



## ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Σχολή Γεωπονικών Επιστημών

Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος

### Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

“Φυτιατρική και Περιβάλλον”

Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας

### Μεταπτυχιακή Διατριβή Ειδίκευσης

“Διερεύνηση αποτελεσματικότητας στην αντιμετώπιση κομβονηματωδών του είδους *Meloidogyne incognita* με υπολείμματα εντόμων (frass)”



Καρδάμη Τριανταφυλλιά

Βόλος

2025

“Διερεύνηση αποτελεσματικότητας στην αντιμετώπιση κομβονηματωδών του είδους  
*Meloidogyne incognita* με υπολείμματα εντόμων (frass)”

Καρδάμη Τριανταφυλλιά

“ Efficacy evaluation of insect residues (frass) against *Meloidogyne incognita* ”

Kardami Triantafyllia

#### **Μέλη Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής**

##### **Ντάλλη Γ. Νικολέττα (Επιβλέπουσα)**

Επίκουρος καθηγήτρια, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας,  
Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλίας

##### **Νικόλαος Γ. Τσιρόπουλος (Μέλος)**

Καθηγητής, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας, Τμήμα  
Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλίας

##### **Αθανασίου Γ. Χρήστος (Μέλος)**

Καθηγητής, Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας, Τμήμα Γεωπονίας  
Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Copyright © ΚΑΡΔΑΜΗ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΑ, 2025.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

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

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

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

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

## Ευχαριστίες

Καθώς το κεφάλαιο των μεταπτυχιακών μου σπουδών στο πρόγραμμα ‘Ύψιατρική και Περιβάλλον’ ολοκληρώνεται με την συγγραφή της παρούσας εργασίας, δεν μπορώ παρά να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που στάθηκαν αρωγοί στην πραγματοποίησή της και με βοήθησαν με κάθε δυνατό τρόπο.

Αρχικά, ένα μεγάλο ευχαριστώ από καρδιάς στην κ. Ντάλλη Νικολέττα, Επίκουρο Καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου με την ανάθεση της συγκεκριμένης εργασίας αλλά και σε επιμέρους αρμοδιότητες που με συμπεριέλαβε, μέσα από τις οποίες αισθάνομαι ότι εξελίχθηκα και βελτιώθηκα ερευνητικά και γεωπονικά. Παράλληλα, την ευχαριστώ για την συνεχή στήριξή της και τις πολύτιμες συμβουλές, γνώσεις και συζητήσεις που μοιράστηκε μαζί μου τόσο σε ακαδημαϊκό πλαίσιο, όσο και σε προσωπικό.

Επιπλέον, ευχαριστώ θερμά τον κ. Τσιρόπουλο Νικόλαο, Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, μέλος της τριμελούς επιτροπής της διπλωματικής μου εργασίας, του οποίου η συμπεριφορά συνέβαλε ώστε να νιώσω ευπρόσδεκτη στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας, όπου και μου επετράπη να χρησιμοποιήσω τον απαραίτητο εργαστηριακό εξοπλισμό, ενώ το ενδιαφέρον του για την εξέλιξη της πορείας μου ήταν συνεχές.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Αθανασίου Χρήστο, Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, επίσης μέλος της τριμελούς επιτροπής της εργασίας μου. Χάρηκα πολύ διότι χάρη στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα μου δόθηκε ξανά η ευκαιρία να διδαχθώ μέσα από την διδασκαλία του και να συμμετάσχω ενεργά στις διαλέξεις του.

Την ίδια στιγμή, θέλω να απευθυνθώ και στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας για την παροχή των απαραίτητων εργαστηριακών υλικών για την υλοποίηση του πειράματος, στο πανεπιστήμιο Università degli Studi di Cagliari (UNICA) της Ιταλίας για την συνεργασία και στον κ. Νάκα Χρήστο, Καθηγητή στο Εργαστήριο Βιομετρίας του Τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, για την προθυμία, την υπομονή και την συνολική καθοδήγησή του στο κομμάτι της στατιστικής ανάλυσης.

Επιπρόσθετα, θα ήταν παράληψη να μην ευχαριστήσω την κ. Καραγιάννη Άννα Φιλίτσα, Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων και μέλος ΕΤΕΠ του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας, η οποία δεν παρέλειψε να με βοηθήσει όποτε ζητήθηκε ενώ το χαμόγελό της και το διακριτικό ενδιαφέρον της δημιούργησαν για εμένα ένα ευχάριστο κλίμα.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στην μητέρα μου Μαρία, στην γιαγιά μου Διαμάντω και τον παππού μου Θανάση, για την ανιδιοτελή αγάπη και μόνιμη στήριξη τους όλα αυτά τα χρόνια. Δεν έχω βρει πώς να τους το ανταποδώσω ισάξια, και μάλλον ούτε θα καταφέρω να βρω τρόπο μελλοντικά. Και φυσικά, υπερευχαριστώ έναν πολύ δικό μου άνθρωπο, την Σταυρούλα. Δίπλα μου σε κάθε βήμα, από την συντροφιά στα ποτίσματα μέχρι την βοήθεια στις δεκάδες μετρήσεις που έπρεπε να περάσω σε υπολογιστικό φύλλο, να κάθεται υπομονετικά να με ακούς να μιλάω και να αναλύω πληροφορίες σχετικές με την πειραματική διαδικασία και τους νηματώδεις, άγνωστα, ίσως και αδιάφορα πράγματα για εσένα, και για πολλά περισσότερα.

## Πίνακας περιεχομένων

|                                                                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Περίληψη .....                                                                                                                                                     | ix |
| Abstract.....                                                                                                                                                      | xi |
| 1. Εισαγωγή .....                                                                                                                                                  | 12 |
| 1.1. Κομβοηματοώδεις .....                                                                                                                                         | 13 |
| 1.1.1. Βιολογικός κύκλος του είδους <i>Meloidogyne incognita</i> .....                                                                                             | 13 |
| 1.1.2. Συμπτωματολογία.....                                                                                                                                        | 16 |
| 1.1.3. Οικονομικό αντίκτυπο.....                                                                                                                                   | 17 |
| 1.2. Αντιμετώπιση .....                                                                                                                                            | 18 |
| 1.2.1. Προληπτικά μέτρα .....                                                                                                                                      | 19 |
| 1.2.2. Καλλιεργητικά μέτρα .....                                                                                                                                   | 22 |
| 1.2.3. Βιολογική καταπολέμηση .....                                                                                                                                | 25 |
| 1.2.4. Χημική καταπολέμηση.....                                                                                                                                    | 28 |
| 1.3. Insect Frass .....                                                                                                                                            | 32 |
| 1.3.1. Εφαρμογές.....                                                                                                                                              | 34 |
| 1.4. Αναγκαιότητα ανακάλυψης φυσικών νηματωδοκτόνων και σκοπός της εργασίας.....                                                                                   | 35 |
| 2. Υλικά και Μέθοδοι .....                                                                                                                                         | 37 |
| 2.1. Ανάπτυξη πληθυσμού νηματωδών <i>Meloidogyne incognita</i> .....                                                                                               | 37 |
| 2.2. Παραγωγή υδατικών εκχυλισμάτων frass ειδών <i>Hermetia illucens</i> , <i>Zophobas morio</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i> και <i>Tenebrio molitor</i> ..... | 38 |
| 2.3. Πειράματα παράλυσης προνυμφών δευτέρου σταδίου ανάπτυξης J2 .....                                                                                             | 39 |
| 2.4. Χημική ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων frass .....                                                                                                              | 40 |
| 2.5. Στατιστική ανάλυση .....                                                                                                                                      | 41 |
| 3. Αποτελέσματα .....                                                                                                                                              | 42 |
| 3.1. Παράλυση των προνυμφών J2 <i>Meloidogyne incognita</i> υπό την επίδραση των εκχυλισμάτων frass χωρίς θερμική επεξεργασία .....                                | 42 |
| 3.2. Παράλυση των προνυμφών J2 <i>Meloidogyne incognita</i> υπό την επίδραση των εκχυλισμάτων frass κατόπιν θερμικής επεξεργασίας.....                             | 42 |
| 3.3. Αποτελέσματα χημικής ανάλυσης frass (πριν και κατόπιν θερμικής επεξεργασίας).....                                                                             | 43 |
| 4. Συμπεράσματα και Συζήτηση.....                                                                                                                                  | 47 |
| 4.1. Υπολείμματα εντόμων (frass) από τέσσερα είδη εντόμων και πρόκληση παράλυσης σε προνύμφες J2 <i>Meloidogyne incognita</i> .....                                | 47 |
| 4.2. Υπολείμματα εντόμων (frass) από τέσσερα είδη εντόμων και χημική σύσταση.....                                                                                  | 49 |
| Βιβλιογραφία .....                                                                                                                                                 | 53 |
| Ελληνική βιβλιογραφία.....                                                                                                                                         | 53 |
| Ξενόγλωσση βιβλιογραφία.....                                                                                                                                       | 53 |
| Ηλεκτρονικές πηγές.....                                                                                                                                            | 69 |

## Λίστα Εικόνων

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Εικόνα 1: Χάρτης διασποράς του νηματώδους <i>Meloidogyne incognita</i> (Eisenback, 2020). .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 13 |
| Εικόνα 2: Βιολογικός κύκλος ριζόκομβων νηματωδών του γένους <i>Meloidogyne</i> . A: Στάδιο ωού, B: Προνύμφη 1 <sup>ου</sup> σταδίου που αναπτύσσεται μέσα στο ωό, Γ: Προνύμφη 2 <sup>ου</sup> σταδίου που αποτελεί και το μολυσματικό στάδιο, αφού εξέλθει από το αυγό, κυκλοφορεί ελεύθερη στο έδαφος, εισέρχεται στις ρίζες του φυτού ξενιστή και αρχίζει να τρέφεται από αυτόν, Δ: Προνύμφη 3 <sup>ου</sup> σταδίου, E: Προνύμφη 4 <sup>ου</sup> σταδίου, μετά την 3 <sup>η</sup> έκδυση, όταν οι νηματώδεις έχουν διαφοροποιηθεί πλήρως φυλετικά, Z: Ενήλικοι νηματώδεις. Το αρσενικό εγκαταλείπει την ρίζα, H: Το ενήλικο θηλυκό παραμένει εντός της ρίζας και αρχίζει η ωοτοκία στους ωόσακους. (Τροποποιημένη εικόνα από: Agrios, 1997, pp. 575)..... | 15 |
| Εικόνα 3: Δημιουργία ωόσακων στο ριζικό σύστημα φυτών τομάτας έπειτα από προσβολή νηματωδών του γένους <i>Meloidogyne</i> spp.. Διακρίνεται η παρουσία τους στα ριζίδια αλλά και στην εξωτερική επιφάνεια των κόμβων. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 17 |
| Εικόνα 4: Φυτά τομάτας σε θάλαμο ανάπτυξης.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 37 |
| Εικόνα 5: Τροποποιημένο δοχείο Baermann. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 38 |
| Εικόνα 6: Frass των ειδών <i>Hermetia illucens</i> (Diptera: Stratiomyidae) (πάνω αριστερά), <i>Zophobas morio</i> (Coleoptera: Tenebrionidae) (πάνω δεξιά), <i>Alphitobius diaperinus</i> (Coleoptera: Tenebrionidae) (κάτω αριστερά) και <i>Tenebrio molitor</i> (Coleoptera: Tenebrionidae) (κάτω δεξιά) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 39 |
| Εικόνα 7: Διαχωρισμός προνυμφών κομβονηματωδών σε κινητές (A) και ακίνητες (B) όπως φαίνονται μέσα από τον φακό του μικροσκοπίου σε μεγέθυνση 10x (αριστερά) και 20x (δεξιά)... ..                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 40 |
| Εικόνα 8: Θερμικός χάρτης (heat map) ουσιών που ανιχνεύθηκαν στα frass των εντόμων άψητα (before) και ψημένα στους 70°C (after) ( <i>Hermetia illucens</i> , <i>Zophobas morio</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i> και <i>Tenebrio molitor</i> ).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 44 |

## Λίστα Πινάκων

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Πίνακας 1: Νηματωδοκτόνα με έγκριση κυκλοφορίας στην Ελλάδα (Ανακτήθηκε από: <a href="https://1click.minagric.gr/oneClickUI/frmFytoPro.zul">https://1click.minagric.gr/oneClickUI/frmFytoPro.zul</a> ) (πρόσβαση: 12/01/2025). ....                                                                                                                                                                                         | 29 |
| Πίνακας 2: Παράλυση προνυμφών 2ου σταδίου (J2) του νηματώδους <i>Meloidogyne incognita</i> υπό την επίδραση υδατικών εκχυλισμάτων frass, διαφορετικών ειδών εντόμων, χωρίς θερμική επεξεργασία, μετά από 24, 48 και 72 ώρες εμβάπτισης σε υδατικά διαλύματα ελέγχου frass .....                                                                                                                                             | 42 |
| Πίνακας 3: Παράλυση προνυμφών 2ου σταδίου (J2) του νηματώδους <i>Meloidogyne incognita</i> υπό την επίδραση υδατικών διαλυμάτων frass που είχαν δεχθεί θερμική επεξεργασία (1 ώρα στους 70°C) μετά από 24, 48 και 72 ώρες εμβάπτισης σε υδατικά διαλύματα ελέγχου. Για το <i>H. illucens</i> το ποσοστό παράλυσης ήταν αρκετά μικρό και το εύρος συγκεντρώσεων ελέγχου δεν περιελάμβανε τιμή EC <sub>50</sub> (παύλα) ..... | 43 |
| Πίνακας 4: Χημική ανάλυση ουσιών που ανιχνεύθηκαν στα frass των εντόμων άψητα (before) και ψημένα (after) ( <i>Hermetia illucens</i> , <i>Zophobas morio</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i> και <i>Tenebrio molitor</i> ).....                                                                                                                                                                                             | 44 |
| Πίνακας 5: Οι χημικές ουσίες των frass άψητων (before) και ψημένων (after) με εκατοστιαία περιεκτικότητα $\geq 4\%$ επί του συνόλου (Hb: <i>H. illucens</i> before, Ha: <i>H. illucens</i> after, Zb: <i>Z. morio</i> before, Za: <i>Z. morio</i> after, Ab: <i>A. diaperinus</i> before, Aa: <i>A. diaperinus</i> after, Tb: <i>T. molitor</i> before & Ta: <i>T. molitor</i> after).....                                  | 51 |

## Περίληψη

Οι κομβονηματώδεις ανήκουν στην κατηγορία των φυτοπαρασιτικών νηματωδών και μπορούν να περιορίσουν σημαντικά την παραγωγικότητα μιας καλλιέργειας, με την μείωση της απόδοσης να ζημιώνει οικονομικά τον παραγωγό. Ως γεωργικοί εχθροί θεωρούνται δύσκολοι ως προς την καταπολέμηση ενώ το ευρωπαϊκό πλάνο μείωσης των χημικά συντιθέμενων φυτοπροστατευτικών προϊόντων και λιπασμάτων λόγω μη ορθολογικής χρήσης έχει ως αποτέλεσμα τον περιορισμό στα εργαλεία διαχείρισής τους. Επί του παρόντος, η έρευνα έχει στραφεί στην αναζήτηση φυσικών ουσιών χαμηλού κινδύνου για την αντιμετώπισή των κομβονηματωδών. Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα υπολειμμάτων εντόμων (frass) στην αντιμετώπιση κομβονηματωδών του είδους *Meloidogyne incognita* και η χημική σύσταση των υδατικών εκχυλισμάτων σε συνεργασία με το Πανεπιστήμιο του Κάλιαρι της Ιταλίας. Συγκεκριμένα, εκχυλίσματα από frass των εντόμων *Hermetia illucens*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus* και *Tenebrio molitor* που είχαν υποστεί ή όχι θερμική επεξεργασία (1 ώρα στους 70°C), αναμείχθηκαν με αιώρημα νεαρών προνυμφών 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2) σε συγκεντρώσεις 50%, 25%, 12.5%, 6.25% και 3.12% (v/v). Οι κομβονηματώδεις αξιολογήθηκαν με βάση την κινητικότητα τους σε κινητές και ακίνητες ενώ οι μετρήσεις πάρθηκαν σε ανάστροφο μικροσκόπιο σε διάστημα 3 ημερών ανά 24 ώρες (24, 48 και 72h). Επιπλέον, μέσω της μεθόδου της αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας προέκυψε η χημική ανάλυση των εκχυλισμάτων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, για τις μεταχειρίσεις όπου χρησιμοποιήθηκε άψητο frass, το εκχύλισμα από υπολείμματα του *Z. morio* χαρακτηρίστηκε από την μεγαλύτερη δραστικότητα με  $EC_{50/72h}=9.02\%$  (v/v) ενώ στις μεταχειρίσεις κατόπιν θερμικής επεξεργασίας η χαμηλότερη τιμή  $EC_{50/72h}$  ήταν ίση με 20.33% (v/v). Για το *H. illucens* το ποσοστό παράλυσης ήταν έξω από το εύρος συγκεντρώσεων του πειράματος και δεν υπολογίστηκε τιμή  $EC_{50}$ . Τέλος, από την χημική ανάλυση και την βιβλιογραφική ανασκόπηση προέκυψε ότι συστατικά που ανιχνεύθηκαν τόσο σε υψηλή, όσο και σε χαμηλή εκατοστιαία περιεκτικότητα επί του συνόλου των συστατικών των εκχυλισμάτων εμφανίζουν νηματωδοκτόνο δράση σε νηματώδεις του γένους *Meloidogyne*. Η χρήση υπολειμμάτων εντόμων ως εδαφοβελτιωτικό για την θρέψη των καλλιεργειών είναι ήδη εφαρμοζόμενη γεωργική πρακτική ωστόσο οι ενδείξεις της παρούσας εργασίας επιβεβαιώνουν την προοπτική για περαιτέρω αξιοποίησή τους για την καταπολέμηση σημαντικών, για τις καλλιέργειες, εχθρών όπως οι κομβονηματώδεις.

**Λέξεις-κλειδιά:** κομβονηματώδεις, *Meloidogyne incognita*, υπολείμματα εντόμων, frass, *Hermetia illucens*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus*, *Tenebrio molitor*, νηματωδοκτόνος, EC<sub>50</sub>

## Abstract

Root knot nematodes (RKN) belong to the category of plant parasitic nematodes that significantly reduce the productivity of many crops and diminish the yield causing substantial financial annual losses to the producer. As agricultural pests, the RKN are considered difficult to combat while the reduction of the chemically synthesized plant protection products has resulted in a limitation in their management tools. To date, scientists focus on the search for low-risk natural substances as new alternative nematode controls measures. In this study, we examine the effectiveness of insect residues (frass) to paralyze the second stage juveniles (J2) *Meloidogyne incognita* and we correlated the activity to the chemical composition analysis, as available in collaboration with the University of Cagliari, Italy. Specifically, aqueous extracts from frass deriving from the insect species *Hermetia illucens*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus* and *Tenebrio molitor*, before and after heat treatment (1h in 70°C), were tested on second-stage juveniles (J2) at concentrations of 50%, 25%, 12.5%, 6.25% and 3.12% (v/v). The nematodes were evaluated based on their paralysis after immersion in the test solutions and the paralysis effect was observed in an inverted microscope over a period of 3 days every 24 hours (24, 48 and 72h). The chemical analysis of the extracts was obtained with gas chromatography-mass spectrometry. According to the results, for the treatments where unheated frass was used, the extract from *Z. morio* residues was characterized by the highest activity with  $EC_{50/72h}=9.02\%$  (v/v) while in the treatments after heating, the lowest  $EC_{50/72h}$  value was equal to 20.33% (v/v). The paralysis activity of the aqueous extract of *H. illucens* was outside the test concentration range used for the bioassay and thus the  $EC_{50}$  value was not calculated. The literature review revealed that substances detected at both high and low percentages, in the aqueous frass extracts exhibit nematicidal activity on *Meloidogyne* spp. Conclusively, the use of insect residues as a soil amendment for the nutrition of crops is already known, however, the indications of the present work confirm the prospect of their further exploitation for the control of important pests for crops such as root knot nematodes.

**Keywords:** root knot nematodes, *Meloidogyne incognita*, insect residues, frass, *Hermetia illucens*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus*, *Tenebrio molitor*, nematicide,  $EC_{50}$

## 1. Εισαγωγή

Οι νηματώδεις (φύλο: Nematoda) αποτελούν πολυκύτταρους οργανισμούς οι οποίοι βρίσκονται σε αφθονία στη γη, απαντώνται στα περισσότερα οικοσυστήματα ενώ με την παρουσία τους μπορούν είτε να συμβάλλουν, είτε να βλάψουν την φυσιολογική λειτουργία λοιπών οργανισμών. Στην γεωργία, συγκεκριμένα είδη των γενών *Meloidogyne*, *Globodera* και *Heterodera* θεωρούνται φυτοπαθογόνα καθώς απαραίτητη διαδικασία για την επιβίωση τους είναι ο παρασιτισμός τους στα φυτά, ο οποίος προκαλεί αρνητικές επιπτώσεις σε αυτά.

Αυτοί οι ζωικοί οργανισμοί έχουν συνήθως σκουλικόμορφη όψη με το μέγεθός τους να κυμαίνεται από 0,25 mm έως 1 mm (Παστόπουλος και Καζαντζής, 2024) ενώ μερικά είδη μπορεί να φθάσουν και τα 4 mm. Ένεκα της μικροσκοπικής τους μορφολογίας, η λατινική τους ονομασία Nematoda προκύπτει από την αρχαία ελληνική λέξη “νήμα”. Διαθέτουν πεπτικό, νευρικό και αναπαραγωγικό σύστημα ωστόσο δεν είναι διακριτό το σύνολο των αναπνευστικών και κυκλοφορικών μερών τους (Basyoni & Rizk, 2016).

Στον κλάδο της γεωπονίας, οι νηματώδεις, με βάση τις διατροφικές τους συνήθειες και τον τρόπο με τον οποίο προσβάλλουν τον ξενιστή, διαχωρίζονται σε τρεις κατηγορίες, τους ενδοπαρασιτικούς – μετακινούμενους (migratory), τους ενδοπαρασιτικούς – μη μετακινούμενους (sedentary) και τους εκτοπαρασιτικούς (Παστόπουλος & Καζαντζής, 2024). Οι ενδοπαρασιτικοί νηματώδεις περνούν το κυριότερο τμήμα του βιολογικού τους κύκλου εντός του φυτικού οργανισμού και τρέφονται μυζώντας χυμούς από τους επιδερμικούς και λοιπούς ιστούς, χάρη στα στίλετα που διαθέτουν (Nickle, 1991).

Αντίθετα, οι εκτοπαρασιτικοί νηματώδεις αντλούν την τροφή τους παραμένοντας στην εξωτερική πλευρά των φυτικών τμημάτων. Σε αυτό το σημείο ωστόσο αξίζει να αναφερθεί ότι σε μερικές περιπτώσεις η κατηγοριοποίηση ορισμένων ειδών δεν είναι οριστική καθώς σε διαφορετικά ηλικιακά στάδια, ο τρόπος διατροφής τους μπορεί να αλλάξει. Έτσι, προκύπτει μία τέταρτη ομάδα, αυτή των ημι-ενδοπαρασιτικών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το είδος *Heterodera glycines* με κύριο ξενιστή τη σόγια (Nickle, 1991).

Η διαφορά μεταξύ των ενδοπαρασιτικών μετακινούμενων και μη νηματωδών προκύπτει από την ικανότητά τους ή όχι να μετακινούνται σε εδάφη με υψηλή σχετική υγρασία και να εισέρχονται εντός του ριζικού συστήματος των ξενιστών, όπου τρέφονται και αναπαράγονται σε συγκεκριμένα ή διαφορετικά σημεία (Poulin, 2011). Στους μη

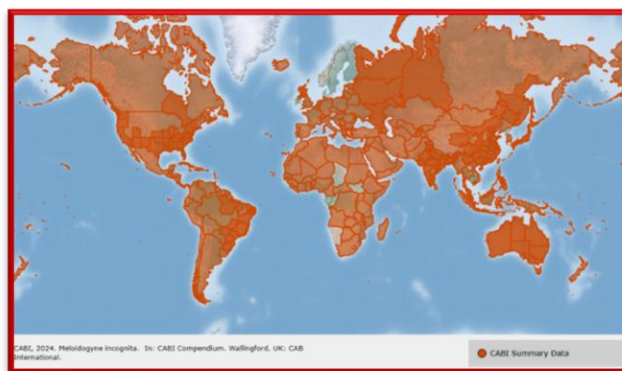
μετακινούμενους νηματώδεις εντάσσονται οι κυστονηματώδεις (Cyst Nematode, CNs) και οι κομβονηματώδεις (Root-knot Nematode, RKNs) οι οποίοι είναι οι πιο σημαντικοί, από οικονομική άποψη, στον γεωπονικό τομέα (Wyss & Grundler, 1992).

### 1.1. Κομβονηματώδεις

Οι κομβονηματώδεις βρίσκονται στην κορυφή της λίστας μεταξύ των πιο διαδεδομένων πολυφάγων φυτοпараσιτικών νηματωδών ενώ μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί πάνω από 100 διαφορετικά είδη. Αντιπροσωπευτικό αυτής της κατηγορίας αποτελεί το γένος *Meloidogyne* με τις περισσότερες εργασίες να εστιάζουν στα είδη *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* και *M. hapla* καθώς μπορούν να προσβάλλουν τα περισσότερα είδη ανώτερων φυτών και η διασπορά τους είναι παγκόσμια (Elling, 2013). Πολύ συχνά παρατηρείται να συνυπάρχουν τα πρώτα δύο είδη (Eisenback & Triantaphyllou, 1991). Στην Ελλάδα έχει σημειωθεί η παρουσία των ειδών *M. javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. hapla* και *M. artiellia* ενώ τα τρία πρώτα είναι τα πιο κοινώς ανιχνεύσιμα (Tzortzakakis et al., 2011).

#### 1.1.1. Βιολογικός κύκλος του είδους *Meloidogyne incognita*

Ο νηματώδης *Meloidogyne incognita* αποτελεί κύριο είδος της Οικογένειας Heteroderidae (Κλάση: Secernentea, Τάξη: Tylenchida), με την εξάπλωσή του να παρατηρείται ιδιαίτερα σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές ενώ σύμφωνα με τα δεδομένα που έχει συλλέξει ο διεθνής οργανισμός CABI, η παρουσία του σημειώνεται σε όλες τις ηπείρους, πέραν της Ανταρκτικής (Εικόνα 1) (Eisenback, 2020).



Εικόνα 1: Χάρτης διασποράς του νηματώδους *Meloidogyne incognita* (Eisenback, 2020).

Ο βιολογικός κύκλος του *M. incognita* ξεκινάει με το εμβρυικό στάδιο, ακολουθούν τέσσερα προνυμφικά στάδια (juvenile stage, J1-J4) και ολοκληρώνεται με το στάδιο του ενήλικου, με την διάρκειά του να διαφοροποιείται ανάλογα τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Σε ετήσια κλίμακα, το μέσο εύρος θερμοκρασίας γι' αυτό το είδος κυμαίνεται μεταξύ 18-30°C, με ιδανική μέση τιμή στους 27°C, δεδομένο που αιτιολογεί την απουσία του είδους σε περιοχές με πολύ ψυχρό κλίμα (Eisenback & Triantaphyllou, 1991).

