

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Θέμα : « Προσδιορισμός των ειδών του γένους
Phytophthora σε απομονώσεις του παθογόνου από φυτά
ανθούριου και διεφεμπάχιας. »

ΑΓΓΕΛΟΣ Ρ. ΚΟΥΛΟΥΡΗΣ

ΒΟΛΟΣ 1996



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

Αριθ. Εισ.: 1965/1

Ημερ. Εισ.: 09-10-2003

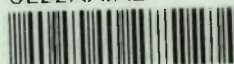
Δωρεά:

Ταξιδιωτικός Κωδικός: ΠΤ ΓΦΖΠ

1996

ΚΟΥ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000070336

Εισηγητική Επιτροπή Πτυχιακής Διατριβής :

Υπεύθυνος Εισηγητής : Δρ. Α. Χ. Παπιάς, Αναπλ.Καθηγητής Φυτοπαθολογίας.

Μέλη : Δρ. Σ. Γαλανοπούλου-Σενδούκα, Πρόεδρος του Τμήματος Γεωπονίας,
Φυτικής και Ζωικής Παραγωγής, Καθηγήτρια της Γεωργίας.

Δρ. Ι. Α.Τσιτσιπής, Καθηγητής Εντομολογίας.

Στον πατέρα μου Ρήγα
και στη μάνα μου Νίκη

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	4
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
ΜΕΡΟΣ Α' : ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ	
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	
1.1 Το γένος <i>Phytophthora</i> -Ταξινομική κατάταξη, ιστορικά στοιχεία.....	7
1.2 Σύγχρονα κριτήρια για την ταξινόμηση στο γένος <i>Phytophthora</i>	11
1.3 Χαρακτήρες αναφερόμενοι στις κύριες Ομάδες.....	17
1.4 Χαρακτήρες αναφερόμενοι στο επίπεδο του είδους.....	18
1.5 Χαρακτήρες χρήσιμοι για μερικά μόνο είδη.....	21
1.6 Ενδιάμεσοι χαρακτήρες.....	25
1.7 Χαρακτήρες σημαντικοί για ένα ή δύο είδη.....	25
1.8 Βοηθητικοί χαρακτήρες.....	26
ΜΕΡΟΣ Β' : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ	
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	
2.1 Μυκητολογικά θρεπτικά υποστρώματα : συστατικά-παρασκευή.....	28
2.2 Η απομόνωση του φυτοπαθογόνου είδους.....	31
2.3 Μέτρηση διαστάσεων σποριαγγείων.....	32
2.4 Θερμοκρασίες ανάπτυξης.....	35
ΜΕΡΟΣ Γ' : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	
3.1 Συμπτωματολογία.....	36
3.2 Μέτρηση διαστάσεων σποριαγγείων - Μορφολογικά και λοιπά χαρακτηριστικά των απομονώσεων.....	42
3.3 Θερμοκρασίες ανάπτυξης.....	60
3.4 Ο προσδιορισμός του είδους.....	63
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	65
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	68
4.1 Πίνακες με τα αποτελέσματα των μετρήσεων-Γραφικές παραστάσεις.....	69

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ το Δρ. Α. Παππά, ο οποίος μου δίδαξε τις πρώτες γνώσεις στη Φυτοπαθολογία.

Ευχαριστώ τη Δρ. Κ. Ελένα, η οποία μου δίδαξε πολλά που αφορούν την εργαστηριακή-πειραματική πρακτική στη Φυτοπαθολογία, καθώς επίσης και τα περισσότερα από όσα γνωρίζω για το γένος *Phytophthora*.

Ευχαριστώ το Δρ. Ε. Παπλωματά για τις πολύτιμες συμβουλές του.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία, είναι ένα είδος ταξινομικής μελέτης, που πραγματεύεται τον προσδιορισμό των ειδών του γένους *Phytorphithora*, μυκήτων η προσβολή των οποίων, προκαλεί σοβαρή ασθένεια στα καλλωπιστικά φυτά ανθούριου (*Anthurium spp.*) και διεφεμπάχιας (*Dieffenbachia spp.*).

Στην ανασκόπηση της βιβλιογραφίας γίνεται εισαγωγή στο γένος *Phytorphithora*. Ακολουθεί μελέτη των σύγχρονων κριτηρίων που αφορούν την ταξινόμηση στο γένος *Phytorphithora*.

Στο πειραματικό μέρος, η διαδικασία προσδιορισμού των ειδών του γένους *Phytorphithora* ξεκινά με την απομόνωση του παθογόνου από τα προσβλημένα φυτά. Ακολουθούν διάφορες μεταχειρήσεις που αποσκοπούν: στη μέτρηση των διαστάσεων των σποριαγγείων, στη μελέτη των μορφολογικών χαρακτηριστικών των οργάνων αγενούς και εγγενούς αναπαραγωγής και τέλος, στον προσδιορισμό του μέγιστου της θερμοκρασίας αναπτύξεως.

Στη συζήτηση των αποτελεσμάτων εξετάζονται η συμπτωματολογία καθώς και τα αποτελέσματα της μέτρησης των διαστάσεων των σποριαγγείων, η στατιστική επεξεργασία τους. Στη συνέχεια εξετάζονται τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των οργάνων αγενούς και εγγενούς αναπαραγωγής και τα αποτελέσματα των μετρήσεων για τις μέγιστες θερμοκρασίες αναπτύξεως.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Από ασθενή φυτά ανθούριου (*Anthurium* spp.) και διεφεμπάχιας (*Dieffenbachia* spp.) απομονώθηκαν μύκητες του γένους *Phytophthora*. Τα υποστρώματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στις απομονώσεις ήταν τα στερεά : «Malt Extract Agar» του εμπορικού οίκου Amersham, «Corn (Maize) Meal Agar», «Εκλεκτικό Υλικό», «Oatmeal Agar», και τα υγρά : «Soil Extract» και «Pea broth».

Από τη μελέτη των απομονώσεων D1, D3, D4 και D5 (από φυτά διεφεμπάχιας) προέκυψαν τα εξής: Υπήρχαν σποριάγγεια με θηλή, αλλά και σποριάγγεια χωρίς θηλή. Η θηλή, σε όσα σποριάγγεια αυτή υπήρχε, ήταν πολλές φορές μεγάλου μήκους και η κορυφή της έτεινε να πάρει σφαιρικό σχήμα. Πολλά σποριάγγεια αποσπώνταν από τη μυκηλιακή υφή με μίσχο ενώ άλλα δεν αποσπώνταν. Οι μυκηλιακές υφές ήταν ακανονίστου πλάτους με έντονες εγκοιλώσεις. Χλαμυδοσπόρια υπήρχαν αρκετά χωρίς να είναι γνωστό εάν προέρχονταν από μυκηλιακές υφές που παρήγαν σποριάγγεια με θηλή ή χωρίς θηλή. Μερικές απομονώσεις έδειξαν ανάπτυξη του μυκηλίου τους στους 31,5°C, ενώ όταν οι ίδιες απομονώσεις υποβλήθηκαν κατ'επανάληψη στην ίδια θερμοκρασία δεν έδειξαν ίχνη ανάπτυξης. Όλες όμως οι απομονώσεις αναπτύχθηκαν ικανοποιητικά στους 29-30°C.

Συμπέρασμα από όλα τα παραπάνω δεδομένα σε συνδυασμό με τα μορφολογικά και λοιπά χαρακτηριστικά των απομονώσεων D1, D3, D4, D5 και εφόσον εφαρμόστηκε ως κανόνας προσδιορισμού η κλείδα της G.Waterhouse (Key to the species of *Phytophthora* de Bary, 1963), είναι ότι πρόκειται για δύο διαφορετικά είδη του γένους *Phytophthora*. Το ένα είδος, τα σποριάγγεια του οποίου στερούνται θηλής ανήκει σε μία από τις Ομάδες V ή VI, χωρίς να μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια (με πιθανότερα τα είδη: *P. cambivora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*). Το άλλο είδος, τα σποριάγγεια του οποίου φέρουν θηλή ανήκει στην Ομάδα II, χωρίς να μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια ακρίβεια (με πιθανότερα τα είδη: *P. citrophthora*, *P. heveae* και *P. palmivora*).

Από τη μελέτη των απομονώσεων A1, A2 και A3 (από φυτά ανθούριου) προκύπτουν τα εξής: Τα σποριάγγεια τα οποία έφεραν θηλή, ήταν ποικίλου σχήματος, απιοειδή, ωοειδή, σφαιρικά και αποσπώνταν με μίσχο. Είχαν περισσότερο αυξημένη συχνότητα Μήκους x Πλάτους: 38 x 30μm και ο λόγος Μήκους/Πλάτους ήταν 1,4. Τα χλαμυδοσπόρια σχηματίζονταν άφθονα. Τα ανθηρίδια ήταν αμφίγυνα. Οι μυκηλιακές υφές είχαν ακανόνιστο πλάτος. Η μορφολογία του μυκηλίου της καλλιέργειας ήταν με λεπτές υφές και με μια ακανόνιστη μορφή ροζέτας. Η μέγιστη θερμοκρασία ανάπτυξης ήταν 37°C.

Συμπέρασμα από όλα τα παραπάνω δεδομένα, σε συνδυασμό με τα μορφολογικά και λοιπά χαρακτηριστικά των απομονώσεων A1, A2, A3 και εφόσον εφαρμόστηκε ως κανόνας προσδιορισμού η κλείδα της G.Waterhouse (Key to the species of *Phytophthora* de Bary, 1963), είναι ότι το είδος στο οποίο ανήκουν οι παραπάνω απομονώσεις ανήκει στην Ομάδα II και είναι το *Phytophthora parasitica* Dastur, [συν. *Phytophthora nicotianae* B. de Haan var. *parasitica* (Dastur)Waterh].

ΜΕΡΟΣ Α΄ : ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

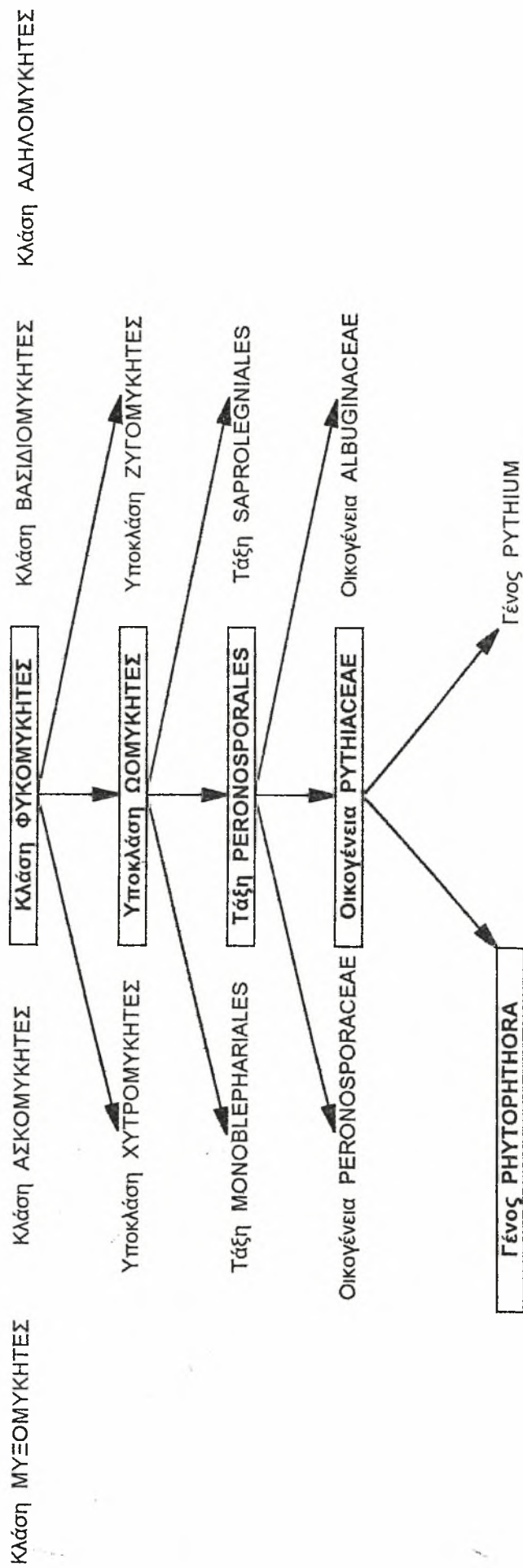
1.1 Το γένος *Phytophthora*–Ταξινομική κατάταξη, ιστορικά στοιχεία.

«PHYTOPHTHORA», (PHYTOPHTHORA de Bary in J.R. agric. Soc. 12(Ser. 2,1), p.240, (December 1875) 1876.), ήταν το όνομα που πρώτος έδωσε ο Anton de Bary το 1876, όταν περιέγραψε το μύκητα που προκαλεί την ασθένεια: περονόσπορος της πατάτας, *Phytophthora infestans*, ως το αντιπροσωπευτικό είδος του νέου γένους.

Το όνομα «*Phytophthora*» αποτελείται από δύο συνθετικά ελληνικής ρίζας: «φυτό» και «φθείρω», δηλώνει δηλαδή τον ισχυρά φυτοπαθογόνο χαρακτήρα των ειδών που ανήκουν σε αυτό το γένος. Σε λίγο περισσότερο από έναν αιώνα από τότε που ο de Bary έκανε την πρώτη περιγραφή, το ενδιαφέρον και η έρευνα για το γένος *Phytophthora* έχουν αυξηθεί.



Εικόνα 1.1.1 Ο Anton de Bary.



Πίνακας 1.1.1 Η ταξινομική θέση του γένους *Phytophthora*.

Για πολλά χρόνια, το είδος *P. infestans* είχε ευρέως δημοσιευτεί ως η αιτία του πολύ καταστροφικού και οικονομικώς σημαντικού περονοσπόρου της πατάτας, ήταν ο μοναδικός αντιπρόσωπος του γένους που είχε αναγνωριστεί στη βιβλιογραφία της φυτοπαθολογίας. Σταδιακά, άλλα είδη του γένους *Phytophthora* άρχισαν να περιγράφονται, ξεκινώντας από το *P. cactorum* το 1886, *P. phaseoli* το 1889 και *P. nicotianae*.

Πίνακας 1.1.2 Χρονολογίες περιγραφής ειδών του γένους *Phytophthora* (Zentmyer, 1980).

Έτος	Είδος
1876	<i>P. infestans</i> (Montagne) de Bary
1886	<i>P. cactorum</i> (Lebert & Cohn) Schroeter
1889	<i>P. phaseoli</i> Thaxter
1896	<i>P. nicotianae</i> van Breda de Haan
1900	<i>P. colocasiae</i> Raciborski
1909	<i>P. syringae</i> (Klebahn) Klebahn
1913	<i>P. arecae</i> (Coleman) Pethybridge <i>P. erythroseptica</i> Pethybridge
	<i>P. parasitica</i> Dastur
1918	<i>P. meadii</i> McRae
1919	<i>P. cryptogea</i> Pethybridge and Lafferty <i>P. leporinae</i> Sawada <i>P. palmivora</i> (Butler) Butler
1922	<i>P. capsici</i> Leonian <i>P. cinnamomi</i> Rands
1923	<i>P. mexicana</i> Hotson & Harter
1925	<i>P. citrophthora</i> (Smith & Smith) Leonian <i>P. hibernalis</i> Carne
1927	<i>P. boehmeriae</i> Sawada <i>P. cambivora</i> (Petri) Buisman <i>P. citricola</i> Sawada <i>P. gonapodyides</i> (Petersen) Buisman <i>P. richardiae</i> Buisman
1929	<i>P. heveae</i> Thompson
1931	<i>P. drechsleri</i> Tucker <i>P. megasperma</i> Drechsler <i>P. porri</i> Foister
1935	<i>P. cyperi</i> (Ideta) Ito
1940	<i>P. fragariae</i> Hickman <i>P. macrospora</i> (Saccardo) Ito & Tanaka <i>P. verrucosa</i> Alcock & Foister
1942	<i>P. lateralis</i> Tucker & Milbrath
1947	<i>P. quininea</i> Crandall
1949	<i>P. inflata</i> Caroselli & Tucker
1952	<i>P. primulae</i> Tomlinson
1953	<i>P. cyperi-bulbosi</i> Seethalakashmi & Ramakrishnan
1957	<i>P. ilicis</i> Buddenhagen <i>P. vignae</i> Purss
1969	<i>P. botryosa</i> Chee <i>P. vesicula</i> Anastasiou & Churchland
1971	<i>P. iranica</i> Ershad
1974	<i>P. japonica</i> Waterhouse
1976	<i>P. melonis</i> Katsura
1979	<i>P. katsurae</i> Ko & Chang

Πολλά είδη (43, σύμφωνα με την Waterhouse, 1963), είναι γνωστό ότι προκαλούν ένα ευρύ φάσμα ασθενειών σε ένα συνεχώς αυξανόμενο αριθμό φυτικών ειδών, συμπεριλαμβανομένων σημαντικών ειδών για τη διατροφή, δασικών ειδών, υποτροπικών και τροπικών οπωροφόρων δέντρων, μουριές, καρυδιές, πολλά είδη καλλωπιστικών φυτών.

Τα είδη του γένους *Phytophthora* έχουν έναν αριθμό ασυνήθιστων χαρακτηριστικών που τα διακρίνουν από πολλούς άλλους φυτοπαθογόνους μύκητες (Zentmyer, 1980). Αυτά τα χαρακτηριστικά περιέχουν:

1. Κινητά ζωοσπόρια τα οποία διαθέτουν αξιοσημείωτη ικανότητα να συνθέτουν κύτταρο-«κύστη» μέσα σε μερικά πρώτα λεπτά της ώρας, από την εγκύστωση. Ολοκληρωμένη διαφοροποίηση των ζωοσπορίων συμβαίνει μέσα στο ζωοσποριάγγειο πριν απελευθερωθούν δια μέσου της κορυφής του. Τα ζωοσπόρια διαθέτουν δύο λεπτά μαστίγια. Αυτές οι μοναδικές μονάδες μόλυνσης, προσφέρουν τρομακτικό και εκρηκτικό δυναμικό στο παθογόνο.

2. «Όχι ένα, αλλά πολλά σποριάγγεια επιτυχώς σχηματισμένα στην άκρη κάθε υψής του δενδροειδούς σποριαγγειοφόρου» όπως ο de Bary σημείωσε για να διαχωρίσει το γένος *Phytophthora* από το γένος *Peronospora* (Tucker, 1931). Ακόμη ένα χαρακτηριστικό, είναι η ιδιότητα να κόβονται (caducity) ή να μην κόβονται (noncaducity) τα σποριάγγεια, μεταξύ των διαφορετικών ειδών του γένους *Phytophthora*.

3. Κυτταρικά τοιχώματα, ιδιαιτέρως διαφορετικά από αυτά των περισσότερων μυκήτων, στο ότι τα συστατικά τους αποτελούνται πρωταρχικώς από γλουκάνες (με β -1,3 και β -1,6 δεσμούς), προστιθέμενης μερικής κυτταρίνης αντί χιτίνης.

4. Ετερόθαλλα και ομόθαλλα είδη. Ένα, μοναδικό ζωοσποριο-σχηματίζεται με κανονικές συνθήκες μέσα σε κάθε ωογόνιο. Τα ανθηρίδια είναι συνήθως «μονά» και μπορεί να είναι παράγυνα ή αμφίγυνα.

5. Ένας πρωταρχικώς διπλοειδής κύκλος ζωής, με τη μείωση να λαμβάνει χώρα στα γαμετάγγεια.

6. Συγκεκριμένες και μοναδικές φυσιολογικές αντιδράσεις. Μερικά είδη κατέχουν ένα μοναδικό τρόπο αποθήκευσης των πολυσακχαριτών, τους μυκολαμιναράνες (mycolaminarans). Επίσης, είδη του γένους *Phytophthora* αντιδρούν κατά διαφορετικό τρόπο στις στερόλες από ότι οι περισσότεροι των ανωτέρων μυκήτων. Τα είδη του γένους *Phytophthora* δεν έχουν την ικανότητα να

συνθέσουν στερόλες και παρόλο που δεν απαιτούν στερόλες για τη βλαστική τους ανάπτυξη, πρέπει να χορηγηθούν σε αυτά τα είδη εξωγενώς στερόλες για να δημιουργήσουν σποριάγγεια. Επειδή η παρουσία των στερολών είναι απαραίτητη για την ευαισθησία των αντιβιοτικών που έχουν πολλούς διπλούς δεσμούς (polyene antibiotics), η ανθεκτικότητα των μυκήτων του γένους *Phytophthora* σε αυτά τα αντιβιοτικά, ακόμη ένα μοναδικό χαρακτηριστικό, είναι προφανώς συσχετισμένη με την έλλειψη των στερολών.

Έτσι, το γένος *Phytophthora* είναι πράγματι ένα αξιοσημείωτο γένος φυτοπαθογόνων μυκήτων. Οι μοναδικοί μορφολογικοί, γενετικοί και φυσιοκογικοί χαρακτήρες του, σε συνδυασμό με τη μεγάλη ποικιλία ασθενειών που προκαλεί σε τεράστιο αριθμό φυτών, καθιστούν το γένος *Phytophthora* από τα πιο εντυπωσιακά θέματα για έρευνα. Ο περίπλοκος βιολογικός κύκλος με τις πολύ χαρακτηριστικές και εντυπωσιακές διαφορετικές μορφές σπορίων, που ποικίλουν από κινητά ζωοσπόρια έως ζωοσπόρια με παχιά τοιχώματα, καθιστούν την καταπολέμηση των ασθενειών που προκαλούνται από προσβολές του γένους *Phytophthora*, δύσκολη.

1.2 Σύγχρονα κριτήρια για την ταξινόμηση στο γένος *Phytophthora*.

Τα σύγχρονα κριτήρια θα συμπεριλάμβαναν όλους τους χαρακτήρες που χρησιμοποιούνται για να διακριθούν τα είδη μέσα στο γένος. Όλα όσα αναφέρθηκαν παραπάνω αποτελούν μια προσπάθεια ορισμού και αξιολόγησης αυτών των κριτηρίων. Αυτά, έχουν καταταχθεί σε ομάδες σύμφωνα με τη χρησιμότητά τους στην ταξινόμηση, τον προσδιορισμό (ταυτοποίηση) και την περιγραφή των ειδών.

Πρέπει να γίνει διάκριση μεταξύ της ταξινόμησης και του προσδιορισμού (ταυτοποίησης). Για μια σωστή ταξινόμηση είναι αναγκαίοι όλοι οι χαρακτήρες που είναι διαθέσιμοι και απαιτείται ότι νέοι χαρακτήρες που προέρχονται από τους τομείς της φυσιολογίας, της κυτταρολογίας, της ιστολογίας και της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας, θα προστεθούν (Waterhouse et. al., 1980)

Για να διαθέτει μια κλείδα προσδιορισμού απομονώσεων, πρακτική χρήση, θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει ευκρινώς καθορισμένους χαρακτήρες, οι οποίοι θα μπορούν να περιγραφούν και να αναγνωρισθούν με ευκολία. Η σχέση

αυτών των χαρακτηριστικών γνωρισμάτων με τις φυσικώς συστηματικές σχέσεις, δεν είναι πρωταρχικής σημασίας. Αντιστρόφως, μερικοί ακόμα βασικοί χαρακτήρες-κριτήρια, όπως το σύνολο των χρωμοσωμάτων και περίπλοκες βιοχημικές διαφορές, ενδεχομένως μεγαλύτερης βιολογικής σπουδαιότητας, μπορεί να είναι πιο δύσκολο να εκτιμηθούν και κατά συνέπεια λιγότερο χρήσιμοι για πρακτικούς σκοπούς προσδιορισμού. Πιστεύεται ότι η κύρια χρησιμότητά τους, θα μπορούσε να είναι η ενίσχυση ειδικών σχέσεων, βασισμένων σε μορφολογικής φύσης θέματα.

Τα γνωστά κριτήρια εξυπηρετούν διαφορετικούς σκοπούς και διαθέτουν διαφορετικούς βαθμούς χρησιμότητας στο διαχωρισμό των ειδών. Κάθε ένα θα πρέπει να εφαρμόζεται σύμφωνα με τα πλεονεκτήματά του. Αυτά που είναι βασικής σημασίας στην ταξινόμηση δεν είναι και απαραίτητως προσιτά στον παρατηρητή-ερευνητή. Μερικά εμφανίζονται σχετικώς κοινότυπα και δεν παρατηρούνται πάντοτε, παρόλα αυτά προσθέτουν κύρος στην απόδειξη για την τοποθέτηση (συστηματική), μιας απομόνωσης ή ενός είδους. Συγκεκριμένοι χαρακτήρες είναι σταθερώς συσχετιζόμενοι σε κάποιο τμήμα (υποδιαίρεση) του γένους. Για το γένος ως ολότητα, υπάρχουν μεγάλα κενά στην πληροφόρηση για μερικές βασικές απόψεις και απαιτείται περισσότερη έρευνα για να καθοριστεί ένα σύστημα σύνδεσης μεταξύ αυτών και μορφολογικών κριτηρίων που παρατηρούνται ευκολότερα. Τα κύρια συμπεράσματα είναι τα ακόλουθα:

1) Οι μορφολογικοί χαρακτήρες θα παραμείνουν, πιθανότατα, πρωτεύοντα κριτήρια για ενδοειδικές διακρίσεις.

2) Απλοί ή εξεζητημένοι χημικοί ή φυσικοί έλεγχοι, μπορεί να αποδειχθεί ότι έχουν έναν αυξανόμενο, αλλά ίσως, κυρίως υποστηρικτικό ρόλο, στον προσδιορισμό (ταυτοποίηση).

3) Το μέγεθος του εύρους ενός απλού κριτηρίου είναι σημαντικό και πιθανώς πιο σημαντικό από το μέσο όρο. Η ερμηνεία των μετρήσεων θα πρέπει να προφυλαχθεί από την παραλλακτικότητα μεταξύ, καθώς και εντός των απομονώσεων ενός είδους.

4) Η συστηματική κατάταξη ενός γένους, περιβάλλεται ακόμη από δυσκολίες, οι οποίες απορρέουν από πρωτότυπες περιγραφές, που είναι βασισμένες σε ένα, μοναδικό τύπο απομόνωσης, που κατά τύχη, θα μπορούσε να απέχει πολύ από τον αντιπροσωπευτικό του είδους ως ολότητα.

5) Περαιτέρω προσπάθειες θα πρέπει να κατευθύνονται αποσκοπώντας στην τυποποίηση (σταθεροποίηση) συνθηκών κάτω από τις οποίες γίνονται οι παρατηρήσεις.

6) Περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη σε μεθόδους που προκαλούν παραγωγή σεξουαλικών οργάνων σε καλλιέργειες του ενός συζευκτικού τύπου (single), των επονομαζόμενων ετερόθαλλων ειδών και σε κάθε πιθανή ταξινομική σημαντικότητα των συζευκτικών αντιδράσεων.

7) Καθώς είπε ο Rosenbaum, περισσότερο από 78 χρόνια νωρίτερα, μια ενοποίηση όσο το δυνατόν περισσότερων χαρακτήρων θα έπρεπε να ληφθεί υπ' όψη για να καθοριστεί ικανοποιητικά ένα είδος. Θεωρείται ότι υπάρχει αξία στην εισήγηση (Newhook et. al., 1978), ότι θεωρητικά, τα είδη θα πρέπει να επαναπεριγραφούν από υλικά ανεπτυγμένα κάτω από τυποποιημένες (σταθεροποιημένες) συνθήκες αναπτύξεως, με την καθιέρωση νέων τύπων, οπουδήποτε οι πρωτότυποι δεν είναι διαθέσιμοι. Μόνο τότε, θα μπορέσουν πολλές από τις δυσκολίες, που έχουν κληρονομηθεί μέχρι τη σημερινή κατάσταση, να επιλυθούν.

Παλαιότερα, ήταν ευρέως αποδεκτό για το γένος *Phytophthora*, ότι ο προσδιορισμός ενός αγνώστου είδους, ήταν πολύ συχνά δύσκολος, αν όχι αδύνατος. Για αυτό το λόγο υπήρχε η απαίτηση, για αρκετό καιρό, να γίνει μια τολμηρή προσπάθεια για τη σύνταξη μιας κλείδας προσδιορισμού, για τα άγνωστα είδη. Μόνο όταν μια τέτοιου είδους κλείδα είναι διαθέσιμη, είναι δυνατό για τους ερευνητές να εκτιμούν με μεγαλύτερη ακρίβεια τις ομοιότητες και τις διαφορές μεταξύ στενώς συσχετιζόμενων ταξινομικών κατηγοριών.

