήρα για 10 min ενώ καταλλήλως ρυθμίζουμε το pH στο 9.8. |

### 1.3. ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ ELISA

Για την πραγματοποίηση της δοκιμής ELISA χρησιμοποιήθηκαν πολυεστερικές πλάκες μικροτιτλοδότησης (LINBRO E.I.A MICROTITRATION plate 96 Flat bottom wells) και σε κάθε μια ελέγχθηκαν 28 δείγματα.

Τοποθετήσαμε 200μl/κυψελίδα γ-ανοσοσφαιρίνης, σε αραίωση 1:1000 σε ρυθμιστικό διάλυμα επίστρωσης, εκτός των περιφερειακών στις οποίες τοποθετήσαμε απεσταγμένο νερό. Ακολούθησε παραμονή σε επωαστικό θάλαμο των πλακών για 4 ώρες σε θερμοκρασία 37°C αφού προηγουμένως τοποθετήθηκαν σε ειδικό δοχείο για την αποφυγή εξάτμισης.

Κατόπιν χρησιμοποιώντας ρυθμιστικό διάλυμα PBS-Tween έγιναν τρία πλυσίματα, με τρίλεπτο διάλειμμα, της κάθε

πλάκας και οι πλάκες στεγνώθηκαν πάνω σε απορροφητικό χαρτί αφού προηγουμένως τις χτυπήσαμε πάνω σε αυτό.

Ακολούθως προσθέσαμε 200μl/κυψελίδα χυμού κάθε δείγματος σε δύο συνεχόμενες κυψελίδες και οι πλάκες τοποθετήθηκαν πάλι σε ειδικό δοχείο και μπήκαν στο ψυγείο στους 4°C για 18 ώρες μετά το πέρας των οποίων πλύθηκαν και στέγνωσαν όπως περιγράφηκε παραπάνω.

Επειτα προσθέσαμε την γ-ανοσοσφαιρίνη + την αλκαλική φωσφατάση σε αραιώση 1:2000 σε PBS-TPO σε ποσότητα 200μl/κυψελίδα και οι πλάκες τοποθετήθηκαν στον επωαστικό θάλαμο για 4 ώρες σε θερμοκρασία 37°C.

Μετά ακολούθησε η διαδικασία πλυσίματος και στεγνώματος όπως προηγουμένως και προσθέσαμε το ενζυμικό υπόστρωμα που αποτελείται από 0,0006 mg/ml (p-nitrophenyl phosphate) σε ρυθμιστικό διάλυμα (Diethanolamine buffer pH 9.8) σε ποσότητα 200 μl/κυψελίδα.

Στη συνέχεια οι πλάκες παρέμειναν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και μετρήθηκαν μετά 1 ώρα στα 405 nm με το Reader ELISA MERCK. Οι μετρήσεις φαίνονται στον Πίνακα 19 των αποτελεσμάτων.

- Αρνητικός μάρτυρας (χωρίς αντιγόνο): χρησιμοποιήθηκε εκχύλισμα υγιούς φυτού *Gomphrena globosa*.
- Θετικός μάρτυρας: χρησιμοποιήθηκε χυμός από μολυσμένο.

Τα αποτελέσματα των δοκιμών κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού 1994 ήταν ασταθή. Πιθανώς λόγω παρατεταμένων διακοπών του ηλεκτρικού ρεύματος η συντήρηση των διαγνωστικών δεν ήταν η απαιτούμενη, με επακόλουθο την αδυναμία ανίχνευσης ακόμη και των θετικών μαρτύρων. Έτσι οι προηγούμενες μεθοδολογίες της γ-ανοσοσφαιρίνης και γ-ανοσοσφαιρίνης + αλκαλική φωσφατάση επαναλήφθηκαν το χειμώνα 1994-1995.

#### 1.4. ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ

Από το υπόλοιπο του χυμού των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκε στη μέθοδο ELISA, έγινε μηχανική μετάδοση σε φυτά του φυτοδείκτη του ιού (*Gomphrena globosa*) της οικογένειας Amaranthaceae.

Η διαδικασία της μηχανικής μετάδοσης ήταν οι εξής:

Τα παραπάνω φυτά σκονίστηκαν με γη Διατόμων <<CELITE>> (για δημιουργία μικροπληγών στα φυτικά κύτταρα διευκολύνοντας έτσι την είσοδο των ιοσωματίων μέσα σε αυτά). Ακολούθως, με τη βοήθεια βαμβανοφόρων απλώθηκε ο χυμός πάνω στα φύλλα ή στις κοτύληδόνες των φυτών του είδους *Gomphrena globosa*. Τέλος τα φυτά ξεπλύθηκαν με άφθονο νερό για να απομακρυνθούν τα υπολείμματα της γης Διατόμων και να αποφευχθεί τυχόν οξειδωση του παραμένου χυμού.