Πιο αναλυτικά, το βιολογικό μονοπάτι του *M. incognita* αρχίζει από τις πρόσφατα εκκολαπτόμενες προνύμφες δευτέρου σταδίου ανάπτυξης J2 οι οποίες έλκονται από τις ρίζες του φυτού-ξενιστή και αποτελούν ουσιαστικά το μολυσματικό στάδιο του είδους. Εκεί, διαρρηγνύουν τα επιδερμικά και υποδερμικά κύτταρα του ριζικού τοιχώματος μέσω των κινήσεων του στιλέτου και εισβάλλουν σε βαθύτερα επίπεδα του φυτικού ιστού, όπου δημιουργούν μία σταθερή θέση για να τρέφονται. Ο χρόνος που μεσολαβεί για την ολοκλήρωση αυτής της διαδικασίας έχει εκτιμηθεί στις 14 με 18 ώρες (Wyss & Grundler, 1992).

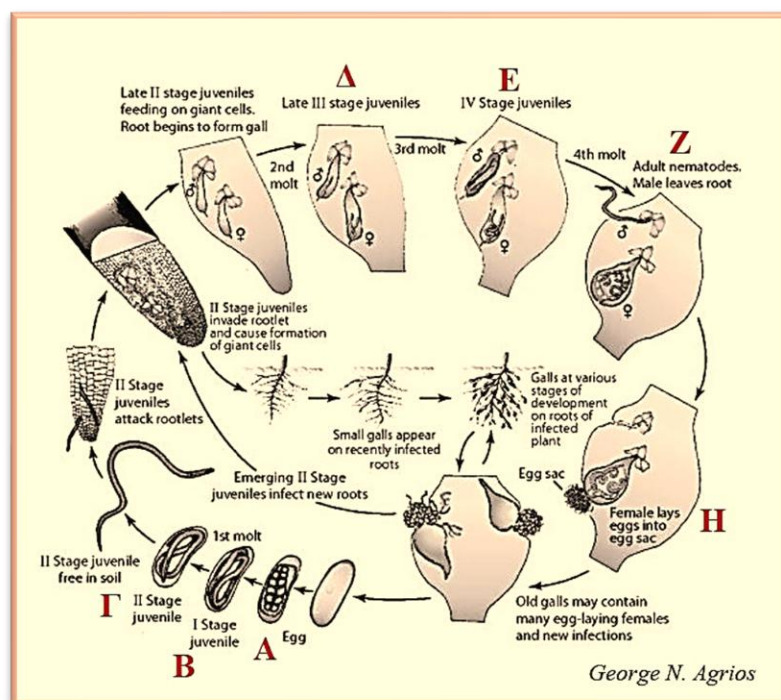
Οι νηματώδεις κυρίως διεισδύουν στο ριζικό σύστημα στη ζώνη επιμηκύνσεως και από εκεί μετακινούνται ενδοκυτταρικά από το βασικό μερίστωμα προς τον κεντρικό αγγειακό κύλινδρο της άκρης της ρίζας. Σύμφωνα με τους Escobar *et al.*, (2015), αυτή η κίνηση ίσως να εξηγείται από τα χαρακτηριστικά του ενδοδόερματος στα ανώτερα σημεία της ρίζας, όπου η λωρίδα Caspari αποτελεί αδιαπέραστο σημείο για το στίλετο των νηματωδών.

Στα σημεία θρέψης, τα κύτταρα υπόκεινται σε έντονες μορφολογικές αλλαγές με την πιο εμφανή μεταβολή να παρατηρείται στο μέγεθός τους το οποίο αυξάνεται. Τα κύτταρα αυτά στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται ως μεγακύτταρα (gigantic cells, GCs). Παράλληλα, τα κύτταρα του φλοιού που περιβάλλουν τα μεγακύτταρα συνεχίζουν να διαιρούνται και να πολλαπλασιάζονται με αποτέλεσμα τελικά την δημιουργία κόμβων (galls / knots) (Escobar *et al.*, 2015). Αυτές οι χαρακτηριστικές υπερπλασίες έχουν την μορφή όγκων στο ριζικό σύστημα. Μέσα σε αυτές τις κυτταρικές μάζες, οι νηματώδεις συνεχίζουν την ανάπτυξή τους περνώντας διαδοχικά στα στάδια J3 και J4 όπου σταματάνε να τρέφονται.

Στο τελευταίο στάδιο λαμβάνει χώρα ο φυλετικός διαχωρισμός των νηματωδών. Πιο αναλυτικά, από το στάδιο J4 προκύπτουν τα αρσενικά ενήλικα τα οποία εγκαταλείπουν την ρίζα, εν αντιθέσει με τα θηλυκά, τα οποία παραμένουν εντός του φυτικού ιστού όπου αρχίζουν να γεννάνε τα αυγά τους. Αυτά παρατίθενται μέσα σε μια ζελατινώδη ουσία η

οποία δημιουργείται από εκκρίσεις των αδένων του ορθού τους, αποτελείται από γλυκοπρωτεΐνες και περιγράφεται ως ωόσακος. Ο ωόσακος ενδέχεται να σχηματιστεί στο εξωτερικό αλλά και εσωτερικό μέρος των κόμβων. Η αναπαραγωγή των νηματωδών προκύπτει συνήθως παρθενογενετικά με μίτωση και τα αυγά εκκολάπτονται ανάλογα με την έκθεσή τους στην υγρασία σταδιακά ενώ ευνοούνται από τις υψηλές θερμοκρασίες (Manzanilla-Lopez et al., 2004). Η μετάβαση από το στάδιο J1 στο J2 σημειώνεται εντός του ωού (Εικόνα 2), μέσα στο οποίο οι νηματώδεις μπορούν να επιβιώσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα, υπό δύσκολες συνθήκες περιβάλλοντος (Warmerdam, 2019).

Κάθε θηλυκό μπορεί να παράγει από 300 έως 2000 αυγά με τον βιολογικό κύκλο να ολοκληρώνεται μέσα σε διάστημα 20-50 ημερών, ανάλογα τις κλιματικές και εδαφολογικές συνθήκες (Barker et al., 1998, pp. 492-493).



Εικόνα 2: Βιολογικός κύκλος ριζόκομβων νηματωδών του γένους *Meloidogyne*. A: Στάδιο ωού, B: Προνύμφη 1<sup>ου</sup> σταδίου που αναπτύσσεται μέσα στο ωό, Γ: Προνύμφη 2<sup>ου</sup> σταδίου που αποτελεί και το μολυσματικό στάδιο, αφού εξέλθει από το αυγό, κυκλοφορεί ελεύθερη στο έδαφος, εισέρχεται στις ρίζες του φυτού ξενιστή και αρχίζει να τρέφεται από αυτόν, Δ: Προνύμφη 3<sup>ου</sup> σταδίου, E: Προνύμφη 4<sup>ου</sup> σταδίου, μετά την 3<sup>η</sup> έκδυση, όταν οι νηματώδεις έχουν διαφοροποιηθεί πλήρως φυλετικά, Z: Ενήλικοι νηματώδεις. Το αρσενικό εγκαταλείπει την ρίζα, H: Το ενήλικο θηλυκό παραμένει εντός της ρίζας και αρχίζει η ωοτοκία στους ωόσακους. (Τροποποιημένη εικόνα από: Agrios, 1997, pp. 575)

### 1.1.2. Συμπτωματολογία

Η δημιουργία των ριζικών κόμβων και ωόσακων (Εικόνα 3) αποτελεί το κύριο χαρακτηριστικό γνώρισμα στο υπόγειο τμήμα του φυτού-ξενιστή, έπειτα από την προσβολή των κομβονηματωδών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να παρακωλύεται η ομαλή προσρόφηση νερού και θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά με αποτέλεσμα να σημειώνεται πρόωγη φυλλόπτωση, χλώρωση και μαρασμός των υπέργειων τμημάτων (Barker et al., 1998, pp. 596-597). Ωστόσο, αυτή η σειρά συμπτωμάτων δεν βοηθάει ώστε να γίνει άμεσα αντιληπτή η κύρια αιτία εμφάνισής τους καθώς εύκολα συγχέεται με την συμπτωματολογία τροφопενιών και λοιπών φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών.

Επιπλέον, μέσω της μόλυνσης των νηματωδών δύναται να προκληθεί δευτερογενής προσβολή από παθογόνα που μεταφέρονται ή υπάρχουν στο έδαφος. Είδη των μυκήτων του γένους *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* και *Sclerotium* έχει φανεί ότι συχνά αλληλοεπιδρούν με τους κομβονηματώδεις (Barker et al., 1998, pp. 600). Η διάνοιξη του ριζικού συστήματος από τους νηματώδεις μπορεί να αποτελέσει σημείο εισόδου και για είδη του μύκητα *Verticillium* ωστόσο οι αναφορές για την συνεργιστική σχέση μεταξύ των δύο οργανισμών είναι ελάχιστες. Σύμφωνα με τους Katsantonis et al., (2003), αυτό πιθανότατα να οφείλεται στο γεγονός ότι η βερτισιλλίωση κυρίως εμφανίζεται σε ουδέτερα/αλκαλικά εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα σε άργιλο ενώ οι κομβονηματώδεις φαίνεται να προκαλούν μεγαλύτερο πρόβλημα αρχικά σε αμμώδη εδάφη (University of Arizona, 01/2023). Επιπλέον αναφορές έχουν γίνει για την σχέση νηματωδών-βακτηρίων όπως για παράδειγμα το βακτήριο *Pseudomonas solanacearum* το οποίο παρουσία κομβονηματωδών αυξάνεται σε συχνότητα και ένταση (Barker et al., 1998, pp. 600). Τέλος, ορισμένα γένη όπως το *Xiphinema* και το *Trichodorus* αποτελούν φορείς ιών, παραδείγματος χάριν οι ιοί *Grapevine fanleaf virus* και *Tomato ringspot virus* (Agrios, 1997, pp. 572-573).

Ο αριθμός των κόμβων και των ωόσακων ποικίλει και διαφοροποιείται ανάλογα με την πυκνότητα του πληθυσμού των νηματωδών, τις περιβαλλοντικές συνθήκες, τα εδαφολογικά χαρακτηριστικά και τον βαθμό ευαισθησίας του φυτού-ξενιστή. Σύμφωνα με τους Prot & Van Gundy (1981), τα είδη *Meloidogyne* spp. εμφανίζονται και αναπαράγονται γρηγορότερα σε αμμώδη και αμμο-αργιλώδη εδάφη. Πιθανότατα, ο καλύτερος αερισμός τέτοιων τύπων εδάφους βοηθάει τους νεαρούς νηματώδεις να μετακινηθούν πιο εύκολα και σε μεγαλύτερες αποστάσεις μέσα στο χώμα.

Σχετικά με την μετακίνηση και διασπορά τους, αυτό επιτυγχάνεται κυρίως μέσα από τις καλλιεργητικές πρακτικές και τα χρησιμοποιούμενα εργαλεία, την κίνηση του νερού βροχής και αρδεύσεως, τα ζώα, με την εγκατάσταση μολυσμένου πολλαπλασιαστικού υλικού και βελτιωτικών εδάφους (κοπριά) αλλά και μέσω της παρουσίας ζιζανίων-ξενιστών. Αναφορικά μόνο, το είδος *M. incognita* έχει βρεθεί ότι αναπαράγεται στην πλειοψηφία των ζιζανίων με πάνω από 135 ξενιστές παγκοσμίως (Rich et al., 2018).



Εικόνα 3: Δημιουργία ωόσακων στο ριζικό σύστημα φυτών τομάτας έπειτα από προσβολή νηματωδών του γένους *Meloidogyne* spp.. Διακρίνεται η παρουσία τους στα ριζίδια αλλά και στην εξωτερική επιφάνεια των κόμβων.

### 1.1.3. Οικονομικό αντίκτυπο

Οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις μπορούν να περιορίσουν σημαντικά την παραγωγικότητα μιας καλλιέργειας μειώνοντας την απόδοση, ζημιώνοντας οικονομικά τον παραγωγό. Ωστόσο, δεν υπάρχουν αρκετές πηγές που να εκτιμούν εκτενέστερα το οικονομικό αντίκτυπό τους.

Το 1997 οι Ornat *et al.* πραγματοποίησαν πείραμα σε θερμοκηπιακές εγκαταστάσεις στην περιοχή της Βαρκελώνης, όπου μόλυναν φυτά αγγουριάς με περίπου 1100 προνύμφες / 250 cm<sup>3</sup> του είδους *Meloidogyne javanica*, σημειώνοντας απώλεια σε ύψος 60%. Παράλληλα, όταν η προσβολή από τους νηματώδεις συνοδεύεται από

δευτερεύουσες προσβολές παθογόνων οργανισμών, η απώλεια μπορεί να φτάσει έως και 70% (Sabir & Walia, 2017).

Σύμφωνα με μελέτη των Pereira *et al.*, (2009), πάνω στις οικονομικές και κοινωνικές επιπτώσεις του είδους *Meloidogyne mayaguensis* που προσβάλλει την καλλιέργεια γκουάβα (*Psidium guajava*) στη Βραζιλία, ο νηματώδης έχει προκαλέσει με τα έως τότε δεδομένα, οικονομική ζημιά ύψους 61 εκατομμύρια δολάρια ενώ η υποβάθμιση των προσβεβλημένων αγροτεμαχίων είχε ως αποτέλεσμα να χαθούν σχεδόν 3.700 θέσεις εργασίας πλήρους απασχολήσεως.

Οι Kumar *et al.*, (2020), αναλύοντας δεδομένα από το ινστιτούτο της Ινδίας “AICRP”, υπολόγισαν ότι οι νηματώδεις μπορούν να προκαλέσουν έως και περίπου 21% απώλειες των καλλιεργειών το οποίο μεταφράζεται σε 1,2 δισεκατομμύρια δολάρια ετησίως. Παράλληλα, η οικονομική ζημιά από την μείωση της απόδοσης σε σημαντικές, για την Ινδία, καλλιέργειες αγγίζει τα 275.200.000 δολάρια για το ρύζι, 115.000.000 δολάρια για την μπανάνα, 71.365.600 δολάρια για την τομάτα και σχεδόν 41.376.700 δολάρια για καλλιέργειες μελιτζάνας.

Σε παγκόσμιο επίπεδο, το ετήσιο οικονομικό αντίκτυπο από την μόλυνση των καλλιεργειών από τους νηματώδεις, ανέρχεται στα 173 δισεκατομμύρια δολάρια ενώ τα 13 δις δολάρια αφορούν τις απώλειες στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (Elling, 2013).

## 1.2. Αντιμετώπιση

Η αντιμετώπιση των κομβοηματοδών φέρει δυσκολίες καθώς, όπως αναφέρθηκε στο υποκεφάλαιο 1.1.2, η ανίχνευσή τους στην καλλιέργεια είναι συνήθως καθυστερημένη λόγω της δραστηριότητάς τους στο υπόγειο μέρος του φυτού και της παρουσίας συμπτωματολογίας που εύκολα συγχέεται με διαφορετικής φύσεως αίτια που προκαλούν καχεξία στα φυτικά μέρη. Επιπλέον, σημαντικοί παράγοντες που δεν βοηθούν στην έγκαιρη αντίδραση των καλλιεργητών αποτελούν η ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου σε σύντομο χρονικό διάστημα και το υψηλό παραγωγικό δυναμικό τους.

Για την ορθή και ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των νηματωδών, πρωτίστως, απαιτείται η σωστή αναγνώριση των ειδών ώστε να καθοριστούν οι απαραίτητες μέθοδοι διαχείρισής τους. Αυτό επιτυγχάνεται με την παρατήρηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών μικροσκοπικά και με βιοχημικές και μοριακές εργαστηριακές

πρακτικές ανίχνευσης και ταυτοποίησης όπως οι EST (electrophoretic analysis of non-specific esterase), ITS-PCR-RFLP (internal transcribed spacer–polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism), SCAR (sequence characterized amplified region), PCR (polymerase chain reaction) και LAMP (loop - mediated isothermal amplification) (Rusique et al., 2023).

Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι σε αρκετές μελέτες τα τελευταία χρόνια γίνεται προσπάθεια συμπερίληψης και αξιοποίησης μέσων τεχνολογίας όπως το λεγόμενο deep learning για την ταυτοποίηση νηματωδών (Pun et al., 2024). Οι Thevenoux et al., (2021) για είδη του γένους *Globodera* πέτυχαν μέσα από τα μοντέλα που εφάρμοσαν ακρίβεια από 71 έως 88% ενώ οι Qing et al., (2022) δημιούργησαν μία διαδικτυακή εφαρμογή για αναγνώριση νηματωδών (NemaRec) όπου πέτυχαν ακρίβεια έως και 97%. Ωστόσο για τέτοιας μορφής μελέτες, απαιτείται μεγάλη βάση δεδομένων ενώ οι αλγόριθμοι που δοκιμάζονται μέσα από το σύστημα, επιδέχονται πολλές βελτιώσεις ακόμα καθώς οι νηματώδεις παρουσιάζουν δυσκολία ως προς την αναγνώριση λόγω υψηλής φαινοτυπικής πλαστικότητας και μορφολογικών διακυμάνσεων (Lu et al., 2021).

Στη συνέχεια, η καταπολέμηση επιτυγχάνεται με την εφαρμογή προληπτικών - καλλιεργητικών μέτρων και με την χρήση χημικών και βιολογικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

### 1.2.1. Προληπτικά μέτρα

#### 1) Πολλαπλασιαστικό υλικό:

Η χρήση υγιούς και πιστοποιημένου πολλαπλασιαστικού υλικού αποτελεί αναγκαίο και υψίστης σημασίας προληπτικό μέτρο για τον περιορισμό εξάπλωσης των νηματωδών καθώς και παθογόνων που μπορεί να μεταφέρουν. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το είδος *Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback, 1983 (συν: *Meloidogyne mayaguensis* Rammah & Hirschmann, 1988) το οποίο έχει δημιουργήσει σοβαρό πρόβλημα σε περιοχές της Βραζιλίας σε καλλιέργειες όπως το γκουάβα (*Psidium guajava*) και το βαμβάκι (*Gossypium* spp.) ενώ η εξάπλωσή του εκτιμάται ότι οφείλεται σε μολυσμένους σπόρους (Pereira et al., 2009).

Την ίδια στιγμή, ο νηματώδης αυτού του είδους έχει προκαλέσει ανησυχία και στην Ευρώπη, με την πρώτη αναφορά να σημειώνεται στην Πορτογαλία το 2018, σύμφωνα με στοιχεία του EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) (EPPO,

06/2018). Το 2023 το είδος *M. enterolobii* ανιχνεύτηκε σε θερμοκηπιακές εγκαταστάσεις της Ολλανδίας όπου είχαν παραληφθεί γλαστράκια του καλλωπιστικού είδους *Ficus macrocarpa*, κατά το προηγούμενο έτος από την Ιταλία (EPPO, 02/2023). Έπειτα από αναφορά του Εθνικού Οργανισμού Προστασίας Φυτών της Ολλανδίας (National Plant Protection Organization, NPPO), διαπιστώθηκε ότι τα μολυσμένα φυτά είχαν εισαχθεί από την Κίνα σε φυτώριο στη Σικελία της Ιταλίας, όπου οι έλεγχοι επιβεβαίωσαν την παρουσία του νηματώδους (EPPO, 04/2023).

## 2) Ανθεκτικές ποικιλίες

Η επιλογή ανθεκτικών ποικιλιών συνιστά ακόμη ένα σημαντικό μέτρο στο προληπτικό σχέδιο κατά την εγκατάσταση μιας καλλιέργειας, ιδιαίτερα στη περίπτωση της βιολογικής γεωργίας ενώ παράλληλα ελαχιστοποιούνται οι ανάγκες για χημικές επεμβάσεις, μειώνοντας τις συνολικές δαπάνες του καλλιεργητή.

Στη τομάτα, έχει βρεθεί ότι 10 τύποι του κυρίαρχου γονιδίου Mi (Mi-HT, Mi-1, Mi-2, Mi-3, Mi-4, Mi-5, Mi-6, Mi-7, Mi-8 και Mi-9) έχουν χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο των ειδών *M. incognita*, *M. javanica* και *M. arenaria* ενώ είναι μη αποτελεσματικά κατά των ειδών *M. enterolobii* και *M. hapla*. Ωστόσο πρέπει να σημειωθεί ότι από αυτό το σύνολο, τα 3 εμφανίζουν αστάθεια σε υψηλές θερμοκρασίες (Rashid et al., 2017). Τα γονίδια Mi-2, Mi-3, Mi-4, Mi-5, Mi-6, Mi-9 και Mi-HT έχουν χαρακτηριστεί ως σταθερά στη θερμότητα όμως δεν μπορούν να αξιοποιηθούν εμπορικά λόγω διασταυρούμενης ασυμβατότητας, δηλαδή η μεταφορά τους από το άγριο είδος (*Lycopersicon peruvianum*) στις καλλιεργούμενες ποικιλίες είναι ανεπιτυχής (El-Sappah et al., 2019).

Ο μηχανισμός δράσης πιθανότατα οφείλεται στην άμυνα που παρουσιάζουν τα φυτά με ανθεκτικότητα, τα οποία κατά την διείσδυση των νηματωδών στο ριζικό σύστημα, ενεργοποιούν το αμυντικό τους σύστημα και έπειτα από μία σειρά πρωτεϊνικών αλληλοεπιδράσεων μεταξύ των κυττάρων του φυτού και των νηματωδών, αδυνατούν να σχηματιστούν μεγάκύτταρα (giant cells, GC). Στην διαδικασία αυτή, φαίνεται ότι κυρίως αλληλοεπιδρούν βοηθητικές πρωτεΐνες της τομάτας με τα γονίδια Avt των νηματωδών (El-Sappah et al., 2019).

Παρόλα αυτά, ήδη από τα τέλη του 1990, έχουν βρεθεί παθότυποι του γένους *Meloidogyne* οι οποίοι προσβάλλουν και μπορούν να αναπαραχθούν ακόμη και σε ανθεκτικά υβρίδια τομάτας ενώ σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε

θερμοκηπιακές εγκαταστάσεις στην Ελλάδα την προηγούμενη δεκαετία, βρέθηκε ότι σε θερμοκρασίες  $>28^{\circ}\text{C}$ , οι νηματώδεις του είδους *M. javanica* είχαν την ικανότητα να αναπτύσσονται εντός του ριζικού συστήματος σε ποικιλίες που έφεραν το γονίδιο Mi (Τζωρτζακάκης, 2018).

Νεότερες μελέτες στοχεύουν στην τροποποίηση αλληλουχιών του DNA φυτών όπως η τομάτα, μέσα από εργαλεία όπως το CRISPR-Cas9, με στόχο, για παράδειγμα, την δημιουργία ενός ριζικού συστήματος αποτελούμενου από περισσότερα τριχίδια έτσι ώστε να ενισχυθεί η αμυντική ικανότητα του φυτού (USDA, 2019).

### **3) Απολύμανση εξοπλισμού**

Ο καθαρισμός και η απολύμανση των εργαλείων και του εξοπλισμού που έχει χρησιμοποιηθεί κατά τις καλλιεργητικές πρακτικές έχει παρατηρηθεί ότι αμελείται πολλές φορές από τους καλλιεργητές όμως θεωρείται βασικό μέτρο για την αποφυγή διασποράς μολυσματικού υλικού και σπόρων ζιζανίων σε υγιή αγροτεμάχια. Ενδεικτικά, η απολύμανση μπορεί να γίνει με χρήση θερμότητας ή ατμού και με ολιγόλεπτη εμβάπτιση των εργαλείων σε διάλυμα που εμπεριέχει ποσότητα αιθυλικής αλκοόλης ή υποχλωριώδους νατρίου.

Παράδειγμα αποτελεί το περιστατικό στην Πορτογαλία το 2018, όπου ανιχνεύτηκε για πρώτη φορά το είδος *Meloidogyne enterolobii* έπειτα από συλλογή δειγμάτων, που πάρθηκαν από ιδιωτικό κήπο. Αφού επιβεβαιώθηκε η παρουσία του νηματώδους, οι αρχές ζήτησαν από τον ιδιοκτήτη του κήπου να μην μεταφέρει ή μεταφυτεύσει τα μολυσμένα φυτά από την αρχική τους θέση και να απολυμαίνει τα εργαλεία και τα παπούτσια του πριν εγκαταλείψει τον κηπευτικό χώρο (EPPO, 2018).

### **4) Παρακολούθηση καλλιέργειας**

Η παρακολούθηση μιας καλλιέργειας του σήμερα συνεπάγεται χαρτογράφηση και τηλεπισκόπηση. Επίγειοι αισθητήρες και δορυφορικά μέσα μπορούν να σαρώσουν μία έκταση και να δώσουν σε ένα υπολογιστικό σύστημα μία ψηφιοποιημένη εικόνα όπου θα προκύπτουν συγκεκριμένοι δείκτες, ενδεικτικοί για την συνολική κατάσταση του πεδίου. Έτσι, οι Martins et al., (2017), έχοντας γνώση της φασματικής διακύμανσης που προκύπτει στα φύλλα έπειτα από προσβολή των ριζών από νηματώδεις και της χωρικής

διαμόρφωσης της συμπτωματολογίας στον αγρό, προσπάθησαν να ανιχνεύσουν και να χαρτογραφήσουν την παρουσία κομβονηματωδών σε καλλιέργεια καφέ (*Coffea spp*). Αυτό επιτεύχθηκε μέσω της πολυφασματικής ταξινόμησης υγείων και μολυσμένων φυτών με την ακρίβεια να φτάνει έως το 78%.

Τα τελευταία χρόνια, φαρμακευτική εταιρεία έχει δημιουργήσει ψηφιακό εργαλείο με ενσωματωμένο αισθητήρα θερμοκρασίας εδάφους. Η καταγραφή της διακύμανσης της θερμοκρασίας σε συνδυασμό με αλγόριθμο για τον βιολογικό κύκλο νηματωδών του γένους *Meloidogyne* μπορεί να δώσει ενδείξεις για την παρουσία τους σε μία καλλιέργεια (agro24, 04/2024).

### 1.2.2. Καλλιεργητικά μέτρα

#### 1) Αμειψισπορά

Η αμειψισπορά (εναλλαγή καλλιεργειών) αποτελεί σημαντική καλλιεργητική μέθοδο για την προστασία των φυτών από τους νηματώδεις όμως η βιβλιογραφία παραμένει περιορισμένη.

Οι Xie *et al.*, (2016) μελέτησαν την αποτελεσματικότητα της αμειψισποράς αλλά και της συγκαλλιέργειας του φυτού - καλλιέργειας *Angelica sinensis* με το είδος *Tagetes erecta*, για τον περιορισμό της ανάπτυξης νηματωδών του γένους *Meloidogyne*. Και στις δύο περιπτώσεις φάνηκε ότι η πυκνότητα πληθυσμού προνυμφών δευτέρου σταδίου (J2) των κομβονηματωδών ήταν μειωμένος ενώ η απόδοση της καλλιέργειας αυξήθηκε, συγκριτικά με τον μάρτυρα. Παρόλο που δεν είναι γνωστός ο ακριβής μηχανισμός υπό τον οποίο δρα το είδος *T. erecta* αναστέλλοντας την προσβολή των νηματωδών, οι περισσότερες μελέτες έχουν εστιάσει στην αλληλοπάθεια μεταξύ των ριζών των δυο φυτών και στις νηματωδοκτόνες ιδιότητες του δευτερογενούς μεταβολίτη  $\alpha$ -terthienyl, συστατικό του *Tagetes erecta* (Wang *et al.*, 2007).