Με την εξαίρεση ενός ή δύο ειδών με εντόνως διακεκριμένα χαρακτηριστικά στοιχεία, τα περισσότερα είδη μπορούν να ταυτοποιηθούν, εάν έχουν αναπτυχθεί μόνο τα σποριάγγεια και τα όργανα εγγενούς αναπαραγωγής (ωογόνια και ανθηρίδια). Θεωρείται απαραίτητο, αρχικά να προκληθεί η παραγωγή σποριαγγείων και ζωοσπορίων έτσι ώστε να καταστεί σίγουρο ότι αντιμετωπίζεται ένα είδος του γένους *Phytophthora* και όχι του γένους *Pythium*.

Για χάρη διευκόλυνσης του προσδιορισμού οι ταξινομικές κατηγορίες έχουν χωριστεί από τη Waterhouse (1963) σε 6 κύριες **Ομάδες: I-VI**. Αυτή η ομαδοποίηση δεν αποσκοπεί απαραίτητα, στο να εννοείται, ότι πρόκειται για μια «φυσική» ομαδοποίηση.

Πίνακας 1.2.1 Ομαδοποίηση του γένους *Phytophthora* σύμφωνα με τη Waterhouse (1963).

Group I

P. cactorum

Group II

P. arecae

P. boehmeriae

P. botryosa

P. capsici

P. carica (fici)

P. castaneae

P. citrophthora

P. heveae

P. meadii

P. melonis

P. mexicana

P. nicotianae var.
nicotianae

P. nicotianae var.
parasitica

P. palmivora

P. vesicula

Group III

P. citricola

P. cyperii

P. cyperii-bulbosi

P. inflata

P. lepironiae

P. macrospora

P. porri

P. primulae

P. syringae

Group IV

P. colocasiae

P. hibernalis

P. infestans

P. phaseoli

Group V

P. fragariae

P. megasperma var.
megasperma

P. megasperma var. *sofae*

P. quininea

P. verrucosa

Group VI

P. cambivora

P. cinnamomi

P. cryptogea

P. drechsleri

P. erythroseptica

P. gonapodyides

P. lateralis

P. oryzae

P. richardiae

P. vignae

Η ομαδοποίηση αυτή στηρίχθηκε στη βάση των ακόλουθων κριτηρίων: 1) η άκρη του σποριαγγείου (το μέγεθος της ακραίας διόγκωσης και το πλάτος του πόρου εξόδου), 2) το πλήθος, (αφθονία) των σποριαγγείων σε στερεά θρεπτικά υποστρώματα, 3) η αποπίπτουσα ή μη αποπίπτουσα φύση των σποριαγγείων, 4) η εσωτερική αναβλάστηση (internal proliferation), των σποριαγγείων, 5) η φύση των ανθηριδίων (αμφίγυνα ή παράγυνα ή και τα δύο) και 6) η παρουσία (αφθονία) ή απουσία των ωοσπορίων στον ξενιστή και την καλλιέργεια. Άλλοι χαρακτήρες πρωτοπαρουσιαζόμενοι στην κλείδα για τα συγκεκριμένα είδη ήταν: 7) οι διαστάσεις των σποριαγγείων, ιδιαίτερα το μέγιστο μήκος, 8) ο λόγος του μήκους προς πλάτος (l/b), 9) οι σποριαγγειοφόροι, 10) οι μυκηλιακές διογκώσεις (Hyphal swellings), 11) η παρουσία ή απουσία των χλαμυδοσπορίων, 12) το μέγεθος των ωογονίων, 13) το κυματοειδές τοίχωμα του ωογονίου, 14) η εξειδίκευση στον ξενιστή και 15) οι κύριες (βασικές) θερμοκρασίες (άριστο και μέγιστο).

Κατά μια έννοια, αυτή η κλείδα της Waterhouse ήταν υπερβολικά απλή. Έφερε στην επιφάνεια –χωρίς όμως να προτείνει λύσεις– τις περιπλοκές μερικών «επονομαζόμενων» ειδών (συγκεκριμένα, η «ομάδα *palmivora*» και η «ομάδα *nicotianae-parasitica*»), όπως επίσης πολύ στενά συνδεδεμένων ειδών χωρίς θηλή. Κατά μια άλλη έννοια, ήταν πολύ δύσκολο –το γένος *Phytophthora* ανέκαθεν έχει αναγνωριστεί ως περιβόητα δύσκολο γένος– ιδιαίτερα για εκείνους που επιθυμούσαν μόνο να ταυτοποιήσουν μια απομόνωση, ενώ δεν τους απασχολούσαν ταξινομικά προβλήματα ή ασήμαντες λεπτομέρειες.

Αυτές οι σκέψεις, μαζί με το γεγονός ότι 6 νέα είδη είχαν περιγραφεί και το ότι η «ομάδα *palmivora*» μετατρέπεται σε διακριτή ταξινομική κατηγορία, υπαγόρευαν ένα νέο τύπο κλείδας (Newhook et. al., 1978). Αυτή η νέα κλείδα, σχεδιάστηκε για να βοηθήσει τους φυτοπαθολόγους, μαζί και τους υπόλοιπους που επιθυμούσαν να γνωρίζουν μόνο την ταυτότητα μιας συγκεκριμένης απομόνωσης και τους ταξονόμους που επιδιώκουν έντονα να επιτύχουν μια καλύτερη ταξινομική κατάταξη. Η κλείδα πήρε τη μορφή μιας πινακοποιημένης παρουσίας των περισσότερων «παραδοσιακών χαρακτήρων» που χρησιμοποιήθηκαν στις ταυτοποιήσεις και τις περιγραφές. Ήταν αδύνατο να συμπεριληφθούν λεπτομέρειες από χαρακτηριστικά των καλλιεργειών ή των θερμοκρασιακών σχέσεων, παρόλο που αυτή η πληροφορία επιδεικνύεται σε μερικές περιπτώσεις όπου τέτοιου είδους χαρακτηριστικά είναι διαγνωστικώς σημαντικά.

Πίνακας 1.2.2 Ομαδοποίηση του γένους *Phytophthora* σύμφωνα με το Newhook (Newhook et. al., 1978).

Ομάδα	Είδος
I	<i>cactorum</i> (Lebert & Cohn) Schröter <i>iranica</i> Ershad
II	<i>palmivora</i> (Butler) Butler MF 1 MF 2 MF 3 (<i>P. megakarya</i> Brasier & Griffin) MF 4 <i>arecae</i> (Coleman) Pethybr. <i>boehmeriae</i> Saw. <i>botryosa</i> Chee <i>heveae</i> Thompson <i>meadii</i> McRae <i>nicotianae</i> B. de Haan var. <i>nicotianae</i> var. <i>parasitica</i> (Dastur) Waterh. <i>capsici</i> Leonian <i>citrophthora</i> (Sm. & Sm.) Leonian <i>mexicana</i> Hotson & Hartge <i>castaneae</i> Katsura & Uchida (now <i>katsurae</i>)
III	<i>citricola</i> Saw. <i>syringae</i> (Kleb.) Kleb. <i>porri</i> Foister <i>primulae</i> Tomlinson <i>cyperi</i> (Ideta) Ito <i>cyperi-bulbosi</i> Seeth. & Ramakr. <i>inflata</i> Caroseili & Tucker <i>lepironiae</i> Saw. <i>macrospora</i> (Sacc.) Ito & Tanaka <i>vesicula</i> Anastasiou & Churchland
IV	<i>colocasiae</i> Racib. <i>hibernalis</i> Carne <i>ilicis</i> Buddenhagen <i>infestans</i> (Mont.) de Bary <i>phaseoli</i> Thaxter <i>melonis</i> Katsura
V	<i>fragariae</i> Hickman <i>megasperma</i> Drechsler var. <i>megasperma</i> var. <i>sojae</i> Hildebrand <i>quininea</i> Crandall <i>verrucosa</i> Alcock & Foister
VI	<i>ambivora</i> (Petri) Buisman <i>cinnamomi</i> Rands <i>cryptogea</i> Pethybr. & Laff. <i>drechsleri</i> Tucker var. <i>drechsleri</i> var. <i>cajani</i> Pal. Grewai & Sarbhoy <i>erythroseptica</i> Pethybr. var. <i>erythroseptica</i> var. <i>pisi</i> Bywater & Hickman <i>richardiae</i> Buisman <i>vignae</i> Purss <i>lateralis</i> Tucker & Milbrath <i>gonopodvides</i> (Petersen) Buisman <i>japonica</i> Waterh.

Με βάση τα σύγχρονα κριτήρια οι χαρακτήρες που χρησιμοποιούνται για την ταξινόμηση στο γένος *Phytophthora* είναι οι εξής: οι αναφερόμενοι στις κύριες **Ομάδες**, οι αναφερόμενοι στο επίπεδο του είδους, οι χρήσιμοι μόνο για μερικά είδη, οι σημαντικοί μόνο για ένα ή δύο είδη και οι βοηθητικοί χαρακτήρες.

1.3 Χαρακτήρες αναφερόμενοι στις κύριες Ομάδες.

Οι χαρακτήρες που χρησιμοποίησε η Waterhouse (1963) για να διαχωρίσει τα είδη σε 6 κύριες **Ομάδες (I-VI)**, οι οποίοι διατηρήθηκαν από τον Newhook (Newhook et. al., 1978), στο συνοπτικό πίνακα κλείδα είναι: 1) η ακραία διόγκωση των σποριάγγειων και το πλάτος του πόρου εξόδου, 2) η ιδιότητα να κόβονται τα σποριάγγεια με μίσχο (caducity) και το μήκος του μίσχου και 3) ανθηρίδια αμφίγυνα, παράγυνα, ή και τα δύο.

1) Η ακραία διόγκωση των σποριαγγείων και το πλάτος του πόρου εξόδου.

Η κατασκευή του άκρου του σποριαγγείου είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό για τα είδη του γένους *Phytophthora*. Υπάρχει πάντοτε ακραία διόγκωση, η οποία μπορεί να είναι ημισφαιρική, αβαθής ή δυσδιάκριτη και η οποία είναι πάντοτε καλυμμένη από μια λεπτή συνέχεια του εξωτερικού τοιχώματος του σποριαγγείου και υπάρχει πάντοτε μια άδεια περιοχή μεταξύ της βάσης της διόγκωσης και της επιφάνειας του πρωτοπλάσματος.

2) Η ιδιότητα να κόβονται τα σποριάγγεια με μίσχο και το μήκος του μίσχου.

Στον τύπο του είδους *P. infestans* και μερικών άλλων, τα περισσότερα ή αρκετά σποριάγγεια αποπίπτουν κατά την ωριμότητα. Αυτή η κατάσταση ονομάζεται «caducity». Στα είδη που δε συμβαίνει αυτό, τα οποία συμπεριλαμβάνουν όλα τα είδη χωρίς θηλή (Waterhouse, 1963), σποριάγγεια δεν αποπίπτουν σε καμία απομόνωση.

Το σποριόγγειο κόβεται με ένα τμήμα μυκηλιακής υφής μεταξύ του σημείου κοπής και της βάσης του, το οποίο καλείται «μίσχος» (ή αλλιώς «ποδίσκος»). Ο μίσχος είναι διαφόρου μήκους σε διαφορετικά είδη, επειδή το μήκος εξαρτάται έως ένα βαθμό από το πόσο πολύ η υφή αναπτύσσεται προτού η κορυφή αρχίζει να διογκώνεται για να σχηματίσει το σποριόγγειο.

3) Ανθηρίδια αμφίγυνα, παράγυνα ή και τα δύο.

Οι **Ομάδες II, IV και VI**, χαρακτηρίζονται από αμφίγυνα με κανένα εμφανές σημείο εμφάνισης παράγυνων ανθηριδίων. Στις **Ομάδες IV,VI**, τα μόνα είδη που εμφανίζουν σποραδική εμφάνιση παράγυνων ανθηριδίων (παραγυνία), είναι τα *P. hibernalis* και *P. richardiae*. Συνεπώς, η αμφιγυνία (εμφάνιση αμφίγυνων ανθηριδίων), μπορεί να θεωρηθεί ως ένας χαρακτήρας που διακυμαίνεται ελάχιστα. Από την άλλη πλευρά, σε είδη με περισσότερα παράγυνα ανθηρίδια, υπάρχει συνήθως ένα μικρό ποσοστό, (περίπου 1%), από αμφίγυνα ανθηρίδια. Κατά συνέπεια, η παραγυνία είναι λιγότερο λογικά ακόλουθη αλλά όχι αρκετά επισφαλής στο να επηρεάσει την αξιοπιστία αυτού του κριτηρίου για τα είδη στα οποία επικρατούν τα παράγυνα ανθηρίδια. Στα εναπομείναντα είδη, τα οποία έχουν μεγάλα ποσοστά ανθηριδίων και των δύο τύπων, οι αριθμοί του καθενός ποικίλουν για άγνωστους λόγους, ωστόσο, αυτή η κατηγορία έχει μόνο περίπου 5 είδη και αυτά καθορίζονται εύκολα από τα υπόλοιπα είδη, με άλλους χαρακτήρες.

1.4 Χαρακτήρες αναφερόμενοι στο επίπεδο του είδους.

1) Οι κύριες, (βασικές), θερμοκρασίες.

Από τον Tucker (1931) και μετέπειτα, όλες οι κλείδες έχουν χρησιμοποιήσει την ανάπτυξη σε ελάχιστες, άριστες και μέγιστες θερμοκρασίες, ως ένα χρήσιμο κριτήριο, παρόλο που υπάρχει συνήθως ένα πεδίο παραλλακτικότητας $\pm 1-2^{\circ}\text{C}$ μεταξύ απομονώσεων από ένα είδος. Όλες εκτός από 7 σε σύνολο 57 απομονώσεων *P. parasitica* που μελετήθηκαν από τον Tucker (1931), αναπτύχθηκαν καλά στους 35°C και αυτές οι 7 αναπτύχθηκαν περισσότερο από 0.5 cm σε 96 ώρες.

Περιστασιακά, κάποια απομόνωση μπορεί να προσαρμοστεί σε κάποια συγκεκριμένη ειδική περιγραφή εκτός από την ανάπτυξη σε θερμοκρασία υψηλότερη από την αναμενόμενη μέγιστη. Τέτοια απομόνωση θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως υψηλής θερμοκρασίας μορφή του είδους.

Το άριστο εύρος είναι περισσότερο μεταβλητό αλλά βρίσκεται μεταξύ συγκεκριμένων ορίων και κάποιος θα μπορεί να χαρακτηρίσει είδη με υψηλό ή χαμηλό εύρος.

Στον πίνακα που ακολουθεί γίνεται ομαδοποίηση ειδών του γένους *Phytophthora* σύμφωνα με το άριστο της θερμοκρασίας ανάπτυξης.

Πίνακας 1.4.1 Ομαδοποίηση του γένους *Phytophthora* σύμφωνα με τις βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξης (Waterhouse et. al., 1980).

Είδος	Υψηλές	Είδος	Ενδιάμεσες	Είδος	Χαμηλές
	Θερμοκρασία		Θερμοκρασία		Θερμοκρασία
<i>parasitica</i>	30-32	<i>oryzae</i>	26-28	<i>fragariae</i>	20-22
<i>meionis</i>	28-32	<i>citricola</i>	25-28	<i>phaseoli</i>	15-20
<i>palmivora</i> MF 1	27-32	<i>cinnamomi</i>	24-28	<i>primulae</i>	15-20
<i>capsici</i>	26-32	<i>citrophthora</i>	24-28	<i>syringae</i>	20
<i>drechsleri</i>	28-31	<i>macrospora</i>	28	<i>hibernalis</i>	20
<i>vignae</i>	28-30	<i>erythroseptica</i>	27.5	<i>infestans</i>	20
<i>palmivora</i> MF 4	27-30	<i>mexicana</i>	27.5	<i>lateralis</i>	≈20
<i>colocasiae</i>	27-30	<i>cactorum</i>	20-28	<i>ilicis</i>	20
<i>arecae</i>	27-30	<i>megasperma</i>	15-27.5		
<i>meadii</i>	25-30	<i>botryosa</i>	26		
<i>nicotianae</i>	25-30	<i>boehmeriae</i>	25		
<i>inflata</i>	25-30	<i>heveae</i>	25		
		<i>quininea</i>	25		
		<i>porri</i>	25		
		<i>cryptogea</i>	22-25		
		<i>megasperma</i> var. <i>sojae</i>	25		
		<i>cambivora</i>	22-24		
		<i>erythroseptica</i> var. <i>pisi</i>	24		

Οι ελάχιστες θερμοκρασίες δεν υπολογίσθηκαν σημαντικά και ούτε έγινε διάκριση μεταξύ μη ανάπτυξης και μη ζωής. Η θανατηφόρος επίπτωση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του μυκηλίου θα πρέπει να διαφοροποιείται από την επίπτωση στη βλάστηση των σποριών, εφόσον αυτή είναι λίγο ή πολύ ευαίσθητη.

2) Οι ρυθμοί ανάπτυξης.

Παρόλο που οι ρυθμοί ανάπτυξης διαφοροποιούνται και μεταξύ απομονώσεων ενός είδους και κάτω από διαφορετικές συνθήκες, σε 5 είδη -*P. syringae*, *P. porri*, *P. primulae*, *P. infestans* και *P. phaseoli* - η ανάπτυξη σε πολύ αργό ρυθμό είναι πολύ χρήσιμος δείκτης.

3) Τα χρωμοσώματα.

Τα χρωμοσώματα στα περισσότερα είδη που έχουν μελετηθεί είναι μικρά και δύσκολο να μελετηθούν. Περίπου στα 9 με 10 ή 12 χρωμοσώματα υπάρχουν σε πολλά είδη, αλλά το *P. megasperma* var. *megasperma* έχει διπλάσιο από το συνηθισμένο αριθμό, αν και το *P. megasperma* var. *sojae* έχει 10-15 (Sansome and Brasier, 1974). Βρετανικές τετραπλοειδείς απομονώσεις *P. infestans* έχουν διπλάσιο αριθμό χρωμοσωμάτων από αυτόν που έχουν Μεξικάνικες διπλοειδείς απομονώσεις (Brasier and Sansome, 1975). Η μορφή των χρωμοσωμάτων είναι πολλές φορές διαγνωστικός χαρακτήρας, για παράδειγμα το *P. megakarya* έχει μεγαλύτερου μεγέθους, αλλά λιγότερα (5-6) χρωμοσώματα από τα περισσότερα είδη, καθώς και τα χρωμοσώματα από το *P. meadii* είναι πολύ μικρότερα από αυτά του είδους *P. palmivora*.

4) Η αφθονία ωογονίων σε θρεπτικά υποστρώματα με άγαρ.

Αυτός ο χαρακτήρας χρησιμοποιήθηκε από τους Rosenbaum (1917), Tucker (1931), Frezzi (1950) και Waterhouse (1963), για ένα αριθμό ειδών π.χ. *P. cactorum*. Φαίνεται αρκετά σταθερός χαρακτήρας για τις περισσότερες απομονώσεις για την καθιέρωση των κύριων Ομάδων, με την προϋπόθεση του σωστού τύπου θρεπτικού υποστρώματος με άγαρ.

1.5 Χαρακτήρες χρήσιμοι για μερικά μόνο είδη.

1) Το μέγεθος του σποριαγγείου.

Υπάρχουν προβλήματα στη δημιουργία και τυποποίηση μεθόδων παραγωγής σποριαγγείων, επειδή οι άριστες συνθήκες για ένα είδος μπορεί να είναι ακατάλληλες για ένα διαφορετικό. Εκτός εάν οι μετρήσεις γίνονται κατά τη διάρκεια της πρώτης έναρξης της ανάπτυξης, η παρουσία πληθώρας μη τυπικών, μικρών σποριαγγείων μπορεί να διαστρέψει το εύρος του μεγέθους μιας απομόνωσης.

2) Ο λόγος Μήκους/Πλάτους.

Η σχετική στενότητα ή πεπλάτυνση των σποριαγγείων, εξαρτάται ως κάποιο βαθμό από εξωτερικούς παράγοντες και από τα υποστρώματα. Οι Brasier and Griffin (1979) βρήκαν υψηλότερο λόγο Μήκους/Πλάτους, για σποριάγγεια από *P. palmivora* MF1, σε περικάρπιο κακάου παρά σε τρυβλία με άγαρ. Η παρουσία φωτός ή το σκοτάδι, το υπόστρωμα (ο ξενιστής, η φύση του θρεπτικού υποστρώματος με άγαρ), η ηλικία της καλλιέργειας και η παρουσία του νερού ίσως έχουν επίπτωση.

3) Το μέγεθος των ωογονίων.

Το εύρος του μεγέθους των ωογονίων, παρουσιάζεται αρκετά συνεπές μεταξύ των απομονώσεων ενός είδους.

4) Το τοίχωμα του ωογονίου.

Ακόμη δεν γνωρίζουμε αρκετά για τις ιδιότητες του τοιχώματος του ωογονίου, για το γένος ως σύνολο, αλλά υπάρχουν ενδείξεις για διαφορές σε αντιδράσεις χρώσεων μερικών ειδών. Είναι βασικής σημασίας να εξετάζονται αυτές οι αντιδράσεις σε νεαρά τοιχώματα, επειδή η πάχυνση και η ωρίμανση αρχίζουν μόλις τα ωογόνια αποκτήσουν πλήρες μέγεθος.

5) Μυκηλιακές διογκώσεις (Hyphal Swellings), στο νερό.

Στρογγυλοποιημένες ή γωνιώδεις διογκώσεις, σε αλυσίδες ή συμπλέγματα, οι οποίες ποικίλουν σε συχνότητα μεταξύ των απομονώσεων, μπορούν να είναι χαρακτηριστικά ενός από πολλά είδη. Κατ' αναλογία, η απουσία τέτοιων κατασκευών παρά η παρουσία τους, χαρακτηρίζει άλλα είδη στην **Ομάδα III** (Newhook et. al., 1978), τέτοιες διογκώσεις σχετίζονται με τα είδη: *P. syringae*, *P. porri* και *P. primulae*, αλλά όχι με το *P. citricola*.

6) Τα χλαμυδοσπόρια.

Τα χλαμυδοσπόρια έχουν ορισθεί ως εντελώς διαχωριζόμενα από το μυκήλιο, με ένα διάφραγμα (septum), με εσωτερική πάχυνση του τοιχώματος στη βάση τους. Εφόσον σε μερικά είδη τα χλαμυδοσπόρια σχηματίζονται μόνο σε συγκεκριμένες απομονώσεις, η σημασία των χλαμυδοσπορίων για την ταξινόμηση, είναι περιορισμένη. Όμως, για το διαχωρισμό μερικών συγκεκριμένων ειδών, όπως το *P. palmivora* MF1 από το *P. megakarya* ή το *P. meadii*, η παρουσία, ή απουσία των χλαμυδοσπορίων, σχετικά, είναι σημαντικός δείκτης.

7) Η παθογένεια.

Ο Tucker (1931), χρησιμοποίησε 18 διαφορετικούς ξενιστές, συμπεριλαμβανομένων καρπών, κονδύλων, σποροφύτων και στελεχών. Για τα λίγα, εξειδικευμένου ξενιστή, είδη του γένους *Phyophthora*, όπως τα *P. fragariae*, *P. infestans* και *P. ilicis*, η καταγραφή του ξενιστή συμβάλλει προφανώς σημαντικά στην ταξινόμηση. Πρόσφατα, έχει γίνει περαιτέρω χρήση της ειδικής παθογένειας για την ταξινόμηση απομονώσεων, ως «formae speciales» εντός του είδους, όπως τα *P. drechsleri* f. sp. *cajani* στο πιζέλι (Kannaiyan et. al., 1980), *P. megasperma* f. sp. *glycinea* στη σόγια (Kuan and Erwin, 1980).

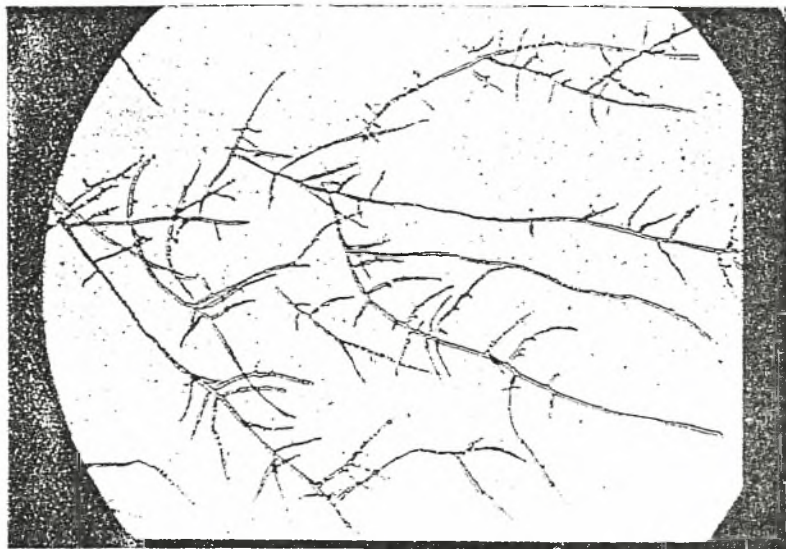
8) Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της καλλιέργειας σε θρεπτικά υποστρώματα με άγαρ.

Η μορφολογία της αποικίας προσδιορίζεται από την ανάπτυξη και τη μορφή της διακλάδωσης των υφών. Ο Ho (1978), πρότεινε ότι τα χαρακτηριστικά της διακλάδωσης στην περιφέρεια μιας αποικίας, μπορεί να είναι χρήσιμα στη σχεδιαγράφιση των ταξινομικών κατηγοριών. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά

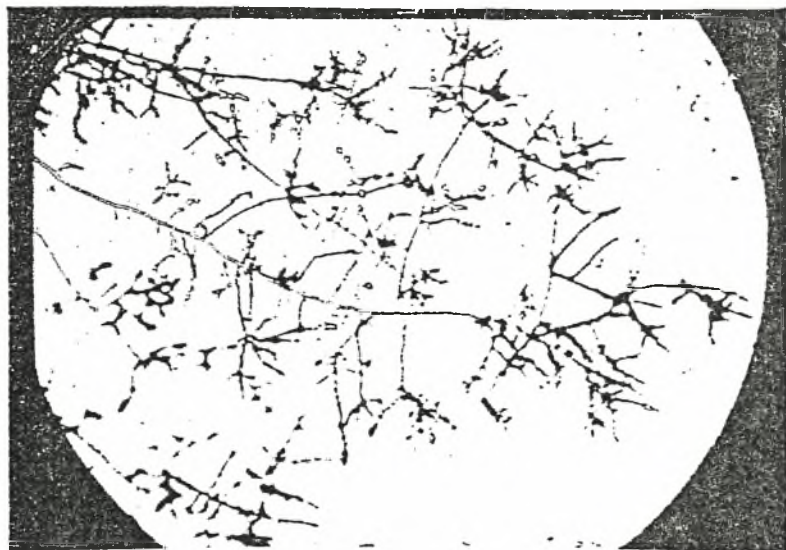
(a)



(b)



(c)



Εικόνα 1.5.1 Μυκήλιο *P. megasperma* ανεπτυγμένο σε διάφορο πάχος θρεπτικού υποστρώματος Difco corn-meal agar. a)0,25mm b)0,75mm c)1,5mm (Blackwell, 1949).

Πίνακας 1.5.2 Σύγκριση μεγεθών σποριαγγείων από διάφορες απομονώσεις *P. cryptogea* με 3 διαφορετικές μεταχειρίσεις θρεπτικών υποστρωμάτων (Ribeiro, 1978).

