



Ελληνική Δημοκρατία  
Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό  
Ίδρυμα Ηπείρου

# Γενική Φυτοπαθολογία Εργαστήριο

Ενότητα 3: Μέθοδοι εμβολιασμού-  
ασηπτικές συνθήκες

Δρ Δήμητρα Ζωάκη-Μαλισιόβα  
Καθηγήτρια Εντομολογίας



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ  
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



Τμήμα: Τεχνολόγων Γεωπόνων

**Τίτλος Μαθήματος: Γενική Φυτοπαθολογία Εργαστήριο**

**Ενότητα 3: Μέθοδοι εμβολιασμού-ασηπτικές συνθήκες**

Όνομα Καθηγητή: Δρ Δήμητρα Ζωάκη-Μαλισιόβα

Βαθμίδα Καθηγητή: Καθηγήτρια

Άρτα, 2015



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



# Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



# Χρηματοδότηση

- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «**Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση**» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο ΤΕΙ Ηπείρου**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ  
*επένδυση στην κοινωνία της γνώσης*  
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ  
πρόγραμμα για την ανάπτυξη



# Μέθοδοι εμβολιασμού-Ασηπτικές συνθήκες

# Σκοποί ενότητας

- Περιγραφή των βασικών μεθόδων εμβολιασμού.
- Συνθήκες επώασης μικροβιακών καλλιεργειών.

# Περιεχόμενα ενότητας

- Μέθοδοι εμβολιασμού.
- Επώαση μικροβιακών καλλιεργειών.

# Μέθοδοι εμβολιασμού



# Καλλιέργεια μικροοργανισμών

- Τα χαρακτηριστικά των μικροοργανισμών που εξετάζονται κατά τη μελέτη και ταυτοποίησή τους, προσδιορίζονται με βάση τη συμπεριφορά ενός πληθυσμού ή αλλιώς μιας μικροβιακής καλλιέργειας και όχι ενός μεμονωμένου μικροβιακού κυττάρου
- **Καλλιέργεια** των μικροοργανισμών (μ/ο) είναι η ανάπτυξη και πολλαπλασιασμός των μεμονωμένων μικροβιακών κυττάρων σε μικροβιακούς πληθυσμούς

# Καθαρή καλλιέργεια μ/ο

- Στα φυσικά οικοσυστήματα, οι μ/ο απαντώνται ως μικτοί πληθυσμοί; Ωστόσο, για τον χαρακτηρισμό, την ταυτοποίηση και γενικά τη μελέτη μ/ο στο εργαστήριο (*in vitro*) πρέπει αυτοί να απομονωθούν σε «καθαρή καλλιέργεια»
- **Καθαρή μικροβιακή καλλιέργεια** (ή καθαρή καλλιέργεια) καλείται η καλλιέργεια που προκύπτει από τον πολλαπλασιασμό ενός και μόνο μ/ο και άρα αποτελείται από κύτταρα (απόγονοι) ενός και μόνο μικροβιακού στελέχους

# Ασηπτικές συνθήκες

- Η εξασφάλιση δημιουργίας και διατήρησης καθαρής καλλιέργειας λαμβάνει χώρα, όταν οι χειρισμοί πραγματοποιηθούν υπό **ασηπτικές συνθήκες**
- **Ασηπτικές συνθήκες**, δηλαδή υπό συνθήκες που εξασφαλίζουν την αποφυγή επιμολύνσεων της καλλιέργειας με μ/ο διαφορετικούς από αυτόν που μελετάται

# Ανακαλλιέργεια & Εμβολιασμός

- Η καλλιέργεια των μ/ο στο εργαστήριο συχνά περιλαμβάνει τη μεταφορά τους από μια υπάρχουσα «καθαρή καλλιέργεια» σε ένα φρέσκο θρεπτικό υλικό (**ανακαλλιέργεια**) ή την απομόνωσή τους από κάποια φυσικά οικοσυστήματά τους (π.χ. φυτό)
- Η διαδικασία εισαγωγής μ/ο σε ένα φρέσκο, αποστειρωμένο θρεπτικό υλικό καλείται **εμβολιασμός**, ενώ το σύνολο των κυττάρων ενός μ/ο που μεταφέρονται κατά τον εμβολιασμό στο νέο θρεπτικό υλικό καλείται **εμβόλιο**

# Ασηπτικές συνθήκες κατά τον εμβολιασμό μ/ο (1)

- Όλα τα υλικά και εργαλεία που χρησιμοποιούνται έχουν προηγουμένως αποστειρωθεί
- Όλοι οι χειρισμοί κατά τον εμβολιασμό λαμβάνουν χώρα στο θάλαμο νηματικής ροής, που εξασφαλίζει ασηπτικές συνθήκες αφενός με τις λάμπες υπεριώδους ακτινοβολίας **(και είναι κλειστές όταν εργαζόμαστε στο θάλαμο)**, αφετέρου με το μικροβιολογικό φίλτρο που κατακρατεί (μέσω διήθησης) τα μικροβιακά κύτταρα του αέρα που εισέρχεται στο θάλαμο