Σε πανεπιστήμιο της Νότιας Αφρικής, οι Mathebula *et al.*, (2024), ερεύνησαν την αποτελεσματικότητα της αμειψισποράς 16 ειδών (*Raphanus sativus* L. var. *Oleiferus*, *Avena sativa* L., *Dolichos lablab* L., *Sorghum bicolor* L., *Crotalaria juncea* L., *Avena strigosa* Schreb., *Secale cereale* L., *Helianthus annuus* L., *Hordeum vulgare* L., *Crotalaria spectabilis* Roth., *Brassica napus* L., *Raphanus sativus* L. var. *Longipinnatus*, *Vicia sativa* L., *Chloris Gayana* Kunth., *Mucuna pruriens* L. DC., *Eragrostis curvula* Schrad) με βασική καλλιέργεια την πατάτα (*Solanum tuberosum* L.) για τον περιορισμό

της εξάπλωσης του είδους *Meloidogyne javanica*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα 4 είδη (*Raphanus sativus*, *Avena sativa*, *Sorghum bicolor* και *Raphanus sativus* var *Longipinnatus*) από τα 16 κατάφεραν να συμβάλλουν στην μείωση της πυκνότητας πληθυσμού του νηματώδους.

## 2) Αγρανάπαυση

Οι κομβονηματώδεις ως υποχρεωτικά παράσιτα χρειάζονται την παρουσία του ξενιστή ώστε να μπορέσουν να ολοκληρώσουν επιτυχώς τον βιολογικό τους κύκλο. Ως εκ τούτου, η διακοπή καλλιέργειας της γης για ένα χρονικό διάστημα μπορεί να ωφελήσει στον περιορισμό των κομβονηματωδών σε αυτή. Προϋπόθεση για την αποτελεσματικότητα της μεθόδου αποτελεί η διαχείριση και αντιμετώπιση των ζιζανίων κατά την διάρκεια της αγρανάπαυσης, με σκοπό να αποφευχθεί η προσέλκυση και η αναπαραγωγή των νηματωδών εξαιτίας πιθανής παρουσίας ζιζανίων – ξενιστών (Ornat et al., 1999).

Σε καλλιέργεια αμπέλου (*Vitis vinifera*), οι ερευνητές εκτίμησαν ότι χρειάζεται τουλάχιστον ένας χρόνος αγρανάπαυσης ώστε να μειωθεί η πληθυσμιακή πυκνότητα του είδους *Meloidogyne hapla* (Gagnier et al., 2024).

## 3) Φυτά παγίδες

Στα φυτά παγίδες (trap crops) περιλαμβάνονται φυτά ευαίσθητα στους νηματώδεις που τείνουν να τους προσελκύουν περισσότερο από ότι τα φυτά καλλιέργειας. Αφού οι νηματώδεις προσβάλουν αυτά τα φυτά και πριν προλάβουν να ολοκληρώσουν τον βιολογικό τους κύκλο, τα φυτά εκριζώνονται και καταστρέφονται, με στόχο την μείωση της αρχικής πυκνότητας πληθυσμού.

Σε πείραμα για τον έλεγχο νηματωδών του γένους *Meloidogyne*, παράλληλα με καλλιέργεια μαρουλιού (*Lactuca sativa* L.), επιλέχθηκαν 11 φυτά-παγίδες (*Brassica napus* L. cv. Hyoola 201, *Vicia ervilia* L. cv. 1816, *Brassica juncea* L., *Sesamum indicum* L. cv. 202., *Cucumis melo* var. *flexuosus* L., *Lagenaria siceraria* L., *Sorghum bicolor* L., *Vicia* spp. cv. 976, *Vicia* spp., *Coriandum sativum* L., και *Sesamum indicum* L. cv. Noga) για να μελετηθεί η αποτελεσματικότητά τους εναντίον των παρασίτων.

Τα αποτελέσματα παρουσίασαν ενδιαφέρον καθώς υπήρχαν φυτά που βοήθησαν στην απομάκρυνση σημαντικού μολύσματος όμως μερικά είδη είχαν το αντίθετο αποτέλεσμα. Πιο συγκεκριμένα, τα είδη *Brassica napus*, *Lagenaria siceraria*, *Brassica juncea* και *Vicia* spp. συνέβαλαν στην απομόνωση των νηματώδων από την κύρια καλλιέργεια ενώ τα είδη *Sesamum indicum*, *Cucumis melo* var. *flexuosus* και *Sorghum bicolor* φάνηκε να ωθούν περισσότερους νηματώδεις προς το μαρούλι. Παράλληλα, η μελέτη επισημαίνει την σημαντικότητα της έγκαιρης εκρίζωσης των φυτών παγίδων ώστε να μην δημιουργηθούν ανταγωνιστικές συνθήκες με την κύρια καλλιέργεια (Samara, 2020).

#### 4) Ηλιοαπολύμανση

Η μέθοδος της ηλιοαπολύμανσης (soil solarization) εφαρμόζεται στο έδαφος, συνήθως κατά τους καλοκαιρινούς μήνες, και αποτελεί φυσικό τρόπο ώστε να ελεγχθούν παθογόνα και ζιζάνια. Αυτό επιτυγχάνεται με την κάλυψη του εδάφους με διαφανή φύλλα πολυαιθυλενίου και με την αξιοποίηση της ηλιακής ακτινοβολίας, η οποία δεσμεύεται σε αυτά (Mauromicale et al., 2005). Σημαντική είναι η καλή προετοιμασία του χωραφιού μέσω της οποίας βελτιώνεται ο αερισμός του εδάφους, διευκολύνεται η κίνηση του νερού και η μεταφορά της θερμότητας, με αποτέλεσμα την αποδοτικότερη εφαρμογή της ηλιοαπολύμανσης (Ελευθεροχωρινός, 2014). Η θερμοκρασία στην επιφάνεια του εδάφους αγγίζει τους 40°C ενώ σε βάθος 5cm μπορεί να φτάσει τους 55°C (Τραυλός & Κανάτας, 2022).

Σε εργασία των Kokalis-Burelle et al., (2016), αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα της ηλιοαπολύμανσης σε συνδυασμό με την εφαρμογή ατμού αλλά και μεμονωμένα, για την αντιμετώπιση του είδους *Meloidogyne arenaria* σε καλλωπιστική καλλιέργεια. Από την ανάλυση φάνηκε ότι ο συνδυασμός των δύο μεθόδων είχε θετικά αποτελέσματα ενώ η ηλιοαπολύμανση, όταν εφαρμόστηκε ανεξάρτητα από τον ατμό, δεν κατάφερε να περιορίσει την εξάπλωση του νηματώδους γι' αυτό συνιστάται η εφαρμογή της παράλληλα με άλλες καλλιεργητικές πρακτικές. Ομοίως, προτείνεται ο συνδυασμός ηλιοαπολύμανσης με εφαρμογή φυτικών υπολειμμάτων ή κοπριάς (Kaşkavalci, 2007). Όσον αφορά την χρήση ατμού και ηλιοαπολύμανσης, τονίζεται ο αρνητικός αντίκτυπος που μπορεί να σημειωθεί στο ωφέλιμο μικροβίωμα του εδάφους, γι' αυτό συνιστάται προσοχή κατά την εφαρμογή τους (Kokalis-Burelle et al., 2016).

### 1.2.3. Βιολογική καταπολέμηση

Η βιολογική καταπολέμηση ακολουθεί την ροή που σημειώνεται φυσιολογικά σε κάθε είδος το οποίο έχει συγκεκριμένους θηρευτές και ανταγωνιστές, με αποτέλεσμα την μείωση και περιορισμό του πληθυσμού του και την διατήρηση της ισορροπίας ενός οικοσυστήματος. Οι φυσικοί εχθροί των επιζήμιων, για την γεωργία, οργανισμών μπορεί να είναι αρπακτικά έντομα, παρασιτοειδή, παθογόνα και φυτοφάγα έντομα (Πέκας, 2009).

Μικροοργανισμοί όπως τα βακτήρια, οι ιοί, οι μύκητες, τα πρωτόζωα, τα έντομα και μερικά είδη νηματωδών μπορούν να δράσουν ενάντια στους φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις μέσα από τον ανταγωνισμό, τον παρασιτισμό και την έκκριση αντιβιοτικών ουσιών και λοιπών στοιχείων που προωθούν την ανάπτυξη των φυτικών οργάνων και την αντίστασή τους στους παθογόνους οργανισμούς (Bhat et al., 2023).

#### a) Βακτήρια

Το πιο γνωστό και πολύ-μελετημένο γένος βακτηρίων στην διεθνή βιβλιογραφία αποτελεί το γένος *Bacillus* με πολλά είδη του να μελετώνται εδώ και αρκετά χρόνια ως βιολογικό μέσο καταπολέμησης νηματωδών. Το είδος *Bacillus subtilis* strain Bs-1 μείωσε την παραγωγή κόμβων προνυμφών δευτέρου σταδίου (*M. incognita*) κατά 64,2% σε φυτά αγγουριάς (*Cucumis sativus*) και παράλληλα ενίσχυσε σημαντικά την ανάπτυξή τους. (Cao et al., 2019). Σε άλλη εργασία, το είδος *Bacillus velezensis* Strain Bv-25 βελτίωσε την ανάπτυξη φυτών αγγουριού και την άμυνά τους, καθώς στον μάρτυρα ο δείκτης ασθένειας (disease index) κυμάνθηκε περίπου στο 88% ενώ στην μεταχείριση με τον βάκιλλο, ήταν περίπου 40%, σε έδαφος μολυσμένο με προνύμφες *M. incognita* (43 J2s/100 g). Σύμφωνα με τους Tian et al., (2022), ο βάκιλλος φαίνεται να ενεργοποιεί το βιοχημικό μονοπάτι του σαλικυλικού και ιασμονικού οξέος, ενισχύοντας την γραμμή άμυνας του φυτού ενάντια στους νηματώδεις και δευτερογενείς μολύνσεις.

Επιπλέον, τα ριζοβακτηριακά είδη *Pseudomonas jessenii* strains R62 και *Pseudomonas synxantha* strain R81 έδωσαν εργαστηριακά 100% θνησιμότητα σε προνύμφες J2 *Meloidogyne incognita*, σε συγκέντρωση 75% και 100%, ενώ σε καλλιέργεια θερμοκηπιακής τομάτας ο συνδυασμός τους κατέστειλε την εξάπλωση των νηματωδών και την ίδια στιγμή συνέβαλε στην καλύτερη συνολική ανάπτυξη των φυτών (Sharma & Sharma, 2017).

Τέλος, σε πολλές μελέτες το ενδιαφέρον έχει στραφεί στο βακτήριο *Pasteuria penetrans* το οποίο χαρακτηρίζεται ως υποχρεωτικό παράσιτο κομβονηματωδών. Τα σπόρια του κολλάνε στην εξωτερική επιδερμίδα των νηματωδών παρασιτώντας τους. Σε νηματώδεις του είδους *M. javanica*, 15-25 σπόρια / J2 προνύμφη είναι ικανά να μειώσουν τον σχηματισμό κόμβων στο ριζικό σύστημα αλλά και την παραγωγή ωών. Έτσι, ακόμα και αν καταφέρουν οι νηματώδεις να εισβάλλουν στους εσωτερικούς φυτικούς ιστούς, αδυνατούν να αναπαραχθούν (Saleh et al., 2023). Η υψηλή αντοχή του βακτηρίου στη θερμοκρασία (30-40°C) επαληθεύει την προοπτική χρήσης του ως παρασιτοκτόνο βιολογικής φύσεως (Jagadeeswaran et al., 2024).

## **b) Μύκητες**

Η αξιοποίηση στελεχών μυκήτων για τον βιολογικό έλεγχο εχθρών των καλλιεργειών μελετάται εδώ και πολλά χρόνια. Ο ταχύς και υψηλός ρυθμός αναπαραγωγής καθώς και η δυνατότητά τους να επιβιώνουν σαπροφυτικά, απουσία ξενιστή, είναι κύρια χαρακτηριστικά που καθιστούν βιώσιμη την δυνατότητα εφαρμογής τους στη γεωργία (Thambugala et al., 2020).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το είδος *Trichoderma harzianum*. Προσθήκη 2g του μύκητα σε 2 kg εδάφους 7 ημέρες πριν την μεταφύτευση φυτών τομάτας (*Lycopersicon esculentum*) μείωσαν τον αριθμό ωών / g ρίζας του είδους *M. javanica* κατά περίπου 10.500, συγκριτικά με τον μάρτυρα (Saleh et al., 2023). Σε καλλιέργεια τομάτας, η προσθήκη *Purpureocillium lilacinum* μείωσε το επίπεδο ζημιάς από νηματώδεις *Meloidogyne* spp. στο ριζικό σύστημα στο 18%, την στιγμή που η προσβολή στον μάρτυρα ήταν 70% (Swibawa et al., 2024). Αντίστοιχα αποτελέσματα έχουν δώσει σε μελέτες τα είδη *Beauveria bassiana* και *Metarhizium anisopliae*. Δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από αυτούς τους μύκητες εμφανίζουν τοξικότητα εναντίον των νηματωδών (Karabörklü et al., 2022; Oliveira et al., 2021).

Επιπρόσθετα, ενδιαφέρον παρουσιάζει πείραμα όπου παράχθηκε υδατικό εκχύλισμα από τον βασιδιομύκητα *Pleurotus ostreatus* το οποίο εφαρμόστηκε σε φυτά που είχαν προσβληθεί με προνύμφες J2 του είδους *M. incognita*, καταφέροντας να μειωθεί η αναπαραγωγική ικανότητα των νηματωδών κατά σχεδόν 86% και η δημιουργία κόμβων περίπου 92%, συγκριτικά με τον μάρτυρα, σε συγκέντρωση 15g/100mL απεσταγμένου νερού. Αντίστοιχα αποτελέσματα έδωσε και η μεταχείριση όπου χρησιμοποιήθηκαν

υπολείμματα του μανιταριού στα πειραματικά γλαστράκια (15g). Παράλληλα, βελτιώθηκαν τα κριτήρια ανάπτυξης και απόδοσης των φυτών (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) (Youssef & El-Nagdi, 2021).

Τέλος, μελέτες έχουν προκύψει για την δραστικότητα των μυκορριζών εναντίον φυτοπαραστικών νηματωδών. Οι μυκόρριζες χωρίζονται σε εκτοτροφικούς μυκορριζικούς (ectomycorrhizal fungi, ECMF) και ενδο-μυκορριζικούς μήκητες (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF), οι οποίοι δημιουργούν μία συμβιωτική σχέση με τα φυτά, αναπτυσσόμενοι στη ριζόσφαιρά τους (Poveda et al., 2020). Εκεί, προάγουν την πρόσληψη θρεπτικών όπως άζωτο και φώσφορο, γι' αυτό και συχνά συνιστάται η εμφύτευση νεαρών ριζών σε μυκόρριζα πριν την μεταφύτευση ενός φυτού. Αυτή η σχέση δίνουν και λαβείν συμπληρώνεται με την προσφορά υδατανθράκων από το φυτό στους μύκητες. Επιπλέον, εκείνοι προστατεύουν τον ξενιστή τους από βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες που προκαλούν στρες και μεταβολές στην ομαλή λειτουργία των επιμέρους φυτικών οργάνων. Συγκεκριμένα, η παρουσία στρες ανιχνεύεται από τις υφές του μύκητα και σηματοδοτείται μέσω του μυκηλίου, ενεργοποιώντας έτσι εκκρίσεις που μετριάζουν το πρόβλημα αποκαθιστώντας την ανισορροπία σε θρεπτικές και υδατικές ανάγκες που προκύπτει από το στρες (Branco et al., 2022).

Σε εργασία τους οι Dos Anjos et al., (2010), κατέληξαν ότι η εφαρμογή μυκορριζών σε καλλιέργεια του είδους *Passiflora alata* πριν την προσβολή τους με νηματώδεις του είδους *M. incognita* συνέβαλε στη μείωση των σοβαρών επιπτώσεων από την μόλυνσή τους με παράλληλη πτώση στο αναπαραγωγικό δυναμικό τους. Ομοίως, σε καλλιέργεια τομάτας όπου προηγήθηκε εμβολιασμός με μυκόρριζα (*Glomus intraradices*), ο σχηματισμός κόμβων (*M. incognita*) στα φυτά μειώθηκε κατά 39% ενώ σε δόση 2g του μύκητα η δημιουργία ωών ελαττώθηκε κατά 40% (Alejo et al., 2010).

### **ε) Λοιποί παθογόνοι μικροοργανισμοί και ανταγωνιστές φυτοπαρασιτικών νηματωδών**

Οι περισσότερες εργασίες εστιάζουν στην αξιοποίηση βακτηρίων και μυκήτων για την καταπολέμηση νηματωδών και άλλων παθογόνων που βλάπτουν την φυσιολογική ανάπτυξη των φυτών, παρόλα αυτά στη βιβλιογραφία σημειώνονται και μελέτες αποτελεσματικότητας λοιπών παθογόνων μικροοργανισμών αλλά και ανταγωνιστών φυτοπαρασιτικών νηματωδών.

Για παράδειγμα, οι Xue et al., (2024) προσπάθησαν να ελέγξουν τον νηματώδη *M. incognita* σε ευαίσθητη ποικιλία τομάτας (*Solanum lycopersicum* cv. Moneymaker) με στελέχη του βιολογικού παράγοντα *Pythium oligandrum*. Τα αποτελέσματα έδειξαν θετική επίδραση του ωομύκητα στην ανάπτυξη του φυτού και πιθανή συμβολή του στους μηχανισμούς άμυνας της τομάτας ενάντια σε δευτερογενείς μολύνσεις. Συγκριτικά με τον μάρτυρα, η ικανότητα των νηματωδών να διεισδύσουν στο ριζικό σύστημα του φυτού ξενιστή μειώθηκε κατά μέσο όρο 75% και οι κόμβοι που τελικά δημιουργήθηκαν ήταν λιγότεροι κατά 52%.

Σε διαφορετική κατεύθυνση, νηματώδεις – αρπακτικά που τρέφονται με μικροοργανισμούς του εδάφους, έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να συμπεριλάβουν στο διατροφολόγιό τους ακόμα και άλλους νηματώδεις που παρασιτούν στα φυτά. Οι περισσότεροι ανήκουν σε μία από τις εξής τέσσερις τάξεις: Mononchida, Dorylaimida, Diplogasterida και Aphelenchida (Khan & Kim, 2007). Ο διπλός ρόλος τους ως προς τον δυνητικό έλεγχο φυτοπαρασιτικών νηματωδών και ως προς τον κύκλο των θρεπτικών, για τα φυτά, στοιχείων είναι ο λόγος που ωθείται η εκτενέστερη διερεύνηση της προοπτικής τους ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου.

#### 1.2.4. Χημική καταπολέμηση

Την αποτελεσματικότητα της βιολογικής καταπολέμησης και των καλλιεργητικών πρακτικών συμπληρώνει η χημική καταπολέμηση που παραμένει κύριο μέσο διαχείρισης των νηματωδών από την πλευρά των καλλιεργητών.

Τα χημικά νηματωδοκτόνα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο κύριες ομάδες: τα καπνιστικά (ή πτητικά) (fumigants) και τα μη καπνιστικά (ή μη πτητικά) (non-fumigants). Ο υποκαπνισμός αποτελεί σημαντική μέθοδο απολύμανσης του εδάφους και χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση εδαφογενών παρασίτων αλλά και για την προστασία γεωργικών προϊόντων στο στάδιο της αποθήκευσης (Ζιώγας & Μαρκόγλου, 2017). Η εφαρμογή των υποκαπνιστικών νηματωδοκτόνων συμβαίνει πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας στο χωράφι ενώ στη συνέχεια το χώμα καλύπτεται με φύλλα πολυαιθυλενίου ώστε να αποφευχθεί η διαφυγή των πτητικών ουσιών στο περιβάλλον. Η διαδικασία έχει μέση διάρκεια 2-3 εβδομάδες έως ότου μειωθεί η πληθυσμιακή πυκνότητα των νηματωδών και απομακρυνθούν πιθανά τοξικά υπολείμματα του εφαρμοσμένου προϊόντος (Hajihassani, 2018). Εν αντιθέσει, η

εφαρμογή των μη καπνιστικών νηματωδοκτόνων προκύπτει μετά την εγκατάσταση της καλλιέργειας καθώς η δράση τους είναι εξ επαφής και διασυστηματική (Ντάλλη, 2010).

#### 1.2.4.1. Χημικά συντιθέμενα σκευάσματα και σκευάσματα φυσικής προέλευσης

Για πολλές δεκαετίες πρωταγωνιστικό ρόλο στην καταπολέμηση των νηματωδών είχε το βρωμιούχο μεθύλιο το οποίο χαρακτηρίζεται από μεγάλη διεισδυτική ικανότητα με μεγάλο εύρος δράσης καθώς εκτός από νηματωδοκτόνο, εφαρμοζόταν και ως εντομοκτόνο, ζιζανιοκτόνο, μυκητοκτόνο και βακτηριοκτόνο. Παρόλα αυτά, η χρήση του έχει απαγορευτεί καθώς η παρουσία του στην στρατόσφαιρα είχε ως αποτέλεσμα την πρόκληση πτώσης στα επίπεδα του ατμοσφαιρικού όζοντος ενώ έχει σημειωθεί η πιθανότητα τοξικότητας στην υγεία ανθρώπων και ζώων (Ζιώγας & Μαρκόγλου, 2017).

Από το δεύτερο μισό του 20<sup>ου</sup> αιώνα, έμφαση δόθηκε σε μη υποκαπνιστικά νηματωδοκτόνα των οποίων οι χημικές ενώσεις ομαδοποιούνται στα οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά. Παράλληλα, η σταδιακή απόσυρση σκευασμάτων, για λόγους που αναφέρθηκαν ανωτέρω και σε προηγούμενα υποκεφάλαια, έχει οδηγήσει στην αναζήτηση εναλλακτικών μεθόδων για την καταπολέμηση των νηματωδών με την παγκόσμια αγορά να επικεντρώνεται σε σκευάσματα φυσικής προέλευσης. Σύμφωνα με τα διαθέσιμα στοιχεία του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, έγκριση κυκλοφορίας στην Ελλάδα έχουν τα εξής νηματωδοκτόνα (Πίνακας 1):

*Πίνακας 1: Νηματωδοκτόνα με έγκριση κυκλοφορίας στην Ελλάδα (Ανακτήθηκε από: <https://1click.minagric.gr/oneClickUI/fmFytoPro.zul> ) (πρόσβαση: 12/01/2025).*

| Δραστική ουσία        | Μορφή Σκευάσματος | Ημ/νία Έγκρισης | Λήξη Έγκρισης | Λήξη Διάθεσης Αποθεμάτων |
|-----------------------|-------------------|-----------------|---------------|--------------------------|
| <b>fosthiazate</b>    | GR <sup>1</sup>   | 04/08/2004      | 31/01/2028    | -                        |
| <b>fosthiazate</b>    | EC <sup>2</sup>   | 10/09/2012      | 31/01/2028    | -                        |
| <b>fluopyram</b>      | SC <sup>3</sup>   | 29/01/2016      | 30/06/2027    | -                        |
| <b>dazomet</b>        | MG <sup>1</sup>   | 18/06/2019      | 31/08/2027    | -                        |
| <b>abamectin</b>      | SC <sup>3</sup>   | 16/08/2017      | 01/04/2024    | 01/09/2025               |
|                       |                   | 24/10/2022      | 30/04/2024    | -                        |
| <b>geraniol</b>       | CS <sup>4</sup>   | 27/07/2020      | 30/04/2027    | -                        |
| <b>thymol</b>         | CS <sup>4</sup>   | 27/07/2020      | 30/04/2027    | -                        |
| <b>garlic extract</b> | GR <sup>1</sup>   | 14/05/2015      | 31/08/2021    | -                        |

|                                                    |                 |            |            |            |
|----------------------------------------------------|-----------------|------------|------------|------------|
| <b>garlic extract</b>                              | SC <sup>3</sup> | 13/12/2018 | 31/08/2021 | -          |
| <b><i>Bacillus firmus</i> i-1582</b>               | WP <sup>5</sup> | 26/08/2014 | 24/10/2024 | 31/08/2025 |
| <b><i>Purpureocillium lilacinum</i> strain 251</b> | DC <sup>3</sup> | 10/03/2017 | 31/07/2023 | -          |

Υποσημείωση: <sup>1</sup>κοκκώδη, GR (granules), MG (microgranules), <sup>2</sup>γαλακτωματοποιήσιμο συμπύκνωμα, EC (emulsifiable concentrate), <sup>3</sup>πυκνό εναιωρηματοποιήσιμο ή εναιωρηματοποιήσιμο συμπύκνωμα, DC (dispersible concentrate) ή SC (suspension concentrate), <sup>4</sup>εναιώρημα μικροκαψουλών, <sup>4</sup>CS (capsule suspension), <sup>5</sup>βρέξιμη σκόνη, WP (wetable powder). Όσα σκευάσματα, παρόλο που η ημερομηνία λήξης τους είναι προγενέστερη της σημερινής, για τα οποία δεν υπάρχει ΥΠΟΥΡΓΙΚΗ ΑΠΟΦΑΣΗ ΑΝΑΚΛΗΣΗΣ ή δεν εμφανίζεται η λέξη ΑΠΟΣΥΡΘΗΚΕ, η έγκρισή τους είναι σε ισχύ και βρίσκονται σε διαδικασία ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ.

1.2.4.2. Βιβλιογραφική ανασκόπηση φυσικών προϊόντων με νηματοδοκτόνο δράση και έμμεση δράση μέσω ενεργοποίησης μηχανισμών άμυνας του ξενιστή

Η ανάγκη προς εύρεση εναλλακτικών μεθόδων καταπολέμησης των φυτοпараσιτικών νηματωδών έχει στρέψει το ενδιαφέρον των ερευνητών στην αναζήτηση φυσικών προϊόντων με νηματοδοκτόνο χαρακτήρα ή/και με έμμεση δράση μέσω ενεργοποίησης μηχανισμών άμυνας του ξενιστή. Συγκεκριμένα, μελέτες προσανατολίζονται στην κατεύθυνση των δευτερογενών μεταβολιτών των φυτών αναζητώντας εκεί μια ελπιδοφόρα, εναλλακτική λύση στην αντιμετώπιση των νηματωδών. Τα φυτά έχουν την δυνατότητα να συνθέτουν μία σειρά διαφόρων ενώσεων αποτελούμενων από μικρά, οργανικά μόρια. Γνωστοί ως δευτερογενείς μεταβολίτες (secondary metabolites), δεν χαρακτηρίζονται για τον ρόλο τους στην αύξηση και ανάπτυξη του φυτού καθώς δεν συνδέονται με διεργασίες όπως αυτή της φωτοσύνθεσης και της αναπνοής. Παρόλα αυτά, έχει αποδειχθεί η συμβολή τους στην προστασία του φυτού από φυτοφάγα ζώα και παθογόνους μικροοργανισμούς, η ικανότητά τους να προσελκύουν έντομα και ζώα σημαντικά για την επικονίαση των φυτών και την διασπορά των σπόρων τους όπως επίσης και για την λειτουργία τους ως παράγοντες ανταγωνισμού μεταξύ του κύριου φυτού και λοιπών μικροοργανισμών (Taiz et al., 2017).

