



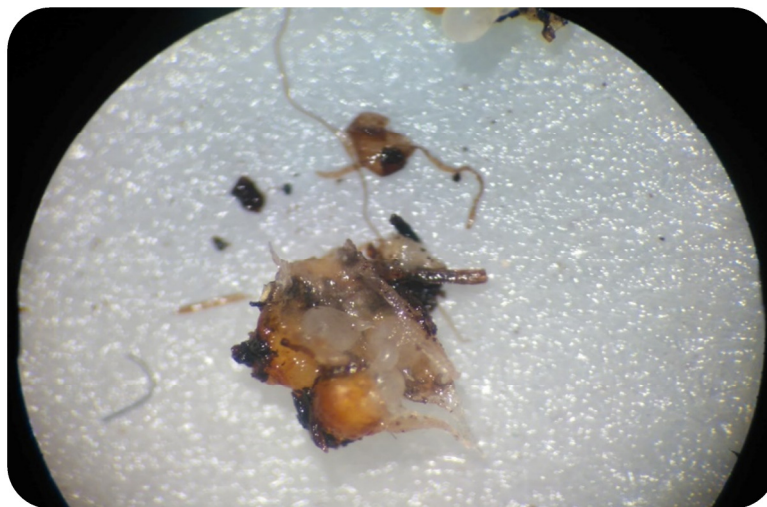
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΠΑΤΡΩΝ  
UNIVERSITY OF PATRAS

## ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

(πρώην Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων, ΤΕΙ Δυτικής  
Ελλάδας)

### ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΙΘΕΡΙΟΥ ΕΛΑΙΟΥ *EUCALYPTUS GLOBULUS* ΣΤΟ  
ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΤΟΥ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΟΥ  
ΝΗΜΑΤΩΔΗ *MELOIDOGYNE JAVANICA*



**ΙΩΑΝΝΑ ΤΟΜΠΡΟΥ ΑΜ: 11726**

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΚΑΡΑΝΑΣΤΑΣΗ ΕΙΡΗΝΗ

**ΑΜΑΛΙΑΔΑ 2021**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στην Αμαλιάδα, στο Εργαστήριο Φυτοπροστασίας - Φαρμακολογίας του Τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων του ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας (νυν Εργαστήριο Φυτοπροστασίας, Τμήμα Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Πατρών) κατά τα έτη 2019-2020.

Αρχικά, κρίνω σκόπιμο να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της παρούσας εργασίας Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ειρήνη Καραναστάση για την ουσιαστική επιστημονική βοήθεια, την καθοδήγηση και τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε για την εκπόνηση αυτής της εργασίας.

Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω θερμά τις συμφοιτήτριές μου Άμπι και Ανδριανή για την στήριξη και την πολύτιμη βοήθειά τους καθ' όλης της διάρκειας του πειράματός μου.

Επίσης στο σημείο αυτό, οφείλω να ευχαριστήσω τους γονείς μου Βασίλειο και Κωνσταντίνα, αλλά και τα αγαπημένα μου αδέρφια Σπήλιο, Σταύρο και Παναγιώτη για όσα μου έχουν προσφέρει και που στάθηκαν δίπλα μου όλα αυτά τα χρόνια της φοίτησής μου.

Τέλος, θα ήθελα να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής, τα οποία ευγενικά δέχθηκαν να αξιολογήσουν την παρούσα πτυχιακή εργασία.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	1
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ .....</b>	<b>2</b>
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ .....	4
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	5
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ .....	7
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>8</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup> ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ.....</b>	<b>9</b>
1.1 Εισαγωγή .....	9
1.2 Φυτοпараσιτικοί νηματώδεις .....	11
1.3 Μορφολογία .....	11
<b>1.3.3. Εκκριτικό – Απεκκριτικό σύστημα .....</b>	<b>15</b>
<b>1.3.4 Πεπτικό σύστημα .....</b>	<b>16</b>
<b>1.3.5. Νευρικό σύστημα .....</b>	<b>17</b>
1.4. Βιολογικός Κύκλος.....	17
1.5. Διασπορά .....	19
1.6 Το γένος <i>Meloidogyne</i> .....	19
<b>1.6.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά .....</b>	<b>20</b>
<b>1.6.2 Βιολογικός κύκλος του γένους <i>Meloidogyne</i> .....</b>	<b>21</b>
<b>1.6.3 Ζημιές στα φυτά.....</b>	<b>25</b>
<b>1.6.4 <i>Meloidogyne javanica</i> .....</b>	<b>26</b>
1.7 Αντιμετώπιση νηματωδών.....	27
<b>1.7.1 Προληπτικά μέτρα .....</b>	<b>27</b>
<b>1.7.2 Χημική αντιμετώπιση .....</b>	<b>28</b>
<b>1.7.3 Βιολογική αντιμετώπιση .....</b>	<b>29</b>
<b>1.7.4. Φυτικά αιθέρια έλαια ως μέθοδος καταπολέμησης .....</b>	<b>30</b>
<b>1.7.5. <i>Eucalyptus globulus</i>.....</b>	<b>32</b>
<b>1.7.6 Το αιθέριο έλαιο του <i>E. globulus</i> .....</b>	<b>37</b>
<b>1.7.7. Το αιθέριο έλαιο του <i>E. globulus</i> ως φυτοπροστατευτικό .....</b>	<b>38</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup> ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>40</b>
2.1. Σκοπός της Εργασίας.....	40

2.2 Υλικά και Μέθοδοι.....	40
<i>A. ΥΛΙΚΑ</i> .....	40
<i>B. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ</i> .....	41
2.3 Στήσιμο πειράματος, Εφαρμογές και Μολύνσεις .....	41
2.3. Απομόνωση Νηματωδών από το υπόστρωμα.....	43
2.4. Μετρήσεις.....	45
2.5. Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων.....	46
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup> ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b> .....	<b>47</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup> ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b> .....	<b>57</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup> ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ</b> .....	<b>59</b>
5.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία .....	59
5.2 Ελληνική βιβλιογραφία .....	64

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

<b>Εικόνα 1.1.</b> Διαγραμματική παρουσίαση δομής σώματος νηματώδη (εγκάρσια τομή θηλυκού ατόμου).....	12
<b>Εικόνα 1.2.</b> Διάγραμμα μορφολογίας του σώματος ενός φυτοпараσιτικού νηματώδη.....	13
<b>Εικόνα 1.3.</b> Γενική μορφολογία ενηλίκων νηματωδών.....	14
<b>Εικόνα 1.4.</b> Σύγκριση μορφολογίας θηλυκού και αρσενικού νηματώδη.....	14
<b>Εικόνα 1.5.</b> Βιολογικός κύκλος κομβονηματωδών.....	19
<b>Εικόνα 1.6.</b> Παγκόσμια γεωγραφική εξάπλωση του είδους <i>M. javanica</i> (CABI, 2019).....	20
<b>Εικόνα 1.7.</b> Θηλυκό άτομο του είδους <i>Meloidogyne incognita</i> . (A) Ολόκληρο το σώμα (B) Πρόσθια περιοχή (Javed et al., 2008). ....	21
<b>Εικόνα 1.8.</b> Προνύμφες δεύτερου σταδίου του είδους <i>Meloidogyne incognita</i> (A-C), αρσενικά άτομα (D-F) (Javed et al., 2008). ....	22
<b>Εικόνα 1.9.</b> Άτομα του είδους <i>Meloidogyne javanica</i> . (A) θηλυκό, (B) Ουρά προνύμφης δεύτερου σταδίου με αιχμηρή απόληξη, (C) Πρόσθια περιοχή αρσενικού ατόμου.....	23
<b>Εικόνα 1.10.</b> Βιολογικός κύκλος των νηματωδών του γένους <i>Meloidogyne spp.</i> ....	24
<b>Εικόνα 1.11.</b> Κομβονηματώδεις του γένους <i>Meloidogyne spp.</i> σε φυτά τομάτας.....	26
<b>Εικόνα 1.12.</b> Ολόκληρο το φυτό <i>Eucalyptus globulus</i> .....	33
<b>Εικόνα 1.13.</b> Φύλλα και καρποί του φυτού <i>Eucalyptus globulus</i> .....	35
<b>Εικόνα 1.14.</b> Άνθη του φυτού <i>Eucalyptus globulus</i> .....	35
<b>Εικόνα 1.15.</b> 1,8-κινεόλη ή ευκαλυπτόλη.....	37
<b>Εικόνα 2.1.</b> Απομονωμένοι ωόσακκοι <i>Meloidogyne javanica</i> πάνω σε τμήμα ρίζας.....	40
<b>Εικόνα 2.2.</b> Πειραματόφυτα στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών.....	41
<b>Εικόνα 2.3.</b> Διαδικασία απομόνωσης και συλλογής από υπόστρωμα.....	44
<b>Εικόνα 2.4</b> Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης συλλογής νηματωδών με την μέθοδο Baermann.....	44
<b>Εικόνα 2.5.</b> Τρυβλίο καταμέτρησης νηματωδών.....	45

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1.1.</b> Φυτικά αιθέρια έλαια τα οποία παρουσιάζουν νηματωδοκτόνο δράση ενάντια στους νηματώδεις του είδους <i>Meloidogyne javanica</i> .....	34.
<b>Πίνακας 3.1<sup>α</sup>.</b> Συνολικός αριθμός προνυμφών ανά πειραματόφυτο τομάτας.....	47
<b>Πίνακας 3.1β.</b> Σύγκριση συνολικού αριθμού προνυμφών στο υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών.....	47
<b>Πίνακας 3.2<sup>α</sup>.</b> Καταμέτρηση ωόσακων / ρίζα στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	48
<b>Πίνακας 3.2β.</b> Απεικόνιση διαφορών μέσου όρου πλήθους ωόσακων / ρίζα.....	48
<b>Πίνακας 3.3<sup>α</sup>.</b> Σύνολο ωών/ωόσακο στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	49
<b>Πίνακας 3.3β.</b> Απεικόνιση διαφορών μέσου όρου πλήθους ωών / ωόσακο.....	49
<b>Πίνακας 3.4<sup>α</sup>.</b> Σύνολο ωών/ρίζα στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	50
<b>Πίνακας 3.4β.</b> Απεικόνιση διαφορών μέσου όρου πλήθους ωών / ρίζα.....	50
<b>Πίνακας 3.5<sup>α</sup>.</b> Συνολικός πληθυσμός / ριζικό σύστημα στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	51
<b>Πίνακας 3.5β.</b> Απεικόνιση διαφορών μέσου όρου συνολικού πληθυσμού / ριζικό σύστημα.....	51
<b>Πίνακας 3.6α:</b> Συνολικός πληθυσμός / g ρίζας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	52
<b>Πίνακας 3.6β:</b> Απεικόνιση διαφορών μέσου όρου συνολικού πληθυσμού / g ρίζας.....	52
<b>Πίνακας 3.7α:</b> Αναπαραγωγικό δυναμικό Pf:Pi πληθυσμού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις (Pf: ο τελικός πληθυσμός και Pi: ο αρχικός).....	53
<b>Πίνακας 3.7β:</b> Απεικόνιση διαφορών αναπαραγωγικού δυναμικού Pf:Pi πληθυσμών.....	53

<b>Πίνακας 3.8α:</b> Νωπού βάρους (g) βλαστού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	53
<b>Πίνακας 3.8β:</b> Απεικόνιση διαφορών μέσων όρων νωπού βάρους (g)βλαστού.....	54
<b>Πίνακας 3.9α :</b> Μετρήσεις ξηρού βάρους βλαστού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	55
<b>Πίνακας 3.9β:</b> Απεικόνιση διαφορών μέσων όρων ξηρού βάρους (g) βλαστού.....	55
<b>Πίνακας 3.10α :</b> Μετρήσεις νωπού βάρους ρίζας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	56
<b>Πίνακας 3.10β:</b> Απεικόνιση διαφορών μέσων όρων μετρήσεων νωπού βάρους (g) ρίζας. ....	56

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

<b>Διάγραμμα 3.1.</b> Συνολικός πληθυσμός προνυμφών στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	47
<b>Διάγραμμα 3.2.</b> Πλήθος ωόσακων / ρίζα στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	48
<b>Διάγραμμα 3.3.</b> Πλήθος ωών / ωόσακο στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	49
<b>Διάγραμμα 3.4.</b> Πλήθος ωών / ρίζα στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	50
<b>Διάγραμμα 3.5.</b> Συνολικός πληθυσμός / ριζικό σύστημα στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	51
<b>Διάγραμμα 3.6.</b> Συνολικός πληθυσμός / g ρίζας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	52
<b>Διάγραμμα 3.7.</b> Αναπαραγωγικό δυναμικό $P_f:P_i$ πληθυσμού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις ( $P_f$ : ο τελικός πληθυσμός και $P_i$ : ο αρχικός).....	53
<b>Διάγραμμα 3.8.</b> Νωπό βάρος βλαστού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	54
<b>Διάγραμμα 3.9.</b> Ξηρό βάρος βλαστού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	55
<b>Διάγραμμα 3.10.</b> Νωπό βάρος ρίζας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.....	56



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις είναι πολυκύτταρα ζώα, πολύ μικρά σε μέγεθος, και σημαντικότερα φυτοπαρασίτα. Ορισμένα είδη τρέφονται στις εξωτερικές φυτικές επιφάνειες, ενώ άλλα εισέρχονται στους φυτικούς ιστούς. Ζημιώνουν τα φυτά διατρυπώντας τα κυτταρικά τοιχώματα με τη χρήση ενός εξειδικευμένου στιλέτου, εγχέοντας ένζυμα στο εσωτερικό των κυττάρων και τελικά προσροφώντας το περιεχόμενό τους, προσβάλλοντας κυρίως τις ρίζες αλλά και το στέλεχος, το φύλλωμα, τα άνθη και τους σπόρους. Μπορούν επίσης να μεταφέρουν φυτικούς ιούς και να προκαλούν δευτερογενείς μικροβιακές προσβολές δημιουργώντας οπές εισόδου (Dorris et al., 1999).

Ως ένα φυσικό και ακίνδυνο για το περιβάλλον προϊόν, το αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου (*Eucalyptus globulus* L.) θα μπορούσε να δράσει σαν φυσικό φυτοφάρμακο ενάντια σε έντομα, νηματώδεις, ακάρεα, και ζιζάνια. Οι Gupta et al. (2011) μελέτησαν την αποτελεσματικότητα αιθέριων ελαίων από έξι διαφορετικά φυτικά είδη (*Mentha arvensis*, *Carum capticum*, *Cymbopogon citrates*, *Eugenia caryophyllata*, *Cedrus deodara* και *E. globulus*), ενάντια στους νηματώδεις του είδους *M. incognita*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο του *E. globulus* ήταν το πιο αποτελεσματικό ενάντια των προνυμφών του 2ου σταδίου.

Η παρούσα μελέτη έδειξε πως σύμφωνα με τα αποτελέσματα, μπορεί να ειπωθεί ότι το αιθέριο έλαιο *Eucalyptus globulus* φαίνεται να έχει αρνητική επίδραση στο αναπαραγωγικό δυναμικό του φυτοπαρασιτικού νηματώδη *Meloidogyne javanica*, και παρατηρείται συνολικά μείωση των αριθμών ωόσακων ανά ρίζα, ωών ανά ωόσακο, ωών ανά ρίζα και του συνολικού πληθυσμού ανά ρίζα, σε σχέση με τους μάρτυρες. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των διαφορετικών δόσεων που δοκιμάστηκαν.

Σίγουρα για την εξαγωγή πιο σαφών συμπερασμάτων απαιτείται περαιτέρω πειραματισμός, με μεγαλύτερο αριθμό επαναλήψεων και πιθανόν έλεγχο και άλλων χαμηλότερων ή και ενδιάμεσων δόσεων από αυτές που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία. Πάντως φαίνεται ότι το συγκεκριμένο αιθέριο έλαιο αποτελεί ένα υποσχόμενο όπλο στη φαρέτρα των φυτιάτρων για την αντιμετώπιση των φυτοπαρασιτικών νηματωδών, γεγονός που είναι ιδιαίτερα σημαντικό αφού πρόκειται για ένα αιθέριο έλαιο που μπορεί να παραχθεί εύκολα και σε μεγάλες ποσότητες σε σχέση με άλλα αιθέρια έλαια.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup> ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

## 1.1 Εισαγωγή

Η λέξη νηματώδης (Νηματώδεις Σκώληκες) προέρχεται από την ελληνική λέξη «νήμα» (thread ή threatworms). Αναφέρεται σε οργανισμούς που κατατάσσονται στο Ζωϊκό Βασίλειο, Υποβασίλειο Metazoa Φύλο Nematoda ή Nemata Codd 1919 (Chitwood, Filipjev et al., 1959).

Ορισμένοι νηματώδεις, όπως το είδος *Dracunculus medinensis* που προσβάλλει τον ανθρώπινο οργανισμό, θεωρείται ότι ήταν γνωστοί από το 4.000 π.Χ. στους Αιγύπτιους, οι οποίοι τα αναφέρουν σε γραφές τους. Επιπλέον ορισμένοι νηματώδεις των ζώων ήταν γνωστοί και την εποχή του Αριστοτέλη (384-322 π.Χ.), στην Αρχαία Ελλάδα.

Έως το 17ο αιώνα, η ύπαρξη των νηματωδών, οι οποίοι παρασιτούν τα φυτά, ήταν άγνωστη λόγω του μικροσκοπικού μεγέθους τους αλλά και της διαβίωσής τους εντός του εδάφους και των φυτικών ιστών. Οι ιστορικοί υποστηρίζουν ότι οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις ήταν γνωστοί στην αρχαιότητα (235 π.Χ.) επειδή το αρχαίο κινεζικό σύμβολο για έναν οργανισμό που προσβάλλει τη ρίζα του φυτού της σόγιας μοιάζει με το σχήμα ενήλικου θηλυκού νηματώδη (κύστη). Όμως, μόνο μετά την ανακάλυψη του μικροσκοπίου καταγράφηκε επίσημα ο πρώτος φυτοπαρασιτικός νηματώδης (γνωστός σήμερα ως *Anguina tritici*), ο οποίος βρέθηκε σε σπόρους σίτου από τον Needham το 1743. Παρ' όλα αυτά στη Ευρώπη, μόλις το 19ο αιώνα ξεκίνησε η ανάπτυξη της Νηματωδολογίας ως επιστήμη, καθώς διαπιστώθηκε η ζημιογόνος δράση των νηματωδών. Το γένος *Meloidogyne spp.* βρέθηκε και προσδιορίστηκε από τον Berkeley το 1885, στην Αγγλία, σε θερμοκήπια με καλλιέργειες αγγουριών (Lambert & Bekal, 2002; Κύρου, 2004).

