

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας
Π.Μ.Σ. «Επιστήμες και Συστήματα Φυτικής Παραγωγής»

Μελέτη των φυτικών εκχυλισμάτων των *Satureja hellenica*, *Nigella sativa*
και *Cuminum cyminum* ως προς τη δράση τους εναντίον δύο ειδών
κομβονηματωδών (*Meloidogyne javanica*, *M. incognita*) και ως προς τη
χημική τους σύσταση

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Ηρώ Β. Παρδαβέλλα

Επιβλέπων

Δρ. Γιαννακού Ιωάννης

ΑΘΗΝΑ 2018

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας
Π.Μ.Σ. «Επιστήμες και Συστήματα Φυτικής Παραγωγής»

Μελέτη των φυτικών εκχυλισμάτων των *Satureja hellenica*, *Nigella sativa*
και *Cuminum cyminum* ως προς τη δράση τους εναντίον δύο ειδών
κομβονηματοδών (*Meloidogyne javanica*, *M. incognita*) και ως προς τη
χημική τους σύσταση

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Ηρώ Β. Παρδαβέλλα

Επιβλέπων

Δρ. Γιαννακού Ιωάννης

ΑΘΗΝΑ 2018

**Μελέτη των φυτικών εκχυλισμάτων των *Satureja hellenica*, *Nigella sativa*
και *Cuminum cyminum* ως προς τη δράση τους εναντίον δύο ειδών
κομβονηματωδών (*Meloidogyne javanica*, *M. incognita*) και ως προς τη
χημική τους σύσταση**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Ηρώ Β. Παρδαβέλλα

Επιβλέπων

Δρ. Γιαννακού Ιωάννης

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Δρ. Γιαννακού Ιωάννης

Δρ. Μπιλάλης Δημήτριος

Δρ. Τρίγκας Παναγιώτης

ΑΘΗΝΑ 2018

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Επιθυμώ να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Αναπληρωτή Καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Γιαννακού Ιωάννη για την ανάθεση και επίβλεψη της μεταπτυχιακής μελέτης μου. Οι χρήσιμες παρατηρήσεις και συμβουλές του συντέλεσαν στην ομαλή διεξαγωγή των πειραμάτων. Επίσης θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την επιστημονική καθοδήγηση, την ηθική συμπαράσταση και για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπο μου καθ' όλη τη διάρκεια της πραγματοποίησης της παρούσας εργασίας.

Ευχαριστώ θερμά τον κ. Δημήτρη Μπιλάλη, Καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και τον κ. Παναγιώτη Τρίγκα, Επίκουρο Καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής για την κριτική ανάγνωση του κειμένου, τις εύστοχες υποδείξεις τους στη βελτίωση αυτής της εργασίας και το αμέριστο ενδιαφέρον τους. Επιπλέον τον κ. Τρίγκα για την ιδιαίτερη βοήθεια που μου προσέφερε στην εύρεση των φυτών που χρησιμοποίησα στα πειράματά μου.

Επίσης, ευχαριστώ ιδιαίτερα την υποψήφια διδάκτορα του Γ.Π.Α. Ελένη Νάσιου, για την συμβολή και την καθοδήγησή τους στο πειραματικό μέρος της παρούσας εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου για τη στήριξη και τη βοήθειά τους σε όλες τις δυσκολίες που αντιμετώπισα κατά τη διάρκεια της μεταπτυχιακής μου μελέτης.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η νηματωδοκτόνος δράση των φυτών *Cuminum cyminum*, *Nigella sativa* και *Satureja hellenica* εναντίον των κομβονηματωδών *M. incognita* και *M. javanica*. Επιπλέον προσδιορίστηκε σε σύστημα αέριου χρωματογράφου με φασματογράφο μάζας (Gas Chromatography-Mass Spectrometry: GC-MS) η χημική σύσταση των φυτικών εκχυλισμάτων που απομονώθηκαν από τα τρία αυτά είδη. Τα βιολογικά πειράματα αφορούσαν α) στην πρόκληση παράλυσης σε προνύμφες δευτέρου σταδίου ανάπτυξης (J2) των *M. incognita* και *M. javanica*, δηλαδή στο μολυσματικό στάδιο του βιολογικού κύκλου, β) στην παρεμπόδιση της διαφοροποίησης των αυγών των νηματωδών και γ) στην παρεμπόδιση της εκκόλαψης προνυμφών από τους ωόσακους.

Συγκεκριμένα, μελετήθηκε στα πειράματα παράλυσης με προνύμφες J2 η νηματωδοκτόνος δράση των αιθέριων ελαίων και των υδρολυμάτων των φυτών, σε τρεις χρόνους εμφάνισης (24, 48 και 96 h). Το πλέον δραστικό αιθέριο έλαιο και υδρόλυμα ήταν αυτό του είδους *C. cyminum*. Ακολούθησε το αιθέριο έλαιο και το υδρόλυμα του φυτού *S. hellenica*, με αρκετά καλή αποτελεσματικότητα. Μικρότερη αποτελεσματικότητα παρουσίασε το έλαιο και τα υδρόλυμα του φυτού *N. sativa*.

Επίσης, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές επτά επιπέδων συγκέντρωσης των αιθερίων ελαίων στη διαφοροποίηση των αυγών *M. incognita* και *M. javanica* και από τα αποτελέσματα συμπεραίνεται υψηλή επίδραση στην διαφοροποίηση. Συγκεκριμένα, το αιθέριο έλαιο του είδους *C. cyminum* παρεμπόδισε τη διαφοροποίηση περίπου στο 83.5% των ωών των δύο ειδών κομβονηματωδών στη μικρότερη δόση η οποία ελέγχθηκε. Το αιθέριο έλαιο του φυτού *S. hellenica* δεν είχε τόσο καλά αποτελέσματα, αφού στην υψηλότερη δόση που δοκιμάστηκε παρεμπόδισε τη διαφοροποίηση περίπου στο 50% των ωών.

Τέλος, στα πειράματα με τους ωόσακους και τα τρία φυτικά εκχυλίσματα τα οποία δοκιμάστηκαν φάνηκε να έχουν δράση. Το αιθέριο έλαιο του *C. cyminum* στην υψηλότερη δόση του παρεμπόδισε την εκκόλαψη των προνυμφών από τους ωόσακους σε ποσοστό περίπου 90%. Το αιθέριο έλαιο του φυτού *S. hellenica* προκάλεσε παρεμπόδιση της εκκόλαψης σε ποσοστό 83% για το είδος *M. incognita* και 63% για το *M. javanica*. Το έλαιο του φυτικού είδους *N.*

sativa παρεμπόδισε την εκκόλαψη του 46% των προνυμφών *M. incognita* και του 39% των προνυμφών *M. javanica*.

Λέξεις κλειδιά : Κομβοηματοώδεις, Αιθέριο έλαιο, Υδρόλυμα, Αντιμετώπιση, Χημική σύσταση, Προνύμφες, Αυγά, Ωόσακοι, Παράλυση, Εκκόλαψη, Χρωματογράφος, Κύμινο, *Nigella*, *Satureja*

SUMMARY

The species *Cuminum cyminum*, *Nigella sativa* and *Satureja hellenica* have been studied for their nematicidal activity against root-knot nematodes *M. incognita* and *M. javanica*. The plant extracts isolated from these three species were analyzed for their chemical composition in a Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) system. The biological experiments were about the paralysis of *M. incognita* and *M. javanica* second stage juveniles and inhibition of hatching differentiation of the eggs.

The nematicidal activity of the essential oils and plant hydrosols studied in three times (24, 48 and 96 h) in J2 paralysis experiments. The most active essential oil and hydrosol was *C. cyminum*. The essential oil and hydrosol of *S. hellenica* were quite effective. The oil and the hydrosols of *N. sativa* were less effective.

Tests of seven levels of concentration of essential oils were performed to check the inhibition of the differentiation of *M. incognita* and *M. javanica* eggs. The *C. cyminum* essential oil inhibited the differentiation to approximately 83.5% of the eggs of the two species of the root-knot nematodes at the lowest dose tested. The essential oil of the *S. hellenica* plant, at the highest dose tested, inhibited the differentiation of about 50% of the eggs.

Finally, in the experiments with the egg masses the three plant extracts had significant effects on the inhibition of J2 hatching. The essential oil of *C. cyminum* at its higher dose prevented about 90% of the J2 hatching. *S. hellenica*'s essential oil caused inhibited hatching of the 83% *M. incognita* J2s and 63% *M. javanica* J2s. The oil of the *N. sativa* plant inhibited the hatching of 46% of *M. incognita* J2s and 39% of *M. javanica* J2s.

Keywords : Root-knot nematodes, Essential oil, Hydrosol, Control, Chemical composition, Juveniles, Eggs, Eggmasses, Paralysis, Inhibition, Chromatography, Cuminum, Nigella, Satureja

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
SUMMARY	7
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	11
1.1 ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ	11
1.1.1 Ανασκόπηση της ταξινόμησης και της ονοματολογίας του γένους <i>Meloidogyne</i>	12
1.1.2 Γεωγραφική εξάπλωση, εύρος ξενιστών και οικονομική σημασία της προσβολής από κομβονηματώδεις 15	
1.1.3 Βιολογικός κύκλος.....	19
1.1.4 Συμπτωματολογία της προσβολής και παράγοντες που την επηρεάζουν	21
1.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΜΕΤΡΑ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΩΝ ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΩΝ.....	24
1.2.1 Πρόληψη.....	25
1.2.2 Καλλιεργητικά μέτρα	26
1.2.3 Χημική μέθοδος καταπολέμησης	29
1.2.4 Βιολογικές μέθοδοι καταπολέμησης.....	32
1.3 ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ	34
1.3.1 Αιθέρια έλαια.....	34
1.3.2 Αιθέρια έλαια με νηματωδοκτόνο δράση για την καταπολέμηση των κομβονηματωδών του γένους <i>Meloidogyne</i>	36
1.3.3 <i>Cuminum cuminum</i>	37
1.3.4 <i>Nigella sativa</i>	39
1.3.5 <i>Satureja hellenica</i>	41
2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	44
2.1 Ανάπτυξη και συντήρηση των πληθυσμών <i>M. incognita</i> και <i>M. javanica</i>	44
2.2 Μέθοδος παραλαβής προνυμφών δευτέρου σταδίου ανάπτυξης (J2)	45
2.3 Μέθοδος παραλαβής ωών.....	47
2.4 Μέθοδος παραλαβής ωόσακων	47
2.5 Απόσταξη των αιθέριων ελαίων από τα φυτά <i>Satureja hellenica</i> και <i>Cuminum cuminum</i>.....	48
2.6 Εξαγωγή λαδιού και υδρολύματος από το φυτό <i>Nigella sativa</i>	49

2.7	Μέθοδος προσδιορισμού της ολικής σύστασης των φυτικών εκχυλισμάτων σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας της μάζας (GC-MS)	50
2.8	Δοκιμές βιολογικής δράσης	52
2.8.1	Δοκιμές επίδρασης των φυτικών εκχυλισμάτων στην παράλυση των προνυμφών δευτέρου σταδίου <i>M. incognita</i> και <i>M. javanica</i>	52
2.8.2	Δοκιμές επίδρασης των φυτικών εκχυλισμάτων στην διαφοροποίηση αυγών <i>M. incognita</i> και <i>M. javanica</i>	53
2.8.3	Δοκιμές επίδρασης των φυτικών εκχυλισμάτων στην εκκόλαψη προνυμφών <i>M. incognita</i> και <i>M. javanica</i> από τους ωόσακους.....	54
2.9	Στατιστική ανάλυση	56
3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	57
3.1	Απόδοση των φυτών σε φυτικό εκχύλισμα	57
3.2	Επίδραση του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος του φυτού <i>Satureja hellenica</i> στους νηματώδεις <i>Meloidogyne incognita</i> και <i>Meloidogyne javanica</i>	57
3.2.1	Επίδραση του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου	58
3.2.2	Επίδραση του αιθέριου ελαίου στη διαφοροποίηση των ωών.....	63
3.2.3	Επίδραση του αιθέριου ελαίου στην εκκόλαψη των προνυμφών από τους ωόσακους.....	65
3.3	Επίδραση του ελαίου και του υδρολύματος του φυτού <i>Nigella sativa</i> στους νηματώδεις <i>Meloidogyne incognita</i> και <i>Meloidogyne javanica</i>	67
3.3.1	Επίδραση του ελαίου και του υδρολύματος στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου	67
3.3.3	Επίδραση του ελαίου στην εκκόλαψη των προνυμφών από τους ωόσακους	71
3.4	Επίδραση του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος του φυτού <i>Cuminum cyminum</i> στους νηματώδεις <i>Meloidogyne incognita</i> και <i>Meloidogyne javanica</i>	72
3.4.1	Επίδραση του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου	73
3.4.2	Επίδραση του αιθέριου ελαίου στη διαφοροποίηση των ωών.....	76
3.4.3	Επίδραση του αιθέριου ελαίου στην εκκόλαψη των προνυμφών από τους ωόσακους.....	78
3.5	Χημική σύσταση των φυτικών εκχυλισμάτων	80
4	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ	83
4.1	Επίδραση των φυτικών εκχυλισμάτων στην παράλυση των προνυμφών δευτέρου σταδίου των δύο ειδών κομβονηματωδών	83
4.2	Επίδραση των φυτικών εκχυλισμάτων στη διαφοροποίηση των ωών των δύο ειδών κομβονηματωδών	85
4.3	Επίδραση των φυτικών εκχυλισμάτων στην εκκόλαψη προνυμφών από τους ωόσακους των δύο ειδών κομβονηματωδών	85

4.4	Γενικά Συμπεράσματα	87
------------	----------------------------------	-----------

	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	89
--	--------------------------	-----------

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

A. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

1.1 ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ

Η λέξη "nematode" (νηματώδης) είναι μια αλλοίωση του ονόματος της τάξης Nematodea, μία από τις πέντε ιστορικές τάξεις της κλάσης Helminthia, η οποία περιέχει όλα τα νηματοειδή ή στρογγυλά σκουλήκια. Σήμερα, οι νηματώδεις θεωρούνται ξεχωριστό φύλο, το Nematoda ή Nemata (De Ley and Blaxter, 2002). Οι νηματώδεις είναι τα πιο πολυάριθμα Metazoa στη γη. Είναι είτε ελεύθερα διαβιούντες ή παράσιτα φυτών και ζώων και αν και απαντώνται σχεδόν σε κάθε βιότοπο, είναι ουσιαστικά υδρόβια ζώα. Παρά τη μεγάλη ποικιλότητα στον τρόπο ζωής τους, οι νηματώδεις εμφανίζουν σχετικά συντηρημένη δομή στο σώμα τους. Αυτό αποτελείται από έναν εξωτερικό κύλινδρο (το τοίχωμα του σώματος) και ένα εσωτερικό κύλινδρο (το πεπτικό σύστημα) οι οποίοι χωρίζονται από μια ψευδοκοιλότητα γεμάτη με υγρό υπό πίεση η οποία περιέχει έναν αριθμό κυττάρων και άλλων οργάνων όπως το αναπαραγωγικό σύστημα.

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις είναι πολύπλοκοι, ευκαρυωτικοί, ασπόνδυλοι οργανισμοί που ανήκουν στους πολυπληθέστερους και πιο ευμετάβολους ζωικούς οργανισμούς του πλανήτη. Εκτός από τα ενήλικα θηλυκά ορισμένων γενών, είναι σκωληκόμορφοι με σώμα κυλινδρικό επίμηκες και σε εγκάρσια τομή κυκλικό. Μερικοί είναι μεταναστευτικά εκτοπαρασίτα και ζουν έξω από τη ρίζα των ξενιστών τους, άλλοι είναι μεταναστευτικά ενδοπαρασίτα και άλλοι είναι μη μεταναστευτικοί και μπορούν να διαπεράσουν βαθύτερα στρώματα των ριζών, να εισέλθουν στο φυτό και να περάσουν κάποιο στάδιο του κύκλου τους μέσα σε αυτό (Raaijmakers et al., 2009). Οι κομβονηματώδεις ανήκουν στις δύο τελευταίες κατηγορίες.

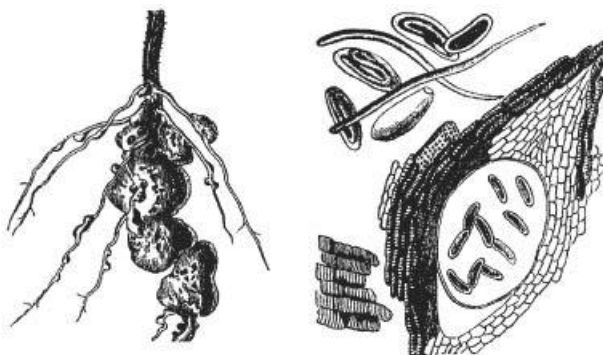
Οι κομβονηματώδεις ανήκουν στο γένος *Meloidogyne* (Goldi, 1892), και στην οικογένεια *Heteroderidae* της τάξης *Tylenchida* (Chitwood, 1949). Είναι υποχρεωτικά παράσιτα και παρασιτούν χιλιάδες διαφορετικά είδη φυτών, συμπεριλαμβανομένων μονοκοτυλήδων, δικοτυλήδων, ποωδών και ξυλωδών φυτών. Τα είδη *Meloidogyne* είναι παράσιτα σημαντικών καλλιεργειών λαχανικών, φρούτων και καλλωπιστικών φυτών που βρίσκονται σε τροπικά,

υποτροπικά και εύκρατα κλίματα. Η διαπίστωση ότι ο κομβοηματοδής είναι υποχρεωτικό παράσιτο έγινε από τον Goldi (1887), ο οποίος περιέγραψε ένα νηματώδη που προκαλεί κόμβους στις ρίζες καφεόδενδρων στην Βραζιλία. Η σοβαρότητα των ζημιών που προκαλούνται από τους κομβοηματοδείς μπορεί να είναι εξειδικευμένες στο είδος του φυτού και να ποικίλουν επίσης, ανάλογα με τον ξενιστή, την εναλλαγή καλλιεργειών, την εποχή και το έδαφος. Το οικονομικό κατόφλι ζημιάς εξαρτάται επίσης από τους ίδιους παράγοντες.

Το όνομα *Meloidogyne* προέρχεται από τις ελληνικές λέξεις "μήλο" και "γυνή" και περιγράφει το σχήμα του θηλυκού κατά τη διάρκεια του ενήλικου σταδίου (Γιαννακού και Προφήτου, 2001). Τα είδη του γένους *Meloidogyne* εμφανίζουν φυλετικό διμορφισμό και είναι όλα υποχρεωτικά παράσιτα των φυτών (Franklin, 1965).

1.1.1 Ανασκόπηση της ταξινόμησης και της ονοματολογίας του γένους *Meloidogyne*

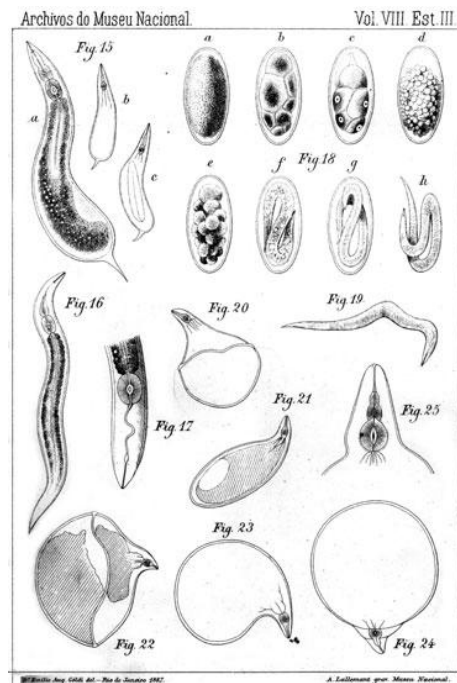
Μια από τις πρώτες καταγραφές των κομβοηματοδών έγινε από τον Berkeley το 1855, με μια πιο προσεκτική εξέταση η ρίζα βρέθηκε να καλύπτεται με όγκους που ποικίλλουν από το μέγεθος του κεφαλιού ενός μικρού καρφιού ως αυτό ενός μικρού φασολιού (Εικόνα 1.1). Ο Berkeley σημείωσε την τεράστια ανάπτυξη των αγγειακών ιστών μέσα στους όγκους των ριζών των φυτών.



Εικόνα 1.1 Η πρώτη απεικόνιση των κομβοηματοδών στις ρίζες των φυτών. Α: Ρίζες με κόμβους. Β: Τομή του κόμβου, που δείχνει νηματώδεις και ωά. Berkley (1855)

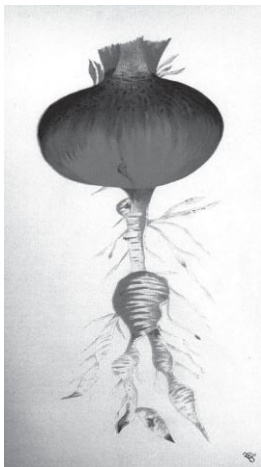
Η εμφάνιση όγκων στις ρίζες των φυτών καταγράφηκε επίσης με λεπτομέρεια από τον Licopoli (1875), ο οποίος περιέγραψε τα συμπτώματα στις ρίζες του *Sempervivum tectorum* L. και άλλων Crassulaceae στην Ιταλία. Ομοίως, ο Jobert (1878) περιέγραψε όγκους στις ρίζες των δέντρων καφέ στο Ρίο ντε Τζανέιρο της Βραζιλίας και αναφέρθηκε στην παρουσία αυγών που περιέχουν νεαρά άτομα.

Κανένας από αυτούς τους πρώτους ερευνητές δεν ονόμασε τους νηματώδεις που βρέθηκαν στους κόμβους. Αυτό αφέθηκε σε έναν γάλλο βοτανολόγο, τον Maxime Cornu, ο οποίος αναφέρθηκε στους νηματώδεις από κόμβους κτηνοτροφικών φυτών ως *Anguillula marioni*, Cornu, 1879. Ο Carl Müller (1884) ήταν ο πρώτος που απεικόνισε ένα περιεδρικό υπόδειγμα, ενώ περιέγραφε τους κομβονηματώδεις, στους οποίους αναφέρθηκε ως *Heterodera radicicola*, Greeff, 1872. Ο ολλανδός βοτανολόγος Melchior Treub (1851-1910) περιέγραψε το επόμενο είδος κομβονηματώδη όταν πρότεινε τον *Heterodera javanica* Treub, 1885. Παρόλο που μέχρι εκείνη την περίοδο είχαν ονομαστεί δύο είδη κομβονηματωδών, το πραγματικό γένος *Meloidogyne* δεν προτάθηκε πριν το 1887, όταν ο Göldi περιέγραψε τον νηματώδη *Meloidogyne exigua* Göldi, 1887 σε ρίζες καφέ στο Ρίο ντε Τζανέιρο, της Βραζιλίας (Εικόνα 1.2).



Εικόνα 1.2 Πλάκα αρχικών γραμμικών σχεδίων *Meloidogyne exigua*. Παρόλο που δεν υπάρχουν πολλά στοιχεία που απαιτούνται για τη διάγνωση των ειδών, η χαρακτηριστική ουρά ουράς ενός αναπτυσσόμενου κομβονηματώδη μπορεί να φανεί σαφώς στο Σχήμα 15. Göldi (1887)

Λίγο μετά την πρόταση του Göldi για το γένος *Meloidogyne*, ο Neal (1889), προφανώς μη γνωρίζοντας την προηγούμενη δημοσίευση, πρότεινε τον κομβοηματώδη *Anguillula arenaria* Neal, 1889 (Εικόνα 1.3).



Εικόνα 1.3 Κόμβοι στη ρίζα από ραπανάκια που προκαλείται από την *Anguillula* [= *Meloidogyne*] ‘*arenaria*’. Neal (1889)

Άλλες αναφορές ριζόκομβων νηματωδών περιλαμβάνουν εκείνες του Cobb (1890), από τη Νέα Νότια Ουαλία, της Αυστραλίας και του Lavergne (1901a, b). Ο Gaston Lavergne περιέγραψε τον *Anguillula vialae* Lavergne, το 1901 σε ρίζες αμπελιών στη Χιλή. Κατά την πρώτη δεκαετία του 20ού αιώνα, η Kati Marcinowski (1909) κατέγραψε λεπτομερώς τις διαφορές μεταξύ των κυστογόνων νηματωδών και των κομβοηματωδών. Αναγνώρισε μόνο ένα είδος κομβοηματώδη, ωστόσο ονόμασε όλα τα άλλα είδη (συμπεριλαμβανομένων των *arenaria*, *exigua* και *javanica*) ως *H. radiculicola*.

Ο Cobb (1924), αναγνωρίζοντας ότι υπήρχαν διαφορές μεταξύ των κυστογόνων νηματωδών και των κομβοηματωδών, πρότεινε το γένος *Caconema* Cobb, 1924 να περιέχει τους τελευταίους. Αν και ο Nagakura (1930) δημοσίευσε μια εκτενή μελέτη σχετικά με τους κομβοηματώδεις, διαφοροποιώντας τους κατά πολλούς τρόπους από κυστογόνους νηματώδεις και κάνοντας παρατηρήσεις σχετικά με τη μορφολογία και τον κύκλο ζωής τους, τους ανέφερε ακόμα ως *H. radiculicola*.

Οι κομβοηματώδεις έλαβαν την πρώτη σημαντική αναθεώρησή τους όταν ο Chitwood (1949) δημοσίευσε μια καθοριστική επισκόπησή τους. Ο Chitwood περιέγραψε το γένος *Meloidogyne* όπως προτάθηκε από τον Göldi (1887). Ο Chitwood τοποθέτησε άλλα τρία είδη στο γένος, κάνοντας τους νέους συνδυασμούς *M. incognita*, *M. javanica* και *M. arenaria*,

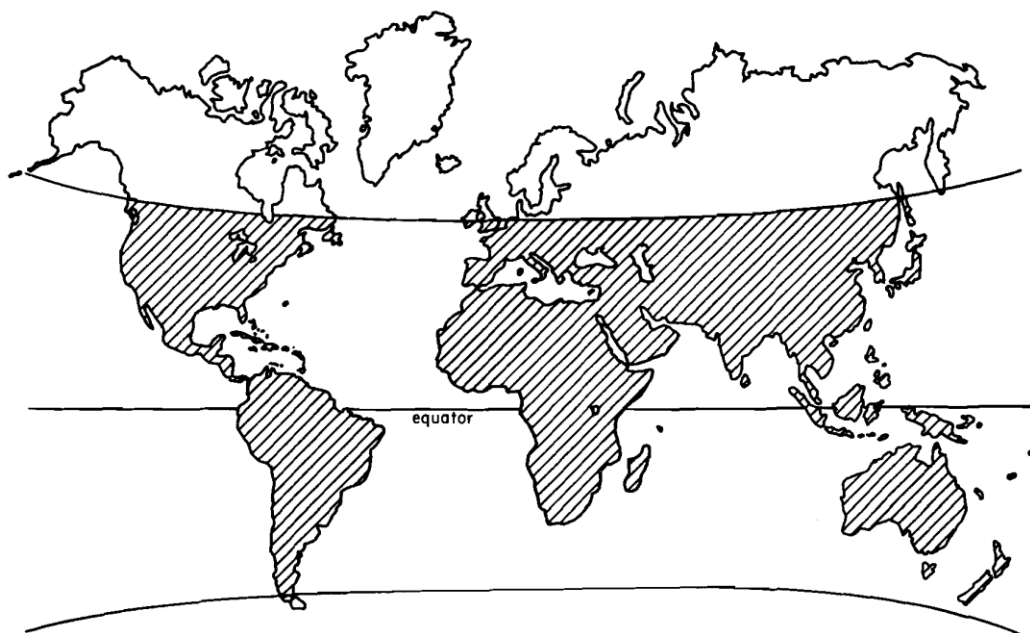
καθιέρωσε τη χρήση περιεδρικών σχεδίων ως ταξινομικά βοηθήματα και περιέγραψε το *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949. Όποια και αν είναι η αλήθεια των επιχειρημάτων σχετικά με την εγκυρότητα του γένους και του είδους του, δεν υπάρχει αμφιβολία ότι ο Chitwood παρήγαγε ένα πρότυπο (χάρτα), όπου αποσαφήνισε τις διαφορές μεταξύ κομβονηματωδών και κυστογόνων νηματωδών και ταυτόχρονα έθεσε τα θεμέλια για μελλοντική έρευνα.

1.1.2 Γεωγραφική εξάπλωση, εύρος ξενιστών και οικονομική σημασία της προσβολής από κομβονηματώδεις

Σύμφωνα με τον Chitwood, "Τα σοβαρότερα προβλήματα από νηματώδεις παρατηρούνται εκεί όπου οι καλλιέργειες 'καλών' ξενιστών αναπτύσσονται πολύ συχνά για πολύ καιρό στην ίδια γη". Παρόλο που τα προβλήματα από τους νηματώδεις εμφανίζονται σε όλες τις περιοχές του κόσμου όπου υπάρχουν καλλιέργειες, οι πιο εμφανείς ζημιές παρατηρούνται σε θερμές περιοχές επειδή: 1) οι υψηλότερες θερμοκρασίες και οι μεγαλύτερες καλλιεργητικές περίοδοι αυξάνουν τις γενιές/έτος και συνεπώς έχουμε μεγαλύτερες ζημιές στην καλλιέργεια, 2) ο μεγαλύτερος αριθμός ευπαθών καλλιεργειών ετησίως σε θερμές περιοχές οδηγεί σε υψηλότερη συσσώρευση νηματωδών, 3) μερικά από τα πιο επιβλαβή είδη, όπως το *Meloidogyne incognita*, εμφανίζονται σε θερμότερες περιοχές και 4) τα πιο σοβαρά σύμπλοκα ασθενειών εμφανίζονται σε θερμότερες περιοχές. Ωστόσο, υπάρχουν σημαντικές εξαιρέσεις σε αυτή τη γενική δήλωση(παρατήρηση). Γενικά, οι νηματώδεις προκαλούν μεγαλύτερες ζημιές στα φυτά που καλλιεργούνται σε "παλαιά κουρασμένα εδάφη", δηλαδή εκείνα που έχουν καλλιεργηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα. Και πάλι, υπάρχουν αξιοσημείωτες εξαιρέσεις. (Mai, 1985)

Ένα από τα πλέον διαδεδομένα παράσιτα που περιορίζουν την παγκόσμια γεωργική παραγωγή είναι το είδος *Meloidogyne* των κομβονηματωδών. Σχεδόν όλα τα φυτά που αντιπροσωπεύουν την πλειοψηφία του παγκόσμιου εφοδιασμού τροφίμων είναι ευαίσθητα σε μόλυνση από αυτό το παράσιτο (Εικόνα 1.4). Αν και οι μέσες απώλειες από τις καλλιέργειες θεωρούνται ότι είναι περίπου 5%, οι μικροί αγρότες στις αναπτυσσόμενες χώρες αντιμετωπίζουν συνήθως πολύ μεγαλύτερες απώλειες. Σε ορισμένες αναπτυσσόμενες χώρες, η προσβολή από κομβονηματώδεις είναι τόσο συνηθισμένη και διαδεδομένη, που οι ρίζες έχουν θεωρηθεί "κανονικές". Σε τέτοιες περιπτώσεις, οι κακές καταστάσεις ή αποδόσεις έχουν αποδοθεί σε

ασαφείς αγροτικές ασθένειες όπως "φθαρμένη γη" ή "εξάντληση εδάφους"(Sasser and Carter, 1985).



