



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
(πρώην Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων, ΤΕΙ Δυτικής
Ελλάδας)

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΙ ΤΗΣ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ
ΕΛΕΓΧΟΥ ΕΔΑΦΟΓΕΝΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΕΝΑΝΤΙΟΝ
ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΩΝ (*Meloidogyne* sp.)

ΑΛΕΡΤΑ ΜΑΡΙΑ (Α.Μ. 11572)

ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ: ΔΡ. ΚΑΡΑΝΑΣΤΑΣΗ ΕΙΡΗΝΗ

ΑΜΑΛΙΑΔΑ 2020

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Φυτοπροστασίας – Φαρμακολογίας, Τ.Ε.Ι. Δυτικής Ελλάδος, (σήμερα: Εργαστήριο Φυτοπροστασίας του Πανεπιστημίου Πατρών) κατά τα έτη 2017-2018 υπό την επίβλεψη της καθηγήτριας κ. Ειρήνης Καραναστάση. Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτριά μου για την ανάθεση και επίβλεψη της πτυχιακής αυτής εργασίας, καθώς και για την άριστη επιστημονική καθοδήγησή της. Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω θερμά το Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, και ιδιαίτερα τον Καθηγητή Επαμεινώνδα Παπλωματά, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Σωτήριο Τζάμο και την υποψήφια διδάκτορα Δανάη Γκίτζη για την παροχή οδηγιών και τη διάθεση των βιολογικών παραγόντων FP15 και F2. Επίσης, την αγαπημένη μου φίλη και συμφοιτήτρια Σταμάτη Ευαγγελία-Διονυσία για την βοήθεια και την στήριξη της κατά την εκπόνηση της πτυχιακής μου εργασίας, την συμφοιτήτρια μου Νομικού Αγγελική για την πολύτιμη βοήθεια της, καθώς επίσης και την οικογένεια μου για την στήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	2
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	3
ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ: ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	5
1.1 ΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ ΣΚΩΛΗΚΕΣ.....	5
1.2 ΟΙ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ.....	6
1.3 ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ	6
1.3.1 Επιδερμικό στρώμα	7
1.3.2 Μυϊκό σύστημα	8
1.3.3 Πεπτικό σύστημα.....	8
1.3.4 Αναπαραγωγικό σύστημα	10
1.3.5 Νευρικό σύστημα	11
1.4 Ο ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΩΝ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ.....	11
1.5 ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ.....	13
1.6 ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ ΚΑΙ ΦΥΤΑ ΞΕΝΙΣΤΕΣ	13
1.7 ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ – ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	13
1.8 ΔΙΑΤΡΟΦΗ - ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΣ	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ	15
2.1 ΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ <i>MELOIDOGYNE</i>	15
2.2 ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ	15
2.3 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ	15
2.3.1 Θηλυκά	15
2.3.2 Άρσενικά.....	16
2.3.3 Προνύμφες 2ου σταδίου.....	16
2.3.4 Προνύμφες 3ου και 4ου σταδίου	17
2.4 ΔΙΑΤΡΟΦΗ – ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΣ.....	17
2.5 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ-ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ	17
2.5.1 Συμπτώματα στο υπέργειο μέρος του φυτού.....	17
2.5.2 Συμπτώματα στο υπόγειο μέρος του φυτού	18
2.6 ΔΙΑΔΟΣΗ-ΞΕΝΙΣΤΕΣ.....	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ	21
3.1 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ	21
3.1.1 Πρόληψη.....	21
3.1.2 Καταστολή	21

Φυσικές μέθοδοι – Καλλιεργητικά μέτρα.....	21
Βιολογική αντιμετώπιση	26
Χημική αντιμετώπιση	29
ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ	33
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ	33
4.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	33
4.1.1. Μη παθογόνο στέλεχος <i>F. oxysporum</i> (F2)	33
4.1.2 <i>Arthrobacter</i> sp. (FP 15).....	33
4.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	34
4.2.1 Ανάπτυξη πληθυσμού <i>Meloidogyne javanica</i>	34
Υλικά.....	34
Διαδικασία	34
4.2.2 Μόλυνση φυταρίων και επεμβάσεις	35
Υλικά.....	35
Διαδικασία	36
4.2.3 Καταμέτρηση συνολικού πληθυσμού και αξιολόγηση προσβολής	38
Υλικά.....	38
Διαδικασία	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ	43
5.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΩΝ.....	43
.....	44
.....	45
5.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ	52
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	52
6.1 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	52
6.2 ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	52
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ: ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΣΤΟ 18 ^ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ	57

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ ΣΚΩΛΗΚΕΣ

Οι νηματώδεις σκώληκες είναι οργανισμοί που ανήκουν στο Φύλο Nemata του Ζωικού Βασιλείου, Υποβασίλειο: Metazoa (Cobb 1919 (Chitwood, Filipjev et al., 1959)). Το φύλο αυτό είναι το πολυπληθέστερο μετά τα Αρθρόποδα και περιλαμβάνει μικρόσωμους οργανισμούς που βρίσκονται στο έδαφος, στα γλυκά και θαλάσσια νερά, όπου υπάρχει οργανική ουσία, ακόμα ζουν ελεύθερα ή ως ζωικά ή φυτικά παράσιτα, αφού η εσωτερική και εξωτερική τους μορφολογία τους δίνει την δυνατότητα να προσαρμόζονται σε διάφορες συνθήκες (Hirschmann, 1960). Σαν φυτικά παράσιτα, ζουν γύρω από τις ρίζες των φυτών και δημιουργούν προβλήματα στην παραγωγή και ανάπτυξη τους (Dao et al., 1970). Οι πιο συχνές προσβολές οικονομικού ενδιαφέροντος είναι αυτές των ριζοκόμβων του γένους *Meloidogyne* ή νηματωδών του εξοιδηματικού των ριζών (Τριανταφύλλου, 1960) και των κυστογόνων των γενών *Heterodera* και *Globodera*. Τα είδη *Meloidogyne* προκαλούν εξογκώματα στις ρίζες όταν βρεθούν σε ευνοϊκές συνθήκες, και αν δεν καταπολεμηθούν μειώνουν την παραγωγή μέχρι του βαθμού πλήρους καταστροφής μιας καλλιέργειας. Από τους νηματώδεις των ριζοκόμβων προκαλούνται προβλήματα σε φυτώρια οπωροφόρων δένδρων, σε οπωρώνες και άλλες καλλιέργειες. Ακόμα σοβαρές ζημιές έχουν σημειωθεί από κυστογόνους νηματώδεις, για παράδειγμα η πατάτα προσβάλλεται από τα είδη *Globodera rostochiensis* και *G. pallida*, όπου παρουσιάζονται στα φυτά χλωρωτικές κηλίδες με αραιά ή χαμηλή βλάστηση. Ένας άλλο είδος κυστογόνου νηματώδη, το *Heterodera schachtii*, παρουσιάζεται στα σακχαρότευτλα προκαλώντας παρόμοια συμπτώματα όπως στην περίπτωση της πατάτας. Ευρέως γνωστός νηματώδης είναι και του σίτου (*Anguina tritici*) που προκαλεί συστρόφες και καρούλιασμα στα φύλλα και σε μεταγενέστερο στάδιο προσβάλλει τους στάχεις με αποτέλεσμα μεγάλη μείωση της παραγωγής, ακόμα και την εκμηδενισή της (Powell, 1971; Pitcher, 1965 Πολυχρονόπουλος 1970).

Παρόλα αυτά υπάρχουν και ωφέλιμοι νηματώδεις που τρέφονται με έντομα, βακτήρια, ακάρεα και μύκητες, συμβάλλοντας στην καλή ανάπτυξη των φυτών και στην γονιμότητα του εδάφους. Ακόμα είναι πολύ πιθανό μέσα στο έδαφος, σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις να βρεθούν νηματώδεις όπου μπορούν να παρασιτήσουν ανθρώπους και ζώα (Bunt, 1975).

1.2 ΟΙ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ

Οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις χωρίζονται σε δύο Κλάσεις: Secernentea και Adenophorea. Οι νηματώδεις που ανήκουν στην κλάση Secernentea φέρουν φασμίδα και ανήκουν στις τάξεις Tylenchida, Rhabditida και Aphelenchida, ενώ οι νηματώδεις Adenophorea δεν φέρουν φασμίδα και ανήκουν στις τάξεις Dorylaimida και Triplonchida.

Οι περισσότεροι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις ανήκουν στην τάξη Tylenchida, όπου κατατάσσονται οι οικογένειες:

- Anguinidae (π.χ. *Ditylenchus*, *Anguina*)
- Belonolaimidae (π.χ. *Belonolaimus*, *Tylencorhynchus*)
- Hoplolaimidae (π.χ. *Hoplolaimus*, *Helicotylenchus*, *Rotylenchus*, *Scutellonema*)
- Pratylenchidae (π.χ. *Pratylenchus*, *Radopholus*)
- Heteroderidae (π.χ. *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Globodera*)
- Criconematidae (π.χ. *Criconema*, *Criconemoides*, *Hemicycliophora*)
- Tylenchidae (π.χ. *Tylenchus*).

Μερικά σημαντικά είδη περιλαμβάνονται στην Τάξη Aphelenchida με τις παρακάτω οικογένειες:

- Aphlenchidae (*Aphelenchus*)
- Aphlenchoididae (*Aphlenchoides*)

στην Τάξη Dorylaimida οι:

- Longidoridae (*Longidorus*, *Longidoroides*, *Paralongidorus*, *Xiphinema*, *Xiphidorus*, *Paraxiphidorus*)

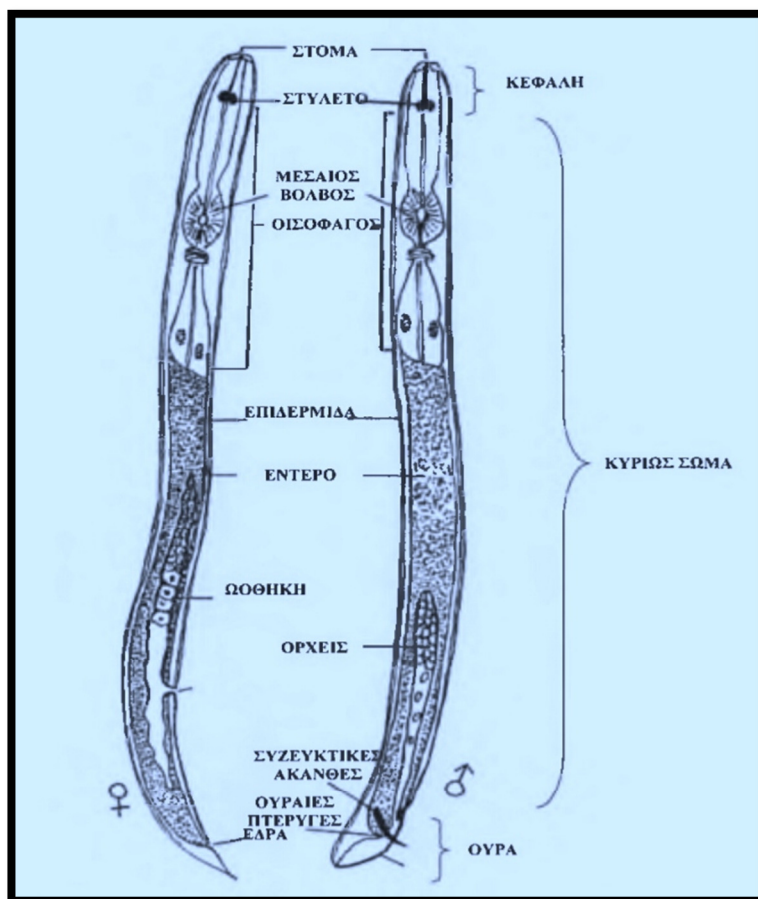
και στην Τάξη Triplonchida τα γένη *Trichodorus* και *Paratrichodorus*.

Σημαντικά μορφολογικά χαρακτηριστικά των νηματωδών αποτελούν το σχήμα, το μήκος σώματος, το εύρος σώματος, το σχήμα κεφαλής, το σχήμα και το μήκος του στιλέτου, το σχήμα και το μήκος της ουράς, ο τύπος του οισοφάγου, ο μεσαίος βολβός, η ύπαρξη ή μη φασμίδων, η θέση του γενετικού πόρου, ο αριθμός των ωοθηκών, οι διάφορες πτυχώσεις της επιδερμίδας (Κολιοπάνος, 1999).

1.3 ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Οι περισσότεροι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις έχουν σώμα λεπτό, σκωληκόμορφο σχεδόν διαφανές που προστατεύεται από την επιδερμίδα. Το μήκος του σώματος κυμαίνεται μεταξύ 0,5 και 2mm. Οι θηλυκοί νηματώδεις ορισμένων ειδών καθώς αναπτύσσονται ,διογκώνονται μπορεί να

παίρνουν διάφορα σχήματα. Συνήθως οι προνύμφες δεν διαφέρουν σημαντικά από τα ανεπτυγμένα άτομα, εκτός ως προς την παρουσία αναπαραγωγικού συστήματος που εξελίσσεται κατά τα 4 προνυμφικά στάδια.



Εικόνα 1.1 Διάγραμμα της μορφολογίας του σώματος ενός θηλυκού και ενός αρσενικού φυτοпараσιτικού νηματώδη. (Πηγή: <https://www.apsnet.org/Pages/default.aspx>)

1.3.1 Επιδερμικό στρώμα

Το σώμα των νηματωδών εξωτερικά καλύπτεται από το επιδερμικό στρώμα που διακρίνεται στην επιδερμίδα (cuticula ή cuticle), την υποδερμίδα (hypodermis) και τους σωματικούς μύες (somatic musculature).

Ανάμεσα στο μυϊκό στρώμα και τα διάφορα εσωτερικά όργανα υπάρχει το ψευδοκοιλίωμα που διαδραματίζει το ρόλο του αναπνευστικού και του κυκλοφορικού συστήματος. Η επιδερμίδα είναι πρωτεϊνικής σύνθεσης και αποτελεί την προστατευτική ασπίδα του νηματώδη. Ακόμα, καλύπτει τη στοματική κοιλότητα και εκτείνεται στο εσωτερικό, καλύπτοντας το εσωτερικό του οισοφάγου, του απεκκριτικού πόρου, του γεννητικού ανοίγματος, του κόλπου, της έδρας, της αμάρας, του ορθού και κάποιων αισθητηρίων οργάνων (Κύρου, 2004).

Στην επιδερμίδα παρατηρούνται κάποιοι πόροι που συνδέονται με υποδερμικούς αδένες, που με τη σειρά τους συσχετίζονται με διάφορα αισθητήρια όργανα (Crofton 1966, Hirschmann, 1971).

Η επιδερμίδα είναι συνήθως λεία, αλλά κάποιες φορές παρατηρούνται επιμήκεις επιδερμικές γραμμές που συνθέτουν τις πλάγιες επιδερμικές περιοχές, των οποίων ο αριθμός, η παρουσία και η διάταξη χρησιμοποιούνται για την ταξινόμηση των νηματώδων. Ακόμα, η έκταση που καταλαμβάνουν μπορεί να βρίσκεται από το πίσω μέρος της κεφαλής μέχρι και την περιοχή της ουράς και το αν είναι ευδιάκριτες ή όχι εξαρτάται από το είδος του νηματώδη. Στα γένη *Heterodera*, *Globodera* και *Meloidogyne* παρατηρούνται ιδιαίτεροι μορφολογικοί σχηματισμοί που δημιουργούνται από την επιδερμίδα γύρω από το γεννητικό άνοιγμα και την έδρα των θηλυκών, οι οποίοι έχουν τη μορφή χαρακτηριστικών ανάγλυφων γραμμών ή κύκλων που συνθέτουν τα περιεδρικά αποτυπώματα, ένα σημαντικό ταξινομικό χαρακτηριστικό για τα είδη αυτά (Κύρου, 2004).

Η υποδερμίδα αποτελείται από λεπτό κυτταρικό ιστό που εσωτερικά παρουσιάζει τέσσερις επιμήκεις παχύνσεις, οι οποίες χωρίζονται σε δυο πλευρικές, μια κοιλιακή και μια νωτιαία που διατρέχουν κατά μήκος όλο το σώμα του νηματώδη και ονομάζονται αξονικές χορδές.

1.3.2 Μυϊκό σύστημα

Το μυϊκό σύστημα αποτελείται από επιμήκεις, εξειδικευμένους μύες που διαιρούνται σε τέσσερις δεσμίδες, καλύπτουν όλο το μήκος του σώματος και είναι υπεύθυνοι για την κάμψη και κίνηση του σώματος, τις κινήσεις του στιλέτου, τη λειτουργία της έδρας, των γεννητικών οργάνων και του οισοφάγου.

Στα αρσενικά άτομα, στο επιδερμικό στρώμα παρατηρούνται κάποιες παχύνσεις, τα πτερύγια, των οποίων η ονοματολογία διαφοροποιείται ανάλογα με την θέση τους. Αυτά που βρίσκονται στην περιοχή του αυχένα ονομάζονται αυχενικά, και αυτά που βρίσκονται στην ουρά, ουραία ή πτερύγια συνουσίας γιατί παρατηρείται ότι λειτουργούν σαν όργανα περίπτυξης κατά την διάρκεια της συνουσίας.

1.3.3 Πεπτικό σύστημα

Το πεπτικό σύστημα περιλαμβάνει το στόμα, τον οισοφάγο και τον εντερικό σωλήνα και καταλήγει στην αμάρα των αρσενικών ή την έδρα των θηλυκών.

Το στόμα χωρίζεται σε τρία μέρη το εμπρόσθιο ή στοματικό άνοιγμα που περιβάλλεται από τα χείλη, το μεσαίο και το οπίσθιο μέρος που αποτελεί τη στοματική κοιλότητα. Το σχήμα του

μπορεί να είναι τριγωνικό, ημισφαιρικό, μικρού μεγέθους, επίμηκες, κυλινδρικό, λιγότερο ή περισσότερο ενσωματωμένο στο μυϊκό σύστημα του οισοφάγου ή ακόμα και τελείως ελεύθερο.

Το στοματικό άνοιγμα περιβάλλεται από έξι χείλη, κάποια από τα οποία είναι συγχωνευμένα, ανάλογα με το είδος του νηματώδη. Για παράδειγμα, στην Κλάση Secernentea υπάρχουν ομάδες με καθόλου ή μόνο με τρία χείλη. Στα πλάγια και κάτω από το στοματικό άνοιγμα βρίσκονται τα αμφίδια που είναι αισθητήρια όργανα. Ακολουθεί η στοματική κοιλότητα, το μέγεθος και το σχήμα της οποίας ποικίλει και σχετίζεται άμεσα με τον τρόπο παρασιτισμού και διατροφής των νηματωδών.

Το στιλέτο είναι μια επιδερμική κατασκευή που μοιάζει με μικρό σωληνίσκο και τη διαθέτουν όλοι οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις, εκτός κάποιων περιπτώσεων όπως στα εκφυλισμένα αρσενικά *Spheronema*, όπου απουσιάζει. Το μήκος, το εύρος και το σχήμα του στιλέτου διαφέρουν μεταξύ των διαφόρων ειδών και αποτελούν μορφολογικό χαρακτηριστικό ταξινόμησης. Τα στιλέτα χωρίζονται σε δυο κατηγορίες, το στοματοστιλέτο που προέρχεται από κύτταρα αποσκληρυμένων τοιχωμάτων της στοματικής κοιλότητας και αποτελεί μορφολογικό γνώρισμα της κλάσης Secernentea και το οδοντοστιλέτο που προέρχεται από κύτταρα του μυϊκού τοιχώματος του οισοφάγου που στην πραγματικότητα απαρτίζεται από ένα εμπρόσθιο τμήμα, το οδοντοστιλέτο, και ένα οπίσθιο, τον οδοντοφόρο. Το στοματοστιλέτο εσωτερικά φέρει έναν πολύ λεπτό αγωγό, μέσα από τον οποίο, η τροφή φτάνει στον οισοφάγο και από εκεί στο έντερο, αφού οδεύσει μέσα από τον στοματικό αγωγό, την φαρυγγοοισοφαγική σύνδεση, τον οισοφάγο και την καρδιά.