# Ασηπτικές συνθήκες κατά τον εμβολιασμό μ/ο (2)

- Η επιφάνεια εργασίας καθαρίζεται με ένα απολυμαντικό (συνήθως διάλυμα αιθανόλης 75% ή εμπορικά σκευάσματα, όπως το Dettol)
- Όλοι οι χειρισμοί κατά τον εμβολιασμό γίνονται δίπλα στη φλόγα του λύχνου Bunsen, η οποία δημιουργεί έναν στοιχειωδώς αποστειρωμένο χώρο λίγα εκατοστά τριγύρω από αυτήν και εξασφαλίζει γρήγορη αποστείρωση (λόγω της ξηρής θερμότητας που εκπέμπει) των αντικειμένων που έρχονται σε επαφή με αυτή

# Ασηπτικές συνθήκες κατά τον εμβολιασμό μ/ο (3)

- Το εργαλείο που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό (βακτηριολογικός κρίκος ή βελόνα) πριν από κάθε επαφή του με τους μ/ο αποστειρώνεται στη φλόγα Bunsen
- Η σωστή αποστείρωση του κρίκου γίνεται με την πυράκτωσή του καλά στη φλόγα και να λάβει ερυθρό χρώμα σε όλο το μήκος του σύρματός του; Με αυτό τον τρόπο θανατώνονται όλοι οι μ/ο που υπάρχουν στον κρίκο και είναι ασφαλής για να χρησιμοποιηθεί στον εμβολιασμό

# Ασηπτικές συνθήκες κατά τον εμβολιασμό μ/ο (4)

- Τα πώματα των φιαλών και των σωλήνων που περιέχουν το αποστειρωμένο θρεπτικό υλικό ή κάποια υγρή μικροβιακή καλλιέργεια, όταν αφαιρούνται δεν τοποθετούνται ποτέ πάνω στον πάγκο αλλά τα κρατάμε κοντά στη φλόγα (με προσοχή να μην αρπάξουν φωτιά εάν είναι από βαμβάκι), ώστε να τοποθετηθούν ξανά στον περιέκτη χωρίς να επιμολυνθεί το περιεχόμενο



# Ασηπτικές συνθήκες κατά τον εμβολιασμό μ/ο (5)

- Το στόμιο της φιάλης ή του δοκιμαστικού σωλήνα, κάθε φορά που αφαιρείται ή επανατοποθετείται το πώμα, θερμαίνεται στη φλόγα ώστε να αποφεύγεται η είσοδος μ/ο στο υλικό
- Το γυάλινο ραβδί που χρησιμοποιείται για την εξάπλωση υγρού εμβολίου σε στερεό θρεπτικό υλικό σε τρυβλίο, εμβαπτίζεται σε οινόπνευμα πριν από κάθε χρήση του και στη συνέχεια καίγεται στη φλόγα Bunsen

# Μέθοδοι εμβολιασμού

- **Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού σε τρυβλίο**
  - *Μέθοδος παράλληλων γραμμών* (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)
  - *Μέθοδος επίστρωσης μ/ο με γυάλινη ράβδο* (εμβόλιο από υγρή καλλιέργεια)
  - *Μέθοδος ενσωμάτωσης του εμβολίου στο θρεπτικό υπόστρωμα* (εμβόλιο από υγρή καλλιέργεια)
  - *Μέθοδος εναπόθεσης του εμβολίου στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού* (εμβόλιο από στερεή καλλιέργεια)
- **Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού σε δοκιμαστικό σωλήνα** (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)
- **Εμβολιασμός υγρού θρεπτικού υλικού** (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)

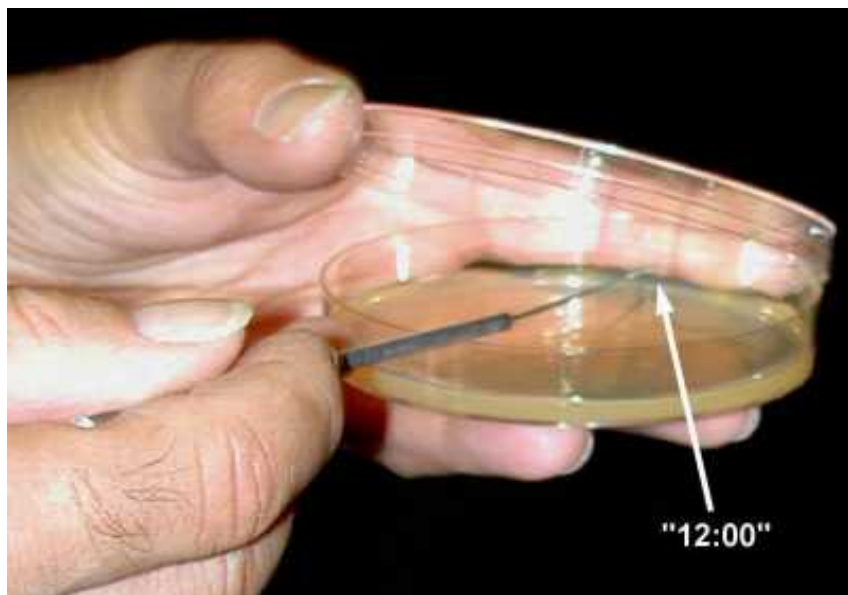
# Μέθοδος παράλληλων γραμμών (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)

- Χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό βακτηρίων και ζυμών και είναι ιδιαίτερα χρήσιμη μέθοδος εμβολιασμού, αφού οδηγεί στη δημιουργία μεμονωμένων αποικιών ενός μ/ο πάνω σε ένα στερεό θρεπτικό υλικό
- Κάθε αποικία αποτελεί μία καθαρή καλλιέργεια του μ/ο, άρα με αυτόν τον εμβολιασμό παρέχεται η δυνατότητα μέσα από ένα μεικτό μικροβιακό πληθυσμό να απομονωθεί ένας μ/ο σε καθαρή καλλιέργεια

