



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ & ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΦΥΤΙΑΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ: ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ
ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Συνεργισμός δυαδικών μιγμάτων φυσικών ουσιών για την
αντιμετώπιση των κομβοηματοδών



Κυργιαφίνη Ι. Δήμητρα

Επιβλέπων: Τσιρόπουλος Γ. Νικόλαος

Βόλος, 2023

**Συνεργισμός δυαδικών μιγμάτων φυσικών ουσιών για την αντιμετώπιση των
κομβοηματοδών**

**Synergy of binary mixtures of natural substances for the control of
root-knot nematodes**

Κυργιαφίνη Ι. Δήμητρα

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Νικόλαος Γ. Τσιρόπουλος (Επιβλέπων)

Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ντάλλη Γ. Νικολέττα (Μέλος)

Επίκουρη καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού
Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Αθανασίου Γ. Χρήστος (Μέλος)

Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Copyright © Κυργιαφίνη Δήμητρα, 2022

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας διατριβής, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης.

Η έγκριση της Μεταπτυχιακής Διατριβής Ειδίκευσης από το Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δε δηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα

«Εγώ η Κυργιαφίνη Δήμητρα, είμαι η συγγραφέας αυτής της Μ.Δ.Ε. Αυτή η Μ.Δ.Ε. αντικατοπτρίζει την έρευνα που έγινε από εμένα και δεν έχει υποβληθεί (εξ' ολοκλήρου ή μέρος της) σαν προπτυχιακή διατριβή ή Μ.Δ.Ε. ή ως μέρος Διδακτορικής Διατριβής σε αυτό ή άλλο Προπτυχιακό ή Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών Ιδρυμάτων Τριτοβάθμιας Εκπαίδευσης του εσωτερικού ή εξωτερικού. Όποια συνεργασία καθώς και το μέγεθος αυτής δηλώνονται επακριβώς στο αντίστοιχο πεδίο αυτής της διατριβής. Επίσης έχω διαβάσει όλες τις βιβλιογραφικές αναφορές που παρατίθενται στο τέλος».

«Ως επιβλέπων της έρευνας που περιγράφεται σε αυτή τη διατριβή, δηλώνω ότι όλοι οι όροι του Εσωτερικού Κανονισμού του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος έχουν τηρηθεί από τον κα. Κυργιαφίνη Δήμητρα»

Ευχαριστίες

Τελειώνοντας τη συγγραφή της παρούσας εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω έναν έναν ξεχωριστά όλους όσους συνέβαλλαν στην πραγματοποίησή της και με βοήθησαν με κάθε τρόπο.

Αρχικά, ευχαριστώ θερμά τον κ. Νικόλαο Τσιρόπουλο, Καθηγητή του τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου με την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος αλλά και γιατί ήταν πάντα εκεί με τις πολύτιμες συμβουλές του, την καθοδήγηση και το χρόνο του.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ επίσης χρωστάω στην κα. Ντάλλη Νικολέττα, Επίκουρη Καθηγήτρια του τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, η οποία δέχτηκε να αποτελέσει μέλος της τριμελούς επιτροπής αλλά υπήρξε και πραγματικός αρωγός σε όλη αυτή την προσπάθεια. Θα ήθελα να την ευχαριστήσω για τις πολύτιμες γνώσεις της και τις συμβουλές της που ήταν πολύ σημαντικές για μένα και μου έδιναν έμπνευση και δύναμη να συνεχίσω καθώς ακόμη την ευχαριστώ για όλες τις χρήσιμες και παραγωγικές συζητήσεις για θέματα της διατριβής.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον κ. Αθανασίου Χρήστο, Καθηγητή στο τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, για τη συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή αξιολόγησης της διατριβής μου.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στο εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών του τμήματος Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος για την παροχή του απαραίτητου εργαστηριακού εξοπλισμού κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω το συνάδελφο και συμφοιτητή μου Σεραφείμ Αργύρη για όλη τη βοήθεια, στήριξη, για το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας και τη φιλική διάθεση.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το χρωστάω στους γονείς μου, Κατερίνα και Γιάννη, για όλα αυτά που μου προσφέρουν με ανιδιοτέλεια όλα αυτά τα χρόνια και γιατί είναι δίπλα μου και με στηρίζουν σε κάθε μου βήμα. Ακόμη, υπερευχαριστώ την αδερφή μου, Μαριάννα, γιατί είμαστε σε όλα μαζί και ξέρει πάντα τον τρόπο να με κάνει να νιώσω καλύτερα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	ix
Abstract.....	x
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Κομβοηματοδείς	1
1.1.1 Ιστορική Αναδρομή	1
1.1.2 Γεωγραφική εξάπλωση	3
1.1.3 Βιολογικός κύκλος	5
1.1.4 Συμπτωματολογία.....	7
1.1.5 Μέθοδοι και μέτρα καταπολέμησης των κομβοηματοδών	9
1.2 Φυσικές ουσίες φυτικής προέλευσης.....	18
1.2.1 Ιστορική αναδρομή στη χρήση βοτανικών ουσιών στην καταπολέμηση των κομβοηματοδών.....	18
1.2.2 Δευτερογενείς μεταβολίτες (ΔΜ).....	20
1.2.4 Αιθέρια έλαια που παρουσιάζουν νηματωδοκτόνο δράση	22
1.2.5 Υδατικά εκχυλίσματα από αρωματικά φυτά με νηματωδοκτόνο δράση	24
1.2.6 Βοτανικά είδη και δευτερογενείς μεταβολίτες της παρούσας διατριβής	25
III. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	30
3.1 Απόσταξη αιθέριου ελαίου της λεβάντας (Λεβάντα δείγμα Α και Β)	30
3.2 Μέθοδος προσδιορισμού της ολικής σύστασης του αιθέριου ελαίου σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας της μάζας	30
3.3 Ανάπτυξη και συντήρηση του πληθυσμού <i>M. incognita</i>	31
3.4 Μέθοδος παραλαβής προνυμφών δευτέρου σταδίου (J2)	32
3.6 Υδατικό εκχύλισμα <i>M. azedarach</i>	32
3.7 Δοκιμές πρόκλησης παράλυσης των ουσιών (<i>trans</i> -anethole και thymol) και των αιθέριων ελαίων σε προνύμφες <i>M. incognita</i>	33

3.8 Δοκιμές επίδρασης των ουσιών και των αιθέριων ελαίων στην παράλυση των προνυμφών <i>M. incognita</i> (συνεργιστική δράση).....	34
3.9 Στατιστική ανάλυση	35
IV. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	37
4.1 Χημική σύσταση αιθέριου ελαίου λεβάντας (δείγμα Α και δείγμα Β).....	37
4.2 Επίδραση του δυαδικού μίγματος thymol και <i>trans</i> -anethole στην πρόκληση παράλυσης σε προνύμφες <i>M. incognita</i>	41
4.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου λεβάντας (δείγμα Α) με <i>trans</i> -anethole στην παράλυση των προνυμφών <i>M. incognita</i>	43
4.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου λεβάντας (δείγμα Β) με <i>trans</i> -anethole στην παράλυση των προνυμφών <i>M. incognita</i>	44
4.5 Επίδραση του υδατικού εκχυλίσματος <i>M. azedarach</i> με <i>trans</i> -anethole στην παράλυση των προνυμφών <i>M. incognita</i>	45
V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	47
VI. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	53

Περίληψη

Οι νηματώδεις είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί που επηρεάζουν την παραγωγή και την απόδοση των καλλιεργειών. Τα χημικά σκευάσματα που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπισή τους ενέχουν πολλούς κινδύνους τόσο για το φυσικό περιβάλλον όσο και για τον άνθρωπο και καθώς αποσύρονται από την αγορά, η έρευνα στρέφεται τα τελευταία χρόνια προς την εξεύρεση πιο φιλικών προς το περιβάλλον σκευασμάτων με ιδιαίτερη έμφαση στα αιθέρια έλαια. Η παρούσα εργασία ερευνά την αποτελεσματικότητα διαφόρων φυσικών ουσιών βοτανικής προέλευσης και αιθέρων ελαίων στην καταπολέμηση των κομβονηματωδών. Πιο συγκεκριμένα, οι ουσίες που ελέγχθηκαν ήταν η thymol, η trans-anethole, το αιθέριο έλαιο λεβάντας από δύο δείγματα (Α και Β) με διαφορετική σύσταση σε άνθη και βλαστό και υδατικό εκχύλισμα από το φυτό *Melia azedarach*. Αρχικά, αξιολογήθηκαν οι ουσίες ξεχωριστά και στη συνέχεια εξετάστηκαν οι συνέπειες των δυαδικών τους μιγμάτων σε σχέση με τη συνεργιστική, ανταγωνιστική ή αθροιστική δράση τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ουσίες αυτές είχαν νηματοδοκτόνο δράση μεμονωμένες ενώ ο συνδυασμός της trans-anethole με το αιθέριο έλαιο λεβάντας από το δείγμα Α παρουσίασε συνεργιστική δράση κατά των *Meloidogyne incognita*. Επιπλέον, οι συνδυασμοί της trans-anethole με το αιθέριο έλαιο λεβάντας από το δείγμα Β και το υδατικό εκχύλισμα από το *Melia azedarach* παρουσίασαν, είτε συνεργιστική είτε αθροιστική δράση, κατά την καταπολέμηση των κομβονηματωδών. Αυτά τα ευρήματα παρέχουν σημαντικές πληροφορίες οι οποίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν μελλοντικά για την ανάπτυξη αποτελεσματικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων κατά των κομβονηματωδών με βάση τη συνεργιστική δράση δυαδικών μιγμάτων. Παρόλα αυτά απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την επιβεβαίωσή των αποτελεσμάτων σε μεγαλύτερη κλίμακα.

Abstract

Nematodes are eukaryotic organisms that affect crop production and yield. The chemical formulations used for their control are dangerous for both the natural environment and humans. Thus, as these are withdrawn from the market, in recent years research has focused on finding more environmentally friendly formulations with a particular emphasis on essential oils. This study investigates the effectiveness of various natural substances and essential oils in combating nematodes. More specifically, the substances tested were thymol, *trans*-anethole, lavender essential oil from two samples (A and B) with different rates of flowers and stems as well as the aqueous extract from the ripe fruits of *Melia azedarach*. At first, the substances were evaluated individually and then the consequences of their binary mixtures were examined about their synergistic, antagonistic, or additive action. The results showed that these substances had a nematicidal effect individually, while the combination of *trans*-anethole with lavender essential oil from sample A showed a synergistic effect against *Meloidogyne incognita*. In addition, the combinations of *trans*-anethole with lavender essential oil from sample B and the aqueous extract from *Melia azedarach* also showed a synergistic or additive effect, in controlling nematodes. These findings provide important information that could be used in the future to develop effective plant protection products against nematodes based on the synergistic action of binary mixtures. However, further research is needed to confirm the results on a larger scale.

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Κομβονηματώδεις

Οι νηματώδεις είναι σύνθετοι, ευκαρυωτικοί, ασπόνδυλοι ζωικοί οργανισμοί και εντάσσονται στους πολυπληθέστερους ζωικούς οργανισμούς που υπάρχουν στον πλανήτη. Οι περισσότεροι νηματώδεις βρίσκονται στο έδαφος ελεύθεροι και καταναλώνουν βακτήρια, μύκητες και άλλους νηματώδεις, αλλά μερικοί μπορούν να παρασιτούν στα φυτά. Ορισμένοι νηματώδεις είναι μεταναστευτικά εκτοπαράσιτα και ζουν εκτός της ρίζας των ξενιστών ενώ μερικοί άλλοι είναι μεταναστευτικά ενδοπαράσιτα και ζουν εντός της ρίζας των ξενιστών τους. Επιπλέον, κάποιοι είναι μη μεταναστευτικοί και έχουν την ικανότητα να ζουν εντός της ρίζας, να τρέφονται και να αναπαράγονται σε συγκεκριμένο σημείο (Raaijmakers et al., 2009).



Εικόνα 1: Παρατήρηση του *Meloidogyne incognita* σε οπτικό μικροσκόπιο. Πηγή: https://www.researchgate.net/publication/263363084_Control_Effect_of_Root-knot_Nematode_Meloidogyne_incognita_by_Biological_Nematicide

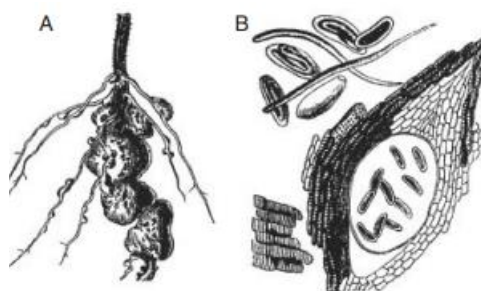
1.1.1 Ιστορική Αναδρομή

Τα άτομα που ανήκουν στο φύλο Nematoda (στρογγυλά σκουλήκια) έχουν εντοπιστεί εδώ και περίπου ένα δισεκατομμύριο χρόνια, καθιστώντας τα έναν από τους πιο αρχαίους τύπους ζώων στη Γη. Οι νηματώδεις είναι άφθονοι και ποικίλοι και μόνο τα έντομα τους ξεπερνούν στην ποικιλομορφία. Οι περισσότεροι νηματώδεις είναι ελεύθεροι και τρέφονται με βακτήρια, μύκητες, πρωτόζωα και άλλους νηματώδεις (40% των περιγραφόμενων ειδών). Πολλοί επίσης είναι παράσιτα των ζώων (44%) και των φυτών (15%) (Lambert K. & Bekal S., 2002).

Δεδομένου ότι οι φυτοπαρασιτικοί προσβάλλουν το υπόγειο μέρος των φυτών, δεν υπάρχουν πολλές αρχαίες αναφορές σχετικά με την ύπαρξη τους λόγω της δυσκολίας να γίνουν αντιληπτοί. Ωστόσο, οι πρώτοι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις

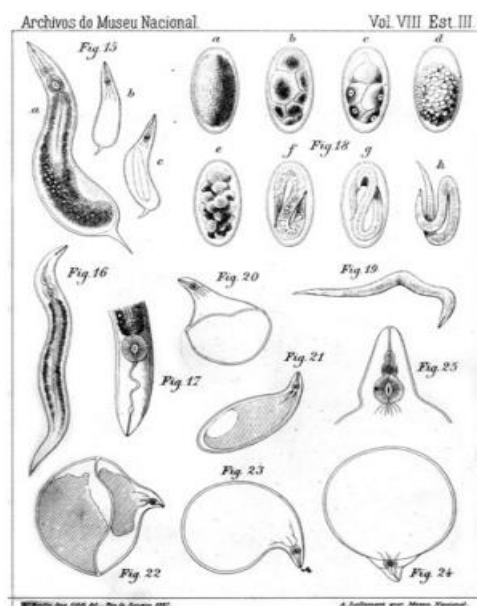
ανακαλύφθηκαν σε συρρικνωμένους και μαυρισμένους καρπούς σιταριού το 1743 από τον Needham (Lambert K. & Bekal S., 2002).

Το 1855 ο Βικτωριανός επιστήμονας Berkeley αναφέρει ότι «Σε μια προσεκτική εξέταση της ρίζας βρέθηκε ότι αυτή καλύπτεται από όγκους που ποικίλουν από το μέγεθος μιας μικρής κεφαλής της καρφίτσας έως το μέγεθος ενός μπιζελιού ή μοσχοκάρυδου». Η παρατήρηση αυτή έγινε σε φυτά αγγουριάς που καλλιεργούνταν σε έναν τύπο θερμοκηπίου στην Αγγλία (Hunt & Handoo, 2009).



Εικόνα 2 : Σχέδια του Berkeley που δείχνουν τα συμπτώματα στη ρίζα καθώς και στο εσωτερικό των κόμβων. Πηγή: <https://www.ars.usda.gov/ARSPUserFiles/2279/book%20chapter%20Hunt%20and%20Handoo.pdf>

Το 1878 ο Jobert παρατήρησε επίσης κόμβους σε ρίζες σε δέντρα καφέ στο Ρίο ντε Τζανέιρο στη Βραζιλία. Ωστόσο, μέχρι τότε δεν είχαν ονομαστεί νηματώδεις. Το 1879 ο Γάλλος βοτανολόγος Cornu ήταν ο πρώτος που ανέφερε την παρουσία κομβονηματωδών στο βοτανικό είδος *Onobrychis sativa* (Leguminosae) και πραγματοποίησε μια ενδελεχή έρευνα. Έπειτα, το 1884 ο Carl Müller ονομάτισε τους νηματώδεις ως *Heterodera radiculicola*. Η χρήση του *Meloidogyne* δεν είχε προταθεί μέχρι το 1887, όταν ο Göldi ανέφερε την ύπαρξη ενός είδους κομβονηματώδη σε ρίζες καφεόδεντρου στο Ρίο ντε Τζανέιρο και το ονόμασε *Meloidogyne exigua* Göldi. Χαρακτηριστικά, ο Göldi το 1889 δημοσίευσε άρθρο που παρείχε πληροφορίες για μορφολογικά χαρακτηριστικά του κάθε σταδίου του *Meloidogyne* και τα συνέκρινε με αυτά του *Heterodera*. Εν συνεχεία, ο Chitwood πρόσθεσε άλλα τρία είδη στο γένος: *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica* και *Meloidogyne arenaria* (Hunt & Handoo, 2009).



Εικόνα 3: Πρωτότυπα γραμμικά σχέδια του *Meloidogyne exigua*, παραχώρηση του Archivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro. Πηγή: <https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/2279/book%20chapter%20Hunt%20and%20Handoo.pdf>

Πίνακας 1: Ταξινόμηση κομβονηματωδών. Πηγή: Evans K., et al. (1993)

Βασίλειο	Animalia
Φύλο	Nematoda
Κλάση	Secernentea
Τάξη	Tylenchida
Οικογένεια	Heteroderidae
Γένος	<i>Meloidogyne</i>

1.1.2 Γεωγραφική εξάπλωση

Οι νηματώδεις του γένους *Meloidogyne* spp. ή Root knot Nematode (RKN) είναι από τους πιο διαδεδομένους και οικονομικά σημαντικούς και από τις μεγαλύτερες απειλές για τη γεωργική παραγωγή σε όλον τον κόσμο, προκαλώντας ζημιές άνω των 80 δισεκατομμυρίων δολαρίων ετησίως. Οι κομβονηματώδεις προσβάλλουν τη ρίζα και εμποδίζουν την απορρόφηση νερού και θρεπτικών συστατικών, οδηγώντας σε καθυστέρηση και μείωση της ανάπτυξης του φυτού και κατ' επέκταση μείωση της απόδοσης και της ποιότητας (Pu et al., 2022). Μέχρι στιγμής, πάνω από 100 είδη *Meloidogyne* έχουν περιγραφεί σε όλο τον κόσμο και μεταξύ αυτών τα τέσσερα πιο κοινά είδη είναι το *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* και *Meloidogyne hapla*. Ακόμη, περισσότερα από 3000 είδη φυτών, σχεδόν όλα τα καλλιεργούμενα φυτά,

έχουν καταγραφεί ως ξενιστές (Gulzar et al., 2022). Συγκεκριμένα, στα ψυχρότερα κλίματα παρουσιάζονται κυρίως τα είδη *M. hapla* και *Meloidogyne naasi* σε φυτά μεγάλης καλλιέργειας. Επιπλέον, από τη δεκαετία του 1990, στις καλλιέργειες της πατάτας και λαχανικών κυριαρχούν οι *Meloidogyne chitwoodi* και *Meloidogyne fallax* (Wesemael et al., 2011). Τέλος, μεταξύ των κομβοηματοδών αυτοί που παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη οικονομική σημασία και είναι πιο καταστροφικοί είναι οι *M. incognita* και *M. javanica* (Mukhtar & Kayani, 2020). Επικρατούν κυρίως σε θερμότερες περιοχές και σε θερμοκλήπια (Wesemael et al., 2011).

Πίνακας 2: Είδη *Meloidogyne* που βρέθηκαν στην Ευρώπη. Πηγή: Wesemael et al. (2011)

Είδη <i>Meloidogyne</i>	Έτος περιγραφής	Ξενιστές φυτά	Περιοχή εμφάνισης
<i>Meloidogyne exigua</i>	1892	Τομάτα και ροδακινιά	Ελλάδα και Ιταλία
<i>Meloidogyne artiellia</i>	1961	Brassicaceae, Fabaceae, Poaceae	Γαλλία, Ελλάδα, Ιταλία, Ισπανία, Ηνωμένο Βασίλειο
<i>Meloidogyne graminis</i>	1964	Αγρωστώδη και σιτηρά	Γερμανία και Ολλανδία
<i>Meloidogyne ethiopica</i>	1968	Τομάτα	Σλοβενία
<i>Meloidogyne lusitanica</i>	1991	Ελιά	Πορτογαλία

Όσον αφορά το ποσοστό της απώλειας της απόδοσης μιας καλλιέργειας μετά από προσβολή από κομβοηματοδείς, αυτό ποικίλλει και εξαρτάται από τον ξενιστή, τις καλλιεργητικές φροντίδες που ακολουθούνται και τις περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η θερμοκρασία. Πιο συγκεκριμένα, καθώς οι *Meloidogyne* spp. είναι ποικιλόθερμα ζώα, η θερμοκρασία του εδάφους επηρεάζει τον ρυθμό ανάπτυξης τους και συνεπώς τον αριθμό γενεών σε μια καλλιεργητική περίοδο. Κατ' επέκταση, επηρεάζεται ο ρυθμός αύξησης του πληθυσμού τους και κατά συνέπεια η απόδοση της καλλιέργειας. (Giné et al., 2014).