Μετά το στόμα ακολουθεί ο οισοφάγος που έχει σωληνοειδές σχήμα που καλύπτεται εσωτερικά από λεπτή επιδερμίδα και εξωτερικά από μια μεμβράνη. Περιέχει ένα ή περισσότερα μυώδη εξογκώματα, τους βολβούς, οι οποίοι είναι πιθανόν να διαθέτουν μυζητική βαλβίδα που εξυπηρετεί στην απορρόφηση των τροφών. Ανάλογα με την θέση που καταλαμβάνει κάθε βολβός, ονομάζεται μεσαίος (όταν βρίσκεται στο μέσον) ή τελικός (ή βασικός) (όταν βρίσκεται στο απώτερο άκρο, προς το έντερο). Ο οισοφάγος διαιρείται σε τρία μέρη, το σώμα που περιλαμβάνει το εμπρόσθιο κυλινδρικό τμήμα, ένα διογκωμένο, σφαιρικής μορφής τμήμα και τον ισθμό που είναι ένα στενό, κυλινδρικό, βραχύ τμήμα που συνδέει το αδενώδες πίσω τμήμα του οισοφάγου. Οι οισοφαγικοί αδένες είναι τρεις, δυο πλαγιοκοιλιακοί και ένας νωτιαίος, κάθε ένας από τους οποίους αποτελείται και από έναν αγωγό. Η λειτουργία τους, καθώς και η ρύθμιση των μυϊκών οισοφαγικών ινών λειτουργούν υπό την εποπτεία του νευρικού συστήματος. Ο οισοφάγος, ανάλογα με τη μορφολογία και τη διάπλασή του, μπορεί να είναι κυλινδρικός, διμερής κυλινδρικός ή

δορυλαιμοειδής και τριμερής κυλινδρικός ή τυλεγχοειδής (Chitwood and Chitwood, 1950, Hirschmann, 1971).

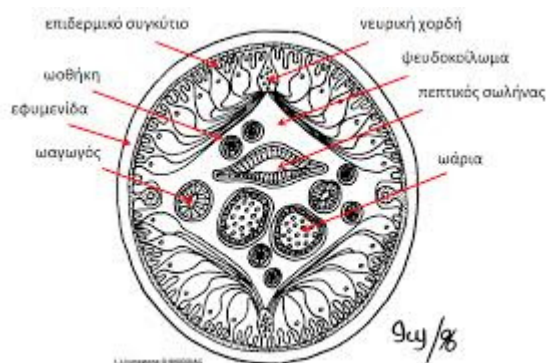
Ο εντερικός σωλήνας είναι ένας μακρύς και ευθύς σωλήνας που φέρει μια στρώση επιθηλιακών κυττάρων και δεν αποτελείται από μυϊκές ίνες. Χωρίζεται σε τρία μέρη, το πρόσθιο, το μεσαίο και το οπίσθιο. Η αποβολή των τροφών πραγματοποιείται μέσω του ορθού, το οποίο είναι ένας πεπλατυσμένος σωλήνας που συνδέεται με το έντερο μέσω ενός σφιγκτήρα. Το ορθό καταλήγει με τη σειρά του στην έδρα των θηλυκών ή την αμάρα των αρσενικών που βρίσκονται χαμηλά στην κοιλιακή περιοχή του σώματος και από εκεί απορρίπτονται τα υπολείμματα των τροφών προς το περιβάλλον (Κύρου 2004).

1.3.4 Αναπαραγωγικό σύστημα

Σε όλους τους νηματώδεις, και στα δυο φύλα, το αναπαραγωγικό σύστημα είναι όμοιο. Αποτελείται από 1-2 σωληνωτούς γεννητικούς βραχίονες ή αδένες οι οποίοι διαφέρουν μεταξύ των διαφόρων ειδών ως προς τον αριθμό, το μέγεθος καθώς και τη διάταξη.

Το αναπαραγωγικό σύστημα στα αρσενικά άτομα αποτελείται από τους όρχεις και τις συζευκτικές άκανθες και στα θηλυκά από τις ωοθήκες, τη μήτρα, τον κόλπο και το γεννητικό άνοιγμα.

Το αναπαραγωγικό σύστημα των θηλυκών αποτελείται από ένα ή δυο γεννητικούς βραχίονες. Κάθε βραχίονας περιλαμβάνει μία ωοθήκη, τη σπερματοθήκη και τον ωαγωγό. Οι δύο βραχίονες συναντιούνται συνήθως στο μέσο του σώματος, στη μήτρα και ακολουθεί ο κόλπος, ο οποίος εκβάλλει προς τα έξω μέσω του γεννητικού πόρου. Στα θηλυκά άτομα του γένους *Xiphinema*, διαπιστώνεται η ύπαρξη του οργάνου Z, του οποίου η λειτουργία δεν έχει ακόμα εξακριβωθεί. Εντοπίζεται στο τμήμα μεταξύ της σπερματοθήκης και της μήτρας και αποτελεί σημαντικό διαγνωστικό χαρακτήρα για το συγκεκριμένο γένος (Luc, 1961, Flegg, 1966, Luc & Dalmaso, 1975).



Στο αναπαραγωγικό σύστημα των αρσενικών κάθε γεννητικός βραχίονας περιλαμβάνει έναν όρχι και τον σπερματικό αγωγό που συνδεδεμένος με τη σπερματική κύστη σχηματίζει τον εκσπερματικό αγωγό, ο οποίος εκβάλλει σε κοινό υποδοχέα με το ορθό έντερο, στην αμάρα. Τα όργανα συνουσίας είναι μία ή δύο σύζευκτικές άκανθοι, οι οποίες είναι πρωτεϊνικής σύστασης με σκληρή υφή. Σε ορισμένα είδη, τα αρσενικά άτομα φέρουν κάποιους επιδερμικούς σχηματισμούς στην περιοχή της αμάρας, οι οποίοι ονομάζονται ουραίες πτέρυγες και λειτουργούν σαν όργανα περίπτυξης κατά την διάρκεια της συνουσίας (Filipjev et al., 1959, Thorne, 1961).

1.3.5 Νευρικό σύστημα

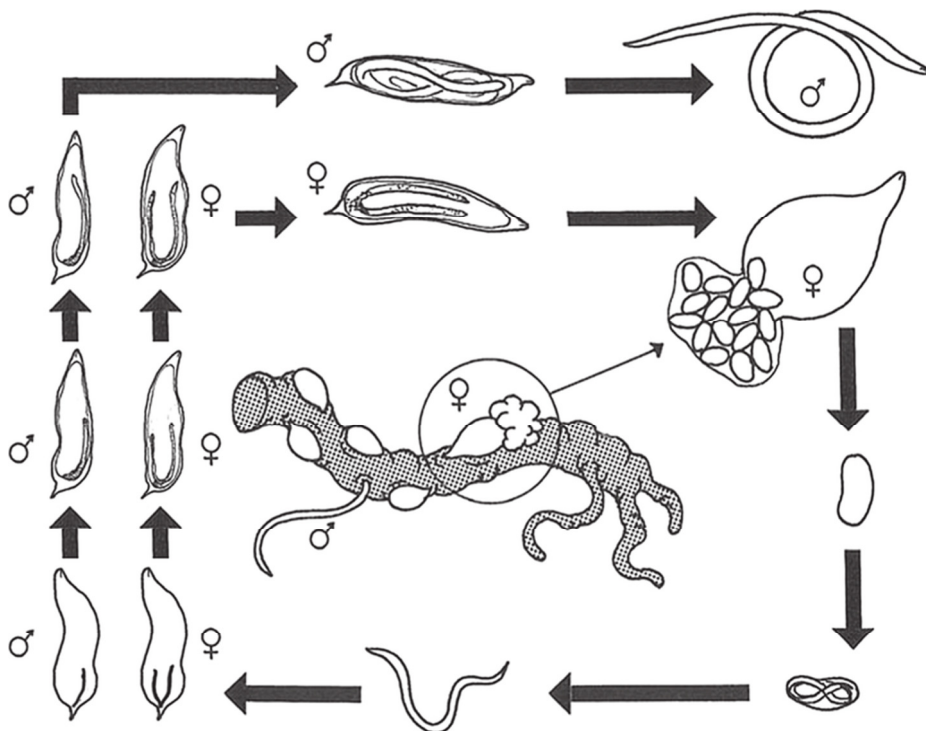
Το νευρικό σύστημα έχει δύο κύρια κέντρα, ένα στην περιοχή του οισοφάγου και ένα στην περιοχή του απευθυσμένου που συνδέονται μεταξύ τους με ένα δακτύλιο. Το νευρικό σύστημα των νηματώδων λαμβάνει περιβαλλοντικά ερεθίσματα διοχετεύοντας τα στο κέντρο του νευρικού ελέγχου παρέχοντας αντιδράσεις στα όργανα εκτέλεσης (μύες και αδένες). Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις διαθέτουν αμφίδια ,φασμίδια ,γεννητικές ή χειλικές θηλές ,ημιζόνιο και σμήριγγες, τα οποία λειτουργούν ως κύριοι αισθητήρες του ερεθίσματος και συνδέονται με τους νευρικούς ιστούς. Επιπρόσθετα υπάρχει ένα περιφερειακό σύστημα νεύρων με σειρές που εκτείνονται από το δακτύλιο νεύρων έως και τα αισθητήρια όργανα.

1.4 Ο ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΩΝ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Οι θηλυκοί νηματώδεις, ανάλογα με το είδος, γεννούν τα ωά τους μέσα ή έξω από τις ρίζες των φυτών. Με το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου και την μάρανση των φυτών, τα ωά παραμένουν μέσα ή πάνω στις νεκρές ρίζες ή στο έδαφος. Κάθε φυτοπαρασιτικός θηλυκός νηματώδης γεννά πολλά ωά, συνήθως μετά από σύζευξη αρσενικών και θηλυκών ατόμων, ο αριθμός των οποίων εξαρτάται από το είδος του νηματώδη και κυμαίνεται από 100 ή λιγότερα μέχρι 2000 ή περισσότερα οι κυστογόνοι νηματώδεις 500-600, οι νηματώδεις των ριζοκόμβων 200-500 (έως και 2000), ο νηματώδης του σίτου μέχρι 2000 ή περισσότερα. Τα ωά έχουν ανθεκτικό κέλυφος που προστατεύει τον νεαρό νηματώδη από τις δυσμενείς συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον και σε ορισμένα είδη μπορεί να παραμείνουν στον αγρό για πολλούς μήνες ή ακόμη και χρόνια, όπως στους κυστογόνους. Το νερό, μαζί με τις ουσίες που μεταφέρει από τις ρίζες των φυτών-ξενιστών τους, προκαλεί την εκκόλασή τους, από την οποία προκύπτουν προνύμφες που κινούνται αμέσως μέσα σε μια λεπτή μεμβράνη νερού στο έδαφος προς τις ρίζες των φυτών ξενιστών. Τις τρυπούν με το στίλετο τους και αρχίζουν να τρέφονται από τον ριζικό ιστό μέσα ή έξω από αυτόν, ανάλογα με

το είδος (ενδοπαράσιτοι, ημιενδοπαράσιτοι, εκτοπαράσιτοι). Οι μικροί νηματώδεις τρέφονται, μεγαλώνουν και αφού υποστούν συνολικά 4 εκδύσεις, διαμέσου των οποίων εξελίσσεται το αναπαραγωγικό τους σύστημα, παίρνουν την τελική τους μορφή και πολλαπλασιάζονται. Η πρώτη εκδύση γίνεται συνήθως μέσα στο ωό, πριν την εκκόλασή του.

Οι προνύμφες του γένους των ριζοκόμβων, αφού υποστούν την πρώτη εκδύση μέσα στο ωό, εξέρχονται από αυτό και διαπερνούν με το στίλετό τους τα λεπτά ριζίδια του ξενιστή τους τρεφόμενες για αρκετό καιρό σαν ενδοπαράσιτα, σε μεγάλα κύτταρα που δεν έχουν σχέση με τα προκαλούμενα εξογκώματα. Οι προνύμφες που θα εξελιχθούν σε θηλυκά αλλάζουν και από σκωληκόμορφες μετατρέπονται σε απιοειδείς με λευκό χρώμα, ενώ τα αρσενικά παραμένουν σκωληκόμορφα, αναπτύσσονται ενδοπαρασιτικά και εγκαταλείπουν τις ρίζες σαν τέλεια άτομα προς αναζήτηση των θηλυκών. Τα ανεπτυγμένα θηλυκά εναποθέτουν τα ωά τους σε έναν ωοσάκκο συνήθως έξω από τον ριζικό ιστό. Ορισμένα είδη, στη διάρκεια μιας καλλιεργητικής περιόδου μπορούν να παρουσιάσουν πολλές γενιές, ενώ άλλα μόνο μια. Η διάρκεια του βιολογικού κύκλου εξαρτάται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος, αλλά στις συνήθειες καλλιεργητικές συνθήκες διαρκεί περίπου 20-40 ημέρες. Ειδικά για τους νηματώδεις των ριζοκόμβων, ο βιολογικός τους κύκλος διαρκεί από 21 ημέρες έως πολλούς μήνες, ανάλογα με τη θερμοκρασία και την ύπαρξη ή μη φυτών ξενιστών. Σε θερμοκρασία κοντά στους 26,5°C, η ωρίμανση και η εκκόλαψη γίνεται σε διάστημα 25 ημερών, ενώ σε 16,5°C σε 87 ημέρες.



Εικόνα 1.3 Διάγραμμα του βιολογικού κύκλου των νηματωδών. (Πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Diagram-of-the-life-cycle-of-the-root-knot-nematode-Meloidogyne-J2-second-stage_fig1_281508596)

1.5 ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Αναγκαία στοιχεία για την επιβίωση των φυτοπαράσιτων νηματώδων είναι το νερό και το οξυγόνο. Η διάρκεια ζωής τους εξαρτάται από τη θερμοκρασία, τη σχετική υγρασία του εδάφους, τον αερισμό, τον εδαφικό τύπο, την ύπαρξη κατάλληλου ξενιστή και άλλα. Για παράδειγμα, σε ακραίες, κάτω των 10°C ή άνω των 30°C, σε χαμηλή ή υπερβολική υγρασία, σε βαρύ αργιλώδες ή πολύ ελαφρύ αμμώδες έδαφος, καθώς και σε έλλειψη κατάλληλων φυτών ξενιστών, οι νηματώδεις περιορίζουν την δραστηριότητά τους ή αδρανοποιούνται τελείως. Οι νηματώδεις των ριζοκόμβων ευνοούνται στις θερμές θερινές περιόδους, ενώ αντίθετα περιορίζουν ή παύουν κάθε δραστηριότητα κατά τις χειμερινές περιόδους, σε εδαφικές θερμοκρασίες κάτω των 13°C (2-10°C).

1.6 ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ ΚΑΙ ΦΥΤΑ ΞΕΝΙΣΤΕΣ

Οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις είναι υποχρεωτικά παράσιτα. Μερικά είδη τρέφονται από πολλά διαφορετικά είδη φυτών, καλλιεργούμενων και μη. Ο νηματώδης των ριζοκόμβων έχει περίπου 2000 ξενιστές και ο νηματώδης των τεύτλων προσβάλλει φυτά των Οικογενειών Chenopodiaceae (τεύτλα, σακχαρότευτλα, παντζάρι, σπανάκι κ.α.), Brassicaceae (λάχανο, κουνουπίδι, ραπάνι κ.α.), Apiaceae (σέλινο, καρότο κ.α.), και μεγάλο αριθμό φυτών άλλων καλλιεργούμενων και αυτοφυών ειδών, 19 και πλέον οικογενειών. Άλλα είδη προσβάλλουν πολύ μικρό αριθμό φυτών, όπως οι κυστογόνοι νηματώδεις της πατάτας που προσβάλλουν πατάτα, τομάτα και μελιτζάνα, ο νηματώδης των σιτηρών προσβάλλει τη βρώμη, το σιτάρι και λιγότερο το κριθάρι και την σίκαλη, (Filipjev et al., 1959).

1.7 ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ – ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Μετρήσεις πληθυσμών νηματώδων που έγιναν σε καλλιεργούμενα εδάφη μεγάλης γονιμότητας έδωσαν πληθυσμούς μέχρι και 20 χιλιάδες εκατομμύρια άτομα στο στρέμμα. Οι περισσότεροι νηματώδεις βρίσκονται στα ανώτερα στρώματα του εδάφους, σε βάθος 25 έως 40 εκατοστά γύρω από την ριζόσφαιρα. Σε ένα γραμμάριο ρίζας ανανά βρέθηκαν 23800 άτομα του είδους *Pratylenchus minutus*, σε 10g ριζών σίκαλης 106000 άτομα του είδους *P. penetrans*. Η ικανότητα αναπαραγωγής των φυτοπαράσιτων νηματώδων είναι πολλές φορές αξιοσημείωτη. Για παράδειγμα, οι πληθυσμοί *Hoplolaimus tylenchiformis* αυξήθηκαν μέσα σε ένα χρόνο στη ριζόσφαιρα βαμβακόφυτων από 500 σε 13000 άτομα, ενώ ένα μόνο θηλυκό του γένους *Meloidogyne* των ριζοκόμβων μπορεί να παράγει περισσότερα από 2000 ωά (Williams, 1968). Σε μια

σποροκηκίδα σίτου έχουν βρεθεί 30-90000 ωά ή προνύμφες του *Anguina tritici* (Leukel, 1957; Mai, 1971).

1.8 ΔΙΑΤΡΟΦΗ - ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΣ

Ανάλογα με το είδος και τον τρόπο διατροφής τους, οι νηματώδεις χωρίζονται σε σαπροφάγους που καταβροχθίζουν οργανική ύλη (φυτικά και ζωικά υλικά σε αποσύνθεση), βακτηριοφάγους που τρέφονται με βακτήρια, αρπακτικούς που τρέφονται από μεγαλύτερους οργανισμούς και φυτοπαρασιτικούς ή ζωοπαρασιτικούς.

Το στόμα όλων των φυτοπαράσιτων νηματωδών διαθέτει μια επιδερμική κατασκευή στιλέτο που το χρησιμοποιούν κατά τη διατροφή τους. Με το στιλέτο τρυπούν τους ιστούς του φυτού και απομυζούν τους χυμούς του με τη βοήθεια του μυώδη οισοφάγου τους, προκαλώντας ζημιές στις ρίζες, τα στελέχη, τα φύλλα ακόμα και τα άνθη πολλών φυτών.

Ο μηχανισμός διατροφής των φυτοπαράσιτων και μερικών αρπακτικών νηματωδών παρουσιάζει τρεις φάσεις που είναι οι εξής:

1. Ο νηματώδης φτάνει στην επιφάνεια της ρίζας και αναζητά κατάλληλη θέση διατροφής στα γύρω κύτταρα, στρέφοντας την κεφαλή με γρήγορες κινήσεις μέχρι να βρει το κατάλληλο σημείο με τη βοήθεια των χειλιών. Παρατηρείται ότι σε αυτή τη φάση ενεργοποιούνται τα αισθητήρια όργανα αφής και η παραγωγή χημικών διεγερτικών ουσιών που συμβάλλουν στη πορεία της διατροφής. Στην φάση αυτή, πριν διαπεραστεί το κύτταρο, το σώμα του νηματώδη ανυψώνεται φέρνοντας τη κεφαλή και το στιλέτο σε ορθή γωνία με τη ρίζα και έτσι αρχίζει η φάση της διείσδυσης στο κύτταρο. Το στιλέτο τρυπά το τοίχωμα του κυττάρου και η προς τα εμπρός κυματοειδής κίνηση του σώματος συνεχίζει να ωθεί την κεφαλή μέσα στο προσβεβλημένο κύτταρο.
2. Την διείσδυση μπορεί να ακολουθήσει μια περίοδος ακινησίας κατά την οποία μέσα στο κύτταρο εγχέονται ένζυμα.
3. Ταυτόχρονα ενεργοποιείται ο μυώδης οισοφάγος ο οποίος απορροφά το περιεχόμενο του κυττάρου από μερικά λεπτά έως μερικές ημέρες, ανάλογα του είδους του νηματώδη.

Οι νηματώδεις ανάλογα τον τρόπο παρασιτισμού τους διακρίνονται σε δυο κύριες ομάδες, αυτούς που ζουν μέσα στο έδαφος και παρασιτούν στα υπόγεια μέρη του φυτού (ρίζες, βολβούς, κονδύλους, ριζώματα) και αυτούς που διαβιούν στην επιφάνεια του εδάφους, εισβάλλουν στα φυτά και μεταφέρονται με την ανάπτυξη των φυτών στα εναέρια μέρη τους, στελέχη, φύλλα και άνθη (π.χ. *Anguina tritici*, *Aphelenchoides* spp.). Ο φυτοπαρασιτισμός διαφέρει μεταξύ των διαφόρων ειδών

νηματώδων. Μερικά είδη νηματώδων παραμένουν έξω από τους ιστούς του φυτού και παίρνουν την τροφή τους με το στίλετο βυθίζοντας το στους ιστούς του φυτού (εκτοπαρασιτικοί), άλλοι τρέφονται και πολλαπλασιάζονται δια μέσου των φυτικών ιστών (ενδοπαρασιτικοί) (*Pratylenchus* spp.).