Απομόνωση	Potato Dextrose Agar (μm)	Pea Broth (μm)	Μη-αποστειρωμένο Soil Extract (μm)
Schwinn	24-53 x 18-38	42-74 x 32-51	-
Pethybridge & Lafferty	19-45 x 14-34	38-67 x 27-40	-
<i>Callistephus chinensis</i>	24-56 x 18-38	54-93 x 35-56	-
<i>Solanum melongena</i>	18-67 x 11-31	26-83 x 19-51	-
IMI 21278	-	-	32-60 x 25-30
Native Aust. Shrubs	-	-	35-55 x 28-35
Apricot orchard	-	-	35-55 x 24-40
Apple orchard	-	-	35-55 x 28-44
Pine plantation	-	-	35-65 x 25-38
<i>Cupressus arizonica</i>	-	-	35-77 x 28-44
Peach orchard	-	-	30-50 x 20-30

της καλλιέργειας εξαρτώνται, έως ένα βαθμό, από τα θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται. Παραδείγματα θρεπτικών υποστρωμάτων που δίνουν χαρακτηριστικά μορφολογικά γνωρίσματα στις καλλιέργειες, είναι τα: Potato-Dextrose Agar (PDA), Cornmeal Agar, και Carrot Agar. Οι κυριότεροι τύποι περιλαμβάνουν: 1) τον ακτινόμορφο (ομοιόμορφα ακτινωτές υφές) τύπο, π.χ. *P. citrophthora*, 2) τον τύπο χρυσανθέμου, π.χ. *P. citricola*, 3) τον τύπο τριαντάφυλλου ή καμέλιας, π.χ. *P. cinnamomi* και *P. syringae*, 4) τον ομοιόμορφο (χωρίς καμία εμφανή μορφή) τύπο, π.χ. *P. nicotianae*, *P. capsici* και *P. infestans* και 5) τον αστεροειδή (μπορεί να είναι και ενδιάμεσος μεταξύ του ακτινόμορφου και του τύπου χρυσάνθεμου) τύπο, π.χ. *P. palmivora* MF1.

1.6 Ενδιάμεσοι χαρακτήρες.

Μερικοί χαρακτήρες είναι αξιοσημείωτοι για συγκεκριμένα είδη, αλλά έχουν ιδιαίτερη σημασία σε λίγα είδη μόνο. Αυτοί είναι: η οξυκατάλληκτη βάση του σποριαγγείου (ιδιαίτερος για τα είδη *P. hibernalis* και *P. palmivora* MF4, περισσότερες από μία, θηλές (ή κορυφές), (ιδιαίτερος για τα είδη *P. citrophthora* και *P. citricola*), ωογόνια με οξυκατάλληκτη βάση (ιδιαίτερος για τα είδη *P. heveae* και *P. megakarya*).

1.7 Χαρακτήρες σημαντικοί για ένα ή δύο είδη.

1) Το ασυνήθιστο σχήμα των σποριαγγείων (ιδιαίτερος στα είδη *P. citrophthora*, *P. citricola* και *P. primulae*).

2) Τα σποριάγγεια που αποπίπτουν έπειτα από τη διάρρηξή τους (για τα είδη *P. cinnamomi* και *P. drechsleri*).

3) Οι σποριαγγειοφόροι σε σύμπλεγμα (*P. infestans* και *P. phaseoli*).

4) Το κυματοειδές τοίχωμα του ωογονίου (*P. cambivora* και *P. katsurae*).

5) Ο έκκεντρος (παράκεντρος) μίσχος του ωγονίου, (χρειάζεται προσοχή, διότι χωρίς προσεκτική παρατήρηση μπορεί να θεωρηθεί ότι πρόκειται για παράγυνο ανθηρίδιο σε στενή επαφή με μίσχο ωγονίου.)

6) Οι άκρες μυκηλιακών υφών με περιελίξεις (ειδικά για το είδος *P. porri*).

7) Οι μυκηλιακές διογκώσεις (Hyphal Swellings) σε άγαρ (*P. cinnamomi*).

8) Σφαιρικές μυκηλιακές διογκώσεις με ακτινόμορφες μυκηλιακές υφές.

9) Η σκληρότητα εναέριου μυκηλίου (ο ερευνητής μπορεί να αντιληφθεί τη σκληρότητα του εναέριου μυκηλίου με μια βελόνα ή με μια λεπίδα νυστεριού), (ασυνήθιστα σκληρό εναέριο μυκήλιο παρουσιάζει το είδος *P. cinnamomi* – έτσι μπορεί να διαχωριστεί από το *P. cambivora*).

10) Τα σποριάγγεια σε συστάδες (αυτός ο χαρακτήρας είναι μοναδικός στο είδος *P. hotryosa*, ορατός ακόμη και με γυμνό οφθαλμό).

11) Τα ωγόνια σε συστάδες (*P. heveae*).

12) Απουσία ανθηριδίων (για το νέο είδος *P. insolita*– το μοναδικό γνωστό είδος που παράγει ωγόνια και ωσπόρια, χωρίς ανθηρίδια)(Ann and Ko, 1980).

1.8 Βοηθητικοί χαρακτήρες.

Οι βοηθητικοί χαρακτήρες δεν είναι δυνατόν από μόνοι τους να αποτελέσουν πρωταρχικούς ταξινομικούς χαρακτήρες, αλλά βοηθούν να επιβεβαιωθεί η αναγνώριση συγκεκριμένων ειδών.

1) Η διάμετρος της μυκηλιακής υφής.

2) Η αφθονία των σποριαγγείων σε στερεά θρεπτικά υποστρώματα.

Είδη με σποριάγγεια χωρίς θηλή, συνήθως δεν τα σχηματίζουν σε στερεά θρεπτικά υποστρώματα. Αντίθετα, τα περισσότερα από τα είδη που σχηματίζουν σποριάγγεια με θηλή, μπορούν να τα παράγουν σε αφθονία, σε ένα ευρύ φάσμα από κοινά θρεπτικά υποστρώματα με άγαρ, π.χ. *P. palmivora*, *P. cactorum* και *P. boehmeriae*. Ωστόσο, μεμονωμένες απομονώσεις μπορεί να διαφοροποιούνται ως προς το δυναμικό τους να παράγουν σποριάγγεια.

3) Η εξομάλυνση (επιπεδοποίηση) της κορυφής του σποριαγγείου.

Όταν τα σποριάγγεια μερικών χωρίς θηλή ειδών (*P. cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. erythroseptica*, *P. lateralis*, όλα στην **Ομάδα VI**) (Newhook et. al., 1978), τοποθετούνται σε lactophenol blue, η κορυφή τους εξομαλύνεται (επιπεδοποιείται). Γιατί αυτό συμβαίνει σε μερικά είδη ενώ όχι σε άλλα, αυτό είναι άγνωστο.

4) Οι σποριαγγειοφόροι.

5) Το μέγεθος των ανθηριδίων.

Τα ανθηρίδια πολλών ειδών είναι παρόμοια σε μέγεθος και σχήμα, αλλά μερικά είδη έχουν χαρακτηριστικώς μικρά (*P. haveae*, *P. syringae*) ή μεγάλα (*P. fragariae*, *P. cambivora*, *P. richardiae*) ανθηρίδια.

6) Το τοίχωμα του ωοσπορίου παχύ σε σχέση με τη διάμετρό του.

Ο τύπος (μορφή) του ωοσπορίου είναι πολύ σταθερός μέσα στο γένος, επιτρέποντας μια παρέκλιση, στο μέγεθος που υπαγορεύεται από το μέγεθος του ωογονίου, ελαφρές διαφορές στο χρώμα (μερικές φορές προκαλούμενες από το θρεπτικό υπόστρωμα) και μερικές φορές στο πάχος του τοιχώματος, οι οποίες δε σχετίζονται απαραίτητα με το μέγεθος του ωοσπορίου. Μερικά είδη μπορεί να έχουν μικρό ωοσπόριο με ένα σχετικώς παχύ τοίχωμα και άλλα με ένα σχετικώς λεπτό τοίχωμα. Για παράδειγμα, το είδος *P. cryptogea*, με ωοσπόρια διαμέτρου 25 μm , έχει τοίχωμα 3,5 μm παχύ, παρόλο ότι το είδος *P. cinnamomi* με ωοσπόρια διαμέτρου 38 μm , έχει τοίχωμα μόνο 2-3 μm παχύ.

ΜΕΡΟΣ Β` : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Μυκητολογικά θρεπτικά υποστρώματα : Συστατικά -Παρασκευή.

Η πειραματική διαδικασία άρχισε τον Απρίλιο του 1994 στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και συνεχίστηκε στο Εργαστήριο Μυκητολογίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, κατά τους μήνες Ιούλιο και Αύγουστο του 1994.

Οι μύκητες μπορούν να αναπτυχθούν σε υγρά υποστρώματα, είτε στην επιφάνεια του υγρού υποστρώματος είτε κατόπιν διαρκούς ανακινήσεως σε ολόκληρο τον όγκο του υγρού υποστρώματος. Επίσης, μπορούν να αναπτυχθούν σε ποικιλία στερεών υποστρωμάτων, όπως βλαστοί, άχυρα, σπόροι, κοπριά, φύλλα και χώμα. Η πιο συνηθισμένη μέθοδος καλλιέργειας είναι σε αποστειρωμένο θρεπτικό υπόστρωμα με μορφή πήγματος (ή αλλιώς ζελέ), που περιέχεται σε δοκιμαστικό σωλήνα, μπουκάλι ή τρυβλίο Petri.

Τα θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν για τις ανάγκες της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι τα στερεά: «Malt Extract Agar», «Corn (Maize) Meal Agar», «Εκλεκτικό Υλικό», «Oatmeal Agar», και τα υγρά «Soil Extract» και «Pea broth». Τα συστατικά τους υπάρχουν στον πίνακα 2.1.1.

Αυτή τη μορφή έχει και το «Malt Extract Agar» (ΜΑ), του εμπορικού οίκου Amersham, που χρησιμοποιήθηκε για τις ανάγκες της πτυχιακής εργασίας. Αυτό, χρησιμοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η παρασκευή του έχει ως εξής: 50 gr αφυδατωμένης σκόνης τίθενται σε κωνική φιάλη χωρητικότητας 2 lt και συμπληρώνεται νερό έως το 1 lt. Γίνεται ανάδευση με βρασμό. Η αποστείρωση γίνεται σε Autoclave στους 121°C για 15 λεπτά.

Το «Εκλεκτικό Υλικό» (ΕΥ), είναι ένα ειδικό θρεπτικό υπόστρωμα για φυκομύκητες, το οποίο έχει τη δυνατότητα να θανατώνει τα βακτήρια που υπάρχουν συνήθως στις απομονώσεις των φυκομυκήτων. Παρασκευάζεται από αποστειρωμένο «Malt Extract Agar» ή «Corn (Maize) Meal Agar» και εφόσον

προστεθούν τα αντιβιοτικά σε στείρες συνθήκες (μέσα σε θάλαμο νηματοειδούς ροής αέρα - Laminar air flow transfer hood).

Η παρασκευή του «Corn (Maize) Meal Agar» (MA), έχει ως εξής: σε 50 gr θρυμματισμένο καλαμπόκι τίθενται 1000 cc νερό, με βρασμό για 50 λεπτά. Ακολουθεί διήθηση από ειδικό ύφασμα δικτυωτού πλέγματος (διηθητικό ύφασμα ή κοινώς τουλπάνι), συμπληρώνεται στον αρχικό του όγκο, προστίθεται το άγαρ και βράζεται μέχρι να λιώσει. Η αποστείρωση γίνεται στους 120°C επί 20 λεπτά.

Το «Oatmeal Agar» (OA), παρασκευάζεται ως εξής: σε 50 gr κουάκερ προστίθεται 1000 cc νερό. Βράζ εται επί 15-20 λεπτά. Ακολουθεί διήθηση με τουλπάνι και συμπληρώνεται στον αρχικό όγκο. Προστίθεται το άγαρ και βράζεται μέχρι να λιώσει. Η αποστείρωση γίνεται στους 120°C επί 20 λεπτά.

Για την παρασκευή του «Soil Extract» τίθεται 1 gr χώματος σε 100 cc νερού. Το διάλυμα μένει 24 ώρες σκεπασμένο και μετά διηθείται.

Η παρασκευή του «Pea Broth»(PB), έχει ως εξής: ο αρακάς πολτοποιείται με συσκευή Blender και συμπληρώνεται με νερό, στον τελικό όγκο των 4 lt. Το διάλυμα παραμένει να κατακαθήσει για 1 ώρα περίπου και διηθείται. Η αποστείρωση γίνεται στους 120°C επί 20 λεπτά.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1.1 Είδη και συστατικά των θρεπτικών υποστρωμάτων.

<u>ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ</u>	<u>ΥΛΙΚΑ</u>	<u>ΠΟΣΟΤΗΤΑ</u>
«Malt extract agar» (MA) :	Malt extract	30 gr/lit
	Mycological peptone	5 gr/lit
	Άγαρ	15 gr/lit
Εμπορικός οίκος : Amersham		
«Corn (Maize) meal agar» (MA) : Καλαμπόκι (θρυμματισμένο)	Άγαρ	15 gr
	Νερό	1 lit
«Εκλεκτικό υλικό» (EY) : «Malt extract agar» ή «Corn(Maize) meal agar»		100cc
	Mystatine ή Mycostatine	10 mg
	Polymixin	5 mg
	Penicillin (200.000 μον.)	5 mg
«Oatmeal agar» (OA) :	Κουάκερ	50 gr
	Νερό	1000 cc
	Άγαρ	15 gr
«Soil extract» :	Χώμα	1 gr
	Νερό	100 cc
«Pea broth» (PB) :	Αρακάς	550 gr
	Νερό	4000 cc

2.2 Η απομόνωση του φυτοπαθογόνου είδους.

Στις 4/3/94 έγιναν οι απομονώσεις του παθογόνου από προσβεβλημένους ιστούς φυτών ανθουρίου και διεφεμπάχιας. Από το λαιμό του φυτού παραλήφθηκε με νυστέρι ένα λεπτό τμήμα (μήκους λίγων χιλιοστών), του εξωτερικού τμήματος του φλοιού, παράλληλα προς το μεγάλο άξονα του κεντρικού βλαστού και με φορά αντίθετη προς το μέρος μας (για να αποφύγουμε τυχόν τραυματισμό). Το τμήμα του βλαστού, τοποθετήθηκε με ιδιαίτερη προσοχή στο περιφερειακό μέρος τρυβλίου Petri με θρεπτικό υπόστρωμα «Εκλεκτικό Υλικό»(ΕΥ).

Η διαδικασία απομόνωσης έγινε κάτω από στείρες συνθήκες. Κάθε φορά που γινόταν τομή με το νυστέρι, αποστειρωνόταν σε φλόγα λύχνου Bunsen, αφού πρώτα είχε εμβαπτισθεί σε διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης.

Επιχειρείται, όμως, να απομονωθεί το παθογόνο και από τα προσβλημένα φύλλα των φυτών. Από τα φύλλα παραλαμβάνονται με νυστέρι (σε στείρες συνθήκες), μικρά τμήματα σχήματος παραλληλογράμμου. Στη συνέχεια τμήματα φύλλων τοποθετούνται σε τρυβλία Petri με τον ίδιο ακριβώς τρόπο που ακολουθήθηκε και στην περίπτωση των τμημάτων του βλαστού και τοποθετούνται σε επωαστικό θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας 25°C για να αναπτυχθεί το μυκήλιο του παθογόνου που επιδιώκεται η ανάπτυξή του. Για τον ίδιο ακριβώς λόγο τοποθετούνται και μερικά τμήματα φύλλων σε τρυβλία Petri με αποστειρωμένο νερό και αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου.

Μετά από την αρχική προσπάθεια απομόνωσης του παθογόνου από το προσβλημένο φυτό, σε τρυβλίο Petri (με θρεπτικό υπόστρωμα MA), γίνεται μεταφορά τμήματος του μυκηλίου του παθογόνου, σε στείρες συνθήκες, σε δοκιμαστικούς σωλήνες (με θρεπτικό υπόστρωμα MA), έτσι ώστε να ελαττωθεί η πιθανότητα επιμόλυνσης της καλλιέργειας από άλλους μύκητες, γένους διαφορετικού από αυτό του παθογόνου. Κατόπιν, γίνεται μεταφορά μυκηλίου από τους δοκιμαστικούς σωλήνες σε τρυβλία Petri με θρεπτικό υπόστρωμα MA όπου έχουν προστεθεί ορισμένα αντιβιοτικά για να θανατωθούν τα βακτήρια που υπάρχουν στις καλλιέργειες, (αυτό έγινε στις 24/3/94).

Οι καλλιέργειες αφήνονται να αναπτυχθούν σε επωαστικό θάλαμο στους 25°C για 4 ημέρες. Την 5η ημέρα (29/4/94) έγινε μεταφορά των καλλιεργειών του παθογόνου, που πλέον ήταν ελεύθερες βακτηρίων, σε δοκιμαστικούς σωλήνες (με θρεπτικό υπόστρωμα MA).

2.3 Μέτρηση διαστάσεων των σποριαγγείων.

Η μέτρηση των διαστάσεων των σποριαγγείων, είναι θέμα κεφαλαιώδους σημασίας για τον προσδιορισμό των ειδών στο γένος *Phytophthora*. Η μέτρηση γίνεται από τμήματα καλλιέργειας σε Μ.Α., τα οποία έχουν τοποθετηθεί σε τρυβλία Petri με αποστειρωμένο νερό για 24 ή 48 ώρες, αναλόγως με την απομόνωση. Αυτό, διότι ο σχηματισμός των σποριαγγείων είναι δυσκολότερος σε μερικές απομονώσεις, ενώ σε άλλες γίνεται πολύ εύκολα. Για παράδειγμα, μία από τις απομονώσεις, η D3 δε σχημάτιζε σποριάγγεια. Για το λόγο αυτό ακολουθήθηκε η εξής μεταχείριση: τοποθετήθηκαν τμήματα της καλλιέργειας σε «Pea Broth» (υπόστρωμα πολύ πλούσιο σε θρεπτικά στοιχεία), κατόπιν παρέλευσης 24 ωρών τα ίδια τμήματα μεταφέρθηκαν σε «Soil Extract» (υπόστρωμα πολύ φτωχό σε θρεπτικά στοιχεία). Με αυτόν τον τρόπο υποβάλλεται ο μύκητας σε συνθήκες καταπόνησης. Από το πολύ πλούσιο σε θρεπτικά στοιχεία υπόστρωμα, μεταφέρεται σε ένα πολύ φτωχό. Με αυτή τη διαδικασία σχηματίζονται εύκολα σποριάγγεια για την αναγνώριση του μύκητα.

Τμήματα της καλλιέργειας που έχουν παραμείνει σε αποστειρωμένο νερό για 24 ή 48 ώρες, μεταφέρονται σε αντικειμενοφόρο γυάλινη πλάκα, στερεώνονται με καλυπτρίδα και τοποθετούνται σε μικροσκοπιο εφοδιασμένο με μικρομετρική κλίμακα. Η κλίμακα μέτρησης είναι διαφορετική σε κάθε τύπο μικροσκοπίου. Χρησιμοποιώντας όμως, έναν ειδικό αριθμητικό συντελεστή (διαφορετικό για κάθε τύπο μικροσκοπίου), μετατρέπονται τα μετρούμενα μεγέθη σε υποδιαιρέσεις του μέτρου, συνήθως σε μm.

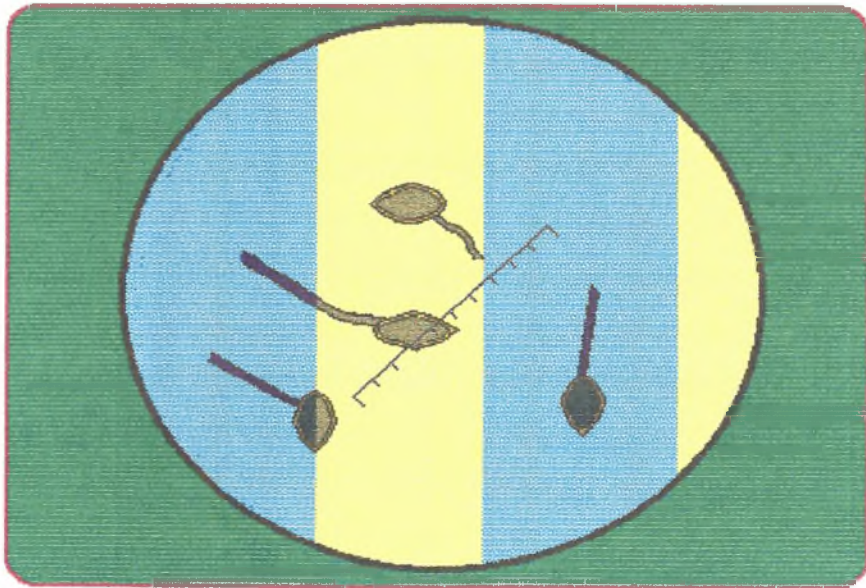
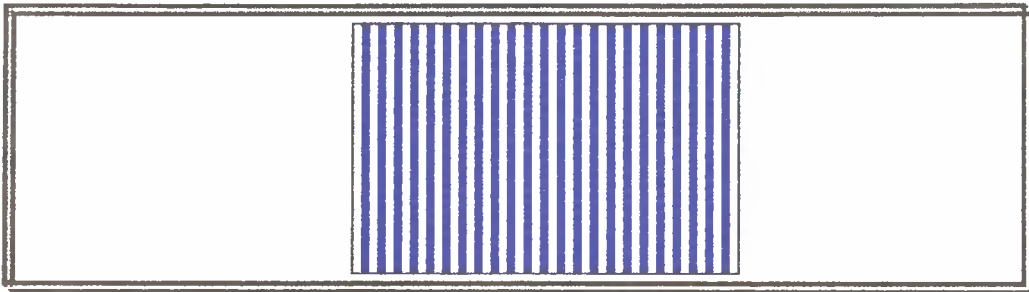
Γενικά, η διαδικασία της μέτρησης απαιτεί αυξημένη προσοχή και σχολαστικότητα, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η εισαγωγή πειραματικού σφάλματος. Από τη στιγμή που θα αρχίσουν οι μετρήσεις (μήκους και πλάτους σποριαγγείου), πρέπει να ακολουθείται μια «μαιανδρική» κίνηση του παρασκευάσματος, έτσι ώστε να μην παίρνονται μετρήσεις για το ίδιο σποριάγγειο περισσότερο από μια φορά. Επίσης, πρέπει να τονισθεί ότι εάν ο ερευνητής που κάνει τις μετρήσεις χάνει την προσοχή του από το παρασκεύασμα, θα πρέπει να φτιάξει ένα νέο, για να μηδενήσει την πιθανότητα να μετρήσει ακόμη μια φορά τις διαστάσεις των ίδιων σποριαγγείων. Γενικά αυτή η μέθοδος θεωρείται επίπονη και χρονοβόρα.

Στο εργαστήριο Μυκητολογίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, όπου και έλαβε χώρα μεγάλο μέρος του πειράματος για τους μήνες Ιούλιο και Άυγουστο του 1994, εξελίχθηκε, η παραπάνω διαδικασία μέτρησης με μια νέα τεχνική. Μια τεχνική η οποία απλοποιεί, διευκολύνει και επιταχύνει σε μεγάλο βαθμό τη διαδικασία της μέτρησης, ενώ ταυτόχρονα της προσδίδει μεγαλύτερη αξιοπιστία. Αναλυτικότερα, χρησιμοποιώντας έγχρωμο ανεξίτηλο μαρκαδόρο, γίνονται παράλληλες γραμμές στην επιφάνεια καλυπτρίδας, σε αποστάσεις όσο περίπου και το πλάτος της γραμμής. Οι γραμμές αυτές φέρονται κάθετα στον μεγάλο άξονα της καλυπτρίδας (εάν έχει σχήμα ορθογωνίου παραλληλογράμμου). Έτσι η καλυπτρίδα έχει χωρισθεί με έγχρωμες λεπτές λωρίδες, από τις οποίες περνάει το φως του μικροσκοπίου. Στο συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε μαρκαδόρος τύπου: Staedler Lumocolor 318 F.

Στις εικόνες της επόμενης σελίδας, φαίνονται η αντικειμενοφόρος με τη χρωματισμένη καλυπτρίδα, καθώς και το οπτικό πεδίο που έχει ο ερευνητής μέσα από το μικροσκόπιο, χρησιμοποιώντας χρωματισμένη καλυπτρίδα. Ο ερευνητής προτού ξεκινήσει τη διαδικασία της μέτρησης, αποφασίζει για τη φορά και τη διεύθυνση, οι οποίες θα ακολουθούνται κατά τη μετακίνηση του παρασκευάσματος πάνω στην τράπεζα του μικροσκοπίου, π.χ. αποφασίζει να διατηρεί διεύθυνση από τα δεξιά προς τα αριστερά και φορά από πάνω προς τα κάτω. Έτσι θα ξεκινήσει από την πάνω και δεξιά γωνία του παρασκευάσματος και μετακινεί προς τα κάτω τη λωρίδα που βρίσκεται στο κέντρο του οπτικού του πεδίου, μετρώντας τις διαστάσεις όσων σποριαγγείων ανήκουν εντός των ορίων της συγκεκριμένης λωρίδας. Όταν τελειώσει η μέτρηση σε αυτή τη λωρίδα, μετακινεί το παρασκεύασμα προς το επάνω όριο της καλυπτρίδας, επαναλαμβάνει τη διαδικασία της μέτρησης κατά τον ίδιο τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω.

Το πλεονέκτημα αυτής της τεχνικής, είναι ότι δεν είναι αναγκαίο να φτιάχνουμε νέο παρασκεύασμα, κάθε φορά που διακόπτουμε τη μέτρηση και απομακρυνόμαστε, έστω και για λίγο, από το μικροσκόπιο. Αυτό, διότι έχουμε συμφωνήσει εξ' αρχής να ακολουθούμε πάντοτε την ίδια, καθορισμένη διαδρομή π.χ. κάτω και αριστερά. Ταυτόχρονα, είμαστε βέβαιοι ότι μετράμε διαστάσεις σποριαγγείων τα οποία βρίσκονται σε μοναδικές θέσεις, εφόσον έχουν ορισθεί περιοχές, με το χρωματισμό της καλυπτρίδας.

Εικόνα 2.3.1 Αντικειμενοφόρος πλάκα με τη χρωματισμένη καλυπτρίδα.



Εικόνα 2.3.2 Η θέα που έχει ο ερευνητής μέσα από το μικροσκόπιο με τη χρωματισμένη καλυπτρίδα.

Να σημειωθεί ότι όλες οι μετρήσεις πρέπει να γίνονται από τον ίδιο ερευνητή, έτσι ώστε να ελαχιστοποιηθεί η εισαγωγή συστηματικού σφάλματος στα αποτελέσματα των μετρήσεων.

2.4 Θερμοκρασίες ανάπτυξης.

Ένα από τα πιο σημαντικά διακριτικά χαρακτηριστικά στον προσδιορισμό των ειδών του γένους *Phytophthora* είναι το μέγιστο της θερμοκρασίας αναπτύξεως. Για τον εντοπισμό αυτού του μέγιστου ακολουθούμε την παρακάτω διαδικασία: τοποθετούμε σε τρυβλία Petri με MA , δύο συνήθως, μικρά τμήματα καλλιέργειας των διαφόρων απομονώσεων ξεχωριστά, (μικρό ποσό μολύσματος, inoculum), διαστάσεων μερικών χιλιοστών. Τα τρυβλία αυτά, τοποθετούνται σε επωαστικούς θαλάμους γνωστών θερμοκρασιών. Εκεί, παρακολουθείται η ανάπτυξη του μυκηλίου για διάρκεια 24 και 48 ωρών. Κατόπιν, εφαρμόζεται η ίδια διαδικασία για χαμηλότερη θερμοκρασία έως ότου καταλήξουμε να πάρουμε μια κανονική ανάπτυξη, με διάμετρο μυκηλίου αρκετών χιλιοστών. Εκεί σταματά αυτή η διαδικασία και η θερμοκρασία του επωαστικού θαλάμου αποτελεί το μέγιστο της θερμοκρασίας αναπτύξεως του παθογόνου.

ΜΕΡΟΣ Γ΄ : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Συμπτωματολογία.

Σε ότι αφορά τις ασθένειες φυλλωδών φυτών που οφείλονται σε προσβολή μυκήτων του γένους *Phytophthora*, πρωταρχικώς προσβάλλονται οι ιστοί του στελέχους και των ριζών, παρόλο που πολλές μελέτες αναφέρουν ως πρωταρχικώς προσβαλλόμενους, τους ιστούς των φύλλων. Αυτό οφείλεται, το λιγότερο μερικώς, στο ζεστό και υγρό μικροκλίμα των θερμοκηπίων όπου καλλιεργούνται τα φυτά ανθουρίου (*Anthurium* spp.) και διεφεμπάχιας (*Dieffenbachia* spp.), της οικογένειας *Araceae*, εφόσον πολλές ασθένειες φυλλωδών φυτών, που προκαλούνται από βακτήρια καθώς και από μύκητες, είναι συνήθεις σε τέτοιου είδους περιβάλλοντα.

