



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ & ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ  
ΧΗΜΕΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

*‘In vitro αξιολόγηση κινητικότητας των ριζόκομβων νηματωδών (Meloidogyne incognita με την χρήση αιθέριου ελαίου λεβάντας (Levandula angustifolia).’*

ΛΑΦΑΖΑΝΙΔΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ

Επιβλέπουσα : Επίκουρος καθηγήτρια, Ντάλλη Νικολέττα

ΒΟΛΟΣ 2023

***‘In vitro* αξιολόγηση κινητικότητας των ριζόκομβων νηματωδών (*Meloidogyne incognita* με την χρήση αιθέριου ελαίου λεβάντας (*Levandula angustifolia*).’**

**ΛΑΦΑΖΑΝΙΔΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ**

**ΒΟΛΟΣ 2023**

**ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ: Ντάλλη Νικολέττα, Τσιρόπουλος Νικόλαος, Αθανασίου Χρήστος**

**Βεβαιώνω ότι είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας, η οποία εκπονήθηκε σύμφωνα με τον Κανονισμό Εκπόνησης Πτυχιακής Εργασίας του ΤΓΦΠΑΠ.**

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:**

|                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ                                                                                                                                      | 6  |
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ                                                                                                                                         | 7  |
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ                                                                                                                                         | 8  |
| 1.1 Βασικές πληροφορίες για τους νηματώδεις                                                                                                      | 8  |
| 1.2 Η φυτοпараσιτική δράση των νηματωδών και οι επιπτώσεις τους στον αγροτικό τομέα                                                              | 8  |
| 1.3 Ταξινόμηση των κομβονηματωδών <i>M. incognita</i>                                                                                            | 9  |
| 1.4 Βιολογικός κύκλος και παρασιτική δράση του <i>M. incognita</i>                                                                               | 10 |
| 1.4.1 Επιδράσεις της εδαφολογικής σύστασης, της υγρασίας και της θερμοκρασίας στην διαβίωση των διαφόρων ειδών του γένους <i>Meloidogyne sp.</i> | 12 |
| 1.4.2 Συμπτωματολογία και εύρος επιβλαβούς δράσης στην φυτική παραγωγή                                                                           | 12 |
| 1.5 Βοτανικά στοιχεία τομάτας                                                                                                                    | 15 |
| 1.6 Το βρωμιούχο μεθύλιο ως νηματωδοκτόνο                                                                                                        | 16 |
| 1.6.1 Καλλιεργητικά μέτρα και μη χημικές μέθοδοι αντιμετώπισης των ριζόκομβων νηματωδών                                                          | 16 |
| 1.7 Χημικές μέθοδοι αντιμετώπισης διαχρονικά και αδειοδοτημένα σκευάσματα στην Ελλάδα                                                            | 18 |
| 1.8 Οι δευτερογενείς μεταβολίτες φυτικής προέλευσης ως μέθοδοι αντιμετώπισης του <i>M. incognita</i>                                             | 20 |
| 1.9 Το αιθέριο έλαιο της λεβάντας οι χρήσεις του και η νηματωδοκτόνος δράση του                                                                  | 20 |
| 2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ                                                                                                                           | 22 |
| 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ                                                                                                                             | 23 |
| 3.1 Ανάπτυξη πληθυσμού <i>M. incognita</i> και παραλαβή προνυμφών J2 για τη διεξαγωγή του πειράματος                                             | 23 |

|                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2 Πειραματική διαδικασία ελέγχου της κινητικότητας νηματωδών με αιθέριο έλαιο λεβάντας            | 24 |
| 3.3 Στατιστική ανάλυση                                                                              | 25 |
| 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ                                                                                     | 29 |
| 4.1 Ανάλυση της χημικής σύστασης του αιθέριου ελαίου της λεβάντας                                   | 29 |
| 4.1 Μελέτη της επίδρασης του αιθέριου ελαίου της λεβάντας στην κινητικότητα του <i>M. incognita</i> | 29 |
| 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ                                                                                         | 33 |
| 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ                                                                                     | 35 |
| 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ                                                                                     | 36 |

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την επίκουρο καθηγήτρια Γεωργικής Φαρμακολογίας, του τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας Δρ. Ντάλλη Νικολέττα επιβλέπουσα της πτυχιακής μου εργασίας για τις διευκολύνσεις, τις ορθές της υποδείξεις καθώς και την στήριξη που μου πρόσφερε όλο αυτό το διάστημα. Επίσης τον κο. Τσιρόπουλο Νικόλαο καθηγητή Χημείας.

Οφείλω ένα μεγάλο «Ευχαριστώ» στους γονείς μου Θανάση και Ευαγγελία καθώς και στον αδερφό μου Απόστολο οι οποίοι στάθηκαν και στέκονται στο πλευρό μου και σε κάθε δυσκολία με υποστηρίζουν ανιδιοτελώς.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους μου τους φίλους που με στηρίζουν όλο αυτό το διάστημα της φοιτητικής μου ζωής και θα συνεχίσουν να με στηρίζουν σε κάθε μου βήμα.

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Οι κομβονηματώδεις του είδους *Meloidogyne incognita* αποτελούν έναν από τους σημαντικότερους εχθρούς μιας πληθώρας καλλιεργειών σε κάθε μήκος και πλάτος της γης. Κάθε χρόνο οι ζημιές που προκαλούν ανέρχονται σε εκατοντάδες εκατομμύρια ευρώ στον κλάδο της φυτικής παραγωγής. Ως εχθρός εμφανίζει μεγάλη προσαρμοστικότητα και ανθεκτικότητα με απόρροια οι μέθοδοι αντιμετώπισής του να είναι πολύ περιορισμένες. Επιπλέον, η τάση της εποχής, για πιο οικολογικούς τρόπους αντιμετώπισης των αγροτικών εχθρών, στα πλαίσια της αειφόρου γεωργίας, καθώς και η υιοθέτηση υγιεινής διατροφής από τους καταναλωτές έχουν περιορίσει την «φαρέτρα» των χημικών σκευασμάτων. Από την άλλη ο υπερπληθυσμός και η ανάγκη για αύξηση της φυτικής παραγωγής έχουν καταστήσει επιτακτική την ανάγκη της αποτελεσματικής αντιμετώπισης του *M. incognita*. Στο πλαίσιο αυτό κερδίζει έδαφος η χρήση φυτικών σκευασμάτων ως ένα νέο «πράσινο» όπλο αποτελεσματικής καταπολέμησης του κομβονηματώδους. Στην παρούσα διατριβή διερευνήθηκε η κινητικότητα προνυμφών δευτέρου σταδίου ανάπτυξης (J2) μετά από εμβάπτιση σε διαλύματα αιθέριου ελαίου λεβάντας. Η δράση του φυτικού εκχυλίσματος μελετήθηκε σε πέντε επίπεδα συγκεντρώσεων ελέγχου. Το πείραμα έγινε στο εργαστήριο της Γεωργικής Φαρμακολογίας και Αναλυτικής Χημείας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του ΠΘ κατά το έτος 2022-2023. Η στατιστική ανάλυση αφορούσε τη σύγκριση της αποτελεσματικότητας ακινητοποίησης των προνυμφών J2 μεταξύ των διαφόρων συγκεντρώσεων ελέγχου κατά την διάρκεια των 72 h που διήρκεσε το πείραμα.

## **1.Εισαγωγή:**

**Βασικές πληροφορίες για τους νηματώδεις:** Οι νηματώδεις κατατάσσονται στο βασίλειο των ζώων στο φύλο (Nematoda). Όπως αναφέρεται και στο όνομά τους έχουν σχήμα που θυμίζει κλωστή ή νήμα και συνήθως είναι μικροσκοπικοί και δεν φαίνονται με γυμνό μάτι. Επιπλέον, σημειώνεται πως οι νηματώδεις είναι πολυκύτταροι υδρόβιοι οργανισμοί με αμφίπλευρη συμμετρία και καλά αναπτυγμένο νευρικό σύστημα που τους βοηθάει να αντιδρούν στα εξωτερικά ερεθίσματα του περιβάλλοντος καθώς και να επικοινωνούν με τον ξενιστή τους. Από άποψη γονιδιώματος είναι περίπλοκοι οργανισμοί με το πλήθος των γονιδίων τους να αγγίζει σε κάποια είδη αυτά του ανθρώπου. Ένα τέτοιο είδος νηματώδους είναι το *Caenorhabditis elegans* με συνολικό αριθμό γονιδίων 20448. Από βιολογικής και εξελικτικής απόψεως είναι από τα πιο «επιτυχημένα» ζώα καθώς τέσσερα στα πέντε πολυκύτταρα ζώα στον πλανήτη είναι νηματώδεις (όσον αφορά το πλήθος των ατόμων όχι το πλήθος των ειδών). Συνολικά έχουν εντοπιστεί μέχρι στιγμής 25000 είδη νηματωδών εκ των οποίων τα 10000 επιβιώνουν ελεύθερα στην φύση σε κάθε είδος ενδιαιτήματος ακόμα και στις πιο αφιλόξενες συνθήκες και τα άλλα 15000 παρασιτούν σε διάφορους οργανισμούς φυτικών, ζωικών, σπονδυλωτούς ή ασπόνδυλους. Οι νηματώδεις είναι από τα πιο μελετημένα είδη του οικοσυστήματος κυρίως λόγω της παθογένειας τους σε άλλους οργανισμούς, ωστόσο μερικά γένη νηματωδών που ονομάζονται εντομοπαθογόνοι νηματώδεις όπως το γένος *Steinernema* και *Heterohabditis* παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στο οικοσύστημα, καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως ωφέλιμοι οργανισμοί για τον έλεγχο των πληθυσμών επιζήμιων εντόμων και επομένως να χρησιμοποιηθούν στην «φαρέτρα» των βιολογικών εντομοκτόνων (Georgis et al., 2006). Ακόμη οι νηματώδεις αποδομούν σύνθετα συστατικά οργανικής ύλης κάνοντάς τα πιο εύκολα διαθέσιμα για τα φυτά (Eisenback, 2022).

**Η φυτοπαρασιτική δράση των νηματωδών και οι επιπτώσεις τους στον αγροτικό τομέα:** Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις επιφέρουν ανυπολόγιστες επιπτώσεις στον αγροτικό τομέα και στην αγροτική οικονομία στο σύνολό της. Συνολικά υπάρχουν 4100 είδη νηματωδών που παρασιτούν σε φυτά (Decraemer and Hunt., 2006). Οι οικονομικές ζημιές που επιφέρουν στον αγροτικό τομέα είναι της τάξης των 100 δις δολαρίων, ωστόσο μπορεί να είναι και πολύ μεγαλύτερες, καθώς δεν υπάρχουν επαρκή

δεδομένα για τις αναπτυσσόμενες χώρες (Nicol et al., 2011). Γενικά οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις μπορούν να είναι είτε ενδοπαράσιτα που εισέρχονται στους φυτικούς ιστούς του φυτού είτε εκτοπαράσιτα που μεταναστεύουν κατά μήκος του εδαφικού ορίζοντα και τρέφονται με θρεπτικά στοιχεία που είναι αποθηκευμένα στις ρίζες των φυτών, καθώς και ημιενδοπαράσιτικοί νηματώδεις οι οποίοι τρέφονται μόνο σε κάποιο στάδιο της ζωής τους με εσωτερικούς ιστούς του φυτού και στο υπόλοιπο επιβιώνουν ως εκτοπαράσιτα. Οι πιο οικονομικά επιβλαβείς νηματώδεις ωστόσο είναι οι κομβονηματώδεις και οι κυστώδεις νηματώδεις που είναι ενδοπαράσιτα. Αυτό σημαίνει ότι δημιουργούν στις ρίζες περίπλοκες δομές που παρέχουν στους νηματώδεις τροφή (Van Megen et al., 2009). Από τους φυτοπαράσιτικούς νηματώδεις οι πιο καταστροφικοί σε σειρά αύξουσας σημασίας είναι οι: *Aphelenchoides besseyi*, *Nacobbus aberrans*, *Xiphinema index* που είναι και φορέας ιού, *Rotylenchulus reniformis*, *Bursaphelenchus xylophilus*, *Ditylenchus dipsaci*, *Radopholus similis*, *Pratylenchus spp*, οι κυστονηματώδεις *Heterodera spp*, *Globodera spp* και οι κομβονηματώδεις *Meloidogyne spp*. (Jones et al., 2013).