Για παράδειγμα, έχει καταγραφεί ότι προκαλούν απώλειες έως και 33% στις τροπικές περιοχές στην καλλιέργεια του αγγουριού (Mukhtar & Kayani, 2020). Επιπλέον, στην περιοχή της Ανατολικής Ανατολίας στην Τουρκία παρουσιάστηκε μείωση της απόδοσης της τομάτας έως και 80% (Gulzar et al., 2022). Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στη Βραζιλία σε καλλιέργεια καρότου βρέθηκε ότι το 60% των χωραφιών ήταν προσβεβλημένα από *M. incognita*, 42,9% ήταν προσβεβλημένα από *M. javanica* και 17,1% από *M. halpa* (Oliveira et al., 2021). Στην επαρχία Σαλέρνο της Ιταλίας παρατηρήθηκε χλώρωση στα φύλλα του ζιζανίου *Araujia sericifera* που αποδόθηκε σε προσβολή *Meloidogyne* spp. με πυκνότητα πληθυσμού 420 έως 1270 αυγά και J2 ανά 10 cm³ στο έδαφος και 84 έως 2.200 αυγά και J2 στα 5g νωπών ριζών (D'Errico et al., 2016). Οι περισσότεροι κομβονηματώδεις βρίσκονται στη ριζόσφαιρα από 5 έως 25 εκατοστά κάτω από την επιφάνεια του εδάφους. Οι κομβονηματώδεις εξαπλώνονται κυρίως με το νερό ή το έδαφος που προσκολλάται στον αγροτικό εξοπλισμό ή με μολυσμένο πολλαπλασιαστικό υλικό που μεταφέρεται σε μη μολυσμένες περιοχές (Agregios, 2004).



Εικόνα 4: Εξάπλωση των ειδών *Meloidogyne* spp. (1) Τα μαύρα σημάδια υποδεικνύουν την παρουσία εν έτη 2019, (2) τα κόκκινα σημάδια υποδηλώνουν ευρέως διαδεδομένη εξάπλωση και (3) τα μπλε σημάδια υποδηλώνουν περιορισμένη εξάπλωση. Πηγή: El-Sappah et al. (2019).

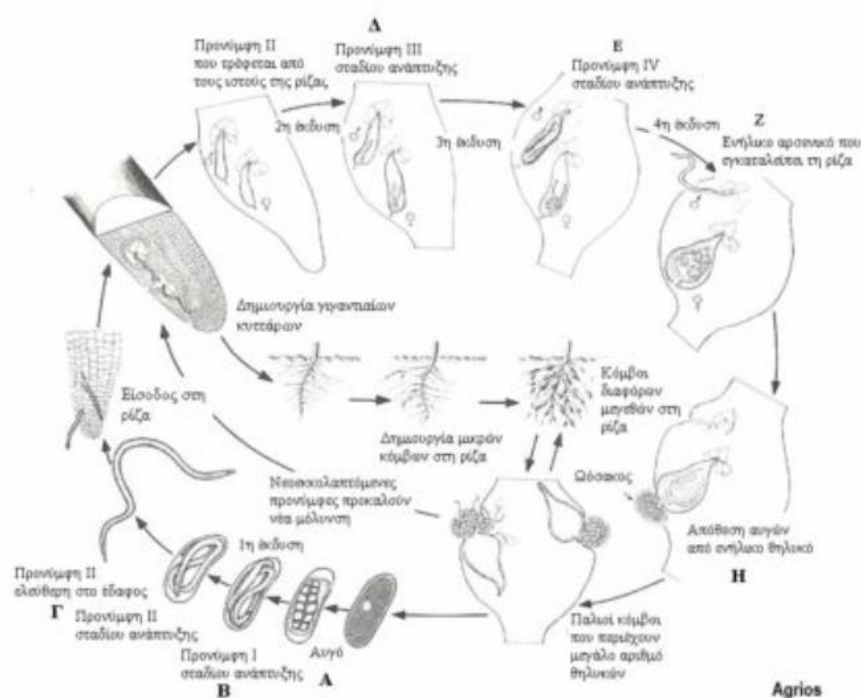
1.1.3 Βιολογικός κύκλος

Οι κομβονηματώδεις έχουν έξι στάδια ανάπτυξης: το εμβρυικό, τα τέσσερα προνυμφικά (J1-J4) και το ενήλικο (αρσενικό ή θηλυκό) που εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν. Περιληπτικά, οι νεαρές προνύμφες J2

τρέφονται στη ρίζα του ξενιστή και παραμένουν σε μία θέση όπου υποβάλλονται σε τρεις εκδύσεις. Μερικές φορές αναπτύσσονται αρσενικά άτομα και μεταναστεύουν εκτός της ρίζας ενώ τα θηλυκά παραμένουν στην ίδια θέση και έχουν σχήμα μήλου από όπου προκύπτει και το όνομα τους. Τα θηλυκά τρέφονται και παράγουν ένα μεγάλο αριθμό αυγών που εναποθέτουν σε ένα ζελατινώδες περίβλημα που παράγεται από αδένες του ορθού και ονομάζεται ωόσακκος και προστατεύει τα αυγά από τις δυσμενείς συνθήκες του περιβάλλοντος. Η εμβρυογένεση ξεκινά μέσα στο αυγό και μετατρέπει την προνύμφη πρώτου σταδίου (J1) σε δεύτερου σταδίου ανάπτυξης (J2). Η θερμοκρασία που απαιτείται για την αναπαραγωγή και την επιβίωση των κομβονηματωδών εξαρτάται από το είδος. Για τα είδη *M. incognita*, *M. javanica* και *M. arenaria* η βέλτιστη θερμοκρασία κυμαίνεται από 25 °C έως 30 °C και γι' αυτό παρατηρούνται κυρίως σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές. Για τα κρυόφιλα *M. chitwoodi*, *M. hapla*, *M. naasi* και άλλα είδη που βρίσκονται σε εύκρατες περιοχές οι βέλτιστες θερμοκρασίες είναι κάτω των 10 °C. Οι προνύμφες δευτέρου σταδίου εκκολάπτονται εντός του αυγού και αποτελούν το μολυσματικό στάδιο του παρασίτου. Απελευθερώνονται στο έδαφος και με το εδαφικό διάλυμα μετακινούνται για αναζήτηση της ρίζας του ξενιστή. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου μετακίνησης των J2 στο έδαφος, οι προνύμφες δεν τρέφονται αλλά χρησιμοποιούν ως τροφή τα λιπίδια που βρίσκονται στο στομάχι τους για να μπορέσουν να ζήσουν. Έπειτα, εισβάλλουν στην ρίζα όπου πραγματοποιήθηκε η εκκόλαψη τους ή παρασιτούν σε άλλες γειτονικές. Διεisdύουν στη ρίζα με τη βοήθεια του στιλέτου τους που πραγματοποιεί παλινδρομικές κινήσεις και κινούνται μέχρι να φθάσουν στο περικύκλιο της ρίζας ενδοκυτταρικά, όπου μετατρέπουν τα παρεγχυματικά κύτταρα σε γιγαντιαία πολυπύρρηνα μέσω των οποίων τρέφονται οι J2 και παραμένουν στην ίδια θέση μέχρι την ανάπτυξη του ενηλίκου (Feyisa, 2021). Ολόκληρη αυτή η διαδικασία έχει ως συνέπεια το σχηματισμό ορατών δομών που ονομάζονται ριζικοί κόμβοι (Mbaluto et al., 2021). Η προνύμφη μεγαλώνει ελαφρώς σε μήκος και περισσότερο σε πλάτος όσο πραγματοποιεί τη σίτιση της και εν συνεχεία, χωρίς να τρέφεται, υφίσταται τρεις εκδύσεις και μετατρέπεται σε ενήλικο άτομο. Μετά την τελευταία έκδυση παράγεται είτε ένα αρσενικό, το οποίο είναι μακρύ με μήκος περίπου 1,2 έως 1,5 χιλιοστά και διάμετρο από 30 έως 36 μm, είτε προκύπτει ένα θηλυκό με μήκος 0,40 έως 1,30 χιλιοστά και πλάτος 0,27 έως 0,75 χιλιοστά. Οι περισσότερες προνύμφες μετατρέπονται σε θηλυκά και μόνο σε δυσμενείς συνθήκες μετατρέπονται σε αρσενικά που βρίσκονται στο έδαφος χωρίς να τρέφονται (Agrios, 2004; Blasco et al., 2021;

Feyisa, 2021). Ο ακριβής αριθμός των αυγών ποικίλει ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν. Κάτω από ευνοϊκές συνθήκες, ένα θηλυκό μπορεί να παράγει 500 έως 2000 αυγά. Τα αυγά έχουν διαφανή προστατευτικά κελύφη που περιέχουν χιτίνη. Τέλος, αν και υπάρχουν τα αρσενικά, η αναπαραγωγή πραγματοποιείται μέσω της μιτωτικής παρθενογένεσης (Calderón-Urrea et al., 2016).

Η διάρκεια του βιολογικού κύκλου εξαρτάται και από τη θερμοκρασία και από τη σύσταση του εδάφους. Όσον αφορά τη θερμοκρασία, για τα περισσότερα είδη ολοκληρώνεται εντός 25 με 40 ημερών σε θερμοκρασία 25 °C με 30 °C (Osunlola & Fawole, 2014). Πιο συγκεκριμένα, το *M. incognita* ολοκληρώνει τον βιολογικό του κύκλο σε 20 ημέρες σε θερμοκρασία 29 °C και η εκκόλαψη των αυγών παρεμποδίζεται όταν η θερμοκρασία είναι κάτω από τους 10 °C (Ma Jianbing, 2012).



Εικόνα 5: Βιολογικός κύκλος των κομβοηματοδών. Α) Διαφοροποιημένο αυγό (πέντε κυττάρων), Β) Αυγό που εμπεριέχει την προνύμφη πρώτου σταδίου ανάπτυξης, Γ) Προνύμφη δευτέρου σταδίου ανάπτυξης (μολυσματικό στάδιο), Δ) Προνύμφη του τρίτου σταδίου ανάπτυξης, Ε) Προνύμφες τετάρτου σταδίου ανάπτυξης (έναρξη διαφοροποίησης φύλου), Ζ) Προνύμφες τετάρτου σταδίου, πλήρως διαφοροποιημένες φυλετικά, Η) Ενήλικο θηλυκό με ωόσακκο στον οποίο έχει ωοτοκήσει και ενήλικο αρσενικό (Ντάλλη Νικολέττα, 2010)

1.1.4 Συμπτωματολογία

Οι κομβοηματοδείς χαρακτηρίζονται ως κρυφοί εχθροί και μπορούν να προκαλέσουν ζημιές στα φυτά που μπορεί να θεωρούνται από αμελητέες έως και ολική καταστροφή του φυτού. Λόγω της υπόγειας «κρυφής» τους δραστηριότητας, τα συμπτώματα που

προκαλούν οι κομβοηματοδείς στις ρίζες των φυτών μπορούν να χαρακτηριστούν ως δραματικά (Ravichandra N.G., 2014). Αποτέλεσμα της προσβολής είναι η δημιουργία μεγάλων κόμβων σε όλο το ριζικό σύστημα των φυτών. Συνέπεια της μόλυνσης είναι η μείωση της απόδοσης ενώ ταυτόχρονα υποβαθμίζονται και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Η πυκνότητα του πληθυσμού είναι ανάλογη με την εμφάνιση κόμβων στις ρίζες των φυτών, έτσι αύξηση του πληθυσμού προκαλεί αύξηση των κόμβων που παρατηρούνται στο ριζικό σύστημα μιας καλλιέργειας (Mitkowski N.A. & Abawi G.S., 2003).

Οι κόμβοι που προκαλούνται από το *M. incognita* στην κεντρική ρίζα και στις πλευρικές μπορεί να οδηγήσουν σε μείωση της ανάπτυξης και της απόδοσης της καλλιέργειας (Lu et al., 2014). Επιπρόσθετα, παρατηρείται στο υπόγειο τμήμα των φυτών μείωση της μάζας της ρίζας και παραμόρφωση της. Η προσβολή από κομβοηματοδείς ακολουθείται από δευτερογενείς προσβολές από παθογόνα εδάφους όπως *Rhizoctonia solani*, *Thielaviopsis basicola* που προσβάλλουν τη ρίζα, και εξασθενούν περαιτέρω το φυτό και οδηγούν στην απώλεια του (Back et al., 2002; Lambert K. & Bekal S., 2002). Τα υπέργεια συμπτώματα από *M. incognita* περιλαμβάνουν την καταστολή της ανάπτυξης του φυτού, τη χλώρωση των φύλλων και τον προσωρινό μαρασμό. Πολλές φορές, τα συμπτώματα που προκαλούνται στα φυτά μπορούν να αποδοθούν σε έλλειψη θρεπτικών στοιχείων ή νερού. Επιπλέον, σε ορισμένα φυτά μπορεί να παρατηρηθεί μείωση των ποσοστών φωτοσύνθεσης. Χαρακτηριστικά, μέσα σε δύο ημέρες μετά τη μόλυνση φυτών τομάτας, ο ρυθμός φωτοσύνθεσης ήταν μικρότερος σε σχέση με τα μη μολυσμένα φυτά. Για παράδειγμα η προσβολή του *Hyoscyamus niger* από *M. incognita* προκάλεσε μείωση της ανάπτυξης των φυτών, της απόδοσης τους, της χλωροφύλλης, του φωτοσυνθετικού ρυθμού και των συγκεντρώσεων θρεπτικών συστατικών. Ωστόσο, η περιεκτικότητα της χλωροφύλλης και ο ρυθμός της φωτοσύνθεσης στο βαμβάκι δεν επηρεάζονται. Στη σόγια (*Glycine max*) οι μεταβολές που παρατηρούνται στη συγκέντρωση των θρεπτικών συστατικών μπορούν να επηρεάσουν το μεταβολισμό των φυτών και να συμβάλουν στη χλώρωση των φύλλων η οποία επηρεάζει την χλωροφύλλη και την διαδικασία της φωτοσύνθεσης (Lu et al., 2014). Λίγα διαγνωστικά σημεία και συμπτώματα υπάρχουν πέρα από τους κόμβους που παρατηρούνται στις ρίζες. Εντός του χωραφιού οι προσβολές από κομβοηματοδείς παρατηρούνται σε μια μικρή περιοχή και εξαπλώνονται ακτινωτά από την αρχική θέση μόλυνσης, συχνά

υποβοηθούμενη από τον αγροτικό εξοπλισμό. Ο μόνος τρόπος για την ακριβή διάγνωση είναι η δειγματοληψία εδάφους και φυτικού υλικού και η ταυτοποίηση και η μέτρηση των κομβονηματωδών (Lambert K. & Bekal S., 2002).



Εικόνα 6: Ρίζες τομάτας προσβεβλημένες από κομβονηματώδεις. Πηγή: Manjunatha T. Gowda et al., (2017).

1.1.5 Μέθοδοι και μέτρα καταπολέμησης των κομβονηματώδων

Η μείωση της απόδοσης των καλλιεργειών λόγω των κομβονηματωδών μπορεί να αντιμετωπιστεί σε μεγάλο βαθμό με τη χρήση διαθέσιμων μέτρων και μεθόδων καταπολέμησης. Οι τρόποι καταπολέμησης που μπορούν να χρησιμοποιηθούν διακρίνονται στα καλλιεργητικά μέτρα, στη χημική καταπολέμηση και στη βιολογική καταπολέμηση (Anwar et al., 2022).

1.1.5.1 Καλλιεργητικά μέτρα

α) Αμειψισπορά

Η αμειψισπορά είναι η πιο πρακτική μέθοδος για την διαχείριση του πληθυσμού των κομβονηματωδών. Είναι μια πρακτική εναλλαγής διαφορετικών καλλιεργειών εντός ενός χωραφιού, ευπαθών φυτών ξενιστών με μη φυτά ξενιστές, διαδοχικά στο ίδιο χωράφι. Η αμειψισπορά θεωρείται αποτελεσματική μόνο όταν επιλέγονται ανθεκτικά ή ανεκτικά φυτά στον κύκλο της αμειψισποράς. Μέσω αυτής της πρακτικής διαταράσσεται ο κύκλος ζωής του οργανισμού και επιτρέπεται ο έλεγχος των νηματωδών που βρίσκονται στο έδαφος (Azlay et al., 2023). Επιπλέον, όσον αφορά την τομάτα, όταν καλλιεργήθηκε εκ περιτροπής με το γλυκό καλαμπόκι (*Zea mays* var *saccharata*) οδήγησε σε σημαντική μείωση των προσβολών από νηματώδεις. Μια εναλλακτική λύση είναι η εναλλαγή των λαχανικών με τον ταγέτη τον ορθοφυή ή κατιφέ (*Tagetes erecta*) ο οποίος είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικός στη μείωση των πιο κοινών κομβονηματώδων όπως *M. incognita* και *M. javanica* (Bukola Rukayah Aminu-Taiwo, 2017).

Για οικονομικά σημαντικούς κομβονηματώδεις είναι απαραίτητος τουλάχιστον ένας τετραετής κύκλος εναλλαγής της καλλιέργειας με φυτά μη ξενιστές ώστε να υπάρξει σημαντική μείωση των νηματωδών (Azlay et al., 2023).



Εικόνα 7: *Tagetes erecta*. Πηγή: <https://plants.ces.ncsu.edu/plants/tagetes-erecta/>

β) Αγρανάπαυση

Η αγρανάπαυση είναι μια πρακτική κατά την οποία πραγματοποιείται διαχείριση των νηματωδών μέσω απουσίας ξενιστή. Είναι μια γεωργική πρακτική κατά την οποία δεν φιλοξενείται καμία καλλιέργεια εντός του χωραφίου, ενώ επιπλέον προτείνεται και η απομάκρυνση των ζιζανίων με βοτάνισμα για ένα χρονικό διάστημα, ώστε να διασφαλιστεί ότι οι νηματώδεις δεν βρίσκουν ξενιστές. Η αγρανάπαυση είναι μια αποτελεσματική τεχνική, ειδικά όταν οι νηματώδεις βρίσκονται σε κρίσιμο στάδιο του βιολογικού τους κύκλου ώστε να μην μπορούν να τον ολοκληρώσουν (Azlay et al., 2023; Sasanelli et al., 2021).

γ) Ανθεκτικές ποικιλίες

Η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών είναι φιλική προς το περιβάλλον και εύκολη στη χρήση. Οι ποικιλίες που εμφανίζουν ανθεκτικότητα παρουσιάζουν καλύτερη απόδοση από καλλιέργειες που είναι ευαίσθητες. Οι ανθεκτικές ποικιλίες περιορίζουν αρχικά την είσοδο των νηματωδών εντός του φυτού, καθώς και την αναπαραγωγή τους. Αφορούν κυρίως καλλιέργειες, οι οποίες περιέχουν κάποιο γονίδιο, το οποίο τους προσδίδει ανθεκτικότητα στην προσβολή από νηματώδεις. Η τομάτα είναι ένα φυτό που είναι ιδιαίτερα ευπαθές στην προσβολή από νηματώδεις, ωστόσο ένα είδος της, το *Lycopersicon peruvianum* εμφανίζει υψηλή ανθεκτικότητα. Το γονίδιο που προσδίδει την ανθεκτικότητα είναι το Mi. Πολλές έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί από τη δεκαετία του 1940 και έπειτα, με σκοπό τη μεταφορά του γονιδίου Mi από *L.*

peruvianum PI128657 σε φυτά καλλιεργούμενης τομάτας και τα αποτελέσματα ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά καθώς έδειξαν ανθεκτικότητα εναντίον των *M. incognita*, *M. javanica* και *M. arenaria*. Κύριο όμως πρόβλημα είναι ότι η ανθεκτικότητα του συγκεκριμένου γονιδίου έχει βρεθεί ότι ανατρέπεται σε υψηλές θερμοκρασίες εδάφους ($\theta > 28^{\circ}\text{C}$), με αποτέλεσμα να είναι αποτρεπτικός παράγοντας για τη χρήση της συγκεκριμένης μεθόδου στη περιοχή της Μεσογείου, λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που επικρατούν τους θερινούς μήνες (Dropkin, 1969; Haeyoung et al., 2019). Κάποια παραδείγματα από ανθεκτικές ποικιλίες είναι στη μπάμια (*Abelmoschus esculentus*), όπως η ποικιλία *A. esculentus* L. Moench, *A. esculentus* L. Var Arka Anamika που παρουσιάζουν μέτρια ανθεκτικότητα στους νηματώδεις. Επιπλέον, έχουν βρεθεί τα κυρίαρχα γονίδια, το N και Me στη πιπεριά, τα ανθεκτικά γονίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε προγράμματα ανάπτυξης νέων ανθεκτικών ποικιλιών (Subedi et al., 2020). Όσον αφορά τις δένδρως καλλιέργειες, στη δαμασκηλιά (*Prunus domestica*), σε πολλά υποκείμενα έχει βρεθεί αντίσταση όπως St. Julien A (*P. insititia*) (East Malling –UK), Damas C (*P. spinosa* $\times$ *P. domestica*) και στο Myrobalan plum (*P. cerasifera*). Τέλος, έχει βρεθεί αντίσταση του *Coffea Arabica* στο *M. incognita* που οφείλεται σε ένα μόνο κυρίαρχο γονίδιο (Saucet et al., 2016).

ε) Ηλιοαπολύμανση

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος για τη μείωση του πληθυσμού των νηματωδών στο χωράφι που βρίσκονται κοντά στην επιφάνεια του εδάφους. Προαπαιτεί τη διαβροχή του εδάφους και την κάλυψη με διάφανο πλαστικό. Το πλαστικό θα πρέπει να παραμείνει για τουλάχιστον τέσσερις με έξι εβδομάδες κατά τη διάρκεια της πιο ζεστής περιόδου του καλοκαιριού. Οι κομβονηματώδεις πεθαίνουν όταν η θερμοκρασία του εδάφους υπερβαίνει τους 50°C για 30 λεπτά ή τους 55°C για 5 λεπτά. Η αποτελεσματικότητα της ηλιοαπολύμανσης μειώνεται σε δροσερές παράκτιες περιοχές όπου η θερμοκρασία τους καλοκαιρινούς μήνες κυμαίνεται στους 25°C (Perry E.J. & Ploeg A.T., 2010).

