



Ελληνική Δημοκρατία  
Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό  
Ίδρυμα Ηπείρου

# Γενική Φυτοπαθολογία Εργαστήριο

## Ενότητα 4: Μικροοργανισμοί & Μικροσκόπιο

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 4: Μικροοργανισμοί & Μικροσκόπιο

Όνομα Καθηγητή: Δρ Δήμητρα Ζωάκη-Μαλισιόβα

Βαθμίδα Καθηγητή: Καθηγήτρια

Άρτα, 2015



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

# 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



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ  
πρόγραμμα για την ανάπτυξη



# Μικροοργανισμοί & Μικροσκόπιο

# Σκοποί ενότητας

- Τρόπος παρατήρησης των μικροοργανισμών μακροσκοπικά και μικροσκοπικά.
- Περιγραφή της αρχής λειτουργίας των μικροσκοπίων.
- Αντίληψη του πως είναι ο μύκητας, η ζύμη, το βακτήριο.

# Περιεχόμενα ενότητας

- Ομάδες οργανισμών.
- Μικροοργανισμοί (παρατήρηση μακροσκοπικά και μικροσκοπικά).
- Μικροσκόπιο.
- Μικροσκόπηση με το μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου.
- Μικροσκοπική παρατήρηση διαφόρων ομάδων μικροοργανισμών.



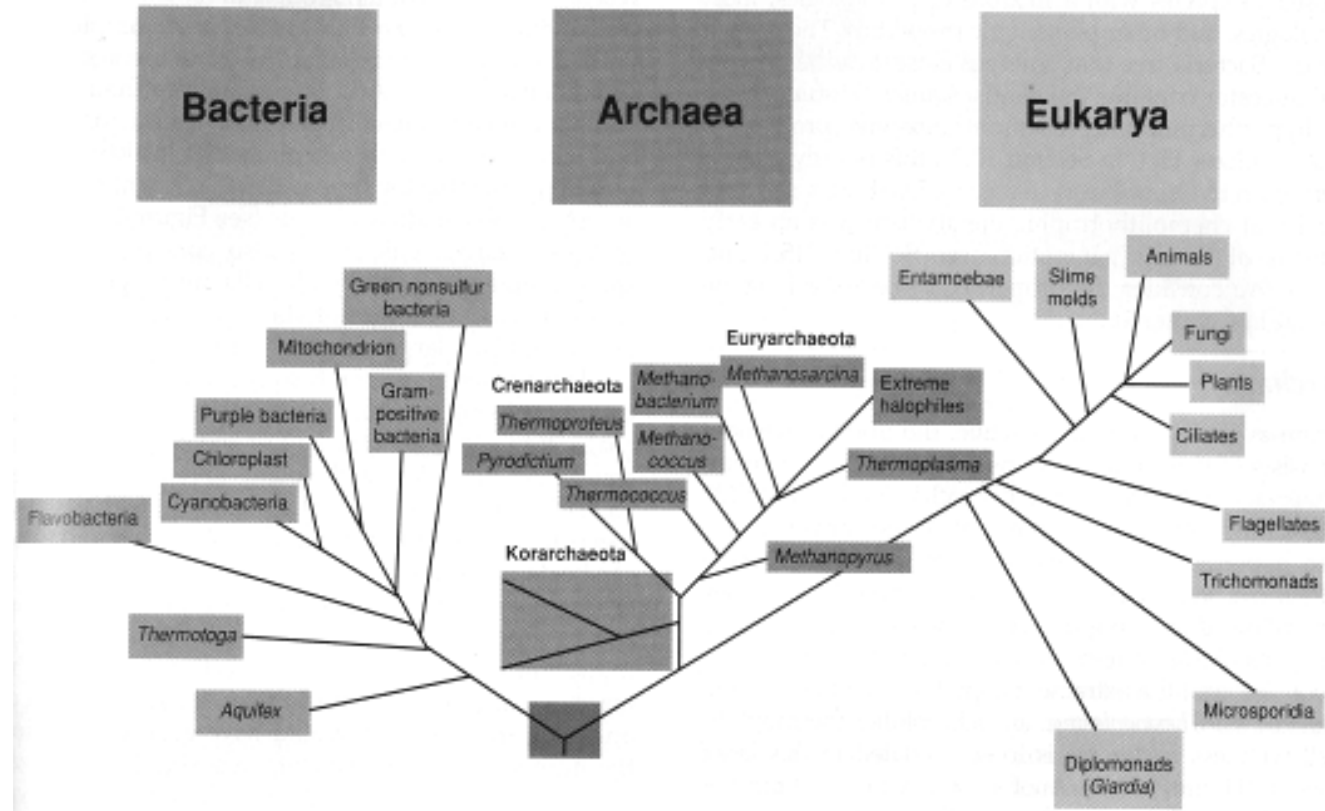
# Ομάδες οργανισμών



# Ομάδες οργανισμών

- Όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί χωρίζονται σε τρεις βασικές ομάδες (*domains*): **Βακτήρια (Bacteria)**, **Αρχαία (Archaea)**, **Ευκαρυωτικά (Eukarya)**
- Κάθε ομάδα διαχωρίζεται σε ένα μεγάλο αριθμό κλάδων
- **Βακτήρια & Αρχαία** είναι προκαρυωτικοί οργανισμοί
- **Ευκάρυα** είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί

# Ομάδες οργανισμών



Γενικευμένο φυλογενετικό δένδρο βάσει του rRNA των οργανισμών

Το μέγεθος του πλαισίου αντιστοιχεί στον αριθμό των ειδών μ/ο 10

# Ομάδα Βακτήρια

- Αυτή η φυλογενετική ομάδα περιλαμβάνει οργανισμούς που είναι **μονοκύτταροι προκαρυωτικοί**, δηλαδή αποτελούνται από ένα και μόνο κύτταρο το οποίο στερείται οργανωμένου πυρήνα
- Δεν έχουν μιτοχόνδρια και χλωροπλάστες
- Έχουν 70S ριβοσώματα, που παρεμποδίζονται από διάφορα αντιβιοτικά
- Το κύτταρό τους περιβάλλεται από κυτταρικό τοίχωμα, που περιέχει πεπτιδογλυκάνη, ενώ η κυτταρική τους μεμβράνη συντίθεται από αλυσίδες λιπαρών οξέων που συνδέονται με μόρια γλυκερόλης μέσω εστερικών δεσμών
- Περιλαμβάνει θετικά & αρνητικά κατά Gram βακτήρια, τα μυκοπλάσματα και τα κυανοβακτήρια

# Ομάδα Ευκαρυωτικά

- Περιλαμβάνει οργανισμούς που είναι μονοκύτταροι ή πολυκύτταροι ευκαρυωτικοί, δηλαδή το κύτταρο ή τα κύτταρά τους περιέχει οργανωμένο πυρήνα (ξεχωριστό οργανίδιο που περικλείεται από την πυρηνική μεμβράνη)
- Έχουν οργανίδια, όπως μιτοχόνδρια και χλωροπλάστες (όχι όλοι)
- Έχουν 80S ριβοσώματα που δεν παρεμποδίζονται από διάφορα αντιβιοτικά ευρέως φάσματος, που παρεμποδίζουν βακτήρια (70S ριβοσώματα)
- Κυτταρικό τοίχωμα δε έχουν όλα τα Ευκαρυωτικά, αλλά στην περίπτωση που υπάρχει αυτό δεν περιέχει πεπτιδογλυκάνη
- Όπως και τα Βακτήρια, έχουν μεμβράνες από αλυσίδες λιπαρών οξέων που συνδέονται με μόρια γλυκερόλης μέσω εστερικών δεσμών

# Ομάδα Ευκαρυωτικά: Βασίλεια

- **Πρώτιστα (Protista):** απλοί, κυρίως μονοκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί. (π.χ. μυξομύκητες, φύκη, πρωτόζωα κ.ά.)
- **Μύκητες (Fungi):** μονοκύτταροι ή πολυκύτταροι οργανισμοί με ευκαρυωτικά κύτταρα. Τα κύτταρα των μυκήτων έχουν κυτταρικό τοίχωμα αλλά δεν οργανώνονται σε ιστούς. Δε φωτοσυνθέτουν και λαμβάνουν θρεπτικά συστατικά με απορρόφηση ([π.χ. ασκομύκητες, βασιδιομύκητες, ζύμες (μονοκύτταροι μύκητες) κ.ά.]
- **Φυτά (Plantae):** πολυκύτταροι οργανισμοί, που αποτελούνται από ευκαρυωτικά κύτταρα. Τα κύτταρα έχουν κυτταρικό τοίχωμα και είναι οργανωμένα σε ιστούς. Λαμβάνουν τα θρεπτικά συστατικά μέσω φωτοσύνθεσης και απορρόφησης (π.χ. βρύα, φτέρες, κωνοφόρα, φανερόγαμα κ.ά.)
- **Ζώα (Animalia):** πολυκύτταροι οργανισμοί που αποτελούνται από ευκαρυωτικά κύτταρα. Τα κύτταρα δεν έχουν κυτταρικό τοίχωμα και είναι οργανωμένα σε ιστούς. Δεν φωτοσυνθέτουν και λαμβάνουν τα θρεπτικά συστατικά κυρίως με απορρόφηση (π.χ. σφουγγάρια, γαιοσκώληκες, έντομα, σπονδυλωτά κ.ά.)