Παραδείγματα χημικών ομάδων, φυσικών ουσιών φυτικής προέλευσης που παρουσιάζουν νηματοδοκτόνο δράση και έχουν βρεθεί στην βιβλιογραφία είναι οι παρακάτω (Ntalli & Caboni, 2012):

1. Αλδεΐδες & Κετόνες
2. Αλκαλοειδή
3. Γλυκοσίδια
4. Γλυκοσινολικές και Ισοθειοκυανικές ενώσεις
5. Λιμονοειδή, κουασινοειδή & σαπωνίνες
6. Οργανικά Οξέα
7. Φαινολικά, Φλαβονοειδή & Κινόνες
8. Πιπεραμίδια
9. Πολυακετυλένια & Πολυθιενύλια
10. Τερπένια

Σε γενικότερο πλαίσιο, αιθέρια έλαια ειδών των οικογενειών Asteraceae, Apiaceae και Poaceae παρουσιάζουν έντονο ενδιαφέρον καθώς η χημική τους σύσταση φαίνεται να μπορεί να επηρεάσει δραστικά τον βιολογικό κύκλο των νηματωδών με ουσίες όπως η linalool, geraniol, carvacrol και thymol να παίζουν καθοριστικό ρόλο στη βιολογική δράση (Sarri et al., 2024).

Ενδεικτικά, το πολυακετυλένιο falcarindiol που εντοπίζεται σε διάφορα φυτά της οικογένειας Apiaceae έχει δείξει σημαντική νηματωδοκτόνο δράση κατά των ειδών *M. incognita* και *Bursaphelenchus xylophilus*. Σε πείραμα όπου η falcarindiol απομονώθηκε από εκχύλισμα ριζωμάτων του φυτού *Notopterygium incisum*, προέκυψε μέση θανατηφόρος συγκέντρωση (LC<sub>50</sub>) στα 0.56 και 0.95 mg/L, αντίστοιχα για τους δύο νηματώδεις (Liu et al., 2016). Εκχύλισμα του φυτού *Monarda didyma*, με βασικό συστατικό την καρβακρόλη, εμφάνισε σπουδαία ικανότητα παράλυσης κατά του νηματώδους *M. incognita* όπου μετά από 24 ώρες, υπολογίστηκε LC<sub>50</sub>= 1.0 mg/L (Laquale et al., 2018). Αιθέρια έλαια του είδους *Ruta chalepensis* L. προκάλεσαν παράλυση ίση με EC<sub>50/24h</sub> = 77.5 και 107.3 mg/L για τους νηματώδεις *M. incognita* και *M. javanica* ενώ από τις αναλύσεις διαπιστώθηκε κύρια παρουσία αλιφατικών κετονών και κουμαρινών. Ωστόσο, νηματωδοκτόνο δράση παρουσίασε το συστατικό 2-undecanone, εν αντιθέσει με τις κουμαρίνες που δεν φάνηκε να επηρεάζουν σημαντικά την κινητικότητα των προνυμφών J2 των νηματωδών (Ntalli et al., 2011).

Παράλληλα, πολλά δυαδικά μίγματα δευτερογενών μεταβολιτών φυτικής προέλευσης όπως trans-anethole/geraniol, trans-anethole/eugenol, carvacrol/eugenol και geraniol/carvacrol εμφανίζουν προοπτική ως προς τη συνεργιστική δράση (Ntalli et al., 2010).

Εκτός από την χρήση μεμονωμένων ουσιών ή μιγμάτων τους στην καταπολέμηση των κομβομηματωδών, η διεθνής βιβλιογραφία αναφέρει παραδείγματα ενσωμάτωσης βοτανικού υλικού στο έδαφος πριν την εγκατάσταση ευπαθούς, στους κομβομηματώδεις, καλλιέργειας ως μέθοδο καταπολέμησης. Σε αυτό το πλαίσιο, ψιλοκομμένα φύλλα λάχανου και κουνουπιδιού αναμειγμένα σε χώμα μείωσαν από 40 έως 78% τον πληθυσμό κομβομηματωδών του είδους *M. incognita* σε καλλιέργεια μπάμιας (*Abelmoschus esculentus* L. Moench), με το αποτέλεσμα να αποδίδεται στη δράση γλυκοζινολικών ενώσεων που σχηματίζονται ως επακόλουθο της υδρόλυσης δευτερογενών μεταβολιτών του φυτού (Behera et al., 2020). Από πειράματα έχει διαπιστωθεί ότι η εφαρμογή μερών από φυτικά είδη της οικογένειας Brassicaceae στο έδαφος ενισχύει την απελευθέρωση γλυκοζινολικών ως απόρροια της δράσης των μυροσινασών (Eugui et al., 2022).

Επιπλέον, εδώ και δεκαετίες χρησιμοποιούνται τα βελτιωτικά εδάφους κυρίως μέσω της χρήσης κοπριάς βοοειδών και πουλερικών αλλά και από την επεξεργασία μερών και υπολειμμάτων φυτών και εντόμων (π.χ. Vermicompost). Η εφαρμογή τους δημιουργεί φιλικό περιβάλλον για την ανάπτυξη βακτηρίων και άλλων μικροοργανισμών, που συμβάλλουν στην γονιμότητα του εδάφους και στον συνολικό εμπλουτισμό του με στοιχεία σημαντικά για την απόδοση των καλλιεργειών (Renčo, 2012).

Παράλληλα, σημαντική φαίνεται να είναι και η συμβολή τους στον περιορισμό της εξάπλωσης των νηματωδών. Ενδεικτικά, συνδυασμός υπολειμμάτων ελιάς και κοπριάς πουλερικών οδήγησε σε καταστολή προνυμφών του είδους *M. incognita* σε καλλιέργεια τομάτας (D'Addabbo et al., 2003) ενώ συνδυασμός κοπριάς βοοειδούς με υπολείμματα από γαιοσκώληκες και φύλλα του είδους *Colocasia esculenta* μείωσε τα επίπεδα διείσδυσης προνυμφών J2 *M. incognita* σε φυτά τομάτας και εμπόδισε την ανάπτυξή τους ακόμη και μετά την διείσδυσή τους στο ριζικό σύστημα (Zuhair et al., 2022).

Ωστόσο, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, συνιστάται προσοχή κατά την εφαρμογή τους καθώς ενδέχεται μακροπρόθεσμα να βλάψουν την συνολική σύσταση του εδάφους μειώνοντας τα φυσικά θρεπτικά του συστατικά (Renčo, 2012).

### 1.3. Insect Frass

Ο όρος “insect frass” αναφέρεται στο κύριο υποπροϊόν που προκύπτει από την εκτροφή των εντόμων το οποίο αποτελείται από τα περιττώματά τους, από υπολείμματα των υποστρωμάτων όπου εκτρέφονται αλλά και από τα σωματικά τους μέρη. Σύμφωνα

με τον Κανονισμό Αρ. 142/2011 Παράρτημα I ως frass ορίζεται “το μείγμα αποβλήτων που προέρχονται από εκτρεφόμενα έντομα, το υπόστρωμα θρέψης τους, μέρη του σώματός τους και νεκρά ωά όπου η περιεκτικότητα σε νεκρά εκτρεφόμενα έντομα δεν είναι μεγαλύτερη από 5% σε όγκο και έως 3% σε βάρος” (Official Journal of the European Union, 2021). Αυτό το μείγμα περιέχει μόρια όπως η κυτταρίνη, η λιγνίνη και η χιτίνη και χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά με την συνολική του σύνθεση να διαφέρει ανάλογα το είδος του εντόμου και την διατροφή των εντόμων (Magro et al., 2024).

Το frass άρχισε να παρουσιάζει ενδιαφέρον στον γεωπονικό κλάδο, ως εναλλακτική μορφή λίπανσης των καλλιεργειών καθώς φαίνεται να προάγει την υγεία και ανάπτυξη των φυτών αυξάνοντας την ανοχή τους σε αβιοτικές καταπονήσεις, ενισχύοντας την θρεπτική σύσταση και το μικροβίωμα του εδάφους ή δυνητικά, δρώντας ανταγωνιστικά εναντίον παθογόνων μικροοργανισμών (IPIFF, 2021).

Έως σήμερα δεν έχει δημιουργηθεί ειδικό νομικό πλαίσιο για τέτοιου είδους προϊόντα, ως εκ τούτου το frass, βάσει του Κανονισμού Αρ. 1069/2009, υπάγεται γενικευμένα στην κατηγορία “κοπριά”, με αποτέλεσμα ο τρόπος χρήσης του να ευθυγραμμίζεται με τις ήδη υπάρχουσες οδηγίες για τα οργανικά λιπάσματα, δηλαδή επεξεργασία στους 70°C για 60 λεπτά και εφαρμογή στο έδαφος χωρίς να απαιτείται προηγούμενη προεργασία (IPIFF, 2019).

Στην Ελλάδα δεν υπάρχει ακόμα ειδική νομοθεσία για την χρήση υπολειμμάτων εντόμων ως λίπασμα οπότε και ισχύουν οι γενικές ευρωπαϊκές διατάξεις που αναφέρθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο. Ο Κανονισμός Αρ. 2001/999 (Παράρτημα IV) που τροποποιήθηκε από τον Κανονισμό 2017/893 (Παράρτημα X) επιτρέπει την χρήση παραπροϊόντων εντόμων *Hermetia illucens*, *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, *Musca domestica*, *Acheta domesticus*, *Gryllodes sigillatus* και *Gryllus assimilis* ενώ σύμφωνα και με τον Κανονισμό 2021/1925, από τον Νοέμβριο του 2021, έχει εγκριθεί και η χρήση πρωτεϊνών του είδους *Bombyx mori* σε ζωοτροφές για χοίρους και πτηνά και σε υδατοκαλλιέργειες (IPIFF, 2019). Στην λίστα της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA, 10/2015) αναφέρονται επιπλέον τα είδη *Zophobas morio*, *Zophobas atratus*, *Galleria mellonella*, *Achroia grisella*, *Locusta migratoria migratorioides* και *Schistocerca americana* ως προς την προοπτική για χρήση τους σε τρόφιμα και ζωοτροφές.

### 1.3.1. Εφαρμογές

Ενδείξεις για την σημασία των υπολειμμάτων που προκύπτουν από τα έντομα υπάρχουν από τα τέλη του 20<sup>ου</sup> αιώνα με αρχές του 21<sup>ου</sup>, όπου υπογραμμίζεται η θετική επιρροή της παρουσίας frass στο έδαφος ως προς το βιολογικό μονοπάτι του άνθρακα και του αζώτου (Frost & Hunter, 2004). Ωστόσο, τα τελευταία μόλις χρόνια άρχισαν να πραγματοποιούνται περισσότερες μελέτες για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητάς τους στον κύκλο θρέψης εδάφους και ανάπτυξης των φυτών. Μάλιστα για το 2024 το μέγεθος της αγοράς για την χρήση frass από έντομα ως βιολογικά λιπάσματα αποτιμήθηκε στα 2,5 δισεκατομμύρια δολάρια ενώ προβλέπεται ρυθμός ανάπτυξης της τάξεως των 12.5% μονάδων από το 2026 έως το 2033. Αυτό αντιστοιχεί σε 6,8 δισεκατομμύρια δολάρια έως τότε (Verified Market Reports, 04/2025).

Στην πράξη, εφαρμογή 2gr frass του είδους *Mamestra brassicae* σε γλαστράκια με μέσο ξηρό βάρος εδάφους 110gr, βοήθησε επαρκώς στον εμπλουτισμό εδάφους με άζωτο προάγοντας την ανάπτυξη των φυτών λάχανου (*Brassica rapa ver. perviridis*) (Kagata & Ohgushi, 2012). Σε πείραμα σε γλαστράκια με σπανάκι (*Spinacia oleracea*) όπου προστέθηκε frass του εντόμου *Tenebrio molitor* (0, 0.25, 0.5 και 1%) προέκυψε αύξηση της πρόσληψης αζώτου από τα φυτά και της οργανικής ύλης κατά 0.5% (μεταχείριση με 1% frass). Οι ερευνητές σημείωσαν και την πιθανή δράση των υπολειμμάτων του εντόμου σε όξινα εδάφη καθώς παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές στο pH του εδάφους, πράγμα που φάνηκε να ήταν αναμενόμενο λαμβάνοντας υπόψη ότι το frass ήταν αλκαλικό (Antoniadis et al., 2023).

Μελέτη των Zande et al., (2024) έδειξε εμφανή επίδραση υπολειμμάτων (2 και 5 gr/kg εδάφους) του εντόμου *Acheta domesticus* L., στο νωπό βάρος βλαστού φυτών της οικογένειας Brassicaceae. Συγκεκριμένα, 8 εβδομάδες από την ανάπτυξη της καλλιέργειας, ο αριθμός των φύλλων ανά φυτό αυξήθηκε κατά 95% ενώ η φυλλική επιφάνεια αυξήθηκε κατά περίπου 620%, συγκριτικά με τον μάρτυρα.

Οι Koh et al., (2020), σε προσπάθειά τους προς αναζήτηση μοντέλων κυκλικής οικονομίας μηδενικών αποβλήτων (zero-waste circular economy) διατήρησαν πληθυσμό του είδους *Zophobas morio* με βασική τροφή τεμαχίδια πολυστυρενίου αναμειγμένα σε πίτουρο, με προσθήκη σακχαρόζης (polystyrene, PS). Το frass που προέκυψε στη συνέχεια, πλούσιο σε αμίδια, προστέθηκε στο χώμα φυτών του είδους *Hylocereus undatus* όπου παρατηρήθηκε θετική απόκριση στο ύψος των βλαστών και στην ανάπτυξη των ριζών. Επιπλέον, εφαρμόστηκε η μέθοδος ανάλυσης GC-MS (gas chromatography –

mass spectrometry) όπου δεν ανιχνεύθηκαν σημαντικές ποσότητες τοξικών υποπροϊόντων αποικοδόμησης του πλαστικού, όπως styrene, στο frass του σκαθαριού.

Πέραν των προσπαθειών αξιοποίησης των υπολειμμάτων των εντόμων ως βελτιωτικά φυτών και εδάφους, υπάρχουν και εργασίες που διερευνούν την ικανότητά τους να καταστέλλουν τον βιολογικό κύκλο επιβλαβών, για τις καλλιέργειες, εντόμων. Οι Ahmed et al., (2013) έδειξαν την αποτελεσματικότητα υδατικών εκχυλισμάτων από frass των ειδών *Spodoptera littoralis* και *Agrotis ipsilon* ως προς την αποτροπή ωοτοκίας θηλυκών του εντόμου *Phthorimaea operculella*, κύριου εντομολογικού εχθρού της πατάτας. Μελέτη των Chia et al., (2023) αναφέρει χαμηλότερη επιβίωση προνυμφών των ειδών *Delia radicum* L. και *Plutella xylostella* σε έδαφος όπου προστέθηκε frass του *Hermetia illucens* L. (2 g/ kg), αν και παράλληλα μειώθηκε η φυλλική επιφάνεια σε φυτά του είδους *Brassica rapa*. In vitro πειράματα με υδατικό εκχύλισμα από frass του *H. illucens* σημειώνουν την προοπτική των frass στην αντιμετώπιση φυτοπαθογόνων οργανισμών, καθώς διαπιστώθηκε μερική αναστολή έως ολοκληρωτική παύση ανάπτυξης των παθογόνων *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* και *Sclerotinia sclerotiorum* (Arabzadeh et al., 2024).

Καταλυτικό ρόλο σε αυτά τα αποτελέσματα διακρίνεται να έχουν ο πολυσακχαρίτης χιτίνη, που ανιχνεύεται στα κυτταρικά τοιχώματα παθογόνων μυκήτων, στον εξωσκελετό των εντόμων κ.λπ. και το πολυμερές της, που ονομάζεται χιτοζάνη. Σε αυτά τα μόρια υπάρχουν ενδείξεις για νηματοστατική δράση (Mouniga et al., 2023) ωστόσο περαιτέρω πληροφορίες ως προς την δυνατότητα αξιοποίησής τους για τον περιορισμό των νηματωδών είναι περιορισμένες.

#### 1.4. Αναγκαιότητα ανακάλυψης φυσικών νηματωδοκτόνων και σκοπός της εργασίας

Η παρατεταμένη, αλόγιστη και λανθασμένη χρήση των χημικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων εδώ και δεκαετίες, έχει οδηγήσει σε σημαντική απώλεια της βιοποικιλότητας με κύριο αντίκτυπο σε πληθυσμούς εντόμων, πουλιών και ψαριών ενώ ανησυχία προκαλεί ο βαθμός βιοσυσσώρευσης στα εδάφη, στον υδροφόρο ορίζοντα και κατ' επέκταση στην τροφική αλυσίδα και τον ανθρώπινο οργανισμό.

Επιστήμονες μελέτησαν και ανέλυσαν την ποιότητα του πόσιμου νερού σε νοικοκυριά της Δανίας με τα αποτελέσματα να αναφέρουν ότι στο 41% των οικιών είχαν εκτεθεί σε

νερό που περιείχε φυτοφάρμακα σε διάστημα μιας 4ετίας (2015-2019) (Voutchkova et al., 2021). Επιπλέον, έρευνα μεγάλης κλίμακας στα πλαίσια του ευρωπαϊκού project “HBM4EU” (European Human Biomonitoring Initiative) έδειξε ότι υπολείμματα από τουλάχιστον 2 φυτοφάρμακα ανιχνεύθηκαν στον οργανισμό του 84% των συμμετεχόντων της μελέτης ενώ τα επίπεδα ήταν εμφανώς και σταθερά υψηλότερα σε νεαρές ηλικίες από ότι στους ενήλικες. Το acetamiprid και chlorpropham ήταν οι ουσίες που ανιχνεύθηκαν σε όλα τα δείγματα που πάρθηκαν για τους σκοπούς της μελέτης (EEA, 2023).

Έτσι, το 2020 εγκρίθηκε από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή το πρόγραμμα ‘Ευρωπαϊκή Πράσινη Συμφωνία’ το οποίο περιλαμβάνει πρωτοβουλίες με σκοπό την μείωση του οικολογικού αποτυπώματος και την επίτευξη κλιματικής ουδετερότητας των χωρών της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Μία από τις στρατηγικές μεθόδους που συγκαταλέγονται σε αυτό το εγχείρημα είναι το σύνολο δράσεων “Farm to Fork” όπου στόχος έως το 2030 είναι η συνολική μείωση της χρήσης χημικών φυτοφαρμάκων κατά 50%, η ελάττωση εφαρμογής λιπασμάτων τουλάχιστον κατά 20% και η στροφή των καλλιεργειών προς την βιολογική γεωργία το λιγότερο κατά 25% (European Union, 2020). Ως επακόλουθο, η ανάγκη για εύρεση εναλλακτικών, δραστικών και συνάμα οικολογικών τρόπων καταπολέμησης βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων που αποτελούν τροχοπέδη στην ανάπτυξη των φυτών έχει γίνει εντατική.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας στερεών υπολειμμάτων (frass) των εντόμων *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae), *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) και *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) ως προς την καταπολέμηση του νηματώδους *Meloidogyne incognita*. Η μελέτη αυτή περιλαμβάνει in vitro πειράματα όπου τα frass εξετάστηκαν ως προς την δυνατότητα πρόκλησης παράλυσης σε προνύμφες 2<sup>ου</sup> σταδίου ανάπτυξης (J2) του συγκεκριμένου είδους, με την εφαρμογή τους να είναι υπό την μορφή υδατικών διαλυμάτων. Επιπλέον, τα frass αξιολογήθηκαν πριν και κατόπιν θερμικής επεξεργασίας ενώ για την συσχέτιση της βιολογικής τους δράσης με την χημική σύσταση πραγματοποιήθηκε χημική ανάλυση των frass.

## 2. Υλικά και Μέθοδοι

### 2.1. Ανάπτυξη πληθυσμού νηματωδών *Meloidogyne incognita*

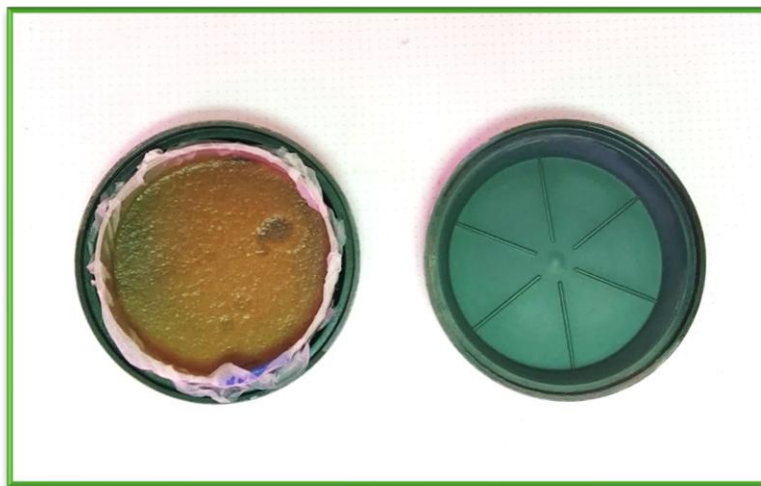
Για την ανάπτυξη του πληθυσμού των κομβονηματωδών χρησιμοποιήθηκαν νεαρά φυτά τομάτας (*Solanum lycopersicum* L.), ποικιλίας Belladonna, τα οποία μεταφυτεύθηκαν σε πλαστικά γλαστράκια που πληρώθηκαν με τύρφη. Όταν αυτά τα φυτά έφθασαν στο στάδιο του 5<sup>ου</sup> ανεπτυγμένου φύλλου, μολύνθηκαν τεχνητά με προνύμφες 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2) που είχαν προέλθει από ρίζες τομάτας θερμοκηπιακής προελεύσεως με φυσική προσβολή. Στο στάδιο του 5<sup>ου</sup> συνθετικού φύλλου, το ριζικό σύστημα των φυτών θεωρείται ικανοποιητικά ανεπτυγμένο ώστε να ευνοηθεί η προσβολή και η αναπαραγωγή των κομβονηματωδών. Στη συνέχεια, τα φυτά της τομάτας τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών (Εικόνα 3) με μέση θερμοκρασία 27-30°C, 16 ώρες φωτοπερίοδο και ποτίζονταν κάθε 2-3 ημέρες με 50-70ml νερό στις εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.



Εικόνα 4: Φυτά τομάτας σε θάλαμο ανάπτυξης

Έπειτα από το πέρας 40-50 ημερών όπου οι νηματώδεις ολοκλήρωσαν έναν βιολογικό κύκλο, οι προσβεβλημένες ρίζες απομονώθηκαν από το υπέργειο και πλύθηκαν ώστε να απομακρυνθεί η τύρφη. Στη συνέχεια, ακολούθησε η κοπή των ριζών στα σημεία όπου είχαν δημιουργηθεί οι κόμβοι και τα τεμαχίδια ρίζας συγκεντρώθηκαν σε στεγανό δοχείο. Σε αυτό, προστέθηκαν 80 ml νερού βρύσης και 20 ml διαλύματος 1% NaCl (υποχλωριώδες νάτριο) με το αιώρημα να ανακινείται για 4 λεπτά. Κατόπιν, η διαδικασία ολοκληρώθηκε με την πλύση του περιεχομένου σε τρεχούμενο νερό μέσα σε κόσκινα

διατομής 250 και 38  $\mu\text{m}$  (Hussey and Barker, 1973) ενώ το κοσκινισμένο μέρος που προέκυψε μεταφέρθηκε σε τροποποιημένο δοχείο Baermann (Εικόνα 4) για την εκκόλαψη των νηματωδών και παραλαβή προνυμφών δευτέρου σταδίου (J2) ανάπτυξης για τις ανάγκες του πειράματος.



Εικόνα 5: Τροποποιημένο δοχείο Baermann.

Οι πρώτες νέο-εκκολαφθείσες προνύμφες που παραλήφθηκαν τις πρώτες 48h χρησιμοποιήθηκαν για την ανανέωση του πληθυσμού και όχι για πείραμα καθώς το δείγμα τους περιλάμβανε J2 διαφόρων ηλικιών. Για την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν προνύμφες 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2) που προέκυπταν κάθε δύο ημέρες μετά την πρώτη παραλαβή, δηλαδή, προνύμφες ηλικίας 2 ημερών (24h).

## 2.2. Παραγωγή υδατικών εκχυλισμάτων frass ειδών *Hermetia illucens*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus* και *Tenebrio molitor*

Στα πειράματα παράλυσης πραγματοποιήθηκε δοκιμή αποτελεσματικότητας των υδατικών διαλυμάτων frass ως προς την πρόκληση παράλυσης των J2 *Meloidogyne incognita*. Για την παρασκευή των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκαν frass διαφορετικών εντόμων που είχαν υποστεί ή όχι θερμική επεξεργασία, ήτοι παραμονή στους 70°C για μία ώρα, όπως ορίζει η νομοθεσία για αυτό το υλικό πριν τη χρήση του σαν λίπασμα.

Συγκεκριμένα, για την παρασκευή των υδατικών εκχυλισμάτων από insect frass (άψητο και ψημένο) χρησιμοποιήθηκε σκόνη υπολειμμάτων από τα έντομα: *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae), *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) και *Tenebrio molitor* (Coleoptera:

Tenebrionidae) (Εικόνα 5). Τα frass παρασκευάστηκαν στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας ενώ το πείραμα κινητικότητας J2 πραγματοποιήθηκε στο χώρο του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Η διαδικασία παρασκευής των εκχυλισμάτων ήταν η εξής: Σε σωληνάρια falcon των 50ml προστέθηκαν 15ml νερού βρύσης και 1gr frass κάθε είδους, τα οποία στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε υπέρηχο ELMA Transsonic T-460/H για 15 λεπτά. Ακολούθησε διήθηση με την βοήθεια χωνιού και βάμβακος σε διαφορετικό σωληνάριο όπου διαχωρίστηκε η στερεή φάση από την υγρή φάση, με την δεύτερη να αποτελεί το υδατικό εκχύλισμα για κάθε μεταχείριση.