1.1.5.2 Χημική Καταπολέμηση

Η καταπολέμηση των νηματωδών γινόταν για πολλά χρόνια κυρίως με τη χρήση νηματωδοκτόνων. Οι πρώτες δοκιμές για χημικό έλεγχο των νηματωδών πραγματοποιήθηκαν το 1998 στην νότια Ιταλία, στο πεπόνι και τον καπνό για την αντιμετώπιση του *M. incognita*. Τα χημικά νηματωδοκτόνα που παρουσιάζουν νηματωδοκτόνο δράση διακρίνονται σε καπνιστικά εδάφους και μη καπνιστικά

γεωργικά φάρμακα και ο διαχωρισμός γίνεται με βάση τον τρόπο που εφαρμόζονται στο έδαφος. Πιο συγκεκριμένα, τα πρώτα είναι αναγκαίο να εφαρμοστούν πριν της εγκατάστασης της καλλιέργειας καθώς δημιουργούν προβλήματα φυτοτοξικότητας και η κατανομή τους είναι άμεσα εξαρτώμενη από την υγρασία του εδάφους. Αντίθετα, στην περίπτωση των μη καπνιστικών η εφαρμογή τους γίνεται μετά την εγκατάσταση της καλλιέργειας και δρουν με επαφή ή διασυστηματική κίνηση εντός του φυτού (Sarir Ahmad et al., 2022). Ωστόσο, πολλά νηματωδοκτόνα σκευάσματα αποδείχθηκαν ιδιαίτερα επιβλαβή για την υγεία του ανθρώπου και το περιβάλλον. Γι' αυτό το λόγο, πολλά από αυτά άρχισαν να απαγορεύονται και η χρήση τους να περιορίζεται. Πολλοί επιστήμονες αναφέρουν ότι οι τρέχουσες στρατηγικές αντιμετώπισης κατευθύνονται προς τη χρήση ανθεκτικών ποικιλιών, τη χρήση ωφέλιμων μικροοργανισμών στα πλαίσια του βιοελέγχου, την αποστείρωση του εδάφους και την εναλλαγή καλλιεργειών (Castro-Toro & Rivillas-Osorio, 2023).

Χημικά συντιθέμενα σκευάσματα

α) Καπνιστικά

Τα καπνιστικά νηματωδοκτόνα έχουν ευρύ φάσμα δράσης και είναι ιδιαίτερα επικίνδυνα. Είναι χρήσιμα για την αντιμετώπιση εδαφογενών παρασίτων και παθογόνων. Σε καλλιέργειες υψηλής αξίας, όπως τα λαχανικά, χρησιμοποιούνται για τον καθαρισμό του εδάφους και την αποφυγή του κινδύνου μείωσης της απόδοσης λόγω εδαφογενών παρασίτων. Τα καπνιστικά είναι αέρια, στερεά ή υγρά, τα οποία μετατρέπονται σε αέρια μορφή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ελέγχουν τους νηματώδεις σε μια ποικιλία εδαφών, ωστόσο μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα παρουσιάζουν σε αμμώδη εδάφη σε σχέση με τα αργιλώδη (Sarir Ahmad et al., 2022).

Επί του παρόντος στην Ελλάδα το μόνο καπνιστικό που εμπεριέχεται στον κατάλογο των εγκεκριμένων φυτοπροστατευτικών και βιοκτόνων σύμφωνα με το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων είναι το dazomet. Κυκλοφορεί με την εμπορική ονομασία Basamid και η έγκριση του λήγει στις 31/05/2024 (www.minagric.gr, 16/05/2023).

β) Μη καπνιστικά

Τα μη καπνιστικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν πριν, κατά τη διάρκεια και μετά τη εγκατάσταση της καλλιέργειας με σκοπό τη μείωση της πυκνότητας του πληθυσμού των νηματωδών. Χωρίζονται σε δύο τύπους: τα επαφής, τα οποία δρουν στους

νηματώδεις με άμεση επαφή και τα διασυστηματικά τα οποία εισέρχονται εντός του φυτού και κυκλοφορούν εντός των φυτικών ιστών και μεταφέρονται σε άλλα όργανα του φυτού, έτσι δρουν στους νηματώδεις όταν αυτοί τρέφονται με τις ρίζες των φυτών. Η αποτελεσματικότητά τους δεν επηρεάζεται από τη θερμοκρασία του εδάφους. Όλα τα μη καπνιστικά ανήκουν κυρίως στην ομάδα των οργανοφωσφορικών, καρβαμιδικών ενώσεων και στα βενζαμίδια και τις αβερμεκτίνες. Επιπλέον, παρουσιάζουν μικρότερο φάσμα δράσης (Sarir Ahmad et al., 2022).

Σύμφωνα με το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, τα εγκεκριμένα σκευάσματα ανήκουν με βάση τη χημική τους ομάδα στα οργανοφωσφορικά, καρβαμιδικά, βενζαμίδια και στις αβερμεκτίνες (www.minagric.gr, 16/05/2023).

- **Οργανοφωσφορικά**

Σε αυτή την κατηγορία η δραστική ουσία που κυκλοφορεί είναι το fosthiazate με εμπορική ονομασία Nemathorin 10G και Nemathorin 150 EC η οποία έχει έγκριση μέχρι τις 31/10/2024. Δρα δια επαφής και στομάχου, η δραστική ουσία fosthiazate είναι αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης, αρχικά δρα ως νηματοδωστατικό προκαλώντας παράλυση των νηματωδών και εν συνεχεία ως νηματοδοκτόνο (www.minagric.gr, 16/05/2023).

Μεγάλο ερευνητικό πρόγραμμα των ΗΠΑ έχει χαρακτηρίσει το fosthiazate ως βιώσιμη εναλλακτική λύση στη χρήση βρωμιούχο μεθύλιο για τον έλεγχο των νηματωδών που βρίσκονται σε καλλιέργειες τομάτας. Το βρωμιούχο μεθύλιο έχει αναγνωριστεί ως χημική ουσία που καταστρέφει το στρώμα του όζοντος της Γης και η χρήση του έχει καταργηθεί (EPA, 2004).

- **Καρβαμιδικά**

Η δραστική oxamyl συναντάται σε πολλά σκευάσματα που είναι εγκεκριμένα και κάποια παραδείγματα εμπορικών σκευασμάτων είναι τα Vydate 5G, Olredy 10SL και Afromyl 10SL τα οποία έχουν έγκριση έως τις 31/10/2024. Η δραστική ουσία δρα στο νευρικό σύστημα και προκαλεί την αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (www.minagric.gr, 16/05/2023).

- **Βενζαμίδια**

Η δραστική ουσία fluopyram συναντάται στο εμπορικό σκεύασμα Velum Prime το οποίο έχει έγκριση κυκλοφορίας έως τις 31/01/2025. Η δραστική ουσία αρχικά παρουσιάζει έντονη δράση εναντίον των ενηλίκων και προκαλεί καθυστέρηση στην ανάπτυξη των αβγών και περιορίζει την εκκόλαψη τους. Όσον αφορά σε βιοχημικό επίπεδο, παρεμποδίζει τη μιτοχρονδιακή αναπνοή μπλοκάροντας τη μεταφορά των ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα του Succinate Quinone Reductase (www.minagric.gr, 16/05/2023).

- **Αβερμεκτίνες**

Η abamectin (aka avermectin) συναντάται στο εμπορικό σκεύασμα Abramax 2.5SC και στο Tervigo 020SC. Η έγκριση αυτών των σκευασμάτων ισχύει μέχρι τις 30/04/2024. Η δραστική ουσία δρα κυρίως με επαφή και μέσω της συνεχούς ενεργοποίησης της ροής ιόντων χλωρίου, προκαλώντας παράλυση στους νηματώδεις με αποτέλεσμα να σταματούν να διατρέφονται και να πεθαίνουν (www.minagric.gr, 16/05/2023).

Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε σε φυτά ντομάτας οι δραστικές ουσίες oxamyl και fluopyram βοηθούν στην καταπολέμηση του *M. incognita* αλλά όχι σταθερά στο χρόνο. Ακόμη, το oxamyl παρείχε ελαφρώς μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Γενικά, έχει βρεθεί από έρευνες ότι το oxamyl είναι αποτελεσματικό ή μετρίως αποτελεσματικό καθώς επηρεάζεται από την τοποθεσία και το έτος (Grabau & Liu, 2021).

Πίνακας 3: Κατάλογος των εγκεκριμένων φυτοπροστατευτικών και βιοκτόνων σύμφωνα με το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (www.minagric.gr, 16/05/2023).

Εμπορική Ονομασία	Εγγυημένη Σύνθεση	Ποσοστό %	Λήξη Έγκρισης
NEMATHORIN 10G	fosthiazate	10% β/β	31/10/2024
NEMATHORIN 150EC	fosthiazate	15% β/ο	31/10/2024
VYDATE 5G	oxamyl	5% β/β	31/10/2024
VYDATE 10G	oxamyl	10% β/β	31/10/2024
VYDATE 10SL	oxamyl	10% β/β	31/10/2024

OLREDY 10SL	oxamyl	10% β/o	31/10/2024
OXAMYL ASCENZA 10SL	oxamyl	10% β/o	31/10/2024
NEMADATE 10SL	oxamyl	10% β/o	31/10/2023
NEMATHYL 10SL	oxamyl	10% β/o	31/08/2023
VYDATE MAX	oxamyl	10% β/β	31/01/2024
VITELENT 10SL	oxamyl	10% β/o	31/01/2024
BUCKLER	oxamyl	10% β/o	31/01/2024
VELUM PRIME	fluopyram	40% β/o	31/01/2025
TERVIGO 020SC	abamectin	2% β/o	30/04/2024
ABAMAX 2.5SC	abamectin	2.61% β/o	30/04/2024
BASAMID	dazomet	96.5% β/β	31/05/2025

1.1.5.3 Βιολογικοί μέθοδοι καταπολέμησης

α) Βακτήρια

- Βακτήρια του γένους *Bacillus*

Η χρήση στελεχών που ανήκουν στο γένος *Bacillus* ως παράγοντες βιοελέγχου αυξάνεται. Η προοπτική χρήσης του γένους *Bacillus* ως νηματοδοκτόνο βασίζεται στην παραγωγή νηματοδοκτόνων πρωτεασών, χιτινασών, αντιβιοτικών, κρυσταλλικών πρωτεϊνών, δευτερογενών μεταβολιτών και στην ενίσχυση της συστηματικής αντοχής των φυτών (Tapia-Vázquez et al., 2022).

Για παράδειγμα, ο *Bacillus cereus* παράγει C16-sphingosine και phytosphingosine, δύο νηματοδοκτώνες ενώσεις που επάγουν τις δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) στους *M. incognita* με αποτέλεσμα να καταστρέφεται η περιοχή των γεννητικών οργάνων και επομένως να αναστέλλεται η αναπαραγωγή των νηματωδών. Η sphingosine είναι

ασφαλής για το περιβάλλον, τον άνθρωπο και τα ζώα αλλά πολύ τοξική για τους νηματώδεις με LC₅₀ 0,64 µg/mL καθιστώντας την ασφαλή και αποτελεσματικό παράγοντα βιοελέγχου. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι ο *B. cereus* ενεργοποιεί την άμυνα των φυτών εναντίον του *M. incognita*. Επιπρόσθετα, οι τοξίνες του *Bacillus thuringiensis* Cry μπορούν να ελέγξουν ένα ευρύ φάσμα νηματωδών, όπως τους *Meloidogyne* spp., *Bursaphelenchus xylophilus*, *Heterodera glycines*, και *Caenorhabditis elegans*, καθώς περιορίζουν την εκκόλαψη των αυγών και προκαλούν θανάτωση στις J2. Τέλος, ο *Bacillus nematocida* παρουσιάζει έναν ιδιαίτερο μηχανισμό δράσης που θα μπορούσε να παρομοιαστεί με «Δούρειο ίππο». Συγκεκριμένα, έλκει τους νηματώδεις λόγω των πτητικών ενώσεων, όπως η benzaldehyde και η 2-heptanone. Μόλις το βακτήριο καταναλωθεί από τους νηματώδεις, εκκρίνει εξωκυτταρικές πρωτεάσες, όπως η αλκαλική πρωτεάση σερίνης, για να επιτεθεί στους εντερικούς ιστούς του ξενιστή, σκοτώνοντας τον (Tapia-Vázquez et al., 2022).

β) Μύκητες

Οι περισσότερες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί για το βιοέλεγχο των νηματωδών επικεντρώνονται σε νηματοδοφάγους μύκητες που παρασιτούν νηματώδεις. Ορισμένα είδη από το γένος *Trichoderma* έχουν μελετηθεί για το συγκεκριμένο σκοπό αλλά και άλλα γένη έχουν δείξει υψηλή νηματοδοκτόνο δράση, όπως τα *Dactylella*, *Arthrobotrys*, *Nematoctonus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Pochonia*, *Paecilomyces*, *Metarhizium* και *Verticillium* (Tapia-Vázquez et al., 2022).

Επιπλέον, υπάρχουν οι ανταγωνιστικοί μύκητες που προσβάλουν τα αυγά και τα θηλυκά ενήλικα χρησιμοποιώντας απρεσσόρια ή ζωοσπόρια. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο μύκητας *Pochonia chlamydospora*. Οι συγκεκριμένοι μύκητες διεισδύουν τα απρεσσόρια στα αυγά και αφομοιώνουν το περιεχόμενο τους είτε είναι ώριμα, είτε ανώριμα. Το εμπορικό στέλεχος *Paecilomyces lilacinus* (PL125) χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο του *M. incognita* στις τομάτες και βρέθηκε μείωση των κόμβων στις ρίζες κατά 66% και μείωση του πληθυσμού των νηματωδών κατά 71% λιγότερο σε σχέση με φυτά που δεν είχαν δεχθεί μεταχείριση (Azlay et al., 2023; Tapia-Vázquez et al., 2022).

Βιολογικής προέλευσης σκευάσματα

Μικροβιακά σκευάσματα

Εμπορικά σκευάσματα που περιέχουν μύκητες ή βακτήρια και είναι διαθέσιμα στην αγορά σήμερα είναι τα εξής:

- **Bioact Prime DC:** Νηματωδοκτόνο που περιέχει το μύκητα *Paecilomyces lilacinus strain 251*.
- **Flocter 5WP** και το **Votivo:** Νηματοδοκτόνα που περιέχουν το στέλεχος του βακτηρίου *Bacillus firmus i-1582*

Paecilomyces lilacinus strain 251

Αυτός ο μύκητας παράγει πρωτεολυτικά ένζυμα (πρωτεάση και χιτινάση) που μπορούν να καταστρέψουν τη μεμβράνη των αυγών πολλών νηματωδών. Πιο ειδικά, τα σπόρια καθώς και το μυκήλιο του μύκητα παρασιτούν και θανατώνουν τα αυγά και τις προνύμφες J2 των νηματωδών. Επιπλέον, ο μύκητας διεγείρει την παραγωγή ουσιών όπως indolacetic acid, cytokinins, 1-aminocyclopropane- 1-carboxylate deaminase και citric acid που βοηθούν στην ανάπτυξη των φυτών (Sasanelli et al., 2021).

Bacillus firmus i-1582

Το συγκεκριμένο βακτηριακό στέλεχος εμφανίζει νηματωδοκτόνες ιδιότητες. Ο μηχανισμός δράσης του είναι σύνθετος καθώς βασίζεται στις άμεσες αλληλεπιδράσεις με τους νηματώδεις και στις έμμεσες αλληλεπιδράσεις με τα φυτά ξενιστές. Η άμεση δράση χαρακτηρίζεται από την παραγωγή χιτινολυτικών ενζύμων που αποικοδομούν το κέλυφος του αυγού και προκαλούν τη θανάτωση του. Η έμμεση επίδραση του βασίζεται στην παραγωγή φυτικών ορμονών που βοηθούν την ανάπτυξη των φυτών, στον αποικισμό στην επιφάνεια της ρίζας του ξενιστή δημιουργώντας ένα φράγμα και τέλος στην αποικοδόμηση των οργανικών ουσιών που εκκρίνονται από τη ρίζα, οι οποίες προσελκύουν τους κομβονηματώδεις, μειώνοντας έτσι την προσβολή. Το συγκεκριμένο σκευάσμα είναι σύμφωνο με τις πρακτικές IPM και δεν επηρεάζει ωφέλιμα έντομα. Η χρήση του επιτρέπεται και στη βιολογική γεωργία. Τέλος, το εμπορικό προϊόν έχει εγκριθεί για χρήση στο καρότο, την τομάτα, το πεπόνι, το αγγούρι, το καρπούζι, την πιπεριά, τον καπνό, τα κολοκυθάκια, τις μελιτζάνες και την κολοκύθα. Επιτρέπεται σε όλες τις νότιες χώρες της Ευρώπης με εξαίρεση την Κύπρο και τη Μάλτα (Sasanelli et al., 2021).

γ) Φυσικές ουσίες βοτανικής προέλευσης- Δευτερογενείς μεταβολίτες

Τα φυτικά εκχυλίσματα είναι μίγματα από δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών που παραλαμβάνονται από διάφορα φυτικά μέρη όπως από τον φλοιό, τα φύλλα και τον καρπό. Πρόσφατα τα αιθέρια έλαια από μέντα (*Menta spicata*) και από ευκάλυπτο (*Eucalyptus* spp.) αποδείχθηκε ότι έχουν τοξικές επιδράσεις εναντίον των J2 του *M. incognita*. Επιπρόσθετα, ερευνητές εξέτασαν την εφαρμογή αιθέριων ελαίων που προέρχονται από τα *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus globules*, *Menta piperita*, *Pelargonium asperum* και *Ruta graveolens* στο έδαφος γλαστρών με ντομάτες που βρισκόταν σε θερμοκήπιο. Τα έλαια από το *E. globules* και *P. asperum* μείωσαν την αναπαραγωγή των νηματωδών *M. incognita* και τον σχηματισμό κόμβων στις ρίζες, όπως αντίστοιχα και τα έλαια των *R. graveolens*, *M. piperita* και *E. citriodora* (Subedi et al., 2020).

Τα αιθέρια έλαια αποτελούνται από σύνθετα μείγματα μονοτερπενίων (C10) που περιέχουν δύο μονάδες ισοπροπενίου (γραμμικές ή κυκλικές), όπως myrcene, menthol, limonene ή linalool, σεσκιτερπενίων (C15) που αποτελούνται από τρεις μονάδες ισοπρενίου και φαινολών και ο κύριος τρόπος λήψης τους είναι με απόσταξη με ατμό (Alonso-Gato et al., 2021; N. G. Ntalli et al., 2011a). Τα αιθέρια έλαια, καθώς και τα τερπένια που τα αποτελούν, παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα φαρμακολογικών και αγρονομικών ιδιοτήτων, όπως αντιμυκητιακές, αντιβακτηριακές, αντιοξειδωτικές και εντομοκτόνες (N. G. Ntalli et al., 2011a). Οι βιολογικές ιδιότητες τους σχετίζονται με τη λιποφιλικότητα τους η οποία τους επιτρέπει να εισέρχονται εύκολα στα κύτταρα και να παρεμβαίνουν στη δομή και τη ρευστότητα των μεμβρανών με αυξημένη διαπερατότητα (D'Addabbo & Avato, 2021). Επί του παρόντος το μοναδικό εμπορικό σκεύασμα βοτανικής προέλευσης που είναι διαθέσιμο στην αγορά είναι το **NEMguard granules GR**, που περιέχει garlic extract. Είναι νηματωδοκτόνο όπου διαθέτει διάφορους μηχανισμούς δράσης εναντίον των νηματωδών. Η δραστική ουσία δρα στα ένζυμα αναπνοής προκαλώντας κυτταροτοξικές διαταραχές (www.minagric.gr, 16/05/2023).

1.2 Φυσικές ουσίες φυτικής προέλευσης

1.2.1 Ιστορική αναδρομή στη χρήση βοτανικών ουσιών στην καταπολέμηση των κομβονηματωδών

Η πρακτική της χρήσης φυτικών εκχυλισμάτων για την αντιμετώπιση των φυτικών εχθρών χρονολογείται ήδη από το 400 π.Χ στην περιοχή της Ρώμης. Ακόμη, στην Κίνα,

η ανθελμινθική δραστηριότητα του *Melia azedarach* ήταν γνωστή από την αρχαιότητα, από το 25 έως το 220 μ.Χ. Η χρήση βοτανικών εντομοκτόνων εντάθηκε ωστόσο την τελευταία χιλιετία στην Κίνα, την Αίγυπτο, την Ινδία, τις Ηνωμένες Πολιτείες, την Ελλάδα και σε άλλες ευρωπαϊκές χώρες πριν την ανακάλυψη της ταχείας δράσης των οργανοχλωρικών και οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων κυρίως στα τέλη της δεκαετίας του 1930 και στις αρχές της δεκαετίας του 1940 (Silva Faria Jorge Miguel, 2015).

Η εφαρμογή τους γινόταν κυρίως στο έδαφος με τη μορφή ακατέργαστων εκχυλισμάτων ή ακατέργαστης φυτικής μάζας, όπως φύλλα και σπόροι. Ένα μεγάλο εύρος φυτών εξετάστηκαν για τη χρήση τους κατά των νηματωδών, ωστόσο τελικά οι έρευνες περιορίστηκαν λόγω της εμφάνισης των οργανοχλωριωμένα, όπως το DDT, αλλά και λόγω της εμφάνισης του βρωμιούχου μεθυλίου, των καρβαμιδικών και των οργανοφωσφορικών κατά τις δεκαετίες 1940 και 1950. Ωστόσο, το 2005 το βρωμιούχο μεθύλιο καταργήθηκε σταδιακά και απαγορεύτηκε το 2015 βάσει του Πρωτοκόλλου του Μόντρεαλ (Mwamula et al., 2022). Ο στόχος της οδηγίας 91/414/EEC ήταν να θεσπίσει κοινή Ευρωπαϊκή πολιτική στην αγορά των φυτοπροσταυτικών προϊόντων με κύρια κριτήρια που σχετίζονται με θέματα ασφάλειας. Απαραίτητη προϋπόθεση για την έγκριση φυτοπροσταυτικών είναι η αποδεδειγμένη ασφάλεια όπως περιγράφεται στο άρθρο 5. Η οδηγία δημοσιεύθηκε στις 19 Αυγούστου του 1991. Ο κανονισμός 1107/2009 θεσπίστηκε για να αντικαταστήσει την οδηγία 91/414/EEC και εφαρμόζεται από τις 14 Ιουνίου του 2014 (Hiroko Harada et al., 2019; Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο, 2009a; Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο, 2009b). Η έγκριση προϊόντων είναι μια χρονοβόρα διαδικασία η οποία προχωρά μέσω ενός πολύπλοκο συστήματος αξιολόγησης και λήψης αποφάσεων. Το έτος 2000, υπήρχαν πάνω από 900 αδειοδοτούμενες δραστικές ουσίες στην Ευρωπαϊκή Ένωση, μέχρι το έτος 2008, ο αριθμός μειώθηκε σε 425. Το έτος 2018 ο αριθμός μειώθηκε στις 352 δραστικές ουσίες (Nazim Punja, 2018). Επιπλέον, η Ευρωπαϊκή Πράσινη Συμφωνία (EGD) προτείνει την επίτευξη μιας κλιματικά ουδέτερης Ευρώπης έως το 2050, θέλοντας να μειώσει τις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου κατά 50 με 55% σε σύγκριση με τη δεκαετία του 1990. Η στρατηγική Farm to Fork (F2F), στοχεύει στην προώθηση ενός πιο οικολογικού τρόπου της γεωργίας. Προτείνει να επιτευχθεί τουλάχιστον 25% βιολογική γεωργία στην Ευρώπη, να μειωθεί η χρήση φυτοπροσταυτικών προϊόντων κατά 50% και μείωση της χρήσης λιπασμάτων κατά 20% και όλα αυτά σε λιγότερο από

μια δεκαετία (Boix-Fayos & de Vente, 2023). Γι' αυτό το λόγο ενισχύθηκε η ανάγκη για την εύρεση εναλλακτικών μεθόδων αντιμετώπισης, όπως οι φυσικές ουσίες. Ωστόσο, ανασταλτικός παράγοντας για τη χρήση τους είναι ότι μελέτες που πραγματοποιούνται *in vivo* αποδεικνύουν ότι η αποτελεσματικότητά τους μπορεί να αλλάξει σε συνθήκες πεδίου. Επομένως, το μεγαλύτερο μέρος των μελετών πραγματοποιούνται *in vitro*, στο εργαστήριο, χρησιμοποιώντας μεθοδολογίες άμεσης επαφής (Silva Faria Jorge Miguel, 2015).