Οι εκτοπαρασιτικοί και ενδοπαρασιτικοί διακρίνονται σε μόνιμους και πλανήτες. Οι μόνιμοι αφού εγκατασταθούν σε ένα σημείο του ξενιστή τους μένουν εκεί χωρίς να μετακινούνται σε άλλη θέση. Αντίθετα οι πλανήτες μετακινούνται πάνω στον ξενιστή τους από θέση σε θέση ή και από ξενιστή σε ξενιστή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

2.1 ΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *MELOIDOGYNE*

Το γένος *Meloidogyne* περιλαμβάνει υποχρεωτικά παράσιτα με μεγάλη οικονομική σημασία. Έχουν μεγάλο εύρος ξενιστών που περιλαμβάνει περίπου 2000 καλλιεργούμενα και μη φυτικά είδη, μεταξύ των οποίων πολλά κηπευτικά, ψυχανθή, σιτηρά, δενδρώδη, θαμνώδη και ανθοκομικά είδη. Η προσβολή φυτών από νηματώδεις του γένους *Meloidogyne* αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Berkeley, το 1855, σε ρίζες φυτών αγγουριάς. Μέχρι σήμερα έχουν καταγραφεί πάνω από 80 διαφορετικά είδη, 20 από τα οποία έχουν εντοπιστεί και στην Ευρώπη. Δέκα από αυτά θεωρούνται σοβαρά επιζήμια για τη γεωργία, από τα οποία μόνο τα τέσσερα απαντώνται σε γεωργικές περιοχές και αποτελούν πολύ βασικούς ζωικούς εχθρούς (*M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* και *M. javanica*), ενώ δύο ακόμη έχουν πρόσφατα συμπεριληφθεί στην λίστα με τα παθογόνα καραντίνας.

2.2 ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Σήμερα, το γένος *Meloidogyne* κατατάσσεται στην:

Τάξη: Tylenchida

Υπόταξη: Tylenchina

Υπεροικογένεια: *Tylenchoidea*

Οικογένεια: Heteroderidae

Υποοικογένεια: *Meloidogyninae*.

2.3 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ

2.3.1 Θηλυκά

Το σώμα των θηλυκών έχει σχήμα απιοειδές έως σφαιρικό και το μήκος του κυμαίνεται από 0.4 έως 1.3mm με μακρύ ή κοντό λαιμό που προεξέχει.

Η επιδερμίδα είναι μαλακή, μέτρια ή χονδρή, με λευκή μαργαρώδη απόχρωση. Το στιλέτο είναι πιο κοντό και πιο λεπτό από των *Heterodera* (συνήθως 14-15μm), με μικρά εξογκώματα στη βάση και με μια ελαφριά νωτιαία κύρτωση. Τα φασμίδια που εντοπίζονται σε κάθε πλευρά της ουράς νοτίως της έδρας, συνήθως είναι εμφανή και μοιάζουν με μικρά στίγματα. Η εναπόθεση των ωών γίνεται σε έναν παχύρευστο ζελατινώδη ωόσακο, εκτός του σώματος, που σχηματίζεται από τις εκκρίσεις 6 αδένων δια μέσου της έδρας.

Κατά την εξέταση στο μικροσκόπιο, του περιίνευου ενός θηλυκού νηματώδη, εμφανίζεται για κάθε είδος ένα αποτύπωμα γραμμών και καμπύλων, το οποίο ονομάζεται περιεδρικό αποτύπωμα. Οι ραβδώσεις αυτές σχηματίζονται με την πίεση που ασκεί η καλυπτρίδα και η αντικειμενοφόρος πλάκα στο σώμα του θηλυκού. Ενώ υπάρχει κάποια παραλλαγή μεταξύ των ατόμων, τα αποτυπώματα αυτά είναι αρκετά σταθερά μέσα σε κάθε είδος και ο προσδιορισμός των ειδών του γένους αυτού, μπορεί να γίνει με βάση τη μορφολογία του περιεδρικού αποτυπώματος.

2.3.2 Αρσενικά

Το σώμα των αρσενικών παραμένει σκωληκόμορφο καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του και το τελικό μήκος κυμαίνεται από 700 έως 1.900μm, μετακινούμενο ελεύθερα.

Η κεφαλή είναι συνήθως χαμηλή και δεν προεξέχει. Η χειλική περιοχή διαφέρει συγκριτικά με τα *Heterodera*. Φέρει μια ευδιάκριτη καλύπτρα που περικλείει έναν χειλικό δίσκο που περιβάλλεται από πλάγια και μεσαία χείλη. Επιπλέον, διαφέρει ως προς τον λεπτότερο κεφαλικό σκελετό και το λεπτότερο και κοντότερο στιλέτο 14-30μm που σε πολλά είδη έχει μήκος 18-24μm. Οι οισοφαγικοί αδένες εμφανίζουν κοιλιακή επικάλυψη του εντέρου. Η ουρά είναι πολύ μικρή, αποστρογγυλεμένη και έχει μήκος 1/2-3/4 του σωματικού εύρους και έχει 1-2 όρχεις.

2.3.3 Προνύμφες 2ου σταδίου

Οι προνύμφες 2^{ου} σταδίου αποτελούν το παθογόνο στάδιο των συγκεκριμένων νηματωδών. Έχουν σώμα σκωληκόμορφο πιο λεπτό αλλά και λιγότερο εύρωστο των *Heterodera*, με το μήκος του να φτάνει περίπου 250-600μm (συνήθως 300-500μm). Ο κεφαλικός σκελετός είναι λεπτός. Η ουρά είναι κωνοειδής και ευρέως στρογγυλεμένη ή επιμήκης, στενή με στρογγυλεμένη κορυφή. Γενικά το μήκος της ουράς διαφέρει, με το ακραίο μέρος να είναι πάντα υαλώδες, με μήκος το οποίο υποβοηθά στην διάκριση των ειδών. Το στιλέτο είναι λεπτό, συνήθως κάτω των 20μm με κώνο ίσο

με το μήκος του ή λιγότερο, με λεπτά εξογκώματα στη βάση. Η εκβολή του νωτιαίου οισοφαγικού αδένου βρίσκεται 2-8μm όπισθεν της βάσης του στυλέτου.

2.3.4 Προνύμφες 3ου και 4ου σταδίου

Οι προνύμφες 3^{ου} και 4^{ου} σταδίου είναι διογκωμένες και σταθεροποιημένες μέσα στο ριζικό ιστό, χωρίς να διαθέτουν στυλέτο και δια μέσου της επιδερμίδας του 2ου σταδίου, διατηρούν την λεπτή ουραία απόφυση, κάτι το οποίο αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα του γένους *Meloidogyne*.

2.4 ΔΙΑΤΡΟΦΗ – ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΣ

Όταν η προνύμφη 2^{ου} σταδίου διαπεράσει τη ρίζα κινώντας παλινδρομικά το στυλέτο, κυρίως στην ζώνη επιμήκυνσης και κοντά στο άκρο της ρίζας όπου οι ιστοί είναι τρυφεροί, τότε ξεκινά η προσβολή. Μόλις ο νηματώδης διαπεράσει τη ρίζα, κινείται δια μέσου κυττάρων μέσα στον φλοιό, στην περιοχή όπου πραγματοποιείται η κυτταρική διαφοροποίηση. Τα κύτταρα κατά μήκος αυτής της διαδρομής απλά συμπιέζονται και δεν θα χρησιμοποιηθούν ως τροφή. Σπάνια οι προνύμφες τρέφονται με κύτταρα του φλοιού.

Αφού γίνει η επιλογή της κατάλληλης θέσης σίτισης, η προνύμφη ξεκινά να τρέφεται από μια ομάδα 5 ή 6 κυττάρων. Μέσα σε λίγες ώρες από την έναρξη της προσβολής, τα κύτταρα αυτά δέχονται σημαντικές μορφολογικές και φυσιολογικές αλλαγές που οφείλονται στις εκκρίσεις του οισοφαγικού αδένου. Τα κύτταρα αρχίζουν να μεγαλώνουν, γίνονται υπερτροφικά και το κυτόπλασμα παρουσιάζει μια πυκνή και κοκκώδη εμφάνιση. Τα κύτταρα υφίστανται διαδοχικές μιτωτικές διαιρέσεις, χωρίς να πραγματοποιείται κυτοκίνηση και γίνονται πολυπύρρηνα. Τα κύτταρα αυτά που ονομάζονται γιγαντιαία κύτταρα, μετατρέπονται από τον νηματώδη σε περίπλοκα κύτταρα θρέψης, από τα οποία θα εξασφαλίζει τη τροφή του για να συνεχιστεί η ανάπτυξη του. Η προνύμφη χάνει την κινητικότητα της και διογκώνεται, και από το σημείο αυτό τρέφεται αποκλειστικά και μόνο από τα γιγαντιαία κύτταρα. Στην περίπτωση όμως που η προνύμφη δεν προσελκυσθεί από τα κύτταρα δεν θα κατορθώσει πιθανότατα να αναπτυχθεί και να ενηλικιωθεί και τελικά δεν θα αναπαραχθεί.

2.5 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ-ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ

2.5.1 Συμπτώματα στο υπέργειο μέρος του φυτού

Τα είδη του γένους *Meloidogyne* δεν προκαλούν σαφή, παθογνωμονικά, μακροσκοπικά συμπτώματα στο υπέργειο τμήμα των φυτών, δηλαδή δεν εμφανίζουν χαρακτηριστικά συμπτώματα που προειδοποιούν για την παρουσία τους, αλλά επουσιώδη.

Τέτοια συμπτώματα είναι:

- Καθυστέρηση της ανάπτυξης των φυτών, νανισμός
- Μαράνσεις φύλλων
- Συμπτώματα έλλειψης ιχνοστοιχείων
- Έλλειψη αζώτου
- Φυτά καχεκτικά που νεκρώνονται γρήγορα με μειωμένη καρποφορία,

δηλαδή συμπτώματα τα οποία οφείλονται κατά κύριο λόγο στην κακή διατροφή των φυτών και την έλλειψη νερού εξαιτίας του παρασιτισμού των ριζών από νηματώδεις.

Στο υπέργειο τμήμα, τα συμπτώματα εξαρτώνται κυρίως από τον πληθυσμό των νηματωδών και το είδος του ξενιστή και γίνονται πιο έντονα σε αντίξοες συνθήκες ανάπτυξης των φυτών, όπως ξηρασία, μικρή γονιμότητα του εδάφους. Οι *Meloidogyne* μπορούν να προκαλέσουν σε ορισμένα φυτά την εμφάνιση φυματίων στα φύλλα και στελέχη (Linford, 1941).

2.5.2 Συμπτώματα στο υπόγειο μέρος του φυτού

Το κύριο σύμπτωμα της προσβολής των νηματωδών στο υπόγειο μέρος του φυτού είναι η δημιουργία φυματίων στις ρίζες. Τα φυμάτια είναι αποτέλεσμα υπερτροφίας και υπερπλασίας των κυττάρων του φλοιού της ρίζας.

Το σχήμα, το μέγεθος αλλά και ο αριθμός των εξογκωμάτων εξαρτώνται από:

- το είδος του νηματώδη,
- τον πληθυσμό των προνυμφών 2^{ου} σταδίου που προσβάλλουν την ρίζα
- την ηλικία του φυτού και
- την ανθεκτικότητα της ποικιλίας στις προσβολές από νηματώδεις.

Χαρακτηριστικό σύμπτωμα στις σοβαρές προσβολές, είναι η εμφάνιση μεγάλου αριθμού μικρών και μεγάλων εξογκωμάτων σε όλη την ρίζα του φυτού (Εικόνα 2.1), με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός τερατόμορφου ριζικού συστήματος κάτι που δεν επιτρέπει στο φυτό να απορροφά τα θρεπτικά στοιχεία και το νερό που χρειάζεται για τις μεταβολικές δραστηριότητες του, με συνέπεια το υπέργειο τμήμα να έχει μικρή ανάπτυξη, μειωμένη ανθοφορία και καρπόδεση αλλά και κακή ποιότητα καρπών. Είναι πιθανό από τη μόλυνση να εκφύονται πολλά πλάγια ριζιδία γύρω από τη προσβεβλημένη περιοχή.

Πάντως, το κύριο σύμπτωμα της προσβολής από *Meloidogyne* είναι ο σχηματισμός φυματίων, και σε κάποια είδη του γένους αυτού που θεωρούνται σοβαρά παθογόνα των φυτών, όπως τα *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* και *M. hapla*, προκαλούν κόμβους και εξογκώματα που εάν ενωθούν γίνονται πολύ μεγάλα και περιέχουν τους θηλυκούς νηματώδεις. Οι ωόσακοι συχνά βρίσκονται δια μέσου των εξογκωμάτων αλλά συχνά ο ιστός της ρίζας σπάει και εξέρχονται στην επιφάνεια (Jepson, 1987).



Εικόνα 2.1 Δημιουργία φυματίων (κύριο σύμπτωμα υπόγειου μέρους) σε προσβεβλημένη ρίζα τομάτας από *Meloidogyne javanica*

2.6 ΔΙΑΔΟΣΗ-ΞΕΝΙΣΤΕΣ

Η κίνηση της προνύμφης είναι πολύ αργή, επίσης οι νηματώδεις δεν διαθέτουν όργανα κίνησης, για αυτό η απόσταση που μπορούν να καλύψει ετησίως δεν ξεπερνά τα 1-2m. Η ταχεία διάδοση των *Meloidogyne* από αγρό σε αγρό ή και σε μεγαλύτερες αποστάσεις επηρεάζεται από πολλούς και διάφορους παράγοντες, αλλά οφείλεται κυρίως στη δραστηριότητα του ανθρώπου (Wallace, 1963).

Τα είδη *M. incognita*, *M. javanica* και *M. arenaria* απαντώνται σε κλίματα τροπικά υποτροπικά, εύκρατα, μέτριας θερμοκρασίας, έχουν ευρεία διάδοση και θεωρούνται κοσμοπολιτικά. Τα είδη αυτά είναι πολυφάγα με ξενιστές που ανήκουν σχεδόν σε όλες τις οικογένειες καλλιεργούμενων και μη φυτικών ειδών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

3.1 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Για τον εντοπισμό και την αντιμετώπιση των προβλημάτων από νηματώδεις, καθοριστικό ρόλο παίζει ο προσδιορισμός του είδους τους, αφού ο τρόπος καταπολέμησής τους διαφέρει εξαιτίας του διαφορετικού τρόπου ζωής, των διαφορετικών ιδιοτήτων και συνηθειών των διαφορετικών ειδών νηματωδών. Για αυτό το λόγο, η μακροσκοπική εξέταση δεν αρκεί και πρέπει να συμπληρώνεται πάντα με εργαστηριακή.

Πρακτικά, υπάρχουν δύο βασικές κατευθύνσεις αντιμετώπισης των νηματωδών: πρόληψη και καταστολή (Wallace, 1963).

3.1.1 Πρόληψη

1. Το πολλαπλασιαστικό υλικό που χρησιμοποιείται (σπόροι, βολβοί, μοσχεύματα, κόνδυλοι, φυτάρια για μεταφύτευση, δενδρύλλια) πρέπει να είναι απαλλαγμένο από νηματώδεις
2. Γεωργικά εργαλεία ή άλλα υλικά πρέπει να απολυμαίνονται με θερμό νερό ή ατμό ή κάποιο εγκεκριμένο χημικό σκεύασμα πριν την χρήση τους.
3. Επιβάλλεται θέσπιση και τήρηση νομοθετικών μέτρων φυτοϋγειονομικού ελέγχου στα διακινούμενα φυτικά υλικά και μέσα συσκευασίας γεωργικών προϊόντων για την πρόληψη ή την απαγόρευση εισόδου επικίνδυνων νηματωδών σε μια αμόλυντη περιοχή.

3.1.2 Καταστολή

Φυσικές μέθοδοι – Καλλιεργητικά μέτρα

Έχοντας γνώση της βιολογίας, των επιδράσεων του περιβάλλοντος και του εύρους των φυτών ξενιστών, παρακάτω παρουσιάζονται κάποια μέτρα χαμηλού κόστους, τα οποία μπορούν να παίξουν σημαντικό ρόλο στη μείωση του πληθυσμού των νηματωδών σε μια καλλιέργεια. Τα μέτρα αυτά είναι:

- **Κατεργασία εδάφους**

Αμέσως μετά τη συγκομιδή, κατά την καλοκαιρινή περίοδο, με σκοπό την αναστροφή των ριζών (καλλιέργεια, ζιζάνια) και την έκθεση των νηματωδών στον αέρα και στον ήλιο.

- Προετοιμασία του αγρού και διατήρηση της γονιμότητας

Φυτά που από την αρχή εγκαθίστανται στον αγρό με καλό φύτρωμα, παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντοχή σε μελλοντική προσβολή από νηματώδεις, αλλά και από διάφορα έντομα και ασθένειες.

- Πρώιμηση/οψίμηση καλλιέργειας

Το πλεονέκτημα μιας πρώιμης καλλιέργειας είναι ότι στο φυτό δίνεται χρόνος για να αναπτύξει αρκετά το ριζικό του σύστημα έτσι ώστε να αποφύγει τα στάδια που είναι πιο ευάλωτο, πριν την δραστηριοποίηση των νηματωδών με την άνοδο της εδαφικής θερμοκρασίας.

Η όψιμη καλλιέργεια μπορεί να βοηθήσει στην αποφυγή ταυτόχρονης εμφάνισης στον αγρό του μολυσματικού σταδίου του νηματώδη και του ευαίσθητου σταδίου του φυτού.

- Αμειψισπορά

Η συστηματική εναλλαγή καλλιεργειών σε έναν αγρό έχει ως συνέπεια την αδυναμία των φυτοπαρασιτικών νηματωδών να βρουν κατάλληλους ξενιστές για να τραφούν, οπότε με την πάροδο του χρόνου, οι πληθυσμοί τους στο έδαφος μειώνονται γιατί απουσία επαρκούς τροφής δεν πολλαπλασιάζονται και τελικά πεθαίνουν. Έτσι με την αμειψισπορά, με καλλιέργειες οι οποίες δεν προσβάλλονται από συγκεκριμένα είδη νηματωδών, οι πληθυσμοί τους ελαττώνονται σε ποσοστό που επιτρέπει να καλλιεργηθεί ξανά η ευαίσθητη ποικιλία. Η διάρκεια της αμειψισποράς εξαρτάται από:

1. Το είδος του νηματώδη.
2. Τη σχέση αριθμού νηματωδών και βαθμού ζημιάς
3. Την ετήσια τιμή ελάττωσης του πληθυσμού των νηματωδών δίχως ξενιστή.

- Αγρανάπαυση

Η μέθοδος στηρίζεται στην καθολική απουσία φυτών από τον αγρό. Έτσι ο αγρός μένει χωρίς καλλιέργεια κατά την θερινή περίοδο, όταν η θερμοκρασία εδάφους και περιβάλλοντος είναι αυξημένη, οργώνεται μία-δύο φορές ώστε οι προσβεβλημένες ρίζες να εκτεθούν στον ήλιο και στον αέρα (όπως αναφέρθηκε και παραπάνω) και τελικά μειώνεται ο πληθυσμός των νηματωδών στο έδαφος, λόγω απουσίας ξενιστή. Είναι μια πολύ αποτελεσματική μέθοδος, ειδικά για είδη που δεν αντέχουν στην ξηρασία, όπως οι νηματώδεις των ριζοκόμβων, ωστόσο οι παραγωγοί δεν την προτιμούν γιατί δεν έχουν καμία πρόσοδο.