# Μέθοδος παράλληλων γραμμών (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)

- Ο εμβολιασμός αυτός γίνεται με το βακτηριολογικό κρίκο διαγράφοντας παράλληλες γραμμές προς διάφορες κατευθύνσεις πάνω στην επιφάνεια του υλικού προσέχοντας να μη χαραχθεί το υλικό
- Με τον τρόπο αυτό, το εμβόλιο αραιώνεται προοδευτικά και τελικά μεμονωμένα κύτταρα εναποτίθενται πάνω στην επιφάνεια του υλικού και καθένα από αυτά τα κύτταρα, μετά από επώαση, δημιουργεί μία αποικία

# Μέθοδος παράλληλων γραμμών (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)

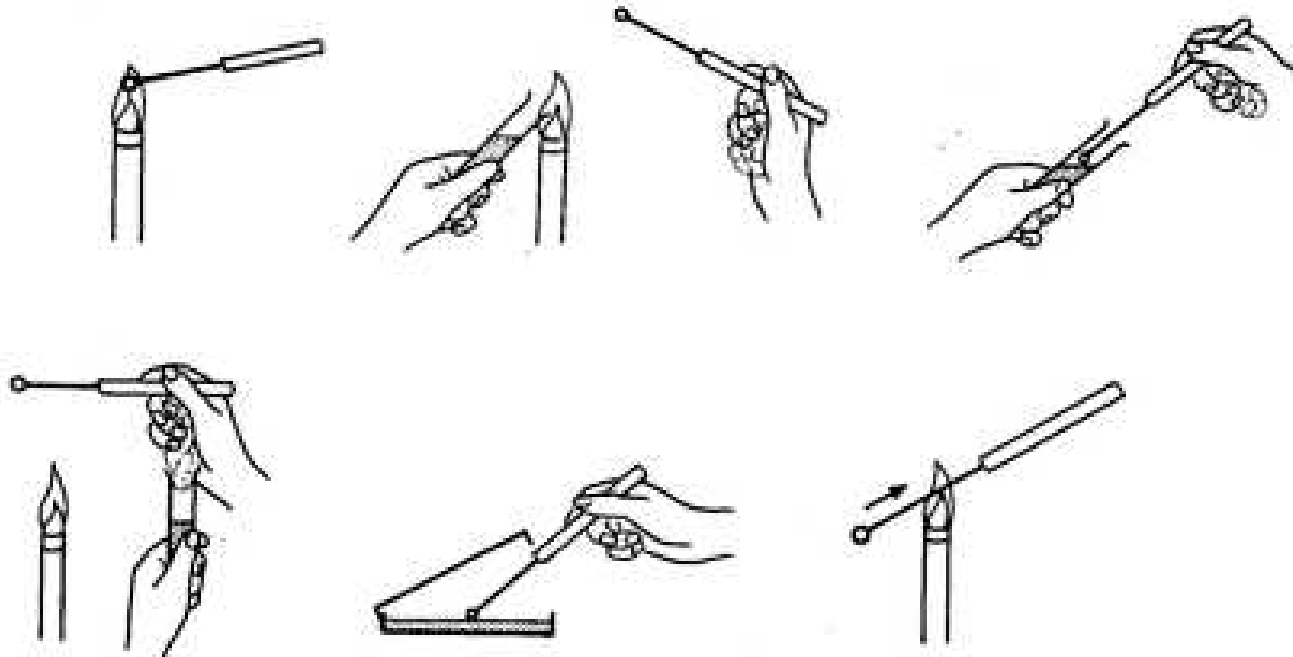


Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού σε τρυβλίο με τη βοήθεια βακτηριολογικού κρίκου