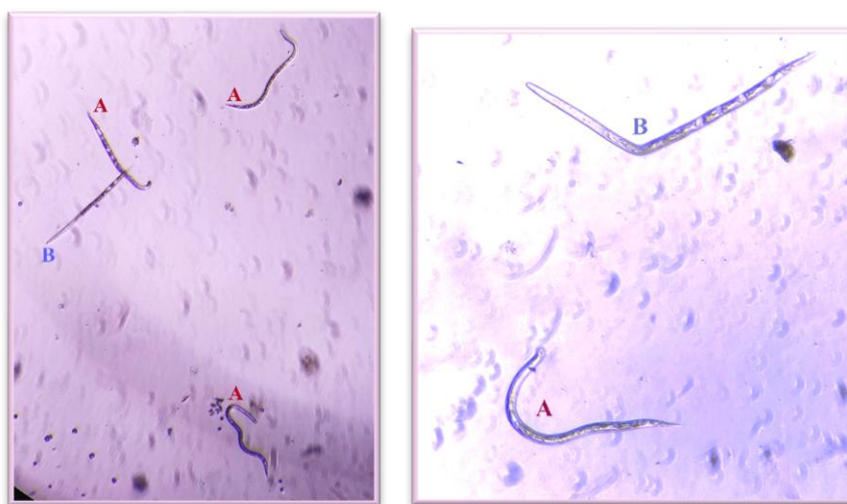
Εικόνα 6: Frass των ειδών *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) (πάνω αριστερά), *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae) (πάνω δεξιά), *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) (κάτω αριστερά) και *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) (κάτω δεξιά)

### 2.3. Πειράματα παράλυσης προνυμφών δευτέρου σταδίου ανάπτυξης J2

Για τον υπολογισμό της διάμεσης δραστικής συγκέντρωσης  $EC_{50}$  (Effect Concentration), το αρχικό υδατικό εκχύλισμα κάθε frass αραιώθηκε με νερό 1/1 (v/v) πέντε φορές. Έπειτα, κάθε διάλυμα αναμειχθηκε με το αιώρημα των νηματωδών σε αναλογία 1:1 (v/v), μέσα σε πηγάδια πλακών πολυστυρενίου 96 θέσεων. Έτσι, οι τελικές συγκεντρώσεις των διαλυμάτων ελέγχου στα οποία εμβαπτίστηκαν οι J2 ήταν 50%, 25%, 12.5%, 6.25% και 3.12% (v/v).

Αναλυτικότερα, σε κάθε μεταχείριση πραγματοποιήθηκαν 5 επαναλήψεις για κάθε μία από τις οποίες προστέθηκαν 70μl αιωρήματος προνυμφών J2 και 70μl διαλύματος frass στο πηγάδι της πλάκας πολυστηρενίου 95 πηγαδιών. Αντίστοιχα, ο μάρτυρας περιείχε τον ίδιο όγκο αιωρήματος προνυμφών J2 και 70μl νερού βρύσης.

Στη συνέχεια, οι πλάκες καλύφθηκαν με καπάκι έτσι ώστε να αποφευχθεί η εξάτμιση ή επιμόλυνση λόγω πτητικότητας μεταξύ κοντινών πηγαδιών και στο σκοτάδι και μέση θερμοκρασία 29°C. Η αξιολόγηση της κινητικότητας ή πρόκλησης παράλυσης πραγματοποιήθηκε σε διάστημα 3 ημερών ανά 24 ώρες (24, 48 και 72 h) με την βοήθεια ανάστροφου μικροσκοπίου (Euromex Oxion Inverso) και με τον φακό ρυθμισμένο σε μεγέθυνση 10x. Συγκεκριμένα, οι προνύμφες των νηματωδών αξιολογήθηκαν με βάση την κινητικότητά τους και διαχωρίστηκαν σε κινητές και ακίνητες (Εικόνα 6).



Εικόνα 7: Διαχωρισμός προνυμφών κομβονηματωδών σε κινητές (A) και ακίνητες (B) όπως φαίνονται μέσα από τον φακό του μικροσκοπίου σε μεγέθυνση 10x (αριστερά) και 20x (δεξιά).

#### 2.4. Χημική ανάλυση υδατικών εκχυλισμάτων frass

Η χημική ανάλυση πραγματοποιήθηκε στα εργαστήρια του πανεπιστήμιου Università degli Studi di Cagliari (UNICA) στη Σαρδηνία της Ιταλίας και η μέθοδος που εφαρμόστηκε είναι αυτή της αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (Gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS)). Αρχικά, τα δείγματα των frass εκχυλίστηκαν μέσω μιας τροποποιημένης έκδοσης της μεθόδου Folch ενώ 1μL του τελικού δείγματος εγχύθηκε (spitless injection) σε 6850-αέριο χρωματογράφο συζευγμένο με έναν 5973-ανιχνευτή μάζας. Ο εισαγωγέας δείγματος (injector) διατηρήθηκε στους 200°C ενώ ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε το ήλιο (0,8 mL/min).

## 2.5. Στατιστική ανάλυση

Για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παράλυσης, αρχικά, υπολογίστηκε σε εκατοστιαία τιμή το ποσοστό θνησιμότητας κάθε επανάληψης το οποίο προέκυψε ως εξής:

$$\% \text{ θνησιμότητα} = (\text{αριθμός ακίνητων προνυμφών J2} * 100) /$$
$$\text{σύνολο προνυμφών (κινητές + ακίνητες) ανά επανάληψη}$$

Στη συνέχεια, μετρήθηκε ο μέσος όρος % θνησιμότητας από το σύνολο των 5 επαναλήψεων κάθε μεταχείρισης ενώ για την στατιστική ανάλυση πρώτα έπρεπε να αφαιρεθεί η φυσική θνησιμότητα του μάρτυρα, η οποία στηρίχθηκε στην εξίσωση των Schneider Orelli's και εκφράζεται από τον εξής τύπο (Puntener & Zahner, 1981):

$$\text{Αύξηση παράλυσης \%} = \{(\text{παράλυση \% στην μεταχείριση} - \text{παράλυση \% στον μάρτυρα}) / (100 - \text{παράλυση \% στον μάρτυρα})\} \times 100$$

Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το πακέτο drc στη γλώσσα R, μέσα από το οποίο παρέχονται ποικίλα μοντέλα και μέθοδοι για την προσαρμογή καμπυλών τύπου dose-response (Ritz et al., 2015). Στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας εφαρμόστηκαν δύο μοντέλα: το logit, που βασίζεται στον μετασχηματισμό λογαρίθμου των odds και το log-logistic αποτελεί μια γενίκευση που επιτρέπει μεγαλύτερη ευελιξία, ιδίως στην περιγραφή καμπυλών με ασυμμετρία στα χαμηλά ή υψηλά επίπεδα δόσης (Seber & Wild, 1989).

Η χρωματική απεικόνιση (heatmap) δημιουργήθηκε στο R χρησιμοποιώντας το πακέτο pheatmap, εφαρμόζοντας Ιεραρχική Συσταδοποίηση (Hierarchical Clustering). Πριν τη συσταδοποίηση και την οπτικοποίηση, τα δεδομένα κλιμακώθηκαν ανά στήλη (scale = "column"). Δεδομένου ότι η μέτρηση απόστασης και η μέθοδος συσταδοποίησης δεν καθορίστηκαν ρητά, η συνάρτηση χρησιμοποίησε τις προεπιλεγμένες τιμές: Ευκλείδεια απόσταση για τη μέτρηση της ανομοιότητας μεταξύ των οντοτήτων και Complete Linkage για τη σύνδεση (linkage) κατά την κατασκευή των δενδρογραμμάτων. Η χρωματική διαβάθμιση για τα κελιά της χρωματικής απεικόνισης προήλθε από την παλέτα 'RdYlBu' και αντιστοιχήθηκε στα κλιμακωμένα Z-scores.

### 3. Αποτελέσματα

#### 3.1. Παράλυση των προνυμφών J2 *Meloidogyne incognita* υπό την επίδραση των εκχυλισμάτων frass χωρίς θερμική επεξεργασία

Τα έντομα που επιλέχθηκαν για την μελέτη των νηματωδοκτόνων ιδιοτήτων των frass τους είναι τα είδη: *Hermetia illucens*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus* και *Tenebrio molitor*. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι δεν υπάρχει αναφορά επιμόλυνσης λόγω πτητικότητας μεταξύ των μεταχειρίσεων καθώς για κάθε μεταχείριση χρησιμοποιήθηκε διαφορετική πλάκα πολυστυρενίου. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3, για το είδος *H. illucens*, πρόκληση παράλυσης μετά από 24 ώρες εμβάπτισης προέκυψε με τιμή EC<sub>50</sub> ίση με 13.26 % (v/v), με την τιμή EC<sub>50</sub> να αυξάνεται σχεδόν 1,5 μονάδες στις 48 ώρες ενώ στις 72 ώρες η τιμή σταθεροποιήθηκε σε 11.71 % (v/v).

Πέραν των 72 ωρών δεν πάρθηκαν μετρήσεις καθώς θεωρείται ότι είτε η παράλυση είναι μη αναστρέψιμη, είτε ότι οι νεκρές προνύμφες προκύπτουν από φυσικά αίτια. Οι χαμηλότερες τιμές EC<sub>50</sub> για τις 24 ώρες πάρθηκαν από τα είδη *Z. morio* και *T. molitor* ωστόσο στις 72 ώρες το *Z. morio* και το *A. diaperinus* σημείωσαν την μικρότερη δόση με 9.02 και 10.38 % (v/v), αντίστοιχα.

Πίνακας 2: Παράλυση προνυμφών 2ου σταδίου (J2) του νηματώδους *Meloidogyne incognita* υπό την επίδραση υδατικών εκχυλισμάτων frass, διαφορετικών ειδών εντόμων, χωρίς θερμική επεξεργασία, μετά από 24, 48 και 72 ώρες εμβάπτισης σε υδατικά διαλύματα ελέγχου frass

| Insect name                   | 24h                      | 48h                      | 72h                      |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                               | EC <sub>50</sub> (% v/v) | EC <sub>50</sub> (% v/v) | EC <sub>50</sub> (% v/v) |
| <i>Hermetia illucens</i>      | 13.26                    | 14.92                    | 11.71                    |
| <i>Zophobas morio</i>         | 6.6                      | 11.95                    | 9.02                     |
| <i>Alphitobius diaperinus</i> | 10.76                    | 14.25                    | 10.38                    |
| <i>Tenebrio molitor</i>       | 9.4                      | 13.95                    | 13.12                    |

#### 3.2. Παράλυση των προνυμφών J2 *Meloidogyne incognita* υπό την επίδραση των εκχυλισμάτων frass κατόπιν θερμικής επεξεργασίας

Στα πλαίσια της πειραματικής διαδικασίας, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές όπου τα διαφορετικά είδη εντόμων πέρασαν από θερμική επεξεργασία στους 70°C για 1 ώρα. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων φαίνονται στο Πίνακα 4. Εν αντιθέσει με τα frass που δεν είχαν δεχθεί θερμική επεξεργασία, σε αυτή την περίπτωση σε όλα τα είδη παρατηρείται συνεχής αύξηση στη τιμή EC<sub>50</sub> ενώ το πιο αποδοτικό φαίνεται να είναι το *A. diaperinus*.

Για το *H. illucens* το ποσοστό παράλυσης ήταν αρκετά μικρό και το εύρος συγκεντρώσεων ελέγχου δεν περιελάμβανε τιμή EC<sub>50</sub> (παύλα στον Πίνακα 3). Συγκεκριμένα, στη μεγαλύτερη συγκέντρωση ελέγχου η παράλυση ήταν ίση με 3,8% επί του συνόλου, στις 72h.

Πίνακας 3: Παράλυση προνυμφών 2ου σταδίου (J2) του νηματώδους *Meloidogyne incognita* υπό την επίδραση υδατικών διαλυμάτων frass που είχαν δεχθεί θερμική επεξεργασία (1 ώρα στους 70°C) μετά από 24, 48 και 72 ώρες εμφάνισης σε υδατικά διαλύματα ελέγχου. Για το *H. illucens* το ποσοστό παράλυσης ήταν αρκετά μικρό και το εύρος συγκεντρώσεων ελέγχου δεν περιελάμβανε τιμή EC<sub>50</sub> (παύλα)

| Insect name                   | 24h                      | 48h                      | 72h                      |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                               | EC <sub>50</sub> (% v/v) | EC <sub>50</sub> (% v/v) | EC <sub>50</sub> (% v/v) |
| <i>Hermetia illucens</i>      | -                        | -                        | -                        |
| <i>Zophobas morio</i>         | 13.7                     | 39.31                    | 82.72                    |
| <i>Alphitobius diaperinus</i> | 2.52                     | 6.7                      | 20.33                    |
| <i>Tenebrio molitor</i>       | 10.53                    | 22.07                    | 25.40                    |

Συνολικά, συγκρίνοντας τις τιμές EC<sub>50/72h</sub> διακρίνεται ότι η θερμική επεξεργασία επηρέασε σημαντικά την βιολογική δράση των frass με τις ουσίες να παρουσιάζουν ισχυρότερη δραστικότητα κατά την άψητη μορφή τους.

### 3.3. Αποτελέσματα χημικής ανάλυσης frass (πριν και κατόπιν θερμικής επεξεργασίας)

Για την συσχέτιση της βιολογικής δράσης με τη χημική σύσταση, πριν και μετά την θερμική επεξεργασία, πραγματοποιήθηκε χημική ανάλυση του κάθε frass τόσο στην άψητη, όσο και στην ψημένη μορφή του. Από τα αποτελέσματα, προέκυψε ένας θερμικός χάρτης (Εικόνα 8) (σελ. 45) όπου τα δεδομένα ομαδοποιούνται σε γραμμές (περιεχόμενη ουσία) και στήλες (μεταχείριση) ενώ η ένταση του χρώματος αντιπροσωπεύει τις συγκεντρώσεις των συστατικών τους. Συγκεκριμένα, όπως φαίνεται στην ακόλουθη απεικόνιση, η χρωματική κλίμακα περιλαμβάνει διαβαθμίσεις από ωχρό κίτρινο έως σκούρο ερυθρό που αντιπροσωπεύουν εκατοστιαίες περιεκτικότητες ουσιών από 0 έως 8,3 % επί του συνόλου. Κατωτέρω δίνεται αναλυτικά και η χημική ανάλυση κάθε μεταχείρισης (Πίνακας 4) (σελ. 46).

Αρχικά, σύμφωνα με την παλέτα του χάρτη, μπορούν να διακριθούν οπτικά δύο σύνολα στα οποία ομαδοποιούνται οι ουσίες με βάση το είδος του frass. Η διαφοροποίηση αφορά το είδος *Hermetia illucens* όπου η πλειοψηφία των υψηλότερων

τιμών τόσο στην άψητη μορφή, όσο και κατόπιν θερμικής επεξεργασίας, συγκεντρώνεται σε διαφορετικές ουσίες (πράσινο πλαίσιο) συγκριτικά με τα υπόλοιπα είδη (μπλε πλαίσιο). Επιπλέον, από όλα τα είδη εντόμων, οι υψηλότερες, σε ποσοστό επί του συνόλου, τιμές παρατηρήθηκαν στο είδος *H. illucens*.

Συνεχίζοντας, τα δένδρογράμματα στην άνω πλευρά της απεικόνισης υποδεικνύουν μεγαλύτερη συσχέτιση μεταξύ των στηλών του *H. illucens* πριν και μετά την θερμική επεξεργασία (before και after) και των στηλών *Z. morio* (before και after). Παράλληλα, ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα κλαδιά των *A. diaperinus* before και *T. molitor* before όπου διακρίνεται μεγαλύτερη ομοιότητα μεταξύ τους συγκριτικά με το εκάστοτε είδος στις δύο του μορφές. Το 68% των ουσιών της μεταχείρισης *T. molitor* before σημειώνεται και στο *A. diaperinus* before.

Μεταξύ των πλέον δραστικών frass (*Z. morio* before και *A. diaperinus* before) 32 από τις 62 ουσίες που ανιχνεύθηκαν στο frass του *A. diaperinus* εντοπίστηκαν και στο frass του *Z. morio*, πριν την θερμική επεξεργασία σε διαφορετικές ωστόσο συγκεντρώσεις μιας και μόνο η ουσία niacin βρέθηκε και στις δύο περιπτώσεις, σε συγκέντρωση >3% ενώ οι keto-gluconic acid και stearic acid σε συγκέντρωση <1%. Αντιστοίχως, μεταξύ των μεταχειρίσεων αφού υποβλήθηκαν σε θερμική επεξεργασία, για τις 72h, πιο δραστικά φάνηκαν τα frass των *A. diaperinus* και *T. molitor* όπου μόλις το 42,86% των ουσιών της δεύτερης μεταχείρισης εντοπίζονται και στην πρώτη. Οι ουσίες που εμφανίζονται κοινώς σε υψηλή συγκέντρωση είναι οι malic acid και glutamic acid με ποσοστό πάνω από 4% και οι χαμηλότερες (<1%) είναι οι isoleucine και glyceric acid.

Επιπρόσθετα, σε όλες τις περιπτώσεις οι ουσίες πριν την θερμική επεξεργασία είναι περισσότερες και υπάρχουν ενώσεις που ανιχνεύθηκαν μόνο πριν ή μετά το ψήσιμο. Η μόνο ουσία που υπάρχει σε όλες τις μεταχειρίσεις αλλά σε διαφορετικές τιμές είναι το palmitic acid ενώ αρκετές άλλες είναι κοινές σε όλα τα frass ψημένα/άψητα εκτός από το είδος *H. illucens*. Οι ουσίες αυτές είναι οι εξής: citric acid, glutamic acid, glyceric acid, hydroxyproline, isoleucine, keto-gluconic acid, kynurenic acid, malic acid και purine.

Ακολουθούν σε διαστάσεις σελίδας Landscape τα εξής:

Εικόνα 8: Θερμικός χάρτης (heat map) ουσιών που ανιχνεύθηκαν στα frass των εντόμων άψητα (before) και ψημένα στους 70°C (after) (*Hermetia illucens*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus* και *Tenebrio molitor*)

Πίνακας 4: Χημική ανάλυση ουσιών που ανιχνεύθηκαν στα frass των εντόμων άψητα (before) και ψημένα (after) (*Hermetia illucens*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus* και *Tenebrio molitor*)