**Ταξινόμηση των Κομβονηματώδων *M. incognita*:**

|                          |                     |
|--------------------------|---------------------|
| <b><u>Βασίλειο</u></b>   | Animalia            |
| <b><u>Φύλλο</u></b>      | Nematoda            |
| <b><u>Κλάση</u></b>      | Secernentea         |
| <b><u>Τάξη</u></b>       | Tylenchida          |
| <b><u>Οικογένεια</u></b> | Heteroderidae       |
| <b><u>Γένος</u></b>      | <i>Meloidogyne</i>  |
| <b><u>Είδος</u></b>      | <i>M. incognita</i> |

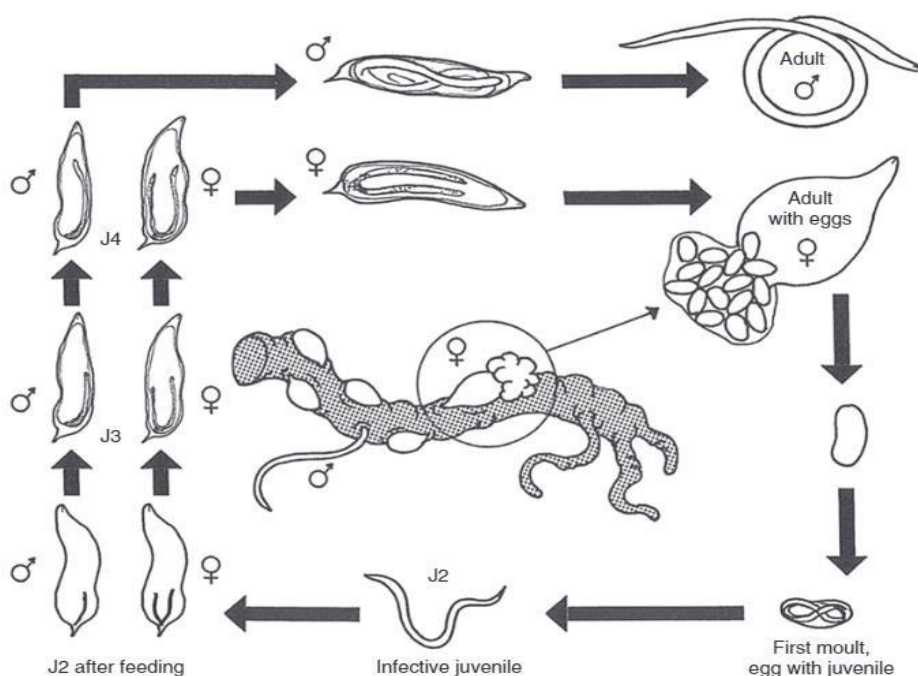
**Ταξινόμηση από:** (CABI, Invasive Species Compendium)

Μέχρι το 1949 οι κομβονηματώδεις του γένους *Meloidogyne* είχαν το όνομα *Heterodera marioni*. Αρχικά κατατάσσονταν στους κυστονηματώδεις, ωστόσο διαχωρίστηκαν από αυτούς λόγω των πολλών μορφολογικών διαφορών που διακρίνει τα δύο γένη μεταξύ τους. Αυτές οι διαφορές έχουν περιγραφεί από τον B. G. Chitwood

ο οποίος διαχώρισε τα είδη του γένους σε *M. arenaria*, *M. exigua*, *M. incognita* και *M. javanica*, *M. hapla*, και ένα υποείδος του *M. incognita* που ονόμασε *M. incognita var. acrita*. Από τότε έχουν διαχωριστεί πολλά περισσότερα είδη που ανήκουν στο γένος *Meloidogyne*. Το όνομα του γένους προκύπτει από το ελληνικό «μηλοειδές θηλυκό» (Moens et al., 2009).

**Βιολογικός κύκλος και παρασιτική δράση του *Meloidogyne* sp:** Ο κύκλος ζωής του γένους *Meloidogyne* αποτελείται από ένα εμβρυικό στάδιο, τέσσερα προνυμφικά και ένα στάδιο ενηλίκου. Αρχικά η διαχείμαση γίνεται στο στάδιο των ωών. Τα ωά αναπτύσσονται σε ζελατινώδεις γλυκοπρωτεϊνικές δομές που ονομάζονται ωόσακοι και παράγονται στο εσωτερικό του θηλυκού από ενδογενείς αδένες του ορθού. Ρόλος των δομών είναι η συγκράτηση καθώς και η προστασία των ωών από περιβαλλοντικούς παράγοντες και θηρευτές. Οι ωόσακοι βρίσκονται κυρίως στην επιφάνεια των κόμβων αλλά και εσωτερικά σε εσωτερικό ιστό. Στην αρχή τα ωά είναι υαλοειδή, κολλώδη και μαλακά, ωστόσο με την πάροδο του χρόνου γίνονται όλο και πιο σκουρόχρωμα και σκληρά. Όταν οι συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας το επιτρέψουν γίνεται η εκκόλαψη τους και προκύπτουν οι προνύμφες J2 σταδίου. Οι προνύμφες J2 σταδίου πρέπει να εντοπίσουν όσο το δυνατόν ταχύτερα τις ρίζες του ξενιστή που θα μολύνουν (Moens et al., 2009). Σε περιπτώσεις που στον ίδιο χώρο συνυπάρχουν φυτά με υπερευαίσθησία και ανθεκτικά σε προσβολή από τον κομβονηματώδη, ο προαναφερθείς μολύνει τις ευάλωτες ρίζες (Curtis, 2008). Αφού έχει γίνει η μόλυνση της ρίζας από τις προνύμφες J2, ο νηματώδης μετακινείται προς αναζήτηση μιας μόνιμης θέσης σίτισης. Ο κομβονηματώδης τρεφόμενος με τα κύτταρα του πρωτο-φλοιώματος και του πρωτο-ξυλώματος της ρίζας επάγει την διαφοροποίηση των κυττάρων αυτών σε πολυπύρηννα κύτταρα, με μοναδικό σκοπό την τροφοδοσία του κομβονηματώδους, τα οποία έχουν πολύ μεγάλο μέγεθος και ονομάζονται γιγαντιαία κύτταρα. Αφού σχηματιστούν τα γιγαντιαία κύτταρα ο νηματώδης αυξάνεται σε μέγεθος και ακινητοποιείται στο σημείο τροφοδοσίας του. Μετά το στάδιο J2 ακολουθούν τα J3 και J4 μετά από εκδύσεις. Στα στάδια ανάπτυξης J3 και J4 οι νηματώδεις μεταβάλλονται μορφολογικά και αποκτούν σακοειδές σχήμα. Η διάρκεια του βιολογικού κύκλου του *M. incognita* καθορίζεται κατά βάση από την θερμοκρασία. Έτσι στις θερμοκρασίες εδάφους 16.2, 19.5, 25 °C ο βιολογικός κύκλος του κομβονηματώδους διαρκεί 63, 44, 27 και μέρες (Ploeg, Maris, 1999). Τα στάδια J3 και J4 δεν έχουν ενεργά τροφικά όργανα επομένως δεν μπορούν

να τραφούν (Moens et al., 2009). Σε έναν πληθυσμό κομβονηματωδών υπάρχουν αρσενικά και θηλυκά άτομα ωστόσο οι κομβονηματώδεις αναπαράγονται παρθενογενετικά (Snyder et al., 2006). Η ισορροπία μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ενηλίκων είναι μείζονος σημασίας καθώς η δυναμικότητα ενός πληθυσμού νηματωδών εξαρτάται εν πολλοίς στο πόσα θηλυκά έχει ο πληθυσμός. Επιπροσθέτως ο μεγαλύτερος αριθμός θηλυκών νηματωδών έχει ως αποτέλεσμα αυξημένες ζημιές στην καλλιέργεια καθώς οι προνύμφες σταδίου J2 χρειάζονται περισσότερη τροφή για να καλύψουν τις αναπαραγωγικές ανάγκες του πληθυσμού (Triantaphyllou 1973). Τα αρσενικά δεν τρέφονται από το φυτό προς αποφυγήν του ενδοειδικού ανταγωνισμού. Η ισορροπία ενός πληθυσμού αρσενικών και θηλυκών νηματωδών καθορίζεται από πολλούς παράγοντες. Γενικά ισχύει ότι, όταν οι συνθήκες δεν είναι ευνοϊκές για την ανάπτυξη του νηματώδους, σχηματίζονται πιο πολλά αρσενικά. Για παράδειγμα, όταν οι συνθήκες δεν ευνοούν την υψηλή συγκέντρωση νηματωδών επάγεται η διαφοροποίηση των προνυμφών σε αρσενικά για να αποφευχθούν πιθανά προβλήματα θρέψης (Davide and Triantaphyllou, 1967), γονίδια ανθεκτικότητας στον ξενιστή (Moura et al., 1993), ζημιές που προκλήθηκαν στον ξενιστή από κλάδεμα ή από άλλους παράγοντες όπως ζιζανιοκτόνα (Ganguly and Dasgupta, 1984) έχουν ως αποτέλεσμα την μειωμένη παραγωγή θηλυκών και άρα την μείωση παραγωγής ωών.



**Εικόνα 1.1:** Διαγραμματική απεικόνιση του βιολογικού κύκλου των κομβονηματωδών σε απλοποιημένη μορφή. Όπου J1, J2, J3, J4 είναι τα νεαρά στάδια προς την ενηλικίωση του νηματώδους (Karssen et Moens, 2006).

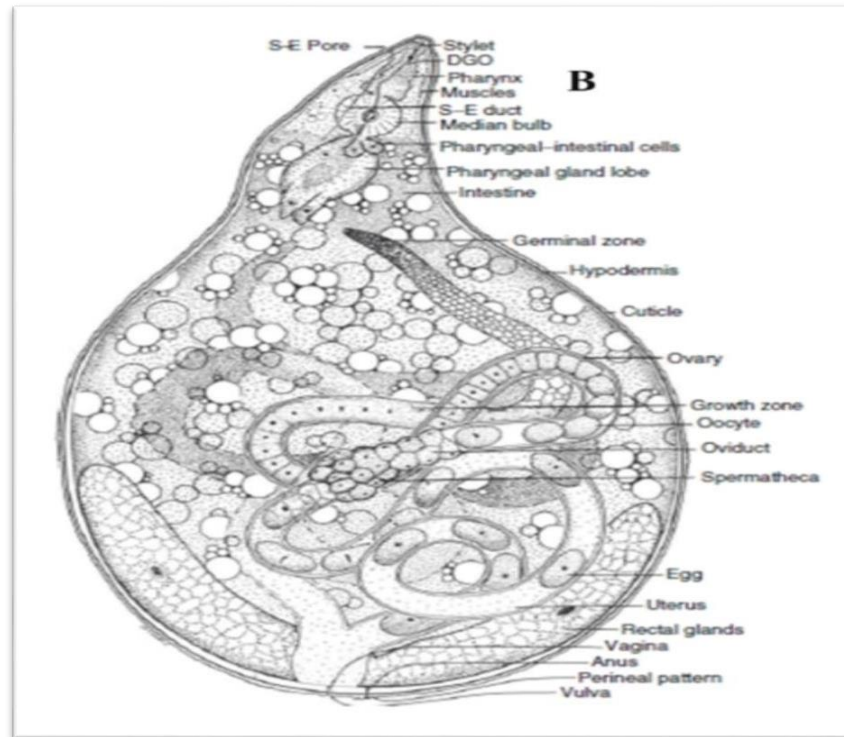
**Επιδράσεις της εδαφολογικής σύστασης, της υγρασίας και της θερμοκρασίας στην διαβίωση των διαφόρων ειδών του γένους *Meloidogyne*:**

Ο τύπος του εδάφους, η υγρασία καθώς και η θερμοκρασία παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του νηματώδους καθώς και στην εκδήλωση της παθογένειας σε μία καλλιέργεια. Ο *M. incognita* έχει υψηλότερο αναπαραγωγικό δυναμικό σε ελαφριά εδάφη. Μάλιστα οι πληθυσμιακές πυκνότητες του *M. incognita* συσχετίστηκαν αντιστρόφως με το ποσοστό ιλύος καθώς και αργίλου στο έδαφος (Kenning et al., 1996). Το παραπάνω εξηγείται από το γεγονός ότι τα αμμώδη εδάφη παρέχουν καλύτερο αερισμό και αυξημένη κινητικότητα στον νηματώδη για την καλύτερη εισχώρησή του μέσα στον ιστό της ρίζας σε σχέση με βαρέα αργιλώδη και πηλώδη εδάφη (Kim et al., 2017). Επιπλέον, η υγρασία έχει αρνητική συσχέτιση με τις προσβολές του *M. incognita*. Νεροκρατούντα, καλά ποτισμένα και γενικότερα εδάφη με υψηλή υγρασία φαίνεται πως εμποδίζουν την προσβολή της ρίζας από τον νηματώδη (Ma, 2012). Ένας ακόμη παράγοντας που επηρεάζει τον βιολογικό κύκλο του κομβονηματώδους είναι η θερμοκρασία. Μεταξύ των ειδών του γένους *Meloidogyne* υπάρχει ποικιλομορφία ως προς τα βέλτιστα των θερμοκρασιών εκκόλαψης, κινητικότητας, εισβολής των ριζών, αναπαραγωγής και επιβίωσης. Ψυχρόφιλα είδη όπως το *M. halpa* επιβιώνουν καλύτερα σε ψυχρά κλίματα σε σχέση με θερμόφιλα είδη όπως *M. incognita* και *M. javanica*. Για παράδειγμα οι βέλτιστες συνθήκες θερμοκρασίας για τον *M. halpa* κυμαίνονται από τους 15°C έως τους 30 °C ενώ για τον *M. javanica* από τους 25°C έως τους 30 °C. Ένας γενικός κανόνας για όλους τους κομβονηματώδεις είναι πως σε θερμοκρασίες κάτω από 5 °C και πάνω από 40 °C, αναστέλλεται ή διακόπτεται η δραστηριότητα τους (Taylor, 1978). Όπως φαίνεται από τα ανωτέρω στοιχεία η θερμοκρασία και οι μεταβολές της είναι καθοριστικές για την επιβίωση, την διάδοση και την μολυσματικότητα των κομβονηματωδών. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα πως η κλιματική αλλαγή και η υπερθέρμανση του πλανήτη ίσως ευνοήσουν την διάδοση θερμόφιλων ή γεωγραφικά περιορισμένων ειδών σε βορειότερα γεωγραφικά μήκη όπως για παράδειγμα του *M. hispanica* (Maleita et al., 2012).