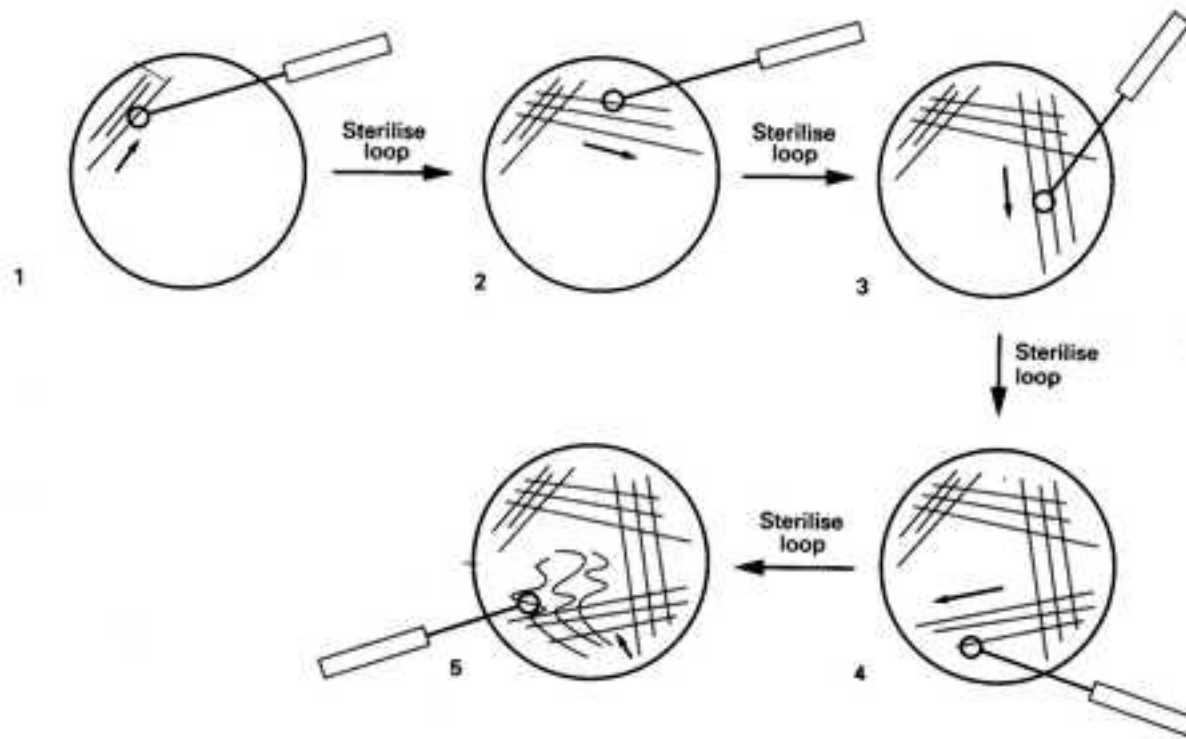
Μεμονωμένες αποικίες βακτηρίου πάνω σε στερεό θρεπτικό υλικό μετά από εμβολιασμό με τη μέθοδο των παράλληλων γραμμών και επώαση

# Μέθοδος παράλληλων γραμμών (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)



Διαδικασία ασηπτικής παραλαβής εμβολίου από μια υγρή ή στερεή μικροβιακή καλλιέργεια με τη βοήθεια ενός βακτηριολογικού κρίκου και της μεταφοράς του στην επιφάνεια ενός στερεού θρεπτικού υλικού

# Μέθοδος παράλληλων γραμμών (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)



Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού σε τρυβλίο με τη μέθοδο των παράλληλων γραμμών (streaking)

# Μέθοδος επίστρωσης μ/ο με γυάλινη ράβδο (εμβόλιο από υγρή καλλιέργεια)

- Εφαρμόζεται για τον εμβολιασμό βακτηρίων και ζυμών
- Επίστρωση ποσότητας εναιωρήματος μικροβιακών κυττάρων (εμβόλιο) πάνω στην επιφάνεια στερεού θρεπτικού υλικού σε τρυβλίο, με τη βοήθεια γυάλινης ράβδου
- Μικρή ποσότητα από υγρή καλλιέργεια του μ/ο (συνήθως 0,1-1,0 mL) μεταφέρεται ασηπτικά με τη βοήθεια αποστειρωμένου σιφωνίου ή πιπέτας Pasteur και τοποθετείται στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού

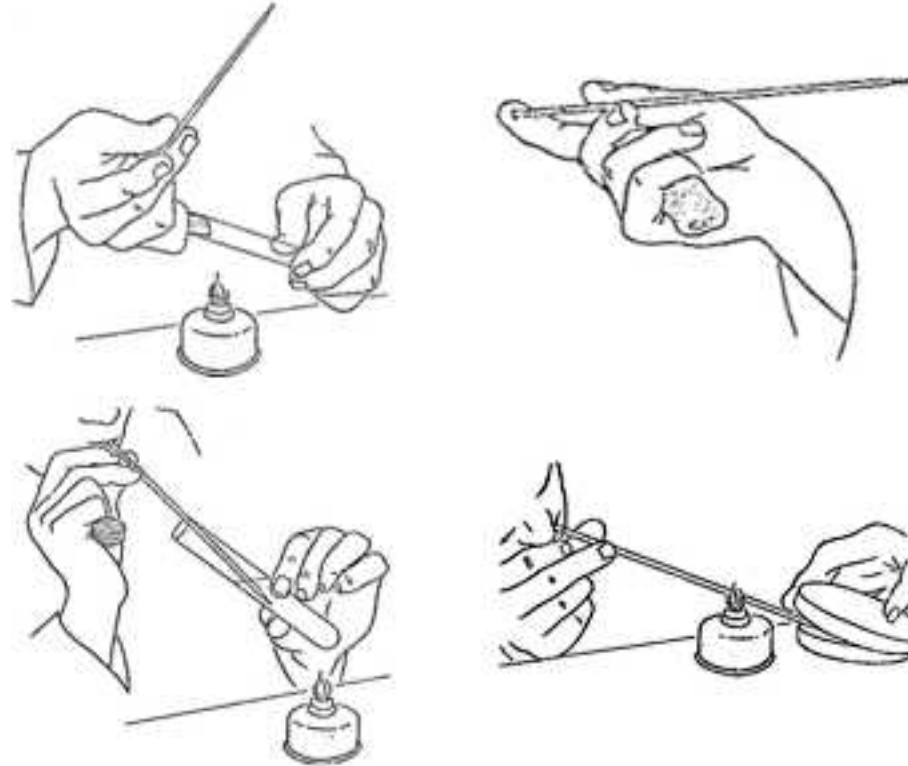




# Μέθοδος επίστρωσης μ/ο με γυάλινη ράβδο (εμβόλιο από υγρή καλλιέργεια)

- Ακολουθεί επίστρωση με τη βοήθεια γυάλινης ράβδου, η οποία έχει προηγουμένως εμβαπτιστεί σε αιθανόλη και πυρακτωθεί στη φλόγα του λύχνου Bunsen
- Ακολουθεί επώαση
- Με κατάλληλη αραίωση του αρχικού εμβολίου είναι δυνατό να αναπτυχθούν μεμονωμένες αποικίες του μ/ο στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού

# Μέθοδος επίστρωσης μ/ο με γυάλινη ράβδο (εμβόλιο από υγρή καλλιέργεια)



Ασηπτική μεταφοράς εμβολίου στην επιφάνεια στερεού  
θρεπτικού υλικού με τη χρήση σιφωνίου

# Μέθοδος ενσωμάτωσης του εμβολίου στο θρεπτικό υπόστρωμα (εμβόλιο από υγρή καλλιέργεια)

- Κυρίως για τον εμβολιασμό βακτηρίων και ζυμών
- Απαιτείται τηγμένο θρεπτικό υλικό (θρεπτικό υλικό με άγαρ που δεν έχει ακόμα στερεοποιηθεί ή έχει θερμανθεί προκειμένου να επανέλθει πάλι στη ρευστή του κατάσταση) θερμοκρασίας 40-45°C, το οποίο είναι φυσικά αποστειρωμένο και βρίσκεται μέσα σε κωνική φιάλη

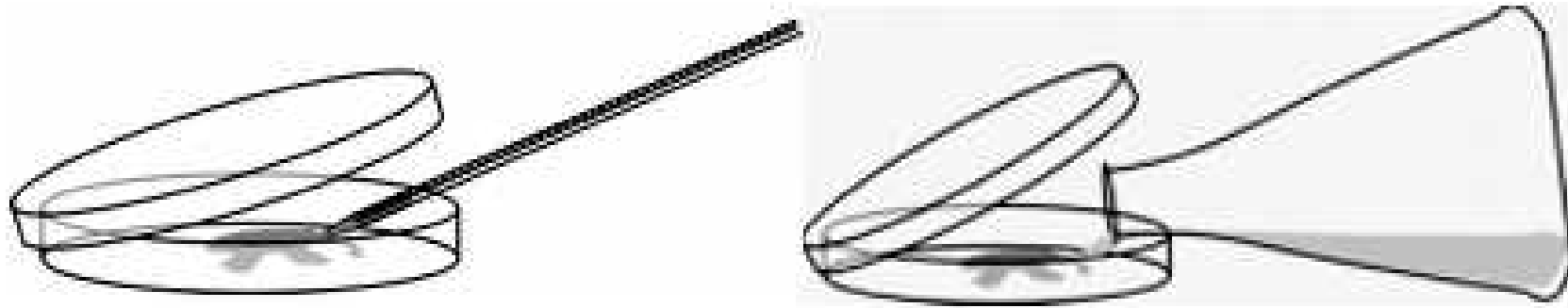
# Μέθοδος ενσωμάτωσης του εμβολίου στο θρεπτικό υπόστρωμα (εμβόλιο από υγρή καλλιέργεια)

- Ποσότητα εναιωρήματος κυττάρων μεταφέρεται ασηπτικά με τη βοήθεια αποστειρωμένου σιφωνίου μέσα στην κωνική φιάλη που περιέχει το τηγμένο υλικό
- Ακολουθεί καλή ανάμειξη
- Μεταφορά μείγματος ασηπτικά σε τρυβλία, όπου παραμένει μέχρι να στερεοποιηθεί
- Ακολουθεί επώαση

# Μέθοδος ενσωμάτωσης του εμβολίου στο θρεπτικό υπόστρωμα (εμβόλιο από υγρή καλλιέργεια)

- Εναλλακτικά, ποσότητα εναιωρήματος κυττάρων (συνήθως 0.1-1.0 mL) μεταφέρεται ασηπτικά με τη βοήθεια αποστειρωμένου σιφωνίου μέσα σε ένα άδειο αποστειρωμένο τρυβλίο
- Ποσότητα 12-15 mL τηγμένου θρεπτικού υλικού προστίθεται ασηπτικά στο τρυβλίο
- Ακολουθεί ελαφριά ανακίνηση προς όλες τις κατευθύνσεις, ώστε να γίνει καλή ανάμειξη του εμβολίου με το θρεπτικό υλικό
- Όταν το μίγμα στερεοποιηθεί, ακολουθεί επώαση

# Μέθοδος ενσωμάτωσης του εμβολίου στο θρεπτικό υπόστρωμα (εμβόλιο από υγρή καλλιέργεια)



Μεταφορά εμβολίου σε τρυβλίο και εν συνεχεία προσθήκη τηγμένου θρεπτικού υλικού

## Μέθοδος εναπόθεσης του εμβολίου στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού (εμβόλιο από στερεή καλλιέργεια)