### Frass proximity heatmap representation



| Hermetia illucens                                                                |      |                                     |      | Zophobas morio              |      |                             |      | Alphitobius diaperinus              |      |                                    |      | Tenebrio molitor                    |      |                                     |      |
|----------------------------------------------------------------------------------|------|-------------------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-------------------------------------|------|------------------------------------|------|-------------------------------------|------|-------------------------------------|------|
| Before                                                                           |      | After                               |      | Before                      |      | After                       |      | Before                              |      | After                              |      | Before                              |      | After                               |      |
| Compound Name                                                                    | %    | Compound Name                       | %    | Compound Name               | %    | Compound Name               | %    | Compound Name                       | %    | Compound Name                      | %    | Compound Name                       | %    | Compound Name                       | %    |
| Propanedioic acid, 2TMS                                                          | 8,00 | Heptadecanoic acid, TMS             | 8,30 | Phosphoric acid, 2TMS       | 4,87 | Glutamic acid, 3TMS         | 5,29 | Dihydroxy-methylbutanoic acid, 3TMS | 4,16 | Lactic Acid, 2TMS                  | 6,45 | Dihydroxy-methylbutanoic acid, 3TMS | 6,21 | Isoferulic acid, 2TMS               | 6,04 |
| Monostearyn, 2TMS                                                                | 7,08 | Campesterol, TMS derivative         | 8,08 | Hydracrylic acid, 2TMS      | 4,56 | Pentane dioic acid, 2TMS    | 5,09 | Decanoic acid, TMS                  | 3,82 | Kynrenic Acid, 2TMS                | 6,18 | Phosphoric acid, 2TMS               | 5,47 | Caffeic acid, 3TMS                  | 5,68 |
| Heptadecanoic acid, TMS                                                          | 7,02 | Phosphate, TMS                      | 7,54 | Lactic Acid, 2TMS           | 4,52 | Tryptophan, 3TMS            | 4,91 | Pentadecanoic acid, TMS             | 3,80 | Alanine, 2TMS                      | 5,02 | Octadecadienoic acid, TMS           | 5,05 | Phenylalanine, 2TMS                 | 5,46 |
| Nonadecanoic acid, TMS                                                           | 6,23 | Glycerol, 2TMS                      | 7,39 | Glycerol, 3TMS              | 4,52 | Hydroxynonanoic acid, 2TMS  | 4,90 | Benzoic Acid, TMS                   | 3,64 | Keto-glucronic acid, 5TMS          | 4,95 | Xylitol, 5TMS                       | 4,76 | Onalic acid, 2TMS                   | 4,99 |
| Glycerol, 3TMS                                                                   | 6,16 | Stigmastanol, TMS                   | 7,04 | Niacin, TMS                 | 4,24 | Stearic acid, TMS           | 4,89 | Gulonic acid, lactone, 4TMS         | 3,55 | Hydracrylic acid, 2TMS             | 4,71 | Purine, 3TMS                        | 4,54 | Palmitic acid, TMS                  | 4,86 |
| Monopalmitylglycerol 2TMS                                                        | 5,98 | Stigmasteryl, TMS derivative        | 6,80 | Asparagine, 3TMS            | 4,23 | Threonine, 3TMS             | 4,41 | Vanillic Acid, 2TMS                 | 3,38 | Phosphoric acid, 2TMS              | 4,65 | Erythritol, 4TMS                    | 3,76 | Glutamic acid, 3TMS                 | 4,61 |
| Pentanedioic acid, 2TMS                                                          | 4,65 | Stearic acid, TMS                   | 5,79 | Hydroxynonanoic acid, 2TMS  | 4,20 | Kynrenic Acid, 2TMS         | 4,28 | N-Acetyl-glutamic acid, 2TMS        | 3,27 | Malic acid, 3TMS                   | 4,52 | Hydroxyproline, 3TMS                | 3,71 | Butanetriol, 3TMS                   | 4,35 |
| Benzoic Acid, TMS                                                                | 4,50 | Pentadecanoic acid, TMS             | 5,74 | Malic acid, 3TMS            | 3,80 | Palmitic Acid, TMS          | 4,07 | 6-Hydroxynicotinic acid, 2TMS       | 3,14 | Glutamic acid, 3TMS                | 4,49 | Vanillic Acid, 2TMS                 | 3,69 | Tetracosamethyl-cyclododecasilorane | 3,83 |
| Behenic acid, TMS                                                                | 4,34 | Oleic Acid, TMS                     | 5,20 | Phenylalanine, 2TMS         | 3,26 | D-Glucitol, 6TMS            | 3,94 | Niacin, TMS                         | 3,14 | Proline, 2TMS                      | 4,38 | Galacturonic acid, 5TMS             | 3,64 | Vanillic Acid, 2TMS                 | 3,44 |
| Phosphate, TMS                                                                   | 4,29 | Uracil, 2TMS                        | 4,34 | Suberic acid, 2TMS          | 3,11 | Myo-Inositol, 6TMS          | 3,94 | Nonanoic acid, TMS                  | 2,96 | Urea, 2TMS                         | 4,35 | Malic acid, 3TMS                    | 3,57 | Malic acid, 3TMS                    | 3,41 |
| NN-Diethyl(trimethylsilyl)carbamate                                              | 4,16 | Glycolic acid 2TMS                  | 4,03 | Tryptophan, 3TMS            | 3,08 | Suberic acid, 2TMS          | 3,94 | Valine, 2TMS                        | 2,91 | Gluconic acid, 6TMS                | 4,22 | Octadecenoic acid, TMS              | 3,52 | Phosphate, 3TMS                     | 3,21 |
| Palmitic Acid, TMS                                                               | 3,78 | Monostearin, 2TMS                   | 3,93 | Palmitelaidic acid, TMS     | 2,91 | Vanillic Acid, 2TMS         | 3,69 | Aspartic acid, 3TMS                 | 2,89 | Citric acid, 4TMS                  | 4,02 | Glyceric acid, 3TMS                 | 3,32 | Purine, 3TMS                        | 3,07 |
| Dodecanoic acid, TMS                                                             | 2,94 | Ergosterol, TMS                     | 3,10 | Ethanolamine, 2TMS          | 2,64 | Octadecadienoic acid, TMS   | 3,63 | Hydroxyproline, 3TMS                | 2,85 | Trihydroxybutyric acid, 4TMS       | 3,83 | Kynrenic Acid, 2TMS                 | 3,27 | Pyecolic acid, 2TMS                 | 3,06 |
| Hydroxymyristic acid, 2TMS                                                       | 2,89 | Hexanoic acid TMS                   | 2,55 | Glyceric acid, 3TMS         | 2,61 | Norleucine, 2TMS            | 3,06 | Dodecanoic acid, TMS                | 2,84 | Palmitelaidic acid, TMS            | 3,20 | Isoleucine, 2TMS                    | 3,20 | Xanthrenic acid, 3TMS               | 2,98 |
| Oxalic acid, 2TMS                                                                | 2,13 | Nonanoic acid, TMS                  | 2,51 | Glycine, 2TMS               | 2,44 | Keto-glucronic acid, 5TMS   | 2,75 | Palmitic Acid, TMS                  | 2,79 | Benzoic Acid, TMS derivative       | 3,09 | Gulonic acid, lactone, 4TMS         | 3,14 | Kynrenic Acid, 2TMS                 | 2,94 |
| Decanoic acid, TMS                                                               | 2,11 | Decanoic acid, TMS                  | 2,47 | Gulonic acid, lactone, 4TMS | 2,26 | Oleic Acid, TMS             | 2,68 | Oleic Acid, TMS                     | 2,58 | Pentadecanoic acid, TMS derivative | 2,76 | Benzoic Acid, TMS                   | 3,08 | Gluconic acid, 6TMS                 | 2,65 |
| Keto-l-glucronic acid 5TMS                                                       | 1,82 | NN-Diethyl(trimethylsilyl)carbamate | 2,44 | Glycolic acid, 2TMS         | 2,24 | Heptadecanoic acid, TMS     | 2,59 | Myristic acid, TMS                  | 2,56 | Purine, 3TMS                       | 2,55 | Hydroxyanthranilic Acid, 2TMS       | 2,98 | Octadecadienoic acid, TMS           | 2,54 |
| Vanillic Acid, 2TMS                                                              | 1,78 | 10-Nonadecenoic acid, TMS           | 2,34 | Histidine, 2TMS             | 2,23 | Butenedioic acid, 2TMS      | 2,59 | Propanedioic acid, 2TMS             | 2,48 | Valine, 2TMS                       | 2,42 | Homogentisic acid, 3TMS             | 2,39 | Octadecenoic acid, TMS              | 2,36 |
| Uracil, 2TMS                                                                     | 1,66 | 9,12-Octadecadienoic acid, TMS      | 2,17 | Kynrenic Acid, 2TMS         | 2,08 | Hydroxyproline, 3TMS        | 2,49 | Purine, 3TMS                        | 2,23 | Aconitic acid, 3TMS                | 2,18 | Sinapinic acid, 2TMS                | 2,15 | Quirinic acid, 5TMS                 | 2,24 |
| Campesterol, TMS derivative                                                      | 1,64 | Monopalmitin 2TMS                   | 1,83 | Benzoic Acid, TMS           | 1,95 | Dihydroxybenzoic acid, 3TMS | 2,16 | Galactronic acid, 5TMS              | 2,21 | Aspartic acid, 3TMS                | 2,11 | Butanedioic acid, 2TMS              | 1,65 | L-Aspartic acid, 3TMS               | 2,18 |
| Palmitelaidic acid, TMS                                                          | 1,57 | Methylmalonic acid, 2TMS            | 1,64 | D-Gluconic acid, 6TMS       | 1,86 | Malic acid, 3TMS            | 2,13 | Isoferulic acid, 2TMS               | 1,85 | Threitol, 4TMS                     | 2,05 | Glutamic acid, 2TMS                 | 1,52 | Tryptophan, 3TMS                    | 2,15 |
| Octadecenoic acid, TMS                                                           | 1,54 | Myristic acid, TMS                  | 1,38 | Citric acid, 4TMS           | 1,85 | Citric acid, 4TMS           | 2,12 | Gluconolactone, 4TMS                | 1,70 | Butanetriol, 3TMS                  | 1,88 | Tryptophan, 3TMS                    | 1,51 | N-Acetyl-glutamic acid, 2TMS        | 2,07 |
| Stigmasteryl, TMS derivative                                                     | 1,36 | Palmitic Acid, TMS                  | 1,26 | Butanedioic acid, 2TMS      | 1,71 | Lactic Acid, 2TMS           | 2,10 | Heptadecanoic acid, TMS             | 1,68 | Palmitic Acid, TMS                 | 1,86 | Gluconic acid, 6TMS                 | 1,47 | Nonanoic acid, TMS                  | 1,67 |
| Stearic acid, TMS                                                                | 1,33 | Octanoic acid, TMS                  | 1,22 | Vanillic Acid, 2TMS         | 1,59 | Isoleucine, 2TMS            | 1,90 | Glucose, 5TMS                       | 1,61 | 6-Hydroxynicotinic acid, 2TMS      | 1,73 | Cysteine, 3TMS                      | 1,33 | Hydroxyproline, 3TMS                | 1,64 |
| Pentadecanoic acid, TMS                                                          | 1,26 | Benzoic Acid, TMS                   | 0,64 | Proline, 2TMS               | 1,59 | Purine, 3TMS                | 1,55 | Octadecadienoic acid, TMS           | 1,58 | Hydroxyproline, 3TMS               | 1,50 | L-Threitol, 4TMS                    | 1,32 | L-Threonine, 3TMS                   | 1,63 |
| Arachidic acid, TMS                                                              | 1,23 | Propanedioic acid, 2TMS             | 0,27 | Azelaic acid, 2TMS          | 1,52 | D-Gluconic acid, 6TMS       | 1,46 | Cysteine, 3TMS                      | 1,58 | Glycolic acid, 2TMS                | 1,26 | Stearic acid, TMS                   | 1,27 | Cysteine, 3TMS                      | 1,58 |
| Linoleic acid, TMS                                                               | 1,16 |                                     |      | Threonine, 3TMS             | 1,50 | Glycine, 2TMS               | 1,35 | Glyceric acid, 3TMS                 | 1,58 | Myristic acid, TMS                 | 1,14 | Quirinic acid (5TMS)                | 1,26 | L-Threitol, 4TMS                    | 1,52 |
| Nonadecenoic acid, TMS                                                           | 1,08 |                                     |      | Pentanedioic acid, 2TMS     | 1,47 | Myristic acid, TMS          | 1,31 | Threitol, 4TMS                      | 1,48 | Octadecadienoic acid, TMS          | 1,12 | Syringic acid, 2TMS                 | 1,26 | Sinapinic acid, 2TMS                | 1,47 |
| Glycolic acid, 2TMS                                                              | 1,08 |                                     |      | Heptadecanoic acid, TMS     | 1,44 | Glyceric acid, 3TMS         | 1,14 | Phosphoric acid, 2TMS               | 1,41 | Heptadecanoic acid, TMS            | 0,99 | Gluconolactone, 4TMS                | 1,22 | Keto-glucronic acid, 5TMS           | 1,33 |
| Myristic acid, TMS                                                               | 1,02 |                                     |      | Urea, 2TMS                  | 1,42 | Glycerol, 3TMS              | 1,01 | Alanine, 2TMS                       | 1,33 | Nonanoic acid, TMS                 | 0,88 | Oxalic acid, 2TMS                   | 1,15 | Erythritol, 4TMS                    | 1,22 |
| Octadecadienoic acid, TMS                                                        | 1,01 |                                     |      | Glutamic acid, 3TMS         | 1,36 | Phenylalanine, 2TMS         | 0,91 | Butanoic acid, 2TMS                 | 1,31 | Serine, 3TMS                       | 0,87 | Myristic acid, 2TMS                 | 1,15 | Glucaric acid, 6TMS                 | 1,21 |
| Urea, 2TMS                                                                       | 0,91 |                                     |      | Gluconolactone, 4TMS        | 1,13 | Hydracrylic acid, 2TMS      | 0,86 | Isoleucine, 2TMS                    | 1,30 | Isoferulic acid, 2TMS              | 0,81 | Urea, 2TMS                          | 1,14 | Dihydroxybenzoic acid, 3TMS         | 1,12 |
| Eicosenoic acid, TMS                                                             | 0,89 |                                     |      | Hydroxynicotinic acid, 2TMS | 1,12 | Gulonic acid, lactone, 4TMS | 0,79 | Kynrenic Acid, 2TMS                 | 1,24 | Alanine, 2TMS                      | 0,75 | Caffeic acid, 3TMS                  | 1,11 | Syringic acid, 2TMS                 | 1,12 |
| Octanoic acid, TMS                                                               | 0,84 |                                     |      | Aspartic acid, 3TMS         | 1,08 | Aspartic acid, 3TMS         | 0,72 | Glycine, 2TMS                       | 1,22 | Butenedioic acid, 2TMS             | 0,75 | Glucaric acid, 6TMS                 | 1,04 | Citric acid, 4TMS                   | 1,05 |
| Ergosterol, TMS                                                                  | 0,17 |                                     |      | Valine, 2TMS                | 1,01 | Palmitelaidic acid, TMS     | 0,69 | Glycolic acid, 2TMS                 | 1,14 | Glycine, 2TMS                      | 0,75 | N-Acetyl-glucosamine, 4TMS          | 0,97 | Isoleucine, 2TMS                    | 0,89 |
| Stigmastanol, TMS                                                                | 0,14 |                                     |      | D-Galactonic acid, 6TMS     | 0,99 | Urea, 2TMS                  | 0,68 | Butenedioic acid, 2TMS              | 1,13 | Phenylalanine, 2TMS                | 0,73 | Glycolic acid, 2TMS                 | 0,95 | N-Acetyl-glucosamine, 4TMS          | 0,85 |
| Tricosanoic acid, TMS                                                            | 0,13 |                                     |      | Norleucine, 2TMS            | 0,98 | Benzoic Acid, TMS           | 0,65 | Butanetriol, 3TMS                   | 1,07 | Uracil, 2TMS                       | 0,33 | Butenedioic acid, 2TMS              | 0,90 | Urea, 2TMS                          | 0,83 |
| Heineicosanoic acid, TMS                                                         | 0,12 |                                     |      | Ferulic acid, 2TMS          | 0,97 | Gluconolactone, 4TMS        | 0,63 | Butanedioic acid, 2TMS              | 0,99 | N-Acetyl-glutamic acid, 2TMS       | 0,17 | Hydroxynicotinic acid, 2TMS         | 0,88 | Hydroxynicotinic acid, 2TMS         | 0,80 |
|                                                                                  |      |                                     |      | Hexanoic acid, TMS          | 0,92 | Butanedioic acid, 2TMS      | 0,60 | Lactic Acid, 2TMS                   | 0,85 | Isoleucine, 2TMS                   | 0,14 | Lactic Acid, 2TMS                   | 0,88 | Niacin, TMS                         | 0,80 |
|                                                                                  |      |                                     |      | Hydroxybutanoic acid, 2TMS  | 0,83 | Proline, 2TMS               | 0,59 | Keto-glucronic acid, 5TMS           | 0,81 | Oleic Acid, TMS                    | 0,13 | N-Acetyl-glutamic acid, 2TMS        | 0,87 | Aconitic acid, 3TMS                 | 0,79 |
|                                                                                  |      |                                     |      | Heptadecenoic acid, TMS     | 0,81 | Hexanedioic acid, 2TMS      | 0,56 | Palmitelaidic acid, TMS             | 0,80 | Butanedioic acid, 2TMS             | 0,07 | Aconitic acid, 3TMS                 | 0,84 | Glyceric acid, 3TMS                 | 0,38 |
|                                                                                  |      |                                     |      | Aminopentan-2-ol, 2TMS      | 0,77 | Hydroxynicotinic acid, 2TMS | 0,28 | Diethylene glycol, 2TMS             | 0,80 | Glyceric acid, 3TMS                | 0,00 | Palmitic Acid, TMS                  | 0,77 |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | Palmitic Acid, TMS          | 0,77 | Valine, 2TMS                | 0,20 | Phenylalanine, 2TMS                 | 0,80 |                                    |      | Valine, 2TMS                        | 0,70 |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | D-Glucitol, 6TMS            | 0,71 | Serine, 3TMS                | 0,15 | Quirinic acid (5TMS)                | 0,73 |                                    |      | Keto-glucronic acid, 5TMS           | 0,69 |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | Butenedioic acid, 2TMS      | 0,68 | Phosphoric acid, 2TMS       | 0,09 | Hydracrylic acid, 2TMS              | 0,68 |                                    |      | Xanthrenic acid, 3TMS               | 0,30 |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | Hydroxyproline, 3TMS        | 0,63 | 3-Methylvaleric acid, TMS   | 0,09 | Proline, 2TMS                       | 0,68 |                                    |      | Glutamic acid, 3TMS                 | 0,15 |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | Isoleucine, 2TMS            | 0,61 | Glycolic acid, 2TMS         | 0,09 | Galactaric acid, 6TMS               | 0,67 |                                    |      | Niacin, TMS                         | 0,09 |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | Myristic acid, TMS          | 0,61 | Alanine, 2TMS               | 0,06 | Glucaric acid, 6TMS                 | 0,67 |                                    |      | Citric acid, 4TMS                   | 0,08 |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | Dihydroxybenzoic acid, 3TMS | 0,60 |                             |      | Alanine, 2TMS                       | 0,66 |                                    |      | Isoferulic acid, 2TMS               | 0,07 |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | Keto-glucronic acid, 5TMS   | 0,58 |                             |      | Stearic acid, TMS                   | 0,66 |                                    |      | Butanetriol, 3TMS                   | 0,00 |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | Serine, 3TMS                | 0,57 |                             |      | Gluconic acid, 6TMS                 | 0,65 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | Purine, 3TMS                | 0,25 |                             |      | Malic acid, 3TMS                    | 0,62 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | Alanine, 2TMS               | 0,22 |                             |      | Glutamic acid, 3TMS                 | 0,61 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      | Stearic acid, TMS           | 0,10 |                             |      | Uracil, 2TMS                        | 0,55 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      |                             |      |                             |      | Trihydroxybutyric acid, 4TMS        | 0,55 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      |                             |      |                             |      | Citric acid, 4TMS                   | 0,50 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      |                             |      |                             |      | Aconitic acid, 3TMS                 | 0,47 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      |                             |      |                             |      | Arachidic acid, TMS                 | 0,47 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      |                             |      |                             |      | Xanthrenic acid, 3TMS               | 0,13 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      |                             |      |                             |      | Glucitol, 6TMS                      | 0,11 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      |                             |      |                             |      | Mannitol, 6TMS                      | 0,11 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
|                                                                                  |      |                                     |      |                             |      |                             |      | Urea, 2TMS                          | 0,07 |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
| Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly |      |                                     |      |                             |      |                             |      |                                     |      |                                    |      |                                     |      |                                     |      |
| 07/09/2026 20:44:46 EEST - 216.73.216.250                                        |      |                                     |      |                             |      |                             |      |                                     |      |                                    |      |                                     |      |                                     |      |

## 4. Συμπεράσματα και Συζήτηση

### 4.1. Υπολείμματα εντόμων (frass) από τέσσερα είδη εντόμων και πρόκληση παράλυσης σε προνύμφες J2 *Meloidogyne incognita*

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, ισχυρότερη δράση φάνηκε να παρουσιάζουν τα frass πριν υποστούν θερμική επεξεργασία καθώς σε πολύ χαμηλότερη δόση μπορεί να επιτευχθεί μέση αποτελεσματική συγκέντρωση ( $EC_{50}$ ) ενώ σύμφωνα με τα αποτελέσματα στις 72 ώρες ισχυρότερη πρόκληση παράλυσης φαίνεται να προκύπτει από τα είδη *Z. morio* και *A. diaperinus*, ακολουθεί το *H. illucens* και τελευταίο το *T. molitor*. Εν αντιθέσει, κατόπιν θερμικής επεξεργασίας καλύτερη αποτελεσματικότητα (72h) προέκυψε από την εφαρμογή των frass από τα έντομα *A. diaperinus* και *T. molitor*.

Κάτι που αξίζει να σημειωθεί είναι η μερική ανάκτηση της κινητικότητας που παρατηρήθηκε σε όλες τις μεταχειρίσεις στις 48h, πράγμα που διαφαίνεται και από τις τιμές  $EC_{50}$ , οι οποίες αυξάνονται από τις 24 στις 48 ώρες ενώ στη συνέχεια ακολουθεί πτωτική τάση. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, αυτό το φαινόμενο είναι σύνηθες και έχει σημειωθεί σε αρκετές μελέτες για την πρόκληση παράλυσης σε νηματώδεις του γένους *Meloidogyne* και λοιπών φυτοпараσιτικών νηματωδών με χρήση προϊόντων φυτικής προέλευσης (Biswas et al., 2025; Morton et al., 2023; Moosavi, 2012) και παραπέμπει σε νηματοδοστατική δράση μέχρι και την ανάκτηση της κινητικότητας. Ωστόσο, μετά την τελευταία μέτρηση (72 ώρες), οι προνύμφες σε όλες τις μεταχειρίσεις των πειραμάτων της παρούσας εργασίας, δεν ανέκτησαν κινητικότητα ποτέ και ως εκ τούτου χαρακτηρίστηκαν νεκρές.

Επί του παρόντος δεν υπάρχουν πολλές αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία για χρήση frass για νηματοδοκτόνο δράση. Συγκεκριμένα οι Kisaakye et al., (2024) χρησιμοποίησαν υδατικά εκχυλίσματα από frass του είδους *H. illucens* ενισχυμένα με χιτίνη (chitin-fortified black soldier fly frass fertilizer extracts, chFE) για την αξιολόγηση της κατασταλτικής τους δράση εναντίον του νηματώδους *M. incognita* σε πείραμα *in vitro* και *in vivo* με εφαρμογή σε φυτά σπανακιού. Μελετήθηκαν ξεχωριστά για την νηματοδοκτόνο δράση τους frass που προέρχονταν από τα περιττώματα των προνυμφών (black soldier fly frass, BSFF) καθώς και frass προερχόμενο από τον εξωσκελετό που αφήνει πίσω του το έντομο με την περάτωση της νύμφωσης (black soldier fly exuviae, BSFE). Αραίωση 10% σε απεσταγμένο νερό από κάθε chFE παρασκευάστηκε και μεταφέρθηκε στις πλάκες πολυστυρενίου με προσθήκη νηματωδών J2 ( $\approx 100$ ). Η παράλυση και θνησιμότητα μετρήθηκαν στις 3, 6, 12 και 24 ώρες. Παράλληλα, κάθε

γλαστράκι μολύνθηκε με 1.000 J2s και μία μέρα μετά, εφαρμόστηκαν 100 mL αιωρήματος με συγκέντρωση 25, 50 και 100 % (v/v) εκχυλίσματος frass.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ενώ στις 6 και 12 ώρες το εμπορικό νηματωδοκτόνο (Velum® Prime Bayer Crop Science - fluopyram 40% β/ο) παρουσίασε σημαντικά υψηλότερη παράλυση εν συγκρίσει με το chFE, στις 3 και 24 ώρες δεν υπήρχε στατιστική διαφορά. Επιπλέον, στο εμπορικό νηματωδοκτόνο σημειώθηκε ελάχιστο LT<sub>50</sub> (median lethal time) στις 6.01 ώρες ενώ το ελάχιστο LT<sub>50</sub> για chFE παρατηρήθηκε στις 12.26 ώρες για την μεταχείριση με σύνθεση χιτίνης 10%. Ωστόσο με >3% χιτίνη προήχθη παράλληλα και η ανάπτυξη του ριζικού συστήματος καθώς επίσης καταγράφηκε σημαντική αύξηση στη βιομάζα των φυτών, ενισχύοντας έτσι τις ενδείξεις για τον πολλαπλό ρόλο των frass σε μία καλλιέργεια (Kisaakye et al., 2024).

Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν σε καλλιέργεια πατάτας όπου για την καταπολέμηση κυστωδών νηματωδών (potato cyst nematodes, PCNs) εφαρμόστηκε στο χώμα οργανικό λίπασμα του είδους *H. illucens* με προσθήκη χιτίνης υπό μορφή σκόνης η οποία προέκυψε από τον εξωσκελετό του εντόμου. Φάνηκε ότι το frass με επιπρόσθετη 5% χιτίνη συνέβαλε θετικά στη μείωση των νηματωδών ενώ την ίδια στιγμή ενίσχυσε την παραγωγικότητα και την τελική απόδοση της καλλιέργειας (Anedo et al., 2024).

Τέλος, εφαρμογή 1kg υπολειμμάτων του εντόμου *H. illucens* σε καλλιέργεια σόγιας αύξησε την βιομάζα κάθε φυτού κατά 45g συγκριτικά με τον μάρτυρα ενώ ο αριθμός των κόμβων/gr ρίζας FwF ήταν μηδενικός την στιγμή που στις γλάστρες, επιμολυσμένες με 1000 J2s *M. incognita* και 0kg frass, μετρήθηκαν κατά μέσο όρο 7 κόμβοι/gr ρίζας (Kigeso et al., 2024).

Στην μεταχείριση όπου εφαρμόστηκε υδατικό εκχύλισμα από frass του *H. illucens*, για την εργασία που παρουσιάζεται, επιτεύχθηκε παράλυση στις προνύμφες J2 του νηματώδους *M. incognita*, πράγμα που έρχεται σε συμφωνία με τις διαπιστώσεις των προαναφερθέντων εργασιών. Επί της παρούσης, για τα υπόλοιπα είδη (*Z. morio*, *A. diaperinus*, και *T. molitor*) που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη αποτελούν πρώτη αναφορά και δεν υπάρχουν διαθέσιμες πηγές στη βιβλιογραφία ώστε να παρουσιαστεί κάποιος σχολιασμός.

#### 4.2. Υπολείμματα εντόμων (frass) από τέσσερα είδη εντόμων και χημική σύσταση

Από το σύνολο των ουσιών που καταγράφηκαν στις μεταχειρίσεις πριν και κατόπιν θερμικής επεξεργασίας, επιλέχθηκαν αυτές που σημειώθηκαν σε εκατοστιαία περιεκτικότητα επί του συνόλου  $\geq 4\%$ , με σκοπό την διερεύνηση πιθανής συμβολής τους στην αντιμετώπιση φυτοпараσιτικών νηματωδών ή και γενικά στην φυτοπροστασία σε στοιχεία που υπάρχουν επί του παρόντος. Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται συνοπτικά οι πληροφορίες που αντλήθηκαν από την βιβλιογραφική ανασκόπηση που προέκυψε.

Από τις 46 κύριες ουσίες του heatmap, μόνο στις 12 από αυτές βρέθηκαν εργασίες που να αποδίδουν πιθανή νηματωδοκτόνο δράση κατά το γένος *Meloidogyne* ενώ σε μερικές εργασίες αναφέρεται η καταπολέμηση του είδους *M.incognita* υπό την επίδραση των ουσιών: benzoic acid (Velasco-Azorsa et al., 2022), caffeic acid (Shaukat and Siddiqui, 2001), (Aoudia et al., 2012; Khairy et al., 2022), citric acid (Jang et al., 2016), isoferulic acid (Mahajan et al., 1992; Khairy et al., 2022), lactic acid (Seo and Kim, 2014; Kim et al., 2022), oleic acid (Zhang et al., 2012), oxalic acid (Jang et al., 2016) και palmitic acid (Zhang et al., 2012). Σύμφωνα με μελέτη των (Velasco-Azorsa et al., 2022), το benzoic acid έδειξε νηματωδοκτόνο δράση και κατά του φυτοπαρασιτικού είδους *Nacobbus aberrans*, όπως επίσης και η stigmasterol (Cabianca et al., 2021; (Velasco-Azorsa et al., 2021).

Επιπλέον, μέσα από βιβλιογραφικές πηγές προέκυψε ότι συστατικά που βρίσκονται σε μικρότερη εκατοστιαία περιεκτικότητα επί του συνόλου όπως: myristic acid (Zhang et al., 2012), decanoic acid (Zhang et al., 2012), ferulic acid (Mahajan et al., 1985), vanillic acid (Mahajan et al., 1985), malic acid (Carvahlo Junior et al., 2022), linoleic acid (Zhang et al., 2012), octanoic acid (Zhang et al., 2012) και pentadecanoic acid (Beiyang et al., 2023) παρουσιάζουν δραστηριότητα εναντίον των νηματωδών του γένους *Meloidogyne* είτε με πρόκληση παράλυσης στις προνύμφες 2ου σταδίου, είτε παρεμποδίζοντας την ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου.

Η ουσία glycerol φαίνεται να μπορεί να αξιοποιηθεί για την κρυοσυντήρηση (cryoprotectant) εντομοπαθογόνων νηματωδών (*Steinernema* και *Heterorhabditis*) (Guide et al., 2016) αλλά και ως βιολογικό μυκητοκτόνο (Zhang et al., 2015) (Novaes et al., 2024) ενώ το pentadecanoic acid βρέθηκε ότι έχει αποτελεσματικότητα κατά του γαστρεντερικού νηματώδους μηρυκαστικών *Haemonchus contortus*. Κατά του συγκεκριμένου νηματώδους βρέθηκε και συνεργισμός μεταξύ των palmitic acid και stearic acid (Pineda-Alegria et al., 2020). Επιπρόσθετα, για την ίδια ουσία, οι Beiyang et

al., (2023) αναφέρουν ασθενή προσέλκυση με χημειοτακτισμό (chemotaxis) του είδους *M. incognita* στο έδαφος. Ως χημειοτακτισμός ή χημειοταξία ορίζεται η κίνηση ενός οργανισμού ή κυττάρου ως απόκριση σε μια ελκυστική ή απωθητική ουσία (Βλάμης, 2021).

Όπως μπορεί να γίνει αντιληπτό, κάθε ουσία μπορεί να χαρακτηριστεί μέσα από πολύπλευρες ιδιότητες γι' αυτό και κρίνεται αναγκαία η εκτενέστερη παρακολούθηση και αξιολόγηση των ουσιών που βρίσκονται σε υψηλότερη συγκέντρωση αλλά και χαμηλότερη, καθώς και σε εκείνες μπορεί να σημειωθεί νηματωδοκτόνος ή άλλη ιδιότητα.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το decanoic acid που βρέθηκε ότι μπορεί να αναστείλει την ωοτοκία του είδους *Bemisia tabaci* και να προκαλέσει την καταστολή διαφόρων ειδών του γένους *Meloidogyne* (Cruz-Estrada et al., 2019; Fabiyi et al., 2022). Νηματωδοκτόνος δράση κατά του είδους *M. incognita* αναφέρεται επιπλέον στα: octanoic acid (Ye et al., 2022), myristic acid (Zhang et al., 2012), ferulic acid (Khairy et al., 2022), linoleic acid (Zhang et al., 2012) και vanillic acid (Singh et al., 2013; Khairy et al., 2022).

Πίνακας 5: Οι χημικές ουσίες των frass άψητων (before) και ψημένων (after) με εκατοστιαία περιεκτικότητα  $\geq 4\%$  επί του συνόλου (Hb: *H. illucens* before, Ha: *H. illucens* after, Zb: *Z. morio* before, Za: *Z. morio* after, Ab: *A. diaperinus* before, Aa: *A. diaperinus* after, Tb: *T. molitor* before & Ta: *T. molitor* after). Τα συστατικά για τα οποία εντοπίστηκαν σχετικές βιβλιογραφικές αναφορές σημειώνονται με 'x' ενώ τα υπόλοιπα με '-'.  
 1

|                                        |    |    | Meloidogyne incognita |   |   |   |   | Meloidogyne spp. | Ασκατος (φυτοπαθογενικοί Nηματοειδείς)                                                                                | Nηματοειδείς, Γ. ενικά                                                                          | Φυτοπαθογενικά |
|----------------------------------------|----|----|-----------------------|---|---|---|---|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| Alanine                                | Aa |    | -                     | - | - | - | - |                  |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Asparagine                             | Zb |    | -                     | - | - | - | - |                  |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Behenic acid                           | Hb |    | -                     | - | - | - | - |                  |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Benzoic acid                           | Hb |    | x                     | x | x | x | x |                  | (Shaukat and Siddiqui, 2001), (Said Omar et al., 2018), (Velasco-Azorsa et al., 2022)                                 |                                                                                                 |                |
| Butanetriol                            | Ta |    | -                     | - | - | - | - |                  |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Caffeic acid                           | Ta |    | x                     | x | - | - | x |                  | (Shaukat and Siddiqui, 2001) , (Aoudia et al., 2012), (Li et al., 2021), (Khairy et al., 2022), (Mughal et al., 2024) |                                                                                                 |                |
| Campesterol                            | Ha |    | -                     | - | - | - | x |                  | (Bajguz et al., 2020)                                                                                                 |                                                                                                 |                |
| Citric acid                            | Aa |    | x                     | x | - | - | x |                  | (Jang et al., 2016), (Abd-alla et al., 2023)                                                                          |                                                                                                 |                |
| Dihydroxy-methylbutanoic acid          | Ab | Tb | -                     | - | - | - | - |                  |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Gluconic acid                          | Aa |    | -                     | - | - | - | x |                  | (Werra et al., 2009)                                                                                                  |                                                                                                 |                |
| Glutamic acid                          | Za | Aa | Ta                    | - | - | - | - | x                |                                                                                                                       | (Kim et al., 2021)                                                                              |                |
| Glycerol                               | Hb | Ha | Zb                    | - | x | - | x | x                |                                                                                                                       | (Siddiqui and Shaukat, 2002), (Zhang et al., 2015), (Guide et al., 2016), (Novaes et al., 2024) |                |
| Glycolic acid                          | Ha |    |                       | - | - | - | x | -                |                                                                                                                       | (Boyko and Brygadyrenko, 2023)                                                                  |                |
| Heptadecanoic acid                     | Hb | Ha |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Hydracrylic acid                       | Zb | Aa |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Hydroxynonanoic acid                   | Zb | Za |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Isoferulic acid                        | Ta |    |                       | x | x | - | - | -                |                                                                                                                       | (Mahajan et al., 1992), (Khairy et al., 2022)                                                   |                |
| Keto-gluconic acid                     | Aa |    |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Kynurenic acid                         | Za | Aa |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Lactic acid                            | Zb | Aa |                       | x | x | - | - | x                |                                                                                                                       | (Seo and Kim, 2014), (Kim et al., 2022), (Jaffar et al., 2023)                                  |                |
| Malic acid                             | Aa |    |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Monopalmityl glycerol                  | Hb |    |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Monostearin                            | Hb |    |                       | - | - | - | - | x                |                                                                                                                       | (Hergueta-Castillo et al., 2022)                                                                |                |
| N,N-diethyl (trimethylsilyl) carbamate | Hb |    |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Niacin                                 | Zb |    |                       | - | - | - | - | x                |                                                                                                                       | (Khurshid et al., 2023)                                                                         |                |
| Nonadecanoic acid                      | Hb |    |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Octadecadienoic acid                   | Tb |    |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Oleic acid                             | Ha |    |                       | x | x | - | - | x                |                                                                                                                       | (Zhang et al., 2012), (Wang et al., 2024), (Hadi and Sabet, 2024)                               |                |
| Oxalic acid                            | Ta |    |                       | x | x | - | - | x                |                                                                                                                       | (Jang et al., 2016) , (Prasad and Shivay, 2017), (Yang et al., 2024)                            |                |
| Palmitic acid                          | Za | Ta |                       | x | x | - | - | x                |                                                                                                                       | (Liu et al., 2008), (Zhang et al., 2012)                                                        |                |
| Pentadecanoic acid                     | Ha |    |                       | - | - | - | x | -                |                                                                                                                       | (Abdel-Rahman et al., 2008), (Pineda-Alegría et al., 2020), (Beiyang et al., 2023)              |                |
| Pentanedioic acid                      | Hb | Za |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Phenylalaline                          | Ta |    |                       | - | - | - | - | x                |                                                                                                                       | (Kumari et al., 2023)                                                                           |                |
| Phosphate                              | Hb | Ha |                       | - | x | - | - | x                |                                                                                                                       | (Hemmati and Saeedizadeh, 2019)                                                                 |                |
| Phosphoric acid                        | Zb | Aa | Tb                    | - | x | - | x | x                |                                                                                                                       | (Spiegel et al., 1986), (Boyko and Brygadyrenko, 2022)                                          |                |
| Proline                                | Aa |    |                       | - | - | - | - | x                |                                                                                                                       | (Kashyap and Siddiqui, 2020)                                                                    |                |
| Propadeioic acid                       | Hb |    |                       | - | - | - | - | x                |                                                                                                                       | (Fei et al., 2023)                                                                              |                |
| Purine                                 | Tb |    |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Stearic acid                           | Ha | Za |                       | - | - | - | x | x                |                                                                                                                       | (Pineda-Alegría et al., 2020)                                                                   |                |
| Stigmastanol                           | Ha |    |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Stigmasterol                           | Ha |    |                       | - | - | x | - | x                |                                                                                                                       | (Cabianca et al., 2021), (Velasco-Azorsa et al., 2021), (Valitova et al., 2024)                 |                |
| Threonine                              | Za |    |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Tryptophan                             | Za |    |                       | - | - | - | - | x                |                                                                                                                       | (Zemanová et al., 2014)                                                                         |                |
| Uracil                                 | Ha |    |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |
| Urea                                   | Aa |    |                       | - | x | - | - | x                |                                                                                                                       | (Ismail and Mohamed, 2012)                                                                      |                |
| Xylitol                                | Tb |    |                       | - | - | - | - | -                |                                                                                                                       |                                                                                                 |                |

Εν κατακλείδι, η νηματωδοκτόνος δράση των *Z.morio*, *A. diaperinus* στην άψητη μορφή και των *A. diaperinus* και *T. molitor* αφού έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία, που προέκυψε μέσα από τα πειράματα παράλυσης οδηγεί στην πρόταση για περαιτέρω μελέτη τους ως προς αυτό το σκοπό. Η βιοδοκιμή παράλυσης που πραγματοποιήθηκε με frass του είδους *H. illucens* κατόπιν θερμικής επεξεργασίας οδήγησε στο συμπέρασμα ότι απαιτούνται ενδεχομένως μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ελέγχου για την επίτευξη τιμής EC<sub>50</sub> καθώς το ποσοστό παράλυσης στην υψηλότερη δόση που εφαρμόστηκε (50% v/v) ήταν ιδιαίτερα χαμηλό (<4% αποτελεσματικότητα). Παράλληλα, προτείνεται ο πειραματισμός με συνδυασμό frass για την ανίχνευση πιθανής παρουσίας συνεργισμού.