1.2.2 Δευτερογενείς μεταβολίτες (ΔΜ)

Τα φυτά παράγουν μια ποικιλία ενώσεων διαφορετικής χημικής σύστασης οι οποίες χρησιμοποιούνται για την εξέλιξη τους και την ανάπτυξη τους. Οι πρωτογενείς μεταβολίτες παρέχουν τα κατάλληλα εφόδια στα φυτά ώστε να πραγματοποιηθούν σημαντικές διεργασίες, όπως είναι η φωτοσύνθεση, η μετακίνηση θρεπτικών ουσιών και η αναπνοή. Ο δευτερογενής μεταβολισμός έχει ως αποτέλεσμα τη σύνθεση μεταβολικών προϊόντων τα οποία παράγονται σε ιστούς και όργανα σε συγκεκριμένα στάδια ανάπτυξης των φυτών και είναι γνωστά ως δευτερογενείς μεταβολίτες (Twaij & Hasan, 2022). Οι δευτερογενείς μεταβολίτες παίζουν κύριο ρόλο στην άμυνα των φυτών στο μεταβαλλόμενο βιοτικό και αβιοτικό περιβάλλον (Isah, 2019).

Τρεις βασικές κατηγορίες δευτερογενών φυτικών μεταβολιτών είναι οι παρακάτω: α) η ομάδα των φαινολικών ουσιών (αποτελούνται από απλά σάκχαρα και δακτυλίους βενζολίου), β) η ομάδα των τερπενίων και στεροειδών (αποτελούνται κυρίως από άνθρακα και υδρογόνο), γ) η ομάδα των αζωτούχων (Twaij & Hasan, 2022). Τα τερπένια και στεροειδή είναι κύρια ομάδα ουσιών που προέρχονται από την οδό βιοσύνθεσης πυροσταφυλικού οξέος ή του μεβαλονικού οξέος και μέσω της φωσφοριναλδεύδης. Επί του παρόντος, έχουν αναγνωριστεί πάνω από 35.000 ενώσεις για τα τερπένοειδή και στεροειδή (Thirumurugan Durairaj et al., 2018). Οι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών μπορούν να ανιχνευθούν στα κύτταρα ολοκλήρου του φυτικού σώματος αλλά η θέση βιοσύνθεσής τους στις περισσότερες περιπτώσεις περιορίζεται σε ένα όργανο (Isah, 2019). Οι δευτερογενείς μεταβολίτες έχει αποδειχθεί ότι έχουν διάφορες βιολογικές δράσεις, όπως μυκητοκτόνες, αντιβιοτικές, αντικές, αντιβακτηριακές, νηματωδοκτόνες, κ.ά.. Επιπλέον, αποτελούν σημαντικές ενώσεις απορρόφησης της υπεριώδους ακτινοβολίας, αποτρέποντας έτσι τη σοβαρή βλάβη των φύλλων από το φως (A. Hussein & A. El-Anssary, 2019). Τέλος, νηματωδοκτόνος δράση συσχετίστηκε με την παρουσία αλκαλοειδών, φαινολών,

διτερπενίων, γλυκοσινιλικών και άλλων δευτερογενών μεταβολιτών (Sithole et al., 2021).

Οι αλδεΐδες και οι κετόνες ανήκουν στους δευτερογενείς μεταβολίτες που είναι βιοδραστικοί κατά των εχθρών των φυτών, μεταξύ των οποίων είναι και οι νηματώδεις. Χαρακτηριστικά, όσον αφορά τις αλδεΐδες και τις κετόνες, βρέθηκε σε χημική ανάλυση εκχυλισμάτων από το φυτό *Ruta chalepensis* ότι ισχυρή νηματοδοκτόνος δράση κατά των J2 προνυμφών παρουσιάζει η κετόνη 2-undecanone ενώ στο φυτό *Melia azedarach* αντίστοιχη δράση παρουσιάζει η αλδεΐδη furfural (Caboni et al., 2012). Σε άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε με χαμηλού μοριακού βάρους αλδεΐδες εναντίον του είδους *M. incognita*, βρέθηκε ότι καλύτερη απόδοση όσον αφορά την αποτελεσματικότητας τους είχαν οι αλδεΐδες, φθαλδεΐδες και σαλικυλαλδεΐδες (Caboni et al., 2013). Τέλος, όσον αφορά τις κετόνες, σε πείραμα που έγινε *in vitro* εναντίον του *M. incognita* βρέθηκε ότι η 2-undecanone είχε νηματοδοκτόνο δράση με $EC_{50}/1d=20,6$ (Ntalli et al., 2016).

Τα τερπένια είναι έχουν ως βάση μια αλυσίδα πέντε ατόμων άνθρακα που ονομάζεται ισοπρένιο και ταξινομούνται σύμφωνα με τον αριθμό των ακόλουθων μονάδων ισοπρενίου που υπάρχουν στο μόριο τους. Επομένως, διακρίνονται στα μονοτερπένια, τα σεσκιτερπένια, τα διτερπένια, τα τριτερπένια, τα σεσκαρτερπένια, τα τετρατερπένια και τα πολυτερπένια (Elshafie et al., 2023).

Βοτανικές οικογένειες πλούσιες σε μονοτερπένια είναι οι Lamiaceae, Pinaceae, Rutaceae και Apiaceae. Μερικές από αυτές τις ενώσεις, όπως η γερανιόλη, μπορούν να βρεθούν σε μικροποσότητες στις πτητικές εκκρίσεις των περισσότερων φυτών. Τα μονοτερπένια ταξινομούνται περαιτέρω σε ακόρεστους υδρογονάνθρακες, όπως το limonene, αλκόολες, όπως η linalool, αλδεΐδες, όπως η citronellal, και κετόνες όπως το carvone. Πολλά μονοτερπένια έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης ως ανθελμινθικά (A. Hussein & A. El-Anssary, 2019).

Τα σεσκιτερπένια είναι λιγότερο πτητικά από τα μονοτερπένια, και βρίσκονται κυρίως στις οικογένειες Asteraceae και Zingiberaceae. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το bisabolol, το οποίο βρίσκεται στο χαμομήλι (*Matricaria camomilla*), με αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Fotsing Yannick Stephane & Kezetas Jean Jules, 2020; Noriega, 2021). Τα διτερπένια είναι συνήθως

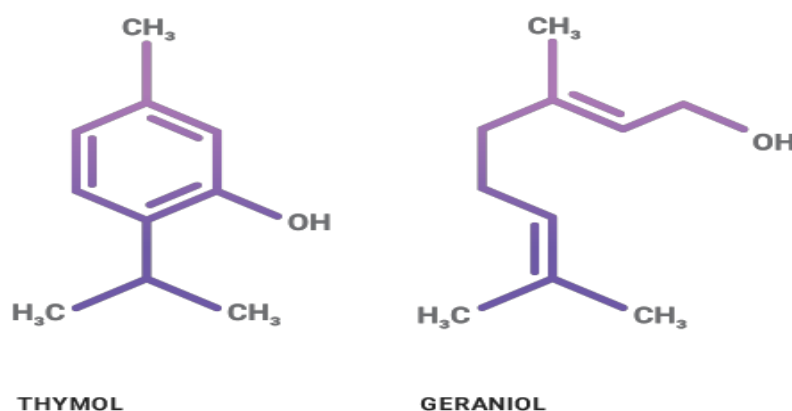
συστατικά φυτικών ρητινών ενώ επιπλέον, μπορεί να συναντώνται ως υποπροϊόντα στην απομόνωση των αιθέριων ελαίων. Είναι λιγότερο πτητικά και είναι δύσκολο να εξαχθούν με απόσταξη ατμού και κατά συνέπεια εμφανίζονται σπάνια σε εκχυλίσματα από αιθέρια έλαια. Όταν υπάρχουν, βρίσκονται σε χαμηλές ποσότητες. Τέλος, στα διτερπένια ανήκουν και οι γιβεριλλίνες (Fotsing Yannick Stephane & Kezet Jean Jules, 2020; Mazid et al., 2011).

Τα τερπένια έχουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, και γι' αυτό το λόγο έχουν πραγματοποιηθεί ποικίλες μελέτες για τη νηματοδοκτονο δράση τους. Για παράδειγμα, η 1,8-cineole, το limonene και το β -pinene έχουν προκαλέσει αναστολή της εμφάνισης προνυμφών *M. incognita*. Η δράση αυτή σχετίζεται με τη θέση του διπλού δεσμού στο μόριό τους. Επιπλέον, το α -pinene έχει ανασταλτική δράση στο νηματώδη *Bursaphelenchus xylophilus*. Το τερπένιο που απομονώθηκε από ρίζες *Fumaria parviflora* μείωσε σημαντικά την προσβολή και τα θηλυκά ανά γραμμάριο ριζών σε *in vivo* δοκιμή (Chen & Song, 2021). Επιπρόσθετα, σε έρευνα που διεξήχθη βρέθηκε ότι το σεσκιτερπένιο γ -eudesmol παρουσιάζει υψηλή αποτελεσματικότητα εναντίον του *M. incognita* (Ntalli et al., 2011b). Στον έλεγχο αποτελεσματικότητας της carvone, βρέθηκε ότι παρουσιάζει υψηλή αποτελεσματικότητα εναντίον των J2 καθώς μειώνει και την εκκόλαψη των αυγών και παρουσίασε LC₅₀ 123.5 και 88.2 $\mu\text{g/mL}$ αντίστοιχα (Elsharkawy et al., 2022). Τέλος, σε έρευνα που διεξήχθη σε Petri δισκία το β -citronelol παρουσίασε θνησιμότητα 87,9% σε συγκέντρωση 2000 μL κατά του *M. incognita* (Ma Ochoa-Fuentes et al., 2019).

1.2.4 Αιθέρια έλαια που παρουσιάζουν νηματοδοκτόνο δράση

Τα αιθέρια των οικογενειών Lamiaceae, Myrtaceae και Umbellifer, έχουν νηματοδοκτόνες δράσεις και συγκεκριμένα αιθέρια έλαια που περιέχουν μείγμα ελαίων thymol και geraniol. Η thymol και η geraniol δρουν εναντίον των νηματωδών μέσω διαφορετικών μηχανισμών. Λόγω της λιπόφιλης φύσης τους, ο πρωταρχικός τρόπος δράσης τους αφορά τη συσσώρευση τους στις κυτταρικές μεμβράνες. Οι συγκεκριμένες ουσίες δεν αφήνουν υπολείμματα και δεν έχουν περιορισμούς όσον αφορά το διάστημα που απαιτείται να εφαρμοστούν πριν τη συγκομιδή. Χαρακτηριστικά, υπάρχει σκεύασμα που περιέχει thymol και geraniol και επιτρέπεται η κυκλοφορία του σε όλες τις χώρες της Ευρωπαϊκή Ένωσης, δεν επιτρέπεται ωστόσο στη Βουλγαρία, στη Μάλτα και στην Κύπρο με μορφή (Encapsulated aqueous solution). Αυτό το σκεύασμα μπορεί να εφαρμοστεί κατά τη μεταφύτευση ή τη σπορά

και η επανάληψη εφαρμογής του μπορεί να γίνει κάθε 2 εβδομάδες, έως 6 εφαρμογές σε κάθε καλλιεργητική περίοδο (Sasanelli et al., 2021).



Εικόνα 8: Χημική δομή της thymol και της geraniol. Πηγή:
https://www.researchgate.net/figure/Major-compounds-of-EOs-a-thymol-b-carvacrol-c-geraniol-d-E-cinnamaldehyde_fig28_355312406

Ωστόσο, παρά την αποτελεσματικότητα τους εναντίον των νηματωδών, έχει επίσης αποδειχθεί ότι κάποια αιθέρια έλαια ή συστατικά τους επηρεάζουν τη μικροβιακή κοινότητα και παρουσιάζουν διακυμάνσεις όσον αφορά την αποτελεσματικότητα τους. Επομένως, υπάρχουν ανησυχίες σχετικά με την τυποποίηση τους. Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε το 2018, με την εφαρμογή του βοτανικού σκευάσματος Dazitol (capsaicin και συναφή capsaicinoids 0,42% από oleoresin Capsicum και allyl isothiocyanate [ITC] 3,7% από αιθέριο έλαιο μουστάρδας) και Nemakill (cinnamon oil 32%, clove oil 8% και thyme oil 15%) προέκυψε ότι αυτά δεν βοήθησαν στην εγκατάσταση και ανάπτυξη της καλλιέργειας αλλά ούτε και κατέστειλαν τους πληθυσμούς του νηματώδους *Belonolaimus longicaudatus*. Σε άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε βρέθηκε ότι τα υδατικά εκχυλίσματα μέντας ήταν πιο δραστικά εναντίον του *M. incognita* σε σχέση με τα εκχυλίσματα αιθέριων ελαίων (Mwamula et al., 2022). Επιπρόσθετα, παρόμοια αποτελέσματα μπορούν να ληφθούν με την εφαρμογή εκχυλισμάτων του καρπού ή σκόνης του καρπού του *M. azedarach* σε σύγκριση με το κύριο δραστικό συστατικό, τη furfural. Τέλος, το αιθέριο έλαιο του *Thymus citriodorus* ήταν αποτελεσματικό στην διακοπή του βιολογικού κύκλου των κομβονηματωδών, όμως ήταν επιβλαβές για τους νηματώδεις που τρέφονται από βακτήρια και μύκητες. Ωστόσο, η σκόνη και τα μη φιλτραρισμένα εκχυλίσματα

βρέθηκαν να αυξάνουν τη βακτηριακή βιομάζα και τους πληθυσμούς των νηματωδών που ζουν ελεύθεροι (Mwamula et al., 2022). Επιπλέον, τα αιθέρια έλαια της οικογένειας Lamiaceae, συμπεριλαμβανομένων των ειδών *M. pulegium* L., *Origanum vulgare*, *Origanum dictamnus* L. και *Melissa officinalis* εμφανίζουν ισχυρή *in vitro* νηματωδοκτόνο δράση. Τέλος, σε άλλη έρευνα έχει αποδειχθεί η νηματωδοκτόνος δράση των *E. citriodora* Hook, *E.globulus*, *M. piperita*, *P. asperum* (L'Hér) και *R. graveolens* L. εναντίον των *M. incognita* (Ntalli et al., 2020).

Σύμφωνα με την οδηγία 10472 της SANCO, περιγράφονται περιορισμένες απαιτήσεις όσον αφορά τα δεδομένα για φυτοπροστατευτικά προϊόντα που παράγονται από βρώσιμα μέρη φυτών για τροφή των ανθρώπων και ζωοτροφών. Το έγγραφο αναφέρεται σε φυτικά εκχυλίσματα που παρασκευάζονται με νερό ή αιθανόλη από μέρη φυτών που εγκρίνονται από την Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία. Σε αυτό το πλαίσιο, τα υδατικά εκχυλίσματα που παρασκευάζονται από *O. vulgare* και *T. citriodorus* θα μπορούσαν να αναπτυχθούν ως «φυτοπροστατευτικά προϊόντα χαμηλού κινδύνου» ή «βασικές ουσίες» (Ntalli et al., 2020). Ωστόσο, τα νηματωδοκτόνα φυτικής προέλευσης προωθούνται ως μια ασφαλέστερη εναλλακτική λύση για την αντιμετώπιση των νηματωδών. Σε συγκριτικές μελέτες βέβαια, υπάρχουν στοιχεία που αποδεικνύουν το αντίθετο, ιδιαίτερα όταν συστατικά τους απομονώνονται και εφαρμόζονται μεμονωμένα στο έδαφος. Τα βοτανικά νηματωδοκτόνα διαφέρουν από τα συνθετικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα λόγω της πολύπλοκης χημικής τους σύστασης από συχνά στενά συγγενείς δευτερογενείς μεταβολίτες. Αυτοί οι μεταβολίτες συχνά δρουν συνεργιστικά για να αυξήσουν τη δράση τους και, επομένως, παίζουν σημαντικό ρόλο όχι μόνο στη δράση εναντίον των οργανισμών-στόχων, αλλά και στα τελικά επίπεδα τοξικότητας των μιγμάτων που εμφανίζονται εναντίον οργανισμών μη-στόχων αλλά και στη σταθερότητα των δραστικών συστατικών (Mwamula et al., 2022).

1.2.5 Υδατικά εκχυλίσματα από αρωματικά φυτά με νηματωδοκτόνο δράση

Η χρήση υδατικών εκχυλισμάτων από αρωματικά φυτά είναι μια προτεινόμενη λύση (Catani et al., 2023). Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε με υδατικά εκχυλίσματα από διάφορα αρωματικά φυτά σε διαφορετικές συγκεντρώσεις βρέθηκε ότι το υδατικό εκχύλισμα από το φυτό *Ambrosia maritima* είχε την υψηλότερη αποτελεσματικότητα κατά των νηματωδών στις υψηλές συγκεντρώσεις και σε όλες τις παρατηρήσεις που έγιναν εντός 24, 48 και 72 h. Ακολουθούσαν σε αποτελεσματικότητα εναντίον των

προνυμφών J2, τα φύλλα από το φυτό *E. citriodora*, *Calendula officinalis* και με μικρότερη θνησιμότητα βρέθηκαν τα φύλλα από το φυτό *Rosmarinus officinalis*. Είναι αξιοσημείωτο ακόμη ότι στις 72 h το υδατικό εκχύλισμα από το φυτό *A. maritima* παρουσίασε θνησιμότητα εναντίον των J2 σε ποσοστό 94% σε συγκέντρωση 15%. (El-Gindi et al., 2018). Επιπλέον, σε έρευνα που διεξήχθη στο Γιουκατάν του Μεξικού, χρησιμοποιήθηκαν 75 υδατικά εκχυλίσματα από ιθαγενή φυτά και βρέθηκε ότι υψηλότερη αποτελεσματικότητα εναντίον του *M. incognita* παρουσίαζαν φύλλα του φυτού *Alseis yucatanensis* και του *Helicteres baruensis* σε ποσοστό 94 και 77%, αντίστοιχα σε συγκέντρωση 3% w/v. Είναι σημαντικό να διευκρινιστεί ότι η συγκεκριμένη θνησιμότητα παρατηρήθηκε στην μικρότερη δόση που χρησιμοποιήθηκε και στις 72 h (Aviles-Gomez et al., 2022).

1.2.6 Βοτανικά είδη και δευτερογενείς μεταβολίτες της παρούσας διατριβής

***Lavandula angustifolia* L.**

Η λεβάντα είναι ένα από τα σημαντικότερα μέλη της οικογένειας Lamiaceae. Είναι ευρέως διαδεδομένη στην περιοχή της Μεσογείου και καλλιεργείται στην Ιταλία, την Γαλλία και την Ισπανία. Η *Lavandula angustifolia* L. είναι γνωστή ως σημαντικό αρωματικό και φαρμακευτικό φυτό και χρησιμοποιείται στη θεραπεία αρκετών γαστρεντερικών, ρευματικών και νευρικών διαταραχών. Τα κύρια δραστικά συστατικά του αιθέριου ελαίου είναι τα μονοτερπένια (linalool, linalyl acetate, (Z)-β-ocimene, terpinen-4-ol, lavandulyl acetate, β-caryophyllene, (E)-β-ocimene, α-terpineol και 1,8-cineole). Το αιθέριο έλαιο λεβάντας χρησιμοποιείται εδώ και πολλούς αιώνες. Όλα τα είδη και τα υβρίδια λεβάντας έχουν αδένες στα φύλλα και στα άνθη και παράγουν μια ποικιλία αιθέριων ελαίων που η ποσότητα τους είναι 2% με 3% (Zainab F. Mahmood et al., 2020). Σε πείραμα που έγινε με υβρίδια λεβάντας για να εξετάσουν τη νηματωδοκτόνο δράση τους βρέθηκε θνησιμότητα των J2 του *M. incognita*, έπειτα από χρήση διαλυμάτων λεβάντας στις 24 h, σε επίπεδα 82% έως 95,8% για δόση ίση με 100 mg·mL⁻¹ (D'addabbo et al., 2021).



Εικόνα 9: Φυτό Λεβάντας

Melia Azedarach

Η *Melia azedarach* L. (αγριοπασχαλιά) είναι ένα φυτικό είδος της οικογένειας Meliaceae που παρουσιάζει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων όσον αφορά τη γεωργία και τη φαρμακευτική. Εκχυλίσματα από διάφορα μέρη του παρουσιάζουν εντομοκτόνες, νηματοδοκτόνες και κυτταροτοξικές δράσεις. Η προσθήκη της στο έδαφος ως εκχύλισμα έχει αποδειχθεί ότι ενισχύει τη γονιμότητα του εδάφους. Τέλος, η *M.azedarach* L. διεγείρει τη μικροβιακή δραστηριότητα στο έδαφος. Η τιμή EC₅₀ σε πειράματα παράλυσης J2 με το υδατικό εκχύλισμα των ώριμων καρπών της *M. azedarach* προσδιορίστηκε στα 500 µg/mL (Cavoski et al., 2012).

