



Ελληνική Δημοκρατία
Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό
Ίδρυμα Ηπείρου

Γενική Φυτοπαθολογία Εργαστήριο

Ενότητα 12: Φυτοπαθολογική ιολογία

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 12: Φυτοπαθολογική ιολογία

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



ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



Φυτοπαθολογική ιολογία

Σκοποί ενότητας

- Διάκριση των φυτοπαθογόνων ειδών, που ανήκουν στους ιούς.
- Χειρισμός ιών στο εργαστήριο.

Περιεχόμενα ενότητας

- Ιοί.
- Τρόποι μετάδοσης ιών.
- Συμπτωματολογία & διάγνωση ιών.
- Κυριότερα είδη φυτοπαθογόνων ιών.



Ιοί



Ορισμός

- Υπερμικροσκοπικές μολυσματικές οντότητες νουκλεοπρωτεϊνικής φύσεως που αναπαράγεται μόνο σε ζωντανά κύτταρα οργανισμών, στους οποίους μπορεί να προκαλέσουν ασθένεια
- Ομοιότητες με τους ζωντανούς οργανισμούς
 - Μπορούν να αναπαράγονται
 - Είναι **διασυστηματικά** παθογόνα
 - Έχουν πυρηνική ουσία



Διαφορές από τους οργανισμούς

- **Νουκλεοξέα:** Οι οργανισμοί έχουν 2 (RNA & DNA), ενώ οι ιοί έχουν ένα (RNA ή DNA); οι περισσότεροι φυτοπαθογόνοι ιοί έχουν RNA και λίγοι DNA
- **Μεταβολισμός:** Οι οργανισμοί διαθέτουν εξοπλισμό για το μεταβολισμό τους, ενώ οι ιοί δεν έχουν (επομένως δεν έχουν ούτε ένζυμα)
- **Αναπαραγωγή:** Οι οργανισμοί αναπαράγονται από όλα τα σημεία του κυττάρου τους, ενώ οι ιοί αναπαράγονται μόνο ως προς το νουκλεοξύ τους



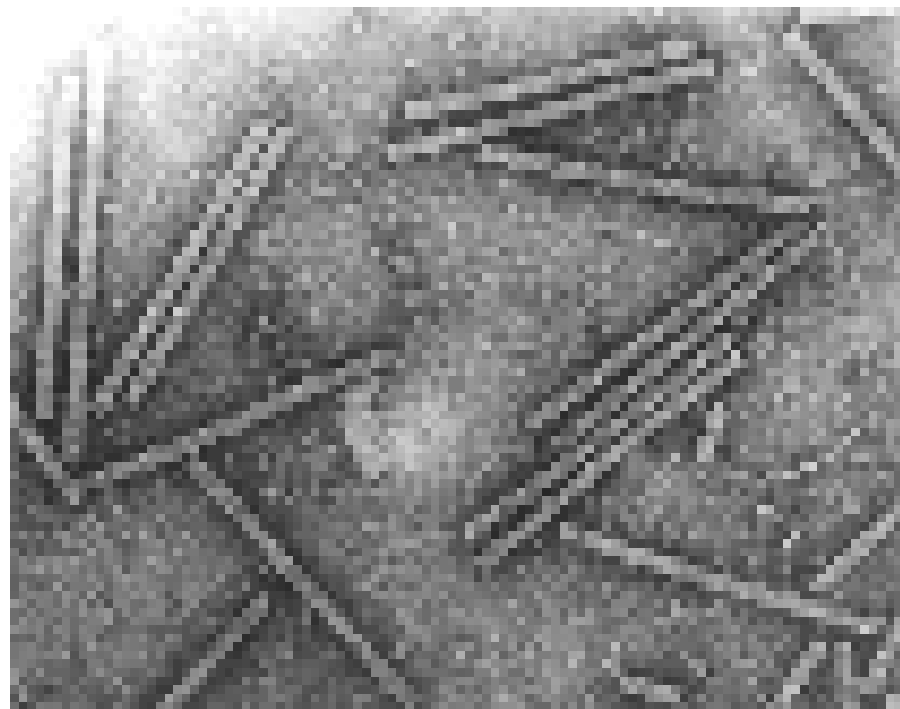
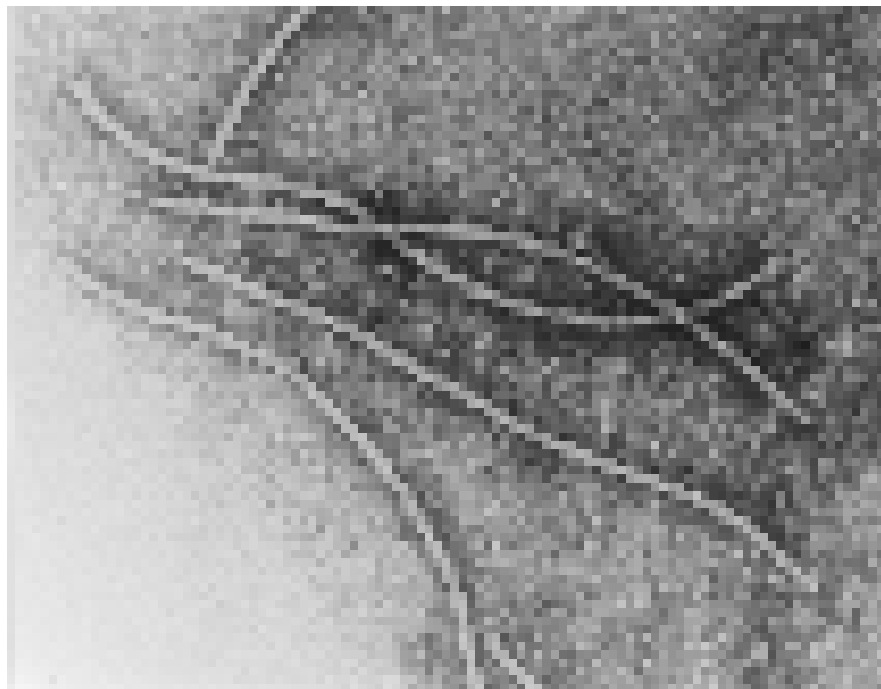
Σχήμα ιϊκών σωματιδίων

Ανισομετρικοί ιοί

- Νουκλεοξύ 5% & πρωτεΐνη 95%
- Επιμήκη, άκαμπτα (ιός του μωσαϊκού του καπνού) ή εύκαμπτα (ιοί Υ και Χ της πατάτας) ή νημάτια ή βακιλλόμορφα
- Μήκος από 60 nm (ιός του μωσαϊκού της μηδικής) μέχρι 2000 nm (ιός της τριστέσα των εσπεριδοειδών)
- Πλάτος 10-30 nm
- **TMV**: Ραβδοειδές τεμαχίδιο 15 x 300 nm

Ανισομετρικοί ιοί

PVY (x300.000)



TMV (x300.000)



Σχήμα ιϊκών σωματιδίων

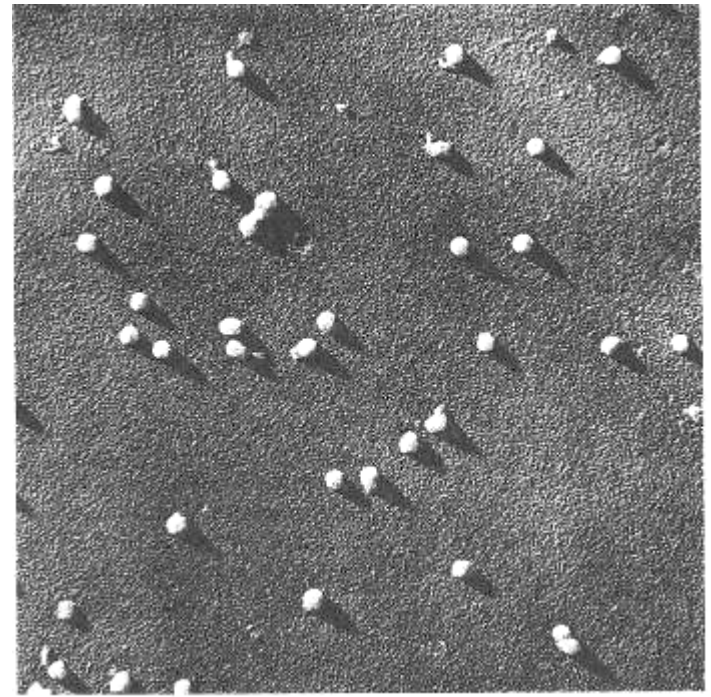
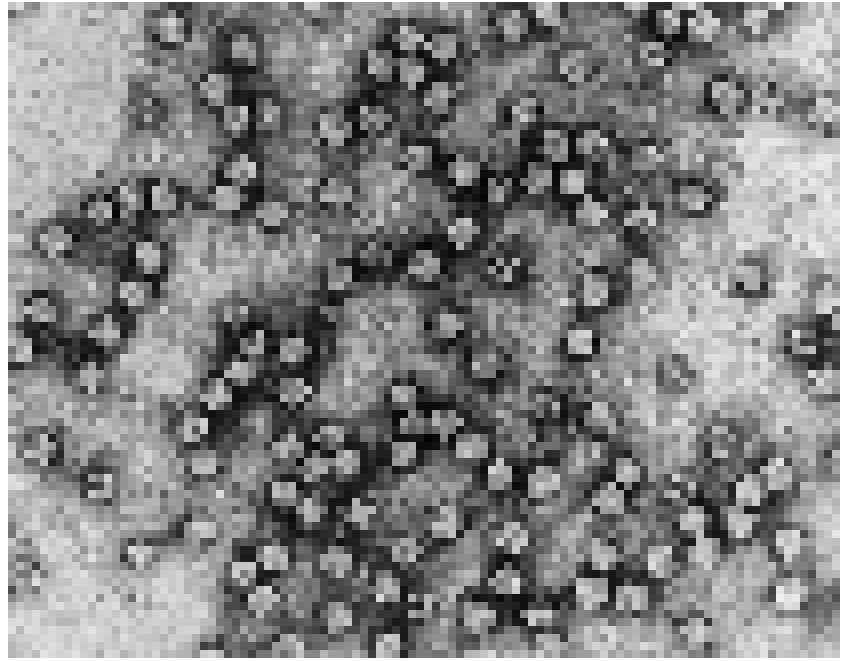
Ισομετρικοί ιοί