Από την βιβλιογραφία, προέκυψε ότι οι ουσίες benzoic acid, caffeic acid, citric acid, glycerol, isoferulic acid, lactic acid, myristic acid, oleic acid, palmitic acid, phosphate, phosphoric acid, urea, decanoic acid, ferulic acid, vanillic acid, malic acid, linoleic acid, octanoic acid, oxalic acid και pentadecanoic acid παρουσιάζουν δραστηριότητα εναντίον των νηματωδών του γένους *Meloidogyne*. Από αυτές, 17 από τις 20 ουσίες που αναφέρθηκαν υπάρχουν στο *Z. morio* άψητο και 16 από τις 20 ουσίες παρατηρήθηκαν στο *A. diaperinus* άψητο, πράγμα που ενδεχομένως να αιτιολογεί τα αποτελέσματα του πειράματος.

Τέλος, σε μελλοντικές εργασίες στην εξίσωση θα πρέπει να ληφθεί υπόψιν και η διατροφή των εντόμων ως κριτήριο αποτελεσματικότητας των frass που προκύπτουν από αυτά καθώς πειράματα έχουν αποδείξει ότι συγκεκριμένη δίαιτα μπορεί να επιφέρει διαφορετικά χαρακτηριστικά στους οργανισμούς (Kim et al., 2018; Gourgouta et al., 2024; Adamaki-Sotiraki et al., 2024; Mahmoud et al., 2025;) οπότε και ενδεχόμενη διαφοροποίηση στην δραστηριότητά των υπολειμμάτων τους.

## Βιβλιογραφία

### Ελληνική βιβλιογραφία

Ελευθεροχωρινός Η.Γ., (2014). ‘‘Ζιζανιολογία: Ζιζάνια, Ζιζανιοκτόνα, Περιβάλλον, Αρχές και Μέθοδοι Διαχείρισης (4<sup>η</sup> έκδοση)’’. Αθήνα, Εκδόσεις ΑγροΤύπος, σσ.: 78

Παστόπουλος Σ.Σ., και Καζαντζής Κ.Α., (2024, Μάρτιος-Απρίλιος). ‘‘Οι νηματώδεις σοβαρό πρόβλημα στη δένδροκομία – Η βιολογική τους αντιμετώπιση’’. Γεωργία - Κτηνοτροφία Τεύχος 3, σσ.35

Πέκας Α., (2009, Ιούλιος). ‘‘Βιολογική καταπολέμηση στη Γεωργία: πραγματικότητα ή ουτοπία,’’. Γεωργία – Κτηνοτροφία Τεύχος 7, σσ. 60

Τραυλός Η.Σ. και Κανάτας Π.Ι., (2022). ‘‘Ζιζανιολογία και Γεωργία’’. Αθήνα, Εκδόσεις Πεδίο, σσ.: 192

Ζιώγας Β.Ν., και Μαρκόγλου Α.Ν., (2017). ‘‘Γεωργική Φαρμακολογία. Βιοχημεία, Φυσιολογία, Μηχανισμοί Δράσης και Χρήσεις των Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων’’. Αθήνα. Εκδόσεις Greenbooks publications, σσ: 707, 709

Taiz L., Zeiger E., Møller I.N., και Murphy A., (2017). ‘‘Φυσιολογία και Ανάπτυξη Φυτών 6<sup>η</sup> Αμερικάνικη Έκδοση – 2<sup>η</sup> Ελληνική Έκδοση’’. Αγία Παρασκευή. Εκδόσεις Utopia, σσ: 879

### Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

Abd-alla H.I., Ibrahim H.S., Hamouda S., and El-Kady A M A., (2023). ‘‘*Formulation and Nematicidal Efficiency of Some Alternative Pesticides against Meloidogyne spp*’’. American Journal of Research Communication 1 (6)

Abdel-Rahman F.H., Clark S., and Saleh M.A., (2008). ‘‘*Natural organic compounds as alternative to methyl bromide for nematodes control*’’. Journal of Environmental Science and Health Part B: 43, 680–685 doi: <http://dx.doi.org/10.1080/03601230802388751>

Adamaki-Sotiraki C., Abenaim L., Mannucci A., Rumbos C.I., Bedini S., Castagna A., Conte G., Tognocchi M., Dolianitis V., Athanassiou C.G., and Conti B., (2024). ‘‘*Performance of Hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae) larvae reared on organic*

waste diets and pupal chitin and chitosan yield". Environmental Science and Pollution Research 31: 37366-37375 doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-024-33545-x>

Agrios G.N., (1997). "*Plant Pathology 4<sup>th</sup> Edition*". Academic Press, California, pp. 572-573, 575

Ahmed A., Hashem M.Y., Mohamed S.M., and Khalil S., (2013). "*Protection of potato crop against Phthorimaea operculella (Zeller) infestation using frass extract of two noctuid insect pests under laboratory and storage simulation conditions*". Archives of Phytopathology and Plant Protection 46 (20) doi: <http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2013.795356>

Alejo J.C., Herrera-Parra E., Oregel V.R., Sánchez E.R., Suárez J.M.T., and Rodriguez T.C., (2010). "*Glomus intraradices para el control de Meloidogyne incognita (Kofoid & White) Chitwood en condiciones protegidas*". Fitosanidad vol. 14 (1): 25-29

Anedo E.O., Beesigamukama D., Mochoge B., Korir N.K., Haukeland S., Cheseto X., Subramanian S., Kelemu S., and Tanga C.M., (2024). "*Evolving dynamics of insect frass fertilizer for sustainable nematode management and potato production*". Front. Plant Sci. 15:1343038 doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2024.1343038>

Antoniadis V., Molla A., Grammenou A., Apostolidis V., Athanassiou C.G., Rumbos C.I., and Levizou E., (2023). "*Insect Frass as a Novel Organic Soil Fertilizer for the Cultivation of Spinach (Spinacia oleracea): Effects on Soil Properties, Plant Physiological Parameters, and Nutrient Status*". Journal of Soil Science and Plant Nutrition 23: 5935-5944 doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s42729-023-01451-9>

Aoudia H., Ntalli N., Aissani N., Yahiaoui-Zaidi R., and Caboni P., (2012). "*Nematotoxic Phenolic Compounds from Melia azedarach Against Meloidogyne incognita*". Journal of Agricultural and Food Chemistry 60 (47) doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jf3038874>

Arabzadeh G., Delisle-Houde M., Dorais M., Deschamps M.H., Derome N., Vandenberg G.W., and Tweddell R.J., (2024). "*Evaluation of the antagonistic activity of black soldier fly frass extracts against plant pathogens using single- and double-layer agar bioassays*". Journal of Insects as Food and Feed 10 (10): 1-10 doi: <http://dx.doi.org/10.1163/23524588-20230022>

Bajguz A., Chmur M., and Gruszka D., (2020). "*Comprehensive Overview of the Brassinosteroid Biosynthesis Pathways: Substrates, Products, Inhibitors, and Connections*". Front. Plant Sci. 11: 1034 doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01034>

- Barker K.R., Pederson G.A., and Windham G.L., (1998). ‘*Plant and Nematode Interactions*’. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America, pp. 492-493, 596-597, 600
- Basyoni M.M.A., & Rizk E.M.A., (2016). ‘*Nematodes ultrastructure: complex systems and processes*’. J Parasit Dis. 40(4):1130–1140 doi: <https://doi.org/10.1007/s12639-015-0707-8>
- Behera S.K., Sahu A., Das N., and Ujjwal A.K., (2020). ‘*Effect of bio-fumigation on nematode population and nutrient status of soil in okra*’. Journal of Entomology and Zoology Studies 8 (2): 394-397 doi: <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.12736.66564>
- Beiyang L., Wang P., Yang L., Rang X., Zhou W., and Liu Y., (2023). ‘*Chemotaxis of Meloidogyne incognita Response to Rhizosphere Bacteria*’. Microorganisms 11 (9): 2271 doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092271>
- Bhat A.A., Shakeel A., Waqar S., Handoo Z.A., and Khan A.A., (2023). ‘*Microbes vs. Nematodes: Insights into Biocontrol through Antagonistic Organisms to Control Root-Knot Nematodes*’. Plants 12 (3): 451 doi: <https://doi.org/10.3390/plants12030451>
- Biswas S., Bista S., Ray D., Ghosh S.M., Das S., Kar S., and Chakraborty G., (2025). ‘*Exploring the effect of novel non-fumigant nematicides on the biological interaction between Meloidogyne incognita and pointed gourd (Trichosanthes dioica Roxb.) for sustainable management of plant-parasitic nematode*’. Journal of Agriculture and Food Research 20: 101800 doi: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.101800>
- Boyko O., and Brygadyrenko V., (2022). ‘*Nematicidal Activity of Inorganic Food Additives*’. Diversity 14 (8): 663 doi: <https://doi.org/10.3390/d14080663>
- Boyko O., and Brygadyrenko V., (2023). ‘*Survival of Nematode Larvae Strongyloides papillosus and Haemonchus contortus under the Influence of Various Groups of Organic Compounds*’. Diversity 15 (2): 254 doi: <https://doi.org/10.3390/d15020254>
- Branco S., Schauster A., Liao H-L., and Ruytinx J., (2022). ‘*Mechanisms of stress tolerance and their effects on the ecology and evolution of mycorrhizal fungi*’. New Phytologist 235: 6, 2158-2175 doi: <https://doi.org/10.1111/nph.18308>
- Cabianca A., Müller L., Pawlowski K., and Dahlin P., (2021). ‘*Changes in the Plant  $\beta$ -Sitosterol/Stigmasterol Ratio Caused by the Plant Parasitic Nematode Meloidogyne incognita*’. Plants 10 (2): 292 doi: <https://doi.org/10.3390/plants10020292>

Cao H., Jiao Y., Yin N., Li Y., Ling J., Mao Z., Yang Y., and Xie B., (2019). “*Analysis of the activity and biological control efficacy of the Bacillus subtilis strain Bs-1 against Meloidogyne incognita*”. Crop Protection 122: 125-135 doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.04.021>

Carvahlo Junior O.V., Sa A.V., Peixoto A.R., Paz C.D., Cunha e Castro J.M., and Tuão Gava C.A., (2022). “*Local Bacillus species as potential biocontrol agents for Meloidogyne enterolobii in melon (Cucumis melo L.)*”. Biocontrol Science and Technology V. 32., Issue 3: 314-328 doi: <https://doi.org/10.1080/09583157.2021.1999394>

Chia S.Y., Loon J.J.A., and Dicke M., (2023). “*Effects of frass from larvae of black soldier fly (Hermetia illucens) and yellow mealworm (Tenebrio molitor) on growth and insect resistance in field mustard (Brassica rapa): differences between insect species and frass treatments*”. Entomologia Experimentalis et Applicata 172 (5) doi: <http://dx.doi.org/10.1111/eea.13425>

Cruz-Estrada A., Ruiz-Sánchez E., Cristóbal-alejo J., González-Coloma A., Andrés M.F., and Gamboa-Angulo M., (2019). “*Medium-Chain Fatty Acids from Eugenia winzerlingii Leaves Causing Insect Settling Deterrent, Nematicidal, and Phytotoxic Effects*”. Molecules 24 (9): 1724 doi: <https://doi.org/10.3390/molecules24091724>

D’Addabbo T., Sasanelli N., Lamberti F., Greco P., and Carella A., (2003). “*Olive pomace and chicken manure amendments for control of Meloidogyne incognita over two crop cycles*”. Nematropica 33: 1-7

Dos Anjos E.C.T., Cavalcante U.M.T., Gonçalves D.M.C., Pedrosa E., Dos Santos V.F., and Maia L., (2010). “*Interactions between an Arbuscular Mycorrhizal Fungus (Scutellospora heterogama) and the Root-knot Nematode (Meloidogyne incognita) on Sweet Passion Fruit (Passiflora alata)*”. Brazilian Arch. Biol. Technol. 53(4): 801-809 doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132010000400008>

Eisenback J.D., (2020). “*Meloidogyne incognita (root-knot nematode)*”. CABI Compendium 33245 doi: <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, Inc., New York, NY, USA, 191–274 doi: <http://dx.doi.org/10.1201/9781003066576-6>

- El-Sappah A., M M.I., El-awady H.H., Yan S., Oi S., Liu J., Cheng G., and Liang Y., (2019). “*Tomato Natural Resistance Genes in Controlling the Root-Knot Nematode*”. Genes (Basel):10(11): 925 doi: <https://doi.org/10.3390/genes10110925>
- Elling A.A., (2013). “*Major Emerging Problems with Minor Meloidogyne Species*”. Phytopathology 103:1092-1102 doi: <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-01-13-0019-RVW>
- Escobar C., Barcala M., Cabrera J., and Fenoll C., (2015). “*Overview of Root-Knot Nematodes and Giant Cells*”. Advances in Botanical Research, Volume 73: 1-32 doi: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.abr.2015.01.001>
- Eugui D., Escobar C., Velasco P., and Poveda J., (2022). “*Glucosinolates as an effective tool in plant-parasitic nematodes control: Exploiting natural plant defenses*”. Applied Soil Ecology Vol. 176: 104497 doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104497>
- Fabiyi O.A., Baker M.T., and Olatunji G.A., (2022). “*Application of Fatty Acid Esters on Meloidogyne incognita Infected Jew’s Mallow Plants*”. Pakistan Journal of Nematology, 40 (2): 127-137 doi: <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjn/2022/40.2.127.137>
- Fei Y., Cheng Q., Zhang H., Han C., Wang X., Li Y., Li S., and Zhao X., (2023). “*Maleic acid and malonic acid reduced the pathogenicity of Sclerotinia sclerotiorum by inhibiting mycelial growth, sclerotia formation and virulence factors*”. Stress Biology 3: 45 doi: <https://doi.org/10.1007/s44154-023-00122-0>
- Frost C., and Hunter M.D., (2004). “*Insect canopy herbivory and frass deposition affect soil nutrient dynamics and export in oak mesocosms*”. Ecology 85 (12): 3335-3347 doi: <http://dx.doi.org/10.1890/04-0003>
- Gagnier B.K., Zasada I.A., and Moyer M.M., (2024). “*Impact of Vineyard Fallow Practices on Reducing Meloidogyne hapla Population Densities*”. Plant Health Progress Vol. 25, No. 4: 446-453 doi: <https://doi.org/10.1094/PHP-03-24-0026-RS>
- Gourgouta M., Andreadis S.S., Koutsogeorgiou E.I., Rumbos C.I., Grigoriadou K., Giannenas I., Bonos E., Skoufos I., and Athanassiou C.G., (2024). “*Larval performance of Zophobas morio (F.) (Coleoptera: Tenebrionidae) on various diets enriched with post-distillation residues and essential oils of aromatic and medicinal plants*”. Environmental Science and Pollution Research 31: 28847-28855 doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-024-32603-8>

- Guide B.A., Alves V.S., Fernandes T.A.P., Ferreira F.P., and Neves P.M.O.J., (2016). “*Glycerol as a cryoprotectant agent to the entomopathogenic nematodes Heterorhabditis spp. and Steinernema spp.*”. Semina: Ciencias Agrarias 37 (5): 3017-3025 doi: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n5p3017>
- Hadi A.H., and Sabet F.A., (2024). “*Evaluate the effectiveness of oleic acid and linoleic acid in controlling the Trogoderma granarium everts (Coleoptera: Dermestidae)*”. Iraqi Journal of Market Research and Consumer Protection 16 (1): 155-164 doi: [http://dx.doi.org/10.28936/jmracpc16.1.2024.\(13\)](http://dx.doi.org/10.28936/jmracpc16.1.2024.(13))
- Hemmati S., and Saeedizadeh A., (2019). “*Root-knot nematode, Meloidogyne javanica, in response to soil fertilization*”. Braz. J. Biol. 80 (4) doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.218195>
- Hergueta-Castillo M.E., López-Ruiz R., Frenich A.G., and Romero-González R., (2022). “*Characterization of the composition of plant protection products in different formulation types employing suspect screening and unknown approaches*”. J Sci Food Agric 102 (13): 5995-6004 doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.11952>
- Hussey R.S., and Barker K.R., (1973). “*A Comparison of Methods of Collecting Inocula of Meloidogyne Species, Including a New Technique*”. Plant Disease Reporter, Vol. 57, pp. 1025-1028
- Ismail A.E., and Mohamed M.M., (2012). “*Nematicidal potentiality of some animal manures combined with urea against Meloidogyne arenaria and growth and productivity of sugar beet under field conditions*”. Pak. J. Nematol., 30 (1): 57-65
- Jaffar N.S., Jawan R., and Chong K.P., (2023). “*The potential of lactic acid bacteria in mediating the control of plant diseases and plant growth stimulation in crop production - A mini review*”. Front. Plant Sci. 13: 1047945 doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1047945>
- Jagadeeswaran R., Singh B., and Dubey J., (2024). “*Isolation of Pasteuria penetrans, an obligate hyper-parasite, infecting root knot nematode, Meloidogyne spp. from the rhizosphere of pulses in India*”. Egypt J Biol Pest Control 34 (9) doi: <https://doi.org/10.1186/s41938-024-00775-7>
- Jang J.Y., Choi Y.H., Shin T.S., Kim T.H., Shin K.S., Park H.W., Kim Y.H., Kim H., Choi G.J., Jang K.S., Cha B., Kim I.S., Myung E.J., and Kim J.C., (2016). “*Biological Control of Meloidogyne incognita by Aspergillus niger F22 Producing Oxalic Acid*”. PLoS ONE 11 (6): e0156230 doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0156230>

- Kagata H., and Ohgushi T., (2012). “*Positive and negative impacts of insect frass quality on soil nitrogen availability and plant growth*”. Population Ecology 54 (1) doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10144-011-0281-6>
- Karabörklü S., Aydinli V., and Dura O., (2022). “*The potential of Beauceria bassiana and Metarhizium anisopliae in controlling the root-knot nematode Meloidogyne incognita in tomato and cucumber*”. Journal of Asia-Pacific Entomology 25 (1): 101846 doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aspen.2021.101846>
- Kashyap D., and Siddiqui Z.A., (2020). “*Effect of different inocula of Meloidogyne incognita and Pseudomonas syringae pv. pisi with and without Rhizobium leguminosarum on growth, chlorophyll, carotenoid and proline contents of pea*”. India Phytopathology 73: 499-506 doi: <https://doi.org/10.1007/s42360-020-00236-9>
- Kaşkavalci G., (2007). “*Effects of Soil Solarization and Organic Amendment Treatments for Controlling Meloidogyne incognita in Tomato Cultivars in Western Anatolia*”. Turk J Agric For 31 (3): 159-167
- Katsantonis D., Hillocks R.J., and Gowen S., (2003). “*Comparative effect of root-knot nematode on severity of Verticillium and Fusarium wilt in cotton*”. Phytoparasitica 31(2):154-162 doi: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02980785>
- Khairy D., Osman M.A., and Mostafa F.A.M., (2022). “*Combined use of Aqueous Plant Extracts for Controlling Meloidogyne incognita and Modulating Chemical Constituents in Tomato under Greenhouse Conditions*”. Pakistan Journal of Nematology, 40 (1): 1-11 doi: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.pjn/2022/40.1.1.11>
- Khan Z., and Kim Y.H., (2007). “*A review on the role of predatory soil nematodes in the biological control of plant parasitic nematodes*”. Applied Soil Ecology 35 (2): 370-379 doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.07.007>
- Khurshid N., Bukhari M.A., Ahmad T., Ahmad Z., Jatoi W.N., Abbas S.M., Latif A., Raza A., Aurangzaib M., Hashem A., Avila-Quezada G.D., and Abd-Allah E.F., (2023). “*Exogenously applied nicotinic acid alleviates drought stress by enhancing morpho-physiological traits and antioxidant defense mechanisms in wheat*”. Ecotoxicology and Environmental Safety 263: 115350 doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115350>
- Kigeso A.M., Andika D.O., and Nzogela Y.B., (2024). “*Management of root knot nematode Meloidogyne incognita using black soldier fly frass in soybean [Glycine*

*max(L.)J*”. Journal of Current Opinion in Crop Science, 5(2): 103–112 doi: <https://doi.org/10.62773/jcocs.v5i2.247>

Kim D.R., Jeon C.W., Cho G., Thomashow L.S., Weller D.M., Paik M.J., Lee Y.B., and Kwak Y.S., (2021). “*Glutamic acid reshapes the plant microbiota to protect plants against pathogens*”. Microbiome 9: 244 doi: <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01186-8>

Kim S., Kim H.M., Seo H.J., Yeon J., Park A.R., Yu N.H., Jeong S.G., Chang J.Y., Kim J.C., and Park H.W., (2022). “*Root-Knot Nematode (Meloidogyne incognita) Control Using a Combination of Lactiplantibacillus plantarum WiKim0090 and Copper Sulfate*”. J Microbiol Biotechnol 32 (8): 960-966 doi: <https://doi.org/10.4014/jmb.2205.05019>

Kim S.H., Chung T.H., Park H.C., Shin M.J., Park I.G., and Choi I.H., (2018). “*Effects of diet composition on growth performance and feed conversion efficiency in Alphitobius diaperinus larvae*”. Journal of Entomological and Acarological Research 51: 7761 doi: <http://dx.doi.org/10.4081/jear.2019.7761>

Kisaakye J., Beesigamukama D., Haukeland S., Subramanian S., Thiongo P.K., Kelemu S., and Tanga C.M., (2024). “*Chitin-enriched insect frass fertilizer as a biorational alternative for root-knot nematode (Meloidogyne incognita) management*”. Front. Plant Sci. 15:1361739 doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1361739>

Koh D.W.S., Ang B.Y.X., Yeo J.Y., Xing Z., and Gan S.K.E., (2020). “*Plastic agriculture using worms: Augmenting polystyrene consumption and using frass for plant growth towards a zero-waste circular economy*”. doi: <http://dx.doi.org/10.1101/2020.05.29.123521>

Kokalis-Burelle N., Roskopf E.N., Butler D.M., Fennimore S.A., and Holzinger J., (2016). “*Evaluation of Steam and Soil Solarization for Meloidogyne arenaria Control in Florida Floriculture Crops*”. J Nematol. 48 (3): 183-192 doi: <https://doi.org/10.21307/jofnem-2017-026>

Kumar V., Khan Rahaman M., and Walia R.K., (2020). “*Crop Loss Estimations due to Plant-Parasitic Nematodes in Major Crops in India*”. Natl. Acad. Sci. Lett.: 43 (5) doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s40009-020-00895-2>

Kumari A., Kumar V., Ovadia R., and Oren-Shamir M., (2023). “*Phenylalanine in motion: A tale of an essential molecule with many faces*”. Biotechnol Adv. 68: 108246 doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108246>