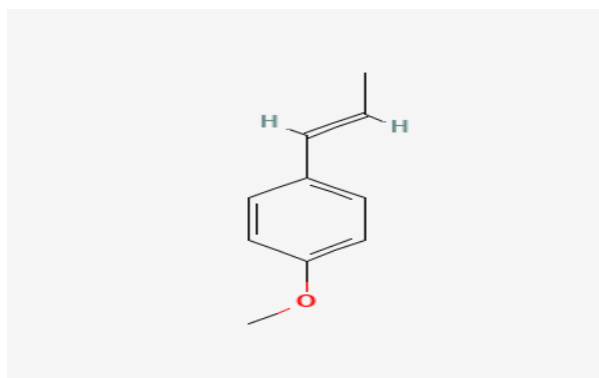


Εικόνα 10: *Melia azedarach*

Anethole

Η anethole υπάρχει ως *cis* και ως *trans* ισομερές, που περιλαμβάνει το διπλό δεσμό έξω από το δακτύλιο. Είναι διαυγές, άχρωμο έως κεχριμπαρένιο υγρό με γλυκιά γεύση που μοιάζει με αυτή του γλυκάνισου. Χαρακτηριστικά, η anethole είναι έως 13 φορές περισσότερο γλυκιά ακόμη και από τη ζάχαρη. Είναι ελάχιστα διαλυτή στο νερό αλλά παρουσιάζει υψηλή διαλυτότητα στην αιθανόλη και χρησιμοποιείται σε πολλά αλκοολούχα ποτά. Η κύρια χρήση της κατά 80% οφείλεται στο αρωματικό προφίλ της. Επιπλέον, η anethole απαντάται ευρέως στη φύση σε αιθέρια έλαια. Συνεισφέρει στις χαρακτηριστικές γεύσεις του γλυκάνισου και του μάραθου. Η φυσική anethole εμφανίζεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο έλαιο του γλυκάνισου, σε ποσοστό 80-90%, και στο έλαιο του μάραθου σε ποσοστό 80%. Παρέχει προστασία στα φυτά από παθογόνους μικροοργανισμούς και αποτρέπει να τα καταναλώσουν φυτοφάγα ζώα (Marinov & Valcheva-Kuzmanova, 2015).

Επίσης, έχει βρεθεί ότι η *trans*-anethole προσελκύει τον *M. incognita* και είναι απαραίτητο να γίνει περαιτέρω μελέτη για την ανάπτυξη σχετικών σκευασμάτων (Sobkowiak et al., 2018). Σε πείραμα που διεξήχθη, βρέθηκε ότι η *trans*-anethole σε συγκέντρωση 250 µl/L και σε 125 µl/L, ακινητοποιεί τις J2 και αναστέλλει την εκκόλαψη των αυγών, αντίστοιχα (Oka et al., 2000).



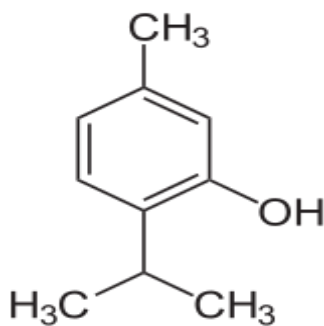
Εικόνα 11: Χημική δομή anethole

Thymol

Η thymol, είναι μια φυσική μονοτερπενοειδής φαινόλη, κρυσταλλική και άχρωμη, με χαρακτηριστική οσμή. Η thymol είναι ένα ισομερές της carvacrole και αποτελεί το κύριο δραστικό συστατικό του ελαίου που εξάγεται από το είδος *T. vulgaris*, κοινώς γνωστό ως θυμάρι. Είναι πολυετές αρωματικό φυτό, ξυλώδες, πολύ διακλαδισμένο και μικρού ύψους, της οικογένειας Lamiaceae, με ωφέλιμη ζωή περίπου 10–15 ετών. Το

φυτό είναι εγγενές στη Μεσόγειο και τις γειτονικές χώρες, τη Βόρεια Αφρική και σε περιοχές της Ασίας αλλά καλλιεργείται και σε όλο τον κόσμο. Το *T. vulgaris* παρουσιάζει δίσχημα άνθη, λευκού, κίτρινου ή μοβ χρώματος που ανθίζουν την άνοιξη. Όταν αγγίζονται τα φύλλα του, αναδίδει μια ευχάριστη και γλυκιά μυρωδιά. Το θυμάρι ανήκει στο γένος της ρίγανης *Origanum* και οι άνθρωποι το χρησιμοποιούσαν για πολλούς αιώνες ως καρύκευμα τροφίμων και ως φαρμακευτικό βότανο αλλά οι αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές του ιδιότητες έχουν επίσης μελετηθεί (Escobar et al., 2020).

Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε βρέθηκε ότι η thymol ($0.5 \mu\text{g/ml}^{-1}$) είχε αποτελεσματικότητα 60% εναντίον των J2 του *M. javanica* στις 72h και 90% κατά των J2 του *M. incognita* (Al-Banna et al., 2003). Τέλος, έχει βρεθεί ότι σε συγκέντρωση 250 $\mu\text{l/L}$ αναστέλλει την εκκόλαψη αυγών των κομβονηματωδών (Oka et al., 2000).



Εικόνα 12: Χημική δομή
thymol

II. ΣΚΟΠΟΣ

Κύριος σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της επίδρασης φυτικών ουσιών και εκχυλισμάτων εναντίων των κομβονηματωδών *M. incognita*. Πιο συγκεκριμένα, αξιολογήθηκε η επίδραση της *trans*-anethole, της thymol, του υδατικού εκχυλίσματος *M. azedarach* καθώς και του αιθέριου έλαιο λεβάντας. Χρησιμοποιήθηκαν δύο δείγματα λεβάντας, διαφορετικής περιεκτικότητας σε άνθη και βλαστό, ώστε να ελεγχθεί η διαφορά στη χημική σύσταση και κατ' επέκταση στην αποτελεσματικότητα πρόκλησης παράλυσης στις προνύμφες δευτέρου σταδίου J2. Αρχικά πραγματοποιήθηκε ανάλυση για τη χημική σύσταση των δύο δειγμάτων. Έπειτα, υπολογίστηκαν οι συγκέντρωσεις που προκαλούν παράλυση στο 50% των προνυμφών J2 ενώ επιπλέον ελέγχθηκε και η συνεργιστική, ανταγωνιστική ή αθροιστική δράση των ουσιών, στην ικανότητα πρόκλησης παράλυσης των J2.

III. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Απόσταξη αιθέριου ελαίου της λεβάντας (Λεβάντα δείγμα Α και Β)

Τα αιθέρια έλαια λεβάντας Α και Β ήταν μια ευγενική χορηγία της εταιρείας AiTHERIA essential oils and more, και παράγονται με υδραπόσταξη. Ο λόγος που χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικά δείγματα ήταν για να ελεγχθεί αν η περιεκτικότητα σε άνθη επηρεάζει τη χημική σύσταση και την αποτελεσματικότητα. Συγκεκριμένα το δείγμα Α αποτελούνταν από 60% βλαστό και 40% άνθη και το δείγμα Β από 60% άνθη και 40% βλαστό.

3.2 Μέθοδος προσδιορισμού της ολικής σύστασης του αιθέριου ελαίου σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας της μάζας

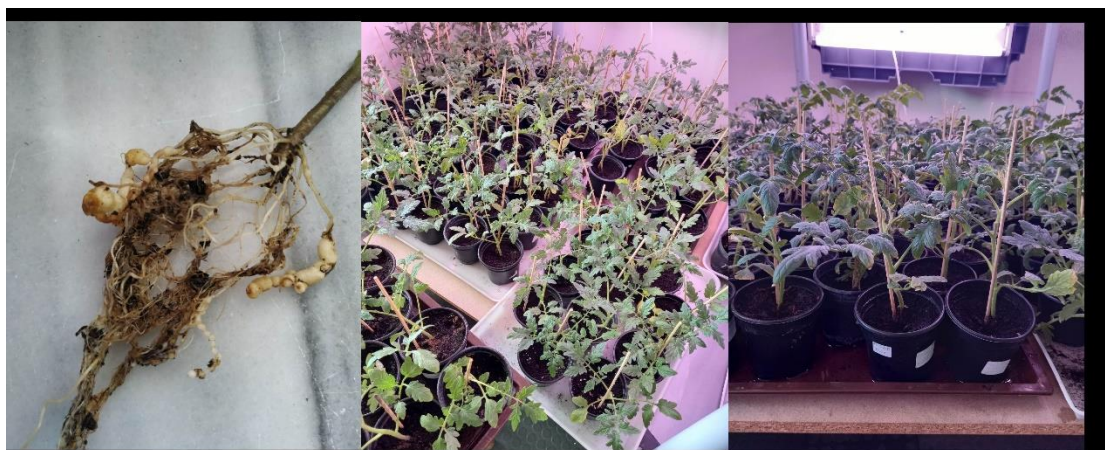
Για να πραγματοποιηθεί ο διαχωρισμός του αιθέριου ελαίου έγινε η χρήση αέριου χρωματογράφου. Ο διαχωρισμός πραγματοποιήθηκε σε στήλη Phenomenex Zebron ZB-5 (30m, 2.5 mm i.d., 0.25 cm film thickness) και η ανίχνευση σε φασματογράφο μάζας απλού τετραπόλου, τύπου 5973 Network. Η επεξεργασία των χρωματογραφημάτων πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα Enhanced ChemStation. Αφού πραγματοποιήθηκε εκχύλιση, το αιθέριο έλαιο αραιώθηκε 1:1000 (v/v) σε εξάνιο και μεταφέρθηκε μέσω της θερμοστατούμενης γραμμής μεταφοράς σε αέριο χρωματογράφο. Η είσοδος τους στη στήλη έγινε με εισαγωγή τύπου splitless σε όγκο 1 μ l. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν 270 °C, της γραμμής μεταφοράς ήταν 290 °C και του ανιχνευτή ήταν στους 270 °C. Ο διαχωρισμός στην τριχοειδή στήλη πραγματοποιήθηκε με την εξής διαδικασία: Αρχικά, εφαρμογή θερμοκρασίας 60 °C για 5 min και εν συνεχεία ακολούθησε αύξηση της θερμοκρασίας στους 100, 200, 250 και 290 °C με ρυθμό 3, 5, 10 και 20 °C ανά λεπτό, αντίστοιχα. Η διατήρηση της θερμοκρασίας επήλθε στο τελευταίο στάδιο για 7 min. Η ροή του φέροντος αερίου (He) ήταν ml min⁻¹. Για να πραγματοποιηθεί η ανίχνευση των συστατικών του αιθέριου ελαίου χρησιμοποιήθηκε φασματογράφος μάζας με την τεχνική του συστήματος ιονισμού με πρόσκρουση ηλεκτρονίων και σε δυναμικό ιονισμού 70 eV και θερμοκρασία 250 °C.

Η ταυτοποίηση της κάθε κορυφής έγινε με τη χρήση των τιμών του χρόνου κατακράτησης R_t και για τον υπολογισμό των τιμών του δείκτη κατακράτησης RI βάση του τύπου Kovats index, για χρωματογραφικό διαχωρισμό με προγραμματισμό θερμοκρασίας και για σειρά αλκανίων C₉-C₂₄ και σύγκριση τιμών RI. Επιπλέον, για την ταυτοποίηση ήταν απαραίτητο να γίνει σύγκριση του φάσματος μάζας του κάθε

συστατικού, σε συνθήκες ολικού ιόντος, με τα αντίστοιχα δεδομένων ηλεκτρονικών βιβλιοθηκών Nist98 και Wolley275L και χρήση τους σε αναλογία 30:70. Η ποιότητα της σύγκρισης γινόταν αποδεκτή μόνο όταν ήταν μεγαλύτερη από 90 % για να γίνει η ταυτοποίηση της ουσίας.

3.3 Ανάπτυξη και συντήρηση του πληθυσμού *M. incognita*

Ο πληθυσμός αναπτύχθηκε σε φυτά τομάτας (*Solanum lycopersicum* L.) ποικιλίας Belladonna, από φυσικά μολυσμένες ρίζες με το είδος *M. incognita* η οποία χαρακτηρίζεται από ευαισθησία όσον αφορά την προσβολή της από κομβονηματώδεις. Τα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν με σκοπό την ανάπτυξη του πληθυσμού τοποθετήθηκαν σε πλαστικά φυτοδοχεία με διάμετρο 18 cm που περιείχαν τύρφη. Τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ανάπτυξης φυτών στους 25 με 28 °C, 60 % υγρασία και 16 h φωτοπερίοδο για περίπου 40 ημέρες και έως ολοκληρωθεί ο βιολογικός κύκλος. (Εικόνα 13).



Εικόνα 13: Μολυσμένη ρίζα και θάλαμος φυτών

3.4 Μέθοδος παραλαβής προνυμφών δευτέρου σταδίου (J2)

Όταν τα φυτά βρισκόταν στο στάδιο του πέμπτου ανεπτυγμένου φύλλου, πραγματοποιήθηκε η τεχνητή μόλυνση τους με J2. Στο συγκεκριμένο στάδιο τα φυτά παρουσιάζουν ανεπτυγμένο ριζικό σύστημα, το οποίο μπορεί ευνοήσει την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή των νηματωδών. Αφού παρήλθε διάστημα τριάντα με σαράντα ημερολογιακών ημερών, δηλαδή μετά την ολοκλήρωση ενός βιολογικού κύκλου, οι ρίζες των φυτών τομάτας πλύθηκαν ώστε να γίνει η απομάκρυνση υπολειμμάτων εδάφους και εν συνεχεία τεμαχίστηκαν σε τμήματα 2 cm. Τοποθετήθηκαν σε διάλυμα με 20 mL 1% NaOCl



Εικόνα 14: Μολυσμένη ρίζα έπειτα το πέρας ενός βιολογικού κύκλου

και 80 mL H₂O και έγινε ανακίνηση τους αιωρήματος για πέντε λεπτά. Πραγματοποιήθηκε η πλύση τους με τρεχούμενο νερό χαμηλής ροής μέσα σε κόσκινα διατομής 250 και 38 μm. Στη συνέχεια, έγινε η παραλαβή των αυγών από τους νηματώδεις και η μεταφορά τους σε τροποποιημένα δοχεία Baermann που τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου ήταν περίπου 25 °C (Hussey R.S & Barker K.R, 1973). Οι προνύμφες J2 συλλέγονταν κάθε 48 h για τις βιολογικές δοκιμές.



Εικόνα 15: Δοχεία Baermann

3.6 Υδατικό εκχύλισμα *M. azedarach*

Για τη δημιουργία υδατικού εκχυλίσματος *M. azedarach* τοποθετήθηκαν 1 gr αλεσμένων ώριμων καρπών *M. azedarach*, σε σωλήνα Falcon και προστέθηκαν 10 mL H₂O. Ο σωλήνας Falcon μεταφέρθηκε σε Ultrasonic Bath (Sonicator) για 10 λεπτά.

Ακολούθησε διήθηση σε βαμβάκι και το διήθημα και χρησιμοποιήθηκε στις βιολογικές δοκιμές.



Εικόνα 16: Συσκευή Sonicator

3.7 Δοκιμές πρόκλησης παράλυσης των ουσιών (*trans*-anethole και thymol) και των αιθέριων ελαίων σε προνύμφες *M. incognita*

Η νηματοδοκτόνος δράση ελέγχθηκε αρχικά σε έξι επίπεδα συγκεντρώσεων και πιο συγκεκριμένα στα 800, 400, 200, 100, 50 $\mu\text{L/L}$ για την *trans*-anethole και τη thymol και των αιθέριων ελαίων λεβάντας Α και Β σε συγκεντρώσεις 2000, 1000, 500, 250, 125 $\mu\text{L/L}$. Αρχικά, παρασκευάστηκαν μητρικά πυκνά διαλύματα 5000 $\mu\text{L/L}$ σε αιθανόλη και Tween-20 σε H_2O (0,3%v/v). Τα διαλύματα παρασκευάστηκαν σε συγκεντρώσεις οι οποίες ήταν διπλάσιες από τις συγκεντρώσεις ελέγχου που θα τοποθετούνταν εντός του πηγαδιού και εν συνεχεία, τοποθετήθηκαν μέσα στις πλάκες πολυστυρενίου 96 πηγαδιών με το αιώρημα που περιείχε νηματώδεις σε αναλογία 1:1 (v/v). Ο αριθμός των J2 που προστέθηκαν με σκοπό την αξιολόγηση της παράλυσης σε κάθε πηγάδι της πλάκας πολυστυρενίου των 96 πηγαδιών, ήταν 30 νηματώδεις και η τελική συγκέντρωση της αιθανόλης στα διαλύματα ελέγχου δεν ξεπερνούσε το 1% (v/v). Στις πλάκες τοποθετήθηκε καπάκι, με σκοπό να μειωθεί η πιθανότητα εξάτμισης των διαλυμάτων ώστε να αποφευχθεί η διαφοροποίηση των συγκεντρώσεων των διαλυμάτων ελέγχου. Επιπλέον, για να αποφευχθεί η επιμόλυνση λόγω πτητικότητας μεταξύ των διαφορετικών μεταχειρίσεων, κάθε συγκέντρωση τοποθετήθηκε σε διαφορετική πλάκα πολυστυρενίου. Επιπρόσθετα, σε κάθε πλάκα τοποθετήθηκαν στα παρακείμενα πηγάδια από τις συγκεντρώσεις ελέγχου, νηματώδεις εμβαπτισμένοι σε

νερό για να αξιολογηθεί η καπνιστική δράση των μεταχειρίσεων. Εν συνεχεία, οι πλάκες μεταφέρθηκαν με θάλαμο με θερμοκρασία 28 °C και η κινητικότητα των προνυμφών δευτέρου σταδίου αξιολογήθηκε με τη χρήση ανάστροφου μικροσκοπίου σε μεγέθυνση 40x, στις 24, 48 και 72 h από την αρχική εγκατάσταση του πειράματος. Η ταξινόμηση της κινητικότητας των προνυμφών J2 έγινε σε δύο κατηγορίες κινητές και ακίνητες.

Όσον αφορά το υδατικό εκχύλισμα *M. azedarach*, αυτό αξιολογήθηκε σε συγκεντρώσεις 1000, 500, 250, 125, 62,5 mg/L, επί ξηρού εκχυλίσματος μετά από εξαντλητική εξάτμιση. Οι μετέπειτα αραιώσεις έγιναν εξίσου με νερό. Η δοκιμή αυτή έγινε ώστε να επιβεβαιωθεί η τιμή EC₅₀ του υδατικού εκχυλίσματος των ώριμων καρπών της *M. azedarach* στα 500 mg/L (Cavoski et al., 2012).

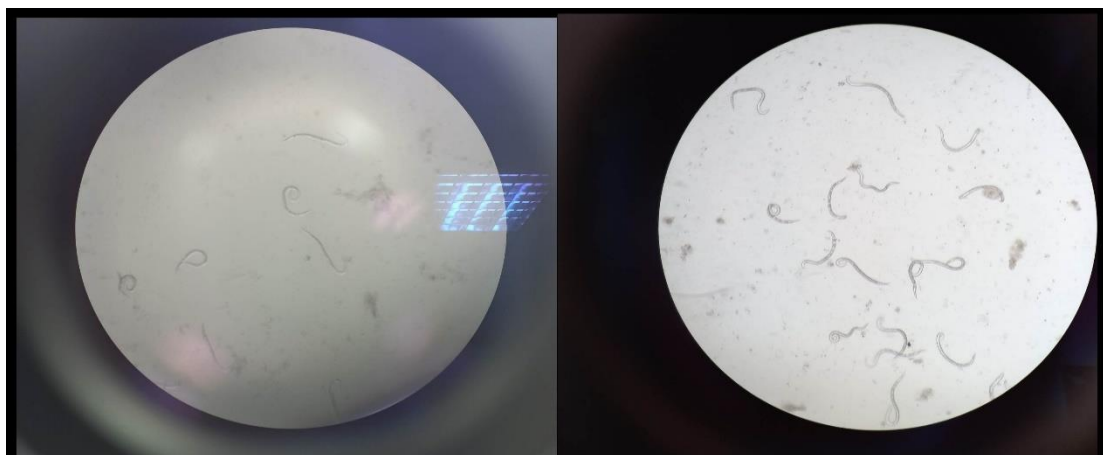


Εικόνα 17: Πλάκα πολυστυρενίου

3.8 Δοκιμές επίδρασης των ουσιών και των αιθέριων ελαίων στην παράλυση των προνυμφών *M. incognita* (συνεργιστική δράση)

Οι μεταχειρίσεις χρησιμοποιήθηκαν ανά δυο σε σχεδόν όλους τους συνδυασμούς με σκοπό να γίνει η μελέτη συνεργιστικής ή ανταγωνιστικής δράσης τους στην παράλυση των προνυμφών. Για την παρασκευή του εκάστοτε δυαδικού μίγματος, το κάθε συστατικό συμμετείχε σε συγκέντρωση πρόκλησης παράλυσης μικρότερη του EC₅₀. Έτσι, η *trans*-anethole ελέγχθηκε σε συγκέντρωση 100 μl/L, η thymol σε συγκέντρωση 250 μl/L, το αιθέριο έλαιο της λεβάντας Α και Β σε συγκέντρωση 125 μl/L και τέλος, το υδατικό εκχύλισμα της *M. azedarach* σε συγκέντρωση 125 mg/L. Τα μητρικά διαλύματα παρασκευάστηκαν σε συγκέντρωση τετραπλάσια της ελέγχου για την κάθε ουσία ξεχωριστά. Τα διαλύματα των δυαδικών μιγμάτων αναμείχθηκαν μεταξύ τους σε αναλογία 1:1 (v/v) και τοποθετήθηκαν εντός των πηγαδιών της πλάκας

πολυστυρενίου σε συνδυασμό με το αιώρημα νηματωδών σε αναλογία 1:1 (v/v). Ο αριθμός των νηματωδών που τοποθετήθηκε εντός κάθε πηγαδιού ήταν περίπου 25 και στις πλάκες τοποθετήθηκε καπάκι. Επιπρόσθετα, δίπλα από την κάθε μεταχείριση, εμβαπτίστηκαν νηματώδεις σε H₂O ώστε να ελεγχθεί η καπνιστική δράση. Εν συνεχεία, οι πλάκες μεταφέρθηκαν σε θάλαμο με θερμοκρασία 28 °C και η κινητικότητα των προνυμφών δευτέρου σταδίου αξιολογήθηκε με τη χρήση ανάστροφου μικροσκοπίου σε μεγέθυνση 40x, στις 24, 48 και 72 h από την αρχική εγκατάσταση του κάθε πειράματος. Η ταξινόμηση των προνυμφών J2 ήταν σε κινητές και ακίνητες. Για την αξιολόγηση του συνεργισμού όταν η αποτελεσματικότητα του μίγματος ήταν μεγαλύτερη, ή ίση, ή μικρότερη από εκείνη του αθροίσματος των μεμονωμένων δράσεων δόθηκε ο χαρακτηρισμός συνεργιστικής, ανταγωνιστικής ή αθροιστικής δράσης αντίστοιχα.