Εικόνα 1.4 Προσεγγιστική κατανομή κομβονηματωδών στον κόσμο (Sasser and Carter, 1985)

Τα είδη *Meloidogyne* αναγνωρίζονται ως σοβαροί εχθροί για τα συστήματα εντατικής καλλιέργειας παγκοσμίως. Οι ζημιές της καλλιέργειας από τους νηματώδεις μπορεί να συνίστανται σε μειωμένη ποσότητα ή / και ποιότητα της απόδοσης. Παραδείγματος χάριν, τα προϊόντα μολυσμένα από νηματώδεις μπορεί να έχουν μεγαλύτερη μη εμπορεύσιμη ποσότητα λόγω μικρού μεγέθους ή παραμόρφωσης. Επίσης, μπορεί να μειωθεί η περιεκτικότητα σε ζάχαρη των ριζών σακχαρότευτλων από τις καλλιέργειες που έχουν μολυνθεί με *M. incognita* (Di Vito and Lamberti, 1977), όπως και η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των όσπριων σε έδαφος που έχει μολυνθεί από *M. artiellia* (Di Vito and Greco, 2009). Τέλος, πολυετείς καλλιέργειες όπως καφές, μπανάνα και σταφύλια, καθώς και πολλές ετήσιες καλλιέργειες λαχανικών, υφίστανται οικονομικές απώλειες λόγω των κομβονηματωδών. Συνολικά, οι νηματώδεις του γένους *Meloidogyne* είναι οι πιο καταστρεπτικοί σε αυτές τις καλλιέργειες από ότι οι περισσότεροι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις επειδή: (i) οι κομβονηματώδεις είναι ευρέως κατανομημένοι σε όλο τον κόσμο, (ii) τα περισσότερα είδη ολοκληρώνουν αρκετές γενιές ανά καλλιεργητική περίοδο και παρουσιάζουν ταχύτατους ρυθμούς αναπαραγωγής και (iii) ορισμένα είδη έχουν πολύ ευρύ φάσμα ξενιστών. Οι πληθυσμοί των ριζόκομβων νηματωδών που δεν

έχουν διαχειριστεί, συνήθως φθάνουν σε πυκνότητες που μειώνουν την απόδοση των καλλιεργειών και τη ευρωστία τους. Επιπρόσθετα, τα στρεσαρισμένα φυτά μπορεί να είναι πιο ευαίσθητα σε προσβολές από άλλα παθογόνα, σε επιβλαβείς εχθρούς ή περιβαλλοντικές συνθήκες, ή ακόμη και στην θανάτωσή τους. (Nyczerpir and Thomas, 2009)

Στο γένος *Meloidogyne* ανήκουν μέχρι σήμερα πάνω από 90 είδη, εκ των οποίων τα 23 έχουν αναγνωρισθεί στην Ευρώπη (Πίνακας 1.1) (Hunt and Handoo, 2009). Από τα περισσότερα των 90 ειδών του γένους *Meloidogyne* που έχουν περιγραφεί, 4 έχουν θεωρηθεί ως τα πιο σημαντικά και βρέθηκαν στα ακόλουθα ποσοστά: *M. incognita* 46%, *M. javanica* 44%, *M. arenaria* 7% και *M. hapla* 6% (σύμφωνα με την αναγνώριση 662 πληθυσμών από 76 χώρες με βάση το International *Meloidogyne* Project) (Sasser, 1980). Αυτά τα είδη θεωρούνται τα πιο διαδεδομένα λόγω του μεγάλου εύρους ξενιστών και του αρνητικού οικονομικού αντίκτυπου στην αγορά. Τα τρία πρώτα είδη απαντώνται σε θερμές περιοχές της Ν. Ευρώπης, καθώς επίσης και σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες της Β. Ευρώπης. Τα επικρατέστερα είδη σε πιο ψυχρές περιοχές είναι τα *M. hapla* και *M. naasi* τα οποία παρατηρούνται σε αναπτυσσόμενες αγροκαλλιέργειες. Μεταξύ των τεσσάρων κύριων ειδών του γένους *Meloidogyne* υπάρχουν ευδιάκριτες διαφορές ως προς το εύρος των ξενιστών τους. (Moens et al. , 2009). Το εύρος των ξενιστών των ριζόκομβων νηματωδών φτάνει στα 5500 φυτικά είδη, συμπεριλαμβανομένων μονοκοτυλήδων, δικοτυλήδων, φυλλωδών και ξυλωδών φυτών (Sikora and Fernandez, 2005). Σε παγκόσμια βάση, το γένος *Meloidogyne* αποτελεί τον πιο σοβαρό εχθρό της αγροτικής παραγωγής και είναι η αιτία εκτεταμένων ποσοτικών και ποιοτικών απωλειών στην παραγωγή κάθε χρόνο. Οι απώλειες που προκαλούν στην παραγωγή καλλιέργειας λαχανικών παγκοσμίως είναι αξίας 100 δις δολαρίων (Sasser et al., 1987). Παρόλα αυτά έχουν καταγραφεί σε ορισμένες περιοχές πολύ υψηλότερα ποσοστά, ανάλογα με το γένος, το επίπεδο πληθυσμού (Ornat and Sorribas, 2008) και τα είδη της καλλιέργειας.

Πίνακας 1.1 Είδη *Meloidogyne* που απομονώθηκαν σε περιοχές της Ευρώπης.

Είδη <i>Meloidogyne</i>	Χρόνος περιγραφής	Φυτά ξενιστές	Εμφάνιση
<i>M. javanica</i>	1885	Μεγάλο εύρος ξενιστών	Γενικά
<i>M. arenaria</i>	1889	Μεγάλο εύρος ξενιστών	Γενικά
<i>M. exigua</i>	1892	Τομάτα, ροδάκινο, <i>Bougainvillea glabra</i>	Ελλάδα, Ιταλία
<i>M. incognita</i>	1919	Μεγάλο εύρος ξενιστών	Γενικά
<i>M. hapla</i>	1949	Μεγάλο εύρος ξενιστών	Γενικά
<i>M. artiellia</i> *	1961	Brassicaceae, Fabaceae, Poaceae	Γαλλία, Ελλάδα, Ιταλία, Ισπανία, Ηνωμένο Βασίλειο
<i>M. graminis</i>	1964	Αγρωστώδη, δημητριακά	Γερμανία, Ολλανδία
<i>M. naasi</i> *	1965	Κυρίως αγρωστώδη και δημητριακά, δικοτυλήδονα	Γενικά
<i>M. ardenensis</i> *	1968	Δέντρα, θαμνώδη, δικοτυλήδονα ζιζάνια	Βέλγιο, Γαλλία, Γερμανία, Νορβηγία, Πολωνία, Ολλανδία, Ρωσία, Σλοβακία, Ηνωμένο Βασίλειο
<i>M. ethiopica</i>	1968	Τομάτα	Σλοβενία
<i>M. chitwoodi</i>	1980	Μεγάλο εύρος ξενιστών	Βέλγιο, Γαλλία, Γερμανία, Ολλανδία, Πορτογαλία, Ελβετία, Τουρκία
<i>M. kralli</i> *	1984	Cyperaceae, αγρωστώδη, δημητριακά	Εσθονία, Πολωνία, Ρωσία, Ελβετία, Ηνωμένο Βασίλειο
<i>M. hispanica</i> *	1986	<i>Prunus persica</i> , sugarbeet, τομάτα	Γαλλία, Πορτογαλία, Ισπανία, Ολλανδία
<i>M. enterolobii</i>	1983	Τομάτα	Γαλλία (υπό εξαφάνιση), Ελβετία
<i>M. lusitanica</i> *	1991	Ελιά	Πορτογαλία
<i>M. fallax</i> *	1996	Μεγάλο εύρος ξενιστών	Βέλγιο, Γαλλία, Γερμανία, Ολλανδία, Ελβετία
<i>M. minor</i> *	2004	Αγρωστώδη, πατάτα, σιτάρι**, κριθάρι**, βρώμη**, καρότο**, τομάτα**	Βέλγιο, Ιρλανδία, Ολλανδία, Ηνωμένο Βασίλειο
<i>M. dunensis</i> *	2007	Κακίλη η παράλια	Ισπανία
<i>M. silvestris</i> *	2009	Αρκουδοπούρναρο	Ισπανία

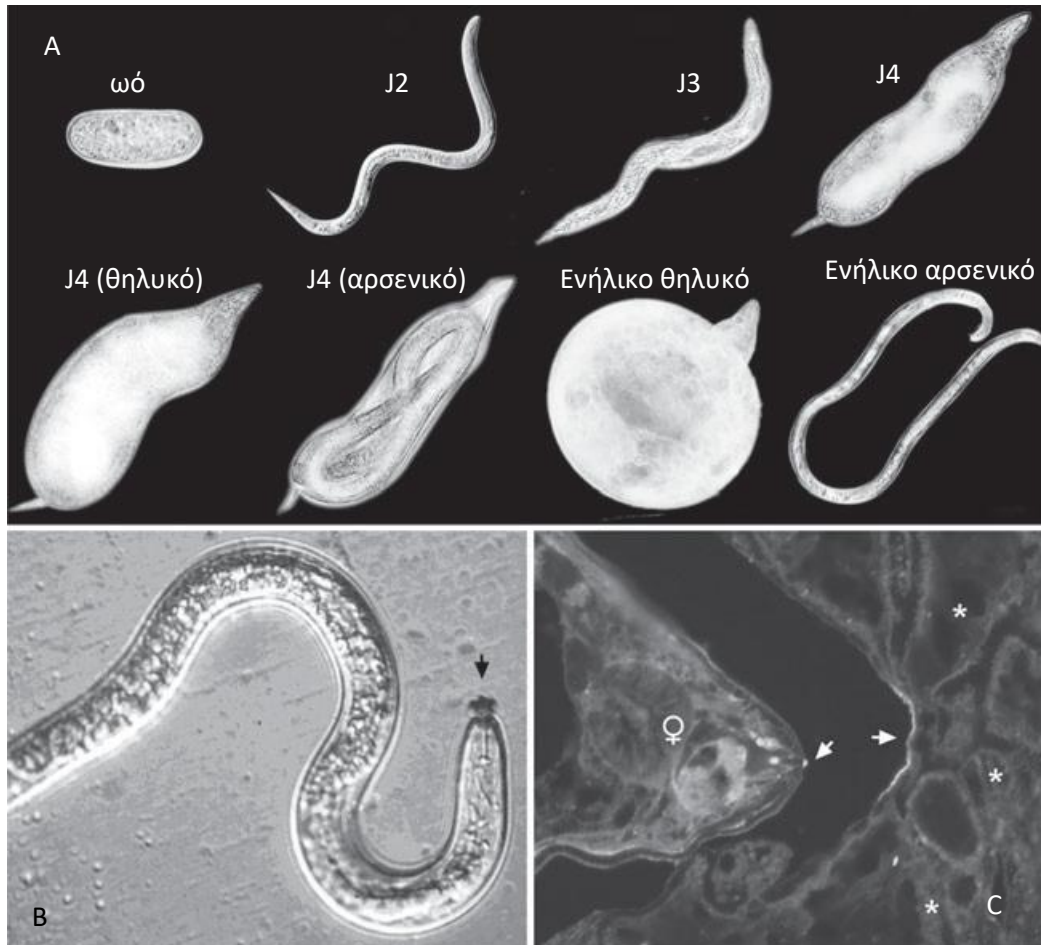
*Είδη που περιγράφηκαν στην Ευρώπη

**Πειραματικές καλλιέργειες φυτών-ξενιστών

1.1.3 Βιολογικός κύκλος

Οι κομβονηματώδεις , *Meloidogyne spp.*, είναι μη μεταναστευτικοί, ενδοπαρασιτικοί νηματώδεις που αλληλεπιδρούν με τους ξενιστές και έχουν την ικανότητα να χειρίζονται τα φυτά-ξενιστές προς όφελός τους. (Abad et al., 2009)

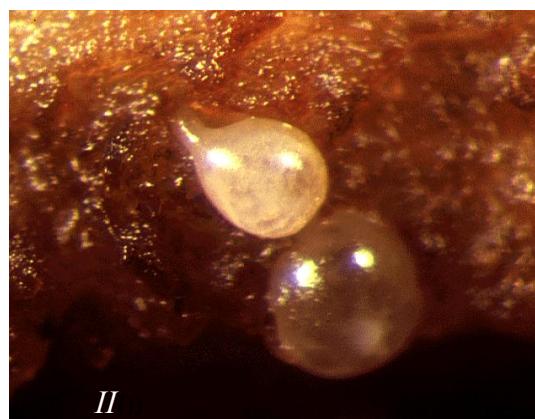
Οι κομβονηματώδεις υφίστανται μια πρώτη έκδυση μέσα στα ωά για να μετατραπούν από προνύμφες πρώτου σταδίου (J1) σε προνύμφες δευτέρου σταδίου (J2) πριν την εκκόλαψη. Οι νεοεκκολαφθείσες J2 περνούν ένα μικρό χρονικό διάστημα της ζωής τους μετακινούμενες ελεύθερα στο έδαφος στην περιοχή της ριζόσφαιρας (Eisenback and Triantafyllou, 1991). Η προνύμφη δευτέρου σταδίου διεισδύει στη ρίζα του φυτού ξενιστή, στο ύψος των εκπυσσομένων ριζών και στην περιοχή των επιμηκυνόμενων κυττάρων, χρησιμοποιώντας το στυλέτο και απελευθερώνοντας εκκρίσεις οι οποίες περιέχουν ένζυμα που αποικοδομούν το κυτταρικό τοίχωμα (Abad et al., 2003). Μόνο μετά από αυτή τη μεταναστευτική φάση, η οποία οδηγεί την J2 στην περιοχή του αγγειακού ιστού, οι νηματώδεις καθίστανται μη μεταναστευτικοί και αρχίζουν να τρέφονται. Μόλις αρχίσουν να τρέφονται, προκαλούν γύρω από τη κεφαλή τους τον σχηματισμό γιγαντιαίων κυττάρων, τα οποία αποτελούν και τη μόνιμη θέση διατροφής τους. Στη συνέχεια, υφίστανται μορφολογικές αλλαγές, μετατρέπονται σε σακοειδείς και χωρίς πλέον να τρέφονται, μετά από τρεις εκδύσεις μετατρέπονται σε ενήλικα άτομα (Eisenback and Triantafyllou, 1991). Οι προνύμφες τρίτου και τέταρτου σταδίου δεν έχουν στυλέτο και δεν τρέφονται (Moens et al. , 2009).



Εικόνα 1.5 Τα στάδια ανάπτυξης και οι εκκρίσεις του στυλέτου του *Meloidogyne incognita*. A: αναπτυξιακά στάδια, από ωά σε ενήλικα. B: πρωτεΐνες που εκκρίνονται μέσω του στυλετού από προνύμφη δευτέρου σταδίου και οπτικοποιούνται με χρώση Coomassie (βέλος). C: ανοσοεπισήμανση φθορισμού μίας ουσίας (calreticulin) (βέλη) που εκκρίνεται κατά τη διάρκεια του παρασιτισμού. *: γιγάντια κύτταρα (τροποποίηση από Caillaud et al., 2008a)

Οι περισσότεροι κομβοηματώδεις αναπαράγονται με παρθενογένεση. Τα αρσενικά μεταναστεύουν εκτός του φυτού, δεν τρέφονται και πεθαίνουν. Μόνο μερικά είδη, π.χ. *M. carolinensis*, *M. microtyla* και *M. pini*, αναπαράγονται με την υποχρεωτική σύζευξη αρσενικού και θηλυκού. Μετά την ανάπτυξη του θηλυκού, το οποίο έχει σχήμα μήλου (Εικόνα 1.5), τα αυγά απελευθερώνονται στην επιφάνεια της ρίζας σε μια ζελατινώδη ουσία από γλυκοπρωτεϊνικό περίβλημα, την οποία παράγουν με τους αδένες του ορθού και ονομάζεται ωόσακος (Eisenback and Hunt, 2009). Ο ωόσακος προστατεύει τα ωά από αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες, κυρίως την ξηρασία, και από επιβλαβείς μικροοργανισμούς του εδάφους. Έχει αποδειχθεί ότι το περίβλημα του ωόσακου έχει αντιμικροβιακή δράση (Orion and Kritzman, 1991). Ο ωόσακος συνήθως βρίσκεται στη επιφάνεια των διογκωμένων ριζών,

παρόλα αυτά μπορεί να βρίσκεται και εντός του ριζικού ιστού (Εικόνα 1.6). Αρχικά ο ωόσακος είναι μαλακός, κολλώδης και διάφανος αλλά με το πέρασμα του χρόνου γίνεται πιο σκληρός και σκούρος κίτρινος (Moens et al., 2009). Ο αριθμός των αυγών που εναποθέτει το θηλυκό ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό και εξαρτάται από το φυτό ξενιστή, τις συνθήκες του περιβάλλοντος και τη φυσική κατάσταση του νηματώδη. Σε ένα κατάλληλο ξενιστή μπορεί να παραχθούν αρκετές εκατοντάδες έως και 2800 ωά (Κύρου, 2004). Η εμβρυογένεση μέσα στο ωό ακολουθείται από την πρώτη έκδυση, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό της J2.



Εικόνα 1.6 (I) Ωόσακοι προσκολλημένοι σε ρίζα τομάτας και (II) ενήλικο θηλυκό που έχει φωτοκίσει και ωόσακος (Eisenback and Zunke, 1997).

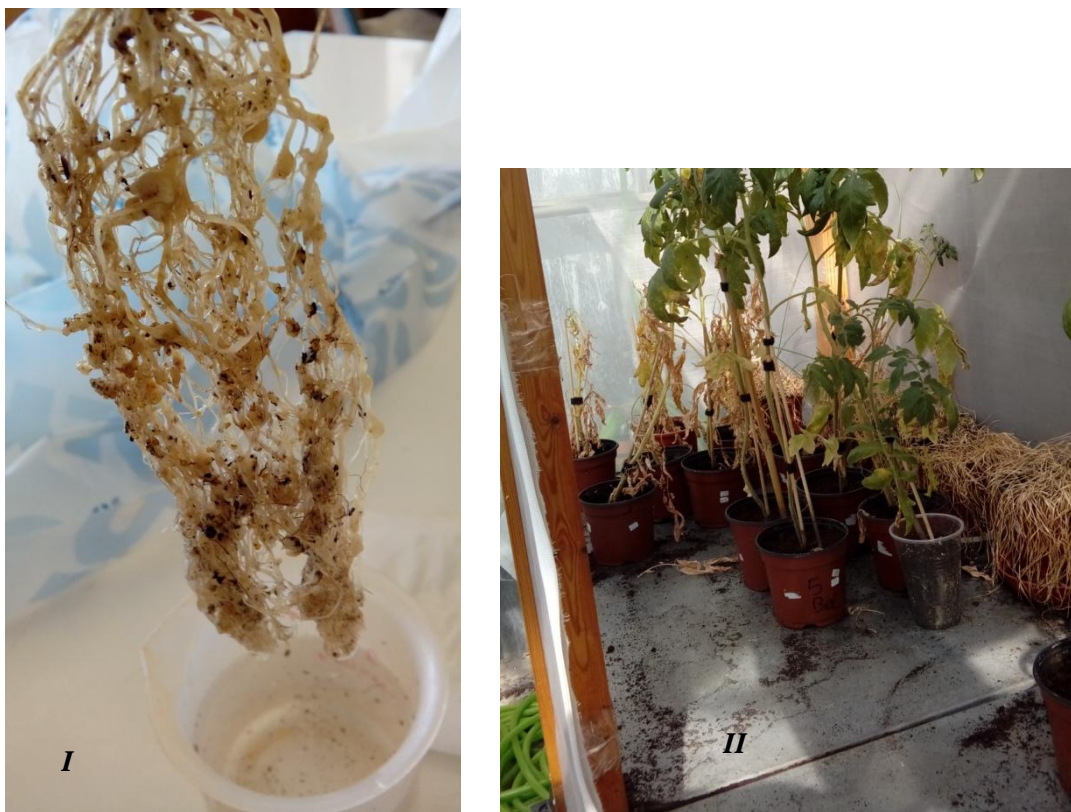
1.1.4 Συμπτωματολογία της προσβολής και παράγοντες που την επηρεάζουν

Οι κομβονηματώδεις, όπως όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί, πρέπει να τρέφονται, να αναπαράγονται και να επιβιώνουν όταν οι περιβαλλοντικές συνθήκες γύρω τους είναι είτε κατάλληλες είτε ακατάλληλες. Η αναπαραγωγή, η επιβίωση και η ζημιά στις καλλιέργειες ποικίλλουν και είναι μεγαλύτερες υπό περιβαλλοντικές συνθήκες που είναι βέλτιστες για τους νηματώδεις. Καθώς οι περιβαλλοντικές συνθήκες ποικίλλουν από βασικές σε βέλτιστες και εξαιρετικά ακατάλληλες για την ανάπτυξη και επιβίωση των νηματωδών, οι πληθυσμοί των νηματωδών στο έδαφος και τα φυτικά όργανα μεταβάλλονται αναλόγως. Η μεταβολή του αριθμού των νηματωδών με την πάροδο του χρόνου ορίζεται ως δυναμική του πληθυσμού. Η κατανόηση και ενδεχομένως η μοντελοποίηση της δυναμικής του πληθυσμού όπως επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες αποτελεί βασική πληροφορία για την πρόβλεψη της απώλειας απόδοσης που μπορεί να προκαλέσουν οι νηματώδεις στην καλλιέργεια φυτών καθώς και στην

εφαρμογή των καταλληλότερων μεθόδων διαχείρισης. Επειδή οι πληθυσμοί νηματωδών αυξάνονται με την παρουσία φυτού ξενιστή και επιβιώνουν κατά την απουσία του σύμφωνα με συγκεκριμένες στρατηγικές βιολογικού κύκλου, οι πληροφορίες σχετικά με τους ρυθμούς αύξησης και επιβίωσης των νηματωδών είναι απαραίτητες για μακροπρόθεσμες προβλέψεις.

Καθώς αντλούν θρεπτικά συστατικά από τους ιστούς των φυτικών οργάνων, οι νηματώδεις που προσβάλλουν φυτά περιγράφονται ως παρασιτικοί. Όλοι οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις, συμπεριλαμβανομένων των κομβονηματωδών, είναι υποχρεωτικά παράσιτα. Η αντίδραση των φυτών σε έναν παρασιτικό νηματώδη διαφέρει σημαντικά ανάλογα με το φυτικό είδος και την ποικιλία. Ο κομβονηματώδης και πολλοί άλλοι παρασιτικοί νηματώδεις είναι παθογόνοι και προκαλούν ασθένειες που εκφράζονται σε ιστολογικά, μορφολογικά, φυσιολογικά και μοριακά επίπεδα και έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ανάπτυξης, της απόδοσης, της διάρκειας ζωής και της αντίστασης στις περιβαλλοντικές καταπονήσεις των επηρεαζόμενων φυτών (Greco and Di Vito, 2009).

Οι κομβονηματώδεις προσβάλλουν το ριζικό σύστημα των φυτών καθώς και τα υπόλοιπα όργανά του. Οι κόμβοι (εξογκώματα) που σχηματίζονται στη ρίζα των φυτών που έχουν προσβληθεί από κομβονηματώδεις είναι το πιο χαρακτηριστικό σύμπτωμα, και συνήθως ο ωόσακος βρίσκεται προσκολλημένος πάνω στην κορυφή του κόμβου. Χαμηλή πυκνότητα μολύσματος προκαλεί το σχηματισμό μεμονωμένων κόμβων οι οποίοι περιέχουν ένα έως και λίγα θηλυκά άτομα και συνήθως έναν ωόσακο εξωτερικά. Το μέγεθος και ο αριθμός των κόμβων εξαρτάται από το επίπεδο του μολύσματος, το είδος των νηματωδών καθώς και από το βαθμό της ευαισθησίας του φυτού-ξενιστή (Κύρου, 2004). Στο υπέργειο τμήμα των φυτών δεν εμφανίζουν καμία τυπική μορφή που να προδίδει την παρουσία τους. Τα συμπτώματα που μπορούν να αποδοθούν στον παρασιτισμό των ριζών από τους κομβονηματώδεις είναι η χλώρωση των φύλλων και η μειωμένη ανάπτυξη του φυτού, εξαιτίας των σχηματιζόμενων κόμβων οι οποίοι δεν επιτρέπουν την καλή πρόσληψη και κυκλοφορία του νερού και των θρεπτικών συστατικών. Έτσι, κάτω από συνθήκες ξηρασίας, παρατηρείται μάρανση και σε σοβαρές προσβολές αναπόφευκτος θάνατος του φυτού (Carneiro et al., 1996). (Εικόνα 1.7)



Εικόνα 1.7 (I) προσβεβλημένη ρίζα τομάτας από κομβοηλιατώδεις, (II) Φυτά τομάτας προσβεβλημένα από κομβοηλιατώδεις

Η θερμοκρασία του εδάφους είναι ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει το βιολογικό κύκλο των ριζόκομβων νηματώδων επιδρώντας στην εμβρυακή ανάπτυξη των νηματώδων, στην εκκόλαψη των αυγών καθώς και στην αναπαραγωγή και επιβίωσή τους. Τα είδη του γένους *Meloidogyne* χρειάζονται περίπου 11500 με 13000 μονάδες θερμότητας (ημεροβαθμούς) για να συμπληρώσουν το βιολογικό τους κύκλο. Μία μονάδα θερμότητας είναι η επικράτηση θερμοκρασίας ενός βαθμού πάνω από την κατώτερο όριο (10°C) για χρονική διάρκεια μιας ώρας. Η επιβίωση του νηματώδη, απουσία του φυτού ξενιστή, επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, την υγρασία και τον τύπο του εδάφους. Η θερμοκρασία εδάφους για την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου κυμαίνεται από 14-32 °C με άριστη τους 27 °C (Κύρου, 2004), ενώ η άριστη θερμοκρασία για την επιβίωση των αυγών και των προνυμφών του γένους *Meloidogyne* είναι μεταξύ 10 και 15 °C. Με βάση τα παραπάνω και γνωρίζοντας τις ανάγκες του κάθε είδους νηματώδη σε θερμοκρασία, μπορεί να προβλεφθεί η πορεία ανάπτυξης του πληθυσμού του, υπό συγκεκριμένες συνθήκες, άρα και η λήψη κατάλληλων μέτρων καταπολέμησης (Ornat and Sorribas, 2008).

1.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΜΕΤΡΑ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΩΝ ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ

Τα είδη *Meloidogyne* αναγνωρίζονται ως σοβαροί εχθροί για τα συστήματα εντατικής καλλιέργειας παγκοσμίως. Οι πολυετείς καλλιέργειες όπως τα φρούτα, ο καφές, η μπανάνα και το αμπέλι καθώς και πολλές ετήσιες καλλιέργειες λαχανικών υποφέρουν από οικονομικές απώλειες εξαιτίας των κομβονηματωδών.

Όσον αφορά στην αντιμετώπιση των κομβονηματωδών, μπορούμε να συναντήσουμε τους όρους «έλεγχος» και «διαχείριση», οι οποίοι έχουν διαφορετικές σημασίες σχετικά με την καταστολή των αρνητικών επιπτώσεων των *Meloidogyne spp.* σε συστήματα εντατικής καλλιέργειας. Οι πρακτικές «ελέγχου» αναφέρονται σε συγκεκριμένες εφάπαξ ενέργειες που είναι διαθέσιμες στους καλλιεργητές για να μειώσουν τους πληθυσμούς των κομβονηματωδών κάτω από το οικονομικό όριο. Οι στρατηγικές «διαχείρισης» των νηματωδών βασίζονται σε συνδυασμό πρακτικών ελέγχου για την αποτελεσματική καταπολέμηση του πληθυσμού νηματωδών, σε μια προσπάθεια ελαχιστοποίησης των ανεπιθύμητων επιπτώσεων των *Meloidogyne spp.* στη γεωργική παραγωγή (Bernhard et al., 1985; Norris et al., 2003). Αυτές οι στρατηγικές διέπονται από την αξία και τα χαρακτηριστικά της καλλιέργειας (καλλιεργειών) εντός ενός συγκεκριμένου συστήματος, τις διάφορες επιλογές ελέγχου που μπορούν να χρησιμοποιηθούν και το επίπεδο γνώσης που υπάρχει σε σχέση με τα βιοτικά και αβιοτικά συστατικά που επηρεάζουν το σύστημα. Λόγω των κενών στη γνώση και των πολλών αβεβαιοτήτων που είναι εγγενείς σε τέτοια περίπλοκα συστήματα, οι καλλιεργητές είναι πολύ πιο πιθανό να χρησιμοποιήσουν πρακτικές ελέγχου αντί για στρατηγικές διαχείρισης για την καταπολέμηση των κομβονηματωδών στις περισσότερες καλλιέργειες.

Οι παραγωγοί που ασχολούνται με την εντατική παραγωγή καλλιεργειών συνήθως έχουν να επιλέξουν ανάμεσα από αρκετές επιλογές ως προς την (τις) πρακτική (-ες) που είναι η πλέον κατάλληλη για τον έλεγχο των πληθυσμών *Meloidogyne spp.* στις καλλιέργειές τους. Οι αποφάσεις που παίρνουν επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από τα χαρακτηριστικά των καλλιεργειών και από τα είδη κομβονηματωδών που υπάρχουν. Υψηλότερες απαιτήσεις καταπολέμησης είναι πιθανόν να είναι απαραίτητες σε πιο ευαίσθητες καλλιέργειες υψηλών αποδόσεων και σε πολυετή φυτά, λόγω της μεγάλης έκθεσης του ξενιστή στους νηματώδεις. Οι

πρακτικές ελέγχου, όπως η χρήση συνθετικών χημικών νηματωδών ή η αμειψισπορά, είναι πιθανό να αποτελούν αποκλειστική επιλογή σε ένα φάσμα καλλιεργειών για τα περισσότερα επικρατέστερα και πιο πολυφάγα είδη κομβονηματωδών, όπως τα *M. incognita*, *M. javanica* και *M. hapla*. Γενικά, οι περισσότερες πρακτικές ελέγχου πρέπει να επαναλαμβάνονται σε τακτική βάση, ιδιαίτερα όταν αφορούν ευαίσθητες καλλιέργειες. Οι περισσότερες τρέχουσες πρακτικές ελέγχου εμπίπτουν σε τρεις κατηγορίες: χημικές, καλλιεργητικές και βιολογικές.

1.2.1 Πρόληψη

Το εκτεταμένο εθνικό και παγκόσμιο εμπόριο φυτικού υλικού αυξάνει τον κίνδυνο εξάπλωσης των ενδογενών ειδών ή την εισαγωγή νέων ειδών σε αμόλυπτες περιοχές. Το πολλαπλασιαστικό υλικό που χρησιμοποιείται, όπως σπόροι, βολβοί, κόνδυλοι και ρίζες, θα πρέπει να είναι απαλλαγμένο από νηματώδεις και για το λόγο αυτό θα πρέπει να διενεργούνται κατάλληλοι φυτοϋγειονομικοί έλεγχοι. Ο έλεγχος του πολλαπλασιαστικού υλικού στοχεύει στην αποφυγή εισαγωγής οργανισμών καραντίνας σε οποιαδήποτε χώρα και θα μπορούσε να είναι σημαντικός για την αποφυγή προβλημάτων με άλλους ριζόκομβους νηματώδεις. Αξίζει να σημειωθεί ότι μεγάλος κίνδυνος για την εξάπλωση των νηματωδών μέσω του εδάφους και τη μεταφορά μολύσματος αποτελούν τα μολυσμένα γεωργικά εργαλεία. Σε αυτήν την περίπτωση, για την πρόληψη εισόδου των νηματωδών είναι απαραίτητη η διαδικασία απολύμανσης των γεωργικών εργαλείων με θερμό νερό ή ατμό ή με ένα χημικό παρασκεύασμα.

Η πρόβλεψη της απώλειας της παραγωγής η οποία βασίζεται στο επίπεδο της προσβολής από τους κομβονηματώδεις, όπως αυτό προσδιορίζεται από δειγματοληψίες πεδίου, συνήθως δεν είναι δυνατή, γιατί διαφοροποιείται από την αλληλεπίδραση του νηματώδη με το περιβάλλον (Noling, 1987). Για την βελτίωση των μοντέλων της πρόβλεψης είναι αναγκαίες εντατικές δειγματοληψίες πεδίου, οι οποίες όμως απαιτούν κόστος. Σε γενικές γραμμές, το κατώφλι οικονομικής ζημιάς των ειδών *Meloidogyne* είναι σχετικά χαμηλό και κυμαίνεται από 0.05 έως 4 προνύμφες ανά cm^3 εδάφους. Η προληπτική δειγματοληψία εδάφους μπορεί να βοηθήσει στη λήψη αποφάσεων όσον αφορά την αμειψισπορά.

1.2.2 Καλλιεργητικά μέτρα

Όλες οι ανθρώπινες δραστηριότητες που αποσκοπούν στη μείωση των πληθυσμών των κομβονηματωδών μπορούν να χαρακτηριστούν ως καλλιεργητικά μέτρα. Τα περισσότερα από αυτά τα μέτρα εφαρμόζονται περισσότερο στις ετήσιες καλλιέργειες και όχι τόσο στα πολυετή φυτά.

α) Αμειψισπορά

Είναι η πιο σημαντική μέθοδος περιορισμού των κομβονηματωδών. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα μιας τέτοιας στρατηγικής σε σύγκριση με τα άλλα καλλιεργητικά ή τη χρήση ενός νηματωδοκτόνου, είναι ότι έχει οικονομικό όφελος για τον παραγωγό. Οι καλλιεργητές που ασχολούνται με την εντατική ετήσια παραγωγή καλλιεργειών συχνά μειώνουν τους πληθυσμούς των ειδών *Meloidogyne* με την παρεμβολή καλλιεργειών που είτε δεν είναι ξενιστές του στοχευόμενου νηματώδη είτε είναι ανθεκτικές σε αυτόν. Η εναλλαγή καλλιεργειών για τον έλεγχο των κομβονηματωδών περιορίζεται εξαιτίας του μεγάλου εύρους ξενιστών διαφόρων σημαντικών ειδών νηματωδών. Κάποια είδη της οικογένειας των αγρωστωδών έχουν χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά στη μείωση των πληθυσμών *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* και *M. javanica* (Netscher and Taylor, 1979). Για παράδειγμα το κριθάρι ή το σόργο του Σουδάν μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε σύστημα αμειψισποράς για τη μείωση μολύνσεων που προέρχονται από το νηματώδη *M. hapla* (Bélair and Parent, 1996; Viaene and Abawi, 1998). Επίσης μπορεί να γίνει αμειψισπορά χρησιμοποιώντας καλλιέργειες που δρουν ανταγωνιστικά ως προς τους νηματώδεις, όπως είδη *Tagetes* και *Brassicaceae*, και να ακολουθήσει ενσωμάτωση τους πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας, προκειμένου αυτή να προστατευτεί (Hildago-Diaz and Kerry, 2008). Για παράδειγμα η καλλιέργεια κατηφέ (*Tagetes* spp.) χρησιμοποιήθηκε επιτυχώς στην μείωση πληθυσμών ειδών *Meloidogyne*, τόσο σε συνθήκες θερμοκηπίου όσο και σε συνθήκες αγρού (Ploeg, 1999; Wesemael and Moens 2008b), επειδή δεν αποτελεί ξενιστή για τους νηματώδεις του γένους *Meloidogyne*.

β) Αγρανάπαυση

Οι κομβονηματώδεις είναι υποχρεωτικά παράσιτα και ως εκ τούτου δε μπορούν να συμπληρώσουν το βιολογικό τους κύκλο εάν δεν υπάρχουν ξενιστές. Το σύστημα αυτό βοηθά στη μείωση των πληθυσμών των κομβονηματωδών, οι οποίοι παραμένουν εκτεθειμένοι στο έδαφος χωρίς ξενιστή, δηλαδή χωρίς τροφή και, έτσι, λόγω της ευαισθησίας τους στις δυσμενείς συνθήκες του περιβάλλοντος πεθαίνουν (Wesemael and Moens, 2008a; Wesemael et al., 2011). Πολλά ζιζάνια είναι ξενιστές για τα είδη *Meloidogyne* (Thomas et al., 2005; Kuttywayo and Been, 2006), επομένως απαιτείται ταυτόχρονη απομάκρυνση και καταστροφή των ζιζανίων κατά την εφαρμογή της αγρανάπαυσης.

