



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Σχολή Γεωπονικών Επιστημών Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής
Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**« Μελέτη της αποτελεσματικότητας εκχυλισμάτων του φυτικού
είδους *Rosa damascena* στην αντιμετώπιση κομβονηματωδών του
είδους *Meloidogyne incognita*»**

Ανδρονίκη Μήνα



Επιβλέπουσα: Ντάλλη Γ. Νικολέττα, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας
Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Π.Θ.

Βόλος, 2024

**« Μελέτη της αποτελεσματικότητας εκχυλισμάτων του φυτικού
είδους *Rosa damascena* στην αντιμετώπιση κομβονηματωδών του
είδους *Meloidogyne incognita*»**

**«Study of the efficacy of *Rosa damascena* extracts in managing root
knot nematodes of the *Meloidogyne incognita* species »**

Ανδρονίκη Μήνα

Τριμελής εξεταστική επιτροπή

Ντάλλη Γ. Νικολέττα (Επιβλέπουσα)

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

Νικόλαος Γ. Τσιρόπουλος (Μέλος)

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

Βέλλιος Ευάγγελος (Μέλος)

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

Ευχαριστίες

Με το πέρας της συγγραφής αυτής της πτυχιακής διατριβής στο εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ολοκληρώνεται ένα από τα σημαντικότερα σταυροδρόμια στο ταξίδι μου έως τώρα. Δεν μπορώ παρά να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου προς κάθε πρόσωπο που προσέφερε πολύτιμη βοήθεια, καθοδήγηση και συμβουλές καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας αλλά και συγγραφής της παρούσας εργασίας.

Οφείλω να ευχαριστήσω πρωτίστως την επιβλέπουσα της πτυχιακής μου διατριβής και Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, κα. Νικολέττα Ντάλλη για την επιστημονική καθοδήγησή της, τις συμβουλές και την εμπιστοσύνη της αναθέτοντάς μου τη θεματική της εργασίας και την διεξαγωγή των πειραμάτων. Ευχαριστώ επίσης τον Καθηγητή κ. Νικόλαο Τσιρόπουλο, υπεύθυνο του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής.

Ευχαριστώ επίσης και το τρίτο μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής κ. Ευάγγελο Βέλλιο, Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος για την συμμετοχή του και τον χρόνο που αφιερώθηκε στην ανάγνωση της παρούσας διατριβής. Επιπλέον ευχαριστώ όλα τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου και συγκεκριμένα τους προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές που αποτέλεσαν σημαντικό ρόλο στην διεξαγωγή των πειραμάτων με την βοήθεια τους, διάθεση για συνεργασία και θετική τους διάθεση. Τέλος ευχαριστώ το Εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών του Τμήματος Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, για την πρόσβαση στον απαραίτητο εργαστηριακό εξοπλισμό.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	v
1. Εισαγωγή.....	1
1.1 Κομβονηματώδεις – Γένος <i>Meloidogyne</i>	1
1.1.1 Γεωγραφική εξάπλωση, Ξενιστές και Οικονομική σημασία	2
1.1.2 Βιολογικός κύκλος	4
1.1.3 Συμπτωματολογία και παράγοντες που ευνοούν την προσβολή	6
1.2 Μέτρα αντιμετώπισης των Κομβονηματωδών.....	7
1.2.1 Καλλιεργητικά μέτρα αντιμετώπισης των <i>Meloidogyne</i> spp.	8
1.2.2 Χημικά μέσα αντιμετώπισης.....	10
1.2.3 Βιολογικοί τρόποι αντιμετώπισης.....	11
2. Βοτανικά εκχυλίσματα.....	14
2.1 Αιθέρια έλαια	15
2.2 Τριαντάφυλλο – <i>Rosa damascena</i>	16
2.3 Σκοπός εργασίας.....	19
3. Υλικά και μέθοδοι.....	20
3.1 Παρασκευή εκχυλισμάτων	20
3.2 Ανάπτυξη και συντήρηση πληθυσμού <i>M. incognita</i>	21
3.2.1 Μέθοδος παραλαβής προνυμφών J2.....	22
3.2.2 Παρασκευή διαλυμάτων ελέγχου.....	23
3.2.3. Προετοιμασία αιωρήματος J2.....	24
3.2.4. Στήσιμο βιοδοκιμής σε μικροπλάκες πολυστυρενίου.....	24
3.3 Αποτελεσματικότητα και χημική σύσταση	26
3.3.1 Αποτελεσματικότητα πρόκλησης παράλυσης των J2	26
3.3.2 Ανάλυση χημικής σύστασης εκχυλίσματος.....	26
3.4 Στατιστική ανάλυση	27
4. Αποτελέσματα.....	29
4.1 Αποτελεσματικότητα μεταχειρίσεων ροδόνηρου στην πρόκληση παράλυσης J2	29
4.2 Αποτελεσματικότητα μεταχειρίσεων εκχυλισμάτων υπερήχων στην πρόκληση παράλυσης J2 (πέταλα και άνθη)	30
5. Συζήτηση.....	32

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι νηματώδεις αποτελούν μια ιδιαίτερη συνομοταξία ζωικών οργανισμών, με μεγάλη βιοποικιλότητα και παραλλακτικότητα μεταξύ ειδών. Πολλά από τα είδη, όπως το *Meloidogyne incognita* έχουν προσδιοριστεί ως σημαντικοί εχθροί των καλλιεργειών, καθώς το μικροσκοπικό τους μέγεθος και τα ιδιαίτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά που κατέχουν τους επιτρέπουν να κινούνται στο έδαφος και να προσβάλλουν τα φυτά μέσω του ριζικού συστήματος. Η προσβολή από τους φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις επιφέρει τεράστιες οικονομικές ζημιές για τις καλλιέργειες ετησίως, όμως επειδή πολλά χημικά σκευάσματα με εξειδικευμένη νηματοδοκτόνο δράση έχουν αποσυρθεί λόγω τοξικότητας, καίριας σημασίας είναι η εύρεση νέων μεθόδων και ουσιών που να είναι εξίσου αποτελεσματικές αλλά χωρίς αρνητικό περιβαλλοντικό αποτύπωμα. Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα εκχυλισμάτων τριαντάφυλλου (*Rosa damascena*) στην καταπολέμηση των κομβονηματωδών, μέσω πειραμάτων παράλυσης σε προνύμφες 2^{ου} σταδίου (J2) του *Meloidogyne incognita*. Για τη παραγωγή των εκχυλισμάτων αξιοποιήθηκαν δύο μέθοδοι. Αρχικά με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης, παρασκευάστηκε και χρησιμοποιήθηκε αρωματικό ύδωρ από τα άνθη και τα πέταλα μαζί. Έπειτα χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος εκχύλισης στους υπερήχους για τη παραγωγή εκχυλίσματος από άνθη και πέταλα ξεχωριστά. Τα εκχυλίσματα που προέκυψαν, α) υδροαπόσταγμα (αρωματικό ύδωρ, ροδόνερο) από άνθη και πέταλα, β) εκχύλισμα υπερήχου ανθέων και γ) εκχύλισμα υπερήχου πετάλων, χρησιμοποιήθηκαν σε εύρος συγκεντρώσεων και υπολογίστηκαν οι τιμές EC_{50} μετά από 24, 48 και 72 ώρες εμφάνισης των νηματωδών στα διαλύματα ελέγχου. Το εκχύλισμα υπερήχου των πετάλων αποδείχθηκε ως το αποτελεσματικότερο με $EC_{50/72h} = 26600 \mu L/L$, επόμενο πιο αποτελεσματικό ήταν το αρωματικό ύδωρ με $EC_{50/72h} = 49400 \mu L/L$ και τέλος το εκχύλισμα υπερήχου των ανθέων με $EC_{50/72h} = 144500 \mu L/L$. Συμπερασματικά, το εκχύλισμα του *R. damascena* παρουσιάζει ενδιαφέρον ως προς τη χρήση του στη καταπολέμηση των *Meloidogyne* και κρίνεται η σημασία περαιτέρω μελέτης στο μέλλον.

Λέξεις κλειδιά: *Meloidogyne incognita*, *Rosa damascena*, εκχυλίσματα τριαντάφυλλου, φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις, βοτανικά νηματοδοκτόνα

ABSTRACT

Nematodes are a unique cohort of animal organisms, with great biodiversity and variability between species. Various species, such as *Meloidogyne incognita* are widely known to be important crop pests, as due their microscopic size and distinctive morphological characteristics they are able to move in the soil and infect plants through their root system. Infestations by plant parasitic nematodes cause huge economic losses to crops annually, but since many chemical formulations with specialized nematicidal activity have been withdrawn due to toxicity concerns, it is crucial to find new methods and chemical compounds that are equally effective but without a negative environmental impact. In this thesis, extracts of rose (*Rosa damascena*) was studied in regards to their efficacy in the control of root knot nematodes through paralysis experiments on stage 2 (J2) larvae of *Meloidogyne incognita*. Two methods were utilized to produce the extracts. Firstly, aromatic water (rose water) was prepared by means of the hydrodistillation from the flowers and petals together. Then ultrasonic extraction was used to produce extracts from flowers and petals separately. The resulting extracts, (a) hydrodistillate (aromatic water, rose water) from flowers and petals, (b) flower ultrasonic extract and (c) petal ultrasonic extract, were used at a range of concentrations and EC_{50} values were calculated after 24, 48 and 72 hours of nematode immersion in the control solutions. The petal ultrasound extract was found to be the most effective with $EC_{50/72h} = 26600 \mu\text{L/L}$, next most effective was the aromatic water (rose water) with $EC_{50/72h} = 49400 \mu\text{L/L}$ and finally the flower ultrasound extract with $EC_{50/72h} = 144500 \mu\text{L/L}$. In conclusion, the extract of *R. damascena* presents great interest as to its use in managing *Meloidogyne* and the importance of further study in the future is recognized.

Key words: *Meloidogyne incognita*, *Rosa damascena*, rose extracts, plant parasitic nematodes, botanical nematicides

1. Εισαγωγή

Οι νηματώδεις αποτελούν μια κατηγορία ζωικών οργανισμών με περισσότερα από 25.000 γνωστά είδη που ζουν ελεύθερα στο έδαφος ή που παρασιτούν σε άλλους οργανισμούς. Συγκεκριμένα οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις (Plant Parasitic Nematodes – PPN) που αποτελούνται από περισσότερα από 4000 είδη, τα οποία χωρίζονται στα γένη *Meloidogyne* (Κομβονηματώδεις), *Heterodera* (Κυστονηματώδεις), *Pratylenchus* κλπ. (Jones et al., 2013) προσβάλλουν τα φυτά μέσω των ριζών, παραμένοντας είτε εξωτερικά από αυτές είτε εισχωρώντας μέσα στον φυτικό ιστό, προκαλώντας τεράστιες οικονομικές απώλειες ετησίως (Raaijmakers et al., 2008).

1.1 Κομβονηματώδεις – Γένος *Meloidogyne*

Οι φυτοπαρασιτικοί κομβονηματώδεις ανήκουν στο γένος *Meloidogyne* (Goldi, 1892), το οποίο περιέχει περισσότερα από 90 αναγνωρισμένα είδη, τα οποία είναι ενδο-φυτοπαρασιτικοί εγκατεστημένοι νηματώδεις (Jones et al. 2013).

Η ταξινόμηση του γένους βασίζεται σε μορφολογικά χαρακτηριστικά ή στη χρήση μοριακών μεθόδων, δηλαδή αλληλούχιση γενετικού υλικού και η PCR (Blok & Powers, 2009). Βασικά είδη του γένους αυτού αποτελούν τα *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* και *M. hapla*, που χαρακτηρίζονται από μεγάλο εύρος ενδαιτημάτων και ξενιστών, και συνεπώς παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στα πλαίσια της φυτοπροστασίας (Karssen & Moens, 2006).

Βασίλειο: Metazoa

Φύλο: Nematoda

Κλάση: Secernentea

Τάξη: Tylenchida

Οικογένεια: Heteroderidae

Γένος: *Meloidogyne*

(Eisenback, 2022)



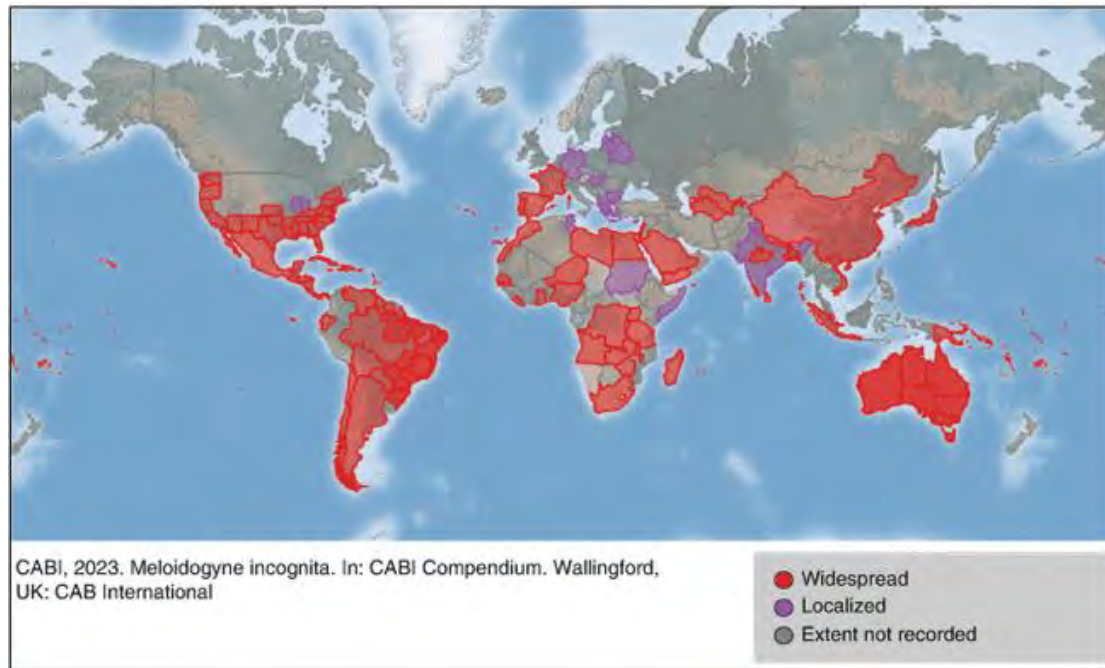
Εικόνα 1: Προνύμφες 2^{ου} σταδίου *M. incognita*

1.1.1 Γεωγραφική εξάπλωση, Ξενιστές και Οικονομική σημασία

Οι κομβονηματώδεις του γένους *Meloidogyne* παρουσιάζουν παγκόσμια εξάπλωση, καθώς μπορούν να επιβιώσουν σε ποικίλα οικοσυστήματα και να προσβάλλουν περισσότερα από 5000 διαφορετικά φυτικά είδη – ξενιστές, χάρη στην ανθεκτικότητα και προσαρμοστικότητά τους. Απαντώνται σε περιοχές με μεγάλες κλιματικές διαφορές, προκαλώντας απώλειες της τάξης του 5% στην απόδοση των καλλιεργειών (Jones et al., 2013). Ευδοκιμούν σε θερμές περιοχές με αμμώδη εδάφη, όπου διευκολύνεται και επιταχύνεται η αναπαραγωγή τους προκαλώντας έτσι μεγάλες ζημιές σε πληθώρα καλλιεργούμενων ειδών. Στις μεσογειακές περιοχές συγκεκριμένα αποτελούν το κυριότερο φυτοπαράσιτο εδάφους για τις θερμοκηπιακές καλλιέργειες (Ντάλλη, 2010).

