

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΕΚΤΟΜΥΚΟΡΡΙΖΙΚΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *LACTARIUS* PERS.
ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ**

ΜΑΡΙΝΑ Γ. ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΟΥ



**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΣΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ
ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ», ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ «ΜΟΡΙΑΚΗ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ
ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ»**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΖΕΡΒΑΚΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2012

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΕΚΤΟΜΥΚΟΡΡΙΖΙΚΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *LACTARIUS* PERS.
ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ**

ΜΑΡΙΝΑ Γ. ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΟΥ

**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΣΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ
ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ», ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ «ΜΟΡΙΑΚΗ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ
ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ»**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΖΕΡΒΑΚΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2012

**ΕΚΤΟΜΥΚΟΡΡΙΖΙΚΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *LACTARIUS* PERS.
ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ**

ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΟΥ ΜΑΡΙΝΑ

**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΣΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ
ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ», ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ «ΜΟΡΙΑΚΗ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ
ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ»**

ΑΘΗΝΑ 2012

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Ζερβάκης Γιώργος (επιβλέπων)

Ταμπακάκη Αναστασία (μέλος)

Γεωργακόπουλος Δημήτρης (μέλος)

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Με την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής ερευνητικής μου εργασίας, νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω κάποιους ανθρώπους που συνέβαλαν, ο καθένας με τον τρόπο του, στην πραγματοποίησή της.

Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Επίκουρο καθηγητή κ. Γιώργο Ζερβάκη που με επέλεξε για την εκπόνηση της μεταπτυχιακής μου εργασίας και που μου έδωσε τη δυνατότητα να ασχοληθώ και σε μεταπτυχιακό επίπεδο με το ερευνητικό αντικείμενο που ιδιαίτερα αγαπώ, αυτό της συστηματικής των μακρομυκήτων. Τον ευχαριστώ για την επίβλεψη και καθοδήγηση του σε όλα τα στάδια αυτής της μελέτης καθώς και για τις πολύτιμες παρατηρήσεις και διορθώσεις του κατά τη συγγραφή του κειμένου. Ιδιαίτερα τον ευχαριστώ για την καθοδήγηση του στο κομμάτι της μοριακής ανάλυσης, που αποτελούσε σε πρακτικό επίπεδο, ένα πεδίο νέο για μένα.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στη Λέκτορα κ. Ζαχαρούλα Γκόνου- Ζάγκου, η οποία ως η πρώτη μου δασκάλα στο αντικείμενο της συστηματικής των μακρομυκήτων, μου μετέδωσε τον ενθουσιασμό της και έχει θέσει τις βάσεις για την μετέπειτα πορεία μου. Ιδιαίτερα θα ήθελα να την ευχαριστήσω για την ουσιαστική συμβολή της στην παρούσα μελέτη, αφού ένα κομμάτι της πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Μυκητολογίας του Τμήματος Βιολογίας του ΕΚΠΑ, οπότε και είχα την ευκαιρία να τη συμβουλευόμαι συχνά σε ζητήματα ταξινομικής φύσης.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά τον υποψήφιο διδάκτορα Παναγιώτη Δεληβοριά. Η πολύπλευρη βοήθεια του είναι πολύτιμη και οι παρατηρήσεις του πάνω σε ταξινομικά ζητήματα έχουν πάντοτε για μένα ιδιαίτερη βαρύτητα. Σημαντική είναι επίσης η συνεισφορά του στην παρούσα μελέτη, με πολυάριθμες φωτογραφίες ειδών του γένους *Lactarius* στο πεδίο, με την μετάδοση της εμπειρίας του πάνω στην κατασκευή των plates που βρίσκονται στην εργασία, καθώς και με τις συζητήσεις που είχαμε πάνω σε επιμέρους ταξινομικούς προβληματισμούς που προέκυπταν.

Ιδιαίτερα χαίρομαι για την ευχάριστη και εποικοδομητική συνεργασία που είχα με τον διδάκτορα Ηλία Πολέμη, τον οποίο και ευχαριστώ για τις συζητήσεις που είχαμε πάνω σε ταξινομικά θέματα, καθώς και για τις όμορφες φωτογραφίες πεδίου που μου επέτρεψε να συμπεριλάβω στη παρούσα μελέτη.

Ένα ευχαριστώ οφείλω επίσης στον κ. Δημήτρη Δήμου για τις φωτογραφίες πεδίου ειδών του γένους *Lactarius*, και την άμεση ανταπόκριση του, όποτε χρειάστηκα στοιχεία για δείγματα που ο ίδιος είχε συλλέξει και ταυτοποιήσει.

Μέσα από την ερευνητική πορεία των παραπάνω ανθρώπων προέκυψε το μεγαλύτερο μέρος του υλικού που μελέτησα και για αυτό η συμβολή τους στην παρούσα μελέτη είναι κάτι παραπάνω από σημαντική.

Μέρος, επίσης, του ελληνικού υλικού που εξετάστηκε έχει συλλεχθεί και μελετηθεί από τον κ. Στέφανο Διαμαντή και τον κ. Ζαχαρία Αθανασίου, τους οποίους και ευχαριστώ θερμά για την παραχώρηση των αντίστοιχων δειγμάτων. Θερμά ευχαριστώ επίσης τους ερευνητές των μυκητολογικών ερμπαρίων του εξωτερικού Annemieke Verbeken (GENT), Georgio Lalli (AQUI) και Giuseppe Venturella (PAL), για την παραχώρηση για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης αποξηραμένων δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν ως υλικό αναφοράς.

Σε αυτό το σημείο νιώθω επίσης την ανάγκη να εκφράσω ένα θερμό ευχαριστώ στον υποψήφιο διδάκτορα Χρήστο Φωτιάδη, με την πολύτιμη βοήθεια του οποίου το κομμάτι της μοριακής ανάλυσης των δειγμάτων, που ήταν ένα πεδίο νέο για μένα, ολοκληρώθηκε με επιτυχία.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης την Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Ευαγγελία Κασανάκη-Γκότση, για την υποστήριξή της και για τη δυνατότητα που μου παρείχε για την επιπρόσθετη μελέτη των δειγμάτων με το μικροσκόπιο τύπου Nomarski, του εργαστηρίου Μυκητολογίας του Τμήματος Βιολογίας του ΕΚΠΑ, καθώς και την διδάκτορα Πυρρή Ιωάννα και την υποψήφια διδάκτορα Σεργεντάνη Αθανασία για την ευχάριστη συνεργασία τους και για την τροποποίηση που έκαναν κάποιες φορές στο πρόγραμμα τους ώστε να διευκολυνθεί η μελέτη μου. Η παρατήρηση επιλεγμένων δειγμάτων σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης δεν θα ήταν εφικτή χωρίς την συνεργασία με τον Καθηγητή κ. Φασσέα, και τη βοήθεια του συνεργάτη του κ. Ψαροκωστόπουλου, τους οποίους και ευχαριστώ.

Ευχαριστώ επίσης την Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Ταμπακάκη Αναστασία και τον Επίκουρο Καθηγητή Γεωργακόπουλο Δημήτρη για τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Θερμά επίσης ευχαριστώ όλους τους συνεργάτες του εργαστηρίου, και ιδιαίτερα τον Γιώργο Κουτρώτσιο για το φιλικό και ευχάριστο κλίμα που πάντοτε δημιουργούσε, κάτι ιδιαίτερα σημαντικό σε έναν χώρο έρευνας και εργασίας.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στους κοντινούς μου ανθρώπους για την στήριξη και αγάπη τους. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον Γιώργο Φουντουλάκη για την υποστήριξη του όλα αυτά τα χρόνια, για τη συντροφιά του και την πολύτιμη βοήθεια του σε όλες τις... μανιταροεξορμήσεις!

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	11
ABSTRACT.....	13
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	15
1. Το βασίλειο των Μυκήτων (kingdom Fungi)	15
2. Το φύλο των Βασιδιομυκήτων	17
2.1. Γενικά - Βιολογικός κύκλος και βασικά χαρακτηριστικά.....	17
2.2. Οικολογία	21
2.2.1. Μυκόρριζες.....	21
2.2.2. Εκτομυκόρριζες (Ectomycorrhizal Mycorrhizae - EcM)	23
2.3. Φυλογενετικές σχέσεις και ταξινομική κατάταξη	27
3. Το γένος <i>Lactarius</i> Persoon	29
3.1. Φυλογενετική θέση του γένους	29
3.2. Η τάξη Russulales.....	29
3.3. Η Οικογένεια Russulaceae	32
3.4. Σύστημα ταξινόμησης εντός του γένους <i>Lactarius</i> Pers.	34
3.5. Εξελικτικές σχέσεις μεταξύ των γενών <i>Russula</i> και <i>Lactarius</i>	36
3.6. Ποικιλότητα- εξάπλωση του γένους <i>Lactarius</i>	38
3.7. Η ποικιλότητα του γένους <i>Lactarius</i> στην Ελλάδα	40
4. Οικονομική σημασία - Χρήσεις και εφαρμογές ειδών του γένους <i>Lactarius</i>	41
4.1. Εδώδιμα είδη	41
4.2. Τεχνητή μυκόρριζα.....	42
5. Συστηματική Μυκήτων - Βασιδιομυκήτων	42
5.1. Ο κλάδος της Συστηματικής.....	42
5.2. Κριτήρια-θεωρήσεις για το είδος στους Μύκητες.....	43
5.3. Συστηματική Βασιδιομυκήτων.....	44

5.4. Μέθοδοι κλασσικής ταξινόμησης Βασιδιομυκήτων	45
5.5. Μοριακή συστηματική Βασιδιομυκήτων	48
6. Σκοπός της μελέτης.....	55
II. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	57
1. Βιολογικό υλικό	57
1.1. Αποξηραμένα δείγματα βασιδιοκαρπίων <i>Lactarius</i>	57
1.2. Συλλογή νέων νωπών δειγμάτων <i>Lactarius</i>	57
2. Καταγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών	65
3. Μικροσκοπικές παρατηρήσεις	66
4. Μοριακή ανάλυση.....	68
4.1. Απομόνωση χρωμοσωμικού DNA από αποξηραμένα βασιδιοκάρπια.....	69
4.2. Ενίσχυση της ITS περιοχής του γονιδιώματος με τη χρήση PCR.....	69
4.3. Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης	70
4.4. Ανάκτηση και καθαρισμός ενισχυμένου DNA από την πηκτή αγαρόζης.....	71
4.5. Ενσωμάτωση (ligation) ενισχυμένου τμήματος χρωμοσωμικού DNA σε πλασμιδιακό φορέα κλωνοποίησης	71
4.6. Παρασκευή δεκτικών κυττάρων <i>Escherichia coli</i> Dh5a.....	73
4.7. Μετασχηματισμός (transformation) δεκτικών κυττάρων <i>E. coli</i> Dh5a.....	73
4.8. Επιλογή των κατάλληλων βακτηριακών αποικιών	74
4.9. Έλεγχος ένθετου τμήματος DNA	74
4.10. Απομόνωση πλασμιδίου	75
4.11. Αλληλούχηση DNA και φυλογενετική ανάλυση	75
III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	77
IV. ΤΕΛΙΚΕΣ ΔΙΑΠΙΣΤΩΣΕΙΣ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	185
V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	193

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το γένος *Lactarius* (οικογένεια Russulaceae, φύλο Basidiomycota) περιλαμβάνει εκτομυκορριζικούς μακρομύκητες που σχηματίζουν συμβιωτικές σχέσεις με ένα μεγάλο εύρος φυτικών ειδών. Παρουσιάζει κοσμοπολιτική εξάπλωση και χαρακτηρίζεται από βασιδιοκάρπια που εκκρίνουν ένα είδος λακτικού υγρού όταν τραυματίζονται. Στην παρούσα εργασία εξετάστηκαν συνολικά 149 δείγματα μυκήτων *Lactarius* (138 αποξηραμένα και 11 νωπά), από τα οποία τα 21 προέρχονταν από μυκητολογικά ερμπάρια του εξωτερικού (ζητήθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν ως "δείγματα αναφοράς") με βασικό στόχο τη συνολική επαναξιολόγηση των μέχρι σήμερα προσδιορισθέντων ειδών του γένους *Lactarius* στην Ελλάδα. Σύμφωνα με τους αρχικούς προσδιορισμούς, τα Ελληνικά δείγματα που μελετήθηκαν είχαν ταξινομηθεί σε 36 είδη του γένους *Lactarius* και αντιπροσώπευαν το σύνολο σχεδόν του διαθέσιμου σχετικού βιολογικού υλικού που ήταν κατατεθειμένο σε κάποια ιδρυματική ή ιδιωτική συλλογή αποξηραμένων δειγμάτων στην Ελλάδα. Η αναλυτική εξέταση των μακροσκοπικών γνωρισμάτων (σε όλα τα νωπά βασιδιοκάρπια, αλλά και σε όσα από τα αποξηραμένα δείγματα ήταν αυτό εφικτό) και των μικροσκοπικών χαρακτήρων με χρήση σύνθετου οπτικού μικροσκοπίου αλλά και οπτικού μικροσκοπίου τύπου Nomarski (DIC) (σε ειδικές περιπτώσεις και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης) σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα αλληλούχησης του τμήματος ITS1-5,8S-ITS2 rDNA για επιλεγμένα είδη, οδήγησε στο συμπέρασμα ότι ο αριθμός των ειδών *Lactarius* που μελετήθηκαν ανέρχεται σε 32 (31 είδη + *L. cf. flavidus*). Η ύπαρξη των ειδών *L. circellatus*, *L. evosmus*, *L. ilicis*, *L. leonis*, *L. musteus*, *L. scrobiculatus* και *L. torminosus* δεν επιβεβαιώθηκε στην Ελλάδα, ενώ ένα δείγμα προσδιορισμένο ως *L. insulsus* (το οποίο θεωρείται *nomen dubium*) ταξινομήθηκε στο είδος *L. zonarioides*. Επίσης, διαπιστώθηκε η ύπαρξη τεσσάρων ακόμα ειδών, τα οποία δεν περιλαμβάνονταν στα αρχικά ταυτοποιημένα δείγματα, δηλ. των *L. mairei*, *L. intermedius*, *L. glaucescens* και *L. lacunarum*. Τα δυο τελευταία αποτελούν νέες καταγραφές για την Ελλάδα. Επιπλέον, για τα είδη του ταξινομικού τμήματος *Olentis* προσδιορίστηκαν (για πρώτη φορά) οι αλληλουχίες του ITS1-5,8S-ITS2 rDNA, ώστε να διαλευκανθούν οι φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ των *L. atlanticus*, *L. serifluus* και *L. subumbonatus*. Τα τρία αυτά είδη παρουσιάζουν σύμφωνα με τη βιβλιογραφία παρόμοια μικροσκοπικά χαρακτηριστικά και διακρίνονται κυρίως με βάση μακρομορφολογικούς χαρακτήρες και οικολογικές

προσαρμογές. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας αποκαλύπτουν -με τη χρήση μοριακών προσεγγίσεων- ότι τα *L. atlanticus* και *L. subumbonatus* αποτελούν δυο φυλογενετικά διακριτά είδη, επιβεβαιώνοντας έτσι τη χρησιμότητα συγκεκριμένων μακροσκοπικών γνωρισμάτων και του τύπου του ενδαιτήματος-ξενιστή. Επιπροσθέτως, συμβάλουν στο να υιοθετηθούν ως διαγνωστικής σημασίας μικροσκοπικά χαρακτηριστικά, όπως το σχήμα των βασιδιοσπορίων και το ύψος της διακόσμησης τους (τα οποία δεν αναφέρονταν στη σχετική βιβλιογραφία). Το μοναδικό δείγμα *L. serifluus* που μελετήθηκε παρουσίαζε μακρο- και μικρομορφολογία παρόμοια με τα δείγματα *L. subumbonatus* και ομαδοποιήθηκε μαζί με τα τελευταία στη φυλογενετική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε. Πιθανότατα λοιπόν τα δείγματα και των δύο τάξα να ανήκουν στο ίδιο είδος εάν συνεκτιμηθούν όλα τα διαθέσιμα δεδομένα. Τέλος, τα είδη *L. fragilis* var. *rubidus* και *L. subserifluus* που απαντώνται στην Βόρεια και Κεντρική Αμερική δείχνουν σχετικά μεγάλη φυλογενετική συγγένεια με τα είδη *L. subumbonatus* και *L. atlanticus* αντίστοιχα. Συμπερασματικά, ο συνδυασμός διαφορετικών ταξινομικών προσεγγίσεων συνέβαλε ουσιαστικά στον επαναπροσδιορισμό της βιοποικιλότητας των ειδών *Lactarius* στην Ελλάδα καθώς και στην επίλυση σύνθετων ταξινομικών ζητημάτων σε επιμέρους τμήματα (sections) του συγκεκριμένου γένους.

ABSTRACT

Lactarius is an ectomycorrhizal genus of the family Russulaceae (phylum Basidiomycota) forming symbiotic relationships with a wide range of plant species. It presents a cosmopolitan distribution, and it is characterized by basidiomata that secrete a milky latex when injured. For the purposes of this study, 149 specimens were examined (138 herbarium samples and 11 basidiomata in fresh condition), among which 21 were obtained from abroad as voucher material. The Greek specimens were originally assigned to 36 species and included nearly all available specimens identified as *Lactarius* species that are deposited in Greek institutional or personal herbariums. The detailed study of macroscopical features (in all fresh basidiocarps and also in the dried material if this was possible) and microscopical characteristics using compound optical and DIC microscopy (in certain cases scanning electron microscopy was employed as well), in combination with the outcome of ITS1-5,8S-ITS2 rDNA sequencing for selected *Lactarius* taxa led to the conclusion that the studied specimens represent in fact 32 species of *Lactarius* (31 spp. + *L. cf. flavidus*). The reported presence of *L. circellatus*, *L. evosmus*, *L. ilicis*, *L. leonis*, *L. musteus*, *L. scrobiculatus* and *L. torminosus* could not be confirmed from the material examined. One specimen identified as *L. insulsus* (Fr.: Fr.), which is considered a *nomen dubium*, was re-identified as *L. zonarioides*. Moreover, four additional species were identified from the Greek material at hand, namely *L. mairei*, *L. intermedius*, *L. glaucescens* και *L. lacunarum*. It is noteworthy that *L. lacunarum* and *L. glaucescens* is are reported for the first time in Greece. In addition, the relationships between *L. atlanticus*, *L. serifluus* and *L. subumbonatus*, three of the microscopically similar species of section *Olentes*, were also investigated (for the first time) through sequencing of their ITS1-5,8S-ITS2 rDNA regions. According to literature, their distinction is primarily based on macromorphological characters and on their association with different host species. This study revealed that *L. atlanticus* and *L. subumbonatus* are two distinct phylogenetic species, which are also distinguished by certain macromorphological criteria and by host preference. In addition, the diagnostic value of basidiospores shape and of the height of spore ornamentation is emphasized. The only *L. serifluus* specimen which was available for study, presented identical morphology to *L. subumbonatus* material; moreover, it was grouped within the same phylogenetic cluster as *L. subumbonatus* specimens. Hence,

if all available data are taken into consideration, these two taxa most possibly represent one single species. Finally, the north and central American species *L. fragilis* var. *rubidus* and *L. subserifluus* showed relatively high phylogenetic affinity with *L. subumbonatus* and *L. atlanticus* respectively. In conclusion, the combination of different taxonomic approaches contributed substantially at re-establishing *Lactarius* biodiversity in Greece, and in resolving complex taxonomic issues in selected sections of this genus.

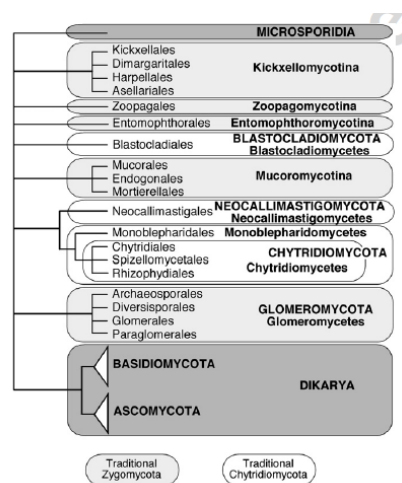
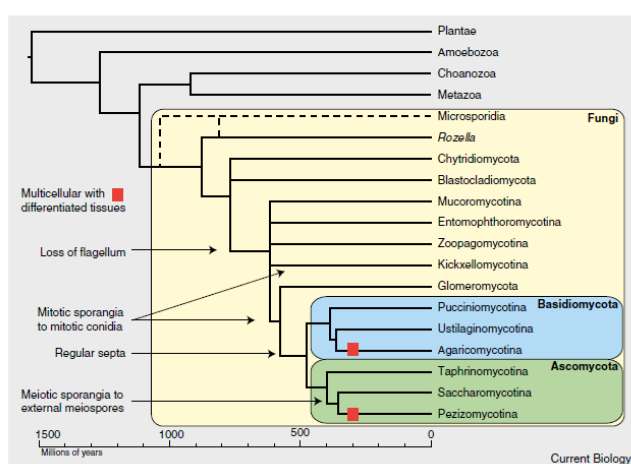
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Το βασίλειο των Μυκήτων (kingdom Fungi)

Οι οργανισμοί που αναφέρονται σήμερα ως Μύκητες ανήκουν σε μια μονοφυλετική ομάδα, το βασίλειο των Μυκήτων (kingdom Fungi) ή Ευμυκήτων (Eumycota, "Αληθείς Μύκητες"). Είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί, ετερότροφοι, η βλαστική φάση των οποίων αποτελείται τυπικά από ένα θαλλό που ονομάζεται μυκήλιο, που συγκροτείται από υφές (δηλ. μικροσκοπικά σωληνοειδή νημάτια) με κυτταρικά τοιχώματα από πολυσακχαρίτες και χιτίνη. Ο τρόπος θρέψης τους είναι χαρακτηριστικός, αφού προσλαμβάνουν την τροφή τους με απορρόφηση, σε πολλές περιπτώσεις μετά τη διάσπαση της με εξωκυτταρικά ένζυμα που εκκρίνονται από τις υφές τους. Αναπαράγονται εγγενώς και αγενώς αλλά και μέσω του παρασεξουαλικού κύκλου και παράγουν μικροσκοπικά σπόρια σε μεγάλους αριθμούς. Διαδραματίζουν σημαντικούς οικολογικούς ρόλους ως σαπροτροφικοί, βιοτροφικοί αλλά και ως συμβιωτικοί οργανισμοί. Τα πιο γνωστά παραδείγματα συμβιωτικών σχέσεων στις οποίες συμμετέχουν Μύκητες είναι οι λειχήνες και οι μυκόρριζες. Παραδοσιακά, από τους μυκητολόγους μελετώνται και κάποιες άλλες ομάδες οργανισμών, οι οποίες παρουσιάζουν κοινά οικολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά με τους «αληθείς μύκητες». Αυτοί οι οργανισμοί που έχουν πάψει να θεωρούνται Μύκητες, έπειτα από τα δεδομένα που προέκυψαν από μοριακές φυλογενετικές μελέτες (Hasegawa et al. 1985, Sogin et al. 1989, Forster et al. 1990, Bruns et al. 1991), ανήκουν σε δυο άλλα ευκαρυωτικά βασίλεια, στο βασίλειο Chromalveolata (οι ομάδες Oomycota, Hyphochytridiomycota, Labyrinthulomycota) και στο βασίλειο Protozoa (οι ομάδες Myxomycota, Plasmodiophoromycota). Η απόκλιση των δυο κλάδων που έδωσαν ο ένας τους Μύκητες και ο άλλος τα Μετάζωα, από τον κοινό πρόγονο που μοιράζονταν, υπολογίζεται σύμφωνα με τους Taylor & Berbee (2006) πως πραγματοποιήθηκε πριν από ένα δισεκατομμύριο χρόνια. Ένα από τα παλαιότερα απολιθώματα που επιβεβαιωμένα ανήκει σε Μύκητα βρέθηκε σε πετρώματα από την Κατώτερη Σιλούριο Περίοδο στη Βιρτζίνια των ΗΠΑ (Pratt et al. 1978), αλλά τα πιο σημαντικά ευρήματα αρχαίων μυκήτων είναι αυτά που εντοπίζονται σε πετρώματα της Κατώτερης Δεβονίου Περιόδου στη Σκωτία (Rhynie chert) (Hass et al. 1994, Remy et al. 1994a, Taylor et al. 1992, 1995).

Ένα από τα παραδοσιακά συστήματα ταξινόμησης του βασιλείου των Μυκήτων, που πλέον έχει εγκαταληφθεί, είναι αυτό που το χωρίζει στα εξής τέσσερα φύλα: Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota και Basidiomycota. Τα τελευταία χρόνια, όμως, συμβαίνουν σημαντικές αλλαγές στην συστηματική κατάταξη των εσωτερικών κλάδων του βασιλείου των Μυκήτων. Οι πιο σημαντικές αλλαγές αφορούν τους κλάδους που βρίσκονται στη βάση του φυλογενετικού δέντρου των Μυκήτων και συγκεκριμένα οργανισμούς που ταξινομούνταν στα φύλα Chytridiomycota και Zygomycota. Μοριακές φυλογενετικές εργασίες όπως αυτές των Nagahama et al. (1995), James et al. (2000, 2006a, 2006b) και Tanabe et al. (2004) έχουν δείξει ότι τα δυο αυτά φύλα αποτελούν παραφυλετικές ομαδοποιήσεις.

Το πιο πρόσφατο σύστημα ταξινόμησης του βασιλείου των Μυκήτων (Hibbett et al. 2007) βασίζεται στις μοριακές φυλογενετικές αναλύσεις των τελευταίων ετών και αναγνωρίζει επτά φύλα (Chytridiomycota, Neocallimastigomycota, Blastocladiomycota, Microsporidia, Glomeromycota, Ascomycota και Basidiomycota).



Εικόνες 1, 2: Φυλογενετικά δέντρα του βασιλείου των Μυκήτων (από Stajich et al. 2009 και Hibbett et al. 2007, αντίστοιχα)

Το φύλο Chytridiomycota διατηρείται, αλλά περιλαμβάνει πλέον πολύ λιγότερους αντιπροσώπους, ενώ κάποιοι από τους οργανισμούς που παλαιότερα ανήκαν σε αυτό σχηματίζουν τώρα δυο νέα φύλα, τα φύλα Neocallimastigomycota και Blastocladiomycota. Το φύλο Zygomycota εγκαταλείπεται και οι αντιπρόσωποι του σχηματίζουν το φύλο Glomeromycota και άλλα τέσσερα υποφύλα *incertae sedis*

(Mucoromycotina, Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina, Zoopagomycotina). Τα 'αινιγματικά' Microsporidia, που είναι εξειδικευμένα, μονοκύτταρα, υποχρεωτικά ενδοπαράσιτα ζώων, αποδείχθηκε ότι δεν αποτελούν κάποιο αρχαίο ευκαρυωτικό κλάδο, όπως είχε προταθεί παλαιότερα, αλλά κλάδο των Μυκήτων (Keeling et al. 2000). Τέλος, προτείνεται ένα νέο τάξο, το υποβασιλείο Δικάρυα (sub-kingdom Dikarya) που περιλαμβάνει τα φύλα Ascomycota και Basidiomycota και τονίζει την πιθανή συναπομορφία των δικαρυωτικών υφών, που εμφανίζεται στα δυο αυτά φύλα (Εικόνες 1, 2).

Σύμφωνα με τον Hawksworth (1991) ο αριθμός των ειδών των μυκήτων, με την ευρεία έννοια (συμπεριλαμβανομένων και αυτών που ανήκουν στα βασίλεια Chromalveolata και Protozoa), υπολογίζεται στο 1,5 εκατομμύρια είδη. Πιο πρόσφατα οι Schmit & Mueller (2007) παρέχουν μια πιο συντηρητική εκτίμηση του συνολικού αριθμού των ειδών των μυκήτων που μπορεί να υπάρχουν στη Γη (712.000). Οι εκτιμήσεις αυτές βασίζονται κυρίως στο λόγο του αριθμού των ειδών μυκήτων προς τον αριθμό των ειδών των φυτών σε κάποιες καλά μελετημένες περιοχές. Οι Kirk et al. (2008) αναφέρουν 97.861 καταγεγραμμένα είδη μυκήτων. Είναι φανερό, λαμβάνοντας υπόψη ακόμη και την συντηρητική εκτίμηση των Schmit & Mueller (2007), ότι γνωρίζουμε ένα μικρό τμήμα από την εκτιμώμενη ποικιλότητα των μυκήτων.

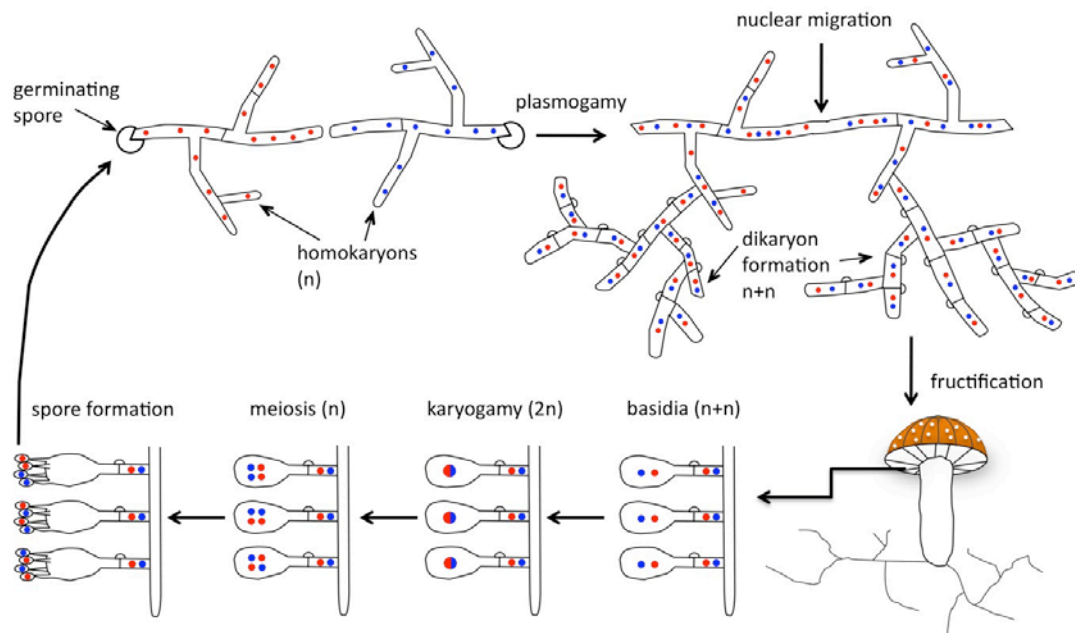
2. Το φύλο των Βασιδιομυκήτων

2.1. Γενικά - Βιολογικός κύκλος και βασικά χαρακτηριστικά

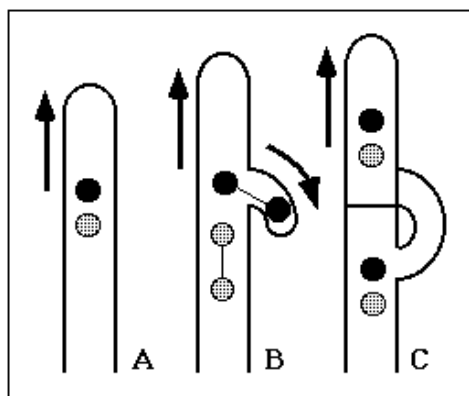
Οι Βασιδιομύκητες είναι μια ομάδα μυκήτων με μεγάλη ποικιλότητα και περιλαμβάνουν πολυκύτταρες αλλά και κάποιες μονοκύτταρες μορφές. Βρίσκονται σε όλα τα χερσαία οικοσυστήματα, σε οικοσυστήματα γλυκών υδάτων, αλλά και σε θαλάσσια οικοσυστήματα (Hibbett & Binder, 2001). Επιτελούν ποικίλους λειτουργικούς ρόλους και διακρίνονται βάση των τροφικών τους απαιτήσεων σε σαπροτροφικούς, παρασιτικούς και συμβιωτικούς Βασιδιομύκητες. Μέχρι στιγμής, έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 31.500 είδη Βασιδιομυκήτων, δηλ. το 30% των καταγεγραμμένων ειδών στο βασίλειο των Μυκήτων (Kirk et al. 2008).

Το σημαντικότερο διακριτικό γνώρισμα των Βασιδιομυκήτων είναι η ύπαρξη του βασιδίου, ενός εξειδικευμένου κυττάρου όπου συμβαίνει η καρυογαμία, η μείωση

και η δημιουργία των εγγενών τους σπορίων, που ονομάζονται βασιδιοσπόρια. Τα βασιδιοσπόρια σχηματίζονται εξωγενώς πάνω στο βασίδιο και είναι συνήθως τέσσερα σε αριθμό. Οι Βασιδιομύκητες χαρακτηρίζονται επίσης από την ύπαρξη της δικάρυας φάσης στον κύκλο ζωής τους, όπως και οι Ασκομύκητες. Η δικάρυα φάση στους Βασιδιομύκητες μπορεί να διαρκέσει απεριόριστα και αποτελεί σε πολλούς Βασιδιομύκητες την κύρια φάση του κύκλου ζωής τους, σε αντίθεση με τους Ασκομύκητες, στους οποίους περιορίζεται στις ασκογόνες υφές. Η δικάρυα φάση είναι ένα μοναδικό φαινόμενο που παρουσιάζεται σε αυτά τα δυο φύλα (που μαζί αποτελούν το υποβασιλείο Δικάρυα) και αποτελεί τμήμα της εγγενούς αναπαραγωγής των μυκήτων αυτών. Στους Βασιδιομύκητες η δικάρυα φάση είναι αποτέλεσμα της πλασμογαμίας ή σωματογαμίας ανάμεσα σε δυο συμβατές μονοκάρυες υφές (πρωτογενή μυκήλια) που προέρχονται από τη βλάστηση των απλοειδών βασιδιοσπορίων. Αυτή η διαδικασία οδηγεί στην ύπαρξη ζευγών γενετικά διακριτών απλοειδών πυρήνων, που δεν συγχωνεύονται άμεσα προς το σχηματισμό διπλοειδούς πυρήνα, αλλά διαιρούνται μιτωτικά, παράγοντας το δικάρυο ή δευτερογενές μυκήλιο. Η δικάρυα φάση τελειώνει με το σχηματισμό του υμενίου (ένα στρώμα που αποτελείται από βασίδια και άγονες υφές) και τη συγχώνευση των δυο πυρήνων (καρυογαμία) που πραγματοποιείται στο βασίδιο (Εικόνα 3). Σε αρκετούς Βασιδιομύκητες υπάρχει ένας χαρακτηριστικός μηχανισμός που εξασφαλίζει την διατήρηση της δικάρυας φάσης σε κάθε νέο κύτταρο του δικάρυου μυκηλίου. Ο μηχανισμός αυτός περιλαμβάνει το σχηματισμό κρίκων (clamp connections), κατά τη διάρκεια της μιτωτικής διαίρεσης των δυο πυρήνων στην επάκρια υφή (Εικόνα 4). Έτσι, όταν η τελευταία πρόκειται να διαιρεθεί (κατά τη διαδικασία της αύξησης της), δημιουργείται μια προεξοχή υπό μορφή 'αγκίστρου' η οποία κυρτώνει και σχηματίζει έναν κρίκο. Οι δύο πυρήνες διαιρούνται ταυτόχρονα, ο ένας κατά τον επιμήκη άξονα της υφής, ο άλλος με πλάγιο προσανατολισμό, έτσι ώστε ο ένας θυγατρικός πυρήνας να βρεθεί μέσα στον κρίκο, ενώ ο άλλος να παραμείνει στο μητρικό κύτταρο. Ο κρίκος κάμπτεται έπειτα περισσότερο και το άκρο του συγχωνεύεται με το τοίχωμα του κυττάρου, έτσι ώστε ο θυγατρικός πυρήνας που βρισκόταν μέσα στον κρίκο να περάσει στο άλλο άκρο του κυττάρου και να πλησιάσει τον ένα θυγατρικό του άλλου τύπου. Έπειτα σχηματίζονται δύο διαφράγματα, το ένα στο σημείο σχηματισμού του κρίκου και το άλλο, κάθετο ως προς το πρώτο. Η παρουσία κρίκων στις υφές είναι σαφής ένδειξη ότι πρόκειται για βασιδιομύκητα, η απουσία των κρίκων όμως δεν αποκλείει οι υφές να ανήκουν σε βασιδιομύκητα.



Εικόνα 3: Κύκλος ζωής Βασιδιομύκητα του υποφύλου Agaricomycotina. (από James T. 2008. <http://www.umich.edu/~mycology/research.html>)



Εικόνα 4: Σχηματισμός κρίκου και διατήρηση της δικάρυας φάσης (από Swann E, Hibbett DS. 2007. Basidiomycota. The Club Fungi. Version 20 April 2007. <http://tolweb.org/Basidiomycota/20520/2007.04.20> in The Tree of Life Web Project, <http://tolweb.org/>)

Ένα ακόμη μοναδικό χαρακτηριστικό των περισσότερων Βασιδιομυκήτων και συγκεκριμένα των χερσαίων ειδών που φέρουν υμένιο εκτεθειμένο στο περιβάλλον κατά την ωρίμανσή του (βασιδιοκάρπια γυμνοκαρπικά ή ημιαγγειοκαρπικά), είναι ο

τρόπος απελευθέρωσης των σπορίων από το βασίδιο. Τα βασιδιοσπόρια εκτινάσσονται βίαια από τα στηρίγματα με έναν ειδικό μηχανισμό και ονομάζονται βαλλιστοσπόρια. Ο χαρακτήρας αυτός φαίνεται να εμφανίστηκε πολύ νωρίς στην εξέλιξη των Βασιδιομυκήτων και έχει χαθεί στους περισσότερους υδρόβιους Βασιδιομύκητες αλλά και σε αυτούς που παρουσιάζουν αγγειοκαρπική ανάπτυξη, φέρουν δηλαδή το υμένιο εγκλεισμένο στο εσωτερικό της καρποφορίας (γαστερομύκητες). Οι οργανισμοί αυτοί δεν αποτελούν μια μονοφυλετική ομάδα, μιας και το φαινόμενο της αγγειοκαρπικής ανάπτυξης, σε συνδυασμό με την απώλεια της ικανότητας της βίαιης διασποράς των βασιδιοσπορίων, έχει εξελιχθεί ανεξάρτητα σε διάφορους κλάδους (Hibbett et al. 1997). Τέλος, οι περισσότεροι Βασιδιομύκητες χαρακτηρίζονται από την παρουσία σύνθετων διαφραγμάτων (septa), που εμποδίζουν τη διέλευση των πυρήνων και ονομάζονται δολιπόρα σέπτα. Τα τελευταία έχουν χαρακτηριστικά διογκωμένα άκρα προς την πλευρά του κεντρικού τους ανοίγματος, ενώ γύρω από αυτό φέρουν μια ημικυκλική μεμβρανώδη καλύπτρα που λέγεται παρενθέσωμα.

Η δικάρυα φάση αποτελεί το θαλλό των Βασιδιομυκήτων από την οποία παράγονται, στην πλειονότητα των ειδών που ανήκουν στο υπόφυλο Agaricomycotina, τα βασιδιοκάρπια, τα οποία είναι τα αναπαραγωγικά όργανα των οργανισμών αυτών. Τα άλλα δύο υπόφυλα Pucciniomycota και Ustilaginomycota περιλαμβάνουν Βασιδιομύκητες κυρίως παρασιτικούς σε ανώτερα φυτά και χαρακτηρίζονται από την απουσία βασιδιοκαρπίου (βασιδιόματος). Τα βασιδιοκάρπια, σε αντίθεση με το βλαστικό σώμα (θαλλό), παρουσιάζουν πολύπλοκη οργάνωση και σε κάποια είδη μπορεί να αποτελούνται από τρεις διαφορετικούς τύπους υφών (π.χ. σε είδη των Polyporales). Παρόλη την ποικιλομορφία που παρουσιάζουν στη δομή τους τα βασιδιοκάρπια, αυτά πάντα φέρουν μια στρώση που λέγεται υμένιο, πάνω στο οποίο σχηματίζονται τα βασίδια, οι βασιδιόλες και σε αρκετές περιπτώσεις, τα κυστίδια. Οι βασιδιόλες είναι ανώριμα βασίδια, ενώ τα κυστίδια είναι άγονα κύτταρα, με ποικίλα σχήματα, και συνήθως προεξέχουν από τα υπόλοιπα στοιχεία του υμενίου.

2.2. Οικολογία

Οι Βασιδιομύκητες χωρίζονται σε σχέση με τις τροφικές τους συνήθειες και τη λειτουργία τους στο οικοσύστημα σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: σαπροτροφικοί, παρασιτικοί και συμβιωτικοί. Πολλοί σαπροτροφικοί Βασιδιομύκητες αναπτύσσονται αποικοδομώντας νεκρό οργανικό υλικό όπως ξυλώδη υπολείμματα και πεσμένα φύλλα. Κάποιοι από τους σαπροτροφικούς Βασιδιομύκητες έχουν μια μοναδική ιδιότητα μεταξύ των διαφόρων οργανισμών: διαθέτουν τα κατάλληλα ενζυμικά συστήματα ώστε να διασπούν επιλεκτικά τη λιγνίνη που βρίσκεται στους ξυλώδεις ιστούς των φυτών και αποτελεί ένα από τα πιο σύνθετα οργανικά μόρια στη φύση. Επίσης, η αποικοδόμηση της κυτταρίνης, που είναι συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των φυτών και το πιο άφθονο φυσικό πολυμερές στη Γη, επιτελείται σε μεγάλο βαθμό από Βασιδιομύκητες. Επομένως, οι Βασιδιομύκητες διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στον κύκλο του άνθρακα, ιδιαίτερα στα χερσαία οικοσυστήματα. Άλλοι Βασιδιομύκητες είναι σημαντικά παθογόνα των φυτικών οργανισμών όπως αυτοί που ανήκουν στα υποφύλα *Pucciniomycotina* και *Ustilaginomycotina*, ενώ υπάρχουν Βασιδιομύκητες που προκαλούν ασθένειες σε ζώα μεταξύ των οποίων και στον άνθρωπο. Αρκετά είδη Βασιδιομυκήτων σχηματίζουν συμβιωτικές σχέσεις με ανώτερα φυτά (μυκόρριζες) και λίγα με φύκη (λειχήνες).

2.2.1. Μυκόρριζες

Η μυκορριζική σχέση είναι μια μορφή συμβίωσης που αναπτύσσουν πολλά είδη μυκήτων με τις ρίζες ή τα υπόγεια όργανα φυτικών οργανισμών. Ο όρος αναφέρεται «στο διττής φύσης όργανο απορρόφησης που σχηματίζεται όταν οι υφές συμβιωτικών μυκήτων αποικίζουν υγιείς ιστούς της πλειοψηφίας των χερσαίων φυτών» (Trappe 1996, όπως αναφέρεται από τους Read et al. 2000). Η συμβιωτική αυτή σχέση είναι ευρέως διαδεδομένη στη φύση. Σύμφωνα με τους Wang & Qiu (2006) όσον αφορά στα χερσαία φυτά (συμπεριλαμβάνονται αγγειόσπερμα, γυμνόσπερμα, πτεριδόφυτα, βρυόφυτα), το 80% των καταγεγραμμένων ειδών και το 92% των οικογενειών είναι μυκορριζικά. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με την ίδια μελέτη, στα αγγειόσπερμα το 85% των καταγεγραμμένων ειδών και το 94% των οικογενειών είναι μυκορριζικά, ενώ όσον αφορά τα γυμνόσπερμα, οι συγγραφείς αναφέρουν, ότι και τα 84 είδη που συμπεριλαμβάνονται στη μελέτη είναι μυκορριζικά. Το κύριο όφελος από αυτή τη συμβιωτική σχέση για τους φυτικούς οργανισμούς έγκειται στην αυξημένη ικανότητα πρόσληψης νερού και ανόργανων θρεπτικών (άζωτο, φώσφορος), ενώ για τον μύκητα

στην πρόσληψη υδατανθράκων, τους οποίους δεν θα ήταν σε θέση να συνθέσει μόνος του. Πέρα όμως από την οικολογική αναγκαιότητα αυτής της σχέσης, οι μυκόρριζες παρουσιάζουν και τεράστια εξελικτική σημασία. Ο σχηματισμός συμβιωτικών σχέσεων, μεταξύ των προγόνων των σημερινών Τραχεοφύτων (vascular plants) και μυκήτων παρόμοιων με αυτούς που σχηματίζουν σήμερα ενδομυκόρριζες (κυστοειδείς-θυσανοειδείς μυκόρριζες, VAM), θεωρείται ότι έδρασε καταλυτικά στην αποίκιση της ξηράς από τους αρχέγονους φυτικούς οργανισμούς. Το κεντρικό νόημα αυτής της θεωρίας έχει διατυπωθεί εδώ και τέσσερις δεκαετίες (Pirozynski & Malloch, 1975) και συνεχώς κερδίζει έδαφος μέσα από διάφορες εργασίες (Simon et al. 1993, Remy et al. 1994b, Taylor et al. 1995, Read et al. 2000, Wang & Qiu, 2006, Wang et al. 2010). Τα δεδομένα που προκύπτουν από τις παραπάνω εργασίες και πολλές άλλες, στηρίζουν την θεωρία ότι τα αρχέγονα φυτά, που δεν έφεραν αληθείς ρίζες είχαν αναπτύξει συμβιωτικές σχέσεις με μύκητες, παρόμοιες με τις σημερινές ενδομυκόρριζες. Οι σχέσεις αυτές βοήθησαν τα αρχέγονα φυτά στην απορρόφηση νερού και ανόργανων θρεπτικών (κυρίως του φωσφόρου) που θεωρείται ότι θα ήταν περιοριστικοί παράγοντες για την εξάπλωση των πρώτων χερσαίων φυτών. Σήμερα υπολογίζεται ότι οι οικογένειες των αγγειοσπέρμων που θεωρούνται ως μη μυκορριζικές περιλαμβάνουν περίπου το 6% των ειδών των αγγειοσπέρμων. Οι περισσότερες από αυτές τις εξελικτικές γραμμές των μη μυκορριζικών φυτών έχουν εξελιχθεί σε κατευθύνσεις οι οποίες έχουν σαν αποτέλεσμα μειωμένα οφέλη από τις μυκορριζικές σχέσεις, όπως παράσιτα άλλων φυτών, σαρκοφάγα φυτά, εξειδικευμένα υδρόφυτα, ή φυτά που σχηματίζουν συστάδες ριζών (“plants with root clusters”) (Brundrett, 2009).

Η πιο συνηθισμένη κατηγορία μυκορριζών στη φύση είναι οι ενδομυκόρριζες ή αλλιώς κυστοειδείς-θυσανοειδείς μυκόρριζες (vesicular-arbuscular mycorrhizas, VAM), επειδή σε αυτή τη συμβίωση συμμετέχει ένα ευρύ φάσμα φυτικών ειδών. Αντίθετα, οι μύκητες που σχηματίζουν αυτό τον τύπο μυκόρριζας περιορίζονται σε μια μόνο εξελικτική γραμμή μυκήτων, το φύλο Glomeromycota. Δεδομένα όπως η παρουσία των ενδομυκορριζών στην πλειοψηφία των χερσαίων φυτών, αλλά και σε όλες τις πρωτόγονες εξελικτικές γραμμές φυτών (όπως συνοψίζονται από τους Wang & Qiu, 2006), η μελέτη απολιθωμάτων της κατωτέρου Δεβονίου που αποκαλύπτουν την ύπαρξη παρόμοιων σχηματισμών 400 εκατομμύρια χρόνια πριν (Remy et al. 1994b, Taylor et al. 1995), αλλά και μοριακές-φυλογενετικές μελέτες του φύλου Glomeromycota που υπολογίζουν το χρόνο απόκλισης αυτής της εξελικτικής γραμμής

μυκήτων στα 353-462 εκατομμύρια χρόνια πριν (Simon et al., 1993), υποστηρίζουν το ότι οι ενδομυκόρριζες πρέπει να είναι ο πρώτος-αρχικός τύπος μυκορριζών με τεράστια εξελικτική σημασία, όσον αφορά στον αποικισμό της Γης από τα αρχέγονα Τραχεόφυτα.

Εκτός από τις ενδομυκόρριζες (VAM) που προαναφέρθηκαν, υπάρχουν αρκετοί άλλοι τύποι μυκορριζικών σχέσεων που ονομάζονται Μυκόρριζες Ορχιδοειδών (OrM), Ερικοειδείς μυκόρριζες (ErM), Μονοτροποδιακές μυκόρριζες (MtM), Εκτενδομυκόρριζες (EeM), Αρμπουτοειδείς μυκόρριζες (AbM) και Εκτομυκόρριζες (EcM). Η τελευταία κατηγορία έχει ιδιαίτερη σημασία σε σχέση με το περιεχόμενο της παρούσας μελέτης γι αυτό και θα αναπτυχθεί διεξοδικότερα.

2.2.2. Εκτομυκόρριζες (Ectomycorrhizal Mycorrhizae - EcM)

Οι εκτομυκόρριζες, αν και απαντούν σε μικρότερο αριθμό φυτικών ειδών σε σχέση με εκείνα που σχηματίζουν ενδομυκόρριζες, είναι ευρέως διαδεδομένες στη φύση. Αυτό συμβαίνει επειδή τα περισσότερα από τα φυτά με τα οποία συνδέονται είναι κυρίως ξυλώδη δασικά είδη, με μεγάλη εξάπλωση, όπως είδη των οικογενειών Pinaceae και Fagaceae στο Β. Ημισφαίριο, Myrtaceae στο Ν. Ημισφαίριο και Dipterocarpaceae στα τροπικά δάση της Ν.Α. Ασίας. Τα είδη των μυκήτων που σχηματίζουν εκτομυκόρριζες ανήκουν κυρίως στους Βασιδιομύκητες, σε κάποιους Ασκομύκητες, αλλά και σε μικρό αριθμό Ζυγομυκήτων (π.χ. *Endogone* spp.). Όσον αφορά στο φύλο των Βασιδιομυκήτων, ο εκτομυκορριζικός τρόπος διαβίωσης έχει εξελιχθεί ανεξάρτητα στους διάφορους κλάδους, από προγόνους οι οποίοι ζούσαν σαπροτροφικά (Hibbett et al. 2000). Παράλληλα, σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές, έχουν παρατηρηθεί δευτερογενείς αναστροφές ("reversals") στον σαπροτροφικό τρόπο διαβίωσης, αν και αυτή η υπόθεση αμφισβητείται λόγω έλλειψης επαρκών στοιχείων (Bruns & Shefferson, 2004). Είναι προφανές λοιπόν, ότι ο εκτομυκορριζικός τρόπος διαβίωσης προέκυψε ανεξάρτητα σε διάφορες ομάδες μυκήτων.

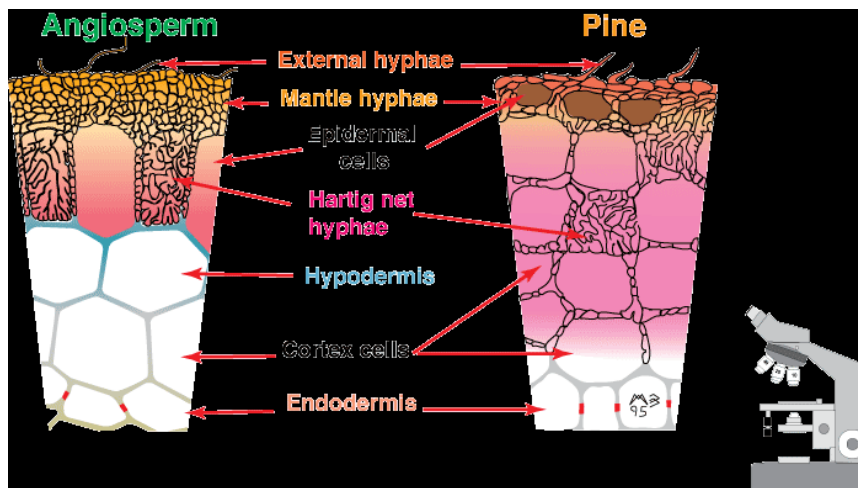
Ο αριθμός των επιβεβαιωμένα εκτομυκορριζικών γενών μυκήτων ανέρχεται σε 236 και των ειδών που ανήκουν σε αυτά τα γένη περίπου στα 7750 (Rinaldi et al. 2008). Όπως επισημαίνουν βέβαια οι ίδιοι συγγραφείς, αυτό δεν σημαίνει απαραίτητα ότι όλα τα είδη των γενών αυτών είναι εκτομυκορριζικά. Τα είδη των δέντρων που αναπτύσσουν εκτομυκόρριζες σχηματίζουν μεγάλα δάση σε περιοχές (όπως η Ευρασία και η Β. Αμερική), οι οποίες ή είχαν υποστεί στο παρελθόν έντονες

κλιματικές πιέσεις είτε σήμερα αντιμετωπίζουν έντονα εποχιακά κλιματικά φαινόμενα ή/και παρουσιάζουν φτωχά εδάφη (από Moser 1967, όπως αναφέρεται από τους Malloch et al. 1980). Τα φυτά που σχηματίζουν εκτομυκόρριζες δεν εμφανίζουν κάποια στενή φυλογενετική σχέση μεταξύ τους και ανήκουν στις εξελικτικά πιο πρόσφατες γραμμές διαφόρων μεγάλων κλάδων των χερσαίων φυτών, οι οποίοι παλαιότερα καταλάμβαναν περιβάλλοντα που αντιμετώπιζαν μικρότερης έντασης περιορισμούς σε θρεπτικά στοιχεία. Παρατηρείται επομένως και στα φυτά ανεξάρτητη εξέλιξη της εκτομυκορριζικής σχέσης στους διάφορους κλάδους (Wang & Qiu, 2006) και αυτό μπορεί να θεωρηθεί ως προσαρμογή των χερσαίων φυτών στην αλλαγή των περιβαλλοντικών συνθηκών, όταν το κλίμα της Γης έγινε πιο εποχιακό και ξηρό (Malloch et al. 1980), γεγονός που οδηγούσε σε περιορισμένη διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων. Γενικά, ο μύκητας ως ετερότροφος οργανισμός προσλαμβάνει από το φυτό σάκχαρα (προϊόντα της φωτοσύνθεσης), ενώ το φυτό επωφελείται από την αυξημένη ικανότητα πρόσληψης σημαντικών θρεπτικών στοιχείων όπως το άζωτο και ο φώσφορος (Smith & Read 1997). Τα εκτοτροφικά οικοσυστήματα χαρακτηρίζονται συνήθως από πολύ μεγάλη ποικιλότητα εκτοτροφικών μυκήτων, ενώ αντιθέτως τα φυτά που συμμετέχουν σε αυτού του τύπου τη συμβίωση παρουσιάζουν μικρή ποικιλότητα σε κάθε εκτοτροφικό οικοσύστημα και συχνά σχηματίζουν αμιγείς συστάδες και δάση (Malloch et al. 1980).

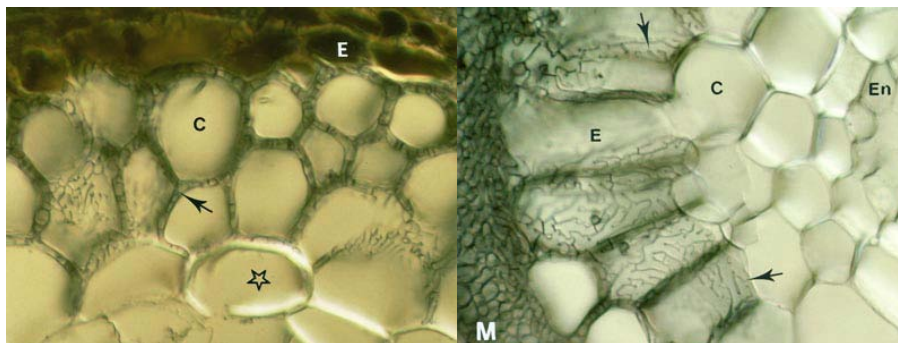
Οι εκτομυκόρριζες παρουσιάζουν χαρακτηριστική δομή. Γύρω από τις κορυφές των ριζών του φυτού σχηματίζεται ένα περίβλημα από μυκηλιακό ιστό που ονομάζεται μανδύας (mantle) (Εικόνα 5). Οι ρίζες αυτές είναι συνήθως κοντές, χωρίς ριζικά τριχίδια. Κάτω από το μανδύα οι υφές του μύκητα διεισδύουν στους μεσοκυττάριους χώρους των κυττάρων του φλοιού της ρίζας, δημιουργώντας ένα χαρακτηριστικό δίκτυο γύρω από αυτά, το λεγόμενο δίκτυο του Hartig ("Hartig net"), χωρίς να εισχωρούν όμως στα κύτταρα (Εικόνες 6,7). Το δίκτυο του Hartig παρέχει την αναγκαία επιφάνεια ώστε να γίνεται η ανταλλαγή των θρεπτικών στοιχείων μεταξύ φυτού και μύκητα. Από την εξωτερική επιφάνεια του μανδύα ξεκινά και απλώνεται στο έδαφος ένα εκτεταμένο δίκτυο μεμονωμένων υφών ή ριζομόρφων του μύκητα, το οποίο ενώνει διαφορετικά φυτά μεταξύ τους, ακόμα και από διαφορετικά είδη (αν ο μύκητας δεν σχηματίζει εξειδικευμένη μυκορριζική σχέση). Το εκτεταμένο δίκτυο των υφών στο έδαφος έχει τη δυνατότητα να αναζητά και να εκμεταλλεύεται θρεπτικά στοιχεία και νερό (Smith & Read 1997, Deacon 2006).



Εικόνα 5. Τρία παραδείγματα εκτομυκορριζών από είδη του γένους *Russula* (αριστερά, κέντρο) και *Lactarius* (δεξιά) (The Russulales News Team 2010, Photo © Bart Buyck http://www.mtsn.tn.it/russulales-news/in_characteristics.asp).



Εικόνα 6. Δομή εκτομυκορριζας σε μικροσκοπικό επίπεδο (από Brundrett MC. 2008 <http://mycorrhizas.info/ecm.html>)



Εικόνα 7. Εγκάρσια τομή εκτομυκορριζας (αριστερά από ρίζα του φυτού *Tsuga canadensis*, δεξιά από ρίζα του φυτού *Populus tremuloides*) (από Brundrett MC. 2008 <http://mycorrhizas.info/ecm.html>).

Πολλοί από τους εκτομυκορριζικούς μύκητες σχηματίζουν μυκόρριζες με ένα ευρύ φάσμα ξενιστών. Βασιδιομύκητες όπως τα είδη *Amanita muscaria*, *Laccaria laccata*, *Pisolithus tinctorius* και *Thelephora terrestris* ανήκουν σε αυτή την κατηγορία. Από την άλλη, υπάρχουν αρκετά εκτομυκορριζικά είδη Μυκήτων που σχηματίζουν εξειδικευμένες μυκορριζικές σχέσεις με συγκεκριμένα γένη φυτών (Smith & Read 1997).

Ένας από τους εκτομυκορριζικούς κλάδους του φύλου των Βασιδιομυκήτων είναι και η οικογένεια Russulaceae. Από τα πιο γνωστά μέλη της οικογένειας αποτελούν τα είδη που ανήκουν στο εκτομυκορριζικό γένος *Lactarius*, που σχηματίζουν βασιδιοκάρπια με χαρακτηριστικό γνώρισμα την έκκριση ενός είδους λακτικού υγρού ("latex") όταν αυτά κόβονται ή τραυματίζονται. Τα περισσότερα από τα είδη του γένους *Lactarius* σχηματίζουν εξειδικευμένες μυκορριζικές σχέσεις με συγκεκριμένα είδη ή γένη φυτών (Heilmann-Clausen et al. 1998).

2.3. Φυλογενετικές σχέσεις και ταξινομική κατάταξη

Όπως προαναφέρθηκε, το φύλο των Βασιδιομυκήτων χωρίζεται σε τρία υποφύλα (*Pucciniomycotina*, *Ustilaginomycotina* και *Agaricomycotina*), ενώ περιλαμβάνει και δυο κλάσεις *incertae sedis*, δηλ. τις *Wallemiomycetes* και *Entorrhizomycetes* (Hibbett et al. 2007). Το υποφύλο *Agaricomycotina* στο οποίο κατατάσσονται μύκητες που σχηματίζουν βασιδιοκάρπια περιλαμβάνει τις κλάσεις *Tremellomycetes*, *Dacrymycetes*, και *Agaricomycetes*. Η κλάση *Tremellomycetes* περιλαμβάνει διμορφικούς Βασιδιομύκητες, με βασιδιοκάρπια ζελατινώδη ή απόντα και κάποιες ζύμες, ενώ η κλάση *Dacrymycetes* μύκητες με χαρακτηριστικά διχαλωτά βασίδια και ζελατινώδη βασιδιοκάρπια. Η κλάση *Agaricomycetes* αποτελεί μια μεγάλη κλάση με μεγάλη ποικιλομορφία, στην οποία περιλαμβάνεται το μεγαλύτερο μέρος των μακρομυκήτων, δηλαδή των μυκήτων εκείνων που σχηματίζουν αναπαραγωγικές δομές ορατές από το γυμνό ανθρώπινο μάτι, τα γνωστά μανιτάρια (μακρομύκητες υπάρχουν επίσης στο φύλο των Ασκομυκήτων, καθώς και στις κλάσεις *Tremellomycetes* και *Dacrymycetes* των Βασιδιομυκήτων).

Η κλάση *Agaricomycetes* περιλαμβάνει δεκαεπτά τάξεις σύμφωνα με τους Hibbett et al. (2007) που είναι οι ακόλουθες: *Atheliales*, *Auriculariales*, *Boletales*, *Cantharellales*, *Corticiales*, *Geastrales*, *Gloeophyllales*, *Gomphales*,

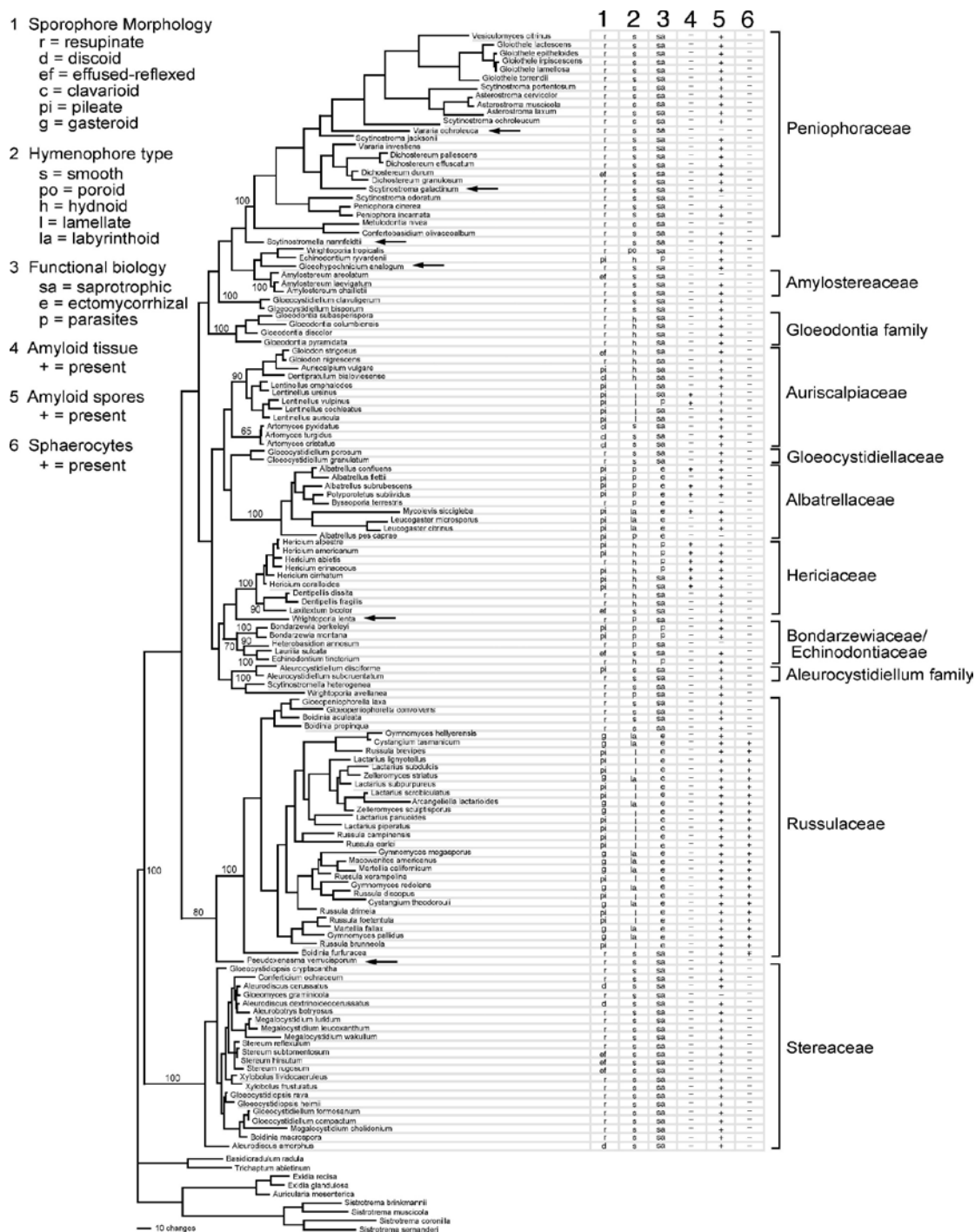
3. Το γένος *Lactarius* Persoon

3.1. Φυλογενετική θέση του γένους

Το γένος *Lactarius* ανήκει στην οικογένεια Russulaceae της τάξης Russulales. Η τελευταία είναι μια από τις 17 τάξεις της κλάσης Agaricomycetes, οι οποίες αποτελούν ισάριθμους ξεχωριστούς εξελικτικούς κλάδους όπως έδειξαν οι Hibbett *et al.* (2007) στο πλαίσιο ενός αναλυτικού συστήματος ταξινόμησης του βασιλείου των Μυκήτων μέχρι το επίπεδο της τάξης.

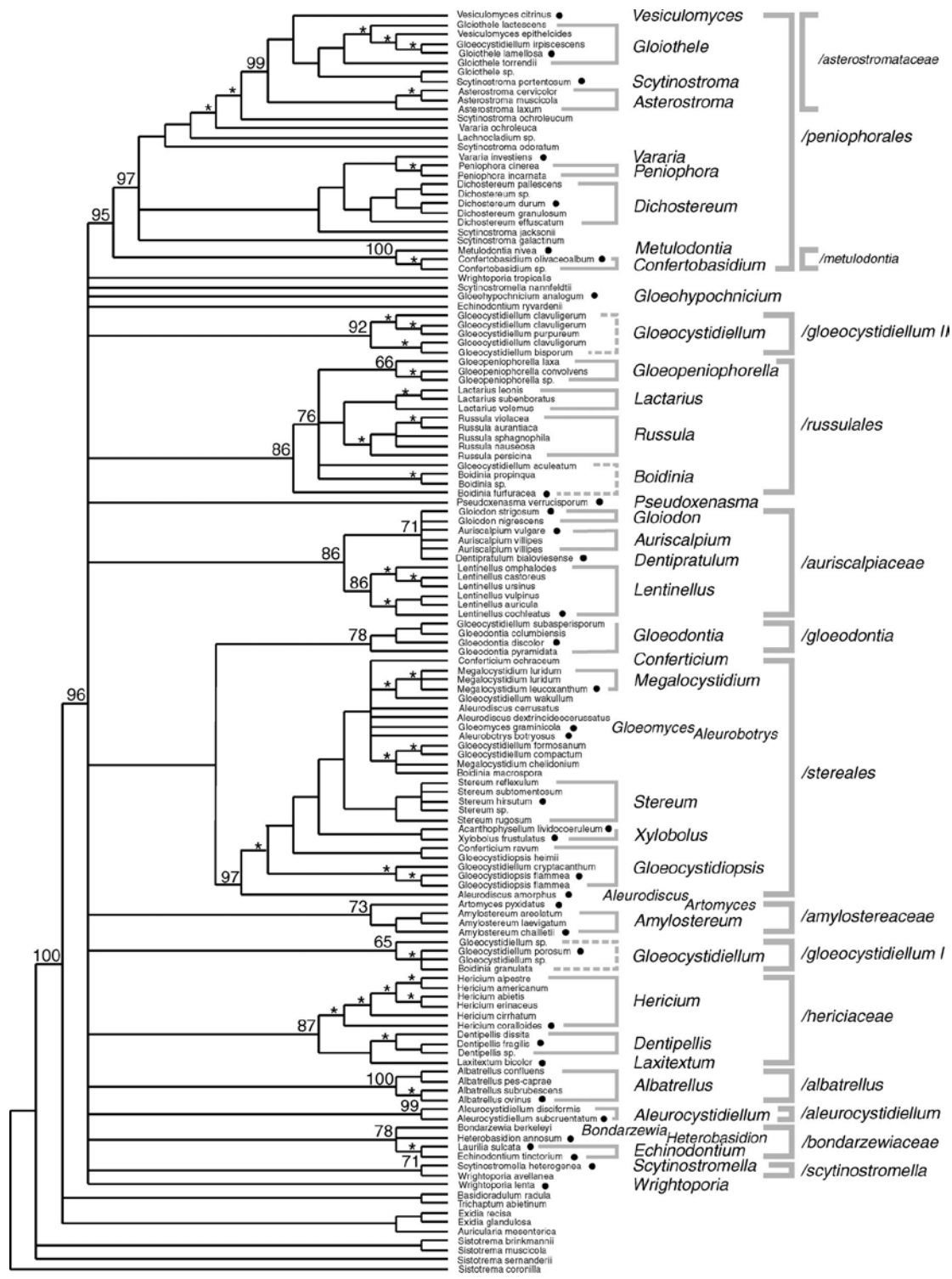
3.2. Η τάξη Russulales

Ήδη από το 1971 ο Donk είχε προτείνει ότι ομάδες Βασιδιομυκήτων με μεγάλη ποικιλομορφία βασιδιοκαρπίων, οι οποίοι επίσης διέθεταν χαρακτηριστικές υφές που εμφάνιζαν υψηλό δείκτη διάθλασης όταν υποβάλλονταν σε μικροσκοπική παρατήρηση προσδίδοντας τους έτσι μια ελαιώδη ή κοκκώδη εμφάνιση (“gloeoplerous hyphae”) και βασιδιοσπόρια με αμυλώδη διακόσμηση, ήταν συγγενικές μεταξύ τους. Επίσης σημείωνε ότι όλα αυτά τα τάξα θα μπορούσαν να ανήκουν σε μια μεγάλη τάξη. Ο Oberwinkler (1977) πρότεινε την τάξη Russulales ως ένα παράδειγμα συγγενικών τάξα που περιείχαν όλους τους γνωστούς τύπους βασιδιοκαρπίων των Ομοβασιδιομυκήτων (Homobasidiomycetes). Πλέον έχει επιβεβαιωθεί από αρκετές μοριακές φυλογενετικές μελέτες, ότι τάξα με μεγάλη ποικιλομορφία ως προς τους τύπους βασιδιοκαρπίων που φέρουν σύστημα με χαρακτηριστικές ‘gloeoplerous hyphae’ και –στις περισσότερες περιπτώσεις– βασιδιοσπόρια με αμυλώδη διακόσμηση, ανήκουν σε μια μονοφυλετική ομάδα, την τάξη Russulales (ενδεικτικά: Hibbett & Donoghue 1995, Hibbett *et al.* 1997, Binder & Hibbett 2002, Hibbett & Binder 2002, Larsson & Larsson 2003, Binder *et al.* 2005, Miller *et al.* 2006, Matheny *et al.* 2007) (Εικόνες 9,10). Όπως και σε άλλες μονοφυλετικές ομάδες βασιδιομυκήτων έτσι και στην τάξη Russulales υπάρχει πολύ μεγάλη ποικιλομορφία σε τύπους βασιδιοκαρπίων (χωρίς ή με διακριτό πύλο ή μικτού τύπου, δισκοειδή, κλαβαριοειδή, γαστεροειδή), υμενοφόρων (λείος, πορώδης, υδνοειδής, με ελάσματα, λαβυρινθοειδής), αλλά και οικολογικών ρόλων (είδη κυρίως σαπροτροφικά, αλλά και εκτομυκορριζικά ή παρασιτικά) (Miller *et al.* 2006) (Εικόνα 9).