γ) Ανθεκτικές ποικιλίες

Η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος μείωσης και ελέγχου των πληθυσμών των κομβονηματωδών. Ανθεκτικότητα στα φυτά σε προσβολές νηματωδών μπορεί να αναπτυχθεί, σε μικρό ή μεγάλο βαθμό με φυσική ή τεχνητή επιλογή, μετά από κατάλληλες διασταυρώσεις. Η δυσκολία βρίσκεται στο ότι ο αριθμός των ποικιλιών, με γνωστή ανθεκτικότητα στους νηματώδεις, που είναι εμπορεύσιμες είναι μικρός. Όσον αφορά στα σολανώδη, εμπορεύσιμες ποικιλίες που φέρουν κυρίαρχο ανθεκτικό γονίδιο εναντίον των κομβονηματωδών διατίθενται μόνο για τις καλλιέργειες της τομάτας και της πιπεριάς.

Η πιο χαρακτηριστική περίπτωση είναι το κυρίαρχο γονίδιο Mi, που βρέθηκε σε ένα άγριο είδος τομάτας (*Lycopersicon peruvianum*) και προσδίδει ανθεκτικότητα, στα είδη *M. incognita*, *M. javanica* και *M. arenaria* (Ντάλλη, 2010; Wesemael et al., 2011). Μέχρι σήμερα έχουν δημιουργηθεί ορισμένες ανθεκτικές ποικιλίες στην τομάτα όπως είναι η Hawaii 5229, που είναι ανθεκτική στα τρία είδη των κομβονηματωδών *M. incognita*, *M. javanica* και *M. arenaria* (Κύρου, 2004). Επίσης, μετά από πραγματοποίηση γενετικών αναλύσεων έχει δειχθεί ότι και η ανθεκτικότητα της πιπεριάς στους κομβονηματώδεις ελέγχεται από το κυρίαρχο γονίδιο N (Ντάλλη, 2010) καθώς και από τα έξι κυρίαρχα Me γονίδια (Me1 έως Me5, Me7) (Djian-Caropolino et al., 2007). Ωστόσο, έχουν καταγραφεί στην Ελλάδα και στην Ισπανία πληθυσμοί των ειδών *M. incognita* και *M. javanica* (Ornat et al., 2001) οι οποίοι έχουν την ικανότητα να προσβάλουν φυτά ανθεκτικά στους νηματώδεις. Το γεγονός αυτό ίσως οδηγήσει σε μείωση της χρήσης τους.

δ) Φυτά – παγίδες

Ορισμένες καλλιέργειες έχουν αναγνωρισθεί ως κατάλληλες για χρήση στον άμεσο έλεγχο των κομβονηματωδών (παγίδες) ή στην καταστολή των πληθυσμών νηματωδών ενώ παράλληλα παρέχουν και άλλα οφέλη όπως η μείωση της διάβρωσης του εδάφους, η βελτίωση της οργανικής ύλης του εδάφους ή η παροχή ζωοτροφών για βοσκότοπους). Αυτές οι καλλιέργειες διαφέρουν από την εναλλαγή καλλιεργειών, ως προς το ότι συνήθως δεν υπάρχει άμεση οικονομική απόδοση από την παραγωγή τους.

Με τη μέθοδο αυτή ο πληθυσμός των κομβονηματωδών μειώνεται με καλλιέργεια φυτών που είναι ιδιαίτερα ευπαθή στους υπάρχοντες νηματώδεις. Τα φυτά αναπτύσσονται για τόσο χρονικό διάστημα, όσο απαιτείται για την είσοδο των νηματωδών στο ριζικό σύστημα. Στη συνέχεια ακολουθεί η καταστροφή της καλλιέργειας, πριν οι νηματώδεις ολοκληρώσουν τον βιολογικό τους κύκλο, με σκοπό την παρεμπόδιση της δημιουργίας νέου μολύσματος.

ε) Απολύμανση του εδάφους με θερμότητα

Η ορθή απολύμανση του εδάφους αποτελεί μέτρο προστασίας των φυτών από τους φυτοπαθογόνους εδαφογενείς μικροοργανισμούς και πραγματοποιείται με τους ακόλουθους δύο τρόπους:

i. Με ατμό

Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στη θέρμανση του εδάφους σε βάθος 20-30 cm, μέχρι 80 °C, με την κυκλοφορία εντός αυτού υπέρθερμου ατμού, και έχει ως αποτέλεσμα το θάνατο όλων των εδαφογενών μικροοργανισμών που υπάρχουν σε αυτό (Collange et al., 2011). Σε βάθος περίπου 20 cm τοποθετούνται σωλήνες και κατά τη διοχέτευση του ατμού, το έδαφος σκεπάζεται με πλαστικό κάλυμμα για την παραμονή του ατμού εντός του και τη θανάτωση των νηματωδών. Η διαδικασία συνήθως απαιτεί επικράτηση θερμοκρασίας εδάφους 70 °C για 30 λεπτά το ελάχιστο. Όλοι οι νηματώδεις θανατώνονται σχεδόν ακαριαία σε θερμοκρασίες 52-60 °C (Κύρου, 2004). Για παράδειγμα ο θάνατος του *M. incognita* έχει παρατηρηθεί σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 48 °C. Η απολύμανση με ατμό δεν είναι πάντοτε αποτελεσματική λόγω της εξάπλωσης των νηματωδών σε βαθύτερα στρώματα εδάφους (Karssen and Moens, 2006; Wesemael and Moens, 2008b) και ως εκ τούτου αυτή η μέθοδος ελέγχου είναι γενικά αποτελεσματική μόνο σε αβαθή εδάφη.

ii. Ηλιοαπολύμανση

Είναι μια υδροθερμική μέθοδος, κατά την οποία η θερμότητα της ηλιακής ακτινοβολίας απορροφάται από το υγρό έδαφος, το οποίο τους καλοκαιρινούς μήνες είναι καλυμμένο με φύλλο λεπτού και διαφανούς πλαστικού πολυαιθυλενίου (Katan, 1980; 1981). Η περίοδος κάλυψης του εδάφους θα πρέπει να είναι ικανοποιητική, και απαιτούνται συνήθως τέσσερις εβδομάδες ή περισσότερες, για να καταστραφούν οι νηματώδεις που υπάρχουν σε μεγάλο βάθος. Η ηλιοαπολύμανση του εδάφους απαιτεί μεγάλες περιόδους έντονης ηλιακής ακτινοβολίας και είναι αποτελεσματική σε περιοχές όπου είναι επαρκής η διαθέσιμη ηλιακή ενέργεια για μεγάλες χρονικές περιόδους (π.χ. Μεσογειακές χώρες). Στη Ν. Ισπανία, η ηλιοαπολύμανση έχει χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο των *M. incognita* σε φυτώρια ελιάς (Nico et al., 2003). Συνδυασμός της ηλιοαπολύμανσης με το νηματωδοκτόνο βιολογικής προέλευσης που περιέχει σπόρια του βακτηρίου *Bacillus firmus* σε ένα πείραμα αγρού στην Ελλάδα, οδήγησε σε έλεγχο των ειδών *Meloidogyne*. (Giannakou et al., 2007).

1.2.3 Χημική μέθοδος καταπολέμησης

Η χημική καταπολέμηση αποτέλεσε το βασικό εργαλείο για τη μείωση των πληθυσμών κομβονηματωδών στις καλλιέργειες μεσαιών έως υψηλών αποδόσεων σε συστήματα εντατικής καλλιέργειας ολόκληρο τον 20ό αιώνα (Johnson, 1985, 1998; Luc et al., 1990; Halbrendt and LaMondia, 2004). Από το 1979 (EPA, 2007), οι ανησυχίες για το περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία μείωσαν σταθερά τη διαθεσιμότητα τέτοιων επιλογών ελέγχου, ξεκινώντας από τη χρήση του 1,2-διβρωμο-3-χλωροπροπανίου (DBCP). Μέχρι το 1981, η Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (EPA) ανέστειλε την έγκριση του DBCP ως υποκαπνιστικό νηματωδοκτόνο για όλες τις καλλιέργειες (Johnson and Feldmesser, 1987). Πολλά άλλα νηματωδοκτόνα, όπως το βρωμιούχο μεθύλιο, είχαν παρόμοια τύχη και έχουν αποσυρθεί στις ΗΠΑ και την Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ). Σύμφωνα με το πρωτόκολλο του Μόντρεαλ του 1992, η εισαγωγή και παρασκευή βρωμιούχου μεθυλίου απαγορεύθηκε στις ΗΠΑ και τη Δυτική Ευρώπη μετά τον Ιανουάριο του 2005 (Clean Air Act, 1990), λόγω του ρόλου του στην διεύθυνση της τρύπας του όζοντος. Στο πλαίσιο της οδηγίας 91/414/EEC για τις άδειες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, οι δραστικές ουσίες σε όλα τα νέα και υπάρχοντα φυτοφάρμακα υποβάλλονται

υποχρεωτικά σε διαδικασία πιστοποίησης, γεγονός το οποίο έχει μειώσει σημαντικά τον αριθμό νηματωδοκτόνων που έχουν εγκριθεί για χρήση (Haydock et al., 2006) . Παρόλο που εξακολουθούν να είναι σημαντικά εργαλεία για τον έλεγχο των κομβονηματοδών, η επικράτηση των νηματωδοκτόνων μειώθηκε σε πολλές περιοχές του κόσμου. Παρά τις μειώσεις αυτές, η χημική καταπολέμηση και η ανθεκτικότητα των φυτών ξενιστών παραμένουν τα κυριότερα μέσα ελέγχου των *Meloidogyne spp.* σε αρκετές πολυετείς και ετήσιες καλλιέργειες στη Βόρεια Αμερική (Roberts, 1993; Starr et al., 2002; Bridge and Starr, 2007).

Τα νηματωδοκτόνα, ανάλογα με τον τρόπο με τον οποίο μετακινούνται μέσα στο έδαφος, ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες, στα καπνιστικά και στα μη καπνιστικά. Τα καπνιστικά νηματωδοκτόνα είναι υγρά τα οποία εξατμίζονται και περνούν στην αέρια φάση κατά την είσοδο στο έδαφος. Η χημεία των καπνιστικών νηματωδοκτόνων, τα οποία χρησιμοποιούνται σήμερα σε συστήματα εντατικής γεωργικής παραγωγής περιλαμβάνει είτε ενώσεις που περιέχουν αλογονωμένους υδρογονάνθρακες είτε εκείνες που εκκενώνουν διθειάνθρακα ή ισοθειοκυανικό μεθύλιο. Τα καπνιστικά είναι πολύ πτητικές ουσίες και εφαρμόζονται στο έδαφος πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας για λόγους φυτοτοξικότητας. Η εφαρμογή μπορεί να γίνει κατά γραμμές, κατά λωρίδες, σε λεκάνες αρδύσεων ή σε όλη την έκταση του αγρού. Μετά την εφαρμογή καλό θα είναι να ακολουθεί πότισμα για καλύτερη αποτελεσματικότητα. Η κατανομή των καπνιστικών στο έδαφος εξαρτάται από την εδαφική υγρασία. Η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται από διάφορους παράγοντες. Οι σημαντικότεροι από αυτούς είναι η διαπερατότητα του εδάφους, οι κλιματολογικές συνθήκες (θερμοκρασία, υγρασία) και οι συνθήκες υποκαπνισμού. Σ' αυτήν την κατηγορία νηματωδοκτόνων και αναλόγως του τρόπου δράσης της δραστικής ουσίας που περιέχουν, μπορούμε να διαχωρίσουμε δυο διαφορετικές ομάδες. Στην πρώτη ομάδα απαιτείται η παρουσία νερού, ώστε να ενεργοποιηθούν οι δραστικές ουσίες και να εκδηλώσουν την τοξική τους δράση. Σ' αυτήν την ομάδα ανήκουν οι ενώσεις που απελευθερώνουν ισοθειοκυανιούχο μεθύλιο όπως π.χ το metham sodium και το dazomet. Το ισοθειοκυανιούχο μεθύλιο διεισδύει μέσω του δερματίου και αντιδρά με αμινοξέα, οξειδάσες και τις νουκλεοφιλικές θέσεις των πρωτεϊνών. Οι χημικές ουσίες της δεύτερης ομάδας των αλκυλαλιδίων, στην οποία ανήκουν το βρωμιούχο μεθύλιο και το 1,3-διχλωροπροπένιο, δρουν και αυτές στις αντιδράσεις νουκλεοφιλικής αντικατάστασης, διαπερνώντας απ' ευθείας το δερμάτιο των νηματωδών. Οι χημικές ουσίες της δεύτερης ομάδας ενεργούν πολύ γρήγορα και θανατώνουν τους νηματώδεις, γεγονός το οποίο αποδίδεται από τους Wade και Castro (1990)

στην οξείδωση των σιδηροπορφυρικών πρωτεϊνών και αιμοπρωτεϊνών. Τα καπνιστικά νηματωδοκτόνα είναι αποτελεσματικά εναντίον όλων των σταδίων του βιολογικού κύκλου των νηματωδών, σε αντίθεση με τα μη καπνιστικά τα οποία δε σκοτώνουν απευθείας τους νηματώδεις (Wright, 1981).

Τα μη-καπνιστικά νηματωδοκτόνα δεν καταστέλλουν τους πληθυσμούς των νηματωδών τόσο αποτελεσματικά όσο τα καπνιστικά, επειδή δεν έχουν τόσο ευρύ φάσμα δράσης (Luc et al., 2005). Αυτές οι χημικές ουσίες είναι τυποποιημένες είτε ως κοκκώδεις είτε ως υγρά υλικά και περιλαμβάνουν προϊόντα όπως το aldicarb, το oxamyl, το ethoprop / ethoprofos, το fenamiphos, το carbofuran, το fosthiazate και το terbufos, τα οποία είναι τουλάχιστον μέτρια αποτελεσματικά εναντίον των *Meloidogyne spp.* σε επίπεδο αγρού και θερμοκηπίου. Αυτά τα προϊόντα είναι διαθέσιμα σε παγκόσμιο επίπεδο, όμως πολλές από τις εγκρίσεις έχουν ανακληθεί ή τα προϊόντα έχουν αποσυρθεί οικειοθελώς από τον κατασκευαστή στις ΗΠΑ και την Ευρώπη. Σε αντίθεση με τα καπνιστικά, τα μη καπνιστικά νηματωδοκτόνα δεν είναι πτητικά και πρέπει να περάσουν στην υγρή φάση του εδάφους (μέσω της άρδευσης ή / και της βροχόπτωσης) ώστε να είναι δραστικά εναντίον των νηματωδών. Τα μη καπνιστικά προϊόντα χωρίζονται σε δύο κύριες χημικές κατηγορίες, οι οποίες περιλαμβάνουν οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά. Δεν προκαλούν προβλήματα φυτοτοξικότητας, όταν η συχνότητα εφαρμογής τους είναι η συνιστώμενη. Τα μη καπνιστικά δρουν εξ επαφής ή κινούμενα διασυστηματικά μέσα στο φυτό και εφαρμόζονται μετά τη φύτευση. Τα νηματωδοκτόνα αυτά, διεισδύουν απευθείας το δερμάτιο και αναστέλλουν τη δράση της ακετυλοχολινεστεράσης και χολινεστεράσης καθώς και άλλων δευτερεύουσας σημασίας εστερατικών ενζύμων. Αποτέλεσμα της δράσης τους είναι η εξασθένηση της νευρομυϊκής λειτουργίας που ενεργεί αρνητικά στο ρυθμό ανάπτυξης και αναπαραγωγής. Ο θάνατος των νηματωδών είναι αποτέλεσμα της αδυναμίας τους να μετακινηθούν και να συλλέξουν τροφή. Τα μη καπνιστικά νηματωδοκτόνα συνήθως εφαρμόζονται μετά την εγκατάσταση της καλλιέργειας και πρέπει να παραμένουν στο εδαφικό διάλυμα σε συγκεντρώσεις ικανές να θανατώνουν τους νηματώδεις για τουλάχιστον 6-8 εβδομάδες, όσο χρονικό διάστημα απαιτείται για την εκκόλαψη του μεγαλύτερου ποσοστού των αυγών. Η δραστικότητα των μη καπνιστικών, μπορεί να μειωθεί σημαντικά λόγω του ότι βιοαποδομούνται με μεγάλη ταχύτητα στο έδαφος όταν εφαρμόζονται επαναλαμβανόμενα (Karpouzias et al 2004; Ornat and Sorribas, 2008).

Έχουν πραγματοποιηθεί διάφορες μελέτες που εστίασαν στην αντικατάσταση του βρωμιούχου μεθυλίου από άλλα καπνιστικά ή μη καπνιστικά νηματωδοκτόνα για χρήση σε θερμοκήπια (Giannakou and Anastasiadis, 2005). Σήμερα, τα νηματωδοκτόνα που έχουν έγκριση κυκλοφορίας στην Ελλάδα είναι τα: fenamiphos (οργανοφωσφορικό), oxamyl (καρβαμιδικό), dazomet (διθειοκαρβαμιδικό), ethoprophos (οργανοφωσφορικό) και fosthiazate (οργανοφωσφορικό), , *paecilomyces lilacinus* strain 251, ethoprophos, abamectin, *bacillus firmus* i-1582, garlic extract και fluopyram. (http://www.minagric.gr/syspest/syspest_bycat_byactive.aspx).

Ως αποτέλεσμα των επιπτώσεων των χημικών επεμβάσεων και του μικρού αριθμού των συνθετικών νηματωδοκτόνων, έχει δημιουργηθεί η ανάγκη για εξεύρεση νέων μεθόδων αντιμετώπισης των κομβονηματωδών, φιλικότερων προς το περιβάλλον και κατ' επέκταση προς τον άνθρωπο και την κοινωνία.

1.2.4 Βιολογικές μέθοδοι καταπολέμησης

α) Με μύκητες και βακτήρια

Οι νηματωβόροι μύκητες και βακτήρια υπήρξαν το αντικείμενο πολλών Ευρωπαϊκών μελετών για τον έλεγχο των νηματωδών (Viaene et al., 2006). Ανταγωνιστικοί μύκητες, όπως οι *Raecilomyces lilacinus* και *Pochonia chlamydosporia*, αποτελούν επιτυχή παραδείγματα βιολογικής διαχείρισης των *M. incognita*, *M. javanica* και *M. hapla*. Οι Kiewnick και Sikora (2006) απέδειξαν ότι η προσπαρτική (pre-plant) εφαρμογή του μύκητα *P. lilacinus* (στέλεχος 251) περιόρισε σε μεγάλο βαθμό τους πληθυσμούς των ειδών *M. incognita* και *M. hapla* στην τομάτα. Γενικά, οι ανταγωνιστικοί μύκητες προσβάλλουν τους νηματώδεις, όταν αυτοί βρίσκονται στο στάδιο του ενήλικου, της προνύμφης και του αυγού. Ο μύκητας *P. chlamydosporia*, ο οποίος παρασιτεί τα ωά, προκάλεσε μείωση του *M. javanica* σε καλλιέργειες λαχανικών στην Κρήτη (Tzortzakakis and Petsas, 2003). Πειράματα θερμοκηπίου έδειξαν ότι ο ίδιος νηματοφάγος μύκητας σε ένα σύστημα αμειψισποράς καλλιέργειας τομάτας και μαρουλιού, επιβράδυνε την εξάπλωση και αναπαραγωγή του *M. javanica* για τουλάχιστον πέντε έως επτά μήνες (Wesemael et al., 2011). Ο μύκητας *Trichoderma viride* αποτελεί παράγοντα παρεμπόδισης της εκκόλαψης αυγών (Goswami and Mittal, 2004) για το γένος *Meloidogyne*.

Οι θυσανώδεις μυκόρριζες (AMF) είναι μύκητες που σχηματίζουν θυσάνους (arbuscules) μέσα στα κύτταρα των φυτικών ιστών χωρίς να προκαλούν ασθένεια και μπορούν να παίξουν προστατευτικό ρόλο εναντίον των παρασιτικών νηματωδών. Τα είδη *Glomus* είναι αυτά που έχουν μελετηθεί περισσότερο για τον έλεγχο εναντίον των νηματωδών (Hol and Cook, 2005). Η εγκατάσταση των AMF μυκόρριζών σε ελιές μείωσε σημαντικά την ανάπτυξη κόμβων στις ρίζες καθώς επίσης και την αναπαραγωγή των *M. incognita* και *M. javanica*. Επίσης, ο εμβολιασμός με μυκόρριζες σε φυτά τομάτας και σε υποκείμενα ροδάκινου προστάτευσε τα φυτά εναντίον των *M. incognita* και μείωσε σημαντικά την αναπαραγωγή των νηματωδών (Wesemael et al., 2011).

Στην ομάδα των ανταγωνιστικών βακτηρίων ανήκουν τα είδη *Pasteuria penetrans* και *Pseudomonas fluorescens* που έχουν μελετηθεί ιδιαίτερα ως βιολογικά μέσα καταπολέμησης. Η αποτελεσματικότητα του βακτηρίου *P. penetrans* εξαρτάται σημαντικά από τις συγκεντρώσεις των σπορίων. Τα σπόρια του βακτηρίου αυτού δρουν κατά την εκκόλαψη και μετακίνηση των J2 των κομβονηματωδών προς το ριζικό σύστημα του φυτού ξενιστή, με αποτέλεσμα να μειώνεται η αναπαραγωγική ικανότητα των κομβονηματωδών. Πειράματα υπό κάλυψη που πραγματοποιήθηκαν στην Κρήτη, έδειξαν ότι το βακτήριο *P. penetrans* οδήγησε σε παρασιτισμό των ενήλικων θηλυκών, σε ποσοστό 65-75 % (Tzortzakakis et al., 1999). Επίσης το βακτήριο *P. fluorescens* ελέγχει αποτελεσματικά τους κομβονηματώδεις σε καλλιέργειες λαχανικών (Stalin et al., 2007).

β) Βιοαπολύμανση

Η βιοαπολύμανση ορίζεται ως η απολύμανση του εδάφους, και κατ'επέκταση η καταπολέμηση εδαφογενών φυτοπαθογόνων (π.χ. νηματώδεις) και ζιζανίων (Kirkegaard and Saarwar, 1998; Bello et al., 2000), με την ενσωμάτωση φυτικών υπολειμμάτων τα οποία περιέχουν γλυκοσινολικά οξέα και των οποίων η άμεση υδρόλυση οδηγεί στην παραγωγή πτητικών βιοκτόνων ουσιών όπως οι ισοθειοκυανιούχες ενώσεις. Κατά την εφαρμογή της μεθόδου γίνεται ενσωμάτωση φυτικής μάζας στο έδαφος, ακολουθεί πότισμα και εφαρμογή στην επιφάνεια διαφανούς πλαστικού, επί 12-15 εβδομάδες. Η χρήση οργανικών εδαφοβελτιωτικών έχει θετική επίδραση στη φυσική δομή του εδάφους και στην υδατοχωρητικότητα του, και ενισχύει την δραστηριότητα εκείνων των μικροοργανισμών του εδάφους που αναστέλλουν τη δράση των νηματωδών. Η εφαρμογή της βιοαπολύμανσης έχει

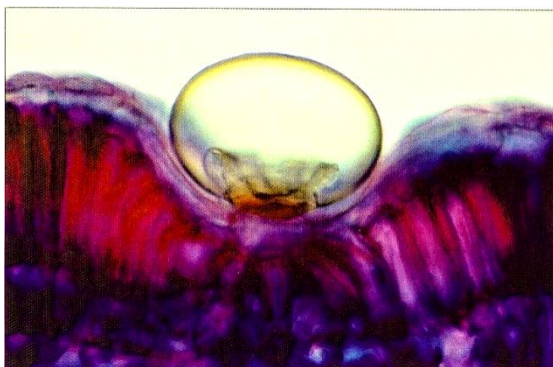
αυξηθεί σημαντικά στη Ν. Ευρώπη λόγω της απαγόρευσης του βρωμιούχου μεθυλίου και του περιορισμού της χρήσης άλλων καπνιστικών γεωργικών φαρμάκων στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Διάφορα είδη του γένους *Brassica* έχουν μελετηθεί ιδιαίτερα όσον αφορά στην καταπολέμηση των κομβοηματοδών με τη μέθοδο της βιοαπολύμανσης. Περιέχουν γλυκοσινολικές ουσίες οι οποίες μετά τη μηχανική ρήξη των κυττάρων που τις περιέχουν μετατρέπονται σε ισοθειακυανιούχες, ενώσεις τοξικές για τους νηματώδεις (Ντάλλη, 2010). Στην Ιταλία ενσωμάτωσαν βιομάζα από τα είδη *Brassica juncea* και *Eruca sativa* με ελπιδοφόρα αποτελέσματα, όχι μόνο στην μείωση της πυκνότητας των πληθυσμών *M. incognita* αλλά και στην αύξηση της απόδοσης της τομάτας και του καρότου. Τα βελτιωτικά των ειδών *Brassica* μείωσαν την επιβίωση των *M. javanica* ανεξάρτητα από την συγκέντρωση γλυκοσινολικής ουσίας του βελτιωτικού υλικού (Wesemael et al., 2011). Παρόλα αυτά για να υπάρξει σημαντική επίδραση στους πληθυσμούς των νηματωδών, θα πρέπει να εφαρμοστούν οργανικά βελτιωτικά σε υψηλά ποσοστά (Akhtar and Malik, 2000). Η χρήση φυτικών υπολειμμάτων από καλλιέργειες (biofumigation crops) που περιέχουν πτητικές βιοκτόνες ουσίες θα μπορούσε να αποτελέσει βιώσιμη εναλλακτική λύση των χημικών μεθόδων αντιμετώπισης. Ωστόσο, το αυξανόμενο ενδιαφέρον για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, προκαλεί την ανάγκη για χρήση αυτών των προϊόντων στην παραγωγή βιοκαυσίμων και βιοαερίου (biogas), με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η χρήση τους στη γεωργία.

1.3 ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

1.3.1 Αιθέρια έλαια

Το αιθέριο έλαιο είναι ένα συμπυκνωμένο υδρόφοβο υγρό που περιέχει πτητικές ενώσεις αρώματος από τα φυτά. Η βιοσύνθεση των αιθέριων ελαίων είναι μια σειρά διαφόρων χημικών αντιδράσεων που γίνονται μέσα στους φυτικούς ιστούς. Τα αιθέρια έλαια μπορούν να συντεθούν σε όλα τα φυτικά όργανα, δηλαδή μπουμπούκια, άνθη, φύλλα, μίσχους, κλαδιά, σπόρους, φρούτα, ρίζες, ξύλο ή φλοιό και αποθηκεύονται σε ειδικούς αδένες εκκρίσεως, εσωτερικούς ή εξωτερικούς (Εικόνα 1.8). Η έκλυση του αιθέριου ελαίου από τα φυτά αποδίδεται τόσο στην

εξάτμιση, όσο και στη ρήξη των τοιχωμάτων των αδένων που προκαλείται από την αναπτυσσόμενη οσμωτική πίεση των κυττάρων που περιβάλλουν τους αδένες.



Εικόνα 1.8 Ελαιοφόρος αδένας σε φυτό ρίγανης

Τα αιθέρια έλαια εξάγονται από διάφορα αρωματικά φυτά τα οποία γενικά εντοπίζονται σε εύκρατες έως θερμές χώρες όπως οι Μεσογειακές και τροπικές χώρες όπου αντιπροσωπεύουν ένα σημαντικό μέρος της παραδοσιακής φαρμακοποιίας. Αυτή η ευρεία κλίμακα κατανομής των αρωματικών φυτών παραλληλίζεται με μία ποικιλία επιδερμικών κυτταρικών δομών που παράγουν αιθέρια έλαια και μια μυριάδα ποσοτικών και ποιοτικών συνδυασμών των χημικών συστατικών των πτητικών ελαίων των φυτών αυτών.

Το χαρακτηριστικό άρωμα κάθε αιθέριου ελαίου είναι η συνισταμένη όλων των συστατικών του. Μερικά από τα συστατικά παίζουν σπουδαίο ρόλο στον τελικό τόνο αυτού, έτσι σε μερικά αιθέρια έλαια η παρουσία ενός συστατικού σε αναλογία 1% ή και μικρότερη, έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή του αρώματος.

Οι χημικές ενώσεις των αιθέριων ελαίων είναι δευτερογενείς μεταβολίτες του φυτού και παίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνά του, αφού συχνά έχουν αντιμικροβιακές ιδιότητες. Είναι γνωστό ότι πολλοί παράγοντες επηρεάζουν την απόδοση και τη σύνθεση του αιθέριου ελαίου, όπως η εποχή, το φυτικό όργανο, η θερμοκρασία και το αναπαραγωγικό στάδιο (Potievsky et al., 1986; Figueiredo et al., 1997). Συχνά ένα αιθέριο έλαιο περιλαμβάνει περισσότερα από 100 διαφορετικά συστατικά. Τα περισσότερα έλαια περιέχουν ένα ή περισσότερα κύρια συστατικά τα οποία τους δίνουν το χαρακτηριστικό άρωμα και τις βιολογικές ιδιότητες, όμως τα δευτερεύοντα συστατικά παίζουν κι αυτά ρόλο στην παραγωγή του τελικού προϊόντος. Τα περισσότερα από τα αιθέρια έλαια που χρησιμοποιούνται για ανθρώπινη χρήση αποτελούνται

κυρίως από δύο κατηγορίες συστατικών, τερπένια τερπενοειδή και αρωματικά/αλειφατικά συστατικά, όλα μικρού μοριακού βάρους.

1.3.2 Αιθέρια έλαια με νηματωδοκτόνο δράση για την καταπολέμηση των κομβονηματωδών του γένους *Meloidogyne*

Ένας μεγάλος αριθμός αιθέριων ελαίων που εξήχθησαν από φυτά διαφορετικών βοτανικών οικογενειών έχει εξεταστεί *in vitro* για τη νηματωδοκτόνο δράση τους, κυρίως εναντίον του *B. xylophilus* και των *Meloidogyne spp.*. Μεταξύ των φυτών που παράγουν αιθέρια έλαια, ορισμένες οικογένειες όπως οι Lamiaceae, Asteraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Lauraceae και Poaceae έχουν μελετηθεί ευρέως. Ιδιαίτερα τα αρωματικά φυτά των γενών *Artemisia*, *Cymbopogon*, *Lavandula*, *Mentha*, *Oreganum*, *Ocimum*, *Rosmarinus*, *Thymus* και αρωματικά δένδρα των γενών *Citrus*, *Eucalyptus*, *Eugenia* και *Melaleuca* (Andres et al., 2012).

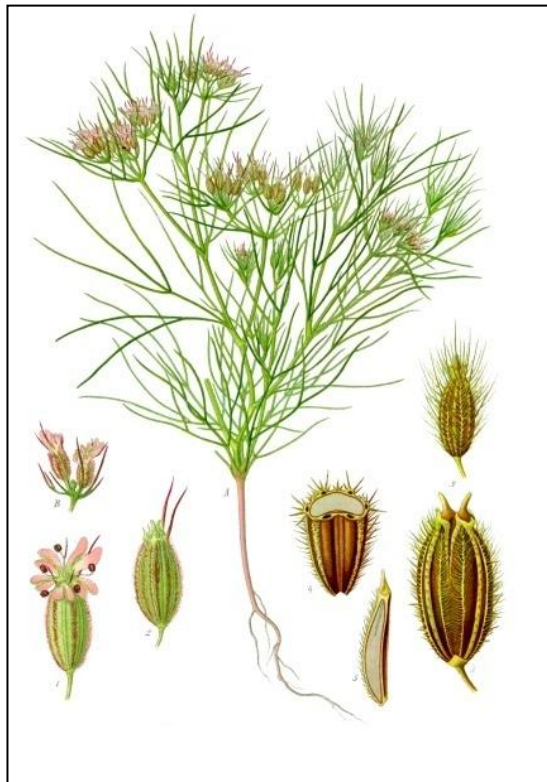
Η νηματωδοκτόνος δράση των αιθέριων ελαίων από τα μπαχαρικά και τα φαρμακευτικά φυτά σε κομβονηματώδεις έχει αναφερθεί ευρέως. Πολλές μελέτες περιέγραψαν τα υψηλά ποσοστά θνησιμότητας προνυμφών δευτέρου σταδίου κομβονηματωδών (*Meloidogyne incognita* και *M. javanica*), τα οποία προκλήθηκαν από το αιθέριο έλαιο των *Cymbopogon martini motia*, *C. flexuosus* και *C. winterianus* (Sangwan et al., 1985; Saxena et al., 1987). Οι Oka et al. (2000) αξιολόγησαν τη νηματωδοκτόνο δράση 25 μπαχαρικών και αρωματικών φυτών κατά του *M. javanica*. Έδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια των ειδών *Artemisia judaica*, *Carum carvi*, *Corridothymus capitatus*, *Cymbopogon citratus*, *Foeniculum vulgare*, *Mentha rotundifolia*, *Mentha spicata* προκάλεσαν παράλυση των προνυμφών δευτέρου σταδίου και παρεμπόδιση της εκκόλαψής τους σε συγκέντρωση 1000 μl/L. Υψηλή τοξικότητα των αιθέριων ελαίων των ειδών *Cymbopogon* (*C. citratus*, *C. flexuosus*, *C. martinii*, *C. nardus* και *C. winterianus*), *Mentha* (*M. arvensis*, *M. citrata*, *M. piperita*, *M. pulegium* και *M. spicata*), *Perlargonium graveolens* και *Ocimum basilicum* έχει καταγραφεί επίσης σε προνύμφες δευτέρου σταδίου *M. incognita* σε διάφορες συγκεντρώσεις (Leela et al., 1992; Pandey et al., 2000; Sinha et al., 2006; Moreira et al., 2009; Ntalli et al. 2010). Οι Perez et al. (2003) έδειξαν ότι το έλαιο του *Chrysanthemum coronarium* (στα 2, 4, 8 και 16 μl / ml), μείωσε σημαντικά την εκκόλαψη αυγών, την επιβίωση των J2 και τον ρυθμό αναπαραγωγής του *M. artiella*. Το αιθέριο έλαιο του *Eucalyptus spp.* είχε επίσης νηματωδοκτόνο δράση (Batish et al., 2008). Ειδικότερα, τα είδη *E. citriodora* και *E.*

hybrida, αποδείχθηκαν τοξικά σε προνύμφες δευτέρου σταδίου *M. incognita* (Saxena et al., 1987), ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις (Pandey et al., 2000), τα είδη *E. camadulensis*, *E. saligma* και *E. urophylla* προκάλεσαν θνησιμότητα στις προνύμφες δευτέρου σταδίου *M. exigua* (Salgado et al., 2003) και τα είδη *E. globulus* και *E. meliodora* φάνηκε να έχουν δράση στον κομβονηματώδη *M. incognita* (Gupta et al., 2011; Ntalli et al., 2011). Υψηλή θνησιμότητα J2 του *M. exigua* προκλήθηκε από τα έλαια των *Bixa orellana*, *Melia azedarach* and *Xylopi brasiliensis* (Salgado et al., 2003).