- Νουκλεοξύ 17-40% & υπόλοιπο πρωτεΐνη
- Σωματίδια σφαιρικά (εικοσαεδρικά)
- Διάμετρος από **15-80 nm** (ιός της δακτυλιωτής κηλίδωσης της τομάτας 60-80 nm)



Ισομετρικοί ιοί

TBSV (x150.000)



TSWV



Ιοειδή (virions)

Έχουν μόνο μικρού μοριακού βάρους
μολυσματικό RNA



Πολλαπλασιασμός των ιών

- Με μεγάλη ταχύτητα μέσα στα κύτταρα του ξενιστή τους με τη βοήθεια του μηχανισμού των κυττάρων του ξενιστή
- Είσοδος του ιού στο κύτταρο μέσω των πλασμοδεσμάτων
- Αποβάλλει το πρωτεϊνικό περίβλημα
- Ο μηχανισμός του κυττάρου του ξενιστή παράγει το ένζυμο ρεπλικάση-RNA
- Το ένζυμο χρησιμοποιεί την αλυσίδα του νουκλεοξέος του ιού ως πρότυπο (καλούπι) και την αναπαράγει
- Με όμοια διαδικασία γίνεται ταυτόχρονα και η αναπαραγωγή της πρωτεΐνης του ιού
- Συνδυασμός πρωτεϊνών & νουκλεοξέων και σχηματισμός νέων σωματιδίων



Συσσώρευση σωματιδίων στο κύτταρο

- **Παράδειγμα:** σε κύτταρο τρίχας του καπνού μετρήθηκαν ~60 εκατομμύρια σωματιδίων TMV
- Ακολουθεί διάλυση του κυττάρου, απελευθέρωση των ιολογικών σωματιδίων
- Μετακίνηση ιολογικών σωματιδίων σε άλλα σημεία του φυτού ή είσοδος σε γειτονικά κύτταρα



Έγκλειστα

- Χαρακτηριστικά ενδοκυτταρικά σωματίδια άμορφα ή κρυσταλλικά
- Αποτελούνται από ιολογικά σωματίδια ή/και άλλα προϊόντα γονιδιώματος του ιού ή/και από τροποποιημένα κυτταρικά συστατικά
- Εμφανίζονται σε πολλές περιπτώσεις ιολογικών προσβολών
- Ορατά πολλές φορές και με κοινό μικροσκόπιο



Αδρανοποίηση ιού

- Απώλεια της μολυσματικής ικανότητάς του (*αντί του όρου νέκρωση*)
- Σε κατάσταση κατάψυξης, οι ιοί δεν χάνουν τη μολυσματική ικανότητά τους



Ονοματολογία ιών & ιολογικών ασθενειών

- Έχουν προταθεί διάφοροι κανόνες για τον τρόπο ονομασίας τους
- Έχει επικρατήσει να χρησιμοποιούνται συνήθως ονομασίες στην **αγγλική**
- Περιέχουν κατά σειρά
 - Το όνομα του κύριου ξενιστή
 - Το κύριο σύμπτωμα της ασθένειας
 - Τη λέξη virus (ιός)



Παραδείγματα ονοματολογίας ιών & ιολογικών ασθενειών

- **Tobacco Mosaic Virus (TMV)**: Ιός του μωσαϊκού του καπνού
- **Tomato Mosaic Virus (ToMV)**: Ιός του μωσαϊκού της τομάτας
- **Potato Leaf Roll Virus (PLRV)**: Ιός του καρουλιάσματος της πατάτας



Κρυπτόγραμμα ιών

- Κώδικας γραμμάτων και αριθμών που περιλαμβάνει περιληπτικά τις κυριότερες ιδιότητες ενός ιού
- Περιλαμβάνει 4 ζεύγη συμβόλων
 - **1ο ζεύγος:** Τύπος νουκλεϊνικού οξέος/αριθμός νημάτων του οξέος (απλής ή διπλής αλυσίδας)
 - **2ο ζεύγος:** Μοριακό βάρος του οξέος σε εκατομμύρια/ποσοστό % του νουκλεοξέος
 - **3ο ζεύγος:** Περίγραμμα του σωματιδίου/περίγραμμα του καψιδίου
 - **4ο ζεύγος:** Είδος ξενιστή/είδος φορέα



Παράδειγμα κρυπτογράμματος ιών

- **TMV:** $R/1 : 2/5 : E/E : S/O$
- Σημαίνει
 - **R/1:** έχει RNA απλής αλυσίδας
 - **2/5:** μοριακό βάρος του νουκλεοξέος 2 εκατομμύρια, που αποτελεί το 5% του σωματιδίου
 - **E/E:** επίμηκες σωματίδιο και επίμηκες καψίδιο
 - **S/O:** κύριος ξενιστής σπερματοφύτο και φυσικός φορέας κανένας



Ταξινόμηση ιών

- Ομαδοποιούνται κατά ομάδες με κοινά χαρακτηριστικά
- Κάθε ομάδα αποκτά το όνομα ενός μέλους της, που έχει όλα τα τυπικά χαρακτηριστικά της ομάδας
 - **Potyviruses**: Ομάδα του ιού Υ της πατάτας
 - **Tomoviruses**: Ομάδα του ιού του μωσαϊκού του καπνού
 - **Caulimoviruses**: Ομάδα του ιού του μωσαϊκού του κουνουπιδιού

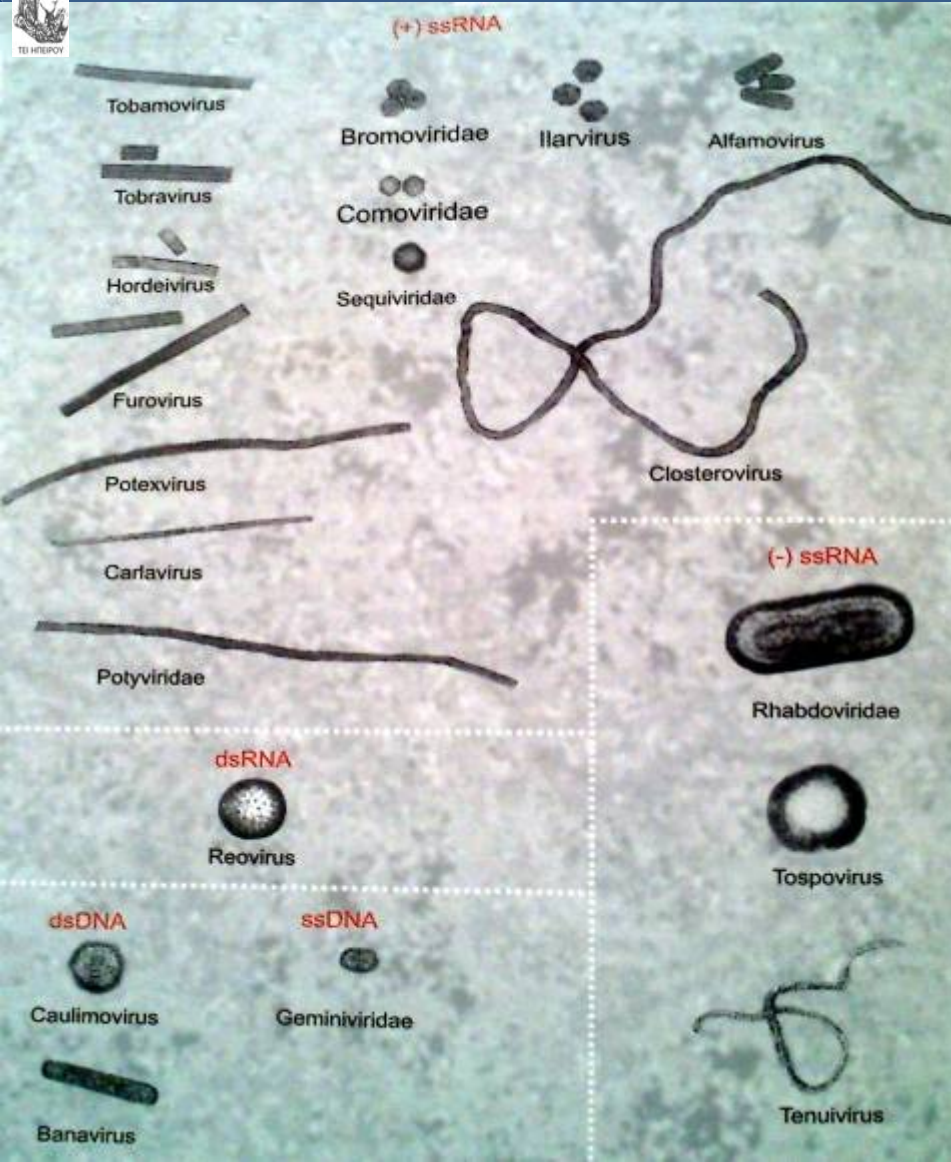


Ταξινόμηση ιών

- Ιοί αποτελούν πλέον ξεχωριστό Βασίλειο με μία μόνο Τάξη (Mononegavirales) με 10 Οικογένειες
- Από τα 44 γένη φυτικών ιών, τα 22 έχουν ενταχθεί στις 10 Οικογένειες
- Η ταξινόμηση των φυτικών ιών γίνεται ανάλογα με το σχήμα του σωματιδίου και το γονιδίωμά τους



Ταξινόμηση ιών





ssRNA (1)