**Συμπτωματολογία και εύρος επιβλαβούς δράσης στην φυτική παραγωγή:**

Το κυριότερο σύμπτωμα που εμφανίζουν τα προσβεβλημένα από κομβονηματώδεις του είδους *Meloidogyne incognita* φυτά είναι η ύπαρξη κόμβων στην ρίζα. Αυτοί οι κόμβοι σχηματίζονται στην επιφάνεια του ιστού της ρίζας και μέσα σε αυτούς τους κόμβους

οι προνύμφες του σταδίου J2 αναπτύσσονται έως ότου φτάσουν στα επόμενα ατροφικά προνυμφικά στάδια (Eisenback and Triantaphyllou, 1991). Γενικά για το μέγεθος και το πλήθος των κόμβων υπάρχει θετική συσχέτιση με την ποσότητα του μολύσματος καθώς και την αντίδραση που έχει ο κάθε ξενιστής ξεχωριστά. Σε περιπτώσεις που δεν υπάρχει μεγάλος πληθυσμός μολύσματος οι κόμβοι είναι λίγοι, μεμονωμένοι με μικρό αριθμό θηλυκών και ένα ωόσακο εξωτερικά. Οι κόμβοι που σχηματίζονται εμποδίζουν την καλή κυκλοφορία των θρεπτικών συστατικών και του νερού ενώ δυσχεραίνεται και η μετακίνηση των φωτοσυνθετικών προϊόντων. Τα παραπάνω έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση συμπτωμάτων τροφοπενίας, μάρανσης, κιτρινίσματος, ξήρανσης και νέκρωσης των φύλλων καθώς και πτώση του ποσοστού ανθοφορίας και καρπόδεσης και γενικότερα μείωση του μεγέθους των καρπών. Στις περιπτώσεις που το φυτό που θα μολυνθεί βρίσκεται σε νεαρό στάδιο ανάπτυξης υπάρχει κίνδυνος απώλειας και όχι μόνο μείωσης της παραγωγής (Ornat, Sorribas, 2008). Τα συμπτώματα προσβολής από κομβονηματώδεις εντοπίζονται κατά κηλίδες μέσα στο αγροτεμάχιο (Ντάλλη, 2010). Ο *M. incognita*, προκαλεί σοβαρές ζημιές σε ένα πολύ ευρύ φάσμα ξενιστών μονοκοτυλήδων ή δικότυλων φυτών. Μονοετή φυτά της εύκρατης ζώνης όπως γλυκοπατάτα, πατάτα, ντομάτα, καρότο, πιπεριά, μπάμιες, καρπούζι, πεπόνι, κρεμμύδι, κολοκύθα, σκουός, γλυκό καλαμπόκι, μελιτζάνα, φασόλι, μπιζέλι, σέλινο, μπρόκολο, λάχανο, μoustάρδα, ραπανάκι και μαρούλι (Pedroche et al, 2013) εμφανίζουν σοβαρές ζημιές. Ακόμη, πολυετείς δενδρώδεις καλλιέργειες και καλλιέργειες του Ισημερινού και της Μεσογείου εμφανίζουν ευαισθησία σε προσβολές του κομβονηματώδους όπως ο καφέξη μπανάνα, το αμπέλι αλλά και ξηροί καρποί (Perry et al, 2009). Επιπλέον, καλλωπιστικά φυτά καθώς και φυτά χωρίς οικονομική σημασία όπως αγρωστώδη και πλατύφυλλα ζιζάνια μπορεί να γίνουν ξενιστές για τα είδη του γένους *Meloidogyne* (Shazad et al, 2011; Anwar et al., 2009). Τα παραπάνω συμπτώματα μπορεί να είναι δυσμενέστερα καθώς η προσβολή από κομβονηματώδεις πολλές φορές ακολουθείται από άλλα εδαφικά παθογόνα όπως ο *Rhizoctonia solani* στην περίπτωση της τομάτας για τον *Meloidogyne incognita* (Back et al., 2002). Σημαντικό ρόλο στην έκφραση της παθογένειας παίζει ακόμα το είδος του ξενιστή. Η ικανότητα σχηματισμού κόμβων και ωών καθώς και τα συμπτώματα πάνω από την επιφάνεια του εδάφους διαφέρουν από ξενιστή σε ξενιστή. Για παράδειγμα στην ευαίσθητη τομάτα μειώνεται σημαντικά η ανάπτυξη του υπέργειου φυτού σε σχέση με τον στίφνο που είναι μέτριος ξενιστής, και το ινδικό αγκάθι που είναι κακός ξενιστής (Ehwaeti et al., 1999).

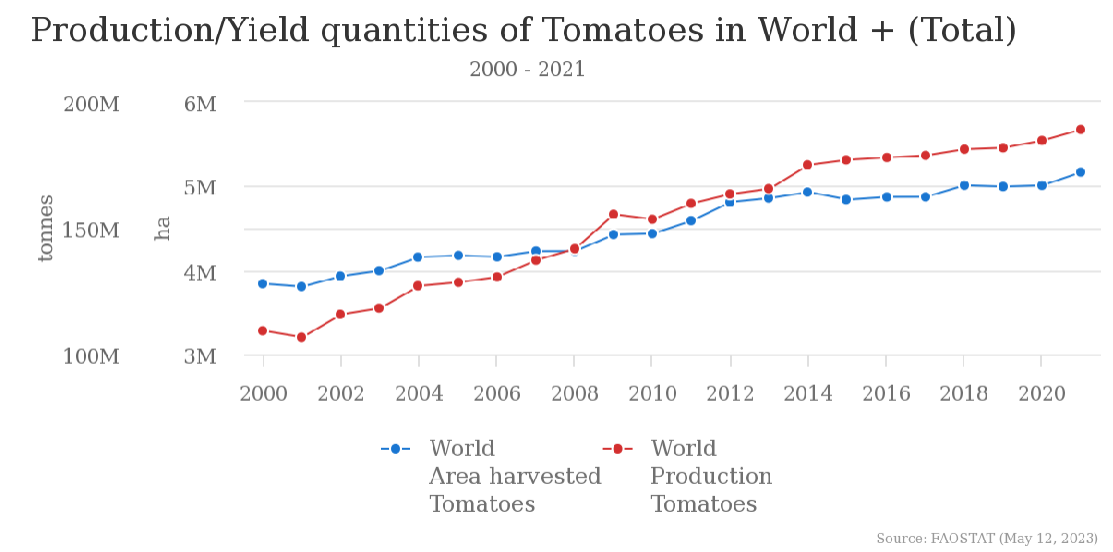


**Εικόνα 1.1.2:** Ενήλικο θηλυκό του κομβονηματώδους μετά τον σχηματισμό του ωόσακου (Karssen and Moens 2006).



**Εικόνα 1.2:** Υπέργεια συμπτώματα προσβολής από *Meloidogyne sp.* Σε σπορόφυτα πιπεριάς. Τα συμπτώματα εμφανίζονται στον αγρό κατά κηλίδες (Noling. University of Florida, 2019).

**Βοτανικά στοιχεία της τομάτας:** Το φυτό που χρησιμοποιήθηκε για την πειραματική διαδικασία της παρούσας διατριβής ήταν το *Solanum lycopersicum* L. ποικιλίας Belladona. Είναι δικότυλο, ποώδες, πολυετές φυτό που καλλιεργείται όμως ως ετήσιο και είναι σε μεγάλο ποσοστό αυτογονιμοποιούμενο (Μπιλάρης et al., 2019). Παγκοσμίως καλλιεργούνται πάνω από πέντε εκατομμύρια εκτάρια με συνολική παραγωγή που ξεπερνά τους 180 εκατομμύρια τόνους.



**Εικόνα 1.3:** Στατιστικά στοιχεία του FAO που υποδεικνύουν την συνολική έκταση και τις παραγωγές της τομάτας από το 2000 έως το 2021). (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>)

Η σημαντικότητα της καλλιέργειας παγκοσμίως σε συνάρτηση με το γεγονός ότι είναι πολύ ευαίσθητο στην προσβολή από κομβονηματώδεις φυτό την καθιστούν κατάλληλο φυτό για την ανάπτυξη και συντήρηση πληθυσμού κομβονηματωδών.

(<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>)

**Το βρωμιούχο μεθύλιο ως νηματώδοκτόνο:** Μέχρι πολύ πρόσφατα η κύρια μέθοδος αντιμετώπισης των κομβονηματωδών ήταν η χρήση του καπνιστικού χημικού βρωμιούχου μεθυλίου που ήταν πολύ αποτελεσματικό εναντίον μίας πληθώρας εδαφογενών παθογόνων μαζί και του *Meloidogyne incognita*. Το καπνιστικό χορηγούνταν 30 με 60 εκατοστά κάτω από την επιφάνεια του εδάφους. Ωστόσο, λόγω της μεγάλης του πτητικότητας σχεδόν ολόκληρη η ποσότητα που εφαρμόζονταν στο έδαφος εξατμίζονταν με επιβλαβείς συνέπειες στο περιβάλλον και την υγεία του ανθρώπου όπως καρκινογένεσεις, αναπνευστικά και νευρολογικά προβλήματα. Πρέπει να σημειωθεί πως το βρωμιούχο μεθύλιο προκάλεσε διεύρυνση της τρύπας του όζοντος (McCook, 2006). Πλέον η αναζήτηση νέων εναλλακτικών τρόπων φυτοπροστασίας από τους νηματώδεις είναι επιτακτική ανάγκη (López- Pérez et al., 2006).

**Καλλιεργητικά μέτρα και μη χημικές μέθοδοι αντιμετώπισης του ριζόκουβου νηματώδη:**

*Χρήση ανθεκτικών ποικιλιών:* Μία πολύ συνήθης μέθοδος αντιμετώπισης του γένους *M. incognita* είναι η χρήση ανθεκτικών φυτών. Η ανθεκτικότητα σε φυτά τομάτας ελέγχεται από το Mi-1 κυρίαρχο γονίδιο που βρίσκεται στο συγγενές άγριο είδος *L. peruvianum* (Medina-Filho and Stevens, 1980). Η παραπάνω ανθεκτικότητα βασίζεται σε μια αντίδραση υπερευαισθησίας που συμβαίνει στο φυτό κατά την είσοδο της προνύμφης του νηματώδους στην ρίζα, που καταστρέφει τα αγγειακά κύτταρα του φυτού, εμποδίζοντας την μόλυνση (Dropkin, 1969, A). Η έκφραση της ανθεκτικότητας ωστόσο επηρεάζεται από την θερμοκρασία και σε θερμοκρασίες εδάφους μεγαλύτερες των 28 °C το γονίδιο της ανθεκτικότητας δεν προσδίδει προστασία (Dropkin, 1969, B).