Η πιο πρόσφατη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας δείχνει ότι η μελέτη της δράσης των αιθέριων ελαίων εναντίον των νηματωδών αποτελεί αντικείμενο έντονου ενδιαφέροντος και ο αριθμός των δημοσιευμάτων αυξάνεται συνεχώς. Πολλοί ερευνητές εστιάζουν, εκτός από τα αιθέρια έλαια ή άλλα φυτικά εκχυλίσματα, και στα συστατικά από τα οποία αποτελούνται τα εκχυλίσματα που παραλαμβάνουν από τα φυτά.

1.3.3 *Cuminum cuminum*

Το κύμινο (*Cuminum cuminum* L.) είναι ένα μικρό, ετήσιο, ποώδες φυτό που ανήκει στην οικογένεια Apiaceae (Εικόνα 1.9). Καλλιεργείται στην Αραβία, την Ινδία, την Κίνα και στις χώρες που συνορεύουν με τη Μεσόγειο Θάλασσα (Thippeswamy and Naidu, 2005). Οι σπόροι του έχουν επίμηκες σχήμα, παχύτερο στη μέση, συμπίεσμένο πλευρικά με εννέα λεπτές κορυφές περίπου 5 ιντσών και κίτρινου χρώματος (Hashim and El-Kiey, 1962). Είναι ένα ποώδες ετήσιο φυτό, με ένα λεπτό διακλαδισμένο στέλεχος με ύψος 20-30 cm. Τα φύλλα έχουν μήκος 5-10 cm και είναι απλά ή σύνθετα, με νηματοειδή μορφή. Τα λουλούδια είναι μικρά, λευκά ή ροζ, σε σκιάδια. Ο καρπός είναι πλαγίο ή ωοειδές αχάινιο μήκους 4-5 mm και περιέχει έναν μόνο σπόρο. Σήμερα, το κύμινο είναι το δεύτερο πιο δημοφιλές καρύκευμα στον κόσμο μετά το μαύρο πιπέρι. Οι σπόροι του χρησιμοποιούνται ως μπαχαρικό για το ιδιαίτερο άρωμά τους. Το κύμινο είναι δημοφιλές στην κουζίνα της Ινδίας, του Πακιστάν, της Βόρειας Αφρικής, της Μέσης Ανατολής, της Σρι Λάνκα, της Κούβας, του Μεξικού και της δυτικής κινεζικής κουζίνας του Sichuan και του Xinjiang (Daniel and Maria, 2000; <http://www.foodreference.com/html/fcumin.html>). Τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου του κύμινου είναι τα cumin aldehyde, cymen και κάποια τερπενοειδή (El-Hamidi και Ahmed, 1966).

	Συστηματική Κατάταξη
	Βασίλειο : Plantae
	Υποβασίλειο : Tracheobionta
	Υπερδιαίρεση : Spermatophyta
	Διαίρεση : Magnoliophyta
	Κλάση : Magnoliopsida
	Υποκλάση : Rosidae
	Τάξη : Apiales
	Οικογένεια : Apiaceae
	Γένος : <i>Cuminum</i> L.
Είδος : <i>Cuminum cyminum</i> L.	

Εικόνα 1.9 Συστηματική κατάταξη του φυτού *Cuminum cyminum* L.

Η χρήση μπαχαρικών ως προσθέτων τροφίμων έχει γίνει ευρέως αποδεκτή από την αρχαιότητα. Πρόσφατα, έχει ξεκινήσει έρευνα για την σημασία των μπαχαρικών ως φυσικές θρεπτικές ουσίες, τόσο ως λειτουργικά συστατικά τροφίμων όσο και ως συμπληρώματα διατροφής. Επιπλέον, έχει αποδειχτεί ότι τα μπαχαρικά έχουν και ιατρική αξία. Έχουν χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο αριθμό φαρμακευτικών παρασκευασμάτων για τη θεραπεία διαφόρων διαταραχών, ιδιαίτερα του πεπτικού συστήματος (Muthamma et al., 2008). Στην παραδοσιακή ιατρική, οι σπόροι από το κύμινο έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία του πονόδοντου, της δυσπεψίας, της διάρροιας, της επιληψίας και του ίκτερου (Eikani et al., 1999; Nostro et al., 2005). Επίσης, έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως λόγω των διουρητικών και αντισπασμωδικών ιδιοτήτων του (Janahmadi et al., 2006; Singh et al., 2002).

Στο χώρο της βιομηχανίας τροφίμων, οι H. Hajlaoui et al. (2010) έδειξαν ότι οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του αιθέριου ελαίου του κύμινου είναι απαραίτητες προκειμένου να βρεθούν πιθανές εναλλακτικές λύσεις εναντίον των συνθετικών συντηρητικών. Σε αυτό το

πλαίσιο, το αιθέριο έλαιο του *C. cyminum* έδωσε ενδιαφέροντα αποτελέσματα, αποτελώντας έτσι ένα από τα πολλά υποσχόμενα φυτικά εκχυλίσματα ως προς την ικανότητα εξουδετέρωσης των ελεύθερων ριζών και πρόληψης της οξειδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων. Οι Viuda-Martos et al. (2008) έλεγξαν τις in vitro αντιβακτηριακές δραστηριότητες έξι αιθέριων ελαίων (θυμάρι, φασκόμηλο, κύμινο, δενδρολίβανο, γαρίφαλο και ρίγανη) εναντίον έξι μικροοργανισμών. Αυτοί οι συγγραφείς ανέφεραν ότι το αιθέριο έλαιο από το κύμινο ήταν το πιο αποτελεσματικό αιθέριο έλαιο μετά της ρίγανη, και έδειξε ζώνες αναστολής μεταξύ 31,23 mm και 38,17 mm στο βακτήριο *Lactobacillus sakei*.

Τέλος, όσο αφορά στην φυτοπροστασία, οι Abbas et al. (2009) έδειξαν ότι το υδατικό εκχύλισμα του *C. cyminum* παρουσίασε τη μεγαλύτερη νηματοδοκτόνο δράση εναντίον των αυγών του *M. javanica* καθώς μείωσε τα αυγά σε συγκέντρωση 100% w/v. Προηγούμενες εργασίες είχαν εξετάσει το αιθέριο έλαιο από τους σπόρους του *Cuminum cyminum*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι είχε 100% ακαρεοκτόνο δράση εναντίον του *R. microplus*. Η ακαρεοκτόνος δράση του αιθέριου ελαίου του *C. cyminum* αποδόθηκε σε υψηλά επίπεδα cuminaldehyde (22,03%), γ- terpinene (15,69%) και 2-carene-10-al (12,89%). Οι συγγραφείς πρότειναν ότι δευτερεύοντα συστατικά όπως τα ο-cimene και β-pinene θα μπορούσαν επίσης να συμβάλλουν στην αύξηση της δραστηριότητας (Martinez-Velázquez et al., 2011). Σε μελέτη των Tunc et al. (2000) φάνηκε ότι το αιθέριο έλαιο από το κύμινο είχε δράση μόνο εναντίον των αυγών του *E. kuehniella* και όχι εναντίον των αυγών του *T. confusum*. Επίσης στην ίδια έρευνα το LT₉₉ εκτιμήθηκε σε 127,0 h για το *E. kuehniella* σε συγκέντρωση 98.5 μl/L.


1.3.4 *Nigella sativa*

Το φυτό *Nigella sativa* L. (μαύρο κύμινο, nigella ή kalonji) είναι ένα ετήσιο ανθοφόρο φυτό της οικογένειας Ranunculaceae, εγγενές στη νότια και νοτιοδυτική Ασία και καλλιεργούμενο σε χώρες που συνορεύουν με τη Μεσόγειο Θάλασσα (Εικόνα 1.10). Έχει γεύση ελαφρώς πικρή και πικάντικη και τραγανή υφή. Οι σπόροι είναι γωνιακοί, γενικά μικρού μεγέθους (1-5 mg), σκούρου γκριζου ή μαύρου χρώματος και έχουν διάφορες βρώσιμες και φαρμακευτικές χρήσεις σε πολλές χώρες (Cheikh-Rouhou et al., 2007).

Η σύνθεση και οι ιδιότητες αυτού του είδους έχουν διερευνηθεί αρκετά καλά. Οι σπόροι περιέχουν κιτρινωπό πτητικό έλαιο, μη πτητικό έλαιο, πρωτεΐνες, αμινοξέα, αναγωγικά

σάκχαρα, αλκαλοειδή, οργανικά οξέα, ταννίνες, ρητίνες, τοξικές γλυκοσίδες, μεταρμπίνη, ακατέργαστες ίνες, μέταλλα και βιταμίνες (Ramadan, 2007). Το έλαιο παράγεται συνήθως με τη μέθοδο εκχύλισης θερμού διαλύτη στους 40-60°C ή ακόμη και στους 70°C, σε συσκευή Soxhlet. Αυτή η μέθοδος εκχύλισης μπορεί να επηρεάσει τις ιδιότητες του ελαίου και μπορεί να προκαλέσει μερική αλλοίωση της πλειοψηφίας των δευτερευόντων συστατικών που έχουν πολλές λειτουργικές, αντιοξειδωτικές και προληπτικές επιδράσεις (Cheikh-Rouhou et al., 2007). Πρόσφατα, η διαδικασία ψυχρής συμπίεσης έχει χρησιμοποιηθεί για να ληφθεί το έλαιο από τους σπόρους του μαύρου κύμινου (Ramadan et al., 2012). Το πτητικό έλαιο παράγεται πιάζοντας τους ακατέργαστους ή ψημένους σπόρους (Atta, 2003).

Αρκετοί συγγραφείς έχουν διερευνήσει το πτητικό έλαιο των σπόρων του φυτού αυτού και απομόνωσαν και ταυτοποίησαν δραστικά συστατικά που έχουν ευεργετικές κλινικές επιδράσεις. Οι Αιγύπτιοι πιστεύουν ότι οι σπόροι του φυτού *Nigella sativa* ενισχύουν το ανθρώπινο ανοσοποιητικό σύστημα.

 <p><i>Nigella sativa</i> L. Image processed by Thomas Schoepke www.plant-pictures.de</p>	<u>Συστηματική Κατάταξη</u>
	Βασίλειο : Plantae
	Υποβασίλειο : Tracheobionta
	Υπερδιαίρεση : Spermatophyta
	Διαίρεση : Magnoliophyta
	Κλάση : Magnoliopsida
	Υποκλάση : Magnoliidae
	Τάξη : Ranunculales
	Οικογένεια : Ranunculaceae
	Γένος : <i>Nigella</i> L.
	Είδος : <i>Nigella sativa</i> L.

Εικόνα 1.10 Συστηματική κατάταξη του φυτού *Nigella sativa* L.

Το έλαιο των σπόρων *Nigella* θεωρείται ως μία από τις νεότερες πηγές βρώσιμων ελαίων, χάρη στο σημαντικό ρόλο που παίζει στη διατροφή και την υγεία του ανθρώπου. Το ακατέργαστο έλαιο σπόρου του μαύρου κύμινου είναι μια πολύτιμη πηγή απαραίτητων λιπαρών οξέων, γλυκολιπιδίων, φωσφολιπιδίων και βιοδραστικών φυτοστερολών (Ramadan, 2007; Ramadan et al., 2012). Αυτό το έλαιο έχει αναφερθεί ότι έχει αντικαρκινική, αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, αντιβακτηριακή και διεγερτική επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα. Στην πραγματικότητα, μεγάλη προσοχή έχει δοθεί στο συγκεκριμένο έλαιο και επομένως η κατανάλωσή του έχει αυξηθεί, ιδιαίτερα στις χώρες της Μέσης Ανατολής. Οι Yu et al. (2005) έδειξαν ότι το έλαιο ψυχρής έκθλιψης από το μαύρο κύμινο περιέχει σημαντικά επίπεδα αντιοξειδωτικών και μπορεί να χρησιμεύσει ως διαιτητική πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών για την πρόληψη των ασθενειών και την προαγωγή της υγείας.


1.3.5 *Satureja hellenica*

Τα φυτά του είδους *Satureja hellenica* (Εικόνα 1.11) είναι θαμνίσκοι πολυστέλεχοι, με πρέμνο σπάνια έρπον και ειλιγμένο, και με βλαστούς πλαγίως κεκλιμένους έως όρθιους, διακλαδιζόμενους ή μη, ελαφρά έως ισχυρά αποξυλωμένους. Οι ανθοφόροι βλαστοί έχουν μήκος 5-20 cm και πυκνό τρίχωμα. Τα φύλλα είναι αντιστρόφως λογχοειδή προς επιμήκη-ελλειψοειδή, με διπλωμένο κατά μήκος του κεντρικού νεύρου έλασμα, άμισχα, καλυπτόμενα από αραιά έως πυκνά τριχίδια και αφανή ή εμφανή αδενικά λέπια. Η ταξιανθία αποτελείται από σπονδύλους σε απόσταση (1-)3-6(-7,5) mm μεταξύ τους. Υπάρχουν 2-6 άνθη ανά σπόνδυλο ταξιανθίας. Τα φυτά απαντώνται με τα κοινά ονόματα αθρύμπι στην Ικαρία και θυμάρι στη Σαμοθράκη (Δαρδιώτη, 2005). Το είδος αυτό μπορεί να βρεθεί στη νοτιοανατολική ηπειρωτική Ελλάδα και στην περιοχή του Αιγαίου, όμως έχει αναφερθεί και εκτός ελληνικής επικράτειας, στην Ίμβρο (Baser & al. 1995). Παρόλο που στην τελευταία ταξινομική προσέγγιση της ομάδας *S. montana* στην Ελλάδα θεωρείται ότι η *S. hellenica* είναι συνώνυμη της *S. parnassica* subsp. *parnassica* (Baden 1991), αρκετοί ερευνητές είχαν επισημάνει την αναγκαιότητα αναγνώρισης της ως διακριτού taxon. Από τις πλέον πρόσφατες αναφορές είναι του Κωνσταντινίδη (1997), ο οποίος σχολιάζει την ταξινομική θέση και το ονοματολογικό status των φυτών της ομάδας *S. montana* που συνέλεξε από τα όρη Πάστρα και Κιθαιρώνα. Ο ίδιος ερευνητής επισημαίνει τις μορφολογικές διαφορές των φυτών αυτών από τη *S. parnassica* και διατυπώνει την άποψη ότι

ανήκουν στο είδος *S. hellenica*. Επιπρόσθετα, ο Davis (1980, 1982) που αρχικά περιέγραψε την *S. icarica* ως είδος (το οποίο στην παρούσα μελέτη συμπεριλαμβάνεται στη *S. parnassica* subsp. *hellenica*) αναφέρει ότι αυτή πιθανόν να ανήκει στο ίδιο είδος με τη *S. montana* L. var. *hellenica* Heldr.

Η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο των φυτών *S. parnassica* subsp. *hellenica* κυμαίνεται μεταξύ 0,1-2,2 % (mL 100 g⁻¹ ξ.β.). Οι μεγαλύτερες τιμές περιεκτικότητας (1,2-2,2%) έχουν παρατηρηθεί στα φυτά της Σαμοθράκης (Δαρδιώτη, 2005).

Όσον αφορά στην ευεργετική δράση του φυτού και των εκχυλισμάτων του στον άνθρωπο και στα φυτά δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές.

	<u>Συστηματική Κατάταξη</u>
	Βασίλειο : Plantae
	Υποβασίλειο : Tracheobionta
	Υπερδιαίρεση : Spermatophyta
	Διαίρεση : Magnoliophyta
	Κλάση : Magnoliopsida
	Υποκλάση : Asteridae
	Τάξη : Lamiales
	Οικογένεια : Lamiaceae / Labiatae
	Γένος : <i>Satureja</i> L.
Είδος : <i>Satureja hellenica</i>	

Εικόνα 1.11 Συστηματική ταξινόμηση του φυτού *Satureja hellenica*

B. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Κύριος σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της επίδρασης φυτικών εκχυλισμάτων, αυτοφυών φυτών της Ελλάδας ή ευρέως διαδεδομένων φυτών στη χώρα μας, εναντίον δύο ειδών κομβονηματωδών καθώς και η χημική σύσταση των εκχυλισμάτων αυτών. Συγκεκριμένα και όσον αφορά στην επίδραση των εκχυλισμάτων εναντίον των νηματωδών, μελετήθηκε η νηματωδοκτόνος δράση τους (πειράματα παράλυσης προνυμφών δευτέρου σταδίου ανάπτυξης), η επίδρασή τους στην παρεμπόδιση εκκόλαψης των προνυμφών (πειράματα με ωόσακους) και η επίδρασή τους στην παρεμπόδιση διαφοροποίησης των ωών (πειράματα με αδιαφοροποίητα ωά). Κρίνουμε απαραίτητο να μελετηθεί η χημική σύσταση των εκχυλισμάτων, με απώτερο στόχο την εύρεση των δραστικών συστατικών τους και την χρήση τους μεμονωμένα ή σε συνδυασμό.

2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Ανάπτυξη και συντήρηση των πληθυσμών *M. incognita* και *M. javanica*

Οι πληθυσμοί των *M. incognita* και *M. javanica*, αρχικά παραλήφθηκαν υπό τη μορφή μολυσμένων ριζών θερμοκηπιακής καλλιέργειας τομάτας που βρίσκεται στην Κρήτη, και στη συνέχεια αναπτύχθηκαν σε φυτά τομάτας (*Solanum lycopersicum L.*) ποικιλίας Belladonna, η οποία θεωρείται ιδιαίτερα ευαίσθητη στην προσβολή από κομβονηματώδεις (<http://hazera.com.gr/product/belladonna-f1/>). Τα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη του πληθυσμού των κομβονηματωδών, τοποθετήθηκαν σε θερμοκήπιο με τη θερμοκρασία να κυμαίνεται μεταξύ 25-28 °C, 60 % σχετική υγρασία και 16 h φωτοπερίοδο, σε πλαστικά φυτοδοχεία (18 cm διαμέτρου) που περιείχαν έδαφος εμπορίου (Εικόνα 2.1). Οι συνθήκες αυτές διατηρήθηκαν σε αυτά τα επίπεδα για όλη τη διάρκεια των πειραμάτων.



Εικόνα 2.1 Φυτά τομάτας (*Solanum lycopersicum L.*) σε θάλαμο ανάπτυξης σε θερμοκήπιο ελεγχόμενων συνθηκών

Η μόλυνση των φυτών με προνύμφες έγινε επτά εβδομάδες μετά τη μεταφύτευση και όταν τα σπορόφυτα βρισκόνταν στο στάδιο του πέμπτου πραγματικού φύλλου. Αυτό το στάδιο

ανάπτυξης αντιστοιχεί σε καλά ανεπτυγμένο ριζικό σύστημα των φυτών, ικανό να μολυνθεί από τους νηματώδεις και ενδείκνυται για την καλύτερη ανάπτυξη και αναπαραγωγή τους.

Για την επιτυχή συντήρηση «καθαρών» πληθυσμών του κάθε είδους, τα φυτά διατηρήθηκαν σε διαφορετικούς θαλάμους ανάπτυξης.

2.2 Μέθοδος παραλαβής προνυμφών δευτέρου σταδίου ανάπτυξης (J2)

Μετά την πάροδο τριάντα ημερών, δηλαδή μετά από την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου στις συνθήκες της ανάπτυξης και όπως περιγράφηκαν παραπάνω, έγινε η παραλαβή των προνυμφών με 2 τρόπους.

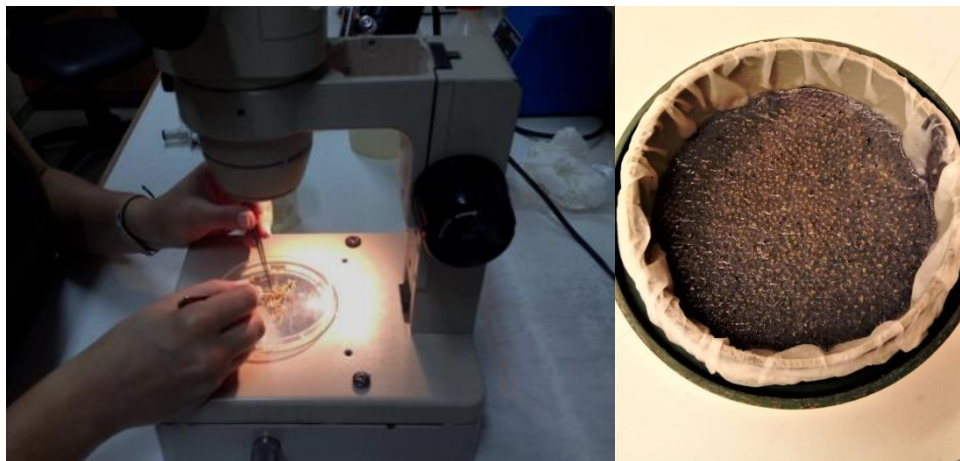
1. Οι ρίζες των φυτών πλύθηκαν για να απομακρυνθούν τα υπολείμματα του εδάφους (Εικόνα 2.2 I) και τεμαχίστηκαν σε κομμάτια των 2 cm. Ακολούθησε τοποθέτηση των ριζών σε διάλυμα 1 % NaOCl και το αιώρημα ανακινήθηκε για πέντε λεπτά. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε πλύση σε τρεχούμενο νερό μέσα από κόσκινο διατομής 250 και 38 μm (Hussey and Barker, 1973), παραλαβή των ωών των νηματωδών και τέλος μεταφορά τους σε τροποποιημένα δοχεία Baermann σε θερμοκρασία δωματίου (Εικόνα 2.2 II και III). Συγκεκριμένα, το υδατικό εκχύλισμα, το οποίο περιείχε τα ωά των νηματωδών, τοποθετήθηκε σε κόσκινο (μεγέθους οπών 2mm) καλυμμένο με απλό χαρτί κουζίνας το οποίο στερεώθηκε σε πλαστικό δίσκο γεμάτο με αποσταγμένο νερό, ώστε η ελεύθερη επιφάνεια του νερού να εφάπτεται με την κάτω επιφάνεια του κόσκινου. Ο πλαστικός δίσκος, ο οποίος περιείχε το κόσκινο, καλύφθηκε με δίσκο ίδιων διαστάσεων, για να αποφευχθεί η εξάτμιση του νερού. Ο όγκος του νερού ελεγχόταν και συμπληρωνόταν, έτσι ώστε το διηθητικό χαρτί με τα ωά των νηματωδών να βρίσκεται, συνεχώς, σε άμεση επαφή με το νερό. Μετά από 24h συλλέχθηκε το νερό από τον δίσκο και παραλήφθηκαν οι νεοεκκολαφθείσες προνύμφες δευτέρου σταδίου. Όλες οι προνύμφες που εκκολάφθηκαν τις τρεις πρώτες ημέρες απορρίφθηκαν, λόγω της διαφοράς τους ως προς την ηλικία, ενώ εκείνες που συλλέχθηκαν μετά από 48h χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα.

2. Οι ρίζες των φυτών πλύθηκαν για να απομακρυνθούν τα υπολείμματα του εδάφους και τοποθετήθηκαν σε δοχείο με νερό για να μην χάσουν την υγρασία τους. Στη συνέχεια μικρά μέρη της ρίζας τοποθετούνταν σε πλαστικό τρυβλίο και με τη βοήθεια λαβίδων και οπτικού στερεοσκοπίου απομονώθηκαν οι ωόσακοι που βρίσκονταν επάνω στις ρίζες. Οι ωόσακοι

τοποθετήθηκαν σε τροποποιημένο δοχείο Baermann, όπως αυτό περιγράφηκε παραπάνω (Εικόνα 2.3). Και σε αυτήν τη μεταχείριση, ο όγκος του νερού ελεγχόταν και συμπληρωνόταν ώστε το κόσκινο με τους ωόσακους να βρίσκεται συνεχώς σε άμεση επαφή με το νερό. Η συνέχεια της διαδικασίας παραλαβής προνυμφών ήταν όμοια με την προαναφερθείσα.



Εικόνα 2.2 (I) Προσβεβλημένη ρίζα τομάτας ποικιλίας Belladonna, (II) κόσκινα οπής 250 και 38 μm για το πλύσιμο των ριζών για την απομάκρυνση του NaOCl και (III) τροποποιημένο δοχείο Baermann για την εκκόλαψη των ωών και την παραλαβή των J2.



Εικόνα 2.3 Αριστερά: Παραλαβή ωόσακων με λαβίδες στο στερεοσκόπιο. Δεξιά: Τροποποιημένο δοχείο Baermann με ωόσακους.

2.3 Μέθοδος παραλαβής ωών

Οι ρίζες των φυτών πλύθηκαν για να απομακρυνθούν τα υπολείμματα του εδάφους και τεμαχίστηκαν σε κομμάτια των 2 cm. Ακολούθησε τοποθέτηση των ριζών σε διάλυμα 1 % NaOCl και το αιώρημα ανακινήθηκε για πέντε λεπτά. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε πλύση σε τρεχούμενο νερό μέσα από κόσκινο διατομής 250 και 38 μm (Hussey and Barker, 1973), παραλαβή των ωών των νηματωδών. Το υδατικό εκχύλισμα, το οποίο περιείχε τα ωά των νηματωδών τοποθετήθηκε σε ποτήρι ζέσεως και παρέμεινε για 5 λεπτά σε ηρεμία για να καθιζάνουν τα μικρά τεμαχίδια ριζών. Το υπερκείμενο νερό, το οποίο περιείχε το μεγαλύτερο ποσοστό των αυγών, συλλέχθηκε με σιφόνιο και τοποθετήθηκε σε καθαρό ποτήρι ζέσεως. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιήθηκε αρκετές φορές για να συλλεχθεί η απαραίτητη ποσότητα καθαρού υδατικού διαλύματος με ωά.

2.4 Μέθοδος παραλαβής ωόσακων

Οι ρίζες των φυτών αρχικά πλύθηκαν για να απομακρυνθούν τα υπολείμματα του εδάφους και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε γυάλινο δοχείο για να διατηρηθεί η υγρασία τους. Έπειτα, τα μικρά τεμάχια της ρίζας τοποθετούνταν σε πλαστικό τριβλίο και με τη βοήθεια λαβίδων και οπτικού στερεοσκοπίου συλλέχθηκαν οι ωόσακοι. Προσεκτικά επιλέχθηκαν ωόσακοι παρόμοιου μεγέθους ώστε να περιέχουν περίπου τον ίδιο αριθμό ωών στο εσωτερικό τους.

Οι ωόσακοι τοποθετούνταν σε γυάλινο τριβλίο, στο οποίο υπήρχε διηθητικό χαρτί βρεγμένο για να διατηρηθεί η υγρασία τους. Το τριβλίο ήταν καλυμμένο με ένα δεύτερο, λίγο μεγαλύτερων διαστάσεων, για να αποφευχθεί η εξάτμιση του νερού.

2.5 Απόσταξη των αιθέριων ελαίων από τα φυτά *Satureja hellenica* και *Cuminum cyminum*

Τα υπέργεια τμήματα του φυτού *Satureja hellenica* συλλέχθηκαν στο στάδιο της άνθησης από την περιοχή Πηγές Κρύας Λιβαδειάς. Στη συνέχεια τα φυτά ξηράθηκαν υπό σκιά σε θερμοκρασία δωματίου, και αποθηκεύτηκαν σε χάρτινους περιέκτες έως τη χρησιμοποίησή τους. Από την τοπική αγορά του Βύρωνα (Αθήνας) αγοράστηκαν σπόροι του φυτού *Cuminum cyminum* (Κύμινο). Πραγματοποιήθηκε υδροαπόσταξη σε συσκευή Clevenger (Εικόνα 2.4), συνδεδεμένη με τροποποιημένο ψυχόμενο υποδοχέα αιθέριων ελαίων, με διάρκεια 3 ωρών σε θερμοκρασία 100°C. Από το αποξηραμένο φυτικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν μόνο τα φύλλα και τα άνθη για το είδος *Satureja hellenica* και οι σπόροι για το είδος *Cuminum cyminum*.



Εικόνα 2.4 Απόσταξη του φυτού *Satureja hellenica* για την παραλαβή αιθέριου ελαίου σε συσκευή Clevenger

Για κάθε απόσταξη, σε φιάλη όγκου 5000 ml της συσκευής Clevenger αναμίχθηκαν 100 g φυτικού υλικού με 2500-3000 ml απιονισμένο νερό έως ότου διαβραχεί το φυτικό υλικό. Για την αποφυγή αφρισμού προστέθηκαν 1-2 μικρά κομμάτια πορσελάνης, η φιάλη τοποθετήθηκε στον θερμομανδύα και αρχικά διοχετεύθηκε δυνατή θέρμανση. Στα πρώτα 20 λεπτά εμφανίστηκε η πρώτη σταγόνα ελαίου. Στη συνέχεια η θερμοκρασία μειώθηκε και ρυθμίστηκε ώστε να διατηρηθεί ο βρασμός του νερού και ακολούθησε απόσταξη διάρκειας 3 ωρών για κάθε αποσταζόμενο δείγμα. Ο συνολικός όγκος του αιθέριου ελαίου που παραλήφθηκε τοποθετήθηκε σε γυάλινο φιαλίδιο. Μετά τη συλλογή του αιθέριου ελαίου προστέθηκε σε αυτό άνυδρο $MgSO_4$ για να απομακρυνθεί η περίσσεια υγρασίας που μπορεί να παρέμεινε στο αιθέριο έλαιο. Τέλος, το απαλλαγμένο από υγρασία αιθέριο έλαιο, περάστηκε από φίλτρο 2mm για να επιτευχθεί η συγκράτηση του $MgSO_4$ και το καθαρό αιθέριο έλαιο αποθηκεύθηκε σε γυάλινο φιαλίδιο. Κατά την παραλαβή του αιθέριου ελαίου από τη συσκευή Clevenger, το υδρόλυμα συλλέχθηκε σε ξεχωριστό γυάλινο φιαλίδιο. Όλα τα φιαλίδια, είτε αυτά περιείχαν αιθέριο έλαιο, είτε υδρόλυμα, σφραγίστηκαν με πλαστική ταινία παραφίνης (Parafilm® M Film) για την αποφυγή εξάτμισής τους.

Τα αιθέρια έλαια διατηρήθηκαν στους $-18^{\circ}C$ και τα υδρόλύματα στους $4^{\circ}C$ μέχρι τη χρησιμοποίησή τους. Η απόδοση κάθε αιθέριου ελαίου υπολογίστηκε ως μέσος όρος των αποστάξεων. Οι αποδόσεις υπολογίστηκαν ως ποσοστά επί του ξηρού φυτικού υλικού και εκφράστηκαν σε ml στα 100 g ξηρού φυτικού βάρους που χρησιμοποιήθηκε για την απόσταξη.

2.6 Εξαγωγή λαδιού και υδρόλυματος από το φυτό *Nigella sativa*

Το λάδι από το φυτό *N. sativa* παραλήφθηκε με τη μέθοδο της ψυχρής έκθλιψης. Κατά τη μέθοδο αυτή, οι σπόροι του φυτού τοποθετήθηκαν σε υδραυλική πρέσα υπό πίεση 10.000 lb/in² (psi) για 1 ώρα στους $80^{\circ}C$.

Για την παραλαβή του υδρόλυματος, πραγματοποιήθηκε υδροαπόσταξη σε συσκευή Clevenger, συνδεδεμένη με τροποποιημένο ψυχώμενο υποδοχέα, στην άκρη του οποίου είχε τοποθετηθεί κωνική φιάλη για τη συλλογή του υδρόλυματος και του πτητικού τμήματος του ελαίου (Εικόνα 2.5). Το υδρόλυμα με το πτητικό μέρος διαχωρίστηκαν σε δύο κλάσματα, με

βάση το χρόνο εξαγωγής τους. Για να διαχωριστεί το πτητικό τμήμα από το υδρόλυμα, το περιεχόμενο της κωνικής φιάλης μεταφέρθηκε σε διαχωριστική χοάνη και συλλέχθηκε σε γυάλινη φιάλη πρώτα το υδρόλυμα και στη συνέχεια το πτητικό μέρος του ελαίου. Εξαιτίας της μικρής ποσότητας του πτητικού τμήματος και τα δύο κλάσματα συλλέχθηκαν στην ίδια φιάλη, αφού προηγουμένως είχαν διαχωρισθεί. Αυτό το φυτικό εκχύλισμα δεν ελέγχθηκε για τη δράση του επειδή η ποσότητα ήταν μικρή και δεν επαρκούσε για την πραγματοποίηση πειραμάτων.