Γενικώς, τα φυλλώδη φυτά που προσβάλλονται από μύκητες του γένους *Phytophthora*, παρουσιάζουν τα εξής συμπτώματα: Σκουρόχρωμες (έως μαύρες) περιοχές από νεκρωτικούς ιστούς σχηματίζονται στις βάσεις των εξωτερικών φύλλων. Οι βάσεις των κεντρικών φύλλων μπορούν να σαπίσουν εντελώς και να αποκολληθούν με ευκολία από το υπόλοιπο φυτό. Οι ρίζες, ομοίως με τα στελέχη, είναι δυνατό να σαπίσουν. Συνήθως, τα μολυσμένα φυτά καταρρέουν. Μαρασμός και απώλεια του φυσιολογικού χρώματος, είναι τα αρχικά συμπτώματα που παρατηρούνται. Οι μολυσμένες ρίζες είναι υδαρείς, καστανού χρώματος και μαλακές. Τα έλκη που δημιουργούνται από τις μολύνσεις, υπάρχουν συνήθως στα κατώτερα φύλλα τα οποία βρίσκονται κοντά ή σε επαφή με το υπόστρωμα στο οποίο αναπτύσσεται το φυτό, όπου τα ζωοσπόρια μπορούν να μεταφερθούν απευθείας με τα πιτσιλίσματα του νερού (Chase, 1988).

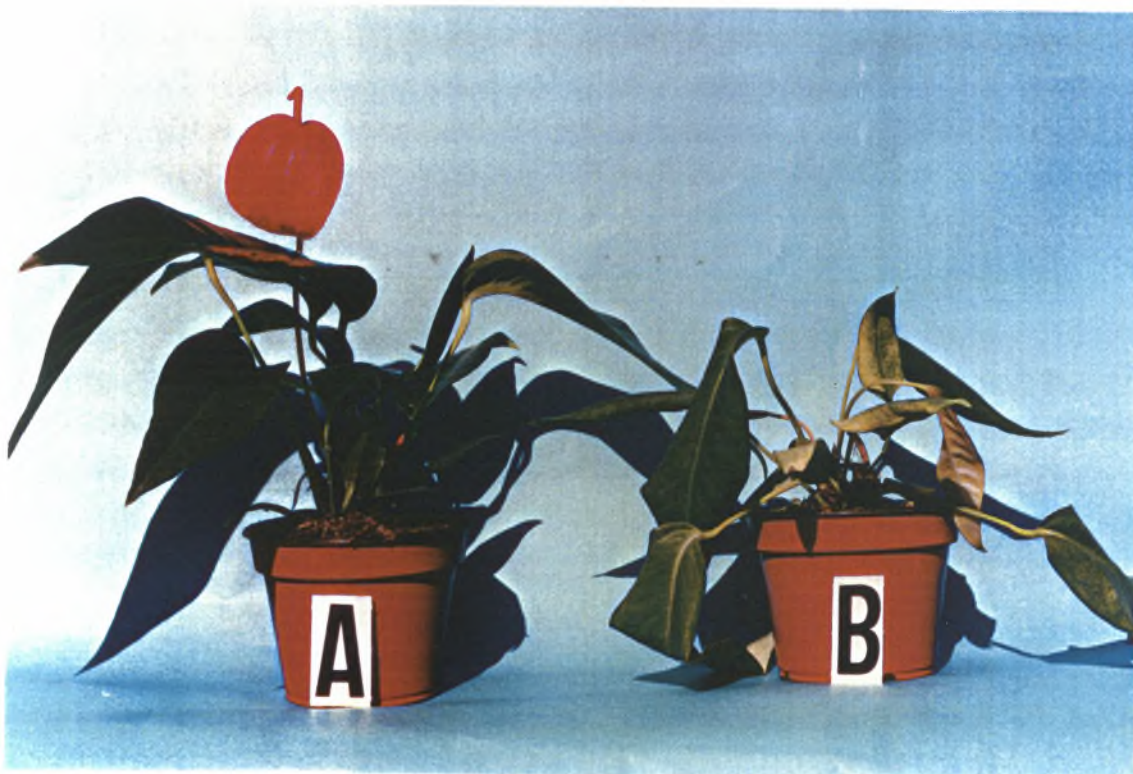
Ειδικότερα, τα προσβλημένα φυτά ανθουρίου από μύκητα του γένους *Phytophthora*, παρουσιάζουν τα εξής συμπτώματα: σηψιρριζία και σήψη της καρδιάς. Διακοπή της ανάπτυξης του υπέργειου τμήματος των φυτών, λόγω φτωχού ριζικού συστήματος. Ο μίσχος καταστρέφεται στη βάση και αποκολλάται. Το εσωτερικό της καρδιάς παρουσιάζει καστανό μεταχρωματισμό (χαρακτηριστικός για το φυτοπαθογόνο γένος *Phytophthora*), ενώ πολλά φύλλα παρουσιάζουν ξηρές-δερματώδεις σήψεις.

Τα προσβεβλημένα φυτά διεφεμπάχιας παρουσιάζουν τα ίδια συμπτώματα που περιγράφηκαν παραπάνω, με τη διαφορά ότι δεν είναι τόσο έντονος ο καστανός μεταχρωματισμός ενώ η βάση του στελέχους παρουσιάζει μια μαλακή-υδαρή σήψη, η οποία οδηγεί συχνά σε σπάσιμο-αποκόλληση του υπέργειου τμήματος του φυτού στο σημείο της βάσης.

Στις επόμενες σελίδες ακολουθούν φωτογραφίες με τα συμπτώματα της προσβολής που περιγράφηκαν παραπάνω.



Εικόνα 3.1.1 **A** : Υγιές φυτό ανθούριου , **B** : Ασθενές φυτό ανθούριου από προσβολή μύκητα του γένους *Phytophthora* , σε πάγκο θερμοκηπίου (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



Εικόνα 3.1.2 **A** : Υγιές φυτό ανθούριου , **B** : Ασθενές φυτό ανθούριου από προσβολή μύκητα του γένους *Phytophthora* (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



Εικόνα 3.1.3 Χαρακτηριστικός καστανός μεταχρωματισμός ,στους ιστούς της βάσης του στελέχους φυτού ανθούριου (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



Εικόνα 3.1.4 Χαρακτηριστικός καστανός μεταχρωματισμός ,στις ρίζες φυτού ανθούριου (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



Εικόνα 3.1.5 **A** : Υγιές φυτό διεφεμπάχιας , **B** : Ασθενές φυτό διεφεμπάχιας από προσβολή μύκητα του γένους *Phytophthora* , σε πάγκο θερμοκηπίου (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



Εικόνα 3.1.6 **A** : Υγιές φυτό διεφεμπάχιας , **B** : Ασθενές φυτό διεφεμπάχιας από προσβολή μύκητα του γένους *Phytophthora* (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



Εικόνα 3.1.7 Χαρακτηριστικός καστανός μεταχρωματισμός , στους ιστούς της βάσης του στελέχους φυτού διεφεμπάχιας και μαλακή σήψη (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



Εικόνα 3.1.8 Χαρακτηριστικός καστανός μεταχρωματισμός , στους ιστούς της βάσης του στελέχους φυτού διεφεμπάχιας και μαλακή σήψη (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).

3.2 Μέτρηση διαστάσεων σποριαγγείων - Μορφολογικά και λοιπά χαρακτηριστικά των απομονώσεων.

Στο πείραμα έγιναν 100 μετρήσεις για τις απομονώσεις A2 και D1, ενώ έγιναν 50 μετρήσεις για καθεμία από τις υπόλοιπες απομονώσεις: A1, A3, D3, D4 και D5. Για κάθε μία από τις απομονώσεις έγιναν οι παρακάτω μετρήσεις επί της μορφολογίας των σποριαγγείων (βλέπε Πίνακα 3.2.1): **Μήκος**, **Πλάτος**, **Μήκος/Πλάτος**, **Μήκος/Πλάτος-Συχνότητα (%)**, **Μήκος-Συχνότητα (%)**, **Πλάτος-Συχνότητα (%)**. Στη στήλη **Μήκος** αναγράφεται το μέγεθος του μεγάλου άξονα του σποριαγγείου -που είναι και το μήκος του σποριαγγείου- (σε μm). Στη στήλη **Πλάτος** αναγράφεται το αντίστοιχο μέγεθος του μικρού άξονα του σποριαγγείου -που είναι και το πλάτος του σποριαγγείου- (σε μm). Στη στήλη **Μήκος/Πλάτος** αναγράφεται ο αντίστοιχος λόγος μήκους προς πλάτος (διατηρώντας μόνο τα δύο πρώτα δεκαδικά ψηφία). Κατόπιν, χωρίζουμε σε κατηγορίες, τη στήλη **Μήκος/Πλάτος** (διατηρώντας μόνο το πρώτο δεκαδικό ψηφίο) με αύξουσα κλίμακα και δημιουργούμε έτσι τη στήλη: **Μήκος/Πλάτος** ενώ στη διπλανή στήλη **Συχνότητα** αναγράφεται ο επί τοις εκατό (%) αριθμός των σποριαγγείων που εμπίπτουν στην αντίστοιχη κατηγορία. Χωρίζουμε και τις στήλες **Μήκος**, **Πλάτος** σε κατηγορίες, ενώ στις στήλες **Συχνότητα (%)** που βρίσκονται δίπλα στις δύο προηγούμενες στήλες αναγράφεται ο επί τοις εκατό(%) αριθμός των σποριαγγείων, των οποίων το μήκος και το πλάτος τους εμπίπτει στην αντίστοιχη κατηγορία.

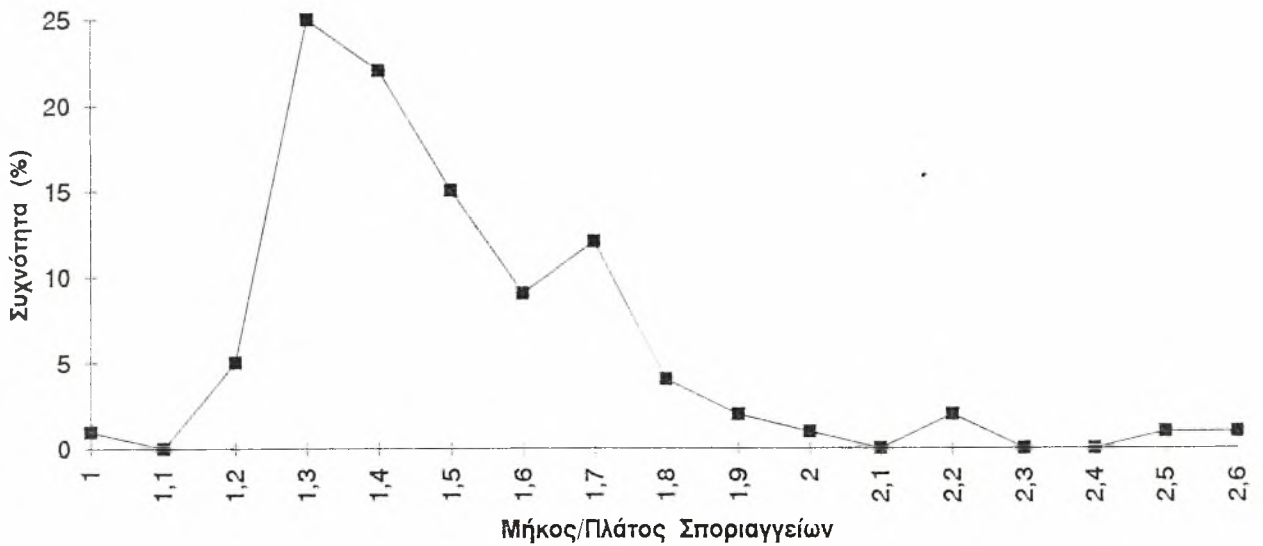
Στις σελίδες που ακολουθούν, παραθέτονται τα στοιχεία των μετρήσεων των διαστάσεων των σποριαγγείων για την απομόνωση A2, ως αντιπροσωπευτική. Οι πίνακες που αναφέρονται στις υπόλοιπες απομονώσεις, παραθέτονται στο Παράρτημα. Από την επεξεργασία των στοιχείων των πινάκων αυτών, προκύπτουν και οι γραφικές παραστάσεις που συνοδεύουν τον κάθε πίνακα, από τις οποίες μπορεί εύκολα να γίνουν αντιληπτά τα σημεία όπου υπάρχει αυξημένη συχνότητα σποριαγγείων.

Από τους πίνακες, καθώς και τις γραφικές παραστάσεις, για κάθε απομόνωση ξεχωριστά, χρησιμοποιούμε τα παρακάτω χαρακτηριστικά στοιχεία: το εύρος των τιμών από τις στήλες: **Μήκος/Πλάτος**, **Μήκος**, **Πλάτος**, σε συνδυασμό με το εύρος των τιμών των παρακάτω κατηγοριών στις οποίες

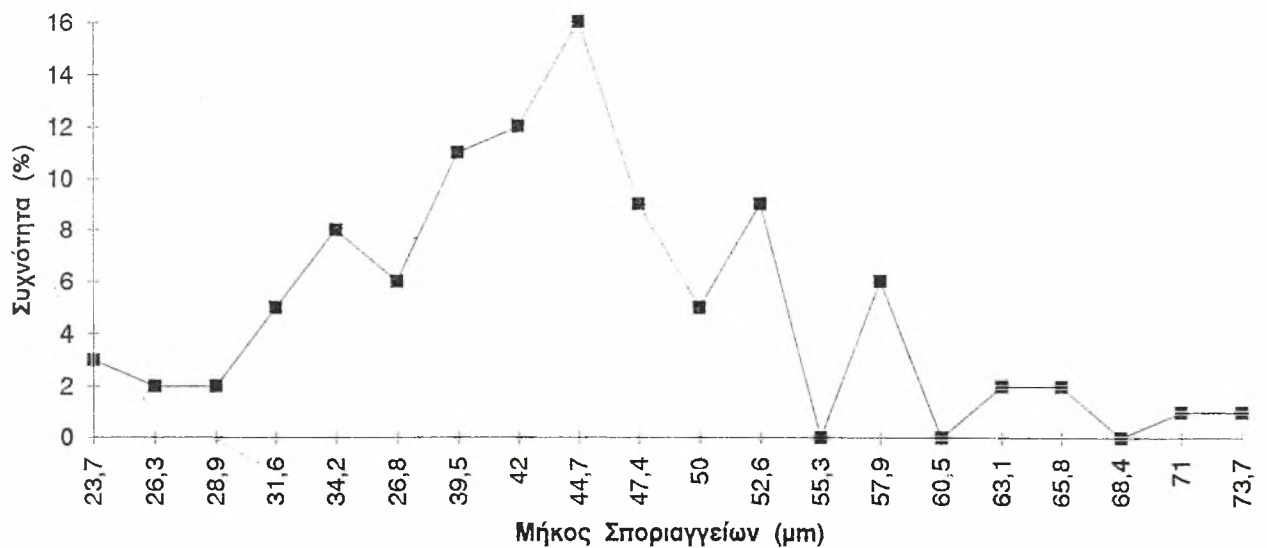
Πίνακας 3.2.1 Δεδομένα από τη μέτρηση των διαστάσεων των σποριαγγείων, για την απομόνωση Α2, (σε μm). 43

ΜΗΚΟΣ	ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚΟΣ/ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚΟΣ	ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚΟΣ/ΠΛΑΤΟΣ
47,4	23,7	2	73,7	34,2	2,15
34,2	23,7	1,44	52,6	39,5	1,33
52,6	39,5	1,33	52,6	36,8	1,42
52,6	39,5	1,33	42	28,9	1,45
47,4	34,2	1,38	39,5	26,3	1,5
52,6	34,2	1,53	39,5	31,6	1,25
39,5	28,9	1,36	34,2	26,3	1,3
50	31,6	1,58	44,7	34,2	1,3
57,9	26,3	2,2	34,2	18,4	1,85
42	31,6	1,33	36,8	26,3	1,4
65,8	34,2	1,92	23,7	18,4	1,28
36,8	26,3	4,2	39,5	23,7	1,66
57,9	34,2	1,69	47,4	18,4	2,57
34,2	23,7	1,44	44,7	26,3	1,7
47,4	39,5	1,2	36,1	21	1,5
44,7	26,3	1,7	26,3	18,4	1,42
44,7	34,2	1,3	42	34,2	1,23
39,5	31,6	1,25	23,7	15,8	1,5
34,2	26,3	1,3	42	28,9	1,45
47,4	36,8	1,28	39,5	26,3	1,5
57,9	42	1,37	31,6	21	1,5
50	31,6	1,58	36,8	23,7	1,55
52,6	34,2	1,53	23,7	21	0,88
44,7	36,8	1,21	42	28,9	1,45
63,1	34,2	1,84	34,2	26,3	1,3
57,9	44,7	1,29	71	28,9	2,45
63,1	39,5	1,6	34,2	23,7	1,44
65,8	39,5	1,66	44,7	26,3	1,7
36,8	26,3	1,4	26,3	18,4	1,42
57,9	34,2	1,69	44,7	31,6	1,41
39,5	26,3	1,5	44,7	26,3	1,7
50	36,8	1,35	44,7	34,2	1,3
42	31,6	1,33	52,6	34,2	1,42
47,4	26,3	1,8	50	39,5	1,26
42	26,3	1,6	44,7	34,2	1,3
42	26,3	1,6	39,5	31,6	1,25
44,7	31,6	1,41	44,7	39,5	1,13
42	28,9	1,45	52,6	36,8	1,42
44,7	34,2	1,3	57,9	36,8	1,57
47,4	36,8	1,28	39,5	26,3	1,5
39,5	28,9	1,36	47,4	26,3	1,8
44,7	26,3	1,7	28,9	21	1,37
44,7	34,2	1,3	52,6	31,6	1,66
42	26,3	1,6	28,9	15,8	1,83
44,7	31,6	1,41	34,2	23,7	1,44
31,6	21,1	1,5	39,5	26,3	1,5
47,4	36,8	1,28	42	34,2	1,23
42	26,3	1,6	36,8	26,3	1,4
50	28,9	1,72	31,6	26,3	1,2
31,6	18,4	1,71	36,8	28,9	1,27

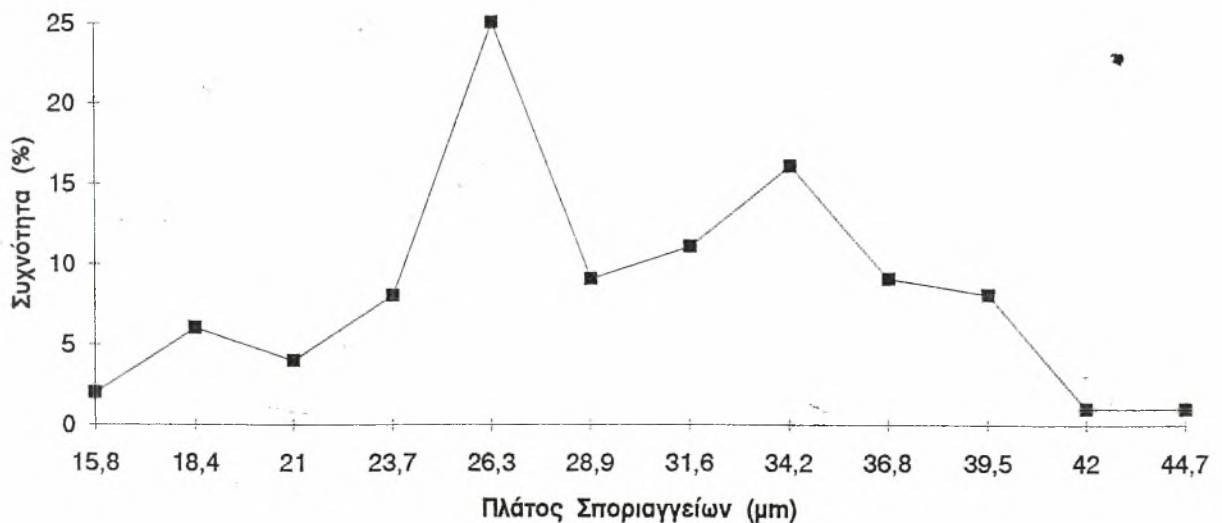
Σχήμα 3.2.1.1 Μήκος/Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση A2.



Σχήμα 3.2.1.2 Μήκος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση A2.



Σχήμα 3.2.1.3 Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση A2.



αντιστοιχεί η σχετικώς περισσότερη αυξημένη συχνότητα σποριαγγείων (από την αντίστοιχη στήλη **Συχνότητα**).

Έτσι, για τις διάφορες απομονώσεις έχουμε:

✓ Απομόνωση A1

Εύρος Μήκους x Εύρος Πλάτους
(28,9-60,5)x(21-47,4) μm

Περισσότερη αυξημένη συχνότητα : (39,5-52,6)x(23,7-36,8) μm

Το εύρος της περισσότερης αυξημένης συχνότητας για τη στήλη

Μήκος/Πλάτος είναι: 1,2-1,7

✓ Απομόνωση A2

Εύρος Μήκους x Εύρος Πλάτους
(23,7-73,7)x(15,8-44,7) μm

Περισσότερη αυξημένη συχνότητα : (31,6-52,6)x(18,4-39,5) μm

Το εύρος της περισσότερης αυξημένης συχνότητας για τη στήλη

Μήκος/Πλάτος είναι: 1,3-1,7

✓ Απομόνωση A3

Εύρος Μήκους x Εύρος Πλάτους
(28,9-55,3)x(18,4-39,5) μm

Περισσότερη αυξημένη συχνότητα : (36,8-50)x(21-34,2) μm

Το εύρος της περισσότερης αυξημένης συχνότητας για τη στήλη

Μήκος/Πλάτος είναι: 1,4-1,8

✓ Απομόνωση D1

Εύρος Μήκους x Εύρος Πλάτους
(18,4-65,8)x(13,2-44,7) μm

Περισσότερη αυξημένη συχνότητα : (23,3-52,6)x(21-34,2) μm

Το εύρος της περισσότερης αυξημένης συχνότητας για τη στήλη

Μήκος/Πλάτος είναι: 1,2-1,9

✓ Απομόνωση D3 (από «Soil Extract»)

Εύρος Μήκους x Εύρος Πλάτους
(36,8-71)x(23,7-52,6) μm

Περισσότερο αυξημένη συχνότητα : (47,4-55,3)x(31,6-39,5) μm

Το εύρος της περισσότερο αυξημένης συχνότητας για τη στήλη
Μήκος/Πλάτος είναι: 1,2-1,7

✓ Απομόνωση D4

Εύρος Μήκους x Εύρος Πλάτους
(28,9-81,6)x(18,4-39,5) μm

Περισσότερο αυξημένη συχνότητα : (42-50)x(21-28,9) μm

Το εύρος της περισσότερο αυξημένης συχνότητας για τη στήλη
Μήκος/Πλάτος είναι: 1,4-2,1

✓ Απομόνωση D5

Εύρος Μήκους x Εύρος Πλάτους
(28,9-60,5)x(18,4-36,8) μm

Περισσότερο αυξημένη συχνότητα : (39,5-47,4)x(23,7-31,6) μm

Το εύρος της περισσότερο αυξημένης συχνότητας για τη στήλη
Μήκος/Πλάτος είναι: 1,4-1,7

Κατά τη μελέτη των διαφόρων απομονώσεων ορισμένοι βασικοί χαρακτήρες-κριτήρια λαμβάνονται υπόψη κατά τη διαδικασία του προσδιορισμού ενός είδους *Phytophthora*. Αυτοί οι χαρακτήρες-κριτήρια, έχουν καθοριστεί από τη βιβλιογραφία καθώς και από την παραδοσιακή εργαστηριακή πρακτική και είναι οι ακόλουθοι:

- ✓ Το μέγιστο της θερμοκρασίας αυξήσεως (χαμηλό, μέσο, υψηλό).
- ✓ Ωογόνια με παράγυνα ή αμφίγυνα ανθηρίδια.
- ✓ Ικανότητα παραγωγής ή μη, ωοσπορίων.

✓Μορφολογία σποριαγγείων (ωοειδή, ελλειψοειδή, στερούμενα ή φέροντα θηλή, σχέση μήκους προς πλάτος, ποδίσκος.).

✓Πλήθος ωογονίων (άφθονα ή όχι).

✓Ποδίσκος των σποριαγγειοφόρων (μακρύς ή κοντός).

✓Μορφολογία μυκηλιακών υφών (περιελήξεις μορφής σπείρας).

✓Παρουσία ή απουσία μυκηλιακών διογκώσεων (Hyphal swellings), (μορφή, λεπτά ή όχι τοιχώματα, διάταξη κατά τον άξονα της υφής σε αλυσίδες απλές ή διακλαδιζόμενες, εάν βλαστάνουν σε απλή υφή ή σε υφή που καταλήγει σε σποριάγγειο).

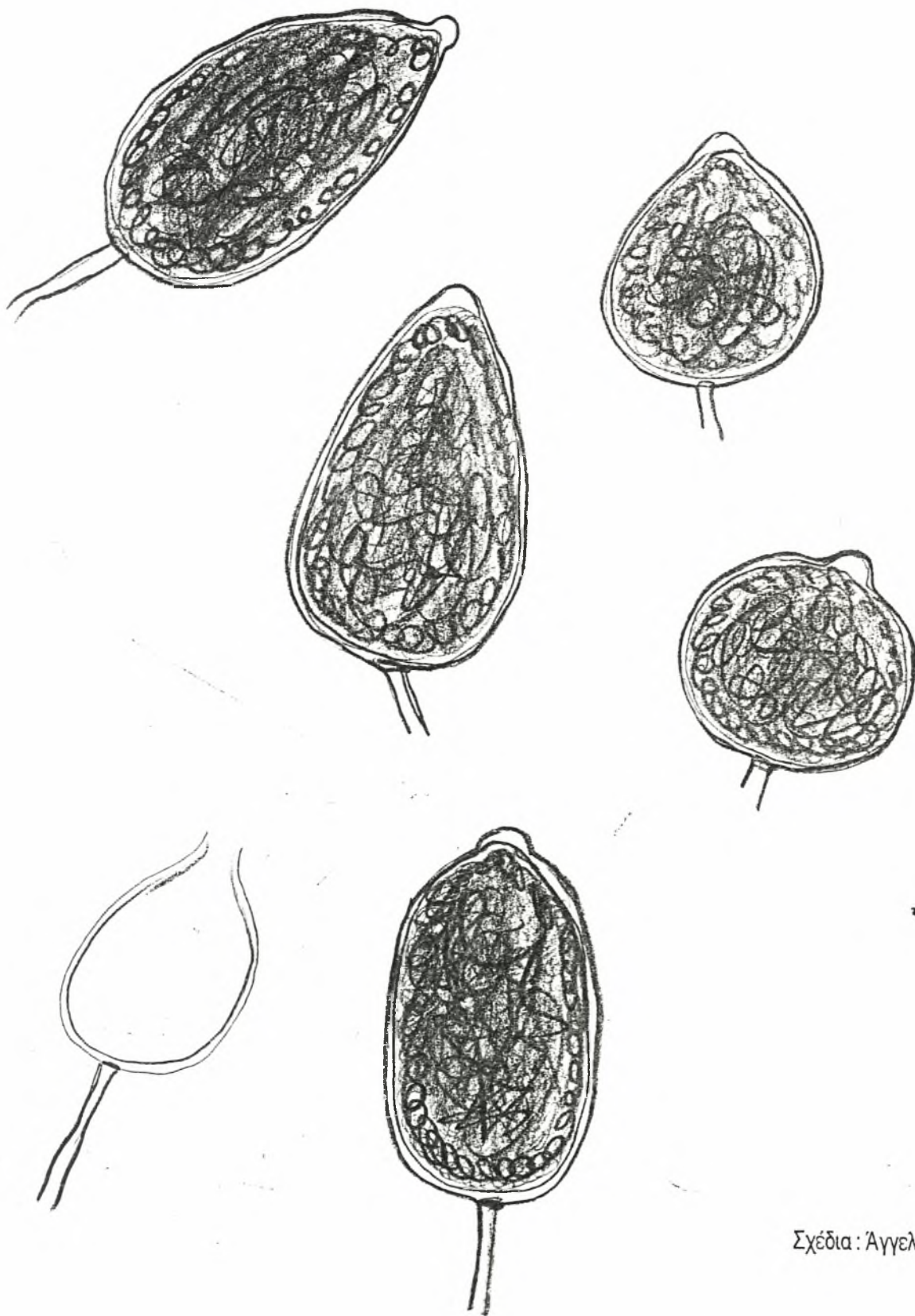
✓Σποριάγγεια που αποκόπτονται από τον σποραγγειοφόρο με ποδίσκο (βραχύ ή μακρύ), (caducity) ή σποριάγγεια μη αποκοπώμενα του σποριαγγειοφόρου (non caducity).