- **Ανθεκτικές ποικιλίες**

Ως υποχρεωτικά παράσιτα, για να καταφέρουν να συμπληρώσουν τον βιολογικό τους κύκλο, οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις είναι απαραίτητο να βρουν ζωντανούς ξενιστές. Επίσης για να καταφέρουν να παρασιτίσουν το φυτό πρέπει να βρουν μια οδό για να εισβάλλουν στους ιστούς του. Ανάλογα με το βαθμό δυσκολίας που αντιμετωπίζει ο νηματώδης για να εισέλθει στο φυτό με το στιλέτο του ή ολόκληρος, το φυτό χαρακτηρίζεται «ευπαθές», «ανθεκτικό», «ανεκτικό» ή «απρόσβλητο». Έτσι, όταν ο νηματώδης δεν συναντά καμιά αντίσταση, το φυτό θεωρείται «ευπαθές», δημιουργείται παρασιτική σχέση ανάμεσα στο φυτό και το παράσιτο, και προκαλείται βλάβη στον ξενιστή. Εάν δεν διαπιστωθεί σημαντική ζημιά στο φυτό και το παράσιτο συνεχίζει να τρέφεται και να αναπτύσσεται, τότε το πρώτο χαρακτηρίζεται «ανεκτικό». Αντίθετα, εάν κάποιο χαρακτηριστικό του φυτού ή κάποια αντίδραση μεταξύ ξενιστή και παράσιτου επιβραδύνει την διείσδυση του δεύτερου, τότε το φυτό θεωρείται «ανθεκτικό». Εάν το φυτό δεν μπορεί να προσβληθεί, ακόμη και από μεγάλους πληθυσμούς νηματωδών, τότε χαρακτηρίζεται ως «απρόσβλητο». Η εμφάνιση ανθεκτικότητας των φυτών ενάντια σε προσβολές από νηματώδεις μπορεί να επιτευχθεί σε μικρό ή μεγάλο βαθμό με φυσική ή τεχνητή επιλογή, μετά από κατάλληλες διασταυρώσεις. Ο συνδυασμός όμως ανθεκτικότητας με άλλα επιθυμητά χαρακτηριστικά στις εμπορικές ποικιλίες είναι δύσκολος με αποτέλεσμα ο αριθμός των ποικιλιών με γνωστή ανθεκτικότητα στους νηματώδεις να είναι μικρός.

- **Κατάκλιση**

Όταν επικρατούν συνθήκες υψηλής εδαφικής υγρασίας, οι νηματώδεις δεν ευνοούνται καθώς λόγω έλλειψης οξυγόνου και τροφής, πεθαίνουν. Αυτός είναι και ο λόγος που η κατάκλιση αποτελεί μια αποτελεσματική φυσική μέθοδο αντιμετώπισης των νηματωδών. Εφαρμόζοντας λοιπόν τη μέθοδο αυτή στο έδαφος για 4 μήνες, είναι πολύ πιθανό να θανατωθούν όλες οι προνύμφες των νηματωδών των ριζοκόμβων. Τα ωά επιβιώνουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, ωστόσο μετά από 12 μήνες, ο πληθυσμός των νηματωδών ελαττώνεται σε ικανοποιητικά επίπεδα, ενώ σε 22 ½ μήνες μπορεί να θανατωθεί το σύνολο του πληθυσμού που βρίσκεται στο έδαφος. Η μέθοδος όμως μειονεκτεί γιατί είναι αρκετά δαπανηρή, καθώς χρειάζονται εξαιρετικά μεγάλες ποσότητες νερού και δευτερευόντως επειδή οι εκτάσεις στις οποίες έχει εφαρμοστεί καθίστανται μη καλλιεργήσιμες για τουλάχιστον 2 έτη. Η κατάκλιση θα μπορούσε να είναι ένα κατάλληλο πρακτικό μέτρο καταπολέμησης των νηματωδών, μόνο όμως σε μέρη που γίνονται φυσικές πλημμύρες, οπότε μειώνεται το κόστος. Ακόμα ένα

μειονέκτημα της παραπάνω μεθόδου είναι ότι υπάρχει και ο κίνδυνος της διάδοσης άλλων παρασίτων.

- **Θερμό νερό**

Με τη μέθοδο αυτή πραγματοποιείται αύξηση της θερμοκρασίας του φυτού, με την εμφύσηση του σε θερμό νερό, σε τέτοιο σημείο ώστε να θανατώνονται τυχόν παρόντες ενδοπαρασιτικοί νηματώδεις, χωρίς όμως να δημιουργείται ζημιά στους φυτικούς ιστούς.

Η ακρίβεια στη ρύθμιση, τόσο της θερμοκρασίας, όσο και της διάρκειας της επέμβασης, είναι απαραίτητη καθώς στις περισσότερες περιπτώσεις το περιθώριο μέχρι την καταστροφή των φυτικών ιστών είναι αρκετά μικρό. Η μέθοδος συνιστάται για πολλά βολβώδη ανθοκομικά είδη όπως η βιγόνια που προσβάλλεται από τους νηματώδεις των ριζόκομβων και η τουλίπα που προσβάλλεται από τον νηματώδη *Ditylenchus dipsaci* (Bryden et al., 1967).

- **Απολύμανση με υδρατμό**

Η εφαρμογή υδρατμών είναι μια μέθοδος που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να γίνει απολύμανση και απονημάτωση του εδάφους. Η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμοστεί σε γλάστρες, σπορεία, θερμοκήπια και γενικά σε περιορισμένες εκτάσεις διότι είναι σχετικά δαπανηρή και δύσκολη. Ο ατμός, μέσω ενός λέβητα, διοχετεύεται στο έδαφος με ένα σύστημα σωλήνων που φέρουν οπές. Οι σωλήνες τοποθετούνται στο έδαφος σε βάθος 15εκ. και ο χρόνος ξεκινά από τη στιγμή που η θερμοκρασία θα φτάσει στους επιθυμητούς βαθμούς στην επιφάνεια του εδάφους. Η απολύμανση ή απονημάτωση επιτυγχάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας σε όλη τη μάζα του εδάφους, στους 82,2°C για 30 λεπτά το λιγότερο. Κατά τη διοχέτευση του ατμού, το έδαφος, που είναι απαραίτητο να έχει κάποιο ποσοστό υγρασίας, σκεπάζεται με πλαστικό κάλυμμα, για τον εγκλωβισμό του ατμού και την θανάτωση των νηματωδών καθώς και άλλων φυτοπαρασίτων της καλλιέργειας, όπως μύκητες, βακτήρια, πολλούς ιούς των φυτών, έντομα εδάφους και σπόρους ζιζανίων. Όλοι οι νηματώδεις θανατώνονται σχεδόν ακαριαία σε θερμοκρασίες 52-60°C.

- **Ηλιοαπολύμανση**

Ο αγρός καλύπτεται με λεπτό διαφανές πολυαιθυλένιο για περίπου δύο (2) μήνες κατά την διάρκεια της θερμότερης περιόδου του έτους. Πριν γίνει η εφαρμογή της μεθόδου της ηλιοαπολύμανσης, πρέπει ο αγρός να καθαριστεί από τα υπολείμματα της προηγούμενης καλλιέργειας, οι συνεκτικοί βόλοι και οι πέτρες πρέπει να απομακρυνθούν, το έδαφος θα πρέπει να βρίσκεται στο ρώγο του και να είναι επίσης οργωμένο και ισοπεδωμένο. Με αυτή την τεχνική, η θερμοκρασία του εδάφους αυξάνεται σε τέτοια επίπεδα ώστε να είναι

θανατηφόρα για πολλά παθογόνα. Η μέθοδος αυτή κατά την εφαρμογή της στη Β. Αμερική είχε μεγάλη επιτυχία στη αντιμετώπιση του *Globodera rostochiensis*. Η χρήση της ηλιακής ενέργειας έχει αποδειχθεί πως έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα σε βιομηχανικής μορφής καλλιέργεια κηπευτικών σε θερμοκήπια, στην καταπολέμηση των νηματωδών του γένους *Meloidogyne*.

- **Συγκαλλιέργεια**

Μια καλλιεργητική μέθοδος που βοηθά στη μείωση του πληθυσμού των νηματωδών είναι η ταυτόχρονη καλλιέργεια του φυτικού είδους που θέλουμε να καλλιεργήσουμε με ένα ή περισσότερα άλλα είδη, τα οποία έχει αποδειχθεί ότι έχουν ανασταλτική δράση κατά των νηματωδών μέσω της απελευθέρωσης τοξικών ουσιών στη ριζόσφαιρά τους. Παράδειγμα αποτελεί η χώρα της Νιγηρίας, όπου η συγκαλλιέργεια αποτελεί συχνό φαινόμενο στις καλλιέργειες με σκοπό την αντιμετώπιση φυτοπαρασίτων. Καλλιέργεια σόγιας μαζί με πιπεριά, αμάραντο και κολοκύθα έδειξε σημαντική μείωση της προσβολής των ριζών φυτών σόγιας από νηματώδεις *M. javanica*. Επίσης, μείωση του πληθυσμού των νηματωδών *M. incognita* έχει αναφερθεί και σε συγκαλλιέργεια τομάτας με τα ψυχανθή *Arachis pintoii* ή *Pueraria phaseoloides*, λόγω έκλυσης ορισμένων διαλυτών λεκτινών από τις ρίζες τους (Marban-Mendoza et al., 1992). Εδώ και χρόνια, τα κύρια φυτά που χρησιμοποιούνται για το σκοπό αυτό σε λαχανοκομικές και σε δενδρώδεις καλλιέργειες (Govindaiah et al., 1991) είναι κάποια φυτά κατιφέ (*Tagetes* spp.) και καλέντουλας. Πιο συγκεκριμένα, τα φυτά του γένους *Tagetes* μπορούν να παύσουν την ανάπτυξη 14 ειδών νηματωδών *Meloidogyne* spp. και *Pratylenchus* spp. (Kalaiselvam and Devaraj, 2011), ενώ 29 ποικιλίες αυτών είναι ανθεκτικές σε νηματώδεις *Meloidogyne* (Hooks et al., 2010). Τα φυτά που χρησιμοποιούνται κυρίως και που χαρακτηρίζονται ως πιο αποτελεσματικά είναι τα είδη *Tagetes erecta*, *T. patula*, *T. tenuifolia* και *T. minuta* (Siddiqui and Alam, 1988) (Εικόνα 3.1). Η δράση των φυτών αυτών οφείλεται στην ουσία a-terthienyl που εκκρίνεται από τις ρίζες τους και παρεμποδίζει την εκκόλαψη των ωών των νηματωδών. Επίσης, έχει νηματωδοκτόνο, εντομοκτόνο και μυκητοκτόνο δράση (Krueger et al., 2013)



Εικόνα 3.1 Είδη κατιφέ με αποτελεσματική δράση εναντίον νηματωδών: Α) *Tagetes erecta* (Ταγέτης ο ορθοφυής), Β) *T. patula* (Ταγέτης ο αναπεπταμένος), Γ) *T. tenuifolia* (Ταγέτης ο λεπτοφυής) και Δ) *T. minuta* (<https://en.wikipedia.org/wiki/Tagetes>)

Βιολογική αντιμετώπιση

- Φυσιικοί εχθροί των νηματωδών

Η βιολογική αντιμετώπιση έχει ως στόχο την αύξηση του πληθυσμού των φυσικών εχθρών των νηματωδών στο έδαφος, με σκοπό την θανάτωση των φυτοпараσιτικών ειδών (Paracer et al., 1966).

Μία περίπτωση τέτοιου οργανισμού είναι ο νηματοβόρος μύκητας *Arthrobotrys oligospora*, ο οποίος αναφέρεται ως αρκετά αποτελεσματικός εναντίον του νηματώδη *Meloidogyne incognita*. Ο μύκητας απελευθερώνει χημικές ουσίες με σκοπό την προσέλκυση του νηματώδη στο μυκήλιο του, έπειτα σχηματίζει δίχτυα τριών διαστάσεων στα οποία τον ακινητοποιεί ή τον σκοτώνει. Μόλις ο νηματώδης ακινητοποιηθεί, ο μύκητας, παράγει μια υφή με την οποία μπορεί να διαπεράσει το εξωτερικό περίβλημά του νηματώδη αφομοιώνοντας το περιεχόμενο του σώματός του με αποτέλεσμα να τον οδηγεί σε θάνατο. Αντίστοιχη δράση έχει και ο μύκητας *A. dactyloides*, ο οποίος αντί για δίχτυα σχηματίζει δαχτυλίδια, με τα οποία συσφίγγει το θύμα του μέχρι να το παραλύσει ή να το θανατώσει και παράγει μια υφή που αφομοιώνει τα θρεπτικά συστατικά του (Drechsler, 1937).

Στο έδαφος, ο μύκητας *Verticillium chlamidosporium* αναφέρεται ότι μειώνει σε μεγάλο ποσοστό τους πληθυσμούς *Globodera* spp., *Heterodera* spp. και *Meloidogyne* spp. (Kerry et al., 1992). Ένας άλλος μύκητας, το είδος *Nematophthora gynophila*, προσβάλλει τα θηλυκά άτομα του κυστογόνου νηματώδη των σιτηρών *H. avenae* μειώνοντας τη γονιμότητα του και παρασιτώντας τα ωά.

Τα τελευταία χρόνια έχει βρεθεί πως ο μύκητας *Paecilomyces lilacinus* strain 251 προορίζεται για τον έλεγχο φυτοпараσιτικών νηματωδών του γένους *Meloidogyne* (κομβονηματωδών) σε μεγάλο εύρος καλλιεργειών υπαίθρου και θερμοκηπίου. Ο μύκητας έχει ωοπαρασιτική (νεαρά ωά και ωά που περιέχουν νεαρές προνύμφες) και ενδοπαρασιτική δράση σε διάφορα στάδια ανάπτυξης των νηματωδών. Τα σπόρια και το μυκήλιο του μύκητα παρασιτούν και τελικώς εξοντώνουν τα ωά, τα νεαρά και τα ενήλικα στάδια των νηματωδών. Οι υφές του μύκητα αναπτύσσονται στο ζελατινώδες υπόστρωμα που περιβάλλει τα ωά και στη συνέχεια διεισδύουν μέσα σε αυτά. Η διείσδυση στο ωό πραγματοποιείται ταυτόχρονα με χημική και με μηχανική δράση. Η μηχανική πίεση που ασκείται από τις μυκηλιακές υφές αποδιοργανώνουν τη μεμβράνη του ωού. Η χημική δράση του μύκητα οφείλεται στη δράση ενζύμων που αποδιοργανώνουν το πρωτεϊνικό περίβλημα που συνδέει το χιτινικό/λιπιδικό στρώμα της μεμβράνης του ωού. Δημιουργείται ένα άνοιγμα μέσω του οποίου διεισδύει η βλαστική υφή του μύκητα, ο οποίος τρέφεται από το θρεπτικό υλικό εντός του ωού. Το εσωτερικό του ωού γεμίζει με το μυκήλιο του μύκητα και αντικαθιστά το νεαρό στάδιο του νηματώδη με τη βιομάζα των υφών. Το μυκήλιο μπορεί επίσης να διαρρήξει το περίβλημα του ωού από το εσωτερικό και εξερχόμενο να προσβάλλει γειτονικά ωά. Επιπλέον τα σπόρια του μύκητα προσκολλώνται στην επιδερμίδα των ενήλικων νηματωδών, βλαστάνουν, διεισδύουν στο εσωτερικό του νηματώδη και τελικά τον παρασιτούν ολοκληρωτικά. Ο μύκητας επίσης μπορεί να παρασιτεί τα θηλυκά που εναποθέτουν τα ωά τους διεισδύοντας από το άνοιγμα της έδρας ή το γεννητικό άνοιγμα, καταστρέφοντας τα ωά πριν την τελική εναπόθεσή τους.

Το βακτήριο - υποχρεωτικό παράσιτο *Pasteuria penetrans* βρέθηκε πως περιορίζει τη δράση των νηματωδών του γένους *Meloidogyne*. Επίσης, στελέχη των ριζοβακτηρίων *Pseudomonas aeruginosa* και *P. fluorescens* έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για τον περιορισμό της δράσης των προνυμφών 2^{ου} σταδίου *Meloidogyne* σε φυτά τομάτας. Ένα άλλο είδος βακτηρίου με νηματωδοκτόνο δράση που ενδείκνυται για την αντιμετώπιση κομβονηματωδών, κυστονηματωδών και μεταναστευτικών νηματωδών είναι το *Bacillus firmus*. Ο μηχανισμός δράσης του είναι σύνθετος και οφείλεται σε διάφορες αλληλεπιδράσεις του βακτηρίου, είτε άμεσα με τους νηματώδεις είτε έμμεσα μέσω των φυτών-ξενιστών. Βασίζεται σε συνδυασμό επιμέρους μηχανισμών δράσης όπως είναι η δράση κάποιων ενζύμων, η αποδόμηση των ριζικών εκκρίσεων και η παραγωγή της φυτικής ορμόνης ινδολο-οξικό οξύ. Το στέλεχος *B. firmus* I-1582 εφαρμόζεται είτε ως σπόρια σε λήθαργο είτε ως βλαστάνοντα αναπτυσσόμενα κύτταρα και όσον αφορά στους νηματώδεις δρα μόνο στα ωά τους. Η αποτελεσματικότητα είναι υψηλότερη εάν είναι αδιαφοροποίητα ή σε πρώιμο στάδιο ανάπτυξης. Μόλις τα κύτταρα του *B. firmus* I-1582 έρθουν σε επαφή με το κέλυφος των ωών των νηματωδών, διαπερνούν το εξωτερικό τους στρώμα, (πιθανώς με τη χρήση υδρολυτικών ενζύμων)

και το καταστρέφουν εκθέτοντας το ευαίσθητο περιεχόμενο στο βιοτικό και αβιοτικό περιβάλλον. Επιπλέον τα κύτταρα του βακτηρίου αποικίζουν την επιφάνεια των ριζών, ειδικά στη ζώνη κοντά στην άκρη τους (καλύπτρα), περιβάλλοντας τις ρίζες με ένα ζωντανό προστατευτικό κάλυμμα, μη ελκυστικό για τους νηματώδεις. Συμπληρωματικά, αποδομούν τις ελκυστικές για τους νηματώδεις οργανικές ουσίες που εκκρίνονται από τις ρίζες των ξενιστών και υποβοηθούν την εκκόλαψη των ωών, με αποτέλεσμα τον αποπροσανατολισμό των νηματωδών. Τέλος, το *B. firmus* I-1582 παράγει τη φυτική ορμόνη ινδολο-οξικό οξύ (Indol-acetic acid/IAA), η οποία κατά το στάδιο ανάπτυξης της ρίζας υποβοηθά την ανάπτυξή της και την ευρωστία των καλλιεργειών.

- **Φυτά παγίδες**

Για να μειωθεί το ποσοστό του πληθυσμού των νηματωδών στα εδάφη θερμοκηπίων ή αγρών, εφαρμόζεται φύτευση ειδών ιδιαίτερα ευπαθών στους νηματώδεις, γνωστά ως φυτά παγίδες, τα οποία αναπτύσσονται για συγκεκριμένο επαρκές χρονικό διάστημα ώστε να προσβληθούν από τους νηματώδεις. Αμέσως μετά και πριν την εγκατάσταση της επόμενης καλλιέργειας, τα φυτά καταστρέφονται πριν οι νηματώδεις προλάβουν να ολοκληρώσουν το βιολογικό τους κύκλο. Η μέθοδος εφαρμόζεται κυρίως σε είδη νηματωδών των οποίων τα θηλυκά άτομα μετατρέπονται σε κύστες που είναι ορατές με γυμνό μάτι πάνω στο ριζικό σύστημα των φυτών, όπως ο κυστογόνος νηματώδης των ζαχαρότευτλων (*H. schachtii*) και των σιτηρών (*H. avenae*). Για τον πρώτο σαν ευπαθές φυτό «παγίδα» καλλιεργείται η ράπα, για τον δεύτερο η βρόμη (Franklin, 1951, Stone, 1961).

Η μέθοδος αυτή εμφανίζει αρκετά μειονεκτήματα καθώς 1) είναι αδύνατον όλες οι ρίζες των φυτών να απομακρυνθούν από το έδαφος 2) πρέπει να λαμβάνεται μεγάλη προσοχή ώστε η καταστροφή των ριζών να γίνεται με μεγάλη χρονική ακρίβεια, γεγονός που έχει ως βασική προϋπόθεση την ακριβή γνώση του βιολογικού κύκλου του νηματώδη 3) υπάρχει μεγάλη πιθανότητα, εξαιτίας απρόβλεπτων δυσμενών καιρικών συνθηκών, να εκτραπεί ο βιολογικός κύκλος των νηματωδών ή των φυτών με αντίθετα αποτελέσματα, οπότε ο πληθυσμός των νηματωδών να αυξηθεί αντί να μειωθεί 4) το κόστος της καλλιέργειας της ευαίσθητης ποικιλίας πρέπει να καλύπτεται από το αποτέλεσμα της εφαρμογής.