Εικόνα 2.5 Συσκευή Clevenger για την παραλαβή πτητικού τμήματος και υρολύματος από το έλαιο του φυτού *N. sativa*

2.7 Μέθοδος προσδιορισμού της ολικής σύστασης των φυτικών εκχυλισμάτων σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας της μάζας (GC-MS)

Για τον διαχωρισμό των συστατικών των φυτικών εκχυλισμάτων εφαρμόστηκε η τεχνική της αέριας χρωματογραφίας ενώ για την ταυτοποίηση τους εφαρμόστηκε φασματοσκοπία μαζών. Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αέριος χρωματογράφος (Trace GC ULTRA) εφοδιασμένος με ανιχνευτή και φασματόμετρο μάζας (DSQ II), της εταιρείας Thermo Scientific. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν η Thermo-5MS (30m x0,25 mm, ID, πάχος φιλμ 0,25 μm) και το φέρον αέριο ήταν ήλιο (He), με ροή 1mL/λεπτό.

Για την ανάλυση της χημικής σύστασης των υδρολυμάτων, ήταν απαραίτητο πρώτα να απομονωθεί το έλαιο, το οποίο βρισκόταν στο υδρόλυμα και να υπολογιστεί η συγκέντρωσή του. Η διαδικασία που πραγματοποιήθηκε ήταν η εξής : όλο το υδρόλυμα ή μέρος αυτού τοποθετήθηκε σε διαχωριστική χοάνη και έγινε τριπλή εκχύλιση υγρού-υγρού με διαλύτη

διαιθυλαιθέρα. Στη συνέχεια η ελαιώδης φάση με τον διαλύτη τοποθετήθηκε σε ποτήρι ζέσεως και αυτό με τη σειρά του σε αέριο άζωτο στον απαγωγό για την γρηγορότερη εξάτμιση του διαλύτη. Όταν είχε εξατμιστεί το μεγαλύτερο μέρος του διαλύτη, έγινε διαχωρισμός της υγρής φάσης που είχε απομείνει στο ποτήρι με πιπέτα Pasteur και στη συνέχεια τοποθέτηση $MgSO_4$ για την απομάκρυνση της περίσσειας υγρασίας, με τον τρόπο που αναφέρθηκε παραπάνω. Το διάλυμα αυτό, χωρίς την υγρασία, τοποθετήθηκε σε γυάλινο φιαλίδιο (προζυγισμένο) στο αέριο άζωτο στον απαγωγό και έγινε σύμπυκνωση επί ξηρού (Εικόνα 2.6). Όταν εξατμίστηκε όλος ο διαλύτης ζυγίστηκε το φιαλίδιο με το λάδι και υπολογίστηκε η περιεκτικότητα του υδρολύματος σε λάδι επί τοις εκατό. Τέλος, στο φιαλίδιο προστέθηκαν 5ml διαλύτη (διαιθυλαιθέρα) για τη συντήρησή του, σφραγίστηκε με πλαστική ταινία παραφίνης και αποθηκεύτηκε στους $-18^{\circ}C$.



Εικόνα 2.6 Σύμπυκνωση επί ξηρού στο αέριο άζωτο

Μετά την εκχύλιση και πριν την εισαγωγή τους στο σύστημα GC-MS, τα φυτικά εκχυλίσματα αραιώθηκαν. Τα αιθέρια έλαια αραιώθηκαν 1:100 (v/v) σε ακετόνη και τα έλαια που βρίσκονταν στο υδρόλυμα αραιώθηκαν σε συγκέντρωση κατάλληλη για την πυκνότητά τους σε διαιθυλαιθέρα.

Η είσοδος των αραιώσεων των φυτικών εκχυλισμάτων στη στήλη έγινε με εισαγωγή τύπου splitless σε όγκο 1 μ l. Η θερμοκρασία στο σύστημα εισαγωγής του δείγματος (Inlet) ήταν

220°C και στη γραμμή διαβίβασης του ανιχνευτή (MS transfer line) ήταν 250°C. Το πρόγραμμα ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκε είχε διάρκεια 63,33 λεπτά και περιλάμβανε την άνοδο της θερμοκρασίας της στήλης, η οποία αρχικά ήταν στους 60°C και βαθμιαία έφθανε στους 250°C με ρυθμό 3°C/λεπτό.

Η ταυτοποίηση των συστατικών των φυτικών εκχυλισμάτων έγινε με σύγκριση των χρόνων συγκράτησης και των φασμάτων μαζών με αυτών των ηλεκτρονικών βιβλιοθηκών Adams07, HP και Xcalibur που υπάρχουν στο λογισμικό Xcalibur του οργάνου.

2.8 Δοκιμές βιολογικής δράσης

Παρακάτω περιγράφεται η πειραματική διαδικασία, η οποία ακολουθήθηκε στα πειράματα για τη διερεύνηση της βιολογικής δράσης των φυτικών εκχυλισμάτων.

2.8.1 Δοκιμές επίδρασης των φυτικών εκχυλισμάτων στην παράλυση των προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita* και *M. javanica*

Το εύρος συγκέντρωσης ελέγχου προσαρμόστηκε για το κάθε φυτικό εκχύλισμα (αιθέρια έλαια και έλαια) κατάλληλα στα εξής επίπεδα: 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 και 7.8125 μl/L. Αρχικά παρασκευάστηκαν πυκνά μητρικά διαλύματα (8000 μl/L) σε αιθανόλη και στη συνέχεια παρασκευάστηκαν τα διαλύματα ελέγχου, αφού αραιώθηκαν διαδοχικά με την προσθήκη αποσταγμένου νερού με Tween-20 (0.6%) για την αντιμετώπιση της δυσδιαλυτότητας των λιπόφιλων φυτικών εκχυλισμάτων στο νερό. Τα διαλύματα αρχικά παρασκευάστηκαν σε συγκεντρώσεις διπλάσιες των συγκεντρώσεων ελέγχου και στη συνέχεια αναμίχθηκαν με το αιώρημα νηματωδών, στα πηγάδια της πλάκας πολυστυρενίου σε αναλογία 1:1 (v/v). Οι τελικές συγκεντρώσεις της αιθανόλης και του Tween-20 δεν υπερέβησαν ποτέ το 1 και το 0.3 % v/v αντίστοιχα, αφού αυτά τα επίπεδα συγκεντρώσεων και με βάση τα προκαταρκτικά πειράματα, είναι κατάλληλα ώστε να μην προκαλούν παράλυση σε J2. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε αποσταγμένο νερό.

Όσον αφορά στα διαλύματα ελέγχου των υδρολυμάτων, ελέγχθηκαν οι εξής αραιώσεις του υδρολύματος σε αποσταγμένο νερό : 0.5, 0.2, 0.1, 0.05, 0.02 και 0.01 v/v. Οι αραιώσεις του

υδρολύματος αρχικά παρασκευάστηκαν σε συγκεντρώσεις διπλάσιες των συγκεντρώσεων ελέγχου και στη συνέχεια αναμίχθηκαν με το αιώρημα νηματωδών, στα πηγάδια της πλάκας πολυστερενίου σε αναλογία 1:1 (v/v). Για την συγκέντρωση 0.5 δεν παρασκευάστηκε κάποιο διάλυμα, τοποθετήθηκε μόνο το υδρόλυμα με το αιώρημα νηματωδών κατευθείαν στην πλάκα πολυστερενίου στην προαναφερθείσα αναλογία.

Μετά την εισαγωγή του διαλύματος σε κάθε πηγάδι της πλάκας πολυστερενίου προστέθηκαν περίπου 25-30 J2. Στην πειραματική διαδικασία που εφαρμόστηκε χρησιμοποιήθηκαν πλάκες πολυστερενίου Nunclon™ Delta (Thermo Fisher Scientific) 24-πηγαδιών. Οι πλάκες καλύφθηκαν με καπάκι για να αποφευχθεί η εξάτμιση των διαλυμάτων ελέγχου, κάτι που θα είχε ως αποτέλεσμα την διαφοροποίηση των τελικών συγκεντρώσεων των διαλυμάτων ελέγχου, καθώς επίσης και για να αποφευχθούν οι επιμολύνσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων, λόγω της πτητικότητας των φυτικών εκχυλισμάτων. Οι πλάκες τοποθετήθηκαν σε δωμάτιο σταθερών συνθηκών (25°C). Οι μετρήσεις για την κινητικότητα των προνυμφών έγιναν με παρατήρηση σε ανάστροφο μικροσκόπιο (Zeiss, Germany) σε μεγέθυνση 40x, σε διαστήματα 24, 48 και 96 h από την έναρξη του πειράματος. Οι J2 ταξινομήθηκαν σε δύο κατηγορίες κινητικότητας: κινητές και ακίνητες. Οι μεταχειρίσεις επαναλήφθηκαν πέντε φορές σε πειραματικό σχέδιο πλήρως τυχαιοποιημένων ομάδων και το κάθε πείραμα πραγματοποιήθηκε δύο φορές.

2.8.2 Δοκιμές επίδρασης των φυτικών εκχυλισμάτων στην διαφοροποίηση αυγών *M. incognita* και *M. javanica*

Το εύρος συγκέντρωσης ελέγχου προσαρμόστηκε για το κάθε φυτικό εκχύλισμα κατάλληλα στα εξής επίπεδα: 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 και 7.8125 μl/L. Αρχικά, παρασκευάστηκαν πυκνά μητρικά διαλύματα (8000 μl/L) σε αιθανόλη, και στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν τα διαλύματα ελέγχου με διαδοχικές αραιώσεις με την προσθήκη αποσταγμένου νερού με Tween-20 (0.6%) για την αντιμετώπιση της δυσδιαλυτότητας των λιπόφιλων φυτικών εκχυλισμάτων στο νερό. Τα διαλύματα, αρχικά ,παρασκευάστηκαν σε συγκεντρώσεις διπλάσιες των συγκεντρώσεων ελέγχου και στη συνέχεια αναμίχθηκαν με το αιώρημα ωών, στα πηγάδια της πλάκας πολυστερενίου σε αναλογία 1:1 (v/v). Οι τελικές συγκεντρώσεις της αιθανόλης και του Tween-20 δεν υπερέβησαν ποτέ το 1 και το 0.3 % v/v

αντίστοιχα, αφού αυτά τα επίπεδα συγκεντρώσεων και με βάση τα προκαταρκτικά πειράματα, είναι κατάλληλα ώστε να μην προκαλούν παρεμπόδιση στη διαφοροποίηση των ωών. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε αποσταγμένο νερό.

Μετά την εισαγωγή του διαλύματος σε κάθε πηγάδι της πλάκας πολυστυρενίου των 24 πηγαδιών προστέθηκαν περίπου 25-30 αδιαφοροποίητα ωά. Στην πειραματική διαδικασία που εφαρμόστηκε χρησιμοποιήθηκαν πλάκες πολυστυρενίου Cellstar® 24-πηγαδιών. Οι πλάκες καλύφθηκαν με καπάκι για να αποφευχθεί, όσο είναι δυνατόν στο διάστημα των 3 εβδομάδων, η εξάτμιση των διαλυμάτων ελέγχου, καθώς επίσης και για να αποφευχθούν οι επιμολύνσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων, λόγω της πτητικότητας των φυτικών εκχυλισμάτων. Οι πλάκες τοποθετήθηκαν σε δωμάτιο σταθερών συνθηκών (25°C). Οι μετρήσεις για τη διαφοροποίηση των ωών έγιναν με παρατήρηση σε ανάστροφο μικροσκόπιο (Zeiss, Germany) σε μεγέθυνση 100x, κατά την έναρξη του πειράματος και τρεις εβδομάδες αργότερα, όταν δεν παρατηρούνταν πλέον διαφοροποίηση των ωών στους μάρτυρες. Τα ωά ταξινομήθηκαν σε δύο κατηγορίες: αυτά στα οποία υπήρχε πλήρως σχηματισμένη προνύμφη (διαφοροποιημένα) και αυτά στα οποία υπήρχαν μόνο κύτταρα (αδιαφοροποίητα). Ταυτόχρονα γινόταν και καταμέτρηση των J2, οι οποίες είχαν εκκολαφθεί. Οι μεταχειρίσεις επαναλήφθηκαν πέντε φορές σε πειραματικό σχέδιο πλήρως τυχαιοποιημένων ομάδων.

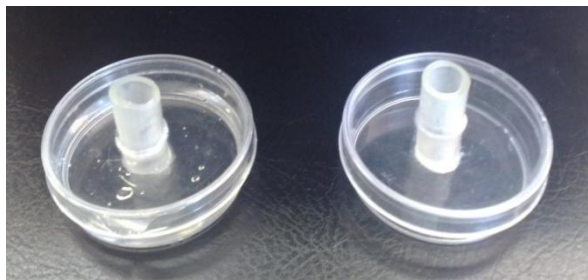
2.8.3 Δοκιμές επίδρασης των φυτικών εκχυλισμάτων στην εκκόλαψη προνυμφών *M. incognita* και *M. javanica* από τους ωόσακους

Για την παραλαβή ώριμων ωόσακων χρησιμοποιήθηκαν φυτά τομάτας που είχαν μολυνθεί με κομβονηματώδεις. Οι πληθυσμοί των *M. incognita* και *M. javanica*, αρχικά παραλήφθηκαν υπό τη μορφή μολυσμένων ριζών θερμοκηπιακής καλλιέργειας τομάτας που βρίσκεται στην Κρήτη, και στη συνέχεια αναπτύχθηκαν σε φυτά τομάτας (*Solanum lycopersicum* L.) ποικιλίας Belladonna, τα οποία διατηρήθηκαν σε θερμοκήπιο ελεγχόμενων συνθηκών. Εξήντα (60) ημέρες μετά από την μόλυνση με προνύμφες, ώριμοι ωόσακοι συλλέχθηκαν με το χέρι από τις ρίζες και τοποθετήθηκαν σε μικρά πλαστικά τριβλία κατασκευασμένα από 6 cm δισκάκια Petri.

Η νηματωδοκτόνος δράση των φυτικών εκχυλισμάτων ελέγχθηκε στα εξής επίπεδα συγκεντρώσεων: 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5 μL . Αρχικά παρασκευάστηκαν πυκνά

μητρικά διαλύματα 4000 μ/L σε αιθανόλη, και ακολούθως, με διαδοχικές αραιώσεις σε αποσταγμένο νερό με Tween-20 (0.2%) για την αντιμετώπιση της δυσδιαλυτότητας των λιπόφιλων εκχυλισμάτων στο νερό, παρασκευάστηκαν τα διαλύματα ελέγχου. Οι τελικές συγκεντρώσεις της αιθανόλης και του Tween-20 δεν υπερέβησαν ποτέ το 1 και το 0.2 % v/v αντίστοιχα, αφού αυτά τα επίπεδα συγκεντρώσεων και με βάση τα προκαταρκτικά πειράματα, είναι κατάλληλα ώστε να μην προκαλούν παρεμπόδιση της εκκόλαψης των J2. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε αποσταγμένο νερό.

Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν πλαστικοί δακτύλιοι (ύψους 4 cm και διαμέτρου 1 cm) στους οποίους τοποθετήθηκε στη μία άκρη του δακτυλίου κομμάτι από τούλι με μέγεθος οπών 500 μm. Το τούλι χρησιμοποιήθηκε για να συγκρατεί τους ωόσακους, ενώ ταυτόχρονα από τις οπές του μπορούσαν να περάσουν οι προνύμφες οι οποίες εκκολάπτονταν. Ο πλαστικός τροποποιημένος δακτύλιος ενσωματώθηκε σε καπάκι τριβλίου Petri, όπου προηγουμένως είχε ανοιχθεί τρύπα τέτοιας διαμέτρου, ώστε να συγκρατεί τον πλαστικό δακτύλιο (Εικόνα 1.7). Κατόπιν, τοποθετήθηκε σε κάθε πλαστικό δακτύλιο πάνω στο τούλι ένας ωόσακος. Οι ωόσακοι που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε πείραμα επιλέχθηκαν προσεκτικά, έτσι ώστε να έχουν παρόμοιο μέγεθος και να είναι περίπου ίδιας ηλικίας (παρόμοιο χρώμα). Μετέπειτα, τα καπάκια κάθε τριβλίου μαζί με τον δακτύλιο και τους ωόσακους, τοποθετούνταν πάνω στα τριβλία Petri. Σε κάθε τριβλίο προστέθηκαν τα διαλύματα των φυτικών εκχυλισμάτων μέχρι να καλυφθούν οι ωόσακοι. Οι ωόσακοι διατηρήθηκαν στα διαλύματα αυτά για 7 ημέρες σε δωμάτιο σταθερών συνθηκών (25°C). Στη συνέχεια, τα διαλύματα φυτικών εκχυλισμάτων απορρίφθηκαν και οι ωόσακοι τοποθετήθηκαν σε νέα τριβλία με καθαρό νερό. Τα τριβλία αυτά καλύφθηκαν για να αποφευχθούν απώλειες ύδατος και μεταφέρθηκαν σε δωμάτιο με σταθερή θερμοκρασία 25°C. Γινόταν καταμέτρηση των προνυμφών (J2) με τη βοήθεια ανάστροφου μικροσκοπίου κάθε 7 μέρες και κάθε φορά που γινόταν καταμέτρηση τα τριβλία γεμίζονταν με καθαρό νερό. Το πείραμα τερματίστηκε μετά από πέντε εβδομάδες, όταν σταμάτησαν να εξέρχονται προνύμφες. Οι μεταχειρίσεις επαναλήφθηκαν πέντε φορές σε πειραματικό σχέδιο πλήρως τυχαιοποιημένων ομάδων.



Εικόνα 2.7 Πλαστικός τροποποιημένος δακτύλιος για την εμβάπτιση των ώσων στα διαλύματα ελέγχου

2.9 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πακέτο SAS University Edition. Στη συνέχεια τα δεδομένα υποβλήθηκαν στη διαδικασία ανάλυσης της παραλλακτικότητας (ANOVA). Οι μέσοι όροι των αποτελεσμάτων συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας το LSD test (Μέθοδος Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς). Χρησιμοποιώντας την εντολή General Linear Model (glm) του στατιστικού πακέτου υπολογίστηκε η σημαντικότητα της επίδρασης του κάθε παράγοντα σε επίπεδο σημαντικότητας $P=0,001$.

3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Απόδοση των φυτών σε φυτικό εκχύλισμα

Το φυτικό μέρος κάθε είδους που χρησιμοποιήθηκε για την παραλαβή του φυτικού εκχυλίσματος και οι αποδόσεις, ως μέσοι όροι των αποστάξεων, εκφρασμένες σε ml/100 g βάρους ξηρής φυτικής μάζας που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3.1 Αποδόσεις σε αιθέριο έλαιο και έλαιο των τριών φυτών

*Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τους μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση (standard deviation) των επαναλήψεων

Φυτικό είδος	Οικογένεια	Φυτικό μέρος που χρησιμοποιήθηκε για την απόσταξη	Απόδοση *%(v/w)
<i>Satureja hellenica</i>	Lamiaceae	Φύλλα και άνθη	1.1 \pm 0.1
<i>Cuminum cyminum</i>	Apiaceae	Σπόρος	2.5 \pm 0.1
<i>Nigella sativa</i>	Ranunculaceae	Σπόρος	31.5 \pm 1.5

3.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος του φυτού *Satureja hellenica* στους νηματώδεις *Meloidogyne incognita* και *Meloidogyne javanica*

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων που έγιναν με τη χρήση του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος από το φυτό *S. hellenica*. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν πειράματα για την καταγραφή της επίδρασης του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου καθώς και πειράματα για την επίδραση του αιθέριου ελαίου στην διαφοροποίηση των ωών και τη εκκόλαψη των προνυμφών από τους ωόσακους.

Στο κεφάλαιο των αποτελεσμάτων, όπου αναφέρεται σημαντική διαφορά εννοείται σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.001$ και μη σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$.

3.2.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου

Στον πίνακα 3.2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων στα οποία χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα 7 διαφορετικών συγκεντρώσεων του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica* εναντίον προνυμφών δευτέρου σταδίου, του είδους *M. incognita*.

Μετά από 24 ώρες εμβάπτισης των προνυμφών στα διαλύματα ελέγχου παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά της υψηλότερης δόσης (4000 $\mu\text{l/L}$) από τις υπόλοιπες καθώς και από τον μάρτυρα. Καταγράφηκε επίσης σημαντική διαφορά της δεύτερης υψηλότερης δόσης (2000 $\mu\text{l/L}$) από τις υπόλοιπες και από τον μάρτυρα. Η δόση 1000 $\mu\text{l/L}$ διέφερε σημαντικά από τις υπόλοιπες και από τον μάρτυρα στο Πείραμα 1 και οι δόσεις 500-62.5 $\mu\text{l/L}$ δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους και με τον μάρτυρα. Στο Πείραμα 2, οι δόσεις 1000-62.5 $\mu\text{l/L}$ δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους και με τον μάρτυρα.

Μετά από 48 ώρες εμβάπτισης των προνυμφών στα διαλύματα ελέγχου και στα δύο πειράματα οι δόσεις 4000 και 2000 $\mu\text{l/L}$ έδωσαν ίδια στατιστικά αποτελέσματα με το προηγούμενο χρονικό διάστημα, διέφεραν δηλαδή σημαντικά μεταξύ τους, με τις υπόλοιπες δόσεις και με τον μάρτυρα. Στο Πείραμα 1, οι δόσεις 1000 και 500 $\mu\text{l/L}$ δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους, διέφεραν όμως σημαντικά από τις υπόλοιπες δόσεις και από τον μάρτυρα. Η δόση 250 $\mu\text{l/L}$ παρουσίασε σημαντική διαφορά με τον μάρτυρα και τις υψηλότερες, όχι όμως με τις χαμηλότερες από αυτήν δόσεις. Οι δύο χαμηλότερες δόσεις (125 και 62.5 $\mu\text{l/L}$) διέφεραν σημαντικά με τις τέσσερις υψηλότερες δόσεις (4000, 2000, 1000 και 500 $\mu\text{l/L}$) και δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, με την αμέσως υψηλότερη δόση και με τον μάρτυρα. Στο Πείραμα 2 οι τέσσερις υψηλότερες δόσεις (4000-500 $\mu\text{l/L}$) παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους, όπως και με τις υπόλοιπες δόσεις και τον μάρτυρα. Οι υπόλοιπες δόσεις (250-62.5 $\mu\text{l/L}$) διέφεραν σημαντικά με τον μάρτυρα, όχι όμως μεταξύ τους.

Μετά από 96 ώρες εμβάπτισης των προνυμφών στα διαλύματα ελέγχου, στο Πείραμα 1, οι δύο υψηλότερες δόσεις (4000 και 2000 $\mu\text{l/L}$) παρουσίασαν σημαντική διαφορά με τις υπόλοιπες και με τον μάρτυρα, όχι όμως μεταξύ τους. Οι δόσεις 1000-250 $\mu\text{l/L}$ διέφεραν

σημαντικά μεταξύ τους, με όλες τις υπόλοιπες και με τον μάρτυρα. Οι δόσεις 125 και 62.5 μl/L διέφεραν με όλες τις υπόλοιπες και με τον μάρτυρα, όχι όμως μεταξύ τους. Στο Πείραμα 2, δεν καταγράφηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δόσεων 4000, 2000 και 1000 μl/L, οι οποίες διέφεραν σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες και τον μάρτυρα. Παρόμοιο αποτέλεσμα καταγράφηκε και για τις δόσεις 250, 125 και 62.5 μl/L. Η δόση 500 μl/L και ο μάρτυρας διέφεραν σημαντικά με όλες τις υπόλοιπες δόσεις.

Πίνακας 3.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Συγκέντρωση (μl/L)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)					
	24		48		96	
	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2
	Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)	
0	0.00 d*	0.00 c	0.80 e	4.41 ef	13.10 f	7.78 d
62,5	0.61 d	0.00 c	3.25 de	0.87 f	33.75 d	16.91 c
125	0.00 d	0.00 c	5.86 de	2.79 ef	33.33 d	18.10 c
250	1.00 d	0.00 c	7.11 d	7.97 e	23.14 e	19.74 c
500	2.20 d	0.00 c	40.62 c	20.61 d	55.54 c	57.71 b
1000	11.44 c	4.06 c	46.19 c	30.95 c	77.95 b	93.44 a
2000	25.91 b	36.47 b	80.60 b	81.93 b	100.00 a	100.00 a
4000	98.83 a	99.35 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a

Ανάμεσα στα δύο πειράματα υπάρχουν διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων στην κάθε δόση που δοκιμάστηκε. Οι διαφορές αυτές δεν είναι μεγάλες και η παραλλακτικότητα μεταξύ των πειραμάτων δεν είναι σημαντική. Οι διαφορές αυτές οφείλονται στο ότι τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με ζωντανούς οργανισμούς και ένα ποσοστό παραλλακτικότητας είναι αποδεκτό.

Στον Πίνακα 3.3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του υδρολύματος του φυτού *S. hellenica* στην παράλυση των προνυμφών δευτέρου σταδίου του κομβονηματώδη *M. incognita*. Δοκιμάστηκαν έξι διαφορετικές αραιώσεις του υδρολύματος.

Στο Πείραμα 1 και στο Πείραμα 2 παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση του υδρολύματος στην παράλυση των προνυμφών μόνο στην μικρότερη αραιώση του υδρολύματος (0.5), όταν οι προνύμφες παρέμειναν εμβαπτισμένες σε αυτό για 24 και 48 ώρες. Σε όλες τις μεγαλύτερες

αραιώσεις δεν καταγράφηκε σημαντική διαφορά συγκριτικά με την παράλυση των προνυμφών στον μάρτυρα.

Όταν οι προνύμφες παρέμειναν εμβλαπτισμένες στα διαλύματα για 96 ώρες, στο Πείραμα 1 τα αποτελέσματα ήταν ίδια με τα προηγούμενα, δηλαδή σημαντική επίδραση παρατηρήθηκε μόνο στην μικρότερη αραιώση. Στο Πείραμα 2, η παράλυση στη μικρότερη αραιώση και πάλι διέφερε σημαντικά από όλες τις άλλες. Καταγράφηκε επίσης σημαντική διαφορά μεταξύ των αραιώσεων 0.2, 0.1, 0.05 και 0.02 με την αραιώση 0.01 v/v και με τον μάρτυρα ως προς το ποσοστό παράλυσης των προνυμφών. Η μεγαλύτερη αραιώση (0.01 v/v) δεν διέφερε σημαντικά από τον μάρτυρα, ούτε από τις αραιώσεις 0.2, 0.05 και 0.02 v/v.

Πίνακας 3.3 Επίδραση του υδρολύματος του φυτού *S. hellenica* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Αραιώση (v/v)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)					
	24		48		96	
	Πείραμα 1 Νεκρές J2s(%)	Πείραμα 2 Νεκρές J2s(%)	Πείραμα 1 Νεκρές J2s(%)	Πείραμα 2 Νεκρές J2s(%)	Πείραμα 1 Νεκρές J2s(%)	Πείραμα 2 Νεκρές J2s(%)
0	0.00 b*	0.00 b	1.04 b	0.00 b	1.58 b	2.32 d
0.01	0.00 b	1.22 b	1.68 b	1.74 b	5.32 b	5.12 cd
0.02	0.43 b	0.61 b	2.46 b	2.79 b	5.85 b	9.63 bc
0.05	1.15 b	1.02 b	1.89 b	2.05 b	7.66 b	15.54 b
0.1	0.00 b	1.60 b	0.85 b	1.60 b	5.90 b	10.83 bc
0.2	0.57 b	0.00 b	1.58 b	0.49 b	6.68 b	10.06 bc
0.5	13.48 a	12.82 a	69.86 a	82.00 a	93.64 a	93.09 a

Στον Πίνακα 3.4 αναγράφονται τα ποσοστά παράλυσης των προνυμφών δευτέρου σταδίου του κομβοηματώδη *M. javanica*, όταν αυτές εμβλαπτίστηκαν σε διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica*.

Στο πρώτο πείραμα που πραγματοποιήθηκε, όταν οι προνύμφες παρέμειναν εμβλαπτισμένες στα διαλύματα ελέγχου για 24 ώρες, παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση στη μεγαλύτερη δόση (4000 μl/L) η οποία διέφερε σημαντικά από τις υπόλοιπες και από τον μάρτυρα. Το ποσοστό της παράλυσης στις δόσεις των 2000 και 1000 μl/L αποδείχθηκε σημαντικά διαφορετικό μεταξύ των δόσεων και συγκριτικά με τις υπόλοιπες δόσεις και τον μάρτυρα. Οι υπόλοιπες δόσεις (500, 250, 125 και 62.5 μl/L) προκάλεσαν παράλυση σημαντικά

διαφορετική μόνο από τις τρεις μεγαλύτερες δόσεις και όχι από τον μάρτυρα. Όταν οι προνύμφες παρέμειναν στα διαλύματα για 48 ώρες, το ποσοστό παράλυσης το οποίο καταγράφηκε στις δόσεις 4000 και 2000 $\mu\text{l/ml}$, ήταν σημαντικά διαφορετικό από όλες τις υπόλοιπες δόσεις και τον μάρτυρα, δεν ήταν όμως σημαντικά διαφορετικό μεταξύ των δύο δόσεων. Σημαντική διαφορά παρουσίασε και η παράλυση που προκλήθηκε από το αιθέριο έλαιο στη δόση των 1000 $\mu\text{l/ml}$ από όλες τις υπόλοιπες δόσεις και από τον μάρτυρα. Μεταξύ των δόσεων 500, 250, 125 και 62.5 $\mu\text{l/L}$ δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά. Η παράλυση στις δόσεις 500 και 250 $\mu\text{l/L}$ διέφερε σημαντικά από αυτή στον μάρτυρα, σε αντίθεση με την παράλυση στις δόσεις 125 και 62.5 $\mu\text{l/L}$, η οποία δεν διέφερε σημαντικά από αυτή στον μάρτυρα. Μετά από 96 ώρες εμβάπτισης των προνυμφών στα διαλύματα του αιθέριου ελαίου, το ποσοστό παράλυσης μεταξύ των δύο υψηλότερων δόσεων δεν διέφερε σημαντικά. Σημαντική διαφορά δεν καταγράφηκε επίσης μεταξύ των δόσεων 500 και 125 $\mu\text{l/L}$. Το ποσοστό παράλυσης το οποίο καταγράφηκε σε όλες τις υπόλοιπες δόσεις που δοκιμάστηκαν παρουσίασε σημαντικές διαφορές μεταξύ των δόσεων και παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά με τον μάρτυρα.

Στο δεύτερο πείραμα, μετά από 24 ώρες εμβάπτισης των προνυμφών στα διαλύματα ελέγχου παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στην παράλυση μεταξύ των δόσεων 4000, 2000 και 1000 $\mu\text{l/ml}$ και των δόσεων αυτών με τις υπόλοιπες και τον μάρτυρα. Μετά από 96 ώρες εμβάπτισης των προνυμφών στα διαλύματα ελέγχου, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δόσεων 4000 και 2000 $\mu\text{l/L}$, 250 και 125 $\mu\text{l/L}$, 250 και 62.5 $\mu\text{l/L}$, όπως και μεταξύ της δόσης 62.5 με τον μάρτυρα. Μεταξύ όλων των υπόλοιπων δόσεων δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην παράλυση των προνυμφών.

Πίνακας 3.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*.
* : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Συγκέντρωση (μl/L)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)					
	24		48		96	
	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2
	Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)	
0	0.00 d*	0.74 d	1.60 d	0.74 e	15.02 f	9.89 f
62,5	4.63 d	2.96 d	9.52 cd	4.43 e	26.08 de	20.49 ef
125	5.35 d	2.03 d	8.48 cd	2.03 e	29.13 cd	33.98 d
250	2.53 d	2.32 d	11.22 c	2.97 e	19.59 ef	25.86 de
500	6.69 d	2.58 d	13.28 c	13.10 d	35.58 c	56.97 c
1000	17.66 c	7.75 c	39.34 b	31.53 c	85.49 b	79.54 b
2000	70.19 b	26.87 b	97.21 a	75.28 b	100.00 a	100.00 a
4000	98.64 a	81.59 a	98.64 a	99.33 a	100.00 a	100.00 a

Στον Πίνακα 3.5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της επίδρασης έξι διαφορετικών αραιώσεων του υδρολύματος του φυτού *S. hellenica* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*.

Μετά από 24 ώρες εμβάπτισης στις αραιώσεις του υδρολύματος και στα δύο πειράματα που πραγματοποιήθηκαν καταγράφηκε σημαντικά διαφορετική παράλυση μόνο στις προνύμφες που βρίσκονταν εμβαπτισμένες στη μικρότερη αραιώση. Όλες οι υπόλοιπες αραιώσεις δεν διέφεραν μεταξύ τους, ούτε με τον μάρτυρα.

Όταν οι προνύμφες παρέμειναν για 48 ώρες στο υδρόλυμα, τα αποτελέσματα παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών μικρότερων αραιώσεων στο πρώτο πείραμα και μεταξύ των δύο μικρότερων αραιώσεων στο δεύτερο πείραμα. Το ποσοστό παράλυσης στις μεγαλύτερες αραιώσεις δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των αραιώσεων και με τον μάρτυρα.