- **Ραβδόμορφα (32):** με 1 σωματίδιο (Tobamovirus), με 2 σωματίδια (Tobravirus), με 2 ή 4 σωματίδια (Furovirus, μυκητομεταδιδόμενοι), με 3 σωματίδια (Hordeivirus)
- **Νηματοιδή (370):** Οικ. Potyviridae (Potyvirus, Rymovirus, Bymovirus), Οικ. Rhabdoviridae (Cytorhabdovirus, Nucleorhabdovirus), Οικ. Bunyaviridae (Tospovirus), χωρίς Οικ. (Carlavirus, PoteXvirus, Clostervirus, Capillovirus, Trichovirus, Tenuivirus)



ssRNA (2)

- **Ισοδιαμετρικά (165): με 1 σωματίδιο** [Οικ. Sequiviridae (Sequivirus, Waikavirus), Οικ. Tombusviridae (Tombusvirus, Carmovirus), χωρίς Οικ. (Necrovirus, Machimovirus, Luteovirus, Sobemovirus, Tymovirus, Marafivirus)], **με 2 σωματίδια** [Οικ. Comoviridae (Comovirus, Nepovirus, Fabavirus), χωρίς Οικ. (Dianthovirus, Enamovirus)], **με 3 σωματίδια** [Οικ. Bromoviridae (Bromovirus, Cucumovirus, Illarvirus, Alfamovirus)]



dsRNA

- **Ισοδιαμετρικά (40):** Οικ. Reoviridae (Phytoreovirus, Fijivirus, Oryzavirus), Οικ. Partiviridae (Alphacryptovirus, Betacryptovirus)



DNA

- **ssDNA (55): Δίδυμα ισοδιαμετρικά: Οικ. Geminiviridae (Geminivirus); Απλά ισοδιαμετρικά: BBTV**
- **dsDNA: ισοδιαμετρικά (Caulimovirus); Βακιλλόμορφα (Badnavirus)**



Τρόποι μετάδοσης ιών



Μετάδοση των ιών

- Οι φυτοπαθογόνοι ιοί συνήθως **δεν** μεταδίδονται με τον αέρα, το νερό ή το έδαφος
- Μεταδίδονται **παθητικά** με έναν ή περισσότερους από τους ακόλουθους τρόπους:
 - Μηχανικά (τριβή, χυμός)
 - Με τον αγενή πολλαπλασιασμό & εμβολιασμό
 - Με το σπόρο (εγγενώς)
 - Με (φυσικούς) φορείς



Μετάδοση των ιών: Μηχανικά

- Μεταφορά μολυσμένου χυμού από ασθενές σε υγιές φυτό, μέσω των μικρών ή μεγάλων πληγών
 - Στη φύση ο τρόπος αυτός είναι πρακτικά ασήμαντος
 - **Στη γεωργική πράξη είναι πολύ συχνός**, λόγω των μικρών ή μεγάλων τραυματισμών που δημιουργούνται με διάφορα μέσα (χέρια καλλιεργητών, εργαλεία, μηχανήματα κ.λπ.)
- **Με μηχανική μετάδοση γίνονται και οι μολύνσεις φυτών-δεικτών στο Εργαστήριο**, για διαγνωστικούς σκοπούς



Μετάδοση των ιών αγενής πολλαπλασιασμός

- **Αγενής πολλαπλασιασμός:** εμβολιασμοί, μοσχεύματα, παραφυάδες, κόνδυλοι, ριζώματα, κ.ά.
- Ο κυριότερος τρόπος εξάπλωσης των ιών στη γεωργική πράξη
- Όλοι οι φυτοπαθογόνοι ιοί μεταδίδονται με όλους τους τρόπους αγενούς πολλαπλασιασμού
- **Εμβολιασμός:** μετάδοση ιού μέσω μολυσμένου υποκειμένου προς το εμβόλιο και μέσω μολυσμένου εμβολίου προς το υποκείμενο



Μετάδοση των ιών: Σπόρος

- Λίγοι φυτοπαθογόνοι ιοί μεταδίδονται με το σπόρο (50 από τους 500, π.χ.: ιός μωσαϊκού αγγουριάς, μωσαϊκού φασολιάς, μωσαϊκού μαρουλιού, ιός ίκτερου ζαχαροτεύτλων)
- Ποσοστό μετάδοσης με σπόρο είναι συνήθως πολύ χαμηλό στον αγρό και εμφανίζεται κατά διάσπαρτες θέσεις
- Συνήθως τα σπέρματα ασθενών φυτών δεν περιέχουν ιολογικά σωματίδια **(το έμβρυο δεν συνδέεται με τα γειτονικά κύτταρα με πλασμοδέσματα)**
- Μερικές φορές, η μετάδοση με το σπόρο μπορεί να οφείλεται σε μεταφορά του ιού με τα εξωτερικά περιβλήματα του σπόρου (π.χ.: ιός του μωσαϊκού του καπνού σε σπέρματα τομάτας)
- Μολυσμένος σπόρος μπορεί να προκύψει και από επικονίαση υγιούς φυτού με μολυσμένη γύρη



Είδη μετάδοσης των ιών με το σπόρο

- Παρουσία του ιού στα καλύμματα των σπερμάτων (π.χ. ΤοMV των Tobamoviruses) και έτσι μόλυνση των βλαστανόντων φυταρίων με μηχανικό τρόπο
- Παρουσία του ιού στους ιστούς του εμβρύου (π.χ. Nepoviruses) και η μόλυνση επιτυγχάνεται μέσω της ωοθήκης ή της γύρεως



Μετάδοση των ιών: Φυσικοί φορείς

- **Φυσικοί φορείς:** έντομα, ακάρεα, νηματώδεις, (ψευδο)μύκητες, κουσκούτα, γύρη
- **Σημαντικότερα έντομα-φορείς:** Hemiptera (π.χ. αφίδες, ψύλλες, αλευρώδεις, κοκκοειδή) με νύσσοντος μυζητικού τύπου & Thysanoptera (θρίπες) με ξέοντος μυζητικού τύπου, στοματικά μόρια αντίστοιχα
- **Ακάρεα-φορείς:** γνωστά είναι 10 είδη (8 Eriophyidae & 2 Tetranychidae), που μεταφέρουν 13 συνολικά ιούς; Ο άνεμος συμβάλλει στη μετάδοση των ιών μιας και δύναται να παρασύρει τους φορείς τους



Μετάδοση των ιών: Φυσικοί φορείς

- **Κουσκούτα:** σπερματοφυτό/φανερόγαμο παράσιτο
- Ιοσωμάτια μεταφέρονται με το χυμό στις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες; Βλαστός κουσκούτας αποτελεί γέφυρα για τη μετάδοση του ιού σε γειτονικό συγγενές ή μη φυτό, στο οποίο το παράσιτο θα αποστείλει μυζητήρες
- Κουσκούτα καθώς απλώνει μυζητήρες και διεισδύει στους βλαστούς του ξενιστή, οι δεσμίδες της ενώνονται με εκείνες του ξενιστή και έτσι παραλαμβάνεται παθητικώς χυμός και συγχρόνως ιικά σωματίδια



Μετάδοση των ιών: Φυσικοί φορείς

- **Νηματώδεις-φορείς:** Εκτοπαρασιτικοί της Τάξης Dorylaemida με 3 γένη (*Xiphinema*, *Longidorus*, *Trichodorus*) μεταφέρουν Nepoviruses & Tobraviruses
- Προνύμφες & Άρρενες νηματώδεις μεταδίδουν ιούς καθώς τρέφονται στις ρίζες μολυσμένων φυτών και εν συνεχεία σε ρίζες υγιών φυτών, όπου μετακινούνται
- Σκευάσματα εμπορίου περιλαμβάνουν είδη-φορείς ιών: NEPO (NEmatoda+POlyhedric) & NETU (NEmatoda+TUbular) (ραβδοειδή)



Μετάδοση των ιών: Φυσικοί φορείς

- **Ψευδομύκητες-φορείς:** ορισμένοι μύκητες, που δεν έχουν κυτταρικό τοίχωμα (π.χ. μυξομύκητες, ή ζωοσπόρια των μαστιγομυκήτων)
- Πρωτόζωα *Olpidium*, *Polymyxa* & *Spongospora* μεταδίδουν τουλάχιστον 15 φυτοϊούς και η σχέση είναι εξειδικευμένη, γιατί τα ζωοσπόρια ενός είδους ψευδομύκητα μεταδίδουν μόνο ένα ιό (εξαίρεση: *Olpidium brassicae*, που μεταδίδει 4 ιούς)
- Τα ζωοσπόρια έχουν τα ιοσωμάτια στο εσωτερικό τους ή στην εξωτερική τους επιφάνεια και τα ζωοσπόρια που διεισδύουν στα ζωντανά κύτταρα της ρίζας του ξενιστή απελευθερώνουν τα ιοσωμάτια, τα οποία στη συνέχεια πολλαπλασιάζονται και μετακινούνται σε όλο το φυτό
- ***Olpidium brassicae*:** μεταδίδει τον ιό των λευκών νεύρων του μαρουλιού; ***Spongospora subterranea*:** μεταδίδει τον ιό top-top της πατάτας; ***Polymyxa graminis*:** μεταδίδει τον ιόν του μωσαϊκού των σιτηρών



Μετάδοση των ιών: Φυσικοί φορείς

- **Έντομα:** Η πλέον συνηθισμένη μετάδοση ιών στη φύση
- Κυρίως με αφίδες, τζιτζικάκια, αλευρώδεις & θρίπες, που διαθέτουν στοματικά μόρια νύσσοντος & ξέοντος μυζητικού τύπου
- Coleoptera & Orthoptera φέρουν μασσητικού τύπου στοματικά μόρια
- Μυζητικά έντομα άλλοτε φέρουν τον ιό μόνο στα στοματικά τους όργανα (προβοσκίδα, στυλέτο) και άρα πρόκειται για **μη-έμμονο** ιό; Άλλοτε συγκεντρώνουν και διατηρούν τον ιό στο εσωτερικό τους και άρα πρόκειται για **έμμονο** ιό
- Έμμονοι ιοί που πολλαπλασιάζονται εντός του εντόμου λέγονται και **πολλαπλασιαστικοί**