Παρασιτούν σε διάφορες καλλιέργειες λαχανικών όπως η τομάτα, η πατάτα, το καρότο αλλά και σε καλλιέργειες φρούτων, όπως το καρπούζι και διάφορα εσπεριδοειδή (Karssen & Moens, 2006; Sorribas et al., 2005). Πέραν από τις ευνοϊκές κλιματικές συνθήκες της Μεσογείου για τους νηματώδεις, οι γεωργικές πρακτικές και οι ποικιλίες

που επιλέγονται για καλλιέργεια στην περιοχή ευνοούν την ανάπτυξη του πληθυσμού και τη δράση τους. Συγκεκριμένα, λόγω της εντατικοποίησης των καλλιεργειών δημιουργούνται ιδανικές συνθήκες για την προσβολή από κομβονηματώδεις. Η προσβολή οδηγεί στην ολοκληρωτική απώλεια σοδειάς.



Εικόνα 2: Γεωγραφική εξάπλωση των *Meloidogyne incognita*.

Πηγή: https://doi.org/10.1007/978-981-99-2893-4_1

Στην Ελλάδα οι καταγραφές νηματωδών του γένους *Meloidogyne*, από το 1963 έως και το 1994, αναφέρονται κυρίως ως τα είδη *M. javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. artiellia* και *M. exigua*, ενώ από το 1994 και έπειτα καταγράφονται κυρίως τα είδη *M. javanica*, *M. incognita* και *M. arenaria*. (Tzortzakakis et al., 2011), τα οποία αποτελούν και τα συνηθέστερα είδη του γένους παγκοσμίως, καθώς είναι πολυφάγα με τεράστιο εύρος ξενιστών.



Εικόνα 3: Σύγκριση υγιούς ριζικού συστήματος (δεξιά) με ριζικό σύστημα προσβεβλημένο από κομβοκηματώδεις.

Πηγή: Jonathan Eisenback, Tiwari, Siddharth & Eisenback, Jonathan & Youngman, Roger. (2009). Root-knot nematode in field corn..

1.1.2 Βιολογικός κύκλος

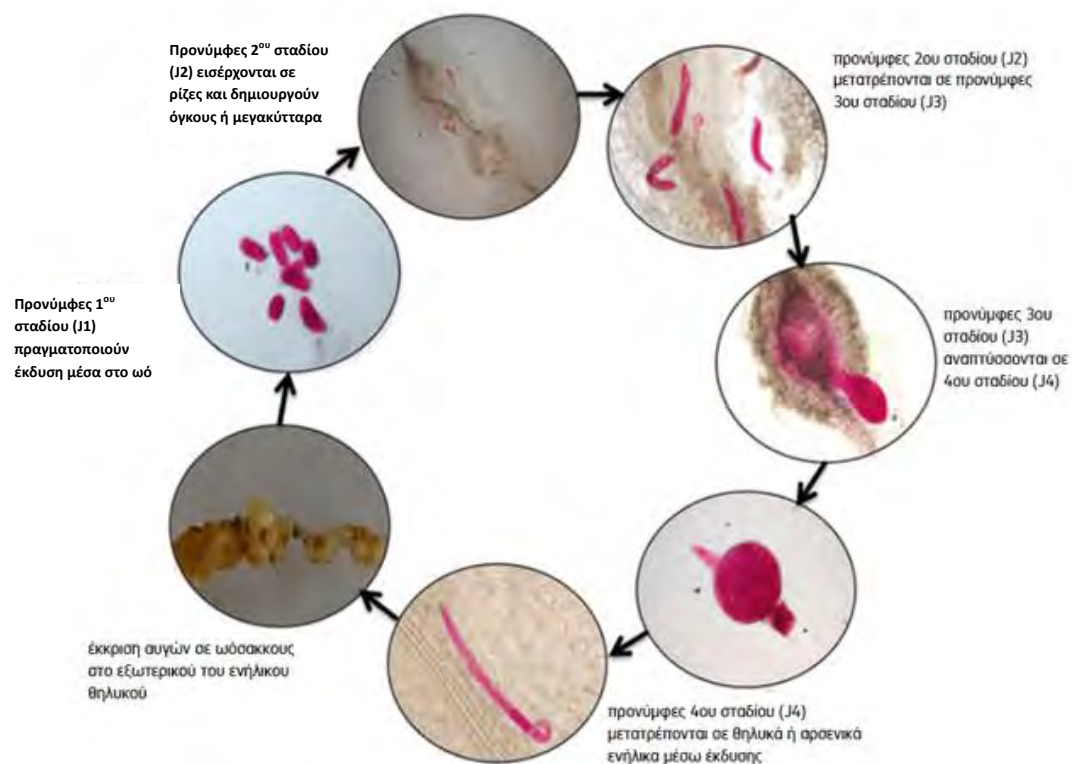
Ο κύκλος ζωής των νηματωδών του γένους *Meloidogyne* χαρακτηρίζεται από ένα εμβρυικό στάδιο, 4 προνυμφικά (J1-J4) και το ενήλικο στάδιο. Κατά το εμβρυικό στάδιο, μετά από μια σειρά κυτταροδιαίρέσεων προκύπτει η προνύμφη του πρώτου σταδίου (J1), η οποία μετά από έκδυση μέσα στο αυγό μετατρέπεται σε προνύμφη δεύτερου σταδίου (J2). Σε αυτό το στάδιο η προνύμφη έχει σχήμα σκωληκοειδές και παρουσιάζει κινητικότητα, που της δίνει την ικανότητα να κινείται μέσω του εδαφικού διαλύματος και να εισέρχεται στη ρίζα του φυτού – ξενιστή χρησιμοποιώντας το στυλέτο (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

Οι J2 προνύμφες μέσα στη ρίζα του ξενιστή μεταναστεύουν μεσοκυττάρια μέσω του ριζικού φλοιού και του μεριστώματος και εισέρχονται στον αγγειακό κύλινδρο, όπου εγκαθιδρύουν τη μόνιμη θέση τροφής και τρέφονται δημιουργώντας ομάδα μεγακυττάρων (giant cells) (Wyss & Grundler, 1992; Caillaud et al., 2008). Αφού

εγκατασταθεί, η J2 παίρνει μορφή «σακκοειδή» και σταματά να τρέφεται και ακολουθούν περεταίρω μορφολογικές αλλαγές για τον νηματώδη.

Η ανάπτυξη των μεγακυττάρων, επιτρέπει στις J2 να υποστούν τρεις ακόμα εκδύσεις (J3, J4) ώσπου να φτάσουν στο ενήλικο στάδιο, σε διάστημα μερικών εβδομάδων από την αρχική εγκαθίδρυση στη μόνιμη θέσης τροφής. Λίγο μετά την τελευταία έκδυση, τα ενήλικα θηλυκά συνεχίζουν να τρέφονται, και συγχρόνως αναπτύσσουν το αναπαραγωγικό τους σύστημα. Συνάμα τα σακκοειδή αρσενικά μετατρέπονται σε ενήλικα, αποκτούν ελικοειδές σχήμα και δεν τρέφονται από το φυτό και τελικά εγκαταλείπουν τη ρίζα για να κινηθούν ελεύθερα στο έδαφος (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

Τα ενήλικα θηλυκά αναπαράγονται αγενώς με παρθενογένεση. Παράγουν 1500-2000 απογόνους σε μορφή αυγών που εναποθέτουν σε ζελατινώδη μάζα, τον ωόσακκο. Η εμβρυϊκή ανάπτυξη των νεαρών ατόμων του πρώτου σταδίου (J1) και η μεταμόρφωση σε J2 λαμβάνει χώρα στο εσωτερικό των αυγών (Kyndt et al., 2013). Ενώ παραμένουν μέσα στα αυγά, αυτά τα προπαρασιτικά J2 μπορούν να επιβιώσουν σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες για σημαντικό χρονικό διάστημα. Η διάρκεια του βιολογικού κύκλου των κομβονηματοδών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την θερμοκρασία (Eisenback & Triantaphyllou, 1991), αλλά κατά μέσο όρο τα αναπαραγόμενα θηλυκά μπορούν να επιβιώσουν έως και 2-3 μήνες, ενώ η διάρκεια ζωής των αρσενικών είναι πολύ μικρότερη.



Εικόνα 2: Life cycle of *M. incognita* (Μεταφρασμένο)

Πηγή: https://doi.org/10.15666/aeer/1801_16791690

1.1.3 Συμπτωματολογία και παράγοντες που ευνοούν την προσβολή

Το πιο χαρακτηριστικό σύμπτωμα στα φυτά που έχουν προσβληθεί από τους *Meloidogyne* spp. είναι ο σχηματισμός κόμβων στη ρίζα διαφόρων μεγεθών (Ντάλλη, 2010), οι οποίοι είναι αποτέλεσμα της δημιουργίας μεγακυττάρων ως θέσεις τροφής των J2, και κατά συνέπεια ξεκινούν να εμφανίζουν υπερπλασία συνήθως 1-2 μέρες μετά από την διείσδυση των προνυμφών (Eisenback & Triantaphyllou, 1991). Οι μολυσμένες ρίζες έχουν σαφώς μικρότερο μήκος και πιο «θαμνώδη» ανάπτυξη από αυτή των υγιών ριζών, ενώ οι πληγές που προκαλούνται από την διείσδυση του στίλετου, αποτελούν σημείο εισόδου για άλλα παθογόνα όπως βακτήρια, μύκητες κλπ. που τελικά προκαλούν δευτερογενείς μολύνσεις και οδηγούν τελικά στην απώλεια του φυτού (Smant et al., 2018; Palomares-Rius et al., 2017).

Στο υπέργειο μέρος του φυτού παρατηρούνται συμπτώματα που απορρέουν από τη «κρυφή» συμπτωματολογία στο υπόγειο τμήμα του. Αυτά είναι συνήθως λιγότερα χαρακτηριστικά για την προσβολή των φυτών από κομβονηματώδεις. Τέτοια είναι το

κιτρίνισμα των φύλλων, μειωμένη ή παύση ανάπτυξης και μαρasmus και εύκολα μπορούν να θεωρηθούν – εσφαλμένα – ως τροφικές (Sikandar et al. 2020).

Όσον αφορά την ένταση των συμπτωμάτων, αυτή επηρεάζεται αρχικά από το είδος του φυτού ξενιστή ή σε ενδοειδικό επίπεδο, από την ποικιλία, καθώς υπάρχουν ποικιλίες που μπορεί να εμφανίζουν μερική ανθεκτικότητα. Κύριας σημασίας για την ανάπτυξη προσβολής η εποχή της μόλυνσης και η θερμοκρασία του εδάφους. Οι *Meloidogyne* spp. για να μπορέσουν να εισχωρήσουν στη ρίζα του φυτού χρειάζονται ένα ελάχιστο όριο θερμοκρασίας (Goodell & Ferris, 1989) που διαφέρει από είδος σε είδος. Γενικά ιδανική ως θερμοκρασία επιβίωσης θεωρείται αυτή μεταξύ 10-15°C (Ornat & Sorribas, 2008).

1.2 Μέτρα αντιμετώπισης των Κομβοηματοδών

Η τεράστια οικονομική σημασία της ζημιάς που προκαλούν τα είδη του γένους *Meloidogyne* παγκοσμίως εντείνει την ανάγκη για εφαρμογή εξειδικευμένων και αποτελεσματικών τρόπων αντιμετώπισής τους. Συγχρόνως, η βιολογία των κομβοηματοδών καθώς και η πληθώρα των ξενιστών και η ικανότητά τους να επιβιώνουν σε ποικίλα διαφορετικά ενδιαιτήματα, καθιστά ακόμα δυσκολότερο τον έλεγχό τους.

Παραδοσιακά, η αντιμετώπιση των φυτοπαρασιτικών νηματωδών βασιζόταν στην εφαρμογή νηματοδοκτόνων. Ωστόσο, λόγω της αυξημένης ανησυχίας για τις επιπτώσεις των χημικά συντιθέμενων σκευασμάτων, τόσο στο περιβάλλον, όσο και στην ανθρώπινη υγεία, η χρήση τους έχει περιοριστεί σε μεγάλο βαθμό, γεγονός που καθιστά αναγκαία την ανάπτυξη εναλλακτικών στρατηγικών ελέγχου. Αυτές οι στρατηγικές εντάσσονται στα πλαίσια του βιολογικού ελέγχου, ο οποίος περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα προσεγγίσεων, συμπεριλαμβανομένων και καλλιεργητικών πρακτικών, της διέγερσης ή της εισαγωγής ανταγωνιστικών οργανισμών, των μεταβολιτών τους ή των βιοδραστικών τους ενώσεων (Azlay et al. 2022). Για παράδειγμα, στελέχη *Streptomyces* sp. που παράγουν χιτινάση έχουν χρησιμοποιηθεί ως παράγοντες βιοελέγχου για τον νηματώδη *Meloidogyne incognita*, καθώς η χρήση τους έχει συμβάλλει σημαντικά στην μείωση του αριθμού των νηματωδών και του ποσοστού των αυγών που εκκολάπτονται (Atif et al. 2023). Για την καλύτερη αντιμετώπιση των κομβοηματοδών, είναι υψίστης σημασίας ο σχεδιασμός ενός

προγράμματος ολοκληρωμένης διαχείρισης, βασισμένου στις ανάγκες του καλλιεργούμενου είδους, στην καλή κατανόηση του βιολογικού κύκλου του φυτοπαράσιτου και των συνθηκών που ευνοούν την ανάπτυξή του αξιολογώντας τα διαθέσιμα μέσα (Hill, 1998).