Μια παραλλαγή της μεθόδου είναι η φύτευση φυτών μη ξενιστών (π.χ. *Hesperia matronalis*) που ενώ στην αρχή έχουν την ιδιότητα να διεγείρουν την εκκόλαψη των ωών και να προσβάλλονται από τις προνύμφες, στη συνέχεια δεν επιτρέπουν την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου του νηματώδη. Και σε αυτή την περίπτωση, η μείωση του πληθυσμού πρέπει να είναι σε ικανοποιητικό επίπεδο ώστε να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί σαν μέθοδος καταπολέμησης (Ouden, 1956).

Χημική αντιμετώπιση

Ανάλογα με τον τρόπο μετακίνησης και διαβίωσης των νηματωδών μέσα στο έδαφος, τα χημικά νηματωδοκτόνα χωρίζονται σε δύο κατηγορίες σε καπνιστικά και μη καπνιστικά.

A) Καπνιστικά

- Πολύ πτητικές ουσίες, εφαρμόζονται προφυτρωτικά λόγω φυτοτοξικότητας.
- Από τις πιο τοξικές κι επικίνδυνες δραστικές ουσίες στη φυτοπροστασία.
- Έχουν αποτελεσματική δράση ενάντια σε όλα τα στάδια του βιολογικού κύκλου των νηματωδών.
- Εκτός από τους νηματώδεις, μπορούν να δράσουν σε ικανοποιητικό βαθμό σε μύκητες, βακτήρια και σπόρους ζιζανίων.
- Για να ενεργοποιηθούν και να αρχίσει να εκδηλώνεται η τοξική τους δράση πρέπει αμέσως μετά την εφαρμογή να ακολουθεί άρδευση
- Η θερμοκρασία θεωρείται ο κυριότερος παράγοντας από τον οποίο επηρεάζεται η πτητικότητά τους, γι' αυτό οι εφαρμογές πραγματοποιούνται κυρίως την άνοιξη, όταν το έδαφος έχει σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες που επιτρέπουν μεγαλύτερη υπολειμματική διάρκεια.
- Σε αυτή την κατηγορία ανήκει η δραστική ουσία dazomet που απελευθερώνει ισοθειοκυανιούχο μεθύλιο (MITC). Το ισοθειοκυανιούχο μεθύλιο δρα εναντίον των νηματωδών, διεισδύοντας μέσω του δερματίου τους και αντιδρώντας με αμινοξέα, οξειδάσες και τις νουκλεοφιλικές θέσεις των πρωτεϊνών.

Dazomet

Είναι κατάλληλο για την καταπολέμηση ζιζανίων, νηματωδών, εντόμων, μυκήτων και βακτηρίων. Χρησιμοποιείται για την απολύμανση του εδάφους και η εφαρμογή γίνεται με υποκαπνισμό σε υγρό έδαφος πριν από τη φύτευση ή πριν τη σπορά σε πληθώρα θερμοκηπιακών αλλά και καλλιεργειών υπαίθρου. Μετά την εφαρμογή, το MITC απελευθερώνεται και παρουσιάζει τοξική δράση, ενώ υπάρχει η πιθανότητα να παρουσιάσει και φυτοτοξικότητα σε περίπτωση που δε διασπαστεί τελείως. Σαν δείκτης απουσίας φυτοτοξικών υπολειμμάτων χρησιμοποιείται το φυτόμα σπόρων κάρδαμου (*Epidum sativum*). Η εφαρμογή του πρέπει να γίνεται με μεγάλη προσοχή διότι, είναι πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς και πολύ επικίνδυνο για το περιβάλλον. Ωστόσο, η δράση του σε ωφέλιμους οργανισμούς όπως γαιοσκώληκες, αράχνες, κτλ., είναι μικρή και αναστρέψιμη και πολύ σύντομα μπορούν να επαναποικίσουν το έδαφος (Ufer et al., 1993). Στην

Ελλάδα, η διάθεση του στην αγορά είναι εγκεκριμένη. Στα καπνιστικά νηματοδοκτόνα, η αποτελεσματικότητα της δράσης τους αυξάνεται όταν γίνει συνδυασμός με την μέθοδο της ηλιοαπολύμανσης ή άλλες βιολογικές μεθόδους. Στην Ιταλία με εφαρμογή ηλιοαπολύμανσης και dazomet σε αγρό, στο 1/2 και 1/4 της συνιστώμενης δόσης, αντιμετώπισαν ικανοποιητικά τον νηματώδη *M. incognita* σε καλλιέργεια καρότου (Di Vito et al., 2000).

B) Μη καπνιστικά

- Έχουν εκλεκτικότητα ως προς τους νηματώδεις.
- Σε αυτή την κατηγορία κατατάσσονται τα καρβοξαμιδικά, τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμιδικά νηματοδοκτόνα, τα οποία διεισδύουν απευθείας στο σώμα του νηματώδη μέσω της επιδερμίδας του και αναστέλλουν τη δράση της ακετυλοχολινεστεράσης και της χολινεστεράσης καθώς και άλλων δευτερευούσης σημασίας εστερατικών ενζύμων. Επιτυγχάνεται εξασθένιση της νευρομυκικής λειτουργίας και κατ' επέκταση μειώνεται ο αριθμός ανάπτυξης και αναπαραγωγής του νηματώδη με τελική συνέπεια τον θάνατό του.
- Οι εφαρμογές γίνονται πριν και μετά την εγκατάσταση της καλλιέργειας, ενώ η παρουσία νερού βοηθά σημαντικά στη διασπορά τους. Σε αμμώδη και εδάφη φτωχά σε οργανική ουσία απαιτείται προσοχή διότι η υπερβολική υγρασία μπορεί να οδηγήσει σε έκπλυσή τους.
- Η ομάδα των οργανοφωσφορικών περιλαμβάνει τα fenamiphos και fosthiazate, η ομάδα των καρβοξαμιδικών το fluopyram και η ομάδα των καρβαμιδικών το oxamyl.

Fenamiphos

Κατάλληλο νηματοδοκτόνο για μόνιμα θερμοκήπια σε καλλιέργειες πιπεριάς, μμελιτζάνας, τομάτας, μπανάνας και καλλωπιστικών φυτών. Είναι διασυστηματικό και δρα δια επαφής αναστέλλοντας την ακετυλοχολινεστεράση. Η εφαρμογή του προτείνεται να γίνεται μια φορά ανά καλλιεργητική περίοδο γιατί η συνεχόμενη χρήση του μπορεί να οδηγήσει σε επιταχυνόμενη μικροβιακή διάσπαση (Kargouzas et al., 2004). Δεν προκαλεί φυτοτοξικότητα σε καμία καλλιέργεια, αλλά είναι πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς και τις μέλισσες. Στην Ελλάδα, η διάθεση του είναι εγκεκριμένη.

Fosthiazate

Εφαρμόζεται προφυτρωτικά για την καταπολέμηση των κομβονηματωδών του γένους *Meloidogyne* σε θερμοκηπιακή και υπαίθρια καλλιέργεια τομάτας καθώς και των κυστονηματοδών

του γένους *Globodera* σε καλλιέργεια πατάτας. Επιτρέπεται η εφαρμογή του μόνο μια φορά ετησίως ενώ η φύτευση της καλλιέργειας γίνεται μετά από 3 ημέρες. Δρα δια επαφής και στομάχου. Αρχικά προκαλεί παράλυση των νηματωδών και στη συνέχεια αναστέλλει τη δράση της ακετυλοχολινεστεράσης. Δεν προκαλεί φυτοτοξικότητα όμως είναι επικίνδυνο για το περιβάλλον (Pantelalis et al., 2006) καθώς και επιβλαβές για τα παραγωγικά ζώα, τα άγρια ζώα, πουλιά και τους υδρόβιους οργανισμούς. Στην Ελλάδα, η διάθεση του είναι εγκεκριμένη.

Fluopyram

Ανακαλύφθηκε το 2001 από την εταιρία Bayer CropScience, ανήκει στην ομάδα των SDHIs και καταπολεμά τους νηματώδεις και το οίδιο σε πολλές θερμοκηπιακές καλλιέργειες όπως η τομάτα, η μελιτζάνα, η πιπεριά, το αγγούρι, το κολοκύθι, το κολοκυθάκι, η κολοκύθα, το πεπόνι και το καρπούζι. Έχει έντονη δράση εναντίων των ενήλικων νηματωδών. Επίσης καθυστερεί την ανάπτυξη των ωών, τα οποία βρίσκονται σε προχωρημένο στάδιο και περιορίζει την εκκόλαψή τους. Ένας νέος τρόπος δράσης σε βιοχημικό επίπεδο παρουσιάζεται καθώς παρεμποδίζει τη μιτοχονδριακή αναπνοή μπλοκάροντας τη μεταφορά των ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα του σύμπλοκου II (παρεμποδιστής Succinate Quinone Reductase-SQR). Στα πρώτα 30 λεπτά μετά την εφαρμογή αρχίζουν να γίνονται ορατά τα πρώτα συμπτώματα καθώς οι νηματώδεις αρχίζουν να επιβραδύνουν ενώ μετά από 1-2 ώρες τελικά παραλύουν εντελώς. Επιπλέον, το fluopyram μπορεί χρησιμοποιηθεί και σαν μυκητοκτόνο καθώς έχει διεισδυτική δράση, διελασματική κίνηση καθώς και ακροπέταλη κίνηση μέσω των αγγείων του ξύλου. Εφαρμόζεται στο έδαφος μέσω του συστήματος της στάγδην άρδευσης. Στην Ελλάδα, η διάθεση του είναι εγκεκριμένη.

OxamyI

Δρα κυρίως ενάντια των νηματωδών, καθώς επίσης και σε αλευρώδεις και αφίδες σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες καρπουζιού, πιπεριάς, πεπονιού, μελιτζάνας, αγγουριού και τομάτας αλλά και σε υπαίθριες καλλιέργειες μπανάνας, καρότου, καπνού και πατάτας. Εκτός από την εφαρμογή του στο έδαφος όπου κινείται καθοδικά προς τις ρίζες των φυτών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και διαφυλλικά με ψεκασμό σε ορισμένα φυτά. Είναι διασυστηματικό με διπλή δράση, επαφής και στομάχου. Ο μηχανισμός δράσης έχει ως στόχο το νευρικό σύστημα και προκαλεί αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης. Είναι τοξικό για τον άνθρωπο και άλλους ζωντανούς οργανισμούς, ενώ δεν είναι βλαβερό απέναντι στα φυτά, καθώς δε διαθέτουν νευρικό σύστημα. Στην Ελλάδα, η διάθεση του στην αγορά είναι εγκεκριμένη.

Αιθέρια Έλαια

Από τον Ιούλιο του 2020 ως νηματωδοκτόνα χρησιμοποιούνται επίσης ορισμένα αιθέρια έλαια.

Geraniol & Thymol

Είναι οξυγονωμένα μονοτερπένια και ανήκουν στην ομάδα των τερπενοειδών. Και οι δυο ουσίες αποτελούν συστατικά των αιθέριων ελαίων πολλών φυτών.

Στην αγορά κυκλοφορεί πλέον σκεύασμα με τον συνδυασμό και των δυο ουσιών με την μορφή αιωρήματος μικροκαψουλών και χρησιμοποιείται ως νηματωδοκτόνο επαφής, για χρήση μέσω της στάγδην άρδευσης σε υπαίθριες και θερμοκηπιακές καλλιέργειες. Προορίζεται για τον έλεγχο των *Meloidogyne*. Δρα σε πολλαπλά σημεία καθώς η δραστική ουσία geraniol περιορίζει την προσβολή την έκταση της προσβολής (αριθμό κόμβων), αναστέλλοντας την εκκόλαψη των ωών και την κινητικότητα των νεαρών μορφών, ενώ η δραστική ουσία thymol προκαλεί ακινητοποίηση των νεαρών μορφών και αναστέλλει την εκκόλαψη των ωών.

Από την ευρεία χρήση σκευασμάτων μικρού και μεγάλου φάσματος αποδεικνύεται πως η χημική καταπολέμηση προσφέρει χωρίς καμία αμφιβολία γρήγορη και ικανοποιητική προστασία στη καλλιέργεια.

Η χρήση των χημικών νηματωδοκτόνων πλεονεκτεί στο ότι έχει άμεσα και σίγουρα αποτελέσματα, αλλά έχει επίσης αρκετά μειονεκτήματα, όπως υψηλό κόστος και κίνδυνο πρόκλησης φυτοτοξικότητας σε γειτονικά φυτά. Για την σίγουρη αποτελεσματικότητα τους απαιτούνται συχνές εφαρμογές με μεγάλες δόσεις, κάτι το οποίο μπορεί να έχει βλαβερές συνέπειες για το χρήστη αλλά και το περιβάλλον. Η επιλογή του καταλληλότερου σκευάσματος εξαρτάται από το είδος που θέλουμε να αντιμετωπίσουμε και την προσβεβλημένη καλλιέργεια.

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

4.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για την αντιμετώπιση των φυτοпараσιτικών νηματωδών χωρίς χημικές μεθόδους. Η ενασχόληση και η πραγματοποίηση της μελέτης αυτής υποκινήθηκε από αυτό το γεγονός. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η δυνατότητα της αξιοποίησης των βιολογικών παραγόντων *Fusarium oxysporum* (στέλεχος F2) και *Arthrobacter* sp. (στέλεχος FP15) για την καταστολή πληθυσμών κομβονηματωδών *Meloidogyne javanica* σε φυτά τομάτας, ποικιλίας Belladonna.

4.1.1. Μη παθογόνο στέλεχος *F. oxysporum* (F2)

Πολλές μελέτες έχουν δείξει την ικανότητα του μη παθογόνου στελέχους του *F. oxysporum* (F2) να ελέγχει παθογόνα που προκαλούν αδρομυκώσεις όπως *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*. Αυτά τα μη παθογόνα στελέχη παρουσιάζουν διάφορους τρόπους δράσης που συμβάλλουν στην ικανότητα βιολογικής αντιμετώπισης των αδρομυκώσεων. Είναι σε θέση να ανταγωνίζονται για θρεπτικά συστατικά στο έδαφος, επηρεάζοντας το ρυθμό βλάστησης των χλαμυδοσπορίων και μικροσκληρωτίων αντίστοιχα, καθώς και τη σαπροφυτική ανάπτυξη του *Fusarium oxysporum*, μειώνοντας την πιθανότητα το παθογόνο να φτάσει στην επιφάνεια της ρίζας. Ανταγωνίζονται με το παθογόνο για τον αποικισμό των σημείων μόλυνσης της ριζικής επιφάνειας και στο εσωτερικό της ρίζας προκαλούν αντιδράσεις άμυνας των φυτών, ενεργοποιώντας την επαγόμενη συστηματική ανθεκτικότητα (Induced Systemic Resistance-ISR) (Alabouvette and Olivain, 2002).

4.1.2 *Arthrobacter* sp. (FP 15)

Το *Arthrobacter* είναι ένα γένος υποχρεωτικών αερόβιων βακτηρίων. Συνήθως βρίσκονται στο έδαφος, σε εναέρια μέρη φυτών και σε ιζήματα λυμάτων, δεν σχηματίζουν ενδοσπόρια και είναι ιδιαίτερα πρωτεολυτικά. Μπορούν να αποικοδομήσουν ασυνήθιστες και πολυμερείς ενώσεις και να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στη βιοαποικοδόμηση αγροχημικών και ρυπών (Gobbetti and Rizzello, 2014). Ορισμένα στελέχη του γένους *Arthrobacter* έχουν αξιολογηθεί έναντι πολλών διαφορετικών φυτοπαθογόνων μυκήτων και βακτηρίων (Morrissey et al., 1976, Barrows-Broadus et al., 1985, Barriuso et al., 2008).

Οι Papasotiriou et al. (2013) σε έρευνα που πραγματοποίησαν για βελτιωτικά κομποστ από απόβλητα ελαιοτριβείων, κατάφεραν να απομονώσουν το στέλεχος *Arthrobacter* FP15 και να διεξάγουν πείραμα για την αξιολόγηση του ως βιολογικό παράγοντα καταστολής του *V. dahliae* σε φυτά μελιτζάνας. Στην ίδια έρευνα βρέθηκε ότι το FP15 κατάφερε να μειώσει σημαντικά το μόλυσμα και τα συμπτώματα στο φυτό σε σχέση τον μάρτυρα. Συμπέραναν, ότι το FP15 δρα με αντιβιοτικούς μηχανισμούς κι ως ανταγωνιστικό του παθογόνου, καθώς κι ότι υπάρχουν ενδείξεις ότι ενεργοποιεί την ISR του φυτού.

4.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.2.1 Ανάπτυξη πληθυσμού *Meloidogyne javanica*

Υλικά

- Σπορόφυτα τομάτας (*Lycopersicon esculentum* var. belladonna)
- Σπορόφυτα τομάτας προσβεβλημένα με *Meloidogyne javanica*
- Αποστειρωμένο φυτόχωμα εμπορίου
- Διαφανή πλαστικά ποτήρια 300 ml
- Θάλαμος ελεγχόμενων συνθηκών

Διαδικασία

Για την ανάπτυξη του πληθυσμού και την παραγωγή επαρκούς μολύσματος για την διεξαγωγή των δοκιμών, 10 σπορόφυτα τομάτας ποικιλίας Belladonna μεταφυτεύθηκαν σε διαφανή πλαστικά ποτήρια όγκου 300 ml που περιείχαν αποστειρωμένο φυτόχωμα εμπορίου και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών στους 26°C με 60% υγρασία.

Επτά (7) ημέρες μετά την μεταφύτευση, από σπορόφυτα τομάτας, τεχνητά προσβεβλημένα με *M. javanica*, τα οποία αναπτύσσονταν στο Εργαστήριο Φυτοπροστασίας - Φαρμακολογίας του ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας, απομονώθηκαν ρίζες που έφεραν εμφανώς ώριμους ωόσακκους *M. javanica* και τμήματα αυτών τοποθετήθηκαν πλησίον της ριζόσφαιρας των υγιών σποροφύτων. Όλα τα φυτά μεταφέρθηκαν εκ νέου στον θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών, όπου παρέμειναν μέχρι την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου των νηματωδών και την δημιουργία νέων ωόσακκων.



Εικόνα 4.1 Σπορόφυτα τομάτας τεχνητά προσβεβλημένα με *Meloidogyne javanica*

4.2.2 Μόλυνση φυταρίων και επεμβάσεις

Υλικά

- Σπορόφυτα τομάτας (*Lycopersicon esculentum* var. *Belladonna*)
- Αποστειρωμένο φυτόχωμα εμπορίου
- Διαφανή πλαστικά ποτήρια 300ml
- Θάλαμος ελεγχόμενων συνθηκών
- Σωληνάκια τύπου falcon (15ml)
- Υδατικό διάλυμα NaOCl 1% (20ml χλωρίνη εμπορίου + 80ml νερό)
- Ειδικό τρυβλίο καταμέτρησης νηματωδών
- Ποτήρια ζέσεως
- Λαβίδες
- Στερεοσκόπιο
- Κωνικές φιάλες

- Πλαστικοί κουβάδες
- Νυστέρι
- Ζυγός ακριβείας
- Μολυσμένα σπορόφυτα *Meloidogyne javanica*
- Καλλιέργειες των βιολογικών παραγόντων F2 & FP15.