Μετάδοση των ιών: Φυσικοί φορείς

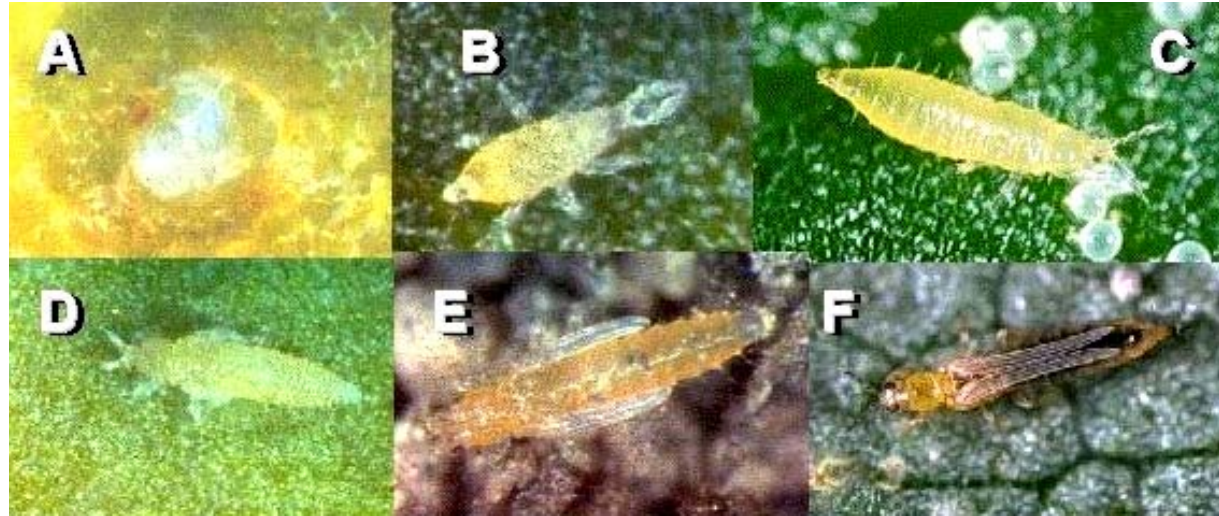
- Homoptera: Aphididae (190 είδη αφίδων μεταδίδουν 160 ιούς); Aleurodidae (2 γένη μεταδίδουν 17 ιούς); Coccidae & Pseudococcidae (3 γένη μεταδίδουν 4 ιούς)
- Auchenorrhyncha Homoptera: Cicadellidae, Membracidae & Delphacidae (52 είδη τζιτζικάκια μεταδίδουν 45 ιούς)
- Hemiptera: Pentatomidae
- Thysanoptera: Thripidae (3 γένη θριπών μεταδίδουν 1 ιό)
- Coleoptera: Phyllotreta, Phaenon, Acalymna, Diabrotica (αυτά τα 4 γένη μεταδίδουν 6 ιούς)
- Orthoptera (ακρίδες)

Έντομα

Μετάδοση των ιών: Φυσικοί φορείς



Πράσινη αφίδα



Στάδια ανάπτυξης θρίπα

Έντομα



Σχέσεις ιού & φορέα-εντόμου (1)

- Μερικά έντομα μπορούν να μεταδώσουν διάφορους ιούς και μεταξύ διαφορετικών ξενιστών (π.χ.: *Myzus persicae*, η πράσινη αφίδα της ροδακινιάς), ενώ άλλα έντομα μεταδίδουν ένα μόνο ιό (π.χ.: ημίπτερο *Piesma quadratum* είναι φορέας μόνο του ιού του καρουλιάσματος των τεύτλων)
- Ορισμένοι ιοί μπορούν να μεταδοθούν από περισσότερα του ενός είδη εντόμων (π.χ. ο ιός του κίτρινου μωσαϊκού του κρεμμυδιού μεταδίδεται με περισσότερους από 60 φορείς)
- Άλλοι ιοί, μεταδίδονται από ένα μόνο γένος εντόμων (π.χ. ο ιός του κίτρινου μωσαϊκού της πατάτας μεταδίδεται μόνο με έντομα του γένους *Agalia*)



Σχέσεις ιού & φορέα-εντόμου (2)

- Διάκριση ιών ανάλογα με το χρόνο παραμονής τους σε μολυσματική κατάσταση εντός του φορέα-εντόμου: **έμμονους, μη-έμμονους, ημιέμμονους**
- **Χρόνος βόσκησης ή διατροφής ή πρόληψης:** χρονικό διάστημα που το έντομο πρέπει να «τραφεί» από το μολυσμένο φυτό, ώστε να καταστεί ικανό να μεταδώσει τα ιοσωμάτια
- **Χρόνος επώασης:** το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από την πρόσληψη-διατροφή μέχρι και τη μετάδοση που είναι απαραίτητο να παρέλθει, για να επιτευχθεί αυτή η μετάδοση; Εξαρτάται από το χρόνο που απαιτείται για να περάσουν τα ιοσωμάτια τα τοιχώματα του πεπτικού σωλήνα του εντόμου, να εισέλθουν στο κυκλοφορικό σύστημα και να φθάσουν στους σιελογόνους αδένες



Σχέσεις ιού & φορέα-εντόμου (3)

Μη-έμμονοι

- Χρόνος “βόσκησης”, πρόσληψης και μετάδοσης του ιού είναι σύντομος (δεν υπάρχει λανθάνουσα περίοδος), ήτοι μερικά sec-min
- Δεν παραμένουν για πολύ στο φορέα τους (min-hrs); μεταδίδονται για λίγες μόνο ώρες μετά τη λήψη τους από το ασθενές φυτό

Ημιέμμονοι

- Παραμένουν και μπορούν να μεταδοθούν για μεγαλύτερο χρόνο από τους μη-έμμορους (1-4 ημέρες)
- Ο χρόνος αυτός εξαρτάται από το χρόνο βόσκησης-πρόσληψης (αρκετά min ή hrs) στο ασθενές φυτό και το χρόνο βόσκησης-μετάδοσης στο υγιές



Σχέσεις ιού & φορέα-εντόμου (4)

Έμμονοι

- Όταν ο ιός πρέπει να περάσει αρκετό χρονικό διάστημα μέσα στο έντομο-φορέα του, ώστε να καταστεί αυτός ικανός να τον μεταδώσει
- Το έντομο πρέπει να «βοσκήσει» από ένα μολυσμένο φυτό για αρκετή ώρα (αρκετά min ή μερικές hrs), για να μπορεί να τον μεταδώσει
- Το έντομο διατηρεί την ικανότητα μετάδοσης των έμμονων ιών για μεγάλο χρονικό διάστημα και συνήθως για τη διάρκεια της ζωής του



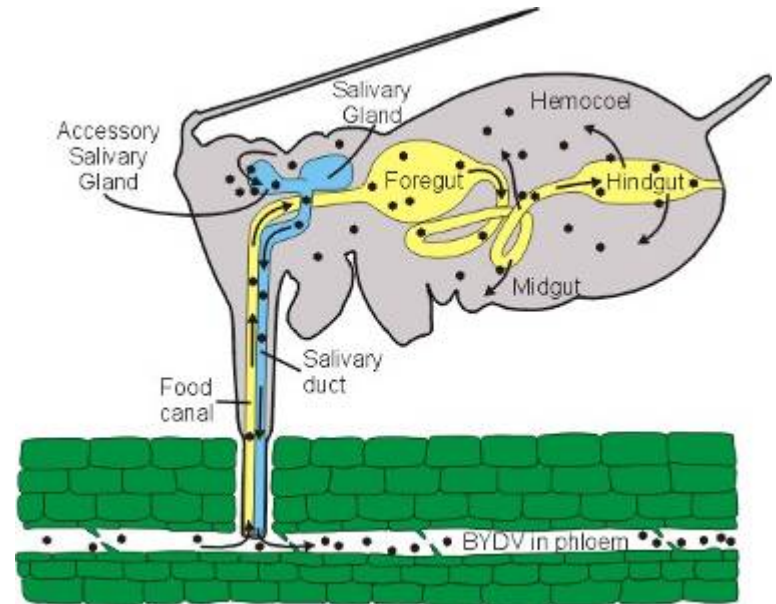
Σχέσεις ιού & φορέα-εντόμου (5)

- Τα χαρακτηριστικά του έμμου ή μη δεν οφείλονται στο φορέα, αλλά αποκλειστικά στον ιό
- Ένα έντομο μπορεί να μεταφέρει και μεταδίδει ιούς και των 3 κατηγοριών



Σχέσεις ιού & φορέα-εντόμου (6)

- **Αφίδες** μεταδίδουν μη-έμμονους κυρίως ιούς με το στυλέτο τους (δεν εξαιρείται να μεταδώσουν και έμμονους)
- Αρκούν μερικά sec για να βυθίσουν το στυλέτο τους στο μολυσμένο φυτό και να τραφούν, να καταστούν ικανές (λίγα λεπτά έως λίγες ώρες) και να μεταδώσουν τον ιό αμέσως μετά σε υγιή φυτά
- Ιός είναι δεσμευμένος στον οισοφάγο της αφίδας και ελευθερώνεται στο φυτικό κύτταρο κατά τη διάρκεια της απομύζησης των φυτικών χυμών



- Ιός δεν μεταφέρεται στις αφίδες κατά την έκδυση ή στα ώα της



Σχέσεις ιού & φορέα-εντόμου (7)