Τα μέλη του φύλου Nematoda υπολογίζεται ότι ζουν στον πλανήτη εδώ και ένα δισεκατομμύριο χρόνια, γεγονός που τα καθιστά ένα από τα αρχαιότερα και πιο διαφοροποιημένα Φύλα του Ζωϊκού Βασιλείου. Οι νηματώδεις είναι πολυκύτταροι οργανισμοί, οι οποίοι ανήκουν στα Ecdysozoa, δηλαδή οργανισμοί που έχουν την ικανότητα να πραγματοποιούν εκδύσεις. Στην ίδια κατηγορία υπάγονται τα έντομα, τα αραχνοειδή και τα καρκινοειδή. Βάση μοριακών φυλογενετικών αναλύσεων,

φαίνεται ότι οι νηματώδεις έχουν αναπτύξει την ικανότητά τους να παρασιτούν ζώα και φυτά κατά τη διάρκεια της εξέλιξής τους. Βρίσκονται σε εξαιρετική αφθονία στον πλανήτη μας, ενώ μόνο τα έντομα υπερβαίνουν την ποικιλομορφία τους.

Οι περισσότεροι νηματώδεις ζουν ελεύθεροι και τρέφονται με βακτήρια, μύκητες, πρωτόζωα ή άλλους νηματώδεις (40% των ειδών), πολλοί είναι παράσιτα ζώων (44% των ειδών), ενώ το 15% είναι παράσιτα φυτών. Ιστορικά λίγες είναι οι αναφορές στους φυτοпараσιτικούς νηματώδεις, λόγω του εξαιρετικά μικρού μεγέθους τους.

Τόσο ο τρόπος εξέλιξής τους, όσο και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους, καθιστούν τους νηματώδεις εξαιρετικά επιβλαβείς όσον αφορά το κομμάτι των καλλιεργειών (Trudgill & Blok, 2001). Κατά το μεγαλύτερο μέρος του 20ου αιώνα, τα συνθετικά νηματοδοκτόνα είχαν χρησιμοποιηθεί κατά κόρον για την προστασία καλλιεργειών σε εντατικά συστήματα παραγωγής. Όμως, η ανεξέλεγκτη χρήση τους στις καλλιεργήσιμες εκτάσεις, το αστικό περιβάλλον και τα υδάτινα σώματα έχει προκαλέσει την αντοχή των παρασίτων στα φυτοφάρμακα, αυξημένη επανεμφάνιση διαφόρων ειδών, τοξικολογικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και αυξημένη περιβαλλοντική ρύπανση. Έτσι, τις τελευταίες δεκαετίες έχει μειωθεί αισθητά η διαθεσιμότητα αποτελεσματικών εμπορικών νηματοκτόνων (Nyczepir & Thomas, 2009).

Ο έλεγχος των φυτοπαράσιτων, άμεσα ή έμμεσα, χρησιμοποιώντας φυσικά φυτικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των αιθέριων ελαίων, αποτελεί μια υποσχόμενη εναλλακτική. Συγκεκριμένα, η ύπαρξη πτητικών μονοτερπενίων στα αιθέρια έλαια αποτελεί σημαντικό αμυντικό μηχανισμό για τα φυτά ενάντια στα έντομα και τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Τέτοιες ενώσεις μπορεί να είναι λιγότερο πιθανό να προκαλέσουν περιβαλλοντικά προβλήματα από τα συνθετικά φυτοφάρμακα και μπορεί να είναι ευκολότερα διαθέσιμες και συνεπώς λιγότερο δαπανηρές για τις αναπτυσσόμενες χώρες. Για όλους τους παραπάνω λόγους τα τελευταία χρόνια πολλές μελέτες επικεντρώνονται στη μελέτη της νηματοδοκτόνου δράσης των αιθέριων ελαίων (Batish et al., 2008; Chitwood, 2002).

## 1.2 Φυτοпараσιτικοί νηματώδεις

Οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις είναι πολυκύτταρα, πολύ μικρά σε μέγεθος, αλλά σημαντικότερα φυτοπαράσιτα. Ορισμένα είδη τρέφονται στις εξωτερικές φυτικές επιφάνειες, ενώ άλλα εισέρχονται στους φυτικούς ιστούς. Ζημιώνουν τα φυτά διατρύπώντας τα κυτταρικά τοιχώματα με τη χρήση ενός εξειδικευμένου στιλέτου, εγχέοντας ένζυμα στο εσωτερικό των κυττάρων και τελικά προσροφώντας το περιεχόμενό τους, προσβάλλοντας κυρίως τις ρίζες αλλά και το στέλεχος, το φύλλωμα, τα άνθη και τους σπόρους. Μπορούν επίσης να μεταφέρουν φυτικούς ιούς και να προκαλούν δευτερογενείς μικροβιακές προσβολές δημιουργώντας οπές εισόδου (Dorris et al., 1999).

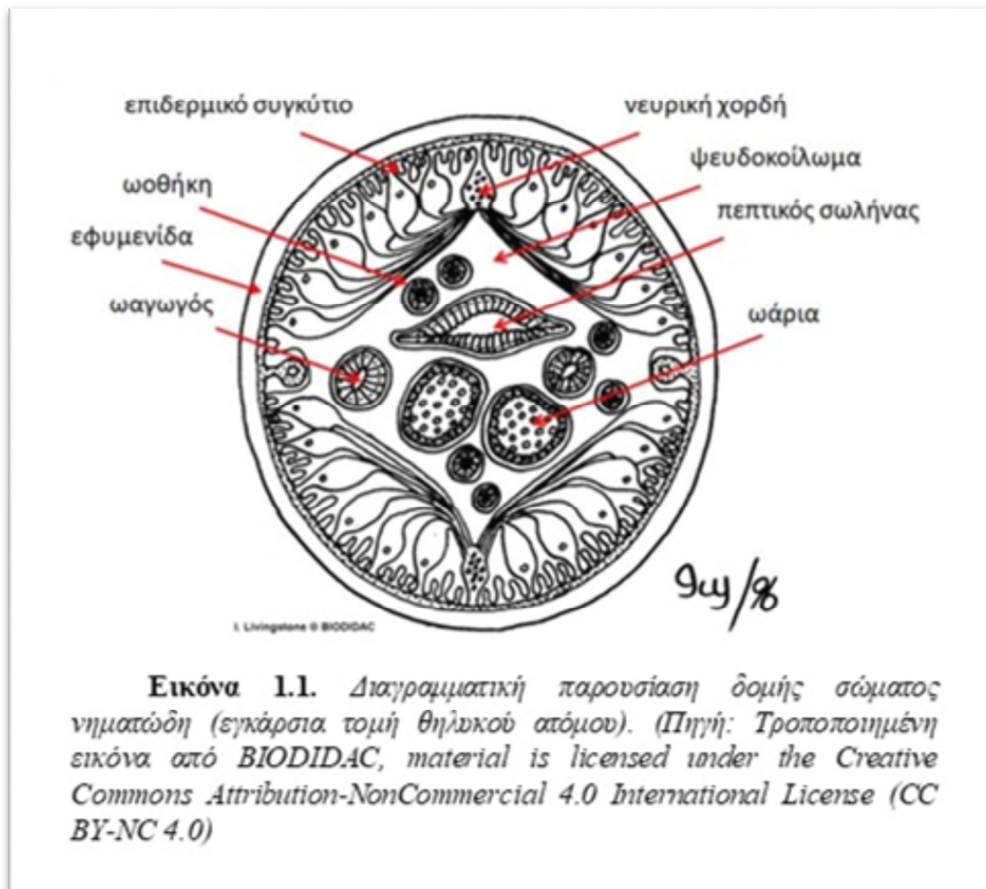
## 1.3 Μορφολογία

Ορισμένα από τα γενικά χαρακτηριστικά των νηματωδών αφορούν το σώμα τους το οποίο είναι λεπτό, σκωληκόμορφο και διαφανές. Ανάλογα με το είδος στο οποίο κατατάσσονται διαφέρουν σε σχήμα και μέγεθος. Το σχήμα τους μπορεί να είναι επίμηκες, ατρακτοειδές ή νηματοειδές. Το μήκος τους κυμαίνεται από 0,2 mm (*Pratylenchus* spp.) έως και 12 mm (*Longidorus* spp.), κατά μέσο όρο φτάνει το 1mm ενώ συνήθως δεν ξεπερνά τα 3mm. Το πλάτος τους κυμαίνεται από 50 έως 250μm.

Υπάρχουν είδη στα οποία τα αρσενικά άτομα έχουν σκωληκόμορφο σχήμα και το διατηρούν καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους, ενώ τα θηλυκά μπορεί να διογκώνονται κατά την ανάπτυξή τους. Το χρώμα των περισσότερων μικρών νηματωδών είναι διαφανές, ενώ σε μερικά είδη η επιδερμίδα είναι υπόλευκη ή υποκίτρινη. Σε ορισμένα είδη φαίνεται ελαφρά χρωματισμένη από το περιεχόμενο του εντερικού σωλήνα.

Το σώμα των νηματωδών προστατεύεται εξωτερικά από την επιδερμίδα ενώ εσωτερικά αυτής βρίσκεται η υποδερμίδα. Οι νηματώδεις είναι ψευδοκοιλωματικοί οργανισμοί, δηλαδή διαθέτουν ευρύχωρη σπλαχνική κοιλότητα, γεμάτη με υγρό, όπου βρίσκονται όλα τα εσωτερικά λειτουργικά τους συστήματα και όργανα. Το

ψευδοκοιλώμα λειτουργεί επίσης σαν κυκλοφορικό και αναπνευστικό σύστημα



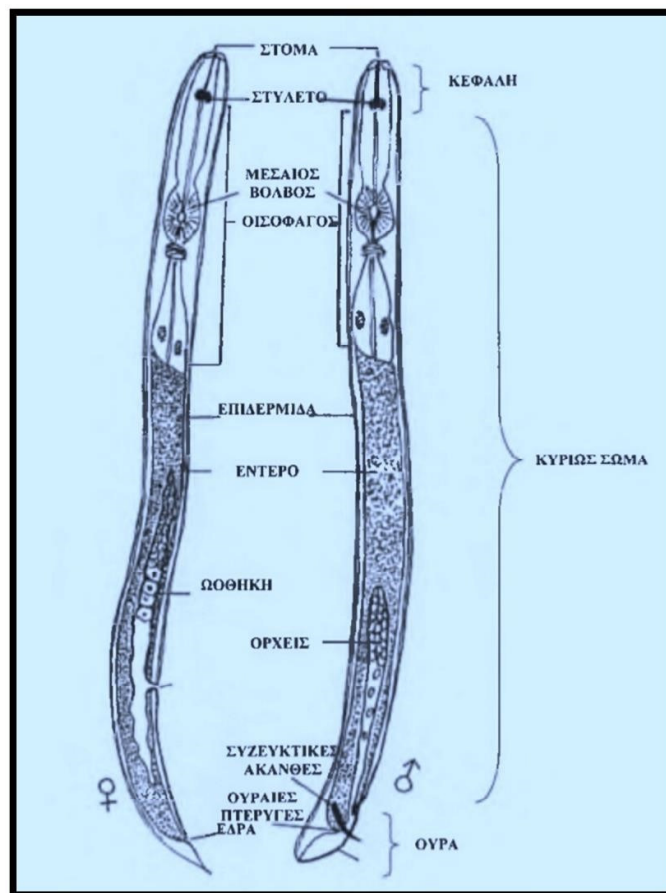
(Εικ.1.1.).

Το σώμα των νηματωδών περιλαμβάνει επίσης το μυϊκό σύστημα, το πεπτικό σύστημα, το αναπαραγωγικό σύστημα, το σύστημα έκκρισης και το νευρικό σύστημα. Οι νηματώδεις δε φέρουν σκελετό, εξωτερικές προσαρτήσεις, οφθαλμούς, αυτιά και αναπνευστικό σύστημα. Σαν κεφαλή ορίζεται το μπροστινό ακραίο τμήμα το οποίο περιλαμβάνει το στοματικό άνοιγμα και τη στοματική κοιλότητα. Το σώμα περιλαμβάνει ακόμη το λαιμό, τμήμα μεταξύ κεφαλής και βάσης του οισοφάγου και την ουρά, το πίσω τμήμα του σώματος μεταξύ έδρας και τελικού άκρου. Η κοιλιακή χώρα φέρει τον εκφορητικό πόρο και το γεννητικό άνοιγμα, την έδρα στα θηλυκά άτομα και την αμάρα στα αρσενικά (Εικ. 1.2.).

### 1.3.1. Αναπαραγωγικό Σύστημα

Σε όλα τα είδη νηματωδών, και στα δύο φύλα, το σύστημα αναπαραγωγής αποτελείται από παρόμοια στοιχεία. Γενικά ξεκινά με 1-2 σωληνωτούς γεννητικούς βραχίονες ή αδένες που παρουσιάζουν διαφοροποιήσεις μεταξύ των ειδών ως προς τον αριθμό, το μέγεθος και τη διάταξη των οργάνων (Crofton, 1966).

Όπως προαναφέρθηκε, οι νηματώδεις χαρακτηρίζονται από γενετήσιο διμορφισμό και οι διαφορές του αναπαραγωγικού συστήματος θηλυκών και αρσενικών είναι εμφανείς.



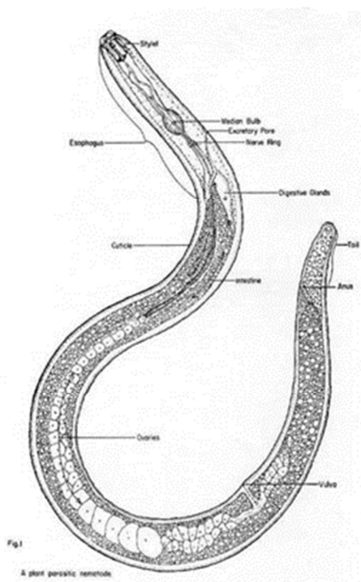
**Εικόνα 1.2.** Διάγραμμα της μορφολογίας του σώματος ενός φυτοпараσιτικού νηματώδη.

(Πηγή: <http://www.apsnet.org>)

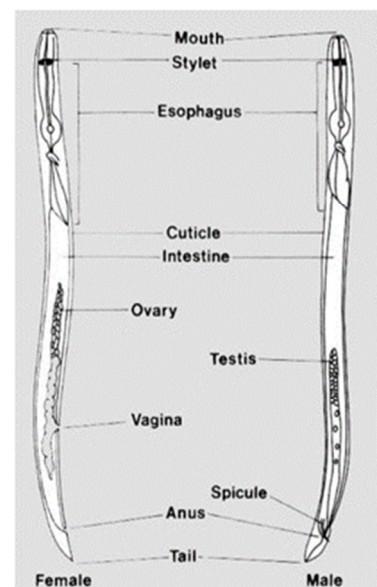
Όσον αναφορά, το αναπαραγωγικό σύστημα των θηλυκών είναι μια σωληνοειδής δομή επικαλυμμένη με μία μονή στρώση επιθηλίου (Weischer & Brown, 2000). Τα κυρίως μέρη του είναι ένας ή δύο γεννητικοί βραχίονες. Όταν ο βραχίονας είναι ένας (μονόδελφος) τότε μπορεί να κατευθύνεται είτε προς τα εμπρός (μονόδελφος-πρόδελφος) είτε προς τα πίσω (μονόδελφος-οπισθόδελφος), ενώ όταν

υπάρχουν δύο βραχίονες εκτείνονται εκατέρωθεν του κόλπου με αναδιπλούμενες ή μη ωοθήκες. 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 που εκβάλλει προς τα έξω μέσω του γεννητικού πόρου. Όλη η περιοχή του αναπαραγωγικού συστήματος των θηλυκών είναι εξοπλισμένη με ισχυρούς μύες, γεγονός που βοηθά την μεγιστοποίηση της παραγωγής ωών (Crofton, 1966, Hirschmann, 1971, Allen, 1960).

Το αναπαραγωγικό σύστημα των αρσενικών εντοπίζεται στο οπίσθιο μέρος του σώματος κοντά στην αμάρα. Κάθε γεννητικός βραχίονας περιλαμβάνει έναν όρχι και τον σπερματικό αγωγό που συνδεόμενος με τη σπερματική κύστη σχηματίζει τον εκσπερματικό αγωγό, ο οποίος εκβάλλει στην άμαρα. Τα όργανα συνουσίας είναι δύο (ή μία) συζευκτικές άκανθοι (spicules) πρωτεϊνικής σύστασης με σκληρή υφή. Σε μερικά είδη απαντάται και ένα επιπλέον όργανο, το πηδάλιο (gubernaculum) που βρίσκεται κοντά στις συζευκτικές ακάνθους και θεωρείται χρήσιμο στην οχεία. Τα αρσενικά ορισμένων ειδών φέρουν κάποιους επιδερμικούς σχηματισμούς στην περιοχή της αμάρας, οι οποίοι ονομάζονται ουραίες πτέρυγες (bursae) και λειτουργούν σαν όργανα περίπτυξης κατά τη συνουσία (Thorne, 1961, Filipjev et al., 1959).



**Εικόνα 1.3.** Γενική μορφολογία ενηλίκων νηματωδών.



**Εικόνα 1.4.** Σύγκριση μορφολογίας θηλυκού και αρσενικού νηματώδη.



### **1.3.2 Αναπαραγωγή**

Τα περισσότερα είδη νηματώδων είναι αμφιμικτικά, δηλαδή υπάρχουν τόσο αρσενικά όσο και θηλυκά άτομα και η διαδικασία της γονιμοποίησης πραγματοποιείται με τη διασταύρωση των δύο φύλων, ωστόσο τα θηλυκά είναι συνήθως πιο πολλά από τα αρσενικά, αν και το πλήθος των αρσενικών μπορεί να αλλάξει όταν οι συνθήκες δεν είναι ευνοϊκές, με σκοπό την αύξηση του ρυθμού αναπαραγωγής (Κύρου, 2004).

Σε ερμαφρόδιτα είδη, δηλαδή παρουσία θηλυκών και αρσενικών οργάνων αναπαραγωγής στο ίδιο άτομο, η διαδικασία της γονιμοποίησης πραγματοποιείται παρθενογενετικά. Στην περίπτωση αυτή, οι γεννητικοί αδένες έχουν το ρόλο των όρχεων καθώς παράγουν σπερματοζωάρια, ενώ έχουν και το ρόλο των ωοθηκών που παράγουν ωοκύτταρα και γονιμοποιούνται από την παραγωγή σπέρματος της προηγούμενης φάσης. Αυτή η διαδικασία ονομάζεται αυτογονιμοποίηση (Triantaphyllou, 1960).

### **1.3.3. Εκκριτικό – Απεκκριτικό σύστημα**

Ο ρόλος του εκκριτικού-απεκκριτικού συστήματος είναι να αποτοξινώνει τον οργανισμό του νηματώδη, συλλέγοντας και απορρίπτοντας τα μεταβολικά προϊόντα με τη μορφή αμμωνίας που είναι το τελικό προϊόν μεταβολισμού. Απαντάται κυρίως στους νηματώδεις εδάφους, ενώ δεν έχει εντοπισθεί σε είδη που διαβιούν σε γλυκά νερά και στη θάλασσα (Crofton, 1966, Hirschmann, 1971). Επίσης, απουσιάζει από ορισμένα είδη νηματώδων, όπως για παράδειγμα πολλά σε μέλη της Κλάσης Adenophorea. Παλαιότερα αναφερόταν απλώς ως απεκκριτικό εξαιτίας μιας λανθασμένης ερμηνείας που προήλθε από τις διάφορες μορφολογικές ομοιότητες με τα πραγματικά απεκκριτικά συστήματα των άλλων ζώων.