1.2.1 Καλλιεργητικά μέτρα αντιμετώπισης των *Meloidogyne* spp.

Τα καλλιεργητικά μέσα αντιμετώπισης των κομβονηματωδών του γένους *Meloidogyne* βασίζονται στην αμειψισπορά, την αγρανάπαυση, τη χρήση ανθεκτικών ποικιλιών, τα φυτά παγίδες και την απολύμανση εδαφών (van der Putten et al., 2006; Hill, 1998; Ντάλλη, 2010). Γενικά, οι καλλιεργητικές στρατηγικές που επιλέγονται για την διαχείριση των κομβονηματωδών, αποσκοπούν στη διατήρηση του πληθυσμού τους σε επίπεδα που δεν αποτελούν κίνδυνο για τη καλλιέργεια.

Η μέθοδος της αμειψισποράς αποτελεί μια από τις αποτελεσματικότερες προληπτικές πρακτικές καταπολέμησης, καθώς βασίζεται στην εναλλαγή ευπαθών καλλιεργειών που μπορεί να αποτελέσουν ξενιστές για τα *Meloidogyne*, με είδη που δεν αποτελούν ξενιστές. Με τον τρόπο αυτό, διαταράσσεται ο βιολογικός κύκλος των νηματωδών, μειώνοντας τον πληθυσμό τους στο έδαφος, καθώς όντας υποχρεωτικά φυτοπαράσιτα έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής απουσία ξενιστή – τροφής (Azlay et al., 2023). Για παράδειγμα, μια αλληλουχία αμειψισποράς όπου γίνεται εναλλαγή καλλιέργειας σε θερμοκήπιο μη εμβολιασμένων και εμβολιασμένων τοματών – πεπονιών – πιπεριάς – καρπουζιών, σε ανθεκτικά υποκείμενα, καταλήγοντας σε καλλιέργεια ανθεκτικής ή μη τομάτας, στο τέλος της εναλλαγής καλλιεργειών παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στον πληθυσμό των *Meloidogyne* (Fullana et al., 2023).

Αντιστοίχως, η μέθοδος της αγρανάπαυσης βασίζεται στην ίδια λογική με αυτή της αμειψισποράς, καθώς η αφαίρεση της καλλιέργειας, αλλά και των ζιζανίων από το χωράφι, δυσχεραίνει τις συνθήκες επιβίωσης των κομβονηματωδών στο έδαφος, καθώς πέρα από την έλλειψη ξενιστή, εκτίθενται και σε ακραίες κλιματικές συνθήκες των υψηλών θερμοκρασιών, ηλιακής ακτινοβολίας και υγρασίας (Ντάλλη, 2010). Η αποτελεσματικότητα της αγρανάπαυσης μπορεί να μην είναι πάντα υψηλή, καθώς επηρεάζεται από τις ιδιαίτερες κλιματικές και εδαφολογικές συνθήκες, γι' αυτό και η χρησιμότητά της αυξάνεται όταν εφαρμόζεται σε συνδυασμό με την αμειψισπορά (Fabiya et al., 2023).

Η πρακτική των φυτών παγίδων περιλαμβάνει τη χρήση φυτών ευπαθών στους νηματώδεις, που χαρακτηρίζονται από ικανότητα γρήγορης ανάπτυξης ριζικού συστήματος και εφαρμόζεται σε ήδη μολυσμένα εδάφη (Sikora et al. 2005). Οι προνύμφες *Meloidogyne* ελκύονται από τις παγίδες και μολύνουν τα νεαρά φυτά μέσω των ριζών, και ακολουθούν τον φυσιολογικό αναπτυξιακό κύκλο τους. Έπειτα, πραγματοποιείται ξερίζωμα των φυτών παγίδων καταστρέφοντας έτσι τον πληθυσμό των νηματωδών που βρίσκονται «εγκλωβισμένοι» στους φυτικούς ιστούς πριν φτάσουν στο τελικό στάδιο ωρίμανσης και στην αναπαραγωγική φάση (Westerdahl 2011). Τα φυτά που χρησιμοποιούνται ως παγίδες ποικίλουν και επιλέγονται βάση τη διαθεσιμότητά τους στον παραγωγό, συγκεκριμένα όμως τα καρότα, οι τομάτες και τα φασόλια έχουν αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα (Trivedi & Barker 1986; Westerdahl 2011).

Η απολύμανση εδαφών πραγματοποιείται με σκοπό την πρόληψη της ανάπτυξης πληθυσμού στον αγρό ή για τη μείωση έως εξάλειψη του μολυσματικού φορτίου. Η απολύμανση μπορεί να επιτευχθεί με ηλιοαπολύμανση ή με χρήση ατμού, και βασίζεται στην ανάπτυξη υψηλών θερμοκρασιών που θανατώνουν τους νηματώδεις ή ακόμα με κατάκλιση του εδάφους με νερό δημιουργώντας αναερόβιες συνθήκες που μειώνουν τον πληθυσμό (Azlay et al., 2023). Επιπλέον η σωστή απολύμανση του γεωργικού εξοπλισμού και μηχανημάτων, μπορούν να συμβάλλουν στην πρόληψη ανάπτυξης μολύσματος (Collange et al., 2011).

Η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών αποτελεί επίσης ένα αποτελεσματικό μέσο ενάντια στο μόλυσμα από τους κομβονηματώδεις, καθώς χάρη στην γενετική ανθεκτικότητα των φυτών εμποδίζεται η ανάπτυξη τους ενώ τα φυτά αναπτύσσονται φυσιολογικά (Azlay et al., 2023). Οι ανθεκτικές ποικιλίες έχουν ιδιαίτερη σημασία στην βιολογική γεωργία αφού ελαττώνουν την ανάγκη χρήσης χημικών σκευασμάτων και δεν απαιτούν συνήθως την εφαρμογή περαιτέρω γεωργικών πρακτικών (Seid et al., 2015). Μερικά από τα καλλιεργήσιμα είδη για τα οποία έχουν αναπτυχθεί ανθεκτικές ποικιλίες έναντι στα *Meloidogyne* spp. αποτελούν το ρεβύθι, το ροδάκινο, ο καπνός, η τομάτα (Mashavakure et al., 2023) και η γλυκοπατάτα (Lee et al., 2021). Συγκεκριμένα στο φυτό της τομάτας η ανθεκτικότητα αποδίδεται στο γονίδιο Mi που απομονώθηκε από την αγριοτομάτα (*Lycopersicon peruvianum*) (Roberts & Thomason, 1989). Είναι σημαντικό να αναφερθεί όμως πως έχει παρατηρηθεί ότι σε θερμοκρασίες άνω των 28°C η αποτελεσματικότητα του γονιδίου μειώνεται αισθητά, γεγονός που περιορίζει

τη χρήση ανθεκτικών ποικιλιών σε περιοχές που χαρακτηρίζονται από υψηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου (Bhattarai et al., 2007).

Θετικά αποτελέσματα έχουν δείξει έρευνες και σχετικά με τη χρήση φυτών ανταγωνιστικών προς τους κομβονηματώδεις. Για παράδειγμα το φυτό Ταγέτης (*Tagetes erecta*) χάρη σε ειδικούς μηχανισμούς που το επιτρέπουν να απελευθερώνει υδατικές εκκρίσεις από τις ρίζες του που έχουν ανασταλτική έως θανατηφόρα επίδραση στα άτομα της J2 και στα αυγά των *Meloidogyne incognita*, όταν φυτεύεται κοντά σε φυτά ξενιστές όπως η τομάτα (Wu, 2021). Τέλος φυτά όπως η κανόλα, η κολοκύθα, η μουστάρδα και ο βίκος όταν καλλιεργήθηκαν μαζί με ευπαθή καλλιέργεια μαρουλιού, προσέλκυσαν τους νηματώδεις μακριά από την κύρια καλλιέργεια, δρώντας ως «παγιδευτές» (Samara, 2022).

1.2.2 Χημικά μέσα αντιμετώπισης

Η χημική καταπολέμηση αποτελεί μέχρι και σήμερα την κύρια μέθοδο αντιμετώπισης των νηματωδών, παρόλο που το εύρος των διαθέσιμων χημικών σκευασμάτων έχει μειωθεί κατά πολύ λόγω έντονης ανησυχίας για τις περιβαλλοντικές τους επιδράσεις και επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία.

Τα νηματωδοκτόνα χωρίζονται σε καπνιστικά και τα μη. Τα πρώτα εφαρμόζονται προκαλλιεργητικά, δηλαδή πριν τη φύτευση, για λόγους φυτοτοξικότητας, ενώ τα μη καπνιστικά μπορούν να εφαρμοστούν και αργότερα, καθώς χρειάζεται να έρθουν σε επαφή με το φυτό για να δράσουν λόγω της διασυστηματικής δράσης τους (Ντάλλη, 2010). Τα οργανοφωσφορικά (π.χ. fenamiphos) και τα καρβαμιδικά νηματωδοκτόνα (π.χ. oxamyl), έχουν μεγάλο φάσμα δράσης και δρουν στο νευρικό σύστημα αναστέλλοντας την ακετυλοχολινεστεράση, οδηγώντας στην παράλυση και το θάνατο των νηματωδών (Perry & Moens, 2018).

Τα καπνιστικά νηματωδοκτόνα όπως το 1,3-διχλωροπροπένιο, η χλωροπικρίνη και το metam sodium, είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικά λόγω της πτητικότητάς τους, άρα και της ικανότητάς τους να φτάνουν στους νηματώδεις που κινούνται σε βαθύτερα εδαφικά στρώματα (Desaeger et al., 2017). Η εφαρμογή των καπνιστικών γίνεται μέσω έγχυσης στο έδαφος με τη χρήση ειδικού εξοπλισμού για ομοιόμορφη κατανομή και διεύθυνση σε βάθος (Noling, 2016). Μετά την εφαρμογή, η επιφάνεια του εδάφους συχνά καλύπτεται με πλαστικά καλύμματα για τη συγκράτηση των ατμών ενισχύοντας έτσι

την αποτελεσματικότητά του νηματωδοκτόνου, το οποίο έρχεται σε επαφή με τους νηματώδεις του εδάφους για μεγαλύτερο διάστημα (Chitwood, 2003). Η αποτελεσματικότητα τους επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, την υγρασία και την κατεργασία του εδάφους, καθώς είναι παράγοντες που επηρεάζουν τη διάχυση και τη συγκράτηση των χημικών ουσιών στο έδαφος (Perry & Moens, 2018).

Τα μη καπνιστικά νηματωδοκτόνα, όπως τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμιδικά, εφαρμόζονται γενικά μετά τη φύτευση και μπορούν να χορηγηθούν μέσω της άρδευσης, με κοκκώδη σκευάσματα ή ψεκασμούς φυλλώματος. Οι εφαρμογές με ριζοπότισμα απαιτούν την αραίωση του νηματωδοκτόνου με νερό και την εφαρμογή του απευθείας στο έδαφος γύρω από τα φυτά (Perry & Moens, 2018), τα κοκκώδη σκευάσματα απλώνονται στην επιφάνεια του εδάφους και ενσωματώνονται με άρδευση ή μηχανικά μέσα, ενώ οι ψεκασμοί φυλλώματος απορροφώνται από το φυτό και μεταφέρονται στις ρίζες, παρέχοντας συστηματική προστασία από τους νηματώδεις (Noling, 2016). Η σωστή βαθμονόμηση του εξοπλισμού εφαρμογής και η τήρηση των συνιστομένων ποσοτήτων εφαρμογής είναι απαραίτητες για τη μεγιστοποίηση τους αποτελεσματικότητας και την ελαχιστοποίηση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων.

1.2.3 Βιολογικοί τρόποι αντιμετώπισης

Ο βιολογικός έλεγχος βασίζεται στη χρήση μυκήτων, βακτηρίων αλλά και αρπακτικών νηματωδών για την επίτευξη του πληθυσμιακού ελέγχου, με τη μορφή βιοπαρασιτοκτόνων που εφαρμόζονται μέσω εδάφους.

Η αποτελεσματικότητα βασίζεται είτε στην ενεργοποίηση του συστήματος άμυνας του φυτού είτε σε δευτερογενείς μεταβολίτες και ένζυμα που δρουν ανταγωνιστικά με τους φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις. Ορισμένοι μύκητες όπως οι μύκητες *Aburscular Michorizal* μειώνουν τον παρασιτισμό των νηματωδών τροποποιώντας τη μορφολογία της ρίζας. Άλλοι, όπως το γένος *Trichoderma*, μειώνουν την μολυσματικότητα των νηματωδών προκαλώντας τους παράλυση δευτερογενών μεταβολιτών (Fabiyl et al., 2024). Επιπλέον έχει μελετηθεί και η χρήση νηματωδοφάγων μυκήτων, που αποτελούν φυσικούς εχθρούς των νηματωδών (Azlay et al., 2023). Αυτοί οι μύκητες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως παγιδευτές νηματωδών, παρασίτων σε ωά και θηλυκά και ως ενδοπαρασιτικοί (Dong & Zhang 2006; Braga & De Araújo 2014; Stirling 2014).

Τα βακτήρια χρησιμοποιούνται επίσης ως παράγοντες βιοελέγχου των νηματωδών. Ένα από τα σημαντικότερα νηματωδοπαρασιτικά βακτήρια είναι το *Pasteuria* spp., που αποτελεί υποχρεωτικό παράσιτο σε πάνω από 200 είδη νηματωδών, συμπεριλαμβανομένου και ειδών του γένους *Meloidogyne*, αυτά τα βακτήρια μέσω του παρασιτισμού τους δυσχεραίνουν την παραγωγή ωών (Iftikhar et al. 2020). Μπορεί επίσης να γίνει χρήση βακτηρίων που παράγουν τοξίνες με νηματωδοκτόνο δράση, όπως το *Bacillus thuringiensis*, το οποίο είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία, ότι έχει παρουσιάσει τοξικότητα και εναντίων διαφόρων ειδών εντόμων (Bravo et al. 2011).