Πίνακας 3.5 Επίδραση του υδρολύματος του φυτού *S. hellenica* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

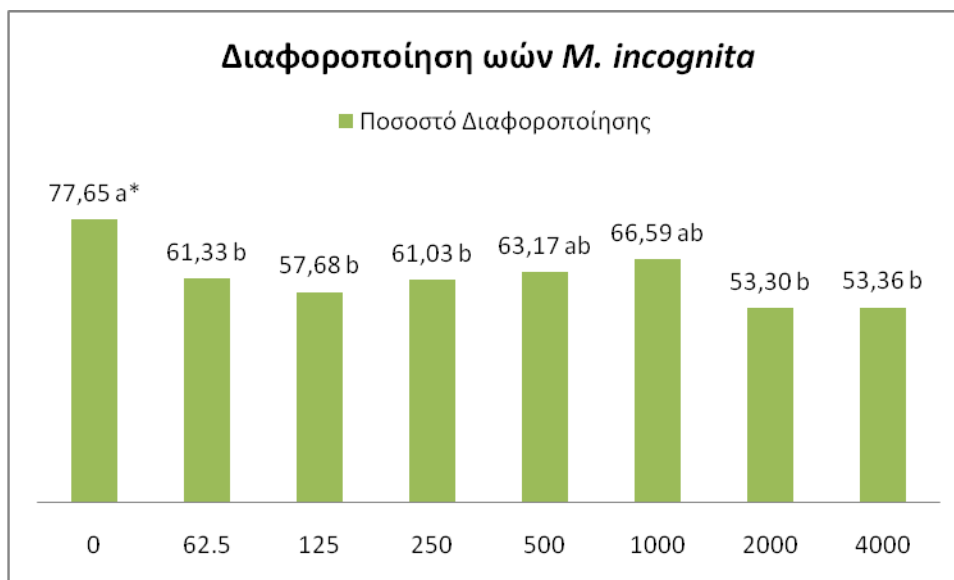
Αραιώση (v/v)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)					
	24		48		96	
	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2
	Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)	
0	0.67 b*	0.00 b	1.72 c	0.00 b	10.79 e	2.32 e
0.01	1.89 b	0.00 b	3.21 c	0.93 b	23.19 cd	4.98 de
0.02	0.83 b	0.78 b	4.97 c	1.19 b	29.40 c	7.49 cd
0.05	2.15 b	0.00 b	3.20 c	0.00 b	18.03 de	9.51 bcd
0.1	2.31 b	0.56 b	3.80 c	1.11 b	33.00 c	12.66 b
0.2	4.76 b	0.38 b	12.73 b	0.99 b	46.75 b	10.95 bc
0.5	45.53 a	4.70 a	78.90 a	80.52 a	98.49 a	94.45 a

Μετά από 96 ώρες εμφάνισης των προνυμφών, στο Πείραμα 1, καταγράφηκε σημαντική διαφορά στην παράλυση των προνυμφών μεταξύ όλων των αραιώσεων, με εξαίρεση τα ζεύγη 0.1-0.02-0.01 και 0.05-0.01 v/v. Επίσης, το ποσοστό παράλυσης στην αραιώση 1/20 δεν διέφερε σημαντικά από τον μάρτυρα. Στο Πείραμα 2, οι αραιώσεις οι οποίες δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους ήταν οι 0.2-0.1-0.05, 0.2-0.05-0.02 και 0.05-0.02-0.01 v/v. Και σε αυτό το πείραμα, η παράλυση στην αραιώση 0.01 v/v δεν παρουσίασε σημαντική διαφορά από τον μάρτυρα.

3.2.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου στη διαφοροποίηση των ωών

Στο Γράφημα 3.1 αναγράφονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica* στη διαφοροποίηση των ωών *M. incognita*.

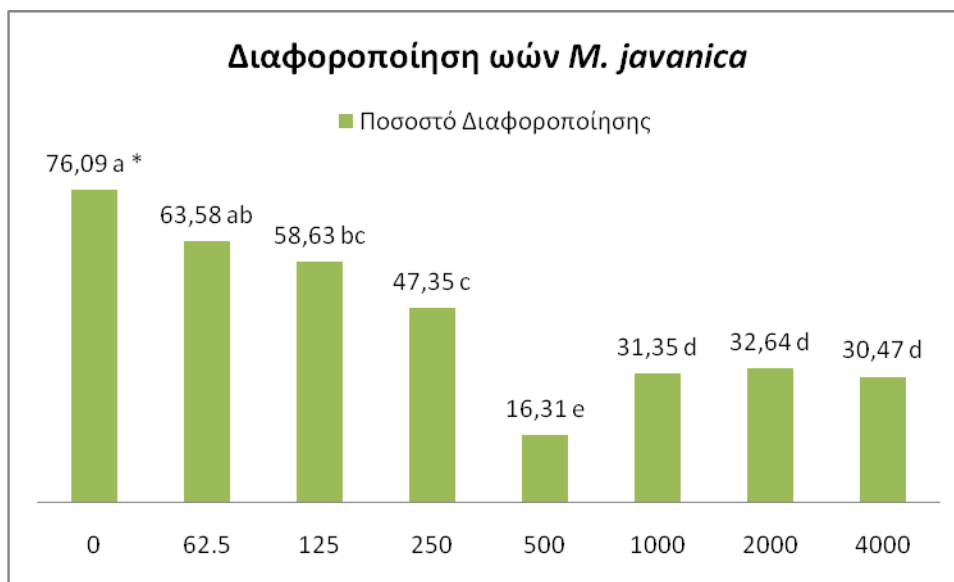
Το αιθέριο έλαιο φάνηκε να έχει σημαντική επίδραση στη διαφοροποίηση των ωών, αφού τα αποτελέσματα που καταγράφηκαν σε όλες τις δόσεις, με εξαίρεση αυτές των 1000 και 500 $\mu\text{l/L}$, παρουσίασαν σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των δόσεων οι οποίες ελέγχθηκαν, φαίνεται ότι η επίδραση που είχε το αιθέριο έλαιο στη διαφοροποίηση των ωών δεν ήταν ανάλογη της δόσης.



Γράφημα 3.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica* στη διαφοροποίηση των ωών *M. incognita*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Στο Γράφημα 3.2 αναγράφονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica* στη διαφοροποίηση των ωών *M. javanica*.

Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων φάνηκε ότι όλες οι δόσεις, με εξαίρεση την μικρότερη διέφεραν σημαντικά από τον μάρτυρα. Η δόση 62.5 μl/L δεν διέφερε σημαντικά ούτε από την αμέσως υψηλότερη. Δεν καταγράφηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών υψηλότερων δόσεων ούτε και μεταξύ των δόσεων 250 και 125 μl/L. Η δόση 500 μl/L διέφερε σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο μικρότερων δόσεων (125 και 32.5 μl/L).

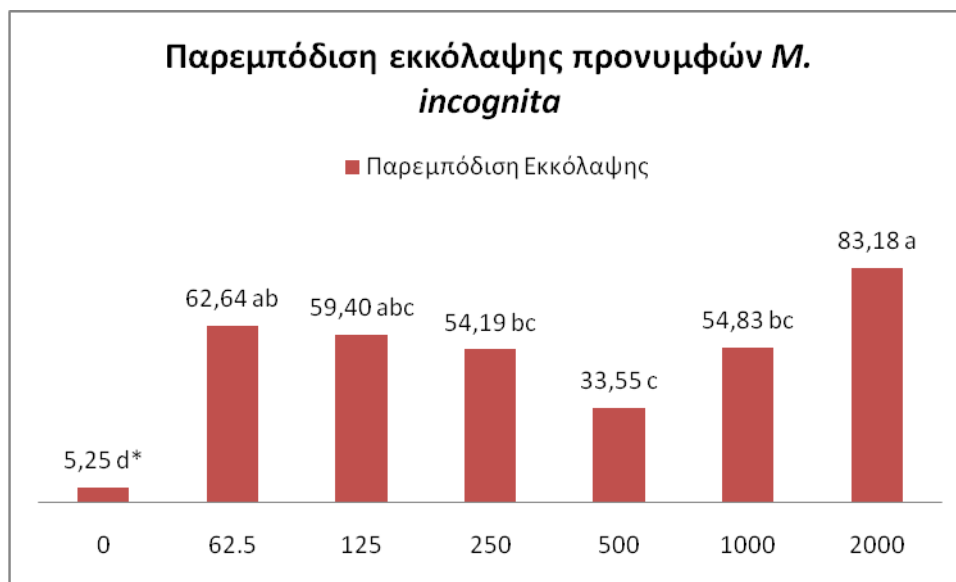


Γράφημα 3.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica* στη διαφοροποίηση των ωών *M. javanica*, * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

3.2.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου στην εκκόλαψη των προνυμφών από τους ωόσακους

Στο Γράφημα 3.3 αναγράφονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*.

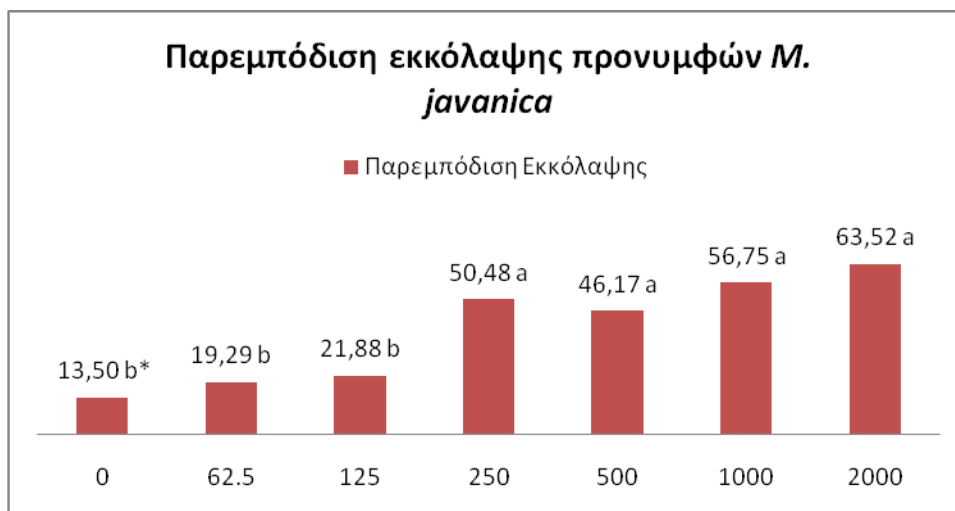
Το συγκεκριμένο αιθέριο έλαιο παρουσίασε σημαντική παρεμπόδιση της εκκόλαψης των προνυμφών, αφού το ποσοστό των προνυμφών που δεν εκκολάφθηκαν στον μάρτυρα διαφέρει σημαντικά από όλες τις δόσεις. Οι δόσεις 2000, 125 και 62.5 μl/L δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά. Το ίδιο ισχύει και για τις δόσεις 1000, 250, 125 και 62.5 μl/L, όπως και για τις 1000, 500, 250 και 125 μl/L.



Γράφημα 3.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Στο Γράφημα 3.4 αναγράφονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*.

Στο συγκεκριμένο είδος κομβονηματώδη, το αιθέριο έλαιο προκάλεσε σημαντική παρεμπόδιση στην εκκόλαψη των προνυμφών από τους ώσους μόνο στις δόσεις 2000, 1000, 500 και 250 μl/L. Αυτές οι δόσεις παρουσίασαν σημαντική διαφορά με τις υπόλοιπες και με τον μάρτυρα, όχι όμως μεταξύ τους. Οι δόσεις 125 και 62.5 μl/L δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους και με τον μάρτυρα.



Γράφημα 3.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. hellenica* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

3.3 Επίδραση του ελαίου και του υδρολύματος του φυτού *Nigella sativa* στους νηματώδεις *Meloidogyne incognita* και *Meloidogyne javanica*

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων που έγιναν με τη χρήση του ελαίου και του υδρολύματος από το φυτό *N. sativa*. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν πειράματα για την καταγραφή της επίδρασης του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου καθώς και πειράματα για την επίδραση του αιθέριου ελαίου στην διαφοροποίηση των ωών και τη εκκόλαψη των προνυμφών από τους ωόσακους.

3.3.1 Επίδραση του ελαίου και του υδρολύματος στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου

Στον Πίνακα 3.6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων παράλυσης των προνυμφών *M. incognita* με τη χρήση του ελαίου του φυτού *N. sativa*.

Μετά από 24 ώρες εμφάνισης στο έλαιο του φυτού δεν παρουσιάστηκε σημαντική επίδραση στην παράλυση των προνυμφών, αφού σε καμία από τις δόσεις δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά από τον μάρτυρα.

Μετά από 48 ώρες εμβάπτισης, σημαντικό ποσοστό παράλυσης παρουσιάστηκε μόνο στη δόση των 500 µl/L, αφού μόνο σε αυτή τη δόση η διαφορά με τον μάρτυρα ήταν σημαντική. Σε κάποιες από τις δόσεις το ποσοστό παράλυσης των προνυμφών ήταν μικρότερο από αυτό στον μάρτυρα και διέφερε σημαντικά.

Μετά από 96 ώρες εμβάπτισης, η μόνη δόση στις οποίες καταγράφηκε σημαντική επίδραση στην παράλυση των προνυμφών ήταν οι 1000 και 500 µl/L. Η δόση των 500 µl/L δεν διέφερε σημαντικά από τις υπόλοιπες, διέφερε όμως από τον μάρτυρα. Όλες οι υπόλοιπες δόσεις δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά με τον μάρτυρα.

Πίνακας 3.6 Επίδραση του ελαίου του φυτού *N. sativa* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Συγκέντρωση (µl/L)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)		
	24	48	96
	Νεκρές J2s(%)	Νεκρές J2s(%)	Νεκρές J2s(%)
0	0.00 a*	5.22 bc	10.80 c
62,5	0.00 a	0.50 d	14.11 bc
125	0.00 a	0.97 d	16.66 bc
250	0.00 a	3.92 cd	18.02 bc
500	0.56 a	9.26 a	21.48 ab
1000	1.18 a	8.34 ab	27.43 a
2000	1.31 a	3.47 cd	16.20 bc

Στον Πίνακα 3.7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων παράλυσης των προνυμφών με τη χρήση των δύο υδρολυμάτων του φυτού *N. sativa*.

Μετά από 24 ώρες εμβάπτισης στα δύο υδρολύματα, στη μικρότερη αραιώση παρουσιάστηκε σημαντική επίδραση στην παράλυση των προνυμφών σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες αραιώσεις και με τον μάρτυρα. Στην αραιώση 0.2 v/v το ποσοστό παράλυσης διέφερε σημαντικά από τα υπόλοιπα, εκτός από αυτό της αραιώσης 0.1 v/v, και από τον μάρτυρα. Τα ποσοστά παράλυσης στις υπόλοιπες αραιώσεις δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά από αυτό του μάρτυρα.

Μετά από 48 ώρες εμβάπτισης, καταγράφηκε σημαντική επίδραση στην παράλυση των προνυμφών στη μικρότερη αραιώση, συγκριτικά με όλες τις υπόλοιπες και με τον μάρτυρα. Όσο αφορά στο πρώτο υδρόλυμα, στη μικρότερη αραιώση παρουσιάστηκε σημαντική επίδραση στην

παράλυση των προνυμφών σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες αραιώσεις και με τον μάρτυρα. Το ποσοστό παράλυσης στην αραιώση 0.2 v/v δεν διέφερε σημαντικά από αυτό στην αμέσως μεγαλύτερη αραιώση, διέφερε όμως από τις υπόλοιπες και από τον μάρτυρα. Οι αραιώσεις 0.1 έως 0.01 v/v δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά με τον μάρτυρα. Όσο αφορά στο δεύτερο υδρόλυμα, καταγράφηκε σημαντική διαφορά μεταξύ της μικρότερης αραιώσης και των υπόλοιπων. Η αραιώση 0.2 v/v δεν διέφερε σημαντικά από τις αραιώσεις 0.1, 0.02 και 0.01 v/v. Επίσης, οι αραιώσεις 0.1, 0.05, 0.02 και 0.01 v/v δεν διέφεραν σημαντικά από τον μάρτυρα.

Μετά από 96 ώρες εμβάπτισης, και στα δύο υδρόλυματα, οι δύο μικρότερες αραιώσεις διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, τις υπόλοιπες και με τον μάρτυρα. Στο πρώτο υδρόλυμα, οι αραιώσεις 0.1 και 0.05 v/v δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, διέφεραν όμως με τις υπόλοιπες και τον μάρτυρα. Μεταξύ των αραιώσεων 0.02 και 0.01 v/v δεν παρουσιάστηκε σημαντική διαφορά, όμως η αραιώση 0.02 v/v δεν διέφερε ούτε με τον μάρτυρα. Στο δεύτερο υδρόλυμα, οι αραιώσεις 0.1 έως 0.01 v/v δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Από αυτές τις αραιώσεις, οι δύο μεγαλύτερες δεν διέφεραν ούτε με τον μάρτυρα.

Πίνακας 3.7 Επίδραση των υδρολυμάτων του φυτού *N. sativa* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Αραιώση (v/v)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)					
	24		48		96	
	Υδρόλυμα Α	Υδρόλυμα Β	Υδρόλυμα Α	Υδρόλυμα Β	Υδρόλυμα Α	Υδρόλυμα Β
	Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)	
0	0.00 c*	0.00 c	5.22 c	5.22 c	10.80 e	10.80 d
0.01	0.40 c	0.00 c	7.39 c	7.20 bc	21.00 d	16.48 cd
0.02	0.67 c	0.47 c	7.44 c	6.92 bc	18.18 de	19.37 cd
0.05	0.00 c	0.00 c	5.07 c	4.49 c	30.66 c	23.82 c
0.1	1.56 bc	1.33 bc	9.57 bc	6.43 bc	30.72 c	24.94 c
0.2	3.58 b	5.55 b	14.22 b	11.81 b	48.22 b	49.91 b
0.5	65.34 a	60.98 a	70.35 a	71.91 a	89.42 a	79.01 a

Στον Πίνακα 3.8 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων παράλυσης των προνυμφών *M. javanica* με τη χρήση του ελαίου του φυτού *N. sativa*.

Το έλαιο δεν παρουσίασε σημαντική δράση εναντίον των προνυμφών μετά από 24 και 48 ώρες εμβάπτισης στα διαλύματα ελέγχου, αφού τα ποσοστά παράλυσης δεν διέφεραν από αυτά στον μάρτυρα. Μετά από 96 ώρες εμβάπτισης, το ποσοστό παράλυσης των προνυμφών στις δόσεις 2000,

1000, 500 και 250 μl/L διέφερε σημαντικά από τις υπόλοιπες δόσεις και τον μάρτυρα. Οι δύο χαμηλότερες δόσεις δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά με τον μάρτυρα.

Πίνακας 3.8 Επίδραση του ελαίου του φυτού *N. sativa* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Συγκέντρωση (μl/L)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)		
	24	48	96
	Νεκρές J2s(%)	Νεκρές J2s(%)	Νεκρές J2s(%)
0	0.00 a*	0.00 a	0.65 b
62,5	0.00 a	0.59 a	1.25 b
125	0.00 a	0.00 a	1.16 b
250	0.00 a	0.00 a	12.74 a
500	0.00 a	0.00 a	18.92 a
1000	0.54 a	0.54 a	18.91 a
2000	0.00 a	0.49 a	12.66 a

Στον Πίνακα 3.9 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων παράλυσης των προνυμφών *M. javanica* με τη χρήση των δύο υδρολυμάτων του φυτού *N. sativa*.

Παρατηρήθηκε ότι και στα δύο υδρολύματα, μετά από 24 και 48 ώρες εμβάπτισης των προνυμφών, σημαντική επίδραση είχε η μικρότερη αραιώση, αφού μόνο αυτή διέφερε σημαντικά από τον μάρτυρα. Μετά από 96 ώρες εμβάπτισης, το ποσοστό παράλυσης της μικρότερης αραιώσης και των δύο υδρολυμάτων διέφερε σημαντικά από τα υπόλοιπα και από τον μάρτυρα. Το αποτέλεσμα καταγράφηκε και για την αραιώση 0.2 v/v. Στο πρώτο υδρόλυμα, δεν καταγράφηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των αραιώσεων 0.1, 0.05 και 0.02 v/v. Επίσης, οι αραιώσεις 0.05 έως 0.01 v/v δεν διέφεραν μεταξύ τους, ούτε με τον μάρτυρα. Στο δεύτερο υδρόλυμα, οι αραιώσεις 0.5 και 0.2 v/v διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, με τις υπόλοιπες και με τον μάρτυρα. Όλες οι υπόλοιπες αραιώσεις δεν διέφεραν μεταξύ τους, ούτε με τον μάρτυρα.

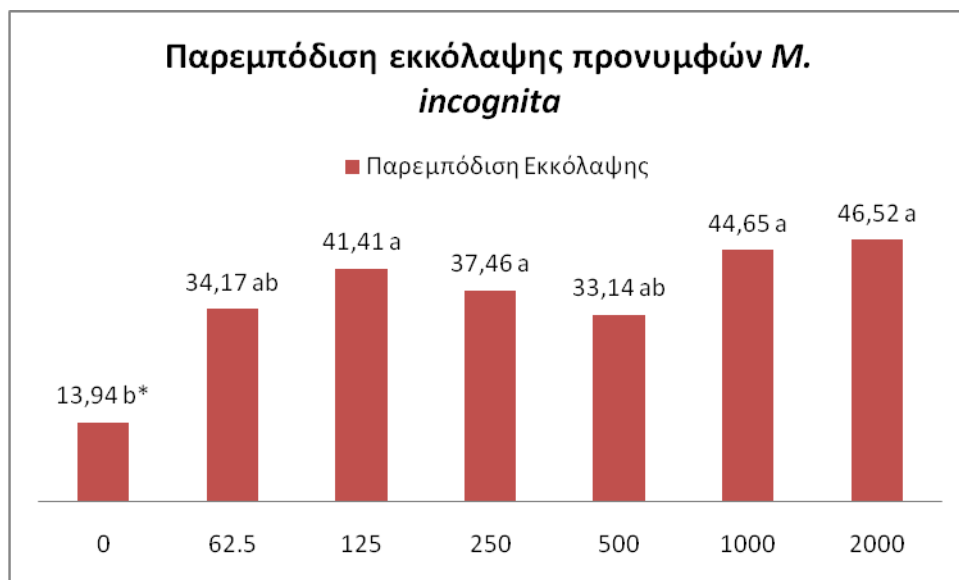
Πίνακας 3.9 Επίδραση των υδρολυμάτων του φυτού *N. sativa* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Αραίωση (ν/ν)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)					
	24		48		96	
	Υδρόλυμα Α	Υδρόλυμα Β	Υδρόλυμα Α	Υδρόλυμα Β	Υδρόλυμα Α	Υδρόλυμα Β
	Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)	
0	0.00 b*	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.65 d	0.65 c
0.01	0.00 b	0.69 b	0.00 b	0.69 b	0.57 d	0.69 c
0.02	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	2.25 cd	5.35 c
0.05	0.77 b	0.00 b	0.77 b	0.00 b	4.02 cd	1.09 c
0.1	0.77 b	0.00 b	0.77 b	0.00 b	9.60 c	2.66 c
0.2	0.61 b	1.38 b	0.61 b	1.38 b	17.40 b	15.34 b
0.5	35.29 a	31.26 a	38.43 a	31.26 a	43.18 a	42.93 a

3.3.3 Επίδραση του ελαίου στην εκκόλαψη των προνυμφών από τους ωόσακους

Στο Γράφημα 3.5 αναγράφονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του ελαίου του φυτού *N. sativa* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*.

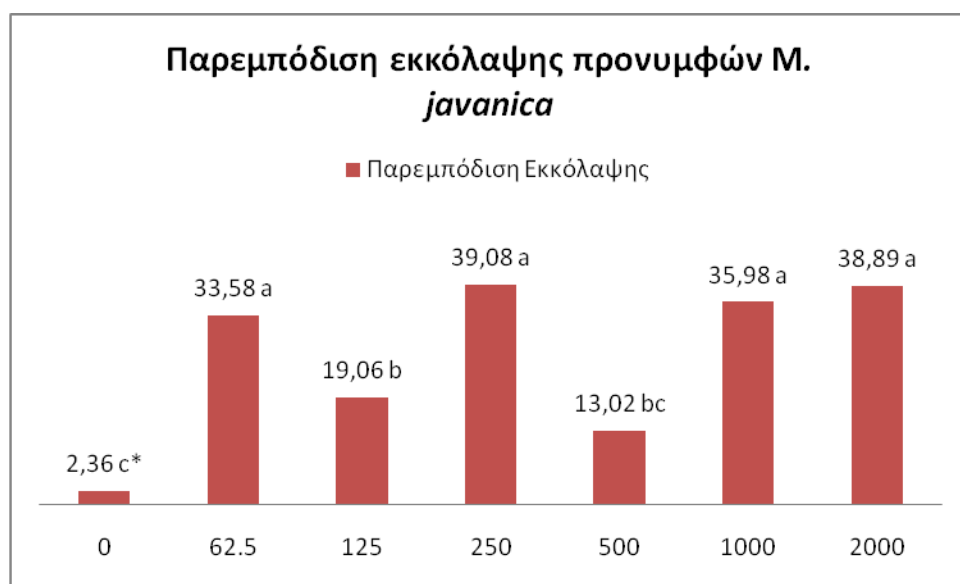
Στο συγκεκριμένο είδος κομβιοηματούδη, το έλαιο αυτό προκάλεσε σημαντική παρεμπόδιση στην εκκόλαψη των προνυμφών από τους ωόσακους σε όλες τις δόσεις, με εξαίρεση αυτές των 500 και 62.5 μL , οι οποίες δεν διέφεραν σημαντικά από τον μάρτυρα.



Γράφημα 3.5 Επίδραση του ελαίου του φυτού *N. sativa* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Στο Γράφημα 3.6 αναγράφονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του ελαίου του φυτού *N. sativa* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*.

Το συγκεκριμένο έλαιο παρουσίασε σημαντική παρεμπόδιση της εκκόλαξης των προνυμφών αυτού του είδους κομβοηματώδη, αφού το ποσοστό των προνυμφών που δεν εκκολάφθηκαν στον μάρτυρα διαφέρει σημαντικά από όλες τις δόσεις, με εξαίρεση αυτή των 500 μL . Οι δόσεις 2000, 1000, 250 και 62.5 μL δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά. Το ίδιο ισχύει και για τις δόσεις 500 και 125 μL . Οι δόσεις που δεν αναφέρονται παραπάνω ως ζεύγη, παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους.



Γράφημα 3.6 Επίδραση του ελαίου του φυτού *N. sativa* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

3.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος του φυτού *Cuminum cyminum* στους νηματώδεις *Meloidogyne incognita* και *Meloidogyne javanica*

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων που έγιναν με τη χρήση του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος από το φυτό *Cuminum cyminum*. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν πειράματα για την καταγραφή της επίδρασης του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου καθώς και πειράματα για την επίδραση του αιθέριου ελαίου στην διαφοροποίηση των ωών και τη εκκόλαψη των προνυμφών από τους ωόσακους.

3.4.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου και του υδρολύματος στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου

Πίνακας 3.10 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *C. cyminum* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Συγκέντρωση (μl/L)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)					
	24		48		96	
	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2
	Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)	
0	1.00 e *	0.74 e	4.61 e	0.74 e	9.77 c	11.66 d
7.8125	2.90 de	6.58 de	12.79 d	9.86 d	94.47 b	53.57 c
15.625	6.31 d	7.13 d	21.18 c	12.70 d	93.33 b	61.03 b
31.25	12.00 c	13.88 c	29.93 b	19.00 c	95.41 b	60.06 bc
62.5	88.47 b	55.05 b	99.05 a	71.53 b	100.00 a	100.00 a
125	99.63 a	99.35 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a
250	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a
500	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a

Στον Πίνακα 3.11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του υδρολύματος του φυτού *C. cyminum* στην παράλυση των προνυμφών δευτέρου σταδίου του κομβοηματώδη *M. incognita*. Δοκιμάστηκαν έξι διαφορετικές αραιώσεις του υδρολύματος.

Στο πρώτο πείραμα, όλες οι αραιώσεις, με εξαίρεση το ζευγάρι 0.02-0.01 v/v, παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους και με τον μάρτυρα. Στο δεύτερο πείραμα, για το ίδιο χρονικό διάστημα, οι τρεις μικρότερες αραιώσεις δεν διαπιστώθηκε να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, η αραιώση 0.05 v/v διέφερε σημαντικά από τις υπόλοιπες και οι δύο μεγαλύτερες αραιώσεις δεν διέφεραν μεταξύ τους, ούτε με τον μάρτυρα.

Μετά από 48 ώρες εμφάνισης, στο πρώτο πείραμα δεν καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των αραιώσεων 0.1-0.05 και 0.02-0.01 v/v. Οι υπόλοιπες αραιώσεις διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους και με τον μάρτυρα. Στο δεύτερο πείραμα, οι τρεις μικρότερες αραιώσεις δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά, όπως και οι δύο μεγαλύτερες μεταξύ τους. Η αραιώση 0.05 v/v διέφερε σημαντικά με τις υπόλοιπες. Όλες οι αραιώσεις διαπιστώθηκαν σημαντικά διαφορετικές από τον μάρτυρα.

Μετά από 96 ώρες εμφάνισης, στο πρώτο πείραμα η αραιώση 0.5 v/v διέφερε σημαντικά από τις υπόλοιπες και από τον μάρτυρα, ενώ όλες οι άλλες αραιώσεις δεν

παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Στο δεύτερο πείραμα, τα στατιστικά αποτελέσματα ήταν ίδια με αυτά του προηγούμενου χρόνου εμβάπτισης.

Πίνακας 3.11 Επίδραση του υδρολύματος του φυτού *C. cyminum* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*.

* : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Αραίωση (v/v)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)					
	24		48		96	
	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2
	Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)	
0	0.00 f*	0.00 c	9.53 e	0.00 d	22.55 c	0.00 d
0.01	15.14 e	0.00 c	46.27 d	9.56 c	92.96 b	38.10 c
0.02	18.88 e	2.27 c	52.30 d	7.26 c	93.52 b	45.53 c
0.05	35.98 d	30.13 b	65.17 c	36.42 b	92.52 b	71.68 b
0.1	52.63 c	98.89 a	66.12 c	98.89 a	91.67 b	100.00 a
0.2	73.47 b	100.00 a	88.17 b	100.00 a	95.32 b	100.00 a
0.5	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a

Στον Πίνακα 3.12 αναγράφονται τα ποσοστά παράλυσης των προνυμφών δευτέρου σταδίου του κομβονηματώδη *M. javanica*, όταν αυτές εμβαπτίστηκαν σε διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων του αιθέριου ελαίου του φυτού *C. cyminum*.

Στο πρώτο πείραμα, μετά από 24 και 48 ώρες εμβάπτισης, οι τρεις υψηλότερες δόσεις δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Η παράλυση στις δόσεις 62.5 και 31.25 μL διέφερε σημαντικά από αυτή σε όλες τις υπόλοιπες δόσεις. Οι δύο χαμηλότερες δόσεις δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, ούτε με τον μάρτυρα. Μετά από 96 ώρες εμβάπτισης, οι τέσσερις υψηλότερες δόσεις δεν διαπιστώθηκε να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, το ίδιο και οι τρεις χαμηλότερες. Η διαφορά σε σύγκριση με τον μάρτυρα ήταν σημαντική.

Στο Πείραμα 2, μετά από 24 και 48 ώρες εμβάπτισης, οι τρεις υψηλότερες δόσεις δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους και οι τρεις χαμηλότερες με τον μάρτυρα. Μόνο η δόση 62.5 μL διέφερε σημαντικά από τις υπόλοιπες. Μετά από 96 ώρες εμβάπτισης, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των τεσσάρων υψηλότερων δόσεων. Το ίδιο αποτέλεσμα καταγράφηκε και για τις άλλες τρεις δόσεις. Όλες οι δόσεις διέφεραν σημαντικά από τον μάρτυρα.

Πίνακας 3.12 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *C. cyminum* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Συγκέντρωση (μl/L)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)					
	24		48		96	
	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2
	Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)	
0	0.00 d*	0.00 c	0.00 d	0.00 c	0.80 d	0.00 c
7.8125	0.00 d	0.00 c	0.80 d	0.56 c	27.03 b	28.76 b
15.625	0.57 d	0.00 c	1.80 d	0.00 c	22.50 b	24.50 b
31.25	4.83 c	0.00 c	7.02 c	0.71 c	12.73 c	23.55 b
62.5	97.72 b	91.08 b	97.72 b	94.17 b	100.00 a	100.00 a
125	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a
250	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a
500	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a

Στον Πίνακα 3.13 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του υδρολύματος του φυτού *C. cyminum* στην παράλυση των προνυμφών δευτέρου σταδίου του κομβοηματώδη *M. javanica*.

Στο Πείραμα 1, μετά από 24 ώρες εμφύσησης, με εξαίρεση τα ζευγάρια 0.5-0.2 και 0.02-0.01 v/v, όλες οι δόσεις διέφεραν σημαντικά. Οι δύο μεγαλύτερες αραιώσεις δεν διέφεραν με τον μάρτυρα. Μετά από 48 ώρες εμφύσησης, η μόνη διαφορετική παρατήρηση ήταν ότι όλες οι δόσεις διέφεραν σημαντικά με τον μάρτυρα. Μετά από 96 ώρες εμφύσησης, με εξαίρεση τις δύο μικρότερες αραιώσεις, όλες οι υπόλοιπες διέφεραν μεταξύ τους και με τον μάρτυρα.

Στο δεύτερο πείραμα, μετά από 24 ώρες εμφύσησης, οι τρεις μικρότερες αραιώσεις δεν διαπιστώθηκε να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, όμως υπήρχε σημαντική διαφορά με τις υπόλοιπες και με τον μάρτυρα. Η αραιώση 0.01 v/v, σε αντίθεση με όλες τις υπόλοιπες αραιώσεις, δεν διέφερα από τον μάρτυρα. Μετά από 48 ώρες εμφύσησης, οι τέσσερις μικρότερες αραιώσεις και οι δύο μεγαλύτερες δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, διέφεραν όμως με τον μάρτυρα. Τέλος, μετά από 96 ώρες εμφύσησης, μόνο οι τέσσερις μικρότερες αραιώσεις δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Όλες οι υπόλοιπες αραιώσεις διέφεραν σημαντικά και μεταξύ τους και με τον μάρτυρα.