Εικόνα 9: Φυλογενετικές σχέσεις μέσα στην τάξη Russulales (Miller et al. 2006).

Συναπομορφία της τάξης Russulales φαίνεται να αποτελεί η παρουσία συστήματος από χαρακτηριστικές ‘gloeoplerous hyphae’. Στα περισσότερα τάξα οι υφές αυτές δίνουν θετική αντίδραση με σουλφοβενζαλδεΐδη (μεταχρωματίζονται σε χρώμα που ποικίλει από κοκκινωπό, γκρι-καφέ, βιολετί έως μαύρο), σε άλλα δίνουν θετική αντίδραση μόνο όταν τα βασιδιοκάρπια είναι φρέσκα, ενώ σε κάποια άλλα τάξα δεν



Εικόνα 10: Φυλογενετικές σχέσεις μέσα στην τάξη Russulales (Larsson & Larsson 2003).

δίνουν θετική αντίδραση. Παρόλα αυτά, δεδομένα από σύγκριση αλληλουχιών DNA και μορφολογικών γνωρισμάτων οδηγούν στο συμπέρασμα ότι όλα τα συστήματα με

χαρακτηριστικές 'gloeoplerous hyphae' μέσα στην εξελικτική γραμμή της τάξης Russulales είναι ομόλογα (Larsson & Larsson, 2003).

Ένα άλλο κοινό χαρακτηριστικό της πλειοψηφίας των ειδών που ανήκουν στην τάξη Russulales είναι η αμυλοειδής αντίδραση των βασιδιοσπορίων, δηλαδή ο μεταχρωματισμός συστατικών της επιφάνειας των βασιδιοσπορίων σε σκούρο μπλε έως μαύρο, όταν έρχονται σε επαφή με διαλύματα που περιέχουν ιώδιο, όπως το διάλυμα Melzer. Κατά τους Larsson & Larsson (2003), η αμυλοειδής αντίδραση των βασιδιοσπορίων δεν μπορεί να θεωρηθεί ως συναπομορφία της τάξης, αφού είναι ένα γνώρισμα ευρέως διαδεδομένο στους Βασιδιομύκητες. Επιπλέον, όπως αναφέρουν, στο γένος *Peniophora*, της τάξης Russulales, δεν παρατηρείται αμυλοειδής αντίδραση των βασιδιοσπορίων, ενώ στα γένη *Scytinostroma* και *Albatrellus*, της τάξης Russulales, περιλαμβάνονται είδη με αμυλώδη αλλά και μη αμυλώδη βασιδιοσπόρια (Εικόνα 9).

3.3. Η Οικογένεια Russulaceae

Η οικογένεια Russulaceae περιλάμβανε μέχρι πρόσφατα τα αποκλειστικά αγαρικοειδή ("agaricoid") -σύμφωνα με την παραδοσιακή τους θεώρηση- γένη *Russula* και *Lactarius* και τα συγγενικά τους γαστεροειδή ("gasteroid") και πλευροτοειδή ("pleurotoid") τάξα.

Τα αγαρικοειδή είδη των γενών *Russula* και *Lactarius* αποτελούν και την μεγάλη πλειοψηφία των ειδών της οικογένειας και (κατά την παραδοσιακή τους θεώρηση, η οποία βασιζόταν σε μελέτη ειδών από το Β. Ημισφαίριο) παράγουν βασιδιοκάρπια με πύλο κυρτό έως χοανοειδή, στύπο κεντρικά διευθετημένο σε σχέση με τον πύλο, χωρίς βόλβα ή δακτύλιο. Επιπλέον, διαφέρουν από τα υπόλοιπα αγαρικοειδή γένη Βασιδιομυκήτων ως προς το ότι η σάρκα τους είναι ιδιαίτερα εύθραυστη, χαρακτηριστικό χρήσιμο για τη διάκρισή τους από άλλα γένη στο πεδίο. Συναπομορφία για τα είδη εκείνα που φέρουν πύλο και ελάσματα είναι η παρουσία σφαιροκύστεων (μεγάλα, ισοδιαμετρικά κύτταρα) στο τράμα του πύλου, των ελασμάτων και του στύπου (τράμα ετερομερές, χαρακτηριστικό στο οποίο οφείλεται και η εύθραυστη σάρκα τους).

Τα τελευταία χρόνια όμως, η προαναφερθείσα παραδοσιακή θεώρηση των δύο γενών έχει αλλάξει ριζικά μέσα στην οικογένεια Russulaceae, λόγω της

συστηματικής διερεύνησης της βιοποικιλότητας της σε μυκητολογικά ανεξερεύνητες χώρες, αλλά και λόγω της μελέτης των εξελικτικών σχέσεων μεταξύ μελών της με δεδομένα από τη σύγκριση αλληλουχιών DNA. Έτσι, η μελέτη της ποικιλότητας των γενών *Russula* και *Lactarius* στις τροπικές περιοχές της Αφρικής παλαιότερα (Hennings 1902, Heim 1937, 1938, όπως αναφέρεται από την Verbeke 1998b) και η συστηματική εξερεύνηση των ίδιων περιοχών πρόσφατα (Verbeke 1995, 1998a, 1998b, 2001, Van Rooy 2003, Buyck et al. 2007) βοήθησε ουσιαστικά στην "επέκταση-διεύρυνση" των μορφολογικών χαρακτηριστικών των δύο γενών. Περιγράφηκαν για παράδειγμα και στα δύο γένη, πολλά νέα, ενδημικά για την Αφρικανική ήπειρο είδη τα οποία φέρουν δακτύλιο γύρω από τον στύπο, γνώρισμα παντελώς άγνωστο για τα μέχρι τότε γνωστά είδη των γενών *Russula* και *Lactarius* του Β. Ημισφαιρίου.

Επιπλέον, τα συγγενικά γαστεροειδή και πλευροτοειδή τάξα παραδοσιακά ταξινομούνταν σε πολλά, μικρά, ξεχωριστά γένη, με βάση κυρίως τη μακρομορφολογία των βασιδιοκαρπίων και όχι λαμβάνοντας υπόψη τις πολύ έντονες μικροσκοπικές ομοιότητες με τα αγαρικοειδή γένη. Οι μοριακές φυλογενετικές μελέτες που συμπεριέλαβαν αυτά τα τάξα κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι όλα αυτά τα μικρά γένη δεν αποτελούν μονοφυλετικές ομάδες (Calonge & Martín 2000, Henkel et al. 2000, Miller et al. 2001, Nuytinck et al. 2003). Έτσι στις πιο πρόσφατες εργασίες οι ερευνητές υιοθετούν μια ευρύτερη θεώρηση των γενών *Russula* και *Lactarius* ώστε να συμπεριλάβουν επίσης και πλευροτοειδή, σεκοτιοειδή (secotioid) και γαστεροειδή τάξα (Henkel et al. 2000, Miller et al. 2002, Eberhardt & Verbeke 2004, Stubbe et al. 2012). Άλλωστε όσον αφορά τα σεκοτιοειδή και γαστεροειδή τάξα είναι γνωστό και από μοριακές φυλογενετικές μελέτες σε άλλες ομάδες Βασιδιομυκήτων, ότι η ομαδοποίηση-ταξινόμηση ειδών βάση μόνο της μορφολογίας του βασιδιοκαρπίου ήταν τεχνητή και δεν απεικόνιζε κάποια εξελικτική συγγένεια.

Ένα πολύ ενδιαφέρον εύρημα από την εργασία των Larsson & Larsson (2003), η οποία επιβεβαιώνεται και σχολιάζεται από τους Binder et al. (2005), είναι η παρουσία της οικογένειας Russulaceae μέσα σε έναν κλάδο που αποτελείται από τάξα με βασιδιοκάρπια προσκολλημένα στο υπόστρωμα (resupinate) που παραδοσιακά ταξινομούνταν στο γένος *Gloeocystidiellum* s. lat. Στην εργασία των Binder et al. (2005) ένας κλάδος που οι ερευνητές ονόμασαν /gloeocystidiellum I (*G. porosum* συν δυο μη ταυτοποιημένα δείγματα) παρουσιάζεται να είναι η αδερφή ομάδα ("sister group") του κλάδου /russulales (ως /russulales εννοούν την οικογένεια Russulaceae

και το είδος *Gloeocystidiellum aculeatum*) με ισχυρή στατιστική υποστήριξη (bootstrap value: 100%). Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι τα αγαρικοειδή, γαστεροειδή και πλευροτειδή είδη της οικογένειας Russulaceae έχουν προέλθει από απλές μορφές βασιδιοκαρπίων προσκολλημένων στο υπόστρωμα. Το ερώτημα που παραμένει σύμφωνα με το υ ερευνητές είναι το εάν η τροφική αλλαγή, δηλαδή η υιοθέτηση του εκτομυκορριζικού τρόπου διαβίωσης, είναι το αίτιο ή το αποτέλεσμα της αλλαγής της μορφολογίας του βασιδιοκαρπίου από προσκολλημένα στο υπόστρωμα σε αγαρικοειδή.

Έτσι, έπειτα από τις μοριακές φυλογενετικές μελέτες των Larsson & Larsson (2003), Binder et al. (2005) και Miller et al. (2006) η οικογένεια Russulaceae διευρύνθηκε και περιλαμβάνει πλέον είδη με πολύ διαφορετικούς τύπους βασιδιοκαρπίων, όπως βασιδιοκάρπια προσκολλημένα στο υπόστρωμα (resupinate), βασιδιοκάρπια με πύλο (pileate) και στύπο, όπου ο στύπος μπορεί να φέρει δακτύλιο ή μη (non-annulate/annulate), ή να συνδέεται πλευρικά με τον πύλο (pleurotoid), αλλά και γαστεροειδή βασιδιοκάρπια (gasteroid). Ο υμενοφόρος μπορεί να φέρει πόρους ή ελάσματα (poroid/lamellate). Τα περισσότερα είδη είναι εκτομυκορριζικά, αλλά πιθανολογείται πως κάποια από τα είδη της οικογένειας δρουν και σαν αποικοδομητές ξύλου (Miller et al. 2006).

3.4. Σύστημα ταξινόμησης εντός του γένους *Lactarius* Pers.

Μέχρι στιγμής, δεν υπάρχει ένα ολοκληρωμένο, φυσικό σύστημα ταξινόμησης για το γένος *Lactarius* σε παγκόσμια κλίμακα, που να υποστηρίζεται από μοριακά δεδομένα. Επιπλέον, όπως αναλύεται παρακάτω, πρόσφατες μοριακές φυλογενετικές μελέτες έχουν φέρει σημαντικές ανατροπές στα μέχρι προ δεκαετίας ισχύοντα. Τα πιο γνωστά συστήματα ταξινόμησης μέσα στο γένος είναι των Heilmann-Clausen et al. (1998) και Basso (1999) όσον αφορά τα ευρωπαϊκά είδη, το σύστημα των Hesler & Smith (1979) που επικεντρώνεται στα είδη της Β. Αμερικής, το σύστημα του Singer (1986) που περιλαμβάνει και κάποια τροπικά είδη, καθώς και αυτό της Verbeken (2001) που ασχολείται με τα Αφρικανικά είδη τα οποία είναι όλα ενδημικά της ηπείρου. Το πιο διαδεδομένο υπάρχον σύστημα ταξινόμησης για τα ευρωπαϊκά είδη του γένους (το οποίο υιοθετείται και για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας), είναι αυτό των Heilmann-Clausen et al. (1998), το οποίο χωρίζει τα ευρωπαϊκά είδη σε έξι υπογένη και παρατίθεται στη συνέχεια:

Subgenus *Piperites* (Fr.) Kauffman.

- ❖ Section *Atroviridi* Hesler & A.H. Sm.
- ❖ Section *Glutinosi* Quél.
 - Subsection *Pyrogalini* Singer.
 - Subsection *Trivialini* (Hesler & A.H. Sm.) Heilmann-Clausen & Vesterh.
 - Subsection *Pallidini* Bon.
- ❖ Section *Uvidi* (Konr.) Bon.
 - Subsection *Uvidini* Konr.
 - Subsection *Aspideini* Singer.
- ❖ Section *Zonarii* Quél.
 - Subsection *Scrobiculati* Hesler & A.H. Sm.
 - Subsection *Croceini* (Burl.) Singer
 - Subsection *Zonarii* Quél.
- ❖ Section *Dapetes* Fr.
- ❖ Section *Piperites* Fr.
- ❖ Section *Colorati* (Bat.) Hesler & A.H. Sm.
 - Subsection *Coloratini* (Bat.) Singer
 - Subsection *Rufini* Singer

Subgenus *Russularia* (Fr.) Kauffman.

- ❖ Section *Russularia* Fr.
- ❖ Section *Tabidi* Fr.
- ❖ Section *Olentes* Bat.

Subgenus *Plinthogalus* (Burl.) Hesler & A.H. Sm.

- ❖ Section *Plinthogali* (Burl.) Singer

Subgenus *Lactifluus* (Burl.) Hesler & A.H. Sm.

- ❖ Section *Lactifluus* (Burl.) Hesler & A.H. Sm.

Subgenus *Lactarius*

Subgenus *Lactariopsis* (Henn.) R. Heim.

- ❖ Section *Albati* (Bat.) Singer

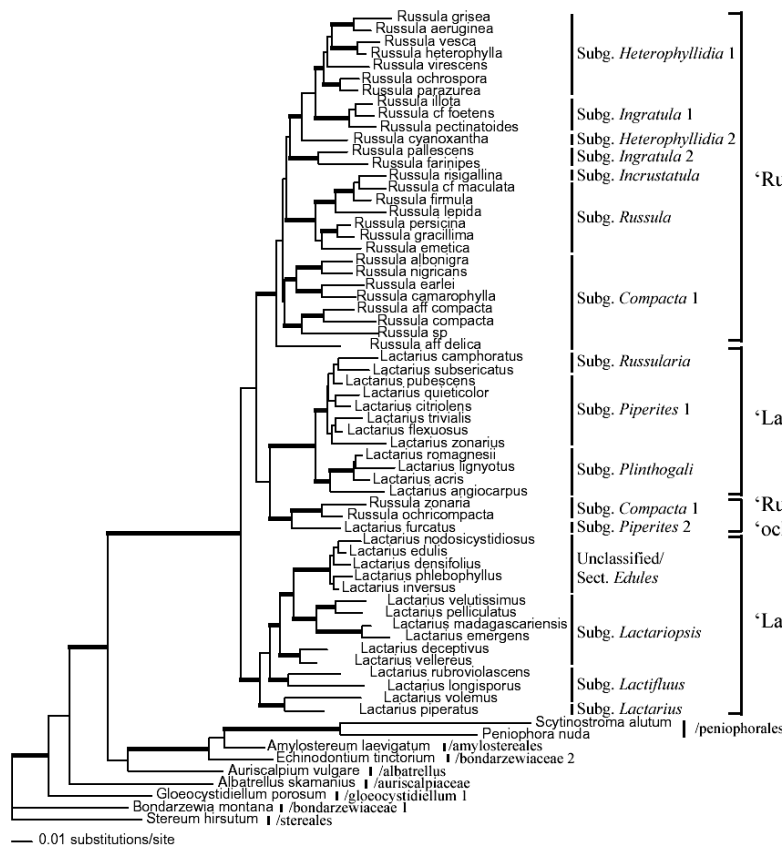
3.5. Εξελικτικές σχέσεις μεταξύ των γενών *Russula* και *Lactarius*

Παραδοσιακά, τα γένη *Russula* και *Lactarius* διαχωρίζονταν βάση δυο μορφολογικών γνωρισμάτων. Τα βασιδιοκάρπια ειδών του γένους *Lactarius* εκκρίνουν ένα είδος λακτικού υγρού όταν κόβονται ή τραυματίζονται και έχουν λίγες σφαιροκύστες στο τράμα του ελάσματος (παλαιότερα τα δυο γένη περιελάμβαναν μόνο αγαρικοειδή τάξα), ενώ τα είδη του γένους *Russula* δεν εκκρίνουν λακτικό υγρό και έχουν πολλές σφαιροκύστες στο τράμα του ελάσματος. Αυτός ο διαχωρισμός μεταξύ των δυο γενών είχε προκύψει και αφορούσε τους αντιπροσώπους τους από την εύκρατη ζώνη του Β. Ημισφαιρίου (Miller et al. 2001). Όμως, έπειτα από την εκτεταμένη μελέτη της ποικιλότητας των δυο γενών σε μυκητολογικά ανεξερεύνητες τροπικές περιοχές τις τελευταίες τρεις δεκαετίες, έχει υποβαθμιστεί η διαγνωστική αξία αυτών των γνωρισμάτων. Έτσι ο σύγχρονος διαχωρισμός έχει να κάνει με το σύστημα των λακτοφόρων υφών, το οποίο στα είδη του γένους *Russula* δεν διακλαδίζεται και δεν σχηματίζει ψευδοκυστίδια (απολήξεις των λακτοφόρων υφών) στο υμένιο, σε αντίθεση με το διακλαδιζόμενο σύστημα των λακτοφόρων υφών των ειδών του γένους *Lactarius* που προεξέχει στο υμένιο με τη μορφή ψευδοκυστιδίων.

Σχετικά πρόσφατα, τα δυο γένη *Lactarius* και *Russula* διευρύνθηκαν ώστε να συμπεριλάβουν αντιπροσώπους με μεγάλη ποικιλομορφία στα βασιδιοκάρπια, πέρα από τα κλασικά αγαρικοειδή τάξα, αφού έτσι επέβαλαν τα αποτελέσματα μοριακών αναλύσεων. Παρόλα αυτά τα δύο γένη όμως θεωρούνταν μονοφυλετικά. Όμως, οι Buysck *et al.* (2008) περιλαμβάνοντας στη μοριακή φυλογενετική μελέτη τους κάποια σπάνια είδη του γένους *Russula* καθώς και ένα σπάνιο είδος του γένους *Lactarius*, προέβαλλαν για πρώτη φορά στοιχεία για την ύπαρξη μιας επιπλέον μονοφυλετικής ομάδας που περιλαμβάνει αντιπροσώπους και από τα δύο γένη. Αυτή η μονοφυλετική ομάδα αποτελείται από αντιπροσώπους που καλύπτουν όλο το μορφολογικό φάσμα μεταξύ των δυο γενών, από τυπικά είδη *Russula* (χωρίς έκκριση λακτικού υγρού και χωρίς ψευδοκυστίδια) μέχρι τυπικό είδος *Lactarius* (έκκριση λακτικού υγρού και ψευδοκυστίδια) και πιο συγκεκριμένα περιλαμβάνει το *Lactarius furcatus* και τα περισσότερα είδη του *Russula* subgenus *Compacta*, sect. *Compactae* subsect. *Ochricompectae*.

Έτσι τα γένη *Russula* και *Lactarius* θεωρούνται πλέον παραφυλετικά και οι Buysck *et al.* (2008) προτείνουν τη δημιουργία ενός νέου ταξινομικού αθροίσματος, του γένους *Multifurca*, για να συμπεριλάβει αυτά τα σπάνια είδη. Με τη δημιουργία αυτού του νέου γένους, το γένος *Russula* παραμένει μονοφυλετικό, αλλά έκπληξη

δημιουργεί το γεγονός ότι το γένος *Lactarius* εξακολουθεί να εμφανίζεται σαν παραφυλετικό και χωρίζεται σε δύο κλάδους (Εικόνα 11). Ο ένας μονοφυλετικός κλάδος περιέχει τα υπογένη *Russularia*, *Plinthogalus* και *Piperites* και ο άλλος τα υπογένη *Lactarius*, *Lactifluus*, *Lactariopsis*, το section *Edules* και το νέο υπογένος *Gerardii* (Buyck *et al.* 2008, Stubbe *et al.* 2010). Έτσι οι Buyck *et al.* (2010) προτείνουν να διατηρηθεί το όνομα *Lactarius* για τον πρώτο κλάδο και να χρησιμοποιηθεί το όνομα *Lactifluus* για τον δεύτερο κλάδο.



Εικόνα 11: Φυλογενετικό δέντρο που προκύπτει από την ανάλυση των αλληλουχιών των γονιδίων ITS1-5,8S-ITS2, nucLSU και RPB2 και αλλάζει την εικόνα για τις φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ αλλά και εντός των γενών *Russula* και *Lactarius* (από Buyck *et al.* 2008).

Οι διαφορές λοιπόν μεταξύ των δύο κλάδων του γένους *Lactarius* μπορούν να συνοψιστούν ως ακολούθως (Nuytinck & Verbeke 2011). Ο πρώτος κλάδος (*Lactarius sensu novo*) εμφανίζει την κύρια εξάπλωση του στο Β. Ημισφαίριο. Αποτελεί μια πολυμελή ομάδα με σχετικά μικρή γενετική ποικιλότητα, παρόλο που υπάρχουν περιπτώσεις μεγάλης μορφολογικής διαφοροποίησης μεταξύ κάποιων τάξεων,

που δεν επιβεβαιώνεται μοριακά. Ένα επιπλέον χαρακτηριστικό αυτής της ομάδας είναι η παρουσία ειδών με αγγειοκαρπική ανάπτυξη βασιδιοκαρπίων, τα οποία εξελίχθηκαν ανεξάρτητα τουλάχιστον τρεις φορές και εμφανίζονται μέσα και στα τρία υπογένη (*Russularia*, *Plinthogalus* και *Piperites*). Αντίθετα, ο δεύτερος κλάδος (*Lactifluus*) εξαπλώνεται κυρίως στο Ν. Ημισφαίριο, με πολύ λίγους και όχι στενά συγγενικούς μεταξύ τους αντιπροσώπους στο Β. Ημισφαίριο. Αποτελεί μια ομάδα με πολύ μεγάλη γενετική ποικιλότητα, παρόλο που περιλαμβάνει λιγότερα είδη, και πολύ τυπικό γνώρισμα της είναι η παρουσία συμπλόκων ειδών όπου η γενετική ποικιλότητα είναι πολύ μεγαλύτερη από την παρατηρούμενη μορφολογική ποικιλότητα. Επίσης, συνηθισμένα σε αυτόν τον κλάδο είναι τα παχύτοιχα στοιχεία στην επιδερμίδα του πύλου και του στύπου, αλλά και τα παχύτοιχα κυστίδια. Η δομή του υμενοφόρου τράματος αποτελείται κυρίως από σφαιροκύστεις, όπως στο γένος *Russula*, χαρακτηριστικό που είναι σπάνιο για τον πρώτο κλάδο. Τέλος όλα τα γνωστά πλευροτοειδή είδη ταξινομούνται στον δεύτερο κλάδο.

3.6. Ποικιλότητα- εξάπλωση του γένους *Lactarius*

Το γένος *Lactarius* έχει σχεδόν κοσμοπολίτικη εξάπλωση. Βρίσκεται σε όλες τις ηπείρους εκτός από την Ανταρκτική. Σήμερα περιλαμβάνει περίπου 500 είδη, με τα 100 να έχουν περιγραφεί μόλις μέσα στην τελευταία δεκαετία λόγω της μελέτης της ποικιλότητας του γένους σε τροπικές περιοχές (Stubbe et al. 2012).

Η ποικιλότητα του γένους στη Β. Αμερική είναι σχετικά καλά μελετημένη. Η μονογραφία των Hesler & Smith (1979) είναι το πιο σημαντικό βοήθημα για τη μελέτη της ποικιλότητας του γένους στην περιοχή. Πιο πρόσφατες εργασίες αφορούν μέλη του τμήματος *Deliciosi* και του νέου υπογένους *Gerardii* στην Β. και Κ. Αμερική (Nuytinck et al. 2006, 2007, Stubbe et al. 2010), περιγραφή νέων ειδών από το Μεξικό (Montoya et al. 1996, Montoya & Bandala 2003, 2008) και νέα αγγειοκαρπικά είδη (Desjardin 2003).

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες έγινε εκτεταμένη μελέτη της ποικιλότητας του γένους στην Αφρική, κυρίως στις τροπικές περιοχές της ηπείρου. Περιγράφηκαν πολλά νέα είδη και προτάθηκε ταξινομικό σύστημα για τα αφρικανικά είδη του γένους, τα οποία είναι όλα ενδημικά της ηπείρου (Verbeken 1998a, 1998b, 2001, Van Rooyja 2003). Οι Buyck et al. (2007) μελέτησαν την ποικιλότητα του γένους στη Μαδαγασκάρη και περιέγραψαν δύο νέα -και πιθανότατα- ενδημικά είδη.

Τα δεδομένα για την ποικιλότητα του γένους στην Ασιατική ήπειρο είναι λίγα και αποσπασματικά και οι πιο μελετημένες περιοχές είναι η Ιαπωνία και η Κίνα (Nuytinck et al. 2006). Παρόλο που οι βιβλιογραφικές αναφορές που σχετίζονται με την ποικιλότητα και την ταξινόμηση του γένους στην Κίνα είναι αρκετές, τα δεδομένα που παρέχουν είναι αποσπασματικά, επειδή σε αρκετές παλαιότερες μελέτες λείπουν οι αναλυτικές περιγραφές και τα δείγματα αναφοράς, απεικονίσεις, αλλά και στοιχεία του ενδιαφέροντος. Έτσι οι Wang et al. (2007) μελέτησαν τους τύπο η από δέκα τάξια που είχαν περιγραφεί για πρώτη φορά από την Κίνα παρέχοντας σύγχρονες και αναλυτικές περιγραφές, ενώ οι Wang et al. (2006) και Wang & Verbeken (2006) περιέγραψαν νέα είδη. Επιπλέον, οι Nuytinck et al. (2006) μελέτησαν τους ασιατικούς αντιπροσώπους του τμήματος *Deliciosi*, στα πλαίσια της μελέτης αυτής της ομάδας σε παγκόσμια κλίμακα. Την τελευταία δεκαετία η έρευνα της ποικιλότητας του γένους επεκτάθηκε και σε άλλες περιοχές της Ασίας. Οι Le et al. (2007a, 2007b, 2007c) και Van de Putte et al. (2010) μελέτησαν την ποικιλότητα του γένους στην Ταϊλάνδη και περιέγραψαν νέα είδη βασιζόμενοι σε μορφολογικά αλλά και μοριακά δεδομένα. Οι Stubbe et al. (2008, 2012) μελέτησαν το γένος στη Μαλαισία, όπου πολλά και εντυπωσιακά νέα είδη περιγράφηκαν, κυρίως από το υπογένος *Plinthogalus* (που φάνηκε να έχει ιδιαίτερα αυξημένη ποικιλότητα στη συγκεκριμένη περιοχή), αλλά και από το νέο υπογένος *Gerardii*.

Η ποικιλότητα του γένους στην ήπειρο της Αυστραλίας έχει μελετηθεί αρκετά τα τελευταία χρόνια. Ένας μεγάλος αριθμός νέων ειδών έχει περιγραφεί από την Παπούα Νέα Γουινέα (Verbeken & Horak 1999, 2000, Verbeken et al. 2002), την Τασμανία και τη Νέα Ζηλανδία (Stubbe et al. 2012).

Τέλος, η ποικιλότητα του γένους στην Ευρώπη, όπου και περιγράφηκε για πρώτη φορά το γένος, είναι καλά μελετημένη και ο αριθμός των ειδών ανέρχεται περίπου στα 135. Παρόλα αυτά σε αρκετά σύμπλοκα ειδών δεν έχουν διαλευκανθεί επαρκώς οι φυλογενετικές σχέσεις (Verbeken et al. 2001). Υπάρχουν δύο πρόσφατες σημαντικές μονογραφικές μελέτες του γένους στην Ευρώπη, με την πρώτη να εστιάζει σε είδη της Β. Ευρώπης (Heilmann-Clausen et al. 1998) και την δεύτερη να περιλαμβάνει επιπλέον και είδη της Ν. Ευρώπης, συμπεριλαμβανομένων και των μεσογειακών οικοσυστημάτων (Basso 1999). Από την ευρωπαϊκή ήπειρο υπάρχουν επίσης πρόσφατες περιγραφές νέων ειδών (ενδεικτικά: Piltaver 1992, Llistosella & Bellu 1996, Verbeken & Vesterholt 1998) καθώς και πρόσφατες μορφολογικές και μοριακές μελέτες που εστιάζουν σε συγκεκριμένες ομάδες ειδών, όπως το τμήμα

Deliciosi (Nuytinck & Verbeken 2003, 2005, 2007), το *L. tesquorum* και τα συγγενικά του είδη (Nuytinck et al. 2004), καθώς και αγγειοκαρπικά είδη (Nuytinck et al. 2003). Η ποικιλότητα του γένους σε μεσογειακές περιοχές της Ν. Ευρώπης έχει μελετηθεί ως ένα βαθμό, κυρίως από την Basso (1999). Πρόσφατες μοριακές φυλογενετικές μελέτες που περιλαμβάνουν μεσογειακά είδη, είναι των Nuytinck et al. (2004), Nuytinck & Verbeken (2003, 2007), Eberhardt et al. (2000).

3.7. Η ποικιλότητα του γένους *Lactarius* στην Ελλάδα

Η πρώτη προσπάθεια συστηματικής καταγραφής της ποικιλότητας των μυκήτων στην Ελλάδα είναι η μελέτη των Maire & Politis (1940). Ακολουθούν κάποιες εργασίες φυτοπαθολογικού κυρίως ενδιαφέροντος και το 1973 εκδίδεται ο κατάλογος μυκήτων και ξενιστών της Ελλάδας (Pantidou, 1973), στον οποίο συνοψίζεται η μέχρι τότε γνώση της ποικιλότητας των μυκήτων της Ελλάδας. Μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του 1990 δημοσιεύονται αρκετά επιστημονικά άρθρα που αφορούν τους μακρομύκητες της Ελλάδας (ενδεικτικά: Pantidou 1980, Διαμαντής & Minter 1981, Διαμαντής & Minter 1983, Pantidou & Gonou 1984, Minter et al. 1987, Zervakis & Balis 1991, Zervakis et al. 1992, Kotlaba & Klan 1994, Διαμαντής & Περγέρου 1997, Αθανασίου & Θεοχάρη 1999, Tsopeias 1999), καθώς και δυο διδακτορικές διατριβές (Ζερβάκης 1992, Τσόπελας 1997). Στο τέλος της δεκαετίας του 1990 δημοσιεύονται δυο νέοι κατάλογοι που αφορούν μακρομύκητες του φύλου Basidiomycota (Zervakis et al. 1998) και Ascomycota (Zervakis et al. 1999) της Ελλάδας, όπου συνοψίζονται οι μέχρι τότε δημοσιευμένες αναφορές μακρομυκήτων, αλλά προστίθενται και νέα αδημοσίευτα στοιχεία των συγγραφέων. Από τότε, η γνώση της ποικιλότητας των μακρομυκήτων της Ελλάδας αυξάνεται σημαντικά, όπως πιστοποιούν οι πολυάριθμες σχετικές δημοσιευμένες εργασίες (ενδεικτικά: Athanassiou & Theochari 2001, Diamandis & Perlerou 2001, Dimou et al. 2002, Zervakis et al. 2002a, Zervakis et al. 2002b, Gonou-Zagou & Delivorias 2005, Polemis & Noordeloos 2007, Delivorias & Gonou-Zagou 2008, Dimou et al. 2008, Noordeloos & Polemis 2008, Richardson 2008, Delivorias & Gonou-Zagou 2010, Delivorias et al. 2010, Gonou-Zagou & Delivorias 2011, Gonou-Zagou et al. 2011, Delivorias et al. 2011, Polemis et al. 2011, Polemis et al. 2012a, Polemis et al. 2012b). Επίσης τα τελευταία χρόνια ολοκληρώθηκαν δυο ακόμα διδακτορικές διατριβές (Γκόνου-Ζάγκου 2003, Πολέμης 2010), οι οποίες προσθέτουν αρκετές νέες καταγραφές μακρομυκήτων.

Η γνώση για την ποικιλότητα του γένους *Lactarius* στην Ελλάδα, όπως και των περισσότερων γενών μακρομυκήτων, αυξάνεται σημαντικά τα τελευταία χρόνια. Από τα περίπου 48 ονόματα ειδών του γένους που έχουν αναφερθεί συνολικά στην Ελλάδα, τόσο από καθαρά επιστημονικές πηγές (επιστημονικά άρθρα, πρακτικά ή τόμοι περιλήψεων συνεδρίων) όσο και από εικονογραφημένα βιβλία ή οδηγούς πεδίου, περίπου τα μισά (21 είδη) έχουν αναφερθεί από το 2000 και μετά. Από αυτά, τα 12 είδη έχουν αναφερθεί για πρώτη φορά τα τελευταία έξι χρόνια (Κωνσταντινίδης 2006, Polemis et al. 2007, Dimou et al. 2008, Triantafyllou et al. 2009, Αθανασίου 2010, Πολέμης 2010), γεγονός που υποδεικνύει ότι η ποικιλότητα του γένους στην Ελλάδα είναι πολύ πιθανό να είναι μεγαλύτερη από αυτή που γνωρίζουμε μέχρι σήμερα.

4. Οικονομική σημασία - Χρήσεις και εφαρμογές ειδών του γένους *Lactarius*

4.1. Εδώδιμα είδη

Τα είδη του γένους *Lactarius* είναι εύκολα αναγνωρίσιμα στο πεδίο σε επίπεδο γένους, κυρίως λόγω της παρουσίας του λακτικού υγρού, και δεδομένου ότι κανένα είδος του γένους δεν είναι επικίνδυνο δηλητηριώδες, υπάρχουν είδη που συλλέγονται συστηματικά ακόμη και από λιγότερο έμπειρους συλλέκτες μανιταριών. Τα περισσότερα εδώδιμα είδη ανήκουν στο τμήμα *Deliciosi* και χαρακτηρίζονται από λακτικό υγρό πορτοκαλί, κόκκινο ή σπανιότερα μπλε, χαρακτηριστικό που καθιστά εύκολη την αναγνώριση τους και πολύ δύσκολη τη σύγχυση με κάποιο μη εδώδιμο είδος *Lactarius* ή με κάποιο δηλητηριώδες είδος άλλου γένους. Τα πιο αξιόλογα εδώδιμα είδη του τμήματος *Deliciosi* στην Ευρώπη θεωρούνται τα *L. deliciosus*, *L. salmonicolor*, *L. sanguifluus*, *L. vinosus* και καταναλώνονται σε μεγάλο βαθμό στις χώρες της Μεσογείου, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας (Heilmann-Clausen 1998, Basso 1999, Nuytinck 2005). Επιπλέον, ένα καλό εδώδιμο είδος, που δεν ανήκει στο τμήμα *Deliciosi*, είναι το *L. volemus*. Στη Β. & Α. Ευρώπη σχεδόν όλα τα είδη του γένους θεωρούνται εδώδιμα και καταναλώνονται έπειτα από κατάλληλη επεξεργασία (π.χ. βράσιμο ή συντήρηση σε αλάτι), ενώ τα μόνα είδη που θεωρούνται τοξικά είναι τα *L. helvus*, *L. torminosus*, *L. piperatus*, *L. plumbeus* (= *L. turpis*) (Heilmann-Clausen 1998, Basso 1999).

4.2. Τεχνητή μυκόρριζα

Μια ακόμη ενδιαφέρουσα εφαρμογή ειδών του γένους *Lactarius* είναι η χρήση τους στην πρακτική της δημιουργίας τεχνητής μυκόρριζας ("artificial mycorrhization"), την αποίκηση δηλαδή, σπόρων, αρτιβλάστων ή ριζών με μυκήλιο κάποιου επιλεγμένου μυκορριζικού μύκητα. Αυτή η πρακτική έχει θετική επίδραση κατά την αναδάσωση περιοχών, λόγω του ότι η παρουσία της εκτομυκόρριζας προσφέρει στο φυτό τα γνωστά οφέλη (αποτελεσματικότερη πρόσληψη θρεπτικών, προστασία από την ξηρασία κλπ.). Διάφορα είδη εκτομυκορριζικών μυκήτων έχουν χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία τεχνητής μυκόρριζας και ένα από τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα είδη είναι το *Pisolithus tinctorius* (Smith & Read 1997). Ένα ακόμη όφελος από αυτή την πρακτική μπορεί να προκύψει όταν ο εκτομυκορριζικός μύκητας που επιλέγεται παράγει εδώδιμα βασιδιοκάρπια, όπως συγκεκριμένα είδη του γένους *Lactarius*. Έχουν ήδη αναπτυχθεί μέθοδοι για την παραγωγή τεχνητής μυκόρριζας με το είδος *L. deliciosus* σε δενδρύλλια *Pinus sylvestris*, η οποία φαίνεται πως έχει αρκετά θετική επίδραση στην ανάπτυξη των δενδρυλλίων και σύμφωνα με τους ερευνητές το συγκεκριμένο είδος εκτομυκορριζικού μύκητα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε αναδασώσεις στην περιοχή της Μεσογείου (Guerin-Laguet et al. 2000, 2003).

5. Συστηματική Μυκήτων - Βασιδιομυκήτων

5.1. Ο κλάδος της Συστηματικής

Το αντικείμενο του κλάδου της συστηματικής βιολογίας ("systematic biology") είναι η ανακάλυψη, περιγραφή και ονομασία όλων των ειδών του πλανήτη, η κατάταξη τους βάση των φυλογενετικών τους σχέσεων, καθώς και η παροχή μεθόδων για την αναγνώριση τους. Ο κλάδος της συστηματικής αποτελεί τη βάση για τη μελέτη της βιοποικιλότητας του πλανήτη. Αρχή του κλάδου της συστηματικής βιολογίας είναι ότι κάθε τάξο θα πρέπει να αποτελεί μια μονοφυλετική ομάδα (ειδικότερα μέσω της φυλογενετικής θεώρησης του είδους). Ο όρος ταξινόμηση θεωρείται πλέον από τους περισσότερους ερευνητές ως συνώνυμος του όρου συστηματική, ενώ από άλλους χρησιμοποιείται ως το πεδίο της συστηματικής που ασχολείται με την περιγραφή, ονομασία, κατάταξη και παροχή εργαλείων αναγνώρισης των οργανισμών, χωρίς

απαραίτητα η κατάταξη αυτή να αντικατοπτρίζει πραγματικές εξελικτικές σχέσεις, δεν περιλαμβάνει δηλαδή τη μελέτη της φυλογένεσης (άλφα ταξινομική).

5.2. Κριτήρια-θεωρήσεις για το είδος στους Μύκητες

Η έννοια του είδους είναι βασική για τον κλάδο της συστηματικής βιολογίας. Είναι γνωστό ότι υπάρχουν πολλές θεωρήσεις του τι είναι είδος ("species concepts"), όπως το βιολογικό, το μορφολογικό, το οικολογικό και το φυλογενετικό είδος. Η αντιπαράθεση μεταξύ των ερευνητών σχετικά με τις διαφορετικές θεωρήσεις του είδους προκύπτει γιατί παραβλέπεται το γεγονός, ότι οι προαναφερόμενες θεωρήσεις του είδους δεν αποτελούν προσπάθειες ορισμού του ("species definition"), αλλά πρακτικούς τρόπους ώστε τα διάφορα άτομα να αναγνωρίζονται και να τοποθετούνται μέσα στο ίδιο ή σε διαφορετικά είδη ("species criteria") (De Queiroz 1998, Taylor et al. 2000, Hey 2006, Giraud et al. 2008). Η βιολογική θεώρηση του είδους δίνει έμφαση στην αναπαραγωγική απομόνωση, η μορφολογική θεώρηση δίνει έμφαση στη μορφολογική απόκλιση, η οικολογική θεώρηση εστιάζει στην προσαρμογή σε μια συγκεκριμένη οικοθέση και φυλογενετική θεώρηση εστιάζει στην απόκλιση αλληλουχιών του DNA. Αυτά τα ξεχωριστά κριτήρια αντιστοιχούν στην ουσία σε διαφορετικά γεγονότα που συμβαίνουν κατά την απόκλιση μιας εξελικτικής γραμμής (Giraud et al. 2008). Σύμφωνα με τον De Queiroz (1998), οι περισσότεροι σύγχρονοι ερευνητές συμφωνούν ότι τα είδη ανταποκρίνονται σε τμήματα εξελικτικών γραμμών που εξελίσσονται ανεξάρτητα το ένα από το άλλο.

Στους μύκητες, η συνηθέστερη θεώρηση για το είδος, που χρησιμοποιούσαν μέχρι πρόσφατα οι ερευνητές, ήταν η μορφολογική και βάση του μορφολογικού κριτηρίου για το είδος έχουν περιγραφεί τα περισσότερα είδη μυκήτων έως σήμερα. Όμως, η θεώρηση αυτή αποδεικνύεται πως είναι ανεπαρκής σε πολλές περιπτώσεις, καθώς ανακαλύπτονται όλο και περισσότερα κρυπτικά είδη μυκήτων ή αποδεικνύεται μεγάλη φαινοτυπική παραλλακτικότητα ως αποτέλεσμα της επίδρασης περιβαλλοντικών παραγόντων. Υπάρχουν δηλαδή περιπτώσεις όπου είδη που είχαν περιγραφεί βάση της μορφολογικής θεώρησης (δηλ. με βάση το ότι ήταν μορφολογικά όμοια), φαίνεται να αποτελούνται από παραπάνω από ένα είδη βάση της βιολογικής (Anderson & Ullrich 1979, Zervakis & Balis 1996, Zervakis 1998) ή της φυλογενετικής θεώρησης του είδους (Hibbett et al. 1995, Zervakis et al. 2004, Geml et al. 2008, Ravash et al. 2010, Stubbe et al. 2010, Van de Putte et al. 2010).

Όμως, ακόμη και η βιολογική θεώρηση του είδους είναι και αυτή ανεπαρκής σε ορισμένες περιπτώσεις στους μύκητες. Οι δοκιμές σύζευξης είναι δυνατές μόνο σε μύκητες που παράγουν μειοσπόρια, ενώ πολλοί μύκητες δεν καλλιεργούνται στο εργαστήριο. Επιπλέον, ακόμα και όταν οι δοκιμές σύζευξης πετυχαίνουν υπάρχει η πιθανότητα αυτό το κριτήριο να ομαδοποιεί μαζί ομάδες μυκήτων, οι οποίες είναι γενετικά απομονωμένες στη φύση, αλλά διατηρούν τη δυνατότητα να διασταυρώνονται *ex situ*, δηλ. σε εργαστηριακές συνθήκες (Zervakis 1998). Επίσης υπάρχουν εργασίες που αποδεικνύουν την ύπαρξη περισσότερων από ένα φυλογενετικών ειδών μέσα σε κάποια βιολογικά είδη μυκήτων (ενδεικτικά: Vilgalys & Sun 1994, Hibbett et al. 1995, Hibbett & Donoghue 1996, Zervakis et al. 2004) Στις μέρες μας το φυλογενετικό κριτήριο χρησιμοποιείται ευρύτατα για την περιγραφή νέων ειδών. Η μεθοδολογία που ακολουθείται είναι η αλληλουχίαση τμημάτων του γονιδιώματος και στη συνέχεια η σύγκριση συγκεκριμένων αλληλουχιών DNA, ώστε να διαπιστωθεί η συγγένεια μεταξύ των διαφόρων δειγμάτων. Τα τελευταία χρόνια το κριτήριο που κερδίζει έδαφος όσον αφορά την αναγνώριση νέων ειδών στους μύκητες είναι μια προέκταση του φυλογενετικού κριτηρίου για το είδος. Το GCPSR (Genealogical Concordance Phylogenetic Species Recognition) βασίζεται στη φυλογενετική συμφωνία πολλών ανεξάρτητων γονιδίων για να εντοπίσει ένα φραγμό στην γονιδιακή ροή (Taylor et al. 2000) και έχει χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό νέων ειδών και για τη μελέτη συμπλόκων-ειδών σε αρκετές περιπτώσεις, μεταξύ των οποίων και για είδη του γένους *Lactarius* (Van de Putte et al. 2010).

5.3. Συστηματική Βασιδιομυκήτων

Η έρευνα στο πεδίο της συστηματικής των Βασιδιομυκήτων θα μπορούσε να χωριστεί σε τρεις επιμέρους περιόδους. Τα συστήματα ταξινόμησης των Βασιδιομυκήτων του 19^{ου} αιώνα, τα οποία προέκυψαν από τις εργασίες των πρωτοπόρων μυκητολόγων Elias Magnus Fries (1838, 1874) και Christiaan Hendrik Persoon (1801) βασίζονταν στην μακρομορφολογία των βασιδιοκαρπίων και του υμενοφόρου. Έτσι τα ανώτερα τάξα που αναγνωρίζονταν εκείνη την περίοδο αποτελούσαν πολυφυλετικές ομαδοποιήσεις. Κατά τον 20^ο αιώνα η παρατήρηση και η μελέτη των ανατομικών χαρακτηριστικών (π.χ. μορφολογία των βασιδιοσπορίων) έφερε πολλές αλλαγές στην μέχρι τότε επικρατούσα ταξινόμηση και οδήγησε σε

αρκετές περιπτώσεις σε ομαδοποιήσεις που αντανακλούσαν σε μεγαλύτερο βαθμό πραγματικές εξελικτικές συγγένειες. Παρόλα αυτά, η απλή μορφολογία των Βασιδιομυκήτων και τα συχνά φαινόμενα εξελικτικής σύγκλισης οδηγούν αρκετές φορές τους ερευνητές σε διχογνωμίες ή λανθασμένα συμπεράσματα. Οι μεγαλύτερες ανατροπές σε όλα τα ταξινομικά επίπεδα, προς ένα σύστημα ταξινόμησης που αντικατοπτρίζει τις πραγματικές εξελικτικές σχέσεις μεταξύ των ειδών, έγιναν από τη δεκαετία του 1990 και έπειτα, μέσω της χρήσης μοριακών τεχνικών και κυρίως μέσω της σύγκρισης αλληλουχιών DNA.

5.4. Μέθοδοι κλασσικής ταξινόμησης Βασιδιομυκήτων

Η κλασσική ταξινόμηση των μυκήτων βασίζεται στη μελέτη των μακροσκοπικών και μικροσκοπικών χαρακτηριστικών των οργανισμών αυτών, προερχόμενων ή από περιβαλλοντικά δείγματα είτε από καθαρές καλλιέργειες. Σε κάποιες περιπτώσεις και κυρίως όσον αφορά τις ανώτερες ταξινομικές κατηγορίες χρησιμοποιούνται επίσης και πληροφορίες από τη λεπτή δομή (ultrastructure) κάποιων στοιχείων, όπως τα μιτοχόνδρια και τα εγκάρσια διαφράγματα των υφών (με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης), ή και βιοχημικά δεδομένα, όπως η σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος ή τα εναλλακτικά μονοπάτια βιοσύνθεσης της λυσίνης.

Ειδικά όσον αφορά στην κλασσική ταξινόμηση των Βασιδιομυκήτων του υποφύλου Agaricomycotina, αυτή βασίζεται κυρίως στη μελέτη των μακροσκοπικών και μικροσκοπικών χαρακτηριστικών των βασιδιοκαρπίων (εξαιρουμένων των λίγων περιπτώσεων που δεν σχηματίζουν βασιδιοκάρπιο). Τα βασιδιοκάρπια συλλέγονται στο πεδίο, καταγράφονται άμεσα τα μακροσκοπικά τους χαρακτηριστικά καθώς και παρατηρήσεις που αφορούν το ενδιαίτημα και το υπόστρωμα. Έπειτα αποξηραίνονται για να διατηρηθούν, ώστε να μελετηθούν στη συνέχεια τα μικροσκοπικά τους χαρακτηριστικά. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ακόμη και δεδομένα λεπτής δομής (με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης), όπως λεπτομέρειες της επιφάνειας των βασιδιοσπορίων για την επίλυση ταξινομικών σχέσεων μεταξύ συγγενικών ειδών. Όσον αφορά στα είδη των Βασιδιομυκήτων που μπορούν να καλλιεργηθούν σε θρεπτικά υποστρώματα στο εργαστήριο, οι καθαρές καλλιέργειες είναι σε θέση επίσης να δώσουν ταξινομικές πληροφορίες, ή μέσω παρατήρησης της μακρο και μικρομορφολογίας της σχηματιζόμενης αποικίας είτε μέσω δοκιμών σύζευξης των υφών.

Τα βασικά χαρακτηριστικά τα οποία πρέπει να καταγράφονται κατά τη μακροσκοπική παρατήρηση των βασιδιοκαρπίων είναι το υπόστρωμα ή ο ξενιστής, το σχήμα, οι διαστάσεις, το χρώμα και η μορφολογία της επιφάνειας του βασιδιοκαρπίου, όπως και η μορφολογία του υμενοφόρου (π.χ. ελάσματα, πόροι, δόντια). Σε κάποιες περιπτώσεις, χαρακτηριστικές οσμές ή γεύσεις μπορεί να αποτελούν χρήσιμα ταξινομικά γνωρίσματα, όπως και η χρωματική αντίδραση της σάρκας του βασιδιοκαρπίου με την εφαρμογή συγκεκριμένων αντιδραστηρίων (π.χ. ΚΟΗ). Σε κάποια γένη Βασιδιομυκήτων παρατηρείται η έκκριση ενός είδους υγρού από τραυματισμένα σημεία των βασιδιοκαρπίων (π.χ. *Lactarius*). Σε αυτές τις περιπτώσεις, το αρχικό χρώμα και πιθανοί μεταχρωματισμοί του υγρού αυτού αποτελούν επίσης σημαντικά ταξινομικά γνωρίσματα.

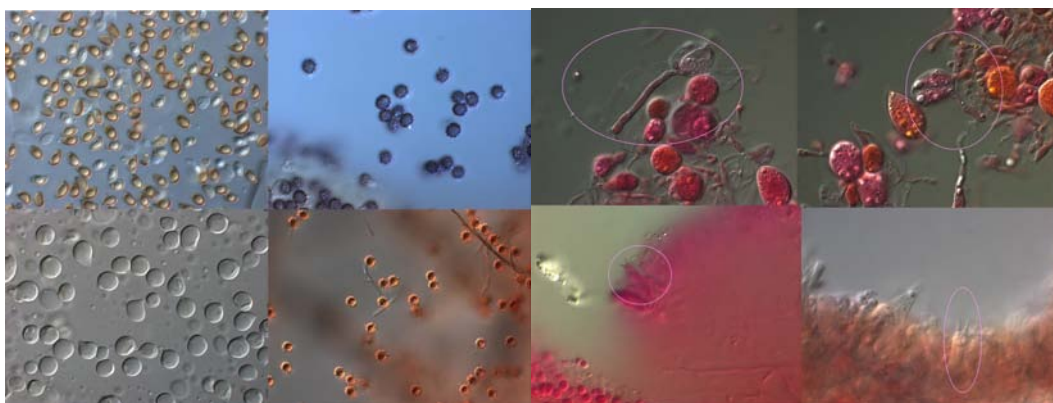
Κατά τη μικροσκοπική παρατήρηση οι δομές που παρουσιάζουν το μεγαλύτερο ταξινομικό ενδιαφέρον είναι οι ακόλουθες:

α. Βασιδιοσπόρια:

Τα χαρακτηριστικά των βασιδιοσπορίων αποτελούν τους σημαντικότερους ταξινομικούς χαρακτήρες στα είδη του υποφύλου Agaricomycotina. Οι χαρακτήρες που παρατηρούνται είναι το χρώμα, το σχήμα, και οι διαστάσεις των βασιδιοσπορίων, η ύπαρξη ή η απουσία αμυλοειδούς ή δεξτρίνοειδούς αντίδρασης, η τυχόν ύπαρξη διακόσμησης, και το μοτίβο που σχηματίζεται, καθώς και το πάχος του τοιχώματος (λεπτότοιχο-παχύτοιχο) (Εικόνα 12).

β. Βασίδια:

Στην πλειοψηφία των ειδών του υποφύλου Agaricomycotina τα βασίδια είναι μονοκύτταροι ροπαλόμορφοι σχηματισμοί, και οι διαστάσεις ή το σχήμα τους δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερο ταξινομικό ενδιαφέρον, λόγω της έλλειψης ποικιλομορφίας. Τα στηρίγματα των βασιδίων είναι συνήθως τέσσερα και στις περιπτώσεις που υπάρχει κάποια διαφοροποίηση αυτή πρέπει να καταγράφεται επειδή σε ορισμένα είδη αποτελεί ταξινομικό γνώρισμα. Σε κάποια είδη του υποφύλου Agaricomycotina τα βασίδια είναι μονοκύτταρα μεν, αλλά το σχήμα δεν είναι το συνηθισμένο ροπαλόμορφο, αλλά διχαλωτό (Κλάση Dacrymycetes), ενώ σε άλλα είδη τα βασίδια δεν είναι μονοκύτταρα, αλλά χωρίζονται από κάθετα ή οριζόντια διαφράγματα (Tremellales, Auriculariales), χαρακτηριστικό που παρουσιάζει ταξινομικό ενδιαφέρον στο επίπεδο της τάξης (Εικόνα 13).



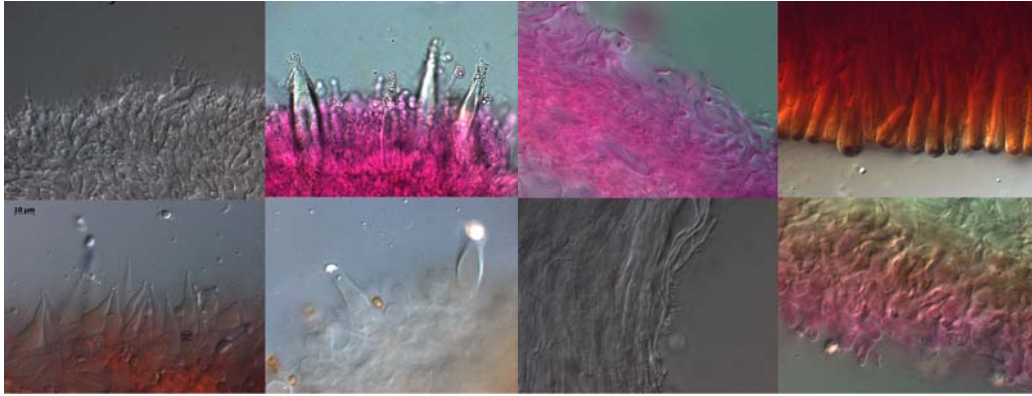
Εικόνα 12: Ποικιλομορφία βασιδιοσπορίων (αριστερά). Εικόνα 13: Ποικιλομορφία βασιδίων (δεξιά) (από Τριανταφύλλου 2009).

γ. Κυστίδια:

Τα κυστίδια αποτελούν άγονους σχηματισμούς, που μπορεί να βρίσκονται σε διάφορα σημεία του βασιδιοκαρπίου, όπως στις πλευρές ή στο χείλος των ελασμάτων (πλευροκυστίδια και χειλοκυστίδια αντίστοιχα), στην επιδερμίδα του πύλου (πυλοκυστίδια) ή και στην επιδερμίδα του στύπου (καυλοκυστίδια). Η συχνότητα, οι διαστάσεις και το σχήμα των κυστιδίων αποτελούν σημαντικά ταξινομικά γνωρίσματα, όπως επίσης το πάχος των τοιχωμάτων τους και η ύπαρξη κρυστάλλων (Εικόνα 14). Σε γένη όπως τα *Russula* και *Lactarius* τα κυστίδια που βρίσκονται στα ελάσματα καλούνται μακροκυστίδια και χαρακτηρίζονται από το περιεχόμενό τους, το –συνήθως– ατρακτοειδές ως κωνικό σχήμα τους, καθώς και από το ότι προέρχονται από βαθύτερα σημεία του υμενίου (Heilmann-Clausen et al. 1998).

δ. Επιδερμίδα πύλου:

Η δομή της επιδερμίδας του πύλου (για τα είδη που σχηματίζουν βασιδιοκάρπια με πύλο) μπορεί ανάλογα με το γένος ή το είδος να αποτελεί πολύ χρήσιμο ταξινομικό γνώρισμα (Εικόνα 15). Υπάρχουν περιπτώσεις γενών όπου η δομή της επιδερμίδας του πύλου καθορίζει την συστηματική κατάταξη μέσα στο γένος (π.χ. *Lactarius*). Χαρακτηριστικά που παρατηρούνται είναι το σχήμα και ο προσανατολισμός των υφών, η παρουσία ή μη ζελατινώδους στρώσης κ.α.



Εικόνα 14: Ποικιλομορφία κυστιδίων (αριστερά). Εικόνα 15: Ποικιλομορφία της δομής της επιδερμίδας του πύλου (δεξιά) (από Τριανταφύλλου 2009).

Άλλα γνωρίσματα που μπορεί να μελετώνται ανάλογα με το είδος/γένος είναι η παρουσία ή απουσία κρίκων στις υφές και οι διαφορετικοί τύποι υφών από τις οποίες μπορεί να αποτελείται το βασιδιοκάρπιο (σύστημα υφών, κυρίως στα είδη με ξυλώδη βασιδιοκάρπια).

5.5. Μοριακή συστηματική Βασιδιομυκήτων

Τα τελευταία είκοσι χρόνια, η συστηματική των μυκήτων επηρεάστηκε από την ανάπτυξη νέων τεχνικών στα πεδία της βιοχημείας και της μοριακής βιολογίας. Πριν την ευρεία χρησιμοποίηση τεχνικών αλληλούχησης του DNA, είχαν χρησιμοποιηθεί (ή ακόμη χρησιμοποιούνται) διάφορες άλλες μοριακές-βιοχημικές μεθοδολογίες για τον προσδιορισμό της ταξινομικής θέσης στελεχών μυκήτων και της συγγένειας μεταξύ κατώτερων ταξινομικών ομάδων (συνήθως ειδών και γενών). Ενδεικτικά αναφέρονται οι ακόλουθες:

α. Υβριδοποίηση DNA-DNA

Μια μέθοδος που θεωρητικά ήταν κατάλληλη για τα σχετικά μικρά γονιδιώματα των μυκήτων ήταν η υβριδοποίηση DNA-DNA. Σε αυτό συνέβαλε και το μικρό ποσοστό επαναλαμβανόμενων ακολουθιών που υπάρχουν στα γονιδιώματα των μυκήτων σε σχέση με τα αντίστοιχα ποσοστά που σημειώνονται στα φυτά ή στα ζώα. Παρόλα αυτά η μέθοδος αποδείχθηκε χρήσιμη μόνο στη μελέτη των πολύ κοντινών εξελικτικών σχέσεων, κυρίως στο επίπεδο του είδους, αφού το ποσοστό του DNA που υβριδίζει ακόμη και μεταξύ πολύ συγγενικών ειδών ήταν πολύ χαμηλό (λιγότερο από 20%), ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τα άτομα μέσα στο ίδιο είδος ήταν αρκετά υψηλό (μεγαλύτερο από 90%) (Bruns et al. 1991).

β. RFLPs (restriction fragment length polymorphisms)

Η μέθοδος των RFLPs βασίζεται στη δράση ενζύμων περιορισμού που κόβουν το DNA όταν εντοπίζουν συγκεκριμένες αλληλουχίες μικρού μήκους σε θέσεις ειδικές για το κάθε ένζυμο ("restriction sites"). Έτσι το RFLP βασίζεται στις διαφορετικές αλληλουχίες που προκύπτουν από τη δράση ενζύμων περιορισμού μεταξύ διαφορετικών τάξεα. Τα τμήματα του DNA που παραλήφθηκαν από κάθε τάξη μπορούν στη συνέχεια να διαχωριστούν βάσει του μεγέθους τους με ηλεκτροφόρηση αгарόζης και να συγκριθούν οι ζωνώσεις που προκύπτουν για κάθε τάξη (Iraçabal et al. 1995).

γ. AFLPs (amplified fragment length polymorphisms)

Μια παραλλαγή της μεθόδου των RFLPs είναι η μέθοδος των AFLPs. Η μέθοδος αυτή ακολουθεί τη βασική αρχή της μεθόδου των RFLPs, αλλά χρησιμοποιεί επιπλέον την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης για να ενισχύσει τα επιμέρους τμήματα του DNA που έχουν προκύψει από τη δράση των ενζύμων περιορισμού. Έτσι πραγματοποιείται επιλεγμένη ενίσχυση συγκεκριμένων τμημάτων περιορισμού με την προσάρτηση στο άκρο κάθε τμήματος DNA (το άκρο έχει συγκεκριμένη νουκλεοτιδική αλληλουχία, κοινή για όλα τα τμήματα περιορισμού) ενός συνθετικού δίκλωνου τμήματος DNA σχεδιασμένου να είναι συμπληρωματικό στα κομμένα άκρα από τα περιοριστικά ένζυμα (Vos et al. 1995).

δ. RAPDs

Η μέθοδος των RAPDs βασίζεται στη χρησιμοποίηση τυχαίων εκκινητών για την ενίσχυση, μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης, τμημάτων του DNA και την ανίχνευση με αυτό τον τρόπο πολυμορφισμών σε τμήματα του DNA μεταξύ διαφορετικών ατόμων ή τάξεα. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται κυρίως για γενετικές μελέτες μέσα σε ένα είδος ή μεταξύ στενά συγγενικών ειδών (Zervakis et al. 2001).

ε. Ανάλυση ισοενζύμων

Τα ισοένζυμα είναι ένζυμα που καταλύουν την ίδια αντίδραση αλλά διαφέρουν στην αλληλουχία των αμινοξέων τους. Ως εκ τούτου μπορούν να διαχωριστούν βάσει του φορτίου τους με ηλεκτροφόρηση πολυακρυλαμίδης ή αμύλου. Έπειτα οι ζώνες που αντιστοιχούν στα ισοένζυμα ξεχωρίζουν από αυτές που αντιστοιχούν στις υπόλοιπες πρωτεΐνες, μέσω της αντίδρασης τους με ένα υπόστρωμα που μετατρέπεται από τα ισοένζυμα σε προϊόν με συγκεκριμένο χρώμα. Έτσι μπορούν να συγκριθούν τα πρότυπα των ζωνώσεων των ισοενζύμων μεταξύ διαφορετικών δειγμάτων. Αυτή η

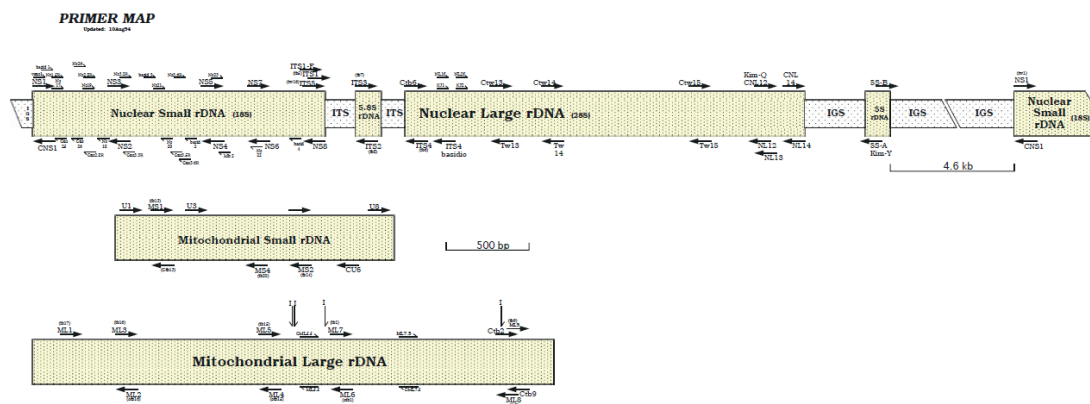
μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί για την μελέτη των σχέσεων μέσα σε ένα είδος ή μεταξύ πολύ συγγενικών ειδών (Zervakis & Labarère 1992, Zervakis et al. 1994).

Η δυνατότητα για απευθείας αλληλούχηση, αρχικά του ριβοσωμικού RNA, και ύστερα από την ανακάλυψη της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), και ενισχυμένων τμημάτων του DNA, έδωσε τεράστια ώθηση στις μοριακές φυλογενετικές μελέτες. Ειδικά η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) (Mullis & Faloona, 1987) αποτέλεσε μια επανάσταση στον κλάδο της μοριακής συστηματικής, αλλά και της μοριακής βιολογίας γενικότερα. Η συγκεκριμένη τεχνική επιτρέπει την *in vitro* ενίσχυση συγκεκριμένων τμημάτων του γονιδιώματος. Με αυτό τον τρόπο μπορούν να πολλαπλασιαστούν τμήματα DNA που βρίσκονται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις στα υπό μελέτη δείγματα, χωρίς απαραίτητα τη μεσολάβηση της χρονοβόρας διαδικασίας της κλωνοποίησης τους σε βακτηριακά κύτταρα (Bruns et al. 1991). Ένα ακόμη πλεονέκτημα της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), συγκρινόμενη με την απευθείας αλληλούχηση του ριβοσωμικού RNA είναι ότι αυξήθηκε η ακρίβεια κατά τη διαδικασία της αλληλούχησης, αφού πλέον μπορούσε να διαβαστεί η αλληλουχία και των δύο αλυσίδων του DNA. Σημαντικό στάδιο για την εφαρμογή της τεχνικής της PCR είναι η κατασκευή των κατάλληλων εκκινητών, δηλαδή δυο ολιγονουκλεοτιδίων, συμπληρωματικών σε συντηρημένες περιοχές, που οριοθετούν την επιθυμητή περιοχή. Ο σχεδιασμός «παγκόσμιων» εκκινητών για τη μελέτη των ριβοσωμικών γονιδίων των μυκήτων από τους White et al. (1990) και Vilgalys & Hester (1990) επέτρεψε την μελέτη των φυλογενετικών σχέσεων των μυκήτων σε διάφορα επίπεδα.

Τα γονίδια που κωδικοποιούν για το ριβοσωμικό RNA (rRNA) είναι και τα ευρύτερα χρησιμοποιούμενα στις μοριακές φυλογενετικές μελέτες. Τα ριβοσώματα είναι υποκυτταρικά οργανίδια και βρίσκονται σε μεγάλο αριθμό σε όλα τα κύτταρα, με εξαίρεση τα ερυθροκύτταρα και τα ώριμα σπερματοζώαρια. Πρόκειται για σύμπλοκα μορίων RNA (rRNA) και πρωτεϊνών και είναι οι θέσεις της σύνθεσης των πρωτεϊνών στα κύτταρα. Τα ριβοσωμικά γονίδια, λόγω της βασικής λειτουργίας που επιτελούν τα μετάγραφα τους, υπάρχουν σε όλους τους οργανισμούς, τόσο στο DNA του πυρήνα όσο και στο μιτοχονδριακό DNA. Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, όπως οι μύκητες, υπάρχουν τέσσερα ριβοσωμικά γονίδια. Το 18S rRNA είναι συστατικό της μικρής υπομονάδας του ευκαρυωτικού ριβοσώματος, ενώ τα 5S rRNA, 5.8S rRNA και 28S rRNA είναι συστατικά της μεγάλης υπομονάδας. Επιπλέον

υπάρχουν δυο εσωτερικά μεταγραφόμενες ενδιάμεσες περιοχές, τις ITS1 και ITS2 (“internal transcribed spacer regions”), ενώ αριστερά (“upstream”) του 18S rRNA υπάρχει επίσης μια εξωτερικά μεταγραφόμενη περιοχή (ETS). Η κάθε μονάδα επανάληψης διαχωρίζεται από την επόμενη της από μια μη μεταγραφόμενη περιοχή (“NTS, nontranscribed spacer” ή “IGS, intergenic spacer region”) (Hillis & Dixon, 1991).

Η σύγκριση των αλληλουχιών των ριβοσωμικών γονιδίων χρησιμοποιείται ευρύτατα στις μοριακές φυλογενετικές μελέτες, για να αναδείξει τη φυλογενετική συγγένεια μεταξύ διαφόρων τάξεων και να ρίξει φως σε διάφορα επίπεδα της εξελικτικής ιστορίας, από την απαρχή της ζωής έως πρόσφατα γεγονότα ειδογένεσης. Οι λόγοι που κάνουν τα γονίδια του rRNA τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα γονίδια σε ένα ευρύτατο φάσμα φυλογενετικών μελετών είναι αρκετοί. Πρώτον, αυτή η περιοχή του γονιδιώματος βρίσκεται σε όλους τους οργανισμούς. Επιτρέπει δηλαδή τη σύγκριση ακόμη και μεταξύ πολύ απομακρυσμένων, εξελικτικά, οργανισμών. Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της μονάδας επανάληψης του rDNA είναι, επίσης, ότι διαφορετικές περιοχές της εξελίσσονται με διαφορετικό ρυθμό. Επομένως, ανάλογα την εξελικτική απόσταση που χωρίζει τους υπό μελέτη οργανισμούς, επιλέγεται για σύγκριση και η αντίστοιχη περιοχή. Επιπλέον, τμήματα μέσα στις ιδιαίτερα συντηρημένες περιοχές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την κατασκευή παγκόσμιων εκκινητών (“universal primers”), οι οποίοι θα χρησιμοποιηθούν ή κατά την διαδικασία της αλληλούχησης είτε για την ενίσχυση των περιοχών που οριοθετούν κατά την τεχνική της PCR (Bruns et al. 1991, Hillis & Dixon 1991) (Εικόνα 16).



Εικόνα 16: Πυρηνικά και μιτοχονδριακά ριβοσωμικά γονίδια των Μυκήτων και οι αντίστοιχοι εκκινητές (<http://nature.berkeley.edu/brunslab/picts/results/map.pdf>).