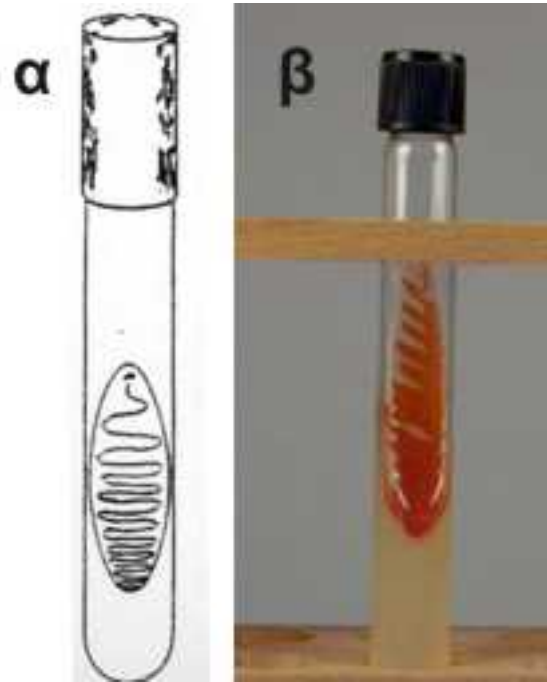
- Εμβολιασμός μυκήτων σε στερεό θρεπτικό υλικό σε τρυβλίο χρησιμοποιώντας ως εμβόλιο μυκήλιο από στερεή καλλιέργεια του μύκητα
- Με τη βακτηριολογική βελόνα, δεδομένη ποσότητα μυκηλίου του μύκητα μαζί με το τεμάχιο θρεπτικού υλικού που βρίσκεται ακριβώς κάτω από το μυκήλιο, μεταφέρεται ασηπτικά από στερεή καλλιέργεια του μύκητα και τοποθετείται στην επιφάνεια του υλικού στο κέντρο του τρυβλίου
- Ακολουθεί επώαση (μυκήλιο μύκητα αναπτύσσεται ακτινωτά)

# Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού σε δοκιμαστικό σωλήνα (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)

- Στερεό θρεπτικό υλικό διανέμεται σε δοκιμαστικούς σωλήνες και η επιφάνειά του μπορεί να είναι είτε επικλινής (slant tubes), είτε οριζόντια (stab tubes)
- **Επικλινής επιφάνεια (slant tube):** εμβολιασμός γίνεται επιφανειακά με το βακτηριολογικό κρίκο διαγράφοντας ελικοειδείς γραμμές και μετά από επώαση, η ανάπτυξη του μ/ο έχει τη μορφή αυτή
- **Οριζόντιας επιφάνεια (stab tube):** εμβολιασμός γίνεται με τη δημιουργία νύγματος κάθετα στο υλικό με τη βακτηριολογική βελόνα και τα κύτταρα του εμβολίου παραμένουν στο υλικό ακολουθώντας τη διαδρομή της βελόνας

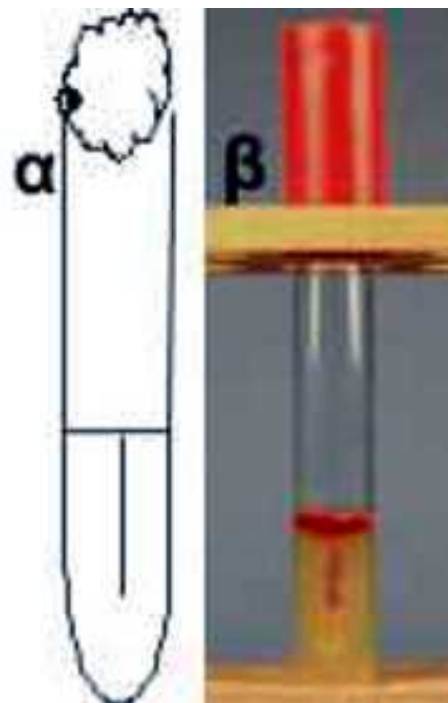


# Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού σε δοκιμαστικό σωλήνα (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)



Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού με επικλινή επιφάνεια σε δοκιμαστικό σωλήνα (slant tube): α) σχηματική απεικόνιση εμβολιασμού, β) ανάπτυξη μ/ο μετά από επώαση

# Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού σε δοκιμαστικό σωλήνα (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)

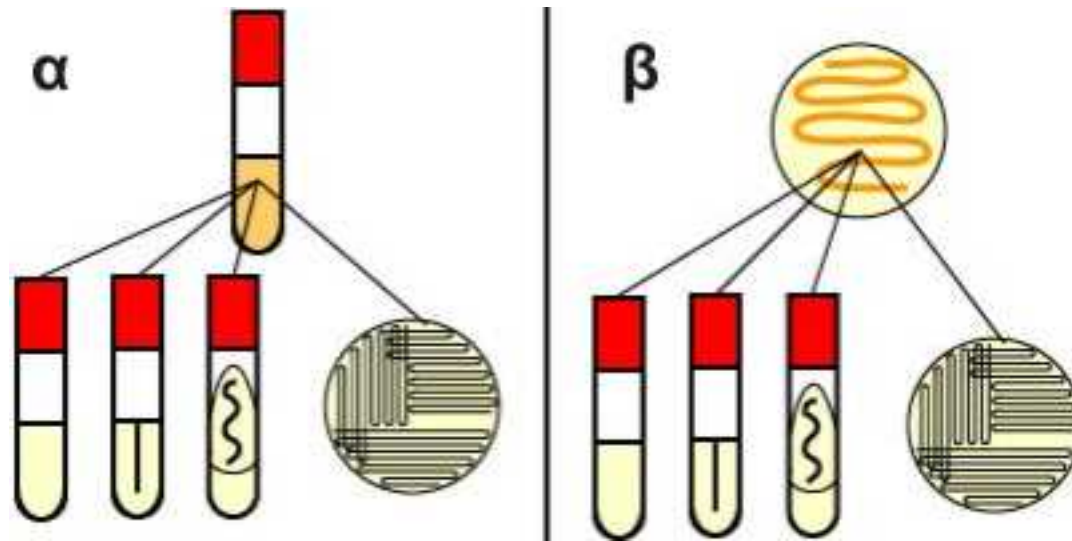


Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού με οριζόντια επιφάνεια σε δοκιμαστικό σωλήνα (stab tube): α) Σχηματική απεικόνιση εμβολιασμού, β) Ανάπτυξη μ/ο μετά από επώαση