Αποτελείται από αδενικά κύτταρα και βρίσκεται στην κοιλιακή χώρα. Οι κύριες λειτουργίες του είναι εκκρίσεις, οσμωτικές και ιονικές ρυθμίσεις ή ακόμη σε κάποιες



περιπτώσεις, παραγωγή ενζύμων που χρησιμοποιούνται στις διαδικασίες έκδυσης (Weischer & Brown, 2000).

### **1.3.4 Πεπτικό σύστημα**

Οι κύριες λειτουργίες του πεπτικού συστήματος είναι η απορρόφηση τροφής και των θρεπτικών ουσιών και η αποβολή των άχρηστων υπολειμμάτων. Τα σημαντικότερα μέρη του είναι:

1. στοματικό άνοιγμα και η κοιλότητά του
2. οισοφάγος και φάρυγγας
3. εντερικός σωλήνας και
4. έδρα (θηλυκά) ή αμάρα (αρσενικά) (Weischer & Brown, 2000).

Το στόμα διαιρείται σε τρία μέρη: εμπρόσθιο, μεσαίο και οπίσθιο που αποτελεί τη στοματική κοιλότητα. Το σχήμα του μπορεί να είναι τριγωνικό, ημισφαιρικό, επίμηκες, κυλινδρικό, λίγο ή πολύ ενσωματωμένο στο μυϊκό σύστημα του οισοφάγου ή τελείως ελεύθερο (Κύρου, 2004).

Το στοματικό άνοιγμα περιβάλλεται από έξι χείλη, άλλοτε συγχωνευμένα και άλλοτε όχι, ανάλογα με το είδος του νηματώδη. Τα χείλη μπορεί να είναι ευδιάκριτα ή κλεισμένα σε ένα στερεό δερματοποιημένο «πώμα». Κατά κανόνα το στοματικό άνοιγμα οδηγεί στη στοματική κοιλότητα που έχει μια τεράστια ποικιλομορφία και πολυπλοκότητα δομής και σχήματος, ανάλογα με το είδος του νηματώδη (Gooday, 1933).

Ακολουθεί η στοματική κοιλότητα, που το μέγεθος και σχήμα της ποικίλει και σχετίζεται άμεσα με τον τρόπο παρασιτισμού και διατροφής των νηματών. Οι αρπακτικοί νηματώδεις έχουν πλατύ στόμα που περιβάλλεται από δόντια, ενώ οι φυτοπαρασιτικοί έχουν προ εκβαλλόμενα στιλέτα που χρησιμοποιούν για να διαπερνούν τα κυτταρικά τοιχώματα (Weischer & Brown, 2000).

Ο οισοφάγος συνδέεται με το οπίσθιο άκρο του στόματος και αποτελείται από μυϊκές ίνες και αδένες. Το σχήμα του αποτελεί ταξινομικό χαρακτηριστικό (Viglierchio, 1991). Συνήθως αποτελείται από τρεις οισοφαγικούς αδένες, από τους

οποίους οι δύο είναι πλαγιοκοιλιακοί και ο ένας νωτιαίος. Κάθε αδένας αποτελείται και από έναν αγωγό. Η λειτουργία των αδένων και η ρύθμιση των μυϊκών οισοφαγικών ινών γίνονται υπό την εποπτεία του νευρικού συστήματος (Chitwood & Chitwood, 1950, Hirschmann, 1971).

Το τμήμα που ακολουθεί τον οισοφάγο λέγεται εντερικός σωλήνας. Είναι ένας μακρύς, ευθύς σωλήνας που φέρει μια στρώση επιθηλιακών κυττάρων και δε διατρέχεται από μυϊκές ίνες. Χωρίζεται σε τρία μέρη, πρόσθιο, μεσαίο και οπίσθιο. Η αποβολή των τροφών πραγματοποιείται μέσω του ορθού το οποίο βρίσκεται στο οπίσθιο τμήμα του σώματος του νηματώδη και πρόκειται για την έδρα στα θηλυκά και την αμάρα στα αρσενικά (Κύρου, 2004).

### **1.3.5. Νευρικό σύστημα**

Οι κύριες δραστηριότητες του νευρικού συστήματος είναι:

1. να διακρίνει εξωτερικά και εσωτερικά ερεθίσματα
2. να επικοινωνεί με το νευρικό κέντρο για συντονισμό και
3. να μεταδίδει κατάλληλα ερεθίσματα στα εκτελεστικά όργανα

όπως είναι οι μύες και οι αδένες. Διαθέτει δυο κύρια κέντρα, ένα στην περιοχή του οισοφάγου και ένα στην περιοχή του απευθυσμένου, η ένωση μεταξύ των οποίων γίνεται με νευρικές ίνες. Το βασικό τμήμα του είναι ο νευρικός δακτύλιος που αποτελεί το κέντρο σύνδεσης των νεύρων και των γαγγλίων (Ηλιόπουλος, 1997).

Στο νευρικό σύστημα εντάσσονται και ορισμένα αισθητήρια όργανα όπως τα φασμίδια, οι χειλικές θηλές, οι αυχενικές αισθητήριες, σμήριγγες, τα sensilla, οι γεννητικές θηλές, οι αυχενικές αισθητήριες θηλές, τα αμφίδια και το ημιζόνιο, που σχετίζονται με την επικοινωνία του νηματώδη προς το περιβάλλον, την εύρεση τροφής, την αναζήτηση συντρόφου για σύζευξη κ.α. (Κύρου, 2004).

## **1.4. Βιολογικός Κύκλος**

Όσον αφορά την διάρκεια του βιολογικού κύκλου των νηματωδών κυμαίνεται συνήθως από 15-50 ημέρες και εξαρτάται από το είδος και τις συνθήκες του

περιβάλλοντος (Κύρου, 2004). Συνολικά ο βιολογικός τους κύκλος περιλαμβάνει το ωό, 4 προνυμφικά στάδια και το ακμαίο (θηλυκό ή αρσενικό).

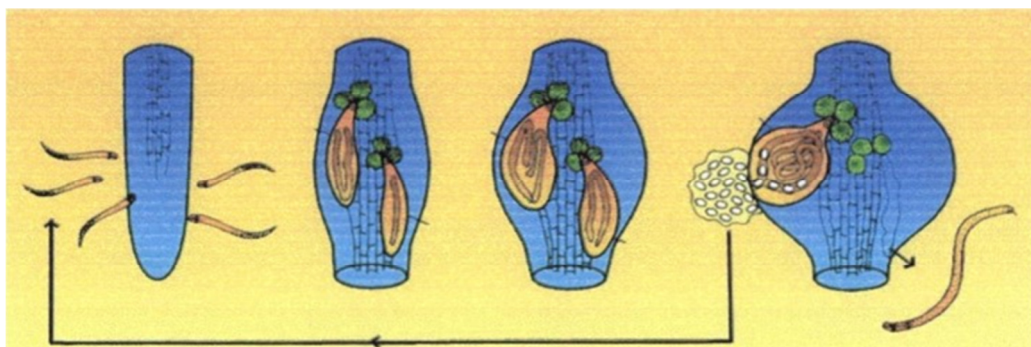
Τα θηλυκά άτομα γεννούν τα ωά τους εντός ή εκτός των ριζών των φυτών. Ο αριθμός των ωών κυμαίνεται από 100 έως 2000 και εξαρτάται από το είδος του νηματώδη. Τα ωά ορισμένων ειδών έχουν την ικανότητα να διατηρούνται στον αγρό για μεγάλα χρονικά διαστήματα (μήνες έως και χρόνια), καθώς προστατεύονται από το μητρικό σώμα, το οποίο μετατρέπεται σε ανθεκτική κύστη. Η εκκόλασή τους επάγεται από την ύπαρξη νερού. Μετά την εκκόλαση, οι προνύμφες κινούνται προς τις ρίζες των φυτών με τη βοήθεια του νερού, τις οποίες τρυπούν με το στυλέτο τους και αρχίζουν να τρέφονται εντός ή εκτός αυτών ανάλογα με το είδος (εκτοπαράσιτοι, ενδοπαράσιτοι, ημιενδοπαράσιτοι) (Fiscus & Neher, 2000). Οι γενεές που εμφανίζει κάθε είδος σε μια καλλιεργητική περίοδο διαφέρουν. Ορισμένα είδη παρουσιάζουν πολλές γενεές ανά έτος (ριζόκομβοι νηματώδεις, νηματώδεις σακχαρότευτλων), ενώ άλλα είδη παρουσιάζουν μόνο μια (κυστογόνοι νηματώδεις της πατάτας, νηματώδεις των σιτηρών).

Από το ωό εξέρχεται το ατελές άτομο ή προνύμφη 1<sup>ου</sup> σταδίου (J1). Μετά την 1<sup>η</sup> έκδυση που υφίσταται η J1, εξέρχεται η προνύμφη 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2), η οποία τις περισσότερες φορές είναι το κατ' εξοχήν παρασιτικό στάδιο των φυτοπαρασιτικών νηματωδών. Ακολούθως λαμβάνει χώρα η 2<sup>η</sup> έκδυση εντός ή εκτός του ξενιστή και εξέρχεται η προνύμφη 3<sup>ου</sup> σταδίου (J3) και ακολουθεί η 3<sup>η</sup> έκδυση και η έξοδος της προνύμφης 4<sup>ου</sup> σταδίου (J4). Τέλος πραγματοποιείται η 4<sup>η</sup> έκδυση από την οποία εξέρχεται το τέλειο θηλυκό ή αρσενικό άτομο.

Σημαντικό παράγοντα για τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου αποτελεί το περιβάλλον, δηλαδή η θερμοκρασία, η σχετική υγρασία του εδάφους, ο αερισμός, ο εδαφικός τύπος, ο ξενιστής, ενώ σημαντικοί παράγοντες για την επιβίωση των νηματωδών είναι το νερό και το οξυγόνο. Επί παραδείγματι, σε θερμοκρασίες κάτω των 10°C ή άνω των 30°C, σε χαμηλή ή πολύ υψηλή υγρασία, σε αργιλώδη ή αμμώδη εδάφη, οι νηματώδεις παρουσιάζουν περιορισμένη δραστηριότητα (Κύρου, 2004).

Τα αρσενικά άτομα έχουν συνήθως μικρότερη διάρκεια ζωής, ενώ τα θηλυκά ζουν περισσότερο και συνεχίζουν να τρέφονται εις βάρος του ξενιστή μέχρι να

φτάσουν στη σεξουαλική ωριμότητα και καθ' όλη την ωοτόκο περίοδο (Ferraz, 2000).



**Εικόνα 1.5.** Βιολογικός κύκλος κομβοηματοδών (Nematode Interaction Unit, Rothamsted Research).

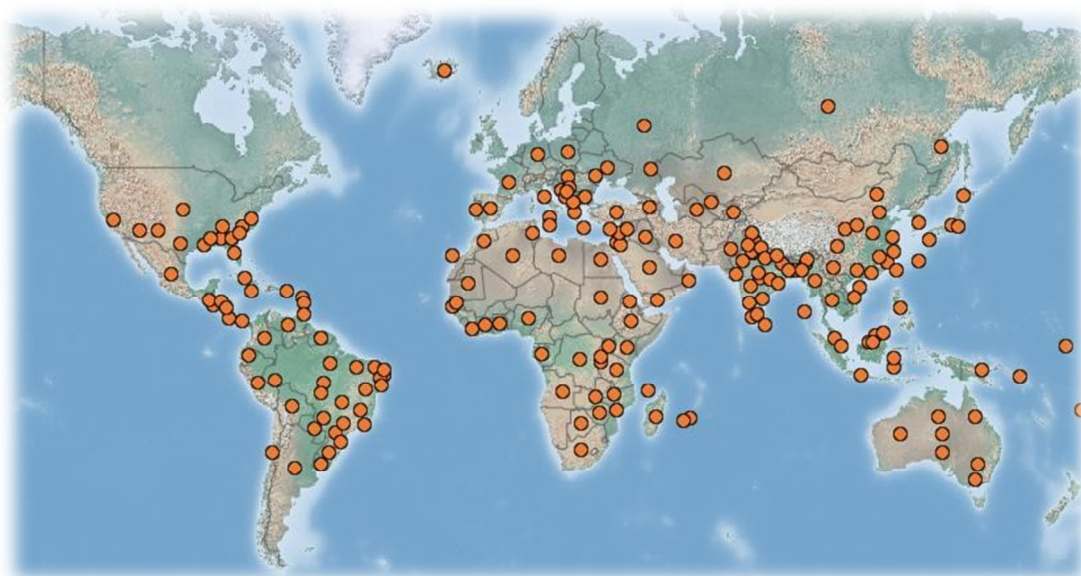
### 1.5. Διασπορά

Λόγω του μικρού μήκους του σώματός τους και της απουσίας ποδιών, οι νηματώδεις διασπείρονται σε περιορισμένες αποστάσεις (έως 1m), ενώ η κίνησή τους είναι οφιοειδής και εξαρτάται από το μέγεθος των κόκκων του εδάφους καθώς και από την κίνηση του νερού. Το CO<sub>2</sub>, τα αμινοξέα που εκκρίνουν οι ρίζες και η θερμοκρασία της ριζόσφαιρας καθορίζουν τον προσανατολισμό της κίνησης. Η εξάπλωσή τους σε απομακρυσμένες περιοχές πραγματοποιείται συχνά μέσω των γεωργικών εργαλείων, των μηχανημάτων, των ρούχων και των παπουτσιών των εργατών. Επιπλέον, μπορούν να μεταφερθούν μέσω του νερού άρδευσης ή το βρόχινο, μέσω του αέρα αλλά και με το τρίχωμα των ζώων. Η διασπορά τους σε διάφορες χώρες πραγματοποιείται κατά την ανταλλαγή προϊόντων και με μολυσμένο φυτικό υλικό (βολβούς, κονδύλους, σπόρους και σπορόφυτα) (Κύρου, 2004).

### 1.6 Το γένος *Meloidogyne*

Το όνομα *Meloidogyne* προέρχεται από δύο ελληνικές λέξεις, τη λέξη «μήλο» και τη λέξη «γυνή» και περιγράφει το σχήμα του θηλυκού κατά τη διάρκεια του ενήλικου σταδίου (Γιαννακού και Προφήτου, 2001). Όσον αφορά τη συστηματική του κατάταξη, το γένος *Meloidogyne* ανήκει στην τάξη Tylenchida, υποτάξη Tylenchina, υπεριοκογένεια Tylenchoidea, οικογένεια Meloidogynidae. Η πρώτη αναφορά προσβολής του ριζικού συστήματος φυτών αγγουριάς από νηματώδεις του

γένους *Meloidogyne* έγινε από τον Berkeley, το 1855. Τα τέσσερα σημαντικότερα είδη του γένους είναι *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* και *M. javanica*. Οι συγκεκριμένοι νηματώδεις είναι υποχρεωτικά παράσιτα και διαβιούν στο έδαφος. Όπως όλοι οι νηματώδεις, είναι υδρόφιλοι οργανισμοί. Κάτι τέτοιο σημαίνει ότι επιβιώνουν στην υδάτινη μεμβράνη, η οποία βρίσκεται στους πόρους του εδάφους. Ευθύνονται περίπου για το 90% όλων των ζημιών που προκαλούνται από νηματώδεις στα φυτά, προσβάλλοντας περίπου 2000 διαφορετικά φυτικά είδη, ενώ παγκοσμίως προκαλούν περίπου το 5% των απωλειών στις καλλιέργειες (CastagnoneSereni, 2002, Laquale et al., 2015).



**Εικόνα 1.6.** Παγκόσμια γεωγραφική εξάπλωση του είδους *M. javanica* (CABI, 2019)

### 1.6.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά

Τα βασικά οργανικά συστήματα (πεπτικό, νευρικό, απεκκριτικό, μυϊκό και αναπαραγωγικό) είναι κοινά σε όλους τους νηματώδεις.

Όσον αφορά το σώμα των *Meloidogyne*, στα ανήλικα άτομα και τα αρσενικά είναι όπως προαναφέρθηκε, επίμηκες, κυλινδρικό με αμφίπλευρη συμμετρία, ενώ εάν πραγματοποιηθεί εγκάρσια τομή φαίνεται κυκλικό. Τα συμμετρικά χαρακτηριστικά εντοπίζονται κυρίως στο εμπρόσθιο τμήμα ενώ το έντερο, το αναπαραγωγικό και το απεκκριτικό σύστημα δείχνουν τάσεις προς ασυμμετρία. Όσον αφορά τον εσωτερικό μεταμερισμό, το σώμα εμφανίζεται ενιαίο αν και συχνά παρουσιάζονται εμφανείς

αποτομές, οι οποίες εντοπίζονται μόνο στην επιδερμίδα. Τα θηλυκά άτομα έχουν μήκος 0,4-1,3 mm και σχήμα απιοειδές έως σφαιρικό, ενώ φέρουν λαιμό (κοντό ή μακρύ), ο οποίος προεξέχει. Το χρώμα τους είναι υπόλευκο. Επιπλέον φέρουν στιλέτο μήκους 14-15  $\mu\text{m}$ , με μικρά εξογκώματα στη βάση και ελαφριά κύρτωση. Όσον αφορά την ωοτοκία, το θηλυκό γεννά τα ωά του εκτός του σώματος του σε ένα ζελατινώδη ωόσακο. Τα αρσενικά άτομα μετακινούνται ελεύθερα στο έδαφος, έχουν μήκος μικρότερο των θηλυκών (700-1900  $\mu\text{m}$ ), το σχήμα τους είναι σκωληκόμορφο, ενώ φέρουν ουρά μήκους  $\frac{1}{2}$ - $\frac{3}{4}$  του σώματος (Laquale et al., 2015).



**Εικόνα 1.7.** Θηλυκό άτομο του είδους *Meloidogyne incognita*. (A) Ολόκληρο το σώμα (B) Πρόσθια περιοχή (Javed et al., 2008).

### **1.6.2 Βιολογικός κύκλος του γένους Meloidogyne**

Για τους νηματώδεις του γένους των ριζοκόμβων (*Meloidogyne* spp.) παρατηρείται πως μετά την ολοκλήρωση της εμβρυογένεσης, η πρώτη έκδυση λαμβάνει χώρα εντός του ωού οπότε εμφανίζεται η προνύμφη 1<sup>ου</sup> σταδίου (J1) και μετά την εκκόλαψη του ωού, εξέρχεται η προνύμφη 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2), που είναι το παρασιτικό στάδιο των *Meloidogyne*. Η κινητή αυτή μορφή, η οποία έχει αποθέματα ενέργειας συσσωρευμένα στο έντερο, μεταναστεύει στο έδαφος ψάχνοντας ρίζες από κατάλληλους ξενιστές, φαινόμενο το οποίο μπορεί να διαρκέσει από λίγες ώρες έως μερικούς μήνες ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες.