Διαδικασία

1. Ένα μήνα μετά την τεχνητή μόλυνση των φυτών με προσβεβλημένες ρίζες, τα φυτά εξήχθησαν από τον θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών και μεταφέρθηκαν σε κουβάδες με νερό. Οι ρίζες ξεπλύθηκαν προσεκτικά από το προσκολλημένο υπόστρωμα και πραγματοποιήθηκε απομόνωση ωόσακκων με τη βοήθεια στερεοσκοπίου.
2. Δέκα τυχαία επιλεγμένοι ωόσακκοι μεταφέρθηκαν σε σωληνάριο τύπου falcon που περιείχε το διάλυμα NaOCl, όπου αφέθηκαν για περίπου 10 λεπτά μέχρι να διαλυθούν οι ωόσακκοι. Το περιεχόμενο του σωληναρίου μεταφέρθηκε στο τριβλίο καταμέτρησης (Εικόνα 4.6) και εκτιμήθηκε ο αριθμός ωών ανά ωόσακκο (~531 ωά/ωόσακκο).
3. 82 σπορόφυτα τομάτας ποικιλίας *Belladonna* μεταφυτεύτηκαν σε πλαστικά διαφανή ποτήρια των 300ml, και ακολούθως τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών στους 26°C με 60% υγρασία.
4. Δύο ημέρες αργότερα αναπτύχθηκαν υγρές καλλιέργειες των βιολογικών παραγόντων σε κωνικές φιάλες. Η διαδικασία ήταν η εξής:
 - Σε ασηπτικές συνθήκες έγινε προετοιμασία και αποστείρωση του εξοπλισμού και του θρεπτικού υλικού ανάπτυξης των βιολογικών παραγόντων.
 - Από στερεές καλλιέργειες των βιολογικών παραγόντων που διέθεσε το εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό ασηπτικές συνθήκες, ελήφθησαν με ένα νυστέρι μικρά κομμάτια, τα οποία μεταφέρθηκαν σε κωνικές φιάλες που περιείχαν το κατάλληλο θρεπτικό υλικό για την ανάπτυξη κάθε παράγοντα (SSN για το F2 και NG για το FP15), όπου:

- SSN
- Σακχαρόζη 15gr
 - K₂HPO₄ 1gr
 - MgSO₄ 7H₂O 0,5gr
 - NaNO₃ 2gr
 - KCl 0,5gr
 - Διάλυμα ιχνοστοιχείων 1ml
 - Απιονισμένο νερό μέχρι τελικό όγκο 1lt
- NG
- Nutrient broth 8gr
 - Γλυκερόλη 20gr
 - Απιονισμένο νερό μέχρι τελικό όγκο 1lt

- Οι κωνικές φιάλες με τις υγρές καλλιέργειες τοποθετήθηκαν στον αναδευτήρα για 24 ώρες στους 28°C σε 120 rpm.
5. Την επόμενη μέρα πραγματοποιήθηκε μόλυνση των υγιών φυτών με ωά *Meloidogyne javanica* σε διαφορετικούς πληθυσμούς. Συγκεκριμένα, 18 φυτά μολύνθηκαν με 1000 ωά, 18 φυτά με 2000, 18 φυτά με 4000 και 28 φυτά έμειναν αμόλυντα και αποτέλεσαν μάρτυρες.
 6. Την ίδια μέρα, τα φυτά χωρίστηκαν σε ομάδες των 9 (δύο ομάδες για κάθε επίπεδο πληθυσμού) για να γίνει η εφαρμογή των βιολογικών παραγόντων με ριζοπότισμα ως εξής:
 - Για τον παράγοντα F2, χρησιμοποιήθηκαν 10ml της καλλιέργειας του μύκητα / φυτό (C=10⁷ κονίδια /ml), για τον παράγοντα FP15, χρησιμοποιήθηκαν 10ml καλλιέργειας βακτηρίου / φυτό (C=10⁷ cfu*/ml).
 7. Ολοκληρώνοντας τις εφαρμογές, το πειραματικό σχέδιο περιλάμβανε:
 - 9 φυτά με πληθυσμό 1000 νηματώδεις όπου εφαρμόστηκε ο παράγοντας F2.
 - 9 φυτά με πληθυσμό 1000 νηματώδεις όπου εφαρμόστηκε ο παράγοντας FP15.
 - 9 φυτά με πληθυσμό 2000 νηματώδεις όπου εφαρμόστηκε ο παράγοντας F2.
 - 9 φυτά με πληθυσμό 2000 νηματώδεις όπου εφαρμόστηκε ο παράγοντας FP15.
 - 9 φυτά με πληθυσμό 4000 νηματώδεις όπου εφαρμόστηκε ο παράγοντας F2.
 - 9 φυτά με πληθυσμό 4000 νηματώδεις όπου εφαρμόστηκε ο παράγοντας FP15.
 - Όσον αφορά στους μάρτυρες, 9 φυτά ριζοποτίστηκαν με το F2, 9 φυτά με το FP15 και 10 φυτά χρησιμοποιήθηκαν ως λευκοί μάρτυρες και ποτίζονταν μόνο με νερό.

* colony forming units

8. Τα σπορόφυτα επανατοποθετήθηκαν στον θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών στους 26°C με 60% υγρασία, όπου παρέμειναν για 45 ημέρες. (Εικόνα 4.2).
9. Μετά την πάροδο των 45 ημερών, τα φυτά εξήχθησαν από τον θάλαμο, αφαιρέθηκαν προσεκτικά από τα δοχεία στα οποία αναπτύσσονταν και μεταφέρθηκαν, ανά ομάδα, σε κουβάδες με νερό. Οι ρίζες ξεπλύθηκαν προσεκτικά από το προσκολλημένο υπόστρωμα και στη συνέχεια, χωρίστηκε το υπέργειο από το υπόγειο τμήμα των φυτών (Εικόνα 4.3).
10. Το υπέργειο τμήμα κάθε φυτού ζυγίστηκε σε ζυγό ακριβείας ως προς το νωπό του βάρος.
11. Οι ρίζες στραγγίστηκαν σε χαρτί κουζίνας, έπειτα ζυγίστηκαν, καταγράφηκε το νωπό τους βάρους και στη συνέχεια φυλάχθηκαν σε ψυγείο στους 4°C τυλιγμένες με νωπό χαρτί κουζίνας ώστε να μην νεκρωθούν, μέχρι να γίνει η καταμέτρηση ωόσακων και ωών.



Εικόνα 4.2 Σπορόφυτα τομάτας στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών στα οποία εφαρμόστηκαν οι βιολογικοί παράγοντες F2 & FP15



Εικόνα 4.3 Ρίζα τομάτας μετά το ξέπλυμα από το προσκολλημένο υπόστρωμα. Διακρίνονται οι ωόσακοι του *M. javanica*.

4.2.3 Καταμέτρηση συνολικού πληθυσμού και αξιολόγηση προσβολής

Υλικά

- Κόσκινα με διάμετρο πόρων 630μm, 150μm, 53μm, 35μm
- Πλαστικοί κουβάδες
- Γυάλινα χωνιά
- Σωλήνες σιλικόνης 10cm

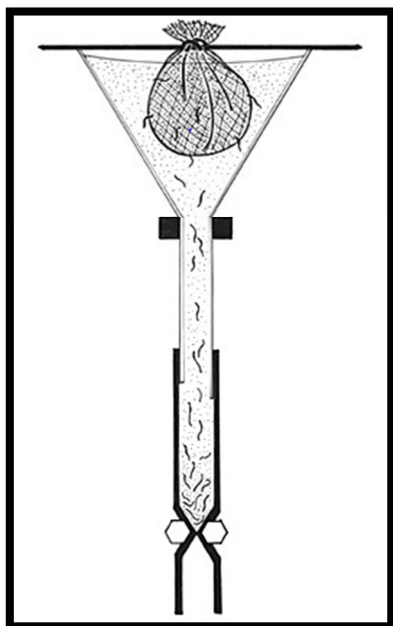
- Σφικκτήρες
- Δικτυωτό πλέγμα
- Διηθητικά χαρτομάνηλα
- Τρυβλίο καταμέτρησης νηματωδών
- Στερεοσκόπιο

Διαδικασία

Μέτρηση πληθυσμού από το υπόστρωμα ανάπτυξης:

Για την απομόνωση των νηματωδών από το υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών χρησιμοποιήθηκε μια παραλλαγή της μεθόδου Baermann:

1. Όλο το περιεχόμενο των πλαστικών δοχείων στα οποία είχαν παραμείνει οι ρίζες των φυτών για να ξεπλυθούν, αναδεύτηκε καλά και προσεκτικά με τα δάκτυλα, διαλύθηκαν όλα τα συσσωματώματα στα οποία μπορεί να υπήρχαν παγιδευμένοι νηματώδεις.
2. Το αιώρημα (που περιείχε μαζί με τους νηματώδεις) αφέθηκε σε ηρεμία για λίγα δευτερόλεπτα (5-10) ώστε να κατακαθίσουν τα βαριά υλικά και στη συνέχεια μεταφέρθηκε μέσω κόσκινου (κόσκινο Νο 1) με διάμετρο πόρων 630μm σε δεύτερο πλαστικό δοχείο.
3. Τα υλικά που συλλέχθηκαν στο κόσκινο Νο 1 απορρίφθηκαν, ενώ το αιώρημα του 2ου δοχείου μεταφέρθηκε μέσα από δεύτερο κόσκινο με διάμετρο πόρων 150μm σε τρίτο πλαστικό δοχείο.
4. Τα υλικά που συλλέχθηκαν στο κόσκινο Νο 2 απορρίφθηκαν και το αιώρημα του 3ου δοχείου πέρασε μέσα από κόσκινο Νο 3 με διάμετρο πόρων 56μm.
5. Τα υλικά (και οι νηματώδεις) που συλλέχθηκαν στο 3ο κόσκινο μεταφέρθηκαν προσεκτικά σε ποτήρι ζέσεως και στη συνέχεια εντός υάλινου χωνιού διαμέτρου 10-15cm, προετοιμασμένο ως εξής:
 - i. στο σωληνωτό τμήμα του χωνιού προσαρμόζεται κομμάτι σωλήνα σιλκόνης μήκους 10cm, στο άκρο του οποίου προσαρμόζεται ειδικός σφικκτήρας που κλείνει το χωνί υδατοστεγώς. Στην άνω επιφάνεια του χωνιού τοποθετείται δικτυωτό πλέγμα, πάνω στο οποίο τοποθετείται



ειδικό για την απομόνωση νηματωδών διηθητικό χαρτομάντηλο. Το αιώρημα με τους νηματώδεις μεταφέρεται εντός του χωνιού, μέσω του χαρτομάντιλου.

ii. Αφού το χαρτομάντιλο στραγγίσει, διπλώνεται ώστε να μην είναι δυνατή η διαφυγή του περιεχομένου του, τοποθετείται ο σφιγκτήρας για να κλείσει το χωνί, το οποίο γεμίζουμε με νερό έως ότου καλυφθεί το χαρτομάντιλο.

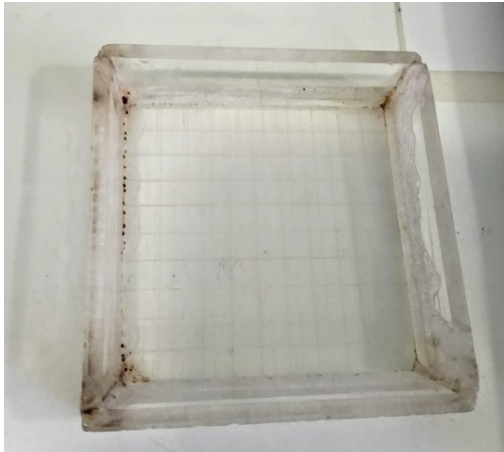
Εικόνα 4.5 Σχηματική απεικόνιση της διάταξης απομόνωσης νηματωδών, οι οποίοι διαπερνούν το χαρτομάντηλο ενεργητικά, και τελικά κατακάθονται παθητικά στο κάτω άκρο του σωλήνα σιλικόνης έως την παραλαβή τους. (Πηγή: <https://www.rvc.ac.uk/review/parasitology/Baermann/Principle.htm>)



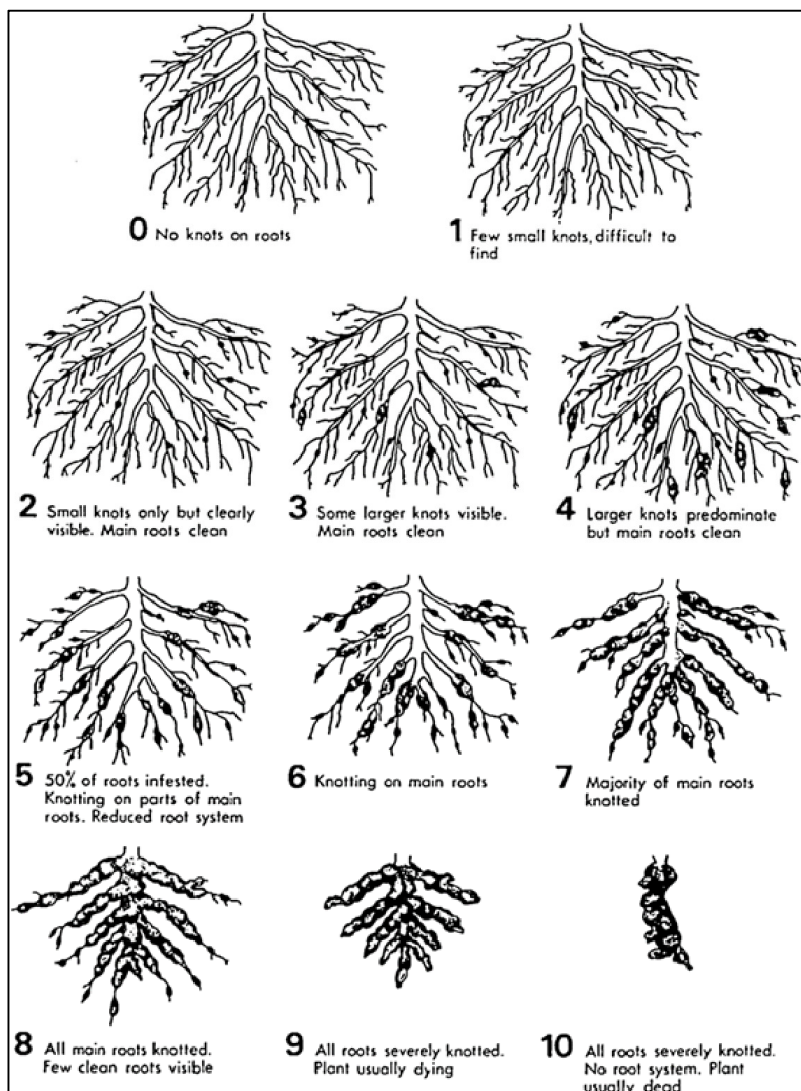
Εικόνα 4.4 Διάταξη υάλινων χωνιών απομόνωσης νηματωδών στο Εργαστήριο Φυτοπροστασίας του Π. Πατρών.

iii. Το όλο σύστημα αφήνεται σε ηρεμία για διάστημα 48 ωρών, στη διάρκεια του οποίου οι κινητές μορφές των νηματωδών διαπερνούν το χαρτομάντιλο ενεργητικά και τελικά κατακάθονται παθητικά στο κάτω άκρο του σωλήνα σιλικόνης, απ' όπου γίνεται η παραλαβή τους. Εδώ θα πρέπει να σημειωθεί πως τα ωά, οι δυσκίνητες, σε φάση έκδυσης, προνύμφες, οι κύστεις καθώς και οι νεκροί νηματώδεις δε μπορούν να διαπεράσουν τους πόρους του χαρτομάντιλου, οπότε δεν ανιχνεύονται με αυτή τη μέθοδο.

6. Μετά την πάροδο των 48 ωρών, από κάθε χωνί λήφθηκε δείγμα όγκου 10ml, το οποίο μεταφέρθηκε στο ειδικό τριβλίο καταμέτρησης νηματωδών (counting dish) (Εικόνα 4.6) και με τη βοήθεια στερεοσκοπίου πραγματοποιήθηκε καταμέτρηση αριθμό των κινητών μορφών *M. javanica* (J2 και αρσενικά).



Εικόνα 4.6 Τριβλίο καταμέτρησης νηματωδών



Εικόνα 4.7 Κλίμακα Zeck (Αξιολόγηση βάσει επιπέδου προσβολής)

7. Οι ρίζες των φυτών που φυλάσσονταν στο ψυγείο και αξιολογήθηκαν ως προς το επίπεδο προσβολής βάσει της κλίμακας Zeck (Zeck, 1971) (Εικόνα 4.7)
8. Στη συνέχεια από τη ρίζα κάθε φυτού απομονώθηκε και καταμετρήθηκε το σύνολο των ωόσακκων.
9. Δέκα τυχαία επιλεγμένοι ωόσακκοι από κάθε δείγμα/φυτό μεταφέρθηκαν σε σωληνάριο τύπου falcon που περιείχε το διάλυμα NaOCl, που αφέθηκαν για περίπου 10 λεπτά μέχρι να διαλυθούν οι ωόσακκοι. Το περιεχόμενο του σωληναρίου μεταφέρθηκε στο τρυβλίο καταμέτρησης (Εικόνα 4.6) και εκτιμήθηκε ο αριθμός ωών ανά ωόσακκο.
10. Για κάθε φυτό υπολογίσθηκε ο συνολικός πληθυσμός νηματωδών προσθέτοντας το πλήθος των κινητών μορφών με το πλήθος των ωών.

Μέτρηση πληθυσμού από τις ρίζες με τη μέθοδο εμβάπτισης σε χλωρίνη:

Για να μετρηθεί ο πληθυσμός των νηματωδών στις ρίζες, τις οποίες είχαμε τοποθετήσει στο ψυγείο έπειτα από το ξέπλυμα τους, κόπηκαν με προσοχή σε μικρότερα κομμάτια, τοποθετήθηκαν σε ποτήρια ζέσεως, προστέθηκαν 100ml διαλύματος NaOCl 1% (20ml χλωρίνη εμπορίου + 80mlH₂O) και αναδεύτηκαν περιοδικά για 5 λεπτά. Στη συνέχεια ακολούθησε το πέρασμα των ριζών από κόσκινο με διάμετρο πόρων 35μm, το περιεχόμενο του οποίου συλλέχθηκε σε ποτήρια ζέσεως. Στη συνέχεια τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε υάλινα χωνιά και επαναλήφθηκε η διαδικασία που χρησιμοποιήθηκε και για την απομόνωση των νηματωδών από το εδαφικό υπόστρωμα (Μέθοδος Baermann). Μετά την πάροδο 48 ωρών, από κάθε χωνί λήφθηκε δείγμα όγκου 10 ml το οποίο μεταφέρθηκε στο ειδικό τριβλίο καταμέτρησης νηματωδών (counting dish) (Εικόνα 4.6) και με τη βοήθεια στερεοσκοπίου πραγματοποιήθηκε καταμέτρηση του πληθυσμού των ριζών.

Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πακέτο STATGRAPHICS Plus, με το οποίο ελέγχθηκε εάν παρατηρούνταν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων και με το Excel.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

5.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΩΝ

Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων σε πίνακες και διαγράμματα, στα οποία:

- F2_0000: υγιής μάρτυρες, εφαρμογή παράγοντα F2
- F2_1000: φυτά προσβεβλημένα με πληθυσμό 1000 νηματώδεις, εφαρμογή παράγοντα F2
- F2_2000: 2000 νηματώδεις, εφαρμογή παράγοντα F2
- F2_4000: 4000 νηματώδεις, εφαρμογή παράγοντα F2
- FP15_0000: υγιής μάρτυρας, εφαρμογή παράγοντα FP15
- FP15_1000: 1000 νηματώδεις, εφαρμογή παράγοντα FP15
- FP15_2000: 2000 νηματώδεις, εφαρμογή παράγοντα FP15 και
- FP15_4000: 4000 νηματώδεις, εφαρμογή παράγοντα FP15.

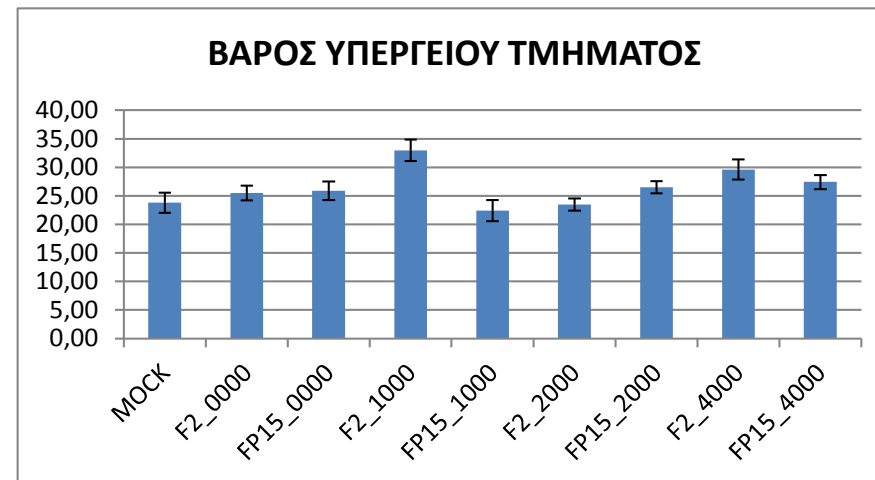
Πίνακας 5.1 Νωπό βάρος (g) υπέργειου τμήματος φυτών τομάτας.