- **Έμμονοι** ιοί δεν μεταδίδονται στη φύση κατά κανόνα μηχανικά, γιατί η διατροφή του εντόμου απαιτεί απευθείας εισαγωγή του στυλέτου τους στη βίβλο του φυτού
- Οι **μη-έμμονοι** ιοί μεταδίδονται εύκολα στο εργαστήριο και με μηχανικό τρόπο (δεν ισχύει πάντα και το αντίθετο, ότι οι ιοί που μεταδίδονται μηχανικά θα μεταδοθούν και εύκολα με τα έντομα)
- Ακόμα και στους πολλαπλασιαστικούς φυτοπαθογόνους ιούς, το έντομο δεν ασθενεί
- Όλα τα έντομα δεν είναι εξίσου αποτελεσματικοί φορείς κάθε ιού
- Η μετάδοση μη-έμμονων ιών είναι πιο αποτελεσματική, αν το έντομο διατηρηθεί σε νηστεία για κάποιο χρονικό διάστημα πριν τοποθετηθεί στο ωμένο φυτό, ιδίως αν αφεθεί για πολύ λίγο στο να παραλάβει τον ιό



Συμπτωματολογία & διάγνωση ιών



Μόλυνση των φυτών με ιό

- Είσοδος του ιού στο φυτικό κύτταρο επιτυγχάνεται μόνον όταν υφίσταται λύση συνεχείας του κυτταρικού τοιχώματος
- Αυτή η είσοδος (μόλυνση) γίνεται με τη βοήθεια του «φορέα» ή μέσω πληγών



Συμπτωματολογία ιολογικών ασθενειών

- Συμπτώματα τοπικά & διασυστηματικά ποικίλλουν ως προς τη(ν):
 - Φύση
 - Ένταση
 - Είδος ή/και φυλή ιού
 - Ποσότητα μολύσματος
 - Είδος και κατάσταση ξενιστή
 - Συνθήκες περιβάλλοντος



Διάκριση συμπτωμάτων ιολογικών ασθενειών

- **Εξωτερικά συμπτώματα**
 - Χρώματος (μωσαϊκό, κηλιδώσεις, διάσπαση χρώματος ανθέων)
 - Αναπτύξεως (νανισμός, παραμόρφωση)
 - Νεκρωτικά (κηλίδες, κορυφής, θάνατος φυτού)
- **Εσωτερικά συμπτώματα**
 - Αλλοιώσεις κυττάρων ή ιστών
 - Κυτοπλασματικά ή ενδοπυρηνικά κυτταρικά έγκλειστα



ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΙΩΝ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

- **Φυσικοί:** είναι τα καλλιεργούμενα και αυτοφυή φυτά
- **Πειραματικοί:** περιλαμβάνουν τα **φυτά-δείκτες** (ανίχνευση & διάγνωση ιών), **φυτά-βιοδοκιμής** (ποσοτική εκτίμηση της συγκέντρωσης & μολυσματικότητας ιών) και **φυτά-πολλαπλασιασμού** (καθορισμός & απόκτηση πυκνών καθαρών παρασκευασμάτων των ιών)



Διάγνωση ιολογικών ασθενειών

Μέθοδοι ανίχνευσης-προσδιορισμού-ταυτοποίησης φυτικών ιών

- **Βιολογικές δοκιμές:** παρατήρηση συμπτωμάτων σε φυσικούς ξενιστές και φυτά-δείκτες
- Παρατήρηση ιϊκών σωματιδίων στο **ηλεκτρονικό μικροσκόπιο**
- **Ορρολογικές μέθοδοι:** μικροκατακρήμνιση, ανοσοδιάχυση, ανοσοενζυματική δοκιμή ELISA
- **Μοριακές μέθοδοι:** μοριακός υβριδισμός, PCR, κ.λπ.



Φυτά-Δείκτες για τη μηχανική μετάδοση των ιών (1)

- **Τοπικά συμπτώματα:** Σε φυτά του *Chenopodium quinoa* εμφανίζονται τοπικά νεκρωτικές κηλίδες διαφόρων μεγεθών. Ο CMV (Cucumber mosaic virus) προκαλεί μεγάλες και ακανόνιστες κηλίδες, ενώ οι ιοί Tobamovirus προκαλούν πολύ μικρού μεγέθους κηλίδες. Παρομοίως σε φυτά καπνού, ο TRV (Tobacco rattle virus) προκαλεί ακανόνιστες κηλίδες



Φυτά-Δείκτες για τη μηχανική μετάδοση των ιών (2)

- **Διασυστηματικά συμπτώματα:** συμπτώματα μωσαϊκού εμφανίζονται σε φυτά καπνού προσβεβλημένα από CMV και σε φυτά *Nicotiana benthamiana* προσβεβλημένα από τον PPV (Plum pox virus). Νεκρώσεις στελεχών και φύλλων παρατηρούνται σε φυτά καπνού προσβεβλημένα από τον TRV
- Ορισμένοι ιοί εμφανίζουν μόνο τοπικά συμπτώματα σε κάποια φυτά-δείκτες (π.χ. ο CMV σε *C. Quinoa*) ή μόνο διασυστηματικά (π.χ. PPV σε *N. benthamiana*), ενώ άλλοι ιοί εμφανίζουν τοπικά & διασυστηματικά συμπτώματα (π.χ. ο TRV σε καπνό)



Φυτά-Δείκτες για τη

μηχανική μετάδοση των ιών (3)

control tobacco



PVY^{NTN} infected tobacco



Συμπτώματα στο
φυτό-δείκτης
*Nicotiana
benthamiana* από
τον ιό TGMV

Συμπτώματα (δεξιά) στο φυτό-δείκτης
Nicotiana tabacum από τον ιό PVY





Φυτά-Δείκτες για τη μηχανική μετάδοση των ιών (4)



Συμπτώματα στο φυτό-
δείκτης *Petunia hybrida*
από τον ιό PVY

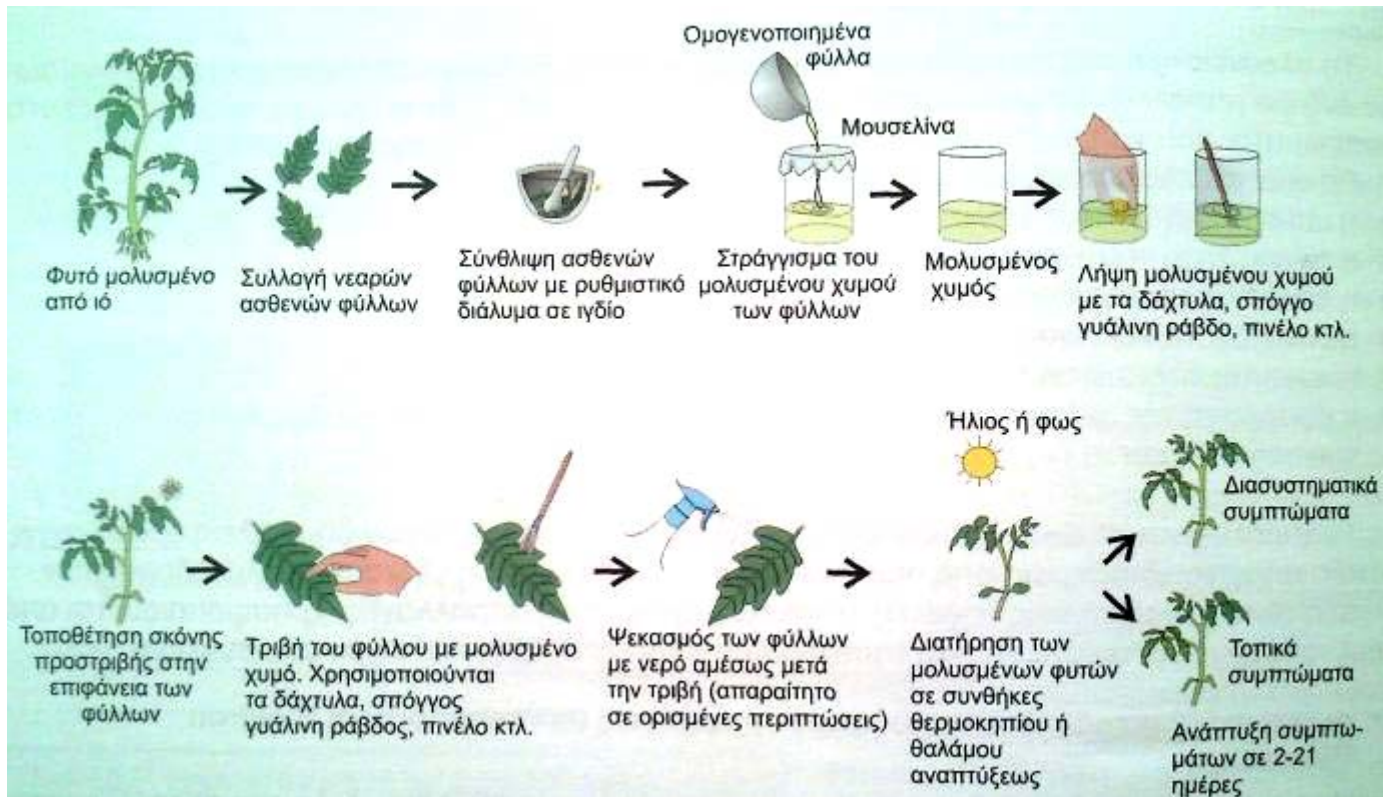


Συμπτώματα στο φυτό-
δείκτης *Chenopodium*
quinoa από τον ιό BNYVV



Φυτά-Δείκτες για τη

μηχανική μετάδοση των ιών (5)