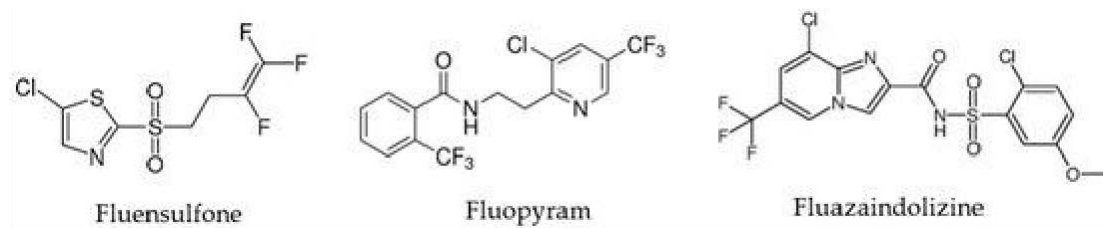
*Αμειψισπορά:* Μία άλλη μέθοδος αντιμετώπισης των νηματωδών είναι η εναλλαγή καλλιεργειών. Η εναλλαγή καλλιεργειών σε καλλιεργητικές περιόδους με φυτά που είναι κακοί ξενιστές μειώνει σε μεγάλο βαθμό τον πληθυσμό του νηματώδους, καθώς ο προαναφερθείς είναι υποχρεωτικό παράσιτο που δεν επιβιώνει για μεγάλα χρονικά διαστήματα στον εδαφικό ορίζοντα απουσία ξενιστή. Ακόμη στις μη καλλιεργητικές περιόδους μπορεί να γίνεται φύτευση φυτών κάλυψης που είναι κακοί ξενιστές του *M. incognita* και ενώ δεν είναι πάντα ωφέλιμα οικονομικά μπορούν να μειώσουν περαιτέρω τους πληθυσμούς των νηματωδών (Harsimrank et al, 2023). Επιπροσθέτως, πολλά φυτά αμειψισποράς της οικογένειας των σταυρανθών όπως φυτά του γένους *Brassica* και άλλων οικογενειών όπως κάνναβη, φασόλι βελούδου παράγουν και αλληλοχημικές ουσίες οι οποίες μπορεί να έχουν νηματωδοκτόνο δράση (Grabau, Noling, 2023).

*Απομάκρυνση υπολειμμάτων καλλιέργειας:* Όσο στον αγρό βρίσκονται ευαίσθητοι φυτικοί ιστοί που ο νηματώδης είναι ικανός να προσβάλει τόσο θα παρατείνεται ο χρόνος ζωής του μέσα σε μία καλλιέργεια. Για τους παραπάνω λόγους είναι σημαντικό να γίνεται επέμβαση με δισκοσβάρνα ή καταστροφέα για την απομάκρυνση των φυτικών υπολειμμάτων και άρα γρηγορότερη αποσύνθεσή τους ή έκθεσή τους στην ηλιακή ακτινοβολία και άρα αποξήρανση και νέκρωση των ζωντανών ιστών και απολύμανση του εδάφους (Grabau, Noling, 2023). Αντίστοιχα ενδείκνυται η χημική ή μηχανική ζιζανιοκτονία καλών ξενιστών που μπορεί να αποτελούν χώρο διαχείμασης του νηματώδους.

*Χρήση οργανικής ουσίας:* Η χρήση οργανικής ουσίας όπως κοπριά ή προϊόντα κομποστοποίησης από οργανικά απόβλητα πέρα από τις πολλές ευεργετικές δράσεις που μπορεί να έχει στην αναβάθμιση της σύστασης εδάφους και στην θρέψη του φυτού υποβοηθά την ανάπτυξη εδαφογενών οργανισμών όπως μύκητες, βακτήρια και ανταγωνιστές νηματώδεις οι οποίοι μπορεί να ελέγχουν τον πληθυσμό των νηματωδών λόγω της παραγωγής διαφόρων μεταβολιτών οι οποίοι έχουν νηματωδοκτόνο δράση (Widmer et al., 2002).

*Απολύμανση με θερμότητα:* Η χρήση θερμότητας είναι μια συνηθισμένη μέθοδος βιολογικής αντιμετώπισης των νηματωδών. Σε μεσογειακές και παραμεσογειακές χώρες μπορεί με μεγάλη επιτυχία να εφαρμοστεί η ηλιοαπολύμανση. Αυτή επιτυγχάνεται με την κάλυψη του εδάφους με διαφανές λεπτό πλαστικό το οποίο απορροφά την ηλιακή ακτινοβολία για μία περίοδο 6-8 εβδομάδων σε υγρό έδαφος κατά τους θερινούς μήνες (Ντάλλη, 2010).

**Χημικές μέθοδοι αντιμετώπισης διαχρονικά και ενδεικτικά αδειοδοτημένα σκευάσματα στην Ελλάδα:** Τα χημικά νηματωδοκτόνα χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες τα καπνιστικά νηματωδοκτόνα εδάφους και τα μη καπνιστικά. Καπνιστικές ουσίες όπως η χλωροπικρίνη και το βρωμιούχο μεθύλιο ήταν για πολλά χρόνια αποτελεσματικές μέθοδοι λύσης για την απολύμανση του εδάφους από διάφορα φυτοπαράσιτα (Taylor, 2003). Η μετέπειτα απαγόρευση τους άφησε κενά στην φυτοπροστασία καθώς ως καπνιστικές ουσίες είχαν το πλεονέκτημα της καθολικής χρήσης ενάντια σε μία μεγάλο εύρος εδαφογενών παθογόνων οργανισμών. Βέβαια οι υψηλές δόσεις και η τοξική τους δράση σε οργανισμούς μη στόχους και στο περιβάλλον οδήγησαν στην τελική τους απαγόρευση. Από το 1960 και μετά αναπτύχθηκαν τα μη καπνιστικά νηματωδοκτόνα. Τα παραπάνω έχουν στοχευμένη δράση σε νηματώδεις και έντομα (Rich, et al., 2004). Τα πρώτα νηματωδοκτόνα που αναπτύχθηκαν ανήκαν στις ομάδες των οργανοφωσφορικών καθώς και των καρβαμιδικών ενώσεων. Τα νηματωδοκτόνα αυτά ονομάζονται και νηματωδοκτόνα παλαιάς γενιάς καθώς σήμερα οι περισσότερες τέτοιες ενώσεις έχουν απαγορευθεί. Σήμερα αναπτύσσονται τα μη καπνιστικά καινούριας γενιάς με ενώσεις όπως το fluensulfone, fluopyram, fluazaindolizine (Desaeger, et al., 2020). Ένα από τα βασικότερα μειονεκτήματα των μη καπνιστικών σε σχέση με τα καπνιστικά νηματωδοκτόνα είναι ότι βιοδιασπώνται στο έδαφος μετά από παρατεταμένη χρήση επομένως είναι λιγότερο αποτελεσματικά (Ornat, Sorribras, 2008).



**Εικόνα 1.4:** Χημική δομή των νηματοδοκτόνων νέας γενιάς [Πηγή: (Oka, 2020)].

**Αδειοδοτημένες δραστικές ουσίες με νηματοδοκτικό δράση στην Ελλάδα: (1-08-2023)**

| Ονομασία                                        | Χημική ομάδα                                                                                        | Εμπορικό σκεύασμα | Τρόπος δράσης                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fluopyram<br>(40% β/ο)                          | N-(2-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]ethyl)-2-(trifluoromethyl)benzamide<br>(βενζαμιδικό) | Velum prime       | Έντονη δράση ενάντια σε ενήλικα και καθυστέρηση ανάπτυξης ωών. Δρα παρεμποδίζοντας την μιτοχονδριακή αναπνοή, μπλοκάροντας τη μεταφορά των ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα του Succinate Quinone Reductase (σύμπλοκο II-παρεμποδιστής SQR)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <i>Bacillus firmus</i> I-1582<br>(24.000 % β/ο) | Βάκιλος                                                                                             | VOTIVO            | Τα κύτταρα του <i>Bacillus firmus</i> I-1582 μόλις έρθουν σε επαφή με το κέλυφος των αυγών των νηματωδών, διαπερνούν το εξωτερικό τους στρώμα και το καταστρέφουν εκθέτοντας το ευαίσθητο περιεχόμενο στο βιοτικό και αβιοτικό περιβάλλον. Ο <i>Bacillus firmus</i> I-1582 αποικεί στην επιφάνεια των ριζών ειδικά στη ζώνη κοντά στην καλύπτρα. Έτσι περιβάλλει τις ρίζες με ένα ζωντανό προστατευτικό κάλυμμα, μη ελκυστικό για τους νηματώδεις. Αποδομεί τις οργανικές ουσίες που εκκρίνει η ρίζα, οι οποίες ελκύουν τους νηματώδεις. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον αποπροσανατολισμό των νηματωδών μακριά από τις προστατευμένες ρίζες, οι οποίοι αναζητούν άλλο φυτό ξενιστή. |

|                             |                                                                                                                    |                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fosthiazate<br>(10%β/β)     | (RS)-[S-(RS)-sec-butyl O-ethyl 2-oxo-1,3-thiazolidin-3-ylphosphonothioate]<br>(Οργανοφωσφορικό )                   | NEMATHORIN<br>10 G   | Οργανοφωσφορικό νηματοδοκτόνο-εντομοκτόνο επαφής και στομάχου, για την καταπολέμηση των κομβονηματωδών σε καλλιέργειες τομάτας (αγρού, θερμοκηπίου). Η δραστική ουσία fosthiazate είναι αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης. Δρα ως νηματοδοστατικό προκαλώντας παράλυση των νηματωδών και στην συνέχεια ως νηματοδοκτόνο. |
| Garlic extract<br>(45% β/β) | Βοτανική δραστική ουσία από Εκχύλισμα σκόρδου (Garlic extract) Ονομασία IUPAC: Food grade garlic juice concentrate | Nemguard<br>granules | Δρα στα ένζυμα της κυτταρικής αναπνοής προκαλώντας κυτταροτοξικές διαταραχές. Περιέχει διαλλυλο-δισουλφίδια, διαλλυλοτρυσουλφίδια προκαλώντας αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης. Έχει ωοκτόνο και προνυμφοκτόνο δράση                                                                                                      |
| Abamectin<br>(2% β/ο)       | C95H142O28<br>(ως οργανική ένωση έχει πολύ μεγάλη ονομασία )                                                       | Tervigo              | Δρα στους μηχανισμούς ροής ιόντων χλωρίου παρεμποδίζοντας την μετάδοση νευρικών ερεθισμάτων. Το παραπάνω παραλύει τον νηματώδη οδηγώντας στην παράλυση και τον θάνατό                                                                                                                                                       |

**Πηγές σκευασμάτων και χημικών ενώσεων:** (Διεθνής Ένωση Καθαρής και Εφαρμοσμένης Χημείας; <https://1click.minagric.gr/oneClickUI/frmFytoPro.zul>)

**Οι δευτερογενείς μεταβολίτες βοτανικών ειδών ως μέθοδοι αντιμετώπισης του *M.***

**Incognita:** Εναλλακτικά νηματοδοκτόνα φιλικά προς το περιβάλλον μπορούν να παραχθούν από ουσίες φυτικής προέλευσης, δηλαδή δευτερογενείς μεταβολίτες του φυτού (Ntalli et al., 2022). Τα φυτά ως οργανισμοί είναι ακινητοποιημένα στο έδαφος και οι δευτερογενείς μεταβολίτες τους προσδίδουν προστασία από τις αντίξοες συνθήκες του περιβάλλοντος (Chitwood, 2002). Μορφές βοτανικών σκευασμάτων είναι αιθέρια έλαια, μεμονωμένες ουσίες και τα εκχυλίσματα (Serratos et al., 1996). Ενδεικτικοί δευτερογενείς μεταβολίτες με νηματοδοκτόνο δράση είναι οι: αλδεΐδες,

κετόνες, αλκαλοειδή, γλυκοζίτες, γλυκοσινολικά, ισοθιοκυανικά, λιμονοειδή, κουασινοειδή, σαπωνίνες, οργανικά οξέα, φαινολικά, φλαβονοειδή, κινόνες, τερπένια, πιπεραμίδες, πολυακετυλένια και πολυθειενύλια (Ntalli et al., 2012).