✓Ιδιότητα των σποριαγγειοφόρων να αναβλαστάνουν δια μέσου των κενών σποριαγγείων (proliferation).

Επίσης, η εργαστηριακή εμπειρία υπαγορεύει τη σχεδίαση των μορφολογικών χαρακτηριστικών από τις διάφορες απομονώσεις. Στα ίδια σχέδια, σημειώνονται και διάφοροι αξιοσημείωτοι χαρακτήρες-παρατηρήσεις από τις απομονώσεις. Με αυτόν τον τρόπο, έχει «εικονογραφηθεί» η κάθε περίπτωση και κάθε μία αποτελεί ένα ξεχωριστό «αρχείο». Έτσι μπορούν εύκολα να διαπιστωθούν οι ομοιότητες ή οι διαφορές μεταξύ των απομονώσεων. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα σχέδια και οι παρατηρήσεις πρέπει να γίνονται από τον ίδιο ερευνητή για να ελαχιστοποιηθεί το σφάλμα που εισάγεται από τον ανθρώπινο παράγοντα. Τα σχέδια με τις χαρακτηριστικές σημειώσεις-παρατηρήσεις που έγιναν για τις διάφορες απομονώσεις, ακολουθούν στις επόμενες σελίδες.

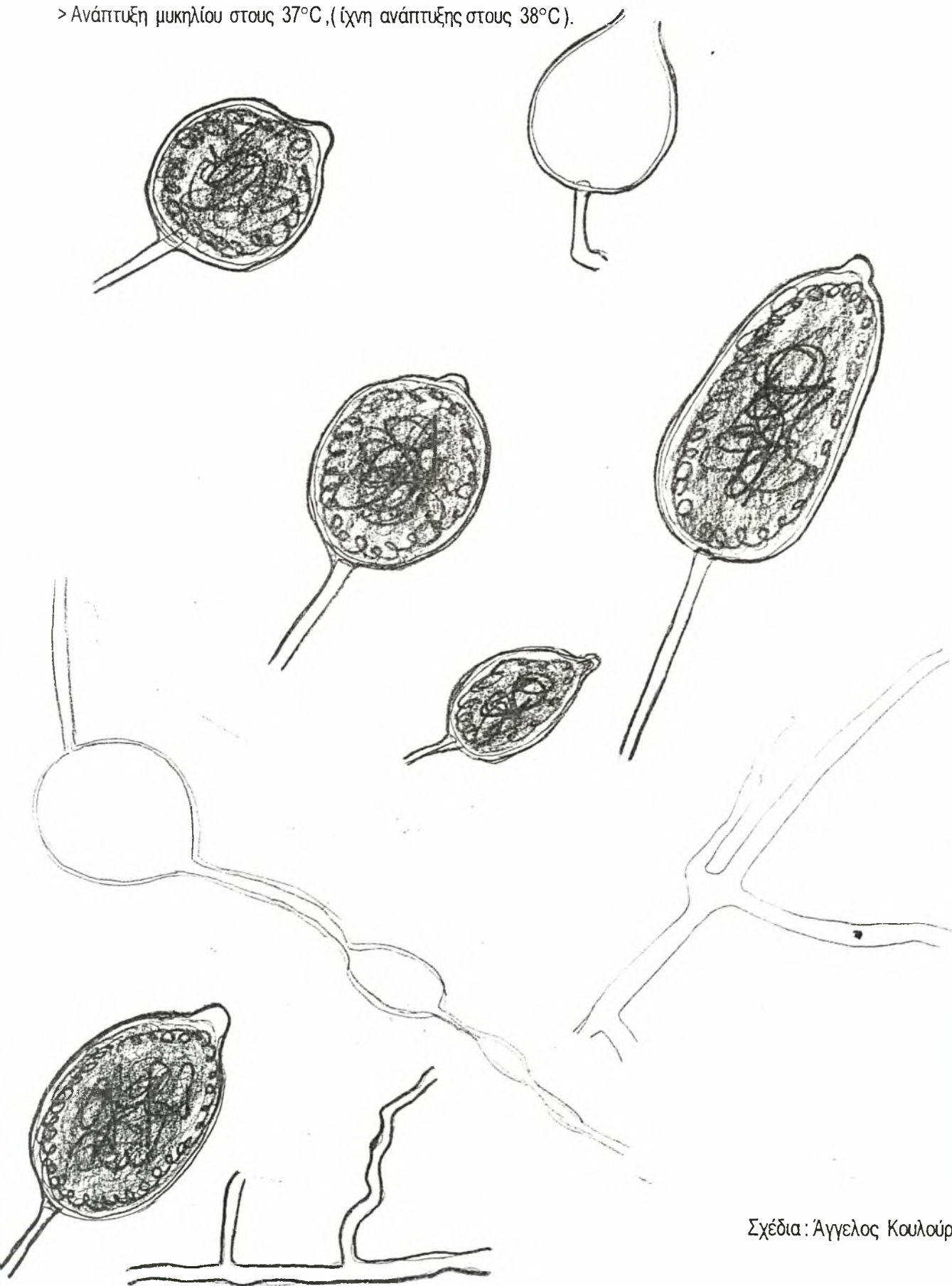
Απομόνωση A1 (*Phytophthora* sp)

- > Μυκήλιο με χαρακτηριστικές εξογκώσεις και άφθονη διακλάδωση (σε Μ.Α.).
- > Σποριάγγεια ποικίλου σχήματος, σφαιρικά, λεμονοειδή, απιοειδή.
- > Θηλή ποικίλου μήκους (σχετικώς μικρού).
- > Σποριάγγεια τα οποία αποκόπτονται με μίσχο.
- > Χλαμυδοσπόρια άφθονα (σε Μ.Α.).
- > Ανάπτυξη μυκηλίου στους 37°C, (ίχνη ανάπτυξης στους 38°C).



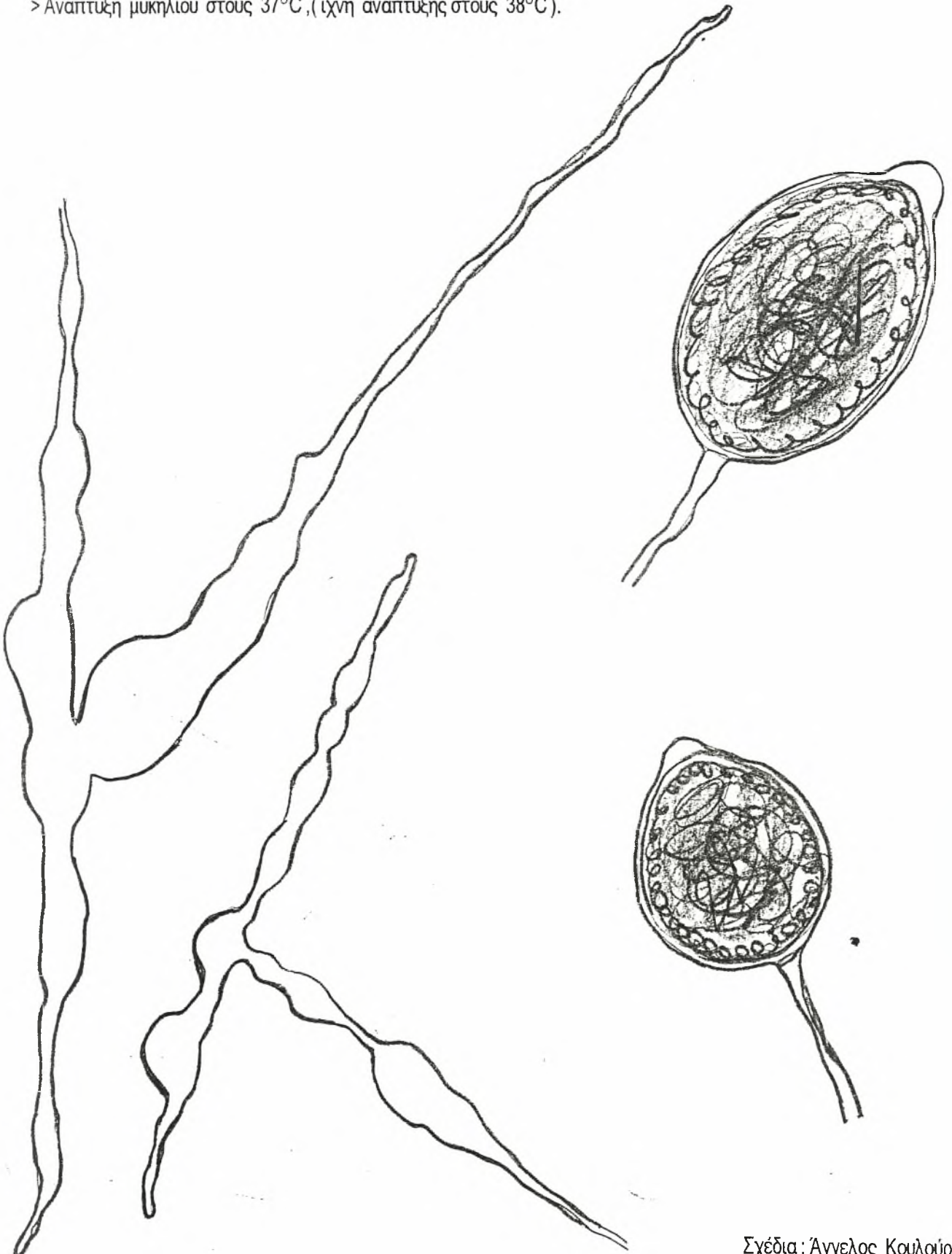
Απομόνωση A2 (*Phytophthora* sp.)

- > Μυκήλιο με χαρακτηριστικές εξογκώσεις και άφθονη διακλάδωση (σε Μ.Α.).
- > Σποριάγγεια ποικίλου σχήματος, σφαιρικά, λεμονοειδή, απιοειδή.
- > Θηλή ποικίλου μήκους (σχετικώς μικρού).
- > Σποριάγγεια τα οποία αποκόπτονται με μίσχο.
- > Χλαμυδοσπόρια άφθονα (σε Μ.Α.).
- > Ανάπτυξη μυκηλίου στους 37°C, (ίχνη ανάπτυξης στους 38°C).

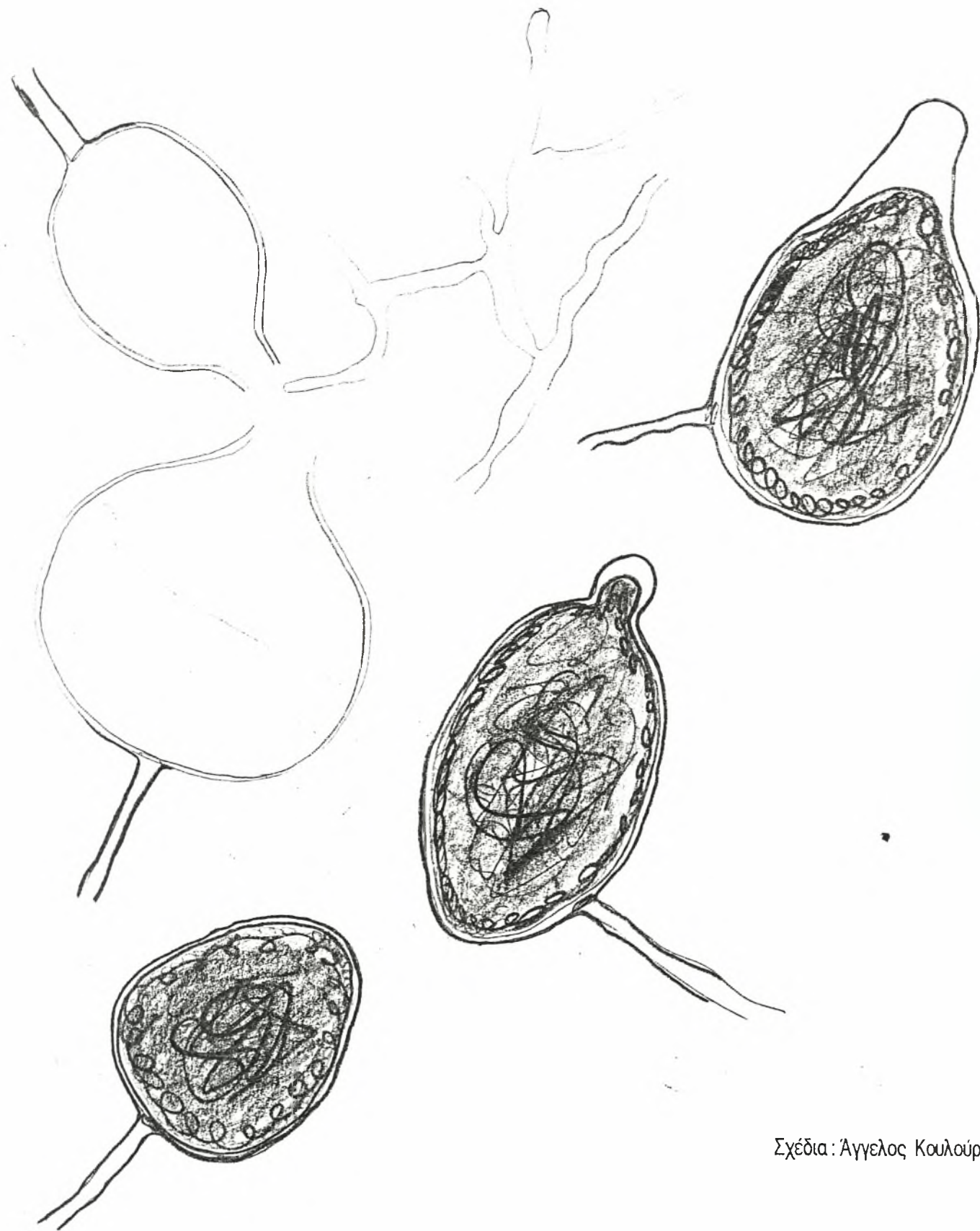


Απομόνωση A3 (*Phytophthora* sp.)

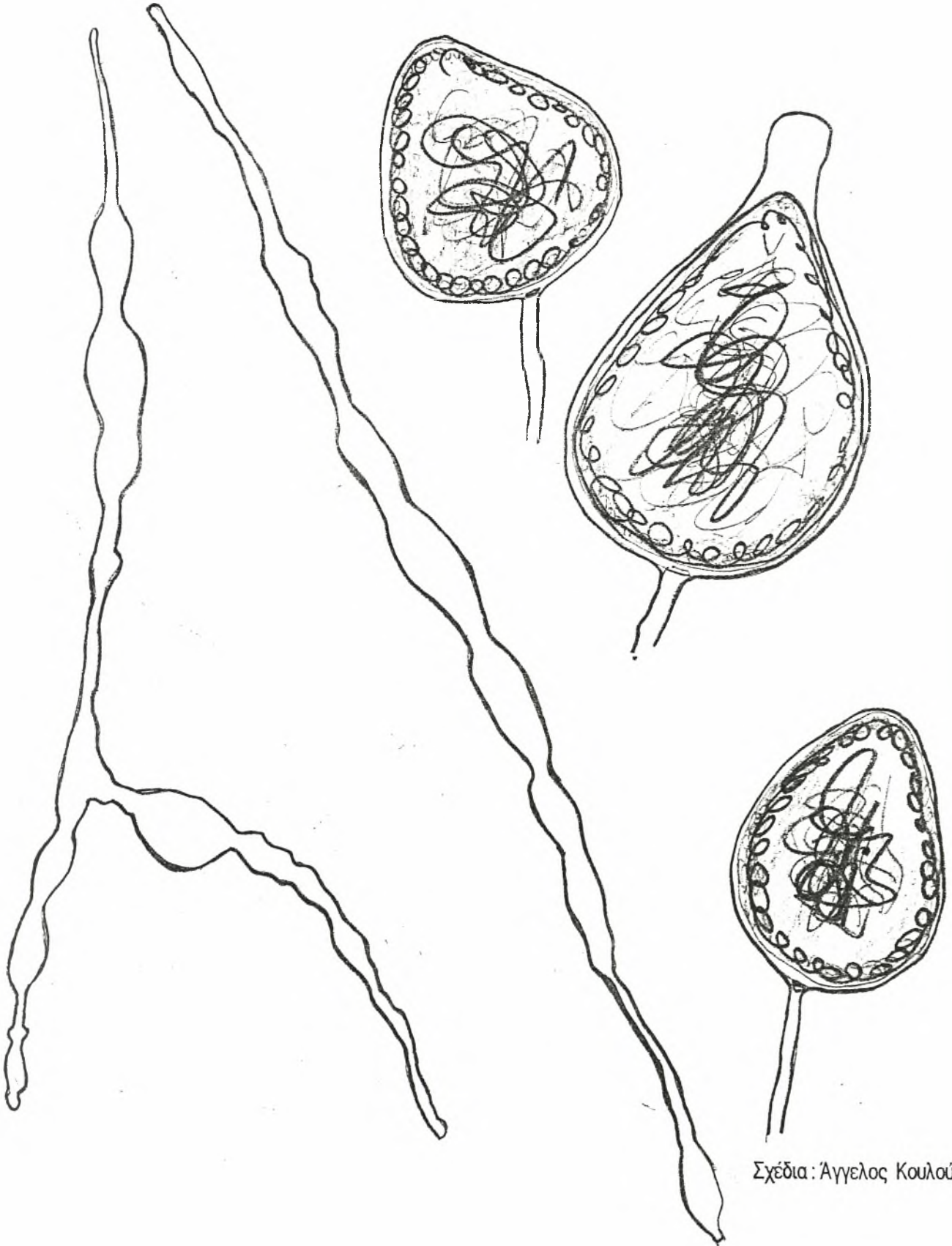
- > Μυκήλιο με χαρακτηριστικές εξογκώσεις και άφθονη διακλάδωση (σε M.A.).
- > Σποριάγγεια ποικίλου σχήματος, σφαιρικά, λεμονοειδή, απιοειδή.
- > Θηλή ποικίλου μήκους (σχετικώς μικρού).
- > Σποριάγγεια τα οποία αποκόπτονται με μίσχο.
- > Χλαμυδοσπόρια άφθονα (σε M.A.).
- > Ανάπτυξη μυκηλίου στους 37°C, (ίχνη ανάπτυξης στους 38°C).



- > Μυκήλιο με έντονες εξογκώσεις (σε Μ.Α.).
- > Σποριάγγεια ποικίλου σχήματος : απιοειδή, λεμονοειδή.
- > Σποριάγγεια με θηλή μεγάλου μήκους , η οποία στην κορυφή της τείνει να γίνει σφαιρική.
- > Σποριάγγεια χωρίς θηλή.
- > Σποριάγγεια τα οποία δεν αποκόπτονται από τη μυκηλιακή υφή.
- > Σποριάγγεια τα οποία αποκόπτονται από τη μυκηλιακή υφή με μίσχο.
- > Σε μερικά σποριάγγεια η βάση του μίσχου δε βρίσκεται ακριβώς απέναντι από τη θηλή , αλλά παραπλευρώς.
- > Ίχνη ανάπτυξης μυκηλίου (σε 48 ώρες), στους 31,5°C.

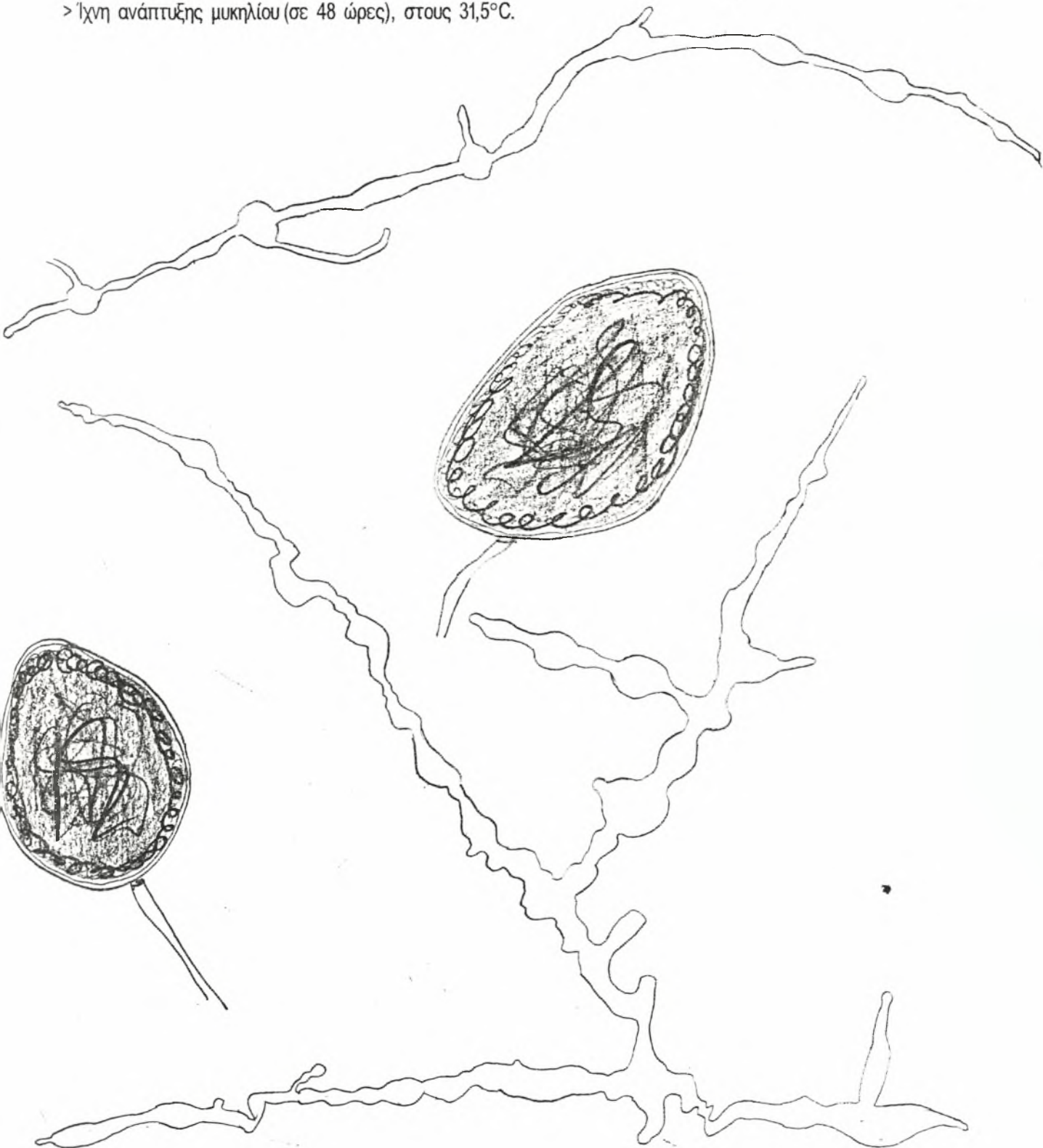


- > Μυκήλιο με έντονες εξογκώσεις (σε M.A.).
- > Σποριάγγεια ποικίλου σχήματος : απιοειδή, λεμονοειδή.
- > Σποριάγγεια με θηλή μεγάλου μήκους, η οποία στην κορυφή της τείνει να γίνει σφαιρική.
- > Σποριάγγεια χωρίς θηλή.
- > Σποριάγγεια τα οποία δεν αποκόπτονται από τη μυκηλιακή υφή.
- > Σποριάγγεια τα οποία αποκόπτονται από τη μυκηλιακή υφή με μίσχο.
- > Σε μερικά σποριάγγεια η βάση του μίσχου δε βρίσκεται ακριβώς απέναντι από τη θηλή, αλλά παραπλεύρως.
- > Ίχνη ανάπτυξης μυκηλίου (σε 48 ώρες), στους 31,5°C.



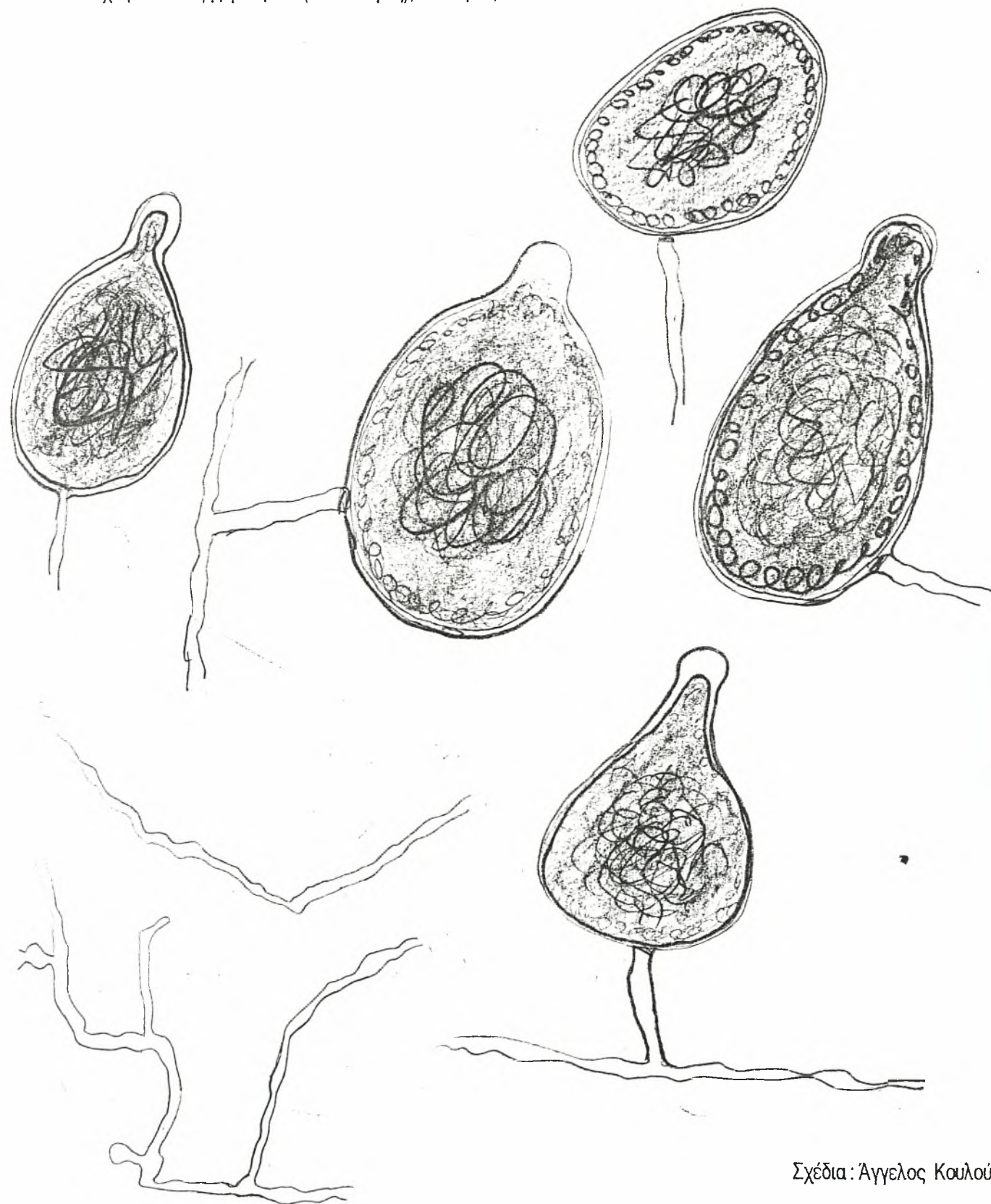
Απομόνωση D4 (*Phytophthora* sp.)