# Ομάδα Αρχαία

- Τα Αρχαία συγκεντρώνουν χαρακτηριστικά των Βακτηρίων & Ευκαρυωτικών
- Πρόκειται για μονοκύτταρους προκαρυωτικούς οργανισμούς χωρίς οργανωμένο πυρήνα και οργανίδια, όπως μιτοχόνδρια και χλωροπλάστες
- Έχουν 70S ριβοσώματα, τα οποία όμως μοιάζουν περισσότερο με τα 80S ριβοσώματα των Ευκαρυωτικών και για το λόγο αυτό είναι ανθεκτικά απέναντι στα αντιβιοτικά που δρουν εναντίον των βακτηρίων (70S ριβοσώματα) και ευαίσθητα απέναντι στα αντιβιοτικά που δρουν εναντίον των ευκαρυωτικών (80S ριβοσώματα)
- Έχουν κυτταρικό τοίχωμα, το οποίο δεν περιέχει πεπτιδογλυκάνη. Η κυτταρική τους μεμβράνη συντίθεται από αλυσίδες υδατανθράκων που συνδέονται με μόρια γλυκερόλης μέσω αιθερικών δεσμών
- Συνήθως απαντώνται σε ακραίες συνθήκες περιβάλλοντος και περιλαμβάνουν μεθανογενείς, εξαιρετικά αλόφιλους και υπέρ-θερμόφιλους μικροοργανισμούς



# Μικροοργανισμοί (μ/ο)

# Μικροοργανισμοί στο εργαστήριο

- Μετά τον εμβολιασμό του μ/ο σε ένα θρεπτικό υλικό ακολουθεί επώαση στις κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας και αερισμού
- Κατά τη διάρκεια της επώασης, τα μικροβιακά κύτταρα του εμβολίου χρησιμοποιούν τα θρεπτικά συστατικά του υποστρώματος για να συνθέσουν τα δομικά συστατικά των νέων κυττάρων που δημιουργούνται κατά τον πολλαπλασιασμό τους και για την παραγωγή ενέργειας, που απαιτείται για όλες τις διεργασίες που λαμβάνουν χώρα στα κύτταρα αυτά



# Μικροοργανισμοί στο εργαστήριο

- Οι μ/ο πολλαπλασιάζονται και παράγουν έναν μεγάλο αριθμό κυττάρων (αναπτύσσονται σε πληθυσμούς) δημιουργώντας μία μικροβιακή μάζα που καλείται **βιομάζα**
- Οι μ/ο εξ ορισμού είναι πολύ μικροί και αόρατοι δια γυμνού οφθαλμού
- Όταν όμως αναπτύσσονται σε μεγάλους πληθυσμούς σε στερεά ή υγρά θρεπτικά υλικά, η μικροβιακή ανάπτυξη γίνεται αντιληπτή και μακροσκοπικά

# Μακροσκοπική παρατήρηση μ/ο

- **Υγρές καλλιέργειες:** η μικροβιακή ανάπτυξη γίνεται αντιληπτή μακροσκοπικά ως **θολότητα**, που αποκτά το υλικό από τον μεγάλο αριθμό κυττάρων που έχουν συσσωρευτεί σε αυτό (μικροβιακή μάζα ή αλλιώς βιομάζα)
- Η θολότητα αυτή μπορεί να εκτιμηθεί ποσοτικά με τη μέτρηση της απορρόφησης φωτός (μήκος κύματος 600 nm) από τη βιομάζα της υγρής καλλιέργειας
- Η μέτρηση της απορρόφησης πραγματοποιείται με το **σπεκτροφωτόμετρο** και αποτελεί έναν έμμεσο τρόπο εκτίμησης του μικροβιακού πληθυσμού

# Μακροσκοπική παρατήρηση μ/ο

- **Στερεές καλλιέργειες:** η μικροβιακή ανάπτυξη γίνεται αντιληπτή μακροσκοπικά από το σχηματισμό αποικιών
- Οι **αποικίες** αποτελούνται από μεγάλο αριθμό μικροβιακών κυττάρων, που έχουν προκύψει από τον πολλαπλασιασμό ενός και μόνο αρχικού κυττάρου
- Είναι είτε μεμονωμένες, είτε ενωμένες μεταξύ τους, οπότε σχηματίζεται ένα παχύ στρώμα από μικροβιακή μάζα ή αλλιώς βιομάζα



Αποικίες σε στερεό θρεπτικό υλικό από την ανάπτυξη ενός μ/ο μετά από εμβολιασμό και επώαση

# Μικροσκοπική παρατήρηση μ/ο

- Η συμβολή του μικροσκοπίου στην ανάπτυξη της επιστήμης της μικροβιολογίας και Φυτοπαθολογίας θεωρείται τεράστια
- Είναι το όργανο εκείνο που παρέχει τη δυνατότητα παρατήρησης των μικροβιακών κυττάρων, τα οποία λόγω μικρού μεγέθους είναι άορατα δια γυμνού οφθαλμού
- Ανακαλύφθηκε από τον Antoni Van Leeuwenhoek, ο οποίος για πρώτη φορά το 1684 παρατήρησε βακτήρια χρησιμοποιώντας ένα απλό αυτοσχέδιο μικροσκόπιο
- Μόλις το 19ο αιώνα, το μικροσκόπιο εξελίχθηκε και χρησιμοποιήθηκε ευρέως από τους επιστήμονες για την παρατήρηση και μελέτη των μ/ο



# Μικροσκόπιο

# Τύποι μικροσκοπίων

- **Δύο τύποι μικροσκοπίων: οπτικό & ηλεκτρονικό**
- Για μικροσκοπικές παρατηρήσεις ρουτίνας που αφορούν τη μορφολογία, το μέγεθος ή την ικανότητα κίνησης των μικροβιακών κυττάρων χρησιμοποιείται το οπτικό μικροσκόπιο
- Για την παρατήρηση εσωτερικών δομικών οργανιδίων του κυττάρου χρησιμοποιείται το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

# Χαρακτηριστικά λειτουργίας των μικροσκοπίων

- Η λειτουργία όλων των μικροσκοπίων στηρίζεται σε ένα σύστημα ειδικών φακών που μεγεθύνουν το είδωλο ενός κυττάρου, ώστε να γίνουν ορατές λεπτομέρειες της δομής του
- Εκτός όμως από τη **μεγέθυνση ή μεγεθυντική ικανότητα** (magnification), ένα άλλο σημαντικό τεχνικό χαρακτηριστικό του μικροσκοπίου είναι η **διακριτική ικανότητα** (resolution), δηλαδή η οριακή απόσταση που απαιτείται να υπάρχει μεταξύ δύο γειτονικών σημείων προκειμένου τα σημεία αυτά να διακριθούν ως διαφορετικά

# Χαρακτηριστικά λειτουργίας των μικροσκοπίων

- Σημεία που βρίσκονται σε απόσταση μικρότερη από τη διακριτική ικανότητα του μικροσκοπίου δεν μπορούν να διακριθούν και φαίνονται ως ένα σημείο
- Η διακριτική ικανότητα του συστήματος φακών ενός μικροσκοπίου δεν μπορεί να αυξηθεί απεριόριστα, αλλά εξαρτάται από το μήκος κύματος του φωτός, από τον σχεδιασμό του πυκνωτή και από το δείκτη διαθλάσεως του υλικού που υπάρχει ανάμεσα στο παρασκεύασμα και τον αντικειμενικό φακό (αέρας ή λάδι)