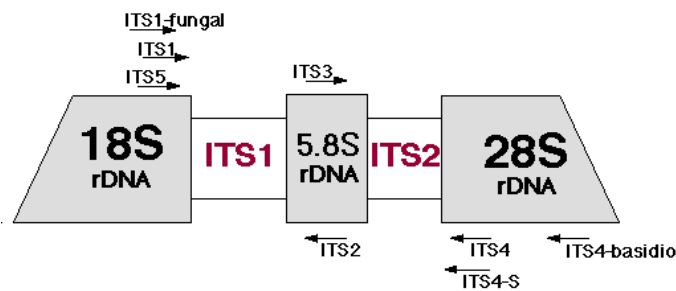
Για να προφέρει η μελέτη της αλληλοχίας μιας περιοχής του DNA σωστά αποτελέσματα σε μια φυλογενετική μελέτη πρέπει να έχει κάποια βασικά χαρακτηριστικά. Η περιοχή αυτή θα πρέπει να υπάρχει σε ένα αντίγραφο στο γονιδίωμα ("single-copy gene") -όπως πολλά γονίδια που κωδικοποιούν για πρωτεΐνες- ή να εξελίσσεται ως τέτοια (όπως το rDNA), ώστε να αποφεύγονται οι συγκρίσεις παράλογων γονιδίων. Επιπλέον, η περιοχή θα πρέπει να σχετίζεται με την ίδια λειτουργία σε όλα τα υπό μελέτη τάξα. Η εξέλιξη μιας νέας λειτουργίας αλλάζει την επιλεκτική πίεση, επομένως και το ρυθμό αλλαγής της αλληλουχίας. Τέλος, η επιλογή της κατάλληλης περιοχής σχετίζεται με το ταξινομικό - εξελικτικό ερώτημα το οποίο έχει τεθεί. Η περιοχή θα πρέπει να εξελίσσεται στον επιθυμητό ρυθμό σε σχέση με το συγκεκριμένο ερώτημα. Γενικά, η περιοχή που επιλέγεται πρέπει να παρέχει αρκετές διαφορές, ώστε να είναι δυνατή η ομαδοποίηση των υπό μελέτη τάξων σε μονοφυλετικές ομάδες που υποστηρίζονται στατιστικά (Bruns et al. 1991). Για να μελετηθούν, επομένως, οι εξελικτικές σχέσεις απομακρυσμένων φυλογενετικά οργανισμών, θα πρέπει να μελετηθεί μια αρκετά συντηρημένη περιοχή, η οποία θα διαφέρει, εντούτοις, ανάμεσα στους υπό μελέτη οργανισμούς, λόγω της μεγάλης εξελικτικής τους απόστασης. Αντίθετα, μια αρκετά συντηρημένη περιοχή δεν έχει νόημα να συγκριθεί για την επίλυση ενός ταξινομικού προβλήματος μεταξύ δυο στενά συγγενικών ειδών, αφού κατά πάσα πιθανότητα, δεν θα εμφανίζονται σημαντικές διαφορές μεταξύ των αλληλουχιών.

Όπως προαναφέρθηκε, η μονάδα επανάληψης του rDNA είναι ένα μωσαϊκό από περισσότερο και λιγότερο συντηρημένες περιοχές. Το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο ριβοσωμικό γονίδιο είναι αυτό του 18S rRNA (nuc ssu rRNA), μια από τις πιο συντηρημένες περιοχές του γονιδιώματος όλων των οργανισμών. Το γονίδιο του 18S rRNA χρησιμοποιήθηκε από τα τέλη της δεκαετίας του 1970 για να μελετηθούν κυρίως οι πιο αρχέγονες αποκλίσεις μεταξύ των διαφόρων κλάδων των ευκαρυωτικών οργανισμών (ενδεικτικά: Gray et al. 1984, Hasegawa et al. 1985, Sogin et al. 1986, Sogin 1989). Από τις αρχές της δεκαετίας του 1990 το ίδιο γονίδιο χρησιμοποιήθηκε για να μελετηθούν οι εξελικτικές σχέσεις μεταξύ των διαφόρων κλάδων των μυκήτων (Bawman et al. 1992, Bruns et al. 1992), αλλά και των Βασιδιομυκήτων (Swann & Taylor 1993).

Το γονίδιο του 28S rRNA (nuc lsu rRNA) περιέχει περιοχές που εξελίσσονται γρηγορότερα από ότι το 18S rRNA και κάποιες που εξελίσσονται το ίδιο αργά και για

αυτό είναι χρήσιμο στη μελέτη των εξελικτικών σχέσεων μεταξύ πιο συγγενικών κλάδων (Hillis & Dixon, 1991). Για παράδειγμα, οι Hopple & Vilgalys (1999) μελετούν τις φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ των ειδών του γένους *Coprinus* και συγγενικών τάξα με σκουρόχρωμο αποτύπωμα σπορίων, οι Moncalvo et al. (2000, 2002) εξέτασαν τις φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ των αγαρικοειδών Βασιδιομυκήτων, ενώ οι Miller et al. (2001) διερεύνησαν φυλογενετικά την οικογένεια Russulaceae.

Η εσωτερικά μεταγραφόμενη περιοχή των πυρηνικών ριβοσωμικών γονιδίων (ITS) βρίσκεται μεταξύ των γονιδίων των 18S και 28S rRNA και περιέχει το γονίδιο του 5.8S rRNA (Εικόνα 17). Αυτή η εν μέρει μη κωδική περιοχή είναι αρκετά ποικιλόμορφη σε σχέση με τα ιδιαίτερος συντηρημένα ριβοσωμικά γονίδια του 18S και 28S rRNA και χρησιμοποιείται κυρίως για τη μελέτη των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ συγγενικών ειδών. Η χρησιμότητα της για αυτό το επίπεδο συστηματικής ανάλυσης φάνηκε μέσα από εργασίες που έδειξαν ότι η περιοχή αυτή φέρει μεγάλη ποικιλομορφία μεταξύ μορφολογικά διακριτών ειδών, ενώ η ποικιλομορφία της περιοχής μεταξύ των ατόμων ενός είδους είναι χαμηλή (Baura et al. 1992, Lee & Taylor 1992). Επιπλέον, καθώς το μέγεθος της είναι σχετικά μικρό στους μύκητες (600-800 bp) μπορεί εύκολα να ενισχυθεί μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης με παγκόσμιους εκκινητές (White et al. 1990). Επίσης, όπως ισχύει για όλα τα ριβοσωμικά γονίδια, τα πολλαπλά αντίγραφα της στο γονιδίωμα καθιστούν εύκολη την ενίσχυσή της ακόμη και από δείγματα μικρά και χαμηλής περιεκτικότητας σε DNA, αλλά και από δείγματα με αποδομημένο DNA (Gardes & Bruns 1993). Διάφοροι εκκινητές έχουν σχεδιαστεί με σκοπό την ενίσχυση αυτής της περιοχής από μύκητες (White et al. 1990) αλλά και πιο εξειδικευμένοι εκκινητές, για την επιλεγμένη ενίσχυση της ITS περιοχής από το γονιδίωμα Βασιδιομυκήτων, σε περιπτώσεις όπως οι μυκόρριζες, όπου ο ιστός του μύκητα βρίσκεται πολύ κοντά στον ιστό του φυτού και είναι δύσκολος ο διαχωρισμός τους (Gardes & Bruns 1993). Έτσι έχει προκύψει πληθώρα εργασιών που βασίζονται στη σύγκριση της αλληλουχίας αυτής της περιοχής μεταξύ συγγενικών ειδών, με σκοπό τη μελέτη των μεταξύ τους εξελικτικών σχέσεων και την οριοθέτηση των ειδών αυτών, συνεκτιμώντας παράλληλα και μορφολογικά δεδομένα (ενδεικτικά: Hibbett et al. 1995, Grubisha et al. 2002, Nuytinck & Verbeken 2003, Nuytinck et al. 2004, Zervakis et al. 2004, Leonardi et al. 2005, Taylor et al. 2006, Le et al. 2007a, 2007b, Buyck 2007, Ravash et al. 2010).



Εικόνα 17: Τα πυρηνικά ριβοσωμικά γονίδια του 18S, 5.8S και 28S rRNA Μυκήτων, όπου φαίνεται η θέση της ITS περιοχής και οι αντίστοιχοι εκκινητές (<http://nature.berkeley.edu/brunslab/picts/results/its-map.GIF>).

Τα μιτοχondριακά ριβοσωμικά γονίδια εξελίσσονται με πιο ταχείς ρυθμούς από τα πυρηνικά ομόλογα τους. Χρησιμοποιούνται για να επιλυθούν φυλογενετικές σχέσεις σε ενδιάμεσα επίπεδα και όχι μεταξύ πολύ συγγενικών ή πολύ απομακρυσμένων οργανισμών (Hillis & Dixon, 1991). Μια από τις πρώτες μοριακές φυλογενετικές μελέτες ήταν των Bruns et al. (1989), οι οποίοι χρησιμοποίησαν ένα τμήμα του μιτοχondριακού γονιδίου (mt *lsu* rRNA), για να δείξω ότι γαστεροειδή είδη του γένους *Rhizogon* είναι πολύ συγγενικά με είδη του γένους *Suillus*, στοιχειοθετώντας με μοριακά δεδομένα την υπόθεση ότι το γαστεροειδές βασιδιοκάρπιο έχει εξελιχθεί ανεξάρτητα σε διάφορους κλάδους Βασιδιομυκήτων, όπως υποδείκνυαν και τα ανατομικά δεδομένα.

Πέραν όμως από τα ριβοσωμικά γονίδια που μπορούν να συνδυάζονται σε μια μελέτη, έχουν βρεθεί και πρωτεϊνικά γονίδια που η σύγκριση των αλληλουχιών τους επιλύει σε μεγάλο βαθμό διάφορα εξελικτικά προβλήματα. Αυτά τα γονίδια θα πρέπει να είναι συντηρημένα και να βρίσκονται στο γονιδίωμα σε ένα αντίγραφο ("single copy genes"). Τέτοια, κοινώς χρησιμοποιούμενα γονίδια για τους μύκητες είναι τα γονίδια που κωδικοποιούν για τις υπομονάδες 1 και 2 της RNA πολυμεράσης II (*rpb1*, *rpb2*), το γονίδιο *tef1-a* (translation elongation factor), και το γονίδιο της ATP συνθετάσης. Υπάρχουν περιπτώσεις όπου μελέτες που βασίζονται σε πρωτεϊνικά γονίδια προτείνουν διαφορετικό πρότυπο εξελικτικών σχέσεων από αυτό που βασίζεται στην ανάλυση των ριβοσωμικών γονιδίων και αποτελούν και από μόνα τους εναλλακτικούς δείκτες για μοριακές φυλογενετικές μελέτες (Tanabe et al. 2004).

Σε πολλές πρόσφατες μοριακές φυλογενετικές εργασίες συνηθίζεται πλέον η συνδυασμένη σύγκριση αλληλουχιών πρωτεϊνικών και ριβοσωμικών γονιδίων. Αυτή

η πρακτική έχει φανεί να προσδίδει μεγαλύτερη στατιστική υποστήριξη για τους περισσότερους κλάδους ενός φυλογενετικού δέντρου, τόσο σε μελέτες που εστιάζουν σε ανώτερες ταξινομικές κατηγορίες, όπως η σημαντική μελέτη των James et al. (2006a), όσο και σε μελέτες που αφορούν κατώτερες ταξινομικές κατηγορίες (Matheny et al. 2006, Binder et al. 2010), ή μελέτες των σχέσεων μεταξύ συγγενικών ειδών (Dai et al. 2006, Frøslev et al. 2005, Matheny 2005). Η εργασία των James et al. (2006) ήταν μια από τις πιο σημαντικές των τελευταίων ετών, καθώς τρία πυρηνικά ριβοσωμικά γονίδια (18S, 28S, 5.8S rRNA) χρησιμοποιήθηκαν μαζί με άλλα τρία πρωτεϊνικά γονίδια (EF1a, rpb1, rpb2) για να εξαχθεί μια αρκετά πλήρης εικόνα των εξελικτικών σχέσεων εντός του βασιλείου των Μυκήτων. Επίσης, οι Matheny et al. (2007) ήταν από τους πρώτους που επιχείρησαν να χρησιμοποιήσουν τις αλληλουχίες δυο πρωτεϊνικών γονιδίων (rpb2, tef1) μόνες τους, αλλά και σε συνδυασμό με τις αλληλουχίες ριβοσωμικών γονιδίων για την αντιμετώπιση προβληματικών σημείων στη μελέτη των εξελικτικών σχέσεων μεταξύ αλλά και εντός των υποφύλλων των Βασιδιομυκήτων. Οι προαναφερθείσες συνδυασμένες μελέτες πρωτεϊνικών και ριβοσωμικών γονιδίων έλυσαν πολλά προβληματικά σημεία προηγούμενων εργασιών και επηρέασαν σε μεγάλο βαθμό το σύστημα ταξινόμησης των Μυκήτων που προτάθηκε από τους Hibbett et al. (2007).

6. Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να επανεκτιμηθεί η μέχρι σήμερα γνώση της ποικιλότητας του γένους *Lactarius* στην Ελλάδα με τη επανεξέταση και λεπτομερή μελέτη όλων των διαθέσιμων αποξηραμένων δειγμάτων που υπήρχαν κατατεθειμένα σε Ιδρυματικά ή ιδιωτικά ερμπάρια ("herbaria") και είχαν προσδιοριστεί ως είδη του γένους *Lactarius* στη χώρα μας. Επιπλέον συλλέχθηκαν νέα δείγματα, ενώ μελετήθηκε συγκριτικά και σχετικό βιολογικό υλικό που στάλθηκε από τρία ερμπάρια του εξωτερικού (ως "δείγματα αναφοράς"). Η εργασία εστίασε κυρίως στη μελέτη διαγνωστικών μικροσκοπικών γνωρισμάτων, ενώ για την επίλυση επιμέρους ταξινομικών-φυλογενετικών προβλημάτων ανάμεσα σε ορισμένες ομάδες συγγενικών ειδών, χρησιμοποιήθηκαν επιπροσθέτως και μοριακές μέθοδοι.

II. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Βιολογικό υλικό

1.1. Αποξηραμένα δείγματα βασιδιοκαρπίων *Lactarius*

Ο κύριος όγκος των δειγμάτων που μελετήθηκαν προέρχονταν από αποξηραμένα δείγματα βασιδιοκαρπίων, τα οποία προέρχονται από τα μυκητολογικά ερμπάρια των εξής Ιδρυμάτων: α) Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών (LGAM-AUA), β) Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Εργαστήριο Μυκητολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ATHU-M), γ) Ινστιτούτο Δασικών Ερευνών, Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (NAGREF-FRI), καθώς και δ) από την προσωπική συλλογή του Δρ. Ζ. Αθανασίου (Ζ.Α.). Ταυτόχρονα νέο υλικό συλλέχθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2010-2011 (βλ. παράγραφο 1.2).

Για την επίλυση συγκεκριμένων ταξινομικών προβλημάτων ζητήθηκε (έγινε δανεισμός) και μελετήθηκε σχετικό βιολογικό υλικό από τρία μυκητολογικά ερμπάρια Πανεπιστημιακών Ιδρυμάτων του εξωτερικού: α) Βέλγιο: Herbarium of Ghent University, partim Mycology (GENT), β) Ιταλία: Herbarium of L' Aquila University (AQUI), γ) Ιταλία: Herbarium Mediterraneum Panormitanum, University of Palermo (PAL). Η επιλογή των μυκητολογικών ερμπαρίων του εξωτερικού έγινε με κριτήρια: α) τη σημαντική εξειδίκευση και εμπειρία του προσωπικού τους στη μελέτη του γένους *Lactarius* (Ghent University) και β) την ανάγκη μελέτης υλικού που να προέρχεται από περιοχές της Μεσογείου (ερμπάρια AQUI και PAL).

Όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν μαζί με πληροφορίες σχετικά με την προέλευση τους και τα σχετιζόμενα φυτά-ξενιστές παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

1.2. Συλλογή νέων νωπών δειγμάτων *Lactarius*

Η συλλογή του φρέσκου βιολογικού υλικού έγινε κατά τη διάρκεια του ακαδημαϊκού έτους 2010-2011, σε τέσσερεις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν σε τρεις διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας:

- Όρος Τυμφρηστός, Ν. Ευρυτανίας, σε δάσος *Abies* sp. (23/10/2010)
- Ίσιωμα Καρυών, Ν. Αρκαδίας, σε δάσος με *Quercus* spp. (31/10/2010)

- Όρος Δίρφους, Ν. Ευβοίας, σε μικτό δάσος *Abies cephalonica* και *Castanea sativa* (20/6/2011 και 2/7/2011)

Τα δείγματα που προέκυψαν μελετήθηκαν στην νοπή τους μορφή και στη συνέχεια κωδικοποιήθηκαν και κατατέθηκαν ως αποξηραμένα δείγματα στη σχετική συλλογή του Εργαστηρίου Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας του ΓΠΑ (Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Δείγματα του γένους *Lactarius* που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία (a/a 1-117: αποξηραμένα ελληνικά δείγματα, a/a 118-128: νέα δείγματα που συλλέχθηκαν, a/a 129-149: δείγματα από ερμπάρια του εξωτερικού).

a/a	Αρχική ταυτοποίηση	Περιοχή προέλευσης	Φυτό-ξενιστής	Κωδικός δείγματος
1	<i>L. acerrimus</i>	Ν. Θεσσαλονίκης, Λουτρά Θέρμης, ΙΔΕ	<i>Quercus petraea</i>	FRI 1077
2	<i>L. acerrimus</i>	Ν. Φθιώτιδας, Όρος Γουλινάς, Άνω Φτέρη	<i>Quercus</i> sp.	LGAM 2438*
3	<i>L. atlanticus</i>	Ν. Κυκλάδων, Αμοργός	<i>Q. coccifera</i>	EP05-M139 0901/92
4	<i>L. atlanticus</i>	Ν. Κυκλάδων, Άνδρος	<i>Q. coccifera</i>	EP02-A388
5	<i>L. atlanticus</i>	Ν. Κυκλάδων, Άνδρος	<i>Q. ithaburensis</i> ssp. <i>macrolepis</i>	EP02-A421 0910/48●
6	<i>L. atlanticus</i>	Ν. Κυκλάδων, Νάξος	<i>Q. coccifera</i>	EP05-N296 1201/30●
7	<i>L. atlanticus</i>	Ν. Κυκλάδων, Νάξος	<i>Q. coccifera</i>	EP05-N388 3011/63
8	<i>L. aurantiacus</i>	Ν. Ευβοίας, Όρος Δίρφους	<i>Abies cephalonica</i> & <i>Castanea sativa</i>	LGAM 1378
9	<i>L. aurantiacus</i>	Ν. Ευβοίας, Όρος Δίρφους	<i>A. cephalonica</i> & <i>C. sativa</i>	ATHU-M 3172
10	<i>L. aurantiacus</i>	Ν. Ευβοίας, Όρος Δίρφους	<i>A. cephalonica</i> & <i>C. sativa</i>	ATHU-M 4467
11	<i>L. aurantiacus</i>	Ν. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφορηστός	<i>Abies borisii-regis</i>	ATHU-M 6265
12	<i>L. aurantiacus</i>	Ν. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφορηστός	<i>A. borisii-regis</i> & <i>Juniperus oxycedrus</i>	ATHU-M 6264
13	<i>L. aurantiacus</i>	Ν. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφορηστός	<i>A. borisii-regis</i> & <i>J. oxycedrus</i>	ATHU-M 6263
14	<i>L. aurantiacus</i>	Ν. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφορηστός	<i>Pinus nigra</i> & <i>A. borisii-regis</i>	ATHU-M 6266

15	<i>L. azonites</i>			Z.A. - 1
16	<i>L. azonites</i>	N. Αιτωλοακαρνανίας, Άνω Χώρα Ναυπακτίας	<i>C. sativa & Abies</i> sp.	EP 1106/24
17	<i>L. azonites</i>	N. Αρκαδίας: Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> spp.	ATHU-M: 6206
18	<i>L. azonites</i>	N. Αρκαδίας: Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> spp.	ATHU-M: 6207
19	<i>L. azonites</i>	N. Αρκαδίας: Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> spp.	ATHU-M: 8226 (MT 441)
20	<i>L. azonites</i>	N. Αρκαδίας: Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> spp.	ATHU-M: 8227 (MT 497)
21	<i>L. blennius</i>	N. Λάρισσας, Όρος Όσσα	<i>Fagus sylvatica</i>	ATHU-M: 8228 (ΖΓ 5181)
22	<i>L. blennius</i>	N. Μαγνησίας, Όρος Πήλιο, Χάνια	<i>F. sylvatica</i>	ATHU-M 966
23	<i>L. blennius</i>	N. Μαγνησίας, Όρος Πήλιο, Χάνια	<i>F. sylvatica</i>	ATHU-M 3661 (ΖΓ 1193)
24	<i>L. blennius</i>	N. Φθιώτιδας, Όρος Οξυά	<i>F. sylvatica</i>	LGAM 049
25	<i>L. chrysorrheus</i>	N. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> spp.	ATHU-M: 6192 (MT 43)
26	<i>L. chrysorrheus</i>	N. Αρκαδίας, Καστανοχώρι Μεγαλόπολης	<i>C. sativa</i>	ATHU-M: 6193 (MT 93)
27	<i>L. chrysorrheus</i>	N. Αρκαδίας, Καστανοχώρι Μεγαλόπολης	<i>C. sativa</i>	ATHU-M: 6194 (MT 235)
28	<i>L. chrysorrheus</i>	N. Αρκαδίας, Καστανοχώρι Μεγαλόπολης	<i>C. sativa</i>	ATHU-M: 6195 (MT 367)
29	<i>L. chrysorrheus</i>	N. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> spp.	ATHU-M: 8229 (MT 515)
30	<i>L. chrysorrheus</i>	N. Φθιώτιδα, Όρος Γουλινάς, Άνω Φτέρη	<i>Quercus</i> sp.	LGAM 2431
31	<i>L. circellatus</i>	N. Χαλκιδικής, Χολομώντας	<i>Q. frainetto</i>	FRI 705*
32	<i>L. cistophilus</i>	N. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Cistus</i> spp.	ATHU-M 6359 (MT 492)
33	<i>L. cistophilus</i>	N. Κυκλάδων, Άνδρος	<i>Cistus</i> spp.	EP.97-A148
34	<i>L. cistophilus</i>	N. Κυκλάδων, Άνδρος	<i>Cistus</i> spp.	EP.02-A600
35	<i>L. cistophilus</i>	N. Κυκλάδων, Άνδρος	<i>Cistus</i> spp.	EP.06-A883
36	<i>L. controversus</i>	N. Αιτωλοακαρνανίας, Ναυπακτία	<i>C. sativa & Abies</i> sp.	EP 0709/28

37	<i>L. controversus</i>	N. Αιτωλοακαρνανίας, Ναυπακτία	<i>C. sativa & Abies</i> sp.	EP 2208/52
38	<i>L. controversus</i>	N. Καρδίτσας	<i>C. sativa</i>	ATHU-M 6272
39	<i>L. controversus</i>	N. Καρδίτσας	<i>A. borisii-regis &</i> <i>Q. frainetto</i>	ATHU-M 6273
40	<i>L. controversus</i>	N. Κιλκίς, Δοϊράνη	<i>Populus</i> sp.	FRI 211
41	<i>L. controversus</i>	N. Κυκλάδων, Άνδρος	<i>Salix</i> sp.	EP.10-A985
42	<i>L. decipiens</i>	N. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> spp.	ATHU-M 6199
43	<i>L. decipiens</i>	N. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> spp.	ATHU-M 6200
44	<i>L. decipiens</i>	N. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> spp.	ATHU-M: 8230 (MT 511)
45	<i>L. deliciosus</i>	N. Αττικής, Όρος Πάρνηθα	<i>Pinus halepensis</i>	ATHU-M 8231 (ΠΔ 3676)
46	<i>L. deliciosus</i>	N. Αχαΐας, Ζαρούγλα	<i>Pinus nigra & A.</i> <i>cephalonica</i>	ATHU-M 3986 (ΠΔ 213)
47	<i>L. deliciosus</i>	N. Κυκλάδων, Άνδρος	<i>P. halepensis</i>	EP 99-N071
48	<i>L. evosmus</i>	N. Ευρυτανίας	<i>A. borisii-regis</i>	ATHU-M 6271*
49	<i>L. flavidus</i>	N. Φθιώτιδας, περιοχή Λευκάδας- Γαρδικίου	<i>Quercus</i> spp.	LGAM 4382*
50	<i>L. fulvissimus</i>	N. Καρδίτσας, Όρος Ζυγουρολίβαδο	<i>F. sylvatica</i>	ATHU-M 6274
51	<i>L. fulvissimus</i>	N. Καρδίτσας, Όρος Ζυγουρολίβαδο	<i>F. sylvatica</i>	ATHU-M 6275
52	<i>L. ilicis</i>	N. Κυκλάδων, Άνδρος	<i>Q. ilex</i>	EP.04-A715*
53	<i>L. insulsus</i>	N. Αρκαδίας, Βυτίνα	<i>A. cephalonica</i>	ATHU-M 1312*
54	<i>L. leonis</i>	N. Φθιώτιδας, Γαρδίκι	<i>A. cephalonica</i>	LGAM 077*
55	<i>L. leonis</i>	N. Φθιώτιδας, Όρος Οξυά	<i>A. cephalonica</i>	LGAM 287*
56	<i>L. leonis</i>	N. Φθιώτιδας, Όρος Οξυά	<i>A. cephalonica</i>	LGAM 1138*
57	<i>L. luridus</i>	N. Ευβοίας, Όρος Δίρφος	<i>C. sativa & A.</i> <i>cephalonica</i>	ATHUM 4464
58	<i>L. luteolus</i>	N. Θεσσαλονίκης, Στίβος	<i>Quercus</i> sp.	FRI 1081
59	<i>L. musteus</i>	N. Δράμας, Σιδηρόνερο	<i>Betula pendula</i>	FRI 1255*
60	<i>L. piperatus</i>	N. Αιτωλοακαρνανίας, Άνω Χώρα Ναυπακτίας	<i>C. sativa & Abies</i> sp.	EP-Ναυπακτία 1106/22**
61	<i>L. piperatus</i>	N. Φθιώτιδας, Γαρδίκι	<i>Quercus</i> sp.	LGAM 2659**
62	<i>L. piperatus</i>	N. Χαλκιδικής, Χολομώντας	<i>Quercus</i> sp.	FRI 397

63	<i>L. pubescens</i>	N. Χαλκιδικής, Παλαιόκαστρο	<i>Q. frainetto</i>	FRI 536*
64	<i>L. quietus</i>		<i>Q. frainetto</i>	Z.A. - 2
65	<i>L. rugatus</i>	N. Κυκλάδων, Άνδρος	<i>Q. coccifera</i> & <i>Q. pubescens</i>	EP02-A393 0710/21
66	<i>L. rugatus</i>	N. Λέσβου, Λέσβος		EP 1212/7**
67	<i>L. salmonicolor</i>	N. Αχαΐας, Αροάνια Όρη	<i>A. cephalonica</i>	ATHU-M 3543 (ΠΔ-211)
68	<i>L. salmonicolor</i>	N. Ευβοίας, Όρος Δίρφυς	<i>A. cephalonica</i> & <i>C. sativa</i>	ATHU-M 4481
69	<i>L. salmonicolor</i>	N. Ευβοίας, Όρος Δίρφυς	<i>A. cephalonica</i> & <i>C. sativa</i>	ATHU-M 4485
70	<i>L. salmonicolor</i>	N. Καρδίτσας, Μπελοκομύτης	<i>A. borisii-regis</i>	ATHU-M 8063 (ΠΔ 523)
71	<i>L. salmonicolor</i>	N. Ναυπακτίας, Άνω Χώρα	<i>Abies</i> sp.	EP 0809/58
72	<i>L. salmonicolor</i>	N. Ναυπακτίας	<i>Abies</i> sp.	EP 1908/21
73	<i>L. sanguifluus</i>	N. Αττικής, Μαλακάσα, Αγ. Βλάσσης	<i>P. halepensis</i> , <i>Arbutus</i> sp. & <i>Cistus</i> sp.	ATHU-M 4478 (ΖΓ 2913)
74	<i>L. sanguifluus</i>	N. Κορινθίας, Ξυλόκαστρο	<i>Pinus</i> sp.	ATHU-M 3169 (ΖΓ 546)
75	<i>L. sanguifluus</i>	N. Φθιώτιδας, Δομοκός	<i>Pinus</i> sp.	ATHU-M 8232 (ΠΔ 3704)
76	<i>L. scrobiculatus</i>	N. Αχαΐας, Όρος Αροάνια, Ζαρούχλα	<i>A. cephalonica</i>	ATHU-M 3539 (ΠΔ 130)*
77	<i>L. scrobiculatus</i>	N. Ευρυτανίας, Γρανίτσα, Πλατανιάς	<i>A. borisii-regis</i> & <i>Q. coccifera</i>	ATHU-M 8044 (ΠΔ 2842)*
78	<i>L. scrobiculatus</i>	N. Ευρυτανίας, Όρος Λιάκουρα, Γρανίτσα	<i>A. borisii-regis</i>	ATHU-M 8043 (ΠΔ 2711)*
79	<i>L. scrobiculatus</i>	N. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφορηστός, Ράχες	<i>A. borisii-regis</i> & <i>J. oxycedrus</i>	ATHU-M 8041 (ΖΓ 3722)*
80	<i>L. scrobiculatus</i>	N. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφορηστός, Ράχες	<i>A. borisii-regis</i> & <i>J. oxycedrus</i>	ATHU-M 8040 (ΖΓ 3307)*
81	<i>L. scrobiculatus</i>	N. Φθιώτιδας, Γαρδίκι	<i>A. cephalonica</i> & <i>C. sativa</i>	LGAM 075*
82	<i>L. semisanguifluus</i>	N. Αττικής, Τατόι	<i>P. halepensis</i>	ATHU-M 8233 (ΠΔ 3748)
83	<i>L. semisanguifluus</i>	N. Ευβοίας, Ερέτρια	<i>Pinus</i> sp., <i>Cistus</i> sp.	ATHU-M 4479

			& <i>Arbutus</i> sp.	(2871)
84	<i>L. subumbonatus</i>	N. Αρκαδίας, Λύκαιο όρος, Ίσιωμα Καρυών	φυλλοβόλα <i>Quercus</i> spp.	ATHU-M 6201 (MT 54)
85	<i>L. subumbonatus</i>	N. Αρκαδίας, Λύκαιο όρος, Ίσιωμα Καρυών	φυλλοβόλα <i>Quercus</i> spp.	ATHU-M 6202 (MT 62)
86	<i>L. subumbonatus</i>	N. Αρκαδίας, Λύκαιο όρος, Ίσιωμα Καρυών	φυλλοβόλα <i>Quercus</i> spp.	ATHU-M 6203 (MT 290)●
87	<i>L. subumbonatus</i>	N. Αρκαδίας, Λύκαιο όρος, Ίσιωμα Καρυών	φυλλοβόλα <i>Quercus</i> spp.	ATHU-M 6204 (MT 352)
88	<i>L. subumbonatus</i>	N. Αρκαδίας, Λύκαιο όρος, Ίσιωμα Καρυών	φυλλοβόλα <i>Quercus</i> spp.	ATHU-M 6205 (MT 353)
89	<i>L. subumbonatus</i>	N. Αρκαδίας, Λύκαιο όρος, Ίσιωμα Καρυών	φυλλοβόλα <i>Quercus</i> spp.	ATHU-M 8234 (MT 454)
90	<i>L. subumbonatus</i>	N. Αρκαδίας, Λύκαιο όρος, Ίσιωμα Καρυών	φυλλοβόλα <i>Quercus</i> spp.	ATHU-M 8235 (MT 488)
91	<i>L. subumbonatus</i>	N. Αττικής, Όρος Υμηττός	<i>Q. ilex</i> & <i>P. halepensis</i>	LGAM 2503*
92	<i>L. subumbonatus</i>	N. Καρδίτσας, λίμνη Πλαστήρα	<i>Q. frainetto</i> & <i>A. borisii-regis</i>	ATHU-M 6268
93	<i>L. subumbonatus</i>		<i>Q. frainetto</i>	Z.A. - 3
94	<i>L. tesquorum</i>	N. Αττικής, Όρος Υμηττός	<i>Cistus</i> sp.	ATHU-M 3168
95	<i>L. tesquorum</i>	N. Αχαΐας, Πυργάκι	<i>A. cephalonica</i> , <i>P. nigra</i> & <i>Cistus</i> sp.	ATHU-M 3466
96	<i>L. tesquorum</i>	N. Ευβοίας, Ερέτρια	<i>Cistus</i> spp., <i>Arbutus</i> sp. & <i>Pinus</i> sp.	ATHU-M 6267
97	<i>L. tesquorum</i>	N. Κυκλάδων, Άνδρος	<i>Cistus</i> spp.	EP.97-A159
98	<i>L. tesquorum</i>	N. Κυκλάδων, Άνδρος	<i>Cistus</i> spp.	EP.06-A884
99	<i>L. tesquorum</i>	N. Χαλκιδικής, Σιθωνία	<i>Cistus monspensulanum</i>	FRI 997
100	<i>L. torminosus</i>	N. Αττικής, Όρος Πάρνηθα	<i>A. cephalonica</i>	ATHU-M 3164*
101	<i>L. torminosus</i>	N. Λακωνίας, Όρος Ταΰγετος		ATHU-M 974*
102	<i>L. vellereus</i>	N. Ευρυτανίας, Κορίτσα	<i>A. borisii-regis</i> & <i>Quercus</i> sp.	ATHU-M 8072 (ΠΔ 2109)
103	<i>L. vellereus</i>	N. Καρδίτσας, Μοσχάτο	<i>Q. frainetto</i>	ATHU-M 8075 (ΠΔ 471, 472, 475)
104	<i>L. vellereus</i>	N. Φθιώτιδας, Όρος Οξυά		LGAM 308
105	<i>L. vinosus</i>	N. Αττικής, Όρος	<i>A. cephalonica</i> &	ATHU-M 4475

		Πάρνηθα (Μαλακάσα)	<i>P. halepensis</i>	(2952)
106	<i>L. vinosus</i>	Ν. Φθιώτιδας, Όρος Οίτη, Καστανιά	<i>A. cephalonica, P. nigra & J. oxycedrus</i>	ATHU-M 8236 (2009-A63)
107	<i>L. volemus</i>	Ν. Αχαΐας, Άνω Βλασία	<i>Quercus</i> sp.	LGAM 4120
108	<i>L. volemus</i>	Ν. Φθιώτιδας, Γαρδίκι	<i>Quercus</i> sp.	LGAM 2668
109	<i>L. volemus</i>	Ν. Χαλκιδικής, Στάγαιρα	<i>C. sativa</i>	FRI 1022
110	<i>L. zonarioides</i>	Ν. Ευρυτανίας	<i>A. borisii-regis & Quercus</i> spp.	ATHU-M 6269
111	<i>L. zonarius</i>	Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> sp.	ATHU-M: 6196 (MT 25)
112	<i>L. zonarius</i>	Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> sp.	ATHU-M: 6197 (MT 92α)
113	<i>L. zonarius</i>	Ν. Λάρισας, Όρος Όσσα	<i>Quercus</i> sp.	ATHU-M 6270
114	<i>L. zonarius</i>	Ν. Χαλκιδικής, Χολομώντας	<i>Quercus</i> sp.	FRI 402
115	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> sp.	ATHU-M 6208 (MT 380)*
116	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> sp.	ATHU-M 8224 (MT 440)*
117	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> sp.	ATHU-M 8225 (MT 491)*
118	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> sp.	LGAM 2010-0125◇
119	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> sp.	LGAM 2010-0126◇
120	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> sp.	LGAM 2010-0127◇
121	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> sp.	LGAM 2010-0128◇
122	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών	<i>Quercus</i> sp.	LGAM 2010-0129◇●
123	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Ευβοίας, Όρος Δίρφος	<i>A. cephalonica & C. sativa</i>	LGAM 2010-0130 ◇
124	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Ευβοίας, Όρος Δίρφος	<i>A. cephalonica & C. sativa</i>	LGAM 2010-0131 ◇
125	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Ευβοίας, Όρος Δίρφος	<i>A. cephalonica & C. sativa</i>	LGAM 2010-0132 ◇
126	<i>Lactarius</i> sp.	Ν. Ευρυτανίας, Όρος	<i>Abies</i> sp.	LGAM 2010-0133 ◇

		Τυμφορηστός		
127	<i>Lactarius</i> sp.	N. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφορηστός	<i>Abies</i> sp.	LGAM 2010-0134 ◊
128	<i>Lactarius</i> sp.	N. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφορηστός	<i>Abies</i> sp.	LGAM 2010-0135 ◊
129	<i>L. aurantiacus</i>		<i>Tamme, Castanea</i>	GENT LVL 2002-003*
130	<i>L. aurantiofulvus</i>	Belgium		GENT AV96/1030
131	<i>L. fulvissimus</i>		<i>Fagus, Carpinus, Quercus</i>	GENT 94/802
132	<i>L. intermedius</i>	Aix les Bains, France	<i>Abies alba</i> plantation on slope	GENT JN 2001-124
133	<i>L. lacunarum</i>			GENT AV 95-794
134	<i>L. leonis</i>	Sweden	<i>Picea</i>	GENT WR 2126
135	<i>L. mitissimus</i>	Germany	<i>Picea</i>	GENT BB 2488
136	<i>L. quietus</i>			GENT- quietus
137	<i>L. scrobiculatus</i>	Sweden	<i>Picea</i>	GENT AV97/541
138	<i>L. serifluus</i>			GENT AV 06-104*●
139	<i>L. subumbonatus</i>	Belgium	<i>Quercus robur</i>	GENT WR413●
140	<i>L. atlanticus</i>	Casoli, CH, Italy		AQUI 97/16●
141	<i>L. glaucescens</i>	Ville di Fano, AQ, Italy	<i>Castanea & Quercus</i>	AQUI 3140
142	<i>L. intermedius</i>	Pozovvidenza, AQ, Italy	<i>Abies alba</i>	AQUI 95/29
143	<i>L. leonis</i>	Bellamonte, Casteliz, TN, Italy	<i>Picea abies</i>	AQUI 10/6
144	<i>L. piperatus</i>	Ville di Fano, AQ, Italy	<i>Castanea & Quercus</i>	AQUI 3128**
145	<i>L. scrobiculatus</i>	Madonna di Campiglio, Genzianella, Italy	<i>Picea abies</i>	AQUI 00/11
146	<i>L. subumbonatus</i>	Verrico - Veio, AQ, Italy	<i>Quercus</i>	AQUI 98/16●
147	<i>L. atlanticus</i>	Italy		PAL 1●
148	<i>L. atlanticus</i>	Italy		PAL 2*●
149	<i>L. subumbonatus</i>	Italy		PAL 3●

Με (*) σημειώνονται τα δείγματα που επαναπροσδιορίστηκαν σε άλλο είδος μέσα στο γένος, με (**) οι μικτές συλλογές που περιέχουν βασιδιοκάρπια από παραπάνω του ενός είδη, με (◊) τα νέα δείγματα που συλλέχθηκαν την περίοδο 2010 -2011 και με (●) σημειώνονται τα δείγματα που συμπεριλήφθηκαν στη μοριακή ανάλυση.

2. Καταγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών

Οι μακροσκοπικοί χαρακτήρες που καταγράφονται στα φρέσκα βασιδιοκάρπια των ειδών του γένους *Lactarius*, είναι οι ακόλουθοι:

- 1) το σχήμα, οι διαστάσεις, το χρώμα του πύλου, η μορφολογία και υφή της επιφάνειας και του χείλους του πύλου, πιθανή παρουσία κυκλικών ζωνώσεων ή κηλίδων ("watery spots"),
- 2) ο τρόπος σύνδεσης των ελασμάτων με το στύπο, ο βαθμός πυκνότητας, η διάταξη και το χρώμα τους,
- 3) το σχήμα, οι διαστάσεις και το χρώμα του στύπου, η μορφολογία και η υφή της επιφάνειας του, πιθανή παρουσία κηλίδων ("watery spots"), βοθρίων ("scrobicules"), ή τριχών (κυρίως στη βάση),
- 4) το χρώμα της σάρκας και πιθανοί μεταχρωματισμοί που μπορεί να συμβούν κατά τον τραυματισμό της,
- 5) το χρώμα του λακτικού υγρού, αλλά και οι πιθανές χρωματικές αλλαγές αυτού, ο χρόνος που χρειάζεται για να συμβεί ο μεταχρωματισμός, καθώς και το αν ο μεταχρωματισμός συμβαίνει μόνο όταν το λακτικό υγρό βρίσκεται σε επαφή με τη σάρκα ή ακόμη και όταν αυτό απομονώνεται (π.χ. σε ένα χαρτομάντιλο ή μια καλυπτρίδα),
- 6) χαρακτηριστικές οσμές ή γεύσεις της σάρκας του βασιδιοκαρπίου,
- 7) χαρακτηριστικές αντιδράσεις της σάρκας ή του λακτικού υγρού με κάποια αντιδραστήρια (κυρίως με διαλύματα KOH και FeSO₄).

Σε αυτό το σημείο πρέπει να σημειωθεί ότι στο μεγαλύτερο μέρος της η παρούσα μελέτη βασίστηκε σε υλικό ερμπαρίου, επομένως τις περισσότερες φορές δεν ήταν δυνατή η μελέτη μακροσκοπικών γνωρισμάτων, τα οποία χάνονται ή αλλοιώνονται κατά την αποξήρανση. Για αυτό τον λόγο δεν υπάρχουν μακροσκοπικές περιγραφές για όλα τα είδη που μελετήθηκαν. Οι μακροσκοπικές περιγραφές που παρατίθενται βασίζονται στην παρατήρηση φρέσκων δειγμάτων από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, ή από τις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν για τους σκοπούς της παρούσας μελέτης κατά το ακαδημαϊκό έτος 2010-2011, είτε από συγκεκριμένα δείγματα που βρίσκονται κατατεθειμένα στο ερμπάριο ATHU-M και προέρχονται από παλαιότερες δειγματοληψίες της γράφουσας κατά τη διάρκεια αλλά και μετά από την εκπόνηση της πτυχιακής της εργασίας στο Εργαστήριο Μυκητολογίας του Τομέα

Οικολογίας και Ταξινόμικης του Τμήματος Βιολογίας του ΕΚΠΑ (περίοδος 2006-2009). Για τα είδη εκείνα που δεν υπάρχουν προσωπικές παρατηρήσεις από φρέσκα δείγματα, παρατίθεται, εφόσον υπάρχει, η δημοσιευμένη μακροσκοπική περιγραφή κάποιου άλλου ερευνητή, εφόσον αυτή βασίζεται σε κάποιο από τα δείγματα που μελετήθηκαν. Επιπλέον, στην παράγραφο που αναφέρεται στο ενδιαίτημα του κάθε είδους, παρατίθενται οι παρατηρήσεις των συλλεκτών που συνόδευαν τα δείγματα που μελετήθηκαν, όπου αυτές υπήρχαν. Να σημειωθεί ότι περιλαμβάνονται στοιχεία που αφορούν μόνο το Ελληνικό υλικό, και όχι στοιχεία που αφορούν το "υλικό αναφοράς" που προέρχεται από το εξωτερικό.

Σε αρκετά σημεία αναφέρονται οι αγγλικοί όροι των χρωμάτων μέσα σε παρένθεση, δίπλα στους ελληνικούς. Οι αγγλικοί όροι των χρωμάτων προέρχονται από το χρωματολόγιο "Flora of British Fungi - Colour Identification Chart" (Royal Botanic Gardens Edinburgh 1969).

3. Μικροσκοπικές παρατηρήσεις

Η μικροσκοπική εξέταση έγινε σε αποξηραμένα δείγματα σε σύνθετα οπτικά μικροσκόπια (Leitz) στο Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας του Τμήματος Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας (ΓΠΑ). Τα περισσότερα δείγματα μελετήθηκαν περαιτέρω και φωτογραφήθηκαν σε ρύθμιση μικροσκόπισης τύπου Nomarski / Differential Interference Contrast microscopy (DIC) σε μικροσκόπιο Zeiss Axio Imager A1, στο Εργαστήριο Μυκητολογίας του Τομέα Οικολογίας και Ταξινόμικης του Τμήματος Βιολογίας (ΕΚΠΑ).

Για την μικροσκοπική παρατήρηση χρησιμοποιήθηκε κυρίως το διάλυμα Melzer's, αλλά και τα διαλύματα Phloxin B, Congo red και KOH 3%. Τα βασιδιοσπόρια παρατηρήθηκαν και μετρήθηκαν οι διαστάσεις τους σε διάλυμα Melzer's. Από κάθε συλλογή μετρήθηκαν τουλάχιστον 20 βασιδιοσπόρια, πάντα σε πλευρική θέση. Οι μετρήσεις των βασιδιοσπορίων δεν περιλαμβάνουν το ύψος της διακόσμησης και πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τους Nuytinck et al. (2006) ως εξής: (MIN) $[Ava-2 \times SDa] - Ava - Avb - [Avb+2 \times SDb]$ (MAX), όπου Ava = χαμηλότερη μέση τιμή των συλλογών που μελετήθηκαν, Avb = υψηλότερη μέση τιμή (mean value) των συλλογών που μελετήθηκαν και SDa/b = τυπική απόκλιση (standard deviation) της χαμηλότερης και υψηλότερης μέσης τιμής αντίστοιχα. Ως

MIN αναφέρεται η χαμηλότερη τιμή που μετρήθηκε, ως MAX η υψηλότερη τιμή που μετρήθηκε. Τα MIN και MAX δίνονται μόνο όταν οι τιμές τους ξεπερνούν τις τιμές των $[Av-2 \times SDa]$ και $[Av+2 \times SDb]$ αντίστοιχα. Το Q είναι ο λόγος μήκους/πλάτους και δίνεται ως $MINQ - Qa - Qb - MAXQ$, όπου τα Qa και Qb αναφέρονται στη χαμηλότερη και υψηλότερη μέση τιμή του λόγου μήκος/πλάτος των συλλογών που μελετήθηκαν, αντίστοιχα. Τα $MINQ/MAXQ$ είναι οι χαμηλότερη/υψηλότερη τιμή του λόγου μήκος/πλάτος που παρατηρήθηκε. Για τα είδη εκείνα που η μικροσκοπική τους περιγραφή βασίστηκε σε μια μόνο συλλογή, οι διαστάσεις των βασιδιοσπορίων τους δίνονται ως εξής: (MIN) $[Av-2 \times SD] - Av - [Av+2 \times SD]$ (MAX), όπου το Av αποτελεί τη μέση τιμή των 20 βασιδιοσπορίων που μετρήθηκαν από αυτή τη συλλογή και $MINQ - Q - MAXQ$, όπου το Q αναφέρεται στη μέση τιμή του λόγου μήκος/πλάτος των βασιδιοσπορίων που μετρήθηκαν. Οι μετρήσεις των βασιδιοσπορίων δίνονται με ακρίβεια 0.1 μm , ενώ το Q υπολογίζεται με ακρίβεια 0.01 μm . Για τις μετρήσεις των υπόλοιπων μικροσκοπικών χαρακτηριστικών δεν ακολουθήθηκε κάποια στατιστική επεξεργασία και παρουσιάζεται το εύρος των διαστάσεων με τις ακραίες τιμές να παρουσιάζονται μέσα σε παρένθεση. Οι μετρήσεις του μήκους των βασιδίων δεν περιλαμβάνουν το μήκος των στηριγμάτων.

Τόσο στις μακροσκοπικές όσο και στις μικροσκοπικές περιγραφές ακολουθήθηκε γενικά η ορολογία που υιοθετείται στο σύγγραμμα “Flora Agaricina Neerlandica” (Vellinga in Bas et al. 1988). Για τις πιο ειδικές μικροσκοπικές δομές, όπως η δομή της επιδερμίδας του πύλου, τα κυστίδια ή η διακόσμηση των βασιδιοσπορίων ακολουθήθηκε η ορολογία των Heilmann-Clausen et al. (1998).

Οι μικροσκοπικοί χαρακτήρες που μελετώνται στα είδη του γένους *Lactarius* περιλαμβάνουν:

- 1) βασιδιοσπόρια: σχήμα, διαστάσεις, λόγος μήκους προς πλάτος (Q) -ως αντικειμενικό κριτήριο του σχήματος-, πρότυπο και ύψος αμυλοειδούς διακόσμησης,
- 2) βασίδια: σχήμα, διαστάσεις, αριθμός στηριγμάτων,
- 3) πλευροκυστίδια (κυστίδια στα πλευρά του ελάσματος): ύπαρξη ή απουσία τους, πυκνότητα, διαστάσεις και σχήμα, πάχος των τοιχωμάτων τους,
- 4) χειλοκυστίδια (κυστίδια στο χείλος του ελάσματος): ύπαρξη ή απουσία τους, πυκνότητα, διαστάσεις και σχήμα, πάχος των τοιχωμάτων τους,
- 5) επιδερμίδα πύλου: το σχήμα, οι διαστάσεις, το πάχος των τοιχωμάτων και ο προσανατολισμός των υφών από τις οπο ές απο ελείται, η παρο υσία ή μη

ζελατινώδους στρώσης, παρουσία κυστιδίων (πιλοκυστίδια ή δερματοκυστίδια)

6) ύπαρξη ή απουσία κυστιδίων στην επιδερμίδα του στύπου (καυλοκυστίδια)

Σε επιλεγμένα δείγματα πραγματοποιήθηκε επίσης Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM) στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας του Τμήματος Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας του ΓΠΑ, ώστε να αποκαλυφθούν ανατομικές λεπτομέρειες στην επιφάνεια των βασιδιοσπορίων επιλεγμένων δειγμάτων του γένους *Lactarius*.

Τα δείγματα που παρατηρήθηκαν ήταν ήδη αποξηραμένα και για αυτό το λόγο απλουστεύτηκε η διαδικασία προετοιμασίας τους για την παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Από τα ελάσματα των βασιδιοκαρπίων κόπηκαν με ξυραφάκι μικρά τμήματα, μεγέθους περίπου 1 x 5 mm. Ακολούθησε επικόλληση των τους σε υποδοχείς (stubs) με τη χρήση ή αυτοκόλλητων δίσκων άνθρακα διπλής όψης (Agar Scientific Ltd.) ή με κόλλα τύπου UHU. Έπειτα πραγματοποιήθηκε επικάλυψη των δειγμάτων με καθαρό χρυσό με εκκένωση αίγλης σε ατμόσφαιρα αργού (Ar). Η διαδικασία έγινε σε εξαχνωτή Denton-Vacuum DV-502, εφοδιασμένο με τα κατάλληλα εξαρτήματα. Μετά από τις παραπάνω διαδικασίες, τα παρασκευάσματα ήταν πλέον έτοιμα για εξέταση, ενώ η περαιτέρω φύλαξή τους έγινε σε ειδικά κλειστά κουτιά ώστε να προστατεύονται από σκόνες και υγρασία. Ακολούθησε παρατήρηση και ψηφιακή φωτογράφιση των δειγμάτων στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης JEOL 6360 (έτος κατασκευής 2004).

4. Μοριακή ανάλυση

Για 11 επιλεγμένα δείγματα *Lactarius* που είχαν αρχικά ταξινομηθεί στα είδη *L. atlanticus* (#5), *L. serifluus* (#1), *L. subumbonatus* (#5) (Πίνακας 1) πραγματοποιήθηκε και προσδιορισμός της ακολουθίας νουκλεοτιδίων των τμημάτων ITS1 - ITS2 και του γονιδίου 5.8S rRNA ώστε να προσδιοριστούν οι φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ μελών του τμήματος *Olentres*.

4.1. Απομόνωση χρωμοσωμικού DNA από αποξηραμένα βασιδιοκάρπια

Μικρό τμήμα (περί το 0,5-1g) από τον πύλο του αποξηραμένου βασιδιοκαρπίου τοποθετήθηκε μέσα σε αποστειρωμένο πορσελάνινο γουδί. Έπειτα προστέθηκε υγρό άζωτο και αμέσως ξεκίνησε η έκθλιψη του δείγματος μέχρι να αποκτήσει υφή πούδρας. Η διαδικασία επαναλήφθηκε σε αποστειρωμένο γουδί για όλα τα δείγματα. Τα λειοτριβημένα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε αποστειρωμένα erpendorf στους -80°C. Η διαδικασία απομόνωσης χρωμοσωμικού DNA πραγματοποιήθηκε με το NucleoSpin Plant II Kit (Macherey-Nagel). Ακολουθήθηκαν τα βήματα που περιγράφονται στο σχετικό πρωτόκολλο της εταιρίας, με ορισμένες τροποποιήσεις σε συγκεκριμένα σημεία, όπως περιγράφεται παρακάτω:

Για το στάδιο της λύσης των κυττάρων, η επιθυμητή ποσότητα του δείγματος (έως 20 mg ξηρού βάρους) ομογενοποιείται με 300 μl διαλύματος λύσης κυττάρων PL1 με τη βοήθεια συσκευής vortex, μετά προστίθενται 10 μl RNase A και επωάζεται για 10-60 λεπτά στους 65°C. Ακολουθεί προσθήκη 100 μl χλωροφορμίου, ομογενοποίηση και διαχωρισμός φάσεων μέσω φυγοκέντρησης, όπου τελικά παραλαμβάνεται με πιπέττα η ανώτερη υδατική φάση.

- Στις περισσότερες περιπτώσεις, για την απομόνωση του χρωμοσωμικού DNA χρησιμοποιήθηκε 50 mg ιστού για κάθε δείγμα.
- Όταν χρησιμοποιήθηκαν 50 mg ιστού για κάθε δείγμα, χρησιμοποιήθηκαν 600 μl διαλύματος λύσης κυττάρων PL1, 15 μl RNase A, 200 μl χλωροφορμίου και 900 μl του διαλύματος PC (binding buffer).
- Ο χρόνος επώασης του ιστού με το διάλυμα λύσης κυττάρων PL1 και την RNase A τροποποιήθηκε στις δυο ώρες.
- Το στάδιο της έκλυσης του DNA έγινε σε ένα βήμα, χρησιμοποιώντας 60 μl του διαλύματος PE (και όχι σε δυο βήματα χρησιμοποιώντας 50 μl PE σε κάθε βήμα) και ο χρόνος επώασης της στήλης σε αυτό το στάδιο αυξήθηκε στα 15 λεπτά.

4.2. Ενίσχυση της ITS περιοχής του γονιδιώματος με τη χρήση PCR

Για την ενίσχυση της ITS περιοχής του γονιδιώματος χρησιμοποιήθηκαν οι εκκινητές ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') και ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (White et al., 1990). Οι εκκινητές αυτοί οριοθετούν την ITS περιοχή και οι θέσεις υβριδισμού τους βρίσκονται στο άκρο του 18S rDNA για τον

ITS1 και στο άκρο του 28S rDNA για τον ITS4. Ενισχύουν επομένως ένα τμήμα περίπου 700 βάσεων που περιέχει τις μη κωδικές περιοχές ITS1 και ITS2, το 5,8 rDNA που βρίσκεται μεταξύ τους, καθώς και τα άκρα των γονιδίων 18S και 28S rDNA.

Η πολυμεράση που χρησιμοποιήθηκε ήταν η DyNAzyme II DNA Polymerase του DyNAzyme II DNA Polymerase Kit (Finnzymes) το οποίο περιείχε και τα υπόλοιπα απαραίτητα αντιδραστήρια (Optimized DyNAzyme buffer, dNTP mix). Σε ειδικό φιαλίδιο (PCR tube) αναμίχθηκαν 5 μl Optimized DyNAzyme buffer (Finnzymes), 1 μl dNTP mix (Finnzymes), 0,5 μl από τον κάθε εκκινητή (από διάλυμα συγκέντρωσης 50 pmol/μl), 1 μl από τη μήτρα DNA, 0,5-1 μl από την DyNAzyme II DNA Polymerase (Finnzymes) και αποστειρωμένο ddH₂O μέχρι τελικού όγκου 50 μl.

Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) πραγματοποιήθηκε στις ακόλουθες συνθήκες: Στα δείγματα εφαρμόστηκε αρχικά θερμοκρασία 94°C για 2 min, στάδιο κατά το οποίο πραγματοποιείται η αρχική αποδιάταξη των δίκλωνων μορίων της μήτρας DNA. Ακολούθησαν 40 κύκλοι αποτελούμενοι από τρία βήματα ο κάθε ένας, με το κάθε βήμα να διαρκεί 30 sec. Αναλυτικότερα, το πρώτο βήμα περιλαμβάνει θέρμανση στους 94°C για 30 sec (όπου πραγματοποιείται η αποδιάταξη των δίκλωνων μορίων του DNA), στο δεύτερο βήμα ακολουθεί πτώση της θερμοκρασίας στους 52°C για 30 sec (όπου πραγματοποιείται ο υβριδισμός των εκκινητών στις συμπληρωματικές τους θέσεις) και στο τρίτο βήμα η θερμοκρασία ανεβαίνει στους 72°C για 30 sec (όπου πραγματοποιείται από την θερμοανθεκτική πολυμεράση η επιμήκυνση της νέας αλυσίδας DNA που είναι συμπληρωματική της μήτρας DNA). Τέλος, μετά από τους 40 αυτούς κύκλους, η θερμοκρασία διατηρείται στους 72°C για 10 min, ώστε να διασφαλιστεί ότι θα ολοκληρωθεί σωστά η επιμήκυνση των συμπληρωματικών αλυσίδων DNA. Μετά το πέρας της αντίδρασης εφαρμόζεται θερμοκρασία 4°C για την ασφαλή διατήρηση των δειγμάτων για διάστημα μερικών ωρών.

4.3. Ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αγαρόζης

Μετά την PCR ακολούθησε ηλεκτροφόρηση του ενισχυμένου προϊόντος σε πηκτική αγαρόζης. Για όλες τις ηλεκτροφορήσεις χρησιμοποιήθηκε πήκτωμα αγαρόζης 1% w/v. Για την παρασκευή το υ ζυγίστηκε 1 g αγαρό ζης και διαλύθηκε σε 100 ml

διαλύματος TBE (10x TBE: 108 g/l Tris base, 55g/l boric acid και 40 ml/l 0.5 M EDTA, pH=8), με θέρμανση σε φούρνο μικροκυμάτων μέχρι πλήρους ομογενοποίησης. Το διάλυμα αφέθηκε να κρυώσει, και προστέθηκαν 10 μl διαλύματος βρωμιούχου αιθιδίου, ώστε να είναι ορατά τα τμήματα DNA σε συσκευή UV. Ακολούθησε ανάδευση και το διάλυμα αφέθηκε να στερεοποιηθεί στη συσκευή ηλεκτροφόρησης, αφού πρώτα προσαρμόστηκε η κατάλληλη «χτένα» ώστε να σχηματιστούν τα πηγάδια φόρτωσης. Όταν η πηκτή στερεοποιήθηκε μεταφέρθηκε στη συσκευή ηλεκτροφόρησης και φορτώθηκαν 8μl PCR προϊόντος από κάθε δείγμα, αφού πρώτα προστέθηκε στο κάθε ένα από αυτά 2 μl χρωστικής φόρτωσης ("loading dye"). Δίπλα στα δείγματα φορτώθηκε μικρή ποσότητα δείκτη μοριακών βαρών ("ladder") για να είναι δυνατή η εκτίμηση του αριθμού των ζευγών βάσεων που αντιστοιχούν στην επιθυμητή ζώνη. Η ηλεκτρική τάση που εφαρμόστηκε στη συσκευή για την ηλεκτροφόρηση των δειγμάτων ήταν περίπου 80 – 90 V.

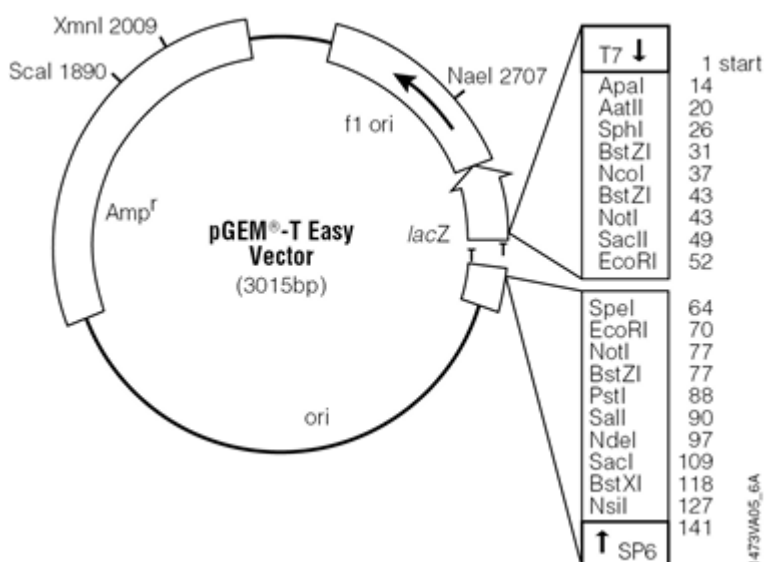
4.4. Ανάκτηση και καθαρισμός ενισχυμένου DNA από την πηκτή αγαρόζης.

Το προϊόν της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης απαλλάχθηκε από την περίσσεια εκκινητών, το $MgCl_2$, τα περιττά δεοξυριβονουκλεοτίδια και τα συστατικά του ρυθμιστικού διαλύματος της πολυμεράσης, με τη βοήθεια του QIAquick Spin Kit, (QIAGEN). Ακολούθησαν τα βήματα του σχετικού πρωτοκόλλου της κατασκευάστριας εταιρίας (QIAquick Gel Extraction Kit Protocol) με δυο μικρές τροποποιήσεις. Δεν έγινε προσθήκη ισοπροπανόλης (βήμα 5), αφού το μήκος του προϊόντος της PCR είναι περίπου 700 βάσεις. Το βήμα 9 (προσθήκη επιπλέον buffer QG) εκτελέστηκε, ενώ το στάδιο της έκλουσης του DNA (βήμα 13) πραγματοποιήθηκε με 30 μl elution buffer, περιμένοντας για 1 min πριν τη φυγοκέντρηση. Ακολούθησε ηλεκτροφόρηση του καθαρισμένου προϊόντος της PCR.

4.5. Ενσωμάτωση (ligation) ενισχυμένου τμήματος χρωμοσωμικού DNA σε πλασμιδιακό φορέα κλωνοποίησης

Για την κλωνοποίηση των τμημάτων DNA χρησιμοποιήθηκε ο πλασμιδιακός φορέας pGEM-T Easy (Promega) (Εικόνα 18). Οι πλασμιδιακοί φορείς T αποτελούν ειδικό τύπο ευθυγραμμισμένων πλασμιδιακών φορέων που παίρνουν το όνομά τους από την παρουσία βάσεων θυμίνης (T) και στα δυο άκρα το υ. Έτσι εκμεταλλεύονται την παρουσία βάσεων αδενίνης (A) στα προϊόντα της PCR τα οποία έχουν ενισχυθεί με

την Taq DNA πολυμεράση, οπότε παρέχουν συμπληρωματικά άκρα που απλοποιούν τη διαδικασία της ενσωμάτωσης. Ο πλασμιδιακός φορέας pGEM-T Easy περιέχει τους T7 και SP6 προαγωγείς της RNA πολυμεράσης, οι οποίοι πλαισιώνουν μια πολυκλωνική θέση, εντός της κωδικής περιοχής του α-πεπτιδίου του ενζύμου της β-γαλακτοσιδάσης. Απενεργοποίηση του α-πεπτιδίου με ενσωμάτωση του ένθετου DNA επιτρέπει την αναγνώριση των ανασυνδυασμένων κλώνων με βάση το χρώμα των αποικιών όταν αυτές αναπτύσσονται σε τρυβλία που περιέχουν X-Gal (οι λευκές αποικίες φέρουν το επιθυμητό γονίδιο). Επίσης ο φορέας φέρει το γονίδιο ανθεκτικότητας στην αμικιλίνη, επιτρέποντας έτσι την επιλογή μόνο των ανασυνδυασμένων κλώνων. Μέσα σε φιαλίδιο erppendorf, αναμίχθηκαν με τη βοήθεια πιπέττας 3μl προϊόντος PCR, 1 μl πλασμιδιακού φορέα pGEM-T Easy, 5 μl Rapid Ligation Buffer 2X (Promega), 1 μl T4 DNA λιγάση (Promega) και ddH₂O, μέχρι τελικού όγκου 10 μl. Το φιαλίδιο με το δείγμα αφέθηκε στους 4°C μέχρι το επόμενο πρωί. Για τις περιπτώσεις εκείνες όπου κατά την ηλεκτροφόρηση του καθαρισμένου πλέον προϊόντος της PCR δεν παρατηρήθηκε έντονη ζώνη, τότε η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε όγκο 20 μl, με 8 μl προϊόντος PCR, 1 μl πλασμιδιακού φορέα pGEM-T Easy, 10 μl Rapid Ligation Buffer 2X και 1 μl T4 DNA λιγάση.



Εικόνα 18. Ο χάρτης του πλασμιδιακού φορέα κλωνοποίησης pGEM-T easy (Promega) που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία.

4.6. Παρασκευή δεκτικών κυττάρων *Escherichia coli* Dh5a

Από μοναδιαία αποικία καλλιέργειας του βακτηριακού στελέχους *E. coli* DH5a εμβολιάστηκε 1 ml θρεπτικού μέσου LB (παρασκευάστηκε με προσθήκη τρυπτόνης 1% w/v, εκχυλίσματος ζύμης 0,5% w/v και NaCl 0,5 % w/v, ρύθμιση του pH στο 7,0 με προσθήκη NaOH και αποστείρωση). Η καλλιέργεια αφέθηκε στους 37°C, για 18 ώρες, υπό ανάδευση. Στη συνέχεια σε κωνική φιάλη 2 λίτρων που περιέχει 200 ml θρεπτικού διαλύματος LB προστέθηκε 4 ml MgSO₄ και 1 ml από την παραπάνω καλλιέργεια. Η καλλιέργεια επώασθη στους 37°C, υπό ανάδευση στις 218 rpm, έως ότου η τιμή της οπτικής απορρόφησης (O.D.) της στα 600 nm, να κυμαίνεται μεταξύ 0,35-0,45. Στη συνέχεια η καλλιέργεια μοιράστηκε σε 4 αποστειρωμένους και παγωμένους δοκιμαστικούς σωλήνες τύπου falcon των 50 ml και επώασθη απευθείας στον πάγο για 10 min. Έπειτα, φυγοκεντρήθηκε για 10 min στις 4000 rpm, στους 4°C. Το υπερκείμενο απορρίφθηκε και το υποκείμενο επαναδιαλύθηκε με μικρή ποσότητα παγωμένου διαλύματος TFB I (30mM CH₃COOK, 50mM MnCl₂, 100mM KCl, 10mM CaCl₂, 15% γλυκερόλη). Στη συνέχεια ενώθηκε το διαλυμένο υποκείμενο των 4 σωλήνων τύπου falcon σε δύο σωλήνες και προστέθηκε παγωμένο διάλυμα TFB I μέχρι τελικού όγκου 20 ml (στον κάθε σωλήνα). Έπειτα τοποθετήθηκαν στον πάγο για 15 min και φυγοκεντρήθηκαν στις 4000 rpm, για 10 min, στους 4°C. Το υπερκείμενο απορρίφθηκε και το υποκείμενο επαναδιαλύθηκε σε 2ml παγωμένου διαλύματος TFB II (10mM MOPS pH 7, 75mM CaCl₂, 10mM KCl, 15% γλυκερόλη) ανά σωλήνα. Τέλος, το κυτταρικό διάλυμα μοιράστηκε ανά 200 μl σε αποστειρωμένα και ήδη παγωμένα φιαλίδια erpendorf, τα οποία και αποθηκεύτηκαν στους -80°C.

4.7. Μετασχηματισμός (transformation) δεκτικών κυττάρων *E. coli* Dh5a

Από τους -80°C, όπου και αποθηκεύονται, παραλήφθηκε ο επιθυμητός αριθμός φιαλιδίων erpendorf που το κάθε ένα περιείχε 200 μl δεκτικά κύτταρα *E. coli* DH5a και μέσα στο κάθε φιαλίδιο erpendorf με τα δεκτικά κύτταρα, προστέθηκαν ασηπτικά 5 μl από την αντίδραση λιγάσης (ligation reaction), ανακινήθηκαν ελαφρά και αφέθηκαν στον πάγο για 20-30 min. Στη συνέχεια μεταφέρθηκαν στους 42°C για 1,5 min και ύστερα απευθείας στον πάγο για 2 min. Έπειτα προστέθηκαν 800 μl LB και επώασθηκαν στους 37°C για 45 -90 min. Στη συνέχεια 200μl από την κάθε καλλιέργεια επιστρώθηκαν σε τρυβλίο με στερεό θρεπτικό LB-άγαρ που περιέχει

επίσης αμπικιλίνη και X-Gal. Το υπόλοιπο της κάθε καλλιέργειας φυγοκεντρήθηκε στις 3000 rpm για 3 min. Αφαιρέθηκαν από το υπερκείμενο 700 μl και το υπόλοιπο επαναδιαλύθηκε στο υποκείμενο με την βοήθεια πιπέττας και επιστρώθηκε σε παρόμοια τρυβλία (LB-άγαρ/ αμπικιλίνη/ X-Gal). Έτσι, παραλήφθηκαν δυο τρυβλία για την κάθε αντίδραση μετασχηματισμού που είχαν επιστρωθεί με κυτταρικό διάλυμα διαφορετικής συγκέντρωσης κυττάρων (αραιό και πυκνό αντίστοιχα). Τέλος τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο στους 37°C για 24 ώρες το λιγότερο.

4.8. Επιλογή των κατάλληλων βακτηριακών αποικιών

Η επιλογή των αποικιών που προέρχονται από βακτήρια που φέρουν ανασυνδυασμένα πλασμίδια έγινε με βάση το χρώμα των αποικιών. Οι αποικίες που προέρχονται από μετασχηματισμένα βακτήρια που φέρουν ανασυνδυασμένα πλασμίδια, εμφανίζονται λευκές πάνω στο τρυβλίο, επειδή δε μεταβολίζουν το υπόστρωμα X-gal, λόγω της διακοπής του γονιδίου που κωδικοποιεί τη β-γαλακτοσιδάση από το ένθετο τμήμα DNA. Αντιθέτως, οι αποικίες των βακτηρίων που φέρουν μη ανασυνδυασμένα πλασμίδια, παράγουν κανονικά τη β-γαλακτοσιδάση, μεταβολίζουν το X-gal και εμφανίζονται μπλε. Οι λευκές μοναδιαίες αποικίες που επιλέχθηκαν με αποστειρωμένο ξύλινο καλαμάκι εμβολιάστηκαν σε φιαλίδια erpendorf που περιείχαν 600μl LB/amp και επωάστηκαν υπό ανάδευση, στους 37°C, για 18-24 ώρες.

4.9. Έλεγχος ένθετου τμήματος DNA

Σε αυτό το στάδιο ελέγχθηκε ξανά μέσω PCR και ηλεκτροφόρησης, για κάθε μια αποικία, αν προέρχεται από βακτήρια που φέρουν ανασυνδυασμένα πλασμίδια με το επιθυμητό ένθετο τμήμα DNA, καθώς και σε τι βαθμό έχει πολλαπλασιαστεί το ένθετο τμήμα στην κάθε αποικία. Από τα 600 μl της κάθε καλλιέργειας μεταφέρθηκαν τα 500μl σε νέα φιαλίδια erpendorf και φυγοκεντρήθηκαν για 2-3 min στις 15000 rpm. Το υπερκείμενο αφαιρέθηκε και το υποκείμενο επαναδιαλύθηκε σε 50μl dd H₂O και έπειτα μεταφέρθηκε στο υδατόλουτρο στους 100°C για 10 min. Ακολούθησε φυγοκέντρωση για 2-3 min στις 15000 rpm. Τέλος, 10 μl από το υπερκείμενο χρησιμοποιήθηκαν για την PCR. Ακολούθησε ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αгарόζης των προϊόντων της PCR. Από τις αποικίες που φάνηκε από την

ηλεκτροφόρηση ότι φέρουν το ένθετο τμήμα DNA επιλέχθηκαν δυο για κάθε μετασχηματισμό και συγκεκριμένα αυτές που έφεραν την πιο έντονη ζώνη που αντιστοιχεί στο ένθετο τμήμα DNA. Έτσι, οι δυο καλύτεροι κλώνοι για κάθε μετασχηματισμό ανακαλλιεργήθηκαν από τα 100 μl που είχαν απομείνει από τις αντίστοιχες καλλιέργειες. Τα 100 μl της κάθε καλλιέργειας εμβολιάστηκαν σε γυάλινα φιαλίδια Mckartney που περιείχαν 5ml LB και 5 μl αμπικιλίνη. Οι ανακαλλιέργειες αφέθηκαν για επώαση υπό ανάδευση, στους 37°C, για 18-24 ώρες.