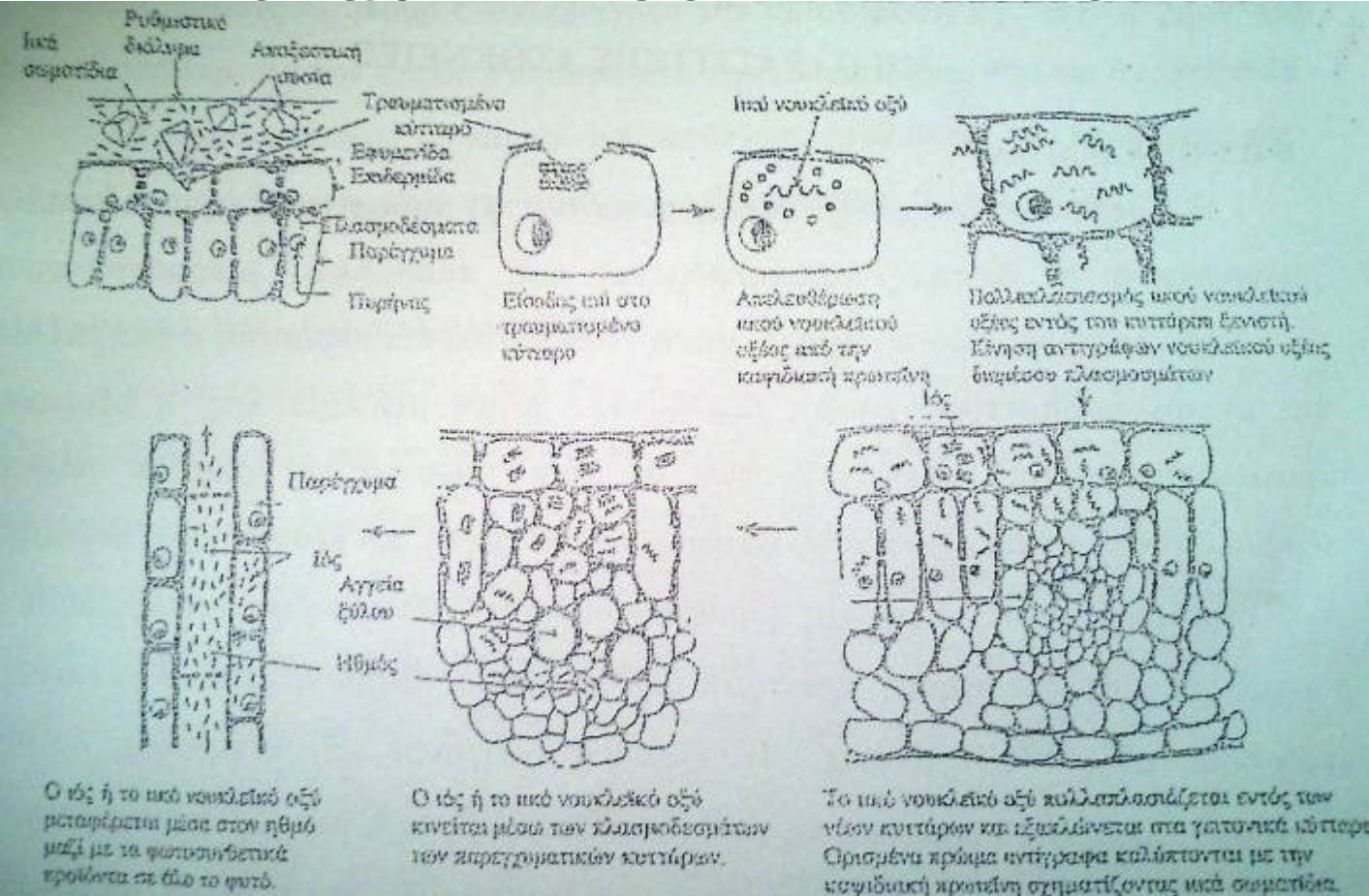


Μηχανική μόλυνση φυτών με μολυσμένο φυτικό χυμό



Φυτά-Δείκτες για τη

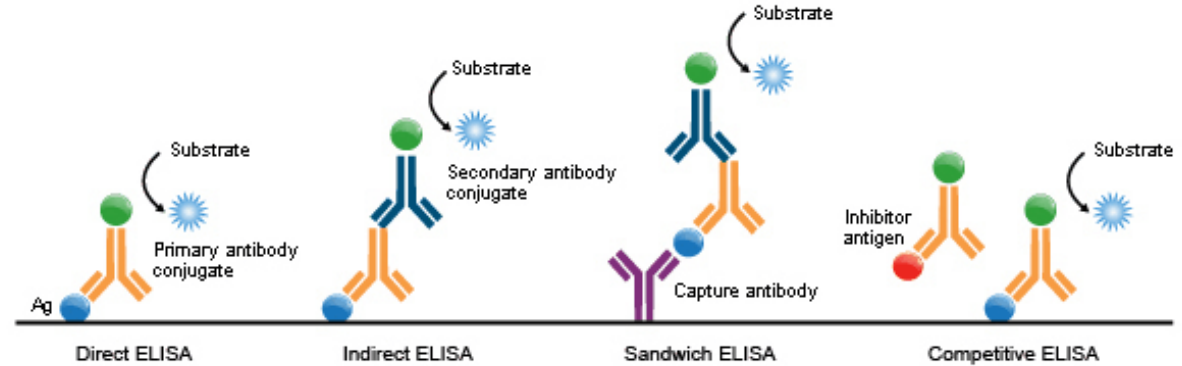
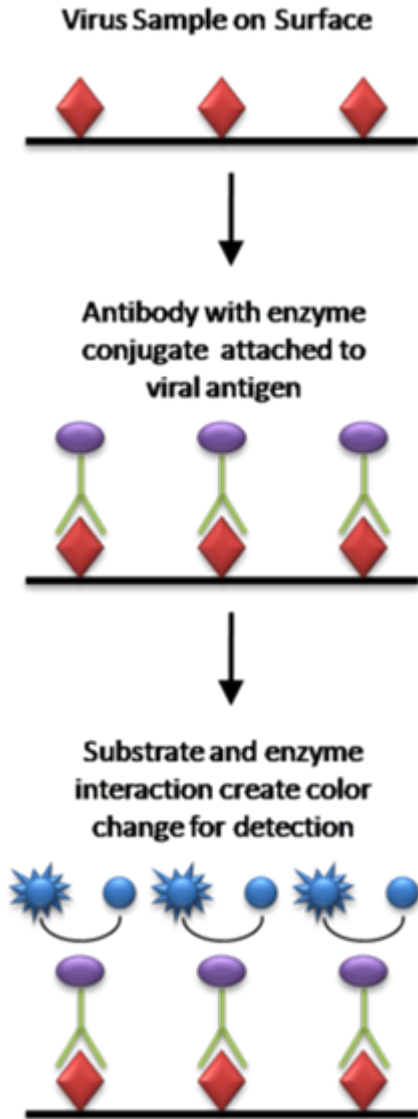
μηχανική μετάδοση των ιών (6)



**Μηχανική
μόλυνση και
αρχικά στάδια
διασυστηματικής
εξάπλωσης των
ιών στα φυτά**



Μέθοδος ELISA



elisa plate



Μέθοδος direct-ELISA

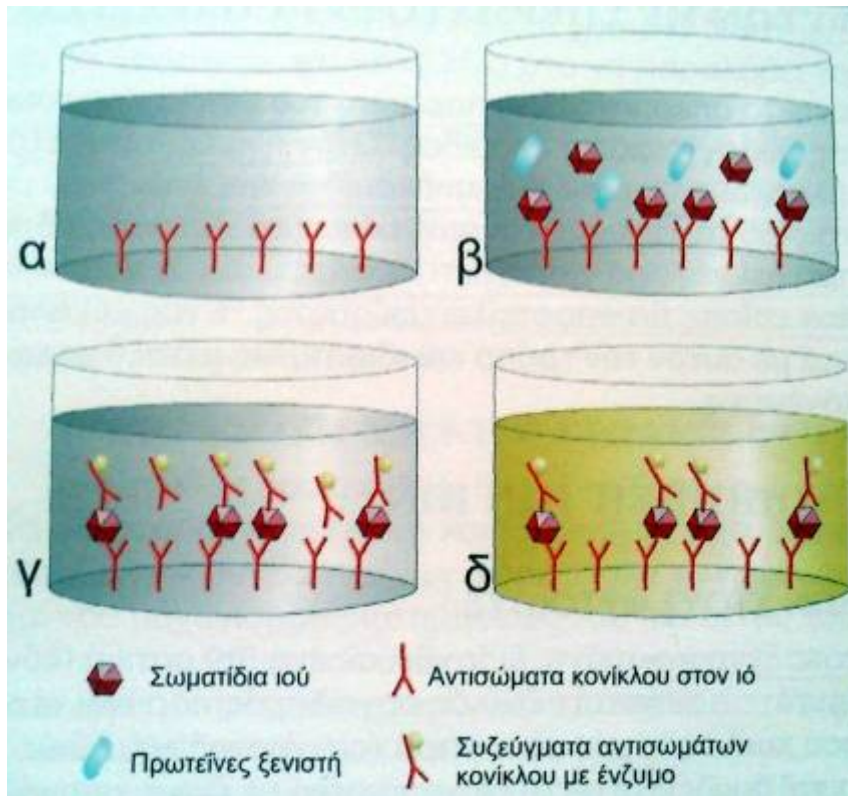
- Ευρεία χρήση για την ανίχνευση και μελέτη φυτοϊών
- Σε πηγαδάκια όγκου 0,4 mL πλάκας πολυστυρενίου τοποθετείται δείγμα 0,2 mL
- Πρόσθεση αντισωμάτων ιού και απόπλυση
- Πρόσθεση ιού μετά από ειδική προετοιμασία ή χυμό μολυσμένου φυτού και απόπλυση
- Ιικά αντισώματα, στα οποία προσκολλούνται μόρια ενός συγκεκριμένου ενζύμου και απόπλυση
- Υπόστρωμα για το ένζυμο (ουσία που διασπάται από το ένζυμο και προκαλεί μακροσκοπική αλλαγή του χρώματός του) και ανάγνωση
- Αποτελέσματα σε ~45 λεπτά με την παρουσία χρώματος να αποδεικνύεται η παρουσία ιοσωματίου; Όσο πιο έντονο το χρώμα, τόσο μεγαλύτερη συγκέντρωση ιοσωματίων στο αρχικό δείγμα