	MOCK	F2_0000	FP15_0000	F2_1000	FP15_1000	F2_2000	FP15_2000	F2_4000	FP15_4000
	18,92	26,58	23,05	35,92	16,95	22,77	20,38	18,2	25,95
	23,60	23,85	26,32	35,37	18,17	25,92	31,24	32,23	27,43
	14,14	26,13	28,1	35,93	22,59	22,48	25,66	33,13	31,49
	21,95	27,22	34,13	31,23	14,25	30,36	27,05	30,14	20,39
	20,05	28,7	28	26,96	28,76	20,86	28,48	34,23	28,75
	28,22	27,98	26,75	43,26	22,13	22,2	29,09	29,1	30,41
	29,75	15,84	28,21	29,59	25,99	25,07	25,72	31,22	23,68
	31,32	27,3	20,73	33,98	21,9	21,24	26,71	28,52	27,21
	26,12	25,71	17,73	24,59	31,08	20,32	24,01		31,44
average	23,79	25,48	25,89	32,98	22,42	23,47	26,48	29,60	27,42
stdev	5,60719206	3,876697836	4,806473355	5,600487578	5,511937298	3,17854308	3,130661982	5,001528159	3,692015032
se	1,77314982	1,292232612	1,602157785	1,866829193	1,837312433	1,05951436	1,043553994	1,768307239	1,230671677

Πίνακας 5.2 Μέσος όρος νωπού βάρους (g) υπέργειου τμήματος φυτών τομάτας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.

Multiple Range Tests			
Method: 95.0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
FP15_1000	9	22.4244	X
F2_2000	9	23.4689	XX
MOCK	10	24.307	XX
F2_0000	9	25.4789	XXX
FP15_0000	9	25.8911	XXX
FP15_2000	9	26.4822	XXX
FP15_4000	9	27.4167	XX
F2_4000	8	29.5963	XX
F2_1000	9	32.9811	X

Διάγραμμα 5.1 Νωπό βάρος (g) υπέργειου τμήματος φυτών τομάτας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.



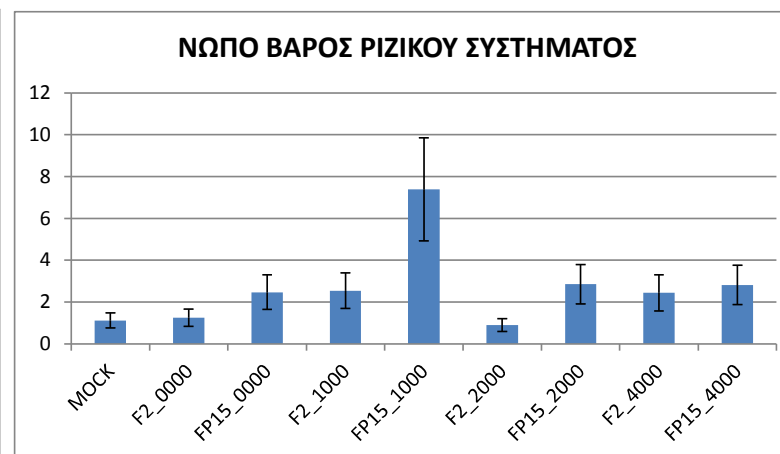
Πίνακας 5.3 Νωπό βάρος (g) ριζών φυτών τομάτας.

	MOCK	F2_0000	FP15_0000	F2_1000	FP15_1000	F2_2000	FP15_2000	F2_4000	FP15_4000
	6,52	2,98	6,42	4,52	4,19	6,06	5,5	9,25	7,3
	7,74	3,72	6,92	1,78	16,17	4,84	5,92	9,03	8,44
	4,52	3,1	8,77	3,23	3,22	5,66	5,08	8,16	11,37
	7,3	5,47	9,88	8,58	3,3	3,9	3,5	10,12	6,13
	6,55	5,89	6,57	4,65	6,34	6,7	5,83	3,28	10,82
	5,25	2,83	9,76	7,84	7,05	5,68	8,36	5,7	11,04
	4,72	5,18	5,25	9,31	11,16	6,65	6,22	4,57	6,55
	5,46	3,8	2,51	7,13	3,5	4,93	9,68	7,75	9,19
	6,16	2,59	4,4	6,3	24,85	5,32	12,9		14,98
average	6,02	3,95	6,72	5,93	8,86	5,53	7,00	7,23	9,54
stdev	1,117677403	1,246479487	2,471072642	2,544867384	7,393360385	0,900041666	2,854209367	2,444432449	2,822875799
se	0,353440628	0,415493162	0,823690881	0,848289128	2,464453462	0,300013889	0,951403122	0,864237381	0,9409586

Πίνακας 5.4 Μέσος όρος νωπού βάρους (g) υπόγειου τμήματος φυτών τομάτας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.

```
Multiple Range Tests
-----
Method: 95.0 percent LSD
Count      Mean      Homogeneous Groups
-----
F2_0000    9      3.95111      X
F2_2000    9      5.52667      XX
F2_1000    9      5.92667      XXX
MOCK       9      6.02444      XXXX
FP15_0000  9      6.72         XXXXX
FP15_2000  9      6.99889      XXXX
F2_4000    8      7.2325      XXXX
FP15_1000  9      8.86444      XXX
FP15_4000  9      9.53556      X
```

Διάγραμμα 5.2 Νωπό βάρος (g) υπόγειου τμήματος φυτών τομάτας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.



Πίνακας 5.5 Συνολικός αριθμός προνυμφών στο υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών τομάτας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.

Πληθυσμός J2	F2_1000	F2_2000	F2_4000	FP15_1000	FP15_2000	FP15_4000
	61600	2000	16000	395	110	65
	32400	12600	2100	225	165	60
	28600	12200	22800	310	85	125
	8500	10000	46420	110	130	90
	35800	20020	42000	0	165	135
	34000	14910	32400	270	130	80
	24400	54600	21760	140	180	155
	21120	19200	57200	100	125	145
	24200	19800		90	95	125
average	30068,89	18370,00	30085,00	182,22	131,67	108,89
stdev	14413,5	14745,5	17941,6	125,80022	32,787193	35,600016
se	4557,93	4662,93	5673,63	39,781521	10,368221	11,257713

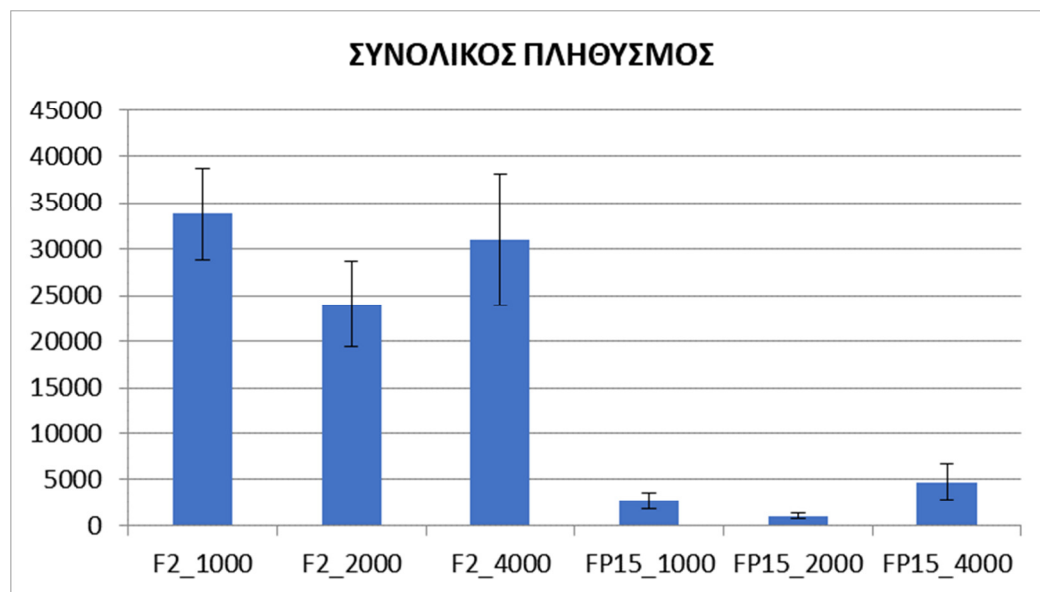
Πίνακας 5.6 Συνολικός αριθμός ωών στις ρίζες των φυτών τομάτας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.

Πληθυσμός ωών	F2_1000	F2_2000	F2_4000	FP15_1000	FP15_2000	FP15_4000
	2825	10123	825	2734	186	1107
	2700	2950	8828	8694	424	5067
	2700	1850	10600	1480	204	15540
	2334	9500	8000	1100	2034	12968
	2660	3500	2075	3380	706	5110
	9100	8600	2700	600	67	667
	4000	3850	1625	320	1140	658
	1450	1350	3550	4394	2667	617
	6050	9100		140	259	172
average	3757,67	5647,00	4775,38	2538,00	854,11	4656,22
stdev	2385,33	3597,180285	3767,9	2731,7904	922,63799	5796,9511
se						

Πίνακας 5.7 Συνολικός πληθυσμός *M. javanica* σε προσβεβλημένα φυτά τομάτας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.

	F2_1000	F2_2000	F2_4000	FP15_1000	FP15_2000	FP15_4000
Σύνολο	64425	12123	16825	3129	296	1172
	35100	15550	10928	8919	589	5127
	31300	14050	33400	1790	289	15665
	10834	19500	54420	1210	2164	13058
	38460	23520	44075	3380	871	5245
	43100	23510	35100	870	197	747
	28400	58450	23385	460	1320	813
	22570	20550	60750	4494	2792	762
	30250	28900	0	230	354	297
average	33827	24017	30987	2720	986	4765
stdev	14787,42047	13941,3998	20155,29409	2739,816544	929,7555832	5794,44349
se	4929,140158	4647,133268	7125,972563	913,2721813	309,9185277	1931,481163

Διάγραμμα 5.3 Συνολικός πληθυσμός *M. javanica* στις ρίζες των φυτών τομάτας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.



Πίνακας 5.8 Μέσος όρος συνολικού πληθυσμού *M. javanica* στις ρίζες των φυτών τομάτας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
FP15_2000	9	985,778	X
FP15_1000	9	2720,22	X
FP15_4000	9	4765,11	X
F2_2000	9	24017,0	X
F2_4000	9	30987,0	X
F2_1000	9	33826,6	X

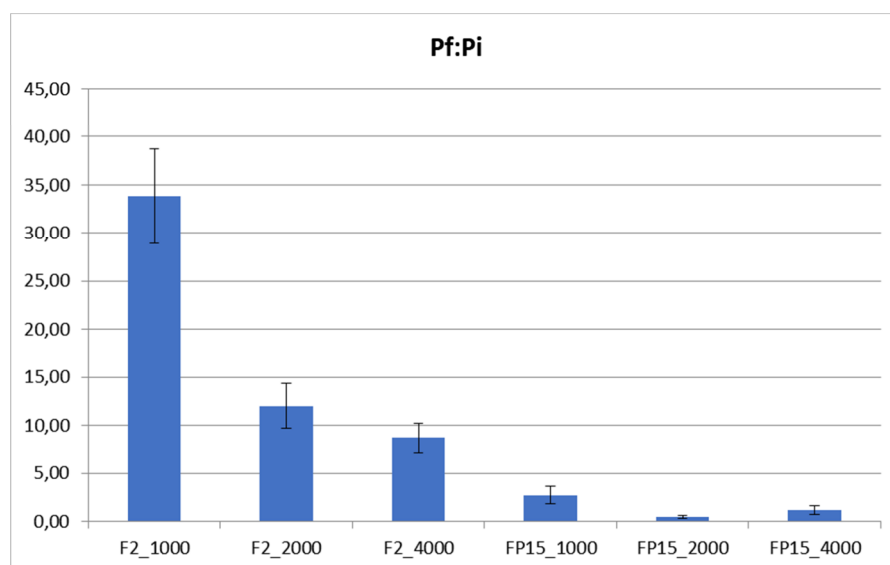
Πίνακας 5.9 Αναπαραγωγικό δυναμικό Pf:Pi του *M. javanica* στις διαφορετικές μεταχειρίσεις, όπου Pf ο τελικός πληθυσμός και Pi ο αρχικός.

	F2_1000	F2_2000	F2_4000	FP15_1000	FP15_2000	FP15_4000
Pf:Pi	64,425	6,0615	4,20625	3,129	0,148	0,293
	35,1	7,775	2,732	8,919	0,2945	1,28175
	31,3	7,025	8,35	1,79	0,1445	3,91625
	10,834	9,75	13,605	1,21	1,082	3,2645
	38,46	11,76	11,01875	3,38	0,4355	1,31125
	43,1	11,755	8,775	0,87	0,0985	0,18675
	28,4	29,225	5,84625	0,46	0,66	0,20325
	22,57	10,275	15,1875	4,494	1,396	0,1905
	30,25	14,45		0,23	0,177	0,07425
average	33,83	12,01	8,72	2,72	0,49	1,19
stdev	14,78742047	6,970699902	4,401368089	2,739816544	0,464877792	1,448610873
se	4,929140158	2,323566634	1,556118611	0,913272181	0,154959264	0,482870291

Πίνακας 5.10 Μέσος όρος αναπαραγωγικού δυναμικού Pf:Pi του *M. javanica* στις διαφορετικές μεταχειρίσεις, όπου Pf ο τελικός πληθυσμός και Pi ο αρχικός.

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
FP15_2000	9	0,492889	X
FP15_4000	9	1,19128	X
FP15_1000	9	2,72022	XX
F2_4000	8	8,71509	XX
F2_2000	9	12,0085	X
F2_1000	9	33,8266	X

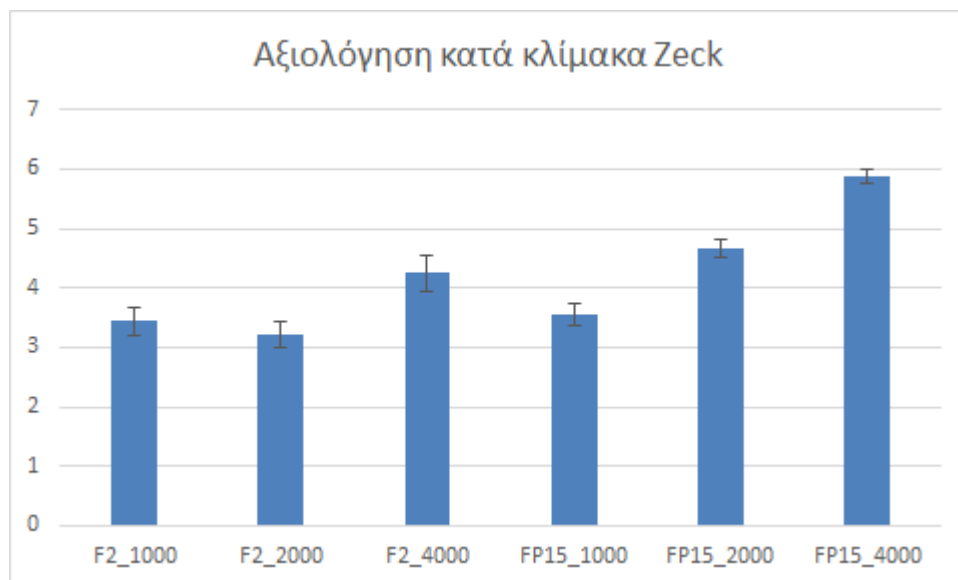
Διάγραμμα 5.4 Αναπαραγωγικό δυναμικό Pf:Pi του *M. javanica* στις διαφορετικές μεταχειρίσεις, όπου Pf ο τελικός πληθυσμός και Pi ο αρχικός.



Πίνακας 5.11 Μέσος όρος αξιολόγησης της προσβολής κατά Κλίμακα Zeck.

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
F2_2000	9	3,22222	X
F2_1000	9	3,44444	X
FP15_1000	9	3,55556	X
F2_4000	8	4,25	X
FP15_2000	9	4,66667	X
FP15_4000	9	5,88889	X

Διάγραμμα 5.5 Αξιολόγηση προσβολής των ριζών κατά κλίμακα Zeck



5.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη έπειτα από ανάλυση και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του πειράματος που πραγματοποιήθηκε, διαπιστώθηκε ότι:

- Η ανάπτυξη του υπέργειου τμήματος δεν επηρεάστηκε από τους βιολογικούς παράγοντες, εκτός από τις επεμβάσεις F2_1000 και F2_4000, όπου παρατηρήθηκε αύξηση του υπέργειου τμήματος των φυτών σε σύγκριση με τον υγιή μάρτυρα.
- Η ανάπτυξη του ριζικού συστήματος δεν επηρεάστηκε από τους βιολογικούς παράγοντες, εκτός από την επέμβαση FP15_4000, όπου παρατηρήθηκε αύξηση του ριζικού συστήματος των φυτών σε σύγκριση με τον υγιή μάρτυρα.
- Ο συνολικός τελικός πληθυσμός των νηματωδών ήταν χαμηλότερος στην περίπτωση του παράγοντα FP15 σε σχέση με τον F2 ($P < 0.05$).
- Παρατηρούμε ότι σε όλες τις επεμβάσεις FP15 και στην επέμβαση F2_4000, το αναπαραγωγικό δυναμικό ήταν χαμηλό .
- Τα αποτελέσματα της κλίμακας Zeck έδειξαν ότι μεγαλύτερη προσβολή της ρίζας (δημιουργία κόμβων) παρατηρήθηκε στην επέμβαση FP15_4000 (~6). Ακολούθησαν οι επεμβάσεις F2_4000 και FP15_2000 (~5) και τέλος, οι επεμβάσεις F2_1000, F2_2000 και FP15_1000 (~3).
- Παρατηρήθηκε πως το F2 έδρασε πιο αποτελεσματικά στην επέμβαση με τον μεγαλύτερο πληθυσμό του *M. Javanica* (F2_4000).
- Στην επέμβαση του FP15_4000, ενώ η βαθμολογία στην κλίμακα Zeck ήταν η μεγαλύτερη (~6), το αναπαραγωγικό δυναμικό του νηματώδη ήταν πολύ πιο χαμηλό σε σχέση με το F2.

Με κριτήριο τα αποτελέσματα του πειράματος και γνωρίζοντας πως λειτουργούν οι δυο βιολογικοί παράγοντες από πειράματα που έχουν διεξαχθεί σε άλλες περιπτώσεις, μπορεί να ειπωθεί πως ο βιολογικός παράγοντας FP15 λειτούργησε με διαφορετικό τρόπο σε σχέση με τον βιολογικό παράγοντα F2, ενάντια στους κομβονηματώδεις. Βάσει των διαγραμμάτων, το FP15 φαίνεται πως έχει κρατήσει σε όλες τις επεμβάσεις το αναπαραγωγικό δυναμικό σε χαμηλά επίπεδα, αλλά η προσβολή στο ριζικό σύστημα (κατά κλίμακα Zeck) είναι η μεγαλύτερη.

Πιθανότατα, το FP15 να έδρασε ανταγωνιστικά έναντι των νηματωδών ως προς τον αποικισμό των ρίζων των φυτών τομάτας, καθώς υπάρχει η πιθανότητα να μην έδρασε τόσο στο εξωτερικό περιβάλλον της ρίζας παρά με μηχανισμούς στο εσωτερικό της ρίζας με αποτέλεσμα να ενεργοποίησε την επαγόμενη συστηματική ανθεκτικότητα (Induced Systemic Resistance-ISR) των φυτών. Ωστόσο, δεν μπορεί να ειπωθεί με σιγουριά ο τρόπος με τον οποίο λειτούργησε ο βιολογικός παράγοντας FP15 στα φυτά, αν και ήταν σαφές ότι τόσο ο συνολικός πληθυσμός των νηματωδών όσο και το αναπαραγωγικό δυναμικό ήταν μειωμένα, συγκριτικά με τον βιολογικό παράγοντα F2. Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει το γεγονός ότι στην περίπτωση του F2, ο συνολικός πληθυσμός έδειξε αυξανόμενη μείωση με την αύξηση του αρχικού πληθυσμού. Ενδεχομένως να υπάρχει κάποια συνεργιστική δράση μεταξύ νηματωδών και F2 και όσο αυξάνεται ο αρχικός πληθυσμός των νηματωδών, να καθίσταται αποτελεσματικότερος ο βιολογικός παράγοντας. Υπάρχει η πιθανότητα, να εντείνεται ο ανταγωνισμός του F2 με τους νηματώδεις και των νηματωδών μεταξύ τους για θρεπτικά συστατικά και για θέσεις αποικισμού πάνω στη ρίζα.