Τα φυτά αυτά που χρησιμοποιήθηκαν προήλθαν από σπορεία τα οποία έγιναν σε εμπορικό οργανικό υπόστρωμα DEGA και παρέμειναν σε χώρο ρυθμιζόμενων συνθηκών (25°C, 16 ώρες φωτισμό). Κατόπιν μεταφυτεύθηκαν σε απολυμασμένα πλαστικά γλαστράκια που περιείχαν μίγμα χώματος, τύρφης και άμμου (1:2:1) κατάλληλα λιπασμένο. Τα πλαστικά γλαστράκια προηγουμένως είχαν απολυμανθεί σε διάλυμα 10% Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> για 20 λεπτά της ώρας.

Μετά τη μεταφύτευση καθώς και μετά τη μόλυνση τα φυτά παρέμειναν στο εργαστηριακό θερμοκήπιο κάτω από ημι-ελεγχόμενες συνθήκες (18-24°C και 60-70% υγρασία).

Καθημερινώς γινόταν μακροσκοπικός έλεγχος και καταγραφή των εμφανιζομένων συμπτωμάτων, τα οποία αναφέρονται στα αποτελέσματα.



## 2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα φυτά που προήλθαν από τους "μολυσμένους" σπόρους δεν παρουσίασαν απολύτως κανένα σύμπτωμα.

Η ανίχνευση της παρουσίας του AK-7 σε δείγματα φύλλων του *Vicia faba* (683) και *Pisum sativum* (492) με τη δοκιμή ELISA υπήρξε αρνητική. Αντίθετα στον έλεγχο των φυταρίων *Ch. quinoa* μόνο ένα φυτό έδωσε θετικό σήμα στη δοκιμή ELISA (Εικόνα 9).

|         | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1A<br>▼ | 0.292 | 0.300 | 0.305 | 0.269 | 0.293 | 0.305 | 0.303 | 0.306 | 0.285 | 0.318 | 0.304 | 0.302 |
| 1B<br>▼ | 0.302 | 0.351 | 0.373 | 0.357 | 0.334 | 0.358 | 0.360 | 0.358 | 0.354 | 0.353 | 0.357 | 0.324 |
| 1C<br>▼ | 0.286 | 0.364 | 0.371 | 0.373 | 0.368 | 0.363 | 0.367 | 0.367 | 0.330 | 0.357 | 0.337 | 0.298 |
| 1D<br>▼ | 0.301 | 0.407 | 0.345 | 0.360 | 0.357 | 0.362 | 0.356 | 0.358 | 0.349 | 0.351 | 0.356 | 0.311 |
| 1E<br>▼ | 0.329 | 0.363 | 0.370 | 0.367 | 0.376 | 0.368 | 0.368 | 0.369 | 0.362 | 0.356 | 0.363 | 0.311 |
| 1F<br>▼ | 0.296 | 0.363 | 0.359 | 0.354 | 1.550 | 0.359 | 0.361 | 0.368 | 0.351 | 1.611 | 0.705 | 0.318 |
| 1G<br>▼ | 0.272 | 0.370 | 0.365 | 0.370 | 1.668 | 0.369 | 0.370 | 0.366 | 0.328 | 1.751 | 1.263 | 0.311 |
| 1H<br>▼ | 0.284 | 0.316 | 0.303 | 0.304 | 0.302 | 0.305 | 0.308 | 0.308 | 0.314 | 0.310 | 0.307 | 0.317 |

Εικόνα 9: Σχεδιάγραμμα μιας πλάκας ELISA όπου ελέγχθηκαν δείγματα φυταρίων *Ch. quinoa*. Αρνητικοί μάρτυρες 2B, 2C. Θετικοί μάρτυρες 10F, 10G, 11F, 11G. Θετικό χαρακτηρίστηκε το δείγμα (5F+5G), του οποίου ο μέσος όρος των δύο τιμών της απορρόφησης ήταν μεγαλύτερος από την τριπλάσια τιμή του μέσου όρου του αρνητικού μάρτυρα.

Όσον αφορά τη μηχανική μετάδοση παρουσιάστηκαν τα χαρακτηριστικά συμπτώματα του ιού AK-7 μόνο σε ένα φυτό *G. globosa* το οποίο είχε μολυνθεί μηχανικά χρησιμοποιώντας το χυμό ενός φυτού *Ch. quinoa* (τα συμπτώματα του φυτοδείκτη *Gomphrena globosa* φαίνονται στην Εικόνα 10), το οποίο ήταν το ίδιο που ανιχνεύθηκε με την δοκιμή ELISA ο AK-7.

Εικόνα 10. Νεκρωτικές κηλίδες, παραμορφώσεις και ποικιλοχλωρώσεις σε φύλλα *Gomphrena globosa* μετά από μηχανική μετάδοση του ιού AK-7 με χυμό *Chenopodium quinoa*.