Δύναται επίσης η χρήση βακτηρίων που δεν δρουν τοξικά στους νηματώδεις, αλλά αντιθέτως ενισχύουν την ανάπτυξη του φυτού ξενιστή καθιστώντας το πιο ανθεκτικό. Τα βακτηρίδια αυτά είναι γνωστά ως ριζοβακτήρια (Plant Growth Promoting Rhizobacteria - PGPR) και ζουν ελεύθερα στη ριζόσφαιρα, και μπορεί να «συνεργάζονται» με το φυτό εξωκυτταρικά, πάνω στην ριζική επιφάνεια, ή ένδοκυτταρικά δρώντας μέσω των κυττάρων της ρίζας (Gray & Smith, 2005; Shailendra Singh, 2015). Οι μηχανισμοί τους μπορεί να είναι άμεσοι, παράγοντας φυτοορμόνες, δεσμεύοντας άζωτο ή διαλυτοποιώντας φωσφορικά άλατα, αλλά και έμμεσοι με τη παραγωγή δευτερευόντων μεταβολιτών που αναστέλλουν την αναπαραγωγή των παθογόνων εδαφους, ενζύμων που αποδομούν το κυτταρικό τοίχωμα τους ή δρώντας ανταγωνιστικά – υπέρ του φυτού – για την εξασφάλιση θρεπτικών (Whipps 2001). Τα σημαντικότερα βακτήρια αυτής της κατηγορίας είναι τα *Pseudomonas* sp. και *Bacillus* sp. για χρήση ενάντια στα είδη *Meloidogyne* (Azlay et al., 2022).

Τέλος, οι αρπακτικοί νηματώδεις, που ανήκουν κυρίως στις οικογένειες Mononchidae και Dorylaimidae, αναγνωρίζονται όλο και περισσότερο ως αποτελεσματικοί παράγοντες βιοελέγχου κατά των φυτοπαρασιτικών νηματωδών. Αυτοί οι ωφέλιμοι νηματώδεις είναι θηρευτές σε διάφορα στάδια των PPNs, συμπεριλαμβανομένων των αυγών, των προνυμφών και των ενηλίκων, μειώνοντας έτσι την πυκνότητα του πληθυσμού τους στο έδαφος (Bilgrami & Gaugler, 2004). Για παράδειγμα τα Mononchidae, χρησιμοποιούν τις μεγάλες στοματικές κοιλότητές τους και τις οδοντωτές δομές τους για να συλλάβουν και να καταναλώσουν τους νηματώδεις, ενώ τα Dorylaimidae παρουσιάζουν εξελιγμένες αρπακτικές συμπεριφορές για να στοχεύουν και να ακινητοποιούν τη λεία τους (Yeates et al., 1993). Η ενσωμάτωση των νηματωδοφάγων νηματωδών στα γεωργικά συστήματα μπορεί να ενισχυθεί με την

υιοθέτηση πρακτικών που προωθούν την επιβίωση και τη δραστηριότητά τους, όπως η διατήρηση επαρκούς εδαφικής υγρασίας, η αποφυγή της έντονης κατεργασίας του εδάφους και η εφαρμογή οργανικών βελτιωτικών που υποστηρίζουν ένα ποικίλο τροφικό πλέγμα στο έδαφος (Stirling, 2014).

2. Βοτανικά εκχυλίσματα

Με την απαγόρευση του βρωμιούχου μεθυλίου και άλλων οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών σκευασμάτων, η ευρωπαϊκή νομοθεσία επικεντρώνεται όλο και περισσότερο στην εφαρμογή εναλλακτικών στρατηγικών ελέγχου που διασφαλίζουν την παραγωγή, ελαχιστοποιώντας τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις και τους κινδύνους για την υγεία (Khan 2008, Desaegeer et al., 2017; Stirling, 2014).

Καθώς η Ευρωπαϊκή Ένωση στοχεύει στην μείωση της χρήσης χημικών παρασιτοκτόνων έως το 2030, ουσίες βοτανικής προέλευσης, όπως τα φυτικά εκχυλίσματα και τα αιθέρια έλαια, εμπίπτουν στα σκευάσματα Χαμηλού Κινδύνου ή/και Βασικών Ουσιών βάσει του κανονισμού (EC) No. 1107/2009 για την καταπολέμηση κομβονηματοδών (Catani et al., 2023). Το βοτανικό εκχύλισμα σκόρδου (*Allium sativum*) χάρη στις θειούχες ενώσεις (Sasanelli et al., 2021) έχει αδειοδοτηθεί για την καταπολέμηση των κομβονηματοδών στην Ελλάδα, ενώ πολλά ακόμα αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία. Το έλαιο θυμαριού (*Thymus vulgaris*) χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε thymol και αποτελεί αποτελεσματικό μέσο πληθυσμιακού ελέγχου των νηματωδών, αλλά παρουσίασε επίσης και αναστολή στην εκκόλαψη ωών του είδους *M. chitwoodi* (Kasapoğlu Uludamar, 2023; Andrés et al., 2012). Το αιθέριο έλαιο του γαρύφαλλου (*Eugenia caryophyllata*), με κύριο ενεργό συστατικό την eugenol διαταράσσει τις κυτταρικές μεμβράνες των κομβονηματοδών και εμποδίζει τις φυσιολογικές διεργασίες τους, προκαλώντας θνησιμότητα (Meyer et al., 2008). Φυτικά υπολείμματα των φυτών *Raphanus sativus* (ραπανάκι) και *Oryza sativa* (ρύζι) προκάλεσαν έως και 85% μείωση των ζημιών και της πυκνότητας του πληθυσμού των PPNs, ομοίως η χρήση σκόνης φύλλων του *Laurelia sempervirens* (μοσχοκάρυδο του Περού) εμφάνισε επίσης υψηλή αποτελεσματικότητα (Peiris, 2021). Τα βοτανικής προέλευσης προϊόντα όχι μόνο ελέγχουν τους PPNs αλλά ταυτόχρονα διεγείρουν την ανάπτυξη των φυτών αναστέλλοντας έτσι έμμεσα και την προσβολή από τους κομβονηματοδείς (Khan et al., 2022).

2.1 Αιθέρια έλαια

Τα αιθέρια έλαια (Essential Oils - EO) που προέρχονται από αρωματικά ή φαρμακευτικά φυτά εμφανίζουν μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον καθώς μπορούν να δράσουν ως εντομοκτόνα, απωθητικά, φυτοπροστατευτικά αλλά και ως ρυθμιστές ανάπτυξης (Sarri et al., 2024). Έρευνες έχουν αναδείξει τη δυνατότητα χρήσης τους για τον έλεγχο των PPN, καθώς η δραστηριότητά τους κατά των νηματωδών του ριζικού συστήματος, συγκεκριμένα του γένους *Meloidogyne*, είναι πλέον ευρέως γνωστή.

Τα EO αποτελούν μείγματα πτητικών λιπόφιλων συστατικών που παράγονται από τον μεταβολισμό των φυτών από οικογένειες όπως οι Lamiaceae, Myrtaceae, Rustaceae, Apiaceae κ.α., και έχουν χαρακτηριστικό άρωμα και γεύση. Μέσα στο φυτό αποθηκεύονται στα εκκριτικά επιθηλιακά ή παρεγχυματικά κύτταρα και σχηματίζουν δομές όπως τα αδενικά τοιχώματα και οι εκκριτικοί ιδιοβλάστες (D'Addabbo et al., 2021). Εμφανίζουν εξειδικευμένες βιολογικές δράσεις που προκύπτουν από πολύπλοκες αντιδράσεις μεταξύ των συστατικών τους (Sarri et al., 2024).

Η δράση των EO ενάντια στους PPN βασίζεται σε διάφορους μηχανισμούς. Πολλά από αυτά αναστέλλουν ένζυμα όπως η ακετυλοχολινεστεράση στους νηματώδεις, η οποία είναι ζωτικής σημασίας για τη λειτουργία του νευρικού τους συστήματος, μειώνοντας έτσι τον πληθυσμό τους. Τα αιθέρια έλαια και τα φυτικά εκχυλίσματα μπορούν επίσης να δράσουν διαταράσσοντας την κυτταρική μεμβράνη, υποβαθμίζοντάς την και διαπερνώντας την προκαλώντας τον θάνατο των νηματωδών, ενώ ορισμένα φυτικά εκχυλίσματα έχουν την ικανότητα να διαταράζουν την ενδοκυτταρική και την οξειδοαναγωγική τους κατάσταση (Khan et al., 2022). Έχει καταγραφεί ακόμα και μηχανισμός που αφορά τη διείσδυση στα ωά επηρεάζοντας την ανάπτυξή τους και μειώνοντας την βιωσιμότητά τους (Poveda et al. 2020). Λόγω της πολύπλοκης σύνθεσής τους, τα φυτικά εκχυλίσματα μπορούν να δράσουν ταυτόχρονα με διαφορετικούς τρόπους σε διαφορετικούς στόχους μέσα στους νηματώδεις, μειώνοντας έτσι την πιθανότητα ανάπτυξης ανθεκτικότητας ή προσαρμογής. Επιπλέον, η διαειδική τοξικότητα των επιμέρους ελαίων και ενώσεων ποικίλλει σημαντικά, καθιστώντας τις επιδράσεις τους πολύ εξειδικευμένες (Sarri et al., 2024).

Οι χημικές ομάδες που αναγνωρίζονται ως υπεύθυνες για τη νηματωδοκτόνο δράση των EO είναι τα τερπένια, τα φαινυλοπροπανοειδή και οι οργανοθειούχες ενώσεις (Chitwood, 2003; Andrés et al., 2012; Catani et al. 2023). Ανάμεσα στα συστατικά

αιθέριων ελαίων με βιολογική δράση ενάντια στους PPN αναφέρονται η geraniol, η carvacrol που βρίσκεται στη ρίγανη και στο θυμάρι, το limonene που αποτελεί το κύριο συστατικό του ελαίου τους φλούδας των εσπεριδοειδών, η eugenol που βρίσκεται στο έλαιο του γαρυφάλλου, του μοσχοκάρυδου, της κανέλας, του βασιλικού και της δάφνης, η thymol που λαμβάνεται από το θυμάρι και έχει αντισηπτικές ιδιότητες και το pinene που βρίσκεται σε πολλά φυτά όπως το πεύκο και το δεντρολίβανο (Sarrì et al., 2024). Εκτός από παραπάνω, τα ΕΟ των *Artemisia herba-alba* (Compositae), *Citrus sinensis* (Rutaceae), *Rosmarinus officinalis* (Labiatae) και *Thymus satureioides* (Labiatae) έχουν αναγνωριστεί ως αποτελεσματικά νηματοδοκτόνα, ενώ παρουσιάζουν επιπλέον αντιμυκητιακές και αντιμικροβιακές δράσεις (Avato et al., 2017). Παρόλα αυτά, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η αποτελεσματικότητα μπορεί να διαφέρει σημαντικά ανάλογα με το είδος του νηματώδη, το φυτό από το οποίο προέρχεται το εκχύλισμα και τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Andres et al., 2012).

2.2 Τριαντάφυλλο – *Rosa damascena*

Το *Rosa damascena*, γνωστό και ως τριαντάφυλλο της Δαμασκού, αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα είδη του γένους *Rosa*, χάρη στα αρωματικά άνθη του που το καθιστούν ιδανικό για χρήση στη βιομηχανία αρωμάτων, αλλά αποτελεί και δημοφιλές καλλωπιστικό φυτό. Ανήκει στην οικογένεια Rosaceae που περιλαμβάνει πάνω από 200 είδη και κατάγεται από τη Μέση Ανατολή. Καλλιεργείται σε χώρες όπως η Τουρκία, η Βουλγαρία, το Ιράν, η Ινδία, το Μαρόκο κ.α., κυρίως για το αιθέριο έλαιο του, το οποίο εξάγεται από τα πέταλα με απόσταξη με ατμό.



Εικόνα 4: Δαμασκηνό Τριαντάφυλλο

Φύλο: Anthophyta

Κλάση: Dicotyledonae

Τάξη: Rosales

Οικογένεια: Rosaceae

Γένος: *Rosa*

(Kartesz, 1994)

Το δαμασκηνό τριαντάφυλλο είναι πολυετές φυτό με ορθοστέλεχη ανάπτυξη, που φτάνει σε ύψος 1 έως 2 μέτρα, και ακανθοφόρους βλαστούς που φέρουν περωτά σύνθετα φύλλα. Κάθε φύλλο αποτελείται από 5 έως 7 φυλλάρια με οδοντωτά άκρα. Τα άνθη του έχουν χαρακτηριστική πυκνή, δομή διπλής σειράς πετάλων, τα οποία συνήθως έχουν χρώμα από ροζ έως ανοιχτό κόκκινο. Τα άνθη είναι ιδιαίτερα αρωματικά, ένα χαρακτηριστικό που τα έχει καταστήσει εξαιρετικά πολύτιμα για την παραγωγή ροδέλαιου και ροδόνηρου (Baydar et al., 2013; Boskabady et al., 2011).

Το αιθέριο έλαιο του *Rosa damascena* αποτελείται από ένα σύνθετο μείγμα πτητικών ενώσεων, citronellol, geraniol, eugenol και phenylethyl alcohol, τα οποία συμβάλλουν στο χαρακτηριστικό άρωμα και στις θεραπευτικές του ιδιότητες (Baydar et al., 2013). Πέρα από την αρωματική ιδιότητα του φυτού είναι γνωστές και οι φαρμακευτικές ιδιότητες του από την αρχαιότητα, καθώς παραδοσιακά χρησιμοποιήθηκε για αντιμετώπιση της κατάθλιψης και διαταραχών άγχους και στρες σε πολλά μέρη του κόσμου (Hongratanaworakit, 2009). Μελέτες έχουν επίσης εστιάσει στις αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές και αντικαρκινικές ιδιότητές του, καθιστώντας το πολύτιμο συστατικό της παραδοσιακής και σύγχρονης ιατρικής (Boskabady et al., 2011; Mahboubi, 2016). Οι φαινολικές ενώσεις και τα φλαβονοειδή στα εκχυλίσματα έχει αποδειχθεί ότι διαθέτουν ισχυρή αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή δράση, η οποία μπορεί να βοηθήσει στον έλεγχο φυτικών ασθενειών, ειδικά στα συστήματα ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας που προκαλούνται από παθογόνα βακτήρια και μύκητες (Mahboubi, 2016).