# Εμβολιασμός υγρού θρεπτικού υλικού (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)

- Το αποστειρωμένο υγρό θρεπτικό υλικό που θα δεχτεί το εμβόλιο περιέχεται σε κάποιο περιέκτη (π.χ. δοκιμαστικό σωλήνα, κωνική φιάλη κ.λπ.) και ο εμβολιασμός γίνεται είτε με βακτηριολογικό κρίκο (όταν το εμβόλιο προέρχεται από υγρή ή στερεή καλλιέργεια), είτε με σιφώνιο (όταν το εμβόλιο προέρχεται από υγρή καλλιέργεια)
- Οι χειρισμοί παραλαβής του εμβολίου είναι ίδιοι με αυτούς που έχουν περιγραφεί προηγουμένως και η εναπόθεση του εμβολίου στο νέο θρεπτικό υλικό γίνεται ασηπτικά είτε με εμβάπτιση του βακτηριολογικού κρίκου που φέρει το εμβόλιο μέσα στο υλικό, είτε με έγχυση του υγρού εμβολίου από το σιφώνιο μέσα στο υλικό

# Εμβολιασμός υγρού θρεπτικού υλικού (εμβόλιο από υγρή ή στερεή καλλιέργεια)



Διάφοροι μέθοδοι εμβολιασμού χρησιμοποιώντας εμβόλιο από υγρή (α) ή στερεή (β) καλλιέργεια. *I*. Εμβολιασμός υγρού θρεπτικού υλικού; *II*. Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού σε δοκιμαστικό σωλήνα (οριζόντια επιφάνεια, stab tube); *III*. Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού σε δοκιμαστικό σωλήνα (κεκλιμένη επιφάνεια, slant tube); *IV*. Εμβολιασμός στερεού θρεπτικού υλικού σε τρυβλίο (μέθοδος παράλληλων γραμμών)



# Επώαση μικροβιακών καλλιεργειών

# Επώαση μικροβιακών καλλιεργειών

- Στόχος εμβολιασμού του μ/ο στο φρέσκο θρεπτικό υλικό είναι η ανάπτυξη-πολλαπλασιασμός του, ώστε να δημιουργηθεί πληθυσμός από μεγάλο αριθμό μικροβιακών κυττάρων και να καταστεί έτσι δυνατή η μελέτη τους
- Εφικτή αυτή η ανάπτυξη των κυττάρων του εμβολίου και πολλαπλασιασμού, πέρα από τις θρεπτικές απαιτήσεις τους που καλύπτονται από τα συστατικά που περιέχονται στο θρεπτικό υλικό, πρέπει να καλύψουν και την ανάγκη τους για σωστή θερμοκρασία ανάπτυξης και συνθήκες αερισμού

# Διάκριση μ/ο βάσει των θερμοκρασιακών τους απαιτήσεων

- **Ψυχρόφιλοι:** Αναπτύσσονται καλύτερα σε χαμηλές θερμοκρασίες με άριστη  $<20^{\circ}\text{C}$  και η ελάχιστη έως  $-5^{\circ}\text{C}$  και απαντώνται κυρίως σε ύδατα αρκτικής και τρόφιμα υπό ψύξη
- **Μεσόφιλοι:** Άριστη θερμοκρασία ανάπτυξη  $20-50^{\circ}\text{C}$ ; Εδώ ανήκουν οι περισσότεροι εδαφογενείς μ/ο και αυτοί που προσβάλλουν ανθρώπους και ζώα
- **Θερμόφιλοι:** Η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξη  $>50^{\circ}\text{C}$ ; Απαντώνται σε θερμοπίδακες και σε σωρούς από κομποστοποιημένα υλικά
- **Υπερθερμόφιλοι:** Άριστη θερμοκρασία ανάπτυξη  $>80^{\circ}\text{C}$ ; κυρίως βακτήρια που ανήκουν στα Αρχαία και απαντώνται σε υδροθερμικούς αεραγωγούς σε μεγάλα βάθη ωκεανών

# Συνθήκες επώασης μ/ο

- Μετά τον εμβολιασμό των μ/ο *in vitro* πρέπει να γίνει στην κατάλληλη θερμοκρασία, που θα επιτρέψει την ταχύτερη ανάπτυξη αυτών; Αυτό επιτυγχάνεται με την τοποθέτηση των εμβολιασμένων θρεπτικών υλικών σε ηλεκτρικούς **επωαστικούς κλιβάνους**
- Οι επωαστικοί κλιβανοί διατηρούν σταθερή θερμοκρασία στο εσωτερικό τους, η οποία προεπιλέγεται από τον χειριστή; Αν η επώαση των μ/ο γινόταν σε θερμοκρασία διαφορετική από την άριστη για την ανάπτυξή τους, τότε η ανάπτυξη θα ήταν πολύ πιο αργή ή και ανύπαρκτη
- Πέρα από τη **κατάλληλη θερμοκρασία**, η επώαση μ/ο πρέπει να γίνει υπό συνθήκες τέτοιες που να καλύπτονται οι **απαιτήσεις τους σε οξυγόνο** (αερισμό)