Επομένως, βασιζόμενοι στις δύο μεθοδολογίες που εφαρμόστηκαν, των οποίων τα αποτελέσματα συμπέτουν συμπεραίνουμε ότι ο ιός AK-7 μεταδίδεται με το σπόρο του είδους *Ch. quinoa* σε πολύ μικρό ποσοστό (0,166%).

:

### 3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Δεδομένου ότι τα φυτά που προήλθαν από τους σπόρους που φυτεύτηκαν δεν παρουσίασαν κανένα σύμπτωμα, κρίθηκε αναγκαία η εφαρμογή των μεθόδων που ακολουθήθηκαν (ELISA και μηχανική μετάδοση) για την ανίχνευση του ιού AK-7, ερευνώντας έτσι την πιθανότητα παρουσίας του σε φυτά σε λανθάνουσα μορφή.

Η μέθοδος ELISA εφαρμόστηκε 2 φορές, διότι κατά την πρώτη δοκιμή τα αποτελέσματα δεν ήταν αξιόπιστα (οι τιμές απορρόφησης ήταν παρόμοιες των μαρτύρων, ενώ υψηλές τιμές έδωσαν και οι ουδέτεροι μάρτυρες). Η αιτία αποδίδεται στην αλλοίωση των διαγνωστικών σκευασμάτων από τις αποψύξεις τους λόγω των συνεχών διακοπών του ηλεκτρικού ρεύματος.

Ο AK-7 από τα δεδομένα των εργασιών που αναφέρθηκαν προηγουμένως φαίνεται ότι μεταδίδεται με το σπόρο. Βέβαια διαπιστώθηκε μόνο για το *Ch. quinoa* και σε ποσοστό πολύ χαμηλό. Με δεδομένα άλλα χαρακτηριστικά του AK-7 που αναφέρονται στο 5ο κεφάλαιο, η διαπίστωση της δυνατότητας μετάδοσης με σπόρο ενισχύει την άποψη ότι πρόκειται για ένα ιό της ομάδας *Nepovirus*.

Συγκρίνοντας τις δύο μεθοδολογίες που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία απορρέει το συμπέρασμα ότι οι δοκιμές μηχανικής μετάδοσης αποτελούν αξιόπιστη μέθοδο ανίχνευσης του AK-7 όπως και η μέθοδος ELISA αφού τα αποτελέσματα των δύο μεθόδων ταυτίστηκαν.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ΑΥΓΕΛΗΣ, Α., 1993. Παραγωγή άνοσου πολλαπλασιαστικού υλικού, ΣΤΕΓ-ΤΕΙ Ηρακλείου Κρήτης.
- ΑΥΓΕΛΗΣ, Α. Δ., CATALANO, L. and VOVLAS N., 1993. Οι νηματώδεις σαν φορείς ιολογικών ασθενειών των καλλιεργούμενων φυτών. Γεωργία - Κτηνοτροφία 6 : 54-60
- ΑΥΓΕΛΗΣ, Α.Δ., ΤΖΩΡΤΖΑΚΑΚΗΣ Ε., 1995. Ιώσεις της αμπέλου και νηματώδεις φορείς. Γεωργία - Κτηνοτροφία 2 : 20-37.
- AVGELIS, A and KATIS, N., 1988. Identification of Alfalfa mosaic virus in Greek alfalfa crops. *Phytopathologische Zeitschrift* 125: 231-237.
- Αφιέρωμα στην αμπελουργία. Θρέψη-λίπανση. Γεωργία - Κτηνοτροφία 4 : 13-18 1992.
- Αφιέρωμα στην αμπελουργία. Οι κυριότερες ασθένειες του αμπελιού. Γεωργία - Κτηνοτροφία 4 : 21-32.
- ΒΑΡΔΑΒΑΚΗΣ, Μ., 1993. Συστηματική Βοτανική Γ έκδοση.
- BENNETT, C.W., 1969. Seed transmission of plant viruses. *Adv. Virus Res.*, 14: 221-261.
- BLASZCZAK, W., 1963. Seed transmission of narrowleavedness of yellow lupin (NYL). *Genet. Pol.*, 4: 65-77.
- BOS, L., 1971. Bean common mosaic virus, CMI/AAB Descriptions Plant Viruses, 73, 1.

ΒΛΑΧΟΣ, Μ.,Β., 1994. Στοιχεία γενικής αμπελουργίας, πανεπιστημιακές σημειώσεις, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

BROADBENT, L., 1965. The epidemiology of Tomato mosaic . XI. Seed transmission of TMV. *Ann. Appl. Biol.*, 56: 177-205.

ΓΟΥΛΑΣ, Χ., 1995. Σποροπαραγωγή - Τεχνολογία σπόρου, πανεπιστημιακές σημειώσεις, Βόλος.