#### **Το Αιθέριο έλαιο της λεβάντας οι χρήσεις του και η νηματωδοκτόνος δράση του:**

Το αιθέριο έλαιο της λεβάντας χρησιμοποιείται ευρέως στην αρωματοθεραπεία, στην παραγωγή καλλυντικών, στην αρωματοποιία αλλά και στην επεξεργασία τροφίμων (Lis-Balchin, 2002). Επιπλέον, λόγω της χημικής του σύστασης παρουσιάζει ηρεμιστική, αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή, αντιμυκητιασική, προνυμφοκτόνο και εντομοκτόνο δράση (Salehi et al., 2018). Παραλαμβάνεται με ατμό ή με υδροαπόσταξη και οι αποδόσεις κυμαίνονται γύρω στο 3%. Εμφανίζει κίτρινο χρώμα και έχει έντονο άρωμα από (Prusinowska, Krzysztof. Śmigielski, 2014). Δεν έχει σταθερή σύσταση και η ποιοτική και ποσοτική χημική του σύσταση εξαρτώνται από τον γονότυπο, την ποικιλία, την τοποθεσία ανάπτυξης, τις κλιματικές συνθήκες, τον πολλαπλασιασμό και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού (Lawrence, 1993). Συνολικά υπάρχουν πάνω από 300 χημικές ουσίες στο αιθέριο έλαιο του *L. angustifolia* αλλά τα κύρια συστατικά του αποτελούν η που κυμαίνεται από  $\beta$ -linalool (9,3% έως 68,8%) και το linalyl acetate (από 1,2% έως 59,4%). Η ποιότητα του αιθέριου ελαίου εξαρτάται από τη συγκέντρωση των παραπάνω ουσιών στο αιθέριο έλαιο καθώς και την μεταξύ τους αναλογία (Prusinowska, Krzysztof. Śmigielski, 2014). Η νηματωδοκτόνος δράση του αιθέριου ελαίου της λεβάντας καθορίζεται από την συγκέντρωση των οξυγονωμένων συστατικών τερπενίων και τους μονοτερπενικούς εστέρες που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο (D'Addabbo et al., 2021).

## **2. Σκοπός της εργασίας**

Η παρούσα εργασία έχει ως σκοπό τον έλεγχο της νηματωδοκτόνου δράσης του αιθέριου ελαίου της λεβάντας σε προνύμφες σταδίου J2 νηματωδών του γένους *M. incognita*. Για την διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκε αιθέριο έλαιο λεβάντας που προέρχεται από το φυτό *Levandula angustifolia*. Πραγματοποιήθηκαν *in vitro* πειράματα αποτελεσματικότητας του αιθέριου ελαίου σε πέντε επίπεδα συγκεντρώσεων ελέγχου και έγινε σύγκριση της νηματωδοκτόνου δράσης σε J2 *M. incognita*. Η συνολική διάρκεια της κάθε επανάληψης του πειράματος ήταν 72 ώρες.

### **3.Υλικά και μέθοδοι**

**Ανάπτυξη πληθυσμού *M. incognita* και παραλαβή προνυμφών J2 για τη διεξαγωγή του πειράματος:** Πραγματοποιήθηκε εξαγωγή και απομόνωση των κομβονηματωδών *M. incognita* J2, 30 μέρες μετά την τεχνητή μόλυνση φυτών ντομάτας και αφού ολοκληρώθηκε ένας βιολογικός κύκλος. Οι ρίζες πλύθηκαν με σκοπό να διαχωριστεί η ρίζα από τα εδαφικά υπολείμματα. Ακολούθως οι ρίζες κόπηκαν σε μικρά τμήματα των 2 περίπου εκατοστών και ανακινήθηκαν σε υδατικό διάλυμα που περιέχει 1% NaClO (20 ml χλωρίνης σε 80 ml νερό) για τέσσερα με πέντε λεπτά. Τα κομμένα τμήματα της ρίζας ξεπλύθηκαν αμέσως μετά με νερό σε χαμηλή ροή σε κόσκινα με διατομή 250 και 38  $\mu\text{m}$  αντίστοιχα. Το παραπάνω υλικό μεταφέρθηκε σε τροποποιημένα δοχεία Baermann σε συνθήκες θερμοκρασίας στους 28 °C. Παραλήφθηκαν τα ωά των νηματωδών σε υδάτινο διάλυμα και 24 h μετά παραλήφθηκαν οι πρώτες προνύμφες J2. Η πρώτη παραλαβή περιείχε J2 διαφορετικής ηλικίας και χρησιμοποιούνταν για την ανανέωση του πληθυσμού. Μόνο προνύμφες δυο ημερών που συλλέχθηκαν από την τέταρτη μέρα του πειράματος και μετά έγιναν δεκτές για την πειραματική διαδικασία. Για την επιμόλυνση νέων φυτών τομάτας με τους νηματώδεις και την συντήρηση του πληθυσμού *M. incognita* έγινε διάνοιξη οπών στο έδαφος όπου και προστέθηκε αιώρημα με νηματώδεις στα νέα φυτά. Τα φυτά της τομάτας που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη και διατήρηση του πληθυσμού ήταν ποικιλίας Belladonna (*Solanum lycopersicum* L.). Η τεχνητή μόλυνση γινόταν όταν τα φυτά της τομάτας ήταν στο στάδιο του πέμπτου αναπτυγμένου τους φύλλου .

Η ανάπτυξη των φυτών έγινε σε ειδικό θάλαμο ανάπτυξης στους 25 – 28 °C, 60% σχετική υγρασία και φωτοπερίοδο τις 16 h. Η ανάπτυξη των φυτών της τομάτας έγινε σε φυτοδοχεία διαμέτρου των 18 εκατοστών σε μείγμα τύρφης και περλίτη 10:1 (v/v).



**Εικόνα 2.1:** Απεικόνιση του θαλάμου ανάπτυξης των φυτών ξενιστών των κομβονηματοδών (αριστερά), φυτοδοχεία ανάπτυξης φυτών τομάτας (δεξιά) (προσωπικό αρχείο 2023).



**Εικόνα 2.2:** Διαδικασία εξαγωγής προνυμφών J2 σταδίου από προσβεβλημένες ρίζες τομάτας. I) ανάπτυξη του πληθυσμού σε φυτά τομάτας Belladonna, II) απομάκρυνση τύρφης από την ριζόσφαιρα, III) κόσκινα διατομής 250 και 38  $\mu\text{m}$  που χρησιμοποιήθηκαν για την παραλαβή των J2 από τις προσβεβλημένες ρίζες και στο IV) τροποποιημένο Baermann για την παραλαβή των προνυμφών (εικόνα από Ντάλλη 2010).

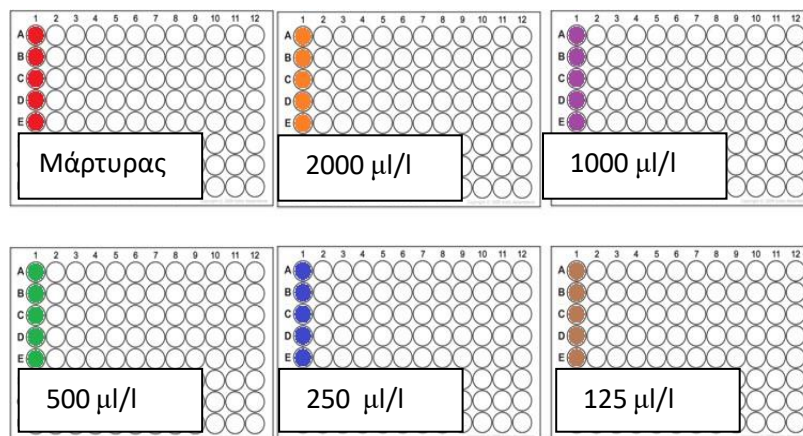
**Πειραματική διαδικασία ελέγχου της κινητικότητας νηματωδών με αιθέριο έλαιο λεβάντας:** Τα μητρικά διαλύματα των αιθέριων ελαίων λεβάντας είχαν συγκέντρωση 5000  $\mu\text{l/l}$ . Παρασκευάστηκαν με 5  $\mu\text{l}$  αιθέριου ελαίου σε 20  $\mu\text{l}$  αιθανόλης και 975  $\mu\text{l}$  του φορέα (νερό με Tween-20). Τα διαλύματα παρασκευάστηκαν σε erpendorf και ανακινήθηκαν σε αναδευτήρα Vortex. Οι συγκεντρώσεις ελέγχου των αιθέριων ελαίων ήταν 2000, 1000, 500, 250, 125, 0  $\mu\text{l/l}$ . Επομένως, παρασκευάστηκαν αρχικά διαλύματα διπλάσιων συγκεντρώσεων, καθώς εντός των πηγαδιών των πλακών πολυστυρενίου θα αναμειγνύονταν το αιώρημα των νηματωδών με τα διαλύματα ελέγχου σε αναλογία 1:1 (v/v). Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν νερό καθώς και φορέας (νερό με αιθανόλη και Tween-20; συγκεντρώσεων όμοιων με αυτών που χρησιμοποιήθηκαν στις μεταχειρίσεις). Σε κάθε πηγάδι προστέθηκαν 30 νηματώδεις. Για κάθε μεταχείριση πραγματοποιήθηκαν 5 επαναλήψεις. Στη συνέχεια οι πλάκες

έκλεισαν με καπάκι, ώστε να αποφευχθούν φαινόμενα εξάτμισης, που θα επηρέαζαν την αποτελεσματικότητα του πειράματος. Οι πλάκες τοποθετήθηκαν σε ελεγχόμενο περιβάλλον με θερμοκρασία στους 28 °C. Για τον έλεγχο της κινητικότητας των J2 χρησιμοποιήθηκε ανάστροφο μικροσκόπιο υπό μεγέθυνση 40x. Ο έλεγχος της κινητικότητας πραγματοποιήθηκε στις 24, 48, 72 ώρες από την έναρξη του πειράματος και η τελική ταξινόμηση των προνυμφών ήταν σε κινητές ή ακίνητες. Οι μεταχειρίσεις επαναλήφθηκαν έξι φορές και το πείραμα πραγματοποιήθηκε στο χρόνο δυο φορές. Η αξιολόγηση του πειράματος πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια ανάστροφου μικροσκοπίου.

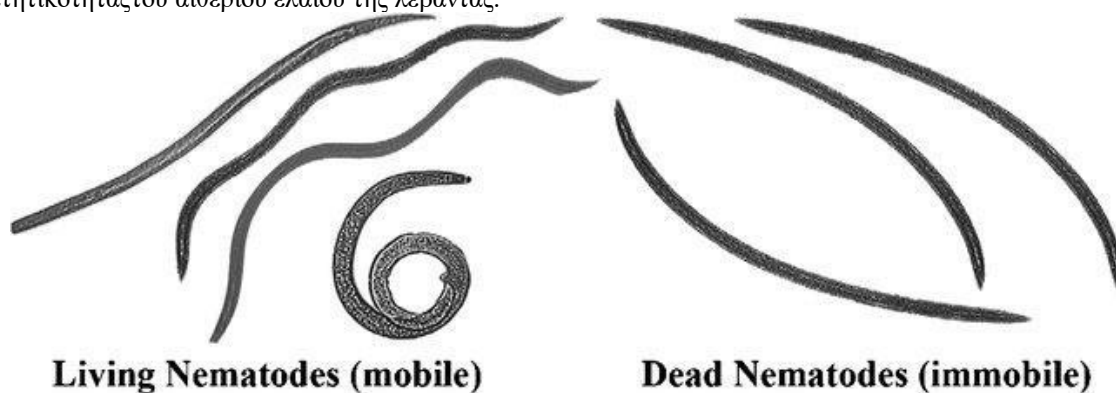
**Στατιστική ανάλυση:** Για τη στατιστική ανάλυση και δεδομένου ότι η παράλυση στον φορέα δεν διέφερε από εκείνη που μετρήθηκε στο νερό, τα δεδομένα της παράλυσης και για τα δυο πειράματα εκφράστηκαν ως εκατοστιαία ποσοστά των τιμών παράλυσης που αντιστοιχούσαν στον μάρτυρα-νερό σύμφωνα με την εξίσωση των Schneider Orelli's: Αύξηση παράλυσης % = {(παράλυση % στην μεταχείριση - παράλυση % στον μάρτυρα)/(100 - παράλυση % στον μάρτυρα)}x100 (Puntener, 1981). Τα διορθωμένα κατά το μάρτυρα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) και στη συνέχεια η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με το τεστ Duncan για  $P < 0.05$ , και ανά χρόνο εμφάνισης για τις πέντε συγκεντρώσεις ελέγχου αλλά και ανά συγκέντρωση για τους τρεις χρόνους αξιολόγησης. Για την παρουσίαση των στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των μεταχειρίσεων χρησιμοποιήθηκαν τα γράμματα a, b, c, d κατά την παρουσίαση των διαγραμμάτων. Σημαντικά διαφορετικές μεταχειρίσεις είναι εκείνες που παρουσιάζονται με διαφορετικό γράμμα.



**Εικόνα 2.3:** Αναδευτήρας που χρησιμοποιήθηκε για συμπύκνωση/αραίωση εναιωρήματος νηματωδών.



**Εικόνα 2.4:** Σχηματική απεικόνιση ενός πειραματικού σχεδίου. Κάθε χρώμα απεικονίζει τη θέση των προνυμφών. Για την κάθε μεταχείριση χρησιμοποιήθηκε διαφορετική πλάκα πολυστυρενίου λόγω της πτητικότητας του αιθέριου ελαίου της λεβάντας.



**Εικόνα 2.5:** Απεικόνιση κινητών και ακίνητων προνυμφών *M. incognita*. (φωτογραφία από Fawzia . Abdel, Shavon, Saleh, 2008, 680-685).