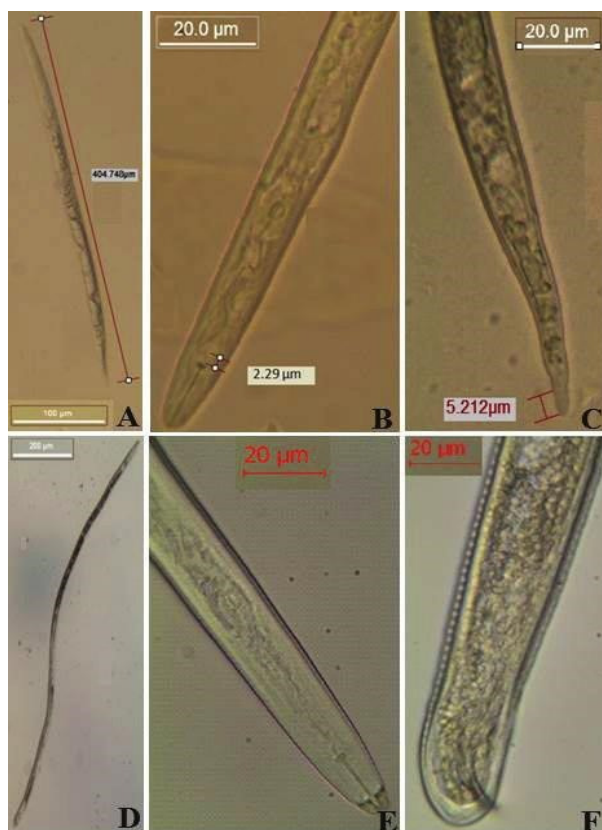
Η είσοδος των J2 εντός των φυτικών ιστών της ρίζας γίνεται με διάτρηση των κυττάρων από το στιλέτο κατόπιν πολλαπλών χτυπημάτων. Μετά την διάτρηση των



επιδερμικών κυττάρων, οι νηματώδεις εκκρίνουν μια ουσία πλήρη ενζύμων, η οποία προκαλεί τη διάλυση των κυτταρικών τοιχωμάτων με αποτέλεσμα τη δημιουργία γιγαντιαίων κυττάρων που καλούνται κοινοκύτταρα (Κολιοπάνος, 1999).

Οι προνύμφες που θα εξελιχθούν σε θηλυκά, αναπτύσσονται εσωτερικά των ριζών, αλλάζει η σκωληκόμορφη διάπλασή τους και γίνονται απιοειδείς με χρώμα άσπρο μαργαριταρένιο. Οι προνύμφες που θα εξελιχθούν σε αρσενικά εξέρχονται των ριζών, διαβιούν ελεύθερα στο έδαφος τρεφόμενες εκτοπαρασιτικά.

Στη συνέχεια, οι προνύμφες J2 μεταναστεύουν εντός των φυτικών ιστών και φθάνουν στον κεντρικό κύλινδρο. Στη θέση αυτή πραγματοποιούνται η 2<sup>η</sup>, 3<sup>η</sup> και η 4<sup>η</sup> έκδυση, οπότε τελικά έχουμε τα τέλεια θηλυκά και αρσενικά άτομα.



**Εικόνα 1.8.** Προνύμφες δεύτερου σταδίου του είδους *Meloidogyne incognita* (A-C), αρσενικά άτομα (D-F) (Javed et al., 2008).



**Εικόνα 1.9.** Άτομα του είδους *Meloidogyne javanica*. (A) θηλυκό, (B) Ουρά προνύμφης δεύτερου σταδίου με αιχμηρή απόληξη, (C) Πρόσθια περιοχή αρσενικού ατόμου

(Javed et al., 2008).

Μετά την είσοδο των J2 εντός του ξενιστή απαιτούνται 20-30 μέρες ώσπου τα θηλυκά να αρχίσουν να γεννούν αυγά. Τα θηλυκά άτομα γεννάνε κατά μέσο όρο 300-500 αυγά, τα οποία εναποθέτουν εντός ζελατινώδους μάζας. Το μήκος του βιολογικού κύκλου, εξαρτάται κυρίως από την θερμοκρασία, τη σχετική υγρασία, τον ξενιστή και την διαθεσιμότητα O<sub>2</sub> στο έδαφος.

Για την επιβίωση και την αναπαραγωγή τους, οι νηματώδεις *Meloidogyne* απαιτούν αρκετά μεγάλες ποσότητες οξυγόνου. Σε περίπτωση μείωσης του διαθέσιμου οξυγόνου, όπως συμβαίνει όταν ο αγρός είναι υπό κατάκλιση με νερό, παρατηρείται σημαντική καθυστέρηση στην αναπαραγωγή τους.

Όσον αφορά την ποιότητα του εδάφους έχει παρατηρηθεί ότι αναπτύσσονται καλύτερα σε ελαφριά εδάφη, κοντά σε ακτές και ποταμούς και ελάχιστα σε ψηλές περιοχές (Κολιοπάνος, 1999).

Συγκεκριμένα για τους ριζόκομβους νηματώδεις, η διάρκεια του βιολογικού κύκλου μπορεί να είναι από 21 ημέρες έως και αρκετούς μήνες. Κάτι τέτοιο εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες αλλά και από την ύπαρξη ή μη ξενιστών. Τα θηλυκά άτομα ωριμάζουν αναπαραγωγικά στην ηλικία των 25 ημερών όταν η θερμοκρασία κυμαίνεται στους 27°C. Το διάστημα της αναπαραγωγικής ωρίμανσης των θηλυκών μπορεί να αυξηθεί και εξαρτάται από τη θερμοκρασία, την υγρασία και από άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες.





### 1.6.3 Ζημιές στα φυτά

Οι περισσότερες προσβολές των φυτών που προκαλούνται από τους νηματώδεις των ριζοκόμβων και από τους κυστογόνους νηματώδεις των γενών *Heterodera* και *Globodera* (Tylenchida: Heteroderidae).

Συγκεκριμένα οι νηματώδεις του γένους *Meloidogyne* προκαλούν ζημιές σε φυτά όπως οπωροφόρα δένδρα, και σε καλλιέργειες λαχανικών και σιτηρών, τα οποία έχουν μεγάλη αξία για τον άνθρωπο. Οι λόγοι για τους οποίους οι νηματώδεις είναι πιο καταστρεπτικοί για τις συγκεκριμένες καλλιέργειες από τους υπόλοιπους εχθρούς είναι:

1. η μεγάλη διασπορά τους ανά τον κόσμο, επί παραδείγματι οι νηματώδεις του είδους *M. incognita* βρίσκονται τόσο σε εύκρατες έως τροπικές περιοχές, όσο και σε οποιοδήποτε μέρος όπου η χαμηλότερη θερμοκρασία είναι πάνω από 3°C,
2. τα περισσότερα είδη ολοκληρώνουν πολλές γενεές σε μια καλλιεργητική σεζόν ενώ ταυτόχρονα έχουν και υψηλό ωοπαραγωγικό δυναμικό
3. διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα ξενιστών (Nyczerpir et al., 2009; Sasser et al., 1983; Trudgill, 1997; Κολιοπάνος, 1999).

Όσον αφορά τη ζημιά που προκαλούν, σχετίζεται με το γεγονός ότι οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις τρέφονται με τις ρίζες των φυτών. Έτσι, ο τρόπος με τον οποίο σιτίζονται καταστρέφει το ριζικό σύστημα και μειώνει την ικανότητα του φυτού να απορροφά νερό και θρεπτικά συστατικά. Πιο συγκεκριμένα προκαλούν μηχανικές βλάβες καθώς τρυπούν με το στίλετο τους τον ιστό του φυτού ή καθώς κινούνται ενδιάμεσα ή μέσα στα κύτταρα του φυτού. Τυπικά συμπτώματα είναι η μείωση της μάζας της ρίζας, η παραμόρφωση της δομής της και/ή η διεύρυνση των ριζών (εικόνα 6) (Abad et al., 2003; Chandran & Wildermuth, 2016; Laquale et al., 2015). Η ζημιά των νηματωδών στο ριζικό σύστημα του φυτού δίνει επιπλέον την ευκαιρία σε άλλα παθογόνα να εισβάλουν στη ρίζα και έτσι το αποδυναμώνει περαιτέρω. Επί παραδείγματι, οι Katsantonis et al. (2003) μελέτησαν ορισμένες ποικιλίες βαμβακιού ως προς την ευαισθησία τους στα παθογόνα *Verticillium dahliae* και *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, παρουσία νηματωδών του είδους *M. incognita*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το ποσοστό προσβολής των καλλιεργειών

ήταν αισθητά πιο αυξημένο στα εδάφη όπου συνυπήρχαν οι νηματώδεις με τα παθογόνα.



**Εικόνα 1.11.** Κομβονηματώδεις του γένους *Meloidogyne* σε φυτό τομάτας

<https://www.growveg.com/plant-diseases/us-and-canada/tomato-root-knotnematodes/>

#### ***1.6.4 Meloidogyne javanica***

Τυπικός ξενιστής του νηματώδη του είδους *M. javanica* είναι το σακχαροκάλαμο (*Saccharum officinarum* L.). Είναι ένα είδος κοσμοπολίτικο, καθώς απαντάται στην Ν. Αφρική, την Ινδία, το Ισραήλ, την Αυστραλία, τη Βραζιλία, τις Η.Π.Α., την Κεϋλάνη, την Κολομβία, ην Κύπρο, τη Μαλαισία, την Ισπανία, την Τύνιδα, το Πακιστάν και τη Β. Ευρώπη σε καλλιέργειες θερμοκηπίου. Προσβάλλει πάνω από 770 είδη και ποικιλίες φυτών με υψηλό οικονομικό ενδιαφέρον, όπως ο καπνός, τα σακχαρότευτλα, οι πατάτες, διάφορα άλλα κηπευτικά, σιτηρά, όσπρια, οπωροφόρα δένδρα και θάμνους, τη συκιά, τα ελαιόδεντρα, το αμπέλι, το τσάι, τα

καφεόδεντρα, τα κακαόδεντρα και διάφορα ανθοκομικά. Όσον αφορά την αναπαραγωγή στο συγκεκριμένο είδος, συμβαίνει με υποχρεωτική μιτωτική παρθενογένεση. Το είδος *M. javanica* είναι το μόνο είδος στο οποίο απαντώνται άρρενα αμφιφυλετικά άτομα. Στα άτομα αυτά συμβαίνει αναστροφή του φύλου δηλαδή αρσενικά άτομα με ορισμένα χαρακτηριστικά θηλυκού ατόμου (κόλπος, γεννητικό άνοιγμα). Η άριστη θερμοκρασία για την εκκόλαψη των ωών του είδους είναι 30°C, ενώ αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του οξυγόνου.

Ο βιολογικός κύκλος του *M. javanica* σε φυτά ντομάτας συμπληρώνεται με την έναρξη του σχηματισμού του ωοσάκκου σε 22-27 ημέρες, όταν τα θηλυκά έχουν το μέγιστο μέγεθος. Από την 30η-40η ημέρα, ο ωοσάκκος μεγεθύνεται ενώ παράλληλα επιταχύνεται η φωτοκία.

## **1.7 Αντιμετώπιση νηματωδών**

Η καταπολέμηση των φυτοпараσιτικών νηματωδών αποτελεί μια δύσκολη υπόθεση. Η διαχείριση των προβλημάτων από την προσβολή τους γίνεται με χρήση ανθεκτικών φυτών, με αμειψισπορά και άλλες εφαρμογές πριν τη φύτευση, με χημικά νηματωδοκτόνα, φυσικούς εχθρούς αλλά και φυσικά παραγόμενες ουσίες (Chitwood, 2002). Τόσο η έρευνα όσο και η καταχώρηση νέων χημικών είναι αρκετά δαπανηρές και αποτελούν σημαντικό εμπόδιο για τη δημιουργία νέων νηματωδοκτόνων. Οι εταιρείες επιλέγουν να διοχετεύσουν τις έρευνες σε προϊόντα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ευρύτερα στην αγορά, όπως τα ζιζανιοκτόνα και τα εντομοκτόνα. Επιπλέον τα συνθετικά χημικά δε θεωρούνται ότι είναι το καλύτερο μελλοντικά για την καταπολέμηση των νηματωδών. Συνεπώς, πολλές ομάδες ερευνητών τείνουν να αναπτύσσουν νέες στρατηγικές οι οποίες έχουν σαν κύρια στοιχεία ουσίες που προέρχονται από τα φυτά.

### **1.7.1 Προληπτικά μέτρα**

Σε γενικές γραμμές για μια ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των νηματωδών, ακολουθείται η λήψη προληπτικών μέτρων που θα μειώσουν τις πιθανότητες εισόδου των νηματωδών στις καλλιεργούμενες εκτάσεις οι οποίες δεν έχουν ακόμη προσβληθεί. Για το σκοπό αυτό επιβάλλονται μέτρα όπως η χρήση πιστοποιημένου

πολλαπλασιαστικού υλικού, ο ενδεδειγμένος καθαρισμός του εξοπλισμού πριν να μετακινηθεί σε άλλο αγρό, ο σχεδιασμός της άρδευσης έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται η περίσσεια νερού, η ελάττωση μετακίνησης ζώων από προσβεβλημένες περιοχές σε περιοχές που δεν έχουν προσβληθεί, η θανάτωση των νηματωδών στις κομπόστες προτού αυτές εφαρμοσθούν στον αγρό καθώς και η απομάκρυνση πληθυσμών ζιζανίων που μπορεί να ευνοήσουν την επιβίωση των νηματωδών (Kodira & Westerdahl, 1995).

### **1.7.2 Χημική αντιμετώπιση**

Η χημική αντιμετώπιση αφορά τη θανάτωση των νηματωδών με χρήση χημικών και αποτέλεσε την κυρίαρχη μέθοδο αντιμετώπισης κατά την περίοδο του 20<sup>ου</sup> αιώνα. Τα χημικά νηματωδοκτόνα που χρησιμοποιούνται σήμερα ανάλογα με τον τρόπο εφαρμογής τους, χωρίζονται στα καπνιστικά (αέρια) και μη καπνιστικά (στερεά ή υγρά). Για να είναι επιτυχημένη μια δραστική ουσία θα πρέπει να είναι στην κατάλληλη συγκέντρωση και να έρθει σε άμεση επαφή με το σώμα του νηματώδη ώστε να εισχωρήσει σε αυτό είτε μέσω της επιδερμίδας του, είτε μέσω των φυσικών ανοιγμάτων που διαθέτει (έδρα, γεννητικός πόρος, στόμα) είτε τέλος μέσω των φυτών που την έχουν απορροφήσει (Κολιοπάνος, 1999). Από το 1979 ξεκίνησε η απομάκρυνση των χημικών σκευασμάτων όπως το 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP), ενώ το 2005 απαγορεύτηκε επίσημα η χρήση του βρωμιούχου μεθυλίου (methyl bromide) στις Η.Π.Α και στην δυτική Ευρώπη λόγω της συμβολής του στην καταστροφή του όζοντος της ατμόσφαιρας. Στην Ευρώπη έχει απαγορευθεί επιπλέον το σκεύασμα 1,3-D (1,3-dichloropropene). Καθώς τα σκευάσματα αυτά αποτελούσαν την ναυαρχίδα των χημικών μεθόδων αντιμετώπισης, έχουν ξεκινήσει έρευνες για την αποτελεσματικότητα των βιολογικών μεθόδων καταπολέμησης (Nyczepir et al., 2009).

#### **➤ Καπνιστικά χημικά**

Το dazomet είναι ένα από τα χημικά εντομοκτόνα το οποίο χρησιμοποιείται ως απολυμαντικό εδάφους, εφαρμόζεται σε υγρό έδαφος με υποκαπνισμό, πριν τη φύτευση ή τη σπορά των καλλιεργειών. Πέρα από την αντιμετώπιση των νηματωδών, είναι κατάλληλο για την αντιμετώπιση εντόμων, μυκήτων, ζιζανίων και βακτηρίων. Η



συγκεκριμένη δραστική ουσία είναι επικίνδυνη για το περιβάλλον και για τους υδρόβιους οργανισμούς (Ufer et al., 1993).

#### ➤ **Μη καπνιστικά χημικά**

Τα χημικά που κατατάσσονται σε αυτήν την κατηγορία είναι εκλεκτικά ενάντια στους νηματώδεις και περιλαμβάνουν ουσίες με διασυστηματική ή μη δράση (δηλαδή έχουν την ικανότητα κυκλοφορίας από το ριζικό σύστημα του φυτού μέχρι το υπέργειο τμήμα του και αντίστροφα ή όχι). Εφαρμόζονται πριν ή μετά την καλλιέργεια. Απαραίτητη είναι η ύπαρξη νερού για τη διασπορά τους, ενώ μπορεί να υποστούν έκπλυση σε αμμώδη εδάφη ή σε εδάφη με αυξημένη οργανική ουσία, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης υγρασίας (Κύρου, 2004). Μη καπνιστικά εντομοκτόνα είναι τα οργανοφωσφορικά ethoprophos, fenamiphos και fosthiazate, η ομάδα των καρβοξαμιδικών που περιλαμβάνει το fluopyram και το καρβαμιδικό oxamyI.

### **1.7.3 Βιολογική αντιμετώπιση**

Ως μέθοδοι βιολογικής καταπολέμησης χρησιμοποιούνται διάφοροι νηματοβόροι μικροοργανισμοί όπως βακτήρια και μύκητες, φυσικοί εχθροί των νηματωδών. Στόχος είναι η αύξηση των μικροοργανισμών αυτών στο έδαφος ώστε να επιτευχθεί αυξημένη θνησιμότητα των φυτοπαρασιτικών νηματωδών (Paracer et al., 1966). Ο πιο υποσχόμενος βιολογικός παράγοντας είναι πιθανώς τα βακτήρια του γένους *Bacillus sp.* Το πιο γνωστό είδος είναι το *Bacillus penetrans*. Όταν οι νεαρές προνύμφες βρίσκονται μέσα στις ρίζες, τα σπόρια των βακτηρίων συνδέονται με την επιδερμίδα του νηματώδη. Στη συνέχεια, τα σπόρια πολλαπλασιάζονται εντός του σώματος του νηματώδη, το οποίο τελικά εκρήγνυται παράγοντας εκατομμύρια σπόρια. Μειονέκτημα αυτής τη μεθόδου αποτελεί το γεγονός ότι η καλλιέργεια του βακτηρίου σε τεχνητό μέσο δεν είναι ακόμη δυνατή σε βιομηχανική κλίμακα. Κατά συνέπεια, η πρακτική εφαρμογή περιορίζεται σε μικρές περιοχές όπως τα θερμοκήπια (Mugniéry & Phillips, 2007). Ακόμη, μελέτες δείχνουν ότι ο μύκητας *Arthrobotrys oligospora* είναι αποτελεσματικός έναντι στους νηματώδεις του είδους *M. incognita*. Ο συγκεκριμένος μύκητας έλκει τον νηματώδη μέσω ουσιών τις οποίες εκλύει, ενώ στη συνέχεια σχηματίζοντας μυκηλιακές υφές που τον ακινητοποιούν και τελικά τον θανατώνουν. Ο μύκητας *A. dactyloides* θανατώνει και αυτός τους νηματώδεις σχηματίζοντας δακτυλίους (Kumar et al., 2015; Nourani et al., 2018).