4.10. Απομόνωση πλασμιδίου

Από την κάθε καλλιέργεια παραλήφθηκε 1,5 ml και φυγοκεντρήθηκε σε φιαλίδιο erppendorf για 3 min στις 15000 rpm. Το υπερκείμενο απορρίφθηκε και προστέθηκαν άλλο 1,5 ml από την αντίστοιχη καλλιέργεια και φυγοκεντρήθηκαν ξανά για 3 min στις 15000 rpm. Το υπερκείμενο απορρίφθηκε και μετά από μια επιπλέον φυγοκέντρωση για 30 sec (spin) αφαιρέθηκε η μικρή ποσότητα υπερκειμένου που είχε απομείνει με την πιπέττα. Στη συνέχεια, για την απομόνωση του πλασμιδίου χρησιμοποιήθηκε το QIAprep Miniprep Kit (QIAGEN) και ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο που περιλαμβάνεται στο εγχειρίδιο της εταιρείας. Το στάδιο της έκλουσης πραγματοποιήθηκε με 32 ml ddH₂O και αποτελεί την μόνη διαφοροποίηση από τα βήματα του πρωτοκόλλου που περιλαμβάνεται στο εγχειρίδιο της παρασκευάστριας εταιρείας. Ακολούθησε ηλεκτροφόρηση για να επιβεβαιωθεί η απομόνωση του πλασμιδίου που περιέχει το ένθετο τμήμα DNA. Τα δείγματα φυλάχθηκαν στους -20°C (ή στους -80°C μετά από προσθήκη 0,5 ml γλυκερόλης σε φιαλίδιο με 1,5 ml εναιωρήματος της βακτηριακής καλλιέργειας).

Η συγκέντρωση του πλασμιδιακού DNA (ng/μl) προσδιορίστηκε με τη χρήση φασματοφωτόμετρου (Nanodrop ND-1000 Spectrophotometer) και μέτρηση στα 260 nm.

4.11. Αλληλούχηση DNA και φυλογενετική ανάλυση

Η εύρεση της ακολουθίας νουκλεοτιδίων του τμήματος DNA ITS1-γονίδιο 5.8S RNA-ITS2 πραγματοποιήθηκε σε εξειδικευμένο αναλυτικό Εργαστήριο. Η συσχέτιση των αλληλουχιών έγινε με τη βοήθεια του λογισμικού “ClustalW” (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/>). Οι αλληλουχίες βάσεων οι οποίες προσδιορίστηκαν για το παραπάνω τμήμα DNA 11 στελεχών του γένους *Lactarius* βρίσκονται σε

διαδικασία κατάθεσης στην GenBank/NCBI. Οι αλληλουχίες που παραλήφθηκαν συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες άλλων συγγενών στελεχών μυκήτων με χρήση του αλγορίθμου BLAST (“Basic Local Alignment Search Tool”) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

Το σύνολο των αλληλουχιών νουκλεοτιδίων των στελεχών του γένους *Lactarius* που εξετάστηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας μαζί με τις επιλεγμένες αλληλουχίες βάσεων συγγενών προς αυτά στελεχών που έχουν ήδη κατατεθεί στην GenBank χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση φυλογενετικής ανάλυσης. Το φυλογενετικό δέντρο κατασκευάστηκε με τη χρήση του προγράμματος TREECON (Windows version 1.3b). Οι φυλογενετικές αποστάσεις προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο Kimura (1980). Η κατασκευή των φυλογενετικών δέντρων βασίστηκε στη μέθοδο “neighbor-joining” (Saitou & Nei, 1987) με την εφαρμογή αυτοδύναμης ανάλυσης 1000 δέντρων (“bootstrap analysis”).

III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκαν συνολικά 149 δείγματα (138 αποξηραμένα και 11 νωπά), από τα οποία τα 21 προέρχονταν από μυκητολογικά ερμπάρια του εξωτερικού με βασικό στόχο τη συνολική επαναξιολόγηση των μέχρι σήμερα προσδιορισθέντων ειδών του γένους *Lactarius* στην Ελλάδα. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στη διερεύνηση μορφολογικών χαρακτηριστικών (μακροσκοπικών, μικροσκοπικών και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας), καθώς και στη μελέτη ορισμένες χημικών αντιδράσεων χρώσης επιμέρους τμημάτων των βασιδιοκαρπίων και οικολογικών παραμέτρων από τα ενδιδαιτήματα συλλογής. Επιπλέον, για επιλεγμένα δείγματα του ταξινομικού τμήματος *Olentes* προσδιορίστηκαν οι αλληλουχίες του ITS1-5,8S-ITS2 rDNA ώστε να διαλευκανθούν οι φυλογενετικές σχέσεις των ειδών *L. atlanticus*, *L. serifluus* και *L. subumbonatus*.

Ακολουθεί αναλυτική παρουσίαση και συζήτηση των αποτελεσμάτων με διαχωρισμό τους ανά υπογένος, τμήμα και είδος του γένους *Lactarius*. Στις περιπτώσεις εκείνες που παραθέτονται περιγραφές μακροσκοπικών χαρακτηριστικών από άλλους συγγραφείς (λόγω διαθεσιμότητας μόνο του αποξηραμένου υλικού για τους ανάγκες της παρούσας μελέτης), αυτές παρουσιάζονται με πλαισιαστούς χαρακτήρες ("italics").

3.1. Υπογένος *Piperites* (Fr.) Kauffman

3.1.1. Τμήμα *Glutinosi* Quél.

3.1.1α. Υποτμήμα *Pyrogalini* Singer

Το υποτμήμα *Pyrogalini* χαρακτηρίζεται από βασιδιοκάρπια με πύλο που φέρει γκρι, πρασινωπές ως καφετί αποχρώσεις, λευκό λακτικό υγρό που κατά το στέγνωμα μεταχρωματίζεται σε γρι-πρασινωπό και μικρά βασιδιοσπόρια με χαρακτηριστική διακόσμηση από σχεδόν παράλληλα επιμήκη επάρματα (zebra-like).

- *Lactarius blennius* (Fr.: Fr.) Fr., *Epicr. Syst. Mycol.* (Upsaliae): 337 (1838) [1836-1838]

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια (6) 6,3 – 7,4 – 7,9 – 9,1 x (4) 4,4 – 5,4 – 5,8 – 6,8 (7) μm , ελλειψοειδή, $Q = 1,09 - 1,32 - 1,41 - 1,84$, διακόσμηση ύψους έως 0,8 (1) μm , από επιμήκη επάρματα, συχνά διατεταγμένα σχεδόν παράλληλα μεταξύ τους (zebra-like pattern), με κάποιες συνδέσεις, αλλά και μεμονωμένα επάρματα μικρού μήκους (warts), περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής (Εικόνα 19: i-viii). Βασίδια 40-50 x 7-10 μm , στενά ροπαλόμορφα, κυρίως τετράσπορα, αλλά και κάποια δίσπορα και μονόσπορα. Πλευρομακροκυστίδια 57-110 x 6-10 μm , ατρακτοειδή έως στενά ατρακτοειδή, κορυφή ή μυτερή είτε με μια ή περισσότερες περισφίξεις. Χείλος ελάσματος συνήθως άγονο, χειλομακροκυστίδια 37-52 x 5-8 μm , ατρακτοειδή, κορυφή με μια ή περισσότερες περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου πάχους (65-) 100-135 μm , με υφές αντικλινείς και πλάγιες, άλλες καμπτόμενες στο πάνω τμήμα τους παράλληλα με την επιφάνεια του πύλου, βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία (intricate ixotrichoderm), επιστρωμένες σε αρκετά σημεία με λεπτόκοκκη εξωκυτταρική χρωστική, τελικά κύτταρα πλάτους 1,5-3,5 (-5,7) μm (Εικόνα 19: xxxi).

Ενδιαίτημα: Δάση οξυάς (*Fagus sylvatica*).

Παρατηρήσεις:

Το *L. blennius* χαρακτηρίζεται από το γκριζο-λαδοπράσινο χρώμα, τη γλοιώδη επιφάνεια του πύλου και από το λευκό λακτικό υγρό που καθώς στεγνώνει μεταχρωματίζεται σε γκρι-λαδί. Το *L. fluens* είναι ένα πολύ κοντινό είδος, το οποίο διαφοροποιείται μακροσκοπικά από τη λιγότερο γλοιώδη υφή της επιφάνειας του πύλου και την παρουσία μιας άσπρης περιμετρικής ζώνης στο χείλος του πύλου. Σε μικροσκοπικό επίπεδο οι διαφορές μεταξύ των δύο ειδών είναι ελάχιστες. Σύμφωνα με τη Basso (1999), ένα μικροσκοπικό γνώρισμα χρήσιμο στη διάκριση των δυο ειδών είναι η δομή των κρυστάλλων της χρωστικής στην επιφάνεια των υφών της επιδερμίδας του πύλου. Στο *L. blennius* υπάρχουν κοκκώδεις κρύσταλλοι στην επιφάνεια των υφών της επιδερμίδας του πύλου, γνώρισμα που παρατηρήθηκε στα δείγματα που μελετήθηκαν. Αντίθετα, στο *L. fluens* οι κρύσταλλοι σχηματίζουν μεγαλύτερες δομές. Οι περισσότεροι συγγραφείς δίνουν μικρότερες διαστάσεις πλευρομακροκυστιδίων για το *L. blennius* (Heilmann-Clausen *et al.* 1998: 30-85 x 5,5-10 μm , Basso 1999: 60-77 x 6-8,5 μm , Kränzlin 2005: 40-85 x 7-10 μm) σε σχέση με το *L. fluens* (Heilmann-Clausen *et al.* 1998: 45-90 (-110) x 5,5-10 μm , Basso 1999: 73-110 x 6-8,5 μm , Kränzlin 2005: 35-90 x 5-10 μm), αλλά δεν προτείνουν αυτό το χαρακτηριστικό ως χρήσιμο για τη διάκριση των ειδών. Αξίζει να σημειωθεί πως ορισμένα από τα δείγματα που μελετήθηκαν (ATHU-M 3661, ATHU-M 8228 (ΖΓ

5181)) έφεραν μεγάλα μακροκυστίδια με διαστάσεις παραπλήσιες με αυτές που αναφέρονται για το *L. fluens*. Παρόλα αυτά, τα υπόλοιπα μικροσκοπικά τους χαρακτηριστικά ταυτίζονται με αυτά που περιγράφονται για το *L. blennius*, όπως και τα μακροσκοπικά τους χαρακτηριστικά (στο βαθμό που μπορούν να φανούν από τα ξερά δείγματα), όπως τα κολλημένα φύλλα φυτών πάνω στον πίλο που υποδηλώνουν ότι ο πίλος ήταν έντονα γλοιώδης και η απουσία άσπρης περιμετρικής ζώνης στο χείλος του πύλου. Το *L. blennius* έχει αναφερθεί αρκετές φορές από την Ελλάδα, κυρίως σε δάση οξυάς.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Λάρισας, Όρος Όσσα, σε δάσος *Fagus sylvatica*, 2/11/2006, συλλογή Γκόνου Ζ. & Φλούδας Δ., ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHU-M 8228 (ΖΓ 5181).
2. Ν. Μαγνησίας, Όρος Πήλιο, Χάνια, σε δάσος *Fagus sylvatica*, 11/11/1968, συλλογή Παντίδου Μ., ταυτοποίηση Παντίδου Μ. & Heinemann P., ATHU-M 966.
3. Ν. Μαγνησίας, Όρος Πήλιο, Χάνια, σε δάσος *Fagus sylvatica*, 5/11/1995, συλλογή Φιλιάνος Μ. & ομάδα εργασίας, ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHU-M 3661 (ΖΓ 1193).
4. Ν. Φθιώτιδας, Όρος Οξυά, υψόμετρο 1730 μ., σε δάσος *Fagus sylvatica*, 30/10/1998, συλλογή και ταυτοποίηση Δήμου Δ., LGAM 049.

3.1.2. Τμήμα *Uvidi* (Konr.) Bon

Τα είδη που ανήκουν στο τμήμα *Uvidi* χαρακτηρίζονται από το λευκό λακτικό υγρό που μεταχρωματίζεται, σε επαφή με τη σάρκα ή και κατά την απομόνωση του, σε διαφορετικές, ανάλογα με το είδος, αποχρώσεις του λιλά-βιολετί. Το τμήμα *Uvidi* αποτελείται από τα υποτμήματα *Uvidini* και *Aspideini*. Διακριτικό γνώρισμα μεταξύ των δυο υποτμημάτων είναι τα χρώματα των βασιδιοκαρπίων, τα οποία στα είδη του υποτμήματος *Uvidini* φέρουν καφετί, βιολετί ή γκριζωπές αποχρώσεις, σε αντίθεση με τα βασιδιοκάρπια του υποτμήματος *Aspideini* που φέρουν κρεμ ή έντονα κίτρινες αποχρώσεις (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999).

3.1.2α. Υποτμήμα *Uvidini* Konr.

- *Lactarius cistophilus* Bon and Trimbach, in Bon, *Doc. Mycol.* 8(no. 29): 36 (1978)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πίλος διαμέτρου 30-105 mm, ελαφρώς κυρτός έως κυρτός, κεντρική περιοχή ελαφρώς πεισμένη, χείλος κυρτό προς τα μέσα, επιφάνεια κολλώδης, απαλό καφέ-κίτρινο (buff-brownish) με βιολετί (violaceous) αποχρώσεις, συχνά με βιολετί-καφέ (violaceous-brown) ή γκρι-βιολετί (grayish-violaceous) κηλίδες ή απαλή ζώνωση από ομόκεντρους κύκλους. Ελάσματα προσφυή έως ελαφρώς κατερχόμενα, μέτριας πυκνότητας, υπόλευκα έως κρεμ. Στύπος διαστάσεων 12-35 x 8-12 mm, κυλινδρικός, επιφάνεια λεία, υπόλευκη. Σάρκα υπόλευκη, μεταχρωματιζόμενη σε βιολετί στα τραυματισμένα σημεία. Λακτικό υγρό λευκό, μεταχρωματιζόμενο, σε επαφή με τη σάρκα, σε βιολετί. (Εικόνα 19: xxxiii)

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 8,5 – 11,2 – 11,7 – 13,0 (14,0) x 6,4 – 7,4 – 7,8 – 8,4 (8,5) μm, ελλειψοειδή έως επιμήκη, Q = 1,25 – 1,485 – 1,54 – 1,79, διακόσμηση ύψους έως 0,8 μm, αποτελούμενη κυρίως από επιμήκη επάρματα συνδεόμενα σε σχεδόν πλήρες δίκτυο, με λιγοστά μεμονωμένα επάρματα, περιοχή κυρίως πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής, κάποιες φορές ελαφρώς αμυλοειδής (Εικόνα 19: ix-xvi). Βασίδια 50-63 x 9-14 μm, στενά ροπαλόμορφα έως ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια όχι τόσο κοινά, 52-93 x 7-11 μm, ατρακτοειδή, κορυφή με περισφίξεις (moniliform). Χείλος ελάσματος ετερογενές, χειλομακροκυστίδια πολυάριθμα, 37-57 x 5-9 μm, ατρακτοειδή, κορυφή με περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από στρώμα περικλινών υφών βυθισμένων σε ζελατινώδη ουσία (ixocutis), πάχους 150-300 μm, σε ορισμένα σημεία με υφές ανορθωμένες, μεταβαίνοντας σε ισοτριχόδερμα, υφές με πάχος 1,5-4 μm, επιστρωμένες σε αρκετά σημεία με λεπτόκοκκη εξωκυτταρική χρωστική (Εικόνα 19: xxxii).

Ενδιαίτημα: Περιοχές με μεσογειακή βλάστηση, όπου σχηματίζει εκτομυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Cistus*.

Παρατηρήσεις:

Το *L. cistophilus* είναι ένα μεσογειακό είδος, που μαζί με το *L. tesquorum* είναι τα μόνα είδη του γένους που επιβεβαιωμένα αναπτύσσουν συμβιωτική σχέση με είδη του γένους *Cistus* (Comandini et al. 2006, Nuytinck et al. 2004). Διακρίνεται με σχετική ευκολία ανάμεσα στα υπόλοιπα μέλη του υποτιμήματος *Uvidini* λόγω του μεγάλου μεγέθους των βασιδιοσπορίων του, τα οποία φέρουν χαμηλή διακόσμηση που σχηματίζει σχεδόν πλήρες δίκτυο. Αναφέρθηκε για πρώτη φορά στην Ελλάδα από το νησί της Άνδρου (Πολέμης 1998).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Κυκλάδων, Άνδρος, στο έδαφος ανάμεσα σε θάμνους *Cistus* spp., 05/12/1997, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP.97-A148.
2. Ν. Κυκλάδων, Άνδρος, στο έδαφος ανάμεσα σε θάμνους *Cistus* spp., 28/11/2002, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP.02-A600.
3. Ν. Κυκλάδων, Άνδρος, στο έδαφος ανάμεσα σε θάμνους *Cistus* spp., 13/12/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP.06-A883.
4. Νομός Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 400 μ., σε ξέφωτο δρυοδάσους με *Cistus* spp., 13/11/2009, συλλογή Τριανταφύλλου Μ. & Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M 6359 (MT 492).

- *Lactarius luridus* (Pers.:Fr.) Gray *Nat. Arr. Brit. Pl.* (London) 1: 625 (1821)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών (Γκόνου-Ζάγκου 2003):

Πίλος κυρτός έως επίπεδος, διαμ. μέχρι 5 εκ., ροδοκαστανόχρωμος (*clay-buff to fawn*), με περιοχές σκουρότερες καστανόχρωμες ή με ομοιόχρωμες κηλίδες, επιφάνεια ελαφρά γλοιώδης, χείλος γυριστό προς τα μέσα. Στύπος κυλινδρικός, ισοδιαμετρικός ή λεπυνόμενος στη βάση, διαστάσεων μέχρι 6 x 1.5 εκ., λευκωπός έως κρεμ, λείος. Ελάσματα ελαφρά κατερχόμενα, κρεμ. Γαλακτικό υγρό λευκωπό ή κρεμ στην αρχή, μεταχρωματιζόμενο πάνω στα ελάσματα και τη σάρκα σε ιώδες (*lilac* αποχρώσεις) έως καστανό κατά την επαφή του με τον αέρα. Σάρκα πύλου λευκή, μεταχρωματιζόμενη από το εκκρινόμενο γαλακτικό υγρό, συμπαγής.

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 7,2 – 9,1 – 11,0 (11,3) x (5,6) 6,1 – 7,3 – 8,6 μm, Q: 1,11 – 1,24 – 1,41, υποσφαιρικά έως ευρέως ελλειψοειδή, διακόσμηση έως 1,1 (1,3) μm, αποτελούμενη από μεμονωμένα και επιμήκη επάρματα συνδεδεμένα μεταξύ τους και σχηματίζοντας ατελές δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής (Εικόνα 19: xvii-xxiii). Βασίδια 36-44 x 9-11 μm, ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια συχνά, 42-84 x 7-10 μm, ατρακτοειδή, συχνά με περίσφιξη στην κορυφή, κάποια ελαφρώς λαγηνόμορφα. Χείλος ελάσματος άγονο, χειλομακροκυστίδια 24-47 x 7-9 μm, ατρακτοειδή με περισφίξεις στην κορυφή ή ελαφρώς λαγηνόμορφα, παρακυστίδια ακανόνιστα κυλινδρικά. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από υφές περικλινείς ή ελαφρώς ανορθωμένες, συμπλεκόμενες, βυθισμένες σε ζελατινώδη στρώση, πάχους 150-210 μm, υφές πλάτους 1,2-4 μm.

Ενδιαίτημα: Δάσος *Castanea sativa*, με σποραδική εμφάνιση ατόμων *Abies cephalonica*.



Εικόνα 19: i-xxx. Βασιδιοσπόρια: i-viii. *L. blennius*, ix-xvi. *L. cistophilus*, xvii-xxiii. *L. luridus*, xxiv-xxx. *L. cf flavidus*, xxxi-xxxii. Επιδερμίδα πύλου, υφές με κοκκώδη εξωκυτταρική χρωστική: xxxi. *L. blennius*, xxxii. *L. cistophilus*, xxxiii-xxxiv. Βασιδιοκάρπια: xxxiii. *L. cistophilus* (φωτογραφία Δεληβοριάς Π.), xxxiv. *L. cf flavidus* (φωτογραφία Παπαδήμα Κ.). Μήκος μπάρας 10 μm.

Παρατηρήσεις:

Το *L. luridus* μοιάζει αρκετά με το είδος *L. violascens*. Τα δυο είδη είναι δύσκολο να διακριθούν μεταξύ τους, αφού απαντώνται σε παρόμοια ενδιαιτήματα, δηλ. σε δάση φυλλοβόλων δέντρων (*Quercus*, *Castanea*, *Carpinus*). Το *L. luridus* φέρει πιο ανοιχτόχρωμες αποχρώσεις από το *L. violascens*. Η σημαντικότερη μικροσκοπική τους διαφορά βρίσκεται στη διακόσμηση των βασιδιοσπορίων, η οποία και στα δυο είδη σχηματίζεται ατελές δίκτυο. Η διαφορά τους έγκειται στο ότι στο *L. violascens* τα επάρματα είναι ψηλότερα, έως 1,5 μm (Basso 1999, Heilmann-Clausen et al. 1998). Το δείγμα που μελετήθηκε φέρει χαμηλότερα επάρματα ύψους έως 1,1 (-1,3) μm. Η Basso (1999) βασίζει την διάκριση των δυο ειδών και στην διαφορά στον τύπο χρωστικής που υπάρχει στις υφές της επιδερμίδας του πύλου: το *L. luridus* φέρει χρωστική ενδοκυτταρικά στις υφές, ενώ το *L. violascens* φέρει εξωκυτταρική χρωστική με τη μορφή κόκκων στην επιφάνεια των υφών. Οι Heilmann-Clausen et al. (1998) αναφέρουν ότι δεν μπόρεσαν να παρατηρήσουν αυτή τη διαφορά σε πρόσφατα αποξηραμένο υλικό και ότι ίσως αυτό το γνώρισμα να είναι χρήσιμο κατά τη μελέτη φρέσκων βασιδιοκαρπίων. Το δείγμα του είδους *L. luridus* που μελετήθηκε ήταν αποξηραμένο και δεν παρατηρήθηκε ύπαρξη χρωστικής. Παρόλα αυτά, σε αποξηραμένα δείγματα άλλων ειδών που μελετήθηκαν κατά την διάρκεια της παρούσας εργασίας και για τα οποία αναφέρεται στη βιβλιογραφία η ύπαρξη εξωκυτταρικής χρωστικής υπό μορφή κόκκων (όπως τα είδη *L. cistophilus* και *L. blennius*), διαπιστώθηκε ότι διατηρούσαν τη χρωστική αυτή και στα αποξηραμένα βασιδιοκάρπια. Θα μπορούσε, επομένως, η απουσία χρωστικής στο αποξηραμένο δείγμα *L. luridus* να είναι μια ένδειξη ότι το δείγμα αυτό έφερε ενδοκυτταρική χρωστική μόνο όταν ήταν φρέσκο. Τέλος, το είδος *L. luridus* αν και μακροσκοπικά παρόμοιο με τα άλλα δυο, απαντάται σε διαφορετικό τύπο ενδιαιτήματος (δάση που σχηματίζουν είδη των γενών *Betula* και *Picea*) και φέρει βασιδιοσπόρια με μεμονωμένα, μικρότερα σε μήκος και σε ύψος επάρματα.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Ευβοίας, Όρος Δίρφυς, σε δάσος με *Castanea sativa* (κυρίαρχο είδος) και *Abies cephalonica* (σποραδική εμφάνιση), 9/11/2002, συλλογή από ομάδα εργασίας, ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHUM 4464 (2965).

- *Lactarius cf. flavidus* Boud., *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 3: 145 (1887)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών (Παπαδήμα 2010):

Πίλος επιπεδόκυρτος και τελικά επίπεδος, χαμηλωμένος στο κέντρο, με κεκλιμένο προς τα κάτω χείλος, αργότερα περισσότερο χαμηλωμένος στο κέντρο, 8-14 cm. Επιφάνεια θαμπή, ελαφρώς χνουδωτή, κολλώδης. Χρώμα απαλό κρεμ έως κιτρινωπό κρεμ, ανοιχτό καφέ-πορτοκαλί, με ποιο σκούρα σημεία που ορισμένες φορές σχηματίζουν ομόκεντρες ζώνες. Ελάσματα ευρέως συμφυή και υποκατερχόμενα, με μια μικρή κατερχόμενη οδόντωση, μετρίως πυκνά, μερικές φορές διχαλωτά κοντά στο στύπο, χρώμα απαλό κρεμ, σε τραυματισμένα ελάσματα σκούρο, μολυβί κόκκινο. Στύπος κυλινδρικός ή ελαφρώς ροπαλόμορφος, μερικές φορές συμπιεσμένος, 7-7,5×2-2,5 cm. Επιφάνεια λεία, ξηρή, χρώμα απαλό κρεμ έως κρεμ, με πιο απαλή απόχρωση στην κορυφή, τραυματιζόμενη μετατρέπεται σε σκούρο, μολυβί, κόκκινο (μωβ, βιολετί). Σάρκα αρκετά εύθραυστη, κούφια στο στύπο, λευκωπή έως απαλό κρεμ, αργότερα απαλό λιλά έως λιλά. Οσμή ουδέτερη και γεύση ελαφρώς πικρή έως καυστική. Λακτικό υγρό λευκό, μετατρέπόμενο σε κοκκινωπό βιολετί, στα ελάσματα και τη σάρκα σκούρο κόκκινο, βιολετί. Αποτύπωμα σπορίων: κρεμ. (Εικόνα 19: xxxiv)

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπώρα 8,6 - 10,5 - 12,5 (13,0) x 6,8 - 7,9 - 9,0 μm, ευρέως ελλειψοειδή έως ελλειψοειδή, Q=1,25-1,34-1,625, διακόσμηση ύψους έως 1,3 (-1,5) μm, αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα συνδεόμενα μεταξύ τους με διασκορπισμένους κλειστούς βρόχους και με πολλά μεμονωμένα επάρματα, σχηματίζοντας ένα αρκετά ατελές δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση συχνά αμυλοειδής (Εικόνα 19: xxiv-xxx). Βασίδια ροπαλόμορφα 45-55 x 8,5-12 μm. Πλευρομακροκυστίδια 62-85 x 8-12 μm, ατρακτοειδή, με λεπτονόμηση κορυφή, φέρουσα περισφίξεις. Χείλος ελάσματος άγωνα, χειλομακροκυστίδια 42-56 x 5-7 μm, ατρακτοειδή. Επιδερμίδα πύλου με δομή ιζοτριχοδέρματος πάχους έως 140 μm, με υφές πλάτους 2-3,5 μm.

Ενδιαίτημα: Δάσος βελανιδιάς (*Quercus pubescens*, *Q. frainetto*).

Παρατηρήσεις:

Το δείγμα αυτό είχε αρχικά ταυτοποιηθεί ως *L. flavidus* (Παπαδήμα 2010). Το *L. flavidus* ταξινομείται στο υποτιμήμα *Aspideini* που μαζί με το υποτιμήμα *Uvidini* σχηματίζουν το τμήμα *Uvidi*. Διακριτικό γνώρισμα μεταξύ των δυο υποτιμημάτων είναι τα χρώματα των βασιδιοκαρπίων, τα οποία στα είδη του *Uvidini* (*L. luridus*, *L. violascens*, *L. uvidus*) φέρουν καφετί, βιολετί ή γκριζωπές αποχρώσεις, σε αντίθεση με τα βασιδιοκάρπια του *Aspideini* που φέρουν κρεμ ή έντονα κίτρινες αποχρώσεις (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999). Το δείγμα που μελετήθηκε ήταν αποξηραμένο, οπότε δεν ήταν δυνατό να διακριθούν τα αρχικά του χρώματα, αλλά

στην μακροσκοπική περιγραφή της συλλέκτριας αναφέρεται χρωματισμός πύλου που θα ταίριαζε και σε είδη το υποτιμήματος *Uvidini* (όπως τα *L. luridus* και *L. violascens*), ενώ το λακτικό υγρό αναφέρεται να μεταχρωματίζεται σε κοκκινωπό-βιολετί, γνώρισμα που ταιριάζει στο *L. flavidus*. Όμως, κατά τη μικροσκοπική μελέτη του δείγματος παρατηρήθηκε ένα χαρακτηριστικό που το απομακρύνει από την τυπική περιγραφή του *L. flavidus*. Το δείγμα που μελετήθηκε φέρει βασιδιοσπόρια με διακόσμηση που αποτελείται κυρίως από επιμήκη επάρματα που συνδέονται μεταξύ τους, σχηματίζοντας ένα αρκετά ατελές δίκτυο, σε αντίθεση με τις βιβλιογραφικές περιγραφές των βασιδιοσπορίων του *L. flavidus* που αποτελούνται κυρίως από μυτερά επάρματα μικρού μήκους, τα οποία δεν συνδέονται ιδιαίτερα μεταξύ τους και δεν σχηματίζουν δίκτυο (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999). Επιπλέον, το δείγμα που εξετάστηκε εμφανίζει επάρματα ύψους 1,3 (-1,5) μm, δηλ. σαφώς μεγαλύτερα από την τιμή του 1 μm που αναφέρεται από τους Heilmann-Clausen et al. (1998) και Verbeken & Vesterholt (2008) για το *L. flavidus*. Το άλλο είδος του τμήματος *Uvidi* που φέρει επάρματα ύψους έως 1,5 μm είναι το *L. violascens*. Τα είδη *L. luridus*, *L. violascens* και *L. flavidus* απαντώνται σε παρόμοια ενδιαιτήματα. Το γεγονός ότι ο διαχωρισμός των ειδών αυτών βασίζεται, πέρα από τη μελέτη των μικροσκοπικών χαρακτηριστικών και στην λεπτομερή καταγραφή πολλών μακροσκοπικών γνωρισμάτων στα νωπά δείγματα (ακριβή χρώματα πύλου, ακριβής μεταχρωματισμός λακτικού υγρού μόλις έρθει σε επαφή με τη σάρκα, αλλά και μετά από την απομόνωση του από τη σάρκα), καθιστά τη διάκριση τους και ειδικά την ταυτοποίηση δειγμάτων ερμπαρίου, αρκετά δύσκολη. Για αυτούς τους λόγους προτιμάται η ταξινομική κατάταξη του δείγματος που εξετάστηκε ως *Lactarius* cf. *flavidus*.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Φθιώτιδας, δρυοδάση περιοχής Λευκάδας- Γαρδικίου, σε δάσος *Quercus* spp., αρχές Νοεμβρίου, συλλογή και ταυτοποίηση Παπαδήμα Κ., ως *L. flavidus* LGAM 4382.

3.1.3. Τμήμα *Zonarii* Quéf.

3.1.3α. Υποτιμήμα *Scrobiculati* Hesler & A.H. Sm.

Τα είδη που ανήκουν στο υποτιμήμα *Scrobiculati* χαρακτηρίζονται από πύλο με κολλώδη επιφάνεια και τριχωτό έως χνουδωτό χείλος, αλλά και λευκό λακτικό υγρό

που μεταχρωματίζεται σε κίτρινο. Οι Heilmann-Clausen *et al.* (1998) περιγράφουν οκτώ ευρωπαϊκά είδη, ενώ η Basso (1999) προσθέτει ένα ακόμα, το *L. intermedius*.

- *Lactarius intermedius* (Krombh.) Berk. & Broome, *Ann. Mag. Nat. Hist.*, Ser. 5 7: 128 (1881)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πίλος διαμέτρου 50-180 mm, ελαφρώς κυρτός με πιεσμένη κεντρική περιοχή έως έντονα χοανοειδής, χείλος συχνά κυρτωμένο προς τα μέσα και ελαφρώς χνουδωτό, επιφάνεια κολλώδης, κυρίως χωρίς ζώνωση από ομόκεντρους κύκλους και ομοιόμορφα χρωματισμένη, κρεμ-κιτρινωπή, ωχροκίτρινη, με μελένιες αποχρώσεις. Ελάσματα προσφυή έως ελαφρώς κατερχόμενα, πυκνά, λευκωπά έως απαλό κρεμ. Στύπος διαστάσεων (20) 40-60 x 13-35 mm, κυλινδρικός, συχνά λεπυνόμενος προς τη βάση, επιφάνεια ξηρή έως κολλώδης, πιο ανοιχτόχρωμη σε σχέση με τον πίλο, με μεγάλα και εμφανώς πιο σκουρόχρωμα ανάγλυφα στίγματα (scrobicules), ακανόνιστου σχήματος, συνήθως ομοιόχρωμα με τον πίλο. Σάρκα λευκωπή, μεταχρωματιζόμενη γρήγορα σε έντονο ανοιχτόχρωμο κίτρινο (sulphur-yellow). Γεύση καυτερή και πικρή. Λακτικό υγρό λευκό, μεταχρωματιζόμενο γρήγορα σε έντονο ανοιχτόχρωμο κίτρινο (sulphur-yellow). (Εικόνα 20: xxxviii-xxxix)

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 6,8 – 7,5 – 8,8 – 10,1 (10,2) x (5,4) 5,5 – 6,1 – 7,0 – 7,7 (7,8) μm , Q = 1,07 – 1,20 – 1,30 – 1,47, διακόσμηση αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα συνδεδεμένα σε ατελές δίκτυο, συχνοί οι κλειστοί βρόχοι, πολυάριθμα τα μεμονωμένα επάρματα, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής (Εικόνα 20: xviii). Βασίδια 45-75 x 10-13 μm , στενά ροπαλόμορφα. Μακροκυστίδια κυρίως στο τμήμα του υμενίου ανάμεσα από τα ελάσματα, 60-135 x 7-11 μm , ατρακτοειδή, λογχοειδή, κορυφή με έντονες περισφίξεις. Χείλος ελάσματος σχεδόν άγονο με παρακυστίδια 14-40 x 8-10 μm , ροπαλόμορφα έως κυλινδρικά, χειλομακροκυστίδια απόντα. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από στρώμα περικλινών υφών βυθισμένων σε ζελατινώδη ουσία (ixocutis), πάχους 360 μm , πλάτος υφών 1.5-4 μm .

Ενδιαίτημα: Δάση με *Abies cephalonica* και *Abies borisii-regis*.

Παρατηρήσεις:

Το *L. intermedius* είναι το μοναδικό είδος του υποτιμήματος *Scrobiculati* που σχηματίζει εξειδικευμένη μυκορριζική σχέση με το είδος *Abies alba*, το αυτόχθονο είδος ελάτου της Κεντρικής Ευρώπης (Basso 1999, Eberhardt et al. 2000). Στην



Εικόνα 20: i-xxxvii. Βασιδιοσπόρια: i-iv. *L. scrobiculatus* (AQUI 00/11), v-ix. *L. scrobiculatus* (GENT AV 97/541), x-xviii. *L. intermedius* (ATHU-M 8040), xix-xxiii. *L. intermedius* (GENT JN 2001-124) xxiv-xxvii. *L. intermedius* (AQUI 95/29), xxviii-xxxiii. *L. leonis* (GENT WR 2126), xxxiv-xxxvii. *L. leonis* (AQUI 10/6), xxxviii-xxxix. Βασιδιοκάρπια: xxxviii. *L. intermedius* (φωτογραφία Δήμου Δ.), xxxix. *L. intermedius* (φωτογραφία Δεληβοριάς Π.). Μήκος μπάρας 10 μm.

Ελλάδα υπάρχουν λίγες αναφορές για την ύπαρξη του είδους *L. intermedius* (Athanasίου & Theochari 2001, Κωνσταντινίδης 2004, 2006 & 2009, Αθανασίου 2010). Αντιθέτως, υπάρχουν πολυάριθμες αναφορές κυρίως από ελατοδάση του συγγενικού του είδους, *L. scrobiculatus* (π.χ. Maire & Politis 1940, Pantidou 1973, Diamandis & Minter 1981). Όμως, το *L. scrobiculatus* δεν αναφέρεται στην Ευρώπη να σχετίζεται με έλατα (δηλ. με είδη του γένους *Abies*) αλλά αποκλειστικά με το είδος *Picea abies* (Basso 1999, Heilmann-Clausen et al. 1998, Verbeke & Vesterholt 2008). Ομοίως, το *L. leonis*, ένα ακόμη είδος του υποτιμήματος *Scrobiculati*, έχει καταγραφεί σε δάσος της κεντρικής Ελλάδας με *Abies cephalonica* (Dimou et al.

2008), ενώ στη Κ. και Β. Ευρώπη αναφέρεται επίσης πάντα σχετιζόμενο με το *P. abies* (Basso 1999, Heilmann-Clausen et al. 1998, Verbeken & Vesterholt 2008).

Το ερώτημα λοιπόν που προέκυψε κατά την εκπόνηση της παρούσας μελέτης ήταν το πόσα και ποια είναι πραγματικά τα είδη του υποτιμήματος *Scrobiculati* που έχουν καταγραφεί μέχρι στιγμής από την Ελλάδα, καθώς όλες σχεδόν οι αναφορές τους είναι από ελατοδάση. Δυστυχώς, το μόνο δείγμα *L. scrobiculatus* από δάσος με *P. abies* (Κωνσταντινίδης 2009) δεν ήταν διαθέσιμο για μελέτη. Έτσι διερευνήθηκε η ορθότητα των αρχικών προσδιορισμών των Ελληνικών δειγμάτων ερπαρίου, που είχαν ταυτοποιηθεί ως *L. scrobiculatus* και ως *L. leonis* (όλα είναι συλλεγμένα από ελατοδάση). Παράλληλα ζητήθηκε και μελετήθηκε συγκριτικό υλικό και των τριών ειδών από δυο ευρωπαϊκά ερμπάρια (GENT-Βέλγιο, AQUI-Ιταλία), ενώ νέο βιολογικό υλικό συλλέχθηκε από ελατοδάση του Ν. Ευρυτανίας το φθινόπωρο του 2010 (νέο υλικό από δάση με *Picea abies* δεν ήταν δυνατό να συλλεχθεί στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, καθώς η εξάπλωση τους περιορίζεται στην οροσειρά της Ροδόπης και μόνο).

Η μικροσκοπική μελέτη του συνόλου του Ελληνικού υλικού συγκριτικά με δυο δείγματα αναφοράς του είδους *L. intermedius* (τα οποία ήταν επίσης συλλεγμένα από ελατοδάση), έδειξε κοινά μικροσκοπικά γνωρίσματα μεταξύ όλων αυτών των δειγμάτων. Αντίθετα, καταγράφηκαν μικρές αλλά διακριτές διαφορές σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς των ειδών *L. scrobiculatus* και *L. leonis* (είχαν συλλεχθεί από δάση με *Picea abies*). Η βασικότερη μικροσκοπική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων των τριών ειδών που μελετήθηκαν εντοπίστηκε στην διακόσμηση των βασιδιοσπορίων. Το *L. scrobiculatus* φέρει βασιδιοσπόρια με μεμονωμένα επάρματα που δεν συνδέονται ώστε να σχηματίσουν δίκτυο (Εικόνα 20: i-ix), το *L. intermedius* φέρει βασιδιοσπόρια με επάρματα που συνδέονται, αλλά που σχηματίζουν ένα ατελές δίκτυο (Εικόνα 20: x-xxvii), ενώ το *L. leonis* φέρει βασιδιοσπόρια με επάρματα που συνδέονται και σχηματίζουν δίκτυο (Εικόνα 20: xxviii-xxxvii). Οι διαπιστώσεις αυτές συμφωνούν με όσα αναφέρονται στη σχετική βιβλιογραφία (Basso 1999, Heilmann-Clausen et al. 1998, Kränzlin, 2005). Παρακάτω παραθέτονται αναλυτικά οι διαστάσεις των βασιδιοσπορίων των δειγμάτων που μελετήθηκαν, από τις οποίες επίσης φαίνεται πως το *L. intermedius* παρουσιάζει μεγαλύτερες διαστάσεις βασιδιοσπορίων από τα άλλα είδη (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. Διαστάσεις Βασιδιοσπορίων των δειγμάτων *L. intermedius*, *L. scrobiculatus* και *L. leonis*, που μελετήθηκαν.

Είδος	Διαστάσεις βασιδιοσπορίων
<i>L. intermedius</i> (όλα τα Ελληνικά δείγματα)	6,8-7,5-8,8-10,1 (10,2) x (5,4) 5,5-6,1-7,0-7,7 (7,8) μm, Q = 1,07-1,20-1,30-1,47
<i>L. intermedius</i> (GENT)	8,0-9,5-11,1 (12,0) x 6,4-7,2-8,0 μm, Q = 1,13-1,32-1,50
<i>L. intermedius</i> (AQUI)	(7,1) 7,4-8,5-9,5 (9,7) x (6,0) 6,1-6,7-7,3 (7,5) μm, Q = 1,10-1,26-1,40
<i>L. scrobiculatus</i> (GENT)	7,5-8,0-8,4 (8,5) x 5,6-6,4-7,1 μm, Q = 1,14-1,26-1,37
<i>L. scrobiculatus</i> (AQUI)	7,0-7,9-8,9 (9,1) x 5,7-6,3-6,9 (7,0) μm, Q = 1,15-1,26-1,39
<i>L. leonis</i> (GENT)	(6,5) 6,6-7,7-8,8 (9,05) x 5,5-6,3-7,0 μm, Q = 1,00-1,23-1,42
<i>L. leonis</i> (AQUI)	(6,0) 6,05-7,1-8,1 (8,5) x 5,3-6,0-6,8 μm, Q = 1,08-1,17-1,33

Ανάλογες διαφορές είχαν επισημανθεί από τον Kränzlin (2005) στις συγκρίσεις μεταξύ *L. intermedius* και *L. leonis* (7,1 - 8,8 x 6,1 - 7,5 μm έναντι 6,4 - 8,6 x 5,5 - 7,0 μm), σε αντίθεση με τις παρόμοιες σχετικές μετρήσεις που παραθέτει η Basso (1999) για τα δυο αυτά είδη. Ένα ακόμη μικροσκοπικό χαρακτηριστικό που μπορεί να χρησιμοποιηθεί επιπροσθέτως για τη διάκριση του *L. scrobiculatus* από τα άλλα δυο είδη αναφέρεται να είναι το μήκος των μακροκυστιδίων (Basso 1999, Heilmann-Clausen et al. 1998, Kränzlin 2005), τα οποία βρίσκονται σε αυτά τα είδη κυρίως στη βάση των ελασμάτων ή στο υμένιο ανάμεσα στα ελάσματα. Για το *L. scrobiculatus* αναφέρονται μικρότερα μακροκυστίδια από αυτά των άλλων δύο ειδών, διαστάσεων 40-75(-90) x 5-9 μm (Heilmann-Clausen et al. 1998), 50-68,5 x 8,5-9,5 μm (Basso, 1999), 40-85 x 5-9 μm (Kränzlin, 2005). Για το *L. intermedius* αναφέρονται διαστάσεις μακροκυστιδίων 85-121 x 7-9,5 μm (Basso 1999), 55-100x7-8 μm (Kränzlin 2005), ενώ για το *L. leonis*, 65-100 x 6-12 μm (Heilmann-Clausen et al. 1998), 82-104x7-10μm (Basso 1999), 65-120 x 9-12μm (Kränzlin 2005). Από το υλικό που μελετήθηκε, τα ελληνικά δείγματα έφεραν μεγάλες διαστάσεις

μακροκυστιδίων (60-135 x 7-11 μm), όπως και τα δείγματα αναφοράς για το είδος *L. intermedius* (57-105 x 9-12μm) και *L. leonis* (60-125 x 7,5-11,5μm). Σε αντιδιαστολή, τα δείγματα αναφοράς του είδους *L. scrobiculatus* έφεραν μικρότερες διαστάσεις, δηλ. 50-60 x 9-10 μm (τα δεδομένα αυτά προήλθαν από σχετικά μικρό αριθμό μετρήσεων λόγω του περιορισμένου αριθμού των κυστιδίων που εντοπίστηκαν).

Μακροσκοπικά τα είδη *L. intermedius* και *L. leonis* μοιάζουν μεταξύ τους μιας και τα δυο φέρουν ελαφρά κίτρινες αποχρώσεις στον πύλο και συνήθως δεν φέρουν ζώνωση, σε αντίθεση με το είδος *L. scrobiculatus* που φέρει συνήθως πιο έντονα κίτρινα χρώματα και ζώνωση στον πύλο. Επίσης το *L. intermedius* έχει πύλο ελαφρώς χνουδωτό μόνο στο χείλος του πύλου, σε αντίθεση με τα άλλα δυο είδη που φέρουν πύλο τριχωτό στο χείλος ή και στην επιφάνεια (Basso 1999, Heilmann-Clausen et al. 1998). Το φρέσκο υλικό που συλλέχθηκε έφερε τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά που περιγράφονται για το είδος *L. intermedius*.

Επιπροσθέτως, η μελέτη των Eberhardt et al. (2000), που εστιάζει στον χαρακτηρισμό των εκτομυκορριζών ειδών του γένους *Lactarius* με το είδος *Abies alba*, επιβεβαιώνει και μέσω μοριακής ανάλυσης ότι το *L. intermedius* αναπτύσσεται συμβιωτικά με το *A. alba* και πως τα δύο συγκεκριμένα μυκητιακά τάξα είναι ξεχωριστά είδη. Προς το παρόν δεν υπάρχει κάποια μοριακή φυλογενετική μελέτη συνολικά για το υποτίμημα *Scrobiculati*.

Συμπερασματικά λοιπόν, τα Ελληνικά αποξηραμένα δείγματα *Lactarius* του υποτίμηματος *Scrobiculati* που είχαν αρχικά ταυτοποιηθεί ως *L. scrobiculatus* ή *L. leonis* κατατάσσονται πλέον στο είδος *L. intermedius*, μαζί με δείγμα από νέα συλλογή που έγινε στα πλαίσια της παρούσας εργασίας.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφρηστός, σε δάσος με *Abies* sp., 23/10/2010, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., LGAM 2010-0134.
2. Ν. Ευρυτανίας, Τυμφρηστός, Ράχη Τυμφρηστού, σε δάσος *Abies borisii-regis*, *Juniperus oxycedrus*, 8/11/2003, συλλογή ομάδα εργασίας, ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., (ως *L. scrobiculatus*), ATHU-M 8040 (ΖΓ 3307).
3. Ν. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφρηστός, Ράχες, σε δάσος *Abies borisii-regis*, *Juniperus oxycedrus*, 23/10/2004, συλλογή ομάδα εργασίας, ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., (ως *L. scrobiculatus*), ATHU-M 8041 (ΖΓ 3722).

4. Ν. Ευρυτανίας, Όρος Λιάκουρα, Γρανίτσα, σε δάσος *Abies borisii-regis*, 8/10/2004, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π. (ως *L. scrobiculatus*), ATHU-M 8043 (ΠΔ 2711).
5. Ν. Ευρυτανίας, Γρανίτσα, Πλατανιάς, σε δάσος *Abies borisii-regis* & *Quercus coccifera*, 20/12/2004, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π. (ως *L. scrobiculatus*), ATHU-M 8044 (ΠΔ 2842).
6. Ν. Αχαΐας, Όρος Αροάνια, Ζαρούχλα, υψόμετρο 1170 μ., σε δάσος *Abies cephalonica*, 23/10/1996, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π. (ως *L. scrobiculatus*), ATHU-M 3539 (ΠΔ 130).
7. Ν. Φθιώτιδας, Γαρδίκι, υψόμετρο 1000 μ., σε δάσος *Abies cephalonica*, 10/10/1998, συλλογή και ταυτοποίηση Δήμου Δ. (ως *L. leonis*), LGAM 077.
8. Ν. Φθιώτιδας, Γαρδίκι, υψόμετρο 1200 μ., σε δάσος *Abies cephalonica*, *Castanea sativa*, 10/10/1998, συλλογή και ταυτοποίηση Δήμου Δ. (ως *L. scrobiculatus*), LGAM 075.
9. Ν. Φθιώτιδας, Όρος Οξυά, υψόμετρο 1300 μ., σε δάσος *Abies cephalonica*, 8/9/1999, συλλογή και ταυτοποίηση Δήμου Δ. (ως *L. leonis*), LGAM 287.
10. Ν. Φθιώτιδας, Όρος Οξυά, υψόμετρο 1300 μ., σε δάσος *Abies cephalonica*, 27/8/2002, συλλογή και ταυτοποίηση Δήμου Δ. (ως *L. leonis*), LGAM 1138.

Υλικό Αναφοράς

- *L. intermedius*, France, close to Aix les Bains, *Abies alba* plantation on slope, Nuytinck J., JN 2001-124.
- *L. intermedius*, legit G. Lalli, in Pzovvidenza, AQ, 11/9/95, det G. Lalli, abete bianco (*Abies alba*), AQUI n. 95/29.
- *L. leonis*, legit G. Lalli, in Bellamonte, Casteliz, TN, 25/8/10, det G. Lalli, peccio (*Picea abies*), AQUI n. 10/6.
- *L. leonis*, Sweden, Borgsjö, slope of Sankt Olofs Kalla, herb Rich *Picea* etc. along a small river, 30/08/2001, Walley R., 2126.
- *L. scrobiculatus*, legit G. Lalli, in Madonna di Campiglio, Genzianella, 31/8/00, det G. Lalli, peccio (*Picea abies*), AQUI n. 00/11.
- *L. scrobiculatus*, Sweden, Fillstabacken, near Östersünd, nature reserve, *Picea* forest, calcareous component, 2/09/1997, Verbeken A., AV 97/541.

3.1.3β. Υποτμήμα *Croceini* (Burl.) Singer

- *Lactarius chrysorrheus* Fr. *Epicr. Syst. Mycol.* (Upsaliae): 342 (1838) [1836-1838]

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πίλος διαμέτρου 27-82 mm, ελαφρώς κυρτός στα ανώριμα έως επίπεδος στα ώριμα δείγματα, πιεσμένος κεντρικά, με αποχρώσεις από κρεμ-ροδόχρωμο έως ανοιχτό κανελί, με σκουρότερη ζώνωση, από ομόκεντρους κύκλους ή κηλίδες διατεταγμένες σε σχήμα κύκλου, κανελί αποχρώσεων, ζώνωση πιο έντονη και πιο σκουρόχρωμη προς το κέντρο, επιφάνεια θαμπή και ξηρή, χείλος ελαφρώς γυριστό προς τα μέσα. Ελάσματα προσφυή, ελαφρώς κατερχόμενα ή και με κατερχόμενες οδοντώσεις, πυκνά, σκούρο κρεμ στα νεαρά, στα πιο ώριμα έως ανοιχτό ροδακινί, ελαφρώς διχοτομούμενα, άνισου μήκους. Στύπος διαστάσεων 30-55x9-20 mm, κυλινδρικός, λευκός με απαλή κρεμ-ροδόχρωμη απόχρωση προς τη βάση. Λακτικό υγρό λευκό, μεταχρωματιζόμενο σε ανοιχτόχρωμο, αλλά έντονο κίτρινο μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα. Γεύση ιδιαίτερα πικρή και καυτερή. Οσμή ευχάριστη, ελαφρώς φρουτώδης. (Εικόνα 21).



Εικόνα 21. Βασιδιοκάρπια του *L. chrysorrheus* (φωτογραφία Δεληβοριάς Π.)

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια (6,0-) 6,3 – 7,0 – 7,6 – 8,9 (-9,0) x 5,0 – 5,6 – 6,1 – 6,9 (-7,0) μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, Q= 1 - 1,2 - 1,25 - 1,5 μm, διακόσμηση ύψους έως 0,7μm, αποτελούμενη από επάρματα μικρού και μεγαλύτερου μήκους, συνδεόμενα σε ατελές δίκτυο, με κάποια μεμονωμένα επάρματα, περιοχή κυρίως πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής, περιμετρικά αμυλοειδής σε κάποια βασιδιοσπόρια. Βασίδια 38-47 x 7-9 μm, ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια άφθονα, 51-87 (-100) x 8-12 μm, ατρακτοειδή έως ευρέως ατρακτοειδή, κορυφή ελαφρώς οξύληκτη ή με μια περίσφιξη. Χείλος ελάσματος ετερογενές, χειλομακροκυστίδια άφθονα, 28-58 x 6-9 μm, ατρακτοειδή, κορυφή με μια ή περισσότερες περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από στρώμα περικλινών υφών (cutis), πάχους 50-121 μm, με υποψία ζελατινώδους ουσίας σε κάποια σημεία, πλάτος υφών 2-5 μm.

Ενδιαίτημα: Δάση φυλλοβόλων δέντρων, κυρίως *Quercus* spp. και *Castanea sativa*.

Παρατηρήσεις:

Το είδος *L. chrysorrhoeus* είναι ένα από τα εύκολα αναγνωρίσιμα είδη στο πεδίο, εξαιτίας του συνδυασμού συγκεκριμένων μακροσκοπικών γνωρισμάτων όπως το λευκό λακτικό υγρό που μεταχρωματίζεται ταχύτατα σε έντονο κίτρινο και η λεία, ξηρή, κρεμ-ροδόχρωμη έως κανελί, με εμφανείς ομόκεντρες ζωνώσεις, επιφάνεια του πύλου. Το είδος *L. quietus* παρουσιάζει ομοιότητες με το *L. chrysorrhoeus* σε μακροσκοπικό επίπεδο, αλλά το λευκό λακτικό υγρό του πρώτου δεν παρουσιάζει την ταχύτατη αλλαγή σε έντονο κίτρινο όπως στο *L. chrysorrhoeus*. Επιπλέον, το *L. quietus* παρουσιάζει διαφορές και σε μικροσκοπικό επίπεδο, με σημαντικότερη εκείνη στη δομή της επιδερμίδας του πύλου, η οποία αποτελείται από διογκωμένες υφές με ένα ανώτερο στρώμα από λεπτότερες ανορθωμένες υφές (oedotrichoderm) (Heilmann-Clausen et al., 1998).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, σε *Quercus* spp., 20/10/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 6192 (MT 43).
2. Ν. Αρκαδίας, Καστανοχώρι Μεγαλόπολης, σε *Castanea sativa*, 26/10/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 6193 (MT 93).
3. Ν. Αρκαδίας, Καστανοχώρι Μεγαλόπολης, σε *Castanea sativa*, 28/11/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 6194 (MT 235).

4. Ν. Αρκαδίας, Καστανοχώρι Μεγαλόπολης, σε *Castanea sativa*, 4/12/2007, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 6195 (MT 367).
5. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, σε *Quercus* spp., 13/11/2009, συλλογή Τριανταφύλλου Μ. & Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 8229 (MT 515).
6. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, σε *Quercus* spp., 31/10/2010, συλλογή Τριανταφύλλου Μ. & Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., LGAM 2010-0125 (MT 535).
7. Ν. Φθιώτιδας, Όρος Γουλινάς, Άνω Φτέρη, σε *Quercus* sp., 27/10/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Δήμου Δ., LGAM 2431.

3.1.3γ. Υποτιμήμα *Zonarii* Quél.

- *Lactarius acerrimus* Britzelm., *Bot. Zbl.* 54(4): 98 (1893)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένο δείγμα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια (9,3-) 9,5 – 11,6 – 13,6 (-14,0) x (7,1-) 7,4 – 8,6 – 9,9 (-11,0) μm, Q= 1,18 - 1,34 - 1,75 μm, ευρέως ελλειψοειδή έως ελλειψοειδή, διακόσμηση ύψους έως 1 μm, αποτελούμενη από κοντά αλλά και επιμήκη επάρματα, συνδεόμενα σε ένα πυκνό αλλά ατελές δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής ή ελαφρώς αμυλοειδής σε όλη την επιφάνεια. Βασίδια 42-55x10-12 μm, ροπαλόμορφα, δίσπορα. Πλευρομακροκυστίδια άφθονα 30-52x5-6 μm, λεπτά ατρακτοειδή, κορυφή συνήθως με περισφίξεις. Χείλος ελάσματος άγονο, χειλομακροκυστίδια 20-25x5-6 μm, ατρακτοειδή, κορυφή με περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από περικλινείς υφές βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία (ixocutis).

Ενδιαίτημα: Μικτή βλάστηση που συμμετέχει ως κυρίαρχο το είδος *Quercus petraea*.

Παρατηρήσεις:

Το *L. acerrimus* είναι ένα είδος με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά μικροσκοπικά γνωρίσματα, δηλ. το μεγάλο μέγεθος των βασιδιοσπορίων του και τα αποκλειστικά δίσπορα βασίδια του. Οι διαστάσεις των βασιδιοσπορίων του είναι μάλιστα οι μεγαλύτερες για τα ευρωπαϊκά είδη του γένους. Τα βασιδιοκάρπια του *L. acerrimus* μοιάζουν μακροσκοπικά αρκετά με τα βασιδιοκάρπια των ειδών *L. evosmus*, *L. zonarius* και *L. zonarioides*, από τα οποία διαχωρίζεται όμως εύκολα μικροσκοπικά.

Ένα από τα δείγματα που ήταν αρχικά προσδιορισμένο ως *L. acerrimus*, φάνηκε από τη μικροσκοπική εξέταση να ανήκει στο είδος *L. zonarius*, λόγω των μικρότερων βασιδιοσπορίων και των τετράσπορων βασιδίων του. Το *L. acerrimus* έχει αναφερθεί στην Ελλάδα μόνο από τον Κωνσταντινίδη (2006). Σύμφωνα με τους Heilmann-Clausen et al. (1998) θεωρείται είδος ασυνήθιστο στη Β. Ευρώπη και εμφανίζεται στα Βιβλία Ερυθρών Δεδομένων αρκετών χωρών της ευρύτερης περιοχής.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Νομός Θεσσαλονίκης, Λουτρά Θέρμης, ΙΔΕ, κάτω από άτομο *Q. petraea*, FRI 1077.

- *Lactarius zonarius* (Bull.) Fr., *Epicr. syst. mycol.* (Upsaliae): 336 (1838) [1836-1838]

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πίλος διαμέτρου 90-130 mm, ελαφρώς κυρτός στα ανώριμα, επίπεδος με έντονα πιεσμένη κεντρική περιοχή έως ελαφρώς χοανοειδής στα ώριμα, υποκίτρινος (pale ochraceous), ωχροκίτρινος, μουσταρδί (fulvous) έως πορτοκαλοκίτρινος, με εμφανή ζώνωση από ομόκεντρους κύκλους, με σκουρότερες αποχρώσεις από την υπόλοιπη επιφάνεια, ζώνωση εντονότερη προς την περιφέρεια, επιφάνεια ελαφρώς γλοιώδης. Ελάσματα προσφυή, πυκνά, χρώματος κρεμ με απαλή ροδόχρωμη απόχρωση (salmon), άνισου μήκους. Στύπος διαστάσεων 50-80x20-30 mm, κυλινδρικός, ελαφρώς λεπυνόμενος προς τη βάση, υπόλευκος έως κρεμ, προς τη βάση με υποκίτρινα (pale ochraceous) έως ωχροκίτρινα στίγματα. Σάρκα υπόλευκη. Γεύση πολύ καυτερή. Λακτικό υγρό λευκό, αμετάβλητο.

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 5,7 - 6,8 - 7,8 - 8,6 x 4,8 - 5,7 - 6,3 - 7,0 μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, Q= 1,08 - 1,18 - 1,27 - 1,42, διακόσμηση ύψους έως 0,8 (-1) μm, αποτελούμενη από επάρματα επιμήκη ή κοντύτερα, κυρίως μεμονωμένα, αλλά και με κάποιες συνδέσεις, που δεν σχηματίζουν δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής. Βασίδια ροπαλόμορφα, 35-55 x 7-11 (-13) μm. Πλευρομακροκυστίδια πολυάριθμα, (25-) 32-55 (-60) x 5-7 (-9)(-11) μm, ατρακτοειδή, κορυφή με έντονες περισφίξεις, συχνά διχαλωτά. Χείλος ελάσματος ετερογενές, χειλομακροκυστίδια συχνά, 30-44 x 4-5,5 (-6), ατρακτοειδή, κορυφή με έντονες περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από στρώμα περικλινών υφών, βυθισμένων σε ζελατινώδη στρώση (ixocutis), πάχους έως 220 μm, υφές πλάτους 1-4 μm.

Ενδιαίτημα: Μικτή βλάστηση όπου επικρατούν φυλλοβόλα είδη *Quercus*.

Παρατηρήσεις:

Το είδος *L. zonarius* μοιάζει μακροσκοπικά με τα περισσότερα είδη του υποτιμήματος *Zonarii* (*L. acerrimus*, *L. zonarioides*, *L. evosmus* και *L. illyricus*), αλλά ιδιαίτερα με τα δύο πρώτα, καθώς και τα τρία σχηματίζουν βασιδιοκάρπια με έντονες, ωχρο-κίτρινες έως πορτοκαλί αποχρώσεις και ζώνωση στον πύλο. Το *L. acerrimus* ξεχωρίζει από τα υπόλοιπα είδη λόγω των πολύ μεγάλων βασιδιοσπορίων και των δίσπορων βασιδίων του. Το *L. zonarioides* διαφοροποιείται και αυτό από τα μεγάλα βασιδιοσπόρια (μικρότερα από αυτά του *L. acerrimus*) και από την παρουσία του σε δάση κωνοφόρων.

Στα είδη *L. evosmus* και *L. illyricus* (σε αντίθεση με το *L. zonarius*), κυριαρχούν οι υπόλευκες αποχρώσεις στον πύλο και η ζώνωση ή δεν υπάρχει, είτε είναι αχνή, είτε περιορίζεται στο χείλος του πύλου. Επιπλέον, το *L. illyricus* σχηματίζει επίσης μυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Fagus* και φέρει ελαφρώς μικρότερα βασιδιοσπόρια από το *L. zonarius*, που σχηματίζουν ατελές δίκτυο (Piltaver 1992, Basso 1999). Επίσης, στο *L. evosmus* λείπουν τα έντονα ωχρο-κίτρινα στιγμάτα που παρουσιάζει το *L. zonarius* στο στύπο, αλλά και μικροσκοπικά, λόγω του σχήματος και της διακόσμησης των βασιδιοσπορίων τους. Τα τελευταία στο *L. evosmus* παρουσιάζουν μεγαλύτερο μήκος, φέρουν μακρύτερα επάρματα διατεταγμένα σχεδόν παράλληλα μεταξύ τους (zebra-like pattern), με κάποιες συνδέσεις και περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μερικώς αμυλοειδή. Αντίθετα, το *L. zonarius* φέρει βασιδιοσπόρια ημισφαιρικά έως ελλειψοειδή, με κοντύτερα και πιο μεμονωμένα επάρματα και με περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδή (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999), χαρακτηριστικά τα οποία παρατηρήθηκαν και στα ελληνικά δείγματα. Τέλος, το *L. evosmus* αναφέρεται από τη βιβλιογραφία ότι φέρει σχεδόν σπάνια πλευρομακροκυστίδια, τα οποία δεν προεξέχουν από το υμένιο, ενώ αντίθετα το *L. zonarius* φέρει πολυάριθμα πλευρομακροκυστίδια, αρκετά από τα οποία φέρουν διχαλωτή κορυφή με περισφύξεις. Η διχαλωτή κορυφή που φέρει περισφίξεις και στους δυο κλάδους της, παρατηρήθηκε ότι είναι πολύ συχνή στα ελληνικά δείγματα *L. zonarius* που μελετήθηκαν και χαρακτηριστική για το είδος αυτό.

Ένα δείγμα προσδιορισμένο ως *L. ilicis* βρέθηκε ότι δεν ανήκει στο είδος αυτό, αφού παρουσίαζε διαφορετική δομή στην επιδερμίδα του πύλου (στρώμα από περικλινείς υφές αντί για αντικλινείς) και διαφορετικό πρότυπο διακόσμησης

βασιδιοσπορίων (βασιδιοσπόρια χωρίς το σχηματισμό δικτύου αντί για σχεδόν πλήρες δίκτυο) από τα αναφερόμενα στη βιβλιογραφία για το είδος αυτό (Basso 1999). Το συγκεκριμένο δείγμα παρουσίαζε μικροσκοπική εικόνα τυπική για το είδος *L. zonarius* και επαναπροσδιορίστηκε στο είδος αυτό. Έτσι η ύπαρξη του *L. ilicis* στην Ελλάδα δεν επιβεβαιώνεται από τα δείγματα που μελετήθηκαν.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, σε *Quercus* sp., 20/10/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 6196 (MT 25)
2. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, σε *Quercus* sp., 26/10/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 6197 (MT 92a)
3. Ν. Κυκλάδων, Άνδρος, στο έδαφος, κάτω από *Quercus ilex*, 19/11/2004, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η. (ως *L. ilicis*), EP.04-A715.
4. Ν. Λάρισα, Όρος Όσσα, σε δάσος *Quercus* sp., 03/11/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Γκόνου Ζ. και Φλούδας Δ., ATHU-M 6270.
5. Ν. Φθιώτιδας, Όρος Γουλινάς, Άνω Φτέρη, Μεσοχώρι, υψόμετρο 650 μ., σε *Quercus* sp., 27/10/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Δήμου Δ. (ως *L. acerrimus*), LGAM 2438.
6. Ν. Χαλκιδικής, Χολομώντας, σε *Quercus* sp., FRI 402.

- *Lactarius zonarioides* Kühner & Romagn., *Fl. Analyt. Champ. Supér.* (Paris): 474 (1953)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 7,4 - 8,8 - 9,75 - 11,0 x 5,9 - 6,8 - 7,7 - 8,7 (-9,0) μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, Q= 1,11 - 1,26 - 1,31 - 1,50, διακόσμηση ύψους έως 1μm, αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα, συνδεδεμένα σε πυκνό αλλά ατελές δίκτυο, με παρουσία μικρών απομονωμένων επαρμάτων, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής ή ελαφρώς αμυλοειδής. Βασίδια ροπαλόμορφα, 53-70x10-12 μm, τετράσπορα. Πλευρομακροκυστίδια 40-50x4-8 μm, λεπτά και ατρακτοειδή, κορυφή λεπτυνόμενη, με έντονες περισφύξεις. Χείλος ελάσματος άγωνα, παρακυστίδια 14-22x7-9 μm, κυλινδρικά έως ροπαλόμορφα, χειλομακροκυστίδια, 25-35x4-7 μm, λεπτά και ατρακτοειδή, κορυφή οξεία ή λεπτυνόμενη με έντονες περισφύξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από στρώμα περικλινών υφών,

βυθισμένων σε ζελατινώδη στρώση (ixocutis), πάχους έως 140 μm, υφές πλάτους 2-4 μm.

Ενδιαίτημα: Μικτά ή αμιγή ελατοδάση, στα οποία σχηματίζει εκτομυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Abies* (*A. cephalonica*, *A. borisii-regis*).

Παρατηρήσεις:

Το *L. zonarioides* διαφοροποιείται από τα είδη *L. zonarius*, *L. evosmus*, *L. controversus* και *L. illyricus* του υποτιμήματος *Zonarii* λόγω των μεγαλύτερων διαστάσεων των βασιδιοσπορίων του, οι οποίες όμως είναι μικρότερες από τις διαστάσεις των βασιδιοσπορίων του *L. acerrimus* από το οποίο διαφοροποιείται και στο ότι δεν φέρει δίσπορα βασίδια. Το *L. zonarioides* ξεχωρίζει επίσης από τα παραπάνω είδη, λόγω της ανάπτυξης εκτομυκορριζικής σχέσης μόνο με κωνοφόρα είδη δέντρων και συγκεκριμένα με είδη των γενών *Abies* και *Picea* (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999). Σε ένα μικτό δάσος κωνοφόρων-φυλλοβόλων είναι δύσκολο να διαχωριστούν, με βάση μακροσκοπικά χαρακτηριστικά και μόνο, δείγματα που ανήκουν στα είδη *L. zonarioides*, *L. zonarius* και *L. acerrimus*, αν και το τελευταίο αναφέρεται να φέρει αναστομούμενα ελάσματα (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999). Το δείγμα ATHU-M 6269 ήταν η πρώτη καταγραφή του είδους *L. zonarioides* στον ελλαδικό χώρο, από υλικό συλλεγμένο και ταυτοποιημένο στο είδος αυτό από τον Π. Δεληβοριά και δημοσιεύτηκε μαζί άλλες πρώτες ή δεύτερες καταγραφές ειδών του γένους *Lactarius* από την Ελλάδα (Triantafyllou et al., 2009). Έπειτα από επανεξέταση παλαιότερου υλικού του ATHU-M, κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, βρέθηκε και άλλο ένα δείγμα που ανήκει στο είδος αυτό (ATHU-M 1312, ταυτοποιημένο στο είδος *L. insulsus* (Fr.: Fr.). Όπως αναφέρεται από τους Heilmann-Clausen et al. (1998), το όνομα *L. insulsus* (Fr.: Fr.) πιθανότατα να αναφέρεται στο είδος *L. zonarioides*, αλλά είναι ένα όνομα που έχει χρησιμοποιηθεί και για άλλα είδη του υποτιμήματος *Zonarii* και θεωρείται από τους ίδιους συγγραφείς *nomen dubium*.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Νομός Αρκαδίας, Βυτίνα, σε δάσος *Abies cephalonica*, 6/11/1972, συλλογή Παντίδου Μ., ταυτοποίηση Watling R. (ως *L. insulsus* (Fr.) Fr.), ATHU-M 1312.
2. Νομός Ευρυτανίας, σε μικτό δάσος *Abies borisii-regis* & *Quercus* spp., 05/10/2002, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 6269.

- *Lactarius controversus* (Pers.) Pers., *Observ. Mycol.* (Lipsiae) 1: 39 (1796)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 4,9 – 6,0 – 7,2 – 8,5 x 4,0 - 4,5 – 5,0 - 5,4 (5,5) μm, ευρέως ελλειψοειδή έως ελλειψοειδή, Q = 1,09-1,25-1,43-1,60, διακόσμηση ύψους έως 0,7 μm, αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα, συνδεδεμένα σε ατελές δίκτυο, με συχνούς κλειστούς βρόχους και κάποια μεμονωμένα επάρματα, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδή. Βασίδια ροπαλόμορφα, 30-42x7-8 μm. Πλευρομακροκυστίδια αραιά, 35-45x4-5 μm, λεπτά και ατρακτοειδή, κορυφή με περισφίξεις. Χείλος ελάσματος άγονο, παρακυστίδια πολυάριθμα, 12-25x4-7 μm, ροπαλόμορφα έως κορινόμορφα, χειλομακροκυστίδια αραιά, 24-35x4-5 μm, ατρακτοειδή, κορυφή με περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από στρώμα περικλινών υφών, βυθισμένων σε ζελατινώδη στρώση (ixocutis).

Ενδιαίτημα: Δάση ή συστάδες που σχηματίζουν τα είδη *Castanea sativa*, *Populus* sp., *Salix* sp., αλλά και σε μικτά δάση *Castanea sativa* & *Abies* sp., *Abies borisii-regis* & *Quercus frainetto*.