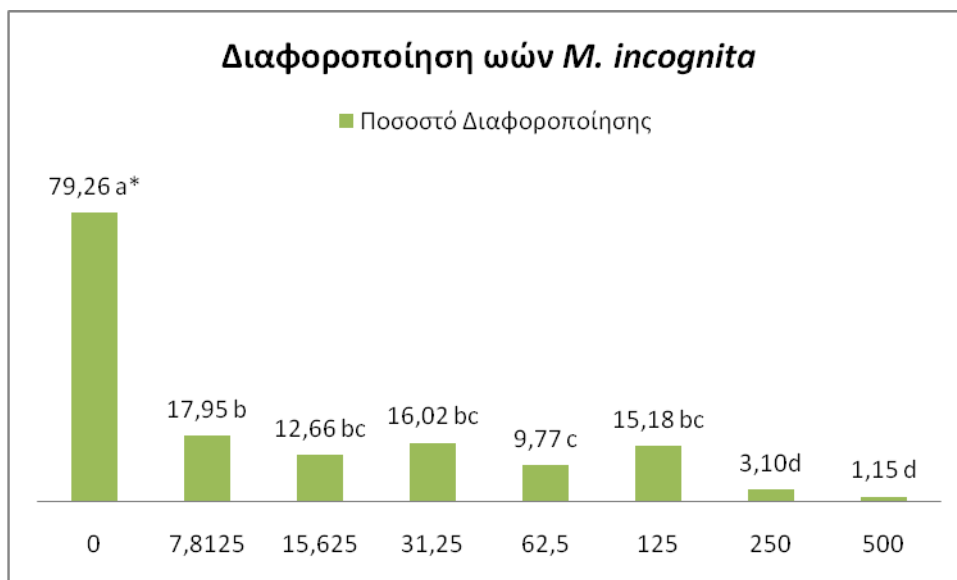
Πίνακας 3.13 Επίδραση του υδρολύματος του φυτού *C. cyminum* στην παράλυση προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*.
* : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Αραίωση (v/v)	Χρόνος Έκθεσης (ώρες)					
	24		48		96	
	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 1	Πείραμα 2
	Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)		Νεκρές J2s(%)	
0	0.00 d*	0.63 d	1.32 e	0.63 c	8.89 f	1.70 d
0.01	1.48 d	0.61 d	18.28 d	10.89 b	67.39 d	46.55 b
0.02	1.60 d	5.14 c	15.72 d	14.05 b	46.32 e	39.09 c
0.05	20.09 c	93.95 b	28.51 c	97.06 a	75.96 c	98.89 a
0.1	74.41 b	99.33 a	81.02 b	99.33 a	91.24 b	100.00 a
0.2	96.73 a	100.00 a	97.44 a	100.00 a	98.62 a	100.00 a
0.5	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a

3.4.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου στη διαφοροποίηση των ωών

Στο Γράφημα 3.7 αναγράφονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του αιθέριου ελαίου του φυτού *C. cyminum* στη διαφοροποίηση των ωών *M. incognita*.

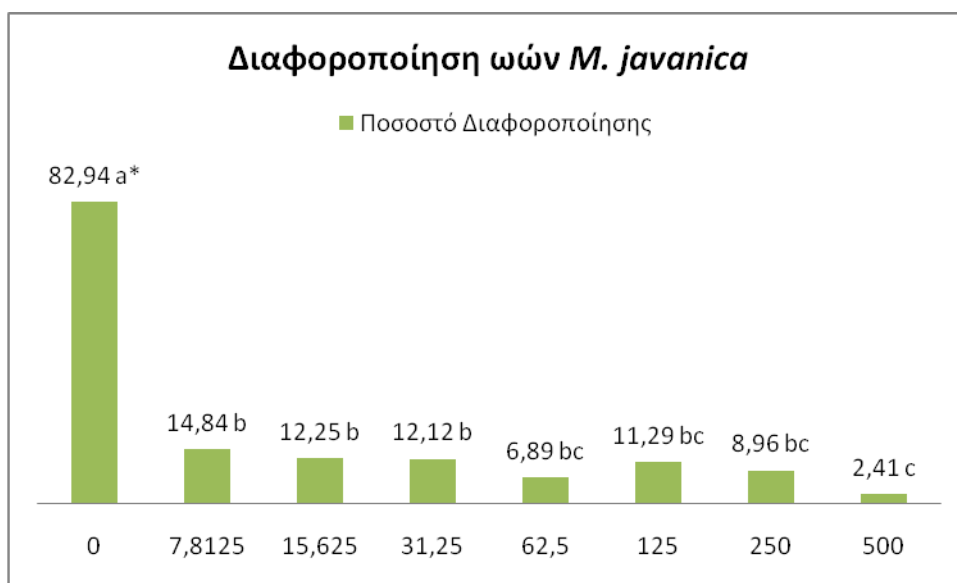
Το αιθέριο έλαιο φάνηκε να έχει σημαντική επίδραση στη διαφοροποίηση των ωών, αφού τα αποτελέσματα που καταγράφηκαν σε όλες τις δόσεις παρουσίασαν σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Οι δόσεις 125, 31.25, 15.625 και 7.8125 $\mu\text{l/L}$ δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Το ίδιο αποτέλεσμα καταγράφηκε και για τις δόσεις 125, 31.25 και 15.625 $\mu\text{l/L}$, όπως και για τις 500 και 250 $\mu\text{l/L}$.



Γράφημα 3.7 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *C. cyminum* στην διαφοροποίηση ωών *M. incognita*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Στο Γράφημα 3.8 αναγράφονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του αιθέριου ελαίου του φυτού *C. cyminum* στη διαφοροποίηση των ωών *M. javanica*.

Όλες οι δόσεις αποδείχθηκαν σημαντικά διαφορετικές από τον μάρτυρα. Η μεγαλύτερη δόση διέφερε σημαντικά από τις τρεις μικρότερες και από τον μάρτυρα, όχι όμως από τις 250, 125 και 62.5 μl/L. Μεταξύ των δόσεων 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 και 7.8125 μl/L δεν καταγράφηκε σημαντική διαφορά.

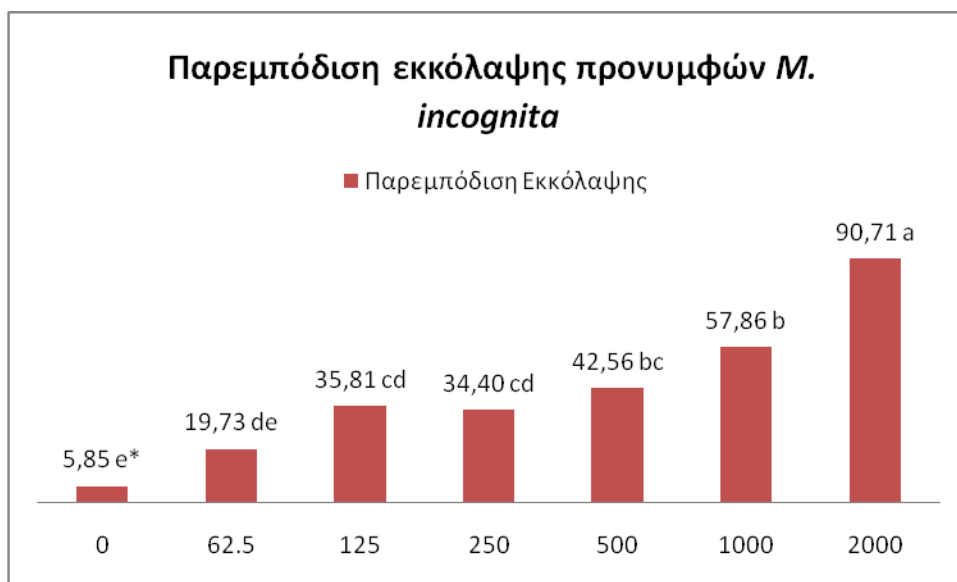


Γράφημα 3.8 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *C. cyminum* στη διαφοροποίηση ωών *M. javanica*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

3.4.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου στην εκκόλαψη των προνυμφών από τους ωόσακους

Στο Γράφημα 3.9 αναγράφονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του αιθέριου ελαίου του φυτού *C. cyminum* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*.

Το συγκεκριμένο αιθέριο έλαιο παρουσίασε σημαντική παρεμπόδιση της εκκόλαψης των προνυμφών, αφού το ποσοστό των προνυμφών που δεν εκκολάφθηκαν στον μάρτυρα διαφέρει σημαντικά από όλες τις δόσεις εκτός από την μικρότερη. Η μεγαλύτερη δόση διέφερε σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες. Οι δόσεις 1000 και 500 $\mu\text{l/L}$ δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Το ίδιο διαπιστώθηκε και για τις δόσεις 500, 205 και 125 $\mu\text{l/L}$, όπως και για τις 250, 125 και 62.5 $\mu\text{l/L}$.

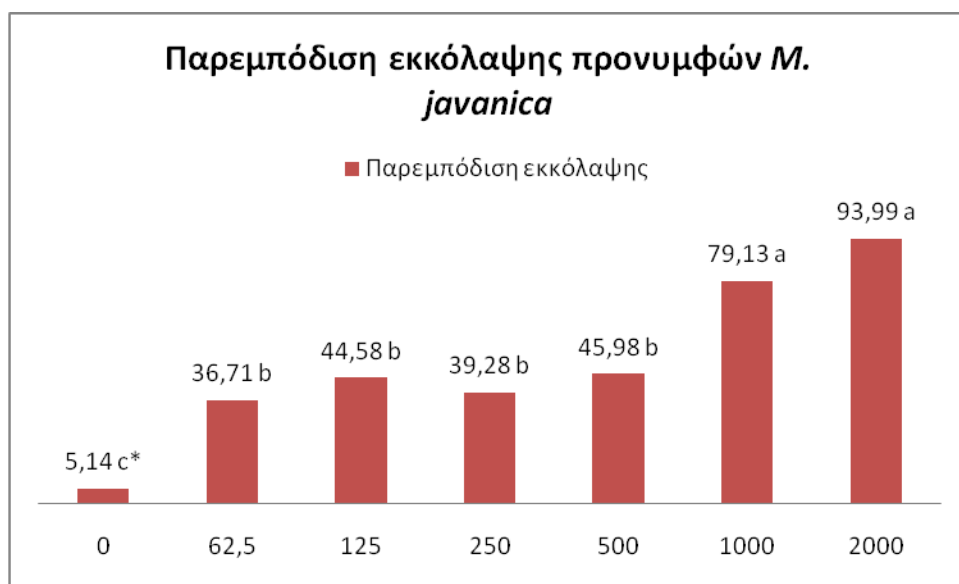


Γράφημα 3.9 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *C. cyminum* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. incognita*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

Στο γράφημα 3.10 αναγράφονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων επίδρασης του αιθέριου ελαίου του φυτού *C. cyminum* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*.

Η παρεμπόδιση της εκκόλαψης των προνυμφών ήταν σημαντική, αφού το ποσοστό των μη εκκολαφθέντων προνυμφών διαφέρει σημαντικά από τον μάρτυρα σε όλες τις δόσεις που

ελέγχθηκαν. Οι δύο μεγαλύτερες δόσεις δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους, διέφεραν όμως σημαντικά από τις υπόλοιπες δόσεις. Οι δόσεις 500, 250, 125 και 62.5 μl/L δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, διέφεραν όμως με τις δύο μεγαλύτερες δόσεις και τον μάρτυρα.



Γράφημα 3.10 Επίδραση του αιθέριου ελαίου του φυτού *C. cyminum* στην εκκόλαψη προνυμφών δευτέρου σταδίου *M. javanica*. * : αριθμοί οι οποίοι ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P > 0.05$

3.5 Χημική σύσταση των φυτικών εκχυλισμάτων

Στον Πίνακα 3.14 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της χημικής ανάλυσης των αιθέριων ελαίων και υδρολυμάτων των φυτών *C. cuminum* και *S. hellenica*.

Πίνακας 3.14 Χημική σύσταση των φυτικών εκχυλισμάτων των φυτών *C. cuminum* και *S. hellenica*

No	RT	Χημική ένωση με τη σειρά έκλουσης	<i>C. cuminum</i> e.o.	<i>C. cuminum</i> hydrosol	<i>S. hellenica</i> e.o.	<i>S. hellenica</i> hydrosol
1	7.34	α -Pinene	-	-	1.48	-
2	8.02	Camphene	-	-	1.31	-
3	8.79	2- β -Pinene	5.20	-	-	-
4	8.86	1-Octen-3-ol	-	-	-	1.57
5	9.09	β -Myrcene	-	-	1.01	-
6	9.40	3-Octanol	-	-	-	0.34
7	9.79	Sabinene	0.73	-	-	-
8	10.23	α -Terpinene	-	-	1.14	-
9	10.52	<i>o</i> -Cymene	6.56	-	-	-
10	10.64	<i>p</i> -Cymene	-	-	27.46	-
11	11.88	γ -Terpinene	11.09	-	4.63	-
12	12.74	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	-	-	2.35	4.58
13	13.01	Terpineolene	-	-	0.37	-
14	13.08	<i>trans</i> -Linalool oxide	-	-	-	0.67
15	13.60	Linalool	-	-	0.58	0.66
16	13.87	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	-	-	0.45	2.54

17	14.84	1-Terpineol	-	-	0.27	-
18	15.00	<i>cis</i> -2-Pinanol	-	-	0.64	-
19	15.02	<i>trans</i> -2-Pinanol	-	-	-	1.31
20	16.04	Camphor	-	-	0.55	1.22
21	16.65	Sabinol	-	0.29	-	-
22	17.06	Borneol	-	-	6.79	20.42
23	17.34	4-Terpineol	0.43	1.84	3.65	6.72
24	17.73	<i>p</i> -Cymen-8-ol	-	0.25	0.32	2.84
25	17.95	1,3-Cyclohexadiene-1-methanol, 4(1-methylethyl)	1.01	-	-	-
26	18.02	α -Terpineol	-	1.01	0.63	1.90
27	18.20	<i>cis</i> -Dihydrocarvone	-	-	0.22	-
28	19.02	Benzene, 2-ethenyl-1-methoxy-3-methyl	-	-	-	0.23
29	19.30	Thymol methylether	-	-	1.39	-
30	19.45	3-Thujenol	-	0.41	-	-
31	19.70	Carvacrol methylether	-	-	6.77	0.47
32	20.18	Cumin aldehyde	26.48	31.55	-	-
33	21.18	Geraniol	-	-	0.13	-
34	21.78	Thymol	-	-	0.31	-
35	22.12	α -Terpinen-7-al	12.77	20.92	-	-
36	22.21	Carvacrol	-	-	23.25	50.12
37	22.29	γ -Terpinen-7-al	34.95	41.98	-	-
38	24.47	Thymol acetate	-	-	-	0.26

39	24.95	Eugenol	-	-	-	0.16
40	24.98	<i>p</i> -Mentha-1,4-dien-7-ol	-	1.28	-	-
41	27.53	(β)-trans-Caryophyllene	-	-	3.54	0.24
42	28.30	Aromandrene	-	-	0.43	-
43	29.05	α -Caryophyllene	-	-	0.16	-
44	29.73	α -Acoradiene	0.15	-	-	-
45	30.44	Viridiflorene	-	-	0.24	-
46	30.68	Bicyclogermacrene	-	-	0.30	-
47	31.02	β -Bisabolene	-	-	3.48	-
48	34.08	(+)-Spathulenol	-	-	1.37	0.36
49	34.28	(-)-Caryophyllene oxide	-	-	2.73	0.35
50	34.97	Carotol	0.15	-	-	-
51	37.14	α -Eudesmol	-	-	0.25	0.07
		Άγνωστα (%)	0.28	0.30	3.10	2.96

4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στα πλαίσια της έρευνας για φυτικά εκχυλίσματα με νηματωδοκτόνες ιδιότητες, μελετήθηκαν τρία φυτά, συγκεκριμένα τα είδη: *C. cyminum*, *N. sativa* και *S. hellenica* για τη δράση τους εναντίον των νηματωδών *M. incognita* και *M. javanica*. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμές με πειράματα επίδρασης στην κινητικότητα σε προνύμφες J2, στη διαφοροποίηση των ωών και στην εκκόλαψη προνυμφών των δύο αυτών ειδών. Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν είτε αιθέρια έλαια είτε έλαια και υδρολύματα που απομονώθηκαν από τα φυτά. Για την πιθανή συσχέτιση της νηματωδοκτόνου δράσης με τη χημική σύσταση των φυτών προσδιορίστηκε η χημική σύσταση των φυτικών εκχυλισμάτων.

Θεωρείται ότι η γεωγραφική προέλευση, το φαινολογικό στάδιο του φυτού, το ποσοστό υγρασίας του συγκομιζόμενου φυτικού υλικού καθώς και η μέθοδος της εκχύλισης είναι πιθανές πηγές παραλλακτικότητας της χημικής σύστασης, της τοξικότητας και κατ'επέκταση της βιολογικής δράσης των αιθερίων ελαίων (Lahlou, 2004). Στην παρούσα μελέτη γίνεται αναφορά για πρώτη φορά στην επίδραση των συγκεκριμένων φυτικών εκχυλισμάτων από αυτά τα φυτικά είδη.

4.1 Επίδραση των φυτικών εκχυλισμάτων στην παράλυση των προνυμφών δευτέρου σταδίου των δύο ειδών κομβονηματοδών

Όσον αφορά τα αιθέρια έλαια των φυτών *C. cyminum* και *S. hellenica*, μετά από εμφύσηση των J2 στα διαλύματα ελέγχου, παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση της αύξησης της συγκέντρωσης με την αύξηση της παράλυσης καθώς και με την πάροδο του χρόνου, η οποία ήταν μη αναστρέψιμη μετά το πέρας 96 ωρών. Όσο αφορά στο έλαιο από τους σπόρους του φυτού *N. sativa*, δεν παρατηρήθηκε μεγάλη επίδραση στην παράλυση των προνυμφών δευτέρου σταδίου. Τα υδρολύματα και από τα τρία φυτά παρουσίασαν αξιόλογη δράση, αφού τα ποσοστά παράλυσης ήταν σχετικά υψηλά σε κάποιες περιπτώσεις και πολύ υψηλά σε κάποιες άλλες.

Τα μεγαλύτερα ποσοστά παράλυσης καταγράφηκαν στην περίπτωση του αιθέριου ελαίου του είδους *C. cyminum* στις προνύμφες και των δύο ειδών κομβονηματοδών, ακολούθησε το αιθέριο έλαιο του είδους *S. hellenica* ενώ αντίθετα το έλαιο του είδους *N. sativa* δεν κατάφερε

να προκαλέσει παράλυση στο 50% των προνυμφών ούτε μετά από εμβάπτιση 96 ωρών στα διαλύματα ελέγχου. Το μέγιστο ποσοστό παράλυσης ανήλθε στο 27.43 και 18.92% για τα είδη *M. incognita* και *M. javanica* αντίστοιχα. Από τα τρία αυτά εκχυλίσματα η ισχυρότερη δράση παρατηρήθηκε από το είδος *C. cyminum*, αφού μέσα σε λίγες ώρες παρατηρήθηκε παράλυση στο 100% των προνυμφών και των δύο ειδών κομβονηματοδών μέχρι και τη δόση των 125 μl/L.

Σχετικά με τα υδρολύματα, η σειρά τοξικότητας ήταν αντίστοιχη με αυτή των αιθέριων ελαίων και του ελαίου. Συγκεκριμένα τη μεγαλύτερη δράση παρουσίασε το υδρόλυμα από το είδος *C. cyminum*, ακολούθησε αυτό του είδους *S. hellenica* και τέλος το υδρόλυμα του είδους *N. sativa*, το οποίο είχε μεγαλύτερη δράση από το έλαιο του φυτού. Όσον αφορά το υδρόλυμα του είδους *C. cyminum* παρατηρήθηκε παράλυση του 100% των προνυμφών και των δύο ειδών κομβονηματοδών στην υψηλότερη δόση (0.5 v/v), περίπου 100% στις δύο επόμενες (0.2 και 0.1 v/v) και περίπου 80% στην αμέσως επόμενη (0.05 v/v), μετά από εμβάπτιση των προνυμφών για 96 ώρες στα διαλύματα ελέγχου. Το υδρόλυμα του είδους *S. hellenica* προκάλεσε παράλυση του 93 και 95% περίπου των προνυμφών *M. incognita* και *M. javanica* αντίστοιχα στην υψηλότερη δόση και μέχρι 15 και 30% στις υπόλοιπες δόσεις. Τέλος, παρατηρήθηκε παράλυση περίπου στο 89 και 43% των προνυμφών *M. incognita* και *M. javanica* αντίστοιχα από το πρώτο υδρόλυμα του φυτού *N. sativa* στην υψηλότερη δόση, περίπου 79 και 43% στην υψηλότερη δόση του δεύτερου υδρολύματος και μέχρι 50 και 17% από το πρώτο και 50 και 17% από το δεύτερο υδρόλυμα στις υπόλοιπες δόσεις αντίστοιχα.

Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε από τα παραπάνω αποτελέσματα, τα δύο αιθέρια έλαια είχαν μεγαλύτερη δράση εναντίον των προνυμφών από τα αντίστοιχα υδρολύματα. Αυτό όμως δεν παρατηρήθηκε στο έλαιο του φυτού *N. sativa*, αφού το υδρόλυμα φάνηκε να είναι περισσότερο τοξικό από το έλαιο. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να οφείλεται στην ύπαρξη είτε ανταγωνιστικών ουσιών στο έλαιο, είτε στην ύπαρξη συνεργιστικών ουσιών στο υδρόλυμα ή σε υδατοδιαλυτές ουσίες, οι οποίες εμφανίστηκαν στο υδρόλυμα μετά την απόσταξη του ελαίου. Ακόμα και μετά από ανάλυση της χημικής σύστασης των τριών αυτών εκχυλισμάτων είναι δύσκολο να καταλήξουμε σε ένα σίγουρο συμπέρασμα λόγω των περιορισμένων αναφορών στην ανταγωνιστική ή συνεργιστική δράση ουσιών εναντίον των κομβονηματοδών.

4.2 Επίδραση των φυτικών εκχυλισμάτων στη διαφοροποίηση των ωών των δύο ειδών κομβονηματωδών

Το μεγαλύτερο ποσοστό παρεμπόδισης της διαφοροποίησης των ωών καταγράφηκε στο αιθέριο έλαιο του φυτού *C. cyminum*, με τα αποτελέσματα να δείχνουν διαφοροποίηση περίπου 18% για το είδος *M. incognita* και 15% για το είδος *M. javanica* στην μικρότερη δόση των 7.8125 μl/L εναντίον διαφοροποίησης περίπου 80 και 83% για τα δύο είδη αντίστοιχα στον μάρτυρα. Στις δύο μεγαλύτερες δόσεις που δοκιμάστηκαν διαφοροποιήθηκε ποσοστό μικρότερο από 5% των ωών και για τα δύο είδη κομβονηματωδών. Όσον αφορά στο φυτικό είδος *S. hellenica*, παρατηρήθηκε διαφοροποίηση περίπου 53 και 64% για τα είδη *M. incognita* και *M. javanica* αντίστοιχα στις μεγαλύτερες δόσεις, εναντίον διαφοροποίησης περίπου 80 και 76% στον μάρτυρα.

Το έλαιο του φυτού *N. sativa* δεν μελετήθηκε ως προς τη δράση του στη διαφοροποίηση των ωών, επειδή τα αποτελέσματα από τα πειράματα επίδρασης στην παράλυση των προνυμφών δεν έδωσαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Το κέλυφος των ωών αποτελείται από τρία στρώματα, συμπεριλαμβανομένου ενός εσωτερικού στρώματος γλυκολιπιδίων, το οποίο τα καθιστά πολύ ανθεκτικά σε σκληρές χημικές ουσίες και, ως εκ τούτου, αυτό το στάδιο δεν είναι ευαίσθητο σε τοξίνες όπως κοινά νηματωδοκτόνα (Moens et al., 2009). Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης, έδειξαν αντίθετα αποτελέσματα, αφού το βιολογικό στάδιο αυτό φάνηκε το πιο ευαίσθητο.

4.3 Επίδραση των φυτικών εκχυλισμάτων στην εκκόλαψη προνυμφών από τους ωόσακους των δύο ειδών κομβονηματωδών

Η επίδραση των εκχυλισμάτων στην παρεμπόδιση εκκόλαψης των ωών των *M. incognita* και *M. javanica* μελετήθηκε με εμφύσηση των ωοσάκων σε διαλύματα σε 6 επίπεδα συγκεντρώσεων και από τα αποτελέσματα παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της αύξησης της συγκέντρωσης και της παρεμπόδισης εκκόλαψης.

Όμοια με τις παρατηρήσεις στα πειράματα με τα άλλα βιολογικά στάδια των κομβονηματωδών, έτσι κι εδώ, η σειρά τοξικότητας είναι η ίδια, με πιο τοξικό το αιθέριο έλαιο

του *C. cyminum*, λιγότερο τοξικό το αιθέριο έλαιο του *S. hellenica* και ακόμα λιγότερο το έλαιο του *N. sativa*.

Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε παρεμπόδιση εκκόλαψης των προνυμφών σε ποσοστό περίπου 91% για το είδος *M. incognita* και περίπου 94% για το είδος *M. javanica* μετά από εμφύπτιση των ωόσακων στη μεγαλύτερη δόση από το αιθέριο έλαιο του φυτού *C. cyminum*. Στις μικρότερες δόσεις που δοκιμάστηκαν, τα ποσοστά παρεμπόδισης εκκόλαψης κυμαίνονταν από 20-60% για τους νηματώδεις *M. incognita* και 36-80% για τους νηματώδεις *M. javanica*, ενώ στον μάρτυρα δεν εκκολάφθηκε μόλις το 6%.

Το αιθέριο έλαιο του φυτού *S. hellenica* παρουσίασε επίσης τοξικότητα στην εκκόλαψη των κομβονηματωδών, αφού κι εδώ καταγράφηκε παρεμπόδιση της εκκόλαψης σε ποσοστά 83 και 64% για τα είδη *M. incognita* και *M. javanica* αντίστοιχα, μετά από εμφύπτιση των ωόσακων στη μεγαλύτερη δόση, ενώ στον μάρτυρα, τα αυγά που δεν εκκολάφθηκαν κυμαίνονταν σε ποσοστά 5 και 13% για τα δύο είδη νηματωδών αντίστοιχα. Στις μικρότερες δόσεις παρατηρήθηκε παρεμπόδιση στην εκκόλαψη περίπου 50% για το *M. incognita* και 20-50% για το *M. javanica*.

Το έλαιο του φυτού *N. sativa* δεν παρουσίασε τόσο ισχυρή δράση εναντίον της εκκόλαψης προνυμφών από τους ωόσακους. Τα μεγαλύτερα ποσοστά παρεμπόδισης εκκόλαψης καταγράφηκαν στη μεγαλύτερη δόση που εφαρμόστηκε (2000 μl/L) και ήταν 47 και 39% για τα είδη *M. incognita* και *M. javanica* αντίστοιχα. Λίγο μικρότερη δράση παρουσίασε η αμέσως μικρότερη δόση (1000 μl/L) με ποσοστό παρεμπόδισης 45 και 36%, ενώ στις ακόμα μικρότερες δόσεις το ποσοστό αυτό δεν ξεπέρασε το 37 και 30% αντίστοιχα. Αντίθετα, στον μάρτυρα δεν εκκολάφθηκε το 14 και 2% των ωών που βρίσκονταν μέσα στους ωόσακους.

Η αναστολή της εκκόλαψης παίζει σημαντικό ρόλο στη στρατηγική προστασίας των φυτών, δεδομένου ότι το στάδιο της εκκόλαψης αυγών είναι το πιο ανθεκτικό στον βιολογικό κύκλο των κομβονηματωδών, λόγω της ζελατινώδους μάζας των ωόσακων και των τριών στρωμάτων του κελύφους των ωών (Wharton, 2002). Οι δοκιμές εκκόλαψης των ωών έχουν μεγάλη σπουδαιότητα στη λήψη αποφάσεων της νηματωδοκτόνου ιδιότητας των αιθέριων ελαίων και των συστατικών τους. Ως εκ τούτου, η καταμέτρηση των εκκολαφθέντων προνυμφών είναι περισσότερο ακριβής από την καταμέτρηση ακίνητων προνυμφών σε έναν συγκεκριμένο πληθυσμό προνυμφών (Oka et al., 2000). Ακόμη και όταν τα νηματωδοκτόνα εφαρμόζονται σε δόσεις δύο ή τέσσερις φορές μεγαλύτερες από αυτές που συνιστάται, αρκετές

προνύμφες επιζούν μέσα στα αυγά και εκκολάπτονται όταν οι ωόσακοι μεταφέρονται σε καθαρό νερό (Giannakou et al., 2005, Giannakou, 2011). Για αυτούς τους λόγους, ο έλεγχος της δράσης των εκχυλισμάτων στην εκκόλαψη των προνυμφών αποτελεί μια ένδειξη της ικανότητας του φυτικού εκχυλίσματος να διαπερνά τη ζελατινώδη μάζα του ωόσακου και να επιδράσει στα ωάτα οποία βρίσκονται μέσα σε αυτόν (Andres et al., 2012).

4.4 Γενικά Συμπεράσματα

Ο μικρός αριθμός των εγκεκριμένων συνθετικών νηματοδοκτόνων έχει δημιουργήσει την ανάγκη για εξεύρεση νέων μεθόδων αντιμετώπισης των νηματωδών, φιλικότερων προς το περιβάλλον και κατ' επέκταση προς τον άνθρωπο και αυτό το ρόλο μπορούν να παίξουν τα βοτανικά σκευάσματα. Μεγάλος αριθμός πρόσφατων μελετών στη βιβλιογραφία, αναφέρεται στη νηματοδοκτόνο δράση διαφόρων φυτικών ειδών (*Zanthoxylum alatum*, *Acacia eburnea*, *Azadirachta indica*, *Melia azedarach*, *Origanum vulgare* κ.α.), τα οποία έχουν μελετηθεί είτε με τη μορφή εκχυλισμάτων τους, είτε με τη μορφή ενσωμάτωσης φυτικών μερών ή και καλλιεργούμενα σε εναλλαγή με την καλλιέργεια. Οι μελέτες βασίστηκαν σε φυτικά είδη τα συστατικά των οποίων περιέχουν ουσίες τοξικές και παράλληλα δραστικές ενάντια των νηματωδών.

Η παρούσα εργασία αποτελεί την πρώτη προσπάθεια αξιολόγησης και διερεύνησης της δράσης φυτικών εκχυλισμάτων των φυτών *C. cyminum* (Apiaceae), *N. sativa* (Ranunculaceae), και *S. hellenica* (Lamiaceae) εναντίον των κομβονηματωδών *M. incognita* και *M. javanica*. Για το σκοπό αυτό, αξιολογήθηκε η επίδραση των ελαίων ή αιθέριων ελαίων και των υδρολυμάτων τους, εναντίον τριών διαφορετικών βιολογικών σταδίων των νηματωδών *M. incognita* και *M. javanica*.

Αναλύοντας και αξιολογώντας τα αποτελέσματα προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Όλα σχεδόν τα υπό μελέτη φυτικά εκχυλίσματα, με εξαίρεση το έλαιο του φυτού *N. sativa*, προκάλεσαν παράλυση των προνυμφών δευτέρου σταδίου των *M. incognita* και *M. javanica*, ο βαθμός της οποίας ήταν ανάλογος της δόσης και του χρόνου έκθεσης.

- Η ισχυρότερη δράση εναντίον των προνυμφών των κομβονηματωδών καταγράφηκε από το αιθέριο έλαιο και το υδρόλυμα του *C. cyminum*, και ακολουθούν με φθίνουσα σειρά τα *S. hellenica* και *N. sativa*.
- Τα δύο αιθέρια έλαια, των οποίων η επίδραση δοκιμάστηκε στη διαφοροποίηση των ωών των δύο ειδών κομβονηματωδών (*C. cyminum* και *S. hellenica*), φάνηκαν να είναι τοξικά σε αυτό το στάδιο του βιολογικού κύκλου, καθώς προκάλεσαν παρεμπόδιση της διαφοροποίησης, ανάλογη της δόσης.
- Τα δύο αιθέρια έλαια, καθώς και το έλαιο τα οποία δοκιμάστηκαν, φάνηκε να επιδρούν και στην εκκόλαψη των ωών από τους ωόσακους, με την ίδια σειρά δραστηριότητας, και όπως στα προηγούμενα πειράματα, ανάλογη της δόσης.
- Βάσει όλων των πειραμάτων και των αποτελεσμάτων τους, διακρίνεται πως τα φυτικά εκχυλίσματα των *C. cyminum* και *S. hellenica* εμφανίζουν μια σταθερή αποτελεσματικότητα στην αντιμετώπιση των κομβονηματωδών που μελετήθηκαν, σε αντίθεση με τα εκχυλίσματα του φυτικού είδους *N. sativa* τα οποία δεν έχουν σταθερή δράση.
- Η χημική σύσταση των φυτικών εκχυλισμάτων συμφωνεί με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας.
- Η ανάλυση της χημικής σύστασης των φυτικών εκχυλισμάτων μπορεί να αποτελέσει έναν καλό οδηγό για την διερεύνηση της μεμονωμένης ή συνεργιστικής δράσης συγκεκριμένων χημικών ουσιών. Επομένως η δράση των συστατικών ενός αιθέριου ελαίου, με περαιτέρω μελέτη, μπορεί να εντάξει ανάλογα προϊόντα σε προγράμματα φυτοπροστασίας.
- Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα φυτικά είδη που μελετήθηκαν μπορούν με κατάλληλη μεταχείριση να αποτελέσουν εναλλακτικά μέσα σε ένα πρόγραμμα ελέγχου των κομβονηματωδών *Meloidogyne*.
- Είναι απαραίτητη η μελέτη της δράσης όλων των φυτικών εκχυλισμάτων σε συνθήκες αγρού, γιατί η συμπεριφορά τους στο έδαφος μπορεί να είναι διαφορετική, κυρίως λόγω της δέσμευσης συστατικών από το έδαφος, της απορροής και της εξάτμισης.