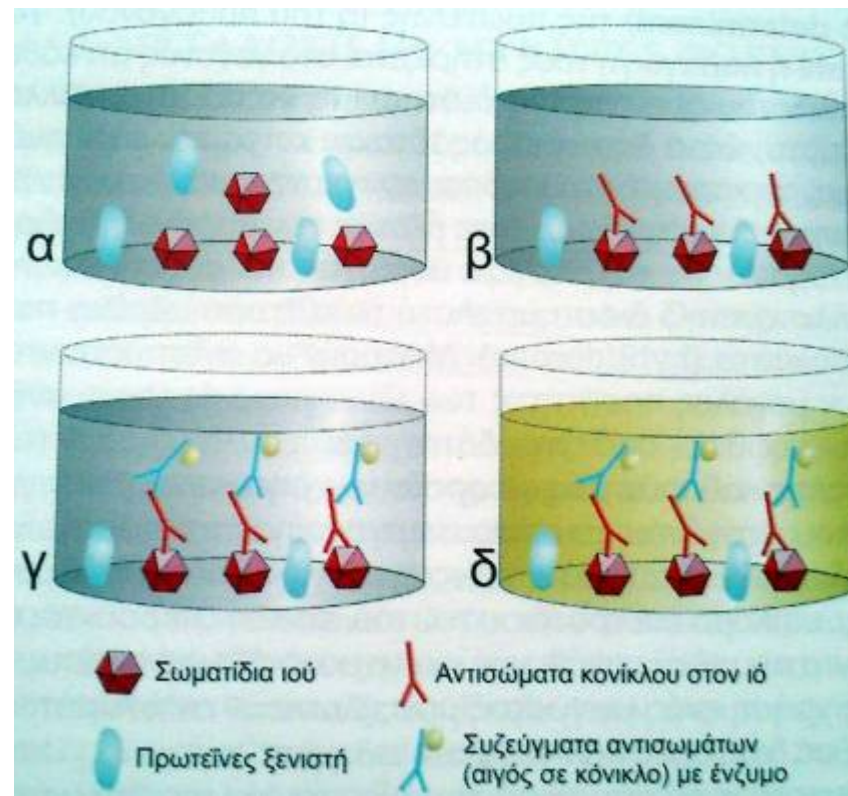
Μέθοδος indirect-ELISA

- Παραλλαγή της direct ή das elisa, κατά την οποία έχει αντιστραφεί η ακολουθία των δύο πρώτων σταδίων
- Ιός καθαρός ή σε φυτικό χυμό προστίθεται στα πηγαδάκια; Ιός και πρωτεΐνες προσκολλώνται στα τοιχώματα
- Κατά το τρίτο στάδιο, τα αντισώματα στο σύμπλεγμα αντίσωμα-ένζυμο δεν είναι εναντίον του ιού, αλλά είναι τα αντισώματα εναντίον των αντισωματικών πρωτεϊνών του ζώου, με τις οποίες έχουν παραχθεί τα ιικά αντισώματα

Μέθοδος direct-ELISA

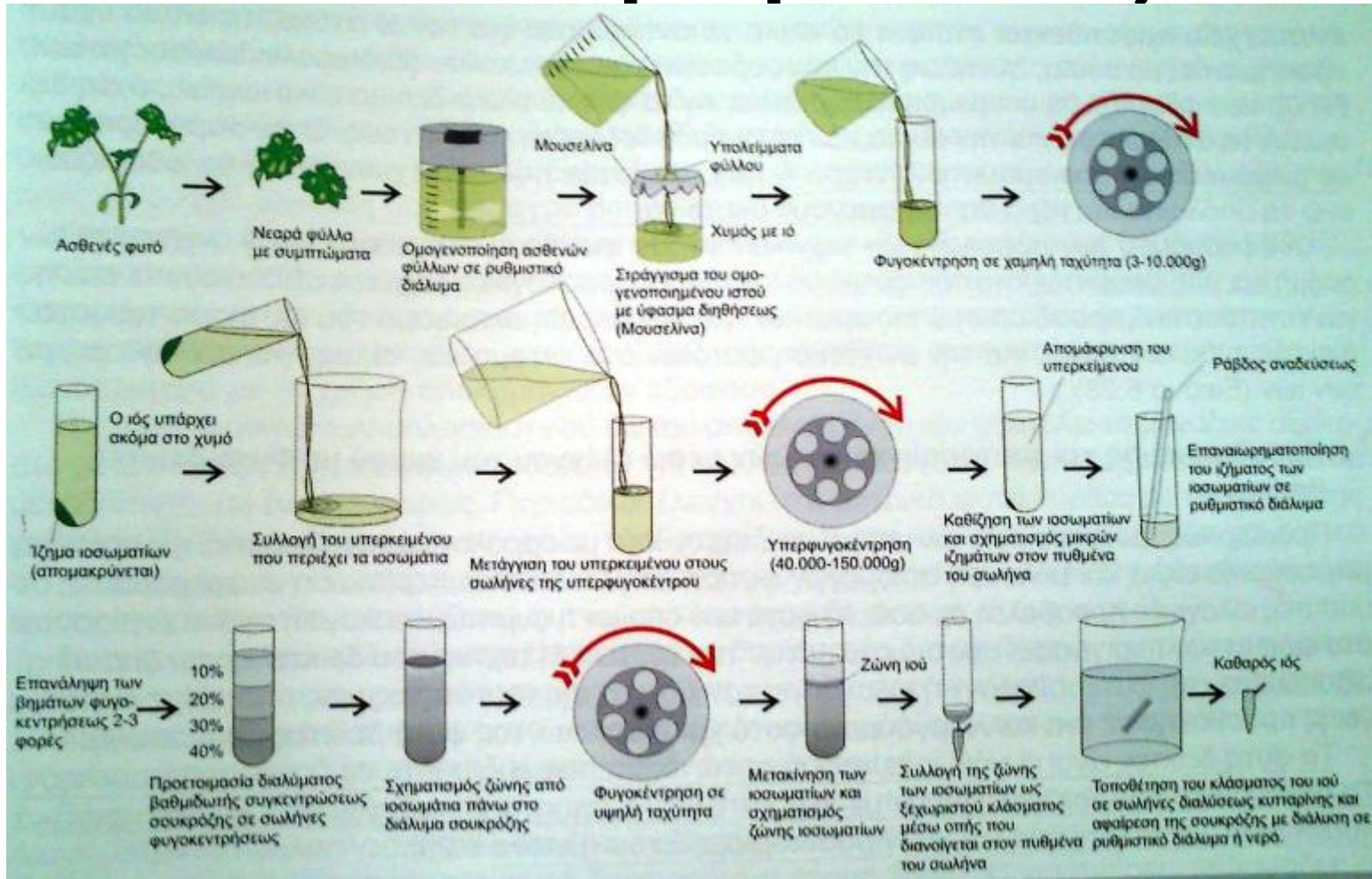


direct-ELISA



indirect-ELISA

Στάδια καθαρισμού ενός ιού





Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

Polymerase chain reaction, PCR (1)

- Εκθετική ενίσχυση (πολλαπλασιασμός) συγκεκριμένου τμήματος DNA *in vitro*
- Αυτό επιτυγχάνεται αν είναι γνωστή η αλληλουχία των δύο άκρων του προς ενίσχυση τμήματος (DNA-στόχος) χρησιμοποιώντας, παράλληλα, τους DNA-εκκινητές (primers) που είναι ολιγομερή τμήματα DNA συμπληρωματικά σε κάθε ένα άκρο του DNA-στόχος
- Η αντίδραση γίνεται με την εφαρμογή πολλών διαδοχικών κύκλων θέρμανσης και ψύξης μαζί με το θερμοάντοχο ένζυμο DNA-πολυμεράση (πολυμερίζει το DNA-στόχος)



Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης PCR (2)

Λαμβάνει χώρα σε μικροσωληνίσκο (0,5 mL), που περιέχει:

- Κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα (δημιουργία και διατήρηση κατάλληλου pH, για τη δράση του ενζύμου)
- Απαραίτητη συγκέντρωση Mg^{2+} , μετάλλου που δρα ως συμπράγοντας του ενζύμου **Taq DNA πολυμεράσης**
- Μόριο-εκμαγείο-μήτρα, που είναι το DNA που περιέχει ή αποτελεί την προς ενίσχυση αλληλουχία (DNA-στόχος)
- Τέσσερα διαφορετικά τριφωσφωρικά δεσοξυριβοζονουκλεοτίδια (dNTPs; dATP, dCTP, dGTP, dTTP), τα οποία αποτελούν το υπόστρωμα του ενζύμου (ήτοι, οι δομικοί λίθοι για το σχηματισμό της νεοσύστατης αλυσίδας DNA)



Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης PCR (3)

Λαμβάνει χώρα σε μικροσωληνίσκο (0,5 mL), που περιέχει:

- Τα μόρια εκκίνησης, ήτοι συνθετικά ολιγονουκλεοτιδικά τμήματα DNA (συνήθως μήκους 18-30 νουκλεοτιδίων) με αλληλουχία συμπληρωματική των άκρων του προς ενίσχυση στόχου
- Τη θερμοάντοχη *Taq* DNA πολυμεράση, το ένζυμο που αντιγράφει DNA σχηματίζοντας με πολυμερισμό συμπληρωματική αλυσίδα (DNA εξαρτώμενη DNA πολυμεράση)
- Η εκτέλεση της αντίδρασης γίνεται στις ειδικές συσκευές PCR (θερμοκυκλοποιητές), γιατί απαιτούνται διαδοχικοί κύκλοι εναλλαγής θερμοκρασιών



Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης PCR (4)

PCR : Polymerase Chain Reaction

Αντίδραση PCR

30 - 40 cycles of 3 steps :

Step 1 : denaturation
1 minut 94 °C

Step 2 : annealing
45 seconds 54 °C
forward and reverse primers !!!