Παρατηρήσεις:

Το *L. controversus* χαρακτηρίζεται μακροσκοπικά από τα υπόλευκα χρώματα και την παρουσία αχνής ζώνωσης στον πύλο και από τη ροδόχρωμη απόχρωση που φέρουν τα ελάσματα. Σε μικροσκοπικό επίπεδο χαρακτηρίζεται από βασιδιοσπόρια με μικρές διαστάσεις, που φέρουν επάρματα που σχηματίζουν ατελές δίκτυο (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αιτωλοακαρνανίας, Ναυπακτία, δάσος με *Castanea sativa* & *Abies* sp., συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP 0709/28.
2. Ν. Αιτωλοακαρνανίας, Ναυπακτία, δάσος με *Castanea sativa* & *Abies* sp., συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP 2208/52.
3. Ν. Καρδίτσας, σε δάσος με *Abies borisii-regis* & *Quercus frainetto*, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., 03/10/1999, ATHU-M 6273.
4. Ν. Καρδίτσας, σε δάσος με *Castanea sativa*, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., 03/10/1999, ATHU-M 6272.
5. Ν. Κιλκίς, Δοϊράνη, κοντά σε *Populus* sp., FRI 211.
6. Ν. Κυκλάδων, Άνδρος, κοντά σε *Salix* sp., συλλογή Πολέμης Η., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., EP.10-A985.

3.1.4. Τμήμα *Dapetes* Fr.

Τα είδη του τμήματος *Dapetes* είναι πολύ χαρακτηριστικά ανάμεσα στα υπόλοιπα είδη του γένους *Lactarius* καθώς παρουσιάζουν πορτοκαλί ή κόκκινο λακτικό υγρό. Το αρχικό χρώμα του λακτικού υγρού, ο πιθανός μεταχρωματισμός του, καθώς και ο ακριβής χρόνος που χρειάζεται για να συμβεί ο μεταχρωματισμός, αποτελούν πολύ σημαντικά ταξινομικά γνωρίσματα για τα είδη αυτά.

- *Lactarius deliciosus* (L.:Fr.) Gray, *Nat. Arr. Brit. Pl.* (London) 1: 624 (1821)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 6,4 - 7,8 - 9,1 - 10,2 x 5,1 - 6,3 - 7,1 - 7,7 μm, ευρέως ελλειψοειδή έως ελλειψοειδή, σπανιότερα υποσφαιρικά, Q= 1,09-1,23-1,32-1,49, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 0,6 μm, αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα, συνδεδεμένα μεταξύ τους, σχηματίζοντας αρκετούς κλειστούς βρόχους και σχεδόν πλήρες δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση περιμετρικά ελαφρώς αμυλοειδής. Βασίδια 45-53 x 9-10 μm, ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια λιγοστά, 45-50 x 6-7 μm, ατρακτοειδή, κορυφή με μια ή περισσότερες περισφίξεις. Χείλος ελάσματος άγονο ή ετερογενές, χειλομακροκυστίδια πολυάριθμα, 36-40 x 4-7 μm, λεπτά ατρακτοειδή, κορυφή με περισφίξεις, σπανιότερα διχαλωτή. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από περικλινείς υφές, βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία.

Ενδιαίτημα: Βλάστηση με *Pinus* sp.

Παρατηρήσεις:

Το *L. deliciosus* είναι ένα είδος που χαρακτηρίζεται από πύλο πορτοκαλόχρωμο με υπόλευκες αποχρώσεις, με ξηρή επιφάνεια και με παρουσία ομόκεντρων ζωνώσεων. Εκκρίνει, όπως και το *L. salmonicolor*, λακτικό υγρό με πορτοκαλί (καροτί) χρώμα, που δεν μεταχρωματίζεται (ή μεταχρωματίζεται μετά από μισή με μια ώρα). Αντίθετα, όμως, από το *L. salmonicolor* που σχηματίζει εξειδικευμένη εκτομυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Abies*, το *L. deliciosus* σχηματίζει εξίσου εξειδικευμένη εκτομυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Pinus* (όπως και τα είδη *L. sanguifluus*, *L. vinosus* και *L. semisanguifluus*, τα οποία όμως φέρουν λακτικό υγρό το οποίο είναι από την αρχή, ή μεταχρωματίζεται άμεσα, σε μπορντοκόκκινο).

Επομένως, καταγραφές του *L. deliciosus* από περιοχές με αμιγή ελατοδάση είναι μάλλον εσφαλμένες. Σε μικροσκοπικό επίπεδο διακριτικά γνωρίσματα για το είδος αυτό, τα οποία παρατηρήθηκαν και στα ελληνικά δείγματα *L. deliciosus*, αποτελούν ο σχηματισμός σχεδόν πλήρους δικτύου στα βασιδιοσπόρια και η παρουσία ελάχιστων και διασκορπισμένων πλευρομακροκυστιδίων (Nuytinck & Verbeken 2005).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αττικής, Όρος Πάρνηθα, δάσος *Pinus halepensis*, 4/11/10, συλλογή Δεληβοριάς Π. και Τριανταφύλλου Μ., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M 8231 (ΠΔ 3676).
2. Ν. Αχαΐας, Ζαρούχλα, μικτό δάσος *Pinus nigra*, *Abies cephalonica*, 7/11/96, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 3986 (ΠΔ 213).
3. Ν. Κυκλάδων, Άνδρος, κάτω από *Pinus halepensis*, 14/1/99, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP 99-N071.

- *Lactarius salmonicolor* R. Heim & Leclair, *Revue Mycol.*, Paris 18: 221 (1953)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πίλος διαμέτρου έως 130 mm, ελαφρώς κυρτός στα νεαρά δείγματα, έπειτα επίπεδος με πιεσμένη κεντρική περιοχή έως χοανοειδής, χείλος συχνά γυριστό προς τα μέσα, επιφάνεια ελαφρώς γλοιώδης, πορτοκαλί-βερυκοκί, με απαλή ομόκεντρη ζώνωση, ιδιαίτερα προς το χείλος. Ελάσματα προσφυή έως ελαφρώς κατερχόμενα, πυκνά, πορτοκαλί-βερυκοκί. Στύπος 40-70 x 10-20 mm, κυλινδρικός, επιφάνεια ελαφρώς γλοιώδης, ομοιόχρωμη του πύλου με σκουρότερα βοθρία (scrobicules). Λακτικό υγρό πορτοκαλί (καροτί), μη μεταχρωματιζόμενο.

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια (7,5-) 7,6 - 8,5 - 10,0 - 12,7 x 6,0 - 6,7 - 7,3 - 8,6 μm, ευρέως ελλειψοειδή έως ελλειψοειδή, σπανιότερα υποσφαιρικά και επιμήκη, Q= 1,14 - 1,27 - 1,37 - 1,64, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 0,6 μm, αποτελούμενη από επιμήκη αλλά και πιο κοντά επάρματα, άλλα μεμονωμένα και άλλα συνδεδεμένα μεταξύ τους, σχηματίζοντας ατελές δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση ελαφρώς αμυλοειδής. Βασίδια 38-60 x 8-12 μm, ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια 54-68 x 6-10 μm, ατρακτοειδή έως λεπτά ατρακτοειδή, κορυφή λεπτυνόμενη, με περισφίξεις. Χείλος ελάσματος άγονο, χειλομακροκυστίδια 25-45 x 4-9 μm, ατρακτοειδή, κορυφή λεπτυνόμενη, με περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από περικλινείς υφές, βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία.

Ενδιαίτημα: Δάση με *Abies cephalonica* και *A. borisii-regis*.

Παρατηρήσεις:

Το *L. salmonicolor* χαρακτηρίζεται από το πορτοκαλί (καροτί) λακτικό υγρό, που δεν μεταχρωματίζεται, την ελαφρώς γλοιώδη υφή της επιφάνειας του πύλου και την παρουσία απαλών ομόκεντρων ζωνώσεων, ιδιαίτερα προς το χείλος του πύλου. Ο σχηματισμός εξειδικευμένης εκτομυκορριζικής σχέσης με είδη του γένους *Abies*, το καθιστά μοναδικό μέσα στο τμήμα *Dapetes*. Παρόλα αυτά σε μικτά δάση που συνυπάρχουν είδη των γενών *Abies* και *Pinus* είναι εύκολο να μπερδευτεί με το *L. deliciosus*, είδος που φέρει και αυτό ομοιόχρωμο λακτικό υγρό, που δεν μεταχρωματίζεται, αλλά παρουσιάζει εξειδικευμένη εκτομυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Pinus*. Το *L. deliciosus* φέρει ξηρή υφή, συχνά υπόλευκες αποχρώσεις και πιο ευδιάκριτη ζώνωση στην επιφάνεια του πύλου. Μικροσκοπικά το *L. salmonicolor* διακρίνεται από τα υπόλοιπα είδη του τμήματος *Dapetes* που βρίσκουμε στην Ελλάδα, από τα μεγαλύτερα βασιδιοσπόρια του. Επιπλέον σε μικροσκοπικό επίπεδο διακρίνεται από το *L. deliciosus* από το πιο ατελές δίκτυο στην επιφάνεια των βασιδιοσπορίων και από την παρουσία πολυάριθμων μακροκυστιδίων (Nuytinck & Verbeken 2005).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αχαΐας, Αροάνια Όρη, σε δάσος *Abies cephalonica*, 7/11/96, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 3543 (ΠΔ-211).
2. Ν. Ευβοίας, όρος Δίρφυς, σε μεικτό δάσος *Abies cephalonica* (κυρίαρχο είδος) και *Castanea sativa* (σποραδική εμφάνιση), 2/12/00, συλλογή Γκόνου Ζ.-ομάδα εργασίας, ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHU-M 4481 (2300).
3. Ν. Ευβοίας, όρος Δίρφυς, σε μεικτό δάσος *Abies cephalonica* (κυρίαρχο είδος) και *Castanea sativa* (σποραδική εμφάνιση), 9/11/2002, συλλογή Γκόνου Ζ.-ομάδα εργασίας, ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHU-M 4485 (3023).
4. Ν. Ευρυτανίας, όρος Τυμφρηστός, σε μικτό δάσος *Abies borisii-regis* & *Quercus* spp., 23/10/2010, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., LGAM 2010-0135.
5. Ν. Καρδίτσας, , Μπελοκομύτης, σε δάσος *Abies borisii-regis*, 31/10/98, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 8063 (ΠΔ 523).
6. Ν. Ναυπακτίας, Άνω Χώρα, σε δάσος *Abies* sp., 2002, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., ΕΡ 0809/58.

7. N. Ναυπακτίας, κοντά σε *Abies* sp., 2002, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP 1908/21.

- *Lactarius sanguifluus* (Paulet) Fr., *Epicr. Syst. Mycol.* (Upsaliae): 341 (1838) [1836-1838]

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών (Γκόνου-Ζάγκου 2003):

Πίλος κυρτός, με κεντρική βάθυνση, διαμ. έως 8 εκ., κιτρινοπορτοκαλλόχρωμος, χωρίς ζωνώσεις, επιφάνεια συχνά εσωτερικά ινώδης, χείλος γυριστό προς τα μέσα. Στύπος κυλινδρικός, μήκους έως 4 εκ., ομοιόχρωμος με τον πίλο, χωρίς ή με σκουρότερες κηλίδες. Ελάσματα ελαφρά κατερχόμενα, κοκκινοπορτοκαλλόχρωμα. Λακτικό υγρό καστανέρυθρο (*chestnut*). Τμήματα του πύλου και του στύπου, αλλά κυρίως τα ελάσματα συχνά με πρασινωπές αποχρώσεις.

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 7,0 - 8,2 - 8,6 - 9,9 x (5,7-) 5,9 - 6,7 - 6,7 - 7,6 μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, συχνότερα ευρέως ελλειψοειδή, Q = 1,10 - 1,22 - 1,28 - 1,39, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 0,7 μm, αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα άλλα μεμονωμένα και άλλα συνδεδεμένα σε ατελές δίκτυο, με συχνή την παρουσία κλειστών βρόχων, αλλά και μεμονωμένων, κοντότερων σε μήκος επαρμάτων, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση συχνά περιμετρικά ή ολικά αμυλοειδής. Βασίδια ροπαλόμορφα, 36-53 x 7-9 μm. Πλευρομακροκυστίδια 38-52 x 4-7 μm, λεπτά ατρακτοειδή, κορυφή λεπτυνόμενη και με αρκετές περισφίξεις. Χείλος ελάσματος άγονο, χειλομακροκυστίδια 25-42 x 4-7 μm, ατρακτοειδή, κορυφή με περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από περικλινείς υφές, βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία.

Ενδιαίτημα: Δάση με *Pinus* sp.

Παρατηρήσεις:

Το είδος *L. sanguifluus* αναγνωρίζεται εύκολα στο πεδίο από το λακτικό του υγρό, που έχει από την αρχή χρώμα μπορντό- κόκκινο. Ο ίδιος χρωματισμός του λακτικού υγρού συναντάται και στο είδος *L. vinosus*. Το *L. sanguifluus* διακρίνεται από το *L. vinosus*, κυρίως από μακροσκοπικά χαρακτηριστικά, όπως ο ωχρο-πορτοκαλί πίλος με απαλή ή και καθόλου ζώνωση, σε αντίθεση με το πίλο του *L. vinosus*, ο οποίος δεν φέρει πορτοκαλί, αλλά έντονες μπορντό-κόκκινες αποχρώσεις και έντονη ζώνωση. Όπως διαπιστώνεται από τις σημειώσεις και τις φωτογραφίες των συλλεκτών των δειγμάτων, στο Ελληνικό υλικό υπάρχουν δείγματα που φέρουν τα τυπικά

μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του *L. sanguifluus*. Το *L. sanguifluus* είναι ένα είδος με εξάπλωση, κυρίως, στις χώρες της Ν. Ευρώπης και σχηματίζει εκτομυκορριζικές σχέσεις μόνο με είδη του γένους *Pinus* (Nuytinck & Verbeken 2003, 2005) (βλ. επίσης συζήτηση για το *L. vinosus*).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αττικής, Μαλακάσα, Αγ. Βλάσσης, σε δάσος *Pinus halepensis*, *Arbutus* sp. & *Cistus* sp., 31/10/02, συλλογή Φωκιαλάκης Ν., ταυτοποίηση Γκόνου Ζ, ATHU-M 4478 (ΖΓ 2913).
2. Ν. Κορινθίας, Ευλόκαστρο, σε συστάδα *Pinus* sp., 8/12/85, συλλογή Παντίδου Μ., ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHU-M 3169 (ΖΓ 546).
3. Ν. Φθιώτιδας, Δομοκός, σε δάσος *Pinus* sp., 6/11/10, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 8232 (ΠΔ 3704).

- *Lactarius semisanguifluus* R. Heim & Leclair, *Revue Mycol.*, Paris 15: 79 (1950)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών (Γκόνου-Ζάγκου 2003):

Πίλος κυρτός, με κεντρική βάθυνση, διαμ. έως 8 εκ., κρεμ-πορτοκαλόχρωμος ή κιτρινοπορτοκαλόχρωμος, συχνά με ομοκεντρικές ζωνώσεις, επιφάνεια συνήθως εσωτερικά ινώδης, χείλος γυριστό προς τα μέσα. Στύπος κυλινδρικός, μήκους έως 3 εκ., ομοιόχρωμος με τον πίλο, χωρίς ή με σκουρότερες κηλίδες. Ελάσματα ελαφρά κατερχόμενα, ροδοπορτοκαλόχρωμα. Λακτικό υγρό σκούρο πορτοκαλί, μετά από λίγη ώρα μεταχρωματιζόμενο σε καστανέρυθρο ή πορτοκαλέρυθρο (*dark brick*). Ολόκληρος ο πίλος και ο στύπος ή τμήματά του, καθώς και η σάρκα του πίλου συνήθως με πρασινωπές αποχρώσεις.

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια (6,9-) 7,0 - 7,4 - 8,0 - 8,9 x 5,4 - 6,4 - 6,6 - 7,3 μm, Q = 1,05 - 1,17 - 1,21 - 1,32, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 0,7 μm, αποτελούμενη από επιμήκη αλλά και κοντύτερα επάρματα, συχνά μεμονωμένα, κάποια συνδεδεμένα μεταξύ τους σχηματίζοντας ένα αρκετά ατελές δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση περιμετρικά αμυλοειδής. Βασίδια 45-53 x 9-11 μm, ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια πολυάριθμα 38-57 x 4- 6 (-7) μm, λεπτά ατρακτοειδή έως λογχοειδή, κορυφή οξύληκτη ή και με περισφίξεις. Χείλος ελάσματος άγωνα, χειλομακροκυστίδια 20-35 x 4-5 μm με κορυφή. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από περικλινείς υφές, βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία.

Ενδιαίτημα: Βλάστηση με *Pinus* sp.

Παρατηρήσεις:

Το *L. semisanguifluus* χαρακτηρίζεται από το πορτοκαλί λακτικό υγρό που μεταχρωματίζεται εντός 5 λεπτών σε μπορντό-κόκκινο. Σαν χαρακτηριστικό για το είδος αυτό αναφέρεται και ο κατά τόπους μεταχρωματισμός ακόμη και νεαρών βασιδιοκαρπίων που αποκτούν πρασινωπές αποχρώσεις. Είναι ένα είδος που σχηματίζει εξειδικευμένη μυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Pinus* και έτσι μπορεί να βρεθεί στα ίδια ενδιαιτήματα με τα είδη *L. sanguifluus*, *L. vinosus* και *L. deliciosus*. Τα είδη *L. sanguifluus* και *L. vinosus* ξεχωρίζουν από το χρώμα του λακτικού υγρού, το οποίο είναι από τη στιγμή που εκκρίνεται μπορντό-κόκκινο. Το *L. deliciosus* φέρει αρχικά πορτοκαλί λακτικό υγρό που μεταχρωματίζεται πολύ αργά, σε μισή με μια ώρα, σε κοκκινωπό. Σε μικροσκοπικό επίπεδο το *L. semisanguifluus* διακρίνεται από τα παραπάνω είδη από τη διακόσμηση των βασιδιοσπορίων του, η οποία αποτελείται από κοντά και επιμήκη επάρματα, πολλά από τα οποία βρίσκονται μεμονωμένα, ενώ άλλα συνδέονται μεταξύ τους, σχηματίζοντας, όμως, ένα πολύ ατελές δίκτυο (Nuytinck & Verbeken 2005). Η διαφοροποίηση στη διακόσμηση των βασιδιοσπορίων μεταξύ των παραπάνω ειδών παρατηρήθηκε και στο Ελληνικό υλικό που μελετήθηκε.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αττικής, Τατόι, δάσος *Pinus halepensis*, 28/11/10, συλλογή Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M 8233 (ΠΔ 3748).
2. Ν. Ευβοίας, Ερέτρια, σε βλάστηση με *Pinus* sp., *Cistus* sp. και *Arbutus* sp. (παλιό καμμένο), 26/10/02, συλλογή Γ. Ζίνισσας, ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHU-M 4479 (2871).

- *Lactarius vinosus* (Quél.) Bataille, *Fl. Monogr. Astérosporales*: 28 (1908)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών (Γκόνου-Ζάγκου 2003):

Πίλος κυρτός με μικρή κεντρική βάθυνση, διαμ. 4 εκ., κιτρινοκαστανόχρωμος (*buff buffish-hazel*), με ομόκεντρες ζωνώσεις σκουρότερες, χείλος γυριστό προς τα μέσα. Στύπος κυλινδρικός, λεπτυνόμενος στη βάση, 2 x 1 εκ., πρασινωπός με κηλίδες καστανοκόκκινες. Ελάσματα προσφυή ή ελαφρά κατερχόμενα, πρασινωπά ή σκούρα καστανοκόκκινα με ιώδεις αποχρώσεις (*brown vinaceous* ή *purplish chestnut*). Σάρκα πύλου κρεμ. Γαλακτικό υγρό έντονο καστανοκόκκινο (*bay* έως *brown vinaceous*).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 7,0 - 8,0 - 8,1 - 9,0 (-9,4) x (5,5-) 5,8 - 6,2 - 6,4 - 7,0 μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, συχνότερα ευρέως ελλειψοειδή, Q = 1,10 - 1,27 - 1,29 - 1,41, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 0,7 μm, αποτελούμενη από επιμήκη αλλά και κοντύτερα επάρματα, μεμονωμένα, αλλά και συνδεόμενα σε ατελές δίκτυο, με συχνή την παρουσία κλειστών βρόχων, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση συχνά περιμετρικά αμυλοειδής. Βασίδια ροπαλόμορφα, 46-57 x 9-11 μm. Πλευρομακροκυστίδια (30-) 40-62 x 4-7 μm, λεπτά ατρακτοειδή, κορυφή λεπτυνόμενη με περισφίξεις ή και διχαλωτή. Χείλος ελάσματος άγονο, χειλομακροκυστίδια 36-40 x 5-7 μm, ατρακτοειδή, κορυφή με περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από περικλινείς υφές, βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία.

Ενδιαίτημα: Δάση *Pinus* sp.

Παρατηρήσεις:

Το *L. vinosus* χαρακτηρίζεται από τις έντονες μπορντό- κόκκινες αποχρώσεις και την παρουσία ευδιάκριτης ζώνωσης στον πύλο και από το λακτικό υγρό, που είναι από την αρχή μπορντό-κόκκινο. Ίδιο χρώμα λακτικού υγρού φέρει και το είδος *L. sanguifluus* το οποίο όμως φέρει ωχροπορτοκαλί αποχρώσεις στον πύλο και παρουσιάζει πιο απαλή ή και καθόλου ζώνωση. Επίσης το χρώμα των ελασμάτων αναφέρεται να φέρει πιο ανοιχτόχρωμες αποχρώσεις (απαλό μπορντό-ροδόχρωμο) στο *L. sanguifluus* σε σχέση με το χρώμα των ελασμάτων του *L. vinosus* το οποίο θεωρείται πιο σκούρο μπορντό-κόκκινο και μεταχρωματίζεται έντονα σε πράσινο στα κομμένα σημεία. Στο Ελληνικό υλικό υπάρχουν δείγματα που φέρουν τα τυπικά μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του *L. vinosus*, όπως διαπιστώνεται από τις σημειώσεις των συλλεκτών και τις φωτογραφίες φρέσκων βασιδιοκαρπίων, όπως υπάρχουν και δείγματα που φέρουν τα τυπικά μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του *L. sanguifluus*. Τα *L. sanguifluus* και *L. vinosus* αποτελούν δυο διακριτά είδη όπως επιβεβαιώθηκε από την μορφολογική και μοριακή ανάλυση των Nuytinck & Verbeken (2003, 2005, 2007). Οι ίδιοι ερευνητές παρατήρησαν ότι στα βασιδιοσπόρια του *L. sanguifluus* τα επιμήκη επάρματα έχουν το ίδιο πάχος σε όλο τους το μήκος και το δίκτυο που σχηματίζεται είναι πιο ολοκληρωμένο και πιο πυκνό από αυτό των βασιδιοσπορίων του *L. vinosus* (στα οποία τα επιμήκη επάρματα είναι κατά τόπους πιο λεπτά). Η διαφορά αυτή δεν διαπιστώθηκε μεταξύ των ελληνικών δειγμάτων των δυο ειδών. Το *L. vinosus* είναι ένα είδος που παρουσιάζει καθαρά

μεσογειακή εξάπλωση και σχηματίζει εκτομυκορριζικές σχέσεις μόνο με είδη του γένους *Pinus* (Nuytinck & Verbeken 2003, 2005).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αττικής, Όρος Πάρνηθα (Μαλακάσα), σε μεικτό δάσος *Abies cephalonica* και *Pinus halepensis*, 2/11/02, συλλογή Φωκιαλάκης Ν., ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHU-M 4475 (2952).
2. Ν. Φθιώτιδας, Όρος Όιτη, *Abies cephalonica*, φυτεμένα *Pinus nigra* & *Juniperus oxycedrus*, 7/11/09, συλλογή ομάδα εργασίας, ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M 8236 (2009-A63).

3.1.5. Τμήμα *Piperites* (Fr.)

Το τμήμα *Piperites* χαρακτηρίζεται από το τριχωτό χείλος του πύλου και το λευκό λακτικό υγρό που δεν μεταχρωματίζεται. Τα περισσότερα από τα ευρωπαϊκά είδη του τμήματος *Piperites* σχηματίζουν εξειδικευμένη μυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Betula*, εκτός από τα *L. mairei* και *L. tesquorum* που σχηματίζουν εξειδικευμένες μυκορριζικές σχέσεις με είδη των γενών *Quercus* και *Cistus* αντίστοιχα (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999). Προσφάτως, οι Nuytinck et al. (2004) ταυτοποίησαν με μοριακές μεθόδους τις εκτομυκόρριζες που σχηματίζει το *L. tesquorum* με είδη του γένους *Cistus* και τις περιέγραψαν πλήρως μορφολογικά και ανατομικά, παρουσιάζοντας παράλληλα και μια φυλογενετική μοριακή μελέτη των ευρωπαϊκών ειδών του τμήματος *Piperites*.

- *Lactarius mairei* Malençon, *Bull. Trimest. Soc. Mycol. Fr.* 55: 34 (1939)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια διαστάσεων 6,5-7,3-8,2 (-8,5) x 5,3-5,9-6,5 μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, Q = 1,00-1,25-1,50, διακόσμηση ύψους έως 1 (-1,2) μm, αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα μεμονωμένα ή και με συνδέσεις μεταξύ τους, με πολυάριθμα μεμονωμένα κοντύτερα επάρματα, διατεταγμένα σε ένα αρκετά ατελές δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής (Εικόνα 22: viii-xiv). Βασίδια 46-55 x 9-12 μm, ευρέως ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια πολυάριθμα, 45-92 x 5-13 μm, ατρακτοειδή, κορυφή μυτερή ή με λιγοστές περισφύξεις. Χείλος ελάσματος ετερογενές, χειλομακροκυστίδια 46-53 x 8-9 μm, ατρακτοειδή, κορυφή με

λιγιστές περισφύξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από στρώμα περικλινών υφών, πάχους 60-80 μm, βυθισμένων σε ζελατινώδη στρώση (ixocutis). Τρίχες πύλου αποτελούμενες από δεσμίδες παράλληλων μεταξύ τους υφών.

Ενδιαίτημα: Δάσος με *Quercus frainetto*

Παρατηρήσεις:

Το δείγμα FRI 536 ανήκει στο τμήμα *Piperites*, λόγω της παρουσίας εμφανών τριχιδίων στην επιφάνεια του πύλου και πολυάριθμων πλευρομακροκυστιδίων (τριχίδια στην επιφάνεια του πύλου παρουσιάζουν και είδη του υποτιμήματος *Scrobiculati*, αλλά στα περισσότερα από αυτά τα είδη απουσιάζουν τα πλευρομακροκυστίδια). Το δείγμα FRI 536, αρχικά ταυτοποιημένο στο είδος *L. pubescens*, παρουσιάζει κάποιες αποκλίσεις από τις τυπικές περιγραφές του είδους αυτού. Καταρχήν, το *L. pubescens* είναι ένα είδος που αναπτύσσει εξειδικευμένη εκτομυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Betula*. Το δείγμα που μελετήθηκε έχει βρεθεί κοντά σε άτομα *Q. frainetto*, στοιχείο που παραπέμπει στο συγγενικό *L. mairei*. Το δείγμα FRI 536 φέρει μεγαλύτερο πλάτος βασιδιοσπορίων από τα αναφερόμενα στην βιβλιογραφία για το είδος *L. pubescens*, αλλά παραπλήσιο στα αναφερόμενα για το είδος *L. mairei* [FRI 536: 6,5-7,3-8,2 (8,5) x 5,3-5,9-6,5 μm, *L. pubescens*: 5,8-8,3x4,2-5,9 μm, μέσος όρος: 6,6-7,4x4,9-5,2 μm, κατά τους Heilmann-Clausen et al, (1998) και 6-7,8x4,3-5,7 μm, κατά την Basso (1999), *L. mairei*: 5,9-8,9x4,8-6,8μm, μέσος όρος: 6,7-7,9x5,6-6,2 μm, κατά τους Heilmann-Clausen et al, (1998) και (5,5-)-6-7,5(-8)x5,5-6(-7)μm, κατά την Basso (1999)]. Αυτό το χαρακτηριστικό συνδέεται και με το σχήμα των βασιδιοσπορίων, όπου στο *L. mairei* όπως και στο δείγμα FRI 536 υπάρχει μεγαλύτερο εύρος ποικιλομορφίας στο σχήμα, με τα βασιδιοσπόρια να είναι υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, σε αντίθεση με τα κυρίως ελλειψοειδή βασιδιοσπόρια του είδους *L. pubescens*. Το ύψος της διακόσμησης των βασιδιοσπορίων του δείγματος FRI 536 φτάνει έως 1 (-1,2) μm, χαρακτηριστικό που συμβαδίζει και αυτό με τις τυπικές περιγραφές του είδους *L. mairei*, σε αντίθεση με την χαμηλότερη διακόσμηση που εμφανίζεται να φέρει το *L. pubescens* (Heilmann-Clausen et al., 1998). Αυτή είναι η τρίτη αναφορά του είδους *L. mairei* από την Ελλάδα. Οι δυο προηγούμενες αναφορές είναι από τον Κωνσταντινίδη (2006).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Νομός Χαλκιδικής, Παλαιόκαστρο, κοντά σε *Quercus frainetto*, ως *L. pubescens*, FRI 536.



Εικόνα 22: i-xxi. Βασιδιοσπόρια: i-vii. *L. pubescens*, viii-xiv. *L. mairei*, xv-xxi. *L. tesquorum*. xxii. Βασιδιοκάρπια *L. tesquorum* (φωτογραφία Δεληβοριάς Π.). xxiii-xxv. Κυστίδια στην επιδερμίδα του στύπου (καυλοκυστίδια) του *L. tesquorum*. Μήκος μπάρας 10 μm.

- *Lactarius pubescens* (Fr.) Fr., *Epicr. Syst. Mycol.* (Upsaliae): 335 (1838) [1836-1838]

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 6,1 - 7,2 - 8,3 (-8,5) x (4,3-) 4,4 - 5,1 - 5,8 (-6,0) μm, ευρέως ελλειψοειδή έως επιμήκη, Q = 1,26 - 1,41 - 1,62 μm, διακόσμηση αμυλοειδής,

αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα συνδεόμενα μεταξύ τους, με λίγους κλειστούς βρόχους, με πολυάριθμα μεμονωμένα κοντύτερα επάρματα, σχηματίζοντας ένα αρκετά ατελές δίκτυο, επάρματα ύψους έως 0,6 (-0,8) μm , περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση με μια κεντρική αμυλοειδή κηλίδα (Εικόνα 22: i-vii). Βασίδια 30-35x7-9,5 μm , ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια πολυάριθμα, 35-60 x 5-9 μm , ατρακτοειδή, κορυφή με έντονες περισφύξεις, σπανιότερα διχαλωτή. Χείλος ελάσματος ετερογενές, χειλομακροκυστίδια 35-44 x 4-8 μm , ατρακτοειδή, κορυφή με έντονες περισφύξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από στρώμα περικλινών υφών, βυθισμένων σε ζελατινώδη στρώση (ixocutis). Τρίχες πύλου σχηματιζόμενες από δεσμίδες παράλληλων μεταξύ τους υφών. Επιδερμίδα στύπου αποτελούμενη από υφές ακανόνιστα κυλινδρικές, ροπαλόμορφες έως ωοειδείς σε αντικλινή διάταξη.

Ενδιαίτημα: Δάσος με *Betula pendula*.

Παρατηρήσεις:

Το δείγμα FRI 1255 ταξινομείται στο τμήμα *Piperites*, κυρίως λόγω της παρουσίας εμφανών τριχών στην επιφάνεια του πύλου και πολυάριθμων πλευροκυστιδίων. Τα περισσότερα από τα ευρωπαϊκά είδη του τμήματος *Piperites* σχηματίζουν εξειδικευμένη εκτομυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Betula* (εκτός από τα *L. mairei* και *L. tesquorum*). Το γεγονός ότι το δείγμα FRI 1255 συλλέχθηκε κοντά σε δέντρα του είδους *Betula pendula*, συνηγορεί υπέρ της κατάταξης τους στο τμήμα *Piperites*. Το είδος *L. pubescens* ξεχωρίζει από τα υπόλοιπα συγγενικά του είδη λόγω του συνδυασμού μικροσκοπικών και μακροσκοπικών γνωρισμάτων, όπως οι μικρές διαστάσεις των βασιδιοσπορίων του, το απαλό κρεμ έως ανοιχτό κρεμ-ροδόχρωμο χρώμα του πύλου και η παρουσία κοντά σε είδη του γένους *Betula*. Το πολύ συγγενικό και σχεδόν πανομοιότυπο, αν και συνήθως μικρότερων διαστάσεων, *L. scoticus* θεωρείται είδος που προτιμά χαρακτηριστικούς όξιους υγροτόπους στην Φινλανδία και τη Σκανδιναβία, αλλά έχει καταγραφεί επίσης σε αλπικά ενδιαίτηματα στις Άλπεις και στα Καρπάθια (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999). Το είδος *L. pubescens* έχει αναφερθεί ορισμένες φορές και στην Ελλάδα, αλλά στην πλειοψηφία τους, τα δείγματα προέρχονται από δάση βελανιδιάς. Όμως, οι καταγραφές από δάση βελανιδιάς είναι αρκετά πιθανό να μην αντιστοιχούν στην πραγματικότητα στο *L. pubescens*, αλλά στο *L. mairei*, που σχηματίζει εκτομυκώριζες με είδη του γένους *Quercus* ή ακόμη και στο *L. tesquorum* αφού η παρουσία θαμνών του γένους *Cistus* είναι συνηθισμένη στα ξέφωτα ή στις παρυφές δασών βελανιδιάς. Το δείγμα FRI 1255 είχε αρχικά ταυτοποιηθεί ως *L. musteus*, αλλά

παρουσιάζει σημαντικές αποκλίσεις από αυτό. Σε μακροσκοπικό επίπεδο, ο πύλος στο δείγμα FRI 1255 είναι έντονα τριχωτός σε αντίθεση με τον λείο πύλο που σχηματίζει το *L. musteus*. Σε μικροσκοπικό επίπεδο, τα βασιδιοσπόρια και η δομή της επιδερμίδας του πύλου διαφέρουν έντονα ανάμεσα στο δείγμα FRI 1255 και στις τυπικές περιγραφές του *L. musteus*. Το δείγμα FRI 1255 φέρει βασιδιοσπόρια με διακόσμηση σχετικά χαμηλή που σχηματίζει ένα αρκετά ατελές δίκτυο. Αντίθετα, η διακόσμηση των βασιδιοσπορίων του *L. musteus* αποτελείται από ψηλότερα επάρματα (ως 1 μm), τα οποία σχηματίζουν αρκετούς κλειστούς βρόχους (Heilmann-Clausen et al., 1998). Επιπλέον, η επιδερμίδα του πύλου στο *L. musteus* αποτελείται από αντικλινείς υφές βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία (ixotrichoderm) (Heilmann-Clausen et al., 1998), δηλ. δομή διαφορετική από αυτή που παρατηρείται στο δείγμα FRI 1255 όπου η επιδερμίδα του πύλου αποτελείται από περικλινείς υφές βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία (ixocutis). Τέλος, όπως αναφέρουν οι Heilmann-Clausen et al. (1998), το *L. musteus* είναι ένα είδος κοινό στη Σκανδιναβία, αλλά θεωρείται σχετικά σπάνιο στην Κ. Ευρώπη και περιέχεται στα βιβλία Ερυθρών Δεδομένων ορισμένων ευρωπαϊκών χωρών.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Νομός Δράμας, Σιδηρόνερο, σε *Betula pendula*, ως *L. musteus*, FRI 1255.

- *Lactarius tesquorum* Malençon, *Beih. Sydowia* 8: 263 (1979)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πύλος 35-55 mm, κυρτός, με πιεσμένη κεντρική περιοχή, χείλος κυρτό προς τα μέσα, επιφάνεια κολλώδης, προς το χείλος έντονα τριχωτός, ωχρολευκος έως ωχροκίτρινος. Ελάσματα προσφυή, πυκνά, λευκά. Στύπος 10-20 x 7-12 mm, κυλινδρικός, συχνά λεπτυνόμενος προς τη βάση, επιφάνεια λεία, λευκωπή, συχνά με ωχροκίτρινες κηλίδες κοντά στη βάση και μια ροδόχρωμη λεπτή κυκλική ζώνη κοντά στο σημείο επαφής με τον πύλο. Σάρκα λευκωπή. Γεύση καυτερή. Λακτικό υγρό λευκό, μη μεταχρωματιζόμενο (Εικόνα 22: xxii).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια (6,0) 6,3 - 7,6 - 8,5 - 10,0 (10,5) x 4,3 - 5,2 - 5,85 - 6,8 (7,0) μm, ευρέως ελλειψοειδή έως επιμήκη, Q = 1,19 - 1,40 - 1,50 - 1,73, διακόσμηση ύψους έως 0,5 (-0,7) μm, αποτελούμενη από λεπτά, επιμήκη επάρματα συνδεδεμένα σε ατελές δίκτυο, με συχνή την παρουσία κλειστών βρόχων και απομονωμένων επαρμάτων, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση με κεντρικό αμυλοειδές

στίγμα (Εικόνα 22: xv-xxi). Βασίδια στενά ροπαλόμορφα, 33-50 x 6-10 μm. Πλευρομακροκυστίδια 35-72 x 6-10 μm, ατρακτοειδή έως στενά ατρακτοειδή, κορυφή συχνά με περισφίξεις, σπανιότερα διχαλωτή. Χείλος ελάσματος άγωνα, χειλομακροκυστίδια 20-50 x 5-9 μm, ατρακτοειδή, κορυφή με περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από στρώμα περικλινών υφών, βυθισμένων σε ζελατινώδη στρώση (ixocutis). Τρίχες πύλου σχηματιζόμενες από δεσμίδες παράλληλων μεταξύ τους υφών. Επιδερμίδα στύπου με πολυάριθμα χαρακτηριστικά καυλοκυστίδια, 47-126 x 5-10 μm, ατρακτοειδή έως στενά ατρακτοειδή, κορυφή συνήθως με έντονες περισφίξεις, σπανιότερα διχαλωτή (Εικόνα 22: xxiii-xxv).

Ενδιαίτημα: Ανάμεσα σε είδη του γένους *Cistus*.

Παρατηρήσεις:

Το *L. tesquorum* είναι από τα λίγα αμιγώς μεσογειακά είδη του γένους, το οποίο αναγνωρίζεται στο πεδίο από τον κολλώδη πύλο με το τριχωτό χείλος, τον κοντό στύπο και την παρουσία του κοντά σε είδη *Cistus*. Οι Nuytinck *et al.* (2004) χαρακτήρισαν τις μυκόρριζες του *L. tesquorum* σε είδη *Cistus* και παρέχουν αναλυτική μορφολογική και ανατομική περιγραφή τους, συνοδευόμενη από μοριακά δεδομένα. Σε μικροσκοπικό επίπεδο, ιδιαίτερος χαρακτηριστικός είναι τα ατρακτοειδή κυστίδια που βρίσκονται στον στύπο, γνώρισμα όχι και τόσο συνηθισμένο για είδη του γένους. Το *L. tesquorum* διακρίνεται από το *L. mairei* από τα πιο επιμήκη βασιδιοσπόρια (που σχηματίζουν πιο πυκνή διακόσμηση και φέρουν συχνά κλειστούς βρόχους), την παρουσία των χαρακτηριστικών καυλοκυστιδίων και τον κοντό στύπο. Τα δυο είδη μπορεί να βρεθούν στο ίδιο ενδιαίτημα καθώς η παρουσία θαμνών του γένους *Cistus* είναι συχνή στις παρυφές δασών βελανιδιάς. Το *L. tesquorum* περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Malençon (1979), σχετικά πρόσφατα, από υλικό που συλλέχθηκε στο Μαρόκο. Έτσι κάποια παλαιά δείγματα του τμήματος *Piperites* που διαπιστώθηκε ότι ανήκουν στο *L. tesquorum* ήταν αρχικά προσδιορισμένα στο είδος *L. torminosus* (ATHU-M 3164 και ATHU-M 974), προφανώς λόγω του ελλειψοειδούς σχήματος των βασιδιοσπορίων τους. Το *L. torminosus* όμως είναι ένα είδος που σχηματίζει εξειδικευμένη εκτομυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Betula*, η παρουσία του οποίου αποκλείεται από τις θέσεις συλλογής των παραπάνω δειγμάτων. Επιπλέον στα δείγματα αυτά παρατηρήθηκε η παρουσία μεγάλων κυστιδίων στην επιδερμίδα του στύπου, γνώρισμα χαρακτηριστικό για το είδος *L. tesquorum*.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 31/10/2010, συλλογή Τριανταφύλλου Μ. & Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., LGAM 2010-0126 (MT 536)
2. Ν. Αττικής, Όρος Πάρνηθα, *Abies cephalonica*, 21/12/1985, συλλογή Βασιλειάδης, ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ως *L. torminosus*, ATHU-M 3164.
3. Ν. Αττικής, Όρος Υμηττός, ανάμεσα σε *Cistus* sp., 17/01/1986, συλλογή & ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHU-M 3168.
4. Ν. Αχαΐας, Πυργάκι, σε μικτό δάσος *Abies cephalonica* & *Pinus nigra*, ανάμεσα σε *Cistus* sp., 12/1994, συλλογή & ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHU-M 3466.
5. Ν. Ευβοίας, Ερέτρια, ανάμεσα σε είδη *Cistus*, *Arbutus* και *Pinus*, συλλογή & ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., 26/10/2002, ATHU-M 6267.
6. Ν. Κυκλάδων, Άνδρος, στο έδαφος ανάμεσα σε θάμνους *Cistus* spp., 11/12/1997, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP.97-A159.
7. Ν. Κυκλάδων, Άνδρος, στο έδαφος ανάμεσα σε θάμνους *Cistus* spp., 13/12/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., (EP.06-A884).
8. Ν. Λακωνίας, Όρος Ταύγετος, 28/11/1968, συλλογή και ταυτοποίηση Παντίδου Μ., ως *L. torminosus*, ATHU-M 974.
9. Ν. Χαλκιδικής, Σιθωνία Χαλκιδικής, σε βλάστηση με *Cistus monspensulanum*, FRI 997.

3.2. Υπογένος *Russularia* (Fr.) Kauffman

3.2.1. Τμήμα *Russularia* Fr.

- *Lactarius aurantiacus* (Pers.) Gray, *Nat. Arr. Brit. Pl.* (London) 1: 624 (1821)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πίλος 25-50 mm, ελαφρώς κυρτός στα νεαρά, έως επίπεδος, με ελαφρώς πιεσμένη κεντρική περιοχή στα ώριμα, συχνά με μικρό ύβο σε όλα τα στάδια, χείλος γυριστό προς τα μέσα και κυματιστό στα ώριμα δείγματα, επιφάνεια ελαφρώς κολλώδης, πορτοκαλοκίτρινη έως ανοιχτό καφέ-πορτοκαλί. Ελάσματα προσφυή, μέτριας πυκνότητας, μπεζ έως πολύ ανοιχτό κανελί. Στύπος 35-60 x 7-13 mm, κυλινδρικός, λεπυνόμενος προς τη βάση, επιφάνεια ξηρή, ομοίου χρώματος με τον πίλο. Σάρκα μπεζ έως πολύ ανοιχτό κανελί. Λακτικό υγρό λευκό, μη μεταχρωματιζόμενο. (Εικόνα 23: xv).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια (6,4-) 6,8 – 7,6 – 8,2 – 9,7 (11) x (5,5-) 5,6 – 6,3 – 6,8 – 7,7 μm , υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, $Q = 1,06 - 1,20 - 1,24 - 1,47$, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 1 μm , αποτελούμενη από επιμήκη, αλλά και κοντύτερα επάρματα, μεμονωμένα ή συνδεόμενα μεταξύ τους, συνήθως χωρίς το σχηματισμό κλειστών βρόχων, κάποιες φορές τα επιμήκη επάρματα σε σχεδόν παράλληλη διάταξη μεταξύ τους, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής (Εικόνα: i-vi). Βασίδια 33-60 (-77) x 7-12 μm . Πλευρομακροκυστίδια 27-80 x 6-12 μm , ατρακτοειδή, κορυφή έντονα λεπτυνόμενη, ελαφρώς οξύληκτη, θηλοειδής, ή με μορφή ρόμβου σχηματιζόμενη πάνω από μια έντονη περίσφιξη. Χείλος ελάσματος άγωνα, χειλομακροκυστίδια 30-50 x 4-8 μm , ατρακτοειδή, κορυφή με περισφίξεις, ελαφρώς οξύληκτη ή θηλοειδής. Επιδερμίδα πύλου με δομή ιξωτριχοδέρματος, αποτελούμενη από συμπλεκόμενες, αντικλινείς ή πλάγιες υφές, βυθισμένες σε ζελατινώδη στρώση, πάχους 65-125 μm , υφές πάχους 1,5-5,5 μm (Εικόνα 23: xiii).

Ενδιαίτημα: Κυρίως σε μικτά δάση ελάτης, όπου συμμετέχουν στη βλάστηση και άλλα κωνοφόρα ή φυλλοβόλα είδη, αλλά και σε αμιγή δάση ελάτης.

Παρατηρήσεις:

Ο συνδυασμός μακροσκοπικών και μικροσκοπικών γνωρισμάτων, όπως το λευκό, μη μεταχρωματιζόμενο λακτικό υγρό, ο κολλώδης και με πορτοκαλί αποχρώσεις πύλος, η δομή ιξωτριχοδέρματος στην επιδερμίδα του πύλου και η διακόσμηση των βασιδιοσπορίων όπου υπάρχουν μεμονωμένα ή συνδεόμενα μεταξύ τους επάρματα, χωρίς να σχηματίζονται συνήθως από αυτές τις συνδέσεις κλειστοί βρόχοι, παραπέμπουν στο είδος *L. aurantiacus*. Το είδος αυτό, μαζί με το *L. lanceolatus* είναι τα μόνα είδη του τμήματος *Russularia* που παρουσιάζουν στην επιδερμίδα του πύλου δομή αποτελούμενη εξολοκλήρου από συμπλεκόμενες, αντικλινείς ή πλάγιες υφές (trichoderm) και όχι από ένα κατώτερο στρώμα διογκωμένων υφών που καταλήγουν σε λεπτότερες αντικλινείς ή πλάγιες υφές (oedotrichoderm). Ένα μακροσκοπικά αρκετά κοντινό είδος είναι το *L. fulvissimus*. Το *L. fulvissimus* διαφοροποιείται σε μικροσκοπικό επίπεδο από το *L. aurantiacus*, κυρίως, βάση της δομής της επιδερμίδας του πύλου, όπου οι λεπτότερες αντικλινείς τελικές υφές του *L. fulvissimus* προέρχονται από διογκωμένες υφές (oedotrichoderm), αλλά και από τα επάρματα των βασιδιοσπορίων (έχουν πιο ακανθώδη όψη). Μακροσκοπικά αναφέρεται να παρουσιάζει πύλο ξηρό (και όχι κολλώδη όπως το *L. aurantiacus*) και ελάσματα που

φέρουν κατερχόμενες οδοντώσεις σε αντίθεση με τα προσφυή ελάσματα του *L. aurantiacus* (Heilmann-Clausen et al., 1998).

Όλα τα Ελληνικά δείγματα που μελετήθηκαν παρουσιάζουν μικροσκοπικά χαρακτηριστικά που ταιριάζουν στο είδος *L. aurantiacus*. Η διακόσμηση των βασιδιοσπορίων των δειγμάτων που μελετήθηκαν είναι πολύ κοντινή στο σχέδιο των Verbeken & Vesterholt (2008) για το είδος αυτό, αλλά δεν μοιάζει ιδιαίτερα με το σχέδιο που παραθέτει η Basso (1999) για το *L. aurantiacus* όπου παρουσιάζεται ένα αρκετά καλοσχηματισμένο, αν και ατελές δίκτυο, με απουσία μεμονωμένων επαρμάτων. Αντίθετα, το υλικό αναφοράς για το είδος *L. aurantiacus* που μελετήθηκε (ένα δείγμα, GENT) παρουσιάζει μικροσκοπικά χαρακτηριστικά, τα οποία δεν ταιριάζουν σε αυτά που αναφέρονται στη βιβλιογραφία (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999, Verbeken & Vesterholt 2008). Συγκεκριμένα, φέρει βασιδιοσπόρια με μεμονωμένα ακανθώδη επάρματα, συνδεόμενα κάποιες φορές από λεπτές γραμμές, δηλ. πρότυπο διακόσμησης που δεν ταιριάζει στις περιγραφές του είδους αυτού. Επιπλέον διαθέτει επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από σχεδόν σφαιρικά κύτταρα, με λίγες περικλινείς υφές στο πάνω μέρος. Αυτό το χαρακτηριστικό δεν ταιριάζει σε καμία περίπτωση σε είδη του τμήματος *Russularia*, αλλά σε είδη των τμημάτων *Tabidi* και *Olentes*. Μελετήθηκε επίσης συγκριτικά και υλικό αναφοράς αρχικά προσδιορισμένο στα είδη *L. mitissimus* και *L. aurantiofulvus* που θεωρούνται από τους Heilmann-Clausen et al. (1998) ως συνώνυμα του *L. aurantiacus*. Η Basso (1999) διαφοροποιεί τα είδη *L. aurantiacus* και *L. mitissimus* κυρίως βάση των εξής γνωρισμάτων: το *L. mitissimus* εμφανίζεται σε δάση φυλλοβόλων και όχι σε δάση κωνοφόρων, δεν φέρει τον κολλώδη πύλο που παρουσιάζει το *L. aurantiacus* και σχηματίζει λεπτότερη επιδερμίδα πύλου (30-50 μm) σε σχέση με το *L. aurantiacus* (70-100 μm). Οι Heilmann-Clausen et al. (1998) δίνουν τιμές 65-90 μm για το πάχος της επιδερμίδας του *L. aurantiacus* και υιοθετώντας μια ευρεία θεώρηση για το είδος αυτό, αναφέρουν ότι μπορεί να βρεθεί σε πολύ διαφορετικούς τύπους δασών. Τα ελληνικά δείγματα που μελετήθηκαν προέρχονται όλα από αμιγή ή μικτά δάση ελάτης και φέρουν πολύ πιο παχιά επιδερμίδα πύλου από αυτή που αναφέρει η Basso για το *L. mitissimus*.

Στην ελληνική βιβλιογραφία αναφέρεται επίσης το είδος *L. mitissimus* από δάση *Pinus sylvestris* (Διαμαντής & Περγέρου 1990, Diamandis & Perlerou 1994), αλλά δυστυχώς δεν υπήρχε η δυνατότητα να μελετηθούν τα αντίστοιχα δείγματα. Στο υλικό αναφοράς από το είδος *L. mitissimus* η επιδερμίδα του πύλου είχε πάχος 50-80

μm, ενώ στο υλικό αναφοράς του είδους *L. aurantiofulvus* είχε λίγο μεγαλύτερο πάχος, 65-85 μm. Η διακόσμηση των βασιδιοσπορίων και η δομή της επιδερμίδας του πύλου των δειγμάτων *L. aurantiofulvus* και *L. mitissimus* μοιάζουν μεταξύ τους και ταιριάζουν με τα αντίστοιχα αναφερόμενα από τους Heilmann-Clausen et al. (1998) και Verbeke & Vesterholt (2008) για το είδος *L. aurantiacus*. Επίσης δεν διαφοροποιούνται ιδιαίτερα από τα αντίστοιχα παρατηρούμενα γνωρίσματα των ελληνικών δειγμάτων που ταξινομήθηκαν στο είδος *L. aurantiacus*. Το *L. aurantiacus* φαίνεται να είναι κοινό στην Ελλάδα, τόσο από το πλήθος των καταγραφών που υπάρχουν στην βιβλιογραφία, όσο και από τον αριθμό των δειγμάτων που μελετήθηκαν.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Ευβοίας, Όρος Δίρφυς, υψόμετρο 1050 μ., σε μικτό δάσος *Abies cephalonica* και *Castanea sativa*, 23/11/02, συλλογή & ταυτοποίηση Δήμου Δ., LGAM 1378.
2. Ν. Ευβοίας: Όρος Δίρφυς, σε μικτό δάσος *Abies cephalonica* και *Castanea sativa*, 30/11/1986, συλλογή & ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHU-M 3172.
3. Ν. Ευβοίας: Όρος Δίρφυς, σε μικτό δάσος *Abies cephalonica* και *Castanea sativa*, 09/11/2002, συλλογή από ομάδα εργασίας, ταυτοποίηση Γκόνου Ζ., ATHU-M 4467.
4. Ν. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφρηστός, σε δάσος *Abies borisii-regis*, 14/11/1998, συλλογή Καφανάκη Ε., ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 6265.
5. Ν. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφρηστός, σε δάσος *Abies borisii-regis*, 23/10/2010, συλλογή & ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., LGAM 2010-0133.
6. Ν. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφρηστός, σε μικτό δάσος *Abies borisii-regis* και *Juniperus oxycedrus*, 08/11/2003, συλλογή από ομάδα εργασίας, ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 6264.
7. Ν. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφρηστός, σε μικτό δάσος *Abies borisii-regis* και *Juniperus oxycedrus*, παρουσία *Pteridium aquilinum*, 23/10/2004, συλλογή από ομάδα εργασίας, ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 6263.
8. Ν. Ευρυτανίας, Όρος Τυμφρηστός, σε μικτό δάσος *Pinus nigra* και *Abies borisii-regis*, 25/10/2003, συλλογή & ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 6266.

Υλικό αναφοράς:

- *L. aurantiofulvus* (GENT AV 96/1030, Βέλγιο)
- *L. mitissimus* (GENT B. Buyck 2488, Γερμανία, σε *Picea*)

- *L. aurantiacus* (GENT LVL 2002-003, σε *Castanea*) - Το δείγμα διαπιστώθηκε ότι δεν ανήκει στο είδος *L. aurantiacus*.



Εικόνα 23: i-xii. Βασιδιοσπόρια: i-vi. *L. aurantiacus*, vii-xii. *L. fulvissimus*, xiii-xiv. Επιδερμίδα πύλου: xiii. *L. aurantiacus*, xiv. *L. fulvissimus*, xv-xvi. Βασιδιοκάρπια: xv. *L. aurantiacus*, xvi. *L. fulvissimus* (φωτογραφία Δεληβοριάς Π.). Μήκος μπάρας 10 μm.

Lactarius fulvissimus Romagn., *Bull. Trimest. Soc. Mycol. Fr.* 69: 362 (1954) [1953]

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα, Εικόνα 23: xvi).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 7,1 – 8,2 – 8,5 -10,0 x (5,5-) 5,7 – 6,6 – 7,4 (-7,5) μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, Q = 1,13 – 1,24 – 1,29 – 1,45, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 1 μm, αποτελούμενη από ακανθώδη επάρματα μεμονωμένα, αλλά και συνδεόμενα μεταξύ τους από επιμήκη επάρματα, σχηματίζοντας λιγοστούς κλειστούς βρόχους, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση συχνότερα μη αμυλοειδής (Εικόνα 23: vii-xii). Βασίδια 30-40 x 8-12 μm, ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια 35-60 x 5-7 μm, λογχοειδή ή ατρακτοειδή, κορυφή οξύληκτη ή με περισφίξεις. Χείλος ελάσματος σχεδόν άγονο, χειλομακροκυστίδια 23-40 x 5-6,5 μm, λογχοειδή, λαγηνόμορφα ή ατρακτοειδή, κορυφή οξύληκτη, αμβλεία ή με περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από αντικλινείς τελικές υφές προερχόμενες από παχύτερες ή διογκωμένες υφές (oedotrichoderm) (Εικόνα 23: xiv).

Ενδιαίτημα: Σε δάσος οξυάς (*Fagus sylvatica*).

Παρατηρήσεις:

Τα γνωρίσματα των Ελληνικών δειγμάτων που παραπέμπουν στο είδος *L. fulvissimus* αποτελούν τα πορτοκαλί χρώματα του πύλου και στύπου και η παρουσία τους σε δάση φυλλοβόλων (από τις σημειώσεις του συλλέκτη), σε συνδυασμό με μικροσκοπικά γνωρίσματα, όπως η διακόσμηση των βασιδιοσπορίων που αποτελείται από κοντά, ακανθώδη, αλλά και επιμήκη επάρματα (τα οποία βρίσκονται ή μεμονωμένα είτε συνδεόμενα μεταξύ τους, με σπανιότερη την παρουσία κλειστών βρόχων) και τη δομή της επιδερμίδας του πύλου που αποτελείται από αντικλινείς τελικές υφές που προέρχονται από παχύτερες ή διογκωμένες υφές (oedotrichoderm) χωρίς την παρουσία ζελατινώδους ουσίας. Παραπάνω, στη συζήτηση για το είδος *L. aurantiacus* αναφέρθηκαν οι διαφορές μεταξύ *L. fulvissimus* και *L. aurantiacus*. Το υλικό αναφοράς από το είδος *L. fulvissimus* που μελετήθηκε παρουσίαζε παρόμοια μικροσκοπική εικόνα με τα Ελληνικά δείγματα τόσο ως προς τη διακόσμηση των βασιδιοσπορίων όσο και στη δομή της επιδερμίδας του πύλου. Το *L. fulvissimus* έχει μέχρι τώρα καταγραφεί μόνο δυο φορές στην Ελλάδα, η πρώτη από τις Κυκλάδες και η δεύτερη από το Όρος Ζυγουρολίβαδο του Ν. Καρδίτσας (Polemis et al. 2007 και Triantafyllou et al. 2009 αντίστοιχα).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Νομός Καρδίτσας, Όρος Ζυγουρολίβαδο, σε δάσος *Fagus sylvatica*, 08/09/2002, συλλογή & ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 6274.

2. Νομός Καρδίτσας, Όρος Ζυγουρολίβαδο, σε δάσος *Fagus sylvatica*, 08/09/2002, συλλογή & ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 6275.

Υλικό αναφοράς:

- *L. fulvissimus* (GENT 94/802, σε *Fagus, Carpinus, Quercus*).

- *Lactarius decipiens* Quéél., *Compt. Rend. Assoc. Franç. Avancem. Sci.* 14(2): 448 (1885)

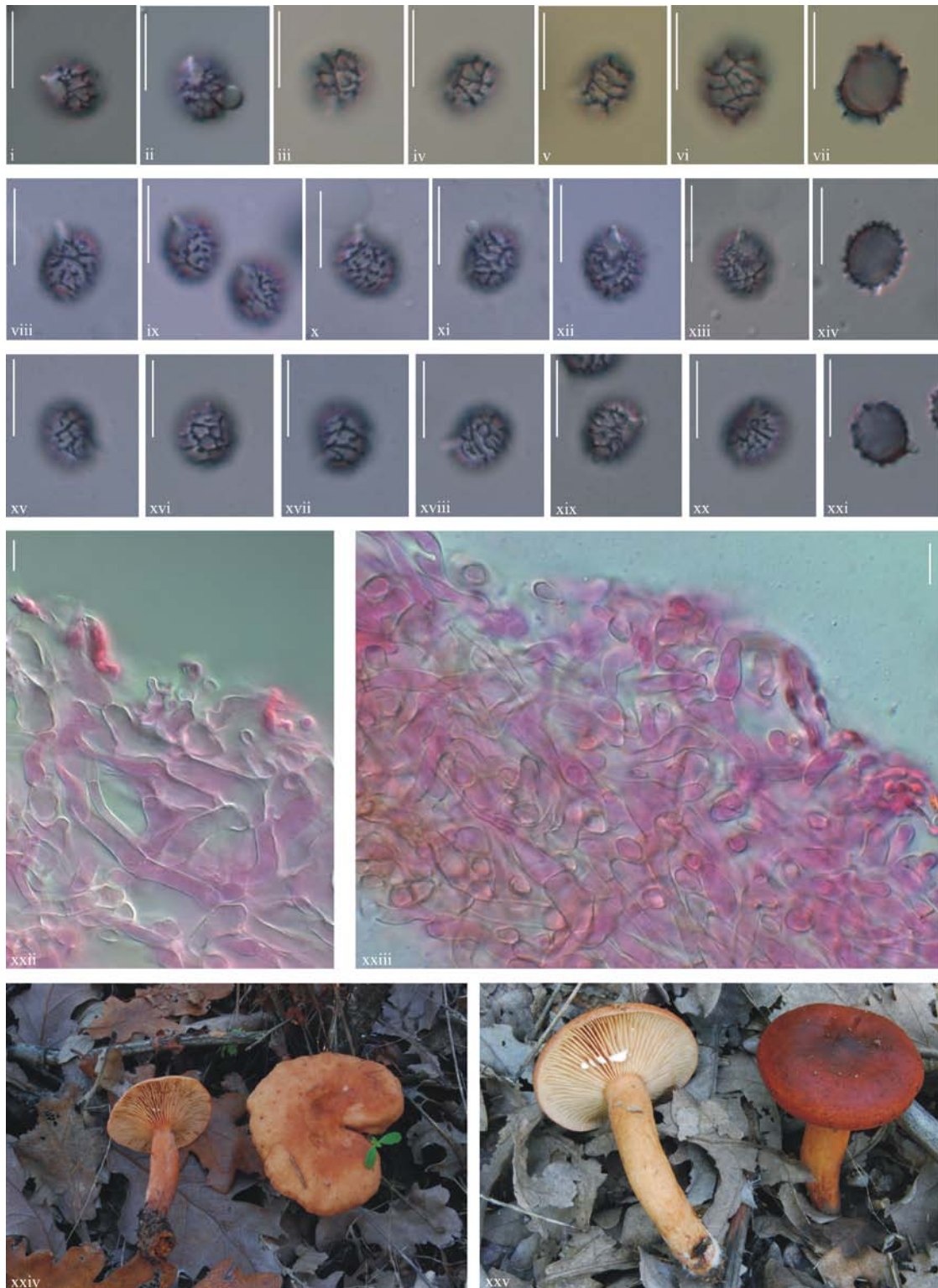
Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πίλος διαμέτρου 17-52 mm, κυρτός στα ανώριμα, ελαφρώς κυρτός, επίπεδος έως ελαφρώς κοίλος στα ώριμα, συχνά με πιεσμένη κεντρική περιοχή ή και με ύβο, επιφάνεια λεία, ξηρή, στα χρώματα του δέρματος, ωχρορόδινη έως απαλό κεραμιδί, με σκουρότερες αποχρώσεις στο κέντρο και ανοιχτότερες προς το χείλος. Ελάσματα ελαφρώς κατερχόμενα έως προσφυή με κατερχόμενες οδοντώσεις, μέτριας πυκνότητας, κρεμ έως κρεμ-ροδόχρωμα. Στύπος 20-47 x 4-10 mm, κυλινδρικός, χρώματος ροδόχρωμου, ώχρας, κανελί έως ανοιχτό κεραμιδί. Λακτικό υγρό λευκό, μεταχρωματιζόμενο άμεσα σε κίτρινο πάνω σε χαρτί ή στο δέρμα. Γεύση αρκετά πικρή, μετά από λίγο καυτερή. (Εικόνα 24: xxiv).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια (6,0-) 6,1 – 7,3 – 8,2 – 9,3 (-9,5) x (5,0-) 5,4 – 6,1 – 6,6 – 7,4 (-8,0) μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, συχνότερα ευρέως ελλειψοειδή, Q = 1,06 – 1,21 – 1,23 – 1,4, διακόσμηση αμυλοειδής ύψους έως 1 (-1,2) μm, αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα συνδεόμενα σε ένα αραιό, σχετικά ατελές έως πλήρες δίκτυο, κύρια επιμήκη επάρματα στη ράχη των βασιδιοσπορίων συχνά παράλληλα μεταξύ τους, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση συνήθως μη αμυλοειδής (Εικόνα 24: i-vii). Βασίδια 35-50 x 8-11 μm, ροπαλόμορφα, με (1)(2)4 στηρίγματα. Πλευρομακροκυστίδια πολυάριθμα, (40-) 55-85 x 6-8 (-9) μm, λεπτά ατρακτοειδή, κορυφή οξύληκτη ή σχηματιζόμενη πάνω από μια περίσφιξη, στρογγυλεμένη. Χείλος ελάσματος ετερογενές, χειλομακροκυστίδια 30-45 x 5-7 μm, ατρακτοειδή, κορυφή οξύληκτη ή σχηματιζόμενη πάνω από μια περίσφιξη, στρογγυλεμένη. Επιδερμίδα πύλου πάχους έως 110 μm, αποτελούμενη από συμπλεκόμενες, ελαφρώς ανορθωμένες τελικές υφές, διογκωμένες στη βάση τους ή κυλινδρικές, προερχόμενες από διογκωμένα στοιχεία, βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία (ixooedotrichoderm) (Εικόνα 24: xxii).

Ενδιαίτημα: Δάσος με φυλλοβόλα είδη *Quercus*.



Εικόνα 24: i-xxi. Βασιδιοσπόρια: i-vii. *L. decipiens*, viii-xiv. *L. quietus*, xv-xxi. *L. lacunarum*, xxii-xxiii. Επιδερμίδα πύλου: xxii. *L. decipiens*, xxiii. *L. lacunarum*, xxiv-xxv. Βασιδιοκάρπια: xxiv. *L. decipiens* (φωτογραφία Δεληβοριάς Π.), xxv. *L. lacunarum* (φωτογραφία Δεληβοριάς Π.). Μήκος μπάρας 10 μm.

Παρατηρήσεις:

Τα δείγματα που μελετήθηκαν ανήκουν στο τμήμα *Russularia* του υπογένους *Russularia* (κατά τους Heilmann-Clausen et al., 1998) λόγω του λευκού λακτικού υγρού, των ωχρο-ροδόχρωμων αποχρώσεων του πύλου και της δομής της επιδερμίδας του, που αποτελείται από τελικές υφές συμπλεκόμενες, ελαφρώς ανορθωμένες, προερχόμενες από κατώτερες διογκωμένες υφές, βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία (ixooedotrichoderm). Η μορφολογία τους ταιριάζει στις περιγραφές του είδους *L. decipiens* όσον αφορά τόσο στα μικροσκοπικά όσο και στα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά. Σε μακροσκοπικό επίπεδο, ο ωχρορόδινος ή με αποχρώσεις δέρματος χρωματισμός του πύλου και ο γρήγορος μεταχρωματισμός του λευκού λακτικού υγρού σε κίτρινο πάνω σε χαρτί οδηγούν στην ταξινόμηση των δειγμάτων στο είδος *L. decipiens*. Τα σημαντικότερα μικροσκοπικά γνωρίσματα που, σε συνδυασμό με τη μακρομορφολογία, υποδεικνύουν την ταξινόμηση τους στο είδος αυτό είναι η δομή της επιδερμίδας του πύλου (ixooedotrichoderm) και η διακόσμηση των βασιδιοσπορίων από επάρματα που σχηματίζουν ατελές έως πλήρες δίκτυο. Τα υπόλοιπα είδη του τμήματος *Russularia* απορρίφθηκαν για τους λόγους που αναφέρονται στη συνέχεια. Το είδος *L. aurantiacus* διαφέρει σε σχέση το δείγμα που μελετήθηκε ως προς την έντονα πορτοκαλί απόχρωση του πύλου, την παρουσία διαφορετικής δομής στην επιδερμίδα αυτού (που αποτελείται από αποκλειστικά ανορθούμενες υφές (trichoderm), συχνά βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία) και το διαφορετικό πρότυπο διακόσμησης των βασιδιοσπορίων. Το είδος *L. fulvissimus* φέρει και αυτό πορτοκαλί αποχρώσεις στον πύλο και διαφοροποιείται περαιτέρω μικροσκοπικά κυρίως από το διαφορετικό πρότυπο διακόσμησης των βασιδιοσπορίων, που φέρουν όπως και στο είδος *L. aurantiacus*, πολυάριθμα μεμονωμένα επάρματα, χωρίς τη συχνή παρουσία κλειστών βρόχων. Το είδος *L. subdulcis* φέρει εξίσου απαλές αποχρώσεις με το *L. decipiens*, αλλά διαφέρει από αυτό ως προς το αρκετά ατελές δίκτυο των επαυμάτων των βασιδιοσπορίων, την απουσία ζελατινώδους ουσίας στην επιδερμίδα του πύλου (oedotrichoderm), καθώς και ως προς την μυκορριζική σχέση που αναπτύσσει με είδη του γένους *Fagus*. Το *L. lacunarum* διαφέρει και αυτό ως προς την απουσία ζελατινώδους ουσίας στην επιδερμίδα του πύλου, αλλά κυρίως λόγω της εντονότερης κεραμιδοκόκκινης απόχρωσης του πύλου. Το *L. quietus* παρουσιάζει εμφανή ζώνωση στον πύλο και απουσία ζελατινώδους ουσίας στην επιδερμίδα αυτού. Τα είδη *L. rubrocinctus* και *L. tabidus* του τμήματος *Tabidi* του υπογένους *Russularia*, αν και μοιάζουν

μακροσκοπικά με το δείγμα που μελετήθηκε, χαρακτηρίζονται από επιδερμίδα πύλου με εντελώς διαφορετική δομή, αποτελούμενη κυρίως από ισοδιαμετρικά κύτταρα (Heilmann-Clausen et al., 1998). Τα δείγματα ATHU-M 6199, ATHU-M 6200 αποτελούν την πρώτη καταγραφή του είδους *L. decipiens* από την Ελλάδα, από δάσος με φυλλοβόλα είδη *Quercus* στην Αρκαδία (Triantafyllou et al. 2009, Τριανταφύλλου 2009).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 04/12/2007, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M 6199.
2. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 04/12/2007, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M 6200.
3. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 13/11/2009, συλλογή Τριανταφύλλου Μ. & Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 8230 (MT 511).
4. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 31/10/2010, συλλογή Τριανταφύλλου Μ. & Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., LGAM: 2010-0127 (MT 532).

- *Lactarius quietus* (Fr.) Fr., *Epicr. Syst. Mycol.* (Upsaliae): 343 (1838) [1836-1838]

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπώρα 6,5 – 8,0 – 9,4 (-9,5) x (5,5-) 5,6 – 6,6 – 7,7 (-8,0) μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, Q = 1,07 – 1,20 – 1,38, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 1 (-1,2) μm, αποτελούμενη από μεμονωμένα κοντά επάρματα, αλλά και λεπτά επιμήκη επάρματα, συνδεδεμένα ή μεμονωμένα, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση συχνά αμυλοειδής (Εικόνα 24: viii-xiv). Βασίδια 37-47 x 11-13 μm. Πλευρομακροκυστίδια με μικρή συχνότητα, 40-60 x 7-13 μm, ατρακτοειδή, κορυφή οξύληκτη ή με περισφίξεις. Χείλος ελάσματος άγονο, χειλομακροκυστίδια 30-47 x (4-) 6,5-10 μm, ατρακτοειδή, με 2-4 έντονες περισφίξεις προς την κορυφή, στο άνω 1/3 τμήμα. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από συμπλεκόμενες, ελαφρώς ανορθωμένες, κυλινδρικές τελικές υφές, προερχόμενες από πλατύτερες ή διογκωμένες υφές, με παρουσία, κατά τόπους, ζελατινώδους ουσίας (oedotrichoderm-ixoedotrichoderm).

Ενδιαίτημα: Δάσος με *Quercus frainetto*.