Από την παρούσα εργασία διαφαίνεται σαφώς ότι οι δύο βιολογικοί παράγοντες F2 και FP15 μπορούν να δράσουν εναντίον των κομβονηματωδών του είδους *M. Javanica*. Ωστόσο για την εξαγωγή πιο σαφών συμπερασμάτων, απαιτείται σίγουρα περαιτέρω πειραματισμός.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

6.1 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Γιαννακού, Ι., Προφήτου-Αθανασιάδου, Δ. 2001. Νηματωδολογία (πανεπιστημιακές σημειώσεις). Έκδοση: Υπηρεσία δημοσιευμάτων Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.
- Κολιοπάνος, Κ.Ν. 1999. Φυτοпараσιτικοί νηματώδεις σκόληκες. Βιολογία Φυσιολογία - Γενετική ταξινόμηση και παθογένεση επί φυτών - Τρόποι αντιμετώπισης. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Εργαστήριο Γεωργικής Εντομολογίας και Ζωολογίας.
- Κύρου, Χ.Ν. 2004. Φυτοпараσιτικοί νηματώδεις. Εκδόσεις Αγροτύπος. Αθήνα.
- Πολυχρονόπουλος Α.Γ. 1970. Οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις σκόληκες. Το πρόβλημα και η οικονομική σημασία αυτού. Γεωπονικά Τ. 188-189,93-96

6.2 ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alabouvette C. and Olivain, Ch. 2002. Modes of Action of Non-pathogenic Strains of *Fusarium oxysporum* in Controlling *Fusarium* Wilts, Plant Protection Science Vol. 38, Special Issue 1: 195–199
- Bryden, J.W. 1967. Hot water treatment of plant material. Min. Agr. Fish. Food. London Bull. 201, 42pp.
- Bunt, J.A. 1975. Effect and mode of action of some systemic nematicides. Communications Agrc. Univ. Wageningen. The Netherlands. 127 pp.
- Chitwood, B.G. & Chitwood, M.B. 1950. An introduction to nematology. Section I: Anatomy. Monumental Printing Co, Baltimore, 213pp.
- Chitwood, B.G. 1933. Notes on nematode. Systemics and nomenclature. J. Parasit. 19, 242-243.
- Chitwood, B.G. 1957. The English Word «Nema». Revised. Systemic Zoology, 6, 184-186

- Cobb, N.A. 1919. The orders and classes of Nemas. Ibid. No Viii, pp. 213-216
- Crofton, H.D. 1966. Nematodes (Ed.) H. Munro Fox. Hutchinson Univ. Libr. London. 160pp.
- Dao F., Oostenbrink, M. and Viets, H.A. 1970. A list of nematode surveys made for agricultural purposes. Verslagen en Mededelingen van de Planteziektenkundige Dienst Wageningen. S. Ser. No 415, 84pp.
- den Ouden, H. 1956. The influence of hosts and non-suseptible hatching plants on populations of *Heterodera schachtii*, *Nematologica* 1, 138-144.
- Di Vito, M., Zaccheo, G., Catalano, F., Campenelli, R. 2000: Effect of soil solarization and low dosages of fumigants on control of the root knot nematodes *Meloidogyne incognita*. Proceedings of the 5th International symposium on chemical and non chemical soil and substrate disinfection. *Acta Horticulturae*, 532:171-173.
- Drechsler, C. 1937. Some hypomycetes that prey on free living terricolous nematodes. *Mycologia* 29, pp. 464-487.
- Filipjev, I.N., and Schuurmans Stekhoven, J.H. 1959. A manual of Agricultural Helminthology. Leiden, E.J. Brill. 878 pp.
- Flegg, J.J.M. 1966. The Z-organ *Xiphinema diversicaudatum*. *Nematologica* 12, 174.
- Franklin, M.T. 1951. The cyst-forming species of *Heterodera*. Commw. Agric. Bur. Farnham Royal Bucks England. pp. 26-31.
- Gobbetti, M. and Rizzello, C.G. 2014. *Arthrobacter* in Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition), p.69-76).
- Govindaiah, S.B.D., Philip, T., Datta, R.K. 1991. Effects of marigold (*Tagetes patula*) intercropping against *Meloidogyne incognita* infecting mulberry. *Indian J. Nematol.*, 21:96-99.
- Hirschmann, H. 1971. Comparative morphology and anatomy. In: Zuckerman, B.M., W.F. and Rohde, R.A. (Eds). Plant parasitic nematodes. New York and London. Academic Pres. Vol. I, 11-63.

- Hirschmann, H. 1960. Gross morphology of nematodes, *Nematology*. (Eds) Sasser, J.N. and Jenkins, W.R. California Univ. Press Chapel Hill, 125-129.
- Hooks, C.R.R., Wang, K-H., Ploeg, A., McSorley, R. 2010. Using marigold (*Tagetes* spp.) as a cover crop to protect crops from plant-parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology*, 46:307–320.
- Jepson, S.B. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Wallingford, UK, C.A.B. International.
- Kalaiselvam, I., Devaraj, A. 2011. Effect of root exudates of *Tagetes* sp. On egg hatching behavior of *Meloidogyne incognita*. *International Research Journal of Pharmacy*, 2(10):93-96.
- Karpouzas, D.G., Hatziapostolou, P., Papadopoulou-Mourkidou, E., Giannakou, I.O., Georgiadou, A. 2004. The enhanced biodegradation of fenamiphos in soils from previously treated sites and the effect of soil fumigants. *Environ.Toxicol. Chem.*, 23(9):2099-2107.
- Kerry, B.R., Leu, F.A.A. Mde. 1992. Key factors in the development of fungal agents for the control of cyst and root-knot nematodes London, UK; Plenum Publ. Co. Ltd. pp. 139-144.
- Krueger, R., Dover, K.E., McSorley, R., Wang, K.-H. 2013 Marigolds (*Tagetes* spp.) for Nematode Management. ENY-056, NG045, University of Florida, IFAS extension, <http://edis.ifas.ufl.edu>
- Leukel, R.W. 1957. Nematode diseases of wheat and rye. *Farm's Bull. USDA Agric.* No 607, 16 pp.
- Linford, M.B. 1941. Parasitism of the root-knot nematode in leaves and stems. *Phytopathology* 31, 634-648.
- Luc, M. & Dalmaso, A. 1975. Considerations on the genus *Xiphinema* Cobb, 1919 (Nematoda: Longidoridae) and a «lattice» for the identification of species. *Cah. ORSTOM. ser. Biol.* X(3): 303-327.
- Luc, M. 1961. Structure de la gonadefemelle chez quelques especes du genre *Xiphinema* Cobb, 1913. (Nematoda-Dorylaimoidea) *Nematologica* 6, 144-154.

- Mai, W.F. 1971. Introduction In: Plant parasitic nematodes (Eds): Zuckerman, B.M., Mai, W.F. and Rohde, R.A. Academic Press. New York and London Vol.1,1-8.
- Marban-Mendoza, N., DrcKLow, M.B., Zuckerman, B.M. 1992. Control of *Meloidogyne incognita* on tomato by two leguminous plants. *Fundam. Appl. Nematol.*, 15(2):97-100
- Pantelalis, I., Karpouzas, D.G., Menkissoglu-Spiroudi, U., Tsiropoulos, N. 2006. Influence of soil physicochemical and biological properties on the degradation and adsorption of the nematicide fosthiazate. *J. Agric. Food Chem.*, 54(18):6783-6789.
- Papasotiriou, F.G., Varypatakis, K.G., Christofi, N. Tjamos, S.E., Paplomatas, E.J. 2013. Olive mill wastes: A source of resistance for plants against *Verticillium dahliae* and a reservoir of biocontrol agents, *Biological Control* 67 p. 51–60)
- Paracer, S.M., Brzeski, M.W. and Zuckerman, B.M. 1966. Nematophagous and predeceous nematodes associated with cranberry soil in Massachusetts. *Plant Dis. Repr.* 50, 584-586.
- Pitcher, R.S. 1965. Interrelationships of nematodes and other pathogens of plant. *Helminth. Abst.* 34, 1-17.
- Powel, N.T. 1971. Interaction of plant parasitic nematodes with other disease-causing agents. In: Plant parasitic nematodes (eds): Zuckerman, B.M., Mai, W.F and Rohde, R.A Academic Press. New York and London. Vol. II, 119-135.
- Siddiqui, Z.A., Alam, M.M. 1988. Control of plant parasitic nematodes by *Tagetes tenuifolia*. *Revue Nématol.*, 2(3):369-370.
- Thorne, G. 1961. *Principles of Nematology*. Me Graw-Hill, New York, 553 pp.
- Triantaphylloy, A.C. 1960. Sex Determination in *Meloidogyne incognita* Chitwood, 1949 and intersexuality in *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N. S.*3, 12-31.
- Ufer, A., Dohmen, G.P. and Fritsch, H.J. 1993. Impact of the soil disinfectant Basamid granular on terrestrial non-target organisms. *Proceedings of the IV*

International Symposium on Soil and Substrate Infestation and Disinfestation
in Leuven.

Wallace, H.R. 1963. The biology of plant parasitic nematodes. Edward Arnold (Publ.)
Ltd. 280 pp.

Williams, T.D. 1968. Plant parasitic nematodes. In: Plant Pathologist's Pocket Book.
Comm. Mycol. Inst. Kew Surrey England. pp. 119-136.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ: ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΣΤΟ 18⁰ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ

118

18^o Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο

Μελέτη επί της δυνατότητας αξιοποίησης βιολογικών παραγόντων ελέγχου εδαφογενών ασθενειών εναντίον κομβοηματωδών

M. ΑΛΕΡΤΑ, Α. ΝΟΜΙΚΟΥ ΚΑΙ Ε. ΚΑΡΑΝΑΣΤΑΣΗ*

Εργαστήριο Φυτοπροστασίας-Φαρμακολογίας, Τμήμα Γεωπονίας,
Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Πατρών, 27200 Αμαλιάδα
*e-mail: ekaranastasi@upatras.gr

Το γένος *Meloidogyne* περιλαμβάνει πολλά είδη σοβαρά ζημιογόνων για τη γεωργική παραγωγή φυτοπαρασιτικών νηματωδών, τα οποία προσβάλλουν μεγάλο αριθμό καλλιεργούμενων φυτών και ζιζανίων και έχουν ευρεία εξάπλωση στη μεσογειακή λεκάνη και ειδικότερα τις θερμοκηπιακές καλλιέργειες. Η αντιμετώπισή τους είναι ιδιαίτερα δύσκολη, λόγω της διαβίωσής τους εντός του εδάφους και εντός των ριζών των ξενιστών, καθώς και της μη περατότητας της επιδερμίδας τους σε οργανικά μόρια. Ενώ η διαθεσιμότητα εγκεκριμένων νηματωδοκτόνων σκευασμάτων είναι ήδη μικρή, ο αριθμός τους περιορίζεται συνεχώς από την εφαρμογή της κοινοτικής οδηγίας 91/414/EEC και την αντικατάστασή της με την 2009/128/EK. Λαμβάνοντας δε υπόψη τη διαρκή διαπίστωση επιβάρυνσης του περιβάλλοντος από τη χρήση συνθετικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων, η εξεύρεση νέων εναλλακτικών μεθόδων αντιμετώπισής τους καθίσταται επιτακτική.

Η πειραματική εφαρμογή του μη παθογόνου στελέχους F2 του μύκητα *Fusarium oxysporum* για την αντιμετώπιση της βερτισιλλίωσης σε φυτά μελιτζάνας οδήγησε σε διέγερση των μηχανισμών άμυνας των φυτών με την επαγωγή έκκρισης χιτinasών και γλουκανασών στο ριζικό σύστημα των φυτών.

Εξάλλου σε μελέτες αγρού, η παρουσία ακτινομύκητων του γένους *Arthrobacter* έχει συσχετιστεί με χαμηλότερα επίπεδα πληθυσμών κομβοηματωδών, αυξάνοντας το ενδιαφέρον ταυτοποίησης στελεχών με ανταγωνιστική προς τους νηματώδεις δράση.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η δυνατότητα αξιοποίησης των βιολογικών παραγόντων *F. oxysporum* F2 και *Arthrobacter* sp. FP15 για την καταστολή πληθυσμών *M. javanica*. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών 26-28°C, 60% σχετική υγρασία, 16h φωτοπερίοδο, με τρία διαφορετικά επίπεδα τεχνητής μόλυνσης φυτών τομάτας ποικιλίας Belladonna με νηματώδεις και εφαρμογή των βιολογικών παραγόντων με ριζοπότισμα. Διαπιστώθηκε ότι τόσο ο συνολικός τελικός πληθυσμός όσο και το αναπαραγωγικό δυναμικό στην περίπτωση του FP15 ήταν χαμηλότερα σε σχέση με τον παράγοντα F2 ($P < 0.05$), ενώ στην περίπτωση του F2, ο συνολικός πληθυσμός έδειξε αυξανόμενη μείωση με την αύξηση του αρχικού πληθυσμού τεχνητής μόλυνσης ($P < 0.05$).

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά το Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, ιδιαίτερα τον Καθηγητή Επαμεινώνδα Παπλωματά, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Σωτήριο Τζάμο και την υποψήφια διδάκτορα Δανάη Γκίζη για την παροχή οδηγιών και τη διάθεση των βιολογικών παραγόντων FP15 και F2.

Λέξεις-κλειδιά: *Meloidogyne javanica*, *Fusarium oxysporum*, *Arthrobacter* sp.

Μελέτη επί της δυνατότητας αξιοποίησης βιολογικών παραγόντων ελέγχου εδαφογενών ασθενειών εναντίον κομβοηματωδών

Αλέτρα Μαρία, Αγγελική Νομικού και Καρανασάση Ειρήνη*

Εργαστήριο Φυτοπροστασίας-Φαρμακολογίας, Τμήμα Γεωπονίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Πατρών
*email: ekaranastasi@upatras.gr

Εισαγωγικά Στοιχεία

Το γένος *Meloidogyne* περιλαμβάνει πολλά είδη σοβαρά ζημιογόνων για τη γεωργική παραγωγή φυτοпараσιτικών νηματωδών, τα οποία προσβάλλουν μεγάλο αριθμό καλλιεργούμενων φυτών και ζιζανίων και έχουν ευρεία εξάπλωση στη μεσογειακή λεκάνη και ειδικότερα τις θερμοκηπιακές καλλιέργειες. Η χρήση των νηματωδοκτόνων έχει μειώσει σημαντικά τις απώλειες παραγωγής, όμως με την εφαρμογή της κοινοτικής οδηγίας 2009/128/ΕΚ πολλά εγκεκριμένα σκευάσματα αποσύρονται, λόγω των δυσμενών τους επιδράσεων τους, με συνέπεια την πρακτικά ανέφικτη αντιμετώπιση πολλών φυτοπαράσιτων.

Ιδιαίτερη δυσκολία παρουσιάζει η αντιμετώπιση των κομβοηματωδών, λόγω της διαβίωσής τους εντός του εδάφους και εντός των ριζών και της μη περατότητας της επιδερμίδας τους σε οργανικά μόρια. Επιπλέον, το ποσοστό των εγκεκριμένων νηματωδοκτόνων είναι πολύ μικρό σε σχέση με τα υπόλοιπα ΦΠ (<2%), καθιστώντας την εξεύρεση νέων ουσιών για την καταστολή τους επιτακτική.

Η πειραματική εφαρμογή του μη παθογόνου στελεχούς F2 του μύκητα *F. oxysporum* για την αντιμετώπιση της βερτισιλώσεως σε φυτά μελιτζάνας έχει οδηγήσει σε διέγερση των μηχανισμών άμυνας των φυτών με την επαγωγή έκκρισης χιτinasών και γλουκανασών στο ριζικό σύστημα των φυτών.

Εξάλλου σε μελέτες αγρού, η παρουσία ακτινομύκητων του γένους *Arthrobacter* έχει συσχετιστεί με χαμηλότερα επίπεδα πληθυσμών κομβοηματωδών, αυξάνοντας το ενδιαφέρον ταυτοποίησης στελεχών με ανταγωνιστική προς τους νηματωδείς δράση.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η δυνατότητα αξιοποίησης των βιολογικών παραγόντων *F. oxysporum* F2 και *Arthrobacter* sp. FP15 για την καταστολή πληθυσμών *M. javanica*.

Πειραματική Διαδικασία

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών, σε θερμοκρασία 26-28°C, σχετική υγρασία 60% και φωτοπερίοδο 16:8h Φ:Σ.

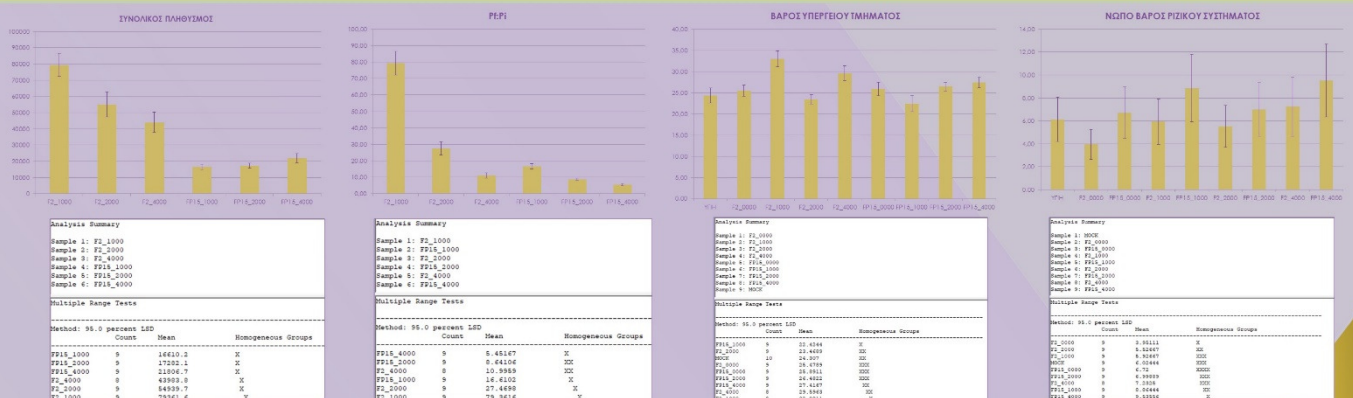


Φυτά τομάτας, ποικιλίας Belladonna, μολύνθηκαν τεχνητά με τρία διαφορετικά επίπεδα πληθυσμών *M. javanica* (1000, 2000 και 4000 μολυσματικές προνύμφες). Οι βιολογικοί παράγοντες εφαρμόστηκαν με ριζοπότισμα, 7 ημέρες μετά.

Η αξιολόγηση της αντίδρασης των φυτών και των νηματωδών στην εφαρμογή του σκευάσματος αξιολογήθηκαν με βάση τα:

- Νωπό βάρος ριζας
- Νωπό βάρος υπέργειου τμήματος
- Συνολικός πληθυσμός νηματωδών (ωά + J2 + J3)
- Αναπαραγωγικό δυναμικό νηματωδών Pf:Pi (όπου Pf ο τελικός πληθυσμός και Pi ο αρχικός).

Αποτελέσματα



Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι:

- Κανένας από τους βιολογικούς παράγοντες δεν επηρέασε την ανάπτυξη του υπέργειου τμήματος ή του ριζικού συστήματος των φυτών.
- Ο συνολικός τελικός πληθυσμός των νηματωδών αλλά και το αναπαραγωγικό δυναμικό των πληθυσμών, ήταν χαμηλότερα στην περίπτωση του παράγοντα FP15 σε σχέση με τον F2 ($P < 0.05$).
- Στην περίπτωση του F2, ο συνολικός πληθυσμός έδειξε αυξανόμενη μείωση με την αύξηση του αρχικού πληθυσμού ($P < 0.05$).

Ευχαριστίες

Η ομάδα μας θα ήθελε να ευχαριστήσει θερμά το Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Πατρών, ιδιαίτερα τον Καθηγητή Επαμεινώνδα Παπλωματά, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Σωτήριο Τζάμο και την υποψήφια διδάκτορα Δανάη Γκίζη για την παροχή οδηγιών και τη διάθεση των βιολογικών παραγόντων FP15 και F2.