# Διάκριση μ/ο βάσει των απαιτήσεων σε οξυγόνο στο περιβάλλον ανάπτυξης

- **Υποχρεωτικώς αερόβιοι**, αναπτύσσονται μόνο παρουσία οξυγόνου και παράγουν την απαραίτητη για το μεταβολισμό τους ενέργεια μέσω της αερόβιας αναπνοής
- **Μικροαερόφιλοι**, απαιτούν χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου για την ανάπτυξή τους και παράγουν την απαραίτητη για το μεταβολισμό τους ενέργεια μέσω της αερόβιας αναπνοής

# Διάκριση μ/ο βάσει των απαιτήσεων σε οξυγόνο στο περιβάλλον ανάπτυξης

- **Υποχρεωτικώς αναερόβιοι**, αναπτύσσονται μόνο απουσία οξυγόνου και στην πραγματικότητα το οξυγόνο είναι τοξικό για αυτούς. Παράγουν την απαραίτητη για το μεταβολισμό τους ενέργεια μέσω της αναερόβιας αναπνοής ή της ζύμωσης
- **Προαιρετικώς αναερόβιοι**, αναπτύσσονται τόσο παρουσία, όσο και απουσία οξυγόνου, αλλά η ανάπτυξή τους στην πρώτη περίπτωση είναι ταχύτερη. Παράγουν την απαραίτητη για το μεταβολισμό τους ενέργεια μέσω της αερόβιας αναπνοής, της αναερόβιας αναπνοής και της ζύμωσης ανάλογα με την παρουσία ή απουσία του οξυγόνου

# Διάκριση μ/ο βάσει των απαιτήσεων σε οξυγόνο στο περιβάλλον ανάπτυξης

- Οι αερόβιοι μ/ο όσο περισσότερο οξυγόνο έχουν στη διάθεσή τους, τόσο γρηγορότερα και καλύτερα αναπτύσσονται
- Για το λόγο αυτό, οι υγρές καλλιέργειες αερόβιων μ/ο επωάζονται σε **επωαστικό κλίβανο υπό ανάδευση (shaker/orbital)**
- Ο κλίβανος πέρα από το ότι διατηρεί σταθερή θερμοκρασία (αυτή που επιλέγεται), επιπλέον διαθέτει μία πλατφόρμα ανακίνησης η ταχύτητα της οποίας προεπιλέγεται; Στην πλατφόρμα υπάρχουν ειδικοί υποδοχείς στους οποίους στηρίζονται οι περιέκτες με το εμβολιασμένο υγρό θρεπτικό υλικό
- Με την επώαση των καλλιεργειών υπό ανάδευση επιτυγχάνεται καλύτερη ενσωμάτωση του οξυγόνου στο εσωτερικό του υλικού και έτσι είναι περισσότερο διαθέσιμο στους μ/ο



# Βιβλιογραφία

- Ανώνυμος, 2009. Εργαστηριακές σημειώσεις Φυτοπαθολογίας. Εκδόσεις Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 45 σελ.
- Ζωάκη-Μαλισιόβα Δ., 1995. Εργαστήρια Φυτοπροστασίας Ι. Εκδόσεις ΤΕΙ Ηπείρου, 93 σελ.
- Ζωάκη-Μαλισιόβα Δ., 1998. Μαθήματα Φυτοπροστασίας Ι. Διδακτικές σημειώσεις, Εκδόσεις ΤΕΙ Ηπείρου, 121 σελ.
- Ηλιόπουλος Α.Γ., 2004. Γενική Φυτοπαθολογία. Εκδόσεις Έμβρυο, 296 σελ.
- Τζάμος Ε.Κ., 2007. Φυτοπαθολογία. Εκδόσεις Σταμούλης, 557 σελ.



# Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Τεχνολογικό Ίδρυμα Ηπείρου. Δρ Δήμητρα Ζωάκη Μαλισιόβα.

Γενική Φυτοπαθολογία Εργαστήριο. Μέθοδοι εμβολιασμού-ασηπτικές συνθήκες.

Έκδοση: 1.0. Άρτα, 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:  
<<http://eclass.teiep.gr/courses/TEXG101/>>

# Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά Δημιουργού-Μη Εμπορική Χρήση-Όχι Παράγωγα Έργα 4.0 Διεθνές [1] ή μεταγενέστερη. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, Διαγράμματα κ.λπ., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.el>



# Τέλος Ενότητας

## Επεξεργασία: Δρ Αντωνόπουλος Δημήτριος

Γεωπόνος-Φυτικής Παραγωγής ΓΠΑ

Γεωπόνος-Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας ΓΠΑ

ΕΠΠΑΙΚ ΑΣΠΑΙΤΕ

ΜΔΕ (MPhil) Φυτοπροστασίας ΓΠΑ

ΜΔΕ (MSc) Ασφάλειας Τροφίμων WUR

ΔΔ (PhD) Φυτοπαθολογίας ΓΠΑ

Μετα-ΔΔ (Post-Doc) Φυτοπαθολογίας NCSU USA

Μετα-ΔΔ (Post-Doc) Φυτοπαθολογίας ΓΠΑ-ΙΚΥ

Άρτα, 2015



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