# Χαρακτηριστικά λειτουργίας των μικροσκοπίων

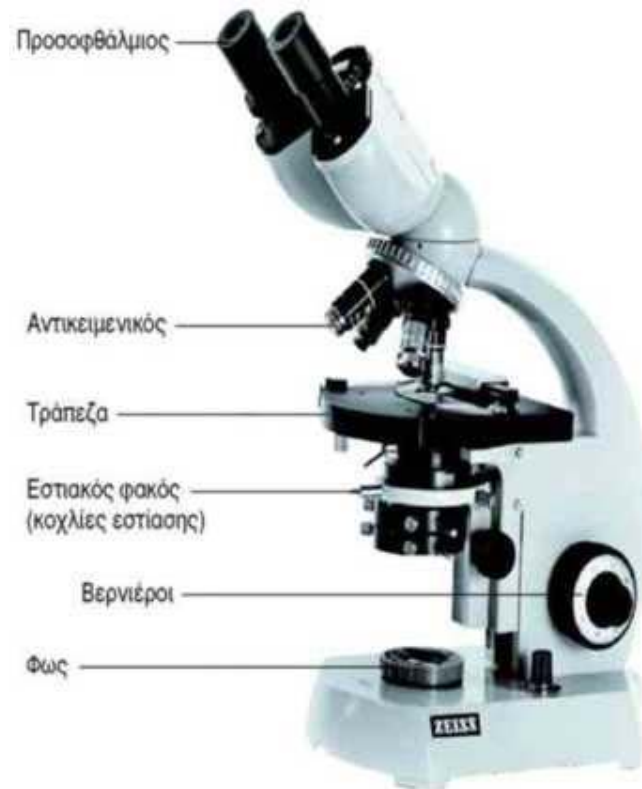
- Άρα, η διακριτική ικανότητα (και όχι η ικανότητα μεγέθυνσης) ουσιαστικά ορίζει τα όρια των δυνατοτήτων ενός μικροσκοπίου
- Το οπτικό μικροσκόπιο έχει διακριτική ικανότητα μέχρι  $0.2 \mu\text{m} = 200 \text{ nm}$  (δηλαδή ξεχωρίζει γειτονικά αντικείμενα σε απόσταση μεγαλύτερη ή ίση των  $0.2 \mu\text{m}$ )
- Το ηλεκτρονικό χαρακτηρίζεται από 1000 φορές μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα (μέχρι  $0.2 \text{ nm}$ )
- Θεωρητικά, το οπτικό μικροσκόπιο μπορεί να διακρίνει αντικείμενα μεγέθους μέχρι  $0.2 \mu\text{m}$ . Στην πράξη, όμως, η διακρίνει αντικείμενα μεγέθους  $0.3\text{-}0.5 \mu\text{m}$

# Οπτικό μικροσκόπιο

- Υπάρχουν διάφοροι τύποι οπτικού μικροσκοπίου, όπως το φωτεινού πεδίου (bright-field), το αντίθεσης φάσεων (phase contrast), το σκοτεινού πεδίου (dark field) το φθορισμού (fluorescence) κ.ά.
- Το οπτικό μικροσκόπιο **φωτεινού πεδίου** είναι ο πιο κοινός τύπος μικροσκοπίου που χρησιμοποιείται σε ένα μικροβιολογικό & φυτοπαθολογικό εργαστήριο, για τις ανάγκες της βασικής φυτοπαθολογίας

# Βασικά μέρη μικροσκοπίου φωτεινού πεδίου

- **Τράπεζα:** η οριζόντια πλατφόρμα επί της οποίας τοποθετείται η αντικειμενοφόρος πλάκα (συγκρατείται με τη βοήθεια ενός σφικτήρα) με το παρασκεύασμα και έχει τη δυνατότητα μετακίνησης, για να παρατηρείται το παρασκεύασμα σε όλη του την έκταση
- **Πηγή φωτός:** στη βάση του μικροσκοπίου υπάρχει μία πηγή φωτός (λαμπτήρας) με δυνατότητα αυξομείωσης της έντασης του παραγόμενου φωτός (σε ορισμένα μικροσκόπια, η ένταση φωτός μειώνεται ακόμα περισσότερο με την εφαρμογή ενός φίλτρου πάνω από την πηγή φωτός)
- **Σύστημα φακών:** Όλα τα μικροσκόπια φέρουν τρία συστήματα φακών (**προσοφθάλμιους, αντικειμενικούς & πυκνωτή**), οι οποίοι λειτουργούν συνεργιστικά, για τη μεγέθυνση και ανάλυση του ειδώλου
- **Κοχλίες εστίασης.** Δύο ομοαξονικοί κοχλίες (μικρομετρικός και μακρομετρικός) δεξιά και αριστερά του μικροσκοπίου ρυθμίζουν την εστίαση μετακινώντας την τράπεζα κατακόρυφα



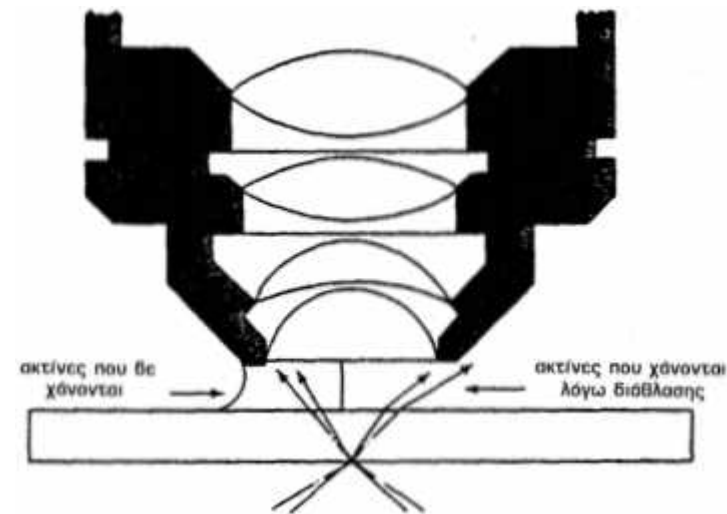
Οπτικό μικροσκόπιο  
φωτεινού πεδίου 27

# Βασικά μέρη μικροσκοπίου φωτεινού πεδίου

- Οι **προσοφθάλμιοι φακοί** (ocular ή eyepiece) είναι ένα σύστημα δύο εσωτερικών φακών, που βρίσκονται στο πάνω μέρος του μικροσκοπίου και συνήθως έχουν μεγεθυντική ικανότητα 10x; Η απόσταση μεταξύ τους ρυθμίζεται, ώστε να εξυπηρετεί τον παρατηρητή
- Οι **αντικειμενικοί φακοί** (objectives) είναι συνήθως τρεις και είναι προσαρτημένοι σε ένα περιστρεφόμενο σύστημα πάνω από την τράπεζα, που δίνει τη δυνατότητα μετακίνησής τους σε κατάλληλη θέση πάνω από το παρασκεύασμα; Οι αντικειμενικοί φακοί στα περισσότερα μικροσκόπια έχουν ικανότητα μεγέθυνσης 10x, 40x και 100x

# Βασικά μέρη μικροσκοπίου φωτεινού πεδίου

- Ο αντικειμενικός φακός με μεγέθυνση  $100\times$  λέγεται **ελαιοκαταδυτικός**, γιατί τοποθετείται μια σταγόνα κεδρέλαιου όταν χρησιμοποιείται ανάμεσα σε αυτόν και στο παρασκεύασμα
- Το κεδρέλαιο αυξάνει τη διακριτική ικανότητα του φακού, διότι έχει τον ίδιο δείκτη διαθλάσεως με το γυαλί που «παγιδεύει» τις φωτεινές ακτίνες, εμποδίζοντας έτσι την απώλεια φωτός



Το κεδρέλαιο εμποδίζει την απώλεια φωτός παγιδεύοντας τις ακτίνες

# Βασικά μέρη μικροσκοπίου φωτεινού πεδίου

- Η τελική εικόνα που βλέπει ο παρατηρητής είναι το αποτέλεσμα της συνεργιστικής μεγέθυνσης των αντικειμενικών και των προσοφθάλμιων φακών
- Με τον αντικειμενικό φακό μεγεθυντικής ικανότητας 40× και τον προσοφθάλμιο 10× επιτυγχάνεται ολική μεγέθυνση 400×
- Μέγιστη μεγέθυνση οπτικού μικροσκοπίου είναι αυτή που επιτυγχάνεται με τον ελαιοκαταδυτικό αντικειμενικό φακό, που μεγεθύνει 100 φορές και άρα η συνολική μεγέθυνση, σε συνδυασμό με τον προσοφθάλμιο, είναι  $100 \cdot 10 = 1000 \times$

# Βασικά μέρη μικροσκοπίου φωτεινού πεδίου

- Το τρίτο σύστημα φακών είναι ο **πυκνωτής** (condenser), που βρίσκεται κάτω από την τράπεζα
- Ο πυκνωτής συγκεντρώνει και κατευθύνει προς το παρασκεύασμα τη δέσμη φωτός που εκπέμπει η πηγή φωτός, φωτίζοντάς το ομοιόμορφα
- Ο πυκνωτής έχει τη δυνατότητα να κινείται κατακόρυφα με τη βοήθεια ενός κοχλίου
- Ένα διάφραγμα στο εσωτερικό του πυκνωτή ρυθμίζει την ποσότητα του φωτός, που φθάνει στο παρασκεύασμα

# Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

- Χρησιμοποιείται για τη λεπτομερή παρατήρηση κυτταρικών δομών, το μέγεθος των οποίων είναι μικρό και κάτω από τα όρια της διακριτικής ικανότητας του οπτικού μικροσκοπίου
- **Βασικοί τύποι:** το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μετάδοσης (Transmission Electron Microscope, TEM) και το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Scanning Electron Microscope, SEM)
- Και τα δύο χρησιμοποιούν δέσμη ηλεκτρονίων για τη δημιουργία του ειδώλου, αντί για ακτίνες φωτός

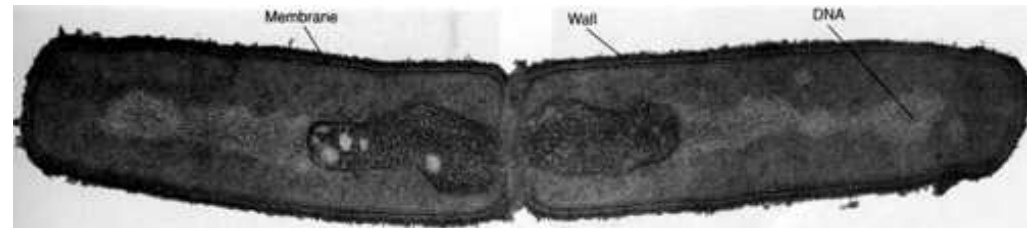


# Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

- Και τα δύο χρησιμοποιούν δέσμη ηλεκτρονίων για τη δημιουργία του ειδώλου, αντί για ακτίνες φωτός
- Τα ηλεκτρόνια έχουν πολύ μικρό μήκος κύματος, η διακριτική ικανότητα του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή του οπτικού και η ικανότητα μεγέθυνσης ξεπερνάει τις 100.000 φορές.
- Οι δέσμες των ηλεκτρονίων εστιάζονται με ηλεκτρομαγνήτες, αντί για φακούς, και το όλο σύστημα λειτουργεί σε υψηλό κενό
- Το παρασκεύασμα υφίσταται χρώση ή κάλυψη με βαρέα μέταλλα και το είδωλο εμφανίζεται σε μία οθόνη

# Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μετάδοσης

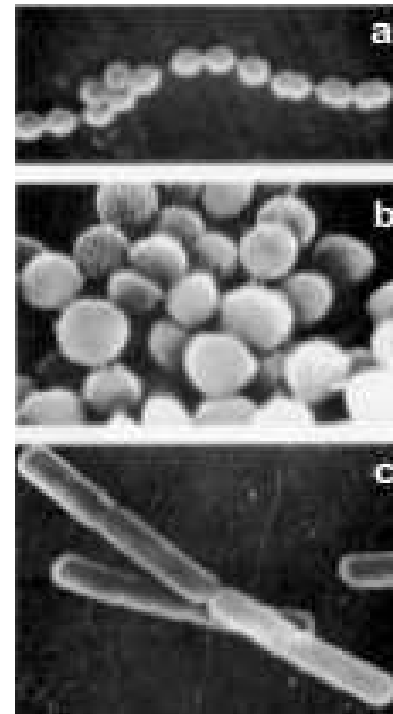
- Χρησιμοποιείται για την παρατήρηση **εσωτερικών** κυτταρικών δομών ακόμα και μορίων, όπως ριβοσώματα, πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα κ.λπ.
- Το υπό παρατήρηση δείγμα (π.χ. βακτηριακό κύτταρο) με ειδικές τεχνικές και όργανα τεμαχίζεται σε πολύ λεπτές τομές προκειμένου οι δέσμες των ηλεκτρονίων να μπορέσουν να το διαπεράσουν
- Για αύξηση της αντίθεσης, τα δείγματα υφίστανται ειδική χρώση με χρήση για παράδειγμα ουρανίου ή μολύβδου και άλλων βαρέων μετάλλων



Βακτηριακό κύτταρο σε τομή, όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μετάδοσης

# Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης

- Χρησιμοποιείται συνήθως για τη λεπτομερή παρατήρηση της **εξωτερικής** επιφάνειας των κυττάρων
- Το δείγμα καλύπτεται με ένα λεπτό στρώμα χρυσού ή πλατίνας και μια δέσμη ηλεκτρονίων κατευθύνεται στο δείγμα και το σαρώνει
- Τα ηλεκτρόνια τα οποία διασκορπίζονται από το μέταλλο συλλέγονται και ενεργοποιούν μια οθόνη να παράγει το είδωλο



Σφαιρικά και ραβδόμορφα βακτηριακά κύτταρα, όπως φαίνονται σε ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (a. *Streptococcus* σε αλυσίδα, b. *Staphylococcus*, c. *Bacillus* σε αλυσίδες)

# Μικροσκόπηση με το μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου

# Μικροσκόπηση με το οπτικό μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου

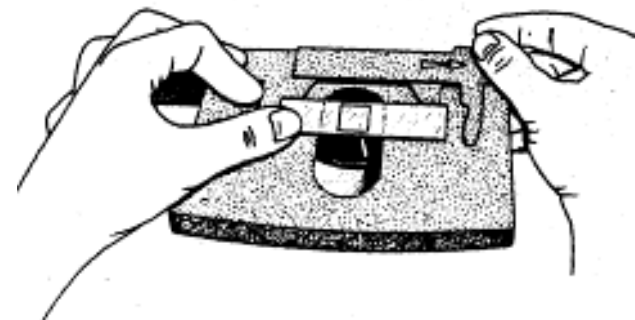
- Όταν το μικροσκόπιο έχει τρεις αντικειμενικούς φακούς, τότε υπάρχουν 3 δυνατότητες μεγέθυνσης
  - Ολική μεγέθυνση  $100\times$  ( $10\times$  από τον προσοφθάλμιο και  $10\times$  από τον αντικειμενικό)
  - Ολική μεγέθυνση  $400\times$  ( $10\times$  από τον προσοφθάλμιο και  $40\times$  από τον αντικειμενικό)
  - Ολική μεγέθυνση  $1000\times$  ( $10\times$  από τον προσοφθάλμιο και  $100\times$  από τον αντικειμενικό-ελαιοκαταδυτικό)

# Μικροσκόπηση με το οπτικό μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου

- Η μικροσκοπική παρατήρηση ξεκινά με τον αντικειμενικό φακό μικρότερης μεγέθυνσης ( $10\times$ ) και προχωρά στους μεγαλύτερους φακούς
- Ο  $10\times$  φακός δίνει τη δυνατότητα ευκολότερου εντοπισμού του σημείου του παρασκευάσματος που μελετάται, μιας και με αυτόν τον φακό το οπτικό πεδίο είναι μεγαλύτερο/ευρύτερο πάνω από το παρασκεύασμα
- Όταν εντοπισθεί το σημείο παρατήρησης στο παρασκεύασμα, στη συνέχεια χρησιμοποιούνται οι αντικειμενικοί φακοί υψηλότερης μεγέθυνσης

# Βήματα μικροσκόπησης με το οπτικό μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου

1. Τοποθέτησης αντικειμενοφόρου πλάκας με το παρασκεύασμα επί της τράπεζας στον ειδικό σφικτήρα, με την επιφάνεια που φέρει το παρασκεύασμα προς τα πάνω
2. Τίθεται σε λειτουργία η πηγή φωτός, αρχικά σε χαμηλή ένταση, και η περιοχή που βρίσκεται το παρασκεύασμα («βαμμένη» περιοχή) να είναι στο κέντρο της φωτεινής δέσμης
3. Ο πυκνωτής φέρεται στο ανώτερο σημείο της διαδρομής του (συνήθως βρίσκεται ήδη στη σωστή του θέση) και φροντίζουμε το διάφραγμά του να είναι τελείως ανοιχτό



Τοποθέτηση της αντικειμενοφόρου πλάκας στην τράπεζα του μικροσκοπίου

# Βήματα μικροσκόπησης με το οπτικό μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου

4. Ο 10× αντικειμενικός φακός φέρεται και «κλειδώνεται» σε κατακόρυφη θέση πάνω από το παρασκεύασμα
5. Με το **μακρομετρικό κοχλία**, η τράπεζα μετακινείται προς τα πάνω και έτσι ο αντικειμενικός φακός πλησιάζει προς το παρασκεύασμα (προσοχή να μην έρθει ο φακός σε επαφή με την αντικειμενοφόρο πλάκα)
6. Παρατήρηση από τους προσοφθάλμιους φακούς (αφού προσαρμόσουμε τη μεταξύ τους απόσταση, ώστε να εξυπηρετεί το οπτικό μας πεδίο) και εστιασμός παρασκευάσματος με τη βοήθεια του μακρομετρικού και στη συνέχεια του **μικρομετρικού κοχλία** (οι κοχλίες μετακινούν την τράπεζα κατακόρυφα με αποτέλεσμα να αλλάζει η απόσταση μεταξύ του αντικειμενικού φακού και του παρασκευάσματος και έτσι αλλάζει η εστίαση)