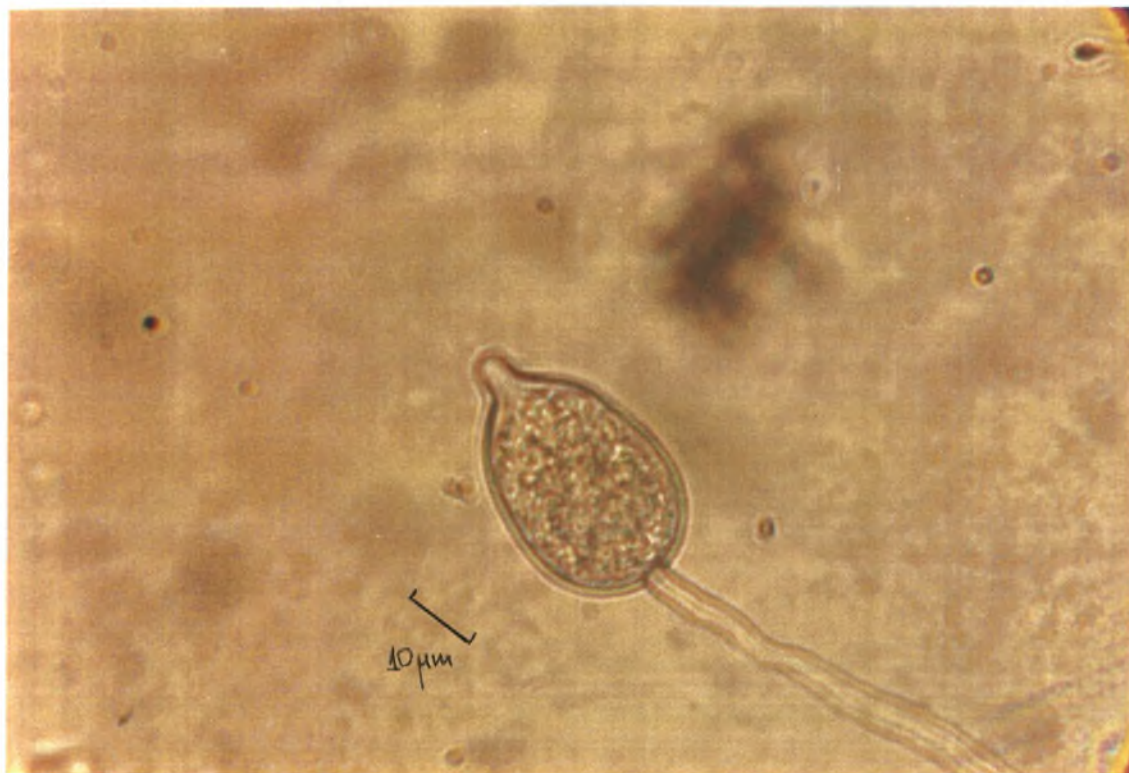
- > Μυκήλιο με έντονες εξογκώσεις (σε Μ.Α.).
- > Σποριάγγεια ποικίλου σχήματος : απιοειδή, λεμονοειδή.
- > Σποριάγγεια με θηλή μεγάλου μήκους, η οποία στην κορυφή της τείνει να γίνει σφαιρική.
- > Σποριάγγεια χωρίς θηλή.
- > Σποριάγγεια τα οποία δεν αποκόπτονται από τη μυκηλιακή υφή.
- > Σποριάγγεια τα οποία αποκόπτονται από τη μυκηλιακή υφή με μίσχο.
- > Σε μερικά σποριάγγεια η βάση του μίσχου δε βρίσκεται ακριβώς απέναντι από τη θηλή, αλλά παραπλεύρως.
- > Ίχνη ανάπτυξης μυκηλίου (σε 48 ώρες), στους 31,5°C.



Απομόνωση D5 (*Phytophthora sp.*)

- > Μυκήλιο με έντονες εξογκώσεις (σε Μ.Α.).
- > Σποριάγγεια ποικίλου σχήματος : απιοειδή, λεμονοειδή.
- > Σποριάγγεια με θηλή μεγάλου μήκους , η οποία στην κορυφή της τείνει να γίνει σφαιρική.
- > Σποριάγγεια χωρίς θηλή.
- > Σποριάγγεια τα οποία δεν αποκόπτονται από τη μυκηλιακή υφή.
- > Σποριάγγεια τα οποία αποκόπτονται από τη μυκηλιακή υφή με μίσχο.
- > Σε μερικά σποριάγγεια η βάση του μίσχου δε βρίσκεται ακριβώς απέναντι από τη θηλή , αλλά παραπλεύρως.
- > Ίχνη ανάπτυξης μυκηλίου (σε 48 ώρες), στους 31,5°C.





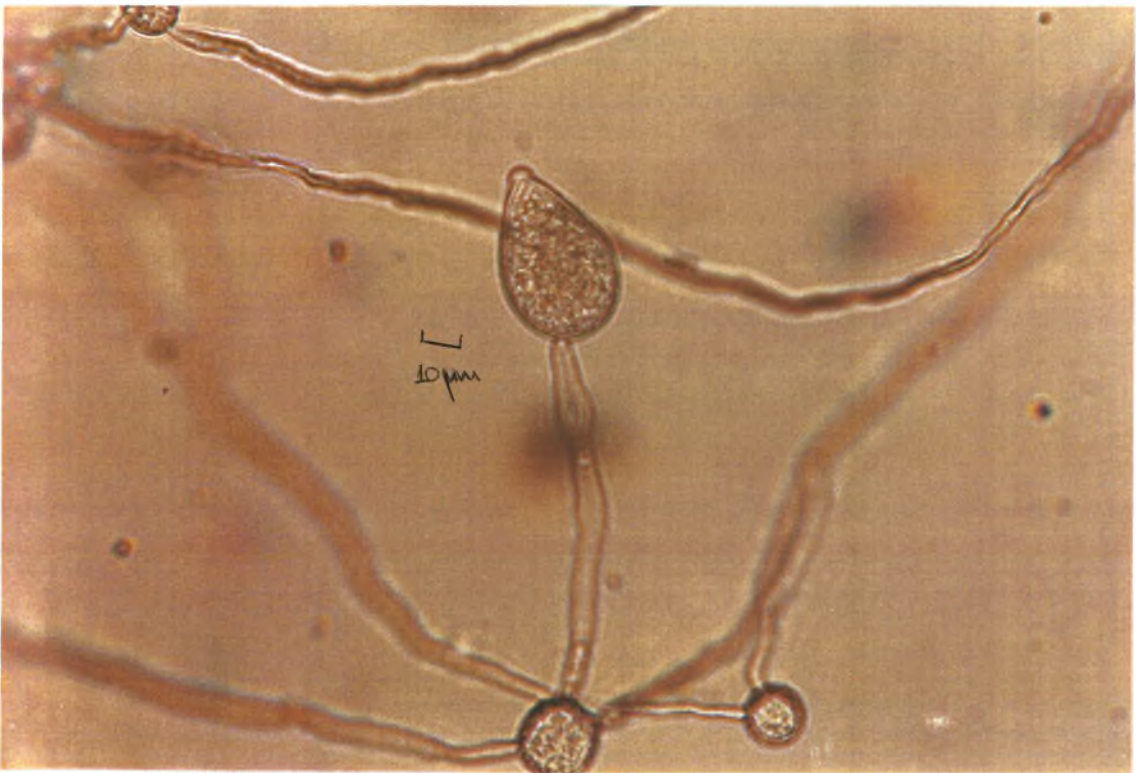
Εικόνα 3.21 Σποριάγγειο από την απομόνωση D5 (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



Εικόνα 3.22 Σποριάγγειο από την απομόνωση A2 (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



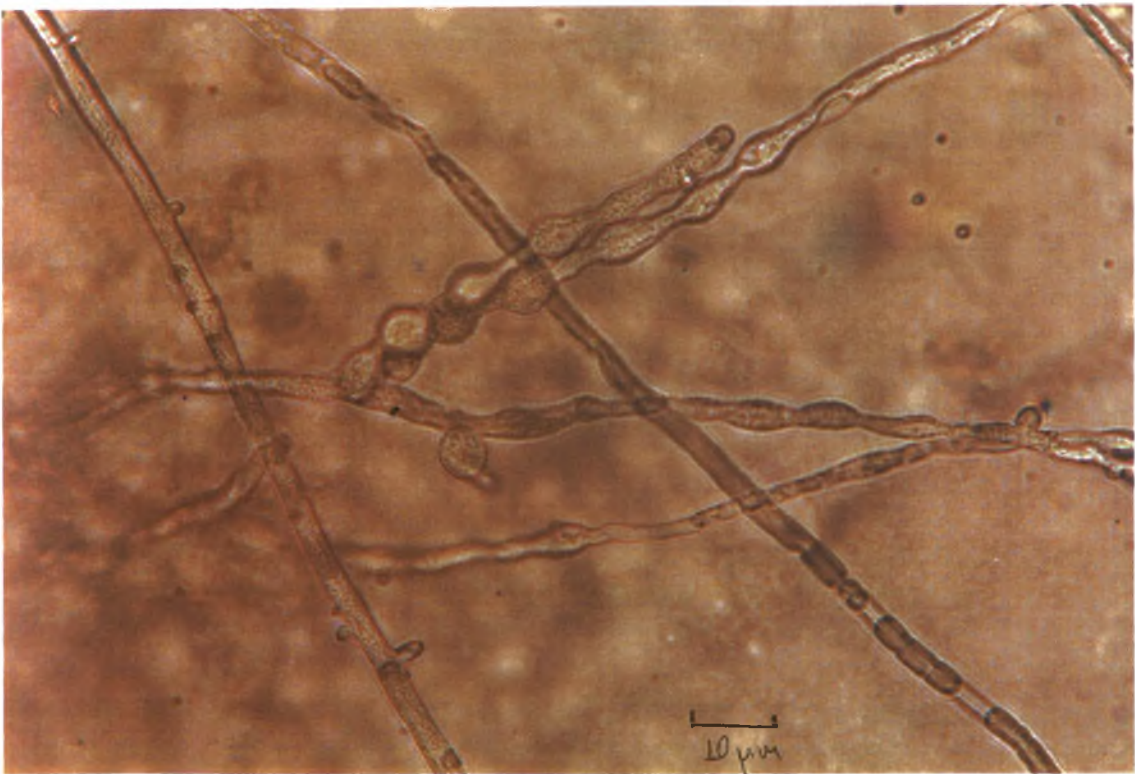
Εικόνα 3.23 Σποριάγγεια από την απομόνωση A1 (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



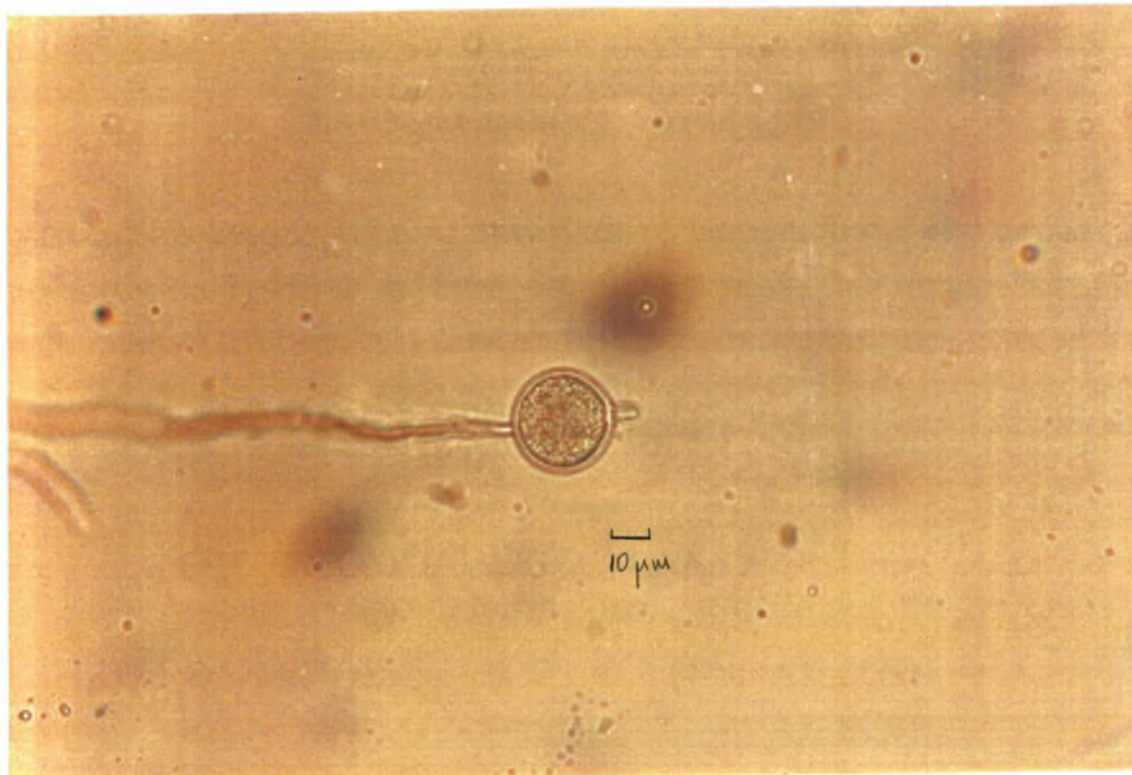
Εικόνα 3.24 Σποριάγγειο και χλαμυδοσπόρια από την απομόνωση A1 (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



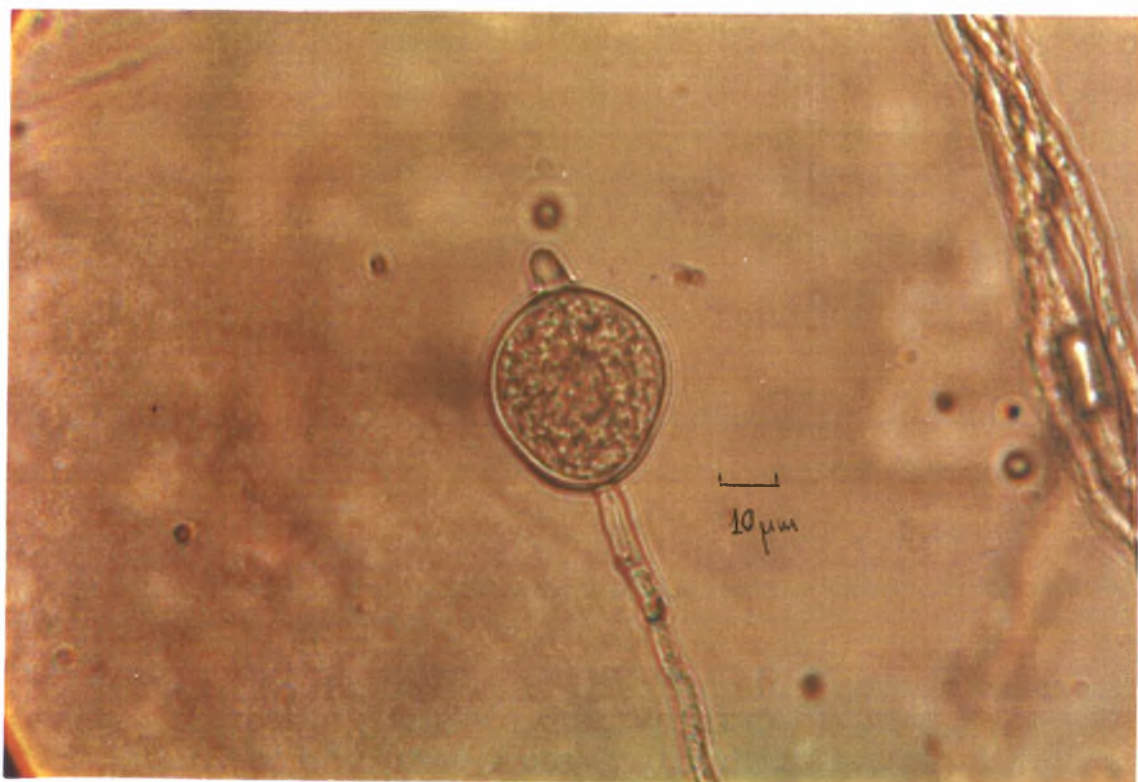
Εικόνα 3.25 Σποριάγγεια από την απομόνωση D5 (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



Εικόνα 3.26 Μυκηλιακές εξογκώσεις (Hyphal Swellings) από την απομόνωση D5 (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



Εικόνα 3.27 Σποριάγγειο από την απομόνωση A2 (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).



Εικόνα 3.28 Σποριάγγειο από την απομόνωση D4 (φωτογραφία : Α. Κουλούρης).

3.3 Θερμοκρασίες ανάπτυξης.

Στους επόμενους πίνακες φαίνονται οι μεταχειρίσεις των απομονώσεων του πειράματος σε σχέση με τις διάφορες θερμοκρασίες. Οι απομονώσεις από τα φυτά ανθούριου (A1, A2 και A3) έδειξαν ότι έχουν ικανοποιητική ανάπτυξη στους 37°C.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΙΣ: A1, A2, A3

ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ	38°C	(48)h: A1: IXNH A2: IXNH A3: IXNH
ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ	37°C	(24)h: A1: 5-8 mm A2: 5-6 mm A3: 5-7 mm
ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ	35°C	(24)h: A1: 10-9 mm A2: 10-11 mm A3: 10-10 mm (48)h: A1: 9-8 mm A2: 10-9 mm A3: 10-12 mm
ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ	33°C	(19)h: A1: 0,9-0,9 mm A2: 0,8-0,9 mm A3: 0,7-0,8 mm

ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΙΣ: D1, D3, D4, D5

ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ	38°C	(48)h:	D1	0
			D3	0
			D4	0
			D5	0
ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ	37°C	(24)h :	D1	0
			D3	0
			D4	0
			D5	0
ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ	35°C	(24)h:	D1	0
			D3	0
			D4	0
			D5	0
		(48)h:	D1	IXNH
			D3	IXNH
			D4	IXNH
			D5	IXNH
ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ	33°C	(19)h:	D1	IXNH
			D3	IXNH
			D4	IXNH
			D5	IXNH
ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ	31,5°C	(24)h:	D1	0
			D3	0
			D4	0
			D5	0
		(48)h:	D1	IXNH
			D3	IXNH
			D4	IXNH
			D5	IXNH

ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ 30° °C	(24)h:	D1	ΙΧΝΗ
		D3	ΙΧΝΗ
		D4	ΙΧΝΗ
		D5	ΙΧΝΗ
	(48)h:	D1	3-3 mm
		D3	3-3,5 mm
		D4	3-3 mm
		D5	2,5-2,5 mm

Οι απομονώσεις από τα φυτά διεφεμπάχιας (D1, D3, D4 και D5), έδειξαν ότι η ανάπτυξή τους αρχίζει να εξελίσσεται ικανοποιητικά στους 29-30°C. Αυτές οι απομονώσεις, έδειξαν μια ασταθή συμπεριφορά στην ανάπτυξή τους σε σχέση με τη θερμοκρασία. Το γεγονός αυτό, προτείνει την εκδοχή και ενισχύει την υπόθεση ότι τέτοιου είδους συμπεριφορά είναι αποτέλεσμα διαειδικού ανταγωνισμού. Δηλαδή η προσβολή των φυτών διεφεμπάχιας οφείλεται σε δύο διαφορετικά είδη του γένους *Phytophthora*. Στην ίδια κατεύθυνση οδηγούν τα συμπεράσματα από τη μελέτη των μορφολογικών χαρακτηριστικών των γενών αυτών. Πιο συγκεκριμένα, οι απομονώσεις D1, D3, D4 και D5, περιέχουν σποριάγγεια με θηλή, αλλά και σποριάγγεια χωρίς θηλή. Στις σελίδες που ακολουθούν, παρατίθενται δεδομένα και παρατηρήσεις που αναφέρονται στις απομονώσεις D1, D3, D4 και D5, που αποδεικνύουν την ταυτόχρονη ύπαρξη δύο ειδών του γένους *Phytophthora*.

3.4 Ο προσδιορισμός του είδους.

Η εργαστηριακή πρακτική που αναφέρεται στην ταξινόμηση ενός είδους μέσα στο γένος *Phytophthora*, δεν απαιτεί, σε τόσο αυξημένο βαθμό, τη λεπτομέρεια. Λεπτομέρεια, αναμφισβήτητα, επιβάλλεται όταν πρόκειται για τον προσδιορισμό (ταυτοποίηση), ενός είδους. Ο προσδιορισμός (ταυτοποίηση) ενός είδους και η ταξινόμηση του είδους, είναι δύο διαφορετικά θέματα, τα οποία σχετίζονται έως ένα βαθμό (Waterhouse et. al., 1980).

Τα αποτελέσματα της μελέτης των απομονώσεων D1, D3, D4 και D5 (από φυτά διεφεμπάχιας) συνοψίζονται ως εξής: Υπάρχουν σποριάγγεια με θηλή, αλλά και σποριάγγεια χωρίς θηλή. Η θηλή, σε όσα σποριάγγεια αυτή υπάρχει, είναι πολλές φορές μεγάλου μήκους και η κορυφή της τείνει να πάρει σφαιρικό σχήμα. Πολλά σποριάγγεια αποχωρίζονται από τη μυκηλιακή υφή με μίσχο ενώ άλλα δεν αποποσπώνται. Οι μυκηλιακές υφές είναι ακανονίστου πλάτους με έντονες εγκολπώσεις. Χλαμυδοσπόρια υπάρχουν αρκετά χωρίς να είναι γνωστό εάν προέρχονται από μυκηλιακές υφές που παράγουν σποριάγγεια με θηλή ή χωρίς θηλή. Μερικές απομονώσεις έδειξαν ανάπτυξη του μυκηλίου τους στους 31,5°C, ενώ όταν οι ίδιες απομονώσεις υποβλήθηκαν κατ'επανάληψη στην ίδια θερμοκρασία δεν έδειξαν ίχνη ανάπτυξης. Όλες όμως οι απομονώσεις αναπτύχθηκαν ικανοποιητικά στους 29-30°C.

Συμπέρασμα από όλα τα παραπάνω δεδομένα σε συνδυασμό με τα μορφολογικά και λοιπά χαρακτηριστικά των απομονώσεων D1, D3, D4, D5 και εφόσον εφαρμόσουμε ως κανόνα προσδιορισμού την κλείδα της G. Waterhouse (Key to the species of *Phytophthora* de Bary, 1963), είναι ότι πρόκειται για δύο διαφορετικά είδη του γένους *Phytophthora*. Το ένα είδος, τα σποριάγγεια του οποίου στερούνται θηλής ανήκει σε μία από τις Ομάδες V ή VI, χωρίς να μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια (με πιθανότερα τα είδη: *P. cambivora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*). Το άλλο είδος, τα σποριάγγεια του οποίου φέρουν θηλή ανήκει στην Ομάδα II, χωρίς να μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια (με πιθανότερα τα είδη: *P. citrophthora*, *P. heveae* και *P. palmivora*).

Τα αποτελέσματα της μελέτης των απομονώσεων A1, A2 και A3 (από φυτά ανθούριου) συνοψίζονται ως εξής: Τα σποριάγγεια τα οποία φέρουν θηλή, είναι ποικίλου σχήματος, απιοειδή, ωοειδή, σφαιρικά και αποπίπτουν με μίσχο.

Έχουν περισσότερο αυξημένη συχνότητα Μήκους x Πλάτους : 38 x 30 μm και ο λόγος Μήκους/Πλάτους είναι 1,4. Τα χλαμυδοσπόρια σχηματίζονται άφθονα. Τα ανθηρίδια είναι αμφίγυνα. Οι μυκηλιακές υφές έχουν ακανόνιστο πλάτος. Η μορφολογία του μυκηλίου της καλλιέργειας είναι με λεπτές υφές και με μια ακανόνιστη μορφή ροζέτας. Η μέγιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι 37°C.

Συμπέρασμα από όλα τα παραπάνω δεδομένα, σε συνδυασμό με τα μορφολογικά και λοιπά χαρακτηριστικά των απομονώσεων A1, A2, A3 και εφόσον εφαρμόσουμε ως κανόνα προσδιορισμού την κλείδα της G. Waterhouse (Key to the species of *Phytophthora* de Bary, 1963), είναι ότι το είδος στο οποίο ανήκουν οι παραπάνω απομονώσεις ανήκει στην **Ομάδα II** και είναι το *Phytophthora parasitica* Dastur, [συν. *Phytophthora nicotianae* B. de Haan var. *parasitica* (Dastur) Waterh].

Αναλυτικότερα, για την **Ομάδα II** ισχύουν τα παρακάτω:

Η κορυφή των σποριαγγείων έχει σαφή (έντονη, φανερή), θηλή. Υαλώδης (διαφανής), κορυφαία διόγκωση, ημισφαιρική ή το λιγότερο 4 μm βαθιά, πόρος εξόδου στενός (7 μm ή λιγότερο). Τα σποριάγγεια σχηματίζονται αφθόνως σε στερεά θρεπτικά υποστρώματα, συνήθως είναι αποπίπτοντα (deciduous) και δεν εκβλαστάνουν δια μέσου των κενών σποριαγγείων (δηλαδή δε γίνεται proliferation). Τα ωοσπόρια σπανίως σχηματίζονται σε μυκηλιακές υφές ενός και μόνου συζευκτικού τύπου (single-strain culture). Τα ανθηρίδια είναι όλα αμφίγυνα.

Τα χαρακτηριστικά των απομονώσεων A1, A2 και A3, πράγματι τις εντάσσουν στην **Ομάδα II**. Ειδικότερα στο είδος *Phytophthora parasitica* Dastur. Το είδος αυτό χαρακτηρίζεται από: Μυκηλιακές υφές σκληρές με εύρος έως και 9 μm , με ακανόνιστο πλάτος. Οι σποριαγγειοφόροι είναι περισσότερο λεπτοί από τις μυκηλιακές υφές, με ακανόνιστη ή συμποδιακή διακλάδωση. Σποριάγγεια ευρέως ωοειδή ή απιοειδή, έως σφαιρικά, όχι αισθητά στενά στο κορυφαίο μέρος. Η περισσότερο αυξημένη συχνότητα Μήκους x Πλάτους είναι 38 x 30 μm , (με εύρος-μέγιστες διαστάσεις 50 x 40 μm), ο λόγος Μήκους/Πλάτους είναι 1,4 ή μικρότερος. Τα σποριάγγεια μερικές φορές είναι σχηματισμένα ενδιάμεσως, αποπίπτουν με πολύ μικρό μίσχο (2 μm), η κορυφαία πάχυνση ημισφαιρική. Τα χλαμυδοσπόρια είναι έως 60 μm , και σχηματίζονται μάλλον όψιμα (1-2 εβδομάδες), το τοίχωμά τους έχει πάχος 3-4 μm , σχηματίζονται ακραίως ή ενδιάμεσως και γίνονται κιτρινωπά-καφέ καθώς αυξάνεται η ηλικία τους. Τα

ωογόνια συνήθως σχηματίζονται σε μυκηλιακή υφή του ενός συζευκτικού τύπου (single strain culture), παρά το γεγονός ότι συχνά παράγονται σπανίως ή ακόμη δεν παράγονται εάν δεν παρέλθουν μερικές εβδομάδες, αλλά παράγονται εύκολα όταν αναπτύσσονται μαζί με μυκηλιακές υφές του αντιθέτου συζευκτικού τύπου. Μπορούν να παραχθούν με ορισμένες φυλές *P. palmivora*. Έχουν μέσες διαστάσεις 24-26 μm, (με μεγαλύτερη 31 μm,) τοίχωμα που γίνεται παχύ (συμπαγές-πυκνό) και κιτρινωπό-καφέ με την αύξηση της ηλικίας τους. Τα ανθηρίδια είναι σφαιρικά ή ωοειδή, 10 x 12(-16)μm. Τα ωοσπόρια έχουν παχύ (2μm) τοίχωμα σε σχέση με το μικρό τους μέγεθος. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του μυκηλίου της καλλιέργειας ποικίλουν, αλλά συνήθως είναι ακανονίστως αφράτο,(χνουδάτο), με μια ακανόνιστη μορφή ροζέτας. Κύριες, (βασικές) θερμοκρασίες: ελάχιστη: 30-32°C, μέγιστη: 37°C ή μεγαλύτερη (Waterhouse, 1963).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ann, P. J., and Ko, W. H. 1980. *Phytophthora insolita*, a new species from Taiwan. *Mycologia*, 72:1180-1185.
2. Blackwell, E. 1949. Terminology in *Phytophthora*. *Mycolog. Pap.* 30. CMI, Kew, Surrey.
3. Brasier, C. M., and Griffin, M. J. 1979. Taxonomy of *Phytophthora palmivora* on cocoa. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 72:111-143.
4. Brasier, C. M., and Sansome, E. 1975. Diploidy and gametangial meiosis in *Phytophthora cinnamomi*, *P. infestans* and *P. drechsleri*. *Trans Br. Mycol. Soc.*, 65:49-65.
5. Chase, A. R. 1988. Compendium of Ornamental Foliage Plant Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, U.S.A.
6. Frezzi, M. J. 1950. Las especies de «*Phytophthora*» en la Argentina. *Rev. Invest. Agric.*, 4:47-133.
7. Ho, H. H. 1978. Hyphal branching systems in *Phytophthora* and other phycomycetes. *Mycopathologia*, 64:83-86.
8. Ho, H. H., and Jong, S. C. 1989. *Phytophthora nicotianae* (*P. parasitica*). *Mycotaxon*, 35:1,243-276.
9. Kannaiyan, J., Ribeiro, O. K., Erwin D. C., and Neve Y. L. 1980. *Phytophthora* blight of pigeon pea in India. *Mycologia*, 72:169-181.
10. Ko, W. H., and Chang, H. S. 1979. *Phytophthora katsurae*, a new name for *P. castaneae*. *Mycologia*, 71:840-844.