(1)



(2)

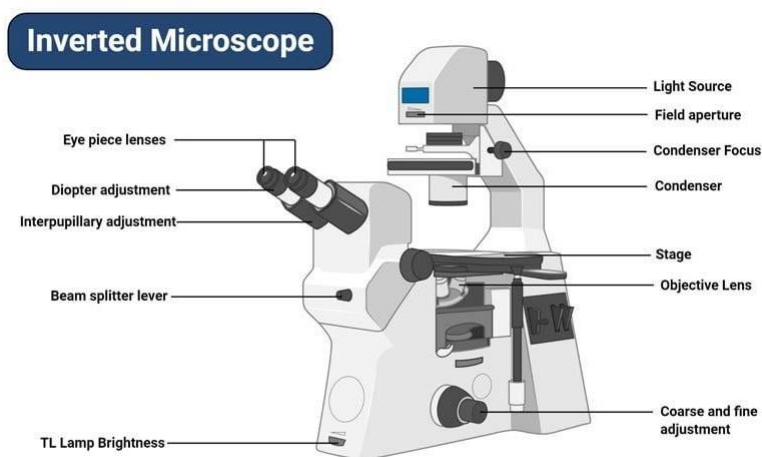


(3)



(4)

**Εικόνα 2.6:** Τα ανωτέρω είναι τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν: (1) πιπέτες μεταβλητού όγκου, (2) ηλεκτρονικός αναδευτήρας, (3) σωληνάριο τύπου Eppendorf με μητρικό διάλυμα, (4) πλάκες πολυστυρενίου, (προσωπικό αρχείο).



**Figure: Inverted Microscope**, Image Copyright © Sagar Aryal, [www.microbenotes.com](http://www.microbenotes.com)

**Εικόνα 2.7:** Απεικόνιση ενός ανάστροφου μικροσκοπίου. Εικόνα από: (Mokobi, April 10, 2022, edited by Aryal).

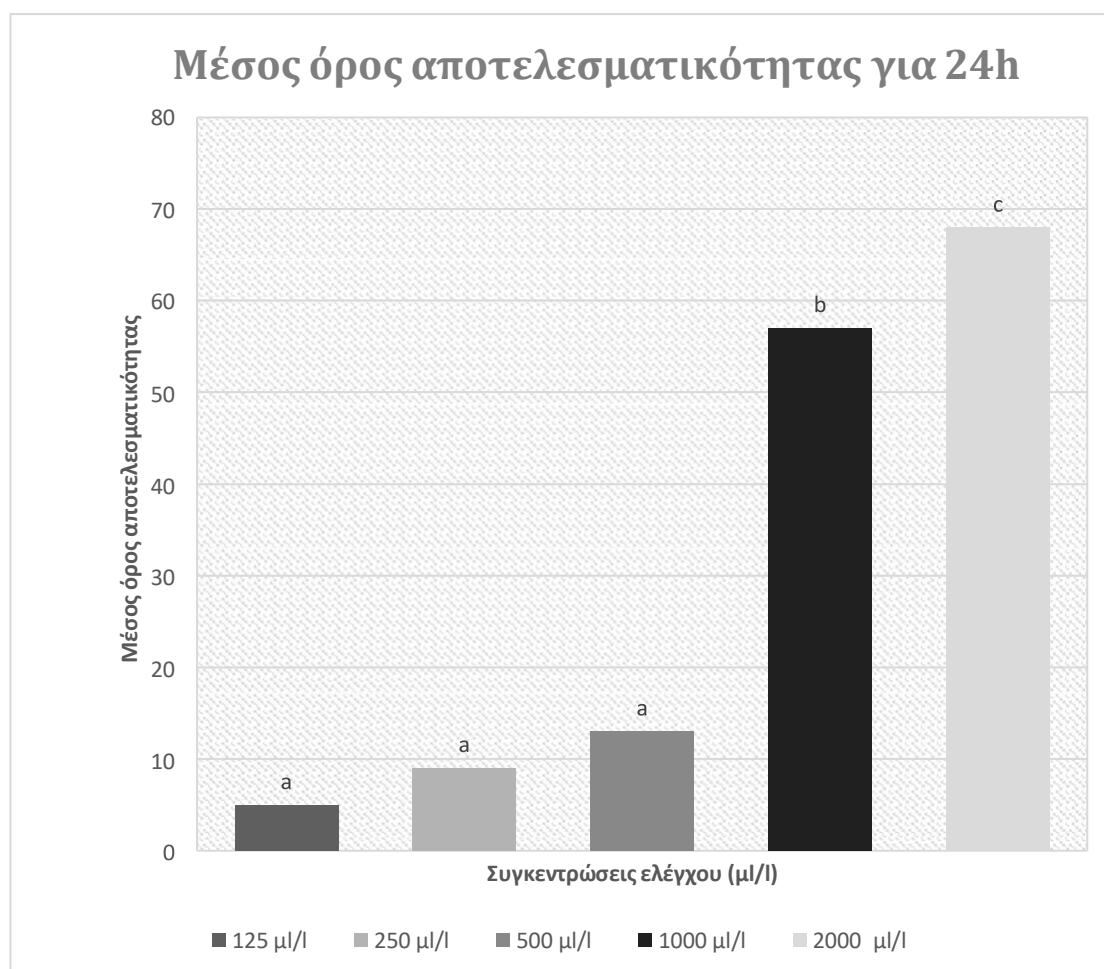
**Χημική σύσταση αιθέριου ελαίου λεβάντας:** Μέσω της μεθόδου της χρωματογραφίας αναλύθηκε η χημική σύσταση του αιθέριου ελαίου της λεβάντας.

Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος GC/MS (Trace GC Ultra gas chromatograph με ανιχνευτή Trace ISQ MS – Thermo Finnigan).

## Αποτελέσματα

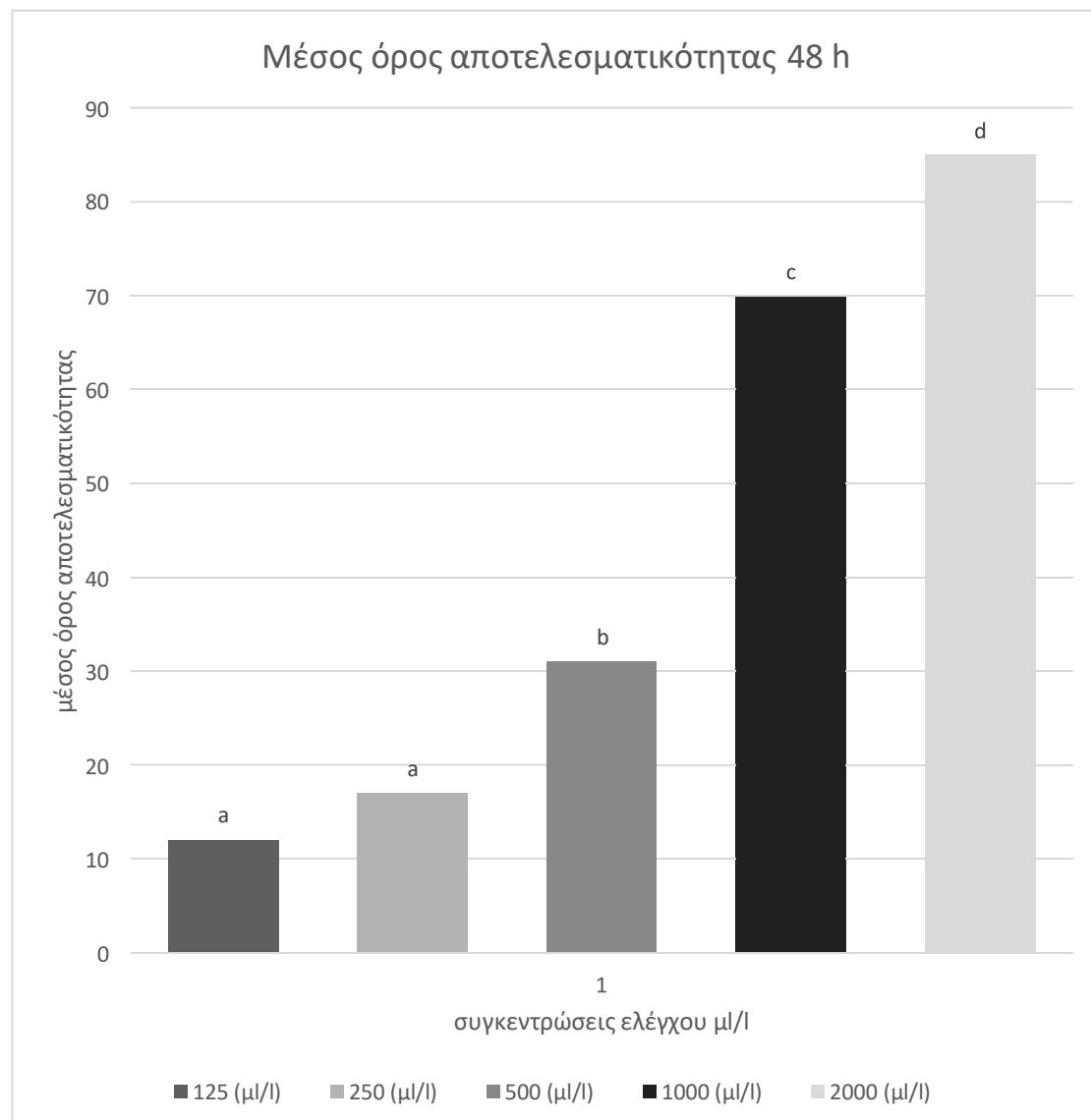
**Ανάλυση της χημικής σύστασης του αιθέριου ελαίου λεβάντας:** Μέσω της μεθόδου της χρωματογραφίας αναλύθηκε η χημική σύσταση του αιθέριου ελαίου της λεβάντας. Το αιθέριο έλαιο της λεβάντας ήταν πλούσιο σε linalyl acetate (26,26%),  $\beta$ -linalool (24,63 %) ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις ήταν και η *trans*- $\beta$ -ocimene (6,15%) και  $\beta$ -ocimene (4,92%), -lavandulyl acetate (5,67 %), -4-terpineol (4,08 %), η camphol (3,43%), η caryophyllene (3,44%), και η eucalyptol (*p*-cineole) (2,74%). Εντοπίστηκαν ακόμα 45 χημικές ουσίες οι οποίες όμως βρίσκονταν σε μικρότερες συγκεντρώσεις και δεν αναγράφηκαν.

**Μελέτη της επίδρασης του αιθέριου ελαίου της λεβάντας στην κινητικότητα του *M. incognita*:**



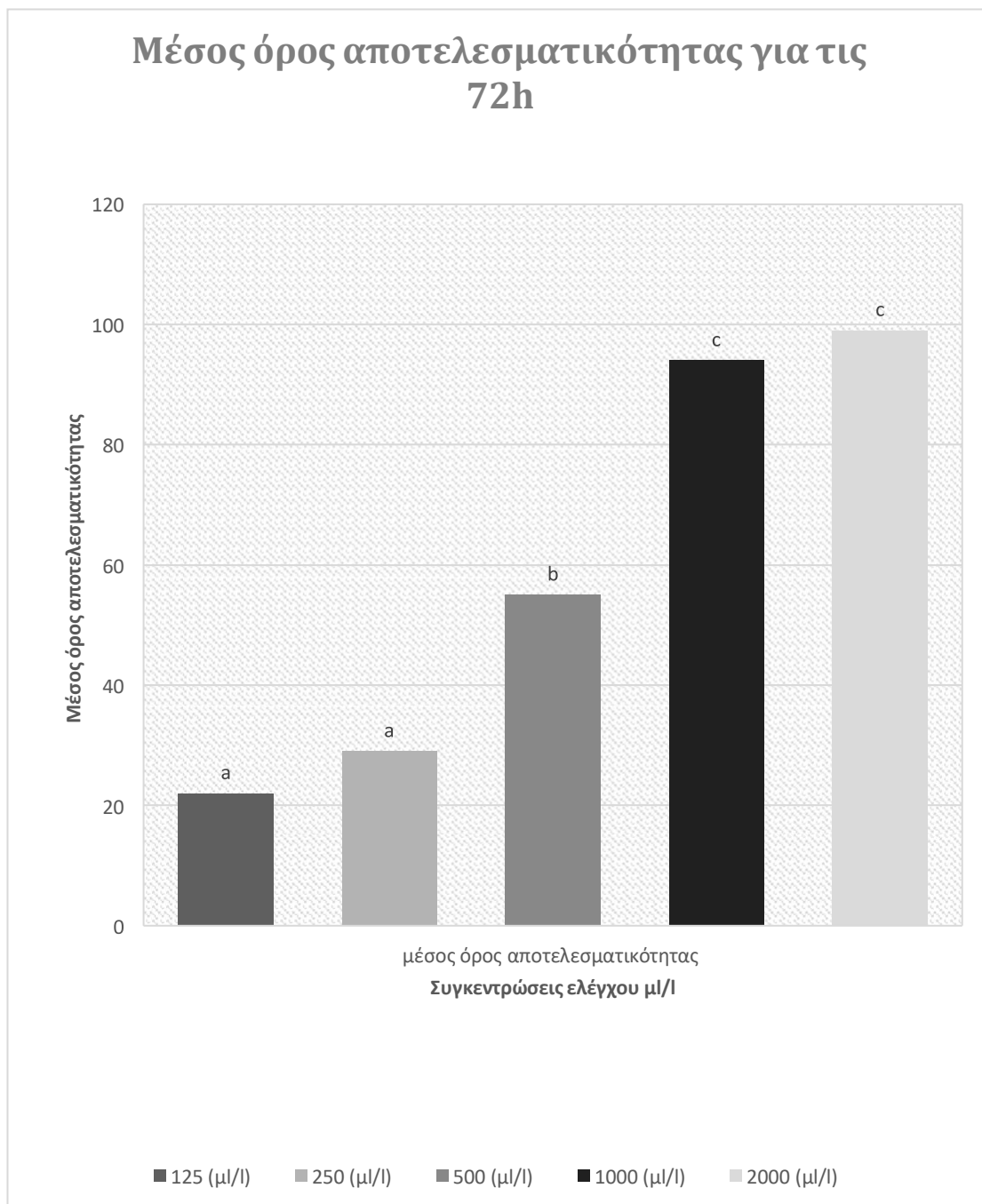
**Εικόνα 3.5:** Διαγραμματική απεικόνιση των μέσων όρων αποτελεσματικότητας κατά τις 24 πρώτες ώρες.