#### 1.7.4. Φυτικά αιθέρια έλαια ως μέθοδος καταπολέμησης

Τα αιθέρια έλαια είναι φυσικές πτητικές ουσίες, οι οποίες απαντώνται σε διάφορα φυτά. Πρόκειται για ένα σύνθετο μείγμα το οποίο αποτελείται ως επί το πλείστο από τερπενοειδή αλλά και από αρωματικές φαινόλες, οξειδία, αιθέρες, εστέρες αλκοόλες, αλδεΰδες και κετόνες που προσδιορίζουν το χαρακτηριστικό άρωμα και την οσμή του φυτού. Η χημική τους σύνθεση μπορεί να ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων ειδών και ποικιλιών των αρωματικών φυτών, καθώς και εντός της ίδιας ποικιλίας εάν αυτή βρίσκεται σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. Τα φυτικά αιθέρια έλαια παραλαμβάνονται από τα μη ξυλώδη μέρη του φυτού, ιδιαίτερα από το φύλλωμα, με τη χρήση ατμού ή απόσταξης.

Οι σημαντικότερες οικογένειες από τις οποίες προέρχονται τα περισσότερα αιθέρια έλαια είναι οι Lamiaceae, Myrtaceae και Rutaceae. Η επίδραση της ωριμότητας των φυτών κατά τη στιγμή της εξαγωγής ελαίου και η ύπαρξη κλιματικών και χημειοτυπικών διαφορών μπορούν να επηρεάσουν την σύνθεσή του (Figueiredo et al., 2008; Lahlou & Berrada, 2003). Αυτά τα πτητικά τερπενοειδή διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του φυτού, όπως οι γιββερελλίνες, προστασία κατά του οξειδωτικού στρες, αντοχή στη ζέστη, στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτών αλλά ως ελκυστικά για τους επικονιαστές και για τα αρπακτικά των φυτοφάγων (Tholl, 2006).

Ένα από τα πιο γνωστά φυτά για τις εντομοκτόνες ιδιότητές των αιθέριων ελαίων του είναι το δέντρο *Azadirachta indica*, το οποίο για εκατοντάδες χρόνια, οι αγρότες της Ινδίας έχουν χρησιμοποιήσει για τις εντομοκτόνες και αντιμυκητιακές του ιδιότητες (Javed et al., 2008). Οι Javed et al. (2008) αναφέρουν ότι η εφαρμογή του αιθέριου ελαίου azadirachtin στο έδαφος (σε διάλυμα 0.05% και 0.1% w/v) μειώνει την εισχώρηση των νηματωδών του είδους *M. javanica* στις ρίζες ενώ ταυτόχρονα καθυστερεί την ανάπτυξή των προνυμφών εντός της ρίζας. Επίσης, τα τελευταία χρόνια έχουν δημοσιευθεί αρκετές έρευνες σχετικά με τη νηματωδοκτόνο δράση των συστατικών διαφόρων φυτικών ειδών (Πίνακας 1.1). Επί παραδείγματι, τα αιθέρια έλαια των φυτών *Carum carvi*, *Foeniculum vulgare*, *Mentha rotundifolia*, και *M. spicata* βρέθηκε ότι παρεμποδίζουν την εκκόλαψη των προνυμφών του είδους *M. javanica*. Τα συστατικά που περιέχουν τα συγκεκριμένα φυτά είναι η καρβακρόλη, η

ανηθόλη, η θυμόλη και η (+)-καρβόνη (Oka et al., 2000). Επιπλέον οι Taniwiryo et al. (2009) μελέτησαν τη δράση των αιθέριων ελαίων των φυτών *Nicotiana tabacum* L., *Syzygium aromaticum* L., *Piper betle* L. και *Acorus calamus* L. εναντίον του νηματώδη *M. incognita*. Οι Laquale et al. (2015) ασχολήθηκαν με την αποτελεσματικότητα των αιθέριων ελαίων ως υποκαπνιστικά εδάφους έναντι των νηματωδών του είδους *M. incognita*. Τα αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν για το συγκεκριμένο πείραμα προήλθαν από τα φυτικά είδη *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus*, *Mentha piperita*, *Pelargonium asperum* και *Ruta graveolens*. Τα είδη *E. globulus* και *P. asperum* μείωσαν σημαντικά την αναπαραγωγή των νηματωδών καθώς και τον αριθμό των όγκων στις ρίζες των φυτών τομάτας σε συγκεντρώσεις 50, 100 and 200  $\mu\text{L}/\text{kg}$  χόματος, ενώ τα είδη *E. citriodora*, *M. piperita* και *R. graveolens* ήταν αποτελεσματικά μόνο σε δόσεις μεγαλύτερες των 50  $\mu\text{L}/\text{kg}$  χόματος. Επιπλέον, στα φυτά τα οποία εφαρμόστηκαν τα αιθέρια έλαια των ειδών *E. globulus* και *P. asperum*, με τη μέθοδο του υποκαπνισμού, αυξήθηκε τόσο το υπόγειο όσο και το υπέργειο μέρος τους. Οι Batish et al. (2008) πραγματοποίησαν μια ανασκόπηση της βιβλιογραφίας όσον αφορά την εντομοκτόνο δράση των διαφόρων ειδών του γένους *Eucalyptus* και αναφέρουν ότι το *E. camaldulensis* βρέθηκε να απωθεί τα θηλυκά άτομα του κουνουπιού *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae), ενώ προκαλεί θνησιμότητα στα ωά των εντόμων αποθηκών *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) και *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), όπως το είδος *E. citriodora* στο έντομο αποθηκών *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Τα είδη *E. intertexta*, *E. sargentii* και *E. camaldulensis* θανατώνουν εντός 1-7 ημερών τα έντομα *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae), *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) και *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Τα είδη *E. nicholii*, *E. codonocarpa* και *E. lakelyi* θανατώνουν τα είδη *S. oryzae*, *T. castaneum* και *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). Το είδος *E. saligna* έχει απωθητική δράση ενάντια στα είδη *S. zeamais* και *T. confusum*, ενώ το είδος *E. tereticornis* θανατώνει όλα τα στάδια του κουνουπιού *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). Επιπλέον διάφορα είδη *Eucalyptus* αναφέρεται ότι είναι τοξικά για την πιτυοκάμπη *Thaumatococcus panyocampa* (Lepidoptera: Thaumatocoeidae) και τη μύγα *Lycoriella mali* (Diptera: Sciaridae). Οι Lucia et al. (2007) αναφέρουν τοξικότητα του *E. grandis* για τα κουνούπια του είδους *Aedes aegypti*. Κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου του συγκεκριμένου είδους είναι τα a- and b πιπένιο και η 1,8-κινεόλη. Η υψηλότερη θνησιμότητα επιτεύχθηκε με την εφαρμογή a- και b-πεπενίου. Όσον



αφορά τους νηματώδεις διάφορες μελέτες αναφέρουν ότι τα αιθέρια έλαια των ειδών *E. citriodora* και *E. hybrida* παρουσίασαν υψηλή τοξικότητα εναντίον του είδους *M. incognita*, ενώ τα αιθέρια έλαια από τα είδη *E. camaldulensis*, *E. saligma* και *E. urophylla* προκάλεσαν θνησιμότητα και παρεμπόδισαν την εκκόλαψη των προνυμφών του δευτέρου σταδίου του είδους *Meloidogyne exigua* (Pandey et al., 2000; Salgado et al., 2003). Σε γενικές γραμμές, το αιθέριο έλαιο των διαφόρων ειδών του γένους *Eucalyptus* θεωρείται εξαιρετικής ποιότητας και προτιμάται έναντι των αιθέριων ελαίων άλλων δέντρων για την ευρεία χρήση του καθώς και για την αποτελεσματικότητά του ενάντια στους εχθρούς των καλλιέργειών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η εργασία των Liu et al. (2008), στην οποία αναφέρεται ότι η αλληλοπαθητική ικανότητα των αιθέριων ελαίων των φυτών *E. grandis* x *E. urophylla* μπορεί να παρεμποδίσει τον πολλαπλασιασμό των παθογόνων μυκήτων *Fusarium oxysporum*, *Pyricularie grisea*, *Glorosprium musa rum* και *Phytophthora capsica*, καθώς και τη νύμφωση και σίτιση των εντομολογικών εχθρών *Spodoptera litura* Fabricius και *Helicoverpa armigera* Hubner.

#### 1.7.5. *Eucalyptus globulus*

Το φυτικό είδος *E. globulus* με κοινή ονομασία Ευκάλυπτος ο σφαιρικός ανήκει στην οικογένεια Myrtaceae. Είναι ένα αειθαλές δέντρο το οποίο κατάγεται από την Αυστραλία και την Τασμανία. Καλλιεργείται σε πολλά μέρη του κόσμου όπως στην Ευρώπη, την Νότια Αφρική, την Καλιφόρνια, τη Νέα Ζηλανδία και τη Χαβάη. Η προέλευση του ονόματός του αποδίδεται στο ιδιαίτερο σχήμα που έχουν τα άνθη του. Στα λατινικά «globulus» σημαίνει μικρό σφαιρίδιο, σχήμα το οποίο έχει το κάλυμμα που βρίσκεται στο ανώτερο μέρος του καρπού. Επίσης, είναι γνωστός και ως «Blue Gum», λόγω του γεγονότος ότι τα νεαρά φύλλα του έχουν ένα γαλαζωπό γκρι κηρώδες χνούδι. Το ύψος του συνήθως είναι 15-25m ενώ μπορεί να φτάσει και τα 90 υπό ευνοϊκές συνθήκες. Σε δυσμενείς συνθήκες έχει θαμνώδη εμφάνιση. Τα άνθη του είναι λευκά, ενώ όταν γονιμοποιηθούν γίνονται γκριζες κάψες. Ανθοφορεί από το χειμώνα μέχρι την άνοιξη. Τα φύλλα του είναι γλαυκόχρωμα και επιμήκη.

Το αιθέριο έλαιο του περιέχεται κυρίως στα φύλλα του και είναι γνωστό για τις φαρμακευτικές του ιδιότητες, καθώς και την ευρεία χρήση του στην σαπωνοποιία και

την αρωματοποιία. Το ευρύτερο είδος *E. globulus*, περιλαμβάνει τέσσερα υποείδη: *E. globulus* subsp. *bicostata*, *E. globulus* subsp. *globulus*, *E. globulus* subsp. *maidenii* και *E. globulus* subsp. *pseudoglobulus*. Το είδος *E. globulus* χαρακτηρίζεται από ευρεία προσαρμοστικότητα και ανθεκτικότητα σε δύσκολες εδαφικές και κλιματολογικές συνθήκες καθώς αναπτύσσεται σε όλους τους τύπους εδαφών, όπως σε αμμώδη ή συνεκτικά, σε ξηρά μέχρι και υφάλμυρα εδάφη, ενώ ανέχονται θερμοκρασίες έως και  $-8^{\circ}\text{C}$ . Η ιδανική μέση θερμοκρασία για την ανάπτυξη του είναι  $13^{\circ}\text{C}$  και τα εδάφη στα οποία αναπτύσσεται ταχύτερα είναι τα πυριτικά και αλκαλικά με μέτρια ή ουδέτερη οξύτητα (Batish et al., 2008; Κατσιώτης & Χατζοπούλου, 2010).



**Εικόνα 1.12.** *Eucalyptus globulus*.

[http://mediplantepirus.med.uoi.gr/pharmacology/plant\\_details.php?id=370](http://mediplantepirus.med.uoi.gr/pharmacology/plant_details.php?id=370)

**Πίνακας 1.1.** Φυτικά αιθέρια έλαια τα οποία παρουσιάζουν νηματωδοκτόνο δράση ενάντια στους νηματώδεις του είδους *Meloidogyne javanica*.

Φυτικά είδη	Οικογένεια	Μέρος του φυτού που χρησιμοποιήθηκε
<i>Achillea fragrantissima</i>	Asteraceae	Φύλλωμα
<i>Artemisia arborescens</i>	Asteraceae	Φύλλωμα
<i>Artemisia dracunculus</i>	Asteraceae	Φύλλωμα
<i>Artemisia judaica</i>	Asteraceae	Φύλλωμα
<i>Carum carvi</i>	Apiaceae	Φύλλωμα
<i>Coridothymus capitatus</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Cymbopogon citratus</i>	Poaceae	Φύλλωμα
<i>Foeniculum vulgare</i>	Lamiaceae	Άνθος
<i>Laurus nobilis</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Lavandula officinalis</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Mentha piperita</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Mentha rotundifolia</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Mentha spicata</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Micromeria fruticosa</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Myrtus communis</i>	Myrtaceae	Φύλλωμα
<i>Ocimum basilicum</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Origanum dayi</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Origanum syriacum</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Origanum vulgare</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Pelargonium graveolens</i>	Geraniaceae	Φύλλωμα
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Labiatae	Φύλλωμα
<i>Salvia dominica</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Salvia officinalis</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Salvia triloba</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Thymus vulgaris</i>	Lamiaceae	Φύλλωμα
<i>Cinnamomum verum</i>	Lamiaceae	Φλοιός
<i>Leptospermum petersonii</i>	Myrtaceae	Φύλλωμα
<i>Haplophyllum tuberculatu</i>	Rutaceae	Εναέριο τμήμα
<i>Plectranthus cylindraceus</i>	Lamiaceae	Εναέριο τμήμα
<i>Bacharis salicifolia</i>	Asteraceae	Εναέριο τμήμα
<i>Eupatorium arnotii</i>	Asteracea	Εναέριο τμήμα
<i>Eupatorium buniifolium</i>	Asteracea	Εναέριο τμήμα





**Εικόνα 1.13.** Φύλλα και καρποί του φυτού *Eucalyptus globulus*  
[http://mediplantepirus.med.uoi.gr/pharmacology/plant\\_details.php?id=370](http://mediplantepirus.med.uoi.gr/pharmacology/plant_details.php?id=370)



**Εικόνα 1.14.** Άνθη του φυτού *Eucalyptus globulus*  
<http://anpsa.org.au/e-glo.html>

### 1.7.6 Το αιθέριο έλαιο του *E. globulus*

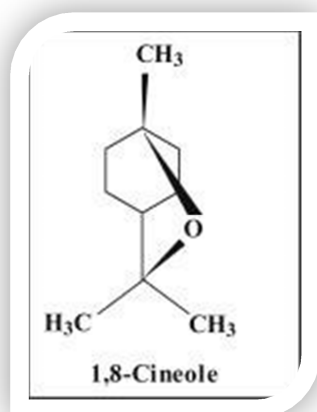
Το αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου, το οποίο είναι γνωστό και ως ευκαλυπτέλαιο, χαρακτηρίζεται από ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων, όπως οι αντιμυκητιακές, αντιμικροβιακές, αντιβακτηριακές, αντιπυρετικές, αντικές, αντισηπτικές, επουλωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αποχρεμπτικές, απολυμαντικές, αποσμητικές, ανθελμινθικές και αναλγητικές ιδιότητες. Ακόμη, έχει αναφερθεί ότι διαθέτει βιολογική δραστικότητα ως εντομοαπωθητικό, εντομοκτόνο, παρασιτοκτόνο, ζιζανιοκτόνο και ακαρεοκτόνο (Batish et al., 2008). Έχει θετική επίδραση στον πυρετό, την πνευμονική φυματίωση, τη γρίπη, τον βήχα, σε νευραλγικούς και μυϊκούς πόνους, στο άσθμα, τη ρευματοειδή αρθρίτιδα και άλλους ρευματισμούς, στην αντισηψία, σε λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, τη ρινική συμφόρηση και τον πονόλαιμο, στον κοκίτη, τον διαβήτη, την κεφαλαλγία, την ιγμορίτιδα, σε φλεγμονώδεις παθήσεις του αναπνευστικού, στην ελονοσία, την αιμορραγία των ούλων, την πυρετώδη διάρροια, και ως διεγερτικό της όρεξης, καθώς διεγείρει την παραγωγή γαστρικών υγρών και σιέλου (Silva et al., 2003; Blaschek et al., 2007; Goodger et al., 2007).

Το αιθέριο έλαιο του *E. globulus* έχει έντονο άρωμα καμφοράς και χλόης. Συχνά συνδυάζεται με άλλα αιθέρια έλαια όπως του μάραθου, της μέντας, του πεύκου, της λεβάντας, της καλέντουλας, της μαντζουράνας, του πορτοκαλιού και του περγαμόντου. Ακόμη μπορεί να συνδυαστεί με άλλα δραστικά συστατικά όπως η θυμόλη, η καμφορά, η μενθόλη και ο σαλικυλικός μεθυλεστερας. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτεί η χρήση αλλά και η δοσολογία του, καθώς μπορεί να ερεθίσει το αναπνευστικό σύστημα (εάν αυτό είναι ήδη ευαίσθητο) και τα νεφρά. Η επαφή του αδιάλυτου αιθερίου ελαίου με το δέρμα πρέπει ν' αποφεύγεται, καθώς υπάρχει πιθανότητα να παρουσιαστούν δερματοπάθειες. Παρ' όλα αυτά, όταν διαλύεται σε κάποιο άλλο έλαιο (π.χ. έλαιο καρύδας), μπορεί να εφαρμοσθεί στο δέρμα, ενώ απορροφάται ικανοποιητικά από αυτό. Μάλιστα μπορεί να λειτουργήσει ως φυσικό αντιηλιακό. Χρησιμοποιείται επίσης σε παστίλιες για τον βήχα ως ενισχυτικός παράγοντας γεύσης, σε προϊόντα στοματικής υγιεινής, όπως τα στοματικά διαλύματα και οι οδοντόκρεμες και σε αρώματα (Blaschek et al., 2007).

Όσον αφορά την τοξικότητά του, ο FDA (Food and Drug Authority) το έχει κατατάξει ως μη τοξικό στην κατηγορία GRAS (Generally Regarded as Safe), ενώ

στην Ευρώπη έχει πάρει έγκριση ως αρτύματα σε τρόφιμα, με μέγιστα επιτρεπτά όρια  $\leq 5$  mg/kg και σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής, με μέγιστα επιτρεπτά όρια  $\leq 15$  mg/kg.

Τα βασικά συστατικά που περιέχει το αιθέριο έλαιο των φύλλων του φυτού *E. globulus* είναι η 1,8-κινεόλη (1,8-cineole) ή ευκαλυπτόλη, η οποία ανήκει στα οξυγονωμένα τερπένια, η βορνεόλη, η σπαθουλενόλη, η βιριδιφλορόλη και η γλοβουλόλη, οι οποίες ανήκουν στα οξυγονωμένα σесκιτερπένια και το  $\alpha$ -πινένιο, το  $\pi$ -κυμένιο και το λεμονένιο, τα οποία ανήκουν στους μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες. Η ευκαλυπτόλη αποτελεί το 70% του συνολικού αιθέριου ελαίου. Η ευκαλυπτόλη (Εικ. 1.15.) σε θερμοκρασία δωματίου είναι υγρή, ενώ σε θερμοκρασία χαμηλότερη 0°C στερεοποιείται (Elaiissi et al., 2011; Kumar et al., 2012; Samuelsson, 1996).