Παρατηρήσεις:

Το *L. quietus* σε μικροσκοπικό επίπεδο χαρακτηρίζεται από το συνδυασμό γνωρισμάτων όπως το πρότυπο της διακόσμησης των βασιδιοσπορίων (που αποτελείται όχι μόνο από λεπτά επιμήκη επάρματα αλλά και από πολυάριθμα μεμονωμένα κοντύτερα επάρματα), τα χειλομακροκυστίδια με τις πολλές και έντονες περισφίξεις και τη δομή της επιδερμίδας του πύλου (που αποτελείται από συμπλεκόμενες, ελαφρώς ανορθωμένες, κυλινδρικές υφές που προέρχονται από τις κατώτερες πλατύτερες και διογκωμένες υφές). Τόσο οι Heilmann-Clausen et al., (1998) όσο και η Basso (1999), αναφέρουν ότι το *L. quietus* σχηματίζει εκτομυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Quercus*. Το δείγμα ήταν αποξηραμένο και δεν εμφάνιζε κυκλική ζώνωση στον πύλο που θεωρείται χαρακτηριστική για τα φρέσκα βασιδιοκάρπια του είδους αυτού (Heilmann-Clausen et al., 1998). Το υλικό αναφοράς που μελετήθηκε έφερε βασιδιοσπόρια με κοντά επάρματα, μεμονωμένα ή συνδεδεμένα από επιμήκη επάρματα χωρίς να σχηματίζονται κλειστοί βρόχοι, πρότυπο που μοιάζει στο αντίστοιχο του δείγματος που μελετήθηκε. Το είδος *L. quietus* έχει αναφερθεί τρεις φορές από την Ελλάδα, από δάση *Q. frainetto* και μικτό δάσος *Quercus* sp. με *Castanea sativa* (Διαμαντής 1992, Πολέμης 1998, Αθανασίου 2010).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Σε δάσος *Quercus frainetto*, 16/11/09, συλλογή & ταυτοποίηση Αθανασίου Ζ., Ζ.Α.-2.

Υλικό αναφοράς:

- *L. quietus* (GENT)

- *Lactarius lacunarum* (Romagn.) ex Hora, *Trans. Br. Mycol. Soc.* 43(2): 444 (1960)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πύλος διαμέτρου 25-105 mm, αρχικά κυρτός, έπειτα ήπια κυρτός (plano-convex) έως και χοανοειδής στα ώριμα βασιδιοκάρπια, συνήθως με ελαφρώς πιεσμένη κεντρική περιοχή, συχνά και με μικρό ύβο, χείλος ομαλό, ελαφρώς κυματιστό στα ώριμα, επιφάνεια λεία, ξηρή, σπανιότερα με σκασίματα, γλοιώδης σε βροχερό καιρό, αρχικά σκούρο κεραμιδί, σκούρο κόκκινο-κεραμιδί, ομοιόχρωμη, έπειτα κόκκινο-κεραμιδί ή με αποχρώσεις σκουριάς (rusty tawny-rust), σπανιότερα με απαλή κυκλική ζώνωση, συχνά κέντρο σκούρο καστανό ή καστανέρυθρο (chestnut) και χείλος πιο ανοιχτόχρωμο στα ώριμα άτομα, σε αποχρώσεις σκουριάς ή ώχρας. Ελάσματα

προσφυή με κατερχόμενες οδοντώσεις, μέτριας πυκνότητας, κρεμ, κρεμ-ροδόχρωμα, συχνά με κανελί στίγματα στα ώριμα άτομα. Στύπος διαστάσεων 30-85 x 5-20 mm, κυλινδρικός, λεπτυνόμενος προς τη βάση, επιφάνεια λεία, ξηρή, κρεμ-ροδόχρωμη, πορτοκαλοκίτρινη, ωχρο-πορτοκαλί, συχνά με αποχρώση σκουριάς στα ώριμα άτομα, συχνά έντονο κόκκινο-κεραμιδί κοντά στη βάση. Σάρκα υπόλευκη έως κρεμ-ροδόχρωμη στα ώριμα άτομα. Γεύση καυτερή. Λακτικό υγρό λευκό, μεταχρωματιζόμενο σε απαλό κίτρινο πάνω σε χαρτί ή πάνω στο δέρμα. (Εικόνα 24: xxv).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια (6,4) 6,6 - 7,8 - 7,9 - 9,4 (10,0) x (5,2) 5,5 - 6,2 - 6,6 - 7,3 (7,9) μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, $Q = 1,07 - 1,20 - 1,25 - 1,46$, διακόσμηση αμυλοειδής ύψους έως 0,8 (1) μm, από επιμήκη επάρματα συνδεδεμένα σε ατελές έως σχετικά πλήρες δίκτυο, κύρια επιμήκη επάρματα στη ράχη των βασιδιοσπορίων συχνά παράλληλα μεταξύ τους, παρουσία μεμονωμένων επαρμάτων, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής, ενίοτε περιμετρικά αμυλοειδής (Εικόνα 24: xv-xxi). Βασίδια 33-50 x 9-12 μm, ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια 36-97 x 5-10 μm, λεπτά ατρακτοειδή, κωνικά, λογχοειδή, κορυφή θηλοειδής ή με περισφίξεις. Χείλος ελάσματος ετερογενές, χειλομακροκυστίδια 34-45 x 5-8 μm, λεπτά ατρακτοειδή, κορυφή θηλοειδής ή με περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από συμπλεκόμενες, ελαφρώς ανορθωμένες, κυλινδρικές, δακτυλόμορφες τελικές υφές, 15-40 x 3,5-5 μm, προερχόμενες από πλατύτερες ή διογκωμένες υφές, διαμέτρου 5-14 μm (oedotrichoderm), σπανιότερα με παρουσία ζελατινώδους ουσίας (Εικόνα 24: xxiii).

Ενδιαίτημα: Δάσος με φυλλοβόλα είδη *Quercus*, κοντά σε ρεματιά, η οποία περιοδικά ξεραίνεται.

Παρατηρήσεις:

Τα δείγματα που ταξινομήθηκαν στο είδος *L. lacunarum* αποτελούν υλικό που συλλέχθηκε από τη γράφουσα πριν αλλά και κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας. Χαρακτηριστικά των δειγμάτων, όπως ο χρωματισμός του πύλου σε αποχρώσεις σκουριάς έως κόκκινες-κεραμιδί και το λευκό λακτικό υγρό που μεταχρωματίζεται σε κίτρινο πάνω σε χαρτί, καθώς και η δομή της επιδερμίδας του πύλου που αποτελείται από συμπλεκόμενες, ελαφρώς ανορθωμένες, τελικές υφές, προερχόμενες από πλατύτερες ή διογκωμένες υφές (oedotrichoderm) καθιστούν σαφές ότι ανήκουν σε κάποιο είδος του τμήματος *Russularia* του υπογένους

Russularia. Είδη με αποχρώσεις παρόμοιες με τον δειγμάτων που συλλέχθηκαν και που μπορούν να βρεθούν σε εύκρατα κλίματα (δηλ. απορρίπτονται αρκτικά ή αλπικά είδη) είναι τα *L. badiosanguineus*, *L. sphagnetii* και *L. lacunarum*. Η μακροσκοπική περιγραφή του *L. badiosanguineus* ταιριάζει στα δείγματά μας κυρίως όσον αφορά στα σκούρα κοκκινωπά χρώματα των νεαρών βασιδιοκαρπίων και το ανοιχτόχρωμο χείλος που παρατηρείται στα ώριμα. Το είδος αυτό όμως απαντάται σε όλη την Ευρώπη σε εντελώς διαφορετικά ενδιαιτήματα: ορεινά δάση με *Picea* και *Abies*, πλούσια σε ποώδη βλάστηση και φαίνεται να είναι σπάνιο σε χαμηλότερα υψόμετρα. Επίσης ο πύλος των βασιδιοκαρπίων έχει μόνιμα γλοιώδη υφή (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999). Το *L. sphagnetii* είναι και αυτό ένα είδος με παρόμοια μακροσκοπικά γνωρίσματα, όμως απαντάται και αυτό σε δάση με *Picea* και σε ορεινά δάση με άλλα κωνοφόρα. Μικροσκοπικά ξεχωρίζει από την πολύ έντονη αμυλοειδή διακόσμηση των βασιδιοσπορίων του που σχηματίζει πλήρες δίκτυο και τη δομή της επιδερμίδας του πύλου, που εμφανίζει ζελατινώδη ουσία, ενώ στο ανώτερο στρώμα φέρει ακραίες υφές διατεταγμένες σχεδόν παράλληλα προς την επιφάνεια του πύλου (Heilmann-Clausen et al. 1998). Και τα δυο είδη που προαναφέρθηκαν χαρακτηρίζονται επίσης από λευκό λακτικό υγρό που δεν μεταχρωματίζεται, αντίθετα με το λακτικό υγρό των δειγμάτων που μελετήθηκαν, το οποίο μεταχρωματίζεται από λευκό σε ανοιχτό κίτρινο όταν απομονωθεί σε χαρτί. Το υλικό αναφοράς από το είδος *L. lacunarum* που μελετήθηκε (*L. lacunarum*, GENT AV 95-794) παρουσίαζε διαστάσεις βασιδιοσπορίων: 6,0 – 7,45 – 8,9 (9,8) x (4,9) 5,0 – 5,7 – 6,5 (6,6) μm, με Q = 1,10 - 1,30 - 1,60, αρκετά κοντινές σε αυτές των ελληνικών δειγμάτων. Η διακόσμηση των βασιδιοσπορίων του *L. lacunarum* GENT AV 95-794 παρουσιάζει μεγαλύτερη ποικιλομορφία από αυτήν που παρατηρήθηκε στο Ελληνικό υλικό, με σπόρια που σχηματίζουν ατελές δίκτυο, φέροντας αρκετούς κλειστούς βρόχους (ομοιότητα με ελληνικό υλικό) και άλλα που το δίκτυο τους είναι πιο ατελές με έναν ή καθόλου κλειστούς βρόχους ανά σπόριο. Η επιδερμίδα του πύλου του συγκριτικού υλικού είναι παρόμοιας δομής με τα δείγματα που μελετήθηκαν. Οι περιγραφές για το είδος *L. lacunarum* (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999) ταιριάζουν με τα δείγματα που μελετήθηκαν ως προς το μεταχρωματισμό του λακτικού υγρού καθώς και γενικό έρα ως προς τη μακρο- και μικρομορφολογία. Μικρή διαφοροποίηση υπάρχει στα Ελληνικά δείγματα ως προς τις διαστάσεις των βασιδιοσπορίων (ελαφρώς μεγαλύτερες) σε σχέση με αυτές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία για το *L. lacunarum*, όπως φαίνεται παρακάτω (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Σύγκριση των διαστάσεων των βασιδιοσπορίων των Ελληνικών δειγμάτων *L. lacunarum* με αυτές του συγκριτικού υλικού και τις αναφερόμενες στη σχετική βιβλιογραφία.

Βιβλιογραφική αναφορά/ δείγματα	Μετρήσεις βασιδιοσπορίων
Heilmann-Clausen et al. (1998)	6,0-8,3 x 5,0-6,7 μm, μέσο 6,8-7,4 x 5,5-6,1 μm
Basso (1999)	6,5-8,7 x 5,0-6,7 μm
Idzerda & Noordeloos (1997)	6,0-8,5 x 5-7,5 μm, μέσο 6,87-7,25 x 5,85-6,21 μm
Kränzlin (2005)	6,0-8,3 x 5,0-6,6 μm
Ελληνικά δείγματα	6,6 - 7,8 - 7,9 - 9,4 x 5,5 - 6,2 - 6,6 - 7,3 μm
GENT AV 95-794	6,0 - 7,45 - 8,9 x 5,0 - 5,7 - 6,5 μm

Οι τιμές του μήκους των βασιδιοσπορίων του υλικού αναφοράς (*L. lacunarum*, GENT AV 95-794) είναι ελαφρώς μεγαλύτερες από τις αναφερόμενες στη βιβλιογραφία και πλησιάζουν τις τιμές που καταμετρήθηκαν στα Ελληνικά δείγματα. Όσον αφορά το πλάτος των βασιδιοσπορίων, τα Ελληνικά δείγματα παρουσιάζουν τιμές μεγαλύτερες, τόσο από τις αναφερόμενες στη βιβλιογραφία όσο και από τις αντίστοιχες του υλικού αναφοράς, με εξαίρεση τις τιμές που δίνουν οι Idzerda & Noordeloos (1997) για το πλάτος των βασιδιοσπορίων του *L. lacunarum*. Κατά τους Heilmann-Clausen *et al.* (1998), οι οποίοι εστιάζουν τη μελέτη τους σε χώρες της Β. Ευρώπης, το *L. lacunarum* αναφέρεται σε δάση φυλλοβόλων δέντρων με είδη *Alnus*, *Populus* και *Betula*, συχνά σε μέρη που πλημμυρίζουν κατά τους χειμερινούς μήνες. Οι Idzerda & Noordeloos (1997) προσθέτουν ότι το *L. lacunarum* είναι ένα είδος με ευρείες οικολογικές απαιτήσεις και μπορεί να βρεθεί όχι μόνο σε υγρά μέρη με *Betula* και *Salix*, αλλά και σε ξηρότερα μέρη όπως άκρες δρόμων ή ξέφωτα δασών σχηματίζοντας εκτομυκόρριζες με αρκετά είδη φυλλοβόλων δέντρων όπως *Alnus*, *Corylus*, *Populus*, *Betula*, *Salix* και *Quercus*. Τέλος, σύμφωνα με την Basso (1998), το *L. lacunarum* απαντάται σε υγρά μέρη με *Populus*, *Betula*, *Salix*, *Abies*, αλλά είναι αρκετά κοινό και σε μεσογειακά ενδιαιτήματα με *Quercus ilex*, *Q. suber* σε μέρη που πλημμυρίζουν. Το Ελληνικό υλικό συλλέχθηκε σε τρεις διαδοχικές χρονιές, από την ίδια περιοχή, σε δάσος με φυλλοβόλα είδη *Quercus*, κοντά σε ρεματιά, η οποία

περιοδικά ξεραίνεται. Τα δείγματα αυτά αποτελούν την πρώτη καταγραφή του *L. lacunarum* από την Ελλάδα.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 4/12/2007, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M 6208.
2. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 28/10/2009, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 8224 (MT 440).
3. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 13/11/2009, συλλογή Τριανταφύλλου Μ. & Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 8225 (MT 491).
4. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 31/10/2010, συλλογή Τριανταφύλλου Μ. & Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., LGAM: 2010-0128 (MT 533).

Υλικό αναφοράς:

- *L. lacunarum* (GENT AV 95-794)

3.2.2. Τμήμα *Olentes* Bat.

Τα διακριτικά γνωρίσματα του Τμήματος *Olentes* αποτελούν α) η δομή υφοεπιθηλίου (hyphoepithelium) στην επιδερμίδα του πύλου, που χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενός κύριου στρώματος από ελλειψοειδή, υποσφαιρικά έως σχεδόν σφαιρικά κύτταρα, στο πάνω μέρος του οποίου διατάσσονται λίγες έρπουσες υφές, β) τα μικρά ή απόντα μακροκυστίδια, γ) η κάλυψη, σε κάποια είδη, του χείλους του ελάσματος από παρακυστίδια, δ) το υδαρές-λευκό λακτικό υγρό και ε) η έντονα πικάντικη οσμή των βασιδιοκαρπίων, ειδικά των αποξηραμένων (Heilmann-Clausen et al. 1998). Στην παρούσα εργασία έγινε μια αναλυτική διερεύνηση τριών ειδών του τμήματος *Olentes*, με την έννοια ότι η ταξινόμηση των συγκεκριμένων δειγμάτων βασίστηκε τόσο σε μορφολογικά δεδομένα, συμπεριλαμβανομένων δεδομένων λεπτής δομής των βασιδιοσπορίων από ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης, όσο και σε δεδομένα που προέκυψαν από τη εφαρμογή μοριακών τεχνικών. Το ενδιαφέρον στράφηκε σε τρία ευρωπαϊκά είδη αυτής της ομάδας, τα οποία μοιάζουν ιδιαίτερα μεταξύ τους τόσο σε μακροσκοπικό όσο και σε μικροσκοπικό επίπεδο, γεγονός που δυσκολεύει την ασφαλή ταυτοποίηση δειγμάτων στο ένα ή άλλο είδος. Τα συγκεκριμένα τάξα που

μελετήθηκαν σε βάθος (*L. atlanticus*, *L. serifluus* και *L. subumbonatus*) διαφοροποιούνται από τα υπόλοιπα είδη του Τμήματος *Olentes* από ένα ιδιαίτερο κοινό γνώρισμα, την απουσία μακροκυστιδίων.

Από την Ελλάδα έχουν καταγραφεί μέχρι σήμερα και τα τρία αυτά είδη, αν και δείγματα υπάρχουν μόνο για τα *L. atlanticus* και *L. subumbonatus* από τις εργασίες των Πολέμης (2010) και Triantafyllou et al. (2009) αντίστοιχα. Το *L. serifluus* έχει αναφερθεί από τους Maire & Politis (1940) από δυο διαφορετικές τοποθεσίες, δηλ. από πευκοδάσος με *Pinus halepensis* του Ν. Ηλείας και από καστανοδάσος στο Όρος Ταΰγετος του Ν. Λακωνίας. Δυστυχώς τα ιστορικά αυτά δείγματα δεν υπάρχουν πια και έτσι δεν ήταν δυνατό να συμπεριληφθούν στη μελέτη. Επιπλέον, υπάρχει η καταγραφή ενός ακόμη είδους του τμήματος *Olentes* από την Ελλάδα, του *L. cimicarius* (Batsch) Gillet, σε μικτό δάσος *Abies borisii-regis* και *Quercus frainetto* στη λίμνη Πλαστήρα του Ν. Καρδίτσας (Athanassiou & Theochari 2001). Το συγκεκριμένο δείγμα δεν είναι επίσης διαθέσιμο προς μελέτη ώστε να επιβεβαιωθεί ο αρχικός προσδιορισμός. Αξίζει να σημειωθεί πως το *L. cimicarius* συνωνυμείται με το *L. camphoratus* (Bull.: Fr.) Fr., δηλ. ένα από τα είδη του τμήματος *Olentes* που φέρουν μακροκυστίδια (Heilmann-Clausen et al. 1998), ή με τα *L. serifluus* (DC.: Fr.) Fr. και *L. subumbonatus* Lindgr. (Verbeken & Vesterholt 2008).

Τα τρία ευρωπαϊκά τάξα του τμήματος *Olentes*, που δεν φέρουν μακροκυστίδια (*L. atlanticus*, *L. serifluus*, *L. subumbonatus*), φέρουν στο χείλος του ελάσματος μικρότερες, άγονες δομές, ποικίλων σχημάτων που ονομάζονται παρακυστίδια. Το σχήμα των παρακυστιδίων του χείλους του ελάσματος είναι το κύριο μικροσκοπικό γνώρισμα που προτείνεται στην πρόσφατη βιβλιογραφία (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999) για το διαχωρισμό των ειδών αυτών, μαζί με μακροσκοπικά γνωρίσματα όπως τα χρώματα του πύλου, η υφή της επιφάνειας του πύλου, η παρουσία ή απουσία τριχών στη βάση του στύπου καθώς και ο σχηματισμός εκτομυκορριζικής σχέσης με διαφορετικά είδη δέντρων. Εκτός από το Ελληνικό υλικό που μελετήθηκε, ζητήθηκε υλικό αναφοράς και από τα τρία είδη, ώστε να διαλευκανθούν οι μεταξύ τους σχέσεις.

- *Lactarius atlanticus* Bon, *Documents Mycol.* 5 (no. 17): 23 (1975)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών (Πολέμης, 2010):

Βασιδιώματα σε δέσμες. Πίλος 2,0-6,5 cm, αρχικά κυρτός με μικρό ύβο μερικές φορές κάπως αιχμηρό και συνεστραμμένη περιφέρεια, τελικά σχεδόν επίπεδος, ασιδοειδής, με ή χωρίς χαμηλό, ευρύ ύβο και ανασηκωμένη μερικές φορές περιφέρεια, υγροφανής, αρχικά σκούρο κεραμιδί έως πορτοκαλί, τελικά καθώς εκτείνεται και στεγνώνει προς την περιφέρεια καφέ- κίτρινος, επιφάνεια λεία, στεγνή, ματ και σε ξηρό καιρό κάπως ανώμαλη έως ραγαδωμένη. Ελάσματα πυκνά, προσφυή έως λίγο κατερχόμενα, ωχρά, μπεζ έως κανελί, συχνά διχαλωτά. Στύπος 4-8 x (0,4-)0,7-1,3 cm, κυλινδρικός έως ροπαλοειδής, μερικές φορές κάπως πεπλατισμένος, ομοιόχρωμος του πύλου έως πιο ανοικτόχρωμος ρόδινος προς την κορυφή, λείος έως κάπως ανώμαλος (*rugulose*), προς την κορυφή παχνώδης. Σάρκα αρχικά πολύ σκληρή, σταδιακά μαλακότερη κι ελαστική, λευκό-κρεμ έως σκουρότερη, κοντά στην επιδερμίδα πύλου και στύπου, με δυσάρεστη οσμή και ταγή γεύση. Λατικό υγρό στις περισσότερες περιπτώσεις ανύπαρκτο, έως ελάχιστο, δυσδιάκριτο, σχεδόν διαφανές. (Εικόνα 25: xxvi-xxvii).

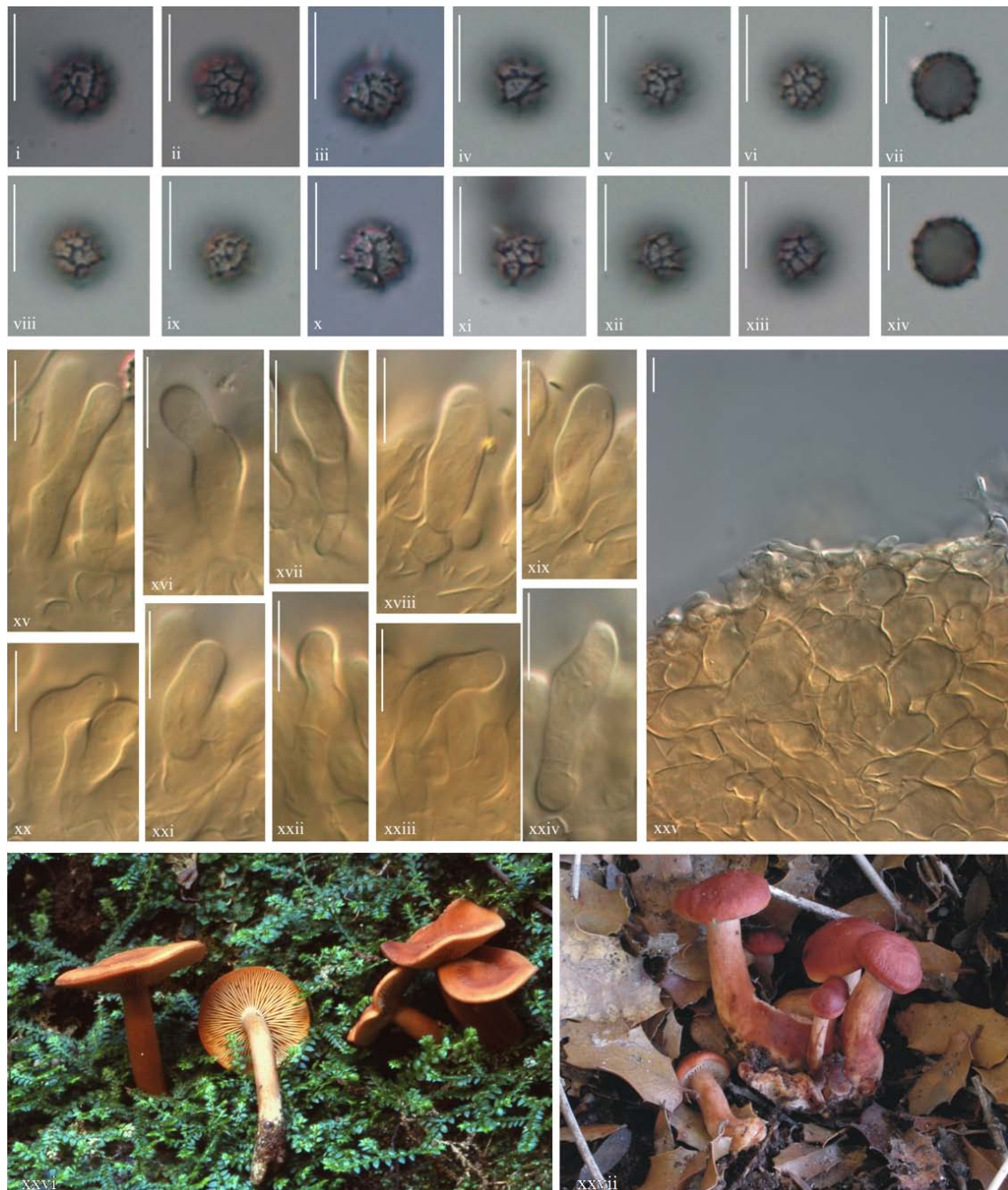
Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια (6,0-) 6,5 – 7,4 – 8,2 – 9,0 (-9,5) x (5,5-) 6,0 – 7,0 – 7,6 – 8,5 (9,0) μm, σφαιρικά έως ευρέως ελλειψοειδή, Q = 1,00 – 1,04 – 1,09 – 1,21, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 1 (-1,2) μm, αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα, συνδεδεμένα σε ατελές έως σχεδόν πλήρες δίκτυο, μεμονωμένα επάρματα συχνά, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση συχνά (περιμετρικά) αμυλοειδής (Εικόνα 25: i-xiv). Βασίδια ροπαλόμορφα, με (1)(2)4 στηρίγματα, 35-60 x 9-14(-16) μm. Πλευρομακροκυστίδια απόντα. Χείλος ελάσματος ετερογενές, χειλομακροκυστίδια απόντα, παρακυστίδια κυλινδρικά, ακανόνιστα κυλινδρικά, δακτυλόμορφα, κορινόμορφα (*utriform*), σπανίως ροπαλόμορφα ή ωοειδή, συχνά με μια διακλάδωση, συχνά χωριζόμενα από σέπτα, σε κάποια δείγματα ελαφρώς παχύτοιχα, τελικά κύτταρα 10-27(-30) x 3,5-9 (-13) μm (Εικόνα 25: xv-xxiv). Επιδερμίδα πύλου με δομή υφοεπιθηλίου (*hyphoepithelium*) αποτελούμενη από ένα στρώμα από ελλειψοειδή, υποσφαιρικά έως σχεδόν σφαιρικά κύτταρα διαμέτρου 10-30 μm, στο πάνω μέρος του οποίου βρίσκονται έρπουσες υφές, τελικά κύτταρα ακανόνιστα κυλινδρικά, 8-20(-35) x 3-5,5(-7) μm (Εικόνα 25: xxv).

Ενδιαίτημα: Σε σκληρόφυλλα-αείφυλλα είδη *Quercus* (*Q. coccifera*, *Q. ilex*), ένα δείγμα και σε συστάδα *Q. ithaburensis* ssp. *macrolepis*.

Παρατηρήσεις:

Το *L. atlanticus* χαρακτηρίζεται στο πεδίο από τις πορτοκαλοκάστανες, κεραμιδί αποχρώσεις, τις τρίχες στη βάση του στύπου, το υδαρές λακτικό υγρό και την



Εικόνα 25: i-xxvii. *L. atlanticus*: i-xiv. Βασιδιοσπόρια, xv-xxiv. Παρακυστίδια στο χείλος του ελάσματος, xxv. Επιδερμίδα πύλου, xxvi-xxvii. Βασιδιοκάρπια (φωτογραφίες xxvi-xxvii: Πολέμης Η.). Μήκος μπάρας 10 μm.

παρουσία του σε τυπικά μεσογειακά ενδιαιτήματα με αείφυλλα-σκληρόφυλλα είδη *Quercus* (*Q. coccifera*, *Q. ilex*). Σε μικροσκοπικό επίπεδο διαχωρίζεται από το συγγενικό *L. subumbonatus* από τα σφαιρικά έως υποσφαιρικά βασιδιοσπόρια, που φέρουν χαμηλή διακόσμηση έως 1,2 (1,3) μm. Το *L. atlanticus* έχει καταγραφεί πρόσφατα για πρώτη φορά στην Ελλάδα (Πολέμης 2010), από τρία νησιά των

Κυκλάδων, σε τέσσερεις διαφορετικές τοποθεσίες: σε βλάστηση με *Q. coccifera* στα νησιά Αμοργός, Άνδρος και Νάξος, αλλά και σε συστάδα *Q. ithaburensis* ssp. *macrolepis* στην Άνδρο. Στην επόμενη ενότητα παρατίθεται αναλυτική συζήτηση για τις σχέσεις μεταξύ των ειδών *L. subumbonatus*, *L. atlanticus* και *L. seriffuus*.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αττικής, Όρος Υμηττός, σε *Quercus ilex* & *Pinus halepensis*, 15/11/06, συλλογή και αρχική ταυτοποίηση, ως *L. subumbonatus*, Μπούμπαρη Α., LGAM 2503.
2. Ν. Κυκλάδων, Αμοργός, στο έδαφος, κάτω από *Q. coccifera*, 09/01/2005, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP05-M139 0901/92.
3. Ν. Κυκλάδων, Άνδρος, στο έδαφος, κάτω από *Q. coccifera*, 07/10/2002, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP02-A388.
4. Ν. Κυκλάδων, Άνδρος, στο έδαφος, κάτω από *Q. ithaburensis* ssp. *macrolepis*, 09/10/2002, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP02-A421 0910/48.
5. Ν. Κυκλάδων, Νάξος, στο έδαφος, κάτω από *Q. coccifera*, 12/01/2005, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP05-N296 1201/30.
6. Ν. Κυκλάδων, Νάξος, στο έδαφος, κάτω από *Q. coccifera*, 30/11/2005, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP05-N388 3011/63.

Υλικό αναφοράς:

- *L. atlanticus*, leg. G. Pacioni, in Casoli, CH, 4/12/97, det. G. Lalli, AQUI n. 97/16.
- *L. atlanticus* (PAL 1)

- *Lactarius subumbonatus* Lindgr., *Bot. Notiser*: 200 (1845)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πίλος διαμέτρου 20-60 mm, ελαφρώς κυρτός στα νεαρά, επίπεδος, κοίλος έως χοανοειδείς στα ώριμα, κεντρική περιοχή πιεσμένη, κάποιες φορές με ύβο στο κέντρο, χείλος ελαφρώς γυριστό προς τα μέσα έως συχνά κυματιστό στα ώριμα, επιφάνεια ξηρή, συνήθως έντονα αδρή, ορισμένες φορές σχεδόν λεία, χρώματος σκούρο καφετί (snuff brown- date brown), σκούρο γκρι-καφέ έως καστανόμαυρο (cigar brown), ενίοτε με σκούρες καστανέρυθρες ή σκούρες κεραμιδί αποχρώσεις, κάποιες φορές με πιο ανοιχτόχρωμο χείλος. Ελάσματα ελαφρώς κατερχόμενα ή προσφυή με κατερχόμενες οδοντώσεις, μέτριας πυκνότητας, κρεμ, ωχροκίτρινα έως

κανελί στα ώριμα. Στύπος 30-75 x 4-15 mm, κυλινδρικός, λεπτυνόμενος προς τη βάση ή και την κορυφή, επιφάνεια ξηρή, λεία, χνοώδης στα νεαρά, στα ωριμότερα χρώματος ωχροκαστανό, κανελί, έως σκούρο πορτοκαλοκαφέ, τοπικά καλυμμένος από υπόλευκο μικροσκοπικό «χνούδι», ιδιαίτερα προς την κορυφή. Σάρκα κρεμ έως ανοιχτό κανελλί. Γεύση ελαφρώς καυτερή. Λακτικό υγρό διάφανο υδαρές έως υδαρές με λευκή απόχρωση, μη μεταχρωματιζόμενο. Οσμή όξινη έως πικάντικη στα φρέσκα βασιδιοκάρπια, στα αποξηραμένα πολύ έντονη, παρόμοια με το τσιμένι του παστουρμά. (Εικόνα 26: xxix-xxxii).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπóρια 6,2 – 7,0 – 8,1 – 9,4 x 5,3 – 6,0 – 7,0 – 7,9 (-8,0) μm , σφαιρικά έως ελλειψοειδή, Q= 1,02 - 1,13 - 1,19 - 1,50, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 1,3-1,5 (1,6) μm , αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα συνδεδεμένα σε ατελές δίκτυο, με συχνή παρουσία κλειστών βρόχων, τα κύρια επιμήκη επάρματα ενίοτε σε παράλληλη διάταξη μεταξύ τους, μεμονωμένα επάρματα συχνά, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση (περιμετρικά) αμυλοειδής (Εικόνα 26: i-xiv). Βασίδια ροπαλόμορφα, 38-55 x 9-13 μm , με 4 στηρίγματα. Πλευρομακροκυστίδια απόντα. Χείλος ελάσματος άγονο ή ετερογενές, χειλομακροκυστίδια απόντα, παρακυστίδια ακανόνιστα κυλινδρικά, δακτυλόμορφα, κορινόμορφα (utriform), ροπαλόμορφα, ανάποδα ωοειδή (obovoid), ανάποδα αχλαδόμορφα συχνά με μια διακλάδωση, συνήθως με ένα ή περισσότερα σέπτα, τελικά κύτταρα 10-28 (-35) x (4-) 5-14 (-16) (-20) μm , σε κάποια δείγματα ελαφρώς παχύτοιχα (Εικόνα 26: xv-xxvii). Επιδερμίδα πίλο υ με δομή υφοεπιθηλίου (hyphoepithelium) αποτελούμενη από ένα στρώμα από ελλειψοειδή, υποσφαιρικά έως σχεδόν σφαιρικά κύτταρα διαμέτρου 10-30 μm , στο πάνω μέρος του οποίου βρίσκονται έρπουσες υφές, πάχους 2-8 μm (Εικόνα 26: xxviii).

Ενδιαίτημα: Δάση με φυλλοβόλα είδη *Quercus*.

Παρατηρήσεις:

Το *L. subumbonatus* χαρακτηρίζεται στο πεδίο από τις σκούρες καστανές, σκούρες καστανέρυθρες, γκρι-καστανές έως καστανόμαυρες αποχρώσεις του πίλου, το υδαρές-λευκό λακτικό υγρό και την παρουσία σε βλάστηση με φυλλοβόλα είδη *Quercus*. Τα αποξηραμένα βασιδιοκάρπια παρουσιάζουν πολύ έντονη οσμή που θυμίζει το τσιμένι του παστουρμά. Όπως προέκυψε από την παρούσα μελέτη, μπορεί να διαχωριστεί σε μικροσκοπικό επίπεδο από το συγγενικό *L. atlanticus* από τα υποσφαιρικά έως ευρέως ελλειψοειδή βασιδιοσπóρια, που φέρουν υψηλή διακόσμηση έως 1,3 - 1,6 (1,7) μm αποτελούμενη κυρίως από επιμήκη επάρματα,



Εικόνα 26: i-xxxii. *L. subumbonatus*: i-xiv. Βασιδιοσπόρια, xv-xxvii. Παρακυστίδια στο χείλος του ελάσματος, xxviii. Επιδερμίδα πύλου, xxix-xxxii. Βασιδιοκάρπια (φωτογραφίες xxix-xxxi: Δεληβοριάς Π.). Μήκος μπάρας 10 μm.

αρκετά από τα οποία παρουσιάζουν εικόνα «πτερυγίου». Το *L. subumbonatus* καταγράφηκε πρόσφατα για πρώτη φορά στην Ελλάδα (Triantafyllou et al. 2009), σε δυο διαφορετικές τοποθεσίες: δάσος με φυλλοβόλα είδη *Quercus* στις ανατολικές πλαγιές του Λυκαίου Όρους του Ν. Αρκαδίας και δάσος με *Quercus frainetto* & *Abies borisii-regis* κοντά στη λίμνη Πλαστήρα του Ν. Καρδίτσας. Έκτοτε έχει αναφερθεί άλλη μια φορά, από δάσος *Castanea sativa* (Αθανασίου 2010). Στην επόμενη ενότητα παρατίθεται αναλυτική συζήτηση για τις σχέσεις μεταξύ των ειδών *L. subumbonatus*, *L. atlanticus* και *L. serifluus*.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με φυλλοβόλα *Quercus* spp., συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., 21/10/2006, ATHU-M 6201.
2. Ν. Αρκαδίας, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με φυλλοβόλα *Quercus* spp., συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., 21/10/2006, ATHU-M 6202.
3. Ν. Αρκαδίας, ανατολικές πλαγιές Λυκαίου όρους, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με φυλλοβόλα *Quercus* spp., συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., 6/11/2007, ATHU-M 6203.
4. Ν. Αρκαδίας, ανατολικές πλαγιές Λυκαίου όρους, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με φυλλοβόλα *Quercus* spp., συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., 4/12/2007, ATHU-M 6204.
5. Ν. Αρκαδίας, ανατολικές πλαγιές Λυκαίου όρους, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με φυλλοβόλα *Quercus* spp., συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., 4/12/2007, ATHU-M 6205.
6. Ν. Αρκαδίας, ανατολικές πλαγιές Λυκαίου όρους, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με φυλλοβόλα *Quercus* spp., συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., 28/10/2009, ATHU-M 8234 (MT 454).
7. Ν. Αρκαδίας, ανατολικές πλαγιές Λυκαίου όρους, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με φυλλοβόλα *Quercus* spp., συλλογή Τριανταφύλλου Μ. & Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., 13/11/2009, ATHU-M 8235 (MT 488).
8. Ν. Αρκαδίας, ανατολικές πλαγιές Λυκαίου όρους, Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 450 μ., σε δάσος με φυλλοβόλα *Quercus* spp., συλλογή Τριανταφύλλου

- M. & Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου M., 31/10/2010, LGAM 2010-0129 (MT 531).
9. N. Καρδίτσας, λίμνη Πλαστήρα, σε δάσος με *Quercus frainetto* & *Abies borisii-regis*, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., 7/9/2002, ATHU-M 6268.
10. Σε δάσος με *Quercus frainetto*, 16/11/09, συλλογή και ταυτοποίηση Αθανασίου Ζ., Ζ.Α.-3.

Υλικό αναφοράς:

- *L. subumbonatus* GENT- WR 413, Βέλγιο, σε *Quercus robur*.
- *L. subumbonatus* GENT- AV 06-104 (αρχικά προσδιορισμένο ως *L. serifluus*).
- *L. subumbonatus*, legit G. Lalli, in Verrico, Veio, AQ, 9/10/98, det. G. Lalli, quercia, AQUÍ n. 98/16.
- *L. subumbonatus* PAL 3.
- *L. subumbonatus* PAL 2 (αρχικά προσδιορισμένο ως *L. atlanticus*).

3.2.2.1. Οι σχέσεις μεταξύ των ειδών *L. atlanticus*, *L. serifluus* και *L. subumbonatus* - Μορφολογικά και οικολογικά γνωρίσματα

Το *L. atlanticus* διακρίνεται μακροσκοπικά από τα πολύ συγγενικά είδη του τμήματος *Olentes* (*L. serifluus* και *L. subumbonatus*) κυρίως από τις πορτοκαλοωχροκάστανες έως ωχροκαστανοκόκκινες (orange-fawn, reddish-fawn) αποχρώσεις και την σχεδόν λεία επιφάνεια του πύλου (Basso 1999). Μάλιστα, στην πρωτότυπη περιγραφή του είδους αυτού (Bon 1975) αναφέρεται ότι οι πορτοκαλοκόκκινες αποχρώσεις του πύλου θυμίζουν τα είδη *L. volemus* και *L. rugatus*. Ένα άλλο μακροσκοπικό χαρακτηριστικό το οποίο αναφέρεται σαν διακριτικό γνώρισμα από τη Basso (1999) είναι η έντονα τριχωτή βάση του στύπου. Σύμφωνα με την ίδια συγγραφέα, το *L. atlanticus* είναι ένα μεσογειακό είδος, που συναντάται κυρίως σε βλάστηση με το αείφυλλο-σκληρόφυλλο δέντρο *Quercus ilex* (αριά). Οι Heilmann-Clausen et al. (1998) αναφέρουν το είδος αυτό, χωρίς να παραθέτουν περιγραφή και σχολιάζουν ότι πρόκειται για ένα διακριτό είδος, το οποίο όμως είναι άγνωστο στη Β. Ευρώπη.

Το *L. subumbonatus* σύμφωνα με την πρωτότυπη περιγραφή του Lindgren από το 1845 είναι ένα είδος με σκούρο γκρι-καφέ πύλο, με τραχιά επιφάνεια και συχνά πτυχωτό χείλος. Σύγχρονοι ερευνητές συμφωνούν με τα προαναφερθέντα και

προσθέτουν όσον αφορά στον χρωματισμό: ώδης-καστανός έως καστανοκόκκινος, σκούρος κεραμιδί, ή καστανόμαυρος σύμφωνα με τους Heilmann-Clausen et al. (1998), σκούρος καστανός, σκούρος ωχροκάστανος έως καστανόμαυρος σύμφωνα με τη Basso (1999). Το *L. subumbonatus* απαντάται σε δάση φυλλοβόλων που σχηματίζονται από είδη του γένους *Quercus*. Κατά την Basso (1999) είναι είδος συχνό σε περιοχές της Μεσογείου.

Τόσο οι Heilmann-Clausen et al. (1998) όσο και η Basso (1999) περιγράφουν το *L. serifluus* ως ξεχωριστό είδος, το οποίο χαρακτηρίζεται από καστανοκόκκινο έως πορτοκαλοκαφέ πύλο με καστανοκίτρινο χείλος (Heilmann-Clausen et al. 1998), ή καστανοκόκκινο, ωχροκάστανο έως σκούρο καστανό πύλο (Basso 1999). Επίσης η υφή του πύλου είναι λιγότερο τραχιά σε σχέση με το *L. subumbonatus*, αλλά δεν είναι λεία όπως στο *L. atlanticus*. Το *L. serifluus* απαντάται σε δάση φυλλοβόλων, κυρίως κοντά σε είδη *Quercus* και *Castanea*. Κατά τους Heilmann-Clausen et al. (1998) αποτελεί είδος σχετικά σπάνιο στη Β. Ευρώπη.

Από τις περιγραφές του *L. serifluus* φαίνεται ότι σε επίπεδο μακρομορφολογίας τα χαρακτηριστικά του είναι ενδιάμεσα σε σχέση με τα είδη *L. atlanticus* και *L. subumbonatus*. Κατά τους Heilmann-Clausen et al. (1998) τα *L. serifluus* και *L. subumbonatus* θα μπορούσαν όμως να αποτελούν και ποικιλίες του ίδιου είδους, με το *L. serifluus* να αποτελεί την πιο ανοιχτόχρωμη και ζωηρή χρωματικά ποικιλία. Επιπλέον, οι Heilmann-Clausen et al. (1998) αναφέρουν ότι στη Β. Ευρώπη το όνομα *L. serifluus* χρησιμοποιείται και για δείγματα με σκούρες αποχρώσεις στον πύλο, τα οποία ίδιοι κατατάσσουν στο *L. subumbonatus*. Αυτές οι παρατηρήσεις υποδεικνύουν τη σύγχυση που επικρατεί μεταξύ των δυο αυτών τάξα. Αξίζει να αναφερθεί ότι για τα είδη *L. serifluus* και *L. subumbonatus* δεν έχουν επιλεγεί "τυπικά δείγματα" (type specimens), γεγονός που καθιστά ακόμη δυσκολότερη την επίλυση των μεταξύ τους σχέσεων. Αλλά και η κατάσταση για τη σχέση των *L. atlanticus* και *L. serifluus* είναι αρκετά περίπλοκη καθώς, η πρωτότυπη περιγραφή του de Candolle (1815) για το *L. serifluus* αναφέρει καστανοκόκκινες αποχρώσεις στον πύλο και βασίζεται σε δείγματα που έχουν συλλεχθεί σε περιβάλλον με βλάστηση από *Quercus ilex*, στα περίχωρα του Μονπελιέ στη Ν. Γαλλία. Δεν είναι καθόλου απίθανο τα δείγματα στα οποία βασίστηκε η πρωτότυπη περιγραφή του *L. serifluus* να ανήκαν στην πραγματικότητα στο ίδιο είδος με τα δείγματα βάση των οποίων περιγράφηκε μετά από ενάμιση αιώνα το είδος *L. atlanticus*. Για τη Basso (1999), η ταύτιση του *L. serifluus* με το *L. atlanticus* δεν είναι απίθανη, αλλά θεωρεί

ότι το σχόλιο που υπάρχει στην πρωτότυπη περιγραφή του de Candolle (1815) για το *L. serifluus*, σχετικά με το μήκος του στύπου (το οποίο είναι μικρότερο ή ίσο με τη διάμετρο του πύλου), δεν ανταποκρίνεται στη μακρομορφολογία του *L. atlanticus*. Επιπροσθέτως, και για τα τρία είδη αναφέρεται σαν κοινό χαρακτηριστικό τους η έντονη μυρωδιά που αναδύουν ως οσμή ‘*Pentamogium* bugs’ ή ως οσμή που μοιάζει με αυτή του *L. quietus* και μάλιστα με ένταση που διαφοροποιείται μεταξύ των ειδών (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999).

Σύμφωνα με τη πρόσφατη βιβλιογραφία, τα είδη *L. atlanticus*, *L. serifluus*, *L. subumbonatus* διαχωρίζονται μεταξύ τους, σε μικροσκοπικό επίπεδο, κυρίως βάση του σχήματος των παρακυστιδίων του χείλους του ελάσματος (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999). Παρόλα αυτά οι περιγραφές των παραπάνω ερευνητών για τα σχήματα των παρακυστιδίων του κάθε είδους είναι ως ένα βαθμό αντιφατικές. Κατά τη Basso (1999), τα παρακυστίδια του *L. subumbonatus* είναι υποσφαιρικά, ροπαλόμορφα, αχλαδόμορφα, μπαλονοειδή, σπανιότερα αναμεμειγμένα με κυλινδρικά στοιχεία. Για το *L. serifluus*, η ίδια αναφέρει ροπαλόμορφα έως σχεδόν κυλινδρικά παρακυστίδια, ορισμένα με σέπτα, άλλα παραμορφωμένα, αλλά πιο «κανονικά» από τα παρακυστίδια του *L. atlanticus* (τα οποία παρουσιάζει πιο ακανόνιστα, συχνά διακλαδιζόμενα και με προεξοχές ή περισφύξεις). Επίσης σημειώνει ότι το *L. serifluus* φέρει σπόρια με πιο ατελές δίκτυο από το *L. atlanticus*. Αντίθετα, σύμφωνα με τους Heilmann-Clausen et al. (1998), το *L. serifluus* φέρει ροπαλόμορφα, ανάποδα ωοειδή ή υποσφαιρικά παρακυστίδια, ενώ το *L. subumbonatus* φέρει πιο επιμηκυμένα παρακυστίδια, σχήματος κυλινδρικού, ροπαλόμορφου, ανάποδα ωοειδούς ή με σφαιρική διόγκωση στην κορυφή.

Τα δείγματα ερμπαρίου του τμήματος *Olentes* που υπήρχαν διαθέσιμα προς μελέτη (Ελληνικά δείγματα και συγκριτικό υλικό από ξένα ερμπάρια) ανήκαν κυρίως στα είδη *L. atlanticus* και *L. subumbonatus* (με βάση τα ονόματα των αρχικών προσδιορισμών). Μόνο ένα δείγμα προσδιορισμένο στο είδος *L. serifluus* ήταν διαθέσιμο προς μελέτη, το οποίο και δεν αποτελεί Ελληνικό υλικό. Μακροσκοπικά όλα αυτά τα δείγματα μπορούν να χωριστούν σε δυο ομάδες. Από τη μια υπήρχαν αποξηραμένα βασιδιοκάρπια με ανοιχτόχρωμες πορτοκαλοκάστανες-καστανοκόκκινες αποχρώσεις και τρίχες στη βάση του στύπου. Για όσα από αυτά τα δείγματα υπήρχαν σημειώσεις που αφορούσαν στον ξενιστή, στις περισσότερες περιπτώσεις ήταν αείφυλλο-σκληρόφυλλο είδος *Quercus* (*Q. coccifera* και *Q. ilex*).

Τα περισσότερα από αυτά τα δείγματα ήταν προσδιορισμένα ως *L. atlanticus* και έχουν συλλεχθεί και ταξινομηθεί από τον Πολέμη (2010). Η άλλη ομάδα αποτελείται από αποξηραμένα δείγματα με σκούρες καστανόμαυρες αποχρώσεις και χωρίς εμφανείς τρίχες στη βάση του στύπου. Τα περισσότερα από αυτά τα δείγματα παρουσίαζαν μια χαρακτηριστική έντονη και πικάντικη οσμή που θυμίζει το τσιμέντι του παστουρμά, έχουν συλλεχθεί σε δάση με φυλλοβόλα είδη *Quercus* και ήταν προσδιορισμένα ως *L. subumbonatus*. Αρκετά από τα ελληνικά δείγματα αυτής της ομάδας έχουν συλλεχθεί από τη γράφουσα και έχουν μελετηθεί σε φρέσκια κατάσταση, τα δε μακροσκοπικά χαρακτηριστικά τους είναι τα τυπικά του είδους *L. subumbonatus* αλλά καλύπτουν και τη σχετική μορφολογική ποικιλομορφία που αναφέρεται στη βιβλιογραφία και για το είδος *L. serifluus*. Αξίζει να σημειωθεί ότι μεταξύ των ανοιχτόχρωμων δειγμάτων υπήρχε ένα δείγμα αρχικά προσδιορισμένο ως *L. subumbonatus*, όπως και μεταξύ των σκουρόχρωμων δειγμάτων, ένα δείγμα προσδιορισμένο ως *L. atlanticus*. Το μοναδικό δείγμα, που ήταν αρχικά προσδιορισμένο ως *L. serifluus*, παρουσίαζε σκούρες καστανόμαυρες αποχρώσεις.

Επιπλέον, από τη συνολική μελέτη στην παρούσα εργασία όλων των διαθέσιμων Ελληνικών δειγμάτων του τμήματος *Olentes* αλλά και των δειγμάτων του συγκριτικού υλικού, διαπιστώθηκαν κάποια κοινά μικροσκοπικά χαρακτηριστικά, μεταξύ των δειγμάτων της κάθε χρωματικής ομάδας, που τα διακρίνουν από τα δείγματα της άλλης χρωματικής ομάδας και τα οποία ή δεν αναφέρονται είτε δεν τονίζονται σαν διακριτικά γνωρίσματα μέχρι σήμερα στη βιβλιογραφία. Βάση των λεπτών αυτών διαφορών φάνηκε ότι μπορεί να γίνει διάκριση στο μικροσκοπικό επίπεδο μεταξύ των ανοιχτόχρωμων καστανοκόκκινων δειγμάτων που ανήκουν στο είδος *L. atlanticus* και των δειγμάτων με τις πιο σκούρες καστανές έως καστανόμαυρες αποχρώσεις στον πίλο που ανήκουν στο είδος *L. subumbonatus*.

Το κύριο μικροσκοπικό γνώρισμα που προτείνεται στην πρόσφατη βιβλιογραφία (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999) για το διαχωρισμό των ειδών αυτών αφορά στο σχήμα των παρακυστιδίων του χείλους του ελάσματος, για το οποίο έγιναν οι ακόλουθες παρατηρήσεις. Τα δείγματα *L. subumbonatus* που μελετήθηκαν φέρουν μεγάλη ποικιλομορφία ως προς το σχήμα των παρακυστιδίων (ακανόνιστα κυλινδρικό έως σχεδόν σφαιρικό, δακτυλόμορφο, κορινόμορφο, ροπαλόμορφο, ανάποδο ωοειδές, ανάποδο αχλαδόμορφο, φέρουν συχνά ένα ή παραπάνω σέπτα και μπορεί να φέρουν μια διακλάδωση), η οποία καλύπτει την

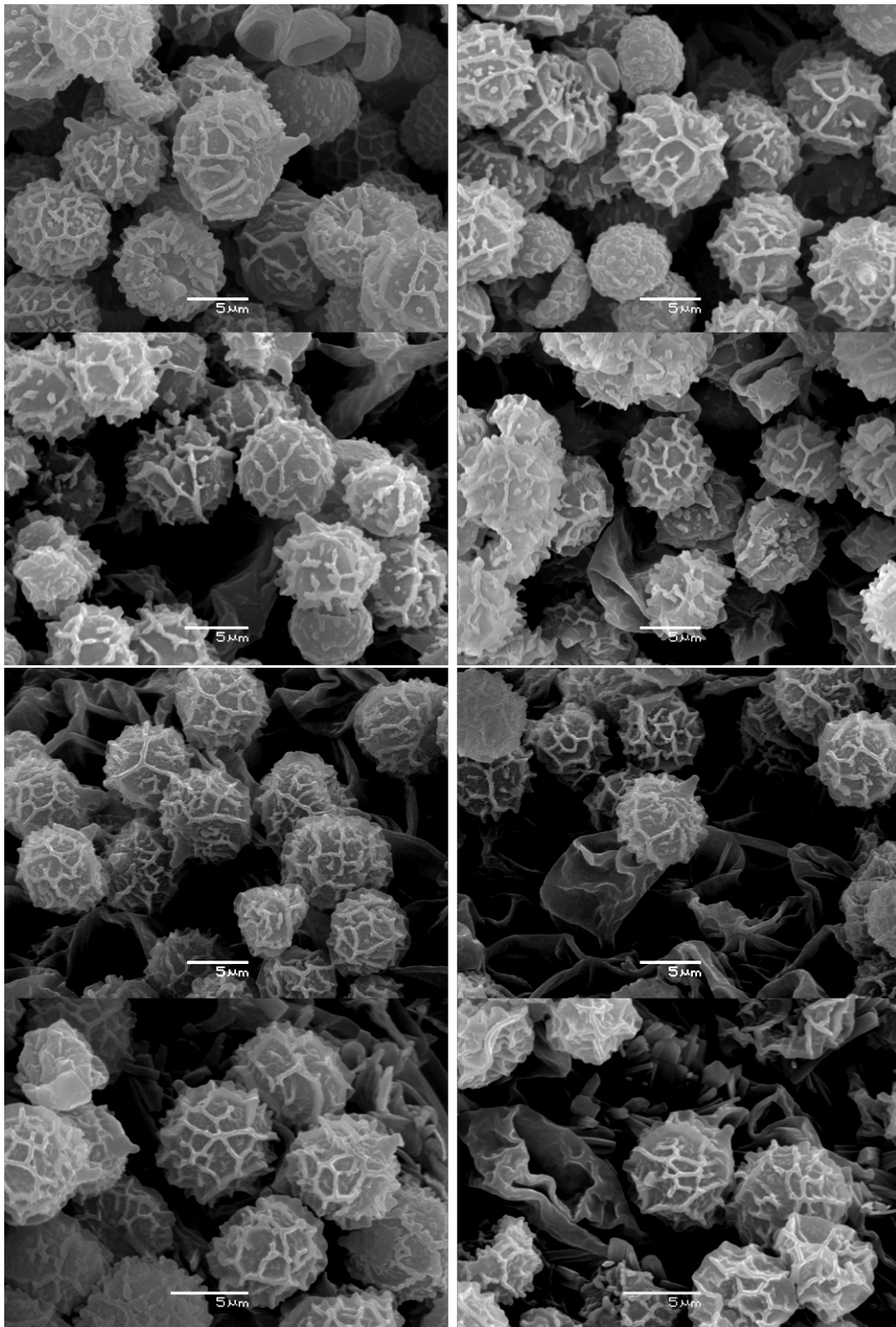
ποικιλομορφία που αναφέρεται για το είδος *L. subumbonatus* αλλά και για το *L. serifluus*. Τα δείγματα *L. atlanticus* φέρουν παρακυστίδια σχήματος κυλινδρικού, ακανόνιστα κυλινδρικού ή κορίνας και σπανιότερα σχήματος ροπαλόμορφου ή ωοαδούς, ενώ φέρουν συχνά ένα ή παραπάνω σέπτα και μπορεί να έχω και μια διακλάδωση. Οι παρατηρήσεις της Basso (1990) για το σχήμα των παρακυστιδίων, ως διακριτικό γνώρισμα μεταξύ των ειδών *L. subumbonatus* και *L. atlanticus*, υποστηρίζονται ως ένα βαθμό από τα μικροσκοπικά δεδομένα της παρούσας εργασίας, αν και λόγω της αλληλεπικάλυψης που παρατηρείται στον χαρακτήρα αυτό σε ορισμένα δείγματα των δυο ειδών, δεν κρίνεται τελικά ως απόλυτα αξιόπιστο κριτήριο. Να σημειωθεί ότι λόγω της ετερογενούς φύσης του χείλους του ελάσματος και στα δυο είδη, είναι εύκολο κάποια ανώριμα βασίδια να θεωρηθούν εσφαλμένα ως ροπαλόμορφα παρακυστίδια.

Το δεύτερο σημαντικό μικροσκοπικό γνώρισμα αφορά στο σχήμα των βασιδιοσπορίων, το οποίο παρατηρήθηκε να διαφέρει μεταξύ των δύο ειδών. Αναλυτικότερα, από την παρούσα μελέτη των μικροσκοπικών χαρακτήρων αποδείχτηκε τόσο για τα ελληνικά δείγματα όσο και για τα δείγματα του συγκριτικού υλικού, ότι το είδος *L. atlanticus* χαρακτηρίζεται από βασιδιοσπόρια σφαιρικά έως υποσφαιρικά, σπανιότερα ευρέως ελλειψοειδή. Η παρατήρηση αυτή τεκμηριώνεται και από το λόγο μήκος/πλάτος των βασιδιοσπορίων, ο οποίος για όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν είχε τιμές $Q = 1,00 - 1,04 - 1,09 - 1,24$ (ενώ ο αντίστοιχος λόγος όπως υπολογίζεται μόνο για τα ελληνικά δείγματα είναι $Q = 1,00 - 1,04 - 1,09 - 1,21$). Το σχήμα των βασιδιοσπορίων των δειγμάτων που ανήκουν στο είδος *L. subumbonatus* κυμαίνεται από σφαιρικό έως ελλειψοειδές, με τους μέσους όρους του λόγου μήκος/πλάτος (Q) όλων των δειγμάτων να υποδηλώνουν σχήμα υποσφαιρικό έως ευρέως ελλειψοειδές, με τιμές $Q = 1 - 1,08 - 1,19 - 1,5$ (ενώ μόνο για τα ελληνικά δείγματα ο λόγος μήκος/πλάτος παίρνει τιμές $Q = 1,02 - 1,13 - 1,19 - 1,5$). Οι Heilmann-Clausen et al. (1998) παραθέτουν στοιχεία μόνο για το *L. subumbonatus*, δηλ. τιμές του λόγου μήκος/πλάτος παραπλήσιες με τις παρατηρούμενες στην παρούσα μελέτη, με $Q = 1,00-1,25$ (όριο 95%), $1,09-1,18$ (μέσοι όροι). Αντίθετα, η Basso (1999) περιγράφει και τα δυο είδη, αλλά δεν θεωρεί το σχήμα των βασιδιοσπορίων τους ως διακριτικό γνώρισμα μεταξύ τους. Εντούτοις αναφέρει βασιδιοσπόρια υποσφαιρικά έως ευρέως ελλειψοειδή για το *L. atlanticus* και σφαιρικά έως υποσφαιρικά για το *L. subumbonatus*, παρατηρήσεις όμως που δεν συμφωνούν με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας.

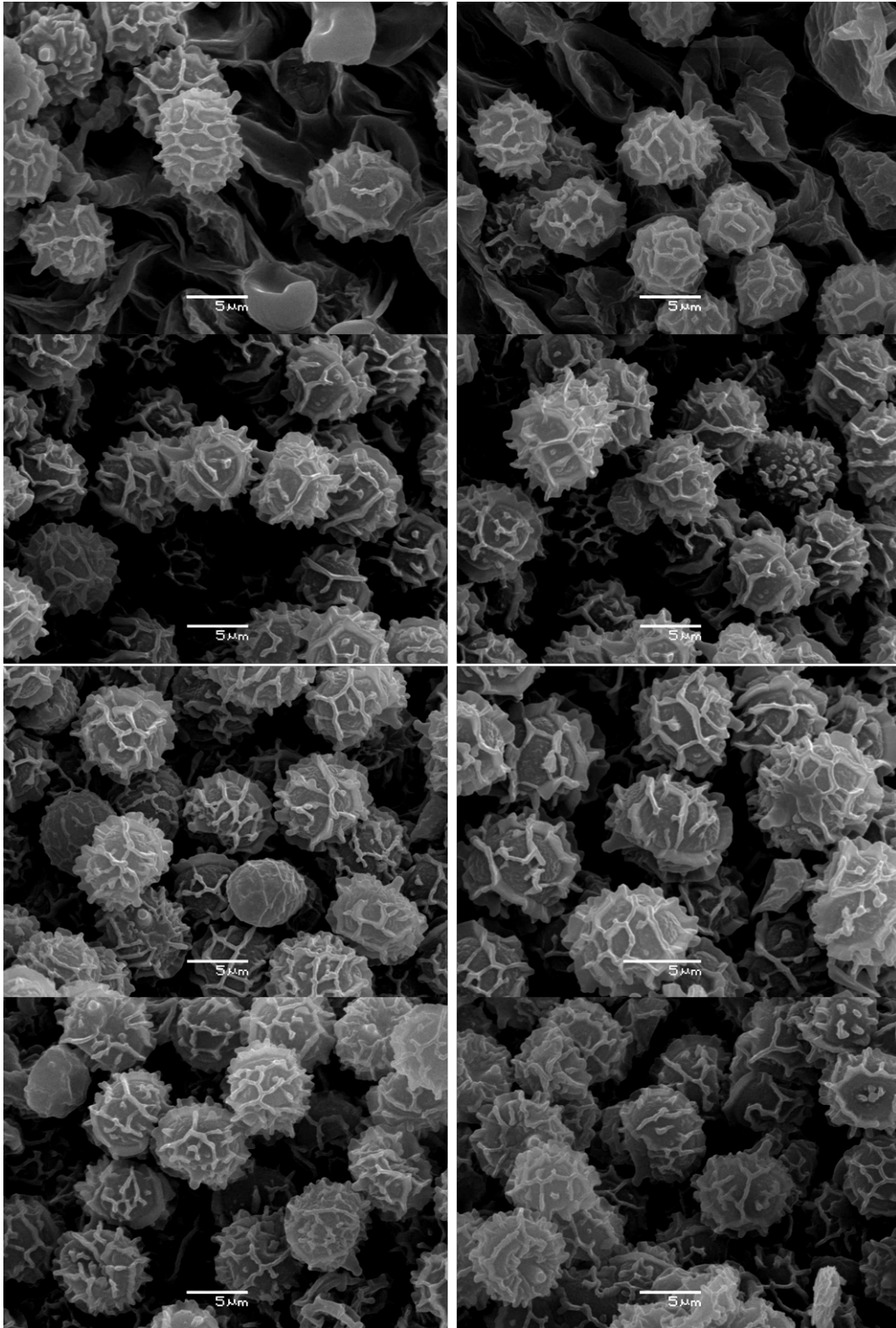
Ένα επιπλέον μικροσκοπικό γνώρισμα που παρατηρήθηκε για το είδος *L. atlanticus* αφορά το ύψος των αμυλοειδών επαρμάτων που σχηματίζουν τη διακόσμηση των βασιδιοσπορίων, το οποίο σε όλα τα δείγματα δεν ξεπερνάει το 1,2 (1,3) μm , ενώ στα Ελληνικά μόνο δείγματα βρέθηκε να είναι ακόμη χαμηλότερη και να μην ξεπερνάει το 1 (1,2) μm . Το ύψος της διακόσμησης των βασιδιοσπορίων των δειγμάτων *L. subumbonatus* υπερβαίνει σε όλα τα δείγματα την τιμή του 1,2 μm και παρουσιάζει τιμές μέχρι 1,3 - 1,6 (1,7) μm , ενώ αν ληφθούν υπόψη μόνο τα Ελληνικά δείγματα, οι αντίστοιχες τιμές φθάνουν τα 1,3 - 1,5 (1,6) μm . Οι παρατηρούμενες τιμές του ύψους της διακόσμησης των δειγμάτων *L. subumbonatus* που μελετήθηκαν αυξάνουν το άνω όριο της ποικιλομορφίας που αναφέρεται στη βιβλιογραφία για το συγκεκριμένο είδος (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999).

Μελέτη των βασιδιοσπορίων με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης: Από την εξέταση των βασιδιοσπορίων 16 δειγμάτων, που ανήκαν και στα δυο είδη (μαζί με το μοναδικό δείγμα *L. serifluus*, που δεν φαίνεται να διαφοροποιείται από τα δείγματα *L. subumbonatus*), με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης φάνηκε έντονα η διαφορά στο ύψος της διακόσμησης ανάμεσα στα δυο είδη (Εικόνες 27, 28). Στα δείγματα που ανήκουν στο *L. atlanticus* η διακόσμηση αποτελείται από χαμηλά σε ύψος, επιμήκη επάρματα κυρίως συνδεδεμένα μεταξύ τους, με την παρουσία αρκετών κλειστών βρόχων. Τα πιο ψηλά από αυτά τα επάρματα παρουσιάζουν, σε κάποια βασιδιοσπόρια και σε όλο τους το μήκος περίπου το ίδιο ύψος, ενώ σε άλλα έχουν σχετικά ακανθώδη εμφάνιση εμφανίζοντας την εικόνα ενός οδοντωτού επιμήκους επάρματος. Στα δείγματα που ανήκουν στο *L. subumbonatus* η διακόσμηση αποτελείται κυρίως από ψηλά, επιμήκη επάρματα που εμφανίζουν σε όλο τους το μήκος το ίδιο ύψος και παρουσιάζουν χαρακτηριστική εικόνα «πτερυγίου». Συχνά υπάρχουν και «πτερύγια» που δεν έχουν σε όλο τους το μήκος το ίδιο ύψος με όψη κυματοειδή ή οδοντωτή. Πολλά από τα επιμήκη αυτά επάρματα, που μοιάζουν με πτερύγια, διατρέχουν μεγάλο κομμάτι της περιφέρειας του βασιδιοσπορίου, ενώ άλλα διακόπτονται. Κάποια εμφανίζονται παράλληλα μεταξύ τους, αλλά η παρουσία συνδέσεων είναι πολύ συχνή, με αποτέλεσμα να υπάρχουν αρκετοί κλειστοί βρόχοι. Σε αρκετά δείγματα *L. atlanticus* το δίκτυο που σχηματίζεται είναι πιο πυκνό και πιο ολοκληρωμένο (φέρει περισσότερους κλειστούς βρόχους) από το δίκτυο που εμφανίζεται σε δείγματα του *L. subumbonatus*. Λόγω όμως της ποικιλομορφίας που παρατηρείται τόσο μεταξύ των δειγμάτων *L. atlanticus*, όσο και μεταξύ των

δειγμάτων *L. subumbonatus*, ως προς την πυκνότητα του δικτύου και την παρουσία κλειστών βρόχων, η τελευταία παρατήρηση δεν μπορεί να γενικευτεί.



Εικόνα 27: Φωτογραφίες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Βασιδιοσπόρια Ελληνικών δειγμάτων *L. atlanticus*.



Εικόνα 28: Φωτογραφίες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Βασιδιοσπόρια Ελληνικών δειγμάτων *L. subumbonatus*.

Ελληνικά δείγματα προσδιορισμένα ως *L. serifluus* δεν υπάρχουν και στο συγκριτικό υλικό, από τα τρία ερμπάρια του εξωτερικού που μελετήθηκε, υπήρχε μονάχα ένα

δείγμα προσδιορισμένο ως *L. serifluus*. Το αποξηραμένο αυτό δείγμα είναι καστανόμαυρο και ταυτίζεται και σε μικροσκοπικό επίπεδο με τα δείγματα *L. subumbonatus*. Το αποτέλεσμα αυτό αν και δε μπορεί να γενικευτεί λόγω του ότι βασίστηκε σε ένα μόνο δείγμα *L. serifluus*, αποτελεί μια ένδειξη ότι δείγματα προσδιορισμένα ως *L. serifluus* και *L. subumbonatus* ανήκουν στο ίδιο είδος. Πρόσφατα οι Verbeken & Vesterholt (2008) συνωνυμούν τα *L. serifluus* (DC.: Fr.) Fr. και *L. subumbonatus* Lindgr., χρησιμοποιώντας το όνομα *L. serifluus* (DC.: Fr.) Fr.. Η άποψη αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι στα ελληνικά δείγματα *L. subumbonatus* που μελετήθηκαν σε φρέσκια κατάσταση, παρατηρήθηκε ποικιλομορφία σε κάποια μακροσκοπικά χαρακτηριστικά, τα οποία επικαλύπτουν την αντίστοιχη ποικιλομορφία που περιγράφεται για το *L. serifluus*.

3.2.2.2. Φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ των ειδών *L. atlanticus*, *L. serifluus* και *L. subumbonatus* με χρήση της ITS-5,8S rDNA περιοχής

Για τη διαλεύκανση των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των ειδών *L. atlanticus*, *L. serifluus* και *L. subumbonatus*, εκτός από δεδομένα μακρο- και μικρομορφολογίας που προέκυψαν από τη μελέτη όλων των διαθέσιμων δειγμάτων, χρησιμοποιήθηκαν επίσης δεδομένα από την αλληλούχηση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας της ITS-5,8S rDNA περιοχής του γονιδιώματος από 11 δείγματα. Χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις επιπλέον αλληλουχίες της ίδιας περιοχής από τη GenBank/NCBI, οι οποίες ανήκουν στα παραπάνω ή σε συγγενικά είδη. Οι δυο από αυτές προέρχονται από τα *L. serifluus* και *L. subumbonatus* (AY332558 και DQ658878, αντίστοιχα), ενώ οι άλλες δυο προέρχονται από είδη της Αμερικανικής ηπείρου (*L. rubidus* DQ822820 και *L. subserifluus* EU819486). Ως εξωτερική ομάδα (outgroup) για τη διαμόρφωση του σχετικού δενδρογράμματος χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα είδη του υπογένους *Russularia* που δεν ανήκουν στο τμήμα *Olentes*, αλλά στο τμήμα *Russularia* (*L. quietus* EF493299, *L. decipiens* AJ549961, *L. fulvissimus* AF204679 και *L. aurantiacus* AJ555565).