# Βήματα μικροσκόπησης με το οπτικό μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου

7. Όταν το παρασκεύασμα γίνει ορατό, η αντικειμενοφόρος πλάκα μετακινείται προς όλες τις κατευθύνσεις (με το σύστημα μετακινήσεως του σφικτήρα που τη συγκρατεί) προκειμένου να εντοπισθεί το επιθυμητό σημείο παρατήρησης
8. Αν στη συνέχεια επιθυμείται μεγαλύτερη μεγέθυνση, απομακρύνεται ο 10× αντικειμενικός φακός με περιστροφή του συστήματος και στη θέση του φέρεται ο 40×, χωρίς όμως να μετακινηθεί η τράπεζα και χαλάσει η εστίαση
9. Παρατηρώντας (πλέον) με τον 40× φακό, βελτιώνεται η εστίαση με τη βοήθεια του **μικρομετρικού κοχλίου** (ο μακρομετρικός παραμένει ακίνητος ειδάλλως ξανά από την αρχή) και ο φωτισμός ρυθμίζεται με τη βοήθεια του διαφράγματος του πυκνωτή, ώστε να βελτιωθεί η εικόνα



# Βήματα μικροσκόπησης με το οπτικό μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου

10. Όταν επιτευχθεί η σωστή εστίαση, μετακίνηση αντικειμενοφόρου πλάκας, ώστε το παρασκεύασμα να παρατηρηθεί σε όλη του την έκταση; Ο φωτισμός γίνεται πιο έντονος ανοίγοντας το διάφραγμα ή αυξομειώνοντας την ένταση του λαμπτήρα
11. Για ακόμα μεγαλύτερη μεγέθυνση και διακριτική ικανότητα μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη συνέχεια ο  $100\times$  αντικειμενικός (ελαιοκαταδυτικός) φακός (απομάκρυνση του  $40\times$  φακού χωρίς να μετακινηθεί η τράπεζα και χαθεί η εστίαση) με τοποθέτηση παράλληλα μίας σταγόνας κεδρέλαιου πάνω στο παρασκεύασμα (ο φακός  $100\times$  εμβαπτίζεται στο κεδρέλαιο και η βελτίωση τα εστίασης γίνεται μόνο με το μικρομετρικό κοχλία); Συνιστάται και το διάφραγμα του πυκνωτή να είναι εντελώς ανοιχτό, ώστε να μην περιορίζεται η διακριτική ικανότητα των φακών



# Βήματα μικροσκόπησης με το οπτικό μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου

12. Μετά το τέλος της μικροσκοπικής παρατήρησης, ο λαμπτήρας σβήνεται και η αντικειμενοφόρος πλάκα απομακρύνεται
13. Απομάκρυνση και του ελαιοκαταδυτικού φακού από την κατακόρυφη θέση του με περιστροφή του συστήματος
14. Ο φακός καθαρίζεται προσεκτικά με ειδικό μαλακό χαρτί και λίγο ξυλένιο
15. Τέλος, τοποθετείται η πλαστική θήκη του μικροσκοπίου που θα το προστατέψει από τη σκόνη μέχρι την επόμενη χρήση του



# Μικροσκοπική παρατήρηση διαφόρων ομάδων μικροοργανισμών

# Μικροσκοπική παρατήρηση βακτηρίων

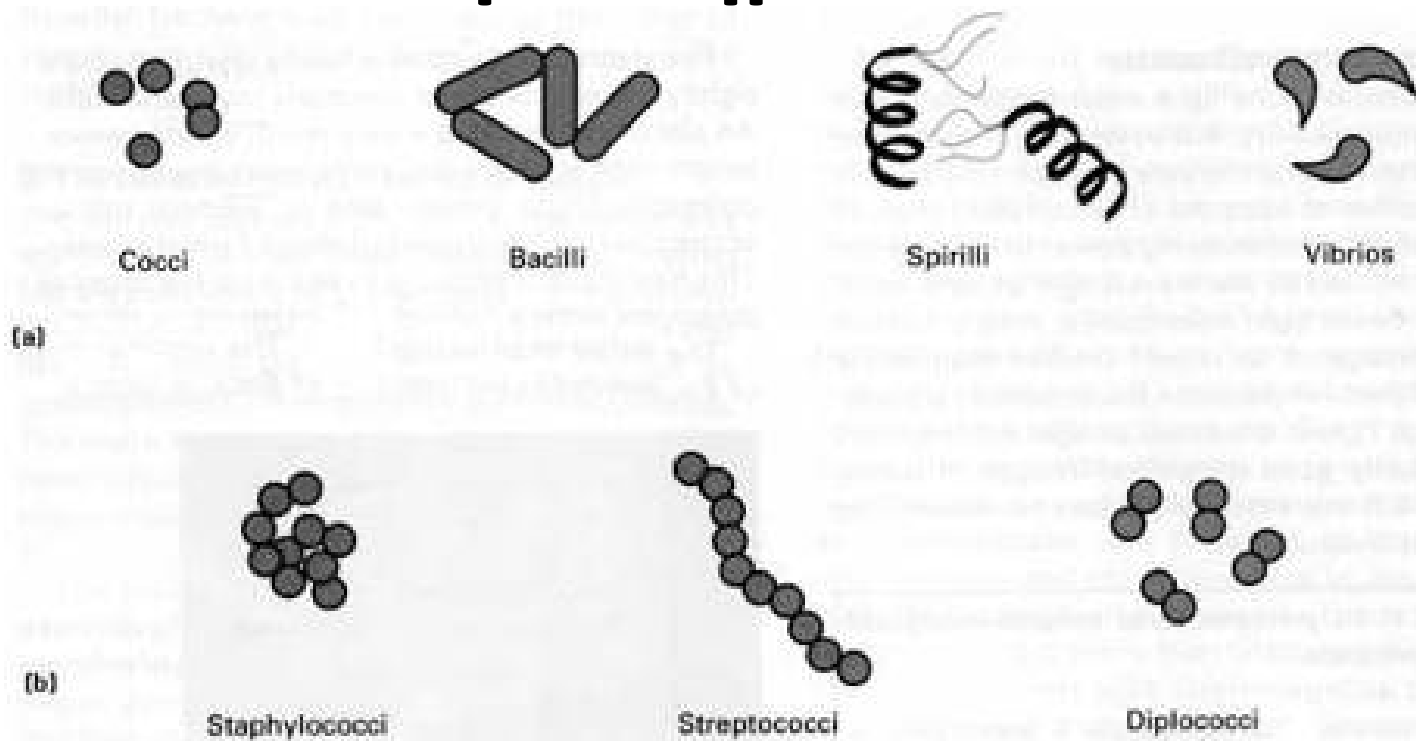
- Είναι οι πιο απλοί στη μορφολογία και οι μικρότεροι σε μέγεθος
- Η ταξινόμησή τους παρουσιάζει πολλές δυσκολίες και ταυτοποιούνται πιο δύσκολα από όλους
- Χαρακτηρίζονται από μεγάλη ποικιλομορφία και για αυτό είναι πολύ δύσκολο να περιγραφούν κανόνες για τον ορισμό των βακτηρίων
- Αποτελούν προκαρυωτικούς οργανισμούς, δηλαδή στερούνται οργανωμένου πυρήνα, είναι μονοκύτταροι και ότι κάποιοι εκπρόσωποί τους έχουν την ικανότητα να φωτοσυνθέτουν

# Μικροσκοπική παρατήρηση βακτηρίων

## Κατηγορίες βακτηρίων ανάλογα με το σχήμα τους

- **κόκκοι (cocci):** βακτήρια με σφαιρικό σχήμα κυττάρου
- **βάκιλοι (bacilli):** βακτήρια με ραβδόμορφο σχήμα κυττάρου
- **σπειρίλια (spirilli):** βακτήρια με ελικοειδές σχήμα κυττάρου
- **δονάκια (vibrios):** βακτήρια με κλίση (κάμψη) στο κύτταρό τους
- Τα ανωτέρω εμφανίζονται σε ομάδες (συσσωματώματα) από δύο ή περισσότερα βακτηριακά κύτταρα, τα οποία μπορεί να είναι σε δυάδες (διπλόκοκκοι) ή σε τετράδες (Micrococci) ή σε οκτάδες (Sarcina) ή σε αλυσίδες (Streptococci) ή σε συσσωματώματα που μοιάζουν με τσαμπί σταφύλι (Staphylococci)