CLARK M. F. and ADAMS A.N., 1977. Characteristics of the microplate method of the enzyme-linked immunosorbent assay for the deflection of plant viruses. *J. gen. Virol.* 34.

CROWLEY, N.C., 1957. The effect of developing embryos on plant viruses. *Aust. J. Biol. Sci.*, 10: 443-448.

CROWLEY, N.C., 1957. Studies on the seed transmission of plant virus diseases. *Aust. J. Biol. Sci.*, 10: 449-464.

CROWLEY, N.C., 1959. Studies on the time of embryo infection by seed transmission. *Virology.*, 8: 116-123.

ΓΕΩΡΓΟΠΟΥΛΟΣ, Σ.Γ., 1984. Βασικές γνώσεις φυτοπαθολογίας, Αθήνα.

GIBBS A., HARRISON, B., 1980. *Plant virology - the principles.* Edward Arnold Ltd, London.

DERRICK, K.S. (1978). Quantitative assay for plant viruses using serologically specific electron microscopy. *Virology* 56: 652-653.

ΖΑΧΟΣ, Δ.Γ., 1988. Μαθήματα φυτοπαθολογίας - Γενική Φυτοπαθολογία, Θεσσαλονίκη.

HAMILTON, R., 1965. An embryo test for detecting seed borne Barley stripe mosaic virus in barley. *Phytopathology*, 55: 798-799.

HARRISON, B.P., MURANT, A.F., 1977. *Nepovirus CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*. No 185.

HEWITT, W.B., CHIARAPPA, L., 1978. *Plant Health and Quarantine in International Transfer of Genetic Resources*.

HOLLINGS, M., 1965. Disease control through virus free stock. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 3: 367-396.

ΘΕΩΔΟΣΙΑΔΟΥ, Ε., 1991. Εγκατάσταση νέων αμπελώνων. *Γεωργία - Κτηνοτροφία* 12: 32-46.

ΚΑΤΗΣ, Ν.Ι., 1992. Γενική Ιολογία, Πανεπιστημιακές σημειώσεις, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

ΚΥΡΙΑΚΟΠΟΥΛΟΥ Π., 1990. 10ο Διεθνές Συνέδριο για τις ιώσεις της αμπέλου. *Γεωργία - Κτηνοτροφία* 6 : 63-67.

LISTER, R.M., MURANT, A.F., 1966. Seed transmission in the ecology of nematode-borne viruses. *Ann. Appl. Biol.*, 59: 49-62.

MATTHEWS R.E.F., 1991. *Plant virology*, Academic Press.

MILNE, R.G., LUISONI, E. (1977). Rapid immune electron microscopy of virus preparations. *Methods in virology* 6: 265-281.

OWUSU, G.K., CROWLEY, N.C. and FRANCKI, R.I.B., 1968. Studies on the seed - transmission of Tobacco ringspot virus. *Ann. Appl. Biol.*, 61: 195-202.

ΠΑΝΑΓΟΠΟΥΛΟΣ, Χ.Γ., 1993. Ασθένειες Καρποφόρων Δεντρων και Αμπέλου.

ΡΗΑΤΑΚ, Η.Σ., 1974. Seed - borne plant viruses - identification and diagnosis in seed health testing. Seed. Sci. Technol., 2: 3-155

ΡΟΥΜΠΟΣ Χ.Ι., 1989. Ασθένειες και εχθροί της αμπέλου. Β έκδοση.

ΣΤΑΥΡΑΚΑΚΗΣ, Μ.Ν., 1988. Αμπελουργία, Πανεπιστημιακές σημειώσεις, Ανώτατη Γεωπονική Αθηνών.

SCOTT, H.G., 1961. Serological detection of Barley stripe mosaic virus in seeds and in dehydrated leaf tissue. Phytopathology, 51: 200-201.

SLACK, S.A., SHEPHERD, R.J., 1975. Serological detection of seed-borne Barley stripe mosaic virus by a simplified radial-diffusion technique. Phytopathology, 65: 948-955.

TAYLOR, R.H., GROGAN, R.G., and KIMBLE, K.A., 1961. Transmission of Tobacco mosaic virus in tomato seed. Phytopathology, 51: 837-842.

ΤΖΑΒΕΛΛΑ-ΚΛΩΝΑΡΗ, Κ., ΚΑΤΗΣ, Ν., 1995. Γενική Φυτοπαθολογία, πανεπιστημιακές σημειώσεις, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

ΤΣΕΚΟΣ, Ι., ΚΟΥΚΟΛΗ, Ε., 1993. Βοτανική.

FORD, R.E., 1966. Recovery of Pea streak virus from pea seed parts and its transmission by immature seed., Phytopathology, 56: 858-859.