Όπως φαίνεται από το φυλογενετικό δέντρο που σχηματίστηκε (Εικόνα 29) τα 11 δείγματα του τμήματος *Olentes* που αναλύθηκαν διαχωρίζονται σε δυο διακριτές ομάδες με σημαντική στατιστική υποστήριξη (99% bootstrap support). Στον ένα κλάδο (I) περιλαμβάνονται τέσσερα δείγματα *L. atlanticus* (EP05-N296, EP02-A421,

	N-296	A-421	LGAM-2503	AQ-97/16	PAL-1	subserifluus	MT-290	MT-531	AQ-98/16	PAL-3	serifluus	submbon	PAL-2	AV-06104	rubidus	quietus	aurantiacus	fulvissimus	deceptus
EP05 N-296	99.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EP02 A-421	99.7	99.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LGAM-2503	99.6	99.6	99.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AQ-97/16	99.7	99.7	99.7	99.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PAL-1	97.7	97.7	97.7	97.6	97.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
subserifluus	94.5	94.5	94.5	94.3	94.5	93.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MT-290	94.3	94.3	94.3	94.2	94.3	93.7	99.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MT-531	94.5	94.5	94.5	94.3	94.5	93.8	100.0	99.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AQUI-98/16	93.3	93.3	93.3	93.2	93.3	92.7	98.6	98.5	98.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PAL-3	94.6	94.6	94.6	94.4	94.6	93.7	99.7	99.5	99.7	99.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
serifluus	94.0	94.0	94.0	93.8	94.0	93.3	99.5	99.4	99.5	98.9	99.8	-	-	-	-	-	-	-	-
submbonatus	94.5	94.5	94.5	94.3	94.5	93.8	99.7	99.6	99.7	99.0	100.0	99.8	99.9	-	-	-	-	-	-
PAL-2	94.6	94.6	94.6	94.5	94.6	94.0	99.9	99.7	99.9	98.8	99.8	99.7	99.9	-	-	-	-	-	-
AV-06104	93.8	93.8	93.8	93.6	93.8	93.0	98.2	98.0	98.2	96.8	98.3	98.1	98.2	98.3	-	-	-	-	-
rubidus	91.0	91.0	91.0	90.8	91.3	90.6	91.1	90.9	91.1	90.0	91.0	90.7	91.1	91.3	90.4	-	-	-	-
quietus	91.8	91.8	91.8	91.6	91.8	90.5	91.2	91.0	91.2	90.8	91.2	91.0	91.2	91.4	90.6	90.8	-	-	-
aurantiacus	92.3	92.3	92.3	92.2	92.3	91.2	91.7	91.5	91.7	90.5	91.7	91.1	91.7	91.8	91.3	91.5	96.0	-	-
fulvissimus	92.8	92.8	92.8	92.7	92.8	91.8	93.3	93.1	93.3	92.1	93.4	92.9	93.3	93.5	92.8	92.5	96.9	96.8	-
deceptus																			

Πίνακας 4: Συγγένειες οι οποίες προέκυψαν από τη σύγκριση των προσδιορισμένων αλληλουχιών (εκφρασμένες σε ποσοστά επί τοις εκατό, percentage homology) μεταξύ των δειγμάτων *Lactarius* που συμπεριλήφθηκαν στην φυλογενετική ανάλυση (βλ. και Εικόνα 29). Τα δείγματα που συγκρίθηκαν αναφέρονται με τους κωδικούς τους (όσα προέρχονται από την παρούσα μελέτη) ή με σύντμηση του επιθέτου τους (όσα προέρχονται από την GenBank).

Στον άλλο κλάδο (II) ομαδοποιούνται τέσσερα δείγματα *L. subumbonatus* (ATHUM 6203- MT 290, LGAM 2010-0129- MT 531, AQU1 98/16 και PAL 3), μαζί με το μόνο δείγμα που ήταν προσδιορισμένο ως *L. serifluus* (AV 06-104) καθώς και μαζί με ένα δείγμα προσδιορισμένο αρχικά ως *L. atlanticus* (PAL 2), με τα δυο τελευταία όμως να παρουσιάζουν μακρο- και μικρομορφολογία που ταιριάζει στο είδος *L. subumbonatus* (βλ. σελ. 131 στα Αποτελέσματα). Στον ίδιο κλάδο ομαδοποιήθηκαν επίσης και δυο αλληλουχίες που αντιστοιχούν στα είδη *L. subumbonatus* και *L. serifluus*, τα οποία ανακτήθηκαν από την GenBank (τα μόνα που ήταν διαθέσιμα), επιβεβαιώνοντας την ορθότητα των μοριακών προσδιορισμών των δειγμάτων της παρούσας μελέτης. Εντός του κλάδου II και ειδικότερα μεταξύ των δειγμάτων που προαναφέρθηκαν σημειώθηκε επίσης υψηλή ομολογία: 98,5-100%. Επιπλέον, η ομάδα των εν λόγω δειγμάτων (*L. subumbonatus* και *L. serifluus*) εμφανίζει μια σχετική συγγένεια με το αμερικανικό στέλεχος *L. rubidus* DQ822820 παρουσιάζοντας ομολογία της τάξης του 96,8-98,3%. Τέλος, ιδιαίτερα σημαντική κρίνεται η περιορισμένη φυλογενετική συγγένεια μεταξύ των κλάδων *L. subumbonatus* και *L. atlanticus* (ομολογία: 93,2-94,6%), γεγονός που υποδεικνύει ότι τα δύο τάξα αποτελούν διακριτά είδη αφού εμφανίζουν απόκλιση που ξεπερνάει το 5% στην ομολογία των αλληλουχιών που εξετάστηκαν (Dentinger et al. 2011).

Ιδιαίτερη αναφορά μπορεί να γίνει σε δύο από τα 11 δείγματα που εντάχθηκαν στην μοριακή ανάλυση. Το δείγμα LGAM 2503, που ήταν αρχικά προσδιορισμένο ως *L. subumbonatus*, αλλά που έφερε μακροσκοπικά και μικροσκοπικά χαρακτηριστικά που παραπέμπουν στο είδος *L. atlanticus* (ανοιχτόχρωμος πορτοκαλοκαφέ πύλος, τρίχες στη βάση του στύπου, συλλεγμένο σε βλάστηση με *Q. ilex*) ομαδοποιήθηκε στο δενδρόγραμμα που προέκυψε από την ανάλυση των μοριακών δεδομένων μαζί με τα υπόλοιπα δείγματα *L. atlanticus* (επιβεβαιώνοντας τα μορφολογικά αποτελέσματα της παρούσας εργασίας). Τα μοριακά δεδομένα υποστηρίζουν άλλον ένα επαναπροσδιορισμό που πραγματοποιήθηκε βάση της μακρο- και μικρομορφολογίας και αφορά ένα δείγμα από το συγκριτικό υλικό ξένου ερμπαρίου (PAL 2), το οποίο ήταν αρχικά προσδιορισμένο στο είδος *L. atlanticus*, παρόλο που έφερε σκούρες καστανόμαυρες αποχρώσεις. Το δείγμα αυτό εντάχθηκε στο δενδρόγραμμα που προέκυψε από την ανάλυση των μοριακών δεδομένων μαζί με τα υπόλοιπα δείγματα *L. subumbonatus*.

Αξιοσημείωτο ήταν επίσης πως το μοναδικό δείγμα *L. serifluus* που μελετήθηκε (*L. serifluus* AV 06-104) δεν παρουσίασε κάποια μακροσκοπική ή

μικροσκοπική διαφορά από τα δείγματα *L. subumbonatus* και στο δενδρόγραμμα στοιχίστηκε μαζί με τα δείγματα αυτά όπως και μια ακόμη αλληλουχία του ίδιου είδους από την GenBank (AY332558). Παρόλο που δεν υπήρχαν περισσότερα δείγματα *L. serifluus* διαθέσιμα για μελέτη τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να θεωρηθούν σαν μια ισχυρή ένδειξη ότι τα *L. subumbonatus* και *L. serifluus* αποτελούν στην πραγματικότητα ένα είδος, όπως πρόσφατα προτάθηκε από τους Verbeken & Vesterholt (2008), οι οποίοι όμως δεν χρησιμοποίησαν μοριακές προσεγγίσεις για να επιβεβαιώσουν τον ισχυρισμό τους.

Μια επιπλέον παρατήρηση που προέκυψε από το φυλογενετικό δέντρο αποτελεί η ομαδοποίηση των δειγμάτων *L. atlanticus* με το στέλεχος *L. subserifluus* EU819486, σε έναν ευρύτερο κλάδο με σχετικά υψηλή ομολογία μεταξύ τους (97,6-97,7%). Το *L. subserifluus* αποτελεί ένα είδος που έχει μέχρι στιγμής καταγραφεί μόνο στη Β. Αμερική, αλλά τόσο η μακρο- όσο και η μικρομορφολογία του όπως παρουσιάζεται στη βιβλιογραφία (Hesler & Smith 1979) φαίνεται αρκετά κοντινή σε αυτή του *L. atlanticus*. Μια ευρύτερη ομαδοποίηση σημειώθηκε επίσης και μεταξύ των δειγμάτων *L. subumbonatus* με το αμερικανικό στέλεχος *L. rubidus* DQ822820 (με αρκετά υψηλή ομολογία και σε αυτή την περίπτωση: 96,8-98,3%). Το *L. fragilis* var. *rubidus* Hesler & A.H. Sm. = *L. rubidus* (Hesler & A.H. Sm.) Methven (nom. inval.) αποτελεί ένα ακόμη είδος της Β. Αμερικής, το οποίο παρουσιάζει κατά τους Hesler & Smith (1979) κοκκινωπά χρώματα στον πύλο, απουσία μακροκυστιδίων -σε αντίθεση με την τυπική ποικιλία *L. fragilis* var. *fragilis*- και αρωματική οσμή στα αποξηραμένα βασιδιοκάρπια. Πάντως, τα στελέχη *L. rubidus* DQ822820 και *L. subserifluus* EU819486 εμφάνισαν μεταξύ τους χαμηλή ομολογία (93%). Όπως παρουσιάζεται στην μονογραφία των Hesler & Smith (1979) στη Β. και Κ. Αμερική υπάρχουν αρκετά τάξα που φέρουν παρόμοια μορφολογικά χαρακτηριστικά με τα ευρωπαϊκά είδη *L. atlanticus* και *L. subumbonatus*, ενώ πρόσφατα περιγράφηκε επίσης και ένα νέο είδος, το *L. strigosipes* (Montoya & Bandala 2008), αρκετά κοντινό στο *L. subserifluus*.

Ο διαχωρισμός των δειγμάτων που μελετήθηκαν σε δυο ομάδες, με βάση τον χρωματισμό του πύλου όπως παρατηρήθηκε στα αποξηραμένα βασιδιοκάρπια (αλλά συνεκτιμώντας και τις υπάρχουσες πληροφορίες για τον χρωματισμό των νωπών δειγμάτων), ο οποίος υποστηρίζεται περαιτέρω από διαφορετικά μικροσκοπικά χαρακτηριστικά, αλλά και διακριτά ενδαιτήματα-ξενιστές, υποστηρίζεται πλέον και από τα μοριακά δεδομένα. Η φυλογενετική ανάλυση λοιπόν επιβεβαιώνει την ύπαρξη

δυο διακριτών ειδών, δηλ. του *L. atlanticus* με τις κεραμιδί αποχρώσεις του πύλου και τα τριχίδια στη βάση του στύπου, το οποίο απαντάται σε τυπικά ενδιαιτήματα της Μεσογείου σχηματίζοντας εκτομυκορριζική σχέση με αείφυλλα-σκληρόφυλλα είδη *Quercus* (π.χ. *Q. coccifera*, *Q. ilex*) και του *L. subumbonatus* με τις σκούρες καστανές έως καστανόμαυρες αποχρώσεις στα βασιδιοκάρπια, που απαντάται σε δάση φυλλοβόλων ειδών του γένους *Quercus*. Το τελευταίο φέρει κάποια επιπλέον μακρομορφολογικά χαρακτηριστικά που το διαχωρίζουν από το *L. atlanticus*, όπως το συχνά έντονα πτυχωτό χείλος, η συνήθως τραχιά επιφάνεια του πύλου και η έντονη οσμή που παρουσιάζουν τα βασιδιοκάρπια μετά την αποξήρανση που θυμίζει το τσιμένι του παστουρμά. Μέσα από τη μελέτη που πραγματοποιήθηκε, φάνηκε ότι τα δυο είδη εμφανίζουν και μικροσκοπικές διαφορές, κυρίως στο σχήμα των βασιδιοσπορίων και στο ύψος της διακόσμησης αυτών, οι οποίες μπορούν να συνεισφέρουν στη διάκριση των δυο ειδών και αναλύθηκαν στην αντίστοιχη ενότητα της παρούσας εργασίας.

3.3. Υπογένος *Plinthogalus* (Burl.) Hesler & A.H. Sm.

Το υπογένος *Plinthogalus* αποτελεί έναν διακριτό μορφολογικά και μοριακά κλάδο μέσα στο γένος *Lactarius*, με καταγεγραμμένα περίπου 70 είδη έως σήμερα. Τα είδη που ανήκουν στο υπογένος *Plinthogalus* έχουν εξάπλωση τόσο στις εύκρατες όσο και στις τροπικές περιοχές και χαρακτηρίζονται από τα μουντά χρώματα σε στύπο και πύλο και τη ξηρή, θαμπή επιφάνεια του πύλου που συχνά παρουσιάζει βελούδινη υφή. Ο μεταχρωματισμός του λακτικού υγρού ή της σάρκας στα είδη του υπογένους είναι εντυπωσιακός. Σε αρκετά είδη το λακτικό υγρό ή η σάρκα (στα σημεία επαφής με το λακτικό υγρό) μεταχρωματίζονται σε ροδόχρωμα ή ακόμα σε κοκκινωπά, κοκκινωπά έως μαύρα, καφετί, βιολετί, λιλιά, κίτρινα έως ροδόχρωμα, μπλε, και κίτρινα έως μπλε χρώματα. Χαρακτηριστικά είναι και τα μικροσκοπικά γνωρίσματα των ειδών του υπογένους *Plinthogalus*, με τα βασιδιοσπόρια να είναι κυρίως υποσφαιρικά έως ευρέως ελλειψοειδή και να φέρουν εντυπωσιακά επιμήκη επάρματα με ύψος 1-3 μm, σε δικτυωτή ή παράλληλη μεταξύ τους διάταξη, την παρουσία περιμετρικά αμυλοειδούς περιοχής πάνω από την ομφαλική απόφυση, τη συνηθισμένη απουσία μακροκυστιδίων και την επιδερμίδα του πύλου να παρουσιάζει συνήθως διάταξη σε δυο στρώματα: ένα κατώτερο στρώμα από ισοδιαμετρικά κύτταρα και ένα ανώτερο

στρώμα αποτελούμενο από αντικλινείς υφές (trichoepithelium-palisade-trichopalisade) (Heilmann-Clausen et al., 1998, Le et al. 2007b, Stubbe et al. 2008). Φυλογενετικές μελέτες των τελευταίων ετών επιβεβαιώνουν ότι το υπογένος *Plinthogalus* αποτελεί ένα μονοφυλετικό κλάδο (Nuytinck et al. 2003, Eberhardt & Verbeken 2004, Shimono et al. 2004). Η πιο πρόσφατη ταξινομική κατάταξη του υπογένους είναι αυτή της Verbeken (2001) που το χωρίζει σε τρία τμήματα. Τα τμήματα *Nigrescentes* και *Pseudofuliginosi* περιέχουν 7 είδη, ενδημικά στην Αφρικανική ήπειρο, ενώ τα υπόλοιπα είδη περιέχονται στο τμήμα *Plinthogali*.

Όλα τα ευρωπαϊκά είδη του υπογένους περιέχονται στο τμήμα *Plinthogali* και χαρακτηρίζονται από λευκό λακτικό υγρό που ή μεταχρωματίζει τη σάρκα είτε μεταχρωματίζεται και το ίδιο σε ροδόχρωμο (Heilmann-Clausen et al., 1998).

3.3.1. Τμήμα *Plinthogali* (Burl.) Singer

- *Lactarius azonites* (Bull.) Fr., *Epicr. Syst. Mycol.* (Upsaliae): 343 (1838) [1836-1838]

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πίλος διαμέτρου 25-100 mm, ακανόνιστα κυρτός έως ελαφρώς χοανοειδής σε ώριμα βασιδιοκάρπια, κεντρική περιοχή πιεσμένη, χείλος οδοντωτό, επιφάνεια θαμπή, υφή ελαφρώς βελούδινη, μπεζ με καστανή απόχρωση (clay buff), ανοιχτό καστανό (milky coffee) έως γκρι-καστανό (drab) στην κεντρική περιοχή και προς το χείλος κρεμ-μπεζ (buff-cream). Ελάσματα προσφυή, μετρίως πυκνά, λευκωπά, κρεμ έως υποκίτρινα (whitish, cream, pale ochraceous), άνισου μήκους, αναστομούμενα. Στύπος 28-70x7-23 mm, κυλινδρικός, λευκός. Σάρκα αρχικά λευκή, μεταχρωματιζόμενη σε ροδόχρωμη στα τραυματισμένα σημεία. Λακτικό υγρό λευκό, μεταχρωματιζόμενο πάνω στη σάρκα σε ροδόχρωμο.

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια (6,5) 7,3 - 7,9 - 8,6 - 9,7 (11,0) x (6,0-) 6,4 - 7,0 - 7,7- 8,8 (9,0) μm, σφαιρικά έως ευρέως ελλειψοειδή, Q = 1,00 - 1,12 - 1,13 - 1,33, διακόσμηση ύψους έως 1,6 μm, αποτελούμενη από επιμήκη επάρματα, συνδεδεμένα σε ατελές δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση συνήθως αμυλοειδής. Βασίδια ροπαλόμορφα 45-73 x 10-14 μm. Πλευρομακροκυστίδια απόντα. Χείλος ελάσματος άγωνα, παρακυστίδια 20-56 x 4.5-8.5 μm, ατρακτοειδή, ακανόνιστα κυλινδρικά. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από ένα κατώτερο στρώμα από ισοδιαμετρικά

κύτταρα και ένα ανώτερο στρώμα από έρπουσες ή ανορθωμένες υφές (hyphoepithelium – trichoepithelium), τελικά κύτταρα κυλινδρικά, 25-60 (-75) x 4-7 μm, με ενδοκυτταρική χρωστική.

Ενδιαίτημα: Δάσος με *Quercus* spp.

Παρατηρήσεις:

Ένα είδος αρκετά παραπλήσιο στο *L. azonites* είναι το *L. fuliginosus*, το οποίο ξεχωρίζει από το *L. azonites* από τον σχεδόν ομοιόχρωμο με τον πύλο στύπο (σε αντίθεση με τον λευκό στύπο του *L. azonites*), από τα μη αναστομούμενα ελάσματα, καθώς και από τη χαμηλότερη διακόσμηση των βασιδιοσπορίων (μέχρι 1 μm). Τα υπόλοιπα Ευρωπαϊκά είδη του τμήματος *Plinthogali* παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές σε σχέση με το *L. azonites*. Τα είδη *L. lignyotus*, *L. picinus* φέρουν έντονα σκούρες αποχρώσεις σε πύλο και στύπο και βρίσκονται σε δάση με *Picea* (σε αντίθεση με το *L. azonites* που σχηματίζει εκτομυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Quercus*). Τα *L. pterosporus*, *L. romagnesii* και *L. ruginosus* βρίσκονται μεν σε δάση φυλλοβόλων, αλλά διαφοροποιούνται σε μικροσκοπικό επίπεδο με βάση τη διακόσμηση των βασιδιοσπορίων τους, η οποία αποτελείται από εντυπωσιακά, ψηλά επάρματα έως 2-2,5 μm. Το *L. acris* είναι το μοναδικό από τα Ευρωπαϊκά είδη του τμήματος *Plinthogali* που η επιφάνεια του πύλου παρουσιάζει γλοιώδη υφή και που μικροσκοπικά σε τομή της επιδερμίδας του πύλου παρατηρείται ζελατινώδης ουσία (Heilmann-Clausen et al., 1998). Στην Ελλάδα, εκτός από *L. azonites*, έχουν καταγραφεί επίσης τα είδη *L. acris* (Αθανασίου 2010) και *L. fuliginosus* (Athanasios & Theochari 2001, Κωνσταντινίδης 2006). Η πρώτη καταγραφή του *L. fuliginosus* (Athanasios & Theochari 2001) δεν συνοδεύεται από μακροσκοπική ή μικροσκοπική περιγραφή. Δυστυχώς, τα παραπάνω δείγματα δεν ήταν διαθέσιμα προς μελέτη ώστε να συμπεριληφθούν στην παρούσα εργασία.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. *L. azonites*, συλλογή & ταυτοποίηση Αθανασίου Ζ., Ζ.Α.-1.
2. Ν. Αιτωλοακαρνανίας, Άνω Χώρα Ναυπακτίας, Καστανοδάσος, δάσος με *Castanea sativa* & *Abies* sp., 10/6/2002, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP 1106/24.
3. Ν. Αρκαδίας: Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 400 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 20/10/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 6206.
4. Ν. Αρκαδίας: Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 400 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 26/10/2006, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 6207.

5. Ν. Αρκαδίας: Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 400 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 28/10/2009, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 8226 (MT 441).
6. Ν. Αρκαδίας: Ίσιωμα Καρυών, υψόμετρο περίπου 400 μ., σε δάσος με *Quercus* spp., 13/11/2009, συλλογή Τριανταφύλλου Μ. & Δεληβοριάς Π., ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ATHU-M: 8227 (MT 497).

3.4. Υπογένο *Lactifluus* (Burl.) Hesler & A.H. Sm.

Το υπογένο *Lactifluus* προτάθηκε από τους Hesler & Smith (1979), οι οποίοι επίσης πρότειναν και το τμήμα *Lactifluus* ως ένα από τα τέσσερα τμήματα του υπογένους. Οι Lalli & Pacioni (1992) χωρίζουν το τμήμα *Lactifluus* (σε παγκόσμια κλίμακα) στα εξής τρία υποτμήματα: *Volemi*, *Luteoli* και *Rugati*. Η Verbeken (1998a) θεωρεί τις διαφορές μεταξύ των τριών αυτών υποτμημάτων αρκετά σημαντικές ώστε να τα ανάγει στην κατηγορία του τμήματος. Προτείνει έτσι το τμήμα *Lactifluus* με τυπικό είδος (type species) το *L. volemus* και το τμήμα *Rugati* με τυπικό είδος το *L. rugatus*, ενώ αναφέρει ότι δεν έχει μελετήσει αντιπροσώπους του υποτμήματος *Luteoli*.

Οι Heilmann-Clausen et al. (1998) στην μονογραφία τους για τα Ευρωπαϊκά είδη του γένους παραθέτουν την περιγραφή για ένα είδος του τμήματος *Lactifluus*, το *L. volemus*, το οποίο απαντάται και στην Ευρώπη, αλλά αναφέρουν επίσης και το *L. rugatus*, ως ένα είδος μακροσκοπικά πολύ κοντινό στο *L. volemus*, που εξαπλώνεται κυρίως στη Νότια Ευρώπη, χωρίς να μνημονεύουν την ταξινομική του θέση μέσα στο γένος. Η Basso (1999) κατατάσσει στο τμήμα *Lactifluus* τρία είδη με ευρωπαϊκή εξάπλωση, τα *L. volemus*, *L. rugatus* και *L. luteolus*.

- *Lactarius luteolus* Peck, *Bull. Torrey Bot. Club* 23: 412 (1896)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 7,0 - 9,1 - 11,3 (12,5) x 5,6 - 6,8 - 8,1 μm, ευρέως ελλειψοειδή έως ελλειψοειδή, Q = 1,13 - 1,34 - 1,56, με προεξέχουσα ομφαλική απόφυση, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 1 (-1,2) μm από μεμονωμένα κωνικά επάρματα και κάποια κοντά, επιμήκη επάρματα, τα οποία δεν εμφανίζουν συνδέσεις, περιοχή πάνω από την

ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής (Εικόνα 30: xii-xiv). Βασίδια 65-77 x 8-12 μm , στενά ροπαλόμορφα, κυλινδρικά με κυρτώσεις (flexuous), στηρίγματα έως 7 (-13) μm (Εικόνα 30: xx). Πλευρομακροκυστίδια 30-60 x 5-8 μm , κυλινδρικά με κυρτώσεις, ακανόνιστα, με υποσφαιρική διόγκωση στην κορυφή (capitate), συχνά με σέπτα, μερικά ελαφρώς παχύτοιχα (Εικόνα 30: xx). Χείλος ελάσματος ετερογενές, χειλομακροκυστίδια 32-77 x 4-10 μm , κυλινδρικά, ακανόνιστα, με υποσφαιρική διόγκωση στην κορυφή, συχνά με σέπτα, μερικά διακλαδιζόμενα, μερικά ελαφρώς παχύτοιχα. Επιδερμίδα πύλου με δυο στρώματα: άνω στρώμα με πάχος έως 300 μm , αποτελούμενο από πολύ μακριές, ανορθωμένες, τριχοειδείς υφές, 260-300 x 4-7 μm , ελαφρώς παχύτοιχες, ορισμένες με διόγκωση στην κορυφή, με λίγα σέπτα και κατώτερο στρώμα αποτελούμενο από υποσφαιρικά κύτταρα (Εικόνα 30 xviii).

Ενδιαίτημα: Βλάστηση με *Quercus* sp.

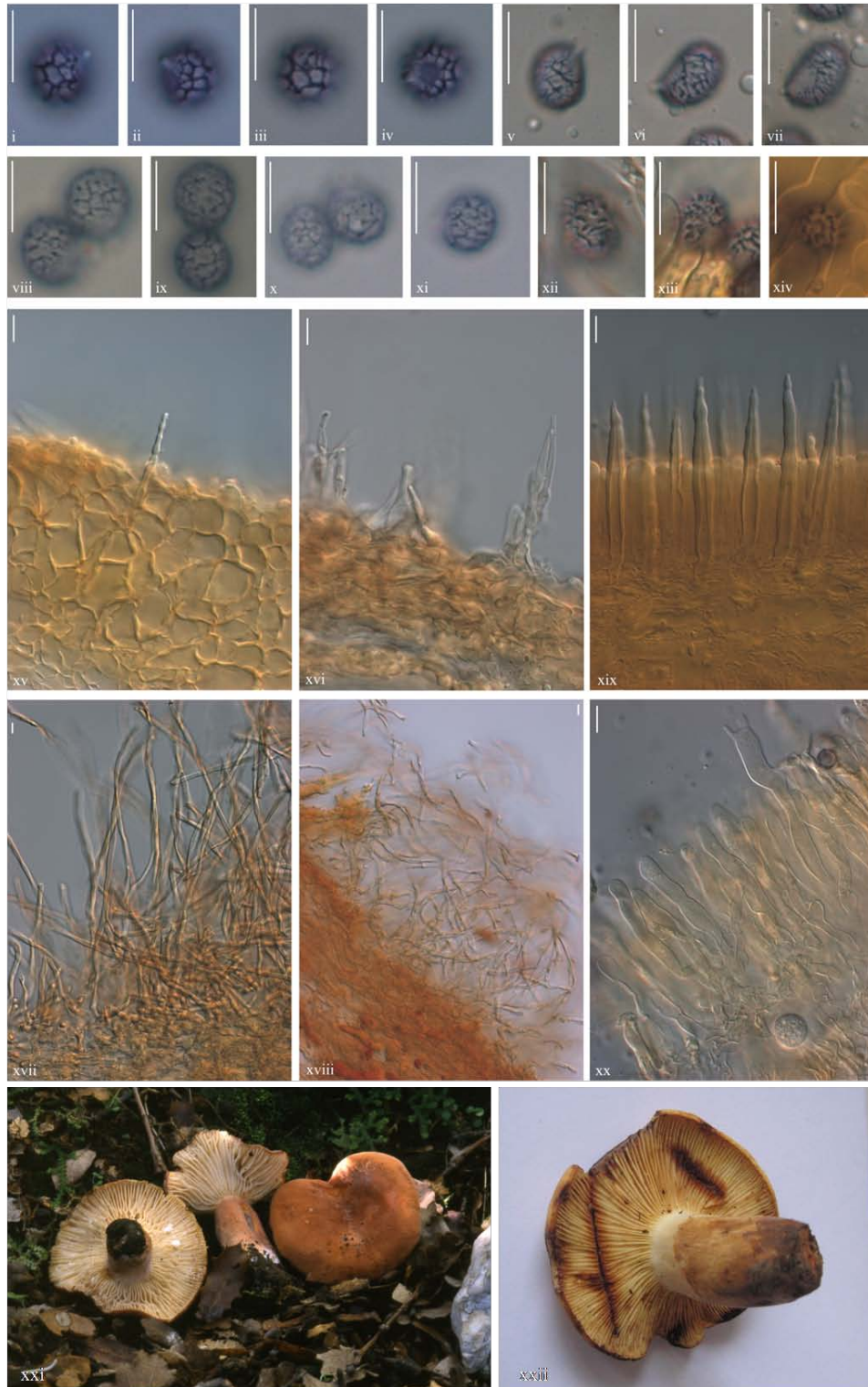
Παρατηρήσεις:

Το *L. luteolus* είναι ένα είδος που στην Ευρώπη βρίσκεται κυρίως σε μεσογειακά ενδιαιτήματα, κοντά σε είδη *Quercus*. Στο πεδίο αναγνωρίζεται από τη λευκή, λευκομπεζ απόχρωση του πύλου και το λευκό λακτικό υγρό που μεταχρωματίζει τη σάρκα σε σκούρο καφέ. Σε μικροσκοπικό επίπεδο, γνωρίσματα όπως η δομή της επιδερμίδας του πύλου, τα κωνικά, απομονωμένα επάρματα των βασιδιοσπορίων (τα οποία είναι σχετικά ασυνήθιστα, τουλάχιστον στα Ευρωπαϊκά είδη του γένους), καθώς και το σχήμα των μακροκυστιδίων, καθιστούν την ταυτοποίηση δειγμάτων του είδους εύκολη (Basso 1999, Kränzlin 2005, Lalli & Pacioni 1992). Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που αξίζει να μνημονευτούν είναι το μέγεθος και σχήμα των βασιδίων του δείγματος που μελετήθηκε (Εικόνα 30: xx): Στις περισσότερες περιπτώσεις είναι μακρύτερα από τα πλευροκυστίδια και λόγω του σχήματός τους κάποια από τα ανώριμα βασίδια (βασιδιόλες) μπορούν να θεωρηθούν εσφαλμένα ως κυστίδια. Παρόμοιες διαστάσεις και σχήμα βασιδίων και πλευροκυστιδίων αναφέρει και ο Kränzlin (2005) για το συγκεκριμένο είδος (βασίδια: 45-90 x 8-11 μm , πλευροκυστίδια: 50-65 x 5-7 μm). Το δείγμα που μελετήθηκε αποτελεί την πρώτη και μοναδική μέχρι στιγμής καταγραφή αυτού του είδους στην Ελλάδα (δεν έχει δημοσιευτεί η ύπαρξη του μέχρι τώρα).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Θεσσαλονίκη, Στίβος Θεσσαλονίκης, σε *Quercus* sp., FRI 1081.

3.4.1. Τμήμα *Rugati* (Pacioni & Lalli) Verbeken



Εικόνα 30: i-xiv. Βασιδιοσπόρια: i-iv. *L. volemus*, v-vii. *L. rugatus*, viii-xi. *L. vellereus*, xii-xiv. *L. luteolus*, xv-xviii. Επιδερμίδα πύλου: xv. *L. volemus*, xvi. *L. rugatus*, xvii. *L. vellereus*, xviii. *L. luteolus*, xix. Παχύτοιχα πλευροκυστίδια (πλευρολαμπροκυστίδια) του *L. volemus*, xx. Βασίδιο και πλευροκυστίδια του *L. luteolus*, xxi-xxii. Βασιδιοκάρπια: xxi. *L. rugatus* (φωτογραφία Πολέμης Η.), xxii. *L. volemus*. Μήκος μπάρας 10 μm.

- *Lactarius rugatus* Kühner & Romagnesi, *Bull. Trimest. Soc. Mycol. Fr.* 69: 362 (1954) [1953]

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών (Πολέμης 2010):

Πίλος 6-11 cm, αρχικά κυρτός με περιφέρεια έντονα συνεστραμμένη, τελικά λίγο βυθισμένος στο κέντρο, με περιφέρεια ακανόνιστα κυματοειδή, κεραμιδί, σκωριόχρωμος έως πορτοκαλοκίτρινος, επιφάνεια λεία, έως κάπως βελούδινης υφής, στεγνή. Ελάσματα αραιά, παχιά, προσφυή, ωχροκίτρινα, αργά μεταχρωματιζόμενα από το λατικό καστανά. Στύπος έως 3-5 x 2,0-3,5 cm, κυλινδρικός, ομοιόχρωμος του πύλου, επιφάνεια λεία. Σάρκα λευκή, πολύ σκληρή, οσμή ασθενής αλλά σε ώριμα βασιδιώματα έντονη ψαρίλας ή ρέγγας, γεύση ήπια. Λατικό ύγρο άφθονο, λευκό, καφετιάζει αργά σ' επαφή με τα ελάσματα. (Εικόνα 30: xxi)

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπώρα 7,3 - 8,5 - 8,65 - 9,5 x 5,4 - 6,25 - 6,4 - 7,2 (7,5) μm, ελλειψοειδή, Q = 1,23 - 1,35 - 1,36 - 1,50, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 0,5 μm, αποτελούμενη από μακριά, λεπτά, επιμήκη επάρματα, διατεταγμένα σε σχεδόν πλήρες δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής (Εικόνα 30: v-vii). Βασίδια 50-62 x 10-12 μm, στενά ροπαλόμορφα έως ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια απόντα. Χείλος ελάσματος ετερογενές, χειλομακροκυστίδια απόντα. Επιδερμίδα πύλου με δομή τριχοεπιθηλίου, τελικά κύτταρα στο πάνω στρώμα 30-75 x 3-5 (-8) μm, παχύτοιχα, συχνά με σέπτα, κατώτερο στρώμα αποτελούμενο από υποσφαιρικά κύτταρα, διαμέτρου 15-45 μm (Εικόνα 30: xvi).

Ενδιαίτημα: Δάση με θερμόφυλλα-πλατύφυλλα είδη, αλλά και αείφυλλα είδη *Quercus*.

Παρατηρήσεις:

Το *L. rugatus* είναι ένα είδος με εξάπλωση στη Ν. Ευρώπη και ειδικότερα στη Μεσόγειο, απαντάται σε θερμόφιλα δάση πλατύφυλλων δέντρων, αλλά και σε περιοχές με μακκία βλάστηση (Lalli & Pacioni 1992, Basso 1999). Μακροσκοπικά θυμίζει αρκετά το *L. volemus*, του οποίου τα βασιδιοκάρπια σχηματίζονται στις αρχές του καλοκαιριού, αντίθετα από αυτά του *L. rugatus* που σχηματίζονται κυρίως κατά τους φθινοπωρινούς μήνες. Τα δύο είδη διαχωρίζονται εύκολα μεταξύ τους (αλλά και από τα υπόλοιπα είδη του γένους) βάση των ιδιαίτερων μικροσκοπικών τους γνωρισμάτων. Η απουσία μακροκυστιδίων και τα ελλειψοειδή βασιδιοσπώρα είναι γνωρίσματα τα οποία παραπέμπουν στο είδος *L. rugatus*. Ένα μακροσκοπικό διακριτικό γνώρισμα μεταξύ των δυο ειδών αποτελεί ο μεταχρωματισμός της σάρκας

κατά την αντίδραση με FeSO₄. Στο *L. rugatus* η σάρκα μεταχρωματίζεται σε ροδόχρωμη, ενώ στο *L. volemus* σε πρασινωπή (Basso 1999). Σύμφωνα με την Verbeke (1998a) η απουσία πλευροκυστιδίων είναι κοινό γνώρισμα για τα είδη του τμήματος *Rugati*, στο οποίο κατατάσσει είδη των εύκρατων περιοχών (όπως τα *L. rugatus*, *L. hygrophoroides*) αλλά και ενδημικά είδη των τροπικών περιοχών της Αφρικής. Να σημειωθεί ότι στην εργασία τους οι Lalli & Pacioni (1992) εσφαλμένα αναφέρουν ότι το *L. rugatus* έχει κυστίδια, γεγονός που οφείλεται όπως σημειώνει η Verbeke (1998a) στη σύγχυση μεταξύ ψευδοκυστιδίων και αληθών κυστιδίων. Η συλλογή από τη Λέσβο που μελετήθηκε, διαπιστώθηκε πως ήταν μικτή συλλογή από δείγματα *L. rugatus* και από άλλα είδη του γένους *Lactarius*, τα οποία έφεραν επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από περικλινείς έως συμπλεκόμενες υφές και δεν ανήκουν στο είδος αυτό. Το *L. rugatus* καταγράφηκε στην Ελλάδα για πρώτη φορά από τους Polemis et al. (2007) και έκτοτε έχει αναφερθεί ξανά κυρίως σε περιοχές με φυλλοβόλα, αλλά και αείφυλλα είδη *Quercus*.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Κυκλάδων, Άνδρος, σε μικτή συστάδα *Q. coccifera* & *Q. pubescens*, 7/10/2002, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP02-A393 0710/21.
2. Ν. Λέσβου, Λέσβος, 12/12/09, συλλογή Σπανέλης Στ., ταυτοποίηση Πολέμης Η., EP 1212/7.

3.4.2. Τμήμα *Lactifluus* (Burl.) Hesler & A.H. Sm.

- *Lactarius volemus* (Fr.:Fr.) Fr., *Epicr. syst. mycol.* (Upsaliae): 344 (1838) [1836-1838]

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πύλος διαμέτρου 45 mm, κυρτός, επιφάνεια ξηρή-θαμπή, απαλή, με απόχρωση ώχρας, σκούρο μουσταρδί έως κανελλί (ochre, fulvous, cinnamon). Ελάσματα ελαφρώς κατερχόμενα, υποκίτρινα (pale ochraceous). Στύπος 30x15 mm, κυλινδρικός, επιφάνεια απαλή, χρώματος κανελλί έως σκούρου μουσταρδί (cinnamon to fulvous), στην κορυφή κρεμ-κιτρινωπή (yellowish cream). Σάρκα λευκωπή, μεταχρωματιζόμενη σε καφέ στα τραυματισμένα σημεία. Μυρωδιά πικάντικη, για κάποιους δυσάρεστη, σαν καπνιστή ρέγγα. Λακτικό υγρό λευκό έως υδαρές, μεταχρωματιζόμενο σε επαφή με τη σάρκα σε καφέ (Εικόνα 30: xxii).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 7,4 - 8,3 - 9,3 - 11,2 (11,5) x (7,0) 7,1 - 7,9 - 8,6 - 10,1 (10,65) μm , σφαιρικά έως υποσφαιρικά, $Q = 1,00 - 1,05 - 1,09 - 1,35$, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους έως 1 μm , αποτελούμενη από παχιά επιμήκη επάρματα, συνδεδεμένα σε πλήρες δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση συχνά αμυλοειδής (Εικόνα 30: i-iv). Βασίδια 46-66 x 8-10 μm , ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια (πλευρολαμπροκυστίδια) άφθονα, 52-110 x (4-) 5-9 (-10) μm , λογχοειδή, έντονα παχύτοιχα, πάχος τοιχώματος 2-4 μm , κορυφή συνήθως μυτερή, καμιά φορά και με απαλές περισφύξεις, ή ακόμα και διχαλωτή (Εικόνα 30: xix). Χείλος ελάσματος άγνοο, χειλομακροκυστίδια (χειλολαμπροκυστίδια) 40-57 x 5-5,5 (-6,5) μm , λογχοειδή, έντονα παχύτοιχα, κορυφή μυτερή, ή με απαλές περισφύξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από δυο στρώματα: Ανώτερο στρώμα αποτελούμενο από αντικλινή παχύτοιχα τριχοειδή στοιχεία, 13-110 x (2,5-) 3-5,5 (-6)(-7) μm και κατώτερο στρώμα από ισοδιαμετρικά κύτταρα, διαμέτρου 13-25 μm (lamprotrichoepithelium) (Εικόνα 30: xv).

Ενδιαίτημα: Βλάστηση με πλατύφυλλα είδη όπως *Castanea sativa* και *Quercus* sp., αλλά και σε μικτά δάση με *Castanea sativa* και *Abies* sp.

Παρατηρήσεις:

Το *L. volemus* αναγνωρίζεται στο πεδίο από τις κιτρινοκαφέ έως πορτοκαλοκαφέ αποχρώσεις του πύλου, από την έντονη οσμή που θυμίζει ψάρι ή παστή ρέγγα, καθώς και από το λευκό λακτικό υγρό που μεταχρωματίζεται σε καφέ όταν έρθει σε επαφή με τη σάρκα ή τα ελάσματα. Όταν εξεταστεί μικροσκοπικά είναι εύκολο να προσδιοριστεί καθώς είναι το μόνο είδος στην Ευρώπη που φέρει ιδιαίτερα παχύτοιχα κυστίδια (lamprocystidia), τα οποία είναι αρκετά συχνά στα τροπικά είδη (Heilmann-Clausen et al., 1998). Παρόλο που μοιάζει μακροσκοπικά στο *L. rugatus*, δείγματα των δυο ειδών διαχωρίζονται πολύ εύκολα κατά τη μικροσκοπική παρατήρηση, λόγω της απουσίας μακροκυστιδίων στο *L. rugatus* και της παρουσίας των παχύτοιχων, λογχοειδών μακροκυστιδίων στο *L. volemus*. Το *L. volemus* θεωρείτο μέχρι πρόσφατα ως ένα είδος με ευρεία εξάπλωση στο Β. Ημισφαίριο. Όπως συνοψίζουν οι Lalli & Pacioni (1992) και Van de Putte et al. (2010) έχει καταγραφεί κατά καιρούς σημαντική ποικιλομορφία σε μακροσκοπικούς χαρακτήρες όπως τα χρώματα του βασιδιοκαρπίου, η πυκνότητα των ελασμάτων και ο μεταχρωματισμός του λακτικού υγρού σε επαφή με τη σάρκα. Επίσης έχουν περιγραφεί διάφορες ποικιλίες του είδους, που σύμφωνα με τους Van de Putte et al. (2010) δεν έχουν ιδιαίτερη ταξινομική υπόσταση.

Μοριακές μελέτες των τελευταίων ετών (Shimono et al. 2007, Van de Putte et al. 2010) αναδεικνύουν επίσης σημαντική γενετική ποικιλότητα, έτσι ώστε το είδος αυτό θεωρείται πλέον ότι αποτελεί ένα ακόμη σύμπλοκο κρυπτικών ειδών. Συγκεκριμένα, η μελέτη των Van de Putte et al. (2010) αποκάλυψε την ύπαρξη 18 φυλογενετικών ειδών στη Β. Ταϊλάνδη, έξι από τα οποία μπορούν να διακριθούν με βάση μορφολογικά γνωρίσματα και περιγράφηκαν ως νέα είδη. Επίσης, μέχρι στιγμής έχουν ανακαλυφθεί πέντε φυλογενετικά είδη από τα Ιμαλάια, τρία φυλογενετικά είδη από τη Β. Αμερική και τρία φυλογενετικά είδη από την Ευρώπη (Van de Putte et al. 2011). Η μελέτη του συμπλόκου των Ευρωπαϊκών ειδών δεν έχει ακόμη ολοκληρωθεί και έτσι προς το παρόν τα τρία Ευρωπαϊκά φυλογενετικά είδη δεν έχουν οριοθετηθεί πλήρως με βάση μορφολογικά γνωρίσματα και δεν έχουν περιγραφεί ως νέα είδη.

Οι πιο σημαντικοί διαγνωστικοί μορφολογικοί χαρακτήρες του *L. volemus* σύμφωνα με τους Van de Putte et al. (2010) βρέθηκαν ότι είναι οι διαστάσεις των παχύτοιχων τριχοειδών στοιχείων της επιδερμίδας του πύλου, των πλευρολαμπροκυστιδίων και ως ένα βαθμό τα χρώματα του πύλου. Συγκεκριμένα, το μήκος των τριχοειδών στοιχείων της επιδερμίδας του πύλου θα πρέπει να μετριέται, σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές, από λεπτές επιφανειακές τομές (παράλληλες με την επιφάνεια του πύλου - scalps) και όχι από τομές κάθετες προς την επιφάνεια του πύλου. Οι διαστάσεις των τριχοειδών στοιχείων της επιδερμίδας του πύλου, για τα τρία Ελληνικά δείγματα στα οποία μετρήθηκαν είναι οι ακόλουθες (Πίνακας 5):

Πίνακας 5. Διαστάσεις των τριχοειδών στοιχείων της επιδερμίδας του πύλου των Ελληνικών δειγμάτων *L. volemus*.

Δείγμα	Διαστάσεις τριχοειδών στοιχείων επιδερμίδας πύλου
<i>L. volemus</i> FRI 1022	25-110 x 3-5,5 (-7) μm
<i>L. volemus</i> LGAM 2668	40-90 (-100) x (2,5-) 3-5 (-6) μm
<i>L. volemus</i> LGAM 2010-0130 (MT 587)	13-75 (-85)(-95) x (2,5-) 3-5 (5,5) μm

Το *L. volemus* εντοπίζεται στη χώρα μας συνήθως κατά την αρχή του καλοκαιριού, σε δάση βελανιδιάς και καστανιάς ή σε μικτά δάση κωνοφόρων. Την ίδια εποχή και σε παρόμοια ενδιαιτήματα εμφανίζονται και τα βασιδιοκάρπια των *L. ripperatus* και *L. glaucescens*.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αχαΐας, Άνω Βλασία, υψόμετρο 850 μ., σε *Quercus* sp., 13/6/10, συλλογή Καρύδης, ταυτοποίηση Δήμου Δ., LGAM 4120.
2. Ν. Ευβοίας, Όρος Δίρφυς, μικτό δάσος *Castanea sativa*, *Abies* sp., 20/6/2011, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., LGAM 2010-0130 (MT 587).
3. Ν. Φθιώτιδας, Γαρδίκι, υψόμετρο 880 μ., σε *Quercus* sp., 10/6/07, συλλογή και ταυτοποίηση Δήμου Δ., LGAM 2668.
4. Ν. Χαλκιδικής, Στάγειρα, σε *Castanea sativa*, FRI 1022.

3.5. Υπογένος *Lactarius*

- *Lactarius glaucescens* Crossl., *Naturalist*, London: 5 (1900)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Πίλος διαμέτρου 45-150 mm, ελαφρώς κυρτός, με την κεντρική περιοχή συχνά πιεσμένη έως χοανοειδή, χείλος ομαλό, ελαφρώς κυρτωμένο προς τα μέσα, επιφάνεια ξηρή, απαλή, λευκωπή έως κρεμ με κανελλί και καφετί κηλίδες κυρίως στην κεντρική περιοχή, συχνά ελαφρώς ή έντονα ρηγματωμένη. Ελάσματα ελαφρώς κατερχόμενα, πυκνά, λευκωπά έως απαλό κρεμ. Στύπος διαστάσεων 30-45 x 25-30 mm, κυλινδρικός, λεπτυνόμενος προς τη βάση, επιφάνεια ξηρή, απαλή, λευκή. Σάρκα λευκή, αργά μεταχρωματιζόμενη σε απαλό μπλε-πράσινο στα τραυματισμένα σημεία και κίτρινη έως έντονο πορτοκαλί κατά την αντίδραση με KOH (3-10%). Γεύση καυτερή. Οσμή ευχάριστη. Λακτικό υγρό λευκό, απαλό μπλε-πράσινο κατά την ξήρανση και κίτρινο έως έντονο πορτοκαλί κατά την αντίδραση με KOH (3-10%). (Εικόνα 31: xviii-xx)

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 5,5 - 6,8 - 7,4 - 8,7 (9) x (4,5) 4,7 - 5,2 - 5,6 - 6,6 μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, Q = 1,13 - 1,29 - 1,33 - 1,60, διακόσμηση χαμηλή, αποτελούμενη από επάρματα σαν κουκίδες, αρκετά συνδεδεμένα από λεπτές γραμμές, σχηματίζοντας συχνά διασκορπισμένους κλειστούς βρόχους, αλλά γενικά χωρίς δικτυωτή εμφάνιση, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση κυρίως μη αμυλοειδής ή με αμυλοειδές στίγμα (Εικόνα 31: i-xi). Βασίδια 34-64 x 7-9 μm, στενά ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια άφθονα, 50-100 (-120) x 5-10 (-12) μm, ακανόνιστα κυλινδρικά, συχνά έντονα προεξέχοντα από το υμένιο, και συχνά προερχόμενα από

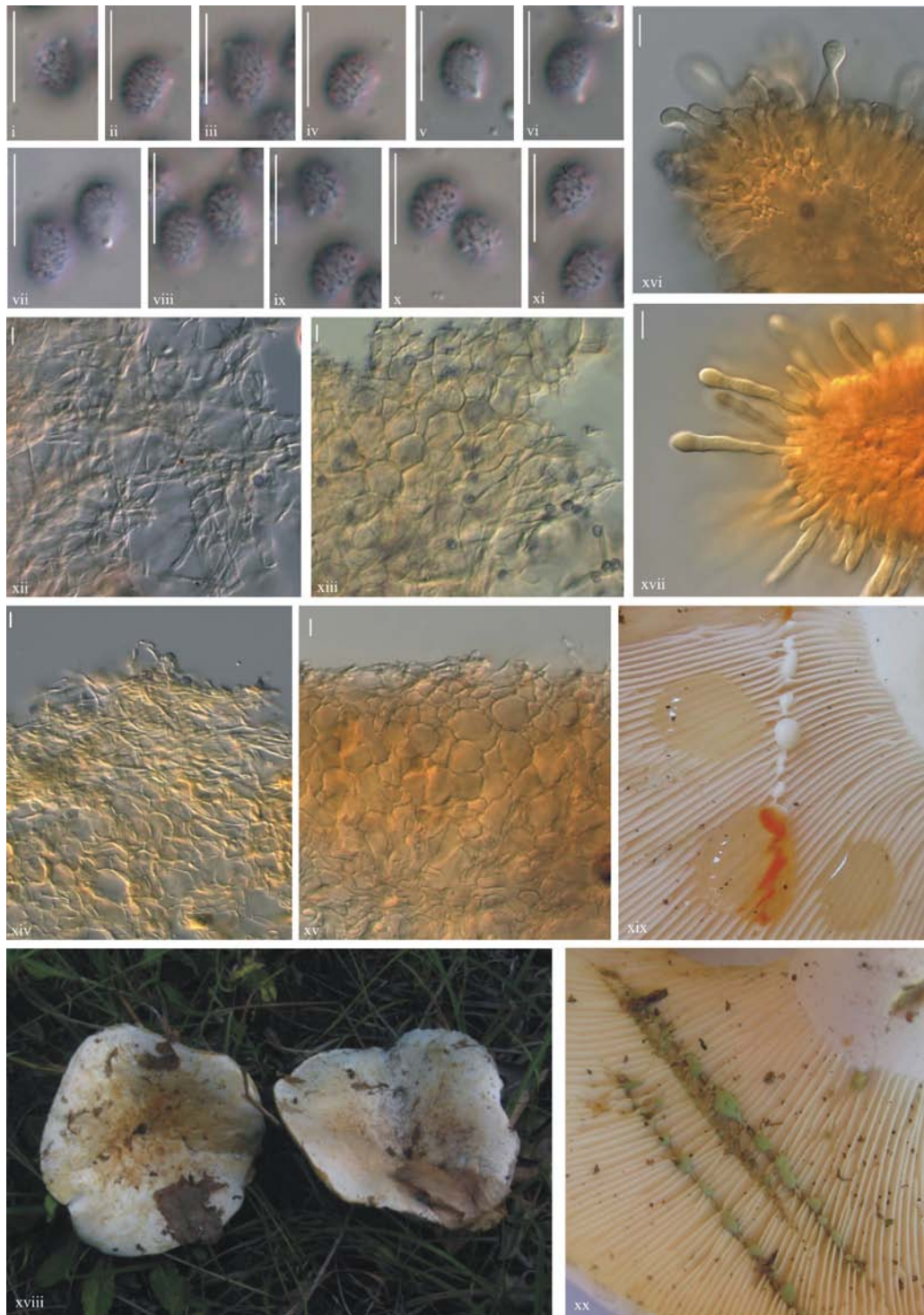
βαθύτερα σημεία του τράματος. Χείλος ελάσματος άγωνα, χειλομακροκυστίδια άφθονα, 45-72 (-85) x 5-9 μm, έντονα προεξέχοντα από το υμένιο, ακανόνιστα κυλινδρικά (Εικόνα 31: xvii). Επιδερμίδα πύλου με δομή υφοεπιθηλίου (hyphoepithelium), ανώτερο στρώμα πάχους 55-115 μm, αποτελούμενο από περικλινείς, λεπτές υφές, πλάτους 2-4 (6) μm, κατώτερο στρώμα από σφαιροκύστες, που σε λεπτή επιφανειακή τομή (scalp), κρύβονται από τις υφές του ανώτερου στρώματος (Εικόνα 31: xii, xiv).

Ενδιαίτημα: Μικτά δάση *Abies* sp. - *Castanea sativa* αλλά και σε βλάστηση με *Quercus* sp.

Παρατηρήσεις:

Μακροσκοπικά το *L. glaucescens* είναι σχεδόν πανομοιότυπο με το συγγενικό του *L. riperatus* το οποίο σχηματίζει τα βασιδιοκάρπια του την ίδια εποχή και σε παρόμοια ενδιαιτήματα. Η μόνη μακροσκοπικά διακριτή διαφορά ανάμεσα στα δυο είδη αφορά στο μεταχρωματισμό ή μη του λευκού λακτικού υγρού. Στο *L. glaucescens* το λευκό λακτικό υγρό μεταχρωματίζεται, καθώς στεγνώνει, σε απαλό μπλε-πρασινωπό, ενώ κατά την αντίδραση με KOH (3-10%) μεταχρωματίζεται σε κιτρινωπό έως πορτοκαλί. Ο ίδιος μεταχρωματισμός συμβαίνει και σε τραυματισμένα σημεία της σάρκας του πύλου και του στύπου. Αντίθετα στο *L. riperatus* το λευκό λακτικό υγρό δεν μεταχρωματίζεται καθόλου ούτε κατά το στέγνωμα αλλά ούτε μετά την εφαρμογή KOH (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999).

Κατά την παρατήρηση δειγμάτων των δυο ειδών στο μικροσκόπιο παρατηρούνται δυο βασικές διαφορές. Η επιδερμίδα του πύλου στο *L. glaucescens* αποτελείται από ένα κατώτερο στρώμα με σφαιροκύστες και από ένα ανώτερο στρώμα, με περικλινώς διατεταγμένες υφές, πάχους 80-120μm, το οποίο σε λεπτή επιφανειακή τομή του πύλου (scalp) κρύβει το κατώτερο στρώμα των σφαιροκύστεων (Heilmann-Clausen et al., 1998). Στο *L. riperatus* η επιδερμίδα του πύλου έχει μεν παρόμοια δομή, αλλά το ανώτερο στρώμα αυτής έχει αρκετά μικρότερο πάχος (10-30 μm) στα ώριμα δείγματα Heilmann-Clausen et al., 1998). Έτσι κάνοντας στο *L. riperatus* λεπτή επιφανειακή τομή (scalp) του πύλου, το λεπτό πάχος του ανώτερου στρώματος επιτρέπει την παρατήρηση των σφαιροκύστεων. Το δεύτερο μικροσκοπικό γνώρισμα που διαφοροποιείται ανάμεσα στα δυο είδη αφορά τα χειλομακροκυστίδια. Τα χειλοκυστίδια του *L. glaucescens* είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος και προεξέχουν εντονότατα σε σχέση με τα αντίστοιχα του *L. riperatus*. Οι Heilmann-Clausen et al. (1998) δίνουν τις εξής μετρήσεις για τα χειλοκυστίδια των



Εικόνα 31: i-xi. Βασιδιοσπόρια του *L. glaucescens*, xii-xiii. Επιφανειακή τομή (scalp) της επιδερμίδας του πύλου: xii. *L. glaucescens*, xiii. *L. ripperatus*, xiv-xv. Επιδερμίδα πύλου (τομή κάθετη στην επιφάνεια): xiv. *L. glaucescens* xv. *L. ripperatus*, xvi-xvii. Χειλοκυστίδια: xvi. *L. ripperatus*, xvii. *L. glaucescens*, xviii. Βασιδιοκάρπια *L. glaucescens*, xix. Μεταχρωματισμός λακτικού υγρού του *L. glaucescens*, από λευκό σε πορτοκαλί με την εφαρμογή KOH, xx. Μεταχρωματισμός λακτικού υγρού του *L. glaucescens* σε πρασινωπό κατά το στέγνωμα. Μήκος μπάρας 10 μm.

δυο ειδών: 55-70 x 7-9 μm (*L. glaucescens*), 35-55 x 5-10 μm (*L. piperatus*). Στο υλικό αναφοράς για τα είδη *L. glaucescens* και *L. piperatus* που μελετήθηκε διαπιστώθηκαν οι παραπάνω μικροσκοπικές διαφορές. Επιπροσθέτως, στη σχετική βιβλιογραφία (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999) αναφέρεται άλλη μια μικροσκοπική διαφορά μεταξύ των δυο ειδών, που σχετίζεται με τη διακόσμηση των βασιδιοσπορίων. Το *L. glaucescens* εμφανίζεται να φέρει βασιδιοσπόρια με διακόσμηση αποτελούμενη από απομονωμένα επάρματα, ενώ αντίθετα στα βασιδιοσπόρια του *L. piperatus* να σχηματίζεται ατελές δίκτυο.

Κατά τη μελέτη Ελληνικών δειγμάτων προσδιορισμένων ως *L. piperatus* παρατηρήθηκαν μεταξύ κάποιων βασιδιοκαρπίων οι διαφορές μεταξύ των ειδών *L. glaucescens* και *L. piperatus* που αναφέρθηκαν πιο πάνω και αφορούν τη δομή της επιδερμίδας του πύλου και τα χειλοκυστίδια. Έτσι, συγκεκριμένα βασιδιοκάρπια επαναπροσδιορίστηκαν στο είδος *L. glaucescens*. Είναι ενδιαφέρον λοιπόν, ότι δείγματα *L. glaucescens* συλλέχθηκαν την ίδια μέρα και στην ίδια περιοχή με δείγματα *L. piperatus*, γεγονός που δεν φαίνεται να είναι τυχαίο, αφού η ίδια σύμπτωση παρατηρείται και στις ημερομηνίες και θέσεις συλλογής του υλικού αναφοράς, αλλά και των δειγμάτων των δύο ειδών που μελετήθηκαν από την Basso (1999). Εκτός από τα δείγματα *L. glaucescens* που προέκυψαν από επαναπροσδιορισμό δειγμάτων *L. piperatus*, συλλέχθηκαν και φρέσκα δείγματα που ταξινομήθηκαν στο είδος *L. glaucescens* και στα οποία ήταν δυνατό να μελετηθούν και τα διακριτικά μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του είδους αυτού που χάνονται κατά την αποξήρανση, όπως η αλλαγή του λευκού λακτικού υγρού, καθώς στεγνώνει, σε απαλό μπλε-πρασινωπό, και ο μεταχρωματισμός του κατά την αντίδραση με KOH (3-10%) σε κιτρινωπό έως πορτοκαλί. Στο Ελληνικό υλικό που μελετήθηκε δεν παρατηρήθηκε κάποια ιδιαίτερη διαφορά ως προς τη διακόσμηση των βασιδιοσπορίων μεταξύ των δυο ειδών. Το *L. glaucescens* είναι από τα ελάχιστα είδη του γένους (μαζί με το *L. piperatus* και το *L. volemus*) που μπορεί να συναντήσει κανείς κατά τους καλοκαιρινούς μήνες στη χώρα μας. Το *L. glaucescens* καταγράφεται στην παρούσα εργασία για πρώτη φορά στην Ελλάδα, από υλικό συλλεγμένο για τους σκοπούς της παρούσας μελέτης σε μικτό δάσος *Castanea sativa*, *Abies* sp. στο Όρος Δίρφυς του Ν. Ευβοίας, αλλά και από επαναπροσδιορισμό υλικού ερμπαρίου.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αιτωλοακαρνανίας, Άνω Χώρα Ναυπακτίας, σε μικτό δάσος με *Castanea sativa* και *Abies* sp., 10/06/2002, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., ως *L. piperatus*, EP-Ναυπακτία 1106/22.
2. Ν. Ευβοίας, Όρος Δίρφυς, μικτό δάσος *Castanea sativa*, *Abies* sp., 20/6/2011, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., LGAM 2010-0131 (MT 585).
3. Ν. Ευβοίας, Όρος Δίρφυς, μικτό δάσος *Castanea sativa*, *Abies* sp., 2-7-2011, συλλογή και ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., LGAM 2010-0132 (MT 588).
4. Ν. Φθιώτιδας, Γαρδίκι, υψόμετρο 880 μ., σε βλάστηση με *Quercus* sp., 10/06/2007, συλλογή και ταυτοποίηση Δήμου Δ., ως *L. piperatus*, LGAM 2659.

Υλικό αναφοράς:

- *L. glaucescens*, legit G. Pacioni, in Ville di Fano, AQ, 21/7/81, det. G. Lalli, castagno e cerro, AQU I n. 3140.

- *Lactarius piperatus* (L.:Fr.) Pers., *Tent. Disp. Meth. Fung.* (Lipsiae): 64 (1797)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 6,2 – 7,3 - 7,65 - 8,9 (-9,0) x (4,5) 4,8 - 5,7 - 5,9 - 6,7 μm, ευρέως ελλειψοειδή έως ελλειψοειδή, Q = 1,08 – 1,28 – 1,30 – 1,50, διακόσμηση αμυλοειδής, χαμηλή, αποτελούμενη από επάρματα σαν κουκίδες, μερικά συνδεδεμένα από λεπτές γραμμές, σχηματίζοντας σπανιότερα διασκορπισμένους κλειστούς βρόχους, αλλά γενικά χωρίς δικτυωτή εμφάνιση, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής. Βασίδια 35-52 x 5-10 μm, στενά ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια 36-85 x 6-10 μm, ακανόνιστα κυλινδρικά, ατρακτοειδή, σχεδόν ροπαλόμορφα, κορυφή κυρίως αμβλεία ή ελαφρώς μυτερή. Χείλος ελάσματος ετερογενές, χειλομακροκυστίδια άφθονα, 28-48 x 5-9 μm, ακανόνιστα κυλινδρικά, σχεδόν ροπαλόμορφα (Εικόνα 31: xvi). Επιδερμίδα πύλου με δομή υφοεπιθηλίου (hyphoepithelium), ανώτερο στρώμα πάχους 10-30 (-40) μm, από περικλινείς ή ελαφρώς ανορθούμενες υφές πλάτους 2-3 μm, δερματοκυστίδια παρόντα, κατώτερο στρώμα αποτελούμενο από σφαιροκύστες πλάτους 15-35 μm (Εικόνα 31: xiii, xv).

Ενδιαίτημα: Μικτά δάση *Abies* sp. - *Castanea sativa* αλλά και σε βλάστηση με *Quercus* sp.

Παρατηρήσεις:

Το *L. piperatus* είναι, μαζί με τα *L. glaucescens* και *L. volemus*, από τα ελάχιστα είδη του γένους που απαντώνται κατά τους καλοκαιρινούς μήνες στην Ελλάδα. Χαρακτηρίζεται από το λευκό χρώμα του πύλου και του στύπου, την απαλή υφή της επιφάνειας του πύλου και το λευκό λακτικό υγρό που δεν μεταχρωματίζεται ούτε κατά τη ξήρανση ούτε κατά την αντίδραση με ΚΟΗ. Ένα συγγενικό και μακροσκοπικά σχεδόν πανομοιότυπο είδος είναι το *L. glaucescens* (για τη διάκριση των δυο ειδών βλ. συζήτηση για *L. glaucescens*).

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. Ν. Αιτωλοακαρνανίας, Άνω Χώρα Ναυπακτίας, σε μικτό δάσος με *Castanea sativa* και *Abies* sp., 10/06/2002, συλλογή και ταυτοποίηση Πολέμης Η., ΕΡ-Ναυπακτία 1106/22.
2. Ν. Φθιώτιδας, Γαρδίκι, υψόμετρο 880 μ., σε βλάστηση με *Quercus* sp., 10/06/2007, συλλογή και ταυτοποίηση Δήμου Δ., LGAM 2659.
3. Ν. Χαλκιδικής, Χολομώντας, κοντά σε *Quercus* sp., FRI 397.

Υλικό αναφοράς:

- *L. piperatus*, legit G. Pacioni, in Ville di Fano, AQ, 21/7/81, det. G. Lalli, castagno e cerro, AQUI n. 3128 (διαπιστώθηκε πως πρόκειται για μικτή συλλογή *L. piperatus* και *L. vellereus*).

3.6. Υπογένος *Lactariopsis* (Henn.) R. Heim

Το υπογένος *Lactariopsis* παρουσιάζει μεγαλύτερη ποικιλότητα στις τροπικές περιοχές. Η Verbeken (1998b), μετά την εκτεταμένη μελέτη της ποικιλότητας του γένους στην τροπική Αφρική, χωρίζει το υπογένος *Lactariopsis* σε τρία τμήματα, τα *Albati*, *Lactariopsidaei* και *Chamaeleontini*, από τα οποία μόνο το τμήμα *Albati* περιλαμβάνει ευρωπαϊκά είδη. Χαρακτηριστικό γνώρισμα για πολλά από τα είδη των τροπικών περιοχών αποτελεί η παρουσία ενός τύπου δακτυλίου στο στύπο. Σε μικροσκοπικό επίπεδο τα περισσότερα είδη του υπογένους χαρακτηρίζονται από βασιδιοσπόρια με χαμηλή διακόσμηση (έως 1 μm), από υμενοφόρο τράμα που φέρει σφαιροκύστες και από επιδερμίδα πύλου με ανώτερο στρώμα αποτελούμενο από αντικλινείς υφές, συνήθως παχύτοιχες (*lamprotrichopalisade*, *lampropalisade*, *lamprotrichoderm* ή *trichopalisade*). Οι Heilmann-Clausen et al. (1998), ακολουθώντας την άποψη της Verbeken (1998b), κατατάσσουν το τμήμα *Albati*

(Bat.) Singer μέσα στο υπογένος *Lactariopsis* (Henn.) R. Heim, ενώ αντίθετα η Basso (1999) κατατάσσει το *Albati* μέσα στο υπογένος *Lactifluus* (Burl.) Hesler & A.H. Sm.

3.6.1. Τμήμα *Albati* (Bat.) Singer

- *Lactarius vellereus* (Fr.:Fr.) Fr., *Epicr. syst. mycol.* (Upsaliae): 340 (1838) [1836-1838]

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 7,2 - 8,5 - 9,0 - 10,5 x (6,0-) 6,1 - 7,3 - 7,65 - 9,1 (9,5) μm, σφαιρικά έως ευρέως ελλειψοειδή, Q= 1,02 - 1,16 - 1,18 - 1,33, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους 0,3 μm, από χαμηλά επάρματα, συνδεόμενα από λεπτά επιμήκη επάρματα σε ένα σχεδόν πλήρες δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση κυρίως μη αμυλοειδής (Εικόνα 30: viii-xi). Βασίδια 66-82 x 8-11 μm, στενά ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια άφθονα, 60-128 x 6-10 μm, ακανόνιστα κυλινδρικά, κάποια ακόμη και διακλαδιζόμενα, στο τμήμα κοντά στην κορυφή με περισφύξεις ή φουσκωμένα σε σχήμα σαν τρίγωνο ή κεφάλι οχιάς, και τότε η κορυφή λεπτυνόμενη, αμβλεία ή ελαφρώς μυτερή. Χείλος ελάσματος σχεδόν άγονο, χειλομακροκυστίδια 46-87 x 5-10 μm, ακανόνιστα κυλινδρικά. Επιδερμίδα πύλου με δομή λαμπροτριχοδέρματος, πάχους έως 400 μm, υφές μήκους έως 460 μm, πλάτους 3-7 μm, παχύτοιχες, κορυφή επίσης παχύτοιχη (Εικόνα 30: xvii).

Ενδιαίτημα: Δάση αμιγή με *Quercus frainetto* και μικτά με *Abies borisii-regis* & *Quercus* sp.

Παρατηρήσεις:

Το *L. vellereus* στο πεδίο αναγνωρίζεται εύκολα από τα μεγάλα, λευκά βασιδιοκάρπια, με τη βελούδινη υφή του πύλου και το λευκό λακτικό υγρό. Είναι ένα είδος πολύ χαρακτηριστικό, μετά από μικροσκοπική παρατήρηση, λόγω της δομής της επιδερμίδας του πύλου η οποία αποτελείται από μακριές, παχύτοιχες, ανορθωμένες υφές (lamprotrichoderm). Χαρακτηριστική είναι επίσης η διακόσμηση των βασιδιοσπορίων που αποτελείται από χαμηλά επάρματα, οι οποίες ενώνονται με λεπτότερες γραμμές σχηματίζοντας πλήρες δίκτυο. Ένα μορφολογικά παρόμοιο είδος είναι το *L. bertillonii*, το οποίο όμως φέρει ελλειψοειδή βασιδιοσπόρια με διακόσμηση που δεν σχηματίζει δίκτυο. Άλλο ένα μικροσκοπικό γνώρισμα που

διαφοροποιεί τα δύο είδη είναι η δομή των υφών της επιδερμίδας του πύλου, οι οποίες είναι παχύτοιχες από τη βάση ως και την κορυφή στο *L. vellereus*, ενώ στο *L. bertillonii* δεν εμφανίζουν πάχυνση στην κορυφή. Επιπλέον, ένα χρήσιμο διακριτικό γνώρισμα στο πεδίο για το *L. bertillonii* είναι ότι το λευκό λακτικό του υγρό μεταχρωματίζεται σε κίτρινο κατά την αντίδραση με KOH (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999). Η Basso (1999) περιγράφει δυο ποικιλίες του είδους, τις *L. vellereus* (Fr.:Fr.) Fr. var. *vellereus* και τη *L. vellereus* var. *hometii* (Gillet) Boudier, οι οποίες διαφέρουν κυρίως ως προς το μέγεθος των βασιδιοσπορίων και το μεταχρωματισμό ή μη του λακτικού υγρού (η τελευταία έχει ελαφρώς μικρότερα βασιδιοσπόρια και λευκό λακτικό υγρό που μεταχρωματίζεται σε καφέ-λιλά, σε αντίθεση με την τυπική ποικιλία στην οποία το λευκό λακτικό υγρό δεν μεταχρωματίζεται). Το δείγμα που μελετήθηκε ανήκει στην τυπική ποικιλία, λόγω του μέγεθους των βασιδιοσπορίων του.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

1. N. Ευρυτανίας, Κορίτσα, σε δάσος με *Abies borisii-regis* & *Quercus* sp., 5/10/2002, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 8072 (ΠΔ 2109).
2. N. Καρδίτσας, Μοσχάτο, σε δάσος με *Quercus frainetto*, 1/11/1998, συλλογή και ταυτοποίηση Δεληβοριάς Π., ATHU-M 8075 (ΠΔ 471, 472, 475).
3. N. Φθιώτιδας, Όρος Οξυά, υψόμετρο 1580 μ., 10/9/1999, συλλογή και ταυτοποίηση Δήμου Δ., LGAM 308.