Εικόνα 18: Παρατήρηση νηματωδών σε ανάστροφο μικροσκόπιο

3.9 Στατιστική ανάλυση

Οι μεταχειρίσεις για τα πειράματα παράλυσης με τις μεμονωμένες ουσίες αλλά και με το συνδυασμό αυτών με σκοπό την μελέτη της κινητικότητας των προνυμφών J2 των νηματωδών επαναλήφθηκαν έξι φορές σε πειραματικό σχέδιο πλήρους τυχαιοποίησης. Το κάθε πείραμα διεξήχθη στο χρόνο δύο φορές. Όσον αφορά την κάθε δοκιμή, η ανάλυση των δεδομένων ήταν συνδυασμένη ως προς το χρόνο (δύο πειράματα). Γίνεται παρουσίαση των μέσων όρων των δύο χρονικών επαναλήψεων του πειράματος, διότι η συνδυασμένη ανάλυση της παραλλακτικότητας δεν έδειξε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ του χρόνου διεξαγωγής των πειραμάτων και των επεμβάσεων. Καθώς η παράλυση στο φορέα (νερό με αιθανόλη και Tween-20) δεν διέφερε από εκείνη που καταγράφηκε στο νερό, τα δεδομένα που αφορούν την παράλυση

εκφράστηκαν ως εκατοστιαία ποσοστά των τιμών παράλυσης που αντιστοιχούσαν στο μάρτυρα-νερό σύμφωνα με την εξίσωση των Schneider Orelli's η οποία είναι η εξής: Αύξηση παράλυσης % = {(παράλυση % στη μεταχείριση – παράλυση % στον μάρτυρα)/ (100- παράλυση % στο μάρτυρα)}*100.

Για τον υπολογισμό των τιμών EC₅₀, τα διορθωμένα κατά το μάρτυρα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) και εφαρμόστηκαν στη λογαριθμική – λογιστική εξίσωση των Seefeldt et al, 1995.

$$y = C + \frac{D - C}{1 + \left(\frac{x}{EC_{50}}\right)^b}$$

Όπου D = το υψηλότερο όριο, C = χαμηλότερο όριο, b= η κλίση της ευθείας στην τιμή EC₅₀ και EC₅₀ = η συγκέντρωση των ουσιών που απαιτείται για 50% αύξηση των ακίνητων J2 σε σχέση με αυτές που μετρούνται στο μάρτυρα. Στη παραπάνω εξίσωση συμμεταβολής, η συγκέντρωση των ουσιών (μl/L ή mg/L) ήταν ο ανεξάρτητος παράγοντας (x) και οι ακίνητες προνύμφες J2 (ποσοστιαία αύξηση επί του μάρτυρα) ο εξαρτημένος (y).

Σχετικά με τα δεδομένα παράλυσης έπειτα από εμβάπτιση στα δυαδικά μίγματα για τη μελέτη συνεργισμού, τα διορθωμένα κατά το μάρτυρα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) για P<0.05 για κάθε χρόνο εμβάπτισης (24, 48 και 72 h).

IV. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Χημική σύσταση αιθέριου ελαίου λεβάντας (δείγμα Α και δείγμα Β)

Η χημική ανάλυση από το αιθέριο έλαιο λεβάντας από το δείγμα Α και δείγμα Β έδειξε πως στο δείγμα Α ταυτοποιήθηκαν 54 συστατικά στο 98,92% του συνόλου. Τα κύρια συστατικά είναι το linalyl anthranilate (26,27%), η β-linalool (24,63%) και ακολουθούν τα *trans*-β-ocimene, β-ocimene, (±)-lavandulyl acetate, 4-terpineol, camphol, caryophyllene και eucalyptol (p-cineole). Επίσης, στο δείγμα Β ταυτοποιήθηκαν 57 συστατικά που αντιστοιχούν στο 99,47% του συνόλου. Τα κύρια συστατικά είναι η β-linalool (43,28%) και eucalyptol (p-cineole) (22,12%) και ακολουθούν τα α-terpineol και germacrene D. Στους παρακάτω πίνακες (Πίνακα 4 και Πίνακας 5) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που αφορούν τη σύσταση και την εκατοστιαία περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου λεβάντας στο δείγμα Α και δείγμα Β.

Πίνακας 4: Σύσταση και εκατοστιαία περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου λεβάντας (Δείγμα Α)

Συστατικά	Έκλυση Rt	Περιεκτικότητα (%)
2-Thujene	6,85	0,13
d-α-Pinene	7,08	0,40
Camphene	7,57	0,23
Sabinene (4-Thujene)	8,26	0,23
β-Pinene	8,38	0,39
1-Octen-3-ol	8,45	0,13
n-Octanone-3	8,59	0,44
β-Myrcene	8,71	0,57
Butanoic acid, butyl ester	8,88	0,08
3-Octanol	8,93	0,08
α-Fellandrene	9,19	0,09
3-Carene	9,26	0,75
n-Hexyl acetate	9,34	0,18
Terpinolene	9,50	0,05
o-Cymene	9,70	0,79

D-Limonene	9,83	0,58
Eucalyptol (p-Cineole)	9,91	2,74
trans-β-Ocimene	10,01	6,15
β-Ocimene	10,30	4,92
γ -Terpinene	10,61	0,24
cis- β -Terpineol	10,95	0,19
α - Terpinolen	11,32	0,31
β-Linalool	11,70	24,63
1-Octen-3-yl- acetate	11,85	0,80
cis- β -Terpineol	12,31	0,04
Myrtenol	12,64	0,05
Camphor, (1R,4R)-(+)-	12,85	1,34
($\pm$)-Lavandulol	13,24	0,88
Camphol	13,45	3,43
(-)-4-Terpineol	13,64	4,08
Ethyl linalool	13,84	0,67
α -Terpineol	13,96	0,99
L-isopulegol	14,72	0,23
Linalyl anthranilate	15,14	26,27
Bergamol	15,58	0,03
($\pm$)-Lavandulyl acetate	15,82	5,67
p-Cymen-3-ol	16,09	0,64
Nerol acetate	17,37	0,80
(R)-lavandulyl acetate	17,87	0,13
Farnesene	17,95	0,11
<i>trans</i> - α - Bergamotene	18,23	0,03

α-Santalene	18,58	1,37
Caryophyllene	18,64	3,44
α -Bergamotene	18,83	0,55
Isocaryophyllene	19,04	0,07
(E)- β -Farnesene	19,14	0,77
β -Caryophyllen	19,30	0,22
Germacrene D	19,76	0,97
β -Bisabolene	20,18	0,06
γ -Cadinene	20,32	0,35
β -(Z)-Santalol	20,45	0,12
Caryophyllene oxide	21,58	0,35
Cadinol T	22,56	0,12

Πίνακας 5: Σύσταση και εκατοστιαία περιεκτικότητα αιθέριου ελαίου λεβάντας (Δείγμα Β)

Συστατικά	Έκλυση Rt	Περιεκτικότητα (%)
2-Thujene	6,85	0,03
d- α -Pinene	7,08	0,92
Camphene	7,58	0,13
Sabinene (4-Thujene)	8,24	0,69
β-Pinene	8,39	1,88
β-Myrcene	8,71	1,05
3-Carene	9,27	0,02
Terpinolene	9,50	0,11
o-Cymene	9,70	0,03
Eucalyptol (p-Cineole)	9,93	22,12
β -Ocimene	10,30	0,14
γ -Terpinene	10,61	0,20
cis- β -Terpineol	10,94	0,35

E-Linalool oxide (furan)	11,36	0,23
cis-Furan linalool oxide	11,45	0,02
β-Linalool	11,72	43,28
1-Octen-3-yl- acetate	11,85	0,02
cis-β-Terpineol	12,31	0,02
Myrtenol	12,64	0,03
Camphor	12,85	0,39
Camphol	13,45	1,24
(-)-4-Terpineol	13,64	0,44
L-isopulegol	14,72	0,06
Borneol, acetate, (1S,2R,4S)-(-)-	15,90	1,28
exo-2- Hydroxycineole acetate	16,99	0,10
Eugenol	17,29	0,96
alfa.-Copaene	17,78	0,30
β-Elemene, (-)-	18,02	0,95
α-Cubebene	18,12	0,07
Caryophyllene	18,64	0,14
Cedrene	18,74	0,05
α-Bergamotene	18,83	1,71
α-Guaiene	18,89	0,70
E-β-Farnesene	19,14	0,13
Humulene, (α-Caryophyllene)	19,30	0,56
β-Cubebene	19,41	0,40
Germacrene D	19,76	2,24
γ-Elemene	20,02	0,57
γ-Cadinene	20,31	2,52

Azulene, (α-Bulnesene)	20,11	1,40
δ -Cadinene	20,38	0,18
L-calamenene	20,44	0,26
(-)-Spathulenol	21,45	1,14
Caryophyllene oxide	21,56	0,17
α -Muurolene	21,74	0,15
Humulene epoxide 2	22,02	0,07
(-)-Cubenol	22,09	0,86
(-)-Spathulenol	22,38	0,10
Cadinol T	22,51	5,77
β -Eudesmol	22,76	0,43
Alloaromadendrene oxide-(2)	22,83	0,10
Ent-Spathulenol	22,99	0,10
Ledene oxide-(II)	23,36	0,15
6-Isopropenyl- 4,8a-dimethyl- 1,2,3,5,6,7,8,8a- octahydro- naphthalen-2-ol	23,62	0,10
<i>trans</i> - Longipinocarveol	23,92	0,20

4.2 Επίδραση του δυαδικού μίγματος thymol και *trans*-anethole στην πρόκληση παράλυσης σε προνύμφες *M. incognita*

Στην παρούσα εργασία, αρχικά μελετήθηκε η νηματωδοκτόνος δράσης της thymol και *trans*-anethole με σκοπό τη διερεύνηση της συνεργιστικής τους δράσης. Οι ουσίες αυτές δοκιμάστηκαν αρχικά μεμονωμένες και επιλέχθηκαν οι συγκεντρώσεις που παρουσίαζαν θνησιμότητα κάτω του 50%. Οι δόσεις που επιλέχθηκαν ήταν 100 και

250 $\mu\text{L/L}$ για την *trans*-anethole και thymol, αντίστοιχα. Οι ουσίες δοκιμάστηκαν για τρεις χρόνος εμφάνισης (24, 48, 72 h) και τα αποτελέσματα παράλυσης των προνυμφών παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6) ο οποίος εμπεριέχει και τα αποτελέσματα που λήφθηκαν για την καπνιστική δράση των ουσιών.

Πίνακας 6: Συνεργιστική και ανταγωνιστική δράση που παρατηρήθηκε μεταξύ της *trans*-anethole και thymol εναντίον *M. incognita*

Συνεργιστική και ανταγωνιστική δράση που παρατηρήθηκε μεταξύ της <i>trans</i> -anethole και thymol εναντίον <i>M. incognita</i>					
J2 παράλυση εναντίον μάρτυρα, % (± SD) (n = 4)					
	Συγκέντρωση (μl/L)	Παρατήρηση ^a	Αναμενόμενο αποτέλεσμα ^b	Στατιστική σημαντικότητα ^c	Δράση
Συνδυασμός <i>trans</i> -anethole/thymol στο πηγάδι ελέγχου					
24h	100/250	17 ± 5.0	6.6 ± 2.2	**	Συνεργισμός
48h		33 ± 7.8	14.3 ± 5.3	**	Συνεργισμός
72h		51 ± 3.2	38.6 ± 16.0	*	Αθροιστική δράση
Συνδυασμός <i>trans</i> -anethole/thymol στην καπνιστική δράση					
24h	100/250	2 ± 2.4	2.7 ± 1.9	*	Αθροιστική δράση
48h		40 ± 14.0	26.7 ± 12.1	*	Αθροιστική δράση
72h		37 ± 8.5	50.0 ± 13.9	*	Αθροιστική δράση

- Παρατήρηση παράλυσης ^a %, αφαιρέθηκε η φυσική παράλυση στο μάρτυρα, έπειτα από εμφάνιση των προνυμφών J2 σε συνδυασμό διαλυμάτων τερπενίων
- Αναμενόμενη παράλυση ^b %, διορθώθηκε σύμφωνα με το μάρτυρα, υπολογίστηκε ως το άθροισμα της παράλυσης που παρατηρήθηκε μετά την εμφάνιση των προνυμφών J2 σε καθαρά διαλύματα τερπενίων
- Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ παρατηρούμενης και αναμενόμενης παράλυσης όπως παρουσιάζεται από κάθε σειρά στον πίνακα ($P < 0.05$). * Καμία σημαντική διαφορά, ** σημαντική διαφορά

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η αύξηση του χρόνου εμφάνισης προκάλεσε αύξηση της παράλυσης των προνυμφών J2. Παρατηρήθηκε ότι η παράλυση που παρουσιάστηκε στα δυαδικά μίγματα ήταν στατιστικά σημαντικότερη στην περίπτωση *trans*-anethole/thymol και για τις 24 και 48 h συγκρίνοντας με το άθροισμα της μεμονωμένης δράσης, αλλά στις 72 h ο συνεργισμός σταμάτησε να υπάρχει. Όσον αφορά την καπνιστική δράση, δηλαδή τους νηματώδεις που είχαν εμβαπτιστεί σε νερό σε παρακείμενα πηγάδια των μεταχειρίσεων, παρουσιάστηκε αθροιστική δράση για

όλες τις ημερομηνίες αξιολόγησης. Άρα, ο συγκεκριμένος συνδυασμός ουσιών παρουσίασε συνεργιστική δράση εναντίον των νηματωδών με εμβάπτιση στα διαλύματα ελέγχου για δυο ημέρες.

4.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου λεβάντας (δείγμα Α) με *trans-anethole* στην παράλυση των προνυμφών *M. incognita*

Εν συνεχεία, μελετήθηκε η συνδυαστική δράση της *trans-anethole* με το αιθέριο έλαιο λεβάντας (δείγμα Α) για την μελέτη παρουσίας συνεργιστικής, ανταγωνιστικής ή αθροιστικής δράσης. Οι ουσίες αυτές δοκιμάστηκαν αρχικά μεμονωμένες και επιλέχθηκαν οι συγκεντρώσεις που παρουσίαζαν θνησιμότητα κάτω του 50%. Οι δόσεις που επιλέχθηκαν ήταν 125 και 125 $\mu\text{L/L}$ για την *trans-anethole* και το αιθέριο έλαιο λεβάντας (δείγμα Α), αντίστοιχα. Οι ουσίες δοκιμάστηκαν για τρεις χρόνους εμβάπτισης (24, 48, 72 h) και τα αποτελέσματα παράλυσης των προνυμφών παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7) ο οποίος εμπεριέχει και τα αποτελέσματα που λήφθηκαν για την καπνιστική δράση των ουσιών.

Πίνακας 7: Συνεργιστική και ανταγωνιστική δράση *trans-anethole* και αιθέριο έλαιο λεβάντας ουσία Α εναντίον των *M. incognita*

Συνεργιστική και ανταγωνιστική δράση που παρατηρήθηκε μεταξύ της <i>trans-anethole</i> και αιθέριο έλαιο λεβάντας (δείγμα Α) εναντίον <i>M. incognita</i>					
J2 παράλυση εναντίον μάρτυρα, % (48 h) (± SD) (n = 4)					
	Συγκέντρωση (μl/L)	Παρατήρηση ^a	Αναμενόμενο αποτέλεσμα ^b	Στατιστικά σημαντική διαφορά ^c	Δράση
Συνδυασμός <i>trans-anethole</i> /αιθέριο έλαιο λεβάντας (ουσία Α) στο πηγάδι ελέγχου					
24h	125/125	57 ± 15	4 ± 3.1	**	Συνεργισμός
48h		60 ± 15.4	15 ± 4.6	**	Συνεργισμός
72h		68 ± 11.1	31 ± 7.1	**	Συνεργισμός
Συνδυασμός <i>trans-anethole</i> /αιθέριο έλαιο λεβάντας (ουσία Α) καπνιστική δράση					
24h	125/125	45 ± 9.9	18 ± 5.5	**	Συνεργισμός
48h		48 ± 11.4	32 ± 7.6	**	Συνεργισμός
72h		56 ± 13.1	66 ± 24.2	*	Αθροιστική δράση

- Παρατήρηση παράλυσης^a %, αφαιρέθηκε η φυσική παράλυση στο μάρτυρα, έπειτα από εμβάπτιση των προνυμφών J2 σε συνδυασμό σε συνδυασμό *trans-anethole* και εκχυλισμάτων.
- Αναμενόμενη παράλυση^b %, διορθώθηκε σύμφωνα με το μάρτυρα, υπολογίστηκε ως το άθροισμα της παράλυσης που παρατηρήθηκε μετά την εμβάπτιση των προνυμφών J2 σε καθαρά διαλύματα (*trans-anethole* ή εκχυλισμάτων).

- Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ παρατηρούμενης και αναμενόμενης παράλυσης όπως παρουσιάζεται από κάθε σειρά στον πίνακα ($P < 0,05$). * Καμία σημαντική διαφορά, ** σημαντική διαφορά

Από τον παραπάνω πίνακα μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η αύξηση του χρόνου προκάλεσε αύξηση της παράλυσης των προνυμφών J2. Η *trans-anethole* μαζί με το αιθέριο έλαιο λεβάντας (δείγμα Α) παρουσίασαν καθ' όλη τη διάρκεια των παρατηρήσεων συνεργιστική δράση. Σχετικά με την καπνιστική δράση παρατηρήθηκε συνεργισμός στις 24 και 48 h που όμως σταμάτησε στις 72 h.

4.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου λεβάντας (δείγμα Β) με *trans-anethole* στην παράλυση των προνυμφών *M. incognita*

Στον Πίνακα 8 παρουσιάζεται η επίδραση στην κινητικότητα των J2, μίγματος *trans-anethole* και αιθέριο έλαιο λεβάντας (δείγμα Β) για χρονικό διάστημα 24, 48 και 72 h. Ο συνδυασμός των παραπάνω ουσιών παρουσίασε συνεργιστική δράση σε όλες τις χρονικές περιόδους των παρατηρήσεων ωστόσο, παρουσίασε αθροιστική δράση στα πηγάδια που ελέγχουν την καπνιστική δράση.

Πίνακας 8: Συνεργιστική και ανταγωνιστική δράση μεταξύ της *trans-anethole* και αιθέριο έλαιο λεβάντας ουσία B εναντίον *M.incognita*

Συνεργιστική και ανταγωνιστική δράση που παρατηρήθηκε μεταξύ της <i>trans-anethole</i> και αιθέριο έλαιο λεβάντας (δείγμα B) εναντίον <i>M.incognita</i>					
J2 παράλυση εναντίον μάρτυρα, % (48 h) (± SD) (n = 4)					
	Συγκέντρωση (μl/L)	Παρατήρηση ^a	Αναμενόμενο αποτέλεσμα ^b	Στατιστικά σημαντική διαφορά ^c	Δράση
Συνδυασμός <i>trans-anethole</i> /αιθέριο έλαιο λεβάντας (ουσία B) στο πηγάδι ελέγχου					
24h	125/125	35 ± 3.8	13 ± 1.9	**	Συνεργισμός
48h		46 ± 5.6	28 ± 5.1	**	Συνεργισμός
72h		58 ± 7.9	43 ± 10.2	**	Συνεργισμός
Συνδυασμός <i>trans-anethole</i> /αιθέριο έλαιο λεβάντας (ουσία B) καπνιστική δράση					
24h	125/125	30 ± 10.7	28 ± 6.3	*	Αθροιστική δράση
48h		36 ± 9.2	36 ± 3.6	*	Αθροιστική δράση
72h		47 ± 11.4	41 ± 6.2	*	Αθροιστική δράση

- Παρατήρηση παράλυσης^a %, αφαιρέθηκε η φυσική παράλυση στο μάρτυρα, έπειτα από εμφύσηση των προνυμφών J2 σε συνδυασμό *trans-anethole* και εκχυλίσμάτων.
- Αναμενόμενη παράλυση^b %, διορθώθηκε σύμφωνα με το μάρτυρα, υπολογίστηκε ως το άθροισμα της παράλυσης που παρατηρήθηκε μετά την εμφύσηση των προνυμφών J2 σε καθαρά διαλύματα (*trans-anethole* ή εκχυλίσμάτων).
- Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ παρατηρούμενης και αναμενόμενης παράλυσης όπως παρουσιάζεται από κάθε σειρά στον πίνακα (P<0,05). * Καμία σημαντική διαφορά, ** σημαντική διαφορά

4.5 Επίδραση του υδατικού εκχυλίσματος *M. azedarach* με *trans-anethole* στην παράλυση των προνυμφών *M. incognita*

Τέλος, μελετήθηκε ο συνδυασμός ουσιών *trans-anethole* με το υδατικό εκχύλισμα από *M. azedarach* σε συγκεντρώσεις ελέγχου 125 μ L/L και 125 mg/L , αντίστοιχα. Τα δυαδικά μίγματα δοκιμάστηκαν για τρεις χρόνους εμφύσησης (24, 48, 72 h) και τα αποτελέσματα παράλυσης των προνυμφών παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 9) ο οποίος εμπεριέχει και την παράλυση όπως αξιολογήθηκε για την καπνιστική δράση των ουσιών.