Οι βιοδραστικές ενώσεις που εντοπίζονται στα εκχυλίσματα του άνθους του τριαντάφυλλου εμφανίζουν αποτελεσματικότητα και κατά των φυτοπαρασιτικών νηματωδών, όπως τα είδη *Meloidogyne* spp. (Monokrousos, 2024). Οι ενώσεις αυτές παρεμβαίνουν στις φυσιολογικές διεργασίες των νηματωδών, προκαλώντας τους μειωμένη αναπαραγωγή και θνησιμότητα (D'Addabbo et al., 2021). Έτσι τα φυτικά

εκχυλίσματα μπορούν να ενσωματωθούν σε βιώσιμες στρατηγικές διαχείρισης των νηματωδών, καθώς αποτελούν μια εναλλακτική λύση στα συμβατικά χημικά νηματωδοκτόνα με χαμηλό περιβαλλοντικό αποτύπωμα. Εξάλλου, οι φυτοχημικές ουσίες τους *Rosa damascena* δεν στοχεύουν μόνο στους νηματώδεις αλλά δρουν ευεργετικά και στη συνολική υγεία του εδάφους ελαχιστοποιώντας τις αρνητικές επιπτώσεις στους οργανισμούς που δεν αποτελούν στόχο (Stirling, 2014). Η σημασία της ένταξης των εκχυλισμάτων *Rosa damascena* στις γεωργικές πρακτικές προστασίας από τους PPN είναι ξεκάθαρη, δεδομένου της αυξανόμενης ανάγκης για βιωσιμότητα και προστασίας του περιβάλλοντος από τοξικότητα.

2.3 Σκοπός εργασίας

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της χρήσης εκχυλισμάτων του *Rosa damascena*, ως εναλλακτικό μέσο διαχείρισης των φυτοπαρασιτικών νηματωδών του γένους *Meloidogyne*, και συγκεκριμένα του είδους *M. incognita*.

Έγινε χρήση αποξηραμένων πετάλων και άνθων βιολογικής καλλιέργειας του είδους *Rosa x damascene*, για τη παραγωγή εκχυλίσματος πετάλων και εκχυλίσματος ανθέων μέσω υπερήχου και υδραποστάγματος (αρωματικού ύδατος, ροδόνερο) πετάλων και ανθέων με τη μέθοδο υδροαπόσταξης. Τα διαλύματα που προέκυψαν, υδροαπόσταγμα (αρωματικό ύδωρ, ροδόνερο) από άνθη και πέταλα, εκχύλισμα υπερήχου ανθέων και εκχύλισμα υπερήχου πετάλων, εξετάστηκαν ως προς την ικανότητά τους να προκαλέσουν παράλυση στις προνύμφες δευτέρου σταδίου των νηματωδών (J2) που αποτελούν το μολυσματικό στάδιο του βιολογικού κύκλου, μετά από διάστημα 24, 48 και 72 ωρών. Παρατίθεται επίσης η ανάλυση της χημικής σύστασης του εκχυλίσματος που προέκυψε από την διαδικασία του υπερήχου και αναφέρεται η βιοδραστικότητα των επικρατέστερων συστατικών που αποτελούν τις ουσίες που ερευνώνται ως προς την ικανότητα πρόκλησης παράλυσης σε προνύμφες *M. incognita* (J2).

3. Υλικά και μέθοδοι

3.1. Παρασκευή εκχυλισμάτων

I. Παρασκευή υδραποστάγματος (αρωματικό ύδωρ, ροδόνερο)

Για τη παρασκευή του υδραποστάγματος (αρωματικό ύδωρ, ροδόνερο) από τα αποξηραμένα άνθη και πέταλα του *Rosa damascena*, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της υδροαπόσταξης. Μέσα σε σφαιρική φιάλη όγκου 1L, τοποθετήθηκαν 22g από τα ξηρά φυτικά μέρη (άνθη και πέταλα μαζί) και ύστερα προστέθηκαν 500mL νερού βρύσης, προτού τοποθετηθούν σε θερμαντικό μανδύα και συνδεθούν στη συσκευή Clevenger. Μετά από 3 ώρες παραλήφθηκε το αρωματικό ύδωρ ή ροδόνερο, ως υποπροϊόν της υδροαπόσταξης και φιλτραρίστηκε πριν χρησιμοποιηθεί στα πειράματα.

II. Παρασκευή εκχυλισμάτων με υπέρηχους

Για την παρασκευή εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκαν αποξηραμένα άνθη και πέταλα του *Rosa damascena* για τη παραγωγή δύο διαφορετικών εκχυλισμάτων, εκχύλισμα πετάλων και εκχύλισμα ανθέων. Τα φυτικά μέρη αρχικά πολτοποιήθηκαν με μύλο και στη συνέχεια προστέθηκε νερό σε αναλογία 1:10 (v/v) ώστε να προκύψει 1g πολτοποιημένου φυτικού υλικού που τοποθετήθηκε σε σωληνάριο τύπου falcon. Έγινε προσθήκη 10mL νερό βρύσης και ύστερα το μείγμα τοποθετήθηκε σε λουτρό υπερήχων ώστε να εκχυλιστεί για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Με το πέρας της διαδικασίας αυτής, έγινε διήθηση σε βαμβάκι.



Εικόνα 4: Φυτικό υλικό *Rosa damascena* που χρησιμοποιήθηκε

3.2 Ανάπτυξη και συντήρηση πληθυσμού *M. incognita*

Ο αρχικός πληθυσμός των *M. incognita* λήφθηκε από μολυσμένες ρίζες θερμοκηπιακής καλλιέργειας τομάτας (*Solanum lycopersicum* L.). Προνύμφες 2^{ου} σταδίου ανάπτυξης (J2) χρησιμοποιήθηκαν για τεχνητή μόλυνση υγιών φυτών τομάτας ποικιλίας Belladona. Τα φυτά τομάτας που μολυνθήκαν συντηρούνταν σε θάλαμο ανάπτυξης με θερμοκρασία 28-34°C, 60% υγρασία και φωτοπερίοδο διάρκειας 16 ωρών. Το φυτικό υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν τύρφη μέσα σε πλαστικά φυτοδοχεία. Στον θάλαμο τους τοποθετήθηκε και φερομονική παγίδα εντόμων για έλεγχο της *Tuta absoluta*.





Εικόνες 5, 6: Τα φυτάρια τομάτας που χρησιμοποιήθηκαν πριν και μετά τη τοποθέτηση στον ειδικό θάλαμο

3.2.1 Μέθοδος παραλαβής προνυμφών J2

Μετά το πέρας του βιολογικού κύκλου (30-40 ημέρες) τα φυτά πλύθηκαν για να απομακρυνθούν τα εδαφικά υπολείμματα και τεμαχίστηκαν σε μέρη 2cm το καθένα περίπου. Τα τεμάχια αυτά ύστερα τοποθετήθηκαν σε διάλυμα 1 % NaOCl και ανακινήθηκαν για 5 λεπτά. Στη συνέχεια πλύθηκαν κάτω από τρεχούμενο νερό μέσα σε κόσκινα διατομής 250 και 38μm. Με τη βοήθεια υδροβολέα, έγινε παραλαβή των ωών και τοποθετήθηκαν σε τροποποιημένο δοχείο Baermann τους 25°C (Hussey & Barker, 1973)



Εικόνες 7, 8: Ρίζες τομάτας μετά από τεχνητή μόλυνση με J2

Τα δοχεία Baermann αφέθηκαν σε ηρεμία, και μετά από 24 ώρες έγινε παραλαβή των νεοεκκολαφθείσων προνυμφών J2. Οι προνύμφες που εκκολάπτονταν κατά τις τέσσερις πρώτες μέρες, καθώς παρουσίαζαν σημαντική διαφορά ως προς την ηλικία (δεν υπήρχε ομοιογενής πληθυσμός J2) χρησιμοποιήθηκαν για την συντήρηση του πληθυσμού. Οι J2 που παραλαμβάνονταν έκτοτε, και ανά 48 ώρες, χρησιμοποιήθηκαν για την πειραματική διαδικασία.



Εικόνες 9, 10, 11: Μόλυνση των φυτών, δοχείο Baermann

3.2.2 Παρασκευή διαλυμάτων ελέγχου

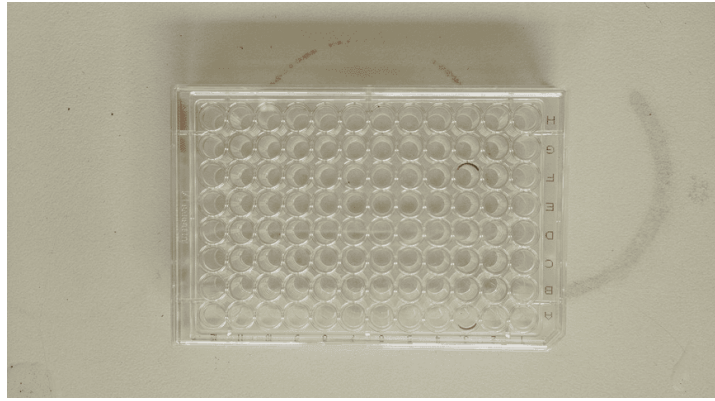
Το αρωματικό ύδωρ και το ροδόνερο όπως παραλήφθηκαν με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης καθώς και τα εκχυλίσματα των ανθέων και των πετάλων από υπερήχους χρησιμοποιήθηκαν ξεχωριστά για την παρασκευή των διαλυμάτων ελέγχου με διαδοχικές αραιώσεις 1:1 (v/v) σε νερό. Παραλήφθηκαν έτσι 5 διαλύματα για το κάθε εκχύλισμα, ένα για κάθε συγκέντρωση ελέγχου, που τοποθετήθηκαν στην πλάκες πολυστυρενίου 96 πηγαδιών μαζί με το αιώρημα των J2 σε αναλογία 1:1 (v/v). Οι τελικές συγκεντρώσεις στα πηγάδια ελέγχου ήταν: 50, 25, 25, 12.5, 6.25 και 3.125 % (v/v) ή 500000, 250000, 125000, 62500, and 31250 $\mu\text{L/L}$). Ο μέσος αριθμός των J2 ανά πηγάδι ελέγχου ήταν 20 (παράγραφος 3.2.3.).

3.2.3. Προετοιμασία αιωρήματος J2

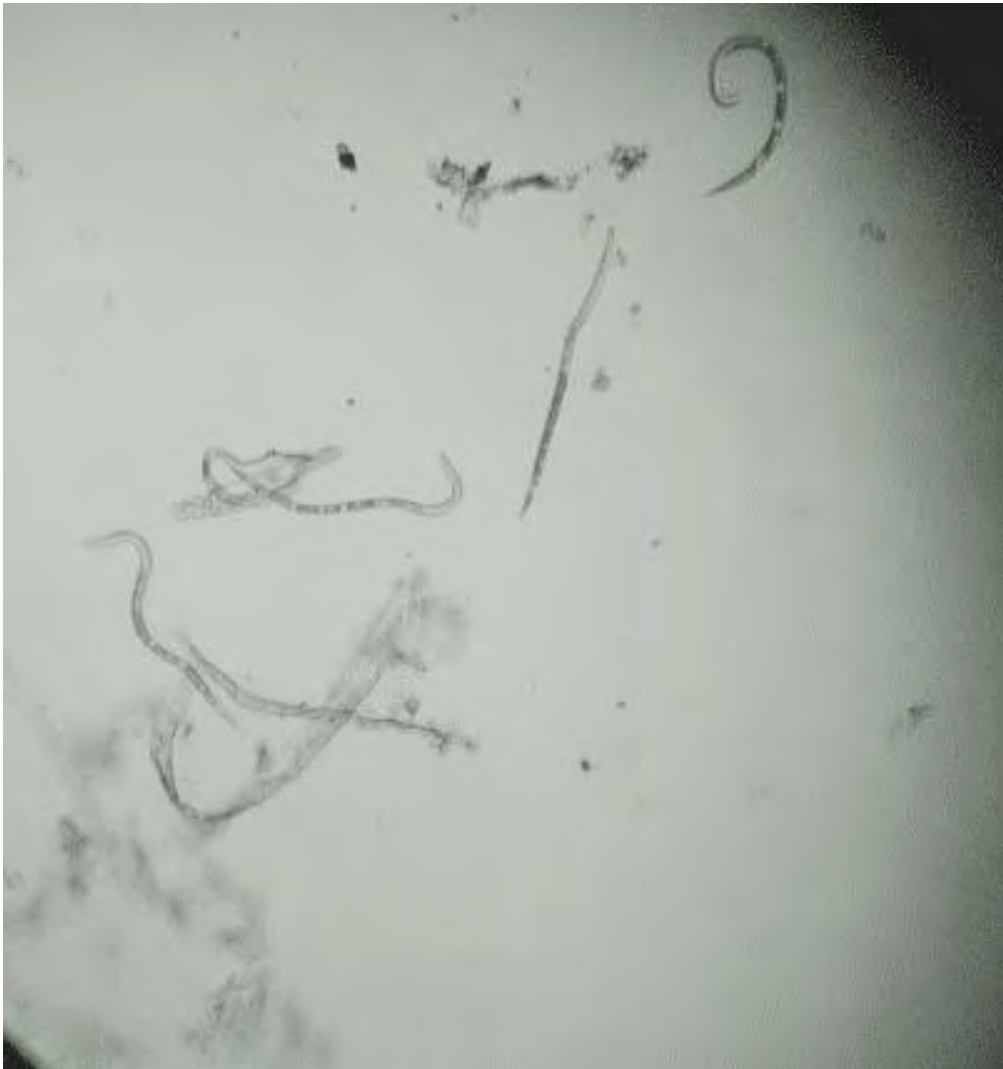
Για την παραλαβή του αναγκαίου για τα πειράματα αριθμού J2 από τα Baermann έγινε παραλαβή του αιωρήματος σε ποτήρι ζέσεως, ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα και καταμέτρηση του αριθμού στα 170μL. Χρησιμοποιήθηκε ανάστροφο μικροσκόπιο OLYMPUS με φακό μεγέθυνσης 40x. Επιθυμητός αριθμός προνυμφών ορίστηκε στις 15-25 στα 70μL και ανά πηγάδι για τις ανάγκες του πειράματος. Όταν παρατηρήθηκαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις, το αιώρημα αφέθηκε σε ηρεμία για τουλάχιστον 2 ώρες για να καθιζάνουν οι προνύμφες, στη συνέχεια συμπυκνώθηκε με απομάκρυνση του υποκειμένου και οι J2 καταμετρήθηκαν εκ νέου.