Δείγματα που δεν ταυτοποιήθηκαν στο επίπεδο του είδους:

- *Lactarius* sp. 1 (ATHU-M 6271, αρχικά ως *L. evosmus*)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 6,2 – 8,0 – 9,8 (-10,8) x 4,4 – 5,8 – 7,1 (-8,5) μm, ευρέως ελλειψοειδή έως ελλειψοειδή, σπανιότερα επιμήκη, Q = 1,18 – 1,39 – 1,64, διακόσμηση χαμηλή, αποτελούμενη από επάρματα μικρού μήκους και λεπτές γραμμές, μεμονωμένα ή με συνδέσεις μεταξύ τους, που δεν σχηματίζουν δίκτυο, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής ή με κεντρική αμυλοειδή κηλίδα. Βασίδια ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια πολυάριθμα και προεξέχοντα του υμενίου, 50-72 x 7-10 μm,

ακανόνιστα κυλινδρικά, κυλινδρικά-συνεστραμμένα, ροπαλόμορφα, κορυφή αμβλεία ή διογκωμένη (capitate). Χείλος ελάσματος άγονο, χειλομακροκυστίδια πολυάριθμα και προεξέχοντα του υμενίου, 40-55 (-65) x 5-10 μm, ακανόνιστα κυλινδρικά, κυλινδρικά-συνεστραμμένα ή ροπαλόμορφα, κορυφή αμβλεία ή διογκωμένη. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από περικλινείς υφές, βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία (ixocutis), πάχους έως 130 μm, πλάτος υφών 1,5-3 μm.

Παρατηρήσεις:

Το δείγμα αυτό είχε αρχικά θεωρηθεί ότι ανήκει στο υποτιμήμα *Zonarii*, λόγω μακροσκοπικών γνωρισμάτων όπως ο κρεμ έως υπόλευκος χρωματισμός του πύλου, το λευκό λακτικό υγρό που δεν μεταχρωματίζεται (σύμφωνα με τις σημειώσεις του συλλέκτη) και μικροσκοπικών γνωρισμάτων όπως η δομή της επιδερμίδας του πύλου που αποτελείται από περικλινείς υφές, βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία (ixocutis). Στη συνέχεια, εντός του υποτιμήματος *Zonarii* είχε ταυτοποιηθεί στο είδος *L. evosmus*, λόγω της απουσίας ζώνωσης στον πύλο, αλλά και λόγω μικροσκοπικών γνωρισμάτων όπως τα ευρέως ελλειψοειδή έως ελλειψοειδή βασιδιοσπόρια, του μέγεθος τους και του προτύπου της διακόσμησης τους (Triantafyllou et al. 2009). Το δείγμα όμως φέρει ιδιαίτερα προεξέχοντα μακροκυστίδια, με μεγαλύτερες διαστάσεις και ελαφρώς διαφορετικό σχήμα από αυτά που αναφέρονται στη βιβλιογραφία για το είδος *L. evosmus*, δηλ. τα συνήθως ατροκτοειδή μακροκυστίδια με έντονες περισφίξεις στην κορυφή (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999, Kränzlin 2005). Μετά από τη μελέτη αρκετών δειγμάτων από είδη του υποτιμήματος *Zonarii*, θεωρήθηκε ότι το σχήμα και το μέγεθος των πλευρομακροκυστιδίων και των χειλομακροκυστιδίων του δείγματος δεν αντιστοιχεί σε κάποιο από αυτά. Μικροσκοπικά γνωρίσματα του δείγματος, όπως το σχήμα και η πολύ χαμηλή διακόσμηση των βασιδιοσπορίων, καθώς και τα έντονα προεξέχοντα ακανόνιστα κυλινδρικά χειλομακροκυστίδια παραπέμπουν στο είδος *L. glaucescens*, αλλά λόγω διαφορετικής δομής της επιδερμίδας του πύλου του δείγματος από την αντίστοιχη του *L. glaucescens* (απουσία στρώματος σφαιροκύστεων) δεν είναι δυνατή η ταξινόμηση του δείγματος στο είδος αυτό.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

- Νομός Ευρυτανίας, σε δάσος με *Abies borisii-regis*, 02/06/2005, συλλογή Δεληβοριάς Π., αρχική ταυτοποίηση Τριανταφύλλου Μ., ως *L. evosmus*, ATHU-M 6271.

- *Lactarius* sp. 2 (FRI 705, αρχικά ως *L. circellatus*)

Περιγραφή μακροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Μη διαθέσιμη (αποξηραμένα δείγματα).

Περιγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών:

Βασιδιοσπόρια 7,0 - 8,6 - 10,3 x (6,0) 6,1 - 7,0 - 7,9 (-8) μm, υποσφαιρικά έως ελλειψοειδή, συνήθως ευρέως ελλειψοειδή, Q = 1,07 - 1,24 - 1,43, διακόσμηση αμυλοειδής, ύψους 1,5 (-1,7) μm, αποτελούμενη από κοντά αλλά και επιμήκη επάρματα, άλλα μεμονωμένα και άλλα συνδεδεμένα σε ατελές δίκτυο, με παρουσία μεμονωμένων επαρμάτων, περιοχή πάνω από την ομφαλική απόφυση μη αμυλοειδής. Βασίδια 44-68 x 10-11 μm, ευρέως ροπαλόμορφα. Πλευρομακροκυστίδια πολύ συχνά, (51-)63-85(-100) x (6-)9-14μm, κωνικά- λογχοειδή με διόγκωση κοντά στη βάση, τα μικρότερα σε διαστάσεις ατρακτοειδή, κορυφή με λίγες περισφίξεις, λίγες φορές διχαλωτή. Χείλος ελάσματος άγονο, χειλομακροκυστίδια πολυάριθμα, 40-45 x 6-8 μm, ατρακτοειδή, κορυφή με περισφίξεις. Επιδερμίδα πύλου αποτελούμενη από περικλινείς υφές, κατά τόπους ανορθωμένες, με εξωκυτταρική κοκκώδη χρωστική, βυθισμένες σε ζελατινώδη ουσία.

Παρατηρήσεις:

Το δείγμα αυτό παρουσιάζει πολύ σημαντικές αποκλίσεις από το είδος *L. circellatus*. Τα βασιδιοσπόρια του είναι πολύ μεγαλύτερα από αυτά που περιγράφονται για το *L. circellatus*. Οι τιμές που μετρήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας είναι 7,0 - 8,6 - 10,3 x (6,0) 6,1 - 7,0 - 7,9 (-8) μm, πολύ μεγαλύτερες από τις τιμές που δίνουν οι Heilmann-Clausen et al. (1998) [5,7-7,9 x 4,7-6,5 μm] και η Basso (1999) [6,8-7,5 x 5,5-6,5 μm] για το *L. circellatus*. Πολύ διαφορετική είναι και η διακόσμηση των βασιδιοσπορίων του δείγματος που δεν ταιριάζει καθόλου με το πρότυπο που περιγράφεται από τους πιο πάνω συγγραφείς για το *L. circellatus*, η οποία αποτελείται από επιμήκη και παράλληλα επάρματα (zebra-like). Επίσης τα επάρματα του δείγματος έχουν ύψος μέχρι 1,5 (-1,7) μm και είναι σαφώς ψηλότερα από αυτά που περιγράφονται για το *L. circellatus* (μέχρι 1 μm, Heilmann-Clausen et al. 1998). Το δείγμα σε μικροσκοπικό επίπεδο παρουσιάζει ορισμένες ομοιότητες με το είδος *L. violascens*, οι οποίες αφορούν στο μέγεθος και πρότυπο διακόσμησης των βασιδιοσπορίων και κυρίως στο ύψος των επαρμάτων (έως 1,5 (-1.7) μm). Επιπλέον, η δομή της επιδερμίδας του πύλου αποτελείται από περικλινείς υφές, κατά τόπους ανορθωμένες, βυθισμένες μέσα σε ζελατινώδη ουσία και με εξωκυτταρικά κοκκώδη χρωστική, η οποία αναφέρεται σαν γνώρισμα του είδους αυτού (Basso 1999).

Παρόλα αυτά, λόγω έλλειψης πληροφοριών για τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά των βασιδιοκαρπίων του δείγματος σε νωπή κατάσταση και λόγω έλλειψης συγκριτικού υλικού για το *L. violascens*, το συγκεκριμένο δείγμα δεν μπορεί να ταυτοποιηθεί με βεβαιότητα.

Δείγματα που μελετήθηκαν:

N. Χαλκιδικής, Χολομώντας, σε *Quercus frainetto*, ταυτοποιημένο ως *L. circellatus*, FRI 705.

IV. ΤΕΛΙΚΕΣ ΔΙΑΠΙΣΤΩΣΕΙΣ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκαν συνολικά 128 Ελληνικά δείγματα (117 αποξηραμένα και 11 νωπά), τα οποία ταυτοποιήθηκαν στα ακόλουθα 32 είδη του γένους *Lactarius*:

L. acerrimus, *L. atlanticus*, *L. aurantiacus*, *L. azonites*, *L. blennius*, *L. chrysorrheus*, *L. cistophilus*, *L. controversus*, *L. decipiens*, *L. deliciosus*, *L. cf. flavidus*, *L. fulvissimus*, *L. glaucescens*, *L. intermedius*, *L. lacunarum*, *L. luridus*, *L. luteolus*, *L. mairei*, *L. piperatus*, *L. pubescens*, *L. quietus*, *L. rugatus*, *L. salmonicolor*, *L. sanguifluus*, *L. semisanguifluus*, *L. subumbonatus*, *L. tesquorum*, *L. vellereus*, *L. vinosus*, *L. volemus*, *L. zonarioides* και *L. zonarius*.

Από αυτά, τα *L. aurantiacus*, *L. blennius*, *L. chrysorrheus*, *L. deliciosus*, *L. intermedius*, *L. piperatus*, *L. salmonicolor*, *L. sanguifluus*, *L. semisanguifluus*, *L. tesquorum*, *L. vellereus* και *L. zonarius* απαντώνται συχνά στα αντίστοιχα για το κάθε είδος ενδιαιτήματα, ενώ είδη σαν τα *L. acerrimus*, *L. luteolus* και *L. zonarioides* φαίνεται να είναι μάλλον σπάνια στην Ελλάδα.

Εκτός από τα παραπάνω 32 είδη των οποίων η παρουσία ή επιβεβαιώθηκε είτε αυτά προσδιορίστηκαν για πρώτη φορά στην Ελλάδα (από την παρούσα μελέτη), έχουν επίσης αναφερθεί στη σχετική βιβλιογραφία τα ακόλουθα 17 είδη: *L. acris* (Αθανασίου 2010), *L. cemicarius* (Athanassiou & Theochari 2001), *L. circellatus* (Διαμαντής 1992, Diamandis & Perlerou 1994, Zervakis et al. 1998, Dimou et al. 2002, Κωνσταντινίδης 2006), *L. deterrimus* (Διαμαντής & Minter 1981, Διαμαντής 1992, Κωνσταντινίδης 1994, Διαμαντής & Περγλέρου 1997, Κωνσταντινίδης 2001, 2006, 2009, 2010), *L. evosmus* (Zervakis et al. 2002b), *L. fuliginosus* (Athanassiou & Theochari 2001, Κωνσταντινίδης 2006), *L. pallidus* (Κωνσταντινίδης 2006, Αθανασίου 2010), *L. pyrogalus* (Maire & Politis 1940, Κωνσταντινίδης 2006), *L. rufus* (Διαμαντής 1992), *L. scrobiculatus* (Κωνσταντινίδης 2009), *L. serifluus* (Maire & Politis 1940), *L. sphagneti* (Athanassiou & Theochari 2001), *L. subdulcis* (Διαπούλης 1939), *L. torminosus* (Παντίδου 1991, Κωνσταντινίδης 2004, 2009, Αθανασίου 2010, Κωνσταντινίδης 2010), *L. trivialis* (Κωνσταντινίδης 2006), *L. unidus* (Athanassiou & Theochari 2001), *L. violascens* (Κωνσταντινίδης 2006). Όμως, θα πρέπει να τονιστεί ότι οι εν λόγω καταγραφές δεν υποστηρίζονται από διαθέσιμο βιολογικό υλικό, άρα δεν ήταν δυνατή η επανεξέτασή τους στα πλαίσια της παρούσας εργασίας.

Η ύπαρξη, στην Ελλάδα, των ειδών *L. circellatus*, *L. evosmus*, *L. ilicis*, *L. leonis*, *L. musteus*, *L. scrobiculatus* και *L. torminosus* δεν επιβεβαιώθηκε από το Ελληνικό βιολογικό υλικό που μελετήθηκε, καθώς τα δείγματα που ήταν προσδιορισμένα στα παραπάνω είδη, αποδείχτηκε ότι ανήκουν σε άλλα είδη *Lactarius*. Επίσης ένα δείγμα προσδιορισμένο ως *L. insulsus* (Fr.: Fr.), όνομα που έχει χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς για να περιγράψει διάφορα είδη του υποτιμήματος *Zonarii* και θεωρείται *nomen dubium* (Heilmann-Clausen et al. 1998), ταξινομήθηκε στο είδος *L. zonarioides*. Από τους επαναπροσδιορισμούς που προέκυψαν στο υλικό που μελετήθηκε, διαπιστώθηκε η ύπαρξη τεσσάρων επιπλέον ειδών, τα οποία δεν αναφέρονταν αρχικά μεταξύ των Ελληνικών δειγμάτων. Αυτά τα είδη είναι τα *L. mairei*, *L. intermedius*, *L. glaucescens* και *L. lacunarum*, με τα δυο τελευταία να αποτελούν νέες καταγραφές για την Ελλάδα. Οι επαναπροσδιορισμοί που έγιναν στο Ελληνικό αποξηραμένο υλικό, αλλά και σε δείγματα ερμπαρίων του εξωτερικού, συνοψίζονται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6: Δείγματα μυκήτων του γένους *Lactarius*, που έφεραν λανθασμένη αρχική ταυτοποίηση και τα οποία επαναπροσδιορίστηκαν ταξινομικά με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης.

Αρχική ταυτοποίηση	Κωδικός	Τελικός προσδιορισμός
<i>L. acerrimus</i>	LGAM 2438	<i>L. zonarius</i>
<i>L. atlanticus</i>	PAL 2	<i>L. subumbonatus</i>
<i>L. aurantiacus</i>	GENT LVL 2002-003	<i>L. sect. Tabidi/Olentes</i>
<i>L. circellatus</i>	FRI 705	<i>Lactarius</i> sp.
<i>L. evosmus</i>	ATHU-M 6271	<i>Lactarius</i> sp.
<i>L. flavidus</i>	LGAM 4382	<i>L. cf flavidus</i>
<i>L. ilicis</i>	EP.04-A715	<i>L. zonarius</i>
<i>L. insulsus</i>	ATHU-M 1312	<i>L. zonarioides</i>
<i>L. leonis</i>	LGAM 077	<i>L. intermedius</i>
<i>L. leonis</i>	LGAM 287	<i>L. intermedius</i>
<i>L. leonis</i>	LGAM 1138	<i>L. intermedius</i>
<i>L. musteus</i>	FRI 1255	<i>L. pubescens</i>
<i>L. piperatus</i>	EP-Ναυπακτία 1106/22	<i>L. piperatus</i> & <i>L. glaucescens</i> *

<i>L. piperatus</i>	LGAM 2659	<i>L. piperatus</i> & <i>L. glaucescens</i> *
<i>L. piperatus</i>	AQUI 3128	<i>L. piperatus</i> & <i>L. vellereus</i> *
<i>L. pubescens</i>	FRI 536	<i>L. mairei</i>
<i>L. rugatus</i>	EP 1212/7	<i>L. rugatus</i> & <i>Lactarius</i> sp. *
<i>L. scrobiculatus</i>	ATHU-M 3539 (ΠΔ 130)	<i>L. intermedius</i>
<i>L. scrobiculatus</i>	ATHU-M 8044 (ΠΔ 2842)	<i>L. intermedius</i>
<i>L. scrobiculatus</i>	ATHU-M 8043 (ΠΔ 2711)	<i>L. intermedius</i>
<i>L. scrobiculatus</i>	ATHU-M 8041 (ΖΓ 3722)	<i>L. intermedius</i>
<i>L. scrobiculatus</i>	ATHU-M 8040 (ΖΓ 3307)	<i>L. intermedius</i>
<i>L. scrobiculatus</i>	LGAM 075	<i>L. intermedius</i>
<i>L. seriffuus</i>	GENT- AV 06-104	<i>L. subumbonatus</i>
<i>L. subumbonatus</i>	LGAM 2503	<i>L. atlanticus</i>
<i>L. torminosus</i>	ATHU-M 3164	<i>L. tesquorum</i>
<i>L. torminosus</i>	ATHU-M 974	<i>L. tesquorum</i>
<i>Lactarius</i> sp.	ATHU-M 6208 (MT 380)	<i>L. lacunarum</i>
<i>Lactarius</i> sp.	ATHU-M 8224 (MT 440)	<i>L. lacunarum</i>
<i>Lactarius</i> sp.	ATHU-M 8225 (MT 491)	<i>L. lacunarum</i>

* Μικτή συλλογή αποτελούμενη και από τα δύο είδη.

Πιο αναλυτικά, το δείγμα που ήταν προσδιορισμένο ως *L. circellatus* έφερε πολύ μεγαλύτερες διαστάσεις βασιδιοσπορίων και εντελώς διαφορετικό πρότυπο διακόσμησης των βασιδιοσπορίων από τα αναφερόμενα στη βιβλιογραφία. Λόγω έλλειψης μακροσκοπικής περιγραφής του δείγματος σε νωπή κατάσταση, δεν κατέστη δυνατή η ταυτοποίηση του στο επίπεδο του είδους, μολονότι παρουσίαζε σημαντικές μικροσκοπικές ομοιότητες με το *L. violascens*. Το δείγμα που είχε αρχικά αναγνωριστεί ως *L. evosmus* διαπιστώθηκε πως δεν ανήκει στο είδος αυτό, λόγω διαφορών στο σχήμα και μέγεθος των μακροκυστιδίων. Ωστόσο, ο επαναπροσδιορισμός του στο επίπεδο του είδους δεν ήταν δυνατός, αφού το μόνο είδος με το οποίο μοιράζεται ορισμένα κοινά μικροσκοπικά χαρακτηριστικά (δηλ. το *L. glaucescens*) διαφέρει ως προς τη δομή της επιδερμίδας του πύλου. Η ύπαρξη του είδους *L. ilicis* δεν επιβεβαιώθηκε από το διαθέσιμο Ελληνικό υλικό, καθώς το μοναδικό δείγμα που ήταν αρχικά ταυτοποιημένο στο είδος αυτό, παρουσίαζε διαφορετική δομή στην επιδερμίδα του πύλου και στη διακόσμηση των

βασιδιοσπορίων από αυτή που αναφέρεται στη βιβλιογραφία. Έτσι, επαναπροσδιορίστηκε στο είδος *L. zonarius* επειδή τα μικροσκοπικά του γνωρίσματα ταυτίζονταν απόλυτα με τις σχετικές βιβλιογραφικές περιγραφές.

Τα δείγματα που ήταν αρχικά ταυτοποιημένα ως *L. scrobiculatus* και *L. leonis* αποδείχτηκε ότι αντιστοιχούν στο είδος *L. intermedius*. Ο συγκεκριμένος επαναπροσδιορισμός στηρίχθηκε στο πρότυπο της διακόσμησης των βασιδιοσπορίων που παρουσίαζαν τα Ελληνικά δείγματα και στο σχηματισμό εκτομυκορριζικής σχέσης με είδη του γένους *Abies* (σε αντιδιαστολή, τα *L. scrobiculatus* και *L. leonis* σχηματίζουν εκτομυκορριζική σχέση με είδη του γένους *Picea*). Το δείγμα που ήταν αρχικά προσδιορισμένο ως *L. musteus* διέθετε πύλο έντονα τριχωτό (σε αντίθεση με τον λείο πύλο του *L. musteus*), ενώ τα βασιδιοσπόρια και η δομή της επιδερμίδας του πύλου διαφέρουν μεταξύ του δείγματος που μελετήθηκε και των τυπικών περιγραφών του *L. musteus*. Όλα τα προαναφερθέντα μορφολογικά γνωρίσματα σε συνδυασμό με το ενδιαίτημα στο οποίο συλλέχθηκε το δείγμα (βλάστηση με δένδρα του γένους *Betula*) παραπέμπουν στο είδος *L. pubescens*. Επιπλέον, η ύπαρξη του *L. musteus* δεν διαπιστώνεται από κάποιο άλλο από τα διαθέσιμα δείγματα. Το *L. pubescens* περιγράφεται στην παρούσα μελέτη μόνο από τον επαναπροσδιορισμό του συγκεκριμένου δείγματος, καθώς το μοναδικό δείγμα που ήταν αρχικά ταυτοποιημένο ως *L. pubescens* δεν ανήκει τελικά στο είδος αυτό (λόγω διαφορών στο σχήμα και στο ύψος της διακόσμησης των βασιδιοσπορίων καθώς και στο ενδιαίτημα, δηλ. βλάστηση με είδος του γένους *Quercus*), αλλά όπως αποδείχτηκε *L. mairei*. Τέλος, όλα τα δείγματα που ήταν αρχικά προσδιορισμένα ως *L. torminosus* ανήκουν στο είδος *L. tesquorum*, όπως φάνηκε από την παρουσία των χαρακτηριστικών κυστιδίων στην επιδερμίδα του στύπου, καθώς και από την παντελή απουσία δένδρων του γένους *Betula* στις θέσεις συλλογής των συγκεκριμένων δειγμάτων (δηλ. φυτικών ειδών που αποτελούν τους ξενιστές του *L. torminosus*).

Όσον αφορά στα είδη που αποτελούν νέες καταγραφές από την Ελλάδα, δείγματα του είδους *L. lacunarum* συλλέχθηκαν από τη γράφουσα κατ'επανάληψη, πριν αλλά και κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας μελέτης. Το *L. lacunarum* αναφέρεται για πρώτη φορά στην Ελλάδα από δάσος με φυλλοβόλα είδη *Quercus* του Ν. Αρκαδίας. Το είδος *L. glaucescens* ταυτοποιήθηκε από δυο διαφορετικές συλλογές δειγμάτων ερμπαρίου, αρχικά προσδιορισμένων ως *L. piperatus*, οι οποίες όπως διαπιστώθηκε αποτελούσαν μικτές συλλογές ατόμων *L. glaucescens* και *L. piperatus* (βρέθηκαν δύο τύποι βασιδιοκαρπίων με τις διαφορές που αναφέρονται στη

βιβλιογραφία μεταξύ των δυο συγκεκριμένων ειδών και αφορούν στη δομή της επιδερμίδας του πύλου και στην εμφάνιση των χειλομακροκυστιδίων). Το είδος *L. glaucescens* συλλέχθηκε επίσης σε δυο διαφορετικές δειγματοληψίες από τη φύση και δόθηκε έτσι η ευκαιρία να μελετηθούν τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά των φρέσκων βασιδιοκαρπίων (όπως ο μεταχρωματισμός του λευκού λακτικού υγρού σε πρασινωπό κατά το στέγνωμα και σε κιτρινωπό έως πορτοκαλί κατά την αντίδραση με KOH), τα οποία το διαφοροποιούν από το, κατά τα άλλα μακροσκοπικά πανομοιότυπο, *L. piperatus*.

Στο γένος *Lactarius* όπως και σε άλλα γένη Βασιδιομυκήτων είναι συχνή η ύπαρξη ομάδων στενά συγγενικών ειδών που δεν είναι εύκολο να διακριθούν μεταξύ τους σε μακροσκοπικό ή μικροσκοπικό επίπεδο. Μια τέτοια περίπτωση αποτελούν τρία είδη του τμήματος *Olentes*, τα *L. atlanticus*, *L. serifluus* και *L. subumbonatus*. Σύμφωνα με τη σχετική βιβλιογραφία τα τρία είδη διακρίνονται μεταξύ τους με βάση μακροσκοπικά γνωρίσματα, όπως τα χρώματα του πύλου, η υφή της επιφάνειας του πύλου, η παρουσία ή απουσία τριχών στη βάση του στύπου καθώς και ο σχηματισμός εκτομυκορριζικής σχέσης με διαφορετικά είδη δέντρων. Το *L. serifluus* είναι ένα είδος μορφολογικά ενδιάμεσο στα δυο άλλα είδη και ειδικότερα σε πολλές περιπτώσεις υπάρχει σύγχυση μεταξύ των ειδών *L. serifluus* και *L. subumbonatus*. Από την παρούσα μελέτη επιβεβαιώθηκε ότι τα είδη *L. atlanticus* και *L. subumbonatus* αποτελούν δυο ξεχωριστά είδη, το κάθε ένα από τα οποία φέρει διακριτά γνωρίσματα σε επίπεδο μακρομορφολογίας. Το *L. atlanticus* παρουσιάζει κεραμιδί αποχρώσεις και τριχίδια στη βάση του στύπου και απαντάται σε τυπικά μεσογειακά ενδιαιτήματα με αείφυλλα-σκληρόφυλλα είδη του γένους *Quercus* (*Q. coccifera*, *Q. ilex*). Το *L. subumbonatus* φέρει σκούρες καστανές έως καστανόμαυρες αποχρώσεις, έντονα πτυχωτό χείλος στα ώριμα βασιδιοκάρπια και συχνά τραχιά επιφάνεια στον πύλο. Τα αποξηραμένα βασιδιοκάρπια του είδους αυτού αναδύουν μια έντονη οσμή που θυμίζει το τσιμέντι του παστουρμά (η οποία απουσιάζει από τα βασιδιοκάρπια δειγμάτων του είδους *L. atlanticus*). Μεταξύ των ειδών *L. atlanticus* και *L. subumbonatus* παρατηρήθηκαν επίσης διαφορές σε μικροσκοπικά γνωρίσματα τα οποία ή δεν αναφέρονται είτε δεν τονίζονται σαν διακριτικά γνωρίσματα μέχρι σήμερα στη βιβλιογραφία, όπως το διαφορετικό σχήμα των βασιδιοσπορίων και η διαφορά στο ύψος της διακόσμησης των βασιδιοσπορίων. Το *L. atlanticus* χαρακτηρίζεται από βασιδιοσπόρια σφαιρικά έως υποσφαιρικά, σπανιότερα ευρέως

ελλειψοειδή ($Q = 1,00 - 1,04 - 1,09 - 1,24$), ενώ το σχήμα των βασιδιοσπορίων του *L. subumbonatus* κυμαίνεται από σφαιρικό έως ελλειψοειδές, με τους μέσους όρους του λόγου μήκος/πλάτος (Q) όλων των δειγμάτων να υποδηλώνουν σχήμα υποσφαιρικό έως ευρέως ελλειψοειδές ($Q = 1,00 - 1,08 - 1,19 - 1,50$). Στο *L. atlanticus* το ύψος της διακόσμησης των βασιδιοσπορίων δεν ξεπερνάει το 1,2 (1,3) μm , ενώ στο *L. subumbonatus* υπερβαίνει σε όλα τα δείγματα την τιμή του 1,2 μm και παρουσιάζει τιμές μέχρι 1,3 - 1,6 (1,7) μm . Οι παρατηρούμενες τιμές του ύψους της διακόσμησης των δειγμάτων *L. subumbonatus* που μελετήθηκαν αυξάνουν το άνω όριο της ποικιλομορφίας που αναφέρεται στη βιβλιογραφία για το συγκεκριμένο είδος (Heilmann-Clausen et al. 1998, Basso 1999). Ο διαχωρισμός των δυο ειδών με βάση τη μακρο- και μικρομορφολογία υποστηρίχθηκε πλήρως (και για πρώτη φορά) από τα μοριακά δεδομένα που προέκυψαν από την αλληλούχηση της ITS-5,8S rDNA περιοχής του γονιδιώματος. Το μοναδικό δείγμα *L. serifluus* που μελετήθηκε (*L. serifluus* AV06-104) δεν παρουσίασε κάποια μακροσκοπική ή μικροσκοπική διαφορά από τα δείγματα *L. subumbonatus*. Επιπροσθέτως, στο δένδρογραμμα που προέκυψε από την αλληλούχηση της ITS-5,8S rDNA περιοχής του γονιδιώματος, ομαδοποιήθηκε μαζί με τα δείγματα *L. subumbonatus*, όπως και μαζί με μια ακόμη αλληλουχία του ίδιου είδους από την GenBank προερχόμενη από άλλη εργασία. Παρόλο που δεν υπήρχαν περισσότερα δείγματα *L. serifluus* διαθέσιμα για μελέτη τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να θεωρηθούν σαν μια ισχυρή ένδειξη ότι τα *L. subumbonatus* και *L. serifluus* αποτελούν στην πραγματικότητα ένα είδος, όπως πρόσφατα προτάθηκε από τους Verbeken & Vesterholt (2008), οι οποίοι όμως δεν χρησιμοποίησαν μοριακές προσεγγίσεις για να επιβεβαιώσουν τον ισχυρισμό τους. Η άποψη αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι στα ελληνικά δείγματα *L. subumbonatus* που μελετήθηκαν σε νωπή κατάσταση, παρατηρήθηκε ποικιλομορφία σε κάποια μακροσκοπικά χαρακτηριστικά, τα οποία επικαλύπτουν την αντίστοιχη ποικιλομορφία που περιγράφεται για το *L. serifluus*.

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί πως η πραγματική ποικιλότητα του γένους *Lactarius* στην Ελλάδα είναι με βεβαιότητα μεγαλύτερη, αφού στην Ελληνική βιβλιογραφία αναφέρονται και ορισμένα ακόμη είδη του γένους, από τα οποία όμως δυστυχώς δεν υπήρχαν διαθέσιμα δείγματα για να συμπεριληφθούν στην παρούσα μελέτη ώστε να ελεγχθούν και οι συγκεκριμένοι προσδιορισμοί. Επιπλέον, η αύξηση της συχνότητας με την οποία καταγράφονται νέα είδη μακρομυκήτων στην Ελλάδα λόγω της

εντατικοποίησης της συλλογής μανιταριών τα τελευταία χρόνια, είναι βέβαιο ότι θα οδηγήσει στον εντοπισμό ειδών *Lactarius* που δεν έχουν αναφερθεί μέχρι τώρα στη χώρα μας.

V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anderson JB, Ullrich RC. 1979. Biological species of *Armillaria mellea* in North America. *Mycologia* 71: 402–414.
- Athanassiou Z, Theochari I. 2001. Compléments à l' inventaire des basidiomycètes de Grèce. *Mycotaxon* 79: 401–415.
- Basso MT. 1999. *Lactarius* Pers. Fungi Europei VIII. Mycoflora, Alassio.
- Baura G, Szaro TM, Bruns TD. 1992. *Gastrosuillus laricinus* is a recent derivative of *Suillus grevillei*: molecular evidence. *Mycologia* 84: 592–597.
- Binder M, Hibbett DS, Larsson K-H, Larsson E, Langer E. 2005. The phylogenetic distribution of resupinate forms in the homobasidiomycetes. *Systematics and Biodiversity* 3: 113-157.
- Binder M, Hibbett DS. 2002. Higher-level phylogenetic relationships of homobasidiomycetes (mushroomforming fungi) inferred from four rDNA regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 22(1):76-90.
- Binder M, Larsson K-H, Matheny PB, Hibbett DS. 2010. Amylocorticiales ord. nov. and Jaapiales ord. nov.: Early diverging clades of Agaricomycetidae dominated by corticioid forms. *Mycologia* 102: 865-880.
- Bon M. 1975. *Documents Mycologique* 5(17): 23
- Bowman BH, Taylor JW, Brownlee AG, Lee J, Lu S-D, White TJ. 1992. Molecular Evolution of the Fungi: Relationship of the Basidiomycetes, Ascomycetes, and Chytridiomycetes. *Molecular Biology and Evolution* 9(2):285-296.
- Brundrett MC. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil* 320:37–77.
- Bruns TD, Fogel R, White TJ, Palmer JD. 1989. Accelerated evolution of a false truffle from a mushroom ancestor. *Nature* 339: 140–142.
- Bruns TD, Shefferson RP. 2004. Evolutionary studies of ectomycorrhizal fungi: recent advances and future directions. *Canadian Journal of Botany* 82: 1122–1132.
- Bruns TD, Szaro TM, Gardes M, Cullings KW, Pan JJ, Taylor DL, Horton TR, Kretzer A, Garbelotto M, Li Y. 1998. A sequence database for the identification of ectomycorrhizal basidiomycetes by phylogenetic analysis. *Molecular Ecology* 7: 257–272.

- Bruns TD, Szaro TM. 1992. Rate and mode differences between nuclear and mitochondrial small-subunit rRNA genes in mushrooms. *Molecular Biology and Evolution* 9: 836-855.
- Bruns TD, Vilgalys R, Barns SM, Gonzalez D, Hibbett DS, Lane DJ, Simon L, Stickel S, Szaro TM, Weisburg WG, Sogin ML. 1992. Evolutionary relationships within the fungi: analyses of nuclear small subunit rRNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 1(3): 231-241.
- Bruns TD, White TJ, Taylor JW. 1991. Fungal molecular systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22: 525-564.
- Buyck B, Hofstetter V, Eberhardt U, Verbeken A, Kauff F. 2008. Walking the thin line between *Russula* and *Lactarius*: the dilemma of *Russula* subsect. *Ochricompectae*. *Fungal Diversity* 28:15-40.
- Buyck B, Hofstetter V, Verbeken A, Walley R. 2010. Proposal to conserve *Lactarius* nom. cons. (Basidiomycota) with a conserved type. *Taxon* 59(1): 295-296.
- Buyck B, Horak E. 1999. New taxa of pleurotoid Russulaceae. *Mycologia* 91: 532-537.
- Buyck B, Verbeken A, Eberhardt U. 2007. The genus *Lactarius* in Madagascar. *Mycological Research* 111: 787-798.
- Calonge FD, Martín MP. 2000. Morphological and molecular data on the taxonomy of *Gymnomyces*, *Martellia* and *Zelleromyces* (Russulales). *Mycotaxon* 76: 9-15.
- Comandini O, Contu M, Rinaldi AC. 2006. An overview of *Cistus* ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 16: 381-395.
- Dai YC, Wang Z, Binder M, Hibbett DS. 2006. Phylogeny and a new species of *Sparassis* (Polyporales, Basidiomycota): evidence from mitochondrial atp6, nuclear rDNA and rpb2 genes. *Mycologia* 98: 584-592.
- Davis RM, Menge JA. 1981. *Phytophthora parasitica* inoculation and intensity of vesicular-arbuscular mycorrhizae in *Citrus*. *New Phytologist* 87-4: 705-715.
- De Candolle AU, Lamarck J-B. 1815. *Flora Française* 6: 45
- De Queiroz K. 1998. The general lineage concept of species, and the process of speciation. In: Howard DJ, Belocher SH (Eds.), *Endless Forms: Species and Speciation*. Oxford University Press, pp. 57-75.
- Deacon JW. 2006. *Fungal Biology*. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- Delivorias P, Dimitriadis I, Gonou-Zagou Z, Kapsanaki-Gotsi E. 2010. Some interesting species of *Hymenoscyphus* from Greece. *Mycologia Balcanica* 7: 87-92.

- Delivorias P, Gonou-Zagou Z. 2008. On *Cheimonophyllum candidissimum* from Greece with notes on its putative aphyllorphoid ancestry. *Mycotaxon* 104: 1–8.
- Delivorias P, Gonou-Zagou Z. 2010. Too small for the eye to see: *Heyderia abietis*. *Field Mycology* 11 (2): 42-43.
- Delivorias P, Triantafyllou M, Gonou-Zagou Z. 2011. Red as a flame and lovely as a flower: *Perrotia flammea* from Greece. *Mycologia Balcanica* 8: 125-128.
- Dentinger BTM, Didukh MY, Moncalvo J-M. 2011. Comparing COI and ITS as DNA Barcode Markers for Mushrooms and Allies (Agaricomycotina). *PLoS ONE* 6(9): e25081. doi:10.1371/journal.pone.0025081
- Diamandis S, Perlerou C. 1994. New records of macrofungi in Greece. *Annals Musei Goulandris* 9: 113–123.
- Diamandis S, Perlerou C. 2001. The mycoflora of the chestnut ecosystems in Greece. *Forest Snow and Landscape Research* 76(3): 499-504.
- Dimou DM, Zervakis GI, Polemis E. 2002. Mycodiversity studies in selected ecosystems of Greece: I. Macrofungi from the southernmost *Fagus* forest in the Balkans (Oxya Mountain, Central Greece). *Mycotaxon* 82: 177-205.
- Dimou DM, Zervakis GI, Polemis E. 2008. Mycodiversity studies in selected ecosystems of Greece: I. Macrofungi from *Abies cephalonica* forests and other intermixed tree species (Oxya Mt., central Greece). *Mycotaxon* 104: 39-42.
- Donk MA. 1971. Progress in the study of the classification of the higher basidiomycetes. In *Evolution in the higher basidiomycetes* (ed. R. H. Petersen), pp. 3–25. Knoxville TN: University of Tennessee Press.
- Eberhardt U, Oberwinkler F, Verbeken A, Rinaldi AC, Pacioni G, Comandini O. 2000. *Lactarius ectomycorrhizae* on *Abies alba*: morphological description, molecular characterization, and taxonomic remarks. *Mycologia* 92 (5): 860-873.
- Eberhardt U, Verbeken A. 2004. Sequestrate *Lactarius* species from tropical Africa: *L. angiocarpus* sp. nov. and *L. dolichocaulis* comb. nov. *Mycological Research* 108 (9): 1042-1052.
- Forster H, Coffey MD, Elwood H, Sogin ML. 1990. Sequence analysis of the small subunit ribosomal RNAs of three zoosporic fungi and implications for fungal evolution. *Mycologia* 82:306-312.
- Fries EM. 1838. *Epicrisis systematis mycologici seu synopsis Hymenomycetum*. Uppsala

- Frøslev TG, Matheny PB, Hibbett DS. 2005. Lower level relationships in the mushroom genus *Cortinarius* (Basidiomycota, Agaricales): A comparison of RPB1, RPB2, and ITS phylogenies. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 602-618.
- Gardes M, Bruns TD. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2: 113-118
- Geml J, Tulloss RE, Laursen GA, Sazanova NA, Taylor DL. 2008. Evidence for strong inter- and intracontinental phylogeographic structure in *Amanita muscaria*, a wind-dispersed ectomycorrhizal basidiomycete. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48 (2): 694-701.
- Giraud T, Refrégier G, Le Gac M, de Vienne D M, Hood ME. 2008. Speciation in fungi. *Fungal Genetics and Biology* 45: 791-802 .
- Gonou-Zagou Z, Delivorias P. 2005. Studies on Basidiomycetes in Greece 1: The genus *Crepidotus*. *Mycotaxon* 94: 15–42.
- Gonou-Zagou Z, Delivorias P. 2011. Two rare white forms of common *Amanita* species. *Field Mycology* 12(1): 10-14.
- Gonou-Zagou Z, Triantafyllou M, Floudas D, Delivorias P. 2011. The genus *Resupinatus* in Greece. *Nova Hedwigia* 92 (3–4): 513–522.
- Gray MW, Sankoff D, Cedergren RJ. 1984. On the evolutionary descent of organisms and organelles: a global phylogeny based on a highly conserved structural core in small subunit ribosomal RNA. *Nucleic Acids Research* 12: 5837-5852.
- Grubisha L, Trappe J, Molina R. 2002. Biology of the ectomycorrhizal genus *Rhizopogon*. VI. Re-examination of infrageneric relationships inferred from phylogenetic analyses of ITS sequences. *Mycologia* 94(4): 607–619.
- Guerin-Laguette A, Conventi S, Ruiz G, Plassard C, Mousain D. 2003. The ectomycorrhizal symbiosis between *Lactarius deliciosus* and *Pinus sylvestris* in forest soil samples: symbiotic efficiency and development on roots of a rDNA internal transcribed spacer-selected isolate of *L. deliciosus*. *Mycorrhiza* 13: 17-25.
- Guerin-Laguette A, Plassard C, Mousain D. 2000. Effects of experimental conditions on mycorrhizal relationships between *Pinus sylvestris* and *Lactarius deliciosus* and unprecedented fruit-body formation of the saffron milk cap under controlled soilless conditions. *Canadian Journal of Microbiology* 46: 790-799.
- Hasegawa M, Iida Y, Yano T, Takaiwa F, Iwabuchi M. 1985. Phylogenetic relationships among eukaryotic kingdoms inferred from ribosomal RNA sequences. *Journal of Molecular Evolution* 22: 32-38.

- Hass H, Taylor TN, Remy W. 1994. Fungi from the Lower Devonian Rhynie chert: mycoparasitism . *American Journal of Botany* 81: 29-37.
- Hawksworth DL. 1991. The fungal dimension of biodiversity: Magnitude, significance and conservation. *Mycological Research* 95: 641-655.
- Heilmann-Clausen J, Verbeken A, Vesterholt J. 1998. The genus *Lactarius*. *Fungi of Northern Europe Vol. 2*. Svampetryk, Denmark.
- Henkel TW, Aime MC, Miller SL. 2000. Systematics of pleurotoid Russulaceae from Guyana and Japan, with notes on their ectomycorrhizal status. *Mycologia* 92: 1119-1132.
- Hesler LR, Smith AH. 1979. North American species of *Lactarius*. University of Michigan Press, Ann Arbor.
- Hey J. 2006. On the failure of modern species concepts. *Trends Ecol. Evol.* 21, 447–450.
- Hibbett D S, Donoghue M J. 1996. Implications of phylogenetic studies for conservation of genetic diversity in shiitake mushrooms. *Conservation Biology* 10: 1321-1327.
- Hibbett DS et al. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research* 111: 509-547.
- Hibbett DS, Binder M. 2001. Evolution of Marine Mushrooms. *The Biological Bulletin* 201: 319–322.
- Hibbett DS, Binder M. 2002. Evolution of complex fruiting-body morphologies in homobasidiomycetes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 269: 1963-1969.
- Hibbett DS, Donoghue MJ. 1995. Progress toward a phylogenetic classification of the Polyporaceae through parsimony analysis of mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Botany*, 73, S853-S861.
- Hibbett DS, Fukumasa-Nakai Y, Tsuneda A, Donoghue MJ. 1995. Phylogenetic diversity in shiitake inferred from nuclear ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 87: 618-638.
- Hibbett DS, Gilbert LB, Donoghue MJ. 2000. Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. *Nature* 407: 506–508.
- Hibbett, D.S., Pine, E.M., Langer, E., Langer, G., Donoghue, M.J. 1997. Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94: 12002-12006.

Hillis DM, Dixon MT. 1991. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology* 66: 411-426.

Hopple JS, Vilgalys R. 1999. Phylogenetic Relationships in the Mushroom Genus *Coprinus* and Dark-Spored Allies Based on Sequence Data from the Nuclear Gene Coding for the Large Ribosomal Subunit RNA: Divergent Domains, Outgroups, and Monophyly. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13 (1): 1–19.

Idzerda S, Noordeloos ME. 1997. Studies in *Lactarius* sect. *Tabidi*. *Oesterr. Z. Pilzk.* 6.

Iraçabal B, Zervakis G, Labarère J. 1995. Molecular systematics of the genus *Pleurotus*: analysis of restriction polymorphisms in ribosomal DNA. *Microbiology-UK* 141: 1479-1490.

James TY, Kauff F, Schoch C, Matheny PB, Hofstetter V, Cox C, Celio G, Gueidan C, Fraker E, Miadlikowska J et al. 2006a. Reconstructing the early evolution of the fungi using a six gene phylogeny. *Nature* 443(7113):818-822.

James TY, Letcher PM, Longcore JE, Mozley-Standridge SE, Porter D, Powell MJ, Griffith GW, Vilgalys R. 2006b. A molecular phylogeny of the flagellated fungi (Chytridiomycota) and description of a new phylum (Blastocladiomycota). *Mycologia* 98(6): 860-871.

James TY, Porter D, Leander CA, Vilgalys R, Longcore JE. 2000. Molecular phylogenetics of the Chytridiomycota supports the utility of ultrastructural data in chytrid systematics. *Canadian Journal of Botany* 78: 336–350.

Justo A et al. 2010. Phylogeny of the Pluteaceae (Agaricales, Basidiomycota): taxonomy and character evolution. *Fungal Biology* 115 (1): 1-20.

Keeling PJ, Luker MA, D. Palmer JD. 2000. Evidence from Beta-Tubulin Phylogeny that Microsporidia Evolved from Within the Fungi. *Molecular Biology and Evolution* 17(1):23–31.

Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16, 111-120.

Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA eds. 2008. *Dictionary of the Fungi*, 10th Edition. CABI Europe, UK.

Kotlaba F, Klan J. 1994. A handful of Aphylophorales collected in Greece. *Czech Mycology* 47 (3): 199–205.

Kranzlin F. 2005. *Fungi of Switzerland*, Vol. 6. Verlag Mykologia, Lucerne.

- Lalli G, Pacioni G. 1992. *Lactarius* sect. *Lactifluus* and allied species. *Mycotaxon* 44: 155-195.
- Larsson E, Larsson K-H. 2003. Phylogenetic relationships of russuloid basidiomycetes with emphasis on aphyllorphorean taxa. *Mycologia* 95: 1037-1065.
- Le HT, Nuytinck J, Verbeken A, Lumyong S, Desjardin DE. 2007a. *Lactarius* in Northern Thailand: 1. *Lactarius* subgenus *Piperites*. *Fungal Diversity* 24:173–224.
- Le HT, Stubbe D, Verbeken A, Nuytinck J, Lumyong S, Desjardin DE. 2007b. *Lactarius* in Northern Thailand: 2. *Lactarius* subgenus *Plinthogali*. *Fungal Diversity* 27:61–94.
- Le HT, Verbeken A, Nuytinck J, Lumyong S, Desjardin DE. 2007c. *Lactarius* in Northern Thailand: 3. *Lactarius* subgenus *Lactariopsis*. *Mycotaxon* 102:281–291.
- Lee SB, Taylor JW. 1992. Phylogeny of Five Fungus-like Protoctistan Phytophthora Species, Inferred from the Internal Transcribed Spacers of Ribosomal DNA. *Molecular Biology and Evolution* 9(4):636-653.
- Leonardi M, Paolocci F, Rubini A, Simonini G, Pacioni G. 2005. Assessment of inter- and intra-specific variability in the main species of *Boletus edulis* complex by ITS analysis. *FEMS Microbiology Letters* 243: 411–416.
- Lindgren SJ. 1845. *Bot. Not.* 1845: 200
- Llistosella J, Bellu F. 1996. *Lactarius mediterraneensis*, a new species from the Mediterranean region. *Mycotaxon* 57: 175-186.
- Lutzoni F, Kauff F, Cox CJ, et al. 2004. Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits. *American Journal of Botany* 91, 1446-1480 (44 authors).
- Maire R, Politis J. 1940. *Fungi Hellenici*. Catalogue raisonné des champignons connus jusqu' ici en Grèce. *Actes de l'Institute Botanique de l' Université d'Athènes* 1: 27-179.
- Malençon G. 1979. *Champignons du Maroc*. *Beihefte zur Sydowia* 8: 258-267.
- Malloch DW, Pirozynski KA, Raven PH. 1980. Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants (a review). *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 77: 2113-2118.
- Matheny PB, Curtis JM, Hofstetter V, Aime MC, Moncalvo JM, Ge ZW, Yang ZL, Slot JC, Ammirati JF, Baroni TJ, Bougher NL, Hughes KW, Lodge DJ, Kerrigan RW, Seidl MT, Aanen DK, DeNitis M, Daniele GM, Desjardin DE, Kropp BK, Norvell LL, Parker A, Vellinga EC, Vilgalys R, Hibbett DS. 2006a. Major clades of Agaricales: a multi-locus phylogenetic overview. *Mycologia* 98: 982-995.

- Matheny PB, Wang Z, Binder M, Curtis JM, Lim YW, Nilsson RH, Hughes KW, Hofstetter V, Ammirati JF, Schoch C, Langer GE, McLaughlin DJ, Wilson AW, Frøslev T, Ge ZW, Kerrigan RW, Slot JC, Vellinga EC, Liang ZL, Baroni TJ, Fischer M, Hosaka K, Matsuura K, Seidl MT, Vaura J, Hibbett DS. 2007. Contributions of *rpb2* and *tef1* to the phylogeny of mushrooms and allies (Basidiomycota, Fungi). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43: 430-451.
- Matheny PB. 2005. Improving phylogenetic inference of mushrooms with RPB1 and RPB2 nucleotide sequences (*Inocybe*; Agaricales). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 35, 1–20.
- Miller SL, Aime MC, Henkel TW. 2002. Russulaceae of the Pakaraima Mountains of Guyana. I. New species of pleurotoid *Lactarius*. *Mycologia* 94:545–553
- Miller SL, Larsoon E, Larsoon K-H, Verbeken A, Nuytinck J. 2006. Perspectives in the new Russulales. *Mycologia*, 98(6): 960–970.
- Miller SL, McClean TM, Walker JF, Buyck B. 2001. A molecular phylogeny of the Russulales including agaricoid, gasteroid and pleurotoid taxa. *Mycologia* 93: 344-354.
- Minter DW, Lowen R, Diamandis S. 1987. *Zeus olympius* gen. et sp. nov. and *Nectria ganymede* sp. nov. from Mount Olympos, Greece. *Transactions of the British Mycological Society* 88: 55–61.
- Moncalvo JM, Lutzoni FM, Rehner SA, Johnson J, Vilgalys R. 2000. Phylogenetic relationships of agaric fungi based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Systematic Biology* 49:278–305.
- Moncalvo JM, Vilgalys R, Redhead SA, Johnson JE, James TY, Aime MC, Hofstetter V, Verduin SJW, Larsson E, Baroni TJ, Thorn RG, Jacobsson S, Clemençon H, Miller Jr OK. 2002. One hundred seventeen clades of euagarics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23:357–400.
- Montoya L, Bandala VM. 2003. Studies on *Lactarius*: a new combination and two new species from Mexico. *Mycotaxon* 85: 393-407.
- Montoya L, Bandala VM. 2008. A new species and new records of *Lactarius* (subgenus *Russularia*) in a subtropical cloud forest from eastern Mexico. *Fungal Diversity* 29: 61-72.
- Montoya L, Band-Munoz VM, Guzman G. 1996. New and interesting species of *Lactarius* from Mexico including scanning electron microscope observations. *Mycotaxon* 57: 412–424.
- Mullis KB, Faloona FA. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. *Methods in Enzymology* 155:335-350

- Nagahama T, Sato H, Shimazu M, Sugiyama J. 1995. Phylogenetic divergence of the entomophthoralean fungi: evidence from nuclear 18S ribosomal RNA gene sequences. *Mycologia* 87:203–209.
- Newsham KK, Fitter AH, Watkinson AR. 1995. Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Ecology & Evolution* 10: 407–411.
- Noordeloos M, Polemis E. 2008. Studies in the genus *Entoloma* (Basidiomycota, Agaricales) from the Kiklades (C. Aegean, Greece). *Mycotaxon* 105: 301–312.
- Nuytinck J, Verbeken A, Delarue S, Walley R. 2003. Systematics of European sequestrate lactarioid Russulaceae with spiny spore ornamentation. *Belgian Journal of Botany* 136:145–153.
- Nuytinck J, Verbeken A, Miller SL. 2007. Worldwide phylogeny of *Lactarius* section *Deliciosi* inferred from ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. *Mycologia* 99(6): 820–832.
- Nuytinck J, Verbeken A, Rinaldi AC, Leonardi M, Pacioni G, Comandini O. 2004. Characterisation of *Lactarius tesquorum* ectomycorrhizae on *Cistus* sp. and molecular phylogeny of related European taxa. *Mycologia* 96: 272-282.
- Nuytinck J, Verbeken A. 2003. *Lactarius sanguifluus* versus *Lactarius vinosus* molecular and morphological analyses. *Mycological Progress* 2: 227–234.
- Nuytinck J, Verbeken A. 2005. Morphology and taxonomy of the European species in *Lactarius* sect. *Deliciosi* (Russulales). *Mycotaxon* 92: 125–168.
- Nuytinck J, Verbeken A. 2007. Species delimitation and phylogenetic relationships in *Lactarius* sect. *Deliciosi* (Russulales) in Europe. *Mycological Research* 3: 1285-1297
- Nuytinck J, Verbeken A. 2011. What are the differences between *Lactarius* sensu novo and *Lactifluus*: the former milkcaps? XVI Congress of European Mycologists, Halkidiki, Porto Carras, Greece.
- Nuytinck J, Wang XH, Verbeken A. 2006. Descriptions and taxonomy of the Asian representatives of *Lactarius* sect. *Deliciosi*. *Fungal Diversity* 22: 171-203.
- Nuytinck J. 2005. *Lactarius* section *Deliciosi* (Russulales, Basidiomycota) and its ectomycorrhiza: a morphological and molecular approach [Doctoral dissertation]. Ghent, Belgium: Ghent University. 257 p.
- Pantidou ME, Gonou ZN. 1984. Macrofungi in Forests of *Castanea sativa* and *Fagus sylvatica* in Greece. *Nova Hedwigia* 39: 245–257.
- Pantidou ME. 1973. Fungus-host index for Greece. Benaki Phytopathological Institute.

- Pantidou ME. 1980. Macrofungi in Forests of *Abies cephalonica* in Greece. *Nova Hedwigia* 32: 709–723.
- Peintner U, Moncalvo J-M, Vilgalys R. 2004. Toward a better understanding of the infrageneric relationships in *Cortinarius* (Agaricales, Basidiomycota). *Mycologia* 96(5): 1042-1058.
- Persoon CH. 1801. *Synopsis methodica fungorum*. Henricus Dieterich, Göttingen.
- Piltaver A. 1992. *Lactarius illyricus* sp. nov. from Slovenia. *Mycological Research* 96: 694.
- Pirozynski KA, Malloch DW. 1975. The origin of land plants: a matter of mycotrophism. *Biosystems* 6(3): 153-164.
- Polemis E, Dimou D, Tzanoudakis D & Zervakis G. 2007. Rare ectomycorrhizal mushrooms associated with *Quercus coccifera* from the Kiklades islands (Central Aegean, Greece). XV Congress of European Mycologists. Saint Petersburg, Russia: 140.
- Polemis E, Dimou DM, Pountzas L, Tzanoudakis D, Zervakis GI. 2011. Mycodiversity studies in selected ecosystems of Greece: 5. Basidiomycetes from woods dominated by *Castanea sativa* (Nafpactia Mts., central Greece). *Mycotaxon* 115, 535 (complete checklist available in <http://www.mycotaxon.com>, 16 pp.).
- Polemis E, Dimou DM, Tzanoudakis D, Zervakis GI. 2012. Annotated checklist of Basidiomycota (subclass Agaricomycetidae) from the islands of Naxos and Amorgos (Cyclades, Greece). *Annales Botanici Fennici* 49, 145-161.
- Polemis E, Dimou DM, Tzanoudakis D, Zervakis GI. 2012. Diversity of Basidiomycota (subclass Agaricomycetidae) in the island of Andros (Kyklades, Greece). *Nova Hedwigia* (in press).
- Polemis E, Noordeloos ME. 2007. Two new *Gymnopus* species from the island of Andros (Kiklades, C. Aegean, Greece). *Mycotaxon* 102: 171–178.
- Pratt LM, Phillips TL, Dennison JM. 1978. Evidence of non-vascular land plants from the Early Silurian (Llandoveryan) of Virginia, U.S.A . *Review of Palaeobotany and Palynology* 25: 121-149 . [3]
- Ravash R, Shiran B, Alavi A-A, Bayat F, Rajae S, Zervakis GI. 2010. Genetic variability and molecular phylogeny of *Pleurotus eryngii* species-complex isolates from Iran, and notes on the systematics of Asiatic populations. *Mycological Progress* 9: 181–194.
- Read DJ, Duckett JG, Francis R, Ligrone R, Russell A. 2000. Symbiotic fungal associations in ‘lower’ land plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 355:815–831.

- Remy W, Taylor TN, Hass H, Kerp H. 1994b. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 91:11841–11843.
- Remy W, Taylor TN, Hass H. 1994a. Early Devonian fungi: A blastocladalean fungus with sexual reproduction. *American Journal of Botany* 81: 690-702 . [3].
- Richardson MJ. 2008. Coprophilous fungi from the Greek Aegean islands. *Mycologia Balcanica* 5 (1–2): 23–32.
- Rinaldi AC, Comandini O, Kuyper TW. 2008. Ectomycorrhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff. *Fungal Diversity* 33: 1-45.
- Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Schmit JP, Mueller GM. 2007. An estimate of the lower limit of global fungal diversity. *Biodiversity and Conservation* 16: 99-111.
- Shimono Y, Hiroi M, Iwase K, Takamatsu S. 2007. Molecular phylogeny of *Lactarius volemus* and its allies inferred from the nucleotide sequences of nuclear large subunit rDNA. *Mycoscience* 48: 152-159.
- Shimono Y, Kato M, Takamatsu S. 2004. Molecular phylogeny of Russulaceae (Basidiomycetes; Russulales) inferred from the nucleotide sequences of nuclear large subunit rDNA. *Mycoscience* 45:303–316.
- Sikes BA, Cottenie K, Klironomos JN. 2009. Plant and fungal identity determines pathogen protection of plant roots by arbuscular mycorrhizas. *Journal of Ecology* 97:1274-80.
- Simon L, Bousquet J, Lévesque C, Lalone M. 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature* 363: 67–69.
- Singer R. 1986. *The Agaricales in modern taxonomy*. 4th edition. Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Germany.
- Smith SE, Read DJ. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London, UK.
- Sogin M, Elwood HJ, Gunderson JH. 1986. Evolutionary diversity of eukaryotic small-subunit rRNA genes. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 83: 1383-1387
- Sogin ML. 1989. Evolution of eukaryotic microorganisms and their small subunit ribosomal RNAs. *American Zoologist* 29:487-499.
- Stajich JE, Berbee ML, Blackwell M, Hibbett DS, James TY, Spatafora JW, Taylor JW. 2009. The Fungi. *Current Biology* 19: R840-R845.

- Stubbe D, Le HT, Wang X-H, Nuytinck J, Van de Putte K, Verbeken A. 2012. The Australasian species of *Lactarius* subgenus *Gerardii* (Russulales). *Fungal Diversity* 52: 141–167.
- Stubbe D, Nuytinck J, Verbeken A. 2008. *Lactarius* subgenus *Plinthogalus* of Malaysia. *Fungal Diversity* 32:125-156.
- Stubbe D, Nuytinck J, Verbeken A. 2010. Critical assessment of the *Lactarius gerardii* species complex (Russulales). *Fungal Biology* 114: 271–283.
- Swann EC, Taylor JW. 1993. Higher taxa of basidiomycetes: an 18S rRNA gene perspective. *Mycologia*, 85(6): 923-936.
- Tanabe Y, Saikawa M, Watanabe MM, Sugiyama J. 2004. Molecular phylogeny of Zygomycota based on EF-1 and RPB1 sequences: limitations and utility of alternative markers to rDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 438–449.
- Taylor AF, Hills AE, Simonini G, Both EE, Eberhardt U. 2006. Detection of species within the *Xerocomus subtomentosus* complex in Europe using rDNA–ITS sequences. *Mycological research* 110: 276 – 287.
- Taylor JW, Berbee ML. 2006. Dating divergences in the Fungal Tree of Life: review and new analyses. *Mycologia* 98: 838–849.
- Taylor JW, Jacobson DJ, Kroken S, Kasuga T, Geiser DM, Hibbett DS, Fisher MC. 2000. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fungal Genetics and Biology* 31: 21–32.
- Taylor TN, Remy W, Hass H, Kerp H. 1995. Fossil arbuscular mycorrhizae from the early Devonian. *Mycologia* 87: 560–573.
- Taylor TN, Remy W, Hass H. 1992 . Fungi from the Lower Devonian Rhynie chert: Chytridiomycetes . *American Journal of Botany* 79: 1233-1241. [1,3]
- Trappe JM. 1996 What is a mycorrhiza? Proceedings of the 4th European Symposium on Mycorrhizae, Granada, Spain. EC Report EUR16728, pp. 3-9.
- Triantafyllou M, Delivorias P, Gonou-Zagou Z. 2009a. Some interesting species of *Lactarius* from Greece. Book of Abstracts, 5th Balkan Botanical Congress, Belgrade, Sofia: 81.
- Tsopelas P. 1999. Distribution and ecology of *Armillaria* species in Greece. *European Journal of Forest Pathology* 29: 103–116.
- Van de Putte K, Nuytinck J, Stubbe D, Le H, Verbeken A. 2010. *Lactarius volemus* sensu lato (Russulales) from northern Thailand: morphological and phylogenetic species concepts explored. *Fungal Diversity* 45:99–130.

- Van de Putte K, Nuytinck J, Verbeken A. 2011. *Lactifluus volemus* (Russulaceae): a species rich complex revealed by molecular phylogenetics. XVI Congress of European Mycologists, Halkidiki, Porto Carras, Greece.
- Van Rooij P, De Kesel A, Verbeken A. 2003. Studies in tropical African *Lactarius* species (Russulales, Basidiomycota) 11. Records from Benin. *Nova Hedwigia* 77:221-251.
- Vellinga EC. 1988. Glossary. In: Bas C, Kuyper TW, Noordeloos ME, Vellinga EC (eds) *Flora Agaricina Neerlandica*, vol 1. AA Balkema, Rotterdam, pp 54-64.
- Verbeken A, Bougher NL, Halling R. 2002. *Lactarius* (Basidiomycota, Russulaceae) in Papua New Guinea. 3. Two new *Lactarius* species in subgenus *Plinthogali*. *Australian Systematic Botany* 15(6): 765-771.
- Verbeken A, Horak E. 1999. *Lactarius* (Basidiomycota) in Papua New Guinea. 1. Species of tropical lowland habitats. *Australian Systematic Botany* 12(6): 767-779.
- Verbeken A, Horak E. 2000. *Lactarius* (Basidiomycota) in Papua New Guinea 2. Species in tropical-montane rainforests. *Australian Systematic Botany* 13(5): 649-707.
- Verbeken A, Vesterholt J. 1998. A new *Lactarius* species from Scandinavia in the section *Dapetes*. *Cryptogamie Mycologie* 19: 87–91.
- Verbeken A, Vesterholt J. 2008. *Lactarius*. – In: Knudsen H & Vesterholt J (eds.): *Funga Nordica*, 82-107.
- Verbeken A, Walley R, Nuytinck J, Van Rooij P. 2003. World-wide systematics of the genus *Lactarius* (Russulales, Basidiomycota): a state of the art. *Scripta Bot. Belg* (Proceedings BBB 2001) 24: 198-199.
- Verbeken A. 1995. Studies in tropical African *Lactarius* species. 1. *Lactarius gymnocarpus* Singer ex R. Heim and allied species. *Mycotaxon* 55: 515-542.
- Verbeken A. 1998a. Studies in tropical African *Lactarius* species. 5. A synopsis of the subgenus *Lactifluus* (Burl.) Hesler & A.H. Sm. emend. *Mycotaxon* 66:363–386.
- Verbeken A. 1998b. Studies in tropical African *Lactarius* species. 6. A synopsis of the subgenus *Lactariopsis* (Henn.) R. Heim emend. *Mycotaxon* 66:387–418.
- Verbeken A. 2001. Studies in tropical African *Lactarius* species. 10. Infrageneric classification. *Mycotaxon* 77: 435-444. 2001.
- Vilgalys R, Hester M. 1990. Rapid Genetic Identification and Mapping of Enzymatically Amplified Ribosomal DNA from Several Cryptococcus Species. *Journal of Bacteriology* 172: 4238-4246
- Vilgalys R, Sun BL. 1994. Ancient and recent patterns of geographic speciation in the oyster mushroom *Pleurotus* revealed by phylogenetic analysis of ribosomal DNA

sequences. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America 91: 4599-4603.

Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van De Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23: 4407-4414.

Wang B, Qiu Y-L. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. Mycorrhiza 16: 299–363.

Wang B, Yeun LH, Xue J-Y, Liu Y, Ané J-M, Qiu Y-L. 2010. Presence of three mycorrhizal genes in the common ancestor of land plants suggests a key role of mycorrhizas in the colonization of land by plants. New Phytologist, 186: 514–525.

Wang XH, Hashiya M, Verbeken A. 2006. *Lactarius ochrogalactus*, a new species of the genus *Lactarius* (Russulaceae, Russulales) with yellowish-brown latex. Mycoscience 47:232–234.

Wang XH, Verbeken A. 2006. Three new species of *Lactarius* subgenus *Lactiflui* (Russulaceae, Russulales) in southwestern China. Nova Hedwigia 83(1–2):167–176.

Wang XH. 2007. Type studies of *Lactarius* species published from China. Mycologia 99: 253-268.

White TJ, Buns TD, Lee SB, Taylor JW. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal genes for phylogenetics. In PCR protocols (ed. Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ), pp. 315–322. San Diego, CA: Academic.

Zervakis G, Balis C. 1991. *Pleurotus* species of Greece: An evaluation of their morphological and physiological characteristics. In Maher (ed.), Science and Cultivation of Edible Fungi: 537–544. Balkema, Rotterdam.

Zervakis G, Balis C. 1996. A pluralistic approach on the study of *Pleurotus* species, with emphasis on compatibility and physiology of the European morphotaxa. Mycological Research 100: 717-731.

Zervakis G, Dimou D, Balis C. 1992. First record of the natural occurrence in Europe of the basidiomycete *Pleurotus cystidiosus* on a new host. Mycological Research 96 (10): 874-876.

Zervakis G, Dimou D, Balis C. 1998. A check-list of the Greek Macrofungi including hosts and biogeographic distribution: I. Basidiomycotina. Mycotaxon 66: 273–336.

Zervakis G, Labarère J. 1992. Taxonomic relationships within the fungal genus *Pleurotus* as determined by isoelectric focusing analysis of enzyme patterns. Journal of General Microbiology 138, 635-645.

Zervakis G, Lizoň P, Dimou D, Polemis E. 1999. Annotated check-list of the Greek macrofungi. II. Ascomycotina. *Mycotaxon* 72: 487–506.

Zervakis G, Sourdís J, Balis C. 1994. Genetic variability and systematics of eleven *Pleurotus* species based on isozyme analysis. *Mycological Research* 98: 329-341.

Zervakis G, Venturella G, Papadopoulou K. 2001. Genetic polymorphism and taxonomic relationships of the *Pleurotus eryngii* species-complex as resolved through the analysis of random amplified DNA patterns, isozyme profiles and ecomorphological characters. *Microbiology-SGM* 147: 3183-3194.

Zervakis G. 1998. Mating competence and biological species within the subgenus *Coremiopleurotus*. *Mycologia* 90, 1063-1074.

Zervakis GI, Dimou DM, Polemis E, Karadelev M. 2002a. Mycodiversity studies in selected ecosystems of Greece: II. Macrofungi associated with conifers in the Taygetos mountain (Peloponnese). *Mycotaxon* 83: 97–126.

Zervakis GI, Moncalvo JM, Vilgalys R. 2004. Molecular phylogeny, biogeography and speciation of the mushroom species *Pleurotus cystidiosus* and allied taxa. *Microbiology* 150: 715–726

Zervakis GI, Polemis E, Dimou DM. 2002b. Mycodiversity studies in selected ecosystems of Greece: III. Macrofungi recorded in *Quercus* forests from Southern Peloponnese. *Mycotaxon* 84: 141-162.

Αθανασίου Ζ, Θεοχάρη Ι. 1999. Συμβολή στην καταγραφή της μυκοχλωρίδας της μαύρης πέυκης. *Δασική Έρευνα* 12: 41-46.

Αθανασίου Ζ. 2010. Μανιτάρια. Οδηγός αναγνώρισης για 642 είδη. Εκδόσεις Ψύχαλου.

Γκόνου-Ζάγκου Ζ. 2003. Ταξινομική και οικολογική μελέτη των Agaricales της Ελλάδας. Συμβολή των καθαρών καλλιέργειών. Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Διαμαντής Σ, Minter DW. 1981. Συνεισφορά στη μυκοχλωρίδα της Κεφαλληνιακής Ελάτης (*Abies cephalonica* Loud.) Μέρος Ι. *Το Δάσος* 92: 46-60.

Διαμαντής Σ, Minter DW. 1983. Συνεισφορά στη μυκοχλωρίδα της Κεφαλληνιακής Ελάτης (*Abies cephalonica* Loud.) Μέρος ΙΙ. *Δασική Έρευνα* 2 (IV): 131-136.

Διαμαντής Σ, Περλέρου Χ. 1990. Νέες καταγραφές μυκήτων στην Ελλάδα. *Επιστημονική Επετηρίδα Τμήματος Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος*: 293-303.

Διαμαντής Σ, Περλέρου Χ. 1997. Η Μυκοχλωρίδα του Αγίου Όρους. Υπουργείο Πολιτισμού, Οργανισμός Πολιτιστικής Πρωτεύουσας της Ευρώπης «Θεσσαλονίκη 1997».

Διαμαντής Σ. 1983. Συμβολή στη μυκοχλωρίδα των δασικών οικοσυστημάτων της Ελλάδας. Δασική Έρευνα 1 (IV): 59-66.

Διαμαντής Σ. 1985. Καταγραφή της μυκοχλωρίδας των δασών της Ελλάδας. Δασική Έρευνα 2 (VI): 101-118.

Διαμαντής Σ. 1992. Ταμανιτάρια της Ελλάδος. Εκδόσεις Ίων. Αθήνα.

Διαπούλης ΧΑ. 1939. Συμβολή εις την σπουδήν των μυκήτων του Πηλίου. Δελτίον Φυσικών Επιστημών 50-51: 1-7.

Ζερβάκης Γ. 1992. Γενετική και ταξινομική ανάλυση μυκήτων του γένους *Pleurotus*. Διδακτορική Διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Κωνσταντινίδης Γ. 1994. Μανιτάρια του νομού Γρεβενών. ΤΕΔΚ Ν. Γρεβενών.

Κωνσταντινίδης Γ. 2001. Μανιτάρια του νομού Γρεβενών. Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Γρεβενών.

Κωνσταντινίδης Γ. 2004. Μανιτάρια, οδηγός μανιταροσυλλέκτη. Εκδόσεις Ζαρζώνη, Θεσσαλονίκη.

Κωνσταντινίδης Γ. 2006 (επιμ.). 1000 μανιτάρια της Δυτικής Μακεδονίας. Μανιταρόφιλοι Δυτικής Μακεδονίας.

Κωνσταντινίδης Γ. 2009. Μανιτάρια, φωτογραφικός οδηγός μανιταροσυλλέκτη. nonpaper.net.

Κωνσταντινίδης Γ. 2010. Μανιτάρια, οδηγός τσέπης. manitari.gr.

Παντίδου Μ. 1991. Μανιτάρια από τα ελληνικά δάση. Μουσείο Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας. Αθήνα.

Παπαδήμα Κ. 2010. Μελέτη της βιοποικιλότητας των μακρομυκήτων στα δρυοδάση περιοχής Λευκάδας - Γαρδικίου του νομού Φθιώτιδας. Πτυχιακή Μελέτη, Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Περλέρου Χ, Διαμαντής Σ. 2000. Νέες καταγραφές μακρομυκήτων στην Ελλάδα. Δασική Έρευνα 13: 51-57.

Πολέμης Η. 1998. Καταγραφή των μανιταριών της Άνδρου. Πτυχιακή Εργασία, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Πολέμης Η. 2010. Συμβολή στη γνώση της βιοποικιλότητας των Κυκλάδων (Κεντρικό Αιγαίο): Μελέτη των Βασιδιομυκήτων (Υποφύλο Agaricomycotina) στα

νησιά Άνδρο, Νάξο και Αμοργό. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα.

Τριανταφύλλου Μ. 2009. Μελέτη της ποικιλότητας μακρομυκήτων σε περιοχές της Πελοποννήσου. Πτυχιακή Εργασία, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Τσόπελας Π. 1997. Μελέτη των παρασιτικών ειδών του γένους *Armillaria* στον ελλάδικο χώρο. Διδακτορική Διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.