Πίνακας 9: Συνεργιστική και ανταγωνιστική δράση *trans*-anethole και υδατικό εκχύλισμα *M. azedarach* εναντίον *M. incognita*

Συνεργιστική και ανταγωνιστική δράση που παρατηρήθηκε μεταξύ της <i>trans</i> -anethole και υδατικό εκχύλισμα <i>M. azedarach</i> εναντίον <i>M. incognita</i>					
J2 παράλυση εναντίον μάρτυρα, % (48 h) (± SD) (n = 4)					
	Συγκέντρωση (μl/L & mg/L)	Παρατήρηση ^a	Αναμενόμενο αποτέλεσμα ^b	Στατιστικά σημαντική διαφορά ^c	Δράση
Συνδυασμός <i>trans</i> -anethole/ υδατικό εκχύλισμα <i>M. azedarach</i> στο πηγάδι ελέγχου					
24h	125/125	53 ± 7.8	5 ± 3.8	**	Συνεργισμός
48h		60 ± 7.1	19 ± 3.7	**	Συνεργισμός
72h		68 ± 3.9	29 ± 8.4	**	Συνεργισμός
Συνδυασμός <i>trans</i> -anethole/ υδατικό εκχύλισμα <i>M. azedarach</i> καπνιστική δράση					
24h	125/125	42 ± 13.9	27 ± 8.3	*	Αθροιστική δράση
48h		40 ± 6.8	36 ± 8.6	*	Αθροιστική δράση
72h		45 ± 8.6	43 ± 5.2	*	Αθροιστική δράση

- Παρατήρηση παράλυσης ^a %, αφαιρέθηκε η φυσική παράλυση στο μάρτυρα, έπειτα από εμφάνιση των προνυμφών J2 σε συνδυασμό *trans*-anethole και εκχυλισμάτων.
- Αναμενόμενη παράλυση ^b %, διορθώθηκε σύμφωνα με το μάρτυρα, υπολογίστηκε ως το άθροισμα της παράλυσης που παρατηρήθηκε μετά την εμφάνιση των προνυμφών J2 σε καθαρά διαλύματα (*trans*-anethole ή εκχυλισμάτων).
- Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ παρατηρούμενης και αναμενόμενης παράλυσης όπως παρουσιάζεται από κάθε σειρά στον πίνακα (P<0,05). * Καμία σημαντική διαφορά, ** σημαντική διαφορά

Ο χρόνος έκθεσης των νηματωδών στις συγκεντρώσεις ελέγχου είναι ανάλογος με την αύξηση των συγκεντρώσεων, ειδικότερα παρατηρείται αύξηση της παράλυσης όσο ο χρόνος αυξάνεται. Επίσης, είναι ιδιαίτερα σημαντικό ότι εμφανίζεται υψηλό ποσοστό παράλυσης ήδη από τις 24 h. Η συνεργιστική δράση του δυαδικού μείγματος της *trans*-anethole/υδατικό εκχύλισμα *M. azedarach* παρουσιάζοταν καθ' όλη τη διάρκεια. Στα παρακείμενα πηγάδια από τη συγκέντρωση ελέγχου, παρουσιάζοταν αθροιστική δράση.

V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η γεωργία παρέχει τροφή για δισεκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως και αποτελεί το βασικό τομέα για την παγκόσμια αλυσίδα εφοδιασμού και την οικονομική ανάπτυξη. Λαμβάνοντας υπόψιν την ταχεία αύξηση του πληθυσμού, η γεωργία απαιτεί στρατηγικές που διευκολύνουν την αύξηση της παραγωγικότητας, της διαθεσιμότητας και της ασφάλειας των τροφίμων για την αποφυγή μιας παγκόσμιας επισιτιστικής κρίσης. Υπό αυτό το πρίσμα, η Ευρωπαϊκή Ένωση υιοθέτησε την Ευρωπαϊκή Πράσινη Συμφωνία που στοχεύει να μετατρέψει την γεωργία σε ένα πιο βιώσιμο σύστημα μέσω της στρατηγικής «Farm to Fork», δηλαδή «από την Φάρμα στο Πιάτο». Ειδικότερα, η Ευρωπαϊκή Ένωση φιλοδοξεί να προστατεύσει, να διατηρήσει και να ενισχύσει το φυσικό περιβάλλον, μετριάζοντας και μειώνοντας τις επιπτώσεις των ανθρώπινων δραστηριοτήτων στο περιβάλλον. Αυτή η στρατηγική επιδιώκει να μειώσει σημαντικά την χρήση και κατά συνέπεια, τους κινδύνους των χημικών προϊόντων και θέτει ως πρώτο στόχο μείωση κατά 50% στη συνολική χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων έως το 2030, αναπτύσσοντας και χρησιμοποιώντας καινοτόμους τρόπους για την προστασία της βιωσιμότητας των συστημάτων τροφίμων στη γεωργία. Ωστόσο, η εύρεση καλύτερου και πιο βιώσιμου τρόπου φυτοπροστασίας, αποτελεί πρόκληση (Catani et al., 2023; Silva et al., 2022).

Αν και λόγω των διαστάσεων τους οι νηματώδεις δεν είναι ορατοί με το ανθρώπινο μάτι, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή και την απόδοση των καλλιεργειών (Catani et al., 2023). Οι νηματώδεις ανήκουν στους πιο περίπλοκους και πολυάριθμους οργανισμούς στον πλανήτη. Η εξάπλωση τους είναι ευρεία λόγω της ικανότητάς τους να προσαρμόζονται εύκολα λόγω της εσωτερικής και εξωτερικής τους μορφολογίας. Οι *Meloidogyne* spp. προκαλούν σημαντική ζημιά σε περισσότερα από 5000 είδη φυτών και στην πραγματικότητα, είναι από τις κύριες αιτίες παγκόσμιων απωλειών ετήσιων καλλιεργειών με συνέπεια απώλειες εκατομμυρίων ευρώ. Οι νηματώδεις αντιμετωπίζονται συνήθως με συνδυασμό μεθόδων στο πλαίσιο ενός ολοκληρωμένου συστήματος διαχείρισης. Αν και πολλά συνθετικά γεωργικά φάρμακα έχουν χρησιμοποιηθεί κατά το παρελθόν ως μέσο αντιμετώπισης, λίγα εξακολουθούν να είναι εμπορικά και διαθέσιμα σύμφωνα με την ευρωπαϊκή νομοθεσία (N. G. Ntalli et al., 2020). Τα πιο συνηθισμένα που χρησιμοποιούνται είναι τα καρβαμδικά, το oxamyl και διχλωροπροπένιο (1,3-D). Παρά τα πλεονεκτήματα που μπορεί να παρουσιάζουν, τα χημικά προϊόντα ενέχουν πιθανούς κινδύνους και έχουν

άμεσες συνέπειες στο περιβάλλον λόγω των μεθόδων εφαρμογής τους στο έδαφος, με αποτέλεσμα να επηρεάζουν το νερό και να παρουσιάζουν έμμεσες επιπτώσεις στην υγεία και τα οικοσυστήματα των ζωντανών οργανισμών, συμπεριλαμβανομένων και των ανθρώπων. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει την επιτακτική ανάγκη για εύρεση λιγότερο τοξικών και φιλικών προς το περιβάλλον υποκατάστατων για εμπορική χρήση σκευασμάτων. Η αναζήτηση εναλλακτικών μεθόδων περιλαμβάνει τη χρήση φυτικών εκχυλισμάτων με νηματωδοκτόνες ιδιότητες. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα αιθέρια έλαια, τα οποία λόγω των ιδιοτήτων τους, έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση των εντόμων, των μυκήτων, των βακτηρίων και των νηματωδών. Τα αιθέρια έλαια είναι προϊόντα που λαμβάνονται μέσω της χημικής εκχύλισης ή υδροαπόσταξης από αρωματικά φυτά. Τα φυτά στην πραγματικότητα, εκκρίνουν δευτερογενείς μεταβολίτες ως αμυντική στρατηγική που τα καθιστά ανταγωνιστικά στο δικό τους περιβάλλον. Τα αιθέρια έλαια σχηματίζονται από μια ποικιλία πτητικών ενώσεων που είναι υπεύθυνες για το άρωμα τους και τη χημική τους σύνθεση. Τα κοινά συστατικά συμπεριλαμβάνουν τερπένια, σεσκιτερπένια, φαινολικές ενώσεις, κ.ά.. Μέχρι στιγμής, οι περισσότερες έρευνες έχουν δοκιμαστεί *in vitro* και λίγες δοκιμές έχουν πραγματοποιηθεί *in vivo* (Ajith et al., 2020; Catani et al., 2023; N. G. Ntalli et al., 2020).

Πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για να αξιολογήσουν τη χρήση διαφόρων φυτικών ουσιών προϊόντων φυτικής προέλευσης για την αντιμετώπιση των *Meloidogyne* spp. Πιο συγκεκριμένα, το φυτό *M. azedarach* L. παρουσιάζει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων. Εκχυλίσματα από διάφορα μέρη του παρουσιάζουν νηματωδοκτόνο δράση. Πρόσφατα βρέθηκε ότι τα καρβοξυλικά οξέα και οι αλδεΐδες από τους καρπούς τους έχουν αποδεδειγμένα ισχυρή νηματωδοκτόνο δράση. Επιπλέον, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε καλλιέργεια αγγουριού βρέθηκε ότι η επέμβαση με *M. azedarach* οδηγεί σε άμεσο έλεγχο πληθυσμών του *M. incognita*, δρώντας άμεσα ως νηματωδοκτόνο, μειώνοντας τη δραστηριότητα από τα αντιοξειδωτικά ένζυμα και ενεργοποιώντας την άμυνα του ξενιστή (Cavoski et al., 2012). Επίσης, σε πείραμα που έχει διεξαχθεί με αιθέριο έλαιο λεβάντας βρέθηκε ισχυρή δράση εναντίον του κομβονηματώδους *M. incognita*. Πιο συγκεκριμένα, ένα υδατικό παραπροϊόν από εκχύλιση ατμών-πίεσης αιθέριου ελαίου λεβάντας είχε ισχυρή *in vitro* δράση κατά του *M. javanica* τόσο όσον αφορά τη θνησιμότητα των J2 αλλά και την εκκόλαψη αυτών. Επίσης, το συγκεκριμένο παραπροϊόν μείωσε και την αναπαραγωγή των νηματωδών

όταν η εφαρμογή του πραγματοποιούνταν στο έδαφος (D'addabbo et al., 2021). Επιπρόσθετα, χρησιμοποίησαν αιθέρια έλαια από τα φυτά *Syzygium aromaticum*, *Cymbopogon flexuosus* και *Cymbopogon martinii* βρέθηκαν ως κύριες ενώσεις αυτών η eugenol, η citral, η geraniol και το geranyl acetate. Όλες οι ουσίες εξετάστηκαν για την δράση τους εναντίον των *M. graminicola* και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η geraniol προκάλεσε το μεγαλύτερο ποσοστό θνησιμότητας εναντίον των νηματωδών σε ποσοστό 78,75% σε συγκέντρωση 62.5 μl/L στις 72 h (Ajith et al., 2020). Όσον αφορά την χρήση υδατικών εκχυλισμάτων έχει ελεγχθεί η νηματωδοκτόνος δράση δύο τύπων εκχυλισμάτων (υδατικού και μεθανολικού) από πέντε φυτά (*Peganum harmala* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Taxus baccata* L., *Sinapis arvensis* L. και *Ricinus communis* L.) σε προνύμφες δευτέρου σταδίου *M. incognita*. Η αξιολόγηση τους έγινε *in vivo* σε τέσσερις δόσεις ελέγχου 40, 50, 50, και 80% για έκθεση σε τέσσερις χρόνους (12, 16, 24 και 32 h). Έπειτα από 32 h έκθεσης, τα δύο εκχυλίσματα έδειξαν ότι είχαν θετικά αποτελέσματα εναντίον των νηματωδών σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Ωστόσο, τα μεθανολικά εκχυλίσματα ήταν πιο αποτελεσματικά από τα υδατικά αφού παρουσίασαν θνησιμότητα έως 100% ενώ τα υδατικά έως 73,8% (Zaidat et al., 2020). Επίσης, αξιολογήθηκε το υδατικό εκχύλισμα από τους βολβούς του φυτού *A. sativum* και έδειξε υψηλή αποτελεσματικότητα εναντίον του *M. incognita* σε συγκέντρωση 1% έπειτα το πέρας 78 h. Στην ίδια έρευνα, αξιολόγησαν και το υδατικό εκχύλισμα από φύλλα του φυτού *Urtica dioica* και εμφάνισε υψηλή θνησιμότητα των νηματωδών σε επίπεδο 40 με 47% μετά από 24 h και έπειτα από 72 h παρουσίασε αποτελεσματικότητα σε ποσοστό 90, 85 και 82% για τις συγκεντρώσεις 1, 0,5 και 0,125% αντίστοιχα. Τα συγκεκριμένα φυτά έχουν παρουσιάσει ισχυρή αποτελεσματικότητα εναντίον των εντόμων, γι' αυτό το λόγο επιλέχθηκαν για να ερευνηθούν (Ismail et al., 2020).

Τρέχον στόχος είναι η ανάπτυξη φυτικών σκευασμάτων για την προστασία των καλλιεργειών από διάφορους εχθρούς. Όσον αφορά τα φυτικά προϊόντα, προσπαθούν σε διάφορους τομείς της φυτοπροστασίας να εντοπίσουν συνεργισμό σε φυτικά προϊόντα. Παράδειγμα αποτελεί ο τομέας της εντομολογίας, όπου λόγω της αυξημένης ανθεκτικότητας που εμφανίζουν τα έντομα στα χημικά σκευάσματα, στράφηκε σε άλλους τρόπους καταπολέμησης τους. Συνδυασμοί από αρωματικά φυτά όπως ο γλυκάνισος, το θυμάρι και ο κρόκος έχουν αποδειχθεί για συνεργιστική δράση. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι μείγματα διαφορετικών μονοτερπενίων έχουν υψηλή συνεργιστική δράση και ως επακόλουθο υψηλή αποτελεσματικότητα. Τα τερπένια, α-

pinene και β -caryophyllene έχουν αξιολογηθεί ως δυαδικό μείγμα εναντίον του εντόμου *Tribolium castaneum* και παρουσιάζουν συνεργιστική δράση και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αποτελεσματικό εντομοκτόνο (Chaubey, 2019). Επιπρόσθετα, σε άλλη μελέτη που διεξήχθη εναντίον του *Planococcus lilacinus* Cockerell βρέθηκε συνεργιστική δράση σε δυαδικά μίγματα από geraniol/L-menthol και L-limonene/geraniol μετά από 96 h. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα έρχονται σε συνάφεια με άλλη μελέτη η οποία έδειξε τη συνεργιστική δράση από τις κύριες ενώσεις του αιθέριου ελαίου από το φυτό *Artemisia absinthium*, δηλαδή των ενώσεων α -bisabolol, carvacrol και chamazulene σε αναλογία 1:1:1 εναντίον του εντόμου *Diaphorina citri* (Arokiyaraj et al., 2022). Τέλος, η εντομοκτόνος δράση εναντίον του *Trichoplusia ni*, του ελαίου από το δενδρολίβανο είναι συνέπεια της συνεργιστικής δράσης μεταξύ της 1,8- cineole και ($\pm$)-camphor, όπου η ($\pm$)-camphor, θεωρείται ως μια πολλά υποσχόμενη συνεργιστική ένωση (Tak et al., 2016).

Στον τομέα των νηματωδών, σε έρευνα που διεξήχθη βρέθηκε συνεργιστική δράση κάποιων τερπενίων εναντίον προνυμφών J2 του *M. incognita*, πιο συγκεκριμένα το δυαδικό μίγμα *trans*-anethole/geraniol ήταν ο πιο ισχυρός συνδυασμός, ακολουθούμενος από *trans*-anethole/eugenol, carvacrol/eugenol και geraniol/carvacrol (N. G. Ntalli et al., 2011a). Επιπλέον, σε καλλιέργεια πατάτας προστέθηκε υδατικό εκχύλισμα από το εξωτερικό περίβλημα του καρπού του *Punica granatum* με τα βακτήρια *B. subtilis* (Bs) και *B. pumilus* (Bp), για τον έλεγχο των κομβονηματωδών. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση των προνυμφών κατά 84% με το συνδυασμό Bs και το υδατικό εκχύλισμα, και μείωση κατά 82,3% με το συνδυασμό Bp και το υδατικό εκχύλισμα, άρα παρουσιάζεται συνεργιστική δράση (El-Nagdi et al., 2023).

Έτσι, με βάση τα παραπάνω, στην παρούσα εργασία αξιολογήθηκαν οι ουσίες αρχικά μεμονωμένες, και στη συνέχεια τα δυαδικά τους μίγματα για τη μελέτη συνεργιστικής, ανταγωνιστικής ή αθροιστικής δράσης. Οι ουσίες και τα αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η thymol, η *trans*-anethole, το αιθέριο έλαιο λεβάντας από δύο δείγματα Α και Β όπου παρουσίαζαν διαφορετική σύσταση σε άνθη και βλαστό που χαρακτηριζόταν από υψηλή περιεκτικότητα σε linolool κάτι που έρχεται σε συμφωνία με τη διεθνής βιβλιογραφία και τέλος, υδατικό εκχύλισμα από το φυτό *M. azedarach*. Τα συγκεκριμένα παρουσιάζουν νηματοδοκτόνο δράση ως μεμονωμένες μεταχειρίσεις ενώ όσον αφορά τους συνδυασμούς που μελετήθηκαν, ο πιο αποτελεσματικός εναντίον των *M. incognita* ήταν η *trans*-anethole με το αιθέριο έλαιο λεβάντας από το δείγμα Α

καθώς σε όλες τις παρατηρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στις 24, 48 και 72 h ο συνδυασμός παρουσίασε συνεργιστική δράση τόσο μετά από εμβάπτιση, όσο και σαν καπνιστική δράση. Επίσης, ο συνδυασμός *trans*-anethole και αιθέριο έλαιο λεβάντας από το δείγμα Β καθώς και ο συνδυασμός *trans*-anethole και υδατικό εκχύλισμα από το φυτό *M. azedarach* παρουσιάζουν συνεργιστική δράση στα πηγάδια ελέγχου και αθροιστική δράση στην καπνιστική δράση. Όσον αφορά την *trans*-anethole και την *thymol*, παρατηρείται συνεργισμός κατά τις πρώτες 48 h, ωστόσο έπειτα παρατηρείται η αθροιστική δράση. Συμπερασματικά, μπορούμε να διαπιστώσουμε ότι οι συνδυασμοί που χρησιμοποιήθηκαν παρουσίασαν αύξηση της παράλυσης των νηματωδών ανάλογη με την αύξηση του χρόνου. Από τις παραπάνω ενδείξεις προκύπτει ότι ο καλύτερος συνδυασμός είναι η χρήση της *trans*-anethole με το αιθέριο έλαιο λεβάντας από το δείγμα Α. Συμπερασματικά, ο συγκεκριμένος συνδυασμός ουσιών παρουσιάζει υψηλά ποσοστά παράλυσης των προνυμφών J2 κατά τη διάρκεια των μετρήσεων και θα μπορούσε να αποτελέσει συνδυασμό ουσιών για την αντιμετώπιση των *M. incognita*. Όσον αφορά το αιθέριο έλαιο λεβάντας λίγες έρευνες υπάρχουν σχετικά με τη δράση της εναντίον των κομβονηματωδών, σε έρευνα που έχει διεξήχθη βρέθηκε ότι το LC₅₀ ήταν 20.24 mg mL⁻¹ στις 48 h (Asadi Sardari et al., 2015). Το 1982 σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε βρέθηκε ότι η linalool που ήταν το κύριο συστατικό από το *Ocimum basilicum* είχε νηματωδοκτόνο δράση στους *M. incognita*. Σε έρευνα που διεξήχθη το 2000 δεν βρέθηκε νηματωδοκτόνος δράση από το αιθέριο έλαιο λεβάντας όταν το τμήμα εξαγωγής τους ήταν το φύλλωμα. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η συσσώρευση της περιεκτικότητας της linalool στη *L. angustifolia* βρίσκεται 10 φορές περισσότερη στις ταξιανθίες του φυτού (De et al., 2012). Τα δικά μας ευρήματα έρχονται σε αντίθεση καθώς το δείγμα Α παρουσιάζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα ενώ αποτελείται από 60% από βλαστό.

Εν κατακλείδι, με βάση τα συμπεράσματα της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής, κρίνεται ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα η περαιτέρω μελέτη της δράσης στο πεδίο των εξής συνδυασμών ουσιών: *trans*-anethole με αιθέριο έλαιο λεβάντας δείγμα Α, *trans*-anethole με αιθέριο έλαιο λεβάντας δείγμα Β και τέλος, *trans*-anethole με υδατικό εκχύλισμα *M. azedarach*. Επιπλέον, ιδιαίτερο ενδιαφέρον θα είχε και η αξιολόγηση της δράσης τους σε άλλα είδη νηματωδών. Παράλληλα, περαιτέρω μελέτη είναι αναγκαία για την επιβεβαίωση της επαναληψιμότητας των αποτελεσμάτων με βοτανικά είδη

διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης ή της μελέτης διακύμανσης στο χρόνο. Με βάση τέτοια αποτελέσματα θα μπορούν να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα.

Τα νέα νηματωδοκτόνα θα μπορούσαν να έχουν ελπιδοφόρες προοπτικές στην αγορά, συνδυάζοντας υψηλή νηματωδοκτόνο δράση με υψηλή περιβαλλοντική ασφάλεια που σχετίζεται με χαμηλή τοξικότητα σε οργανισμούς μη στόχους. Ωστόσο, παρά τις μελέτες και τα θετικά χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν τέτοια σκευάσματα, η αγορά νηματωδοκτόνων που προέρχονται από φυσικές ουσίες είναι ακόμη αρκετά περιορισμένη και τα σκευάσματα βασίζονται κυρίως σε ουσίες όπως η thymol, η geraniol και η eugenol. Η προώθηση και η εγκαθίδρυση τους στην αγορά περιορίζεται από κάποια σημαντικά ζητήματα. Αρχικά, παρατηρείται η έλλειψη πλήρους γνώσης και κατανόησης των βιοχημικών μηχανισμών δράσης τους στις θέσεις-στόχους, δηλαδή στους νηματώδεις. Επιπλέον, η πτητικότητα τους και η δύσκολη μεταφορά μέσω του νερού άρδευσης είναι επίσης ένας περιοριστικός παράγοντας που καθιστά επίσης απαραίτητη την ανάπτυξη αποτελεσματικών διαδικασιών σταθεροποίησης για να διασφαλιστεί η αργή απελευθέρωση και η υδατοδιαλυτότητα των δραστικών συστατικών (Catani et al., 2023; Laquale et al., 2015).