11. Κουγέα, Η., και Χιτζανίδου, Α. 1968. Παρατηρήσεις επί Ελληνικών Ειδών του Γένους *Phytophthora* (I). Χρον. Μπεν. Φυτ. Ινστ. Ν.Σ., 8:183-201.
12. Κουγέα, Η., και Χιτζανίδου, Α. 1968. Παρατηρήσεις επί Ανωμάλου Βλαστήσεως των Εγγενών Σπορίων Μυκήτων του Γένους *Phytophthora*. Χρον. Μπεν. Φυτ. Ινστ. Ν.Σ., 8:204-207.
13. Κουγέα, Η., και Χιτζανίδου, Α. 1970. Παρατηρήσεις επί Ελληνικών Ειδών του Γένους *Phytophthora* (II). Χρον. Μπεν. Φυτ. Ινστ. Ν.Σ., 9:279-287.
14. Κουγέα, Η. 1971. Επί της Αποπληξίας των Πυρηνοκάρπων Οφειλομένης εις Είδη του Γένους *Phytophthora*. Χρον. Μπεν. Φυτ. Ινστ., Ν.Σ., 10:171-179.
15. Kouyeas, H. 1973. Pathogenicity of *Phytophthora* species to Pistachio Tree. Anns. Inst. Phytopath. Benaki, N. S., 10:333-341.
16. Kuan, T.-L., and Erwin, D. C. 1980. Formae speciales differentiation of *Phytophthora megasperma* isolates from soybean and alfalfa. Phytopathology, 70:333-338.
17. Newhook, F. J., Waterhouse, G. M., and Stamps, D. J. 1978. Tabular Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycolog. Pap. 143. CMI, Kew, Surrey.
18. Ribeiro, O. K. 1978. A source book of the genus *Phytophthora*.
19. Rosenbaum, J. 1917. Studies of the genus *Phytophthora*. J. Agric. Res., 8:233-276.
20. Sansome, E., and Brasier, C. M. 1974. Polyploidy associated with varietal differentiation in the *megasperma* complex of *Phytophthora*. Trans. Br. Mycol. Soc., 63:461-467.

21. Stamps, D. J., Waterhouse, G. M., Newhook, F. J., and Hall, G. S. 1990. Revised Tabular Key to the species of *Phytophthora*. Mycolog. Pap. 162. CMI, Kew, Surrey.
22. Tucker, C. M. 1931. Taxonomy of the genus *Phytophthora* de Bary. Univ. Mo. Agric. Exp. Stn. Bull., 153.208pp.
23. Waterhouse, G. M. 1956. The genus *Phytophthora*, diagnoses (or descriptions) and figures from the original papers. Kew Misc. Publ. 12, CMI, Kew, Surrey.
24. Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycolog. Pap. 92. CMI, Kew, Surrey.
25. Waterhouse, G. M., and Waterston, J. M. 1964. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. Nos 34 and 35. CMI, Kew, Surrey.
26. Waterhouse, G. M., Newhook F. J., and Stamps D. J. 1980. Present Criteria for Classification of *Phytophthora*. Pages 139-147 in : *Phytophthora, it's Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*. Erwin, D. C., Bartnicki-Garcia, S., and Tsao, P. H., Editors. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, U.S.A.
27. Zentmyer, G. A. 1980. The World of *Phytophthora*. Pages 1-7 in : *Phytophthora, it's Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*. Erwin, D. C., Bartnicki-Garcia, S., and Tsao, P. H., Editors. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, U.S.A.

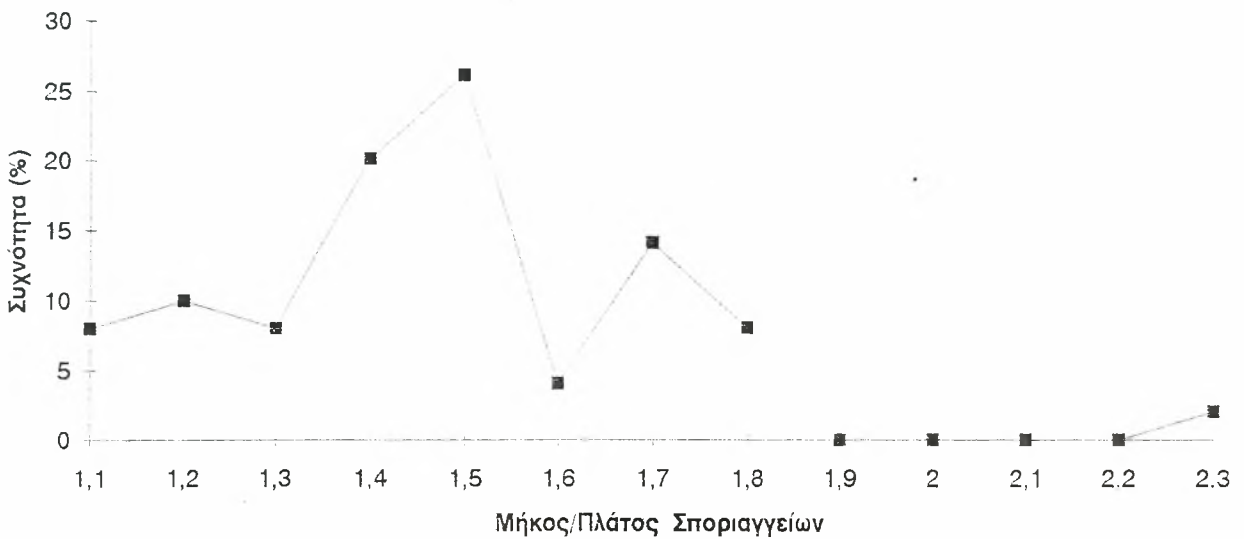
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

4.1 Πίνακες με τα αποτελέσματα των μετρήσεων-Γραφικές παραστάσεις.

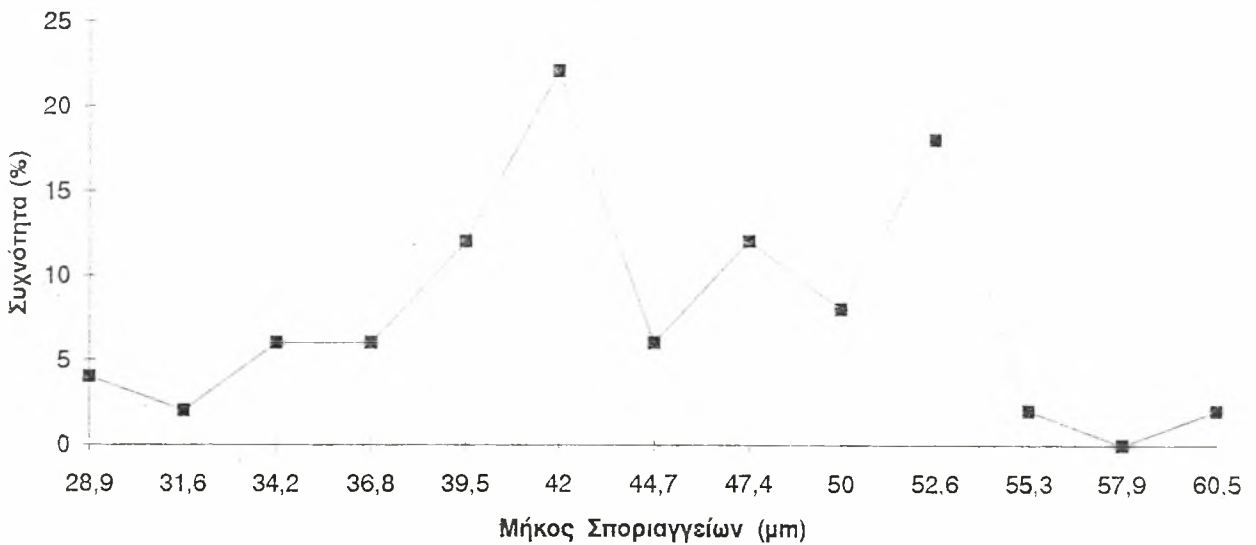
Πίνακας 4.1.1 Δεδομένα από τη μέτρηση των διαστάσεων των σποριαγγείων, για την απομόνωση Α1,(σε μm). 69

ΜΗΚΟΣ	ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚ./ΠΛΑΤ.	ΜΗΚ./ΠΛΑΤ.	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	ΜΗΚΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	ΠΛΑΤΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)
55,3	23,7	2,33	1,1	8	28,9	4	21	4
36,8	26,3	1,4	1,2	10	31,6	2	23,7	8
52,6	31,6	1,66	1,3	8	34,2	6	26,3	20
52,6	31,6	1,66	1,4	20	36,8	6	28,9	16
39,5	28,9	1,36	1,5	26	39,5	12	31,6	22
47,4	34,2	1,38	1,6	4	42	22	34,2	16
52,6	31,6	1,66	1,7	14	44,7	6	36,8	8
42	31,6	1,33	1,8	8	47,4	12	39,5	2
44,7	26,3	1,7	1,9	0	50	8	42,1	0
47,4	26,3	1,8	2	0	52,6	18	44,7	2
42	34,2	1,23	2,1	0	55,3	2	47,4	2
60,5	39,5	1,53	2,2	0	57,9	0		
42	28,9	1,45	2,3	2	60,5	2		
52,6	34,2	1,53						
47,4	31,6	1,5						
28,9	26,3	1,1						
39,5	31,6	1,25						
39,5	31,6	1,25						
52,6	36,8	1,42						
42	23,7	1,77						
50	36,8	1,35						
39,5	34,2	1,15						
42	28,9	1,45						
34,2	23,7	1,44						
36,8	31,6	1,16						
50	34,2	1,46						
31,6	21,1	1,5						
52,6	47,4	1,11						
47,4	34,2	1,38						
44,7	28,9	1,54						
28,9	26,3	1,1						
39,5	23,7	1,66						
42	31,6	1,33						
42	26,3	1,6						
52,6	28,9	1,81						
47,4	26,3	1,8						
39,5	26,3	1,5						
34,2	21,1	1,62						
42	34,2	1,23						
47,4	31,6	1,5						
44,7	28,9	1,54						
52,6	36,8	1,42						
52,6	31,6	1,66						
36,8	26,3	1,4						
42	28,9	1,45						
42	34,2	1,23						
50	36,8	1,35						
42	28,9	1,45						
50	44,7	1,11						
42	28,9	1,45						

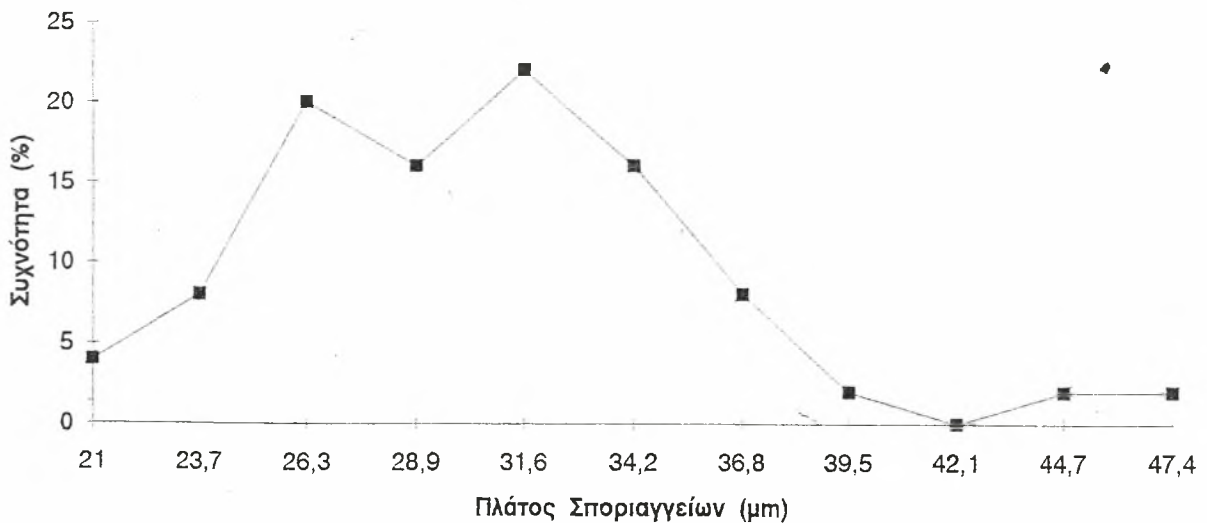
Σχήμα 4.1.1.1 Μήκος/Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση A1.



Σχήμα 4.1.1.2 Μήκος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση A1.



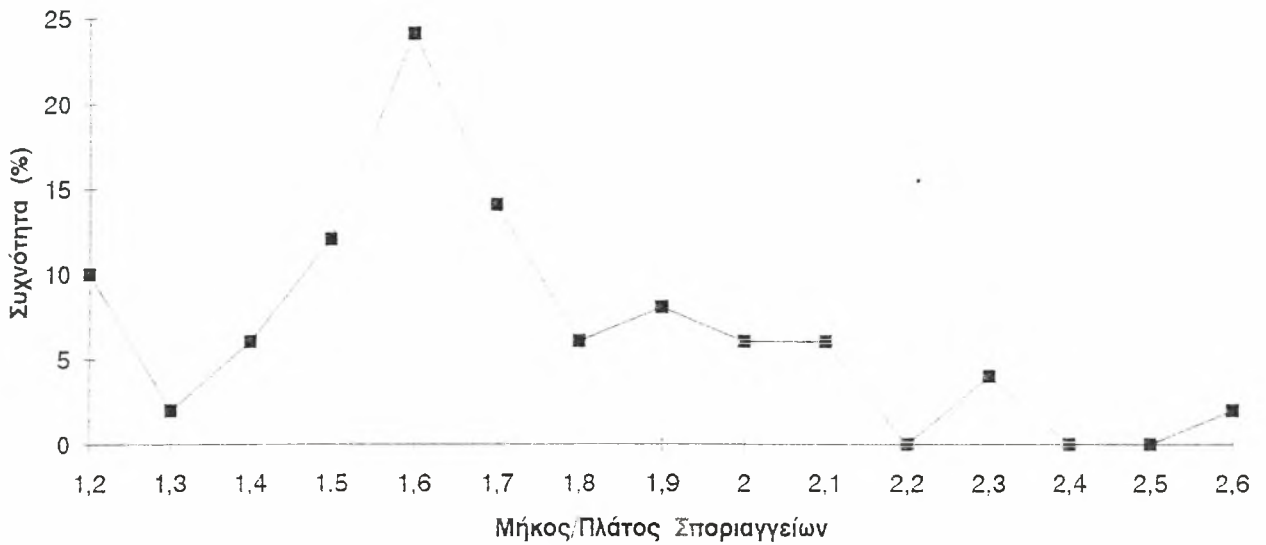
Σχήμα 4.1.1.3 Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση A1.



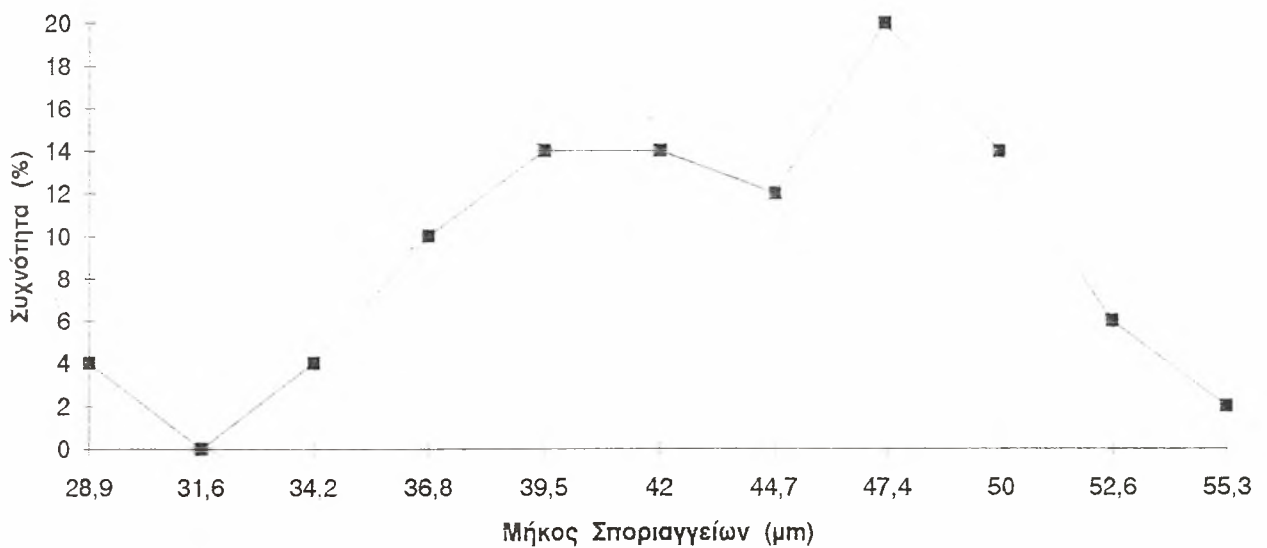
Πίνακας 4.1.2 Δεδομένα από τη μέτρηση των διαστάσεων των σποριαγγείων, για την απομόνωση Α3, (σε μm). 71

ΜΗΚΟΣ	ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚ./ΠΛΑΤ.	ΜΗΚ./ΠΛΑΤ.	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	ΜΗΚΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	ΠΛΑΤΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)
42	34,2	1,23	1,2	10	28,9	4	18,4	4
44,7	26,3	1,7	1,3	2	31,6	0	21	14
55,3	34,2	1,61	1,4	6	34,2	4	23,7	18
42	34,2	1,23	1,5	12	36,8	10	26,3	32
36,8	23,7	1,55	1,6	24	39,5	14	28,9	12
42	26,3	1,6	1,7	14	42	14	31,6	8
44,7	31,6	1,41	1,8	6	44,7	12	34,2	10
52,6	39,5	1,33	1,9	8	47,4	20	34,8	2
34,2	28,9	1,18	2	6	50	14	39,5	1
39,5	26,3	1,5	2,1	6	52,6	6		
50	26,3	1,9	2,2	0	55,3	2		
44,7	26,3	1,7	2,3	4				
50	23,7	2,11	2,4	0				
42	28,9	1,45	2,5	0				
42	26,3	1,6	2,6	2				
36,8	23,7	1,55						
44,7	26,3	1,7						
44,7	26,3	1,7						
39,5	21	1,87						
52,6	28,9	1,81						
50	34,2	1,46						
39,5	21	1,87						
39,5	26,3	1,5						
39,5	23,7	1,66						
42	21	2						
50	23,7	2,11						
47,4	28,9	1,63						
47,4	31,6	1,5						
50	31,6	1,58						
36,8	26,3	1,4						
36,8	23,7	1,55						
36,8	31,6	1,16						
28,9	18,4	1,57						
47,4	28,9	1,63						
47,4	21	2,25						
50	23,7	2,11						
50	28,9	1,72						
42	26,3	1,6						
47,4	21	2,25						
34,2	21	1,62						
47,4	26,3	1,8						
47,4	23,7	2						
39,5	21	1,87						
44,7	26,3	1,7						
47,4	28,4	2,57						
39,5	26,3	1,5						
52,6	26,3	2						
28,9	23,7	1,22						
47,4	34,2	1,38						
47,4	26,3	1,8						

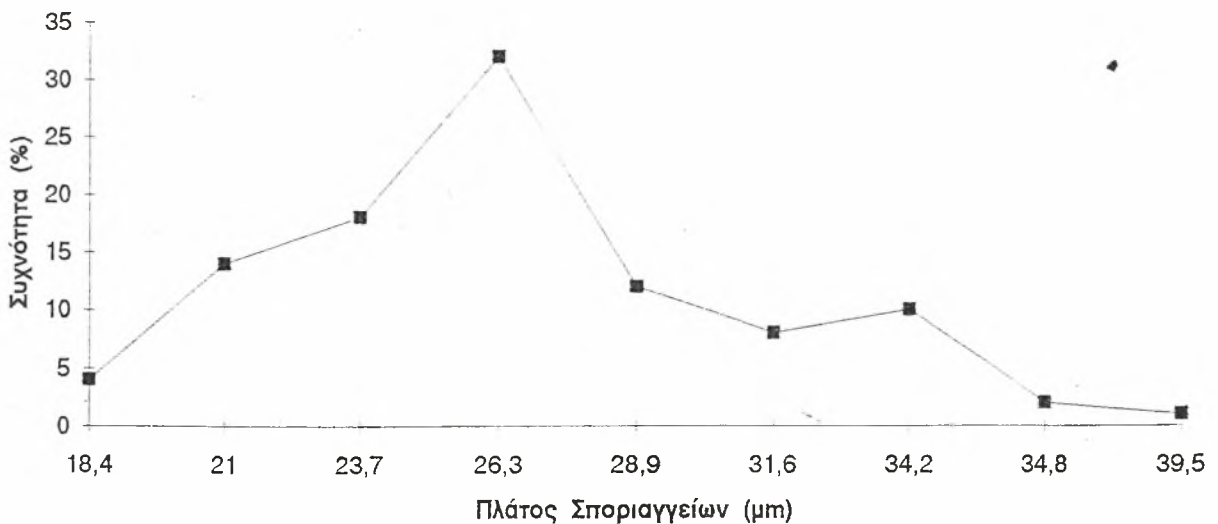
Σχήμα 4.1.2.1 Μήκος/Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση A3.



Σχήμα 4.1.2.2 Μήκος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση A3.



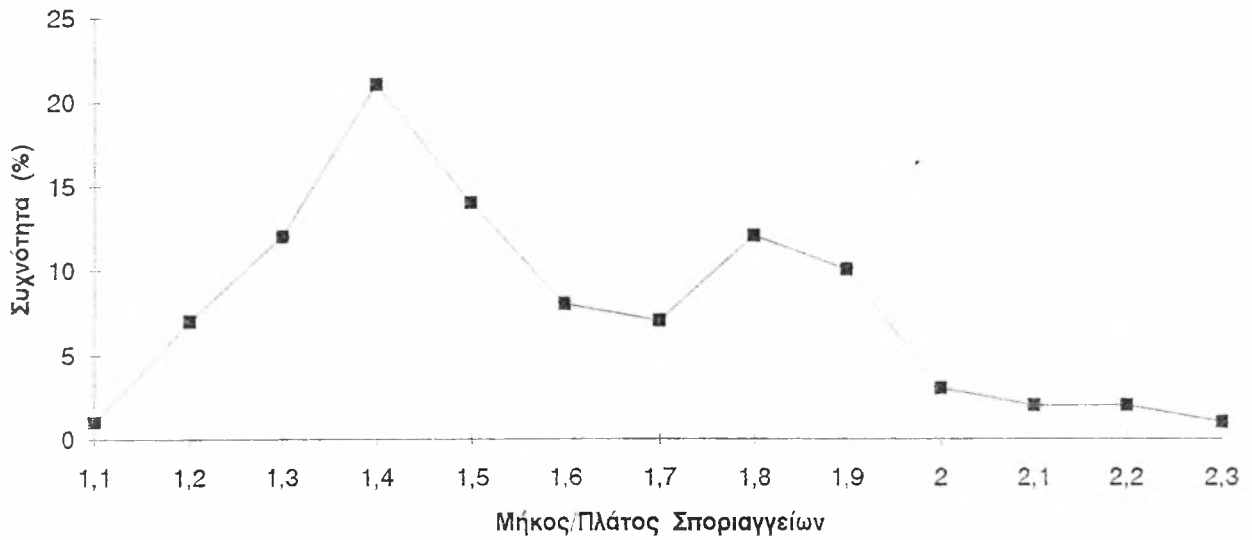
Σχήμα 4.1.2.3 Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση A3.



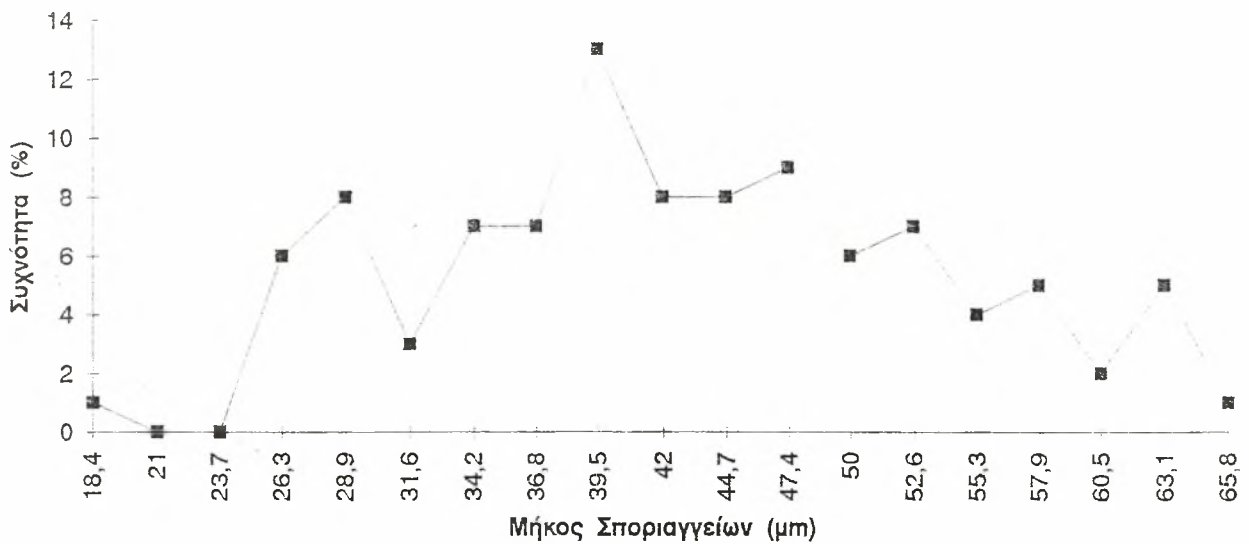
Πίνακας 4.1.3 Δεδομένα από τη μέτρηση των διαστάσεων των σποριαγγείων, για την απομόνωση D1,(σε μm). 73

ΜΗΚΟΣ	ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚΟΣ/ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚΟΣ	ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚΟΣ/ΠΛΑΤΟΣ
39,5	23,7	1,66	39,5	28,9	1,36
34,2	26,3	1,3	52,6	28,9	1,81
39,5	23,7	1,66	26,3	21	1,25
42	34,2	1,23	42	28,9	1,45
65,8	28,9	2,27	34,2	23,7	1,44
44,7	23,7	1,88	36,8	26,3	1,4
39,5	34,2	1,15	47,4	28,9	1,63
47,4	39,5	1,2	47,4	34,2	1,38
57,9	28,9	2	28,9	21	1,37
36,8	26,3	1,4	39,5	26,3	1,5
42	26,3	1,6	42	28,9	1,45
36,8	26,3	1,4	36,8	26,3	1,4
26,3	21	1,25	57,9	36,8	1,57
31,6	23,7	1,33	63,1	36,8	1,71
26,3	23,7	1,11	57,9	31,6	1,83
42	23,7	1,77	39,5	26,3	1,5
34,2	23,7	1,44	63,1	44,7	1,41
44,7	28,9	1,54	39,5	28,9	1,36
47,4	31,6	1,5	28,9	21	1,37
31,6	21	1,5	60,5	34,2	1,76
28,9	18,4	1,57	36,8	26,3	1,4
52,6	31,6	1,66	44,7	23,7	1,88
60,5	34,2	1,76	42	26,3	1,6
50	26,3	1,9	55,3	42	1,31
36,8	21	1,75	44,7	34,2	1,3
52,6	28,9	1,81	39,5	26,3	1,5
44,7	23,7	1,88	42	26,3	1,6
34,2	21	1,62	44,7	23,7	1,88
18,4	13,2	1,4	47,4	34,2	1,38
57,9	26,3	2,2	63,1	42	1,5
50	39,5	1,26	39,5	28,9	1,36
47,4	31,6	1,5	55,3	28,9	1,9
28,9	23,7	1,22	26,3	21	1,25
42	31,6	1,33	28,9	21	1,37
28,9	21	1,37	52,6	26,3	2
52,6	34,2	1,53	26,3	18,4	1,42
57,9	26,3	2,2	34,2	28,9	1,18
55,3	31,6	1,75	34,2	23,7	1,44
52,6	31,6	1,66	63,1	31,6	2
50	23,7	2,11	63,1	34,2	1,84
47,4	39,5	1,2	50	26,3	1,9
52,6	28,9	1,81	28,9	28,4	1,57
55,3	26,3	2,1	36,8	26,3	1,4
36,8	31,6	1,16	26,3	21	1,25
39,5	26,3	1,5	34,2	26,3	1,3
50	26,3	1,9	50	28,9	1,72
39,5	21	1,87	31,6	21	1,5
28,9	21	1,37	47,4	26,3	1,8
39,5	21	1,87	47,4	26,3	1,8
44,7	26,3	1,7	39,5	31,6	1,25

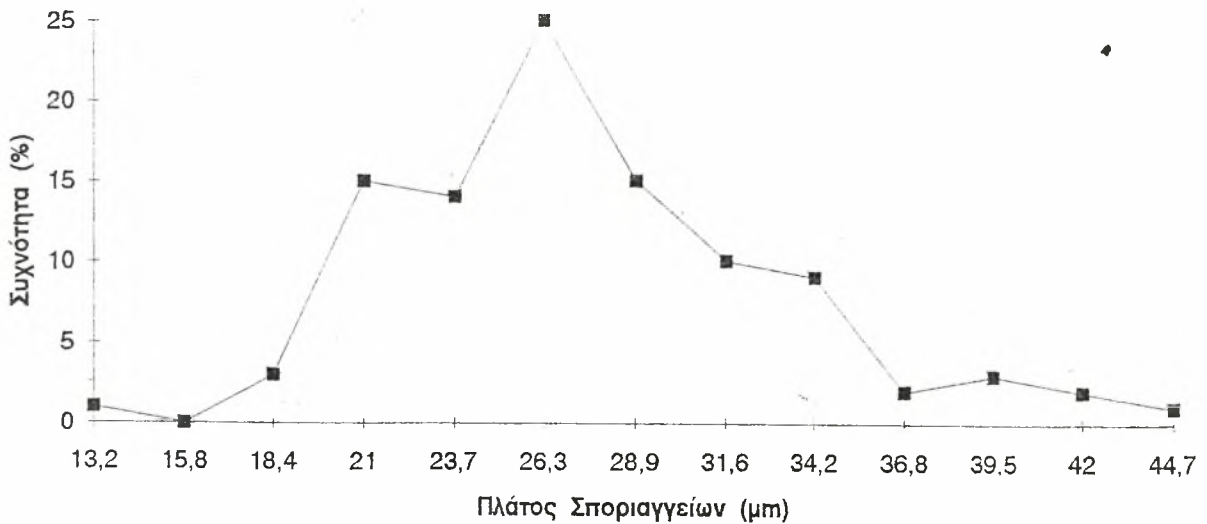
Σχήμα 4.1.3.1 Μήκος/Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D1.