**Εικόνα 1.15.** 1,8-κινεόλη ή ευκαλυπτόλη

(Tripathi & Mishra, 2016)

#### 1.7.7. Το αιθέριο έλαιο του *E. globulus* ως φυτοπροστατευτικό

Ως ένα φυσικό και ακίνδυνο για το περιβάλλον προϊόν, το αιθέριο έλαιο του *E. globulus* θα μπορούσε να δράσει ως φυσικό φυτοφάρμακο ενάντια σε έντομα, νηματώδεις, ακάρεα, και ζιζάνια. Επί παραδείγματι, οι Oluma and Garba (2004) αναφέρουν ότι παρεμποδίζει τη βλάστηση σπορίων του μύκητα *Pythium aphanidermatum* και οι Takahashi et al. (2004) του μύκητα *Trichophyton mentagrophytes*. Οι τελευταίοι ερευνητές αναφέρουν ακόμη ότι το είδος *E. globulus*

παρεμποδίζει την ανάπτυξη θετικών κατά Gram βακτηρίων όπως είναι τα *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Alicyclobacillus acidoterrestris* και *Propionibacterium acnes*, ενώ οι Cimanga et al. (2002) υποστηρίζουν ότι μπορεί να δράσει και ενάντια στο βακτήριο *Pseudomonas aeruginosa*. Σύμφωνα με τους Chagas et al. (2002) το αιθέριο έλαιο του *E. globulus* μπορεί να δράσει και ως βιοκτόνο ενάντια στο τσιμπούρι *Boophilus microplus*.

Όσον αφορά την εντομοκτόνο δράση του αιθέριου ελαίου του *E. globulus*, οι Kumar et al. (2012) μελέτησαν την δράση του εναντίον προνυμφών και νυμφών της οικιακής μύγας *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Το αιθέριο έλαιο εφαρμόστηκε ως εντομοκτόνο επαφής και ως υποκαπνιστικό. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ως εντομοκτόνο επαφής επιτεύχθηκε 50% θνησιμότητα των προνυμφών 1.7 - 6.0 ημέρες μετά την εφαρμογή σε δόση 2.73 και 0.60  $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ . Ως υποκαπνιστικό, το 50% της θνησιμότητας των προνυμφών επιτεύχθηκε με συγκεντρώσεις 66.1 και 50.1  $\mu\text{l}/\text{l}$  εντός 24 και 48 ωρών, αντίστοιχα. Τα ποσοστά θνησιμότητας για τις προνύμφες ήταν 36.0 – 93.0% όταν εφαρμόστηκε ως εντομοκτόνο επαφής, ενώ έφθασαν το 67.9 – 100% με την εφαρμογή ως υποκαπνιστικό εντομοκτόνο. Στην τοξικότητα του *E. globulus* εναντίον του ίδιου εντόμου αναφέρονται και οι Abdel and Morsy (2005). Επιπλέον, οι Yang et al. (2004) μελέτησαν την εντομοκτόνο δράση του αιθέριου ελαίου του *E. globulus* εναντίον του εντόμου *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae), ενώ η δράση του αιθέριου ελαίου συγκρίθηκε με αυτή των  $\delta$ -phenothrin και του pyrethrum. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το έλαιο από τα φύλλα του ευκαλύπτου ήταν αποτελεσματικότερα από τις άλλες δύο ουσίες. Ακόμη, οι Papachristos and Stamopoulos (2004) μελέτησαν την τοξικότητα του *E. globulus* σε ωά του είδους *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) και βρήκαν ότι είναι αποτελεσματικά σε συγκεντρώσεις 1.3 αι 35.1  $\text{ml}/\text{l}$  αέρα, ενώ ταυτόχρονα επιτεύχθηκε αυξημένη θνησιμότητα των προνυμφών. Τέλος, οι Gupta et al. (2011) μελέτησαν την αποτελεσματικότητα αιθέριων ελαίων από έξι διαφορετικά φυτικά είδη, *Mentha arvensis*, *Carum capticum*, *Cymbopogon citrates*, *Eugenia caryophyllata*, *Cedrus deodara* και *E. globulus*, ενάντια στους νηματώδεις του είδους *M. incognita*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο του *E. globulus* ήταν το πιο αποτελεσματικό εναντίον των προνυμφών 2<sup>ου</sup> σταδίου.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup> ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 2.1. Σκοπός της Εργασίας

Ο σκοπός του παρόντος πειράματος ήταν η μελέτη της επίδρασης του αιθέριου ελαίου του *Eucalyptus globulus* στο αναπαραγωγικό δυναμικό του φυτοπαρασιτικού νηματώδη *Meloidogyne javanica*.

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αυξανόμενο ενδιαφέρον για την εύρεση μη χημικών μεθόδων αντιμετώπισης νηματωδών. Γνωρίζοντας αυτό, υποκινήθηκε το ενδιαφέρον για την ενασχόληση και την πραγματοποίηση αυτής της μελέτης. Πιο συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε η μελέτη της επίδρασης του αιθέριου ελαίου του *E. globulus* σε φυτά τομάτας ποικιλίας Belladonna, τεχνητά μολυσμένα από νηματώδεις του είδους *Meloidogyne javanica* και αξιολογήθηκε ο πληθυσμός των νηματωδών πριν και μετά το πέρας των επεμβάσεων καθώς και η ανάπτυξη του φυτού.

### 2.2 Υλικά και Μέθοδοι

#### A. ΥΛΙΚΑ

- Σπορόφυτα τομάτας (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Belladonna)
- Αρχικός πληθυσμός *Meloidogyne javanica*
- Θάλαμος ελεγχόμενων συνθηκών
- Αποστειρωμένο φυτόχωμα εμπορίου
- Διαφανή πλαστικά ποτήρια 300ml
- Πλαστική μεμβράνη εμπορίου
- Ειδικό τρυβλίο καταμέτρησης νηματωδών
- Λαβίδες, πιπέτες, υδροβολείς, ογκομετρικοί κύλινδροι
- Πλαστικά δοχεία όγκου 30L
- Ζυγός ακριβείας
- Στερεοσκόπιο
- Κόσκινα (No1:  $\varnothing$  630 $\mu$ m, No2:  $\varnothing$  150 $\mu$ m και No3:  $\varnothing$  56 $\mu$ m)
- Υάλινα χωνιά
- Διηθητικά χαρτομάντιλα.

## **B. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

### **2.3 Στήσιμο πειράματος, Εφαρμογές και Μολύνσεις**

- ✚ Ο πληθυσμός *Meloidogyne javanica* που χρησιμοποιήθηκε στις δοκιμές διατηρείται στο Εργαστήριο Φυτοπροστασίας του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Πατρών στην περιοχή της Αμαλιάδας.
- ✚ Από τις ρίζες προσβεβλημένων σποροφύτων τομάτας, ποικιλίας Belladona, συλλέχθηκαν ωόσακοι *M. javanica* για τους οποίους εκτιμήθηκε ότι περιείχαν περίπου 500 ωά ο καθένας (Εικ. 2.1).
- ✚ Για την διεξαγωγή των δοκιμών, αποστειρωμένο φυτόχωμα εμπορίου τοποθετήθηκε σε 25 διαφανή πλαστικά ποτήρια των 300 ml, σε καθένα από τα οποία προστέθηκαν 4 ωόσακοι (~2000 J2).



**Εικόνα 2.1.** Απομονωμένοι ωόσακοι *Meloidogyne javanica* πάνω σε τμήμα ρίζας.

- ✚ Ακολούθησαν εφαρμογές του αιθέριου ελαίου *Eucalyptus globulus* σε 3 διαφορετικές δόσεις (7,5μl, 15μl και 30μl) στα 15 από τα 25 φυτά. Επιπλέον τα άλλα 5 μολύνθηκαν μόνο με νηματώδεις και χωρίς εφαρμογή αιθέριου ελαίου.
- ✚ Ύστερα ποτίστηκαν και τέλος τοποθετήθηκε μεμβράνη εμπορίου στα ποτήρια ώστε να εγκλωβιστούν οι ατμοί του αιθέριου ελαίου. Έπειτα από δύο μέρες πραγματοποιήθηκε μεταφύτευση των φυτών τομάτας στα ποτήρια. 5 σπορόφυτα παρέμειναν αμόλυντα και χωρίς μεταχείριση με αιθέριο έλαιο και

αποτελέσαν τους υγιείς μάρτυρες (Mock), 5 φυτά που μολύνθηκαν με νηματώδεις δεν δέχτηκαν επέμβαση με αιθέριο έλαιο και αποτέλεσαν τους θετικούς μάρτυρες και τα υπόλοιπα 15 που μολύνθηκαν με νηματώδεις, δέχτηκαν τις εφαρμογές με τις τρεις δόσεις του αιθερίου ελαίου *Eucalyptus globulus* (5 φυτά για κάθε δόση).

- ✚ Τέλος, και τα 25 σπορόφυτα τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών στους 26°C με 80% υγρασία και ανά δύο ημέρες περίπου ποτίζονταν.
- ✚ Τα φυτά παρέμειναν στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών μέχρι την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου του νηματώδη και την εναπόθεση ωών. Καθ' όλη τη διάρκεια ανάπτυξης των φυτών, παρέχονταν οι απαραίτητες καλλιεργητικές φροντίδες: άρδευση, λίπανση, αφαίρεση νεκρών φύλλων, υποστρώσεις κλπ.
- ✚ Με την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου του νηματώδη, έγινε η προετοιμασία των φυτών για μέτρηση και καταγραφή των αποτελεσμάτων.



**Εικόνα 2.2.** Πειραματόφυτα στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών.

### 2.3. Απομόνωση Νηματωδών από το υπόστρωμα

- ✚ Τα φυτά παρέμειναν στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών συνολικά 40 ημέρες. Κατόπιν έγινε η μεταφορά των φυτών στο εργαστήριο και μετά την αφαίρεση των διάφανων δοχείων, τοποθετήθηκαν σε κουβάδες με νερό, χωρητικότητας 30 λίτρων. Εκεί αφέθηκαν για αρκετή ώρα, μέχρι να μαλακώσει το φυτόχωμα και να διευκολύνεται η απελευθέρωση της ρίζας χωρίς να καταστραφεί.
- ✚ Οι ρίζες ξεπλύθηκαν με τρεχούμενο νερό βρύσης, με απαλές κινήσεις για να μην κοπούν. Ακολούθησε διαχωρισμός του υπέργειου από το υπόγειο τμήμα των φυτών.
- ✚ Το υπέργειο τμήμα κάθε φυτού μετρήθηκε ως προς το νωπό του βάρος και στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε ξηρό κλίβανο στους 50°C για την αποξήρανσή του, μετά την οποία ζυγίστηκε το ξηρό βάρος.
- ✚ Το υπόγειο τμήμα ζυγίστηκε και ακολούθησε η διαδικασία απομόνωσης των νηματωδών για καταμέτρηση του πληθυσμού, με μια τροποποίηση της μεθόδου Baermann.
- ✚ Όλο το περιεχόμενο των πλαστικών δοχείων στα οποία είχαν ξεπλυθεί οι ρίζες των πειραματόφυτων, αναδεύεται καλά και με προσοχή διαλύουμε με τα δάχτυλά μας όλα τα συσσωματώματα στα οποία μπορεί να υπάρχουν παγιδευμένοι νηματώδεις, εξαιτίας της αυξημένης περιεκτικότητάς τους σε υγρασία.
- ✚ Το αιώρημα (που περιείχε και τους νηματώδεις) αφήνεται σε ηρεμία για λίγα δευτερόλεπτα από 5-10 ώστε να κατακαθίσουν τα βαριά υλικά και στη συνέχεια ρίχνεται μέσω κόσκινου (**κόσκινο No 1**) με διάμετρο πόρων 630μm σε δεύτερο δοχείο (δεν χρειάζεται να αδειάσουμε τα βαριά υλικά που έχουν κατακαθίσει) (**Εικ.2.3Α**)
- ✚ Τα υλικά που έχουν συλλεχθεί στο κόσκινο 1 απορρίπτονται, ενώ το αιώρημα του 2<sup>ου</sup> δοχείου περνά μέσα από το δεύτερο κόσκινο με διάμετρο πόρων 150μm σε τρίτο πλαστικό δοχείο.

- ✚ Τα υλικά που έχουν συλλεχθεί στο κόσκινο 2 απορρίπτονται και το αιώρημα του 3<sup>ου</sup> δοχείου περνά μέσα από το τρίτο κόσκινο με διάμετρο πόρων 56μm.
- ✚ Τα υλικά (και οι νηματώδεις) που συλλέγονται στο 3<sup>ο</sup> κόσκινο μεταφέρονται προσεκτικά σε ποτήρι ζέσεως (**Εικ.2.3B,Γ**) και στη συνέχεια εντός υάλινου χωνιού διαμέτρου 10-15εκ. (**Εικ.2.3Δ**) που έχει προετοιμαστεί ως εξής:
  - ✓ Στο σωληνωτό του τμήμα προσαρμόζεται κομμάτι λάστιχου από σιλικόνη μήκους 10εκ. περίπου, στο άκρο του οποίου μπαίνει ειδικός σφιγκτήρας που κλείνει το χωνί υδατοστεγώς (**Εικ. 2.4**).
  - ✓ Στην άνω επιφάνεια του χωνιού τοποθετείται δικτυωτό πλέγμα, επί του οποίου τοποθετείται ειδικό για την απομόνωση νηματωδών διηθητικό χαρτομάντιλο. Το αιώρημα με τους νηματώδεις μεταφέρεται εντός του χωνιού, μέσω χαρτομάντιλου, ενώ το νερό αφήνεται να στραγγίσει.
  - ✓ Το λάστιχο σιλικόνης κλείνει με τον σφιγκτήρα, το χαρτομάντιλο διπλώνεται ώστε να μην είναι δυνατή η διαφυγή του περιεχομένου του και το χωνί πληρούνται με καθαρό νερό μέχρι να καλυφθεί το χαρτομάντιλο.
  - ✓ Το όλο σύστημα αφήνεται σε ηρεμία για διάστημα 48 ωρών, κατά τη διάρκεια του οποίου οι κινητές μορφές των νηματωδών διαπερνούν το χαρτομάντιλο ενεργητικά και τελικά κατακάθονται στο κάτω άκρο του λάστιχου, απ' όπου γίνεται η παραλαβή τους. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι τα ωά, οι δυσκίνητες σε φάση έκδυσης προνύμφες, οι κύστες καθώς και οι νεκροί νηματώδεις δε μπορούν να διαπεράσουν τους πόρους του χαρτομάντιλου, οπότε αυτό φέρει ως αποτέλεσμα να μην ανιχνεύονται με αυτή τη μέθοδο.



Εικόνα 2.3 Διαδικασία απομόνωσης και συλλογής από υπόστρωμα.



Εικόνα 2.4. Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης συλλογής νηματωδών με τη μέθοδο Baermann.

## 2.4. Μετρήσεις

### ✚ ΝΩΠΟ ΒΑΡΟΣ ΡΙΖΑΣ

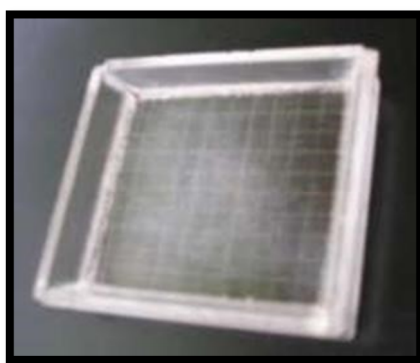
Για τις μετρήσεις του νωπού βάρους χρησιμοποιήθηκε ζυγός ακριβείας. Οι ρίζες στραγγίζονταν σε χαρτί κουζίνας, ζυγίζονταν, καταγράφονταν το νωπό τους



βάρος και στη συνέχεια φυλάσσονταν στους 4°C τυλιγμένες με νωπό χαρτί κουζίνας, μέχρι να γίνει η καταμέτρηση των φυματίων (εξογκώματα προσαρτημένα στις ρίζες) και των ωόσακων.

#### **✚ ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ**

Για την καταμέτρηση των ελεύθερων νηματωδών, από τα χωνιά τύπου Baermann λαμβάνονταν δείγμα σε γυάλινα φιαλίδια των 10ml, το οποίο μεταφερόταν στο ειδικό τρυβλίο καταμέτρησης (counting dish) (Εικ.2.5) απ' όπου με τη χρήση στερεοσκοπίου γινόταν η καταμέτρηση των νηματωδών.



**Εικόνα 2.5.** Τρυβλίο καταμέτρησης νηματωδών.

#### **✚ ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΩΟΣΑΚΩΝ ΑΠΟ ΤΙΣ ΡΙΖΕΣ**

- ✓ Πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια στερεοσκοπίου.

#### **✚ ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΩΩΝ ΑΠΟ ΤΙΣ ΡΙΖΕΣ**

Από κάθε ρίζα απομονώθηκαν τυχαία 10 ωόσακοι οι οποίοι τοποθετήθηκαν σε σωληνάριο που περιείχε 10ml διαλύματος NaOCl 1% (2ml χλωρίνη εμπορίου + 8ml H<sub>2</sub>O) και αναδεύτηκαν για 4-5 λεπτά, οπότε το ζελατινώδες περίβλημα του ωόσακου διαλύοταν και απελευθερώνονταν τα ωά. Η καταμέτρηση των ωών έγινε με το τρυβλίο καταμέτρησης στο στερεοσκόπιο.

### **2.5. Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων**

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα IBM SPSS Statistics, με το οποίο ελέγχθηκε εάν παρατηρούνταν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων και με το Excel.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup> ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων σε πίνακες όπου Control: θετικός μάρτυρας (φυτά με νηματώδεις), Mock: υγιή φυτά και D7,5, D15, D30 φυτά στα οποία έγινε η εφαρμογή 7,5μl, 15μl, 30μl αιθέριου ελαίου *Eucalyptus globulus*.

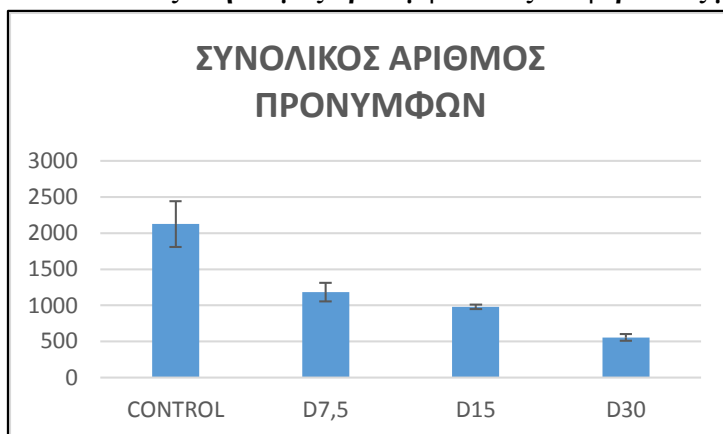
Πίνακας 3.1α: Συνολικός αριθμός προνυμφών ανά πειραματόφυτο τομάτας.

ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ				
	CONTROL	D7,5	D15	D30
	1788	1104	984	658
	1710	1140	869	599
	2922	1640	1012	634
	1370	840	983	391
	2838	1191	1048	494
average	2125,6	1183	979,2	555,2
stdev	706,9998586	289,2455704	67,06489395	111,1337033
se	316,1799488	129,3545515	29,99233235	49,70050302

Πίνακας 3.1β: Σύγκριση συνολικού αριθμού προνυμφών στο υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών. Η θέση των X σε διαφορετικές στήλες υποδηλώνει την ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικών διαφορών.

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
D30	5	555,2	X
D15	5	979,2	XX
D75	5	1183,0	X
CONTROL	5	2125,6	X

Διάγραμμα 3.1: Συνολικός πληθυσμός προνυμφών στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.



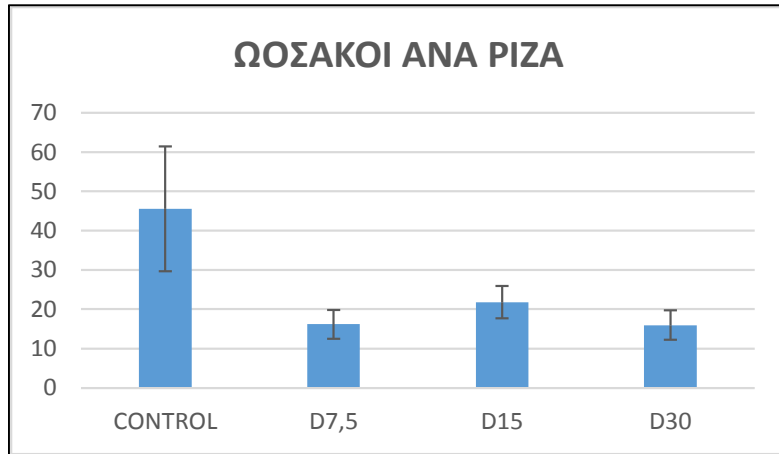
**Πίνακας 3.2α:**  
Καταμέτρηση  
ση  
ωόσακων /  
ρίζα στις  
διαφορετικ  
ές  
μεταχειρίσε  
ις.

ΩΟΣΑΚΟΙ ANA ΡΙΖΑ				
	CONTROL	D7,5	D15	D30
	20	12	25	27
	42	20	27	13
	13	5	29	18
	50	17	6	4
	103	27	22	18
average	45,6	16,2	21,8	16
stdev	35,51478565	8,288546314	9,203260292	8,396427812
Se	15,88269499	3,706750599	4,115823125	3,754996671

**Πίνακας 3.2β:** Απεικόνιση διαφορών μέσου όρου πλήθους ωόσακων / ρίζα. Η θέση των X σε διαφορετικές στήλες υποδηλώνει την ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικών διαφορών.

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
D30	5	16,0	X
D75	5	16,2	X
D15	5	21,8	XX
CONTROL	5	45,6	X

**Διάγραμμα 3.2:** Πλήθος ωόσακων / ρίζα στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.



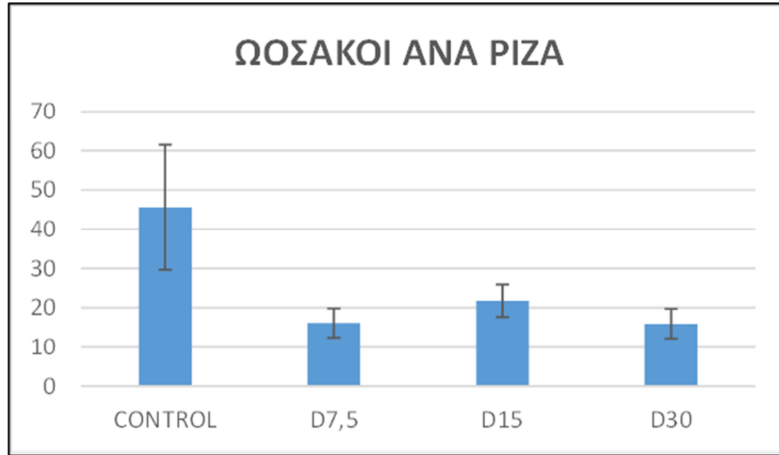
Πίνακας 3.3α : Σύνολο ωών/ωόσακο στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.

		ΩΑ/ΩΟΣΑΚΟ			
		CONTROL	D7,5	D15	D30
		33	50	144	166
		145	150	184	100
		340	22	188	96
		345	170	93	90
		266	96	108	168
average		225,8	97,6	143,4	124
stdev		134,6911281	63,18860657	43,10220412	39,42080669
Se		60,2357037	28,25880394	19,27589168	17,6295207

Πίνακας 3.3β: Απεικόνιση διαφορών μέσου όρου πλήθους ωών / ωόσακο. Η θέση των X σε διαφορετικές στήλες υποδηλώνει την ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικών διαφορών.

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
D75	5	97,6	X
D30	5	124,0	XX
D15	5	143,4	XX
CONTROL	5	225,8	X

**Διάγραμμα 3.3: Πλήθος ωών / ωόσακο στις διαφορετικές μεταχειρίσεις**



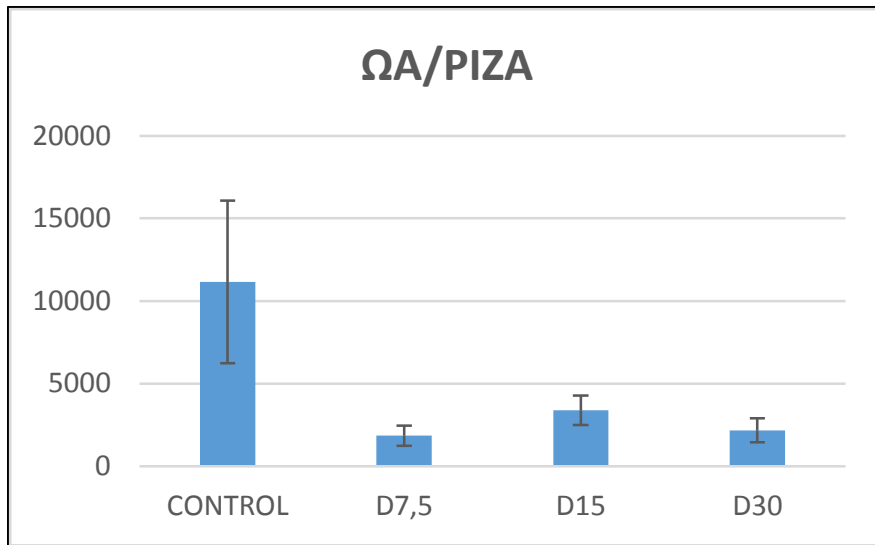
**Πίνακας 3.4α: Σύνολο ωών/ρίζα στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.**

	ΩΑ/ΡΙΖΑ			
	CONTROL	D7,5	D15	D30
	660	600	3600	4482
	6090	3000	4968	1300
	4420	110	5452	1728
	17250	2890	558	360
	27390	2592	2376	3024
average	11162	1838,4	3390,8	2178,8
stdev	10975,9223	1373,32545	1989,62589	1604,88604
Se	4908,58167	614,169814	889,78775	717,726856

**Πίνακας 3.4β: Απεικόνιση διαφορών μέσου όρου πλήθους ωών / ρίζα. Η θέση των X σε διαφορετικές στήλες υποδηλώνει την ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικών διαφορών.**

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
D75	5	1838,4	X
D30	5	2178,8	X
D15	5	3390,8	X
CONTROL	5	11162,0	X

Διάγραμμα 3.4: Πλήθος ωών / ρίζα στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.



Πίνακας 3.5α: Συνολικός πληθυσμός / ριζικό σύστημα στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.

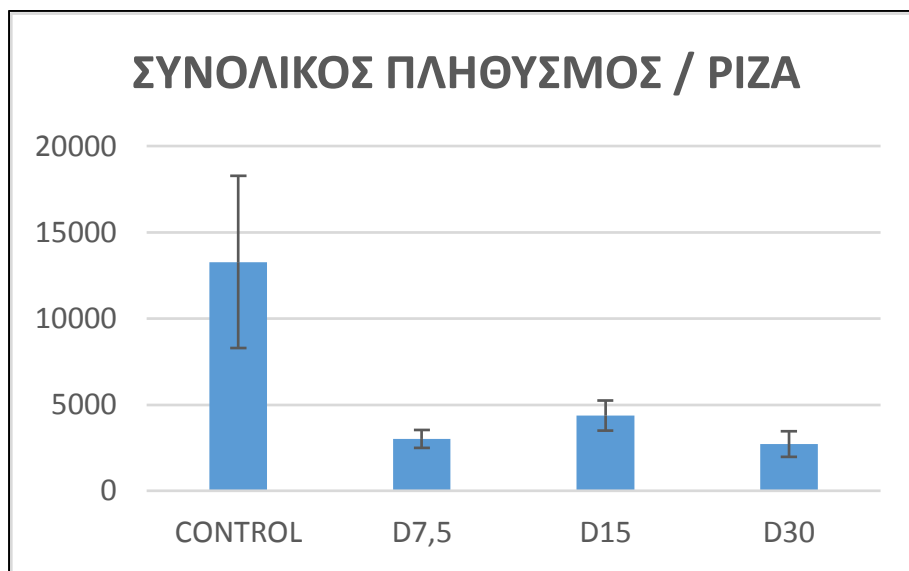
ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ / ΡΙΖΑ				
	CONTROL	D7,5	D15	D30
	2448	1704	4584	5140
	7800	4140	5837	1899
	7342	1750	6464	2362
	18620	3730	1541	751
	30228	3783	3424	3518
average	13287,6	3021,4	4370	2734
stdev	11162,1289	1192,20544	1967,28735	1671,18147
se	4991,85578	533,170479	879,797647	747,375073

Πίνακας 3.5β: Απεικόνιση διαφορών μέσου όρου συνολικού πληθυσμού / ριζικό σύστημα. Η θέση των X σε διαφορετικές στήλες υποδηλώνει την ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικών διαφορών.

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
D30	5	2734,0	X
D75	5	3021,4	X
D15	5	4370,0	X
CONTROL	5	13287,6	X



Διάγραμμα 3.5: Συνολικός πληθυσμός / ριζικό σύστημα στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.



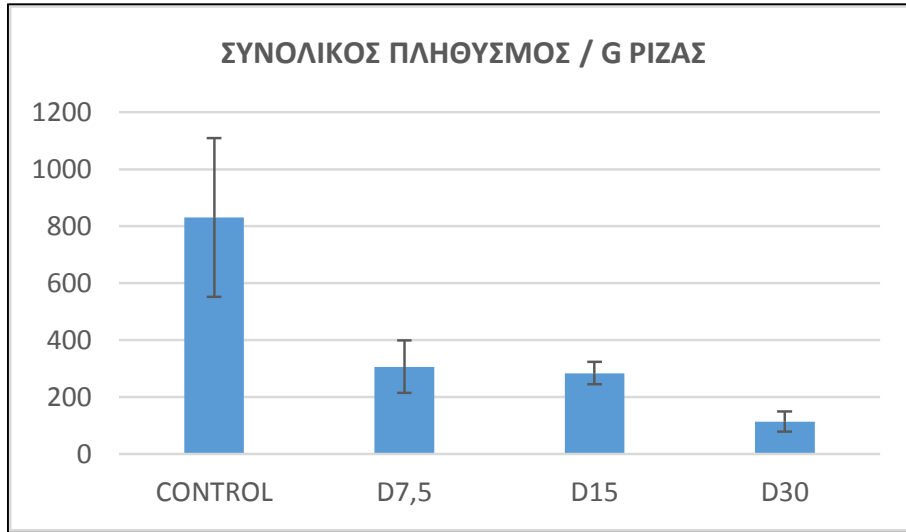
Πίνακας 3.6α: Συνολικός πληθυσμός / g ρίζας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.

ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ / G ΡΙΖΑΣ				
	CONTROL	D7,5	D15	D30
	43,0152873	109,1607944	410,7526882	240,0747314
	429,0429043	353,8461538	197,1959459	79,55592794
	1005,753425	105,2948255	318,4236453	97,48245976
	1008,121278	365,6862745	289,6616541	24,28063369
	1667,291782	595,7480315	203,2047478	128,1136198
average	830,6449351	305,9472159	283,8477363	113,9014745
stdev	621,2454093	205,4469844	88,5239887	80,00433045
se	277,8293932	91,87868457	39,58913128	35,77902427

Πίνακας 3.6β: Απεικόνιση διαφορών μέσου όρου συνολικού πληθυσμού / g ρίζας. Η θέση των X σε διαφορετικές στήλες υποδηλώνει την ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικών διαφορών.

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
D30	5	113,901	X
D15	5	283,848	X
D75	5	305,947	X
CONTROL	5	830,645	X

**Διάγραμμα 3.6:** Συνολικός πληθυσμός / g ρίζας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.



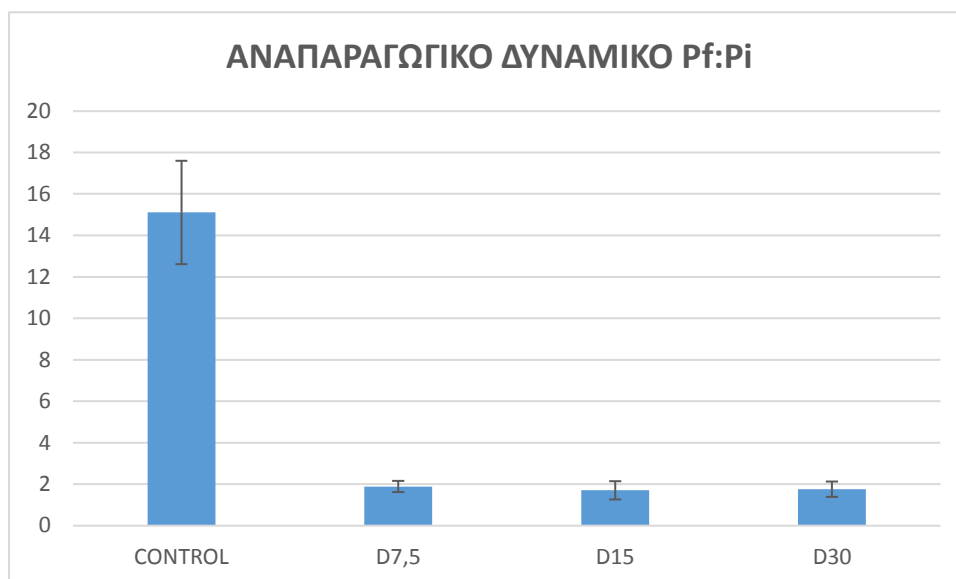
**Πίνακας 3.7α:** Αναπαραγωγικό δυναμικό Pf:Pi πληθυσμού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις (Pf: ο τελικός πληθυσμός και Pi: ο αρχικός).

ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ Pf:Pi				
	CONTROL	D7,5	D15	D30
	1,224	0,852	2,292	2,57
	3,9	2,07	2,9185	0,9495
	3,671	0,875	3,232	1,181
	9,31	1,865	0,7705	0,3755
	15,114	1,8915	1,712	1,759
average	6,6438	1,5107	2,185	1,367
stdev	5,581064433	0,596102718	0,983643673	0,835590734
se	2,495927892	0,26658524	0,439898824	0,373687537

**Πίνακας 3.7β:** Απεικόνιση διαφορών αναπαραγωγικού δυναμικού Pf:Pi πληθυσμών. Η θέση των X σε διαφορετικές στήλες υποδηλώνει την ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικών διαφορών.

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
D30	5	1,367	X
D75	5	1,5107	X
D15	5	2,185	X
CONTROL	5	6,6438	X

**Διάγραμμα 3.7: Αναπαραγωγικό δυναμικό Pf:Pi πληθυσμού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις (Pf: ο τελικός πληθυσμός και Pi: ο αρχικός).**



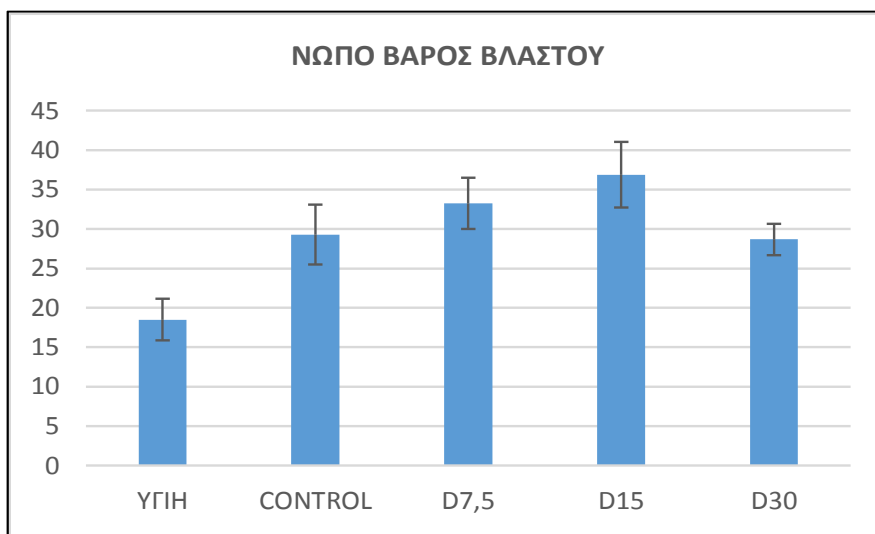
**Πίνακας 3.8α: Νωπού βάρους (g) βλαστού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.**

ΝΩΠΟ ΒΑΡΟΣ ΒΛΑΣΤΟΥ					
ΥΓΗΗ	CONTROL	D7,5	D15	D30	
	17,72	43,81	42,63	31,25	32,08
	9,98	25,85	25,11	44,01	29,42
	16,76	22,36	37,55	47,4	31,76
	23,33	29,12	34,03	24,45	29,08
	24,74	25,33	26,96	37,3	21,02
average	18,506	29,294	33,256	36,882	28,672
stdev	5,8841465	8,461668275	7,295654871	9,325844198	4,484118642
se	2,63147031	3,784173093	3,262716046	4,170644315	2,005358821

**Πίνακας 3.8β: Απεικόνιση διαφορών μέσω των όρων νωπού βάρους (g) βλαστού. Η θέση των X σε διαφορετικές στήλες υποδηλώνει την ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικών διαφορών.**

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
MOCK	5	18,506	X
D30	5	28,672	X
CONTROL	5	29,294	X
D75	5	33,256	X
D15	5	36,882	X

Διάγραμμα 3.8: Νωπό βάρος βλαστού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.