3.2.4. Βιοδοκιμή σε μικροπλάκες πολυστυρενίου

Χρησιμοποιήθηκε σχέδιο πλήρως τυχαιοποιημένων ομάδων με 5 μεταχειρίσεις και 6 επαναλήψεις ανά μεταχείριση. Σε κάθε επανάληψη προστέθηκαν 70μL αιωρήματος ανά πηγάδι μαζί με 70μL διαλύματος ελέγχου στην διπλάσια της προς εξέτασης συγκέντρωσης και όπως αναλυτικά περιγράφεται η παρασκευή τους στην παράγραφο 3.2.2. Έγινε χρήση διαφορετικών πλακών για κάθε συγκέντρωση ελέγχου για να αποφευχθεί τυχόν επιμόλυνση λόγω πτητικότητας και οι πλάκες καλύφθηκαν με καπάκι ώστε να μην εξατμιστούν τα διαλύματα. Ως μάρτυρας σε κάθε μεταχείριση ορίστηκαν πηγάδια, τα οποία περιείχαν J2 εμβλαπτισμένες σε νερό. Δίπλα από τις μεταχειρίσεις του πειράματος τοποθετήθηκαν στα παρακείμενα πηγάδια προνύμφες εμβλαπτισμένες σε νερό για την μελέτη τυχόν καπνιστικής δράσης μέσω των ατμών. Το κάθε πείραμα πραγματοποιήθηκε στο χρόνο δυο φορές.



Εικόνα 12: Πλάκα πολυστυρενίου 96 πηγαδιών



Εικόνα 13: παρατήρηση προνυμφών σταδίου J2 με ανάστροφο μικροσκόπιο

3.3 Αποτελεσματικότητα και χημική σύσταση

3.3.1 Αποτελεσματικότητα πρόκλησης παράλυσης των J2

Η αξιολόγηση της κινητικότητας έγινε με παρατήρηση σε ανάστροφο μικροσκόπιο OLYMPUS σε μεγέθυνση 40x, 24, 48 και 96 ώρες μετά από την εμβάπτιση των προνυμφών στα διαλύματα ελέγχου, ενώ κατά τη διάρκεια του πειράματος, οι πλάκες διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία 25-28°C. Κατά τη διάρκεια της παρατήρησης με το μικροσκόπιο έγινε καταγραφή του αριθμού των J2 που εμφάνιζαν κινητικότητα και αυτών που ήταν σε ακινησία ή παράλυση. Προνύμφες που παρέμειναν παράλυτες μετά το πέρας του πειράματος και δεν ανέκτησαν την κινητικότητά τους ποτέ, θεωρήθηκαν νεκρές.

3.3.2 Ανάλυση χημικής σύστασης εκχυλίσματος

Για την ανάλυση της χημικής σύστασης του εκχυλίσματος αποξηραμένων πετάλων *Rosa damascena*, χρησιμοποιήθηκαν 15g αφυδατωμένων πετάλων που εκχυλίστηκαν με 270mL νερού βρύσης σε λουτρό υπερήχων για τριάντα λεπτά χωρίς θέρμανση. Ύστερα διήθηκαν με βαμβάκι και λήφθηκαν 150mL εκχυλίσματος. Εν συνέχεια έγινε εκ νέου εκχύλιση με 10mL εξάνιο για τον διαχωρισμό των οργανικών συστατικών από το υδατικό διάλυμα. Από το νέο εκχύλισμα λήφθηκαν 5mL που συμπυκνώθηκαν στα 1.5 mL τα οποία χρησιμοποιήθηκαν τελικά για ανάλυση με σύστημα συζευγμένης αέριας χρωματογραφίας-φασματογραφίας μάζας. Η ταυτοποίηση έγινε βάση φάσματος σε Total Ion Current (TIC) scan, και συγκρίθηκαν με τη βάση φασμάτων NIST.

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης, που παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα όπου καταγράφονται τα κύρια περιεχόμενα συστατικά (>1%) που αποτελούν και το 82.2% των συνολικών συστατικών. Σημειώνεται ότι 13.6% των συστατικών δεν μπόρεσαν να ταυτοποιηθούν και ένα σημαντικό ποσοστό του 4.2% αποτελούνταν από συστατικά που το καθένα βρισκόταν σε συγκέντρωση <1%.

Πίνακας 1. Τα κύρια οργανικά συστατικά όπως προέκυψαν από τη χημική ανάλυση εκχυλίσματος αποξηραμένων πετάλων τριαντάφυλλου.

Βάση Φασμάτων NIST	Χρόνος Ανάσχεσης (tR)	Ποσοστό Περιεχόμενης Ουσίας %
4-methylhexan-2-one	4.358	2.8
2-hexanone, 3.4-dimethyl	4.809	1.0
phenylethyl alcohol	12.485	20.7
rose oxide	13.281	1.4
citronelol	19.161	21.3
β-citral	19.704	3.9
cis-geraniol	20.545	9.3
pelargic acid	21.310	6.4
carvacrol	22.946	1.4
eugenol	25.523	3.5
geranic acid	26.028	6.2
n-decanoic acid	26.510	1.4
methyleugenol	27.840	2.9

Με βάση τα παραπάνω στοιχεία συνεπώς προέκυψε πως τα κυριότερα συστατικά του εκχυλίσματος του *R. damascena* που χρησιμοποιήθηκε ήταν οι ουσίες citronelol (21.3%), phenylethyl alcohol (20.7%), cis-geraniol (9.3%), pelargic acid (6.4%), geranic acid (6.2%), β-citral (3.9%), eugenol (3.5%) και methyleugenol (2.9%).

3.4 Στατιστική ανάλυση

Για τη στατιστική ανάλυση της επίδρασης των διαλυμάτων διαφορετικών συγκεντρώσεων ροδόνηρου, αρωματικού ύδατος και εκχυλισμάτων υπερήχων στη κινητικότητα J2, έγινε υπολογισμός των ποσοστών παράλυσης σε κάθε μεταχείριση βάσει της παράλυσης που καταγράφηκε από τον μάρτυρα (J2 εμβαπτισμένα σε νερό). Ο υπολογισμός τους βασίστηκε στην εξίσωση των Schneider Orelli's: Αύξηση

παράλυσης % = {(παράλυση % στην μεταχείριση – παράλυση % στον μάρτυρα)/(100 – παράλυση % στον μάρτυρα)}x100 (Puntener, 1981).

Τα δεδομένα που αφορούσαν την εμβάπτιση στα εκχυλίσματα υποβλήθηκαν σε ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) και εφαρμόστηκαν στην λογαριθμική-λογιστική (log-logistic) εξίσωση των Seefeldt et al, 1995 για τον υπολογισμό των τιμών EC₅₀.

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

Όπου C = το χαμηλότερο όριο, D = το υψηλότερο όριο, b = η κλίση της ευθείας στην τιμή EC₅₀, και EC₅₀ = η συγκέντρωση του διαλύματος ελέγχου που απαιτείται για 50% αύξηση των ακίνητων J2 σε σχέση με αυτές που καταμετρούνται στο μάρτυρα. Στη συγκεκριμένη εξίσωση συμμεταβολής, η συγκέντρωση του εκχυλίσματος (μL/mL) ήταν ο ανεξάρτητος παράγοντας (x) και οι ακίνητες J2 (ποσοστιαία αύξηση επί του μάρτυρα) ο εξαρτημένος (y).

4. Αποτελέσματα

4.1 Αποτελεσματικότητα μεταχειρίσεων αρωματικού ύδατος, ροδόνερου στην πρόκληση παράλυσης J2

Στον παρακάτω πίνακα εμφανίζονται οι τιμές EC_{50} για τις εμβάπτισεις των J2 με τα διαλύματα αρωματικού ύδατος, ροδόνερου που προκύπτουν μετά από τη στατιστική ανάλυση. Παρατηρείται θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης διαλύματος και της πρόκλησης παράλυσης με το πέρασμα του χρόνου. Συγκεκριμένα, στις 24, 48 και 72 ώρες από την εμβάπτιση των προνυμφών στα διαλύματα ελέγχου οι τιμές EC_{50} υπολογίστηκαν στα 7.73, 5.95 και 4.95 % v/v αντιστοίχως. Οι προνύμφες δεν απέκτησαν κινητικότητα μετά τις 72h, οπότε καταγράφηκε η πρόκληση θνησιμότητας από τις μεταχειρίσεις.

Πίνακας 1: Τιμές EC_{50} με τα αντίστοιχα όρια εμπιστοσύνης, έπειτα από 24, 48 και 72 ώρες εμβάπτισης των προνυμφών J2 του *M. incognita*, σε υδατικά διαλύματα ελέγχου συγκεντρώσεων αρωματικού ύδατος, ροδόνερου αποξηραμένων πετάλων τριαντάφυλλου, περιεκτικότητας 3.125 έως 50% v/v. (όπου EC_{50} : Η συγκέντρωση του διαλύματος που προκαλεί παράλυση ή θάνατο στο 50% των προνυμφών)

Διάρκεια Εμβάπτισης (Αρωματικό ύδατος)	EC_{50} (% v/v)	EC_{50} (μL/L)	95% όρια εμπιστοσύνης
24h	7.73	77300	6.27-9.18
48h	5.95	59500	3.69-8.21
72h	4.94	49400	3.80-6.07

4.2 Αποτελεσματικότητα μεταχειρίσεων εκχυλισμάτων υπερήχων στην πρόκληση παράλυσης J2 (πέταλα και άνθη)

Στον παρακάτω πίνακα εμφανίζονται οι τιμές EC_{50} για τις εμβάπτισεις των J2 στα διαλύματα εκχυλίσματος υπερήχων αποξηραμένων πετάλων τριαντάφυλλου που προκύπτουν μετά από τη στατιστική ανάλυση. Παρατηρείται θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης διαλύματος και της πρόκλησης παράλυσης με το πέρασμα του χρόνου. Συγκεκριμένα, στις 24, 48 και 72 ώρες από την εμβάπτιση των προνυμφών στα διαλύματα ελέγχου οι τιμές EC_{50} υπολογίστηκαν στα 25.82, 11.06 και 2.66 % v/v αντίστοιχως, οι προνύμφες δεν ξαναεμφάνισαν κινητικότητα ύστερα οπότε καταγράφηκε ως πρόκληση θνησιμότητας.

Πίνακας 2. Τιμές EC_{50} με τα αντίστοιχα όρια εμπιστοσύνης, έπειτα από 24, 48 και 72 ώρες εμβάπτισης των προνυμφών J2 του *M.incognita*, σε υδατικά διαλύματα υπερήχων αποξηραμένων πετάλων τριαντάφυλλου, περιεκτικότητας 3.125 έως 50% v/v.

Διάρκεια Εμβάπτισης (Εκχυλίσματα υπερήχων – πέταλα)	EC_{50} (% v/v)	EC_{50} (μL/L)	95% Όρια εμπιστοσύνης
24h	25.82	258200	20.4-31.2
48h	11.06	110600	9.09-13.02
72h	2.66	26600	1.18-4.13

Όσον αφορά τα εκχυλίσματα ανθέων τριαντάφυλλου, μετά από στατιστική ανάλυση οι τιμές EC_{50} που προκύπτουν παρουσιάζουν επίσης θετική σχέση μεταξύ χρόνου και πρόκλησης παράλυσης. Στις 24, 48 και 72 ώρες από την εμβάπτιση των J2 η τιμές EC_{50} υπολογίστηκαν στα 16.06, 7,77 και 14.45 % v/v αντίστοιχα. Ο λόγος της αύξησης του ποσοστού μετά τις 48 ώρες οφείλεται στη καταγραφή νηματοδοκτόνου δράσης που ύστερα με το πέρασμα των 72 ωρών έφτασε σε σταθερή τιμή, συνεπώς η παράλυση που είχε αρχικά καταγραφεί ορίστηκε ως θνησιμότητα εφόσον δεν παρατηρήθηκε ανάκτηση κινητικότητας.

Πίνακας 3. Τιμές EC₅₀ με τα αντίστοιχα όρια εμπιστοσύνης, έπειτα από 24, 48 και 72 ώρες εμβάπτισης των προνυμφών J2 του *M. incognita*, σε υδατικά διαλύματα υπερήχων αποξηραμένων ανθέων τριαντάφυλλου, περιεκτικότητας 3.125 έως 50% v/v.

Διάρκεια Εμβάπτισης (Εκχυλίσματα υπερήχων – άνθη)	EC₅₀ (% v/v)	EC₅₀ (μL/L)	95% Όρια εμπιστοσύνης
24h	16.06	160600	11.32-20.79
48h	7.77	77700	6.36-9.18
72h	14.45	144500	5.91-22.91

5. Συζήτηση

Η παραγωγή τροφίμων από τον αγροτικό τομέα όλο και δυσκολεύεται να ισορροπήσει τις αυξημένες απαιτήσεις και ανάγκες του πληθυσμού με τον σεβασμό για το περιβάλλον και την αειφορία οδηγώντας στην παγκόσμια ανάγκη για στροφή προς βιωσιμότερα και πιο προσβάσιμα μέσα για φυτοπροστασία. Τα γεωργικά φάρμακα προκαλούν βάσιμες ανησυχίες για τη σύγχρονη κοινωνία, τόσο για την ασφάλεια των προϊόντων τροφίμων που παράγονται, όσο και για τις άμεσες και -συχνά- μη ανατρέψιμες περιβαλλοντικές επιπτώσεις που επιφέρει η αλόγιστη χρήση τους αποσκοπώντας στην εντατικοποίηση των καλλιεργειών και στην ανάπτυξη των οικονομικών οφελών. Επιπλέον τα τελευταία χρόνια, τονίζεται και από τους νέους κανονισμούς της Ευρωπαϊκής Ένωσης η ανάγκη μείωσης της χρήσης χημικών ουσιών στη γεωργία. Μεγάλος αριθμός χημικών ουσιών που αποτελούσαν βασικά συστατικά χημικών σκευασμάτων, όπως το εντομοκτόνο oxamyl, το μυκητοκτόνο ipconazole και άλλες ουσίες έχουν πλέον απαγορευτεί πλήρως από τη χρήση σε καλλιεργητικά συστήματα. Αυτές οι αποφάσεις έγιναν στα πλαίσια της ευρύτερης δέσμευσης της Ε.Ε. για σταδιακή κατάργηση των άκρως επικίνδυνων φυτοφαρμάκων έως το 2030, με στόχο τη μείωση των χημικών υπολειμμάτων στα τρόφιμα και την προστασία της βιοποικιλότητας (European Food Safety Authority, 2023). Συνεπώς η ανάπτυξη βοτανικών εκχυλισμάτων, όπως τα αιθέρια έλαια και άλλα εκχυλίσματα, για την αντιμετώπιση φυτοπαρασίτων όπως οι κομβονηματώδεις χρήζει εύλογης σημασίας.