Σχήμα 4.1.3.2 Μήκος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D1.



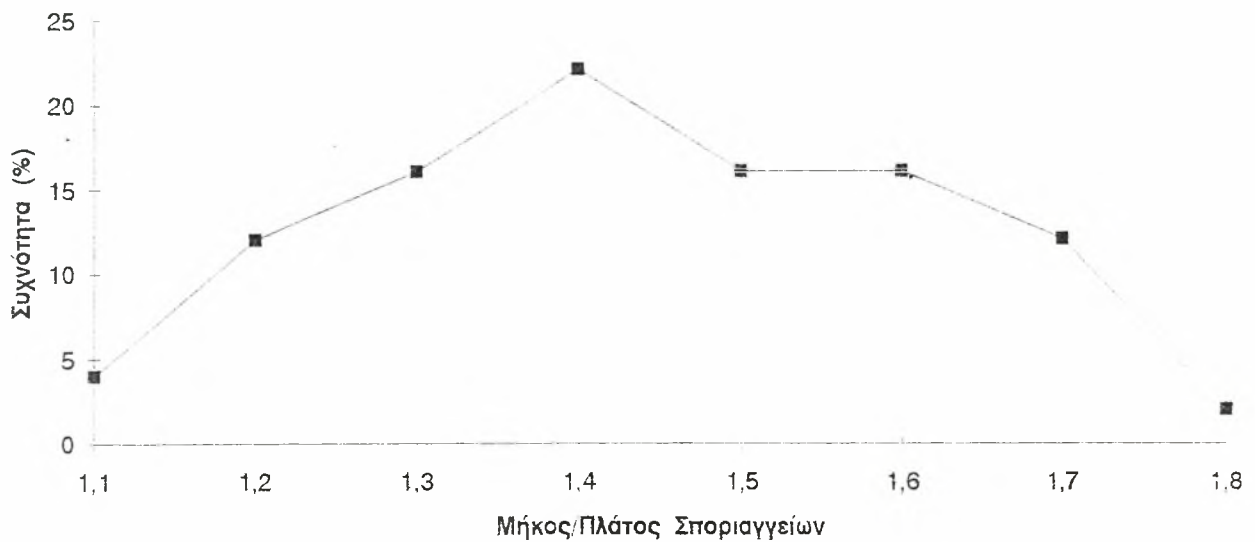
Σχήμα 4.1.3.3 Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D1.



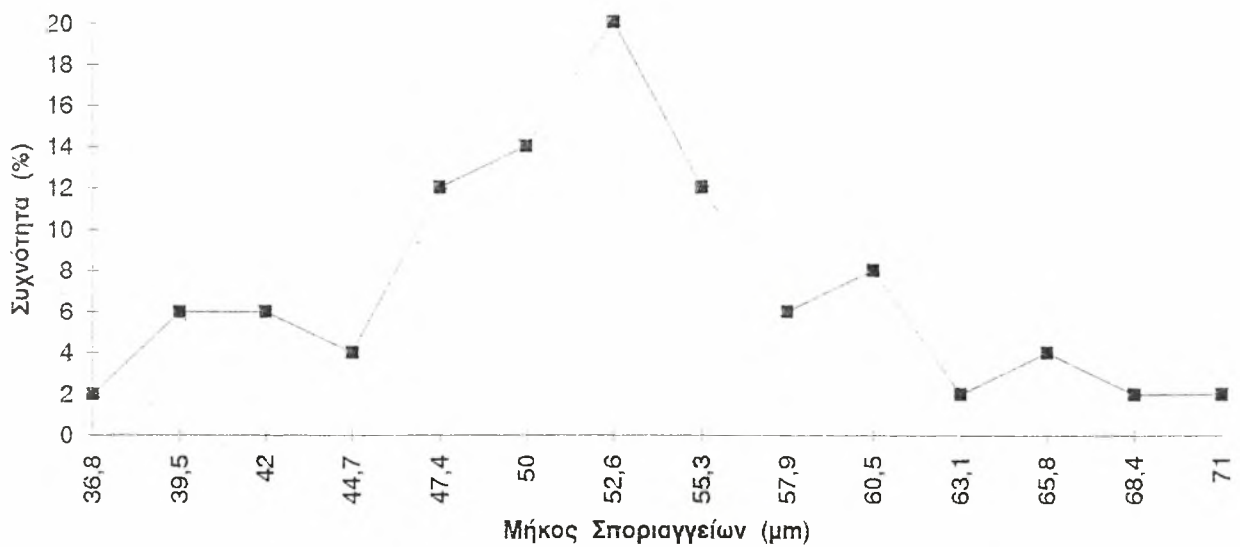
Πίνακας 4.1.4 Δεδομένα από τη μέτρηση των διαστάσεων των σποριαγγείων, για την αλομόνωση D3,(σε μm). 76

ΜΗΚΟΣ	ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚ./ΠΛΑΤ.	ΜΗΚ./ΠΛΑΤ.	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	ΜΗΚΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	ΠΛΑΤΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)
42	26,3	1,6	1,1	4	36,8	2	23,7	4
39,5	31,6	1,25	1,2	12	39,5	6	26,3	4
47,4	39,5	1,2	1,3	16	42	6	28,9	2
55,3	36,8	1,5	1,4	22	44,7	4	31,6	18
52,6	31,6	1,66	1,5	16	47,4	12	34,2	14
55,3	34,2	1,61	1,6	16	50	14	36,8	14
65,8	42,1	1,56	1,7	12	52,6	20	39,5	22
55,3	36,8	1,5	1,8	2	55,3	12	42,1	10
52,6	31,6	1,66			57,9	6	44,7	6
52,6	31,6	1,66			60,5	8	47,4	4
55,3	36,8	1,5			63,1	2	50	0
50	39,5	1,26			65,8	4	52,6	2
36,8	23,7	1,55			68,4	2		
52,6	39,5	1,33			71	2		
60,5	39,5	1,53						
60,5	42,1	1,43						
65,8	47,4	1,38						
52,6	36,8	1,42						
71	44,7	1,58						
57,9	39,5	1,46						
42	34,2	1,23						
57,9	34,2	1,69						
47,4	34,2	1,38						
52,6	34,2	1,53						
52,6	34,2	1,53						
50	36,8	1,35						
60,5	39,5	1,53						
60,5	42,1	1,43						
42	34,2	1,23						
47,4	39,5	1,2						
57,9	42,1	1,37						
44,7	31,6	1,41						
50	42,1	1,18						
47,4	36,8	1,28						
47,4	26,3	1,8						
55,3	39,5	1,4						
47,4	28,9	1,63						
52,6	36,8	1,42						
55,3	39,5	1,4						
63,1	47,4	1,33						
68,4	52,6	1,3						
50	44,7	1,11						
50	31,6	1,58						
39,5	23,7	1,66						
52,6	44,7	1,17						
50	39,5	1,26						
44,7	39,5	1,13						
50	31,6	1,58						
52,6	31,6	1,66						

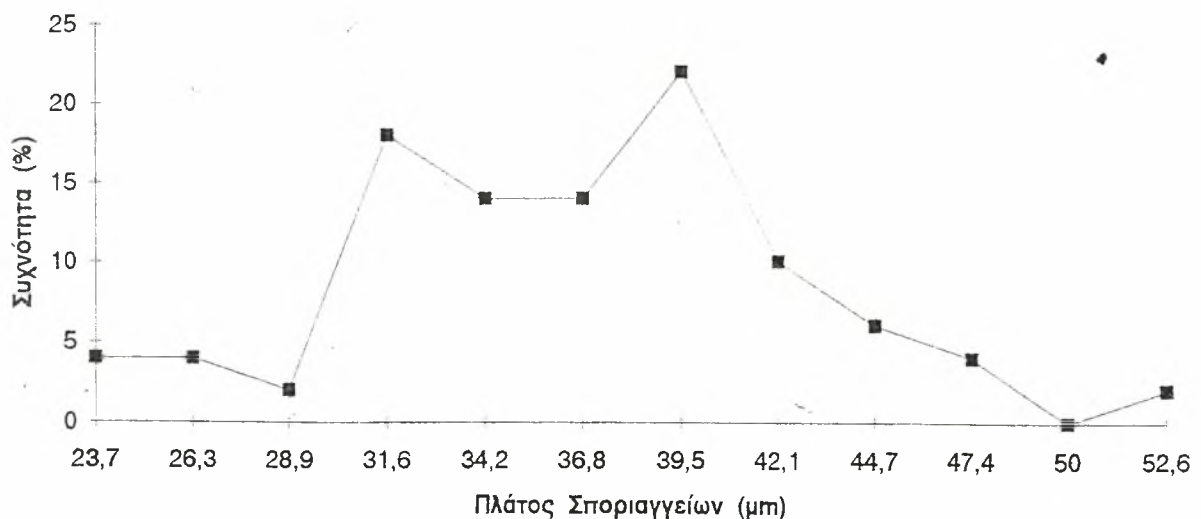
Σχήμα 4.1.4.1 Μήκος/Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D3.



Σχήμα 4.1.4.2 Μήκος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D3.



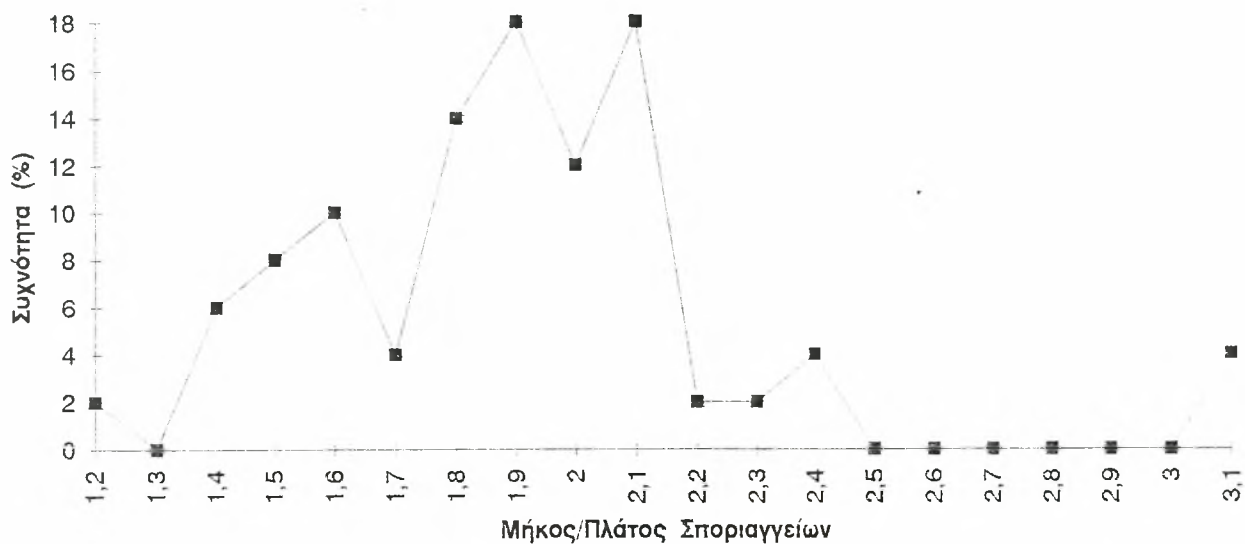
Σχήμα 4.1.4.3 Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D3.



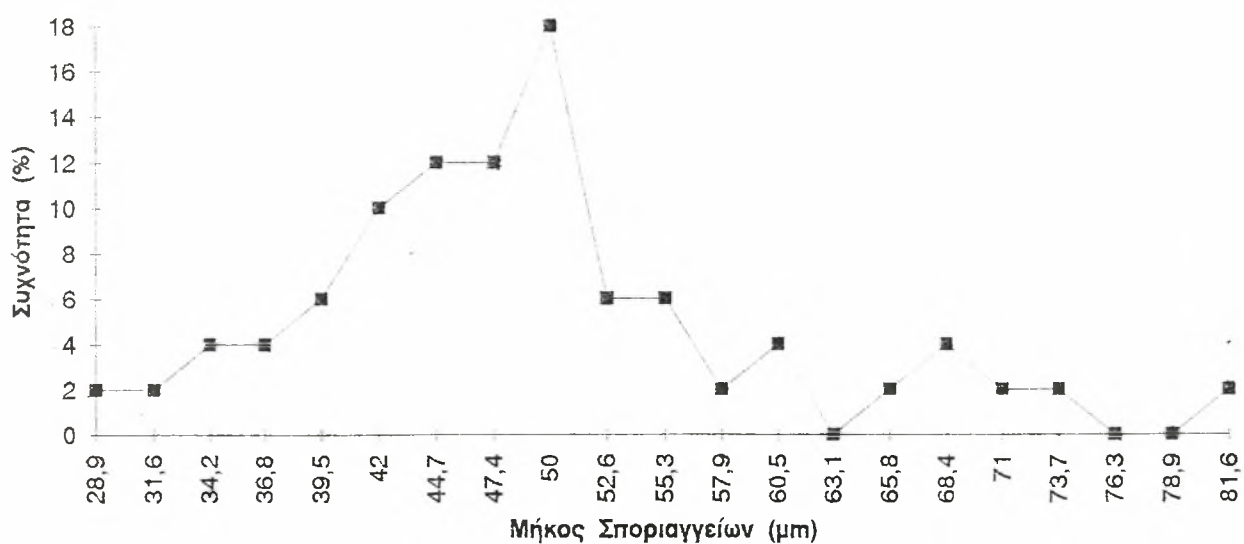
Πίνακας 4.1.5 Δεδομένα από τη μέτρηση των διαστάσεων των σποριαγγείων, για την απομόνωση D4,(σε μm). 78

ΜΗΚΟΣ	ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚ./ΠΛΑΤ.	ΜΗΚ./ΠΛΑΤ.	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	ΜΗΚΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	ΠΛΑΤΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)
50	23,7	2,11	1,2	2	28,9	2	18,4	2
73,7	23,7	3,11	1,3	0	31,6	2	21	16
44,7	21	2,12	1,4	6	34,2	4	23,7	28
36,8	21	1,75	1,5	8	36,8	4	26,3	26
44,7	21	2,12	1,6	10	39,5	6	28,9	12
81,6	26,3	3,1	1,7	4	42	10	31,6	8
50	23,7	2,11	1,8	14	44,7	12	34,2	4
39,5	21	1,87	1,9	18	47,4	12	36,8	2
50	28,9	1,72	2	12	50	18	39,5	2
42	21	2	2,1	18	52,6	6		
44,7	23,7	1,88	2,2	2	55,3	6		
47,4	26,3	1,8	2,3	2	57,9	2		
42	26,3	1,6	2,4	4	60,5	4		
34,2	23,7	1,44	2,5	0	63,1	0		
39,5	26,3	1,5	2,6	0	65,8	2		
34,2	23,7	1,44	2,7	0	68,4	4		
28,9	23,7	1,22	2,8	0	71	2		
44,7	23,7	1,88	2,9	0	73,7	2		
50	26,3	1,9	3	0	76,3	0		
47,4	26,3	1,8	3,1	4	78,9	0		
57,9	28,9	2			81,6	2		
42	26,3	1,6						
50	31,6	1,58						
44,7	28,9	1,54						
39,5	21	1,87						
47,4	26,3	1,8						
60,5	36,8	1,64						
31,6	21	1,5						
52,6	23,7	2,22						
42	28,9	1,45						
55,3	26,3	2,1						
52,6	31,6	1,66						
47,4	23,7	2						
47,4	26,3	1,8						
50	23,7	2,11						
55,3	39,5	1,4						
44,7	23,7	1,88						
50	26,3	1,9						
50	23,7	2,11						
52,6	26,3	2						
42	23,7	1,77						
68,4	34,2	2						
55,3	31,6	1,75						
60,5	26,3	2,3						
65,8	31,6	2,08						
47,4	28,9	1,63						
50	21	2,37						
68,4	28,9	2,36						
71	34,2	2,07						
36,8	18,4	2						

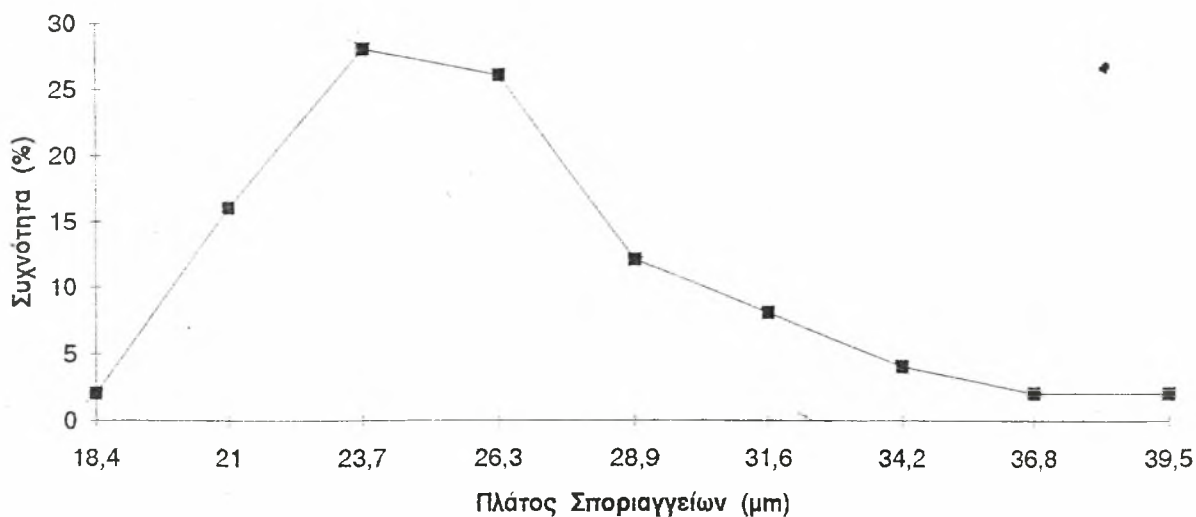
Σχήμα 4.1.5.1 Μήκος/Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D4.



Σχήμα 4.1.5.2 Μήκος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D4.



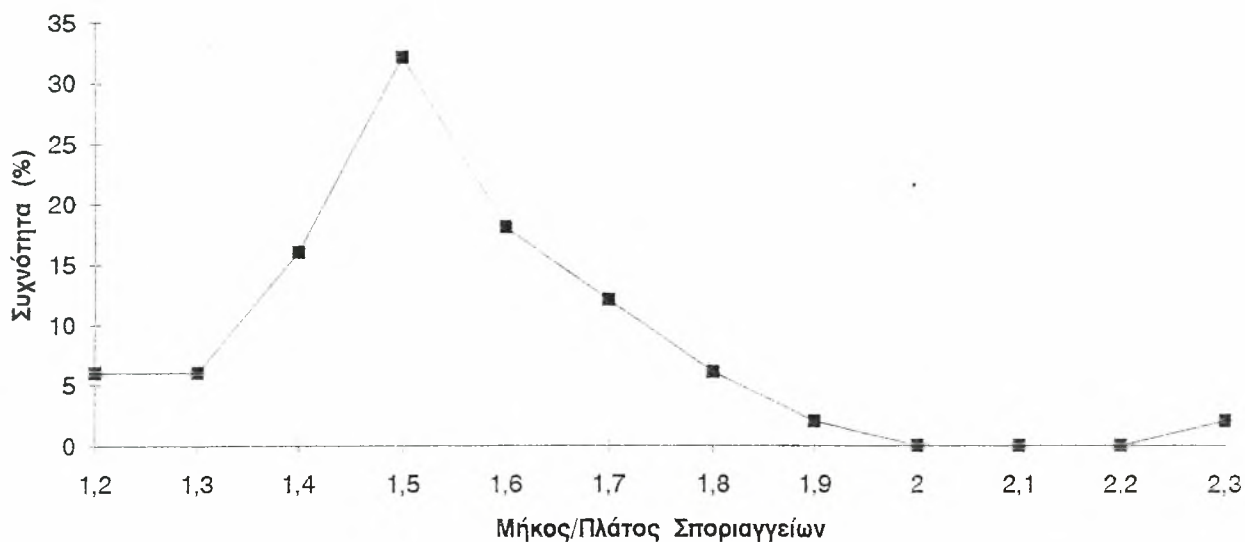
Σχήμα 4.1.5.3 Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D4.



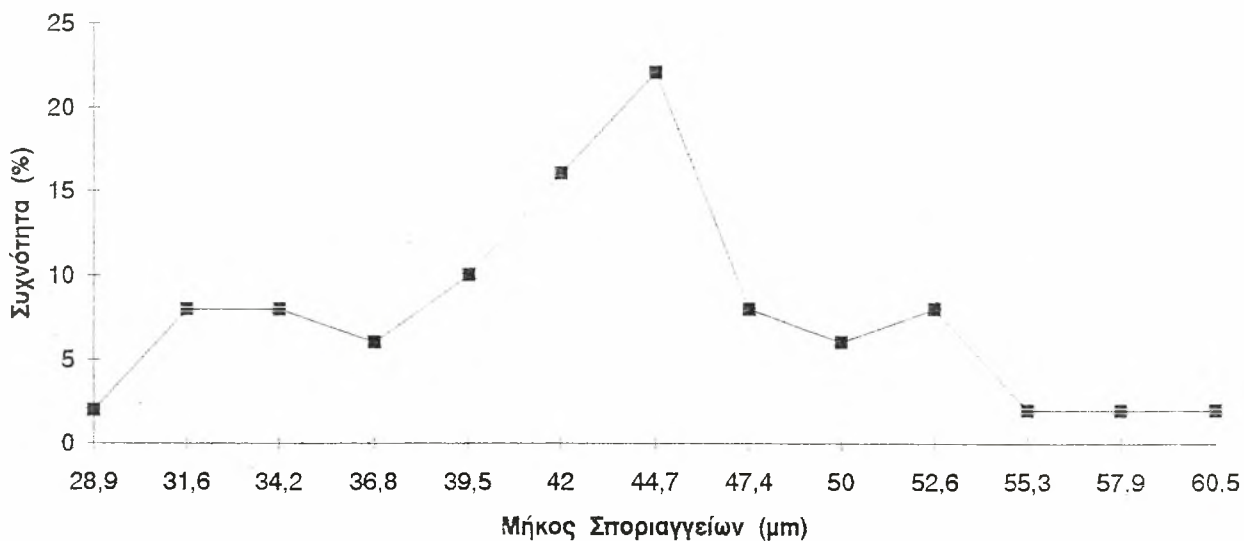
Πίνακας 4.1.6 Δεδομένα από τη μέτρηση των διαστάσεων των σποριαγγείων, για την απομόνωση D5, (σε μm). 80

ΜΗΚΟΣ	ΠΛΑΤΟΣ	ΜΗΚ./ΠΛΑΤ.	ΜΗΚ./ΠΛΑΤ.	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	ΜΗΚΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	ΠΛΑΤΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)
44,7	28,9	1,54	1,2	6	28,9	2	18,4	2
42	26,3	1,6	1,3	6	31,6	8	21	6
52,6	34,2	1,53	1,4	16	34,2	8	23,7	8
52,6	34,2	1,53	1,5	32	36,8	6	26,3	32
47,4	28,9	1,63	1,6	18	39,5	10	28,9	26
60,5	26,3	2,3	1,7	12	42	16	31,6	18
42	26,3	1,6	1,8	6	44,7	22	34,2	6
42	28,9	1,45	1,9	2	47,4	8	36,8	2
52,6	31,6	1,66	2	0	50	6		
36,8	26,3	1,4	2,1	0	52,6	8		
39,5	26,3	1,5	2,2	0	55,3	2		
42	26,3	1,6	2,3	2	57,9	2		
44,7	28,9	1,54			60,5	2		
36,8	23,7	1,55						
31,6	21	1,5						
31,6	26,3	1,2						
39,5	26,3	1,5						
31,6	18,4	1,71						
36,8	23,7	1,55						
39,5	28,9	1,36						
44,7	26,3	1,7						
34,2	21	1,62						
39,5	26,3	1,5						
28,9	23,7	1,22						
39,5	26,3	1,5						
52,6	31,6	1,66						
42	28,9	1,45						
44,7	28,9	1,54						
44,7	28,9	1,54						
42	26,3	1,6						
47,4	26,3	1,8						
34,2	26,3	1,3						
55,3	31,6	1,75						
50	36,8	1,35						
42	31,6	1,33						
34,2	28,9	1,18						
31,6	21	1,5						
34,2	23,7	1,44						
42	31,6	1,33						
44,7	28,9	1,54						
44,7	31,6	1,41						
50	28,9	1,72						
44,7	31,6	1,41						
47,4	28,9	1,63						
44,7	31,6	1,41						
50	26,3	1,9						
57,9	34,2	1,69						
47,4	26,3	1,8						
44,7	28,9	1,54						
44,7	31,6	1,41						

Σχήμα 4.1.6.1 Μήκος/Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D5.



Σχήμα 4.1.6.2 Μήκος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D5.



Σχήμα 4.1.6.3 Πλάτος σποριαγγείων σε σχέση με την % συχνότητα, για την απομόνωση D5.