Όπως φαίνεται από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων μεταξύ των συγκεντρώσεων ελέγχου των 125, 250 και 500  $\mu\text{l/l}$  για την αξιολόγηση των 24 ωρών, δεν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των 125, 250 και 500  $\mu\text{l/l}$ , ενώ τα 1000 και 2000  $\mu\text{l/l}$  παρουσίασαν στατιστικά διαφορετική τιμή στο πλήθος των παράλυτων προνυμφών J2 σταδίου.



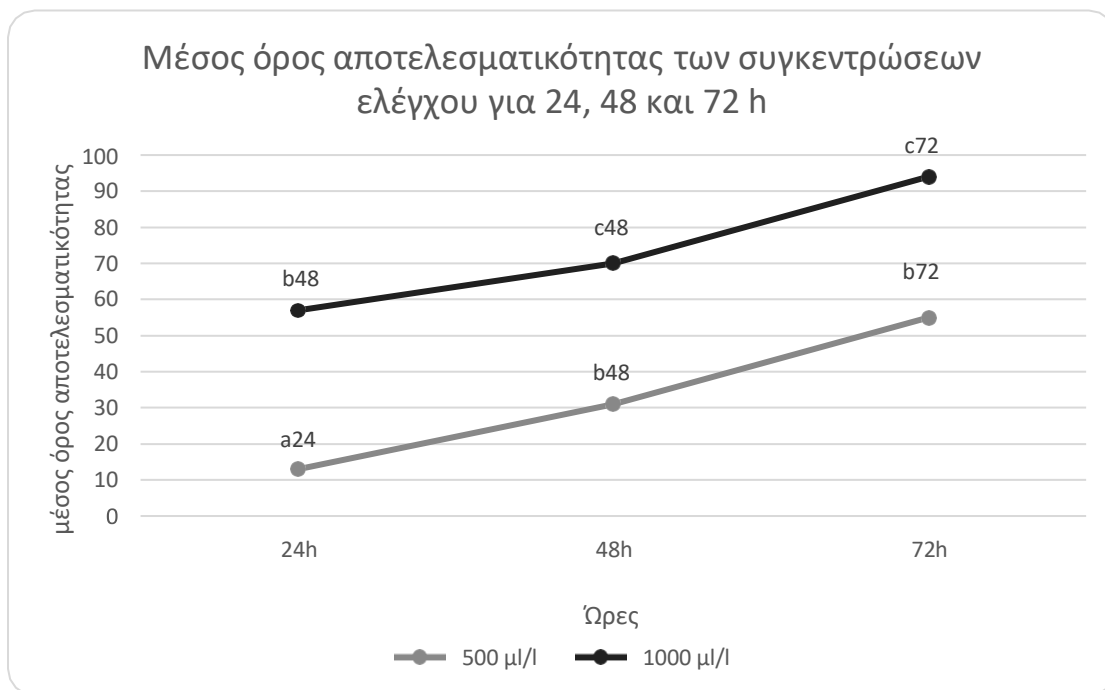
**Εικόνα 3.6:** Διαγραμματική απεικόνιση του μέσου όρου αποτελεσματικότητας στις 48 h.

Μεταξύ των 125 και 250  $\mu\text{l/l}$  δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά για την αξιολόγηση των 48 ωρών. Στα 500  $\mu\text{l/l}$  στα 1000 και τα 2000 οι διαφορές είναι στατιστικά σημαντικές.



**Εικόνα 3.7:** Διαγραμματική απεικόνιση του μέσου όρου της αποτελεσματικότητας για τις 72 h.

Δεν υπάρχει στατιστική διαφορά στα 1000 µl/l με τα 2000 µl/l καθώς επίσης και στα 125 µl/l με τα 250 µl/l για την αξιολόγηση των 72 ωρών. Στατιστικά σημαντική είναι η διαφορά της αποτελεσματικότητας στα 500 µl/l με όλες τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις ελέγχου. Επομένως ακόμα και στα 1000 µl/l το αιθέριο έλαιο της λεβάντας είναι πολύ αποτελεσματικό ενάντια στους νηματώδεις του γένους *M. incognita*.



**Εικόνα 3.8:** Μέσος όρος αποτελεσματικότητας κατά την διάρκεια των 3 ημερών που διεξήχθη το πείραμα. Για δύο ενδεικτικές συγκεντρώσεις ελέγχου.

Για 2 συγκεντρώσεις ελέγχου 500 µl/l (A) και 1000 µl/l (B) υπάρχει στατιστική διαφοροποίηση του μέσου όρου αποτελεσματικής δράσης του αιθέριου ελαίου της λεβάντας και για τα τρία εικοσιτετράωρα που έλαβε χώρα το πείραμα. Στις 24 πρώτες ώρες ο μέσος όρος ακινητοποίησης για την συγκέντρωσή ελέγχου (A) ανερχόταν στα 13 % ενώ για την (B) στα 57%. Στις 48 H, η (A) συγκέντρωση ελέγχου είχε μέσο όρο αποτελεσματικότητας 31% ενώ στην B 70%. Τέλος στο τρίτο εικοσιτετράωρο η αποτελεσματικότητα για την συγκέντρωση A ανερχόταν στα 55% ενώ για την B στα 94% αγγίζοντας έτσι την πλήρη εξουδετέρωση του φυτοπαραρασιτικού νηματώδη.

**Συζήτηση:** Το αιθέριο έλαιο της λεβάντας εμφάνισε υψηλή νηματωδοκτόνο δράση στις προνύμφες J2 σταδίου του *M. incognita*. Οι πλέον αποτελεσματικές συγκεντρώσεις ελέγχου ήταν τα 2000  $\mu\text{l/l}$ , 1000  $\mu\text{l/l}$  και 500  $\mu\text{l/l}$  με τις δυο μεγαλύτερες συγκεντρώσεις να αγγίζουν σχεδόν το 100% και τα 500  $\mu\text{l/l}$  το 55% αποτελεσματικότητας στις 72 h. Στις μικρότερες συγκεντρώσεις των 250  $\mu\text{l/l}$  και 125  $\mu\text{l/l}$  η αποτελεσματικότητα δεν ξεπέρασε το 30 % . Σε αντίστοιχα πειράματα που έχουν γίνει σε υβρίδια λεβάντας Lavandin για τρεις διαφορετικές ποικιλίες του φυτού Abrialis, Rinaldi Cerioni και Sumiens έχει παρατηρηθεί ισχυρή νηματωδοκτόνος δράση. Συγκεκριμένα και όπως φάνηκε στα πειράματα κινητικότητας στις συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου 12.5-100  $\mu\text{g/ml}$  παρατηρήθηκε παράλυση σε μόλις 24 ώρες. Μάλιστα στα 100  $\mu\text{g/ml}$  παρατηρήθηκε νηματωδοκτόνος δράση μεγαλύτερη του 80% και για τα τρία υβρίδια κλασσικής λεβάντας υποδηλώνοντας μεγαλύτερη βιοδραστικότητα σε σχέση με τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής (D'Addabbo et al, 2021). Το παραπάνω γεγονός πιθανότατα οφείλεται στην διαφορετική χημική σύσταση. Ειδικότερα όπως φάνηκε από την έρευνα που διεξήχθη από τους (D'Addabbo et al, 2021) η νηματωδοκτόνος δράση των αιθέριων ελαίων σχετίζεται με την παρουσία και συνεργιστική δράση διαφόρων οξυγονωμένων μορίων όπως η  $\beta$ -linalool, η camphol και η eucalyptol (*p*-cineole). Αξίζει να σημειωθεί πως πολλά φυτά της οικογένειας Lamiaceae τα οποία περιέχουν οξυγονωμένα ενεργά μόρια εμφανίζουν υψηλή νηματωδοκτόνο δράση. Για παράδειγμα τα *Origanum vulgare* (ρίγανη) και *Origanum dinctamus* (δίκταμο) των οποίων τα αιθέρια έλαια είναι πλούσια σε οξυγονωμένα μονοτερπένια όπως carvacrol παρουσιάζουν ισχυρή νηματωδοκτόνο δράση (Ntalli et al, 2010). Το δίκταμο είναι πλούσιο σε μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες σε ποσοστό 42.1% και η ρίγανη σε ποσοστό 19.6% και παρουσιάζουν νηματωδοκτόνο δράση σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις. Η τιμή  $\text{EC}_{50}$  για την αποτελεσματικότητα παράλυσης J2 στις 24 h ήταν μόλις 2.11  $\mu\text{l/ml}$  και 1.55  $\mu\text{l/ml}$  για τις 96 ώρες για την ρίγανη. Για το δίκταμο τιμή  $\text{EC}_{50}$  για τις 24 h ήταν 2.47  $\mu\text{l/ml}$  και 1,72  $\mu\text{l/ml}$  για τις 96 h. Αυτές οι συγκεντρώσεις ήταν μεγαλύτερες από ότι στο αιθέριο έλαιο της λεβάντας που χρειάστηκαν μόλις 500  $\mu\text{l/l}$  αιθέριου ελαίου περίπου για να φτάσει το ( $\text{EC}_{50}$ ) (Ntalli et al, 2010). Όλα τα παραπάνω δεδομένα αφορούν αποκλειστικά τους φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις του γένους *M. incognita*. Η ευαισθησία του φυτοπαρασιτικού νηματώδη *M. incognita* δεν είναι αντιπροσωπευτική για όλα τα είδη

νηματωδών που υπάρχουν. Έτσι μερικοί νηματώδεις είναι ευαίσθητοι σε κάποιο αιθέριο έλαιο περισσότερο από άλλους και το αντίστροφο, ανάλογα με την φυσιολογία τους την ανατομία τους αλλά και τις διατροφικές τους συνήθειες (Yeates et al. 1993).

## **6. Συμπεράσματα:**

Το αιθέριο έλαιο λεβάντας εμφανίζει νηματωδοκτόνο δράση στους *M. incognita* υπό τη μορφή παράλυσης των J2. Κρίνεται απαραίτητη η συνέχιση της έρευνας προκειμένου να ερευνηθεί η συνεργιστική δράση των αιθέριων ελαίων μαζί με άλλα προϊόντα με νηματωδοκτόνο δράση. Σημαντική είναι επίσης η γενετική βελτίωση μέσω της οποίας θα παραχθούν φυτά με μεγαλύτερη βιομάζα με σκοπό την αύξηση της ποσότητας του αιθέριου ελαίου που θα εξάγεται από το φυτό καθώς και την αύξηση των ουσιών με νηματωδοκτόνο δράση. Η κλιματική αλλαγή και ο υπερπληθυσμός είναι δύο από τις σοβαρότερες απειλές που έχει να αντιμετωπίσει το ανθρώπινο είδος, επομένως είναι αναγκαίες νέες «πράσινες» λύσεις προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η φυτική παραγωγή χωρίς να επιβαρύνεται η ευρωστία του περιβάλλοντος.