# Μικροσκοπική παρατήρηση βακτηρίων



(α) Σχήματα βακτηριακών κυττάρων  
(β) Συσσωματώματα βακτηριακών κυττάρων

# Μικροσκοπική παρατήρηση βακτηρίων

- Τα περισσότερα δεν παράγουν χρωστικές και είναι ελάχιστα διαθλαστικά
- Λόγω του ότι είναι άχρωμα (εμφανίζουν ελάχιστη αντίθεση, contrast) σε σχέση με το θρεπτικό υλικό μέσα στο οποίο βρίσκονται είναι πολύ δύσκολο να γίνουν ορατά στο μικροσκόπιο, όταν δεν έχουν υποστεί κάποια χρώση
- Με τη χρώση των μ/ο επιτυγχάνεται καλύτερη διάκριση των κυττάρων σε σχέση με το φόντο τους δηλαδή το υπόστρωμα ή το νερό



# Μικροσκοπική παρατήρηση βακτηρίων

- Έτσι γίνεται δυνατή η διάκριση των διαφόρων μορφολογικών ομάδων (ανάλογα με το σχήμα, τη διάταξη, την αντίδραση της χρώσης Gram κ.τ.λ.), αλλά και η παρατήρηση ορισμένων κυτταρικών δομών όπως μαστίγια, κάψες, ενδοσπόρια κ.ά..
- Προκειμένου όμως να γίνει η χρώση των βακτηριακών κυττάρων πρέπει αυτά προηγουμένως να **ακινητοποιηθούν στην αντικειμενοφόρο πλάκα**, μια διαδικασία που είναι γνωστή ως **προσήλωση**

# Προσήλωση μικροβιακών κυττάρων

- Πριν από τη χρώση των μικροβιακών κυττάρων πρέπει να γίνει η προσήλωση, δηλαδή ακινητοποιήσή τους πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα
- Αν τα κύτταρα δεν προσηλωθούν πάνω στην πλάκα θα ξεπλυθούν και θα απομακρυνθούν από αυτήν κατά τη διάρκεια της χρώσης
- Με την προσήλωση, επίσης, επιτυγχάνεται εξάπλωση των κυττάρων πάνω στην πλάκα σε μια λεπτή στρώση που θα επιτρέψει τη μικροσκοπική παρατήρηση μεμονωμένων κυττάρων και τη διάκριση της διάταξής τους σε συσσωματώματα

# Προσήλωση μικροβιακών κυττάρων

- Για τη δημιουργία του παρασκευάσματος βακτηριακών κυττάρων αυτά εξαπλώνονται πολύ καλά πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα και ακολουθεί η προσήλωση
- Αυτή πραγματοποιείται με θέρμανση «περνώντας» αρκετές φορές την πλάκα με τα κύτταρα πάνω από τη φλόγα του λύχνου Bunsen
- Η θέρμανση προκαλεί θρόμβωση των μικροβιακών πρωτεϊνών και τα κύτταρα «κολλάνε» πάνω στην πλάκα (η προσήλωση των κυττάρων οδηγεί και στη θανάτωσή τους)

# Προσήλωση μικροβιακών κυττάρων από υγρή καλλιέργεια (1)

- Υπό ασηπτικές συνθήκες (χρήση του λύχνου Bunsen) μεταφέρεται με τη βοήθεια βακτηριολογικού κρίκου μια μικρή ποσότητα (2-3 σταγόνες) από τη μικροβιακή καλλιέργεια πάνω σε μία καθαρή αντικειμενοφόρο πλάκα
- Με τη βοήθεια του κρίκου γίνεται πολύ καλή εξάπλωση των κυττάρων πάνω στην πλάκα, ώστε να δημιουργηθεί ένα λεπτό στρώμα αυτών
- Η αντικειμενοφόρος πλάκα αφήνεται να στεγνώσει στον αέρα ή την κρατάμε σε αρκετή απόσταση πάνω από τη φλόγα Bunsen

# Προσήλωση μικροβιακών κυττάρων από υγρή καλλιέργεια (2)

- Όταν το παρασκεύασμα στεγνώσει, η αντικειμενοφόρος πλάκα διέρχεται 3-4 φορές πάνω από τη φλόγα μέχρι να απομακρυνθεί όλο το εναπομένον νερό και να γίνει η προσήλωση των κυττάρων
- Απαιτείται προσοχή, ώστε τα κύτταρα να μην «καούν» (πρέπει η αντικειμενοφόρος πλάκα να είναι τόσο ζεστή, ώστε να αντέχεται όταν ακουμπά στο χέρι), γιατί υπάρχει ο κίνδυνος να «σπάσουν» τα κύτταρα, οπότε να μην είναι δυνατή η μελέτη της μορφολογίας τους
- Υφίσταται, επίσης, ο κίνδυνος όταν ακολουθεί χρώση Gram, αυτή να μας δίνει εσφαλμένα αποτελέσματα

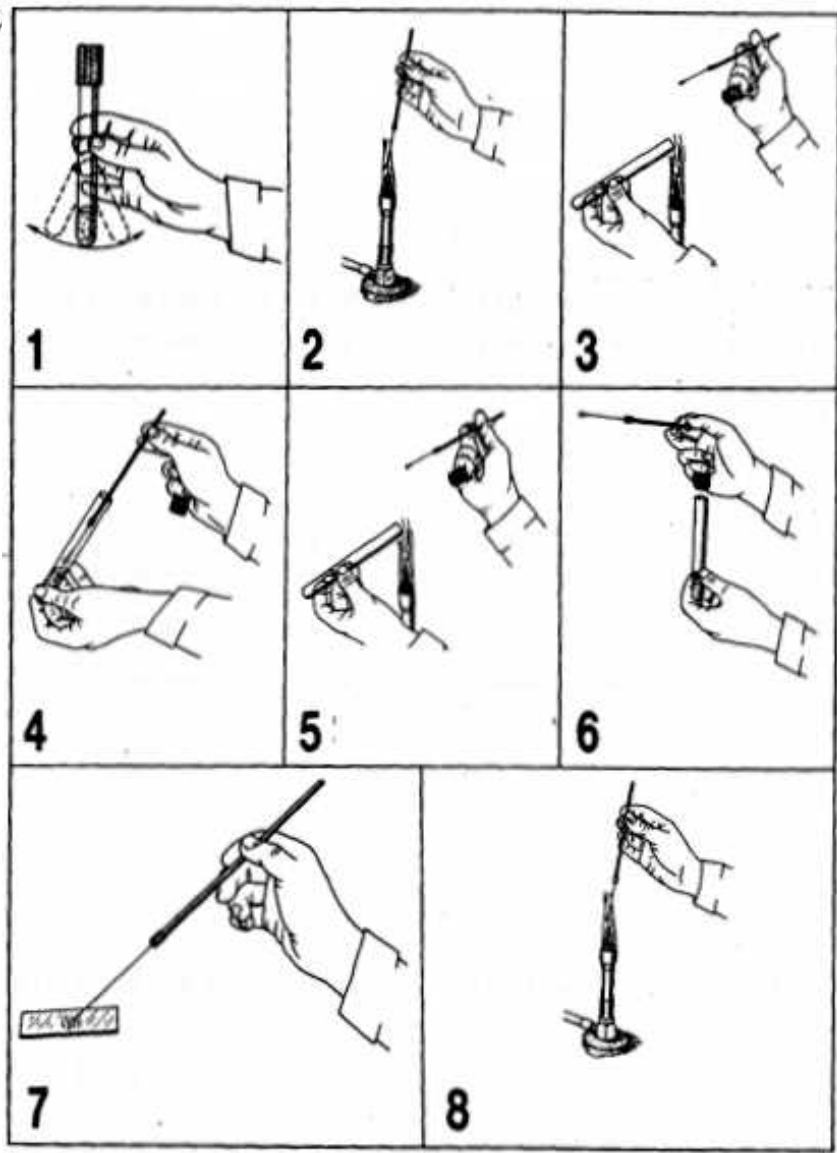
# Προσήλωση μικροβιακών κυττάρων από στερεή καλλιέργεια (1)

- Με τη βοήθεια ενός υδροβολέα ή μιας πιπέτας Pasteur τοποθετούνται 2-3 σταγόνες ύδατος πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα
- Υπό ασηπτικές συνθήκες μεταφέρεται με τη βοήθεια ενός βακτηριολογικού κρίκου μια ποσότητα μικροβιακών κυττάρων (1-2 αποικίες) από το τρυβλίο με την καλλιέργεια στο νερό που έχει τοποθετηθεί στην πλάκα και εξαπλώνονται πολύ καλά



# Προσήλωση μικροβιακών κυττάρων από στερεή καλλιέργεια (2)

- Ο κρίκος πυρακτώνεται, ώστε να θανατωθούν τα εναπομένοντα κύτταρα
- Η αντικειμενοφόρος πλάκα αφήνεται να στεγνώσει στον αέρα ή παραμένει σε αρκετή απόσταση πάνω από τη φλόγα Bunsen
- Η αντικειμενοφόρος πλάκα διέρχεται 3-4 φορές πάνω από τη φλόγα, ώστε να γίνει η προσήλωση των κυττάρων