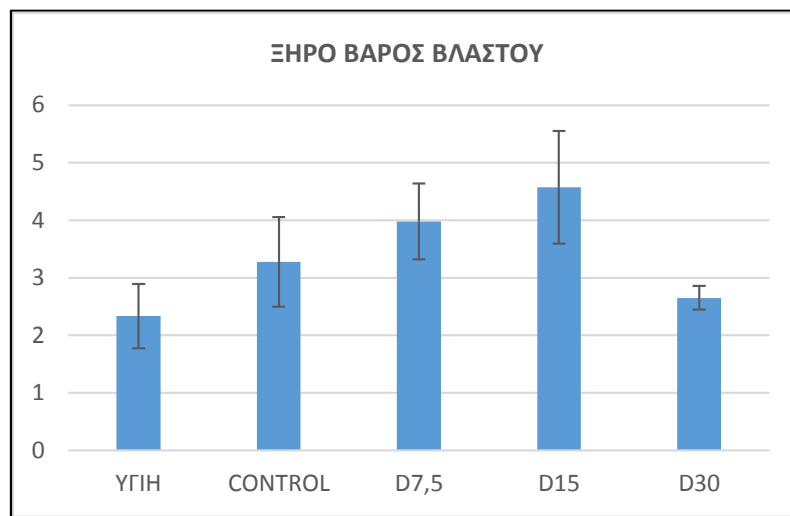
Πίνακας 3.9α : Μετρήσεις ξηρού βάρους βλαστού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.

ΞΗΡΟ ΒΑΡΟΣ ΒΛΑΣΤΟΥ					
	YΓΙΗ	CONTROL	D7,5	D15	D30
	1,82	6,37	6,39	2,85	2,97
	0,67	2,83	2,73	6,54	2,36
	2,05	2,18	4,15	7,21	3,25
	3,29	2,51	3,72	2,33	2,58
	3,84	2,49	2,91	3,92	2,09
average	2,334	3,276	3,98	4,57	2,65
stdev	1,25456367	1,744815176	1,467310465	2,193684116	0,465026881
se	0,56105793	0,780305069	0,656201189	0,981045361	0,207966343

Πίνακας 3.9β: Απεικόνιση διαφορών μέσω των όρων ξηρού βάρους (g) βλαστού. Η θέση των X σε διαφορετικές στήλες υποδηλώνει την ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικών διαφορών.

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
MOCK	5	2,334	X
D30	5	2,65	XX
CONTROL	5	3,276	XX
D75	5	3,98	XX
D15	5	4,57	X

Διάγραμμα 3.9: Ξηρό βάρος βλαστού στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.



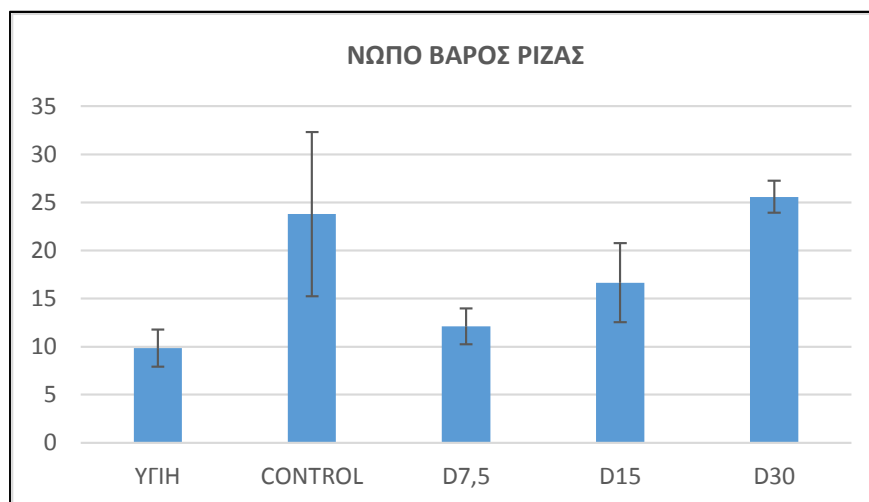
ΝΩΠΟ ΒΑΡΟΣ ΡΙΖΑΣ					
	ΥΓΙΗ	CONTROL	D7,5	D15	D30
	9,45	56,91	15,61	11,16	21,41
	5,22	18,18	11,7	29,6	23,87
	15,05	7,3	16,62	20,3	24,23
	13,33	18,47	10,2	5,32	30,93
	6,21	18,13	6,35	16,85	27,46
average	9,852	23,798	12,096	16,646	25,58
stdev	4,301071959	19,10931893	4,170818864	9,213765788	3,684168834
se	1,923497855	8,545947227	1,865246901	4,120521326	1,647610391

Πίνακας 3.10α : Μετρήσεις νωπού βάρους ρίζας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.

**Πίνακας 3.10β: Απεικόνιση διαφορών μέσω όρων μετρήσεων νωπού βάρους (g) ρίζας. Η θέση των X σε διαφορετικές στήλες υποδηλώνει την ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικών διαφορών.**

Multiple Range Tests			
Method: 95,0 percent LSD			
	Count	Mean	Homogeneous Groups
MOCK	5	9,852	X
D75	5	12,096	XX
D15	5	16,646	XXX
CONTROL	5	23,798	XX
D30	5	25,58	X

**Διάγραμμα 3.10: Νωπό βάρος ρίζας στις διαφορετικές μεταχειρίσεις.**



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup> ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ως προς τον συνολικό αριθμό προνυμφών στο υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών, διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όλων των επεμβάσεων σε σχέση με τους μάρτυρες. Η υψηλότερη δόση εμφάνισε τον χαμηλότερο συνολικό αριθμό, ενώ δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο χαμηλότερων.

Ως προς το πλήθος ωόσακων ανά ρίζα, διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλες τις εφαρμογές σε σχέση με τον μάρτυρα.



Ως προς τον αριθμό ωών ανά ωόσακο, όλες οι εφαρμογές παρουσίασαν μείωση σε σχέση με το μάρτυρα, αν και οι διαφορές αυτές δεν αποτυπώθηκαν με στατιστική σημαντικότητα εκτός από τη δόση D7.5.

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντικός χαμηλότερος αριθμός ωών ανά ρίζα μεταξύ των δόσεων D7.5, D15, D30 και του μάρτυρα.

Ως προς τον συνολικό πληθυσμό ανά ρίζα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση μεταξύ όλων των δόσεων D7.5, D15, D30 και του μάρτυρα, ενώ δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των διαφορετικών δόσεων. Η ίδια εικόνα παρατηρείται και στον πληθυσμό νηματώδων ανά γραμμάριο ρίζας.

Ιδιαίτερα μεγάλης σημασίας είναι το γεγονός ότι το αναπαραγωγικό δυναμικό στις μεταχειρίσεις με τις τρεις δόσεις του αιθέριου ελαίου παρατηρείται πολύ μεγάλη μείωση σε σχέση με τον μάρτυρα, η οποία παρουσιάζει στατιστική σημαντικότητα.

Σε σχέση με την ανάπτυξη των φυτών, δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων, ούτε στα νωπά και ξηρά βάρη, ούτε στο νωπό βάρος της ρίζας. Δυστυχώς σε αυτές τις μετρήσεις όπου συνεκτιμήθηκαν και οι αντίστοιχοι παράμετροι ανάπτυξης αρνητικών μαρτύρων (υγιών φυτών), οι τιμές που καταγράφηκαν ήταν χαμηλότερες για τα υγιή από ότι για τα φυτά που είχαν υποστεί προσβολή από νηματώδεις, κάτι που δεν συνάδει με τα γενικότερα επιστημονικά δεδομένα. Για το λόγο αυτό δεν μπορούν να ληφθούν υπόψη. Το χαμηλότερο βάρος της ρίζας των υγιών φυτών αντικατοπτρίζεται και από χαμηλότερο βάρος του υπέργειου τμήματος και πιθανόν οφείλεται σε κακή ανάπτυξη του ριζικού συστήματος των αρνητικών μαρτύρων εξ αιτίας μη προσδιορισμένων παραγόντων. Επίσης, η «καλύτερη» ανάπτυξη των προσβεβλημένων με νηματώδεις φυτών, δεν θα πρέπει να αποδοθεί στην εφαρμογή του αιθέριου ελαίου, καθώς δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με τους θετικούς μάρτυρες (προσβεβλημένα φυτά όπου δεν εφαρμόστηκαν αιθέρια έλαια).

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα, μπορεί να ειπωθεί ότι το αιθέριο έλαιο *Eucalyptus globulus* φαίνεται να έχει αρνητική επίδραση στο αναπαραγωγικό δυναμικό του φυτοπαρασιτικού νηματώδη *Meloidogyne javanica*, και παρατηρείται συνολικά μείωση των αριθμών ωόσακων ανά ρίζα, ωών ανά ωόσακο, ωών ανά ρίζα και του συνολικό πληθυσμού ανά ρίζα, σε σχέση με τους μάρτυρες. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των διαφορετικών δόσεων που δοκιμάστηκαν.

Σίγουρα για την εξαγωγή πιο σαφών συμπερασμάτων απαιτείται περαιτέρω πειραματισμός, με μεγαλύτερο αριθμό επαναλήψεων και πιθανόν έλεγχο και άλλων χαμηλότερων ή και ενδιάμεσων δόσεων από αυτές που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία. Πάντως φαίνεται ότι το συγκεκριμένο αιθέριο έλαιο αποτελεί ένα υποσχόμενο όπλο στη φαρέτρα των φυτιάτρων για την αντιμετώπιση των φυτοπαρασιτικών νηματωδών, γεγονός που είναι ιδιαίτερα σημαντικό αφού πρόκειται για ένα αιθέριο έλαιο που μπορεί να παραχθεί εύκολα και σε μεγάλες ποσότητες σε σχέση με άλλα αιθέρια έλαια.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup> ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ

### 5.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

Abad, P., Favery, B., Rosso, M. N., Castagnone-Sereno, P. (2003). Root.knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology*, 4(4), 217-224.

- Abdel, A. H., Morsy, T. A. (2005). The insecticidal activity of Eucalyptus globulus oil on the development of *Musca domestica* third stage larvae. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 35(2), 631-636.
- Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., Kaur, S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest ecology and management*, 256 (12), 2166-2174.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>
- Blaschek W., Ebel S., Hilgenfeldt U., Keller K. et al. Hagers Enzyklopädie der Arzneistoffe und Drogen. Eucalyptus; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 2007
- CABI. (2020). *Meloidogyne javanica* (sugarcane eelworm). Retrieved from <https://www.cabi.org/isc/datasheet/33246#toDistributionMaps>.
- Castagnone-Sereno, P. (2002). Genetic variability in parthenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., and their ability to overcome plant resistance genes. *Nematology*, 4(5), 605-608.
- Chagas, A. C. d. S., Passos, W. M., Prates, H. T., Leite, R. C., Furlong, J., Fortes, I. C. P. (2002). Acaricide effect of Eucalyptus spp essential oils and concentrated emulsion on *Boophilus microplus*. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 39(5), 247-253.
- Chandran, D., Wildermuth, M. C. (2016). Chapter Three - Modulation of Host Endocycle During Plant–Biotroph Interactions. In C. Lin S. Luan (Eds.), *The Enzymes* (Vol. 40, pp. 65-103): Academic Press.
- Chitwood, D. J. (2002). Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual review of phytopathology*, 40(1), 221-249.
- Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., . . . Vlietinck, A. J. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(2), 213-220.

- Dorris, M., De Ley, P. & Blaxter, M.L. (1999). Molecular analysis of nematode diversity and the evolution of parasitism. *Parasitology Today* 15(5):188-193.
- Elaissi, A., Salah, K. H., Mabrouk, S., Larbi, K. M., Chemli, R., Harzallah-Skhiri, F. (2011). Antibacterial activity and chemical composition of 20 Eucalyptus species' essential oils. *Food Chemistry*, 129(4), 1427-1434.
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., Scheffer, J. J. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and fragrance journal*, 23(4), 213-226.
- Gupta, A., Sharma, S., Naik, S. N. (2011). Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(5), 703-707. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.11.018>
- Goodger J.Q.D., Connelly C.A., Woodrow I.E. (2007). Examination of the consistency of plant traits driving oil yield and quality in short-rotation coppice cultivation of Eucalyptus polybractea. *Forest Ecology and Management*; 250(3): 196 – 205
- Javed, N., Gowen, S. R., El-Hassan, S. A., Inam-ul-Haq, M., Shahina, F., Pembroke, B. (2008). Efficacy of neem (*Azadirachta indica*) formulations on biology of root-knot nematodes (*Meloidogyne javanica*) on tomato. *Crop Protection*, 27(1), 36-43. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.04.006>
- Katsantonis, D., Hillocks, R. J., Gowen, S. (2003). Comparative effect of root-knot nematode on severity of Verticillium and Fusarium wilt in cotton. *Phytoparasitica*, 31(2), 154-162.
- Kodira, U., Westerdahl, B. (1995). Potato pest management guidelines. *UC Statewide IPM. University of California, Davis, CA.*
- Kumar, D., Maurya, N., Kumar, P., Singh, H., Addy, S. K. (2015). Assessment of germination and carnivorous activities of a nematode-trapping fungus *Arthrobotrys dactyloides* in fungistatic and fungicidal soil environment. *Biological Control*, 82, 76-85. doi:10.1016/j.biocontrol.2014.12.014

- Kumar, P., Mishra, S., Malik, A., Satya, S. (2012). Compositional analysis and insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* (family: Myrtaceae) essential oil against housefly (*Musca domestica*). *Acta tropica*, 122(2), 212-218.
- Lahlou, M., Berrada, R. (2003). Composition and niticidal activity of essential oils of three chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatized in Morocco. *Flavour and fragrance journal*, 18(2), 124-127.
- Lambert, K., Bekal, S. (2002). Introduction to plant-parasitic nematodes. *The plant Health instructor*, 10, 1094-1218.
- Laquale, S., Candido, V., Avato, P., Argentieri, M. P., D'Addabbo, T. (2015). Essential oils as soil biofumigants for the control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. *Annals of Applied Biology*, 167(2), 217-224. doi:10.1111/aab.12221
- Liu, X., Chen, Q., Wang, Z., Xie, L., Xu, Z. (2008). Allelopathic effects of essential oil from *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* on pathogenic fungi and pest insects. *Frontiers of Forestry in China*, 3(2), 232-236.
- Lucia, A., Audino, P. G., Seccacini, E., Licastro, S., Zerba, E., Masuh, H. (2007). Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(3), 299-303.
- Mugniéry, D., Phillips, M. S. (2007). Chapter 26 - The Nematode Parasites of Potato. In D. Vreugdenhil, J. Bradshaw, C. Gebhardt, F. Govers, D. K. L. Mackerron, M. A. Taylor, H. A. Ross (Eds.), *Potato Biology and Biotechnology* (pp. 569-594). Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Nourani, S. L., Goltapeh, E. M., Safaie, N., Javaran, M. J., Pourjam, E. (2018). Enhancing the pathogenicity of *Arthrobotrys conoides* and *A. oligospora* against *Meloidogyne javanica* J2 by transferring of protease (Ac1) gene and evaluation of antagonistic capability of transgenic isolates. *Biological Control*, 122, 127-135. doi:10.1016/j.biocontrol.2018.03.017

- Nyczepir, A. P., Thomas, S. H. (2009). 18 Current and Future Management Strategies in Intensive Crop Production Systems. *Root-knot nematodes*, 412.
- Oka, Y., Nacar, S., Putievsky, E., Ravid, U., Yaniv, Z., Spiegel, Y. (2000). Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. *Phytopathology*, 90(7), 710-715.
- Oluma, H., Garba, I. (2004). Screening of Eucalyptus globulus and Ocimum gratissimum against Pythium aphanidermatum. *Nigerian J. Plant Prot*, 21, 109-114.
- Pandey, R., Kalra, A., Tandon, S., Mehrotra, N., Singh, H., Kumar, S. (2000). Essential oils as potent source of nematicidal compounds. *Journal of Phytopathology*, 148(7-8), 501-502.
- Papachristos, D., Stamopoulos, D. (2004). Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of Acanthoscelides obtectus (Say)(Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 40(5), 517-525.
- Paracer, S., Brzeski, M., Zuckerman, B. (1966). Nematophagous fungi and predaceous nematodes associated with cranberry soils in Massachusetts. *Plant Disease Reporter*, 50(8), 584-586.
- Salgado, S., Campos, V., Cardos, M., Salgado, A. (2003). Hatching and mortality of second-stage juveniles of Meloidogyne exigua in essential plant oils. *Nematol. Brasil*, 27, 17-22.
- Sasser, J., Eisenback, J., Carter, C., Triantaphyllou, A. (1983). The international Meloidogyne project-its goals and accomplishments. *Annual review of phytopathology*, 21(1), 271-288.
- Silva J., Abebe W., Sousa S.M., Duarte V.G., Machado M.I., Matos F.G. (2003). Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus. *Journal of Ethnopharmacology*; 89(2-3): 277 – 283
- Takahashi, T., Kokubo, R., Sakaino, M. (2004). Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from Eucalyptus maculata. *Letters in applied microbiology*, 39(1), 60-64.



- Taniwiryono, D., Berg, H., Riksen, J., Rietjens, I., Djiwantia, S., Kammenga, J., Murk, A. (2009). Nematicidal activity of plant extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *The open natural products journal*, 2(1).
- Tholl, D. (2006). Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 297-304. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.014>
- Tripathi, A. K., Mishra, S. (2016). Chapter 16 - Plant Monoterpenoids (Prospective Pesticides). In Omkar (Ed.), *Ecofriendly Pest Management for Food Security* (pp. 507-524). San Diego: Academic Press.
- Trudgill, D. (1997). Parthenogenetic root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.); how can these biotrophic endoparasites have such an enormous host range? *Plant Pathology*, 46(1), 26-32.
- Trudgill, D. L., Blok, V. C. (2001). Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual review of phytopathology*, 39(1), 53-77.
- Ufer, A., Dohmen, G., Fritsch, H. (1993). *Impact of the soil disinfectant basamid granular on terrestrial non-target organisms*. Paper presented at the IV International Symposium on Soil and Substrate Infestation and Disinfestation 382.
- Yang, Y.-C., Choi, H.-Y., Choi, W.-S., Clark, J., Ahn, Y.-J. (2004). Ovicidal and adulticidal activity of *Eucalyptus globulus* leaf oil terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(9), 2507-2511.

## 5.2 Ελληνική βιβλιογραφία

- Agrios, G. (1997). *Φυτοπαθολογία*. Εκδόσεις Utopia
- Samuelsson, G. (1996). Φαρμακευτικά προϊόντα φυσικής προελεύσεως. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης.

- Γιαννακού, Ι. και Προφήτου-Αθανασιάδου Δ. *Νηματωδολογία*. Πανεπιστημιακές σημειώσεις. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. Νοέμβριος 2001.
- Κατσιώτης, Σ., Χατζοπούλου, Π. (2010). *Αρωματικά φαρμακευτικά φυτά και αιθέρια έλαια*. Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη ΑΕ, ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ.
- Κολιοπάνος, Κ. (1999). *Φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις σκώληκες*. Βιολογία-Φυσιολογία Γενετική ταξινόμηση και παθογένεση επί φυτών-Τρόποι αντιμετώπισης. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.
- Κύρου, Ν. (2004). *Φυτοπαρασιτικοί Νηματώδεις*. Αθήνα. Εκδόσεις Αγροτύπος.