**«Look deep into the nature and then you will understand everything. »**

**«better»**

**-Albert Einstein**

## **7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

### **Ελληνική Βιβλιογραφία:**

- 1) Δημήτριος Μπιλάρης, Παναγιώτα-Θηρεσία Παπαστυλιανού Ηλίας Σ. Τραύλος, Γεωργία φυτά μεγάλης καλλιέργειας, (494-497), 2019.
- 2) Ντάλλη Νικολέτα Γ. , αντιμετώπιση των ριζόκομβων νηματωδών(*Meloidogyme incognita*) σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες με φυσικά προϊόντα και μελέτη της χημικής σύστασης αυτών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. (2010)

### **Ξενογλώσση βιβλιογραφία:**

- 1) L. Taylor, Nematicides and nematicides- a history, Nematropica, (2003), Vol 33, No. 2, 225-232.
- 2) AL Taylor, JN Sasser Biology, identification and control of root-knot nematodes, North Carolina State University Graphics, 1978, 1-107.
- 3) Alison McCook, The banned pesticide in our soil: in the 1990s, the world agreed to stop fumigating with methyl bromide. So why are so many US farmers still using it., The Scientist, 2006, Vol.6 Issue 1.
- 4) Ana Lilia Salas, María Rosa Alberto, Iris Catiana Zampini, Ana Soledad Cuello, Luis Maldonado, José Luis Ríos, Guillermo Schmeda-Hirschmannd, María Inés Isla, Biological activities of polyphenols-enriched propolis from Argentina arid regions, Phytomedicine, 2016, 27-31.
- 5) Antoon T. Ploeg, Paul C. Maris, Effects of Temperature on the duration of life cycle of a *Meloidogyne incognita* population, Nematology, 1999, vol 1(4), 389-393.
- 6) Anwar, Z. Shamim, and J. Amjad, Weeds as reservoir of nematodes, Pak. J. Nematol., 2009, vol. 27(2), 145-153.
- 7) Bahare Salehi, Dima Mnayer, Beraat Özçelik, Gokce Altin, Kadriye Nur Kasapoğlu, Ceren Daskaya-Dikmen, Mehdi Sharifi-Rad, Zeliha Selamoglu, Krishnendu Acharya, Surjit Sen, Karl R. Matthews, Patrick Valere Tsouh Fokou, Farukh Sharopov, William N. Setzer, Miquel Martorell and Javad Sharifi-Rad, Plants of the Genus Lavandula: From Farm to Pharmacy, Natural Product Communications, 2018, volume 13, Issue 10, 1385-1402.
- 8) C Maleita, R Curtis, I Abrantes , Thermal requirements for the embryonic development and life cycle of *Meloidogyne hispanica*, Plant Pathology, Plant Pathology, 2012, vol. 61, 1002-1010
- 9) CABI, Invasive Species Compendium, CABI, Wallingford, UK, 2019.
- 10) Chitwood, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control (Review). Annu. Rev. Phytopathol. 2002, vol 40, 221–249.
- 11) Davide RG, Triantaphyllou AC. Influence of the environment on development and sex differentiation of root-knot nematodes II. Effect of host

- nutrition. *Nematologica*. 1973, Annual review of phytopathology, vol 11 ,441-462.
- 12) Decraemer, W. and Hunt, D.J., Structure and classification, In: Plant Nematology, 2006, Wallingford, Oxfordshire: CAB International, 3-32.
  - 13) E. Kim, Y. YunheeSeo, Y. S. Kim, Y. Park, and Y. H. Kim, “Effects of soil textures on infectivity of root-knot nematodes on carrot,” *Molecular Plant Pathology*, 2017, vol. 33, no. 1, 66–74,
  - 14) E. L. Ghisalberti, *Propolis: A Review*, 31 Jul 2015, 59-84
  - 15) Faith Mokobi, edited by sagal Aryal Inverted Microscope- Definition, Principle, Parts, Labeled Diagram, Uses, Worksheet, Microbe notes, April 10, 2022.
  - 16) Fawzia h. Abdel-Rahman, Shavon Clark, Mahmoud Saleh, Natural organic compounds as alternative to methyl bromide for nematodes control, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2008, Volume 4, issue 8, 680-685.
  - 17) G.W. Yeates, T. Bongers, R. G. M. DE Goede, D. W. Freckman, S. S. Georgieva, Feeding habits in soil nematode families and genera - an outline for soil ecologists, *J. Nematol.* 1993, 25, 315–331.
  - 18) Ganguly A, Dasgupta D. Effect of maleic hydrazide, a plant growth inhibitor, on the biology of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Nematologica Mediteranea*, 1984, vol 12, 23–29.
  - 19) Harsimran K. Gill, Zane J. Grabau, and Robert McSorley cover crops for managing root knot nematodes (2023), University of Florida, 1-8.
  - 20) J. D. Eisenback and H. H. Triantaphyllou, “Root-Knot nematodes: *Meloidogyne* species and races,” , *Manual of Agricultural Nematology*. W. R. Nickle, 1991, 191–274.
  - 21) J. Grabau and J. W. Noling, Nematode management in potatoes (Irish or white, (2023), University of Florida.
  - 22) J. Ma, “Effects of *Meloidogyne Incognita*, Soil Physical Parameters, and *Thielaviopsis Basicola* on Cotton Root Architecture and Plant Growth, University of Arkansas, 2012, 1-134.
  - 23) J. R. Rich, R. A. Dunn, J. W. Noling, Nematicides: past and present uses, *Nematology: advances and perspectives*, 2004, Volume 2.

- 24) Johan Desaegeer, Catherine Wram, Inga Zasada, New reduced-risk agricultural nematicides rationale and review, *Journal of Nematology*, (2020), Vol 52 , Issue 1, 1-16.
- 25) Jonathan Eisenback, 2022, *Nematology 101 Super Course Unit One: Introduction and History*, 17-28
- 26) Jones, J. T., Haegeman, A., Danchin, E. G. J., Gaur, H. S., Helder, J., Jones, M. G. K., Perry, R. N., Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 2013, vol 14(9), 946-961.
- 27) José-Antonio López-Pérez, Michelle Le Strange, Isgouhi Kaloshian, Antoon T. Ploeg, Differential response of *Mi* gene-resistant tomato rootstocks to root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*), *Crop protection*, 2006, Vol. 25 issue 4, 382-388.
- 28) Kenneth R. Markham, Kevin A. Mitcell, Alistair L. Wilkins, Julia A. Daldy, Yinrong Lu, HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis, *phytochemistry*, 1996, volume 42, issue 1, 205-211.
- 29) Lawrence BM, Progress in essential oils, lavender oils. *Perf Flav* 1993, 18(1), 58-61.
- 30) Lis-Balchin M (edit) (2002), *Lavender: the genus Lavandula*, Taylor & Francis, Milton ParkReturn.
- 31) M Moens, JA Perry, and DB Starr, *Meloidogyne* species—a diverse group of novel and important plant parasites. *Root-knot nematodes*, CABI International, Wallingford, UK, 2009, 1-13.
- 32) M. A. Back, P. P. J. Haydock, P. Jenkinson, Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne path, *plant pathology*, 2002, vol. 51 issue 6, 683-697.
- 33) Mahmoud Ehwaeti, Mireille Fargette, Mark Phillipsand, David Trudgill, Host status differences and their relevance to damage by *Meloidogyne incognita*, in *Nematology*, 1999, vol.1 issue 4, 421-432.
- 34) Moura RM, Davis EL, Luzzi BM, Boerma HR, Hussey RS. Postinfectious development of *Meloidogyne incognita* on susceptible and resistant soybean genotypes. *Nematropica*. 1993, vol 23, 7–13.
- 35) N.B. Pedroche, L.M. Villaneuva, and D. D. Waele, “Plant-parasitic nematodes associated with semi-temperate vegetables in the highlands of Benguet

- Province, Philippines,” Archives of Phytopathology and Plant Protection, 2013 vol. 46, no. 3, 278–294.
- 36) Nicol, J.M., Turner, S.J., Coyne, D.L., den Nijs, L., Hockland, S. and Maafi, Z.T. Current nematode threats to world agriculture. In: Genomics and Molecular Genetics of Plant–Nematode Interactions, 2011, 21–43.
  - 37) Nicoletta G. Ntalli, Federico Ferrari, Ioannis Giannakou, Urania Menkissoglou-Spiroudi, Phytochemistry and Nematicidal Activity of the Essential Oils from 8 Greek Lamiaceae Aromatic Plants and 13 Terpene Components, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, Volume 58, Issue 13, 7856-7863.
  - 38) Nikoletta G. Ntalli and Pierluigi Caboni, Botanical Nematicides: A Review, Agricultural and food chemistry society, 2012, Vol. 60, issue 40, 9929-9940.
  - 39) Noling. Joseph W., Nematode management in tomatoes, peppers and eggplant, University of Florida, 2019, Publication Eny-032, pages 1-3.
  - 40) Ntalli, N., & Caboni, P. (2022). Plant secondary metabolites mode of action in the control of root-knot nematodes. Biocontrol of plant disease: Recent advances and prospects in plant protection (pp. 75-89).
  - 41) Ornat, C., Sorribas, F. J., Integrated management of root-knot nematodes in Mediterranean horticultural crops., Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes, 2008, 295-319.
  - 42) Puntener W., 1981, Manual for field trials in plant protection, Agricultural Decision, second edition, Ciba-Geigy Limited.
  - 43) R. Georgis, A.M. Koppenhöfer, L.A. Lacey, G. Bélair, L.W. Duncan, P.S. Grewal, M. Samish, L. Tan, P. Torr, R.W.H.M. van Tol, Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control, biological control, 2006, Volume 38, Issue 1, 103-123
  - 44) R.H.C. Curtis, Plant-nematode interactions: environmental signals detected by the nematode’s chemosensory organs control changes in the surface cuticle and behavior, Parasite, September 2008, Volume 15, Number 3, 310-316.
  - 45) R.N. Perry and J.L. Starr, *Meloidogyne* species - a diverse group of novel and important plant parasites, Root-Knot Nematodes, CABI International, London, UK, 2009.

- 46) Renata Prusinowska , Krzysztof B. Śmigielski, Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L). A review, *Herba Polonica*, 2014, Volume 60, Issue 2, 56-66.
- 47) S. R. Koenning, S. A. Walters, and K. R. Barker, “Impact of soil texture on the reproductive and damage potential of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* on cotton,” *Journal of Nematology*, 1996, vol. 28, 527–536.
- 48) S. Shazad, S. A. Anwar, M. V. McKenry, S. T. Sahi, N. Abid, and B. Ghaffor, “*Meloidogyne incognita* infecting two perennial ornamentals,” *Pakistan Journal of Zoology*, 2011, vol. 43, no. 2, 337–342.
- 49) Snyder, D. W., Opperman, C. H., Bird, D. M., A method for generating *Meloidogyne incognita* males, *Journal of Nematology*, 2006, vol 38(2), 192-194
- 50) Soler-Serratos, A.; Kokalis-Burelle, N.; Rodríguez-Kabana, R.; Weaver, C. F.; King, P. S. Allelochemicals for control of plant-parasitic nematodes. 1. In vivo nematicidal efficacy of thymol and thymol/ benzaldehyde combinations. *Nematropica* 1996, vol 26, 57–71.
- 51) T. L. Widmer, N. A. Mitkowski, and G. S. Abawi, Soil Organic Matter and Management of Plant-Parasitic Nematodes, *The Journal of Nematology*, (2002), Vol 34(4), 289-295.
- 52) Triantaphyllou AC. Environmental sex differentiation of nematodes in relation to pest management. *Annual Review of Phytopathology*. 1973, 441–46.
- 53) Trifone D’Addabbo, Sebastiano Laquale, Maria Pia Argentieri, Maria Grazia Bellardi, Pinarosa Avato, Nematicidal Activity of Essential Oil from Lavandin (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.) as Related to Chemical Profile, *Molecules*, 2021, Vol 26(21), 6448.
- 54) V.H. Dropkin, Cellular responses of plants to nematode infections, *Annual review of Phytopathology*, (1969), vol 7, 101-122.
- 55) V.H. Dropkin, The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature, *Phytopathology*, (1969), 1632-1639
- 56) Yuji Oka, From Old-Generation to Next-Generation Nematicides, *Agronomy*, 2020, vol 10(9), 1387.

**Πηγές σκευασμάτων και χημικών ενώσεων:** (Διεθνής Ένωση Καθαρής και Εφαρμοσμένης Χημείας; <https://1click.minagric.gr/oneClickUI/frmFytoPro.zul>)

**Για στατιστικά στοιχεία σχετικά με την καλλιέργεια της**  
**Τομάτας;**(<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>).