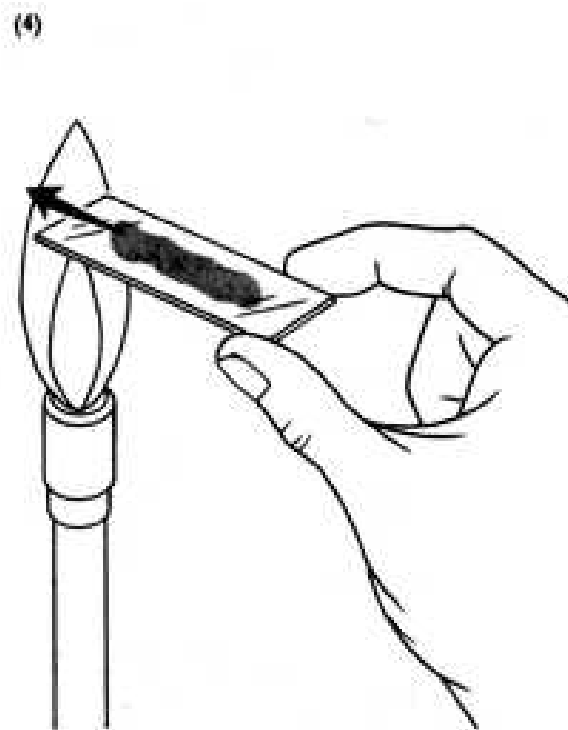
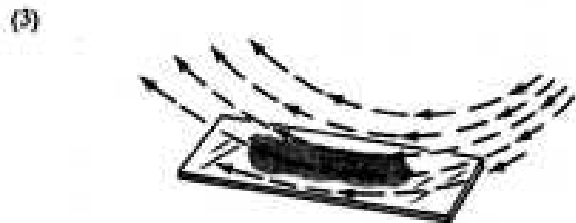
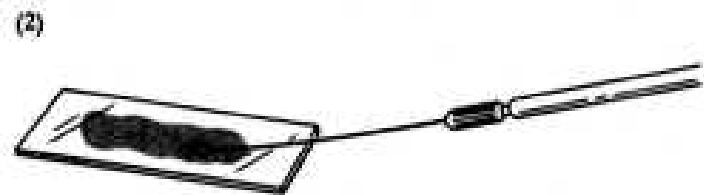
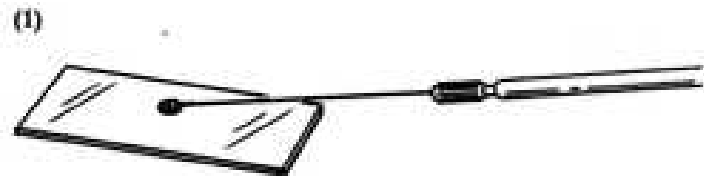


# Προσέλωση μικροβιακών κυττάρων

Ασηπτική μεταφορά (στάδια)  
μικρής ποσότητας υγρής  
μικροβιακής καλλιέργειας σε  
αντικειμενοφόρο πλάκα

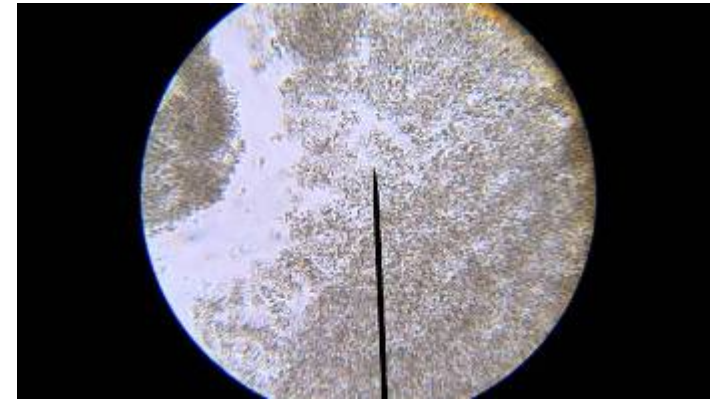
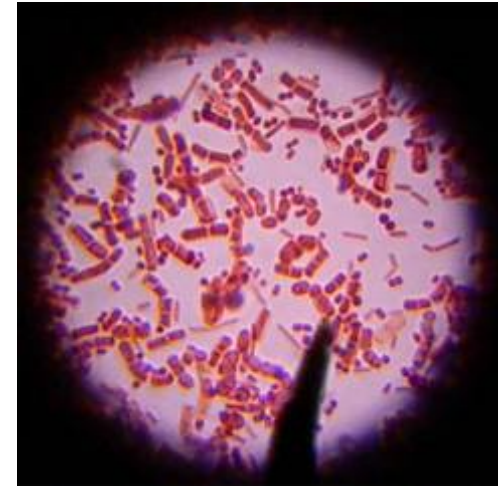
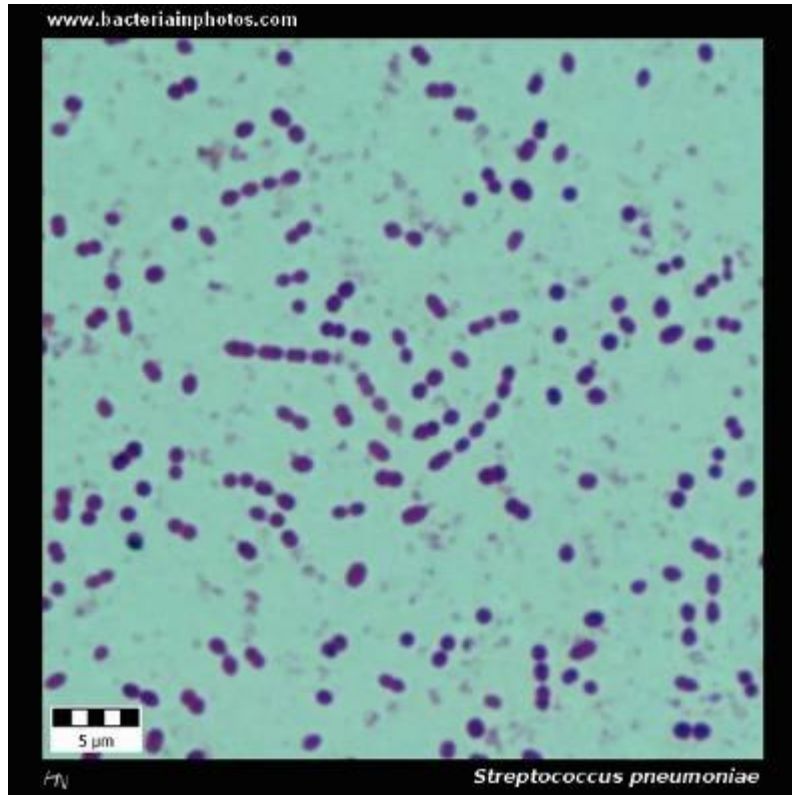


# Προσήλωση μικροβιακών κυττάρων



Εξάπλωση και προσήλωση μικροβιακών κυττάρων σε αντικειμενοφόρο πλάκα

# Μικροσκοπική παρατήρηση βακτηρίων



Παρασκευάσματα βακτηρίων στο μικροσκόπιο

# Μικροσκοπική παρατήρηση μυκήτων

- Οι **μύκητες** ανήκουν στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς
- **Κύρια χαρακτηριστικά μυκήτων:** είναι ευκαρυωτικοί, δεν φωτοσυνθέτουν, στερούνται διαφοροποίησης ιστών, έχουν κυτταρικό τοίχωμα από χιτίνη ή άλλους πολυσακχαρίτες, πολλαπλασιάζονται με σπόρια, φέρουν **υφές** (νηματοειδείς κατασκευές με ή χωρίς χωρίσματα/septa)
- Μία μάζα από πολλές διακλαδιζόμενες υφές αποτελεί το **μυκήλιο**

# Μικροσκοπική παρατήρηση μυκήτων

- Σε αντίθεση με τα βακτήρια, για τη μικροσκοπική παρατήρηση των μυκήτων δεν απαιτείται προηγούμενη προσήλωσή τους με θέρμανση, διότι λόγω του μεγαλύτερου μεγέθους των κυττάρων τους αυτά γίνονται εύκολα ορατά στο μικροσκόπιο ακόμα και χωρίς να έχουν υποστεί χρώση
- Μικροσκοπική παρατήρηση των μυκήτων γίνεται σε **νωπά παρασκευάσματα**: ποσότητα μυκηλίου λαμβάνεται με τη βοήθεια βακτηριολογικής βελόνας (υπό ασηπτικές συνθήκες) και τοποθετείται σε μία σταγόνα ύδατος ή αιθανόλης, η οποία έχει προηγουμένως τοποθετηθεί πάνω σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα

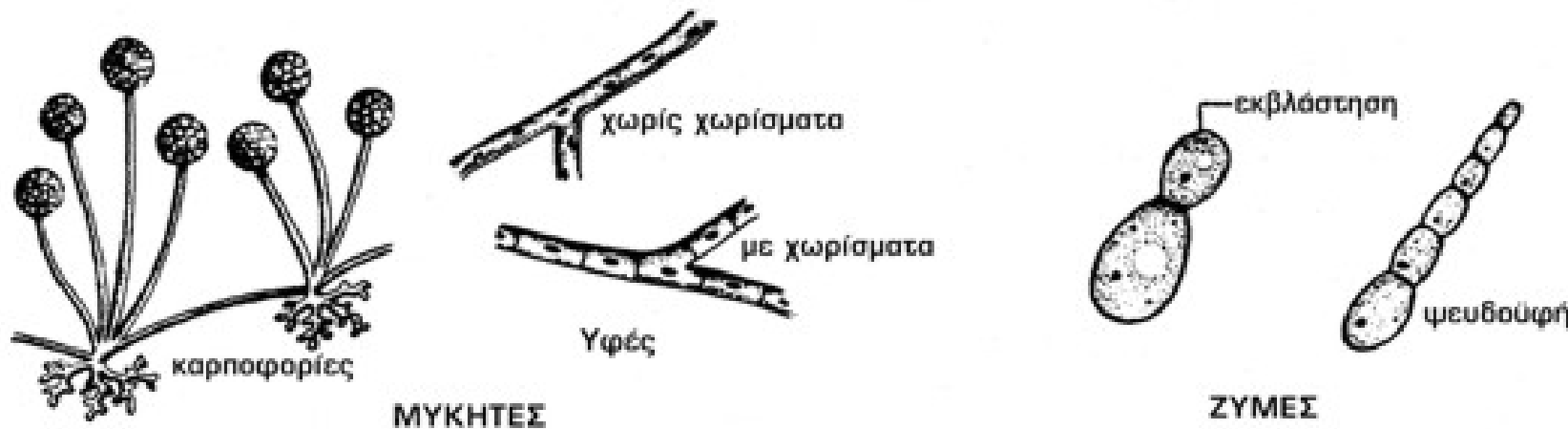
# Μικροσκοπική παρατήρηση μυκήτων

- Από πάνω τοποθετείται μία καλυπτρίδα και ακολουθεί μικροσκοπική παρατήρηση
- Στο μικροσκόπιο παρατηρούνται διάφορες υφές από το μυκήλιο του μύκητα, καθώς και σπόρια και καρποφορίες (εξειδικευμένες υφές που παράγουν τα σπόρια) που τυχόν υπάρχουν στο παρασκεύασμα
- Το σχήμα των καρποφοριών ποικίλλει στα διάφορα είδη μυκήτων και αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό για την ταξινόμησή τους
- Λόγω του μεγέθους τους, οι μύκητες γίνονται εύκολα ορατοί με τον αντικειμενικό φακό 40× και δεν είναι πάντα απαραίτητη η χρήση του ελαιοκαταδυτικού φακού (100×)

# Μικροσκοπική παρατήρηση ζυμών

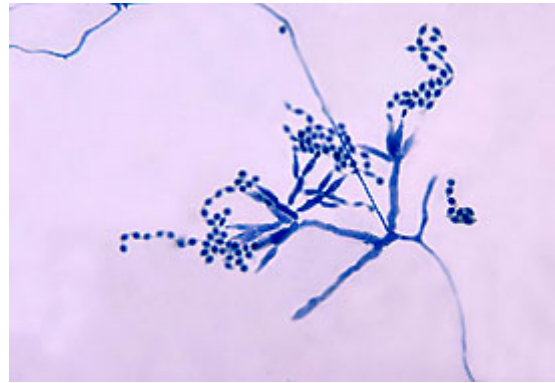
- Οι **ζύμες** είναι μονοκύτταροι μύκητες, και η εφαρμογή της χρώσης Gram σε αυτές δε δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα, λόγω του ότι ένα κύτταρο ζύμης μπορεί να εμφανιστεί δίχρωμο
- Τα κύτταρα ζύμης μπορούν να υποστούν **απλή χρώση** με κρυσταλλικό ιώδες μετά από προσήλωση σε αντικειμενοφόρο πλάκα (*βλέπε και εργαστηριακή άσκηση περί βακτηρίων*)
- Στο μικροσκόπιο τα κύτταρα ζύμης (πολύ μεγαλύτερα από αυτά των βακτηρίων) είναι χρωματισμένα μπλε, τα οποία πιθανώς να σχηματίζουν ψευδοϋφές (αλυσίδες κυττάρων) ή εκβλαστήσεις

# Μικροσκοπική παρατήρηση μυκήτων & ζυμών



Σχηματική παράσταση μυκήτων (υφές και καρποφορίες) και ζυμών

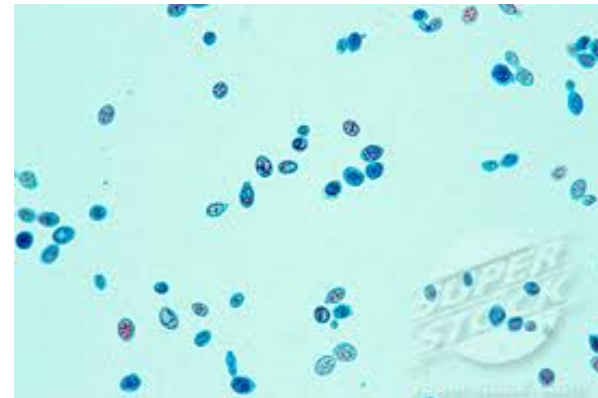
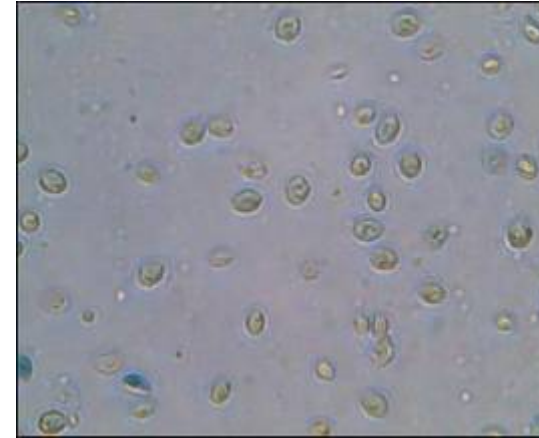
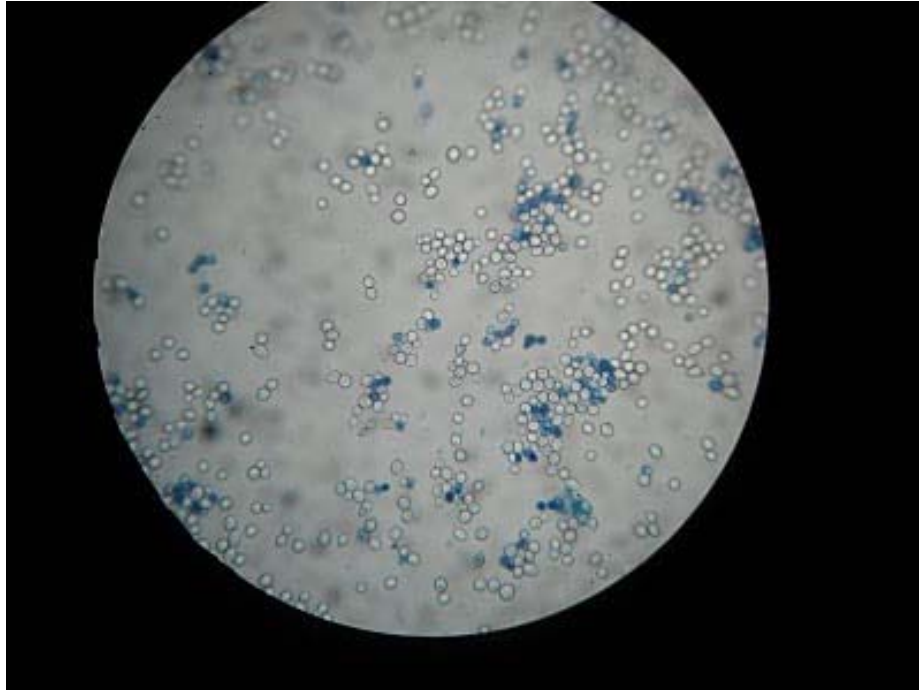
# Μικροσκοπική παρατήρηση μυκήτων & ζυμών



Παρασκευάσματα μυκήτων στο μικροσκόπιο



# Μικροσκοπική παρατήρηση ζυμών



Παρασκευάσματα ζυμών στο μικροσκόπιο



# 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. Μικροοργανισμοί.

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



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