Η παρούσα έρευνα εστιάζει στην μελέτη δύο διαφορετικών τύπων εκχυλισμάτων του *Rosa damascena* με σκοπό τη διερεύνηση της χρήσης τους ως παράγοντες βιοελέγχου ενάντια στους κομβονηματώδεις του είδους *Meloidogyne incognita*. Τα φυτικά εκχυλίσματα είναι συχνό αντικείμενο μελέτης ως προς την νηματωδοκτόνο ή νηματωδοαποθητική δράση τους. Συγκεκριμένα σύμφωνα με τους D'Addabo και Avato, 2021 έχουν εντοπιστεί τουλάχιστον 16 αιθέρια έλαια καθώς και ο τρόπος δράσης τους ενάντια στους *Meloidogyne* spp., που απομονώθηκαν από φυτά των οικογενειών Lamiaceae, Myrtaceae, Rutaceae, Apiaceae κ.α., γεγονός που επιβεβαιώνεται και από άλλες έρευνες (Sarri et al., 2024). Σημαντικός παράγοντες της αποτελεσματικότητας των αιθέριων ελαίων και των εκχυλισμάτων όμως αποτελούν το στάδιο συγκομιδής του φυτού, η μέθοδος εκχύλισης, ακόμα και η γεωγραφική του

προέλευση, καθώς έχει σημειωθεί η παραλλακτικότητα της χημικής τους σύστασης αλλά και της τοξικότητάς τους βάσει αυτών (Lahlou, 2004).

Η χημική σύσταση των εκχυλισμάτων του *R. damascena*, ανεξαρτήτως από την μέθοδο εκχύλισης, αποτελείται από φαινολικές ενώσεις που παρουσιάζουν μεγάλο εύρος βιοδραστικότητας (Arkam et al., 2020). Στην παρούσα εργασία στα αποστάγματα που χρησιμοποιήθηκαν καταγράφηκαν υψηλά ποσοστά από citronellol (21.3%), phenylethyl alcohol (20.7%) και *cis*-geraniol (9.3%), που πράγματι αποτελούν ενώσεις με γνωστή δραστηριότητα έναντι στους νηματώδεις. Συγκεκριμένα η citronellol καθώς και η *cis*-geraniol έχουν αναδειχθεί ως πολύ αποτελεσματικές ως προς την πρόκληση θνησιμότητας στους *Meloidogyne* λόγω της ικανότητάς τους να τροποποιούν τη δραστηριότητα των πρωτεϊνών της κυτταρικής μεμβράνης και να διασπών τα ενδοκυτταρικά μονοπάτια σηματοδότησης (Andrés et al., 2012; D'Addabbo et al., 2021). Σύμφωνα με τους Ahmad et al. (2021) η phenylethyl alcohol παρουσιάζει ιδιότητες που εμποδίζουν τη δημιουργία κόμβων στις ρίζες μολυσμένων φυτών, ενώ οι Desmedt et al. (2020) διαπίστωσαν ότι συμβάλει και στην ανάπτυξη αμυντικών μηχανισμών των φυτών. Παρόλο που στο συγκεκριμένο δείγμα δεν παρατηρήθηκαν ιδιαίτερα υψηλά ποσοστά carvacrol (1.4%), αξίζει να αναφερθεί ότι αποτελεί εξίσου σημαντικό παράγοντα νηματοδοκτόνου δράσης, καθώς σε μελέτη από τους Laquale et al. (2018), προέκυψε ότι μπορεί να προκαλέσει έως και 82% θνησιμότητα σε J2 μέσα σε 24 ώρες, όταν βρίσκεται σε τιμή EC_{50} του 14.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Όσον αφορά το αρωματικό ύδωρ ή ροδόνερο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, αποτελεί υποπροϊόν της απόσταξης των πετάλων και των ανθών του *R. damascena*, αλλά διαθέτει επίσης πλούσια και πολύπλοκη χημική σύνθεση που το καθιστά χρήσιμο στη παραγωγή καλλυντικών, τροφίμων αλλά και στην παραδοσιακή ιατρική. Τα κύρια συστατικά του ροδόνερου είναι φαινολικές ενώσεις, φλαβονοειδή και διάφορες πτητικές οργανικές ενώσεις, συγκεκριμένα ενώσεις όπως η κιτρoneλλόλη, η γερανιόλη και η nerol, που προσδίδουν και το χαρακτηριστικό του άρωμα και συμβάλλουν στις αντιμικροβιακές του ιδιότητες (Baydar et al., 2004; Dobрева et al., 2011). Τα φαινολικά οξέα, όπως το gallic acid και το ellagic acid, εντοπίζονται επίσης σε σημαντικές ποσότητες και είναι γνωστά για τις αντιοξειδωτικές τους δράσεις (Baibuch et al., 2024).

Συγκρίνοντας τις τιμές EC_{50} που προέκυψαν με το πέρασμα του 24ώρου από την εμβάπτιση των προνυμφών στα διαλύματα ελέγχου, προκύπτει ότι μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα εμφάνισαν οι μεταχειρίσεις με το αρωματικό ύδωρ (ροδόνερο) των πετάλων, με αμέσως επόμενο το εκχύλισμα υπερήχων αποξηραμένων ανθέων και τελευταίο ως προς την αποτελεσματικότητα το εκχύλισμα υπερήχων πετάλων. Ανάλογη είναι η εικόνα και στις 48 ώρες, ενώ στις 72, όπου η κατάσταση των προνυμφών κρίθηκε ως σταθερή, αναδείχθηκε το εκχύλισμα υπερήχου πετάλων ως πιο δραστικό, με το υδροαπόσταγμα να ακολουθεί και τέλος το εκχύλισμα υπερήχων άνθεων.

Συνεπώς τα αποτελέσματα της μελέτης συμφωνούν με προηγούμενες έρευνες όπου έχει αναφερθεί η αποτελεσματικότητα των συστατικών των εκχυλισμάτων του *R. damascena* για την αντιμετώπιση των νηματωδών του είδους *Meloidogyne incognita*. Κρίνεται απαραίτητη παρόλα αυτά η εξέταση των εκχυλισμάτων υπό διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας και εκχύλισης, αλλά και η δοκιμή σε πειράματα μεγαλύτερης κλίμακας για την εξακρίβωση του μηχανισμού δράσης τους αλλά και της βέλτιστης μεθόδου εφαρμογής.

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

- Ahmad, G., Khan, A., Khan, A.A., Ali A., Mohhamad HI. (2021) Biological control: a novel strategy for the control of the plant parasitic nematodes. *Antonie van Leeuwenhoek* 114, 885–912. <https://doi.org/10.1007/s10482-021-01577-9>
- Akram, M., Riaz, M., Munir, N., Akhter, N., Zafar, S., Jabeen, F., Ali Shariati, M., Akhtar, N., Riaz, Z., Altaf, S. H., Daniyal, M., Zahid, R., & Said Khan, F. (2019). Chemical constituents, experimental and clinical pharmacology of *Rosa damascena*: a literature review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* (Volume 72, Issue 2, p. 161–174). Oxford University Press (OUP). <https://doi.org/10.1111/jphp.13185>
- Andrés, M.F., González-Coloma, A., Sanz, J. Burillo J., Sainz P. (2012) Nematicidal activity of essential oils: a review. *Phytochemistry Reviews* 11, p. 371–390. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9263-3>
- Atif, A.M., Elzamik, F.I., Mohamed, G.M., Al-Quwaie D.A., Ashkan M.F., Alqahtani F.S., Motwali E.A., Alomran M.M., Alharbi N.K., El-Tarabily K.A., Abdelbasit H.M. (2023). Biological control of the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on eggplants with various chitinase-producing *Streptomyces* strains. *European Journal of Plant Pathology* 167, 371–394. <https://doi.org/10.1007/s10658-023-02718-8>
- Avato, P., Laquale, S., Argentieri, M.P., Lamiri A., Radicci V., D’Addabbo T. (2017). Nematicidal activity of essential oils from aromatic plants of Morocco. *Journal of Pest Science* 90, 711–722 <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0805-0>
- Azlay, L., El Boukhari, M., Mayad, E., Barakate M. (2023). Biological management of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.): a review. *Organic Agriculture* 13, 99–117 <https://doi.org/10.1007/s13165-022-00417-y>
- Baibuch, S. Y., Schelegueda, L. I., Bonifazi, E., Cabrera, G., Mondragón Portocarrero, A. C., Franco, C. M., Malec, L. S., & Campos, C. A. (2024). Argentinian Rose Petals as a Source of Antioxidant and Antimicrobial Compounds. *Foods* (Volume 13, Issue 7, p. 977). MDPI Journals <https://doi.org/10.3390/foods13070977>
- Baydar, H., Baydar, N. G., & Debener, T. (2004). Analysis of essential oils of rose (*Rosa damascena*) using capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(6), 571-574. <https://doi.org/10.1002/ffj.1460>
- Baydar, H., Baydar, N. G., & Debener, T. (2013). Analysis of essential oils from *Rosa damascena* plants grown in Turkey. *Journal of Essential Oil Research* (Volume 25, Issue 1, p. 29-34) <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.772656>
- Bhattarai, K. K., Li, Q., Liu, Y., Dinesh-Kumar, S. P., & Kaloshian, I. (2007). The Mi-1-Mediated Pest Resistance Requires Hsp90 and Sgt1. *Plant Physiology* (Vol. 144,

Issue 1, p. 312–323). Oxford University Press (OUP).
<https://doi.org/10.1104/pp.107.097246>

Bilgrami, A. L., Gaugler, R. 2004. Feeding behavior. In Gaugler R, Bilgrami A.L., editors. Nematode Behavior. Wallingford, UK: CAB International. 91-126 pp.

Blok, V. C., & Powers, T. O. (2009). Biochemical and molecular identification. In Root-Knot Nematodes (p. 98-112). CABI.

Boskabady, M. H., Shafei, M. N., Saberi, Z., & Amini, S. (2011). Pharmacological effects of *Rosa damascena*. Iranian Journal of Basic Medical Sciences (Volume 14, Issue 4, p. 295-307). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3586833/>

Braga, F.R., De Araújo, J.V. (2014) Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. Applied Microbiology and Biotechnology (Volume 98, p. 71–82). <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5366-z>

Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S.S., Soberón, M. (2011) *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. Insect Biochemistry and Molecular Biology (Volume 41, Issue 7, p. 423–431). <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2011.02.006>

Caillaud, M.C., Dubreuil, G., Quentin, M., Perfus-Barbeoch, L., Lecomte, P., de Almeida Engler, J., Abad, P., Rosso, M.N., Favery, B. (2008) Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. Journal of Plant Physiology. (Volume 165, Issue 1, p. 104-113)
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.05.007>.

Catani, L., Manachini, B., Grassi, E., Guidi, L., & Semprucci, F. (2023). Essential Oils as Nematicides in Plant Protection—A Review. In Plants (Volume 12, Issue 6, p. 1418). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants12061418>

Chitwood, D.J. (2003). Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture—Agricultural Research Service. Pest Management Science (Volume 59, Issue 6, p. 748-753)

Collange, B., Navarrete, M., Peyre, G., Mateille, T., Tchamitchian, M. (2011) Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: The challenge of an agronomic system analysis, Crop Protection (Volume 30, Issue 10, p. 1251-1262). <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.04.016>.

D’Addabbo, T., Avato, P. (2021) Chemical Composition and Nematicidal Properties of Sixteen Essential Oils—A Review. Plants (Volume 10, p. 1368). <https://doi.org/10.3390/plants10071368>

Desaeger, J. (2017). Chemical Control of Plant-Parasitic Nematodes. Plant Pathology, (Volume 66, Issue 5, p. 709-722)

Dimitrov, V., Trendafilova, A., Staleva, P., Petkova, Z., Ivanova, V., Evstatieva, Y., Nikolova, D., Rasheva, I., Atanasov, N., Topouzova-Hristova, T., Veleva, R., Moskova-Doumanova, V. & Simova, S. (2023). Phytochemical Profile, Antioxidant Potential, Antimicrobial Activity, and Cytotoxicity of Dry Extract from *Rosa damascena* Mill. *Molecules* (Volume 28, Issue 22, p. 7666). MDPI <https://doi.org/10.3390/molecules28227666>

Dobreva, A., Evstatieva, L., & Antonova, D. (2011). Chemical composition of the flower concrete, absolute, and water essential oil from *Rosa damascena* Mill. *Journal of Essential Oil Research* (Volume 23, Issue 2, p. 171-176). <https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700457>

Dong, L.Q., Zhang, K.Q. (2006) Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction. *Plant Soil* (Volume 288, p. 31–45). <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9009-3>

Douda, O., Zouhar, M., Mazáková, J., Nováková, E., & Pavela, R. (2010). Using plant essences as alternative mean for northern root-knot nematode (*Meloidogyne hapla*) management. *Journal of Pest Science* (Volume 83, Issue 3, p. 217–221). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s10340-010-0287-4>

Eisenback, J. D. (2022). *Meloidogyne incognita* (root-knot nematode) [Dataset]. In CABI Compendium. CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.33245>

Eisenback, J. D. and Triantaphyllou, H.H. (1991) Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* species and races. *Manual of Agricultural Nematology*, W. R. Nickle. (Ed). Marcel Dekker, New York. P. 281 – 286.

European Commission (2023b). Farm To Fork Strategy for A Fair, Healthy and Environmentally-Friendly Food System, https://food.ec.europa.eu/horizontaltopics/farm-fork-strategy_en

Fabiyi, O.A., Adebisi, O.O., Falore, S.O. (2024) Potential inhibition of entomopathogenic nematodes and plant growth-promoting bacteria with exposure to selected herbicides and insecticides (Volume 37, p. 1503–1512). <https://doi.org/10.1007/s42535-023-00688-0>

Fabiyi, O.A., Bello, T.T. (2023). Nematode Management in Crops; Limitations and Challenges to Meet Future Food Demands. In: Khan, M.R. (eds) *Novel Biological and Biotechnological Applications in Plant Nematode Management*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-99-2893-4_2

Fullana, A.M., Exposito, A., Escudero, N., Cunqueiro, M., Loza-Alvarez, P., Gine, A. and Sorribas F.J. (2023) Crop rotation with *Meloidogyne*-resistant germplasm is useful to manage and revert the (a)virulent populations of Mi1.2 gene and reduce yield losses. *Frontiers Plant Science*. 14:1133095. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1133095>

Göldi, E.A. (1892) Relatório sobre a moléstia do cafeeiro na Província do Rio de Janeiro. Archivos do Museu Nacional Rio de Janeiro Volume 8 (1987), p. 7–123.