Step 3 : extension
2 minutes 72 °C
only dNTP's

(Andy Vierstraete 1999)



**PCR
συσκευή**



Στάδια κύκλου PCR

- Τήξη ή μετουσίωση του DNA-στόχου, που επιτυγχάνεται συνήθως με θέρμανση στους 94°C για 1-3 min
- Υβριδισμός των εκκινητών στα αντίστροφα άκρα του μετουσιωμένου DNA-στόχου με πτώση της θερμοκρασίας στους $50-65^{\circ}\text{C}$ για 30-120 sec (εξαρτάται από το μήκος και τη συνάφεια των εκκινητών με το DNA-στόχο)
- Επέκταση ή πολυμερισμός των νέων μορίων στους 72°C για 30-120 sec (άριστη θερμοκρασία δράσης της πολυμεράσης)



Αντιμετώπιση ιολογικών ασθενειών

- Χρήση υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού
- Αποφυγή πηγών μόλυνσης (απομάκρυνση ασθενών φυτών, καταπολέμηση ζιζανίων)
- Καταπολέμηση φορέων
- Ανθεκτικές ποικιλίες
- Προεμβολιασμός φυτών με ήπια προστατευτικά στελέχη του ίδιου του ιού
- Καλλιέργεια μεριστωμάτων *in vitro*
- **Γενετική μηχανική:** παραγωγή διαγονιδιακών φυτών, στα οποία εκφράζονται γονίδια, που εμπλέκονται σε διάφορα στάδια του κύκλου μόλυνσης του φυτού από τον ιό και του προσδίδουν τελικά ανθεκτικότητα



Είδη φυτοπαθογόνων ιών

Οι συχνότερες παρατηρούμενες ιολογικές ασθένειες στις ελληνικές καλλιέργειες



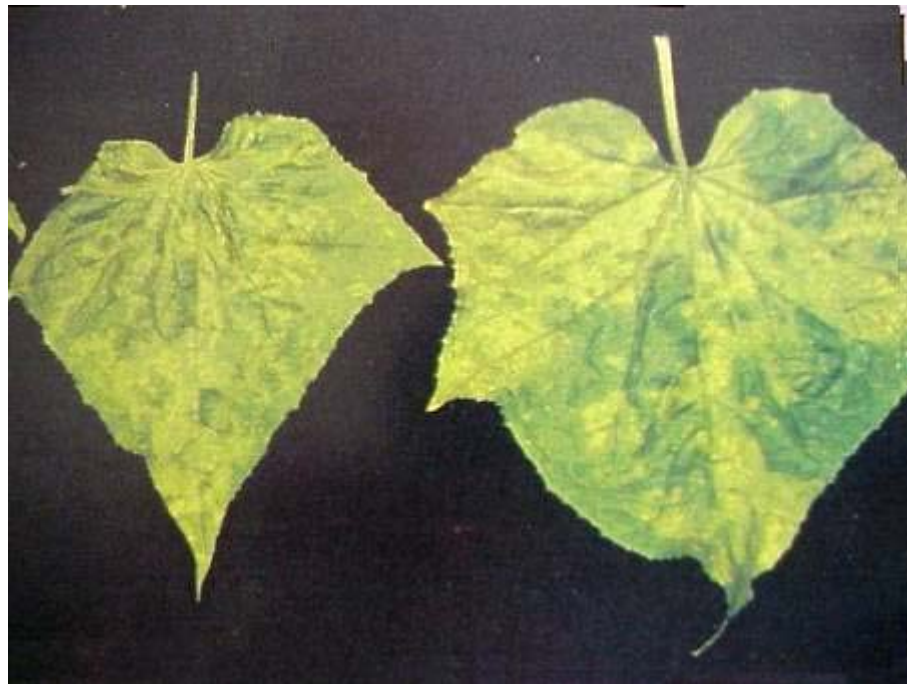
Κυριότερες ιολογικές ασθένειες

- **Tobacco Mosaic Virus (TMV)**: Μωσαϊκό του καπνού, αλλά προσβάλλει και πολλές άλλες καλλιέργειες
- **Plum Pox Virus (PPV)**: Ευλογιά ή sharka των πυρηνοκάρπων
- **Grapevine Fanleaf Virus (GFLV)**: Μολυσματικό εκφυλισμό του αμπελιού
- **Potato Leafroll Virus (PLRV)**: Καρούλιασμα της πατάτας
- **Potato Virus Y (PVY)**: Ίωση Y της πατάτας
- **Potato Virus X (PVX)**: Ίωση X της πατάτας
- **Cucumber Mosaic Virus (CMV)**: Μωσαϊκό της αγγουριάς, αλλά προσβάλλει και πολλές άλλες καλλιέργειες
- **Cirtus Psorosis Virus (CPV)**: Ψώρωση των εσπεριδοειδών
- **Citrus Impietratura Virus (CIV)**: Πέτρωμα των εσπεριδοειδών

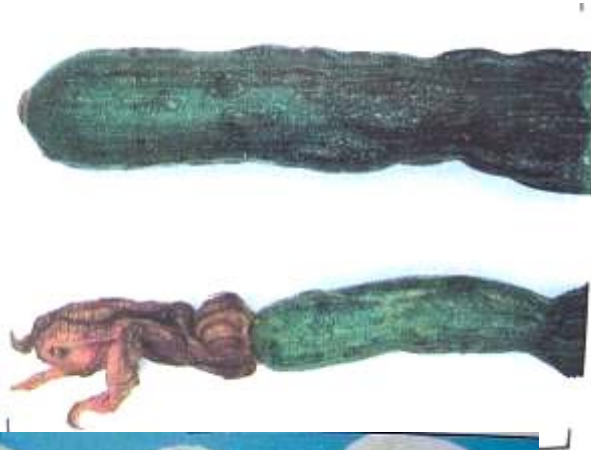
GFLV



CMV σε κολοκυθιά



CMV σε κηπευτικά



ΤΜΝ σε τομάτα





Τομάτα



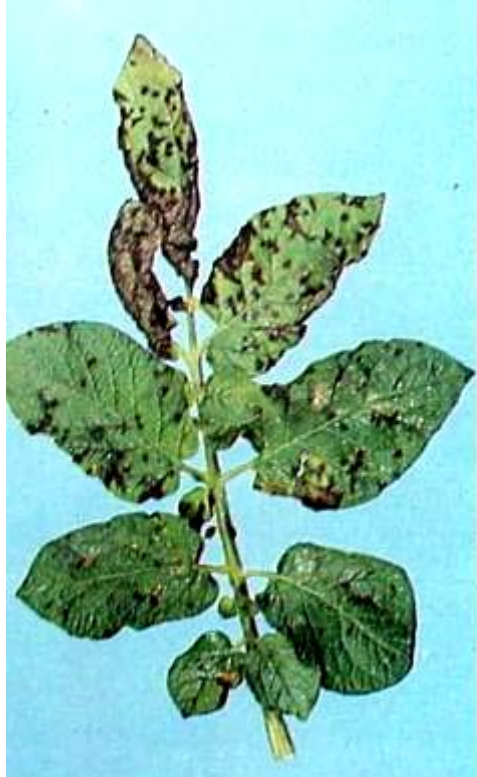
ΚΑΡΟΥΛΙΑΣΜΑ (PLRV)



TSWV



Ράβδωση (PVY) σε τομάτα



PPV (sharka) σε πυρηνόκαρπα



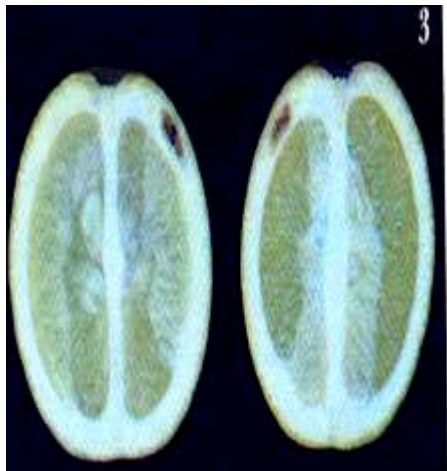
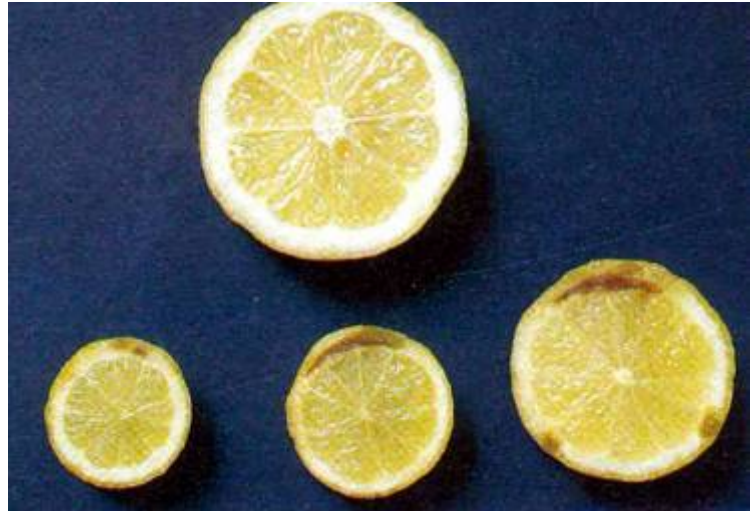
Ροδάκινο



**Πυρήνες βερίκοκου
παθογνωμονικό σύμπτωμα**



Πέτρωμα (imprietratura) CIV σε εσπεριδοειδή





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. Φυτοπαθολογική ιολογία.

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



ΕΣΠΑ
2007-2013
Πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