Βιβλιογραφία

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. *Mol. Plant Pathol.* 4, 217-224.
- Abad et al., 2009. Invasion, Feeding and Development. In: Perry, R.N. & Moens, M. (Eds). *Root-knot nematodes*. Wallingford, UK, CABI Publishing, 163-181.
- Abbas et al. 2009. Nematicidal Activity Of Spices Against *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. *Pak. J. Bot.*, 41(5): 2625-2632, 2009.
- Adams, R.P. 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th edn. Allured: Carol Stream, IL.
- Akhtar, M., Malik, A. 2000. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. *Biores. Technol.* 74, 35-47
- Akhtar, Y., Yeoung, Y.-R., Isman, M.B. 2008. Comparative bioactivity of selected extracts from Meliaceae and some commercial botanical insecticides against two noctuid caterpillars, *Trichoplusia ni* and *Pseudaletia unipuncta*. *Phytochem. Rev.* 7, 77-88.
- Al-Banna, L., Darwish, R.M., Aburjai, T. 2003. Effect of plant extracts and essential oils on root-knot nematode. *Phytopathologia Mediterranea.* 42, 123-128.
- Albuquerque, M.R.J.R., Costa, S.M.O., Bandeira, P.N., Santiago, G.M.P., Andrade-Neto, M., Silveira, E.R., Pessoa, O.D.L. 2007. Nematicidal and larvicidal activities of the essential oils from aerial parts of *Pectis oligocephala* and *Pectis apodocephala* Baker. *An da Acad Bras Cienc.* 79, 209-213.
- Andres et al. 2012. Nematicidal activity of essential oils: a review. *Phytochem. Rev.*, 11, pp. 371-390
- Angelini, L.G., Carpanese, G., Cioni, P.L., Morelli, I., Macchia, M., Flamini, G. 2003. Essential oils from Mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitors. *J. Agric. Food Chem.* 51, 6158-6164.
- Atta, M.B., 2003. Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chem.* 83, 63-68.
- Baden, C. 1991. *Satureja* L. In: Strid, A. & Tan, K. (Eds), *Mountain Flora of Greece 2*, University Press, Edinburgh, pp 121-127.

- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem. Toxicol.* 46, 446-475.
- Başer, K.H.C., Vural, M., Tümen, G., Akyalçın, H. & Satil, F. 1995. Two New Records for the Flora of Turkey. *Tr. J. Bot.* 19: 489-490.
- Bélair, G. and Parent, L.E. 1996. Using crop rotation to control *Meloidogyne hapla* Chitwood and improve marketable carrot yield. *HortSci.* 31, 106-108.
- Bello, A., López-Pérez, J.A., Sanz, R., Escuer, M. and Herrero, J. 2000. Biofumigation and organic amendments. Regional workshop on methyl bromide alternatives for North Africa and southern European countries. Paris, France, United Nations Environment Programme (UNEP), 113- 141
- Batish DR, Singh HP, Kohli RK, Kaur S (2008) Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *For Ecol Manag* 256:2166–2174
- Berkeley, M.J. (1855) *Vibrio* forming cysts on the roots of cucumbers. *Gardener' s Chronicle and Agricultural Gazette* 14, 220.
- Bernhard, R., Bouquet, A. and Scotto La Massese, C. (1985) Diversite des problemes numatologiques en vergers, solutions chimiques et genetiques. Creation de varietes resistantes aux nematodes des cultures: interut, possibilites et limites. *Compte-Rendus de l' Academie d' Agriculture de France* 71, 705–718.
- Bridge, J. and Starr, J.L. (2007) *Plant Nematodes of Agricultural Importance*. Academic Press, Burlington, Massachusetts.
- Byrd, D.W., Krickpatrick, T., Barker, K.R. 1983. An improved technique for cleaning and staining plant tissue for detection of nematodes. *J. Nematol.* 15, 142- 143.
- Caillaud, M.C., Dubreuil, G., Quentin, M., Perfus-Barbeoch, L., Lecomte, P., de Almeida Engler, J., Abad, P., Rosso, M.-N. and Favery, B. 2008. Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. *Journal of Plant Physiology* 165, 104–113.
- Carneiro, R.M.D.G., Carneiro, R.G., Abrantes, I.M.O., Santos, M.S.N.A., Almeida, M.R.A. 1996. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. *J. Nematol.* 28, 177-189.
- Cavanagh, H. and Wilkinson, J. 2006. Bioactivity of Lavandula: Assessment of Lavandula Essential oils, Hydrosols and Plant Extracts. Publication No. 06/038. Project No UCS-30A. Rural Industries Research and Development Corporation.

- Cetintas, R., Yarba, M.M. 2010. Nematicidal effects of five plant essential oils on the southern root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* race 2. J. Anim. Veterin. Advanc. 9, 222-225.
- Chatterjee, A., Sukul, N.C., Laskar, S., Ghoshmajumdar, S. 1982. Nematicidal principles from two species of Lamiaceae. J. Nematol. 14, 118-120.
- Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C., Atti, H., 2007. *Nigella sativa* L.: chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. Food Chem. 101, 673-681
- Chitwood, B.G. (1949) Root-knot nematodes – part I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goldi, 1887. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 16, 90-104.
- Chitwood, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. Ann. Rev. Phytopathol. 40, 221-249.
- Chuan, Q.B., Zhi, L.L., Qi, Z.L. 2011. Nematicidal constituents from the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* aerial parts. E-J. Chem. 8 (SUPPL. 1), 143-148.
- Clean Air Act (1990) Title VI. Stratospheric Ozone Protection Publication L. Section 6001. US Congress, Washington, DC, pp. 101-549.
- Cobb, N.A. (1890) *Tylenchus* and root-gall. Agricultural Gazette of New South Wales 1, 155-184.
- Cobb, N.A. (1924) The amphids of *Caconema* (nom. nov.) and other nemas. Journal of Parasitology 11, 118-120.
- Collange, B., Navarrete, M., Peyre, G., Mateille, T., Tchamitchian, M. 2011. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: The challenge of an agronomic system analysis. Crop Protect. 30, 1251-1262.
- Cornu, M. (1879) Etudes sur le *Phylloxera vastatrix*. Memoires Presentes par Divers Savants a l' Academie des Sciences, Institut France 26, 163-175, 328, 339-341.
- Daniel, Z., Maria, H., 2000. Domestication of Plants in the Old World, third ed. University Press, Oxford. p. 206.
- Davis, P.H. 1980. *Satureja*. In P. H. Davis (Ed), Materials for a Flora of Turkey. XXXVII: Labiatae. Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh 38(1): 49-52.
- Davis, P.H. 1982. *Satureja*. In: Davis, P.H. (Ed), Flora of Turkey and the East Aegean Islands 7, University Press, Edinburgh, pp 314-323.

- De Ley, P. and Blaxter, M. (2002) Systematic position and phylogeny. In: Lee, D.L. (ed.) The Biology of Nematodes. Taylor & Francis, London, pp. 1–30.
- Di Vito, M., Greco, N. & Carella, A. (1986). The effect of *Meloidogyne incognita* and importance of the inoculum on yield of eggplant. J. Nematol. 18, 487-490.
- Di Vito, M. and Lamberti, F. (1977) Prove di lotta chimica contro i nematodi galligeni su barbabietola da zucchero. Nematologia Mediterranea 5, 31–38.
- Djian-Caporalino, C., Fazari, A., Arguel, M.J., Vernie, T. VandeCastele, C., Faure, I., Brunoud, G., Pijarowski, L., Palloix, A., Lefebvre, V. et al. 2007. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) Me resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. Theoretic. Appl. Genet. 114, 473-486.
- Eikani, H.M., Goodarznia, I., Mirza, M., 1999. Supercritical carbon dioxide extraction of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.). Flavour and Fragrance Journal 14, 29–31.
- Eisenback, J.D. and Hunt, D.J. Chapter 2. ROOT-KNOT NEMATODES. ©CAB International 2009. Edited By: Roland N. Perry, Maurice Moens and James L. Starr.
- Eisenback, J.D., Triantaphyllou, H.H. 1991. Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: Manual of Agricultural Nematology, W. R. Nickle. (Ed). Marcel Dekker. New York.
- El-Hamidi, A., Ahmed, S.S., 1966. The content and composition of some umbelliferous essential oils. Die Pharmazie 7, 438–439.
- EPA (US Environmental Protection Agency) (2007) 1,2-Dibromo-3-Chloropropane (DBCP), www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/dibromo-.html (accessed 24 January 2008).
- Figueiredo et al., (1997). Physiological aspects of essential oil production. Ch. Franz, Á. Máthé, G. Buchbauer (Eds.), Essential oils: basic and applied research. Proceedings of the 27th International Symposium on Essential Oils, Allured Publishing Corp., Carol Stream, IL. (1997), pp. 95–107
- Franklin, M. T. 1965. Meloidogyne-Root-knot Eelworms. In: Plant Nematology. (J.F. Southey. Ed.). London. 59-88.
- Giannakou I.O. 2011. Efficacy of a formulated product containing *Quillaja saponaria* plant extracts for the control of root-knot nematodes Eur. J. Plant Pathol., 130, 587-596.
- Giannakou, I.O. and Anastasiadis, I. 2005. Evaluation of chemical strategies as alternatives to methyl bromide for the control of root-knot nematodes in greenhouse cultivated crops. Crop Protect. 24, pp. 499-506.

- Giannakou, I.O., Anastasiadis, I.A., Gowen, S.R., Prophetou-Athanasiadou, D.A. 2007. Effects of a non-chemical nematicide combined with soil solarisation for the control of root-knot nematodes. *Crop Protect.* 26, 1644-1654.
- Goldi, E.A. (1887) Relatorio sobre a molestia do cafeeiro na provincia do Rio de Janeiro. Extrahido do VIII Vol. dos. Archivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, pp. 1–121 + 4 plates and a map.
- Goldi, E.A. (1892) Relatoria sobre a molestia do cafeiro na provincial da Rio de Janeiro. Archuivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro 8, 1–112.
- Goswami, B.K. and Mittal, A. 2004. Management of root-knot nematode infecting tomato by *Trichoderma viride* and *Paecilomyces lilacinus*. *Indian Phytopathol.* 57.
- Greco N. and Di Vito M. 2009. Population Dynamics and Damage Levels. In: Perry R.N., Moens M., Starr J.L. (eds). *Root-Knot Nematodes*, pp. 246-274. CAB International, Wallingford, UK.
- Greeff, R. (1872) Uber Nematoden in Wurzelanschwellungen (Gallen) verschiedener Pflanzen. Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beforderung der Gesamten Naturwissenschaften zu Marburg 11, 172–174.
- Gupta, A., Sharma, S., Naik, S.N. 2011. Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes. *International Biodeterioration and Biodegradation.* 65, 703-707.
- Hajlaoui, H., Snoussi, M., Ben Jannet, H., Mighri, Z., Bakhrouf, A., 2008. Comparison of chemical composition and antimicrobial activities of *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia* essential oil from two Tunisian localities (Gabes and Sidi Bouzid). *Annals of Microbiology* 58 (3), 103–110.
- Halbrendt, J.M. and LaMondia, J.A. (2004) Crop rotation and other cultural practices. In: Chen, Z.X., Chen, S.Y. and Dickson, D.W. (eds) *Nematology Advances and Perspectives*, Vol. 2. CAB International, Wallingford, UK, pp. 909–930.
- Hargreaves, L.L., Jarvis, B., Rawlinson, A.P. and Wood, J.M. 1975. The antimicrobial effects of spices, herbs and extracts from these and other food plants. *The British Food Manufacturing Industries Research Association Scientific and Technical Surveys.* 88.
- Hashim, E.M., El-Kiey, M.A., 1962. *Nigella sativa* seeds of Egypt, Egypt. *Journal of Pharmaceutical Sciences United Arab Republic* 3, 121–133.
- Haydock, P.P.J., Woods, S.R., Grove, I.G. and Hare, M.C. (2006) Chemical control of nematodes. In: Perry, R.N. and Moens, M. (eds) *Plant Nematology*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 392–410.

- Hildago-Diaz, L., Kerry, B.R. 2008. Integration of biological control with other methods on nematode management. In A. Ciancio & K.G. Mukerji (eds.), *Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes*, 29-49.
- Hol, G.W.H. & Cook, R. 2005. An overview of arbuscular mycorrhizal fungi-nematode interactions. *Basic and Applied Ecology*. 6, 489-503.
- Hunt, D.J. and Handoo, Z.A. 2009. Taxonomy, identification and principal species. In: Perry, R.N. & Moens, M. (Eds). *Root-knot nematodes*. Wallingford, UK, CABI Publishing, 55-97.
- Hussey, R.S., Barker, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Report*. 57, 1025-1028.
- Ibrahim, S.K. Traboulsi, A.F. El-Haj, S. 2006. Effect of essential oils and plant extracts on hatching, migration and mortality of *Meloidogyne incognita*. *Phytopathol. Mediterr.* 45, 238-246.
- Isman, M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19, 603-608.
- Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Ann. Rev. Entomol.* 51, 45-66.
- Isman, M.B., Machial, C.M., Miresmailli, S., Bainard, L.D. 2007. Essential Oil-Based Pesticides: New Insights from Old Chemistry. *Pesticide Chemistry. Crop Protection, Public Health. Environmental Safety*. Edited by Hideo Ohkawa, Hisashi Miyagawa, and Philip W. Lee. Chapter 21.
- Janahmadi, M., Niazi, F., Danyali, S., Kamalinejad, M., 2006. Effects of the fruit essential oil of *Cuminum cyminum* Linn. (Apiaceae) on pentylenetetrazolinduced epileptiform activity in F1 neurones of *Helix aspersa*. *Journal of Ethnopharmacology* 104, 278–282.
- Jobert, C. (1878) Sur un maladie du cafeier observee au Bresil. *Compte Rendue Hebdomodaire des Seances del' Academie des Sciences, Paris* 87, 941–943.
- Johnson, A.W. (1985) The role of nematicides in nematode management. In: Sasser, J.N. and Carter, C.C. (eds) *An Advanced Treatise on Meloidogyne*, Vol. I Biology and Control. North Carolina State University Graphics, Raleigh, North Carolina, pp. 249–267.
- Johnson, A.W. (1998) Vegetable crops. In: Barker, K.R., Pederson, G.A. and Windham, G.L. (eds) *Plant and Nematode Interactions*. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, pp. 595–635.
- Johnson, A.W. and Feldmesser, J. (1987) Nematicides – a historical review. In: Veech, J.A and Dickson, D.W. (eds) *Vistas on Nematology*. Society of Nematologists, Hyattsville, Maryland, pp. 448–454.

- Karpouzas, D.G.; Karanasios, E. & Menkissoglu-Spiroudi, U. (2004). Enhanced microbial degradation of cadusafos in soils from potato monoculture: demonstration and characterization. *Chemosphere* 56 (4): 549–559,
- Karssen, G. and Moens, M. 2006. Root-knot nematodes. In: Perry, R.N. & Moens, M. (Eds). *Plant nematol.* Wallingford, UK, CABI Publishing, pp. 59-90.
- Katan J. 1980. Solar pasteurization of soils for disease control: status and prospects. *Plant Dis.* 64, 450-454.
- Katan J. 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. *Annu. Rev. Phytopathol.* 19, 211-236.
- Kiewnick, S. & Sikora, R.A. 2006. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. *Biolog. Control.* 38, 179-187.
- Kirkegaard, J., Sarwar, M. 1998. Biofumigation potential of Brassicas-I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown Brassicas. *Plant and Soil.* 201. 71-89.
- Klein, E., Katan, J., Gamliel, A. 2011. Combining residues of herb crops with soil heating for control of soilborne pathogens in a controlled laboratory system. *Crop Prot.* 30, 368-374.
- Kutywayo, V. and Been, T.H. 2006. Host status of six major weeds to *Meloidogyne chitwoodi* and *Pratylenchus penetrans*, including a preliminary field survey concerning other weeds. *Nematol.* 8, 647-657.
- Lahlou, M. 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Res.* 18, 435-448.
- Lavergne, G. (1901a) La Anguillula en Sud-America. *Revista Chilena de Historia Natural* 5, 85–91.
- Lavergne, G. (1901b) L'anguillule du Chili (*Anguillula vialae*). *Revue de Viticulture* 16, 445–452.
- Leela NK, Khan RM, Reddy PP, Nidiry ESJ (1992) Nematicidal activity of essential oil of *Pelargonium graveolens* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Nematol Medit* 20:57–58
- Li, H.Q., Bai, C.Q., Chu, S.S., Zhou, L., Du, S.S., Liu, Z.L., Liu, Q.Z. 2011. Chemical composition and toxicities of the essential oil derived from *Kadsura heteroclita* stems against *Sitophilus zeamais* and *Meloidogyne incognita*. *J. Medicin. Plant Res.* 5, 4943-4948.
- Licopoli, G. (1875) Sopra alcuni tubercoli radiculari continente anguillole. *Rendiconti dell' Accademia delle Scienze, Fische e Matematiche, Napoli* 14, 41–42.

- López-Cepero, J., Piedra Buena, A., Díez-Rojo, M.A., Regalado, R., Brito, E., Hernández, Z., Figueredo, M., Almendros, G., Bello, A. 2007. Evaluation of soil biodesinfestation with crop and garden residues in the control of root-knot nematodes populations. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 72, 703-711.
- López, P., Sánchez, C., Batlle, R., Nerín, C. 2005. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *J. Agric. Food Chem.* 53, 6939-6946.
- Loumédjinnon, S., Godonou, I., Atcha-Ahowé, C., James, B., Baimey, H., Coyne, D., Ahanchédé, A. 2007. Management of root-knot nematodes on solanum macrocarpon using botanicals in Benin. *Acta Horticult.* 752, 539-544.
- Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J. (2005) *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*, 2nd edn. CAB International, Wallingford, UK.
- Mai W. F. 1985. Plant-parasitic nematodes: their threat to agriculture. An Advanced Treatise on *Meloidogyne* Volume I: Biology and Control. Edited by Carter and Sasser. A Cooperative Publication of the Department of Plant Pathology and the United States Agency for International Development.
- Marcinowski, K. 1909. Parasitisch und semiparasitisch an Pflanzen lebende Nematoden. *Arbeiten aus der Kaiserlichen Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, Berlin 7, 1–192.
- Martinez-Velázquez, M., Castillo-Herrera, G.A., Rosario-Cruz, R., Flores-Fernandez, J.M., López-Ramirez, J., Hernandez-Gutierrez, R., Lugo-Cervantes, E.C., 2011. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). *Parasitol. Res.* 108, 481–487.
- Meyer, S.L.F. Lakshman, D.K. Zasada, I.A. Vinyard, B.T. Chitwood, D.J. 2008. Phytotoxicity clove oil to vegetable crop seedlings and nematotoxicity to root-knot nematodes. *Hort Technol.*, 18, 631-638.
- Moens, M., Perry, N.P.. *Plant Nematology*, 2nd Edition. ©CAB International 2013. Edited By: Roland N. Perry and Maurice Moens.
- Moens, M., Perry, N.P., Starr, L.J. Chapter 2. ROOT-KNOT NEMATODES. ©CAB International 2009. Edited By: Roland N. Perry, Maurice Moens and James L. Starr.
- Monfort, W.S., Csinos, A.S., Desaegeer, J., Seebold, K., Webster, T.M., Diaz Perez, J.C. 2007. Evaluating Brassica species as an alternative control measure for root-knot nematode (*M. incognita*) in Georgia vegetable plasticulture. *Crop Prot.* 26, 1359-1368.

- Moreira FJC, Santos CDG, Innecco R (2009) Hatching and mortality of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* race 2 in essential plant oils. *Rev Cienc Agron* 40:441–448
- Moretti, M.D.L., Sanna-Passino, G., Demontis, S., Bazzoni, E. 2002. Essential oil formulations useful as a new tool for insect pest control. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 3, 64-74.
- Muller, C. (1884) Mittheilungen uber die unseren Kulturpflanzen schadlichen, das Geschlecht Heterodera bildenden Wurmer. *Landwirtschaftliche Jarhbucher*, Berlin 13, 1–42.
- Müller-Riebau, F., Berger, B., Yegen, O. 1995. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *J. Agric. Food Chem.* 43, 2262-2266.
- Muthamma, M.K.S., Hemang, D., Purnima, K.T., Prakash, V., 2008. Enhancement of digestive enzymatic activity by cumin (*Cuminum cyminum* L.) and role of spent cumin as a bionutrient. *Food Chemistry* 110, 678–683.
- Nagakura, K. (1930) Uber den Bau und die lebensgeschichte der *Heterodera radiculicola* (Greeff) Muller. *Japanese Journal of Zoology* 3, 95–160.
- Nasiou, E. & Giannakou, I.O. *Eur J Plant Pathol* (2017) 149: 415. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1191-z>
- Neal, J.C. (1889) The Root-knot Disease of the Peach, Orange and Other Plants in Florida, Due to the Work of *Anguillula*. Bulletin 20, Division of Entomology, US Department of Agriculture.
- Netscher, C. and Taylor, D.P. 1979. Physiologic variation with the genus *Meloidogyne* and its implications on integrated control. In: Lamberti, F. & Taylor, C.E. (Eds). *Root-knot nematodes (Meloidogyne species): systematics, biology and control*. London, UK, Academic Press, 269-294.
- Nico, A.I., Jimenez-Diaz, R.M., Castillo, P. (2003). Solarization of soil in piles for the control of *Meloidogyne incognita* in olive nurseries in southern Spain. *Plant Pathol.* 52, 770-778.
- Noling, J.W. 1987. Partitioning crop losses. In: Veech, J.A.& Dickson, D.W. (Eds). *Vistas on nematology*. Hyattsville, MD, USA, Society of Nematologists, 64-74.
- Norris, R.F., Caswell-Chen, E.P. and Kogan, M. (2003) *Concepts in Integrated Pest Management*. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Nostro, A., Cellini, L., Di Bartolomeo, S., Di Campli, E., Grande, R., Cannatelli, M.A., 2005. Antibacterial effect of plant extracts against *Helicobacter pylori*. *Phytotherapy Research* 19, 198–202.

- Ntalli, N.G., Ferrari, F., Giannakou, I., Menkissoglu-Spiroudi, U. 2010. Phytochemistry and nematicidal activity of the essential oils from 8 greek Lamiaceae aromatic plants and 13 terpene components. *J. Agric. Food Chem.* 58, 7856-7863 [a].
- Ntalli, N.G.; Menkissoglu-Spiroudi,U. 2010. Nematicidal activity of powder and extracts of *Melia azedarach* fruits against *Meloidogyne incognita*. *Ann. Appl. Biol.* 156, 309-317 [b].
- Ntalli, N.G., Menkissoglu-Spiroudi,U. 2011. Pesticides of Botanical Origin:A Promising Tool in Plant Protection. In *Pesticides - Formulations, Effects, Fate.* Ch. 1, pp.3-24, Margarita Stoytcheva (Ed.), 2011 InTech.
- Ntalli, N.G., Ferrari, F., Giannakou, I., Menkissoglu-Spiroudi, U. 2011. Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against *Meloidogyne incognita* and the nematicidal activity of essential oils from seven plants indigenous to Greece. *Pest Manag. Sci.* 67, 341-351[b].
- Nyczepir, A. P., and Thomas, S. H. 2009. Current and future man-agement strategies in intensive crop production systems. Pp. 412–443 in R. N. Perry, M. Moens, and J. L. Starr, eds. *Root-knot nematodes.* United Kingdom: CABI.
- Oka, Y. 2010. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments-A review. *Appl. Soil Ecol.* 44, 101-115.
- 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.* 90,710-715.
- Orion, D. and Kritzman, G. 1991. Antimicrobial activity of *Meloidogyne javanica* gelatinous matrix. *Nematol.* 14, 481-483.
- Ornat, C., Sorribas, F. J. 2008. Integrated management of root-knot nematodes in Mediterranean horticultural crops. In: *Integrated management and biological control of vegetable and grain crops nematodes.* 295-319.
- Ornat, C., Verdejo-Lucas, S., Sorribas, F.J. 2001. A population of *Meloidogyne javanica* in Spain virulent to the Mi resistant gene in tomato. *Plant Dis.* 85, 271-276.
- Osei, K. Agyemang, A. Asante, J.S. Moss, R. Nafeo, A. 2011. Nematode suppression and yield improvement potential of organic amendments in pineapple production. *Acta Hort.* 902, 367-372.
- Oskay, M., Sar, D. 2007. Antimicrobial screening of some Turkish medicinal plants. *Pharmaceut. Biol.* 45, 176-181.

- Pandey, R., Kalra, A., Tandon, S., Mehrotra, N., Singh, H.N., Kumar, S. 2000. Essential oils as potent sources of nematicidal compounds. *J. Phytopathol.* 148, 501-502.
- Papachristos, D.P., Karamanoli, K., Stamopoulos, D., Menkissoglu-Spiroudi, U. 2004. The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Pest Manag. Sci.* 60, 514-520.
- Perez M. P., Navas-Corte's J. A., Pascual-Villalobos M. J., Castillo P. (2003) Nematicidal activity of EOs and organic amendments from Asteraceae against root-knot nematodes. *Plant Pathol* 52:395–401
- Pichersky, E. and Gershenzon, J. 2002. The formation and function of plant volatiles: perfumes of pollinator attraction and defence. *Current Opin. Plant Biol.* 5, 237-243.
- Ploeg, A.T. 1999. Greenhouse studies on the effect of marigolds (*Tagetes* spp.) on four *Meloidogyne* species. *J. Nematol.* 31, 62-69.
- Potievsky et al., (1986). The influence of season and harvest frequency on the essential oil and the herbal yield from a pure clone of sage (*Salvia officinalis*) grown under cultivated conditions. *Journal of Natural Products*, 49 , p. 326–329
- Raaijmakers, J.M., Paulitz, T.C., Steiberg, C., Alabouvette, C., Moenne-Loccoz, Y. 2009. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant Soil.* 321, 341-361.
- Ramadan, M.F., 2007. Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*Nigella sativa* L.): an overview. *Int. J. Food Sci. Tech.* 42, 1208–1218.
- Ramadan, M.F., Asker, M.M.S., Tadros, M., 2012. Antiradical and antimicrobial properties of cold-pressed black cumin and cumin oils. *Eur. Food Res. Technol.* 234, 833–844.
- Roberts, P.A. (1993) The future of nematology: integration of new and improved management strategies. *Journal of Nematology* 25, 383–394.
- Rota, C., Carramiñana, J.J. Burillo, J. Herrera, A. 2004. In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aromatic Plants against Selected Foodborne Pathogens. *J. Food Prot.* 67, 1252-1256.
- Salgado SLM, Campos VP, Cardos MDG, Salgado APS (2003) Hatching and mortality of second-stage juveniles of *Meloidogyne exigua* in essential plant oils. *Nematol Brasil* 27:17–22
- Sangwan NK, Verma KK, Verma BS, Malik MS, Dhindsa KS (1985) Nematicidal activity of EOs of *Cymbopogon* grasses. *Nematologica* 31:93–99

- Sangwan, N.K., Verma, B.S., Verma, K.K., Dhindsa, K.S. 1990. Nematicidal activity of some essential plant oils. *Pestic. Sci.* 28, 331-335.
- Sasser, J.N. and Carter, C.C.: Overview of the International *Meloidogyne* Project 1975–1984. In: An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Edited by: Sasser JN, Carter CC. Raleigh: North Carolina State University Graphics. 1985:19-24.
- Sasser, J.N., 1980. Root-knot nematodes: a global nemace to crop production. *Plant Disease*. 64, 36-41.
- Saxena DB, Goswami BK, Tomar SS (1987) Nematicidal activity of some EOs against *Meloidogyne incognita*. *Indian Perfume* 31:150–154
- Sikora, R.A. and E. Fernandez, 2005. Nematode Parasites of Vegetables. In: Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, Luc, M., R.A. Sikora and J. Bridge (Eds.). CAB International, New York, 319-392.
- Singh, G., Kapoor, I.P.S., Pandey, S.K., Singh, U.K., Singh, R.K., 2002. Studies on essential oils: part 10; antibacterial activity of volatile oils of some spices. *Phytotherapy Research* 16, 680–682.
- Sinha A, Maheshwari RC, Dureja P, Mojumder V (2006) Nematicidal activity of EOs and their components against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Indian J Nematol* 36:109–114
- Stalin, C.; Ramakrishnan, S.; Jonathan, E. I. 2007. Management of root knot nematode *Meloidogyne incognita* in bhumyamalaki (*Phyllanthus amarus*) and makoy (*Solanum nigrum*). *Biomed.* 2, 119-122.
- Starr, J.L., Bridge, J. and Cook, R. (2002) Resistance to plant-parasitic nematodes: history, current use and future potential. In: Starr, J.L., Cook, R. and Bridge, J. (eds) Plant Resistance to Parasitic Nematodes. CAB International, Wallingford, UK, pp. 1–22.
- Strauch, O., Niemann, I., Neumann, A., Schmidt, A.J., Peters, A., Ehlers, R.-U. 2000. Storage and formulation of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indica* and *H. bacteriophora*. *BioControl*, 45, 483-500.
- Thomas, S.H., Schroeder, J., Murray, L.W. 2005. The role of weeds in nematode management. *Weed Sci.* 53, 923-928.
- Torres, M.C.M., Assunção, J.C., Santiago, G.M.P., Andrade-Neto, M., Silveira, E.R., Costa-Lotuf, L.V., Bezerra, D.P., Marinho, Filho, J.D., Viana, F.A., Pessoa, O.D.L. 2008. Larvicidal and nematicidal activities of the leaf essential oil of *Croton regelianus*. *Chem. Biodiversity*. 5, 2724-2728.

- Treub, M. (1885) Onderzoekingen over Sereh-Ziek Suikkerriet gedaan in s Lands Plantentium te Buitenzorg. Mededeelingen uit ' s Lands Plantentium, Batavia, 2, 1–39.
- Tunc et al. 2000. Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* 36, 161-168.
- Tzortzakakis, E.A. and Petsas, S.E. 2003. Investigation of alternatives to methyl bromide for management of *Meloidogyne javanica* on greenhouse grown tomato. *Pest Manag. Sci.* 59, 1311-1320.
- Tzortzakakis, E. A., Verdejo-Lucas, S., Ornat, C., Sorribas, F. J., Goumas, D.E. 1999. Effect of a previous resistant cultivar and *Pasteuria penetrans* on population densities of *Meloidogyne javanica* in greenhouse grown tomatoes in Crete, Greece. *Crop Prot.* 18, 159-162.
- Viaene, N.M. and Abawi, G.S. 1998. Management of *Meloidogyne hapla* on lettuce in organic soil with sudangrass as a cover crop. *Plant Dis.* 82, 945-952.
- Viaene, N.M., Coyne, D.L., Kerry, B.R. 2006. Biological and cultural management. In: Perry, R.N. & Moens, M. (Eds). *Plant nematology*. Wallingford, UK, CABI Publishing. 346-369.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J.A., 2008. Antibacterial activity from different essential oil obtained from spices widely used in Mediterranean diet. *International Food Science and Technology* 43, 526–531.
- Vokou, D., Margaris, N.S., Lynch, J.M. 1984. Effects of volatile oils from aromatic shrubs on soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* 16, 509-513.
- Vokou D. 1999. Essential oils as allelochemicals: Research Advances in Greece. In: Narwal, S.S. (Ed.), *Allelopathy Update: Basic and Applied Aspects*, Science Publishers Inc., Enfield, New Hampshire, 47-63.
- Wade, R.S., Castro, C.E. 1990. Redox reactivity of iron (III) porphyrins and heme proteins with nitric oxide. Nitrosyl transfer to carbon, oxygen, nitrogen, and sulfur. *Chem. Res. Toxicol.* 3, 289-291
- Wesemael, W.M.L. and Moens, M. 2008a. Vertical distribution of the plant-parasitic nematode, *Meloidogyne chitwoodi*, under field crops. *Eur. J. Plant Pathol.* 120, 249-257.
- Wesemael, W.M.L. and Moens, M. 2008b. Quality damage on carrots (*Daucus carota* L.) caused by the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi*. *Nematol.* 10, 261-270.
- Wesemael, W.M.L., Viaene, N., Moens, M. 2011. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. *Nematol.* 13, 3-16.

Wharton, D. A. 2002. Nematode survival strategies. In: Lee, D.L. (Ed.) The biology of nematodes. New York, NY, USA, Taylor & Francis, 389-411.

Wright, D.J. 1981. Nematicides: mode of action and new approaches to chemical control, 421-449. In: Plant parasitic nematodes, Vol. 3 ed. Zuckerman B. M. & Rohde, R. A. Academic Press, New York. 508.

Yu et al. 2005. Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry, and hemp seed oils. Food Chemistry 91, 723–729.

<https://www.ars.usda.gov/pacific-west-area/parlier/sjvasc/cpq/docs/priprobit-download/>

http://www.minagric.gr/syspest/syspest_bycat_byactive.aspx

<http://www.foodreference.com/html/fcumin.html>

Ελληνική Βιβλιογραφία

Γιαννακού, Ι. και Προφήτου-Αθανασιάδου Δ. 2001. Νηματωδολογία. Πανεπιστημιακές σημειώσεις. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Δαρδιώτη, Α.Γ. 2005. Βιοσυστηματική Μελέτη της Ομάδας *Satureja montana* L. στην Ελλάδα. Διδακτορική διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο. Θεσσαλονίκη.

Κύρου, Χ.Ν. 2004. Φυτοпараσιτικοί νηματώδεις. Εκδόσεις Αγροτύπος. Αθήνα.

Κωνσταντινίδης, Θ. 1997. Η γλωρίδα και η βλάστηση των ορέων Γεράνεια, Πατέρας και Κιθαιρών. Διδακτορική Διατριβή. Πανεπιστήμιο Αθηνών. Αθήνα.

Ντάλλη, Γ.Ν. 2010. Αντιμετώπιση των ριζόκομβων νηματωδών (*Meloidogyne incognita*) σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες με φυσικά προϊόντα και μελέτη της χημικής σύστασης αυτών. Διδακτορική διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο. Θεσσαλονίκη.