Goodell, P.B., Ferris, H. (1989) Influence of Environmental Factors on the Hatch and Survival of *Meloidogyne incognita*. Journal Nematology. (Volume 21, Issue 3, p. 328-34). PMID: 19287616; PMCID: PMC2618941.

Gray, E.J., Smith, D.L. (2005) Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. Soil Biology and Biochemistry (Volume 37, p. 395–412)

Hill, N.S. (1988) Cultural practices for the management of plant parasitic nematodes. Ornamentals Northwest Arch (Volume 12, p. 7–9)

Hongratanaworakit, T. (2009). Relaxing effect of rose oil on humans. Natural product communications (Volume 4, Issue 2, p. 291–296).

Hussey, R.S., Barker, K.R. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease Report (Volume 57, p. 1025-1028).

Ifthikhar, Y., Sajid, A., Shakeel, Q., Ahmad, Z., & Ul Haq, Z. (2020). Biological Antagonism: A Safe and Sustainable Way to Manage Plant Diseases. Sustainability in Plant and Crop Protection (p. 83–109). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-35955-3_5

Jiménez-Reyes, M. F., Carrasco, H., Olea, A. F., Silva-Moreno, E. (2019). Natural Compounds: A Sustainable Alternative to the Phytopathogens Control. Journal of the Chilean Chemical Society (Volume 64, Issue 2, p. 4459–4465). SciELO Agencia Nacional de Investigacion y Desarrollo (ANID). <https://doi.org/10.4067/s0717-97072019000204459>

Jones, J. T., Haegeman A., Danchin, E. G. J., Gaur, H. S., Helder, J., Jones, M. G. K., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J. E., Wesemael, W. M. L., Perry, R. N. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology, (Volume 14, Issue 9, p. 946-961).

Kaloshian, I., Yaghoobi, J., Liharska, T., Hontelez, J., Hanson, D., Hogan, P., Jesse, T., Wijbrandi, J., Simons, G., Vos, P., Zabel, P., Williamson, V.M. (1998) Genetic and physical localization of the root-knot nematode resistance locus *mi* in tomato. Molecular and General Genetics (Volume 257, Issue 3, p. 376-85). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s004380050660>

Karssen, G., & Moens, M. (2006). Root-knot nematodes. In R. N. Perry, & M. Moens (Eds.), Plant nematology (p. 59-90). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845930561.0059>

Kartesz, J.T. (1994). A synonymized checklist of the vascular flora of the United States, Canada, and Greenland. (Volume 2, Issue 2). Timber Press, Portland, OR.

Kasapoğlu Uludamar, E. B. (2023). Screening of the Nematicidal Potential of Some Essential Oils against the Columbia Root-Knot Nematode, *Meloidogyne chitwoodi*. Çukurova Tarım Ve Gıda Bilimleri Dergisi (Volume 38, Issue 2, p. 345-350).

Kerry, B.R. (2000). Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology (Volume 38, Issue 1, p. 423-441).

Khan, F., Shariq M., Asif, M., Ansari, T., Fatima, S., Khan, A., Ikram, M., Siddiqui, M. A. (2022). Organic Nematicides: A Green Technique and Its Overview for Nematode Pest Management. Sustainability in Plant and Crop Protection (p. 39–66). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-09943-4_2

Kim, J., Yang, J.-W., Shim, D., Kim, Y.-H. (2023). Expression analysis of sweet potato patatin-like protein (PLP) genes in response to infection with the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. Plant Biotechnology Reports (Volume 17, Issue 6, p. 931–938). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s11816-023-00868-z>

Kyndt, T., Vieira, P., Gheysen, G., de Almeida-Engler, J. (2013). Nematode feeding sites: unique organs in plant roots. Planta (Volume 238, Issue 5, p. 807–818). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1923-z>

Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy Research (Volume 18, Issue 6, p. 435–448). Wiley. <https://doi.org/10.1002/ptr.1465>

Laquale, S., Avato, P., Argentieri, M.P., Bellardi, M.G., D’Addabbo, T. (2018) Nematotoxic Activity of Essential Oils from Monarda Species. Journal of Pest Science (Volume 91, p. 1115–1125).

Mahboubi, M. (2016). *Rosa damascena* as holy ancient herb with novel applications. Journal of Traditional and Complementary Medicine (Volume 6, Issue 1, p. 10-16). <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2015.09.005>

Mashavakure, N., & Bandaru, G. (2023). Host Resistance, Current Status, and Emerging Advances. Novel Biological and Biotechnological Applications in Plant Nematode Management (p. 95–112). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-99-2893-4_4

Meyer, S. L., Lakshman, D. K., Zasada, I. A., Vinyard, B. T., Chitwood, D. J. (2008). Phytotoxicity of Clove Oil to Vegetable Crop Seedlings and Nematotoxicity to Root-knot Nematodes. HortTechnology hortte (Volume 18, Issue 4, p. 631-638). <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.18.4.631>

Monokrousos, N. (2024). Recent Advances and Developments in the Nematicidal Activity of Essential Oils and Their Components against Root-Knot Nematodes. *Agronomy* (Volume 14, Issue 1, p. 213).

Nicolia, A., Manzo, A., Veronesi, F., Rosellini, D. (2014). An overview of the last 10 years of genetically engineered crop safety research. *Critical Reviews in Biotechnology*, (Volume 34, Issue 1, p. 77-88). <https://doi.org/10.3109/07388551.2013.823595>

Noling, J.W. (2016). *Nematode Management in Tomatoes, Peppers, and Eggplant*. University of Florida IFAS Extension.

Orconneau, Y., Taylor, A., Marchand, P.A. (2022). Basic Substances in Organic Agriculture: Current Status. *Chronicle of Bioresource Management* (Volume 6, Issue 3, p. 076-083).

Ornat, C., & Sorribas, F. J. (2008). Integrated Management of Root-Knot Nematodes in Mediterranean Horticultural Crops. *Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes* (p. 295–319). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6063-2_14

Palomares-Rius, J. E., Escobar, C., Cabrera, J., Vovlas, A., & Castillo, P. (2017). Anatomical Alterations in Plant Tissues Induced by Plant-Parasitic Nematodes. In *Frontiers in Plant Science* (Volume 8). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01987>

Peiris, P. U. S. (2021). Use of botanicals in root-knot nematode control: a meta-analysis. In *Journal of Plant Diseases and Protection* (Volume 128, Issue 4, p. 913–922). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00478-3>

Perry, R., Moens, M., & Jones, J. T. (2018). *Cyst Nematodes – Life Cycle and Economic Importance*. Cyst Nematodes (p. 1-26). CAB International, UK.

Poveda, J., Abril-Urias, P., Escobar, C. (2020) Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes by Filamentous Fungi Inducers of Resistance: *Trichoderma*, Mycorrhizal and Endophytic Fungi. *Frontiers Microbiology* (Volume 11, p. 992). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00992>

Pretty, J. (2008). Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (Volume 363, Issue 1491, p. 447-465). <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2163>

Puntener W., Zahner O. (1981). *Manual For Field Trials In Plant Protection*, 2nd Edition, Ciba-Geigi, Basle, Switzerland, p.205

Raaijmakers, J. M., Paulitz, T. C., Steinberg, C., Alabouvette, C., & Moënne-Loccoz, Y. (2008). The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. In *Plant and Soil* (Volume 321, Issues 1–2, p. 341–361).

Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9568-6>

Roberts, P. A., Thomason, I.J. (1989). A review of variability in four *Meloidogyne* spp. measured by reproduction on several hosts including *Lycopersicon*. *Agricultural Zoology Review* (Volume 3, p. 225-252).

Ruiz, C., Nadal, A., Foix, L., Montesinos, L., Montesinos, E., & Pla, M. (2018). Diversity of plant defense elicitor peptides within the Rosaceae. In *BMC Genetics* (Volume 19, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0593-4>

Samara, R. (2022). Evaluation of 11 potential trap crops for root-knot nematode (RKN) control under glasshouse conditions. *Open Agriculture* (Volume 7, Issue 1, p. 61-68). <https://doi.org/10.1515/opag-2022-0074>

Sarri, K., Mourouzidou, S., Ntalli, N., & Monokrousos, N. (2024). Recent Advances and Developments in the Nematicidal Activity of Essential Oils and Their Components against Root-Knot Nematodes. *Agronomy* (Volume 14, Issue 1, p. 213). MDPI <https://doi.org/10.3390/agronomy14010213>

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. *Agriculture* (Volume 11, Issue 7, p. 602). MDPI <https://doi.org/10.3390/agriculture11070602>

Seefeldt S.S., Jensen J.E., Fuerst E.P. (1995). Log-Logistics Analysis of Herbicide Rate Response Relationships, *Weed Technology*, Volume 9, p. 218-227

Shailendra Singh G. G. (2015). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *Journal of Microbial and Biochemical Technology* (Volume 7, Issue 2). OMICS Publishing Group. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000188>

Sikandar, A., Zhang, M., Wang, Y., Zhu, X., Liu, X.Y., Fan, H.Y., Xuan, Y., Chen, L., Duan, Y.X. (2020). Review article: *Meloidogyne incognita* (root-knot nematode) a risk to agriculture. *Applied Ecology and Environmental Research* (Volume 18, p. 1679-1690). https://doi.org/10.15666/aeer/1801_16791690.

Sikora R.A., Bridge J., Starr J.L. (2005) Management practices: an overview of integrated nematode management technologies. In: Luc M, Sikora RA, Bridge J (eds) *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, 2nd edn. CAB International, Wallingford, pp 793–825

Smant, G., Helder, J., & Govere, A. (2018). Parallel adaptations and common host cell responses enabling feeding of obligate and facultative plant parasitic nematodes. *The Plant Journal* (Volume 93, Issue 4, p. 686–702). Wiley. <https://doi.org/10.1111/tpj.13811>

Sorribas, F. J., Verdejo-Lucas, S., Ornat, C., & Galeano, M. (2005). Evaluation of a root-knot nematode-resistant tomato for root-knot nematode management in a plastic house. *Plant Disease* (Volume 89, Issue 8, p. 785-790).

Stirling, G. R. (2014). *Biological control of plant-parasitic nematodes: soil ecosystem management in sustainable agriculture*. CABI Publishing. Wallingford, UK. <https://doi.org/10.1079/9781780644158.0000>

Kyndt, T., Govere, A., Haegeman, A., Warmerdam, S., Wanjau, C., Jahani M., Engler, G., de Almeida Engler, J., Gheysen, G., Redirection of auxin flow in *Arabidopsis thaliana* roots after infection by root-knot nematodes, *Journal of Experimental Botany* (Volume 67, Issue 15, p. 4559–4570) <https://doi.org/10.1093/jxb/erw230>

Toffolatti, S. L., Davillerd, Y., D’Isita, I., Facchinelli, C., Germinara, G. S., Ippolito, A., Khamis, Y., Kowalska, J., Maddalena, G., Marchand, P., Marcianò, D., Mihály, K., Mincuzzi, A., Mori, N., Piancatelli, S., Sándor, E., Romanzas’, G. (2023). Are Basic Substances a Key to Sustainable Pest and Disease Management in Agriculture? An Open Field Perspective. In *Plants* (Volume 12, Issue 17, p. 3152). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants12173152>

Tzortzakakis, E. A., da Conceição, I. L. P. M., dos Santos, M. C. V., de O. Abrantes, I. M. (2011). Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Greece, *Hellenic Plant Protection Journal* (Volume 4, Issue 1, p. 25-30)

Trivedi, P., Barker, K. (1986) Management of nematodes by cultural practices. *Nematropica* (Volume 16, p. 213–236).

van der Putten, W. H., Cook, R., Costa, S., Davies, K. G., Fargette, M., Freitas, H., Hol, W. H. G., Kerry, B. R., Maher, N., Mateille, T., Moens, M., de la Peña, E., Piskiewicz, A. M., Raeymaekers, A. D. W., Rodriguez-Echeverria, S., & van der Wurff, A. W. G. (2006). Nematode Interactions in Nature: Models for Sustainable Control of Nematode Pests of Crop Plants? *Advances in Agronomy* (Volume 89, p. 227-260). [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(05\)89005-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(05)89005-4)

Westerdahl, B.B. (2011) Cultural methods for managing nematodes on vegetables and ornamentals. *Acta Horticulturae* (Issue 911, p. 185–198). International Society for Horticultural Science (ISHS). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.911.18>

Whipps, J.M. (2001) Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* (Volume 52, Issue 1, p. 487–511). Oxford University Press (OUP). https://doi.org/10.1093/jexbot/52.suppl_1.487

Wu, W. (2021). Marigold (*Tagete erecta*): An Effective *Meloidogyne incognita* Trap Plant. International Journal of Agriculture and Biology (Volume 25, Issue 2, p. 271–276). Friends Science Publishers. <https://doi.org/10.17957/ijab/15.1666>

Wyss, U. (2002). Feeding Behavior of Plant-Parasitic Nematodes. The Biology of Nematodes (p. 233–260). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b12614-10>

Yeates, G.W., Bongers, T., De Goede, R.G.M., Freckman, D.W., & Georgieva, S.S. (1993). Feeding habits in soil nematode families and genera—an outline for soil ecologists. Journal of Nematology (Volume 25, Issue 3, p. 315-331).

Zouhar, M., Douda, O., Lhotsky D., Pavela, R. (2009). Effect of plant essential oils on mortality of the stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*). In Plant Protection Science (Vol. 45, Issue 2, pp. 66–73). Czech Academy of Agricultural Sciences. <https://doi.org/10.17221/6/2009-pps>

Ελληνική Βιβλιογραφία

Ντάλλη, Νικολέττα Γ. (2010), Αντιμετώπιση των ριζόκομβων νηματωδών (*Meloidogyne incognita*) σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες με φυσικά προϊόντα και μελέτη της χημικής σύστασης αυτών, Published by Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης DOI:10.26262/HEAL.AUTH.IR.114906