Εν κατακλείδι, η δράση που παρουσιάζει το αιθέριο έλαιο λεβάντας κατά των νηματωδών καθώς και τα δυαδικά μίγματα που ελέγχθηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον. Σημαντικό παράγοντα για την περαιτέρω έρευνα, εξέλιξη και ενσωμάτωση τους στην ολοκληρωμένη διαχείριση των *M. incognita* είναι ότι αποτελούν κομμάτι της εγχώριας χλωρίδας. Τα αποτελέσματα που εξήχθησαν από τη συγκεκριμένη διατριβή προσφέρουν τη δυνατότητα της περαιτέρω μελέτης φυσικών ουσιών και αιθέριων ελαίων, ως μια βιώσιμη λύση για την αντιμετώπιση της απόσυρσης πολλών χημικών σκευασμάτων από την Ευρωπαϊκή Ένωση και αποτελεί μια λύση για τη μείωση της ρύπανσης τους περιβάλλοντος.

VI. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agrios, G. (2004). Plant pathology: Fifth edition. *Plant Pathology: Fifth Edition*, 9780080473789, 831–837. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02037-6>
- Ajith, M., Pankaj, Shakil, N. A., Kaushik, P., & Rana, V. S. (2020). Chemical composition and nematicidal activity of essential oils and their major compounds against *Meloidogyne graminicola* (Rice Root-Knot Nematode). *Journal of Essential Oil Research*, 32(6), 526–535. <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1804469>
- Al-Banna, L., Darwish, R. M., & Aburjai, T. (2003). Effect of plant extracts and essential oils on root-knot nematode. *Phytopathologia Mediterranea*, 42(2), 123–128. https://doi.org/10.14601/PHYTOPATHOL_MEDITERR-1700
- Alonso-Gato, M., Astray, G., Mejuto, J. C., & Simal-Gandara, J. (2021). Essential oils as antimicrobials in crop protection. In *Antibiotics* (Vol. 10, Issue 1, pp. 1–12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010034>
- Anwar, A., Mohammad Mughal, N., Shahnaz, E., Banday, S., Bashir, T., Nisa, Q., & Jeelani, G. (2022). Management of Root-Knot Nematode, *Meloidogyne incognita* Dreaded Invading in Pointed Gourd (*Trichosanthes dioica* Roxb.) Crop Prone to Eastern U.P of India. In Bellé Cristiano & Kaspary Tiago (Eds.), *Nematodes - Recent Advances, Management and New Perspectives*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98923>
- Arokiyaraj, C., Bhattacharyya, K., & Reddy, S. G. E. (2022). Toxicity and synergistic activity of compounds from essential oils and their effect on detoxification enzymes against *Planococcus lilacinus*. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1016737>
- Asadi Sardari, A., Hojat Jalali, A. A., Bahraminejad, S., & Safaee, D. (2015). Effect of plant extracts on the mortality of root-knot nematodes' J2, *Meloidogyne javanica*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 48(4), 365–375. <https://doi.org/10.1080/03235408.2014.889342>
- Aviles-Gomez, J., Cristóbal-Alejo, J., Andrés, M. F. é., González-Coloma, A., Carnevali, G., Pérez-Brito, D., Moo-Koh, F. A., & Gamboa-Angulo, M. (2022). Nematicidal Screening of Aqueous Extracts from Plants of the

Yucatan Peninsula and Ecotoxicity. *Plants*, 11(16).
<https://doi.org/10.3390/plants11162138>

- Azlay, L., El Boukhari, M. E. M., Mayad, E. H., & Barakate, M. (2023). Biological management of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) : a review. In *Organic Agriculture* (Vol. 13, Issue 1, pp. 99–117). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s13165-022-00417-y>
- Back, M. A., Haydock, P. P. J., & Jenkinson, P. (2002). Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens. *Plant Pathology*, 51(6), 683–697. <https://doi.org/10.1046/J.1365-3059.2002.00785.X>
- Blasco, A. G., Roca, P. M., & Royo, F. J. S. (2021). Creation and validation of a temperature-based phenology model for *Meloidogyne incognita* on common bean. *Plants*, 10(2), 1–12. <https://doi.org/10.3390/plants10020240>
- Boix-Fayos, C., & de Vente, J. (2023). Challenges and potential pathways towards sustainable agriculture within the European Green Deal. In *Agricultural Systems* (Vol. 207). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2023.103634>
- Bukola Rukayah Aminu-Taiwo. (2017). *Biology and management of Meloidogyne incognita (KOFOID & WHITE, 1919) CHITWOOD, 1949 on Cucumis sativus L. Using crop rotation*. University of Ibadan.
- Caboni, P., Aissani, N., Cabras, T., Falqui, A., Marotta, R., Liori, B., Ntalli, N., Sarais, G., Sasanelli, N., & Tocco, G. (2013). Potent nematicidal activity of phthalaldehyde, salicylaldehyde, and cinnamic aldehyde against *Meloidogyne incognita*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1794–1803. <https://doi.org/10.1021/jf305164m>
- Caboni, P., Ntalli, N. G., Aissani, N., Cavoški, I., & Angioni, A. (2012). Nematicidal activity of (E, E)-2,4-decadienal and (E)-2-decenal from *Ailanthus altissima* against *Meloidogyne javanica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(4), 1146–1151. <https://doi.org/10.1021/jf2044586>
- Calderón-Urrea, A., Vanholme, B., Vangestel, S., Kane, S. M., Bahaji, A., Pha, K., Garcia, M., Snider, A., & Gheysen, G. (2016). Early development

of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *BMC Developmental Biology*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12861-016-0109-x>

- Castro-Toro, A. M., & Rivillas-Osorio, C. A. (2023). Bio regulation of *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood and *M. javanica* (Treub) Chitwood complex in coffee roots. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 39(2), 128–142. <https://doi.org/10.22267/rcia.223902.189>
- Catani, L., Manachini, B., Grassi, E., Guidi, L., & Semprucci, F. (2023). Essential Oils as Nematicides in Plant Protection—A Review. In *Plants* (Vol. 12, Issue 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants12061418>
- Cavoski, I., Chami, Z., Bouzebboudja, F., Sasanelli, N., Simeone, V., Mondelli, D., Miano, T., Sarais, G., Ntalli, N. G., & Caboni, P. (2012). *Melia azedarach* controls *Meloidogyne incognita* and triggers plant defense mechanisms on cucumber. *Crop Protection*, 35, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.01.011>
- Chaubey, M. K. (2019). European Journal of Biological Research Essential oils as green pesticides of stored grain insects. *European Journal of Biological Research*, 9(4), 202–244. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3528366>
- CHEN, J. xiang, & SONG, B. an. (2021). Natural nematicidal active compounds: Recent research progress and outlook. In *Journal of Integrative Agriculture* (Vol. 20, Issue 8, pp. 2015–2031). Editorial Department of Scientia Agricultura Sinica. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(21\)63617-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(21)63617-1)
- D’Addabbo, T., & Avato, P. (2021). Chemical Composition and Nematicidal Properties of Sixteen Essential Oils—A Review. *Plants*, 10(7), 1368. <https://doi.org/10.3390/plants10071368>
- D’addabbo, T., Laquale, S., Argentieri, M. P., Bellardi, M. G., & Avato, P. (2021). Nematicidal activity of essential oil from lavandin (*Lavandula × Intermedia emeric ex Loisel.*) as related to chemical profile. *Molecules*, 26(21). <https://doi.org/10.3390/molecules26216448>
- De, F., Antónia, F., Ferreira, M., & Meireles, C. (2012). *Biological activities of Lavandula angustifolia Mill. essential oil*. UNIVERSIDADE DE COIMBRA.

- D'Errico, G., Giacometti, R., Roversi, P. F., Prasad, L., & Woo, S. L. (2016). Root knot disease caused by *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 (Nematoda, Meloidogynidae) on tomato grown in soil-less crops in Italy. *Redia*, 99, 25–28. <https://doi.org/10.19263/REDIA-99.16.04>
- Dropkin, V. H. (1969). *CELLULAR RESPONSES OF PLANTS TO NEMATODE INFECTIONS*. www.annualreviews.org
- El-Gindi, A. Y., El-Shalaby, M. E., & Yassin, S. (2018). Effect of ten aromatic and medicinal plant extracts on mortality and egg hatching of root-knot. Effect of Water Extracts of some Aromatic and Medicinal Plants on Mortality and Egg Hatching of Root-knot Nematode, *Meloidogyne incognita* *in vitro* studies. In *Egypt. J. Agronematol* (Vol. 17, Issue 1).
- El-Nagdi, WafaaM. A., Youssef, MahmoudM. A., Abd-El-khair, H., Elkelany, U., Abd-Elgawad, MahfouzM. M., & Dawood, M. (2023). Effect of integration of two bacterial bioagents and a plant residue extract for biocontrolling root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* infesting potatoes. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 22(1), 67. https://doi.org/10.4103/epj.epj_119_22
- Elshafie, H. S., Camele, I., & Mohamed, A. A. (2023). A Comprehensive Review on the Biological, Agricultural and Pharmaceutical Properties of Secondary Metabolites Based-Plant Origin. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms24043266>
- Elsharkawy, M. M., Al-Askar, A. A., Behiry, S. I., Abdelkhalek, A., Saleem, M. H., Kamran, M., & Derbalah, A. (2022). Resistance induction and nematicidal activity of certain monoterpenes against tomato root-knot caused by *Meloidogyne incognita*. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.982414>
- Escobar, A., Pérez, M., Romanelli, G., & Blustein, G. (2020). Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(12), 9243–9269. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2020.11.009>

- Feyisa, B. (2021). Plant Pathology & Microbiology A Review on Root Knot Nematodes (RKNs): Impact and Methods for Control. *J Plant Pathol Microbiol*, 12, 547.
- Fotsing Yannick Stephane, F., & Kezetas Jean Jules, B. (2020). Terpenoids as Important Bioactive Constituents of Essential Oils. In De Oliveira Mozaniel Santana, Silva Sebastiao, & Almedia Da Costa Wanessa (Eds.), *Essential Oils - Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91426>
- Giné, A., López-Gómez, M., Vela, M. D., Ornat, C., Talavera, M., Verdejo-Lucas, S., & Sorribas, F. J. (2014). Thermal requirements and population dynamics of root-knot nematodes on cucumber and yield losses under protected cultivation. *Plant Pathology*, 63(6), 1446–1453. <https://doi.org/10.1111/ppa.12217>
- Grabau, Z. J., & Liu, C. (2021). *Meloidogyne incognita* management by nematicides in tomato production. *Journal of Nematology*, 53. <https://doi.org/10.21307/JOFNEM-2021-055>
- Gulzar, R. M. A., Rehman, A. U., Umar, U. U. D., Shahid, M., & Khan, M. F. (2022). Evaluation of genetic and induced resistance phenomena in cucumbers against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Plant Protection Science*, 58(4), 338–350. <https://doi.org/10.17221/130/2021-PPS>
- Haeyoung, N., Bong, S. K., & Jungbeom, K. (2019). Anther-derived callus induction based on culture medium, myo-inositol, AgNO₃ and Fe-EDTA in Seolhyang strawberries. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 11(1), 26–32. <https://doi.org/10.5897/jpbcs2018.0779>
- Hiroko Harada, Mika Ota, & Mio Tatsu. (2019). Changes in Procedures and Approval Criteria for Active Substances in Plant Protection and Biocidal Products in the European Union. *SUMITOMO KAGAKU*.
- Hunt, D. J., & Handoo, Z. A. (2009). Taxonomy, identification, and principal species. In *Root-knot Nematodes* (pp. 55–97). CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/9781845934927.0055>

- Hussey R.S, & Barker K.R. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Report*, 1025–1028.
- Hussein, R., & A. El-Anssary, A. (2019). Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants. In Builders Philip (Ed.), *Herbal Medicine*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76139>
- Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. In *Biological research* (Vol. 52, Issue 1, p. 39). NLM (Medline). <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Ismail, M., Fayyaz, S., Kowsar, A., Javed, S., Ali, I., Ali, S., Hussain, F., & Ali, H. (2020). Evaluation of nematocidal effects of some medicinal plant extracts against root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*). *Italian Journal of Agronomy*, 15(1). <https://doi.org/10.4081/ija.2020.1475>
- Lambert K., & Bekal S. (2002). Introduction to Plant-Parasitic Nematodes. *The Plant Health Instructor*.
- Laquale, S., Candido, V., Avato, P., Argentieri, M. P., & D'Addabbo, T. (2015). Essential oils as soil biofumigants for the control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. *Annals of Applied Biology*, 167(2), 217–224. <https://doi.org/10.1111/AAB.12221>
- Lu, P., Davis, R. F., Kemerait, R. C., Van Iersel, M. W., & Scherm, H. (2014). Ó The Society of Nematologists. In *Journal of Nematology* (Vol. 46, Issue 4).
- Ma Jianbing. (2012). *Effects of Meloidogyne Incognita, Soil Physical Parameters, and Thielaviopsis Basicola on Cotton Root Architecture and Plant Growth*. University of Arkansas.
- Ma Ochoa-Fuentes, Y., Alejandro-Rojas, G., Carlos Delgado-Ortiz, J., Cerna-Chavez, E., Alberto Aguirre-Urbe, L., Landeros-Flores, J., & Cepeda-Siller, M. (2019). In vitro evaluation of the nematicidal activity of Limonene, Allyl Isothiocyanate, Eucalyptol, β -Citronellol and Azadirachtin on *Meloidogyne incognita* (Nematoda, Meloidogynidae). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 22, 4000.

- Manjunatha T. Gowda, Rai A.B., & Singh B. (2017). *Root Knot Nematode: A threat to Vegetable Production and its Management* (Vol. 76). <https://www.researchgate.net/publication/292349827>
- Marinov, V., & Valcheva-Kuzmanova, S. (2015). Review on the pharmacological activities of anethole. *Scripta Scientifica Pharmaceutica*, 2(2), 14. <https://doi.org/10.14748/SSP.V2I2.1141>
- Mazid, *, Ta, K., & Mohammad F. (2011). Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. In *Review Article Biology and Medicine* (Vol. 3, Issue 2). www.biolmedonline.com
- Mbaluto, C. M., Vergara, F., Van Dam, N. M., & Martínez-Medina, A. (2021). Root infection by the nematode *Meloidogyne incognita* modulates leaf antiherbivore defenses and plant resistance to *Spodoptera exigua*. *Journal of Experimental Botany*, 72(22), 7909–7926. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab370>
- Mitkowski N.A., & Abawi G.S. (2003). Root-knot nematodes. *The Plant Health Instructor*.
- Mukhtar, T., & Kayani, M. Z. (2020). Comparison of the damaging effects of *Meloidogyne incognita* on a resistant and susceptible cultivar of cucumber. *Bragantia*, 79(1), 83–93. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20190359>
- Mwamula, A. O., Kabir, M. F., & Lee, D. (2022). A Review of the Potency of Plant Extracts and Compounds from Key Families as an Alternative to Synthetic Nematicides: History, Efficacy, and Current Developments. *Plant Pathology Journal*, 38(2), 53–77. <https://doi.org/10.5423/PPJ.RW.12.2021.0179>
- Nazim Punja. (2018). *The impact of Regulation (EC) No 1107/2009 on innovation and development of alternatives and new plant protection products*.
- Noriega, P. (2021). Terpenes in Essential Oils: Bioactivity and Applications. In Perveen Shagufta, Al-Taweel Aree, & Blumenberg Miroslav (Eds.), *Terpenes and Terpenoids*. Intechopen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93792>

- Ntalli, N. G., Ferrari, F., Giannakou, I., & Menkissoglu-Spiroudi, U. (2011a). Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against *Meloidogyne incognita* and the nematocidal activity of essential oils from seven plants indigenous to Greece. *Pest Management Science*, 67(3), 341–351. <https://doi.org/10.1002/ps.2070>
- Ntalli, N. G., Ozalexandridou, E. X., Kasiotis, K. M., Samara, M., & Golfopoulos, S. K. (2020). Nematocidal activity and phytochemistry of greek lamiaceae species. *Agronomy*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/agronomy10081119>
- Ntalli, N., Ratajczak, M., Oplos, C., Menkissoglu-Spiroudi, U., & Adamski, Z. (2016). Acetic Acid, 2-Undecanone, and (E)-2-Decenal Ultrastructural Malformations on *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology*, 48(4), 248–260.
- 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*.
- Oliveira, C. M. G., Lopes, E. A., Cunha, T. G. da, Visôto, L. E., Pinheiro, L. M., God, P. I. V. G., & Rosa, J. M. O. (2021). Distribution of *Meloidogyne* species in carrot in brazil. *Ciencia Rural*, 51(5). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200552>
- Osunlola, O. S., & Fawole, B. (2014). *The Development and Life Cycle of Meloidogyne incognita in sweetpotato (Ipomoea batatas) cv TIS 4400-2* (Vol. 7, Issue 9). www.iosrjournals.org
- Perry E.J., & Ploeg A.T. (2010). Nematodes, Integrated Pest Management for Home Gardeners and Landscape Professionals. In 7489. University of California Statewide IPM Program.
- Pu, W., Xiao, K., Luo, S., Zhu, H., Yuan, Z., Gao, C., & Hu, J. (2022). Characterization of Five *Meloidogyne incognita* Effectors Associated with PsoRPM3. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3). <https://doi.org/10.3390/ijms23031498>
- Raaijmakers, J. M., Paulitz, T. C., Steinberg, C., Alabouvette, C., & Moënne-Loccoz, Y. (2009). The rhizosphere: A playground and battlefield

for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil*, 321(1–2), 341–361. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9568-6>

- Ravichandra N.G. (2014). *Horticultural Nematology* (1st ed.). Springer New Delhi.
- Sarir Ahmad, Mehrab Khan, & Ikram Ullah. (2022). Perspective Chapter: Integrated Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne*) Management Approaches. In Morales-Montor Jorje, Hugo Del Rio-Araiza Victor, & Hernadez-Bello Romel (Eds.), *Parasitic Helminths and Zoonoses - From Basic to Applied Research*. Intechopen.
- Sasanelli, N., Konrat, A., Migunova, V., Toderas, I., Iurcu-Straistaru, E., Rusu, S., Bivol, A., Andoni, C., & Veronico, P. (2021). Review on control methods against plant parasitic nematodes applied in southern member states (C zone) of the european union. In *Agriculture (Switzerland)* (Vol. 11, Issue 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/agriculture11070602>
- Saucet, S. B., Van Ghelder, C., Abad, P., Duval, H., & Esmenjaud, D. (2016). Resistance to root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. in woody plants. In *New Phytologist* (Vol. 211, Issue 1, pp. 41–56). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/nph.13933>
- Silva Faria Jorge Miguel. (2015). *Essential oils as anti-nematode agents and their influence on in vitro nematode / plant co-cultures*. Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências.
- Silva, V., Yang, X., Fleskens, L., Ritsema, C. J., & Geissen, V. (2022). Environmental and human health at risk – Scenarios to achieve the Farm to Fork 50% pesticide reduction goals. *Environment International*, 165. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2022.107296>
- Sithole, N. T., Kulkarni, M. G., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2021). Potential nematicidal properties of plant extracts against *Meloidogyne incognita*. *South African Journal of Botany*, 139, 409–417. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.02.014>
- Sobkowiak, R., Bojarska, N., Krzyżaniak, E., Wągiel, K., & Ntalli, N. (2018). Chemoreception of botanical nematicides by *Meloidogyne incognita* and *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Environmental Science*

and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes, 53(8), 493–502. <https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1462936>

- Subedi, S., Thapa, B., & Shrestha, J. (2020). Root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and its management: a review. *Journal of Agriculture and Natural Resources*, 3(2), 21–31. <https://doi.org/10.3126/janr.v3i2.32298>
- Tak, J. H., Jovel, E., & Isman, M. B. (2016). Comparative and synergistic activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil constituents against the larvae and an ovarian cell line of the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science*, 72(3), 474–480. <https://doi.org/10.1002/ps.4010>
- Tapia-Vázquez, I., Montoya-Martínez, A. C., De los Santos-Villalobos, S., Ek-Ramos, M. J., Montesinos-Matías, R., & Martínez-Anaya, C. (2022). Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) a threat to agriculture in Mexico: biology, current control strategies, and perspectives. In *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (Vol. 38, Issue 2). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03211-2>
- Thirumurugan Durairaj, Cholarajan Alagappan, Raja S.S. Suresh, & Vijayakumar Ramasamy. (2018). *Secondary Metabolites - Sources and Applications* (Vijayakumar Ramasamy & Raja Suresh, Eds.). IntechOpen.
- Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4–14. <https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>
- Wesemael, W. M. L., Viaene, N., & Moens, M. (2011). Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. *Nematology*, 13(1), 3–16. <https://doi.org/10.1163/138855410X526831>
- Zaidat, S. A. E., Mouhouche, F., Babaali, D., Abdessemed, N., De Cara, M., & Hammache, M. (2020). Nematicidal activity of aqueous and organic extracts of local plants against *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood in Algeria under laboratory and greenhouse conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00242-z>

- Zainab F. Mahmood, Sumayah Sami, & Dunya Muayed Ahmed. (2020). A Review about Lavender Importance. *Russian Journal of Biological Research*, 7(1). <https://doi.org/10.13187/ejbr.2020.1.14>

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο. (2009a). Κανονισμός 1107/2009. *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*, 50.
- Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο. (2009b). *Οδηγία 2009/128/EK* Ευρωπαϊκή Ένωση. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009L0128&qid=1684328867663>
- Ντάλλη Νικολέττα. (2010). Αντιμετώπιση των ριζόκομβων νηματωδών (*Meloidogyne incognita*) σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες με φυσικά προϊόντα και μελέτη της χημικής σύστασης αυτών. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.
- Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. (2023). <https://1click.minagric.gr/oneClickUI/frmFytoPro.zul>