- Laquale S., Avato P., Argentieri M.P., Bellardi M.G., and D'Addabbo T., (2018). “*Nematotoxic activity of essential oils from Monarda species*”. Journal of Pest Science 91 (3): 1115-1125 doi: <https://doi.org/10.1007/s10340-018-0957-1>
- Li A., Pi J., Zhu H., Yang L., Zhang X., and Ding W., (2021). “*Caffeic Acid in Tobacco Root Exudate Defends Tobacco Plants From Infection by Ralstonia solanacearum*”. Front. Plant Sci. 12: 690586 doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.690586>
- Liu G., Lai D., Liu Q.Z., Zhou L., and Liu Z.L., (2016). “*Identification of Nematicidal Constituents of Notopterygium incisum Rhizomes against Bursaphelenchus xylophilus and Meloidogyne incognita*”. Molecules 21 (10): 1276 doi: <https://doi.org/10.3390/molecules21101276>
- Liu S., Ruan W., Li J., Xu H., Wang J., Gao Y., and Wang J., (2008). “*Biological control of phytopathogenic fungi by fatty acids*”. Mycopathologia 166: 93-102 doi: <https://doi.org/10.1007/s11046-008-9124-1>
- Lu X., Wang Y., Fung S., and Qing X., (2021). “*I-Nema: A Biological Image Dataset for Nematode Recognition*”. Preprint. doi: <http://dx.doi.org/10.48550/arXiv.2103.08335>
- Magro A.D., Lovarelli D., Bacenetti J., and Guarino M., (2024). “*The potential of insect frass for sustainable biogas and biomethane production: A review*”. Bioresource Technology Volume 412 doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131384>
- Mahajan R., Prabhsharan S., and Bajaj K.L., (1985). “*Nematicidal activity of some phenolic compounds against Meloidogyne incognita*”. Revue Nematol., 8(2): 161-164
- Mahajan R., Kaur D.J., and Bajaj K.L., (1992). “*Nematicidal activity of phenolic compounds against Meloidogyne incognita*”. Nematol. Medit. 20: 217-219
- Mahmoud M.A., Abotaleb A.O., and Zinhom R.A., (2025). “*Evaluation of various diets for improved growth, reproductive and nutritional value of the yellow mealworm, Tenebrio molitor L.*”. Sci Rep 15: 15656 doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-98254-y>
- Manzanilla-Lopez R.H., Evans K., and Bridge J., (2004). “*Plant Diseases Caused by Nematodes*”. Nematology: advances and perspectives. Volume 2: Nematode management and utilization, pp. 637-716 doi: <https://doi.org/10.1079/9780851996462.0637>

- Martins G.D., Galo M.L.B.T., and Vieira B.S., (2017). “*Detecting and Mapping Root-Knot Nematode Infection in Coffee Crop Using Remote Sensing Measurements*”. IEEE Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing Volume 10: Issue 12 doi: <https://doi.org/10.1109/JSTARS.2017.2737618>
- Mathebula N., Pofu K.M., Mashela P.W., (2024). “*Host-status of sixteen crops used in potato-based crop rotation systems against Meloidogyne javanica in South Africa*”. Research on Crops 25 (1): 79-85 doi: <http://dx.doi.org/10.31830/2348-7542.2024.ROC-998>
- Mauromicale G., Marchese M., Restuccia A., Sapienza O., Restuccia G., and Longo A.M.G., (2005). “*Root nodulation and nitrogen accumulation and partitioning in legume crops as affected by soil solarization*”. Plant Soil 271 (1-2): 275–284 doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-004-2772-0>
- Morton S.K., Wahl A.W., and Meyer J.N., (2023). “*The effect of common paralytic agents used for fluorescence imaging on redox tone and ATP levels in Caenorhabditis elegans*”. bioRxiv {Preprint} {Version 1} doi: <https://doi.org/10.1101/2023.09.21.558750>
- Moosavi M.R., (2012). “*Nematicidal effect of some herbal powders and their aqueous extracts against Meloidogyne javanica*”. Nematropica 42 (1): 48-56
- Mouniga R., Anita B., Lakshmanan A., Shanthi A., and Karthikeyan G., (2023). “*Nematicidal Properties of Chitosan Nanoformulation*”. J Nematol. 24: 55 (1): 20230033 doi: <https://doi.org/10.2478/jofnem-2023-0033>
- Mughal A., Jabeen N., Ashraf K., Sultan K., Farhan M., Hussain M.I., Deng G., Alsudays I.M., Saleh M.A., Tariq S., and Zaman Q., (2024). “*Exploring the role of caffeic acid in mitigating abiotic stresses in plants: A review*”. Plant Stress 12: 100487 doi: <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100487>
- Ntalli G.N., and Caboni P., (2012). “*Botanical Nematicides: A Review*”. J. Agric. Food Chem. 60, 9929–9940 doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jf303107j>
- Ntalli G.N., Manconi F., Leonti M., Maxia A., and Caboni P., (2011). “*Aliphatic Ketones from Ruta chalepensis (Rutaceae) Induce Paralysis on Root Knot Nematodes*”. J. Agric. Food Chem. 59 (13): 7098-103 doi: <https://doi.org/10.1021/jf2013474>

Ntalli G.N., Ferrari F., Giannakou I., Menkissoglu-Spiroudi U., (2010). “*Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against Meloidogyne incognita and the nematocidal activity of essential oils from seven plants indigenous to Greece*”. Pest Manag. Sci. 67: 341-351 doi: <https://doi.org/10.1002/ps.2070>

Novaes A.P.S., Nascimento F.S., Rocha A.J., Soares J.M.S., Souza Ramos A.P., Souza Junior L.C., Rodrigues A.S., Oliveira Mendes T.A., Souza Rocha L., Amorim E.P., and Ferreira C.F., (2024). “*Glycerol as an Inducer of Disease Resistance in Plants: A Systematic Review*”. Horticulturae 10 (12): 1368 doi: <https://doi.org/10.3390/horticulturae10121368>

Oliveira C.M.G., Rosa J.M.O., Pillat R.R., Almeida J.E.M., (2021). “*Efficiency of Metarhizium anisopliae in the control of Meloidogyne incognita in banana and coffee crops*”. Coffee Science 16: e161957 doi: <http://dx.doi.org/10.25186/v16i.1957>

Ornat C., Verdejo-Lucas S., Sorribas F.J., and Tzortzakakis E.A., (1999). “*Effect of fallow and root destruction on survival of root-knot and root-lesion nematodes in intensive vegetable cropping systems*”. Nematropica 29 (1): 5-16

Ornat C., Verdejo-Lucas S., and Sorribas F.J., (1997). “*Effect of the previous crop on population densities of Meloidogyne javanica and yield of cucumber*”. Nematropica 27: 85-90

Pereira F.O.M., Souza R.M., Souza P.M., Dolinski C., and Santos G.K., (2009). “*Estimate of the economical and social impact of Meloidogyne mayaguensis onto the guava crop in Brazil*”. Journal of Nematology 42 (3): 264-264

Pineda-Alegría J.A., Sánchez J.E., González-Cortazar M., Son-de Fernex E., González-Garduño R., Mendoza-de Gives P., Zamilpa A., and Aguilar-Marcelino L., (2020). “*In vitro nematocidal activity of commercial fatty acids and  $\beta$ -sitosterol against Haemonchus contortus*”. Journal of Helminthology 94 (e135): 1-4 doi: <https://doi.org/10.1017/S0022149X20000152>

Poulin R., (2011). “*Chapter 1 – The Many Roads to Parasitism: A Tale of Convergence*”. Advances in Parasitology, Vol: 74, pp. 1-40 doi: <http://doi.org/10.1016/b978-0-12-385897-9.00001-x>

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

Prasad R., and Shivay Y.S., (2017). “*Oxalic Acid/Oxalates in Plants: From Self-Defence to Phytoremediation*”. Current Science 112 (8): 1665-1667 doi: <http://dx.doi.org/10.18520/cs/v112/i08/1665-1667>

Prot J.C., and Van Gundy S.D., (1981). “*Effect of Soil Texture and the Clay Component on Migration of Meloidogyne incognita Second-stage Juveniles*”. J. Nematol. Volume 13(2): 213–217

Pun T.B., Magar R.T., Koech R., Owen K.J., and Adorada D.L., (2024). “*Emerging Trends and Technologies Used for the Identification, Detection, and Characterisation of Plant-Parasitic Nematode Infestation in Crops*”. Plants 13 (21) : 3041 doi: <https://doi.org/10.3390/plants13213041>

Puntener W., and Zahner O., (1981). “*Manual For Field Trials In Plant Protection*”. Second Edition, Ciba-Geigi, Basle, Switzerland, pp. 205

Qing X., Wang Y., Lu X., Li H., Wang X., Li H., and Xie X., (2022). “*NemaRec: A deep learning-based web application for nematode image identification and ecological indices calculation*”. European Journal of Soil Biology 110: 103408 doi: <http://168.138.167.251:8080/>

Rashid M.H., Al-Mamun M.H., and Uddin M.N., (2017). “*How Durable is Root Knot Nematode Resistance in Tomato?*”. Plant Breeding and Biotechnology 2017:5: 143-162 doi: <https://doi.org/10.9787/PBB.2017.5.3.143>

Renčo M., (2012). “*Organic amendments of soil as useful tools of plant parasitic nematodes control*”. Helminthologia 50 (1): 3-14 doi: <http://dx.doi.org/10.2478/s11687-013-0101-y>

Rich J. R., Brito J.A., Kaur R., and Ferrell J.A., (2008). “*Weed species as hosts of Meloidogyne: A review*”. Nematropica 39: 157-185

Ritz C., Baty F., Streibig J. C., and Gerhard D., (2015). “*Dose-response analysis using R*”. PLoS ONE, 10(12): e0146021 doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146021>

- Rusique L., Camacho M.J., Serra C., Nóbrega F., and Inácio M.L., (2023). ‘*Root-knot nematode assessment: species identification, distribution, and new host records in Portugal*’. Front. Plant Sci. 14:1230968 doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1230968>
- Said Omar M., Kordali S., and Korkmaz M., (2018). ‘*Evaluation Of The Effect Of Benzoic Acid On Some Plant Pathogenic Fungi*’. IJANS 1(1): 03-05
- Saleh H.M., Shafeeq A.F., and Khairi M.A., (2023). ‘*Short Communication: Biological control of Meloidogyne javanica by Pasteuria penetrans and Trichoderma harzianum on tomato plants*’. Biodiversitas 24 (2): 847-851 doi: <http://dx.doi.org/10.13057/biodiv/d240221>
- Samara R., (2020). ‘*Evaluation of Eleven Potential Trap Crops for root-knot Nematode (RKN) Control under glasshouse conditions*’. Open Agriculture 7 (1): 61-68 doi: <http://dx.doi.org/10.1515/opag-2022-0074>
- Sarri K., Mourouzidou S., Ntalli N., and Monokrousos N., (2024). ‘*Recent Advances and Developments in the Nematicidal Activity of Essential Oils and Their Components against Root-Knot Nematodes*’. Agronomy 14 (1): 213 doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy14010213>
- Seber G. A. F., and Wild C. J., (1989). ‘*Nonlinear Regression*’. Wiley doi: 10.1002/0471725315
- Seo Y., and Kim Y.H., (2014). ‘*Control of Meloidogyne incognita Using Mixtures of Organic Acids*’. Plant Pathol J. 30 (4): 450-455 doi: <https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.07.2014.0062>
- Sharma I.P., and Sharma A.K., (2017). ‘*Effective control of root-knot nematode disease with Pseudomonad rhizobacteria filtrate*’. Rhizosphere 3 (1): 123-125 doi: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.02.001>
- Shaukat S.S., and Siddiqui I.A., (2001). ‘*Effect of some phenolic compounds on survival, infectivity and population density of Meloidogyne javanica in mungbean*’. Nematol. mediterr 29: 123-126
- Siddiqui I.A., and Shaukat S.S., (2002). ‘*Zinc and glycerol enhance the production of nematicidal compounds in vitro and improve the biocontrol of Meloidogyne javanica in tomato by fluorescent pseudomonads*’. Letters in Applied Microbiology 35: 212-217 doi: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2002.01162.x>

Singh A., Jaiswal R.K., Maurya S., and Singh U.P., (2013). “*Analysis of phenolic and indole acetic acids in Meloidogyne graminicola infected rice plants (Oryza sativa L.)*”. International Journal of Advanced Research 1 (6): 71-76

Spiegel Y., Cohn E., and Chet I., (1986). “*Use of chitin for controlling plant parasitic nematodes*”. Plant and Soil 95, 87-95

Swibawa I., Fitriana Y., Solikhin, Fiandani A., Suharjo R., Balqis S., Purnomo and Susilo F.X., (2024). “*Effectiveness of bionematicide from Purpureocillium lilacinum in controlling root-knot nematodes (Meloidogyne spp.)*”. J. Trop. Plant Pests Dis. 24 (2): 185-193 doi: <http://dx.doi.org/10.23960/jhptt.224185-193>

Thambugala K.M., Daranagama D., Phillips A.J.L., Kannangara S., and Promptutha I., (2020). “*Fungi vs. Fungi in Biocontrol: An Overview of Fungal Antagonists Applied Against Fungal Plant Pathogens*”. Front. Cell. Infect. Microbiol. 10: 604923 doi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.604923>

Thevenoux R., Le V.L., Villesséche H., Buisson A., Beurton-Aimar M., Grenier E., Folcher L., and Parisey N., (2021). “*Image based species identification of Globodera quarantine nematodes using computer vision and deep learning*”. Computers and Electronics in Agriculture 186: 106058 doi: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2021.106058>

Tian X., Zhao X., Zhao S., Zhao J., and Mao Z., (2022). “*The Biocontrol Functions of Bacillus velezensis Strain Bv-25 Against Meloidogyne incognita*”. Front Microbiol. 7 (13): 843041 doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.843041>

Tzortzakakis E.A., Conceição I.L.P.M., dos Santos M.C.V., and Abrantes I.M.O., (2011). “*Root-knot nematodes (Meloidogyne spp.) in Greece*”. Hellenic Plant Protection Journal 4: 25-30

Valitova J., Renkova A., Beckett R., and Minibayeva F., (2024). “*Stigmasterol: An Enigmatic Plant Stress Sterol with Versatile Functions*”. Int J Mol Sci 25 (15): 8122 doi: <https://doi.org/10.3390/ijms25158122>

Velasco-Azorsa R., Cruz-Santiago H., Prado-Vera I.C., Ramírez-Mares M.V., Gutiérrez-Ortiz R., Santos-Sánchez N.F., Salas-Coronado R., Villanueva-Cañongo C., Lira-de León K.I., and Hernández-Carlos B., (2021). “*Chemical Characterization of Plant Extracts and Evaluation of their Nematicidal and Phytotoxic Potential*”. *Molecules* 26 (8) doi: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26082216>

Velasco-Azorsa R., Zeferino-Díaz R., Alvarado-Rodríguez J.G., López-Ruiz H., Rojas-Lima S., Flores-Castro K., Prado-Vera I.C., Alatorre-Rosas R., Tut-Pech F., Carillo-Benítez M.G., Burgueño-Tapia E., and Torres-Valencia J.M., (2022). “*Nematicidal activity of furanoeremophilenes against Meloidogyne incognita and Nacobbus aberrans*”. *Pest Manag Sci* 78 (6): 2571-2580 doi: <http://dx.doi.org/10.1002/ps.6888>

Voutchkova D.D., Schullehner J., Skaarup C., Wodsschow K., Ersboll A.K., and Hansen B., (2021). “*Estimating pesticides in public drinking water at the household level in Denmark*”. *GEUS Bulletin* 47. 6090 doi: <http://dx.doi.org/10.34194/geusb.v47.6090>

Wang G., Zhang X., Du G., Wang W., Yao Y., Jin S., Cai H., Peng Y., and Chen B., (2024). “*Oleic Acid and Linoleic Acid Enhances the Biocontrol Potential of Metarhizium rileyi*”. *J. Fungi* 10 (8): 521 doi: <https://doi.org/10.3390/jof10080521>

Warmerdam S., (2019). “*Susceptibility genes, a novel strategy to improve resistance against the root-knot nematode Meloidogyne incognita*”. [internal PhD, WU, Wageningen University]. Wageningen University. pp: 10-11 doi: <https://doi.org/10.18174/470461>

Wang K.H., Hooks C.R., and Ploeg A., (2007). “*Protecting Crops from Nematode Pests: Using Marigold as an Alternative to Chemical Nematicides*”. *Plant Disease* 35

Wella P., Péchy-Tarr M., Keel C., and Maurhofer M., (2009). “*Role of Gluconic Acid Production in the Regulation of Biocontrol Traits of Pseudomonas fluorescens CHA0*”. *Appl Environ Microbiol* 75 (12): 4162-4174 doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.00295-09>

Wyss U., and Grundler F.M.W., (1992). “*Feeding behavior of sedentary plant parasitic nematodes*”. *Neth. J. Pl. Path.* 98 Supplement 2: 165-173 doi: <https://doi.org/10.1007/BF01974483>

- Xie G., Cui H., Dong Y., Wang X., Li X., Deng R., Wang Y., Xie Y., (2016). ‘‘Crop rotation and intercropping with marigold are effective for root-knot nematode (*Meloidogyne* sp.) control in angelica (*Angelica sinensis*) cultivation’’. Canadian Journal of Plant Science, Volume 97: 1 doi: <https://doi.org/10.1139/cjps-2016-0071>
- Xue Y., Li W., Li M., Ru N., Chen S., Jiu M., Feng H., Wei L., Daly P., and Zhou D., (2024). ‘‘Biological Control of a Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita* Infection of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by the Oomycete Biocontrol Agent *Pythium oligandrum*’’. J. Fungi 10 (4): 265 doi: <https://doi.org/10.3390/jof10040265>
- Yang Z.Y., Dai Y.C., Mo Y.Q., Wang J.L., Ma L., Zhao P.J., Huang Y., Wang R.B., Li W., Al-Rejaie S.S., Liu J.J., Cao Y., and Mo M.H., (2024). ‘‘Exploring the nematicidal mechanisms and control efficiencies of oxalic acid producing *Aspergillus tubingensis* WF01 against root-knot nematodes’’. Front. Microbiol. 15: 1424758 doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1424758>
- Ye L., Wang J.Y.W., Liu X.F., Guan Q., Dou N.X., Li J., Zhang Q., Gao Y.M., Wang M., Li J.S., and Zhou B., (2022). ‘‘Nematicidal activity of volatile organic compounds produced by *Bacillus altitudinis* AMCC 1040 against *Meloidogyne incognita*’’. Arch Microbiol 204, 521 doi: <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03024-3>
- Youssef M.M.A., and El-Nagdi W.M.A., (2021). ‘‘New Approach for Biocontrolling Root-Knot Nematode, *Meloidogyne incognita* on Cowpea by Commercial Fresh Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*)’’. Jordan Journal of Biological Sciences 14 (1): 173-177
- Zande E.M., Wantulla M., Loon J.J., and Dicke M., (2024). ‘‘Soil amendment with insect frass and exuviae affects rhizosphere bacterial community, shoot growth and carbon/nitrogen ratio of a brassicaceous plant’’. Plant Soil 495: 631-648 doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-023-06351-6>
- Zemanová V., Pavlik M., Pavlíková D., and Tlustoš P., (2014). ‘‘The significance of methionine, histidine and tryptophan in plant responses and adaptation to cadmium stress’’. Plant Soil Environ. 60 (9): 426-432 doi: <http://dx.doi.org/10.17221/544/2014-PSE>
- Zhang W.P., Ruan W., Deng Y.Y., and Gao Y.B., (2012). ‘‘Potential Antagonistic Effects of Nine Natural Fatty Acids Against *Meloidogyne incognita*’’. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60 (46) doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jf3036885>

Zhang Y., Smith P., Maximova S.N., and Guiltinan M.J., (2015). “*Application of glycerol as a foliar spray activates the defence response and enhances disease resistance of Theobroma cacao*”. Molecular Plant Pathology 16 (1): 27-37 doi: <http://dx.doi.org/10.1111/mpp.12158>

Zuhair R., Moustafa Y.T.A., Mustafa N.S.A., El-Dahshouri M.F., Zhang L., and Ageba M.F., (2022). “*Efficacy of amended vermicompost for bio-control of root knot nematode (RKN) Meloidogyne incognita infesting tomato in Egypt*”. Environmental Technology & Innovation 27: 102397 doi: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102397>

### Ηλεκτρονικές πηγές

Βλάμης Α., (2021). “Μικροβιολογία. Ενότητα β’. Οργάνωση και δομή του μικροβιακού κυττάρου (Σημειώσεις)”. Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών. σσ. 82 (Ανακτήθηκε από:

<https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/CHEM2049/2021%20Evotnta%20.pdf>) (Πρόσβαση: 29/07/2025)

Ντάλλη Ν.Γ., (2010). “*Αντιμετώπιση των ριζόκομβων νηματωδών (Meloidogyne incognita) σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες με φυσικά προϊόντα και μελέτη της χημικής σύστασης αυτών (Διδακτορική διατριβή)*”. σσ: 25 (Ανακτήθηκε από: <https://www.didaktorika.gr/eadd/handle/10442/23462>) (Πρόσβαση: 09/01/2025)

Τζωρτζακάκης Ε.Α., (05/2018). “*Καταγραφή παρουσίας των νηματωδών του γένους Meloidogyne σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες κηπευτικών την τελευταία 20ετία*”. Δήμητρα Τεύχος 23, σσ. 24-25 (Ανακτήθηκε από: <https://elgo.iosv.gr/en/author/etzortza/page/2/>) (Πρόσβαση: 07/12/2024)

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. “*Κατάλογος φυτοπροστατευτικών προϊόντων και βιοκτόνων κατά κατηγορία ή δραστικό – Νηματωδοκτόνα*”. (Ανακτήθηκε από: <https://1click.minagric.gr/oneClickUI/frmFytoPro.zul>) (Πρόσβαση: 12/01/2025)

Agro24, (04/2024). “*Στην ψηφιακή «φαρέτρα» της Bayer προστίθεται και η τεχνητή νοημοσύνη*”. (Ανακτήθηκε από: <https://www.agro24.gr/agrotika/kainotomia/tehnologia/bayer-climate-fieldview-nematool>) (Πρόσβαση: 12/06/2025)

EEA European Environment Agency, (04/2023). “*How pesticides impact human health and ecosystems in Europe*”. (Ανακτήθηκε από: <https://www.eea.europa.eu/publications/how-pesticides-impact-human-health>) (Πρόσβαση: 05/01/2025)

European Food Safety Authority (EFSA), (10/2015). “*Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed*”. EFSA Journal, 13(10): 4257 (Ανακτήθηκε από: <https://mze.gov.cz/public/portal/-q340299---LQpW8fH5/profilovani-rizika-efsa>) (Πρόσβαση: 18/07/2025)

EPPO Global Database, (06/2018). “*First report of Meloidogyne enterolobii in Portugal*”. Num. article: 2018/120 (Ανακτήθηκε από: <https://gd.eppo.int/reporting/article-6314>) (Πρόσβαση: 05/12/2024)

EPPO Global Database, (02/2023). “*First record of Meloidogyne enterolobii in Netherlands*”. Num. article: 2023/046 (Ανακτήθηκε από: <https://gd.eppo.int/reporting/article-7528>) (Πρόσβαση: 05/12/2024)

EPPO Global Database, (04/2023). “*First report of Meloidogyne enterolobii in Italy*”. Num. article: 2023/085 (Ανακτήθηκε από: <https://gd.eppo.int/reporting/article-7567>) (Πρόσβαση: 05/12/2024)

European Union, (2020). “*Farm to Fork Strategy. For a fair, healthy and environmentally - friendly food system*”. (Ανακτήθηκε από: [https://food.ec.europa.eu/system/files/2020-05/f2f\\_action-plan\\_2020\\_strategy-info\\_en.pdf](https://food.ec.europa.eu/system/files/2020-05/f2f_action-plan_2020_strategy-info_en.pdf)) (Πρόσβαση: 05/01/2025)

Hajihassani A., (2018). “*Chemical Nematicides for control of plant-parasitic nematodes in Georgia Vegetable Crops*”. University of Georgia Cooperative Extension Bulletin 1502. (Ανακτήθηκε από: [https://secure.caes.uga.edu/extension/publications/files/pdf/B%201502\\_1.PDF](https://secure.caes.uga.edu/extension/publications/files/pdf/B%201502_1.PDF)) (Πρόσβαση: 09/01/2025)

International Platform of Insects for Food and Feed (IPIFF), (09/2019). “*IPIFF Contribution Paper on the application of insect frass as fertilizing product in agriculture*”. (Ανακτήθηκε από: <https://ipiff.org/wp-content/uploads/2019/09/19-09-2019-IPIFF-contribution-on-insect-frass-application-as-fertilising-product-final-version.pdf>) (Πρόσβαση: 12/01/2025)

International Platform of Insects for Food and Feed (IPIFF), (12/2019). “*Guide on Good Hygiene Practices for European Union (EU) producers of insects as food and feed*”. (Ανακτήθηκε από: [https://ipiff.org/wp-content/uploads/2019/12/Annex-7-IPIFF\\_Guide\\_A4\\_2019-final-version-v9.pdf](https://ipiff.org/wp-content/uploads/2019/12/Annex-7-IPIFF_Guide_A4_2019-final-version-v9.pdf)) (Πρόσβαση: 18/07/2025)

International Platform of Insects for Food and Feed (IPIFF), (11/2021). “*Fact sheet on insect frass*”. (Ανακτήθηκε από: <https://ipiff.org/wp-content/uploads/2021/11/Nov-29-2021-IPIFF-fact-sheet-on-insect-frass-final.pdf>) (Πρόσβαση: 12/01/2025)

Nickle W.R., (1991). “*Manual of Agricultural Nematology*”. Taylor and Francis Group, pp. 66 (Ανακτήθηκε από: [https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9781000104509\\_A40929619/preview-9781000104509\\_A40929619.pdf](https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9781000104509_A40929619/preview-9781000104509_A40929619.pdf)) (Πρόσβαση: 02/10/2024)

Official Journal of the European Union, (11/2021). “*Commission Regulation (EU) 2021/1925 of 5 November 2021 amending certain Annexes to Regulation (EU) No 142/2011 as regards the requirements for placing on the market of certain insect products and the adaptation of a containment method*”. (Ανακτήθηκε από: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32021R1925>) (Πρόσβαση: 12/01/2025)

Sabir N., and Walia R.K., (2017). “*Management of Nematodes in Polyhouses – with ShortNotes on Key Pests*”. All India Coordinated Research Project on Nematodes in Cropping Systems, ICAR-IARI, New Delhi - 110 012, India, pp. 24. (Ανακτήθηκε από: [https://www.researchgate.net/publication/322676529\\_Management\\_of\\_Nematodes\\_in\\_Protected\\_Cultivation\\_with\\_Short\\_Notes\\_on\\_Key\\_Pests](https://www.researchgate.net/publication/322676529_Management_of_Nematodes_in_Protected_Cultivation_with_Short_Notes_on_Key_Pests)) (Πρόσβαση: 01/12/2024)

United States Department of Agriculture (USDA), (2019). “*Variability, adaptation and management of nematodes impacting crop production and trade*”. University of California, Project 2019-2023 (Ανακτήθηκε από: <https://portal.nifa.usda.gov/web/crisprojectpages/1018832-variability-adaptation-and-management-of-nematodes-impacting-crop-production-and-trade.html>) (Πρόσβαση: 17/07/2025)

University of Arizona, (01/2023). “*Root Knot Nematodes*”. The University of Arizona Cooperative Extension, Yavapai County. Backyard Gardener #60. Adapted from original Backyard Gardener publications by Jeff Schalau, Agent, Agriculture & Natural Resources (Ανακτήθηκε από: <https://extension.arizona.edu/sites/extension.arizona.edu/files/barnesm/RootKnotNematodes.pdf>) (Πρόσβαση: 16/07/2025)

Verified Market Reports, (04/2025). “*Global Insect Frass (Biofertilisers) Market Size By Product Type (Granules, Powder), By Application Method (Soil Application, Foliar Application), By Type of Insect Source (Crickets, Black Soldier Fly Larvae), By End-Use Industry (Agriculture, Horticulture), By Customer (Commercial Farmers, Home Gardeners), By Geographic Scope And Forecast*”. (Ανακτήθηκε από: <https://www.verifiedmarketreports.com/product/insect-frass-biofertilisers-market/>) (Πρόσβαση: 18/07/2025)